



Обзор

Экспципенты в препаратах ботулотоксинов: иммунология, стабильность, риски и фармакодинамика

А.А. Шарова✉

Клиника эстетической медицины и косметологии «Чистые пруды», Москва, Россия;
ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия;
ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента РФ, Москва, Россия
✉aleca@mail.ru

Аннотация

Препараты ботулинического нейротоксина типа А (BoNT/A) представляют собой сложные белковые лекарственные средства, стабильность и воспроизводимость действия которых во многом зависят от состава вспомогательных компонентов. Несмотря на то, что экспципенты с точки зрения фармакологии считаются неактивными веществами, их роль выходит далеко за рамки обеспечения только технологических характеристик препарата. Они участвуют в защите нейротоксина от адсорбции, денатурации, агрегации и других процессов деградации, способны косвенно влиять на иммуногенность препарата и обеспечивать поддержание его биологической активности на протяжении всего срока хранения. В настоящем обзоре проведен анализ современных стратегий стабилизации препаратов BoNT/A с позиций фармацевтики, иммунологии и клинической практики. Рассмотрены основные механизмы физико-химической нестабильности BoNT. Проанализированы функции наиболее распространенных экспципентов, используемых в препаратах BoNT/A: человеческого сывороточного альбумина, желатина, сахаров, полисахаридов, буферных систем, поверхностно-активных веществ и синтетических пептидов. Обсуждены их преимущества, ограничения и потенциальное влияние на иммуногенность белковых препаратов. Особое внимание уделено современным подходам к обеспечению стабильности жидких форм BoNT/A. На примере препарата Миотокс® рассмотрена концепция комплексной стабилизации жидкого ботулинического нейропротеина за счет сочетания многоступенчатой очистки, контроля кислотности среды и применения белковых стабилизаторов. Показано, что стабильность, безопасность и воспроизводимость препаратов BoNT/A определяются не отдельными компонентами рецептуры, а совокупностью технологических решений, направленных на сохранение структуры и биологической активности нейротоксина. Современные тенденции развития препаратов BoNT/A связаны с созданием многоуровневых систем стабилизации, обеспечивающих минимизацию белковой нагрузки, снижение риска иммуногенности и повышение стабильности готовых лекарственных форм.

Ключевые слова: ботулинический токсин типа А, экспципенты, стабилизация белков, иммуногенность, человеческий сывороточный альбумин, желатин, лиофилизация, жидкие формы ботулотоксина, агрегация белков, денатурация белков, Миотокс®.

Для цитирования: Шарова А.А. Экспципенты в препаратах ботулотоксинов: иммунология, стабильность, риски и фармакодинамика. *Клинический разбор в общей медицине*. 2026; 7 (8): 127–138. DOI: 10.47407/kr2026.7.8.00919

Review

Excipients in botulinum toxin-based medicines: immunology, stability, risk, and pharmacodynamics

Alisa A. Sharova✉

Clinic of Aesthetic Medicine and Cosmetology "Chistye Prudy", Moscow, Russia;
Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia;
Central State Medical Academy of the Presidential Executive Office of the Russian Federation, Moscow, Russia
✉aleca@mail.ru

Abstract

The botulinum toxin type A (BoNT-A)-based medicines represent the complex protein-based medicines, the stability and reproducibility of the effects of which largely depend on the composition of auxiliary components. Despite the fact that in pharmacological terms excipients are considered inactive substances, their role is far beyond ensuring the medicine technological characteristics only. Excipients are involved in protecting the neurotoxin against adsorption, denaturation, aggregation, and other degradation processes. These can indirectly affect the medicine immunogenicity and maintain its biological activity throughout the entire shelf life. The review presents the analysis of modern strategies for BoNT-A-based medicine stabilization in terms of pharmacy, immunology, and clinical practice. The main mechanisms underlying the BoNT physical and chemical instability are considered. Functions of the most common excipients used in BoNT-A-based medicines are analyzed: human serum albumin, gelatin, sugars, polysaccharides, buffer systems, surfactants, and synthetic peptides. Their advantages, limitations and potential effects on immunogenicity of protein-based medicines are discussed. Special attention is paid to modern approaches to ensuring stability of liquid BoNT-A forms. A concept of complex stabilization of the liquid botulinum neuroprotein through a combination of multi-stage purification, control of the medium acidity and the use of protein stabilizers is exemplified by the MIOTOX® drug. It has been shown that the BoNT-A-based medicine stability, safety, and reproducibility are determined not by individual components of the formulation, but by a combination of technological solutions aimed at preserving the neurotoxin structure and biological activity. Current trends in the development of BoNT-A-based medicines are associated with production of multilayered stabilization systems ensuring the protein load minimization, immunogenicity risk reduction, and the increased stability of final dosage forms.

