



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
F26B 3/02 (2019.08); A61K 35/00 (2019.08)

(21)(22) Заявка: 2018147421, 28.12.2018

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
28.12.2018

Дата регистрации:
27.04.2020

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 28.12.2018

(45) Опубликовано: 27.04.2020 Бюл. № 12

Адрес для переписки:

125212, Москва, ул. Адмирала Макарова, 10,
ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского
Роспотребнадзора, патентный отд.

(72) Автор(ы):

Давыдкин Валерий Юрьевич (RU),
Давыдкин Игорь Юрьевич (RU),
Алешкин Владимир Андрианович (RU),
Мелихова Александра Вадимовна (RU),
Климова Эльвира Владимировна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

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 (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: RU 2440105 C2, 20.01.2012.
ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ СЛОВАРЬ, под
ред. И.И.Артоболевского, Москва, "Советская
энциклопедия", 1976, стр. 481, термин "сушка".
RU 2569747 C2, 27.11.2015. RU 2583136 C1,
10.05.2016. RU 2043587 C1, 20.06.2006.

(54) Способ конвективного высушивания высокодисперсных биоматериалов

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине и фармацевтической промышленности и касается способа получения сухих биоматериалов высушиванием конвективным методом. Сущность изобретения заключается в том, что содержащиеся действующие вещества биологической природы в жидкой фазе высокодисперсные биоматериалы высушивают из микрокапельного состояния, стабилизированного сухим высокодисперсным гидрофобным аэросилом, при температуре 25-

45°С и относительной влажности воздуха 20-80%. Техническим результатом заявляемого изобретения является снижение инактивации действующих веществ биологической природы в процессе высушивания высокодисперсных биоматериалов, повышение концентрации действующих веществ, а также снижение инактивации действующих веществ при хранении сухих материалов. 1 табл., 5 пр.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(19) **RU** (11)**2 720 175** (13) **C1**

(51) Int. Cl.
F26B 3/02 (2006.01)
A61K 35/00 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC
F26B 3/02 (2019.08); A61K 35/00 (2019.08)

(21)(22) Application: **2018147421, 28.12.2018**(24) Effective date for property rights:
28.12.2018

Registration date:
27.04.2020

Priority:

(22) Date of filing: **28.12.2018**(45) Date of publication: **27.04.2020** Bull. № 12

Mail address:

**125212, Moskva, ul. Admirala Makarova, 10,
FBUN MNIEM im. G.N. Gabrichevskogo
Rospotrebnadzora, patentnyj otd.**

(72) Inventor(s):

**Davydkin Valerij Yurevich (RU),
Davydkin Igor Yurevich (RU),
Aleshkin Vladimir Andrianovich (RU),
Melikhova Aleksandra Vadimovna (RU),
Klimova Elvira Vladimirovna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Federalnoe Byudzhethnoe uchrezhdenie nauki
"Moskovskij nauchno-issledovatel'skij institut
epidemiologii i mikrobiologii im. G.N.
Gabrichevskogo" Federalnoj sluzhby po nadzoru
v sfere zashchity prav potrebitel'j i
blagopoluchiya cheloveka (RU)**

(54) METHOD FOR CONVECTIVE DRYING OF FINELY DISPERSED BIOMATERIALS

(57) Abstract:

FIELD: medicine; pharmaceuticals.

SUBSTANCE: invention refers to medicine and pharmaceutical industry and concerns a method for producing dry biomaterials by convective drying. Substance of the invention consists in the fact that the high-disperse biomaterials containing the active substances of the biological nature in the liquid phase are dried out of a microdroplet state stabilized with a dry highly dispersed hydrophobic aerosil at temperature

of 25–45 °C and relative humidity of 20–80 %.

EFFECT: technical result of invention is reduced inactivation of active substances of biological nature during drying of finely dispersed biomaterials, high concentration of active substances, as well as reduced inactivation of active substances during storage of dry materials.

