

SYNTHETIC ANTI-HIV/AIDS MEDICINES

V. A. OSTROVSKII

The problems of molecular design and directed synthesis of components of medicinal drugs used in HIV therapy are described. The strategy of chemical synthesis of inhibitors of the HIV reverse transcriptase and protease are discussed. The chemical formulas of modern anti-HIV drugs are given.

Статья посвящена проблемам структурного моделирования и направленного синтеза компонентов лекарственных коктейлей, используемых в терапии СПИДа. Обсуждается стратегия синтеза ингибиторов обратной транскриптазы и протеазы ВИЧ. Приведены химические формулы современных лекарственных препаратов.

СИНТЕТИЧЕСКИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА ПРОТИВ ВИЧ / СПИД

В. А. ОСТРОВСКИЙ

Санкт-Петербургский государственный
технологический институт

ВВЕДЕНИЕ

Уходящий XX век ознаменован появлением нового, воистину грозного заболевания – синдрома приобретенного иммунного дефицита (СПИД, или AIDS). В лабораториях Монтанье (Франция, 1983 год) и Галло (США, 1984 год) впервые выделен и охарактеризован вирус, вызывающий это заболевание, называемый, согласно рекомендации ВОЗ, вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ, или HIV). Полагают, что заболевание возникло во второй половине нашего века в Центральной Африке, откуда распространилось в страны Карибского бассейна, затем в США и Европу.

ВИЧ является представителем группы ретровирусов, его мишенью являются Т4-лимфоциты или CD4-клетки, регулирующие работу иммунной системы. Попав в клетку, вирус может оставаться в латентном состоянии до 8–10 лет. Активация Т4-лимфоцитов под действием вторичной инфекции стимулирует стремительное размножение вирусных частиц. Последние, покидая клетку, полностью разрушают клеточную мембрану, что приводит к гибели Т4-лимфоцитов. Организм, лишенный естественной защиты, подвержен многочисленным, в том числе редким, смертельным болезням (саркома Капоши, пневмоцистная пневмония и др.), обычно неопасным для организма здорового молодого человека.

Коварство ВИЧ усугубляется его чрезвычайно высокой способностью к мутациям. Выделены многочисленные варианты ВИЧ, различающиеся по первичной структуре РНК. Число жертв ВИЧ-инфекции на планете уже сопоставимо с числом погибших в двух последних мировых войнах. По мнению экспертов, заболевание быстро распространяется по континентам (стадия пандемии), реально угрожая человеческой популяции.

На фоне грядущего апокалипсиса различимы достижения лекарственной терапии в борьбе против ВИЧ. Впечатляют объем и размах исследований, выполненных в сравнительно небольшой промежуток времени. Разработана доктрина лекарственной терапии, опирающаяся на эффективные синтетические лекарственные средства. Проведен комплекс лабораторных и клинических испытаний новых препаратов. Наконец, реализованы варианты промышленной

технологии изготовления субстанций (химической основы препарата) и готовых лекарственных форм.

В статье изложены основы стратегии конструирования и направленного синтеза лекарственных средств, применяемых в химиотерапии СПИД.

СТРОЕНИЕ И ЖИЗНЕННЫЙ ЦИКЛ ВИЧ

В основе современной стратегии синтеза лекарственных средств против ВИЧ лежат представления о строении и жизненном цикле вирусной частицы (вириона). Во внутренней полости вириона ВИЧ находятся две одинаковые молекулы РНК (около 5700 нуклеотидных остатков каждая), два типа внутренних белков: р18 и р24 (цифры обозначают молекулярную массу в тысячах Дальтон), а также особые вирусные ферменты. В наибольшей степени изучено действие двух ферментов ВИЧ: обратной транскриптазы и протеазы. Оболочка вируса сформирована гликопротеинами – gp120 и gp41, а также липидами. В ретровирусной РНК закодированы структурные вирусные белки, а также вирусспецифические ферменты.

Частица ВИЧ сначала адсорбируется на поверхности клетки Т4-лимфоцита, затем впрыскивает в цитоплазму матричную мРНК и обратную транскриптазу (рис. 1, 1). Фермент-обратная транскриптаза катализирует синтез провирусной ДНК на матрице вирусной РНК (рис. 1, 2). Далее следуют репликация ДНК, образование дуплексной ДНК, проникновение дуплекса в ядро клетки (рис. 1, 3).