Keywords: botulinum toxin type A, excipients, protein stabilization, immunogenicity, human serum albumin, gelatin, lyophilization, botulinum liquid forms, protein aggregation, protein denaturation, MIOTOX®.

For citation: Sharova A.A. Excipients in botulinum toxin-based medicines: immunology, stability, risk, and pharmacodynamics. Clinical review for general practice. 2026; 7 (8): (in Russian). *Clinical review for general practice*. 2026; 7 (8): 127–138 (In Russ.). DOI: 10.47407/kr2026.7.8.00919

Введение

Ботулинический нейротоксин типа А (БонТ/А) представляет собой высокоспецифичный белок, чувствительный к физико-химическим условиям окружающей среды. Его биологическая активность зависит от сохранения нативной пространственной структуры, а любые процессы денатурации, агрегации или протеолиза способны приводить к снижению эффективности и изменению иммунологических свойств препарата. В отличие от низкомолекулярных лекарственных средств, белковые препараты требуют сложных систем стабилизации, обеспечивающих сохранность активной молекулы на всех этапах производства, хранения, транспортировки и клинического применения [1].

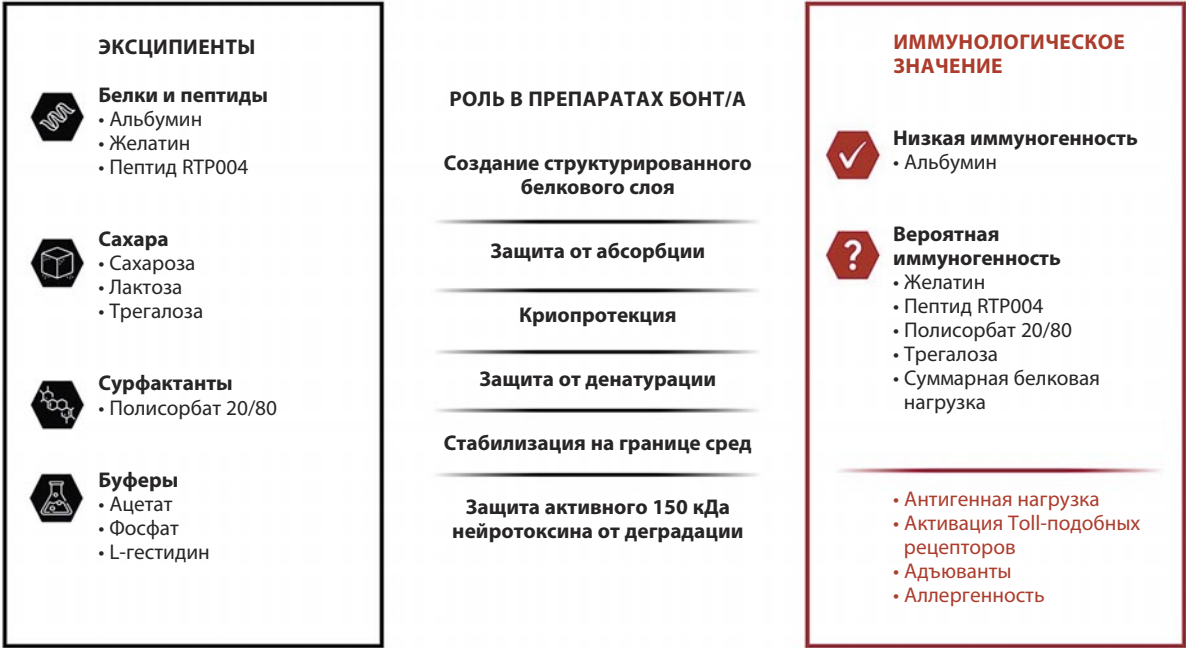
Особое значение эта проблема приобретает для препаратов БонТ/А, поскольку нейротоксин используется в чрезвычайно низких концентрациях – порядка нано-

грамм на флакон. В таких условиях даже минимальная потеря белка вследствие адсорбции на поверхностях, агрегации или поверхностной денатурации может влиять на фактическую биологическую активность препарата [2, 3].

