

Минобрнауки России
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт химической кинетики и горения им. В.В.Воеводского
Сибирского отделения Российской академии наук
(ИХКГ СО РАН)

Агеева Александра Андреевна

НАУЧНЫЙ ДОКЛАД
об основных результатах подготовленной научно-квалификационной работы
(диссертации)

«Фотоиндуцированные окислительно-восстановительные процессы в связанных системах – моделях взаимодействия лекарств с биомолекулами»

Направление подготовки:
04.06.01 Химические науки
Направленность (специальность):
02.00.04 Физическая химия

Научный руководитель
*доктор химических наук,
профессор
Лёшина Татьяна
Викторовна*

Новосибирск 2020

Введение

Актуальность темы исследования. Значительная роль, которую играют активные короткоживущие частицы с неспаренными электронами (свободные и ион-радикалы, парамагнитные ионы) в функционировании живых организмов в норме и патологии сегодня не вызывает сомнений. Соответственно, строение и свойства активных форм кислорода, играющих существенную роль в процессах старения организма, а также ответственных за т.н. окислительный стресс, детально изучены различными методами, начиная с биохимических и медицинских, и кончая современными физико-химическими с временным разрешением [1]. Существенно меньше известно об активных парамагнитных интермедиатах лекарств, образующихся в процессах их функционирования в организме при взаимодействии с ферментами, рецепторами и транспортными белками, а также при метаболизме. Согласно современной точке зрения, процессы лиганд-рецепторного и фермент-субстратного связывания включают донорно-акцепторные взаимодействия, нередко это – стадии с переносом заряда [2]. Образующиеся в результате взаимодействия с аминокислотными остатками, расположенными в активных сайтах ферментов и рецепторов, радикалы и ион-радикалы лекарств также привлекают внимание исследователей, еще и как возможные источники токсических эффектов [3]. При этом принятым подходом к исследованию фототоксических и фотоаллергических реакций является изучение парамагнитных форм лекарств, образующихся при УФ облучении. В соответствии с гипотезой о переносе заряда как части взаимодействия лекарство-рецептор/лекарство-фермент, изучение модельного процесса – фотоиндуцированного переноса электрона между лекарствами и донорами электрона в настоящей работе используется для получения информации о парамагнитных формах лекарств и их возможной роли в живых системах. Особенно актуальными на сегодняшний день проблемами считаются установление природы влияния заместителей на процесс связывания лекарств с биомолекулами, а также выяснение природы различий в лечебной активности

оптических изомеров (энантиомеров) лекарств [4]. Для получения ответов на эти вопросы с помощью исследования фотоиндуцированных модельных процессов с переносом заряда в представленной работе выбрано два класса лекарств: представитель алкалоидов лаппаконитин и его производные, и нестероидный противовоспалительный препарат (S)-напроксен, и его (R)-аналог.

Степень разработанности темы. Алкалоиды из аконита, природные связанные системы, имеющие в составе молекулы и донор (дитерпеновый фрагмент) и акцептор – остаток антралиловой кислоты (хромофор), лежат в основе целого ряда лечебных препаратов, среди которых есть как блокаторы натриевых каналов (лекарства антиаритмики), так и яды-нейротоксины [5]. Противоположные физиологические эффекты очень близких по строению соединений принято объяснять особенностями их связывания с натриевыми рецепторами. При этом в литературе ключевым считается вопрос о природе влияния заместителей, в частности, расположенных в дитерпеновой части молекулы [6]. В результате проведенного ранее анализа фотоиндуцированных эффектов химической поляризации ядер (ХПЯ) широкого набора замещенных лаппаконитинов, была сформулирована гипотеза о возможной связи между эффективностью процессов фотодеградации и дезактивации синглетного возбужденного состояния лаппаконитинов [7]. Между тем фотофизические свойства лаппаконитина до сих пор не изучены, поэтому с целью проверки гипотезы о связи фотодеградации со свойствами возбужденных состояний в диссертации проведено детальное исследование фотофизических процессов, происходящих при УФ облучении лаппаконитина и ряда его производных. Это позволило описать влияние заместителей. Кроме того, в работе предложен способ оценки потенциальной фототоксичности этого класса соединений на основе обнаруженной корреляции «структура-свойство».

Другим ярким примером лекарств, которые также содержат хромофор, являются нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП). При этом ряд НПВП содержит асимметрический атом углерода, предполагающий наличие энантиомеров. Энантиомеры этих лекарств обладают различными, а нередко,

противоположными терапевтическими эффектами [2,8–10]. На сегодняшний день, физико-химическая природа различий в активности энантиомеров лекарств остается до конца не установленной, несмотря на многочисленные биохимические исследования. Для решения этой задачи в работах лаборатории Магнитных Явлений ИХКГ СО РАН в кооперации с испанскими исследователями был развит оригинальный подход, использующий элементарные процессы с переносом заряда для моделирования связывания лекарств с ферментами и рецепторами [11–15]. При этом различия в активности энантиомеров напроксена, находящегося в составе связанных систем – диад с двумя хиральными центрами, оценивались путем сравнения скоростей фотоиндуцированного переноса электрона (R,S)- и (S,S)-диастереомеров диад. Исследования методами фотохимии и спиновой химии действительно позволили обнаружить различия в скоростях как частичного, так и полного переноса заряда (стереоселективность переноса электрона) в диадах с (R) и (S)-напроксеном. Стоит отметить, что обнаруженные различия в реакционной способности качественно согласуются с результатами биохимических исследований [15]. Данная диссертационная работа является продолжением уже проведенных исследований и направлена на установление природы обнаруженных различий. В частности, в работе изучаются различия в распределении спиновых плотностей в ион-бирадикалах диастереомеров диад, проявляющиеся как различия в эффектах ХПЯ диастереомеров, т. н. спиновая селективность обратного переноса электрона. Еще одной характерной особенностью подкласса 2-арилпропионовых кислот НПВП является то, что различные представители этого подкласса подвергаются хиральной инверсии – превращению одной стереоизомерной формы в другую [16]. Изучение механизмов хиральной инверсии лекарственных препаратов весьма актуально в связи с тем, что лекарства могут подвергаться инверсии непосредственно в живом организме. Это практически важная проблема фармакологии, поскольку чаще всего только один энантиомер обладает необходимыми лечебными свойствами, и тогда следствием спонтанной инверсии становится изменение дозы лекарства. Впервые процесс хиральной инверсии под действием ферментов был обнаружен

на примере НПВП – ибупрофена [17–18]. Позднее было доказано, что некоторые другие производные 2-арилпропионовой кислоты также подвергаются метаболической инверсии [19]. Одна из точек зрения, представленная в литературе состоит в том, что хиральная инверсия (R)-энантиомеров протекает через катализируемое ферментами образование «активированного» производного кофермента А, в котором осуществляется обратимое протонирование хирального центра, приводящее к обращению конфигурации [20]. Принимая во внимание, что в ионных реакциях оптическая конфигурация обычно сохраняется, а кроме того для повторного протонирования требуется время, как правило большее чем времена жизни ионов, можно предположить, что инверсия происходит через обратимый отрыв атома водорода. В данной работе впервые обнаружено фотоиндуцированное обращение оптической конфигурации, происходящее в результате обратимого переноса атома водорода между хиральными центрами в парамагнитной форме диады «(R)-напроксен-(S)-триптофан».

Цели и задачи исследования. Целью настоящей работы является изучение парамагнитных интермедиатов лекарств, образующихся при фотооблучении донорно-акцепторных связанных систем. Это природная связанная система – алкалоид лаппаконитин (является действующим веществом лекарства «Аллапенин») и донорно-акцепторные связанные системы с двумя хиральными центрами, включающие НПВП (R)/(S)-напроксен. Согласно ранее разработанному подходу, окислительно-восстановительные процессы призваны моделировать взаимодействие лекарства с ферментом или рецептором.

Для достижения поставленной цели были решены следующие задачи:

- 1) Методами времяразрешенной флуоресценции измерены фотофизические характеристики (квантовые выходы, времена жизни флуоресценции) для диады (R/S)-напроксен-(S)-триптофан, а также лаппаконитина и его производных. В последнем случае также измерены квантовые выходы фоторазложения.
- 2) При помощи методов ХПЯ исследовано строение парамагнитных интермедиатов, образующихся при фотооблучении диады (R/S)-напроксен -

(S)-триптофан, в частности, оценены различия коэффициентов усиления ХПЯ протонов для диастереомеров диад «напроксен-триптофан» и «напроксен-N-метилпирролидин» (спиновая селективность).

- 3) Измерена зависимость коэффициентов усиления ХПЯ, детектированных при фотооблучении смеси диастереомеров, от соотношения их концентраций.
- 4) Проведена идентификация диастереомеров в продуктах фотолиза диады «напроксен-триптофан» с помощью моделирования формы линии (деконволюция) для отдельных сигналов в спектрах ЯМР высокого разрешения.

