

О.С. Чижов

## У ИСТОКОВ ОРГАНИЧЕСКОЙ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ В СОВЕТСКОМ СОЮЗЕ<sup>1</sup>

Я не собирался быть масс-спектрометром. Начало моей работы в органической химии пришлось на середину и конец 1950-х годов. Первое свое исследование реакции аминов с 2-ацил-3-хлорбицикло[2.2.1]гептанами я выполнил в 1955-1956 гг., обучаясь на третьем курсе химфака МГУ. Дипломная работа о конденсации карбонильных соединений с нитрилами в условиях реакции Риттера, которой руководил академик Николай Константинович Кочетков (в то время профессор), была защищена мной в мае 1958 г.



О.С. Чижов (1935-2007)

1950-е годы в органической химии протекали под знаком двойной спирали. Великое открытие Уотсона и Крика подняло волну небывалого интереса к природным соединениям, их анализу и установлению структуры. Развитие этого направления потребовало прежде всего новых методов разделения органических веществ. Ответом на это явилось создание бумажной, тонкослойной и газо-жидкостной хроматографии. Для определения строения и стереохимии природных веществ были нужны более быстрые методы, чем применявшаяся до сих пор химическая деструкция. Развитие сначала ИК-спектроскопии, а затем ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии как структурно-аналитических методов было в значительной степени следствием осознания нужды в методическом перевооружении химии природных соединений.

Только теперь стало ясно, что в молодости мне довелось быть свидетелем и в какой-то мере участником событий, уже оказавших и продолжающих оказывать сильнейшее влияние на развитие всей органической химии. Я глубоко убежден, что 1950-1960-е годы XX века вызовут не меньший интерес будущих историков науки, чем этот же период века XIX – времени становления структурной теории в органической химии.

В то же время я приступаю к своим воспоминаниям о первых шагах органической масс-спектрометрии в нашей стране не без колебаний и даже некоторого страха: подобно большинству моих современников я никогда не вел дневников, письма писал и получал относительно редко, да и те не хранил, лабораторных журналов тех уже далеких лет у меня также не сбереглось. Извинением (но не оправданием) этому служат теснота лабораторных помещений и современных квартир, переезды, переходы с одного места работы на другое, естественное изменение научных интересов. В моем распоряжении только публикации того времени и моя память. Оба этих источника несовершенны: память слишком субъективна – она неизвестно зачем хранит всякие пустяки: мелкие огорчения, неудачи, радости и обиды, но может совершенно ненамеренно опустить или исказить действительно важные события. Публикации же, напротив, я бы сказал, слишком объективны: по неписаной традиции из них удалены истинные побудительные мотивы, носящие личный или случайный характер, а ход изложения подчинен той логике, которая сама родилась в процессе работы и откристаллизовалась к ее завершению. В них

<sup>1</sup> Из сборника “Очерки истории масс-спектрометрии”. Уфа: Башкирский НИЦ УрО АН СССР, 1988.

считаются неуместными те внезапные озарения, которые, по удачному выражению Генриха Гейне, приходят как воры: всегда неожиданно и по большей части ночью. Такой стиль научных публикаций, безусловно, единственно возможный, но кто из нас хотя бы раз в жизни горестно не вздохнул, вымарывая из окончательного варианта статьи куски беспорядочной, но живой истории и заменяя их продуманным, последовательным, но холодным изложением, отражающим истинный ход событий наподобие хорошо организованной музейной экспозиции.

