



**ВОВК**

**Михайло Володимирович** — член-кореспондент НАН України, директор Інституту органічної хімії НАН України

## КЛІК-ХІМІЯ ТА БІООРТОГОНАЛЬНІ РЕАКЦІЇ: ПРОРИВ В ЕПОХУ ФУНКЦІОНАЛЬНОСТІ В ХІМІЇ

### Нобелівська премія з хімії 2022 року

*Цьогорічними лауреатами Нобелівської премії з хімії стали американські дослідники Каролін Бертоцці (Carolyn R. Bertozzi) та Баррі Шарплесс (Karl Barry Sharpless), а також данський хімік Мортен Мелдал (Morten P. Meldal) «за розвиток клік-хімії та біоортогональної хімії». Як зазначено у пресрелізі Нобелівського комітету, Б. Шарплесс і М. Мелдал «заклали основу для функціональної форми хімії — клік-хімії, в якій молекулярні блоки з'єднуються швидко та ефективно». К. Бертоцці, у свою чергу, «перевела клік-хімію у новий вимір і почала використовувати її при роботі з живими організмами. ...Її біоортогональні реакції відбуваються без порушення нормальної хімії клітини. Зараз ці реакції застосовують у всьому світі для дослідження клітин і відстеження біологічних процесів. ...Клік-хімія та біоортогональні реакції перенесли хімію в епоху функціональності. Це дає найбільшу користь людству».*

**Ключові слова:** Нобелівська премія з хімії 2022 року, клік-хімія, біоортогональні реакції, функціональність, Каролін Бертоцці, Баррі Шарплесс, Мортен Мелдал.

Відзначення другий рік поспіль найвищою міжнародною науковою нагородою — Нобелівською премією — проривних досягнень у галузі органічної хімії вивело її в число хімічних дисциплін, які по праву формуватимуть засади наукового прогресу в найближчі десятиліття. За майже 200-літню історію органічної хімії її арсенал поповнився значною кількістю синтетичних методів, які в багатьох випадках є досить складними і потребують особливого поводження з високоактивними реагентами в суворо контрольованих умовах.

У 2001 р. група науковців під керівництвом Баррі Шарплесса з Дослідницького інституту Скріппса (США) запропонувала назву «клік-хімія» для простих у виконанні реакцій як інструмента для так званого модульного синтезу, який дозволяє конструювати найрізноманітніші продукти з простих вихідних речовин [1]. Баррі Шарплесс зі співробітниками сформулювали також критерії перебігу таких реакцій: вони мають бути

ефективними і максимально універсальними, відбуватися за наявності кисню і води, без спеціальних розчинників, не зазнавати впливу природи груп, що з'єднуються одна з одною, та утворювати цільові продукти з дуже високими виходами, без побічних продуктів або з невеликою їх кількістю, які можна легко відокремити.

Слово «клік» (click) у терміні «клік-хімія» означає, що використання цих методів дозволяє поєднати молекулярні фрагменти так само легко, як застібнути («клацнути») дві частини пряжки. При цьому сама пряжка, незалежно від того, що до неї прикріплено, «працює» доти, доки дві її частини можуть дотягнутися одна до одної.

На сьогодні класифіковано кілька загальних типів реакцій, які найбільш повно відповідають критеріям клік-хімії:

- [3+2]-циклоприєднання, зокрема азид-алкінове циклоприєднання;
- реакція Дільса—Альдера у різноманітних модифікаціях;
- тіол-енове приєднання;
- реакції карбонільних сполук з азотовмісними нуклеофілами (амінами, гідроксилами, гідразинами та їхніми похідними);
- нуклеофільне заміщення в напружених малих циклах (епоксидах та азиридинах);
- [4+1]-циклоприєднання ізонітрилів до тетраєнів.

Переважає більшість клік-реакцій реалізуються з утворенням зв'язків вуглець–гетероатом (переважно N, O і S), є екзотермічними завдяки енергетичному стану реагентів або сильно стабілізованих продуктів, відбуваються, як правило, без утворення побічних сполук і є дуже толерантними до інших функціональних груп [2].

Слід зазначити, що згадані вище характеристики властиві лише кільком типам перетворень. Насамперед до них належать реакції циклоприєднання азидів до алкінів (azide-alkyne cycloaddition — AAC), в результаті яких утворюються 1,2,3-триазоли. Для цієї реакції, вперше описаної наприкінці XIX ст. [3], німецький хімік Рольф Хюсген у 1950-х роках



Фото © Linda A. Cicero

**КАРОЛІН БЕРТОЦЦІ (Carolyn Ruth Bertozzi)** — американська вчена-хімік, професор Стенфордського університету. Народилася 10 жовтня 1966 р. в Бостоні (США). Батько був фізиком-ядерником, директором лінійного прискорювача Бейтса, мати — філологом. У 1988 р. здобула диплом бакалавра з хімії у Гарвардському університеті, де під керівництвом професора Джо Грабовські розробляла проєкт фотоакустичного калориметра. В 1993 р. в Берклі здобула ступінь доктора філософії, працюючи разом з Марком Беднарські над хімічним синтезом аналогів олігосахаридів. Виявила, що віруси в організмі можуть зв'язуватися з цукрами, що надовго змістило її наукові інтереси в бік глікобіології. У постдокторантурі з імунології в Каліфорнійському університеті в Сан-Франциско вивчала вплив ендотеліальних олігосахаридів на полегшення адгезії клітин в осередках запалення. Їй вдалося модифікувати молекули білка та цукру в стінках живих клітин так, щоб клітини сприймали сторонні матеріали, зокрема імпланти. У 1996 р. повернулася в Берклі, де викладала на хімічному факультеті й очолювала нанотехнологічний дослідницький центр Національної лабораторії ім. Лоуренса. З 2015 р. працює у Стенфордському університеті.

Каролін Бертоцці — член Національної академії наук США (2005), Національної медичної академії США (2011), Американської академії мистецтв і наук (2003), іноземний член Лондонського королівського товариства (2018), Академії Леопольдина (2008), з 2014 р. очолює редколегію журналу ACS Central Science. Має багато наукових нагород, зокрема вона — лауреат премії імені Артура Коупа (1999, 2017); стипендії Мак-Артура (1999); премії ACS з хімії (2001); премії «ЛГБТ-вчена року» (2007); медалі Вілларда Гіббса (2008); премії Роза Л. Вістлера з хімії вуглеводів (2008); премії Гаррісона Хова (2009); премії з біоорганічної хімії Королівського хімічного товариства (2010); премії Ернеста Орlando Лоуренса (2014); премії НАН США з хімії (2016); премії Джона Карта з розвитку науки (2020); премії Солвея «Хімія для майбутнього» (2020); премії Ф.А. Коттона (2020); премії Вольфа з хімії (2022); Нобелівської премії з хімії (2022).



Фото EPA-EFE/Shutterstock

**БАРРІ ШАРПЛЕСС (Karl Barry Sharpless)** – американський хімік, другий в історії вчений (після Фредеріка Сенгера), двічі удостоєний Нобелівської премії з хімії (2001, 2022). Народився 28 квітня 1941 р. у Філадельфії (США) в сім'ї лікаря-хірурга. Батько хотів, щоб син продовжив його справу, але Б. Шарплесс, навчаючись у Дартмутському коледжі, зацікавився органічною хімією. Після закінчення коледжу у 1963 р. залишився там працювати в науковій групі професора Томаса Спенсера. У 1968 р. захистив дисертацію на ступінь доктора філософії у Стенфордському університеті під керівництвом Е. ван Тамелена. Постдокторантуру проходив спочатку у Стенфорді у професора Дж. Коллмана, працюючи в галузі металоорганічної хімії, а потім у лабораторії К. Блоха у Гарвардському університеті, де займався ензимологією. З 1970 по 1990 р. був професором у Массачусетському технологічному інституті, у 1977–1980 рр. – у Стенфордському університеті. З 1990 р. працює в Дослідницькому інституті Скріптса.

