

# ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА PREVENTIVE MEDICINE

DOI: 10.12731/wsd-2016-2-7

УДК 577.112: 615.371

## МОЛЕКУЛЯРНАЯ КОНСТРУКЦИЯ НА ОСНОВЕ АНТИГЕНОВ ВИРУСА ГРИППА

*Зайцева Е.С., Трухин В.П., Москвичев Б.В.*

*Проведена химическая модификация антигенов (AG) вируса гриппа штамма B/Florida 04/2006 с помощью частично окисленного декстрана (Д).*

*Химическую модификацию AG вируса гриппа проводили при разных молярных соотношениях AG и Д в реакционном растворе (AG:Д) – 1:10; 1:20; 1:40; 1:100, при степени окисления Д – 20%. Иммуногенность модифицированного антигена (AG хим. мод) вируса гриппа, проверяли на беспородных белых мышах весом 10-12 г. В качестве контрольного образца использовали AG вируса гриппа B/Florida 04/2006 без модификации.*

**Ключевые слова:** *антигены вируса гриппа; химическая модификация; окисленный декстран; иммуногенность.*

## MOLECULAR STRUCTURE BASED OF THE ANTIGENS INFLUENZA

*Zaitseva E.S., Truhin V.P., Moskvichev B.V.*

*Followed by chemical modification of antigens (AG) influenza virus strain B/Florida 04/2006 with partially oxidized dextran (D).*

*Ag chemical modification of the influenza virus was carried out at different molar ratios of AG and D in the reaction solution (AG: D) – 1:10, 1:20, 1:40, 1:100, with oxidation D – 20%. The immunogenicity of the modified*

*antigen (AG Chem. Modes) influenza virus were examined for outbred white mice weighing 10-12 g as a control sample used Ag influenza B/Florida 04/2006 until modification.*

**Keywords:** *antigens influenza; chemical modification; oxidized dextran; immunogenicity.*

Во второй половине прошлого столетия наблюдалось усиленное развитие медицинской энзимологии. Появились лекарственные средства на основе ферментов и их ингибиторов для лечения желудочно-кишечных, сердечно-сосудистых, легочных, онкологических и других заболеваний [1, 2, 3, 4].

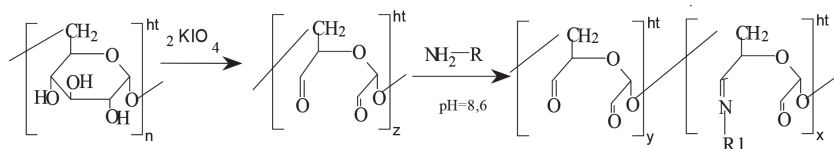
При этом, стало ясно, что белковые субстанции требуют дополнительной подготовки перед их использованием в качестве субстанций лекарственных средств по причине их невысокой устойчивости [5, 6]. Кроме этого, нативные белки часто негативно воздействуют на организм пациента, вызывая аллергическую реакцию или иные нежелательные последствия [7, 8, 9], а также быстро инактивируются в организме пациента [8]. Поэтому, наряду с успешным развитием биотехнологических приемов получения ферментов и других белковых биологически-активных веществ (БАВ) стало успешно развиваться направление, посвященное поиску путей модификации белковых субстанций. Наиболее перспективным показал себя прием химической модификации БАВ с помощью полимеров различного состава и структуры [10, 11]. Поскольку химическая модификация БАВ с помощью нерастворимых полимеров, так называемая иммобилизация, как правило, приводила к резкому падению специфической активности [12, 13], мы в своих исследованиях с самого начала сделали выбор в пользу водорастворимых полимеров, разрешенных к применению в медицине. Таким наиболее приемлемым полимером, с нашей точки зрения, оказался декстран [14, 15]. В нашей стране выпускается две лекарственные формы декстрана: полиглюкин и реополиглюкин [16].

Декстраны, как полимеры-модификаторы БАВ, используются во множестве работ, направленных на создание высокоактивных лекарственных

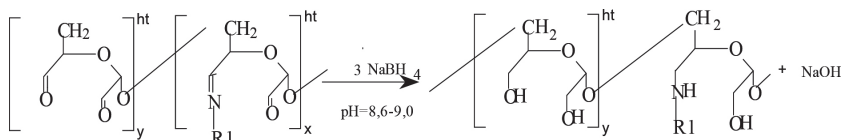
препаратов [17, 18]. Широкое распространение полисахаридные матрицы получили благодаря высокой биосовместимости и способности легко выводиться из организма. Разработаны различные способы активации декстранов, которые в мягких условиях вступают во взаимодействие с функционально активными группами белков. При этом, ферменты приобретают устойчивость к действию эндогенных протеиназ и ингибиторов. Усиливается их конформационная стабильность. Образование конъюгатов с полисахаридами обеспечивает также увеличение времени циркуляции модифицированных ферментов в кровяном русле, снижает их антигенность [19, 20].