1 cl, 1 tbl, 5 ex

RU 2 720 175 C1

RU 2 720 175 C1

Изобретение относится к медицине и фармацевтической промышленности и касается способа высушивания конвективным методом биологических материалов, находящихся в высокодисперсном состоянии и содержащих бактерии, вирусы, иммуноглобулины и другие действующие вещества биологической природы.

5 Известен способ сушки биологических материалов, в соответствии с которым обезвоживание осуществляют в два этапа: на первом этапе частичное обезвоживание материала осуществляют за счет смешивания его с безводной лактозой, при этом лактоза превращается в кристаллогидрат, что в последующем облегчает процесс удаления влаги до требуемой остаточной влажности материала (от 2 до 4%); на втором этапе производят
10 досушивание материала вакуумным испарением влаги при разрежении, исключающем самозамораживание, при подогреве не выше 25°C (1).

Основным недостатком известного аналога является невозможность его использования для обезвоживания высокодисперсных материалов.

Наиболее близким по технической сущности к заявляемому является способ
15 получения сухих бактериальных препаратов, в соответствии с которым суспензию микроорганизмов смешивают с сорбентом - сухим высокодисперсным порошком диоксида кремния, в соотношении 2:1, сушку ведут в термостате при 27-32°C или на воздухе и полученную смесь диспергируют до тонкодисперсного состояния (2).

По сути известный способ предполагает комбинированное обезвоживание суспензии
20 микроорганизмов: на первом этапе удаление части влаги сорбентом - порошком диоксида кремния, на втором - удаление оставшейся влаги из материала (и сорбента) в термостате при 27-32°C или на воздухе.

Основными недостатками прототипа являются большая инактивация действующих
25 веществ биологической природы в процессе обезвоживания биоматериалов и их хранения и невозможность получения сухих материалов с высокой дисперсностью. Кроме того, способ не учитывает влияние относительной влажности на результат процесса высушивания.

Общим признаком заявляемого изобретения и прототипа является удаление влаги
30 при атмосферном давлении (на воздухе) за счет конвективного подвода тепла к высушиваемому материалу из окружающей среды.

Технической проблемой, решаемой при создании изобретения, является разработка
способа конвективного высушивания высокодисперсных биоматериалов, содержащих
действующие вещества биологической природы, позволяющего снизить инактивацию
действующих веществ в процессе высушивания и последующего хранения, а также
35 повысить концентрацию действующих веществ в материале.

Техническим результатом заявляемого изобретения является тот факт, что заявленный
конвективный способ высушивания по сравнению с прототипом, позволяет снизить
инактивацию действующих веществ биологической природы в процессе высушивания
на 16-40%, в процессе хранения сухих материалов на 13-42%, а высокодисперсные
40 биоматериалы, полученные при реализации заявленного способа, обладают в 1,5-9,4
раз большей концентрацией действующих веществ по сравнению с препаратами,
приготовленными в соответствии с прототипом.

Сущность изобретения заключается в том, что содержащие действующие вещества
биологической природы в жидкой фазе высокодисперсные биоматериалы обезвоживают
45 из микрокапельного состояния, стабилизированного сухим высокодисперсным
гидрофобным аэросилом, при температуре 25-45°C и относительной влажности воздуха
20-80%.

Стабилизация микрокапельного состояния жидкой фазы в препарате достигается

при соотношении жидкой фазы и сухого высокодисперсного гидрофобного аэросила от 10:1,5 до 10:6 (3).

Известно, что каплю жидкости в воздухе сжимает лапласовское давление, величина которого возрастает с уменьшением размера капли. Движущей силой процесса обезвоживания капли является разница в давлении пара над поверхностью капли и в окружающем ее газе (воздухе), и чем меньше размер капли, тем выше скорость ее испарения. Схожесть состояния жидкости в аэрозоле и в микрокапельном порошке обуславливает возможность эффективного атмосферного обезвоживания порошка. Однако, в этом случае на биологические компоненты в порошке, как и в аэрозоле, помимо собственно обезвоживания будут оказывать влияние различные действующие факторы, к наиболее существенным из которых следует отнести температуру и относительную влажность окружающего воздуха.