Розробив методи стереоселективного окиснення органічних сполук, відкрив кілька хімічних реакцій, які перетворили асиметричний синтез з наукової фантастики на реальність, зокрема реакції аміногідроксилування, дигідроксилування, реакцію енантіоселективного епоксидування алкенів, названу його ім'ям. Увів у науковий обіг термін «клік-хімія», розробив її концепцію та версію азид-ацетиленової реакції циклоприєднання, що каталізується міддю. Внесок Б. Шарплесса в науку добре відображають дві Нобелівські премії: у 2001 р. він (разом з Рюджі Нойорі та Вільямом Ноулзом) отримав її за створення хіральных каталізаторів окисно-відновних реакцій, а в 2022 р. – за роботи в галузі клік-хімії. Крім того, Б. Шарплесса було відзначено премією піонера хімії (1988); премією Шеєле (1991); премією Артура Коупа (1992); премією «Тетраедр» (1993); премією короля Фейсала (1995); премією Харві (1998); медаллю «За хіральність» (2000); медаллю Бенджаміна Франкліна (2001); премією Вольфа (2001); медаллю Вільяма Х. Ніколса (2006); медаллю Прістлі (2019).

запропонував механізм узгодженого циклоприєднання та ввів поняття 1,3-диполярного циклоприєднання [4]. Незважаючи на те, що як азиди, так і алкіни мають високу хімічну потенційну енергію і утворення в результаті їх взаємодії триазолів є екзотермічним більш ніж на 45 ккал/моль [1], швидкість цієї реакції досить невелика, а високі температури або тиски, необхідні для сприяння циклоприєднанню азидів і більшості диполярофілів, неприйнятні для живих систем.

У 2002 р. незалежно одна від одної дослідницькі групи Баррі Шарплесса [5] і Мортена Мелдала [6] встановили, що формальне 1,3-диполярне циклоприєднання азидів з кінцевими алкінами з утворенням 1,4-дизаміщених 1,2,3-триазолів може ефективно каталізуватися сполуками міді (I). Ця реакція, яку зараз називають купрокаталізованим азид-алкіновим-1,3-диполярним циклоприєднанням (Cu-catalyzed azide-alkyne cycloaddition – CuAAC), відбувається приблизно на 7 порядків швидше, ніж некаталізоване циклоприєднання. Її перебіг є надійним та передбачуваним і в усіх випадках приводить до виключного утворення 1,4-ізомера (рис. 1).

Крім каталізу комплексами міді (I) або рутенію (II) процес AAC можна прискорити збільшенням електронodefіцитності або напруженням алкінової компоненти, що дало змогу К. Бертоцці [7] адаптувати відкриту попередниками засадничу реакцію клік-хімії до живих клітин, реалізувавши приєднання до них флуоресцентних маркерних білків.

Отже, CuAAC, яке характеризується високою продуктивністю та широким синтетичним діапазоном з повним стереоконтролем, стало однією з найбільш універсальних органічних реакцій в арсеналі клік-хімії. Його можна використовувати як свого роду молекулярний конструктор «Лего» для формування складних молекулярних архітектур [8].

Загалом універсальність клік-хімії дозволяє застосовувати її в різних галузях науки і технології, зокрема в органічному матеріалознавстві, хімічній біології, медицині та діагностиці. Про бурхливий розвиток цього міждисциплі-

нарного наукового напрямку в останні два десятиліття свідчать більш як 23 тис. оригінальних публікацій та понад сотня оглядових статей.

**Прикладні аспекти клік-хімії.** Мета цього короткого огляду — у доступній формі окреслити коло найважливіших, на наш погляд, сфер застосування клік-хімії.

*Синтез біоактивних речовин та створення лікарських засобів.* Клік-хімія відповідає основним критеріям ефективності, універсальності та селективності ідеального синтезу. Використання переваг її високої модульності дозволяє значно прискорити процес розроблення ліків порівняно з іншими сучасними підходами, які ґрунтуються на масовому скринінгу хімічних бібліотек. Її застосування для пошуку та створення біоактивних речовин і лікарських препаратів на їх основі з інкорпорованими 1,2,3-триазольними фрагментами за допомогою CuAAC стало ефективним інструментом сучасного тонкого органічного синтезу та медичної хімії.

Еволюція клік-хімії впродовж двох десятиліть з часу її виникнення пов'язана з дослідженнями, спрямованими на створення лікарських засобів та їх подальшу структурну модифікацію. Передумовою для останньої є подолання лікарської резистентності, пошук високоселективних і менш токсичних препаратів та поліпшення їхніх фармакокінетичних властивостей, що, у свою чергу, зумовлює необхідність оптимізації технологічного процесу. Можливість синтезу стабільних сполук, 1,2,3-триазольний фрагмент яких є ізостером амідної функції, актуалізувала пошук аналогів біологічно активних молекул та нових лікарських засобів. У результаті було розроблено ефективні методи отримання різноманітних 1,2,3-триазолів як потенційних антимікробних, протиракових, протівірусних, протизапальних, протидіабетичних та антиоксидантних препаратів, що детально відображено в оглядовій статті [8]. Поряд з низкою препаратів, які зараз ще проходять передклінічні та клінічні випробування, на особливу увагу заслуговують отримані за допомогою методів клік-хімії комерційно доступні антибактеріальні засоби (тазобактам і

