

Получение твердых лекарственных форм препаратов иммуноглобулиновой природы

Е. Г. Абрамова^{1,2}, А. В. Комиссаров^{1,*}, Н. В. Синицына¹, И. М. Жулидов¹, А. К. Никифоров^{1,2}

¹ Федеральное казенное учреждение здравоохранения

«Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб»
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека,
ул. Университетская, д. 46, г. Саратов, 410005, Российская Федерация

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования

«Саратовский государственный аграрный университет им. Н. И. Вавилова»,
Театральная пл., д. 1, г. Саратов, 410012, Российская Федерация

На данный момент отсутствуют научные издания, посвященные технологическим вопросам производства твердых лекарственных форм препаратов иммуноглобулиновой природы. Цель работы — обзор отечественной и зарубежной литературы, посвященной вопросам получения твердых лекарственных форм препаратов иммуноглобулиновой природы, а также представление результатов собственных исследований по этому вопросу. Проанализированы сведения Государственного реестра лекарственных средств в Российской Федерации по состоянию на середину 2021 г. о зарегистрированных препаратах с группировочным наименованием — глобулин в твердой лекарственной форме, дана их характеристика. Рассмотрены данные о качественном и количественном составе вспомогательных веществ, используемых при лиофилизации, получении таблеток и капсул. На ряде примеров показано влияние технологических параметров процессов получения твердых лекарственных форм препаратов иммуноглобулиновой природы на качество препаратов. Подтверждено, что получение препаратов иммуноглобулиновой природы в твердой форме предотвращает агрегацию и фрагментацию белков в процессе хранения, негативно влияющих на специфическую активность препарата, а также способствует более длительному сохранению целевых характеристик в сравнении с жидкими иммуноглобулинами. Результаты проведенного анализа могут быть положены в основу при создании технологии изготовления твердых форм препаратов иммуноглобулиновой природы.

Ключевые слова: лекарственные препараты иммуноглобулиновой природы; лиофилизация; таблетки; капсулы; вспомогательные вещества; технологические параметры

Для цитирования: Абрамова ЕГ, Комиссаров АВ, Синицына НВ, Жулидов ИМ, Никифоров АК. Получение твердых лекарственных форм препаратов иммуноглобулиновой природы. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2021;21(4):244–255. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2021-21-4-244-255>

*** Контактное лицо:** Комиссаров Александр Владимирович; Komissarov-9@yandex.ru

Production of solid dosage forms of immunoglobulin products

Е. Г. Abramova^{1,2}, А. В. Komissarov^{1,*}, Н. В. Sinitsyna¹, И. М. Zhulidov¹, А. К. Nikiforov^{1,2}

¹ Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”,

46 Universitetskaya St., Saratov 410005, Russian Federation

² Saratov State Vavilov Agrarian University,

1 Teatralnaya Sq., Saratov 410012, Russian Federation

At the moment, there are no scientific publications devoted to the technological aspects of production of immunoglobulin solid dosage forms. The aim of the study was to review Russian and foreign literature on production of immunoglobulin solid dosage forms, and present the results of the authors' own research. The authors analysed data of the National Register of Medicines of the Russian Federation as of mid-2021 on the authorised medicines with a generic name 'globulin in a solid dosage form', and summarised their characteristics. They reviewed data on the qualitative and quantitative composition of excipients used in lyophilisation, preparation of tablets and capsules. A number of examples were used to illustrate the effect of technological parameters of immunoglobulin solid form production on the quality of the finished products. It was demonstrated that the production of solid forms of immunoglobulin products prevents aggregation and fragmentation of proteins during storage, which affect the product's specific activity, and also help to preserve the product's target characteristics for a longer period of time as compared to liquid dosage forms of immunoglobulins. The results of the study may be used as a basis for development of a manufacturing technology for solid forms of immunoglobulin products.

Key words: immunoglobulin products; lyophilisation; tablets; capsules; excipients; technological parameters

For citation: Abramova EG, Komissarov AV, Sinitsyna NV, Zhulidov IM, Nikiforov AK. Production of solid dosage forms of immunoglobulin products. *BIOpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie* = *BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2021;21(4):244–255. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2021-21-4-244-255>

*** Corresponding author:** Aleksandr V. Komissarov; Komissarov-9@yandex.ru

Жидкая форма иммунобиологических лекарственных препаратов считается наиболее экономичной и удобной для потребителей, однако лечебным иммуноглобулинам (ИГ) в жидком виде присущи значительные минусы, к которым можно отнести более низкую стабильность, потенциальное уменьшение лечебных свойств в процессе долгосрочного хранения, а также вероятность возникновения агрегатов и фрагментов [1, 2].

Помимо сохранения неизменности молекулярных характеристик, а также лечебно-профилактических свойств ИГ их сухая форма сводит к минимуму появление агрегации и фрагментации белков, оказывающих отрицательное воздействие на лечебные свойства. Появление агрегатов в растворах ИГ может привести к аллергическим проявлениям у пациента в ответ на инъекцию [1, 2], провоцирует формирование труднорастворимых высокомолекулярных комплексов, приводящих к активации комплекса защитных белков крови пациента [3]. Не исключено, что явление молекулярной агрегации растворов ИГ возникает, если стекло ампул или флаконов обладает высоким отрицательным зарядом [4–6]. Присутствие в ИГ следов спирта, применяемого в технологии производства препаратов, также может привести к агрегации белков [7]. Выявлено, что окислительная деградация липидов, обусловленная присутствием в лекарственной форме лабильных липопротеинов и прооксидантов (металлов переменной валентности, гемопротеинов), может приводить к агрегации белковых молекул ИГ [8]. Продукты окисления липидов, вступая во взаимодействие с молекулами ИГ, вызывают агрегацию белков. Устойчивость белковых растворов снижается за счет образования дисульфидных связей между молекулами белка и липидами. Есть мнение, что агрегации ИГ, снижающей эффективность иммунологических реакций, может способствовать высокая концентрация белка в жидких формах ИГ [9–14].

Фрагментация, как и агрегация, является следствием неустойчивости жидкой формы ИГ и может способствовать снижению нейтрализующей активности антител и повышенному клиренсу ИГ [15]. ИГ, изолированные из сыворотки крови, могут содержать в своем составе небольшое количество сывороточных протеаз типа фибринолизина и тканевых катепсинов, которые в процессе хранения ИГ жидкой формы способны вызывать расщепление иммуноглобулина с образованием низкомолекулярных фрагментов [16, 17].

Стабильность ИГ можно повысить при снижении концентрации липопротеинов и применении антиоксидантов, ингибирующих свободные радикалы [16, 17], однако лучшим способом достижения стабильности качественных показателей иммуноглобулиновых препаратов в процессе длительного хранения является лиофилизация [18–21].

Цель работы — обзор отечественной и зарубежной литературы, посвященной вопросам получения твердых лекарственных форм препаратов иммуноглобулиновой природы, а также изложение результатов собственных исследований по этому вопросу.

Согласно данным Государственного реестра лекарственных средств в Российской Федерации¹ (по состоянию на середину 2021 г.), зарегистрированы более 60 наименований с группировочным наименованием — иммуноглобулин. При этом в твердой лекарственной форме представлены 8 наименований ИГ, выпускаемых различными производителями (табл. 1).

Следует отметить, что практически все твердые лекарственные формы ИГ производятся как лиофилизаты во флаконах. Обращает на себя внимание разнообразие вспомогательных веществ, применяемых при лиофилизации, или даже

их отсутствие, как в случае Лактоглобулина против условно-патогенных бактерий и сальмонелл коровьего, Лактоглобулина противополипротейного коровьего, выпускаемых ФБУН «РостовНИИМП» Роспотребнадзора. Отсутствие вспомогательных веществ в последних двух препаратах, на наш взгляд, объясняется наличием в самом препарате веществ (по всей видимости, белков молозива коров), позволяющих избежать денатурирующего действия на ИГ в процессе лиофилизации. Все другие перечисленные ИГ получают из плазмы крови человека или кроликов, и в них присутствуют вспомогательные вещества. При этом следует отметить, что наиболее часто используемой в качестве компонента среды высушивания является аминокислота глицин, которая применяется для стабилизации свойств жидких форм ИГ.

Первоначально был проведен анализ данных литературы о технологических аспектах производства твердых лекарственных форм ИГ, зарегистрированных в России. К сожалению, в доступных источниках имеются сведения лишь о двух препаратах: Иммуновенин («НПО «Микроген») и КИП (АО «Иммуно-Гем»).

Технологические особенности получения твердой формы препарата Иммуновенин®

В статье сотрудников «НПО «Микроген» описаны технологические приемы получения препарата Иммуновенин® во флаконах вместимостью 50 мл для приготовления раствора для инфузий, а также исследования по оптимизации производственного процесса сушки [22].

Индустриальный способ его сублимационной сушки в количестве 800 флаконов за один цикл включал до начала лиофилизации заблаговременное замораживание до температуры минус 40 °С с выдерживанием при данной температуре в течение 10 ч и последующую лиофилизацию в установке ТГ-50 (ГДР) в течение (85±7) ч. Температуру греющих плит в течение 10 ч поднимали до 10 °С, выдерживали при данной температуре в течение 25 ч, далее температуру поднимали до 25 °С и оставляли ее неизменной до окончания сушки. Температура препарата от начала процесса к 55 ч повышалась от минус 40 до минус 25 °С, далее к 65 ч — до 20 °С, к 75 ч была достигнута температура 25 °С, после чего препарат выдерживали при данной температуре 10 ч. Вакуум в камере поддерживали на уровне 10–15 Па.

