

ЦИКЛИЗАЦИЯ ДИПЕПТИДА L-ЛЕЙЦИЛ-L-ВАЛИН В КРИСТАЛЛИЧЕСКОЙ ФАЗЕ В НЕИЗОТЕРМИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ

© 2023 г. Р. А. Ларионов¹, С. А. Зиганшина^{1,2}, А. Е. Климовицкий¹, Х. Р. Хаяров¹,
О. Б. Бабаева³, В. В. Горбачук¹, М. А. Зиганшин^{1,4,*}

¹ Химический институт имени А.М. Бутлерова, Казанский (Приволжский) федеральный университет,
ул. Кремлевская 18, Казань, 420008 Россия

² Казанский физико-технический институт имени Е. К. Завойского Федерального исследовательского центра
«Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, 420029 Россия

³ Институт органической и физической химии имени А. Е. Арбузова Федерального исследовательского центра
«Казанский научный центр Российской академии наук», Казань, 420088 Россия

⁴ Академия наук Республики Татарстан, Казань, 420111 Россия

*e-mail: marat.ziganshin@kpfu.ru

Поступило в редакцию 3 октября 2023 г.

После доработки 10 октября 2023 г.

Принято к печати 17 октября 2023 г.

Термическая обработка линейных дипептидов, находящихся в твердой фазе, позволяет получать их циклические аналоги с высоким выходом и без дополнительных затрат. Вместе с тем, такие реакции, протекающие в условиях ограничений кристаллической решетки с участием молекул, находящихся в цвиттер-ионной форме, изучены недостаточно. В настоящей работе изучена реакция циклизации дипептида L-лейцил-L-валин в кристаллической фазе при нагревании. С использованием подходов изоконверсионной кинетики определена кинетическая модель, описывающая этот процесс, рассчитаны кинетические параметры, включая энергию активации, множитель Аррениуса и порядок реакции. Оценена энантиомерная чистота образующегося циклического продукта. Изучена самосборка линейного и циклического дипептидов на твердой подложке. Результаты исследования будут полезны для установления механизма реакции циклизации дипептидов в твердой фазе, а также могут быть использованы при разработке эффективных и экономически выгодных способов получения циклических дипептидов.

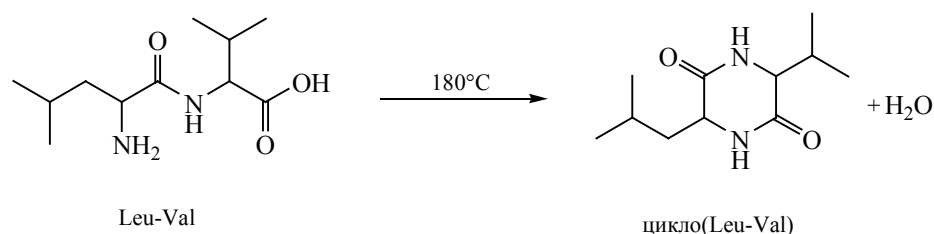
Ключевые слова: твердофазная циклизация, изоконверсионная кинетика, лейцилвалин, производные 2,5-дикетопиперазина, самосборка, атомно-силовая микроскопия

DOI: 10.31857/S0044460X23110082, **EDN:** PCEWTI

В настоящее время в литературе активно исследуются производные 2,5-дикетопиперазинов или циклические дипептиды [1, 2]. Интерес к этим соединениям связан с их способностью к самосборке с образованием различных наноструктур [3–6], включая нановолокна, наноленты, нанотрубки, нанопроволоки и т. д. [7, 8]. Такие структуры обладают уникальными свойствами и могут использоваться в различных технологиях [3, 9, 10]. Их применяют при изготовлении светодиодов [11],

микроэлектронных систем для оптических устройств [10] и эффективных катализаторов [12]. Нанокристаллы 2,5-дикетопиперазинов при внедрении в биополимеры с использованием электро-спиннинга образуют стабильные и легко обрабатываемые нано/микро-гибридные системы, которые могут быть использованы при разработке пьезоэлектрических устройств и пьезоэлектрических датчиков температуры [13]. 2,5-Дикетопиперазины относятся к классу супергелеобразователей и

Схема 1.



способны формировать стабильные супрамолекулярные гели [14, 15].

Помимо способности к самосборке, молекулы 2,5-дикетопиперазинов обладают широким спектром биологической активности и могут быть использованы при разработке противоопухолевых [16], антикоагулянтных [17], противодиабетических [18], антибактериальных [19] и противовирусных [20] препаратов.

Возможные применения циклических дипептидов обуславливают актуальность задачи по разработке эффективных и дешевых методов получения этих соединений. 2,5-Дикетопиперазины могут быть выделены из живых организмов [21, 22], получены в результате синтеза на поверхности твердой фазы [23] или при воздействии микроволнового излучения на водные растворы линейных дипептидов [24]. Вместе с тем, следует отметить, что такие методы являются относительно трудоемкими, поскольку необходима очистка конечного продукта, в том числе из-за возможной рацемизации [23, 25], также требуется использование растворителей. Альтернативным способом синтеза производных 2,5-дикетопиперазинов может стать термически индуцируемая циклизация линейных дипептидов в твердой фазе [26–28], позволяющая получать эти соединения в одну стадию с выходом, близким к 100% [26, 29–31].

К настоящему времени известно, что циклизация дипептидов в твердой фазе относится к классу автокаталитических реакций [26, 29, 30], катализатором в которых может быть вода, образующаяся в ходе реакции [32]. При увеличении объема заместителя в боковой цепи дипептида температура начала реакции уменьшается [30]. Вместе с тем, следует отметить, что использование твердофазного синтеза 2,5-дикетопиперазинов затруднено,

из-за возможной термической деструкции и сублимации реагентов или продуктов при нагревании [27, 33, 34], а также из-за возможной рацемизации продуктов [24]. Для решения этих проблем необходимо детальное изучение циклизации дипептидов в кристаллической фазе, в том числе исследование влияния структуры дипептида на кинетические параметры этого процесса.

В связи с этим в настоящей работе впервые изучен процесс твердофазной циклизации дипептида L-лейцил-L-валин (Leu-Val) с применением подходов неизотермической кинетики. Определены кинетические параметры процесса циклизации Leu-Val и кинетическая модель, описывающая эту реакцию. Структура циклического продукта цикло(Leu-Val) подтверждена методами ¹H и ¹³C ЯМР, ИК спектроскопии, масс-спектрометрии и кругового дихроизма. Самосборка линейного и циклического дипептидов на поверхности высокоориентированного пиролитического графита изучена с помощью атомно-силовой микроскопии. Для выяснения влияния структуры дипептида на кинетику реакции циклизации кинетические параметры реакции циклизации дипептида Leu-Val были сопоставлены с данными, полученными ранее для дипептидов другого состава.

