

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования «Дальневосточный федеральный университет»
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Тихоокеанский
институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова Дальневосточного
отделения Российской академии наук

На правах рукописи



Захаренко Виктор Михайлович

Исследование структуры и биологической активности сфинголипидов и других
низкомолекулярных биорегуляторов морских звезд

1.4.9 Биоорганическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата химических наук

г. Владивосток – 2026

Работа выполнена в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Дальневосточный федеральный университет» и Федеральном государственном бюджетном учреждении науки «Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова Дальневосточного отделения Российской академии наук»

Научный руководитель:

Маляренко Тимофей Владимирович

канд. хим. наук, доцент, старший научный сотрудник Лаборатории химии морских природных соединений Тихоокеанского института биоорганической химии им. Г.Б. Елякова Дальневосточного отделения Российской академии наук, доцент базовой кафедры биологической и биохимической инженерии Передовой инженерной школы «Институт биотехнологий, биоинженерии и пищевых систем» Дальневосточного федерального университета, г. Владивосток

Официальные оппоненты:

Жукова Наталья Владимировна

д-р биол. наук, главный научный сотрудник, научный руководитель Лаборатории сравнительной биохимии Национального научного центра морской биологии им. А.В. Жирмунского Дальневосточного отделения Российской академии наук, г. Владивосток

Волкова Юлия Алексеевна

канд. хим. наук, старший научный сотрудник Лаборатории химии стероидных соединений Института органической химии им. Н. Д. Зелинского Российской академии наук, г. Москва

Ведущая организация:

Институт химической биологии и фундаментальной медицины им. Д.Г. Кнорре Сибирского отделения Российской академии наук, г. Новосибирск

Защита диссертации состоится «30» ноября 2026 года в 10 часов на заседании Диссертационного совета 24.1.213.01 при Тихоокеанском институте биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН по адресу: 690022, г. Владивосток, проспект 100 лет Владивостоку, 159, ТИБОХ ДВО РАН. Факс: (423) 231-40-50, e-mail: dissovet@piboc.dvo.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Тихоокеанского института биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН (г. Владивосток, проспект 100 лет Владивостоку, 159, ТИБОХ ДВО РАН, www.piboc.dvo.ru).

Автореферат разослан «__» _____ 2026 г.

Ученый секретарь

Диссертационного совета,

канд. биол. наук



Чингизова Е. А.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы.

В современных подходах к разработке лекарственных средств основную платформу представляют природные низкомолекулярные соединения и их полусинтетические аналоги. Выделение новых биомолекул происходит преимущественно из четырех основных источников: наземных растений и грибов, микроорганизмов и морских беспозвоночных животных. Морские звезды содержат большое количество низкомолекулярных метаболитов, включая сфинголипиды и гликозиды полигидроксистероидов, которые заметно отличаются от таковых в наземных организмах. Исследования последних лет установили важную роль сфинголипидов в различных нейровоспалительных процессах, включая те, которые развиваются при болезнях Альцгеймера и Паркинсона, в процессах онкогенеза и противоопухолевой терапии, а также в процессах иммунного ответа на различные инфекционные агенты. Все это свидетельствует о важном значении в изучении сфинголипидов, выяснении их физиологической роли и поиску новых биологически активных молекул.

Гликозиды полигидроксистероидов представляют собой один из наиболее характерных классов полярных вторичных метаболитов, обнаруживаемых в морских звездах, для которых присуще значительное структурное разнообразие и широкий спектр биологической активности. Однако, несмотря на высокий потенциал данных веществ, химическое строение и биологическая активность метаболитов многих видов морских звезд остаются малоизученными и требуют дальнейшего исследования.

Выделение индивидуальных соединений с редкими структурными фрагментами, такими, как укороченные жирные кислоты, необычные сфингозиновые основания, агликоны и моносахаридные остатки, и оценка их цитотоксической, цитопротекторной, антипролиферативной и антиоксидантной активности являются важными задачами для расширения арсенала потенциальных лекарственных препаратов. Изучение метаболитов морских звезд *Leptasterias polaris acervata* и *Ceramaster patagonicus* представляет значительный научный и практический интерес для развития методов выделения и установления строения низкомолекулярных метаболитов, а также для выявления соединений с высоким фармакологическим потенциалом, что обуславливает актуальность данной работы.

Целью настоящей работы являлось выделение, изучение структуры и биологической активности некоторых низкомолекулярных метаболитов, в частности, сфинголипидов, стероидолипидов и гликозидов полигидроксистероидов морских звезд.

В рамках поставленной цели предполагалось решить следующие задачи:

1) выделить индивидуальные соединения из двух видов морских звезд: *Leptasterias polaris acervata* и *Ceramaster patagonicus*;

2) установить строение новых соединений, включая определение абсолютной стереохимии асимметрических центров и принадлежности моносахаридных остатков гликозидов к *D*- или *L*-ряду;

3) идентифицировать структуры ранее известных соединений, найденных в изучаемых морских звездах;

4) для ряда выделенных соединений исследовать биологическую активность *in vitro* (цитотоксическую, цитропротекторную, антипролиферативную, противомикробную и антиоксидантную) с целью выявления соединений, обладающих фармакологическим потенциалом.

Положения, выносимые на защиту:

1. Морские звезды *L. polaris acervata* и *C. patagonicus* являются богатым источником низкомолекулярных метаболитов: сфинголипидов, стероидолипидов и гликозидов полигидроксистероидов.
2. В морской звезде *L. polaris acervata* найдены 2 новых цереброзида – лептастериацереброзиды А и В, содержащие уникальные сочетания жирной кислоты и сфингозинового основания.
3. В составе *C. patagonicus* обнаружены 3 новых церамида и 3 новых цереброзида, которые содержат сочетания редких длинноцепочечных оснований и жирных кислот.
4. Из морской звезды *C. patagonicus* выделены 4 новых соединения, представляющих собой редкие конъюгаты полигидроксистероидов с жирными кислотами.
5. В морской звезде *C. patagonicus* найдены 4 новых гликозида полигидроксистероидов – церамастерозиды А, В, D и Е, содержащие редкие моносахаридные остатки.
6. Некоторые метаболиты морских звезд проявили цитотоксическую, цитопротекторную, антипролиферативную, антибактериальную и антиоксидантную активности *in vitro*.

Методология и методы исследования

В ходе работы был применен широкий набор химических и физико-химических методов выделения, очистки и исследования строения химических веществ, включая: экстракцию органическими растворителями для извлечения веществ из исследованных объектов, набор хроматографических методов (колоночная хроматография, ТСХ, ГЖХ, ВЭЖХ на аналитических и полупрепаративных колонках) для анализа смесей и выделения

индивидуальных веществ, спектроскопию ЯМР, включая 1D и 2D эксперименты, масс-спектрометрию высокого разрешения (включая tandemную), ИК и УФ спектроскопию, поляризацию, гидролиз и получение производных для установления полной химической структуры выделенных соединений. Также использовался комплекс методов исследования биологической активности выделенных соединений в условиях *in vitro*.

Научная новизна и практическая ценность работы. В ходе проведенной работы исследованы экстракты 2-х видов морских звезд, собранных в Охотском море и Беринговом проливе. Выделены 22 индивидуальных соединения (12 сфинголипидов, 4 стероидолипида, 6 гликозидов полигидроксистероидов) и хроматографически неразделимая смесь из 2-х соединений (церамиды). Для каждого соединения установлена полная химическая структура, в результате чего определено, что 16 соединений (8 сфинголипидов, 4 стероидолипида и 4 гликозида полигидроксистероидов) являются новыми.

Показано, что некоторые из выделенных соединений имеют структурные фрагменты, являющиеся редкими для низкомолекулярных метаболитов морских звезд. Так, например, в составе сфинголипидов обнаружены необычные укороченные (C₁₄, C₁₅) жирные кислоты, жирные кислоты с нечетным числом атомов углерода (C₁₅, C₁₇), редкие сфингозиновые и фитосфингозиновые основания *изо*- и *антеизо*- типов. Установлено, что выделенные стероидолипиды представлены редкими конъюгатами полигидроксистероидов с длинноцепочечными жирными кислотами, ранее только однажды найденными в морских звездах. Кроме того, в структуре гликозидов полигидроксистероидов обнаружены необычные моносахаридные остатки, отличающиеся от типичных для данного класса соединений, что расширяет представления о структурном разнообразии углеводных фрагментов гликозидов морских звезд. Проведен ряд исследований биологической активности выделенных соединений. Показано, что некоторые вещества обладают цитотоксической, кардиопротекторной, антипролиферативной и антиоксидантной активностью.

Практическое значение данного исследования состоит в развитии методов выделения и установления строения низкомолекулярных метаболитов морских звезд. Новые данные о биологической активности выделенных соединений открывают перспективы их дальнейшего изучения в качестве потенциальных лекарственных препаратов.

Апробация работы. Материалы работы были представлены на XXII Всероссийской молодежной школе-конференции по актуальным проблемам химии и биологии (ТИБОХ ДВО РАН, Владивосток, 2025); на VI Всероссийской конференции по органической химии (ИОХ РАН, Москва, 2024); на Международной конференции по химии "Байкальские чтения-2023" (ИрИХ СО РАН, Иркутск, 2023); на XVIII Всероссийской молодежной школе-конференции по актуальным проблемам химии и биологии (ТИБОХ ДВО РАН, Владивосток, 2021); на

Региональной научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых учёных по естественным наукам (ДВФУ, Владивосток, 2021) и на 8-й ежегодной Студенческой научной конференции на английском языке (The 8th Annual Student Scientific Conference in English) (ДВФУ, Владивосток, 2021).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 5 статей в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК (Вестник Дальневосточного отделения Российской академии наук, Journal of Natural Medicines, Marine Drugs), четыре из которых входят в базы данных Scopus и Web of Science. Также опубликована одна статья, индексируемая базой данных РИНЦ, и 6 тезисов докладов.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из Введения, Литературного обзора, посвященного исследованию церамидов, цереброзидов, гликозидов полигидроксистероидов морских звезд и их биологической активности, Обсуждения результатов, Экспериментальной части, Выводов и Списка цитируемой литературы. Работа изложена на **124** страницах, содержит 2 схемы, 11 таблиц и 18 рисунков. Список литературы включает 104 цитируемые работы.