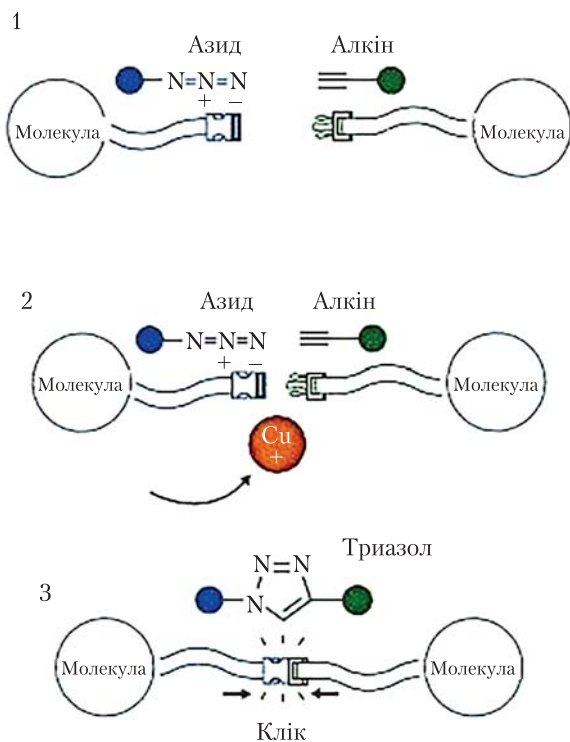


Фото © Jens-Christian Navarro

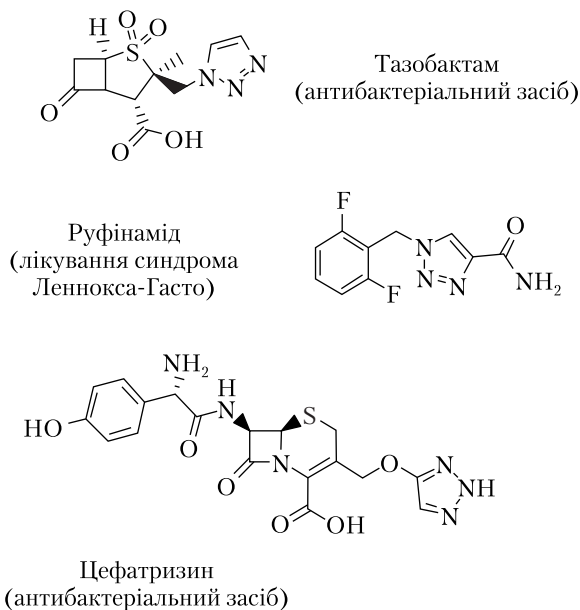
**МОРТЕН МЕЛДАЛ (Morten Peter Meldal)** — данський хімік, професор хімії в Копенгагенському університеті. Народився 16 січня 1954 р. в Копенгагені (Данія). Закінчив Данський технічний університет, здобувши там ступінь бакалавра, магістра, а потім доктора філософії в галузі хімічної інженерії. Його докторську дисертацію, виконану під керівництвом професора Клауса Бока, було присвячено синтетичній хімії олігосахаридів. У 1983—1988 рр. він був незалежним дослідником з органічної хімії в Данському технічному та Копенгагенському університетах. У 1985—1986 рр. був постдоком у Кембриджському університеті, потім працював у Лабораторії молекулярної біології Ради медичних досліджень і в Копенгагенському університеті (з 2011 р. на посаді професора). З 1998 по 2011 р. очолював групу органічного синтезу в Лабораторії Carlsberg — приватному науково-дослідному центрі в Копенгагені.

М. Мелдал розробив кілька технологічних методів та інструментів для синтезу пептидів, зокрема багатоколонковий синтез. Відомий тим, що незалежно від Баррі Шарплесса розробив і дослідив реакцію CuAAC (реакція азид-алкінового циклоприєднання, каталізована міддю). Один із засновників клік-хімії.

Його відзначено премією Кірстін Меєрс (1988); премією (1990) та нагородою NKT (1996) Данського хімічного товариства; науковими нагородами Наукової програми ЄС (1992) і програми EU-INCO-DC (1996); нагородою (travel award) НАТО (1992); премією Леонідаса Зерваса Європейського пептидного товариства (1996); Золотою медаллю Нільса Б'єррума з хімії (1997); нагородами за дослідження Фонду Міцутані (1995), Данського національного дослідницького фонду (1997) і Данського онкологічного товариства (1997); нагородою Ральфа Ф. Гіршманна з хімії пептидів Американського хімічного товариства (2009); Нобелівською премією з хімії (2022). М. Мелдал є членом Данської королівської академії наук і літератури (1998), в якій у 1999 р. прочитав лекцію Б'єррума—Бренстедта—Ланга, співзасновником і головою Товариства комбінаторних наук (SCS), членом редколегії журналів ChemBioChem та Journal of Combinatorial Chemistry.



**Рис. 1.** Загальна схема купрокатализованого азидо-алкінового циклоприєднання (CuAAC)



**Рис. 2.** Структури лікарських препаратів, отриманих з використанням клік-реакції

цефатризин) та препарат руфінамід для лікування синдрому Леннокса—Гасто (рис. 2).

**Модифікація природних сполук.** Сполуки природного походження, як правило, є складними молекулами з обмеженими варіантами модифікації, а деякі з них навіть мають лабільні функції. Саме тому їх структурне урізноманітнення з метою усунення недоліків або створення скринінгових бібліотек біоактивних препаратів є важливим завданням органічного синтезу. В цьому контексті вкрай бажаним видається розроблення інструментарію, який може полегшити доступ до молекулярного різноманіття та унікальних функцій природних продуктів. І клік-хімія є одним з успішних інструментів для вирішення цього завдання, оскільки дозволяє легко синтезувати різноманітні похідні природних сполук, особливо 1,2,3-триазоловмісні терпеноїди, алкалоїди, стероїди, хінони, ксантони, кумарини тощо [10]. Крім оптимізації біологічної активності та поліпшення кінетики й фармакологічних властивостей, багато з них набувають нових функцій і тим самим стають потужним джерелом для створення нових лікарських препаратів.

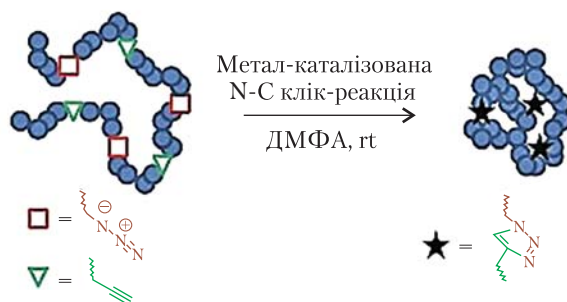
Клік-хімія, особливо реакція CuAAC, знайшла застосування у синтезі гомо- або гетеродимерів природних продуктів навіть за наявності лабільних функціональних груп, передусім завдяки ортогональним реакціям, які для таких сполук вирізняються істотними перевагами порівняно з синтезом амідів та естерів.

Завдяки придатності для толерантного поєднання фрагментів з широким спектром функціональних груп методологія клік-хімії є надійним варіантом біокон'югації в медичній хімії, що забезпечує ефективні умови реакції за участю біомолекул, ключовими представниками яких є нуклеозиди, нуклеотиди та нуклеїнові кислоти, оскільки вони відіграють вирішальну роль у всіх функціях життєдіяльності клітини. Саме тому розроблення аналогів для різних біологічних мішеней є важливим для фармакологічних досліджень [11]. Враховуючи значення 1,2,3-триазолів як біосумісних фармакофорів та біоізостерних лінкерів, реакції CuAAC стали дуже привабливими для кон-

струювання модифікованих або кон'югованих нуклеозидів, нуклеотидів та нуклеїнових кислот, у тому числі й олігонуклеотидів, у які без зміни їхніх біофізичних та біохімічних властивостей можна досить легко ввести азидні та алкінільні фрагменти [12]. Для циклоприєднання з їх участю було розроблено твердофазні методи, що сприяло появі величезної кількості модифікованих кислот та бібліотек на їх основі.

*Конструювання функціональних макромолекул та моноланцюгових наночастинок.* Базові принципи клік-хімії виявилися доволі потужною стратегією для побудови м'яких полімерних матеріалів з лінійною, розгалуженою та іншою складною архітектурою [13]. Дебютним для застосування CuAAC в хімії полімерів став 2004 р., коли Б. Шарплесс зі співробітниками застосував цей підхід для високоефективного синтезу дендримерів на основі дивергентної методології [14]. Потенціал CuAAC було використано для отримання полімерів з кількома реакційноздатними функціями, чого не просто досягти традиційними методами полімеризації.