Термический анализ дипептида Leu-Val. Результаты совмещенного термического анализа дипептида Leu-Val, включая кривые термогравиметрии, дифференциальной сканирующей калориметрии и масс-спектрометрии, приведены на рис. 1.

Согласно полученным данным на ТГ кривой присутствуют три ступени потери массы. При нагревании дипептида до 163°C наблюдается уход адсорбированной воды, изменение массы образца составило $\Delta m = 4.58\%$. Дальнейшее нагревание

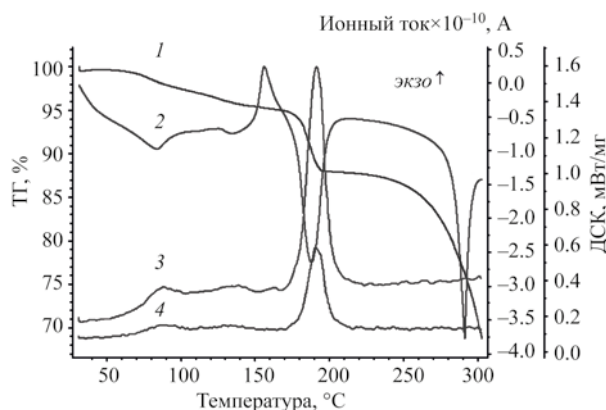


Рис. 1. Данные ТГ/ДСК/МС анализа дипептида Leu-Val: 1 – кривая ТГ, 2 – кривая ДСК. Скорость нагрева – 10 К/мин. Ионные термограммы (m/z 17 и 18, кривые 3 и 4) соответствуют воде.

Leu-Val выше 163°C приводит ко второй ступени потери массы, связанной с химической реакцией. В ходе этого процесса образец теряет $\Delta m = 7.2\%$. Согласно данным масс-спектрометрии в уходящих газах присутствуют только пары воды. Такое изменение массы соответствует уходу 0.97 моль воды на 1 моль Leu-Val, что хорошо согласуется со схемой реакции (схема 1).

Нагрев образца выше 250°C приводит к сублимации циклического продукта реакции. Так как процесс десорбции воды накладывается на температурный интервал реакции и затрудняет ее изучение, нами была разработана методика осушки дипептида. Для этого исходный образец линейного Leu-Val нагревали до 110°C и выдерживали при этой температуре в течение 15 мин. В результате получали сухой порошок дипептида.

При нагревании осушенного образца дипептида на кривой термогравиметрии регистрировалась одна ступень потери массы $\Delta m = 7.8\%$, соответствующая потере 1 моля воды на 1 моль дипептида (рис. 2). На кривой ДСК присутствует экзотермический эффект с началом при температуре 150°C и величиной $\Delta H = -85.9$ Дж/г, который может соответствовать полиморфному переходу в фазе дипептида. Температура начала реакции циклизации T_{onset} составила 180°C. Следует отметить, что определенная в настоящей работе температура начала реакции циклизации Leu-Val хорошо согласуется

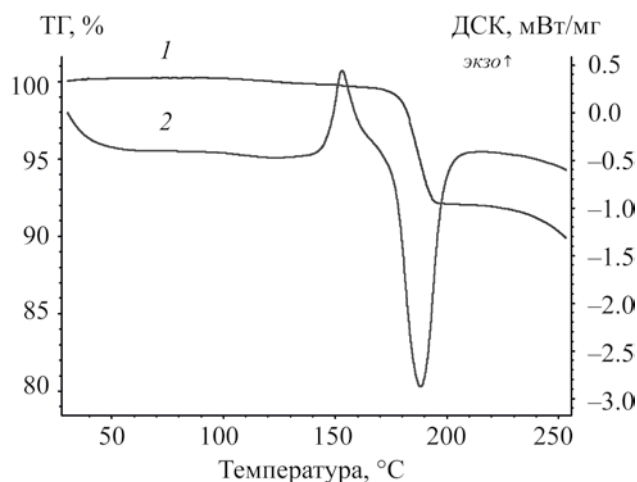


Рис. 2. Данные ТГ/ДСК анализа для осушенного Leu-Val: 1 – кривая ТГ, 2 – кривая ДСК. Скорость нагрева – 10 К/мин.

с зависимостью температуры начала циклизации T_{onset} от молекулярной рефракции MR_D боковых заместителей в молекулах дипептидов, обнаруженной в работе [30]. Согласно предложенной в работе [30] формуле теоретическая температура начала реакции Leu-Val составляет 185.6°C.

Порошковая рентгеновская дифрактометрия. Влияние нагрева на упаковку дипептида Leu-Val в твердой фазе охарактеризовано методом порошковой рентгеновской дифрактометрии (рис. 3). Установлено, что удаление сорбционной воды из исходного образца Leu-Val в результате нагрева до 110°C не приводит к изменению его упаковки. Этот факт хорошо согласуется с данными монокристалльного рентгеноструктурного анализа, согласно которым кристаллы Leu-Val содержат гидрофобные поры, в которых могут находиться молекулы воды [35]. Поскольку, по данным ТГ/ДСК (рис. 1), потеря связанной воды начинается при температуре ниже ее температуры кипения, можно предположить, что между молекулами воды и дипептида отсутствуют прочные межмолекулярные связи [36].

Нагрев Leu-Val до 140°C и охлаждение до комнатной температуры не приводит к существенному изменению упаковки дипептида, что согласуется с данными термического анализа, согласно которым на ДСК кривой отсутствуют какие-либо тепловые эффекты (рис. 2). В результате дальней-

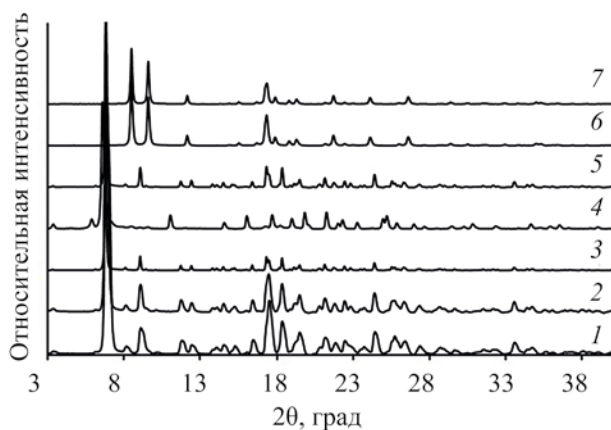


Рис. 3. Данные порошковой рентгеновской дифрактометрии при комнатной температуре: 1 – исходный образец Leu-Val, 2 – образец, нагретый до 110°C (осушенный Leu-Val), 3 – нагретый до 140°C, 4 – нагретый до 170°C, 5 – нагретый до 170°C и насыщенный парами воды ($P/P_0 = 1$) в течение 72 ч при 25°C, 6 – продукт реакции циклизации после нагрева дипептида до 200°C, 7 – циклический продукт после насыщения парами воды ($P/P_0 = 1$) в течение 96 ч при 25°C.

