

МЕТОД УЛЬТРАФИЛЬТРАЦИИ В ПРОИЗВОДСТВЕ ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА «АЛЬБУМИН, РАСТВОР ДЛЯ ИНФУЗИЙ». ОЦЕНКА СТАДИЙ ПРЕДВАРИТЕЛЬНОГО КОНЦЕНТРИРОВАНИЯ И ДИАФИЛЬТРАЦИИ

А.И. Тихая, Е.И. Хилькович, А.Л. Бузюк

Филиал республиканского научно-практического центра трансфузиологии и медицинских биотехнологий

Аннотация. В статье представлено исследование применения кассетной тангенциальной ультрафильтрации (ТУФ) при производстве лекарственного препарата «Альбумин, раствор для инфузий». Рассмотрены стадии предварительного концентрирования и диафильтрации, обеспечивающие удаление этанола и сохранность белковой фракции. Описаны параметры процесса и система контроля качества с использованием рефрактометрии и ТХУ-тестов. Результаты технологических прогонов подтвердили воспроизводимость метода, соответствие концентрации белка требованиям фармакопеи и санитарную безопасность процесса.

Ключевые слова: альбумин; тангенциальная ультрафильтрация; диафильтрация; этанол; мембранные технологии; контроль качества.

Введение. Тангенциальная ультрафильтрация (ТУФ) представляет собой современный технологический процесс для концентрирования и очистки белковых растворов, применимый на стадиях переработки плазмы крови при получении лекарственного средства «Альбумин, раствор для инфузий». В отличие от осадительных и хроматографических методов, ТУФ сочетает в себе возможность деликатной обработки белка, удаления низкомолекулярных примесей и экономичного расхода воды для инъекций при диафильтрации [1, с. 120; 2, с. 100]. Цель исследования заключалась в формировании модели управления параметрами процесса, оценке эффективности удаления этанола и сохранности белковой фракции.

Материалы и методы. Исходный материал представлял собой промежуточный раствор альбумина, прошедший осветляющую фильтрацию и корректировку pH до 7,2 – 7,5 при температуре $5 \pm 1^{\circ}\text{C}$ [3, р. 987]. Рабочая установка включала кассетную ультрафильтрационную систему Pellicon с перистальтическим насосом, манометрами и устройствами измерения температуры и рефрактометр УРЛ-1, откалибранный на показатель преломления воды $n = 1,333$. Перед подачей на кассету раствор подвергался глубинной предфильтрации через Zeta Plus Delipid 90ZB или EKS 293D; окончательная стерилизующая фильтрация осуществлялась наборами мембран Millipore (0,8; 0,45; 0,22 мкм). Контроль концентрации белка выполнялся биуретовым методом [4, р. 751]. Целостность мембран оценивали периодическими пробами пермеата с 20% раствором трихлоруксусной кислоты (ТХУ): отрицательный результат пробы интерпретировали как отсутствие протечки белка сквозь мембрану. Температурные и гидродинамические параметры процесса поддерживали в диапазонах, рекомендованных нормативной документацией: температура $5 \pm 1^{\circ}\text{C}$, скорость перемешивания не более 60 об/мин, давление на входе 0,1 – 0,2 МПа и на выходе 0,07 – 0,17 МПа. Предварительное концентрирование выполняли до целевых значений показаний рефрактометра $n = 1,3520$ при схеме с предварительным добавлением воды для инъекций 1:1 или до $n = 1,36 – 1,3620$ при концентрировании без предварительного разведения; диафильтрацию осуществляли путём поэтапного добавления воды для инъекций в соотношении 5:1 либо 10:1 по отношению к объёму концентратра до достижения показаний пермеата $n = 1,333 \pm 0,002$, что считалось критерием удаления этанола [5, р. 122; 6, р. 220; 7, с. 123; 8, р. 14; 9, р. 680; 10, с. 45].

