

<https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-1-155-160>
УДК 615.03



Оригинальная статья / Research article

Доклинические исследования нового иммуноглобулина для внутривенного введения против COVID-19

А. М. Николаева¹, А. В. Иванов¹, Т. И. Смолянова²✉, М. В. Разумихин²,
О. В. Белякова¹, Е. Г. Шилова¹, Н. Р. Селезнева¹, Т. В. Вязникова¹,
А. И. Семичева¹, Е. И. Саканян¹

¹ АО «НПО «Микроген», 127473, Россия, г. Москва, 2-й Волконский переулок, д. 10

² АО «Нацимбио», 127473, Россия, г. Москва, 2-й Волконский переулок, д. 10

✉ Контактное лицо: Смолянова Татьяна Ивановна. E-mail: tatianasmolyanova@gmail.com

ORCID: А. М. Николаева – <https://orcid.org/0000-0002-3160-518X>; А. В. Иванов – <https://orcid.org/0000-0002-7608-1914>;
Т. И. Смолянова – <https://orcid.org/0000-0002-2934-3002>; М. В. Разумихин – <https://orcid.org/0000-0002-7364-5235>;
О. В. Белякова – <https://orcid.org/0000-0001-6352-9380>; Е. Г. Шилова – <https://orcid.org/0000-0002-0001-6649>;
Н. Р. Селезнева – <https://orcid.org/0000-0003-3690-4952>; Т. В. Вязникова – <https://orcid.org/0000-0003-0497-9757>;
А. И. Семичева – <https://orcid.org/0000-0003-0230-3091>; Е. И. Саканян – <https://orcid.org/0000-0001-8536-4804>.

Статья поступила: 19.05.2022

Статья принята в печать: 06.02.2023

Статья опубликована: 24.02.2023

Резюме

Введение. Применение иммуноглобулинов, содержащих нейтрализующие SARS-CoV-2 антитела, может быть эффективным и безопасным средством лечения COVID-19. В Акционерном обществе «Нацимбио» был разработан препарат «КОВИД-глобулин» – иммуноглобулин для внутривенного введения из плазмы крови доноров, содержащей вируснейтрализующие антитела против SARS-CoV-2.

Цель. Целью исследования является экспериментальное изучение безопасности препарата «КОВИД-глобулин».

Материалы и методы. При исследовании безопасности препарата в опытах на животных были оценены следующие показатели: общая токсичность, тромбогенный потенциал, влияние на гематологические и биохимические показатели, свертываемость крови и гемолитическую активность, определение местного раздражающего действия, пирогенных свойств, бактериальных эндотоксинов и аллергизирующего действия препарата, а также его физико-химические свойства.

Результаты и обсуждение. Исследования безопасности «КОВИД-глобулина» в опытах на животных показали отсутствие каких-либо признаков интоксикации и местного раздражающего действия. Макроскопическое и гистологическое исследование органов крыс, получавших КОВИД-глобулин, не выявило признаков некроза, воспаления или каких-либо существенных патологических изменений. Гематологические и биохимические показатели крови лабораторных животных после введения «КОВИД-глобулина» соответствовали норме. Введение «КОВИД-глобулина» кроликам не вызывало образование тромбов. Распределение по подклассам IgG в препарате соответствовало их содержанию в плазме крови человека. Активность Fc-функции молекулы иммуноглобулина составила более 130 % по сравнению с контрольным препаратом, концентрация активатора прекалликреина в препарате «КОВИД-глобулин» находилась в диапазоне от 4,2 до 4,8 МЕ/мл, антикомплементарная активность составила менее 1 ед. комплемента на 1 мг белка.

Заключение. Результаты всех проведенных исследований продемонстрировали высокий уровень безопасности разработанного препарата «КОВИД-глобулин», полностью соответствующего требованиям, предъявляемым к иммуноглобулинам человека для внутривенного введения отечественными нормативными документами и Европейской Фармакопеей.

