

ОТЗЫВ

на диссертационную работу Иванчиной Натальи Владимировны «Полярные стероиды морских звезд: структура, биологическая активность и биосинтез», представленную на соискание ученой степени доктора химических наук по специальности 1.4.9 - биоорганическая химия

Морские организмы – это преобладающее на Земле биологическое сообщество. Актуальность изучения морских природных соединений связана с огромным структурным разнообразием морских метаболитов, которое привлекает внимание ученых во многих странах мира. Более 30 тысяч низкомолекулярных морских природных соединений с уникальными структурами (которые не были ранее найдены в наземных организмах) были выделены и изучены из морских микроорганизмов, растений и животных.

Рецензируемое исследование полярных стероидов из морских звезд, выполненное Н.В. Иванчиной и представленное в виде диссертации на соискание ученой степени доктора химических наук по специальности 1.4.9 - биоорганическая химия, обобщило многолетнюю работу, направленную на изучение структур, биологической активности и путей биосинтеза полярных стероидов морских звезд. В результате этой работы соискатель получил и выделил из 18 видов морских звезд серии новых полярных стероидов различных структурных групп и установил их точное химическое строение (более 196 индивидуальных соединений, из которых 90 стероидов – новые соединения, и важно отметить, что к настоящему времени в литературе описаны структуры более 700 полярных стероидов морских звезд, причем 300 – сотрудниками лаборатории соискателя).

Впервые для ряда соединений были исследованы гемолитическая, цитотоксическая, противоопухолевая, иммуномодулирующая, нейритогенная и нейропротекторная активности, были выявлены закономерности окисления стероидного скелета в процессе биосинтеза. Впервые экспериментально был изучен биосинтез полигидроксилированных стероидов морских звезд. В целом, исследование Н.В. Иванчиной «Полярные стероиды морских звезд: структура, биологическая активность и биосинтез» следует признать важным достижением современной биоорганической химии.

Диссертация состоит из введения, литературного обзора, обсуждения результатов, экспериментальной части, заключения, выводов и списка литературы, насчитывающего 404 ссылки. Во введении изложены представления автора об актуальности темы исследования, сформулированы цели и задачи работы, основные положения, выносимые на защиту, научная новизна ожидаемых результатов и практическая ценность работы.

Литературный обзор посвящен изложению имеющихся данных по структурному разнообразию полярных стероидов морских звезд, их биологической активности, биологических функций и биосинтеза. Автор обобщены имеющиеся на данный момент данные о структурах более 700 полярных стероидов, описаны основные структурные классы этих соединений и выявлены структурные особенности, характерные для каждого класса. Информация иллюстрирована рисунками структур наиболее характерных и/или интересных соединений. Сведения о проявляемых видах биологической активности стероидных метаболитов морских звезд также подробно описаны и обобщены в соответствии с типом проявляемой активности. Также в литературном обзоре содержится глава, содержащая данные о предполагаемых биологических функциях полярных стероидов морских звезд. В главе «Биосинтез стероидов морских звезд» приведены все имеющиеся на момент данного исследования данные по возможным биосинтетическим путям образования данных молекул, показано, что сведения эти весьма ограничены. В целом, литературный обзор имеет непосредственное отношение к теме диссертации, подтверждает актуальность изучения этого класса морских метаболитов и позволяет оценить масштаб проделанной автором работы и значение полученных автором новых данных для соответствующего раздела современной биоорганической химии.

Глава «Обсуждение результатов» содержит описание основных подходов к выделению и установлению строения полярных стероидных соединений морских звезд, структурных исследованиях 18-ти видов морских звезд, данные об их биологической активности и биосинтезу. Для исследования автором выбирались предпочтительно неизученные или малоизученные виды морских звезд, собранные в различных районах Мирового океана, от Арктики до Антарктики. Большинство исследованных животных были собраны в морях Дальнего Востока России или у побережья Вьетнама. Применение различных методов хроматографии в сочетании с самыми современными физико-химическими методами позволили автору выделить и установить строение почти 200 индивидуальных стероидных соединений, включая 90 новых веществ. Использование химических методов, включая получение оптически активных производных, позволило в большинстве случаев установить абсолютную стереохимию асимметрических центров исследуемых молекул. Предложенные структуры для выделенных соединений не вызывают сомнений, поскольку они основываются на применении экспериментов двумерной ЯМР спектроскопии, а также масс-спектрометрии, включая масс-спектрометрию высокого разрешения и тандемную масс-спектрометрию. Также при установлении строения выделенных молекул автором широко применялось сравнение полученных спектральных данных с соответствующими литературными данными. В