Необходимость проведения исследований по совершенствованию технологии лиофилизации была вызвана потребностью увеличения количества первичных упаковок препарата, получаемых за один цикл сушки, с 800 до 1600 флаконов. Для достижения поставленной задачи были вычислены необходимые габариты и произведены оригинальные поддоны, что позволило задействовать неиспользуемые площади продуктового отсека сушильной установки, а также предложена новая схема лиофильной сушки, при этом показано, что снижение теплоподвода к материалу в период постоянной скорости сушки и удлинение периода десорбции при температуре ниже эвтектической снижают риск повреждения препарата во время лиофилизации [22]. Было выявлено, что увеличение объема загрузки в 2 раза (до 1600 флаконов) приводит к повышению нагрузки на вакуумные насосы. Однако производительность вакуумного насоса и конденсатора ограничена, а повышение рабочего давления в камере сопровождается повышением температуры материала, которая может стать выше эвтектической, что приведет к карамелизации материала.

¹ <https://grls.rosminzdrav.ru>

Таблица 1. Сведения об иммуноглобулинах в твердой лекарственной форме, зарегистрированных в Российской Федерации²
Table 1. The solid dosage forms of immunoglobulins authorised in the Russian Federation²

Наименование препарата Name	Лекарственная форма Dosage form	Состав Composition	Производитель Manufacturer	Условия хранения Storage conditions
Иммуноглобулиновый комплексный препарат для энтерального применения (КИП) (глобулин) Immunoglobulin complex preparation for enteral use (CIP) (globulin)	Лиофилизат для приготовления раствора для приема внутрь (во флаконах) Lyophilisate for oral solution (vials)	Состав (на 1 дозу): действующее вещество: белки плазмы крови человека, из которых ИГ классов IgG, IgA, IgM не менее 97% — 300 мг; вспомогательные вещества: глицин — 150 мг Composition (for 1 dose): active substance: human blood plasma proteins, of which IgG, IgA, IgM classes account for not less than 97%—300 mg; excipients: glycine—150 mg	АО «НПО «Микроген» (Россия) JSC “NPO Microgen” (Russia)	При температуре от 2 до 8 °С At 2 °C to 8 °C
Иммуноглобулиновый комплексный препарат для энтерального применения (КИП) (глобулин) Immunoglobulin complex preparation for enteral use (CIP) (globulin)	Лиофилизат для приготовления раствора для приема внутрь (во флаконах) Lyophilisate for oral solution (vials)	Состав (на 1 дозу): действующее вещество: белки плазмы крови человека, из которых ИГ классов IgG, IgA, IgM не менее 97% — 300 мг; вспомогательные вещества: глицин — 100 мг Composition (for 1 dose): active substance: human blood plasma proteins, of which IgG, IgA, IgM classes account for not less than 97%—300 mg; excipients: glycine—100 mg	АО «Иммуно-Гем» (Россия) JSC “Immuno-Gem” (Russia)	При температуре от 2 до 8 °С At 2 °C to 8 °C
Иммуноглобулиновый комплексный препарат для энтерального применения (КИП) (глобулин) Immunoglobulin complex preparation for enteral use (CIP) (globulin)	Лиофилизат для приготовления раствора для приема внутрь (во флаконах) Lyophilisate for oral solution (vials)	Состав (на 1 дозу): действующее вещество: белки плазмы крови человека, из которых ИГ классов IgG, IgA, IgM не менее 97% — 300 мг; вспомогательные вещества: глицин — 100 мг Composition (for 1 dose): active substance: human blood plasma proteins, of which IgG, IgA, IgM classes account for not less than 97%—300 mg; excipients: glycine—100 mg	ООО «Инновационный центр биотехнологий» (Россия) ООО “Innovation Centre of Biotechnologies” (Russia)	При температуре от 2 до 8 °С At 2 °C to 8 °C
Лактоглобулин против условно-патогенных бактерий и сальмонелл коровий (глобулин) Lactoglobulin against opportunistic bacteria and Salmonella, bovine (globulin)	Лиофилизат для приготовления раствора для приема внутрь (в пенициллиновых флаконах по 1 (2) дозе) Lyophilisate for oral solution (1 (2) dose(s) in serum vials)	Состав (на 1 дозу): действующее вещество: иммунные глобулины молока коров, содержащие антитела к сальмонеллам группы В (<i>Salmonella typhimurium</i>), сальмонеллам группы Д (<i>S. enteritidis</i> и <i>S. dublin</i>), протею (<i>Proteus mirabilis</i> и <i>P. vulgaris</i>), клебсиелле (<i>Klebsiella pneumoniae</i>) и псевдомонас (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>) — 0,5 (1,0) г; вспомогательные вещества: отсутствуют Composition (for 1 dose): active substance: bovine colostrum immunoglobulins containing antibodies to <i>Salmonella</i> group B (<i>Salmonella typhimurium</i>), <i>Salmonella</i> group D (<i>Salmonella enteritidis</i> and <i>S. dublin</i>), <i>Proteus</i> (<i>P. mirabilis</i> and <i>P. vulgaris</i>), <i>Klebsiella</i> (<i>K. pneumoniae</i>) and <i>Pseudomonas</i> (<i>P. aeruginosa</i>)—0.5 (1.0) g; excipients: none	ФБУН «РостовНИИМП» Роспотребнадзора (Россия) Federal State Budgetary Institution “Rostov Research Centre of Microbiology and Parasitology” of Rosпотребнадзор (Russia)	При температуре от 2 до 10 °С At 2 °C to 10 °C
Лактоглобулин противоколипротейный коровий (глобулин) Lactoglobulin against coli-proteus, bovine (globulin)	Лиофилизат для приготовления раствора для приема внутрь (в пенициллиновых флаконах по 1 (2) дозе) Lyophilisate for oral solution (1 (2) dose(s) in serum vials)	Состав (на 1 (2) дозу): действующее вещество: иммунные глобулины молока коров, содержащие антитела к <i>Escherichia coli</i> серогрупп 026, 025, 0111, 0119, <i>Proteus vulgaris</i> серогруппы 043 и <i>P. mirabilis</i> серогруппы 035 — 0,5 (1,0) г; вспомогательные вещества: отсутствуют Composition (for 1 (2) dose(s)): active substance: bovine colostrum immunoglobulins containing antibodies to <i>Escherichia coli</i> serogroups 026, 025, 0111, 0119, <i>Proteus vulgaris</i> serogroup 043 and <i>P. mirabilis</i> serogroup 035—0.5 (1.0) g; excipients: none	ФБУН «РостовНИИМП» Роспотребнадзора (Россия) Federal State Budgetary Institution “Rostov Research Centre of Microbiology and Parasitology” of Rosпотребнадзор (Russia)	При температуре от 2 до 10 °С At 2 °C to 10 °C

² Там же.

Продолжение таблицы 1
Table 1 (continued)

Наименование препарата Name	Лекарственная форма Dosage form	Состав Composition	Производитель Manufacturer	Условия хранения Storage conditions
Иммуноро Кедрион (глобулин) Immunorho Kedrion (globulin)	Лиофилизат для приготовления раствора для внутримышечного введения (во флаконах) Lyophilisate for solution for intramuscular injection (vials)	Состав (на 1 мл восстановленного препарата): действующее вещество: белки человеческой плазмы, содержащие не менее 90% ИГ (25–180 мг), в том числе ИГ человека антирезус (Rho(D) — 150 мг (750 МЕ); вспомогательные вещества: глицин — 22,5 мг, натрия хлорид — 9,0 мг Composition (per 1 mL of the reconstituted product): active substance: human plasma proteins containing at least 90% Ig (25–180 mg), including Immunoglobulin human antirhesus (Rho (D)—150 mg (750 IU); excipients: glycine—22.5 mg, sodium chloride—9.0 mg	«Кедрион С.п.А.» (Италия) Kedrion, S.p.a. (Italy)	При температуре не выше 25 °C At a temperature not exceeding 25 °C
Иммуновенин (глобулин) Immunovenin (globulin)	Лиофилизат для приготовления раствора для инфузий (во флаконах) Lyophilisate for solution for infusions (vials)	Состав (на 25 мл восстановленного препарата): действующее вещество: ИГ человека класса G — 1,25 г (750 МЕ); вспомогательные вещества: мальтоза моногидрат — 0,35 г, декстроза моногидрат — 0,35 г, глицин — 0,2 г Composition (per 25 mL of the reconstituted product): active substance: human IgG—1.25 g (750 IU); excipients: maltose monohydrate—0.35 g, dextrose monohydrate—0.35 g, glycine—0.2 g	«НПО «Микроген» (Россия) JSC «NPO Microgen» (Russia)	При температуре от 2 до 8 °C At 2 °C to 8 °C
Габриглобин (глобулин) Gabriglobin (globulin)	Лиофилизат для приготовления раствора для инфузий (во флаконах по 2,5 г вместимостью 100 мл) Lyophilisate for solution for infusions (2.5 g in a 100 mL vial)	Состав: действующее вещество: ИГ человека класса G; вспомогательные вещества: мальтоза Composition: active substance: human IgG; excipients: maltose	ГУЗ «Ивановская областная станция переливания крови» (Россия) National Healthcare Institution "Ivanovo Regional Blood Transfusion Station" (Russia)	При температуре от 2 до 10 °C At 2 °C to 10 °C
Антилимфолин (иммунодепрессивное средство — глобулин) Antilimfolin (immunosuppressive agent — globulin)	Лиофилизат для приготовления раствора для инфузий (в ампулах) Lyophilisate for solution for infusions (ampoules)	Состав (на 1 ампулу): действующее вещество: ИГ антиtimoцитарный (кроличий) класса G — 50 или 100 мг; вспомогательные вещества: глицин — 2,25% Composition (per 1 ampoule): active substance: (rabbit) anti-thymocyte globulin class G—50 or 100 mg; excipients: glycine—2.25%	«Российский геронтологический научно-клинический центр» (Россия) Russian Clinical and Research Center of Gerontology (Russia)	При температуре от 5 до 15 °C At 5 °C to 15 °C
Тимоглобулин (иммунодепрессивное средство — глобулин) Thymoglobulin (immunosuppressive agent — globulin)	Лиофилизат для приготовления раствора для инфузий (во флаконах по 135 мг вместимостью 10 мл) Lyophilisate for solution for infusions (135 mg in a 10 mL vial)	Состав (на 1 флакон): ИГ антиtimoцитарный (кроличий) класса G — 25 мг; вспомогательные вещества: глицин — 50 мг; натрия хлорид — 10 мг; маннитол — 50 мг Composition (per 1 vial): (rabbit) anti-thymocyte globulin class G—25 mg; excipients: glycine—50 mg; sodium chloride—10 mg; mannitol—50 mg	«Джензайм Ирландия Лимитед» (Ирландия) Genzyme Ireland Limited (Ireland)	При температуре от 2 до 8 °C At 2 °C to 8 °C

Примечание. ИГ — иммуноглобулины.
Note. Ig—immunoglobulins.

