

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации **Улашика Егора Александровича** «Синтез модифицированных нуклеозидов и олигонуклеотидов как перспективных терапевтических агентов», представленной на соискание степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – Биоорганическая химия

Автореферат подробно и состоятельно отражает основное содержание большой и кропотливой работы по синтезу ряда полициклических периленилэтинильных производных рибонуклеозидов, обладающих антивирусной активностью по отношению к вирусам с липидной оболочкой, а также разработке и оптимизации методов и протоколов автоматического твёрдофазного синтеза терапевтических олигорибонуклеотидных конъюгатов с лигандами для направленной внутриклеточной доставки с целью подавления экспрессии генов и генной терапии. Синтез нуклеиновых кислот и их низкомолекулярных компонентов являются весьма перспективным направлением современных биохимических и молекулярно-биологических исследований. Поэтому данная диссертационная работа является весьма актуальной для дальнейшего применения полученных препаратов в биохимических и медицинских целях.

Соискатель продемонстрировал основательный подход к разработке методик синтеза, подбору защитных групп, усовершенствованию экспериментальных процедур проведения индивидуальных стадий получения низкомолекулярных компонентов и сборки из них сложных олигомерных структур, обладающих адресной биологической активностью. Особо следует отметить методы получения нуклеозидов с мостиковой бициклической модификацией рибозного остатка, обеспечивающих его фиксированную или, как пишет автор, блокированную конформацию, а также подход к получению дейтерированных производных пиримидиновых нуклеозидов.

Большой объём работы посвящён усовершенствованию протоколов твёрдофазного синтеза протяжённых РНК-олигомеров и разработке модифицирующих реагентов для их множественного мечения остатками N-ацетилгалактозамина (GalNAc), обеспечивающего внутриклеточное проникновение и направленное генно-терапевтическое действие таких конъюгатов. Были получены реагенты для введения остатков GalNAc как с помощью «клик»-реакции азид-алкинового циклоприсоединения, так и непосредственно в поцессе твёрдофазного синтеза. Для повышения эффективности внутриклеточной доставки с помощью полученного набора реагентов были синтезированы конъюгаты линейной и разветвлённой структуры, модифицированные как по 5'- так и по 3'-положению олигомера. Из этих структур затем были приготовлены дуплексы микро-РНК, которые показали ингибирование экспрессии гена в живых клетках и на модельной системе. С помощью усовершенствованных протоколов синтеза были приготовлены также

направляющие РНК-олигомеры для системы CRISPR-Cas12a и продемонстрирована их эффективность в создании разрывов двухцепочечной ДНК на модельной системе.

Продemonстрированный соискателем объём экспериментальных навыков, полученных с их помощью новых модифицирующих реагентов, биологически активных соединений и их конъюгатов является замечательным образцом применения современных методов синтеза нуклеиновых кислот и их компонентов в биологических исследованиях. Это в полной мере отражает приведённый ниже список публикаций.

Существенных замечаний в оформлении и основном содержании автореферата не обнаружилось. Хотелось бы лишь посоветовать называть нуклеозид с бициклическим рибозным остатком 3 не просто «блокированным», а «конформационно-блокированным».

По своей актуальности, объёму материала и практической значимости диссертационная работа в полной мере соответствует требованиям к диссертациям на соискание учёной степени кандидата наук, а её автор, **Улащик Егор Александрович**, безусловно заслуживает присуждения учёной степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – «Биоорганическая химия».

**Прохоренко Игорь Адамович**

кандидат химических наук по специальности 02.00.10 – Биоорганическая химия, с.н.с. Лаборатории низкомолекулярных физиологически активных соединений ГНЦ ИБХ РАН

e-mail: [prig67@mail.ru](mailto:prig67@mail.ru),

тел.: 8 (916) 356-77-89

Я согласен на обработку моих персональных данных.

25 марта 2025 г.