Список сокращений

АФК – активные формы кислорода;

ВР ИЭР-МС – масс-спектрометрия высокого разрешения с ионизацией методом электрораспыления;

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография;

ГЖХ-МС – газожидкостная хромато-масс-спектрометрия;

ДМОЗ – 4,4-диметилноксазол (производные жирных кислот);

ДЦО – длинноцепочечное основание;

ЖК – жирная кислота;

ИК – инфракрасная спектроскопия;

ИК₅₀ – полумаксимальная ингибирующая концентрация;

ИЭР-МС – масс-спектрометрия с ионизацией методом электрораспыления;

ИЭР-МС/МС – tandemная масс-спектрометрия с ионизацией методом электрораспыления;

ЛПС – липополисахарид;

МДА – малоновый диальдегид;

ММП – митохондриальный мембранный потенциал;

MTS – 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulphophenyl)-2H-tetrazolium – 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-5-(3-карбоксиметоксифенил)-2-(4-сульфофенил)-2H-тетразолий;

МЭЖК – метиловые эфиры жирных кислот;

ХС – химический сдвиг;

КССВ – константа спин-спинового взаимодействия;

м.д. – миллионная доля;

с – синглет, д – дублет, т – триплет, к – квартет, дд – дублет дублетов, дт – дублет триплетов, тд – триплет дублетов, уш. с – уширенный сигнал, секст – секстет, м – мультиплет.

ЯМР – ядерный магнитный резонанс;

COSY – Correlation Spectroscopy – корреляционная спектроскопия;

HMBC – Heteronuclear Multiple Bond Connectivity – гетероядерная многополосная корреляция;

HSQC – Heteronuclear Single Quantum Connectivity – гетероядерная одноквантовая корреляция;

NF-κB – ядерный фактор каппа-би;

ROESY – Rotation-frame Overhauser Effect Spectroscopy – спектроскопия ядерного эффекта Оверхаузера во вращающейся системе координат;

TNF-α – фактор некроза опухоли альфа;

Личный вклад автора. Работа выполнена в Лаборатории химии морских природных соединений ФГБУН Тихоокеанского института биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН. Автором при поддержке научного руководителя были осуществлены планирование, дизайн и координирование экспериментов. Автором самостоятельно было выделено 18 индивидуальных соединений и хроматографически неразделимая смесь из 2-х соединений (церамиды). При непосредственном участии автора совместно с Котляровым И.П. было выделено 4 индивидуальных стероидолипида. Автором были проанализированы все полученные данные спектроскопии ЯМР (спектры получены д.х.н. Калиновским А.И., Лаборатория физико-химических методов исследований (ЛФХМИ ТИБОХ ДВО РАН)), масс-спектрометрии (спектры получены к.х.н. Поповым Р.С., чл.-корр. РАН Дмитренко П.С. (ЛФХМИ ТИБОХ ДВО РАН) и д.б.н. Светашевым В.И. (Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского (ННЦМБ ДВО РАН)) и ИК спектроскопии (спектры получены автором и к.ф.-м.н. Глазуновым В.П.), а также проведены все необходимые химические превращения и установлены структуры выделенных веществ. Изучение биологической активности проводилось сотрудниками Лаборатории химии ферментов ТИБОХ ДВО РАН (к.х.н. Маляренко О.С.), Лаборатории биоиспытаний и механизма действия биологически активных веществ ТИБОХ ДВО РАН (к.б.н. Чингизовой Е.А. и к.б.н. Юрченко Е.А.), Лаборатории морской гликобиологии ТИБОХ ДВО РАН (н.с. Кузьмич А.С.) и Лаборатории фармакологии ННЦМБ ДВО РАН (к.б.н. Манжуло И.В., к.м.н. Пономаренко

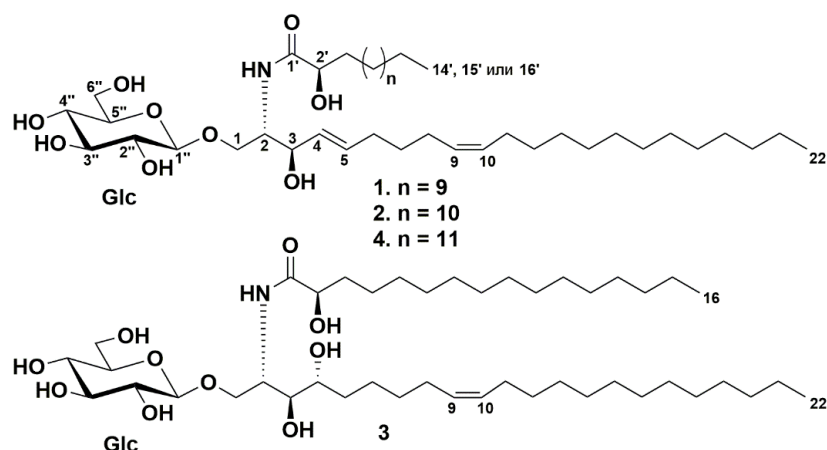
А.И.). Автором проведен поиск, обработка и анализ литературных данных, касающихся структур и биологической активности сфинголипидов и полигидроксистероидов морских звезд. Автор осуществлял анализ полученных экспериментальных данных и подготовку публикаций. На защиту вынесены только те положения и результаты экспериментов, в получении которых роль соискателя была определяющей.

Благодарности: Автор выражает искреннюю благодарность своему научному руководителю к.х.н., доценту Маляренко Т.В. Также автор благодарит д.х.н. Иванчину Н.В. и д.х.н. Кича А.А. за помощь в проведении экспериментов и написании работы, д.х.н. Калиновского А.И. за получение и помощь в интерпретации спектров ЯМР, к.х.н. Попова Р.С., чл.-корр. РАН Дмитренка П.С. и д.б.н. Светашева В.И. за получение и помощь в интерпретации масс-спектров, к.ф.-м.н. Глазунова В.П. за получение ИК спектров, академика Стоника В.А. за полезные научные консультации, к.х.н. Маляренко О.С., к.б.н. Чинигизову Е.А., к.б.н. Юрченко Е.А., к.б.н. Манжуло И.В. и к.м.н. Пономаренко А.И. за проведение экспериментов по определению биологической активности полученных веществ, Гребнева Б.Б. за видовое определение морских звезд.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1 Сфинголипиды из морской звезды *Leptasterias polaris acervata*

Концентрированный MeOH/CHCl₃/EtOH экстракт морской звезды *L. polaris acervata* был разделен между H₂O и органической фазой EtOAc/*n*-BuOH. Фракцию, растворимую в EtOAc/*n*-BuOH, разделяли с помощью хроматографии на колонке с силикагелем, используя системы CHCl₃, CHCl₃/MeOH, CHCl₃/MeOH/H₂O и *n*-гексан/EtOAc/MeOH с последующей ВЭЖХ на полупрепаративных колонках Diasfer-110-C18 и Discovery HS F5-5.



В результате было получено два новых цереброзида – лептастериацереброзиды А (1) и В (2), а также два известных цереброзида – астроцереброзид В (3) и астериацереброзид С (4) (Схема 1), которые ранее были выделены из морских звезд *Asterias amurensis* и *Astropecten latespinosus* соответственно.

Молекулярная формула соединения **1** установлена как $C_{42}H_{79}NO_9$ на основании значений пиков ионов $[M + Na]^+$ с m/z 764,5642 в (+)ИЭР-МС высокого разрешения и $[M - H]^-$ с m/z 740,5674 в (–)ИЭР-МС высокого разрешения. В ИК спектре соединения **1** наблюдаются полосы поглощения, характерные для ν_{O-H} гидроксильных (3333 см^{-1}) и $\nu_{C=O}$ амидных (1643 , 1543 см^{-1}) групп. В спектрах ЯМР ^1H и ^{13}C , относящихся к фрагментам длинноцепочечного основания (ДЦО) и жирной кислоты (ЖК) соединения **1** присутствуют сигналы, характерные для ненасыщенного церамида сфингозинового типа с 2-гидроксижирной кислотой: сигналы двух концевых метилов CH_3 -22 и CH_3 -14' [δ_H $2 \times 0,88$ м.д. (т, $J = 6,5$ Гц); δ_C $2 \times 14,0$ м.д.], трех окисгенированных групп CH_2 -1 [δ_{Ha} 4,70 м.д. (м), δ_{Hb} 4,26 м.д. (дд, $J = 10,7$; 3,7 Гц); δ_C 69,9 м.д.], CH -3 (δ_H 4,77 м.д. (м); δ_C 72,1 м.д.) и CH -2' (δ_H 4,58 м.д. (м); δ_C 72,3 м.д.), 4(5)-двойной связи [δ_H 5,97 м.д. (дд, $J = 15,4$; 6,3 Гц), 5,92 м.д. (дт, $J = 15,4$; 6,5 Гц); δ_C 131,5 м.д.; 132,5 м.д.], 9(10)-двойной связи (δ_H $2 \times 5,51$ м.д. (м); δ_C $2 \times 130,1$ м.д.), одной амидной группы $NH-CO$ [δ_H 8,33 м.д. (д, $J = 8,9$ Гц); δ_C 175,4 м.д.], и одной характеристической метиновой группы CH -2 (δ_H 4,81 м.д. (м); δ_C 54,4 м.д.), связанной с атомом азота.