Нами был выбран наиболее простой метод активации декстрана для последующего связывания с белками. Суть этого метода заключается в дозированном окислении декстрана периодатом калия или натрия.

Окисленные звенья декстрана остаются в полимерной цепи, преобразуясь в открытые кольца с альдегидными группами. Поскольку все белки имеют концевые первичные аминогруппы и еще дополнительно некоторое количество  $\epsilon$ -аминогрупп за счет встроенных в белковую цепь звеньев лизина, то дальнейшее взаимодействие между альдегидными и первичными аминными группами обеспечивает образование конъюгатов белок-полисахарид [21].



Восстановление проводили в присутствии боргидрида натрия [21].



Впервые у нас в стране были предприняты исследования на получение полимерных производных протеолитического фермента террилитина [22, 23, 24] и активатора фибринолиза – стрептокиназы [25, 26, 27]. Эти

исследования завершились разработкой лекарственных форм терридеказы® (ФСП НЛП 001258-221111) [28] и стрептодеказы ФС 42-2471-87.

В отличие от нативного террилитина® острая токсичность терридеказы® в десятки раз меньше, причем заметно снижена анафилактикогенная активность препарата. Стабильность белковой субстанции повышена на порядок по сравнению с исходным ферментом [27, 28]. Еще более интересно проявились свойства белкового активатора в стрептодеказе®, причем модификация активатора приводила к повышению активности субстанции в десятки раз по сравнению с исходной субстанцией. Анафилактикогенная активность нативной стрептокиназы позволяет применять препарат только при капельном введении, в то время, как стрептодеказу® можно вводить струйно, добиваясь быстрого положительного эффекта при лечении тромбозмболии [27]. Причем в клинике было показано, что активатор проявляет свою активность в организме несколько суток. Такие очевидные успехи в модификации белковых субстанций позволили нам предположить, что подобный подход позволит получить положительный эффект в работе с профилактическими средствами, а именно с антигенами вакцины против гриппа с целью создания новых лекарственных препаратов.

Один из таких вариантов вакцины против гриппа реализован. Это известная вакцина Гриппол®, которая состоит из антигенов вируса гриппа – гемагглютиниона и нейраминидазы, которые обволакиваются гибкоцепным сополимером – полиоксидонием [29].

Проведенный Киселевым О.И. [30] анализ структуры такой вакцины методом электронной микроскопии показал присутствие антигенов частично в денатурированном или дезорганизованном состоянии.

С целью понижения реактогенности и повышения стабильности вакцины, нами предложена концепция построения молекулярной конструкции путем построения конъюгатов антигенов вируса гриппа с окисленным декстраном.

Для химической модификации АГ вируса гриппа использовали окисленный декстран. В качестве декстрана (Д) брали полиглюкин по ФСП 42-0088-4747-03.

Антигены вируса гриппа были предоставлены ФГУП СПБНИИВС ФМБА России.

Синтез антигена вируса гриппа В/Florida 04/2006 (MAG) модифицированного окисленным декстраном в присутствии некоторых аминокислот осуществляли по ранее описанной схеме [31, 32].

В качестве антигенов могут быть использованы белки любых типов вирусов гриппа, в частности антигены В/Florida, В/Brisbane, А/California (H1N1), А/Perth (H3N2) или их смеси.

Соединяясь с модифицируемыми веществами, полисахариды увеличивают молекулярную массу конъюгата, обуславливая тем самым пролонгированное действие препаратов.

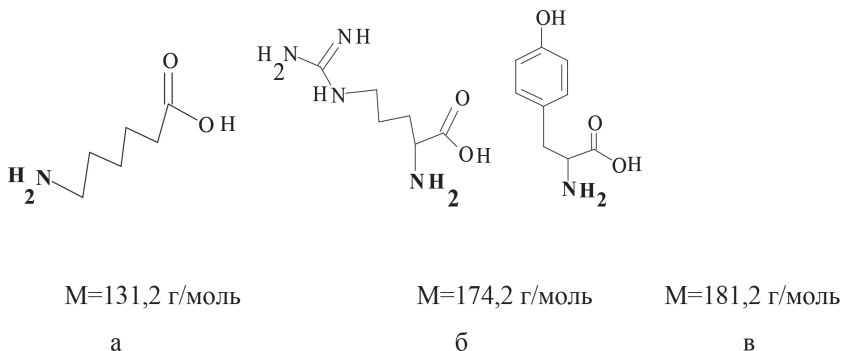
Окисленный декстран, который используется в предложенном техническом решении, обладает высокой биосовместимостью, а также тропностью к вакуолярному аппарату клеток иммунной системы [33].

