

ВІДГУК

офіційного опонента
на дисертацію Колодяжної Анастасії Олегівни
«Асиметричний синтез модифікованих аналогів природних сполук»,
подану на здобуття наукового ступеня доктора хімічних наук
за спеціальністю 02.00.10 – біоорганічна хімія

Дисертаційна робота Анастасії Олегівни Колодяжної “Асиметричний синтез модифікованих аналогів природних сполук” присвячена важливій проблемі отримання оптично активних речовин. Тема цілком органічна як для відділу синтезу фізіологічно активних сполук фосфору ІБОНХ НАН України, в якому вона виконана, так і для біоорганічної хімії в цілому. Її актуальність не викликає жодних сумнівів. Відомо, що завдання хімічного синтезу чистих енантіомерів хіральних сполук, до яких належить і багато природних речовин різних класів (амінокислоти та білки, вуглеводи, нуклеозиди та нуклеотиди, алкалоїди та ін.) є дуже непростим. Стереоселективні методи синтезу таких сполук, як правило, складні, часто вимагають використання дорогих металоорганічних каталізаторів, розділення сумішей оптичних ізомерів теж може становити серйозну проблему. Особливо це стосується енантіомерів з одним асиметричним центром, що мають майже ідентичні фізико-хімічні властивості і для розділення яких потрібна, наприклад, хроматографія на хіральних сорбентах. Розробка нових підходів до асиметричного синтезу є важливою з теоретичного і практичного погляду.

Доступність зручних та ефективних методів синтезу оптично активних сполук відкриває широкі можливості отримання багатьох біологічно активних сполук – синтезу як природних речовин, так і їхніх аналогів із покращеними фармакологічними характеристиками. Ці сполуки діють, як правило, за рахунок специфічних взаємодій зі своїми біологічними мішенями (регуляторними білками, ферментами, рецепторами, тощо), для яких характерна висока асиметрія сайтів зв'язування. Високу афінність до біомолекул забезпечує певна просторова конфігурація та відповідне розміщення функціональних груп лігандів. Виходячи з цього, чисті оптичні ізомери біоактивних лігандів майже завжди значно ефективніші, ніж суміш ізомерів. Найчастіше біологічна активність одного з оптичних ізомерів значно вища, ніж інших, а в багатьох випадках активний лише один ізомер. Тому розробка методів отримання оптично активних сполук з потенційною терапевтичною дією, як і хіральних будівельних блоків для їхнього синтезу, є одним із пріоритетних напрямків біоорганічної й медичної хімії.

Робота присвячена асиметричному синтезу аналогів природних сполук різних класів – функціоналізованих фосфонатів, біс-фосфонатів, хіральних арил-, гетерил-, алкілкарбінолів, похідних циклоalkanів та ін.

Представлена на розгляд дисертація загальним обсягом 353 с. побудована за класичною схемою і складається зі вступу, чотирьох розділів, висновків і списку цитованої літератури.

В літературному огляді (Розділ 1) узагальненню дані щодо сучасного стану і перспектив подальшого розвитку методів асиметричного синтезу і асиметричного каталізу в сучасній хімії, розглянуто поняття та наведено приклади асиметричної

індукції. Оскільки основну частину роботи було присвячено фосфорорганічним сполукам, то природно, що в огляді особливу увагу приділено проблемам асиметричного синтезу сполук цього класу. Детально розглянуто стереохімію та механізми реакцій, передусім нуклеофільного заміщення біля атома фосфору, використання хіральних індукторів в асиметричному синтезі (аміни, спирти). Огляд читається з інтересом, вказані проблеми розглянуто достатньо повно. Список літератури об'ємний і містить 414 найменувань (із них 62 – публікації автора за темою дисертації).

