

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации **Фомича Максима Александровича**
"Синтез избирательно дейтерированных полиненасыщенных жирных кислот и их производных",
представленной на соискание ученой степени **кандидата химических наук**
по специальности 02.00.03 – **органическая химия**

Диссертационная работа Максима Александровича Фомича посвящена новым методам синтеза, выделения и очистки ди- и полиненасыщенных жирных кислот, избирательно дейтерированных по бис-аллильным положениям, их производных и конъюгатов с олигонуклеотидами. Полученные соединения и разработанные подходы являются инструментом перспективных физико-химических и биологических исследований для изучения эффекта стабилизации бис-аллильных положений атомами дейтерия. Результаты диссертации использованы для разработки фармацевтических препаратов и изучения метаболизма полиненасыщенных жирных кислот.

В ходе выполнения диссертационной работы были решены следующие задачи:

1. Усовершенствован линейный синтетический подход к синтезу полиненасыщенных жирных кислот и масштабированы методы синтеза дейтерированных по бис-аллильным положениям линолевой и линоленовой кислот, включающие стадию высокоселективного парциального гидрирования на катализаторе Ni-P2 с добавками различных солей.

2. Синтезирован ряд новых арахидоновых кислот с различным положением атомов дейтерия в бис-аллильных положениях с помощью пропаргильного и дейтеропропаргильного спиртов для итеративного удлинения углеродного скелета.

3. Предложен новый метод синтеза дейтерированной эйкозапентаеновой кислоты, применимый для получения её D₂–D₈-аналогов, основанный на реакциях в мягких условиях ацетиленидов меди с бромидами пропаргильного типа, и позволяющий исключить хроматографическую очистку промежуточных продуктов.

4. Разработаны и осуществлены синтезы ряда новых амидов и сложных эфиров 11,11-D₂-линолевой кислоты через промежуточное образование её хлорангидрида в условиях, позволивших сохранить стереохимическую конфигурацию дизамещенных двойных связей в кислотном остатке и хиральных аминокислот в амидном остатке.

5. Осуществлен синтез фосфатидилхолинов с дейтерированными ненасыщенными жирными кислотами в положении *sn*-2, исключаяющий миграцию ацильных остатков.

6. Предложен синтез азидсодержащего амидофосфитного реагента **61**, ключевой стадией которого является фосфитилирование азидсодержащего спирта **60**.

7. Предложен новый подход к получению конъюгатов ДНК и РНК с жирными кислотами, основанный на клик-реакции азид-алкинового циклоприсоединения.

Оценивая научную новизну и качество работы, следует выделить препаративный метод синтеза D₈-эйкозапентаеновой кислоты (D₈-EPA, **29**), где были оптимизированы:

– стадия гидрирования полииновых эфиров (добавка солей свинца к катализатору), что позволило повысить чистоту продукта с 87 до 92 %;

– температура, понижение которой до –10 °С привело к увеличению селективности;

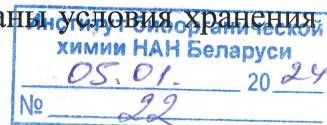
– стадия удлинения углеродного скелета с использованием дианионов пропаргильного спирта, которая была заменена на более мягкое сочетание ацетиленидов меди с бромидами пропаргильного типа;

– количество CuI до пропорции ниже эквивалента, что облегчило обработку реакционных смесей и позволило удобно удалять неорганические соли фильтрованием;

– методика превращения пропаргильных спиртов в бромиды без выделения их мезилатов с выходом до 96 % вместо ранее использовавшегося подхода с применением PBr₃;

– очистка перекристаллизацией спиртов **23** и **25** (как и тринолов **19**) из петролейного эфира, что позволило избежать их трудоёмкой очистки методом хроматографии.

Автором синтезирован амидофосфит **61**, пригодный для получения азидсодержащих олигонуклеотидов в автоматическом синтезаторе, без постсинтетических операций по введению азидной группы в готовый олигонуклеотид. Подобраны условия хранения



амидофосфита **61**, исключают реакцию Штаудингера между амидофосфитной и азидной группами и обеспечивающие сохранение этих групп в составе одной молекулы.