Было показано, что в определенных условиях модификации полученное полимерное производное антигенов обладает повышенной иммуногенностью. В связи с этим представляет интерес усилить это полезное свойство модифицированного антигена (MAG) путем дополнительного введения в структуру MAG аминокислотных остатков как потенциальных адъювантов. С этой целью нами были синтезированы образцы модифицированного окисленным декстраном антигена (AG) вируса гриппа В/Florida04/2006 в присутствии некоторых аминокислот (MAG<sup>AK</sup>).

В качестве дополнительных аминокислот выбраны аминокaproновая кислота, L-Аргинин и L-Тирозин структурные формулы и молекулярные массы которых приведены на рис.1.

В работе использовали аминокaproновую кислоту (AKк) производства ООО «Полисинтез», производимую как субстанцию для стерильных лекарственных форм по ФСП ЛС-0001130280909; L-Аргинин (Arg) (1-амино-4-гуанидиновалериановая кислота) фирмы SERVA Feinbiochemica; L-Тирозин (Туг) (1-амино-3-(п-оксифенил) пропионовая кислота) фирмы

SERVA Feinbiochemica. Тирозин мало растворим в воде, раствор в 0,1 М НСl имеет два четких максимума при  $\lambda_{\max} = 223$  нм (молярный коэффициент поглощения  $\epsilon_T = 8200$ ,  $L = 1$  см) и 274,5 нм (молярный коэффициент поглощения  $\epsilon_T = 8200$ ,  $L = 1$  см.)



**Рис. 1.** Структурные формулы: аминокaproновой кислоты (а), L-Аргинина (б) и L-Тирозина (в)

Основной задачей исследования являлось определить количество аминокислотных остатков ковалентно связанных с МАG, в синтезированных образцах, а также изучить как влияет наличие в МАG дополнительных аминокислотных остатков на иммуногенность антигена.

В основе спектрофотометрического метода определения концентрации Туг в МАG<sup>Туг</sup> лежит закон аддитивности оптических плотностей формула (1):

$$D^{223} = \epsilon_{AG} \times L \times C_{AG} + \epsilon_T \times L \times C_{Туг} \quad (1)$$

где  $D^{223}$  – оптическая плотность раствора МАG с Туг в 0,1 М соляной кислоте, при 223 нм;

$\epsilon_{AG}$ ,  $\epsilon_{Туг}$  – молярные коэффициенты поглощения АG и Туг, соответственно, л×моль<sup>-1</sup>× см<sup>-1</sup>;

$L$  – толщина поглощающего слоя, см;

$C_{AG}$ ,  $C_{Туг}$  – молярные концентрации АG и Туг соответственно, моль/л.

Количественное определение содержания Туг в МАG<sup>Туг</sup> проводили спектрофотометрическим методом в соответствии с ОФС 42-0042-07 [34]

при длине волны равной 223 нм, в кювете из кварцевого стекла с толщиной слоя 1 см.

Среднее арифметическое значение содержания Туг в  $MAG^{Tyr}$  определенное спектрофотометрическим методом составляло 0,264 мг на 1 мг Аг (100,9 моль/моль АГ). Сравнение результатов, определения содержания Туг в  $MAG^{Tyr}$ , полученных различными методами приведены в таблице №1.

Таблица 1.

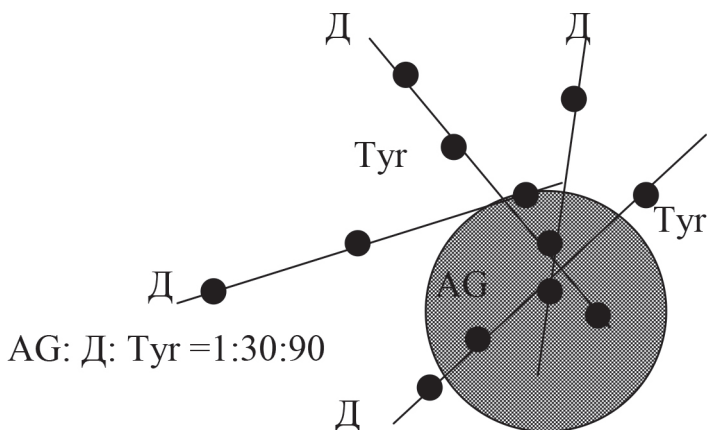
**Сравнение результатов, определения содержания Туг в  $MAG^{Tyr}$  полученных методом сжигания по Кьельдалю и спектрофотометрическим методом**

