

О Т З Ы В

на автореферат диссертации 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

Диссертационная работа Иванчиной Н.В. посвящена исследованию структур, биологической активности и возможных путей биосинтеза одного из представителей типа иглокожих – морских звезд. Регуляторная система морских организмов, частью которой являются полярные стероиды, сложилась намного раньше, чем началось заселение суши. Наземные обитатели получили ее в наследство, однако дальнейшая эволюция организмов, обитающих в принципиально разных средах, привела к существенному расхождению структуры биорегуляторов. Морские звезды, питающиеся другими беспозвоночными, а иногда детритом, являются одним из наиболее богатых источников вторичных метаболитов. Получая с пищей стероиды других беспозвоночных, они накапливают и ассимилируют их. Наибольшее внимание исследователей привлекают полигидроксистероиды, их моно-, би- и триозиды, а также олигогликозиды. Именно они обладают наиболее выраженной и разнообразной биологической активностью. В некоторых странах Азии суммарные лекарственные препараты из морских звезд используют в комплексной терапии различных заболеваний. Поэтому исследования структуры полярных стероидов морских звезд и их биологической активности, начатые в начале 1980 гг., становятся все более актуальными. Особое значение они приобретают в связи с растущей лекарственной резистентностью болезнетворных грибов, бактерий и вирусов.

Автором проделана огромная работа по выделению индивидуальных полярных стероидов морских звезд с помощью хроматографических методов. Строение выделенных веществ устанавливалось с помощью разных видов масс-спектрометрии и ЯМР-спектроскопии, использовались методы COSY, DEPT, HSQC, NOESY, ROESY, TOCSY, HMBC. Для определения абсолютных конфигураций асимметрических центров в ряде случаев получали оптически активные производные, которые анализировались с помощью спектроскопии ЯМР. Определение *D*- или *L*-ряда моносахаридных остатков проводили методом ГЖХ.

Оказалось, что полярные стероиды морских звезд могут иметь от двух до пяти гидроксильных групп в стероидном кольце. Одна из гидроксильных групп, как в холестерине, занимает положение 3. Другие могут находиться в положениях 4, 5 (редко), 6, 7 (редко), 8, 14 (редко), 15, 16. Боковая цепь всегда занимает положение 17. Она состоит из 8-9 углеродных атомов, имеет изопреноидную структуру и может нести одну или две гидроксильных группы. В стероиде Фишерииозиде А вместо первичной гидроксильной группы на конце боковой цепи находится амидная, несущая остаток таурина.

Гидроксильные группы боковой цепи и различных положений стероидного кольца имеют разные химические свойства.

Первичные гидроксильные группы боковой цепи часто сульфатируются. В стероидах «офиурного» типа помимо боковой цепи сульфатируется положение 3 кольца. Зафиксировано также сульфатирование положения 15 кольца, при этом свободные гидроксилы занимают положения 3, 6, 8, 14.

В стероидах, имеющих в кольце две гидроксильных группы в положениях 3 и 6, при сульфатировании положения 3 обнаружено гликозилирование гидроксила 6 разветвленными олигосахаридами. При этом все гликозидные связи имеют β -конфигурацию. Непосредственно со стероидным фрагментом связана хиновопираноза, замещенная по положению 3 остатком хиновопиранозы или ксилопиранозы, дизамещенной по положению 2 и 4. В положении 2 находится терминальный остаток хиновопиранозы, а в положении 4 — остаток галактозы, гликозилированной по положению 2 фукопиранозой. Несколько отличающиеся по составу, но тоже разветвленные на втором углеводном остатке олигосахаридные цепочки присутствуют в положении 6 3-сульфатированного стероидного фрагмента Архастерозидов А, В и С. Стероидный гидроксил в этом случае гликозилирует глюкоза или хиновоза. В положении 16 стероидного фрагмента может присутствовать гидроксильная группа.

