ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Виктора Михайловича Захаренко «Исследование структуры и биологической активности сфинголипидов и других низкомолекулярных биорегуляторов морских звезд», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9 – биоорганическая химия

Большинство соединений морского генеза отличается разнообразием структур и уникальным механизмом биологического действия. Представленная работа посвящена изучению сфинголипидов, стероидолипидов и гликозидов полигидроксистероидов морских звезд, включая методы выделения, установление химического строения и исследование их биологической активности. Поиск, выделение и установление химических структур новых природных соединений – важное направление биоорганической химии.

Актуальность темы диссертации определяется, прежде всего, важностью вторичных метаболитов морского происхождения, которые обладают широким спектром ценных биологических свойств. Особое внимание среди них привлекают стероидолипиды и гликозиды полигидроксистероидов, а также сфинголипиды из морских звезд. Морские звезды особенно богаты этими разнообразными по химической структуре соединениями, но остаются недостаточно изученными по сравнению с наземными организмами. Выделение индивидуальных соединений с редкими структурными фрагментами и оценка их цитотоксической, цитопротекторной, антипролиферативной и антиоксидантной активности являются важными задачами для расширения арсенала потенциальных лекарственных препаратов. Именно в русле развития этой продуктивной проблемы была выполнена представленная работа.

Целью настоящей работы являлось выделение, изучение структуры и биологической активности сфинголипидов, стероидолипидов и гликозидов полигидроксистероидов двух видов морских звезд *Leptasterias polaris acervata* и *Ceramaster patagonicus*. Для достижения поставленной цели автор выделил обоснованный круг задач (4 позиции).

Наиболее существенные научные результаты, отвечающие критериям новизны

Соискателем выделено 22 индивидуальных соединения (12 сфинголипидов, 4 стероидолипида, 6 гликозидов полигидроксистероидов) и установлена их полная химическая структура. Определено, что 16 соединений являются новыми.

При помощи спектральных методов анализа и химических превращений показано, что в структуре ряда соединений имеются редкие для морских звезд фрагменты. Так, в составе сфинголипидов обнаружены короткие (С14, С15) жирные кислоты и жирные кислоты с нечетным числом атомов углерода (С15, С17), а также редкие разветвленные *изо-* и *антеизо-*сфингозиновые и фитосфингозиновые основания. Установлено, что стероидолипиды представлены конъюгатами полигидроксистероидов с длинноцепочечными жирными кислотами. В структуре гликозидов полигидроксистероидов обнаружены необычные моносахариды, что расширяет представление о структурном разнообразии углеводных фрагментов гликозидов морских звезд.

Соискателем проведена оценка биологической активности *in vitro* ряда новых выделенных соединений. Показано, что некоторые метаболиты проявляют цитотоксические свойства,

демонстрируют противометастатический и антипролиферативный эффекты и обладают кардиопротекторной и антиоксидантной активность.

Полученные Захаренко В.М. результаты имеют не только значительную теоретическую значимость, они расширяют и углубляют фундаментальные знания о структурно-функциональных свойствах сфинголипидов и стероидных гликозидах, а также интересны с практической точки зрения, поскольку отработанные и усовершенствованные методы выделения и идентификации этих соединений могут быть использованы для получения и установления структур новых веществ из морских организмах. Обнаружение физиологической активности этих соединений открывает перспективы их дальнейшего исследования и создания на их основе лекарственных препаратов.

Общая характеристика работы

Диссертация написана по традиционному плану, состоит из введения, литературного обзора, обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов и списка цитируемой литературы. Работа изложена на 124 страницах, проиллюстрирована 2 схемами, 18 рисунками и 11 таблицами. Список литературы включает 104 источника.

Во введении обосновывается актуальность темы исследования, сформулирована цель и задачи работы, научная новизна и практическая значимость работы, положения, выносимые на защиту, а также дана информация о публикациях и личном вкладе исследователя.

Литературный обзор, который включает 6 подразделов, посвящен детальному описанию структурных характеристик церамидов, цереброзидов, гликозидов полигидроксистероидов морских звезд. Обобщение информации показывает, что морские звезды являются богатым источником этих веществ. Особое внимание уделено биологической активности этих соединений. Существующая литература по теме диссертации освещена полно, описывается текущее состояние и основные направления исследований, формулируются наиболее актуальные вопросы. Проведенный анализ позволяет сделать вывод о необходимости дальнейшего изучения этих перспективных соединений.

Объем и результаты экспериментальной работы, выполненной соискателем, и представленные в разделе «Обсуждение результатов», соответствуют требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям. В первом подразделе приведено краткое описание основных подходов к выделению и установлению строения сфинголипидов и гликозидов полигидроксистероидов морских звезд.