Весной 1958 г. дипломников химфака МГУ собрали в Большой химической аудитории, и к нам с речью обратился академик А.Н. Несмеянов, в то время президент Академии наук. Он говорил о бурном развитии химии природных соединений за рубежом, о необходимости организации исследований в этом направлении в нашей стране и принятом по этому поводу постановлении Президиума АН СССР, которое среди прочих мер предусматривало расширенную подготовку кадров для работы в этой области науки через аспирантуру. Наш курс откликнулся на это предложение с энтузиазмом. В результате значительная часть выпускников 1958 г. (и я в том числе) была зачислена без экзаменов в аспирантуру при Президиуме АН СССР и временно распределена по академическим и неакадемическим научным учреждениям, где велись работы по соответствующей тематике. Когда в феврале следующего 1959 г. был создан Институт химии природных соединений АН СССР, большинство «несмеяновских аспирантов» оказалось там. Там же произошло и мое первое знакомство с масс-спектрометрией и масс-спектрометристами.

Первой моей аспирантской темой было установление структуры лагохиллина, физиологически активного вещества из среднеазиатского растения лагохиллуса опьяняющего, обладающего кровоостанавливающим действием. Когда первый год аспирантуры закончился, несмотря на все мои старания, никаких успехов в установлении структуры не было и реальных надежд на это в обозримом будущем – тоже. Тему пришлось оставить. К изучению лагохиллина я вернулся 10 лет спустя, уже будучи доктором наук и заведующим лабораторией в Институте органической химии АН СССР. На этот раз структура была установлена довольно быстро, а масс-спектрометрия сыграла в этом решающую роль, но это уже, как говорится, совсем другая история.

Осенью 1959 г., вернувшись из 4-х месячной экспедиции в Приморский край, я получил от своих руководителей – Н.К. Кочеткова и А.Я. Хорлина – новую тему: «Выделение и установление строения схизандрина и его аналогов – действующих начал китайского лимонника». И снова очень скромный прогресс, не внушавший оптимизма ни мне, ни моей молодой жене, которая тоже была аспирантом. Для пополнения семейного бюджета, состоявшего из двух стипендий, пришлось писать рефераты для «Реферативного журнала Химия». И в одной из первых же статей, данных мне для проверки моей способности выполнять эту работу (помнится, это была статья Энзеля по дитерпенам из древесины хвойных), меня ждал сюрприз. В экспериментальной части в описании одного из выделенных соединений значилось: «масс-спектр,  $m/e$  (интенсивность (%))», а далее следовал ряд чисел. Я мог бы просто переписать всё это в реферат, но, впервые узнав из статьи, что у органических молекул может быть какой-то «масс-спектр», я боялся попасть в неловкое положение. Я знал, что масс-спектрометрия используется для определения состава газовых смесей и изотопного состава простых молекул, но «масс-спектр» как характеристика структуры ставил меня в тупик: откуда спектр, если молекула имеет одну единственную ей присущую массу? Так весной 1960 г. я впервые столкнулся с органической масс-спектрометрией, так сказать, теоретически.

Вскоре произошло столкновение с масс-спектрометрией и на практике. В одно прекрасное утро, выйдя во двор института, чтобы забрать дьюары с жидким азотом, я с вполне понятным разочарованием обнаружил, что наши кто-то уже унес. Не долго думая, я решил, что возьму первые попавшиеся, – все равно все они институтские. Хозяин взятых мною дьюаров не замедлил появиться и заявить решительный протест. Это был масс-

спектрометрист Б.М. Золотарев, с которым мы потом, несмотря на не совсем безоблачное начало нашего знакомства, успешно работали в течение примерно двадцати лет.

Молодые сотрудники ИХПС (а они составляли в то время подавляющее большинство) особенно остро ощущали недостатки своей методической подготовки. Старшие товарищи и руководители мало чем могли нам помочь – у них тоже не было достаточного практического опыта в применении различных видов хроматографии и спектроскопии. И тогда комитет комсомола института решил выходить из положения собственными силами. В институте стал проводиться так называемый «ликбез»: добровольцы из числа аспирантов и молодых сотрудников готовили материал по тому или иному методу и затем читали лекции, обращая особое внимание на практические вопросы. «Ликбезную» лекцию о масс-спектрометрии читал Ю.А. Овчинников – в то время секретарь комитета комсомола института.