Научная новизна. Продемонстрирована корреляция «структура-свойство» для ряда алкалоидов-дитерпеноидов: лаппаконитина и его производных. Показано, что введение заместителей в различные части молекулы лаппаконитина влияет на фотофизические свойства и механизмы фоторазложения: а именно, с увеличением квантового выхода флуоресценции уменьшается степень фоторазложения из триплетного возбужденного состояния.

Впервые обнаружено различие в коэффициентах усиления ХПЯ (R,S)- и (S,S)-диастереомеров диад, содержащих НПВП напроксен и доноры электрона – триптофан и N-метилпирролидин. Данное различие в коэффициентах усиления ХПЯ (R,S) и (S,S)-диастереомеров указывает на спиновую селективность обратного переноса электрона. Была также установлена зависимость коэффициента усиления ХПЯ от соотношения концентраций диастереомеров при облучении их смеси, что указывает на влияние межмолекулярных процессов на перенос электрона в диадах. Получены данные (результаты РСА в твердости, спектры ЯМР в жидкости, расчеты методами молекулярной динамики) в пользу предположения, что этим межмолекулярным процессом является димеризация диастереомеров диад.

По эффектам ХПЯ детектирован также обратимый перенос атома водорода между хиральными центрами бирадикала, образованного при УФ облучении диады (R)-напроксен-(S)-триптофан, который приводит к обращению оптической

конфигурации (хиральная инверсия). Это первый известный нам случай хиральной инверсии под действием фотооблучения, и также первый пример, где показан радикальный механизм инверсии.

Теоретическая и практическая значимость результатов. Практическая значимость результатов связана с установлением одной из возможных причин фототоксичности лекарственного средства лаппаконитина и его производных. Предложен способ оценки фототоксичности на основе анализа фотофизических характеристик лаппаконитинов.

Теоретическая и практическая значимость результатов, полученных при изучении диад с участием напроксена, состоит в установлении одной из возможных причин различий активности диастереомеров в элементарных процессах с переносом заряда. Поскольку наиболее вероятной причиной разных эффектов ХПЯ диастереомеров является различие констант сверхтонкого взаимодействия (ств) в димерах, можно также ожидать различий в распределении спиновой и электронной плотности в парамагнитных интермедиатах энантиомеров лекарств. Это, в свою очередь, может быть причиной разной лечебной активности энантиомеров, если считать, что их взаимодействие с ферментом ЦОГ включает стадии с переносом заряда.

Изучение фотоиндуцированной хиральной инверсии, происходящей в присутствии в молекуле второго хирального центра, до сих пор не проводилось. Также не известны элементарные механизмы ферментативной хиральной инверсии, несмотря на интенсивное исследование в биохимической и медицинской литературе. В данной работе продемонстрирована хиральная инверсия, которая происходит в результате УФ облучения НПВП напроксена в составе диады с триптофаном. Показано, что обращение оптической конфигурации происходит в бирадикале, образованном в результате обратимого переноса атома водорода между хиральными центрами. Можно предположить, что хиральная инверсия НПВП, происходящая в живых организмах при обратимом связывании молекулы НПВП с транспортными белками и ферментами, может также протекать через стадию образования бирадикала.

Методология и методы исследования. Фотохимическая генерация парамагнитных частиц в биологических процессах успешно применяется со времен известной работы Жаботинского по фотогенерации катион-радикала NADH в процессе его окисления пероксидазой хрена [21]. Эта методика применялась также при изучении элементарных стадий ферментативного окисления, и для моделирования процессов связывания лекарств с активными сайтами ферментов и рецепторов, а также с транспортными белками [22–23]. При этом считается, что понижение активационного барьера, которое в биологических системах происходит за счет образования водородных связей и других слабых взаимодействий между молекулой лекарства и аминокислотными остатками в активных центрах ферментов и рецепторов, в случае фотогенерации является результатом изменения окислительно-восстановительных свойств возбужденного хромофора. Главное достоинство метода заключается в увеличении концентрации промежуточных парамагнитных частиц, полученных в результате фотооблучения, по сравнению с ферментативными процессами, что позволяет изучать данные интермедиаты различными физико-химическими методами.

Выбор методов исследования обусловлен целями и задачами работы. Касательно природной связанной системы лаппаконитин фотофизические характеристики были измерены при помощи методов фотохимии, таких как времяразрешенная флуоресцентная спектроскопия, стационарный фотолиз. Что касается диад с участием напроксена, короткоживущие интермедиаты были изучены при помощи методов спиновой химии (ХПЯ) и фотохимии (флуоресцентная спектроскопия). Идентификация соединений с обращенной оптической конфигурацией, получившихся в результате хиральной инверсии, осуществлялась методом ЯМР спектроскопии высокого разрешения. При этом анализ ЯМР спектров реакционной смеси в случае перекрытия линий включал процесс деконволюции сигналов мультиплетов.

Положения, выносимые на защиту. На защиту выносятся:

- 1) Использование фотофизических характеристик дитерпенового алкалоида – лаппаконитина и его модифицированных аналогов для установления

корреляции «структура-свойство», включая оценку влияния заместителей на фотостабильность соединений.

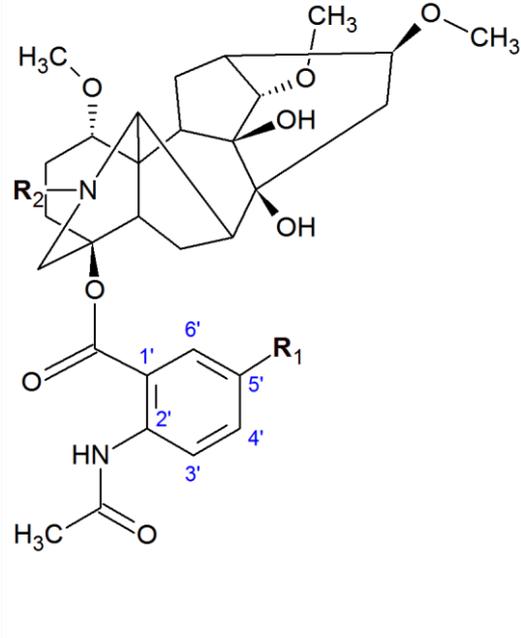
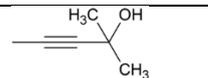
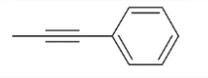
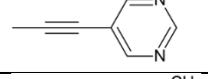
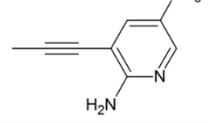
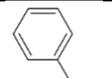
- 2) Обнаружение стереоселективности констант скоростей фотоиндуцированного внутримолекулярного переноса электрона в (R,S) и (S,S)-диастереомерах диады «напроксен-триптофан».
- 3) Первое наблюдение изменения оптической конфигурации (хиральная инверсия) (R,S)-диастереомера этой диады, происходящее в бирадикале, образовавшемся под воздействием УФ облучения.
- 4) Первое наблюдение различий в коэффициентах усиления ХПЯ (спиновая селективность) диастереомеров при УФ облучении диад: (R/S)-напроксен-(S)-триптофан, (R/S)-напроксен-(S)-N-метилпирролидин.

Апробация результатов. По материалам диссертации опубликовано 5 научных статей в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК. Результаты, представленные в диссертационной работе, докладывались и обсуждались на следующих конференциях: Международной научной студенческой конференции «Студент и Научно-технический прогресс» (Новосибирск, Россия, 2015 и 2016), Всероссийской научной конференции студентов-физиков (Омск, Россия, 2015), Всероссийской молодежной конференции «Успехи химической физики» (Черноголовка, Россия, 2016), International Conference RANMS: Recent Advances in Health and Medical Sciences (Пафос, Кипр, 2016 и 2019), International Symposium on Chirality (Гейдельберг, Германия, 2016), Magnetic Resonance and Magnetic Phenomena in Chemical and Biological Physics (Новосибирск, Россия, 2016), International Voevodsky Conference (Новосибирск, Россия, 2017), Spin physics, spin chemistry and spin technology (Новосибирск, Россия, 2018), Global Conference on Pharmaceuticals and Drug Delivery Systems, 2019 (Париж, Франция).

Основное содержание

Экспериментальная часть. Объектами исследования в данной диссертации были: лаппаконитин (ЛК) из экстракта корней аконита и ряд его синтетических производных, полученных путем введения различных заместителей (Таблица 1) в антраниловый (ЛК1–4) и дитерпеновый (ЛК5–6) фрагменты. Соединения ЛК1–4 были синтезированы Степановым А. А. из группы СПАС ИХКГ СО РАН, ЛК5–6 были синтезированы Панкрушиной Н. А. из лаборатории терпеновых соединений НИОХ СО РАН. Диада NPX-Trp была также синтезирована Степановым А. А. Диада NPX-CyAA-PYR была синтезирована группой испанских учёных под руководством проф. Миранды М. А. Чистота соединений проверялась при помощи ВЭЖХ, по температуре плавления, данным масс-спектрометрии, ИК, УФ и ^1H и ^{13}C ЯМР. Структуры изучаемых соединений представлены ниже в Табл. 1 и на Рис. 1.

