

## ОТЗЫВ

официального оппонента о диссертации

**Жаркова Тимофея Дмитриевича «Развитие подхода к получению триазириламидофосфатных модифицированных олигонуклеотидов, основанного на реакции Штаудингера с применением азидо-триазинов», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по научной специальности 1.4.9 Биоорганическая химия**

**Актуальность темы.** Немодифицированные нуклеиновые кислоты могут выступать как объект и инструмент исследования, а также воздействовать на биологические процессы. Однако введение модифицированных фрагментов в олигонуклеотидную цепь позволяет значительно увеличить комплекс задач, решаемых с помощью синтетических фрагментов нуклеиновых кислот, в том числе расширить сферу использования синтетических олигонуклеотидов в молекулярной диагностике и клинической практике, при создании высококачественных индивидуализированных олигонуклеотидных препаратов. В настоящее время около 200 вариантов модифицированных нуклеиновых кислот являются коммерчески доступными и гораздо большее их разнообразие представлено в научных публикациях. Тем не менее очень редко удается получить структурный аналог НК, удовлетворяющий всем требованиям будущего лекарственного препарата. Диссертационная работа Тимофея Дмитриевича Жаркова, в которой осуществлен дизайн и синтез нового класса триазириламидофосфатных олигонуклеотидов и продемонстрированы их базовые свойства, связанные с дальнейшим применением, является безусловно актуальной. Использование различных замещенных триазинов и варьирование подходов к синтезу позволило получить с удовлетворительными выходами широкий набор функционализированных триазириламидофосфатных олигонуклеотидов. Реакции модификации межнуклеотидного фосфата подобраны таким образом, что позволяют варьировать структуру заместителя как для конкретного положения в олигонуклеотидной цепи, так и получать олигомер с различным образом модифицированными межнуклеотидными фосфатными группами в одной олигонуклеотидной последовательности. Наличие большого набора модифицированных фрагментов НК позволило автору выбрать структуру, наиболее перспективную для дальнейшего поиска биомедицинских препаратов.

**Научная новизна и достоверность результатов исследования.** В работе развит и всесторонне изучен подход к получению триазириламидофосфатных олигонуклеотидов на основе реакции Штаудингера с применением замещенных 2-азидо-1,3,5-триазинов в качестве реагентов-модификаторов. Усовершенствованы методы получения производных триазинов, их химические реакции с межнуклеотидным фосфитом, изучена зависимость устойчивости этих

соединений от условий  $\beta$ -элиминирования 2-цианэтильной группы. Успешное получение гетерогенных олигонуклеотидов TD1X – TD1X5, содержащих додецил-триазиниламидофосфатные группы после 3'-концевого нуклеозида, наглядно демонстрирует стабильность предложенной модификации в процессе химических обработок, сопровождающих процедуру амидофосфитного синтеза и правильность выбора структуры модифицирующего реагента. Все полученные соединения, как низкомолекулярные, так и олигонуклеотидные производные, охарактеризованы современными методами, и их строение корректно подтверждено. Их свойства подробно изучены и описаны. Все результаты, полученные при выполнении диссертационной работы, хорошо обоснованы и их достоверность не вызывает сомнений.

**Структура и содержание работы.** Диссертационная работа Жаркова Тимофея Дмитриевича построена традиционно и состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, результатов и их обсуждений, выводов, списка литературы. Работа изложена на 152 страницах, содержит 59 рисунков и 5 таблиц. Работа содержит 6 приложений, в каждом приложении представлено по 1 рисунку. Библиография включает 177 литературных источников. Содержание диссертации полностью соответствует специальности 1.4.9 Биоорганическая химия (Структурно-функциональные и синтетические исследования биологически значимых высокомолекулярных соединений: белков, нуклеиновых кислот, полисахаридов и смешанных биополимеров любых типов).

Во введении четко обоснована актуальность исследования, его научная новизна, практическая значимость работы, сформулированы ее цели и задачи, а также представлены основные положения, выносимые на защиту.

В обзоре литературы суммированы методы получения олигодезоки- и олигорибонуклеотидов, содержащих модифицированный углеводный фрагмент и/или измененную межнуклеотидную фосфатную группу. Из всего многообразия описанных в литературе модифицированных фрагментов нуклеиновых кислот автор сделал логически обоснованный для своего обзора выбор и уделил наибольшее внимание анализу публикаций, посвященных фосфат-модифицированным олигомерам. Описание методов сопровождается подробными схемами реакций, краткими характеристиками свойств и областей применения данных модифицированных фрагментов НК. Представленный в обзоре материал служит необходимым введением в проблему, которая была поставлена и успешно решена в диссертационной работе Жаркова Т. Д.

В Экспериментальной части представлен синтез, условия анализа и выделения низкомолекулярных соединений-модификаторов, описанных ранее и полученных впервые, а также большого набора олигонуклеотидных производных. Подробно описаны условия присоединения заместителя по межнуклеотидному

фосфату для различных реагентов (реакция Штаудингера) и удаления β-цианэтильной защитной группы при сохранении олигонуклеотида на полимерном носителе. Проведен подробный анализ продуктов реакции с установлением структуры как целевого, так и побочного продуктов. Приведены данные, подтверждающие строение полученных соединений методами ЯМР-спектроскопии на ядрах  $^{13}\text{C}$  и  $^1\text{H}$ , MALDI-TOF и ESI-MS спектрометрии.