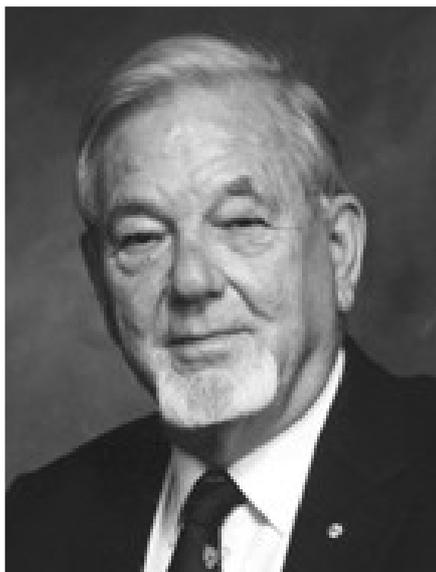
Осенью 1960 г. Н.К. Кочетков, в то время заместитель директора ИХПС и заведующий Лабораторией химии углеводов и нуклеотидов, вернулся из Австралии с Симпозиума ИЮПАК по химии природных соединений под сильным впечатлением от услышанного там доклада К. Бимана по применению масс-спектрометрии для установления структуры алкалоидов и коротких пептидов. Вероятно, не без его влияния вскоре было принято решение об изменении профиля лаборатории синтеза меченых соединений, которой заведовал Н.С. Вульфсон: она стала называться лабораторией органической масс-спектрометрии, и в ней появился первый советский масс-спектрометр, предназначенный для структурного анализа органических соединений, – МХ-1303 производства Сумского завода.



Прямо скажем – этот прибор отнюдь не представлял собой шедевра технической мысли. В работе он был чрезвычайно неудобен. Образец приходилось вводить в запаянной стеклянной ампуле, которую нужно было потом давить посредством системы вентилей и рычагов, наподобие той, что можно видеть в кабине паровоза. Спектр регистрировался самопишущим потенциометром ЭПП-09, который рычал и выл, как мотор грузовика на крутом подъеме. Чувствительность переключалась вручную, и искусство оператора состояло в том, чтобы по тону завывания самописца угадать, на какой диапазон его переключить. У операторов, не наделенных музыкальным слухом, интуицией и быстрой реакцией, большая часть пиков оказывалась или зашкаленной, или

неотличимой от шумов. Приходилось опыт повторять, но это не всегда удавалось сделать в тот же день: то не желал «отжариваться» фон, то сгорал катод, то вдруг падал вакуум, то засорялось перо самописца. В общем, работа на МХ-1303 давала множество острых ощущений и в этом отношении напоминала плавание на утлом суденышке по бурным водам. Видимо, испытывать острые ощущения – неизбежный удел всех первопроходцев.

На этом приборе и был снят масс-спектр схизандрина – первый в моей жизни. Справедливости ради следует сказать, что проку от него не было никакого. Я даже не сумел определить по нему молекулярную массу схизандрина, который, будучи полифункциональным жирно-ароматическим соединением с тремя конденсированными циклами, молекулярного иона не давал. Структура схизандрина была установлена без помощи масс-спектрометрии к концу 1961 г.



A.J. Birch (1915-1995)

