

ISSN 0869–7698

ДАЛЬНЕВОСТОЧНОГО
ОТДЕЛЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ
АКАДЕМИИ
НАУК

ВЕСТНИК

3

2024



НАУКА
— 1727 —

ВЕСТНИК

Научный журнал

Учредители
РАН
ДВО РАН

Журнал основан в 1932 г.
Издание прекращено в 1939 г.,
возобновлено в 1990 г.

ДАЛЬНЕВОСТОЧНОГО
ОТДЕЛЕНИЯ

РОССИЙСКОЙ
АКАДЕМИИ
НАУК

3 (235). 2024

СОДЕРЖАНИЕ

Химические науки

К 60-летию Тихоокеанского института биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН

П.С. ДМИТРЕНОК, Н.М. ШЕПЕТОВА. Нам шестьдесят: веки долгой жизни	5
К.Л. БОРИСОВА, П.С. ДМИТРЕНОК. Научная школа академика В.А. Стоника, лауреата высшей награды ДВО РАН «Золотая медаль им. В.Л. Комарова» за 2023 год	8
Х.К. КИМ, М.В.Ф.В. ГАРСИЯ, Н.М. ШЕПЕТОВА, Д. ХАН. Морские природные продукты: долгий путь к открытию лекарств (на англ.яз.)	12

Биоорганическая химия

А.О. ЗУЕВА, А.С. СИЛЬЧЕНКО, С.П. ЕРМАКОВА. Фуканазы 107 структурного семейства морской бактерии <i>Wenyng-huangia fucanilytica</i> CZ1127 [†]	37
Т.И. ИМБС, О.С. МАЛЯРЕНКО, И.Ю. БАКУНИНА, Н.М. ШЕВЧЕНКО, В.В. СУРИЦ, С.П. ЕРМАКОВА. Бурая водоросль <i>Costaria costata</i> – перспективный источник питательных веществ и биологически активных соединений	57
В.И. КАЛИНИН, С.А. АВИЛОВ, А.С. СИЛЬЧЕНКО, И.И. КАПУСТИНА, Л.П. ПОНОМАРЕНКО. Исследование структур тритерпеновых гликозидов и стеринов из голотурий в Тихоокеанском институте биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН. Последние достижения	69
В.В. МАХАНЬКОВ. Тритерпеновые гликозиды растений рода <i>Panax</i>	90
М.М. МОНАСТЫРНАЯ, Э.П. КОЗЛОВСКАЯ. Лаборатория химии пептидов Тихоокеанского института биоорганической химии ДВО РАН им. Г.Б. Елякова: сорок лет исследований пептидов и белков морских анемон	101

Молекулярная фармакология

Е.Л. ЧАЙКИНА, И.Г. АГАФОНОВА, Е.А. ЮРЧЕНКО, Е.А. ЧИНГИЗОВА, С.А. КОЗЛОВСКИЙ, Е.А. ПИСЛЯГИН, А.Л. БУРЫЛОВА, Е.С. МЕНЧИНСКАЯ, Д.Л. АМИНИН. Лаборатория биоиспытаний и механизма действия биологически активных веществ: недавние достижения в исследованиях биологически активных соединений	121
--	-----

Молекулярная иммунология

М.С. КОКОУЛИН, А.С. КУЗЬМИЧ, А.П. ФИЛЬШТЕЙН. Структурное разнообразие и свойства углеводсодержащих биополимеров морских грамотрицательных бактерий	143
--	-----

Роботы, мехатроника и робототехнические системы

В.Ф. ФИЛАРЕТОВ, А.В. ЗУЕВ, А.А. ТИМОШЕНКО. Особенности выполнения технологических операций с помощью автономных необитаемых подводных аппаратов, оснащаемых многозвенными манипуляторами	165
--	-----

Главный редактор вице-президент РАН академик РАН Ю.Н. КУЛЬЧИН

Заместитель главного редактора В.С. ЖЕРДЕВ

Ответственный секретарь Л.А. РУСОВА

Редакционная коллегия:

- | | |
|---|---|
| акад. РАН А.В. АДРИАНОВ | – научный руководитель (президент) Национального научного центра морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН, Владивосток |
| чл.-корр. РАН Д.Л. АМИНИН | – зав. лабораторией Тихоокеанского института биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток |
| д. б. н. В.Ю. БАРКАЛОВ | – главный научный сотрудник Федерального научного центра биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, Владивосток |
| акад. РАН В.В. БОГАТОВ
(зам. главного редактора) | – главный ученый секретарь ДВО РАН, Владивосток |
| чл.-корр. РАН С.Ю. БРАТСКАЯ | – зав. лабораторией Института химии ДВО РАН, Владивосток |
| чл.-корр. РАН Б.А. ВОРОНОВ | – научный руководитель Института водных и экологических проблем ДВО РАН, Хабаровск |
| чл.-корр. РАН С.В. ГНЕДЕНКОВ | – директор Института химии ДВО РАН, Владивосток |
| чл.-корр. РАН А.А. ГОНЧАРОВ | – директор Федерального научного центра биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, Владивосток |
| акад. РАН Е.И. ГОРДЕЕВ | – научный руководитель Института вулканологии и сейсмологии ДВО РАН, Петропавловск-Камчатский |
| акад. РАН Н.А. ГОРЯЧЕВ | – директор Северо-Восточного комплексного научно-исследовательского института им. Н.А. Шило ДВО РАН, Магадан |
| акад. РАН М.А. ГУЗЕВ | – директор Института прикладной математики ДВО РАН, Владивосток |
| акад. РАН Г.И. ДОЛГИХ | – директор Тихоокеанского океанологического института им. В.И. Ильичёва ДВО РАН, Владивосток |
| д.г.-м.н. О.В. ДУДАРЕВ | – главный научный сотрудник Тихоокеанского океанологического института им. В.И. Ильичёва ДВО РАН, Владивосток |
| акад. РАН Ю.Н. ЖУРАВЛЁВ | – научный руководитель Федерального научного центра биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, Владивосток |
| д.х.н. А.И. КАЛИНОВСКИЙ | – главный научный сотрудник Тихоокеанского института биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток |
| акад. РАН А.Г. КЛЫКОВ | – зав. отделом Федерального научного центра агроботехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки, Уссурийск |
| акад. РАН Н.Н. КРАДИН | – директор Института истории, археологии и этнографии народов Дальнего Востока ДВО РАН, Владивосток |
| чл.-корр. РАН П.В. КРЕСТОВ | – директор Ботанического сада-института ДВО РАН, Владивосток |
| чл.-корр. РАН С.П. КРЫЖАНОВСКИЙ | – заместитель председателя ДВО РАН, Владивосток |
| акад. РАН В.Л. ЛАРИН | – научный руководитель Института истории, археологии и этнографии народов Дальнего Востока ДВО РАН, Владивосток |
| д. б. н. А.С. ЛЕЛЕЙ | – зав. лабораторией Федерального научного центра биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, Владивосток |
| д.х.н. А.Г. МИРОЧНИК | – зав. лабораторией Института химии ДВО РАН, Владивосток |
| чл.-корр. РАН А.Ю. ОЗЕРОВ | – директор Института вулканологии и сейсмологии ДВО РАН, Петропавловск-Камчатский |
| чл.-корр. РАН Ю.М. ПЕРЕЛЬМАН | – зам. директора по научной работе Дальневосточного научного центра физиологии и патологии дыхания, Благовещенск |
| чл.-корр. РАН С.В. ПРАНЦ | – зав. отделом Тихоокеанского океанологического института им. В.И. Ильичёва ДВО РАН, Владивосток |
| акад. РАН В.И. СЕРГИЕНКО | – советник РАН, Владивосток |
| акад. РАН В.А. СТОНИК | – научный руководитель Тихоокеанского института биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток |
| чл.-корр. РАН Е.Я. ФРИСМАН | – научный руководитель Института комплексного анализа региональных проблем ДВО РАН, Биробиджан |
| акад. РАН А.И. ХАНЧУК | – научный руководитель Дальневосточного геологического института ДВО РАН, Владивосток |
| д.г.-м.н. Р.Б. ШАКИРОВ | – зам. директора по научной работе Тихоокеанского океанологического института им. В.И. Ильичёва ДВО РАН, Владивосток |

© Российская академия наук, 2024

© Дальневосточное отделение РАН, 2024

VESTNIK

Scientific journal

OF THE FAR EAST BRANCH

Founders
RAS
FEB RAS

OF THE RUSSIAN
ACADEMY
OF SCIENCES

The journal was found in 1932
The publication was discontinued in 1939,
was resumed in 1990

3 (235). 2024

CONTENTS

Chemical Sciences

For the 60th anniversary of the G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry FEB RAS

P.S. DMITRENOK, N.M. SHEPETOVA. We are sixty: milestones of a long life	5
K.L. BORISOVA, P.S. DMITRENOK. Scientific school of Academician V.A. Stonik, winner of the highest award of the Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences <i>V.L. Komarov Golden Medal</i> for 2023....	8
H.K. KIM, M.V.F.V. GARCIA, N. SHEPETOVA, J. HAN. Marine Natural Products: The Long Road to Drug Discovery	12

Bioorganic chemistry

A.O. ZUEVA, A.S. SILCHENKO, S.P. ERMAKOVA. Fucanases of the 107 th structural family of the marine bacterium <i>Wenylingzhuangia fucanilytica</i> CZ1127 ^T	37
T.I. IMBS, O.S. MALYARENKO, I.YU. BAKUNINA, N.M. SHEVCHENKO, V.V. SURITS, S.P. ERMAKOVA. Brown algae <i>Costaria costata</i> is a promising source of nutrients and biologically active compounds.....	57
V.I. KALININ, S.A. AVILOV, A.S. SILCHENKO, I.I. KAPUSTINA, L.P. PONOMARENKO. Structural studies on sea cucumber triterpene glycosides and sterols in G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry of FEB RAS. The recent achievements	69
V.V. MAKHANKOV. Triterpene glycosides from plants of the genus <i>Panax</i>	90
M.M. MONASTYRNAYA, E.P. KOZLOVSKAYA. Laboratory of Peptide Chemistry, G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences: forty years of research on peptides and proteins of sea anemones.....	101

Molecular pharmacology

E.L. CHAYKINA, I.G. AGAFONOVA, E.A. YURCHENKO, E.A. CHINGIZOVA, S.A. KOZLOVSKII, E.A. PISLYAGIN, A.L. BURYLOVA, E.S. MENCHINSKAYA, D.L. AMININ. Laboratory of bioassays and mechanism of action of bioactive substances: recent advances in bioactive compound	121
--	-----

Molecular immunology

M.S. KOKOULIN, A.S. KUZMICH, A.P. FILSHEIN. Structural diversity and properties of carbohydrate containing biopolymers of marine Gram-negative bacteria	143
---	-----

Robots, mechatronics and robotic systems

V.F. FILARETOV, A.V. ZUEV, A.A. TIMOSHENKO. Features of performing technological operations using autonomous underwater vehicles equipped with multi-link manipulators	165
--	-----

Chief Editor Yu.N. KULCHIN, Academician of RAS, Vice-President of RAS

Deputy Chief Editor V.S. ZHERDEV

Executive Secretary L.A. RUSOVA

Editorial staff:

A.V. ADRIANOV, Academician of RAS	– Research Supervisor (President), A. V. Zhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology, FEB RAS, Vladivostok
D.L. AMININ, Corresponding Member of RAS	– Chief of Laboratory, G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS, Vladivostok
V.Y. BARKALOV, Doctor of Biological Sciences	– Principal Researcher, Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity, FEB RAS, Vladivostok
V.V. BOGATOV, Academician of RAS (Deputy Chief Editor)	– Chief Scientific Secretary, FEB RAS, Vladivostok
S.Yu. BRATSKAYA, Corresponding Member of RAS	– Chief of Laboratory, Institute of Chemistry, FEB RAS, Vladivostok
G.I. DOLGIKH, Academician of RAS	– Director, V.I. Il'ichev Pacific Oceanological Institute, FEB RAS, Vladivostok
O.V. DUDAREV, Doctor of Geological-Mineralogical Sciences	– Chief Researcher, V.I. Il'ichev Pacific Oceanological Institute, FEB RAS, Vladivostok
E.Ya. FRISMAN, Corresponding Member of RAS	– Research Supervisor, Institute of Complex Analysis of Regional Problems, FEB RAS, Birobidzhan
S.V. GNEDENKOV, Corresponding Member of RAS	– Director, Institute of Chemistry, FEB RAS, Vladivostok
A.A. GONCHAROV, Corresponding Member of RAS	– Director, Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity, FEB RAS, Vladivostok
E.I. GORDEEV, Academician of RAS	– Research Supervisor, Institute of Volcanology and Seismology, FEB RAS, Petropavlovsk-Kamchatsky
N.A. GORYACHEV, Academician of RAS	– Director, N. A. Shilo North-East Interdisciplinary Scientific Research Institute FEB RAS, Magadan
M.A. GUZEV, Academician of RAS	– Director, Institute of Applied Mathematics, FEB RAS, Vladivostok
A.I. KALINOVSKY, Doctor of Chemistry	– Principal Researcher, G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS, Vladivostok
A.I. KHANCHUK, Academician of RAS	– Research Supervisor, Far East Geological Institute, FEB RAS, Vladivostok
A.G. KLYKOV, Academician of RAS	– Head of the Department, Federal Scientific Center of Agrobiotechnology in the Far East named after A.K. Chaika, Ussuriysk
N.N. KRADIN, Academician of RAS	– Director, Institute of History, Archaeology and Ethnology of the Peoples of the Far East, FEB RAS, Vladivostok
P.V. KRESTOV, Corresponding Member of RAS	– Director, Botanical Garden-Institute, FEB RAS, Vladivostok
S.P. KRYZHANOVSKIY, Corresponding Member of RAS	– Deputy Chairman of FEB RAS, Vladivostok
V.L. LARIN, Academician of RAS	– Research Supervisor, Institute of History, Archaeology and Ethnography of the Peoples of the Far East, FEB RAS, Vladivostok
A.S. LELEJ, Doctor of Biological Sciences	– Chief of Laboratory, Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity, FEB RAS, Vladivostok
A.G. MIROCHNIK, Doctor of Chemistry	– Chief of Laboratory, Institute of Chemistry, FEB RAS, Vladivostok
A.Yu. OSEROV, Corresponding Member of RAS	– Director, Institute of Volcanology and Seismology, FEB RAS, Petropavlovsk-Kamchatsky
Yu.M. PERELMAN, Corresponding Member of RAS	– Deputy Director for Science, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, Blagoveshchensk
S.V. PRANTS, Corresponding Member of RAS	– Head of the Department, V.I. Il'ichev Pacific Oceanological Institute, FEB RAS, Vladivostok
V.I. SERGIENKO, Academician of RAS	– Advisor of RAS, Vladivostok
R.B. SHAKIROV, Doctor of Geological-Mineralogical Sciences	– Deputy Director for Research, V.I. Il'ichev Pacific Oceanological Institute, FEB RAS, Vladivostok
V.A. STONIK, Academician of RAS	– Research Supervisor, G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS, Vladivostok
B.A. VORONOV, Corresponding Member of RAS	– Research Supervisor, Institute of Water and Ecological Problems, FEB RAS, Khabarovsk
Yu.N. ZHURAVLEV, Academician of RAS	– Research Supervisor, Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity, FEB RAS, Vladivostok

Научно-публикационная статья
УДК 001.89

Нам шестьдесят: вехи долгой жизни

П.С. Дмитренко, Н.М. Шепетова✉

Павел Сергеевич Дмитренко
доктор химических наук, директор
Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН,
Владивосток, Россия
paveldmt@piboc.dvo.ru

Наталья Михайловна Шепетова
помощник директора по международным связям
Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН,
Владивосток, Россия
piboc@bk.ru

Аннотация. В этом году Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова (ТИБОХ) отмечает свое 60-летие и 95-летие его основателя – выдающегося ученого и организатора науки академика Г.Б. Елякова. Краткие сведения об истории ТИБОХ, его замечательных ученых, некоторых значимых научных результатах и роли Института в мировых исследованиях природных биологически активных соединений приводятся в предложенном сообщении.

Ключевые слова: ТИБОХ, история, научные достижения, научные направления

Для цитирования: Дмитренко П.С., Шепетова Н.М. Нам шестьдесят: вехи долгой жизни // Вестн. ДВО РАН. 2024. № 3. С. 5–7.

Scientific and journalistic article

We are sixty: milestones of a long life

P.S. Dmitrenok, N.M. Shepetova

Pavel S. Dmitrenok
Doctor of Sciences in Chemistry, Director
G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS, Vladivostok, Russia
paveldmt@piboc.dvo.ru

Natalya M. Shepetova
Assistant Director for International Relations
G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS, Vladivostok, Russia
piboc@bk.ru

Abstract. This year the G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry (PIBOC) celebrates its 60th anniversary and the 95th anniversary of its founder – an outstanding scientist and organizer of science, Academician G.B. Elyakov. Brief information about its history and remarkable scientists, about some significant scientific results and the role of the Institute in the world research of natural biologically active compounds is given in the proposed report.

Keywords: PIBOC, history, scientific results, scientific trends

For citation: Dmitrenok P.S., Shepetova N.M. We are sixty: milestones of a long life. *Vestnik of the FEB RAS.* 2024;(3):5–7. (In Russ.).

В этом году Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова (ТИБОХ) отмечает свое 60-летие и 95-летие основателя Института – выдающегося ученого и организатора науки академика Г.Б. Елякова. Любая круглая дата – это отличный повод для подведения итогов и определения планов на будущее. Можно каждые пять лет напомнить себе и рассказывать другим об истории создания и становления нашего института, о достижениях и потерях, и главное – о людях, благодаря которым институт стал известен не только в нашей стране, но и за ее рубежами.

Итак... Все началось в далеком 1959 г., когда пересеклись пути молодого ученого Георгия Елякова и председателя Сибирского отделения АН СССР академика М.А. Лаврентьева, много сделавшего для развития науки в Сибири и на Дальнем Востоке, который искал перспективных будущих лидеров для работы «далеко от Москвы». В том же году Г.Б. Еляков переехал во Владивосток, где начал работать в Отделе физиологии и биохимии, затем в 1962 г. организовал и возглавил Лабораторию химии природных биологически активных соединений Дальневосточного филиала Сибирского отделения АН СССР. Основным направлением выбрали изучение женьшеня – дальневосточного реликтового растения. И вот уже в 1963 г. на общем собрании Сибирского отделения Георгий Борисович сделал доклад об итогах и перспективах работы своего небольшого коллектива, и все присутствующие тут же проголосовали за преобразование лаборатории в институт. Датой создания Института биологически активных веществ (так он был назван) считается 6 марта 1964 г. в соответствии с Постановлением Президиума АН СССР № 79.

Тогда их было всего 18 (!) – этих полных истинного энтузиазма людей, окрыленных новыми идеями и уверенных в своих силах. Не было не только приборов, но и помещения для работы, и на следующие четырнадцать лет «новичков» приютил Дальневосточный геологический институт. А всего через два года коллектив уже насчитывал 120 человек, появилось современное оборудование и первые публикации. Г.Б. Еляков вспоминал: «Мы твердо решили, что в нашем институте ни в коем случае не должно быть “провинциальной науки”». Это стало девизом.

Первые пять лабораторий и три научные группы возглавили Г.Б. Еляков, И.И. Брехман, В.Е. Васьковский, Г.Д. Бердышев, П.Г. Горовой, Ю.С. Оводов, О.Б. Максимов, Л.Г. Глебо, А.К. Дзизенко и Н.И. Супрунов. С самого основания в Институте работали Н.И. Уварова, Р.П. Горшкова, Л.И. Стригина, В.А. Рассказов, Л.А. Елякова, Э.В. Левина, С.В. Исай, Г.Ф. Фролова, Т.Ф. Соловьева. Именно они создали эффективно и слаженно работающий коллектив, определили основные направления исследований и главные принципы нашей общей жизни на долгие годы.

Химия природных соединений из уникальных объектов флоры и фауны Дальнего Востока, морская биохимия и биотехнология, энзимология, молекулярная генетика и морская микробиология стали главными направлениями исследований Института. Сначала сырье для выделения морских природных соединений брали на рыбообрабатывающих комбинатах Приморья, а в 1966 г. в бух. Троицы зал. Петра Великого была создана Морская экспериментальная станция. Она стала не только местом сбора морского сырья, но и местом встреч коллег из разных институтов страны для проведения симпозиумов, школ молодых ученых и технологической практики студентов. Начиная с 1970 г. сотрудники Института принимали участие в комплексных морских экспедициях на НИС «Витязь», «Дмитрий Менделеев», «Каллисто», «Профессор Богоров» и других судах. В 1985 г. для ТИБОХ было построено уникальное научно-исследовательское судно «Академик Опарин», на борту которого выполнено 66 экспедиций, в том числе международных, во многие районы Мирового океана.

В октябре 1976 г. Институт пережил разрушительный пожар. Несмотря на потери и возникшие затем трудности, почти сразу началось строительство нового здания, в котором сотрудники института принимали посильное участие: штукатурили и красили стены, рыли траншеи для прокладки коммуникаций и убрали строительный мусор. Эта «ненаучная» работа ускорила строительство и еще больше сплотила коллектив. Новый 1979 г. мы встретили в собственном доме. Появились современные приборы, а с ними и возможности для создания новых лабораторий и научных направлений, были разработаны и освоены новые методы исследований. Это было время возрождения – окна лабораторий Института светились практически до полуночи.

К своему 60-летию Институт, носящий имя его основателя Г.Б. Елякова, стал одним из отечественных и мировых лидеров в области изучения структуры и функции природных соединений из самых разнообразных источников, морских и наземных. Включены в список научных школ России и признаны научной общественностью школы, созданные академиками Г.Б. Еляковым, Ю.С. Оводовым, П.Г. Горовым, В.А. Стоником и членом-корреспондентом РАН В.В. Михайловым.

Сейчас в коллективе Института 311 сотрудников, в том числе два академика, один член-корреспондент, 30 докторов и 79 кандидатов наук. Каждый год в аспирантуру Института поступают выпускники ДВФУ. В Институте 16 лабораторий, в том числе две недавно созданных молодежных, и семь научно-вспомогательных подразделений. Современные приборы позволяют выполнять самые сложные структурные исследования. В числе наших достижений выделение и установление структуры и биологической активности более 500 новых соединений, создание коллекции морских микроорганизмов и грибов (около 3000 штаммов), получение более 50 рекомбинантных белков с уникальными свойствами, выделение из морских гидробionтов 11 новых лектинов с широким спектром биологической активности. Наши результаты опубликованы в более чем 5000 работ (с одним из самых высоких на Дальнем Востоке индексом цитирования) и 170 патентах. В институте разработаны и внедрены в производство серии лекарственных препаратов, которые спасли здоровье тысячам людей (Гистохром, Коллагеназа, Максар и др.), а также широко известные и пользующиеся большим спросом в нашей стране биологически активные добавки (Фуколам, Зостерин, Митилан, Каррагинан-ДВ, бальзамный сироп «Марилайф» и др.).

Благодаря уникальности объектов наших исследований и высокой квалификации сотрудников работы Института приобрели широкую мировую известность. Мы успешно сотрудничаем с нашими зарубежными коллегами. Особенно крепкими оказались связи с учеными из Вьетнама, Китая и Южной Кореи. Начиная с 2008 г. мы провели три международных симпозиума «Науки о жизни», 11 корейско-российских и российско-корейских симпозиумов с участием ученых ведущих университетов Южной Кореи, а также совместно с вьетнамскими коллегами три международных симпозиума в г. Нячанг «Морские ферменты и полисахариды» (МЕР 2012, 2017, 2023). Мы успешно работаем в рамках международных грантов в нашем Институте и за рубежом.

Все эти 60 лет уже несколько поколений «ТИБОХовцев» честно работают на благо родного Института. С историей Института и его научными достижениями неразрывно связаны судьбы многих выдающихся ученых, замечательных достойных людей, все имена которых невозможно перечислить в короткой статье. К великому сожалению, многие из тех, кто стоял у истоков, не дожили до нашего праздника. Мы, ныне живущие, помним о них и ценим вклад, который они сделали в нашу общую Историю.

Нам есть чем гордиться! За добросовестный труд и профессионализм многие сотрудники Института награждены высокими правительственными наградами, грамотами Министерства науки и высшего образования РФ, администрации Приморского края и ДВО РАН. Наши молодые ученые, аспиранты и студенты уверенно осваивают новые методы и технологии химии природных соединений, достойно продолжая дело, начатое их старшими коллегами. Мы уверены, что им по плечу взятие любых рубежей современной науки, и впереди нас ждут новые выдающиеся достижения.

С Днем рождения, ТИБОХ!

Научно-публикационная статья
УДК 001.89

Научная школа академика В.А. Стоника, лауреата высшей награды ДВО РАН «Золотая медаль им. В.Л. Комарова» за 2023 год

К.Л. Борисова✉, П.С. Дмитренко

Ксения Леонидовна Борисова

кандидат химических наук, ученый секретарь

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток, Россия

science@piboc.dvo.ru

<https://orcid.org/0000-0002-6572-8575>

Павел Сергеевич Дмитренко

доктор химических наук, директор

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток, Россия

paveldmt@piboc.dvo.ru

<https://orcid.org/0000-0002-4416-7844>

Аннотация. В статье приведены некоторые сведения об одной из самых больших научных школ на Дальнем Востоке России, созданной академиком РАН Валентином Ароновичем Стоником, награжденным высшей наградой ДВО РАН «Золотая медаль им. В.Л. Комарова» 2023 г. за многолетний добросовестный труд, высокий профессионализм и выдающийся вклад в развитие научных исследований на Дальнем Востоке России в области теоретических и прикладных вопросов биоорганической химии.

Ключевые слова: ТИБОХ ДВО РАН, научная школа, научные направления, история, биоорганическая химия

Для цитирования: Борисова К.Л., Дмитренко П.С. Научная школа академика В.А. Стоника, лауреата высшей награды ДВО РАН «Золотая медаль им. В.Л. Комарова» за 2023 год // Вестн. ДВО РАН. 2024. № 3. С. 8–11.

Scientific school of Academician V.A. Stonik, winner of the highest award of the Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences V.L. Komarov Golden Medal for 2023

K.L. Borisova, P.S. Dmitrenok

Kseniya L. Borisova

Candidate of Sciences in Chemistry, Scientific Secretary

G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS, Vladivostok, Russia
science@piboc.dvo.ru

<https://orcid.org/0000-0002-6572-8575>

Pavel S. Dmitrenok

Doctor of Sciences in Chemistry, Director

G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS, Vladivostok, Russia
paveldmt@piboc.dvo.ru

<https://orcid.org/0000-0002-4416-7844>

Abstract. The article provides the general information about one of the largest scientific schools in the Russian Far East, created by Stonik Valentin, Academician of the Russian Academy of Sciences, which was awarded the highest award of the Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences *V.L. Komarov Golden Medal* in 2023 for many years of conscientious work, high professionalism and outstanding contribution to the development of scientific research in the Russian Far East in the field of theoretical and applied issues of bioorganic chemistry.

Keywords: PIBOC FEB RAS, scientific school, scientific directions, history, bioorganic chemistry

For citation: Borisova K.L., Dmitrenok P.S. Scientific school of Academician V.A. Stonik, winner of the highest award of the Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences V.L. Komarov Golden Medal for 2023. *Vestnik of the FEB RAS*. 2024;(3):8–11. (In Russ.).

С целью стимулирования и поощрения ученых за выдающийся вклад в организацию и развитие научных исследований на Дальнем Востоке России 24 марта 2020 г. была учреждена Золотая медаль имени академика В.Л. Комарова как высшая награда Дальневосточного отделения Российской академии наук. Владимир Леонтьевич Комаров (1869–1945) – выдающийся русский ботаник и географ, историк и эволюционист, путешественник, а также организатор науки, в том числе на Дальнем Востоке России, с 1936 по 1945 г. он являлся Президентом АН СССР. В Дальневосточном филиале АН СССР по предложению В.Л. Комарова еще в 30-е годы прошлого столетия были созданы первые научные институты – технический, химический и биологический с секторами ботаники и зоологии, которые начали проводить разносторонние исследования различных дальневосточных регионов и обитающих здесь биологических объектов.

Обычно Золотой медалью им. академика Комарова ежегодно награждается один ученый, но в честь 300-летнего юбилея Российской академии наук было решено выдвинуть две кандидатуры. Первой стал академик РАН Валентин Аронович Стоник, второй – академик РАН Павел Александрович Минакир. Кандидатуры были утверждены тайным голосованием 28 июня 2023 г. Оба они были награждены медалями им. В.Л. Комарова.

Научный руководитель Тихоокеанского института биоорганической химии (ТИБОХ) им. Г.Б. Елякова ДВО РАН В.А. Стоник, ранее в течение 16 лет работавший директором данного

института, был награжден за многолетний добросовестный труд, высокий профессионализм и выдающийся вклад в развитие научных исследований на Дальнем Востоке России в области теоретических и прикладных вопросов биоорганической химии. В.А. Стоник – российский ученый мирового уровня в области поиска, выделения, изучения строения и биологического действия новых природных соединений. Он внес значительный вклад в открытие и применение ряда природных соединений из морского сырья в медицине и ветеринарии. Девять раз он возглавлял морские экспедиции, в том числе международные, в разные районы Мирового океана.

Валентин Аронович участвовал в разработке и организации производства нескольких препаратов (ветеринарный препарат «КД», организация производства медицинских препаратов серий «Гистохром» и «Максар», разработка и получение опытных партий медицинского препарата «Кумазид» для доклинических и клинических испытаний и др.). Он курировал создание на Дальнем Востоке России Опытного-экспериментального производства биологически активных веществ ТИБОХ ДВО РАН.

В.А. Стоник – член бюро Дальневосточного отделения Российской академии наук. Его деятельность была отмечена рядом российских и зарубежных наград и премий. Он автор 4 монографий, более 400 научных статей в отечественных и международных научных журналах, 33 авторских свидетельств и патентов. В течение 30 лет Валентин Аронович руководил Отделением биоорганической химии и биотехнологии, а затем кафедрой биоорганической химии в Дальневосточном федеральном университете (до 2012 г. – Дальневосточный государственный университет).

В.А. Стоник является создателем и руководителем одной из самых больших научных школ на Дальнем Востоке России. Он и его ученики выделили и изучили более 400 ранее неизвестных биологически активных природных соединений, в их числе первые представители новых классов биомолекул: биполярных сфинголипидов, алкалоидостероидов, гексанортритерпеновых гликозидов, 5-аза-индольных алкалоидов и др.

Среди его учеников 10 докторов наук по специальностям «биоорганическая химия» и «биохимия» и большая группа кандидатов наук.

В 1998 г. доктором химических наук стала Татьяна Николаевна Макарьева, а годом позже доктором биологических наук – Владимир Иванович Калинин (ранее ему была присуждена степень кандидата химических наук). Татьяна Николаевна – замечательный ученый и крупный специалист в установлении строения и изучении свойств таких природных соединений, которые оказались первыми представителями новых структурных групп и не имели аналогов. Ее ученики, кандидаты химических наук Лариса Кимовна Шубина и Алла Григорьевна Гузий, также работают с такими веществами, например с биполярными липидами и новыми группами алкалоидов из губок, собранных в водах северной части Тихого океана. Кандидат химических наук Елена Александровна Санталова стала известным специалистом по стеринам и разнообразным липидам морских беспозвоночных, а к.х.н. Андрей Сергеевич Дмитренко ныне возглавляет лабораторию ЯМР спектроскопии в Институте органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН.

Владимир Иванович Калинин всегда был склонен к работам в области теоретической и эволюционной биологии и много сделал для развития представлений о тритерпеновых гликозидах голотурий как таксономических маркерах и концепции биохимической координации. Согласно этой концепции нередко в тех или иных видах могут присутствовать две или более групп совершенно разных метаболитов, связанных друг с другом своими функциями. Например, если биологический объект содержит мембранолитические токсины, то в его биомембранах, как правило, происходят изменения в стериновом составе. Такие изменения были изучены, и найдены вещества, нейтрализующие токсическое воздействие токсических агентов на самих продуцентов.

В 2000 г. ученую степень доктора химических наук получил Сергей Анатольевич Авилов. Его работа также была посвящена тритерпеновым гликозидам голотурий, но он изучал в основном многочисленных представителей большого отряда *Dendrochirotida*. Вместе с его учениками, к.х.н. Ольгой Александровной Дроздовой и Александрой Сергеевной Сильченко, с участием В.И. Калинина они открыли новую большую группу морских природных соединений – так называемые неголостановые гликозиды голотурий. Полученные им иммуноактивные гликозиды, названные кукумариозидами, стали субстанциями нескольких препаратов и компонентами биодобавок. В течение ряда лет Сергей Анатольевич выполнял обязанности ученого секретаря диссертационного совета института.

В 2004 г. доктором химических наук стала Алла Анатольевна Кича, изучившая стероидные гликозиды и полигидроксильированные стероиды из ряда видов морских звезд. В руководстве ее работой принимал участие академик РАН Георгий Борисович Еляков – основатель и многолетний руководитель ТИБОХ, а позже – Председатель Президиума ДВО РАН и вице-президент РАН. Сама Алла Анатольевна руководила выполнением кандидатских работ Натальи Владимировны Иванчиной, которая сейчас заведует лабораторией химии морских природных соединений ТИБОХ, и Тимофея Владимировича Маляренко.

В том же году доктором наук стал Анатолий Иванович Калиновский. Его исследования были посвящены изучению структур изопреноидных гликозидов и родственных соединений из морских беспозвоночных методами спектроскопии ЯМР ¹³С. Он является соавтором нескольких сотен научных статей, вышедших «из стен» научной школы В.А. Стоника.

Еще один ученик В.А. Стоника, доктор химических наук Сергей Николаевич Федоров, в 2012 г. в своей докторской диссертации описал выделение и установление строения новых иммуностимулирующих дисульфатированных стероидных производных из представителей класса Orphigoidea, относящихся к иглокожим. Много лет он работал заместителем директора ТИБОХ ДВО РАН, возглавлял ряд морских экспедиций института.

В 2018 г. состоялась защита еще двух докторских диссертаций, при подготовке которых В.А. Стоник работал в качестве научного консультанта. За диссертационное исследование «Противоопухолевое действие некоторых низкомолекулярных соединений из морских беспозвоночных» ученая степень доктора биологических наук была присуждена Сергею Анатольевичу Дышловому, который в последние годы продолжает свои труды в Университетской клинике Эппендорф (Гамбург, Германия). Он с университетской скамьи мечтал о создании нового противоопухолевого лекарства на основе морских природных соединений и вместе со своими немецкими и русскими коллегами много делает для того, чтобы эта мечта реализовалась.

В том же году доктором биологических наук стал Дмитрий Львович Аминин, ученик одного из первых сотрудников ТИБОХ ДВО РАН, д.б.н. Михаила Михайловича Анисимова (1934–2020 гг.). В его докторской диссертации было сообщено о молекулярном механизме действия гликозидов голотурий, оказавшихся агонистами некоторых пуриnergических рецепторов макрофагов и сильными иммуностимуляторами. Вскоре Дмитрий Львович был избран членом-корреспондентом РАН.

В 2019 г. диссертация на соискание ученой степени доктора химических наук была защищена Александрой Сергеевной Сильченко, выделившей более 120 новых гликозидов из голотурий и установившей их строение. Ею были установлены последовательности биохимических превращений при биосинтезе этого класса природных соединений.

В 2023 г. доктором химических наук стал нынешний директор ТИБОХ ДВО РАН Павел Сергеевич Дмитренко, крупный специалист в области масс-спектрометрии природных соединений. П.С. Дмитренко известен своими работами в области метабомики – раздела современной молекулярной биологии, изучающего сложные смеси различных метаболитов. Его учеником является к.х.н. Роман Сергеевич Попов.

Почти все доктора наук этой научной школы сначала выполнили кандидатские исследования под руководством В.А. Стоника. Некоторые из кандидатов наук, учеников В.А. Стоника, и сейчас успешно работают в ТИБОХ. Например, к.х.н. Александр Сергеевич Антонов – один из лучших специалистов института в области хроматографии. Несколько подготовленных с участием В.А. Стоника российских ученых работают в других странах: в США (Ирина Альбертовна Горшкова и Борис Александрович Горшков), Австралии (Екатерина Геннадьевна Ляхова) и Германии (Сергей Анатольевич Дышловой). Среди учеников В.А. Стоника и д.х.н. А.А. Кичи имеется и вьетнамский доктор наук (PhD) Т.Т.Т. Huong.

Результаты этой научной школы были неоднократно использованы в ветеринарии и медицине, а некоторые открытия представителями школы и привлекающими внимание своими биологическими активностями вещества, часто весьма сложного химического строения, были синтезированы как российскими учеными, например д.х.н. В.Л. Новиковым из ТИБОХ ДВО РАН и членом-корреспондентом РАН Н.Э. Нифантьевым из Института органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН, так и учеными из различных университетов Республики Корея и США. Соответствующие научные статьи были опубликованы в самых престижных научных журналах, включая *Science*.

Review article

УДК 577.1

DOI: 10.31857/S0869769824030011

EDN: ISWKGZ

Marine Natural Products: The Long Road to Drug Discovery*

H.K. Kim, M.V.F.V. Garcia, N. Shepetova*, J. Han

Hyoungh Kyu Kim

PhD, Professor

Cardiovascular and Metabolic Disease Center, Smart Marine Therapeutic Center,
College of Medicine, Inje University, Busan 614-735, Korea;

Professor

Department of Health Sciences and Technology, Graduate School of Inje University,
Busan 614-735, Korea;

Professor

Department of Physiology, College of Medicine, Inje University, Busan 614-735, Korea
estrus74@gmail.com

Maria Victoria Faith V. Garcia

PhD, Post-doctoral Researcher

Cardiovascular and Metabolic Disease Center, Smart Marine Therapeutic Center,
College of Medicine, Inje University, Busan 614-735, Korea;

Post-doctoral Researcher

Department of Health Sciences and Technology, Graduate School of Inje University,
Busan 614-735, Korea

victoriafaith.garcia@gmail.com

Natalia Shepetova

Assistant Director for International Relations

G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry,

Far East Branch of the Russian Academy of Sciences, Vladivostok, 690022, Russian Federation
piboc@bk.ru

Jin Han

MD, PhD, Professor, Director

Cardiovascular and Metabolic Disease Center, Smart Marine Therapeutic Center,
College of Medicine, Inje University, Busan 614-735, Korea;

Professor

Department of Health Sciences and Technology, Graduate School of Inje University,
Busan 614-735, Korea;

Professor

Department of Physiology, College of Medicine, Inje University, Busan 614-735, Korea
phyhanj@inje.ac.kr, phyhanj@gmail.com

*These authors contributed equally to this work.

✉ Authors to whom correspondence should be addressed.

Abstract. The collaboration between various research institutions in South Korea and G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry (PIBOC) in Russia started 30 years ago in 1993. Since then, we have been actively conducting marine biotechnology and pharmaceutical research. For nearly 20 years, this successful partnership has been led by the exceptional “conductor” Valentin Stonik, who has formed an exquisite harmony “orchestra” that we have named KORUS MUSIC (Korea-Russia collaboration for Marine Unlimitedre Sources for Innovation and Creation). The purpose of this review paper is to present the history of KORUS MUSIC and highlight the significant advances achieved through our joint research, and to outline plans for our future collaboration and joint efforts for the next 20 years. This article is a synthesis of science and poetry, of the history of friendly relations and dreams of a common future. It is dedicated to the 80th anniversary of Prof. Stonik, to the 60th anniversary of PIBOC and to the 30th anniversary of collaboration between the Korean and Russian scientists.

Keywords: marine natural products, frondoside, cucumarioside, stichoposide, echinochrome, spinochrome, neopetroside

For citation: Kim H.K., Garcia M.V.F.V., Shepetova N., Han J. Marine Natural Products: The Long Road to Drug Discovery. *Vestnik of the FEB RAS*. 2024;(3):12–36. (In Engl.).
<http://dx.doi.org/10.31857/S0869769824030011>

Обзорная статья

Морские природные продукты: долгий путь к открытию лекарств

Х.К. Ким, М.В.Ф.В. Гарсия, Н.М. Шепетова✉, Д. Хан

Хен Кю Ким

доктор философии, профессор

Центр сердечно-сосудистых и метаболических заболеваний, Центр морской терапии, Медицинский колледж, Университет Индже, Пусан, 614-735, Корея;

профессор

Факультет медицинских наук и технологий, Высшая школа Университета Индже, Пусан 614-735, Корея;

профессор

Кафедра физиологии, Медицинский колледж, Университет Индже, Пусан 614-735, Корея
estrus74@gmail.com

Мария Виктория Фейт В. Гарсия

доктор философии, докторант-исследователь

Центр сердечно-сосудистых и метаболических заболеваний, Центр морской терапии, Медицинский колледж, Университет Индже, Пусан, 614-735, Корея;

докторант, научный сотрудник

Факультет медицинских наук и технологий, Высшая школа Университета Индже, Пусан 614-735, Корея

victoriafaith.garcia@gmail.com

Наталья Михайловна Шепетова

помощник директора по международным связям

Тихоокеанский институт биоорганической химии имени Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток, Россия

riboc@bk.ru

Джин Хан

доктор медицины, доктор философии, профессор, директор

Центр сердечно-сосудистых и метаболических заболеваний, Центр морской терапии, Медицинский колледж, Университет Индже, Пусан, 614-735, Корея

профессор
Факультет медицинских наук и технологий, Высшая школа Университета Индже,
Пусан, 614-735, Корея
профессор
Кафедра физиологии, Медицинский колледж, Университет Индже, Пусан 614-735, Корея
phyhanj@inje.ac.kr, phyhanj@gmail.com
*Все авторы внесли равный вклад в эту работу.
✉ Авторы, которым следует направлять корреспонденцию.

Аннотация. Сотрудничество между научно-исследовательскими институтами Южной Кореи и Тихоокеанским институтом биоорганической химии имени Г.Б. Елякова (ТИБОХ) в России началось 30 лет назад, в 1993 году. С тех пор мы активно ведем исследования в области морской биотехнологии и фармацевтики. На протяжении почти 20 лет это успешное партнерство возглавлял выдающийся “дирижер” профессор Валентин Стоник, сформировавший изысканный гармоничный “оркестр”, который мы назвали KORUS MUSIC (Korea-Russia collaboration for Marine Unlimitedre Sources for Innovation and Creation). Цель данной обзорной статьи – рассказать об истории создания KORUS MUSIC и отметить значительные успехи, достигнутые в ходе наших совместных исследований, а также наметить планы нашего дальнейшего сотрудничества и совместных усилий на ближайшие 20 лет.

Ключевые слова: морские природные продукты, фрондозид, кукумариозид, стихопозид, эхинохром, спинохром, неопетрозид

Для цитирования: Kim H.K., Garcia M.V.F.V., Shepetova N., Han J. // Marine Natural Products: The Long Road to Drug Discovery // Вестн. ДВО РАН.2024. № 3. С. 12–36. (In Engl.).
<http://dx.doi.org/10.31857/S0869769824030011>

1. Introduction

Research on marine natural products began in the 1960s. These compounds found in marine organisms have a wide structural diversity, suggesting that they are produced by unusual biochemical pathways. Marine natural products are of interest as modulators of chemical-ecological interactions and as potential ingredients in pharmaceuticals and other products, such as food supplements and markers for taxonomy.

The G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry (PIBOC) was founded in 1964 within the Russian Academy of Sciences (RAS). Currently there are 311 employees, including one Full Member of the RAS, one Corresponding Member of the RAS, 30 DSc and 79 PhD. In addition to basic research on biologically active compounds from marine organisms, the Institute's works also pursue practical goals such as the development of new products for medicine, biotechnology, microbiology and agriculture. For nearly 60 years, PIBOC scientists have achieved significant results in this way and established a rich network of scientific collaboration and warm relationships with other institutes worldwide, not only in the Republic of Korea, but also in China, France, Germany, Italy, Japan, Spain, Vietnam and others.

The Republic of Korea, popularly known as South Korea, is one of the leading countries in Asia that conducts extensive marine drug research. This country has 2,413 km of coastline, making it a prime area for the search for natural marine organisms and the diverse study of their metabolites. Traditional Korean medicine has always used marine products to treat various diseases, and in the early 20th century began systematic medical research on these products. In the 1970s, the Korean government established research institutes dedicated to marine natural products. The partnership between PIBOC and the Korean institutes made sense due to our common academic interests in the development of new drugs and natural food supplements from these products. The first collaboration in 1993 began the beautiful symphony that we named the Korea-Russia Marine Unlimited reSources for Innovation and Creation (KORUS MUSIC). Together, we have now reached a “crescendo” in marine drug research and can do even more in the future.

The goal of the Korean-Russian (KORUS) collaboration is to develop innovative treatments using natural products from marine organisms on various disease models. This collaboration

is possible due to our synergistic approach and experience in this field. Our facilities, techniques and research paradigms are highly complementary. The Korean scientists and our Russian colleagues are fully aware of the unique opportunity to create new trends in marine natural product research for the development of both our countries.

2. Valentin A. Stonik: The Maestro of KORUS MUSIC

Professor, DSc Valentin Stonik (Figure 1) is one of the leading figures in natural products chemistry, chemistry of physiologically active compounds and their secondary metabolites from marine invertebrates. He was born in Vladivostok (Russia), graduated from the Chemistry Department of the Far-Eastern State University (Vladivostok) in 1965, received his Ph.D. in 1969, and his DSc in Bioorganic Chemistry in 1988. He started his research career at the Institute of Biologically Active Substances (it is now G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far-Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences) as a junior researcher (1970), then became the Director of the Institute (2002–2017) and Scientific Supervisor (2017–present). For his great contribution to science, Prof. Stonik received the high academic titles of Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences (1997) and then Full Member of the Russian Academy of Sciences (Academician, 2000).

Prof. Stonik's enthusiasm and special interests focus on structural studies, biological activities, biosynthesis, chemotaxonomy, and chemical evolution of marine natural products. He is a prolific author of about 500 scientific articles published in Russia and worldwide, as well as a textbook, 3 monographs, and 20 patents. Due to the depth and breadth of his knowledge, he is a valued member of the editorial boards of several scientific journals, such as *Natural Product Communications*, *Natural Product Letters*, *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, and *Marine Drugs*. In 2018, he became the Scientific Supervisor of PIBOC, and his leadership continues with publications and collaborations that within the KORUS partnership.

Prof. Stonik has been instrumental in establishing and maintaining the KORUS partnership. Important patents and publications have been generated under his leadership. Without his expertise, the depth and breadth of our scientific results would not be as significant. His enthusiasm for building relationships, openness to collaboration, and constant attention are contagious and drive our group to pursue new research goals.

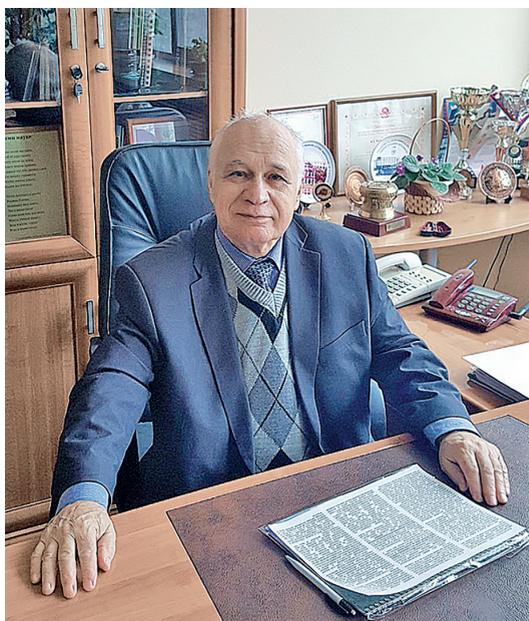


Fig. 1. Prof. Valentin Stonik, Scientific Supervisor of the G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far-Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences

3. History of KORUS collaboration

In 1993, PIBOC's first partnership began with one of our Korean research groups, the Tobacco and Ginseng Institute in Daejeon. At that time, PIBOC was headed by Professor Elyakov, who collaborated with Professor Hoon Pak on the study of ginseng glycosides and their related

synthetic analogs. The collaboration resulted in the synthesis of the natural metabolite Rg found in ginseng (1994–1995). The establishment of the Korea Ocean Research and Development Institute (KORDI) in Ansan opened the way for PIBOC to collaborate with Dr. San-Jin Kim, who participated in the marine expedition in the Sea of Okhotsk aboard the research vessel “Akademik Oparin”. In turn, KORDI invited PIBOC to participate in its project on monitoring of environmental and seawater pollution (1996–1997). Joint meetings were held in Korea in 2005. The first Memorandum of Understanding between PIBOC and the Medical Center of Dong-A University (Busan) was signed in September 2005, and two years later, in August 2007, we all met again for the first Russian-Korean Scientific Symposium, which was held in Vladivostok (Russia).

The relationship between KORDI and PIBOC was formalized by a Russian-Korean Agreement in 2008, when KORDI was renamed to Korea Institute of Ocean Science and Technology (KIOST). This partnership successfully produced eight journal articles on “Bioactive natural products from Far-Eastern marine organisms: searching, isolation, structure elucidation, and biological activity” co-authored by Prof. Stonik and Dr. Makarieva from PIBOC and Dr. Hyi-Seung Lee from KIOST. In 2008, we met again in Russia at the 1st International Symposium on Life Sciences organized by PIBOC. The second Russian-Korean scientific symposium was held in Keo-Je, Korea, in 2009.

Since 2005, the Immune-network Pioneer Research Center, headed by Professor Jong-Young Kwak, has been successfully collaborating with PIBOC under the KORUS partnership. In 2016, a Memorandum of Understanding was signed with Ajou University where this Center is now affiliated. In 2012, Professor Kwak was awarded the honorary degree of “*Doctor Honoris Causa*” by the Russian Academy of Sciences for his significant contribution to the Russian-Korean scientific collaboration.

Inje University also joined the KORUS partnership in 2014, with a Memorandum of Understanding with PIBOC and Ajou University. This was made possible under the leadership of Dr. Stonik from PIBOC and Dr. Jin Han from the Cardiovascular and Metabolic Disease Center (CMDC) of Inje University. The excitement of our collaboration focused on the marine natural products and the novel therapeutic modalities for cardiovascular diseases. In June 2017, another Memorandum of Understanding was signed between PIBOC, Inje University, and this time with Inje Paik Hospital, which was a joint success inspired by Professors Han and Stonik. This partnership resulted in the Marine Therapeutic International Institute Project, which aimed to develop new marine drugs. In 2014, the KORUS Symposium was hosted by Inje University in Busan, and after a year’s break, we all came together again for the KORUS-2016 Symposium in Vladivostok, and then again in Busan for KORUS-2017.

Under the KORUS partnership, the Laboratory of Microbiology of PIBOC has fruitfully collaborated for many years with the Korean Collection of Type Cultures, the Bio-Medical Research Institute of Kyungpook National University Hospital, Chungnam National University, and other institutions. In addition, the Laboratory of Enzyme Chemistry has conducted research on marine algae polysaccharides together with the Medical Center of Daegu Catholic University, the Korean Institute of Science and Technology in Gangneung, and the College of Pharmacy of Chosun University.

The KORUS partnership has fostered an enriching research environment, especially through our ability to come together for research projects such as the International Research Exchange Support Project selected by the Korea Research Foundation in 2014. In August 2017, we established the KORUS Science and Technology Joint Research Project, which was selected by the Ministry of Science and Technology of the Korean government. Also in 2017, we planned and implemented the Korea Marine Therak Future Project Group (BISTEP Support). In 2020, we prepared a survey report on technology development projects for the commercialization of foreign source technologies. We have successfully brought together a large network of research professionals from across Korea and promoted capacity building in our collaborative research efforts. These relationships have been further strengthened through several joint memoranda of understanding that have formalized our collaborations and partnerships, ensuring greater success through mutual support of each other’s research efforts (Supplementary Lists 1–3).

The scientific relations and research are successful thanks to the leadership of Dr. Valentin Stonik. Through the KORUS Symposia held over the years, starting in 2007 and most recently in 2019, alternating between Vladivostok and Korea, many scientists had the opportunity to meet, make friends, and exchange ideas. Korean scientists also participated in the International Symposium on Life Sciences, which was held three times in Vladivostok (2008, 2013, and 2018). All this promoted both Russian and Korean research on marine natural products, resulting in patents, journal articles, new research projects, symposia, and conferences with our colleagues all over Korea (Figures 2, 3).

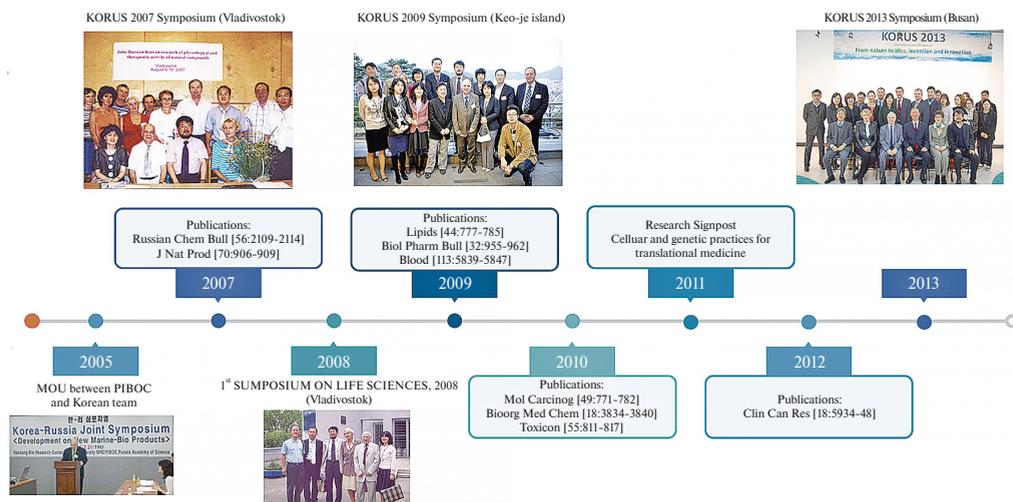


Fig. 2. Timeline of KORUS publications, patents, and symposia through the years of research and friendship, 2005–2013. Images rendered by Biorender.com. Image usage is covered by BioRender’s Academic License Terms

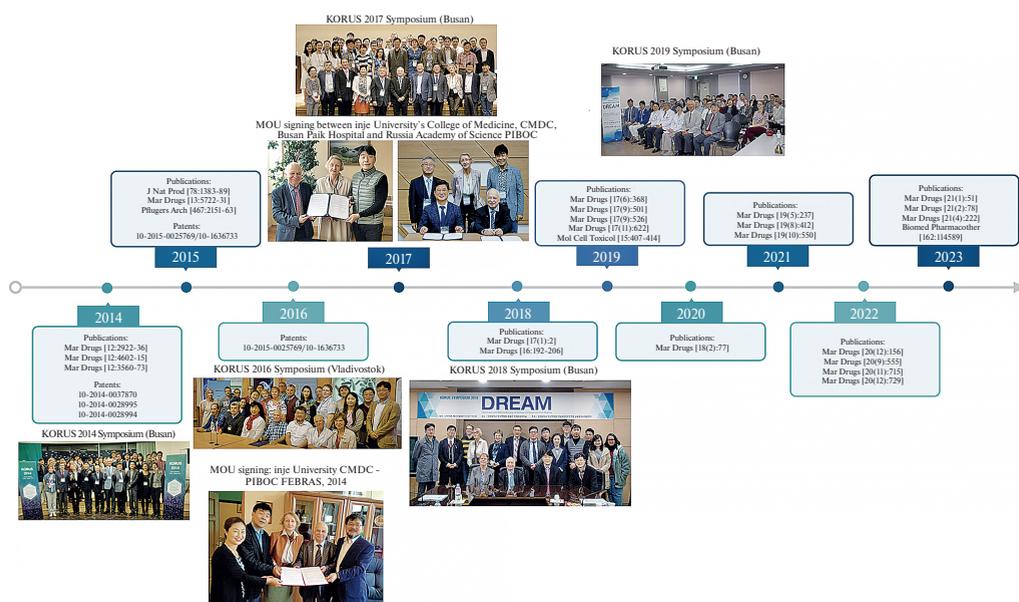


Fig. 3. Timeline of KORUS publications, patents, and symposia, 2014–2019. Images rendered by Biorender.com. Use of the images is subject to BioRender’s Academic License Terms

4. Medical Advancements and Impact

Medicine has always tried to improve on traditional methods of treatment. The natural world, especially the Ocean, will always open new frontiers for scientific discovery. The Ocean is full of mysterious inhabitants that seem familiar but remain unknown or little studied. The diversity of marine flora and fauna makes it possible to search for unique and potent compounds with biological activity, which can be the basis for new medicines. Life in both our countries, Russia and the Republic of Korea, is connected with the sea, and we have many opportunities for marine research, especially for marine biotechnology. The potential benefits of marine biotechnology include:

- New drug resource: Marine organisms may contain compounds which help them to survive and adapt under special environmental conditions and which may be utilized for new drugs against various diseases [1].
- Novel drug target: The environment influences the survival and persistence of marine organisms in the oceans. Interactions between marine organisms and their environment can provide insights into the molecular basis of disease, and studies that detect changes in protein or genetic profiles can help for drug development [2].
- Potential mode of drug delivery: Marine organisms may also produce biopolymers with unique structures that can be used to deliver new drugs to specific tissues and cells, providing structural stability of drugs or reducing their side effects [3].
- Potential diagnostic tools: Marine organisms may have specific nucleic acids and proteins that can be used for assay development or disease detection based on their unique structural features [4].
- Prospective disease models: Numerous studies have used marine organisms to diagnose disease or explain physiological mechanisms. Studying the response of marine organisms to stress, injury, or disease can provide insight into novel disease mechanisms that can be used to develop strategies for prevention and treatment [5].

The collaboration between Korea and Russia has successfully resulted in publications and patents, in particular, we have 8 international patents (Table 1) and 93 journal articles (Table 2)

Table 1

Korean-Russian patent applications and registered patents

	Patent Title	Application and Registration Number
1	Composition for inducing differentiation of cardiomyocytes comprising echinochrome A	10-2016-0026942 PCT/KR2016/002267
2	Pharmaceutical composition for preventing or treating ischemic heart disease containing neopetroside A as an active ingredient	10-2016-0026943/ PCT/KR2017/005645 10-1788589
3	Health food composition for enhancing exercise ability comprising echinochrome A and method for enhancing exercise ability using the same	10-2015-0025769/ 10-1636733
4	Pharmaceutical composition for preventing or treating degenerative neurological disease comprising echinochrome	10-2014-0037870
5	Composition of controlling the function of mitochondria comprising echinochrome A	10-2014-0028995
6	Composition of preventing or treating for myocardial damage containing echinochrome A	10-2014-0028994
7	Pharmaceutical composition for preventing or treating myocardial damage comprising Spinochrome D	10-2019-0141881 (Application) 10-2213913 (Registration)
8	Neopstrosides A and B and synthesis method thereof	US 10,927,101 B2

focused on marine natural products and their potential in various clinical applications. More recently, we have been able to focus on marine compounds from sea cucumbers, sea urchins, and sea sponges and their applications in various medical fields (Figure 4).

Table 2

List of KORUS publications (2014–2023)

	Title	Year	Journal	Reference
1	Echinochrome A protects mitochondrial function in cardiomyocytes against cardiotoxic drugs	2014	Marine Drugs	[6]
2	Echinochrome a increases mitochondrial mass and function by modulating mitochondrial biogenesis regulatory genes	2014	Marine Drugs	[7]
3	Acetylcholinesterase inhibitory activity of pigment echinochrome A from sea urchin <i>Scaphechinus mirabilis</i>	2014	Marine Drugs	[8]
4	Echinochrome A regulates phosphorylation of phospholamban Ser16 and Thr17 suppressing cardiac SERCA2A Ca ²⁺ reuptake	2015	Pflugers Arch	[9]
5	Pyridine nucleosides neopetrosides A and B from a marine <i>Neopetrosia sp.</i> sponge synthesis of neopetroside A and its beta-riboside analogue	2015	J Nat Prod	[10]
6	Echinochrome A improves exercise capacity during short-term endurance training in rats	2015	Marine Drugs	[11]
7	Spinochrome D attenuates doxorubicin-induced cardiomyocyte death via improving glutathione metabolism and attenuating oxidative stress	2018	Marine Drugs	[12]
8	A novel atypical PKC-Iota inhibitor, echinochrome A, enhances cardiomyocyte differentiation from mouse embryonic stem cells	2018	Marine Drugs	[13]
9	The protective effects of echinochrome A structural analogs against oxidative stress and doxorubicin in AC16 cardiomyocytes	2019	Molecular & Cellular Toxicology	[14]
10	Therapeutic cell protective role of histochrome under oxidative stress in human cardiac progenitor cells	2019	Marine Drugs	[15]
11	Echinochrome A attenuates cerebral ischemic injury through regulation of cell survival after middle cerebral artery occlusion in rat	2019	Marine Drugs	[16]
12	Echinochrome A reduces colitis in mice and induces <i>in vitro</i> generation of regulatory immune cells	2019	Marine Drugs	[17].
13	Echinochrome A promotes <i>ex vivo</i> expansion of peripheral blood-derived CD34(+) cells, potentially through downregulation of ROS production and activation of the Src-Lyn-p110delta pathway	2019	Marine Drugs	[18]
14	The protective effect of echinochrome A on extracellular matrix of vocal folds in ovariectomized rats	2020	Marine Drugs	[19]
15	Echinochrome A Treatment Alleviates Atopic Dermatitis-like Skin Lesions in NC/Nga Mice via IL-4 and IL-13 Suppression.	2021	Marine Drugs	[20]
16	Echinochrome A protects against ultraviolet B-induced photoaging by lowering collagen degradation and inflammatory cell infiltration in hairless mice	2021	Marine Drugs	[21]

	Title	Year	Journal	Reference
17	Echinochrome A treatment alleviates fibrosis and inflammation in bleomycin-induced scleroderma	2021	Marine Drugs	[22]
18	Multifaceted clinical effects of echinochrome	2021	Marine Drugs	[23]
19	Regulation of inflammation-mediated endothelial to mesenchymal transition with echinochrome A for improving myocardial dysfunction	2022	Marine Drugs	[24]
20	Echinochrome A inhibits melanogenesis in B16F10 cells by downregulating CREB signaling.	2022	Marine Drugs	[25]
21	Implication of echinochrome A in the plasticity and damage of intestinal epithelium.	2022	Marine Drugs	[26]
22	Effect of echinochrome A on submandibular gland dysfunction in ovariectomized rats	2022	Marine Drugs	[27]
23	Echinochrome prevents sulfide catabolism-associated chronic heart failure after myocardial infarction in mice	2023	Marine Drugs	[28]
24	Physicochemical characterization and phase II metabolic profiling of echinochrome A, a bioactive constituent from sea urchin, and its physiologically based pharmacokinetic modeling in rats and humans	2023	Biomed Pharmacother	[29]
25	Multiple effects of echinochrome A on selected ion channels implicated in skin physiology.	2023	Marine Drugs	[30]
26	Echinochrome A prevents diabetic nephropathy by inhibiting the PKC-Iota pathway and enhancing renal mitochondrial function in db/db mice	2023	Marine Drugs	[31]

Distribution of publications by medical fields within the KORUS collaboration, 2014-2023

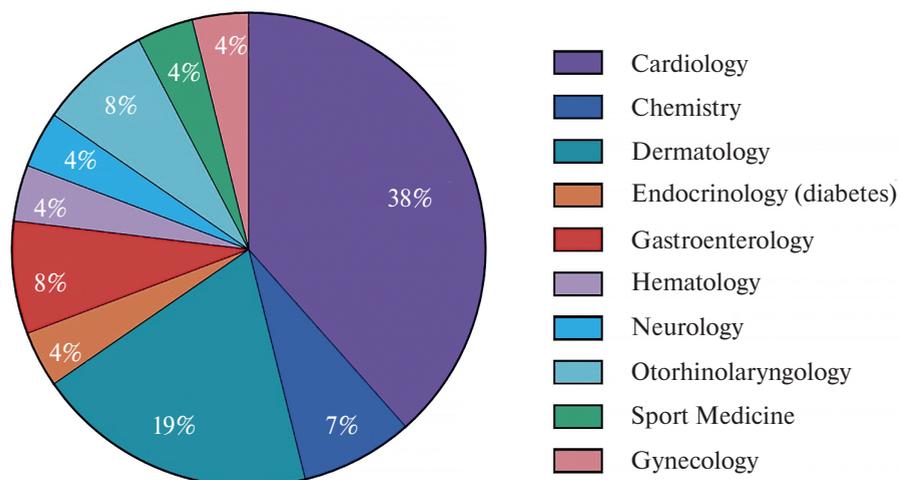


Fig. 4. Distribution of publications by medical fields within the KORUS collaboration, 2014–2023

4.1. Marine triterpene glycosides

First, together with Dr. Kwak, we investigated the triterpene glycosides from sea cucumbers, relying on Dr. Stonik's expertise in this field: frondoside A, cucumarioside A₂-2, stichoposide C (STC) and stichoposide D (STD) (Figure 5). Triterpene glycosides can induce membranolytic effects, including degradation of barrier function, increase in membrane permeability and ultimately rupture of cell membranes. In particular, frondoside A and cucumarioside exhibited cytotoxic effects on cancer cells by inhibiting tumorigenesis and metastasis while modulating the anti-tumor immune response in cancer cells. After characterizing the compounds isolated from the holothurians and sea urchins, we have studied in detail their anticancer activity. Jin et al. [32] found both frondoside A and cucumarioside A₂-2 to induce apoptosis in leukemic cells. Among the two compounds, frondoside A has faster response and potency compared to cucumarioside A₂-2. Notably, cucumarioside A₂-2 induced apoptosis dependent on the caspase cascade pathway. This suggests that holothurian-derived compounds may induce apoptosis in leukemic cells either independently or dependent on the caspase cascade depending on the structure of the holothurian compounds. Similarly, STC and STD show anticancer effects by generating ceramide but each compound uses different mechanisms of action to fight cancer [33]. In a study using STC, Yun et al. [34] determined the mechanism that induces apoptosis in leukemia and colorectal cancer cells. Dose-dependent treatment with STC activated mitochondrial damage and Fas, caspase-3 and caspase-8, which are key pro-apoptotic proteins. Conversely, it activated sphingomyelinase (SMase) and neutral SMase resulting in the generation of ceramide. Similarly, the STD also activated Fas where it translocated to lipid rafts and mediated cell apoptosis in leukemia xenografts [35]. The results suggest that STD activates SMase, thereby enabling *de novo* synthesis of ceramide as observed during STC treatment. (Figure 6.)

We also investigated other marine triterpene glycosides specifically cladoloside C₂ and holotoxin A₁ from the holothurian *Cladolabes schmeltzii*. Cladoloside C₂, similar to STC and STD, had a dose- and time-dependent treatment that was able to induce apoptosis in leukemia cells and xenograft models. However, cladoloside C₂ induces apoptosis through an extrinsic pathway going through the



Fig. 5. Prof. Stonik with the Korean Team including Dr. Kwak from Ajou University, working on marine triterpene glycosides



Fig. 6. Dr. Hwayoung Yun of Pusan National University leads the physicochemical study to characterize Ech A

activation of Fas, ceramide, caspase-8 but also the p38 kinase/c-Jun-NH2-terminal (JNK) pathway in lipid rafts [36]. Holotoxin A₁ is a more potent inducer of apoptosis activating caspase-8 and caspase-3 compared to cladolose C₂. Taken together, our results suggest that the structure-activity relationship of marine triterpene glycosides can be applied to the development of new anticancer drugs. Future studies incorporate our findings and investigate treatment-resistant phenotypes and other types of cancer using these highlighted marine compounds.

4.2. Spinochrome pigments

Under the KORUS partnership, we have extensively studied polyhydroxynaphthoquinone echinochrome A (Ech A), a natural naphthoquinone pigment from the sea urchin *Scaphechinus mirabilis*. Ech A was developed by PIBOC and successfully patented in Russia, Republic of Korea and the United States. The crystalline form of Ech A has a dark red color and is soluble in alcohol. It is also minimally soluble in chloroform but insoluble in water. Commercially, it is an active

Ech A has shown cardioprotective, anticancer, antidiabetic, and antiviral activities. We have established a physiologically based pharmacokinetic model to support its potential clinical application [29]. Our results suggest that Ech A forms four possible metabolites in the liver and is eliminated by hepatic metabolism. Our model simulations also show that Ech A does not accumulate in systemic and local tissues after treatment and can be used to predict drug-drug interactions to optimize dosage regimens and drug formulations. Given this, we have then conducted experiments on Ech A in various medical fields (Figure 7).

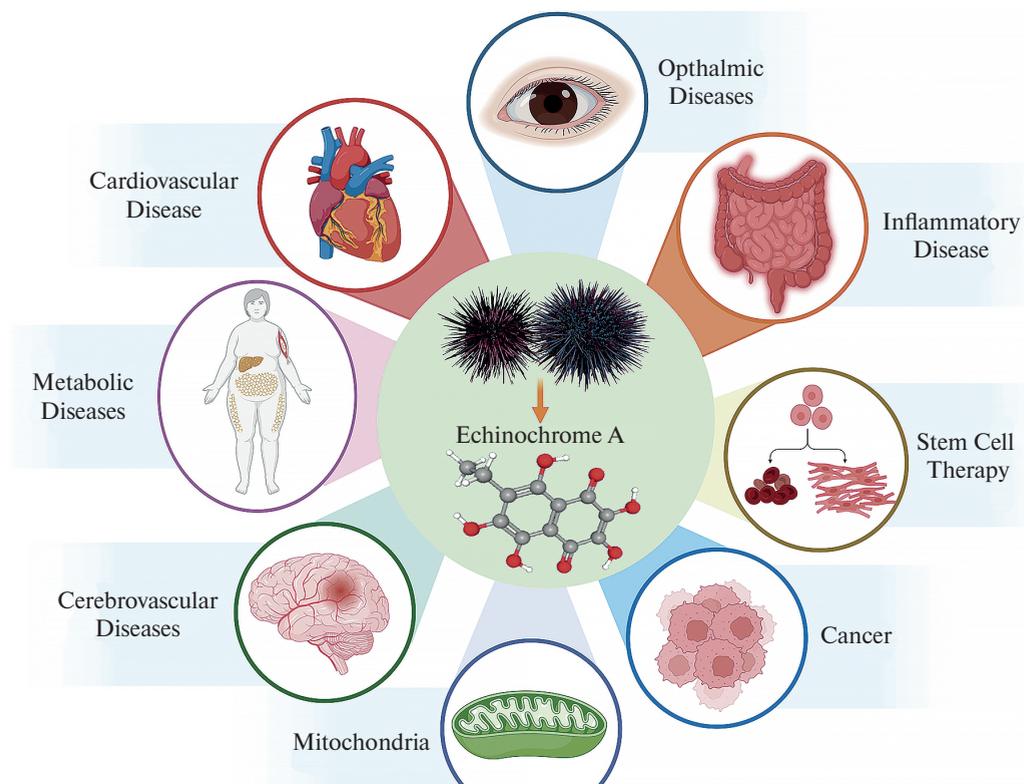


Fig. 7. Echinochrome A is a versatile compound that has the potential to treat various diseases through multiple mechanisms and modes of treatment. Images rendered by Biorender.com. Use of the images is subject to BioRender's Academic License Terms

4.2.1. Hematology

In our blood-related studies, we have found that Ech A confers protection and regulation of immune and blood cells. The study of Park et al [18] showed that Ech A suppressed reactive oxygen species (ROS) in peripheral blood CD34⁺ cells and modulated p38/JNK activation. This also affected the ability of CD34⁺ cells to expand. This suggests that Ech A can potentially rescue the proliferation and differentiation activity of hematopoietic stem cells and progenitor cells. Taken together, these results suggest that, Ech A may be incredibly useful in the treatment of blood-borne and inflammatory diseases (Figure 8).



Fig. 8. Prof. Jee-Yeong Jeong of Kosin University College of Medicine led the hematology-focused research on Ech A

4.2.2. Otorhinolaryngology

The antioxidant properties of Ech A make it a versatile compound that can be applied to a variety of medical fields. Due to its structure, Ech A has a high capacity to scavenge free radicals and thus, can improve ECM composition. In this study, Kim et al. [19] have demonstrated the therapeutic potential of Ech A on the alteration of extracellular matrix (ECM)-related genes that can be affected by sex hormones when female rates are ovariectomized. The changes in the larynx, as well as vocal fold and voice are closely related to the level of sex hormones that fluctuate with the menstrual cycle during reproductive years. Voice production relies on the ECM of vocal fold tissues; therefore, a decrease in estrogen, such as menopause, can cause dysfunction due to ECM degradation. In this study, simulated estrogen deficiency via ovariectomy resulted in decreased MMP expression, but subsequent Ech A treatment led to amelioration. However, ECM components remained unchanged in both Ech A-treated and untreated groups. Interestingly, Collagen I and III levels were significantly increased in the Ech A treated groups. These results suggest that Ech A may have protective effects on the ECM of vocal fold tissues. In connection to this, Kim et al. [27] then observed submandibular gland dysfunction in ovariectomized rats to mimic and its related postmenopausal dry mouth syndrome. Ech A treated groups had incidence of ferroptosis, decreased inflammation and fibrosis. These groups also had improved submandibular gland functions suggesting that Ech A may be a potential therapeutic drug to mitigate sex hormone-related otolaryngological concerns (Figure 9).



Fig. 9. Dr. Byoung-Joo Lee of Pusan National University leads the study of Ech A application in otorhinolaryngology

4.2.3. Gynecology

The anti-inflammatory and antioxidant properties of Ech A make it potentially suitable for the treatment of pre-eclampsia (PE) [37]. Immune dysregulation occurs during PE and is a leading cause of maternal and neonatal morbidity and mortality worldwide. Sprague-Dawley



Fig. 10. Dr. Yinhua Zhang from Seoul National University leads Ech A studies focused on gynecology

gestation day (GD) 7 pregnant rats were treated with Ech A alone from GD 14 and co-treatment with angiotensin II (Ang II) at GD8 followed by Ech A treatment at GD 14. All treatments were performed until GD20. Results showed that Ang II increased blood pressure but decreased fetal and placental weight. It also decreased glomeruli and associated capillary size. Ech A treatment reduced blood pressure and improved glomerular morphology while placental and fetal parameters remained unchanged. Inflammatory markers such as TNF- α increased, while IL-10 and VEGF decreased with Ang II treatment. These marker expressions were reversed and restored by Ech A treatment. Ang II treatment reduced B-cell lymphoma 2 (Bcl-2) expression and Bcl-2/BCL2-associated X (Bax) ratio in the kidney and heart, which were significantly reversed by Ech A. Based on the evidence, Ech A attenuates inflammation and apoptosis in key organs while also preserving organ structure and improving blood pressure (Figure 10).

4.2.4. Gastroenterology

Given that Ech A has been shown to have anti-inflammatory properties, we also investigated its therapeutic potential for inflammatory bowel disease (IBD) using a murine colitis-induced



Fig. 11. Dr. Hyung-Sik Kim from Pusan National University leads research on gastroenterology

model [17]. Intravenous injection of Ech A showed significant prevention of body weight loss and lethality. Ech A was also able to maintain homeostasis *in vivo*. Of note, Ech A stimulated generation of regulatory T cells that modulated the inflammatory response but inhibited T cell proliferation using naive T₀ cells. *In vitro* macrophage studies showed suppression of pro-inflammatory M1 macrophages. In contrast, Ech A induced the production of M2 macrophages, which function to resolve inflammation and initiate tissue repair. Overall, Ech A may be beneficial against IBD by attenuating intestinal homeostasis. In this context, Ahn et al. investigated the biosafety of orally administered Ech A and its influence on intestinal cells [26]. Intestinal and colonic epithelial organoids were treated with Ech A treatment. Afterwards, the expressions of LGR5 and MUC2, a marker of intestinal stem cells and goblet cells, respectively, showed a significant increase, as well as the revival stem cells, Ly6a and CLU. The results suggest that Ech A is safe for intestinal tissues

and may even promote the regeneration and maintenance of epithelium and may be potentially suitable for oral administration. (Figure 11.)

4.2.5. Endocrinology

Recently, we have started to investigate on the possible effects of Ech A on diabetic conditions and focused on the diabetic nephropathy model using seven-week-old obese db/db mice [31]. The results showed that Ech A improved diabetic conditions such as glucose tolerance and decreased blood urea nitrogen and creatinine. However, Ech A had no significant effect on body weight. Ech A also improved ATP production and conversely, decreased renal malondialdehyde and lipid hydroperoxide levels. We have also elucidated the mechanism of action of Ech A. As an antioxidant, Ech A rescues oxidative stress and fibrosis by inhibiting protein kinase C- ι (PKC ι)/p38 mitogen-activated protein kinase, which downregulates phosphorylation of p53 and c-Jun. This study also found that Ech A treatment reduced kidney scarring and cell damage in diabetic mice by regulating transforming growth factor-beta 1 (TGF β 1) signaling. It also improved mitochondrial function in the kidneys by blocking the PKC ι /p38 MAPK signaling pathway, which leads to fibrosis and oxidative stress. This was achieved by activating the AMPK/NRF2/HO-1 pathway, which protects the kidneys from damage. Our results suggest that Ech A can be used as a potential option against diabetic nephropathy (Figure 12).

4.2.6. Neurology

Although medical technology has continuously advanced over time, interventions in patients with ischemic stroke still lead to serious consequences and high mortality. Kim et al. [16] found that Ech A had an antioxidant effect that ameliorated brain deterioration in Sprague-Dawley rats. Ech A treatment was able to partially restore the damaged brain area and behavior in rats. This is further supported by the expression of cell survival related molecules such as Bcl-2, caspase-3, Bax, ERK, AKT, and brain-derived neurotrophic factor (BDNF). Bcl-2, a key anti-apoptotic marker, increased, while caspase-3 and Bax decreased, as these are pro-apoptotic markers. ERK, AKT and BDNF increased, indicating that Ech A could relieve physiological damage in the rat model of cerebral ischemia (Figure 13).



Fig. 12. Prof. Hyoung Kyu Kim from Inje University investigated Ech A in Type 2 diabetic nephropathy



Fig. 13. Prof. Woochul Chang of Pusan National University studies neurological benefits of Ech A

4.2.7. Dermatology

Ech A is known for its antioxidant and anti-inflammatory effects. The study by Seol et al. [21] determined the efficacy of Ech A against skin aging, which is largely dependent on oxidative stress. Hairless mice were exposed to ultraviolet B light for 8 weeks, but the group injected intraperitoneally with Ech A showed improved skin conditions. This was because Ech



Fig. 14. Dr. Jung Eun Seol of Inje University Busan Paik Hospital conducted research on photoaging and Ech A

A reduced transepidermal water loss and attenuated skin inflammation and collagen degeneration (Figure 14, 15). There was also a significant decrease in the expression of matrix metalloproteinase (MMP), mast cell-related proteins tryptase and chymase, suggesting the efficacy of Ech A through collagen degradation based on mast cells and MMP expression. Another study examined melanogenesis, which may be associated with skin aging, darkening and cancer. Choi et al. [25] used the B16F10 murine melanoma cell line treated with Ech A and found that Ech A blocked melanin synthesis through the CREB signaling pathway. These results suggest that Ech A can also be used in skin whitening formulations to prevent pigmentation.

Ech A has also been found to alleviate atopic dermatitis (AD), which is largely due to inflammation and oxidation. Yun et al. [20] induced AD in NC/Nga mice using 2,4-dinitrochlorobenzene (DNCB), a known compound used to induce AD-like skin lesions co-treated with Ech A. The observed results showed that Ech A rescued DNCB-treated skin by reducing skin dryness, edema, and erythema. It also improved water retention and stratum corneum hydration. Inflammatory markers such as interferon- γ , interleukin-4, and interleukin-13 were also suppressed, confirming the anti-inflammatory efficacy of Ech A. Park et al. [22] also observed high efficacy of Ech A as an anti-inflammatory and anti-fibrotic drug in scleroderma (Figure 16). This study found that Ech A treatment reduced myofibroblast activation by decreasing the expression of α -SMA, vimentin, and phosphorylated Smad3, and also reduced macrophages, suggesting its anti-inflammatory effect. These findings have determined the biochemical signaling mechanisms of Ech A in skin diseases and have yet to provide insight into its pharmacological effects.

Ech A treated to HEK293 cells with overexpressing TRPV3, TRPV1 and Orail

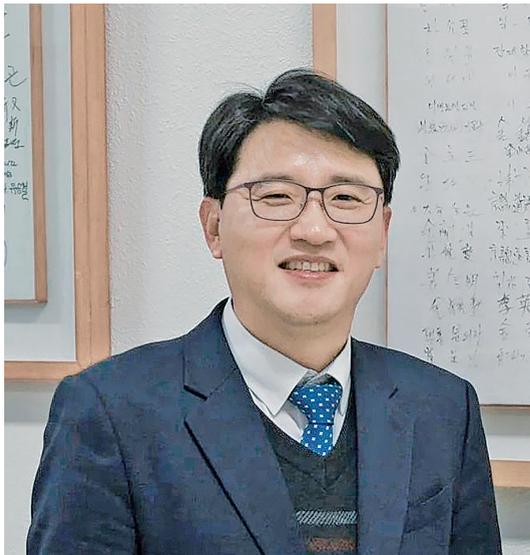


Fig. 15. Dr. Sang-Rae Lee from Inje University Busan Paik Hospital determined the effect of Ech A on melanogenesis

channels and the two-pore domain K⁺ (K2P) channels (TREK/TRAAK, TASK-1, and TRESK) were subjected to patch clamp technique to determine its pharmacological effects [30]. Inhibition was observed in TRPV3 and Orai1. On the other hand, TREK/TRAAK was activated under treatment with its chemical agonists and Ech A (Figure 17). The results suggest that Ech A may also act under a pharmacological mechanism making it a viable candidate for further investigation using ion channels and Ca²⁺ signaling.

4.2.8. Cardiology

Previous findings demonstrated the cardioprotective properties of Ech A and we were able to identify several mechanisms for this effect. We inferred the protective effect of Ech A against toxic agents, specifically tert-butyl hydroperoxide (tBHP), sodium nitroprusside (SNP), and doxorubicin. These agents induce mitochondrial dysfunction as evidenced by increased ROS and decreased mitochondrial membrane potential. When rat cardiac myoblast H9c2 cells were exposed to cardiotoxic agents and treated with Ech A, we observed attenuation of membrane potential, ROS and adenosine triphosphate (ATP) levels even under toxic conditions [6] (Figure 18). Jeong et al. [7] further investigated the effect of Ech A on mitochondrial biogenesis and oxidative phosphorylation. Dose-dependent treatment with Ech A reduced ROS and did not affect cell viability. Ech A treatment improved mitochondrial biogenesis function as evidenced by increases in cellular oxygen consumption rate, mitochondrial ATP levels, and mitochondrial content. This is also complemented by the upregulation of mitochondrial biogenesis transcription genes, ultimately suggesting that Ech A can be used where mitochondria play a key role such as in heart disease. Ischemic heart disease is characterized by insufficient oxygen due to reduced blood supply resulting in myocardial stress. Acetylcholine (ACh) is a known cardioprotector, but acetylcholinesterase (AChE) can hydrolyze ACh and impair cardiac function. Lee et al. [8] investigated the anti-AChE effect of Ech A in H9c2 and A7r5 rat aortic vascular smooth muscle cells where Ech A showed an inhibitory effect on AChE. Ech A also inacti-



Fig. 16. Prof. Jae-Ho Kim from Pusan National University determined the effects of Ech A in scleroderma



Fig. 17. Prof. Sung Joon Kim investigated the effect of Ech A to ion channels in skin physiology



Fig. 18. Prof. Jin Han of Inje University leads studies on Ech A related to cardiovascular disease and physiolog.



Fig. 19. Dr. Sang Hong Baek from Seoul St. Mary's Hospital of the Catholic University of Korea determined the effect of Ech A in cardiac progenitor cells

vated ROS Ech A also inactivated ROS, particularly nitric oxide. The results suggest the therapeutic potential of Ech A in other disease models that may be driven by AChE. In this regard, Kim et al. [9] specifically determined the effects of Ech A on cardiac excitation-contraction in the Wistar rat heart model and established its modulation of Ca^{2+} . Ech A treatment showed inotropic effects like (inherent to) AChE inhibitors, but Ech A did not show other effects as AChE inhibitors. We also identified SERCA2A as a possible target of Ech A based on its dephosphorylation of phospholamban Ser16. In addition, we observed that Ech A attenuated myocardial infarction in ischemic/reperfused hearts compared to untreated hearts, and that Ca^{2+} modulation appeared to be independent of the antioxidant properties of Ech A. Overall, the findings strengthen our understanding of Ech A as a modulator of Ca^{2+} and possibly, myocardial infarction (MI). Investigating the effect of Ech A on heart failure related to sulfide catabolism, Tang et al. [28] has also demonstrated that Ech A has the potential to improve cardiac conditions after MI. Their results showed that continuous Ech A treatment modulated left ventricular systolic dysfunction and prevented structural remodeling after MI. Ech A suppressed reactive sulfur species (RSS) and reduced MI-induced oxidative stress formation (Figure 18).

Another study further established the effect of Ech A on endothelial-mesenchymal transition (EndMT) as a reparative mechanism that attenuates myocardial infarction. *In vitro* and *in vivo* results show that Ech A negatively regulates early EndMT, thereby reducing the myofibroblast and fibrotic area suggesting its potential therapeutic significance for cardioprotection or regeneration [24]. Kim et al. [13] have also investigated the potential of Ech A to enhance cardiomyocyte differentiation by also examining mitochondrial membrane potential, mitochondrial mass and ROS generation, but this time using mouse embryonic stem cells (mESC) of the EMG7 line. Ech A treatment increased differentiation with higher beating

rates as well as increased mitochondrial mass and membrane potential. This study complemented by computational protein-ligand docking simulation and surface plasmon resonance results, also determined Ech A to significantly decrease protein kinase C- α (PKC α), suggest-

ing the direct binding of Ech A to PKC α and inhibiting its activity. Since Ech A is insoluble in water, we also investigated a drug based on Ech A and known as Histochole, which during medical application has been shown to reduce myocardial ischemic injury. The study of Park et al. [15] determined the cardioprotective effect of Histochole on patient-derived cardiac progenitor cells (CPCs) (Figure 19). CPCs play a role in the repair of ischemic heart tissue, and we found that pretreatment of CPCs with Histochole resulted in significant upregulation of the anti-apoptotic proteins Bcl-2 and Bcl-xL, while suppressing the pro-apoptotic proteins Bax, caspase-3, and phosphorylated histone (γ H2A.X) foci. Histochole treatment also prolonged the viability of CPCs and prevented the accumulation of oxidative stress. This demonstrates that Histochole is a viable candidate as a bio-safe cell preconditioning agent in CPCs for the treatment of heart disease. Taken together, our results suggest that treatment with Ech A and drug Histochole may be used as a novel therapeutic modality for the treatment of cardiac ischaemia/reperfusion (I/R) and heart disease in general.

We have also experimented with and successfully patented spinochrome D (SpD), a structural analog of Ech A, which is an active component of the well-known cardioprotective drug Histochole. The abundance of SpD in sea urchins is low, but our partners in PIBOC have developed a synthesis scheme to increase its yield. Given the established cardioprotective effects of Ech A, we reasoned that a SpD might show similar results. Yoon et al. [12] used metabolomics and mass spectrometry-based proteomics to characterize proteins and metabolites induced by SpD in the human cardiomyocyte cell line AC16 and the human breast cancer cell line MCF-7. (Figure 20.) Metabolic and proteomic analyses show that SpD treatment significantly enhances glutathione metabolism, especially in AC16 cells. Co-treatment of SpD with the known anticancer drug Doxorubicin attenuated the cytotoxicity without compromising the anticancer efficacy of Doxorubicin on the system. Of note, there is a significant difference in mitochondrial membrane potential and mitochondrial calcium localization between AC16 and MCF-7 cells. In another study, we also compared seven other echinochrome analogs co-treated with Doxorubicin in AC16 cells.

Our results showed that these analogues also confer cardioprotective effects, with enhanced antioxidant activity and ATP production, suggesting that structural analogues of Ech A may be a potential therapeutic agents against cardiovascular disease [14].

4.2.9. Sports Medicine

Previous studies have shown that bioactive compounds from marine organisms can improve recovery after exercise. As mentioned above, Ech A supplementation improved mitochondrial function in cardiac muscle, so our collaborative studies hypothesized that Ech A might lead to an improvement in exercise capacity, which was focus on skeletal muscle of Sprague-Dawley rats [11]. We found that Ech A treatment lowered the body weight of the rats, but the mitochondrial content of the gastrocnemius muscle was significantly increased in both the non-exercise and exercise groups with Ech A. Our results suggest that Ech



Fig. 20. Dr. Chang Shin Yoon of Inje University studied the cardioprotective effect of SpD

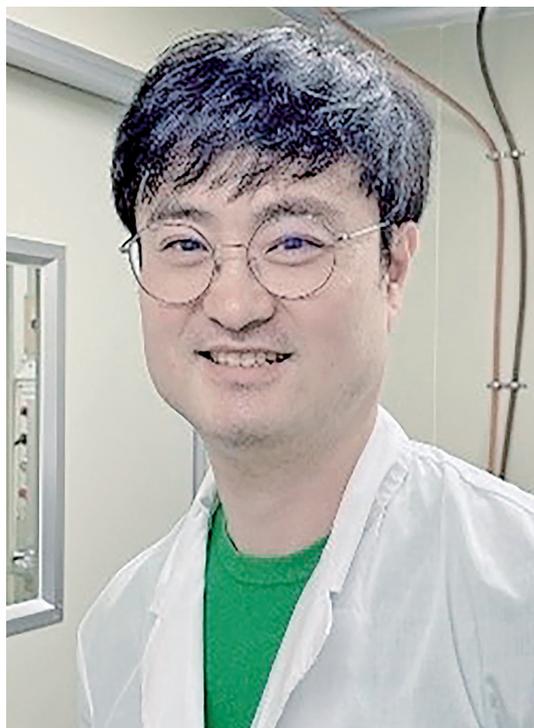


Fig. 21. Dr. Dae Yoon Seo lead the study on effect of Ech A in exercise capacity



Fig. 22. Drs. Nikolay E. Nifantiev, Valentin A. Stonik and Tatyana N. Makarieva collaborated on NPS A

A administration may improve exercise capacity as associated with an increase in mitochondrial content in skeletal muscle (Figure 21).

