

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Иванчиной Натальи Владимировны
«Полярные стероиды морских звезд: структура, биологическая активность и
биосинтез», представленной на соискание ученой степени доктора химических наук
по специальности 1.4.9 – биоорганическая химия

В настоящей работе представлены обширные результаты исследования стероидов морских звезд, представляющие собой, по сути, энциклопедию по этому классу веществ. Актуальность работы высокая, поскольку идентифицированы структуры, обладающие уникальными физиологическими свойствами, не встречающимися у наземных организмов. Представленные в диссертации материалы свидетельствуют об актуальности, научной новизне, а также теоретической и практической значимости исследования для биоорганической химии, биотехнологии и биомедицины.

Диссертация Н.В. Иванчиной имеет стандартную структуру и состоит из введения, обзора данных литературы, описания результатов и их обсуждения, экспериментальной части, выводов и списка цитируемой литературы. Работа изложена на 394 страницах, включает 42 рисунков и 67 таблиц. Список литературы включает 404 источника. Материалы, изложенные в диссертации, адекватно отражены в публикациях.

Обзор данных литературы является исчерпывающим по данному классу метаболитов и позволяет издать на его основе монографическую сводку.
Результаты и обсуждение.

В экспериментальной части основное внимание уделено структурной химии и изучению биологической активности выделенных веществ. Иванчиной Н.В. выделены и охарактеризованы полярные стероидные соединения из 18 видов морских звезд, в том числе установлены полные химические структуры 90 новых метаболитов. Работы проведены с использованием современных методов анализа, в том числе масс-спектрометрии высокого разрешения и ЯМР спектроскопии. Эти работы технически сложны и требовали высокой квалификации. Содержание целевых веществ невелико, много примесей, наличие полярной и неполярной компоненты в одном веществе, плохая детекция с УФ-детекторами (поэтому использовали рефрактометрию) – вот перечень проблем, которые были успешно преодолены. Например, как следует из Таблицы 38, из морской звезды *Aphelasterias japonica* выделено 1,5 мг афеластерозида E из 9 кг биомассы; тем не менее, структуру этого стероидного гликозида удалось определить. К этому нужно

добавить большое количество необычных сахаров в углеводной компоненте стероидных гликозидов.

Проблема фактора роста нервов (NGF).

Пожалуй, самая интересная находка для потенциального практического применения, описываемая в диссертации, это синергизм в нейритогенном действии некоторых стероидных соединений морских звезд с NGF. Дело в том, что возрастная прогрессирующая нейродегенерация и связанная с ней когнитивная дисфункция представляют серьезную проблему во всем мире. Решение проблемы доставки нейротрофического белка NGF через гематоэнцефалический барьер может восстановить когнитивную функцию, что делает NGF интересным в качестве потенциального терапевтического средства. Суть открытия автора диссертации в том, что стероиды и NGF (а также BDNF, то есть brain-derived neurotrophic factor, который способствует выживанию и дифференциации популяций нейронов) действуют синергично в супернизких дозах на процесс дифференцировки нейронов. Так, Натальей Владимировной показано, что неэффективными (не вызывающими клеточную дифференцировку) концентрациями являются 1 нг/мл для NGF и 0.1 нг/мл для BDNF. Однако одновременная обработка культуры нейробластомы стероидами PP1–PP3 и D1–D3 и нейротрофическими факторами (в неэффективных концентрациях) значительно увеличивали нейрональную дифференцировку, то есть делало это сочетание эффективным. На это надо обратить серьезное внимание, так как современные схемы лечения нейродегенеративных заболеваний опираются на поддерживающую терапию, а не на восстановительную за счет нейрогенеза (попросту нет таких лекарств). Вместе с тем показано, что NGF как синтезируется, так и высвобождается клетками рака молочной железы и оказывает митогенное, антиапоптотическое и ангиогенное действие посредством активации различных сигнальных каскадов. Поэтому нужна дальнейшая работа биологов, чтобы разобраться с механизмом действия стероидов в разных каскадах для выбора оптимального пути воздействия на нейроны.