Диссертантом разработана методика получения 1,1-D₂-пропаргилового спирта **11** *in situ* путём генерирования реактива Иощича из ацетилена с последующим добавлением к смеси (CD₂O)*n*. Показана также возможность выделения спирта **11** с чистотой 89 %.

Диссертантом синтезирован ряд новых фосфатидилхолинов, содержащих дейтерированные ненасыщенные жирные кислоты в положении *sn*-2. Установлено, что карбодимидный метод конденсации лизофосфатидилхолина и жирной кислоты не приводит к миграции ацильного остатка стеариновой кислоты из положения *sn*-1 в положение *sn*-2.

Автором предложена имеющая несомненную синтетическую ценность оригинальная схема получения ряда амидов и эфиров 11,11-D₂-линолевой кислоты и D₁₀-докозагексаеновой кислоты, содержащих тройную связь. Разработан метод синтеза аналога линолевой кислоты с терминальной тройной связью, где защищённая гидроксильная группа является местом введения тройной связи на последней стадии.

Диссертантом оптимизированы концентрации медного катализатора и лиганда, а также состав растворителей и время реакции в новом эффективном подходе к синтезу конъюгатов ДНК и РНК с ненасыщенными жирными кислотами, заключающемся в реакции азид-алкинового циклоприсоединения между азидсодержащими олигонуклеотидами и алкинсодержащими производными жирных кислот. Также показано преимущество пропаргиламинов в качестве алкиновых компонентов.

По тексту автореферата имеется единственное замечание. На стр. 13 (последний абзац) соединение **58** упомянуто как **(3R,5S)-5-гидроксиметил-3-гидрокси-пирролидин**, что представляется неоправданным, так как более верным кажется название **(3R,5S)-5-(гидроксиметил)пирролидин-3-ол**. В остальном оформление и стиль изложения автореферата заслуживают высокой оценки, так как в нём ёмко, исчерпывающе и максимально доступно изложены результаты экспериментов, безусловно, интересных для специалистов в области тонкого органического синтеза.

Диссертантом выполнена большая, ответственная и непростая работа по препаративному получению десятков граммов дейтерированных соединений. По материалам исследований опубликовано 10 статей в авторитетных зарубежных изданиях и описан патент на изобретение. Исследования выполнены на очень высоком уровне, представленные в автореферате данные с указанием, например, энантиомерного избытка амидов **33a** и **33b**, или амида **34**, свидетельствуют о свободном владении автором современными физико-химическими методами установления пространственного строения полученных соединений. Также диссертант уверенно владеет методикой препаративной очистки ненасыщенных жирных кислот от примесей их *π*-диастереомеров на сорбенте AgNO₃/SiO₂, что представляет собой нетривиальную задачу. Интерпретация результатов и обоснованность выводов не вызывает сомнений.

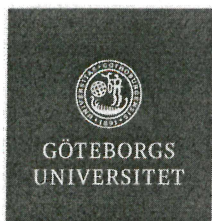
Таким образом, по актуальности и уровню поставленных задач, результативности проведенных исследований и их научной новизне, а также практическому значению полученных результатов, представленная работа полностью соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.03 – органическая химия, а соискатель Фомич Максим Александрович без сомнения заслуживает присуждения ему искомой ученой степени.

Доцент кафедры физики и общетехнических дисциплин
учреждения образования «Военная академия Республики Беларусь»,
кандидат химических наук, доцент



Прох

К.Н. Прохорович



SAHLGRENSKA AKADEMIN

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Фомича Максима Александровича «Синтез избирательно дейтерированных полиненасыщенных жирных кислот и их производных», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук

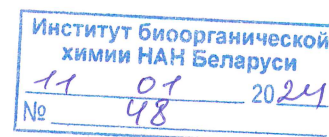
Диссертационная работа Фомича Максима Александровича представляет собой исследование в области органической химии, направленное на синтез полиненасыщенных жирных кислот и их производных, у которых в специфических положениях углеродной цепи атомы протия заменены на дейтерий. Такие изотопно модифицированные жирные кислоты противодействуют перекисному окислению внутри клеточной мембраны за счет кинетического изотопного эффекта.