Определение Туг методом сжигания по Кьельдалю		Определение Туг спектрофотометрическим методом	
Средне арифметическое значение содержания Туг в $MAG^{Tyr}$		Средне арифметическое значение содержания Туг в $MAG^{Tyr}$	
мг/мгАГ	моль/мольАГ	мг/мгАГ	ммоль/мольАГ
0,200,02±	78,806,30±	0,260,01±	100,904,04±

Из представленных в таблице 1 результатов следует, что в пределах допустимой погрешности опытов (10%) содержание Туг в полимерных производных антигена с Туг определенное различными методами дает одинаковые значения.

Можно считать, что на одну молекулу АГ в модифицированной форме антигена приходится 80-100 аминокислотных остатков Туг. Отсюда следует, что одна макромолекула декстрана, связанная с антигеном, несет на себе в среднем 3 аминокислотных остатка Туг. На рисунке 2 изображена предположительная схема строения  $MAG^{Tyr}$ .

В результате проведенной работы определено количественно содержание аминокислот в образцах МАГ с соответствующими аминокислотами, а также разработан спектрофотометрический метод определения Туг в  $MAG^{Tyr}$ . Разработанный спектрофотометрический метод отличается от используемого ранее метода определения аминокислот в  $MAG^{AK}$  точностью, простотой определения и сокращением времени затрачиваемого на проведение анализа.



**Рис. 2.** Схема строения модифицированного вируса гриппа В/Florida04/2006, синтезированного в присутствии Тур дополнительно введенного в реакционную смесь

● – молекула Тур,

— —Д полимерная макромолекула декстрана,

● AG – жесткоцепная макромолекула AG вируса гриппа В/Florida04/2006.

Содержание аминокaproновой кислоты в  $MAG^{AKK}$  определено методом сжигания по Къельдалю и составляет 129 моль на 1 моль AG.

Содержание аргинина в  $MAG^{Arg}$  определено методом сжигания по Къельдалю и составляет 42 моль на 1 моль Ag.

Содержание тирозина в  $MAG^{Tyr}$  определено двумя методами. Определение тирозина методом сжигания по Къельдалю (78,8 моль/моль AG) подтверждено данными полученными спектрофотометрическим методом (100,9 моль/моль

AG). Содержание аргинина и аминокaproновой кислоты в образцах  $MAG^{Arg}$  и  $MAG^{AKK}$  проводили методом сжигания по Къельдалю, результаты представлены в таблице 2.

Уровень специфических антител в сыворотке крови иммунизированных животных определяли в реакции торможения гемагглютинации (РТГА) [35].



В таблице 3 показана зависимость антигенной активности опытных образцов молекулярной конструкции от соотношения белка и декстрана (Б:Д) в исходной реакционной смеси.

Таблица 2.

**Молярное соотношение компонентов в исследуемых образцах**

Объект исследования	Молярное соотношение реагирующих компонентов введенных в реакцию модификации		Молярное соотношение компонентов в синтезированном МАg <sup>AK</sup>	
	AG:Д:AK моль/моль/ моль	Д:AK моль/моль	AG:Д:AK моль/моль/ моль	Д:AK моль/моль
1	2	3	4	5
МАG	1:46:0	1:0	1:25:0	1:0
МАG <sup>AKk</sup>	1:46:2059	1:44	1:25:129	1:5,2
МАG <sup>Arg</sup>	1:46:1551	1:33	1:16:42	1:2,6
МАG <sup>Гут</sup>	1:46:745	1:16	1:30:89	1:3,0

Таблица 3.

**Антигенная активность образцов молекулярной конструкции на основе субъединиц вируса гриппа В/Florida 04/2006/**

№ группы	Вирус гриппа В/Florida 04/2006	Среднее значение титра специфических антител в группе животных (n=8-10), по дням учета		
		7	14	21
1	Контроль	23±3	161±45	335±150
2	Б:Д=1:10	38 ± 5	133±48	704±212
3	Б:Д=1:20	18 ± 1	124±54	416±152
4	Б:Д=1:40	22±2	144±42	342±82
5	Б:Д=1:100	18±2	156±35	168±51

Введение декстрана (Д) в реакционной в количестве 10 молей на 1 моль АG приводит к двукратному увеличению значения титра специфических антител по сравнению с контролем, что свидетельствует об увеличении антигенной активности.