Таблица 1. Структуры лаппаконитина и его производных, полученных путем введения заместителей в 5'-положение антранилового фрагмента и 20-N дитерпенового фрагмента.

|  | Заместители | | Обозначение |
|---|--|---|-------------|
| | R_1 | R_2 | |
| | -H | $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ | ЛК |
| |  | $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ | ЛК1 |
| |  | $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ | ЛК2 |
| |  | $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ | ЛК3 |
| |  | $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ | ЛК4 |
| | -H | -H | ЛК5 |
| | -H |  | ЛК6 |

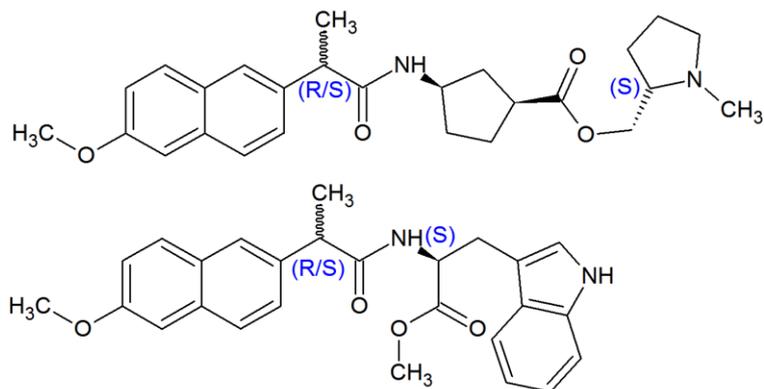


Рисунок 1. Структуры исследуемых диад (R)/(S)-NPX-CuAA-(S)-Pyr (вверху) и (R)/(S)-NPX-(S)-Trp (внизу).

ЯМР спектры регистрировались на спектрометрах Bruker AVHD 500 (магнитное поле 11.74 Тл, резонансная частота 500 МГц для ^1H , $\tau(90)=11,2$ мкс) и Bruker DPX 200 (магнитное поле 4.7 Тл, резонансная частота 200 МГц для ^1H , $\tau(90)=3,3$ мкс), оборудованном фотохимическим датчиком. В качестве источника света использовался эксимерный лазер Lambda-Physik EMG 101 (рабочая смесь XeCl , $\lambda_{\text{возб}}=308\text{ нм}$, энергия импульса 100 мДж, длительность импульса 15 нс). Для регистрации спектров ХПЯ использовались импульсные последовательности, позволяющие проводить эксперименты как с временным разрешением [24], так и в квазистационарных условиях [25].

Регистрация спектров и кинетики флуоресценции проводились на спектрофлуориметре FLS920 фирмы Edinburgh Instruments. В качестве источников возбуждения служили ксеноновая дуговая лампа CW450Вт и лазерный диод EPLED, излучающий на длине волны 300 нм с длительностью импульса 0.6–0.75 нс. Обработка кинетических кривых осуществлялась при помощи программы фирмы Edinburgh Instruments – DATA PROCESSING.

В экспериментах по стационарному фотолизу в качестве источника возбуждения служила XeCl эксимерная лампа (максимум излучения 308 нм). Измерение энергии излучения осуществлялось с помощью измерителя мощности фирмы Gentec (Канада) с пирозлектрической головкой PH100-SiUV. Оптическая чистота растворителей и оптическая плотность веществ в ходе экспериментов контролировалась с помощью спектрофотометра Agilent8453.

Исследование фотофизических свойств природного дитерпенового алкалоида лаппаконитина и его производных

В настоящей работе сделана попытка проследить связь между природой заместителей и степенью фоторазложения на примере ряда замещенных ЛК. В качестве стандарта было выбрано соединение, содержащее тот же хромофор – метиловый эфир антраниловой кислоты. УФ-облучение эксимерной лампой на 308 нм раствора ЛК в метаноле приводит к изменению оптического спектра поглощения в результате фоторазложения (Рис. 2а).

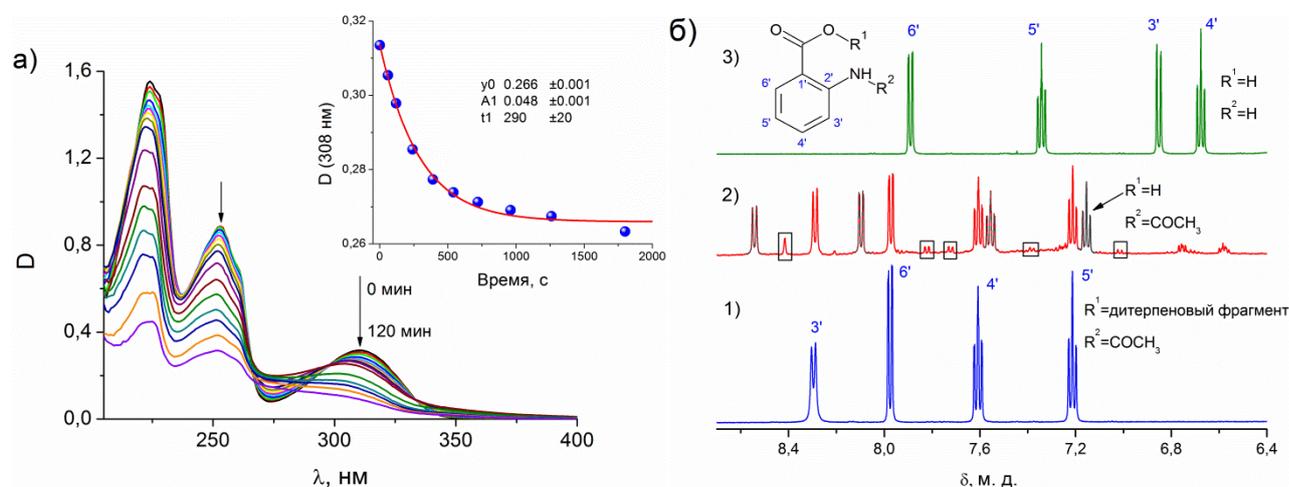


Рисунок 2. а) Оптические спектры поглощения раствора ЛК ($8 \cdot 10^{-5}$ М) в метаноле в различные моменты времени после облучения эксимерной лампой на 308 нм. На вставке зависимость оптической плотности от времени облучения, голубые точки – экспериментальные данные, красная линия – результат фитирования моноэкспоненциальной функцией. б) ^1H ЯМР спектр лаппаконитина до фотолиза (1), реакционной смеси лаппаконитина после УФ-облучения на 308 нм в течение 120 мин (2): серым цветом выделены сигналы основного продукта – N-ацетилантраниловой кислоты, в прямоугольниках – продукты перегруппировки фото-Фриса; (3) – антраниловая кислота.

Для того чтобы понять какие именно процессы происходят на начальном участке изменения оптической плотности и при продолжении облучения, продукты фотолиза параллельно детектировались по спектрам ^1H ЯМР (Рис. 2б). Анализ ЯМР спектров показывает, что в результате фотолиза ЛК происходит накопление основного продукта реакции – N-ацетилантраниловой кислоты и ее дальнейшая фототрансформация с образованием продуктов деацилирования и перегруппировки фото-Фриса [26].

Для того, чтобы проследить связь синглетного и триплетного возбужденных состояний с эффективностью фоторазложения в данной работе сравнивались квантовые выходы флуоресценции и фотореакции, учитывая, что разложение происходит через триплетное возбужденное состояние (установлено ранее по данным ХПЯ [7]). Значения времен жизни и квантовых выходов флуоресценции и фоторазложения лаппаконитина и его производных, представлены в Табл. 2.

Таблица 2. Данные флуоресценции и фоторазложения лаппаконитина и его производных.

| Соединение | $\varphi_{\text{фл}} (\lambda_{\text{возб}}=300 \text{ нм})$ | $\Phi (\lambda_{\text{возб}}=308 \text{ нм})$ | $\tau_{\text{фл}}, \text{нс}$ |
|-------------|--|---|-------------------------------|
| МА | 0.59 | - | 7.3 |
| N-ацетил-АА | 0.13 | - | 3.6 |
| ЛК | 0.017 | 0.19 | 2.1 |
| ЛК1 | 0.027 | 0.16 | 2.4 |
| ЛК2 | 0.042 | 0.056 | 3.1 |
| ЛК3 | 0.023 | 0.15 | 2.5 |
| ЛК4 | 0.030 | 0.023 | 3.2 |
| ЛК5 | 0.17 | 0.48 | 1.2 |
| ЛК6 | 0.025 | 0.35 | 1.8 |

Сравнение квантовых выходов флуоресценции ($\varphi_{\text{фл}}$) и фоторазложения (Φ) для производных, замещенных в антраниловом фрагменте (ЛК1–4), указывает на то, что между данными величинами существует обратно пропорциональная зависимость (Рис. 3а).

Попробуем объяснить эту зависимость с использованием констант Гаммета-Тафта, которые характеризуют резонансные и индукционные эффекты заместителей в ароматических системах. Под этими эффектами подразумевается происходящее при введении заместителей в ароматическую молекулу перераспределение электронной плотности по индукционному и резонансному механизму [27].