шего нагрева образца до 170°C, выше температуры экзотермического эффекта на кривой ДСК (рис. 2), происходит изменение упаковки дипептида. Этот процесс является обратимым и не связан с химической реакцией, поскольку в результате насыщения полученного образца дипептида парами воды с термодинамической активностью $P/P_0 = 1$ в течение 72 ч происходит восстановление упаковки Leu-Val до начального состояния (рис. 3). Таким образом, можно утверждать, что дипептид Leu-Val испытывает полиморфный переход из β_0 -фазы пористого кристалла, соответствующей пористому кристаллу, в плотноупакованную α -фазу [37].

В результате нагрева Leu-Val до 200°C происходит его циклизация. Циклический продукт стабилен и не меняет свою упаковку даже после взаимодействия с парами воды с $P/P_0 = 1$ в течение 96 ч (рис. 3).

Спектроскопия ЯМР. Структура продукта твердофазной реакции доказана комплексом физических методов. Результаты анализа продукта реакции методом спектроскопии ЯМР ^1H и ^{13}C приведены на рис. S1 (см. Дополнительные материалы). В области 0.5–1 м. д. фиксируются сигналы протонов метильных групп, при 1.5 и 2. м. д. –

сигналы метиленовых и метиновых фрагментов, область 3.5–4 м. д. соответствует сигналам метиновых групп циклической структуры. Таким образом, полученные значения химических сдвигов ^1H хорошо согласуются с предложенной циклической структурой цикло(Leu-Val) и литературными данными [38].

ИК Фурье-спектроскопия. ИК-Фурье спектры исходного дипептида и продукта его нагревания до 200°C приведены на рис. S2 (см. Дополнительные материалы). Согласно полученным данным, в спектрах исходного дипептида присутствуют полосы поглощения Амид-I (1628 см^{-1}) и Амид-II ($1561\text{--}1577\text{ см}^{-1}$), а также пики характерные для связи N–H аммониевой группы при 1544 см^{-1} и карбоксилат-аниона при $1656\text{--}1671\text{ см}^{-1}$.

Подтверждением образования циклической структуры являются смещение полосы поглощения при 3290 см^{-1} , соответствующей колебаниям NH-группы, к 3190 см^{-1} после нагревания дипептида до 200°C. Полоса поглощения при 3290 см^{-1} характерна для вторичных амидов с открытой цепью, а полоса поглощения при 3190 см^{-1} характерна для циклических лактамов, которые близки по структуре к циклическим дипептидам [39]. В спектре продукта реакции отсутствуют полосы, соответствующие полосам Амид-I, Амид-II, N–H связи аммониевой группы и карбоксилат-аниона. При этом в спектре циклического дипептида появляется характерная интенсивная полоса при 1663 см^{-1} , которая соответствует колебаниям карбонильной группы в составе амидной [30].

Масс-спектрометрия (МАЛДИ). Согласно данным масс-спектрометрии (МАЛДИ), в масс-спектре продукта присутствуют сигналы с m/z 213, 235 и 251, соответствующие протонированной $[M + \text{H}]^+$ и катионизированным формам $[M + \text{Na}]^+$ и $[M + \text{K}]^+$ цикло(Leu-Val) (рис. S3, см. Дополнительные материалы). При этом отсутствуют пики характерные для линейного дипептида (m/z 230) и циклического тетрамера (m/z 425). Сигнал m/z 284 является фоновым.

Круговой дихроизм. Линейный и циклический дипептиды также были охарактеризованы с помощью метода кругового дихроизма (рис. S4, см. Дополнительные материалы). Полученные результаты свидетельствуют о сохранении хиральности

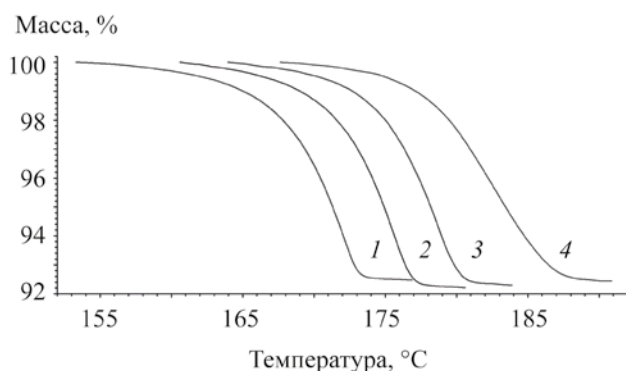


Рис. 4. Исследуемые участки ТГ-кривых Leu-Val для различных скоростей нагрева. Скорость нагрева 0.5 (1), 1 (2), 2 (3) и 5 (4) К/мин.

оптически активных центров молекулы циклического дипептида. Наблюдаемый эффект Коттона, выражающийся в наличии полосы с отрицательной эллиптичностью при 200 нм может соответствовать образованию бета-слоев в результате самосборки циклического дипептида [40].

Кинетический анализ. Кинетический анализ циклизации Leu-Val в кристаллической фазе проводили для второй ступени потери массы. Данные для кинетического анализа получены из кривых ТГ, измеренных при скоростях нагрева 0.5, 1, 2 и 5 К/мин (рис. 4). Кинетические параметры реакции рассчитаны в следующих температурных интервалах: 153.3–176.9°C для скорости нагрева 0.5 К/мин, 160.6–180.6°C для скорости нагрева 1 К/мин,

164–184°C для скорости нагрева 2 К/мин и 167.6–190.9°C для скорости нагрева 5 К/мин.