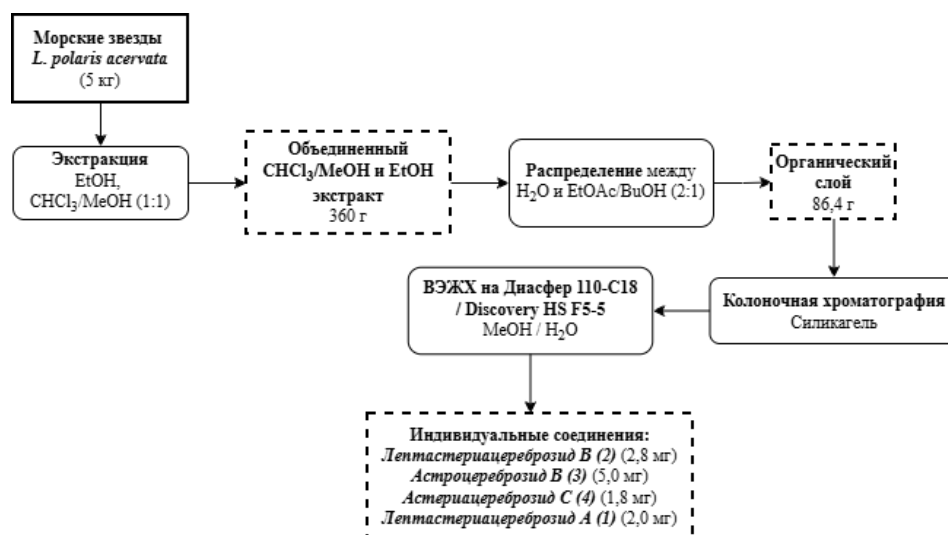


Схема 1 – Обобщенная схема выделения цереброзидов из морской звезды *L. polaris acervata*

Церамидная часть соединения **1** имеет нормальный тип углеводородных цепей: в спектре ЯМР ^{13}C сигналы концевых метильных групп наблюдаются только при δ_C 14,0 м.д. Корреляции ^1H - ^1H COSY и HSQC в спектрах соединений выявили соответствующие последовательности протонов от C-1 до C-11, от C-20 до C-22, от C-2 до NH, от C-2' до C-4' и от C-12' до C-14'. Ключевые HMBC-кросс-пики (H-1a/C-2, C-3, C-1"; H-1b/C-3, C-1"; H-3/C-2; H-4/C-3, C-6; H-5/C-3, C-6; H-6/C-4, C-5, C-7; H-7/C-8, C-9; H-8/C-7, C-9, C-10; H-9/C-8, C-11; H-10/C-8, C-11; H-11/C-9, C-10; H-20/C-21; H-21/C-20, C-22; H-22/C-20, C-21; NH/C-2, C-1'; H-3'/C-2', C-4'; H-12'/C-13'; H-13'/C-12', C-14'; и H-14'/C-12', C-13') подтвердили общую структуру церамидной части соединения **1**.

В спектре ЯМР ^1H соединения **1** наблюдается сигнал аномерного протона в области 4,92 м.д. (д, $J = 7,7$ Гц), коррелирующий в спектре HSQC с сигналом аномерного атома углерода при δ_{C} 105,4. Значение КССВ аномерного протона (7,7 Гц) указывает на β -конфигурацию гликозидной связи. Двумерные эксперименты ЯМР позволили отнести все сигналы углеводной части к остатку глюкопиранозы. Присоединение глюкозы к атому C-1 керамидной части в соединении **1** установлено на основании кросс-пика H-1''/C-1 агликона в спектре НМВС. Спектры ИЭР-МС/МС иона $[\text{M} + \text{Na}]^+$ (m/z 764) подтверждают наличие гексозы (ионы с m/z 203 $[\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6\text{Na}]^+$, 185 $[\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5\text{Na}]^+$), кроме того, наблюдается ряд характерных для керамидной части пиков фрагментных ионов: m/z 602 $[(\text{M} + \text{Na}) - \text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5]^+$, 538 $[(\text{M} + \text{Na}) - \text{C}_{14}\text{H}_{26}\text{O}_2]^+$ и 292 $[\text{C}_{16}\text{H}_{31}\text{NO}_2\text{Na}]^+$. В (–)ИЭР-МС/МС (m/z 740) наблюдаются пики, подтверждающие наличие гексозы (с m/z 179, 149, 119), и фрагментные пики, относящиеся к керамидной части соединения, а также характерные для потери углеводного остатка и разрывов амидной связи (с m/z 578, 560, 362, 334, 293, 268, 242, 225 и 197).

Кислотный гидролиз соединения **1** под действием 2М ТФУ привел к получению свободной ЖК-1 и моносахаридного остатка. Оптическое вращение ЖК-1 ($[\alpha]_{\text{D}}^{25} -3,3$ (с 1,0, CHCl_3)) согласуется с известными литературными данными для (2*R*)-2-гидроксижирных кислот, что позволило определить абсолютную стереохимию центра C-2' как *R*. Сопоставление данных спектров ЯМР ^1H и ^{13}C ДЦО соединения **1** с известными астериацереброзидом **G** из *A. amurensis* и цереброзидами из *C. patagonicus* позволило предположить (2*S*,3*R*)-конфигурацию асимметрических центров. (E)-Конфигурация 4(5)-двойной связи установлена по величине КССВ ($J = 15,4$ Гц) в спектре ЯМР ^1H соединения **1**, (Z)-конфигурация 9(10)-двойной связи подтверждена значениями ХС аллильных атомов углерода C-8 и C-11 (δ_{C} 2 $\times$ 27, 3 м.д.). D-конфигурация β -глюкопиранозного остатка подтверждена ГЖХ-анализом производных, полученных алкоголизом моносахарида с (2*R*)-(-)-2-октанолом и последующим ацетилированием. На основании совокупности данных структура лептастериацереброзида **A** (**1**) установлена как (2*S*,3*R*,4*E*,9*Z*)-1-*O*-(β -D-глюкопиранозил)-2-[(2*R*)-2-гидрокситетрадеканоиламино]-4,9-докозодиен-3-ол.

Молекулярная формула соединения **2** определена как $\text{C}_{43}\text{H}_{81}\text{NO}_9$ (пик иона $[\text{M} + \text{Na}]^+$ с m/z 778,5795; пик иона $[\text{M} - \text{H}]^-$ с m/z 754,5845 в ВР ИЭР-МС). ИК спектр соединения **2** содержит полосы поглощения $\nu_{\text{O-H}}$ гидроксильных (3333 см^{-1}) и $\nu_{\text{C=O}}$ амидных ($1643, 1543\text{ см}^{-1}$) групп. Данные спектров ЯМР ^1H и ^{13}C соединения **2** аналогичны данным спектров соединения **1**, что указывает на идентичность керамидных частей, однако разница в молекулярных массах (14 а.е.м.) и характерные изменения в спектрах ИЭР-МС/МС свидетельствуют о наличии дополнительной метиленовой группы в остатке ЖК. В (+)ИЭР-МС/МС спектре иона с m/z 778 наблюдаются пики моносахарида (с m/z 203, 185) и фрагменты керамида: с m/z 616 $[(\text{M} + \text{Na})$

– $C_6H_{10}O_5]^+$, 538 $[(M + Na) - C_{15}H_{28}O_2]^+$, 306 $[M + Na - C_6H_{12}O_6 - C_{20}H_{36}O]^+$. В (–)ИЭР-МС/МС (m/z 754) зафиксированы ионы с m/z 592 $[(M - H) - C_6H_{10}O_5]^-$, 574 $[(M - H) - C_6H_{12}O_6]^-$, 362 $[(M - H) - C_6H_{12}O_6 - C_{14}H_{28}O]^-$, 334 $[(M - H) - C_6H_{12}O_6 - C_{15}H_{28}O_2]^-$, 293 $[C_{20}H_{37}O]^-$, 282 $[(M - H) - C_6H_{12}O_6 - C_{20}H_{36}O]^-$, 256 $[C_{15}H_{30}NO_2]^-$, 239 $[C_{15}H_{27}O_2]^-$ и 211 $[C_{14}H_{27}O]^-$. Таким образом, структура лептастериацереброзида В (2) установлена как (2*S*,3*R*,4*E*,9*Z*)-1-*O*-(β-*D*-глюкопиранозил)-2-[(2*R*)-2-гидроксипентадеканоиламино]-4,9-докозодиен-3-ол.

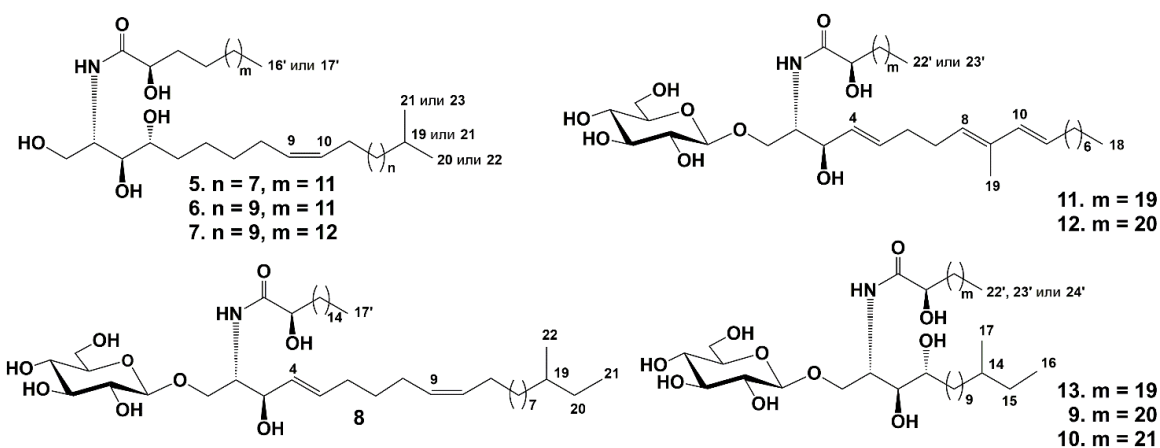
Новые соединения – лептастериацереброзиды А (1) и В (2) – представляют собой глюкоцереброзиды, содержащие ДЦО Δ⁹-сфингозина нормального типа. В соединении 1 C_{22} -сфингозиновое основание ацилировано остатком 2-ОН $C_{14:0}$, а в соединении 2 – остатком 2-ОН $C_{15:0}$ жирных кислот. Следует отметить, что для морских звезд известно 23 соединения с C_{22} -сфингозиновым основанием, из которых только одно содержит Δ⁹-сфингозин нормального типа. Сфинголипиды морских звезд, содержащие остаток C_{15} -2-гидроксижирной кислоты, описаны в четырех случаях, а соединения с остатком C_{14} -2-гидроксижирной кислоты – лишь в одном.

2 Сфинголипиды из морской звезды *Ceramaster patagonicus*

Концентрированный MeOH/ $CHCl_3$ /EtOH экстракт морской звезды *C. patagonicus* разделяли между H_2O и органической фазой EtOAc/*n*-BuOH, органический слой высушивали и промывали холодным ацетоном. Растворимую в ацетоне фракцию отделяли хроматографией на колонке с силикагелем с последующей ВЭЖХ на полупрепаративных колонках Diasfer-110- C_{18} , Discovery C_{18} и Discovery HS C_{18} -10. В результате было получено три новых церамида (5–7) и три новых цереброзида (8–10) наряду с тремя известными цереброзидами: офидиацереброзидами С (11) и D (12), ранее выделенными из морской звезды *Ophidiaster ophidianus*, и СЕ-3-2 (13) – из голотурии *Cucumaria echinata*.