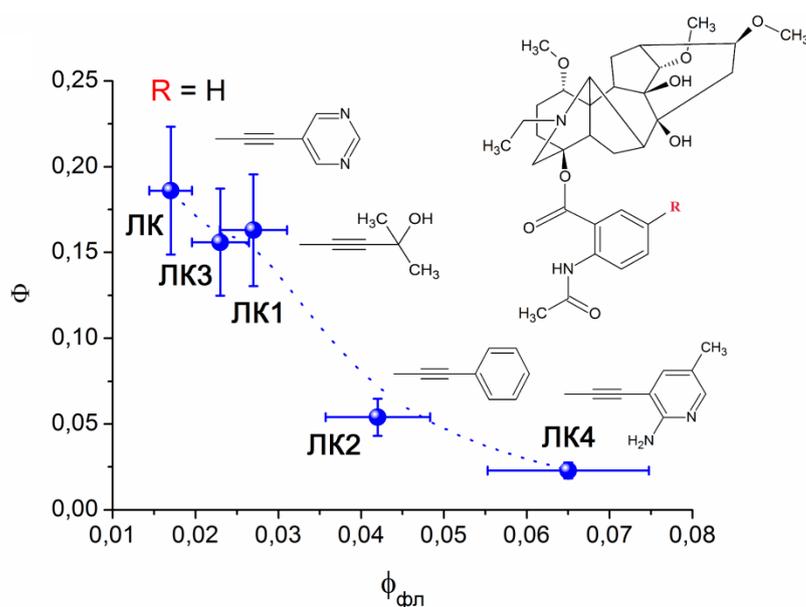


Рисунок 3. Корреляция между квантовыми выходами флуоресценции ($\Phi_{\text{фл}}$) и фоторазложения (Φ) ЛК и его производных.

Так, замещенный ЛК2 (в средней части графика), содержащий фенилацетиленовый фрагмент с электронным эффектом близким к нулю (0.05 по шкале Гаммета), скорее всего, отражает стерическое влияние ацетиленового фрагмента. Можно предположить, что введение в антраниловый фрагмент объемного заместителя стабилизирует S_1 состояние, что, в свою очередь, приводит к увеличению $\Phi_{\text{фл}}$ и уменьшению Φ . Согласно исследованиям фотофизических свойств родственных соединений – орто-аминоацетофенонов, квантовый выход флуоресценции напрямую зависит от конфигурации атома азота орто-заместителя: переход в пирамидальную конфигурацию дестабилизирует S_1 состояние, облегчая переход в T_1 состояние [28].

Тогда очевидно, что изменения в величинах $\Phi_{\text{фл}}$ и Φ остальных замещенных ЛК являются результатом сочетания этого стерического влияния и электронных эффектов. Производные с пиримидиновым заместителем (ЛК3) и гидроксиизопропильным фрагментом (ЛК1) на концах ацетиленового мостика по своим свойствам оказываются приближенными к незамещенному ЛК именно из-за компенсации стерического эффекта электрон-акцепторными: резонансным для пиримидинового заместителя, и индукционным для гидроксиизопропильного. Заместители-акцепторы, уменьшающие электронную плотность на атоме азота

антранилового фрагмента, облегчают переход в пирамидальную конфигурацию, что приводит к уменьшению $\Phi_{\text{фл}}$ и увеличению Φ соответственно.

Расположенный в нижней части графика ЛК4 с диметиламинопиридиновым фрагментом, напротив, проявляет электрон-донорный резонансный эффект (для аминов это - 0.6 по шкале Гаммета), который воздействует в одном направлении со стерическим. Резонно предположить, что в данном случае происходит смещение электронной плотности в сторону азота антранилового фрагмента, находящегося в sp^2 гибридном состоянии. Это стабилизирует S_1 состояние, увеличивая $\Phi_{\text{фл}}$ и уменьшая долю триплетного состояния, из которого происходит фоторазложение, т.е. уменьшая Φ .

Таким образом, полученные результаты показывают, что электронные и стерические эффекты во многом определяют фотофизические свойства и реакционную способность лапаконитина и его производных. А поскольку под реакционной способностью в данном случае понимается процесс фоторазложения, то на основе установленной корреляции «структура-свойство», можно оценивать фототоксичность потенциальных лекарственных средств. Отметим, что данный подход может быть использован для соединений, в которых реакционная способность зависит от интеркомбинационной конверсии, т.е. в случаях, когда исходное и реагирующее состояние имеют разную мультиплетность.

Роль хиральной конфигурации в фотоиндуцированных взаимодействиях в связанной системе NPX-Trp с двумя хиральными центрами

Ранние исследования диады NPX-Trp методами фотохимии (флуоресцентная спектроскопия, лазерный импульсный и стационарный фотолиз) показали, что в этой системе происходит эффективный синглет-синглетный перенос энергии с триптофана на напроксен, приводящий к эмиссии исключительно «напроксенового» фрагмента [29]. Кроме того, авторы наблюдали стереоселективное уменьшение интенсивности флуоресценции напроксена в

диаде, что объяснялось предположением об образовании эксиплекса. Однако, согласно критерию Рэмма-Веллера-Захариса, в данной системе возможен не только частичный (образование эксиплекса), но и полный перенос заряда [30].

Стереоселективность процесса переноса электрона

Для исследования процессов с переносом заряда в данной работе с помощью флуоресцентной спектроскопии сделаны попытки проследить факторы, управляющие тушением возбужденных состояний в диастереомерах диады NPX-Trp. Спектры поглощения и флуоресценции диастереомеров диады NPX-Trp, а также отдельных хромофоров – N-ацетилтриптофана и метилового эфира напроксена представлены на Рис. 4.

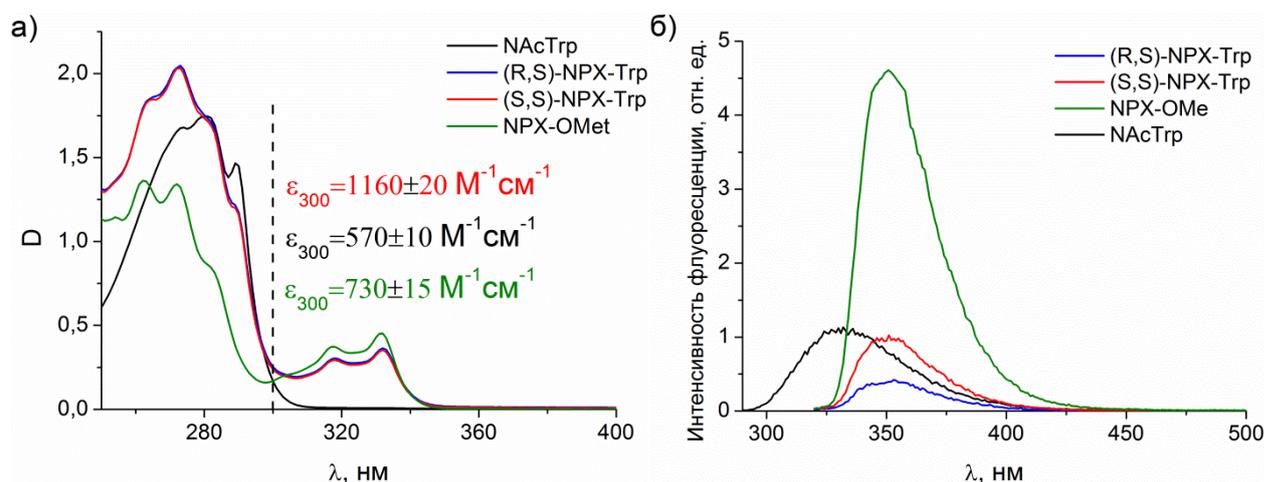


Рисунок 4. а) Оптические спектры поглощения и коэффициенты экстинкции на длине волны возбуждения в экспериментах по флуоресценции для N-ацетилтриптофана (NAcTrp), метилового эфира напроксена (NPX-OMe) и (S,S)-/(R,S)-NPX-Trp в ацетонитриле; б) спектры флуоресценции диады (S,S)-/(R,S)-NPX-Trp, по сравнению с NPX-OMe и NAcTrp в ацетонитриле.

Максимумы полос флуоресценции (350 нм) совпадают для диастереомеров диад и метилового эфира напроксена, но имеют разную интенсивность. Более того в данной работе не удалось зарегистрировать флуоресценцию от триптофанового остатка в диаде. Поскольку хорошо известно, что эффективность процессов с переносом заряда зависит от диэлектрической проницаемости среды, то кинетики и спектры флуоресценции были изучены в средах с различной полярностью. Для диастереомеров диады было обнаружено более эффективное

тушение флуоресценции по сравнению с метиловым эфиром напроксена, что указывает на дополнительные каналы тушения. Вместе с тем, при сравнении времен жизни и квантовых выходов флуоресценции диастереомеров диады наблюдается стереодифференциация (Табл. 3).

