

# ЯВОЧНЫЙ ЛИСТ

членов диссертационного совета Д 002.222.01

К заседанию совета 16 декабря 2014 г., протокол № 16

по защите кандидатской диссертации Винниковой Анной Николаевной

по специальности 02.00.03 – органическая химия

№ п/п	Фамилия, имя, отчество	Ученая степень, ученое звание, шифр специальности	Явка на заседание (подпись)	Получение бюллетеня (подпись)
1	Егоров Михаил Петрович председатель	академик РАН 02.00.03		
2	Никишин Геннадий Иванович заместитель председателя	чл.-корр. РАН 02.00.03		
3	Родиновская Людмила Александровна ученый секретарь	д.х.н. 02.00.03		
4	Беленький Леонид Исаакович	д.х.н. 02.00.03		
5	Бовин Николай Владимирович	д.х.н. 02.00.10		
6	Бубнов Юрий Николаевич	академик РАН 02.00.03		
7	Веселовский Владимир Всеволодович	д.х.н. 02.00.10		
8	Громов Сергей Пантелеймонович	чл.-корр. РАН 02.00.03		
9	Дильман Александр Давидович	д.х.н. 02.00.03		
10	Злотин Сергей Григорьевич	д.х.н. 02.00.03		
11	Иоффе Сема Лейбович	д.х.н. 02.00.03		
12	Книрель Юрий Александрович	д.х.н. 02.00.10		
13	Краюшкин Михаил Михайлович	д.х.н. 02.00.03		
14	Махова Нина Николаевна	д.х.н. 02.00.03		
15	Нифантьев Николай Эдуардович	чл.-корр. РАН 02.00.10		
16	Петросян Владимир Анушаванович	д.х.н. 02.00.03		
17	Пивницкий Казимир Константинович	д.х.н. 02.00.10		
18	Ракитин Олег Алексеевич	д.х.н. 02.00.03		
19	Семёнов Виктор Владимирович	д.х.н. 02.00.03		
20	Смит Вильям Артурович	д.х.н. 02.00.03		
21	Тартаковский Владимир Александрович	академик РАН 02.00.03		
22	Томилов Юрий Васильевич	д.х.н. 02.00.03		
23	Усов Анатолий Иванович	д.х.н. 02.00.10		
24	Хомутов Алексей Радиевич	д.х.н. 02.00.10		

Ученый секретарь совета

д.х.н. Л.А. Родиновская

*Людмила А. Родиновская*  
заведующая учебной секретариатом ИОХ РАН



## СТЕНОГРАММА

заседания диссертационного совета Д 002.222.01

при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки

Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского Российской академии наук

от 16 декабря 2014 г.

Председатель: чл.-корр. РАН Никишин Г.И.

Ученый секретарь: д.х.н. Родиновская Л.А.

На заседании Совета присутствуют следующие члены Совета:

1. Никишин Г.И. чл.-корр. РАН 02.00.03
2. Родиновская Л.А. д.х.н. 02.00.03
3. Беленький Л.И. д.х.н., проф. 02.00.03
4. Бубнов Ю.Н. академик 02.00.03
5. Веселовский В.В. д.х.н., проф. 02.00.10
6. Громов С.П. чл.-корр. 02.00.03
7. Дильман А.Д. д.х.н. 02.00.03
8. Злотин С.Г. д.х.н., проф. 02.00.03
9. Иоффе С.Л. д.х.н., проф. 02.00.03
10. Книрель Ю.А. д.х.н., проф. 02.00.10
11. Краюшкин М.М. д.х.н., проф. 02.00.03
12. Махова Н.Н. д.х.н., проф. 02.00.03
13. Нифантьев Н.Э. чл.-корр.РАН 02.00.10
14. Петросян В.А. д.х.н., проф. 02.00.03
15. Пивницкий К.К. д.х.н., проф. 02.00.10
16. Ракитин О.А. д.х.н., проф. 02.00.03
17. Семенов В.В. д.х.н. 02.00.03
18. Смит В.А. д.х.н., проф. 02.00.03
19. Томилов Ю.В. д.х.н., проф. 02.00.03
20. Усов А.И. д.х.н., проф. 02.00.10

Чл.-корр. Никишин Г.И.: Так, коллеги, кворум есть, и мы можем начать нашу работу.

**Винникова Анна Николаевна** представила работу к защите «Синтез аналогов бактериального ундекапренилфосфата и ундекапренилдифосфатсахаров».

Руководитель профессор **Веселовский**, официальные оппоненты профессор Молотковский и кандидат наук **Ивашина**, ведущая организация МИТХТ имени Ломоносова. Людмила Александровна, прочитайте пожалуйста все, что полагается.

Д.х.н. Родиновская Л.А.: Читает документы.

Чл.-корр. Никишин Г.И.: Могут ли быть вопросы? Вопросов нет. Анна Николаевна, Вам предоставляется слово.

Винникова А.Н.: Выступает с докладом.

Чл.-корр. Никишин Г.И.: Спасибо, кто хотел бы задать вопросы? Скажите пожалуйста, я так понял, что эти процессы сборки, наращивания, вы определяли качественно, а количественно это возможно определить? Насколько хорошо проходят ферментативные реакции?

Винникова А.Н.: В случае аналогов ундекапренилфосфата, изопреноидных аналогов, нам удалось по радиоактивности посчитать выход относительно контроля – морапренилфосфата. В случае катализа ферментами *Salmonella Arizona* выход составлял порядка 70% от контроля, а в другом случае порядка 50%. В случае же неизопреноидных аналогов, если считать выход по радиоактивности, он составляет несколько процентов. То есть эти соединения не очень удобны для использования их в процессе изучения инициирования сборки О-антигенов. Но в случае аналогов ундекапренилдифосфатсахаров, выход этих реакций составляет порядка 50 – 60% по радиоактивности. Это достаточно высокий выход для таких реакций.