4.3. Neopetroside A

One of the milestones of our collaboration was the successful patenting of the marine compound Neopetroside (NPS) A and B in Korea. This natural product was extracted from the sea sponge genus *Neopetrosia*, which is rich in bioactive metabolites that exhibit a wide range of biological activities, such as cytotoxic effects against cancer cells and inhibitory effects under various conditions [10]. Recently, we were able to determine its efficacy against cardiovascular injury, particularly myocardial I/R injury. *In vivo* and *in vitro* experiments were performed to determine the effect of NPS A on the heart. We found that NPS A is non-toxic to both models, with NPS decreasing to 10% of its initial concentration *in vivo*, remaining non-toxic and without altering single cell contractility *in vitro*. *In an ex vivo* Langendorff perfusion system, we observed the reduction of I/R injury with NPS A, which improved left ventricular pressure and cardiac function after the treatment. In addition, NPS A treated hearts showed significantly smaller infarct size and reduced ROS levels, suggesting that NPS A preserves hemodynamic status and suppresses ROS generation. Next, *in vitro* kinase assay targeting energy metabolism pathways in the presence of NPS A where we found 69 kinases and observed reduced kinase activity of GSK-3 β . Further investigation revealed that the cardiac effects were due to inhibition of GSK-3 β , which regulates nicotinamide adenine dinucleotide (NAD⁺/NADH) through activation of the nuclear factor erythroid 2-related factor 2/NAD(P)H quinone oxidoreductase 1 (Nrf2/Nqo1) axis in a phosphorylation-independent manner. Our findings suggest NPS A treatment may be a potential pharmacologic intervention modality for cardiac I/R injury and subsequent prevention of heart failure (Figure 22).

The study of marine natural products can provide cutting-edge knowledge that can later be translated into new treatment modalities, and we collectively hope to contribute to this body of knowledge in the years to come.

5. Future Prospects

The results of Korean-Russian collaboration have repeatedly proven that the joint work of scientists from different countries with different cultures and experiences creates an excellent atmosphere of creativity in each of our unique scientific laboratories, successfully complementing the efforts of everyone. This research environment is conducive to solving new revolutionary problems in our chosen fields. However, we still have the obstacles to overcome, such as:

- **Lack of available information:** The medical community and the general public are not sufficiently aware of the potential benefits of marine natural products, which is the main impetus for our collaboration. Lack of information can make it difficult to apply for funding for research and development that could bridge the gap between marine biotechnology and medical applications [38].

- **High cost of research:** Collecting samples of marine organisms can be costly and complicated, especially for organisms that live at depth and in hostile environments. Expeditions for marine research and data collection can be expensive because of the need to ensure the safety of researchers and the quality of collections.

- **Regulatory limitations:** Successful research can ultimately lead to real products, but the approval of new drugs goes through rigorous procedures that cost time and money. Marine drugs may be considered “new chemical entities”, and rigorous testing is required, especially as they begin to move from “bench to bed”, i.e., from the laboratory to human clinical applications [39].

- **Sustainability:** As with most natural resources, a number of marine organisms that can be harvested is finite and we need to save wild populations so they can thrive in the environment. The disturbance of the marine environment during expeditions for sample collection is undoubtedly a negative impact. We must always ensure that there is minimal damage to the environment and prevent overexploitation of marine resources [40].

Despite these challenges, the potential benefits of marine biotechnology in healthcare are significant. Further research and development in marine biotechnology has the potential to revolutionize healthcare and improve the lives of millions of people.

We are committed to maintaining and expanding close relationships with our partner institutions to further enhance our research results. We remain optimistic that with the results of the basic research, as well as the successfully obtained patents, we can continue our way towards advanced clinical trials of the marine natural products we have synthesized and tested in specific disease models.

6. Conclusion

Since 1993 to date, the fruitful collaboration under 19 agreements between PIBOC and 17 Korean institutes covering a wide area of Korea has yielded significant results. Based on the experience of Russian and Korean scientists, we have made many great achievements in various scientific fields, such as the research of marine natural products for biochemistry, microbiology, pharmacology, as well as for their applications in medicine, focusing on cardiovascular diseases.

As members of the “KORUS-MUSIC Orchestra”, we will continue to create beautiful “symphonies” together, which may be different, but are complementary to each other and always in harmony with the emerging cutting-edge trends.

Funding

This work was supported by the Basic Research Laboratory program and Basic Science Research Program through the National Research Foundation of Korea (NRF) funded by the Korean government (RS-2023-00270463 and RS-2023-00221673) and by Korea Basic Science Institute (National Research Facilities and Equipment Center) grant funded by the Ministry of Education (2023RIA6C101B008).

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Banerjee P., Mandhare A., Bagalkote V. Marine natural products as source of new drugs: an updated patent review (July 2018–July 2021) // *Expert Opinion on Therapeutic Patents*. 2022. Vol. 32, N. 3. P. 317–363.
2. Sigwart J.D., Blasiak R., Jaspars M., Jouffray J.-B., Tasmemir D., Unlocking the potential of marine biodiscovery // *Nat. Prod. Reports*. 2021. Vol. 38, N. 7. P. 1235–1242.
3. Rotter A., Bacu A., Barbier M., Bertoni F., Bones A.M., Cancela, M.L., Carlsson J., Carvalho, M.F., Ceglowska M., Dalay M.C. A new network for the advancement of marine biotechnology in Europe and beyond // *Front. Mar. Sci*. 2020. Vol. 7. Art. 278. <https://doi.org/10.3389/fmars.2020.00278>.
4. Haque N., Parveen S., Tang T., Wei J., Huang Z. Marine natural products in clinical use // *Mar. Drugs*. 2022. Vol. 20, N. 8. Art. 528 [1–40].
5. Donia M., Hamann M.T. Marine natural products and their potential applications as anti-infective agents // *Lancet Infect. Diseases*. 2003. Vol. 3, N. 6. P. 338–348.
6. Jeong S.H., Kim H.K., Song I.S., Lee S.J., Ko K.S., Rhee B.D., Kim N., Mishchenko N.P., Fedoreyev S.A., Stonik V.A., Han J. Echinochrome A protects mitochondrial function in cardiomyocytes against cardiotoxic drugs // *Mar. Drugs*. 2014. Vol. 12, N. 5. P. 2922–2936.
7. Jeong S.H., Kim H.K., Song I.S., Noh S.J., Marquez J., Ko K.S., Rhee B.D., Kim N., Mishchenko N.P., Fedoreyev S.A., Stonik V.A., Han J. Echinochrome a increases mitochondrial mass and function by modulating mitochondrial biogenesis regulatory genes // *Mar. Drugs*. 2014. Vol. 12, N. 8. P. 4602–4615.
8. Lee S.R., Pronto J.R., Sarankhuu B.E., Ko K.S., Rhee B.D., Kim N., Mishchenko N.P., Fedoreyev S.A., Stonik V.A., Han J. Acetylcholinesterase inhibitory activity of pigment echinochrome A from sea urchin *Scaphechinus mirabilis* // *Mar. Drugs*. 2014. Vol. 12, N. 6. P. 3560–3573.
9. Kim H.K., Youm J.B., Jeong S.H., Lee S.R., Song I.S., Ko T.H., Pronto J.R., Ko K.S., Rhee B.D., Kim N., Nilius B., Mischchenko N.P., Fedoreyev S.A., Stonik V.A., Han J. Echinochrome A regulates phosphorylation of phospholamban Ser16 and Thr17 suppressing cardiac SERCA2A Ca²⁺ reuptake // *Pflugers Arch*. 2015. Vol. 467, N. 10. P. 2151–2163.
10. Shubina L.K., Makarieva T.N., Yashunsky D.V., Nifantiev N.E., Denisenko V.A., Dmitrenok, P.S., Dyshlovoy S.A., Fedorov S.N., Krasokhin V.B., Jeong S.H., Han J., Stonik V.A. Pyridine nucleosides neopetrosides A and B from a marine *Neopetrosia* sp. sponge. Synthesis of neopetroside A and its β -riboside analogue // *J. Nat. Prod*. 2015. Vol. 78, N. 6. P. 1383–1389.
11. Seo D. Y., McGregor R.A., Noh S. J., Choi S.J., Mishchenko N.P., Fedoreyev S. A., Stonik V. A., Han J. Echinochrome A improves exercise capacity during short-term endurance training in rats // *Mar. Drugs*. 2015. Vol. 13, N. 9. P. 5722–5731.
12. Yoon C.S., Kim H.K., Mishchenko N.P., Vasileva E.A., Fedoreyev, S.A., Stonik V.A., Han J. Spinochrome D attenuates doxorubicin-induced cardiomyocyte death via improving glutathione metabolism and attenuating oxidative stress // *Mar. Drugs*. 2018. Vol. 17, N. 1. Art. 2 [1–20].
13. Kim H.K., Cho S.W., Heo H.J., Jeong S.H., Kim M., Ko K.S., Rhee B.D., Mishchenko N.P., Vasileva E.A., Fedoreyev S.A., Stonik V.A., Han J. A novel atypical PKC-Iota inhibitor, echinochrome A, enhances cardiomyocyte differentiation from mouse embryonic stem cells // *Mar. Drugs*. 2018. Vol. 16, No. 6. Art. 192 [1–14].
14. Yoon C.S., Kim H.K., Mishchenko N.P., Vasileva E.A., Fedoreyev S.A., Shestak O.P., Balaneva N.N., Novikov V.L., Stonik V.A., Han J. The protective effects of echinochrome A structural analogs against oxidative stress and doxorubicin in AC16 cardiomyocytes // *Mol. Cell. Toxicol*. 2019. Vol. 15. P. 407–414.
15. Park J.H., Lee N.K., Lim H.J., Mazumder S., Rethineswaran K.V., Kim Y.J., Jang, W. B.; Ji S.T., Kang S., Kim D.Y., Van L.T.H., Giang L.T.T., Kim D.H., Ha J.S., Yun J., Kim H., Han J., Mishchenko N.P., Fedoreyev S.A., Vasileva E.A., Kwon S.M., Baek S.H. Therapeutic cell protective role of histochrome under oxidative stress in human cardiac progenitor cells // *Mar. Drugs*. 2019. Vol. 17, N. 6. Art. 368 [1–15].
16. Kim R., Hur D., Kim H.K., Han J., Mishchenko N.P., Fedoreyev S.A., Stonik V.A., Chang W. Echinochrome A attenuates cerebral ischemic injury through regulation of cell survival after middle cerebral artery occlusion in rat // *Mar. Drugs*. 2019. Vol. 17, N. 9. Art. 501 [1–8].
17. Oh S.J., Seo Y., Ahn J.S., Shin Y.Y., Yang J.W., Kim H.K., Han J., Mishchenko N.P., Fedoreyev S.A., Stonik V.A., Kim H.S. Echinochrome A reduces colitis in mice and induces *in vitro* generation of regulatory immune cells // *Mar. Drugs*. 2019. Vol. 17. N. 11. Art. 622 [1–10].
18. Park G.B., Kim M.J., Vasileva E.A., Mishchenko N.P., Fedoreyev S.A., Stonik V.A., Han J., Lee H.S., Kim D., Jeong J.Y. Echinochrome A promotes *ex vivo* expansion of peripheral blood-derived

CD34(+) cells, potentially through downregulation of ROS production and activation of the Src-Lyn-p110 δ pathway // *Mar. Drugs*. 2019. Vol. 17, N. 9. Art. 526 [1–14].

19. Kim J.M., Kim J.H., Shin S.C., Park G.C., Kim H.S., Kim K., Kim H.K., Han J., Mishchenko N.P., Vasileva E.A., Fedoreyev S.A., Stonik V.A., Lee B.J. The protective effect of echinochrome A on extracellular matrix of vocal folds in ovariectomized rats // *Mar. Drugs*. 2020. Vol. 18, N. 2. Art. 77 [1–15].

20. Yun H.R., Ahn S.W., Seol B., Vasileva E.A., Mishchenko N.P., Fedoreyev S.A., Stonik V.A., Han J., Ko K.S., Rhee B.D., Seol J.E., Kim H.K. Echinochrome A treatment alleviates atopic dermatitis-like skin lesions in NC/Nga mice via IL-4 and IL-13 suppression // *Mar. Drugs*. 2021. V. 19, N. 11 Art. 622 [1–11].

21. Seol J.E., Ahn S.W., Seol B., Yun H.R., Park N., Kim H.K., Vasileva E.A., Mishchenko N.P., Fedoreyev S.A., Stonik V.A., Han J. Echinochrome A protects against ultraviolet B-induced photoaging by lowering collagen degradation and inflammatory cell infiltration in hairless mice // *Mar. Drugs*. 2021. Vol. 19, N. 10. Art. 550 [1–13].

22. Park G.T., Yoon J.W., Yoo S.B., Song Y.C., Song P., Kim H.K., Han J., Bae S.J., Ha K.T., Mishchenko N.P., Fedoreyev S.A., Stonik V.A., Kim M.B., Kim J.H. Echinochrome A treatment alleviates fibrosis and inflammation in bleomycin-induced scleroderma // *Mar. Drugs*. 2021. Vol. 19, N. 5. Art. 237 [1–11].

23. Kim H.K., Vasileva E.A., Mishchenko N.P., Fedoreyev S.A., Han J., Multifaceted clinical effects of echinochrome // *Mar. Drugs*. 2021. Vol. 19, N. 8. Art. 412 [1–16].

24. Song B.W., Kim S., Kim R., Jeong S., Moon H., Kim H., Vasileva E.A., Mishchenko N.P., Fedoreyev S.A., Stonik V.A., Lee M.Y., Kim J., Kim H.K., Han J., Chang W. Regulation of inflammation-mediated endothelial to mesenchymal transition with echinochrome A for improving myocardial dysfunction // *Mar. Drugs*. 2022. Vol. 20, N. 12. Art. 756 [1–17].

25. Choi M.R., Lee H., Kim H.K., Han J., Seol J.E., Vasileva E.A., Mishchenko N.P., Fedoreyev S.A., Stonik V.A., Ju W.S., Kim D.J., Lee S.R. Echinochrome A inhibits melanogenesis in B16F10 cells by down-regulating CREB signaling // *Mar. Drugs*. 2022. Vol. 20, N. 9. Art. 555 [1–12].

26. Ahn J.S., Shin Y.Y., Oh S.J., Song M.H., Kang M.J., Park S.Y., Nguyen P.T., Nguyen, D. K., Kim H.K., Han J., Vasileva E.A., Mishchenko N.P., Fedoreyev S.A., Stonik V.A., Seo Y., Lee B.C., Kim H.S. Implication of echinochrome A in the plasticity and damage of intestinal epithelium // *Mar Drugs*. 2022, No. 20, N. 11. Art. 715 [1–14].

27. Kim J.M., Shin S.C., Cheon Y.I., Kim H.S., Park G.C., Kim H.K., Han J., Seol J.E., Vasileva E.A., Mishchenko N.P., Fedoreyev S.A., Stonik V.A., Lee B.J., Effect of echinochrome A on submandibular gland dysfunction in ovariectomized rats // *Mar. Drugs*. 2022. Vol. 20, N. 12. Art. 729 [1–14].

28. Tang X., Nishimura A., Ariyoshi K., Nishiyama K., Kato Y., Vasileva E.A., Mishchenko N.P., Fedoreyev S.A., Stonik V.A., Kim H.K., Han J., Kanda Y., Umezawa K., Urano Y., Akaike T., Nishida M. Echinochrome prevents sulfide catabolism-associated chronic heart failure after myocardial infarction in mice // *Mar. Drugs*. 2023. Vol. 21, N. 1. Art. 52 [1–17].

29. Han D.G., Kwak J., Choi E., Seo S.W., Vasileva E.A., Mishchenko N.P., Fedoreyev S.A., Stonik V.A., Kim H.K., Han J., Byun J.H., Jung I.H., Yun H., Yoon I.S. Physicochemical characterization and phase II metabolic profiling of echinochrome A, a bioactive constituent from sea urchin, and its physiologically based pharmacokinetic modeling in rats and humans // *Biomed. Pharmacother*. 2023. Vol. 162. Art. 114589 [1–16].

30. Kim S.E., Chung E.D.S., Vasileva E.A., Mishchenko N.P., Fedoreyev S.A., Stonik V.A., Kim H.K., Nam J.H., Kim S.J. Multiple effects of echinochrome A on selected ion channels implicated in skin physiology // *Mar. Drugs*. 2023. Vol. 21, No. 2. Art. 78 [1–16].

31. Pham T.K., Nguyen T.H.T., Yun H.R., Vasileva E.A., Mishchenko N.P., Fedoreyev S.A., Stonik V.A., Vu T.T., Nguyen H.Q., Cho S.W., Kim H.K., Han J. Echinochrome A prevents diabetic nephropathy by inhibiting the PKC- ι pathway and enhancing renal mitochondrial function in db/db mice // *Mar. Drugs*. 2023. Vol. 21, N. 4. Art. 222 [1–15].

32. Jin J.O., Shastina V.V., Shin S.W., Xu Q., Park J.I., Rasskazov V.A., Avilov S.A., Fedorov, S.N., Stonik V.A., Kwak J.Y., Differential effects of triterpene glycosides, frondoside A and cucumarioside A₂-2 isolated from sea cucumbers on caspase activation and apoptosis of human leukemia cells // *FEBS Lett*. 2009. Vol. 583, N. 4. P. 697–702.

33. Park J.I., Bae H.R., Kim C.G., Stonik V.A., Kwak J.Y., Relationships between chemical structures and functions of triterpene glycosides isolated from sea cucumbers // *Front. Chem*. 2014. Vol. 2. Art. 77 [1–14].

34. Yun S.H., Park E.S., Shin, S.W., Na Y.W., Han J.Y., Jeong J.S., Shastina V.V., Stonik V.A., Park J.I., Kwak J.Y. Stichoposide C induces apoptosis through the generation of ceramide in leukemia and colorectal cancer cells and shows in vivo antitumor activity // *Clin. Cancer Res*. 2012. Vol. 18, N. 21. P. 5934–5948.

35. Yun S.H., Park E.S., Shin S.W., Ju M.H.; Han, J.Y., Jeong J.S., Kim S.H., Stonik V.A., Kwak J.Y., Park J.I. By activating Fas/ceramide synthase 6/p38 kinase in lipid rafts, stichoposide D inhibits growth of leukemia xenografts // *Oncotarget*. 2015. Vol. 6, N. 29. P. 27596–27612.
36. Yun S.H., Sim E.H., Han S.H., Kim T.R., Ju M.H., Han J.Y., Jeong J.S., Kim S.H., Silchenko A.S., Stonik V.A., Park J.I. *In vitro* and *in vivo* anti-leukemic effects of cladolose C₂ are mediated by activation of Fas/ceramide synthase 6/p38 kinase/c-Jun NH₂-terminal kinase/caspase-8 // *Oncotarget*. 2018 Vol. 9, N. 1. P. 495–511.
37. Cui H., Liu J., Vasileva E.A., Mishchenko N.P., Fedoreyev S.A., Stonik V.A., Zhang, Y., Echinochrome A reverses kidney abnormality and reduces blood pressure in a rat model of preeclampsia // *Mar. Drugs*. 2022. Vol. 20, N. 11. Art. 722 [1–13].
38. Daniotti S., Re I. Marine biotechnology: challenges and development market trends for the enhancement of biotic resources in industrial pharmaceutical and food applications. A statistical analysis of scientific literature and business models // *Mar. Drugs*. 2021. Vol. 19. N. 2. Art. 61 [1–35].
39. Lindequist U. Marine-derived pharmaceuticals—challenges and opportunities // *Biomol. Ther*. 2016. Vol. 24, N. 6. 561–571.
40. OECD, *Marine Biotechnology and the Bioeconomy*. Paris: OECD, 2012.

REFERENCES

1. Banerjee P., Mandhare A., Bagalkote V. Marine natural products as source of new drugs: an updated patent review (July 2018–July 2021) // *Expert Opinion on Therapeutic Patents*. 2022. Vol. 32, N. 3. P. 317–363.
2. Sigwart J.D., Blasiak R., Jaspars M., Jouffray J.-B., Tasmemir D., Unlocking the potential of marine biodiscovery // *Nat. Prod. Reports*. 2021. Vol. 38, N. 7. P. 1235–1242.
3. Rotter A., Bacu A., Barbier M., Bertoni F., Bones A.M., Cancela, M.L., Carlsson J., Carvalho, M.F., Ceglowska M., Dalay M.C. A new network for the advancement of marine biotechnology in Europe and beyond // *Front. Mar. Sci*. 2020. Vol. 7. Art. 278. <https://doi.org/10.3389/fmars.2020.00278>.
4. Haque N., Parveen S., Tang T., Wei J., Huang Z. Marine natural products in clinical use // *Mar. Drugs*. 2022. Vol. 20, N. 8. Art. 528 [1–40].
5. Donia M., Hamann M.T. Marine natural products and their potential applications as anti-infective agents // *Lancet Infect. Diseases*. 2003. Vol. 3, N. 6. P. 338–348.
6. Jeong S.H., Kim H.K., Song I.S., Lee S.J., Ko K.S., Rhee B.D., Kim N., Mishchenko N.P., Fedoreyev S.A., Stonik, V.A., Han J. Echinochrome A protects mitochondrial function in cardiomyocytes against cardiotoxic drugs // *Mar. Drugs*. 2014. Vol. 12, N. 5. P. 2922–2936.
7. Jeong S.H., Kim H.K., Song I.S., Noh S.J., Marquez J., Ko K.S., Rhee B.D., Kim N., Mishchenko N.P., Fedoreyev S.A., Stonik V.A., Han J. Echinochrome a increases mitochondrial mass and function by modulating mitochondrial biogenesis regulatory genes // *Mar. Drugs*. 2014. Vol. 12, N. 8. P. 4602–4615.
8. Lee S.R., Pronto J.R., Sarankhuu B.E., Ko K.S., Rhee B.D., Kim N., Mishchenko N.P., Fedoreyev S.A., Stonik V.A., Han J. Acetylcholinesterase inhibitory activity of pigment echinochrome A from sea urchin *Scaphechinus mirabilis* // *Mar. Drugs*. 2014. Vol. 12, N. 6. P. 3560–3573.
9. Kim H.K., Youm J.B., Jeong S.H., Lee S.R., Song I.S., Ko T.H., Pronto J.R., Ko K.S., Rhee B.D., Kim N., Nilius B., Mischchenko N.P., Fedoreyev S.A., Stonik V.A., Han J. Echinochrome A regulates phosphorylation of phospholamban Ser16 and Thr17 suppressing cardiac SERCA2A Ca²⁺ reuptake // *Pflugers Arch*. 2015. Vol. 467, N. 10. P. 2151–2163.
10. Shubina L.K., Makarieva T.N., Yashunsky D.V., Nifantiev N.E., Denisenko V.A., Dmitrenok, P.S., Dyshlovoy S.A., Fedorov S.N., Krasokhin V.B., Jeong S.H., Han J., Stonik V.A. Pyridine nucleosides neopetrosides A and B from a marine *Neopetrosia* sp. sponge. Synthesis of neopetroside A and its β-riboside fnalogue // *J. Nat. Prod*. 2015. Vol. 78, N. 6. P. 1383–1389.
11. Seo D.Y., McGregor R.A., Noh S.J., Choi S.J., Mishchenko N.P., Fedoreyev S.A., Stonik V.A., Han J. Echinochrome A improves exercise capacity during short-term endurance training in rats // *Mar. Drugs*. 2015. Vol. 13, N. 9. P. 5722–5731.
12. Yoon C.S., Kim H.K., Mishchenko N.P., Vasileva E.A., Fedoreyev, S.A., Stonik V.A., Han J. Spinochrome D attenuates doxorubicin-induced cardiomyocyte death via improving glutathione metabolism and attenuating oxidative stress // *Mar. Drugs*. 2018. Vol. 17, N. 1. Art. 2 [1–20].

13. Kim H.K., Cho S.W., Heo H.J., Jeong S.H., Kim M., Ko K.S., Rhee B.D., Mishchenko N.P., Vasileva E.A., Fedoreyev S.A., Stonik V.A., Han J. A novel atypical PKC-Iota inhibitor, echinochrome A, enhances cardiomyocyte differentiation from mouse embryonic stem cells // *Mar. Drugs*. 2018. Vol. 16, No. 6. Art. 192 [1–14].
14. Yoon C.S., Kim H.K., Mishchenko N.P., Vasileva E.A., Fedoreyev S.A., Shestak O.P., Balaneva N.N., Novikov V.L., Stonik V.A., Han J. The protective effects of echinochrome A structural analogs against oxidative stress and doxorubicin in AC16 cardiomyocytes // *Mol. Cell. Toxicol.* 2019. Vol. 15. P. 407–414.
15. Park J.H., Lee N.K., Lim H.J., Mazumder S., Rethineswaran K.V., Kim Y.J., Jang, W. B.; Ji S.T., Kang S., Kim D.Y., Van L.T.H., Giang L.T.T., Kim D.H., Ha J.S., Yun J., Kim H., Han J., Mishchenko N.P., Fedoreyev S.A., Vasileva E.A., Kwon S.M., Baek S.H. Therapeutic cell protective role of histochrome under oxidative stress in human cardiac progenitor cells // *Mar. Drugs*. 2019. Vol. 17, N. 6. Art. 368 [1–15].
16. Kim R., Hur D., Kim H.K., Han J., Mishchenko N.P., Fedoreyev S.A., Stonik V.A., Chang W. Echinochrome A attenuates cerebral ischemic injury through regulation of cell survival after middle cerebral artery occlusion in rat // *Mar. Drugs*. 2019. Vol. 17, N. 9. Art. 501 [1–8].
17. Oh S.J., Seo Y., Ahn J.S., Shin Y.Y., Yang J.W., Kim H.K., Han J., Mishchenko N.P., Fedoreyev S.A., Stonik V.A., Kim H.S. Echinochrome A reduces colitis in mice and induces in vitro generation of regulatory immune cells // *Mar. Drugs*. 2019. Vol. 17. N. 11. Art. 622 [1–10].
18. Park G.B., Kim M.J., Vasileva E.A., Mishchenko N.P., Fedoreyev S.A., Stonik V.A., Han J., Lee H.S., Kim D., Jeong J.Y. Echinochrome A promotes ex vivo expansion of peripheral blood-derived CD34(+) cells, potentially through downregulation of ROS production and activation of the Src-Lyn-p110δ pathway // *Mar. Drugs*. 2019. Vol. 17, N. 9. Art. 526 [1–14].
19. Kim J.M., Kim J.H., Shin S.C., Park G.C., Kim H.S., Kim K., Kim H.K., Han J., Mishchenko N.P., Vasileva E.A., Fedoreyev S.A., Stonik V.A., Lee B.J. The protective effect of echinochrome A on extracellular matrix of vocal folds in ovariectomized rats // *Mar. Drugs*. 2020. Vol. 18, N. 2. Art. 77 [1–15].
20. Yun H.R., Ahn S.W., Seol B., Vasileva E.A., Mishchenko N.P., Fedoreyev S.A., Stonik V.A., Han J., Ko K.S., Rhee B.D., Seol J.E., Kim H.K. Echinochrome A treatment alleviates atopic dermatitis-like skin lesions in NC/Nga mice via IL-4 and IL-13 suppression // *Mar. Drugs*. 2021. V. 19, N. 11 Art. 622 [1–11].
21. Seol J.E., Ahn S.W., Seol B., Yun H.R., Park N., Kim H.K., Vasileva E.A., Mishchenko N.P., Fedoreyev S.A., Stonik V.A., Han J. Echinochrome A protects against ultraviolet B-induced photoaging by lowering collagen degradation and inflammatory cell infiltration in hairless mice // *Mar. Drugs*. 2021. Vol. 19, N. 10. Art. 550 [1–13].
22. Park G.T., Yoon J.W., Yoo S.B., Song Y.C., Song P., Kim H.K., Han J., Bae S.J., Ha K.T., Mishchenko N.P., Fedoreyev S.A., Stonik V.A., Kim M.B., Kim J.H. Echinochrome A treatment alleviates fibrosis and inflammation in bleomycin-induced scleroderma // *Mar. Drugs*. 2021. Vol. 19, N. 5. Art. 237 [1–11].
23. Kim H.K., Vasileva E.A., Mishchenko N.P., Fedoreyev S.A., Han J., Multifaceted clinical effects of echinochrome // *Mar. Drugs*. 2021. Vol. 19, N. 8. Art. 412 [1–16].
24. Song B.W., Kim S., Kim R., Jeong S., Moon H., Kim H., Vasileva E.A., Mishchenko N.P., Fedoreyev S.A., Stonik V.A., Lee M.Y., Kim J., Kim H.K., Han J., Chang W. Regulation of inflammation-mediated endothelial to mesenchymal transition with echinochrome A for improving myocardial dysfunction // *Mar. Drugs*. 2022. Vol. 20, N. 12. Art. 756 [1–17].
25. Choi M.R., Lee H., Kim H.K., Han J., Seol J.E., Vasileva E.A., Mishchenko N.P., Fedoreyev S.A., Stonik V.A., Ju W.S., Kim D.J., Lee S.R., Echinochrome A inhibits melanogenesis in B16F10 cells by down-regulating CREB signaling // *Mar. Drugs*. 2022. Vol. 20, N. 9. Art. 555 [1–12].
26. Ahn J.S., Shin Y.Y., Oh S.J., Song M.H., Kang M.J., Park S.Y., Nguyen P.T., Nguyen, D. K., Kim H.K., Han J., Vasileva E.A., Mishchenko N.P., Fedoreyev S.A., Stonik V.A., Seo Y., Lee B.C., Kim H.S. Implication of echinochrome A in the plasticity and damage of intestinal epithelium // *Mar. Drugs*. 2022, No. 20, N. 11. Art. 715 [1–14].
27. Kim J.M., Shin S.C., Cheon Y.I., Kim H.S., Park G.C., Kim H.K., Han J., Seol J.E., Vasileva E.A., Mishchenko N.P., Fedoreyev S.A., Stonik V.A., Lee B.J., Effect of echinochrome A on submandibular gland dysfunction in ovariectomized rats // *Mar. Drugs*. 2022. Vol. 20, N. 12. Art. 729 [1–14].
28. Tang X., Nishimura A., Ariyoshi K., Nishiyama K., Kato Y., Vasileva E.A., Mishchenko N.P., Fedoreyev S.A., Stonik V.A., Kim H.K., Han J., Kanda Y., Umezawa K., Urano Y., Akaike T., Nishida M. Echinochrome prevents sulfide catabolism-associated chronic heart failure after myocardial infarction in mice // *Mar. Drugs*. 2023. Vol. 21, N. 1. Art. 52 [1–17].
29. Han D.G., Kwak J., Choi E., Seo S.W., Vasileva E.A., Mishchenko N.P., Fedoreyev S.A., Stonik V.A., Kim H.K., Han J., Byun J.H., Jung I.H., Yun H., Yoon I.S. Physicochemical characterization and phase II metabolic profiling of echinochrome A, a bioactive constituent from sea urchin, and its

physiologically based pharmacokinetic modeling in rats and humans // *Biomed. Pharmacother.* 2023. Vol. 162. Art. 114589 [1–16].

30. Kim S.E., Chung E.D.S., Vasileva E.A., Mishchenko N.P., Fedoreyev S.A., Stonik V.A., Kim H.K., Nam J.H., Kim S.J. Multiple effects of echinochrome A on selected ion channels implicated in skin physiology // *Mar. Drugs.* 2023. Vol. 21, No. 2. Art. 78 [1–16]

31. Pham T.K., Nguyen T.H.T., Yun H.R., Vasileva E.A., Mishchenko N.P., Fedoreyev S.A., Stonik V.A., Vu T.T., Nguyen H.Q., Cho S.W., Kim H.K., Han J. Echinochrome A prevents diabetic nephropathy by inhibiting the PKC- ι pathway and enhancing renal mitochondrial function in db/db mice // *Mar. Drugs.* 2023. Vol. 21, N. 4. Art. 222 [1–15].

32. Jin J.O., Shastina V.V., Shin S.W., Xu Q., Park J.I., Rasskazov V.A., Avilov S.A., Fedorov, S.N., Stonik V.A., Kwak J.Y., Differential effects of triterpene glycosides, frondoside A and cucumarioside A2-2 isolated from sea cucumbers on caspase activation and apoptosis of human leukemia cells // *FEBS Lett.* 2009. Vol. 583, N. 4. P. 697–702.

33. Park J.I., Bae H.R., Kim C.G., Stonik V.A., Kwak J.Y., Relationships between chemical structures and functions of triterpene glycosides isolated from sea cucumbers // *Front. Chem.* 2014. Vol. 2. Art. 77 [1–14].

34. Yun S.H., Park E.S., Shin, S.W., Na Y.W., Han J.Y., Jeong J.S., Shastina V.V., Stonik V.A., Park J.I., Kwak J.Y. Stichoposide C induces apoptosis through the generation of ceramide in leukemia and colorectal cancer cells and shows in vivo antitumor activity // *Clin. Cancer Res.* 2012. Vol. 18, N. 21. P. 5934–5948.

35. Yun S.H., Park E.S., Shin S.W., Ju M.H.; Han, J.Y., Jeong J.S., Kim S.H., Stonik V.A., Kwak J.Y., Park J.I. By activating Fas/ceramide synthase 6/p38 kinase in lipid rafts, stichoposide D inhibits growth of leukemia xenografts // *Oncotarget.* 2015. Vol. 6, N. 29. P. 27596–27612.

36. Yun S.H., Sim E.H., Han S.H., Kim T.R., Ju M.H., Han J.Y., Jeong J.S., Kim S.H., Silchenko A.S., Stonik V.A., Park J.I. In vitro and in vivo anti-leukemic effects of cladoloside C2 are mediated by activation of Fas/ceramide synthase 6/p38 kinase/c-Jun NH2-terminal kinase/caspase-8 // *Oncotarget.* 2018 Vol. 9, N. 1. P. 495–511.

37. Cui H., Liu J., Vasileva E.A., Mishchenko N.P., Fedoreyev S.A., Stonik V.A., Zhang, Y., Echinochrome A reverses kidney abnormality and reduces blood pressure in a rat model of preeclampsia // *Mar. Drugs.* 2022. Vol. 20, N. 11. Art. 722 [1–13].

38. Daniotti S., Re I. Marine biotechnology: challenges and development market trends for the enhancement of biotic resources in industrial pharmaceutical and food applications. A statistical analysis of scientific literature and business models // *Mar. Drugs.* 2021. Vol. 19. N. 2. Art. 61 [1–35].

39. Lindequist U. Marine-derived pharmaceuticals—challenges and opportunities // *Biomol. Ther.* 2016. Vol. 24, N. 6. 561–571.

40. OECD, *Marine Biotechnology and the Bioeconomy*. Paris: OECD, 2012.

Научная статья

УДК 577.151+577.152+577.114

DOI: 10.31857/S0869769824030026

EDN: ISVOGD

Фуканазы 107 структурного семейства морской бактерии *Wenyngzhuangia fucanilytica* CZ1127^T

А.О. Зуева✉, А.С. Сильченко, С.П. Ермакова

Анастасия Олеговна Зуева

младший научный сотрудник

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН,

Владивосток, Россия

a.o.zueva@yandex.ru

<https://orcid.org/0000-0001-9570-7647>

Артем Сергеевич Сильченко

кандидат химических наук, старший научный сотрудник

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН,

Владивосток, Россия

artem.silchenko@yandex.ru

<https://orcid.org/0000-0002-3502-5692>

Светлана Павловна Ермакова

доктор химических наук, доцент, заведующая лабораторией

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН,

Владивосток, Россия

swetlana_e@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0002-5905-2046>

Аннотация. Работа посвящена обобщению и сравнению структурной организации, физико-химических свойств и субстратной специфичности четырех фуказан 107 семейства гликозидгидролаз, входящих в состав фукоиданутилизирующего кластера морской бактерии *Wenyngzhuangia fucanilytica* CZ1127^T. Установленные различия в значимых характеристиках этих ферментов дают новые знания об особенностях фуказан, принадлежащих семейству GH107.

Ключевые слова: фуказана, семейство GH107, фукоидан

Для цитирования: Зуева А.О., Сильченко А.С., Ермакова С.П. Фуканазы 107 структурного семейства морской бактерии *Wenyngzhuangia fucanilytica* CZ1127^T // Вестн. ДВО РАН. 2024. № 3. С. 37–56. <http://dx.doi.org/10.31857/S0869769824030026>

Fucanases of the 107'th structural family of the marine bacterium *Wenyngzhuangia fucanilytica* CZ1127^T

A.O. Zueva, A.S. Silchenko, S.P. Ermakova

Anastasiya O. Zueva

Junior Researcher

G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS, Vladivostok, Russia

a.o.zueva@yandex.ru

<https://orcid.org/0000-0001-9570-7647>

Artem S. Silchenko

Candidate of Sciences in Chemistry, Senior Researcher

G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS, Vladivostok, Russia

artem.silchenko@yandex.ru

<https://orcid.org/0000-0002-3502-5692>

Svetlana P. Ermakova

Doctor of Sciences in Chemistry, Assistant Professor, Head of the Laboratory

G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS, Vladivostok, Russia

svetlana_e@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0002-5905-2046>

Abstract. This work is devoted to a generalization and comparison of the structural organization, physico-chemical properties and substrate specificity of four fucanases of glycoside hydrolase family 107 that are part of the fucoidanutilizing cluster of the marine bacterium *Wenyngzhuangia fucanilytica* CZ1127^T. The established differences in the significant characteristics of these enzymes provide new knowledge about the characteristics of fucanases belonging to the GH107 family.

Keywords: fucanase, GH107 family, fucoidan

For citation: Zueva A.O., Silchenko A.S., Ermakova S.P. Fucanases of the 107'th structural family of the marine bacterium *Wenyngzhuangia fucanilytica* CZ1127^T. *Vestnik of the FEB RAS*. 2024;(3):37–56. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.31857/S0869769824030026>

Введение

Гликозидгидролазы, участвующие в трансформации полимеров морского происхождения, представляют большой интерес для применения во многих отраслях промышленности [1]. Для медицины, фармакологии и пищевой индустрии одним из перспективных направлений является разработка технологий получения олигосахаридов путем ферментативной деполимеризации различных биологически активных морских полисахаридов. Одним из таких полисахаридов является фукоидан, построенный в основном из остатков α -L-фукозы, этерифицированных серной кислотой. Фукоиданы обладают широким спектром разнообразных биологических активностей [2, 3]. Предполагается, что производные фукоиданов со сниженной молекулярной массой могут проявлять повышенную биологическую активность по сравнению с высокомолекулярными фукоиданами за счет их усиленного всасывания в кишечнике и, следовательно, увеличения их концентрации в кровеносных сосудах и тканях [4–9]. Помимо этого структуры фукоиданов варьируют в зависимости от множества эндогенных и экзогенных факторов [10–12] и поражают своим разнообразием. Поэтому установление структурных элементов, ответственных за биологическую активность

фукоиданов, и разработка фармацевтических препаратов на их основе представляется сложной задачей.

Для решения трудностей с установлением структур и стандартизацией фукоиданов, а также для получения их низкомолекулярных производных перспективными инструментами являются фуканазы. Фуканазы катализируют гидролиз гликозидных связей в молекулах фукоиданов и фукансульфатов, в результате чего образуются продукты с молекулярными массами ниже, чем у исходного фукоидана. Установление их структур дает информацию как о структурных фрагментах фукоидана, так и о субстратной специфичности фермента. В настоящее время известно несколько семейств фуканаз – GH107, GH164, GH178 и GH187 по классификации CAZy (<http://www.cazy.org/>), однако только некоторые из представителей данных семейств имеют исчерпывающую характеристику их специфичности и биохимических свойств. Таким образом, поиск и изучение новых фуканаз являются необходимыми для совершенствования и разработки новых методов изучения структур фукоиданов и получения их биологически активных производных.

Биоинформационный анализ последовательностей фуканаз морской бактерии *Wenyngzhuangia fucanilytica* CZ1127^T

Морская бактерия *W. fucanilytica* CZ1127^T, изолированная из морской воды прибрежной зоны [13], способна расщеплять сульфатированные фукозосодержащие полисахариды, выделенные из различных источников, включая голотурии и бурые водоросли [14]. Геном данной бактерии содержит кластер генов, кодирующих ферменты, участвующие в деградации фукозосодержащих сульфатированных полисахаридов (рис. 1). Кластер включает четыре последовательности, кодирующие фуканазы семейства GH107, названные как FWf1, FWf2 [15], FWf3 и FWf4 [16] (далее FWf1–FWf4).

Анализ доменной организации фуканаз FWf1–FWf4 с помощью CDD и InterProScan показал, что их полипептидные цепи состоят из доменов различных типов. Помимо каталитических доменов семейства GH107 их аминокислотные последовательности содержали кадгериноподобный домен (IgR) с иммуноглобулиноподобным типом укладки полипептидной цепи (рис. 2).

Аналогичные домены также присутствуют в полипептидных цепях других фуканаз семейства GH107 (FcpA из *M. fucanivorans* (GenBank: CAI47003.1), FFA1 и FFA2 из *F. algae* KMM3553^T (GenBank: WP_057784217.1 и WP_057784219.1 соответственно), Fp273, Fp277 и Fp279 из некультивируемой бактерий (GenBank: AYC81238.1, AYC81239.1 и AYC81240.1 соответственно)) [17].

Домен со структурой, предположительно состоящей из β-тяжей (αβ-st), был обнаружен в FWf1, FWf3 и FWf4, но не в FWf2. На такую укладку доменов αβ-st в фуканазах также указывают данные, полученные с помощью сервиса AlphaFold (рис. 3).

Подобные домены также были обнаружены в ранее охарактеризованных фуканазах FcpA, FFA1, FFA2, Fp273, Fp277 и Fp279. Согласно данным, полученным в результате выравнивания аминокислотных последовательностей, идентичность таких доменов фуканаз GH107 варьирует от 31 до 90 %.

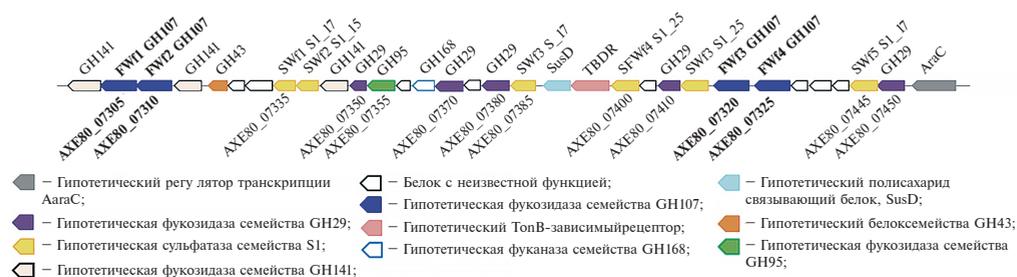
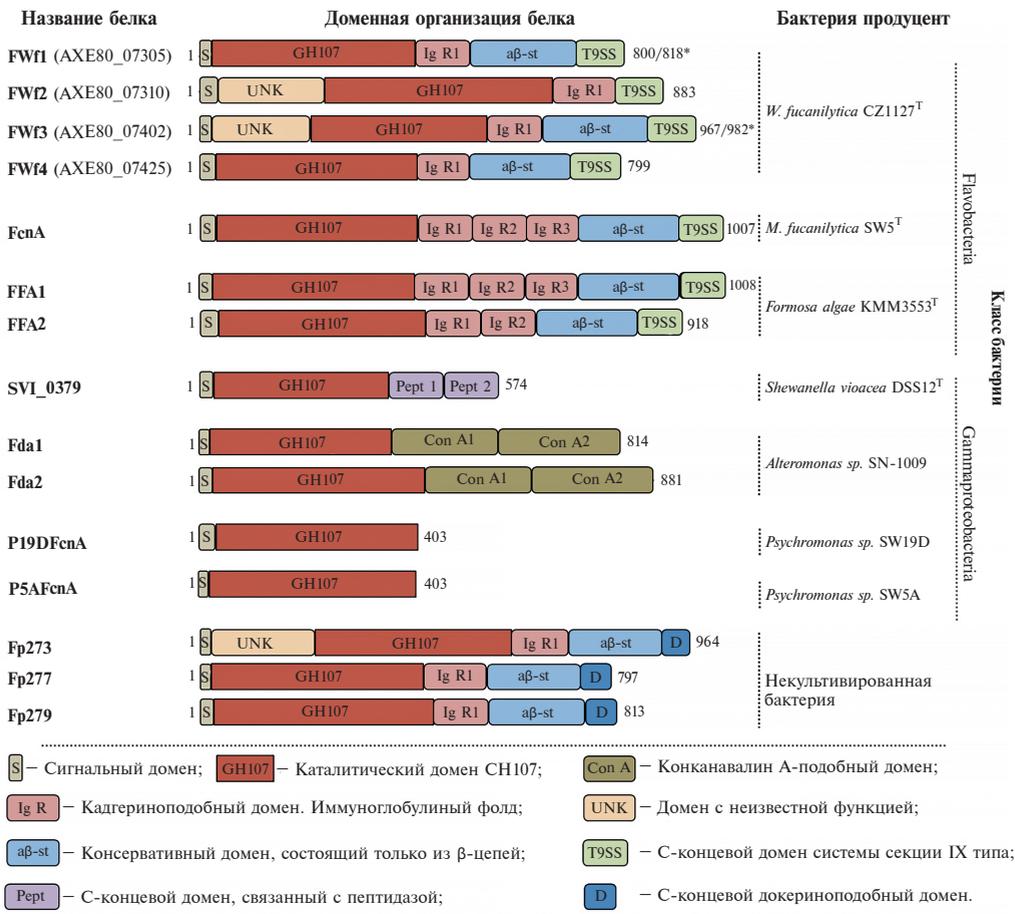


Рис. 1. Схематическое изображение фукоидандеградирующего кластера генов морской бактерии *W. fucanilytica* CZ1127^T



Flavobacteriia

Класс бактрии

Gammaproteobacteria

Рис. 2. Доменная организация полипептидных цепей FWf1–FWf4 и охарактеризованных фуканаз семейства GH107. Длины аминокислотных последовательностей фуканаз указаны справа от схематического изображения их доменной организации. Для FWf1 и FWf3 они приведены как для ситуаций с отсутствующими сигнальными последовательностями (GenBank: ANW96097.1 (FWf1) и ANW96115.1 (FWf3)), так и для тех (*), в которых последние присутствуют (GenBank: WP_083194609.1 и WP_083194615.1)

В аминокислотных последовательностях FWf1–FWf4 были обнаружены С-концевые домены системы секреции IX типа (T9SS) и N-концевые сигнальные последовательности (S). Также в аминокислотных последовательностях фуканаз FWf2 и FWf3 был обнаружен N-концевой домен UNK, предсказанный ранее по данным анализа гидрофобных кластеров аминокислотной последовательности фуканазы Fp273 [17].

Таким образом, большинство описанных фуканаз семейства GH107 имеет сложную мультидоменную структуру. При этом состав и количество отдельных доменов может различаться. Часть доменов, таких как N-концевой сигнальный пептид (S) и С-концевой домен (T9SS), обеспечивают транслокацию фуканаз через внутреннюю и внешнюю мембраны [19]. Кадгериноподобные домены (IgR), предположительно, выполняют функцию стержня для принятия правильной (незаслоненной) ориентации каталитического домена GH107 в растворе [18]. К сожалению, функция, выполняемая другими доменами, такими как aβ-st и UNK, остается неясной, что пока затрудняет достоверную оценку функциональной роли вариаций различных доменов в структурах фуканаз данного семейства.

Множественное выравнивание аминокислотных последовательностей FWf1–FWf4 и охарактеризованных фуканаз GH107 семейства: Fda1 и Fda2 (*Alteromonas* sp. SN-1009, GenBank: AAO00508.1 и AAO00509.1), FFA1 и FFA2 (*F. algae* KMM3553^T, GenBank: WP_057784217.1 и WP_057784219.1), FcnA (*M. fucanivorans*, GenBank: CAI47003.1), P5AFcnA и P19DFcnA

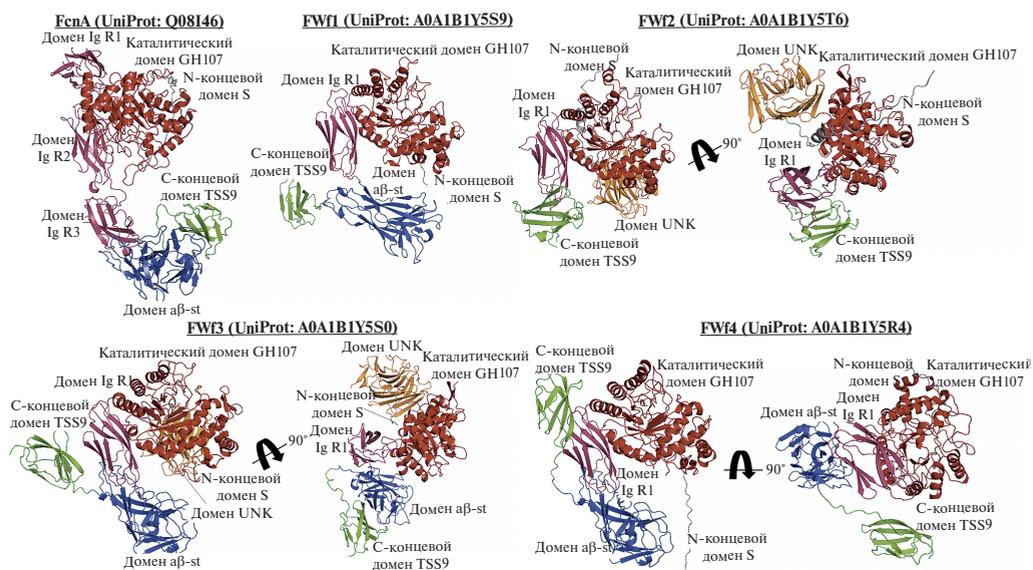


Рис. 3. Трехмерные структуры полноразмерных фуказаз FWf1–FWf4 и ранее охарактеризованной фуказазы FcnA [18], предсказанные с помощью сервиса AlphaFold. Домены, присутствующие в полипептидных цепях фуказаз, обозначены различным цветом

(*Psychromonas* sp. SWA5, GenBank: AYF59291.1 и AYF59292.1), Fp273, Fp277 и Fp279 (некультивируемые бактерии, GenBank: AYC81238.1, AYC81239.1 и AYC81240.1), SVI_0379 (*Shewanella violacea* DSS12, GenBank: BAJ00350.1) – показало, что данные фуказазы имеют различные значения идентичности их аминокислотных последовательностей (от 15 до 79%). Идентичность аминокислотных последовательностей FWf1–FWf4 между собой составляет от 37 до 51%. Множественное выравнивание позволило определить расположение каталитических аминокислотных остатков в фуказазах FWf1 (Asp225 и His293), FWf2 (Asp464 и His537), FWf3 (Asp401 и His469) и FWf4 (Asp229 и His297), входящих в состав высококонсервативных для всех известных представителей семейства GH107 аминокислотных мотивов RxxxxxDxxxxD и DxxxGH (рис. 4).

Структурное выравнивание пространственных моделей фуказаз FWf1–FWf4 и фуказазы FcnA (шифр PDB: 6DLH) показало, что состав и расположение аминокислотных остатков активного центра FWf4 были практически идентичными таковым в активном центре фуказазы FcnA. Помимо высококонсервативных остатков Asp и His в активных центрах FWf1, FWf2 и FWf3 было отмечено большое количество переменных аминокислотных остатков (рис. 5).

Предположительно, данные остатки аминокислот отвечают за распознавание моносахаридных остатков определенной структуры или остатков L-фукозы с определенным сульфатированием.

Оптимальные условия проявления каталитической активности фуказаз FWf1–FWf4

Изучение физико-химических свойств ферментов является необходимым этапом, позволяющим эффективно их применять. Условия, при которых фуказазы FWf1–FWf4 проявляют наибольшую каталитическую активность, определяли с использованием их рекомбинантных аналогов [15, 16].

Известно, что многим фуказазам семейства GH107 для проявления ферментативной активности необходимо присутствие некоторых ионов металлов [20–22]. Наличие специфических сайтов для связывания атомов кальция в структурах фуказаз может указывать

```

                                     R --- D --- D
FcnA/196-233  ---GRRKYMFCYAEF ILKEYAORYGDL IDAWCFDSADNVMF
FWF1/193-231  TEFPERKYMFCYAEFVLKEYA IRYGDLLDANCFDSGSWMF
FWF2/431-469  AEFPERKYVFCFAEY I LKEYATRYGDL IDAWVFDSGEFM
FWF3/368-406  ATYPNRKYMFCYAEYFLKDYALRYGEHFD SWIFDDGATM
FWF4/199-236  ---GRRYMFCYAEF ILKEYA IRYGDL IDAWCFDSADNIME
FFA1/193-230  ---GRRKYMFCYAEF ILKEYANRYGDL IDAWCFDSADNIME
FFA2/207-243  ---DRRPMFCYAEFVLKEYAMRYGDL IDAWCFDAAHVNM
Fp273/396-434  ETYPNRKYMFA YAEFVLKDYALRYAKY I DSWIFDDGGTM
Fp277/201-239  ATYPERKYMFA YAEFVLKVYSERYGDL IDGWLFD SGFSM
Fp279/216-254  ETYPERKYMFA YAEFVLKEYAVRYGNL IDGWLFD SGDFM
SV10379/172-207  ---SDDNKKAYAEV I IAEY AORYGSL IDGWVFDHSSCA
Fda1/196-231  ---SLYRSFELAMVNI VETLSLRYGST I DGWVFDHSGFG
Fda2/265-300  ---SLHHSFQLGLVNI VETLSLRYGTL I DGWVFDHSIYG
P19DFcnA/173-204  ---HGAAWRNLVEGYAKRFKGLVDGFWLDNSKNMA
PSAFcnA/176-207  ---EAAAWRNLARGYVERFDGLVDGYWLDNSRNL

                                     D --- GH
FcnA/279-305  ---NPF---TSATLFD DYTFGHPFGGAGNMVVP
FWF1/276-306  ---EELNPFSEAVHADDFMFGHPYNGRDRGGSHT
FWF2/515-553  ---NAANGVTVPYSHATFD DFMFGHPYNGGKSI GKDKADYY
FWF3/451-481  ---YKDYPPFAHAVRFDFTFGHAFGGNNNHAEKI
FWF4/282-308  ---NPF---STATLFD DYTFGHPFGGAGNMVVP
FFA1/276-302  ---NPF---TTATYFD DYTFGHPFGGAGNMVVP
FFA2/289-319  ---DPFVVPYVTPSL FEDYKFGHPFGGAGNMVEPR
Fp273/479-509  ---YASTPF AHAVRFDFTFGHAFGGNNNHAEKE
Fp277/284-314  ---EELNPFSEATHYDDYMFGHFPYNGGRVIGNHE
Fp279/299-329  ---ESLNPFSEATHYDDYMFGHFPYNGGTIGNHD
SV1_0379/236-261  ---INNNPGYEDYTSGHPTPLRRSTVSD
Fda1/260-285  ---VNNPETLDDYTFGHPTPIGSEVSSDD
Fda2/329-354  ---SNNPEVMEFDTGGHPTPIARVSSDD
P19DFcnA/252-288  DNDREYK I I KHVV TNEYMDFITNGHVT PMGGAPPNS
PSAFcnA/252-288  DEDES DYK I V KHVV TNEYMDFITNGHVT PLGRGAPPNS

```

Рис. 4. Область множественного выравнивания каталитических доменов фуканаз Fw1–Fw4 и известных белков семейства GH107. Остатки каталитических аминокислот Asp и His отмечены красными рамками. Сигнатуры аминокислот RxxxxxDxxxxD и DxxxGH, консервативные для всех известных представителей семейства GH107, указаны в верхней части последовательности

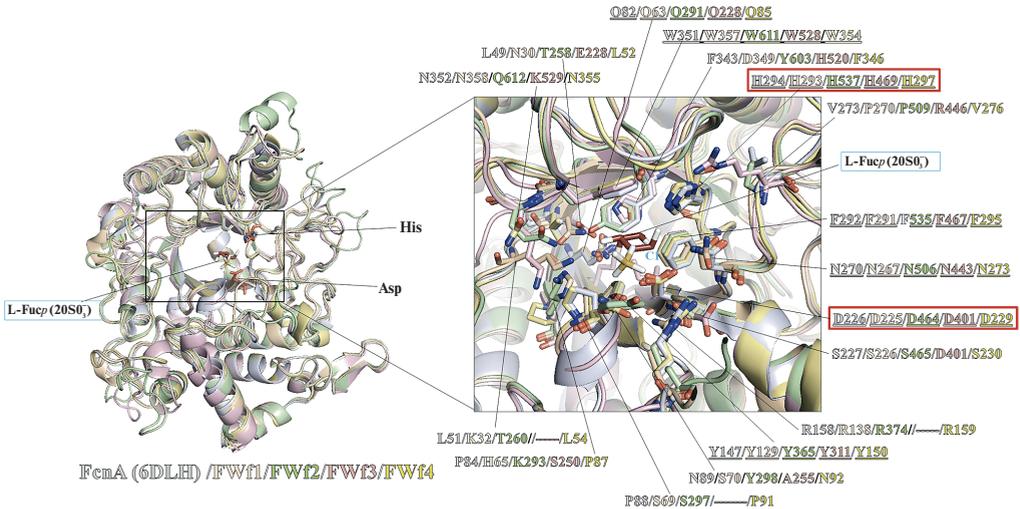


Рис. 5. Структурное выравнивание трехмерных моделей каталитических доменов GH107 фуканаз Fw1–Fw4 и фуканазы FcnA (шифр PDB: 6DLH). Остатки аминокислот активных центров Fw1–Fw4 и FcnA, являющиеся консервативными, подчеркнуты. Остатки Asp и His, выполняющие каталитическую функцию, выделены красными рамками

на важную роль этого катиона в каталитическом процессе [18]. Фуканазы Fw1, Fw2 и Fw4 не способны катализировать гидролиз фукоидана без дополнительных компонентов, таких как соли некоторых двухвалентных металлов или NaCl в реакционной смеси (табл. 1). Аналогичные наблюдения были сделаны в отношении фукана FFA1 и FFA2 из морской

Оптимальные условия для проявления наибольшей ферментативной активности фуканаза FWf1–FWf4

Фермент	Оптимум		Ингибиторы	Активаторы	Влияние CaCl ₂	Влияние NaCl
	T, °C	pH				
FWf1	24–40	6,4–7,2	Al ³⁺ , Cu ²⁺ , Fe ³⁺ , Pb ²⁺ , Sn ²⁺ , Co ²⁺	Ca ²⁺ , Mg ²⁺ , Ba ²⁺	5–1000 мМ активирует	50–1000 мМ активирует
FWf2	24–40	6,0–7,2	Al ³⁺ , Cu ²⁺ , Fe ³⁺ , Pb ²⁺ , Sn ²⁺ , Mn ²⁺ , Co ²⁺	Ca ²⁺ , Mg ²⁺ , Ba ²⁺	5 мМ активирует, свыше 5 мМ ингибирует	50–350 мМ активирует, свыше 350 мМ ингибирует
FWf3	40–50	6,4–6,8	Al ³⁺ , Cu ²⁺ , Fe ³⁺ , Pb ²⁺ , Sn ²⁺	Mn ²⁺	свыше 350 мМ ингибирует	5–1000 мМ не влияет
FWf4	40–50	6,0–6,4	Al ³⁺ , Cu ²⁺ , Fe ³⁺ , Pb ²⁺ , Sn ²⁺	Ca ²⁺ , Mg ²⁺ , Ba ²⁺ , Mn ²⁺	5 мМ активирует, свыше 5 мМ ингибирует	5–200 мМ активирует, свыше 200 мМ ингибирует

бактерии *F. algae*, которые проявляли активность только после добавления солей некоторых металлов [20, 21]. Исключением является фуканаза FWf3, которая проявляет ферментативную активность без добавления в реакцию смесь каких-либо ионов металлов (табл. 1).

Катионы Al³⁺, Cu²⁺, Fe³⁺, Pb²⁺ и Sn²⁺ полностью ингибируют специфическую активность фуканаза FWf1–FWf4. Ионы Co²⁺ ингибируют активность только FWf1 и FWf2. Присутствие ионов Mn²⁺ в реакционной смеси значительно снижает активность FWf2 (табл. 1).

Добавление в реакцию смесь хлорида кальция или натрия в концентрациях 5–1000 мМ оказывает различное действие на активность FWf1–FWf4. В зависимости от концентрации данных солей происходит как активация, так и ингибирование ферментативной активности фуканаза (табл. 1). Примечательно, что для активации ферментов FWf1 и FWf2 с помощью NaCl требовались значительно большие концентрации данной соли, чем для хлоридов щелочноземельных металлов.

Способность фуканаза проявлять ферментативную активность в присутствии различных моно- и мультивалентных металлов указывает на невысокую селективность данных ферментов к определенным катионам металлов. Это резко отличается от свойств металлозависимых ферментов, которые, как правило, активируются определенным катионом металла [23, 24]. Вероятно, ионы металлов требуются для стабилизации данных ферментов и придания им необходимой конформации. Кроме того, вследствие полианионной природы фукоиданов некоторые катионы металлов потенциально способны влиять на их конформацию в растворе. Определенная конформация фукоиданов, в свою очередь, может являться необходимым условием для его дальнейшего расщепления фуканазами. Для того чтобы сделать однозначные выводы о механизме вовлечения ионов металлов в процесс деполимеризации фукоиданов представителями семейства GH107, необходимы дальнейшие структурные исследования данных ферментов с привлечением сайт-направленного мутагенеза и рентгеноструктурного анализа.

На ферментативную активность фуканаза, как и на активность большинства ферментов, существенное влияние оказывают pH буферных растворов и температура. Образование наибольшего количества низкомолекулярных продуктов гидролиза фукоидана происходит при pH 6,4–7,2 для FWf1, pH 6,0–7,2 для FWf2, pH 6,4–6,8 для FWf3 и pH 6,0–6,4 для FWf4 (табл. 1). Оптимумы pH фуканаза из бактериальных источников, как правило, находятся в диапазоне от слабодислой до слабощелочной среды (pH 6–8), за исключением

фуканаз Fun174A из бактерии *W. aestuarii* OF219 (рН-оптимум 5,5) [25], FFA2 из *F. algae* (рН-оптимум 6,5–9) [21] и OUC-FaFcn1 из *F. algicola* 12076 (рН-оптимум 9) [26].

Диапазон температур, при которых бактериальные фуканазы проявляют наибольшую активность, очень широк и варьирует от 20 °С (FcnA из *M. fucanivorans* SW5 [27]) до 45 °С (фуканазы из *Vibrio* sp. No. 5 [28] и фуканаза Fhf2Δ484 из *F. haliotis* [29]). Фуканазы FWf1 и FWf2 проявляют наибольшую активность при температурах от 24 до 40 °С, а FWf3 и FWf4 – при температурах от 40 до 50 °С (табл. 1). Значения уровня рН и температуры для проявления активности FWf1–FWf4 являются типичными для фуканаз, выделенных из морских бактерий [30].

Тип действия фуканаз FWf1–FWf4

Тип действия фермента на молекулу субстрата является одной из основных характеристик О-гликозидгидролаз. Ферменты экзотипа, как правило, катализируют отщепление моно- или дисахарида с невозстанавливающего или восстанавливающего конца молекулы субстрата, образуя один и тот же продукт реакции на протяжении всего процесса гидролиза. О-Гликозидгидролазы эндотипа, напротив, катализируют гидролиз гликозидных связей внутри углеводной цепи фукоидана с образованием разнообразных по степени полимеризации продуктов реакции. Все четыре фуканазы FWf1–FWf4 катализируют гидролиз фукоидана из *F. evanescens* по эндотипу, что подтверждается образованием большого набора разнообразных сульфатированных олигосахаридов на ранних этапах ферментативного гидролиза (рис. 6).

Субстратная специфичность фуканаз FWf1–FWf4

Фуканазы FWf1–FWf4 катализировали гидролиз фукоиданов, выделенных из бурых водорослей *F. evanescens* (FeF) и *S. horneri* (ShF), состоящих в основном из чередующихся 1→3-; 1→4-связанных остатков α-L-фукозы, но различающихся схемами сульфатирования [20, 31–33], с разной эффективностью. Они не катализировали гидролиз фукоидана из *S. cichorioides* (ScF) [34], в котором остатки сульфатированной α-L-фукозы соединены 1→3-гликозидными связями, а также галактофукана, выделенного из *U. pinnatifida* (UpF) [35]. Интересно, что коммерческий фукоидан, выделенный из *F. vesiculosus* (FvF), который, как было показано ранее, имеет основную цепь, схожую с FeF и ShF [36], расщеплялся FWf1, FWf2 и FWf4, но не FWf3 (рис. 7).

Вероятно, различия в расположении некоторых заместителей при остатках α-L-фукозы (сульфатной, ацетатной группы или наличия/отсутствия разветвления) в фукоиданах может

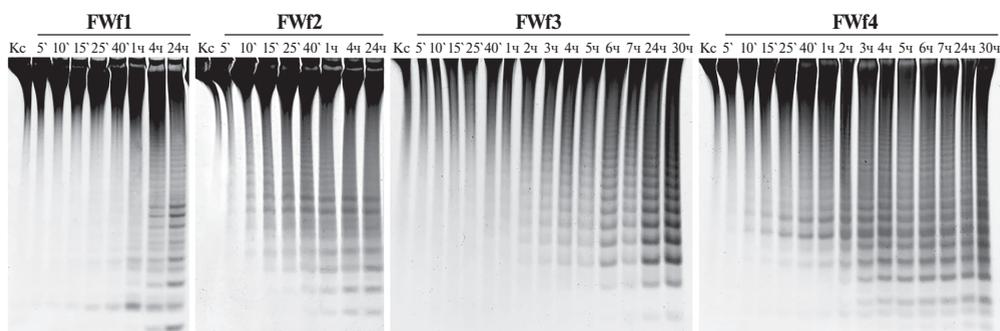
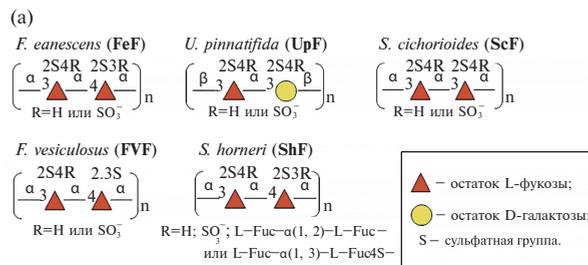


Рис. 6. Электрофореграмма продуктов гидролиза фукоидана из *F. evanescens*, полученных с помощью фуканаз FWf1–FWf4, за разное время инкубирования. Кс – фукоидан из *F. evanescens*, не подвергавшийся гидролизу



(б)

Субстрат (фукоидан)	Тип гликозидных связей	Уровень фукоиданазной активности			
		FWf1	FWf2	FWf3	FWf4
FeF	(1→3;1→4)	++	+++	++	+++
UpF	(1→3)	–	–	–	–
ScF	(1→3)	–	–	–	–
FvF	(1→3;1→4)	+	+	–	++
ShF	(1→3;1→4)	++	++	+	++

(-) – активность фукоиданазы не обнаружена; (+) – низкая активность;
(++) – средняя активность; (+++) – высокая активность

Рис. 7. Анализ активности фуканаз FWf1–FWf4 по отношению к фукоиданам, выделенным из различных видов бурых водорослей: а – схема основных структурных мотивов, присутствующих в фукоиданах, выделенных из *F. evanescens* (FeF), *U. pinnatifida* (UpF), *S. cichorioides* (ScF), *F. vesiculosus* (FvF) и *S. horneri* (ShF); б – таблица, демонстрирующая уровень активности FWf1–FWf4 по отношению к FeF, UpF, ScF, FvF или ShF

влиять на способность эндофуканаз катализировать гидролиз гликозидных связей. Подобные наблюдения были отмечены при изучении фуканаз семейства GH107, FFA1 и FFA2 из *F. algae* и FcpA из *M. fucanivorans* [21, 22, 33, 37]. Таким образом, фуканазы FWf1–FWf4 катализируют гидролиз 1→4-гликозидных связей между сульфатированными остатками α-L-фукозы, но расположение сульфатных групп при остатках α-L-фукозы в местах расщепления отличается. Накопленные на сегодняшний день данные указывают на то, что фуканазы семейства GH107 потенциально могут отличаться специфичностью не только по отношению к гидролизу определенного типа гликозидной связи между остатками сульфатированной α-L-фукозы, но и к расположению сульфатных групп при этих остатках.

В результате действия фуканаз FWf1–FWf4 на фукоидан из *F. evanescens* (FeF) образуются разнообразные продукты его деполимеризации: резистентные к действию ферментов фракции с высокой молекулярной массой (ВМП_FWf1, ВМП_FWf2, ВМП_FWf3, ВМП_FWf4 (далее ВМП_FWf1–FWf4)) и фракции, состоящие из низкомолекулярных фукоолигосахаридов (НМП_FWf1, НМП_FWf2, НМП_FWf3, НМП_FWf4 (далее НМП_FWf1–FWf4)). Производные имеют разные структуры, молекулярные массы, степень сульфатирования и моносахаридный состав (табл. 2), что указывает на значительные различия в специфичности фуканаз FWf1–FWf4.

Фракции ВМП_FWf1 и ВМП_FWf2 имеют схожие структуры, основными фрагментами которых являются две несвязанные полисахаридные цепи: [→4-L-Fucp(2OSO₃⁻)-α-1→3-L-Fucp(2OSO₃⁻)-α-1→]n и [→4-L-Fucp(2OSO₃⁻)-α-1→3-L-Fucp(2,4OSO₃⁻)-α-1→]n. Фракция ВМП_FWf3 состоит преимущественно из 2-О-сульфатированного полисахарида со следующей структурой: [→4-L-Fucp(2OSO₃⁻)-α-1→3-L-Fucp(2OSO₃⁻)-α-1→]n. Доминирующий структурный мотив фракции ВМП_FWf4 представляет собой регулярный фрагмент [→4-L-Fucp(2OSO₃⁻)-α-1→3-L-Fucp(2,4OSO₃⁻)-α-1→]n.

Олигосахариды, выделенные из фракций НМП_FWf1–FWf4 (рис. 8, а), имеют схожие последовательности гликозидных связей (1→3-;1→4-;1→3-) между остатками α-L-фукозы, однако наблюдаются различия в расположении сульфатных групп (рис. 8, б–д). Так, олигосахариды, полученные с помощью FWf1 и FWf4, имеют смешанное 2-О-, 2,3-ди-О- и/или 2,4-ди-О-сульфатирование, в то время как олигосахариды, полученные под действием FWf2, имеют регулярное 2-О-сульфатирование. Олигосахариды, выделенные из НМП_FWf3, имеют более сложную структуру и, вероятно, большое количество изомеров, что затрудняет

Структурные характеристики ВМП и НМП фракций, полученных в результате гидролиза фукоидана FeF фуканазами FWf1–FWf4

Фракция	M, кДа	-SO ₃ Na, %*	Моносахаридный состав, моль%						
			L-Fuc	L-Rha	D-Gal	D-Glc	D-Man	D-Xyl	UA
FeF	356,0	26	95,7	1,4	1,7	0,6	0,6	0,0	0,0
ВМП_FWf1	6,0–187,0	25	93,1	2,1	3,1	0,8	0,9	93,1	2,1
ВМП_FWf2	5,5–210,0	25	91,0	2,4	4,0	1,1	1,5	91,0	2,4
ВМП_FWf3	73,0	23	92,7	1,9	2,9	0,9	1,5	0,0	0,0
ВМП_FWf4	69,0	31	92,3	2,5	3,3	0,8	1,2	0,0	0,0
НМП_FWf1	~1,4	26	95,2	0,3	0,1	0,0	4,3	0,0	0,0
НМП_FWf2	~2,4	20	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
НМП_FWf3	~2,6	30	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
НМП_FWf4	~2,3	28	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

* % от массы образца.

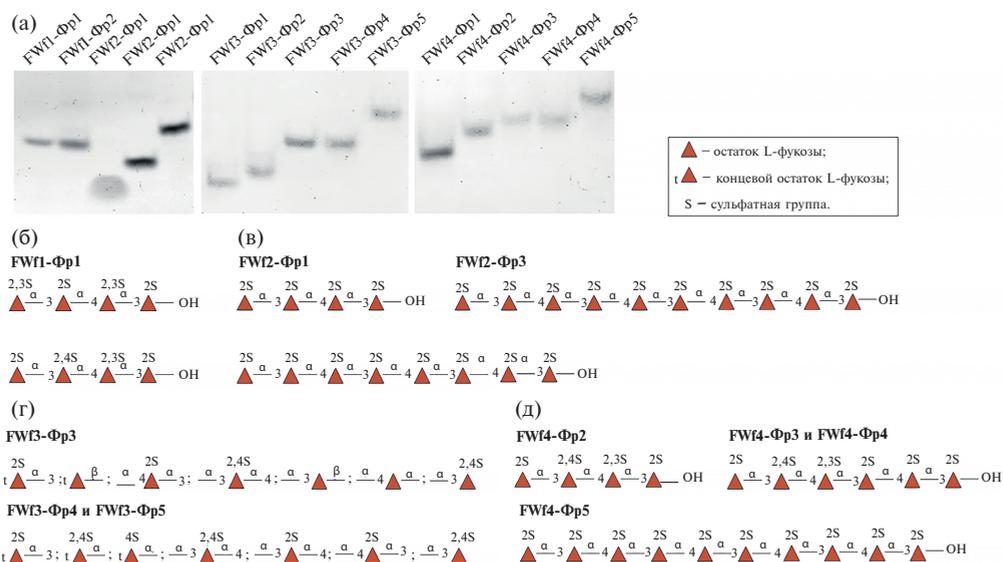


Рис. 8. Электрофоретическая картина (а) и схематическое изображение структур выделенных олигосахаридов – продуктов ферментативного гидролиза фукоидана FeF, полученных с помощью фуказ FWf1 (б), FWf2 (в), FWf3 (г) и FWf4 (д)

получение исчерпывающей информации об их строении. Фракция FWf3-Фр3 содержит как сульфатированные, так и несulfатированные остатки L-фукозы: L-Fucp(2OSO₃⁻)-α-1→3-, L-Fucp-β-(1→, α-1→4-L-Fucp(2OSO₃⁻)-α-1→3-, -α-1→3-L-Fucp(2,4OSO₃⁻)-α-1→4-, -α-1→3-L-Fucp-β-1→, -α-1→3-L-Fucp-α-1→, -α-1→3-L-Fucp(2,4OSO₃⁻). Подобные остатки обнаружены

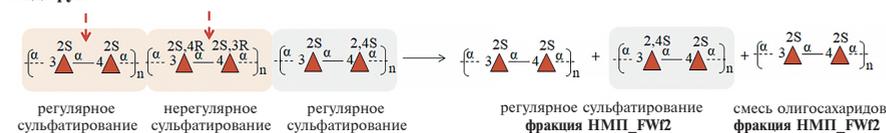
в FWf3-Фр4 и FWf3-Фр5: L-Fucp(2OSO₃⁻)-α-1→3-, L-Fucp(2,4OSO₃⁻)-α-1→, L-Fucp(4OSO₃⁻)-α-1→, -α-1→3-L-Fucp(2,4OSO₃⁻)-α-1→4-, -α-1→3-L-Fucp(2OSO₃⁻)-α-1→4-, -α-1→4-L-Fucp(2OSO₃⁻)-α-1→3-, -α-1→3-L-Fucp(2,4OSO₃⁻). Интересно отметить, что фракция FWf3-Фр3, по-видимому, содержит остатки L-фукозы, связанные β-гликозидными связями, которые ранее не были детектированы в фукоидане, выделенном из *F. evanescens*, вероятно, из-за их небольшого содержания. Остатки L-фукозы, связанные β-гликозидными связями, ранее были обнаружены в фукоиданах, выделенных из бурых водорослей *Sargassum pallidum* [38] и *S. thunbergii* [39]. Фракции FWf3-Фр4 и FWf3-Фр5 содержат остатки α-L-фукозы с 2-О- и 2,4-ди-О-сульфатированием, но, в отличие от FWf3-Фр3, несulfатированные остатки α-L-фукозы в их составе не обнаружены.

Порядок гликозидных связей 1→3-;1→4-;1→3- в олигосахаридах подтверждает то, что FWf1-FWf4 расщепляют 1→4-гликозидные связи между остатками α-L-фукозы в фукоидане. Олигосахариды FWf1-Фр1 и FWf1-Фр2 содержат на восстанавливающем (В) конце 2-О-сульфатированные, а на невосстанавливающем (НВ) конце 2,3-ди-О-сульфатированные остатки α-L-фукозы. Следовательно, FWf1 расщепляет 1→4-гликозидные связи между 2-О- и 2,3-ди-О-сульфатированными остатками α-L-фукозы (рис. 9). Фуканаза FWf1 не способна расщеплять гликозидные связи между 2-О- и 2,4-ди-О-сульфатированными остатками α-L-фукозы. На это указывает формирование резистентной к дальнейшему ферментативному гидролизу фракции ВМП_FWf1 со структурой [→4-L-Fucp(2OSO₃⁻)-α-1→3-L-Fucp(2OSO₃⁻)-α-1→_n] и [→4-L-Fucp(2OSO₃⁻)-α-1→3-L-Fucp(2,4OSO₃⁻)-α-1→_n]. В олигосахаридах, полученных под действием FWf3, остатки α-L-фукозы 2-О-сульфатированы на В конце и 2,4-ди-О-сульфатированы на НВ конце. Таким образом, FWf3 расщепляет 1→4-гликозидные связи между 2-О- и 2,4-ди-О-сульфатированными остатками α-L-фукозы (рис. 9). Структура фракции ВМП_FWf3 указывает на то, что участки в фукоидане FeF,

Эндофуканаза FWf1:



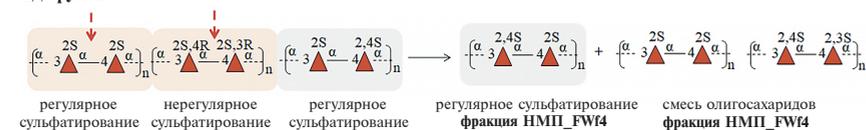
Эндофуканаза FWf2:



Эндофуканаза FWf3:



Эндофуканаза FWf4:



Фукоидан FeF из *F. evanescens*, (R = H или SO₃⁻)

— Фрагменты фукоидана расщепляемые эндофуканазами;

— Фрагменты фукоидана устойчивые к действию эндофуканаз.

Рис. 9. Схематическое изображение деполимеризации фукоидана FeF с помощью FWf1-FWf4. Красная стрелка указывает на сайты в FeF, которые фуканазы FWf1-FWf4 распознают и расщепляют

содержащие только 2-О-сульфатирование, не расщепляются данным ферментом. Фуканазы FWf2 и FWf4 имеют схожую специфичность к 1→4-гликозидным связям между 2-О-сульфатированными остатками α-L-фукозы. Оба фермента, как и FWf1, не способны расщеплять гликозидные связи между 2-О- и 2,4-ди-О-сульфатированными остатками α-L-фукозы (рис. 9). Однако, несмотря на схожесть, FWf2 и FWf4, вероятно, имеют некоторые различия в специфичности. На это указывает различная структура олигосахаридов и состав фракций ВМП, полученных под их действием.

Различная специфичность фуканаз к сульфатированию позволяет подтвердить ранее сделанное предположение о том, что фукоидан FeF из *F. evanescens* имеет блочное строение. Предположительно, каждый из блоков имеет либо регулярное 2-О-сульфатирование, либо чередующееся 2-О- и 2,4-ди-О-сульфатирование. Это подтверждается строением продуктов ферментативного гидролиза. Формирование высокомолекулярных фракций (ВМП) с регулярными структурами [\rightarrow 4-L-Fucp(2OSO₃⁻)-α-1→3-L-Fucp(2,4OSO₃⁻)-1→] и [\rightarrow 4-L-Fucp(2OSO₃⁻)-α-1→3-L-Fucp(2OSO₃⁻)-1→] при действии фуканаз указывает на то, что фукоидан FeF содержит протяженные участки с регулярным 2-О-сульфатированием, а также регулярным чередующимся 2-О- и 2,4-ди-О-сульфатированием (рис. 9). Выходы фракций ВМП варьируются от 57 до 44 %, таким образом, каждый из таких регулярных участков занимает около половины структуры фукоидана FeF. Низкомолекулярные фракции имеют менее регулярное строение, с разнообразным 2-О-, 2,3-ди-О- и 2,4-ди-О-сульфатированием. Можно предположить, что данные нерегулярные участки являются частью переходной или «транзитной» зоны между участками с регулярным 2-О- и чередующимся 2-О- и 2,4-ди-О-сульфатированием. Схожую организацию расположения сульфатных групп имеют некоторые гликозаминогликаны млекопитающих [40, 41].

Организация углеводсвязывающих подсайтов фуканаз FWf1–FWf4

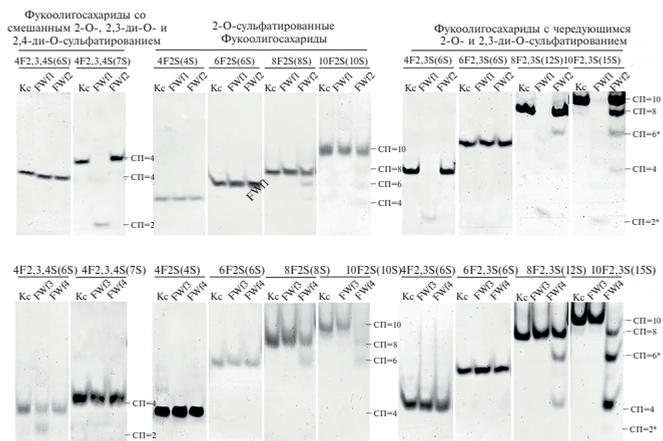
Известно, что активные центры гликозидгидролаз состоят из тандемных углеводсвязывающих подсайтов, которые распознают и связывают определенные углеводные фрагменты субстрата для его дальнейшего расщепления [42]. Углеводсвязывающие подсайты определяют специфичность гликозидгидролаз.

Углеводсвязывающие подсайты фуканаз были установлены с помощью набора сульфатированных фукоолигосахаридов: 4F2,3,4S(6S), 4F2S(4S), 8F2S(8S), 10F2S(10S), 4F2,3,4S(7S), 4F2,3S(6S), 6F2S(6S), 6F2,3S(6S), 8F2,3S(12S), 10F2,3S(15S). Все вышеперечисленные олигосахариды состоят из остатков α-L-фукозы, связанных чередующимися 1→3-; 1→4-гликозидными связями, но отличаются степенью полимеризации (СП) и расположением сульфатных групп при остатках α-L-фукозы. Активность фуканаз FWf1–FWf4 по отношению к этим фукоолигосахаридам значительно различается (рис. 10) и зависит от определенного расположения сульфатных групп, а также степени полимеризации олигосахаридов.

Фуканаза FWf1 не расщепляет 2-О-сульфатированные фукоолигосахариды 4F2S(4S), 6F2S(6S), 8F2S(8S), 10F2S(10S), однако катализирует гидролиз олигосахаридов 4F2,3S(6S), 8F2,3S(12S), 10F2,3S(15S), содержащих дополнительное 3-О-сульфатирование при 1→4-связанных остатках α-L-фукозы (рис. 10, а, в). Таким образом, фуканаза FWf1 специфична к расщеплению гликозидных связей между остатками 2-О- и 2,3-ди-О-сульфатированной α-L-фукозы и не расщепляет гликозидные связи между 2-О-сульфатированными остатками α-L-фукозы.

Способность FWf1 катализировать гидролиз тетрасахарида 4F2,3S(6S) с образованием дисахаридов указывает на то, что в активном центре данного фермента содержится по меньшей мере четыре углеводсвязывающих подсайта, пронумерованных согласно номенклатуре [42] от -2 до +2, а минимальная СП субстрата, необходимая для его расщепления, равна 4 (рис. 11, а).

