УТВЕРЖДАЮ
директор Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института химической биологии и фундаментальной медицины им. Д.Г. Кнорре Сибирского отделения Российской академии наук
д.х.н. _____ В.В. Коваль
«26» ___10___ 2026 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертационную работу Захаренко Виктора Михайловича

«Исследование структуры и биологической активности сфинголипидов и других низкомолекулярных биорегуляторов морских звезд», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по научной специальности 1.4.9 «Биоорганическая химия»

Одним из значимых направлений современной биоорганической химии является изучение низкомолекулярных метаболитов природного происхождения, установление их химического строения и выявление взаимосвязей между структурными особенностями и биологическими свойствами. Особый интерес в этом отношении представляют морские беспозвоночные, метаболиты которых отличаются существенным структурным разнообразием и содержат соединения, редко встречающиеся у наземных организмов. К таким веществам относятся сфинголипиды, стероидолипиды и гликозиды полигидроксистероидов морских звезд.

Актуальность выбранной темы определяется, с одной стороны, недостаточной изученностью состава низкомолекулярных метаболитов многих видов морских звезд, а с другой – значением сфинголипидов и полярных стероидных соединений для регуляции клеточных процессов. Для представителей этих классов описаны разнообразные биологические эффекты, в том числе цитопротекторные, цитостатические, противовоспалительные и антиоксидантные. При этом конкретные проявления активности зависят от особенностей сфингоидного основания, жирнокислотного остатка, строения стероидного агликона и углеводного фрагмента. Поэтому исследование новых природных соединений одновременно расширяет представления о химическом разнообразии морских организмов и позволяет отбирать молекулы для дальнейшей экспериментальной оценки.

В диссертации Захаренко В.М. в качестве объектов выбраны морские звезды *Leptasterias polaris acervata* и *Ceramaster patagonicus*, собранные в Беринговом проливе и Охотском море. Выделение и установление структуры их метаболитов, в том числе соединений с необычными длинноцепочечными основаниями и жирными кислотами, редкими конъюгатами полигидроксистероидов и нетипичными моносахаридными остатками, представляют особый научный интерес. Дополнительную актуальность работе придает изучение биологической активности ряда выделенных веществ в условиях *in vitro*. Таким образом, тема диссертации является актуальной как для развития биоорганической химии природных соединений, так и для поиска молекулярных структур, заслуживающих дальнейшего фармакологического и биотехнологического исследования.

Теоретическая значимость диссертационной работы определяется заметным расширением сведений о химическом составе двух видов морских звезд и структурном разнообразии их низкомолекулярных метаболитов. В ходе исследования выделены 22 индивидуальных соединения, относящихся к сфинголипидам, стероидолипидам и гликозидам полигидроксистероидов, а также охарактеризована хроматографически неразделимая смесь церамидов. Для исследованных веществ установлено химическое строение; 16 соединений отнесены автором к новым природным веществам. Полученные данные дополняют известные сведения о химии морских беспозвоночных и создают основу для последующего сравнительного анализа метаболомов представителей Asteroidea.

Особого внимания заслуживает выявление новых цереброзидов лептастериацереброзидов A и B из *L. polaris acervata*. Их структуры содержат сфингозиновое основание с двумя двойными связями и укороченные остатки 2-гидроксижирных кислот. Для сфинголипидов из *C. patagonicus* установлены сочетания длинноцепочечных оснований и жирнокислотных фрагментов, включая разветвленные и ненасыщенные структуры. Результаты иллюстрируют, что даже в рамках близких классов природных липидов вариации длины цепей, наличие метильных заместителей, положения и конфигурации двойных связей формируют значительное молекулярное разнообразие.

Важный результат состоит также в выделении и установлении строения четырех новых стероидолипидов из *C. patagonicus* – крайне редких конъюгатов полигидроксистероидов с длинноцепочечными жирными кислотами. Отдельный вклад вносит характеристика четырех новых гликозидов полигидроксистероидов, названных церамастерозидами A, B, D и E. В их составе выявлены редкие метилированные и сульфатированные моносахаридные остатки, в том числе 3-*O*-метил-4-*O*-сульфо-β-*D*-глюкопираноза, ранее не описанная в природных гликозидах морских звезд. Установление строения этих соединений расширяет представления о вариабельности как стероидного агликона, так и углеводной части гликозидов иглокожих.

Теоретическая ценность работы связана и с применением взаимодополняющих методов установления структуры. Хроматографическое разделение сочеталось с анализом данных одномерных и двумерных спектров ЯМР, масс-спектрометров высокого разрешения и тандемных масс-спектрометров, а также данных ИК спектров и поляриметрии. Совокупное использование этих подходов позволило описать не только молекулярные формулы и основные структурные фрагменты, но и конфигурацию стереогенных центров и особенности моносахаридных компонентов. Представленная экспериментальная база может быть полезна при исследовании близких по строению природных липидов и стероидных гликозидов.