Центральную часть работы составляет установление строения этих соединений, выделенных из морских звезд, *Leptasterias polaris acervata,* собранной в Беринговом проливе, и *Ceramaster patagonicus* из Охотского моря. Химические структуры новых соединений были установлены на основании данных ЯМР, ИК и УФ спектров и масс-спектрометрии высокого разрешения, как самих сфинголипидов и гликозидов полигидроксистероидов, так и продуктов их химической трансформации. Соискатель демонстрирует свободное владение широким комплексом хроматографических и спектральных методов. Уделено внимание установлению пространственной структуры молекул. Обсуждается связь между структурами новых представителей сфинголипидов и гликозидов полигидроксистероидов, установленных соискателем, со структурой соединений, известных из литературных источников.

Заслуживают высокой оценки полученные данные о цитотоксической, кардиопротекторной, и антипролиферативной активности выделенных соединений.

Изучение биологической активности новых соединений явилось логическим завершением работы, выполненной автором, по выделению и установлению химического строения.

Экспериментальная часть кроме описания приборов и деталей сбора биологических объектов исследования включает информацию о методических приемах и условия проведения анализов. В работе успешно были использованы как ставшие уже классическими методы анализа, так и новейшие методы исследования низкомолекулярных метаболитов, включающие высокоэффективную жидкостную хроматографию, ^{1}H-, ^{13}C-ЯМР (COSY, HMBC, HSQS, NOE, ROESY), масс-спектрометрию высокого разрешения, химические трансформации для установления структуры выделенных соединений.

Выводы диссертации логически вытекают из проведенных исследований и свидетельствуют о решении поставленных задач.

Содержание диссертации достаточно полно отражено в 12 печатных работах, среди которых 6 статей в ведущих рецензируемых журналах, входящих в список ВАК и WoS. Результаты были апробированы на 6 научных конференциях. Автореферат соответствует содержанию диссертации.

Не смотря на несомненную научную значимость диссертационной работы, возникли следующие замечания и вопросы:

1. Сфинголипиды автором ошибочно отнесены к вторичным метаболитам и названы низкомолекулярным метаболитам, тогда как сфинголипиды — это высокомолекулярные (сложные) липиды, которые имеют относительно большую молекулярную массу и сложное химическое строение. Они выполняют важную структурную роль, служат обязательными компонентами клеточных мембран, особенно в клетках нервной системы. Они являются первичными метаболитами, так как участвуют в основных процессах жизнедеятельности, абсолютно необходимы для нормального роста, развития и выживания организмов.

2. Представляется интересным вынести на обсуждение вопрос о точности названия молекул, составляющих сфинголипиды. Автор использует исключительно следующие определения: «жирнокислотный остаток», «остатки жирных кислот», «фрагмент жирной кислоты». Но что такое липиды? Если основываться на структурном и биосинтетическом родстве данных соединений, то липиды – это жирные кислоты и их производные. Молекулы липидов состоят из жирных кислот, находящихся в этерифицированной форме. Таким образом, определение «остатки жирных кислот» и «фрагмент жирной кислоты» не совсем уместно. Тогда почему сфингозиновое основание автор не называет «остатком сфингозина»?

Говоря о недостатках диссертационной работы, следует отметить, что стиль изложения нельзя назвать ясным и точным. Неточности определения, употребление нестандартных классификаций, некоторая витиеватость изложения материала затрудняет понимание полученных автором результатов. Приведу несколько примеров.

«В настоящее время выделяют четыре основных класса сфинголипидов» (С. 13). Хотя известно, что сфинголипиды – это класс сложных липидов, который можно разделить на типы: церамиды, сфингомиелины и гликосфинголипиды (цереброзиды и ганглиозиды).

«Нормальный тип жирной кислоты», «жирная кислота изо- и антеизо- типа». Традиционно, алифатические карбоновые кислоты разделяются на жирные кислоты с прямой цепью и разветвленной изо- и антеизо-, не классифицируя их как типы. Если жирная кислота с прямой цепью, то не требуется пояснения вроде: «кислота нормального типа» (С. 63).

Название «2-гидроксижирные кислоты» не корректно. Правильнее: или 2-гидрокси кислоты или α-гидроксикислоты. В работе они обозначены необычно: «C_{15}-2-гидроксижирная кислота, C_{14}-2-гидроксижирная кислота». Тогда как правильнее называть их просто «2-гидрокси кислоты» и обозначать формулой C15:0-2OH и C14:0-2OH.

Рекомендую автору пользоваться только общепринятыми классификациями, не придумывать свои названия, такие как «вид, тип, класс, формы». Например, «сфингозиновые основания были представлены следующими структурными типами: C18:1, C18:2,» (С. 19). «Цереброзид с ДЦО фитосфингозинового вида, *антеизо*-типа» (С.14 Рис. 1). Это, безусловно, излишне. Вероятно, достаточно назвать: «*антеизо*-фитосфингозин».