Чл.-корр. Никишин Г.И.: Спасибо. Когда вы брали антрацен, как флуоресцирующую метку, Вы использовали стандартную методику, не вы ее придумали?

Винникова А.Н.: Мы видели публикации, в которых антрацен использовали для мечения белков. Но использование антрацена для мечения приведенных в работе соединений проведено впервые.

Чл.-корр. Никишин Г.И.: Пожалуйста, еще вопросы? Да, пожалуйста.

Д.х.н. Шестопалов А. М.: Вы использовали антрацен, в качестве флуоресцентной метки, но вы ведь знаете, что это высоко канцерогенное соединение, нельзя ли было использовать другую метку? Это первый вопрос. Второй вопрос. При выполнении работы Вами найдены или предложены новые реакции или все реакции в вашей работе известны?

Винникова А.Н.: Что касается использования антрацена, то он привлекателен своими размерами. Большинство флуоресцентных меток довольно большие и содержат в своем составе различные функциональные группы, что могло бы повлиять на результаты биохимических экспериментов. Антрацен нам показался небольшим. Кроме того, работа по получению флуоресцентных аналогов ундекапренилфосфата и ундекапренилдифосфатсахаров незакончена, и возможно в будущем нам удастся найти другую, неканцерогенную метку. Но на данном этапе антрацен позволяет нам хорошо визуализировать исследуемые соединения. Это его большое преимущество. А что касается второго вашего вопроса, то целью настоящей работы было получение новых флуоресцентных аналогов ундекапренилфосфата и ундекапренилдифосфатсахаров. В ходе нашей работы мы опирались на известные методы, которые позволили получить ранее неизвестные соединения.

Чл.-корр. Никишин Г.И.: Спасибо. Нина Николаевна, пожалуйста.

Д.х.н. Махова Н.Н.: Ваши исследуемые соединения должны были содержать полинепредельную цепь. На основании чего вы синтезировали полностью насыщенные аналоги?

Винникова А.Н.: Предпосылкой нашего решения была работа канадских ученых, опубликованная в 2005 году. Они в качестве аналога ундекапренилдифосфат-N-ацетилглюкозамина использовали производное феноксиундеканола, и у них все получилось. После этой работы в нашем институте исследовали феноксиундецилфосфат в качестве аналога бактериального ундекапренилфосфата, и он показал некоторую активность. Что касается ундекапренилдифосфатсахаров, использование феноксиундецильных аналогов оправдано, потому что производные ундеканола устойчивые, доступные, а полиненасыщенные соединения склонны к окислению и долго не хранятся. Мы решили продолжить тему неизопреноидных аналогов.

Чл.-корр. Никишин Г.И.: Пожалуйста, Сергей Григорьевич.

Д.х.н. Злотин С.Г.: Из доклада у меня сложилось впечатление, что биохимические продукты наращивания О-антигенных цепей Вы по сути охарактеризовывали по радиоактивности и флуоресценции, но на слайдах Вы демонстрируете структуры этих соединений. Вы снимали спектры ЯМР и с какими количествами вещества вы работали?

Винникова А.Н.: Спасибо за вопрос. Биохимические реакции здесь проведен в аналитических целях. Для некоторых аналогов ундекапренилдифосфатсахаров мы получили масс-спектры высокого разрешения. Структуру же этих соединений мы приводим на основании наших предположений и известных работ о подобных соединениях. Что касается ЯМР спектров, то для таких реакций накопить достаточное количество вещества для этого эксперимента является очень сложной задачей, но нашими канадскими коллегами такие работы ведутся, и им удалось подтвердить некоторые структуры продуктов биохимических реакций наращивания О-антигенов.

Чл.-корр. Никишин Г.И.: Спасибо. Еще вопросы?

Д.х.н. Смит В.А.: Поясните, пожалуйста, что Вы подразумеваете под биологической активностью Ваших соединений?

Винникова А.Н.: Под термином «биологическая активность» я подразумевала способность исследуемых соединений служить субстратами-акцепторами для ферментов. Так, фосфогликозилтрансферазы – ферменты, ответственные за инициирование сборки – чувствительны к структуре липофильной части. И если бы биохимическая реакция не прошла, то есть фермент не воспринял бы такое соединение как субстраты-акцепторы, мы бы заключили, что соединение неактивно и не рассматривали бы его в дальнейшей работе.

Чл.-корр. Никишин Г.И.: Пожалуйста, еще вопросы.

Д.х.н. Томилов Ю.В.: Я обращаюсь к стадии, когда вы эпоксидировали производное морапренола. У Вас реакция эпоксидирования проходит по терминальной связи. Она действительно селективно проходит, или поскольку реакция проходит с выходом 55% Вы получали и другие продукты? Поясните, пожалуйста.

Винникова А.Н.: Другие продукты безусловно были, и такой низкий выход обусловлен неселективностью реакции, но все же преимущественно реакция проходит по концевому звену.

Чл.-корр. Никишин Г.И.: Пожалуйста, задавайте вопросы. Анна Николаевна, вопросов больше нет. Присаживайтесь, пожалуйста. И мы слушаем научного руководителя. Владимир Всеволодович, пожалуйста.

Д.х.н. Веселовский В.В.: Выступает с отзывом о Винниковой А.Н.. (отзыв прилагается).

Чл.-корр. Никишин Г.И.: Спасибо. Теперь заслушаем отзывы, которые поступили на автореферат.

Д.х.н. Родиновская Л.А.: Зачитывает выписку из протокола межлабораторного коллоквиума лабораторий № 7, 21, 41, 52 и 30 ИОХ РАН, отзыв ведущей организации и отзывы, поступившие на автореферат диссертации Винниковой А.Н. (выписка и отзывы прилагаются).