Данная топология углеводсвязывающих подсайтов FWf1 также подтверждается характером расщепления олигосахаридов с большей СП. Во всех случаях конечными продуктами реакции являются дисахариды. Исходя из структуры расщепленного тетрасахарида 4F2,3S(6S) подсайты -2 и +1 распознают 2,3-ди-О-сульфатированные остатки α-L-фукозы,



Схематическая структура олигосахаридов	Обозначение	Уровень фукоиданазной активности			
		FWf1	FWf2	FWf3	FWf4
	4F2,3,4S(6S)	-	-	++	-
	4F2,3,4S(7S)	+++	-	-	-
	4F2S(4S)	-	-	-	-
	6F2S(6S)	-	+	-	-
	8F2S(8S)	-	++	-	++
	10F2S(10S)	-	++	-	+++
	4F2,3S(6S)	+++	-	-	-
	6F2,3S(6S)	-	-	-	-
	8F2,3S(12S)	+++	++	-	++
	10F2,3S(15S)	+++	++	-	+++

Рис. 10. Анализ активности фуканаз FWf1–FWf4 по отношению к фукоолигосахаридам. Электрофореграмма продуктов гидролиза, полученных при обработке фуканазами различных фукоолигосахаридов: а – FWf1 и FWf2, б – FWf3 и FWf4; в – таблица, демонстрирующая уровень активности FWf1–FWf4 по отношению к сульфатированным олигосахаридам: (–) – активность фуканазы не обнаружена; (+) – низкая активность; (++) – средняя активность; (+++) – высокая активность. Данные были получены из электрофореграмм (а) и (б). Степени полимеризации рассчитаны: (СП = 2*) – исходя из предполагаемых продуктов деполимеризации тетрасахарида 4F2,3,4S(7S) фуканазой FWf1; (СП = 6*) – октасахарида 8F2,3S(12S) фуканазой FWf2. Кс – фукоолигосахариды, не подвергавшиеся ферментативному гидролизу

а подсайты –1 и +2 – 2-О-сульфатированные остатки α -L-фукозы. Способность FWf1 расщеплять тетрасахарид 4F2,3,4S(7S), содержащий дополнительное 4-О-сульфатирование, указывает на то, что FWf1 способен связывать в –1 подсайте помимо 2-О-сульфатированных еще и 2,4-ди-О-сульфатированные остатки α -L-фукозы. Подсайт –2 в FWf1, вероятно, играет наиболее важную роль в распознавании субстрата этим ферментом. Так, тетрасахарид 4F2,3,4S(6S) со смешанным типом сульфатирования устойчив к действию FWf1, в то время как тетрасахарид 4F2,3,4S(7S) схожей структуры, но имеющий одну дополнительную сульфатную группу в положении С3 терминального остатка α -L-фукозы, эффективно расщепляется фуканазой FWf1. Таким образом, для правильного размещения субстрата в активном центре FWf1 требуется наличие 2,3-ди-О-сульфатированного остатка α -L-фукозы в –2 подсайте (рис. 11, б). FWf1 не катализирует расщепление разветвленного олигосахарида 6F2,3S(6S), следовательно, наличие боковых ответвлений в –1 подсайте FWf1 ограничивает действие фермента. Таким образом, углеводсвязывающие подсайты FWf1 способны распознавать следующие структурные фрагменты фукоиданов: $[\rightarrow 4\text{-L-Fucp}(2,3\text{OSO}_3^-)\text{-}\alpha\text{-1}\rightarrow 3\text{-L-Fucp}(2\text{OSO}_3^-)\text{-}\alpha\text{-1}\rightarrow 4\text{-L-Fucp}(2,3\text{OSO}_3^-)\text{-}\alpha\text{-1}\rightarrow 3\text{-L-Fucp}(2\text{OSO}_3^-)\text{-}\alpha\text{-1}\rightarrow]_n$ и $[\rightarrow 4\text{-L-Fucp}(2,3\text{OSO}_3^-)\text{-}\alpha\text{-1}\rightarrow 3\text{-L-Fucp}(2,4\text{OSO}_3^-)\text{-}\alpha\text{-1}\rightarrow 4\text{-L-}$

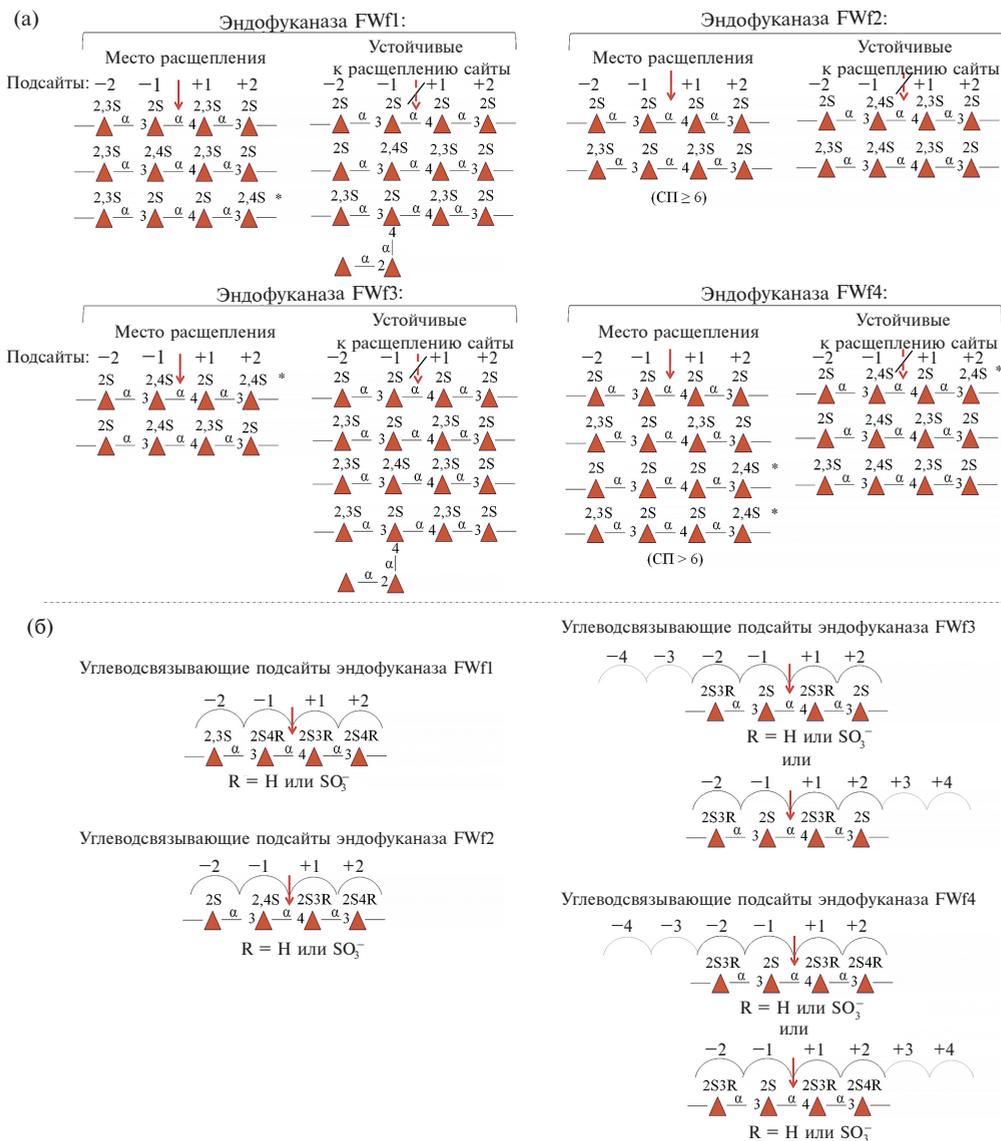


Рис. 11. Предполагаемые сайты расщепления фукоидана, распознаваемые эндофуканазами FWf1–FWf4, и структурные мотивы фукоидана, устойчивые к расщеплению фуканазами FWf1–FWf4 (a). Топология предполагаемых углеводсвязывающих подсайтов фуканаз FWf1–FWf4 (б). Цифры над структурными мотивами указывают на углеводсвязывающие подсайты FWf1–FWf4. Подсайты пронумерованы в соответствии с номенклатурой [42]. Звездочка обозначает сайт расщепления, предполагаемый на основании структур олигосахаридов, полученных в результате гидролиза фукоидана FeF с помощью FWf1, FWf3 или FWf4

$Fucp(2,3OSO_3^-)-\alpha-1 \rightarrow 3-L-Fucp(2OSO_3^-)-\alpha-1 \rightarrow]_n$. Предположительно, фрагмент структуры фукоидана $[\rightarrow 4-L-Fucp(2,3OSO_3^-)-\alpha-1 \rightarrow 3-L-Fucp(2OSO_3^-)-\alpha-1 \rightarrow 4-L-Fucp(2SO_3^-)-\alpha-1 \rightarrow 3-L-Fucp(2,4SO_3^-)-\alpha-1 \rightarrow]_n$ так же хорошо распознается FWf1, на что указывает структура тетрасахарида 4F2,3,4S(6S), образующегося в результате гидролиза FeF с помощью FWf1.

Схожую с FWf1 топологию углеводсвязывающих подсайтов, вероятно, имеет фуканаза FWf3. Данный фермент так же, как и FWf1, способен расщеплять тетрасахаридные фрагменты. Следовательно, FWf3 содержит в активном центре как минимум четыре значимых углеводсвязывающих подсайта. Однако селективность подсайтов FWf3 к расположению сульфатных групп при остатках α -L-фукозы отличается от таковой у FWf1. Наличие 2-O-

и 2,4-ди-О-сульфатирования при остатках α -L-фукозы в -2 и -1 подсайтах соответственно является ключевым для распознавания и расщепления субстрата фуканазой FWf3. Это подтверждается наличием активности по отношению к тетрасахариду 4F2,3,4S(6S) и отсутствием таковой по отношению к другим использованным олигосахаридам. Таким образом, углеводсвязывающие подсайты FWf3 способны распознавать следующие структурные фрагменты фукоиданов: $[\rightarrow 4\text{-L-Fucp}(2\text{OSO}_3^-)\text{-}\alpha\text{-}1 \rightarrow 3\text{-L-Fucp}(2,4\text{OSO}_3^-)\text{-}\alpha\text{-}1 \rightarrow 4\text{-L-Fucp}(2,3\text{OSO}_3^-)\text{-}\alpha\text{-}1 \rightarrow 3\text{-L-Fucp}(2\text{OSO}_3^-)\text{-}\alpha\text{-}1 \rightarrow]_n$, а также $[\rightarrow 4\text{-L-Fucp}(2\text{OSO}_3^-)\text{-}\alpha\text{-}1 \rightarrow 3\text{-L-Fucp}(2,4\text{OSO}_3^-)\text{-}\alpha\text{-}1 \rightarrow 4\text{-L-Fucp}(2\text{OSO}_3^-)\text{-}\alpha\text{-}1 \rightarrow 3\text{-L-Fucp}(2,4\text{OSO}_3^-)\text{-}\alpha\text{-}1 \rightarrow]_n$ исходя из структур полученных продуктов гидролиза фукоидана FeF (рис. 11).

Топология углеводсвязывающих подсайтов активного центра FWf2, вероятно, значительно отличается от FWf1 и FWf3. Данный фермент расщепляет сульфатированные гекса-, окта- и декасахариды, но не тетрасахариды. Следовательно, минимальная СП участка субстрата, который может распознать и расщепить FWf2, равна 6. Таким образом, активный центр FWf2 содержит как минимум 6 значимых углеводсвязывающих подсайтов. Способность FWf2 расщеплять олигосахариды как с 2-О-сульфатированием, так и с чередующимся 2-О- и 2,3-ди-О-сульфатированием указывает на селективность подсайтов FWf2 как к 2-О-, так и к 2,3-ди-О-сульфатированным остаткам α -L-фукозы. Таким образом, FWf2 распознает повторяющиеся структурные мотивы $[\rightarrow 3\text{-L-Fucp}(2\text{OSO}_3^-)\text{-}\alpha\text{-}1 \rightarrow 4\text{-L-Fucp}(2\text{OSO}_3^-)\text{-}\alpha\text{-}1 \rightarrow]_3$ и $[\rightarrow 3\text{-L-Fucp}(2\text{OSO}_3^-)\text{-}\alpha\text{-}1 \rightarrow 4\text{-L-Fucp}(2,3\text{OSO}_3^-)\text{-}\alpha\text{-}1 \rightarrow]_3$ в молекулах фукоидана (рис. 11). Образование тетрасахарида во время расщепления гексасахарида 6F2S(6S) фуканазой FWf2 может указывать на то, что порядок подсайтов может быть либо -2 и +4, либо -4 и +2.

Так же как и FWf2, фуканаза FWf4 катализирует гидролиз только гекса-, окта- и декафукоолигосахаридов с 2-О-сульфатированием и чередующимся 2-О- и 2,3-ди-О-сульфатированием. Тетрасахариды 4F2S(4S), 4F2,3S(6S), 4F2,3,4S(6S) и 4F2,3,4S(7S) не подвергаются расщеплению данным ферментом. Состав продуктов расщепления указанных олигосахаридов у FWf4 и FWf2 схож, что указывает на схожую топологию их активных центров (количество значимых подсайтов равно 6) и специфичность по отношению к 2-О- и 2,3-ди-О-сульфатированным фрагментам фукоиданов. Можно предположить, что отличия между FWf2 и FWf4 заключаются в различной селективности некоторых из подсайтов данных ферментов к сульфатированию. Некоторые из углеводсвязывающих подсайтов (предположительно, -2 подсайт) в FWf4, в отличие от FWf2, способны размещать 2,4-ди-О-сульфатированные остатки α -L-фукозы. На это указывают различия в структурах продуктов расщепления фукоидана FeF из *F. evanescens*, полученных под действием FWf4 и FWf2. Некоторые из олигосахаридов, полученных под действием FWf4, содержат единичные 2,4-ди-О-сульфатированные остатки α -L-фукозы, в то время как фукоолигосахариды, полученные под действием FWf2, содержат только 2-О-сульфатированные остатки α -L-фукозы. То есть в отличие от FWf2, углеводсвязывающие подсайты FWf4 способны распознавать структурные фрагменты не только следующего строения: $[\rightarrow 3\text{-L-Fucp}(2\text{OSO}_3^-)\text{-}\alpha\text{-}1 \rightarrow 4\text{-L-Fucp}(2\text{OSO}_3^-)\text{-}\alpha\text{-}1 \rightarrow]_3$ и $[\rightarrow 3\text{-L-Fucp}(2\text{OSO}_3^-)\text{-}\alpha\text{-}1 \rightarrow 4\text{-L-Fucp}(2,3\text{OSO}_3^-)\text{-}\alpha\text{-}1 \rightarrow]_3$, но и $[\rightarrow 4\text{-L-Fucp}(2\text{OSO}_3^-)\text{-}\alpha\text{-}1 \rightarrow 3\text{-L-Fucp}(2\text{OSO}_3^-)\text{-}\alpha\text{-}1 \rightarrow 4\text{-L-Fucp}(2\text{OSO}_3^-)\text{-}\alpha\text{-}1 \rightarrow 3\text{-L-Fucp}(2,4\text{OSO}_3^-)\text{-}\alpha\text{-}1 \rightarrow]_n$ и $[\rightarrow 4\text{-L-Fucp}(2,3\text{OSO}_3^-)\text{-}\alpha\text{-}1 \rightarrow 3\text{-L-Fucp}(2\text{OSO}_3^-)\text{-}\alpha\text{-}1 \rightarrow 4\text{-L-Fucp}(2\text{OSO}_3^-)\text{-}\alpha\text{-}1 \rightarrow 3\text{-L-Fucp}(2,4\text{OSO}_3^-)\text{-}\alpha\text{-}1 \rightarrow]_n$.

Заключение

Ферменты с установленным механизмом действия и субстратной специфичностью являются эффективными инструментами для направленного редактирования структур биологически активных полисахаридов, таких как фукоиданы. Фукоиданы проявляют широкий спектр биологических активностей и являются перспективными кандидатами для разработки лекарственных средств и биологически активных добавок на их основе. Однако ферменты, способные трансформировать молекулы фукоидана, слабо изучены. Анализ и сравнение основных характеристик четырех фуканаз 107 семейства гликозидгидролаз, входящих в состав фукоиданутилизирующего кластера морской бактерии *W. fucanilytica* CZ1127^T, позволили выявить важные различия в структурной организации, физико-химических свой-

ствах и субстратной специфичности ферментов данного семейства. Установленные различия в значимых характеристиках этих ферментов дают новые знания об особенностях фуканаз, принадлежащих семейству GH107. Накопленные на настоящий момент знания указывают на то, что фуканазы имеют комплексную специфичность, которая включает распознавание ферментами фрагментов определенной структуры. При этом специфичность фуканаз может различаться в отношении не только типа гликозидной связи, но и расположения сульфатных групп при остатках α -L-фукозы, находящихся в непосредственной близости от места расщепления. Специфичность предопределяется количеством и селективностью углеводсвязывающих подсайтов в их активных центрах. Дальнейшие исследования должны быть направлены на структурное изучение фуканаз, которое позволит определить структурно-функциональные взаимосвязи.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Antonio Trincone I.D. Marine glycosyl hydrolases as tool for industrial application // *Industrial Applications of Glycoside Hydrolases*. Springer, 2020. P. 151–166.
2. Pradhan B., Patra S., Nayak R., Behera C., Dash S.R., Nayak S., Sahu B.B., Bhutia S.K., Jena M. Multifunctional role of fucoidan, sulfated polysaccharides in human health and disease: A journey under the sea in pursuit of potent therapeutic agents // *Int. J. Biol. Macromol.* 2020. Vol. 164. P. 4263–4278.
3. Wang Y., Xing M., Cao Q., Ji A., Liang H., Song S. Biological activities of fucoidan and the factors mediating its therapeutic effects: a review of recent studies // *Mar. Drugs*. 2019. Vol. 17, N3. P. 183.
4. Nagamine T., Nakazato K., Tomioka S., Iha M., Nakajima K. Intestinal absorption of fucoidan extracted from the brown seaweed, *Cladosiphon okamuranus* // *Mar. Drugs*. 2014. Vol. 13, N1. P. 48–64.
5. Bai X., Zhang E., Hu B., Liang H., Song S., Ji A. Study on absorption mechanism and tissue distribution of fucoidan // *Molecules*. 2020. Vol. 25, N5. P. 1087.
6. Zhu Z., Zhang Q., Chen L., Ren S., Xu P., Tang Y., Luo D. Higher specificity of the activity of low molecular weight fucoidan for thrombin-induced platelet aggregation // *Thromb Res*. 2010. Vol. 125, N5. P. 419–426.
7. Jin W. et al. A comparative study of the anticoagulant activities of eleven fucoidans // *Carbohydr. Polym.* 2013. Vol. 91, N1. P. 1–6.
8. Jin W., Zhang Q., Wang J., Zhang W. Structure analysis and anti-tumor and anti-angiogenic activities of sulfated galactofucan extracted from *Sargassum thunbergii* // *Mar. Drugs*. 2019. Vol. 17, N1. P. 52.
9. Lu J., Shi K.K., Chen S., Wang J., Hassouna A., White L.N., Merien F., Xie M., Kong Q., Li J., Ying T., White W.L., Nie S. Fucoidan extracted from the New Zealand *Undaria pinnatifida* – physicochemical comparison against five other fucoidans: Unique low molecular weight fraction bioactivity in breast cancer cell lines // *Mar. Drugs*. 2018. Vol. 16, N12. P. 461.
10. Mak W., Hamid N., Liu T., Lu J., White W.L. Fucoidan from New Zealand *Undaria pinnatifida*: monthly variations and determination of antioxidant activities // *Carbohydr. Polym.* 2013. Vol. 95, N1. P.606–614.
11. Zvyagintseva T.N., Shevchenko N.M., Chizhov A.O., Krupnova T.N., Sundukova E.V., Isakov V.V. Water-soluble polysaccharides of some far-eastern brown seaweeds. Distribution, structure, and their dependence on the developmental conditions // *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 2003. Vol. 294, N1. P. 1–13.
12. Anastyuk S.D., Shevchenko N.M., Nazarenko E.L., Imbs T.I., Gorbach V.I., Dmitrenok P.S., Zvyagintseva T.N. Structural analysis of a highly sulfated fucan from the brown alga *Laminaria cichorioides* by tandem MALDI and ESI mass spectrometry // *Carbohydr. Res.* 2010. Vol. 345, N15. P. 2206–2212.
13. Chen F., Chang Y., Dong S., Xue C. *Wenyingshuangia fucanilytica* sp. nov., a sulfated fucan utilizing bacterium isolated from shallow coastal seawater // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2016. Vol. 66, N9. P. 3270–3275.
14. Chang Y., Xue C., Tang Q., Li D., Wu X., Wang J. Isolation and characterization of a sea cucumber fucoidan-utilizing marine bacterium // *Lett. Appl. Microbiol.* 2010. Vol. 50, N3. P. 301–307.
15. Zueva A.O., Silchenko A.S., Rasin A.B., Kusaykin M.I., Usoltseva R.V., Kalinovskiy A.I., Kurilenko V.V., Zvyagintseva T.N., Thinh P.D., Ermakova S.P. Expression and biochemical characterization of two recombinant fucoidanases from the marine bacterium *Wenyingshuangia fucanilytica* CZ1127^T // *Int. J. Biol. Macromol.* 2020. Vol. 164. P. 3025–3037.
16. Zueva A.O., Silchenko A.S., Rasin A.B., Malyarenko O.S., Kusaykin M.I., Kalinovskiy A.I., Ermakova S.P. Production of high- and low-molecular weight fucoidan fragments with defined sulfation

patterns and heightened *in vitro* anticancer activity against TNBC cells using novel endo-fucanases of the GH107 family // Carbohydr. Polym. 2023. Vol. 318. P. 121128.

17. Schultz-Johansen M., Cueff M., Hardouin K., Jam M., Larocque R., Glaring M.A., Hervé C., Czjzek M., Stougaard P. Discovery and screening of novel metagenome-derived GH107 enzymes targeting sulfated fucans from brown algae // FEBS J. 2018. Vol. 285, N22. P. 4281–4295.

18. Vickers C., Liu F., Abe K., Salama-Alber O., Jenkins M., Springate C.M., Burke J.E., Withers S.G., Boraston A.B. Endo-fucoidan hydrolases from glycoside hydrolase family 107 (GH107) display structural and mechanistic similarities to α -L-fucosidases from GH29 // J. Biol. Chem. 2018. Vol. 293, N47. P. 18296–18308.

19. Lasica A.M., Ksiazek M., Madej M., Potempa J. The type IX secretion system (T9SS): highlights and recent insights into its structure and function // Front. Cell. Infect. Microbiol. 2017. Vol. 7. P. 215.

20. Silchenko A.S., Rasin A.B., Kusaykin M.I., Kalinovskiy A.I., Miansong Z., Changheng L., Malyarenko O.S., Zueva A.O., Zvyagintseva T.N., Ermakova S.P. Structure, enzymatic transformation, anticancer activity of fucoidan and sulphated fucooligosaccharides from *Sargassum horneri* // Carbohydr. Polym. 2017. Vol. 175. P. 654–660.

21. Silchenko A.S., Ustyuzhanina N.E., Kusaykin M.I., Krylov V.B., Shashkov A.S., Dmitrenok A.S., Usoltseva R.V., Zueva A.O., Nifantiev N.E., Zvyagintseva T.N. Expression and biochemical characterization and substrate specificity of the fucoidanase from *Formosa algae* // Glycobiology. 2017. Vol. 27, N 3. P. 254–263.

22. Colin S., Deniaud E., Jam M., Descamps V., Chevotot Y., Kervarec N., Barbeyron T., Yvin J.C., Michel G., Kloareg B. Cloning and biochemical characterization of the fucanase FcnA: definition of a novel glycoside hydrolase family specific for sulfated fucans // Glycobiology. 2006. Vol. 16, N11. P. 1021–1032.

23. Hoppert M. Metalloenzymes // Encyclopedia of Earth Sciences Series. Springer, 2011. P. 558–563. Print ISBN9781402092114.

24. Benkovic S.J. Metal Ion-Activated Enzymes // Basolo F. Catalysis Progress in Research. Springer My Copy UK, 1973. P. 43–46.

25. Liu G., Shen J., Chang Y., Mei X., Chen G., Zhang Y., Xue C. Characterization of an endo-1,3-fucanase from marine bacterium *Wenyngzhuangia aestuarii*: The first member of a novel glycoside hydrolase family GH174 // Carbohydr. Polym. 2023. Vol. 306. 120591.

26. Qiu Y., Jiang H., Dong Y., Wang Y., Hamouda H.I., Balah M.A., Mao X. Expression and biochemical characterization of a novel fucoidanase from *Flavobacterium algicola* with the principal product of fucoidan-derived disaccharide // Foods. 2022. Vol. 11, N7. P. 1025.

27. Descamps V., Colin S., Lahaye M., Jam M., Richard C., Potin P., Barbeyron T., Yvin J.C., Kloareg B. Isolation and culture of a marine bacterium degrading the sulfated fucans from marine brown algae // Mar. Biotechnol. 2006. Vol. 8, N1. P. 27–39.

28. Furukawa S.I., Fujikawa T., Koga D., Ide A. Purification and some properties of exo-type fucoidanases from *Vibrio* sp. N-5 // Biosci. Biotech. Biochem. 1992. Vol. 56, N11. P. 1829–1834.

29. Trang V.T.D., Mikkelsen M.D., Vuillemin M., Meier S., Cao H.T.T., Muschiol J., Perna V., Nguyen T.T., Tran V.H.N., Holck J., Van T.T.T., Khanh H.H.N., Meyer A.S. The endo- α (1, 4) specific fucoidanase Fhf2 from *Formosa haliotis* releases highly sulfated fucoidan oligosaccharides // Front. Plant. Sci. 2022. Vol. 13. P. 823668.

30. Sakai T., Kawai T., Kato I. Isolation and characterization of a fucoidan-degrading marine bacterial strain and its fucoidanase // Mar. Biotechnol. 2004. Vol. 6, N4. P. 335–346.

31. Sakai T., Kimura H., Kato I. Purification of sulfated fucoglucuronomannan lyase from bacterial strain of *Fucobacter marina* and study of appropriate conditions for its enzyme digestion // Mar. Biotechnol. 2003. Vol. 5. P. 380–387.

32. Chevotot L., Foucault A., Chaubet F., Kervarec N., Siquin C., Fisher A.M., Boisson-Vidal C. Further data on the structure of brown seaweed fucans: relationships with anticoagulant activity // Carbohydr. Res. 1999. Vol. 319, N1–4. P. 154–165.

33. Menshova R.V., Shevchenko N.M., Imbs T.I., Zvyagintseva T.N., Malyarenko O.S., Zaporoshets T.S., Besednova N.N., Ermakova S.P. Fucoidans from brown alga *Fucus evanescens*: Structure and biological activity // Front. Mar. Sci. 2016. Vol. 3. P. 129.

34. Silchenko A.S., Rasin A.B., Kusaykin M.I., Malyarenko O.S., Shevchenko N.M., Zueva A.O., Kalinovskiy A.I., Zvyagintseva T.N., Ermakova S.P. Modification of native fucoidan from *Fucus evanescens* by recombinant fucoidanase from marine bacteria *Formosa algae* // Carbohydr. Polym. 2018. Vol. 193. P. 189–195.

35. Usoltseva R.V., Shevchenko N.M., Malyarenko O.S., Anastyuk S.D., Kasprisk A.E., Zvyagintsev N.V., Ermakova S.P. Fucoidans from brown algae *Laminaria longipes* and *Saccharina cichorioides*:

Structural characteristics, anticancer and radiosensitizing activity *in vitro* // *Carbohydr. Polym.* 2019. Vol. 221. P. 157–165.

36. Hemmingson J.A., Falshaw R., Furneaux R.H., Thompson K. Structure and antiviral activity of the galactofucan sulfates extracted from *Undaria pinnatifida* (Phaeophyta) // *J. Appl. Phycol.* 2006. Vol. 18, N2. P. 185–193.

37. Chevolut L., Mulloy B., Ratiskol J., Foucault A., Collic-Jouault S. A disaccharide repeat unit is the major structure in fucoidans from two species of brown algae // *Carbohydr. Res.* 2001. Vol. 330, N4. P. 529–535.

38. Cao C., Zhang B., Li C., Huang Q., Fu X., Liu R.H. Structure and *in vitro* hypoglycemic activity of a homogenous polysaccharide purified from *Sargassum pallidum* // *Food Funct.* 2019. Vol. 10. P. 2828.

39. Luo D., Wang Z., Nie K. Structural characterization of a novel polysaccharide from *Sargassum thunbergii* and its antioxidant and anti-inflammation effects // *PLoS One.* 2019. Vol. 14. N10. e0223198.

40. Murphy K.J., Merry C.L., Lyon M., Thompson J.E., Roberts I.S., Gallagher J.T. A new model for the domain structure of heparan sulfate based on the novel specificity of K5 lyase // *J. Biol. Chem.* 2004. Vol. 279, N26. P. 27239–27245.

41. Van Kuppevelt T.H., Oosterhof A., Versteeg E.M., Podhumljak E., Van de Westerlo E.M., Daamen W.F. Sequencing of glycosaminoglycans with potential to interrogate sequence-specific interactions // *Sci. Rep.* 2017. Vol. 7, N1. P. 1–9.

42. Davies G.J., Wilson K.S., Henrissat B. Nomenclature for sugar-binding subsites in glycosyl hydrolases // *Biochem. J.* 1997. Vol. 321, N2. P. 557–559.

REFERENCES

1. Antonio Trincon I.D. Marine glycosyl hydrolases as tool for industrial application. In: *Industrial Applications of Glycoside Hydrolases*. Springer; 2020. P. 151–166.

2. Pradhan B., Patra S., Nayak R., Behera C., Dash S.R., Nayak S., Sahu B.B., Bhutia S.K., Jena M. Multifunctional role of fucoidan, sulfated polysaccharides in human health and disease: A journey under the sea in pursuit of potent therapeutic agents. *Int. J. Biol. Macromol.* 2020;164:4263-4278.

3. Wang Y., Xing M., Cao Q., Ji A., Liang H., Song S. Biological activities of fucoidan and the factors mediating its therapeutic effects: a review of recent studies. *Mar. Drugs.* 2019;17(3):183.

4. Nagamine T., Nakazato K., Tomioka S., Iha M., Nakajima K. Intestinal absorption of fucoidan extracted from the brown seaweed, *Cladosiphon okamuranus*. *Mar. Drugs.* 2014;13(1):48-64.

5. Bai X., Zhang E., Hu B., Liang H., Song S., Ji A. Study on absorption mechanism and tissue distribution of fucoidan. *Molecules.* 2020;25(5):1087.

6. Zhu Z., Zhang Q., Chen L., Ren S., Xu P., Tang Y., Luo D. Higher specificity of the activity of low molecular weight fucoidan for thrombin-induced platelet aggregation. *Thromb Res.* 2010;125(5):419-426.

7. Jin W. et al. A comparative study of the anticoagulant activities of eleven fucoidans. *Carbohydr. Polym.* 2013;91(1):1-6.

8. Jin W., Zhang Q., Wang J., Zhang W. Structure analysis and anti-tumor and anti-angiogenic activities of sulfated galactofucan extracted from *Sargassum thunbergii*. *Mar. Drugs.* 2019;17(1):52.

9. Lu J., Shi K.K., Chen S., Wang J., Hassouna A., White L.N., Merien F., Xie M., Kong Q., Li J., Ying T., White W.L., Nie S. Fucoidan extracted from the New Zealand *Undaria pinnatifida* – physicochemical comparison against five other fucoidans: Unique low molecular weight fraction bioactivity in breast cancer cell lines. *Mar. Drugs.* 2018;16(12):461.

10. Mak W., Hamid N., Liu T., Lu J., White W.L. Fucoidan from New Zealand *Undaria pinnatifida*: monthly variations and determination of antioxidant activities. *Carbohydr. Polym.* 2013;95(1):606-614.

11. Zvyagintseva T.N., Shevchenko N.M., Chizhov A.O., Krupnova T.N., Sundukova E.V., Isakov V.V. Water-soluble polysaccharides of some far-eastern brown seaweeds. Distribution, structure, and their dependence on the developmental conditions. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 2003;294(1):1-13.

12. Anastyuk S.D., Shevchenko N.M., Nazarenko E.L., Imbs T.I., Gorbach V.I., Dmitrenok P.S., Zvyagintseva T.N. Structural analysis of a highly sulfated fucan from the brown alga *Laminaria cichorioides* by tandem MALDI and ESI mass spectrometry. *Carbohydr. Res.* 2010;345(15):2206-2212.

13. Chen F., Chang Y., Dong S., Xue C. *Wenyingshuangia fucanilytica* sp. nov., a sulfated fucan utilizing bacterium isolated from shallow coastal seawater. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2016;66(9):3270-3275.

14. Chang Y., Xue C., Tang Q., Li D., Wu X., Wang J. Isolation and characterization of a sea cucumber fucoidan-utilizing marine bacterium. *Lett. Appl. Microbiol.* 2010;50(3):301-307.

15. Zueva A.O., Silchenko A.S., Rasin A.B., Kusaykin M.I., Usoltseva R.V., Kalinovsky A.I., Kuri- lenko V.V., Zvyagintseva T.N., Thinh P.D., Ermakova S.P. Expression and biochemical characterization of two recombinant fucoidanases from the marine bacterium *Wenyngzhuangia fucanilytica* CZ1127^T. *Int. J. Biol. Macromol.* 2020;164:3025-3037.
16. Zueva A.O., Silchenko A.S., Rasin A.B., Malyarenko O.S., Kusaykin M.I., Kalinovsky A.I., Ermakova S.P. Production of high- and low-molecular weight fucoidan fragments with defined sulfation patterns and heightened *in vitro* anticancer activity against TNBC cells using novel endo-fucanases of the GH107 family. *Carbohydr. Polym.* 2023;318:121128.
17. Schultz-Johansen M., Cuff M., Hardouin K., Jam M., Larocque R., Glaring M.A., Hervé C., Czjzek M., Stougaard P. Discovery and screening of novel metagenome-derived GH107 enzymes targeting sulfated fucans from brown algae. *FEBS J.* 2018;285(22):4281-4295.
18. Vickers C., Liu F., Abe K., Salama-Alber O., Jenkins M., Springate C.M., Burke J.E., Withers S.G., Boraston A.B. Endo-fucoidan hydrolases from glycoside hydrolase family 107 (GH107) display structural and mechanistic similarities to α -L-fucosidases from GH29. *J. Biol. Chem.* 2018;293(47):18296-18308.
19. Lasica A.M., Ksiazek M., Madej M., Potempa J. The type IX secretion system (T9SS): highlights and recent insights into its structure and function. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2017;7:215.
20. Silchenko A.S., Rasin A.B., Kusaykin M.I., Kalinovsky A.I., Miansong Z., Changheng L., Malyarenko O.S., Zueva A.O., Zvyagintseva T.N., Ermakova S.P. Structure, enzymatic transformation, anticancer activity of fucoidan and sulphated fucooligosaccharides from *Sargassum horneri*. *Carbohydr. Polym.* 2017;175:654-660.
21. Silchenko A.S., Ustyuzhanina N.E., Kusaykin M.I., Krylov V.B., Shashkov A.S., Dmitrenok A.S., Usoltseva R.V., Zueva A.O., Nifantiev N.E., Zvyagintseva T.N. Expression and biochemical characteriza- tion and substrate specificity of the fucoidanase from *Formosa algae*. *Glycobiology.* 2017;27(3):254-263.
22. Colin S., Deniaud E., Jam M., Descamps V., Chevotot Y., Kervarec N., Barbeyron T., Yvin J.C., Michel G., Kloareg B. Cloning and biochemical characterization of the fucanase FcnA: definition of a novel glycoside hydrolase family specific for sulfated fucans. *Glycobiology.* 2006;16(11):1021-1032.
23. Hoppert M. Metalloenzymes. In: *Encyclopedia of Earth Sciences Series*. Springer; 2011. P. 558–563. Print ISBN9781402092114.
24. Benkovic S.J. Metal Ion-Activated Enzymes. In: Basolo F. *Catalysis Progress in Research*. Springer My Copy UK; 1973. P. 43-46.
25. Liu G., Shen J., Chang Y., Mei X., Chen G., Zhang Y., Xue C. Characterization of an endo-1,3-fu- canase from marine bacterium *Wenyngzhuangia aestuarii*: The first member of a novel glycoside hydrolase family GH174. *Carbohydr. Polym.* 2023;306. 120591.
26. Qiu Y., Jiang H., Dong Y., Wang Y., Hamouda H.I., Balah M.A., Mao X. Expression and biochemical characterization of a novel fucoidanase from *Flavobacterium algicola* with the principal product of fucoid- an-derived disaccharide. *Foods.* 2022;11(7):1025.
27. Descamps V., Colin S., Lahaye M., Jam M., Richard C., Potin P., Barbeyron T., Yvin J.C., Kloar- eg B. Isolation and culture of a marine bacterium degrading the sulfated fucans from marine brown algae. *Mar. Biotechnol.* 2006;8(1):27-39.
28. Furukawa S.I., Fujikawa T., Koga D., Ide A. Purification and some properties of exo-type fucoid- anases from *Vibrio* sp. N-5. *Biosci. Biotech. Biochem.* 1992;56(11):1829-1834.
29. Trang V.T.D., Mikkelsen M.D., Vuillemin M., Meier S., Cao H.T.T., Muschiol J., Perna V., Nguyen T.T., Tran V.H.N., Holck J., Van T.T.T., Khanh H.H.N., Meyer A.S. The endo- α (1, 4) specific fucoidanase Fhf2 from *Formosa haliotis* releases highly sulfated fucoidan oligosaccharides. *Front. Plant. Sci.* 2022;13:823668.
30. Sakai T., Kawai T., Kato I. Isolation and characterization of a fucoidan-degrading marine bacterial strain and its fucoidanase. *Mar. Biotechnol.* 2004;6(4):335-346.
31. Sakai T., Kimura H., Kato I. Purification of sulfated fucoglucuronomannan lyase from bacterial strain of *Fucobacter marina* and study of appropriate conditions for its enzyme digestion. *Mar. Biotechnol.* 2003;5:380-387.
32. Chevotot L., Foucault A., Chaubert F., Kervarec N., Siquin C., Fisher A.M., Boisson-Vidal C. Fur- ther data on the structure of brown seaweed fucans: relationships with anticoagulant activity. *Carbohydr. Res.* 1999;319(1-4):154-165.
33. Menshova R.V., Shevchenko N.M., Imbs T.I., Zvyagintseva T.N., Malyarenko O.S., Zaporosh- ets T.S., Besednova N.N., Ermakova S.P. Fucoidans from brown alga *Fucus evanescens*: Structure and biological activity. *Front. Mar. Sci.* 2016;3:129.

34. Silchenko A.S., Rasin A.B., Kusaykin M.I., Malyarenko O.S., Shevchenko N.M., Zueva A.O., Kalinovskiy A.I., Zvyagintseva T.N., Ermakova S.P. Modification of native fucoidan from *Fucus evanescens* by recombinant fucoidanase from marine bacteria *Formosa algae*. *Carbohydr. Polym.* 2018;193:189-195.
35. Usoltseva R.V., Shevchenko N.M., Malyarenko O.S., Anastuyk S.D., Kaspruk A.E., Zvyagintsev N.V., Ermakova S.P. Fucoidans from brown algae *Laminaria longipes* and *Saccharina cichorioides*: Structural characteristics, anticancer and radiosensitizing activity *in vitro*. *Carbohydr. Polym.* 2019;221:157-165.
36. Hemmingson J.A., Falshaw R., Furneaux R.H., Thompson K. Structure and antiviral activity of the galactofucan sulfates extracted from *Undaria pinnatifida* (Phaeophyta). *J. Appl. Phycol.* 2006;18(2):185-193.
37. Chevolut L., Mulloy B., Ratiskol J., Foucault A., Collicec-Jouault S. A disaccharide repeat unit is the major structure in fucoidans from two species of brown algae. *Carbohydr. Res.* 2001;330(4):529-535.
38. Cao C., Zhang B., Li C., Huang Q., Fu X., Liu R.H. Structure and *in vitro* hypoglycemic activity of a homogenous polysaccharide purified from *Sargassum pallidum*. *Food Funct.* 2019;10:2828.
39. Luo D., Wang Z., Nie K. Structural characterization of a novel polysaccharide from *Sargassum thunbergii* and its antioxidant and anti-inflammation effects. *Plos One.* 2019;14(10). e0223198.
40. Murphy K.J., Merry C.L., Lyon M., Thompson J.E., Roberts I.S., Gallagher J.T. A new model for the domain structure of heparan sulfate based on the novel specificity of K5 lyase. *J. Biol. Chem.* 2004;279(26):27239-27245.
41. Van Kuppevelt T.H., Oosterhof A., Versteeg E.M., Podhumljak E., Van de Westerloo E.M., Daamen W.F. Sequencing of glycosaminoglycans with potential to interrogate sequence-specific interactions. *Sci. Rep.* 2017;7(1):1-9.
42. Davies G.J., Wilson K.S., Henrissat B. Nomenclature for sugar-binding subsites in glycosyl hydrolases. *Biochem. J.* 1997;321(2):557-559.

Научная статья
УДК 577.115+577.118
DOI: 10.31857/S0869769824030034
EDN: ISRZHA

Бурая водоросль *Costaria costata* – перспективный источник питательных веществ и биологически активных соединений

Т.И. Имбс [✉], О.С. Маляренко, И.Ю. Бакунина, Н.М. Шевченко,
В.В. Суриц, С.П. Ермакова [✉]

Татьяна Игоревна Имбс

кандидат химических наук, старший научный сотрудник
Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН,
Владивосток, Россия
tatyanaimbs@mail.ru

Олеся Сергеевна Маляренко

кандидат химических наук, старший научный сотрудник
Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН,
Владивосток, Россия
malyarenko.os@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-3262-0373>

Ирина Юрьевна Бакунина

доктор химических наук, ведущий научный сотрудник
Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН,
Владивосток, Россия
bakun@list.ru
<https://orcid.org/0000-0003-4039-5927>

Наталья Михайловна Шевченко

кандидат химических наук, старший научный сотрудник
Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН,
Владивосток, Россия
natalyshe@piboc.dvo.ru
<https://orcid.org/0000-0003-4780-835X>

Валерий Викторович Суриц

младший научный сотрудник
Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, В
ладивосток, Россия
suritsw@yandex.ru
<https://orcid.org/0009-0002-6585-2506>

Светлана Павловна Ермакова
доктор химических наук, доцент, заведующая лабораторией
Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН,
Владивосток, Россия
swetlana_e@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5905-2046>

Аннотация. Бурые водоросли являются богатым источником основных питательных веществ, включая углеводы, белки, минералы, полиненасыщенные липиды, а также ряд других полезных для здоровья соединений, способных воздействовать на широкий спектр заболеваний. Представлен обзор химического состава бурой водоросли *Costaria costata*, биологической активности выделенных из нее полисахарида фукоидана и флоротаннина – соединений, характерных только для бурых водорослей, а также эффектов, связанных с их потреблением.

Ключевые слова: *Costaria costata*, бурые водоросли, фукоиданы, флоротаннины

Для цитирования: Имбс Т.И., Маляренко О.С., Бакунина И.Ю., Шевченко Н.М., Суриц В.В., Ермакова С.П. Бурая водоросль *Costaria costata* – перспективный источник питательных веществ и биологически активных соединений // Вестн. ДВО РАН. 2024. № 3. С. 57–68. <http://dx.doi.org/10.31857/S0869769824030034>

Original article

Brown algae *Costaria costata* is a promising source of nutrients and biologically active compounds

T.I. Imbs, O.S. Malyarenko, I.Yu. Bakunina, N.M. Shevchenko,
V.V. Surits, S.P. Ermakova

Tatyana I. Imbs

Candidate of Sciences in Chemistry, Senior Researcher
G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS, Vladivostok, Russia
tatyanaimbs@mail.ru

Olesya S. Malyarenko

Candidate of Sciences in Chemistry, Senior Researcher
G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS, Vladivostok, Russia
malyarenko.os@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-3262-0373>

Irina Yu. Bakunina

Doctor of Sciences in Chemistry, Leading Researcher
G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS, Vladivostok, Russia
bakun@list.ru
<https://orcid.org/0000-0003-4039-5927>

Natalia M. Shevchenko

Candidate of Sciences in Chemistry, Senior Researcher
G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS, Vladivostok, Russia
natalyshe@piboc.dvo.ru
<https://orcid.org/0000-0003-4780-835X>

Valery V. Suris

Junior Researcher

G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS, Vladivostok, Russia
suritsw@yandex.ru

<https://orcid.org/0009-0002-6585-2506>

Svetlana P. Ermakova

Doctor of Sciences in Chemistry, Associate Professor, Head of the Laboratory,

G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS, Vladivostok, Russia
swsetlana_e@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0002-5905-2046>

Abstract. Brown algae are a rich source of essential nutrients, including carbohydrates, proteins, minerals, polyunsaturated lipids, as well as a number of other health-promoting compounds that can act on a wide range of diseases. An overview is presented of the chemical composition of the brown algae *Costaria costata*, the biological activity of the polysaccharide fucoidan and phlorotannin isolated from it – compounds characteristic only of brown algae, as well as the effects associated with their consumption.

Keywords: *Costaria costata*, brown alga, fucoidan, phlorotannin

For citation: Imbs T.I., Malyarenko O.S., Bakunina I.Yu., Shevchenko N.M., Surits V.V., Ermakova S.P. Brown algae *Costaria costata* is a promising source of nutrients and biologically active compounds. *Vestnik of the FEB RAS.* 2024;(3):57–68. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.31857/S0869769824030034>

Морские водоросли – доступный и возобновляемый источник питательных веществ, включая углеводы, белки, минералы, полиненасыщенные липиды, а также ряда низкомолекулярных биологически активных соединений, имеющих терапевтический потенциал. Благоприятное влияние водорослей на здоровье человека отмечено давно. Известно, что у японцев самая высокая средняя продолжительность жизни в мире, это отчасти связано с регулярным употреблением в пищу водорослей. В последние годы заметно вырос интерес к морским водорослям как источнику полезных для здоровья человека веществ. В мировой продовольственной политике водоросли рассматриваются как растительная пища будущего, а их регулярное потребление среди населения постоянно растет [1].

Бурые водоросли (Phaeophyta) составляют основу растительности морей Дальнего Востока России и включают наибольшее количество промысловых и потенциально промысловых видов, важнейшими из которых являются ламинариевые.

Бурая водоросль *Costaria costata* [Turn.] Saund – представитель семейства ламинариевых. Значительные запасы этой водоросли находятся у материкового побережья Приморского края, побережья о-ва Сахалин, Камчатки, Японии, Кореи. Растет *C. costata* в нижней литорали и в сублиторали, в открытых и полузакрытых участках побережья [2].

В обзоре мы представляем бурую водоросль *C. costata* как перспективный источник питательных веществ и полезных для здоровья биологически активных соединений. Химический состав и биологическое действие отдельных веществ водоросли *C. costata*, собранной у материкового побережья Приморского края, изучали в лабораториях Тихоокеанского института биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН (ТИБОХ ДВО РАН).

C. costata – однолетнее растение, имеющее короткий вегетационный период. Наиболее активно водоросль растет с января по апрель и достигает максимального размера в первой половине лета. В мае–июне начинает появляться спорозная ткань. В июне–июле у берегов Приморья завершается созревание зооспор водоросли и происходит их рассеивание; к августу слоевища водоросли разрушаются [3]. Высокая скорость роста, ранние сроки созревания и, как следствие, доминирующее положение в сообществе водорослей делают этот вид удобным объектом для марикультуры и перспективным для промышленной переработки [4].

По своему химическому составу бурые водоросли значительно отличаются от водорослей других отделов и наземных растений. Они содержат уникальные по структуре и биологическому действию соединения, среди которых важное место занимают полисахариды: ламинараны (1→3;1→6-β-D-глюканы), альгинаты (сополимеры маннуроносовой и гулууроносовой кислот) и фукоиданы (сульфатированные полисахариды, содержащие α-L-фукозу), а также

полифенольные соединения флоротаннины – полимерные производные флороглюцина, которые встречаются только в бурых водорослях. Известно, что содержание и качественный состав полисахаридов и полифенолов подвержен межвидовым и сезонным вариациям.

Как и в других макроводорослях, в бурых водорослях углеводы являются преобладающим по количественным показателям компонентом, выполняя различные функции: структурную, резервную, слизиобразующую. Большая их часть состоит из пищевых волокон, т.е. растворимых полисахаридов, которые не перевариваются и не всасываются в желудочно-кишечном тракте человека [5]. Таким образом, бурые водоросли – богатый источник пищевых волокон, которые могут играть важную роль в улучшении здоровья желудочно-кишечного тракта человека, регулируя кишечный поток, стимулируя рост благоприятной микробиоты, предотвращая рак толстого кишечника. Также могут участвовать в регулировании уровня глюкозы и холестерина в сыворотке крови, тем самым снижая риск сердечно-сосудистых заболеваний [6].

Основными компонентами пищевых волокон в бурых водорослях выступают полисахариды: альгиновая кислота и ее соли, фукоиданы и ламинараны.

Альгинаты – преобладающие полисахариды в бурых водорослях (до 24–26 % сухих веществ – СВ). Они обнаружены в составе клеточных стенок, где играют структурную роль, обеспечивая гибкость водоросли.

По химической структуре альгиновые кислоты – это семейство неразветвленных бинарных сополимеров, состоящих из остатков β -D-маннуриновой (M) и α -L-гулуриновой (G) кислот, соединенных (1→4)-связями [7]. Остатки маннуриновой кислоты образуют связи, которые придают сегментам M-блока линейную и гибкую конформацию, тогда как гулуриновая кислота образует связи, которые обеспечивают жесткую структуру сегментов G-блока. При этом в G-блоках создаются пространственные условия для прочного связывания двухвалентных катионов металлов. Координация с такими катионами приводит к кооперативному связыванию друг с другом разных молекул полимера, образуя так называемую egg-box структуру, придавая гелеобразующие свойства альгинатам. Следовательно, длина G-блоков в этом полисахариде является определяющей для механических и функциональных свойств гелей [8].

В бурой водоросли *C. costata* альгинаты (ACc) также составляют основную часть полисахаридов (до 23 % СВ) [4]. Показано, что с апреля по июль содержание альгината увеличивалось с 15,6 до 20,6 % СВ. Сезон сбора водоросли существенно влиял на мономерный состав альгинатов. В апрельских сборах в альгинатах обнаружили преимущественно D-маннуриновую кислоту, а в июльских доля L-гулуриновой кислоты увеличивалась до 32 %. Соотношение M/G изменялось от 2,63 в апреле до 1,87 в июле [7], в августе из камчатской водоросли выделили альгинат с соотношением M/G равным 1,55 [9].

Содержание ламинарана, резервного полисахарида, в *C. costata* было незначительно: с мая по июль оно увеличилось в 3,5 раза, но не превышало 0,01 % СВ. Ламинаран имел структуру, типичную для представителей 1→3;1→6- β -D глюканов. Соотношение между 1→3- и 1→6-связанными остатками β -D-глюкопиранозы составило 5:1. Молекулярная масса ламинарана *C. costata* 4,4 кДа [7]. Кроме ламинарана функцию резервных углеводов водоросли выполняет маннит. В *C. costata* содержание маннита с мая по июль существенно не изменялось и составляло 14 % СВ [10, 4].

Фукоиданы – сульфатированные полисахариды бурых водорослей представляют собой структурно разнообразную группу, неизменно и часто главным компонентом молекул большинства из них служат остатки α -L-фукозы, этирифицированной серной кислотой.

В процессе вегетации *C. costata* содержание фукоидана в водоросли увеличивалось в 5 раз, одновременно происходили существенные изменения в моносахаридном составе и заряде полисахарида. Из майской водоросли был выделен низкосульфатированный фукоглюкурономаннан (ФГМ) гетерогенный по моносахаридному составу (фукоза – 23 %, манноза – 37 %, глюкуроновая кислота – 16 % от суммы моносахаридов). Из генеративных растений выделили галактофукан (ГФ), высокосульфатированный (23,8 % веса фракции) и частично ацетилованный. Фукоза и галактоза в соотношении 1,0:0,3 составили около 90 % суммы моносахаридов [11].

Структуры фукоиданов были определены масс-спектрометрическим анализом низкомолекулярных олигосахаридных фрагментов, полученных автогидролизом галактофукана

и среднекислотным гидролизом фукоглокурономаннана. Было показано, что ГФ построен в основном из сульфатированных в положениях С-2, иногда С-4 и частично ацетилированных (1→3)-связанных остатков L-фукозы, аналогичные фракции фукоидана характерны для отряда Laminariales [12–14]. Остатки галактозы были сульфатированы в основном в положении С-2 и С-6 и обнаружены в (1→3)-связанных, смешанных с фукозой ди- и трисахаридах, расположенных на обоих концах и даже находящихся внутри смешанных трисахаридов [15].

Фукоглокурономаннан имел гетерогенный моносахаридный состав и более низкое содержание сульфатов (15,4 %), как и ФГМ, выделенный из *Saccharina latissima* [13], α-L-фукоза была основным компонентом, но другие сахара – галактоза, манноза и глюконовая кислота – также количественно присутствовали в полисахариде. Остатки фукозы и галактозы были сульфатированы преимущественно по С-2, а иногда и по С-4. Устойчивая к кислотному гидролизу фракция содержала ядро, построенное из остатков глюконовой кислоты (GlcA), маннозы и/или (1→3)-связанных между собой остатков GlcA, как и фукоидан из *S. latissima* [13]. В гидролизате обнаружены короткие моносульфатированные, образованные через (1→3)- и/или (1→4)-связи фукоолигосахариды, иногда оканчивающиеся (1→3)-связанными остатками Gal и, вероятно, представляющие собой точки ветвления на С-4 GlcA в ядре, так как были обнаружены фрагменты Fuc-(1→4)-GlcA. Предположительно, фукоидан имел также дополнительные точки ветвления на С-4 ядра GlcA, образованные через (1→4)- или (1→6)-связи галактоолигосахаридами, которые гидролизировались в выбранных условиях. Анализ литературы показал, что биологические свойства фукоиданов обусловлены структурой их основной цепи, содержанием и расположением сульфатных и ацетатных групп [14].

Была исследована *in vitro* противоопухолевая активность выделенных полисахаридов на клетках рака толстого кишечника человека DLD-1 и HT-29. Показано, что альгинат АСс и фукоиданы ФГМ и ГФ в концентрациях до 800 мкг/мл не проявляли цитотоксического действия по отношению к клеткам DLD-1 и HT-29, а в концентрации 400 мкг/мл в разной степени ингибировали формирование и рост колоний исследуемых клеток. Фукоглокурономаннан ингибировал наиболее эффективно формирование колоний клеток DLD-1 (на 68 %) и HT-29 (на 93 %), ГФ – ингибировал на 66 % в обоих случаях, а АСс подавлял рост колоний клеток DLD-1 и HT-29 на 37 % и 22 % соответственно (наши неопубликованные данные). Галактофукан из *S. costata*, собранной у побережья Кореи, в аналогичном эксперименте на 55 % ингибировал формирование колонии клеток DLD-1, а на формирование колоний клеток меланомы человека SK-MEL-28 практически не оказывал влияния [16].

Изучено действие ГФ из *S. costata* на матриксную металлопротеиназу 1 (ММР-1) в клетках иммортализованных кератиноцитов человека (HaCaT). ГФ из *S. costata* ингибировал экспрессию мРНК ММР-1, индуцированную UVB в исследуемых клетках, на 37,3, 53,3 и 58,5 % при концентрациях 0,01, 0,1 и 1 мкг/мл соответственно по сравнению с контролем. Галактофукан *S. costata* может быть потенциальным терапевтическим средством для предотвращения и лечения фотостарения кожи [17].

Изучено действие полисахаридов из *S. costata* против вирусов иммунодефицита человека (ВИЧ-1) [18] и клещевого энцефалита (КЭ) [19] *in vitro*. Противовирусную ВИЧ-1 активность фукоиданов из различных бурых водорослей (*Saccharina cichorioides*, *S. costata*, *Fucus evanescens*, *Saccharina gurjanovae*, *Alaria ochotensis* и *Saccharina japonica*) исследовали с использованием двух модельных вирусных систем на основе лентивирусных векторов и вируса лейкоза мышей Молони (Mo-MuLV). Было показано, что исследуемые фукоиданы не оказывали цитотоксического действия на клетки Jurkat и SC-1 в диапазоне концентраций 0,001–100 мкг/мл. Фукоиданы с разной эффективностью подавляли трансдукцию клеточной линии Jurkat частицами псевдо-ВИЧ-1, несущими оболочечный белок ВИЧ-1, и инфицирование клеток SC-1 вирусом Mo-MuLV. Установлено, что ГФ из *S. costata* и все исследованные фукоиданы можно рассматривать как потенциальные анти-ВИЧ-агенты независимо от их структурных характеристик, поскольку фукоиданы проявляли активность в низких концентрациях (0,001–0,05 мкг/мл) [18].

Изучено действие фукоиданов из бурых водорослей *Laminaria japonica*, *Laminaria cichorioides*, *F. evanescens* и *S. costata* на культуре клеток почки эмбриона свиньи (СПЭВ), инфицированных вирусом клещевого энцефалита [19]. Установлено, что фукоиданы обладают вирулицидным действием в отношении высокопатогенного штамма вируса клещевого энце-

фалита, а также способностью подавлять адсорбцию и репликацию вируса на ранних стадиях развития инфекции *in vitro*. При предварительной обработке вируса галактофуканом из *S. costata* (100, 500, 1000 мкг/мл) препарат способствовал значительному снижению титра вируса, а при исследовании протективного действия ГФ в этих же концентрациях подавлял цитопатическое действие вируса КЭ. Предполагается, что противовирусная активность ГФ может быть обусловлена ингибированием адсорбции и последующей репликации вирусов в клетках за счет конкурентного лиганд-рецепторного взаимодействия с гликопротеином вируса, что препятствует слиянию клеточной и вирусной мембран и способствует созданию защиты клеток [19].

Другие биологически активные соединения, которые встречаются только в бурых водорослях, – флоротаннины. Мономерной единицей флоротаннинов является флороглюцин (1,3,5-тригидроксibenзол). При соединении остатков флороглюцина через связи С-С и/или С-О-С образуются полимерные молекулы флоротаннинов с разнообразными структурами. Основываясь на типе связи мономеров, флоротаннины можно разделить на четыре класса: фугалолы и флоретолы (эфирная связь), фуколы (фенильная связь), фукофлоретолы (эфирные и фенильные связи), а также эколы и кармалола (дибензодиоксиновая связь). Внутри каждого класса связывание мономеров между собой может происходить по различным положениям флороглюцинольного кольца, в результате образуются структурные изомеры в дополнение к конформационным [20]. В бурых водорослях содержание флоротаннинов достигает 15 % от сухих веществ [21]. Предполагается, что флоротаннины содержатся внутри клеточной вакуоли, называемой физодом [22]. Основная роль флоротаннинов заключается в защите водорослей от оксидативного стресса [23], от поедания морскими животными и пр. [24].

Как показано в ряде исследований, флоротаннины бурых водорослей и обогащенные флоротаннинами экстракты проявляют мощную антиоксидантную активность [25, 26]. Флоротаннины водорослей известны как ингибиторы гликозидгидролаз, в том числе α -амилаз и α -глюкозидаз, влияющих на развитие гипергликемии при диабете второго типа и ожирении [27], как ингибиторы фермента холинэстеразы, участвующего в клинической картине болезни Альцгеймера [28], фермента гиалуронидазы, участвующего в аллергических реакциях, метастазировании рака и воспалительных процессах [29].

Из *S. costata* выделили фракцию флоротаннинов со степенью полимеризации 12–25 мономеров, относящихся к классу флоретолов (СсPh) [30]. Флоретол ингибировал действие рекомбинантной фукоиданазы FFA2 из морской бактерии *Formosa algae* КММ 3553^Т, выполняя защитную функцию водорослей от поедания морскими травоядными или от микробного загрязнения.

Было исследовано противораковое и радиосенсибилизирующее действие высокомолекулярного флоретоло СсPh *in vitro* на клетках рака толстого кишечника человека НСТ 116 и НТ-29. Флоретол СсPh обладал цитотоксической активностью в отношении клеток НТ-29 ($IC_{50} = 92$ мкг/мл) и НСТ 116 ($IC_{50} = 94$ мкг/мл). СсPh в нетоксичных концентрациях (5 мкг/мл) ингибировал самопроизвольное образование колоний в исследуемых клетках и значительно повышал их чувствительность к низким нетоксичным дозам рентгеновского облучения (2 Гр). Показано, что флоретолы водорослей могут быть перспективными кандидатами в качестве радиосенсибилизаторов для улучшения схемы лучевой терапии [31].

Фракция флоретоло СсPh, выделенная из бурых водорослей *S. costata*, оказалась эффективным морским природным ингибитором иммуносупрессорной α -N-ацетилгалактозаминидазы (α -NaGalase), продуцируемой раковыми клетками аденокарциномы двенадцатиперстной кишки HuTu 80 и меланомы SK-MEL-28 человека. *In silico* было показано, что олигофлоретолы прочно связываются с активным центром лизосомальной α -NaGalase человека, причем концевые остатки олигофлоретолов входят в активный центр фермента и занимают каталитический центр между Asp 156 и Asp 217. Результаты этой работы высветили понимание одного из аспектов противораковой активности этой группы морских соединений. Таким образом, флоретол СсPh обладает высоким фармацевтическим и терапевтическим потенциалом [32].

Белковая фракция бурых водорослей, как правило, невелика – 4–14 % [4], только в отдельных видах, таких как *Undaria*, содержание белков достигает 24 % СВ [33]. Тем не менее содержание белков в бурых водорослях выше по сравнению с сырым горошком или фасолью (6,4 % и 7,4 % СВ соответственно), которые обычно считаются поставщиками

растительного белка с высоким его содержанием. В *S. costata* содержание белков составило 5–8 % СВ. В составе белков бурых водорослей содержится 17 аминокислот, из них 9 незаменимых [4]. Профиль аминокислот также является важным аспектом, поскольку каждая отдельная аминокислота может выполнять определенную роль в организме. Например, аспарагиновая кислота и глицин ответственны за формирование новых тканей и регуляцию нервной системы, лизин и изолейцин важны для иммунной системы, а фенилаланин – для функции щитовидной железы. Качественная особенность белков бурых водорослей состоит в том, что они содержат тирозин – предшественник моно- и дийодоаминокислот, участвующих в синтезе фермента щитовидной железы тироксина [4]. Свободные аминокислоты (САК) составляют до 50 % от суммы аминокислот в бурых водорослях. В *S. costata* среди свободных аминокислот преобладали аланин, глутаминовая кислота и пролин (50, 14 и 14 % суммы САК соответственно) [10]. Высокое содержание глутаминовой кислоты очень важно для развития особого аромата и вкуса морских водорослей, поскольку эта аминокислота определяет вкусовые ощущения умами [34].

Общее содержание липидов в морских водорослях, как правило, невелико – до 6 % СВ, что в практическом смысле делает их вклад как источника пищевой энергии незначительным [35]. В водорослях это содержание имеет сезонную динамику: выше – зимой и весной, ниже – летом [36]. Основную часть жирных кислот (ЖК) составляют полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК), которые являются незаменимыми жирными кислотами, имеющими первостепенное значение для метаболизма человека [37]. ПНЖК представляют особый интерес из-за их благоприятного воздействия на здоровье человека, особенно при рассмотрении ω 3-жирных кислот. Как известно, ω 3-жирные кислоты обладают противовоспалительной и антиоксидантной активностью, что может способствовать их благотворному воздействию на сердце, в то время как большинство ω 6-жирных кислот (предшественники арахидоновой кислоты и простагландина E2) имеют тенденцию способствовать воспалению [38]. Поэтому важно поддерживать соответствующий баланс между ω 6 и ω 3 в рационе, чтобы снизить риск развития ряда заболеваний и поддерживать здоровое состояние организма. По данным Симопулоса и др. [39], оптимальное соотношение ω 6/ ω 3 составляет 2–5:1, но в западной культуре питания из-за высокого потребления рафинированных масел, богатых ω 6, фактическое соотношение составляет 15–17:1.

В *S. costata* липиды составляли небольшую долю (10,9–13,4 % экстрактивных сырых веществ). Максимум в содержании липидов наблюдали в мае в период подготовки водоросли к спороношению. Полярные липиды (глицерогликолипиды и фосфолипиды) составляли основную часть липидов в это время, а нейтральные липиды были главными в июле. Весной при низкой температуре, низком уровне освещенности и в стадии активного роста водоросли в сумме ЖК преобладали ПНЖК, а в составе ПНЖК – относящиеся к ω 3-серии стеарионовая и эйкозопентаеновая кислоты. Арахидоновая и линолевая кислоты были главными жирными кислотами ω 6-серии. Отношение суммы ПНЖК ω 6/ ω 3 составило от 0,5:1 (в апреле) до 1,4:1 (в июле) [40].

Как и другие бурые водоросли, *S. costata* богата сочетанием макро- и микроэлементов, включая Na, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, Mn и I. Натрий и калий являются основными элементами среди них. Их концентрации, например в экстракте майской водоросли, 0,052 и 0,077 мг/100 мл экстракта соответственно. Соотношение Na/K = 0,68 [10]. Потребление продуктов с высоким соотношением Na/K, типичных для современных «европейских» диет, как известно, связано с более высокой заболеваемостью гипертонией [41], и, следовательно, продукты с низким соотношением Na/K могут регулировать диетический дисбаланс Na/K. Эта характеристика является одним из основных преимуществ использования *S. costata* и других бурых водорослей в пищу. Бурые водоросли – природный источник йода. Йод в водорослях содержится в различных формах: органический йод в виде дийодоаминокислот, минеральный – в виде йодатов и йодитов калия. Содержание этого микроэлемента в *S. costata* может варьировать от 0,1 до 0,6 % СВ, при этом максимальная концентрация обнаружена в зрелых водорослях [4]. По мнению Моро и Базиля [42], этот элемент является важным действующим веществом, поскольку он играет активную роль в выработке гормонов щитовидной железы, которые, в свою очередь, ответственны за активацию метаболизма в большинстве тканей и, как следствие, всего организма [43].

Заключение

Бурая водоросль *C. costata*, как и другие представители бурых водорослей, является источником питательных веществ с высокой пищевой ценностью и низкой калорийностью, поскольку содержание липидов в ней невелико, а углеводы представлены полисахаридами с низкой биодоступностью. Хотя содержание питательных веществ в *C. costata* зависит от сезонных и других изменений, она остается источником пищевых волокон, представленных фукоиданами и альгиновой кислотой, богатых минеральным составом, где Na и K содержатся в значительном количестве, но в нужной пропорции, что важно для регулирования дисбаланса Na/K в диетах. Кроме того, эта водоросль способна накапливать высокие концентрации йода, дефицит которого наблюдается во многих регионах нашей страны и который очень важен для нормальной функции щитовидной железы. Хотя бурые водоросли не так богаты белком по сравнению с красными или зелеными водорослями, уровень белка в них все же выше, чем у некоторых наземных растений, обычно считающихся поставщиками растительного белка, и они содержат все девять незаменимых аминокислот. Несмотря на низкое содержание липидов, в липидном профиле много ПНЖК с очень низким соотношением $\omega 6/\omega 3$, в отличие от того, что в настоящее время наблюдается в традиционных диетах. *C. costata* также является ценным источником биологически активных соединений, которые можно использовать для разработки природных агентов терапевтического применения. Среди них можно выделить фукоиданы и флоротаннины, которые в последние годы привлекли большое внимание из-за их терапевтического потенциала. Эти соединения показали хорошие антиоксидантные эффекты за счет удаления активных форм кислорода (АФК) или усиления внутриклеточной антиоксидантной защиты, а также противоопухолевые и противовирусные эффекты.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Cardoso S.M., Pereira O.R., Seca A.M.L. et al. Seaweeds as preventive agents for cardiovascular diseases: From nutrients to functional foods // *Mar. Drugs*. 2015. Vol.13. P. 6838–6865.
2. Белоус О.С., Титлянова Т.В., Титлянов Э.Я. Морские растения бухты Троицы и смежных акваторий (залив Петра Великого, Японское море). Владивосток: Дальнаука, 2013. 264 с.
3. Денисова А.В., Крупнова Т.Н. Перспективы культивирования костарии ребристой (*Costaria costata*) // Тезисы докладов четвертой международной научно-практической конференции «Морские прибрежные экосистемы. Водоросли, беспозвоночные и продукты их переработки», 19–22 сентября 2011 года, г. Южно-Сахалинск. Южно-Сахалинск: СахНИРО, 2011. С. 176–177.
4. Суховеева М.В., Подкорытова А.В. Промысловые водоросли и травы морей Дальнего Востока: биология, распределение, запасы, технология переработки. Владивосток: ТИПРО-Центр, 2006. 244 с.
5. Dawczynski C., Schubert R., Jahreis G. Amino acids, fatty acids, and dietary fiber in edible seaweed products // *Food Chem*. 2007. Vol. 103. P. 891–899.
6. Patarra R.F., Paiva L., Neto A.I. et al. Nutritional value of selected macroalgae // *J. Appl. Phycol*. 2011. Vol. 23. P. 205–208.
7. Имбс Т.И., Шевченко Н.М., Суховерхов С.В. и др. Сезонные изменения состава и структурные характеристики полисахаридов бурой водоросли *Costaria costata* // *Химия природных соединений*. 2009. № 6. С. 661–665.
8. Deniaud-Bouët E., Kervarec N., Michel G. et al. Chemical and enzymatic fractionation of cell walls from Fucales: Insights into the structure of the extracellular matrix of brown algae // *Ann. Bot*. 2014. Vol. 114. P. 1203–1216.
9. Усов А.И., Кошелева Е.А., Яковлев А.П. Полисахаридный состав некоторых бурых водорослей Японского моря // *Биоорг. химия*. 1985. Т. 11, № 6. С. 830–836.
10. Имбс Т.И., Красовская Н.П., Ермакова С.П. и др. Сравнительное исследование химического состава и противоопухолевой активности водно-этанольных экстрактов бурых водорослей *Laminaria cichorioides*, *Costaria costata* и *Fucus evanescens* // *Биология моря*. 2009. Т. 35, № 2. С. 140–146.
11. Имбс Т.И. Полисахариды и низкомолекулярные метаболиты некоторых массовых видов бурых водорослей морей Дальнего Востока России. Способ комплексной переработки водорослей: дис. ... канд. хим. наук / ТИБОХ. Владивосток, 2010. 122 с.

12. Anastyuk S.D., Shevchenko N.M., Nazarenko E.L. et al. Structural analysis of a highly sulfated fucan from the brown alga *Laminaria cichorioides* by tandem MALDI and ESI mass spectrometry // Carbohydr. Res. 2010. Vol. 345, N15. P. 2206–2212.
13. Bilan M.I., Grachev A.A., Shashkov A.S., Kelly M. et al. Further studies on the composition and structure of a fucoidan preparation from the brown alga *Saccharina latissima* // Carbohydr. Res. 2010. Vol. 345, N14. P. 2038–2047.
14. Cumashi A., Ushakova N.A., Preobrazhenslaya N.E., D’Incecco A. et al. A comparative study of the anti-inflammatory, anticoagulant, antiangiogenic, and antiadhesive activities of nine different fucoidans from brown seaweeds // Glycobiology. 2007. Vol. 17. P. 541–552.
15. Anastyuk S.D., Imbs T.I., Shevchenko N.M. et al. ESIMS analysis of fucoidan preparations from *Costaria costata*, extracted from alga at different life-stages // Carbohydr. Polym. 2012. Vol. 90. P. 993–1002.
16. Ermakova S.P., Sokolova R.V., Kim S.-M. et al. Fucoidan from brown seaweeds *Sargassum hornery*, *Eclonia cava*, *Costaria costata* structural characteristics and anticancer activity // Appl. Biochem. Biotechnol. 2011. Vol. 164. P. 841–850.
17. Moon H.J., Park K.S., Ku M.J. et al. Effect of *Costaria costata* fucoidan on expression of matrix metalloproteinase-1 promoter, mRNA, and protein // J. Nat. Prod. 2009. Vol.72. P. 1731–1734.
18. Prokofjeva M.M., Imbs T.I., Shevchenko N.M. et al. Fucoidans as potential inhibitors of HIV-1 // Mar. Drugs. 2013. Vol. 11, N8. P. 3000–3014.
19. Макаренкова И.Д., Леонова Г.Н., Майстровская О.С. и др. Противовирусная активность сульфатированных полисахаридов из бурых водорослей при экспериментальном клещевом энцефалите: связь структуры и функции // Тихоокеан. мед. журн. 2012. Т. 1. С. 44–46.
20. Martínez J.H.I., Castañeda H.G.T. Preparation and chromatographic analysis of phlorotannins // J. Chromatogr. Sci. 2013. Vol. 51. P. 825–838.
21. Ragan M.A., Glombitza K.W. Phlorotannins, brown algal polyphenols // Prog. Phycol. Res. 1986. Vol. 4. P. 129–241.
22. Имбс Т.И., Звягинцева Т.Н. Флоротаннины – полифенольные метаболиты бурых водорослей // Биология моря. 2018. Т. 44, № 4. С. 217–227.
23. Tierney M.S., Soler-Vila A., Rai D.K. et al. UPLC-MS profiling of low molecular weight phlorotannin polymers in *Ascophyllum nodosum*, *Pelvetia canaliculata* and *Fucus spiralis* // Metabolomics. 2014. Vol. 10. P. 524–535.
24. Сильченко А.С., Имбс Т.И., Звягинцева Т.Н. и др. Метаболиты бурых водорослей – ингибиторы фукондан-гидролаз морских организмов // Химия природ. соединений 2017. № 2. С. 291–295.
25. Ferreres F., Lopes G., Gil-Izquierdo A. et al. Phlorotannin extracts from Fucales characterized by HPLC-DAD-ESI-MSn: approaches to hyaluronidase inhibitory capacity and antioxidant properties // Mar. Drugs. 2012. Vol. 10. P. 2766–2781.
26. Tierney M.S., Smyth T.J., Rai D.K. et al. Enrichment of polyphenol contents and antioxidant activities of Irish brown macroalgae using food-friendly techniques based on polarity and molecular size // Food Chem. 2013. Vol. 139. P. 753–761.
27. Krentz A.J., Bailey C.J. Oral antidiabetic agents: current role in type 2 diabetes mellitus // Drugs. 2005. Vol. 65. P. 385–411.
28. Yoon N.Y., Lee S.-H., Yong-Li, Kim S.-K. Phlorotannins from *Ishige okamurae* and their acetyl and butyrylcholinesterase inhibitory effects // J. Funct. Foods. 2009. Vol. 1. P. 331–335.
29. Shibata T., Fujimoto K., Nagayama K. et al. Inhibitory activity of brown algal phlorotannins against hyaluronidase // Int. J. Food Sci. Technol. 2002. Vol. 37. P. 703–709.
30. Imbs T.I., Silchenko A.S., Fedoreev S.A. et al. Fucoidanase inhibitory activity of phlorotannins from brown algae // Algal Res. 2018. Vol. 32. P. 54–59.
31. Malyarenko O.S., Imbs T.I., Ermakova S.P. *In vitro* anticancer and radiosensitizing activities of phlorethols from the brown alga *Costaria costata* // Molecules. 2020. Vol. 25. P. 115–122. 3208.
32. Bakunina I., Imbs T., Likhatskaya G. et al. Effect of phlorotannins from brown algae *Costaria costata* on α -N-acetylgalactosaminidase produced by duodenal adenocarcinoma and melanoma cells // Mar. Drugs. 2023. Vol. 21, N33. P. 1–18.
33. Holdt S.L., Kraan S. Bioactive compounds in seaweed: Functional food applications and legislation // J. Appl. Phycol. 2011. Vol. 23. P. 543–597.
34. Ninomiya K. Science of umami taste: Adaptation to gastronomic culture // Flavour. 2015. Vol. 4. P. 13.

35. Хотимченко С.В. Липиды морских водорослей-макрофитов и трав. Структура, распределение, анализ. Владивосток: Дальнаука, 2003. 234 с.
36. Nelson M.M., Phleger C.F., Nichols P.D. Seasonal lipid composition in macroalgae of the north-eastern Pacific Ocean // *Bot. Mar.* 2002. Vol. 45. P. 58–65.
37. Pereira H., Barreira L., Figueiredo F. et al. Polyunsaturated fatty acids of marine macroalgae: Potential for nutritional and pharmaceutical applications // *Mar. Drugs.* 2012. Vol. 10. P. 1920–1935.
38. Simopoulos A.P. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids // *Biomed. Pharmacother.* 2002. Vol. 56. P. 365–379.
39. Simopoulos A. The importance of the omega-6 /omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases // *Exp. Biol. Med.* 2008. Vol. 233. P. 674–688.
40. Герасименко Н.И., Бусарова Н.Г., Моисеенко О.П. Сезонные изменения в содержании липидов, жирных кислот и пигментов бурой водоросли *Costaria costata* // *Физиол. растений.* 2010. Т. 57, № 2. С. 217–223.
41. Adrogué H.J., Madias N.E. The impact of sodium and potassium on hypertension risk // *Semin. Nephrol.* 2014. Vol. 34. P. 257–272.
42. Moro C.O., Basile G. Obesity and medicinal plants // *Fitoterapia.* 2000. Vol. 71. P. S73–S82.
43. Küpper F.C., Feiters M.C., Olofsson B. et al. Commemorating two centuries of iodine research: An interdisciplinary overview of current research // *Angew. Chem. Int. Ed.* 2011. Vol. 50. P. 11598–11620.

REFERENCES

1. Cardoso S.M., Pereira O.R., Seca A.M.L., Pinto D.C.G.A., Silva A.M.S. Seaweeds as preventive agents for cardiovascular diseases: From nutrients to functional foods. *Marine Drugs.* 2015;13:6838–6865.
2. Belous O.S., Titlyanova T.V., Titlyanov E. Ya. Morskie rasteniya bukhty Troitsy i smezhnykh akvatorii (zaliv Petra Velikogo, Yaponskoe more) = [Marine plants of Troitsy Bay and adjacent water areas (Peter the Great Bay, Sea of Japan)]. Vladivostok: Dal'nauka; 2013. 264 p. (In Russ.).
3. Denisova A.V., Krupnova T.N. Perspektivy kul'tivirovaniya kostarii rebristoi (*Costaria costata*) = [Prospects for cultivating *Costaria costata*]. Tezisy dokladov chetvertoi mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii «Morskie pribrezhnye ehkosistemy. Vodorosli, bespozvonochnye i produkty ikh pererabotki», Yuzhno-Sakhalinsk, 19–22 sentyabrya 2011 = [Abstracts of reports of the fourth international scientific and practical conference *Marine coastal ecosystems. Algae, invertebrates and their products.* Yuzhno-Sakhalinsk, 2011, 19–22 september]. Yuzhno-Sakhalinsk; 2011. P. 176–177. (In Russ.).
4. Sukhoveeva M.V., Podkorytova A.V. Promyslovye vodorosli i travy morei Dal'nego Vostoka: biologiya, raspredelenie, zapasy, tekhnologiya pererabotki = [Commercial algae and grasses of the seas of the Far East: biology, distribution, reserves, processing technology]. Vladivostok: TINRO-Tsentr; 2006. 244 p. (In Russ.).
5. Dawczynski C., Schubert R., Jahreis G. Amino acids, fatty acids, and dietary fiber in edible seaweed products. *Food Chemistry.* 2007;103:891–899.
6. Patarra R.F., Paiva L., Neto A.I. et al. Nutritional value of selected macroalgae. *Journal of Applied Phycology.* 2011;23:205–208.
7. Imbs T.I., Shevchenko N.M., Sukhoverkhov S.V. et al. Seasonal variations of the composition and structural characteristics of polysaccharides from the brown alga *Costaria costata*. *Chemistry of Natural Compounds.* 2009;45(6):786–791.
8. Deniaud-Bouët E., Kervarec N., Michel G. et al. Chemical and enzymatic fractionation of cell walls from Fucales: Insights into the structure of the extracellular matrix of brown algae. *Annals of Botany.* 2014;114:1203–1216.
9. Usov A.I., Kosheleva E.A., Yakovlev A.P. Polysaccharide composition of several brown algae of the Japan Sea. *Bioorganicheskaya Khimiya.* 1985;11(6):830–836. (In Russ.).
10. Imbs T.I., Krasovskaya N.P., Ermakova S.P. et al. Comparative study of chemical composition and antitumor activity of aqueous-ethanol extracts of brown algae *Laminaria cichorioides*, *Costaria costata*, and *Fucus evanescens*. *Russian Journal of Marine Biology.* 2009;35(2):164–170.
11. Imbs T.I. Polisakharidy i nizkomolekulyarnye metabolity nekotorykh massovykh vidov burykh vodoroslei morei Dal'nego Vostoka Rossii. Sposob kompleksnoi pererabotki vodoroslei: dis. kand. khim. nauk (dissertatsiya kandidata khimicheskikh nauk) = [Polysaccharides and low-molecular metabolites

of some common species of brown algae in the seas of the Russian Far East. Method for complex processing of algae: dissertation of a Candidate of Chemical Sciences] / PIBOC. Vladivostok; 2010. 122 p. (In Russ.).

12. Anastyuk S.D., Shevchenko N.M., Nazarenko E.L. et al. Structural analysis of a highly sulfated fucan from the brown alga *Laminaria cichorioides* by tandem MALDI and ESI mass spectrometry. *Carbohydrate Research*. 2010;345(15):2206–2212.

13. Bilan M.I., Grachev A.A., Shashkov, A.S., Kelly M. et al. Further studies on the composition and structure of a fucoidan preparation from the brown alga *Saccharina latissima*. *Carbohydrate Research*. 2010;345(14):2038–2047.

14. Cumashi A., Ushakova N.A., Preobrazhenslaya N.E., D’Incecco A. et al. A comparative study of the anti-inflammatory, anticoagulant, antiangiogenic, and antiadhesive activities of nine different fucoidans from brown seaweeds. *Glycobiology*. 2007;17:541–552.

15. Anastyuk S.D., Imbs T.I., Shevchenko N.M. et al. ESIMS analysis of fucoidan preparations from *Costaria costata*, extracted from alga at different life-stages. *Carbohydrate Polymers*. 2012;90:993–1002.

16. Ermakova S.P., Sokolova R.V., Kim S.-M. et al. Fucoidan from brown seaweeds *Sargassum hornery*, *Eclonia cava*, *Costaria costata* structural characteristics and anticancer activity. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2011;164:841–850.

17. Moon H.J., Park K.S., Ku M.J. et al. Effect of *Costaria costata* fucoidan on expression of matrix metalloproteinase-1 promoter, mRNA, and protein. *Journal of Natural Products*. 2009;72:1731–1734.

18. Prokofjeva M.M., Imbs T.I., Shevchenko N.M. et al. Fucoidans as Potential Inhibitors of HIV-1. *Marine Drugs*. 2013;11(8):3000–3014.

19. Makarenkova I.D., Leonova G.N., Maystrovkaya O.S. et al. Antiviral effect of brown algae-derived sulphated polysaccharides in case of experimental tick-borne encephalitis: tying structure and function. *Pacific Medical Journal*. 2012;1:44–46. (In Russ.).

20. Martínez J.H.I., Castañeda H.G.T. Preparation and chromatographic analysis of phlorotannins. *Journal of Chromatographic Science*. 2013;51:825–838.

21. Ragan M.A., Glombitza K.W. Phlorotannins, brown algal polyphenols. *Progress in Phycological Research*. 1986;4:129–241.

22. Imbs T.I., Zvyagintseva T.N. Phlorotannins are polyphenolic metabolites of brown algae. *Russian Journal of Marine Biology*. 2018;44(4):217–227. (In Russ.).

23. Tierney M.S., Soler-Vila A., Rai D.K. et al. UPLC-MS profiling of low molecular weight phlorotannin polymers in *Ascophyllum nodosum*, *Pelvetia canaliculata* and *Fucus spiralis*. *Metabolomics*. 2014;10:524–535.

24. Silchenko A.S., Imbs T.I., Zvyagintseva T.N. et al. Brown alga metabolites – inhibitors of marine organism fucoidan hydrolases. *Chemistry of Natural Compounds*. 2017;53:345–350.

25. Ferreres F., Lopes G., Gil-Izquierdo A. et al. Phlorotannin extracts from *Fucales* characterized by HPLC-DAD-ESI-MSn: approaches to hyaluronidase inhibitory capacity and antioxidant properties. *Marine Drugs*. 2012;10:2766–2781.

26. Tierney M.S., Smyth T.J., Rai D.K. et al. Enrichment of polyphenol contents and antioxidant activities of Irish brown macroalgae using food-friendly techniques based on polarity and molecular size. *Food Chemistry*. 2013;139:753–761.

27. Krentz A.J., Bailey C.J. Oral antidiabetic agents: current role in type 2 diabetes mellitus. *Drugs*. 2005;65:385–411.

28. Yoon N.Y., Lee S.-H., Yong-Li, Kim S.-K. Phlorotannins from *Ishige okamurae* and their acetyl and butyrylcholinesterase inhibitory effects. *Journal of Functional Foods*. 2009;1:331–335.

29. Shibata T., Fujimoto K., Nagayama K. et al. Inhibitory activity of brown algal phlorotannins against hyaluronidase. *International Journal of Food Science and Technology*. 2002;37:703–709.

30. Imbs T.I., Silchenko A.S., Fedoreev S.A., et al. Fucoidanase inhibitory activity of phlorotannins from brown algae. *Algal Research*. 2018;32:54–59.

31. Malyarenko O.S., Imbs T.I., Ermakova S.P. *In vitro* anticancer and radiosensitizing activities of phlorethols from the brown alga *Costaria costata*. *Molecules*. 2020;25:115–122. 3208.

32. Bakunina I., Imbs T., Likhatskaya G. et al. Effect of phlorotannins from brown algae *Costaria costata* on α -N-acetylgalactosaminidase produced by duodenal adenocarcinoma and melanoma cells. *Marine Drugs*. 2023;21(33):1–18.

33. Holdt S.L., Kraan S. Bioactive compounds in seaweed: Functional food applications and legislation. *Journal of Applied Phycology*. 2011;23:543–597.

34. Ninomiya K. Science of umami taste: Adaptation to gastronomic culture. *Flavour*. 2015;4:13.

35. Khotimchenko S.V. Lipidy morskikh vodoroslei-makrofitov i trav. Struktura, raspredelenie, analiz = [Lipids from macrophyte seaweeds and herbs. Structure, distribution, analysis]. Vladivostok: Dal'nauka; 2003. 234 p. (In Russ.).
36. Nelson M.M., Phleger C.F., Nichols P.D. Seasonal lipid composition in macroalgae of the north-eastern Pacific Ocean. *Botanica Marina*. 2002;45:58–65.
37. Pereira H., Barreira L., Figueiredo F. et al. Polyunsaturated fatty acids of marine macroalgae: Potential for nutritional and pharmaceutical applications. *Marine Drugs*. 2012;10:1920–1935.
38. Simopoulos A.P. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2002;56:365–379.
39. Simopoulos A. The importance of the omega-6 /omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. *Experimental Biology and Medicine*. 2008;233:674–688.
40. Gerasimenko N.I., Busarova N.G., Moiseenko O.P. Seasonal changes in the content of lipids, fatty acids, and pigments in brown alga *Costaria costat*. *Russian Journal of Plant Physiology*. 2010;57(2):217–223. (In Russ.).
41. Adrogué H.J., Madias N.E. The impact of sodium and potassium on hypertension risk. *Seminars in Nephrology*. 2014;34:257–272.
42. Moro C.O., Basile G. Obesity and medicinal plants. *Fitoterapia*. 2000;71:S73–S82.
43. Küpper F.C., Feiters M.C., Olofsson B., et al. Commemorating two centuries of iodine research: An interdisciplinary overview of current research. *Angewandte Chemie International Edition*. 2011;50:11598–11620.

Обзорная статья
УДК 576.1+547.996:593.96
DOI: 10.31857/S0869769824030049
EDN: ISNKLF

Исследование структур тритерпеновых гликозидов и стеринов из голотурий в Тихоокеанском институте биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН. Последние достижения

В.И. Калинин✉, С.А. Авилов, А.С. Сильченко, И.И. Капустина,
Л.П. Пономаренко

Владимир Иванович Калинин

доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник
Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН,
Владивосток, Россия
kalininv@piboc.dvo.ru

Сергей Анатольевич Авилов

доктор химических наук, ведущий научный сотрудник
Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН,
Владивосток, Россия
avilov-1957@mail.ru

Александра Сергеевна Сильченко

доктор химических наук, ведущий научный сотрудник
Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН,
Владивосток, Россия
sialexandra@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-9367-1158>

Ирина Ивановна Капустина

кандидат химических наук, научный сотрудник
Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН,
Владивосток, Россия
ikapust@rambler.ru

Людмила Петровна Пономаренко

кандидат химических наук, старший научный сотрудник
Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН,
Владивосток, Россия
ponjmarenko@inbox.ru

Аннотация. Кратко обсуждаются основные достижения в исследовании строения тритерпеновых гликозидов и стеринов голотурий в Тихоокеанском институте биоорганической химии

им. Г.Б. Елякова ДВО РАН в период с 2019 г. по настоящее время, главным из которых является выделение и установление структуры более 80 новых тритерпеновых гликозидов из тихоокеанских голотурий, причем ряд из них обладает уникальными структурными чертами.

Ключевые слова: голотурии, тритерпеновые гликозиды, стерины

Для цитирования: Калинин В.И., Авиллов С.А., Сильченко А.С., Капустина И.И., Пономаренко Л.П. Исследование структур тритерпеновых гликозидов и стерина из голотурий в Тихоокеанском институте биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН. Последние достижения // *Вестн. ДВО РАН*. 2024. № 3. С. 69–89. <http://dx.doi.org/10.31857/S0869769824030049>

Original article

Structural studies on sea cucumber triterpene glycosides and sterols in G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry of FEB RAS. The recent achievements

V.I. Kalinin, S.A. Avilov, A.S. Silchenko, I.I. Kapustina, L.P. Ponomarenko

Vladimir I. Kalinin

Doctor of Sciences in Biology, Leading Researcher
G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS, Vladivostok, Russia
kalininv@piboc.dvo.ru

Sergey A. Avilov

Doctor of Sciences in Chemistry, Leading Researcher
G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS, Vladivostok, Russia
avilov-1957@mail.ru

Alexandra S. Silchenko

Doctor of Sciences in Chemistry, Leading Researcher
G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS, Vladivostok, Russia
sialexandra@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-9367-1158>

Irina I. Kapustina

Candidate of Science in Chemistry, Researcher
G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS, Vladivostok, Russia
ikapust@rambler.ru

Ludmila P. Ponomarenko

Candidate of Science in Chemistry, Senior Researcher
G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS, Vladivostok, Russia
ponjmarenko@inbox.ru

Abstract. The article briefly discusses main achievements in the investigation of structures of sea cucumber triterpene glycosides and sterols in G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry of FEB RAS in the period from 2019 by now, including isolation and structural elucidation of more than 80 new triterpene glycosides from Pacific Ocean sea cucumbers while several of them possess unique structural features.

Keywords: sea cucumbers, triterpene glycosides, sterols

For citation: Kalinin V.I., Avilov S.A., Silchenko A.S., Kapustina I.I., Ponomarenko L.P. Structural studies on sea cucumber triterpene glycosides and sterols in G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry of FEB RAS. The recent achievements. *Vestnik of the FEB RAS*. 2024;(3):69–89. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.31857/S0869769824030049>

Голотурии или морские огурцы (Holothuroidea, Echinodermata) широко распространены почти во всем Мировом океане от самых больших до самых малых его глубин, за исключением сильно опресненных морей, таких как большая часть Черного моря, центральная и восточная Балтика и Азовское море. Зачастую они являются доминирующими видами в бентонических биоценозах, причем на больших глубинах голотурии могут составлять до 90% от биомассы всех организмов. Значительная часть массовых видов голотурий съедобна, и они являются промысловыми. В Японии и Китае их могут использовать в традиционной медицине. В водах Российской Федерации для пищевых целей производят вылов кукумарии фрондозы (*Cucumaria frondosa*), кукумарии японской (*Cucumaria japonica*), кукумарии охотской (*Cucumaria okhotensis*). Дальневосточного трепанга (*Apostichopus japonicus*) разводят в марикультуре.

Главной химической особенностью большинства голотурий являются тритерпеновые гликозиды, обладающие широким спектром биологической активности. Гликозиды голотурий имеют существенные структурные отличия от аналогичных соединений, биосинтезируемых высшими растениями. Большинство этих веществ относятся к голостановому ряду, т.е. они являются производными модельного ланостанового тритерпеноида голостана, имеющего 18(20)-лактон (рис. 1). Неголостановые гликозиды, т.е. не имеющие лактона или обладающие 18(16)-лактоном, относительно редки.

В состав углеводных цепей гликозидов голотурий входят D-ксилоза, D-хиновоза, D-глюкоза, 3-O-метил-D-глюкоза и 3-O-метил-D-ксилоза и гораздо реже – 3-O-метил-D-глюкуроновая кислота, 3-O-метил-D-хиновоза, а также 6-O-ацетил-D-глюкоза. Число моносахаридов в углеводных цепях может достигать до шести, остаток ксилозы всегда занимает первое положение, гликозилируя С-3 агликона. Углеводные цепи часто содержат сульфат при С-4 первой ксилозы. Дополнительные сульфатные группы, как правило, занимают положения С-6 глюкозных и 3-O-метилглюкозных остатков, но иногда сульфатированию подвергаются и иные положения различных моносахаридных остатков.