В експериментальній частині роботи (Розділ 4) описано методи досліджень, наведено детальні методики синтезу, як чисто хімічного, так і з використанням ферментів (кінетичне розділення, гідроліз), визначення оптичної чистоти сполук, рентгеноструктурного аналізу. Отримані речовини повністю охарактеризовані, а структури переконливо підтверджені з використанням комплексу фізико-хімічних методів (ЯМР на ядрах ^1H , ^{31}P , ^{13}C та ^{19}F , мас-спектрометрія, елементний аналіз). Структуру кількох сполук однозначно встановлено за допомогою рентгенівської кристалографії.

Основні результати дисертації обговорюються в Розділах 2-3. У роботі вирішувалося завдання, що полягало в розробці стратегії асиметричного синтезу, в першу чергу фосфорорганічних, а також фторорганічних і гетероциклічних аналогів природних речовин, що є цінними синтонами для отримання біологічно активних сполук для медицини та агрохімії. При цьому вивчались як хімічні, так і біокаталітичні підходи до отримання таких сполук.

Що стосується хімічних методів асиметричного синтезу (Розділ 2), то основну увагу було зосереджено на використанні природних оптично активних сполук – передусім, амінокислот. Так, запропоновано нову стратегію синтезу фосфорних похідних амінокислот, а також біс-фосфонатів, з асиметричним центром у бічному ланцюзі з використанням принципів “diverted total synthesis”. Цю стратегію було практично підтверджено синтезом хіральних фосфонових і біс-фосфонових аналогів цілого ряду амінокислот. Розроблено метод синтезу функціоналізованих фосфонатів на основі реакції $\text{C}=\text{X}$ нуклеофілів з реакційною парою триалкілфосфіт/піридиній-перхлорат.

Аналогічно отримано фосфонатні похідні терпенів і сесквітерпенів.

Розроблено методи отримання біс-фосфонатних похідних фталевої кислоти та фосфонатних похідних терефталевої кислоти. Цікаві результати отримано також в стереоселективних синтезах на основі метиленфосфоранів.

Важливим результатом роботи є те, що вперше було продемонстровано використання хіральної сольватації цинхонідином для розщеплення сигналів енантіомерів вторинних фторованих спиртів у спектрах ЯМР, що є зручним методом визначення їхньої оптичної чистоти.

Особливо цікавим, на наш погляд, напрямком є використання ферментів у синтезі оптично активних сполук (Розділ 3). Звичайно, до високої специфічності біокаталізаторів, досягнутої у процесі тривалої еволюції, складно наблизитись методам органічної хімії. На жаль, більшість ферментів є лабільними молекулами, що не витримують умов органічного синтезу, зокрема, денатурують у присутності

розчинників. Проте все ж існують ферменти, які можна використовувати в цих умовах, наприклад, ліпази.

Кілька ферментів цієї родини було з успіхом використано в даній роботі для отримання оптично активних спиртів. Важливо, що спиртова група може легко модифікуватись, що відкриває широкі можливості для синтезу багатьох похідних. Відпрацьовано оптимальні умови використання ліпаз *Burkholderia cepacia* та *Candida antarctica* В. На їх основі розроблено методи розділення на енантіомери рацематів α -гідроксифосфонатів, отримання оптично активних галогенгідринів, 1-гетерил-етанолів, циклічних галогеналканолів, енантіомерів похідних інданолів, аналогів хроман-4-олу та ін., причому вдалося досягти високої оптичної чистоти продуктів.

Для цього використовували біокаталітичні реакції ацилювання й гідролізу. По суті, підхід ґрунтується на фундаментальному принципі – значній різниці в швидкості ферментативних реакцій з окремими оптичними ізомерами субстратів, що пов'язана зі різницею в афінності високоорганізованих активних центрів ферментів до ізомерів із різною конфігурацією молекул. Показано вплив розміру і природи замісників біля хірального центру вторинного спирту на селективність ферментативного розділення ізомерів та швидкість реакції. Знайдено умови кінетичного ензиматичного розділення 1-гетерилетанолів за допомогою ліпаз. У результаті отримано численні оптично активні сполуки, у т.ч. у препаративному масштабі. Ці сполуки можуть бути синтонами для отримання біоактивних сполук, а в ширшому сенсі – для тонкого органічного синтезу в цілому.