Прохоренко Игорь Адамович

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 (ГНЦ ИБХ РАН), ул. Миклухо-Маклая, 16/10, ГСП-7, Москва, 117997

e-mail: [office@ibch.ru](mailto:office@ibch.ru), сайт [www.ibch.ru](http://www.ibch.ru)

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



личную подпись:  
УДОСТОВЕРЯЮ

СПЕЦИАЛИСТ ОТДЕЛА  
КАДРОВ  
ТИМОШЕНКО Н.А.

## ОТЗЫВ НА АВТОРЕФЕРАТ

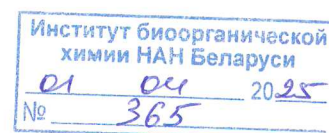
диссертационной работы Улащика Егора Александровича на тему:  
«Синтез модифицированных нуклеозидов и олигонуклеотидов как  
перспективных терапевтических агентов», на соискание ученой степени  
кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – биоорганическая  
химия

Диссертация Улащика Е.А. посвящена актуальной задаче разработки и синтеза новых модифицированных нуклеозидов и олигонуклеотидов для применения в качестве терапевтических агентов. Актуальность выбранной темы обусловлена высокой востребованностью эффективных средств для генной терапии и редактирования генома, что находит отражение в интенсивных исследованиях в области модификации нуклеиновых кислот.

Автору удалось разработать ряд новых методов синтеза конъюгатов олигонуклеотидов с лигандами адресной доставки, в том числе с использованием производных N-ацетилгалактозамина (GalNAc). Разработанные методы позволяют существенно упростить процесс получения терапевтических олигонуклеотидов, повысить их выход и чистоту, что подтверждается представленными экспериментальными данными. Особенно стоит отметить работу по оптимизации синтеза направляющих РНК для технологии CRISPR-Cas, что имеет большое значение для развития методов генной терапии.

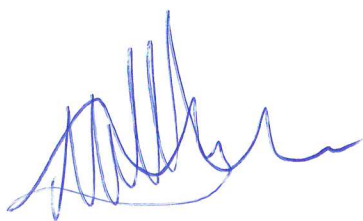
Научная новизна работы заключается в разработке новых амидофосфитных реагентов и твердофазных носителей, которые позволяют модифицировать нуклеиновые кислоты на различных стадиях синтеза. Автор впервые синтезировал дейтерированные олигонуклеотиды для изучения процессов метилирования ДНК, что представляет собой значительный вклад в исследование эпигенетических механизмов.

Практическая значимость диссертационной работы подтверждается разработкой технологий, которые могут быть использованы для получения препаратов, направленных на лечение различных заболеваний, включая вирусные инфекции и наследственные патологии. Оригинальные методы модификации олигонуклеотидов имеют высокий потенциал для применения в разработке средств адресной доставки терапевтических агентов.



Диссертация написана четким и научным языком, структура работы логична и последовательно раскрывает поставленные задачи. Автореферат в полной мере отражает основные результаты и положения, выносимые на защиту.

Замечаний по содержанию и оформлению работы не имею. Считаю, что диссертационная работа Улащика Е.А. является законченной научно-квалификационной работой, соответствующей требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – биоорганическая химия.



26 марта 2025

Илья Олегович Мазунин

Кандидат биологических наук, старший научный сотрудник  
Центр молекулярной и клеточной биологии  
Сколковский институт науки и технологий

+79527999279

I.Mazunin@skol.tech

*Илья Олегович Мазунин*  
Руководитель отдела  
Кадрового администрирования



## ОТЗЫВ

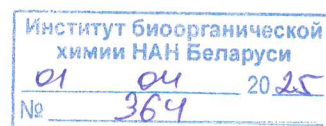
на автореферат диссертации УЛАЩИКА Егора Александровича «СИНТЕЗ МОДИФИЦИРОВАННЫХ НУКЛЕОЗИДОВ И ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ КАК ПЕРСПЕКТИВНЫХ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ АГЕНТОВ», представленной на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – биоорганическая химия

Диссертационная работа Улащика Е.А. посвящена актуальной проблеме химического синтеза модифицированных нуклеозидов и олигонуклеотидов. В работе рассмотрены ключевые аспекты их синтеза, модификации и конъюгации со специфическими лигандами.