Для предотвращения этого рабочее давление регулировали снижением мощности теплоподвода [22].

Оптимизированная технология лиофилизации препарата Иммуновенин® предусматривала его предварительное замораживание до температуры минус 40 °С с выдерживанием при данной температуре в течение 10 ч и последующую лиофилизацию в установке ТГ-50 (ГДР) в течение (85±7) ч [23]. Температуру греющих плит в течение 10 ч поднимали до 10 °С, выдерживали при данной температуре в течение 45 ч, далее температуру поднимали до 25 °С и оставляли ее неизменной до окончания сушки. Температура препарата от начала процесса к 55 ч повышалась от минус 40 до минус 25 °С, далее к 65 ч — до 20 °С, к 75 ч — до 25 °С, после чего препарат выдерживали при данной температуре 10 ч. Вакуум в камере поддерживали на уровне 10–15 Па. Кроме того, исследователями показано, что сушка протекает дольше всего во флаконах, расположенных в центре полок установки.

Технологические особенности получения твердой формы комплексного иммуноглобулинового препарата для парентерального применения

А.В. Мелиховой был выделен ряд недостатков иммуноглобулинового комплексного препарата для энтерального применения (КИП) и технологии его приготовления³.

1. Выпускается в единственной лекарственной форме в виде сухой субстанции в стеклянных флаконах. Отмечено, что более перспективной лекарственной формой являются таблетки и капсулы, которые имеют ряд преимуществ: удобство применения, хранения и транспортировки; маскировка специфического вкуса сывороточных белков; возможность защиты от действия неблагоприятных факторов желудочно-кишечного тракта.

2. Сублимационное обезвоживание препарата в стеклянных флаконах чрезмерно продолжительно (до 2 сут) и не предусматривает возможности получения сухой субстанции КИП в количествах, необходимых для производства твердых дозированных форм (таблетки, капсулы)⁴.

Устранению названных недостатков был посвящен комплекс работ, проводимых в ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора и обобщенных в диссертации А.В. Мелиховой⁵. Один из этапов исследований был посвящен изучению влияния стабилизаторов на физико-химические и биологические свойства КИП при сублимационном обезвоживании. КИП с концентрацией белка 5–6% стабилизировали введением защитных веществ в количестве 1–2% и корректировали значение pH до 7,0. В качестве защитных веществ были использованы: сахароза в конечной концентрации 2%, мальтоза — 2%, смесь: глицин — 1% и глюкоза — 2%. Раствор разливали во флаконы по 5 мл (высота слоя 12 мм) или в поддоны (лотки) из нержавеющей стали (высота слоя 7–15 мм) и помещали в сублиматор на замораживающую плиту или в морозильник при температуре минус 45–50 °С. После полного замораживания осуществляли процесс высушивания в установке LZ-9.2 Frigera (Чехия). Было установлено, что наиболее эффективным оказалось использование мальтозы (2%) и смеси глюкозы (2%) с глицином (1%)⁶. Показатель "Потеря в массе при высушивании" (ПМВ) во всех препаратах составлял

около 4%. Время растворения препаратов в воде не превышало 45 с. Также были апробированы 3 варианта лиофилизации со следующими параметрами (по вариантам от 1 до 3): начальная температура конденсатора — минус 70, минус 65, минус 65 °С; начальная температура полок сублиматора — минус 40, минус 45, минус 45 °С; начальная температура материала — минус 25, минус 45, минус 45 °С; максимальная температура полок — 55, 50, 35 °С. Длительность процесса составляла (по вариантам) — 14, 24 и 36 ч соответственно. Выявлена применимость всех трех вариантов, при этом показано, что повышение температуры греющей поверхности полки до 55 °С на этапе сублимации влаги не оказывало негативного влияния на специфические свойства ИГ, но существенно снижало время проведения процесса [23–25]. Применимость ускоренного варианта сушки была подтверждена результатами хранения сухого препарата в течение 6 месяцев при температуре 4±2 °С [26].

Следующей решенной задачей была разработка технологии твердых дозированных форм КИП (таблеток и капсул). Первоначально были подобраны условия проведения процесса помола лиофилизата полуфабриката в электромагнитном измельчителе, позволившие получить порошок КИП насыпной плотностью 0,40–0,44 г/см. Данный показатель был оптимален для сохранения биологической активности [27]. Подобранные наполнители для изготовления таблеточной смеси: молотый порошок КИП — 41–43%; сахарный гранулят — 55–57%; стеарат кальция — 1%; тальк — 1%. В результате отработки режимов прессования на однопуансонном прессе РТ-1 (МСЗ, г. Мариуполь) с диаметром пуансона 12 мм выявлена оптимальная производительность пресса, которая составила 4500 таблеток/ч. При данном режиме такие свойства таблеток, как масса, прочность на истирание и растворимость, соответствовали нормируемым требованиям при сохранении биологической активности [28]. Также были приготовлены экспериментальные препараты ИГ в желатиновых капсулах № 1. При этом выявлено, что по окончании срока годности, при содержании их в стеклянных вторичных упаковках, закрытых полимерными пробками, при 4±2 °С, ИГ соответствовали всем требованиям нормативной документации.

Технологические особенности получения твердой формы различных иммуноглобулиновых препаратов

Следующим этапом наших исследований был анализ данных патентной и научной литературы, посвященной вопросам получения твердых лекарственных форм препаратов ИГ природы.

Имеются сведения о разработке еще в конце 1970-х гг. лиофилизированного гамма-глобулина для внутривенного введения. Коммерческий 15% (w/v) раствор гамма-глобулина для внутримышечных инъекций, имеющего титр противокоревых антител 77 ME/100 мг и антикомплемментарную активность 69 (CH50), подвергали кислотной обработке диализом против 0,10 М глицинового буферного раствора (pH 3,1) в течение 48 ч. Обработанный таким образом раствор нейтрализовали диализом против 0,05 М фосфатного буферного раствора (pH 7,0) в течение 24 ч. Компоненты среды высушивания добавляли таким образом, чтобы конечный раствор содержал 0,20 мас.ч. человеческого сывороточного альбумина, 0,10 мас.ч. хлорида натрия и 0,40 мас.ч. маннита на 1 мас.ч. гамма-глобулина.

³ Мелихова АВ. Разработка технологии приготовления сухих дозированных форм комплексного иммуноглобулинового препарата: автореф. дис. ... канд. биол. наук. М.: 2010.

⁴ Там же.

⁵ Там же.

⁶ Там же.

Полученный раствор доводили до pH 6,5 с помощью 0,025 М ацетатного буферного раствора, подвергали стерилизующей фильтрации и лиофилизации. Препарат до сушки и после нее имел следующие характеристики: антикомплемментарная активность 12 (CH50) и титр противокоревых антител 7 МЕ/100 мг. Эти значения остаются неизменными через 24 мес. [21].

Иранскими учеными констатировалось, что стабильность препаратов Анти-Rh D IgG в виде раствора низкая, со сроком годности 1 год и менее. Авторами исследования была поставлена задача получить лиофилизат и установить оптимальный состав среды высушивания [29]. Препарат в количестве 1 мл, разлитый в ампулы, замораживали при температуре минус 20 °C в течение 1–3 ч и подвергали сушке в аппарате Labconco (США) при температуре конденсатора минус 52 °C и вакууме 0,041 мбар. Среди более чем 20 различных составов сред высушивания наиболее стабильным был следующий: анти-Rh D IgG 5 мг/мл, твин 80 0,1%, глицин 0,15 М, маннитол 7% и сахараза 60 мМ в натриево-калиевом фосфатном буфере 25 мМ, pH 7,5. Результат биологического теста показал, что биоактивность препарата более чем на 93% превышает требования, установленные британской фармакопеей. Показатель ПМВ составлял менее 3%. Авторами был сделан вывод, что полученный препарат может быть кандидатом для получения анти-Rh D IgG в лиофилизированной форме.

В патенте США 2005 г. описана стабилизирующая композиция для IgG, полученного фракционированием плазмы крови человека, в жидкой и в лиофилизированной формах: маннит, глицин и Твин 80 с концентрациями 32, 7 г/л и 50 ppm соответственно [30]. Авторы утверждают, что композиция IgG в лиофилизированной форме содержит долю полимера примерно в 10 раз меньшую, чем допустимое количество, после хранения в течение 12 мес. при комнатной температуре или в течение 6 мес. при 40 °C.