В роботі використовувались ферменти в гомогенних системах. Для промислового використання частіше застосовують іммобілізовані ферменти, що дозволяє їхнє багаторазове використання (чи тривале використання в потоці) та забезпечує стабільність білкових молекул. В даному контексті цікаво було би в майбутньому з'ясувати, як іммобілізація впливає на специфічність ферментів і, відповідно, на оптичну чистоту продуктів.

Таким чином, в представленій дисертаційній роботі ґрунтовно досліджено проблеми асиметричного синтезу аналогів природних сполук з використанням хімічних та хіміко-ферментативних підходів. У результаті використання розроблених підходів дисертантом успішно отримано численні індивідуальні оптичні ізомери, підтверджено їхню будову, встановлено оптичну чистоту. Це становить значний науковий інтерес для біоорганічної хімії й біохімії.

Як і годиться для докторської дисертації, робота не обмежується розробкою нових синтетичних методів. У ній проведено широке теоретичне дослідження і узагальнення підходів до асиметричного синтезу фосфорорганічних сполук. Сформульовано гіпотезу щодо можливих механізмів асиметричної індукції, індукованих метало-, органо- і біокаталізаторами. Сформульовано і узагальнено концепцію багаторазової асиметричної індукції фосфорорганічних сполук. Зокрема, встановлено, що найвища стереоселективність може бути досягнута при введенні двох чи кількох хіральних індукторів. Запропоновано стратегію синтезу енантіомерно чистих аналогів природних сполук на основі амінокислот і терпенів. Проаналізовано стереохімію нуклеофільного заміщення біля 3-валентного атома фосфору. Вперше узагальнені мультістереоселективні реакції фосфорорганічних

сполук. Ці та інші досягнення дисертанта відзначаються безумовною науковою новизною.

Разом з тим, робота має й очевидне практичне значення. В першу чергу слід мати на увазі, що розроблено зручні препаративні способи отримання широкого кола важкодоступних оптично активних сполук, які можуть бути використані для синтезу потенційних лікарських засобів і широкого кола речовин інших груп.

В роботі використано широкий арсенал сучасних методів досліджень. Варто особливо зазначити, що перед нами складна комплексна робота, яка знаходиться на стику наук і поєднує елементи органічного синтезу, ензимології та фізико-хімічного аналізу. При цьому дослідження в усіх цих компонентах дисертаційної роботи виконано на високому методичному рівні.

Результати роботи свідчать про ефективність запропонованих підходів до асиметричного синтезу сполук різних класів. Вони можуть бути використані при розробці біологічно активних речовин, але мають і загальносинтетичне значення поза межами розглянутих структурних класів. На нашу думку, мета й завдання дослідження, що були чітко сформульовані автором, успішно ним досягнуті.

Звичайно, дисертаційна робота не позбавлена певних недоліків, здебільшого технічного характеру. Серед них можна відзначити наступні.

Вже на початку автореферату (с. 5) читаємо: “Перший розділ дисертації являє собою короткий виклад методів асиметричного синтезу фосфорорганічних сполук, раніше узагальнених дисертантом в монографії і декількох оглядових статтях, опублікованих у рейтингових фахових журналах”. Не варто говорити про те, що матеріали розділу вже опубліковані – невже не опубліковані матеріали інших розділів? На наш погляд, автору не дуже коректно заявляти і про рейтинговість журналів, що він неоднократно робить у різних місцях дисертації.

Ряд зауважень стосується формулювань деяких висновків.

Висновок 1: “Вперше проаналізовано і узагальнено стереохімію нуклеофільного заміщення фосфорорганічних сполук”. Невже до шановного дисертанта не існувало аналітичних оглядів з цього питання?