Согласно данным, полученным с использованием дифференциального метода Фридмана в диапазоне степеней конверсии 0.2–0.8, энергия активации E_a изменяется от 351 до 185 кДж/моль с учетом поля ошибок, а логарифм константы Аррениуса $\log A$ изменяется от 37.4 до 24.5 (рис. 5). Согласно данным, полученным с использованием интегрального метода Озавы–Флинна–Уолла (рис. 6), энергия активации E_a изменяется от 327 до 288 кДж/моль с учетом поля ошибок. Логарифм константы Аррениуса $\log A$ изменяется от 35.5 до 34.2. Значения кинетических параметров, определенных безмодельными методами с соответствующими степенями конверсии, представлены в табл. 1.

В соответствии с F -тестом лучшим топохимическим уравнением для описания циклизации дипептидов является уравнение CnB (1), которое используется для описания реакции n -го порядка с автокатализом.

$$\frac{dx}{dt} = A \exp\left(-\frac{E_a}{RT}\right) c_0^n (1 + K_{cat} c_f), \quad (1)$$

где dx/dt – скорость реакции, A – предэкспоненциальный множитель, E_a – энергия активации, R – универсальная газовая постоянная, T – температура, c_0 – концентрация реагента, c_f – концентрация

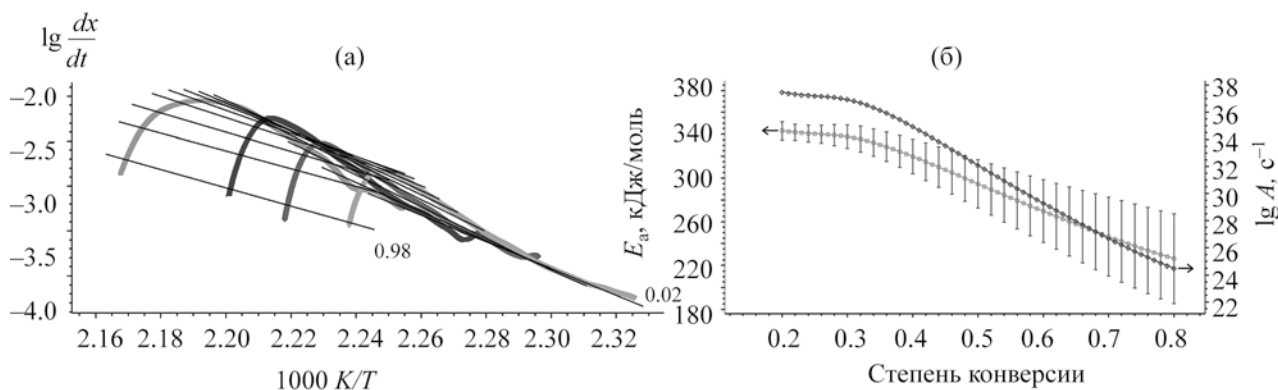


Рис. 5. Зависимость логарифма скорости конверсии дипептида Leu-Val от обратной температуры (а) и зависимость энергии активации циклизации Leu-Val и логарифма константы Аррениуса от степени конверсии, рассчитанная с использованием дифференциального метода Фридмана (б).

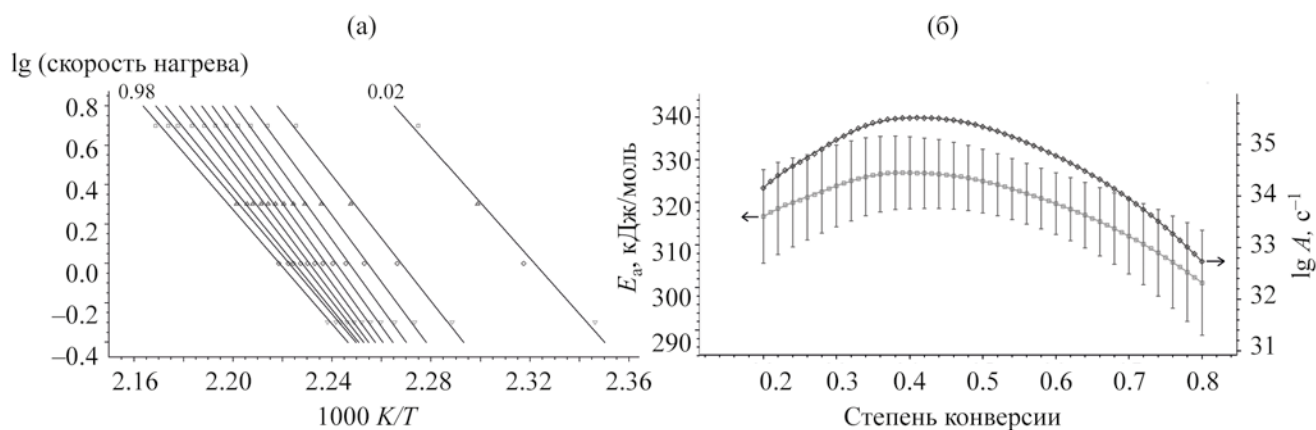


Рис. 6. Энергия активации (а) и логарифм константы Аррениуса (б), рассчитанные с использованием интегрального метода Озавы–Флинн–Уолла.

продукта, n – порядок реакции, K_{cat} – автокаталитический множитель.

Кинетические параметры, рассчитанные с использованием этой модели представлены ниже. Корреляция экспериментальных точек ТГ кривых и теоретических кривых, рассчитанных по уравнению СпВ, показана на (рис. 7).

Уравнение A→B	E_a , кДж/моль	$\lg A$	Порядок реакции	$\lg K_{\text{cat}}$	Коэффициент корреляции
СпВ	313	33.7	0.71	0.71	0.9986

Сравнение величин энергий активации E_a реакций циклизации ряда дипептидов в твердой фазе, ранее рассчитанных с помощью модельных методов для Leu-Leu (434 кДж/моль) [26] и Ile-Ala (218.4 кДж/моль) [30], с энергией активации циклизации E_a 313 кДж/моль, полученной в настоящей работе для Leu-Val, позволяет сделать вывод об уменьшении величины E_a подобных реакций при уменьшении длины алкильного заместителя в аминокислотных остатках в ряду $\text{Leu} > \text{Val} > \text{Ala}$.