Структура нового церамида 5 установлена на основании совокупности спектроскопических и химических данных. Молекулярную формулу $C_{37}H_{73}NO_5$ определили по значениям пиков ионов $[M + Na]^+$ (m/z 634,5376) и $[M - H]^-$ (m/z 610,5412) в ВР ИЭР-МС. ИК спектр показывает присутствие ν_{O-H} гидроксильных (3402 см^{-1}) и $\nu_{C=O}$ амидной ($1656, 1523\text{ см}^{-1}$) групп. Данные спектров ЯМР ^1H и ^{13}C , дополненные данными 2D экспериментов ЯМР (COSY, HSQC, HMBC), выявили сигналы, характерные для ненасыщенного церамида фитосфингозинового типа с фрагментом 2-гидроксижирной кислоты, содержащего нормальный и *изо*-типы боковых цепей. Метанолиз с последующим ГЖХ-МС анализом позволил идентифицировать жирнокислотный остаток как насыщенный метиловый эфир 2-гидроксигексадекановой кислоты нормального типа. Абсолютная конфигурация центра $C-2'$ определена как *R* по значению оптического вращения ($[\alpha]_D^{25} -3,5$), совпадающему с

литературными данными для (2*R*)-2-гидроксигирных кислот. Длинноцепочечное основание содержит 21 атом углерода и имеет *изо*-тип цепи. Геометрия двойной связи при С-9 установлена как *Z* (*цис*) на основании ХС аллильных атомов углерода С-8 (δ_C 27,5) и С-11 (δ_C 27,3) в спектре ЯМР ^{13}C . Абсолютная конфигурация ДЦО определена как *D*-пибо-(2*S*,3*S*,4*R*) исходя из сходства значений оптического вращения ($[\alpha]_D^{25} +28,0$) исследованного образца и синтетического стандарта. Таким образом, структура соединения **5** установлена как (2*S*,3*S*,4*R*,9*Z*)-2-[(2*R*)-2-гидроксигексадеканоиламино]-19-метил-9-эйкозен-1,3,4-триол.



Молекулярная формула индивидуального соединения **6** $C_{39}H_{77}NO_5$ определена по пикам ионов $[M + Na]^+$ (m/z 662,5324) и $[M - H]^-$ (m/z 638,5364) в ВР ИЭР-МС. Данные ИК спектров (полосы поглощения при 3404, 1657, 1522 cm^{-1}) и спектров ЯМР ^1H и ^{13}C свидетельствуют об идентичности керамидных фрагментов в соединениях **5** и **6**. Разница в молекулярных массах (28 а.е.м.) указывает на удлинение полиметиленовой цепи. ГЖХ-МС анализ полученных МЭЖК подтвердил наличие того же (2*R*)-2-гидроксигексадеканоильного остатка нормального типа. На основании данных спектров ЯМР и масс-спектров установлено, что ДЦО соединения **6** содержит 23 атома углерода и имеет *изо*-тип ненасыщенной цепи. Основываясь на этих данных, структура соединения **6** определена как (2*S*,3*S*,4*R*,9*Z*)-2-[(2*R*)-2-гидроксигексадеканоиламино]-21-метил-9-докозен-1,3,4-триол.

Соединение **7** удалось охарактеризовать только в составе хроматографически неразделимой смеси с соединением **6** в соотношении 2:1 соответственно, по данным масс-спектрометрии. (+)ИЭР ВР масс-спектр смеси содержит два пика ионов $[M + Na]^+$: с m/z 662,5324 (**6**) и 676,5463 (**7**), что позволило установить для соединения **7** молекулярную формулу $C_{40}H_{79}NO_5$. ИК спектр смеси (полосы поглощения при 3407, 1655, 1522 cm^{-1}) и спектры ЯМР соединения **7** практически идентичны таковым для соединения **6**, при этом молекулярные массы отличаются на 14 а.е.м. ГЖХ-МС анализ МЭЖК, полученных из смеси, показал наличие метилового эфира 2-гидроксигексадекановой кислоты (от соединения **6**) и метилового эфира 2-гидроксигептадекановой кислоты нормального типа (от соединения **7**). Таким образом, соединения **6** и **7** отличаются исключительно остатками ЖК (C_{16} и C_{17}

соответственно) при идентичном C₂₃ ненасыщенном ДЦО *изо*-типа. Структура соединения **7** установлена как (2*S*,3*S*,4*R*,9*Z*)-2-[(2*R*)-2-гидроксигептадеканоиламино]-21-метил-9-докозен-1,3,4-триол.

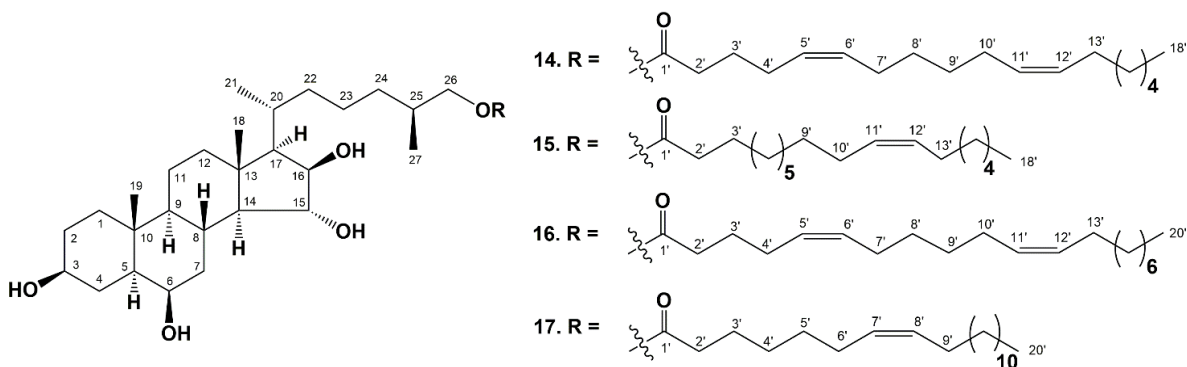
Цереброзид **8** (C₄₅H₈₅NO₉, ВР ИЭР-МС) содержит ненасыщенное сфингозиновое основание с 2-гидрокси-ЖК и моносахаридный остаток. Данные 1D и 2D спектров ЯМР указали на наличие нормального и *антеизо*-типов цепей в керамидной части соединения **8**. ГЖХ-МС анализ позволил идентифицировать жирнокислотный остаток как 2-гидроксигептадекановую кислоту нормального типа. По данным спектров ЯМР и масс-спектров ДЦО содержит 22 атома углерода, имеет цепь *антеизо*-типа и две двойные связи с *E*-конфигурацией при С-4 (определенную по значению КССВ между Н-4 и Н-5, *J* = 15,8 Гц) и с *Z*-конфигурацией при С-9 (установленную по величинам ХС атомов С-8 и С-11, $\delta_C \approx 27$ м.д.). Абсолютная конфигурация центров при С-2 и С-3 установлена как (2*S*,3*R*) по аналогии с астериацереброзидом G. Моносахаридная часть идентифицирована как β -D-глюкопираноза по величинам ХС сигналов в спектре ЯМР ¹H, включая сигнал аномерного протона (δ_H 4,92, *J* = 7,8 Гц) и данным 2D спектров ЯМР, а также данным кислотного гидролиза и последующего ГЖХ-анализа производных *R*-(–)-2-октанола. Присоединение сахара к С-1 агликона подтверждено корреляциями в спектре НМВС (Н-1"/С-1 и Н-1/С-1"). Фрагментация в спектрах ИЭР-МС/МС (пик [М – Н]⁺ с *m/z* 782) согласуется с предложенной структурой. Таким образом, цереброзид **8** определен как (2*S*,3*R*,4*E*,9*Z*)-1-*O*-(β -D-глюкопиранозил)-2-[(2*R*)-2-гидроксигептадеканоиламино]-19-метил-4,9-геникозадиен-3-ол.

Цереброзиды **9** (C₄₆H₉₁NO₁₀) и **10** (C₄₇H₉₃NO₁₀) обладают идентичными моносахаридной и сфингоидной частями, отличаясь длиной жирнокислотного остатка. Спектры ЯМР показали наличие насыщенного С₁₇ фитосфингозинового основания с *антеизо*-типом цепи и 2-гидрокси-ЖК нормального типа. ГЖХ-МС анализ выявил в соединении **9** 2-гидрокситрикозановую, а в соединении **10** – 2-гидрокситетракозановую кислоту нормального типа. Абсолютная конфигурация ДЦО определена описанным ранее способом как *D*-рибо-(2*S*,3*S*,4*R*). β -Конфигурация аномерного протона, присоединение моносахаридного звена к С-1 и общие структуры соединений подтверждены соответствующими сигналами в 2D спектрах ЯМР и характерными фрагментными ионами в ИЭР-МС/МС (пик [М – Н]⁺ с *m/z* 816 и 830). Структура соединения **9** установлена как (2*S*,3*S*,4*R*)-1-*O*-(β -D-глюкопиранозил)-2-[(2*R*)-2-гидрокситрикозаноиламино]-14-метилгексадекан-3,4-диол, структура соединения **10** установлена как (2*S*,3*S*,4*R*)-1-*O*-(β -D-глюкопиранозил)-2-[(2*R*)-2-гидрокситетракозаноиламино]-14-метилгексадекан-3,4-диол.

Новые керамиды и глюкоцереброзиды, выделенные из *C. patagonicus*, содержат ранее не описанные для морских звезд Δ^9 C₂₁–C₂₃ фитосфингозиновые основания *изо*-типа (**5–7**), Δ^9

C₂₂ сфингозиновое основание *антеизо*-типа (8), а также насыщенное C₁₇ фитосфингозиновое основание *антеизо*-типа (9, 10). Таким образом, в состав жирнокислотных остатков, помимо относительно распространенных 2-ОН C_{16:0} и 2-ОН C_{22:0}, входят редко встречающиеся в сфинголипидах морских звезд 2-ОН C_{23:0} и 2-ОН C_{17:0} жирные кислоты.

