ОТЗЫВ

официального оппонента кандидата химических наук Волковой Юлии Алексеевны на диссертационную работу Захаренко Виктора Михайловича на тему:
«Исследование структуры и биологической активности сфинголипидов и других низкомолекулярных биорегуляторов морских звёзд»,
представленную на соискание учёной степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9 Биоорганическая химия.

Актуальность работы. Ценность морских беспозвоночных как источников биологически активных веществ заключается в первую очередь в их способности синтезировать структурно уникальные вторичные метаболиты. В отличие от соединений, выделяемых из наземных растений и микроорганизмов, эти метаболиты обладают редкой химической архитектурой и высоким фармакологическим потенциалом. В частности, вторичные метаболиты морских звёзд - сфинголипиды и полигидроксистероиды, являющиеся ключевыми компонентами клеточных мембран и сигнальными молекулами, демонстрируют высокий потенциал в качестве регуляторов фундаментальных клеточных процессов, таких как онкогенез, нейровоспаление, иммунный ответ и апоптоз. При этом они являются привлекательными платформами для разработки новых цитотоксических, противоопухолевых, антимикробных и кардиопротекторных препаратов. Несмотря на обширный массив накопленных данных по метаболитам морских звёзд, на данный момент химическое строение и терапевтический потенциал веществ из бореально-арктических видов остаются относительно малоизученными. В том числе, расширение представлений о структурном разнообразии вторичных метаболитов дальневосточных морских звёзд имеет принципиально важное значение в контексте рационального дизайна в ряду природных соединений новых лекарственных средств с низкой общей токсичностью и высокой селективностью действия. Таким образом, развитие методологий выделения, идентификации и изучения биологической активности низкомолекулярных метаболитов *Leptasterias polaris acervata* и *Ceramaster patagonicus*, широко распространённых в холодных и умеренных водах северной части Тихого океана, является актуальной фундаментально-прикладной задачей.

Диссертационная работа Захаренко В. М. является методологическим развитием в области химии морских природных соединений. Работа посвящена выделению ранее неизвестных вторичных метаболитов *Leptasterias polaris acervata* и *Ceramaster patagonicus*, установлению их строения и изучению их потенциала в качестве антимикробных, цитопротекторных, противораковых и нейропротекторных агентов. Исследование многоплановое, представляет собой прекрасный пример расширения всех аспектов разработки биологически активных соединений природного происхождения в ряду полярных липидов гидробионтов. Работа удачно сочетает отработку методов

хроматографического разделения сфинголипидов и полигидроксистероидов, установление их полной структуры с помощью комбинации физико-химических методов анализа и химической деструкции, а также оценку их биологической активности.

Структура работы и основные результаты. Диссертация Захаренко В. М. построена традиционным образом и состоит из введения, литературного обзора, обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов и списка литературы. Работа изложена на 124 страницах машинописного текста, список цитируемой литературы включает 104 наименования. Работа построена логично, а изложение результатов чётко структурировано.

Литературный обзор посвящен анализу литературы преимущественно за последние 15 лет в области исследования химического строения и биологической активности церамидов, цереброзидов и гликозидов полигидроксистероидов морских звёзд. Данные по структурным характеристикам сфинголипидов, выделенных из различных видов морских звёзд, удачно систематизированы. Выбранный формат литературного обзора представляется обоснованным и целесообразным в силу объекта исследования. Проведенный анализ литературы позволяет в полной мере оценить вклад автора в развитие области исследования и сравнить полученные результаты с мировым уровнем.

Обсуждение результатов состоит из восьми логически взаимосвязанных разделов, включающих общее описание подходов к выделению и установлению строения полярных липидов морских звёзд - сфинголипидов, стероидолипидов и гликозидов полигидроксистероидов, результаты выделения соединений перечисленных хемотипов из морских звёзд *Leptasterias polaris acervata* и *Ceramaster patagonicus*, а также результаты оценки биологической активности выделенных соединений, включая их антимикробное действие, ингибирование фермента уреазы и оценку цитотоксических, цитопротекторных и антипролиферативных свойств в отношении нормальных и опухолевых клеток человека.