Ключевые слова: иммуноглобулин для внутривенного введения, доклинические исследования, токсичность, безопасность, коронавирусная инфекция, COVID-19

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. А. М. Николаева, А. В. Иванов, Е. И. Саканян разрабатывали дизайн исследования и организовывали проведение работ. Е. Г. Шилова, Н. Р. Селезнева, Т. В. Вязникова, А. И. Семичева участвовали в проведении исследований безопасности препарата. Н. Р. Селезнева, Т. В. Вязникова, О. В. Белякова, А. М. Николаева проводили обработку и интерпретацию полученных данных. Т. И. Смолянова, М. В. Разумихин, О. В. Белякова, Н. Р. Селезнева, А. М. Николаева участвовали в написании текста статьи. Все вышеуказанные авторы участвовали в обсуждении полученных результатов в форме научной дискуссии.

Финансирование. Работа была профинансирована и выполнена АО «Нацимбио». Сотрудники АО «Нацимбио» М. В. Разумихин и Т. И. Смолянова принимали участие в исследовании, однако компания АО «Нацимбио» как источник финансирования не оказывала влияния на анализ или интерпретацию данных.

Для цитирования: Николаева А. М., Иванов А. В., Смолянова Т. И., Разумихин М. В., Белякова О. В., Шилова Е. Г., Селезнева Н. Р., Вязникова Т. В., Семичева А. И., Саканян Е. И. Доклинические исследования нового иммуноглобулина для внутривенного введения против COVID-19. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2023;12(1):155–160. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-1-155-160>

© Николаева А. М., Иванов А. В., Смолянова Т. И., Разумихин М. В., Белякова О. В., Шилова Е. Г., Селезнева Н. Р., Вязникова Т. В., Семичева А. И., Саканян Е. И., 2023

© Nikolaeva A. M., Ivanov A. V., Smolyanova T. I., Razumikhin M. V., Belyakova O. V., Shilova E. G., Selezneva N. R., Vyaznikova T. V., Semicheva A. I., Sakanyan E. I., 2023

Preclinical Evaluation of a New Anti-COVID-19 Intravenous Immunoglobulin

Alevtina M. Nikolaeva¹, Alexander V. Ivanov¹, Tatiana I. Smolyanova²✉,
Mikhail V. Razumikhin¹, Olga V. Belyakova¹, Ekaterina G. Shilova¹, Natalia R. Selezneva¹,
Tatyana V. Vyaznikova¹, Anastasiia I. Semicheva¹, Elena I. Sakanyan¹

¹ JSC "NPO "Microgen", 10, 2-nd Volkonsky lane, Moscow, 127473, Russia

² JSC "Nacimbio", 10, 2-nd Volkonsky lane, Moscow, 127473, Russia

✉ **Corresponding author:** Tatiana I. Smolyanova. **E-mail:** tatianasmolyanova@gmail.com

ORCID: Alevtina M. Nikolaeva – <https://orcid.org/0000-0002-3160-518X>; Alexander V. Ivanov – <https://orcid.org/0000-0002-7608-1914>; Tatiana I. Smolyanova – <https://orcid.org/0000-0002-2934-3002>; Mikhail V. Razumikhin – <https://orcid.org/0000-0002-7364-5235>; Olga V. Belyakova – <https://orcid.org/0000-0001-6352-9380>; Ekaterina G. Shilova – <https://orcid.org/0000-0002-0001-6649>; Natalia R. Selezneva – <https://orcid.org/0000-0003-3690-4952>; Tatyana V. Vyaznikova – <https://orcid.org/0000-0003-0497-9757>; Anastasiia I. Semicheva – <https://orcid.org/0000-0003-0230-3091>; Elena I. Sakanyan – <https://orcid.org/0000-0001-8536-4804>.

Received: 19.05.2022

Revised: 06.02.2023

Published: 24.02.2023

Abstract

Introduction. Using of immunoglobulins containing SARS-CoV-2 neutralizing antibodies may be an effective and safe tool for COVID-19 treatment. An intravenous immunoglobulin COVID-globulin from donor blood plasma containing SARS-CoV-2 neutralizing antibodies was developed at Joint-Stock Company Nacimbio.

Aim. A pilot study of the safety of the "COVID-globulin".

Materials and methods. When studying the safety of the preparation in animals the following parameters were evaluated: general toxicity, thrombogenic potential, influence on hematological and biochemical parameters, blood clotting and hemolytic activity, determination of local irritant action, pyrogenic properties, bacterial endotoxins, allergic effect of the drug preparation and its physicochemical characteristics.