Чл.-корр. Никишин Г.И.: Анна Николаевна, прокомментируйте, пожалуйста, отзыв ведущей организации.

Винникова А.Н.: С замечанием ведущей организации я согласна, действительно, в работе не приведены субстратные активности для всех исследуемых соединений, но в ответ на него мне хотелось бы пояснить, что в случае аналогов бактериального ундекапренилфосфата изопреноидные несомненно являются гораздо более активными, тогда как для изопреноидных мы просто продемонстрировали принципиальную возможность их участия в модельных процессах иницирования сборки О-антигенов. Для этого утверждения даже не нужно проводить специальный эксперимент. Что касается неизопреноидных аналогов ундекапренилдифосфатсахаров, то они показали себя достаточно эффективными, поэтому в данном случае искать альтернативы этих соединений было излишним. Тем более, что синтез изопреноидных аналогов гораздо более сложен.

Чл.-корр. Никишин Г.И.: Спасибо. Мы переходим к обсуждению работы, и я предоставляю слово официальному оппоненту профессору Юлиану Георгиевичу Молотковскому, пожалуйста.

Д.х.н. Молотковский Ю.Г.: Выступает с отзывом (отзыв прилагается).

Чл.-корр. Никишин Г.И.: Спасибо. Анна Николаевна, пожалуйста, ответьте на замечания официального оппонента.

Винникова А.Н.: 9-Антрил конечно обладает различными недостатками, но пока для наших целей и целей наших коллег биохимиков, эта метка подходит. Возможно, с развитием этой темы, мы выберем другую флуоресцентную метку. Что касается обзора, то он действительно возможно составлен несколько сумбурно, потому что он посвящен синтезу изопреноидов, содержащих фотоактивные метки. Но так как синтез этих соединений неразрывно связан с их применением, его мы тоже кратко описали. Поэтому, вероятно, получилось несколько сумбурно. Что касается спектров, то да, спектры поглощения и флуоресценции приведены действительно только для соединения **40**, но максимумы поглощения и флуоресценции приводятся также и для соединения **31** на странице 41 диссертации, а для соединений **41**, **42** и **43** на стр 49 сказано, что максимумы поглощения и флуоресценции совпадают с таковыми для соединения **40**. Возможно, стоило как-то по-другому организовать эти данные. Мы привели схему 12 чтобы обобщить и тем самым упростить восприятие относящегося к ней материала. Возможно, ее использование было излишним. С остальными замечаниями я согласна.

Чл.-корр. Никишин Г.И.: Спасибо. Второй оппонент кандидат биологических наук Ивашина Татьяна Владимировна отсутствует, но у нас есть ее письменный отзыв и нам придется его заслушать.

Д.х.н. Родиновская Л.А.: Зачитывает отзыв к.б.н. Ивашиной Т.В. на диссертацию Винниковой А.Н. (отзыв прилагается).

Чл.-корр. Никишин Г.И.: Людмила Александровна, спасибо. Анна Николаевна, ответьте, пожалуйста, на замечания оппонента.

Винникова А.Н.: С замечаниями оппонента Ивашиной Татьяны Владимировны я согласна.

Чл.-корр. Никишин Г.И.: Кто хотел бы что-то сказать по обсуждаемой работе? Анатолий Иванович, пожалуйста.

Д.х.н. Усов А.И.: Я хочу напомнить откуда появилась эта тема, потому что в свое время я был участником этих работ. В начале 70-х годов в лаборатории Николая Константиновича Кочеткова решили, что нужно более серьезно заниматься бактериальными полисахаридами, и сразу стало ясно, что кроме структурного

анализа бактериальных полисахаридов, большой интерес представляет их биосинтез. В то время уже было известно, что важную роль играет бактопренол, но он совершенно недоступен из самих бактерий. Для того, чтобы иметь его в руках нужно найти подходящий его аналог. Отсюда появилась идея выделить морапренол из шелковицы, поэтому мы все начали выделять его из листьев и пытаться фосфорилировать. Это очень нетривиальная задача, так как это фосфорилирование аллильного гидроксила с очень неприятными возможностями получения побочных продуктов. И когда выяснилось, что морапренилфосфат может заменять бактопренилфосфат в биохимических реакциях, то естественным образом возникло соответствующее продолжение. Долгое время скептики говорили, что бактерии не стали бы делать такую сложную конструкцию, если бы ее можно было заменить чем-нибудь попроще, и поэтому переход от бактопренола к более простым аналогам скорее всего приведет к ликвидации субстратных свойств этой молекулы. А когда выяснилось, что морапренилфосфат работает, дальше люди осмелели и стали придумывать другие модификации этого вещества. И вот результат – эта работа, которую мы сегодня с вами заслушали. От бактопренола в этих аналогах уже мало что осталось. Очень здорово, что можно получать более простые соединения, и даже не страшно, что они менее активны, потому что их доступность компенсирует этот недостаток. Теперь насчет химии в этой работе. Обязательно надо подчеркнуть, что экспериментальная работа с этими веществами очень сложная: они все содержат липофильную часть и сильно полярную группировку. Фактически это детергенты с соответствующей манерой поведения. У них нет нормальной растворимости, они образуют мицеллы. И в тех и других растворителях они трудно поддаются хроматографической очистке, поэтому накопить их в больших количествах достаточно трудно. Кроме того, тут пришлось решить несколько сложных нетривиальных синтетических задач, как, например, модификация одной двойной связи в веществе, где их много, и, опять же, проблему фосфорилирования аллильного гидроксила. И все это было здесь решено. Что касается ферментативных реакций, то это тоже очень непростая вещь, потому что это мембранные ферменты, эти белки с очень большим трудом можно выделить в индивидуальном состоянии. И эта часть работы тоже выполнена



достаточно четко, чтобы показать, что все эти аналоги получались не зря. Мне кажется, хорошая работа. Давайте проголосуем «за».