В международном патенте на изобретение 2002 г. описан состав лиофилизата, содержащего 5–25 мМ гистидинового буфера, pH от 5,5 до 6,5, 0,005–0,03% полисорбата, 100–300 мМ сахарозы и более 50 мг/мл IgG, содержащего антитела к рецептору интерлейкина-2. Лيوфилизат восстанавливался жидкостью менее 2 мин и был пригоден для подкожного применения [31]. Для препарата, разлитого в 5 мл флаконы в количестве 2 мл, предложен следующий режим лиофилизации: замораживание до минус 40 °C со скоростью процесса 2 °C/мин и выдерживанием при данной температуре в течение 3 ч; первичная сушка при вакууме 150 мТорр и температуре минус 20 °C со скоростью повышения температуры от минус 40 до минус 20 °C, равной 1 °C/мин, время процесса 12 ч; вторичная сушка при вакууме 150 мТорр и температуре 20 °C со скоростью повышения температуры от минус 20 до 20 °C, равной 1 °C/мин, время процесса 10 ч. В дальнейшем этот препарат выпускался под торговой маркой Daclizumab. В этом же патенте раскрыт биофармацевтический состав препарата Synagis® для внутримышечного применения (гуманизированное моноклональное IgG1-антитело, полученное по технологии рекомбинантной ДНК и представляющее собой слияние последовательностей антител человека (95%) и мыши (5%)). Препарат содержит следующие вспомогательные вещества: 47 мМ гистидина, 3,0 мМ глицина и 5,6% маннита, а также активный ингредиент — антитело IgG1 в концентрации 100 мг на флакон.

Японскими исследователями запатентован препарат в форме лиофилизата для профилактики вирусных гепатитов типа В следующего состава: 10% (w/v) очищенного анти-HBs глобулина, 5% (w/v) нейтральной аминокислоты (предпочтительно аминокислоты), 2% (w/v) хлорида натрия, полимерный неионный поверхностно-активный агент (предпочтительно

полиоксизтилен-полиоксипропиленовый сополимер), pH смеси 5,0–7,5. Авторы декларируют, что полученный лиофилизат может храниться более 5 лет при температуре менее 10 °C без снижения титра антител [32].

В патенте на изобретение США 1986 г. [33] раскрыт способ получения лиофилизата препарата глобулина — фибронектина, применяемого для лечения септического шока и инфекционных заболеваний на основе усиления опсонической активности фагоцитов. Авторы констатировали, что препарат в жидкой форме обладает низкой стабильностью при хранении. Попытки получения сухой формы препарата при применении нейтральной аминокислоты, моносахарида, дисахарида в качестве стабилизатора привели к плохой растворимости препарата и образованию волокнистых нерастворимых веществ. Было выявлено, что добавление альбумина к вышеперечисленным веществам устраняет указанные недостатки. Предложена методика получения лиофилизата фибронектина, которая заключалась в следующем. К раствору препарата добавляли 5% (w/v) сахарозы и 0,25% (w/v) альбумина, доводили концентрацию фибронектина до 20 мг/мл, разливали по 2 мл во флаконы вместимостью 10 мл и лиофилизировали при таком режиме сушки, чтобы температура препарата в конце процесса достигла 30 °C. ПМВ составила 0,2%. Лيوфилизированный препарат при добавлении 2 мл воды для инъекций растворялся почти мгновенно, представляя собой бесцветный прозрачный раствор. Специфические характеристики соответствовали значениям, определенным до лиофилизации. Следует отметить, что американскими учеными еще в 1976 г. показана эффективность применения человеческого альбумина для стабилизации свойств фактора VIII крови при его лиофилизации [34].

В международном патенте на изобретение 1989 г. [35] раскрыт состав и способ получения лиофилизированной композиции, содержащей моноклональное антитело или фрагменты антител, такие как ИГ класса G (IgG), буферный раствор и мальтозу, предназначенной для парентерального введения. Показано, что препарат сохраняет биологическую активность и сводит к минимуму образование осажженных или агрегированных частиц при восстановлении сублимированного продукта. Авторами приведен пример получения лиофилизата IgG. Для обессоливания IgG на хроматографическую колонку объемом 3,3 л, предварительно упакованную Sephadex G-25 и уравновешенную раствором 10 мМ ацетата натрия (pH 4,5), содержащим 10% мальтозы, со скоростью потока 550 мл/ч наносили 500 мл IgG в концентрации 11,54 мг/мл (всего 5,693 г). Фракцию, соответствующую пику белка, собирали и концентрировали до 10 мг/мл. Флаконы вместимостью 20 мл заполняли 10 мл препарата, помещали в сублимационный аппарат и замораживали до минус 45 °C. Далее температура поверхности полки регулировалась в диапазоне от минус 40 до минус 42 °C, а давление снижалось до 50 мТорр для начала этапа первичной сушки. При завершении данного этапа температура поверхности полки повышалась до 20 °C. Этап вторичной сушки протекал около 8 ч. При достижении температуры препарата 20 °C камера установки наполнялась сухим азотом и флаконы закупоривались.

Учеными из университета Пёрдью (США) выявлено, что быстрое охлаждение ИГ (путем закалки в жидком азоте) приводит к большему количеству и более крупным агрегатам, чем медленное охлаждение на полке сублимационной сушилки. Также выявлено, что процедура отжига (при которой препарат замораживают до нужной температуры, далее нагревают до определенной температуры, выдерживают при ней и снова охлаждают до требуемой температуры) быстроохлажденных растворов приводит к значительно меньшей агрегации

в восстановленных лиофилизатах [36]. Следует отметить, что процедура отжига успешно была применена и нами в процессе сублимационного высушивания иммуногенов холерной химической вакцины [37].

Исследования, проведенные С.Л. Шарыгиным⁷, позволили создать противостолбнячный ИГВВ в лиофилизированной форме, пригодной для длительного хранения (до 3 лет). Противостолбнячный ИГВВ разливали по 25 мл во флаконы вместимостью 50 мл или по 50 мл во флаконы на 100 мл, замораживали в спиртовой ванне охлаждающего устройства сублимационного аппарата при температуре спирта не выше минус 40 °С в течение 30 мин. Замороженный раствор выдерживали при температуре не выше минус 40 °С не менее 12 ч. Сублимационную сушку производили на аппарате КС-30. В качестве стабилизаторов, препятствующих денатурации ИГ в процессе сушки, препараты содержали гликокол 0,5±0,2 г/л и глюкозу 1,0±0,2 г/л. Процесс длится в течение 26±2 ч, температура ИГ в ходе процесса не превышает 38 °С. Сублимационно высушенный препарат обладал высокой специфической активностью — содержание столбнячного антитоксина соответствовало уровню в исходном жидком ИГ. Показатель ПМВ составлял 0,95±0,29%, время восстановления не превышало 3 мин⁸.

Технологические особенности получения сухой формы антирабического иммуноглобулина

В 90-х годах прошлого столетия была разработана лиофилизированная форма антирабического ИГ, полученного из человеческой плазмы крови [38]. Однако авторами изобретения не раскрыты технологические особенности приготовления препарата. Между тем констатируется, что сухой препарат антирабического ИГ выпускается в запаянных ампулах и представляет собой таблетку или порошок кремоватого цвета, который хранится при 18–22 °С и не требует специальных условий при транспортировке в очаги эпизоотий, не подвергается фрагментации в процессе хранения, безвреден для организма и пригоден для внутримышечного введения [39].

Коллективом ученых ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора была решена задача по разработке экспериментально-производственных технологий получения новых лекарственных форм лиофилизированных противовирусных лекарственных препаратов на модели коммерческого антирабического ИГ и варианта на основе F(ab')₂-фрагментов. Результаты, представленные далее, изложены в диссертации Е.Г. Абрамовой⁹ и ряде статей [38, 40–42].

Были отработаны оптимальные режимы лиофильного высушивания антирабического ИГ (содержание белка 9–11%) и его F(ab')₂-фрагментов (содержание белка 9–11%), обеспечивающих максимальное сохранение качественных показателей. Для проведения качественной лиофилизации первоначально были исследованы тепловые параметры раствора антирабического ИГ и определена температура эвтектики препарата с различными комбинациями стабилизаторов: глицина, мальтозы, сахарозы. Показано, что глицин в концентрации 2,25±0,25% является оптимальным лиопротектором. Исследование

температуры эвтектики показало, что для раствора ИГ со стабилизатором глицином данный параметр соответствует значению минус 36 °С. Лиофилизацию антирабического ИГ в дозировке 5 мл в стеклянных флаконах объемом 10 мл проводили на установке Power Dry PL9000-50/HSC (Дания). Выявлены основные оптимальные параметры сублимационного высушивания препарата: вакуум — 7±3 Па; температура замораживания — минус 38±1 °С; скорость замораживания — 7,6 °С/ч; продолжительность замораживания — 8±1 ч; температура полок с продуктом — 30±1 °С; скорость повышения температуры при сублимации — 1,56±0,59 °С/ч¹⁰. Кроме того, время сублимации — 18±1 ч; конечная температура материала при десорбции — 25±1 °С; продолжительность второй суши — 10±1 ч; длительность процесса — 28±1 ч. Изучение этапа десорбции ИГ выявило оптимальное значение показателя ПМВ — от 1 до 2%, при этом значении была зафиксирована хорошая растворимость¹¹. Также показана неизменность значения показателя специфической активности. Были получены 3 экспериментально-производственные серии лиофилизированного антирабического ИГ, изучение биологических и физико-химических показателей которых выявило их соответствие требованиям нормативной документации, что подтверждает эффективность предложенной технологии. В долгосрочных испытаниях показано, что гетерологичный антирабический ИГ в новой лекарственной форме — лиофилизат для приготовления раствора для внутримышечного введения сохраняет качественные показатели в течение 3 лет, что вдвое превышает срок годности препарата в жидкой лекарственной форме. Изучение ИГ против бешенства в жидком виде по окончании 36 месяцев выявило от 3,0 до 3,3% фракций фрагментов. Для лиофилизата регистрировали 100% фракцию мономеров и димеров, что демонстрирует преимущество лиофилизатов ИГ при длительном хранении по сравнению с препаратом в жидкой лекарственной форме.