Results and discussion. Safety studies of "COVID-globulin" in animals showed no signs of intoxication, local irritant action and thrombogenic properties. Macroscopic and histological examination of the organs of rats treated with COVID-globulin showed no signs of necrosis, inflammation, atypia, or any significant pathological changes. Hematological and biochemical parameters of the blood of laboratory animals after the administration of "COVID-globulin" corresponded to the reference values. Administration of COVID-globulin to rabbits did not activate blood clot formation. The IgG subclasses distribution in the preparation corresponded to that in human plasma. The activity of the Fc-function of the immunoglobulin molecule was more than 130 % compared to the reference standard preparation, the concentration of the prekallikrein activator in the COVID-globulin ranged from 4.2 to 4.8 IU/ml, anticomplementary activity was less than 1 unit complement per 1 mg of protein.

Conclusion. The results of all studies have demonstrated a high level of safety of the developed COVID-globulin preparation, which meets the safety requirements for human immunoglobulins for intravenous administration by national regulatory documents and the European Pharmacopoeia.

Keywords: intravenous immunoglobulin, preclinical studies, toxicity, safety, coronavirus infection, COVID-19

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Alevtina M. Nikolaeva, Alexander V. Ivanov, Elena I. Sakanyan designed and coordinated the study. Ekaterina G. Shilova, Natalia R. Selezneva, Tatyana V. Vyaznikova, Anastasiia I. Semicheva performed the safety study of the preparation. Natalia R. Selezneva, Tatyana V. Vyaznikova, Olga V. Belyakova, Alevtina M. Nikolaeva did the statistical analysis and interpretation of the data. Tatiana I. Smolyanova, Mikhail V. Razumikhin, Olga V. Belyakova, Natalia R. Selezneva, Alevtina M. Nikolaeva wrote the manuscript. All authors participated in discussion of the data in the form of scientific discussion.

Funding. The work was financed and carried out by JSC "Nacimbio". Employees of JSC "Nacimbio" Mikhail V. Razumikhin and Tatiana I. Smolyanova took part in the study, but JSC "Nacimbio" as a source of funding did not influence the analysis or interpretation of the data.

For citation: Nikolaeva A. M., Ivanov A. V., Smolyanova T. I., Razumikhin M. V., Belyakova O. V., Shilova E. G., Selezneva N. R., Vyaznikova T. V., Semicheva A. I., Sakanyan E. I. Preclinical evaluation of a new anti-COVID-19 intravenous immunoglobulin. *Drug development & registration*. 2023;12(1):155–160. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-1-155-160>

ВВЕДЕНИЕ

Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) 11 марта 2020 г. официально признала вспышку новой коронавирусной инфекции COVID-19, вызванную SARS-CoV-2, пандемией. Почти с самого начала пандемии COVID-19 появились сообщения об использовании плазмы реконвалесцентов, как перспективном методе лечения [1]. Подобная терапия в прошлом была успешно использована для улучшения выживаемости у пациентов с такими серьезными острыми

респираторными синдромами, как SARS и MERS, которые также вызваны коронавирусами [2]. Однако использование плазмы всегда сопряжено с риском посттрансфузионных осложнений различного характера, в том числе заражения гемотрансмиссивными инфекциями [3]. В качестве альтернативы прямому переливанию для лечения COVID-19 возможно использование поликлональных иммуноглобулинов, полученных из плазмы доноров, содержащих нейтрализующие SARS-CoV-2 антитела.

В АО «Нацимбио» разработана технология получения лекарственного препарата «КОВИД-глобулин» Иммуноглобулин для внутривенного введения, содержащего специфические антитела, обладающие нейтрализующей активностью в отношении возбудителя SARS-CoV-2.

Цель исследования: экспериментальное доклиническое исследование безопасности препарата «КОВИД-глобулин».

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследуемый препарат «КОВИД-глобулин» (иммуноглобулин человека против COVID-19, раствор для инфузий, 100 мг/мл) представляет собой высокоочищенный препарат иммуноглобулина G, выделенный из плазмы крови доноров, содержащей нейтрализующие SARS-CoV-2 антитела, протестированной на наличие маркеров инфекций, передающихся с кровью, и соответствующей показателям качества ФС.3.3.2.0001.19 «Плазма человека для фракционирования». Действующим началом препарата являются иммуноглобулины класса G, обладающие нейтрализующей активностью антител к SARS-CoV-2.

