

“УТВЕРЖДАЮ”

Директор
государственного бюджетного
учреждения науки

Новосибирского института

органической химии им. Н.Н.

Ворожцова Сибирского отделения

Российской академии наук (НИОХ

СО РАН) д.ф.-м.н., профессор

Е.Г. Багрянская

«26» сентября 2024 г.



ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертационную работу

Иванчиной Натальи Владимировны

« Полярные стероиды морских звезд: структура, биологическая активность и биосинтез»

представленную на соискание ученой степени доктора химических наук по научной специальности

1.4.9 – биоорганическая химия

Актуальность выбранной темы. Химическое разнообразие и высокая биологическая активность природных соединений обуславливает их ведущую роль в разработке новых лекарственных препаратов. На протяжении длительного времени основными источниками природных соединений служили высшие наземные растения и почвенные микроорганизмы. В настоящее время к их числу принадлежат и морские организмы, являющиеся кладезем постоянных находок для химиков, биохимиков и фармакологов. Исследование их вторичных метаболитов позволило обнаружить ошеломляющее число уникально-структурных соединений, а изучение их биологической активности выявить вещества, обладающие высоким противоопухолевым, противовирусным, иммунодепрессивным, противомикробным и др. действиями. Несомненно, большой интерес в поиске практически-значимых соединений представляют морские звезды, повсеместно представленные в мировом океане. Известно, что они содержат большое количество разнообразных вторичных метаболитов, включающие уникальные по своему химическому строению высокоокисленные стероидные соединения. Полученные для них данные о биологическом действии позволяет рассматривать их в качестве перспективных веществ в разработке противовирусных, противомикробных, противовоспалительных, противоопухолевых терапевтических агентов. Поэтому цель настоящей диссертационной работы, сформулированная как «выделение, установление строения, изучение биосинтеза, биологической активности и биологических функций новых полярных стероидов, включая полигидроксистероиды, гликозиды полигидроксистероидов, астеросапонины и циклические гликозиды из ряда ранее не

изученных или малоизученных видов морских звезд, собранных в различных районах Мирового океана, в том числе с применением методов метаболомики и аквариальных экспериментов с биосинтетическими предшественниками, мечеными стабильными изотопами» безусловно является актуальной, а полученные результаты вносят значительный вклад в расширение возможностей практического использования вторичных метаболитов морских гидробионтов в разработке оригинальных лекарственных препаратов.

Общая характеристика работы. Диссертационная работа **Натальи Владимировны**, написанная по традиционному плану, начинается с введения (10 стр.) и литературного обзора из 5 подглав (59 стр.). Следующая глава (216 стр.) состоит из трех блоков и содержит обсуждение полученных автором результатов по выделению и установлению структуры полярных стероидных соединений из морских звезд, данные о биологической активности, полученных для некоторых из них, и исследования биосинтеза полярных стероидных соединений. Завершают диссертацию весьма подробная, заполненная методиками и спектральными характеристиками полученных новых соединений, экспериментальная глава (63 стр.), выводы (из 10 пунктов) и список литературы (404 наименования). **Во введении** отражена актуальность выбранной темы, сформулированы цель и задачи, подчеркнуты научная новизна и практическая значимость проведенного исследования, приведены положения, выносимые автором на защиту.

Литературный обзор напрямую связан с выполненной соискателем исследовательской работой и должным образом позволяет понять и оценить новизну выполненного исследования. Значительная часть посвящена рассмотрению опубликованных данных о полярных стероидах, выделенных из морских звезд и анализу их структурных особенностей. Так, приведены и описаны структуры гликозидов полигидроксистероидов, астеросапонинов и родственных им соединений. Рассмотрен широкий ряд полигидроксистероидов, что позволило автору продемонстрировать, что их структурное разнообразие связано не только с числом и положением гидроксильных групп, но и со строением их стероидного скелета, боковых цепей и наличием кето- и карбоксильной группы. Выполнен анализ структур малочисленных структурных групп полярных стероидов морских звезд, представленных стероидными фосфатами, стероидными сульфатированными диолами, циклическими гликозидами, даунеозидами и антенозидами. Обобщены литературные данные о биологической активности экстрактов морских звезд и выделенных из них индивидуальных полярных стероидных соединений, многие из которых обладают высокой гемолитической, эмбриотоксической, антибактериальной, противовоспалительной активностью, а также цитотоксическим действием в отношении опухолевых клеток человека. Также приведены результаты изучения антибактериальных, противогрибковых,

противовирусных, анальгетических, нейритогенных и гипотензивных свойств. Рассмотрены работы, посвященные исследованию биологических функций полярных стероидных соединений, выделенных из морских звезд. Описаны имеющиеся данные и гипотезы о биогенезе стероидных метаболитов морских звезд.

