

УДК 615.014.23

<https://www.doi.org/10.34907/IPQAI.2025.19.57.007>

## ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПОИСК АДЪЮВАНТНОЙ КОМПОЗИЦИИ ДЛЯ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ПТИЧЬЕГО ГРИППА

**Д.В. Компанцев**, доктор фарм. наук, доцент, заведующий кафедрой фармацевтической технологии с курсом медицинской биотехнологии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» (ВолгГМУ) Минздрава России, г. Пятигорск, Россия; ORCID 0000-0002-5074-808X

[farmacontractp@bk.ru](mailto:farmacontractp@bk.ru)

**В.А. Чахирова**, преподаватель кафедры фармацевтической технологии с курсом медицинской биотехнологии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» (ВолгГМУ) Минздрава России, г. Пятигорск, Россия; ORCID: 0000-0001-9039-4717

[vchakhirova@mail.ru](mailto:vchakhirova@mail.ru)

**А.А. Чахирова**, канд. фарм. наук, доцент кафедры фармацевтической технологии с курсом медицинской биотехнологии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» (ВолгГМУ) Минздрава России, г. Пятигорск, Россия; ORCID: 0000-0002-5265-9478

[annachakhirova@gmail.com](mailto:annachakhirova@gmail.com)

Статья посвящена разработке составов адъювантных композиций для приготовления стабильных эмульсионных вакцин. Объектом исследования являлись минеральное масло МХ-150, моноолеат стеариновой кислоты, твин-80, сорбитан стеарат, эмульгатор Т2. Стабильность адъювантных композиций оценивали на клеточном отливе вируса птичьего гриппа H5N1. Определение типа эмульсии осуществляли капельным методом. Стабильность эмульсии определяли центрифугированием, а также путем выдерживания препаратов при температурах 2–8°C в течение 18 месяцев и 37°C и 25°C в течение 14 дней (ГОСТ 29188.3-91 Метод определения стабильности эмульсии. Изделия косметические). Разработаны и исследованы составы эмульсионных вакцин. Установлено, что группа адъювантов с минеральным маслом, моноолеатом стеариновой кислоты и твином-80 обеспечивали стабильность эмульсионной вакцины, а группа адъювантов с сорбитан стеаратом и эмульгатором Т2 обеспечивала стабильность только первые сутки наблюдения. Статистический анализ показал, что стабильность вакцины после центрифугирования при использовании адъювантов с минеральным маслом, моноолеатом стеариновой кислоты и твином в разных соотношениях не показали существенной разницы, но значительно отличались в группе адъювантов, приготовленных с сорбитан стеаратом и эмульгатором Т2. Все используемые в работе адъюванты

и вспомогательные вещества широко используются в фармацевтической технологии и биотехнологии, могли индуцировать высокие титры антител после иммунизации птиц, между ними не было существенной разницы. В ходе эксперимента установлено, что более стабильными при хранении оказались препараты, приготовленные с использованием моноолеата стеариновой кислоты. Эти результаты свидетельствуют о том, что данная композиция может быть новым адъювантом в составе вакцины против птичьего гриппа.

**Ключевые слова:** адъювант, вакцина, птичий грипп, стабильность, эмульсия

Проблема создания высокоиммуногенных и безопасных вакцин, обеспечивающих иммунитет, способный защитить от вируса птичьего гриппа, является актуальной. С развитием современных технологий конструирования адъювантных композиций возобновился интерес к созданию новых вакцинных препаратов, которые могут индуцировать широкий защитный иммунитет.

Вирусы птичьего гриппа H5N1 вызывают тяжелые заболевания и огромные экономические потери для птицеводческих ферм. Высокпатогенный вирус может преодолевать видовой барьер и заражать млекопитающих, в том числе человека [1,5]. Поэтому важная задача эпиднадзора – усиление

мер по профилактике и контролю за птичьим гриппом. Вакцинация является экономичной и эффективной стратегией в борьбе с распространением этого заболевания. Несмотря на значительные успехи в области вакцинации, ни одна из существующих в настоящее время вакцин не обеспечивает абсолютный профилактический или лечебный эффект. Поэтому особое внимание уделяется поиску способов повышения эффективности вакцинации и усилению иммуногенных свойств вакцин. При проведении исследований объектом нашего изучения стали адьюванты, а именно их композиции на основе минерального масла [7].