диссертации приведены таблицы, содержащие полные ЯМР спектры выделенных веществ, что может быть полезно исследователям, работающим в области структурного изучения полярных стероидов.

В целом, данная часть работы является весьма объемной и трудоемкой и представляет несомненную научную новизну. Автором найдены новые полигидроксистероиды с редкими и уникальными структурными фрагментами, включая соединения с новыми боковыми цепями, редким 5β -холестановым скелетом, новые полигидроксилированные стероидные конъюгаты с таурином и дисульфатированные стероиды «офиурного» типа. Описан ряд новых гликозидов полигидроксистероидов, имеющих как редкие или уникальные агликоны, как, например, агликоны с неокисленным атомом С-6 и 4,5-эпоксигруппой, так и новые углеводные фрагменты. Найден уникальный по своей структуре гранулатозид С, в котором сочетаются структурные особенности, не характерные для морских звезд, но типичные для представителей других классов морских беспозвоночных. В новых астеросапонинах, полученных автором, также найдены вещества с ранее не описанными агликонами и углеводными цепями. Выделение серии редких циклических гликозидов является также интересным результатом, поскольку оно почти вдвое расширило число известных молекул данного структурного класса. Обнаружение циклического гликозида в морской звезде *Leiaster* sp. дало возможность поставить под сомнение гипотезу о таксономической специфичности циклических гликозидов.

Интересные данные были получены при изучении биологической активности выделенных полярных стероидов. Автор объединила полученные данные для метаболитов из разных видов морских звезд по типам биологической активности, что позволило сделать ряд выводов об общих закономерностях структура-активность для этих соединений. Впервые показано, что некоторые из этих стероидов проявляют противоопухолевые свойства, эффективно ингибируя рост колоний опухолевых клеток в нецитотоксических концентрациях. Некоторые из изученных веществ показали иммуномодулирующую активность. Показано, что полигидроксистероиды и родственные им гликозиды проявляют нейротрофиноподобную нейритогенную и нейропротекторную активности. Все эти данные еще раз подтверждают актуальность и перспективность изучения полярных стероидных метаболитов морских звезд.

Еще одна большая часть работы автора заключалась в исследованиях биосинтеза полярных стероидов морских звезд. Обобщение структурных особенностей всех описанных на данный момент структур этих соединений позволило выявить основные структурные закономерности введения гидроксильных групп в стероидное ядро в

полигидроксистероидах, а также построения стероидных гликозидов, включая гликозиды полигидроксистероидов и астеросапонины. Знания о данных закономерностях были успешно применены автором вместе с коллегами при метаболомных исследованиях дальневосточных морских звезд *Aphelasterias japonica*, *Patiria pectinifera* и *Lethasterias fusca*. В свою очередь, анализ метаболомных профилей данных видов морских звезд позволил выявить возможные пути биосинтеза их полигидроксилированных стероидов и астеросапонинов. Установлены преимущественные места окисления в полигидроксистероидах этих видов морских звезд и различия в моносахаридных составах их гликозидов, обнаружены различия в составах скелетных систем полярных стероидов, отмечено, что сульфатирование, вероятно, во многих случаях является терминальной стадией в процессах их биосинтеза. Анализ структур астеросапонинов этих трех видов морских звезд позволили установить, что данные олигогликозиды являются продуктами смешанного биосинтеза т.н. «мозаичного» типа. Интересно, Важно отметить что автором впервые найдено, что некоторые астеросапонины биосинтезируются путем дополнительного окисления и трансформации первого от агликона моносахаридного остатка, вероятно, уже после того как агликон и углеводная цепь сформированы. В целом, выявленные биосинтетические закономерности позволяют предположить участие определенных классов ферментов в процессах биосинтеза, что должно являться дальнейшим направлением работ и может открыть перспективы биотехнологического получения этих интересных биологически активных молекул.