Во второй части диссертации, обсуждению полученных результатов предшествует глава, посвященная описанию основных подходов, использованных для выделения полярных стероидных соединений морских звезд и установления их строения. Подчеркнуто, что значительный успех в выделении индивидуальных соединений обусловлен использованием ВЭЖХ на различных модифицированных сорбентах, а в установлении их строения определяющий вклад внесло использование одно- и двумерной спектроскопии ядерного магнитного резонанса. Для исследования состава и строения полярных стероидов морских звезд выбраны ранее малоизученные или неизученные виды, обитающие в различных частях Мирового океана (*Henricia leviuscula*, *Ctenodiscus crispatus*, *Linckia laevigata*, *Distolasterias nipon*, *Ogmaster capella*, *Leptasterias fisheri*, *Anthenoides laevigatus*, *Choriaster granulatus*, *Pteraster marsippus*, *Diplasterias brucei*, *Lethasterias fusca*, *Asterias microdiscus*, *Archaster typicus*, *Aphelasterias japonica*, *Hippasteria kurilensis*, *Pentaceraster regulus*, *Echinaster luzonicus* и *Leiaster* sp). В результате из водно-этанольного экстракта дальневосточной морской звезды *Henricia leviuscula* выделено четыре новых полигидроксистероида - (23R,24S)-5 α -холестан-3 β ,4 β ,6 β ,8,15 β ,23,24-гептаол, (24R)-5 α -холестан-3 β ,4 β ,6 β ,8,15 β ,24,25-гептаол, 26-O-сульфатированное производное Δ^{22E} -24-нор-5 α -холестан-3 β ,5,6 β ,15 α ,26-пентаол, 24-O-сульфат (24S)-5 α -холестан-3 β ,5,6 β ,15 α ,24-пентаол - и стероидный гликозид (3-O- β -D-(2,3-ди-O-метил- β -ксилопиранозил)-22E-27-нор-24-метил-5 α -холеста-4,22-диен-3 β ,6 β ,8,15 α ,16 β ,26-гексаол). Исследование минорных сульфатированных полигидроксистероидов морской звезды *Ctenodiscus crispatus*, собранной в заливе Посьета Японского моря, привело к выделению 26-O-сульфат (22E,24R25S) или (22E,24S25R)-24-метил-5 α -холест-22-ен-3 β ,5,6 β ,15 α ,25,26-гексаолов и 26-O-сульфат(22E,24 ξ ,25 ξ)-24-метил-5-холест-22-ен-3 β ,5,6 β ,8,1 α ,25,26-гептаола, ранее не описанных в литературе. Из этанольного экстракта голубой морской звезды *Linckia laevigata*, собранной в заливе Ван Фонг Южно-Китайского моря выделено семь новых гликозидов - линкозид L1 ((20R,24S)-3-O-(2-O-метил- β -D-ксилопиранозил)-5 α -холестан-3 β ,4 β ,6 β ,8,15 α ,24-гексаол), линкозид L2 ((20R,24S)-3-O-(2-O-метил- β -D-ксилопиранозил)-5 α -холестан-3 β ,6 β ,15 α ,24-тетраол), линкозид L3 ((20R,24R)-3-O-(2-O-метил- β -D-ксилопиранозил)-24-метил-5 α -холест-4-ен-3 β ,6 β ,8,15 α ,16 β ,24,28-гептаол), линкозид L4 ((20R,25S)-3-O-(2-O-метил- β -D-ксилопиранозил)-5 α -холестан-3 β ,6 β ,8,15 α ,16 β ,26-гексаол), линкозид L5 ((20R,25S)-3-O-(2-O-метил- β -D-ксилопиранозил)-26-O-(β -D-ксилопиранозил)-5 α -холест-4-ен-3 β ,6 β ,8,15 α ,16 β ,26-гексаол), линкозид L6 ((20R)-

3-*O*-(2-*O*-метил-β-*D*-ксилопиранозил)-26-*O*-(β-*D*-ксилопиранозил)-24-этил-5α-холест-4-ен-3β,6β,8,15α,16β,26-гексаол), линкозид L7 (натриевая соль 15-*O*-сульфата (22*E*,20*R*,24*R*)-3-*O*-(2-*O*-метил-β-*D*-ксилопиранозил)-29-*O*-(β-*D*-ксилопиранозил)-24-этилхолест-4,22-диен-3β,6β,8,15α,16β,29-гексаол). Дополнены данные о минорных полярных стероидах, входящих в сосав дальневосточной морской звезды *Distolasterias nipon*, собранной в бухте Троица залива Посьета Японского моря; выделены и охарактеризованы два новых стероидных гликозида – дистоластерозид D6 ((20*R*,24*S*)-24-*O*-(β-*D*-ксилопиранозил)-5α-холестан-3β,6α,8,15β,16β,24-гексаол) и дистоластерозид D7 ((22*E*,20*R*,24*R*)-24-*O*-(β-*D*-ксилопиранозил)-5α-холест-22-ен-3β,6α,8,15β,24-пентаол). Впервые изучен стероидный состав тропической морской звезды *Ogmaster capella*, собранной в водах Вьетнама, выделен ранее неизвестный стероидный гликозид - капеллозид А (натриевая соль 15-*O*-сульфата (24*S*)-24-*O*-(3-*O*-метил-β-*D*-ксилопиранозил)-5α-холестан-3β,6β,8,15α,24-пентаол). При изучении полярных стероидных соединений морской звезды *Leptasterias fisheri*, собранной в заливе Анива Охотского моря у побережья о. Сахалин, выделили новый стероидный гликозид фишерозид А (натриевая соль *N*-(2'-сульфоэтил)амида (22*E*,20*R*,24*S*,25*S*)-3-*O*-(β-*D*-ксилопиранозил)-24-метил-3β,6β,8,15α,16β-пентагидрокси-5α-холест-4,22-диен-26-овой кислоты). Впервые изучен стероидный состав морской звезды *Anthenoides laevigatus*, собранной у побережья провинции Кинхон, Вьетнам; из метанольного экстракта получено четыре новых полигидроксилированных стероида - (20*R*,25*S*)-5α-холестан-3β,5,6β,14,15α,16β,26-гептаол, (20*R*,25*S*)-5α-холестан-3β,6β,14,15α,16β,26-гексаол, (20*R*,25*S*)-5β-холестан-3β,6β,14,15α,16β,26-гексаол и (20*R*,25*S*)-5β-холестан-3β,4α,6β,14,15α,16β,26-гептаол. Исследован состав фракций полигидроксилированных стероидных соединений и их гликозидов из ранее неизученной популяции морской звезды *Choriaster granulatus*, собранной у побережья Вьетнама. В результате получено три новых гликозида полигидроксистероидов - гранулатозид С ((20*R*)-16,21-*O*-ди-(β-*D*-фукопиранозил)-24-метилхолеста-5,24(28)-диен-3β,7α,16α,21-тетраол), гранулатозид D (натриевая соль 15-*O*-сульфата (20*R*,24*R*)-3-*O*-(2-*O*-метил-β-*D*-ксилопиранозил)-29-*O*-(α-*L*-арабинофуранозил)-24-этил-5α-холест-4-ен-3β,6β,8,15α,16β,29-гексаол) и гранулатозид E ((20*R*,24*R*)-3-*O*-(2-*O*-метил-β-*D*-ксилопиранозил)-24-этил-5α-холестан-3β,6β,8,15α,16β,29-гексаол). Изучен состав фракции полярных стероидов дальневосточной морской звезды *Pteraster marsippus*, собранной в Охотском море у острова Уруп; из этанольного экстракта выделены три новых дисульфатированных стероидных 3β,21-диола (динатриевая соль 3,21-дисульфата (20*R*)-7-оксо-24-метилхолеста-5,24(28)-диен-3β,21-диол, натриевая соль 3,21-дисульфата (20*R*)-7-оксо-24-метил-5α-холест-24(28)-ен-3β,21-диол, динатриевая соль 3,21-дисульфата (20*R*)-24-метил-5α-холест-24(28)-ен-3β,7β-21-триол) и динатриевая соль 3,22-дисульфата (20*S*,22*R*)-