Данные литературы о зависимости инактивации биокомпонентов в аэрозоле от относительной влажности воздуха противоречивы. Так, температура 12-15°C и относительная влажность 50-90% наиболее благоприятны для выживания пастерелл в воздухе (4). Влодавец В.В. обнаружил чрезвычайно быстрое отмирание *E. coli* и *S. marcescens* в аэрозолях при низких показателях относительной влажности (5). Самая высокая выживаемость этих бактерий отмечена при температуре 18,5-21°C и относительной влажности воздуха выше 70%. Он же отмечает, что *Staph. albus* и *Sarcina lutea*, адаптированные к условиям внешней среды, хорошо сохраняются в аэрозоле при относительной влажности от 12 до 90% и температуре 18,5-21°C.

Songler J.R. (6), изучая выживаемость при температуре воздуха 23°C некоторых инфекционных агентов, пришел к выводу, что вирус ринотрахеита крупного рогатого скота и бактериофаг *E. coli* ВТ₃ более устойчивы при относительной влажности 90%, чем при влажности воздуха 10 и 35%, тогда как вирусы болезни Ньюкасла и везикулярного стоматита выживали лучше при относительной влажности более 10%. Изучая выживаемость в аэрозоле вирусов группы Колумбия-SK и Менго-ME, авторы (7) установили, что при температуре 16°C скорость инактивации вирусов в первые 5 мин витания в большей степени зависит от влажности воздуха и достигает максимума при высоких (80%) и низких (5%) ее значениях. По данным авторов (8), вирус оспы голубей в аэрозоле устойчив при различных значениях относительной влажности, тогда как вирус саркомы Рауса инактивируется при низкой влажности и довольно стабилен лишь при относительной влажности воздуха выше 70%.

Нашими собственными исследованиями установлено, что наименьшая инактивация ряда биокомпонентов при атмосферном высушивании микрокапельных порошков при температуре 25-45°C происходит в диапазоне относительной влажности воздуха от 20 до 80%.

Важным технологическим преимуществом заявляемого способа является получение «чистого» сухого порошкообразного биологически активного материала, не содержащего влагоемкий сорбент. С одной стороны, это повышает устойчивость при хранении сухих биологически активных веществ, так как исключает возможность нежелательного перераспределения влаги между биокомпонентом и сорбентом при изменении термодинамического состояния системы, происходящем в случае существенных колебаний температуры хранения препарата сорбционно-контактной сушки. С другой стороны, значительно расширяет фармацевтический аспект конструирования биопрепаратов, а именно: увеличивает количество возможных готовых форм, как твердых дозированных (таблетки, капсулы, драже, гранулы), так и мягких (суппозиторий, пасты, мази) лекарственных форм, которые могут быть приготовлены

на основе сухого порошка, и в которых наличие влагоемкого сорбента нежелательно или недопустимо.

Согласно изобретению снижение инактивации действующих веществ биологической природы в процессе высушивания высокодисперсных биоматериалов, повышение концентрации действующих веществ и снижение инактивации действующих веществ при хранении сухих материалов обеспечивается тем, что жидкую фазу высушивают из микрокапельного состояния, стабилизированного сухим высокодисперсным гидрофобным аэросилом, при температуре 25-45°C, относительной влажности воздуха 20-80%.

Заявляемый способ конвективного высушивания высокодисперсных биоматериалов является новым и в литературе не описан.

Жизнеспособность микроорганизмов после воздействия различных факторов очень часто оценивают по их выживаемости (9), но в данном случае эффективность процесса обезвоживания оценивали по инактивации (10) действующих веществ в биоматериалах. Термин инактивация в данном случае является более уместным и универсальным по сравнению с понятием выживаемость, пригодным для описания живых микроорганизмов, так как подходит по смыслу к характеристике гораздо большего числа эффектов, например, потери активности ферментов растительного происхождения или иммуноглобулинов при их переработке, когда термин выживаемость относителен.