Постполімеризаційна функціоналізація за участю CuAAC є досить вдалим рішенням для створення бібліотек полімерів, які мають спільну структуру або повторюваний фрагмент. Розроблено два базові підходи для введення схильних до клік-процесів груп у полімерний каркас. Перший з них полягає у використанні відповідних ініціаторів та/або мономерів. Його було успішно продемонстровано на прикладі отримання поліметилметакрилату з кінцевими азидними групами, які були модифіковані в одному реакторі за допомогою CuAAC [15]. Другий підхід передбачає введення схильних до клік-реакцій груп після завершення процесу полімеризації, що зазвичай досягають заміщенням галогену азидом натрію у боковому ланцюзі/кінці ланцюга або розкриттям епоксидного циклу і найчастіше використовують у випадку чутливих до умов полімеризації згенерованих функціональностей. Така методологія виявилася досить корисною у разі термочутливих, стерично ускладнених або схильних до ініційованих радикалами побічних реакцій [16]. На особливу увагу заслуговує синтез блок-



**Рис. 3.** Синтез біокон'югованих полі(метил)метакрилатних наночастинок

кополімерів шляхом CuAAC двох різних полімерів з кінцевими азидною та алкіною функціями, що у випадку їх молярних еквівалентів дозволяє значно спростити процес очищення цільового полімерного продукту.

Загалом клік-реакції, незалежно від їх використання для безпосереднього конструювання полімерних ланцюгів чи для модифікації готових полімерів, привернули до себе посилену увагу дослідників, що, у свою чергу, удоступнило функціональні матеріали і сприяло вирішенню важливих питань органічного матеріалознавства.

Моноланцюгові наночастинок (single-chain nanoparticles – SCNPs) належать до найменших одноланцюгових нанооб'єктів (<15 нм), які можна отримати з лінійного полімерного ланцюга шляхом внутрішньомолекулярного згортання/розгортання [17]. Контрольоване згортання/розгортання при формуванні SCNPs нагадує процес згортання білка до нативного функціонального стану, хоча одноланцюгові наночастинок імітують глобулярну структуру біомакромолекул у відносно примітивній формі, що є наслідком полідисперсного характеру синтетичних полімерів на протизагу монодисперсного характеру і точній хімічній послідовності природних біомолекул.

Яскравим прикладом надійної побудови моноланцюгових наночастинок є метод, що ґрунтується на хімії внутрішньоланцюгових клік-реакцій. Зокрема, CuAAC було вперше використано для високоефективного низькотемпературного синтезу біокон'югованих полі(метил)метакрилатних наночастинок [18] (рис. 3).

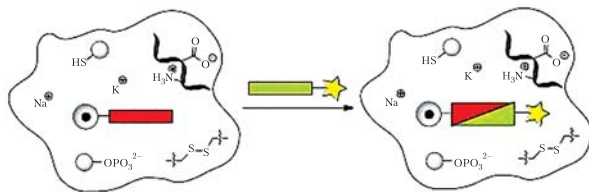


Рис. 4. Загальна схема біоортогональної реакції

За допомогою цього методу, виходячи зі строго визначених статистичних кополімерів з азидофункціональними групами вздовж основи, було отримано полістирольні, полі(алкіл)-метакрилатні, поліметакрилові, полістиролсульфонатні та полі(N-ізопропіл)метакрилатні моноланцюгові наночастинки у діапазоні розмірів 3–20 нм. Загальний характер методу проілюстровано на прикладах синтезу моноланцюгових наночастинок різної хімічної будови, розчинності, функціональності, фізико-хімічних властивостей. Саме тому потенційна сфера застосування моноланцюгових наночастинок охоплює нетрадиційні поліелектроліти, реологічні добавки до розплавів, наноносії для доставки ліків, флуоресцентні нанозонди та магнітно-резонансні зображення [19].

**Стратегія біоортогональної хімії.** Вивчення біомолекул у їхньому природному середовищі є актуальним завданням з огляду на величезну складність клітинних систем. Технології, розроблені останніми роками для селективної модифікації біологічних об'єктів у живих системах, дали нові уявлення про клітинні процеси. Ключовими в них є біоортогональні реакції, компоненти яких повинні швидко і селективно реагувати один з одним у фізіологічних умовах за наявності безлічі функціональних можливостей, необхідних для підтримання життя (рис. 4).

Під терміном «біоортогональні реакції» [20] розуміють хімічні реакції, перебіг яких може відбуватися всередині клітин або у живих організмах, не зачіпаючи при цьому природні біохімічні процеси в них. Стратегія біоортогональних реакцій полягає у введенні в біомолекулу функціональних груп, які не трапляються у природних сполуках, і в подальшому приєд-

нанні потрібного фрагмента з комплементарною функціональною групою внаслідок селективної взаємодії між ними. Біоортогональні реакції повинні відповідати низці вимог: мати високу швидкість, низьку токсичність, бути селективними, перебігати без побічних процесів у фізіологічних умовах та не впливати на біологічну активність модифікованої молекули [21, 22]. Саме таким критеріям відповідають клік-реакції у біологічно сприятливих умовах. Більшість вимог до біоортогональних реакцій задовольняє азидогрупа, тому її широко використовують як функціонал клік-сполучення внаслідок її стабільності та інертності відносно інших функціональних груп, наявних у біологічних системах [23]. При цьому особливо цікавим є невеликий розмір азидогрупи, оскільки її кон'югація з біовектором не має істотного впливу на біологічну активність отриманого кон'югату.

Історично першою біоортогональною реакцією можна вважати реакцію сполучення за Штаудінгером, яка полягає в утворенні азилідів взаємодією азиду з триарилфосфіном. Така реакція може відбуватися у живому організмі, оскільки обидва реагенти є абіотичними і не впливають на біогенні функції біомолекул. Однак основним недоліком цієї реакції є нестабільність аза-ілідного продукту у воді [24], тому було запропоновано стабілізацію продукту (так зване лігування за Штаудінгером) через внутрішньомолекулярну циклізацію. З цією метою використано електрофільну пастку для захоплення нуклеофільного аза-іліду, яка реалізується введенням естерного замісника на одну з арильних груп фосфінового реагенту в *орто*-положенні до атома фосфору, що приводить до стабільного продукту завдяки утворенню амідного зв'язку. Втім, незважаючи на всі зусилля з оптимізації цієї реакції, вона й досі має певні обмеження, які не дозволяють використовувати її в дослідженнях *in vivo*. Так, окиснення фосфіну та повільна кінетика ( $k \sim 10^{-3} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ) є основними перешкодами для успішного застосування реакції Штаудінгера в живих системах [25].

Каталізоване міддю [3+2]-азид-алкінове циклоприєднання (CuAAC) задовольняє всі ви-

моги до ортогональних реакцій, оскільки невеликий розмір азидної та алкінової груп дає змогу вбудовувати клік-рукоятки в біомолекули без порушення їхніх біохімічних властивостей. Однак попри те, що CuAAC застосовують для мічення пептидів і білків, перешкодою для його біологічного використання стала цитотоксичність міді, яка, як відомо, бере участь в утворенні активних форм кисню (АФК). Для поліпшення біосумісності реакції було розроблено інший підхід, оснований на [3+2]-циклоприєднанні азиду до напруженого алкіну, що дозволяє уникнути використання мідного катализатора.