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Вирусный клеточный отлив – штамм H5N1 против птичьего гриппа. Все эксперименты с вирусом гриппа подтипа H5N1 проводились в лаборатории с уровнем биобезопасности 3+.

Антиген птичьего гриппа H1 подтипа H5 и адьюванты, содержащие минеральное масло, моноолеат стеариновой кислоты, твин-80, сорбитан стеарат, эмульгатор T2 [1]. Для приготовления масляных адьювантов использовали масло МХ-150. Сначала производили отвешивание масла, затем добавляли эмульгатор в количестве 8–12% по массе, тщательно гомогенизировали, стерилизовали при 120°C течение 30 минут, охлаждали до температуры 18–20°C и использовали в работе.

### Приготовление вакцины

Вирус птичьего гриппа H5N1, инактивированный 1% формалином, смешивали с адьювантом на минеральном масле в соотношении 40:60 (объем/объем) и затем эмульгировали, как описано в протоколах Serpic: образцы масляных адьювантов смешивали с водным антигеном и эмульгировали, используя гомогенизатор.

Вначале в емкость вносили адьювант, перемешивали со скоростью 1000 об/мин и медленно добавляли антиген. После добавления рассчитанного

количества антигена перемешивание проводили при 8000 об/мин. Общее время эмульгирования 10 минут. Получали эмульсию типа «вода-масло». Определение типа эмульсии осуществляли капельным методом. Эмульсию относили к типу «вода-масло», если она в холодной деминерализованной воде (t воды –5°C) формировала на ее поверхности каплю с четко очерченными границами.

Стабильность эмульсии определяли центрифугированием [2].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные эмульсионные вакцины, содержали следующие адьювантные композиции:

Образцы вакцин помещали в центрифужные пробирки, отмечали высоту 100 мм и наблюдали во времени. Центрифугировали при 3000 об/мин в течение 30 минут. Эмульсию считали стабильной, если после центрифугирования в процессе визуального контроля внешний вид препарата не изменялся. Также стабильность определяли путем выдерживания препаратов при температурах 2–8°C в течение 18 месяцев и 37°C и 25°C в течение 14 дней [2,3]. При определении стабильности эмульсионных вакцин наблюдали за отслоением следующих фракций:

- М – прозрачное масло в верхней фракции;
- В – отслоение водной фракции в нижней части пробирки;
- Э – плотная эмульсия.

Результаты определения стабильности эмульсионных вакцин против вируса гриппа H5N1 представлены в табл. 2, 3, 4.

## ВЫВОДЫ

Эффективная вакцина нуждается не только в высокоэффективных антигенах, но и в оптимальном адьюванте для усиления иммуногенности антигена. Анализ данных табл. 2 показал, что на этапе

Таблица 1

## СОСТАВЫ МАСЛЯНЫХ АДЬЮВАНТОВ

| №          | Масло МХ-150 | Моноолеат стеариновой кислоты | Твин-80 | Сорбитан стеарат | Эмульгатор T2 |
|------------|--------------|-------------------------------|---------|------------------|---------------|
| Состав № 1 | +            | +                             | +       | –                | –             |
| Состав № 2 | +            | +                             | –       | +                | –             |
| Состав № 3 | +            | +                             | –       | –                | +             |