Таблица 3. Квантовые выходы и времена жизни флуоресценции, константы скорости переноса электрона в средах различной полярности (смесь ацетонитрил-бензол).

| ε | (R,S)-NPX-Trp | | | (S,S)-NPX-Trp | | |
|---------------|-------------------------|--------------------|-------------------------------------|-------------------------|--------------------|-------------------------------------|
| | $\tau_{\text{фл}}$, нс | $\Phi_{\text{фл}}$ | $k \cdot 10^{-8}$, с^{-1} | $\tau_{\text{фл}}$, нс | $\Phi_{\text{фл}}$ | $k \cdot 10^{-8}$, с^{-1} |
| 36,8 | $1,2 \pm 0,1$ | $0,036 \pm 0,005$ | $8,0 \pm 0,1$ | $2,9 \pm 0,3$ | $0,11 \pm 0,02$ | $3,1 \pm 0,3$ |
| 29,6 | $1,2 \pm 0,1$ | $0,038 \pm 0,006$ | $8,0 \pm 0,1$ | $2,9 \pm 0,3$ | $0,11 \pm 0,02$ | $3,1 \pm 0,3$ |
| 21,55 | $1,3 \pm 0,1$ | $0,051 \pm 0,008$ | $7,3 \pm 0,1$ | $3,0 \pm 0,3$ | $0,12 \pm 0,02$ | $2,9 \pm 0,3$ |
| 16,1 | $1,4 \pm 0,1$ | $0,053 \pm 0,008$ | $6,7 \pm 0,1$ | $3,0 \pm 0,3$ | $0,13 \pm 0,02$ | $2,9 \pm 0,3$ |
| 8,08 | $1,5 \pm 0,2$ | $0,057 \pm 0,009$ | $6,3 \pm 0,2$ | $3,0 \pm 0,3$ | $0,13 \pm 0,02$ | $2,9 \pm 0,3$ |
| 2,28 | $1,5 \pm 0,2$ | $0,067 \pm 0,01$ | $6,2 \pm 0,2$ | $2,7 \pm 0,3$ | $0,13 \pm 0,02$ | $3,2 \pm 0,3$ |

Для того, чтобы проверить гипотезу о возможном внутримолекулярном переносе электрона между (R/S)-NPX и (S)-Trp в связанной системе, были изучены эффекты ХПЯ в растворителях с различной полярностью. Типичная картина эффектов ХПЯ диады представлена на Рис. 5.

Знаки ХПЯ всех поляризованных сигналов, кроме принадлежащих метильным протонам, были проанализированы с использованием правил Каптейна, модифицированных Клоссом, с учетом возможности рекомбинации бирадикал-цвиттериона из обоих (синглетного и триплетного) спиновых состояний [24]. Доказательством образования бирадикал-цвиттериона, в результате внутримолекулярного переноса электрона, является соответствие отношения интегральной интенсивности сигналов ХПЯ отношению констант ств. При этом анализ знаков ХПЯ, проведенный согласно вышеописанным правилам,

показывает, что обратный перенос электрона преимущественно происходит из триплетного спинового состояния бирадикал-цвиттериона.

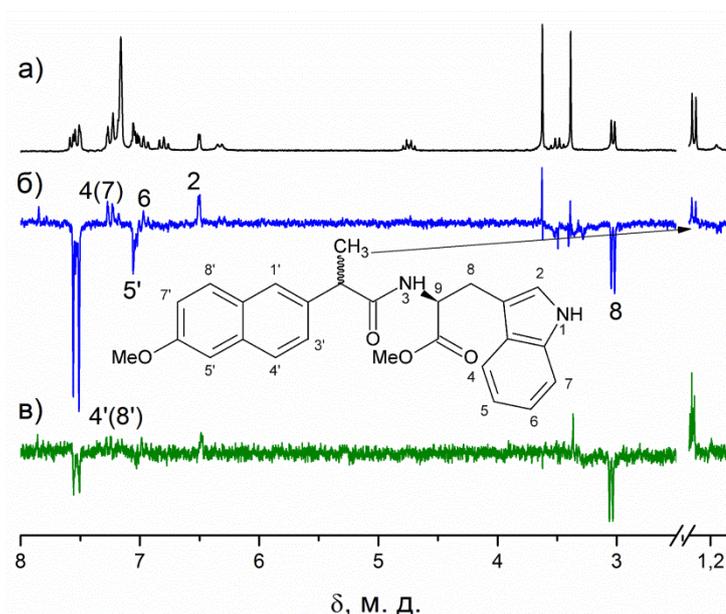


Рисунок 5. ^1H -ЯМР спектр 5 мМ (R,S)-NPX-Трр в смеси растворителей 40%-ацетонитрил- d_3 , 60% бензол- d_6 (а), квазистационарный спектр ХПЯ (б), времяразрешенный спектр ХПЯ (в).

В спектре ^1H ЯМР после фотолиза были обнаружены дополнительные сигналы продуктов в области резонанса метильных протонов. Очевидно, эти сигналы относятся к параллельному радикальному процессу фотопревращений диады – переносу атома водорода из хирального центра напроксена.

Хиральная инверсия

Наличие процесса переноса атома водорода, позволило предположить, что обратный перенос атома водорода в нейтральном бирадикале, в котором парамагнитные центры являются также и прохиральными, может привести к обращению оптической конфигурации исходного соединения, т.е. хиральной инверсии (Рис. 6а).

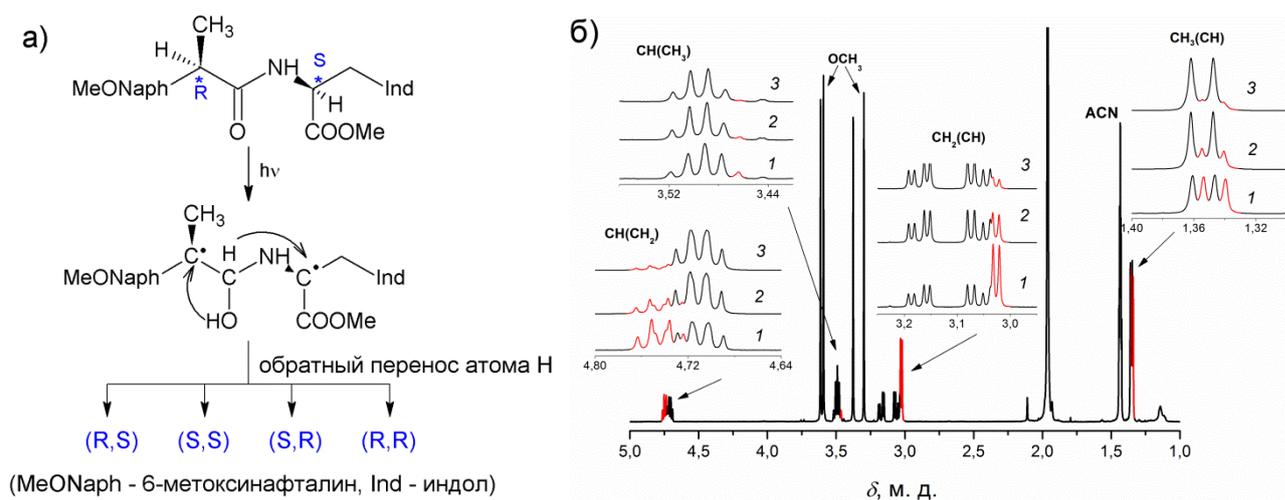


Рисунок 6. (а) Схема фотоиндуцированной хиральной инверсии через стадию образования бирадикала в диаде NPX-Trp. (б) ^1H ЯМР спектр области алифатических протонов различных смесей (R,S) и (S,S)-диастереомеров диады, во вставках – увеличенные области резонанса протонов, связанных с хиральными центрами. Отношение концентраций (R,S)/(S,S): (1) – 1:1; (2) – 3:1; (3) – 5:1.

В настоящей работе анализ продуктов фоторазложения был проведен по спектрам ^1H ЯМР, поскольку ^{13}C спектры диастереомеров отличаются незначительно. Наибольшие различия в спектрах ^1H ЯМР ожидаемо оказались у алифатических протонов, связанных с хиральными центрами (Рис. 6б).

После УФ-облучения (R,S)-диастереомера, в спектре обнаружено появление мультиплетов в области резонанса алифатических протонов с константами спин-спинового расщепления соответствующими (S,S)-диастереомеру. В области резонанса CH_3 протонов после фотолиза наблюдается появление отдельных, хорошо различимых сигналов, соответствующих (S,S)-диастереомеру с константой спин-спинового взаимодействия $^3J=7.1$ Гц (Рис. 7а). После фотолиза (R,S)-диастереомера в области резонанса $\beta\text{-CH}_2$ протонов, также присутствует продукт фоторазложения диады – триптофан, который имеет такую же структуру мультиплета, как и (S,S)-диастереомер. Благодаря сравнению смеси (S,S)-диады и (S)-N-ацетилтриптофана, а также добавке реперного соединения в реакционную смесь после фотолиза, удалось установить присутствие сигналов (S,S)-диастереомера после фотооблучения (R,S) (Рис. 7б).