Висновок 3: “...Результати дослідження опубліковано в монографії”. Так, це досягнення автора, але навряд чи може бути висновком роботи. До того ж, про це вже сказано у преамбулі до висновків.

Висновок 9: “вперше отримано усі можливі енантіомери віцинальних цис- і транс-галогеноциклоалканолів”. Не зовсім коректний вираз, адже в роботі йдеться не про всі циклоалканолі, а лише про похідні циклопентану та циклогексану.

Список публікацій автора наводиться в дисертації аж тричі – спочатку в анотації, потім як частина загального списку літератури, і ще й у Додатку 1.

Форматування списку літератури не уніфіковане. Так, в одних випадках наводяться аббревіатури журналів, у інших – повні назви. По-різному дається том та номер журналу – інколи “Vol. X, No. Y”, інколи “X(Y)”. В журналах, що мають номери, останні то даються, то не даються. Інколи даються повні імена авторів, а не ініціали, як у більшості випадків. Нерідко не наведено місце видання книг.

Дисертація й автореферат написані гарною літературною мовою, і ми знаходимо в них мало граматичних чи стилістичних огріхів, хоча все ж подекуди і

зустрічаються описки, а часом лабораторний жаргон (типу “білдінгблоків”) чи неправильні переклади українською (наприклад, “з’єднання” замість “сполуки”).

Нарешті, як рекомендація – робота виграє б, якби в неї було включено ще один невеликий розділ, присвячений узагальненню всіх результатів і порівнянню розроблених підходів (наскільки це можливо).

Вказані вище недоліки не є принциповими і жодним чином не знижують загального високого рівня представленої дисертаційної роботи.

Висновки відображають основний зміст роботи й отримані в ній результати. Зміст автореферату повністю відповідає змістові самої дисертації. При цьому не викликає сумнівів достовірність науково обґрунтованих результатів, отриманих із використанням адекватних і сучасних хімічних і фізико-хімічних методів.



Результати роботи повністю опубліковані у провідних фахових виданнях, у тому числі таких серйозних і рейтингових, як *EuroJOC*, *Tetrahedron: Asymmetry*, *Molecules*, *Phosphorus, Sulfur & Silicon*, *Acta Crystallographica* та ін. Важливо зазначити, що серед них є й кілька оглядів у міжнародних журналах. Ці публікації свідчать про високий рівень роботи й отриманих результатів. За темою дисертації нещодавно вийшла монографія у видавництві “Наукова думка”. П’ять патентів України підкреслюють практичне значення результатів досліджень. Матеріали роботи представлено і на численних наукових конференціях.


В цілому, дисертація А.О. Колодяжної справляє враження цілісної наукової праці, в якій добре збалансовано фундаментальні та практичні результати. В ній всебічно, на високому експериментальному й теоретичному рівні, досліджено проблему асиметричного синтезу аналогів природних речовин, які складно отримати в оптично чистому вигляді. Безумовно, цікаві та актуальні результати роботи мають важливе значення і в значно ширшому контексті хімічного синтезу хіральных сполук як загальної проблеми, пов’язаної не лише з природними сполуками та їх аналогами. Великий обсяг проведених досліджень, безсумнівна наукова новизна отриманих результатів та їхнє вагоме практичне значення свідчать про те, що розглянута дисертація є завершеною науковою працею на актуальну тему і становить важливий внесок у біоорганічну та органічну хімію.

Виходячи з цього, вважаю, що представлена до захисту дисертаційна робота “Асиметричний синтез модифікованих аналогів природних сполук” повністю відповідає сучасним вимогам, що висувуються до докторських дисертацій, а її автор, Анастасія Олегівна Колодяжна, цілком заслуговує присвоєння наукового ступеня доктора хімічних наук за спеціальністю 02.00.10 – біоорганічна хімія.

Офіційний опонент:

завідувач відділу синтетичних біорегуляторів
Інституту молекулярної біології і генетики
НАН України, д.х.н.

Підпис 
посвідчується


 І.Я. Дубей