Результаты исследования и их обсуждение. В четырех сериях технологических прогонов, выполненных с повторностью раз в неделю, рабочие параметры поддерживались в заданных пределах: средние значения температуры были в пределах $5,3 – 5,9^{\circ}\text{C}$, входное и выходное давления находились соответственно в диапазонах 0,12 – 0,15 МПа и 0,08 – 0,12 МПа. Предварительное концентрирование позволило снизить исходный объём раствора примерно с 60 – 71 литра до 22 – 24 литров, что согласуется с расчётными степенями уменьшения объёма при достижении целевых показателей преломления. В процессе диафильтрации объёмы добавляемой воды соответствовали нормативному требованию не менее десятикратного объёма концентрата в случаях, когда концентрирование было выполнено без первоначального добавления воды, и пятикратному объёму при предварительном разбавлении; при этом показания пермеата стабильно достигали

$n = 1,333 \pm 0,002$, и пробы на наличие белка в пермеате при смешении с ТХУ оставались отрицательными, что подтверждало целостность мембранны. Контроль биуретовым методом показал, что концентрация белка в конечном ретентате варьировала в пределах, требуемых для последующего технологического процесса: для продукции, ориентированной на получение 100 мг/мл, концентрация ретентата достигала 90 – 110 мг/мл, а для 200 мг/мл – 180 – 220 мг/мл после вытеснения раствором для инъекций. Микробиологические показатели и оптическая прозрачность пермеата находились в пределах допуска, установленных внутренними спецификациями и Государственной фармакопеей [11].

Заключение. Проведённые исследования подтверждают работоспособность кассетной тангенциальной ультрафильтрации для стадий предварительного концентрирования и диафильтрации. При правильно настроенных температурно-гидродинамических режимах в производстве лекарственного средства «Альбумин, раствор для инфузий» метод обеспечивает эффективное удаление этанола и чистоты белковой фракции. Рефрактометрический контроль в сочетании с периодическими ТХУ-тестами обеспечивает оперативную и надёжную систему принятия решений о переходе между операциями концентрирования и диафильтрации. Поддержание низкой температуры ($5 \pm 1^{\circ}\text{C}$), ограничение интенсивности перемешивания и соблюдение рекомендованных диапазонов давления минимизируют риск денатурации и механического повреждения белка. Регламентированная программа предфильтрации, санации и консервации кассет обеспечивает воспроизводимость и санитарную безопасность процесса. Для завершения валидации процесса требуется дополнить результаты долгосрочными испытаниями устойчивости мембран, верификацией вирусной безопасности и статистической оценкой допускаемых отклонений технологических параметров [12, с. 41].

Список использованных источников

1. Тихонов, А. В. Физико-химические основы биотехнологических процессов / А. В. Тихонов, И. П. Смирнов. – М. : Наука, 2015. – 412 с.
2. Кузнецов, В. Н. Технология крови и её компонентов / В. Н. Кузнецов. – СПб. : Питер, 2012. – 360 с.
3. Silebi V., Rossi F. Influence of temperature and shear on albumin stability during ultrafiltration // Bioprocess and Biosystems Engineering. – 2019. – Vol. 42. – P. 987–996.
4. Gornall, A. G. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction / A. G. Gornall, C. J. Bardawill, M. M. David // Journal of Biological Chemistry. – 1949. – Vol. 177. – P. 751–766.
5. Mulder, M. Basic Principles of Membrane Technology / M. Mulder. – Dordrecht : Kluwer Academic Publishers, 1996. – 410 p.
6. Baker, R. W. Membrane Technology and Applications / R. W. Baker. – Chichester : John Wiley & Sons, 2012. – 560 p.
7. Zhang, Y. Optimization of diafiltration process for plasma proteins removal of ethanol / Y. Zhang, X. Wang, H. Li // Journal of Membrane Science. – 2017. – Vol. 525. – P. 123–132.
8. World Health Organization. Good Manufacturing Practices for Biological Products. – Geneva : World Health Organization, 2011. – 78 p.
9. Laemmli, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 / U. K. Laemmli // Nature. – 1970. – Vol. 227. – P. 680–685.
10. Иванова, Н. А. Применение тангенциальной ультрафильтрации при очистке белков плазмы / Н. А. Иванова, С. В. Петров // Вопросы трансфузиологии. – 2018. – № 2. – С. 45–52.
11. European Pharmacopoeia. Monograph Human Albumin (20% solution). – Strasbourg : EDQM, 2017. – Режим доступа: <https://www.edqm.eu>. – Дата обращения: 05.10.2025.
12. Руководство по валидации биофармацевтических процессов / под ред. А. К. Смирнова. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2014. – 328 с.