холеста-5,24-диен-3 β ,22-диол. Из антарктической морской звезды *Diplasterias brucei*, собранной у побережья моря Росса, выделен дипластериозид А (натриевая соль 3-*O*-сульфата (20*S*)-6 α -*O*-{ β -*D*-фукопиранозил-(1 \rightarrow 2)- β -*D*-галактопиранозил-(1 \rightarrow 4)-[β -*D*-хиновопиранозил-(1 \rightarrow 2)]- β -*D*-хиновопиранозил-(1 \rightarrow 3)- β -*D*-хиновопиранозил}-20-гидрокси-5 α -холест-9(11)-ен-23-он) и дипластериозид В (натриевая соль 3-*O*-сульфата (20*S*,24*S*)-6 α -*O*-{ β -*D*-фукопиранозил-(1 \rightarrow 2)- β -*D*-галактопиранозил-(1 \rightarrow 4)-[β -*D*-хиновопиранозил-(1 \rightarrow 2)]- β -*D*-хиновопиранозил-(1 \rightarrow 3)- β -*D*-хиновопиранозил}-20-гидрокси-24-метил-5 α -холест-9(11)-ен-23-он). В составе ранее неизученной морской звезды *Lethasterias fusc*, собранной в заливе Посьета Японского моря, идентифицировано два новых стероидных гликозида – фусказид А (натриевая соль 15-*O*-сульфата (20*R*,24*S*)-3,24-*O*-ди-(β -*D*-ксилопиранозил)-5 α -холестан-3 β ,6 β ,8,15 α ,24-пентаол) и фусказид В ((20*R*,24*S*)-3,24-*O*-ди-(β -*D*-ксилопиранозил)-5 α -холестан-3 β ,6 β ,8,15 α ,24-пентаол), а также два новых астеросапонина - летастериозид А (натриевая соль 3-*O*-сульфата (20*R*)-6 α -*O*-{ β -*D*-фукопиранозил-(1 \rightarrow 2)- β -*D*-галактопиранозил-(1 \rightarrow 4)-[β -*D*-хиновопиранозил-(1 \rightarrow 2)]- β -*D*-ксилопиранозил-(1 \rightarrow 3)- β -*D*-хиновопиранозил}-3 β ,6 α -дигидрокси-5 α -холест-9(11)-ен-23-он) и летастериозид В (натриевая соль 3-*O*-сульфата (20*R*,23*R*)-6 α -*O*-{ β -*D*-фукопиранозил-(1 \rightarrow 2)- β -*D*-галактопиранозил-(1 \rightarrow 4)-[β -*D*-хиновопиранозил-(1 \rightarrow 2)]- β -*D*-ксилопиранозил-(1 \rightarrow 3)- β -*D*-хиновопиранозил}-3 β ,6 α ,23-тригидрокси-5 α -холест-9(11)-ен). Показано наличие в морской звезде *Asterias microdiscus*, собранной в восточной части Чукотского моря, полигидроксистероидных конъюгатов с таурином, названных микродискусолом А (натриевая соль N-(2'-сульфоэтил)амида (20*R*,25*S*)-3 β ,6 β ,15 α -тригидрокси-5 α -холестан-26-оевой кислоты), микродискусолом В (натриевая соль N-(2'-сульфоэтил)амида (20*R*,22*E*,24*R*,25*S*)-24-метил-3 β ,6 β ,15 α -тригидрокси-5 α -холест-22-ен-26-оевой кислоты), микродискусолом С (натриевая соль N-(2'-сульфоэтил)амида (20*R*,24 ξ ,25 ξ)-24-метил-3 β ,6 β ,8,15 α ,16 β -пентагидрокси-5 α -холестан-26-оевой кислоты), микродискусолом D (динатриевая соль 3-*O*-сульфата N-(2'-сульфоэтил)амида (20*R*,25*S*)-3 β ,6 β ,8,15 α -тетрагидрокси-5 α -холестан-26-оевой кислоты), микродискусолом E (динатриевая соль 3-*O*-сульфата N-(2'-сульфоэтил)амида (20*R*,25*S*)-3 β ,6 β ,8,15 α ,16 β -пентагидрокси-5 α -холестан-26-оевой кислоты), микродискусолом F (динатриевая соль 3-*O*-сульфата N-(2'-сульфоэтил)амида (20*R*,24 ξ ,25 ξ)-24-метил-3 β ,6 β ,8,15 α ,16 β -пентагидрокси-5 α -холестан-26-оевой кислоты), микродискусолом G (натриевая соль 28-*O*-сульфата (20*R*,24*S*)-24-метил-5 α -холестан-3 β ,5,6 β ,15 α ,16 β ,28-гексаола), микродискусозидом А ((20*R*,25*S*)-3-*O*-(β -*D*-ксилопиранозил)-26-*O*-(β -*D*-ксилопиранозил)-холеста-4,24(28)-диен-3 β ,6 β ,8,15 α ,16 β ,26-гексаол). Увеличено число известных метаболитов морской звезды *Archaster typicus*, собранной в провинции Куангнинь (Вьетнам), благодаря обнаружению шести новых