Поиск и синтез новых модифицированных нуклеозидов и олигонуклеотидов является актуальной задачей, имеющей как фундаментальное, так и прикладное значение для химической, биотехнологической и медицинской отраслей. Созданию нуклеозидных и олигонуклеотидных препаратов находят своё применение в терапии вирусных инфекций, а также онкологических и гематологических заболеваний, в том числе орфанных. Создание эффективных и стабильных терапевтических агентов на основе нуклеиновых кислот открывает новые возможности в персонализированной медицине и разработке инновационных лекарственных препаратов.

В рамках диссертационного исследования Улащиком Е.А. разработаны новые модифицированные нуклеозиды и олигонуклеотиды с перспективными терапевтическими свойствами. Выполнен синтез 5-периллен-3-илэтиниловых производных нуклеозидов с высокой противовирусной активностью; дейтерированные олигонуклеотиды для изучения метилирования ДНК, а также новые конъюгаты мРНК с GalNAc-лигандами для адресной доставки в клетки. Оптимизирована технология синтеза направляющих РНК для CRISPR-Cas.

Исходя из представленных в автореферате данных, диссертационная работа Улащика Е.А. является новой и актуальной, раскрывает и описывает новые закономерности и процессы. Диссертационная работа выполнена на высоком методическом уровне. Методологическая база исследования включает современные методы органического синтеза и аналитической химии. В работе применены передовые методы анализа, такие как ЯМР-спектроскопия, масс-спектрометрия и ВЭЖХ. Научные результаты соответствуют положениям, выносимым на защиту, и полностью отражают суть работы. Результаты диссертационной работы опубликованы в 18 научных работах, в том числе в международных рецензируемых журналах, а также представлены на ряде международных конференций; практическая значимость



подтверждена актами внедрения разработанных технологий и методик в производство, что свидетельствует о высокой научной и прикладной ценности работы.

Считаю, что диссертационная работа Улащика Егора Александровича «Синтез модифицированных нуклеозидов и олигонуклеотидов как перспективных терапевтических агентов» удовлетворяет требованиям, предъявляемых ВАК к диссертациям на соискание степени кандидата химических наук, а её автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – биорганическая химия.

Я, Абашкин Виктор Михайлович, выражаю своё согласие на размещение отзыва на автореферат диссертации в открытом доступе в глобальной компьютерной сети Интернет.

Заведующий лабораторией нанобиотехнологий  
ГНУ «Институт биофизики и клеточной  
инженерии НАН Беларуси»,  
канд. биол. наук

В.М. Абашкин



## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации «Синтез модифицированных нуклеозидов и олигонуклеотидов как перспективных терапевтических агентов» Улащика Егора Александровича на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности – «02.00.10. Биоорганическая химия»

Синтез модифицированных нуклеозидов и олигонуклеотидов действительно представляет собой перспективное направление в области молекулярной медицины и терапии. Существует несколько ключевых аспектов, подчеркивающих актуальность этой темы:

1. Проблема деградации: Олигонуклеотиды часто подвержены быстрой деградации в организме, что ограничивает их терапевтическое применение. Модификации могут повысить стабильность этих молекул.
2. Терапевтические возможности: Модифицированные нуклеозиды и олигонуклеотиды могут использоваться для лечения различных заболеваний, включая онкологические, вирусные и генетические болезни. Их способность специфически взаимодействовать с мишенями в клетках делает их особенно ценными.
3. Исследования и разработки: в последние годы наблюдается рост интереса к синтезу и применению таких агентов. Например, исследования показывают, что модификации, такие как 5'-азидо, могут улучшить связывание с целевыми молекулами и увеличить эффективность терапии.
4. Клинические испытания: Некоторые модифицированные олигонуклеотиды уже проходят клинические испытания, что подтверждает их потенциал как терапевтических агентов.
5. Инновационные подходы: Использование аналогов олигонуклеотидов для коррекции сплайсинга и других молекулярных процессов открывает новые горизонты в лечении заболеваний.