Диссертационная работа Захаренко В. М. представляет собой исследование, удачно сочетающее решение как фундаментальных, так и прикладных проблем в области химии морских природных соединений. Автором проведена кропотливая работа по выделению вторичных метаболитов из *Leptasterias polaris acervata* и *Ceramaster patagonicus*. В результате получена серия из 22 индивидуальных низкомолекулярных метаболитов морских звёзд, включая 16 новых соединений, отличающихся строением длинноцепочечных оснований, жирных кислот и полярных углеводных фрагментов. Использование двумерных ЯМР-экспериментов в комбинации с масс-спектрометрией высокого разрешения и химической деструкцией позволило однозначно установить полную структуру и абсолютную стереохимию выделенных сфинголипидов, стероидолипидов и гликозидов полигидроксистероидов. Проведена оценка биологической активности выделенных соединений *in vitro*. В результате продемонстрирована их перспективность в качестве потенциальных фармакологических агентов, обладающих

выраженным антимикробным, цитотоксическим, цитопротекторным и кардиопротекторным действием. Установлено, что новые лептастериацереброзиды и церамиды, содержащие редкие изо- и антеизо-разветвлённые основания или укороченные жирные кислоты, способны эффективно ингибировать фермент уреазу и проявлять избирательную цитотоксичность в отношении опухолевых клеток человека, подавляя их рост и колониеобразование. В то же время выявлено, что уникальные конъюгаты полигидроксистероидов с длинноцепочечными жирными кислотами (стероидолипиды) и новые церамастерозиды обладают выраженной цитопротекторной активностью, защищая нормальные клетки от окислительного стресса.

Научная новизна заключается в следующем: (1) отработаны условия выделения в индивидуальном состоянии из экстрактов морских звёзд *Leptasterias polaris acervata* и *Ceramaster patagonicus* 16 новых низкомолекулярных метаболитов, в том числе 8 сфинголипидов, 4 стероидолипидов и 4 гликозидов полигидроксистероидов; (2) обнаружены уникальные для метаболитов морских звёзд структурные фрагменты, включая укороченные (C_{14}, C_{15}) жирные кислоты, ацильные цепи с нечётным числом атомов углерода (C_{15}, C_{17}), редкие сфингозиновые основания *изо-* и *антеизо*-типов; (3) впервые изучена биологическая активность выделенных метаболитов *in vitro* и показано, что они обладают цитотоксическим, антипролиферативным, цитопротекторным и антибактериальным потенциалом, а также способны эффективно ингибировать фермент уреазу.

Практическая значимость работы связана с развитием и оптимизацией эффективных подходов к выделению и установлению полного строения сложных низкомолекулярных метаболитов морских звёзд. По совокупности результатов биологического скрининга выделенных сфинголипидов, стероидолипидов и гликозидов полигидроксистероидов *in vitro* выявлены соединения, обладающие высоким терапевтическим потенциалом. Полученные новые данные о выраженной избирательной цитотоксичности, антипролиферативной, кардиопротекторной и антимикробной активности этих веществ открывают перспективы для их дальнейшего углублённого изучения в качестве основы инновационных лекарственных кандидатов и платформ для создания новых препаратов.

Достоверность полученных результатов. Диссертационная работа Захаренко В. М. представляет собой исследование, выполненное на самом современном экспериментальном уровне. В экспериментальной части приведены исчерпывающие данные, подтверждающие полученные автором результаты. Автором для доказательства структуры, состава и абсолютной стереохимии выделенных соединений был использован комплекс физико-химических методов анализа, включая спектроскопию ЯМР 1D (^{1}H, ^{13}C) и 2D (COSY, HMBC, HSQC, ROESY, TOCSY), масс-спектрометрию высокого разрешения (включая тандемную), ИК- и УФ-спектроскопию, а также поляриметрию и газо-

жидкостную хроматографию (ГЖХ-ПИД) в комбинации с химической деструкцией. Кроме того, приведены подробные методики оценки биологической активности *in vitro*.