Чл.-корр. Никишин Г.И.: Спасибо, Анатолий Иванович. Кто еще хотел бы что-то произнести? Да, пожалуйста Юрий Александрович.

Д.х.н. Книрель Ю.А.: Я буду краток. Эта работа защищается по органической химии, но на самом деле она выполнена по двум специальностям: по органической химии и по биохимии. В докладе Анны Николаевны и в автореферате биохимия представлена как апробация полученных соединений в биохимических реакциях, то есть могут служить инструментом для исследования этих реакций, для характеристики гликозилтрансфераз, которые могут использоваться в биотехнологических целях, при изучении биосинтеза в мигроорганизмах, что является важным. Но эта биохимическая часть имеет и самостоятельное значение, особенно если учесть, что использовались ферменты таких бактерий, как особо опасные *Escherichia* 157 и 104. Изучение биосинтеза само по себе важно, но это имеет и практический аспект. Зная специфичность фермента, можно предложить его ингибитор, который будет нарушать биосинтез, и тем самым получить терапевтический агент, который будет альтернативой антибиотикам, роль которых падает. В этой работе было выявлено и хорошо охарактеризовано несколько потенциальных мишеней, и эта часть работы тоже очень важная. Я не буду говорить, что работа хорошо сделана, хорошо доложена и хорошо опубликована: 6 статей, из которых три в международных и таких престижных журналах, как *Journal of Bacteriology*. И, я думаю, что нет сомнений, что работа выполнена в актуальной области, выполнена хорошо и заслуживает искомой степени.

Чл.-корр. Никишин Г.И. Спасибо, если больше нет желающих выступить, то я предлагаю такую счетную комиссию: Александр Давидович Дильман, Леонид Исаакович Беленький и Виктор Владимирович Семенов. Нет возражений? Нет. Принимается. Мы предоставляем заключительное слово Анне Николаевне. Пожалуйста.

Винникова А.Н.: Выступает с благодарностями.

Чл.-корр. Никишин Г.И.: Спасибо. Членов комиссии и всех голосующих прошу подходить сюда и голосовать.

**После перерыва:**

Чл.-корр. Никишин Г.И.: Пожалуйста тише, коллеги, оглашаются результаты голосования. Пожалуйста.

Д.х.н. Дильман А.Д.: Зачитывает протокол счетной комиссии, избранной для подсчета голосов при баллотировании Винниковой Анны Николаевны на соискание ученой степени кандидата химических наук.

Решением ВАК Минобразования и науки РФ от 08 сентября 2009 г. № 1925-1246 состав диссертационного совета утвержден в количестве 24 человек на период действия номенклатуры специальностей научных работников, утвержденной приказом Минобрнауки России от 25.02.2009 г. № 59. Присутствовало на заседании 20 членов совета, в том числе докторов наук по профилю рассматриваемой диссертации – 15. Роздано бюллетеней – 20, осталось не розданных бюллетеней – 4, оказалось в урне бюллетеней – 20. Результаты голосования по вопросу о присуждении ученой степени кандидата химических наук Винниковой Анне Николаевне: за – 20, против – нет, недействительных – нет. Председатель счетной комиссии – д.х.н. Дильман А.Д. Члены комиссии – д.х.н., проф. Беленький Л.И., д.х.н. Семенов В.В.

Чл.-корр. Никишин Г.И.: Есть ли вопросы к счетной комиссии? Нет вопросов. Тогда есть предложение утвердить и протокол счетной комиссии и проект заключения. Спасибо. Анна Николаевна, поздравляем Вас с успешной защитой и желаем новых успехов.

### **Постановили:**

на основании выполненных соискателем исследований:

**Разработаны** оригинальные схемы синтеза ранее неизвестных биологически активных аналогов бактериального ундекапренилфосфата и ундекапренилдифосфатсахаров, содержащих легко детектируемые хромофорные и флуоресцентные группы в составе молекулы.

**Предложен** способ оптимизации структурных параметров неизопреноидных аналогов ундекапренилдифосфатсахаров на примере модельной реакции переноса остатка *D*-маннозы в биосинтезе повторяющегося звена *O*-антигена *Salmonella newport*.

**Доказана** способность синтезированных аналогов бактериального ундекапренилфосфата и ундекапренилдифосфатсахаров эффективно участвовать в модельных процессах биосинтеза О-антигенов ряда условнопатогенных грамотрицательных бактерий.

**Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:**

**Доказана** способность неизопреноидных аналогов бактериального ундекапренилфосфата и ундекапренилдифосфатсахаров, содержащих объемный флуоресцентный заместитель, служить субстратами-акцепторами остатков моносахаридов в процессах, моделирующих биосинтез О-специфических полисахаридов ряда грамотрицательных бактерий.

**Применительно к проблематике диссертации результативно (эффективно, то есть с получением обладающих новизной результатов) использованы** доступные и широко применяемые базовые классы органических соединений: спирты, арилгалогениды, гликозилфосфаты и др., а также ферментные препараты и рекомбинантные ферменты некоторых условнопатогенных грамотрицательных бактерий.

**Изложены** экспериментальные и литературные данные, позволившие разработать дизайн новых аналогов бактериальных ундекапренилфосфата и ундекапренилдифосфатсахаров, содержащих хромофорные и флуоресцентные группы атомов.

**Изучено** влияние размеров липофильной части неизопреноидных флуоресцентно меченых аналогов бактериальной ундекапренилдифосфогалактозы на эффективность их участия в модельных процессах сборки повторяющегося звена О-антигенов *Salmonella newport*.

**Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:**

**Созданы** новые содержащие хромофорные и флуоресцентные метки липидфосфаты и липиддифосфатсахара, необходимые для изучения процессов биосинтеза О-антигенов грамотрицательных бактерий и создания новых способов борьбы с заболеваниями, вызываемыми этими микроорганизмами.