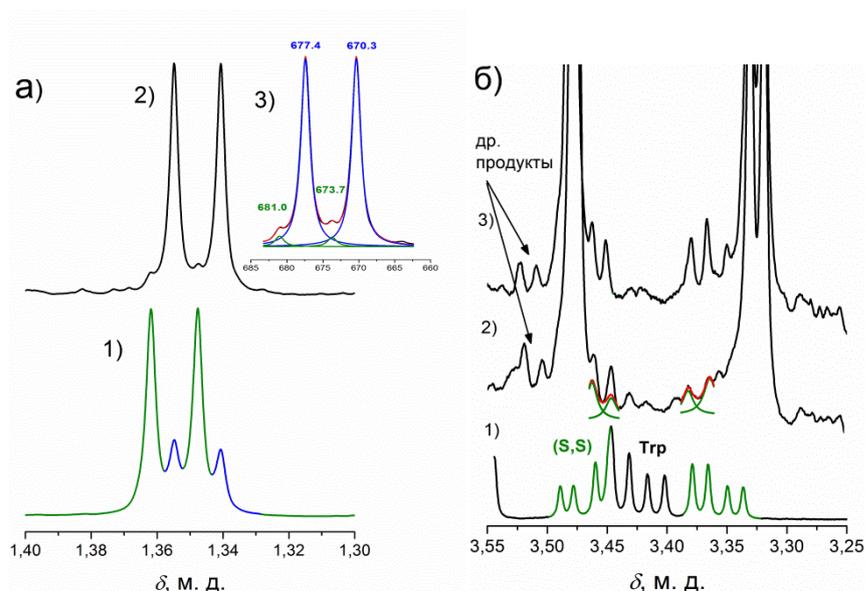


Рисунок 7. (а) ^1H ЯМР сигналы $\text{CH}_3(\text{CH})$ протонов в смеси диастереомеров диады NPX-Trp (отношение концентраций (S,S)/(R,S) = 3/1) (1) и (R,S)-изомера после 15 мин УФ-облучения (2) в смеси растворителей 40% ацетонитрил- d_3 / 60% бензол- d_6 . Справа на рисунке (3) представлена деконволюция сигнала CH_3 протонов после фотолиза (R,S)-NPX-Trp: синие линии – компоненты мультиплета (R,S), зеленые – (S,S), красная линия – сумма мультиплетов. (б) Область резонанса $\beta\text{-CH}_2$ протонов в ^1H ЯМР спектрах: (1) смеси (S,S)-NPX-Trp (компоненты соответствующего мультиплета выделены зеленым) и (S)-N-ацетилтриптофана (черный); (2) (R,S)-NPX-Trp после 45 мин УФ-облучения; (3) та же реакционная смесь после облучения с добавлением (S,S)-диастереомера.

В области резонанса $\text{CH}(\text{CH}_3)$ протонов напроксена также накапливаются сигналы от некоторых продуктов фотодеструкции (предположительно, метиленовые протоны глицина, 3-метилениндолина и др. продуктов), и поэтому только при помощи моделирования возможна идентификация сигналов, которые можно отнести к (S,S)-диастереомеру (Рис. 8а). Метинный протон триптофана после фотолиза представляет группу линий, которая по ширине и форме отлична от исходного соединения. Очевидно, что несколько сигналов перекрываются в этой области (Рис. 8б).

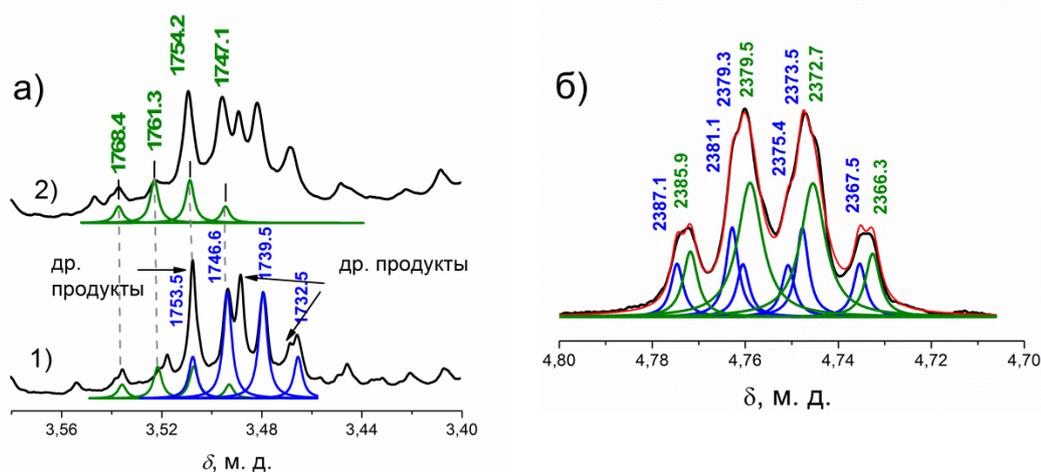


Рисунок 8. (а) Область резонанса $\text{CH}(\text{CH}_3)$ протонов в ^1H ЯМР спектрах: (1) (R,S)-NPX-Trp после 15 мин УФ облучения, (2) та же реакционная смесь после фотолиза с добавлением (S,S)-диастереомера. Моделирование формы линии для (R,S) представлено синим цветом, для (S,S) – зеленым. (б) Область резонанса $\text{CH}(\text{CH}_2)$ протонов в ^1H ЯМР спектре после 30 мин УФ-облучения (R,S)-NPX-Trp (черный), и моделирование формы линии, где синим цветом обозначены компоненты мультиплета (R,S), зеленым – (S,S), красная линия – сумма мультиплетов.

Сравнение интегральных интенсивностей протонов исходного – (R,S) и (S,S)-диастереомера приводит к следующему результату. Степень конверсии по данным для метильных и метиленовых протонов не превышает 2-3%. Однако в области резонанса метиновых протонов проявляются другие сигналы со структурой подобной исходному. Предположительно, это могут быть другие диастереомеры, образование которых в принципе возможно в акте обратного переноса атома водорода в бирадикале, в котором парамагнитные центры являются также и прохиральными (Рис. 6а).

Спиновая селективность фотоиндуцированного переноса электрона в связанных системах, содержащих (S) и (R)-напроксен

Еще одной характерной особенностью данной связанной системы является различие в эффектах ХПЯ диастереомеров (Рис. 9). Для (R,S)-конфигурации наблюдается большая поляризация на 4'(8')-протонах и 5' «напроксенового» фрагмента (поляризация на 5' протонах отсутствует в спектре ХПЯ (S,S)) (см. Рис. 9).

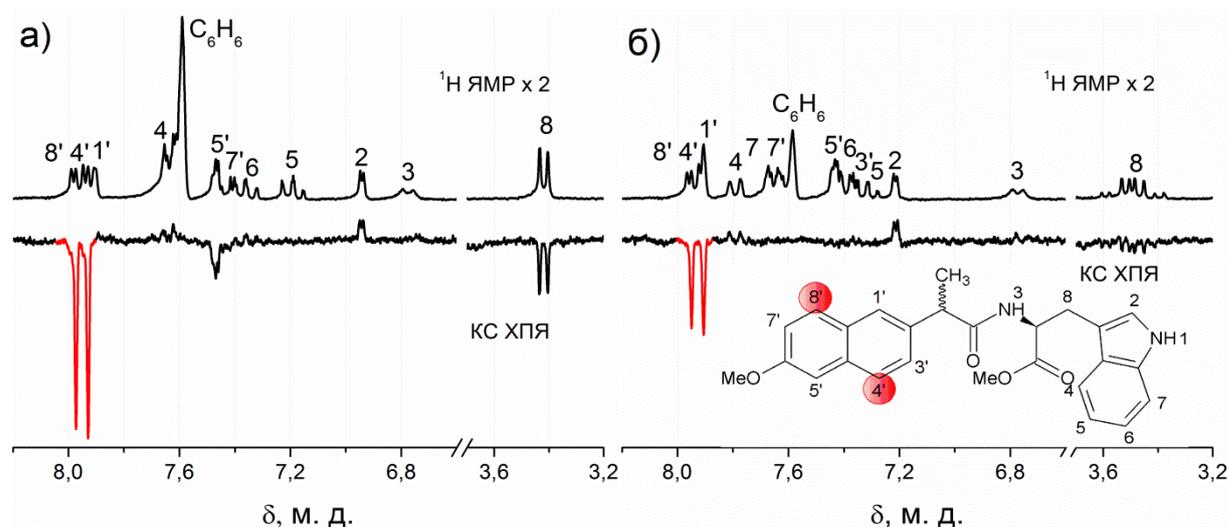


Рисунок 9. ^1H ЯМР и КС ХПЯ спектры (R,S) (а) и (S,S)-диастереомеров (б) диады NPX-Trp (5мМ) в смеси растворителей 40%-бензол- d_6 / 60%-ацетонитрил- d_3 . Красным обозначены сигналы, демонстрирующие наибольшие различия в эффектах ХПЯ.

