

**Отзыв на автореферат диссертации Шахматова Евгения  
Геннадьевича "Строение пектина и углеводной части  
арабиногалактановых белков борщевика Сосновского  
(*Heracleum sosnowskyi* M.)".**

Пектины и арабиногалактановые белки — сложные компоненты клеточной стенки высших растений, они имеют нерегулярную и весьма переменчивую структуру. Представленная диссертация — работа по изучению структуры пектинов из отечественных растений. Борщевик Сосновского — крупное, весьма распространённое в Европейской России дикорастущее растение, перспективное для переработки и имеющее в своём составе биологически активные вещества, в том числе полисахариды, обладающие иммуномодулирующим действием. Диссертант выделил и охарактеризовал полисахариды из борщевика Сосновского, получив их дробной (фракционной) экстракцией и последующей ионообменной хроматографией. После определения углеводного состава и содержания белка фракции исследовали методами ЯМР (одномерные  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  ЯМР-спектры, двумерные корреляции COSY, HSQC, HMBC и ROESY). Некоторые фракции были подвергнуты частичному кислотному гидролизу и/или ферментативному расщеплению, а также деградации по Смитсу, с последующим изучением образовавшихся фрагментов вышеупомянутыми методами ЯМР. Независимое определение точек гликозилирования методами метилирования проведено не было (во всяком случае, в автореферате не упомянуто), что можно считать недостатком работы. В качестве достоинства работы можно признать многочисленные ссылки на недавние работы по структуре AGP и RG-1 из разнообразных источников и указание на уже известные структурные элементы. Автор установил основные последовательности углеводных звеньев (включая размер цикла и конфигурации гликозидных связей), входящих в AGP и пектины борщевика, что и представлено им в выводах диссертационной работы.

*Замечания и вопросы по существу работы.*

1. Стр. 4, табл. 1. Как определяли содержание углеводов и белка во фракциях? В автореферате не упомянуты методы анализа, а от того, какие методы применены, могут сильно зависеть результаты (см. замечание 2).

2. Там же и далее (таблицы 1—3). Суммирование данных процентного содержания компонентов во фракциях  $\text{HS}_w\text{-I}$ ,  $\text{HS}_w\text{-II}$ ,  $\text{HS}_w\text{-III}$ ,  $\text{HS}_o\text{-V}$ ,  $\text{HS}_w\text{-I}_2$ ,  $\text{HS}_A\text{-S}$ ,  $\text{HS}_A\text{-1}$  и  $\text{HS}_A\text{-2}$  даёт менее 85 % (для  $\text{HS}_A\text{-1}$  — только 64 %). Что представляет собой неучтённое вещество (вещества)? Если это неорганические соли — тогда какова зольность образцов? Как была оценена воспроизводимость результатов содержания углеводных компонентов и белка? То же замечание относится к табл. 5 (стр. 12) и табл. 6 (стр. 15).

3. Таблицы 1 (стр. 4), 2 (стр. 5) и 3 (стр. 8). Все фракции, указанные в таблицах 1 и 2 и половина из табл. 3 имеют в своём составе заметные количества глюкозы (Glc), ксилозы (Xyl) и маннозы (Man). Заметные, т.е. не

просто выше предела обнаружения, но сопоставимые в некоторых случаях с содержанием галактозы, арабинозы и рамнозы в тех же фракциях. Эти сахара, как правило, не упомянуты при обсуждении ЯМР-спектров (соискатель ими пренебрегает или упоминает вскользь) и, как следствие, их упоминания нет в выводах диссертации. Каковы основания для такого упрощённого подхода? — они тоже содержат те же самые магнитные ядра, и, как следствие, должны давать вклад в ЯМР-спектры. (Это особенно относится к обсуждению ЯМР-спектров фракции HS<sub>0</sub>-S2 на стр. 7—8, сами спектры в автореферате не приведены). Являются ли эти углеводы составными элементами изучаемых биополимеров — или привнесены за счёт примесных полисахаридов (глюканов, ксиланов, ксиломаннанов, гемицеллюлоз)? В частности, были ли попытки оценить загрязнённость фракций AGP и пектинов резервными глюканами? Появляется ли свободная глюкоза при воздействии специфических глюканаз (амилаз, целлюлаз и др.)? То же замечание относится к табл. 5 (стр. 12) и табл. 6 (стр. 15).

4. Стр. 5, табл. 2. При разделении фракции HS<sub>w</sub>-1 ионообменной хроматографией получено две фракции с суммарным выходом 55 %, причём в исходной фракции содержание белка было 8.5 %, а в обоих продуктах разделения — около 2 %. Как объяснить подобную потерю? Если это — необратимая адсорбция, то была ли попытка смыть оставшийся материал элюентом с большей ионной силой или иной природы?

5. Стр. 4, строка под табл. 1. Что означает фраза: "Фракция HS<sub>A</sub>-5 была испорчена"?

6. Стр. 12, табл. 5 и стр. 15, табл. 6. Как объяснить, что после ферментализации пектиназой полисахарида HS<sub>0</sub>-1 в составе продукта появляется фукоза (ср. со строкой 10 табл. 1)?

*Замечания и вопросы по форме автореферата диссертации.*

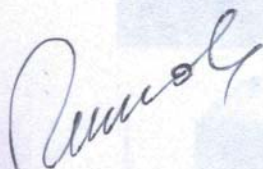
1. Стр. 4, табл. 1 и далее по тексту. Почему использовано обозначение GliA? Общепринятое обобщённое обозначение уроновых кислот — UA или HexpA.

2. Стр. 6, рис. 1 и другие рисунки, изображающие двумерные ЯМР-спектры. Не приведены расшифровки сокращённых обозначений.

3. Стр. 18, строка 7 сверху. "...методом ГХ получили..." Правильно: "...методом ГПХ выделили..."

Тем не менее, можно считать, что приведенные выше замечания не имеют принципиального характера.

Диссертационная работа **Шахматова Евгения Геннадьевича** по поставленным задачам, уровню их решения, актуальности и научной новизне удовлетворяет требованиям ВАК РФ, предъявляемым к кандидатским диссертациям (п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842), а её автор – **Шахматов Евгений Геннадьевич** заслуживает присуждения ученой степени кандидата химических наук по специальности **02.00.10 — биорганическая химия.**



Чижов Александр Олегович,  
кандидат химических наук,  
старший научный сотрудник

Почтовый адрес: 11991 Москва, Ленинский проспект, 47

Телефон: 8(499)137 7551

Адрес электронной почты: [chizhov@ioc.ac.ru](mailto:chizhov@ioc.ac.ru)

Наименование организации (полное/сокращенное): ФГБУН Институт органической химии (ИОХ) им. Н.Д. Зелинского РАН

Подпись Чижова Александра Олеговича заверяю

20.04.2017



Ученый секретарь  
кандидат химических наук  
Коршевец Ирина Константиновна