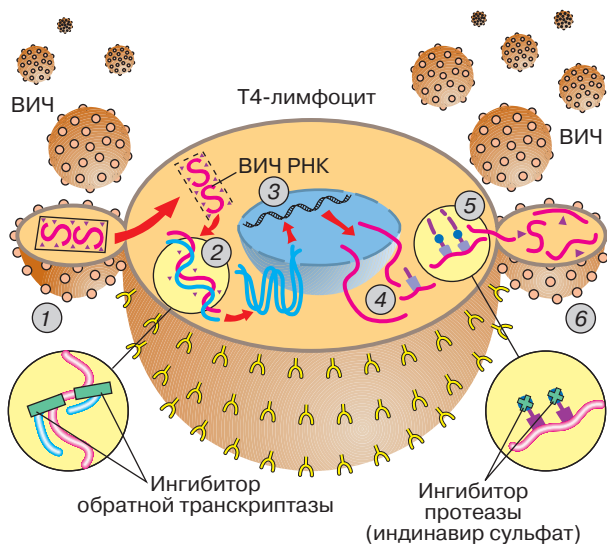


Рис. 1. Важнейшие фазы (1–6) жизненного цикла ВИЧ, объяснения даны в тексте, кружками выделено действие ингибиторов обратной транскриптазы (2) и ингибитора протеазы – Indinavir sulphate (5) (из ст.: *Gopinath L. Drug Cocktails Fight HIV // Chemistry in Britain. 1997. № 6. P. 37–40*)

Вирусная ДНК встраивается в хромосомную ДНК и впоследствии служит основой для репликации ВИЧ.

Процесс репликации включает транскрипцию вирусспецифических РНК на встроенной в хромосому провирусной ДНК, перенос РНК в рибосомный аппарат зараженной клетки, где осуществляется биосинтез вирусных белков (рис. 1, 4).

На завершающих этапах жизненного цикла ВИЧ происходит сборка вирусных частиц. Здесь важная роль принадлежит высокоспецифичной протеазе (рис. 1, 5). Этот фермент нарезает предшественника вирусных белков на относительно короткие полипептидные цепи, способствуя проникновению новых вирусных частиц в клетки организма-хозяина (рис. 1, 6).

ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА ПРОТИВ ВИЧ

Задача лекарственной терапии СПИДа в современном понимании сводится к блокированию одной или нескольких стадий жизненного вируса ВИЧ при помощи химических соединений определенного строения. Главными мишенями лекарственных средств являются ВИЧ-специфическая обратная транскриптаза и протеаза. Важно, что упомянутые ферменты действуют на различных стадиях жизненного цикла вируса (см. рис. 1).

Как известно, вещества, подавляющие течение ферментативных реакций, называются ингибиторами ферментов, а сам процесс угнетения активности фермента – ингибированием. Ингибитор избирательно по принципу ключ–замок реагирует с определенными химическими группировками активного центра – особого участка белковой молекулы фермента, который обеспечивает его специфическое соединение с субстратом и каталитическую активность. Молекула ингибитора должна наилучшим образом соответствовать пространственному рельефу и природе химических групп активного центра фермента. Возможен и косвенный механизм ингибирования, когда в ферментативный процесс вовлекается имитатор – заменитель естественного субстрата. В любом случае к электронному и пространственному строению ингибитора предъявляются исключительно жесткие требования.

Создание ингибиторов ферментов начинается с конструирования молекулярной структуры при помощи специализированных компьютерных программ, физических пространственных моделей и, безусловно, опыта и интуиции ученых. Этот важный творческий процесс называется молекулярным дизайном. Не углубляясь в детали методологии компьютерной сборки биологически активных молекул (эта проблема освещена в [1]), проследим на качественном уровне логику специалистов, занятых направленным синтезом ингибиторов ферментов ВИЧ.

Ингибиторы обратной транскриптазы ВИЧ. Итак, обратная транскриптаза ВИЧ катализирует синтез провирусной ДНК по матрице РНК. Отсюда возникает искушение вмешаться в процесс элонгации растущей цепи ДНК. Этот процесс происходит поэтапно путем присоединения мономеров к 3'-концу растущей полимерной цепи ДНК. Субстратами этой реакции служат 2'-дезоксинуклеозид-5'-трифосфаты (dNTP).

Что произойдет, если подменить природный субстрат dNTP на аналог, в котором группа 3'-ОН, необходимая для элонгации (роста цепи), отсутствует или заменена на другую функциональную группу? При включении молекулы бракованного нуклеотида в конец растущей цепи ДНК дальнейшее удлинение цепи станет невозможным из-за отсутствия в положении 3' гидроксильной группы. Подобный "троянский конь" исполнит роль терминатора провирусной ДНК. Отсюда и определение "терминаторные субстраты", присвоенное аномальным (3'-модифицированным) нуклеозидтрифосфатам.