В данной работе под коэффициентом усиления ХПЯ понимается коэффициент усиления сигнала ЯМР по сравнению с равновесным, отнесенный к одной радикальной паре (в нашем случае одному бирадикал-цвиттериону). Оценка концентрации бирадикал-цвиттериона проводилась с учетом поглощаемой хромофором энергии, объема облученного образца и квантового выхода эксиплекса, находящегося в равновесии с бирадикал-цвиттерионом, и полученного из данных по тушению флуоресценции диады. В дальнейшем проводился анализ отношения коэффициентов усиления ХПЯ диастереомеров (K), согласно выражению:

$$K = \frac{I_{pol}^{RS} I_{eq}^{SS} [BZ]_{SS}}{I_{eq}^{RS} I_{pol}^{SS} [BZ]_{RS}}, \quad (1)$$

где I_{pol} – интенсивность поляризованных сигналов ароматических протонов в положении 8' нафталинового кольца диады NPX-Tgr или CH_3 – протонов N-метилпирролидинового фрагмента диады NPX-CuAA-Pyr, I_{eq} – интенсивность равновесных сигналов тех же протонов. Доля облучённого образца, аппаратное усиление и количество накоплений во всех экспериментах были одинаковыми.

Таким образом, у диады NPX-Tgr в акте обратного переноса электрона коэффициент усиления заметно выше для (R,S)-диастереомера. Подобные эффекты наблюдались в различных смесях растворителей ацетонитрил/бензол, при этом максимальное значение величины К достигает 2. Для того, чтобы проверить является ли данный эффект особенностью системы NPX-Tgr или характерен и для процессов переноса электрона у других диад, включающих энантиомеры напроксена, мы сравнили различия в эффектах ХПЯ диастереомеров другой диады – NPX-CuAA-Pyr, где донором является N-метилпирролидин [15]. Оказалось, что у диастереомеров этой диады наблюдается различие в хим. сдвигах N- CH_3 протонов пирролидинового фрагмента. Типичная картина поляризации представлена на Рис. 10.

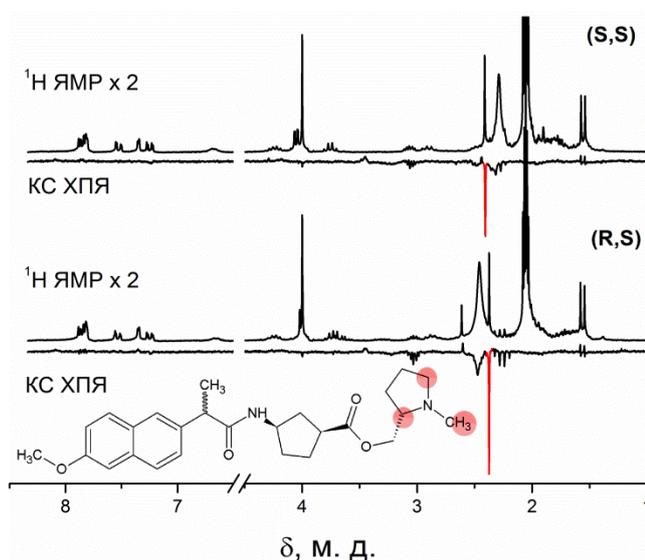


Рисунок 10. ^1H -ЯМР и ХПЯ спектры диастереомеров диады NPX-CuAA-Pyr (5мМ) в ацетонитриле- d_3 . Сигналы эмиссии в области 2.3 м.д. принадлежат N- CH_3 протонам (обозначены красным цветом).

Наибольшие эффекты ХПЯ наблюдаются на N- CH_3 протонах пирролидинового фрагмента, в соответствии с распределением спиновой

плотности в бирадикал-цвиттерине, образованном в результате внутримолекулярного переноса электрона. Также как и в случае диады с триптофаном, в этой диаде отношение коэффициентов усиления ХПЯ (R,S)/(S,S) диастереомеров составляет 2.3.

Для того чтобы установить природу различий в коэффициентах усиления ХПЯ диастереомеров были проведены расчеты различия вероятностей рекомбинации для ансамблей α и β ядерных спинов, т. е. гиперполяризации в зависимости от магниторезонансных параметров – констант ств и Δg , а также динамических параметров – времен жизни бирадикал-цвиттерина в рамках теории радикальных пар для высоких магнитных полей. Сравнение результатов расчета и экспериментальных данных указывает на то, что наиболее вероятная причина различия эффектов ХПЯ – разница констант ств диастереомеров.

Ощутимое различие в химических сдвигах протонов N-CH₃ группы (R,S) и (S,S)-диастереомеров позволило также для увеличения точности измерения проводить УФ облучение смеси двух диастереомеров, варьируя соотношение концентраций. В ходе этих экспериментов была установлена еще одна особенность эффектов ХПЯ в хиральных системах – зависимость коэффициента усиления ХПЯ от соотношения концентраций диастереомеров при облучении их смеси (Табл. 4).

Таблица 4. Отношения интегральных интенсивностей равновесных сигналов CH₃ протонов N-метилпирролидинового фрагмента (R,S) и (S,S)-NPX-СуАА-Руг до УФ-облучения и отношение коэффициентов усиления ХПЯ (К) для этих диастереомеров.

| Отношение концентраций до облучения (R,S)/(S,S) | Отношение коэффициентов усиления ХПЯ диастереомеров, К |
|---|--|
| 0.4 | 1.70 ± 0.09 |
| 0.7 | 1.80 ± 0.09 |
| 0.8 | 1.8 ± 0.1 |
| 1.0 | 1.9 ± 0.1 |
| 1.3 | 2.0 ± 0.1 |
| 1.8 | 2.3 ± 0.1 |
| 2.1 | 2.3 ± 0.1 |
| 2.3 | 2.3 ± 0.1 |

Наличие зависимости отношения коэффициентов ХПЯ (K) от соотношения концентраций диастереомеров в смеси прямо указывает на влияние межмолекулярных процессов на перенос электрона в диадах. Поскольку исследуемые системы NPX-Trp и NPX-CuAA-Pyr содержат «напроксеновую» часть и «хвост» – донорную группу и мостик, включающий амидный фрагмент – NH-C=O , то возможно образование ассоциатов за счет водородных связей между амидными группами двух молекул. Данные рентгеновской дифракции в твердоте для диады с триптофаном подтвердили образование ассоциатов за счет таких связей [31].

Для проверки гипотезы о возможности воздействия ассоциации диад на эффективность переноса электрона в диастереомерах были проведены расчеты коэффициентов ХПЯ в рамках схемы, где эффективность формирования ХПЯ отличалась для гомо- и гетеро-димеров диад: (R,S - R,S), (S,S - S,S) и (R,S - S,S). Результаты расчетов и экспериментальные данные представлены на Рис. 11.

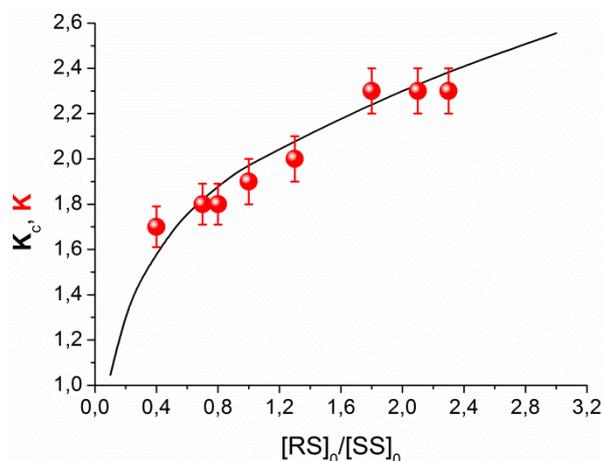


Рисунок 11. Экспериментальная (K , красные точки) и расчетная (K_C , черная линия) зависимости отношений коэффициентов усиления ХПЯ от отношения концентраций диастереомеров диады NPX-CuAA-Pyr.

Таким образом, соответствие результатов моделирования (K_C) и экспериментальной зависимости коэффициента усиления ХПЯ (K) от отношения концентрации диастереомеров в облучаемой смеси, как показано на Рис. 11, подтверждает гипотезу о возможности влияния димеризации на эффективность обратного переноса электрона.

