

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию

Шахматова Евгения Геннадьевича «Строение пектина и углеводной части арабиногалактановых белков борщевика Сосновского (*Heracleum sosnowskyi* M.)», представленную на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – биоорганическая химия

Полисахариды растений, грибов и микроорганизмов представляют собой очень интересный объект исследования биоорганической химии в связи с их широкой распространенностью, значительной вариабельностью состава и строения полисахаридных цепей, не до конца выясненной ролью в жизненном цикле организма и неизученным типом связи и/или способом взаимодействия с другими биополимерами клеток. Диссертационная работа Шахматова Е. Г. выполнена в области одного из разделов биоорганической химии – химии полисахаридов, и посвящена выделению и изучению строения пектина и углеводной части арабиногалактановых белков борщевика Сосновского (*H. sosnowskyi*).

Диссертация содержит следующие разделы: Введение, Обзор литературы, Обсуждение результатов, Экспериментальная часть, Заключение, Выводы, Список литературы.

Во Введении соискателем обоснован выбор объекта исследования – пектин и углеводная часть арабиногалактановых белков (AGP) борщевика Сосновского М., сформулирована цель работы и поставлены задачи, которые необходимо решить в ходе ее выполнения. Соискателем отражены научная новизна, практическая ценность и теоретическая значимость исследования.

Следует отметить хорошо написанный обзор литературы, где в сжатой форме, но, тем не менее, достаточно полно и глубоко приводятся последние данные о содержании и строении полисахаридов растений семейства зонтичных, к которому принадлежит борщевик Сосновского. В обзоре рассмотрены современные представления о строении пектиновых полисахаридов и AGP. В отдельном разделе обзора кратко описаны преимущества и недостатки основных химических и физикохимических методов установления строения полисахаридов, использованных в диссертационной работе. В заключении к обзору литературы дополнительно обосновывается выбор борщевика Сосновского как объекта для исследования его пектина и углеводной части AGP.

В экспериментальной части достаточно полно и корректно описаны методики, использованные в работе по изучению состава и строения пектина и углеводной части AGP борщевика Сосновского.

Раздел «Обсуждение результатов» представляет, в том числе, и сами результаты работы. В целом исследование по выделению, общей характеристике и установлению строения пектина и углеводной части AGP борщевика Сосновского хорошо спланировано. Для установления состава и строения образцов полисахаридов, полученных при последовательной экстракции сырья водой при нейтральных и слабокислых значениях pH, раствором оксалата аммония, растворами КОН и NaOH использованы современные и классические методы установления строения полисахаридов – ферментативный гидролиз, деградация по Смиту, ГЖХ и высокоэффективная жидкостная хроматография, спектроскопия ЯМР на протонах и ядрах углерода  $^{13}\text{C}$ .

На основании изучения углеводного состава и строения полисахаридов, экстрагируемых водой, сделан вывод о том, что при этой обработке в раствор переходят в основном пектиновые полисахариды и AGP. Наибольшее содержание пектиновых полисахаридов характерно для экстракции раствором оксалата аммония. Растворами щелочей экстрагируются в основном связующие гликаны. Следует отметить, что по данным таблиц 1-5 наибольшее содержание белка в экстрактах отмечается при обработке водными растворами щелочей. Однако, этот факт никак не обсуждается соискателем в диссертации.

Полученные высоко- и низкомолекулярные фрагменты полисахаридов были подвергнуты всестороннему изучению методом ЯМР, что дало возможность сделать выводы о типах связи моносахаридных звеньев и их конфигурации, точках ветвления, относительной длине линейных и разветвленных участков. Наиболее подробному изучению с использованием последовательного кислотного и ферментативного гидролиза были подвергнуты пектин-содержащие фракции. Необходимо отметить тщательность и полноту проведенного исследования с учетом имеющихся в распоряжении соискателя методов.

На основании проведенных исследований соискателю не удалось надежно идентифицировать точки возможного ковалентного присоединения углеводной части к белку в AGP. Не было также получено подтверждения литературным данным о возможном присоединении арабиногалактановых белков к полисахариду гликозидной связью через галактуроновую кислоту. Тем не менее, автором получены данные,

свидетельствующие в пользу ковалентной связи, по крайней мере, части пектина (RG-I) и полисахаридов (AG-II) AGP.

Автором изучен аминокислотный состав белковой части AGP. В спектрах ЯМР некоторых фрагментов полисахаридов идентифицированы сигналы, относящиеся к белковой части комплекса. С точки зрения структуры AGP интересным представлялось бы определение молярного соотношения пептидной и углеводной части комплекса.

Приведены данные о биологической активности растворов полисахаридов, полученных при экстракции борщевика Сосновского.

В результате проведенного исследования предложена схема строения пектина и углеводной части AGP *H. sosnowskyi*. Вопросы и замечания к этой части работы следующие:

Данные по связующим гликанам *H. sosnowskyi*. ограничиваются только изучением динамики их содержания в течение года и общей характеристикой химического состава. Несмотря на то, в этих экстрактах отмечается наибольшее содержание белка (табл. 1-5), автор не делает попыток изучить состав этих белков и тип связи с гликанами.

В работе не использован современный метод масс-спектрометрии. Интересно, возможно было бы получение какой-либо новой уникальной информации о строении арабиногалактановых белков с помощью этого метода? Возможно, применение методов ферментативного гидролиза белков в сочетании с методами фрагментации полисахаридов и масс-спектрометрией способствовало бы установлению типа ковалентной связи углеводной части и белка в AGP.

На основании литературных данных в диссертации сделано предположение о возможном участии феруловой кислоты в «сшивании» пектина и AGP борщевика Сосновского. Однако, несмотря на детальное изучение ЯМР-спектров фрагментов полисахаридов, автором не получено данных в пользу присутствия феруловой кислоты в образцах.

Перечисленные замечания не умаляют научной ценности проведенного исследования и вызваны, скорее, интересом рецензента к данной области исследований и пожеланиями дальнейшей работы в выбранной области.

Диссертация оформлена в соответствии с требованиями. Наличие незначительного количества опечаток и неудачных выражений не снижает уровня представления результатов.

Выводы диссертации полностью основаны на полученных результатах и не вызывают сомнений. Результаты научного исследования представленной диссертации