Технология производства иммуноглобулина G включает процедуры инактивации и/или удаления вирусов: обработка иммуноглобулина сольвент/детергентной смесью, хроматографическая очистка, выдерживание при низком pH, для которых доказано снижение концентрации модельных вирусов.

Каждая серия иммуноглобулина изготавливается из пула плазмы доноров, содержащей нейтрализующие SARS-CoV-2 антитела, индивидуально и минипулах проверенной на отсутствие поверхностного антигена вируса гепатита B (HBsAg), антител к вирусу гепатита C, антител к вирусу иммунодефицита человека ВИЧ-1 и ВИЧ-2 и антигена р24 ВИЧ-1, антител к возбудителю сифилиса (*Treponema pallidum*). В производстве используется плазма только с отрицательными результатами тестирования.

В 1 мл препарата содержится:

- **Действующее вещество:** белки плазмы человека, из которых иммуноглобулин G не менее 95 % – 100 мг. Специфическая активность антител к SARS-CoV-2 в ИФА – не менее 160 АКЕ/мл (за 1 единицу АКЕ иммуноглобулина была принята величина, обратная его разведению, обладающему способностью ингибировать появление на монослое культуры клеток Vero цитопатогенного действия SARS-CoV-2 в двух из трех лунок в реакции нейтрализации против 100 БОЕ вируса SARS-CoV-2).
- **Вспомогательные вещества:** глицин (кислота аминокислотная) – 25 мг; вода для инъекций – до 1 мл.

МЕТОДЫ

Доклинические испытания были проведены на лабораторных животных пяти видов: крысы (60 голов), мыши (25 голов), кролики (75 голов), морские свинки (32 головы), хомяки (60 голов). Содержание животных и исследования проводили в соответствии с методическими рекомендациями по проведению доклинических испытаний лекарственных средств [4], а также в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и научных целей¹.

Изучение **токсического действия** проводили при однократном (острая токсичность) и многократном введении (субхроническая токсичность). Изучение острой токсичности проводили на двух видах животных: на беспородных крысах обоего пола массой 130–200 г и кроликах породы советская шиншилла обоего пола массой 1,8–2,3 кг. При изучении острой токсичности и влияния на гематологические и биохимические показатели препарат вводили в максимально возможном объеме для данного вида животных: 20 мл для кроликов и 2 мл для крыс. Изучение субхронической токсичности проводили на сирийских золотистых хомяках (SPF) обоего пола массой 30–40 г. Исследуемый препарат вводили внутривенно четырехкратно с интервалом сутки в максимальном для данного вида лабораторных животных объеме: по 1,0 мл ежедневно.

Контрольным животным вводили в том же количестве физиологический раствор. За животными наблюдали в течение 14 суток. Ежедневной регистрации подлежали: гибель животных, их масса, поведение, внешнее состояние, наличие клинических симптомов интоксикации. Патоморфологическое исследование при изучении острой токсичности включало в себя макроскопическое и гистологическое исследование внутренних органов: головного мозга, сердца, печени, легких, селезенки, почек, надпочечников, тимуса, лимфатических узлов (паховых и брыжеечных), яичников и семенников.

При изучении **влияния на гематологические и биохимические показатели крови** в периферической крови, взятой из хвостовой (крысы) или ушной (кролики) вены определяли уровень гемоглобина, содержание эритроцитов, лейкоцитов, показатели лейкограммы, а также биохимические показатели с использованием полуавтоматического биохимического анализатора Clima MC-15 (АО «ДИАКОН-ДС», Россия) с автоматическим учетом стандартов и контрольных тестов.

¹ Европейская Конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях. Страсбург. 18 марта 1986 г. Доступно по: <https://rm.coe.int/168007a6a8>. Ссылка активна на 16.08.2022.