«Сфинголипиды представляют собой класс сложных липидов, отличающихся друг от друга сфингоидными основаниями или остатками жирных кислот, которые обычно присоединяются к ДЦО через амидную связь» (С. 13). Точнее сказать, не обычно, а всегда.

«Кроме того, гидроксильная группа может присоединяться к С-28 или С-29 эргостанового или стигмастанового скелета соответственно» (С.15). Правильнее будет сказать: гидроксильная группа присутствует или находится в указанном положении.

«ГЖХ-МС-анализ показал наличие одного основного компонента, который был идентифицирован как метил-5′*Z*,11′*Z*-эйкозадиеноат» (С. 73). Однако ГЖХ-МС-анализ не позволяет идентифицировать конфигурацию двойной связи, поскольку жирные кислоты с разной конфигурацией двойных связей имеют одинаковое время удерживания на колонке.

Разъяснения требуют фразы: «Из водорастворимой липидной фракции хлороформ-метанольного экстракта» (С. 17), «Из водорастворимой фракции метанольного экстракта морской звезды» (С. 37) «Из толуол-растворимой части метанольного экстракта морской звезды», «Концентрированный метанол-хлороформ-этанольный экстракт морской звезды» (С. 49). «Концентрированный MeOH/CHCl3/EtOH экстракт морской звезды *C. patagonicus* был распределен между H_2O и органической фазой EtOAc/н-BuOH, после чего органический слой был промыт холодным ацетоном» (С. 74).

Некорректно название «Неконъюгированные *Z*-двойные связи в положениях Δ5,11 и Δ7» (С.74). Существует общепринятое название для жирных кислот, в которых двойные связи разделены несколькими метиленовыми группами, это неметиленразделенные кислоты.

На мой взгляд, в Литературном обзоре нарушена логика изложения. Хотя глава называется «Низкомолекулярные метаболиты морских звезд», в ней собрана информация разного сорта, в том числе о цереброзидах грибов и разнообразных высших растений, о биологической роли и фармакологической активности этих соединений. Логичней было начать с представления о классе сфинголипидов, затем обосновать объект исследования – морские звезды, а затем все остальное.

После фразы: «в литературе описаны тетрагидроксилированные производные» (С. 31). требуются ссылки.

«Использование ингибиторов уреазы может повысить эффективность использования азотных удобрений, тем самым способствуя увеличению урожайности» (С. 84). Учитывая выход этих веществ после экстракции и выделения, вызывает сомнение эффективность их использования в сельском хозяйстве.

Раздел 4 «Экспериментальная часть» следовало писать с детальной точностью, поскольку это базис, на котором строятся полученные результаты. Вопросы часто возникают

по методам экстракции, которые не точно описаны. Кроме того, «Анализы методами ГЖХ и ГЖХ-МС проводились на хроматографе с использованием капиллярных колонок из плавленого кварца Supelcowax 10 и MDN-5S…» (С. 97). Из этой фразы можно понять, что плавленый кварц имеет марку Supelcowax 10 и MDN-5S.

Высказанные замечания носят скорее рекомендательный характер и, возможно, будут полезны соискателю в его дальнейшей работе.

Заключение. Диссертационная работа В.М. Захаренко «Исследование структуры и биологической активности сфинголипидов и других низкомолекулярных биорегуляторов морских звезд», представленная на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9 – биоорганическая химия, представляет собой законченную научно-исследовательскую работу, в которой отражены результата собственных исследований, имеющих важное научное и практическое значение. Основные результаты опубликованы в реферируемых отечественных и международных журналах и представлены на российских и международных конференциях. Работа удовлетворяет требованиям п.п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней» утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 2013 года (со всеми редакциями и изменениями) предъявляемым ВАК Министерства образования и науки РФ к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор – Захаренко Виктор Михайлович,, заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9 – биоорганическая химия.

12 ноября 2026г.

Официальный оппонент

Главный научный сотрудник Лаборатории сравнительной биохимии
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Национального научного центра морской биологии
им. А. В. Жирмунского Дальневосточного отделения
Российской академии наук, доктор биологических наук Н.В. Жукова

690041, г.Владивосток
ул. Пальчевского, д. 17
Тел.: (423)2310937
e-mail: nzhukova35@list.ru

Подпись Н.В. Жуковой заверяю начальник Отдела документационного обеспечения Федерального государственного бюджетного учреждения науки Национального научного центра морской биологии им. А. В. Жирмунского Дальневосточного отделения Российской академии наук