Системный поиск субстратов в ряду 3'-модифицированных аналогов dNTP выявил группу ингибиторов обратной транскриптазы, известную под аббревиатурой NARTIs (нуклеозидные аналоги ингибиторов обратной транскриптазы).

Первым из NARTIs, принесшим реальный успех в лечении и профилактике ВИЧ-инфекции, был 3'-азидо-2',3'-дидезокситимидин (АЗТ, AZT). Этот нуклеозид является производным пиримидинового нуклеозида тимидина (предшественник соответствующего dNTP). Единственное структурное отличие состоит в том, что вместо группы ОН в положении 3' углеводного цикла молекулы тимидина находится азидная (N₃) группа. Любопытно, что органические азиды – производные исключительно токсичной и взрывоопасной азотистоводородной кислоты (HN₃) – более известны как энергоемкие вещества, имеющие применение в оборонной технике.

Итак, АЗТ превращается в клетке в нуклеозидтрифосфат, включается в конец новорастущей цепи ДНК провируса и терминирует дальнейший рост последней (рис. 2). О защитном действии АЗТ на лимфоциты человека, инфицированные ВИЧ, впервые сообщили Мицуэ с соавторами в 1984 году, хотя сам азидотимидин впервые синтезирован задолго до этой публикации (Хорвитц, 1964 год). Уже в 1987 году английская фирма "Wellcome Foundation" (в настоящее время "Glaxo Wellcome") выпустила на основе субстанции АЗТ лекарственный препарат Retrovir, предназначенный для химиотерапии СПИДа.

АЗТ находился вне конкуренции на рынке вплоть до 1991 года, когда фирмы "Roche" и "Bristol-Myers Squibb" выдвинули на рынок конкурентные NARTIs: 2',3'-дидезоксицитидин (ddC), 2',3'-дидезоксиинозин (ddI), 2',3'-дидезокси-2',3'-диде-

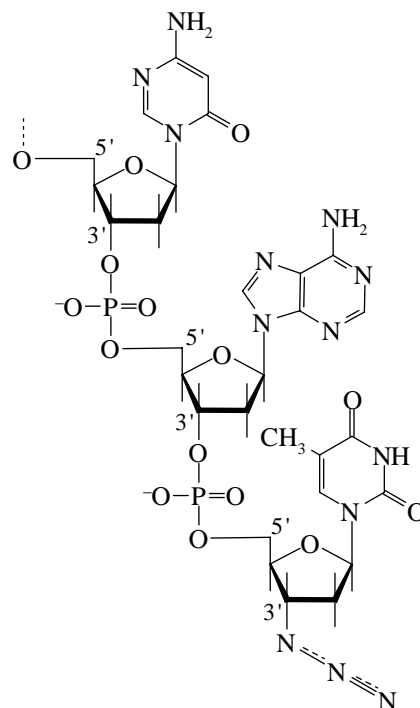


Рис. 2. Фрагмент цепи провирусной ДНК с 3'-азидо-2',3'-дидезокситимидином (АЗТ) в качестве терминаторного субстрата

гидротимидин (d₄T) и 2',3'-дидезокси-3'-тиоцитидин (ЗТС) (рис. 3, табл. 1).

Необходимость расширения арсенала NARTIs была обусловлена тем, что ВИЧ быстро вырабатывает резистентность (устойчивость) по отношению к лекарству. При продолжительном приеме только АЗТ его действие может практически исчезнуть. Кроме того, при длительной монотерапии NARTIs у пациентов отмечается побочное действие: головные и мышечно-скелетные боли, тошнота, расстройства функций печени и поджелудочной железы. Возможным решением проблемы токсичности АЗТ и других NARTIs является применение в качестве блокатора репродукции ВИЧ 5'-монофосфатов нуклеозидов. Дело в том, что фосфорилирование модифицированных нуклеозидов клеточными ферментами до

Таблица 1. NARTIs на рынке лекарственных средств

Аббревиатура	Название производителя	Торговая марка	Производитель
AZT	Zidovudine	Retrovir	"Glaxo Wellcome"
ddC	Zalcitabine	Hivide	"Roche"
ddI	Didanosine	Videx	"Bristol-Myers Squibb"
d ₄ T	Stavudine	Zerit	"Bristol-Myers Squibb"
ЗТС	Lamivudine	Epivir	"Glaxo Wellcome"