3 Стероидолипиды из морской звезды *C. patagonicus*



C-14, C-17; H₃-19/C-1, C-5, C-9, C-10; H₃-21/C-17, C-20, C-22; H₂-26/C-24, C-25, C-27; H₃-27/C-24, C-25, C-26) подтвердили общую структуру стероидного остова. Ключевые кросс-пики в спектре ROESY позволили установить общую стереохимию 5 α /9 α /10 β /13 β стероидного ядра и 3 β ,6 β ,15 α ,16 β -конфигурацию кислородсодержащих заместителей, а также (20*R*)-конфигурацию. Данные спектров ЯМР ¹H и ¹³C стероидной части **14** практически идентичны данным (25*S*)-5 α -холестан-3 β ,6 β ,15 α ,16 β ,26-пентаола, выделенного ранее из *Hacelia attenuata* и *C. patagonicus*, что подтвердило идентичность стероидных частей и позволило предположить (25*S*)-конфигурацию C-25. Таким образом, стероидная часть определена как (20*R*,25*S*)-5 α -холестан-3 β ,6 β ,15 α ,16 β ,26-пентаол.

Спектры ЯМР ¹H и ¹³C жирнокислотного фрагмента **14** показали наличие первичной метильной группы CH₃-18', четырех олефиновых метиновых групп (HC-5', HC-6', HC-11', HC-12'), двух характерных аллильных метиленовых групп (H₂C-4' и H₂C-7'), сложноэфирной группы и метиленовой группы H₂C-2' в α -положении. В (–)ИЭР-МС/МС спектре иона [M – H][–] с *m/z* 713 присутствовали фрагментные ионы с *m/z* 449 [C₂₇H₄₅O₅][–] (потеря остатка жирной кислоты) и *m/z* 279 [C₁₈H₃₁O₂][–] (потеря стероидного фрагмента). Корреляции ¹H-¹H COSY и HSQC в соответствующих спектрах выявили последовательности протонов от C-2' до C-7', от C-10' до C-13' и от C-16' до C-18', а HMBC кросс-пики (H-2'/C-1', C-3', C-4'; H-3'/C-1', C-2', C-4', C-5'; H-4'/C-2', C-5', C-6'; H-5'/C-4', C-7'; H-6'/C-4', C-7') подтвердили локализацию $\Delta^{5(6)}$ -двойной связи. Геометрия двойных связей установлена как *cis*-(*Z*) на основании ХС сигналов аллильных атомов углерода в спектре ЯМР ¹³C ($\delta_C \approx 27,0$ –27,4 м.д.). Кислотный гидролиз с последующим получением ДМОЗ производных и их ГЖХ-МС анализом позволили идентифицировать основной компонент как метил-5'*Z*,11'*Z*-октадекадиеноат. Таким образом, структура соединения **14** определена как (25*S*)-5 α -холестан-3 β ,6 β ,15 α ,16 β -тетраол-26-ил-5'*Z*,11'*Z*-октадекадиеноат.

ИК спектр соединения **15** аналогичен спектру соединения **14**. Молекулярная формула соединения **15** установлена как C₄₅H₈₀O₆ (определена по пикам [M + Na]⁺ с *m/z* 739,5852 и [M – H][–] с *m/z* 715,5889) и отличается от формулы **14** на 2 а.е.м. Стероидные фрагменты соединений **15**–**17** по данным спектров ЯМР и масс-спектров оказались идентичны фрагментам **14**, различия касаются только жирнокислотных остатков. Спектры ЯМР остатка ЖК **15** указывают на наличие двух олефиновых метинов (HC-11', HC-12'), аллильных метиленовых групп (H₂C-10', H₂C-13'), сложноэфирной группы и одной метиленовой группы, расположенной в α -положении к сложноэфирной группе. В (–)ИЭР-МС/МС иона [M – H][–] с *m/z* 715 обнаружены фрагменты с *m/z* 449 [C₂₇H₄₅O₅][–] и 281 [C₁₈H₃₃O₂][–]. Разница в 2 а.е.м. между фрагментными ионами соединений **15** и **14** указывает на отсутствие одной двойной связи в стероидолипиде **15**. *Z*-Конфигурация двойной связи подтверждена ХС сигналов атомов

C-10' и C-13' (δ_C 27,3 и 27,1 м.д.). ГЖХ-МС анализ позволил идентифицировать основной компонент как метил-11'*Z*-октадеценоат. Основываясь на этих данных, структура соединения **15** установлена как (25*S*)-5 α -холестан-3 β ,6 β ,15 α ,16 β -тетраол-26-ил-11'*Z*-октадеценоат.

ИК спектр стероидолипида **16** аналогичен спектру соединения **15**. Молекулярная формула определена как C₄₇H₈₂O₆ (пики ионов [M + Na]⁺ с m/z 765,6008 и [M – H][–] с m/z 741,6044) и превышает массу соединения **14** на 28 а.е.м. (–)ИЭР-МС/МС иона [M – H][–] с m/z 741 дал фрагменты с m/z 449 [C₂₇H₄₅O₅][–] и m/z 307 [C₂₀H₃₅O₂][–]. ГЖХ-МС анализ подтвердил наличие метил-5'*Z*,11'*Z*-эйкозациеноата. *Z*-Геометрия двойных связей установлена по ХС сигналов аллильных атомов углерода в спектре ЯМР ¹³C. Таким образом, структура соединения **16** определена как (25*S*)-5 α -холестан-3 β ,6 β ,15 α ,16 β -тетраол-26-ил-5'*Z*,11'*Z*-эйкозациеноат.

ИК спектр соединения **17** показывает наличие ν_{O-H} гидроксильной (3515 см^{–1}), $\nu_{C=O}$ сложноэфирной (1723 см^{–1}) и $\nu_{C=C}$ олефиновой (1602 см^{–1}) групп. Молекулярная формула определена как C₄₇H₈₄O₆ по значениям пиков ионов [M + Na]⁺ с m/z 767,6157 и [M – H][–] с m/z 743,6199. Молекулярная масса данного соединения отличается от таковой для стероидолипида **16** на 2 а.е.м. (–)ИЭР-МС/МС иона [M – H][–] с m/z 743 содержит фрагменты с m/z 449 [C₂₇H₄₅O₅][–] и m/z 309 [C₂₀H₃₇O₂][–]. ГЖХ-МС анализ позволил идентифицировать основной компонент как метил-7'*Z*-эйкозеноат. Таким образом, структура соединения **17** установлена как (25*S*)-5 α -холестан-3 β ,6 β ,15 α ,16 β -тетраол-26-ил-7'*Z*-эйкозеноат.

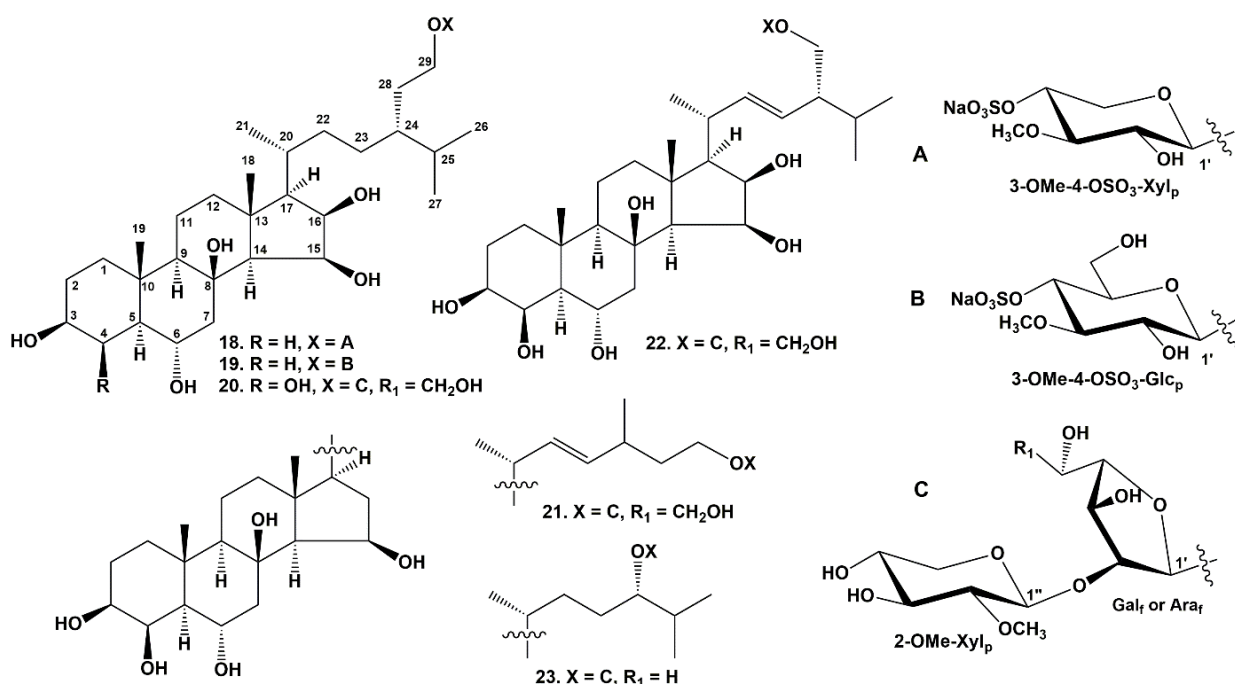
Выделенные новые стероидолипиды **14–17** представляют собой 26-*O*-ацильные производные (25*S*)-5 α -холестан-3 β ,6 β ,15 α ,16 β ,26-пентаола, содержащие остатки моно- и полиненасыщенных жирных кислот с *Z*-конфигурацией двойных связей: стероидолипид **14** ацилирован 5'*Z*,11'*Z*-октадекадиеновой кислотой (C_{18:2}), **15** – 11'*Z*-октадеценовой кислотой (C_{18:1}), **16** – 5'*Z*,11'*Z*-эйкозациеновой кислотой (C_{20:2}), а **17** – 7'*Z*-эйкозеновой кислотой (C_{20:1}). Несмотря на то, что полигидроксированный стероидный агликон ранее описан для морских звезд *H. attenuata* и *C. patagonicus*, его сложные эфиры с указанными жирными кислотами охарактеризованы впервые. Выявление стероидолипидов с 26-*O*-ацилированием и жирнокислотными остатками, имеющими несопряженные *Z*-двойные связи в положениях $\Delta^{5'}$, $\Delta^{11'}$ и $\Delta^{7'}$, существенно расширяет структурное разнообразие стероидных метаболитов иглокожих.