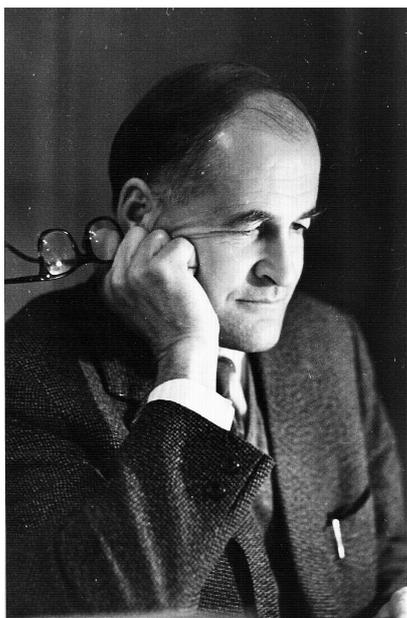
Прежде, чем перейти к последующим событиям, я расскажу о другом отзвуке австралийского симпозиума, который дошел до меня почти четверть века спустя. В 1984 г. на симпозиуме, посвященном юбилею Института естествознания в Бангалуре (Индия), мне выпала удача прослушать лекцию А. Бёрча о его пятидесятилетнем пути в химии. В ней он рассказал собравшимся, что еще в 1956 г. он стал думать о масс-спектрометрии как о методе получения информации о строении скелета по фрагментам. В том же году Бёрч договорился с М. Сазерлендом о своеобразном состязании: Сазерленд изучает структуру выделенного им необычного C<sub>12</sub>-терпена гейерена стандартными химическими методами, а Бёрч пытается сделать то же самое независимо по ЯМР- и масс-спектрам. Трудность для Бёрча состояла в том, что единственный масс-спектрометр в Манчестере, где он тогда работал, принадлежал Дж. Баксендейлу, который был категори-

чески против введения в прибор чего бы то ни было, что потом нельзя было бы удалить, а соединение с 12 атомами углерода как раз и было в то время предельным случаем. В конце концов около 1958 г. Бёрч, используя весьма примитивные ЯМР- и масс-спектрометры, выяснил структуру гейерена, причем по ходу дела впервые использовал для интерпретации масс-спектров ретродиеновый распад и одноэлектронные переносы.

На том же симпозиуме в Австралии в 1961 г., где выступал Биман, доложил свою работу и Бёрч. По его словам, К. Джерасси, который вел это заседание, был обращён ими в новую веру прямо в председательском кресле. Последствия этого обращения для Джерасси и органической масс-спектрометрии хорошо известны. Что же касается Бёрча, то из-за пререканий с рецензентами его работа увидела свет только в 1962 г., когда прелесть новизны уже была утрачена. Интересно, что Н.К. Кочетков никогда не упоминал о работе Бёрча: на нее он почему-то не обратил внимания, тогда как доклад Бимана произвел на него сильнейшее впечатление, о чем я уже упоминал. И это несмотря на то, что в 1961 г. имя Бимана было еще мало известно, а Бёрч уже принадлежал к числу наиболее признанных химиков-органиков, благодаря работам по биогенезу природных фенольных соединений и именной реакции – «восстановлению по Бёрчу».



C. Djerassi (b. 1923)



Н.К. Кочетков (1915-2005)

Итак, к 1962 г. структуры схизандрина и его аналогов были установлены, и я получил от своих руководителей задание писать кандидатскую диссертацию. Когда я принес черновик очередной главы Николаю Константиновичу, он спросил, не думал ли я о том, чем заняться дальше. Меня тогда привлекали работы Ингольда и его школы по механизмам органических реакций, и я несколько сбивчиво от избытка энтузиазма стал излагать обширную программу выяснения влияния структурных факторов на скорость гидролиза гликозидов. Н.К. Кочетков слушал меня молча и улыбался все более снисходительно. Я смутился и запутался окончательно.

– Всё? – спросил он, – А масс-спектрометрией сахаров вы не хотели бы заняться? Сделайте-ка доклад на лабораторном коллоквиуме, обсудим.

Сбор литературы не занял у меня много времени: по масс-спектрометрии сахаров работ было всего две, и обе принадлежали Р. Риду. В одной из них были измерены энергии ионизации некоторых гликозидов и дисахаридов, но масс-спектры не приводились; в другой был описан масс-спектр метилированного ламинарана, вернее, продуктов его термической деструкции. Поэтому в докладе я говорил о том, как должны вести себя под электронным ударом сахара, исходя из того, что к тому времени было известно о других органических соединениях, и какую предполагаемую пользу можно будет извлечь для анализа и изучения структуры углеводов из этого их предполагаемого поведения. Реакция моих друзей и коллег по лаборатории была более чем сдержанной. Один из старших товарищей спросил меня:

– Знаешь ли ты, Олег, что такое колумбарий? Нет? Посмотри обязательно в словаре иностранных слов, потому что подобным прожекам уготовано место именно там!

