

ОТЗЫВ официального оппонента  
на диссертацию на соискание ученой степени  
кандидата химических наук ЖАРКОВА ТИМОФЕЯ ДМИТРИЕВИЧА на тему:  
**«РАЗВИТИЕ ПОДХОДА К ПОЛУЧЕНИЮ ТРИАЗИНИЛАМИДОФОСФАТНЫХ  
МОДИФИЦИРОВАННЫХ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ, ОСНОВАННОГО НА  
РЕАКЦИИ ШТАУДИНГЕРА С ПРИМЕНЕНИЕМ АЗИДО-ТРИАЗИНОВ»**  
по специальности 1.4.9 — «Биоорганическая химия»

**Актуальность темы.** В настоящее время применение синтетических олигонуклеотидов в качестве различных молекулярно-биологических инструментов активно развивается. Наиболее перспективной областью применения олигонуклеотидов можно назвать терапию заболеваний, обусловленных нарушением различных процессов при реализации генетической информации – по состоянию на 2026 год одобрено уже более 25 НК-препаратов. Часть таких препаратов представляет собой олигонуклеотиды, содержащие в своем составе фосфоротиоатную модификацию углеводо-фосфатного остова (например, Спинраза™, Тегседит™). Способность промежуточного фосфиттриэфира, получаемого на стадии конденсации в ходе автоматического синтеза, взаимодействовать с азидами различного строения по реакции Штаудингера дает возможность разработки новых методов введения в состав олигонуклеотидов широкого спектра функциональных групп, влияющих на их пространственную структуру, а также физико-химические и биологические свойства. Такой подход к синтезу фосфат-модифицированных олигонуклеотидов является актуальным и активно развивающимся направлением – в литературе описаны синтез, изучение свойств и применение мезильных, тозильных, фосфорилгуанидиновых производных. Поэтому разработка унифицированных методов введения остатков функциональных молекул в олигонуклеотидный остов весьма востребована, и именно в рамках этой тематики выполнена кандидатская диссертация Т.Д. Жаркова.

**Научная новизна и достоверность результатов исследования.** Новизна исследования заключается в фундаментальном развитии подхода к синтезу триазиниламидофосфатных производных олигонуклеотидов на базе реакции Штаудингера, где 2-азидо-1,3,5-триазины выступают в роли реагентов-модификаторов. В рамках твердофазного синтеза получены олигонуклеотидные производные с гидрофобными и катионными группами, остатками аминов или спиртов, а также сложными заместителями; выявлена решающая роль β-элиминирования 2-цианоэтильной группы. Показана возможность автоматизации процесса и введения множественных модификаций при синтезе фосфат-модифицированных олигонуклеотидов. Определена устойчивость заявленной модификаций в кислой среде, а также ее влияние на стабильность соответствующих НК/НК-дуплексов. Для додецил-модифицированных олигонуклеотидов исследована их устойчивость к нуклеазам, способность к мицеллообразованию и проникновению в клетки. Полученные данные свидетельствуют о высокой надежности результатов.

**Структура и содержание работы.** Диссертация Т.Д. Жаркова изложена на 152 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, результатов и их обсуждений, выводов, списка литературы (177 источников) и содержит 6 приложений. Основной текст иллюстрирован 59 рисунками и 6 таблицами.

Во «Введении» (объем 6 стр.) обоснована актуальность поставленной проблемы, проведен анализ степени ее научной разработанности, поставлены цели и задачи исследования, оценена научная новизна и практическая значимость полученных результатов, а также сформулированы положения, выносимые на защиту.

В разделе «Обзор литературы» (объем 41 стр.) рассмотрены варианты модификаций углеводо-фосфатного остова олигонуклеотида, которые могут быть введены в его состав непосредственно в процессе стандартного твердофазного амидофосфитного синтеза. Особое внимание уделено фосфат-модифицированным олигонуклеотидам и методам их получения.

Глава «Экспериментальная часть» (объем 19 стр.) демонстрирует большой объем экспериментальной работы, выполненный автором. Для синтеза фосфат-модифицированных олигонуклеотидов, их функционализации и исследования свойств был использован комплекс современных методов, включающий в себя органический синтез низкомолекулярных соединений (азидов), автоматический синтез олигонуклеотидов, гель-электрофорез и высокоэффективная жидкостная хроматография нуклеиновых кислот, динамическое светорассеяние, а также методы характеризации соединений (ЯМР, ИК-спектроскопия, масс-спектрометрия). Методики эксперимента описаны логично и достаточно детально.

В главе «Результаты и обсуждение» (объем 57 стр.) изложены и проанализированы полученные в работе результаты. Было проведено систематическое изучение класса триазиламидофосфатных олигонуклеотидов (ТАО, данный класс был предложен в лаборатории химии нуклеиновых кислот ИХБФМ СО РАН, где была проделана представленная работа) с точки зрения их получения с применением различных азидотриазинов, а также исследованы их свойства. В ходе работы был значительно развит подход к получению ТАО с использованием реакции Штаудингера для фосфит-триэфирного звена и 2-азидо-1,3,5-триазинов. Показана зависимость эффективности реакции от донорно-акцепторных свойств заместителей в триазине, а также  $\beta$ -элиминирования 2-цианоэтильной группы. С использованием 2-азидо-4,6-дихлоро-1,3,5-триазина синтезирована библиотека ТАО с гидрофобными/катионными группами, аминами, спиртами и сложными заместителями. Показана возможность получения ТАО с несимметрично замещенным триазином и реализован автоматизированный синтез.