При лиофилизации F(ab')₂-фрагментов антирабического ИГ в дозировке 1 мл в стеклянных флаконах объемом 3 мл определено, что процесс целесообразно осуществлять при следующих значениях технологических параметров¹²: вакуум — 7±3 Па; температура замораживания — минус 38±1 °С; скорость замораживания — 7,6 °С/ч; продолжительность замораживания — 6±1 ч; температура полок с продуктом — 30±1 °С; скорость повышения температуры при сублимации — 4,1±0,1 °С/ч; время сублимации — 12±1 ч; конечная температура материала при десорбции — 18±1 °С; время десорбции — 4±1 ч; общее время суши — 28±1 ч. Леофилизированные F(ab')₂-фрагменты представляли собой хорошо сформированную таблетку белого цвета с однородной мелкопористой структурой. Результаты изучения физико-химических и биологических свойств лиофилизатов подтвердили эффективность предложенных биотехнологических приемов по сублимационному высушиванию расщепленного очищенного ИГ.

Также были проведены эксперименты по лиофилизации антирабического ИГ в дозировке 1 мл во флаконах объемом 3 мл. Данная дозировка оптимальна при изготовлении стандартного образца предприятия специфической активности¹³.

⁷ Шарыгин С.Л. Препараты внутривенных иммуноглобулинов из донорской плазмы для терапии бактериальных и вирусных инфекций (получение и клиническое применение): автореф. дис. ... д-ра мед. наук. СПб., 1997.

⁸ Там же.

⁹ Абрамова Е.Г. Совершенствование биотехнологии производства гетерологичного антирабического иммуноглобулина: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Оболensk; 2018.

¹⁰ Там же.

¹¹ Там же.

¹² Там же.

¹³ Там же.

Он необходим при проведении внутрипроизводственных и внешних контрольных исследований для обеспечения единства требований к качеству препаратов для постэкспозиционной профилактики бешенства при оценке показателя «Специфическая активность»¹⁴. Для высушивания была задействована лиофильная установка Epsilon 2-6D (Martin Christ, Германия). Процесс проводили в соответствии со следующими значениями технологических параметров: вакуум — 7 ± 3 Па; температура замораживания — минус 38 ± 1 °C; скорость замораживания — $6,5 \pm 0,1$ °C/ч; продолжительность замораживания — 2 ± 1 ч; температура полок с продуктом — 30 ± 1 °C; скорость повышения температуры при сублимации — $3,0 \pm 0,5$ °C/ч; время сублимации — 8 ± 1 ч; конечная температура материала при вторичной сушке — 25 ± 1 °C; длительность вторичной сушки — 2 ± 1 ч; итоговая продолжительность процесса — 11 ± 1 ч. Лيوфилизат представлял собой хорошо сформированную таблетку белого цвета. Значение показателя ПМВ составило $(1,09 \pm 0,03)\%$, обеспечив хорошую растворимость препарата в течение $(1,0 \pm 0,2)$ мин. Специфическая активность лиофилизированных образцов в тесте *in vivo*, откалиброванного против международного стандарта, превышала 150 МЕ/мл, что соответствует предъявляемым требованиям.

Технологические особенности получения сухой формы противосибиреязвенного иммуноглобулина

Коллективом ученых [43, 44] проведены исследования по разработке сухой формы полуфабриката сибиреязвенного гетерологичного ИГ из сыворотки крови лошади.

Предпосылкой для проведения исследовательских работ послужил тот факт, что жидкий полуфабрикат ИГ имеет ограниченный срок годности (1 мес.) до его переработки. Одним из путей решения данной проблемы являлось получение сухой формы полуфабриката ИГ, что позволило увеличить время его хранения до переработки и создать резерв полуфабриката ИГ. Для решения этой проблемы была разработана технология и среда высушивания полуфабриката ИГ.

Разведенный до концентрации белка 8,5–9,5% с применением в качестве стабилизаторов, препятствующих денатурации белка в процессе сушки, сахарозы и полиглюкина в количестве 7,5 и 1,5% соответственно, полуфабрикат противосибиреязвенного ИГ разливали в кюветы вместимостью 300 мл с таким расчетом, чтобы толщина высушиваемого слоя составляла 8–10 мм, и замораживали в охлаждающем устройстве сублимационного аппарата ТГ-16.50 (ГДР) [43, 44]. Сублимационную сушку вели в соответствии со следующими технологическими параметрами: вакуум — $3,3 \pm 0,2$ Па; температура замораживания — минус 40 ± 5 °C; продолжительность замораживания — 8 ± 2 ч; время сублимации до температуры вторичной сушки — 26 ± 2 ч; окончательная температура продукта при вторичной сушке — 37 ± 2 °C; продолжительность вторичной сушки — 6 ± 1 ч. Значение показателя ПМВ составляло $2 \pm 1\%$. Сухой полуфабрикат ИГ растворяли апиrogenной водой до исходного содержания белка. Растворы имели небольшую опалесценцию и слегка желтую окраску. Время растворения не превышало 2 мин. ИГ, приготовленный из сухого полуфабриката, по показателям качества удовлетворял нормативным требованиям. При этом в образцах препарата отсутствовал остаточный спирт, используемый в технологии выделения ИГ. Жидкий противосибиреязвенный ИГ, приготовленный из сухого полуфабриката после 12 месяцев его хранения, соответствовал требованиям нормативной документации. Также не наблюдалось снижения характеристик препарата через 2 года (установленный срок хранения).

¹⁴ Там же.

Продолжением этих исследований была разработка готовой лекарственной формы лиофилизата противосибиреязвенного гетерологичного ИГ. Результаты изложены в патенте на изобретение Российской Федерации [45].

Для получения глобулина противосибиреязвенного лошадиного сухого к стерильному 10–11% раствору (по содержанию белка) иммуноактивных гамма- и бета-глобулиновых фракций, выделенных из белков сыворотки крови лошадей, иммунизированных вакцинным штаммом сибиреязвенного микроба СТИ-1, авирулентным штаммом Ихтиман и сибиреязвенным токсином, дополнительно вводили стерильные растворы полиглюкина — 0,5–1,5% и сахарозы — 7,0–7,5%. Внесение ингредиентов проводили при контроле содержания белка, значение которого должно находиться в пределах 8–10%. Конечная концентрация ингредиентов в смеси могла варьировать от 0,5 до 1,5% для полиглюкина и от 7,0 до 7,5% для сахарозы. Полученный препарат разливали по 5 мл в ампулы вместимостью 10 мл и замораживали в камере сушильного аппарата ТГ-16.50 (ГДР) при температуре минус 40 ± 5 °C в течение 4 ± 1 ч. Высушивание вели 30 ± 2 ч до температуры препарата 25 ± 2 °C [45]. Предложенные решения дали основания увеличить срок хранения готовой лекарственной формы глобулина противосибиреязвенного и обеспечить его резерв, необходимый для использования при возникновении вспышек сибиреязвенной инфекции у людей.

Далее были оптимизированы процессы получения сухой формы ИГ противосибиреязвенного [46]. При вертикальном расположении ампул площадь испарения жидкости для сублимации была недостаточной. Для увеличения площади испарения при высушивании препарата была изготовлена специальная оснастка, которая представляет собой кассеты для установки ампул ШП-10 таким образом, чтобы угол наклона ампул к плоскости кассеты составлял 10–15 градусов. Это позволило в 4 раза увеличить площадь поверхности, с которой происходит испарение влаги. Загрузка сублиматора составила 720 ампул [46]. Данный прием позволил уменьшить время проведения процесса, характеристики которого составили: вакуум — 30 ± 2 Па; температура замораживания — минус 40 ± 5 °C; продолжительность замораживания — 5 ± 1 ч; время сублимации до температуры десорбции — 15 ± 2 ч; конечная температура материала при десорбции — 35 ± 2 °C; время десорбции — 6 ± 1 ч. Образцы сухого противосибиреязвенного ИГ по своим биологическим и физико-химическим свойствам не отличались от жидкого ИГ. Сухой препарат представлял собой пористую массу белого цвета в виде скошенного столбика и имел остаточную влажность менее 5%. При добавлении к нему 5 мл 0,9% раствора хлорида натрия препарат растворялся с образованием гомогенной взвеси без посторонних примесей, комков и хлопьев. В ходе исследований по определению фракционного состава жидких и сухих препаратов выявлено отсутствие фрагментов, а основная часть агрегатов соответствовала фракции димеров (до 5%). Содержание полимерной фракции составляло в среднем 3%, мономеров — 91–94%. В процессе хранения при температуре 6 ± 4 °C в жидком препарате было выявлено увеличение фракции димеров (до 12%) и снижение фракции мономеров (до 85%), что отсутствовало в сухой форме препарата [46].

Также в научно-исследовательском институте микробиологии Министерства обороны Российской Федерации получили стерильные жидкие или сухие специфически активные $F(ab')_2$ -фрагменты противосибиреязвенных антител, содержащие 35 ± 5 мг/мл белка и не менее 96% $F(ab')_2$ -фрагментов антител, выделенных из ИГ противосибиреязвенного лошадиного

жидкого [47]. Висушивание препарата проводили на сублимационных установках (МАСС-25, МАСС-5, УЛЛ-1,0 и др.) при температуре материала минус 35–45 °С, при градиенте не более 3 °С/ч, досушивание материала вели при температуре 30±1 °С в течение 5±1 ч. Состав среды высушивания — концентрация сахарозы 7,0±0,1%, концентрация полиглюкина 1,0±0,1% [48].