4 Гликозиды полигидроксистероидов из *C. patagonicus*

Концентрированный MeOH/CHCl₃/EtOH экстракт морской звезды *C. patagonicus* был распределен между H₂O и органической фазой EtOAc/*n*-BuOH, органический слой промыт холодным ацетоном. Нерастворимая в ацетоне фракция была хроматографирована на

колонках с силикагелем и флорисилом, а затем методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на полупрепаративных колонках Diasfer-110-C18 и Discovery C18, а также аналитической колонке YMC-Pack Pro C18. В результате были получены четыре новых стероидных гликозида, обозначенных как цермастерозиды А, В, D и Е (**18–21**), и два ранее известных стероидных гликозида **22** и **23**. Гликозиды **22** и **23** идентифицированы путем сравнения данных их спектров ЯМР ^1H , ^{13}C и масс-спектров с литературными значениями соответствующих спектров для цермастерозиды С₁, выделенного ранее из *C. patagonicus*, и аттенуозиды В-I из морской звезды *H. attenuata*.

Молекулярная формула цермастерозид А (**18**) установлена как $\text{C}_{35}\text{H}_{61}\text{O}_{13}\text{SNa}$ на основании значений пиков ионов $[\text{M} + \text{Na}]^+$ с m/z 767,3630 в (+)ИЭР масс-спектре высокого разрешения и $[\text{M} - \text{Na}]^-$ с m/z 721,3851 в (-)ИЭР масс-спектре высокого разрешения. Фрагментные пики с m/z 647 $[(\text{M} + \text{Na}) - \text{NaHSO}_4]^+$ в спектре (+)ИЭР-МС/МС и m/z 97 $[\text{HSO}_4]^-$ в спектре (-)ИЭР-МС/МС, а также полосы поглощения $\nu_{\text{S=O}}$ и $\nu_{\text{S-O}}$ сульфатной группы (1255, 1224, 827 cm^{-1}) в ИК спектре указывают на присутствие сульфатной группы. Данные спектров ЯМР ^1H и ^{13}C , дополненные экспериментами COSY, HSQC, HMBC и ROESY, позволили установить структуру стероидного ядра как $5\alpha/9\alpha/10\beta/13\beta$ с оксигенированными заместителями в положениях $3\beta, 6\alpha, 8, 15\beta, 16\beta$. Боковая цепь идентифицирована как 29-гидроксигиस्ताмановая с (20*R*,24*R*)-конфигурацией, что подтверждено значением ХС Н₃-21 (δ_{H} 0,94 м.д.) и корреляциями ROESY Н₃-18/Н₃-21 и Н₃-21/Н_β-12, а также значениями ХС протонов и атомов углерода метильных групп Н₃С-26 и Н₃С-27. Таким образом, структура агликона соединения **18** определена как (20*R*,24*R*)-24-этил-5α-холестан-3β,6α,8,15β,16β,29-гексаол.



Углеводная часть гликозида **18** представлена моносахаридным остатком, аномерный протон которого резонирует при δ_H 4,23 м.д. ($J = 7,3$ Гц, β -конфигурация), а сигнал *O*-метильной группы наблюдается при δ_H 3,61 м.д. Данные МС/МС (потеря фрагмента $C_6H_{10}O_7S$) и данные спектров ЯМР указывают на локализацию сульфатной группы при C-4' и метильной при C-3' остатка ксилопиранозы, что подтверждено корреляциями в НМБС спектре H-1'/C-3', H-3'/O-CH₃, H-5'/C-1', C-3', C-4' и кросс-пиками H-3'/O-CH₃ в спектре ROESY. Характерное смещение сигналов атомов C-3' (δ_C 85,1 м.д.), C-4' (δ_C 77,2 м.д.) и C-5' (δ_C 64,8 м.д.) в слабое поле в спектре ЯМР ^{13}C относительно их положения в спектре несulfатированного аналога однозначно указывает на структуру 3-*O*-метил-4-*O*-сульфо- β -D-ксилопиранозы. Присоединение углеводного остатка к C-29 агликона подтверждается корреляцией H-1'/C-29 в спектре НМБС и кросс-пиками H-1'/H-29 в спектре ROESY. D-Ряд для этого моносахарида предположен по аналогии с D-рядами сопутствующих гликозидов данного вида. Структура **18** окончательно установлена как натриевая соль (20*R*,24*R*)-29-*O*-(3-*O*-метил-4-*O*-сульфо- β -D-ксилопиранозил)-24-этил-5 α -холестан-3 β ,6 α ,8,15 β ,16 β ,29-гексаола.

Церамастерозид В (**19**) имеет молекулярную формулу $C_{36}H_{63}O_{14}SNa$ (исходя из значений пиков $[M + Na]^+$ с m/z 797,3738 и $[M - Na]^-$ с m/z 751,3946 в ВР ИЭР-МС спектрах), отличающуюся от таковой для соединения **18** на фрагмент CH_2O . Данные спектров ЯМР ^1H и ^{13}C стероидного ядра и боковой цепи соединения **19** полностью совпадают с данными спектров соединения **18**. Отличия наблюдаются лишь в спектрах углеводного фрагмента, который идентифицирован как *O*-метилсульфооксигексоза на основании ИЭР-МС/МС спектров (фрагменты с m/z 495 $[(M - Na) - C_7H_{12}O_8S]^-$ и с m/z 255 $[C_7H_{11}O_8S]^-$). Полный набор данных 2D экспериментов ЯМР (COSY, HSQC, НМБС, ROESY) позволил установить структуру моносахарида как 3-*O*-метил-4-*O*-сульфоглюкопиранозу с β -конфигурацией гликозидной связи ($J = 7,5$ Гц). Углеводный фрагмент присоединен к C-29, что подтверждено корреляцией H-1'/C-29 в спектре НМБС. Ранее 3-*O*-метил-4-*O*-сульфоглюкопиранозный остаток не встречался в стероидных гликозидах морских звезд. Таким образом, структура **19** определена как натриевая соль (20*R*,24*R*)-29-*O*-(3-*O*-метил-4-*O*-сульфо- β -D-глюкопиранозил)-24-этил-5 α -холестан-3 β ,6 α ,8,15 β ,16 β ,29-гексаола.

Молекулярная формула церамастерозида D (**20**) установлена как $C_{41}H_{72}O_{16}$ (исходя из значений пиков ионов $[M + Na]^+$ с m/z 843,4715 и $[M - H]^-$ с m/z 819,4748). ИК спектр подтвердил отсутствие сульфатных групп. Сравнение данных спектров ЯМР агликона **20** с таковыми для соединения **18** выявило наличие дополнительного сигнала оксигенированного метинового углерода при C-4 (δ_H 4,26 м.д.; δ_C 69,1 м.д.), что позволило идентифицировать агликон как (20*R*,24*R*)-24-этил-5 α -холестан-3 β ,4 β ,6 α ,8,15 β ,16 β ,29-гептаол. Углеводная часть гликозида состоит из двух моносахаридных остатков, аномерные протоны которых дают

сигналы при δ_H 5,00 и 4,45 м.д. Анализ фрагментации в спектрах ИЭР-МС/МС и спектров 2D ЯМР позволил установить структуру концевой 2-*O*-метил- β -*D*-ксилопиранозы (КССВ аномерного протона $J = 7,7$ Гц) и β -*D*-галактофуранозы (ХС сигнала аномерного углерода δ_C 108,0 м.д.), объединенных в дисахарид 2-*O*-метил- β -*D*-ксилопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)- β -*D*-галактофуранозу. Данный углеводный фрагмент ранее встречался в церамастерозидах С₁, С₃ и С₄ из *C. patagonicus*. Присоединение дисахарида к С-29 агликона доказано корреляцией Н-1'/С-29 в спектре HMBC и ROESY-взаимодействиями с Н₂-29. Отнесение моносахаридных остатков к *D*-ряду было предложено по аналогии с отнесениями в соответствующих гликозидах, ранее выделенных из того же вида морских звезд. Таким образом, структура соединения **20** установлена как (20*R*,24*R*)-29-*O*-(2-*O*-метил- β -*D*-ксилопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)- β -*D*-галактофуранозил)-24-этил-5 α -холестан-3 β ,4 β ,6 α ,8,15 β ,16 β ,29-гептаол.

Церамастерозид Е (**21**), основываясь на данных спектров ВР ИЭР-МС (пики $[M + Na]^+$ с m/z 797,4295 и $[M - H]^-$ с m/z 773,4337), имеет молекулярную формулу C₃₉H₆₆O₁₅ и содержит агликон с модифицированной боковой цепью. Спектры ЯМР указывают на отсутствие гидроксильной группы при С-16 и наличие олефиновых протонов при δ_H 5,21 ($J = 15,1, 8,6$ Гц) и 5,15 м.д. ($J = 15,1, 7,8$ Гц), а также оксигенированной метиленовой группы Н₂С-26. Корреляции в спектрах HMBC и ROESY подтвердили структуру (20*R*,22*E*,24 ξ)-24-метил-27-*нор*-5 α -холест-22-ен-3 β ,4 β ,6 α ,8,15 β ,26-гексаола с (*E*)-конфигурацией двойной связи $\Delta^{22(23)}$. Углеводный фрагмент соединения **21** по данным спектров ЯМР и масс-спектров идентичен дисахаридному фрагменту церамастериозида D (**20**). Ключевые корреляции Н-1'/С-26 в спектре HMBC и Н-1'/Н-26 в спектре ROESY позволили однозначно установить локализацию гликозидной связи при С-26 агликона. Таким образом, структура гликозида **21** определена как (20*R*,22*E*,24 ξ)-26-*O*-(2-*O*-метил- β -*D*-ксилопиранозил-(1 $\rightarrow$ 2)- β -*D*-галактофуранозил)-24-метил-27-*нор*-5 α -холест-22-ен-3 β ,4 β ,6 α ,8,15 β ,26-гексаол.