Определение **местного раздражающего действия** было проведено на кроликах. Препарат вводили животным в правое ухо перивенно, артериально или внутривенно, в левое ухо аналогичным образом и в эквивалентных количествах вводили физиологически раствор. Реакция регистрировалась через 24, 48, 72 часа и 7 суток после введения препаратов. На гистологическое исследование были взяты фрагменты вен и артерий по ходу вены и артерии и регионарные лимфатические узлы у 3 животных, подвергнутых эвтаназии через 24 часа и 3 животных, подвергнутых эвтаназии через 7 суток после введения препарата.

Оценку **тромбогенного потенциала** осуществляли на модели венозного стаза по методу S. Wessler [5] с использованием кроликов породы советская шиншилла (вес 2,0–2,5 кг) по 3 кролика на препарат. Миорелаксацию проводили препаратом «Ксила» (Interchemie Werken "De Adelaar" B.V., Нидерланды, 0,15 мл/кг – 0,2 мл/кг внутримышечно), общую анестезию – препаратом «Золетил-100» (Virbac Sante Animale, Франция, 0,15 мл/кг – 0,2 мл/кг с добавлением 0,9%-го раствора натрия хлорида до объема 1,0 мл; внутримышечно). «КОВИД-глобулин» вводили по 2,5 мл, 0,9%-й раствор натрия хлорида – по 5,0 мл, плазму крови человека – по 2,5 мл каждому кролику.

Определение подклассов IgG проводили с применением тест-системы Human IgG Subclass ELISA Kit (Thermo Fisher Scientific, США) согласно инструкции по применению.

Определение **функционального состояния Fc-фрагмента** иммуноглобулинов проводили с помощью реакции коагуляции, которая основана на способности белка А стафилококка штамма Cowan I избирательно связываться с Fc-фрагментом иммуноглобулинов класса G. Функциональное состояние Fc-фрагмента испытуемых иммуноглобулинов определяли с помощью индекса функции Fc (IFc), вычисляемого как отношение времени образования агглютинатов в стандарте иммуноглобулина (Ph. Eur. Reference Standard, Sigma-Aldrich, code Y0001512) ко времени образования агглютинатов в испытуемом препарате.

Изучение пирогенных свойств и специфической безопасности по показателям антикомплементарная активность и активатор прекалликреина проводили в соответствии с методиками, описанными в Государственной фармакопее РФ.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование общетоксических свойств препарата «КОВИД-глобулин» показало, что как однократное, так и многократное введение исследуемого препарата не вызывало гибели животных, видимых признаков изменения общего клинического состояния. Внешний вид подопытных животных, поведенческие реакции, двигательная активность, а также потребление корма и воды у лабораторных животных всех групп существенно не отличались и соответствовали показателям нормы для каждого вида лабораторных животных. На протяжении всего эксперимента у подопытных животных наблюдалась положительная динамика изменения массы тела (таблица 1). Статистически значимых различий между опытной и контрольной группами выявлено не было (t-критерий Стьюдента, $p > 0,05$).

Макроскопическое исследование внутренних органов лабораторных животных не выявило различий между животными опытной и контрольной групп как при однократном, так и при многократном введении препарата «КОВИД-глобулин», внутренние органы всех животных имели характерные признаки, расположение и строение. Оболочки, выстилающие внутренние полости, влажные, серовато-розового цвета, без признаков воспаления. Морфологических признаков токсичности в виде альтеративных процессов в паренхиматозных органах (некрозы, выраженные дистрофические изменения, тяжелые расстройства кровообращения) не установлено.

При исследовании периферической крови на 14-й день опыта у животных (крысы, кролики), которым вводили препарат «КОВИД-глобулин» внутривенно

Таблица 1. Прирост массы тела лабораторных животных при изучении токсичности препарата «КОВИД-глобулин»

Table 1. Increasing of body weight of laboratory animals during "COVID-globulin" toxicity studies

	Крысы (n = 60) Rats (n = 60)		Кролики (n = 24) Rabbits (n = 24)		Хомяки (n = 60) Hamsters (n = 60)	
	КОВИД-глобулин COVID-globulin	Контроль Control	КОВИД-глобулин COVID-globulin	Контроль Control	КОВИД-глобулин COVID-globulin	Контроль Control
24 часа 24 hours	9,00 ± 6,07	6,30 ± 3,09	96,25 ± 14,36	94,00 ± 16,25	13,36 ± 0,24	14,14 ± 1,76
7 сут. 7 days	33,60 ± 15,72	34,50 ± 19,54	96,25 ± 14,36	130,00 ± 54,16	34,07 ± 1,05	34,97 ± 0,66
14 сут. 14 days	68,70 ± 20,17	72,80 ± 27,01	96,25 ± 14,36	90,00 ± 8,16	53,73 ± 1,26	54,53 ± 0,88

Примечание. $M \pm m$ – среднее арифметическое ± стандартное отклонение.