По мере увеличения доли Д эта величина падает и при соотношении Б:Д=100 она в два раза меньше контрольного значения.

Зависимость антигенной активности образцов синтезированных в присутствии дополнительного количества аминокислот определяли на группе мышей (8–10 голов) весом 10–12 г. Значения антигенной активности синтезированных образцов представлены в таблице 4. Значимость различий средних величин оценивали по  $t$ -критерию Стьюдента, разница во всех случаях достоверна ( $P \leq 0,05$ ).

Таблица 4.

**Антигенная активность образцов молекулярной конструкции на основе субъединиц вируса гриппа В/Florida04/2006 в зависимости от типа аминокислот**

№ группы	Вирус гриппа В/Florida 04/2006/	Среднее значение титра специфических антител в группе животных (n=8-10), по дням учета		
		7	14	21
1	Контроль	23±3	161±45	335±150
2	Модифицированный L- тирозином	17 ± 6	208±75	1191±205
3	Модифицированный L-аргинином	81 ± 26	648±230	824±132
4	Модифицированный хитозаном	24±16	453±185	936±270
5	Модифицированный аминокислотной кислотой	40±16	324±57	1200±174

Из таблицы 4 следует, что титр специфических антител при иммунизации исследованными образцами превышает контроль, причем в некоторых случаях до трех раз.

Таким образом, образование тройного МОЛКОНа, где белок связан с декстраном и остатками аминокислот, как это схематично показано на рисунке 2, активизирует звено иммунитета на выработку специфических антител в высоком титре.

**Список литературы**

1. Стручков В.И. Григорян А.В., Гостищев В.К. Протеолитические ферменты в гнойной хирургии. М.: Медицина, 1970. 407 с.

2. Вотяков В.И., Никандров В.Н., Савченко А.Н. Проблемы разработки тромболитических препаратов и тактика тромболитической терапии // *Здравоохранение Беларуси*. 1984. №8. С. 14–19.
3. Desnick R.J. Enzyme therapy in genetic diseases / Eds. R.J. Desnick - Alan Liss, 1980. Vol. 2. 450 p.
4. Олейник И.И. Влияние ферментов на злокачественные опухоли // *Вопросы онкологии*. 1966. №11. С. 104–109.
5. Березин И.В., Антонова В.К., Мартинек К. Имобилизованные ферменты. Современное состояние и перспективы / М.: изд. МГУ. 1976. Т. 2. 358 с.
6. Лечебные свойства фермента террилитина и его модифицированной формы терридеказы. Нынь И.В. Иванова Г.П. Таратина Т.М. Москвичев Б.В. // *Terra Medica*. 2007. №1. С. 49–50.
7. Линденбаум Г.М. Миргородская О.А. Терешин И.М. Исследование некоторых физико-химических свойств полимерных производных террилитина на основе декстрана // *ХФЖ*. 1977. Т. 11. №7. С. 81–85.
8. Линденбаум Г.М. Терешин И.М. Изучение взаимодействия ингибиторов сыворотки крови человека с нативными и модифицированными декстранами протеиназами – террилитином и трипсином // *Биохимия*. 1978. Т. 43, № 12. С. 2143–2149.
9. Лечебные свойства протеолитического фермента террилитина и его модифицированной формы терридеказы. Нынь И.В. Иванова Г.П., Таратина Г.М., Москвичёв Б.В. // *Terra medica*. 2007. № 1. С 49–50.
10. Шпрунка И.К. Препараты на основе модификации – аспарагиназы // *Хим.-фарм. Журнал*. 1988. №1. С. 32–34.
11. Leo T.K., Sokoloski T.D. Royer G.P. Serum albumin beads: an injectable, biodegradable system for the sustained release of drugs // *Science*. 1981. Vol. 213. Pp. 223–235.
12. Березин И.В. Имобилизованные ферменты. М.: МГУ. 1976. Т. 1.
13. Березин И.В. Введение в прикладную энзимологию. М. МГУ. 1982. 383 с.
14. Marshall J.J., Rabinowitz M.I. Preparation and characterization of dextran – trypsin conjugate // *J.Biol. Chem*. 1976. Vol. 251. Pp. 1081–1087.