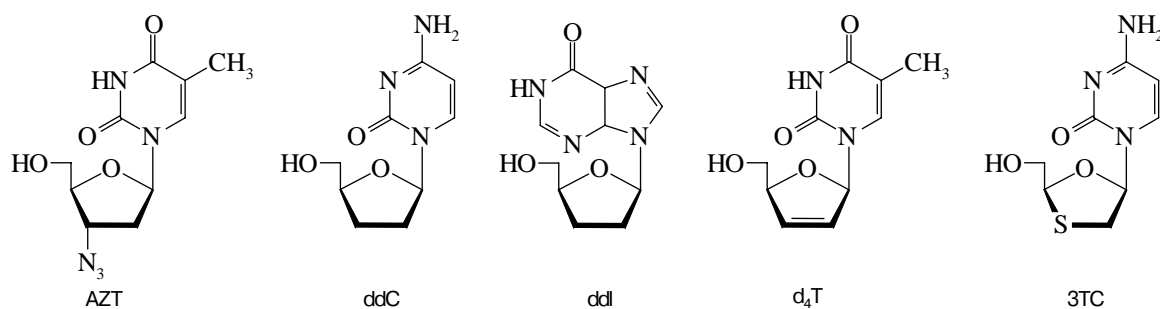
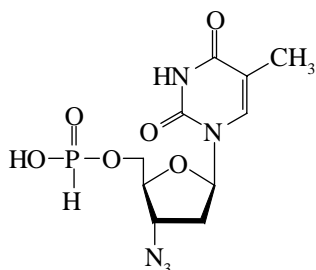


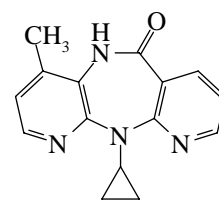
Рис. 3. Нуклеозидные аналоги ингибиторов обратной транскриптазы (NARTIs), объяснения даны в тексте

соответствующих 5'-трифосфатов осуществляется значительно труднее, чем природных, что требует создания высокой концентрации нуклеозидного субстрата в клетке. Лимитирующей стадией в процессе превращения нуклеозида в соответствующий 5'-трифосфат является введение первого фосфатного остатка. Одно из наиболее перспективных соединений – “Фосфазид” (5'-Н-фосфонат 3'-азидо-2',3'-дидезокситимидина), синтезированных в России А.А. Краевским и сотрудниками успешно прошло доклинические испытания.



Современная химиотерапия СПИДа предусматривает использование NARTIs в сочетании как друг с другом, так и с препаратами ненуклеозидной природы. Как следует из рассмотренного механизма ингибирования, NARTIs, вмешиваясь в клеточный метаболизм, не подавляют, а скорее извращают деятельность обратной транскриптазы. Предложены и исследуются соединения, предназначенные непосредственно для связывания обратной транскриптазы в устойчивый комплекс фермент – субстрат. Они получили аббревиатурное название NNRTIs (ингибиторы обратной транскриптазы ненуклеозидной природы). Пространственная конфигурация функциональных групп молекул NNRTIs по замыслу ученых наилучшим образом отвечает объемному рельефу и химической природе активного центра фермента.

Ниже приведена формула одного из NNRTIs, принадлежащего к ряду дигидро[3,2-*b'*-2',3'-*e'*] [1,4]диазепина и известного специалистам под шифром (названием) BI-RG-587 (nevirapine).



Препараты группы NNRTIs провоцируют меньший набор побочных эффектов и применяются при быстрой резистенции ВИЧ к NARTIs. Однако известные соединения данной группы эффективны только в сочетании с NARTIs, а также перспективны в краткосрочной терапии, включая профилактику передачи инфекции от матери к плоду.

Ингибиторы протеазы ВИЧ. Ингибиторы протеазы (протеиназы) ВИЧ относятся к новому поколению лекарственных препаратов. Первые сообщения об успешном применении этих соединений появились не более пяти лет назад.

Проектируя молекулярную структуру ингибитора протеазы, исследователи пытаются учесть индивидуальные особенности этого необычного фермента. Дело в том, что протеаза активна только в форме димера, состоящего из двух одинаковых субъединиц этого белка (рис. 4). Задача ингибитора – воспрепятствовать процессу димеризации, связав субъединицы протеазы в неактивные комплексы мономер фермента – ингибитор.

Необходимым условием димеризации является переплетение С-концевого звена одного мономера протеазы с и N-концевым звеном другого. Эти звенья, напоминающие щупальца осьминогов (рис. 4), имеют определенный химический состав и пространственную конфигурацию. Молекула потенциального ингибитора должна как можно эффективнее изолировать звенья двух различных мономеров от взаимного контакта. Только в этом случае можно помешать фатальной сборке активного димера протеазы (см. рис. 4).