**Определена** биологическая активность полученных соединений, в модельных реакциях биосинтеза повторяющегося звена О-антигенов ряда грамотрицательных бактерий.

**Представлены** препаративные методики синтеза аналогов бактериальных ундекапренилфосфата и ундекапренилдифосфатсахаров из доступных исходных соединений.

**Оценка достоверности результатов исследования выявила:**

**Экспериментальные работы** выполнены на высоком уровне, анализ полученных продуктов проводился на сертифицированном оборудовании. Для подтверждения строения и чистоты полученных продуктов **использован** комплекс современных физико-химических методов анализа, таких как  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  и  $^{31}\text{P}$  спектроскопия ЯМР, элементный анализ, ИК-спектроскопия и масс-спектрометрия высокого разрешения.

**Теоретическая интерпретация** полученных экспериментальных данных согласуется с литературными данными по использованию изопреноидным и неизопреноидным аналогам бактериального ундекапренилфосфата и ундекапренилдифосфатсахаров, родственным полученным и исследованным в настоящей работе.

**Личный вклад соискателя состоит в:** поиске, анализе и обобщении научной информации по известным способам синтеза и исследованиях биологической активности аналогов ундекапренилфосфата и ундекапренилдифосфатсахаров; планировании и выполнении описанных в диссертации химических и биохимических экспериментов; интерпретации данных физико-химических методов анализа; подготовке публикаций по теме диссертационной работы.

**Диссертационный совет пришёл к выводу о том, что** диссертация представляет собой научно-квалификационную работу, которая соответствует критериям, установленным в п. 9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, и принял решение присудить Винниковой Анне Николаевне учёную степень кандидата химических наук.

На основании обсуждения и результатов тайного голосования **присудить Винниковой Анне Николаевне ученую степень кандидата химических наук по специальности 02.00.03 – органическая химия.**

Заместитель председателя

диссертационного совета чл.-корр. РАН Никишин Г.И.

Ученый секретарь

Диссертационного совета д.х.н. Родиновская Л.А.



16 декабря 2014 г.

Подписи Г.И. Никишина и Л.А. Родиновской заверяю

Ученый секретарь ИОХ РАН,

к.х.н. И.К. Коршевец



**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ  
БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ  
ИНСТИТУТ ОРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ  
им. Н.Д. ЗЕЛИНСКОГО  
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК  
(ИОХ РАН)**

**ПРОТОКОЛ**

16.12.2014 № 16

Москва

[ заседания диссертационного ]  
совета Д 002.222.01 при ИОХ РАН

Присутствовали: 20 членов совета (из них 15 докторов наук по специальности диссертации – 02.00.03- органическая химия) и 56сотрудников ИОХ РАН и приглашенных.

Председатель: чл.-корр. Г.И. Никишин  
Секретарь: д.х.н. Л.А. Родиновская

**Повестка дня:**

Защита диссертации **Винниковой Анны Николаевны**

**1. СЛУШАЛИ:** защиту диссертации **Кашиным Алексеем Сергеевичем** (ИОХ РАН) на тему **“Синтез аналогов бактериального ундекапренилфосфата и ундекапренилдифосфатсахаров”** по специальности 02.00.03 (Органическая химия)

Вопросы задавали: чл.-корр. РАН Никишин Г.И. (советник РАН, ИОХ РАН); д.х.н., проф. Шестопапов А.М. (зав. лаб. № 25 ИОХ РАН); д.х.н., проф. Махова Н.Н. (зав. лаб. № 19 ИОХ РАН); д.х.н., проф. Злотин С.Г. (зав. лаб. № 11 ИОХ РАН); д.х.н., проф. Молотковский Ю. Г. (г.н.с. лаб. химии липидов ИБХ РАН); д.х.н., проф. Смит В. А. (в.н.с. лаб. №11 ИОХ РАН); д.х.н., проф. Томилов Ю. В. (зав. лаб. № 6 ИОХ РАН), д.х.н., проф. Веселовский В.В. (зав. лаб. № 7 ИОХ РАН)

А.Н. Винникова отвечает на вопросы.

Выступление научного руководителя д.х.н., проф. В.В. Веселовского.

Л.А. Родиновская зачитывает заключение ИОХ РАН (выписка из протокола заседания межлабораторного научного коллоквиума лабораторий № 7, № 21, № 41 № 52 и № 30 ИОХ

РАН) отзыв ведущей организации (МИТХТ им. М.В. Ломоносова) и поступившие отзывы на автореферат диссертации А.Н. Винниковой.

А.Н. Винникова отвечает на замечания, содержащиеся в отзывах.

Слово предоставляется официальному оппоненту д.х.н. Ю.Г. Молотковскому

А.Н. Винникова отвечает на замечания оппонента.

Л.А. Родиновская зачитывает отзыв второго официального оппонента к.х.н. Т.В. Ивашиной ввиду отсутствия оппонента по уважительной причине

А.Н. Винникова отвечает на замечания оппонента.

В прениях выступили: д.х.н., проф. Книрель Ю.А. (зав. лаб. № 21 ИОХ РАН), д.х.н., проф. Усов А.И. (зав. лаб. № 41 ИОХ РАН).

Избирается (единогласно) счетная комиссия в составе: Председатель счетной комиссии – д.х.н. Дильман А.Д. Члены комиссии – д.х.н., проф. Беленький Л.И., д.х.н., проф. Семенов В.В.

Заключительное слово предоставляется А.Н. Винниковой.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 20 человек (из них 15 докторов наук по специальности рассматриваемой диссертации 02.00.03 – органическая химия), участвовавших в заседании, из 24 человек, входящих в состав совета (кворум имеется), проголосовал: за -19, против - нет, недействительных бюллетеней – нет.

