

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ**  
экспертной комиссии диссертационного совета

Комиссия диссертационного совета Д 24.1.092.01 по защите диссертации на соискание ученой степени доктора химических наук при ИОХ РАН в составе: д.х.н., проф. Усова А.И. (председатель), д.х.н. проф. Веселовского В.В., д.х.н. Ферштата Л.Л., рассмотрев диссертацию в форме научного доклада Крылова Вадима Борисовича «Галактофуранозилсодержащие олигосахариды: синтез и приложение в иммунохимических исследованиях грибковых и бактериальных патогенов», (научный консультант – чл.-корр. РАН, д.х.н. Нифантьев Н.Э.), заслушанную на заседании Ученого совета ИОХ РАН 13 октября 2022 г. (протокол №7), представленную на соискание ученой степени доктора химических наук по специальности 1.4.9 – биоорганическая химия, установила:

Диссертационная работа Крылова В.Б. «Галактофуранозилсодержащие олигосахариды: синтез и приложение в иммунохимических исследованиях грибковых и бактериальных патогенов» посвящена решению задач, представляющих несомненный научный и практический интерес.

**Актуальность работы.** Олигосахариды, содержащие в своем составе углеводные остатки в фуранозной форме (то есть в виде пятичленного цикла) представляют большой интерес для разноплановых гликобиологических исследований. Это связано с тем, что остаток галактофуранозы входит в состав различных биомолекул (гликопротеинов, гликолипидов, полисахаридов), продуцируемых патогенными микроорганизмами, как прокариотами (бактериями), так и эукариотами (грибами, простейшими). Структуры, содержащие галактофуранозу, критически важны для жизнедеятельности и вирулентности этих микроорганизмов. Принципиально важным является и тот факт, что гликаны млекопитающих и человека не содержат остатки галактозы в фуранозной форме. Это делает галактофуранозилсодержащие структуры удобными мишенями для вакцин, как и специфическими маркерами для разработки диагностических тест-систем. Отсутствие галактофуранозы у млекопитающих и человека минимизирует возможность побочных реакций при вакцинации и увеличивает чувствительность и специфичность серологических диагностикумов.

Примерами биомолекул, содержащих в своей структуре остатки галактозы в фуранозной форме, являются: (1) галактоманнан – компонент клеточной стенки грибов рода *Aspergillus*, которые вызывают у больных с ослабленным иммунитетом тяжелое заболевание – инвазивный аспергиллёз легких; (2) галактоксиломаннан – компонент клеточной капсулы гриба *Cryptococcus neoformans*, который является возбудителем криптококкового менингита – опаснейшего заболевания, относящегося к глубоким микозам; (3) галактан I – фрагмент липополисахарида (ЛПС) грамотрицательной бактерии *Klebsiella pneumoniae*, возбудителя трудно поддающихся терапии внутрибольничных инфекций; (4) дигетерогликан – антигенный полисахарид бактерии *Enterococcus faecalis*, которая отличается высокой скоростью роста антибиотикорезистентности.

С учётом сказанного, олигосахариды, структурно родственные перечисленным полисахаридам (1)-(4), были выбраны в качестве объектов исследований в данном диссертационном исследовании. Данные соединения представляют собой уникальные модели для изучения молекулярных механизмов и топологии связывания олиго- и полисахаридов клеточными рецепторами и защитными белками иммунной системы, распознающими углеводные антигены патогенов. Однако, наличие в структуре целевых полисахаридов замещенных остатков галактозы в фуранозной форме делает химический синтез соответствующих олигосахаридов весьма нетривиальной задачей из-за недостаточной эффективности известных методов.

Существует несколько общепринятых подходов к получению синтетических предшественников углеводных остатков в фуранозной форме, однако, в подавляющем числе примеров, данные методики имеют ограниченное применение. В связи с этим традиционные схемы синтеза фуранозидсодержащих олигосахаридов зачастую исходят из стандартных фуранозидных предшественников, которые затем модифицируют в требуемых положениях и вводят в реакции гликозилирования. Данный подход эффективен лишь для получения сравнительно простых олигосахаридов.

В связи с этим весьма важной является разработка новых методов синтеза сложных избирательно защищенных фуранозидных производных в качестве блоков для получения сложных олигосахаридов. Актуальными являются и

исследования закономерностей конформационных и иммунохимических свойств галактофуранозилсодержащих олигосахаридов, родственных поверхностным антигенам грибковых и бактериальных патогенов, которые важны в качестве основы при разработке практически востребованных вакцин и диагностикумов.

**Новизна работы.** Из-за трудности химического синтеза целевой группы олигосахаридов исследование их физико-химических и иммунобиологических характеристик ранее проводилось недостаточно широко, хотя это и представляет большой фундаментальный и практический интерес для выяснения молекулярно-биологических и структурных характеристик обсуждаемых углеводных антигенов, а также создания востребованных вакцин и иммуноферментных диагностикумов.

В результате данной работы проведены систематические синтетические исследования по получению разнообразных олигосахаридов, родственных галактоманнану из *Aspergillus spp.* Ранее были известны лишь единичные синтезы коротких олигосахаридов данного типа. Впервые синтезированы олигосахариды, родственные дигетерогликану *Enterococcus*, точная структура которого даже не была установлена из-за отсутствия соответствующих модельных олигосахаридов. В частности, в данной работе была выяснена конфигурация остатка молочной кислоты в дигетерогликане, которая представляется иммунологически значимым структурным элементом. Соответственно, отсутствовали и данные о конформационных состояниях обсуждаемых бактериальных и грибковых олигосахаридов, их пространственной организации и иммунохимических свойствах.

