

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию

Вакуленко Софьи Романовны

**N+PC МЕТОДОЛОГИЯ СИНТЕЗА ФОСФИНОВЫХ
КИСЛЫХ ПЕПТИДОВ,**

представленную на соискание учёной степени кандидата химических наук
по специальности 1.4.3. Органическая химия

Работа Вакуленко Софьи Романовны выполнена в области синтеза фосфиновых кислых псевдо-пептидов – структурных фосфиновых изостеров пептидных природных аналогов на основе N+PC-методологии, развиваемой чрезвычайно успешно в последние 20 лет в Институте физиологически активных веществ ФГБУН РАН (ИФАВ РАН) д.х.н. Валерием Владимировичем Рагулиным с сотрудниками и учениками, и является дальнейшим развитием указанной методологии. Работа выполнена на очень высоком экспериментальном уровне, содержит большой фактический материал и открывает перспективы синтеза новых изостеров пептидных аналогов.

Целью квалификационного сочинения Вакуленко Софьи Романовны «N+PC методология синтеза фосфиновых кислых пептидов», как определил её автор, является «развитие N+PC методологии синтеза фосфиновых кислых псевдо-дипептидов – структурных фосфиновых изостеров дипептидных компонент амилоида А β 42, их аналогов и гомологов», а также добавим: исследование энзимотоксичности синтезированных соединений, выявление закономерностей структура-активность. О формулировке цели и задач в рецензии будет отдельная вставка.

Хотя производные фосфиновой кислоты впервые были получены в 1875 году (150 лет назад) Михаэлисом и Греффом (Грефом), их химия начала исследоваться учениками Михаэлиса только в конце 19 столетия. Более 100 лет их утилитарного применения они не имели природных аналогов, и считалось, что их синтез является прерогативой исключительно химиков и в природе они не образуются. Сразу же необходимо отметить, что диалкил- или диарилфосфины, исходные для синтеза производных фосфиновой кислоты, принципиально отличаются от производных других пниктидов по ряду свойств. Достаточно сказать, что скорости алкилирования алкиларилфосфинов почти на три порядка выше, чем аминов и на два порядка – чем арсинов. Величина ρ для ряда фосфинов = -1 свидетельствует об отсутствии делокализации заряда, в отличие от производных азота, что осложняет обсуждение данных при проведении аналогий.

Именно это отличие и сыграло наряду с липофильностью решающую роль в судьбе арилфосфониевых катионов в медицине в последние два десятилетия. Появился очень эффективный вектор доставки биологически активных соединений, в том числе и лекарств, в митохондрии. Наибольшую известность в этом классе соединений получили так называемые ионы Скулачёва (SkQ) - класс митохондриально-направленных антиоксидантов, разработанных под руководством академика В. Скулачёва. SkQ - липофильный трифенилфосфониевый катион, соединенный через насыщенный углеводородный фрагмент с антиоксидантом. Благодаря липофильности и заряду SkQ эффективно проникает через мембранны клетки. При этом положительный заряд обеспечивает направленную доставку присоединенного антиоксиданта в отрицательно заряженный матрикс митохондрий.

Хотя электронная структура атома фосфора в фосфониевых производных и производных фосфиновой кислоты подобна, по своей биологической активности, электронному сродству – это принципиально разные соединения – первые являются кислотами Льюиса, а вторые – основаниями.

По отношению к природе мы являемся мыслящими обезьянами – пытаемся повторить давно найденное природой. В начале рецензии было сказано, что долгие годы считалось, что природа не может синтезировать производные с двумя Р-С-связями. Сегодня мы знаем, что многие представители микробного мира синтезируют подобные соединения для борьбы с врагами, и эти соединения являются ингибиторами ферментов. Исходя из этого можно сделать вывод об обоснованности выбора темы квалификационного исследования, обещающего гарантированный успех в достижении цели.

В соответствии с этим можно констатировать, что приведенные выше данные наглядно свидетельствуют об актуальности выбранного диссертантом направления и его практической значимости, так как цель всей работы – это поиск новых конкурентно способных соединений - потенциальных кандидатов на субстанции ГЛС на основе N+PC методологии синтеза фосфиновых кислых псевдо-дипептидов – структурных фосфиновых изостеров дипептидных компонент амилоида А β 42, их аналогов и гомологов. Можно полагать, что этого достаточно для характеристики работы в отмеченном плане.