Выделенные новые стероидные гликозиды **18–21** имеют в своей основе полигидроксилированное стероидное ядро, различающееся степенью оксигенирования и строением боковых цепей. Церамастерозиды А (**18**) и В (**19**) содержат общий гексаольный агликон с присоединенными по С-29 уникальными сульфатированными метилированными моносахаридами: 3-*O*-метил-4-*O*-сульфо- β -*D*-ксилопиранозой, ранее описанной лишь для морской звезды *Astropecten scoparius*, и впервые обнаруженной в природных гликозидах иглокожих 3-*O*-метил-4-*O*-сульфо- β -*D*-глюкопиранозой. Церамастерозид D (**20**) отличается дополнительным гидроксигированием при С-4 и наличием дисахаридного фрагмента при С-29. Церамастерозид Е (**21**) также содержит этот остаток, но присоединенный к гидроксильной группе при С-26 (20*R*,22*E*,24 ξ)-24-метил-27-*нор*-5 α -холест-22-ен-3 β ,4 β ,6 α ,8,15 β ,26-гексаольного агликона.

5 Биологическая активность выделенных соединений

Антимикробная активность и ингибирование уреазы. Влияние лептастериацереброзидов А (1) и В (2), астроцереброзида В (3) и астериацереброзида С (4) из морской звезды *L. polaris acervata* на активность уреазы оценивали в бесклеточном тесте с расчётом концентрации полумаксимального ингибирования (ИК₅₀). В качестве положительного контроля использовали тиомочевину. Соединения 1, 2, 3 и 4 ингибировали активность уреазы со значениями ИК₅₀ в диапазоне 6,85–8,08 мкМ, что превышало эффективность тиомочевины (14,34 ± 1,23 мкМ). В концентрациях до 50 мкМ данные соединения не влияли на рост *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* и *Candida albicans*, демонстрируя отсутствие прямой антимикробной активности. Несмотря на отсутствие антимикробного эффекта, соединения перспективны как ингибиторы уреазы в почве, что может снизить скорость разложения азотных удобрений и повысить их доступность для растений, тем самым способствуя увеличению урожайности.

Цитотоксическая и цитопротекторная активность сфинголипидов из *L. polaris acervata*. Цереброзиды 1–4 в концентрациях до 100 мкМ не проявляли гемолитической активности в отношении эритроцитов человека и не влияли на жизнеспособность кардиомиоцитов крыс линии Н9с2. Кардиопротекторный эффект оценивали в моделях гипоксии (CoCl₂, 500 мкМ) и TNF-α-индуцированного воспаления. Только соединение 1 в концентрации 10 мкМ оказывало достоверный защитный эффект: после обработки клеток CoCl₂ их жизнеспособность возрастала на 32,6%. Все исследованные цереброзиды ослабляли воспалительный эффект TNF-α, увеличивая жизнеспособность Н9с2 на 16–34%. Наиболее эффективными оказались соединения 2 и 4, которые увеличивали жизнеспособность клеток на 33,9 и 28,7% соответственно. Соединение 4 проявляло концентрационно-зависимую активность, в то время как соединения 1, 2 и 3 демонстрировали повышенную эффективность, не зависящую от концентрации. Механизм действия изучали, исследуя влияние соединений на уровень АФК, мембранный митохондриальный потенциал (ММП), уровень перекисного окисления кардиолипина и активность транскрипционного фактора NF-κB. TNF-α индуцировал рост АФК на 46,1% и снижение ММП на 17,4%. Соединения 1, 2 и 3 снижали уровень АФК в клетках, обработанных TNF-α, на 23,1, 15,4 и 29,4% соответственно, а соединения 2 и 3 восстанавливали ММП на 16,1 и 17,5% соответственно и предотвращали увеличение уровня перекисного окисления кардиолипина. В репортерной системе JB6-Luc NF-κB соединения 1, 2 и 3 достоверно подавляли транскрипционную активность NF-κB на 21,7, 36,3 и 34,2% соответственно, что доказывает их влияние на экспрессию данного фактора (Рисунок 1).

Таким образом, сфинголипиды **1–3** обладают кардиопротективным действием в моделях хронической гипоксии и TNF- α -индуцированного воспаления, одним из механизмов может являться блокирование NF- κ B-зависимого воспалительного пути.

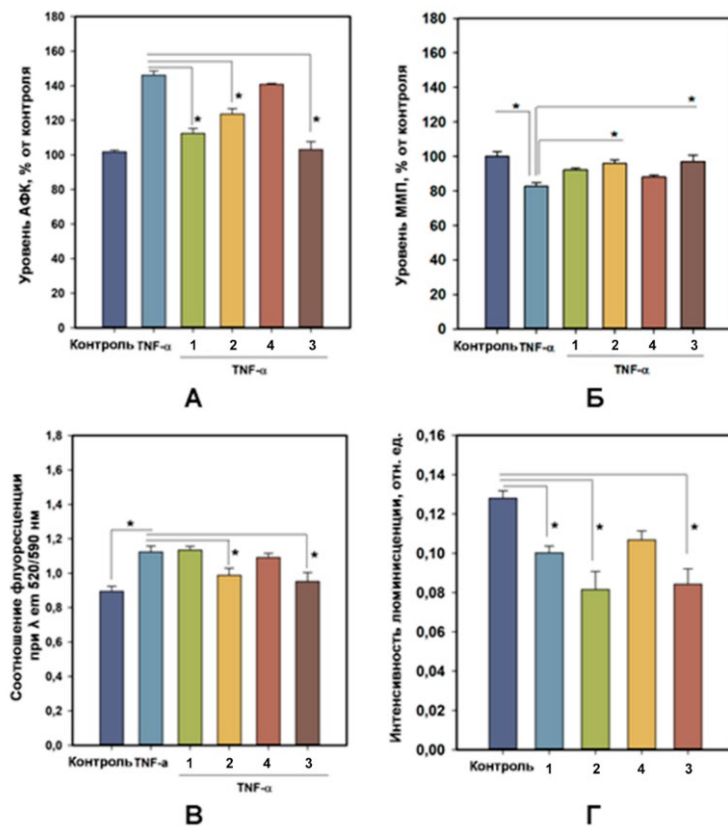


Рисунок 1 – Влияние соединений **1–4** на уровни АФК (**А**), ММП (**Б**), перекисного окисления кардиолипина (**В**) в клетках H9c2, обработанных TNF- α , и люминесценцию в клетках JB6-Luc NF- κ B (**Г**).

Цитотоксическая активность сфинголипидов из *C. patagonicus* в отношении нормальных и опухолевых клеток и их влияние на колониеобразование и рост опухолевых клеток человека. Церамиды **5–7**, офидацереброзиды **С (11)** и **Д (12)**, цереброзиды **СЕ-3-2 (13)** и соединение **10**, выделенные из *C. patagonicus*, исследовали методом MTS (воздействие в течение 24 ч) на нормальных клетках HEK293 и опухолевых линиях аденокарциномы толстого кишечника человека HT-29, меланомы SK-MEL-28 и трижды негативного рака молочной железы человека MDA-MB-231. Ингибирование жизнеспособности клеток HEK293, HT-29 и SK-MEL-28 всеми соединениями не превышало 15% в концентрациях до 50 мкМ. Значимая цитотоксичность выявлена только в отношении карциномы молочной железы MDA-MB-231. Для сфинголипидов **6, 7, 11** и **12** значение ИК₅₀ составило 48,7, 49,4, 48,7 и 40,5 мкМ соответственно (для доксорубина ИК₅₀ = 22,3 мкМ). Оценивали способность соединений подавлять колониеобразование в мягком агаре. В концентрации 20 мкМ соединения **5, 7, 13** и **10** снижали число колоний MDA-MB-231 на 46,

48, 44 и 50% соответственно, а соединения **6**, **11** и **12** – на 68, 54 и 68% соответственно, что сопоставимо с действием доксорубина (70%). Выделенные сфинголипиды проявляют селективную цитостатическую активность в отношении клеток карциномы молочной железы, эффективно подавляя их способность к колониеобразованию на уровне, близком к уровню препарата сравнения, при отсутствии выраженной токсичности в отношении нормальных клеток НЕК293, что подчеркивает их перспективность в качестве противоопухолевых агентов.

Биологическая активность стероидолипидов из *C. patagonicus*. Стероидолипиды **14–17** исследовали методом MTS по отношению к нормальным эпидермальным клеткам мыши JB6 Cl41, трижды негативного рака молочной железы человека MDA-MB-231 и колоректальной карциномы человека НСТ 116. Цитотоксичность после 24 ч инкубации была низкой (ингибирование <15% при концентрации 100 мкМ). При 72-часовой инкубации выявлен дозозависимый цитостатический эффект: значения ИК₅₀ соединений **14–16** в отношении клеток JB6 Cl41 составляли 81, 40 и 79 мкМ, в отношении клеток MDA-MB-231 – 74, 33 и 73 мкМ, в отношении клеток НСТ 116 – 73, 31 и 71 мкМ соответственно. В методе мягкого агара в концентрации 20 мкМ соединения **14–17** подавляли колониеобразование клеток MDA-MB-231 на 17, 26, 15 и 10% соответственно и клеток НСТ 116 на 20, 27, 18 и 16% соответственно (Рисунок 2 А–Б).

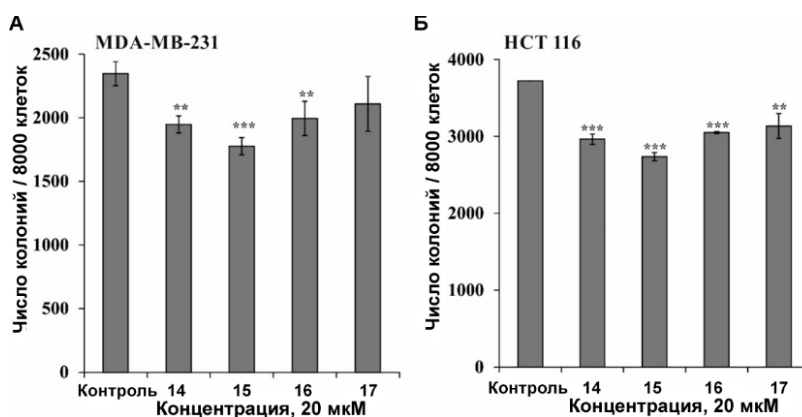


Рисунок 2 – Влияние соединений **14–17** на образование колоний в клетках MDA-MB-231 (А) или НСТ 116 (Б) рака человека.

В модели заживления царапины после 48 ч инкубации соединения **14** и **15** ингибировали миграцию клеток MDA-MB-231 на 42 и 50% соответственно, а стероидолипид **15** почти полностью подавлял миграцию клеток НСТ 116 (на 73%). Соединения **16** и **17** обладают умеренной активностью. Таким образом, стероидолипиды **14–17** проявляют дозозависимое цитостатическое действие и эффективно ингибируют миграционную активность линий рака молочной железы и толстой кишки в экспериментах *in vitro*. Наибольшую противометастатическую и антипролиферативную эффективность

демонстрирует соединение **15**, что обосновывает его дальнейшее изучение в качестве потенциального агента для сдерживания опухолевой инвазии.