Атомно-силовая микроскопия. Морфология поверхности пленок линейного и циклического дипептидов изучена с помощью атомно-силовой микроскопии (рис. 8). На поверхности высокоориентированного пиролитического графита линей-

ный Leu-Val из раствора в гексафторизопропанолe формирует аморфную пленку. Разброс по высоте на скане 5×5 мкм составляет 2.5 нм, среднеквадратичная шероховатость составляет 0.7 нм (рис. 8а). В результате самосборки циклического дипептида из растворов в гексафторизопропанолe и метанолe на поверхности высокоориентированного пиролитического графита формируются различные структуры. В первом случае (рис. 8б), на поверхности подложки обнаружено большое скопление волокон длиной 200–500 нм и шириной 90–250 нм. При использовании метанола в качестве растворителя в результате самосборки цикло(Leu-Val) формировались отдельные волокна длиной от 600 нм до

Таблица 1. Кинетические параметры реакции циклизации Leu-Val в твердой фазе, определенные с использованием безмодельных методов Фридмана и Озавы–Флинн–Уолла

Степень конверсии	Метод Фридмана		Метод Озавы–Флинн–Уолла	
	E_a , кДж/моль	$\lg A$	E_a , кДж/моль	$\lg A$
0.2	343	37.4	316	34.2
0.3	337	36.9	323	35.1
0.4	319	34.9	327	35.5
0.5	294	32.1	325	35.3
0.6	269	29.3	320	34.8
0.7	246	26.7	312	33.9
0.8	226	24.5	301	32.7

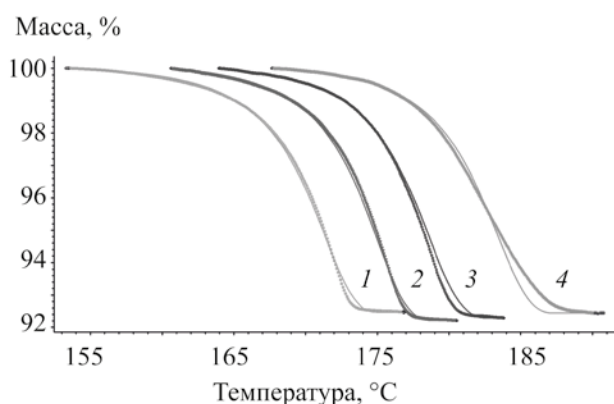


Рис. 7. Корреляция экспериментальных точек ТГ кривых и теоретических кривых, рассчитанных по уравнению СпВ. Скорость нагрева 0.5 (1), 1 (2), 2 (3) и 5 (4) К/мин.

3 мкм и более (рис. 8в). Ширина волокон составляет 90–140 нм, высота 10–20 нм. Полученные данные свидетельствуют о возможности управления процессом самосборки циклического дипептида, путем подбора растворителя.

Таким образом, в настоящей работе впервые проведено исследование термически индуцированной реакции циклизации дипептида Leu-Val в твердой фазе с применением подходов неизотермической кинетики. Установлено, что при нагревании Leu-Val выше температуры 150°C в его фазе происходит полиморфный переход с образованием плотноупакованной формы. Дальнейший нагрев дипептида выше 180°C инициирует процесс внутримолекулярной циклизации с образованием производного 2,5-дикетопиперазина. Рассчитаны кинетические параметры твердофазной циклиза-

ции Leu-Val: энергия активации 313 кДж/моль и логарифм множителя Аррениуса, равный 34. Обнаружено, что с уменьшением длины алкильного заместителя в аминокислотных остатках, входящих в состав алифатических дипептидов в ряду Leu > Val > Ala происходит уменьшение энергии активации их твердофазной циклизации. Методом атомно-силовой микроскопии показано, что цикло(Leu-Val) в результате самосборки формирует волокнистые структуры, морфология и размер которых зависят от типа используемого органического растворителя. Полученные в настоящей работе результаты будут полезны при разработке экономичных и эффективных методов синтеза производных 2,5-дикетопиперазинов, обладающих практически полезными свойствами, а также получения микро- и наноструктур на их основе.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Дипептид L-лейцил-L-валин (Leu-Val) (Bachem), гексафтор-2-пропанол (Acros Organics), метанол ($\geq 99.9\%$) и метанол- d_4 (Cambridge Isotope Laboratories, Inc.) использовали без дополнительной очистки.

Совмещенный метод термогравиметрии (ТГ) и дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) с масс-спектрометрическим (МС) анализом уходящих газов проводили с использованием термоанализатора STA 449 C Jupiter (Netzsch) в сочетании с квадрупольным масс-спектрометром QMS 403C Aeolos (Netzsch). Анализ проводили в алюминиевом тигле (40 мкл) с крышкой, имеющей три отверстия диаметром по 0.5 мм, при разных скоростях нагрева в динамической атмосфере аргона

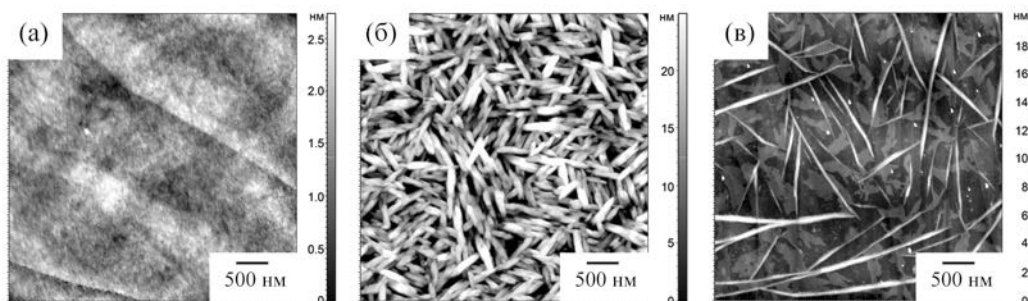


Рис. 8. АСМ-Изображения морфологии пленок Leu-Val (а) и цикло(Leu-Val) (б), полученных из растворов в гексафторизопропанол, и цикло(Leu-Val) из раствора в метаноле на поверхности высокоориентированного пиролитического графита (в).

при скорости потока 75 мл/мин в диапазоне температур 30–270°C. Перед проведением измерений была получена базовая линия для каждого набора условий измерения. Расчет потери массы, температур и энтальпий выполняли при помощи программного обеспечения Netzsch Proteus Thermal Analysis 5.2.1. Ошибка определения температуры не превышала 1 К.

Метод рентгеновской порошковой дифрактометрии использовали для характеристики упаковки дипептида до и после полиморфных переходов, индуцированных нагреванием, а также упаковки образовавшегося циклического продукта. Исследования проводили на дифрактометре MiniFlex 600 (Rigaku, Япония), оснащенном высокоскоростным D/teX детектором. Измерения проводили с использованием CuK_α -излучения (30 кВ, 15 мА, 0.15418 нм). Дифрактограммы были получены при комнатной температуре в диапазоне углов 2θ от 3 до 60 с шагом 0.02 и времени экспозиции в каждой точке 0.24 с без вращения. Для проведения эксперимента порошок дипептида массой 2–3 мг наносили тонким слоем на стеклянный держатель и разравнивали шпателем.