Содержание автореферата соответствует основным положениям диссертации и работам, опубликованным соискателем по данной теме. В целом работа производит благоприятное впечатление объемом экспериментальных данных, разнообразием и уровнем используемых подходов, планированием экспериментов и изложением результатов.

**Общие замечания.** К диссертационной работе и автореферату есть ряд замечаний и вопросов, которые приведены ниже:


- в Обзоре литературы на мой взгляд нелогично выстроен раздел 2.3.5 – приведены механизмы окислительного аминирования и реакции Штаудингера, но нет механизма реакции Атертона-Тодда. Возможно после приведения механизма конкретной реакции ее стоило иллюстрировать примерами полученных олигонуклеотидных производных, а не выделять эти примеры в отдельные подразделы;
- в Экспериментальной части условия реакции Штаудингера и замещения атомов хлора в составе триазириламидофосфатной модификации на различные амины (представлено на 5 страницах; с 62 по 66) можно было компактизовать, сгруппировав данные (списком или таблицей) по условиям реакции (температура и время). Такое представление наглядно показало вариативность условий этих реакций и использованные азиды и аминоксодержащие соединения;
- в тексте диссертации не описано как рассчитывали значение  $\mu$  (подвижность для олигонуклеотидов на рис. 39,43,50) при описании электрофореграмм;
- из текста осталось непонятным как были охарактеризованы олигонуклеотиды, приведенные в табл.3 и использованные в экспериментах по определению температур плавления дуплексов;
- непонятна отсылка в разделе 4.3 на странице 104. В этом разделе все эксперименты проведены на гомотимидилатах, в которых отсутствуют экзоциклические аминоксодержащие группы. Возможно имелся ввиду раздел 4.5.2;
- при описании эксперимента по определению устойчивости Р-N-связи в составе триазириламидофосфатной модификации в кислых условиях стоило привести хроматографические профили или вынести их в Приложение;
- на рис. 40 (в автореферате рис. 4Д) (эксперимент по определению реакционной способности 2-азидо-4,6-диметокси-1,3,5-триазина) присутствуют два продукта реакции, а пика, соответствующего исходному Т8, практически не наблюдается. На мой взгляд не хватает профиля для побочного Т7, чтобы доказательно определить место выхода целевого фосфат-модифицированного продукта и степень его конверсии;
- хроматографические профили очищенных олигонуклеотидов приведены только для шести ФАМ-содержащих олигонуклеотидов. Наличие данных (хотя бы частично) о хроматографических профилях очищенных олигонуклеотидов для других серий олигонуклеотидов, полученных в работе, значительно украсило бы исследование и сняло бы ряд вопросов;
- ось Y для хроматограмм следовало бы обозначить как А260, а не как О.Е.;
- не все сокращения приведены в Списке сокращений (например, ТЕА, Ас, Et);
- качество представленных электрофореграмм затрудняет их восприятие. В подписях к рисункам отсутствуют условия проведения электрофоретического анализа;
- обозначения на рисунках частично приведены на английском языке (рис. 36,40,43);
- рисунок № 45 обозначен как рисунок № 59;

- в Автореферате стоило отразить, что при использовании 2-азидо-4,6-дихлоро-1,3,5-триазины не происходит модификация гетероциклических оснований.

Кроме того, в тексте присутствует ряд опечаток, неудачных выражений и терминологических небрежностей.

Приведенные замечания носят дискуссионный либо рекомендательный характер и не снижают значимости диссертационного исследования. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 1.4.9 — «Биоорганическая химия» (по химическим наукам). По актуальности темы, объему работы, новизне и практической значимости полученных результатов диссертация отвечает 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.

Таким образом, соискатель ЖАРКОВ Тимофей Дмитриевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9 — «Биоорганическая химия».

Официальный оппонент, кандидат химических наук  
старший научный сотрудник лаборатории химии РНК ФГБУН Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН  
МЕЩАНИНОВА Мария Ивановна  2 апреля 2026 г.

Контактные данные: тел.: 7(383)3835129, e-mail: mesch@1bio.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация: 02.00.10 — Биоорганическая химия

Адрес места работы:

630090, Российская Федерация. Новосибирская область, г. Новосибирск, проспект академика Лаврентьева. 8

Федеральное государственное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского Отделения Российской Академии Наук Тел.: 7(383)3835151; e-mail: niboch@1bio.ru

Подпись сотрудника ИХБФМ СО РАН М.И. Мещаниновой удостоверяю  
Ученый секретарь ИХБФМ СО РАН  
кандидат биологических наук



Е.Б. Логашенко