Расчет инактивации действующих веществ осуществляли по формуле

$$И=100-В,$$

где И - инактивация действующих веществ, %;

В - выживаемость, %.

Выживаемость микробных клеток в процессе получения микрокапельных порошков рассчитывали по формуле

$$В=БК_{МП} \times (1+\gamma) \times 100 / БК_{БС},$$

где $БК_{МП}$ - концентрация клеток в микрокапельном порошке, КОЕ/г;

$БК_{БС}$ - концентрация живых клеток в биосуспении, КОЕ/мл;

γ - отношение массы аэросила к массе биосуспении в микрокапельном порошке.

Выживаемость микроорганизмов при обезвоживании микрокапельного порошка до промежуточной влажности или в отделенном расевом сухом порошке определяли по выражению

$$В=БК_{С(П)} \times (100-W_{МП}) \times 100 / БК_{МП} \times (100-W_{С(П)}),$$

где $БК_{С(П)}$ - концентрация клеток в обезвоженном микрокапельном порошке или отделенном порошке, КОЕ/г;

$W_{С(П)}$ - остаточная влажность обезвоженного микрокапельного порошка или отделенного расевом порошка, %;

$W_{МП}$ - относительная влажность микрокапельного порошка.

Выживаемость микроорганизмов при приготовлении сухого препарата сорбционным обезвоживанием рассчитывали по формуле

$$В=БК_{П} \times M_{П} \times 100 / БК_{МП} \times M_{МП},$$

где $БК_{П}$ - концентрация микробных клеток в сухом препарате, КОЕ/г;

$M_{П}$ - масса сухого препарата, г;

$M_{МП}$ - масса микрокапельного порошка, взятого для приготовления сухого препарата,

г.

Количество жизнеспособных энтеробактерий рассчитывали по формуле

$$BK=N \times 10^{p-1} \times V/P,$$

где BK - биологическая концентрация клеток в материале, КОЕ/г, КОЕ/мл;

N - среднее арифметическое числа колоний в пробирках;

p - степень последнего разведения;

V - объем разводящей жидкости, мл;

P - навеска сухого (г) или объем жидкого (мл) материала.

Биологическую концентрацию живых аэробных микроорганизмов определяли по выражению

$$BK=N \times 10^{p+1} \times V/P,$$

где BK - биологическая концентрация клеток в материале, КОЕ/г, КОЕ/мл;

N - среднее арифметическое числа колоний на чашках;

p - степень разведения;

V - объем разводящей жидкости, мл;

P - навеска сухого (г) или объем жидкого (мл) материала.

Биологическую активность препаратов иммуноглобулинов характеризовали противосальмонеллезной активностью (в титрах РПГА) (11). Концентрацию вакцинного штамма La-Sota вируса болезни Ньюкасла определяли культивированием в аллантоисной жидкости куриных эмбрионов, а биологическую активность вируса оценивали по эмбриональной инфицирующей дозе (ЭИД₅₀), которую рассчитывали по методу Кербера в модификации Ашмарина (12). Стерилизацию гидрофобного аэросила проводили в сухожаровом шкафу SUP-4 при температуре 120°C с выдержкой в установившемся тепловом режиме не менее 2 часов. Относительную влажность воздуха в помещениях измеряли гигрометром М-19.

Осуществление способа изобретения поясняется на следующих примерах, показывающих снижение инактивации действующих веществ биологической природы в процессе высушивания биоматериалов, повышение концентрации действующих веществ и снижение инактивации действующих веществ при хранении сухих материалов при реализации способа.

Пример 1. Объект высушивания готовили смешением суспензии микроорганизмов *Serratia marcescens* шт. ВКМ-851 с лактозной защитной средой в соотношении 2:1 и переводили его в микрокапельное состояние в электромагнитном диспергаторе. Микрокапельный порошок тест-культуры для проверки фильтров очистки воздуха с жидкой фазой в микрокапельном состоянии, стабилизированном сухим высокодисперсным гидрофобным аэросилом, с концентрацией жизнеспособных микроорганизмов $45,9 \times 10^9$ КОЕ/г высушивали при атмосферном давлении при температуре 25°C и относительной влажности воздуха 20%.