Масс-спектры (МАЛДИ) регистрировали на масс-спектрометре Ultraflex III TOF/TOF (Bruker Daltonik GmbH, Германия), работающем в линейном режиме с регистрацией положительно или отрицательно заряженных ионов. Использовали Nd:YAG-лазер (λ 355 нм, частота повторения – 100 Гц). Масс-спектр получали при ускоряющем напряжении 20 кВ и времени задержки вывода ионов 30 нс. Результирующий масс-спектр формировался за счет многократного лазерного облучения кристалла (50 выстрелов). Использовали металлическую мишень MTP AnchorChip™. На мишень последовательно наносили порции (0.5 мкл) 1%-ного раствора матрицы в ацетонитриле и 0.1%-ного раствора образца в ДМСО и упаривали. В качестве матрицы использовали 2,5-дигидроксибензойную кислоту. Полиэтиленгликоль использовали для калибровки весов устройства. Данные получены с помощью программы FlexControl (Bruker Daltonik GmbH, Германия) и обработаны с помощью программы FlexAnalysis 3.0 (Bruker Daltonik GmbH, Германия).

Спектры ЯМР ^1H (400 МГц, метанол- d_4 , 25°C) и ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ (100.6 МГц, метанол- d_4 , 25°C) реги-

стрировали на спектрометре Bruker Avance III 400. Использовали раствор циклического Leu-Val в дейтерометаноле с концентрацией 3 мг/мл. ИК Фурье-спектры порошка Leu-Val получены при помощи спектрометра Vertex 70 FTIR (Bruker) с однократным отражением на приставке ATR с кристаллом германия (MIRacle, PIKE Technologies) с разрешением 2 см^{-1} на воздухе. Все данные записаны при 25°C. Спектры кругового дихроизма получены с помощью спектрометра Jasco J-1500 CD (Jasco, Япония) при 298 К для растворов Leu-Val и цикло(Leu-Val) в гексафторизопропанолe с концентрацией 0.02 мг/мл. Спектры кругового дихроизма регистрировали при комнатной температуре в дальнем УФ диапазоне в интервале от 190 до 250 нм. Для каждого образца было получено не менее трех спектров со скоростью сканирования 50 нм/мин, шириной полосы 2 нм и шагом 1 нм.

Кинетический анализ циклизации Leu-Val.

В соответствии с рекомендациями Международной конфедерации термического анализа и калориметрии (ICTAC), которые требуют использования как минимум двух различных кинетических методов расчета [41, 42], были использованы два безмодельных метода Озавы–Флинн–Уолла и Фридмана [43–47]. Тот же набор экспериментальных данных использовали в дальнейшем для поиска топохимического уравнения, как описано ранее [30, 47]. Для кинетического анализа были использованы данные ТГ, измеренные при различных скоростях нагрева 0.5, 1, 2 и 5 К/мин. Выбор оптимального модельного метода, расчеты всех кинетических параметров и статистическую оценку результатов проводили с помощью программного обеспечения NETZSCH Thermokinetics 3.1.

Методика получения изображений с помощью атомно-силовой микроскопии (АСМ). Для получения пленок дипептидов на поверхность предварительно очищенного высокоориентированного пиролитического графита наносили 2 мкл свежеприготовленных растворов линейного дипептида в гексафторизопропанолe и циклического дипептида в гексафторизопропанолe или метаноле. Концентрация растворов составляла 1 мг/мл. После испарения растворителя поверхность пленки дополнительно осушали потоком теплого воздуха (~45°C) в течение 2 мин. Морфологию поверхности пленок дипептидов исследовали методом

атомно-силовой микроскопии. Изображения АСМ регистрировали с помощью атомно-силового микроскопа Titanium (НТ-МДТ, Россия). Измерения проводили на воздухе в полуконтактном режиме с разрешением 512 точек на линию.

Использовали стандартный кремниевый кантилевер NSG-11 (НТ-МДТ, Россия) с резонансной частотой 230 кГц. Для управления микроскопом применяли программное обеспечение Nova (НТ-МДТ, Россия). Все изображения АСМ получены при комнатной температуре. Перед визуализацией микроскоп подвергали термическому уравниванию не менее 1 ч. Изображения обрабатывали и анализировали с помощью программы Image Analysis (НТ-МДТ, Россия). Все изображения представлены в виде необработанных данных, за исключением 1D и/или 2D коррекции. Погрешность определения составляет 5% по латеральному размеру и менее 1 нм по высоте.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Зиганшина Суфия Асхатовна, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2827-2297>

Хаяров Хасан Рафаэлевич, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2913-5120>

Бабаева Ольга Борисовна, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8567-9873>

Горбачук Валерий Виленович, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5347-2066>,

Зиганшин Марат Ахмедович, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8280-6774>

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена при поддержке Казанского (Приволжского) федерального университета в рамках программы стратегического академического лидерства Приоритет-2030 (Р.А. Ларионов), за счет средств субсидии, предоставленной Казанскому федеральному университету для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности (№ FZSM-2023-0020, В.В. Горбачук, М.А. Зиганшин, А.Е. Климовицкий) и государственного задания Федерального исследовательского центра «Казанский научный центр РАН» (О.Б. Бабаева, С.А. Зиганшина).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