Систематические исследования тритерпеновых гликозидов голотурий начались еще в 50-е годы XX в. Интерес химиков к этим веществам вызван главным образом их невероятным структурным разнообразием и широким диапазоном биологического действия. Для них характерно ихтиотоксическое действие, а также цитотоксическая и противоопухолевая, антигрибковая и гемолитическая активность и кроме этого радиопротекторное, иммуностимулирующее и адьювантное действие [1–3]. Наборы гликозидов таксономически специфичны, что даже было использовано зоологами-систематиками на практике [4, 5].

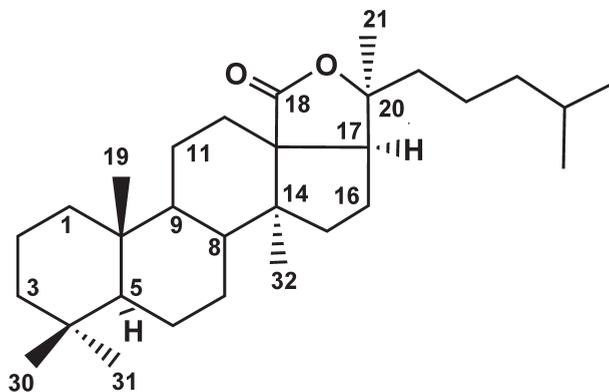


Рис. 1. Голостан – модельный ланостановый тритерпеноид с 18(20)-лактоном

В последние годы получила широчайшее развитие хроматографическая и спектральная техника, включая двумерную спектроскопию ЯМР, а также масс-спектрометрию высокого разрешения. Это позволило проводить более подробные исследования тритерпеновых гликозидов уже изученных ранее голотурий. Установление структуры минорных веществ может дать некоторые сведения как о биосинтезе гликозидов голотурий, так и его эволюции. Новые методы позволяют работать с малыми количествами веществ, изучить малодоступные виды голотурий, а также получить более полную картину таксономического распределения гликозидов в представителях класса Holothuroidea.

Наличие тритерпеновых гликозидов, обладающих сильным мембранолитическим стерин-зависимым действием, потребовало существенной перестройки в биосинтезе мембранных стеринов голотурий. 5,6-ненасыщенные стерины, включая прежде всего холестерин, при попадании с пищей в организм голотурии в большинстве своем сульфатируются, а часть из них трансформируется в станолаы и 7,8-ненасыщенные стерины, которые не взаимодействуют с гликозидами из-за особенностей пространственного строения. Кроме того, в голотуриях отсутствуют ферменты, вызывающие С-14 деметилирование продуктов циклизации сквалена до стеринов. Это ведет к накоплению в стериновых фракциях голотурий 14-метил стеринов с 9(11)-двойной связью, которые тоже не могут взаимодействовать с холестерином. Эти данные указывают на биохимическую взаимосвязь метаболизма стеринов и тритерпеновых гликозидов.

Структурные исследования тритерпеновых гликозидов и стеринов голотурий являются традиционным направлением для лаборатории химии морских природных соединений ТИБОХ ДВО РАН [6]. В настоящей статье мы даем краткий обзор работ, выполненных в лаборатории в период с 2019 по 2023 г., причем обсуждаем только структуры выделенных соединений, поскольку подробное обсуждение их биологической активности требует отдельной публикации.

Исследование сложной гликозидной суммы голотурии *Psolus fabricii* (Psolidae, Dendrochirotida) началось еще в 1982 г. после того, как в ходе экспедиции на рыболовных сейнерах «Механик Жуков» и «Даларик» Северо-Курильской базы сейнерного флота, работавших на промысле гребешка у о-ва Онекотан, было заготовлено достаточное количество экстрактов этих голотурий. Однако многие гликозиды в то время не могли быть выделены как чистые вещества из-за сложности состава гликозидной фракции. Недавно мы предприняли новую попытку разделить эту сумму, используя современные подходы к высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). В результате в 2018 г. были выделены три новых гексаозида, псолюсозиды С₁, С₂ и D₁ вместе с пятью известными соединениями [7]. В продолжение этих исследований были выделены пять новых гексаозидов, псолюсозиды С₃ (1), D₂ (2), D₃ (3) D₄ (4) и D₅ (5). С помощью ¹H, ¹³C ЯМР, 1D TOCSY и 2D ЯМР (¹H-¹H COSY, HMBC, HSQC, ROESY) спектроскопии и масс-спектрометрии высокого разрешения установлены их структуры (рис. 2) [8].

Интересно, что псолюсозид D₃ (3) имел 23E-двойную связь и гидропероксидную группу при С-25, что является редкой особенностью у гликозидов голотурий. Однако недавно гликозид с такой же боковой цепью агликона, как у псолюсозида D₃ (3), был найден во вьетнамской голотурии *Holothuria edulis* [9], что указывает на нативность этих соединений.

Продолжение изучения гликозидной фракции из *P. fabricii* привело к выделению и установлению структуры еще шести новых гликозидов, псолюсозидов E (7), F (8), G (9), H (10), H₁ (11) и I (12), а также известного псолюсозида B (6), структура которого была пересмотрена при анализе двумерных ЯМР спектров и подтверждена масс-спектрами высокого разрешения (рис. 3). Кроме того, были выделены и идентифицированы ранее известные гликозиды, псолюсозид A и колохирозид D [10].

В состав данной серии гликозидов 6–12 входили моно- и дисульфатированные линейные и разветвленные тетраозиды вместе с моносульфатированными триозидами. Структурный анализ гликозидов 6–12 показал вариабельность как их агликонов (пять различных типов), так и углеводных цепей (шесть типов). Хотя все агликоны были известными, пять типов углеводных цепей оказались новыми. Три линейных тетраозида – псолюсозиды E (7), F (8) и G (9) родственны биогенетически. Эти соединения имеют

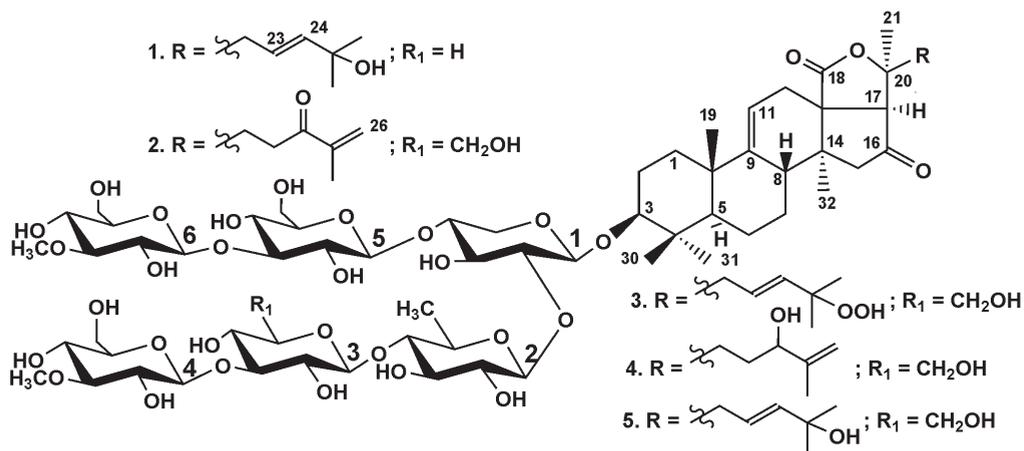


Рис. 2. Тритерпеновые гликозиды из голотурии *Psolus fabricii*. 1 – псолюсозид C₃; 2 – псолюсозид D₂; 3 – псолюсозид D₃; 4 – псолюсозид D₄; 5 – псолюсозид D₅

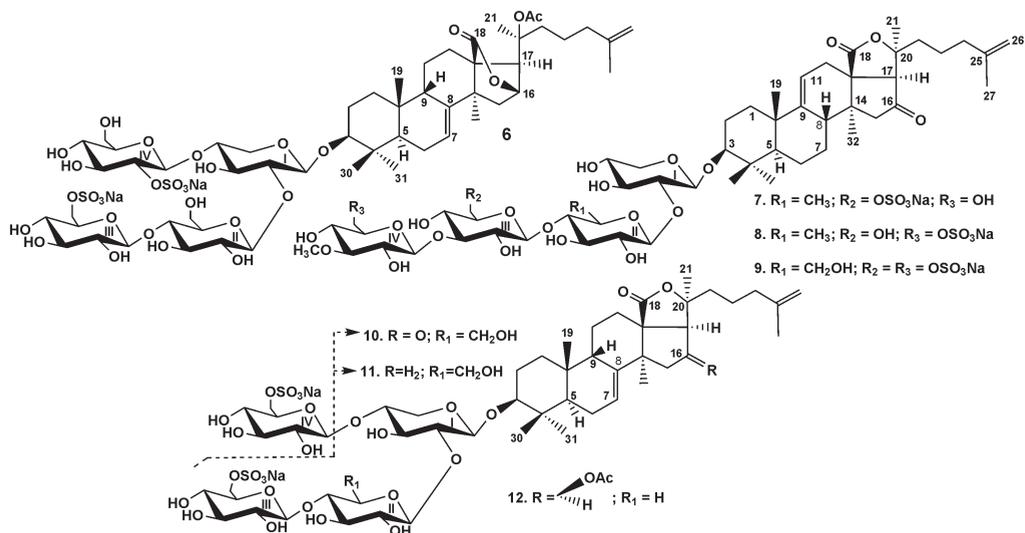


Рис. 3. Структуры гликозидов из голотурии *Psolus fabricii*. 6 – псолюсозид В; 7 – псолюсозид Е; 8 – псолюсозид F; 9 – псолюсозид G; 10 – псолюсозид H; 11 – псолюсозид И; 12 – псолюсозид I

один и тот же агликон и отличаются друг от друга числом и положением сульфатных групп и природой второго моносахаридного остатка в углеводной цепи (хиновоза или глюкоза). Трисахаридные олигосахаридные цепи редко встречаются в гликозидах голотурий, а тем более с остатком глюкозы во втором положении, как у псолюсозидов группы H (10, 11) [10].

На последнем этапе исследований тритерпеновых гликозидов *P. fabricii* было выделено еще десять новых гликозидов, псолюсозиды В₁ (13), В₂ (14), J–Q (15–22), структуры которых также были установлены с помощью спектроскопии ЯМР и ВР ИЭР масс-спектрометрии (масс-спектрометрия высокого разрешения с ионизацией электрораспылением) (рис. 4) [11].

Псолюсозиды В₁ (13) и В₂ (14) биогенетически близки к псолюсозиду В (6) и, скорее всего, являются продуктами его окислительных биосинтетических трансформаций, приве-

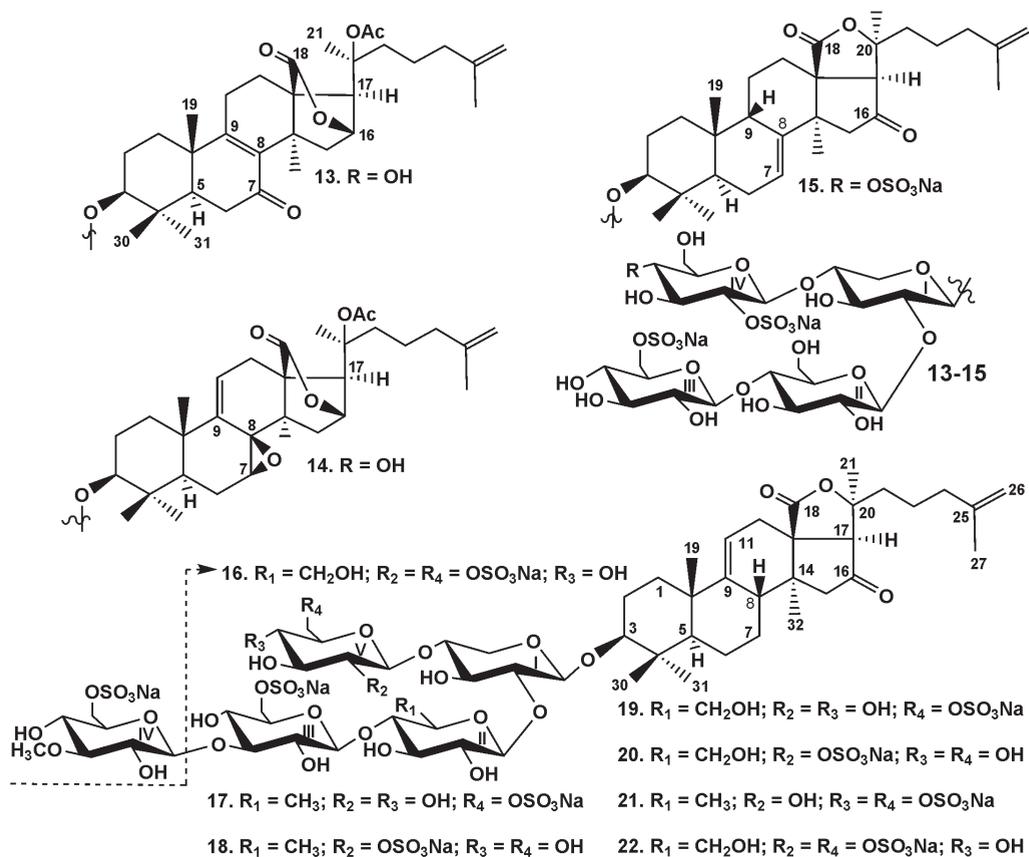


Рис. 4. Структуры тритерпеновых гликозидов из голотурии *Psolus fabricii*. **13** – псолусозид В₁; **14** – псолусозид В₂; **15** – псолусозид J; **16** – псолусозид K; **17** – псолусозид L; **18** – псолусозид M; **19** – псолусозид N; **20** – псолусозид O; **21** – псолусозид P; **22** – псолусозид Q

ших к образованию 7-кето фрагмента, сопряженного с 8(9)-двойной связью в гликозиде **13**, и 7β,8β-эпоксида и 9(11)-двойной связи в гликозиде **14**.

Псолусозиды группы В (**6**, **13**, **14**) имеют одинаковые тетрасахаридные дисульфатированные углеводные цепи, разветвленные по С-4 ксилозного остатка и агликоны с 25(26)-двойной связью, 18(16)-лактоном и 20S-ацетильной группой [10, 11]. Вместе с тем интересно, что положения двойных связей в ядре агликонов **13** и **14** не совпадают с таковыми для гликозида **6**, и, вероятно, процесс окислительных биосинтетических трансформаций сопровождается миграцией двойной связи из положения 7(8) в агликоне **6**, в положение 8(9) в агликоне гликозида **13** и в положение 9(11) в агликоне псолусозида В₂ (**14**).

Псолусозид J (**15**) являлся трисульфатированным тетраозидом с двумя сульфатными группами, присоединенными к одному и тому же моносахаридному остатку. Такого рода структурная черта была впервые найдена в гликозидах голотурий.

В псолусозиде P (**21**) также имелось два сульфата (при С-4 и С-6) в одном моносахаридном остатке (остатке глюкозы, присоединенной к С-4 первого моносахаридного остатка), всего же он содержал четыре сульфатные группы. Псолусозид Q (**22**) характеризовался сульфатированием положений 2 и 6 аналогичного остатка глюкозы (пятого в цепи), кроме этого он содержит глюкозу и в качестве второго остатка в цепи. Он также является тетра-сульфатированным соединением, такие высокополярные гликозиды в голотуриях были найдены впервые.

В продолжение наших исследований тритерпеновых гликозидов из голотурии *Colochirus quadrangularis* (Cucumariidae, Dendrochirotida), собранной в водах Вьетнама, было выде-

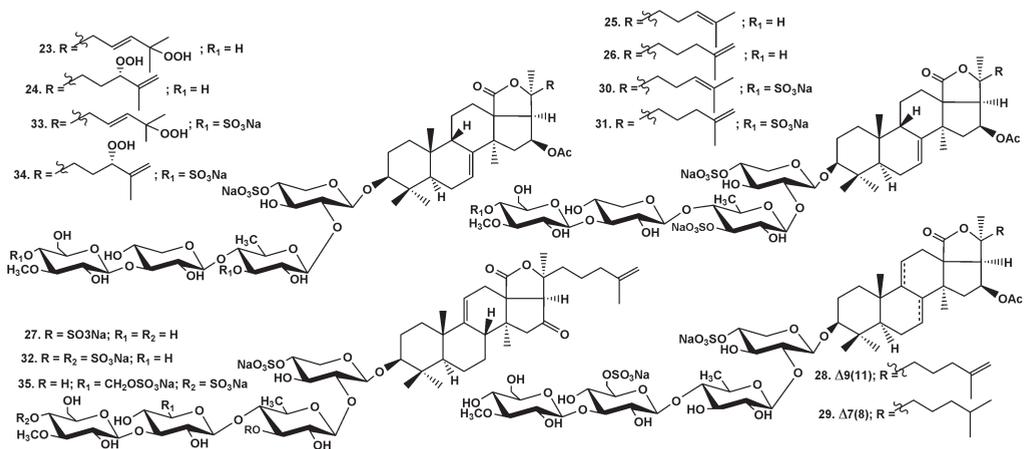


Рис. 5. Химические структуры гликозидов, выделенных из *Colochirus quadrangularis*: **23** – квадрангулярикозид А; **24** – квадрангулярикозид А₁; **25** – квадрангулярикозид В; **26** – квадрангулярикозид В₁; **27** – квадрангулярикозид В₂; **28** – квадрангулярикозид С; **29** – квадрангулярикозид С₁; **30** – квадрангулярикозид D; **31** – квадрангулярикозид D₁; **32** – квадрангулярикозид D₂; **33** – квадрангулярикозид D₃; **34** – квадрангулярикозид D₄; **35** – квадрангулярикозид E

лено 13 новых соединений, имеющих агликоны голостанового типа и тетрасахаридные углеводные цепи с одной, двумя и тремя сульфатными группами. Структуры соединений, названных квадрангулярикозидами А (**23**), А₁ (**24**), В (**25**), В₁ (**26**), В₂ (**27**), С (**28**), С₁ (**29**), D (**30**), D₁–D₄ (**31–34**) и E (**35**) (рис. 5) были установлены с помощью современных методов ЯМР спектроскопии и масс-спектрометрии [12]. Кроме того, выделили девять известных ранее гликозидов: колохирозиды В₁–В₃ [13], лефевреозиды А₂ и С [14], неотионидозид [15], хемоидемозид А [16] и филинопсиды А [17] и F [18].

Квадрангулярикозид А (**23**) содержит агликон с 23Е-двойной связью и гидропероксидной группой при С-25, а квадрангулярикозид А₁ (**24**) – с 25(26)-двойной связью и (S)-гидропероксидной группой при С-24. Аналогичная ситуация наблюдается с квадрангулярикозидами D₃ (**33**) и D₄ (**34**). Гидроперекисные группы в агликонах голотурий встречаются достаточно редко.

Переисследование состава гликозидов дальневосточной голотурии *Thyonidium (=Duasmodactyula) kurilensis* (Levin), собранной у побережья о-ва Онекотан в Охотском море при промысловом драгировании гребешка, было следующим этапом нашей работы. Ранние исследования гликозидов этого вида показали сложность его гликозидной суммы. Из-за этого часть гликозидной суммы была подвергнута кислотному гидролизу с последующим разделением полученных производных. В результате была установлена структура двух генинов – курилогенина [19] и немогенина [20]. Позднее были выделены два нативных гликозида, курилозиды А и С [21]. Абсолютные конфигурации моносахаридных остатков, составляющих углеводные цепи курилозидов А и С, были определены как D [21]. Однако остальная часть гликозидной фракции, содержащая более полярные и минорные гликозиды, осталась неизученной.

В продолжение этих исследований нам удалось выделить еще шесть гликозидов, курилозидов А₁ (**36**), А₂ (**37**), С₁ (**38**), D (**39**), E (**40**) и F (**41**) (рис. 6), и известный курилозид А [22].

Структуры новых соединений **36–41** были установлены, а структура курилозида А была подтверждена с помощью анализа 1D и 2D ЯМР спектров, а также масс-спектров ВР ИЭР. В составе данной серии гликозидов были обнаружены пять различных типов углеводных цепей, включая три новых. Агликоны представляли собой гекса-*нор*-ланостановые производные без лактона, и только один ланостановый агликон содержал полноценную боковую цепь.

Немного позднее из голотурии *T. kurilensis* было выделено еще девять новых гликозидов – курилозиды А₃ (**42**), D₁ (**43**), G (**44**), H (**45**), I (**46**), I₁ (**47**), J (**48**), K (**49**) и K₁ (**50**) (рис. 7), а также два десульфатированных производных, DS-курилозид L (**51**) и DS-курилозид M (**52**) (рис. 8) [23].

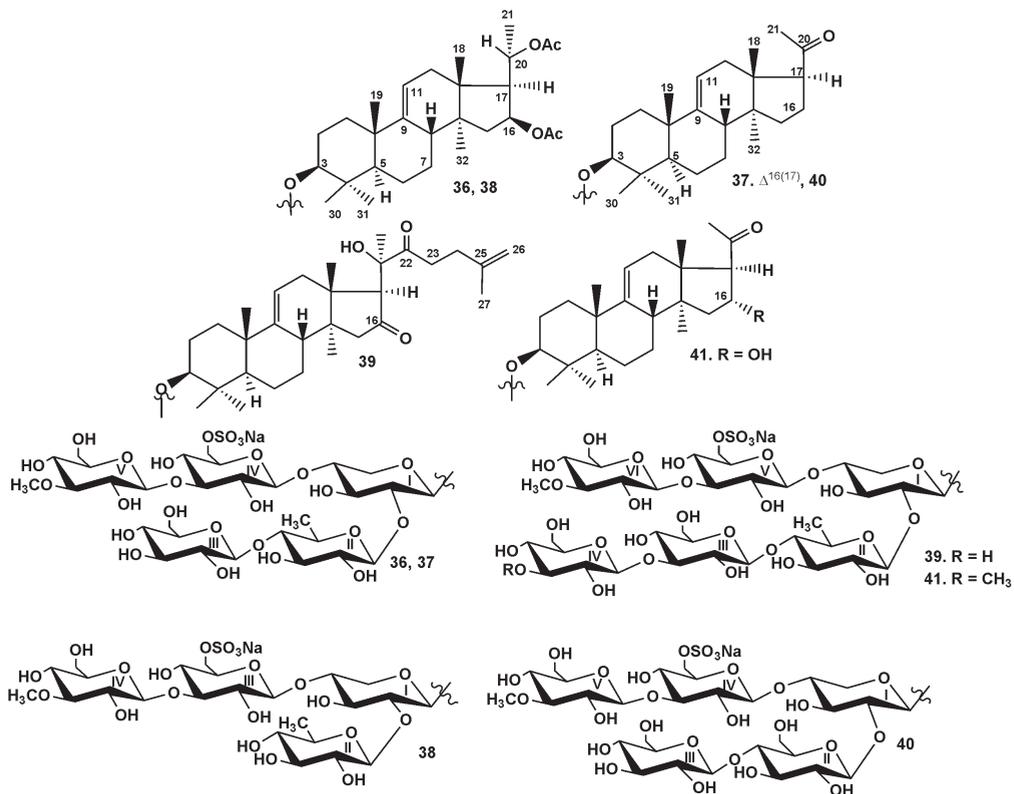


Рис. 6. Химические структуры гликозидов, выделенных из голотурии *Thyonidium kurilensis*: 36 – курилозид А₁; 37 – курилозид А₂; 38 – курилозид С₁; 39 – курилозид D; 40 – курилозид Е; 41 – курилозид F

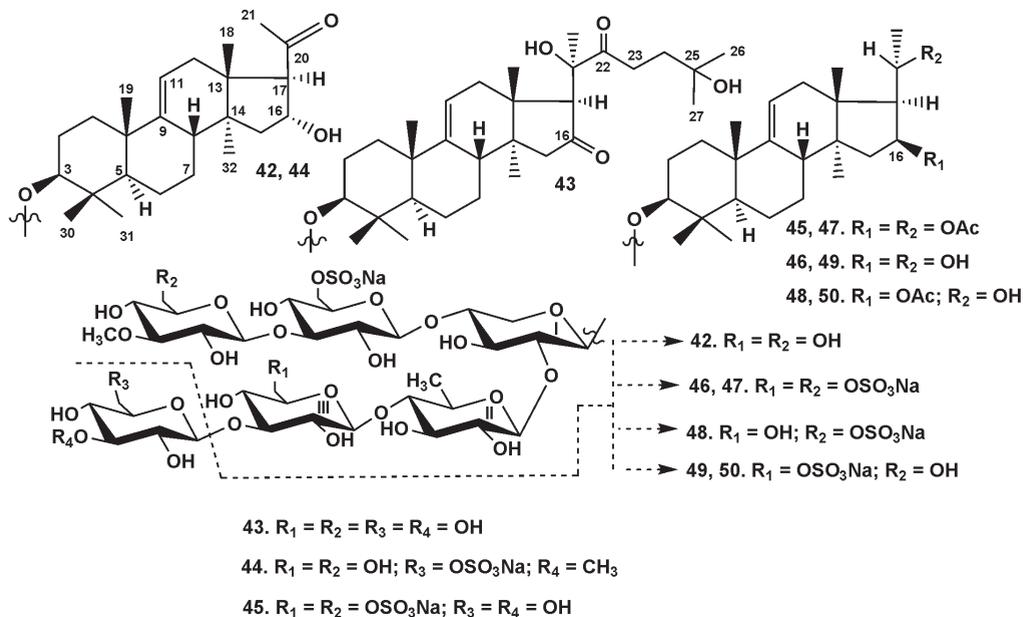


Рис. 7. Химические структуры гликозидов, выделенных из *Thyonidium kurilensis*: 42 – курилозид А₃; 43 – курилозид D; 44 – курилозид G; 45 – курилозид H; 46 – курилозид I; 47 – курилозид I₁; 48 – курилозид J; 49 – курилозид K; 50 – курилозид K₁

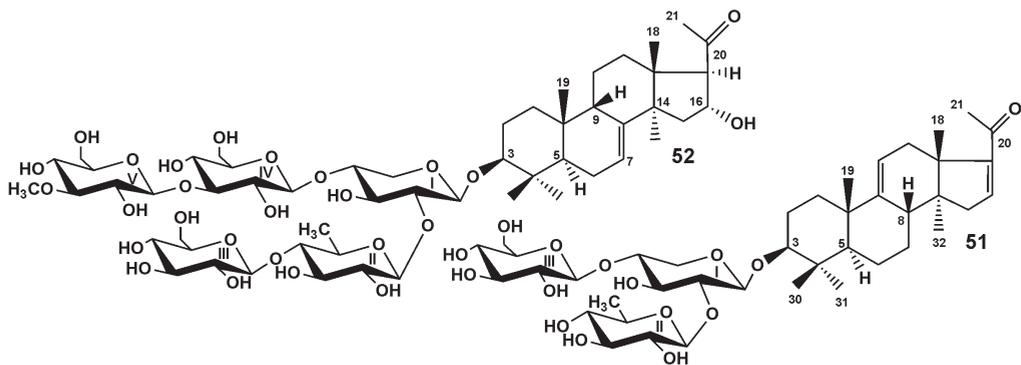


Рис. 8. Химические структуры десульфатированных гликозидов, полученных из *Thyonidium kurilensis*: 51 – DS-курилозид L; 52 – DS-курилозид M

Было открыто пять новых типов углеводных цепей (курилозиды групп G–K), включая трисульфатированные пента- (курилозиды группы I (46, 47)) и гексаозиды (курилозид H (45)). Гликозид с шестью моносахаридными остатками и тремя сульфатными группами, наряду с тетрасульфатированными гликозидами из *Psolus fabricii* [11], относится к самым полярным тритерпеновым гликозидам, найденным в голотуриях. При анализе строения дисульфатированных гекса- и пентасахаридных цепей курилозидов групп G (44), J (48) и K (49, 50) хорошо прослеживается комбинаторный (мозаичный) тип биосинтеза гликозидов, а именно введение сульфатных групп в различные положения. В то же время положение одной из сульфатных групп (при C-6 глюкозы, присоединенной к C-4 первого моносахаридного остатка, ксилозы) остается неизменным во всех нативных гликозидах *T. kurilensis*. В гликозидах 42–50 были найдены три новых неголостановых агликона, не имеющих лактонного цикла, два из них являются 22,23,24,25,26,27-гекса-*нор*-ланостановыми производными, один имеет нормальную боковую цепь. Большинство агликонов гликозидов *T. kurilensis* отличаются друг от друга заместителями при C-16 (α - и β -ориентированные гидроксид- или ацетоксигруппы или кетогруппа) и C-20 (гидроксид-, ацетоксид- или кетогруппы) и представляют биогенетически родственные ряды соединений. Гликозиды с 16 α -заместителями выделены только из *T. kurilensis*, 16 β -гидроксидированные агликоны также обнаружены впервые. Они могут рассматриваться как «горячие метаболиты» – биосинтетические предшественники агликонов с 16 β -ацетоксигруппой.

Из суммы десульфатированных производных, полученных в 1991 г. сольволизом нативных гликозидов в смеси безводных пиридина и диоксана для того, чтобы облегчить задачу их хроматографического разделения, были выделены DS-курилозид L (51) и DS-курилозид M (52) (рис. 8). Гликозид 51 имел трисахаридную углеводную цепь, разветвленную по первому моносахаридному остатку (ксилозы), являясь «горячим» метаболитом и ключевым звеном в биосинтезе тетраозидов, пентаозидов и гексаозидов.

В отличие от агликонов всех известных гликозидов из *T. kurilensis* агликон DS-курилозида M (52) содержит 7(8)-двойную связь, что подтверждает наличие у этой голотурии оксидоскваленциклаз двух типов – паркеолсинтазы и 9 β H-ланоста-7,24-диен-3 β -ол-синтазы. При этом паркеолсинтаза более активна или экспрессируется в больших количествах.

Род *Psolus* включает в себя 58 видов, и только три из них были химически исследованы к настоящему времени: *P. fabricii*, *P. eximius* [24] и *P. patagonicus* [25, 26]. Нами исследован четвертый представитель этого рода, *P. chitonoides*, из которого было выделено шесть новых тритерпеновых гликозидов, хитонидозиды A (53), A₁ (54), B (55), C (56), D (57) и E (58) (рис. 9), а их химические структуры были установлены современными спектральными методами [27].

Наиболее интересная особенность трех выделенных из *P. chitonoides* гликозидов, хитонидозидов A (53), B (55) и E (58), – наличие 18(20)-эпоксида вместо обычного 18(20)-лактона. То есть агликон является аналогом обычного голотоксиногенина, но имеет 18(20)-эпоксигруппу.

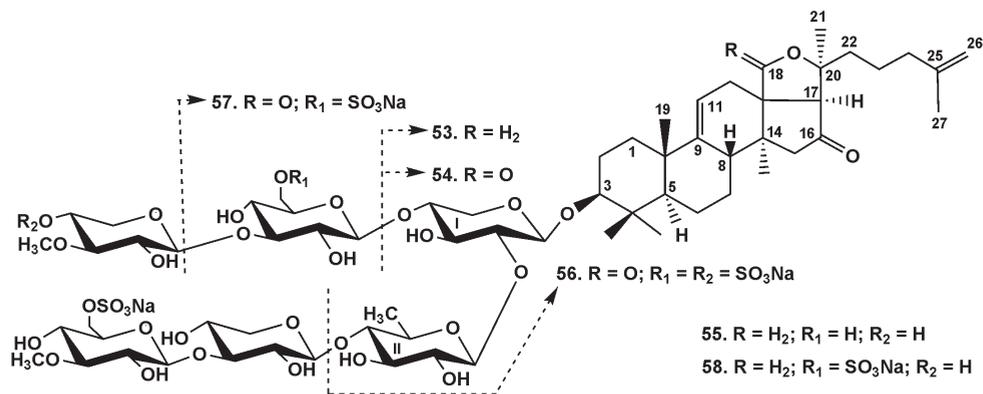


Рис. 9. Химические структуры гликозидов, выделенных из *Psolus chitonoides*: **53** – хитонидозид А; **54** – хитонидозид А₁; **55** – хитонидозид В; **56** – хитонидозид С; **57** – хитонидозид D; **58** – хитонидозид Е

Это первый случай нахождения данной структурной особенности в гликозидах голотурий. По-видимому, гликозиды с 18(20)-эпоксидом образуются в процессе биосинтеза при задержке дальнейшего окисления «горячих» метаболитов с гидроксидом при С-18.

Интересно, что цитотоксическая активность гликозидов с таким агликоном против эритроцитов и опухолевых клеток не была снижена по сравнению с гликозидами, имеющими 18(20)-лактон.

Продолжая исследования гликозидов *P. chitonoides* [27], мы выделили четыре новых гликозида, хитонидозиды Е₁ (**59**), F (**60**), G (**61**), и H (**62**) (рис. 10) [28].

Хитонидозид G (**61**) содержал в качестве агликона аналог голотоксиногенина с 18(20)-эпоксидом вместо лактона, остальные гликозиды имели обычный голотоксиногенин. Хитонидозид Е₁ (**59**) содержал терминальный остаток 3-О-метилсилозы, что встречается не так часто в гликозидах голотурий, в хитонидозиде F (**60**) и H (**62**) терминальный остаток 3-О-метилглюкозы был сульфатирован по С-4, что бывает довольно редко.

В завершение исследований гликозидов *P. chitonoides* были установлены структуры новых хитонидозидов I (**63**), J (**64**), K (**65**), K₁ (**66**) и L (**67**) [29] (рис. 11).

В отличие от большинства гликозидов из *P. chitonoides* агликоны хитонидозидов K (**65**) и K₁ (**66**) имели 7(8)-двойную связь. Кроме того, эти гликозиды были тетрасульфатированными гексаозидами, наиболее полярными из известных на данный момент гликозидов голотурий.

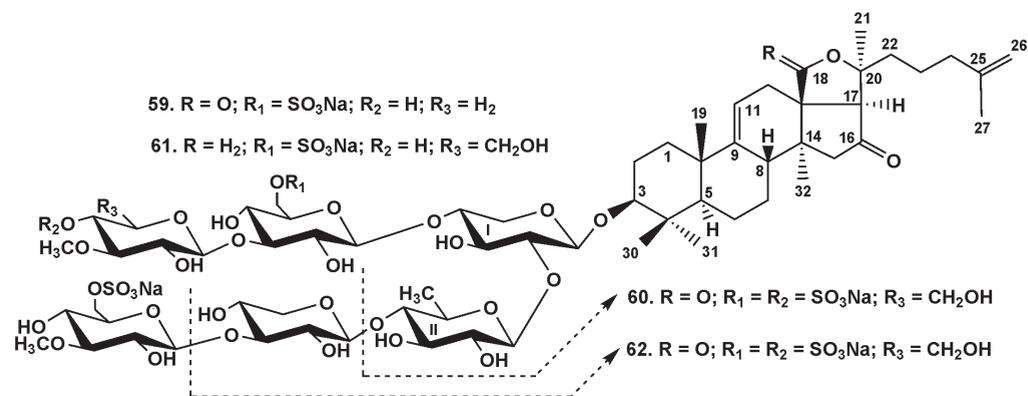


Рис. 10. Химическая структура гликозидов, выделенных из *Psolus chitonoides*: **59** – хитонидозид Е₁; **60** – хитонидозид F; **61** – хитонидозид G; **62** – хитонидозид H

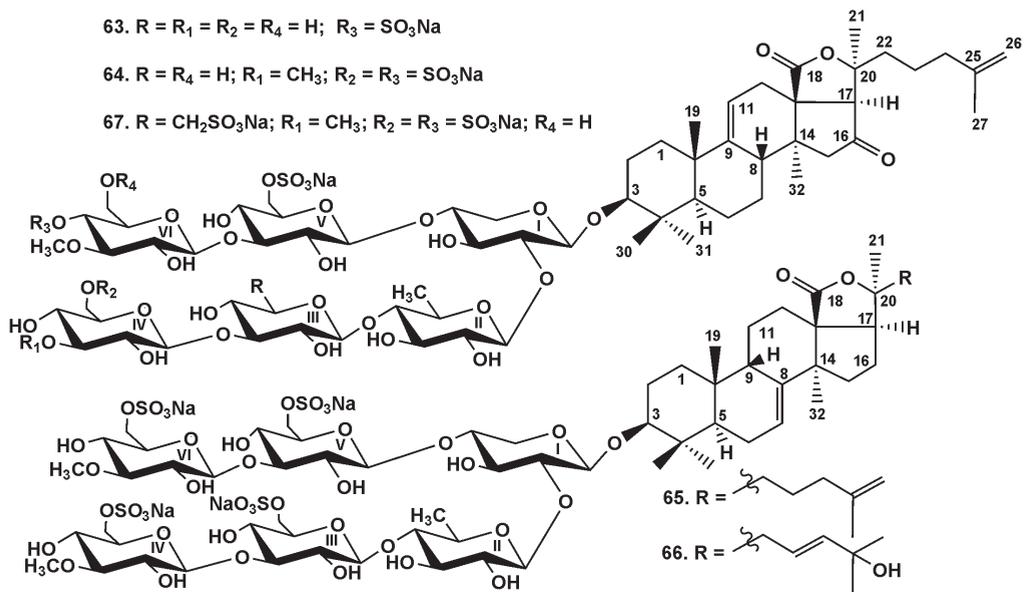


Рис. 11. Химические структуры гликозидов, выделенных из *Psolus chitonoides*: **63** – хитонозид I; **64** – хитонозид J; **65** – хитонозид K; **66** – хитонозид K₁; **67** – хитонозид L

Наличие в гликозидной сумме *P. chitonoides* гликозидов и с 7(8)-, и 9(11)-двойными связями, как и в других подобных случаях, свидетельствует об участии в их биосинтезе двух типов оксидоскваленцилаз – паркеолсинтазы и 9β-Н-ланоста-7,24-диен-3β-ол-синтазы.

Таким образом, в результате исследования гликозидного состава голотурии *Psolus chitonoides* были выделены 15 ранее неизвестных тритерпеновых гликозидов – хитонозиды А–L и установлены их структуры. В их составе найдено четыре разных агликона: два из них характеризуются 9(11)-двойными связями в полициклической системе (голотоксиногенин и его структурный аналог с 18(20)-эфирной связью), а два других имеют 7(8)-незамещенное ядро и различные боковые цепи.

Разнообразие же углеводных цепей хитонозидов более велико по сравнению с агликонами. Двенадцать структурно отличающихся друг от друга углеводных цепей обнаружено в составе хитонозидов групп А–L. Среди них есть тетрасахаридные цепи (хитонозиды групп А, С и F), отличающиеся друг от друга архитектурой (наличие/отсутствие нижней/верхней полуцепи), моносахаридным составом и числом сульфатных групп, и два типа пентасахаридных цепей (хитонозиды групп D и H), различающиеся наличием/отсутствием одного из терминальных (четвертого или шестого) 3-*O*-метилглюкозных остатков, сульфатированных по С-4 или по С-6.

Гликозиды с шестью моносахаридными остатками (семь типов: хитонозиды групп В, Е, G и I–L) преобладали в гликозидной сумме *P. chitonoides*. Они различались третьим остатком в цепи (ксилоза или глюкоза), количеством (от одной до четырех) и положением сульфатных групп и, наконец, терминальными моносахаридами в нижней (3-*O*-метилглюкоза или глюкоза) и верхней (3-*O*-метилксилоза или 3-*O*-метилглюкоза) полуцепях.

Из дальневосточной голотурии *Paracaudina chilensis* (Caudinidae, Molpadida) нами были выделены пять новых тритерпеновых гликозидов, хиленозидов А (**68**), А₁ (**69**), В (**70**), С (**71**) и D (**72**), и установлены их структуры (рис. 12) [30].

В составе гликозидов **68**–**72** были обнаружены два разных агликона, причем один из них присутствовал в четырех из пяти соединений, и четыре типа углеводных цепей. Соединения различались числом сульфатных групп: две – в хиленозиде А (**68**, **69**) и В (**70**), три – в хиленозиде С (**71**), четыре – в хиленозиде D (**72**) – и их положениями. Причем некоторые из них были довольно необычными для гликозидов голотурий, такие как положение 4 глюкозы и 3-*O*-метилглюкозы, тогда как положение С-3 третьего остатка

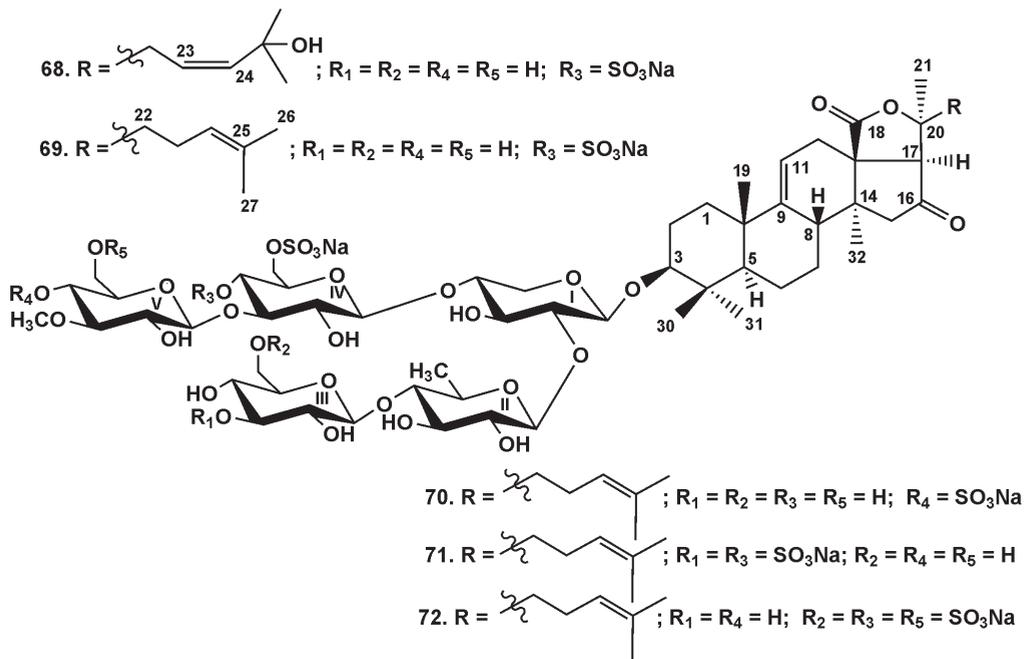


Рис. 12. Химические структуры гликозидов, выделенных из *Paracaudina chilensis*: **68** – хиленсозид А; **69** – хиленсозид А₁; **70** – хиленсозид В; **71** – хиленсозид С; **72** – хиленсозид D

(глюкозы), по которому была сульфатирована цепь хиленсозида С (**71**), было и вовсе уникальным, так как блокировало возможность дальнейшего удлинения углеводной цепи при биосинтезе.

Такое разнообразие в количестве и положении сульфатных групп, очевидно, указывает на высокую активность сульфатаз, которые, однако, имеют низкую специфичность, присоединяя сульфатные группы в различные положения одного или нескольких моносахаридных остатков в гликозидах **68–72**. Особенно интересным было наблюдение, что сульфатаза может конкурировать с гликозидазой, присоединяя сульфатную группу в положение 3 третьего моносахаридного остатка (глюкозы) в гликозиде **71** вместо потенциального гликозилирования этого положения. Интересно, что в гликозидах *P. chilensis* найдены только агликоны с 9(11)-двойной связью, что указывает на функционирование только одной оксидоскваленциклазы, образующей паркеол (предшественник гликозидов с 9(11)-двойной связью).

Гликозиды *P. chilensis* были структурно близки ряду гликозидов из представителей отряда Dendrochirotida, что подтверждает большую филогенетическую близость отряда Molpadida к отряду Dendrochirotida, чем к отряду Aspidochirotida.

Дальнейшая работа с гликозидами *P. chilensis* [30] привела к установлению структур трех новых тетрасульфатированных высокополярных гликозидов хиленсозидов Е (**73**), F (**74**) и G (**75**) (рис. 13) [31].

Всего в результате исследования гликозидного состава голотурии *Paracaudina chilensis* были установлены структуры восьми новых гликозидов (хиленсозидов А, А₁, В–G). Структурное разнообразие этих соединений обеспечивается главным образом различным числом и положением сульфатных групп. Семь гликозидов имеют пентасахаридные, разветвленные по С-4 первого моносахаридного остатка (ксилозе) цепи с одним и тем же моносахаридным составом и последовательностью моносахаридных остатков. Один гликозид из серии – хиленсозид G (**75**) – содержит шесть моносахаридных остатков за счет наличия дополнительной глюкозы в нижней полупцепи. Аналогично семь гликозидов имели идентичные агликоны и только один, хиленсозид А [30], характеризовался иной структурой боковой цепи агликона.

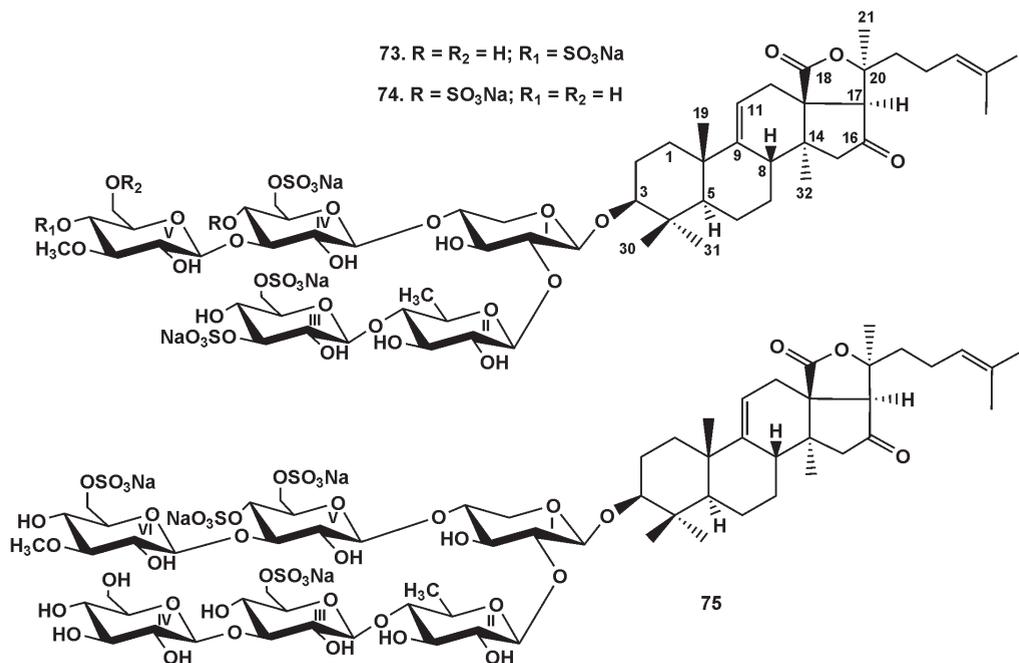


Рис. 13. Химические структуры гликозидов, выделенных из *Paracaudina chilensis*: 73 – хиленсозид Е; 74 – хиленсозид F; 75 – хиленсозид G

Из дальневосточной голотурии *Cucumaria djakonovi* (Cucumariidae, Dendrochirotida), собранной в Авачинском заливе, на первом этапе изучения ее гликозидной суммы была выделена серия новых моносульфатированных тетра- и пентаозидов, дьяконовиозидов А (76), А₁ (77), А₂ (78), В₁ (79), В₂ (80), В₃ (81) и В₄ (82) (рис. 14) [32].

Наиболее интересной структурной особенностью дьяконовиозидов А₂ (78), В₂ (80) и В₄ (82) является наличие пиранозного 16(23)-полукетала. Его образование происходит сходным образом с образованием пиранозных форм сахаров в результате кольчато-цепной таутомерии, при которой неферментативная внутримолекулярная реакция приводит к превращению изомера с открытой цепью в более устойчивый циклический изомер. В случае найденных гликозидов сходный процесс приводит к образованию агликонов с альфа-пиранозным фрагментом. *O*-ацетилтрансферазы катализируют введение ацетатных групп в молекулы предшественников, содержащих гидроксильные группы. Возможной причиной превращения предшественника с 16β-гидроксилом в агликоны с 23(16)-полукеталем, характерного для некоторых гликозидов *C. djakonovi*, является задержка действия *O*-ацетилтрансферазы на интермедиат с 16β-ОН группой.

Результатом следующего этапа исследования гликозидов *C. djakonovi* [32] стало выделение, установление структур и изучение биологической активности новых дьяконовиозидов С₁ (83), D₁ (84), E₁ (85) и F₁ (86), наряду с обнаружением нескольких известных веществ 87–92 (рис. 15) [33].

Четыре выделенных гликозида (86 и 90–92) содержали неголостановые агликоны без лактонного цикла, включая один новый в дьяконовиозиде F₁ (86). Интересно, что дьяконовиозид F₁ (86) является единственным соединением из этой серии, имеющим нормальную неукороченную боковую цепь. Три другие агликона являются гекса-*нор*-ланостановыми производными. Дьяконовиозид F₁ (86), кукумариозид А₃-2 (90) и корезид А (92) образуют биогенетический ряд, отражающий образование в процессе биосинтеза *нор*-ланостановых производных через стадию окисления С-22 с последующим окислительным расщеплением 20(22)-ковалентной связи. Тот же самый путь реализуется в биосинтезе стероидных гормонов. Интересно, что набор трисульфатированных пен-

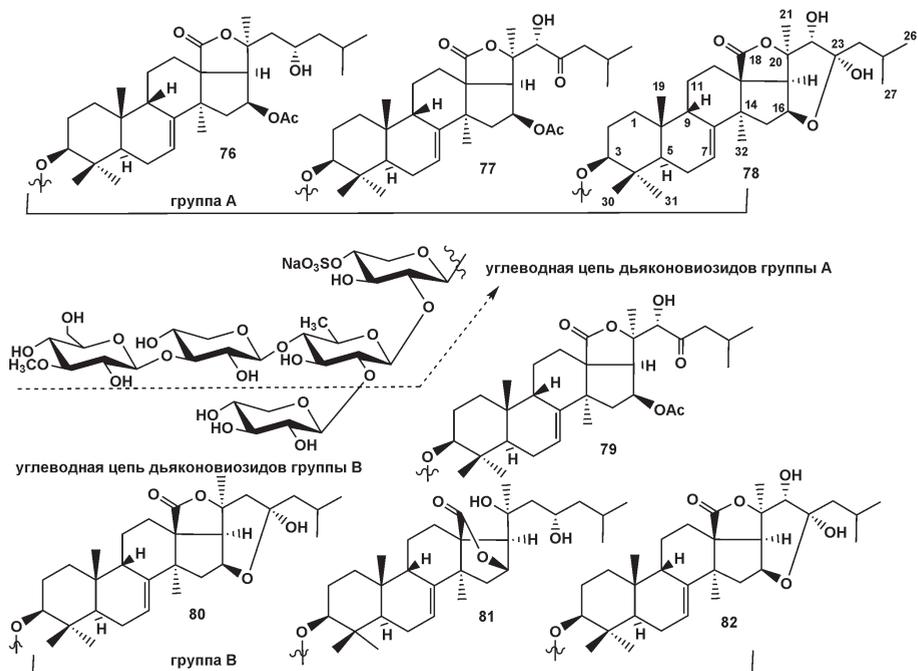


Рис. 14. Химические структуры гликозидов, выделенных из голотурии *Cucumaria djakonovi*: **76** – дьяконовиозид А; **77** – дьяконовиозид А₁; **78** – дьяконовиозид А₂; **79** – дьяконовиозид В₁; **80** – дьяконовиозид В₂; **81** – дьяконовиозид В₃; **82** – дьяконовиозид В₄

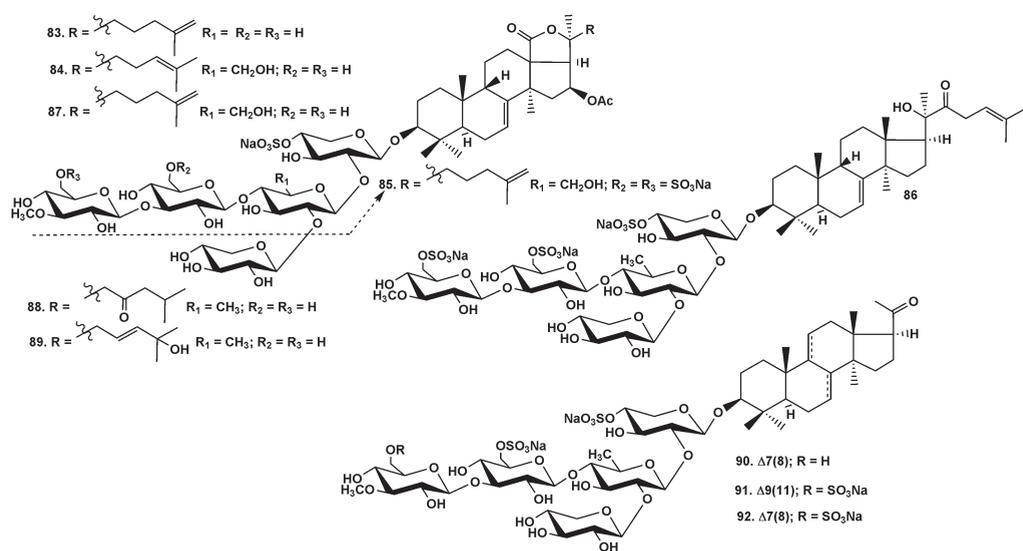


Рис. 15. Химические структуры тритерпеновых гликозидов из *Cucumaria djakonovi*: **83** – дьяконовиозид С₁; **84** – дьяконовиозид D₁; **85** – дьяконовиозид E₁; **86** – дьяконовиозид F₁; **87** – охотозид А₂-1; **88** – кумариозид А₂-5; **89** – фрондозид А₂-3; **90** – кумариозид А₃-2; **91** – изокореозид А; **92** – кореозид А

таозидов *C. djakonovi* (дьяконовиозид F₁, изокореозид А и кореозид А) соответствует аналогичному ряду, найденному в *C. frondosa* и дополняет его [34]: три пары изомеров, отличающиеся положением двойных связей в ланостановом ядре, имели различным образом замещенные положения С-22 или укороченную боковую цепь. Соединение **86**,

имеющее карбонильную группу при С-22, может рассматриваться как отсутствующее звено в ряду агликонов гликозидов *C. frondosa*, которое заполняет промежуток между 22-гидроксилированными (22-*O*-ацетилованными) и гекса-*нор*-ланостановыми производными.

Интересно, что изокореозид А (91) является единственным гликозидом из *C. djakonovi*, имеющим 9(11)-двойную связь. Следовательно, две оксидоскваленциклазы (паркеолсинтаза и 9βН-ланоста-7,24-диен-3β-ол-синтаза) участвуют в биосинтезе и образуют два различных типа полициклических ядер гликозидов *C. djakonovi*. Однако паркеолсинтаза, вероятно, преимущественно вовлечена в биосинтез свободных 14α-метил стеринов с 9(11)-двойной связью, в то время как активность 9βН-ланоста-7,24-диен-3β-ол-синтазы ведет к образованию тритерпеновых агликонов.

Всего в гликозидах *C. djakonovi* присутствовало пять новых агликонов [32], которые входили в состав преимущественно моносультатированных соединений, в то время как среди трисульфатированных соединений был найден только один гликозид с новым агликоном. Восемь типов углеводных цепей обнаружено в гликозидах *C. djakonovi*, два из которых были новыми, в том числе моносультатированная пентасахаридная цепь дьяконовиозида С₁ (83) с ксилозой в качестве второго моносахаридного остатка. Такая структурная особенность очень редка для гликозидов голотурий. Трисульфатированная тетрасахаридная цепь дьяконовиозида Е₁ (85) с глюкозой в качестве второго моносахаридного остатка также была обнаружена впервые. В состав дьяконовиозидов групп А и В входят тетра- и пентасахаридные моносультатированные цепи, найденные ранее в составе гликозидов нескольких представителей рода *Cucumaria*. Олигосахаридные части дьяконовиозидов D₁ (84) и F₁ (86) и известных соединений 87–92 являются характерными для представителей рода *Cucumaria* [35]. Эти данные подтверждают возможность использования гликозидов в качестве хемотаксономических маркеров. Принадлежность *C. djakonovi* к роду *Cucumaria*, несомненно, доказывается присутствием гликозидов, характерных и для других видов рода. Предположение, что все виды рода *Cucumaria* обязательно содержат одинаковые моно-, ди- и трисульфатированные пентасахаридные разветвленные цепи, но при этом специфические агликоны, подтверждается структурами гликозидов *C. djakonovi*. Набор углеводных цепей, биосинтезируемый голотуриями рода *Cucumaria*, был расширен новыми углеводными цепями дьяконовиозидов.

В общем в результате исследования гликозидного состава голотурии *Cucumaria djakonovi* было выделено 11 новых и 9 известных гликозидов, найденных ранее в других представителях рода *Cucumaria*. Двенадцать различных агликонов входили в состав выделенных гликозидов, причем пять из них были новыми, включая уникальный агликон, имеющий 23,16-полукетальный фрагмент.

Было показано, что, с одной стороны, для каждого вида рода *Cucumaria* характерен уникальный видоспецифичный состав гликозидов, а с другой стороны, наличие общих гликозидов для разных представителей рода подтверждает отнесение той или иной голотурии к этому роду.

Таким образом, с 2019 по 2023 г. нами выделено более 80 новых тритерпеновых гликозидов из тихоокеанских голотурий, причем ряд из них обладает уникальными структурными чертами. Полученные данные позволили изучить закономерности биосинтеза и зависимость биологической активности гликозидов от их структуры, но обсуждение этих результатов, как уже упоминалось, выходит за пределы данной публикации.

В нашей лаборатории также был изучен состав свободных стеринов голотурии *Orphnurgus cf. glaber* Walsh, 1891 – редкой глубоководной голотурии, собранной в Тихом океане с глубины 2231 м. В результате этого исследования были найдены соединения 93 (а, с-е), 94 (а, с-е), 95 (а-с, е, f), 96 (а, е), 97 (а, е), 98 (а, е) (рис. 16) [36]. Структурную идентификацию веществ выполнили с помощью ГЖХ/МС, а также спектроскопии ЯМР отдельных фракций.

Было установлено, что в состав фракции свободных стеринов глубоководной голотурии *Orphnurgus cf. glaber* входят холестерин (93а) и 24-этилхолестерин (93е) и продукты их модификации в стериновых ядрах: Δ⁰ (94а и 94е), Δ⁷ (95а и 95е), Δ^{7,14} (96а и 96е), Δ^{7,9(11)} (97а и 97е), диоксистерины (98а и 98е). Стерины с другими боковыми цепями встречаются

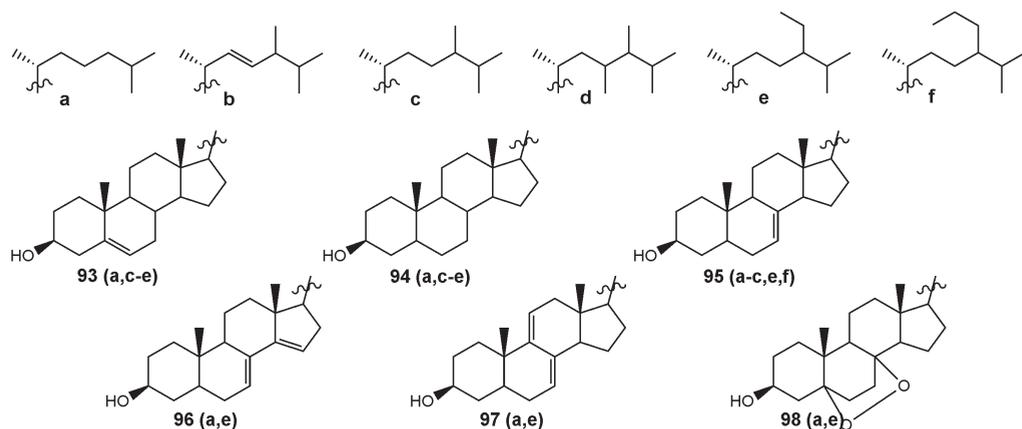


Рис. 16. Структуры стеринов из голотурии *Orphnurgus cf. glaber*

в небольших количествах. По-видимому, обилие соединений с общей холестериновой боковой цепью и особенно с 24-этилзамещенной боковой цепью отражает стеринный состав фитодетрита, которым питается *Orphnurgus cf. glaber*.

Большинству голотурий присуща способность трансформировать ядро получаемых с пищей стеринов, превращая Δ^5 -стерины в их Δ^7 -аналоги [37]. Обычно голотурии биосинтезируют тритерпеновые гликозиды в качестве средств химической защиты от хищников, но их собственные клетки устойчивы к действию их цитотоксинов благодаря присутствию в мембране Δ^7 -стеринов [1]. Тритерпеновые гликозиды не были обнаружены в *Orphnurgus cf. glaber*, но ее стеринный состав демонстрирует наличие интенсивной трансформации пищевых Δ^5 -стеринов, указывая, что отсутствие гликозидов в этой голотурии может носить вторичный характер. Стериновая фракция содержит 14,4% Δ^5 -стеринов, 12,6% – станолов, 51,6% – Δ^7 -стеринов и 20,6% – полиненасыщенных стеринов и аддуктов кислорода. Интересной особенностью стеринового состава было наличие соединений с полиненасыщенными стериновыми ядрами. Это отмечалось ранее и для других глубоководных голотурий. Мы полагаем, что наличие ди- и триненасыщенных стеринов свидетельствует об адаптации мембран, содержащих эти стерины, к пониженным температурам. *O. cf. glaber* не содержит $\Delta^{5,7}$ -стеринов, являющихся промежуточными продуктами трансформации Δ^5 -стеринов в Δ^7 -стерины у мелководных голотурий [38], но у нее имеются кислородные аддукты **98a** и **98e**, которые легко образуются из $\Delta^{5,7}$ -стеринов и могут восстанавливаться. Таким образом, мы обнаружили 21 компонент стериновой фракции, содержащий Δ^7 , Δ^0 , Δ^5 , полиненасыщенные или 5,8-эпидиоксимодифицированные ядра и преимущественно насыщенные боковые цепи.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Kalinin V.I., Aminin D.L., Avilov S.A., Silchenko A.S., Stonik V.A. Triterpene glycosides from sea cucumbers (Holothurioidea, Echinodermata), biological activities and functions // *Studies in Natural Product Chemistry (Bioactive Natural Products)* / ed. Atta-ur-Rahman. The Netherlands: Elsevier Science Publisher, 2008. Vol. 35. P. 135–196.
2. Aminin D.L., Pisl'yagin E.A., Menchinskaya E.S., Silchenko A.S., Avilov S.A., Kalinin V.I. Immunomodulatory and anticancer activity of sea cucumber triterpene glycosides // *Studies in Natural Products Chemistry* / ed. Atta-ur-Rahman. The Netherlands: Elsevier Science B.V., 2014. Vol. 41. P. 75–94.
3. Aminin D.L., Menchinskaya E.S., Pisl'yagin E.A., Silchenko A.S., Avilov S.A., Kalinin V.I. Anticancer activity of sea cucumber triterpene glycosides // *Mar. Drugs*. 2015. Vol. 13. P. 1202–1223.
4. Kalinin V.I., Avilov S.A., Silchenko A.S., Stonik V.A. Triterpene glycosides of sea cucumbers (Holothurioidea, Echinodermata) as taxonomic markers // *Nat. Prod. Commun.* 2015. Vol. 10, N1. P. 21–26.

5. Калинин В.И., Сильченко А.С., Авиллов С.А. Тривалерпеновые гликозиды голотурий. Таксономическое значение и экологическая роль // Известия РАН. Серия биологическая. 2016. № 6. С. 616–624.
6. Калинин В.И., Авиллов С.А., Сильченко А.С. Исследование структуры тривалерпеновых гликозидов голотурий в Тихоокеанском институте биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН // Вестн. ДВО РАН. 2019. № 5. С. 40–46.
7. Silchenko A.S., Avilov S.A., Kalinovskiy A.I., Kalinin V.I., Andrijaschenko P.V., Dmitrenok P.S. Psolusosides C₁, C₂, and D₁, novel triterpene hexaosides from the sea cucumber *Psolus fabricii* (Psolidae, Dendrochirotida) // Nat. Prod. Commun. 2018. Vol. 13. P. 1623–1628.
8. Silchenko A.S., Avilov S.A., Kalinovskiy A.I., Kalinin V.I., Andrijaschenko P.V., Dmitrenok P.S., Popov R.S., Chingizova E.A., Kasakin M.F. Psolusosides C₃ and D₂–D₅, five novel triterpene hexaosides from the sea cucumber *Psolus fabricii* (Psolidae, Dendrochirotida): chemical structures and bioactivities // Nat. Prod. Commun. 2019. P. 1–12. DOI: 10.1177/1934578X19861253.
9. Le H., Vien L.T., Hanh T.T.H., Thanh N.V., Cuong N.X., Nam N.H., Thung D.C., Ivanchina N.V., Thao D.T., Dmitrenok P.S., Kicha A.A., Kiem P.V., Minh C.V. Triterpene glycosides from the Vietnamese sea cucumber *Holothuria edulis* // Nat. Prod. Res. 2020. Vol. 34. P. 1061–1067.
10. Silchenko A.S., Kalinovskiy A.I., Avilov S.A., Kalinin V.I., Andrijaschenko P.V., Dmitrenok P.S., Popov R.S., Chingizova E.A., Ermakova S.P., Malyarenko O.S. Structures and bioactivities of six new triterpene glycosides, psolusosides E, F, G, H, H₁, and I and the corrected structure of psolusoside B from the sea cucumber *Psolus fabricii* // Mar. Drugs. 2019. Vol. 17. 358 [1–24].
11. Silchenko A.S., Kalinovskiy A.I., Avilov S.A., Kalinin V.I., Andrijaschenko P.V., Dmitrenok P.S., Popov R.S., Chingizova E.A. Structures and bioactivities of psolusosides B₁, B₂, J, K, L, M, N, O, P and Q from the sea cucumber *Psolus fabricii*. The first finding of tetrasulfated marine low molecular weight metabolites // Mar. Drugs. 2019. Vol. 17. 631 [1–24].
12. Silchenko A.S., Kalinovskiy A.I., Avilov S.A., Andrijaschenko P.V., Popov R.S., Dmitrenok P.S., Chingizova E.A., Ermakova S.P., Malyarenko O.S., Dautov S. Sh., Kalinin V.I. Structures and bioactivities of quadrangularisosides A, A₁, B, B₁, B₂, C, C₁, D, D₁–D₄, and E from the sea cucumber *Colochirus quadrangularis*: the first discovery of the glycosides, sulfated by C-4 of the terminal 3-O-methylglucose residue. Synergetic effect on colony formation of tumor HT-29 cells of these glycosides with radioactive irradiation // Mar. Drugs. 2020. Vol. 18. 394 [1–35].
13. Silchenko A.S., Kalinovskiy A.I., Avilov S.A., Andrijaschenko P.V., Dmitrenok P.S., Kalinin V.I., Yurchenko E.V., Dolmatov I.Y. Colochirosides B₁, B₂, B₃ and C, novel sulfated triterpene glycosides from the sea cucumber *Colochirus robustus* (Cucumariidae, Dendrochirotida) // Nat. Prod. Commun. 2015. Vol. 10. P. 1687–1694.
14. Rodriguez J., Riguera R. Lefevreosides: four novel triterpenoid glycosides from the sea cucumber *Cucumaria lefevrei* // J. Chem. Res. (M). 1989. P. 2620–2636.
15. Zurita M.B., Ahond A., Poupat C., Potier P. Invertebres marins du lagon Neo-Caledonien, VII. Etude structurale d'un nouveau saponoside sulfate extrait de l'holothurie *Neothyonidium magnum* // J. Nat. Prod. 1986. Vol. 49. P. 809–813.
16. Chludil H.D., Muniain C.C., Seldes A.M., Maier M.S. Cytotoxic and antifungal triterpene glycosides from the Patagonian sea cucumber *Hemoidema spectabilis* // J. Nat. Prod. 2002. Vol. 65. P. 860–865.
17. Yi Y.-H., Xu Q.-Z., Li L., Zhang S.-L., Wu H.-M., Ding J., Tong Y.G., Tan W.-F., Li M.-H., Tian F., Wu J.-H., Liaw C.-C., Bastow K.F., Lee K.-H. Philinopsides A and B, two new sulfated triterpene glycosides from the sea cucumber *Pentacta quadrangularis* // Helv. Chim. Acta. 2006. Vol. 89. P. 54–63.
18. Zhang S.-L., Li L., Yi Y.-H., Sun P. Philinopsides E and F, two new sulfated triterpene glycosides from the sea cucumber *Pentacta quadrangularis* // Nat. Prod. Res. 2006. Vol. 20. P. 399–407.
19. Kalinovskii A.I., Avilov S.A., Stepanov V.R., Stonik V.A. Glycosides of marine invertebrates. XXIII. Kurilogenin – a new genin from the glycosides of the holothurian *Duasmodyctyla kurilensis* // Chem. Nat. Compds. 1983. Vol. 19. P. 688–691.
20. Avilov S.A., Kalinovskii A.I. New triterpene aglycone from the holothurian *Duasmodyctyla kurilensis* // Chem. Nat. Compds. 1989. Vol. 25. P. 309–311.
21. Avilov S.A., Kalinovskii A.I., Stonik V.A. Two new triterpene glycosides from the holothurian *Duasmodyctyla kurilensis* // Chem. Nat. Compds. 1991. Vol. 27. P. 188–192.
22. Silchenko A.S., Kalinovskiy A.I., Avilov S.A., Andrijaschenko P.V., Popov R.S., Dmitrenok P.S., Chingizova E.A., Kalinin V.I. Kurilosides A₁, A₂, C₁, D, E and F – triterpene glycosides from the Far Eastern sea cucumber *Thyonidium (=Duasmodyctyla) kurilensis* (Levin): structures with unusual non-holostane aglycones and cytotoxicities // Mar. Drugs. 2020. Vol. 18. 551 [1–21].

23. Silchenko A.S., Kalinovsky A.I., Avilov S.A., Andrijaschenko P.V., Popov R.S., Dmitrenok P.S., Chingizova E.A., Kalinin V.I. Triterpene glycosides from the Far Eastern sea cucumber *Thyonidium (=Dusmodactyla) kurilensis* (Levin): the structures, cytotoxicities, and biogenesis of kurilosides A₃, D₁, G, H, I, I₁, J, K, and K₁ // *Mar. Drugs*. 2021. Vol. 19. 187 [1–25].
24. Kalinin V.I., Avilov S.A., Kalinina E.Y., Korolkova O.G., Kalinovsky A.I., Stonik V.A., Riguera R., Jimenez C. Structure of eximissoside A, a novel triterpene glycoside from the Far-Eastern sea cucumber *Psolus eximius* // *J. Nat. Prod.* 1997. Vol. 60. P. 817–819.
25. Murray A.P., Muniain C., Seldes A.M., Maier M. Patagonicoside A: a novel antifungal disulfated triterpene glycoside from the sea cucumber *Psolus patagonicus* // *Tetrahedron*. 2001. Vol. 57. P. 9563–9568.
26. Careaga V.P., Muniain C., Maier M.S. Patagonicosides B and C, two antifungal sulfated triterpene glycosides from the sea cucumber *Psolus patagonicus* // *Chem. Biodivers.* 2011. Vol. 8. P. 467–475.
27. Silchenko A.S., Kalinovsky A.I., Avilov S.A., Andrijaschenko P.V., Popov R.S., Dmitrenok P.S., Chingizova E.A., Kalinin V.I. Unusual structures and cytotoxicities of chitonoidosides A, A₁, B, C, D, and E, six triterpene glycosides from the Far Eastern sea cucumber *Psolus chitonoides* // *Mar. Drugs*. 2021. Vol. 19. 449 [1–18].
28. Silchenko A.S., Kalinovsky A.I., Avilov S.A., Andrijaschenko P.V., Popov R.S., Chingizova E.A., Kalinin V.I., Dmitrenok P.S. Triterpene glycosides from the Far Eastern sea cucumber *Psolus chitonoides*: chemical structures and cytotoxicities of chitonoidosides E₁, F, G, and H // *Mar. Drugs*. 2021. Vol. 19, N12. 696 [1–17].
29. Silchenko A.S., Avilov S.A., Andrijaschenko P.V., Popov R.S., Chingizova E.A., Dmitrenok P.S., Kalinovsky A.I., Rasin A.B., Kalinin V.I. Structures and biologic activity of chitonoidosides I, J, K, K₁ and L – triterpene di-, tri- and tetrasulfated hexaosides from the sea cucumber *Psolus chitonoides* // *Mar. Drugs*. 2022. Vol. 20, N6. 369 [1–21].
30. Silchenko A.S., Avilov S.A., Andrijaschenko P.V., Popov R.S., Chingizova E.A., Grebnev B.B., Rasin A.B., Kalinin V.I. The isolation, structure elucidation and bioactivity study of chilensosides A, A₁, B, C, and D, holostane triterpene di-, tri- and tetrasulfated pentaosides from the sea cucumber *Paracaudina chilensis* (Caudinidae, Molpadida) // *Molecules*. 2022. Vol. 27. 7655 [1–18].
31. Silchenko A.S., Avilov S.A., Andrijaschenko P.V., Popov R.S., Chingizova E.A., Grebnev B.B., Rasin A.B., Kalinin V.I. Chilensosides E, F, and G – new tetrasulfated triterpene glycosides from the sea cucumber *Paracaudina chilensis* (Caudinidae, Molpadida): structures, activity, and biogenesis // *Mar. Drugs*. 2023. Vol. 21, N2. 114 [1–14].
32. Silchenko A.S., Kalinovsky A.I., Avilov S.A., Popov R.S., Dmitrenok P.S., Chingizova E.A., Menchinskaya E.S., Panina E.G., Stepanov V.G., Kalinin V.I., Stonik V.A. Djakonoviosides A, A₁, A₂, B₁–B₄ – triterpene monosulfated tetra- and pentaosides from the sea cucumber *Cucumaria djakonovi*: the first finding of a hemiketal fragment in the aglycones; activity against human breast cancer cell lines // *Int. J. Mol. Sci.* 2023. Vol. 24. 11128 [1–24].
33. Silchenko A.S., Kalinovsky A.I., Avilov S.A., Popov R.S., Chingizova E.A., Menchinskaya E.S., Zelepuga E.A., Panina E.G., Stepanov V.G., Kalinin V.I., Dmitrenok P.S. Sulfated triterpene glycosides from the Far Eastern sea cucumber *Cucumaria djakonovi*: djakonoviosides C₁, D₁, E₁, and F₁; cytotoxicity against human breast cancer cell lines; quantitative structure – activity relationships // *Mar. Drugs*. 2023. Vol. 21. 602 [1–29].
34. Silchenko A.S., Avilov S.A., Kalinovsky A.I., Dmitrenok P.S., Kalinin V.I., Morre J., Deinzer M.L., Woodward C., Collin P.D. Glycosides from the North Atlantic sea cucumber *Cucumaria frondosa* V – Structures of five new minor trisulfated triterpene oligoglycosides, frondosides A₇-1, A₇-3, A₇-4, and isofrondoside C // *Can. J. Chem.* 2007. Vol. 85, N. 9. P. 626–636.
35. Avilov S.A., Kalinin V.I., Smirnov A.V. Use of triterpene glycosides for resolving taxonomic problems in the sea cucumber genus *Cucumaria* (Holotheroidea, Echinodermata) // *Biochem. System. Ecol.* 2004. Vol. 32. P. 715–733.
36. Ponomarenko L.P., Kapustina I.I., Dautov S.S., Dautova T.N., Stonik V.A. Free sterol composition of deep-sea holothurian *Orphnurgus cf. glaber* // *Nat. Prod. Commun.* 2022. Vol. 17, N12. P. 1–6. DOI: 10.1177/1934578X221142791.
37. Sheikh Y.M., Djerassi C. Biosynthesis of sterols in the sea cucumber *Stichopus californicus* // *Tetrahedron Letters*. 1977. Vol. 36. P. 3111–3114.
38. Cordeiro M.L., Djerassi C. Biosynthetic studies of marine lipids. 25. Biosynthesis of $\Delta^{9(11)}$ - and Δ^7 -sterols and saponins in sea cucumbers // *J. Org. Chem.* 1990. Vol 55, N9. P. 2806–2813.

REFERENCES

1. Kalinin V.I., Aminin D.L., Avilov S.A., Silchenko A.S., Stonik V.A. Triterpene glycosides from sea cucumbers (Holothurioidae, Echinodermata), biological activities and functions. In: *Studies in Natural Product Chemistry (Bioactive Natural Products)*. Atta-ur-Rahman (ed.). The Netherlands: Elsevier Science Publisher; 2008. Vol. 35. P. 135–196.
2. Aminin D.L., Pisluyagin E.A., Menchinskaya E.S., Silchenko A.S., Avilov S.A., Kalinin V.I. Immunomodulatory and anticancer activity of sea cucumber triterpene glycosides. In: *Studies in Natural Products Chemistry*. Atta-ur-Rahman (ed.). The Netherlands: Elsevier Science B.V.; 2014. Vol. 41. P. 75–94.
3. Aminin D.L., Menchinskaya E.S., Pisluyagin E.A., Silchenko A.S., Avilov S.A., Kalinin V.I. Anti-cancer activity of sea cucumber triterpene glycosides. *Mar. Drugs*. 2015;13:1202–1223.
4. Kalinin V.I., Avilov S.A., Silchenko A.S., Stonik V.A. Triterpene glycosides of sea cucumbers (Holothuroidea, Echinodermata) as taxonomic markers. *Nat. Prod. Commun.* 2015;10(1):21–26.
5. Kalinin V.I., Silchenko A.S., Avilov S.A. Triterpenovye glikozidy goloturij. Taksonomicheskoe znachenie i ekologicheskaya rol = [Triterpene glycosides of sea cucumbers. Taxonomic significance and ecological role]. *Izvestia Rossijskoj Akademii Nauk. Ser. Biologicheskaya*. 2016;(6):616–624. (In Russ.).
6. Kalinin V.I., Avilov S.A., Silchenko A.S. Issledovanie struktury triterpenovykh glycozidov goloturij v Tikhookeanskom Institute Bioorganicheskoy Khimii im. G.B. Elyakova DVO RAN = [The studies of structures of sea cucumber triterpene glycosides in G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry of the FEB RAS]. *Vestnik of the FEB RAS*. 2019;(5):40–46. (In Russ.).
7. Silchenko A.S., Avilov S.A., Kalinovskiy A.I., Kalinin V.I., Andrijaschenko P.V., Dmitrenok P.S. Psolusosides C₁, C₂, and D₁, novel triterpene hexaosides from the sea cucumber *Psolus fabricii* (Psolidae, Dendrochirotida). *Nat. Prod. Commun.* 2018;13:1623–1628.
8. Silchenko A.S., Avilov S.A., Kalinovskiy A.I., Kalinin V.I., Andrijaschenko P.V., Dmitrenok P.S., Popov R.S., Chingizova E.A., Kasakin M.F. Psolusosides C₃ and D₂–D₅, five novel triterpene hexaosides from the sea cucumber *Psolus fabricii* (Psolidae, Dendrochirotida): chemical structures and bioactivities. *Nat. Prod. Commun.* 2019:1–12. DOI: 10.1177/1934578X19861253.
9. Le H., Vien L.T., Hanh T.T.H., Thanh N.V., Cuong N.X., Nam N.H., Thung D.C., Ivanchina N.V., Thao D.T., Dmitrenok P.S., Kicha A.A., Kiem P.V., Minh C.V. Triterpene glycosides from the Vietnamese sea cucumber *Holothuria edulis*. *Nat. Prod. Res.* 2020;34:1061–1067.
10. Silchenko A.S., Kalinovskiy A.I., Avilov S.A., Kalinin V.I., Andrijaschenko P.V., Dmitrenok P.S., Popov R.S., Chingizova E.A., Ermakova S.P., Malyarenko O.S. Structures and bioactivities of six new triterpene glycosides, psolusosides E, F, G, H, H₁, and I and the corrected structure of psolusoside B from the sea cucumber *Psolus fabricii*. *Mar. Drugs*. 2019;17. 358 [1–24].
11. Silchenko A.S., Kalinovskiy A.I., Avilov S.A., Kalinin V.I., Andrijaschenko P.V., Dmitrenok P.S., Popov R.S., Chingizova E.A. Structures and bioactivities of psolusosides B₁, B₂, J, K, L, M, N, O, P and Q from the sea cucumber *Psolus fabricii*. The first finding of tetrasulfated marine low molecular weight metabolites. *Mar. Drugs*. 2019;17. 631 [1–24].
12. Silchenko A.S., Kalinovskiy A.I., Avilov S.A., Andrijaschenko P.V., Popov R.S., Dmitrenok P.S., Chingizova E.A., Ermakova S.P., Malyarenko O.S., Dautov S. Sh., Kalinin V.I. Structures and bioactivities of quadrangularisosides A, A₁, B, B₁, B₂, C, C₁, D, D₁–D₄, and E from the sea cucumber *Colochirus quadrangularis*: the first discovery of the glycosides, sulfated by C-4 of the terminal 3-O-methylglucose residue. Synergetic effect on colony formation of tumor HT-29 cells of these glycosides with radioactive irradiation. *Mar. Drugs*. 2020;18. 394 [1–35].
13. Silchenko A.S., Kalinovskiy A.I., Avilov S.A., Andrijaschenko P.V., Dmitrenok P.S., Kalinin V.I., Yurchenko E.V., Dolmatov I.Y. Colochirosides B₁, B₂, B₃ and C, novel sulfated triterpene glycosides from the sea cucumber *Colochirus robustus* (Cucumariidae, Dendrochirotida). *Nat. Prod. Commun.* 2015;10:1687–1694.
14. Rodriguez J., Riguera R. Lefevreosides: four novel triterpenoid glycosides from the sea cucumber *Cucumaria lefevrei*. *J. Chem. Res. (M)*. 1989:2620–2636.
15. Zurita M.B., Ahond A., Poupat C., Potier P. Invertébrés marins du lagon Neo-Caledonien, VII. Etude structurale d'un nouveau saponoside sulfate extrait de l'holothurie *Neothyronidium magnum*. *J. Nat. Prod.* 1986;49:809–813.
16. Chludil H.D., Muniain C.C., Seldes A.M., Maier M.S. Cytotoxic and antifungal triterpene glycosides from the Patagonian sea cucumber *Hemoidema spectabilis*. *J. Nat. Prod.* 2002;65:860–865.

17. Yi Y.-H., Xu Q.-Z., Li L., Zhang S.-L., Wu H.-M., Ding J., Tong Y.G., Tan W.-F., Li M.-H., Tian F., Wu J.-H., Liaw C.-C., Bastow K.F., Lee K.-H. Philinopsides A and B, two new sulfated triterpene glycosides from the sea cucumber *Pentacta quadrangularis*. *Helv. Chim. Acta*. 2006;89:54–63.
18. Zhang S.-L., Li L., Yi Y.-H., Sun P. Philinopsides E and F, two new sulfated triterpene glycosides from the sea cucumber *Pentacta quadrangularis*. *Nat. Prod. Res.* 2006;20:399–407.
19. Kalinovskii A.I., Avilov S.A., Stepanov V.R., Stonik V.A. Glycosides of marine invertebrates. XXIII. Kurilogenin – a new genin from the glycosides of the holothurian *Duasmodyctyla kurilensis*. *Chem. Nat. Compds.* 1983;19:688–691.
20. Avilov S.A., Kalinovskii A.I. New triterpene aglycone from the holothurian *Duasmodyctyla kurilensis*. *Chem. Nat. Compds.* 1989;25:309–311.
21. Avilov S.A., Kalinovskii A.I., Stonik V.A. Two new triterpene glycosides from the holothurian *Duasmodyctyla kurilensis*. *Chem. Nat. Compds.* 1991;27:188–192.
22. Silchenko A.S., Kalinovskiy A.I., Avilov S.A., Andrijaschenko P.V., Popov R.S., Dmitrenok P.S., Chingizova E.A., Kalinin V.I. Kurilosides A₁, A₂, C₁, D, E and F – triterpene glycosides from the Far Eastern sea cucumber *Thyonidium (=Duasmodyctyla) kurilensis* (Levin): structures with unusual non-holostane aglycones and cytotoxicities. *Mar. Drugs*. 2020;18. 551 [1–21].
23. Silchenko A.S., Kalinovskiy A.I., Avilov S.A., Andrijaschenko P.V., Popov R.S., Dmitrenok P.S., Chingizova E.A., Kalinin V.I. Triterpene glycosides from the Far Eastern sea cucumber *Thyonidium (=Duasmodyctyla) kurilensis* (Levin): the structures, cytotoxicities, and biogenesis of kurilosides A₃, D₁, G, H, I, I₁, J, K, and K₁. *Mar. Drugs*. 2021;19. 187 [1–25].
24. Kalinin V.I., Avilov S.A., Kalinina E.Y., Korolkova O.G., Kalinovskiy A.I., Stonik V.A., Riguera R., Jimenez C. Structure of eximisoid A, a novel triterpene glycoside from the Far-Eastern sea cucumber *Psolus eximius*. *J. Nat. Prod.* 1997;60:817–819.
25. Murray A.P., Muniain C., Seldes A.M., Maier M. Patagonicoside A: a novel antifungal disulfated triterpene glycoside from the sea cucumber *Psolus patagonicus*. *Tetrahedron*. 2001;57:9563–9568.
26. Careaga V.P., Muniain C., Maier M.S. Patagonicosides B and C, two antifungal sulfated triterpene glycosides from the sea cucumber *Psolus patagonicus*. *Chem. Biodivers.* 2011;8:467–475.
27. Silchenko A.S., Kalinovskiy A.I., Avilov S.A., Andrijaschenko P.V., Popov R.S., Dmitrenok P.S., Chingizova E.A., Kalinin V.I. Unusual structures and cytotoxicities of chitonoidosides A, A₁, B, C, D, and E, six triterpene glycosides from the Far Eastern sea cucumber *Psolus chitonoides*. *Mar. Drugs*. 2021;19. 449 [1–18].
28. Silchenko A.S., Kalinovskiy A.I., Avilov S.A., Andrijaschenko P.V., Popov R.S., Chingizova E.A., Kalinin V.I., Dmitrenok P.S. Triterpene glycosides from the Far Eastern sea cucumber *Psolus chitonoides*: chemical structures and cytotoxicities of chitonoidosides E₁, F, G, and H. *Mar. Drugs*. 2021;19(12). 696 [1–17].
29. Silchenko A.S., Avilov S.A., Andrijaschenko P.V., Popov R.S., Chingizova E.A., Dmitrenok P.S., Kalinovskiy A.I., Rasin A.B., Kalinin V.I. Structures and biologic activity of chitonoidosides I, J, K, K₁ and L – triterpene di-, tri- and tetrasulfated hexaosides from the sea cucumber *Psolus chitonoides*. *Mar. Drugs*. 2022;20(6). 369 [1–21].
30. Silchenko A.S., Avilov S.A., Andrijaschenko P.V., Popov, R.S., Chingizova E.A., Grebnev B.B., Rasin A.B., Kalinin V.I. The isolation, structure elucidation and bioactivity study of chilensosides A, A₁, B, C, and D, holostane triterpene di-, tri- and tetrasulfated pentaosides from the sea cucumber *Paracaudina chilensis* (Caudinidae, Molpadida). *Molecules*. 2022;27. 7655 [1–18].
31. Silchenko A.S., Avilov S.A., Andrijaschenko P.V., Popov R.S., Chingizova E.A., Grebnev B.B., Rasin A.B., Kalinin V.I. Chilensosides E, F, and G – new tetrasulfated triterpene glycosides from the sea cucumber *Paracaudina chilensis* (Caudinidae, Molpadida): structures, activity, and biogenesis. *Mar. Drugs*. 2023;21(2). 114 [1–14].
32. Silchenko A.S., Kalinovskiy A.I., Avilov S.A., Popov R.S., Dmitrenok P.S., Chingizova E.A., Menchinskaya E.S., Panina E.G., Stepanov V.G., Kalinin V.I., Stonik V.A. Djakonoviosides A, A₁, A₂, B₁–B₄ – triterpene monosulfated tetra- and pentaosides from the sea cucumber *Cucumaria djakonovi*: the first finding of a hemiketal fragment in the aglycones; activity against human breast cancer cell lines. *Int. J. Mol. Scis.* 2023;24. 11128 [1–24].
33. Silchenko A.S., Kalinovskiy A.I., Avilov S.A., Popov R.S., Chingizova E.A., Menchinskaya E.S., Zelepuga E.A., Panina E.G., Stepanov V.G., Kalinin V.I., Dmitrenok P.S. Sulfated triterpene glycosides from the Far Eastern sea cucumber *Cucumaria djakonovi*: djakonoviosides C₁, D₁, E₁, and F₁; cytotoxicity against human breast cancer cell lines; quantitative structure – activity relationships. *Mar. Drugs*. 2023;21. 602 [1–29].