15. Таратина Т.М. Синтез и свойства полимерных производных стрептокиназы: Дис. канд. хим. наук. Л., 1985. 195 с.
16. Хлябич Г.Н. Кровезаменители. Справочник лекарственных средств для инфузионной терапии / Г. Н. Хлябич, Г. Т. Черненко. Изд. доп. и перераб. М., 2011. 272 с.
17. Kuo J.-Y., Goldstein J.  $\alpha$ - D- galactosidase immobilized on a soluble polymer // *Enzyme Microb. Technol.* 1983. Vol. 5. № 4. Pp. 285–290.
18. Ody a C.E. Soluble dextran complexes of kallikrein, bradykinin and enzyme inhibitors / Ody a C.E. et al. // *Biochem. Pharmacol.* 1978. Vol.27, №2. Pp. 173–179.
19. Tereshin I.M. Wingrard L.B. Modification of enzymes with water-soluble polymers // *Plenum Press.* 1980. Vol. 5. Pp. 295–311.
20. Wileman T.E. Soluble aspsrsginase-dextran conjugates show 986. increased circulatory persistence and lowered antigen reactivity / T.E. Wileman, R.L. Foster, P.N. Elliott // *J.Pharmacol.* 1986. Vol. 38. Pp. 264–271.
21. Линденбаум Г.М., Миргородская О.А. Химическая модификация водорастворимых декстранов // *ХФЖ.* 1977. т.11. №6. С. 80–83.
22. Линденбаум Г.М., Миргородская О.А. Модифицированный террилитином декстран, обладающий фибринолитической активностью // *Б.И.* 1980. №16.
23. Кашкин А.П. Линденбаум Г.М. Антигенные свойства протеолитического фермента террилитина, модифицированного декстраном // *ХФЖ.* 1977. Т.12. № 7. С. 27–30.
24. Терешин И.М. Имобилизованные ферменты в медицине и медицинской промышленности // *Актуальные проблемы гемостазиологии.* М., 1979. С. 200–207.
25. Скуя А.Ж., Тратина Т.М. Технология получения стрептокиназы – препарата пролонгированного тромболитического действия // *Сборник ЦБНТИ «Передовой опыт в химико-фармацевтической промышленности».* М., 1983.
26. Таратина Т.М., Арбузова Т.А. Влияние условий проведения реакции на специфическую активность модифицированной стрептокиназы // *Передовой опыт химико-фармацевтической промышленности ЦБНТИ Медпром.* М., 1984.

27. Таратина Т.М. Специфическая активность стрептокиназы, модифицированной линейным гидрофильным сополимером // ХФЖ. 1985 г. Т. 19. №1. С. 31–35.
28. Терридеказа – усовершенствованная лекарственная форма протеолитического фермента продуцируемого *Aspergillus terricola* / И.В. Нынь, Я.Б. Москвичева, Г.П. Иванова, Т.М. Таратина // Поликлиника. 2007. №6. С. 87–89.
29. Viktor A. Kabanov. IUPAC From synthetic polyelectrolytes to polymersubunit vaccines // Pure Appl. Chem. 2004. Vol. 76. № 9. Pp. 1659–1677.
30. Киселёв О.И. Прогресс в создании пандемических противогриппозных вакцин и технологии их производства // Биотехнология. 2010. № 2. С. 8–24.
31. Иванова Г.П. Исследование влияния полимерной модификации на физико-химические и каталитические свойства некоторых протеолитических ферментов. Дисс. канд. хим. наук. Л., 1983. 175 с.
32. Полякова И.Н. Синтез и противовирусная активность модифицированного ремантадина / И.Н. Полякова, Г.С. Шитикова, И.В. Нынь // Вторая международная научно-практическая конференция «Наука и современность». Новосибирск, 2010. Ч. 3. С. 27–31.
33. Шкурूपий В.А. Туберкулезный гранулематоз // Цитофтиология и адресная терапия. М., 2007. С. 109–150.
34. Государственная фармакопея Российской Федерации, издание XII, часть 1. М.: Научный центр экспертизы средств медицинского применения, 2008. С. 56.
35. Методы определения показателей качества иммунобиологических препаратов для профилактики и диагностики гриппа: Методические указания. М.: Федеральный центр ГОССАНЭПИДНАДЗОРА Минздрава России. 2003. С.32.

### References

1. Struchkov V.I. Grigoryan A.V., Gostishchev V.K. *Proteoliticheskie fermenty v gnoynoy khirurgii* [The proteolytic enzymes in purulent surgery]. М.: Meditsina, 1970. 407 p.