Таблица 2

**СТАБИЛЬНОСТЬ ЭМУЛЬСИОННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ВИРУСА ГРИППА H5N1  
ПРИ ТЕМПЕРАТУРЕ 37°C**

| Время<br>наблюдения | Образцы вакцины                  |   |   |      |      |   |      |     |   |
|---------------------|----------------------------------|---|---|------|------|---|------|-----|---|
|                     | № 1                              |   |   | № 2  |      |   | № 3  |     |   |
|                     | Высота расслоившейся фракции, мм |   |   |      |      |   |      |     |   |
|                     | М                                | В | Э | М    | В    | Э | М    | В   | Э |
| 1 сутки             | –                                | – | – | 1,1  | 2,17 | – | –    | –   | – |
| 3 суток             | –                                | – | – | 2,45 | 4,89 | – | –    | –   | – |
| 7 суток             | –                                | – | – | 2,81 | 5,17 | – | 2,0  | –   | – |
| 14 суток            |                                  | – | – | 2,82 | 5,40 | – | 2,54 | 1,0 | – |
| 30 суток            | 1,0                              | – | – | 2,9  | 5,51 | – | 3,91 | 1,0 | – |

Таблица 3

**СТАБИЛЬНОСТЬ ЭМУЛЬСИОННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ВИРУСА ГРИППА H5N1  
ПРИ ТЕМПЕРАТУРЕ 25°C**

| Время<br>наблюдения | Образцы вакцины                  |   |   |      |     |   |     |      |      |
|---------------------|----------------------------------|---|---|------|-----|---|-----|------|------|
|                     | № 1                              |   |   | № 2  |     |   | № 3 |      |      |
|                     | Высота расслоившейся фракции, мм |   |   |      |     |   |     |      |      |
|                     | М                                | В | Э | М    | В   | Э | М   | В    | Э    |
| 1 сутки             | –                                | – | – | –    | –   | – | –   | –    | –    |
| 3 суток             | –                                | – | – | 1,7  | –   | – | –   | 2,0  | –    |
| 7 суток             | –                                | – | – | 2,54 | –   | – | –   | 2,5  | –    |
| 14 суток            | –                                | – | – | 3,8  | 0,5 | – | –   | 15,0 | –    |
| 30 суток            | 0,3                              | – | – | 4,0  | 0,5 | – | –   | 17,9 | 82,1 |

Таблица 4

**СТАБИЛЬНОСТЬ ЭМУЛЬСИОННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ВИРУСА ГРИППА H5N1  
ПРИ ТЕМПЕРАТУРЕ 2–8°C**

| Время<br>наблюдения | Образцы вакцины                  |   |   |      |     |   |     |     |      |
|---------------------|----------------------------------|---|---|------|-----|---|-----|-----|------|
|                     | № 1                              |   |   | № 2  |     |   | № 3 |     |      |
|                     | Высота расслоившейся фракции, мм |   |   |      |     |   |     |     |      |
|                     | М                                | В | Э | М    | В   | Э | М   | В   | Э    |
| 1 сутки             | –                                | – | – | –    | –   | – | –   | –   | –    |
| 3 суток             | –                                | – | – | 1,0  | –   | – | –   | –   | –    |
| 7 суток             | –                                | – | – | 2,5  | –   | – | –   | –   | –    |
| 1 месяц             | –                                | – | – | 2,5  | –   | – | –   | 1,7 |      |
| 3 месяца            | –                                | – | – | 3,12 | 0,5 | – | –   | 4,0 | 96,0 |
| 6 месяцев           | –                                | – | – | 4,5  | 0,5 | – | 0,5 | 6,5 | 93,5 |
| 12 месяцев          | 0,3                              | – | – | 4,9  | 0,5 | – | 1,0 | 7,0 | 92,0 |
| 18 месяцев          | 0,5                              | – | – | 5,0  | 0,5 | – | 1,0 | 7,0 | 92,0 |

центрифугирования эмульсии у образца № 1 обнаружили незначительное отслоение масляной фракции на 30-е сутки хранения, спустя 14 суток хранения при 37°C эмульсии были стабильными. Образец № 2 оказался нестабильным уже в первые сутки, расслоение на три фракции увеличивалось при хранении. Образец № 3 расслоился спустя неделю.