стероидных соединений ((24R)-27-нор-5 α -холестан-3 β ,6 α ,8,14,15 α ,24-гексаол, (20R,24R)-27-нор-5 α -холестан-3 β ,4 β ,6 α ,8,14,15 α ,24-гептаол, (20R)-5 α -холестан-3 β ,4 β ,5,6 α ,8,14,15 α ,24,26-нонаол, (20R,24R)-24-O- α -D-глюкопиранозил-27-нор-5 α -холестан-3 β ,4 β ,5,6 α ,7 β ,8,14,15 α -нонаол, натриевые соли 15-O-сульфатов (20R,24S)- и (20R,24R)-5 α -холест-25(27)-ен-3 β ,6 α ,8,14,15 α ,24,26-гептаола, натриевая соль 15-O-сульфата (23E,20R)-27-нор-25-оксо-5 α -холест-23-ен-3 β ,6 α ,8,14,15 α -пентаола), а также трех новых астеросапонинов - архастерозид А (натриевая соль 3-O-сульфата (20R,22R,23S,24S)-6 α -O- $\{\beta$ -D-фукопиранозил-(1 \rightarrow 2)- β -D-хиновопиранозил-(1 \rightarrow 4)- $[\beta$ -D-хиновопиранозил-(1 \rightarrow 2)]- β -D-хиновопиранозил-(1 \rightarrow 3)- β -D-глюкопиранозил}-22,23-эпокси-20-гидрокси-24-этил-5 α -холест-9(11)-ена), архастерозид В (натриевая соль 3-O-сульфата (20S)-6 α -O- $\{\beta$ -D-фукопиранозил-(1 \rightarrow 2)- β -D-хиновопиранозил-(1 \rightarrow 4)- $[\beta$ -D-хиновопиранозил-(1 \rightarrow 2)]- β -D-хиновопиранозил-(1 \rightarrow 3)- β -D-хиновопиранозил}-20-гидрокси-5 α -холест-9(11)-ена), архастерозид С (натриевая соль 3-O-сульфата (20S)-6 α -O- $\{\beta$ -D-фукопиранозил-(1 \rightarrow 2)- β -D-фукопиранозил-(1 \rightarrow 4)- $[\beta$ -D-хиновопиранозил-(1 \rightarrow 2)]- β -D-хиновопиранозил-(1 \rightarrow 3)- β -D-хиновопиранозил}-20-гидрокси-5 α -холест-9(11)-ен-23-она).

При изучение минорных полярных стероидов морской звезды *A. japonica*, выделили новый полигидроксилированный гликозид афеластерозид Е (натриевая соль 26-O-сульфата (20R,25S)-3-O- β -D-ксилопиранозил-5 α -холестан-3 β ,5,6 β ,15 α ,26-пентаола) и афеластерозид F (натриевая соль 3-O-сульфата (20R)-6-O- $\{\beta$ -D-фукопиранозил-(1 \rightarrow 2)- β -D-глюкопиранозил-(1 \rightarrow 4)- $[\beta$ -D-хиновопиранозил-(1 \rightarrow 2)]- β -D-глюкопиранозил-(1 \rightarrow 3)- β -D-хиновопиранозил}-3 β ,6 α ,24-тригидрокси-5 α -холест-9(11)-ен-23-она). Исследование состава этанольного экстракта дальневосточной морской звезды *Hippasteria kurilensis*, собранной у острова Матуа (Курильские острова) в Охотском море, привело к выделению новых гликозидов - куриленсозид А (натриевая соль (20R,24S)-3-O-(2-O-метил- β -D-ксилопиранозил)-24-O- $[\alpha$ -L-арабинофуранозил-(1 \rightarrow 2)-3-O-сульфат- α -L-арабинофуранозил]-5 α -холестан-3 β ,4 β ,6 β ,8,15 α ,24-гексаола), куриленсозид В ((20R,24S)-3-O-(2,4-ди-O-метил- β -D-ксилопиранозил)-24-O- $[\beta$ -D-ксилопиранозил-(1 \rightarrow 5)- α -L-арабинофуранозил]-5 α -холестан-3 β ,4 β ,6 α ,7 α ,8,15 β ,24-гептаол) и куриленсозид С ((20R,24S)-3-O-(2-O-метил- β -D-ксилопиранозил)-24-O-[2-O-метил- β -D-ксилопиранозил-(1 \rightarrow 5)- α -L-арабинофуранозил]-5 α -холестан-3 β ,4 β ,6 α ,7 α ,8,15 β ,24-гептаол), куриленсозид D ((20R,24S)-24-O-[2-O-метил- β -D-ксилопиранозил-(1 \rightarrow 5)- α -L-арабинофуранозил]-5 α -холестан-3 β ,4 β ,6 α ,8,15 β ,24-гексаол) - и натриевой соли 6-O-сульфата (22E,20R)-5 α -холест-22-ен-3 β ,4 β ,6 α ,7 α ,8,15 β ,24-гептаола. Дополнительно выделено пять монозидов - куриленсозид Е ((20R,25S)-3-O-(2-O-метил- β -D-ксилопиранозил)-5 α -холестан-3 β ,4 β ,8,15 α ,16 β ,26-гексаол), куриленсозид F ((20R,25S)-3-O-(2-O-метил- β -D-ксилопиранозил)-5 α -холестан-3 β ,4 β ,5,8,15 α ,16 β ,26-гептаол), куриленсозид G ((20R,25S)-3-O-(β -D-ксилопиранозил)-холест-5-ен-3 β ,4 β ,8,15 α ,16 β ,26-гептаол), куриленсозид

