

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-219

**ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ МОДИФИКАЦИЙ МЕЖНУКЛЕОТИДНОГО ФОСФАТА НА СВОЙСТВА СИНТЕЗИРУЕМЫХ ОЛИГОНУКЛЕОТИДНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ\*****STUDYING THE EFFECT OF DIFFERENT TYPES OF INTER-NUCLEOTIDE PHOSPHATE MODIFICATIONS ON THE PROPERTIES OF SYNTHESISED OLIGONUCLEOTIDE DERIVATIVES**И. А. Бауэр, Т. Д. Жарков, С. А. Жуков, О. А. Коваль,  
М. С. Купрюшкин, Е. В. Дмитриенко*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск*I. A. Bauer, T. D. Zharkov, S. A. Zhukov, O. A. Koval,  
M. S. Kupryushkin, E. V. Dmitrienko*Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk*

✉ i.bauer@g.nsu.ru

**Аннотация**

Данная работа посвящена изучению особенностей самосборки в мицеллоподобные структуры, нековалентных взаимодействий с сывороточным альбумином и клеточного накопления фосфат-модифицированных олигонуклеотидов. На примере представителей классов фосфорилгуанидиновых, сульфониламидофосфатных и триазириламидофосфатных модификаций была показана возможность создания олигонуклеотидных производных с заранее определенными свойствами.

**Abstract**

This work is devoted to studying the features of self-assembly into micelle-like structures, noncovalent interactions with serum albumin, and cellular accumulation of phosphate-modified oligonucleotides. By the example of the representatives of phosphoryl guanidine, sulfonyl phosphoramidate and triazinyl phosphoramidate classes of modification, the possibility of creating oligonucleotide derivatives with predetermined properties was shown.

Последние достижения в области генетики и химии нуклеиновых кислот позволили создать принципиально новые терапевтические препараты, избирательно воздействующие на причину заболевания. К преимуществам таких агентов относится высокая селективность связывания с молекулами-мишенями за счет комплементарности азотистых оснований взаимодействующих цепей. Однако, несмотря на достигнутые успехи, остаются нерешенными проблемы улучшения фармакокинетических свойств терапевтических олигонуклеотидов при сохранении их биологической активности. Одним из перспективных подходов является синтез модифицированных олигонуклеотидов, содержащих гидрофобные остатки для повышения их эффективности проникновения в клетки и улучшения фармакокинетических свойств. Понимание механизмов взаимодействия таких производных с сывороточным альбумином человека, самым распространенным белком плазмы крови, может обеспечить новые возможности и свойства для терапевтических олигонуклеотидов амфифильной природы, такие как повышенная стабильность, снижение иммунного ответа и контролируемое биораспределение.

Целью работы являлось систематическое изучение свойств новых классов олигонуклеотидных производных: триазириламидофосфатных, фосфорилгуанидиновых и сульфониламидофосфатных, — содержащих на 3'-конце протяженные алкильные цепи. Для достижения цели была синтезирована библиотека фосфат-модифицированных олигодезоксирибонуклеотидов. На серии 16-звенных олигонуклеотидов сравнивалось влияние группы, через которую вводилась модификация, а также влияние количества и длины алкильных цепей на формирование мицеллоподобных структур и нековалентные взаимодействия с альбумином человека. Для триазириламидофосфатных производных также оценивалось влияние таких факторов, как длина цепи олигонуклеотида и ее мономерный состав. В ходе работы было показано, что благодаря своим амфифильным свойствам исследуемые олигонуклеотиды способны самособираться в мицеллоподобные структуры, при этом критическая концентрация мицеллообразования не существенно зависит от длины олигонуклеотидной цепи, а увеличение длины углеродной цепи приводит к ее уменьшению. Размер надмолекулярных структур, охарактеризованный методом динамического светорассеяния, составил 8–30 нм. При этом добавление сывороточного

\* Исследование выполнено при поддержке РФФ (проект № 21-64-00017).

© И. А. Бауэр, Т. Д. Жарков, С. А. Жуков, О. А. Коваль, М. С. Купрюшкин, Е. В. Дмитриенко, 2024

альбумина приводит к сдвигу пика в сторону уменьшения гидродинамического диаметра, вероятно, вследствие разрушения мицеллоподобной структуры. Методами задержки в геле, а также флуоресцентного титрования показано, что исследуемые олигонуклеотиды образуют стабильные комплексы с сывороточным альбумином человека с константой диссоциации  $\sim 10^{-6}$  М. Исследуемые триазиниламидофосфатные олигонуклеотидные производные и их дуплексы, как по отдельности, так и в комплексах с HSA, способны эффективно проникать в клетки HEK293 и T98G. Показано, что триазиниламидофосфатные производные антисмысловых олигонуклеотидов, нацеленных на мРНК зеленого флуоресцентного белка, проявляют умеренную общую цитотоксичность не более 20 %, а их биологическая активность *in vitro* в подавлении синтеза GFP превышает эффективность нативных олигонуклеотидов.

В настоящей работе представлено изучение особенностей самосборки, формирования нековалентных ассоциатов с HSA, а также проникновения в клетки новых амфифильных производных олигонуклеотидов. Полученные данные, а также уже известные факты, что они обладают повышенной устойчивостью к клеточным нуклеазам и не проявляют значительной цитотоксичности, делают их перспективными кандидатами для биомедицинских разработок.