Биологическая концентрация действующего вещества, его инактивация в процессе высушивания и в процессе хранения сухого материала при температуре (4±2°C) в течение 12 месяцев представлены в таблице.

Пример 2. Объект высушивания готовили смешением суспензии микроорганизмов *Bifidobacterium bifidum* шт. 1С с сахарозо-молочной защитной средой в соотношении 2:1 и переводили его в микрокапельное состояние в дисковом диспергаторе. Микрокапельный порошок пробиотического препарата с жидкой фазой в микрокапельном состоянии, стабилизированном сухим высокодисперсным гидрофобным аэросилом, с концентрацией жизнеспособных микроорганизмов $1,3 \times 10^9$ КОЕ/г высушивали при атмосферном давлении при температуре 25°C и относительной влажности воздуха 80%.

Биологическая концентрация действующего вещества, его инактивация в процессе высушивания и в процессе хранения сухого материала при температуре ($4\pm 2^\circ\text{C}$) в течение 12 месяцев представлены в таблице.

5 Пример 3. Объект высушивания готовили смешением суспензии микроорганизмов *Lactobacillus acidophilus* штаммов 100аш, НК1 и К₃Ш₂₄ с сахарозо-молочной защитной средой в соотношении 2:1 и переводили его в микрокапельное состояние в дисковом диспергаторе. Микрокапельный порошок пробиотического препарата с жидкой фазой в микрокапельном состоянии, стабилизированном сухим высокодисперсным гидрофобным аэросилом, с концентрацией жизнеспособных микроорганизмов $0,8 \times 10^9$ КОЕ/г высушивали при атмосферном давлении при температуре 45°C и относительной влажности воздуха 20%.

10 Биологическая концентрация действующего вещества, его инактивация в процессе высушивания и в процессе хранения сухого материала при температуре ($4\pm 2^\circ\text{C}$) в течение 12 месяцев представлены в таблице.

15 Пример 4. Объект высушивания готовили смешением раствора иммуноглобулинов IgG, IgA, IgM с глицином (2%) в качестве защитной среды и переводили его в микрокапельное состояние в дисковом диспергаторе. Микрокапельный порошок иммунобиологического препарата с жидкой фазой в микрокапельном состоянии, стабилизированном сухим высокодисперсным гидрофобным аэросилом, с концентрацией белка 40 мг/г и противосальмонеллезной активностью 1:640 в титрах РПГА высушивали при атмосферном давлении при температуре 45°C и относительной влажности воздуха 80%.

20 Биологическая концентрация действующего вещества, его инактивация в процессе высушивания и в процессе хранения сухого материала при температуре ($4\pm 2^\circ\text{C}$) в течение 12 месяцев представлены в таблице.

25 Пример 5. Объект высушивания готовили смешением суспензии вакцинного штамма La-Sota вируса болезни Ньюкасла с защитной средой на основе обезжиренного молока в соотношении 2:1 и переводили его в микрокапельное состояние в дисковом диспергаторе. Микрокапельный порошок вакцинного препарата с жидкой фазой в микрокапельном состоянии, стабилизированном сухим высокодисперсным гидрофобным аэросилом, с содержанием жизнеспособных вирусов $10,7 \text{ lg ЭИД}_{50}/\text{г}$ высушивали при атмосферном давлении при температуре 32°C и относительной влажности воздуха 50%.

30 Биологическая концентрация действующего вещества, его инактивация в процессе высушивания и в процессе хранения сухого материала при температуре ($4\pm 2^\circ\text{C}$) в течение

40

45

12 месяцев представлены в таблице.