Несомненным украшением работы является экспериментальное подтверждение возможности и путей биосинтеза полярных стероидов в морской звезде *Patiria pectinifera* с помощью аквариальных экспериментов. Это первые исследования биосинтеза полигидроксилированных соединений морских звезд. Автору удалось успешно подобрать условия эксперимента и тщательно проанализировать полученные данные с помощью современных физико-химических методов, включая ЯМР спектроскопию на атомах дейтерия в сравнении с ЯМР на протонах и масс-спектрометрию высокого разрешения. В результате были показано, что полигидроксистероиды и родственный полигидроксилированный гликозид биосинтезируются из полученных с пищей холестерина и сульфата холестерина, также показана трансформация холестерина в типичный для морских звезд Δ^7 -холестерин. Кроме того, точное определение позиций нахождения атомов дейтерия в молекулах полигидроксилированных производных позволило впервые предложить схему начальной стадии биосинтеза полярных стероидов.

В экспериментальной части автор подробно описывает использованные приборы и материалы, приводит данные об исследованных видах морских звезд и общие методы,

примененные в ходе исследования. Также автор подробно описывает методики выделения целевых соединений и спектральные характеристики выделенных веществ. Эти сведения полезны и могут использоваться как справочный материал коллегами, работающими в смежных областях. Кроме того, автор в общих чертах приводит методы, использованные для изучения биологической активности, что также полезно для понимания процесса получения этих данных.

Диссертация заканчивается выводами, которые полностью соответствуют содержанию диссертации и в которых автор формулирует все важнейшие достижения проведенной работы.

Материалы диссертационной работы опубликованы в виде 42-х статей в рецензируемых отечественных и высокорейтинговых международных журналах, неоднократно докладывались на престижных научных конференциях и получили высокую оценку научной общественности. Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

В целом работа написана хорошим научным языком, с четким, последовательным, доказательным изложением материала. В тексте практически не встречается опечаток или неточностей и неудачных выражений. Однако, некоторые рисунки очень маленькие, что в некоторой степени затрудняет анализ формул соединений. Хочется отметить способность автора к обобщению, что, несомненно, помогло ему в работе.

Сделанные замечания несколько не влияют на общую высокую оценку работы. Очень большой объем выполненных экспериментов, 90 новых природных соединений, для которых было установлено полное химическое строение, новые данные о биологической активности и биосинтезе изученных молекул, умение делать заключения и выводы показывают, что исследование Иванчиной Наталья Владимировны является завершенной научно-квалификационной работой, выполненной на высоком научном уровне. Диссертация и публикации в полной мере отражают содержание диссертации; все вынесенные на защиту положения обоснованы и подтверждены приведенными результатами исследований. Результаты работы могут быть использованы в организациях РАН и ВУЗах, осуществляющих структурные исследования в области биоорганической химии. В целом можно отметить, что Иванчина Н.В. является высококлассным специалистом в области биоорганической химии, способным ставить и решать сложные и тонкие эксперименты, обобщать большое количество экспериментальных результатов и данных, разрабатывать и применять новые методы и подходы.

Диссертация Иванчиной Натальи Владимировны «Полярные стероиды морских звезд: структура, биологическая активность и биосинтез» по своей актуальности, новизне,

объему, научной и практической значимости результатов полностью соответствует всем требованиям пп. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г., № 842 (с учетом всех редакций), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор, Иванчина Наталья Владимировна, заслуживает присуждения ученой степени доктора химических наук по специальности 1.4.9 - биоорганическая химия.

Официальный оппонент:

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

Наименование организации (полное/сокращенное): ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения РАН

Подпись Невинского Георгия Александровича

10 сентября 2024 года

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт химической биологии и фундаментальной медицины
Сибирского отделения Российской академии наук

Подпись Невинского Г.А.
Заведующий

Уч. секретарь Лопаткина