Целью диссертационной работы Т.Д. Жаркова являлось получение серии новых и совершенствование методов синтеза уже известных модифицированных олигонуклеотидов в виде триазиниламидофосфатных производных, а также изучение свойств отдельных представителей класса. Прослеживается очень четкая логика исследования - синтез модифицирующих реагентов, подтверждение строения и изучение свойств, в том числе химической стабильности, синтез простейших олиготимидилатов, встраивание одной модификации, анализ хода реакции, введение множественных модификаций, синтез олигонуклеотидов гетерогенного состава, выявление лучших заместителей и оптимального количества модификаций, демонстрация свойств, в том числе мицеллообразование, проникновение в клетку. Использование различных замещенных триазенов и варьирование подходов позволило получить с удовлетворительными выходами широкий набор функционализированных триазиниламидофосфатных олигонуклеотидов. Диссертационная работа хорошо проиллюстрирована, приведены подробные и четкие схемы химических превращений с указанием предполагаемого или установленного механизма реакции. Для получения большого набора модифицированных олигонуклеотидов автор двигался в двух направлениях – присоединение целевой модифицирующей молекулы к олигонуклеотиду, закрепленному на полимерном носителе, или присоединение прекурсора, дальнейшая модификация которого также проводилась в условиях твердофазного синтеза.

По теме диссертации Жарковым Т.Д. опубликовано 4 экспериментальных статьи в рецензируемых международных научных журналах, входящих в базы данных Scopus и Web of Science, а также получен патент на изобретение в РФ. Публикации по итогам работы и автореферат в полной мере отражают основное содержание диссертации.

**Общие замечания.** Имеются замечания, не влияющие на общую положительную оценку работы и носящие скорее рекомендательный характер.

1. Рис. 3б – в ходе реакции нуклеофильного замещения происходит обращение конфигурации у  $\text{C3}'$  атома с образованием соединения арабино-ряда, как это продемонстрировано на Рис. 8в.

2. Использование классификации реагентов, вступающих в реакцию Штаудингера, как азиды донорного и акцепторного характера, не вполне

корректно. Во всех случаях азиды – это электрофильные реагенты. Правильнее было бы назвать эти вещества как азидосоединения, содержащие донорные или акцепторные заместители.

3. «Остаток (дезокс)рибозы» или «(дезокс)рибозный цикл» – зачем скобки? Какое соединение имеется в виду?

4. Встречаются грамматические ошибки и некорректное написание названий соединений.

5. Несвязывающий атом кислорода – лучше немостиковой атом кислорода или серы. Этот термин также употребляется в данной работе далее по тексту.

6. Стр. 31. «Дитиофосфатные олигонуклеотиды применяются не так широко, как тиофосфатные аналоги, что в том числе связано с необходимостью использования специфических мономеров для их синтеза». Скорее это связано с тем, что дитиофосфатные производные склонны к сильному неспецифическому связыванию с белками и другими полимерными молекулами в клетке.

7. Рис. 50. На электрофореграмме хорошо бы видеть контроль, когда обсуждается подвижность в геле.

8. На профилях разделений с помощью ВЭЖХ на оси Y должно быть  $A_{260}$  О.Е. На Рис. 56 появляются английские A.U. Оптические единицы нужно унифицировать.

В целом диссертационная работа Т.Д. Жаркова производит впечатление целостного логического исследования, при выполнении которого автор проявил высокое экспериментальное мастерство. Диссертация написана четким научным языком.

Полученные автором результаты могут быть использованы во всех лабораториях, где осуществляются исследования, направленные на синтез и применение модифицированных олигонуклеотидов для изучения НК-белковых взаимодействий, создания биомедицинских препаратов и других смежных областях: в Федеральных государственных бюджетных учреждениях науки - Институте молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта РАН, Институте биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, на химическом факультете и НИИ ФХБ имени А.Н. Белозерского Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования “Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова” и в ряде других научно-исследовательских институтов биохимического и медицинского профиля.

В заключение необходимо отметить, что диссертация Т.Д. Жаркова является научно-квалификационной работой, направленной на решение важнейшей задачи - синтез триазиламидофосфатных олигонуклеотидов с применением различных реагентов-модификаторов в виде азидо-триазинов в рамках основного подхода, основанного на реакции Штаудингера и изучение их

свойств. Работа представляет собой целостное и завершенное научное исследование, выполненное на высоком экспериментальном уровне. Результаты работы изложены чётко и ясно. Сделанные выводы обоснованы и подтверждаются полученными экспериментальными данными. По актуальности поставленных задач, научной новизне, объёму выполненных исследований и практической значимости полученных результатов диссертационная работа, представленная соискателем Жарковым Тимофеем Дмитриевичем, полностью соответствует требованиям пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН и оформлена в соответствии с Приложениями №5 и 6 Положения о диссертационных советах Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, а ее автор заслуживает присуждения степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9 Биоорганическая химия.

Официальный оппонент,  
Зав. отделом химии нуклеиновых кислот  
Научно-исследовательского института  
физико-химической биологии  
имени А.Н. Белозерского  
Федерального государственного бюджетного  
образовательного учреждения  
высшего образования «Московский  
государственный университет имени М.В. Ломоносова»  
доктор химических наук, профессор

 /М.Б. Готтих/

специальность 02.00.10 – биоорганическая химия  
почтовый адрес: 119991 Москва, Ленинские горы, д.1  
телефон: 8 495 939 54 07  
адрес электронной почты: gottikh@belozersky.msu.ru

Данные Готтих М.Б. подтверждаю  
Директор Научно-исследовательского института  
физико-химической биологии  
имени А.Н. Белозерского  
Федерального государственного бюджетного  
образовательного учреждения  
высшего образования «Московский  
государственный университет имени М.В. Ломоносова»  
чл.-корр. РАН



 /П.В. Сергиев/

09 апреля 2026 года