Сухой препарат на основе		Биологическая концентрация действующего вещества		Инактивация, %	
		до обезвоживания	после обезвоживания	при сушке	при хранении
5 <i>Serratia marcescens</i>	по прототипу	45,9×10 ⁹ КОЕ/г	13,7×10 ⁹ КОЕ/г	55	53
	заявляемый	45,9×10 ⁹ КОЕ/г	87,3×10 ⁹ КОЕ/г	46	43
10 <i>Bifidobacterium bifidum</i>	по прототипу	1,3×10 ⁹ КОЕ/г	1,8×10 ⁸ КОЕ/г	59	52
	заявляемый	1,3×10 ⁹ КОЕ/г	1,7×10 ⁹ КОЕ/г	39	38
15 <i>Lactobacillus acidophilus</i>	по прототипу	0,8×10 ⁹ КОЕ/г	0,6×10 ⁹ КОЕ/г	48	57
	заявляемый	0,8×10 ⁹ КОЕ/г	1,6×10 ⁹ КОЕ/г	32	33
20 Иммуноглобулинов	по прототипу	40 мг/г	17 мг/г	20	24
	заявляемый	40 мг/г	65 мг/г	14	17
25 Вируса болезни Ньюкасла	по прототипу	10,7 lg ЭИД ₅₀ /г	10,3 lg ЭИД ₅₀ /г	62	51

25	заявляемый	10,7 lg ЭИД ₅₀ /г	10,5 lg ЭИД ₅₀ /г	37	44
----	------------	------------------------------	------------------------------	----	----

Как следует из анализа данных, представленных в таблице, инактивация действующих веществ биологической природы в результате процесса по заявленному способу высушивания снизилась на 16-40%. Высокодисперсные биоматериалы, полученные при реализации заявленного конвективного способа высушивания, при одинаковом влагосодержании обладают в 1,5-9,4 раз большей концентрацией действующих веществ по сравнению с препаратами, приготовленными в соответствии с прототипом. Кроме того, инактивация действующего вещества в результате хранения сухих материалов, полученных заявленным способом, меньше на 13-42% инактивации хранившихся материалов по прототипу. Указанное обеспечивается высушиванием жидкой фазы из микрокапельного состояния, стабилизированного сухим высокодисперсным гидрофобным аэросилом, при температуре 25-45°C и относительной влажности воздуха 20-80%.

Источники информации

1. RU, заявка 93027480 А, F26В 5/16, 27.10.1996.
2. RU 2104299 С1.
3. RU 2440105 С2.
4. Ярных В.С. Применение аэрозолей в ветеринарии. - М.: Сельхозиздат, 1962. - 240 с.
5. Влодавец В.В. Определение жизнеспособности бактерий в аэрозоле // Журнал микробиологии. - 1963. - №4. - С. 46-50.
6. Songler J.R. Influence of relative humidity on the survival of some air-borne viruses // Appl. Microbiol. - 1967. - Vol. 15, №1. - P. 35-42.

7. Akers T.I., Bond S.N., Goldberg L.J. Effect of temperature and relative humidity on survival of air-born Columbia-SK group viruses // Appl. Microbiol. - 1966. -Vol. 14, №3. - P. 361-364.

8. Webb S.J., Bather R., Hodges R.W. The effect relative humidity and inositol on airborne viruses // Canad. J. Microbiol. - 1963. - Vol. 9, №1. - P. 87-92.

5 9. Кинетика измельчения биопрепаратов в аппарате на базе плоского двухстороннего индуктора / И.Ю. Давыдкин, В.Ю. Давыдкин, Ю.П. Давыдкин и др. // Медицинская промышленность и биотехнология. Наука-производство-маркетинг. 1992. Вып. 5-6. С. 51-58.

10. RU 2440098 C2.

10 11. ФС 42-3347-97.

12. Сюрин В.Н., Белоусов Р.В., Фомина Н.В. Ветеринарная вирусология. - М.: Колос, 1986.

(57) Формула изобретения

15 Способ конвективного высушивания при атмосферном давлении высокодисперсных биоматериалов, содержащих действующие вещества биологической природы в жидкой фазе, отличающийся тем, что жидкую фазу высушивают из микрокапельного состояния, стабилизированного сухим высокодисперсным гидрофобным аэросилом, при температуре 25-45°C и относительной влажности воздуха 20-80%.

20

25

30

35

40

45