Следует отметить, что среди вспомогательных веществ, используемых при лиофилизации ИГ препаратов, преобладают аминокислоты (глицин, гистидин), моносахариды (декстроза, глюкоза), дисахариды (мальтоза, сахароза), сахарные спирты (маннитол), декстраны (полиглюкин), полисорбаты (твин 80), человеческий сывороточный альбумин или их комбинации. Следует отметить, что схожий перечень вспомогательных веществ выявлен нами при обзоре литературы, посвященной лиофилизации живых вакцин [48].

Препараты иммуноглобулинов в форме суппозитория (свечи)

Суппозитории (свечи) не относятся к твердым лекарственным формам. Однако мы посчитали целесообразным дать сведения об имеющихся научных разработках приготовления этой формы ИГ препаратов. Так, имеются сведения о разработке свечевой формы препарата ИГ человека к вирусам простого герпеса 1-го и 2-го типов [16]. Состав компонентов на 1 свечу был следующий: ИГ человека со специфическими антителами к вирусам простого герпеса 1-го и 2-го типов лиофилизированный — 80 мг, гиалуроновая кислота (иммуностимулятор) — 0,005 г, гентамицина сульфат — не более 2 мкг, наполнители: кондитерский жир — до 75%, парафины нефтяные твердые — 7,5%, эмульгатор Т-2 — 7,5%. Следует отметить, что, по утверждению авторов, анализ всех стадий технологического процесса показал, что процесс лиофилизации как наиболее критичный не влиял на уровень вируснейтрализующих антител в препаратах [49]. Величина уровня вируснейтрализующих антител в свечевой форме препарата соответствовала определенному до приготовления готовой лекарственной формы. Значимых изменений также не происходило во время хранения. Препараты были нетоксичными, апиrogenными и стерильными.

Кроме того, в патенте на изобретение Российской Федерации [50] представлены данные о получении многокомпонентного ИГ препарата (содержащего ИГ трех основных классов: IgG, IgA, IgM) в форме суппозитория и таблеток. Состав таблетки (600 мг): лиофилизированный ИГ препарат — 150 мг, стеарат кальция — 6 мг, тальк — 6 мг, сахарный гранулят — 438 мг. Состав суппозитория: ИГ препарат в виде влажной пасты — 15 мас.%, эмульгатор — 10 мас.%, целевые добавки — 75 мас.%.

Выводы

Итоги проведенного обзора отечественной и зарубежной литературы, посвященного вопросам получения твердых лекарственных форм препаратов иммуноглобулиновой природы, а также результаты собственных исследований по этому вопросу дают основания сделать следующие выводы.

1. По результатам анализа Государственного реестра лекарственных средств выявлено:

- доля твердых лекарственных форм среди препаратов ИГ природы составляет 13%;
- основной формой твердых лекарственных форм препаратов ИГ природы являются лиофилизаты. Из зарегистрированных на территории России на их долю приходится 100%;

- практически все твердые лекарственные формы ИГ производятся как лиофилизаты во флаконах.

2. Выявлен спектр вспомогательных веществ, используемых при лиофилизации ИГ препаратов: аминокислоты (глицин, гистидин), моносахариды (декстроза, глюкоза), дисахариды (мальтоза, сахароза), сахарные спирты (маннитол), декстраны (полиглюкин), полисорбаты (твин 80), человеческий сывороточный альбумин или их комбинации.

3. Показано, что для приготовления таблеток нашли свое применение антифрикционные вещества (стеарат кальция, тальк), наполнители (сахарный гранулят).

4. На ряде примеров подтверждено, что получение ИГ препаратов в твердой форме предотвращает агрегацию и фрагментацию белков в процессе хранения, негативно влияющих на специфическую активность препарата, а также способствует более длительному сохранению целевых свойств в сравнении с жидкими препаратами.

Вклад авторов. **Е. Г. Абрамова** — сбор, анализ и систематизация информации, изложенной в научной литературе, написание и редактирование текста рукописи; **А. В. Комиссаров** — сбор, анализ и систематизация информации, изложенной в научной литературе, написание и редактирование текста рукописи; **Н. В. Сеницына** — сбор информации, изложенной в научной литературе; **И. М. Жулидов** — сбор информации, изложенной в научной литературе; **А. К. Никифоров** — формирование концепции статьи, утверждение окончательной версии рукописи для публикации.

Authors' contributions. **Elena G. Abramova**—collection, analysis and systematisation of information presented in scientific literature, writing and editing of the text; **Aleksandr V. Komissarov**—collection, analysis and systematisation of information presented in scientific literature, writing and editing of the text; **Natalya V. Sinitsyna**—collection of information presented in scientific literature; **Ivan M. Zhulidov**—collection of information presented in scientific literature; **Aleksey K. Nikiforov**—elaboration of the concept of the study, final approval of the paper for publication.

Благодарности. Работа выполнена в рамках НИР 89-2-21 «Научно-прикладные аспекты производства и совершенствования препаратов для иммунопрофилактики и диагностики опасных бактериальных и вирусных инфекций» (номер государственной регистрации АААА-А21-121012090066-4).

Acknowledgements. The study was carried out as part of research project 89-2-21 "Theoretical and applied aspects of production and improvement of drugs for immunoprophylaxis and diagnosis of dangerous bacterial and viral infections" (state registration number АААА-А21-121012090066-4).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

Литература/References

1. Супотницкий МВ, Елапов АА, Борисевич ИВ, Кудашева ЭЮ, Климов ВИ, Лебединская ЕВ и др. Препараты, полученные из крови человека и животных, в аспекте показателей качества, эффективности и безопасности. *Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение.* 2015;15(3):33–48. [Supotnitskiy MV, Elapov AA, Borisevich IV, Kudasheva EYu, Klimov VI, Lebedinskaya EV, et al. Blood preparations of humans and animals in terms of their quality, efficacy and safety. *BIOpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie* = *BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment.* 2015;15(3):33–48 (In Russ.)]

