

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

Доктора фармацевтических наук (14.04.03 Организация фармацевтического дела),
профессора, заведующего кафедрой промышленной технологии лекарств с курсом
биотехнологии федерального государственного бюджетного образовательного
учреждения высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая
академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Орловой Екатерины Владимировны

на диссертационную работу Савина Андрея Павловича на тему «Разработка
способов экстракции из клеток грамотрицательных бактерий липополисахаридов, их
детоксифицированных производных и получение из них детоксифицированных
липидов А», представленную в диссертационный совет ДСУ 208.002.03 при ФГАОУ

ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский
Университет) на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по
научным специальностям 1.5.6. Биотехнология,
3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

Актуальность темы исследования

В условиях нарастающей антибиотикорезистентности и расширения
глобальных программ вакцинации разработка адъювантных компонентов и их
субстанций является стратегически значимой задачей. Детоксифицированные
производные липополисахаридов — монофосфорилированный липид А и
детоксифицированный ЛПС *Shigella sonnei* — входят в состав зарегистрированных
вакцин, что определяет высокую востребованность методов их получения и
стандартизации.

Классические методы выделения ЛПС — водно-фенольная экстракция и метод
Galanos — несмотря на широкую применяемость, имеют существенные
ограничения: использование токсичных растворителей, сложность утилизации
отходов и ограниченные возможности внедрения в образовательный и
исследовательский процесс. Разработка безопасных водно-спиртовых альтернатив,

воспроизводимых в условиях учебной лаборатории, представляет несомненный научный и педагогический интерес.

Диссертационное исследование Савина А.П. вносит значимый вклад в развитие безопасных технологий получения вакцинных субстанций, обеспечивая при этом научно обоснованные подходы к их стандартизации. Тематика работы актуальна как для научно-производственной, так и для образовательной деятельности в области фармацевтической биотехнологии.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Положения диссертации обоснованы с применением широкого спектра современных физико-химических методов. Структура полученных продуктов на каждом этапе химической модификации подтверждена масс-спектрометрически (MALDI-TOF, ESI) и методом ЯМР (600 МГц). Количественный контроль примесей проведён валидированными методами Бредфорда и Спирина, а также методами эксклюзионной ВЭЖХ.

Все ключевые эксперименты воспроизведены не менее чем в трёх повторностях с корректной статистической обработкой результатов. Методики ВЭЖХ валидированы в полном объёме — по специфичности, линейности, прецизионности, правильности, робастности и пределам обнаружения/количественного определения — в соответствии с требованиями ГФ РФ XV издания и ФЕАЭС. Степень обоснованности научных положений диссертации следует признать высокой.

Достоверность и научная новизна исследования, полученных результатов

Достоверность результатов подтверждена: применением сертифицированного аналитического оборудования (Bruker, Beckman Coulter, Tosoh Bioscience, Thermo Scientific); воспроизводимостью данных в трёх повторностях; взаимным согласованием результатов, полученных независимыми методами (МС, ЯМР, ВЭЖХ).

Научная новизна работы определяется следующими оригинальными результатами: впервые показана возможность применения 50% водного пропанола и смеси бутанол–пропанол–вода для экстракции ЛПС из пяти штаммов грамотрицательных бактерий при сохранении структурных характеристик продукта; предложен принцип совмещения экстракции и детоксификации; установлены условия получения двух форм д-ЛА (триацильной и монофосфорилированной); для субстанции д-ЛПС *S. sonnei* разработаны показатели качества, аттестован стандартный образец и валидированы две методики ВЭЖХ.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Теоретическая значимость работы состоит в систематизации закономерностей поведения ЛПС в водно-спиртовых системах при изменении полярности экстрагента и температуры, а также в установлении зависимостей между параметрами щелочной детоксификации и степенью деацилирования липида А. Полученные данные дополняют научные представления о структурно-функциональных взаимосвязях в ряду ЛПС и его модифицированных производных.

Практическая значимость подтверждена внедрением результатов в учебный процесс Института фармации им. А.П. Нелюбина Сеченовского Университета и в производственный процесс ФГБУ «ГНЦ «Институт иммунологии» ФМБА России. Разработанная система стандартизации субстанции д-ЛПС *S. sonnei* — с валидированными методиками ВЭЖХ и аттестованным стандартным образцом — представляет собой готовый инструментарий для регуляторного сопровождения разработки вакцинных препаратов.

Соответствие диссертации паспорту специальности

Диссертационная работа соответствует паспорту научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия по пунктам 2 (разработка методов анализа и стандартизации лекарственных субстанций) и 3 (валидация аналитических

методик, разработка стандартных образцов) области исследования, а также паспорту специальности 1.5.6. Биотехнология по п. 25.