В связи с этим препараты ботулотоксина содержат вспомогательные вещества (эксципиенты), обеспечивающие стабилизацию молекулы нейротоксина. Наиболее часто в этой роли используются человеческий сывороточный альбумин (ЧСА), желатин, сахара (сахароза, лактоза, мальтоза, трегалоза), буферные системы, поверхностно-активные вещества и полимерные стабилизаторы (табл. 1) [4]. Их основная задача заключается в предотвращении денатурации, агрегации, адсорбции и потери активности белка. Однако в последние годы стало очевидно, что значение эксципиентов не ограничивается исключительно фармацевтической

Таблица 1. Эксципиенты в ботулотоксинах Table 1. Excipients in botulinum toxins		
Класс	Эксципиент	Препараты
Белковые стабилизаторы	Альбумин (ЧСА)	Ботокс, Диспорт, Ксеомин, Миотокс, Новакутан-БТА, Хутокс, Ботулак, Кунокс, Набота
	Желатин	Релатокс, Лантокс
Сахара	Сахароза	Ксеомин, Лантокс, Alluzience
	Трегалоза	Даххифу
	Мальтоза	Релатокс
Полисахариды	Декстраны	Лантокс
Сурфактанты	Полисорбат 20/80	Даххифу, Medytox, Alluzience
Буферные системы	Фосфатный буфер	Ботокс (ранние патенты)
	Гистидин	Alluzience, Daxxify, Innotox
Пептидные стабилизаторы	RTP004	Даххифу

Рис. 1. Виды эксципиентов в препаратах БонТ/А и их значение.
Fig. 1. Types of excipients used in BoNT-A-based medicines and their significance.



функцией. Они способны косвенно влиять на иммуногенность препарата, воспроизводимость клинического эффекта и стабильность фактической дозы активного нейротоксина [1, 2, 5].

При этом эксципиенты не участвуют непосредственно в механизме нейромодуляции и не определяют фармакодинамику ботулотоксина напрямую. Их клиническое значение реализуется опосредованно – через влияние на физико-химическое состояние молекулы до момента ее взаимодействия с нейроном, ее иммуногенность (рис. 1) [5]. Таким образом, стабильность препаратов БоНТ/А является свойством всей формулы, а не отдельного компонента.

Цель настоящего обзора – критический анализ современных эксципиентов, применяемых в препаратах ботулотоксина типа А, с позиций фармацевтики, иммунологии, стабильности белковых препаратов и возможного клинического значения.

Физико-химическая нестабильность БоНТ/А

подавляющее большинство препаратов БоНТ/А выпускаются в форме лиофилизатов, которые перед введением необходимо восстанавливать физиологическим раствором. Исторически это связано с тем, что лиофилизация долгое время оставалась наиболее надежным способом стабилизации белковых препаратов [6, 7]. Первые технологии производства и хранения БоНТ/А были разработаны в середине XX в., когда возможности длительного хранения жидких белковых продуктов были ограничены, а современные стабилизаторы и системы холодовой логистики еще отсутствовали.

Лиофилизация позволяла существенно повысить стабильность белка за счет удаления воды и перевода препарата в стекловидное состояние, в котором резко замедляются процессы денатурации, агрегации и протеолиза [8, 9]. Даже сегодня этот подход остается одним из наиболее эффективных способов длительного хранения биологических препаратов, поэтому лиофилизированные формы широко используются для антител, вакцин, анатоксинов, ферментов и других белковых лекарственных средств.

За последние десятилетия развитие биофармацевтики привело к появлению новых стратегий стабилизации белков: современных сурфактантов, полимерных и пептидных стабилизаторов, технологий высокоочищенного производства, а также более надежных систем холодовой цепи. Это сделало возможным создание стабильных жидких форм БоНТ/А [2]. В настоящее время уже существуют несколько подобных препаратов, включая жидкую форму российского препарата Миотокс®, abobotulinumtoxinA (Alluzience), daxibotulinumtoxinA (Daxxify), relabotulinumtoxinA (Relfydess) и ряд новых азиатских разработок (в России не зарегистрированы).