Таким образом, синтез модифицированных нуклеозидов и олигонуклеотидов является не только актуальным, но и крайне важным направлением для будущих исследований и разработок в области медицины.

Автором впервые были синтезированы ряд производных 5-перилена-илетиниловых нуклеозидов, синтезирован дейтерированный аминифосфитный реагент, разработаны методы постсинтетической модификации РНК нуклеотидов, получены новые GalNAC носители, усовершенствована технология синтеза направляющих РНК и др. .

Полученные данные имеют важное теоретическое и практическое значение для понимания закономерностей синтеза ряда производных нуклеозидов. .

По теме диссертации опубликовано 18 печатных работ, из них 10 в журналах, рекомендованных ВАК РБ для публикации основных результатов диссертаций. Результаты диссертации доложены на ряде международных конференций.

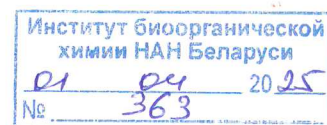
В связи с вышеизложенным считаю, что автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности – «02.00.10. Биоорганическая химия».

Замечаний по тексту автореферата нет.

Профессор, доктор биологических наук, зав. отделом  
Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси,  
220072, Минск, Академическая, 27  
Тел. +375-17-364-23-58  
e-mail: shcharbin@ibce.by



Д.Г. Щербин



## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации **Улащика Егора Александровича** «Синтез модифицированных нуклеозидов и олигонуклеотидов как перспективных терапевтических агентов», представленной на соискание степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – Биоорганическая химия

Нуклеиновые кислоты и их компоненты служат основой многочисленных терапевтических препаратов. Концепция регуляции экспрессии генов путём действия малых фрагментов нуклеиновых кислот возникла около 50 лет назад, но лишь в последние два десятилетия дозрела до практического использования в области медицины. Для применения в клинической практике на сегодняшний день одобрены более двух десятков олигонуклеотидных препаратов, все на основе так или иначе химически модифицированных олигонуклеотидов. Введение в состав препарата различного количества модификаций, их взаимное расположение и химическая структура способны в значительной мере менять терапевтические свойства препарата, создаваемого на базе определённой олигонуклеотидной последовательности. Олигонуклеотиды способны также служить для направленной доставки других терапевтических препаратов, или же сами адресоваться низкомолекулярными лигандами–доставщиками. На основе модифицированных нуклеозидов имеется множество противовирусных и противоопухолевых препаратов. Поэтому тема диссертационного исследования Е.А. Улащика представляется весьма актуальной. Действительно, диссертационная работа выполнена в рамках нескольких государственных программ и грантов.

Описанные соискателем результаты относятся к различным областям. Литературный обзор логичным образом обобщает модификации, относящиеся к олигонуклеотидным препаратам. Экспериментальная работа сначала предполагала синтез конформационно-блокированных нуклеозидов (LNA), а затем периленилэтинильных производных LNA-нуклеозида и уридина. Периленилэтинильная группа является известным противовирусным фармакофором, поэтому неудивительно, что полученные производные продемонстрировали активность к широкому спектру вирусов. Виртуозное владение методами органического синтеза, продемонстрированное в этой части работы, находит своё развитие в последующем. Автором получен реагент для олигонуклеотидного синтеза на основе 5,6-дидейтеро-дезоксцитидина, с помощью которого затем синтезируются модифицированные олигонуклеотиды.

Далее автором разработана платформа для получения конъюгатов олигобонуклеотидов с адресующим лигандом N-ацетилгалактозамином, как прямым синтезом, так и с помощью постсинтетической клик-модификации. Впечатляет огромный

объём синтетической работы. В процессе исследования соискателю пришлось также оптимизировать автоматический РНК-синтез.