34. Silchenko A.S., Avilov S.A., Kalinovskiy A.I., Dmitrenok P.S., Kalinin V.I., Morre J., Deinzer M.L., Woodward C., Collin P.D. Glycosides from the North Atlantic sea cucumber *Cucumaria frondosa* V – Structures of five new minor trisulfated triterpene oligoglycosides, frondosides A₇-1, A₇-3, A₇-4, and isofrondoside C. *Can. J. Chem.* 2007;85:626–636.
35. Avilov S.A., Kalinin V.I., Smirnov A.V. Use of triterpene glycosides for resolving taxonomic problems in the sea cucumber genus *Cucumaria* (Holotheroidea, Echinodermata). *Biochem. System. Ecol.* 2004;32:715–733.
36. Ponomarenko L.P., Kapustina I.I., Dautov S.S., Dautova T.N., Stonik V.A. Free sterol composition of deep-sea holothurian *Orphnurgus* cf. *glaber*. *Nat. Prod. Commun.* 2022;17(12):1–6. DOI: 10.1177/1934578X221142791.
37. Sheikh Y.M., Djerassi C. Biosynthesis of sterols in the sea cucumber *Stichopus californicus*. *Tetrahedron Letters*. 1977;36:3111–3114.
38. Cordeiro M.L., Djerassi C. Biosynthetic studies of marine lipids. 25. Biosynthesis of $\Delta^{9(11)}$ - and Δ^7 -sterols and saponins in sea cucumbers. *J. Org. Chem.* 1990;55(9):2806–2813.

Обзорная статья
УДК 547.918
DOI: 10.31857/S0869769824030057
EDN: ISMZRM

Тритерпеновые гликозиды растений рода *Panax*

В.В. Маханьков[✉]

Вячеслав Валентинович Маханьков

кандидат химических наук, научный сотрудник, заведующий лабораторией биотехнологии Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток, Россия
mvvslav@mail.ru
<http://orcid.org/0000-0001-7885-0556>

Аннотация. В настоящем обзоре рассмотрены химические свойства тритерпеновых гликозидов, выделенных из растений рода *Panax*. Приведены тривиальные, сокращенные и систематические названия гликозидов, наиболее употребляемые в настоящее время.

Ключевые слова: гликозиды, тритерпеновые гликозиды, сапонины, панаксозиды, гинзенозиды, структура, классификация, растения рода *Panax*

Для цитирования: Маханьков В.В. Тритерпеновые гликозиды растений рода *Panax* // Вестн. ДВО РАН. 2024. № 3. С. 90–100. <http://dx.doi.org/10.31857/S0869769824030057>

Review article

Triterpene glycosides from plants of the genus *Panax*

V.V. Makhankov

Vyacheslav V. Makhankov

Candidate of Sciences in Chemistry, Researcher, Head of Biotechnology Laboratory PIBOC FEB RAS
G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS, Vladivostok, Russia
mvvslav@mail.ru
<http://orcid.org/0000-0001-7885-0556>

Abstract. This review examines the chemical properties of triterpene glycosides isolated from plants of the genus *Panax*. The trivial, abbreviated and systematic names of glycosides most commonly used at present are given.

Keywords: glycosides, triterpene glycosides, saponins, panaxosides, ginsenosides, structure, classification, plants of the genus *Panax*

For citation: Makhankov V.V. Triterpene glycosides from plants of the genus *Panax*. *Vestnik of the FEB RAS*. 2024;(3):90–100. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.31857/S0869769824030057>

Лекарственное растение *Panax ginseng* С.А. Мейер (женьшень) – эндемичное многолетнее травянистое растение, относящееся к семейству Аралиевых (Araliaceae). Корни этого растения уже более 4 тыс. лет используются в Китае и Корее как универсальное средство от многих болезней [1]. Женьшень считают средством, активно влияющим на состояние нервной системы человека, его эндокринный аппарат, обмен веществ и сердечно-сосудистую систему. Современные фармакологические исследования препаратов женьшеня показывают, что по широте и разнообразию медико-биологического действия он не имеет себе равных в растительном мире [1, 2].

Долгое время лекарственную ценность корней женьшеня определяли только по его внешнему виду. Началом химического исследования женьшеня считают 1854 г., когда американский химик S. Garriques сообщил о выделении из *P. quinquefolium* аморфного вещества – сапонина панаквилона [3]. Название «сапонин» происходит от лат. *sapo* – мыло; так называют вещества из растений, водные растворы которых образуют стойкую мыльную пену. Они обладают гемолитической активностью и являются ядами для животных, дышащих жабрами. Интерес химиков именно к этому классу соединений был вызван в какой-то мере легкостью их обнаружения. Ведь достаточно было встряхнуть водные растворы таких веществ, и образовавшаяся устойчивая пена указывала на наличие сапонинов, чем дольше она не разрушалась, тем выше считалась концентрация этих веществ в растворе. Необычайная легкость обнаружения сапонинов и одновременно трудность выделения и установления структуры таких сложных соединений способами, существовавшими в то время, долгие годы не давали покоя ученым, побуждая вновь и вновь пытаться разгадать тайну химических веществ, определяющих целительную силу женьшеня.

Начало 1960-х годов в Советском Союзе ознаменовалось появлением нового фундаментального научного направления – химия природных биологически активных соединений. В 1959 г. в Москве был создан Институт химии природных соединений (ИХПС), в настоящее время – Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ИБХ РАН). Институт возглавил академик М.М. Шемякин, а заместителем директора по научной части был назначен член-корреспондент Н.К. Кочетков.

Во Владивостоке в 1959 г. кандидат химических наук Георгий Борисович Еляков возглавил лабораторию химии природных биологически активных соединений Дальневосточного филиала Сибирского отделения Академии наук СССР (ДВФ СО АН СССР). Уже в 1961 г. молодые сотрудники начинают химическое исследование легендарного корня *P. ginseng* С.А. Мейер, и в 1962 г. Г.Б. Еляков и Л.И. Стригина публикуют свою первую работу о выделении из корней приморского женьшеня панаксозида А и характеризуют его как диглюкозид [4], а затем совместно с сотрудниками ИХПС АН СССР (г. Москва) публикуют серию работ об исследовании углеводной составляющей панаксозидов А и В [5, 6].

В этом же году японские химики под руководством профессора Шибата Ш. (Shibata S.) из Университета г. Токио, подвергнув кислотному гидролизу сумму нейтральных сапонинов женьшеня, выделяют сапогенин – панаксадиол (1) и устанавливают его структуру [7, 8]. При установлении структуры панаксадиола японские ученые обратили внимание на структурное сходство сапогенина из женьшеня и бетулафолиентриола – тритерпеноида ряда даммарана, который ранее обнаружили немецкие химики в листьях березы (*Betula alba*) [9].

Позднее удалось выделить еще один сапогенин – панаксатриол (2), подобный по структуре панаксадиолу (1), но с дополнительной гидроксильной группой [10], которая, как было затем определено, находится в положении 6 [11].

С организацией Института биологически активных соединений в составе ДВФ СО АН СССР, позже переименованного в Тихоокеанский институт биоорганической химии (ТИБОХ ДВО РАН), химические исследования женьшеня были продолжены [12, 13]. С этого момента началось долгое соперничество и в то же время сотрудничество ученых СССР и Японии.

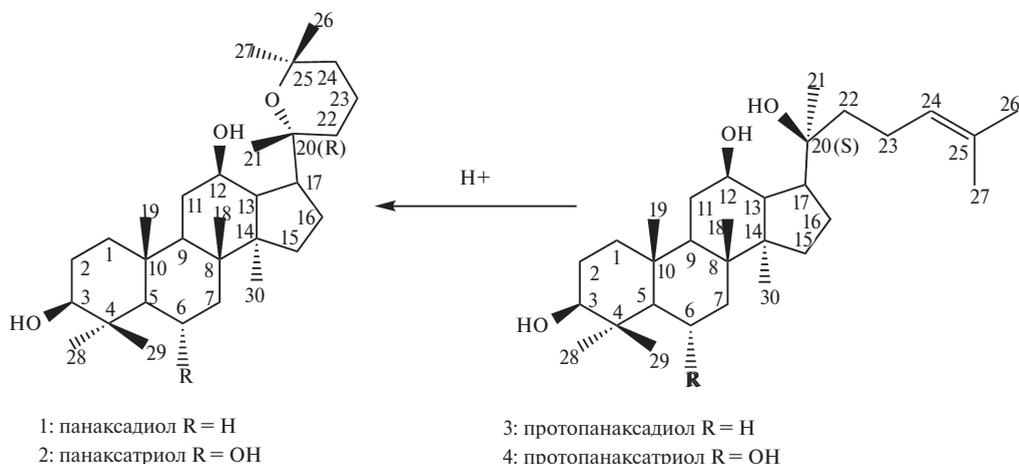
Ученые обменивались информацией и образцами полученных из женьшеня сапонинов и сапогенинов [14, 15].

Выделенные из женьшеня сапонины представляют собой гликозиды, агликонами которых являются тетрациклические и пентациклические тритерпеноиды. Пентациклические тритерпеноиды представлены только олеаноловой кислотой, а тетрациклические – тритерпеновыми спиртами даммаранового ряда. Гликозиды тритерпеноидов ряда даммарана присутствуют практически во всех видах женьшеня и являются характеристичными соединениями растений рода *Panax*, а их качественный и количественный состав служит визитной карточкой каждого корня. Информация о качественном составе и количественном содержании гинзенозидов позволяет стандартизировать выпускаемые на основе женьшеня лекарственные средства и может быть критерием их качества. Знания о составе гинзенозидов в корнях женьшеня различного происхождения в настоящее время становятся необходимым элементом современного фармацевтического и биохимического производства препаратов женьшеня.

Отметим, что для установления структуры гликозидов, в которых природа соединила воедино углеводную компоненту с тритерпеновым спиртом (агликоном или генином), субстрат сначала расщепляли нагреванием с кислотой, а полученные фрагменты идентифицировали отдельно. При таком подходе определение истинной (нативной) структуры агликона осложнялось тем, что в условиях жесткого кислотного гидролиза освободившийся от сахарной компоненты агликон мог далее трансформироваться, и тогда в руки исследователей попадал уже артефактный продукт. Так, в ходе дальнейших исследований было показано, что тритерпеноиды – панаксадиол (**1**) и панаксатриол (**2**), считавшиеся ранее сапогенинами женьшеня, на самом деле являются артефактами и образуются уже в процессе проведения кислотного гидролиза сапонинов. При этом процесс циклизации открытой боковой цепи с образованием пиранового кольца происходит с изменением конфигурации асимметрического центра при C-20 [16].

Использование ферментативного гидролиза для расщепления гликозидов женьшеня позволило выделить сапогенины в нативном виде [17–19]. Нативные сапогенины стали называть протопанаксадиол (**3**) и протопанаксатриол (**4**), добавляя приставку «прото-» к уже существующим названиям панаксадиол и панаксатриол, подчеркивая этим первоначальность их и одновременно структурное родство с полученными ранее артефактными агликонами [11] (см. рисунок).

О названиях гликозидов женьшеня. За прошедшие более 60 лет химического изучения тритерпеновых гликозидов из растений различных видов рода *Panax* было выделено и идентифицировано более 400 тритерпеновых гликозидов, которые являются производными тетрациклических (даммаранового ряда) и пентациклических (ряда олеанана) тритерпеноидов.



Артефактные (**1, 2**) и нативные сапогенины (**3, 4**) даммарановых гликозидов женьшеня

Все эти соединения кроме полного систематического названия имеют короткое тривиальное. Например, гликозид с систематическим названием 6-O-(α -D-глюкопиранозил)-20-O-(β -D-глюкопиранозил)-даммар-24-ен-3 β ,6 α ,12 β ,20(S)-тетраол называют гинзенозидом-Rg1 (ginsenoside-Rg1) либо панаксозидом А. Как правило, в таких названиях использовались видовые названия растений с добавлением окончания «-озид» («-oside»). Японские ученые Шибата Ш. и др. еще в 1960-е годы для названий гликозидов, выделенных из женьшеня, стали использовать видовое определение *Panax* (*P. ginseng* + oside = ginsenoside), затем к названию добавляли заглавную латинскую букву (R – radix, корень, F – folium, лист), указывая, из какой части растения выделен данный гликозид, и далее ставили прописную букву либо аббревиатуру, состоящую из букв и цифр, определяющих положение соответствующего пятна гликозида на ТСХ пластинке (от «а» – полярных соединений до «h» – неполярных) [1]. Исходя из этого, можно сказать, что название ginsenoside-Rg1 указывает, что такой гликозид впервые выделен из женьшеня *P. ginseng* С.А. Meyer (ginsenoside); «R» означает, что использовались корни, а «g1» – строчная буква и цифра, определяют положение пятна одного из неполярных, судя по букве «g», гликозидов на ТСХ пластинках. В краткой форме это записывалось: G-Rg1 или (только для гинзенозидов) Rg1.

В дальнейшем эти принципы стали использовать многие авторы, присваивая подобным образом тривиальные названия вновь выделенным гликозидам из различных видов женьшеня и называя их: псевдогинзенозиды (pseudoginsenoside от *P. pseudoginseng*), нотогинзенозиды (notoginsenoside от *P. notoginseng*), квинквинозиды (quinquenoside от *P. quinquefolium*), вина-гинзенозиды (vina-ginsenoside от Vina-Ginseng – английского названия *P. vietnamensis*). Но только для гликозидов, впервые выделенных из *P. japonicus*, до сих пор используется название чикусетсу-сапонин (chikusetsu-saponin), которое образовано иначе и исходит от японского названия этого вида женьшеня (Chikusetsu Ninjin).

В отличие от японских исследователей российские ученые под руководством Г.Б. Елякова для гликозидов женьшеня дали название «панаксозиды», используя родовое название женьшеня – *Panax*. Семь основных гликозидов, впервые выделенных из корней приморского женьшеня, получили название – панаксозиды А–G (panaxoside А–G), причем индексация, в отличие от японских ученых, велась от неполярных (А) к полярным (G) соединениям [10].

В 1971 г., когда была полностью выяснена структура гинзенозида-Rg1, выделенного из корней корейского *P. ginseng* С.А. Meyer, было проведено его прямое сравнение с близким по структуре панаксозидом А, выделенным российскими учеными из корней приморского женьшеня. Результаты показали полную идентичность этих гликозидов [20]. Позже структура панаксозида А была подтверждена и рентгеноструктурными исследованиями [21]. К сожалению, это единственный из опубликованных в литературе пример прямого сравнения панаксозидов и гинзенозидов. Когда уже в 1986 г. в ТИБОХ ДВО РАН были начаты работы сравнительного анализа гликозидов плантационного женьшеня Приморья и культуры клеток на его основе, мы использовали выделенные ранее образцы гликозидов женьшеня (панаксозиды А, В, С, D, E, F и G). Сравнив литературные данные о гинзенозидах, опубликованные японскими авторами, мы показали, что панаксозиды А, В, С, D, E, F и G идентичны гинзенозиду-Rg₁, -Rg₂, -Re, -Rc, -Rb₂, -Rb₁ и -Ro соответственно [22].

Следует отметить, что различные тривиальные названия гликозидов женьшеня, первоначально опубликованные авторами, иногда как рабочий вариант, после уточнения структуры и выяснения дублирующих названий для таких гликозидов, в последующих публикациях, как правило, корректируются, чтобы избежать путаницы в одинаковых тривиальных названиях для разных гликозидов. Тем не менее до сих пор в тривиальных названиях гликозидов женьшеня можно встретить казусы. Например, гликозиды, выделенные из *P. notoginseng* (Burk.) F.H. Chen и названные нотогинзенозидами К, L и M (Yoshikawa M. et al.) [23, 24], не идентичны нотогинзенозидам К*, L* и M*, выделенным из этого же растения другими исследователями (Ma G.W. et al.) [25].

Гликозиды тритерпеноидов даммаранового ряда. Основное количество гликозидов, выделенных из растений рода *Panax*, являются гликозидами тетрациклических тритерпеноидов даммаранового ряда. При этом среди даммарановых гликозидов в зависимости от структуры тритерпеноидов можно выделить две группы:

1. Гликозиды протопанаксадиола **3** (3 β ,12 β ,20(S)-тригидроксидаммар-24-ена) и протопанаксатриола **4** (3 β ,6 α ,12 β ,20(S)-тетрагидроксидаммар-24-ена) как гидрокси-производные

даммарендиола-II (3 β ,20(S)-дигидроксидаммар-24-ена). Открытая боковая цепь этих три-терпеноидов имеет двойную связь у C-24, а ассиметрический центр при C-20 имеет (S)-конфигурацию. В начале 1990-х годов в корнях *P. vietnamensis* Ha et Grushv. и *P. notoginseng* (Burk.) F.H. Chen. были обнаружены гликозиды даммарендиола-II – винагинзенозид-R3 (VG-R3) [23] и нотогинзенозид-I (NG-I) [24], но как минорные гликозиды.

2. Гликозиды, агликаны которых являются структурными аналогами тритерпеноидов (3) и (4), но имеют модифицированную боковую цепь следующих типов: а) циклические (замкнутые), в которых боковая цепь замкнута в пятичленный или шестичленный цикл; б) гидратированные, окисленные и кетонизированные, где дополнительная ОН-группа окислена до кетогруппы; в) дегидрированные, в которых есть окси-функция при C-20, но содержатся две сопряженные двойные связи и г) дегидратированные, в которых нет ОН-группы при C-20 и имеются две двойные связи.

Гликозиды тритерпеноидов (3) и (4) обнаружены в растениях практически всех видов женьшеня. Эти гликозиды являются доминирующими по содержанию в растениях *P. ginseng* C.A. Meyer, *P. quinquefolium* L. и *P. notoginseng* (Burk.) F.H. Chen. При этом отношение суммарного содержания гликозидов протопанаксадиола (3) к содержанию гликозидов протопанаксатриола (4) в корнях женьшеня часто используется для сравнения качества сырья женьшеня, а также служит критерием физиологического воздействия препаратов на организм человека.

Монодесмозиды протопанаксадиола (3) имеют в своем составе углеводную компоненту, присоединенную по гидроксильной группе при C-3 или C-20 агликана, а монодесмозиды протопанаксатриола (4), как правило, по гидроксильной группе при C-6 или C-20. Из гликозидов протопанаксатриола с другим местом привязки углеводной компоненты известен лишь глюкозид C-L10 (по гидроксильной группе при C-12). Он обнаружен в листьях японского женьшеня (*P. japonicus* C.A. Mey.) [26]. Естественно, бисдесмозиды протопанаксадиола (3) имеют углеводные компоненты, присоединенные по гидроксильным группам при C-3 и C-20, а бисдесмозиды протопанаксатриола (4) – по гидроксильным группам при C-6 и C 20. Бисдесмозиды протопанаксатриола (4), которые имеют углеводные цепи по 3,20-гидроксильным группам агликана, как у протопанаксадиола (3), были выделены, но их содержание было очень незначительно. Это гинзенозид-Ia (G-Ia), обнаруженный в бутонах цветков *P. ginseng* C.A. Meyer [27], и вина-гинзенозид-R4 (VG-R4), выделенный из корней *P. vietnamensis* Ha et Grushv. [28].

Углеводные цепи даммарановых гликозидов, состоящие из трех моносахаридных остатков, как правило, представляют собой линейный трисахарид. Корневища же японского женьшеня (*P. japonicus* C.A. Mey.) и близкие ему подвиды содержат даммарановые гликозиды (C-III) [29] и (C-VI) [30], углеводные компоненты которых имеют в своем составе остаток разветвленного трисахаарида. Наличие таких гликозидов в корневищах, как считает проф. Танака О., является признаком отличия этого вида женьшеня от других растений рода *Panax* [31].

В дополнение следует сказать несколько слов о гликозидах женьшеня, которые имеют ацилированную углеводную компоненту. Даммарановые гликозиды с ацилированными углеводными цепями присутствуют в различных видах женьшеня, но чаще всего как минорные гинзенозиды. Это довольно распространенные и устойчивые соединения по сравнению с другими ацильными производными гинзенозидов. Малонильные производные обнаружены в корнях *P. ginseng* C.A. Meyer [32] и листьях *P. quinquefolium* L. [33] и являются производными гинзенозидов-Rb1, -Rc, -Rb2 и -Rd.

Совсем недавно из корней *P. quinquefolium* L. были выделены квинквинозиды I (Q-I) и II (Q-II), которые оказались 6''-О-бутеноилпроизводным гинзенозида-Rd и 6''-О-октеноилпроизводным гинзенозида-Rb1 [33].

Другая группа гликозидов – это гликозиды агликонов с модифицированной боковой цепью. Агликоны монодесмозидов с модифицированной боковой цепью, обнаруженные в растениях рода *Panax*, являются структурными аналогами только протопанаксатриола (4). Гликозиды агликонов с циклической боковой цепью были обнаружены в корневищах *P. pseudo-ginseng* Wall. [34], *P. japonicus* var. *major* (Burk.) Wu et Feng [35, 36], их выделили из корней вьетнамского женьшеня *P. vietnamensis* Ha et Grushv. [37]. Следует отметить необычайно высокое содержание гликозида Ma-R2 с агликоном типа окотиллола в корнях

вьетнамского женьшеня (5,29 %). Наличие же в женьшене гликозидов, агликоны которых имеют циклическую и гидратированную боковую цепь, позволило Дюку Н.М. (Duc N.M.) с соавторами предложить биогенетическую схему образования тритерпеновых спиртов с циклической боковой цепью [38]. Авторы утверждают, что биогенез обоих типов гликозидов, содержащих агликон как с циклической, так и окисленной боковой цепью, имеет некоторые общие черты. В доказательство они приводят работу Яхары С. (Yahara S.), осуществившего кислотно-катализируемое окисление 20(S)-протопанаксатриола (**4**) метаклорпербензойной кислотой и получившего в результате смесь эпимерных по С-24 даммарановых спиртов с циклической боковой цепью типа окотиллола [39]. При этом было высказано предположение, что образование таких соединений должно происходить через циклизацию интермедиата, который, однако, не удалось выделить [38]. Обнаружение же в растениях рода *Panax* гликозидов, таких как вина-гинзенозид-R12 (VG-R12) [40] и нотогинзенозид-J (NG-J) [23, 41], агликоны которых имеют окисленную боковую цепь, подтверждает принципиальную возможность образования эпоксидов типа.

Агликоны бисдесмозидов с окисленной боковой цепью, обнаруженные в различных видах женьшеня, являются структурными аналогами как протопанаксадиола (**3**), так и протопанаксатриола (**4**). Гликозиды с такими агликонами были обнаружены в растениях женьшеня как минорные компоненты СГФ. Японские ученые Карикюра М. (Karikura M.) и др., проводившие исследование продуктов расщепления гинзенозидов -Rb1 и -Rb2 в желудках крыс при оральном введении, обнаружили, что наряду с просапогенинами (частично гидролизованными сапонинами) образуются гликозиды агликонов с гидроксильрованными и даже пергидроксильрованными боковыми цепями [42]. При этом они наблюдали, что при использовании в подобном эксперименте гинзенозида-Rg1 происходило разрушение гликозидной связи при С-20 и гидратация боковой цепи агликона. Они отметили, как и ранее Хан Б. (Han B.) с соавт. [43], что углеводная компонента в положении С-20 гликозидов протопанаксатриола (**4**) очень легко отщепляется даже в условиях мягкого гидролиза (0.1 н HCl, 37 °С – имитация условий в желудке крысы), а затем легко происходит гидратация в боковой цепи агликона. В случае гинзенозидов протопанаксадиола (**3**) гликозидная связь при С-20 устойчива в этих условиях (0.1 н HCl, 37 °С), и поэтому предпочтительным становится окисление боковой цепи. Вероятно, такая лабильность гликозидной связи при С-20 гинзенозидов протопанаксатриола (**4**) объясняет в какой-то мере тот факт, почему монодесмозиды агликонов с циклической и измененной боковой цепью обнаруживаются только в случае производных протопанаксатриола (**4**). Воздействие УФ-облучения также приводило к гидратации боковой цепи агликонов (**3**) и (**4**) в некоторых гинзенозидах [44].

Даммарановые гликозиды, агликоны которых имеют две двойные связи в боковой цепи 20(21),24 или 20(22),24, как правило, обнаруживаются в женьшене после обработки корней при повышенных температурах. Например, чтобы получить «красный женьшень» (Red Ginseng), корни женьшеня обрабатывают паром длительное время или проваривают [2]. При этом третичная гидроксильная группа агликона в результате реакции дегидратации отщепляется и в боковой цепи образуется вторая двойная связь. Присутствие же в «красном женьшене» 20(R)-монодесмозидов можно объяснить дегидратацией 20(S)-эпимеров и повторной гидратацией 20-еновых продуктов с образованием эпимерных по С-20 соединений. То, что 20(R)-гинзенозиды образуются именно в результате температурной обработки корней, Китагава И. (Kitagawa I.) доказал следующим образом. Из двух половинок одного и того же корня женьшеня были приготовлены «красный» и «белый женьшень», последующий анализ которых показал, что 20(R)-гинзенозиды присутствуют только в «красном женьшене» [45]. Нагревая бетулафолиентриол, который структурно близок протопанаксадиолу (**3**), в течение 15 мин в растворе хлорбензола с каталитическим количеством перхлората 2,4,6-коллиндиа в условиях азеотропной отгонки хлорбензола, Атопкина Л.Н. с соавт. наблюдали образование в основном 3 α ,12 β -дигидроксидаммар-20(22),24-диена [46].

Таким образом, данные, приведенные в обзоре, свидетельствуют о целесообразности дальнейших методологических и структурных исследований тритерпеновых гликозидов растений рода *Panax* с целью сравнительного анализа и систематизации номенклатурной вариабельности в различных первоисточниках в унифицированную систему с необходимой достоверностью.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Tanaka O., Kasai R. Saponins of ginseng and related plants // Progress in the Chemistry of Organic Natural Products / eds. W. Herz, H. Gresebach, G. W. Kirby, Ch. Tamm. Wien; N.Y.: Springer-Verlag, 1984. Vol. 46. P. 1–42.
2. Shibata S., Tanaka O., Shoji J., Saito H. Chemistry and pharmacology of Panax // Economic and Medicinal Plant Research / eds. H. Wagner, H. Nikino, N.F. Farnsworth. L.: Acad. Press, 1985. Vol. 1. P. 217–284.
3. Garriques S.S. On Panaquilon, a New Vegetable Substance // Ann. Chem. Pharmacol. 1854. Vol. 90. P. 231.
4. Еляков Г.Б., Стригина Л.И. Панаксозид А – нейтральный гликозид из корня женьшеня (*Panax ginseng* С.А. Мейер) // Изв. СО АН СССР. 1962. № 5. С. 126–129.
5. Еляков Г.Б., Стригина Л.И., Хорлин А.Я., Кочетков Н.К. Гликозиды женьшеня (*Panax ginseng* С.А. Мей.) // Изв. АН СССР. Отд. хим. наук. 1962. № 6. С. 1125.
6. Еляков Г.Б., Стригина Л.И., Хорлин А.Я., Кочетков Н.К. Гликозиды из корней женьшеня (*Panax ginseng* С.А. Мей.) // Изв. АН СССР. Отд. хим. наук. 1962. № 11. С. 2054–2058.
7. Fujita M., Itokawa H., Shibata S. Chemical studies on ginseng. I. (Studies on saponin-bearing drugs. IV). Isolation of saponin and sapogenin from radix ginseng // Yakugaku Zasshi (Jpn. J. Pharmacol.). 1962. Vol. 82, N12. P. 1634–1638.
8. Shibata S., Fujita M., Itokawa H., Tanaka O., Ishii T. The structure of panaxadiol, a sapogenin of ginseng // Tetrahedron Lett. 1962. N10. P. 419–422.
9. Fisher F., Seiler N. Die triterpenalkohole der blatter der schwarzerle // Liebigs Ann. Chem. 1961. Bd 644, N1. S. 162–171.
10. Elyakov G.B., Strigina L.I., Uvarova N.I., Vaskovsky V.E., Dzizenko A.K., Kochetkov N.K. Glycosides from ginseng roots // Tetrahedron Lett. 1964. N48. P. 3591–3597.
11. Shibata S., Tanaka O., Soma K., Iida Y., Ando T., Nakamura H.; Studies on Saponins and Sapogenins of Ginseng. The Structure of Panaxatriol // Tetrahedron Lett. 1965. N3. P. 207–213.
12. Еляков Г.Б., Стригина Л.И., Кочетков Н.К. Гликозиды из корней женьшеня. VI. Строение углеводной цепи панаксозида А // Химия природ. соедин. 1965. № 3. С. 149–152.
13. Elyakov G.B., Uvarova N.I., Gorshkova R.P. The structure of carbohydrate chains of panaxosides D, E, F // Tetrahedron Lett. 1965. N51. P. 4669–4672.
14. Shibata S., Tanaka O., Ando T., Sado M., Tsushima S., Ohsawa T. Chemical studies on the oriental plant drugs. XIV. Protopanaxadiol, a genuine sapogenin of ginseng saponin // Chem. Pharm. Bull. 1966. Vol. 14, N5. P. 595–600.
15. Iida Y., Tanaka O., Shibata S.; Studies on Saponins of Ginseng: The structure of Ginsenoside-Rg1 // Tetrahedron Lett. 1968. Vol. 52. P. 5449–5453.
16. Tanaka O., Nagai M., Ohsawa T., Tanaka N., Kawai K.I., Shibata S. Chemical studies on the oriental plant drugs. XXVII. The acid catalysed reactions and the absolute configuration at C(20) of dammarane type triterpenes // Chem. Pharm. Bull. 1972. Vol. 20, N6. P. 1204–1211.
17. Yosioka I., Fujio M., Osamura M., Kitagawa I. Novel cleavage method of saponins with soil bacteria intending to the genuine sapogenin: on seneda and Panax saponins // Tetrahedron Lett. 1966. N50. P. 6303–6305.
18. Yosioka I., Sugawara T., Imai K., Kitagawa I. Soil bacterial hydrolysis leading to genuine aglycone. V. On ginsenosides-Rb1, Rb2, and Rc of the ginseng root saponins // Chem. Pharm. Bull. 1972. Vol. 20, N11. P. 2418–2421.
19. Стригина Л.И., Ременникова Т.М., Елькин Ю.Н., Дзизенко А.К., Исаков В.В., Еляков Г.Б. О получении нативного агликона панаксозида А из *Panax ginseng* С.А. Мейер с помощью ферментативного гидролиза // Докл. АН СССР. 1973. Т. 230, № 3. С. 727–730.
20. Nagai M., Tanaka O., Shibata S. Chemical studies on the oriental plant drugs. XXIV. Structure of ginsenoside-Rg1, a neutral saponin of ginseng root // Tetrahedron. 1971. Vol. 27, N3. P. 881–892.
21. Iljin S.G., Dzizenko A.K., Elyakov G.B. X-Ray analysis of panaxoside A progenin I acetate, a triterpene glycoside isolated from *Panax ginseng* С.А. Мейер // Tetrahedron Lett. 1978. N6. P. 593–594.
22. Маханьков В.В., Уварова Н.И. О панаксозидах и гинзенозидах женьшеня // Биоактивные вещества из морских макро- и микроорганизмов и наземных растений Дальнего Востока. Владивосток: Дальнаука, 2001. С. 113–114.
23. Yoshikawa M., Murakami T., Ueno T., Hirokawa N., Yashiro K., Murakami N., Yamahara J., Matsuda H., Saijoh R., Tanaka O. Bioactive saponins and glycosides. IX. Notoginseng (2): structures of five new dammarane-type triterpene oligoglycosides, notoginsenosides-E, -G, -H, -I, and -J, and a novel acetylenic

- fatty acid glycoside, notoginsenic acid β -sophoroside, from the dried root of *Panax notoginseng* (Burk.) F.H. Chen // Chem. Pharm. Bull. 1997. Vol. 45, N6. P. 1056–1062.
24. Yoshikawa M., Morikawa T., Yashiro K., Hirokawa N., Murakami T., Matsuda H. Bioactive saponins and glycosides. XIX. Notoginseng (3): Immunological Adjuvant Activity of Notoginsenosides and Related Saponins: Structures of Notoginsenosides-L, -M, and -N from the Roots of *Panax notoginseng* (Burk.) F.H. Chen // Chem. Pharm. Bull. 2001. Vol. 49, N11. P. 1452–1456.
25. Ma G.W., Mizutani M., Malterud K.E., Lu S.L., Ducrey B., Tahara S. Saponins from the roots of *Panax notoginseng* // Phytochem. 1999. Vol. 52, N5. P. 1133–1139.
26. Yahara S., Kasai R., Tanaka O. New dammarane type saponins of leaves of *Panax japonicus* C.A. Meyer. (1). Chikusetsusaponin-L5, -L9a, and -L10 // Chem. Pharm. Bull. 1977. Vol. 25, N8. P. 2041–2047.
27. Dou D.Q., Wen Y., Pei Y.P., Yao X.S., Chen Y.J., Kawai H., Fukushima H. Ginsenoside-Ia: A novel minor saponin from the leaves of *Panax ginseng* // Planta Medica. 1996. Vol. 62, N2. P. 179–181.
28. Duc N.M., Kasai R., Ohtani K., Ito A., Nham N.T., Yamasaki K., Tanaka O. Saponins from vietnamese ginseng, *Panax vietnamensis* Ha et Grushv. collected in central Vietnam. II // Chem. Pharm. Bull. 1994. Vol. 42, N1. P. 115–122.
29. Kondo N., Aoki K., Ogawa H., Kasai R., Shoji J. Studies on the Constituents of *Panax japonicus* Rhizoma III. The Structure of Chikusetsusaponin III // Chem. Pharm. Bull. 1970. Vol. 18, N8. P. 1558–1562.
30. Kohda H., Tanaka S., Yamaoka Y., Izumi H., Nuno M., Isoda S., Gotoh K., Watanabe T., Katsuki S., Satake M. Chikusetsusaponin. VI. A new saponin from the rhizome of *Panax pseudo-ginseng* var. *angustatus* Hara // Chem. Pharm. Bull. 1991. Vol. 39, N6. P. 1588–1590.
31. Tanaka O. Recent studies on glycosides from plant drugs of Himalaya and South-Western China: chemogeographical correlation of *Panax* species // Pure Appl. Chem. 1990. Vol. 62, N7. P. 1281–1284.
32. Kitagawa I., Taniyama T., Yoshikawa M., Ikenishi Y., Nakagawa Y. Chemical Studies on Crude Drug Processing. VI. Chemical Structures of Malonyl-Ginsenosides Rb1, Rb2, Rc, and Rd Isolated from the Root of *Panax ginseng* C.A. Meyer // Chem. Pharm. Bull. 1989. Vol. 37, N11. P. 2961–2970.
33. Yoshikawa M., Murakami T., Yashiro K., Yamahara J., Matsuda H., Saijoh R., Tanaka O. Bioactive saponins and glycosides. XI. Structures of new dammarane-type triterpene oligoglycosides, quinquenoside-I, quinquenoside-II, quinquenoside-III, quinquenoside-IV, and quinquenoside-V, from american ginseng, the roots of *Panax quinquefolium* L. // Chem. Pharm. Bull. 1998. Vol. 46, N4. P. 647–654.
34. Tanaka O., Yahara S. Dammarane saponins of leaves *Panax pseudo-ginseng* subsp. *himalaicus* // Phytochem. 1978. Vol. 17. P. 1353–1358.
35. Tanaka O., Morita, T., Kasai R., Kinouchi J., Sanada S., Ida Y., Shoji J. Study on Saponins of Rhizomes *Panax pseudo-ginseng* subsp. *himalaicus* Collected at Tzotogang and Pari-Ia, Bhutan-Himalaya // Chem. Pharm. Bull. 1985. Vol. 33, N6. P. 2323–2330.
36. Morita T., Kasai R., Tanaka O., Zhou J., Yang T.-R., Shoji J. Saponins of Zu-Tziseng, Rhizomes of *Panax japonicus* C.A. Meyer var. *major* (Burk.) C.Y. Wu et K.M. Feng, collected in Yunnan, China // Chem. Pharm. Bull. 1982. Vol. 30, N12. P. 4341–4345.
37. Duc N.M., Nham N.T., Kasai R., Ito A., Yamasaki K., Tanaka O. Saponins from vietnamese ginseng, *Panax vietnamensis* Ha et Grushv. collected in central Vietnam. I // Chem. Pharm. Bull. 1993. Vol. 41, N11. P. 2010–2014.
38. Duc N.M., Kasai R., Ohtani K., Ito A., Yamasaki K., Nham N.T., Tanaka O. New saponins from vietnamese ginseng: highlights on biogenesis of dammarane triterpenoids // Advances in experimental medicine and biology. Saponins used in traditional and modern medicine / eds. G.R. Waller, K. Yamasaki. N.Y.; L.: Plenum Press, 1996. Vol. 404. P. 129–149.
39. Yahara S. The Chemical Study on the Saponin Composition of the Leaves of *Panax* spp.: Ph. D. thesis. Hiroshima University, 1978.
40. Duc N.M., Kasai R., Ohtani K., Ito A., Nham N.T., Yamasaki K., Tanaka O. Saponins from vietnamese ginseng, *Panax vietnamensis* Ha et Grushv. collected in central Vietnam III // Chem. Pharm. Bull. 1994. Vol. 42, N3. P. 634–640.
41. Yamasaki K. Bioactive Saponins in Vietnamese Ginseng, *Panax vietnamensis* // Pharm. Biol. 2000. Vol. 38 (Suppl). P. 16–24.
42. Karikura M., Miyase T., Tanizawa H., Taniyama T., Takino Y. Studies on absorption, distribution, excretion, and metabolism of ginseng saponins. 7. Comparison of the decomposition modes of ginsenoside-Rb1 and ginsenoside-Rb2 in the digestive-tract of rats // Chem. Pharm. Bull. 1991. Vol. 39, N9. P. 2357–2361.

43. Han B.H., Park M.H., Han Y.N., Woo L.K., Sankawa U., Yahara S., Tanaka O. Degradation of ginseng saponins under mild acidic conditions // *Planta Medica*. 1982. Vol. 44, N2. P. 146–149.
44. Yoshikawa M., Murakami T., Ueno T., Yashiro K., Hirokawa N., Murakami N., Yamahara J., Matsuda H., Saijoh R., Tanaka O. Bioactive saponins and glycosides. VIII. Notoginseng (1): new dammarane-type triterpene oligoglycosides, notoginsenosides-A, -B, -C, and -D, from the dried root of *Panax notoginseng* (Burk.) F.H. Chen // *Chem. Pharm. Bull.* 1997. Vol. 45, N6. P. 1039–1045.
45. Kitagawa I. Chemical studies on crude drug processing red ginseng and white ginseng // *Proceed. 4th Intern. Ginseng Symp. Daejeon. Korea, 1984*. P. 159–168.
46. Atopkina L.N., Denisenko V.A., Uvarova N.I., Elyakov G.B. Semisynthetic analogues of ginsenosides, glycosides of ginseng // *Carbohyd. Res.* 1988. Vol. 177, N1. P. 101–109.

REFERENCES

1. Tanaka O., Kasai R. Saponins of ginseng and related plants. *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*. W. Herz, H. Gresebach, G. W. Kirby, Ch. Tamm (eds). Wien; N.Y.: Springer-Verlag; 1984. Vol. 46. P. 1–42.
2. Shibata S., Tanaka O., Shoji J., Saito H. Chemistry and pharmacology of *Panax*. *Economic and Medicinal Plant Research*. H. Wagner, H. Nikino, N.F. Farnsworth (eds). L.: Acad. Press; 1985. Vol. 1. P. 217–284.
3. Garriques S.S. On Panaquilon, a New Vegetable Substance. *Ann. Chem. Pharmacol.* 1854;90:231.
4. Elyakov G.B., Strigina L.I. Panaksozid A – neutral'nyi glikozid iz kornya zhen'shenya (*Panax ginseng* C.A. Meyer). *Izvestiya SO AN SSSR*. 1962;(5):126–129. (In Russ.).
5. Elyakov G.B., Strigina L.I., Khorlin A.Ya., Kochetkov N.K. Glikozidy zhen'shenya (*Panax ginseng* C.A. Mey.). *Izvestiya AN SSSR. Otd. Khim. Nauk.* 1962;(6):1125. (In Russ.).
6. Elyakov G.B., Strigina L.I., Khorlin A. Ya., Kochetkov N.K. Glikozidy iz kornei zhen'shenya (*Panax ginseng* C.A. Mey.). *Izvestiya AN SSSR. Otd. Khim. Nauk.* 1962;(11):2054–2058. (In Russ.).
7. Fujita M., Itokawa H., Shibata S. Chemical studies on ginseng. I. (Studies on saponin-bearing drugs. IV). Isolation of saponin and sapogenin from radix ginseng. *Yakugaku Zasshi* (Jpn. J. Pharmacol.). 1962;82(12):1634–1638.
8. Shibata S., Fujita M., Itokawa H., Tanaka O., Ishii T. The structure of panaxadiol, a sapogenin of ginseng. *Tetrahedron Lett.* 1962;(10):419–422.
9. Fisher F., Seiler N. Die triterpenalkohole der blatter der schwarzerle. *Liebigs Ann. Chem.* 1961;644(1):162–171.
10. Elyakov G.B., Strigina L.I., Uvarova N.I., Vaskovsky V.E., Dzizenko A.K., Kochetkov N.K. Glycosides from ginseng roots. *Tetrahedron Lett.* 1964;(48):3591–3597.
11. Shibata S., Tanaka O., Sado M., Tsushima S. On genuine sapogenin of ginseng. *Tetrahedron Lett.* 1963;(12):795–800.
12. Elyakov G.B., Strigina L.I., Kochetkov N.K. Glycosides from ginseng roots. VI. Structure of the carbohydrate chain of panaxoside A. *Natural Chemistry. Conn.* 1965(3):149–152. (In Russ.).
13. Elyakov G.B., Uvarova N.I., Gorshkova R.P. The structure of carbohydrate chains of panaxosides D, E, F. *Tetrahedron Lett.* 1965;(51):4669–4672.
14. Shibata S., Tanaka O., Ando T., Sado M., Tsushima S., Ohsawa T. Chemical studies on the oriental plant drugs. XIV. Protopanaxadiol, a genuine sapogenin of ginseng saponin. *Chem. Pharm. Bull.* 1966;14(5):595–600.
15. Iida Y., Tanaka O., Shibata S.; Studies on Saponins of Ginseng: The structure of Ginsenoside-Rg1. *Tetrahedron Lett.* 1968;52:5449–5453.
16. Tanaka O., Nagai M., Ohsawa T., Tanaka N., Kawai K.I., Shibata S. Chemical studies on the oriental plant drugs. XXVII. The acid catalysed reactions and the absolute configuration at C(20) of dammarane type triterpenes. *Chem. Pharm. Bull.* 1972;20(6):1204–1211.
17. Yosioka I., Fujio M., Osamura M., Kitagawa I. Novel cleavage method of saponins with soil bacteria intending to the genuine sapogenin: on seneda and *Panax* saponins. *Tetrahedron Lett.* 1966;(50):6303–6305.
18. Yosioka I., Sugawara T., Imai K., Kitagawa I. Soil bacterial hydrolysis leading to genuine aglycone V. On ginsenosides-Rb1, Rb2, and Rc of the ginseng root saponins. *Chem. Pharm. Bull.* 1972;20(11):2418–2421.

19. Strigina L.I., Remennikova T.M., El'kin Yu.N., Dzizenko A.K., Isakov V.V., Elyakov G.B. O polucheni nativnogo aglikona panaksozida A iz *Panax ginseng* C.A. Meyer s pomoshch'yu fermentativnogo gidroliza. *Dokl. AN SSSR*. 1973;230(3):727–730. (In Russ.).
20. Nagai M., Tanaka O., Shibata S. Chemical studies on the oriental plant drugs. XXIV. Structure of ginsenoside-Rg1, a neutral saponin of ginseng root. *Tetrahedron*. 1971;27(3):881–892.
21. Ijin S.G., Dzizenko A.K., Elyakov G.B. X-Ray analysis of panaxoside A progenin I acetate, a triterpene glycoside isolated from *Panax ginseng* C.A. Meyer. *Tetrahedron Lett.* 1978;(6):593–594.
22. Makhankov V.V., Uvarova N.I. O panaksozidakh i ginzenozidakh zhen'shenya. V kn.: *Bioaktivnye veshchestva iz morskikh makro- i mikroorganizmov i nazemnykh rastenii Dal'nego Vostoka*. Vladivostok: Dal'nauka; 2001. S. 113–114. (In Russ.).
23. Yoshikawa M., Murakami T., Ueno T., Hirokawa N., Yashiro K., Murakami N., Yamahara J., Matsuda H., Saijoh R., Tanaka O. Bioactive saponins and glycosides. IX. Notoginseng (2): structures of five new dammarane-type triterpene oligoglycosides, notoginsenosides-E, -G, -H, -I, and -J, and a novel acetylenic fatty acid glycoside, notoginsenic acid β -sophoroside, from the dried root of *Panax notoginseng* (Burk.) F.H. Chen. *Chem. Pharm. Bull.* 1997;45(6):1056–1062.
24. Yoshikawa M., Morikawa T., Yashiro K., Hirokawa N., Murakami T., Matsuda H. Bioactive saponins and glycosides. XIX. Notoginseng (3): Immunological Adjuvant Activity of Notoginsenosides and Related Saponins: Structures of Notoginsenosides-L, -M, and -N from the Roots of *Panax notoginseng* (Burk.) F.H. Chen. *Chem. Pharm. Bull.* 2001;49(11):1452–1456.
25. Ma G.W., Mizutani M., Malterud K.E., Lu S.L., Ducrey B., Tahara S. Saponins from the roots of *Panax notoginseng*. *Phytochem.* 1999;52(5):1133–1139.
26. Yahara S., Kasai R., Tanaka O. New dammarane type saponins of leaves of *Panax japonicus* C.A. Meyer. (1). Chikusetsusaponin-L5, -L9a, and -L10. *Chem. Pharm. Bull.* 1977;25(8):2041–2047.
27. Dou D.Q., Wen Y., Pei Y.P., Yao X.S., Chen Y.J., Kawai H., Fukushima H. Ginsenoside-Ia: A novel minor saponin from the leaves of *Panax ginseng*. *Planta Medica*. 1996;62(2):179–181.
28. Duc N.M., Kasai R., Ohtani K., Ito A., Nham N.T., Yamasaki K., Tanaka O. Saponins from vietnamese ginseng, *Panax vietnamensis* Ha et Grushv. collected in central Vietnam. II. *Chem. Pharm. Bull.* 1994;42(1):115–122.
29. Kondo N., Aoki K., Ogawa H., Kasai R., Shoji J. Studies on the Constituents of *Panacis japonici* Rhizoma III. The Structure of Chikusetsusaponin III. *Chem. Pharm. Bull.* 1970;18(8):1558–1562.
30. Kohda H., Tanaka S., Yamaoka Y., Izumi H., Nuno M., Isoda S., Gotoh K., Watanabe T., Katsuki S., Satake M. Chikusetsusaponin .VI. A new saponin from the rhizome of *Panax pseudo-ginseng* var. *angustatus* Hara. *Chem. Pharm. Bull.* 1991;39(6):1588–1590.
31. Tanaka O. Recent studies on glycosides from plant drugs of Himalaya and South-Western China: chemogeographical correlation of Panax species. *Pure Appl. Chem.* 1990;62(7):1281–1284.
32. Kitagawa I., Taniyama T., Yoshikawa M., Ikenishi Y., Nakagawa Y. Chemical Studies on Crude Drug Processing. VI. Chemical Structures of Malonyl-Ginsenosides Rb1, Rb2, Rc, and Rd Isolated from the Root of *Panax ginseng* C.A. Meyer. *Chem. Pharm. Bull.* 1989;37(11):2961–2970.
33. Yoshikawa M., Murakami T., Yashiro K., Yamahara J., Matsuda H., Saijoh R., Tanaka O. Bioactive saponins and glycosides. XI. Structures of new dammarane-type triterpene oligoglycosides, quinquenoside-I, quinquenoside-II, quinquenoside-III, quinquenoside-IV, and quinquenoside-V, from american ginseng, the roots of *Panax quinquefolium* L. *Chem. Pharm. Bull.* 1998;46(4):647–654.
34. Tanaka O., Yahara S. Dammarane saponins of leaves *Panax pseudo-ginseng* subsp. *himalaicus*. *Phytochem.* 1978;17:1353–1358.
35. Tanaka O., Morita T., Kasai R., Kinouchi J., Sanada S., Ida Y., Shoji J. Study on Saponins of Rhizomes *Panax pseudo-ginseng* subsp. *himalaicus* Collected at Tzotogang and Pari-Ia, Bhutan-Himalaya. *Chem. Pharm. Bull.* 1985;33(6):2323–2330.
36. Morita T., Kasai R., Tanaka O., Zhou J., Yang T.-R., Shoji J. Saponins of Zu-Tzising, Rhizomes of *Panax japonicus* C.A. Meyer var. *major* (Burk.) C.Y. Wu et K.M. Feng, collected in Yunnan, China. *Chem. Pharm. Bull.* 1982;30(12):4341–4345.
37. Duc N.M., Nham N.T., Kasai R., Ito A., Yamasaki K., Tanaka O. Saponins from vietnamese ginseng, *Panax vietnamensis* Ha et Grushv. collected in central Vietnam .I. *Chem. Pharm. Bull.* 1993;41(11):2010–2014.
38. Duc N.M., Kasai R., Ohtani K., Ito A., Yamasaki K., Nham N.T., Tanaka O. New saponins from vietnamese ginseng: highlights on biogenesis of dammarane triterpenoids. *Advances in experimental medicine and biology. Saponins used in traditional and modern medicine*. N.Y.; L.: Plenum Press; 1996. Vol. 404. P. 129–149.

39. Yahara S. The chemical Study on the Saponin Composition of the Leaves of *Panax* spp.: Ph. D. thesis. Hirosima University; 1978.
40. Duc N.M., Kasai R., Ohtani K., Ito A., Nham N.T., Yamasaki K., Tanaka O. Saponins from vietnamese ginseng, *Panax vietnamensis* Ha et Grushv. collected in central Vietnam III. *Chem. Pharm. Bull.* 1994;42(3):634–640.
41. Yamasaki K. Bioactive Saponins in Vietnamese Ginseng, *Panax vietnamensis*. *Pharm. Biol.* 2000;38(Suppl):16–24.
42. Karikura M., Miyase T., Tanizawa H., Taniyama T., Takino Y. Studies on absorption, distribution, excretion, and metabolism of ginseng saponins. 7. Comparison of the decomposition modes of ginsenoside-Rb1 and ginsenoside-Rb2 in the digestive-tract of rats. *Chem. Pharm. Bull.* 1991;39(9):2357–2361.
43. Han B.H., Park M.H., Han Y.N., Woo L.K., Sankawa U., Yahara S., Tanaka O. Degradation of ginseng saponins under mild acidic conditions. *Planta Medica.* 1982;44(2):146–149.
44. Yoshikawa M., Murakami T., Ueno T., Yashiro K., Hirokawa N., Murakami N., Yamahara J., Matsuda H., Saijoh R., Tanaka O. Bioactive saponins and glycosides. VIII. Notoginseng (1): new dammarane-type triterpene oligoglycosides, notoginsenosides-A, -B, -C, and -D, from the dried root of *Panax notoginseng* (Burk.) F.H. Chen. *Chem. Pharm. Bull.* 1997;45(6):1039–1045.
45. Kitagawa I. Chemical studies on crude drug processing red ginseng and white ginseng. In: *Proceed. 4th Intern. ginseng symp.* Daejeon. Korea; 1984. P. 159–168.
46. Atopkina L.N., Denisenko V.A., Uvarova N.I., Elyakov G.B. Semisynthetic analogues of ginsenosides, glycosides of ginseng. *Carbohydr. Res.* 1988;177(1):101–109.

Обзорная статья
УДК 577.112
DOI: 10.31857/S0869769824030064
EDN: ISGGZE

Лаборатория химии пептидов Тихоокеанского института биоорганической химии ДВО РАН им. Г.Б. Елякова: сорок лет исследований пептидов и белков морских анемонов

М.М. Монастырняя✉, Э.П. Козловская

Маргарита Михайловна Монастырняя
доктор химических наук, ведущий научный сотрудник
Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН им. Г.Б. Елякова,
Владивосток, Россия
rita1950@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3157-0930>

Эмма Павловна Козловская
доктор химических наук, главный научный сотрудник, профессор
Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН им. Г.Б. Елякова,
Владивосток, Россия
kozempa@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8110-0382>

Аннотация. В обзоре кратко описаны исследования, проводившиеся в течение последних 40 лет в лаборатории химии пептидов Тихоокеанского института биоорганической химии ДВО РАН (ЛХП ТИБОХ ДВО РАН) в сотрудничестве с российскими и зарубежными коллегами. Обсуждаются результаты поиска, идентификации и изучения структуры, биологической активности и механизмов взаимодействия с биологическими мишенями пептидов и полипептидов, продуцируемых тропической морской анемоной *Heteractis crisper* (= *Heteractis magnifica*, ранее *Radianthus macrodactylus*). Одним из основных достижений лаборатории за прошедшие годы является открытие нового структурного типа 2 нейротоксинов, а именно шести токсинов, которые в первое десятилетие зарубежных исследований (70–80-е годы прошлого столетия) не были идентифицированы среди представителей так называемых длинных анемомотоксинов, и среди них – первого, ранее неизвестного, двухцепочечного нейротоксина. Кроме того, установлено наличие нескольких мультигенных семейств, экспрессирующих α-пороформирующие токсины (актинопорины), ингибиторы сериновых протеаз (пептиды Кунитц-типа) и АРЕТх-подобные пептиды, образующих комбинаторные библиотеки, насчитывающие по несколько десятков высокомолекулярных представителей семейства. Методами *in silico* (гомологичное моделирование, аланиновый мутагенез, полноатомная молекулярно-динамическая (МД) симуляция) впервые предсказаны пространственные структуры исследуемых пептидов и комплексов с биологическими мишенями, проведен анализ их структурно-функциональных взаимоотношений. Это явилось основой для дальнейшего получения на базе комбинаторных библиотек рекомбинантных

и мутантных аналогов с целью проведения электрофизиологических исследований механизмов их молекулярного взаимодействия с мишенями, а также определения фармакологического потенциала. В обзоре кратко представлены наиболее важные результаты последних лет, связанные с открытием у ряда исследуемых пептидов анальгетической, противовоспалительной и противоопухолевой активности.

Ключевые слова: морские анемоны, нейротоксины, пептиды Кунитц-типа, APETx-подобные пептиды, дефензины, биологические мишени

Для цитирования: Монастырная М.М., Козловская Э.П. Лаборатория химии пептидов Тихоокеанского института биоорганической химии ДВО РАН им. Г.Б. Елякова: сорок лет исследований пептидов и белков морских анемонов // Вестн. ДВО РАН. 2024. № 3. С. 101–120.
<http://dx.doi.org/10.31857/S0869769824030064>

Review article

Laboratory of Peptide Chemistry, G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences: forty years of research on peptides and proteins of sea anemones

M.M. Monastyrnaya, E.P. Kozlovskaya

Margarita M. Monastyrnaya

Doctor of Chemical Sciences, Leading Researcher

G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS, Vladivostok, Russia

rita1950@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0003-3157-0930>

Emma P. Kozlovskaya

Doctor of Chemical Sciences, Chief Researcher, Professor

G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS, Vladivostok, Russia

kozempa@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0002-8110-0382>

Abstract. The review briefly describes a research carried out over the past 40 years at the Laboratory of Peptide Chemistry of G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS (LPCh of PIBOC FEB RAS), in collaboration with Russian and foreign colleagues. The results of search, identification, and study of the structure, the biological activity, and the mechanisms of an interaction with the biological targets of peptides and polypeptides produced by the tropical sea anemone *Heteractis crispa* (= *Heteractis magnifica*, formerly *Radianthus macrodactylus*) are discussed. One of the main achievements of LPCh over the past years is the discovery of new structural type 2 neurotoxins, namely, six toxins that were not identified among the representatives of so-called long anemonotoxins in the first decade of foreign research (70–80s of the last century), and among them the first, previously unknown, double-chain neurotoxin. In addition, the presence of several multigene families expressing α -pore-forming toxins (actinoporins), serine protease inhibitors (Kunitz-type peptides), and APETx-like peptides forming the combinatorial libraries of the several dozen of highly homologous family members has been established. Using *in silico* methods (homologous modeling, alanine mutagenesis, full-atom molecular dynamics (MD) simulation), the spatial structures of the studied peptides and complexes with biological

targets were predicted for the first time, and their structure-functional relationships were analyzed. This was the foundation for the further production of recombinant and mutant analogues on the basis of the combinatorial libraries for the purpose of conducting the electrophysiological studies of the mechanisms of their molecular interaction with targets as well as determining the pharmacological potential. In the review the most important results of recent years are presented. They are related to the discovery of analgesic, anti-inflammatory, and antitumor activity in a number of the studied peptides.

Keywords: sea anemones, neurotoxins, Kunitz-type peptides, APETx-like peptides, defensins, biological targets

For citation: Monastyrnaya M.M., Kozlovskaya E.P. Laboratory of Peptide Chemistry, G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences: forty years of research on peptides and proteins of sea anemones. *Vestnik of the FEB RAS*. 2024;(3):101–120. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.31857/S0869769824030064>

Введение

Наземные и морские ядовитые организмы, как известно, являются одним из наиболее богатых источников разнообразных биологически активных соединений как белковой, так и небелковой природы, многие из которых обладают фармакологическим потенциалом. Поэтому в последние несколько десятилетий продуцируемые этими организмами соединения, в частности белковой природы, широко изучаются как перспективные терапевтические агенты [1, 2]. В ходе длительного эволюционного развития белковые структуры претерпели значительную диверсификацию, и многие из них, благодаря токсическому воздействию на организм-мишень (жертву или потенциального хищника), превратились в мощное средство защиты и нападения продуцирующего организма.

К наиболее известным морским ядовитым организмам принадлежит тип Cnidaria, который объединяет морские анемоны, медузы, кораллы [3]. Данные кишечнополостные, обитающие практически во всех водах Мирового океана, относятся к свободноплавающим (медузы) или ведущим прикрепленный к грунту образ жизни (морские анемоны, гидроидные полипы, кораллы). Как правило, они питаются планктоном, зоохлореллами, охотятся на маленьких моллюсков и рыбок. Характерной особенностью морских анемонов является наличие щупалец, снабженных уникальным аппаратом нападения в виде специализированных стрекательных жалящих клеток, книдоцитов (или нематоцитов), которые служат морским анемонам в качестве орудия защиты от врагов и для добычи пищи. Книдоциты содержат специфические внутриклеточные органеллы (книдоцисты, или нематоцисты), снабженные ядовитым секретом, который и обеспечивает поражение врага или пищевого объекта. Именно необходимость в питании и защите от потенциальных хищников предопределила способность морских анемонов производить сильнодействующие белковые токсины.

Надо сказать, что ядовитый секрет анемонов является серьезным ограничением для дайверов, аквалангистов и туристов, поскольку внешний вид морских анемонов, напоминающих прекрасные цветы, привлекает к контакту с ними подводных пловцов, в то время как прикосновение к этим животным чревато сильными ожогами и может вызвать сильнейшую аллергию или даже летальный исход. Изучение компонентов ядовитого секрета морских анемонов на молекулярном уровне, главным образом токсинов (анемонотоксинов), началось только в 70-х годах прошлого века. Из нескольких тропических видов были выделены индивидуальные токсины, установлены их аминокислотные последовательности, и началось широкомасштабное исследование биологической активности и структурно-функциональных взаимосвязей, продолжающееся и по сей день. Этому способствует небывалый интерес к анемонотоксинам [1–3], а также другим белкам и пептидам морских анемонов, которые, благодаря специфичности связывания с биологическими мишенями (ионными каналами и рецепторами, цитоплазматическими мембранами, протеолитическими ферментами и др.), являются незаменимыми биохимическими и молекулярными инструментами изучения функциональной активности и механизмов функционирования мишеней.

В этой юбилейной работе кратко изложены основные результаты сорокалетних-структурно-функциональных исследований нативных пептидов и полипептидов – представителей

нескольких структурных классов белковых соединений, продуцируемых морской анемоной *H. crisper* (нейротоксинов, актинопоринов, пептидов Кунитц-типа, АРЕТх-подобных пептидов и дефензинов), а также их рекомбинантных аналогов, которые проведены методами белковой химии, биохимии, молекулярной и клеточной биологии, электрофизиологического тестирования и *in vivo* исследований, с привлечением протеомных подходов, а также методов молекулярного моделирования для установления пространственной организации и механизмов взаимодействия с мишенями. Для ряда пептидов обсуждается специфичность и фармакологический потенциал.

1. Исследование структуры и функциональной активности *Radianthus* (*Heteractis*) нейротоксинов

1.1. Аминокислотные последовательности

В 1984 г. автоматическим секвенированием по методу Эдмана впервые была установлена аминокислотная последовательность высокотоксичного нейротоксина RTX-III [4], а затем в течение нескольких лет последовательности еще четырех высокомолекулярных нейротоксинов, RTX-I [5], RTX-II [6], RTX-IV и RTX-V [7] (рис. 1, а), различающихся величинами токсичности для млекопитающих и членистоногих. Данные последовательности, в отличие от последовательностей известных нейротоксинов морских анемонов АТХ-II (*Anemonia sulcata*), АрА, АрВ (*Anthopleura xanthogrammica*) и др. [8], содержащих 1–2 заряженных остатка на С-конце молекул, имели по четыре таких остатка (рис. 1, б). Положение дисульфидных связей *Radianthus* нейротоксинов RTX-I–RTX-V соответствовало таковому всех вышеупомянутых нейротоксинов [8].

Драматическим моментом для *Radianthus* токсинов RTX-I–RTX-V оказалось непризнание первичной структуры RTX-III французским исследователем Мишелем Лаздунским, корифеем в области структурной химии анемонотоксинов, первоначально не поверившим в структуру RTX-III, установленную в России. Однако позже научному сообществу пришлось признать достоверность полученных в ЛХП результатов и согласиться с существованием нового структурного типа 2 анемонотоксинов (NaTx), поскольку в последующие годы он пополнился представителями из других видов анемонов [9–11] (рис. 1, а) и в настоящее время насчитывает 14 нейротоксинов [8], которые отличаются несколькими точно лока-



Рис. 1. Множественное выравнивание аминокислотных последовательностей нейротоксинов: структурного типа 2 – RTX-I (P30831) [5], RTX-II (P30783) [6], RTX-III (P30832) [4], RTX-IV (P30784) и RTX-V (P30785) [7] из *H. crisper*, Rp-II (P01534) из *R. paumotensis* [9], SHTX-IV (B1B519) [10] из *Stichodactyla haddoni*, Sh1 (319651) [8, 11] из *Stichodactyla helianthus* (а); структурного типа 1 – АТХ-II (P01528) [12] из *Anemonia sulcata*, АрА (P01530) [13], АрВ (P01531) [14] из *Anthopleura xanthogrammica* (б). На сером фоне показаны идентичные аминокислотные остатки, на белом – точечные замены остатков в последовательностях, красным цветом – функционально значимый для связывания с Na_v остаток Arg13 [8]. Прямые линии в верхней части рисунка показывают соединение C1–C5, C2–C4, C3–C6 в дисульфидных мостиках между остатками цистеина (показаны жирным шрифтом). Элаймент выполнен с помощью программы Vector NTI

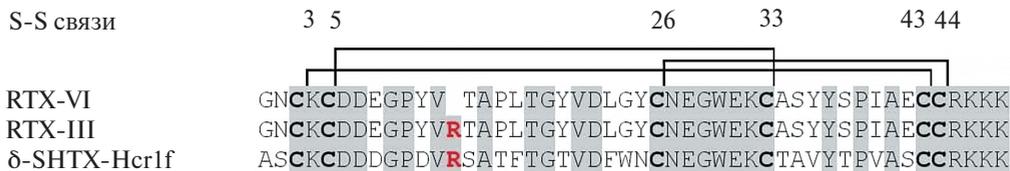


Рис. 2. Множественное выравнивание высокогомологических аминокислотных последовательностей *Heteractis* нейротоксинов RTX-VI, RTX-III и δ-SHTX-Hcr1f (=Rp-II). На сером фоне показаны идентичные остатки в последовательностях, на белом фоне – точечные замены остатков, красным цветом – функционально значимый для связывания с Na_v остаток Arg13 [8]. Прямые линии в верхней части рисунка показывают соединение дисульфидных связей C1–C5 (а.о. 3–43), C2–C4 (а.о. 5–33), C3–C6 (а.о. 26–44) между остатками цистеина (показаны жирным шрифтом). Элаймент выполнен с помощью программы Vector NTI

лизованными по всей длине последовательности остатками от нейротоксинов структурного типа 1 (рис. 1, б) [12–14].

В настоящее время помимо структурных типов 1 и 2 нейротоксинов известно еще как минимум два типа, один из которых, тип 3 с несколькими представителями, относится к «коротким» (около 30 а.о.), а другой, тип 4, включает всего два высокогомологических представителя (49 а.о.) [8, 15]. К сегодняшнему дню токсины морских анемонов, в силу высокой токсичности, специфического действия на различные типы потенциал-зависимых натриевых каналов (Na_v s), продолжают оставаться излюбленными объектами для токсикологов, молекулярных биологов, фармакологов и специалистов, занимающихся вопросами теоретической медицины (биомедицины).

Продолжающийся поиск и исследование пептидов морской анемоны *H. crispa* преподнесли еще сюрприз: открытие одного необычного нейротоксина, названного нами RTX-VI, и второго – δ-SHTX-Hcr1f (идентичного Rp-II, согласно подобию аминокислотной последовательности с таковой нейротоксина Rp-II из *R. paumotensis* [9]). Оказалось, что у RTX-VI отсутствует функционально значимый для нейротоксинов типа 2 и типа 1 остаток Lys13/14 [15] (потерянный, очевидно, в ходе посттрансляционной модификации), а его аминокислотная последовательность аналогична таковой RTX-III [4] (за исключением отсутствующего остатка Lys13). Молекула RTX-VI состоит, таким образом, из двух цепочек, соединенных дисульфидными мостиками C1–C5 и C2–C4 (рис. 2). Согласно расчетным данным, нейротоксин RTX-VI сохранил фолд, характерный для анемонотоксинов обоих типов. Однако потеря Lys13 привела к утрате токсичности [15].

Интересно, что, несмотря на продолжающийся поиск новых представителей нейротоксинов среди новых видов морских анемонов, до сих пор очень редко удается найти структуру, принадлежащую какому-либо новому $NaTx$ [8].

1.2. Вторичная и пространственная структура *Heteractis* нейротоксинов

Высокое подобие аминокислотных последовательностей, идентичная локализация дисульфидных S–S связей и наличие консервативных остатков у нейротоксинов типа 1 и типа 2 (рис. 1, а, б; 2) позволили сделать заключение об их общем анцестральном гене [8]. Хотя до сих пор отсутствуют данные о 3D-структурах, установленных экспериментально, высокая гомология аминокислотных последовательностей нейротоксинов морских анемонов обеспечивает наличие у всех представителей характерного дефензин-подобного фолда с близкой вторичной структурой (рис. 3) [15]. Согласно *in silico* расчетным данным вторичная структура нейротоксинов состоит из четырех β-тяжей и трех петель, одна из которых, так называемая Arg14 loop (для нейротоксинов типа 1), как было показано позже, обеспечивает аффинность их связывания с сайтом 3 Na_v s и селективность по отношению к различным подтипам каналов [8].

Показано, что дипольные моменты молекул нейротоксинов типа 1 и типа 2 различаются как по величине, так и по направлению (рис. 3). Вероятно, этим объясняются различия

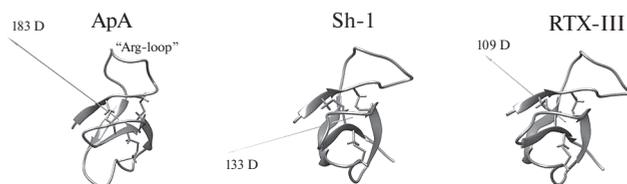


Рис. 3. Ленточные диаграммы моделей 3D-структур нейротоксинов типа 1 и типа 2: ApA (тип 1), Sh-1 и RTX-III (тип 2), имеющих β -дефензин-подобный фолд (созданы на основе гомологичного моделирования 3D-структуры нейротоксина Sh-1). Стрелками показаны дипольные моменты; их величины обозначены в Дебаях (D): 183, 133, 109 [8, 15]

в активности нейротоксинов и их возможности взаимодействовать с разными подтипами Na_v s каналов. Различия между молекулярными поверхностями нейротоксинов обусловлены наличием отличающихся функционально значимых аминокислотных остатков, которые обеспечивают сохранение активности нейротоксинов по отношению к разным подтипам каналов.

1.3. Изучение молекулярных механизмов взаимодействия с Na_v s методами электрофизиологического тестирования и молекулярного моделирования

В настоящее время внимание исследователей акцентировано на всестороннем и детальном изучении молекулярных механизмов взаимодействия нейротоксинов с различными подтипами Na_v s, участвующими в физиологических и патологических процессах, главным образом на их электрофизиологическом тестировании и определении специфичности модулирующего действия по отношению к различным подтипам. Так, совместно с бельгийскими и московскими коллегами было показано, что *Heteractis* нейротоксины RTX-III, RTX-VI и Rp-II, в отличие от нейротоксинов типа 1, например ATX-II, связываются с разными подтипами Na_v s [15] (см. таблицу).

Записи токов через клеточную мембрану ооцита *X. laevis*, вызванные изменением мембранного потенциала в контрольных условиях и в присутствии 10 мкМ токсина (рис. 4), продемонстрировали эффективность взаимодействия RTX-III с подтипом Na_v 1.3, а RTX-VI – с подтипом Na_v 1.2. При этом оба нейротоксина связываются также с Na_v 1.6 и подтипами

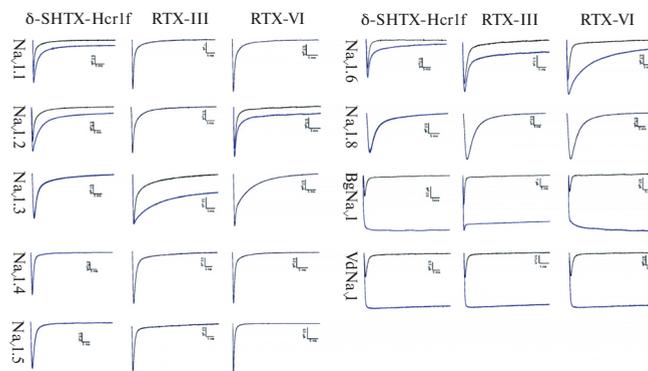


Рис. 4. Влияние δ -SHTX-Hcr1f (=Rp-II), RTX-III и RTX-VI на токи Na_v s млекопитающих и паукообразных. Показаны записи токов через клеточную мембрану ооцита *X. laevis*, вызванных изменением мембранного потенциала, в контрольных условиях и в присутствии 10 мкМ токсина [15] (шкалы изменения амплитуд токов через каналы соответствуют 0,5–1 мкА за 5 мс)

Действие нейротоксинов Rp-II (=δ-SHTX-Hcr1f), RTX-III, RTX-VI и АТХ-II (10 мкМ) на токи каналов млекопитающих (Na_v1.1–Na_v1.8), насекомых (BgNa_v1) и арахнид (VdNa_v1), экспрессированные в яйцеклетках *Xenopus laevis* [15]

NaTx	Na _v 1.1	Na _v 1.2	Na _v 1.3	Na _v 1.4	Na _v 1.5	Na _v 1.6	Na _v 1.7	Na _v 1.8	BgNa _v 1	VdNa _v 1
Rp-II	+	+	–	–	–	+	н.о.	–	+	+
RTX-III	–	–	+	–	–	+	н.о.	–	+	+
RTX-VI	–	+	–	–	–	+	н.о.	–	+	+
АТХ-II	+	+	+	+	+	+	н.о.	н.о.	н.о.	н.о.

Примечание. н.о. – активность нейротоксинов в отношении данных подтипов NaV не определяли

членистоногих BgNa_v1 и арахнид VdNa_v1 (см. таблицу), что свидетельствует о перспективности их использования в качестве инсектотоксинов.

Для понимания движущих сил взаимодействия нейротоксина δ-SHTX-Hcr1f с каналом rNa_v1.2 впервые было проведено полноатомное молекулярно-динамическое моделирование (МД симуляция) комплекса δ-SHTX-Hcr1f-rNa_v1.2, внедренного в липидный бислой (рис. 5), результаты которого свидетельствуют о существенных конформационных изменениях структуры канала при взаимодействии с токсином. Согласно расчетным данным заряженные С-концевые остатки (Lys48, Lys46, Glu31) координируют ориентацию токсина во внеклеточной области порового домена канала посредством сети электростатических взаимодействий и водородных связей. В то же время остатки Lys32, Asn25, Arg13 и Cys33 взаимодействуют с остатками Glu1616 (на S3 спирали) и Ser1621 (на S4 спирали) VSD-IV домена канала. При этом Cys33 образует две водородные связи с Val1620 и Ser1621 у основания спирали S4 VSD-IV [15].

Ранее в ходе электрофизиологических исследований было установлено, что благодаря наличию у токсина RTX-III гидрофобной поверхности его связывание с наружной поверхностью порового домена сайта-3 канала rNa_v1.2 стабилизирует образующийся белок-белковый комплекс (за счет образования межмолекулярных гидрофобных контактов [15]). Установлено, что вследствие ингибирования процесса инактивации канала замедляется фаза реполяризации потенциала действия мышечных и нервных волокон [8, 16, 17]. Таким образом, благодаря положительному инотропному эффекту нейротоксины способны оказывать кардиостимулирующий эффект, что может быть использовано в медицинской практике в ряде экстремальных ситуаций. Существенным препятствием для применения нейротоксинов морских анемонов является их высокая токсичность для млекопитающих [8]. Тем не менее получение мутантных аналогов, подобных RTX-IV и RTX-V, низкоокисных для млекопитающих [8], а также нетоксичного рекомбинантного rRTX-VI позволит преодолеть это затруднение.

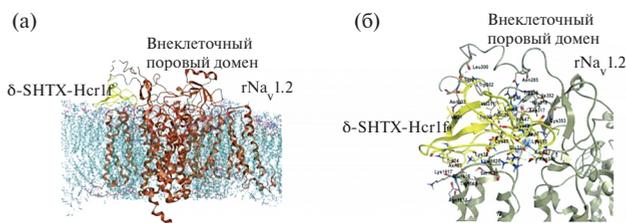


Рис. 5. Взаимодействие δ-SHTX-Hcr1f (=Rp-II) с rNa_v1.2: ленточная диаграмма комплекса δ-SHTX-Hcr1f-rNa_v1.2 в ДПФХ липидном бислое; молекулярные поверхности δ-SHTX-Hcr1f окрашены в желтый, rNa_v1.2 – в бордово-коричневый, ДПФХ – в голубой цвет (а); межмолекулярные взаимодействия в комплексе δ-SHTX-Hcr1f-rNa_v1.2 – желто-зеленоватый цвет, показаны участвующие в связывании боковых цепей нейротоксина и канала водородные связи (зеленый пунктир), ионные и π-катионные взаимодействия (синие и оранжевые контуры соответственно) (б) [15]

2. α -Пороформирующие токсины (актинопорины). Структура и механизм взаимодействия с цитоплазматическими и модельными мембранами

Первые представители α -пороформирующих токсинов морских анемон (называвшихся первоначально гемолизинами и/или цитоллизинами в силу способности формировать в цитоплазматических мембранах эукариотических клеток водонепроницаемые поры, завершающиеся лизисом мембран и гибелью клеток) были выделены из водных гомогенатов животных в начале 70-х годов прошлого столетия [18–20]. Различными хроматографическими методами из *R. macrodactylus* (*H. crispata*) выделено в высокоочищенном состоянии четыре *Radianthus* (*Heteractis*) актинопорина, RTX-A, RTX-S, RTX-SII, RTX-G [21], а из *Oulactis orientalis* – два актинопорина, Or-A и Or-G [22]. На основании установленных нуклеотидных последовательностей кодирующих генов выведены полные аминокислотные последовательности полипептидов RTX-SII [23, 24], RTX-A [25], Or-A и Or-G [26] (рис. 6). Позже было показано, что *Heteractis* актинопорины принадлежат к мультигенному семейству [27].

К настоящему времени молекулярный механизм цитолитического действия актинопорина достаточно хорошо исследован [28–35]. Он включает три стадии: 1) специфическое взаимодействие так называемого РОС-сайта связывания актинопорина с фосфохолиновой головкой мембранного сфингомиелина (СМ) и последующее «заякоривание» молекулы в мембране (рис. 7, стадия 1) [30]; 2) конформационная перестройка N-концевого фрагмента

RTX-SII	SARLAGTITL GASLGFQILD KVLGELGKYS	RKIAGVDNE SGGSWTALNA YFRSGTTDVI	60
RTX-A	ALAGAIIA GASLTFQILD KVLAEELGQYS	RKIAGIDNE SGGSWTALNA YFRSGTTDVI	58
OR-G	GAIIA GAALGFNVHQ TVLKALGQYS	RKIAGVDNE SGGTWTALNA YFRSGTTDVI	55
OR-A	ATFVYLA KVLAEELGKYS	RKIAGVDNE SGGSWTALNA YFRSGTTDVI	47
	N-конец		
RTX-SII	LPEFVNQKA LLYSGRQDTG PVATGVAFAF	AYHSDGHTL GVHFSVFPDY NLYSNHWQVK	120
RTX-A	LPEFVNQKA LLYSGRNRG PDIITGAVGAL	AYHSDGHTL GVHFSVFPDY NLYSNHWQVK	118
OR-G	LPEFVNQKA LLYSGQKDTG PVATGAVGL	AYHSDGHTL GVHFSVFPDY NLYSNHWQVK	115
OR-A	LPELVNQKA LLYSGRQDTG PVATGVVGL	AYHSDGHTL AILFSVFPDY NLYSNHWQVK	107
	POC-сайт (Lys112, Trp116, 117)		
RTX-SII	IYSGKRRADQ AMYEDMYG- NPYEGDNGWH	QKNLGYGLKN KGIMTSAVEA ILEIRISR--	177
RTX-A	VYSGKRRADQ AMYEDLYYS- NPYEGDNGWH	QKNLGYGLKN KGIMTSAGEA ILEIRISR--	175
OR-G	VYGRRRADQ AMYEGLLYG- IPIYGGDNGWH	ARKLGYGLKG RGFNKSSAQS ILEIHVTKA-	173
OR-A	VYSGKRRADQ GMSEDLSYG- NPYEGDNGWH	ARKLAYGLKE RGFNKSSAQS ILEIHATKA-	165
	RGD/GGD-трипептид		

Рис. 6. Множественное выравнивание аминокислотных последовательностей *Radianthus* и *Oulactis* актинопорина. Выделены N-концевой фрагмент и РОС-сайт связывания с мембраной, подчеркнут RGD/GGD-трипептид

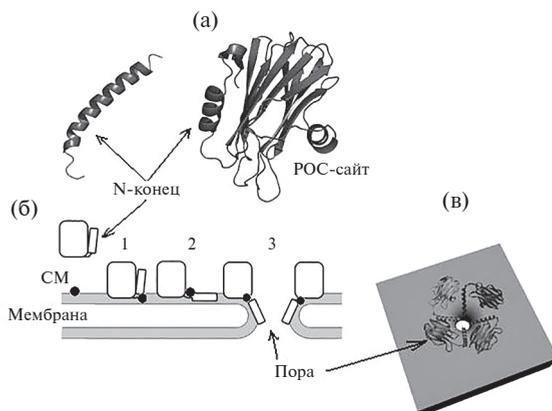


Рис. 7. Трехступенчатый механизм порообразования (стадии 1–3). Ленточная диаграмма пространственной структуры актинопорина с функционально значимыми фрагментами (N-конец, РОС-сайт) (а), связывание с мембранным сфингомиелином (СМ) и заякоривание в мембране N-конца (б), схематичное изображение тороидальной поры (в) [33]

молекулы (1–28 а.о.), который диссоциирует с поверхности белковой глобулы и погружается в липидный матрикс, при этом спирализованный участок N-конца (15–25 а.о.) удлиняется (рис. 7, стадия 2), и затем весь фрагмент включается в мембрану [31]; 3) ассоциация нескольких N-концевых фрагментов (четырёх [18, 19, 28, 29] или восьми-девяти [32]), приводящая к образованию функциональной поры [33] (рис. 7, стадия 3).

Изучение механизма взаимодействия *Radianthus (Heteractis)* актинопоринов с биологическими мембранами проводили на эритроцитах кролика [28, 29], яйцеклетках морского ежа *Strongylocentrotus intermedius*, в мембранах которых отсутствует СМ [34], и на культурах некоторых опухолевых клеток [35, 36]. В качестве модельных систем использовали липосомы [18, 19, 28] и бислоиные липидные мембраны (БЛМ) [19, 20, 34] различного липидного состава. Установлено, что при отсутствии СМ в мембранах они остаются нечувствительными к действию актинопоринов [28, 29]. Показано, что образуемые актинопоринами поры/каналы являются катионселективными [29, 34, 37], при этом величина их гемолитической активности зависит от гидрофобности и направления гидрофобного момента молекулы [24, 33, 38], наличия и количества заряженных а.о. в N-концевом фрагменте, а также локализации а.о. Тгр и Тут ароматического РОС-сайта связывания, количества образуемых гидрофобных, водородных и π -катионных взаимодействий с фосфохолиновой головкой СМ [38].

Нами была высказана гипотеза, что помимо РОС-сайта связывания и амфифильного N-концевого фрагмента, участвующих в трехстадийном механизме взаимодействия с липидной мембраной (рис. 7) [33], актинопорины (например, RTX-Ala) имеют дополнительный (или альтернативный) сайт связывания – трипептид 141RGD143 (так называемый RGD-мотив, характерный для мембраноактивных пептидов и белков) [39]. Как известно, этот трипептид отвечает за адгезию клеток к внеклеточному матриксу и представляет собой минимальный интегринсвязывающий мотив RGD-распознающих интегринов. Справедливость данной гипотезы подтверждает сравнительный анализ калориметрических кривых плавления нативных теней и модифицированных актинопорином, который показал наличие у последних сдвигов А-, В-, С- и D-переходов, характерных для белков цитоскелета эритроцита (рис. 8, а, б), а также вымывание из мембраны актина (рис. 8, в), что указывает на разрыв связи между актином цитоскелета и мембранными рецепторами, интегринами [40].

Очевидно, что такое взаимодействие RGD-мотива с интегрином $\alpha V\beta 3$ объясняет способность актинопоринов ингибировать/блокировать процессы оплодотворения яйцеклеток спермой у морского ежа *S. intermedius* (поверхность головки сперматозоидов содержит трипептид RGD) (рис. 9, а, б) [39]. Согласно литературным данным, механизм оплодотворения яйцеклеток обусловлен связыванием трипептида RGD сперматозоидов с β -цепью мембранных интегринов яйцеклеток, $\alpha V\beta 3$ и/или $\alpha V\beta 5$ (рис. 9, а) [39], вызывающим разрыв

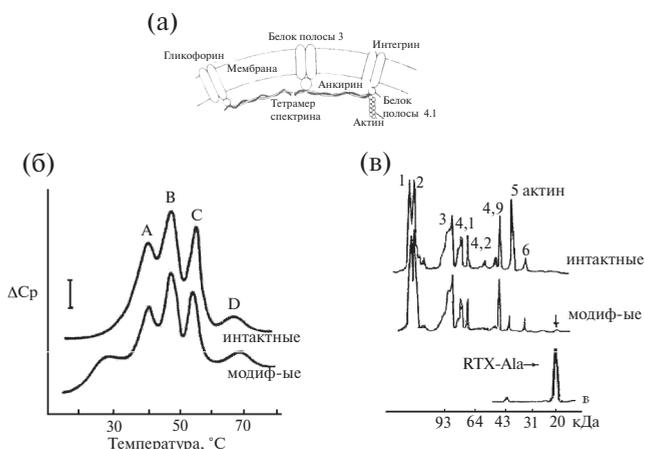


Рис. 8. Схема фрагмента эритроцитарной мембраны, мембранных белков и белков цитоскелета (а), калориметрические кривые (б), денситограммы SDS-электрофореза теней эритроцитов человека (интактные и модифицированные актинопорином RTX-A) (в) [40]

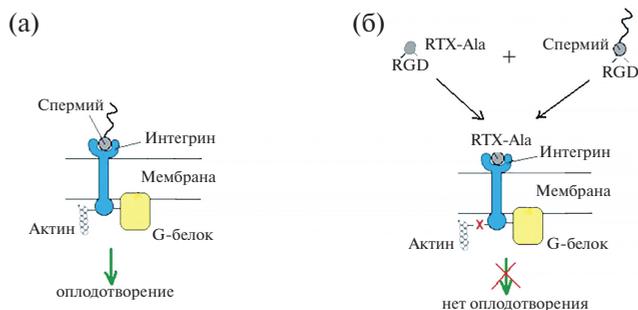


Рис. 9. Оплодотворение яйцеклетки морского ежа *S. intermedius* спермиями (а), ингибирование оплодотворения яйцеклетки актинопорином RTX-Ala (б)

связи интегрин с мембранным актином. Обнаруженный ранее разрыв связи между эритроцитарными интегринами и актином (рис. 8, в), основным белком цитоскелета, происходит под действием RGD-мотива актинопорина, а вымывание актина из мембраны ооцита, аналогичное происходящему в эритроцитах (рис. 8, в), ингибирует процесс оплодотворения яйцеклеток сперматозоидами (рис. 9, б).

Установлено, что *Radianthus (Heteractis)* актинопорины, RTX-Ala, rHct-S3, обладают канцерпревентивным (противоопухолевым) действием, обусловленным нарушением путей сигнальной трансдукции [24, 35]. Они индуцируют р53-независимый апоптоз и ингибируют активность онкогенных AP-1 и NF-κB ядерных факторов в концентрации 0,0338 нМ, которая более чем в 16 раз, меньше токсической концентрации RTX-Ala (0,57 нМ), проявляемой по отношению к опухолевым клеткам HeLa, THP-1, MDA-MB-231 и SNU-C4 [35, 36]. Очевидно, противоопухолевую активность актинопоринов можно объяснить как цитолитическим действием невысоких концентраций этих полипептидов на цитоплазматические мембраны опухолевых клеток, так и взаимодействием их RGD-мотива с мембранными интегринами этих клеток, приводящим к блокированию их пролиферации [35]. Таким образом, очевидно, что характерный для всех представителей α-пороформирующих токсинов морских анемонов RGD-мотив способен проявлять себя дополнительным сайтом связывания этих токсинов с биологическими и модельными мембранами. Способность нетоксичных концентраций актинопоринов подавлять рост опухолевых клеток и предотвращать развитие некоторых видов рака позволяет рассматривать актинопорины в качестве возможной модели для конструирования на их основе препаратов, тормозящих и предотвращающих развитие злокачественных опухолей.

3. Нетоксичные пептиды морской анемоны *H. crispa* (= *H. magnifica*)

3.1. Пептиды Кунитц-типа: структура и активность

Первая структура ингибитора сериновых протеаз трипсина и химотрипсина (пептида Кунитц-типа) InIV была установлена в 1984 г. методом автоматической деградации по Эдману [41]. Тогда же впервые было обнаружено наличие еще не менее 12 представителей пептидов Кунитца в исследуемом образце *R. macrodactylus*. В дальнейшем их выделение и изучение было продолжено только через 20 с лишним лет методами белковой химии и молекулярной биологии. Так, впервые было установлено, что пептиды Кунитц-типа кодируются разными мультигенными семействами и образуют комбинаторную библиотеку, включающую, согласно структурно-функциональному и филогенетическому анализу (рис. 10, а, б), пептидные кластеры, состоящие из 33 HCGS-, 33 HCRG- и 6 HCTX-пептидов, близких по структуре, но отличающихся физико-химическими характеристиками и функциональной активностью [42, 43]. Установлено, что основные отличия аминокислотных последовательностей Кунитц-пептидов (в виде точечных замен остатков) находятся в реактивном сайте, а также в сайте слабых взаимодействий (рис. 10, а), а функционально значимые остатки,

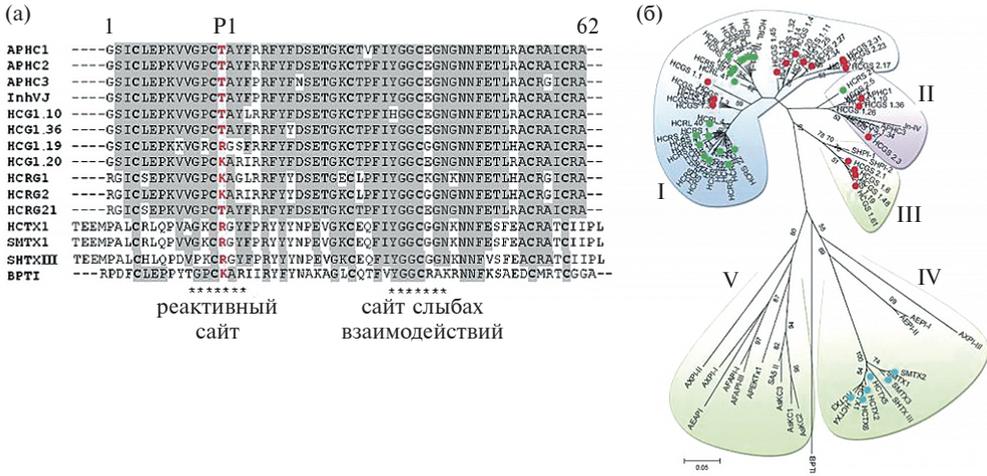


Рис. 10. Множественное выравнивание аминокислотных последовательностей пептидов Кунитца морской анемоны *H. crista*: APHC1, APHC2, APHC3, InhVJ, HCRG1, HCRG2, HCRG21, HCGS 1.10, HCGS 1.19, HCGS 1.20, HCGS 1.36, HCTX1, токсинов анемоны *Stichodactyla mertensii* SMTX1 и SMTX A49E, *Stichodactyla helianthus* SHTXIII, а также ингибитора трипсина BPT1 из *B. taurus*; идентичные а.о. показаны на темно-сером фоне, консервативные – на светло-сером (а). Филогенетическое дерево пептидов Кунитц-типа из морских анемон семейств Actiniidae и Stichodactylidae, построенное методом минимальной эволюции; представители комбинаторной библиотеки *H. crista* формируют на дереве четыре кластера: I–III представлены HCGS-/HCRG-пептидами, IV – HCTX-пептидами; HCGS-пептиды обозначены красными кружками, HCRG-пептиды – зелеными, HCTX/SMTX-пептиды – голубыми; последовательности пептидов с P1Lys показаны на синем фоне, с P1Thr – на розовом фоне, с P1Arg – на зеленом фоне [42] (б)

аргинин, лизин, треонин (14K/R/T), определяющие эволюционную функционализацию и кластеризацию пептидов, – в P1 положении последовательности (рис. 10, б) [42].

