

## Отзыв

**на автореферат диссертации Жаркова Тимофея Дмитриевича «РАЗВИТИЕ ПОДХОДА К ПОЛУЧЕНИЮ ТРИАЗИНИЛАМИДОФOSFATНЫХ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ, ОСНОВАННОГО НА РЕАКЦИИ ШТАУДИНГЕРА С ПРИМЕНЕНИЕМ АЗИДО-ТРИАЗИНОВ», представленной на соискание степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9 – биоорганическая химия**

Диссертационная работа Жаркова Тимофея Дмитриевича посвящена разработке методологии получения нового класса фосфат-модифицированных аналогов нуклеиновых кислот, содержащих триазиниламидофосфатную межнуклеотидную группу, и изучению свойств полученных олигонуклеотидов.

Разработка препаратов на основе нуклеиновых кислот является одним из самых перспективных направлений современной медицины. Подобные препараты включают мРНК-вакцины, например, вакцины от COVID-19, антисмысловые олигонуклеотиды (АСО), применяемые, например, при спинальной мышечной атрофии (СМА), и малые интерферирующие РНК (миРНК), позволяющие подавлять гены, ответственные за редкие наследственные заболевания или высокий уровень холестерина.

Во многих из указанных выше препаратов используются синтетические олигонуклеотиды (ОН) различной длины. Применение сложных комбинаций химических модификаций улучшает доставку и стабильность препаратов на основе нуклеиновых кислот, но требует длительного подбора их состава. Следовательно, необходимы новые подходы для тонкого варьирования функциональных групп, которые в настоящее время практически отсутствуют. В связи с этим, диссертант поставил перед собой цель разработать и апробировать подобный подход к тонкой настройке свойств синтетических олигонуклеотидов.

В автореферате ясно изложены цель и задачи исследования, а также способы их решения. Автореферат сопровождается четкими и элегантными иллюстрациями. Судя по автореферату, диссертационная работа Жаркова Т.Д. является завершенным исследованием и выполнена на высоком уровне с применением современных методов органической и биоорганической химии. Результаты диссертации в полной мере отражены в публикациях автора. Т.Д. Жарковым опубликовано 4 статьи в рецензируемых изданиях, в том числе в престижном Американском химическом обществе, и многократно осывящены на международных и всероссийских конференциях.

К качеству, достоверности и форме представления результатов замечаний нет. Однако при чтении автореферата возникло несколько замечаний и выявлен ряд опечаток, не влияющих на понимание текста:

1. Стр. 7 «Одним из основных современных подходов к получению различных амидофосфатных производных можно назвать реакцию Штаудингера [Zhukov S.A. et al., 2021; Santorelli A. et al., 2022]». Рецензенту хотелось бы видеть ссылки на пионерские работы по применению реакции Штаудингера в олигонуклеотидном синтезе. Кроме того, приведенный формат ссылок не позволяет найти их в интернете.
2. Не совсем понятно применение диссертантом понятий «базовые свойства» и просто «свойства» (например, на стр. 7). Скорее всего под базовыми автор имел ввиду физико-химические свойства.

3. Не соблюдена непрерывность нумерации. На рисунке 4 и в соответствующем тексте отсутствует олигонуклеотид N-3. На рисунке 5 сразу появляется олигонуклеотид N-9, и олигонуклеотиды N-7 и N-8 нигде не упоминаются. Непрерывность нумерации нарушается и в таблице 1.
4. Неудачное выражение «донорные остатки метанола» на стр. 11. С точки зрения электронных эффектов правильнее говорить о метокси заместителях.
5. В пункте 3.2 обсуждается влияние дополнительной стадии  $\beta$ -элиминирования на выходы целевых модифицированных олигонуклеотидов. При этом не указаны ограничения метода. Например, можно ли проводить эту дополнительную стадию только в случае первого/последнего конденсируемого звена или при введении модификации в любое положение цепи.
6. Пункт 4. Осталось непонятно, какой реагент и условия применяются для  $\beta$ -элиминирования. Если стандартная смесь аммиака и метиламина, то атомы хлора в 1,3,5-триазине должны замещаться на метиламин (как это показал сам диссертант выше). Используются ли с этой целью стерически затрудненные вторичные амины?
7. В параграфе 6.1 обсуждаются гибридизационные свойства модифицированных олигонуклеотидов. Не мог бы автор пояснить, как, предположительно, будут изменяться эти свойства в случае введения модификации в центр цепи?
8. В первом параграфе раздела 7 написано, что «Среди всех полученных представителей класса ТАО наибольший интерес представляют додецил-содержащие производные, что обусловлено потенциальной возможностью их использования в качестве самопроникающих в клетки НК-конструкций». Однако в разделе 7.2 описывается трансфекция клеток олигонуклеотидом. Можно ли оценить способность олигонуклеотида самопроизвольно проникать в клетки таким методом? Кроме того, известно, что НЕК293Т хорошо трансфицируются. В связи с этим, нельзя ли было использовать для экспериментов более «проблемную» линию и контрольный (менее липофильный) олигонуклеотид в качестве контроля?

Считаю, что диссертационная работа «РАЗВИТИЕ ПОДХОДА К ПОЛУЧЕНИЮ ТРИАЗИНИЛАМИДОФОСФАТНЫХ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ, ОСНОВАННОГО НА РЕАКЦИИ ШТАУДИНГЕРА С ПРИМЕНЕНИЕМ АЗИДО-ТРИАЗИНОВ» полностью отвечает требованиям к кандидатской диссертации, изложенным в пп. 2.1-2.5 «Положения о присуждении ученых степеней в Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН», а ее автор, Жарков Тимофей Дмитриевич, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9 – биоорганическая химия.

Я, Аралов Андрей Владимирович, даю согласие на включение и дальнейшую обработку своих персональных данных при подготовке документов аттестационного дела соискателя ученой степени.

Аралов Андрей Владимирович

*А* 0804.2026

д.х.н. по специальности 1.4.9 – «биоорганическая химия»,

Старший научный сотрудник, руководитель группы молекулярных инструментов для исследования живых систем отдела функционирования живых систем, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Государственный Научный Центр Российской Федерации Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук.

117997, г. Москва, вн. тер.г. муниципальный округ Коньково, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10, к. 1

Телефон: +7(926)606-29-10

E-mail: [Baruh238@mail.ru](mailto:Baruh238@mail.ru)

Подпись А.В. Аралова заверяю

Ученый секретарь, д.ф.-м.н.



Олейников В.А.