Иначе отнесся к ситуации Николай Константинович, когда я подошел поинтересоваться его впечатлением:

– Я так и думал, что тут ничего не сделано. Вот и давайте! Наука изучает неизвестное! – заключил он своим любимым девизом.

С его легкой руки весной 1962 г. Б.М. Золотарев, получив предварительно согласие своего руководителя Н.С. Вульфсона, снял первые масс-спектры метилированных сахаров на слегка модифицированном к тому времени МХ-1303. В результате в шестом номере 147-го тома «Докладов АН СССР» появилась наша первая статья: «Масс-спектрометрическое исследование углеводов. Метилвые эфиры моносахаридов», в которой, на мой взгляд, не хватало главного вывода: производные сахаров со свободным полуацетальным гидроксильным для съемки на нашем МХ-1303 не годятся. Нужно или защищать аномальный центр, или менять прибор. Первое, естественно, было проще, и потому следующая наша работа была посвящена метилированным и ацетилованным метилгликозидам. Работая над этой статьей, где в духе времени все объяснения вместо строгих доказательств сопровождалось словами «очевидно», «возможно», «вероятно», «скорее всего» и тому подобными, я впервые понял: нужна метка! Нужно избирательно пометить стабильным изотопом, скажем дейтерием, каждую из метоксильных групп в сахаре, и тогда по изменению величины  $m/z$  или его отсутствию мы действительно будем знать, какая (или какие) из метоксильных групп метилированного гликозида входят в состав того или иного иона.

Прецеденты использования изотопной метки для изучения путей распада под электронным ударом органических соединений других классов к тому времени были. Но нас прежде всего интересовал не механизм распада как таковой, а его аналитическое

приложение для выяснения положения метоксильных и свободных гидроксильных групп в частично метилированных метилгликозидах, которые образуются при метанолизе метилированных углеводных цепей. Поэтому я не стал вводить тридейтерометильную группу к С-1. «Лишняя работа!» – думал я, ведь после метанолиза мы и так всегда имеем при С-1 метоксил. Это была моя ошибка, и за нее поплатился не только я, но и мои соавторы. Действительно, получение избирательно меченых метилированных метилгликозидов позволило нам правильно установить строение большинства ионов в масс-спектрах, но ионы с  $m/z$  149 и 75 оставались загадкой, хотя для последнего я нарисовал довольно уродливую структуру, сопроводив ее соответствующим «вероятно».

Разгадать загадку помогла случайность. Хакомори еще не опубликовал свой метод метилирования. Я метилировал тридейтероидистым метилом по Пурди, изводя массу дефицитной окиси серебра и не менее дефицитного меченого реагента, поскольку реакция идет в гетерогенной среде и требует интенсивного перемешивания, а перемешивать объем меньше 1 мл на магнитной мешалке не удавалось. Я попробовал поместить реакционную смесь в запаянную ампулу, которую воткнул в резиновую пробку, а пробку – в шлиф роторного испарителя. Однако при вращении испарителя смесь перемешивалась плохо, и выход был низким. Случайно я попробовал метилировать таким способом метиларабинофуранозид, весьма чувствительный к действию кислот. Результатом, как нетрудно догадаться, было включение тридейтерометильной группы к С-1. Каково же было наше удивление, когда в масс-спектре полученного вещества пик иона с  $m/z$  75 сдвинулся к  $m/z$  81! Следовательно, он содержит две метоксильные группы и должен иметь структуру  $[\text{CH}(\text{OCH}_3)_2]^+$ . Поскольку ни один из атомов углерода в исходном веществе не несет двух метоксильных групп, это означало миграцию метоксила.