Появление положительно заряженного P1Lys и полярного P1Thr в реактивном сайте способствовало, соответственно, субфункционализации и неофункционализации пептидов Кунитц-типа, а действие ускоренной эволюции на их гены в рамках отдельного вида *H. crista*/*H. magnifica* привело к появлению комбинаторных библиотек [42, 43].

Исследование взаимодействия нативных и рекомбинантных пептидов Кунитц-типа *H. crista* с молекулярными мишенями продемонстрировало, что они ингибируют трипсин и химотрипсин [44–46], а некоторые из них (HCRG1 и HCRG2 с P1Lys) являются не только ингибиторами протеаз, но и модуляторами потенциал-зависимых калиевых каналов (K_v 1.1, K_v 1.2, K_v 1.3, K_v 1.6, Shaker IR) [47], т.е. представляют собой бифункциональные пептиды Кунитц-типа.

Впервые обнаружено, что нативные пептиды APHC1–APHC3 и рекомбинантный пептид гHCRG21, имеющие треонин в P1 положении аминокислотной последовательности, модулируют TRPV1-рецептор [48, 49], причем гHCRG21 является его полным антагонистом (рис. 11) [49]. В концентрации 100 мкМ он блокирует индуцированные капсаицином токи в канале на 95%. Полумаксимальное ингибирование рецептора наблюдается при концентрации гHCRG21 6,9 мкМ, благодаря чему пептид проявляет анальгетическую активность *in vivo* в модели тепловой стимуляции боли [49, 50] (в настоящее время гHCRG21 находится на стадии доклинических испытаний).

Установлено, что пептиды HCRG1 и HCRG2 подавляют синтез провоспалительных медиаторов (proIL-1 β , IL-6 и TNF α), индуцированный добавлением бактериального ЛПС [46]. Согласно результатам *in vivo* испытаний и *in vitro* тестирования на различных клеточных культурах, установлено, что рекомбинантные пептиды гHCGS1.10, гHCGS1.19, гHCGS1.20 и гHCGS1.36 обладают противовоспалительной активностью [51]. В концентрациях 1–10 мкМ пептиды гHCGS1.19, гHCGS1.20, гHCGS1.36, гHCTX1 и гSMTX1 A49E проявляют антигистаминную активность, обусловленную, по-видимому, либо блокированием H1-гистаминовых рецепторов, либо взаимодействием с G-белками [52]. Возможно также, что они оказывают ингибирующее действие на потенциал-зависимые кальциевые (Ca_v s)

	1	17	41
Hcr 1b-1	GTPCKCHGYIGVYWFMLAGCPNGYGYNLSCP	YFLGICCVDR-	
Hcr 1b-2	GTPCKCHGYIGVYWFMLAGCPNGYGYNLSCP	YFLGICCVKK-	
Hcr 1b-3	GTPCKCHGYIGVYWFMLAGCPDGYGYNLSCP	YFLGICCVKK-	
Hcr 1b-4	GTPCDCYGYTGVIWFMLSRCP	SGYGYNLSCYFMGICCVKR-	
APETx1	GTTTCYCGKTTGIYWFEGTKCP	SNRGYTGSCGYFLGICCYPVD	
APETx2	GTACSCGNSKGIYWFYRPSCP	TDRGYTGSCRYFLGTCTPAD	

Рис. 13. Множественное выравнивание аминокислотных последовательностей APETx-подобных пептидов из *H. crisper*: Hcr 1b-1 (P0DL87), Hcr 1b-2 (C0HL52), Hcr 1b-3 (C0HL53), Hcr 1b-4 (C0HL54) [56], APETx1 (P61541) и APETx2 (P61542) из *A. elegantissima* [57]. Идентичные остатки изображены на светло-сером фоне, точечные замены остатков – на белом фоне. Элаймент выполнен с помощью программы Vector NTI [56]

казались гомологичны таковым токсинов APETx1 и APETx2 морской анемоны *Anthopleura elegantissima* [57, 58]. Как известно, APETx2 является модулятором кислоточувствительных ионных каналов (ASICs – Acid-sensing ion channels) и оказывает на них ингибирующий эффект [58].

Известно, что ASICs участвуют в восприятии кислотоопосредованной, воспалительной и постоперационной боли, обусловленных патологическими процессами [57, 58]. Электрофизиологическое исследование пептидов Hcr 1b-1–Hcr 1b-4 на ASICs каналах показало наличие ингибирующего (для всех пептидов) и/или потенцирующего (для Hcr 1b-4) эффектов, поэтому их отнесли к группе APETx-подобных пептидов, которые, в отличие от токсинов APETx1 и APETx2, нетоксичны *in vivo* даже в высоких концентрациях [59].

Впервые для представителей Hcr 1b-2–Hcr 1b-4 морских анемонов обнаружено ингибирующее действие на токи подтипа ASIC1a [59] (который участвует в процессах передачи нервного возбуждения, гибели нейронов, эпилепсии, ишемических процессах [58]). Показано, что в насыщающих концентрациях (100–120 мкМ) Hcr 1b-2–Hcr 1b-4 ингибируют амплитуду тока через ASIC1a каналы на 64, 70 и 86%, а пептиды Hcr 1b-2 и Hcr 1b-3 (120 мкМ) ингибируют токи ASIC3 подтипа на ~81% и ~74% соответственно [59].

Интересной особенностью нетоксичных APETx-подобных пептидов *H. crisper*, отличающей их от токсичного APETx2, имеющего остаток R17, важный для сохранения его ингибирующей активности, является замена этого положительно заряженного остатка на гидрофобный Leu17. Очевидно, эта мутация объясняет отсутствие у пептидов токсической активности и, вероятно, имеет важное значение при проведении фармакологических исследований. Согласно данным молекулярного моделирования и пространственным моделям пептидов, различия в величинах ингибирующей активности пептидов по отношению к разным подтипам ASICs (рис. 14, а, б) могут быть связаны с различным направлением и величиной их дипольных моментов, играющих важную роль во взаимодействиях с мишенями [56, 59].

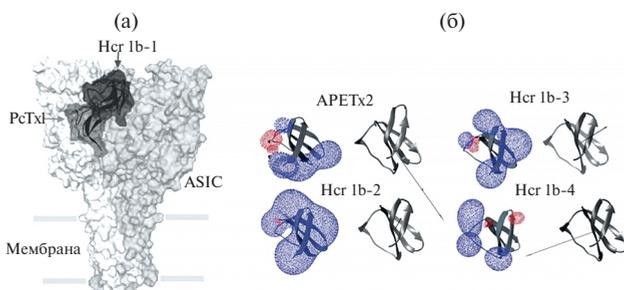


Рис. 14. Модель 3D структуры комплекса Hcr 1b-1–ASIC (а). Ленточные диаграммы моделей 3D структур молекул APETx2, Hcr 1b-2, Hcr 1b-3 и Hcr 1b-4 (б) [56, 59]. Дипольные моменты молекул показаны стрелками, эквипотенциальные поверхности (молекулярные электростатические потенциалы – МЭП) окрашены в розовый цвет (отрицательный потенциал) и синий (положительный), выполнены с помощью программ SPDBV и Chimera

Неожиданным оказалось обнаружение потенцирующего действия пептида Hmg 1b-4 при его аппликации к ASIC3 подтипу, благодаря чему он, не вызывая активацию канала, увеличивает амплитуду протон-индуцированных токов до 208% [59]. Показано, что APETx-подобные пептиды *H. crispa* оказывают выраженный обезболивающий эффект на модели кислотоиндуцированной мышечной боли, ассоциированной с функцией ASICs каналов. При этом их действующие концентрации значительно ниже, чем у анальгина [59]). В то же время анальгетическая активность пептидов была аналогична и сравнима с активностью диклофенака. При остром местном воспалении, вызванном гамма-каррагинаном или полным адьювантом Фрейнда, Hmg 1b-4 показал более выраженный и статистически значимый противовоспалительный эффект, чем Hmg 1b-2. В связи с этим APETx-подобные пептиды *H. crispa* можно рассматривать в качестве перспективных анальгетиков, действие которых направлено на коррекцию активности ASICs каналов.

Заключение

Токсичные и нетоксичные пептиды, нацеленные на Na_vs, K_vs, ASICs каналы, TRP-рецепторы, компоненты цитоплазматических мембран и цитоскелета, являются молекулярными инструментами для манипуляций с этими биологическими мишенями *in vitro* и *in vivo*. Они представляют собой многообещающие лиганды для создания на их основе мутантных и рекомбинантных аналогов с заданными характеристиками, активностью и фармакологическим потенциалом, которые смогут найти терапевтическое применение при лечении многих патофизиологических состояний. На это направлены исследования, успешно проводящиеся в настоящее время сотрудниками лаборатории молекулярной фармакологии и биомедицины ТИБОХ ДВО РАН, созданной на базе ЛХП несколько лет назад.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Prentis P.J., Pavasovic A., Norton R.S. Sea anemones: quiet achievers in the field of peptide toxins // *Toxins*. 2018. Vol. 10. P. 36. <https://doi.org/10.3390/toxins10010036>.
2. Béress L. Biologically active compounds from coelenterates // *Pure Appl. Chem.* 1982. Vol. 54. P. 1981–1994. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(75\)80517-5](https://doi.org/10.1016/0014-5793(75)80517-5).
3. Norton R.S. Structure and structure-function relationships of sea anemone proteins that interact with the sodium channel // *Toxicon*. 1991. Vol. 29. P. 1051–1084. [https://doi.org/10.1016/0041-0101\(91\)90205-6](https://doi.org/10.1016/0041-0101(91)90205-6).
4. Zykova T.A., Vinokurov L.M., Kozlovskaya E.P., Elyakov G.B. Amino acid sequence of neurotoxin III from the sea anemone *Radianthus macrodactylus* // *Bioorg. Khim.* 1985. Vol. 11. P. 302–310.
5. Zykova T.A., Kozlovskaya E.P. Amino acid sequence of a neurotoxin from the sea anemone *Radianthus macrodactylus* // *Bioorg. Khim.* 1989. Vol. 15. P. 1301–1306.
6. Zykova T.A., Kozlovskaya E.P., Elyakov G.B. Amino acid sequence of neurotoxin II from the sea anemone *Radianthus macrodactylus* // *Bioorg. Khim.* 1988. Vol. 14. P. 878–882.
7. Zykova T.A., Kozlovskaya E.P., Elyakov G.B. Amino acid sequence of neurotoxins IV and V from the sea anemone *Radianthus macrodactylus* // *Bioorg. Khim.* 1988. Vol. 14. P. 1489–1494.
8. Monastyrnaya M.M., Kalina R.S., Kozlovskaya E.P. The sea anemone neurotoxins modulating sodium channels: an insight at structure and functional activity after four decades of investigation // *Toxins*. 2023. Vol. 15. P. 8. <https://doi.org/10.3390/toxins15010008>.
9. Schweitz H., Bidard J.N., Frelin C., Pauron D., Vijverberg H.P.M., Mahasneh D.M., Lazdunski M., Vibois F., Tsugita A. Purification, sequence, and pharmacological properties of sea anemone toxins from *Radianthus paumotensis*. A new class of sea anemone toxins acting on the sodium channel // *Biochemistry*. 1985. Vol. 24. P. 3554–3561. <https://doi.org/10.1021/bi00335a025>.
10. Honma T., Kawahata S., Ishida M., Nagai H., Nagashima Y., Shiomi K. Novel peptide toxins from the sea anemone *Stichodactyla haddoni* // *Peptides*. 2008. Vol. 29. P. 536–544. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2007.12.010>.
11. Kem W.R., Parten B., Pennington M.W., Price D.A., Dunn B.M. Isolation, characterization, and amino acid sequence of a polypeptide neurotoxin occurring in the sea anemone *Stichodactyla helianthus* // *Biochemistry*. 1989. Vol. 28. P. 3483–3489. <https://doi.org/10.1021/bi00434a050>.

12. Wunderer G., Fritz H., Wachter E., Machleidt W. Amino acid sequence of a coelenterate toxin: Toxin II from *Anemonia sulcata* // Eur. J. Biochem. 1976. Vol. 8. P. 193–198. [https://doi: 10.1111/j.1432-1033.1976.tb10778.x](https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1976.tb10778.x).
13. Tanaka M., Hainu M., Yasunobu K.T., Norton T.R. Amino acid sequence of the *Anthopleura xanthogrammica* heart stimulant anthopleurin-A // Biochemistry. 1977. Vol. 16. 204–208. [https://doi: 10.1021/bi00621a007](https://doi.org/10.1021/bi00621a007).
14. Reimer N.S., Yasunobu C.L., Yasunobu K.T., Norton T.R. Amino acid sequence of the *Anthopleura xanthogrammica* heart stimulant, anthopleurin B // J. Biol. Chem. 1985. Vol. 260. P. 8690–8693.
15. Kalina R.S., Peigneur S., Zelepuga E.A., Dmitrenok P.S., Kvetkina A.N., Kim N.Y., Leychenko E.V., Tytgat J., Kozlovskaya E.P., Monastyrnaya M.M., Gladkikh I.N. New insights into the type II toxins from the sea anemone *Heteractis crispa* // Toxins. 2020. Vol. 12. P. 44. <https://doi.org/10.3390/toxins12010044>.
16. Baydan L.V., Kozlovskaya E.P., Tishkin S.M., Shuba M.F., Elyakov G.B. Effect of anemonotoxin on neuromuscular transmission in skeletal and smooth muscles // Dokl. Acad. Sci. USSR. 1981. Vol. 259. P. 1000–1002.
17. Sorokina Z.A., Chizhnikov I.V., Elyakov G.B., Kozlovskaya E.P., Vozhzhova E.I. Investigation of inactivation mechanism of fast sodium channels using neurotoxin from the sea anemone *Radianthus macrodactylus* and various chemical reagents // Physiol. J. 1984. Vol. 30. P. 571–579.
18. Linder R., Bernheimer A. W., Kim K. S. Interaction between sphingomyelin and a cytolysin from the sea anemone *Stoichactis helianthus* // Biochim. Biophys. Acta. 1977. Vol. 467, N3. P. 290–300.
19. Varanda W., Finkelstein A. Ion and nonelectrolyte permeability properties of channels formed in planar lipid bilayer membranes by the cytolytic toxin from the sea anemone, *Stoichactis helianthus* // J. Membr. Biol. 1980. Vol. 55, N3. P. 203–211.
20. Чантурия А.Н., Шатурский О.Я., Лишко В.К., Монастырская М.М., Козловская Э.П. Взаимодействие токсина морской актинии *Radianthus macrodactylus* с бислойнными фосфолипидными мембранами // Биол. мембраны. 1990. Т. 7, № 7. С. 763–769.
21. Monastyrnaya M.M., Zykova T.A., Apalikova O.V., Shwets T.V., Kozlovskaya E.P. Biologically active polypeptides from the tropical sea anemone *Radianthus macrodactylus* // Toxicon. 2002. Vol. 40. P. 1197–1217. [https://doi: 10.1016/s0041-0101\(02\)00139-3](https://doi.org/10.1016/s0041-0101(02)00139-3).
22. Ильина А.П., Монастырская М.М., Сокотун И.Н., Егоров Ц.А., Назаренко Ю.А., Лихацкая Г.Н. Актинопорины из актинии Японского моря *Oulactis orientalis*: выделение и частичная характеристика // Биоорганическая химия. 2005. Т. 31, № 1. С. 39–48.
23. Klyshko E.V., Issaeva M.P., Monastyrnaya M.M., Il'ina A.P., Guzev K.V., Vakorina T.I., Dmitrenok P.S., Zykova T.A., Kozlovskaya E.P. Isolation, properties and partial amino acid sequence of a new actinoporin from the sea anemone *Radianthus macrodactylus* // Toxicon. 2004. Vol. 44. P. 315–324. [https://doi: 10.1016/j.toxicon.2004.06.006](https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2004.06.006).
24. Monastyrnaya M., Leychenko E., Issaeva M., Likhatskaya G., Zelepuga E., Kostina E., Trifonov E., Nurminski E., Kozlovskaya E. Actinoporins from the sea anemones, tropical *Radianthus macrodactylus* and northern *Oulactis orientalis*: Comparative analysis of structure-function relationships // Toxicon. 2010. Vol. 56. P. 1299–1314. [https://doi: 10.1016/j.toxicon.2010.07.011](https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2010.07.011).
25. Ильина А.П., Монастырская М.М., Исаева М.П., Гузев К.В., Рассказов В.А., Козловская Э.П. Первичная структура актинопоринов актинии *Oulactis orientalis* // Биоорганическая химия. 2005. Т. 31, № 4. С. 357–362.
26. Il'ina A., Lipkin A., Barsova E., Issaeva M., Leychenko E., Guzev K., Monastyrnaya M., Lukyanov S., Kozlovskaya E. Amino acid sequence of RTX-A's isoform actinoporin from the sea anemone *Radianthus macrodactylus* // Toxicon. 2006. Vol. 47. P. 517–520. [https://doi: 10.1016/j.toxicon.2005.12.014](https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2005.12.014).
27. Leychenko E., Isaeva M., Tkacheva E., Zelepuga E., Kvetkina A., Gusev K., Monastyrnaya M., Kozlovskaya E. Multigene family of pore-forming toxins from sea anemone *Heteractis crispa* // Mar. Drugs. 2018. Vol. 16. 183 [1–18]. <https://doi.org/10.3390/md16060183>.
28. Иванов А.С., Мольнар А.А., Монастырская М.М., Козловская Э.П. Действие токсина из *Radianthus macrodactylus* на проницаемость биологических и модельных мембран // Биол. мембраны. 1987. Т. 4, № 3. С. 243–248.
29. Козловская Э.П., Иванов А.С., Мольнар А.А., Григорьев П.А., Монастырская М.М., Халилов Э.М., Еляков Г.Б. Ионные каналы в мембранах, индуцированные гемолизом из актинии *Radianthus macrodactylus* // Докл. АН СССР. 1984. Т. 277, № 6. С. 1491–1493.
30. Bakrač B., Gutiérrez-Aguirre I., Podlesek Z., Sonnen A.F.-P., Gilbert R.J.C., Maček P., Lakey J.H., Anderluh G. Molecular determinants of sphingomyelin specificity of a eukaryotic pore-forming toxin // J. Biol. Chem. 2008. Vol. 283. P. 18665–18677. [https://doi: 10.1074/jbc.M708747200](https://doi.org/10.1074/jbc.M708747200).

31. Mechaly A.E., Bellomio A., Gil-Carton D., Morante K., Valle M., González-Mañas J.M., Guérin D.M. Structural insights into the oligomerization and architecture of eukaryotic membrane pore-forming toxins // *Structure*. 2011. Vol. 19. P. 181–191. [https://doi: 10.1016/j.str.2010.11.013](https://doi.org/10.1016/j.str.2010.11.013).
32. Bellomio A., Morante K., Barlič A., Gutiérrez-Aguirre I., Viguera A.R., González-Mañas J.M. Purification, cloning and characterization of fragaceatoxin C, a novel actinoporin from the sea anemone *Actinia fragacea* // *Toxicon*. 2009. Vol. 54. P. 869–880. [https://doi: 10.1016/j.toxicon.2009.06.022](https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2009.06.022).
33. Mancheño J.M., Martín-Benito J., Martínez M., Gavilanes J.G., Hermoso J.A. Crystal and electron microscopy structures of Sticholysin II actinoporin reveal insights into the mechanism of membrane pore formation // *Structure*. 2003. Vol. 11. P. 1–20. [https://doi: 10.1016/j.str.2003.09.019](https://doi.org/10.1016/j.str.2003.09.019).
34. Руднев В.С., Лихацкая Г.Н., Козловская Э.П., Монастырская М.М., Еляков Г.Б. Влияние гемолизина из морской актинии *Radianthus macrodactylus* на проницаемость липидных мембран // Биол. мембраны. 1984. Т. 1, № 10. С. 1019–1023.
35. Fedorov S., Dyshlovoy S., Monastyrnaya M., Shubina L., Leychenko E., Kozlovskaya E., Jin J.O., Kwak J.Y., Bode A.M., Dong Z., Stonik V. The anticancer effects of actinoporin RTX-A from the sea anemone *Heteractis crispa* (= *Radianthus macrodactylus*) // *Toxicon*. 2010. Vol. 55. P. 811–817. [https://doi: 10.1016/j.toxicon.2009.11.016](https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2009.11.016).
36. Kvetkina A., Malyarenko O., Pavlenko A., Dyshlovoy S., von Amsberg G., Ermakova S., Leychenko E. Sea anemone *Heteractis crispa* actinoporin demonstrates *in vitro* anticancer activities and prevents HT-29 colorectal cancer cell migration // *Molecules*. 2020. Vol. 25. 5979. [https://doi: 10.3390/molecules25245979](https://doi.org/10.3390/molecules25245979).
37. Брежестовский П.Д., Монастырская М.М., Козловская Э.П., Еляков Г.Б. Действие гемолизина из морской актинии *Radianthus macrodactylus* на мембрану эритроцитов // Докл. АН СССР. 1988. Т. 299, № 3. С. 748–750.
38. Leichenko E.V., Monastyrnaya M.M., Zelepuga E.A., Tkacheva E.S., Isaeva M.P., Likhatskaya G.N., Anastuyk S.D., Kozlovskaya E.P. Hct-A is a new actinoporin family from the *Heteractis crispa* sea anemone // *Acta Naturae*. 2014. Vol. 6. P. 89–98.
39. Monastyrnaya M.M., Agafonova I.G., Tabakmakher V.M., Kozlovskaya E.P. The sea anemone pore-forming toxins (PFTs): from mechanism of action to perspectives in pharmacology as antitumor agents // *EC Pharmacol. and Toxicol.* 2023. Vol. 11, N4. P. 20–26. DOI: 10.31080/ecpt.2023.11.00829.
40. Shnyrov V.L., Monastyrnaya M.M., Zhadan G.G., Kuznetsova S.M., Kozlovskaya E.P. Calorimetric study of interaction of toxin from *Radianthus macrodactylus* with erythrocyte membrane // *Biochem. Intern.* 1992. Vol. 26, N2. P. 219–229.
41. Зыкова Т.А., Винокуров Л.М., Маркова Л.Ф., Козловская Э.П., Еляков Г.Б. Аминокислотная последовательность ингибитора трипсина IV из *Radianthus macrodactylus* // Биоорг. химия. 1985. Т. 11. С. 293–301.
42. Isaeva M.P., Chausova V.E., Zelepuga E.A., Guzev K.V., Tabakmakher V.M., Monastyrnaya M.M., Kozlovskaya E.P. A new multigene superfamily of Kunitz-type protease inhibitors from sea anemone *Heteractis crispa* // *Peptides*. 2012. Vol. 34. P. 88–97. [https://doi.org/ 10.1016/j.peptides.2011.09.022](https://doi.org/10.1016/j.peptides.2011.09.022).
43. Kvetkina A., Leychenko E., Chausova V., Zelepuga E., Chernysheva N., Guzev K., Pisyagin E., Yurchenko E., Menchinskaya E., Aminin D., Kaluzhskiy L., Ivanov A., Peigneur S., Tytgat J., Kozlovskaya E.P., Isaeva M.P. A new multigene HClQ subfamily from the sea anemone *Heteractis crispa* encodes Kunitz-peptides exhibiting neuroprotective activity against 6-hydroxydopamine // *Scientific Reports*. 2020. Vol. 10. P. 4205. [https://doi: 10.1038/s41598-020-61034-x](https://doi.org/10.1038/s41598-020-61034-x).
44. Сокотун И.Н., Гнеденко О.В., Лейченко Е.В., Монастырская М.М., Козловская Э.П., Мольнар А.А., Иванов А.С. Исследование взаимодействия ингибитора трипсина из актинии *Radianthus macrodactylus* с различными протеиназами // Биомед. химия. 2006. Т. 52, вып. 6. С. 595–600.
45. Gladkikh I., Monastyrnaya M., Leychenko E., Zelepuga E., Chausova V., Isaeva M., Anastuyk S., Andreev Y., Peigneur S., Tytgat J., Kozlovskaya E. Atypical reactive center Kunitz-type inhibitor from the sea anemone *Heteractis crispa* // *Mar. Drugs*. 2012. Vol. 10. P. 1545–1565. [https://doi.org/ 10.3390/md10071545](https://doi.org/10.3390/md10071545).
46. Gladkikh I., Monastyrnaya M., Zelepuga E., Sintsova O., Tabakmakher V., Gnedenko O., Ivanov A., Hua K.-F., Kozlovskaya E. New Kunitz-type HCRG polypeptides from the Sea anemone *Heteractis crispa* // *Mar. Drugs*. 2015. Vol. 13. P. 6038–6063. [https://doi: 10.3390/md13106038](https://doi.org/10.3390/md13106038).
47. Gladkikh I., Peigneur S., Sintsova O., Pinheiro-Junior E.L., Klimovich A., Menshov A., Kalinovsky A., Isaeva M., Monastyrnaya M., Kozlovskaya E., Tytgat J., Leychenko E. Kunitz-type peptides from the sea anemone *Heteractis crispa* demonstrate potassium channel blocking and anti-inflammatory activities // *Biomedicines*. 2020. Vol. 8. P. 473. [https://doi.org/ 10.3390/biomedicines8110473](https://doi.org/10.3390/biomedicines8110473).

48. Andreev Y.A., Kozlov S.A., Koshelev S.G., Ivanova E.A., Monastyrnaya M.M., Kozlovskaya E.P., Grishin E.V. Analgesic compound from sea anemone *Heteractis crispa* is the first polypeptide inhibitor of vanilloid receptor 1 (TRPV1) // *J. Biol. Chem.* 2008. Vol. 283. P. 23914–23921. [https://doi.org/ 10.1074/jbc0.M800776200](https://doi.org/10.1074/jbc0.M800776200).
49. Monastyrnaya M., Peigneur S., Zelepuga E., Sintsova O., Gladkikh I., Leychenko E., Isaeva M., Tytgat J., Kozlovskaya E. Kunitz-type peptide HCRG21 from the sea anemone *Heteractis crispa* is a full peptide antagonist of the TRPV1 receptor // *Mar. Drugs.* 2016. Vol. 14. 229 [1–20]. [https://doi.org/ 10.3390/md14120229](https://doi.org/10.3390/md14120229).
50. Sintsova O.V., Monastyrnaya M.M., Pislyagin E.A., Menchinskaya E.S., Leychenko E.V., Aminin D.L., Kozlovskaya E.P. Anti-inflammatory activity of the polypeptide of the sea anemone *Heteractis crispa* // *Bioorg. Chem.* 2015. Vol. 41. P. 590–596.
51. Sintsova O.V., Palikov V.A., Palikova Y.A., Klimovich A.A., Gladkikh I.N., Andreev Y.A., Monastyrnaya M.M., Kozlovskaya E.P., Dyachenko I.A., Kozlov S.A., Leychenko E.V. Peptide blocker of ion channel TRPV1 exhibits a long analgesic effect in the heat stimulation model // *Dokl. Biochem. Biophys.* 2020. Vol. 493. P. 215–217.
52. Sintsova O.V., Pislyagin E.A., Gladkikh I.N., Monastyrnaya M.M., Menchinskaya E.S., Leychenko E.V., Aminin D.L., Kozlovskaya E.P. Kunitz-type peptides of the sea anemone *Heteractis crispa* – potential anti-inflammatory compounds // *Bioorg. Chem.* 2017. Vol. 43. P. 105–112.
53. Sintsova O., Gladkikh I., Chausova V., Monastyrnaya M., Anastyuk S., Chernikov O., Yurchenko E., Aminin D., Isaeva M., Leychenko E., Kozlovskaya E. Peptide fingerprinting of the sea anemone *Heteractis magnifica* mucus revealed neurotoxins, Kunitz-type proteinase inhibitors and a new β -defensin α -amylase inhibitor // *Journal of Proteomics.* 2018. Vol. 173. P. 12–21. [https://doi: 10.1016/j.jprot.2017.11.019](https://doi.org/10.1016/j.jprot.2017.11.019).
54. Sintsova O., Gladkikh I., Kalinovskii A., Zelepuga E., Monastyrnaya M., Kim N., Shevchenko ., Peigneur S., Tytgat J., Kozlovskaya E., Leychenko E. Magnificamide, a α -defensin-like peptide from the mucus of the sea anemone *Heteractis magnifica*, is a strong inhibitor of mammalian α -amylases // *Mar. Drugs.* 2019. Vol. 17. P. 542. [https://doi: 10.3390/md17100542](https://doi.org/10.3390/md17100542).
55. Tysoe C., Williams L.K., Keyzers R., Nguyen N.T., Tarling C., Wicki J., Goddard-Borger E.D., Aguda A.H., Perry S., Foster L.J., Andersen R.J., Brayer G.D., Wither S.G. Potent human α -amylase inhibition by the β -defensin-like protein Helianthamide // *ACS Cent. Sci.* 2016. Vol. 2, N3. P. 154–161. [https://doi: 10.1021/acscentsci.5b00399](https://doi.org/10.1021/acscentsci.5b00399).
56. Kalina R., Gladkikh I., Dmitrenok P., Chernikov O., Koshelev S., Kvetkina A., Kozlov S., Kozlovskaya E., Monastyrnaya M. New APETx-like peptides from sea anemone *Heteractis crispa* modulate ASIC1a channels // *Peptides.* 2018. Vol. 104. P. 41–49. [https://doi.org/ 10.1016/j.peptides.2018.04.013](https://doi.org/10.1016/j.peptides.2018.04.013).
57. Diochot S., Baron A., Rash L.D., Deval E., Escoubas P., Scarzello S., Salinas M., Lazdunski M. A new sea anemone peptide, APETx2, inhibits ASIC3, a major acid-sensitive channel in sensory neurons // *EMBO J.* 2004. Vol. 23. P. 1516–1525. [https://doi: 10.1038/sj.emboj.7600177](https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7600177).
58. Osmakov D.I., Andreev Y.A., Kozlov S.A. Acid-sensing ion channels and their modulators // *Biochemistry.* 2014. Vol. 79. P. 1528–1545. [https://doi: 10.1134/S0006297914130069](https://doi.org/10.1134/S0006297914130069).
59. Kalina R.S., Koshelev S.G., Zelepuga E.A., Kim N.Y., Kozlov S.A., Kozlovskaya E.P., Monastyrnaya M.M., Gladkikh I.N. APETx-like peptides from the sea anemone *Heteractis crispa*, diverse in their effect on ASIC1a and ASIC3 ion channels // *Toxins.* 2020. Vol. 12, N4. 266 [1–20]. [https://doi.org/ 10.3390/toxins12040266](https://doi.org/10.3390/toxins12040266).

REFERENCES

1. Prentis P.J., Pavasovic A., Norton R.S. Sea anemones: quiet achievers in the field of peptide toxins. *Toxins.* 2018;10:36.
2. Béress L. Biologically active compounds from coelenterates. *Pure Appl. Chem.* 1982;54:1981–1994.
3. Norton R.S. Structure and structure-function relationships of sea anemone proteins that interact with the sodium channel. *Toxicon.* 1991;29:1051–1084.
4. Zykova T.A., Vinokurov L.M., Kozlovskaya E.P., Elyakov G.B. Amino acid sequence of neurotoxin III from the sea anemone *Radianthus macrodactylus*. *Bioorg. Khim.* 1985;11:302–310.
5. Zykova T.A., Kozlovskaya E.P. Amino acid sequence of a neurotoxin from the sea anemone *Radianthus macrodactylus*. *Bioorg. Khim.* 1989;15:1301–1306.

6. Zykova T.A., Kozlovskaya E.P., Elyakov G.B. Amino acid sequence of neurotoxin II from the sea anemone *Radianthus macrodactylus*. *Bioorg. Khim.* 1988;14:878–882.
7. Zykova T.A., Kozlovskaya E.P., Elyakov G.B. Amino acid sequence of neurotoxins IV and V from the sea anemone *Radianthus macrodactylus*. *Bioorg. Khim.* 1988;14:1489–1494.
8. Monastyrnaya M.M., Kalina R.S. Kozlovskaya E.P. The Sea anemone neurotoxins modulating sodium channels: an insight at structure and functional activity after four decades of investigation. *Toxins.* 2023;15:8.
9. Schweitz H., Bidard J.N., Frelin C., Pauron D., Vijverberg H.P.M., Mahasneh D.M., Lazdunski M., Vibois F., Tsugita A. Purification, sequence, and pharmacological properties of sea anemone toxins from *Radianthus paumotensis*. A new class of sea anemone toxins acting on the sodium channel. *Biochemistry.* 1985;24:3554–3561.
10. Honma T., Kawahata S., Ishida M., Nagai H., Nagashima Y., Shiomi K. Novel peptide toxins from the sea anemone *Stichodactyla haddoni*. *Peptides.* 2008;29:536–544.
11. Kem W.R., Parten B., Pennington M.W., Price D.A., Dunn B.M. Isolation, characterization, and amino acid sequence of a polypeptide neurotoxin occurring in the sea anemone *Stichodactyla helianthus*. *Biochemistry.* 1989;28:3483–3489.
12. Wunderer G., Fritz H., Wachter E., Machleidt W. Amino acid sequence of a coelenterate toxin: Toxin II from *Anemonia sulcata*. *Eur. J. Biochem.* 1976;8:193–198.
13. Tanaka M., Hainu M., Yasunobu K. T., Norton T.R. Amino acid sequence of the *Anthopleura xanthogrammica* heart stimulant anthopleurin-A. *Biochemistry.* 1977;16:204–208.
14. Reimer N.S., Yasunobu C.L., Yasunobu K. T., Norton T.R. Amino acid sequence of the *Anthopleura xanthogrammica* heart stimulant, anthopleurin B. *J. Biol. Chem.* 1985;260:8690–8693.
15. Kalina R.S., Peigneur S., Zelepuga E.A., Dmitrenok P.S., Kvetkina A.N., Kim N.Y., Leychenko E.V., Tytgat J., Kozlovskaya E.P., Monastyrnaya M.M., Gladkikh I.N. New insights into the type II toxins from the sea anemone *Heteractis crispa*. *Toxins.* 2020;12:44.
16. Baydan L.V., Kozlovskaya E.P., Tishkin S.M., Shuba M.F., Elyakov G.B. Effect of anemonotoxin on neuromuscular transmission in skeletal and smooth muscles. *Dokl. Acad. Sci. USSR.* 1981;259:1000–1002.
17. Sorokina Z.A., Chizhnikov I.V., Elyakov G.B., Kozlovskaya E.P., Vozhzhova E.I. Investigation of inactivation mechanism of fast sodium channels using neurotoxin from the sea anemone *Radianthus macrodactylus* and various chemical reagents. *Physiol. J.* 1984;30:571–579.
18. Linder R., Bernheimer A.W., Kim K.S. Interaction between sphingomyelin and a cytolytic toxin from the sea anemone *Stoichactis helianthus*. *Biochim. Biophys. Acta.* 1977;467(3):290–300.
19. Varanda W., Finkelstein A. Ion and nonelectrolyte permeability properties of channels formed in planar lipid bilayer membranes by the cytolytic toxin from the sea anemone, *Stoichactis helianthus*. *J. Membr. Biol.* 1980;55(3):203–211.
20. Chanturia A.N., Shatursky O. Ya., Lishko V.K., Monastyrnaya M.M., Kozlovskaya E.P. Vsaimejstvie toxina morskogo aktinii *Radianthus macrodactylus* s bislojnymi fosfolipidnimi membranami = [Interaction of the sea anemone toxin *Radianthus macrodactylus* with bilayer phospholipid membranes]. *Biol. membrani.* 1990;7(7):763–769. (In Russ.).
21. Monastyrnaya M.M., Zykova T.A., Apalikova O.V., Shwets T.V., Kozlovskaya E.P. Biologically active polypeptides from the tropical sea anemone *Radianthus macrodactylus*. *Toxicon.* 2002;40:1197–1217.
22. Ilyina A.P., Monastyrnaya M.M., Sokotun I.N., Egorov T.A., Nazarenko Yu.A., Likhatskaya G.N. Aktinoporini iz aktinii Japonskogo morja *Oulactis orientalis*: videlenie i chastichnaja karakteristika = [Actinoporins from the Sea of Japan sea anemone *Oulactis orientalis*: isolation and partial characterization]. *Bioorg. chimija.* 2005;31:39–48. (In Russ.).
23. Klyshko E.V., Issaeva M.P., Monastyrnaya M.M., Il'ina A.P., Guzev K.V., Vakorina T.I., Dmitrenok P.S., Zykova T.A., Kozlovskaya E.P. Isolation, properties and partial amino acid sequence of a new actinoporin from the sea anemone *Radianthus macrodactylus*. *Toxicon.* 2004;44:315–324.
24. Monastyrnaya M., Leychenko E., Issaeva M., Likhatskaya G., Zelepuga E., Kostina E., Trifonov E., Nurminski E., Kozlovskaya E. Actinoporins from the sea anemones, tropical *Radianthus macrodactylus* and northern *Oulactis orientalis*: Comparative analysis of structure-function relationships. *Toxicon.* 2010;56:1299–1314.
25. Il'ina A.P., Monastyrnaya M.M., Issaeva M.P., Guzev K.V., Rasskasov V.A., Kozlovskaya E.P. Primary structure of actinoporins from the sea anemone *Oulactis orientalis*. *Bioorg. Chem.* 2005;31:357–362.
26. Il'ina A., Lipkin A., Barsova E., Issaeva M., Leychenko E., Guzev K., Monastyrnaya M., Lukyanov S., Kozlovskaya E. Amino acid sequence of RTX-A's isoform actinoporin from the sea anemone *Radianthus macrodactylus*. *Toxicon.* 2006;47:517–520.

27. Leychenko E., Isaeva M., Tkacheva E., Zelepuga E., Kvetkina A., Gusev K., Monastyrnaya M., Kozlovskaya E. Multigene family of pore-forming toxins from sea anemone *Heteractis crispa*. *Mar. Drugs*. 2018;16: 183 [1–18].
28. Ivanov A.S., Molnar A.A., Monastyrnaya M.M., Kozlovskaya E.P. Deystvie toksina is *Radianthus macrodactylus* na pronizaemost biologicheskikh i modelnich membran = [Effect of toxin from *Radianthus macrodactylus* on the permeability of biological and model membranes]. *Biol. Membrani*. 1987;4(3):243–248. (In Russ.).
29. Kozlovskaya E.P., Ivanov A.S., Molnar A.A., Grigoriev P.A., Monastyrnaya M.M., Chalilov E.M., Elyakov G.B. Ionnie kanali v membranach, induzirovannie gemolisinom is aktinii *Radianthus macrodactylus* = [Ion channels in membranes induced by hemolysin from the sea anemone *Radianthus macrodactylus*]. *Dokl. AN SSSR*. 1984;277(6):1491–1493. (In Russ.).
30. Bakrač B., Gutiérrez-Aguirre I., Podlesek Z., Sonnen A.F.-P., Gilbert R.J.C., Maček P., Lakey J.H., Anderluh G. Molecular determinants of sphingomyelin specificity of a eukaryotic pore-forming toxin. *J. Biol. Chem*. 2008;283:18665–18677.
31. Mechaly A.E., Bellomio A., Gil-Carton D., Morante K., Valle M., González-Mañas J.M., Guérin D.M. Structural insights into the oligomerization and architecture of eukaryotic membrane pore-forming toxins. *Structure*. 2011;19:181–191.
32. Bellomio A., Morante K., Barlič A., Gutiérrez-Aguirre I., Viguera A.R., González-Mañas J.M. Purification, cloning and characterization of fragaceatoxin C, a novel actinoporin from the sea anemone *Actinia fragacea*. *Toxicon*. 2009;54:869–880.
33. Mancheño J.M., Martín-Benito J., Martínez M., Gavilanes J.G., Hermoso J.A. Crystal and electron microscopy structures of Sticholysin II actinoporin reveal insights into the mechanism of membrane pore formation. *Structure*. 2003;11:1–20.
34. Rudnev V.C., Likhatskaya G.N., Kozlovskaya E.P., Monastyrnaya M.M., Elyakov G.B. Vliyanie gemolisina is morskoj aktinii *Radianthus macrodactylus* na pronizaemost lipidnich membrane = [Effect of hemolysin from the sea anemone *Radianthus macrodactylus* on the permeability of lipid membranes]. *Biol. Membrani*. 1984;1(10):1019–1023. (In Russ.).
35. Fedorov S., Dyshlovoy S., Monastyrnaya M., Shubina L., Leychenko E., Kozlovskaya E., Jin J.O., Kwak J.Y., Bode A.M., Dong Z., Stonik V. The anticancer effects of actinoporin RTX-A from the sea anemone *Heteractis crispa* (= *Radianthus macrodactylus*). *Toxicon*. 2010;55:811–817.
36. Kvetkina A., Malyarenko O., Pavlenko A., Dyshlovoy S., von Amsberg G., Ermakova S., Leychenko E. Sea anemone *Heteractis crispa* actinoporin demonstrates *in vitro* anticancer activities and prevents HT-29 colorectal cancer cell migration. *Molecules*. 2020;25:5979.
37. Brezhestovsky P.D., Monastyrnaya M.M., Kozlovskaya E.P., Elyakov G.B. Deystvie gemolisina is morskoj aktinii *Radianthus macrodactylus* na membranu eritrozitov = [Effect of hemolysin from the sea anemone *Radianthus macrodactylus* on the erythrocyte membrane]. *Dokl. AN USSR*. 1988;299(3):748–750. (In Russ.)
38. Leichenko E.V., Monastyrnaya M.M., Zelepuga E.A., Tkacheva E.S., Isaeva M.P., Likhatskaya G.N., Anastyuk S.D., Kozlovskaya E.P. Hct-A is a new actinoporin family from the *Heteractis crispa* sea anemone. *Acta Naturae*. 2014;6:89–98.
39. Monastyrnaya M.M., Agafonova I.G., Tabakmakher V.M., Kozlovskaya E.P. The sea anemone pore-forming toxins (PFTs): from mechanism of action to perspectives in pharmacology as antitumor agents. *EC Pharmacol. and Toxicol*. 2023;11(4):20–26.
40. Shnyrov V.L., Monastyrnaya M.M., Zhadan G.G., Kuznetsova S.M., Kozlovskaya E.P. Calorimetric study of interaction of toxin from *Radianthus macrodactylus* with erythrocyte membrane. *Biochem. Intern*. 1992;26(2):219–229.
41. Zykova T.A., Vinokurov L.M., Markova L.F., Kozlovskaya E.P., Elyakov G.B. Aminokislottayaya posledovatelnost ingibitora tripsins IV is *Radianthus macrodactylus* = [Amino acid sequence of trypsin inhibitor IV from *Radianthus macrodactylus*]. *Bioorg. Khimia*. 1985;11:293–301. (In Russ.).
42. Isaeva M.P., Chausova V.E., Zelepuga E.A., Guzev K.V., Tabakmakher V.M., Monastyrnaya M.M., Kozlovskaya E.P. A new multigene superfamily of Kunitz-type protease inhibitors from sea anemone *Heteractis crispa*. *Peptides*. 2012;34:88–97.
43. Kvetkina A., Leychenko E., Chausova V., Zelepuga E., Chernysheva N., Guzev K., Pisyagin E., Yurchenko E., Menchinskaya E., Aminin D., Kaluzhskiy L., Ivanov A., Peigneur S., Tytgat J., Kozlovskaya E.P., Isaeva M.P. A new multigene HClQ subfamily from the sea anemone *Heteractis crispa* encodes Kunitz-peptides exhibiting neuroprotective activity against 6-hydroxydopamine. *Scientific Reports*. 2020;10:4205.

44. Sokotun I.N., Gnedenko O.V., Leichenko E.V., Monastyrnaya M.M., Kozlovskaya E.P., Molnar A.A., Ivanov A.S. Issledovanie vsaimodejstviya ingibitora tripsina is aktinii *Radianthus macrodactylus* s raslichnimi proteinasami = [Study of the interaction of trypsin inhibitor from the sea anemone *Radianthus macrodactylus* with various proteinases]. *Biomed. Khimia*. 2006;52(6):595–600. (In Russ.).
45. Gladkikh I., Monastyrnaya M., Leychenko E., Zelepuga E., Chausova V., Isaeva M., Anastuyk S., Andreev Y., Peigneur S., Tytgat J., Kozlovskaya E. Atypical reactive center Kunitz-type inhibitor from the sea anemone *Heteractis crispa*. *Mar. Drugs*. 2012;10:1545–1565.
46. Gladkikh I., Monastyrnaya M., Zelepuga E., Sintsova O., Tabakmakher V., Gnedenko O., Ivanov A., Hua K.-F., Kozlovskaya E. New Kunitz-type HCRG polypeptides from the sea anemone *Heteractis crispa*. *Mar. Drugs*. 2015;13:6038–6063.
47. Gladkikh I., Peigneur S., Sintsova O., Pinheiro-Junior E.L., Klimovich A., Menshov A., Kalinovskiy A., Isaeva M., Monastyrnaya M., Kozlovskaya E., Tytgat J., Leychenko E. Kunitz-type peptides from the sea anemone *Heteractis crispa* demonstrate potassium channel blocking and anti-inflammatory activities. *Biomedicines*. 2020;8:473.
48. Andreev Y.A., Kozlov S.A., Koshelev S.G., Ivanova E.A., Monastyrnaya M.M., Kozlovskaya E.P., Grishin E.V. Analgesic compound from sea anemone *Heteractis crispa* is the first polypeptide inhibitor of vanilloid receptor 1 (TRPV1). *J. Biol. Chem*. 2008;283:23914–23921.
49. Monastyrnaya M., Peigneur S., Zelepuga E., Sintsova O., Gladkikh I., Leychenko E., Isaeva M., Tytgat J., Kozlovskaya E. Kunitz-type peptide HCRG21 from the sea anemone *Heteractis crispa* is a full peptide antagonist of the TRPV1 receptor. *Mar. Drugs*. 2016;14: 229 [1–20].
50. Sintsova O.V., Monastyrnaya M.M., Pisyagin E.A., Menchinskaya E.S., Leychenko E.V., Aminin D.L., Kozlovskaya E.P. Anti-inflammatory activity of the polypeptide of the sea Anemone, *Heteractis crispa*. *Bioorg. Chem*. 2015;941:590–596.
51. Sintsova O.V., Palikov V.A., Palikova Y.A., Klimovich A.A., Gladkikh I.N., Andreev Y.A., Monastyrnaya M.M., Kozlovskaya E.P., Dyachenko I.A., Kozlov S.A., Leychenko E.V. Peptide blocker of ion channel TRPV1 exhibits a long analgesic effect in the heat stimulation model. *Dokl. Biochem. Biophys*. 2020;493:215–217.
52. Sintsova O.V., Pisyagin E.A., Gladkikh I.N., Monastyrnaya M.M., Menchinskaya E.S., Leychenko E.V., Aminin D.L., Kozlovskaya E.P. Kunitz-type peptides of the sea anemone *Heteractis crispa* – potential anti-inflammatory compounds. *Bioorg. Chem*. 2017;43:105–112.
53. Sintsova O., Gladkikh I., Chausova V., Monastyrnaya M., Anastuyk S., Chernikov O., Yurchenko E., Aminin D., Isaeva M., Leychenko E., Kozlovskaya E. Peptide fingerprinting of the sea anemone *Heteractis magnifica* mucus revealed neurotoxins, Kunitz-type proteinase inhibitors and a new β -defensin α -amylase inhibitor. *Journal of Proteomics*. 2018;173:12–21.
54. Sintsova O., Gladkikh I., Kalinovskii A., Zelepuga E., Monastyrnaya M., Kim N., Shevchenko L., Peigneur S., Tytgat J., Kozlovskaya E., Leychenko E. Magnificamide, a α -defensin-like peptide from the mucus of the sea anemone *Heteractis magnifica*, is a strong inhibitor of mammalian α -amylases. *Mar. Drugs*. 2019;17:542.
55. Tysoc C., Williams L.K., Keyzers R., Nguyen N.T., Tarling C., Wicki J., Goddard-Borger E.D., Aguda A.H., Perry S., Foster L.J., Andersen R.J., Brayer G.D., Wither S.G. Potent human α -amylase inhibition by the β -defensin-like protein Helianthamide. *ACS Cent. Sci*. 2016;2(3):154–161.
56. Kalina R., Gladkikh I., Dmitrenok P., Chernikov O., Koshelev S., Kvetkina A., Kozlov S., Kozlovskaya E., Monastyrnaya M. New APETx-like peptides from sea anemone *Heteractis crispa* modulate ASIC1a channels. *Peptides*. 2018;104:41–49.
57. Diochot S., Baron A., Rash L.D., Deval E., Escoubas P., Scarzello S., Salinas M., Lazdunski M. A new sea anemone peptide, APETx2, inhibits ASIC3, a major acid-sensitive channel in sensory neurons. *EMBO J*. 2004;23:1516–1525.
58. Osmakov D.I., Andreev Y.A., Kozlov S.A. Acid-sensing ion channels and their modulators. *Biochemistry*. 2014;79:1528–1545.
59. Kalina R.S., Koshelev S.G., Zelepuga E.A., Kim N.Y., Kozlov S.A., Kozlovskaya E.P., Monastyrnaya M.M., Gladkikh I.N. APETx-like peptides from the sea anemone *Heteractis crispa*, diverse in their effect on ASIC1a and ASIC3 ion channels. *Toxins*. 2020;12(4). 266 [1–20].

Обзорная статья

УДК 57.089

DOI: 10.31857/S0869769824030076

EDN: ISBYZW

Лаборатория биоиспытаний и механизма действия биологически активных веществ: недавние достижения в исследованиях биологически активных соединений

Е.Л. Чайкина, И.Г. Агафонова, Е.А. Юрченко, Е.А. Чингизова, С.А. Козловский, Е.А. Пислягин, А.Л. Бурылова, Е.С. Менчинская, Д.Л. Аминин✉

Елена Леонидовна Чайкина

научный сотрудник

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН,
Владивосток, Россия
chaikin.dima@yandex.ru

Ирина Григорьевна Агафонова

кандидат биологических наук, старший научный сотрудник

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН,
Владивосток, Россия
agafonova@piboc.dvo.ru
<http://orcid.org/0000-0002-5587-2610>

Екатерина Александровна Юрченко

кандидат биологических наук, старший научный сотрудник

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН,
Владивосток, Россия
eyurch@piboc.dvo.ru
<http://orcid.org/0000-0001-7737-0980>

Екатерина Александровна Чингизова

кандидат биологических наук, старший научный сотрудник

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН,
Владивосток, Россия
martyuas@mail.ru
<http://orcid.org/0000-0003-0093-5757>

Сергей Антонович Козловский

младший научный сотрудник

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН,
Владивосток, Россия
sergeimerx@gmail.com
<http://orcid.org/0000-0001-9961-8350>

Евгений Александрович Пислягин

кандидат биологических наук, старший научный сотрудник

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток, Россия

pislyagin@hotmail.com

<http://orcid.org/0000-0002-3558-0821>

Анна Леонидовна Бурьлова

студентка

Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Россия

anaburylova1@gmail.com

Екатерина Сергеевна Менчинская

кандидат биологических наук, старший научный сотрудник

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток, Россия

ekaterinamenchinskaya@gmail.com

<http://orcid.org/0000-0002-4027-9064>

Дмитрий Львович Аминин

член-корреспондент РАН, доктор биологических наук, заведующий лабораторией

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток, Россия

daminin@piboc.dvo.ru

<http://orcid.org/0000-0002-1073-4994>

Аннотация. Основное научное направление лаборатории биоиспытаний и механизма действия биологически активных веществ Тихоокеанского института биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН – изучение биологической активности природных и синтетических соединений. В обзоре кратко рассматриваются основные достижения лаборатории за последние пять лет.

Ключевые слова: биологически активные природные и синтетические соединения, поиск биологической активности

Для цитирования: Чайкина Е.Л., Агафонова И.Г., Юрченко Е.А., Чингизова Е.А., Козловский С.А., Пислягин Е.А., Бурьлова А.Л., Менчинская Е.С., Аминин Д.Л. Лаборатория биоиспытаний и механизма действия биологически активных веществ: недавние достижения в исследованиях биологически активных соединений // Вестн. ДВО РАН. 2024. № 3. С. 121–142. <http://dx.doi.org/10.31857/S0869769824030076>

Review article

Laboratory of bioassays and mechanism of action of bioactive substances: recent advances in bioactive compound

E.L. Chaykina, I.G. Agafonova, E.A. Yurchenko, E.A. Chingizova, S.A. Kozlovskiy, E.A. Pisyagin, A.L. Burylova, E.S. Menchinskaya, D.L. Aminin

Elena L. Chaykina

Researcher

G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS, Vladivostok, Russia

chaykin.dima@yandex.ru

Irina G. Agafonova

Candidate of Sciences in Biology, Senior Researcher
G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS, Vladivostok, Russia
agafonova@piboc.dvo.ru
<http://orcid.org/0000-0002-5587-2610>

Ekaterina A. Yurchenko

Candidate of Sciences in Biology, Senior Researcher
G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS, Vladivostok, Russia
eyurch@piboc.dvo.ru
<http://orcid.org/0000-0001-7737-0980>

Ekaterina A. Chingizova

Candidate of Sciences in Biology, Senior Researcher
G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS, Vladivostok, Russia
martyyas@mail.ru
<http://orcid.org/0000-0003-0093-5757>

Sergey A. Kozlovskiy

Junior Researcher
G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS, Vladivostok, Russia
sergeimerx@gmail.com
<http://orcid.org/0000-0001-9961-8350>

Evgeny A. Pisyagin

Candidate of Sciences in Biology, Senior Researcher
G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS, Vladivostok, Russia
pisyagin@hotmail.com
<http://orcid.org/0000-0002-3558-0821>

Anna L. Burylova

Student
Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russia
anaburylova1@gmail.com

Ekaterina S. Menchinskaya

Candidate of Sciences in Biology, Senior Researcher
G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS, Vladivostok, Russia
ekaterinamenchinskaya@gmail.com
<http://orcid.org/0000-0002-4027-9064>

Dmitry L. Aminin

Corresponding Member of RAS, Doctor of Sciences in Biology, Head of the Laboratory
G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS, Vladivostok, Russia
daminin@piboc.dvo.ru
<http://orcid.org/0000-0002-1073-4994>

Abstract. The main scientific direction of the laboratory of bioassays and mechanism of action of biologically active compounds of the G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS is the study on the biological activity of natural and synthetic compounds. The review briefly examines the laboratory's main achievements over the past five years.

Keywords: biologically active natural and synthetic compounds, search for biological activity

For citation: Chaykina E.L., Agafonova I.G., Yurchenko E.A., Chingizova E.A., Kozlovskiy S.A., Pisyagin E.A., Burylova A.L., Menchinskaya E.S., Aminin D.L. Laboratory of bioassays and mechanism of action of bioactive substances: recent advances in bioactive compound. *Vestnik of the FEB RAS*. 2024;(3):121–142. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.31857/S0869769824030076>

Авторы посвящают этот обзор памяти кандидата физико-математических наук Галины Николаевны Лихацкой, внесшей неоценимый вклад в работу лаборатории в области компьютерного моделирования и биоинформатики

Введение

Основной круг научных интересов и научное направление лаборатории биоиспытаний и механизма действия биологически активных веществ ТИБОХ ДВО РАН – изучение биологической активности природных и синтетических соединений; фиторегулирующей активности на моделях проростков сельскохозяйственных растений; проведение скрининга среди соединений для обнаружения цитотоксической, гемолитической, эмбриотоксической, антибактериальной, антифунгальной и противоопухолевой активностей на моделях культур клеток микроорганизмов, животных и человека; поиск соединений с гепатопротекторными и иммуномодулирующими свойствами; исследование препаратов, обладающих протекторными свойствами, на экспериментальных животных моделях ишемии и инфаркта миокарда, инсульта головного мозга, артериальной гипертензии, воспаления и цирроза, нейродегенеративных заболеваний; установление зависимости между структурой вещества и его биологической активностью; компьютерное моделирование пространственной структуры биологических молекул; моделирование взаимодействия биологически активных соединений с внутриклеточными и мембранными молекулярными мишенями. Объектами исследования являются биологически активные вещества, выделенные из наземных растений, морских микроорганизмов, водорослей и беспозвоночных и их синтетические аналоги.

В обзоре кратко рассматриваются основные достижения лаборатории за последние пять лет.

Накопления рутина в гречихе обыкновенной

Гречиха является ценной сельскохозяйственной культурой, возделываемой во многих странах мира. Большой интерес гречиха представляет как источник биофлавоноидов. Известно, что флавоноиды принимают активное участие в физиологических процессах растительной клетки и могут оказывать влияние на репродуктивные процессы, способствовать ризогенезу, подавлять развитие патогенов, регулировать процессы окислительного фосфорилирования, являются универсальными полифункциональными адаптогенами к неблагоприятным факторам среды. Флавоноиды гречневой крупы предупреждают развитие злокачественных новообразований, предохраняют организм от старения и болезней, стимулируют иммунитет. Одним из перспективных источников является выращиваемая в Дальневосточном регионе гречиха *Fagopyrum esculentum* Moench. В селекции гречихи актуальное и приоритетное направление – выведение сортов с высоким содержанием флавоноидов (рутина) в зерне и надземной части растений. Получение клеточных культур из различных частей растения с использованием высоких доз ионов тяжелых металлов, манипуляции с ними могут служить базисом для последующего отбора вариантов с качественно новыми показателями. В то же время для получения форм растений с повышенным уровнем стрессоустойчивости, увеличения урожайности, улучшения качества зерна эффективным подходом является использование биопрепаратов, таких как биостимуляторы, биологические средства защиты растений, биоудобрения и ряд других. Практическая значимость этих исследований также в том, что помимо зерна, идущего в пищу, надземная часть этого растения может служить источником получения рутина для фармацевтической промышленности.

Совместно с сотрудниками ФНЦ агробιοтехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки (академик РАН Клыкoв А.Г.) мы проводим исследование содержания рутина и продуктивности сортов гречихи различного эколого-географического происхождения и селекционного материала, полученного в условиях *in vitro* на селективной среде с повышенным содержанием тяжелых металлов. Изучено содержание рутина в плодах и надземной массе у отечественных

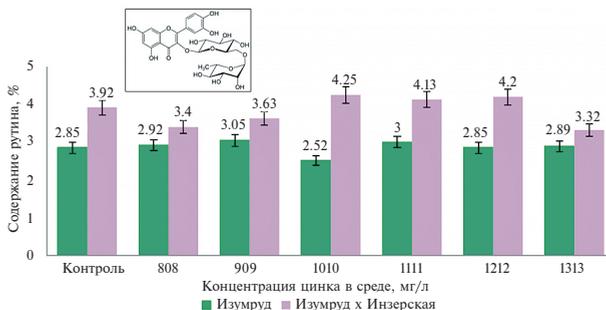


Рис. 1. Содержание рутина в регенерированных в пробирках растениях *F. esculentum* сорта Изумруд и гибрида Изумруд × Инзерская, полученных после воздействия питательных сред с цинком и выращенных *in vitro* в течение III–V пассажей. На врезке – химическая структура рутина

и зарубежных сортов гречихи, а также в разных генотипах этой культуры. Выделен сорт гречихи Башкирская красностебельная с максимальным содержанием флавоноидов в плодах и надземной массе [1, 2]. Установлено, что содержание рутина в надземной части гречихи зависит от рода, вида и разновидности растения, а также определяется морфологическими и хозяйственно ценными признаками. Использование селективных сред с высокими концентрациями ионов цинка и меди способствует расширению диапазона генетической изменчивости и получению растений-регенерантов с повышенным содержанием рутина (на 20–25 %) [3, 4]. Повышенная продукция рутина наблюдалась в регенерированных в пробирке растениях гибрида гречихи Изумруд × Инзерская, полученных после воздействия высоких доз цинка [5] (рис. 1). Исследовано влияние биологически-активных веществ на содержание рутина в плодах и надземной массе гречихи сорта Изумруд. Установлено, что при применении экстрактов из биотипа красных стеблей гречихи наблюдается повышение технологических и биохимических показателей качества зерна гречихи [6].

Таким образом, генотипы гречихи, полученные в том числе с использованием культуральных сред с высокими концентрациями тяжелых металлов, являются перспективными биосистемами для синтеза рутина, ценного в фармакологии и медицине.

Нейропротекторные эффекты гистохрома на фоне экспериментальной артериальной гипертензии

В лаборатории разработан метод с применением диффузионно-взвешенной томографии для выявления бессимптомного поражения головного мозга. Изучено потенциальное нейропротекторное лекарственное средство гистохром, предотвращающее диффузионные изменения ткани головного мозга крыс на ранней стадии развития АГ (артериальной гипертензии). Несмотря на достижения современной медицины, распространенность АГ среди населения чрезвычайно высока, в том числе среди лиц молодого возраста. Начальные проявления АГ начинаются бессимптомно и могут развиваться длительное время. Очень важно распознать начало развития заболевания для оказания своевременной терапии. Маркерами для раннего выявления АГ являются мелкие гиперинтенсивные очаги в глубинных отделах мозга, так называемые немые инфаркты, которые выявляются только методом МРТ (магнитно-резонансная томография). Со временем такие скрытые инфаркты приводят к когнитивным нарушениям, деменции, инсультам [7]. Диффузионно-взвешенная томография позволяет выявить изменения ткани головного мозга (ГМ) на ранней стадии развития патологии, определить направление диффузии молекул воды. Особенный интерес в диагностике заболеваний ГМ относится к методу спиновой маркировки артериальной крови, позволяющей отследить в кратчайшее время цереброваскулярные изменения на молекулярном уровне. Представленный метод дает возможность получить изображения почти всех биологических тканей, взвешенных по диффузии молекул воды *in vivo* [8].

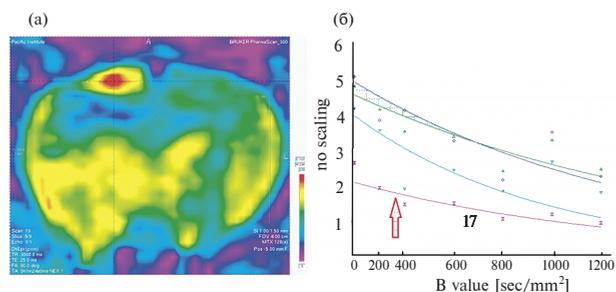


Рис. 2. Визуальная оценка интенсивности сигнала на диффузионном изображении аксиального среза головного мозга крысы, полученного методом МРТ; на участках, выделенных желто-красным цветом, скорость диффузии выше, по сравнению с участками, представленными синим цветом (а). Количественное определение скорости диффузии воды, выполненное с помощью измерения коэффициента диффузии; снижение диффузии отмечено на графике розовой линией, указанной стрелкой (б)

Своевременная диагностика ранних проявлений патологии позволяет предотвратить более глубокие последствия развития АГ. При использовании возможностей МРТ гиперинтенсивные очаги белого вещества ГМ у пациентов с предположением на АГ выявляются более чем в 85 % случаев. В связи с тем что контингент больных разнороден по возрасту и наличию осложнений сопутствующих заболеваний, соответственно, развитие патологии также разнородно. Для полноценного ответа на различные проявления АГ совершенствуются дополнительные методы диагностики и экспериментальные модели на животных. Используемая экспериментальная модель дает возможность исследовать механизм развития заболевания, а импульсная последовательность позволяет визуализировать скорость движения молекул воды (рис. 2, а, б) [9].

Множество антигипертензивных препаратов уже успешно используется в клинической практике, однако поиск новых средств остается актуальной задачей и активно продолжается в настоящее время. В серии наших экспериментов антиоксидант и хелатор молекулярного железа гистохром использован по прямому назначению на самой ранней стадии агрегации эритроцитов и тромбоцитов в микрокапиллярном русле [10]. Гистохром, вероятно, обладает нейропротективными свойствами благодаря своей способности прерывать каскад патологических реакций. Нейропротекторы известны как вещества, которые повышают устойчивость мозговой ткани к вредным воздействиям различной природы. Использование гистохрома перспективно как в комплексе с лекарствами прямого назначения, так и в качестве препарата превентивного действия. Потенциальный нейропротекторный эффект гистохрома на данной модели допускает защиту медиаторного и метаболического баланса, способность качественно влиять на состояние кровотока.

Индукция АГ осуществлялась согласно допустимым протоколам работы с лабораторными крысами. В исследовании использовали фармакопейный препарат «Гистохром®» в форме 0,02 % раствора для внутривенного введения (ТИБОХ ДВО РАН, Россия). Поведенческий статус животных оценивали в тесте «Открытое поле». Основную оценку ГМ проводили в режиме диффузионно-взвешенной импульсной последовательности с помощью магнитно-резонансного томографа «PharmaScan US 70/16», 7.0 T, 300 MHz (Bruker). Индуцированную АГ у крыс верифицировали как усиление сигнальных характеристик ткани ГМ в сравнении с интактными животными. Гиперинтенсивный сигнал от ткани говорит об избыточном скоплении жидкости в интра- и экстрацеллюлярном пространстве, что ассоциируется с гиперволемией. После курсового введения гистохрома отмечено снижение нарушенной церебральной микроциркуляции. Поведенческий статус животных характеризовался сокращением латентного периода выхода крыс в центр поля на 20 %, увеличением когнитивной активности в 1,6 раза и возрастанием исследовательского компонента поведения до 30 % [11]. На рис. 2 представлен фрагмент аксиального среза головного мозга крысы на фоне формирования АГ. На графике зафиксировано снижение скорости диффузии воды в подкорковой зоне ГМ (на рис. 2, А он отмечен линиями, пересекающимися под углом 90°).

Представленные результаты предполагают возможность использования антиоксидантных свойств препарата гистохром как превентивного средства в лечении АГ.

Противомикробная активность метаболитов морских грибов

Последние пять лет в лаборатории проводился масштабный поиск ингибиторов различных бактериальных ферментов, которые рассматриваются как альтернатива мишеням «классических» антибиотиков. Одной из мишеней для этого поиска был выбран фермент сортаза А, контролирующий образование биопленок грамположительными бактериями *Staphylococcus aureus* (рис. 3). Ингибиторы сортазы А были обнаружены среди вторичных метаболитов морских грибов Коллекции морских микроорганизмов ТИБОХ ДВО РАН. Это церебросид флавузид В [12], ряд антрахинонов [13], циклопиановые дитерпены [14], хлорсодержащие пренилированные тетракетиды [15], трипептидные производные астеррипептиды А-С [16]. Более того, было установлено, что некоторые из этих соединений эффективно противодействуют повреждению клеток кожи при стафилококковой инфекции. Так, флавузид В снижал выход лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и уменьшал уровень апоптоза в инфицированных кератиноцитах человека линии HaCaT [12], а антрахиноны акруцихон А и ω -гидроксипахибазин не только обеспечивали снижение выхода ЛДГ из инфицированных кератиноцитов, но и способствовали ускорению их миграции в *in vitro* модели инфицированной кожной раны [13].

Другой мишенью для поиска новых антибиотиков является уреаза – фермент, обеспечивающий метаболизм мочевины. Было обнаружено, что известный антимикотик гризеофульвин, продуцируемый морскими грибами, способен ингибировать активность уреазы и значительно увеличивать жизнеспособность кардиомиоцитов, инфицированных *S. aureus*, в *in vitro* модели инфекционного миокардита [17]. Эти исследования, проводимые совместно

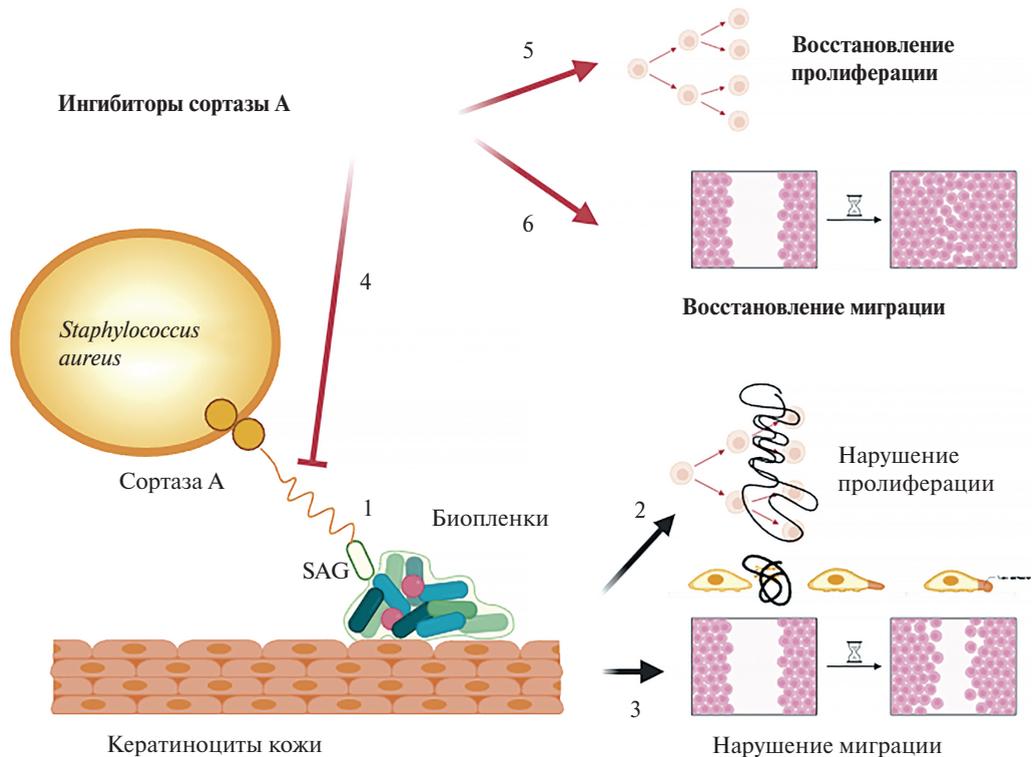


Рис. 3. Схема действия антибиотиков, мишенью которых является сортаза А. Фермент сортаза А – один из ключевых при образовании биопленок грамположительными бактериями *Staphylococcus aureus* (1), что при инфицировании клеток кожи приводит к торможению их пролиферации (2) и миграции (3). Ингибирование активности сортазы А (4) обеспечивает восстановление уровня пролиферации кератиноцитов (5) и их миграции (6)

с сотрудниками лаборатории химии микробных метаболитов (рук. к.х.н. Юрченко А.Н.) и лаборатории микробиологии (рук. чл.-корр. РАН, д.б.н. Михайлов В.В.) ТИБОХ ДВО РАН за довольно короткое время привели к обнаружению более чем 10 новых перспективных антибиотиков.

Поиск соединений с кардиопротекторным действием

Поиск соединений с кардиопротекторным действием среди вторичных метаболитов морских грибов и беспозвоночных животных проводился с использованием культивируемой клеточной линии кардиомиоцитов крысы H9c2, что позволило оценить активность большого количества соединений. Было показано, что глиорозеин повышает жизнеспособность кардиомиоцитов крысы в модели хронической гипоксии и при действии токсина ротенона [18]. Феликарнезолин В также повышал жизнеспособность кардиомиоцитов в модели гипоксии, что сопровождалось снижением уровня активных форм кислорода и увеличением активности антиоксидантного фермента супероксид-дисмутазы [19]. Рабдастреллозид В также повышал жизнеспособность кардиомиоцитов в модели гипоксии, вызванной хлоридом кобальта (II) [20], а топорозиды А, С и D – при воспалении, вызванном культивированием кардиомиоцитов в присутствии воспалительного цитокина TNF- α [21].

Поиск соединений, обладающих нейропротекторной активностью

Нами был проведен целенаправленный поиск нейропротекторов среди низкомолекулярных метаболитов некоторых морских беспозвоночных и микроорганизмов. В результате скрининга обнаружен ланостановый тритерпеноид ацетилпенастерон, выделенный из морской губки *Penares* sp. Это соединение обладает выраженными цитопротекторными свойствами: эффективно увеличивает жизнеспособность клеток в модели болезни Паркинсона, индуцированной в нейрональных клетках нейротоксином паракватом (PQ), существенно снижает уровень активных форм кислорода (АФК) и устраняет митохондриальную дисфункцию, а также индуцирует синтез шаперона (белка теплового шока) Hsp70 в клетках, что приводит к восстановлению жизнеспособности нейронов и увеличению числа нейритов, формирующих нейрональную сеть [22].

Изучалось цитопротекторное действие нескольких поликетидов из морского гриба *Aspergillus candidus* КММ 4676 и цереброзида флавузида В из морского гриба *Penicillium islandicum* в отношении клеток Neuro-2a в присутствии нейротоксинов ротенона и PQ. Было показано, что исследованные соединения значительно увеличивают жизнеспособность клеток, обработанных нейротоксинами, и снижают уровни токсичных АФК в них, что указывает на перспективность дальнейшего исследования данных метаболитов в качестве нейропротекторов [23].

Данные молекулярного докинга показали, что ряд поликетидов и алкалоидов с цитопротекторными свойствами из морских грибов: глиорозеин, niveоглауцин А, 6-гидрокси-N-ацетил- β -оксотриптамин, 4-гидроксициталон и 4-гидрокси-6-дегидроксициталон могут образовывать водородные связи с аминокислотными остатками Arg415 или Arg483 в P1-P2 карманах в сайте связывания Nrf2 и домена Kelch белка Keap1. Эти положения малых молекул в домене Kelch способны ингибировать взаимодействие Keap1 с Nrf2 и усиливать ядерную транслокацию Nrf2 из цитозоля, что может приводить к сверхэкспрессии родственных генов, обеспечивающих антиоксидантный ответ [24].

Природные и синтетические 1,4-нафтохиноны (1,4-NQs) характеризуются широким спектром биологической активности. За последнее десятилетие у этих соединений обнаружены кардиопротекторные, противоишемические, гепатопротекторные, нейропротекторные свойства, установлена их роль в защите от нейродегенеративных заболеваний, более детально изучена их противовоспалительная, противомикробная и противоопухолевая активность, открыты новые, ранее неизвестные внутриклеточные молекулярные мишени и механизмы

действия. Некоторые соединения этого класса уже используются в качестве лекарственных препаратов, а некоторые вещества могут быть использованы как биохимические инструменты и зонды для неинвазивного обнаружения патологических участков в клетках и тканях при инфаркте миокарда и нейродегенеративных заболеваниях с применением современных методов молекулярной визуализации [25].

В лаборатории органического синтеза природных соединений ТИБОХ ДВО РАН (рук. д.х.н. Ануфриев В.Ф.) была создана мини-библиотека из порядка 150 синтетических производных 1,4-NQs. На начальном этапе нами изучена цитотоксическая и гемолитическая активность новых тетрациклических конъюгатов на основе производных биологически активных хинонов: 5,8-диметокси-1,4-нафтохинона, 5-гидрокси-1,4-нафтохинона и серии пер-*O*-ацетил-1-меркаптомоносахаридов. Установлено, что тетрациклические производные на основе 5,8-диметокси-1,4-нафтохинона не активны. Самую высокую цитотоксичность в отношении нейрональных клеток Neuro-2a проявили линейные тетрациклические производные юглона. Шесть тетрациклических конъюгатов, несущих гидроксильную группу в нафтохиноновом ядре, показали высокую цитотоксическую активность со значениями EC_{50} (эффективная концентрация вещества, подавляющая жизнеспособность 50 % клеток) в диапазоне от 0,3 до 1,2 мкМ и отсутствие гемолитической активности до 25 мкМ [26].

Были проведены исследования цитотоксической и гемолитической активности 40 новых синтетических тиогликозидных производных 1,4-нафтохинона в отношении различных линий опухолевых клеток человека. Использовалась панель клеток, включающая нейробластому SH-SY5Y, аденокарциному толстого кишечника HCT-116, лейкемию ТНР-1 и аденокарциному шейки матки HeLa. Для сравнения использовали неопухолевую клеточную линию почек эмбриона человека НЕК-293. В результате было отобрано 10 соединений, которые в микромолярном диапазоне концентраций подавляли рост определенных опухолевых линий. Среди них соединения с лабораторными кодами U-732 и U-733 проявили сопоставимую цитотоксическую активность в отношении всех исследуемых клеточных линий со значением полумаксимальной эффективной концентрации (EC_{50}) в диапазоне 2,95–5,09 мкМ. Наиболее эффективным оказалось соединение U-704 в отношении клеток HeLa с $EC_{50} = 2,25$ мкМ и HCT-116 с $EC_{50} = 3,49$ мкМ. Производное U-703 селективно подавляло рост клеток лейкемии человека ТНР-1 с $EC_{50} = 4,68$ мкМ, в то время как U-733 наиболее эффективно ингибировал жизнедеятельность клеток нейробластомы человека SH-SY5Y с $EC_{50} = 3,71$ мкМ. В результате скрининга гемолитической активности, проводимого на эритроцитах из крови доноров, установлено, что фактически все исследуемые тиогликозидные производные 1,4-NQs неактивны в диапазоне концентраций до 100 мкМ. Исключением является лишь одно соединение U-700, для которого полумаксимальная эффективная концентрация гемолиза составила 4,64 мкМ, а цитотоксическая активность для всех типов клеток была >10 мкМ.

Для 1,4-NQs, проявляющих цитотоксическую активность, осуществлено построение QSAR (Quantitative Structure – Activity Relationship) моделей связи химическая структура – цитотоксическая активность и проведен фармакофорный анализ. Проанализировано порядка 400 дескрипторов, описывающих физико-химические свойства химических соединений и отобрано 12 значимых дескрипторов. Установлено, что повышение цитотоксической активности значительно коррелирует с увеличением общего размера молекул и площади поверхности гидрофобных атомов этих молекул.

Важную роль в проявлении токсичности играет углеводный компонент с гидрофобными функциональными группами (AcO-) как для –O-, так и для –S- гликозидов. Заместители у C-2 играют ключевую роль в проявлении цитотоксической активности производных нафтазарина. Производные с метоксигруппой при C-2 или несущие остаток ацетилированного моносахарида в положении C-3 обязательно проявляют цитотоксическую активность, в то же время все производные с гидроксигруппой при C-2 нетоксичны [27].

В результате высокопродуктивного скрининга мини-библиотеки 1,4-NQs отобран ряд соединений, эффективно защищающих нейрональные клетки Neuro-2a в моделях БП (болезнь Паркинсона) *in vitro*, индуцированной нейротоксинами паракватом (PQ)

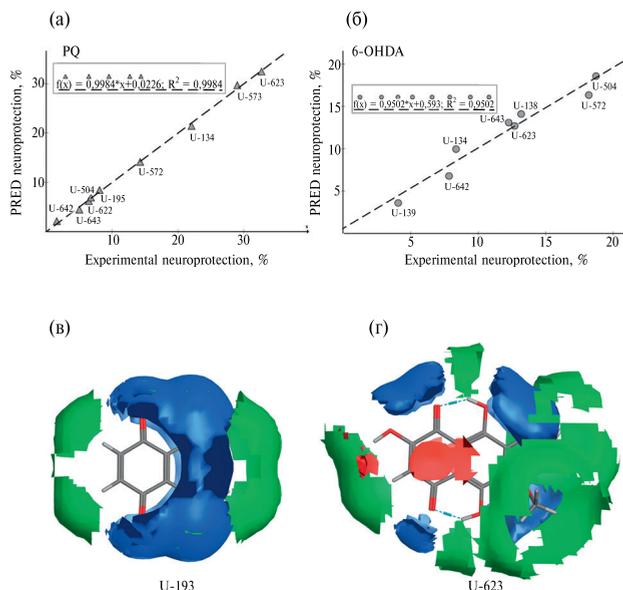


Рис. 4. QSAR анализ связи химическая структура – нейропротекторная активность. Прогнозируемая нейропротекторная активность (в %) 1,4-NQs в зависимости от экспериментальных значений для линии клеток Neuro-2a в присутствии PQ (а) или 6-OHDA (б). Электростатическая карта, предсказывающая предпочтительные местоположения для гидрофобных участков (зеленый цвет), акцепторов водородных связей (синий цвет), доноров водородных связей (красный цвет) для неактивного U-193 (в) и высокоактивного нейропротектора U-623 (г)

и 6-гидроксидофамином (6-OHDA). Соединения значительно защищают клетки от подавления активности фермента эстеразы, лизиса биомембран и нормализуют клеточный цикл в присутствии нейротоксинов. Защитные эффекты связаны с их выраженной способностью улавливать токсичные свободные радикалы, образующиеся под действием нейротоксинов, с подавлением окислительного стресса и нормализацией функции митохондрий. Проведенный количественный QSAR анализ связи структура–активность *in silico* показал, что гидрофобность, полярность, заряд, форма молекул и молекулярная масса имеют решающее значение в проявлении нейропротекторных свойств исследуемых соединений [рис. 4] [28].

Были выявлены два эффективных соединения, U-443 и U-573, с высоким потенциалом защиты нейрональных клеток Neuro-2a от токсического воздействия ротенона на модели нейротоксичности *in vitro*. Выбранные 1,4-NQs продемонстрировали способность снижать окислительный стресс за счет снижения уровней АФК и оксида азота (NO) в нейрональных клетках Neuro-2a и макрофагах RAW 264.7 и значительные антиоксидантные свойства в тесте железоиндуцированного окисления липидов в гомогенате головного мозга мыши. Показано, что в присутствии исследуемых 1,4-NQs нормализовалась функция митохондрий и восстанавливался митохондриальный мембранный потенциал, нарушенные воздействием нейротоксина. Кроме того, в низких концентрациях эти соединения значительно снижали уровни провоспалительных цитокинов TNF-а и IL-1 β и заметно ингибировали активность циклооксигеназы-2 (ЦОГ-2) в макрофагах RAW 264.7. Результаты докинга продемонстрировали, что 1,4-NQs связываются с активным центром ЦОГ-2 аналогично селективному ингибитору этого фермента SC-558. Оба вещества значительно улучшили поведенческие реакции у самок мышей CD1 с индуцированной ротеноном ранней стадией БП *in vivo* (рис. 5). Предполагается, что 1,4-NQs U-443 и U-573 могут защищать нейроны и микроглию благодаря своей мощной антиоксидантной и противовоспалительной активности [29].

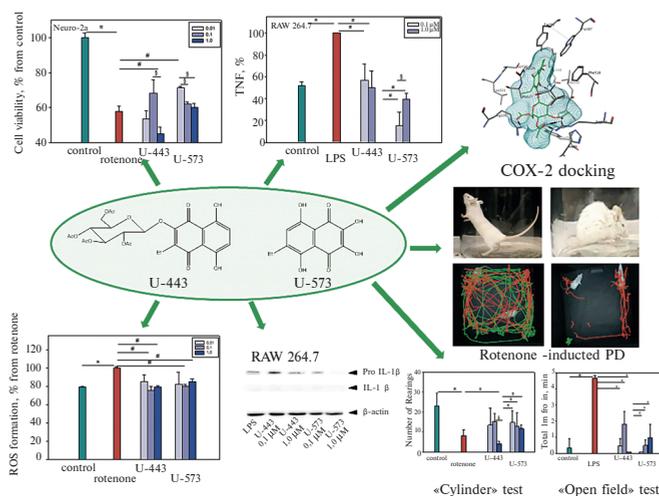


Рис. 5. Схема действия производных 1,4-NQs U-443 и U-573, защищающих нейрональные клетки Neuro-2a и макрофагальные клетки RAW 264.7 от нейротоксического действия ротенона, оказывающих противовоспалительный эффект и восстанавливающих когнитивное поведение у животных с индуцированной ранней стадией БП

Производные 1,4-нафтохинона, блокирующие пуриnergические P2X7 рецепторы

Пуриnergические P2X рецепторы экспрессируются в клетках и тканях многих видов животных, включая человека. Они играют важную роль в различных физиологических процессах и способны модулировать сердечный ритм, инициировать сокращение клеток скелетных мышц и различных тканей гладких мышц, а также модулировать иммунный ответ. Эти рецепторы участвуют во многих патологических состояниях и могут являться молекулярными мишенями действия лекарственных соединений. Терапевтический потенциал агонистов и антагонистов P2X рецепторов в настоящее время исследуется при ряде расстройств, в том числе при хронической невропатической и воспалительной боли, депрессии, кистозном фиброзе, сухости глаз, синдроме раздраженного кишечника, интерстициальном цистите, дисфункции мочевого пузыря, раке и ряде внутриклеточных инфекций. Однако эти исследования сдерживаются отсутствием эффективных и селективных модуляторов пуринорецепторов. Поэтому поиск новых соединений, способных активировать или блокировать P2X рецепторы, является чрезвычайно актуальной задачей [30].

Рецептор P2X7 типа представляет собой АТФ-управляемый ионный канал, а также потенциальную терапевтическую мишень для разработки новых лекарств. В лаборатории органического синтеза природных соединений ТИБОХ ДВО РАН к.х.н. Полоник С.Г. и к.х.н. Сабуцкий Ю.Е. синтезировали серию новых производных 1,4-NQs, было исследовано их антагонистическое действие против P2X7 рецепторов мыши. Нами изучалась способность тестируемых веществ блокировать АТФ-индуцированный приток Ca^{2+} в нейрональные клетки Neuro-2a мыши, в результате чего выбраны четыре наиболее эффективных вещества: 1,4-нафтохинонтиоглюкозиды U-548 и U-557, а также их тетрациклические конъюгаты U-286 и U-556.

Биологическое тестирование этих соединений выявило значительное ингибирование функций рецептора *in vitro*. Анализ *in silico* показал высокую вероятность взаимодействия 1,4-NQs с P2X7 рецептором. Полученные данные указывают на потенциал связывания рассматриваемых соединений с аллостерическим сайтом, расположенным во внеклеточной области P2X7 рецептора. Добавление растворов соединений к клеткам приводило к заметной блокаде АТФ-индуцированного поглощения бромистого этидия (EtBr) и флуоресцентного красителя YO-PRO-1, а также выраженному снижению продукции

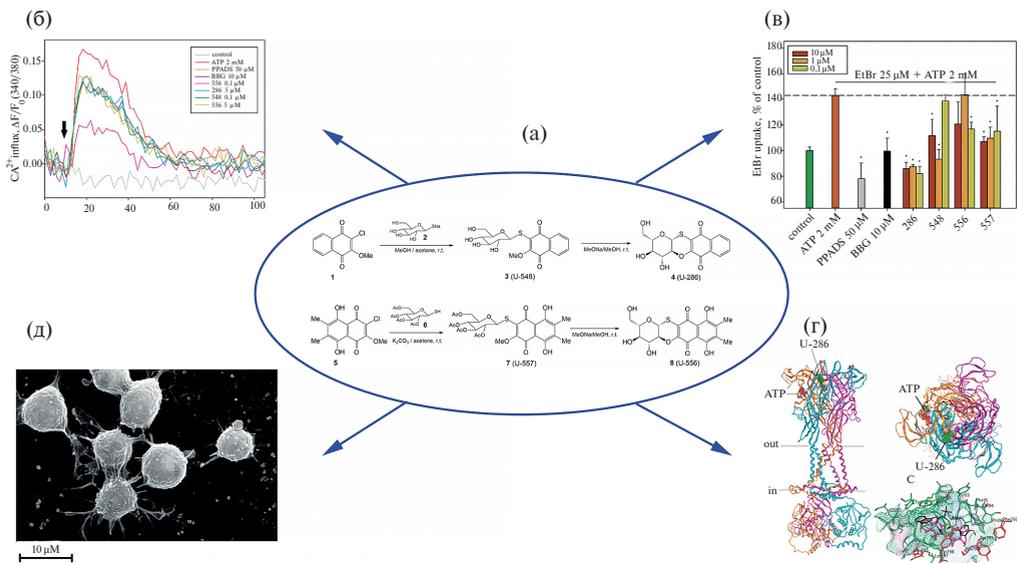


Рис. 6. 1,4-NQs модулируют функционирование P2X7 рецепторов. (а) – схема синтеза 1,4-нафтохинонгликозидов. (б) – влияние предварительной инкубации с 1,4-NQs (0,1; 1,0 и 5,0 мкМ), BBG (бриллиантовый синий G, 10 мкМ) и PPAADS (пиридоксальфосфат-6-азофенил-2',4'-дисульфоновая кислота, 50 мкМ) на вход ионов Ca^{2+} , вызванный АТФ (2 мМ) в клетках нейробластомы Neuro-2a мыши. (в) – влияние предварительной инкубации клеток с 1,4-NQs (0,1; 1,0 и 10,0 мкМ) на поглощение EtBr. (г) – молекулярное моделирование; гомологическая модель тримерной структуры P2X7 рецептора мыши (mP2X7R, UniProt ID Q9Z1M0) в закрытой форме с 1,4-NQs. (д) – изображение клеток нейробластомы Neuro-2a мыши

АФК и NO и защите жизнеспособности нейрональных клеток от токсического действия высоких концентраций АТФ (рис. 6) [31].