В растворе БоНТ/А подвержен ряду физико-химических процессов, способных приводить к снижению активности препарата, изменению его структуры и потенциальному повышению иммуногенности. Ключевыми механизмами нестабильности считаются адсорбция на

поверхностях, денатурация, агрегация и протеолитическая деградация [2, 9, 10].

Одной из наиболее важных особенностей белковых препаратов является склонность молекул к адсорбции на различных поверхностях, включая стекло, пластик, силиконизированные материалы и границу раздела фаз воздух–жидкость. Для БоНТ/А это имеет особое значение ввиду чрезвычайно низкой концентрации активного нейротоксина в препаратах.

Наиболее нестабильной считается граница воздух–жидкость. При контакте с ней белковые молекулы могут частично разворачивать свою структуру, что повышает риск последующей агрегации и инактивации. В жидких формулах молекулы находятся в состоянии постоянной диффузии и регулярно взаимодействуют с поверхностями, тогда как в лиофилизированном препарате белок практически иммобилизован в стекловидной матрице [10, 11].

Именно этим объясняются практические рекомендации по осторожному восстановлению препаратов БоНТ/А без интенсивного встряхивания и вспенивания раствора. Образование микропузырьков резко увеличивает площадь межфазной поверхности воздух–жидкость, что потенциально способствует поверхностной денатурации белка [11]. Аналогично, длительное хранение восстановленного препарата непосредственно в шприце, где возрастает площадь контакта раствора с полимерными поверхностями, может повышать вероятность потери активности белка.

Другим процессом, приводящим к потере активности БоНТ/А, является денатурация. Под воздействием температуры, механического стресса, колебаний pH или межфазных взаимодействий белковая молекула может частично утрачивать свою конформацию, т.е. денатурировать [1, 11]. Частично денатурированные молекулы обладают меньшей биологической активностью и значительно большей склонностью к агрегации. Для препаратов БоНТ/А денатурация особенно критична, поскольку даже незначительное изменение пространственной структуры способно нарушать связывание токсина с нейроном или его внутриклеточную активность [4].

Агрегация представляет собой процесс объединения белковых молекул в более крупные структуры, возникающий вследствие частичной денатурации, конформационной нестабильности или межмолекулярных взаимодействий. Образование агрегатов может происходить под воздействием механического стресса, температурных колебаний, контакта с поверхностями раздела фаз или в процессе длительного хранения препарата [11]. Для белковых препаратов агрегация имеет особое значение. С одной стороны, она сопровождается потерей биологически активного белка. С другой – белковые агрегаты рассматриваются как один из потенциальных факторов иммуногенности. Предполагается, что крупные белковые частицы эффективнее захватываются антигенпрезентирующими клетками и могут активировать иммунный ответ по сравнению с мономер-

ными растворимыми белками [8]. Несмотря на то, что взаимосвязь между степенью агрегации и клинической иммуногенностью остается сложной и зависит от множества факторов, минимизация образования агрегатов рассматривается как одна из ключевых задач при разработке и производстве белковых лекарственных препаратов [12].

Еще одним теоретическим механизмом нестабильности является ферментативное разрушение белка – протеолиз. В процессе продукции БоНТ/А *Clostridium botulinum* синтезирует ряд бактериальных протеаз, участвующих в созревании токсина [13]. На многочисленных этапах очистки эти ферменты удаляются, однако остаточная протеолитическая активность теоретически может сохраняться.

Для лиофилизированных препаратов этот фактор не имеет большого значения, поскольку в отсутствие воды ферментативные реакции практически не происходят, но они могут рассматриваться как потенциальный фактор нестабильности белковой молекулы после восстановления препарата. Однако в доступной литературе отсутствуют данные о значимой остаточной протеолитической активности в зарегистрированных препаратах БоНТ/А. Ограничение срока хранения восстановленных препаратов ботулинического токсина традиционно связывают преимущественно с физико-химической нестабильностью белковой молекулы, включая денатурацию, агрегацию, адсорбцию на поверхностях и конформационные изменения, тогда как данные о клинически значимом протеолитическом разрушении токсина в готовых препаратах отсутствуют [1, 14].

