

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Савина Андрея Павловича на тему: «Разработка способов экстракции из клеток грамотрицательных бактерий липополисахаридов, их детоксифицированных производных и получение из них детоксифицированных липидов А» на соискание учёной степени кандидата фармацевтических наук по специальностям 1.5.6. Биотехнология, 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

С позиции биотехнологии представленная работа Савина Андрея Павловича представляет значительный интерес, поскольку посвящена последовательному получению и характеристике биологически активных компонентов грамотрицательных бактерий — липополисахаридов, их детоксифицированных производных и липидов А. Практическое использование таких объектов требует не только подтверждения их структуры и свойств, но и разработки воспроизводимых способов выделения из бактериальной биомассы, очистки и направленной модификации. В этой связи выбранное направление исследования является актуальным как для фундаментальной биотехнологии, так и для создания перспективных компонентов вакцинных и адъювантных препаратов.

Отдельно следует отметить выбор широкого набора бактериальных объектов исследования. Разработанные подходы апробированы на клеточной массе *E. coli* O157, *E. coli* M-17, *Shigella sonnei*, *Shigella boydii* 6. Для биотехнологической разработки это принципиально важно, поскольку липополисахариды различных продуцентов существенно отличаются по строению углеводной части, молекулярно-массовому распределению и физико-химическим свойствам. Проведение исследований на нескольких штаммах позволило оценить применимость предложенных способов не только для одного модельного объекта и продемонстрировать зависимость эффективности процесса от особенностей конкретного бактериального продуцента.

Значимым результатом является разработка водно-спиртовых способов экстракции ЛПС с использованием смеси бутанол–пропанол–вода и 50% водного пропанола. Предложенные варианты сопоставлены с традиционной водно-фенольной экстракцией по выходу целевого продукта и содержанию белковых и нуклеиновых примесей. При этом сохранность основных структурных признаков выделенных ЛПС подтверждена независимыми физико-химическими методами. Замена горячего фенола водно-спиртовыми системами представляет интерес с точки зрения повышения технологичности и безопасности процесса, а полученные автором данные формируют основу для дальнейшего масштабирования разработанных подходов.

Логичным продолжением работы стало исследование процессов детоксификации. Автором оптимизированы условия щелочной обработки ЛПС в демицеллирующей среде, изучена возможность ускоренной обработки водным аммиаком и предложен вариант совмещения стадий экстракции и детоксификации. С биотехнологической точки зрения объединение нескольких операций в единой технологической схеме заслуживает положительной оценки, поскольку позволяет сокращать число промежуточных стадий и упрощать получение целевого продукта. Существенно и то, что результат модификации

контролировался на уровне структуры липида А, что подтверждает направленный характер проводимых превращений.

Самостоятельную ценность имеют результаты, связанные с получением детоксифицированных липидов А. Обоснованы условия мягкого кислотного гидролиза предварительно деацилированного д-ЛПС для получения преимущественно триацильного дифосфорилированного липида А и жесткого кислотного гидролиза ЛПС для получения монофосфорилированного липида А. Дополнительно показана возможность применения 95% этанола для удаления примесей фосфолипидов из бактериальной клеточной массы и субстанций ЛПС. Таким образом, в работе рассмотрена практически полная последовательность операций — от обработки исходной биомассы до получения и очистки целевых детоксифицированных производных.

Важным достоинством диссертации является современное аналитическое сопровождение биотехнологических процессов. Для подтверждения состава и структуры продуктов использованы масс-спектрометрия, ¹H-ЯМР-спектроскопия и эксклюзионная ВЭЖХ; содержание белков и нуклеиновых кислот контролировали методами Бредфорда и Спирина. Для гетерогенных объектов микробного происхождения сочетание технологической разработки с многоуровневым контролем состава особенно существенно. Разработанные для низкомолекулярного д-ЛПС *Shigella sonnei* показатели качества, стандартный образец и валидированные ВЭЖХ-методики демонстрируют переход от получения лабораторных образцов к формированию воспроизводимой системы контроля биотехнологического продукта.

Научная новизна работы определяется разработкой новых водно-спиртовых вариантов экстракции липополисахаридов, установлением условий их направленной детоксификации и получения различных форм детоксифицированного липида А, а также обоснованием подходов к стандартизации низкомолекулярного д-ЛПС. Практическая значимость подтверждается внедрением результатов в учебный процесс Института фармации им. А.П. Нелюбина Сеченовского Университета и в производственный процесс ФГБУ «ГНЦ «Институт иммунологии» ФМБА России. Результаты исследования представлены в научных публикациях и защищены патентом Российской Федерации. Автореферат последовательно отражает логику диссертационного исследования, содержит сведения об актуальности, новизне, практической значимости и основных результатах работы. Материал изложен грамотным научным языком. Особо следует подчеркнуть соответствие значительной части полученных результатов научной специальности 1.5.6. Биотехнология, поскольку работа непосредственно связана с использованием бактериальных объектов, разработкой процессов выделения и модификации их компонентов и формированием технологически воспроизводимых подходов к получению целевых биопродуктов.

Таким образом, диссертационная работа Савина Андрея Павловича «Разработка способов экстракции из клеток грамотрицательных бактерий липополисахаридов, их детоксифицированных производных и получение из них детоксифицированных липидов А», представленная на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук, является законченной научно-квалификационной работой и полностью 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 ее автор Савин Андрей Павлович заслуживает присуждения искомой ученой степени по специальностям 1.5.6. Биотехнология и 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Рецензент:

Руководитель исследовательского центра биологии бактериофагов Федерального бюджетного учреждения науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (125212, Российская Федерация, г. Москва, ул. Адмирала Макарова, д. 10, тел.: +7 (916) 294-42-92, email: vorobiev@gabrich.ru),

кандидат биологических наук

Воробьев Алексей Максимович

«18» сентября 2026 г.

Подпись кандидата биологических наук Воробьева А.М. удостоверяю:

Ученый секретарь Федерального бюджетного учреждения науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Российская Федерация, г. Москва, ул. Адмирала Макарова, д. 10, тел.: +7 (495) 452-18-16, email: info@gabrich.ru),

кандидат биологических наук

Гудова Наталия Владимировна



«18» сентября 2026 г.

Федеральное бюджетное учреждение науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

Тел.: +7 (495) 452-18-16

Адрес: Российская Федерация, г. Москва, ул. Адмирала Макарова, д. 10

e-mail: info@gabrich.ru