Поражает количество и качество проделанной экспериментальной работы автора. И хотя кажется, что схемы синтеза описанных жирных кислот выглядят в целом одинаково, дьявол кроется в деталях. Каждая стадия требует оптимизации условий синтеза, выделения и очистки, с чем прекрасно справляется автор. Так, например, для синтеза эйкозопентаеновой кислоты и ее дейтерированных аналогов использованы мягкие реакции ацетиленидов меди с пропаргилбромидом, что позволило избежать изнуряющих хроматографических очисток промежуточных продуктов. А подбор правильного катализатора гидрирования позволил увеличить выходы целевых продуктов и масштабировать их синтез, что важно для пилотных наработок жирных кислот для испытаний *in vivo*.

Отдельно хочется отметить великолепную часть в работе, посвященную синтезу азидного амидофосфита, даже существование которого считалось в литературе невозможным. Однако автор сделал невозможное возможным, и не только синтезировал такой амидофосфит, но и полно охарактеризовал его, а также использовал для модификации олигонуклеотидов в автоматическом режиме и последующей конъюгации с жирными кислотами.

В то же время имеются некоторые замечания и вопросы по содержанию работы:

- 1) на стр. 6: «В присутствии <пероксидов> кинетический изотопный эффект составил 3,0. При окислении в мицеллах значение КИЭ оказалось более высоким и



составило 23,6» - автор не поясняет, почему кинетический изотопный эффект в мицеллах на порядок выше, чем при окислении кислородом и пероксидами.

2) на стр. 7: «Интерес представляют ПНЖК с одним атомом дейтерия в бис-аллильном положении» - хотелось бы услышать мнение автора, насколько интересными были бы хиральные варианты этих молекул.

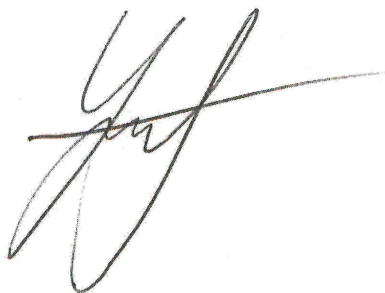
3) на стр. 8: «Обработка дейтерированными аналогами приводила к проявлению защитного эффекта, который примерно коррелирует с числом C–D-связей, хотя и не зависит от положения атомов дейтерия» - не совсем ясно, зависит ли эффект просто от количества C-D связей (как например у 7б) или только от количества C-D-связей в бис-аллильных положениях.

4) стр. 12: «С целью их синтеза были разработаны методы получения: 1) жирных кислот с алкиновой группой; 2) олигонуклеотидов с азидной группой» - без всякого сомнения, разработка синтеза азидного фосфорамидита, также как и метода его введения в олигонуклеотиды, является важным фундаментальным научным достижением. Но в контексте получения конъюгатов олигонуклеотидов с жирными кислотами по реакции [2+3]-циклоприсоединения, насколько обоснованно является введение азидного компонента в олигонуклеотид, а алкинового компонента – в жирную кислоту, а не наоборот?

Указанные замечания не снижают научной и практической ценности работы, выполненной на высоком экспериментальном уровне с использованием современных химических и физико-химических методов. Полученные автором результаты имеют высокое научное и практическое значение. Основные результаты прошли достаточную апробацию, так как докладывались на пяти отечественных и международных конференциях. Публикации по теме диссертации в передовых журналах, включая «Nature Chemical Biology», свидетельствуют о высоком уровне проведенного исследования. Автореферат прекрасно оформлен и полностью отражает опубликованные автором работы. Фомич Максим Александрович несомненно заслуживает ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.03 – органическая химия.