Образно говоря, поиск молекулярной структуры ингибитора сродни труду скульптора. Первоначально с помощью объемного моделирования снимают точный слепок с рельефа контактных поверхностей

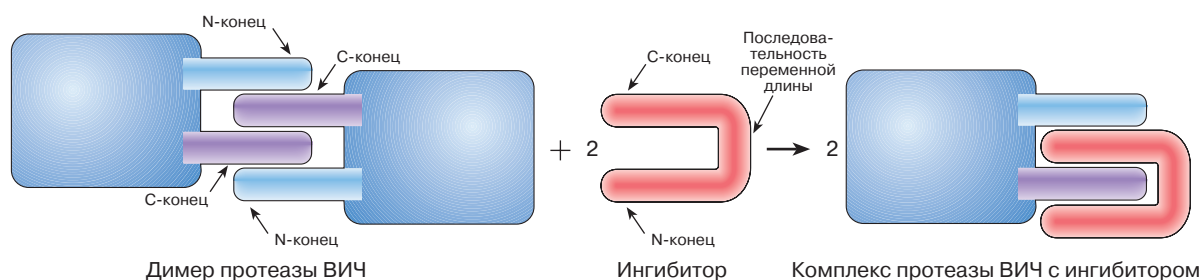


Рис. 4. Действие ингибитора димеризации мономера протеазы ВИЧ. Образование комплекса ингибитор протеазы – мономер препятствует появлению гомодимера протеазы ВИЧ (из ст.: *Chmielewski J. et al. Targeting the Dimerization with Cross-Linked Interfacial Peptides // J. Amer. Chem. Soc. 1997. Vol. 119, № 21. P. 4841–4845*)

фермента. Получают с точностью до нескольких ангстрем пространственный образ С- и N-терминальных звеньев протеазы. По этому слепку “отливают” молекулярную структуру потенциального ингибитора димеризации. Вынутая из воображаемой формы молекула ингибитора протеазы напоминает драгоценное кольцо или гирлянду с медальонами.

Рассмотрим структуры четырех ингибиторов протеазы, которые не только отличились в лабораторных экспериментах *in vitro* или в опытах с животными, но и прошли горнило предклинических и клинических испытаний на людях. Эти соединения разрешены к применению головной американской правительственной организацией FDA (US Food and Drug Administration’s) как средства против ВИЧ и предложены ведущими фирмами на фармацевтический рынок (рис. 5, табл. 2).

Отметим общие структурные особенности пептидной цепи ингибиторов протеазы. Все молекулы (рис. 5) содержат как моноциклические, так и конденсированные (полиядерные с общей для двух циклов связью) фрагменты азотистых гетероциклов. Напомним, что азотсодержащие гетероциклы являются уникальными акцепторами водородных связей и комплексонами. Эти свойства обеспечивают молекулам, содержащим гетероциклические фрагменты, прочный контакт с партнером, в том числе с соответствующими участками белковой молекулы фермента. В молекулярной структуре ингибиторов протеазы (рис. 5) различимы также разветвленные алкильные, например *трет*-бутильный, радикалы, которые придают веществам липофильные свойст-

ва, необходимые для успешного проникновения лекарства через клеточные мембраны. Очевидно, что такой богатый арсенал активных функциональных групп способен обеспечить высокую устойчивость комплекса фермент–ингибитор, а значит, и эффективность лекарственного средства.

В клинической практике последних лет отчетливо проявилась тенденция перехода к комбинационной терапии СПИДа. Данный термин подразумевает лечение лекарственными “коктейлями”, составленными из ингибиторов обратной транскриптазы и протеазы. При правильном подборе компонентов коктейля возможно достижение синергического действия, заметно превышающего эффект от применения индивидуальных средств. В пользу комбинаторной терапии свидетельствует тот факт, что некоторые пациенты, приближающиеся к терминальной стадии, получили облегчение и даже вернулись к работе после прохождения курса комбинационной химиотерапии.

Однако у противников этого направления также достаточно аргументов. Один из них (и весьма веский) – высокая стоимость коктейлей. Полный курс комбинационной терапии обходится пациенту в десятки, а иногда сотни тысяч долларов. Это практически лишает шансов на полноценное лечение пациентов из развивающихся стран, в которых сосредоточено до 80% из выявленных ВИЧ-инфицированных и больных людей.

Главной причиной недостаточной доступности ингибиторов вирусных ферментов является сложность и многостадийность процесса химического синтеза этих соединений. Именно здесь скрыты реальные резервы упрощения технологии (снижения цены препаратов) за счет сокращения числа и продолжительности отдельных стадий синтеза, оптимизации реакционных условий, упрощения оборудования, утилизации и регенерации отходов. В связи с этим на первый план выходят проблемы стратегии и тактики направленного тонкого органического синтеза лекарственных средств против ВИЧ.