Практическая значимость полученных Е.А. Улащиком результатов не вызывает сомнений. Результаты исследования изложены в большом числе статей в авторитетных периодических изданиях. Стил ь изложения материалов автореферата логичен, цель и задачи сформулированы корректно. При ознакомлении с авторефератом каких-либо недостатков, ошибок и опечаток не выявлено.

Считаю, что по актуальности, научной новизне, объёму выполненной работы и практической значимости диссертация соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата наук, а её автор, **Улащик Егор Александрович**, безусловно заслуживает присуждения учёной степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – «Биоорганическая химия».

**Коршун Владимир Аркадьевич**

доктор химических наук по специальности 02.00.10 – Биоорганическая химия,

зав. Лабораторией молекулярного дизайна и синтеза ГНЦ ИБХ РАН

e-mail: [korshun@ibch.ru](mailto:korshun@ibch.ru), [v-korshun@yandex.ru](mailto:v-korshun@yandex.ru)

тел.: 8 (499) 724-67-15

Я согласен на обработку моих персональных данных.

17 марта 2025 г.

Коршун Владимир Аркадьевич

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 (ГНЦ ИБХ РАН), ул. Миклухо-Маклая, 16/10, ГСП-7, Москва, 117997

e-mail: [office@ibch.ru](mailto:office@ibch.ru), сайт [www.ibch.ru](http://www.ibch.ru)

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

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

Олейников Владимир Александрович

17 марта 2025 г.

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Улащика Егора Александровича на тему  
«Синтез модифицированных нуклеозидов и олигонуклеотидов как  
перспективных терапевтических агентов» представленной на соискание  
ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 –  
биоорганическая химия

**Актуальность** Диссертационная работа Улащика Е.А. посвящена разработке новых и оптимизации существующих технологий синтеза и модификации нуклеозидов и нуклеозидных производных. Разработка инновационных фармакологических субстанций на основе модифицированных нуклеозидов является важной и перспективной областью, предлагающей множество возможностей для создания новых средств терапии вирусных инфекций, онкологических и врожденных генетических заболеваний. Исследование Улащика Е.А. формирует научную и технологическую базу для последующей разработки новых фармакологических субстанций, что определяет актуальность темы работы.

**Новизна и значимость** Автором проведен синтез новых периленилэтинильных производных нуклеозидов уридинового ряда и показана их противовирусная активность; разработана технология синтеза дейтерированного дезоксицитидинового амидофосфитного реагента и получения содержащих дейтерий олигонуклеотидов, ингибирующих действия метилтрансфераз. Эти результаты являются вкладом в расширение перспективной группы антивирусных препаратов. Автором разработаны новые подходы к решению проблемы модификации терапевтических РНК лигандами адресной доставки, включая технологии применимые в процессе и после синтеза. С учетом того факта, что неспецифическая доставка противоопухолевых препаратов является основным ограничением методов системной терапии онкологических заболеваний, полученные Автором результаты расширяют перспективы разработки и применения растущего класса терапевтических РНК в онкологии. Результаты заключительной части исследования имеют важное практическое значение: Автором проведена

масштабная оптимизация технологии синтеза длинных РНК с использованием отечественного синтезатора ASM-2000 производства компания НПП «Синтез М». Разработанная технология может стимулировать создание новых методов редактирования генома с помощью системы CRISPR-Cas (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats and CRISPR-associated proteins). Направляющие РНК (guide RNAs, gRNAs) являются ключевым компонентом системы, поэтому возможность работы в данном направлении с использованием отечественного оборудования имеет не просто важное практическое, но стратегическое значение в контексте задачи технологического импортозамещения.

**Качество исследования** Представленное в Автореферате описание использованных методов указывает на адекватность их выбора и правильность применения, результаты описаны четко и лаконично, подкреплены актами внедрения, рисунки помогают понять принципы химических процессов, выводы аргументированы. Замечаний нет.

**Заключение** Диссертация Улащика Е.А. по своей актуальности и научно-практической значимости полностью соответствует требованиям, установленным для кандидатских диссертаций. Автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – биоорганическая химия.