Максим Квач, к.х.н.
Исследователь
Гётеборгский университет, Швеция

Maksim Kvach, PhD
Researcher at OligoNova Hub
Sambio Core Facilities
University of Gothenburg



Göteborgs universitet
Sahlgrenska akademien
Akademikansliet

ОТЗЫВ НА АВТОРЕФЕРАТ

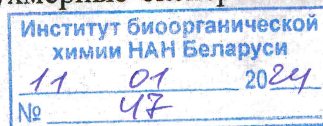
диссертационной работы **Фомича Максима Александровича** на тему:
«Синтез избирательно дейтерированных полиненасыщенных жирных кислот и их производных», представленной к защите на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.03 – Органическая химия

Диссертационное исследование Фомича М.А. посвящено синтезу изотопных аналогов полиненасыщенных жирных кислот, специфически дейтерированных по аллильным положениям, а также получению их различных производных и конъюгатов.

Дейтерирование веществ природного происхождения, а также синтетических лекарственных соединений является известным подходом, позволяющим регулировать их биологическую активность, ингибируя нежелательные процессы за счёт кинетического изотопного эффекта. Это современная, активно развивающаяся область. В случае полиненасыщенных жирных кислот дейтерирование открывает путь к аналогам, более устойчивым к перекисному окислению. Это важно как для повышения стабильности полиненасыщенных жирных кислот в целом, так и для выяснения роли отдельных аллильных положений в тех или иных метаболических процессах.

Представленные Фомичем М.А. результаты исследования представляют собой прежде всего удобные препаративные методы синтеза дейтерированных жирных кислот. В случае более простых представителей (линолевой, линоленовой кислот) эти методы позволяют получать целевые соединения в количестве десятков граммов за один проход нескольких стадий, а в случае более сложных кислот (арахидоновой, эйкозапентаеновой) эти методы пригодны для получения аналогов с различным расположением атомов дейтерия в молекуле. Отсюда следует универсальность предложенного подхода: он в равной степени допускает дальнейшее масштабирование синтеза с целью производства одного из соединений (в случае появления в будущем перспективных результатов испытаний) и синтез нескольких изотопологов в небольшом количестве для проведения сравнительных биологических исследований. Соискателем проведено расширение круга исследуемых объектов: полиненасыщенные жирные кислоты превращены в амиды и эфиры с гидрофильной функциональной частью и фосфатидилхолины. Благодаря этому открывается возможность исследования эффекта дейтериевой защиты от окисления в мицеллах и липидных бислоях. В работе показана возможность синтеза ковалентных конъюгатов жирных кислот с олигонуклеотидами путём введения ацетиленовых групп в жирные кислоты, разработки и применения уникального метода введения азидной группы в олигонуклеотиды и конъюгирования компонентов методом азид-алкинового циклоприсоединения. Представленные данные, среди прочего, показывают, что не все ацетиленовые производные жирных кислот являются оптимальными для этой цели.

Работа выполнена на высоком уровне, как с точки зрения масштабности задач (впечатляет огромный объём выполненного исследования), так и используемых методов. В диссертационном исследовании автор применяет широкий набор органических реакций (в том числе включающие технически сложные процедуры, как в синтезах с генерированием ацетилена), специфические методы очистки жирных кислот от стереоизомерных примесей, а также общепринятые методы доказательства структуры полученных соединений: спектроскопию ЯМР, в том числе двухмерные эксперименты,



масс-спектрометрию, газовую хроматографию и высокоэффективную жидкостную хроматографию. Перечень выбранных методов позволяет полностью достичь целей, поставленных соискателем.

Стиль изложения материалов автореферата является логичным, а цель и задачи исследования сформулированы корректно. Достоверность и качество представленных результатов не вызывает сомнений. Ошибок и опечаток в автореферате найти не удалось.

Следует отметить, что работа открывает широкие перспективы дальнейших исследований. Так, разработанный метод получения соединений, дейтерированных при двойной связи, даст возможность исследовать физико-химические и биологические свойства веществ, содержащих комбинированные дейтериевые модификации (в аллильном положении и при двойной связи).