Таблица 2. Ингибиторы протеазы на рынке лекарственных средств

Название производителя	Торговая марка	Производитель
Saquinavir	Invirase	“Roche”
Ritnavir	Norvir	“Abbott Laboratories”
Indinavir	Crixivan	“Merck Sharp & Dochm”
Nelfinavir	Viracept	“Agouron”

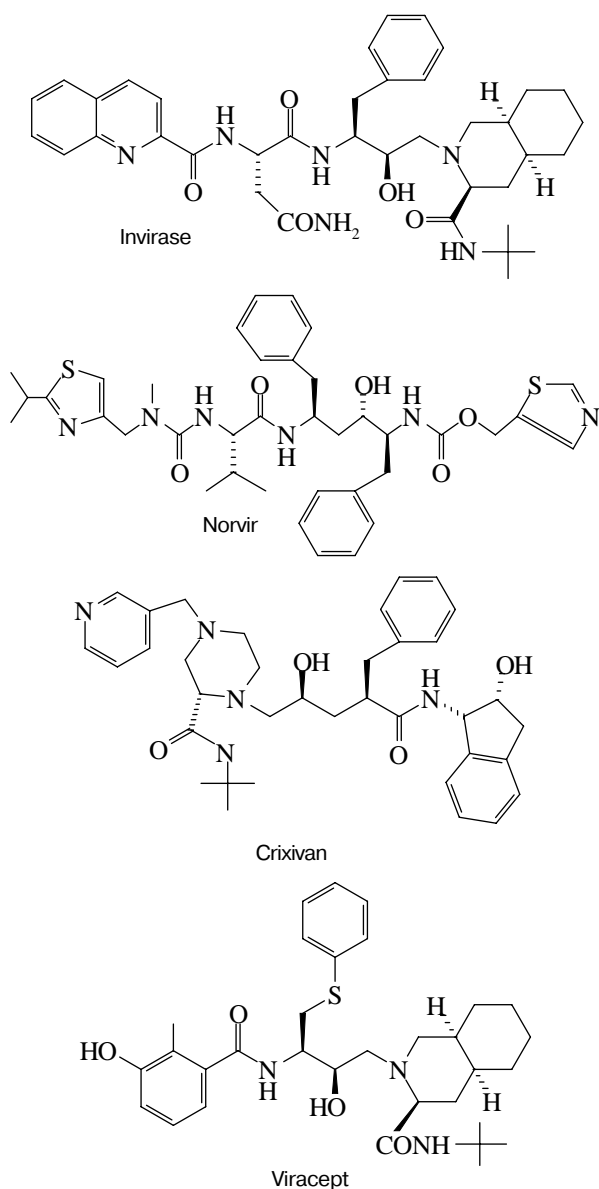


Рис. 5. Ингибиторы протеазы ВИЧ, разрешенные к применению в клинической практике

СТРАТЕГИЯ СИНТЕЗА КОМПОНЕНТОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ “КОКТЕЙЛЕЙ”

Рассмотрим элементы стратегии синтеза ингибиторов обратной транскриптазы и протеазы. В качестве примера произвольно выбраны АЗТ и Invirase.

АЗТ. Произведем мысленную разборку молекулы целевого нуклеозида на более простые соединения-предшественники. Эта процедура, известная под названием “ретросинтетический анализ”, широко применяется при разработке стратегии синтеза сложных молекул.

Демонтаж молекулы АЗТ можно начать с разрыва одной из двух стратегических связей, обеспечивающих индивидуальность структуры. В первом случае это связь между атомом N¹ пиримидинового основания и атомом C^{1'} углеводного цикла. Во втором – связь между атомом C^{3'} и головным атомом азота азидной группы.

Даже ограничившись дебютными ходами ретросинтетического анализа, можно предложить две альтернативные схемы синтеза АЗТ (1). Один из этих путей состоит в конденсации производных 3'-азидо-2,3'-дидезоксирибофуранозидов (2), которые формально являются продуктами азидирования 2-дезокси-D-рибозы (6), с производными тимина (4), а другой – в серии химических превращений с целью замещения 3'-гидроксила тимидина (5) на остаток азотистоводородной кислоты (3) (схема 1).