### **ПОСТАНОВИЛИ:**

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

**Разработаны** оригинальные схемы синтеза ранее неизвестных биологически активных аналогов бактериального ундекапренилфосфата и ундекапренилдифосфатсахаров, содержащих легко детектируемые хромофорные и флуоресцентные группы в составе молекулы.

**Предложен** способ оптимизации структурных параметров неизопреноидных аналогов ундекапренилдифосфатсахаров на примере модельной реакции переноса остатка *D*-маннозы в биосинтезе повторяющегося звена *O*-антигена *Salmonella newport*.

**Доказана** способность синтезированных аналогов бактериального ундекапренилфосфата и ундекапренилдифосфатсахаров эффективно участвовать в модельных процессах биосинтеза *O*-антигенов ряда условнопатогенных грамотрицательных бактерий.

**Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:**

**Доказана** способность неизопреноидных аналогов бактериального ундекапренилфосфата и ундекапренилдифосфатсахаров, содержащих объемный флуоресцентный заместитель, служить субстратами-акцепторами остатков моносахаридов в процессах, моделирующих биосинтез *O*-специфических полисахаридов ряда грамотрицательных бактерий.

**Применительно к проблематике диссертации результативно (эффективно, то есть с получением обладающих новизной результатов) использованы** доступные и широко применяемые базовые классы органических соединений: спирты, арилгалогениды, гликозилфосфаты и др., а также ферментные препараты и рекомбинантные ферменты некоторых условнопатогенных грамотрицательных бактерий.

**Изложены** экспериментальные и литературные данные, позволившие разработать дизайн новых аналогов бактериальных ундекапренилфосфата и ундекапренилдифосфатсахаров, содержащих хромофорные и флуоресцентные группы атомов.

**Изучено** влияние размеров липофильной части неизопреноидных флуоресцентно меченых аналогов бактериальной ундекапренилдифосфогалактозы на эффективность их участия в модельных процессах сборки повторяющегося звена О-антигенов *Salmonella newport*.

**Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:**

**Созданы** новые содержащие хромофорные и флуоресцентные метки липидфосфаты и липиддифосфатсахара, необходимые для изучения процессов биосинтеза О-антигенов грамотрицательных бактерий и создания новых способов борьбы с заболеваниями, вызываемыми этими микроорганизмами.

**Определена** биологическая активность полученных соединений, в модельных реакциях биосинтеза повторяющегося звена О-антигенов ряда грамотрицательных бактерий.

**Представлены** препаративные методики синтеза аналогов бактериальных ундекапренилфосфата и ундекапренилдифосфатсахаров из доступных исходных соединений.

**Оценка достоверности результатов исследования выявила:**

**Экспериментальные работы** выполнены на высоком уровне, анализ полученных продуктов проводился на сертифицированном оборудовании. Для подтверждения строения и чистоты полученных продуктов **использован** комплекс современных физико-химических методов анализа, таких как  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  и  $^{31}\text{P}$  спектроскопия ЯМР, элементный анализ, ИК-спектроскопия и масс-спектрометрия высокого разрешения.

**Теоретическая интерпретация** полученных экспериментальных данных согласуется с литературными данными по использованию изопреноидным и неизопреноидным аналогам бактериального ундекапренилфосфата и ундекапренилдифосфатсахаров, родственным полученным и исследованным в настоящей работе.

**Личный вклад соискателя состоит в:** поиске, анализе и обобщении научной информации по известным способам синтеза и исследованиях биологической активности аналогов ундекапренилфосфата и ундекапренилдифосфатсахаров; планировании и выполнении описанных в диссертации химических и биохимических экспериментов; интерпретации



данных физико-химических методов анализа; подготовке публикаций по теме диссертационной работы.

Диссертационный совет пришёл к выводу о том, что диссертация представляет собой научно-квалификационную работу, которая соответствует критериям, установленным в п. 9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, и принял решение присудить Винниковой Анне Николаевне учёную степень кандидата химических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 20 человек, из них 15 докторов наук по специальности 02.00.03 – органическая химия рассматриваемой диссертации, участвовавших в заседании, из 24 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за присуждение учёной степени 20, против присуждения учёной степени нет, недействительных бюллетеней нет.

Заместитель председателя  
диссертационного совета чл.-корр. РАН Никишин Г.И.

Ученый секретарь  
Диссертационного совета д.х.н. Родиновская Л.А.

16 декабря 2014 г.

Подписи Г.И. Никишина и Л.А. Родиновской заверяю  
Ученый секретарь ИОХ РАН,  
к.х.н. И.К. Коршевец



## ПРОТОКОЛ № 16

заседания счетной комиссии, избранной диссертационным советом Д 002.222.01  
при Институте органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН  
от 16 декабря 2014 г.

Состав избранной комиссии: Дильман А.Д. - председатель,  
Семенов В.В., Бреславский Л.И.

Комиссия избрана для подсчета голосов при тайном голосовании по вопросу о присуждении

### Винниковой Анне Николаевне

ученой степени кандидата химических наук.

Решением ВАК Минобрнауки и науки РФ от 08 сентября 2009 г. № 1925-1246 состав диссертационного совета утвержден в количестве 24 человек на период действия номенклатуры специальностей научных работников, утвержденной приказом Минобрнауки России от 25.02.2009 г. № 59.

В состав совета диссертационного совета дополнительно введены \_\_\_ чел.

Присутствовало на заседании 20 членов совета, в том числе докторов наук по профилю рассматриваемой диссертации 15.

Роздано бюллетеней 20.

Осталось не розданных бюллетеней 4.

Оказалось в урне бюллетеней 20.

Результаты голосования по вопросу о присуждении ученой степени кандидата химических наук

### Винниковой Анне Николаевне

за 20,

против нет,

недействительных бюллетеней нет.

Председатель счетной комиссии: Дильман А.Д.

Члены комиссии: Семенов

Бреславский

Подписи Дильмана А.Д.,  
Семенова В.В., Бреславского Л.И.