Заключение. Таким образом, диссертация Фомича Максима Александровича на тему: «Синтез избирательно дейтерированных полиненасыщенных жирных кислот и их производных» является законченной научно-квалификационной работой и полностью соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание степени кандидата химических наук, а ее автор, **Фомич Максим Александрович**, заслуживает присуждения искомой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.03 – Органическая химия.

Коршун Владимир Аркадьевич

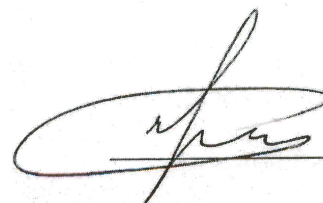
доктор химических наук по специальности 02.00.10 – Биоорганическая химия,
зав. Лабораторией молекулярного дизайна и синтеза

Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ИБХ РАН) <https://www.ibch.ru/structure/groups/lmds>,

e-mail: korshun@ibch.ru, v-korshun@yandex.ru

тел.: 8 (499) 724-67-15

Я согласен на обработку моих персональных данных.



В.А. Коршун

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ИБХ РАН), ул. Миклухо-Маклая, 16/10, ГСП-7, Москва, 117997.

e-mail: office@ibch.ru, сайт www.ibch.ru

тел.: (495) 335-01-00 (канц.), факс: (495) 335-08-12,

Подпись Коршуна В. А. заверяю,
Ученый секретарь ИБХ РАН,
доктор физ.-мат. наук



Олейников Владимир Александрович

10 января 2024 г.

Водгук

На аўтарэферат дысертцыі Фоміча Максіма Аляксандравіча “Сінтэз выбіральных дэйтэраваных поліненасычаных тустых кіслот і іх вытворных”

Дысертцыйнае даследаванне Фоміча М.А. выканана на добрым узроўні. Выкананы вялікі аб’ём працы – сінтэзавана вялікая колькасць злучэнняў даволі складанай структуры. Прадукты, атрыманыя прэтэндэнтам – гэта запатрабаваныя злучэнні для правядзення сучасных актуальных даследаванняў у галіне хімічнай біялогіі, якія таксама маюць перспектыву выкарыстання ў медыцыне. Дадаткова хочацца адзначыць і яшчэ адно адметнае дасягненне аўтара – атрыманне злучэння **61**. Гэта рэчыва адначасова змяшае моцную аднаўленчую групу (трохвалентны фосфар) і моцны акісляльнік (азідную групу) якія нейкі час могуць суіснаваць на розных канцах адной малекулы. Вынікі ў аўтарэфераце прадстаўлены лагічна і паслядоўна. За паспяхова выкананую працу Фомічу Максіму Аляксандравічу можа быць прысвоена ступень кандыдата хімічных навук па спецыяльнасці 02-00-03 арганічная хімія.

Пасля чытання аўтарэферата засталіся наступныя пытанні і заўвагі да аўтара:

1. На ст. 5 і 9 узгадваецца, што аптымізацыя дазволіла зменшыць колькасць CuI , але не прыводзяцца дакладныя лічбы – колькі выкарыстаўвалася рэагента да аптымізацыі і колькі пасля?
2. На ст. 11 апісваецца вызначэнне энантиямернай чысціні ацыляваных амінакіслот шляхам іх пераўтварэння ў амід або ў соль аптычна чыстага α -фенілэтыламіну і далейшага аналізу атрыманых вытворных з дапамогай ^1H або ^{13}C ЯМР спектраскапіі. Далей робіцца выснова аб тым, што энантиямерная чысціня прадуктаў залежыць ад энантиямернай чысціні зыходных амінакіслот. Што гэта азначае? Вы выкарыстоўвалі амінакіслоты з неідэальнай энантиямернай чысцінёй? У такім выпадку прывядзіце калі ласка дадзеныя аб тым якая была аптычная чысціня зыходных амінакіслот.

Вядучы хімік навукова-даследнага цэнтра
ТАА “Кампілаб”, к.х.н., дацэнт

А.Л. Гурскі

Подпіс А.Л. Гурскага заверваю

Натэстнік дырэктара – кіраўнік ННЦ ТАА “КАМПІЛАБ”



— Я.А. Чарняўскі