В жидких формах даже минимальные количества остаточных протеаз потенциально способны медленно разрушать нейротоксин при длительном хранении. В связи с этим степень очистки препарата и контроль остаточной протеолитической активности рассматриваются как дополнительные факторы стабильности жидких форм БоНТ/А.

Таким образом, создание стабильной жидкой формы БоНТ/А, в которой все механизмы потери активности токсина будут надежно контролироваться, остается сложной технологической задачей [7, 15]. В отличие от лиофилизированного состояния, в растворе молекулы нейротоксина находятся в постоянном движении, взаимодействуют с поверхностями и друг с другом, что увеличивает риск адсорбции, агрегации и потери биологической активности. Поэтому стабильность жидких форм обеспечивается сочетанием нескольких взаимодополняющих стратегий [2, 15], многие из которых используются и в лиофилизированных препаратах, но для жидких форм приобретают критическое значение.

Стратегии стабилизации структуры БоНТ/А в лекарственных формах

Белковые стабилизаторы

Исторически первыми стабилизаторами в препаратах БоНТ/А стали белковые эксципиенты – прежде всего

ЧСА и желатин [9, 16, 17]. Их основная функция заключается в предотвращении адсорбции нейротоксина на поверхностях флакона, шприца и иглы, а также в снижении риска агрегации и поверхностной денатурации белка [2, 10]. В фармацевтической литературе подобные молекулы иногда называют «жертвенными белками» (sacrificial proteins), поскольку они первыми взаимодействуют с поверхностями раздела фаз, уменьшая потерю активного нейротоксина [17].

ЧСА является наиболее распространенным белковым стабилизатором в современных препаратах БоНТ/А и имеет долгую историю безопасного использования в лечебных целях и в качестве адъюванта в вакцинах и белковых препаратах [2, 18]. Его широкое применение связано с высокой биосовместимостью, низкой иммуногенностью и способностью стабилизировать белковые растворы. Адсорбированные частично развернутые белковые молекулы могут образовывать агрегаты, поэтому антиадсорбционные агенты одновременно работают и как антиагрегационные. ЧСА связывает гидрофобные участки частично развернутых белков, уменьшая вероятность агрегации и предотвращая адсорбцию, а также способствует более равномерному распределению молекул токсина в растворе [17]. Кроме того, для альбумина описаны шапероноподобные свойства, позволяющие поддерживать нативную структуру белков в растворе [19]. Источником ЧСА служит донорская плазма человека, что теоретически связано с крайне низким риском передачи инфекционных агентов; для препаратов БоНТ/А такие случаи не зарегистрированы.

Использование желатина в современных препаратах БоНТ/А встречается значительно реже, чем применение ЧСА [16, 20, 21], что отражает общую тенденцию развития биофармацевтических продуктов в сторону более стандартизованных систем стабилизации белков. Современные обзоры по эксципиентам биопрепаратов показывают, что сегодня основу большинства белковых препаратов составляют альбумин, сахароза, трегалоза, гистидин, полисорбаты и аминокислоты, так как современная биофармацевтика стремится к использованию химически четко охарактеризованных веществ [22].

Желатин же представляет собой смесь пептидов с разной молекулярной массой [23, 24], получаемых из коллагена животного происхождения. Он способен формировать коллоидную защитную матрицу, уменьшающую поверхностную денатурацию белка во время лиофилизации и восстановления раствора [23]. Преимущества желатина заключаются в том, что он дешевле и технологически проще, чем ЧСА, при эффективной защите молекулы токсина при лиофилизации. В отличие от ЧСА, желатин является менее стандартизированной системой вследствие вариативности молекулярной массы и состава пептидов [24]. Исторически для желатина описаны IgE-опосредованные реакции гиперчувствительности, преимущественно в составе некоторых вакцин и желатинсодержащих инфузионных препаратов [25–27]. Однако такие реакции встречаются редко и, как правило, ассоциированы с существенно более высо-

кими количествами желатина, чем используемые в препаратах БоНТ/А. Кроме того, обсуждается теоретическая возможность передачи прионных агентов в случае использования бычьего желатина, однако в мировой литературе этот риск рассматривается как экстремально низкий [23].