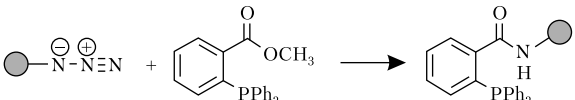
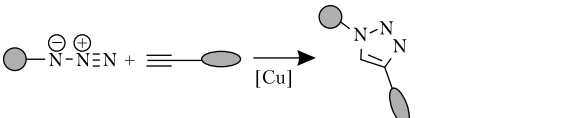
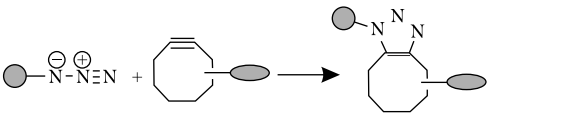
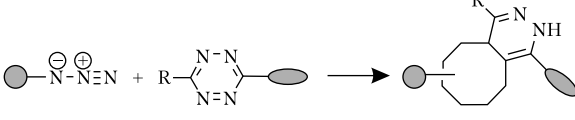
Промотоване напруженням алкінового кільця [3+2]-азидо-алкінове циклоприєднання (strain-promoted azide-alkyne cycloaddition – SPAAC) розробила К. Бертоцці зі співавторами у 2008 р. [26]. Його основною перевагою порівняно з CuAAC є те, що реакція відбувається у фізіологічних умовах і без катализатора. Однак кінетика цієї реакції ( $k = 1,2-2,4 \cdot 10^{-4} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ) повільніша, ніж у разі CuAAC, і зіставна з кінетикою лігування за Штаудінгером. Проте її вдалося поліпшити за допомогою таких структурних модифікацій алкіну, як фторування і  $sp^2$ -гібридизація атомів кільця.

турних модифікацій алкіну, як фторування і  $sp^2$ -гібридизація атомів кільця.

Цей новий реагент — 3,3-дифторциклооктин (DIFO) — виявився найефективнішим для роботи з органічними азидами, метаболічно інкорпорованими в клітини поверхневих гліканів. DIFO стабільний до біологічних нуклеофілів, реагує з органічними азидами швидко, незворотно та селективно без катализатора. Це, у свою чергу, дозволило досягти  $k = 0,1 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  і тим самим прискорити кінетику реакції в 60 разів. SPAAC було протестовано в різних системах, зокрема для мічення наночастинок гліколевого хітозану міддю-64 і в прицільній радіоімунотерапії. Однак, хоча застосування SPAAC не потребує токсичного катализатора і демонструє кінетику в 100 разів швидшу, ніж у разі лігування за Штаудінгером, октинний цикл потенційно може реагувати з нуклеофілами, наявними в живих системах.

Реакція Дільса–Альдера з оберненою полярністю (inverse-electron demand Diels-Alder – IEDDA), відкрита у 2008 р. Дж. Фоксом з колегами, — найшвидша біоортогональна реакція [27], яка відбувається між специфічним

### Хімічні характеристики біоортогональних реакцій

Біоортогональні реакції	Схема реакції	$k, \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$	Переваги
Сполучення за Штаудінгером		$10^{-3}$	Утворення стабільного амідного зв'язку
CuAAC		10	Ковалентна реакція. Малі молекули
SPAAC		0,1	Реакція перебігає без катализатора
IEDDA		$1-10^6$	Дуже велика константа швидкості реакції другого порядку. Необоротна реакція, повністю біоортогональний стабільний продукт



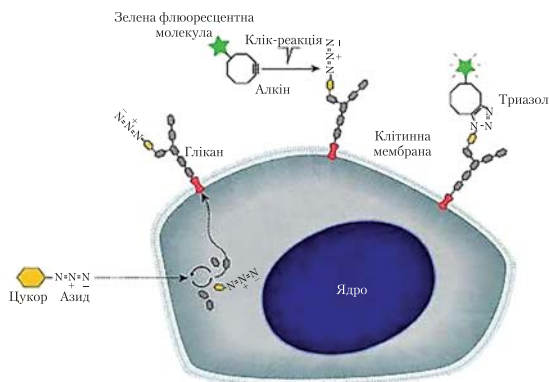


Рис. 5. Біоортогональна хімія у клітині

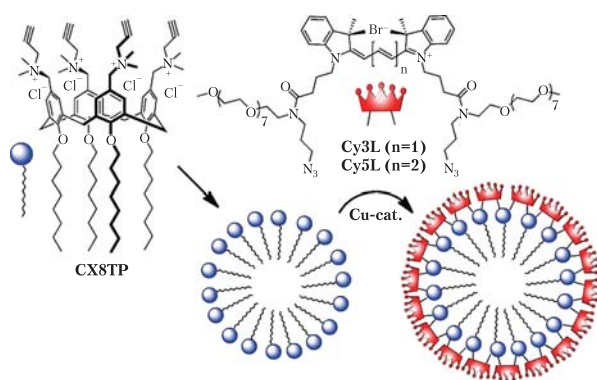


Рис. 6. Синтез стабільних органічних флуоресцентних наночастинок для біоміджингу

діеном 1,2,4,5-тетразином (Тз) та дієнофілами типу норборнену або *транс*-циклооктену. Взаємодія може відбуватися в органічних розчинниках, воді, а також у біологічних середовищах, і не потребує активації каталізатором (див. табл.). Крім того, завдяки високій хемоселективності реагенти можна використовувати в дуже низьких концентраціях для їх кон'югації з великими біомолекулами.

Методологічні засади біоортогональної хімії виявилися вкрай важливими у вирішенні низки прикладних біомедичних проблем. Так, у процесі мічення біомолекул для флуоресцентної візуалізації мітки на основі зеленого білка застосовують тільки для білкових молекул. Водночас біоортогональні реакції дозволяють вносити мітки в інші біомолекули: ліпіди, глікани, нуклеїнові кислоти тощо (рис. 5). У

системах адресної доставки ліків лінкери, які використовують для цього, можуть бути нестабільними у кровотоці, що може призвести до передчасного вивільнення лікарського засобу і, відповідно, до побічних ефектів [21]. Методи біоортогональної хімії пропонують підходи, здатні подолати ці проблеми завдяки відносно стабільній і контрольованій системі вивільнення ліків за допомогою індукованих хімічних реакцій. Зокрема, автори вельми цікавої праці [28] у ролі націлювального біомаркера вибрали асоційований з пухлиною глікопротеїн 72, який експресується на поверхні ракових клітин. Цей біомаркер зв'язаний з лікарським засобом через фрагмент *транс*-циклооктену. Для розщеплення сполучної ланки між маркером і препаратом було використано реакцію Дільса—Альдера з оберненою полярністю між *транс*-циклооктеном і тетразином, при введенні якого відбувається вивільнення активного лікарського засобу.

**Успіхи та досягнення вітчизняної клік-хімії.** Українські вчені використовують базові принципи клік-хімії як важливий інструмент для вирішення низки актуальних наукових проблем. Так, в Інституті органічної хімії НАН України академік НАН України Віталій Іванович Кальченко у співпраці з науковцями Страсбурзького університету за допомогою клік-реакції біс-азидоціанінових барвників Су3L і Су5L з поверхнею міцел, утворених амфифільним тетрапропаргільним каліксареном CX8TP, синтезував стабільні флуоресцентні наночастинки діаметром 7 нм [29] (рис. 6). Ці частинки мають максимум флуоресценції в області 590 нм і значно яскравіші за комерційні неорганічні кадмій-телуrowі квантові точки