М.А. Зиганшин является членом редколлегии Журнала общей химии. Остальные авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Дополнительные материалы для этой статьи доступны по doi 10.31857/S00444460X23110082 для авторизованных пользователей.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Zhao K., Xing R., Yan X. // *Peptide Sci.* 2021. Vol. 113. Article ID e24202. doi 10.1002/pep2.24202
2. Antipin I.S., Alfimov M.V., Arslanov V.V., Burilov V.A., Vatsadze S.Z., Voloshin Ya.Z., Volcho K.P., Gorbachuk V.V., Gorbunova Yu.G., Gromov S.P., Dudkin S.V., Zaitsev S.Yu., Zakharova L.Ya., Ziganshin M.A., Zolotukhina A.V., Kalinina M.A., Karakhanov E.A., Kashapov R.R., Koifman O.I., Kononov A.I., Korenev V.S., Maksimov A.L., Mamardashvili N.Zh., Mamardashvili G.M., Martynov A.G., Mustafina A.R., Nugmanov R.I., Ovsyannikov A.S., Padnya P.L., Potapov A.S., Selektor S.L., Sokolov M.N., Solovieva S.E., Stoikov I.I., Stuzhin P.A., Suslov E.V., Ushakov E.N., Fedin V.P., Fedorenko S.V., Fedorova O.A., Fedorov Yu.V., Chvalun S.N., Tsivadze A.Yu., Shtykov S.N., Shurpik D.N., Shcherbina M.A., Yakimova L.S. // *Russ. Chem. Rev.* 2021. Vol. 90. N 8. P. 895. doi 10.1070/RCR5011
3. Manchineella S., Govindaraju T. // *ChemPlusChem.* 2017. Vol. 82. P. 88. doi 10.1002/cplu.201600450
4. Zhu X., Su H., Liu H., Sun B. // *Anal. Chim. Acta.* 2023. Vol. 1255. Article ID 341124. doi 10.1016/j.aca.2023.341124
5. Tao K., Xue B., Li Q., Hu W., Shimon L.J.W., Makam P., Si M., Yan X., Zhang M., Cao Y., Yang R., Li J., Gazit E. // *Mater Today.* 2019. Vol. 30. P. 10. doi 10.1016/j.mattod.2019.04.002
6. Wang Y.-M., Zeng Q., He L., Yin P., Sun Y., Hu W., Yang R. // *iScience.* 2021. Vol. 24. Article ID 102274. doi 10.1016/j.isci.2021.102274
7. Yang M., Yuan C., Shen G., Chang R., Xing R., Yan X. // *J. Colloid Interface Sci.* 2019. Vol. 557. P. 458. doi 10.1016/j.jcis.2019.09.049
8. Yang M., Xing R., Shen G., Yuan C., Yan X. // *Colloids Surf. (A).* 2019. Vol. 572. P. 259. doi 10.1016/j.colsurfa.2019.04.020
9. Chen Y., Tao K., Ji W., Makam P., Rencus-Lazar S., Gazit E. // *Protein Peptide Lett.* 2020. Vol. 27. P. 688. doi 10.2174/0929866527666200212123542

10. Tao K., Hu W., Xue B., Chovan D., Brown N., Shimon L.J.W., Maraba O., Cao Y., Tofail S.A.M., Thompson D., Li J., Yang R., Gazit E. // *Adv. Mater.* 2019. Vol. 31. P. 1807481. doi 10.1002/adma.201807481
11. Tao K., Fan Z., Sun L., Makam P., Tian Z., Ruegsegger M., Shaham-Niv S., Hansford D., Aizen R., Pan Z., Galster S., Ma J., Yuan F., Si M., Qu S., Zhang M., Gazit E., Li J. // *Nat. Commun.* 2018. Vol. 9. Article ID 3217. doi 10.1038/s41467-018-05568-9
12. Kleinsmann A.J., Nachtsheim B.J. // *Org. Biomol. Chem.* 2020. Vol. 18. P. 102. doi 10.1039/C9OB02198A
13. Santos D., Baptista R.M.F., Handa A., Almeida B., Rodrigues P.V., Torres A.R., Machado A., Belsley M., de Matos Gomes E. // *Materials*. 2023. Vol. 16. Article ID 2477. doi 10.3390/ma16062477
14. Safiullina A.S., Ziganshina S.A., Lyadov N.M., Klimovitskii A.E., Ziganshin M.A., Gorbachuk V.V. // *Soft Matter*. 2019. Vol. 15. P. 3595. doi 10.1039/c9sm00465c
15. Scarel M., Marchesan S. // *Molecules*. 2021. Vol. 26. Article ID 3376. doi 10.3390/molecules26113376
16. Karanam G., Arumugam M. K. // *Mol. Biol. Rep.* 2020. Vol. 47. N 5. P. 3347. doi 10.1007/s11033-020-05407-5
17. Zhang H.-H., Yu W.-Y., Li L., Wu F., Chen Q., Yang Y., Yu C.-H. // *J. Ethnopharmacol.* 2018. Vol. 215. P. 156. doi 10.1016/j.jep.2018.01.005
18. Ye G., Huang C., Li J., Chen T., Tang J., Liu W., Long Y. // *Mar. Drugs*. 2021. Vol. 19. N 7. Article ID 402. doi 10.3390/md19070402
19. Poonia B.K., Sidhu A., Sharma A.B. // *J. Agr. Food Chem.* 2022. Vol. 70. N 7. P. 2160. doi 10.1021/acs.jafc.1c07659
20. Winyakul C., Phutdhawong W., Tamdee P., Sirirak J., Taechowisan T., Phutdhawong W.S. // *Molecules*. 2022. Vol. 27. N 13. Article ID 4200. doi 10.3390/molecules27134200
21. Song Z., Hou Y., Yang Q., Li X., Wu S. // *Mar. Drugs*, 2021. Vol. 19. N 8. Article ID 403. doi 10.3390/md19080403
22. Kumar N., Mohandas C., Nambisan B., Kumar D.R.S., Lankalapalli R.S. // *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2013. Vol. 29. P. 355. doi 10.1007/s11274-012-1189-9
23. Borthwick D. // *Chem. Rev.* 2012. Vol. 112. P. 3641. doi.org/10.1021/cr200398y
24. Kurbasic M., Semeraro S., Garcia A.M., Kralj S., Parisi E., Deganutti C., De Zorzi R., Marchesan S. // *Synthesis*. 2019. Vol. 51. P. 2839. doi 10.1055/s-0037-1612376
25. Basiuk V.A., Gromovoy T.Y., Chuiko A.A., Soloshonok V.A., Kukhar V.P. // *Synthesis*. 1992. Vol. 05. P. 449. doi 10.1055/s-1992-26131
26. Ziganshin M.A., Safiullina A.S., Gerasimov A.V., Ziganshina S.A., Klimovitskii A.E., Khayarov K.R., Gorbachuk V.V. // *J. Phys. Chem. (B)*. 2017. Vol. 121. P. 8603. doi 10.1021/acs.jpcc.7b06759
27. Smith J., Ali F.I., Soldatov D.V. // *CrstEngComm*. 2014. Vol. 16. P. 7196. doi 10.1039/c4ce00630e
28. Pérez-Mellor A., Le Barbu-Debus K., Zehnacker A. // *Chirality*. 2020. Vol. 32. P. 693. doi 10.1002/chir.23195
29. Ziganshin M.A., Gerasimov A.V., Ziganshina S.A., Gubina N.S., Abdullina G.R., Klimovitskii A.E. // *J. Therm. Anal. Calorim.* 2016. Vol. 125. P. 905. doi 10.1007/s10973-016-5458-y
30. Ziganshin M.A., Larionov R.A., Gerasimov A.V., Ziganshina S.A., Klimovitskii A.E., Khayarov K.R., Mukhametzyanov T.A., Gorbachuk V.V. // *J. Pept. Sci.* 2019. Vol. 25. Article ID e3177. doi 10.1002/psc.3177
31. Safiullina A.S., Buzyurov A.V., Ziganshina S.A., Gerasimov A.V., Schick C., Gorbachuk V.V., Ziganshin M.A. // *Thermochim. Acta*. 2020. Vol. 692. Article ID 178748. doi 10.1016/j.tca.2020.178748
32. Carlini L., Chiarinelli J., Mattioli G., Castrovilli M.C., Valentini V., De Stefanis A., Bauer E.M., Bolognesi P., Avaldi L. // *J. Phys. Chem. (B)*. 2022. Vol. 126. N 16. P. 2968. doi 10.1021/acs.jpcc.1c10736
33. Ларионов Р.А., Ахметшин Ш.Р., Герасимов А.В., Морозова А.С., Зиганшина С.А., Хаяров Х.Р., Горбачук В.В., Зиганшин М.А. // *ЖОрХ*. 2022. Т. 58. Вып. 8. С. 787. doi 10.31857/S051474922208002X; Larionov R.A., Akhmetshin S.R., Gerasimov A.V., Morozova A.S., Ziganshina S.A., Khayarov K.R., Gorbachuk V.V., Ziganshin M.A. // *Russ. J. Org. Chem.* 2022. Vol. 58. N 8. P. 1076. doi 10.1134/S1070428022080024
34. Do H.T., Chua Y.Z., Habicht J., Klinksiek M., Hallermann M., Zaitsau D., Schick C., Held C. // *RSC Adv.* 2019. Vol. 9. P. 32722. doi 10.1039/C9RA05730G
35. Görbitz C.H. // *Chem. Eur. J.* 2007. Vol. 13. P.1022. doi 10.1002/chem.200601427
36. Ziganshin M.A., Gerasimov A.V., Gorbachuk V.V., Gubaidullin A.T. // *J. Therm. Anal. Calorim.* 2015. Vol. 119. P. 1811. doi 10.1007/s10973-014-4279-0
37. Perov I.A., Ziganshina S.A., Larionov R.A., Gerasimov A.V., Gorbachuk V.V., Ziganshin M.A. // *Thermochimica Acta*. 2021. V.700. Article ID 178937. doi 10.1016/j.tca.2021.178937
38. Ye F., Cai M.H., Chen B., Xiao W., Li X.W., Guo, Y.W. // *Chem. Nat. Compd.* Vol. 54. P. 821. doi 10.1007/s10600-018-2488-7
39. Bellamy L.J. *The Infra-red Spectra of Complex Molecules*. New York: Wiley, 1975. doi 10.1007/978-94-011-6017-9
40. Akhmetshin S.R., Larionov R.A., Klimovitskii A.E., Skvortsova P.V., Akhmediyarov A.A., Ziganshina S.A., Gorbachuk V.V., Ziganshin M.A. // *J. Mol. Liq.* 2023. Vol. 387. Article ID 122613. doi 10.1016/j.molliq.2023.122613