Заведующий научной лабораторией субклеточных технологий  
ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России  
Д.М.Н.

Малек А.В.

Подпись Малек А.В. заверяю  
Ученый секретарь  
ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России  
Д.М.Н., доцент



Иванцов А.О.

Контактная информация: 197758, Россия, г. Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, дом 68, Федеральное государственное бюджетное учреждение "Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова" Министерства Здравоохранения Российской Федерации, Телефон +7(812) 43-99-555; Электронная почта: center.petrova@niioncologii.ru

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации **Улащика Егора Александровича**  
"Синтез модифицированных нуклеозидов и олигонуклеотидов  
как перспективных терапевтических агентов",  
представленной на соискание ученой степени **кандидата химических наук**  
по специальности 02.00.10 – **биоорганическая химия**

Диссертационная работа Егора Александровича Улащика посвящена новым методам синтеза, выделения и очистки новых нуклеозидов пиримидинового ряда и производных N-ацетилгалактозамина, получению модифицирующих реагентов на их основе, а также синтезу ДНК- и РНК-олигонуклеотидов и их конъюгатов с улучшенными функциональными характеристиками. Полученные соединения и разработанные подходы являются инструментом структурной модификации нуклеозидов и олигонуклеотидов для установления влияния этих модификаций на активность биомолекул, а также усовершенствование технологий получения синтетических миРНК и направляющих РНК-олигонуклеотидов для генной терапии и редактирования генома. Результаты исследований могут быть использованы для разработки противовирусных препаратов и средств генной терапии.

В ходе выполнения диссертационной работы были решены следующие задачи:

1. Осуществлен синтез новых 5-периллен-3-илэтиниловых производных нуклеозидов уридинового ряда на основе защищенных 5-иодуридиновых блоков. Полученные соединения проявили высокую активность против вирусов простого герпеса (ВПГ-1), гриппа А (IVA), парагриппа человека типа 3 (PIV-3), респираторно-синцитиального вируса (RSV) и вируса клещевого энцефалита.

2. Впервые синтезирован дейтерированный по атомам С-5 и С-6 2'-дезокситидиновый амидофосфитный реагент для введения атомов дейтерия в олигонуклеотиды. Показано, что синтезированные олигонуклеотиды, содержащие дейтерий, снижают активность метилтрансфераз M.HhaI и DNMT 3Ac за счет кинетического изотопного эффекта.

3. Разработаны методики постсинтетической модификации 2'-F и 2'-OMe РНК-олигонуклеотидов методом [3+2]-диполярного циклоприсоединения в растворе и на твердой фазе с использованием синтезированных азидных и алкиновых моно-GalNAc производных.

4. Получены новые моно-GalNAc амидофосфитный реагент, моно-GalNAc носитель и трис-GalNAc(ТЭГ) носитель для модификации нуклеиновых кислот по 3'-, 5'-положениям и в середине цепи в процессе автоматического твердофазного олигонуклеотидного синтеза.

5. Разработан эффективный метод получения конъюгатов 2'-F и 2'-OMe миРНК с три- и трис-GalNAc лигандами. Синтезированы новые конъюгаты, предназначенные для адресной доставки миРНК в гепатоциты.

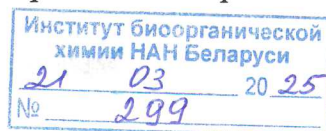
6. Усовершенствована технология синтеза направляющих РНК с использованием автоматического олигонуклеотидного синтезатора ASM-2000, с помощью которой получены направляющие CRISPR РНК-олигонуклеотиды, действующие в комплексе с эндонуклеазой Cas12a в формате сплит-системы.

Оценивая научную новизну и качество работы, следует выделить методы синтеза по ранее не описанным методикам двух новых 5-периллен-3-илэтиниловых производных нуклеозидов уридинового ряда – **3** и **4**, где были оптимизированы:

– стадия гидрирования (скорее дебензилирования) бензилового эфира **9**, что позволило сократить количество катализатора вдвое и масштабировать синтез;

– стадии хроматографической очистки промежуточных продуктов **13**, **15** и **17–19** за счет применения липофильных защитных групп, что позволило повысить растворимость указанных соединений в органических растворителях и упростить их отделение от примесей.