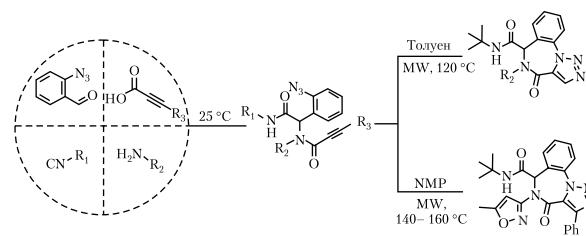
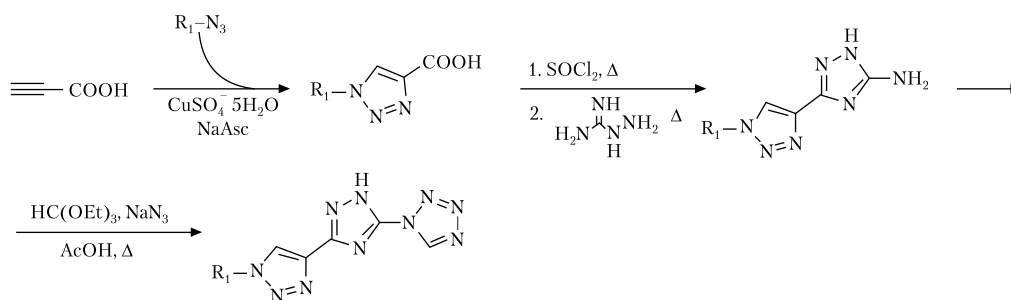
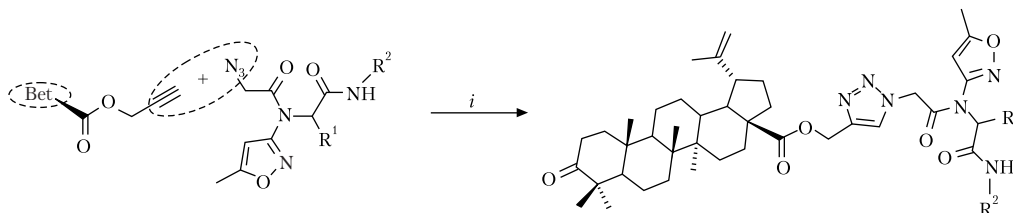
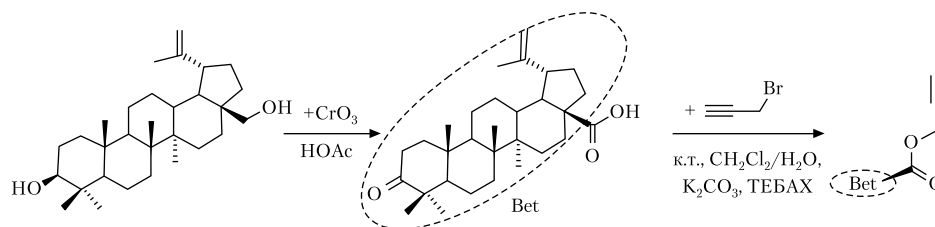


Рис. 7. Синтез похідних 1,2,3-триазолобензодіазепінів

**Рис. 8.** Синтез гібридних сполук на основі бетулонової кислоти



**Рис. 9.** Синтез поліазольних систем як потенційних комплексоутворювачів

QD-585, які використовують як маркери для біоіміджингу. Розроблені каліксаренові наночастинки легко проходять через біологічні мембрани і селективно забарвлюють певні ділянки всередині клітин. Ці яскраво забарвлені біосумісні наночастинки мають широкі перспективи використання у цитологічних та гістологічних дослідженнях, а також у молекулярній біохімії.

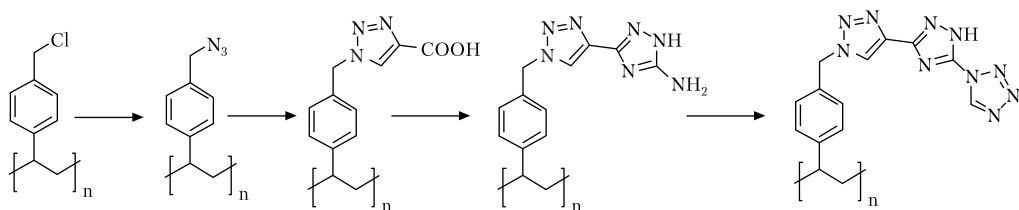
В НТК «Інститут монокристалів» НАН України член-кореспондент НАН України Валентин Анатолійович Чебанов разом зі співробітниками розробили ефективні підходи до синтезу похідних 1,2,3-триазолобензодіазепінів, що мають психотропну активність, з використанням тандему реакцій Угі та внутрішньомолекулярного азид-алкінового циклоприсоединення в умовах мікрохвильової активації [30] (рис. 7).

Крім того, цей самий авторський колектив [31] для модифікації природної молекулярної

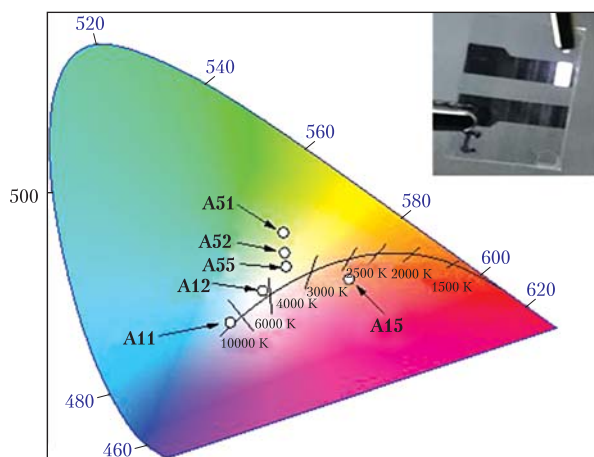
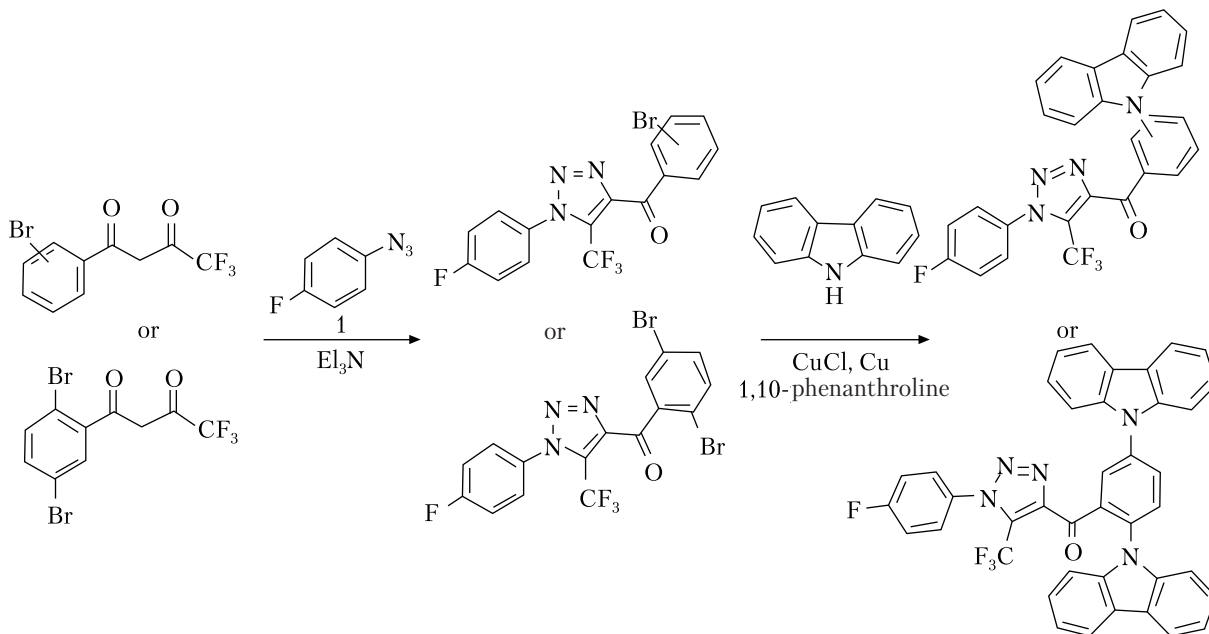
платформи — бетуліну вдало застосував реакцію CuAAC пропаргілового естеру бетулонової кислоти з синтетичними азидогетарилвмісними пептидоміметиками (рис. 8), що дало змогу здійснити синтез оригінальних гібридних молекул з мікробіологічними властивостями.