Данные **табл. 3** свидетельствуют о стабильности образцов эмульсии № 1 в процессе хранения при 25°C на протяжении всего эксперимента.

Из данных, представленных в **табл. 4**, следует, что у образца № 1 незначительное отслоение масляной фазы наблюдается спустя год, а у образца № 2 – на третьи сутки и в последующем происходит разделение на три фракции. Образец № 3 был стабилен в течение месяца в условиях холодильника, но затем происходило расслоение с выделением плотной эмульсии. Образец № 1 сохранял стабильность на протяжении всего эксперимента.

Таким образом, на основании полученных результатов можно сделать вывод, что из всех экспериментальных образцов вакцин образец № 1 обладает лучшей стабильностью.

### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Тищенко А.С. Влияние минерального и масляного адъювантов на иммуногенность комплексного эшерихиозного анатоксина / *Инновационные технологии в сельском хозяйстве*: материалы III Междунар. науч. конф. (г. Казань, май 2017 г.). – Казань, 2017. – С. 34–40.
2. ГОСТ 29188.3-91 Метод определения стабильности эмульсии. Изделия косметические.
3. Машкин Е.С., Хоружий К.И., Шатохина Е.М. Стабилизация и разрушение эмульсий / *Материалы МСНК «Студенческий научный форум 2024»*. – 2024. – №9. – С. 126–129.
4. Способ получения адъюванта для вирусных вакцин / Красильников И.В., Николаева А.М., Иванов А.В. Патент на изобретение RU 2545714 С1, 10.04.2015. Заявка №2014100973/10 от 14.01.2014.
5. Адъюванты на масляной основе / Доминовски П.Д., Вильмес Л., Фосс Д.Л., Мор К., Галло Г., Хардхам Д.М., Кребс Р.Ли., Лайтли С.Э. М., Махан С., Медиратта С., Мванги Д., Рай Ш.К., Сэлмон С.А., Вора Ш., Фонтэйн М.К., Смит Д.Д.Э., Фитцпатрик Д.Л., Доначи У., Ягларж А.Д. Патент на изобретение RU 2730011 С2, 14.08.2020. Заявка №2016109925 от 19.09.2014.
6. Позднякова Т.А., Пучкова О.М. Изучение влияния различных эмульгаторов на качество эмульсий экстенпорального изготовления // *Вестник Воронежского государственного университета*. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2019. – №2. – С. 102–108.
7. Осипова Н.И. Получение и характеристика экспериментальной вакцины против вирусов птичьего гриппа H5N1 // *Ветеринария*. Реферативный журнал. – 2010. – №4. – С. 911.

## TECHNOLOGICAL SEARCH FOR AN ADJUVANT COMPOSITION FOR AVIAN INFLUENZA VACCINE

**D.V. Kompantsev, V.A. Chakhirova, A.A. Chakhirova**

*Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of the Volgograd State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Pyatigorsk, Russia*

*The article is devoted to the development of adjuvant compositions for the preparation of stable emulsion vaccines. The object of the study was mineral oil MX-150, steric acid monooleate, twin 80, sorbitan stearate, emulsifier T2. The stability of adjuvant compositions was evaluated on the cellular ebb of the H5N1 avian influenza virus. The type of emulsion was determined by the drip method. The stability of the emulsion was determined by centrifugation, as well as by holding the preparations at temperatures of 2–8°C for 18 months and 37°C and 25°C for 14 days. The compositions of emulsion vaccines have been developed and studied. It was found that a group of adjuvants with mineral oil, stearic acid monooleate and twin 80 provided stability of the emulsion vaccine. As a result of the experiment, it was found that preparations prepared using stearic acid monooleate were more stable during storage. These results indicate that this composition may be a new adjuvant for the preparation of a vaccine against avian influenza.*

**Keywords:** adjuvant, vaccine, avian influenza, stability, emulsion