Практическая ценность заключается прежде всего в формировании библиотеки охарактеризованных природных соединений, получении справочных спектральных данных и развитии подходов к выделению и идентификации метаболитов морских звезд. Результаты биологических испытаний позволяют выделить несколько направлений для дальнейшей работы. Лептастериацереброзиды A и B, астроцереброзид B и астериацереброзид C проявили цитопротекторные эффекты в моделях повреждения кардиомиоцитов; отдельные сфинголипиды ингибировали уреазу; стероидолипид (25*S*)-5α-холестан-3β,6β,15α,16β-тетраол-26-ил-11′*Z*-октадекадиеноат снижал миграционную активность опухолевых клеток в тесте заживления царапины; гликозиды полигидроксистероидов оказывали влияние на показатели воспалительного и

окислительного ответа клеток микроглии. Эти результаты обосновывают дальнейшую оценку соединений, но не означают, что их терапевтическая эффективность уже доказана.

Практическое использование полученных данных может включать: применение спектральных и структурных характеристик в исследованиях природных соединений и учебных курсах по биоорганической химии; выбор перспективных веществ для углубленного изучения механизма действия; проверку ингибирования уреазы в почвенных и агрохимических моделях; проведение расширенных исследований цитопротекторной, противовоспалительной и цитостатической активности.

Диссертационная работа Захаренко В.М. имеет традиционную структуру и состоит из введения, литературного обзора, обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов и списка литературы. Общий объем работы составляет 124 страницы; диссертация содержит 2 схемы, 11 таблиц и 18 рисунков. Список литературы включает 104 источника. Последовательность изложения соответствует поставленной цели и задачам: от характеристики изученности природных метаболитов морских звезд и обоснования выбора объектов автор переходит к описанию выделенных веществ, установлению их строения и оценке биологической активности.

В литературном обзоре систематизированы сведения о церамидах, цереброзидах, гликозидах полигидроксистероидов морских звезд и известных для этих классов биологических эффектах. Обзор позволяет определить место данного исследования в современной химии природных соединений и обосновывает значимость выбранных объектов. Раздел «Обсуждение результатов» включает описание подходов к выделению и структурному анализу веществ и отдельные подразделы, посвященные сфинголипидам *L. polaris acervata* и *C. patagonicus*, стероидолипидам и гликозидам полигидроксистероидов *C. patagonicus*, а также результаты биологических испытаний.

Содержание диссертации охватывает как химическую, так и биологическую составляющие исследования. При этом основное внимание уделено структурной характеристике природных молекул; биологические испытания используются для выявления направлений, в которых обнаруженные соединения могут представлять интерес. В целом работа изложена последовательно, иллюстративный материал и таблицы поддерживают основной текст, а экспериментальные данные согласуются с логикой обсуждения.

Научные положения и выводы диссертации базируются на экспериментальном материале, полученном с использованием комплекса современных методов химического исследования.

Достоверность установления структур обеспечивается сопоставлением независимых типов данных, которые в совокупности дают достаточную основу для сформулированных автором структурных выводов, включая описание новых цереброзидов, стероидолипидов и гликозидов полигидроксистероидов.

Биологические эффекты проверялись с использованием нескольких типов тестов *in vitro*, включая оценку цитотоксичности, жизнеспособности клеток, колониеобразования, миграции клеток, показателей окислительного стресса, активации NF-κB, продукции NO и нитритов, а также ингибирования уреазы. В тексте приведены сравнения с контрольными воздействиями, представлены количественные значения активности и описаны примененные статистические процедуры. Для опытов указано проведение независимых повторов и использование критериев статистической оценки. Это повышает прозрачность

интерпретации результатов и позволяет соотнести выводы с полученными экспериментальными данными.

Сформулированные выводы согласуются с содержанием раздела обсуждения результатов и отражают основные результаты работы. Они охватывают состав выделенных соединений, структурные особенности новых молекул и выявленные виды активности. Полученный материал достаточен для обоснования заявленной научной новизны. При этом биологические эффекты следует рассматривать как результаты начального этапа экспериментального изучения, ограниченного использованными клеточными и биохимическими моделями; это определяет дальнейшие направления исследования, но не ставит под сомнение обоснованность выводов в пределах поставленных задач.

Автореферат передает сущность научной работы и полностью соответствует основным идеям, научным положениям, результатам и выводам диссертации.

Основные результаты диссертационной работы опубликованы в научной печати и представлены научному сообществу. По теме исследования опубликовано пять статей в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК, в том числе в изданиях «Вестник Дальневосточного отделения Российской академии наук», Journal of Natural Medicines и Marine Drugs; четыре из указанных статей индексируются в Scopus и Web of Science. Кроме того, опубликована одна статья, индексируемая в РИНЦ, и шесть тезисов докладов. Материалы исследования докладывались на всероссийских и международных научных мероприятиях.

Содержание диссертационной работы соответствует научной специальности 1.4.9 «Биоорганическая химия» ВАК РФ: п 5 (Низкомолекулярные биорегуляторы; пептиды, нуклеотиды, пептидные и стероидные гормоны, витамины, липиды, простагландины, лейкотриены и другие метаболиты арахидоновой кислоты, алкалоиды и другие химические соединения из микроорганизмов, грибов, водорослей, растений и животных, их синтетические аналоги, а также синтетические биологически активные вещества (лекарства, пестициды)) Отрасль наук – химические. Центральная часть исследования посвящена выделению природных низкомолекулярных соединений, установлению их химического строения, определению конфигурации стереогенных центров, характеристике липидных и углеводных компонентов. Для решения этих задач используются методы химического и физико-химического анализа, что соответствует предметной области биоорганической химии.