Было исследовано анальгезирующее и противовоспалительное действие 1,4-NQs U-286, U-548 и U-556. Благодаря использованию таких подходов, как спектрофлуориметрия, спектрофотометрия, вестерн-блоттинг и иммуноферментный анализ, была установлена способность данных соединений ингибировать воспаление, опосредованное P2X7 рецептором. Воспаление индуцировалось добавлением АТФ/ЛПС в макрофагальных клетках RAW 264.7 мыши. Установлено, что выбранные соединения способны ингибировать АТФ-индуцированный приток кальция и продукцию активных форм кислорода, а также проявляют выраженную антиоксидантную активность в гомогенате головного мозга мышей. Кроме того, соединения U-286 и U-548 снижали ЛПС-индуцированную активность фермента ЦОГ-2, высвобождение провоспалительных цитокинов TNF- α и IL-1 β в макрофагальных клетках и значительно защищали макрофаги от токсического действия АТФ и ЛПС.

Соединение U-548 продемонстрировало существенный ингибирующий эффект в антиноцицептивных тестах, уменьшая количество корчей в тесте «Укусные корчи» и латентное время облизывания задних лап мышей в тесте «Горячая пластина». Связывание нафтохинон-гликозидного конъюгата U-556 с внеклеточной частью P2X7 рецептора подтверждено методом поверхностного плазмонного резонанса, в результате которого были установлены кинетические характеристики образования данного комплекса. Соединения U-286, U-548 и U-556 оказались способны почти полностью уменьшить размер вызванного каррагинаном отека лапы через сутки и обладали мощной противовоспалительной активностью. Наблюдаемые эффекты в макрофагах также сопровождалась способностью изученных 1,4-NQs ингибировать образование макропоры P2X7 рецептора, связанного с воспалением и ноцицептивной болью [32–34].

Полученные результаты позволяют предположить, что соединения U-286, U-548, U-556 и U-557 могут стать перспективными моделями для разработки и создания новых блокаторов P2X7 рецепторов и лекарственных средств, обладающих противовоспалительной,

противоболевой и нейропротекторной активностью. На основе данных исследований планируется разработка эффективных препаратов против хронических воспалительных патологий, нейропатической боли и нейродегенеративных заболеваний.

Противоопухолевая активность тритерпеновых гликозидов голотурий

Цитотоксическая и противоопухолевая активности гликозидов голотурий (морских огурцов) в отношении различных типов клеток и клеточных линий, включая опухолевые клетки человека, изучаются на протяжении многих лет. Однако молекулярный механизм противоопухолевого действия тритерпеновых гликозидов до сих пор остается неясным. Мы продолжаем изучение тритерпенового гликозида кукумариозида A_2-2 (CA_2-2), выделенного из дальневосточной съедобной промысловой голотурии кукумария японская (*Cucumaria japonica*). Установлено, что CA_2-2 влияет на жизнеспособность опухолевых клеток в микромолярных концентрациях, в то же время в субцитотоксическом диапазоне концентраций гликозид проявляет цитостатический эффект, блокируя клеточную пролиферацию и биосинтез ДНК в S-фазе. Он индуцирует апоптоз в опухолевых клетках каспаза-зависимым способом, минуя активацию p53-зависимого сегмента. Также мы установили, что CA_2-2 проявляет выраженный противоопухолевый эффект *in vivo* [35].

Дальнейшее исследование эффективности, токсичности и механизма действия CA_2-2 мы проводили с использованием модели метастатического кастрационно-устойчивого рака предстательной железы (CRPC) *in vitro*. CA_2-2 индуцировал остановку клеточного цикла в фазе G_2/M в клетках PC-3 рака предстательной железы человека и вызывал каспаза-зависимый апоптоз. Кроме того, гликозид ингибировал образование и рост колоний клеток CRPC при низких микромолярных концентрациях. Впервые был проведен протеомный анализ, выполненный с использованием двумерного гель-электрофореза с последующим масс-спектрометрическим анализом и биоинформационной оценкой, который выявил изменения в белках, участвующих в клеточных процессах, таких как метастатический потенциал, инвазия и апоптоз (рис. 7). Среди белков, экспрессия которых изменяется под воздействием CA_2-2 , с помощью протеомного подхода идентифицированы кератин 81,

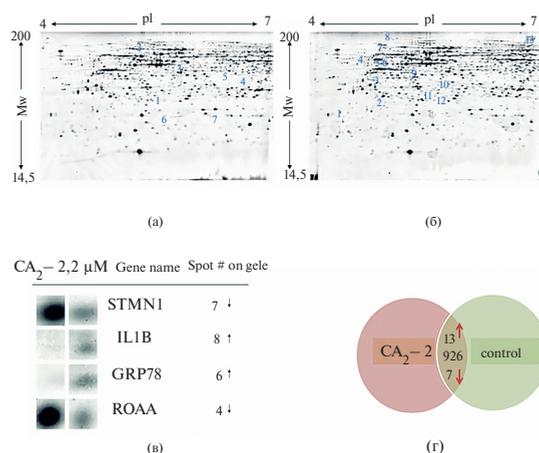


Рис. 7. Изображения двумерных гель-электрофорезов белков клеток линии PC-3 в контроле (а) и после инкубирования в течение 48 ч с CA_2-2 (б). Увеличенные изображения пятен на геле, соответствующие регулируемым белкам-мишеням, под действием CA_2-2 ; знаком «+» обозначены пятна, соответствующие белкам, экспрессия которых менялась под действием CA_2-2 , знаком «-» – белки-мишени контрольных клеток (в). Диаграмма Венна влияния CA_2-2 на экспрессию белков в опухолевых клетках простаты человека линии PC-3. Цифры показывают количество обнаруженных белков; стрелками указаны направления регулирования экспрессии (г)

CgkII, IL-1 β и катепсин В. Эти эффекты были подтверждены на уровне белка с помощью вестерн-блоттинга. Полученные результаты демонстрируют выраженную противоопухолевую активность CA₂-2 в модели рака предстательной железы и дают представление о молекулярном механизме, лежащем в основе этого действия [36].

Устойчивость опухолевых клеток одновременно ко многим токсическим противоопухолевым препаратам, с помощью которых проводится химиотерапия онкологических заболеваний, не сходным по химической структуре и механизму действия, достаточно давно известный феномен, получивший название «множественная лекарственная устойчивость» (МЛУ). Наиболее часто встречающийся механизм МЛУ – активация трансмембранных транспортных белков, выводящих различные вещества из клетки. Одним из основных белков этого типа является Р-гликопротеин. Используя технику молекулярных флуоресцентных зондов и спектрофлуориметрию, мы установили, что в нецитотоксичных концентрациях CA₂-2 из голотурии *C. japonica* и фрондозид А из *C. ohotensis*, а также их комплексы с холестерином блокируют активность мембранно-транспортного Р-гликопротеина в клетках асцитной формы карциномы Эрлиха (АКЭ) мыши. Поскольку блокирование активности Р-гликопротеина приводит к подавлению МЛУ, эти гликозиды и их комплексы с холестерином могут рассматриваться как потенциальные ингибиторы множественной лекарственной устойчивости опухолевых клеток [37].

На следующем этапе исследований мы применили анализ выброса кальцеина и измерение поглощения и удерживания стандартного цитостатика – доксорубина (DOX) в опухолевых клетках АКЭ, а также определение цитотоксического и противоопухолевого эффектов DOX в сочетанном варианте с CA₂-2. Так, обработка клеток АКЭ тритерпеновым гликозидом CA₂-2 блокировала отток кальцеина и DOX из раковых клеток и увеличивала накопление и цитотоксичность DOX в клетках АКЭ. Более того, предварительная обработка мышей с АКЭ гликозидом CA₂-2, затем трансплантация опухолевых клеток свежим животным и последующее лечение этих мышей DOX значительно увеличили среднюю продолжительность жизни мышей, несущих опухоль, и, следовательно, значительно увеличили противоопухолевый эффект DOX *in vivo* [38].

Недавно было изучено порядка 20 тритерпеновых гликозидов, выделенных из кукумарии *C. djakonovi*. Эти соединения были исследованы на токсичность в отношении ряда опухолевых клеток человека (MCF-7, T-47D, MDA-MB-231, HL-60), а также нормальных клеток молочной железы человека MCF-10A и почек эмбриона НЕК-293. Все гликозиды были протестированы на мембранолитическую активность в отношении эритроцитов человека. Наиболее агрессивная трижды отрицательная клеточная линия рака молочной железы MDA-MB-231 оказалась наиболее чувствительной к действию гликозидов по сравнению с другими раковыми клетками. Охотозид А₁-1 и кукумариозид А₀-1 значительно ингибировали миграцию, а также образование и рост колоний клеток MDA-MB-231. Дьяконовиозид Е₁ продемонстрировал избирательное действие в отношении ER-позитивных линий клеток MCF-7 и трижды негативных линий клеток MDA-MB-231, в то время как токсический эффект в отношении нормальных клеток эпителия молочной железы (MCF-10A) отсутствовал. Кукумариозид А₂-5 ингибировал образование и рост колоний раковых клеток до 44 % и миграцию опухолевых клеток до 85 % от контроля [39, 40].

Иммуномодулирующая активность кукумариозидов А₂-2

В своих ранних работах мы установили, что тритерпеновый гликозид CA₂-2 проявляет ярко выраженную иммуномодулирующую активность [41]. Показано, что в основе иммуномодулирующего действия исследуемого природного соединения лежит его способность взаимодействовать прежде всего с клеточными мембранами иммунокомпетентных клеток и изменять их физико-химические свойства. Впервые обнаружено, что CA₂-2 в наномолярных концентрациях обратимо увеличивает микровязкость биомембран, что сопровождается обратимым изменением мембранного потенциала, деполаризацией биомембран и резким обратимым увеличением концентрации ионов Са²⁺ в цитоплазме за счет его поступления из внеклеточного пространства. Впервые показано, что на мембранах макрофагов существуют как минимум два сайта связывания CA₂-2 (высокоаффинный и низкоаффинный), характеризующихся различными константами диссоциации. Впервые

установлено, что одними из молекулярных мишеней действия CA_2-2 являются мембранные пуринергические рецепторы P2X семейства (P2X1 и P2X4 типа), обеспечивающие Ca^{2+} -проводимость в мембранах макрофагов и активацию клеток. Показано, что CA_2-2 действует в качестве аллостерического модулятора пуриновых рецепторов. Связываясь с ними, гликозид усиливает ответ клеток на АТФ и частично снимает эффект десенсibilизации рецепторов. Установлено, что в перитонеальной полости мыши присутствует популяция крупных зрелых F4/80+ макрофагов, характеризующихся наличием высокой плотности пуриновых рецепторов P2X1 и P2X4 типа. Именно крупные F4/80+/P2X+ перитонеальные макрофаги принимают участие в Ca^{2+} -ответе на аппликацию CA_2-2 [42]. Методами радиоспектроскопии, масс-спектрометрией и масс-спектрометрического имиджинга впервые изучены и определены фармакокинетические параметры поведения CA_2-2 в селезенке мыши при внутрибрюшинном введении. Обнаружено, что CA_2-2 локализуется главным образом в области серозной оболочки селезенки и, в меньшей степени, проникает в центральную часть органа, где располагается красная и белая пульпа. Показано, что введение CA_2-2 мышам приводит к выраженной активации макрофагов селезенки и увеличению образования маркеров активации i**ba**-1, IL-1**β**, iNOs, АФК и NO с изменением фенотипа (поляризации) макрофагов на M1 фенотип. Получены масс-спектрометрические профили пептидов/белков с использованием масс-спектрометрического анализа различных участков срезов селезенки, изолированных с помощью метода лазерной микродиссекции. Установлено, что иммуностимуляция животных путем введения CA_2-2 приводит к выраженным изменениям интенсивности характеристических пиков пептидов/белков селезенки, прежде всего в красной пульпе, где локализуются макрофаги [43–45].

Клеточная иммунотерапия, основанная на активации и доставке иммунных клеток с противоопухолевыми свойствами непосредственно к опухоли в организме, является одним из новейших и наиболее быстро развивающихся подходов в лечении рака. Несмотря на интенсивные разработки адоптивной терапии Т-лимфоцитами и НК-клетками, их использование против солидных опухолей остается малоэффективным вследствие слабого проникновения в опухолевые ткани. В связи с этим макрофаги, покидающие кровотока и свободно проникающие в новообразования, являются наиболее подходящими клетками для таргетной противоопухолевой иммунотерапии солидных опухолей. Однако их применение тормозится отсутствием эффективных и безопасных модуляторов активности макрофагов [46].

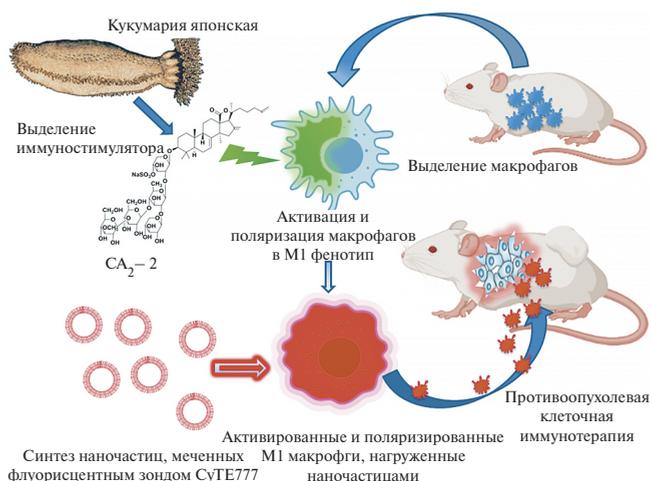


Рис. 8. Стратегия клеточной противораковой иммунотерапии. Мышиные макрофаги активировали тритерпеновым гликозидом CA_2-2 и поляризовали в противоопухолевый M1 фенотип *ex vivo*. Затем макрофаги нагружали наночастицами, конъюгированными с флуоресцентным зондом ближнего инфракрасного диапазона CyTE777. Активированные и поляризованные флуоресцентные M1 макрофаги вводили мышам с опухолью для визуализации и локализации макрофагов, а также для проведения противоопухолевой клеточной иммунотерапии

Мы обнаружили, что CA_2-2 способен в наномолярных концентрациях активировать и поляризовать макрофаги мыши в M1 фенотип *ex vivo*. Это приводит к выраженному усилению противоопухолевой активности макрофагов в отношении нескольких типов опухолевых клеток мыши *in vitro*. Макрофаги M1 уверенно распознают и быстро проникают в ткани опухоли в отличие от неактивированных макрофагов *in vivo*. Это, в свою очередь, приводит к заметному увеличению количества M1 макрофагов в опухолевых тканях, к существенному подавлению роста опухолей, включая трижды негативный рак молочной железы, и значимому увеличению средней продолжительности жизни животных-опухоленосителей (рис. 8).

Работа была проведена совместно с сотрудниками Национального университета Ян Мин Цзяодун, Тайвань (National Yang Ming Chiao Tung University, Taiwan). Использование природного иммуномодулятора CA_2-2 может стать очень перспективным подходом для разработки стратегии противоопухолевой клеточной иммунотерапии. Наше исследование показывает, что клеточная терапия на основе макрофагов может быть мощным терапевтическим вариантом против солидных типов опухолей [47].

Заключение

Таким образом, наши исследования природных и синтетических соединений за последние 5 лет привели к открытию целого ряда новых свойств биологических молекул и установлению отдельных элементов в молекулярных механизмах их действия. Показано, что определенные генотипы гречихи, культивируемые с использованием высоких концентраций цинка и меди, являются перспективными биосистемами для синтеза флавоноида рутина, ценного в фармакологии и медицине. Методом магнитно-резонансной томографии головного мозга крыс показана эффективность применения препарата гистохром в качестве превентивного средства в лечении артериальной гипертензии. Благодаря проводимому в лаборатории масштабному поиску новых противомикробных средств среди вторичных метаболитов морских грибов обнаружен ряд низкомолекулярных соединений, селективно ингибирующих бактериальные ферменты сортазу А и уреазу. Это приводит к выраженному подавлению данными соединениями стафилококковой инфекции в моделях инфицированной кожной раны и проявлению кардиопротекторных свойств в условиях гипоксии и инфекционного заражения кардиомиоцитов. Был проведен многопараметрический скрининг биологической активности среди синтетических производных 1,4-нафтохинона. Обнаружено, что определенные нафтохиноны обладают нейропротекторной и противовоспалительной активностью и способны эффективно защищать нейрональные и макрофагальные клетки от различных повреждений, вызванных нейротоксинами и индукторами воспаления. Для нескольких соединений установлен выраженный нейропротекторный эффект в модели болезни Паркинсона *in vivo*. Среди производных 1,4-нафтохинона найдены эффективные блокаторы пуриnergических рецепторов P2X7 типа, ингибирование которых приводит к существенному подавлению ноцицептивной боли и нейровоспаления. Использование протеомного анализа позволило впервые установить детали молекулярного механизма противоопухолевого действия тритерпенового гликозида CA_2-2 . Обнаружены ключевые внутриклеточные белковые мишени, экспрессия которых меняется под действием этого соединения в клетках рака предстательной железы человека, что сопряжено с проявлением противоопухолевого эффекта. Впервые продемонстрировано, что CA_2-2 способен в наномолярных концентрациях активировать и поляризовать макрофаги мыши в противоопухолевый M1 фенотип. Использование таких макрофагов приводит к существенному подавлению роста опухолей и значимому увеличению средней продолжительности жизни животных-опухоленосителей при проведении клеточной противоопухолевой иммунотерапии.

Результаты проводимых в лаборатории исследований и последующие доклинические испытания отобранных лидерных соединений, полученных из уникальных наземных растений Дальнего Востока России и биологических ресурсов Мирового океана, а также их синтетических аналогов, могут заложить основу для создания новых отечественных биологически активных добавок, продуктов функционального питания и лекарственных средств.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Клыков А.Г., Барсукова Е.Н., Чайкина Е.Л., Анисимов М.М. Перспективы и результаты селекции *Fagopyrum esculentum* Moench на повышение содержания флавоноидов // Вестн. ДВО РАН. 2019. № 3. С. 5–16.
2. Барсукова Е.Н., Клыков А.Г., Чайкина Е.Л. Использование метода культуры ткани для создания новых форм *Fagopyrum esculentum* Moench // Рос.с.-х. наука. 2019. № 5. С. 3–6.
3. Klykov A., Chaikina E., Anisimov M., Borovaya S., Barsukova E. Rutin content in buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench, *F. tataricum* (L.) Gaertn. and *F. cymosum* Meissn.) growth in the Far East of Russia // Folia Biologica et Geologica. 2020. Vol 61 (1). P. 61–68. <https://doi.org/10.3986/fbg0068>.
4. Барсукова Е.Н., Клыков А.Г., Фисенко П.В., Боровая С.А., Чайкина Е.Л. Использование методов биотехнологии в селекции гречихи на Дальнем Востоке // Вестн. ДВО РАН. 2020. №. 4 (212). С. 58–66.
5. Borovaya S., Klykov A., Barsukova E., Chaikina E. Study of the effect of selective media with high doses of zinc on regeneration ability and rutin accumulation in common buckwheat in // Plants. 2022. Vol. 11 (3). P. 264. <https://doi.org/10.3390/plants11030264>.
6. Барсукова Е.Н., Клыков А.Г., Чайкина Е.Л. Селекционная оценка сортообразцов гречихи посевной (*Fagopyrum esculentum* Moench), полученных с использованием ионов меди и цинка // Аграрная наука. 2023. Т. 374, № 9. С. 84–89. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2023-374-9-84-89>.
7. Агафонова И.Г., Котельников В.Н., Гельцер Б.И. Особенности структурно-функциональных изменений грудной аорты при экспериментальной артериальной гипертензии // Бюл. эксперим. биол. мед. 2022. Т. 174, № 9. С. 289–293. DOI: 10.47056/0365-9615-2022-174-9-289-293.
8. Агафонова И.Г., Котельников В.Н., Гельцер Б.И. Магнитно-резонансная томография головного мозга крыс в оценке нейропротективных эффектов гистохрома при экспериментальной артериальной гипертензии // Бюл. эксперим. биол. мед. 2021. Т. 172, № 9. С. 277–282. DOI: 10.47056/0365-9615-2021-172-9-277-282.
9. Применение гистохрома в качестве нейропротекторного средства, предотвращающего диффузионные изменения ткани головного мозга на ранней стадии развития артериальной гипертензии: пат. № 2021110258 РФ / Агафонова И.Г., Мищенко Н.П., Котельников В.Н., Гельцер Б.И.; заявл. 12.04.2021; опубл. 07.02.2022.
10. Agafonova I.G., Kotelnikov V.N., Geltser B.I., Kolosova N.G., Stonik V.A. Assessment of combined therapy of histochrome and nebivolol as angioprotectors on the background of experimental hypertension by magnetic resonance angiography // Appl. Magn. Resonance. 2018. Vol. 49 (2). P. 217–225. <https://doi.org/10.1007/s00723-017-0960-3>.
11. Агафонова И.Г., Котельников В.Н., Гельцер Б.И. Оценка морфофункционального статуса головного мозга крыс Вистар на фоне артериальной гипертензии методом диффузионно-взвешенной томографии // Бюл. эксперим. биол. мед. 2021. Т. 171, № 2. С. 247–252. DOI: 10.47056/0365-9615-2021-171-2-247-252.
12. Chingizova E.A., Menchinskaya E.S., Chingizov A.R., Pisyagin E.A., Girich E.V., Yurchenko A.N., Guzhova I.V., Mikhailov V.V., Aminin D.L., Yurchenko E.A. Marine fungal cerebroside flavuside b protects HaCaT keratinocytes against *Staphylococcus aureus* induced damage // Mar. Drugs. 2021. Vol. 19 (10). P. 553. <https://doi.org/10.3390/md19100553>.
13. Zhuravleva O.I., Chingizova E.A., Oleinikova G.K., Starnovskaya S.S., Antonov A.S., Kirichuk N.N., Menshov A.S., Popov R.S., Kim N.Y., Berdyshev D.V., Chingizov A.R., Kuzmich A.S., Guzhova I.V., Yurchenko A.N., Yurchenko E.A. Anthraquinone derivatives and other aromatic compounds from marine fungus *Asteromyces cruciatus* KMM 4696 and their effects against *Staphylococcus aureus* // Mar. Drugs. 2023. Vol. 21 (8). P. 431. <https://doi.org/10.3390/md21080431>.
14. Yurchenko A.N., Zhuravleva O.I., Khmel O.O., Oleynikova G.K., Antonov A.S., Kirichuk N.N., Chausova V.E., Kalinovsky A.I., Berdyshev D.V., Kim N.Y., Popov R.S., Chingizova E.A., Chingizov A.R., Isaeva M.P., Yurchenko E.A. New cyclopiane diterpenes and polyketide derivatives from marine sediment-derived fungus *Penicillium antarcticum* KMM 4670 and their biological activities // Mar. Drugs. 2023. Vol. 21 (11). P. 584. <https://doi.org/10.3390/md21110584>.
15. Zhuravleva O.I., Oleinikova G.K., Antonov A.S., Kirichuk N.N., Pelageev D.N., Rasin A.B., Menshov A.S., Popov R.S., Kim N.Y., Chingizova E.A., Chingizov A.R., Volchkova O.O., von Amsberg G., Dyshlovoy S.A., Yurchenko E.A., Guzhova I.V., Yurchenko A.N. New antibacterial chloro-containing polyketides from the alga-derived fungus *Asteromyces cruciatus* KMM 4696 // J. Fungi. 2022. Vol. 8 (5). P. 454. <https://doi.org/10.3390/jof8050454>.

16. Girich E. V., Rasin A. B., Popov R. S., Yurchenko E. A., Chingizova E. A., Trinh P. T. H., Ngoc N. T. D., Pivkin M. V., Zhuravleva O. I., Yurchenko A. N. New tripeptide derivatives asperriptides A-C from vietnamese mangrove-derived fungus *Aspergillus terreus* LM.5.2 // *Mar. Drugs*. 2022. Vol. 20 (1). P. 77. <https://doi.org/10.3390/md20010077>.
17. Leshchenko E. V., Berdyshev D. V., Yurchenko E. A., Antonov A. S., Borkunov G. V., Kirichuk N. N., Chausova V. E., Kalinovskiy A. I., Popov R. S., Khudyakova Y. V., Chingizova E. A., Chingizov A. R., Isaeva M. P., Yurchenko A. N. Bioactive polyketides from the natural complex of the sea urchin-associated fungi *Penicillium sajarovii* KMM 4718 and *Aspergillus protuberus* KMM 4747 // *Int. J. Mol. Sci.* 2023. Vol. 24 (23). 16568. <https://doi.org/10.3390/ijms242316568>.
18. Trinh P. T., Yurchenko A. N., Khmel O. O., Dieu T. V., Ngoc N. T., Girich E. V., Menshov A. S., Kim N. Y., Chingizova E. A., Van T. T., Lee J. S., Lee H.-S., Yurchenko E. A. Cytoprotective polyketides from sponge-derived fungus *Lopadostoma pouzarii* // *Molecules*. 2022. Vol. 27 (21). P. 7650. <https://doi.org/10.3390/molecules27217650>.
19. Belousova E. B., Zhuravleva O. I., Yurchenko E. A., Oleynikova G. K., Antonov A. S., Kirichuk N. N., Chausova V. E., Khudyakova Y. V., Menshov A. S., Popov R. S., Menchinskaya E. S., Pisylyagin E. A., Mikhailov V. V., Yurchenko A. N. New anti-hypoxic metabolites from co-culture of marine-derived fungi *Aspergillus carneus* KMM 4638 and *Amphichorda* sp. KMM 4639 // *Biomolecules*. 2023. Vol. 13 (5). P. 741. <https://doi.org/10.3390/biom13050741>.
20. Kozhushnaya A. B., Kolesnikova S. A., Yurchenko E. A., Lyakhova E. G., Menshov A. S., Kalinovskiy A. I., Popov R. S., Dmitrenko P. S., Ivanchina N. V. Rhabdastrellosides A and B: two new isomalabaricane glycosides from the marine sponge *Rhabdastrella globostellata*, and their cytotoxic and cytoprotective effects // *Mar. Drugs*. 2023. Vol. 21 (11). P. 554. <https://doi.org/10.3390/md21110554>.
21. Guzii A. G., Makarieva T. N., Fedorov S. N., Menshov A. S., Denisenko V. A., Popov R. S., Yurchenko E. A., Menchinskaya E. S., Grebnev B. B., Iarotsckaia V. V., Kim N. Y., Stonik V. A. Toporosides A and B, Cyclopentenyl-Containing ω -Glycosylated Fatty Acid Amides, and Toporosides C and D from the North-western Pacific Marine Sponge *Stelodoryx toporoki* // *J. Nat. Prod.* 2022. Vol. 85 (4). P. 1186–1191. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.2c00130>.
22. Yurchenko E. A., Kolesnikova S. A., Lyakhova E. G., Menchinskaya E. S., Pisylyagin E. A., Chingizova E. A., Aminin D. L. Lanostane triterpenoid metabolites from a *Penares* sp. marine sponge protect Neuro-2a cells against paraquat neurotoxicity // *Molecules*. 2020. Vol. 25 (22). 5397 [1–44]. <https://doi.org/10.3390/molecules25225397>.
23. Yurchenko E. A., Menchinskaya E. S., Pisylyagin E. A., Chingizova E. A., Girich E. V., Yurchenko A. N., Aminin D. L., Mikhailov V. V. Cytoprotective activity of p-terphenyl polyketides and flavuside b from marine-derived fungi against oxidative stress in Neuro-2a Cells // *Molecules*. 2021. Vol. 26. 3618. <https://doi.org/10.3390/molecules26123618>.
24. Yurchenko E. A., Khmel O. O., Nesterenko L. E., Aminin D. L. The Kelch/Nrf2 antioxidant system as a target for some marine fungal metabolites // *Oxygen*. 2023. Vol. 3 (4). P. 374–385. <https://doi.org/10.3390/oxygen3040024>.
25. Aminin D., Polonik S. 1,4-naphthoquinones: some biological properties and application // *Chem. Pharm. Bull.* 2020. Vol. 68 (1). P. 46–57. <https://doi.org/10.1248/cpb.c19-00911>.
26. Sabutski Y. E., Menchinskaya E. S., Shevchenko L. S., Chingizova E. A., Chingizov A. R., Popov R. P., Denisenko V. A., Mikhailov V. V., Aminin D. L., Polonik S. G. Synthesis and Evaluation of antimicrobial and cytotoxic activity of oxathiine-fused quinone-thioglycoside conjugates of substituted 1,4-naphthoquinones // *Molecules*. 2020. Vol. 25 (16). 3577. <https://doi.org/10.3390/molecules25163577>.
27. Polonik S., Likhatskaya G., Sabutski Y., Pelageev D., Denisenko V., Pisylyagin E., Chingizova E., Menchinskaya E., Aminin D. Synthesis, cytotoxic activity evaluation and quantitative structure-activity analysis of substituted 5,8-dihydroxy-1,4-naphthoquinones and their o- and s-glycoside derivatives tested against Neuro-2a cancer cells // *Mar. Drugs*. 2020. Vol. 18 (12). 602. <https://doi.org/10.3390/md18120602>.
28. Menchinskaya E., Chingizova E., Pisylyagin E., Likhatskaya G., Sabutski Y., Pelageev D., Polonik S., Aminin D. Neuroprotective effect of 1,4-naphthoquinones in an *in vitro* model of paraquat and 6-OHDA-induced neurotoxicity // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. Vol. 22. 9933. <https://doi.org/10.3390/ijms22189933>.
29. Agafonova I., Chingizova E., Chaikina E., Menchinskaya E., Kozlovskiy S., Likhatskaya G., Sabutski Y., Polonik S., Aminin D., Pisylyagin E. Protection activity of 1,4-naphthoquinones in rotenone-induced models of neurotoxicity // *Mar. Drugs* 2024. Vol. 22. P. 62. <https://doi.org/10.3390/md22020062>.

30. Пислягин Е. А., Аминин Д. Л. Пуринергические P2X рецепторы как новые молекулярные мишени для поиска и создания новых лекарственных средств // Исследования природных соединений в Тихоокеанском институте биоорганической химии им. Г. Б. Елякова. Новые подходы и результаты. Владивосток, 2016. С. 45–51.
31. Pisylyagin E., Kozlovskiy S., Menchinskaya E., Chingizova E., Likhatskaya G., Gorpenchenko T., Sabutski Y., Polonik S., Aminin D. Synthetic 1,4-naphthoquinones inhibit P2X7 receptors in murine neuroblastoma cells // *Bioorg. Med. Chem.* 2021. Vol. 31. 115975 [1–13]. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2020.115975>.
32. Kozlovskiy S., Pisylyagin E., Menchinskaya E., Chingizova E., Likhatskaya G., Sabutski Y., Polonik S., Aminin D. Anti-Inflammatory Activity of 1,4-Naphthoquinones Blocking P2X7 Purinergic Receptors in RAW 264.7 Macrophage Cells // *Toxins.* 2023. Vol. 15. P. 47. <https://doi.org/10.3390/toxins15010047>.
33. Kozlovskiy S., Pisylyagin E., Menchinskaya E., Chingizova E., Kaluzhskiy L., Ivanov A. S., Likhatskaya G., Agafonova I., Sabutski Y., Polonik S., Manzhulo I., Aminin D. Tetracyclic 1,4-naphthoquinone thioglucoside conjugate U-556 blocks the purinergic P2X7 receptor in macrophages and exhibits anti-inflammatory activity in vivo // *Int. J. Mol. Sci.* 2023. Vol. 24. 12370. <https://doi.org/10.3390/ijms241512370>.
34. Kozlovskiy S., Pisylyagin E., Menchinskaya E., Chingizova E., Sabutski Y., Polonik S., Agafonova I., Aminin D. Antinociceptive effect and anti-inflammatory activity of 1,4-naphthoquinones in mice // *Explor. Neurosci.* 2024. Vol. 3. P. 39–50. <https://doi.org/10.37349/en.2024.00035>.
35. Menchinskaya E. S., Pisylyagin E. A., Kovalchuk S. N., Davydova V. N., Silchenko A. S., Avilov S. A., Kalinin V. I., Aminin D. L. Antitumor activity of cucumarioside A2-2 // *Chemotherapy.* 2013. Vol. 59 (3). P. 181–191. <https://doi.org/10.1159/000354156>.
36. Menchinskaya E. S., Aminin D. L., Avilov S. A., Silchenko A. S., Andryashchenko P. V., Kalinin V. I., Stonik V. A. Inhibition of tumor cells multidrug resistance by cucumarioside A2-2, frondoside A and their complexes with cholesterol // *Nat. Prod. Comm.* 2013. Vol. 8 (10). P. 1377–1380. <https://doi.org/10.1177/1934578X1300801009>.
37. Menchinskaya E., Gorpenchenko T., Silchenko A., Avilov S., Aminin D. Modulation of doxorubicin intracellular accumulation and anticancer activity by triterpene glycoside cucumarioside A2-2 // *Mar. Drugs.* 2019. Vol. 17 (11). 597 [1–9]. <https://doi.org/10.3390/md17110597>
38. Menchinskaya E. S., Dyshlovoy S. A., Venz S., Jacobsen C., Hauschild J., Rohlfing T., Silchenko A. S., Avilov S. A., Balabanov S., Bokemeyer C., Aminin D. L., von Amsberg G., Honecker F. Anticancer activity of the marine triterpene glycoside cucumarioside A2-2 in human prostate cancer cells // *Mar. Drugs.* 2024. Vol. 22 (1). 20 [1–16]. <https://doi.org/10.3390/md22010020>.
39. Silchenko A. S., Kalinovsky A. I., Avilov S. A., Popov R. S., Dmitrenok P. S., Chingizova E. A., Menchinskaya E. S., Panina E. G., Stepanov V. G., Kalinin V. I., Stonik V. A. Djakonoviosides A, A1, A2, B1–B4 – triterpene monosulfated tetra- and pentaosides from the sea cucumber *Cucumaria djakonovi*: The first finding of a hemiketal fragment in the aglycones; activity against human breast cancer cell lines // *Int. J. Mol. Sci.* 2023. Vol. 24 (13). 11128 [1–24]. <https://doi.org/10.3390/ijms241311128>.
40. Silchenko A. S., Kalinovsky A. I., Avilov S. A., Popov R. S., Chingizova E. A., Menchinskaya E. S., Zelepuga E. A., Panina E. G., Stepanov V. G., Kalinin V. I., Dmitrenok P. S. Sulfated triterpene glycosides from the Far Eastern sea cucumber *Cucumaria djakonovi*: Djakonoviosides C1, D1, E1, and F1; cytotoxicity against human breast cancer cell lines; quantitative structure–activity relationships // *Mar. Drugs.* 2023. Vol. 21 (12). 602 [1–29]. <https://doi.org/10.3390/md21120602>.
41. Aminin D. L. Immunomodulatory properties of sea cucumber triterpene glycosides // *Marine and Freshwater Toxins.* 2016. Vol. 1. P. 381–401. https://doi.org/10.1007/978-94-007-6419-4_3.
42. Aminin D., Pisylyagin E., Astashev M. et al. Glycosides from edible sea cucumbers stimulate macrophages via purinergic receptors // *Sci. Rep.* 2016. Vol. 6 (1). 39683. <https://doi.org/10.1038/srep39683>.
43. Pisylyagin E. A., Dmitrenok P. S., Gorpenchenko T. Y., Avilov S. A., Silchenko A. S., Aminin D. L. Determination of cucumarioside A₂-2 in mouse spleen by radiospectroscopy, MALDI-MS and MALDI-IMS // *Eur. J. Pharm. Sci.* 2013. Vol. 49 (4). P. 461–467. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2013.05.017>.
44. Pisylyagin E. A., Manzhulo I. V., Dmitrenok P. S., Aminin D. L. Cucumarioside A₂-2 causes changes in the morphology and proliferative activity in mouse spleen // *Acta Histochemica.* 2016. Vol. 118. P. 387–392. <http://dx.doi.org/10.1016/j.acthis.2016.03.009>.
45. Pisylyagin E. A., Manzhulo I. V., Gorpenchenko T. Y., Dmitrenok P. S., Avilov S. A., Silchenko A. S., Wang Y.-M., Aminin D. L. Cucumarioside A₂-2 causes macrophage activation in mouse spleen // *Mar. Drugs.* 2017. Vol. 15 (11). 341. <https://doi.org/10.3390/ijms15110341>.
46. Aminin D., Wang Y.-M. Macrophages as a “weapon” in anticancer cellular immunotherapy // *Kaohsiung J. Med. Sci.* 2021. Vol. 37 (9). P. 749–758. <https://doi.org/10.1002/kjm2.12405>.

47. Chuang W.H., Pislyagin E., Lin L.-Y., Menchinskaya E., Chernikov O., Kozhemyako V., Gorpnenchenko T., Manzhulo I., Chaikina E., Agafonova I., Silchenko A., Avilov S., Stonik V., Tzou S.-C., Aminin D., Wang Y.M. Holothurian triterpene glycoside cucumarioside A₂-2 induces macrophages activation and polarization in cancer immunotherapy // *Cancer Cell Int.* 2023. Vol. 23 (1). 292 [1–17]. <https://doi.org/10.1186/s12935-023-03141-z>.

REFERENCES

1. Klykov A.G., Barsukova E.N., Chaikina E.L., Anisimov M.M. Prospects and results of selection of *Fagopyrum esculentum* Moench for increased flavonoid content. *Vestnik of the FEB RAS.* 2019;(3):5–16. (In Russ.)
2. Barsukova E.N., Klykov A.G., Chaikina E.L. Using tissue culture to create new forms of *Fagopyrum esculentum* Moench. *Russian Agricultural Science.* 2019;(5):3–6. (In Russ.)
3. Klykov A., Chaikina E., Anisimov M., Borovaya S., Barsukova E. Rutin content in buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench, *F. tataricum* (L.) Gaertn. and *F. cymosum* Meissn.) growth in the Far East of Russia. *Folia Biologica Geologica.* 2020;61(1):61–68.
4. Barsukova E.N., Klykov A.G., Fisenko P.V., Borovaya S.A., Chaikina E.L. Usage of the method of biotechnology in the selection of buckwheat plants in the Far East. *Vestnik of the FEB RAS.* 2020;(4):58–66. (In Russ.)
5. Borovaya S., Klykov A., Barsukova E., Chaikina E. Study of the effect of selective media with high doses of zinc on regeneration ability and rutin accumulation in common buckwheat. *Plants.* 2022;11(3):264. <https://doi.org/10.3390/plants11030264>.
6. Barsukova E.N., Klykov A.G., Chaikina E.L. Breeding evaluation of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) varieties obtained using copper and zinc ions. *Agricult. Sci.* 2023;374(9):84–89. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2023-374-9-84-89>. (In Russ.)
7. Agafonova I.G., Kotel'nikov V.N., Gel'tser B.I. Features of structural and functional changes in the thoracic aorta in experimental arterial hypertension. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2022;174(9):289–293. DOI:10.47056/0365-9615-2022-174-9-289-293. (In Russ.)
8. Agafonova I.G., Kotel'nikov V.N., Gel'tser B.I. Magnetic resonance imaging of the rat brain in assessing the neuroprotective effects of histochrome in experimental arterial hypertension. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2021;172(9):277–282. DOI: 10.47056/0365-9615-2021-172-9-277-282. (In Russ.)
9. The use of histochrome as a neuroprotective agent that prevents diffusion changes in brain tissue at the early stage of development of arterial hypertension: Pat. N2021110258 RF / Agafonova I.G., Mishchenko N.P., Kotelnikov V.N., Geltser B.I.; application 04/12/2021; publ. 02/07/2022. (In Russ.)
10. Agafonova I.G., Kotelnikov V.N., Geltser B.I., Kolosova N.G., Stonik V.A. Assessment of Combined Therapy of Histochrome and Nebivolol as Angioprotectors on the Background of Experimental Hypertension by Magnetic Resonance Angiography. *Appl. Magn. Resonance.* 2018;49(2):217–225. <https://doi.org/10.1007/s00723-017-0960-3>.
11. Agafonova I.G., Kotelnikov V.N., Geltser B.I. Assessment of the morphofunctional status of the brain of Wistar rats against the background of arterial hypertension using diffusion-weighted tomography. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2021;171(2):247–252. DOI: 10.47056/0365-9615-2021-171-2-247-252. (In Russ.)
12. Chingizova E.A., Menchinskaya E.S., Chingizov A.R., Pislyagin E.A., Girich E.V., Yurchenko A.N., et al. Marine Fungal Cerebroside Flavuside B Protects HaCaT Keratinocytes against *Staphylococcus aureus* Induced Damage. *Mar. Drugs.* 2021;19(10):553. <https://doi.org/10.3390/md19100553>.
13. Zhuravleva O.I., Chingizova E.A., Oleinikova G.K., Starnovskaya S.S., Antonov A.S., Kirichuk N.N., Menshov A.S., Popov R.S., Kim N.Y., Berdyshev D.V., Chingizov A.R., Kuzmich A.S., Guzhova I.V., Yurchenko A.N., Yurchenko E.A. Anthraquinone Derivatives and Other Aromatic Compounds from Marine Fungus *Asteromyces cruciatus* KMM 4696 and Their Effects against *Staphylococcus aureus*. *Mar. Drugs.* 2023;21(8):431. <https://doi.org/10.3390/md21080431>.
14. Yurchenko A.N., Zhuravleva O.I., Khmel O.O., Oleynikova G.K., Antonov A.S., Kirichuk N.N. et al. New Cyclopiane Diterpenes and Polyketide Derivatives from Marine Sediment-Derived Fungus *Penicillium antarcticum* KMM 4670 and Their Biological Activities. *Mar. Drugs.* 2023;21(11):584. <https://doi.org/10.3390/md21110584>.
15. Zhuravleva O.I., Oleinikova G.K., Antonov A.S., Kirichuk N.N., Pelageev D.N., Rasin A.B. et al. New Antibacterial Chloro-Containing Polyketides from the Alga-Derived Fungus *Asteromyces cruciatus* KMM 4696. *J. Fungi.* 2022;8(5):454. <https://doi.org/10.3390/jof8050454>.

16. Girich E. V., Rasin A. B., Popov R. S., Yurchenko E. A., Chingizova E. A., Trinh P. T. H. et al. New Tripeptide Derivatives Asperriptides A-C from Vietnamese Mangrove-Derived Fungus *Aspergillus terreus* LM.5.2. *Mar. Drugs*. 2022;20(1):77. <https://doi.org/10.3390/md20010077>.
17. Leshchenko E. V., Berdyshev D. V., Yurchenko E. A., Antonov A. S., Borkunov G. V., Kirichuk N. N. et al. Bioactive Polyketides from the Natural Complex of the Sea Urchin-Associated Fungi *Penicillium sajarovii* KMM 4718 and *Aspergillus protuberus* KMM 4747. *Int. J. Mol. Sci.* 2023;24(23):16568. <https://doi.org/10.3390/ijms242316568>.
18. Trinh P. T., Yurchenko A. N., Khmel O. O. et al. Cytoprotective Polyketides from Sponge-Derived Fungus *Lopadostoma pouzarii*. *Molecules*. 2022;27(21):7650. <https://doi.org/10.3390/molecules27217650>.
19. Belousova E. B., Zhuravleva O. I., Yurchenko E. A. et al. New Anti-Hypoxic Metabolites from Co-Culture of Marine-Derived Fungi *Aspergillus carneus* KMM 4638 and *Amphichorda* sp. KMM 4639. *Biomolecules*. 2023;13(5):741. <https://doi.org/10.3390/biom13050741>.
20. Kozhushnaya A. B., Kolesnikova S. A., Yurchenko E. A. et al. Rhabdastrellosides A and B: Two New Isomalabaricane Glycosides from the Marine Sponge *Rhabdastrella globostellata*, and Their Cytotoxic and Cytoprotective Effects. *Mar. Drugs*. 2023;21(11):554. <https://doi.org/10.3390/md21110554>.
21. Guzii A. G., Makarieva T. N., Fedorov S. N., Menshov A. S., Denisenko V. A., Popov R. S., Yurchenko E. A., Menchinskaya E. S. et al. Toporosides A and B, Cyclopentenyl-Containing ω -Glycosylated Fatty Acid Amides, and Toporosides C and D from the Northwestern Pacific Marine Sponge *Stelodoryx toporoki*. *J. Nat. Prod.* 2022;85(4):1186–1191. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.2c00130>.
22. Yurchenko E. A., Kolesnikova S. A., Lyakhova E. G., Menchinskaya E. S., Pisyagin E. A., Chingizova E. A., Aminin D. L. Lanostane Triterpenoid Metabolites from a *Penares* sp. Marine Sponge Protect Neuro-2a Cells against Paraquat Neurotoxicity. *Molecules*. 2020;25(22):5397. <https://doi.org/10.3390/molecules25225397>.
23. Yurchenko E. A., Menchinskaya E. S., Pisyagin E. A., Chingizova E. A., Girich E. V., Yurchenko A. N. et al. Cytoprotective Activity of p-Terphenyl Polyketides and Flavuside **B** from Marine-Derived Fungi against Oxidative Stress in Neuro-2a Cells. *Molecules*. 2021;26(12):3618. <https://doi.org/10.3390/molecules26123618>.
24. Yurchenko E. A., Khmel O. O., Nesterenko L. E., Aminin D. L. The Kelch/Nrf2 Antioxidant System as a Target for Some Marine Fungal Metabolites. *Oxygen*. 2023;3 (4):374–385. <https://doi.org/10.3390/oxygen3040024>.
25. Aminin D., Polonik S. 1,4-Naphthoquinones: Some Biological Properties and Application. *Chem. Pharm. Bull.* 2020;68(1):46–57. <https://doi.org/10.1248/cpb.c19-00911>.
26. Sabutski Y. E., Menchinskaya E. S., Shevchenko L. S., Chingizova E. A., Chingizov A. R., Popov R. S. et al. Synthesis and Evaluation of Antimicrobial and Cytotoxic Activity of Oxathiine-Fused Quinone-Thioglycoside Conjugates of Substituted 1,4-Naphthoquinones. *Molecules*. 2020;25(16). 3577. <https://doi.org/10.3390/molecules25163577>.
27. Polonik S., Likhatskaya G., Sabutski Y., Pelageev D., Denisenko V., Pisyagin E. et al. Synthesis, Cytotoxic Activity Evaluation and Quantitative Structure-Activity Analysis of Substituted 5,8-Dihydroxy-1,4-naphthoquinones and Their O- and S-Glycoside Derivatives Tested against Neuro-2a Cancer Cells. *Mar. Drugs*. 2020;18(12). 602. <https://doi.org/10.3390/md18120602>.
28. Menchinskaya E., Chingizova E., Pisyagin E., Likhatskaya G., Sabutski Y., Pelageev D. et al. Neuroprotective effect of 1,4-naphthoquinones in an *in vitro* model of paraquat and 6-OHDA-induced neurotoxicity. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(18). 9933. <https://doi.org/10.3390/ijms22189933>.
29. Agafonova I., Chingizova E., Chaikina E., Menchinskaya E., Kozlovskiy S., Likhatskaya G. et al. Protection Activity of 1,4-Naphthoquinones in Rotenone-Induced Models of Neurotoxicity. *Mar. Drugs*. 2024;22(2):62. <https://doi.org/10.3390/md22020062>.
30. Pisyagin E. A., Aminin D. L. Purinergic P2X receptors as new molecular targets for the search and creation of new drugs. In: *Research of natural compounds at the Pacific Institute of Bioorganic Chemistry named after G. B. Elyakov. New approaches and results*. Vladivostok; 2016. P. 45–51. (In Russ.).
31. Pisyagin E., Kozlovskiy S., Menchinskaya E., Chingizova E., Likhatskaya G., Gorpenchenko T. et al. Synthetic 1,4-Naphthoquinones inhibit P2X7 receptors in murine neuroblastoma cells. *Bioorg. Med. Chem.* 2021;31. 115975. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2020.115975>.
32. Kozlovskiy S., Pisyagin E., Menchinskaya E., Chingizova E., Likhatskaya G., Sabutski Y., Polonik S., Aminin D. Anti-Inflammatory Activity of 1,4-Naphthoquinones Blocking P2X7 Purinergic Receptors in RAW 264.7 Macrophage Cells. *Toxins*. 2023;15(1):47. <https://doi.org/10.3390/toxins15010047>.

33. Kozlovskiy S., Pisyagin E., Menchinskaya E., Chingizova E., Kaluzhskiy L., Ivanov A. et al. Tetracyclic 1,4-naphthoquinone thioglucoside conjugate U-556 blocks the purinergic P2X7 receptor in macrophages and exhibits anti-inflammatory activity *in vivo*. *Int. J. Mol. Sci.* 2023;24(15). 12370. <https://doi.org/10.3390/ijms241512370>.
34. Kozlovskiy S., Pisyagin E., Menchinskaya E., Chingizova E., Sabutski Y., Polonik S. et al. Antinociceptive effect and anti-inflammatory activity of 1,4-naphthoquinones in mice. *Explor. Neurosci.* 2024;3(1):39–50. <https://doi.org/10.37349/en.2024.00035>.
35. Menchinskaya E.S., Pisyagin E.A., Kovalchuk S.N., Davydova V.N., Silchenko A.S., Avilov S.A. et al. Antitumor activity of cucumarioside A2-2. *Chemotherapy.* 2013;59(3):181–191. <https://doi.org/10.1159/000354156>.
36. Menchinskaya E.S., Aminin D.L., Avilov S.A., Silchenko A.S., Andryjashchenko P.V., Kalinin V.I. et al. Inhibition of tumor cells multidrug resistance by cucumarioside A₂-2, frondoside A and their complexes with cholesterol. *Nat. Prod. Comm.* 2013;8(10):1377–1380. <https://doi.org/10.1177/1934578X1300801009>.
37. Menchinskaya E., Gorpenchenko T., Silchenko A., Avilov S., Aminin D. Modulation of doxorubicin intracellular accumulation and anticancer activity by triterpene glycoside cucumarioside A₂-2. *Mar. Drugs.* 2019;17(11). 597. <https://doi.org/10.3390/md17110597>.
38. Menchinskaya E.S., Dyshlovoy S.A., Venz S., Jacobsen C., Hauschild J., Rohlfing T. et al. Anti-cancer Activity of the Marine Triterpene Glycoside Cucumarioside A₂-2 in Human Prostate Cancer Cells. *Mar. Drugs.* 2024;22(1):20.
39. Silchenko A.S., Kalinovsky A.I., Avilov S.A., Popov R.S., Dmitrenok P.S., Chingizova E.A. et al. Djakonoviosides A, A1, A2, B1–B4 — Triterpene Monosulfated Tetra- and Pentaosides from the Sea Cucumber *Cucumaria djakonovi*: The First Finding of a Hemiketal Fragment in the Aglycones; Activity against Human Breast Cancer Cell Lines. *Int. J. Mol. Sci.* 2023;24(13). 11128. <https://doi.org/10.3390/ijms241311128>.
40. Silchenko A.S., Kalinovsky A.I., Avilov S.A., Popov R.S., Chingizova E.A., Menchinskaya E.S. et al. Sulfated Triterpene Glycosides from the Far Eastern Sea Cucumber *Cucumaria djakonovi*: Djakonoviosides C1, D1, E1, and F1; Cytotoxicity against Human Breast Cancer Cell Lines; Quantitative Structure-Activity Relationships. *Mar. Drugs.* 2023;21(12). 602. <https://doi.org/10.3390/md21120602>.
41. Aminin D.L. Immunomodulatory properties of sea cucumber triterpene glycosides *Marine and Freshwater Toxins.* 2016;1:381–401. https://doi.org/10.1007/978-94-007-6419-4_3.
42. Aminin D., Pisyagin E., Astashev M., Es'kov A., Kozhemyako V., Avilov S. et al. Glycosides from edible sea cucumbers stimulate macrophages via purinergic receptors. *Sci. Rep.* 2016;6. 39683. <https://doi.org/10.1038/srep39683>.
43. Pisyagin E.A., Dmitrenok P.S., Gorpenchenko T.Y., Avilov S.A., Silchenko A.S., Aminin D.L. Determination of cucumarioside A₂-2 in mouse spleen by radiospectroscopy, MALDI-MS and MALDI-IMS. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2013;49(4):461–467.
44. Pisyagin E.A., Manzhulo I.V., Dmitrenok P.S., Aminin D.L. Cucumarioside A₂-2 causes changes in the morphology and proliferative activity in mouse spleen. *Acta Histochemica.* 2016;118(4):387–392. <http://dx.doi.org/10.1016/j.acthis.2016.03.009>.
45. Pisyagin E.A., Manzhulo I.V., Gorpenchenko T.Y., Dmitrenok P.S., Avilov S.A., Silchenko A.S. et al. Cucumarioside A2-2 Causes Macrophage Activation in Mouse Spleen. *Mar. Drugs.* 2017;15(11). 341. <https://doi.org/10.3390/ijms15110341>.
46. Aminin D., Wang Y.M. Macrophages as a «weapon» in anticancer cellular immunotherapy. *Kaohsiung J. Med. Sci.* 2021;37(9):749–758. <https://doi.org/10.1002/kjm2.12405>.
47. Chuang W.H., Pisyagin E., Lin L.Y., Menchinskaya E., Chernikov O., Kozhemyako V. et al. Holothurian triterpene glycoside cucumarioside A₂-2 induces macrophages activation and polarization in cancer immunotherapy. *Cancer Cell Int.* 2023;23(1):292. <https://doi.org/10.1186/s12935-023-03141-z>.

Обзорная статья

УДК 577.114.5:579.84:543.429.23

DOI: 10.31857/S0869769824030088

EDN: ISAWSB

Структурное разнообразие и свойства углеводсодержащих биополимеров морских грамотрицательных бактерий

М.С. Кокоулин[✉], А.С. Кузьмич, А.П. Фильштейн

Максим Сергеевич Кокоулин

кандидат химических наук, старший научный сотрудник

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН,

Владивосток, Россия

maxchem@mail.ru

<http://orcid.org/0000-0003-2245-6802>

Александра Сергеевна Кузьмич

научный сотрудник

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН,

Владивосток, Россия

assavina@mail.ru

<http://orcid.org/0000-0001-5358-5880>

Алина Петровна Фильштейн

кандидат химических наук, младший научный сотрудник

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН,

Владивосток, Россия

alishichka@mail.ru

<http://orcid.org/0009-0000-6293-6582>

Аннотация. Представлены результаты исследований капсульных полисахаридов и липополисахаридов морских грамотрицательных бактерий, принадлежащих к родам *Pseudoalteromonas*, *Idiomarina*, *Marinicella*, *Halomonas*, *Cobetia*, *Poseidonocella*, *Psychrobacter*, *Devosia*, *Echinicola* и *Cellulophaga*.

Ключевые слова: морские грамотрицательные бактерии, капсульный полисахарид, липополисахарид, О-специфический полисахарид, олигосахарид кора, липид А

Для цитирования: Кокоулин М.С., Кузьмич А.С., Фильштейн А.П. Структурное разнообразие и свойства углеводсодержащих биополимеров морских грамотрицательных бактерий // Вестн. ДВО РАН. 2024. № 3. С. 143–164. <http://dx.doi.org/10.31857/S0869769824030088>

Финансирование. Исследования выполнены при финансовой поддержке стипендией Президента Российской Федерации СП-4729.2022.4.

Structural diversity and properties of carbohydrate containing biopolymers of marine Gram-negative bacteria

M.S. Kokoulin, A.S. Kuzmich, A.P. Filshtein

Maxim S. Kokoulin

Candidate of Sciences in Chemistry, Senior Researcher
G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS, Vladivostok, Russia
maxchem@mail.ru
<http://orcid.org/0000-0003-2245-6802>

Alexandra S. Kuzmich

Researcher
G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS, Vladivostok, Russia
assavina@mail.ru
<http://orcid.org/0000-0001-5358-5880>

Alina P. Filshtein

Candidate of Sciences in Chemistry, Junior Researcher
G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS, Vladivostok, Russia
alishichka@mail.ru
<http://orcid.org/0009-0000-6293-6582>

Abstract. Results of the studies of the capsular polysaccharides and lipopolysaccharides from the marine Gram-negative bacteria belonging to the genera *Pseudoalteromonas*, *Idiomarina*, *Marinicella*, *Halomonas*, *Cobetia*, *Poseidonocella*, *Psychrobacter*, *Devosia*, *Echinicola* and *Cellulophaga* are presented.

Keywords: marine Gram-negative bacteria, capsular polysaccharide, lipopolysaccharide, O-specific polysaccharide, core oligosaccharide, lipid A

For citation: Kokoulin M.S., Kuzmich A.S., Filshtein A.P. Structural diversity and properties of carbohydrate containing biopolymers of marine Gram-negative bacteria. *Vestnik of the FEB RAS*. 2024;(3):143–164. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.31857/S0869769824030088>

Funding. The studies were supported by the Scholarship of the President of the Russian Federation SP-4729.2022.4.

Введение

С момента возникновения жизни на Земле океаны нашей планеты выступают в качестве источника биологического разнообразия и двигателя эволюции. Около 70–90 % биомассы морей и океанов составляют микроорганизмы. Действительно, Мировой океан – самый обширный и наименее изученный биотоп на планете Земля, где граммотрицательные бактерии являются неотъемлемым компонентом и представляют значительную часть микробных сообществ. Как древнейший на Земле, микробиом океана включает особые, иногда лишь ему присущие таксоны микроорганизмов, которые формировались на протяжении длительного периода эволюции. Ареалы граммотрицательных бактерий весьма разнообразны и охватывают прибрежные и открытые акватории океанов, глубоководные и гидротермальные впадины, грунты, некоторые виды бактерий способны колонизировать внешние оболочки и внутренние поверхности морских животных и растений. Отдельные

группы микроорганизмов образуют высокоспецифичные симбиотические взаимосвязи с организмом хозяина [1]. В большей части морской среды обитания преобладают низкие концентрации питательных веществ, низкие температуры, высокое гидростатическое давление, повышенная соленость, и выживание в этих условиях требует сложного набора морфологических, физиологических и метаболических адаптивных стратегий. Специфические, а порой и экстремальные, условия обитания морских микроорганизмов сформировали у них ряд приспособительных особенностей. Разумно предположить, что изменения коснулись и биополимеров клеточной стенки бактерий, которые играют определяющую роль во взаимодействии микроорганизмов с окружающей средой. Именно структура этих жизнеобеспечивающих молекул является отражением функциональных изменений, вызванных суровой средой обитания.

Большинство грамотрицательных бактерий снаружи покрыты специфическим типом гликоконъюгатов – липополисахаридами (ЛПС). ЛПС представляет собой основной компонент внешней мембраны клеточной стенки, играя важнейшую роль в защите микроорганизмов от стрессовых факторов окружающей среды, в устойчивости к антибиотикам и токсинам, в патогенезе и симбиозе [2]. Этот липогликан обычно имеет трехдоменную структурную организацию и состоит из липида А (гидрофобная часть, которая закрепляет молекулу ЛПС во внешней мембране), олигосахарида кора, который связан с липидом А через остаток 3-дезоксид-Д-манно-окт-2-улозоновой кислоты (Kdo, моносахаридный маркер грамотрицательных бактерий) и О-специфического полисахарида (ОПС) [2]. Молекула полностью построенного ЛПС (S-форма, от англ. «smooth» – гладкий) характерна для большинства встречающихся в природе диких штаммов бактерий, образующих колонии гладкой формы. Потеря в процессе биосинтеза ОПС приводит к появлению шероховатых колоний, и их ЛПС (R-форма, от англ. «rough» – шероховатый) содержит только липид А и олигосахарид кора. На поверхности клеточной стенки гладких штаммов бактерий наряду с молекулами ЛПС S-формы присутствуют и молекулы ЛПС R-формы. Кроме того, часть молекул ЛПС S-формы обладает ОПС, который представлен только одним олигосахаридным фрагментом (SR-форма). Такого рода гетерогенность имеет биологическое значение, так как благодаря именно этому достигается более плотная упаковка молекул ЛПС на клеточной поверхности, обеспечивая защиту бактериальной клетки от проникновения вредных для ее жизнедеятельности веществ [2]. Структура ЛПС, особенно липида А и олигосахарида кора, имеет решающее значение для целостности, гибкости и текучести внешней мембраны, а также для нормальной физиологии и роста микроорганизмов [2].

Многие бактерии (преимущественно с ЛПС в R-форме) могут продуцировать внеклеточные полисахариды. Бактериальные внеклеточные полисахариды обычно встречаются в двух формах: в виде капсульных полисахаридов (КПС), если они связаны (либо слабо связаны) с клеточной поверхностью, и полисахаридов, секретируемых в окружающую среду (экзополисахариды, ЭПС). Присутствие этих биополимеров указывает на их специфические свойства и функции, которые полезны и необходимы для микроорганизмов. Как и молекулы ЛПС, они играют важную роль в защите бактериальной клетки от суровых условий окружающей среды, в поверхностной адгезии (обычно через образование биопленок), межклеточной трансдукции сигнала и в сопротивлении иммунному ответу организму хозяина [3, 4]. С точки зрения состава и структуры, полисахариды грамотрицательных бактерий (ОПС в составе ЛПС, КПС и ЭПС) представляют собой регулярные линейные или разветвленные полимеры, как правило, включающие от двух до восьми моносахаридов в повторяющемся звене. Встречаются полисахариды с моносахаридным повторяющимся звеном (гомополимеры). Длина полисахаридной цепи может варьироваться от 1 повторяющегося звена до 50 и более звеньев. Моносахаридный состав углеводсодержащих биополимеров морских грамотрицательных бактерий чрезвычайно разнообразен. Среди них нейтральные сахара в пиранозной и фуранозной формах (пентозы, гексозы, гептозы и их производные), аминокислоты и диаминосахара, уроновые кислоты (в том числе аминокислоты и диаминоуроновые кислоты), дезокси- и дидезоксисахара, улозоновые кислоты и разветвленные моносахариды, как распространенные в природе, так и не найденные в других источниках. Кроме того, гликополимеры грамотрицательных бактерий часто содержат неуглеводные заместители, такие как ацетильные, метильные, аминоацильные, глицерильные, пирувилльные, сукцинилльные,

лактильные, фосфатные и сульфатные группы [2–4]. Природа, последовательность, аномальная конфигурация и тип замещения индивидуальных моносахаридных остатков внутри повторяющейся единицы является характерным и уникальным для каждого биополимера. В силу разнообразия компонентов и их связей возможно существование беспрецедентно большого количества структур полисахаридных цепей, что находит свое подтверждение в природе [2–7].

Исследование углеводовсодержащих биополимеров морских грамотрицательных бактерий имеет и важное практическое значение. Человечество с давних времен стремилось использовать сырьевое богатство Океана, и в настоящее время морские микроорганизмы рассматриваются как источник необычных по химическому строению и свойствам природных соединений, обладающих богатейшим фармацевтическим потенциалом. Огромное разнообразие структурных комбинаций бактериальных полисахаридов обуславливает их уникальные биологические свойства, такие как иммуномодулирующие, противовирусные, противоопухолевые, антиоксидантные, антикоагулянтные и др. Благодаря высокой биологической активности, биоразлагаемости и биосовместимости углеводовсодержащие биополимеры морских грамотрицательных бактерий активно исследуются с точки зрения применения в биомедицине, функциональном питании, косметологии и других промышленных секторах экономики [3, 4].

ЛПС (в частности, липиды А) морских грамотрицательных бактерий, характеризующиеся необычными структурными особенностями, рассматриваются как потенциальные ингибиторы передачи сигналов, опосредованных Толл-подобным рецептором 4 (TLR4). Немногочисленные исследования выявили специфические и необычные химические структуры липидов А морских бактерий, которые характеризуются симметричным распределением жирных кислот (в случае гексаацилированных форм), низкой степенью ацилирования (пента-, тетра- или триацилированные формы) и фосфорилирования, а также содержанием жирных кислот, не характерных для липидов А энтеробактерий (очень короткие и/или ненасыщенные ацильные цепи). Отличительные особенности липидов А нашли отражение в интересном иммунологическом поведении молекул ЛПС морских грамотрицательных бактерий, которое включает очень слабую иммуностимулирующую активность или даже антагонистические свойства [2, 8, 9]. Таким образом, исследование структур углеводовсодержащих биополимеров морских бактерий, безусловно, является фундаментальной отправной точкой для понимания молекулярных основ процессов адаптации, но также чрезвычайно важно в перспективе реализации новых терапевтических препаратов направленного действия [4, 8–10].

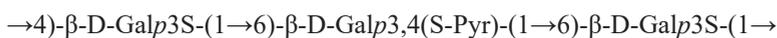
Первые работы по исследованию ЛПС и КПС морских грамотрицательных бактерий появились в 80-е годы прошлого столетия, и в настоящее время число их неуклонно растет. Основные результаты исследований ЛПС и внеклеточных полисахаридов морских грамотрицательных бактерий представлены в обзорах [2–8]. В настоящем сообщении будут описаны структуры и биологические свойства наиболее интересных, на наш взгляд, ЛПС и КПС из морских грамотрицательных бактерий, выделенных и охарактеризованных в Тихоокеанском институте биоорганической химии им Г.Б. Елякова ДВО РАН.

Сульфатированные полисахариды морских грамотрицательных бактерий

Сульфатированные полисахариды уже долгое время являются объектами повышенного внимания и интенсивных исследований. Постоянно растущий интерес к этим полисахаридам объясняется их низкой токсичностью и разнообразной биологической активностью, которая может быть использована при создании медицинских препаратов нового поколения. Как правило, объектами исследований являются сульфатированные полисахариды – компоненты клеточной стенки водорослей (фукоиданы, каррагинаны, ульваны) и гликозаминогликаны беспозвоночных. Перспективными биологически активными веществами могут являться и углеводовсодержащие биополимеры морских микроорганизмов. Действительно, морские грамотрицательные бактерии являются богатым источником сульфатированных полисахаридов, не имеющих в природе структурных аналогов.

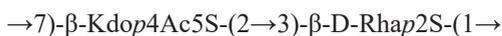
Морские бактерии рода *Cobetia* интересны тем, что все изученные штаммы продуцируют сульфатированные полисахариды, что не характерно для большинства грамотрицательных бактерий. Наиболее близким по структуре к полисахариду *C. pacifica* КММ 3879^T является сульфатированный ЭПС морской бактерии *Pseudomonas* sp. WAK-1 [28]. Интересно отметить, что ЭПС *Pseudomonas* sp. WAK-1 проявляет цитотоксическую активность в отношении различных клеточных линий рака центральной нервной системы и легкого, а также индуцирует апоптоз клеток гистиоцитарной лимфомы линии U-937 [29].

КПС *C. pacifica* КММ 3878 содержит остаток дисульфатированного моносахарида – 2,3-*O*-дисульфат-D-галактозы (β -D-Galp2,3S), обнаруженного среди бактериальных полисахаридов впервые. КПС имеет близкую структуру с полисахаридом, продуцируемым грамотрицательной бактерией *H. aquamarina* EG27S8QL, и отличается от него положением одной сульфатной группы [30]:

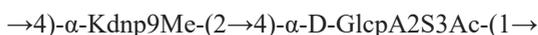


Особенностью ОПС *C. litoralis* КММ 3880^T является наличие сульфатированного остатка Kdo, встречающегося в бактериальных ЛПС, как правило, в фосфорилированной форме. Идентичный сульфатированный высший моносахарид содержит полисахарид морской альфапротеобактерии *Poseidonocella pacifica* КММ 9010^T.

Род *Poseidonocella* на данный момент включает в себя только 2 валидно описанных вида (<https://lpsn.dsmz.de/genus/poseidonocella>). Полисахарид *P. pacifica* КММ 9010^T представлен дисахаридным повторяющимся звеном и помимо упомянутой выше сульфатированной улозоновой кислоты включает остаток 2-*O*-сульфат-D-рамнозы (D-Rha2S) [31]:



Другой представитель рода *Poseidonocella* – *P. sedimentorum* КММ 9023^T продуцирует полисахарид, построенный из дисахаридных повторяющихся звеньев, и содержит остатки 3-дезоксид-9-*O*-метил-D-глицеро-D-галакто-нон-2-улозоновой кислоты и 2-*O*-сульфат-D-глюкуроновой кислоты [32]:



3-дезоксид-D-глицеро-D-галакто-нон-2-улозоновая кислота, как правило, является компонентом клеточных стенок некоторых актиномицетов (тейхулозоновые кислоты) [33]. Среди грамотрицательных бактерий 3-дезоксид-D-глицеро-D-галакто-нон-2-улозоновая кислота была идентифицирована в составе капсульных полисахаридов микроорганизмов *K. ozaenae* K4 и *Ensifer fredii* SVQ293 [34, 35].

Важно отметить, что большинство сульфатированных биополимеров из морских грамотрицательных бактерий в разной степени обладают антипролиферативным действием по отношению к различным линиям опухолевых клеток человека. Так, для полисахаридов из *H. halocynthiae* КММ 1376^T, *C. pacifica* КММ 3878, *C. litoralis* КММ 3880^T, *P. pacifica* КММ 9010^T и *P. sedimentorum* КММ 9023^T был показан ингибирующий эффект в отношении самопроизвольного образования и роста колоний опухолевыми клетками линий HT-29, НСТ-116, DLD-1 (рак кишечника), MDA-MB-231, MCF-7 (рак груди), SK-MEL-5 и SK-MEL-28 (меланома). Наиболее интересные результаты были получены в результате исследования КПС микроорганизма *Kangiella japonica* КММ 3897 [36].

Род *Kangiella* (семейство Kangiellaceae) в настоящее время насчитывает 10 валидно описанных видов бактерий (<https://lpsn.dsmz.de/genus/kangiella>). Повторяющееся звено КПС *K. japonica* КММ 3897 представляет собой линейный трисахарид, состоящий из двух остатков D-GlcNAc, один из которых сульфатирован по 4 и 6 положениям, и 2-амино-2-дезоксид-D-маннуриновой кислоты [36]:



тегии для выживания и размножения в среде обитания, которая является разрушительной для большинства других микроорганизмов. Способность морских бактерий справляться с экстремальными экологическими стрессами в основном определяется стабильностью их клеточных мембран, которая, как правило, обеспечивается вариациями их липидного состава [57, 58].

Нами была исследована структура ЛОС (ЛПС R-форма) морской грамотрицательной бактерии *I. zobellii* КММ 231^T, изолированной из пробы морской воды, отобранной на глубине 4000 м в северо-западной части Тихого океана (рис. 1). ЛОС морской глубоководной бактерии *I. zobellii* КММ 231^T представлен уникальным пентасахаридным скелетом, включающим короткий монофосфорилированный олигосахарид кора с терминальным остатком 5-амино-3,5-дидезокси-D-глицеро-D-галакто-нон-2-улозоновой кислоты (нейраминавая кислота, Neu). Липид А состоит из классического дисахаридного остова, декорированного двумя фосфатными группами и ацилированного двумя i13:0(3-ОН), двумя i11:0(3-ОН) в качестве первичных жирных кислот и i11:0 в качестве вторичной ацильной цепи. Остатки Neu ранее были обнаружены в олигосахаридах кора микроорганизмов *Campylobacter jejuni* и *Helicobacter pylori*, которые могут выполнять функцию миметиков антигенов Льюиса либо иметь структурное сходство с гликофинголипидами группы ганглиозидов [59]. Среди морских бактерий терминальный остаток Neu обнаружен в ЛОС микроорганизма *Loktanella rosea* КММ 6003Т [60]. В то время как в случае патогенов присутствие остатка Neu является попыткой уклониться от иммунной системы организма хозяина, его роль в морских микроорганизмах в настоящее время неизвестна.

Считается, что, с одной стороны, короткий, отрицательно заряженный олигосахаридный фрагмент придает молекуле ЛОС способность активно взаимодействовать с двухвалентными катионами, что, в свою очередь, придает жесткость и устойчивость внешней мембране и всей бактериальной клетке. С другой стороны, различные анионные функциональные группы ЛОС могут действовать как буферная система, регулирующая рН на внешней поверхности мембраны и защищающая бактерию от условий повышенной солености. Кроме того, наличие коротких разветвленных ацильных цепей, входящих в состав липидного фрагмента, можно

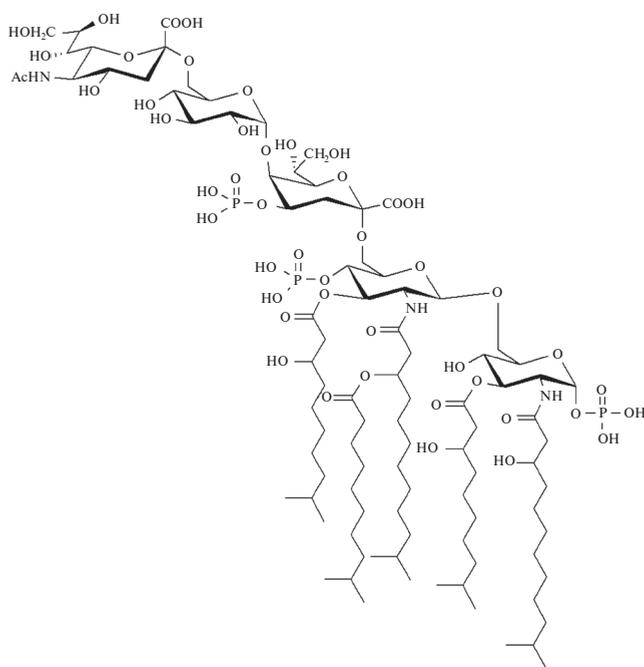
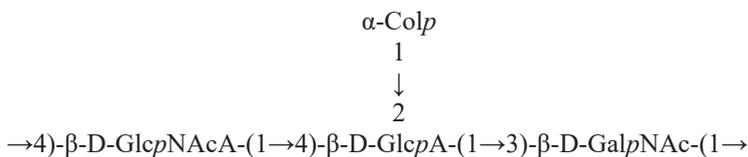


Рис. 1. Структура ЛОС *I. zobellii* КММ 231^T

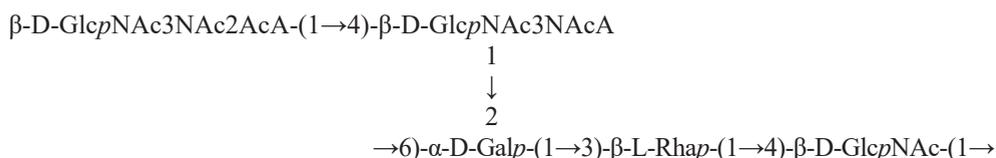
считать прямым следствием необходимости достижения микроорганизмами потребной текучести внешней мембраны, защищающей бактериальную клетку от воздействия низких температур и высокого давления [8]. Вместе эти факты могут объяснить, почему морские бактерии могут выживать в глубоководной среде.

Род *Echinicola* относится к семейству Syclobacteriaceae и включает в себя 8 валидно описанных видов бактерий (<https://lpsn.dsmz.de/genus/echinicola>). Штамм *Echinicola vietnamensis* КММ 6221^T был изолирован из образца воды, отобранной на ферме по выращиванию мидий во Вьетнаме. Установлено, что повторяющееся звено ОПС, продуцируемого *E. vietnamensis* КММ 6221^T, представляет собой тетрасахарид и имеет следующую структуру [61]:



Данный полисахарид содержит редкий среди бактериальных полисахаридов моносахарид – колитоза (Col).

Штамм *E. pacifica* КММ 6172^T был выделен из серого морского ежа *Strongylocentrotus intermedius*, собранного в бух. Троица (зал. Петра Великого, Японское море). Его полисахарид построен из разветвленных пентасахаридных повторяющихся звеньев и содержит два остатка 2,3-диацетамидо-2,3-дидезокси-D-глюкуроновой кислоты (D-GlcNAc3NAcA) [62]:



Исследование структур липидов А ЛПС *E. vietnamensis* КММ 6221^T и *E. pacifica* КММ 6172^T (рис. 2) показало, что они представляют собой чрезвычайно гетерогенную смесь монофосфорилированных, три- и тетраацилированных изоформ, несущих дополнительный остаток D-галактурановой кислоты на глюкозаминовом остове [63].

Иммуномодулирующие свойства ЛПС из двух штаммов *Echinicola* были изучены *in vitro* на модели клеток HEK-Blue™ hTLR4, которые являются стабильно трансфицированными клетками HEK293 с генами TLR4, MD-2 и CD14 человека. В качестве положительного контроля был выбран ЛПС *Salmonella typhimurium* SH 2201, содержащий гекса- и гептааци-

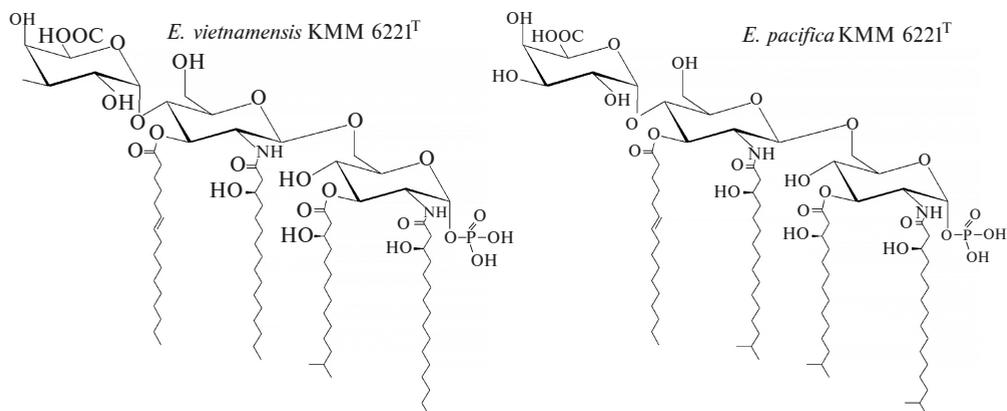
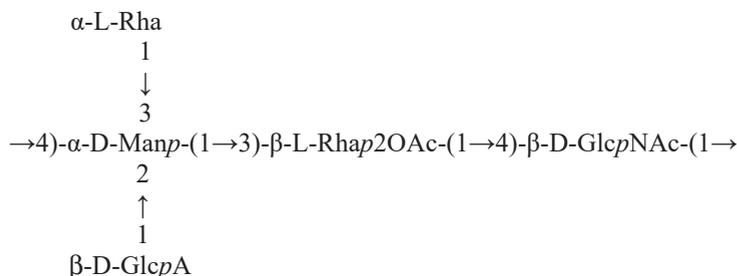


Рис. 2. Структуры липидов А *E. vietnamensis* КММ 6221^T и *E. pacifica* КММ 6172^T

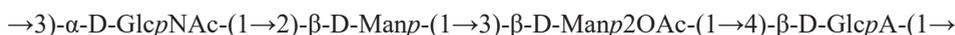
лированный липид А. Оба ЛПС бактерий рода *Echinicola* индуцировали значительно более низкую активацию NF-κВ и секрецию IL-8 по сравнению с клетками, обработанными ЛПС *S. typhimurium*. Поскольку некоторые ЛПС, выделенные из морских бактерий, демонстрируют потенциал в качестве ингибиторов провоспалительного действия ЛПС патогенных микроорганизмов, была исследована способность ЛПС бактерий рода *Echinicola* влиять на TLR4-опосредованную передачу сигналов, запускаемую ЛПС *S. typhimurium*. Для оценки этой способности НЕК-Blue™ hTLR4 клетки предварительно обрабатывали различными концентрациями ЛПС *E. pacifica* КММ 6172^T и *E. vietnamensis* КММ 6221^T, а затем стимулировали ЛПС *S. typhimurium*. Данный эксперимент показал, что оба ЛПС значительно ингибируют TLR4-опосредованную активацию NF-κВ и продукцию IL-8, причем ЛПС *E. pacifica* КММ 6172^T проявляет более сильные антагонистические свойства, чем ЛПС *E. vietnamensis* КММ 6221^T [63].

Род *Cellulophaga* в настоящее время насчитывает 7 валидно описанных видов бактерий (<https://lpsn.dsmz.de/genus/cellulophaga>), для 5 из которых установлена структура ОПС.

Типовой штамм *Cellulophaga algicola* АСАМ 630^T был изолирован с поверхности диатомовых водорослей *Melosira*, собранных в прибрежной зоне Восточной Антарктики. Его ОПС построен из разветвленных пентасахаридных повторяющихся звеньев [64]:



Повторяющееся звено ОПС бактерии *C. baltica* NNO 15840^T, выделенной из бурой водоросли, имеет тетрасахаридную структуру и состоит из повсеместно распространенных как среди наземных, так и морских микроорганизмов моносахаридных остатков [65]:



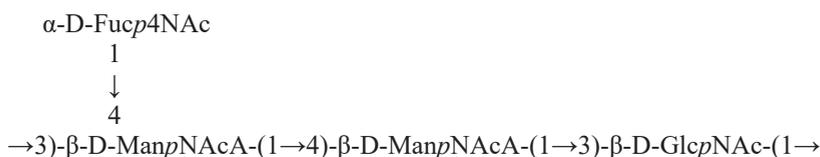
Оба полисахарида имеют кислый характер за счет присутствия остатков D-GlcA.

ОПС бактерии *C. fucicola* NNO 15860^T, изолированной из бурой водоросли *Fucus serratus*, построен из трисахаридных повторяющихся звеньев, содержащих наряду с довольно распространенными моносахаридами остаток Pse5Ac7Ac [66]:



Структуру, схожую со структурой *C. fucicola* NN015860^T, имеет ОПС *E. coli* O136 [67].

Интересным с точки зрения структуры представляется ОПС микроорганизма *C. pacifica* КММ 3664^T, изолированного из образца воды, собранной в Амурском заливе Японского моря [68]:



Все моносахаридные остатки тетрасахаридного повторяющегося звена ОПС этого микроорганизма представлены аminosахарами. Остатки D-ManpNAcA и D-Fucp4NAc являются компонентами общего энтеробактериального антигена [69, 70].

факторов среды обитания, как высокая концентрация солей, гидростатическое давление, низкие температуры и др. Соответственно, характерной особенностью многих микроорганизмов, обитающих в море, является их гало-, психро-, барофильность и гало-, психро-, баротолерантность.

Существующие в настоящее время данные позволяют утверждать, что углеводсодержащие биополимеры морских грамотрицательных бактерий отличаются большим разнообразием, встречаются как кислые полисахариды, так и нейтральные. Некоторые микроорганизмы способны продуцировать полисахариды с поликатионной или двойственной цвиттер-ионной природой. Подавляющее большинство полисахаридов морских бактерий построены из довольно редко встречающихся в природе компонентов, среди которых производные уриновых, 2-амино-2-дезоксигексуриновых и 2,3-диамино-2,3-дидезоксигексуриновых кислот. Широко представлены и различные *N*-ацильные производные аминсахаров, кетосахаров и высших моносахаридов. Среди заместителей неуглеводной природы встречаются остатки карбоновых кислот, неорганических кислот, различные аминокислоты и их производные. Кроме того, отмечены полисахариды, состоящие только из повсеместно распространенных моносахаридов, но, как правило, такие полисахариды являются исключением из общей тенденции. Благодаря высокой структурной неоднородности и наличию разнообразных заряженных функциональных групп углеводсодержащие биополимеры морских грамотрицательных бактерий могут действовать как буферная система, способная регулировать pH и солевой баланс на внешней поверхности мембраны, тем самым защищая бактерии от агрессивных условий окружающей среды. С другой стороны, огромное структурное разнообразие, обеспечивающее широкий спектр конформационных возможностей, предполагает наличие у полисахаридов морских грамотрицательных бактерий разноплановой биологической активности.

Благодаря своему экологическому и биохимическому разнообразию морские бактерии считаются хорошими кандидатами для биотехнологического применения. Углеводсодержащие биополимеры морских бактерий выгодно отличаются от полисахаридов растений и водорослей тем, что для них можно создать определенные воспроизводимые контролируемые параметры производства, в результате чего исключается экологическое воздействие и достигается высокое качество конечного продукта. Вместе с тем превращение бактериального гликополимера в биотехнологический продукт требует скоординированных фундаментальных и прикладных исследований с привлечением всего необходимого опыта для перехода от лабораторных условий к рынку биополимеров.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Rothschild L.J., Mancinelli R.L. Life in extreme environments // *Nature*. 2001. Vol. 409, N6823. P. 1092–1100.
2. Di Lorenzo F., Duda K.A., Lanzetta R., Silipo A., De Castro C., Molinaro A. A. Journey from structure to function of bacterial lipopolysaccharides // *Chem. Rev.* 2022. Vol. 122, N20. P. 15767–15821.
3. Poli A., Anzelmo G., Nicolaus B. Bacterial exopolysaccharides from extreme marine habitats: Production, characterization and biological activities // *Mar. Drugs*. 2010. Vol 8. P. 1779–1802.
4. Casillo A., Lanzetta R., Parrilli M., Corsaro M.M. Exopolysaccharides from marine and marine extremophilic bacteria: Structures, properties, ecological roles and applications // *Mar. Drugs*. 2018. Vol 16. P. 69.
5. Nazarenko E.L., Komandrova N.A., Gorshkova R.P., Tomshich S.V., Zubkov V.A., Kilcoyne M., Savage A. V. Structures of polysaccharides and oligosaccharides of some Gram-negative marine *Proteobacteria* // *Carbohydr. Res.* 2003. Vol. 338. P. 2449–2457.
6. Leone S., Silipo A., Nazarenko E.L., Lanzetta R., Parrilli M., Molinaro A. Molecular structure of endotoxins from Gram-negative marine bacteria: an update. (Review) // *Mar. Drugs*. 2007. Vol. 5, N3. P. 85–112.
7. Nazarenko E.L., Crawford R.J., Ivanova E.P. The structural diversity of carbohydrate antigens of selected gram-negative marine bacteria // *Mar. Drugs*. 2011. Vol. 9, N10. P. 1914–1954.

8. Di Lorenzo F., Billod J.-M., Martin-Santamaria S., Silipo A., Molinaro A. Gram-negative extremophile lipopolysaccharides: Promising source of inspiration for a new generation of endotoxin antagonists // *European. J. Org. Chem.* 2017. Vol. 28. P. 4055–4073.
9. Garcia-Vello P., Di Lorenzo F., Zuchetta D., Zamyatina A., De Castro C., Molinaro A. Lipopolysaccharide lipid A: A promising molecule for new immunity-based therapies and antibiotics // *Pharmacol. Ther.* 2022. Vol. 230. 107970.
10. Molinaro A., Holst O., Di Lorenzo F., Callaghan M., Nurisso A., D'Errico G., Zamyatina A., Peri F., Berisio R., Jerala R., Jiménez-Barbero J., Silipo A., Martín-Santamaría S. Chemistry of lipid A: at the heart of innate immunity // *Chemistry.* 2015. Vol. 21. P. 500–519.
11. Romanenko L.A., Zhukova N.V., Rhode M., Lysenko A.M., Mikhailov V.V., Stackebrandt E. *Pseudoalteromonas agarivorans* sp. nov., a novel marine agarolytic bacterium // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2003. Vol. 53. P. 125–131.
12. Командрова Н.А., Томшич С.В., Исаков В.В., Романенко Л.А. Структура сульфатированного О-специфического полисахарида морской бактерии *Pseudoalteromonas marinoglutinosa* КММ 232 // *Биохимия.* 1998. Т. 63, № 10. С. 98–103.
13. Kokoulin M.S., Komandrova N.A., Kalinovskiy A., Tomshich S.V., Romanenko L.A., Vaskovsky V.E. Structure of the O-specific polysaccharide from the deep-sea marine bacterium *Idiomarina abyssalis* КММ 227^T containing a 2-O-sulfate-3-N-(4-hydroxybutanoyl)-3,6-dideoxy-D-glucose // *Carbohydr. Res.* 2015. Vol. 413. P. 100–106.
14. Kokoulin M.S., Lizanov I.N., Romanenko L.A., Chikalovets I.V. Structure of phosphorylated and sulfated polysaccharides from lipopolysaccharide of marine bacterium *Marinicella litoralis* КММ 3900^T // *Carbohydr. Res.* 2020. Vol. 490. 107961.
15. Kokoulin M.S., Filshtein A.P., Romanenko L.A., Chikalovets I.V., Chernikov O.V. Structure and bioactivity of sulfated α -D-mannan from marine bacterium *Halomonas halocynthiae* КММ 1376^T // *Carbohydr. Polym.* 2020. Vol. 229. 115556.
16. Knirel Y.A., Kochetkov N.K. The structure of lipopolysaccharides of gram-negative bacteria. III. The structure of O-antigens: A review // *Biochemistry (Moscow).* 1994. Vol. 59, N12. P. 1325–1383.
17. Pérez Recalde M., Nosedá M.D., Pujol C.A., Carlucci M.J., Matulewicz M.C. Sulfated mannans from the red seaweed *Nemalion helminthoides* of the South Atlantic // *Phytochemistry.* 2009. Vol. 70. P. 1062–1068.
18. Fernández P.V., Estevez J.M., Cerezo A.S., Ciancia M. Sulfated β -D-mannan from green seaweed *Codium vermilara* // *Carbohydr. Polym.* 2012. Vol. 87. P. 916–919.
19. Cobet A.B., Wirsen C. Jr., Jones G.E. The effect of nickel on a marine bacterium, *Arthrobacter marinus* sp. nov // *J. Gen. Microbiol.* 1970. Vol. 62, N2. P. 159–169.
20. Baumann L., Baumann P., Mandel M., Allen R.D. Taxonomy of aerobic marine eubacteria // *J. Bacteriol.* 1972. Vol. 110, N. 1. P. 402–429.
21. Baumann L., Bowditch R.D., Baumann P. Description of *Deleya* gen. nov. created to accommodate the marine species *Alcaligenes aestus*, *A. pacificus*, *A. cupidus*, *A. venustus*, and *Pseudomonas marina* // *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1983. Vol. 33. P. 793–802.
22. Dobson S.J., Franzmann P.D. Unification of the genera *Deleya* (Baumann et al. 1983), *Halomonas* (Vreeland et al. 1980), and *Halovibrio* (Fendrich 1988) and the species *Paracoccus halodenitrificans* (Robinson and Gibbons 1952) into a single genus, *Halomonas*, and placement of the genus *Zymobacter* in the family Halomonadaceae // *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1996. Vol. 46. P. 550–558.
23. Arahall D.R., Castillo A.M., Ludwig W., Schleifer K.H., Ventosa A. Proposal of *Cobetia marina* gen. nov., comb. nov., within the family Halomonadaceae, to include the species *Halomonas marina* // *Syst. Appl. Microbiol.* 2002. Vol. 25, N2. P. 207–211.
24. Kim M.S., Roh S.W., Bae J.W. *Cobetia crustatorum* sp. nov., a novel slightly halophilic bacterium isolated from traditional fermented seafood in Korea // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2010. Vol. 60, N. 3. P. 620–626.
25. Kokoulin M.S., Kalinovskiy A.I., Komandrova N.A., Tomshich S.V., Romanenko L.A., Vaskovsky V.E. The sulfated O-specific polysaccharide from the marine bacterium *Cobetia pacifica* КММ 3879^T // *Carbohydr. Res.* 2014. Vol. 387, N1. P. 4–9.
26. Kokoulin M.S., Kalinovskiy A.I., Komandrova N.A., Tomshich S.V., Romanenko L.A., Vaskovsky V.E. The new sulfated O-specific polysaccharide from marine bacterium *Cobetia pacifica* КММ 3878,

containing 3,4-O-[(S)-1-carboxylethylidene]-D-galactose and 2,3-O-disulfate-D-galactose // Carbohydr. Res. 2014. Vol. 397, N1. P. 46–51.