Синтетические пептиды и сурфактанты

В новых препаратах БоНТ/А все чаще используются небелковые стабилизирующие системы. Одним из примеров является препарат daxibotulinumtoxinA, содержащий синтетический пептид RTR004. Этот пептид электростатически взаимодействует с нейротоксином, уменьшая агрегацию и повышая стабильность раствора [28].

Дополнительную защиту белка обеспечивают поверхностно-активные вещества – прежде всего полисорбаты. Они адсорбируются на границе раздела фаз воздух–жидкость и препятствуют поверхностной денатурации токсина. В жидкой форме abobotulinumtoxinA (Alluzience) комбинация полисорбата-80 и сахарозы используется в качестве основной стабилизирующей системы при отсутствии белковых эксципиентов [29].

Сахара и полисахариды

Наряду с белками сахара являются одними из наиболее распространенных стабилизаторов белковых препаратов. Их основная функция заключается в защите белка при замораживании и лиофилизации за счет формирования стекловидной матрицы и замещения водородных связей воды. Это позволяет уменьшать денатурацию и агрегацию белка в условиях дегидратации и температурного стресса [9, 30].

В препаратах БоНТ/А используются различные сахара, включая сахарозу, мальтозу, лактозу и трегалозу. Сахароза считается одним из наиболее химически инертных крио- и лиопротекторов и широко применяется в биофармацевтических препаратах. Мальтоза относится к дисахаридным стабилизаторам и выполняет функции крио- и лиопротектора. Подобно другим

сахарам, используемым в белковых препаратах, она способствует формированию аморфной стекловидной матрицы при лиофилизации, снижая риск денатурации и агрегации белка во время дегидратации и хранения. В составе препарата Релатокс мальтоза используется в комбинации с желатином, формируя классическую систему стабилизации лиофилизированного белкового препарата [31]. Лактоза является традиционным стабилизатором, однако обладает большей химической реакционной способностью по сравнению с сахарозой.

Особый интерес в последние годы вызывает трегалоза, обладающая выраженными антиагрегационными и криопротективными свойствами. Она рассматривается как перспективный стабилизирующий эксципиент для белковых препаратов благодаря способности уменьшать денатурацию при замораживании и лиофилизации [30, 32]. В настоящее время трегалоза входит в состав daxibotulinumtoxinA, где используется как часть небелковой стабилизирующей системы.

Следует учитывать, что некоторые сахара способны вступать с белками в реакцию гликирования (Майяра) [30, 33]. В условиях лиофилизированного состояния такие реакции практически не происходят, однако в растворе при длительном хранении и повышении температуры они теоретически могут способствовать химической модификации БоНТ/А. Наиболее реакционноспособными в этом отношении считаются лактоза и мальтоза [30].

В ряде формул используются также полисахариды. Например, декстран в составе препарата Лантокс может выполнять функции матричного полимерного стабилизатора, способствуя поддержанию коллоидной стабильности белкового препарата и снижению склонности к агрегации [8, 9]. По своим свойствам декстран ближе к полимерным эксципиентам, используемым в составе других белковых лекарственных средств, чем к низкомолекулярным сахарам.

Состав стабилизирующих систем в различных препаратах БоНТ/А существенно отличается и отражает осо-

Таблица 2. Основные функции и потенциальные риски наиболее распространенных стабилизаторов в препаратах БоНТ/А
Table 2. Main functions and potential risk of the most common stabilizers used in BoNT-A-based medicines

Класс	Основная функция	Ограничения и особенности применения
ЧСА	Предотвращение адсорбции и агрегации	Плазменное происхождение
Желатин	Матричная стабилизация	Вариабельность состава, потенциальная аллергенность
Лактоза	Крио- и лиопротекция	Может вступать в реакцию гликирования (Майяра)
Мальтоза	Крио- и лиопротекция	Может вступать в реакцию гликирования (Майяра)
Трегалоза	Создание стекловидной матрицы	Ограниченный опыт применения в препаратах БоНТ/А
Сахароза	Лиопротектор, криопротектор	Требует контроля остаточной влажности
Полисорбаты	Предотвращение адсорбции и агрегации	Возможна окислительная деградация
Декстраны	Полимерная стабилизирующая матрица	Потенциальная аллергенность
Гистидин	Буферная система	Эффективность зависит от диапазона pH
Пептидные стабилизаторы (RTR004)	Предотвращает агрегацию, повышает стабильность	Ограниченность долгосрочных данных по иммуногенности

бенности конкретной рецептуры, технологии лиофилизации, очистки и хранения препарата. При этом ни один отдельный эксципиент не может рассматриваться как универсально «лучший» стабилизатор (табл. 2). Физико-химическая стабильность препаратов БоНТ/А определяется совокупностью всех компонентов и их взаимодействием с нейротоксином.