Биоорганическая направленность работы определяется также сочетанием структурной химии с исследованием биологической активности выделенных молекул. Изучаются взаимосвязи между особенностями строения природных веществ и их действием в биохимических и клеточных моделях: ингибированием уреазы, цитопротекторными эффектами, изменением клеточной пролиферации и миграции, а также показателей окислительного и воспалительного ответа. Биологические эксперименты служат способом характеристики выделенных веществ и позволяют очертить перспективы дальнейшего изучения их свойств.

Полученные результаты имеют преимущественно химическую основу – выделение, идентификация и установление строения веществ природного происхождения и в то же время раскрывают их связь с биологическими процессами.

При общей положительной оценке работы следует отметить несколько вопросов и аспектов, которые могли бы быть дополнительно обсуждены или уточнены.

1. Принято в диссертациях после раздела “Введения” приводить раздел “Материалы и методы”. При таком расположении этих разделов легче понимать информацию в разделе “Результаты”. К сожалению раздел “Материалы и методы” находится в конце в диссертации, что усложняет ее анализ.
2. Допущены опечатки: в разделе 3.4 (с. 72, строка 5) при описании стероидолипида **171** написано: «Молекулярная формула соединения **174** была определена как $C_{45}H_{80}O_6$…» Должно быть: «…соединения **171**…», в разделе 3.2 (с. 49, строка 30) написано «астериацереброизд С», должно быть «астериацереброзид С»
3. Раздел 3.6.1 (ингибирование уреазы): полученные значения $ИК_{50}$ (6,85–8,08 мкМ) для соединений **29**, **34**, **162** и **163** превосходят тиомочевину (14,34 мкМ) почти вдвое, однако в выводах данный результат не упомянут.
4. Исследованные сфинголипиды эффективно ингибировали уреазу, однако прямого подавления роста испытанных бактерий и грибов в использованных концентрациях не выявлено. В связи с этим перспективность применения веществ в качестве ингибиторов уреазы, например для снижения потерь азота при использовании удобрений, требует отдельной оценки в почвенных или иных прикладных моделях, включая проверку стабильности и возможного влияния на нецелевые организмы.
5. В опытах с использованием теста заживления царапины для стероидолипидов **170–173** показано снижение миграции клеток опухолевых линий. С учетом того, что этот тест характеризует миграционное поведение клеток в условиях *in vitro*, термин «противометастатический эффект» целесообразно сопровождать оговоркой о характере использованной модели и необходимости последующего подтверждения результата в более сложных экспериментальных системах.
6. Соединение **166** в экспериментальной части описано как компонент смеси с соединением **165** в соотношении 2:1. При оценке биологической активности подобная ситуация затрудняет однозначное отнесение эффекта к каждому компоненту смеси. Желательно, по мере возможности, подтвердить биологические свойства соединения **166** после получения индивидуального образца высокой степени чистоты либо отдельно оговорить это ограничение при интерпретации результатов.

Высказанные замечания имеют преимущественно редакционный, уточняющий характер, не снижают общей научной ценности диссертации и не ставят под сомнение обоснованность основных выводов.

Таким образом, диссертационная работа Захаренко Виктора Михайловича «Исследование структуры и биологической активности сфинголипидов и других низкомолекулярных биорегуляторов морских звезд» является самостоятельным законченным научным исследованием и по актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, достоверности и обоснованности научных положений и выводов соответствует п. 9 – п. 14 «Положения о присуждении ученых степеней ВАК, утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г. (с учетом всех редакций), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а её автор Захаренко Виктор Михайлович заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9. «Биоорганическая химия».

Диссертационная работа была рассмотрена и одобрена на расширенном семинаре Лаборатории ферментов репарации Института химической биологии и фундаментальной медицины им. Д.Г. Кнорре Сибирского отделения Российской академии наук (протокол номер 49 от 22 октября 2026 года).

Отзыв составил:
Невинский Георгий Александрович
Доктор химических наук (1.4.9 – биоорганическая химия), профессор
Главный научный сотрудник, заведующий лабораторией ферментов репарации
Почтовый адрес: 630090, г. Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева, 8
Телефон: 8-913 008 60 44
Адрес электронной почты: nevinsky@niboch.nsc.ru и nevinsky@1bio.ru
Наименование организации (полное/сокращенное): ФГБУН Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины им. Д.Г. Кнорре Сибирского отделения Российской академии наук (ФГБУН ИХБФМ СО РАН). Почтовый адрес: 630090, г. Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева, 8; телефон: 363-51-50; Официальный сайт - ИХБФМ СО РАН [Институт химической биологии...] http://niboch.nsc.ru; E-mail—niboch@1bio.ru

Профессор Невинский Г. А.

Подпись Невинского Георгия Александровича заверяю