27. Kokoulin M.S., Kuzmich A.S., Kalinovsky A.I., Tomshich S.V., Romanenko L.A., Mikhailov V.V., Komandrova N.A. Structure and anticancer activity of sulfated O-polysaccharide from marine bacterium *Cobetia litoralis* KMM 3880^T // Carbohydr. Polym. 2016. Vol. 154. P. 55–61.

28. Matsuda M., Hasui M., Okutani K. Structural analysis of a sulfated polysaccharide from a marine *Pseudomonas* // Nippon Suisan Gakkaishi. 1993. Vol. 59, N3. P. 535–538.

29. Matsuda M., Yamori T., Naitoh M., Okutani K. Structural revision of sulfated polysaccharide B-1 isolated from a marine *Pseudomonas* species and its cytotoxic activity against human cancer cell lines // Mar. Biotechnol. 2003. Vol. 5. P. 13–19.

30. Kokoulin M.S., Sigida E.N., Kuzmich A.S., Ibrahim I.M., Fedonenko Yu.P., Konnova S.A. Structure and antiproliferative activity of the polysaccharide from *Halomonas aquamarina* related to *Cobetia pacifica* // Carbohydr. Polym. 2022. Vol. 298. 120125.

31. Kokoulin M.S., Kuzmich A.S., Kalinovsky A.I., Rubtsov E.S., Romanenko L.A., Mikhailov V.V., Komandrova N.A. Structure and *in vitro* anticancer activity of sulfated O-polysaccharide from marine bacterium *Poseidonocella pacifica* KMM 9010^T // Carbohydr. Polym. 2017. Vol. 178. P. 406–411.

32. Kokoulin M.S., Kuzmich A.S., Romanenko L.A., Menchinskaya E.S., Mikhailov V.V., Komandrova N.A., Chernikov O.V. Sulfated O-polysaccharide with anticancer activity from the marine bacterium *Poseidonocella sedimentorum* KMM 9023^T // Carbohydr. Polym. 2018. Vol. 202. P. 157–163.

33. Shashkov A.S., Streshinskaya G.M., Tulskeya E.M., Senchenkova S.N., Baryshnikova L.M., Dmitrenko A.S., Ostash B.E., Fedorenko V.A. // Antonie Van Leeuwenhoek. 2016. Vol. 109. P. 923–936.

34. Gil-Serrano A.M., Rodríguez-Carvajal M.A., Tejero-Mateo P., Espartero J.L., Thomas-Oates J., Ruiz-Sainz J.E., Ia-Claveria Buend A.M. Structural determination of a 5-O-methyl-deaminated neuraminic acid (Kdn)-containing polysaccharide isolated from *Sinorhizobium fredii* // Biochem. J. 1998. Vol. 334. P. 585–594.

35. Knirel Y.A., Kocharova N.A., Shashkov A.S., Kochetkov N.K., Mamontova V.A., Solov'eva T.F. Structure of the capsular polysaccharide of *Klebsiella ozaenae* serotype K₄ containing 3-deoxy-D-glycero-D-galacto-nonulosonic acid // Carbohydr. Res. 1989. Vol. 188. P. 145–155.

36. Kokoulin M.S., Kuzmich A.S., Romanenko L.A., Chikalovets I.V. Sulfated capsular polysaccharide from the marine bacterium *Kangiella japonica* inhibits T-47D cells growth *in vitro* // Carbohydr. Polym. 2022. Vol. 290. 119477.

37. Young N.M., Kreisman L.S., Stupak J., MacLean L.L., Cobb B.A., Richards J.C. Structural characterization and MHCII-dependent immunological properties of the zwitterionic O-chain antigen of *Morganella morganii* // Glycobiology. 2011. Vol. 21, N10. P. 1266–1276.

38. Kilcoyne M., Perepelov A.V., Tomshich S.V., Komandrova N.A., Shashkov A.S., Romanenko L.A., Knirel Y.A., Savage A.V. Structure of the O-polysaccharide of *Idiomarina zobellii* KMM 231^T containing two unusual amino sugars with the free amino group, 4-amino-4,6-dideoxy-D-glucose and 2-amino-2-deoxy-L-guluronic acid // Carbohydr. Res. 2004. Vol. 339, N3. P. 477–482.

39. Kuzmich A.S., Romanenko L.A., Kokoulin M.S. Cell-cycle arrest and mitochondria-dependent apoptosis induction in T-47D cells by the capsular polysaccharide from the marine bacterium *Kangiella japonica* KMM 3897 // Carbohydr. Polym. 2023. Vol. 320. 121237.

40. Cavicchioli R., Thomas T. Extremophiles // Lederberg J., Alexander M., Bloom B.R., Hopwood D., Hull R., Iglewski B.H., Laskin A.I., Oliver S.G., Schaechter M., Summers W.C. (eds). Encyclopedia of microbiology, 2nd edn. San Diego: Academic Press Inc., 2000. P. 317–337.

41. Feller G., Gerday C. Psychrophilic enzymes: hot topics in cold adaptation // Nat. Rev. Microbiol. 2003. Vol. 1. P. 200–208.

42. Kokoulin M.S., Kuzmich A.S., Romanenko L.A., Chikalovets I.V., Chernikov O.V. Structure and *in vitro* bioactivity against cancer cells of the capsular polysaccharide from the marine bacterium *Psychrobacter marincola* // Mar. Drugs. 2020. Vol. 18, N5. P. 268.

43. Casillo A., Ricciardelli A., Parrilli E., Tutino M.L., Corsaro M.M. Cell-wall associated polysaccharide from the psychrotolerant bacterium *Psychrobacter arcticus* 273-4: isolation, purification and structural elucidation // Extremophiles. 2020. Vol. 24. P. 63–70.

44. Kondakova A.N., Novototskaya-Vlasova K.A., Arbatsky N.P., Drutskaya M.S., Shcherbakova V.A., Shashkov A.S., Gilichinsky D.A., Nedospasov S.A., Knirel Y.A. Structure of the O-specific polysaccharide

from the lipopolysaccharide of *Psychrobacter cryohalolentis* K5^T containing a 2,3,4-triacetamido-2,3,4-trideoxy-L-arabinose moiety // *J. Nat. Prod.* 2012. Vol. 75. P. 2236–2240.

45. Kokoulin M.S., Kuzmich A.S., Romanenko L.A., Chikalovets I.V. Structure and *in vitro* antiproliferative activity of the acidic capsular polysaccharide from the deep-sea bacterium *Psychrobacter submarinus* KMM 225^T // *Carbohydr. Polym.* 2021. Vol. 262. 117941 (1–8).

46. Kondakova A.N., Novototskaya-Vlasova K.A., Shashkov A.S., Drutskaya M.S., Senchenkova S.N., Shcherbakova V.A., Gilichinsky D.A., Nedospasov S.A., Knirel Y.A. Structure of an acidic polysaccharide isolated from *Psychrobacter maritimus* 3pS containing a bacillosamine derivative // *Carbohydr. Res.* 2012. Vol. 359. P. 7–10.

47. Leone S., Izzo V., Silipo A., Sturiale L., Garozzo D., Lanzetta R., Parrilli M., Molinaro A., Di Donato A. A novel type of highly negatively charged lipooligosaccharide from *Pseudomonas stutzeri* OX1 possessing two 4,6-O-(1-carboxy)-ethylidene residues in the outer core region // *European. J. Org. Chem.* 2004. Vol. 271. P. 2691–2704.

48. Perepelov A.V., Weintraub A., Liu B., Senchenkova S.N., Shashkov A.S., Feng L., Wang L., Widmalm G., Knirel Y.A. The O-polysaccharide of *Escherichia coli* O112ac has the same structure as that of *Shigella dysenteriae* type 2 but is devoid of O-acetylation: a revision of the *S. dysenteriae* type 2 O-polysaccharide structure // *Carbohydr. Res.* 2008. Vol. 343. P. 977–981.

49. Adeyeye A., Jansson P.-E., Lindberg B. Structural studies of the *Escherichia coli* O-149 O-antigen polysaccharide // *Carbohydr. Res.* 1988. Vol. 176. P. 231–236.

50. Kokoulin M.S., Romanenko L.A., Kuzmich A.S., Chernikov O.V. Structure of the cell-wall-associated polysaccharides from the deep-sea marine bacterium *Devosia submarina* KMM 9415^T // *Mar. Drugs.* 2021. Vol. 19. P. 665.

51. Gilbert M., Mandrell R.E., Parker C.T., Li J., Vinogradov E. Structural analysis of the capsular polysaccharide from *Campylobacter jejuni* RM1221 // *ChemBioChem.* 2007. Vol. 8. P. 625–631.

52. Perepelov A.V., Senchenkova S.N., Kalinchuk N.A., Shashkov A.S., Knirel Yu.A. Structure of O-polysaccharide of *Escherichia coli* O95: a disaccharide repeating unit containing D-fucose and D-threo-pent-2-ulose (xululose) // *Russ. Chem. Bull.* 2018. Vol. 67. P. 1931–1933.

53. Gorshkova R.P., Isakov V.V., Kalmykova E.N., Ovodov Y.S. Structural studies of O-specific polysaccharide chains of the lipopolysaccharide from *Yersinia enterocolitica* serovar O:10 // *Carbohydr. Res.* 1995. Vol. 268, N2. P. 249–255.

54. Sato N., Nakazawa F., Ito T., Hoshino T., Hoshino E. The structure of the antigenic polysaccharide produced by *Eubacterium saburrium* T15 // *Carbohydr. Res.* 2003. Vol. 338, N9. P. 923–930.

55. Jorgensen B.B., Boetius A. Feast and famine – Microbial life in the deep-sea bed // *Nat. Rev. Microbiol.* 2007. Vol. 5. P. 770–781.

56. Kallmeyer J., Pockalny R., Adhikari R.R., Smith D.C., D'Hondt S. Global distribution of microbial abundance and biomass in subseafloor sediment // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2012. Vol. 109. P. 16213–16216.

57. Mohamed J., Bruno F., Eric G., Philippe O. Microbial diversity and adaptation to high hydrostatic pressure in deep-sea hydrothermal vents prokaryotes // *Extremophiles.* 2015. Vol. 19. P. 721–740.

58. Casillo A., Parrilli E., Tutino M.L., Corsaro M.M. The outer membrane glycolipids of bacteria from cold environments: isolation, characterization, and biological activity // *FEMS Microbiol. Ecol.* 2019. Vol. 95. fiz094.

59. Holst O. Chemical structure of the core region of lipopolysaccharides. An update // *Trends Glycosci. Glycotechnol.* 2002. Vol. 14. P. 87–103.

60. Ieranò T., Silipo A., Nazarenko E.L., Gorshkova R.P., Ivanova E.P., Garozzo D., Sturiale L., Lanzetta R., Parrilli M., Molinaro A. Against the rules: a marine bacterium, *Loktanella rosea*, possesses a unique lipopolysaccharide // *Glycobiology.* 2010. Vol. 20, N5. P. 586–593.

61. Tomshich S.V., Kokoulin M.S., Kalinovsky A.I., Komandrova N.A., Nedashkovskaya O.I. Structure of the O-specific polysaccharide from a marine bacterium *Echinicola vietnamensis* KMM 6221^T // *Carbohydr. Res.* 2015. Vol. 402. P. 1–5.

62. Tomshich S.V., Kokoulin M.S., Kalinovsky A.I., Komandrova N.A., Nedashkovskaya O.I. Structure of the O-specific polysaccharide from a marine bacterium *Echinicola pacifica* KMM 6172^T containing 2,3-diacetamido-2,3-dideoxy-D-glucuronic acid // *Carbohydr. Res.* 2016. Vol. 425. P. 22–27.

63. Pither M.D., Mantova G., Scaglione E., Pagliuca C., Colicchio R., Vitiello M., Chernikov O.V., Hua K.-F., Kokoulin M.S., Silipo A., Salvatore P., Molinaro A., De Lorenzo F. The unusual lipid A structure

and immunoinhibitory activity of LPS from marine bacteria *Echinicola pacifica* KMM 6172^T and *Echinicola vietnamensis* KMM 6221^T // Microorganisms. 2021. Vol. 9, N12. 2552.

64. Tomshich S. V., Kokoulin M. S., Kalinovskiy A. I., Nedashkovskaya O. I., Komandrova N. A. Structure of the O-specific polysaccharide from a marine bacterium *Cellulophaga algicola* // Carbohydr. Res. 2017. Vol. 443/444. P. 68–72.

65. Томшич С. В., Командрова Н. А., Перепелов А. В., Видмальм Г., Недашковская О. И., Шашков А. С. Структура кислого О-специфического полисахарида *Cellulophaga baltica* // Биоорган. химия. 2007. Т. 33, № 1. С. 91–95.

66. Perepelov A. V., Shashkov A. S., Tomshich S. V., Komandrova N. A., Nedashkovskaya O. I. A pseudoaminic acid-containing O-specific polysaccharide from a marine bacterium *Cellulophaga fucicola* // Carbohydr. Res. 2007. Vol. 342, N10. P. 1378–1381.

67. Staaf M., Weintraub A., Widmalm G. Structure determination of the O-antigenic polysaccharide from the enteroinvasive *Escherichia coli* O136 // Eur. J. Biochem. 1999. Vol. 263, N3. P. 656–661.

68. Perepelov A. V., Shashkov A. S., Tomshich S. V., Komandrova N. A., Nedashkovskaya O. I. Structure of the O-specific polysaccharide from a marine bacterium *Cellulophaga pacifica* containing rarely occurred sugars, Fuc4NAc and ManNAcA // Carbohydr. Res. 2013. Vol. 372. P. 69–72.

69. Erbel P. J., Barr K., Gao N., Gerwig G. J., Rick P. D., Gardner K. H. Identification and biosynthesis of cyclic enterobacterial common antigen in *Escherichia coli* // J. Bacteriol. 2003. Vol. 185, N6. P. 1995–2004.

70. Vinogradov E. V., Knirel Y. A., Thomas-Oates J. E., Shashkov A. S., L'vov V. L. The structure of the cyclic enterobacterial common antigen (ECA) from *Yersinia pestis* // Carbohydr. Res. 1994. Vol. 258. P. 223–232.

71. Tomshich S. V., Kokoulin M. S., Kalinovskiy A. I., Nedashkovskaya O. I., Komandrova N. A. Structure of the O-specific polysaccharide from a marine bacterium *Cellulophaga tyrosinoydans* // Carbohydr. Res. 2015. Vol. 413. P. 1–4.

72. Cirella R., Pagliuca Ch., Pither M. D., Scaglione E., Nedashkovskaya O. I., Chernikov O. V., Hua K.-F., Colicchio R., Vitiello M., Kokoulin M. S., Silipo A., Salvatore P., Molinaro A., Di Lorenzo F. Pushing the boundaries of structural heterogeneity with the lipid A of marine bacteria *Cellulophaga* // ChemBioChem. 2023. Vol. 24, N10. e202300183.

REFERENCES

1. Rothschild L. J., Mancinelli R. L. Life in extreme environments. *Nature*. 2001;409(6823):1092-1100.
2. Di Lorenzo F., Duda K. A., Lanzetta R., Silipo A., De Castro C., Molinaro A. A. Journey from structure to function of bacterial lipopolysaccharides. *Chem. Rev.* 2022;122(20):15767-15821.
3. Poli A., Anzelmo G., Nicolaus B. Bacterial exopolysaccharides from extreme marine habitats: Production, characterization and biological activities. *Mar. Drugs*. 2010;8:1779-1802.
4. Casillo A., Lanzetta R., Parrilli M., Corsaro M. M. Exopolysaccharides from marine and marine extremophilic bacteria: Structures, properties, ecological roles and applications. *Mar. Drugs*. 2018;16:69.
5. Nazarenko E. L., Komandrova N. A., Gorshkova R. P., Tomshich S. V., Zubkov V. A., Kilcoyne M., Savage A. V. Structures of polysaccharides and oligosaccharides of some Gram-negative marine *Proteobacteria*. *Carbohydr. Res.* 2003;338:2449-2457.
6. Leone S., Silipo A., Nazarenko E. L., Lanzetta R., Parrilli M., Molinaro A. Molecular structure of endotoxins from Gram-negative marine bacteria: an update. (Review). *Mar. Drugs*. 2007;5(3):85-112.
7. Nazarenko E. L., Crawford R. J., Ivanova E. P. The structural diversity of carbohydrate antigens of selected gram-negative marine bacteria. *Mar. Drugs*. 2011;9(10):1914-1954.
8. Di Lorenzo F., Billod J.-M., Martín-Santamaría S., Silipo A., Molinaro A. Gram-negative extremophile lipopolysaccharides: Promising source of inspiration for a new generation of endotoxin antagonists. *European. J. Org. Chem.* 2017;28:4055-4073.
9. Garcia-Vello P., Di Lorenzo F., Zucchetta D., Zamyatina A., De Castro C., Molinaro A. Lipopolysaccharide lipid A: A promising molecule for new immunity-based therapies and antibiotics. *Pharmacol. Ther.* 2022;230. 107970.
10. Molinaro A., Holst O., Di Lorenzo F., Callaghan M., Nurisso A., D'Errico G., Zamyatina A., Peri F., Berisio R., Jerala R., Jiménez-Barbero J., Silipo A., Martín-Santamaría S. Chemistry of lipid A: at the heart of innate immunity. *Chemistry*. 2015;21:500-519.

11. Romanenko L.A., Zhukova N.V., Rhode M., Lysenko A.M., Mikhailov V.V., Stackebrandt E. *Pseudoalteromonas agarivorans* sp. nov., a novel marine agarolytic bacterium. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2003;53:125-131.
12. Komandrova N.A., Tomshich S.V., Isakov V.V., Romanenko L.A. Structure of sulfated O-specific polysaccharide of the marine bacterium *Pseudoalteromonas marinoglutinosa* KMM 232. *Dadianji Jishu.* 1998;6:1410-1415.
13. Kokoulin M.S., Komandrova N.A., Kalinovskiy A., Tomshich S.V., Romanenko L.A., Vaskovsky V.E. Structure of the O-specific polysaccharide from the deep-sea marine bacterium *Idiomarina abyssalis* KMM 227^T containing a 2-O-sulfate-3-N-(4-hydroxybutanoyl)-3,6-dideoxy-D-glucose. *Carbohydr. Res.* 2015;413:100-106.
14. Kokoulin M.S., Lizanov I.N., Romanenko L.A., Chikalovets I.V. Structure of phosphorylated and sulfated polysaccharides from lipopolysaccharide of marine bacterium *Marinicella litoralis* KMM 3900^T. *Carbohydr. Res.* 2020;490. 107961.
15. Kokoulin M.S., Filshtein A.P., Romanenko, L.A., Chikalovets I.V., Chernikov O.V. Structure and bioactivity of sulfated α -D-mannan from marine bacterium *Halomonas halocynthiae* KMM 1376^T. *Carbohydr. Polym.* 2020;229. 115556.
16. Knirel Y.A., Kochetkov N.K. The structure of lipopolysaccharides of gram-negative bacteria. III. The structure of O-antigens: A review. *Biochemistry* (Moscow). 1994;59(12):1325-1383.
17. Pérez Recalde M., Nosedá M.D., Pujol C.A., Carlucci M.J., Matulewicz M.C. Sulfated mannans from the red seaweed *Nemalion helminthoides* of the South Atlantic. *Phytochemistry.* 2009;70:1062-1068.
18. Fernández P.V., Estevez J.M., Cerezo A.S., Ciancia M. Sulfated β -D-mannan from green seaweed *Codium vermilara*. *Carbohydr. Polym.* 2012;87:916-919.
19. Cobet A.B., Wirsen C. Jr., Jones G.E. The effect of nickel on a marine bacterium, *Arthrobacter marinus* sp. nov. *J. Gen. Microbiol.* 1970;62(2):159-169.
20. Baumann L., Baumann P., Mandel M., Allen R.D. Taxonomy of aerobic marine eubacteria. *J. Bacteriol.* 1972;110(1):402-429.
21. Baumann L., Bowditch R.D., Baumann P. Description of *Deleya* gen. nov. created to accommodate the marine species *Alcaligenes aestus*, *A. pacificus*, *A. cupidus*, *A. venustus*, and *Pseudomonas marina*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1983;33:793-802.
22. Dobson S.J., Franzmann P.D. Unification of the genera *Deleya* (Baumann et al. 1983), *Halomonas* (Vreeland et al. 1980), and *Halovibrio* (Fendrich 1988) and the species *Paracoccus halodenitrificans* (Robinson and Gibbons 1952) into a single genus, *Halomonas*, and placement of the genus *Zymobacter* in the family Halomonadaceae. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1996;46:550-558.
23. Arahall D.R., Castillo A.M., Ludwig W., Schleifer K.H., Ventosa A. Proposal of *Cobetia marina* gen. nov., comb. nov., within the family Halomonadaceae, to include the species *Halomonas marina*. *Syst Appl Microbiol.* 2002;25(2):207-211.
24. Kim M.S., Roh S.W., Bae J.W. *Cobetia crustatorum* sp. nov., a novel slightly halophilic bacterium isolated from traditional fermented seafood in Korea. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2010;60(3):620-626.
25. Kokoulin M.S., Kalinovskiy A.I., Komandrova N.A., Tomshich S.V., Romanenko L.A., Vaskovsky V.E. The sulfated O-specific polysaccharide from the marine bacterium *Cobetia pacifica* KMM 3879^T. *Carbohydr. Res.* 2014;387(1):4-9.
26. Kokoulin M.S., Kalinovskiy A.I., Komandrova N.A., Tomshich S.V., Romanenko L.A., Vaskovsky V.E. The new sulfated O-specific polysaccharide from marine bacterium *Cobetia pacifica* KMM 3878, containing 3,4-O-[(S)-1-carboxyethylidene]-d-galactose and 2,3-O-disulfate-D-galactose. *Carbohydr. Res.* 2014;397(1):46-51.
27. Kokoulin M.S., Kuzmich A.S., Kalinovskiy A.I., Tomshich S.V., Romanenko L.A., Mikhailov V.V., Komandrova N.A. Structure and anticancer activity of sulfated O-polysaccharide from marine bacterium *Cobetia litoralis* KMM 3880^T. *Carbohydr. Polym.* 2016;154:55-61.
28. Matsuda M., Hasui M., Okutani K. Structural Analysis of a Sulfated Polysaccharide from a Marine *Pseudomonas*. *Nippon Suisan Gakkaishi.* 1993;59(3):535-538.
29. Matsuda M., Yamori T., Naitoh M., Okutani K. Structural revision of sulfated polysaccharide B-1 isolated from a marine *Pseudomonas* species and its cytotoxic activity against human cancer cell lines. *Mar. Biotechnol.* 2003;5:13-19.

30. Kokoulin M.S., Sigida E.N., Kuzmich A.S., Ibrahim I.M., Fedonenko Yu.P., Konnova S.A. Structure and antiproliferative activity of the polysaccharide from *Halomonas aquamarina* related to *Cobetia pacifica*. *Carbohydr. Polym.* 2022;298. 120125.
31. Kokoulin M.S., Kuzmich A.S., Kalinovskiy A.I., Rubtsov E.S., Romanenko L.A., Mikhailov V.V., Komandrova N.A. Structure and in vitro anticancer activity of sulfated O-polysaccharide from marine bacterium *Poseidonocella pacifica* KMM 9010^T. *Carbohydr. Polym.* 2017;178:406-411.
32. Kokoulin M.S., Kuzmich A.S., Romanenko L.A., Menchinskaya E.S., Mikhailov V.V., Komandrova N.A., Chernikov O.V. Sulfated O-polysaccharide with anticancer activity from the marine bacterium *Poseidonocella sedimentorum* KMM 9023^T. *Carbohydr. Polym.* 2018;202:157-163.
33. Shashkov A.S., Streshinskaya G.M., Tulskeya E.M., Senchenkova S.N., Baryshnikova L.M., Dmitrenko A.S., Ostash B.E., Fedorenko V.A. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2016;109:923-936.
34. Gil-Serrano A.M., Rodríguez-Carvajal M.A., Tejero-Mateo P., Espartero J.L., Thomas-Oates J., Ruiz-Sainz J.E., Ia-Claveria Buend A.M. Structural determination of a 5-O-methyl-deaminated neuraminic acid (Kdn)-containing polysaccharide isolated from *Sinorhizobium fredii*. *Biochem. J.* 1998;334:585-594.
35. Knirel Y.A., Kocharova N.A., Shashkov A.S., Kochetkov N.K., Mamontova V.A., Solov'eva T.F. Structure of the capsular polysaccharide of *Klebsiella ozaenae* serotype K₄ containing 3-deoxy-D-glycero-D-galacto-nonulosonic acid. *Carbohydr. Res.* 1989;188:145-155.
36. Kokoulin M.S., Kuzmich A.S., Romanenko L.A., Chikalovets I.V. Sulfated capsular polysaccharide from the marine bacterium *Kangiella japonica* inhibits T-47D cells growth *in vitro*. *Carbohydr. Polym.* 2022;290. 119477.
37. Young N.M., Kreisman L.S., Stupak J., MacLean L.L., Cobb B.A., Richards J.C. Structural characterization and MHCII-dependent immunological properties of the zwitterionic O-chain antigen of *Morganella morganii*. *Glycobiology*. 2011;21(10):1266-1276.
38. Kilcoyne M., Perepelov A.V., Tomshich S.V., Komandrova N.A., Shashkov A.S., Romanenko L.A., Knirel Y.A., Savage A.V. Structure of the O-polysaccharide of *Idiomarina zobellii* KMM 231T containing two unusual amino sugars with the free amino group, 4-amino-4,6-dideoxy-D-glucose and 2-amino-2-deoxy-L-guluronic acid. *Carbohydr. Res.* 2004;339(3):477-482.
39. Kuzmich A.S., Romanenko L.A., Kokoulin M.S. Cell-cycle arrest and mitochondria-dependent apoptosis induction in T-47D cells by the capsular polysaccharide from the marine bacterium *Kangiella japonica* KMM 3897. *Carbohydr. Polym.* 2023;320. 121237.
40. Cavicchioli R., Thomas T. Extremophiles. In: Lederberg J., Alexander M., Bloom B.R., Hopwood D., Hull R., Iglewski B.H., Laskin A.I., Oliver S.G., Schaechter M., Summers W.C. (eds). *Encyclopedia of microbiology*, 2nd edn. San Diego: Academic Press Inc; 2000. P. 317-337.
41. Feller G., Gerday C. Psychrophilic enzymes: hot topics in cold adaptation. *Nat. Rev. Microbiol.* 2003;1:200-208.
42. Kokoulin M.S., Kuzmich A.S., Romanenko L.A., Chikalovets I.V., Chernikov O.V. Structure and in vitro bioactivity against cancer cells of the capsular polysaccharide from the marine bacterium *Psychrobacter marincola*. *Mar. Drugs*. 2020;18(5):268.
43. Casillo A., Ricciardelli A., Parrilli E., Tutino M.L., Corsaro M.M. Cell-wall associated polysaccharide from the psychrotolerant bacterium *Psychrobacter arcticus* 273-4: isolation, purification and structural elucidation. *Extremophiles*. 2020;24:63-70.
44. Kondakova A.N., Novototskaya-Vlasova K.A., Arbatsky N.P., Drutskaya M.S., Shcherbakova V.A., Shashkov A.S., Gilichinsky D.A., Nedospasov S.A., Knirel Y.A. Structure of the O-specific polysaccharide from the lipopolysaccharide of *Psychrobacter cryohalolentis* K5^T containing a 2,3,4-triacetamido-2,3,4-trideoxy-L-arabinose moiety. *J. Nat. Prod.* 2012;75:2236-2240.
45. Kokoulin M.S., Kuzmich A.S., Romanenko L.A., Chikalovets I.V. Structure and *in vitro* antiproliferative activity of the acidic capsular polysaccharide from the deep-sea bacterium *Psychrobacter submarinus* KMM 225^T. *Carbohydr. Polym.* 2021;262. 117941 (1–8).
46. Kondakova A.N., Novototskaya-Vlasova K.A., Shashkov A.S., Drutskaya M.S., Senchenkova S.N., Shcherbakova V.A., Gilichinsky D.A., Nedospasov S.A., Knirel Y.A. Structure of an acidic polysaccharide isolated from *Psychrobacter maritimus* 3pS containing a bacillosamine derivative. *Carbohydr. Res.* 2012;359:7-10.
47. Leone S., Izzo V., Silipo A., Sturiale L., Garozzo D., Lanzetta R., Parrilli M., Molinaro A., Di Donato A. A novel type of highly negatively charged lipooligosaccharide from *Pseudomonas stutzeri* OX1

possessing two 4,6-O-(1-carboxy)-ethylidene residues in the outer core region. *European. J. Org. Chem.* 2004;271:2691-2704.

48. Perepelov A.V., Weintraub A., Liu B., Senchenkova S.N., Shashkov A.S., Feng L., Wang L., Widmalm G., Knirel Y.A. The O-polysaccharide of *Escherichia coli* O112ac has the same structure as that of *Shigella dysenteriae* type 2 but is devoid of O-acetylation: a revision of the *S. dysenteriae* type 2 O-polysaccharide structure. *Carbohydr. Res.* 2008;343:977-981.

49. Adeyeye A., Jansson P.-E., Lindberg B. Structural studies of the *Escherichia coli* O-149 O-antigen polysaccharide. *Carbohydr. Res.* 1988;176:231-236.

50. Kokoulin M.S., Romanenko L.A., Kuzmich A.S., Chernikov O.V. Structure of the cell-wall-associated polysaccharides from the deep-sea marine bacterium *Devosia submarina* KMM 9415^T. *Mar. Drugs.* 2021;19:665.

51. Gilbert M., Mandrell R.E., Parker C.T., Li J., Vinogradov E. Structural analysis of the capsular polysaccharide from *Campylobacter jejuni* RM1221. *ChemBioChem.* 2007;8:625-631.

52. Perepelov A.V., Senchenkova S.N., Kalinchuk N.A., Shashkov A.S., Knirel, Yu.A. Structure of O-polysaccharide of *Escherichia coli* O95: a disaccharide repeating unit containing D-fucose and D-threopent-2-ulose (xululose). *Russ. Chem. Bull.* 2018;67:1931-1933.

53. Gorshkova R.P., Isakov V.V., Kalmykova E.N., Ovodov Y.S. Structural studies of O-specific polysaccharide chains of the lipopolysaccharide from *Yersinia enterocolitica* serovar O:10. *Carbohydr. Res.* 1995;268(2):249-255.

54. Sato N., Nakazawa F., Ito T., Hoshino T., Hoshino E. The structure of the antigenic polysaccharide produced by *Eubacterium saburreum* T15. *Carbohydr. Res.* 2003;338(9):923-930.

55. Jorgensen B.B., Boetius A. Feast and famine – Microbial life in the deep-sea bed. *Nat. Rev. Microbiol.* 2007;5:770-781.

56. Kallmeyer J., Pockalny R., Adhikari R.R., Smith D.C., D'Hondt S. Global distribution of microbial abundance and biomass in subseafloor sediment. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2012;109:16213-16216.

57. Mohamed J., Bruno F., Eric G., Philippe O. Microbial diversity and adaptation to high hydrostatic pressure in deep-sea hydrothermal vents prokaryotes. *Extremophiles.* 2015;19:721-740.

58. Casillo A., Parrilli E., Tutino M.L., Corsaro M.M. The outer membrane glycolipids of bacteria from cold environments: isolation, characterization, and biological activity. *FEMS Microbiol. Ecol.* 2019;95. fiz094.

59. Holst O. Chemical structure of the core region of lipopolysaccharides. An update. *Trends Glycosci. Glycotechnol.* 2002;14:87-103.

60. Ieranò T., Silipo A., Nazarenko E.L., Gorshkova R.P., Ivanova E.P., Garozzo D., Sturiale L., Lanzetta R., Parrilli M., Molinaro A. Against the rules: a marine bacterium, *Loktanella rosea*, possesses a unique lipopolysaccharide. *Glycobiology.* 2010;20(5):586-593.

61. Tomshich S.V., Kokoulin M.S., Kalinovsky A.I., Komandrova N.A., Nedashkovskaya O.I. Structure of the O-specific polysaccharide from a marine bacterium *Echinicola vietnamensis* KMM 6221^T. *Carbohydr. Res.* 2015;402:1-5.

62. Tomshich S.V., Kokoulin M.S., Kalinovsky A.I., Komandrova N.A., Nedashkovskaya O.I. Structure of the O-specific polysaccharide from a marine bacterium *Echinicola pacifica* KMM 6172^T containing 2,3-diacetamido-2,3-dideoxy-D-glucuronic acid. *Carbohydr. Res.* 2016;425:22-27.

63. Pither M.D., Mantova G., Scaglione E., Pagliuca C., Colicchio R., Vitiello M., Chernikov O.V., Hua K.-F., Kokoulin M.S., Silipo A., Salvatore P., Molinaro A., De Lorenzo F. The unusual lipid A structure and immunoinhibitory activity of LPS from marine bacteria *Echinicola pacifica* KMM 6172^T and *Echinicola vietnamensis* KMM 6221^T. *Microorganisms.* 2021;9(12). 2552.

64. Tomshich S.V., Kokoulin M.S., Kalinovskiy A.I., Nedashkovskaya O.I., Komandrova N.A. Structure of the O-specific polysaccharide from a marine bacterium *Cellulophaga algicola*. *Carbohydr. Res.* 2017;443/444:68-72.

65. Tomshich S.V., Komandrova N.A., Nedashkovskaya O.I., Widmalm G., Perepelov A.V., Shashkov A.S. Structure of acidic O-specific polysaccharide from the marine bacterium *Cellulophaga baltica*. *Russ. J. Bioorg. Chem.* 2007;33:83-87.

66. Perepelov A.V., Shashkov A.S., Tomshich S.V., Komandrova N.A., Nedashkovskaya O.I. A pseudoamino acid-containing O-specific polysaccharide from a marine bacterium *Cellulophaga fucicola*. *Carbohydr. Res.* 2007;342(10):1378-1381.

67. Staaf M., Weintraub A., Widmalm G. Structure determination of the O-antigenic polysaccharide from the enteroinvasive *Escherichia coli* O136. *Eur. J. Biochem.* 1999;263(3):656-661.
68. Perepelov A.V., Shashkov A.S., Tomshich S.V., Komandrova N.A., Nedashkovskaya O.I. Structure of the O-specific polysaccharide from a marine bacterium *Cellulophaga pacifica* containing rarely occurred sugars, Fuc4NAc and ManNAcA. *Carbohydr. Res.* 2013;372:69-72.
69. Erbel P.J., Barr K., Gao N., Gerwig G.J., Rick P.D., Gardner K.H. Identification and biosynthesis of cyclic enterobacterial common antigen in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 2003;185(6):1995-2004.
70. Vinogradov E.V., Knirel Y.A., Thomas-Oates J.E., Shashkov A.S., L'vov V.L. The structure of the cyclic enterobacterial common antigen (ECA) from *Yersinia pestis*. *Carbohydr. Res.* 1994;258:223-232.
71. Tomshich S.V., Kokoulin M.S., Kalinovsky A.I., Nedashkovskaya O.I., Komandrova N.A. Structure of the O-specific polysaccharide from a marine bacterium *Cellulophaga tyrosinoydans*. *Carbohydr. Res.* 2015;413:1-4.
72. Cirella R., Pagliuca Ch., Pither M.D., Scaglione E., Nedashkovskaya O.I., Chernikov O.V., Hua K.-F., Colicchio R., Vitiello M., Kokoulin M.S., Silipo A., Salvatore P., Molinaro A., Di Lorenzo F. Pushing the boundaries of structural heterogeneity with the lipid A of marine bacteria *Cellulophaga*. *ChemBioChem.* 2023;24(10). e202300183.

Научная статья

УДК 629.58

DOI: 10.31857/S0869769824030091

EDN: IRZTJH

Особенности выполнения технологических операций с помощью автономных необитаемых подводных аппаратов, оснащаемых многозвенными манипуляторами

В.Ф. Филаретов, А.В. Зуев✉, А.А. Тимошенко

Владимир Федорович Филаретов

доктор технических наук, профессор, заведующий лабораторией
Институт автоматки и процессов управления ДВО РАН, Владивосток, Россия
filaretov@inbox.ru
<http://orcid.org/0000-0001-8900-8081>

Александр Валерьевич Зуев

доктор технических наук, доцент, ведущий научный сотрудник
Институт автоматки и процессов управления ДВО РАН, Владивосток, Россия;
Институт проблем морских технологий им. академика М.Д. Агеева ДВО РАН,
Владивосток, Россия
zuev@dvo.ru
<http://orcid.org/0000-0002-0934-6222>

Александр Алексеевич Тимошенко

научный сотрудник
Институт проблем морских технологий им. академика М.Д. Агеева ДВО РАН,
Владивосток, Россия;
Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Россия
timoshenko.aal@mail.ru
<http://orcid.org/0000-0003-1356-9602>

Аннотация. Описан новый обобщенный подход к выполнению подводных контактных (технологических) операций в полностью автоматическом режиме с помощью автономных необитаемых подводных аппаратов, оснащенных многозвенными манипуляторами. Данный подход предполагает использование специального корпуса подводного аппарата, обеспечивающего его высокую мобильность и удобное управление по всем шести степеням свободы, а также пассивную стабилизацию по вертикали при выполнении контактных операций с помощью шестистепенного манипулятора. Предложенный новый метод идентификации присоединяемых к движущимся звеньям манипулятора масс и моментов инерции жидкости, а также коэффициентов вязкого трения позволяет определить внешние моменты в сочленениях манипулятора, обеспечивающие точное силовое воздействие его рабочего инструмента на объекты работ. Поддержание этого заданного воздействия обеспечивается специальной системой стабилизации положения и ориентации аппарата в заданной точке пространства,

а также текущими тягами его движителей с учетом фактической конфигурации манипулятора. Предлагаемые методы, а также синтезированные на их основе устройства и системы с элементами искусственного интеллекта частично уже апробированы на наземных и подводных робототехнических комплексах, что гарантирует их успешное использование при создании манипуляционных автономных подводных аппаратов нового поколения.

Ключевые слова: автономный необитаемый подводный аппарат, многозвенный манипулятор, позиционно-силовое управление, технологические операции

Для цитирования: Филаретов В.Ф., Зуев. А.В., Тимошенко А.А. Особенности выполнения технологических операций с помощью автономных необитаемых подводных аппаратов, оснащаемых многозвенными манипуляторами // Вестн. ДВО РАН. 2024. № 3. С. 165–177.
<http://dx.doi.org/10.31857/S0869769824030091>

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ № 24-19-00218.

Original article

Features of performing technological operations using autonomous underwater vehicles equipped with multi-link manipulators

V.F. Filaretov, A.V. Zuev, A.A. Timoshenko

Vladimir F. Filaretov,

Doctor of Sciences in Technique, Professor, Laboratory Head
Institute of Automation and Control Processes, FEB RAS, Vladivostok, Russia
filaretov@inbox.ru
<http://orcid.org/0000-0001-8900-8081>

Aleksandr V. Zuev

Doctor of Sciences in Technique, Associate Professor, Leading Researcher
Institute of Automation and Control Processes, FEB RAS, Vladivostok, Russia
Institute of Marine Technology Problems named after Academician M.D. Ageev, FEB RAS, Vladivostok, Russia
zuev@dvo.ru
<http://orcid.org/0000-0002-0934-6222>

Aleksandr A. Timoshenko

Researcher
Institute of Marine Technology Problems named after Academician M.D. Ageev, FEB RAS, Vladivostok, Russia
Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russia
timoshenko.aal@mail.ru
<http://orcid.org/0000-0003-1356-9602>

Abstract. The article describes a new generalized approach to performing underwater contact (technological) operations in fully automatic mode using autonomous underwater vehicles equipped with multi-link manipulators. This approach involves the use of a special hull of the underwater vehicle, ensuring its high mobility and convenient control over all six degrees of freedom, as well as passive vertical stabilization when performing contact operations using a six-degree manipulator. The proposed new method for identifying the added masses and moments of inertia of the liquid attached to the moving links of the manipulator, as well as the coefficients of Coloumb friction,

allows us to determine the external moments in the joints of the manipulator, providing an accurate force effect of its working tool on the objects of work. The maintenance of this predetermined effect is provided by a special system for stabilizing the position and orientation of the device at a given point in space, as well as the current thrust of its thrusters, taking into account the current configuration of the manipulator. The proposed methods, as well as devices and systems synthesized on their basis with elements of artificial intelligence, have already been partially tested on land and underwater robotic complexes, which guarantees their successful use in the creation of manipulative autonomous underwater vehicles of a new generation.

Keywords: autonomous underwater vehicle, multi-link manipulator, position-force control, technological operations

For citation: Filaretov V.F., Zuev A.V., Timoshenko A.A. Features of performing technological operations using autonomous underwater vehicles equipped with multi-link manipulators. *Vestnik of the FEB RAS*. 2024;(3):165–177. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.31857/S0869769824030091>

Funding. The work was carried out with the financial support of Russian Science Foundation N 24-19-00218.

Введение

Для увеличения эффективности использования подводных роботов необходимо значительно расширять их функциональные возможности, не ограничиваясь решением простейших задач и операций. Сейчас многие подводные работы и операции на больших глубинах по-прежнему выполняются только с помощью оснащенных многозвенными манипуляторами (ММ) малопроизводительных обитаемых или телеуправляемых аппаратов [1, 2], требующих наличия дорогостоящего вспомогательного и сопутствующего оборудования, многочисленного высококвалифицированного персонала и специализированных судов. При этом применение существующих автономных необитаемых подводных аппаратов (АНПА), пока не оснащаемых ММ, ограничивается выполнением только относительно простых поисковых и обзорных миссий [3, 4]. То есть автоматическое выполнение сложных (в том числе силовых) работ и операций, реализуемых вблизи подводных сооружений и объектов в заранее неизвестной и непрерывно меняющейся обстановке при наличии неизвестных по величине и направлениям подводных течений, для АНПА без ММ пока не доступно [5]. Это сильно сдерживает процесс реального практического освоения морского шельфа и глубин океанов.

Традиционное малоэффективное применение телеуправляемых необитаемых подводных аппаратов (ТНПА) [1, 2] уже показало свою финансовую несостоятельность, в том числе и с учетом их низкой надежности, высокой сложности и громоздкости конструкций, включающих крупногабаритные лебедки и коммутационные блоки, соединенные толстыми бронированными кабельными линиями, а также постоянно запутывающиеся и рвущиеся легкие кабели, соединяющие коммутационные блоки с ТНПА, которые к тому же сильно мешают их перемещениям (особенно при больших подводных течениях). Впервые о значительной востребованности АНПА с ММ указывалось в работе [6], но общий уровень развития подводной робототехники, ее приборной и исполнительной базы, а также компьютерной техники еще совсем недавно не давал возможности реально приступить к созданию этой новой техники.

Однако в последнее время качественный уровень и состав бортового оборудования АНПА резко повысился, поэтому в возникших условиях во многих странах приступили [7, 8] к исследованию возможностей создания АНПА с ММ, способных выполнять различные (даже сложные силовые) операции в полностью автономном режиме зависания вблизи объектов работ (ОР). В частности, были созданы высокоточные адаптивные и робастные системы управления (СУ) движением АНПА [9] и подводных ММ [10], формирования траекторий и режимов движения этих роботов [9, 11], точной стабилизации АНПА над ОР в процессе пространственного перемещения ММ [9] и др. За рубежом появились результаты теоретических исследований (University of Cassino and Southern Lazio, Италия) по вопросам управления АНПА с ММ [12] и создания АНПА «Girona500» и «Girona1000» с ММ и лазерными системами технического зрения (СТЗ) (University of Girona, Испания) [8, 13, 14]. В России также начаты технические разработки новых типов АНПА с ММ (НПП ПТ «Океанос» совместно с СПбГМТУ, а также ИПМТ ДВО РАН).

Тем не менее пока в публикациях не появились сведения об успешном выполнении конкретных подводных технологических операций (особенно силовых) существующими АНПА с ММ в полностью автономном режиме. Во многом это обусловлено тем, что указанные типы подводных роботов являются одними из самых сложных объектов управления среди известных. Основная сложность выполнения любых контактных операций под водой заключается в необходимости обеспечения точного силомоментного взаимодействия рабочих инструментов (РИ) ММ с ОР в режиме зависания АНПА над ними в условиях неизвестных по величине и направлению подводных течений и неопределенности (изменчивости) окружающей обстановки (среды).

Для точной передачи усилий на РИ АНПА с ММ должны оснащаться высококачественными позиционно-силовыми СУ, учитывающими все эффекты взаимодействия АНПА и звеньев ММ с внешней вязкой средой. То есть эти СУ должны обеспечивать не только точные перемещения РИ ММ по непрерывно формируемым сложным пространственным траекториям вдоль подводных объектов, но и одновременно создавать требуемое по величине и направлению силовое воздействие со стороны этих РИ на ОР. При этом все работы должны выполняться в режиме точной стабилизации положения и ориентации АНПА в заданной точке пространства при неизвестных по величине и направлению подводных течений.

Проведенный анализ показывает, что типовые и хорошо отработанные позиционно-силовые СУ промышленными ММ [11, 15, 16] не могут напрямую быть использованы для выполнения указанных подводных операций. Во-первых, они предназначены для ММ, закрепленных на неподвижном основании, в то время как АНПА в режиме зависания может свободно перемещаться по всем шести степеням свободы. Во-вторых, они не учитывают нелинейное и переменное силовое взаимодействие звеньев движущегося ММ с вязкой средой, которое заранее определить невозможно.

Ранее уже делались попытки создания позиционно-силовых СУ манипуляционными АНПА. В работах [17] и [18] эти СУ предлагается строить на основе теории систем с переменной структурой. Для создания силового воздействия РИ на ОР в [17] используется оценка этого воздействия без применения силомоментных датчиков. Но общим недостатком созданных СУ является неучет реальных параметров взаимодействия звеньев ММ с вязкой средой (особенно присоединенных масс и моментов инерции окружающей жидкости), что приводит к большим ошибкам управления.

Известен способ позиционно-силового управления манипуляционным АНПА¹ в режиме его стабилизации над ОР с помощью СТЗ и гироскопических датчиков, который предлагает формировать желаемый вектор силового воздействия со стороны РИ на ОР за счет одновременной подачи управляющих воздействий на все приводы ММ. Но в этом способе не показывается, во-первых, как учесть изменяющиеся при движении звеньев ММ компоненты, связанные с присоединяемыми массами и моментами инерции жидкости, а во-вторых, как точно в реальном масштабе времени компенсировать воздействия на АНПА со стороны ММ во время выполнения им силовых операций с ОР с учетом реальных задержек в получении информации от СТЗ и гироскопических датчиков, а также больших постоянных времени двигателей АНПА. С учетом всех этих факторов неизбежно произойдет неконтролируемое смещение АНПА относительно его стабилизируемого положения и потеря контакта РИ с поверхностью ОР. Последующие попытки СУ автоматически вернуть РИ на программную траекторию движения неизбежно приводят к его циклическим ударам по ОР и поломкам инструментов.

В результате появляется необходимость разработки нового подхода и новых методов построения таких СУ манипуляционными АНПА, которые позволят реально обеспечить автоматическое выполнение РИ ММ различных операций (даже силовых) в режимах зависания АНПА в водной среде вблизи ОР без периодической потери силовых контактов с этими ОР. Проведенный анализ показал, что для успешного решения этой важной проблемы сейчас созданы все предпосылки, поскольку многие отдельные теоретические проблемы построения позиционно-силовых СУ манипуляционных АНПА с учетом имеющихся возможностей современного бортового оборудования уже решены.

¹ Способ позиционно-силового управления подводным аппаратом с многозвенным манипулятором для выполнения контактных манипуляционных операций с подводными объектами: пат. РФ № 2789510 / Коноплин А.Ю., Красавин Н.А., Юрманов А.П., Пятавин П.А.; опубл. 06.02.2023.

1. Постановка задачи

В настоящей статье ставится и решается задача создания нового концептуального подхода к синтезу СУ АНПА, оснащаемых ММ, которые предназначены для выполнения подводных технологических операций (в том числе силовых) и миссий в полностью автоматическом режиме зависания в водной среде при непрерывном изменении заранее неизвестной окружающей обстановки и параметров этой среды. В рамках этого обобщенного подхода должны быть решены следующие взаимосвязанные подзадачи.

1. Определить наиболее рациональную форму корпуса АНПА и кинематическую схему расположения его движителей (в том числе пространственную ориентацию осей тяг всех движителей, устанавливаемых на корпусе), способные более эффективно обеспечить стабилизацию его положения и ориентации в заданной точке пространства при наличии подводных течений и иных силомоментных возмущений со стороны окружающей среды, а также выявить места закрепления основания ММ на корпусе АНПА, которые в зависимости от решаемых манипуляционных задач должны снизить механические воздействия на эти аппараты при выполнении ими заданных манипуляционных операций (включая силовые) в вязкой среде, значительно упрощая решение задач стабилизации и управления манипуляционным АНПА.

2. Разработать методы точной идентификации в реальном масштабе времени параметров взаимодействия окружающей вязкой среды и движущихся в указанной среде звеньев ММ, включая присоединенные массы и моменты инерции окружающей жидкости, а также гидродинамические параметры этой жидкости, которые невозможно определить и задать заранее.

3. Разработать новые методы синтеза адаптивных и робастных СУ, обеспечивающих автоматическую стабилизацию положения и ориентации АНПА в заданной точке пространства с помощью его движителей при перемещении РИ ММ в водной среде (в том числе и при проведении силовых операций в режимах позиционно-силового управления) при наличии неизвестных по величине и направлениям подводных течений.

4. Разработать метод синтеза комбинированных позиционно-силовых СУ электроприводами ММ, обеспечивающих точное перемещение РИ ММ по любым пространственным траекториям с одновременным созданием желаемого по величине и направлению силового воздействия со стороны РИ на ОР, как при фиксации АНПА вблизи этих ОР, так и при их зависании в водной среде вблизи указанных объектов.

5. Создать структуру эффективной информационно-измерительной и управляющей системы (ИИУС), обеспечивающей эффективное взаимодействие всех блоков и подсистем манипуляционного АНПА, задействованных при выполнении этим аппаратом формируемых на его борту технологических операций в рамках заданных миссий.

В данной работе из-за ограниченного объема публикации в основном будет описан только новый общий концептуальный подход к синтезу создаваемой информационно-измерительной и управляющей системы для АНПА, оснащаемых ММ, и ее главных составных частей, которые предназначены для выполнения силовых подводных технологических операций и работ в полностью автоматическом режиме зависания этих АНПА в водной среде при непрерывных изменениях заранее неизвестной окружающей обстановки и параметров этой среды. Детальные решения описанных выше подзадач и их практическая реализация будут представлены в последующих публикациях авторов, включая готовящуюся монографию.

2. Описание особенностей конструкции и кинематической схемы манипуляционного АНПА

Существующие в настоящее время формы корпусов и кинематические схемы расположения движителей АНПА позволяют решать только типовые задачи поиска подводных объектов и наблюдения на них [3, 4]. Они не могут обеспечивать эффективную и точную стабилизацию положений и ориентации АНПА в заданной точке подводного пространства вблизи ОР при наличии произвольных и непрерывно изменяющихся подводных течений и иных возмущений окружающей вязкой среды. А отсутствие рабочих механизмов – ММ,

а также их правильного расположения на корпусах АНПА резко ограничивает функциональные возможности и области использования этой подводной техники. Эффективное решение задачи создания рациональной формы АНПА, а также кинематических схем и мест расположения их движителей и ММ, минимизирующих энергетические затраты и ошибки стабилизации носителей при выполнении различных подводных технологических операций с различными объектами, является новой и важной научной-технической задачей подводной робототехники. Ее решение описывается далее.

Для точного выполнения под водой любых манипуляционных технологических операций (в том числе контактных) АНПА должен иметь компоновку движителей, которая обеспечит его управление сразу по всем шести степеням свободы. Пример такой компоновки показана на рис. 1, где на каждой оси системы координат (СК) $SX_cY_cZ_c$ симметрично расположены по паре движителей P_1, P_2, P_3, P_4, P_5 и P_6 и, силы тяги которых направлены перпендикулярно соответствующим осям этой СК. Для обеспечения большей остойчивости АНПА точка D крепления основания ММ располагается на оси Z_c под центром величины C его корпуса.

Так как чаще всего при выполнении силовых манипуляционных операций АНПА будет зависать над ОР, то основное силовое и моментное воздействие РИ ММ на этот ОР, как правило, будет направлено вдоль оси Z_c . Поэтому для максимального демпфирования этих воздействий корпус АНПА желательно изготавливать симметричным относительно его главной вертикальной оси, в виде эллипсоида, сплюсненного вдоль этой оси, а проекция этого корпуса на плоскость SX_cY_c должна иметь форму круга. Такая форма корпуса обеспечивает дополнительную пассивную остойчивость АНПА по вертикальной оси, но при этом сохраняет его хорошую подвижность в горизонтальной плоскости.

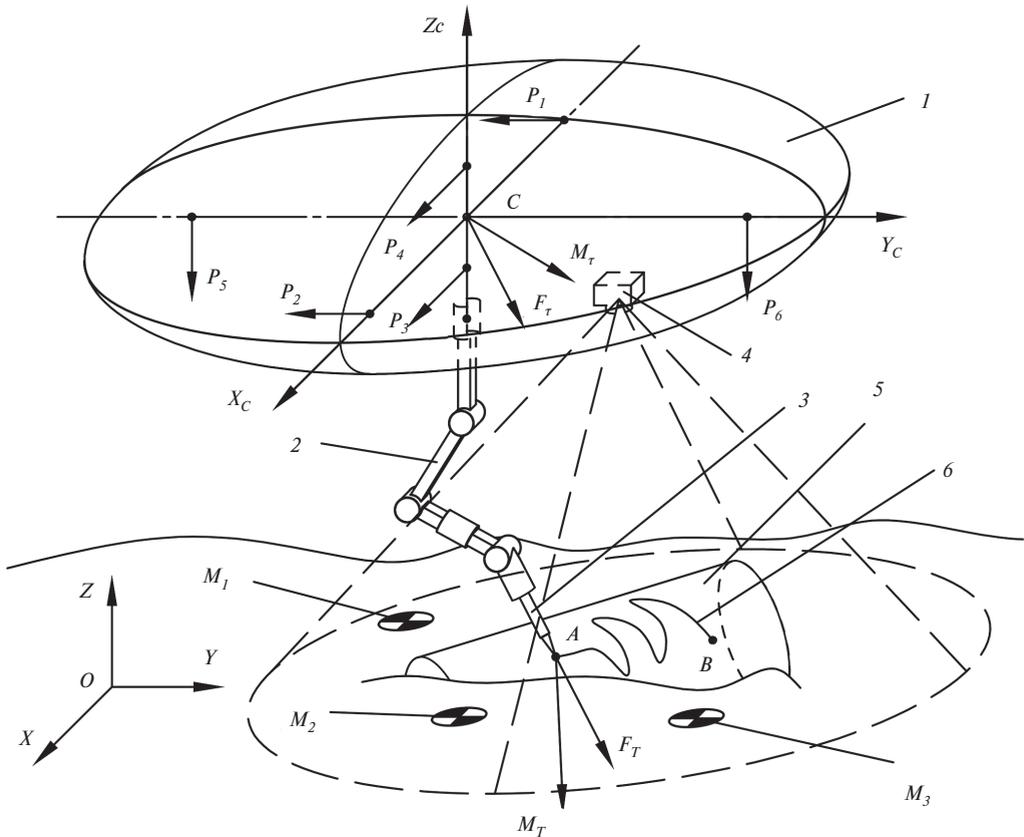


Рис. 1. Обобщенная схема манипуляционного АНПА для автоматического выполнения силовых подводных операций. 1 – корпус АНПА, 2 – ММ, 3 – РИ ММ, 4 – СТЗ, 5 – ОР, 6 – рабочая траектория движения РИ ММ

Кинематическая схема ММ, как и корпус, имеет шесть степеней свободы, три из которых переносные и три – ориентирующие. Такая схема ММ дает возможность его РИ обрабатывать любую пространственную ориентацию векторов силового F_T и моментного M_T воздействий на ОР в рабочей зоне ММ.

Для автоматического построения траекторий движения РИ относительно поверхности ОР и визуальной привязки АНПА к некоторой точке водного пространства в его передней части располагается СТЗ, которая для расширения рабочей области ее видимости имеет две взаимно перпендикулярные оси вращения.

Ниже кратко будет изложен предлагаемый новый концептуальный подход к автоматическому выполнению силовых манипуляционных операций с помощью описанной конструкции АНПА с ММ, зависающего над ОР.

3. Описание подхода к автоматическому выполнению силовых операций в водной среде с помощью манипуляционного АНПА в режиме его зависания над объектами работ

Предлагаемый подход реализуется в несколько этапов² с помощью уже созданной при участии авторов данной статьи многоуровневой ИИУС [19]. Обобщенная структурная схема этой ИИУС показана на рис. 2. В дальнейших работах будет детально описан состав всех ее уровней и модулей, режимы их взаимодействия и работы, а также содержание сообщений, которыми они обмениваются в процессе работы всего комплекса.

На первом этапе подхода, в начале выполнения очередной рабочей миссии, сформированной на стратегическом уровне ИИУС, осуществляются поиск и наведение АНПА на ОР с использованием бортовых навигационных и гидролокационных систем. Для поиска ОР в заданной акватории в *подсистеме формирования траекторий движения АНПА* тактического уровня ИИУС определяется траектория движения этого АНПА в виде серии галсов, покрывающих всю площадь обследуемой акватории [3]. При перемещении АНПА по этой траектории его бортовыми гидролокаторами бокового обзора осуществляется съемка поверхности дна с одновременным распознаванием получаемых гидролокационных картинок в *подсистеме обработки изображений* тактического уровня ИИУС прямо на борту АНПА. После обнаружения искомого ОР *подсистемой управления АНПА* исполнительного уровня ИИУС обеспечивается подход АНПА к этому объекту и зависание в водном пространстве над ним с использованием *подсистемы стабилизации* также исполнительного уровня ИИУС [11] так, чтобы ОР (или его часть) располагался одновременно и в рабочей области ММ, и в области видимости СТЗ АНПА. При этом точная привязка АНПА (его точки С) к некоторой исходной точке трехмерного водного пространства над ОР с его исходной ориентацией в этом пространстве, осуществляемая *подсистемой стабилизации*, обеспечивается за счет использования специальных маркеров ARUCO или не менее трех обычных маркеров M_1 , M_2 и M_3 (рис. 1), располагаемых на ОР или на дне вблизи него. В качестве таких маркеров также могут выступать особенности конструкции ОР или рельефа дна [20]. После стабилизации АНПА в подводном пространстве над ОР на втором этапе выполнения рабочей миссии в *подсистеме обработки изображений* ИИУС с помощью СТЗ формируется 3D-модель ОР, для которой на тактическом уровне ИИУС в *подсистеме формирования траекторий движения ММ* в функции времени строятся желаемые траектории перемещения РИ [11, 21], представляемые в памяти управляющего контроллера набором последовательно расположенных точек или в виде аналитического описания сплайнами. Для каждой точки этих траекторий определяется требуемая ориентация РИ в абсолютной СК, а также направление и величина его желаемого силового воздействия на ОР. После этого, решая типовые обратные задачи кинематики [22] для известной конструкции ММ в функции времени, в *подсистеме формирования траекторий движения ММ* определяются и запоминаются желаемые законы изменения во времени всех обобщенных координат ММ для каждой траектории движения

² Способ позиционно-силового управления автономным необитаемым подводным аппаратом с многостепенным манипулятором: пат. РФ № 2799176 / Зуев А.В., Филаретов В.Ф., Тимошенко А.А.; опублик. 04.07.2023, Бюл. № 19.

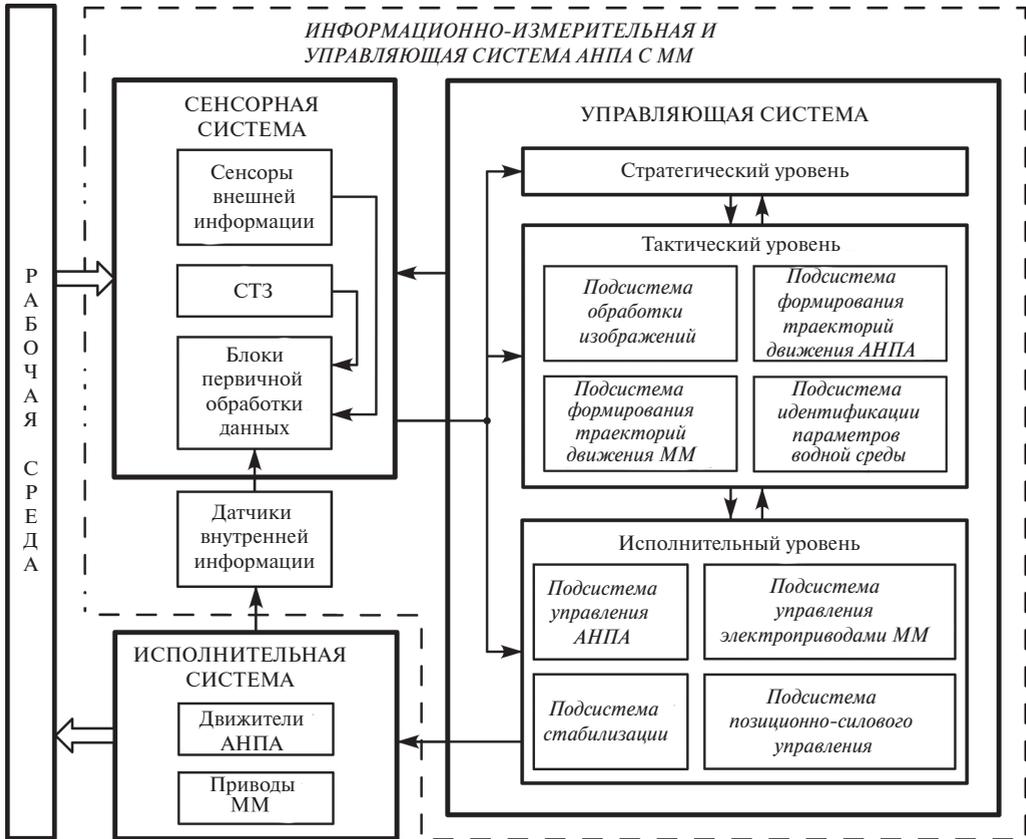


Рис. 2. Обобщенная структурная схема предлагаемой ИИУС АНПА с ММ

его РИ. Кроме того, используя известные рекуррентные соотношения [11, 22], с учетом текущей конфигурации ММ определяются желаемые значения внешних моментов во всех сочленениях ММ и желаемые тяги двигателей АНПА, которые в совокупности создают в каждой точке сформированной траектории желаемые по величине и направлению силу F_T и (или) момент M_T со стороны РИ на ОР.

Последующее точное перемещение РИ по сформированным траекториям с точным силовым F_T и (или) моментным M_T воздействием на ОР предлагается осуществлять за счет использования ранее уже созданных авторами статьи комбинированных позиционно-силовых СУ [11], обеспечивающих одновременную минимизацию ошибок как по положению выходного вала редуктора каждого электропривода ММ, так и по развиваемому им внешнему моменту. Однако для формирования сигналов обратных связей указанных позиционно-силовых СУ необходимо точно знать фактические значения составляющих внешних моментов всех приводов ММ, определяемых воздействиями РИ на ОР.

Эти составляющие удается выделить из суммарных значений соответствующих обобщенных внешних моментов, вычитая из них непрерывно рассчитываемые составляющие взаимовлияний между всеми степенями подвижности ММ с учетом только номинальных значений масс и моментов инерции звеньев ММ, известные моменты от действия гидростатических сил, моменты вязкого трения, а также моменты, обусловленные наличием присоединенных масс и моментов инерции жидкости. При этом, на что уже указывалось выше, реальные значения присоединяемых к звеньям ММ масс и моментов инерции жидкости априорно не известны, но ошибки при задании их значений, как показали предварительные исследования, неизменно приводят к большим ошибкам управления.

Для решения проблемы точной непрерывной идентификации указанных присоединенных масс и моментов инерции жидкости в разрабатываемый подход предлагается ввести

третий этап, на котором перед началом выполнения ММ контактных (силовых) операций с ОР *подсистемой идентификации параметров водной среды* тактического уровня ИИУС должны определяться реальные значения величин этих масс и моментов инерции жидкости, присоединяемых к звеньям ММ при его движении в текущей окружающей водной среде. Поскольку звенья ориентирующих степеней свободы ММ всегда имеют малые размеры, то присоединяемые массы и моменты инерции жидкости определяются только для его двух звеньев, обеспечивающих три переносные степени свободы.

Учитывая, что корпус АНПА на первом этапе выполнения миссии уже зафиксирован в нужном пространстве водной среды с помощью *подсистемы стабилизации* ИИУС, перед выполнением силовых операций РИ ММ задается такое движение по тестовым траекториям, при котором одновременно изменяются обобщенные координаты всех трех переносных степеней свободы ММ. Во время этого движения без контактов с ОР на выходные валы электроприводов каждой из трех переносных степеней свободы ММ начинают действовать обобщенные внешние моменты $N_i(t)$ ($i = 1,3$), обусловленные эффектами взаимовлияния между этими степенями свободы, гидростатическими и гидродинамическими силами сопротивления его движению, включая вязкие трения, а также присоединенными массами и моментами инерции окружающей жидкости, но без силовых взаимодействий РИ ММ с ОР.

Для определения величин моментов $N_i(t)$, скоростей и ускорений изменения соответствующих обобщенных координат ММ в реальном масштабе времени используются наблюдатели с переменной структурой [23]. Затем из полученных для каждого электропривода ММ обобщенных моментов $N_i(t)$ вычитаются составляющие взаимовлияния переносных степеней подвижности друг на друга с учетом масс и моментов инерции только двух указанных звеньев ММ, рассчитываемые аналитически, а также моменты от действия гидростатических сил и сил вязкого трения. Оставшуюся часть обобщенного момента в каждой степени подвижности ММ, обусловленную только наличием неизвестных присоединенных масс и моментов инерции жидкости, представляют в аналитическом виде и преобразуют в линейную регрессионную форму [24] за счет группировки неизвестных параметров относительно известных составляющих. При этом присоединенные массы жидкости задаются в матричном виде [25], учитывающем изменение их величин в зависимости от их текущего расположения относительно набегающего потока жидкости. Затем *подсистемой идентификации параметров водной среды* ИИУС точно определяются неизвестные параметры полученной регрессионной формы с помощью фильтра Калмана [24].

На четвертом этапе предлагаемого подхода, зная текущее расположение точек C и A (с использованием показаний СТЗ) в абсолютной СК, а также исходное расположение ММ в связанной СК $X_c Y_c Z_c$, осуществляется перевод РИ ММ из его исходного положения в точку A рабочей траектории (см. рис. 1). Для этого на входы *подсистемы управления электроприводами ММ* исполнительного уровня ИИУС подаются соответствующие управляющие сигналы, обеспечивая плавный перевод РИ ММ из исходного положения до касания ОР в точке A . Во время этого перевода, непрерывно в реальном масштабе времени решая обратную задачу динамики для ММ по известному рекуррентному алгоритму [9] с учетом ранее идентифицированных присоединенных масс и моментов инерции жидкости, определяются плавно изменяющиеся силовое и моментное воздействия на АНПА со стороны перемещающегося в вязкой среде ММ. Эти воздействия автоматически компенсируются *подсистемой стабилизации* ИИУС за счет плавного изменения тяг соответствующих двигателей P_i ($i = 1,6$) АНПА.

Оставшиеся неточности обработки двигателями смещений точки C АНПА от ее исходной позиции в пространстве и от горизонтального расположения осей X_c и Y_c , обусловленных силовыми и моментными воздействиями со стороны движущегося ММ, определяются и компенсируются указанной *подсистемой стабилизации* ИИУС при наличии дополнительной информации, получаемой от бортовой навигационной системы и от СТЗ АНПА, которая непрерывно фиксирует смещения его точки C относительно маркеров M_1 , M_2 и M_3 .

Установление контакта РИ с ОР в точке A выявляется тактильным датчиком, устанавливаемым в месте крепления РИ к последнему звену ММ, или иными известными средствами. После контакта РИ с ОР в начальной точке A на пятом этапе подхода осуществляется непосредственное выполнение заданной конкретной силовой технологической операции.

Но силовое движение ММ начинается так, чтобы оно не приводило к смещению АНПА от его исходной точки, поскольку его движители еще не раскручены и не прошли все их переходные процессы. Поэтому вначале, не изменяя текущую конфигурацию ММ, с помощью тяг движителей АНПА в точке A плавно задается исходный вектор силового воздействия F_T (рис. 1). Для этого *подсистемой позиционно-силового управления* исполнительного уровня ИИУС на входы соответствующих движителей АНПА скоординировано подаются программные сигналы, плавно и равномерно изменяющиеся в заданном временном интервале от нуля до их расчетных величин, которые в точке C АНПА формируют вектор F_T и момент M_T тяг, а в точке A при текущей конфигурации ММ – требуемые значения F_T и M_T . Величина указанного временного интервала зависит от величин F_T , M_T и динамических свойств движителей АНПА. Одновременно с подачей сигналов на движители АНПА в том же временном интервале путем типового решения обратной задачи динамики [22] на вход каждого следящего привода соответствующей степени подвижности ММ также равномерно во времени подаются соответствующие программные сигналы, которые, обеспечивая равномерные нарастания внешних моментных воздействий на выходах всех приводов, создают равномерное нарастание силовых и моментных воздействий F_T и M_T на ОР, не позволяя при этом ММ изменять свою исходную (в момент первого контакта его РИ с ОР) конфигурацию.

При этом сам АНПА, опирающийся на манипулятор сверху и представляющий собой неустойчивый перевернутый маятник, сохраняет свое устойчивое положение в пространстве (стабильные положение точки C и ориентацию осей X_c и Y_c) даже при некоторых погрешностях в определении создаваемых силовых и моментных воздействий. Это происходит вследствие создания незначительных дополнительных изменений тяг движителей АНПА, которые обеспечиваются *подсистемой стабилизации АНПА*, устраняя появление со временем даже малых линейных смещений точки C и ориентаций осей X_c и Y_c от их исходных позиций в абсолютной СК. Как уже было сказано ранее, эти малые смещения также определяются с помощью СТЗ и трех маркеров M_1 – M_3 .

Если РИ требуется сместить с заданными F_T и M_T (возможно переменными) по сформированной ранее траектории от точки A к точке B (см. рис. 1), то учитывается факт, что при движении РИ по поверхности ОР на него начинают действовать силы сухого трения и иные силы сопротивления. Для осуществления этого движения в *подсистеме формирования траекторий движения ММ* кроме желаемого вектора силы F_T учитываются и векторы всех указанных сил, определяемых экспериментально до начала рабочих миссий АНПА. В результате формируются уточненные векторы сил и моментов F_T и M_T , которые начинают использовать при переводе РИ из исходной точки A в очередную точку на траектории его движения. Для определения всех векторов при текущей конфигурации ММ по указанным ранее рекуррентным соотношениям [11] рассчитываются новые значения тяги всех движителей АНПА, а также формируются новые значения программных сигналов, подаваемых на все приводы ММ для создания внешних моментов на приводах всех его степеней подвижности.

Перед началом рабочего движения ММ в зависимости от выполняемой программы задается постоянная или переменная скорость перемещения конца его РИ по рабочей траектории от точки A до точки B с уже определенным (возможно переменным) силовым F_T и моментным M_T воздействием этого РИ на ОР. Сформированные для каждой степени подвижности ММ программные значения обобщенных координат, их скоростей и ускорений, а также внешних моментов подаются на входы *подсистемы позиционно-силового управления* [11] всеми электроприводами ММ, которые обеспечивают одновременную минимизацию ошибок как по положению выходного вала редуктора каждого электропривода ММ, так и по развиваемому внешнему моменту. Это обеспечивает точное движение РИ по траектории с его точным силовым воздействием на ОР.

Во время точного движения ММ по рабочей траектории определяются силовые и моментные воздействия, которые движущийся в водной среде ММ оказывает на АНПА в точке его крепления к последнему. Эти воздействия рассчитываются с помощью ранее указанного рекуррентного алгоритма решения обратной задачи динамики, но в этом алгоритме уже обязательно используют идентифицированные величины присоединенных масс и моментов инерции жидкости, а также моменты вязкого трения, возникающего при перемещениях

всех звеньев ММ в водной среде, моменты, обусловленные взаимовлияниями между всеми звеньями и степенями подвижности ММ, и значения векторов силы F_T и момента M_T .

Одновременно с движением РИ ММ по траектории обеспечивается не только описанная выше целевая компенсация воздействий со стороны ММ на АНПА с помощью его движителей, которая реально может быть и не совсем точной, но и используется дополнительная стабилизация положения и ориентации АНПА в абсолютной СК с помощью *подсистемы стабилизации АНПА*. Эта подсистема за счет введения с помощью СТЗ отрицательных обратных связей по всем его степеням свободы позволяет минимизировать все погрешности, а также неточности определения и отработки движителями АНПА реальных силовых и моментных воздействий на него со стороны ММ.

Заключение

В настоящей статье предложен новый обобщенный подход к выполнению подводных силовых технологических операций в полностью автоматическом режиме с помощью перспективных манипуляционных АНПА, а также многоуровневых ИИУС. Этот подход предполагает использование специального корпуса АНПА, обеспечивающего его высокую мобильность, остойчивость и удобное управление по всем шести степеням свободы, а также пассивную стабилизацию по вертикали при выполнении контактных операций с помощью многозвенных ММ.

Предложен новый метод идентификации масс и моментов инерции жидкости, присоединяемой к движущимся звеньям ММ, который позволяет формировать внешние моменты во всех сочленениях ММ, обеспечивающие точное силовое воздействие его РИ на объекты работ. Реализация этого воздействия обеспечивается с помощью специальной системы стабилизации положения и ориентации АНПА в заданной точке подводного пространства, а также текущими тягами его движителей с учетом текущей конфигурации ММ.

Детальные решения всех описанных в работе подзадач и их практическая реализация будут представлены в последующих публикациях авторов. Созданная теория обеспечит практическую реализацию АНПА с ММ, который в полностью автоматическом режиме его зависания в водной среде над или вблизи объектов работ с использованием различных СТЗ позволит с помощью РИ ММ выполнять различные реальные технологические операции в полностью неопределенной и непрерывно изменяющейся рабочей среде с препятствиями при наличии неизвестных по величине и направлению подводных течений.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Christ R.D., Wernli R.L. The ROV Manual. Elsevier, UK, 2013. 712 p.
2. Коноплин А.Ю., Денисов В.А., Даутова Т.Н., Кузнецов А.Л., Московцева А.В. Технология использования ТНПА для комплексного исследования глубоководных экосистем // Подводные исследования и робототехника. 2019. № 4 (30). С. 4–12.
3. Инзарцев А.В., Киселев Л.В., Костенко В.В., Матвиенко Ю.В., Павин А.М., Щербатюк А.Ф. Подводные робототехнические комплексы: системы, технологии, применение. Владивосток: ИПМТ ДВО РАН, 2018. 368 с.
4. Боровик А.И., Рыбакова Е.И., Галкин С.В., Михайлов Д.Н., Коноплин А.Ю. Опыт использования автономного необитаемого подводного аппарата «ММТ-3000» для исследований бентосных сообществ Антарктики // Океанология. 2022. Т. 62, № 5. С. 811–824.
5. Sahoo A., Dwivedy S.K., Robi P.S. Advancements in the field of autonomous underwater vehicle // Ocean Engineering. 2019. Vol. 181. P. 145–160.
6. Koval E.V. Automatic stabilization system of underwater manipulation robot // Proc. of OCEANS'94 OSATES Conf. Brest, France, 1994. Vol. 1. P. 807–812.
7. Ishitsuka M., Ishii K. Development of an underwater manipulator mounted for an AUV // Proc. of OCEANS2005 MTS/IEEE. Washington, USA, 2005. P. 1–6.

8. Cieslak P., Ridao P., Giergiel M. Autonomous underwater panel operation by GIRONA500 UVMS: A practical approach to autonomous underwater manipulation // Proc. of the 2015 IEEE International Conference on Robotics and Automation (ICRA). Seattle, Washington, 2015. P. 529–536.
9. Филаретов В. Ф., Юхимец Д. А. Особенности синтеза высокоточных систем управления скоростным движением и стабилизацией подводных аппаратов в пространстве / под. ред. В. Ф. Филаретова. Владивосток: Дальнаука, 2016. 400 с.
10. Filaretov V., Zuev A., Timoshenko A. A Method for Constructing Adaptive Control Systems for Electric Drives of an Underwater Multi-Link Manipulator // Proc. of the International Russian Automation Conference. Sochi, Russia, 2023. P. 1028–1033.
11. Филаретов В. Ф., Зуев А. В., Губанков А. С. Управление манипуляторами при выполнении различных технологических операций. М.: Наука, 2018. 232 с.
12. Antonelli G. Underwater Robots. Springer International Publishing Switzerland, 2014. 279 p.
13. Ribas D., Palomeras N., Ridao P., Carreras M., Mallios A. Girona 500 AUV: From Survey to Intervention // IEEE/ASME Transactions on Mechatronics. 2012. Vol. 17, N1. P. 46–53.
14. Ribas D., Ridao P., Turetta A., Melchiorri C., Palli G., Fernández J.J., Sanz P.J. I-AUV Mechatronics Integration for the TRIDENT FP7 Project // IEEE/ASME Transactions on Mechatronics. 2015. Vol. 20, N5. P. 2583–2592.
15. Yoshikawa T. Force control of robot manipulators // Proc. of the IEEE Int. Conf. on Robotics and Automation. San Francisco, 2000. P. 220–225.
16. Гориневский Д. М., Формальский А. М., Шнейдер А. Ю. Управление манипуляционными системами на основе информации об усилиях. М.: Наука, 1994. 350 с.
17. Barbalata C., Dunnigan M. W., Petillot Y. Position/force operational space control for underwater manipulation // Robotics and Autonomous Systems. 2018. Vol. 100. P. 150–159.
18. Dai P., Lu W., Le K., Liu D. Sliding Mode Impedance Control for contact intervention of an I-AUV: Simulation and experimental validation // Ocean Engineering. 2020. Vol. 196. P. 106855.
19. Филаретов В. Ф., Юхимец Д. А., Мурсалимов Э. Ш. Создание универсальной архитектуры распределенного программного обеспечения мехатронного объекта // Программная инженерия. 2012. № 7. С. 14–21.
20. Palomer A., Ridao P., Youakim D., Ribas D., Forest J., Petillot Y. 3D laser scanner for underwater manipulation // Sensors. 2018. Vol. 18, N4. P. 1086.
21. Yukhimets D., Popova O. Method of automatic formation of the underwater manipulator motion program based on noise three-dimensional models // Proc. of the International Conference on Ocean Studies. Vladivostok, Russia, 2023. P. 1–6.
22. Craig J.J. Introduction to robotics: mechanics and control. Prentice Hall, 2003. 450 p.
23. Жирабок А. Н., Ир К. Ч. Виртуальные датчики в задаче функционального диагностирования нелинейных систем // Известия Российской академии наук. Теория и системы управления. 2022. № 1. С. 67–75.
24. Ikonen E., Najim K. Advanced process identification and control. Marsel Dekker Inc., 2002.
25. Fossen T.I. Guidance and control of ocean vehicles: Doctors Thesis / University of Trondheim, Norway. Chichester, England: John Wiley and Sons, 1999. P. 32–47. ISBN0471941131.

REFERENCES

1. Christ R.D., Wernli R.L. The ROV Manual. Elsevier, UK; 2013.
2. Konoplin A. Yu., Denisov V.A., Dautova T.N., Kuznetsov A.L., Moskovtseva A. V. Tekhnologiya ispol'zovaniya TNPA dlya kompleksnogo issledovaniya glubokovodnykh ehkosistem = [The technology of using ROV for a comprehensive study of deep-sea ecosystems]. *Podvodnye Issledovaniya i Robototekhnika*. 2019;30(4):4–12. (In Russ.).
3. Inzartsev A. V., Kiselev L. V., Kostenko V. V., Matvienko Yu. V., Pavin A. M., Shcherbatyuk A. F. Podvodnye robototekhnicheskie komplekсы: sistemy, tekhnologii, primenenie. = [Underwater robotic complexes: systems, technologies, applications]. Vladivostok: IPMT DVO RAN; 2018. (In Russ.).
4. Borovik A. I., Rybakova E. I., Galkin S. V., Mikhailov D. N., Konoplin A. Yu. Opyt ispol'zovaniya avtonomnogo neobitaemogo podvodnogo apparata “MMT-3000” dlya issledovaniya bentosnykh soobshchestv Antarktiki = [The experience of using the MMT-3000 autonomous uninhabited underwater vehicle for research of benthic communities in Antarctica]. *Okeanologiya*. 2022;62(5):811–824. (In Russ.).

5. Sahoo A., Dwivedy S.K., Robi P.S. Advancements in the field of autonomous underwater vehicle. *Ocean Engineering*. 2019;181:145–160.
6. Koval E.V. Automatic stabilization system of underwater manipulation robot. *Proc. of OCEANS'94 OSATES Conf.* Brest, France; 1994. Vol. 1. P. 807–812.
7. Ishitsuka M., Ishii K. Development of an underwater manipulator mounted for an AUV. *Proc. of OCEANS2005 MTS/IEEE*. Washington, USA; 2005. P. 1–6.
8. Cieslak P., Ridao P., Giergiel M. Autonomous underwater panel operation by GIRONA500 UVMS: A practical approach to autonomous underwater manipulation. *Proc. of the 2015 IEEE International Conference on Robotics and Automation (ICRA)*. Seattle, Washington; 2015. P. 529–536.
9. Filaretov V.F., Yukhimets D.A. Osobennosti sinteza vysokotochnykh sistem upravleniya skorostnym dvizheniem i stabilizatsiei podvodnykh apparatov v prostranstve = [Features of the synthesis of high-precision control systems for high-speed movement and stabilization of underwater vehicles in space]. Vladivostok: Dalnauka; 2016. 400 p. (In Russ.).
10. Filaretov V., Zuev A., Timoshenko A. A Method for Constructing Adaptive Control Systems for Electric Drives of an Underwater Multi-Link Manipulator. *Proc. of the International Russian Automation Conference*. Sochi, Russia; 2023. P. 1028–1033.
11. Filaretov V.F., Zuev A.V., Gubankov A.S. Upravlenie manipulyatorami pri vypolnenii razlichnykh tekhnologicheskikh operatsii = [Manipulator control when performing various technological operations]. Moscow: Nauka; 2018. (In Russ.).
12. Antonelli G. Underwater Robots. *Springer International Publishing Switzerland*; 2014. 279 p.
13. Ribas D., Palomeras N., Ridao P., Carreras M., Mallios A. Girona 500 AUV: From Survey to Intervention. *IEEE/ASME Transactions on Mechatronics*. 2012;17(1):46–53.
14. Ribas D., Ridao P., Turetta A., Melchiorri C., Palli G., Fernández J.J., Sanz P.J. I-AUV Mechatronics Integration for the TRIDENT FP7 Project. *IEEE/ASME Transactions on Mechatronics*. 2015;20(5):2583–2592.
15. Yoshikawa T. Force control of robot manipulators. *Proc. of the IEEE Int. Conf. on Robotics and Automation*. San Francisco; 2000. P. 220–225.
16. Gorinevsky D.M., Formalsky A.M., Schneider A. Yu. Upravlenie manipulyatsionnymi sistemami na osnove informatsii ob usiliyakh = [Control of manipulation systems based on information about efforts]. Moscow: Nauka; 1994. 350 p. (In Russ.).
17. Barbalata C., Dunnigan M.W., Petillot Y. Position/force operational space control for underwater manipulation. *Robotics and Autonomous Systems*. 2018;100:150–159.
18. Dai P., Lu W., Le K., Liu D. Sliding Mode Impedance Control for contact intervention of an I-AUV: Simulation and experimental validation. *Ocean Engineering*. 2020;196:106855.
19. Filaretov V.F., Yukhimets D.A., Mursalimov E. Sh. Sozdanie universal'noi arkhitektury raspredelenного programmного obespecheniya mekhatronного ob'ekta = [Creation of a universal distributed software architecture for a mechatronic object]. *Programmnaya Inzheneriya*. 2012;(7):14–21. (In Russ.).
20. Palomer A., Ridao P., Youakim D., Ribas D., Forest J., Petillot Y. 3D laser scanner for underwater manipulation. *Sensors*. 2018;18(4):1086.
21. Yukhimets D., Popova O. Method of automatic formation of the underwater manipulator motion program based on noise three-dimensional models. *Proc. of the International Conference on Ocean Studies*. Vladivostok: Russia; 2023. P. 1–6.
22. Craig J.J. Introduction to robotics: mechanics and control. Prentice Hall; 2003.
23. Zhirabok A.N., Ir K. Ch. Virtual'nye datchiki v zadache funktsional'nogo diagnostirovaniya nelineynykh sistem = [Virtual sensors in the task of functional diagnostics of nonlinear systems]. *Izvestiya Rossiiskoi Akademii Nauk. Teoriya i Sistemy Upravleniya*. 2022;(1):67–75. (In Russ.).
24. Ikonen E., Najim K. Advanced process identification and control. Marsel Dekker Inc.; 2002.
25. Fossen T.I. Guidance and control of ocean vehicles. Norway, University of Trondheim. Chichester, England: Printed by John Wiley & Sons; 1994.

*Подписка на журнал «Вестник Дальневосточного отделения РАН»
принимается с любого номера Агентством подписки
и доставки периодических изданий Урал-Пресс (www.ural-press.ru).
Подписной индекс 70193 в Каталоге периодических изданий «Газеты и журналы»
Урал-Пресс.*

*Полнотекстовые варианты статей можно найти в Интернете:
<http://elibrary.ru/issues.asp?id=2774>, <http://journals.rcsi.science/0869-7698/issue/view/>*

Ответственные за номер: В.А. Стоник, Д.Л. Аминин
Над номером работали: В.С. Жердев, Л.А. Русова, Н.С. Мун, Г.А. Веренцова

Учредители
Федеральное государственное бюджетное
учреждение «Российская академия наук»
119991, г. Москва, Ленинский просп., д. 14
Федеральное государственное бюджетное
учреждение «Дальневосточное отделение
Российской академии наук»
690091, г. Владивосток, ул. Светланская, д. 50

Адрес редакции:
690091, Владивосток, ул. Светланская, 50, к. 51
Тел. +7(423)222-25-88
E-mail: vestnikdvo@hq.febras.ru
<http://www.vestnikdvo.ru>

Издатель
Федеральное государственное бюджетное
учреждение «Российская академия наук»
119991, Москва, Ленинский просп., д. 14
Исполнитель по контракту 4У-ЕП-039-24
ФГБУ «Издательство «Наука»
121099, г. Москва, Шубинский пер., д. 6, стр. 1.
Отпечатано в ФГБУ «Издательство «Наука»
121099, г. Москва, Шубинский пер., д. 6, стр. 1

Подписано к печати
Дата выхода в свет
Формат 70 × 108 1/16
Усл. печ. л.
Уч.-изд. л.
Тираж экз.
Заказ
Цена свободная

Свидетельство Роскомнадзора о регистрации ПИ № ФС 77-75560 от 12.04.2019 г.

Индекс 70173

ISSN 0869-7698



ISSN 0869-7698. Вестник Дальневосточного отделения Российской академии наук. 2024. № 3