На практике оба пути синтеза реализуются достаточно сложно. В промышленном варианте реализован метод синтеза АЗТ из относительно доступного тимидина. Следует обратить внимание на тонкие химические превращения, лежащие в основе этого варианта. Весь синтез напоминает хорошо рассчитанную шахматную партию. В дебюте вводят защитную группу, блокирующую реакционную способность 5'-гидроксила. Затем следует активация 3'-гидроксильной группы под действием мезилхлорида, циклизация с образованием каркасного 5'-O-защищенного-2,3'-ангидротимидина. Последний азидируют, используя соли азотистоводородной кислоты (HN₃). На завершающих стадиях процесса

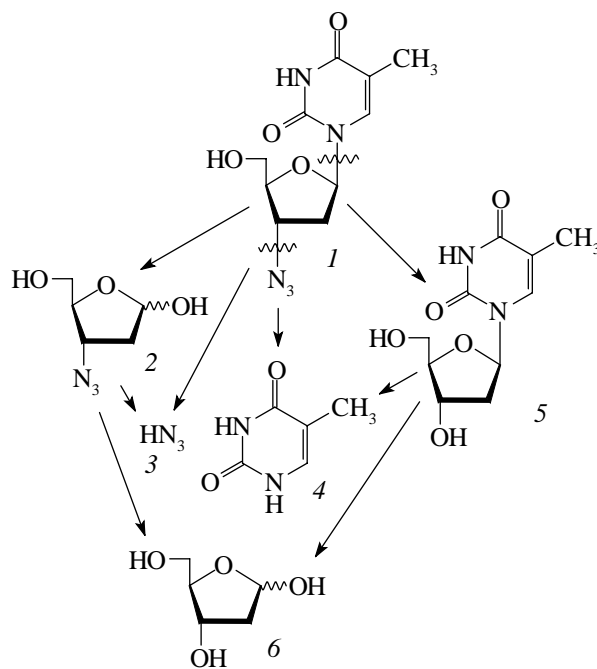


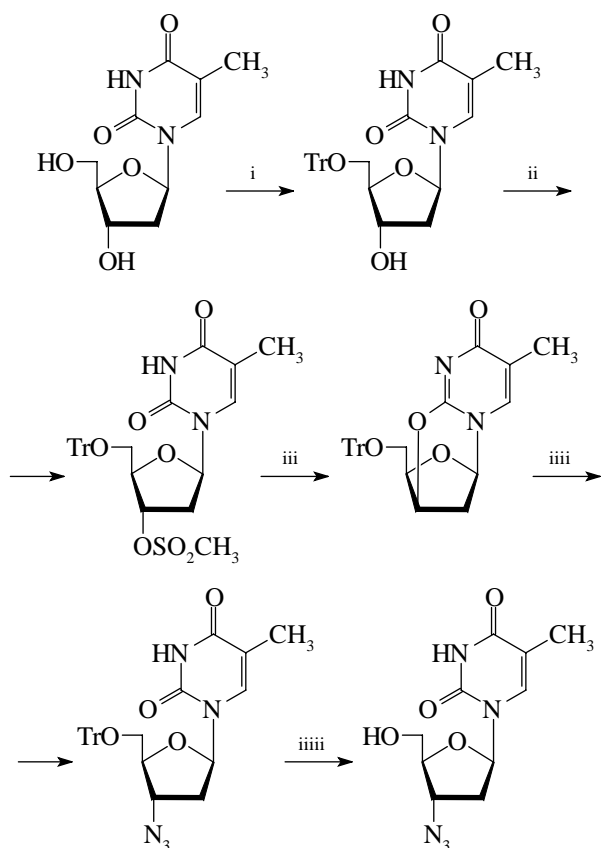
Схема 1

снимают защитную группу и подвергают целевой продукт тщательной очистке и аналитическому контролю качества (схема 2).

Очевидно, что подобный многостадийный синтез непросто осуществить даже в лаборатории, а тем более в условиях производства. Излишне говорить и о том, что выход полупродуктов на каждой стадии должен быть очень высок (не ниже 90%). В противном случае целевой продукт потеряет рентабельность из-за козней “арифметического дьявола” — фатального уменьшения выхода при большом числе элементарных стадий синтеза.

Invirase. Еще более сложен и проблематичен синтез ингибиторов протеазы. Справа приведен пример дебютного варианта ретросинтетического анализа, составленный по данным работы: *Parkes K.E.B. et al. // J. Org. Chem. 1994. Vol. 59, № 13. P. 3656–3664* (схема 3).