2. Votyakov V.I., Nikandrov V.N., Savchenko A.N. *Zdravookhranenie Belarusii*. 1984. №8. Pp. 14–19.
3. Desnick R.J. *Enzyme therapy in genetic diseases* / Eds. R.J. Desnick - Alan Liss, 1980. Vol. 2. 450 p.
4. Oleynik I.I. *Voprosy onkologii*. 1966. №11. Pp. 104–109.
5. Berezin I.V., Antonova V.K., Martinek K. *Immobilizovannyye fermenty. Sovremennoe sostoyanie i perspektivy* [Martinek immobilized enzymes. Current status and prospects]. M.: izd. MGU. 1976. Vol. 2. 358 p.
6. Nyn' I.V., Ivanova G.P., Taratina T.M., Moskvichev B.V. *Terra Medica*. 2007. №1. Pp. 49–50.
7. Lindenbaum G.M., Mirgorodskaya O.A., Tereshin I.M. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal*. 1977. V.11. №7. Pp. 81–85.
8. Lindenbaum G.M., Tereshin I.M. *Biokhimiya*. 1978. V. 43, № 12. Pp. 2143–2149.
9. Nyn' I.V., Ivanova G.P., Taratina G.M., Moskvichev B.V. *Terra medica*. 2007. № 1. Pp. 49–50.
10. Shprunka I.K. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal*. 1988. №1. Pp. 32–34.
11. Leo T.K., Sokoloski T.D. Royer G.P. Serum albumin beads: an injectable, biodegradable system for the sustained release of drugs. *Science*. 1981. Vol. 213. Pp. 223–235.
12. Berezin I.V. *Immobilizovannyye fermenty* [Immobilized enzymes]. M.: MGU. 1976. Vol. 1.
13. Berezin I.V. *Vvedenie v prikladnuyu enzimologiyu* [Introduction to applied enzymology]. M. MGU. 1982. 383 p.
14. Marshall J.J., Rabinowitz M.I. Preparation and characterization of dextran – trypsin conjugate. *J.Biol. Chem*. 1976. Vol. 251. P. 1081–1087.
15. Taratina T.M. *Sintez i svoystva polimernykh proizvodnykh streptokinazy* [Synthesis and properties of polymer derivatives of streptokinase]. L., 1985. 195 p.
16. Khlyabich G.N., Chernenko G.T. *Krovezameniteli. Spravochnik lekarstvennykh sredstv dlya infuzionnoy terapii* [Blood substitutes. Handbook of drugs for infusion therapy]. M., 2011. 272 p.
17. Kuo J.-Y., Goldstein J.  $\alpha$ -D-galactosidase immobilized on a soluble polymer. *Enzyme Microb. Technol*. 1983. Vol. 5. № 4. P.p 285–290.

18. Ody C.E. et al. Soluble dextran complexes of kallikrein, bradykinin and enzyme inhibitors. *Biochem. Pharmacol.* 1978. Vol.27, №2. P. 173–179.
19. Tereshin I.M. Wingard L.B. Modification of enzymes with water-soluble polymers. *Plenum Press.* 1980. Vol. 5. Pp. 295–311.
20. Wileman T.E., Foster R.L., Elliott P.N. Soluble aspsrsginase-dextran conjugates show 986. increased circulatory persistence and lowered antigen reactivity. *J.Pharmacol.* 1986. Vol. 38. Pp. 264–271.
21. Lindenbaum G.M., Mirgorodskaya O.A. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal.* 1977. V.11. №6. Pp. 80–83.
22. Lindenbaum G.M., Mirgorodskaya O.A. *B.I.* 1980. №16.
23. Kashkin A.P. Lindenbaum G.M. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal.* 1977. V.12. № 7. Pp. 27–30.
24. Tereshin I.M. *Aktual'nye problemy gemostaziologii.* M., 1979. Pp. 200–207.
25. Skuya A.Zh., Tratina T.M. *Sbornik TsBNTI «Peredovoy opyt v khimiko-farmatsevticheskoy promyshlennosti»* [Collection TsBNTI “Best Practices in the chemical and pharmaceutical industry”]. M., 1983.
26. Taratina T.M., Arbuzova T.A. *Pereredovoy opyt khimiko-farmatsevticheskoy promyshlennosti TsBNTI Medprom* [Pereredovoy experience chemical-pharmaceutical industry TsBNTI Medprom]. M., 1984.
27. Taratina T.M. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal.* 1985. V.19. №1. Pp. 31–35.
28. Nyn' I.V., Moskvicheva Ya.B., Ivanova G.P., Taratina T.M. *Poliklinika.* 2007. №6. Pp. 87–89.
29. Viktor A. Kabanov. IUPAC From synthetic polyelectrolytes to polymersubunit vaccines. *Pure Appl. Chem.* 2004. Vol. 76. № 9. Pp. 1659–1677.
30. Kiselev O.I. *Biotekhnologiya.* 2010. № 2. Pp. 8–24.
31. Ivanova G.P. *Issledovanie vliyaniya polimernoy modifikatsii na fiziko-khimicheskie i kataliticheskie svoystva nekotorykh proteoliticheskikh fermentov* [Investigation polymer modification effect on the physico-chemical and catalytic properties of some proteolytic fermentov]. L., 1983. 175 p.
32. Polyakova I.N., Shitikova G.S., Nyn' I.V. *Vtoraya mezhdunarodnaya nauchno-prakticheskaya konferentsiya «Nauka i sovremennost'»* [The Second International Scientific and Practical Conference “Science and Modernity”]. Novosibirsk, 2010. Part 3. Pp. 27–31.