Положение 3 кольца может быть β -гликозилировано ксилозой или 2-метилксилозидом. В первом случае второй остаток β -D-ксилозы гликозилирует вторичную гидроксильную группу боковой цепи, а положение 15 кольца сульфатируется. Во втором случае остаток β -D-ксилозы или арабинозы связывается с первичной гидроксильной группой боковой цепи. При этом положение 15 кольца сульфатируется.

В гликозилированных по положению 3 2-метилксилозидом 3,4,6,8,15-пентагидрокси- и 3,4,6,7,8,15-гексагидроксистероидах вторичная гидроксильная группа боковой цепи гликозилирована дисахаридом арабинозы или несет фрагмент 2-ОМе- β -D-Xyl_p-(1→5)- α -L-Ara_f. Найден также 3,4,6,8,15-пентагидроксистероид с тем же фрагментом в боковой цепи, но свободным гидроксильным в положении 3. Это дает основания полагать, что гликозилирование стероидного кольца и боковой цепи может протекать независимо. Схожее строение имеют и стероиды Регулосозиды со свободным или гликозилированным 2-ОМе-ксилозидом гидроксильным в положении 3. Дисахариды в боковой цепи отличаются от предыдущего случая тем, что место арабинозы занимает ее 3-ОМе производное. Видимо, принципиально важно, что вторичная гидроксильная группа боковой цепи гликозилируется фуранозами.

Остаток β -D-фукопиранозы может вставать в положение 16 кольца гранулозида С, при этом положение 3 остается свободным. В этом соединении второй остаток фукозы гликозилирует первичную гидроксильную группу боковой цепи.

В стероиде Капеллозид А β -гликозилируется 3-метилксилозидом вторичная гидроксильная группа боковой цепи, гидроксильная группа в положении 3 кольца остается свободной.

3,6-Дигидроксистероидный фрагмент обладает пространственной структурой, позволяющей образовывать циклические гликозиды. При этом положение 3 гликозилировано глюкуроновой кислотой, положение 6-первичным гидроксильным глюкозы, а цикл формируется за счет образования гликозидных связей между положениями 1 арабинозы и 2-глюкуроновой кислоты и положением 1 глюкозы и положением 2 арабинозы. Аналогичный цикл образуется также, если вместо глюкозы в нем присутствует галактоза.

Диссертантом проведено метаболомное исследование стероидов некоторых морских звезд, что позволило установить некоторые особенности гидроксирования и дальнейших превращений боковой цепи, а также порядок и относительные скорости гидроксирования различных положений стероидного скелета. Удалось подтвердить предположение о том, что сульфатирование прекращает дальнейшие биосинтетические превращения. Это касается как стероидного фрагмента, так и моносахаридных остатков, связанных и с ядром и с боковой цепью. Отдельно следует выделить изучение биосинтетических путей образования астеросапонинов. Автору удалось установить, что различие в структурах агликонов астеросапонинов может быть связано с тем, что исходными могут быть стеринны как животного, так и растительного происхождения, поступающие с пищей. Появились также основания считать, что процессы биосинтеза,

приводящие к образованию агликонов и углеводной части протекают независимо, но уже после образования астеросапонинов трансформации углеводного фрагмента продолжаются. При этом определяющей является трансформация и окисление первого углеводного фрагмента, связанного с агликоном.

Поведено также исследование биосинтеза стероидов с помощью экспериментов по кормлению морских звезд с использованием меченых стабильными изотопами предшественников – $[1-^{13}\text{C}]$ -ацетата натрия, $[1-^{13}\text{C}]$ -*D*-глюкозы, дейтерированного по боковой цепи холестерина и дейтерированного по кольцу сульфата холестерина. Было установлено, что дейтерированный по боковой цепи холестерин, полученный с пищей теряет один атом дейтерия за счет окисления положения С-26. Дейтерированный по кольцу холестерин теряет один атом дейтерия из положения С-3 и один – из положения С4. Это доказывает, что трансформация в кольцах А и В включает окисление в соответствующие 3-кетопроизводные и образование 4(5)-ненасыщенных кетонов как биосинтетических интермедиатов. Кроме того, было установлено, что полученные с пищей меченые дейтерием предшественники трансформируются в стероидный монозид астеросапонин Р₁.