Н $((20R,25S)$ -3-*O*-(2-*O*-метил- β -*D*-ксилопиранозил)-4 β ,5 β -эпоксихолестан-3 β ,4 β ,5,8,15 α ,16 β ,26-гептаол) - и 15-*O*-сульфатированный эхинастерозид С (натриевая соль 15-*O*-сульфата $(20R,25S)$ -3-*O*-(2-*O*-метил- β -*D*-ксилопиранозил)-холест-4-ен-3 β ,6 β ,8,15 α ,16 β ,26-гексаол). В качестве минорных соединений из *H. kurilensis* выделили триозид куриленсозид I $((22E,20R,24R)$ -3-*O*-(2-*O*-метил- α -*D*-ксилопиранозил)-24-*O*-[2-*O*-метил- β -*D*-ксилопиранозил-(1 \rightarrow 5)- α -*L*-арабинофуранозил]-5 α -холест-22-ен-3 β ,4 β ,6 α ,7 α ,8,15 β ,24-гептаол) и биозид куриленсозид J $((20R,24S)$ -3-*O*-(2-*O*-метил- β -*D*-ксилопиранозил)-24-*O*-(α -*L*-арабинофуранозил)-5 α -холестан-3 β ,4 β ,6 β ,15 α ,24-пентаол). Анализ фракции астеросапонинов *H. kurilensis* привел к выделению четырех новых гексаозидов – гиппастериозид А (натриевая соль 3-*O*-сульфата $(20R,22R,23S,24S)$ -6 α -*O*-{ β -*D*-ксилопиранозил-(1 \rightarrow 3)- β -*D*-фукопиранозил-(1 \rightarrow 2)- β -*D*-хиновопиранозил-(1 \rightarrow 4)-[β -*D*-хиновопиранозил-(1 \rightarrow 2)]- β -*D*-ксилопиранозил-(1 \rightarrow 3)- β -*D*-хиновопиранозил}-22,23-эпокси-20-гидрокси-24-метил-5 α -холест-9(11)-ена), гиппастериозид В (натриевая соль 3-*O*-сульфата $(20R,22R,23S)$ -6 α -*O*-{ β -*D*-ксилопиранозил-(1 \rightarrow 3)- β -*D*-фукопиранозил-(1 \rightarrow 2)- β -*D*-хиновопиранозил-(1 \rightarrow 4)-[β -*D*-хиновопиранозил-(1 \rightarrow 2)]- β -*D*-ксилопиранозил-(1 \rightarrow 3)- β -*D*-хиновопиранозил}-22,23-эпокси-20-гидрокси-5 α -холест-9(11)-ен), гиппастериозид С (натриевая соль 3-*O*-сульфата $(20S,24R)$ -6 α -*O*-{ β -*D*-ксилопиранозил-(1 \rightarrow 3)- β -*D*-фукопиранозил-(1 \rightarrow 2)- β -*D*-хиновопиранозил-(1 \rightarrow 4)-[β -*D*-хиновопиранозил-(1 \rightarrow 2)]- β -*D*-ксилопиранозил-(1 \rightarrow 3)- β -*D*-хиновопиранозил}-24-метил-20-гидрокси-5 α -холест-9(11)-ен) и гиппастериозид D (натриевая соль 3-*O*-сульфата $(20R,22R,23S)$ -6 α -*O*-{ β -*D*-ксилопиранозил-(1 \rightarrow 3)- β -*D*-фукопиранозил-(1 \rightarrow 2)- β -*D*-хиновопиранозил-(1 \rightarrow 4)-[β -*D*-хиновопиранозил-(1 \rightarrow 2)]- β -*D*-ксилопиранозил-(1 \rightarrow 3)- β -*D*-хиновопиранозил}-22,23-эпокси-24-*нор*-20-гидрокси-5 α -холест-9(11)-ен). Из морской звезды *Pentaceraster regulu*, собранной у островов Чам (Вьетнам) в Южно-Китайском море, выделены новые гликозиды - регулусозид А $((20R,24S)$ -24-*O*-(β -*D*-ксилопиранозил-(1 \rightarrow 2)-3-*O*-метил- α -*L*-арабинофуранозил)-5 α -холестан-3 β ,5,6 β ,8,15 α ,24-гексаол), регулусозид В $((20R,24S)$ -24-*O*-(β -*D*-ксилопиранозил-(1 \rightarrow 2)- α -*L*-арабинофуранозил)-5 α -холестан-3 β ,5,6 β ,8,15 α ,24-гексаол), регулусозид С $((20R,24S)$ -24-*O*-(2-*O*-метил- β -*D*-ксилопиранозил-(1 \rightarrow 2)-3-*O*-метил- α -*L*-арабинофуранозил)-5 α -холестан-3 β ,5,6 β ,8,15 α ,24-гексаол), регулусозид S1 (натриевая соль 16-*O*-сульфата $(20R,24R)$ -3-*O*-(2-*O*-метил- β -*D*-ксилопиранозил)-24-этил-5 α -холестан-3 β ,6 α ,8,15 α ,16 β ,29-гексаол), регулусозид S2 (натриевая соль 16-*O*-сульфата $(20R,24R)$ -3-*O*-(2-*O*-метил- β -*D*-ксилопиранозил)-29-*O*-(β -*D*-ксилопиранозил)-24-этил-5 α -холестан-3 β ,6 α ,8,15 α ,16 β ,29-гексаол), пентарегулозид А (натриевая соль 3-*O*-сульфата $(20R,22R,23S,24S)$ -6 α -*O*-{ β -*D*-фукопиранозил-(1 \rightarrow 2)- β -*D*-глюкопиранозил-(1 \rightarrow 4)-[β -*D*-хиновопиранозил-(1 \rightarrow 2)]- β -*D*-хиновопиранозил-(1 \rightarrow 3)- β -*D*-