2. Joubert MK, Luo Q, Nashed-Samuel Y, Wypych J, Narhi LO. Classification and characterization of therapeutic antibody aggregates. *J Biol Chem.* 2011;286(28):25118–33. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.160457>
3. Siew A. Freeze drying protein formulations. *Pharmaceutical Technology.* 2014;38(5):20.
4. Borchert SJ, Ryan MM, Davison RL, Speed W. Accelerated extractable studies of borosilicate glass containers. *J Parenter Sci Technol.* 1989;43(2):67–79.
5. Franks F. Scientific and technological aspects of aqueous glasses. *Biophys Chem.* 2003;105(2-3):251–61. [https://doi.org/10.1016/s0301-4622\(03\)00074-7](https://doi.org/10.1016/s0301-4622(03)00074-7)
6. Wang Y, Chien Y. Sterile pharmaceutical packaging: compatibility and stability. In: *Technical Report No. 5. Parental Drug Association, Inc;* 1984. P. 107–25.
7. Змачинская ТБ, Анастасиев ВВ. Оптимизация технологической схемы получения препаратов иммуноглобулинов для внутримышечного введения. *Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского.* 2001;1:70–3. [Zmachinskaya TB, Anastasiev VV. Optimization of the technological scheme for obtaining preparations of immunoglobulins for intramuscular administration. *Vestnik Nizhegorodskogo universiteta imeni N.I. Lobachevskogo = Vestnik of Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod.* 2001;1:70–3 (In Russ.)]
8. Короткова ТВ, Анастасиев ВВ. Влияние различных факторов на содержание димеров в препарате иммуноглобулинов. *Вакцинология 2006: Материалы Всероссийской научно-практической конференции.* М.; 2006. С. 52. [Korotkova TV, Anastasiev VV. Influence of various factors on the content of dimers in immunoglobulin drugs. *Vaccinology 2006: Proceedings of the All-Russian Scientific and Practical Conference.* Moscow; 2006. P. 52 (In Russ.)]
9. Braun A, Kwee L, Labow MA, Alsenz J. Protein aggregates seem to play a key role among the parameters influencing the antigenicity of interferon alpha (IFN- α) in normal and transgenic mice. *Pharm Res.* 1997;14(10):1472–8. <https://doi.org/10.1023/a:1012193326789>
10. Bucciantini M, Giannoni E, Chiti F, Baroni F, Formigli L, Zurdo J, et al. Inherent toxicity of aggregates implies a common mechanism for protein misfolding diseases. *Nature.* 2002;416:507–11. <https://doi.org/10.1038/416507a>
11. Demeule B, Gurny R, Arvinte T. Where disease pathogenesis meets protein formulation: Renal deposition of immunoglobulin aggregates. *Eur J Pharm Biopharm.* 2006;62(2):121–30. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2005.08.008>
12. Lin L-FH, Bunnell R. Overcoming challenges in the reconstitution of a high-concentration protein drug product. *Biopharm International.* 2013;26(3):28–39.
13. Moore SM, Hanlon CA. Rabies-specific antibodies: measuring surrogates of protection against a fatal disease. *PLoS Negl Trop Dis.* 2010;4(3):e595. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000595>
14. Rayn ME, Webster ML, Statler JD. Adverse effects of intravenous immunoglobulin therapy. *Clin Pediatr (Phila).* 1996;35:23–31. <https://doi.org/10.1177/000992289603500105>
15. Анастасиев ВВ, Короткова ТВ, Крайнова ТА, Ефремова ЛМ. Разработка производственной технологии получения иммуноглобулина для внутривенного введения нового поколения — имбиоглобулина. *Новые технологии в профилактике, диагностике, эпиднадзоре и лечении инфекционных заболеваний: Материалы научной конференции, посвященной 75-летию Нижегородского НИИЭМ.* Н. Новгород; 2004. [Anastasiev VV, Korotkova TV, Krainova TA, Efremova LM. Development of the production technology for manufacturing immunoglobulin for intravenous administration of the next generation — imbioglobulin. *New technologies in the prevention, diagnosis, surveillance and treatment of infectious diseases: Proceedings of the scientific conference dedicated to the 75th anniversary of the Nizhny Novgorod RIEM.* N. Novgorod; 2004 (In Russ.)]
16. Лаптева ЛК, Минакова ЛВ, Гавриленкова ВЮ. Сохраняемость специфических антител в иммуноглобулине человека противостолбнячному в зависимости от степени фрагментации IgG. *Стандарты, штаммы и методы контроля бактериальных и вирусных препаратов: Сборник научных трудов.* 1987;4:148–53. [Lapteva LK, Minakova LV, Gavrilenkova VYu. Conservability of specific antibodies in human tetanus immunoglobulin depending on the degree of IgG fragmentation. *Standards, strains and methods for the control of bacterial and viral drugs. Collection of scientific works.* 1987;4:148–53 (In Russ.)]
17. Никитина ВД, Холчев ИВ, Колесникова ЛИ, Кораблева ЗИ. Исследование фрагментации препаратов гамма-глобулинов, выпускаемых в СССР. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 1975;1:44–8. [Nikitina VD, Kholchev IV, Kolesnikova LI, Korableva ZI. Investigation of fragmentation of gamma globulin preparations produced in the USSR. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology.* 1975;1:44–8 (In Russ.)]
18. Гусаров ДА. Лиофилизация биофармацевтических белков (мини-обзор). *Биофармацевтический журнал.* 2010;2(5):3–7. [Gusarov DA. Lyophilization of biopharmaceutical proteins (mini-review). *Biofarmatsevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biopharmaceuticals.* 2010;2(5):3–7 (In Russ.)]
19. Carpenter JF, Growe JH, Arakawa T. Comparison of solute-induced protein stabilization in aqueous solution and in frozen and dried state. *J Dairy Sci.* 1990;73(12):3627–36. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(90\)79065-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(90)79065-0)
20. Mayberry J. The new scope of pharmaceutical lyophilization: New technologies can optimize and control the lyophilization process, thereby creating a higher-quality end product. *Pharmaceutical Processing.* 2012;27(6):36–7.
21. Nishida M, Yabushita S, Fujita S, Saki T. Lyophilized native gamma globulin preparation for intravenous administration. Patent of the USA US4168303; 1979.
22. Варламова ТИ, Кукунина ТВ, Жмыхов АА. Оптимизация производственного процесса сушки препарата Иммуновенин®. *Вестник современных исследований.* 2017;9-1(12):12–8. [Varlamova TI, Kukunina TV, Zhmykhov AA. Optimization of the Production Drying Process of the Drug Immunovenin®. *Vestnik sovremennykh issledovaniy = Bulletin of Modern Research.* 2017;9-1(12):12–8 (In Russ.)]
23. Давыдкин ВЮ, Гаврин АГ, Алешкин ВА, Лютов АГ, Афанасьев СС, Зорик АВ и др. Отработка процесса сублимационного высушивания комплексного иммуноглобулинового препарата. В кн.: *Сборник научных трудов ГУ МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского МЗ РФ «Проблемы инфекционных болезней (клиника, диагностика, лечение)».* М.; 2000. С. 61–6. [Davydkin VYu, Gavrin AG, Aleshkin VA, Lyutov AG, Afanas'ev SS, Zorik AV, et al. Optimization of the process of freeze drying of a complex immunoglobulin preparation. In: *Collection of scientific works "Problems of infectious diseases (clinical presentation, diagnosis, treatment)".* Moscow; 2000. P. 61–6 (In Russ.)]
24. Мелихова АВ, Лютов АГ, Алешкин ВА, Гаврин АГ, Давыдкин ВЮ, Давыдкин ИЮ. Стабилизация фракций иммуноглобулинов при сублимационном высушивании комплексного иммуноглобулинового препарата. *International Journal on Immunorehabilitation.* 2003;5(2):172. [Melikhova AV, Lyutov AG, Aleshkin VA, Gavrin AG, Davydkin VYu, Davydkin IYu. Stabilization of immunoglobulin fractions during freeze-drying of a complex immunoglobulin preparation. *Mezhdunarodnyy zhurnal po immunoreabilitatsii = International Journal on Immunorehabilitation.* 2003;5(2):172 (In Russ.)]
25. Мелихова АВ, Лютов АГ, Гаврин АГ, Давыдкин ВЮ, Давыдкин ИЮ. Технологические аспекты рецептурования лекарственных форм иммуноглобулинов: Влияние стабилизаторов на качество иммуноглобу-

- линового препарата при сублимационном высушивании. В кн.: *Сборник материалов научно-практической конференции «Иммуноглобулиновые препараты энтерального и внутривенного применения»: Приложение к журналу «Вестник восстановительной медицины»*. М.; 2003. С. 22–3. [Melikhova AV, Lyutov AG, Gavrin AG, Davydkin VYu, Davydkin IYu. Technological aspects of the formulation of immunoglobulin dosage forms: The effect of stabilizers on the quality of an immunoglobulin preparation during freeze-drying. In: *Proceedings of the scientific-practical conference “Immunoglobulin preparations for enteric and intravenous use”: Appendix to the journal “Vestnik vosstanovitel'noy mediciny” = Bulletin of Rehabilitation Mediciny*. Moscow; 2003. P. 22–3 (In Russ.)]
26. Мелихова АВ, Алешкин ВА, Давыдкин ВЮ, Давыдкин ИЮ, Афанасьев СС, Борисова ИВ и др. Состав, обладающий противомикробным действием. Патент Российской Федерации № 2247578; 2005. [Melikhova AV, Aleshkin VA, Davydkin VYu, Davydkin IYu, Afanas'ev SS, Borisova IV, et al. Composition with antimicrobial action. Patent of the Russian Federation No. 2247578; 2005 (In Russ.)]
 27. Давыдкин ВЮ, Давыдкин ИЮ, Алешкин ВА, Гаврин АГ, Афанасьев СС, Новикова ЛИ и др. Технологические аспекты рецептуростроения лекарственных форм иммуноглобулинов: Измельчение сублимированной биомассы иммуноглобулинового препарата. В кн.: *Сборник материалов научно-практической конференции «Иммуноглобулиновые препараты энтерального и внутривенного применения»: Приложение к журналу «Вестник восстановительной медицины»*. М.; 2003. С. 24–5. [Davydkin VYu, Davydkin IYu, Aleshkin VA, Gavrin AG, Afanas'ev SS, Novikova LI, et al. Technological aspects of the formulation of immunoglobulin dosage forms: Grinding of the sublimated biomass of the immunoglobulin preparation. In: *Proceedings of the scientific-practical conference “Immunoglobulin preparations for enteric and intravenous use”: Appendix to the journal “Vestnik vosstanovitel'noy mediciny” = Bulletin of Rehabilitation Mediciny*. Moscow; 2003. P. 24–5 (In Russ.)]
 28. Давыдкин ВЮ, Давыдкин ИЮ, Алешкин ВА, Гаврин АГ, Афанасьев СС, Мелихова АВ и др. Разработка таблетированной формы комплексного иммуноглобулинового препарата. В кн.: *Тезисы докладов XI Российского национального конгресса «Человек и лекарство»*. М.; 2004. С. 780. [Davydkin VYu, Davydkin IYu, Aleshkin VA, Gavrin AG, Afanas'ev SS, Melikhova AV, et al. Development of a tablet form of a complex immunoglobulin preparation. In: *Abstracts of the XI Russian National Congress “Man and Medicine”*. Moscow; 2004. P. 780 (In Russ.)]
 29. Varasteh A-R, Hashemi M, Baranzadeh N, Jaafari M-R. Optimization of anti-Rh D immunoglobulin stability in the lyophilization processes. *IJBMS*. 2008;11(1):55–61.
 30. Bardat A, Begin E, Khandoudi N, Just O, Chtourou S, Schmittaeusler R. Stabilising formulation for immunoglobulin G compositions in liquid form and in lyophilised form. Patent of the USA US8388954B2; 2005.
 31. Kaisheva EA, Flores-Nate A, Gupta S. Stable lyophilized pharmaceutical formulation of IgG antibodies. International Application WO03/009817A2; 2002.
 32. Funakoshi S, Kamimura Y. Freeze-dried preparation of anti-HBs globulin M. Patent of the Japan JPS55164630A; 1980.
 33. Ohmura T, Hirao Y, Hamamura T, Ohmizu A, Funakoshi S. Method of lyophilizing cold insoluble globulin. Patent of the USA US4566561; 1986.
 34. Bick RL, Fekete LF. Clottable fibrinogen free Factor VIII product and process. Patent of the USA US4085095; 1976.
 35. Phillips CP, Mattis JA. Freeze-dried formulation for antibody products. International Application WO89/11297; 1989.
 36. Sarciaux JM, Mansour S, Hageman MJ, Nail SL. Effects of buffer composition and processing conditions on aggregation of bovine IgG during freeze-drying. *J Pharm Sci*. 1999;88(12):1354–61. <https://doi.org/10.1021/js980383n>
 37. Комиссаров АВ, Кочкалова НН, Сеницына НВ, Бадарин СА, Костылева НИ, Волох ОА и др. Исследование процесса сублимационного высушивания иммуногенов холерной химической вакцины. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2016;(1):90–3. [Komissarov AV, Kochkalova NN, Sinitsyna NV, Badarin SA, Kostyleva NI, Volokh OA, et al. Studies of Freeze-Drying of Cholera Chemical Vaccine Immunogens. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2016;(1):90–3 (In Russ.)] <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2016-1-90-93>
 38. Абрамова ЕГ, Кочкалова НН, Никифоров АК, Бутырский АЮ, Иванов ЮВ, Сеницына НВ и др. Получение лиофилизированного препарата антирабического иммуноглобулина и исследование его основных свойств. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2011;(2(108)):75–8. [Abramova EG, Kochkalova NN, Nikiforov AK, Butyrskii AYU, Ivanov YUV, Sinitsyna NV, et al. Production of lyophilized preparation of anti-rabies immunoglobulin and examination of its main properties. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2011;(2(108)):75–8 (In Russ.)] [https://doi.org/10.21055/0370-1069-2011-2\(108\)-75-78](https://doi.org/10.21055/0370-1069-2011-2(108)-75-78)
 39. Федоровская ЕА, Рыбальская АП, Селимов МА, Соболев ВФ, Шинкаренко АА, Логвинова ВП. Способ получения антирабического иммуноглобулина. Авторское свидетельство СССР № 1745257; 1992. [Fedorovskaya EA, Rybal'skaya AP, Selimov MA, Sobolev VF, Shinkarenko AA, Logvinova VP. Method for producing anti-rabies immunoglobulin. Author's certificate of the USSR No. 1745257; 1992 (In Russ.)]
 40. Абрамова ЕГ, Никифоров АК, Киреев МН, Кочкалова НН, Генералов СВ, Селезнева АГ и др. Определение молекулярных параметров препарата гетерологичного антирабического иммуноглобулина методом гель-фильтрации. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2010;(4):54–7. [Abramova EG, Nikiforov AK, Kireev MN, Kochkalova NN, Generalov SV, Selezneva AG, et al. Determination of the molecular parameters of heterologous anti-rabies immunoglobulin using gel-filtration. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2010;(4):54–7 (In Russ.)] [https://doi.org/10.21055/0370-1069-2010-4\(106\)-54-57](https://doi.org/10.21055/0370-1069-2010-4(106)-54-57)
 41. Кочкалова НН, Абрамова ЕГ, Никифоров АК, Киреев МН, Лобовикова ОА, Савицкая ЛВ и др. Оптимизация формы выпуска и потребительской тары иммуноглобулина антирабического из сыворотки крови лошади. *Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра СО РАМН*. 2012;5(87):236–8. [Kochkalova NN, Abramova EG, Nikiforov AK, Kireev MN, Lobovikova OA, Savitskaya LV, et al. Optimization of the dosage form and consumer packaging of anti-rabies immunoglobulin from horse blood serum. *Byulleten' Vostochno-Sibirskogo nauchnogo tsentra SO RAMN = Bulletin of the East Siberian Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2012;5(87):236–8 (In Russ.)]
 42. Кочкалова НН, Никифоров АК, Манин НГ, Абрамова ЕГ. Определение эвтектической температуры и исследование тепловых параметров гетерологичного антирабического иммуноглобулина методами электропроводности и дифференциальной сканирующей калориметрии. *Биотехнология*. 2011;(5):80–4. [Kochkalova NN, Nikiforov AK, Manin NG, Abramova EG. Determination of eutectic temperature and study of thermal parameters of heterologous anti-rabies immunoglobulin by means of electrical conductivity and differential scanning calorimetry. *Biotechnologiya = Russian Journal of Biotechnology*. 2011;(5):80–4 (In Russ.)]