О научном подходе, используемом в диссертации. N+PC стратегия синтеза фосфиновых дипептидов, как и C + PN – достаточно хорошо зарекомендовала себя в течение последних 20 лет, и отрадно отметить, что большой вклад в развитие этого оригинального направления внёс Валерий Владимирович Рагулин и его ученики. Несмотря на большой полученный материал и опыт, метод остаётся достаточно трудоёмким, и предпринимаются постоянные попытки по его модификации. Так один из реагентов – дисилоксифосфин воспламеняется при контакте с воздухом, и работа с ним не доставляет большого удовольствия. Диссертант в своих синтезах обходился без его выделения, что существенно упрощает работу. Подводя итог этой части можно сказать, что Вакуленко Софьей Романовной была разработана более короткая N+PC схема синтеза фосфиновых дипептидов с использованием свободных фосфонистых карбоновых кислот, а также изучена реакционная способность PC-компоненты в исследуемой реакции. Как показала ЯМР спектроскопия на ядрах фосфора реакционных смесей, процесс протекает достаточно сложно, через образование многочисленных как промежуточных соединений, так и побочных продуктов, происхождение которых определяется не только гидролизующим действием следов воды, но и взаимодействием с растворенным кислородом как в растворителях, так и жидких реагентах. Среди этого многообразия диссидентом обнаружен лактоновый структурный «мотив» в ряду интермедиатов, образующихся в процессе амидоалкилирования фосфонистых карбоновых кислот. Рецензенту нравится такая характеристика происходящего в колбе. Употребив слово «мотив», автор сразу же констатирует, что существуют и другие «мотивы» в путях образования конечных продуктов. Исходя из этого была предложена спирофосфорановая гипотеза механизма образования фосфор-углеродной связи в исследуемой реакции. Впервые показан обратимый характер превращения фосфиновый пептид – фосфолактон. Оригинальным представляется и предложенный метод синтеза фосфиновых кислых пептидов с использованием ацеталей. Получен ряд новых фосфиновых кислых дипептидов, труднодоступных другими методами синтеза, что подтверждает перспективность используемой стратегии.

Были проведены исследования биологической активности синтезированных соединений и обнаружены ингибирующие свойства фосфиновых структурных изостеров IGL, трипептидного ($\text{Abeta } 32\text{-}34$) компонента бета-амилоида, в качестве защиты ноотропного препарата Семакс от разрушающего (автором используется термин «агрессивного») гидролитического воздействия лейцинаминопептидазы.

При достижении цели диссертантом были продемонстрированы приобретенные в ходе выполнения работы высокие навыки синтетической работы – освоены несколько совершенно различных методов синтеза различных классов органических и фосфорорганических веществ на платформе N+PC методологии.

Работа с гидролизующимися, воспламеняющимися произвольно соединениями с точки зрения синтетической химии сложнее, и требует специальных навыков, что не всегда просто даётся экспериментатору. Судя по результатам, представленным в работе, диссидентант с этими проблемами достаточно успешно справился. Приведенное выше можно отнести к **характеристике уровня профессиональных навыков**. Уровень очень высокий. Уровень подтверждает и раздел «Экспериментальная часть», занимающий более 50 страниц текста без иллюстраций и таблиц.

Уровень профессиональных навыков характеризуется не только экспериментальными или «ремесленными» навыками (не случайно А.М. Бутлеров посыпал своих учеников учиться ремеслу к Кольбе, добавляя при этом, что в теории в лаборатории Кольбе учиться нечему), но и уровнем владения современными знаниями не только в своей области, но и смежных областях. Именно уровень владения современными знаниями и результатами позволяет, во-первых, провести достойно обсуждение полученных результатов на фоне литературных, а во-вторых, сделать **правильные выводы, имеющие научную значимость, а не просто ограничиться констатацией фактов, чем грешат многие современные диссертации в области химии и биологии**.