Контроль pH и буферные системы

Стабильность БоНТ/А в значительной степени зависит от кислотности среды. Слабокислые значения pH способствуют сохранению стабильности комплекса нейротоксина с комплексообразующими белками (КОБ), тогда как при повышении pH комплекс быстро диссоциирует [14]. Кроме того, контроль pH важен для предотвращения химической и физической деградации самого нейротоксина. По этой причине современные препараты БоНТ/А содержат буферные системы, поддерживающие стабильный уровень pH во время хранения и обеспечивающие сохранность нейротоксина на протяжении всего срока годности препарата [2, 11, 14]. В современных препаратах и разработках используются преимущественно фосфатные и гистидиновые буферные системы. В частности, гистидин входит в состав Daххify и Alluzience, тогда как фосфатные буферы описаны в ряде формул ботулотоксина типа А и исторически широко применялись при разработке лиофилизированных препаратов [34].

Помимо стабилизации самого нейротоксина, контроль pH может влиять и на стабильность комплекса нейротоксина с КОБ. Известно, что при физиологических значениях pH комплекс быстро диссоциирует, высвобождая активный 150 кДа нейротоксин [35]. Некоторые жидкие продукты (например, Миотокс® и Alluzience) имеют pH около 6–6,5, что способствует сохранению стабильности белка во время хранения препарата. Диссоциация комплекса происходит сразу после введения раствора БоНТ/А в ткани-мишени [29].

Холодовая цепь

Большинство препаратов БоНТ/А требуют хранения при температуре 2–8°C. Соблюдение холодовой цепи является важным элементом обеспечения стабильности белковых лекарственных препаратов, поскольку низкая температура замедляет процессы физической и химической деградации белка [1]. Это особенно актуально для жидких форм БоНТ/А, в которых нейротоксин длительно находится в растворе. Хотя лиофилизированные препараты обладают существенно большей устойчивостью к внешним воздействиям, для большинства из них также рекомендовано холодильное хранение на протяжении всего срока годности. Вместе с тем экспериментальные исследования показывают, что различные препараты БоНТ/А отличаются по термостабильности [36], что, вероятно, отражает различия в составе и технологиях производства. Особый интерес представляет incobotulinumtoxinA, для которого продемонстрирована возможность длительного хранения

при комнатной температуре без существенной потери активности [2, 37, 38].

Ряд экспериментальных исследований показал, что при соблюдении условий асептики и холодильного хранения активность некоторых препаратов может сохраняться значительно дольше заявленных в инструкциях сроков. В частности, для incobotulinumtoxinA была продемонстрирована длительная стабильность после восстановления, а экспертный консенсус по хранению нейромодуляторов допускает возможность их использования за пределами традиционно рекомендуемого 24-часового интервала при соблюдении требований к хранению и микробиологической безопасности [37, 39]. Регуляторные ограничения связаны не только с физико-химической стабильностью белка, но и с необходимостью обеспечения микробиологической безопасности, воспроизводимости условий хранения и юридической ответственности производителя. Поэтому срок хранения после восстановления следует рассматривать как консервативную гарантию качества препарата, а не как прямое указание на момент утраты его биологической активности.

Контроль поверхностей

Одним из факторов нестабильности белковых препаратов является взаимодействие молекул белка с поверхностями упаковки и устройств доставки. Стекло, полимерные материалы, эластомеры пробок и силиконизированные поверхности способны адсорбировать белковые молекулы, что в отдельных случаях может сопровождаться частичной потерей нативной структуры и снижением биологической активности [11, 17].

Для жидких белковых препаратов существенное значение имеет выбор материалов первичной упаковки и системы укупорки. Контейнеры, пробки и другие контактирующие с препаратом поверхности могут рассматриваться как элементы общей стратегии обеспечения стабильности белка. В ряде современных разработок БоНТ/А используются специальные материалы и покрытия с низкой адсорбционной способностью и направленные на минимизацию взаимодействия нейротоксина с поверхностями раздела фаз [40].