Ще одним важливим результатом, отриманим науковою групою під керівництвом В.А. Чебанова, стало використання базового у клік-хімії CuAAC для розроблення синтетичного шляху до складних поліазольних систем з 1,2,3-, 1,2,4-триазольними та тетразольними фрагментами як потенційних комплексоутворювачів [32] (рис. 9).

Вінцем цих досліджень можна вважати створення сорбційного матеріалу для вилучення важких металів і радіонуклідів, який було одержано послідовним інкорпоруванням 1,2,3- та 1,2,4-триазольних і тетразольного фрагментів на поверхню твердого носія — смоли Мерріфілда. Показано, що отриманий у такий



**Рис. 10.** Дизайн та синтез сорбційного матеріалу для вилучення важких металів та радіонуклідів



**Рис. 11.** Конструювання нових органічних світлодіодів

спосіб сорбент вилучає до 99 % іонів Eu (III) та 96% іонів Pb(II) з водних розчинів у діапазоні рН = 6,5–7,0, а отже, є перспективним для практичного використання [33] (рис. 10).

Співробітники кафедри органічної хімії Львівського національного університету імені Івана Франка доктор хімічних наук Назарій Походило та професор Микола Обушак за-

стосували синтетично важливу некаталітичну модифікацію клік-реакції, так звану органо-клік-реакцію ароматичних азидів із трифторометилвмісними  $\beta$ -дикетонами, для синтезу 4-ароїл-1,2,3-триазолів з подальшим купрокаталітичним карбазолоюванням фторофенільного фрагмента для створення нових органічних світлодіодів (OLEDs) [34] (рис. 11). Синтезовані сполуки, завдяки утворенню ексиплексу між ковалентно зв'язаними електродонорним карбазольним фрагментом та електрооакцепторним фрагментом 1,2,3-триазолу з невеликим

синглетно-триплетним розщепленням, проявляють яскраве свічення за механізмом термічно активованої довготривалої флуоресценції.

Отже, лише окремі наведені вище приклади переконливо свідчать, що українська наука впевнено рухається в руслі сучасних трендів, зокрема у напрямі клік-хімії, відзначеному Нобелівською премією 2022 р. Українські вчені мають визначні досягнення, спрямовані на вирішення нагальних проблем тонкого органічного синтезу, медичної хімії та органічного матеріалознавства.

## REFERENCES

1. Kolb H.C., Finn M.G., Sharpless K.B. Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2001. **40**(11): 2004–2021. [https://doi.org/10.1002/1521-3773\(20010601\)40:11<2004::aid-anie2004>3.3.co;2-x](https://doi.org/10.1002/1521-3773(20010601)40:11<2004::aid-anie2004>3.3.co;2-x)
2. Finn M.G., Fokin V.V. Click chemistry: function follows form. *Chem. Soc. Rev.* 2010. **39**(4): 1231–1232. <https://doi.org/10.1039/c003740k>
3. Michael A.J. Ueber die Einwirkung von Diazobenzolimid auf Acetylen dicarbon sauremethyl ester. *J. Pract. Chem.* 1893. **48**: 94–95. <https://doi.org/10.1002/PRAC.18930480114>
4. Husgen R. 1,3-Dipolar Cycloadditions. Past and Future. *Angew. Chem. Int. Ed.* 1963. **2**(10): 565–632. <https://doi.org/10.1002/anie.196305651>
5. Rostovtsev V.V., Green L.G., Fokin V.V., Sharpless K.B. A Stepwise Huisgen Cycloaddition Process: Copper(I)-Catalyzed Regioselective Ligation of Azides and Terminal Alkynes. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2002. **41**(14): 2596–2599. [https://doi.org/10.1002/1521-3773\(20020715\)41:14<2596::AID-ANIE2596>3.0.CO;2-4](https://doi.org/10.1002/1521-3773(20020715)41:14<2596::AID-ANIE2596>3.0.CO;2-4)
6. Tornøe C.W., Christensen C., Meldal M. Peptidotriazoles on Solid Phase: [1,2,3]-Triazoles by Regiospecific Copper(I)-Catalyzed 1,3-Dipolar Cycloadditions of Terminal Alkynes to Azides. *J. Org. Chem.* 2002. **67**(9): 3057–3064. <https://doi.org/10.1021/jo011148j>
7. Codelli J.A., Baskin J.M., Agard N.J., Bertozzi K. A Strain-Promoted [3 + 2] Azide–Alkyne Cycloaddition for Covalent Modification of Biomolecules in Living Systems. *J. Amer. Chem. Soc.* 2004. **126**(46): 15046–15047. <https://doi.org/10.1021/ja044996f>
8. Meldal M., Tornøe C.W. Cu-Catalyzed Azide–Alkyne Cycloaddition. *Chem. Rev.* 2008. **108**(8): 2592–3015. <https://doi.org/10.1021/cr0783479>
9. Rani A., Singh G., Singh A., Magbool U., Kaur G., Singh J. CuAAC-ensembled 1,2,3-triazole-linked isosteres as pharmacophores in drug discovery: review. *RSC Adv.* 2020. **10**: 5610–5635. <https://doi.org/10.1039/C9RA09510A>
10. Zhang X., Zhang S., Zhao S., Wang X., Liu B., Xu H. Click Chemistry in Natural Product Modifications. *Front. Chem.* 2021. **9**: art. 774977. <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.774977>
11. Perrone D., Marchesi E., Preti L., Navacchia M.L. Modified Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids via Click Azide–Alkyne Cycloaddition for Pharmacological Applications. *Molecules.* 2021. **26**(11): 3100. <https://doi.org/10.3390/molecules26113100>
12. Taemaitree L., Shivalingam A., El-Sagheer A.H., Brown T. An artificial triazole backbone linkage provides a split-and-click strategy to bioactive chemically modified CRISPR sgRNA. *Nat. Commun.* 2019. **10**: 1610. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-09600-4>
13. Geng Z., Shin J.J., Xi Y., Hawker C.J. Click chemistry strategies for the accelerated synthesis of functional macromolecules. *J. Polym. Sci.* 2021. **59**(11): 963–1042. <https://doi.org/10.1002/pol.20210126>
14. Wu P., Feldman A.K., Nugent A.K., Hawker C.J., Scheel A., Voit B., Pyun J., Fréchet M.J., Sharpless K.B., Fokin V.V. Efficiency and fidelity in a click-chemistry route to triazole dendrimers by the copper(I)-catalyzed ligation of azides and alkynes. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 2004. **43**(30): 3928–3933. <https://doi.org/10.1002/anie.200454078>