Автором была исследована гемолитическая, эмбриотоксическая, цитотоксическая, противоопухолевая, иммуномодулирующая, нейритогенная и нейропротекторная активность ряда выделенных полярных стероидов. Некоторые из этих стероидов эффективно ингибировали рост колоний опухолевых клеток в нецитотоксических концентрациях. Были выявлены соединения, являющиеся перспективными иммуномоделирующими агентами.

Таким образом, Иванчиной Н.В. была огромная работа по выделению и установлению структуры полярных стероидов морских звезд и их гликозилированных производных с использованием всего арсенала современных физико-химических методов. С помощью метаболомного подхода и использования меченых стабильными изотопами соединений установлены некоторые детали биосинтеза полярных стероидов из получаемых с пищей предшественников. Выявлены важные закономерности окисления и гидроксирования различных положений стероидного фрагмента и боковой цепи. Зафиксировано, что биосинтез гликозилированных стероидов протекает «мозаично». Трансформация структуры агликона и углеводных фрагментов протекает независимо, но после гликозилирования обе части молекулы претерпевают дальнейшие превращения, в основном связанные с гидроксированием стероидного фрагмента и окислением углеводного остатка, непосредственно связанного со стероидом. Сульфатирование останавливает процесс биосинтеза.

Вместе с тем, необходимо сделать некоторые замечания.

1. Описание строения индивидуальных соединений, выделенных из разных видов морских звезд, смазало общую химическую картину. Сопоставление сходных по строению структур соединений, выделенных из разных источников, позволяет установить различие в химических свойствах гидроксильных групп в различных положениях стероидного кольца и боковой цепи, закономерности их гликозилирования различными сахарами и их *O*-Me производными, а также сульфатирования. Мы попытались это отразить в тексте отзыва. Автор сделал бы это лучше.
2. Описание процедур выделения и излишняя детализация установления строения выделенных продуктов оказались в ущерб графической стороне дела. Рисунки оказались очень мелкими, строение боковой цепи, оторванной от основного фрагмента молекулы, читается с трудом. Структура моносахаридного звена в гликозидах на страницах 18, 24, 28 дополнена условным текстовым обозначением, что также излишне. Приведенные на рисунках названия стероидов дублированы в тексте, на схеме можно было бы ограничиться номерами, а структурные формулы сделать крупнее.

Высказанные замечания никоим образом не снижают общего положительного впечатления от работы. Содержание диссертации полностью отражено в статьях, вышедших в международных изданиях. После ознакомления с авторефератом считаем, что автором создано новое научное направление – химия и биохимия полярных стероидов морских организмов и их гликозильных производных – астеросапонинов. Работа выполнена на современном научном уровне и полностью соответствует требованиям, предъявляемым ВАК Минобрнауки России к докторским диссертациям. Ее автор, Иванчина Наталья Владимировна, заслуживает присвоения ученой степени доктора химических наук по специальности 1.4.9 - биоорганическая химия.

Зав. кафедрой органической химии
Санкт-Петербургского государственного
технологического института
(технического университета), проф. д.х.н.

Михаил Львович Петров

Вед. науч. сотр. кафедрой органической химии
Санкт-Петербургского государственного
технологического института
(технического университета), к.х.н.

Певзнер Леонид Маркович

18 сентября 2024 г

Почтовый адрес: 190013, С-Петербург, Московский пр. 26
Телефон (812)-949-43-13
e-mail: mlpetrov@lti-gti.ru

Подписи *Львовича М. Л.*
Певзнера Л. М.
Начальник отдела кадров



Львович