Автором синтезирован новый дейтерированный по атомам С-5 и С-6 2'-дезокситидиновый амидофосфитный реагент **25** для получения олигонуклеотидов **ON1**, **ON2**, **ON4** и **ON5**, где для дейтерированных субстратов метилтрансфераз M.HhaI и DNMT 3Ac - олигонуклеотидов **ON2** и **ON4** наблюдалось замедление метилирования по сравнению со скоростью процесса в присутствии **ON3** и **ON5**.



Диссертантом разработан удобный постсинтетический метод получения конъюгатов 2'-F и 2'-OMe мРНК с одним и тремя аффинными лигандами посредством [3+2]-диполярного циклоприсоединения исходя из синтезированных алкиновых (33 и 34) и азидных (36 и 37) производных N-ацетилгалактозамина. Оптимальные условия модификации были найдены после испытания каталитических систем на основе CuBr·ТБТА и CuI·P(OEt)<sub>3</sub> в разных растворителях.

Автором оптимизирован процесс твердофазного синтеза направляющих РНК с использованием синтезатора ASM-2000, что легло в основу разработанной и внедренной в производство технологии получения синтетических направляющих РНК для технологии геномного редактирования CRISPR.

Диссертантом разработан подход и синтезированы реагенты, которые позволяют быстро и эффективно вводить как мономерные, так и кластерные N-ацетилгалактозаминовые модификации в мРНК для тестирования как *in vitro*, так и *in vivo*.

По тексту автореферата имеются замечания. На стр. 11 (второй абзац) найдена опечатка – «перспективной» вместо «перспективной». Также автор использует в разных местах синонимичные названия «основание Хунига» и «ДИПЭА» вместо более широко известной аббревиатуры DIPEA, малоизвестную аббревиатуру ГБТУ вместо HBTU (Hexafluorophosphate Benzotriazole Tetramethyl Uronium), 4,4'-диметокситритил хлорид вместо DMTrCl, что в сочетании с чисто английскими сокращениями TBS-Cl, TMSOTf, EDC·HCl, HOBT (1-гидроксibenзотриазол) и смешанными сокращениями CuBr·ТБТА (трис(бензилтриазилилметил)амин), часто без их расшифровки (кроме бережно раскрытого сокращения ДМАА для N,N-диметилацетамида) требует от читателя изрядной эрудиции в химии защитных групп, конденсирующих реагентов, катализаторов ацилирования, лигандов для Cu(I)-катализируемых реакций и пр., а также знания их малоизвестных аббревиатур на русском языке, так как синтезы с применением реагентов такого уровня обычно печатают только в международных изданиях. В остальном оформление и стиль изложения автореферата заслуживают очень высокой оценки, так как в нём полно и максимально доступно изложены результаты экспериментов, безусловно, интересных для специалистов в области тонкого органического синтеза и химии модифицированных нуклеозидов.

Диссертантом выполнена ответственная работа по разработке и внедрению в производство ряда опытно-промышленных технологий получения как реагентов для олигонуклеотидного синтеза, так и олигонуклеотидов. По материалам исследований опубликовано 10 статей, из них девять – в авторитетных зарубежных изданиях. Исследования выполнены на очень высоком уровне, поскольку связаны с селективными реакциями полифункциональных макромолекул, избирательной постановкой и снятием защитных групп, а также контролем полноты протекания указанных превращений, что свидетельствует о свободном владении автором современными физико-химическими методами установления строения полученных соединений. Отметим, что диссертант уверенно использует стратегию *one-pot* подхода, позволяющую проводить, где это уместно, сразу несколько превращений за одну стадию, что повышает эффективность многостадийного синтеза. 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 02.00.10 – биоорганическая химия, а соискатель Улащик Егор Александрович без сомнения заслуживает присуждения ему искомой ученой степени.

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