Молекулу (1) можно без усилий расчлнить на составляющие, в которых легко распознать образы известных и относительно доступных реаген-



i, $(\text{Ph})_3\text{CCl}$; ii, $\text{CH}_3\text{SO}_2\text{Cl}$; iii, NaOH , EtOH ;
iii, LiN_3 ; iiiii, $(\text{CH}_3)_2\text{NH}$, H_2O

Схема 2

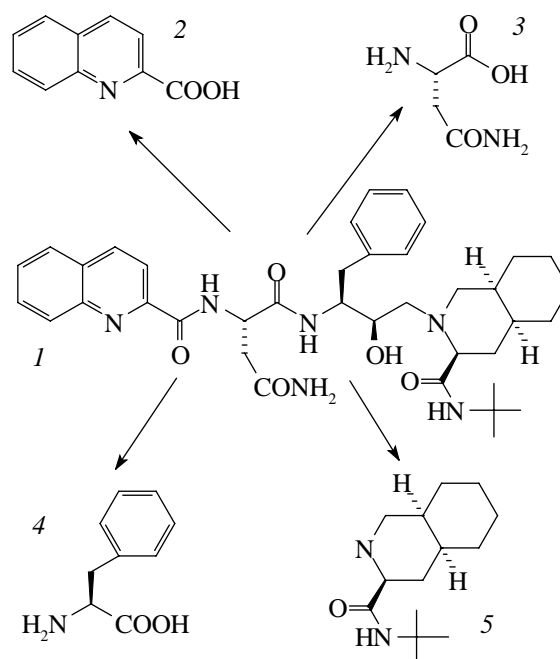


Схема 3

тов: 2-карбоксихинальдина (2), L-аспаргина (3), L-фенилаланина (4), а также производного декагидроизохинолина (5). Полную схему синтеза привести здесь невозможно, так как в первоначальном варианте она включала 26 стадий. При этом выход субстанции целевого вещества (1) не превышал 10%. Впоследствии благодаря знаниям и искусству химиков-синтетиков удалось сократить число стадий до 10, повысив выход целевого продукта до 38%.

Очевидно, что ингибиторы ферментов ВИЧ являются исключительно трудными объектами для освоения в производстве. По этой причине стоимость курса лечения коктейлями, содержащими NARTIs, NNRTIs и ингибиторы протеазы, очень высока и доступна только состоятельным пациентам. В связи с этим не прекращается поиск более дешевых компонентов лекарственных коктейлей против ВИЧ, содержащих достаточно простые химические вещества. Недавно опубликованы данные о синергическом эффекте композиций, содержащих NARTIs и N-гидроксимочевину. Сообщается, что комбинации ddI и гидроксимочевину соизмеримы по эффективности с аналогичными коктейлями, содержащими дорогие ингибиторы протеазы. Возможно, мы находимся на пороге новых подходов, дающих надежду миллионам жертв чумы XX века.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

За минувшие десять лет осознана опасность последствий распространения ВИЧ-инфекции. Разработана доктрина комбинационной терапии СПИДа

(лечение лекарственными коктейлями). Сформулированы принципы молекулярного конструирования синтетических лекарственных средств – ингибиторов ВИЧ-специфических ферментов. Новые препараты реально замедляют развитие ВИЧ-инфекции, облегчают страдания и повышают качество жизни жертв.

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. *Зефилов Н.С.* Компьютерный синтез // Соросовский Образовательный Журнал. 1997. № 7. С. 52–56.
2. *Галло Р.К.* Вирус синдрома приобретенного иммунного дефицита // В мире науки. 1987. № 3. С. 27–37.
3. *Покровский В.В.* Эпидемиология и профилактика ВИЧ-инфекции и “СПИДа”. М.: Медицина, 1996. 246 с.
4. *Краевский А.А., Бибилашвили Р.Ш., Куханова М.К., Райфельд Ю.Е.* Пути поиска лекарственных препаратов против СПИД // Хим.-фармацевт. журн. 1988. Т. 22, № 11. С. 1289–1302.
5. *Krayevsky A.A., Watanabe K.A.* Modified Nucleosides as Anti-Aids Drugs: Current Status and Perspectives. Moscow: Bioinform, 1993. 210 p.
6. *Агол В.И.* Разнообразие вирусов // Соросовский Образовательный Журнал. 1997. № 4. С. 11–16.
7. *Розенгард В.И.* Ферменты – двигатели жизни. Л.: Наука, 1983. 160 с.
8. *Евстигнеева Р.П.* Тонкий органический синтез. М.: Химия, 1991. 184 с.

* * *

Владимир Аронович Островский, доктор химических наук, профессор Санкт-Петербургского государственного технологического института. Область научных интересов – синтез, свойства и реакционная способность полиазотистых гетероциклов, катализ органических реакций. Автор одной монографии и более 200 научных статей.