хиновопиранозил}-16 β ,20-дигидрокси-22,23-эпокси-24-метил-5 α -холест-9(11)-ен),
пентарегулозид В (натриевая соль 3-*O*-сульфата (20*R*,22*S*,23*S*)-6 α -*O*-{ β -*D*-фукопиранозил-(1 \rightarrow 2)- β -*D*-глюкопиранозил-(1 \rightarrow 4)-[β -*D*-хиновопиранозил-(1 \rightarrow 2)]- β -*D*-хиновопиранозил-(1 \rightarrow 3)- β -*D*-хиновопиранозил}-20,23-дигидрокси-16 β ,22-эпокси-24-метил-5 α -холест-9(11)-ен),
пентарегулозид С (натриевая соль 3-*O*-сульфата (20*R*,22*S*,23*S*)-6 α -*O*-{ β -*D*-фукопиранозил-(1 \rightarrow 2)- β -*D*-глюкопиранозил-(1 \rightarrow 4)-[β -*D*-хиновопиранозил-(1 \rightarrow 2)]- β -*D*-хиновопиранозил-(1 \rightarrow 3)- β -*D*-хиновопиранозил}-20,23-дигидрокси-16 β ,22-эпокси-24-метил-27-*нор*-5 α -холест-9(11)-ен),
пентарегулозид D (натриевая соль 3-*O*-сульфата (20*R*,22*S*)-6 α -*O*-{ β -*D*-фукопиранозил-(1 \rightarrow 2)- β -*D*-хиновопиранозил-(1 \rightarrow 4)-[β -*D*-хиновопиранозил-(1 \rightarrow 2)]- β -*D*-ксилопиранозил-(1 \rightarrow 3)- β -*D*-хиновопиранозил}-20,22-дигидрокси-5 α -холест-9(11)-ена, пентарегулозид E (натриевая соль 3-*O*-сульфата (20*R*)-6 α -*O*-{ β -*D*-фукопиранозил-(1 \rightarrow 2)- β -*D*-хиновопиранозил-(1 \rightarrow 4)-[β -*D*-хиновопиранозил-(1 \rightarrow 2)]- β -*D*-ксилопиранозил-(1 \rightarrow 3)- β -*D*-хиновопиранозил}-20-гидрокси-22-оксо-5 α -холест-9(11)-ена), пентарегулозид F (натриевая соль 3-*O*-сульфата (20*R*)-6 α -*O*-{ β -*D*-фукопиранозил-(1 \rightarrow 2)- β -*D*-хиновопиранозил-(1 \rightarrow 4)-[β -*D*-хиновопиранозил-(1 \rightarrow 2)]- β -*D*-ксилопиранозил-(1 \rightarrow 3)- β -*D*-хиновопиранозил}-20,25-дигидрокси-22-оксо-5 α -холеста-9(11),23-диен), пентарегулозид G (натриевая соль 3-*O*-сульфата (20*R*)-6 α -*O*-{ β -*D*-фукопиранозил-(1 \rightarrow 2)- β -*D*-хиновопиранозил-(1 \rightarrow 4)-[β -*D*-хиновопиранозил-(1 \rightarrow 2)]- β -*D*-ксилопиранозил-(1 \rightarrow 3)- β -*D*-хиновопиранозил}-5 α -прегн-9(11)-ен-20-он). В составе этанольного экстракта морской звезды *Echinaster luzonicus*, собранной у побережья Вьетнама, выделено пять новых стероидных гликозида - лузоникозид В ((20*S*,22*S*,23*S*)-3-*O*-[6-*O*-(β -*D*-галактопиранозил)-(1 \rightarrow 2)- α -*L*-арабинопиранозил-(1 \rightarrow 2)- β -*D*-глюкуронопиранозил]-22,23-эпокси-3 β ,6 β -дигидрокси-5 α -холест-7-ен), лузоникозид С ((20*S*,22*S*,23*S*,24*S*)-3-*O*-[6-*O*-(β -*D*-галактопиранозил)-(1 \rightarrow 2)- α -*L*-арабинопиранозил-(1 \rightarrow 2)- β -*D*-глюкуронопиранозил]-22,23-эпокси-24-метил-3 β ,6 β -дигидрокси-5 α -холест-7-ен), лузоникозид D ((20*R*)-3-*O*-[6-*O*-(β -*D*-глюкопиранозил)-(1 \rightarrow 2)- α -*L*-арабинопиранозил-(1 \rightarrow 2)- β -*D*-глюкуронопиранозил]-3 β ,6 β -дигидрокси-5-холест-7-ен-23-он), лузоникозид E ((20*R*)-3-*O*-[6-*O*-(β -*D*-глюкопиранозил)-(1 \rightarrow 2)- α -*L*-арабинопиранозил-(1 \rightarrow 2)- β -*D*-глюкуронопиранозил]-3 β ,6 β ,7 α -тригидрокси-8 α ,9 α -эпокси-5 α -холестан-23-он), лузоникозид F ((20*R*)-3-*O*-[β -*D*-глюкопиранозил-(1 \rightarrow 2)- α -*L*-арабинопиранозил-(1 \rightarrow 2)- β -*D*-глюкуронопиранозил]-3 β -гидрокси-5 α -холеста-8(14)-ен-6,23-дион).