15. Mantovani G., Ladmiraal V., Tao L., Haddleton D.M. One-pot tandem living radical polymerisation–Huisgens cycloaddition process (“click”) catalysed by N-alkyl-2-pyridylmethanimine/Cu(I)Br complexes *Chem. Commun.* 2005. **16**: 2089–2091. <https://doi.org/10.1039/B500558B>
16. Dürr C.J., Emmerling S.G.J., Lederhose P., Kaiser A., Brandau S., Klimpel M., Barner-Kowollik C. High molecular weight acrylonitrile–butadiene architectures via a combination of RAFT polymerization and orthogonal copper mediated azide–alkyne cycloaddition. *Polym. Chem.* 2012. **3**(4): 1048–1060. <https://doi.org/10.1039/C2PY00547F>
17. Sanchez-Sanchez A., Pérez-Baena I., Pomposo J.A. Advances in Click Chemistry for Single-Chain Nanoparticle Construction. *Molecules.* 2013. **18**: 3339–3355. <https://doi.org/10.3390/molecules18033339>
18. Ruiz de Luzuriaga A., Ormategui N., Grande H.J., Odriozola I., Pomposo J.A., Loinaz I. Intramolecular click cycloaddition: an efficient room-temperature route towards bioconjugable polymeric nanoparticles. *Macromol. Rapid Commun.* 2008. **29**: 1156–1160. <https://doi.org/10.1002/marc.200700877>
19. Ruiz de Luzuriaga A., Perez-Baena I., Montes S., Loinaz I., Odriozola I., García I., Pomposo J.A. New route to polymeric nanoparticles by click chemistry using bifunctional cross-linkers. *Macromol. Symp.* 2010. **296**(1): 303–310. <https://doi.org/10.1002/masy.201051042>
20. Sletten E.M., Bertozzi C.R. Bioorthogonal Chemistry: Fishing for Selectivity in a Sea of Functionality. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2009. **48**(38): 6974–6998. <https://doi.org/10.1002/anie.200900942>
21. Carell T., Vrabel M. Bioorthogonal Chemistry – Introduction and Overview. *Top. Curr. Chem.* 2016. **374**(9): 1–21. <https://doi.org/10.1007/s41061-016-0010-x>
22. Tian J., Lin Q. Fitness Factors for Bioorthogonal Chemical Probes. *ACS Chem. Biol.* 2019. **14**(12): 2489–2496. <https://doi.org/10.1021/acscchembio.9b00755>
23. Scheck R.A., Dedeo M.T., Lavarone A.T., Francis M.B. Optimization of a Biomimetic Transamination Reaction. *J. Amer. Chem. Soc.* 2008. **130**(35): 11762. <https://doi.org/10.1021/ja802495w>
24. Muir T.W. Semisynthesis of Proteins by Expressed Protein Ligation. *Annu. Rev. Biochem.* 2003. **72**: 249–289. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.72.121801.161900>
25. Giriat I., Muir T.W. Protein Semi-Synthesis in Living Cells. *J. Am. Chem. Soc.* 2003. **125**(24): 7180–7181. <https://doi.org/10.1021/ja034736>
26. Codelli J.A., Baskin J.M., Agard N.J., Bertozzi C.R. Second-Generation Difluorinated Cyclooctynes for Copper-Free Click Chemistry. *J. Am. Chem. Soc.* 2008. **130**(34): 11486–11493. <https://doi.org/10.1021/ja803086r>
27. Blackman M.L., Royzen M., Fox J.M. Fast Bioconjugation Based on Inverse-Electron-Demand Diels-Alder Reactivity. *J. Amer. Chem. Soc.* 2008. **130**(41): 13518–13519. <https://doi.org/10.1021/ja8053805>
28. Rossin R., Versteegen R.M., Wu J., Khasanov A., Wessels H.J., Steenbergen E.J., Hoeve W.T., Janssen H.M., van Onzen A.H., Hudson P.J., Robillard M.S. Chemically triggered drug release from an antibody–drug conjugate leads to potent antitumour activity in mice. *Nat. Commun.* 2018. **9**: 1484. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-03880-y>
29. Shulov I., Rodik R.V., Arntz Y., Reisch A., Kalchenko V.I., Klymchenko A.S. Protein-sized bright fluorogenic nanoparticles based on cross-linked calixarene micelles with cyanine corona. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2016. **55**(51): 15884–15888. <https://doi.org/10.1002/anie.201609138>
30. Mazur M.O., Zhelavskiy O.S., Zviagin E.M., Shishkina S.V., Musatov V.I., Kolosov M.A., Shvets E.H., Andryushchenko A.Yu., Chebanov V.A. Effective Microwave-Assisted Approach to 1,2,3-triazolobenzodiazepinones via Tandem Ugi-Reaction / Catalyst-Free Intramolecular Azide–Alkyne Cycloaddition. *Beilstein J. Org. Chem.* 2021. **17**: 678–687. <https://doi.org/10.3762/bjoc.17.57>
31. Murlykina M.V., Pavlovska T.L., Semenenko O.M., Kolomiets O.V., Sanin E.V., Morozova A.D., Kornet M.M., Brazhko A.A., Musatov V.I., Kulyk K.V., Mazepa A.V., Lipson V.V., Chebanov V.A. Effective and versatile construction of hybrid-molecules combining natural betulonic acid core and synthetic heterocycle-containing peptidomimetic fragments and their microbiological properties. *Europ. J. Org. Chem.* in press.
32. Zviagin E., Saraev V., Sysoiev D., Klepetářová D., Mazur M., Zhelavskiy O., Shliapkina Yu., Müller Th.J.J., Chebanov V. Synthesis of 1-(3-(1-substituted-1,2,3-triazol-4-yl)-1,2,4-triazol-5-yl)-tetrazoles by sequential assembly ofazole fragments. *Chemistry Select.* 2021. **6**(45): 12890–12894. <https://doi.org/10.1002/slct.202102459>
33. Zviagin I.M., Khimchenko S.V., Blank T.A., Shcherbakov I.B.-Kh., Bryleva E.Yu., Bunina Z.Yu., Sofronov D.S., Belikov K.N., Chebanov V.A. Merrifield resin-linked polyazole-based sorbent for heavy metal ions extraction from water. *Functional Materials.* 2018. **25**(3): 619–624. <https://doi.org/10.15407/fm25.03.619>
34. Stanitska M., Mahmoudi M., Pokhodylo N., Lytvyn R., Volyniuk D., Tomkeviciene A., Keruckiene A., Obushak M., Grazulevicius J.V. Exciplex-Forming Systems of Physically Mixed and Covalently Bonded Benzoyl-1H-1,2,3-Triazole and Carbazole Moieties for Solution-Processed White OLEDs. *J. Org. Chem.* 2022. **87**(6): 4040–4050. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.1c02784>

*Mykhailo V. Vozk*

Institute of Organic Chemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1753-3535>

CLICK CHEMISTRY AND BIOORTHOGONAL REACTIONS:  
A BREAKTHROUGH IN THE ERA OF FUNCTIONALITY IN CHEMISTRY

Nobel Prize in Chemistry 2022

This year the Nobel Prize in Chemistry was awarded to American researchers Carolyn Bertozzi and Barry Sharpless and Danish chemist Morten Meldal “for the development of click chemistry and bioorthogonal chemistry”. As stated in the press release of the Nobel Committee, B. Sharpless and M. Meldal “have laid the foundation for a functional form of chemistry – click chemistry – in which molecular building blocks snap together quickly and efficiently”. C. Bertozzi, in turn, “has taken click chemistry to a new dimension and started utilising it in living organisms. ...Her bioorthogonal reactions take place without disrupting the normal chemistry of the cell. These reactions are now used globally to explore cells and track biological processes. ...Click chemistry and bioorthogonal reactions have taken chemistry into the era of functionalism. This is bringing the greatest benefit to humankind”.

**Keywords:** Nobel Prize in Chemistry 2022, click chemistry, bioorthogonal reactions, functionality, Carolyn Bertozzi, Barry Sharpless, Morten Meldal.