заверяю

Ученый секретарь ИОХ РАН к.х.н.

И.К. Коршовец



И.К. Коршовец

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.222.01 НА БАЗЕ  
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ  
НАУКИ ИНСТИТУТА ОРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ ИМ. Н.Д. ЗЕЛИНСКОГО  
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК**

ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

Аттестационное дело № \_\_\_\_\_

Решение диссертационного совета от 16.12.2014 г. № 16

Диссертация “Синтез аналогов бактериального ундекапренилфосфата и ундекапренилдифосфатсахаров” в виде рукописи по специальности 02.00.03 Органическая химия выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН.

Диссертация принята к защите 7 октября 2014 года, протокол № 10.

Соискатель Винникова Анна Николаевна, гражданка Российской Федерации, инженер-исследователь в лаборатории полинепредельных соединений № 7 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН. В 2011 году соискатель окончила Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева» (диплом №ВСГ 4870021), с 5 октября 2011 г по 5 октября 2014 г обучался в очной дневной аспирантуре при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН.

Научный руководитель – доктор химических наук, профессор, Веселовский Владимир Всеволодович, заведующий лабораторией полинепредельных соединений № 7 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН.

Официальные оппоненты:

1. Молотковский Юлиан Георгиевич, гражданин Российской Федерации, доктор химических наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории химии липидов при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте биоорганической химии им. академиков М.М Шемакина и Ю.А. Овчинникова РАН.
2. Ивашина Татьяна Владимировна, гражданка Российской Федерации, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной

микробиологии при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г. К. Скрыбина РАН.

дали положительные отзывы о диссертации.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Московский государственный университет тонких химических технологий имени М.В. Ломоносова» (МИТХТ им. М.В. Ломоносова), Москва, дала положительное заключение (заключение составлено Морозовой Ниной Георгиевной, кандидатом химических наук, старший научный сотрудник, доцент кафедры Химии и технологии Биологически активных соединений им. Н.А. Преображенского при МИТХТ им. М.В. Ломоносова).

**Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается** близостью тематик научных работ: диссертационная работа относится к областям синтеза природных и биологически активных соединений и исследования их биохимических свойств в модельных ферментативных реакциях.

На автореферат поступило 4 положительных отзыва: к.х.н. С. В. Афанасьевой (старший научный сотрудник лаборатории природных соединений ФГБУН Института физиологически активных веществ РАН, г. Черноголовка); д.х.н. С. М. Адекенова (профессор, академик НАН РК, председатель правления Международного научно-производственного холдинга «Фитохимия», г. Караганда); д.х.н. В. А. Глушкова (доцент, старший научный сотрудник лаборатории биологически активных соединений ИТХ УрО РАН, г. Пермь); д.х.н. С. А. Рубцовой (зам. директора по научной работе, зав. лабораторией химии окислительных процессов Института химии Коми НЦ УрО РАН, г. Сыктывкар).

В дискуссии приняли участие: чл.-корр. РАН Никишин Г.И. (советник РАН); д.х.н., проф. Шестопапов А.М. (зав. лаб. № 25 ИОХ РАН); д.х.н., проф. Махова Н.Н. (зав. лаб. № 19 ИОХ РАН); д.х.н., проф. Злотин С.Г. (зав. лаб. № 11 ИОХ РАН); д.х.н., проф. Молотковский Ю. Г. (г.н.с. лаб. химии липидов ИБХ РАН); д.х.н., проф. Смит В. А. (в.н.с. лаб. №11 ИОХ РАН); д.х.н., проф. Томилов Ю. В. (зав. лаб. № 6 ИОХ РАН), д.х.н., проф. Веселовский В.В. (зав. лаб. № 7 ИОХ РАН) д.х.н., проф. Книрель Ю.А.(зав. лаб. № 21 ИОХ РАН), д.х.н., проф. Усов А.И. (зав. лаб. № 41 ИОХ РАН).

Соискатель имеет 11 публикаций, в том числе 11 работ по теме диссертации. Из них 6 статей в рецензируемых российских и международных научных изданиях (в том

числе 6 по теме диссертации), из которых 3 в рекомендуемых ВАК изданиях; 5 тезисов на всероссийских и международных конференциях (в том числе 5 по теме диссертации). Основное содержание диссертационной работы отражено в 6 статьях, опубликованных в ведущих российских и международных журналах.

**Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:**

1. Веселовский, В. В. Аналог ундекапренилфосфата, содержащий феноксигруппу на  $\omega$ -конце олигоизопреновой цепи. / В.В. Веселовский, Л.Л. Данилов, А.Н. Винникова, Т.Н. Дружинина // Изв. АН. Сер.хим. – 2010. – №6. – С. 1240–1244.
2. Gao, Y. Functional identification of bacterial glucosyltransferase WbdN. / Y. Gao, A.N. Vinnikova, I. Brockhausen // Meth. Mol. Biol. – 2013. – V. 1022. – P. 199–214.
3. Vinnikova, A. N. Synthesis of a fluorescent acceptor substrate for glycosyltransferases involved in the assembly of O-antigens of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 and O5. / A.N. Vinnikova, T.N. Druzhinina, L.L. Danilov, N.S. Utkina, V.I. Torgov, V.V. Veselovsky, B. Liu, L. Wang, I Brockhausen // Carbohydr. Res. – 2013. – V. 366. – P. 17–24.
4. Винникова, А. Н. Синтез и акцепторные свойства 11-[(9'-антраценил)метокси]ундецилфосфата и  $P^1$ -{11-[(9'-антраценил)метокси]ундецил}- $P^2$ -( $\alpha$ -D-галактопиранозил)дифосфата в ферментативных реакциях, катализируемых галактозилфосфотрансферазой и маннозилтрансферазой *Salmonella newport*. / А.Н. Винникова, Н.С. Уткина, Л.Л. Данилов, В.И. Торгов, Т.Н. Дружинина, В.В. Веселовский // Биоорган. химия. – 2013. – Т. 39. – № 1. – С. 99–104.
5. Данилов, Л. Л. Синтез 11-[(2-пиридил)амино]- и 11-[(9-антраценилкарбонил)-амино]ундецилфосфата и исследование их акцепторных свойств в ферментативной реакции, катализируемой галактозилтрансферазами из клеток *Salmonella*. / Л.Л. Данилов, Н.М. Балагурова, А.Н. Винникова, Н.С. Уткина, В.И. Торгов, Н.А. Калинин, Т.Н. Дружинина, В.В. Веселовский // Биоорган. химия. – 2014. – Т. 40, № 1. – С. 99–107.
6. Wang, S. Characterization of two UDP-Gal: GalNAc-diphosphate-lipid  $\beta$ 1,3-galactosyltransferases WbwC from *Escherichia coli* serotypes O104 and O5. / S. Wang, D. Czuchry, B. Liu, A.N. Vinnikova, Y. Gao, J.Z. Vlahakis, W.A. Szarek, L. Wang, L. Feng, I. Brockhausen // J. Bacteriol. – 2014. – V. 196. – P. 3122–3133.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