Note. $M \pm m$ is the arithmetic mean ± standard deviation.

в максимальной дозе, не было отмечено изменений в морфологическом составе крови и биохимических показателях по сравнению с показателями животных контрольной группы. Колебания значений всех исследуемых показателей находились в пределах физиологических норм для данных видов животных.

Изучение влияния препарата «КОВИД-глобулин» на свертываемость крови и гемолитическое действие показало, что время свертываемости крови у кроликов до введения препарата, через 24 часа, 7 и 14 суток после введения препарата находилось в норме, то есть в пределах 5–10 минут, количество эритроцитов в крови лабораторных животных до и после введения препарата (через 24 часа, 7 суток и 14 суток) статистически не отличалось. Таким образом показано, что введение препарата не оказывало влияния на свертываемость крови и не оказывало гемолитическое действие.

При изучении местного раздражающего действия было установлено, что «КОВИД-глобулин» не вызывал видимого раздражения кожи, а проведенные морфологические исследования тканей при перивенозном, внутриартериальном и внутривенном введениях не выявили признаков, указывающих на патологические изменения мягких тканей и кровеносных сосудов (артерий, вен) животных.

Введение кролику препарата иммуноглобулина против COVID-19 не активировало образование тромба, в то время как введение плазмы крови человека вызывало образование тромбов у 100 % подопытных животных (размер тромбов составил от 4,5 до 5,0 мм, вес тромбов – от 8,0 до 11,0 мг), а введение 0,9%-го раствора натрия хлорида подтвердило отсутствие спонтанного тромбообразования.

При производстве иммуноглобулинов для внутривенного введения важным является сохранение распределения подклассов IgG (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), близкого к естественному. Анализ показал, что разработанная технология обеспечивает сохранение естественного соотношения подклассов иммуноглобулинов (таблица 2). Важно отметить, что содержания минорных подклассов IgG3 и IgG4 превышает 3 и 6 % соответственно, что свидетельствует о хорошей специфичности процесса очистки по отношению к иммуноглобулинам класса G.

цифичности процесса очистки по отношению к иммуноглобулинам класса G.

«КОВИД-глобулин» обладал высокой активностью Fc-фрагмента, не уступающей активности стандартного образца. Представленные в таблице 3 результаты свидетельствуют о сохранении целостности Fc-фрагментов антител в процессе производства препарата иммуноглобулина против COVID-19.

Таблица 3. Результаты определения Fc-функции препаратов иммуноглобулинов

Table 3. Results of Fc function determination in immunoglobulin preparations

Образец Sample	Среднее время агглютинации, сек. Mean agglutination time, sec.	Активность Fc-функции, % Fc-function activity, %
«КОВИД-глобулин» «COVID-globulin»	168 ± 13	135,4
Неогепатект (BIOTEST PHARMA GmbH, Германия) Neohepatekt (BIOTEST PHARMA GmbH, Germany)	132 ± 13	166,7
Октагам (OCTAPHARMA Pharmazeutika Produktionsges, m.b.H., Австрия) Octagam (OCTAPHARMA Pharmazeutika Produktionsges, m.b.H., Austria)	160 ± 10	137,5
Положительный контроль. Стандартный образец Human Immunoglobulin BRP (Fc Function and Molecular size) (Ph. Eur.) Positive control. Standard sample Human Immunoglobulin BRP (Fc Function and Molecular size) (Ph. Eur.)	220 ± 10	100
Отрицательный контроль (Fab ₂ – фрагменты) Negative control (Fab ₂ – region)	Отсутствие агглютинации в течение 10 минут No agglutination within 10 minutes	0

Примечание. $M \pm m$ – среднее арифметическое ± стандартное отклонение.

Note. $M \pm m$ is the arithmetic mean ± standard deviation.