Диссертационное исследование стала возможным благодаря открытию ПФП, её механизма и границ применения, что позволило впервые провести препаративный синтез широкого ряда избирательно модифицированных фуранозных производных, включая D-галактофуранозные, получение которых известными методами является весьма трудоёмким и проблематичным. Применение этого уникального процесса для синтеза целевых структур позволило не только впервые получить столь сложные олигосахариды, но и впервые изучить их физико-химические и иммунобиологические характеристики. Эти результаты впервые сформировали основу для последующего создания диагностикумов и вакцин для практического применения.

**Практическая значимость.** Изученная в ходе диссертационном исследования пиранозид-фуранозидная перегруппировка практически востребована для синтеза широчайшего ряда практически значимых углеводных структур, родственных бактериальным и грибковым антигенным полисахаридам. Разработанные синтетические подходы существенно упрощают получение такого рода соединений, что, в свою очередь, делает возможными исследования молекулярных механизмов взаимодействия клеток патогена с иммунной системой хозяина и открывает пути для разработки противоифекционных вакцин и диагностикумов для обнаружения инфекционных поражений и защиты от них. Так, с использованием впервые синтезированных в рамках данной работы олигосахаридов, родственных галактоманнану из *Aspergillus fumigatus*, а также полученных и отобранных гомологичных антител был создан диагностический набор GalMAg-ИФА для определения опасного грибкового заболевания инвазивного аспергиллеза. Данный продукт был лицензирован компании «ХЕМА», зарегистрирован в качестве медицинского изделия (МИ РЗН 2019/8791), серийно производится и используется в России и за рубежом.

**Степень достоверности** представленных в диссертационном исследовании результатов определяется использованием комплекса современных методов анализа структуры. Строение всех впервые полученных веществ доказано методами ЯМР  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ -спектроскопии, в том числе с привлечением двухмерных гомо- и гетероядерных экспериментов (COSY, HSQC, ROESY, NOESY, HMBC и др.), а также методами масс-спектрометрии высокого разрешения. Результаты всех иммунобиологических экспериментов воспроизводимы и статистически достоверны. Кроме того, результаты, полученные при выполнении исследований, находятся в поле современных научных представлений о химии и биохимии углеводов, согласуются и дополняют опубликованные в научной литературе данные.

**Личный вклад соискателя.** Диссертационная работа обобщает результаты теоретических и экспериментальных исследований, проведенных непосредственно автором и в сотрудничестве с коллегами. Личный вклад автора заключается в постановке целей и задач исследований, планировании и постановке экспериментов, анализе полученных данных, обработке и обобщении результатов,

установлении закономерностей, формулировке выводов и подготовке рукописей публикаций.

Опубликованные материалы **полностью отражают основное содержание** работы. Соискатель имеет 45 научных статей по теме диссертации в рецензируемых журналах, из них 33 статьи за период 2013-2022 гг. в журналах из списков Q1 и Q2, индексируемых Scopus и Web of Science. Результаты диссертации неоднократно докладывались и обсуждались на разнообразных всероссийских и международных конференциях, где были представлены в виде приглашенных, пленарных и устных докладов.

Исходя из вышеизложенного можно утверждать, что по актуальности, объему и новизне полученных результатов диссертационная работа в виде научного доклада В.Б. Крылова на тему «Галактофуранозилсодержащие олигосахариды: синтез и приложение в иммунохимических исследованиях грибковых и бактериальных патогенов» соответствует критериям пункта 9 Положения о порядке присуждения учёных степеней, утверждённым постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, и является научно-квалификационной работой. Экспертная комиссия рекомендует диссертационную работу В.Б. Крылова к защите на диссертационном совете ИОХ РАН Д 24.1.092.01 по присуждению учёной степени доктора химических наук по специальности 1.4.9 – биорганическая химия.

Рекомендуемые официальные оппоненты (Федоров Алексей Юрьевич, чл.-корр. РАН, д.х.н., заведующий Кафедрой органической химии Химического факультета Национального исследовательского Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского; Щекотихин Андрей Егорович, профессор РАН, д.х.н., Директор ФГБНУ "Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе", зав. Лабораторией химической трансформации антибиотиков; Курочкин Илья Николаевич, профессор, д.х.н., Директор Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики им. Н. М. Эмануэля Российской академии наук) выбраны соответственно профилю диссертационной работы.

Решение диссертационного совета о приеме к защите докторской диссертации Крылова В.Б. «Галактофуранозилсодержащие олигосахариды: синтез и

приложение в иммунохимических исследованиях грибковых и бактериальных патогенов» принято 30-го ноября 2022 года на заседании диссертационного совета Д 24.1.092.01.

д.х.н., проф. Усов А.И.



д.х.н. проф. Веселовский В.В.



д.х.н. Ферштат Л.Л.



Подписи д.х.н., проф. Усова А.И., д.х.н. проф. Веселовского В.В., д.х.н. Ферштата Л.Л. заверяю

Ученый секретарь ИОХ РАН к.х.н.  
30 ноября 2022



И.К. Коршевец