Выводы и практические результаты

- 1) Обнаружена корреляция типа «структура-свойство» между квантовыми выходами флуоресценции и квантовыми выходами фоторазложения для дитерпенового алкалоида лаппаконитина и его замещенных аналогов. Можно ожидать, что существование такой корреляции позволит использовать фотофизические характеристики для оценки потенциальной фототоксичности биологически активных лаппаконитинов и других соединений, в которых фоторазложению предшествует интеркомбинационная конверсия.
- 2) Совместный анализ данных ХПЯ и времяразрешенной флуоресценции позволил установить различие в скоростях фотоиндуцированного переноса электрона (стереоселективность) в диастереомерах диады NPX-Trp.
- 3) В результате совместного анализа данных ХПЯ и ^1H -ЯМР продуктов фотолиза диады (R,S)-NPX-Trp продемонстрировано также изменение оптической конфигурации (хиральная инверсия), происходящее под действием УФ облучения. На основании анализа эффектов ХПЯ предложен механизм хиральной инверсии. Обращение конфигурации происходит в акте обратимого переноса атома водорода в образовавшемся в результате УФ облучения бирадикале, в котором парамагнитными центрами являются прохиральные атомы углерода «напроксенового» и «триптофанового» фрагментов.
- 4) Обнаружены различия в коэффициентах усиления ХПЯ протонов диастереомеров диад, содержащих (S/R)-напроксен и доноры электрона: (S)-триптофан и (S)-N-метилпирролидин. Показано, что обнаруженная «спиновая селективность» акта обратного переноса электрона может быть связана с различием магниторезонансных параметров в промежуточных бирадикал-цвиттерионах диастереомеров.

Основное содержание работы изложено в следующих публикациях:

1. Khramtsova, E.A., Ageeva, A.A., Stepanov, A.A., Plyusnin, V.F., Leshina, T.V. Photoinduced electron transfer in dyads with (R)-/(S)- naproxen and (S)-tryptophan // *Z. Phys. Chem.* – 2017. – V. 231. – N 3. – P. 609-623.
2. Ageeva, A. A., Khramtsova, E. A., Plyusnin, V. F., Stepanov A. A., Leshina T. V. A photochemical approach for evaluating the reactivity of substituted lappaconitines // *Photochem. Photobiol. Sci.* – 2018. – V. 17. – P. 192-199.
3. Ageeva, A. A., Khramtsova, E. A., Magin, M. A., Rychkov, D. A., Purtov, P. A., Miranda, M. A., Leshina, T. V. Spin Selectivity in Chiral Linked Systems // *Chem. Eur. J.* – 2018. – V. 24. – N 15. – P. 3882-3892.
4. Ageeva, A. A., Khramtsova, E. A., Magin, I. M., Purtov, P. A., Miranda, M. A., Leshina, T. V. Role of Association in Chiral Catalysis: From Asymmetric Synthesis to Spin Selectivity // *Chem. Eur. J.* – 2018. – V. 24. – N 70. – P. 18587-18600.
5. Ageeva, A. A., Babenko, S. V., Polyakov, N. E., Leshina, T. V. NMR investigation of photoinduced chiral inversion in (R)/(S)-naproxen–(S)-tryptophan linked system // *Mendeleev Commun.* – 2019. – V. 29. – N 3. – P. 260-262.

Список цитируемой литературы

1. Egea, J, Fabregat, I, Frapart, Y. M., et al. European contribution to the study of ROS: A summary of the findings and prospects for the future from the COST action BM1203 (EU-ROS) // *Redox. Biol.* – 2017. – V. 13. – P. 94-162.
2. Nogrady, Th., Weaver, D. F. *Medicinal Chemistry: A Molecular and Biochemical Approach.* – 2005. – New York: Oxford University Press. – 649 p.
3. Lhiaubet-Vallet, V., Miranda, M. A. *CRC handbook of organic photochemistry and photobiology // Phototoxicity of drugs / Eds. A. Griesbeck, M. Oelgemöller, F. Ghetti.* – Boca Raton: CRC Press, 2012. – V. 2. – P. 1541-1555.
4. Nguyen, L. A., He, H., Pham-Huy, C. Chiral drugs: an overview // *Int. J. Biomed. Sci.* – 2006. – V. 2. – N 2. – P. 85-100.
5. Wang, F. P., Chen, Q. H., Liu, X. Y. Diterpenoid alkaloids // *Nat Prod Rep.* – 2010. – V. 27. – N 4. – P. 529-570.
6. Wright, S. N. Irreversible Block of Human Heart (hH1) Sodium Channels by the Plant Alkaloid Lappaconitine // *Mol. Pharmacol.* – 2001. – V. 59. – N 2. – P. 183-192.
7. 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 // *Appl. Magn. Reson.* – 2015. – V. 46. – P. 559-573.
8. Rentsch, K.M. The importance of stereoselective determination of drugs in the clinical laboratory // *J. Biochem. Biophys. Methods.* – 2002. – V. 54. – P. 1-9.
9. Brocks, D. R. Drug disposition in three dimensions: an update on stereoselectivity in pharmacokinetics // *Biopharm. Drug Dispos.* – 2006. – V. 27. – P. 387-406.
10. Patocka, J., Dvorak, A. Biomedical aspects of chiral molecules // *J. Appl. Biomed.* – 2004. – V. 2. – P. 95–100
11. 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 // *Chem. Phys. Lett.* – 2011. – V. 516. – P. 51-55.
12. 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 // *Appl. Magn. Reson.* – 2011. – V. 41. – P. 205-220.
13. 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 // *J. Phys. Chem. B.* – 2013. – V. 117. – P. 16206-16211.
14. Magin, I. M., Polyakov, N. E., Kruppa, A. I., Purtov, P. A., Leshina, T. V., Kiryutin, A. S., Miranda, M. A., Nuin, E., Marin, M. L. Low Field Photo-CIDNP in the Intramolecular Electron Transfer of Naproxen–Pyrrolidine Dyads. // *Phys. Chem. Chem. Phys.* – 2016. – V. 18. – P. 901-907.
15. Khramtsova, E. A., Sosnovsky, D. V., Ageeva, A. A., Nuin, E., Marin, M. L., Purtov, 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 // *Phys. Chem. Chem. Phys.* – 2016. – V. 18. – P. 12733 – 12741.

16. Davies N. M. Chirality in Drug Design and Development // Chiral Inversion / Eds. I. K. Reddy, R. Mehvar. – Boca Raton: CRC Press, 2004. – P. 309-345.
17. Adams, S.S., Bresloff, P., Mason, C.G. Pharmacological differences between the optical isomers of ibuprofen: evidence for metabolic inversion of the (—)-isomer // J. Pharm. Pharmacol. – 1976. – V. 28. – P. 256-257.
18. Kaiser, D.G., Van-Giessen, G.J., Reischer, R.J., Wechter, W.J. Isomeric inversion of ibuprofen (R)-enantiomer in humans // J. Pharm. Sci. – 1976. – V. 65. – P. 269-273.
19. Aboul-Enein, H.Y., Wainer, I.W. The impact of stereochemistry on drug development and use. – 1997. – New York: John Wiley and Sons. – 728 p.
20. Wsol, V., Skalova, L., Szotakova, B. Chiral inversion of drugs: coincidence or principle? // Curr. Drug Metab. – 2004. – V. 5. – P. 517-533.
21. Атауллаханов, Ф. И., Жаботинский, А. М., Фотоиндуцированное восстановление феррипероксидазы 1. Реакция с никотинамидаденин-динуклеотидом. // Биофизика. – 1975. – Т. 20. – С. 596-601.
22. Afanasyeva, M.S., Taraban, M.B., Purtov, P.A., Leshina, T.V., Grissom, C. B. Magnetic spin effects in enzymatic reactions: radical oxidation of NADH by horseradish peroxidase II // J. Am. Chem. Soc. – 2006. – V. 128. – N 26. – P. 8651-8658.
23. 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 // Photochem Photobiol. – 2004. – V. 80. – N 3. – P. 565-571.
24. Closs, G. L., Czeropski, M. S. Amendment of the CIDNP Phase Rules. Radical Pairs Leading to Triplet States // J. Am. Chem. Soc. – 1977. – V. 99. – P. 6127-6128.
25. Goetz, M. Pseudo steady-state photo-CIDNP measurements // Chem. Phys. Lett. – 1992. – V. 188. – N. 5-6. – P. 451-456.
26. Staudmayer, R., Roberts, T. D. Neighboring group participation in photolysis of o-substituted aryls // Tetrahedron Lett. – 1974. – V. 15. – N 13. – P. 1141-1144.
27. Гаммет, Л. Основы физической органической химии: пер. с англ. – М.: Мир, 1972. – 535 с.
28. Shimada, H., Nakamura, A., Yoshihara, T., Tobita, S. Intramolecular and intermolecular hydrogen-bonding effects on photophysical properties of 2-aminoacetophenone and its derivatives in solution // Photochem. Photobiol. Sci. – 2005. – V. 4. – P. 367-375.
29. 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 // Chem. Phys. Lett. – 2010. – V. 486. – P. 147-153.
30. Weller, A. Photoinduced electron transfer in solution: exciplex and radical ion pair formation free enthalpies and their solvent dependence // Z. Phys. Chem. – 1982. – V. 133. – P. 93-98.
31. Ageeva, A. A., Khramtsova, E. A., Magin, M. A., Rychkov, D. A., Purtov, P. A., Miranda, M. A., Leshina, T. V. Spin Selectivity in Chiral Linked Systems // Chem. Eur. J. – 2018. – V. 24. – N 15. – P. 3882-3892.