И так, об уровне и корректности проведенного обсуждения. По мнению оппонента он уступает очень высокому уровня экспериментальной части, но в целом удовлетворяет требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук. Начнём с того, что понравилось. Автор не приписывает себе результаты «предшественников». Так в определении цели и перечне задач очень корректно написано: «Развитие метода», хотя утвержденная тема работы «N-PC методология синтеза фосфиновых кислых пептидов» позволяет претендовать на большую значимость сделанного. Именно – развитие, т.е. оценить, сопоставить между собой полученные другими ранее результаты. И это сделано достаточно профессионально.

Другой важной особенностью полученных автором некоторых фосфорсодержащих производных, способной влиять на уровень их биологической активности, является сохранение структуры свободной OH-группы у атома фосфора, которая может как ковалентно, так и ионно связываться с различными ферментами, но это отдельный вопрос, и на нём останавливаться не будем, отметив только как дальнейшую перспективу исследований. Таких моментов, открывающих перспективы расширения исследований, в диссертации достаточно много. Часть из них представлена в замечаниях. Достаточно упомянуть один, вытекающий из возможность активации C-концевой функции фосфинового кислого пептида для последующего образования классической пептидной связи и образования фосфиновых олигопептидов путем нуклеофильной атаки атома азота третьей аминокислотной компонентой на электрофильный карбоновый углерод фосфолактонового цикла.

Безусловно, эти соединения могут быть основой для последующего развития синтеза коротких фосфиновых три-(и более) псевдопептидов.

Таким образом можно признать, что рецензируемая работа открыывает перспективы создания новых классов биологически активных соединений, что является несомненным свидетельством её научной и практической значимости.

Необходимо также отметить профессиональное использование метода ЯМР для установления структуры как целевых, так и промежуточных продуктов. Особенno ценной оказалась спектроскопия на ядрах Р реакционных смесей, позволившая зафиксировать несколько промежуточных соединений.

Конечно, имея такие результаты, исследование необходимо продолжать как в направлении синтеза новых производных, так и в направлении расширения доклинических исследований.

Замечания по работе. Некоторые были сделаны по ходу обсуждения работы. Относительно других замечаний, часть из которых носит явно дискуссионный характер и ориентирована на интеллектуальные возможности докторанта. Начнём с цели работы. По мнению оппонента ближе по сути было бы так: «Разработка методов синтеза фосфиновых кислых псевдо-дипептидов – структурных фосфиновых изостеров дипептидных компонент амилоида А β 42, их аналогов и гомологов на основе дальнейшего развития N+PC методологии, синтез производных и исследование их биологической активности», а развитие методологии, как и сказано было автором сочинения при подведении итогов (см. автореферат), является актуальной задачей. Так будет корректнее, по мнению оппонента.

Поставленная в работе задача: «Исследование гидролитической устойчивости ноотропного препарата «Семакса» в смеси с фосфиновыми псевдопептидами в присутствии лейцинаминопептидазы», явно выходит за рамки означенной цели.

Замечание относительно написанного докторантом: «Замена природной пептидной связи {C(O)NH} на негидролизуемый метиленфосфорильной фрагмент {P(O)(OH)CH₂} приводит к имитации переходного состояния пептидного гидролиза с тетракоординированным атомом углерода, тем самым обеспечивая эффективное ингибирование нежелательных ферментативных реакций с участием соединений пептидного строения». Как известно, в нуклеофильном замещении у углерода и фосфора наблюдается принципиальная разница – так где у углерода переходное состояние, у фосфора промежуточное состояние, часто устойчивое.

Рис. 1. Дисс. Странный комплекс с цинком. Конечно, это литературные данные, но можно было бы прокомментировать. Фосфорильная группа в качестве цинк-хелатирующей функции – это жаргон. Она может выполнять функцию, но не заменить, тем более, что Вы далее пишите, что присоединяете фрагмент, а не функцию. Стр. 23. дисс.

Схема 7 в диссертации – это известная реакция Пудовика, входит в сборники авторских именных реакций, не в пример реакции Олексижина, которую автор подробно разбирает.