Второй аспект, на который хотелось бы обратить внимание – это биогенез стероидов. В диссертации представлены итоги большой работы по этому направлению. Использовались метаболомные методы и включение меченых предшественников. В целом, выводы автора о поглощении с пищей и дальнейшей биотрансформации стероидов обоснованы. Автор отмечает, что *P. pectinifera* и *L. fusca* являются планктонофагами и/или детритофагами и используют, помимо холестерина, фитостерины пищевого происхождения в процессах биосинтеза полярных стероидов. По-видимому, существует

также мевалонатный путь биосинтеза, который имеет предшественником ацетил-КоА, сохраняется у всех метазоа.

Некоторые из астеросапонинов *P. pectinifera* имеют одинаковую олигосахаридную часть и отличаются друг от друга только структурой агликонов. По мнению автора это указывает на то, что трансформация агликона может происходить, когда углеводная цепь уже сформирована. Это достаточно необычно. Ниже отмечается: «Все обнаруженные астеросапонины имеют одну и ту же архитектуру углеводных цепей с одинаковой последовательностью β -1,3, β -1,4 и β -1,2 гликозидных связей в линейной части углеводных цепей и β -1,2-связи в разветвлении у второго моносахарида.» Одна и та же архитектура углеводных цепей означает наличие одного и того же пула ферментов; неферментативные превращения здесь маловероятны. Скорее всего, углеводная компонента присоединяется к уже сформированному агликону.

Иванчиной Н.В. показано, что морская звезда *Choriaster granulatus* содержит уникальный гликозид – гранулатозид С, имеющий ряд структурных особенностей, не характерных для метаболитов морских звезд, но типичных для метаболитов других классов морских беспозвоночных. Возможен ли здесь горизонтальный перенос генов? Для морских беспозвоночных это неоднократно отмечалось.

Методологический подход автора адекватен для выполнения поставленной задачи. Широко использовались современные методы исследования. Этот раздел – Экспериментальная часть – сомнений в достоверности полученных данных не вызывает.

Замечания, вопросы и предложения.

В принципе, замечаний по существу диссертации нет. Отдельные вопросы высказаны выше. Нет раздела «Заключение» (не требуется ВАК, но помогает читателю сконцентрироваться на главном).

Технический вопрос: для приготовления каждой порции пищи смешивались альгиновая кислота, сушеный измельченный кальмар и отмытый морской песок. Меченое соединение добавлялось в эту смесь. Затем к полученной смеси добавлялась дист. H_2O , все тщательно перемешивалось. Почему метка не добавлялась после добавления воды, растворитель был DMSO?

Предложение прежде: в дальнейшей работе сконцентрироваться на нейродегенеративных заболеваниях, проблеме 21 века.

Материалы диссертационной работы апробированы на отечественных и международных научных конференциях и опубликованы в 42 научных статьях (большинство в ведущих международных журналах), т.е. в журналах, включенных в «Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, в которых должны

быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата наук», рекомендованных ВАК и индексируемых в отечественных и международных базах данных.

Положения, выносимые на защиту, обоснованы полученными результатами.

Заключение: Диссертационная работа Иванчиной Натальи Владимировны «Полярные стероиды морских звезд: структура, биологическая активность и биосинтез», представленной на соискание ученой степени доктора химических наук по специальности 1.4.9 – биоорганическая химия является самостоятельной законченной научно-квалификационной работой, в которой представлено решение научной задачи, соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (ред. от 11.09.2021 г.), предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор Иванчина Н.В. заслуживает присуждения искомой степени доктора химических наук по специальности 1.4.9 – биоорганическая химия.

Главный научный сотрудник
лаборатории биоинженерии
ФГБУ Федеральный научный центр
биоразнообразия наземной биоты
Восточной Азии
Дальневосточного отделения
Российской академии наук,
д.б.н. (специальность 03.00.26 - биотехнология),
член-корреспондент РАН
06 сентября 2024 г.

 В.П. Булгаков

690022, Владивосток, Проспект Столетия Владивостоку, 159,
тел. (423)2375279, bulgakov@biosoil.ru. Федеральное государственное бюджетное
учреждение Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной
Азии ДВО РАН.