Так неудачный эксперимент показал ошибочность установки на прикладной результат и привел к открытию перегруппировки нового типа. Статья, содержащая описание всех этих перипетий, была сдана в «Известия АН СССР» в октябре 1964 г., а в январском номере журнала «Tetrahedron» за 1965 г. появилась статья Хайнса и Мюллера с описанием той же перегруппировки. Наша статья увидела свет только в 1967 г., и открытие осталось на счету немецких авторов. Для себя из этой истории я сделал вывод: сначала надо выяснить всю истину до конца, а уж потом думать, что представляет интерес с прикладной точки зрения, а что нет. Если сразу гнаться только за пользой, есть риск упустить и истину, и пользу.



Н.С. Вульфсон (1914-1994)

Примерно тогда же произошла моя первая встреча с В.Л. Тальрозе. Лаборатория Н.С. Вульфсона работала в то время очень активно. Публикации по масс-спектрометрии разных классов природных и неорганических соединений выходили из нее одна за другой. В.Л. Тальрозе как председатель комиссии АН СССР по масс-спектрометрии решил устроить выездное заседание в ИХПС, чтобы послушать работы этой лаборатории. Н.С. Вульфсон заранее сказал мне об этом, подчеркнув с присущей ему любезностью, что он бы хотел, чтобы о нашей совместной работе рассказал именно я. И надо же было так случиться, что я об этом напрочь забыл. Я мирно перегонял одно из своих соединений, сидя на высоком табурете в прожженном халате, когда дверь нашей комнаты распахнулась, и вошел красный от возмущения Николай Сигизмундович.

– Олег Сергеевич, почему вы не в зале? Следующий доклад ваш!

Я кинулся судорожно перекрывать краны и выключать масляный насос. По счастью у меня под рукой оказались слайды, приготовленные совсем к другому случаю. Когда я вбежал в зал, В.Л. Тальрозе объявлял мой доклад. Я прошел от дверей сразу на трибуну, по дороге отдав картинку демонстратору. Так как структуры всех ионов, образующихся из

метилованных гликозидов, были достаточно хорошо доказаны масс-спектрами избирательно меченых соединений, мы смогли объяснить их образование преимущественной локализацией заряда на кислородном атоме цикла и первичными разрывами связей в  $\alpha$ - и  $\beta$ -положениях по отношению к нему. Картина получилась стройная, логичная и хорошо согласующаяся с тем, что вообще было известно о распаде органических соединений под электронным ударом. Поэтому я чувствовал себя уверенно и спокойно рассказал о своей работе почтенному собранию.

Когда я кончил, посыпались вопросы и замечания членов комиссии, в основном физиков. Суть их высказываний сводилась к тому, что все кислородные атомы имеют приблизительно одинаковые энергии ионизации, что поэтому нет оснований для предположения о преимущественной локализации заряда на одном из них и, следовательно, все доложенное мной есть досужий вымысел людей, некомпетентных в элементарных основах физики. От неожиданного и тем более обидного нокаута меня спасло только столь же непредвиденное вмешательство Виктора Львовича:

– В сообщении, которое мы с вами сейчас заслушали, дано непротиворечивое объяснение твердо установленных экспериментальных фактов. Я соглашусь с вашей критикой, если кто-нибудь из вас даст свое столь же логичное объяснение приведенных в работе фактов. Готов ли кто-либо сделать это?

Он выдержал паузу.

– Так как желающих нет, я думаю, нам остается только согласиться с докладчиком и поблагодарить его.

Раздавшиеся аплодисменты я мог отнести только на счет Виктора Львовича. Это было прекрасное напоминание о том, что любая критика должна быть конструктивной.

Вот всё, что я смог припомнить о первых годах моей работы в органической масс-спектрометрии.



В.Л. Тальрозе (1922-2004)