43. Комиссаров АВ, Комоско ГВ, Лещенко АА, Луб МЮ, Пименов ЕВ, Дармов ИВ и др. Разработка сухой формы полуфабриката глобулина противосибиреязвенного лошадиного. *Биотехнология*. 2003;3:74–9. [Komissarov AV, Komosko GV, Leshchenko AA, Lub MYu, Pimenov EV, Darmov IV, et al. Development of the dry form of horse anti-anthrax globulin half-finished product. *Biotechnologiya = Russian Journal of Biotechnology*. 2003;3:74–9 (In Russ.)]
44. Комиссаров АВ, Пименов ЕВ, Комоско ГВ, Васильев ПГ, Луб МЮ и др. Полуфабрикат глобулина противосибиреязвенного лошадиного. Патент Российской Федерации № 2161985; 1999. [Komissarov AV, Pimenov EV, Komosko GV, Vasil'ev PG, Lub MYu, et al. Semi-finished product of equine anti-anthrax globulin. Patent of the Russian Federation No. 2161985; 1999 (In Russ.)]
45. Комиссаров АВ, Пименов ЕВ, Дармов ИВ, Лещенко АА, Комоско ГВ, Логвинов СВ и др. Глобулин противосибиреязвенный лошадиный сухой. Патент Российской Федерации № 2214836; 2003. [Komissarov AV, Pimenov EV, Darmov IV, Leshchenko AA, Komosko GV, Logvinov SV, et al. Dried equine anti-anthrax globulin. Patent of the Russian Federation No. 2214836; 2003 (In Russ.)]
46. Логвинов СВ, Бондарев ВП, Шевцов АН, Дармов ИВ, Ляпустин АВ, Луб МЮ и др. Оптимизация процессов получения и свойства сухой формы иммуноглобулина противосибиреязвенного. *Биотехнология*. 2007;(6):42–9. [Logvinov SV, Bondarev VP, Shevtsov AN, Darmov IV, Lyapustin AV, Lub MYu, et al. Optimization of the production processes and properties of the dried form of anti-anthrax immunoglobulin. *Biotechnologiya = Russian Journal of Biotechnology*. 2007;(6):42–9 (In Russ.)]
47. Луб МЮ, Шевцов АН, Кожухов ВВ, Логвинов СВ, Седельников ИН, Козлова ТН и др. Сывороточный иммунобиологический препарат для экстренной профилактики и лечения сибирской язвы. Патент Российской Федерации № 2381037; 2010. [Lub MYu, Shevtsov AN, Kozhukhov VV, Logvinov SV, Sedelnikov IN, Kozlova TN, et al. Serum immunobiological preparation for emergency prevention and treatment of anthrax. Patent of the Russian Federation No. 2381037; 2010 (In Russ.)]
48. Комиссаров АВ, Бибииков ДН, Волох ОА, Бадарин СА, Синецына НВ, Костылева НИ и др. Лиофилизации живых вакцин. *Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова*. 2018;14(3):56–73. [Komissarov AV, Bibikov DN, Volokh OA, Badarin SA, Sinitsyna NV, Kostyleva NI, et al. Lyophilization of live vaccines. *Vestnik biotekhnologii i fiziko-khimicheskoy biologii im. Yu.A. Ovchinnikova = Yu.A. Ovchinnikov Bulletin of Biotechnology and Physical and Chemical Biology*. 2018;14(3):56–73 (In Russ.)]
49. Лазаренко АА, Алимбарова ЛМ, Мордвинцева ЭЮ, Баринский ИФ. Разработка свечевой формы препарата иммуноглобулинов человека с высокими титрами антител к вирусам простого герпеса 1-го и 2-го типов для лечения хронических форм герпетической болезни. *Вопросы вирусологии*. 2017;62(1):36–41. [Lazarenko AA, Alimbarova LM, Mordvintseva EYu, Barinsky IF. Development of the suppository form of human immunoglobulin preparation with high titers of antibodies to herpes simplex virus types 1 and 2 for the treatment of chronic forms of herpetic disease. *Voprosy virusologii = Problems of Virology, Russian journal*. 2017;62(1):36–41 (In Russ.)] <https://doi.org/10.18821/0507-4088-2017-62-1-36-41>
50. Алешкин ВА, Новикова ЛИ, Афанасьев СС, Борисова ИВ, Зуева ММ, Зорик АВ. Способ получения иммуноглобулинового препарата для профилактики и терапии бактериальных и вирусных инфекций, иммуноглобулиновый препарат для профилактики и терапии бактериальных и вирусных инфекций (варианты) и суппозитории на основе иммуноглобулинового препарата. Патент Российской Федерации № 2255766; 2003. [Aleshkin VA, Novikova LI, Afanas'ev SS, Borisova IV, Zueva MM, Zorik AV. A method for the production of immunoglobulin preparation for the prevention and treatment of bacterial and viral infections, an immunoglobulin preparation for the prevention and treatment of bacterial and viral infections (variants) and suppositories based on an immunoglobulin preparation. Patent of the Russian Federation No. 2255766; 2003 (In Russ.)]

Об авторах / Authors

Абрамова Елена Геннадьевна, д-р биол. наук. *Elena G. Abramova*, Dr. Sci. (Biol.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-8798-1547>

Комиссаров Александр Владимирович, д-р биол. наук, проф. *Aleksandr V. Komissarov*, Dr. Sci. (Biol.), Professor. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-1609-0384>

Синецына Наталья Викторовна. *Natalya V. Sinitsyna*. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-5450-0594>

Жулидов Иван Михайлович, канд. биол. наук. *Ivan M. Zhulidov*, Cand. Sci. (Biol.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-3322-5404>

Никифоров Алексей Константинович, д-р биол. наук, доцент. *Aleksey K. Nikiforov*, Dr. Sci. (Biol.), Associate Professor. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-1130-3504>

Поступила 29.06.2021

После доработки 30.09.2021

Принята к публикации 10.12.2021

Received 29 June 2021

Revised 30 September 2021

Accepted 10 December 2021