Полнота освещения результатов диссертации в печати

По теме диссертации опубликовано 5 работ, в том числе 2 статьи в изданиях, индексируемых в Scopus и Chemical Abstracts, 1 иная публикация, 1 патент Российской Федерации, 1 тезисы докладов на всероссийской конференции. Основные научные результаты нашли отражение в рецензируемых изданиях. Вместе с тем публикационный потенциал работы не исчерпан: отдельные аспекты, связанные со стандартизацией субстанции и разработкой стандартного образца, заслуживают самостоятельной публикации в профильных изданиях перечня ВАК.

Структура и содержание диссертации

Диссертация изложена на 147 страницах и имеет чёткую логическую структуру: введение, обзор литературы, экспериментальная часть, 4 главы результатов, заключение, выводы, практические рекомендации, перспективы дальнейшей разработки темы, список литературы (113 источников) и 7 приложений. Работа иллюстрирована 30 таблицами и 32 рисунками.

Обзор литературы (глава 1) охватывает современные подходы к экстракции, детоксификации и аналитической характеристике ЛПС, убедительно обосновывая необходимость разработки более безопасных методов. Экспериментальная часть (глава 2) содержит исчерпывающее описание объектов, реактивов, оборудования и методик, достаточное для воспроизведения описанных экспериментов.

Главы 3–5 последовательно раскрывают результаты по оптимизации экстракции, детоксификации и получению д-ЛА, придерживаясь единой схемы изложения: обоснование выбора условий — эксперимент — аналитическая верификация. Глава 6 завершает исследование разработкой системы стандартизации субстанции д-ЛПС *S. sonnei* и является наиболее значимой с фармакопейной точки зрения.

Диссертация производит впечатление завершённой, методически выверенной работы с хорошо аргументированными выводами.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Автореферат полностью отражает содержание диссертации: все ключевые результаты, выводы и практические рекомендации представлены в нём корректно и в достаточном объёме.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

Диссертационная работа Савина Андрея Павловича выполнена на высоком уровне. К несомненным достоинствам относятся: широкий охват объектов исследования (пять штаммов бактерий, включая значимые для отечественной вакцинопрофилактики виды); технологически обоснованное решение о совмещении стадий экстракции и детоксификации; полноценная система стандартизации, доведённая до уровня аттестованного стандартного образца; академичность и чёткость изложения.

Вместе с тем у официального оппонента возникли следующие вопросы:

1. В главе 4 при щелочной детоксификации ЛПС в демицеллирующих условиях используется дезоксихолат натрия, который в дальнейшем удаляется диализом. Как контролируется полнота удаления детергента из конечного продукта? Предусмотрен ли норматив на остаточное содержание дезоксихолата в разработанной спецификации субстанции д-ЛПС?
2. В главе 3 приведены данные о выходе ЛПС при использовании разных экстрагентов для пяти штаммов бактерий. Наблюдались ли существенные межштаммовые различия в выходе продукта при одних и тех же условиях экстракции? Если да, чем они объясняются — различиями в структуре ЛПС или особенностями клеточной стенки конкретных штаммов?
3. В разделе «Перспективы дальнейшей разработки темы» указывается на возможность применения разработанных методов для других видов бактерий.

Какие конкретные штаммы или виды, с точки зрения автора, являются наиболее перспективными следующими объектами исследования и почему именно они?

4. В работе встречаются повторы, неудачные выражения, орфографические ошибки.

Указанные вопросы носят уточняющий характер и не умаляют научной и практической значимости представленной работы.

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Савина Андрея Павловича на тему: «Разработка способов экстракции из клеток грамотрицательных бактерий липополисахаридов, их детоксифицированных производных и получение из них детоксифицированных липидов А», представленная на соискание учёной степени кандидата фармацевтических наук, является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи разработки безопасных технологических методов получения д-ЛПС и д-ЛА и создания системы их стандартизации, имеющей существенное значение для фармацевтической химии и биотехнологии, что соответствует требованиям п. 16 Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), утвержденного приказом ректора № 0692/Р от 06.06.2022 года (с изменениями, утвержденными: приказом №1179/Р от 29.08.2023г., приказом №0787/Р от 24.05.2024г., приказом №1085/Р от 10 июля 2025 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор Савин Андрей Павлович заслуживает присуждения искомой учёной степени по специальностям 1.5.6. Биотехнология и 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Официальный оппонент: доктор фармацевтических наук, профессор, ФГБОУ ВО
ПГФА Минздрава России, кафедра промышленной технологии лекарств с курсом
биотехнологии, заведующий кафедрой

« 31 » июля 2026 г.

Орлова Екатерина Владимировна

Подпись Орловой Екатерины Владимировны заверяю:

Начальник отдела кадров

Адрес: 614990, Пермский край, г. Пермь, ул. Екатерининская, д. 101

Тел. +7 (342) 233-55-01, e-mail: perm@pfa.ru

Рубцова Александра Владимировна