Неоднократно в обсуждении следуют ссылки на механизм реакции Арбузова. Однако эти данные устарели. Как и ожидалось, реакция Арбузова-Михаэлиса протекает сложнее, как было показано, в том числе, в работах А.И. Курдюкова и В.Фед. Миронова.

Ошибка в схеме 12 диссертации. По всему тексту диссертации проходит термин «фосфонаты». Корректнее писать Н-фосфонаты.

Схема 16 (Диссертация). Присоединение силилгипофосфита к непредельным производным впервые было осуществлено и опубликовано Р. Назмутдиновым до 1980 года. Автор ссылается на более поздние работы.

Сделанные замечания, конечно, призывают некоторые достоинства хорошей, крепко выполненной в плане синтеза и доказательств структуры конечных, но не промежуточных, продуктов, работы, отличающейся значимостью полученных результатов, хорошо оформленной. Большая часть замечаний связана с подходом к обсуждению результатов. Мы с каждым годом синтезируем всё больше и больше новых соединений, совершенствуем методы доказательства структуры, забывая о главной задаче химика – использовать факты для совершенствования теории. «Факты без теории – не наука». Большую помощь в этом направлении мог бы принести метод ИК- (КРС)-спектроскопии, относительно определения внутри- и межмолекулярных ВС, т.е. вторичной структуры. Однако, эти методы синтетики последних двух десятилетий выкинули из своего арсенала.

Ошибки в оформлении. Ошибок обнаружить удалось мало, они отмечены на полях работы.

Все перечисленные замечания не носят принципиального характера и не ставят под сомнение ни структуры выделенных соединений, ни анализа полученных результатов, выполненный в рамках сложившихся в последние годы установок и традиций.

Диссертация производит очень хорошее впечатление уровнем эксперимента, когда целевые продукты выделялись в ходе достаточно сложных манипуляций, которые необходимо было подобрать, доказательством структур выделенных продуктов, основанном на грамотном использовании методов мультиядерной ЯМР-спектроскопии.

Полученные результаты достаточно широко были представлены на конференциях самого разного уровня, опубликовано 6 статей в отечественных и иностранных рецензируемых научных журналах, а также 6 тезисов докладов.

Заключение. Диссертационная работа Вакуленко Софии Романовны «N+PC методология синтеза фосфиновых кислых пептидов», представленная на соискание учёной степени кандидата химических наук по специальности 1.4.3. Органическая химия, является завершенной научно-квалификационной работой, в которой получены достоверные и значимые экспериментальные результаты, обладающие актуальностью, что подтверждается количеством опубликованных работ в этой области, часть из которых была процитирована автором в литературном обзоре, научной новизной и практической значимостью, так как некоторые полученные соединения в испытаниях *in vitro* превысили доступные лекарственные препараты, используемые современной медициной.

Диссидентант приобрёл и продемонстрировал в ходе выполнения работы высокое экспериментальное мастерство и знание физико-химических методов установления структуры целевых продуктов.

Автореферат диссертации и опубликованные работы в полной мере отражают как полученные автором результаты, так и их обсуждение, представленное в диссертации.