Для некоторых полигидроксистероидов и гликозидов, выделенных из *H. Leviuscula*, выявлена гемолитическая активность в отношении эритроцитов крови мышей. На модели оплодотворенных яйцеклеток морских ежей *S. intermedius* на стадии 8 бластомеров и в сперматесте показаны эмбриотоксические свойства полярных стероидов морских звезд *A. typicus* и *L.*

Laevigata. Для триозидов куриленсозидов А–D и куриленсозидов Е, F, G и H из морской звезды *H. Kurilensi* в сперм-тесте показана способность ингибировать оплодотворение яйцеклеток морского ежа *S. nudus*. Для широкого ряда выделенных полярных стероидов морских звезд изучено *in vitro* цитотоксическое действие в отношении к нормальным клеткам мыши (JB6 Cl41) и к различным опухолевым клеткам человека (HCT-116, HT-29, HuTu80, T-47D, MDA-MB-231, ZR-75-1, RPMI-7951, SK-Mel-28, SK-Mel-5 и THP-1). Выявлено, что некоторые соединения, несмотря на их низкую цитотоксичность в отношении выше приведенных клеточных культур, способны *in vitro* эффективно ингибировать пролиферацию и образование колоний опухолевых клеток. Изучены иммуномодулирующие свойства полярных стероидных соединений морских звезд, принадлежащих к различным структурным классам. Показано, что некоторые из них в нецитотоксических концентрациях способны вызывать индукцию образования активных форм кислорода, а другие снижать уровень АФК. Дополнительно продемонстрирована способность циклических гликозидов стимулировать лизосомальную активность и синтез NO в клетках макрофагов мыши. Установлено, что полярные стероиды, выделенные из морских звезд *P. Pectinifera* и *D. nipon.*, обладают нейритогенной активностью на клетках нейробластомы (NB C-1300) и усиливают эффект нейротрофинов (NGF и BDNF) при совместном с ними использовании. При изучении защитных эффектов последних соединений *in vitro* на органотипических культурах клеток гиппокампа крыс от повреждений, вызванных недостатком кислорода и глюкозы, выявлены их нейропротекторные свойства.

На основе анализа структур стероидных соединений, выделенных из *Archaster typicus*, и описанных в литературе механизмов биосинтеза желчных спиртов предложена схема биосинтеза боковых цепей 27-*нор*-стероидов, включающая образование их 26-карбоксильных производных и их декарбоксилирование. Показаны возможности применения высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией и с установленными особенностями биосинтеза для обнаружения и установления структур полигидроксилированных стероидов и астеросапонинов морских звезд *A. Japonica* и *Patiria pectinifera* многие из которых ранее не были найдены с помощью классических химических методов выделения. Выполненный анализ их структур позволил предложить возможные биогенетические связи между отдельными соединениями и биосинтетический путь их образования. Вместе с этим, на примере морской звезды *L. Fusca* показано, что использование метода наноВЭЖХ-ИЭР МС/МС позволяет значительно увеличить количество идентифицированных метаболитов что является источником дополнительной информации, указывающей на последовательность биосинтетических превращений. Исследован биосинтез свободных стероидов и полярных стероидов в морской звезде *Patiria pectinifera* с помощью экспериментов по кормлению мечеными стабильными изотопами предшественников ([1-13C]ацетата натрия, [1-13C]D-глюкоза, [25,26,26,26,27,27,27-²H7]холестерин и 3-*O*-сульфата [2,2,3,4,4,6-²H6]холестерин).

Установлено использование полученного с пищей холестерина в биосинтезе латостерина. Показано, что полученный с пищей [25,26,26,26,27,27,27-²H7]холестерин и 3-*O*-сульфат [2,2,3,4,4,6-²H6]холестерина трансформируются в дейтерированные аналоги (25*S*)-5 α -холестан-3 β ,6 α ,7 α ,8,15 α ,16 β ,26-гептаола, (25*S*)-5 α -холестан-3 β ,4 β ,6 α ,7 α ,8,15 β ,16 β ,26-октаола и астеросапонина P1, входящих в число основных полигидроксистероидов морской звезды *P. pectinifera*. Предложена схема начальных стадий биосинтеза А,В-кольцевых фрагментов полярных стероидов морской звезды *P. pectinifera*.