Таблица 2. Определение подклассов IgG в препарате «КОВИД-глобулин»

Table 2. Determination of IgG subclasses distribution in COVID-globulin

Показатель Characteristic	Серии препарата Batch number				Нормальное распределение Distribution corresponding to normal human serum	
	1	2	3	4		
Подклассы IgG IgG subclasses	IgG1, %	57,0	59,3	59,6	64,2	43–75
	IgG2, %	32,9	30,9	31,4	30,7	16–48
	IgG3, %	4,8	3,8	4,2	3,1	1,7–7,5
	IgG4, %	5,3	6,1	5,8	5,0	0,8–11,7

По результатам исследования концентрация активатора прекалликреина (АПК) находилась в диапазоне от 4,2 до 4,8 МЕ/мл, что значительно ниже нормируемого показателя (35 МЕ/мл).

Было установлено, что 1 мг белка «КОВИД-глобулин» связывал от 0,62 до 0,71 ед. (СН50) компонента, при норме менее 1 ед. (СН50), что свидетельствовало о низкой комплементарной активности препарата.

Препарат «КОВИД-глобулин» не обладал пирогенными свойствами: при введении препарата кроликам в дозе 500 мг/кг массы тела животного сумма индивидуального максимального повышения температуры тела у трех кроликов не превышала 1,2 °С.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты всех проведенных исследований демонстрируют высокий уровень безопасности разработанного препарата против COVID-19 «КОВИД-глобулин». «КОВИД-глобулин» полностью соответствует требованиям безопасности, предъявляемым к иммуноглобулинам человека для внутривенного введения отечественными нормативными документами и Европейской фармакопеей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Rojas M., Rodríguez Y., Monsalve D. M., Acosta-Ampudia Y., Camacho B., Gallo J. E., Rojas-Villarraga A., Ramírez-Santana C., Díaz-Coronado J. C., Manrique R., Mantilla R. D., Shoenfeld Y.,

Anaya J. M. Convalescent plasma in Covid-19: Possible mechanisms of action. *Autoimmunity Reviews*. 2020;19(7):102554. DOI: 10.1016/j.autrev.2020.102554.

2. Jiang S., Du L., Shi Z. An emerging coronavirus causing pneumonia outbreak in Wuhan China: calling for developing therapeutic and prophylactic strategies. *Emerging Microbes & Infections*. 2020;9(1):275–277. DOI: 10.1080/22221751.2020.1723441.
3. Захаров В. В., Афонин Н. И. Безопасность гемотранфузионной терапии. *Вестник службы крови России*. 2006;3(09):6–12.
4. Миронов А. Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств (иммунобиологические лекарственные препараты). Часть 2. М.: Гриф и К; 2012. 536 с.
5. Wessler S., Reiner S. M., Sheps M. C. Biologic assay of a thrombosis-inducing activity in human serum. *Journal of applied physiology*. 1959;14:943–946.

REFERENCES

1. Rojas M., Rodríguez Y., Monsalve D. M., Acosta-Ampudia Y., Camacho B., Gallo J. E., Rojas-Villarraga A., Ramírez-Santana C., Díaz-Coronado J. C., Manrique R., Mantilla R. D., Shoenfeld Y., Anaya J. M. Convalescent plasma in Covid-19: Possible mechanisms of action. *Autoimmunity Reviews*. 2020;19(7):102554. DOI: 10.1016/j.autrev.2020.102554.
2. Jiang S., Du L., Shi Z. An emerging coronavirus causing pneumonia outbreak in Wuhan China: calling for developing therapeutic and prophylactic strategies. *Emerging Microbes & Infections*. 2020;9(1):275–277. DOI: 10.1080/22221751.2020.1723441.
3. Zakharov V. V., Afonin N. I. Safety of blood transfusion therapy. *Vestnik sluzhby krovi Rossii*. 2006;3(09):6–12. (In Russ.)
4. Mironov A. N. Guidelines for Preclinical Trials of Medicinal Products. Part 2. Moscow: Grif i K; 2012. 536 p. (In Russ.)
5. Wessler S., Reiner S. M., Sheps M. C. Biologic assay of a thrombosis-inducing activity in human serum. *Journal of applied physiology*. 1959;14:943–946.