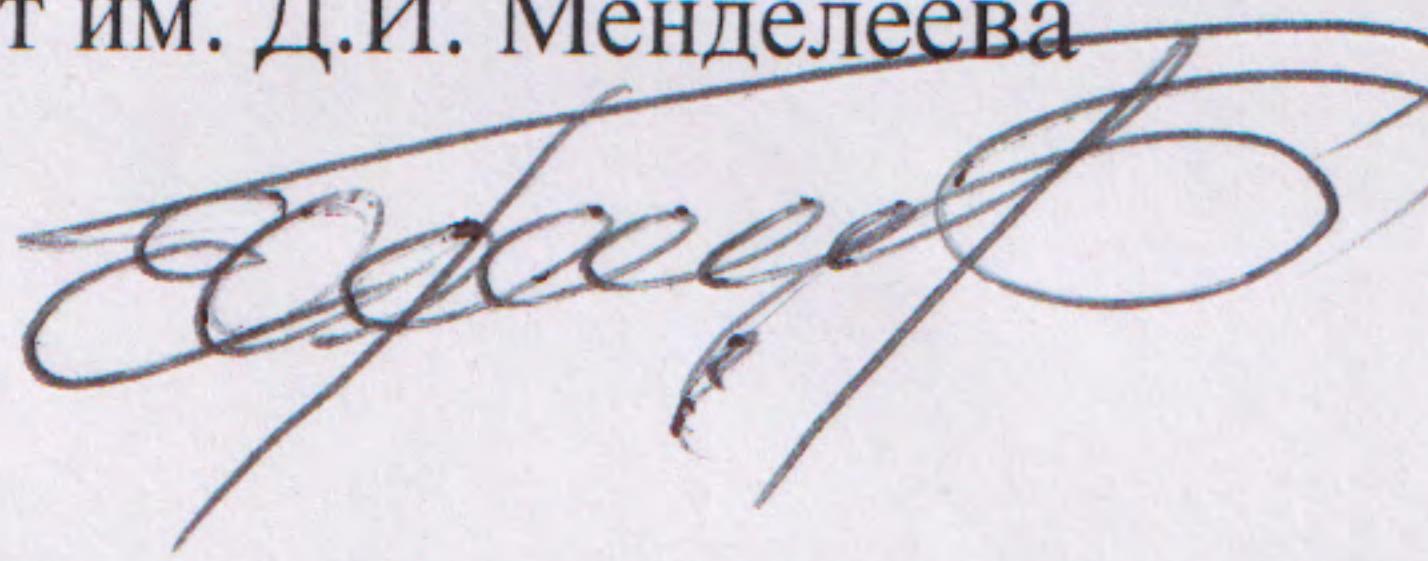
Результаты исследования найдут применение в среде химиков органического и биохимического профиля, с диссертацией целесообразно ознакомить институты: ИОФХ им. А.Е. Арбузова КНФ РАН, ИМБ им. В.А. Энгельгарта РАН, ИОХ им. Н.Д. Зелинского РАН, ИНЭОС им. А.Н. Несмеянова РАН, НИОХ им. Н.Н. Ворожцова СО РАН, Химический институт им. А.М. Бутлерова К(П)ФУ и некоторые другие.

Все исследования выполнены лично автором или при его непосредственном участии. Работа по тематике, методам исследования и предложенным новым научным положениям соответствует паспорту специальности 1.4.3. Органическая химия.

Таким образом, диссертационная работа «*N+PC* методология синтеза фосфиновых кислых пептидов» по своей актуальности, объему полученного и охарактеризованного экспериментального материала и уровню его обсуждения, достоверности полученных результатов, обоснованности научных положений является завершенной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи по синтезу целевых продуктов-изостеров пептидов, обладающих биологической активностью, и которая вносит вклад в развитие основного постулата теории химического строения органических соединений – взаимосвязи структуры и активности, по научной новизне, подтверждаемой уровнем публикаций, теоретической и практической значимости полностью соответствует всем требованиям Положения о порядке присуждения ученых степеней (Постановление Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842, с изменениями от 26.10.2023 г. № 1786), в том числе пп. 9-14, а её автор, Вакуленко Софья Романовна, по уровню приобретенных экспериментальных навыков, способности собирать, анализировать результаты и делать выводы заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.3. - Органическая химия.

Официальный оппонент:

доктор химических наук, профессор, профессор кафедры
химии и технологии биомедицинских препаратов
Федерального государственного бюджетного образовательного
учреждения высшего образования «Российский химико-
технологический университет им. Д.И. Менделеева

 Офицеров Евгений Николаевич

Дата: 28.11.2025

Специальности, по которым официальным оппонентом защищены кандидатская диссертация:
1.4.3 - Органическая химия и докторская диссертация: 1.4.8 - Химия элементоорганических
соединений

Контактные данные:

тел.: 8-917-590-55-45; e-mail: ofitser@mail.ru

Адрес места работы: г. Москва, Миусская пл. д.9. РХТУ им.Д.И.Менделеева

Тел.: 8-499-978-61-32 e-mail: ofitser@mail.ru

Подпись сотрудника Офицерова Е.Н. удостоверяю