**Разработаны** оригинальные схемы синтеза ранее неизвестных биологически активных аналогов бактериального ундекапренилфосфата и ундекапренилдифосфатсахаров, содержащих легко детектируемые хромофорные и флуоресцентные группы в составе молекулы.

**Предложен** способ оптимизации структурных параметров неизопреноидных аналогов ундекапренилдифосфатсахаров на примере модельной реакции переноса остатка *D*-маннозы в биосинтезе повторяющегося звена *O*-антигена *Salmonella newport*.

**Доказана** способность синтезированных аналогов бактериального ундекапренилфосфата и ундекапренилдифосфатсахаров эффективно участвовать в модельных процессах биосинтеза *O*-антигенов ряда условнопатогенных грамотрицательных бактерий.

**Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:**

**Доказана** способность неизопреноидных аналогов бактериального ундекапренилфосфата и ундекапренилдифосфатсахаров, содержащих объемный флуоресцентный заместитель, служить субстратами-акцепторами остатков моносахаридов в процессах, моделирующих биосинтез *O*-специфических полисахаридов ряда грамотрицательных бактерий.

**Применительно к проблематике диссертации результативно (эффективно, то есть с получением обладающих новизной результатов) использованы** доступные и широко применяемые базовые классы органических соединений: спирты, арилгалогениды, гликозилфосфаты и др., а также ферментные препараты и рекомбинантные ферменты некоторых условнопатогенных грамотрицательных бактерий.

**Изложены** экспериментальные и литературные данные, позволившие разработать дизайн новых аналогов бактериальных ундекапренилфосфата и ундекапренилдифосфатсахаров, содержащих хромофорные и флуоресцентные группы атомов.

**Изучено** влияние размеров липофильной части неизопреноидных флуоресцентно меченых аналогов бактериальной ундекапренилдифосфогалактозы на эффективность их участия в модельных процессах сборки повторяющегося звена *O*-антигенов *Salmonella newport*.

**Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:**

**Созданы** новые содержащие хромофорные и флуоресцентные метки липидфосфаты и липиддифосфатсахара, необходимые для изучения процессов биосинтеза O-антигенов грамотрицательных бактерий и создания **новых** способов борьбы с заболеваниями, вызываемыми этими микроорганизмами.

**Определена** биологическая активность полученных соединений, в модельных реакциях биосинтеза повторяющегося звена O-антигенов ряда грамотрицательных бактерий.

**Представлены** препаративные методики синтеза аналогов бактериальных ундекапренилфосфата и ундекапренилдифосфатсахаров из доступных исходных соединений.

**Оценка достоверности результатов исследования выявила:**

**Экспериментальные работы** выполнены на высоком уровне, анализ полученных продуктов проводился на сертифицированном оборудовании. Для подтверждения строения и чистоты полученных продуктов **использован** комплекс современных физико-химических методов анализа, таких как  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  и  $^{31}\text{P}$  спектроскопия ЯМР, элементный анализ, ИК-спектроскопия и масс-спектрометрия высокого разрешения.

**Теоретическая интерпретация** полученных экспериментальных данных согласуется с литературными данными по использованию изопреноидным и неизопреноидным аналогам бактериального ундекапренилфосфата и ундекапренилдифосфатсахаров, родственным полученным и исследованным в настоящей работе.

**Личный вклад соискателя состоит в:** поиске, анализе и обобщении научной информации по известным способам синтеза и исследованиях биологической активности аналогов ундекапренилфосфата и ундекапренилдифосфатсахаров; планировании и выполнении описанных в диссертации химических и биохимических экспериментов; интерпретации данных физико-химических методов анализа; подготовке публикаций по теме диссертационной работы.

**Диссертационный совет пришёл к выводу о том, что** диссертация представляет собой научно-квалификационную работу, которая соответствует критериям, установленным в п. 9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, и принял решение присудить Винниковой Анне Николаевне учёную степень кандидата химических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 20 человек, из них 15 докторов наук по специальности 02.00.03 – органическая химия рассматриваемой диссертации, участвовавших в заседании, из 24 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за присуждение учёной степени 20, против присуждения учёной степени нет, недействительных бюллетеней нет.

Заместитель председателя  
диссертационного совета чл.-корр. РАН Никишин Г.И.

Ученый секретарь  
Диссертационного совета д.х.н. Родиновская Л.А.

16 декабря 2014 г.

Подписи Г.И. Никишина и Л.А. Родиновской заверяю  
Ученый секретарь ИОХ РАН,  
к.х.н. И.К. Коршевец