41. Vyazovkin S., Burnham A.K., Criado J.M., Pérez-Maqueda L.A., Popescu C., Sbirrazzuoli N. // *Thermochim Acta*. 2011. Vol. 520. P. 1. doi 10.1016/j.tca.2011.03.034
42. Vyazovkin S., Chrissafis K., Di Lorenzo M.R., Koga N., Pijolat M., Roduit B., Sbirrazzuoli N., Suñol J.J. // *Thermochim Acta*. 2014. Vol. 590. P. 1. doi 10.1016/j.tca.2014.05.036
43. Friedman H.L. // *J. Polym. Sci. (A)*. 1964. Vol. 6. P. 183. doi 10.1002/polc.5070060121
44. Ozawa T. // *Bull. Chem. Soc. Japan*. 1965. Vol. 38. P.1881. doi 10.1246/bcsj.38.1881
45. Ozawa T. // *Thermochim Acta*. 1992. Vol. 203. P. 159. doi 10.1016/0040-6031(92)85192-X
46. Flynn J.H., Wall L.A. // *J. Res. Natl. Bur. Stand.* 1966. Vol. 70. P. 478. doi 10.6028/jres.070A.043
47. Logvinenko V.A., Dybtsev D.N., Bolotov V.A., Fedin V.P. // *J. Therm. Anal. Calorim.* 2015. Vol. 121. P. 491. doi 10.1007/s10973-015-4430-6

Cyclization of L-Leucyl-L-valine Dipeptide in the Crystal Phase under Non-Isothermal Conditions

R. A. Larionov^a, S. A. Ziganshina^{a,b}, A. E. Klimovitski^a, Kh. R. Khayarov^a, O. B. Babaeva^c, V. V. Gorbachuk^a, and M. A. Ziganshin^{a,d,*}

^a A.M. Butlerov Institute of Chemistry, Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, 420008 Russia

^b E.K. Zavoisky Kazan Institute of Physics and Technology, Federal Research Center "Kazan Scientific Center of the Russian Academy of Sciences", Kazan, 420029 Russia

^c A.E. Arbuzov Institute of Organic and Physical Chemistry, Federal Research Center "Kazan Scientific Center of the Russian Academy of Sciences", Kazan, 420088 Russia

^d Academy of Sciences of the Republic of Tatarstan, Kazan, 420111 Russia

*e-mail: marat.ziganshin@kpfu.ru

Received October 3, 2023; revised October 10, 2023; accepted October 17, 2023

Thermal treatment of linear dipeptides in the solid phase makes it possible to obtain their cyclic analogues in high yield and without additional costs. At the same time, such reactions occurring under the constraints of a crystal lattice with the participation of molecules in the zwitterionic form have not been sufficiently studied. In this work, the cyclization reaction of the dipeptide L-leucyl-L-valine in the crystalline phase upon heating was studied. Using isoconversion kinetics approaches, a kinetic model describing this process is determined, and kinetic parameters are calculated, including activation energy, Arrhenius multiplier, and reaction order. The enantiomeric purity of the resulting cyclic product was assessed. The self-assembly of linear and cyclic dipeptides on a solid support was studied. The results of the study will be useful for establishing the mechanism of the cyclization reaction of dipeptides in the solid phase, and can also be used in the development of effective and cost-effective methods for the production of cyclic dipeptides.

Keywords: solid-phase cyclization, isoconversion kinetics, leucyl-valine, 2,5-diketopiperazine derivatives, self-assembly, atomic force microscopy