33. Shkurupiy V.A. *Tsitofziologiya i adresnaya terapiya* [Tsitofziologiya and targeted therapy]. M., 2007. Pp. 109–150.
34. *Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiyskoy Federatsii* [The State Pharmacopoeia of the Russian Federation] XII, part 1. M., 2008. P. 56.
35. *Metody opredeleniya pokazateley kachestva immunobiologicheskikh preparatov dlya profilaktiki i diagnostiki grippa* [Methods for determination of parameters of quality of immunobiological drugs for the prevention and diagnosis of influenza]. M., 2003. P. 32.

### ДАнные ОБ АВТОРАХ

**Зайцева Елена Сергеевна**, и.о. руководителя Научно-производственного комплекса «Новые лекарственные формы»

*ФГУП «Санкт-Петербургский научно исследовательский институт вакцин и сывороток и предприятие по производству бактериальных препаратов» ФМБА России.*

*ул. Свободы, 52, г. Санкт-Петербург, г. Красное Село, 198320, Российская Федерация*

*e.s.zaytseva@spbniivs.ru*

**Трухин Виктор Павлович**, директор, кандидат технических наук

*ФГУП «Санкт-Петербургский научно исследовательский институт вакцин и сывороток и предприятие по производству бактериальных препаратов» ФМБА России.*

*ул. Свободы, 52, г. Санкт-Петербург, г. Красное Село, 198320, Российская Федерация*

*v.p.truhin@spbniivs.ru*

**Москвичёв Борис Васильевич**, заместитель директора по научной работе, доктор химических наук

*ФГУП «Санкт-Петербургский научно исследовательский институт вакцин и сывороток и предприятие по производству бактериальных препаратов» ФМБА России.*



*ул. Свободы, 52, г. Санкт-Петербург, г. Красное Село, 198320,  
Российская Федерация  
b.v.moskvichev@spbniivs.ru*

#### **DATA ABOUT THE AUTHORS**

**Zaitseva Elena Sergeevna**, Adviser of the Department Research-Production  
«The New Dosage Forms»  
*Federal State Unitary Enterprise (FSUE) «Saint Petersburg Research  
Institute of Vaccines and Sera & Enterprise for Production of Bacterial  
Preparations» of the Federal Medico-Biological Agency  
52, Svobodya St., St. Petersburg, Red Village, 198320, Russian Fed-  
eration  
e.s.zaytseva@spbniivs.ru  
SPIN-code: 1921-5368  
ORCID: 0000-0003-0763-0884  
Researcher ID: C-5516-2016*

**Truhin Victor Pavlovich**, Director, Cand. of Eng.  
*Federal State Unitary Enterprise (FSUE) «Saint Petersburg Research  
Institute of Vaccines and Sera & Enterprise for Production of Bacterial  
Preparations» of the Federal Medico-Biological Agency  
52, Svobodya St., St. Petersburg, Red Village, 198320, Russian Fed-  
eration  
v.p.truhin@spbniivs.ru*

**Moskvichev Boris Vasilyevich**, Associate Director for Research, Dr. of Chem.  
*Federal State Unitary Enterprise (FSUE) «Saint Petersburg Research  
Institute of Vaccines and Sera & Enterprise for Production of Bacterial  
Preparations» of the Federal Medico-Biological Agency  
52, Svobodya St., St. Petersburg, Red Village, 198320, Russian Fed-  
eration  
b.v.moskvichev@spbniivs.ru*