Глава Экспериментальная часть, содержащая подробное описание экспериментальных процедур, не оставляет сомнений в достоверности полученных результатов, представленных в предыдущих главах.

Завершают работу выводы, полностью отражающие результаты работы и список цитируемой литературы.

Автореферат полностью отражает содержание работы, не искажает сути проведённых исследований и позволяет сделать те же выводы, что зафиксированы в диссертационной работе.

Считаю, что в ходе выполнения исследования соискатель получил экспериментальный материал, который *по своей новизне, объёму и качеству является более чем достаточным для докторской диссертационной работы*. Основные результаты, полученные автором, опубликованы в 42 статьях в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ.

Практическая значимость выполненной работы несомненна и заключается в расширении возможностей использования биологических ресурсов океана для получения высокоактивных фармакологических веществ. Отмеченные в результате биологических испытаний соединения представляют интерес при разработке иммуномодулирующих агентов, противоопухолевых средств, нейротрофических и нейропротекторных медицинских препаратов.

Достоверность полученных экспериментальных данных основывается на методе ЯМР-спектроскопии на ядрах ¹H, ¹³C, масс-спектрометрии (МАЛДИ-ВП, ББИ, ИЭР ВП, ИЭР). Научные положения работы обоснованы и прошли апробацию при подготовке публикаций в рецензируемых журналах и при их представлении в стендовых и устных докладах на международных и национальных конференциях.

Представленная диссертационная работа характеризуется весьма внушительным объемом экспериментальной работы, системным подходом к проведению исследования, приятным стилем изложения с минимальными методическими и стилистическими недостатками, квалифицированной трактовкой полученных результатов, свидетельствующей о высокой научной эрудиции Натальи Владимировны.

Поводов для принципиальной критики работы Иванчиной Натальи Владимировны нет. Вместе с тем имеются некоторые замечания по оформлению, и как у человека, впервые ознакомившегося с настоящей работой, по некоторым моментам возникли вопросы или недопонимание:

1. Оформление. а) Преобладающее число рисунков в тексте диссертации не пронумеровано. б) Несмотря на многочисленные достоинства литературного обзора, отсутствие для него общего вывода обуславливает ощущение незавершенности и нехватки дополнительной помощи для читателя для более целостного восприятия материала, характеризующегося большим объемом.

2. Почему принадлежность сахаров к *D*-ряду или *L*-ряду в одних примерах была выполнено с применением методики Леонтейна, а в других случаях ограничена использованием только аналогии со структурами других гликозидов, выделенных из морских звезд?

3. Судя по экспериментальной части, в большинстве примеров экстракцию морских звезд проводили этанолом, дважды, при комнатной температуре. Но также для извлечения полярных стероидов использовали 70% этанол, метанол, повышенную температуру и число повторений циклов обработки сырья растворителем, отличное от двух. По общим соображениям можно сделать предположение с чем это связано, но хотелось бы уточнить какими именно критериями пользовался автор при выборе условий проведения экстракции.

Указанные замечания не затрагивают сути работы и не влияют на общую высокую оценку представленного научного исследования. Рассмотренная работа представляет собой самостоятельное исследование и имеет логически завершенный вид; весь материал тематически однороден. Исследование выполнено на высоком современном экспериментальном и теоретическом уровне. Основные научные положения доказаны, а выводы диссертации не вызывают сомнений; работа хорошо иллюстрирована и изложена ясным языком.

Заключение: диссертационная работа Иванчиной Н.В. представляет собой завершенную научно-исследовательскую работу, выполненную на актуальную тему. Представленные в работе научные положения и заключения являются обоснованными. **Диссертационная работа относится к разряду высококвалифицированных фундаментальных научных исследований, совокупность положений которых можно классифицировать как новое крупное достижение в области биорганической химии.** По объему и качеству проведенных экспериментов, по научной новизне и практической значимости диссертация соответствует критериям, изложенным в пп. 9-14 “Положения о присуждении ученых степеней”, утвержденного постановлением правительства РФ №

842 от 24 сентября 2013 г. (в редакции от 20.03.2021), а ее автор - Иванчина Наталья Владимировна, достойна присвоения ученой степени доктора химических наук по специальности 1.4.9 – биорганическая химия.

Отзыв обсужден и утвержден на заседании семинара отдела медицинской химии ФГБУН Новосибирского института органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук (НИОХ СО РАН), протокол № 4 от 4 сентября 2024 г.

д.х.н. (специальность 02.00.03 – органическая химия)

ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией медицинской химии

Отдела медицинской химии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Новосибирского института органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук (НИОХ СО РАН)

раб тел.: (383)3308533; khariton@nioch.nsc.ru

Я, Харитонов Юрий Викторович,

согласен на включение моих персональных данных в документы, связанные с работой диссертационного совета 24.1.213.01, и их дальнейшую обработку

26.09.2024



Харитонов Юрий Викторович

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук (НИОХ СО РАН)

630090, г. Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, д. 9

Телефон:(383)330-88-50, Факс: (383)330-97-52

e-mail: benzol@nioch.nsc.ru

Подпись ведущего научного сотрудника, заведующего лабораторией медицинской химии

д.х.н. Харитонова Юрия Викторовича удостоверяю:

ученый секретарь

Федерального государственного бюджетного учреждения науки Новосибирского института органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения РАН

кандидат химических наук



Бредихин Роман Андреевич