Замечания. При чтении диссертации возник ряд вопросов и замечаний, направленных на усиление сделанных выводов, получение более полной информации о выделенных веществах и расширение представлений об их свойствах:

1. Для более глубокого отражения основных тенденций и проблематики поиска биологически активных низкомолекулярных метаболитов морских звёзд литературный обзор целесообразно было бы дополнить обобщающей таблицей (по аналогии с Таблицей 1), систематизирующей стероидные липиды с указанием их продуцентов (видов морских звёзд) и типа биологической активности.
2. Для большей терминологической чёткости в разделах 3.4 и 3.5 главы «Обсуждение результатов» целесообразно было бы уточнить и обосновать выбор терминов «стероидолипиды» и «полигидроксистероиды» при описании полярных стероидных соединений **170-177**.
3. Установление структуры соединения **166** представляет собой сложную в экспериментальном отношении задачу в работе, поскольку вещество было выделено в виде смеси с гомологом **165** (в соотношении 2:1, общей массой 1,5 мг). Для обоснования строения соединения **166** было бы целесообразно привести копии двумерных спектров ЯМР, а также данные ГЖХ-МС анализа метиловых эфиров жирных кислот, использованные для однозначного установления структуры амидного фрагмента в его структуре.
4. Проводились ли для смесевых фракций (например, фракции 5, схема 1) сфинголипидов морской звёзды *Leptasterias polaris acervata* оценка ингибирующей активности в отношении уреазы? Это могло бы усилить вывод о перспективности использования выделенных соединений в сельском хозяйстве в качестве соединений, снижающих скорость разложения азотистых удобрений бактериями.
5. Можно ли на основании полученных данных по биологической активности сделать выводы о закономерностях взаимосвязи «структура-активность» для изученных сфинголипидов и полигидроксистероидов?
6. В экспериментальной части и обсуждении результатов имеется ряд неточностей и опечаток: (1) необходимо уточнить объёмы растворителей (хлороформ, метанол, этанол) использованных для получения концентрированных экстрактов в пунктах 4.4.1 и 4.4.2, (2) данные об R_f и фотографии ТСХ фракций, полученных в результате промежуточной очистки колоночной хроматографией, могли бы быть полезны при воспроизведении экспериментальных методик, упомянутых в предыдущем подпункте, (3) необходимо уточнить состояние образцов морской звёзды *C. patagonicus*, использованных в работе. Так, в разделе

4.4.2 (стр. 102) указывается, что материал был свежим, тогда как на стр. 98 отмечено, что образцы были собраны в августе 2012 года.

Сделанные замечания не снижают общей высокой оценки работы. Работа хорошо написана и позволяет охарактеризовать автора как высококвалифицированного специалиста, способного планировать и решать сложные научные задачи на современном уровне. Уровень научных журналов (*Marine Drugs*, *Journal of Natural Medicines*) в которых опубликованы результаты исследования, однозначно демонстрируют ее значимость. Выполненное исследование вносит существенный вклад как в химию морских соединений, так и в область поиска перспективных биологически активных соединений в ряду природных метаболитов гидробиотов.

Заключение. На основании проведенного анализа можно заключить, что диссертационная работа отвечает всем требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, и критериям, изложенным в п.п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г. в действующей редакции, а её автор – Захаренко Виктор Михайлович – заслуживает присуждения ему ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9 Биоорганическая химия.

Официальный оппонент:
Волкова Юлия Алексеевна, кандидат химических наук по специальности 1.4.3 органическая химия, старший научный сотрудник лаборатории Химии стероидных соединений Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского Российской Академии Наук (ИОХ РАН).
Адрес: 119991, Москва, Ленинский проспект, д. 47.
Телефон: +7 [499] 137-29-44
Электронный адрес: yavolkova@gmail.com
Дата «13» ноября 2026 г.

Кандидат химических наук,
Старший научный сотрудник Волкова Ю. А.

Подпись старшего научного сотрудника, к.х.н. Волковой Ю. А. заверяю:

Ученый секретарь ИОХ РАН Коршевец И. К.