Биологическая активность гликозидов полигидроксистероидов из *C. patagonicus*.

Активность гликозидов полигидроксистероидов **18–22** и **23** оценивали на культуре мышинных микроглиальных клеток SIM-A9. Методом MTS после 72 ч инкубации подтверждено отсутствие цитотоксичности в диапазоне концентраций 0,1–10 мкМ; напротив, наблюдалось увеличение метаболизма тетразолия и сохранение нормальной морфологии клеток без признаков вакуолизации, провисания или потери связи с субстратом, характерных для апоптоза/некроза. В модели ЛПС-индуцированной активации микроглии соединения модулировали воспалительный и окислительный ответы. Продукция внутриклеточного NO максимально подавлялась при концентрации соединений 1 мкМ; при 0,1 мкМ наибольшую активность показали соединения **18** и **22**. Уровень внеклеточных нитритов значимо снижал только гликозид **21** в концентрации 1 мкМ. Все соединения подавляли ЛПС-индуцированное перекисное окисление липидов, нормализуя уровень малонового диальдегида (МДА), при этом соединения **18** и **21** возвращали показатели МДА к статистически неотличимому от контроля уровню. Таким образом, гликозиды полигидроксистероидов демонстрируют отсутствие нейротоксичности и способность дозозависимо модулировать активационный ответ микроглии, подавляя продукцию оксида азота и перекисное окисление липидов. Соединения **18** и **22** наиболее эффективны в ингибировании NO-продукции при низких концентрациях, а гликозид **21** нормализует уровень нитритов, что в совокупности подтверждает их перспективность в качестве нейропротекторных агентов.

ВЫВОДЫ

1. Исследован состав фракций сфинголипидов морской звезды *Leptasterias polaris acervata*, а также сфинголипидов, стероидлипидов и гликозидов полигидроксистероидов морской звезды *Ceramaster patagonicus*. Выделено и установлено полное химическое строение 22 индивидуальных соединений – 12 сфинголипидов, 4 стероидлипидов и 6 гликозидов полигидроксистероидов, а также хроматографически неразделимой смеси из 2 соединений (церамиды). Установлено, что 8 сфинголипидов, 4 стероидлипида и 4 гликозида полигидроксистероидов являются новыми соединениями. Химические структуры 7 выделенных соединений идентифицированы как ранее известные.

2. Химические структуры новых цереброзидов установлены как (2*S*,3*R*,4*E*,9*Z*)-1-*O*-(β-*D*-глюкопиранозил)-2-[(2*R*)-2-гидроксигептадеканоиламино]-19-метил-4,9-генэйкозодиен-3-ол, (2*S*,3*S*,4*R*)-1-*O*-(β-*D*-глюкопиранозил)-2-[(2*R*)-2-гидрокситрикозаноиламино]-14-метилгексадекан-3,4-диол, (2*S*,3*S*,4*R*)-1-*O*-(β-*D*-глюкопиранозил)-2-[(2*R*)-2-

гидрокситетракозаноиламино]-14-метилгексадекан-3,4-диол, (2*S*,3*R*,4*E*,9*Z*)-1-*O*-(β-*D*-глюкопиранозил)-2-[(2*R*)-2-гидрокситетрадеканоиламино]-4,9-докозодиен-3-ол (лептастериациреброзид А) и (2*S*,3*R*,4*E*,9*Z*)-1-*O*-(β-*D*-глюкопиранозил)-2-[(2*R*)-2-гидроксипентадеканоиламино]-4,9-докозодиен-3-ол (лептастериациреброзид В).

3. Строение новых церамидов установлено как (2*S*,3*S*,4*R*,9*Z*)-2-[(2*R*)-2-гидроксигексадеканоиламино]-19-метил-9-эйкозен-1,3,4-триол, (2*S*,3*S*,4*R*,9*Z*)-2-[(2*R*)-2-гидроксигексадеканоиламино]-21-метил-9-докозен-1,3,4-триол и (2*S*,3*S*,4*R*,9*Z*)-2-[(2*R*)-2-гидроксигептадеканоиламино]-21-метил-9-докозен-1,3,4-триол.

4. Строение новых стероидолипидов установлено как (25*S*)-5α-холестан-3β,6β,15α,16β-тетраол-26-ил-5'*Z*,11'*Z*-октадекадиеноат, (25*S*)-5α-холестан-3β,6β,15α,16β-тетраол-26-ил-11'*Z*-октадеканоат, (25*S*)-5α-холестан-3β,6β,15α,16β-тетраол-26-ил-5'*Z*,11'*Z*-эйкозодиеноат и (25*S*)-5α-холестан-3β,6β,15α,16β-тетраол-26-ил-7'*Z*-эйкозеноат.

5. Установлено строение новых гликозидов полигидроксистероидов – церамистерозидов А, В, D и Е, показано, что эти гликозиды имеют редкие моносахаридные остатки: метил-4-*O*-сульфо-β-*D*-ксилопиранозу и 3-*O*-метил-4-*O*-сульфоглюкопиранозу.

6. Для выделенных соединений получены данные по биологической активности в экспериментах *in vitro*. Показано, что лептастериациреброзида А и В, астроцереброзид В и астериациреброзид С из *L. polaris acervata* обладают кардиопротекторной активностью, офидиациреброзида С и D из *C. patagonicus* проявляют селективную цитостатическую активность, а (25*S*)-5α-холестан-3β,6β,15α,16β-тетраол-26-ил-11'*Z*-октадеканоат демонстрирует противометастатический и антипролиферативный эффекты. Кроме того, церамистерозиды А, В, D и Е из *C. patagonicus* обладают антиоксидантной активностью.

Основное содержание диссертации изложено в следующих публикациях:

1. **V. M. Zakharenko**, T. V. Malyarenko, A. A. Kicha, A. I. Kalinovsky, R. S. Popov, E. A. Chingizova, E. A. Yurchenko, N. V. Ivanchina. New cerebroside from the polar starfish *Leptasterias polaris acervata* and their cardioprotective and anti-inflammatory activity // Journal of Natural Medicines. – 2026. – V. 80, N. 2. – P. 313–324. – DOI 10.1007/s11418-025-01988-2.

2. **V. M. Zakharenko**, T. V. Malyarenko, A. A. Kicha, N. V. Ivanchina. Biological activity of sphingolipids from marine organisms // Natural Products: Chemistry, Pharmacology and Nutrition. – 2025. – V. 1, N. 1. – P. 80–117.

3. Т. В. Маляренко, А. А. Кича, **В. М. Захаренко**, Н. В. Иванчина. Исследования низкомолекулярных метаболитов морских звезд: структуры, биологические активности и биосинтез // Вестник Дальневосточного отделения Российской академии наук. – 2025. – № 1(239). – С. 40–53. – DOI 10.7868/s3034530825010049.

4. T. V. Malyarenko, **V. M. Zakharenko**, A. A. Kicha, A. I. Ponomarenko, I. V. Manzhulo, A. I. Kalinovsky, R. S. Popov, P. S. Dmitrenok, N. V. Ivanchina. New polyhydroxysteroid glycosides with antioxidant activity from the Far Eastern sea star *Ceramaster patagonicus* // Marine Drugs. – 2024. – V. 22, N. 11. – Art. 508. – DOI 10.3390/md22110508.
5. T. V. Malyarenko, **V. M. Zakharenko**, A. A. Kicha, A. S. Kuzmich, O. S. Malyarenko, A. I. Kalinovsky, R. S. Popov, V. I. Svetashev, N. V. Ivanchina. New ceramides and cerebrosides from the deep-sea Far Eastern starfish *Ceramaster patagonicus* // Marine Drugs. – 2022. – V. 20, N. 10. – Art. 641. – DOI 10.3390/md20100641.
6. T. V. Malyarenko, A. A. Kicha, O. S. Malyarenko, A. I. Kalinovsky, R. S. Popov, N. V. Ivanchina, **V. M. Zakharenko**, I. P. Kotlyarov, V. I. Svetashev. New conjugates of polyhydroxysteroids with long-chain fatty acids from the deep-water far eastern starfish *Ceramaster patagonicus* and their anticancer activity // Marine Drugs. – 2020. – V. 18, N. 5. – Art. 260. – DOI 10.3390/md18050260.

Публикации в сборниках и материалах конференций:

7. **В. М. Захаренко**, Т. В. Маляренко, Н. В. Иванчина, Е. А. Чингизова. Глюкоцереброзиды морской звезды *Leptasterias polaris acervata*: установление строения и биологическая активность // XXII Всероссийская молодёжная школа-конференция по актуальным проблемам химии и биологии Владивосток, 09–12 сентября 2025 года. С. 21.
8. **В. М. Захаренко**, Т. В. Маляренко, Н. В. Иванчина. Глюкоцереброзиды морской звезды *Leptasterias polaris acervata*: выделение и установление строения // VI Всероссийская конференция по органической химии, Москва, 23–27 сентября 2024 года. С. 202.
9. **В. М. Захаренко**, Т. В. Маляренко, Н. В. Иванчина. Выделение и установление строения сфинголипидов из морской звезды *Leptasterias polaris acervata* // Международная конференция по химии "Байкальские чтения-2023", Иркутск, 04–08 сентября 2023 года. С. 171.
10. **V. M. Zakharenko** Isolation and structure determination of ceramides from the Far Eastern starfish *Ceramaster patagonicus* // The 8th annual student scientific conference in English : conference proceedings, Vladivostok, 25–31 мая 2021 года. Р. 43–44.
11. **В. М. Захаренко**, Т. В. Маляренко Выделение и установление строения сфинголипидов из дальневосточной морской звезды *Ceramaster patagonicus* // XVIII Всероссийская молодежная школа-конференция по актуальным проблемам химии и биологии, Владивосток, 06–13 сентября 2021 года. С. 35.
12. **В. М. Захаренко** Выделение и установление строения церамидов из дальневосточной морской звезды *Ceramaster patagonicus* // Материалы региональной научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых учёных по естественным наукам, Владивосток, 15–30 апреля 2021 года. С. 533.