Концентрация БоНТ/А

Концентрация белка в растворе является важным фактором стабильности БоНТ/А. При ультранизких концентрациях возрастает относительная потеря белка вследствие адсорбции на поверхностях [41], поскольку даже небольшое количество адсорбированных молекул может существенно уменьшать фактическую концентрацию активного нейротоксина. Кроме того, частично денатурированные молекулы могут выступать центрами последующей агрегации.

Подбор оптимальной концентрации белка является важным элементом разработки жидких белковых препаратов, поскольку позволяет уменьшить вероятность межмолекулярных взаимодействий, приводящих к образованию агрегатов [11]. Однако чрезмерное увеличе-

ние концентрации также может сопровождаться усилением взаимодействий белков друг с другом, ростом вязкости раствора и повышением склонности к агрегации. По этой причине концентрация активного вещества подбирается индивидуально для каждой лекарственной формы с учетом требований к стабильности, технологии производства и способу введения препарата [42, 43].

Значение этого фактора особенно велико для жидких формул. В лиофилизированном состоянии молекулы белка практически иммобилизованы в стекловидной матрице, тогда как в растворе они находятся в постоянном движении и непрерывно взаимодействуют с поверхностями и друг с другом.

Снижение остаточной протеолитической активности

Стабильность препарата определяется не только эксципиентами, но и степенью биохимической чистоты нейротоксина. При производстве БоНТ/А используются многоступенчатые системы очистки, направленные в том числе на удаление бактериальных протеаз [21].

Для лиофилизированных продуктов наличие минимальных остаточных количеств протеаз имеет ограниченное значение, поскольку в отсутствие воды ферментативные реакции практически не протекают. В жидких препаратах даже незначительная остаточная протеолитическая активность теоретически может способствовать постепенной деградации нейротоксина и образованию белковых агрегатов при длительном хранении. В связи с этим дополнительное снижение содержания остаточных протеаз рассматривается как одна из возможных стратегий повышения стабильности жидких форм.

Миотокс® как пример альтернативной стратегии стабилизации ботулинического нейропротеина

Показательным примером комплексного подхода к стабилизации жидких форм БоНТ/А является препарат Миотокс®. Согласно патентным данным, его стабильность обеспечивается сочетанием нескольких технологических решений: поддержанием слабокислого диапазона pH, использованием ЧСА в качестве белкового стабилизатора, многоступенчатой очисткой нейротоксина и соблюдением холодовой цепи хранения [44, 45]. Такой подход хорошо иллюстрирует современную концепцию разработки препаратов БоНТ/А, согласно которой стабильность определяется не отдельными компонентами рецептуры, а совокупностью взаимодополняющих механизмов защиты белковой молекулы.

В отличие от традиционной стратегии стабилизации ботулинических токсинов посредством лиофилизации, разработчики препарата Миотокс® сделали ставку на создание жидкой лекарственной формы, способной сохранять биологическую активность при длительном хранении [44, 45]. Лيوфилизация сама по себе является стрессовым фактором для токсина и может сопровождаться частичной потерей его активности. Создатели

препарата Миотокс® прямо противопоставляют свою технологию лиофилизированным препаратам, и вместо борьбы с последствиями лиофилизации они вообще исключают этот этап. Это концептуально отличается от большинства исторических препаратов БоНТ/А. По сути, Миотокс® стал первым препаратом БоНТ/А, где жидкая форма рассматривается как самостоятельная технологическая стратегия стабилизации препарата.

Главная инновация, которая была использована при разработке препарата Миотокс®, – система очистки нейропротеина. Именно она и делает возможным существование стабильной жидкой формы [44, 45]. В патенте несколько раз подчеркивается, что недостаточная очистка токсина является одним из важных факторов, определяющих необходимость лиофилизации для сохранения активности при производстве других препаратов БоНТ/А. В ответ они предлагают двухступенчатую систему очистки: сначала никельсодержащий металлосорбент, затем гель-фильтрацию.

Для начала 2000-х это было довольно прогрессивное решение. Классические технологии очистки ботулинического токсина включали осаждение кислотой [46], перекристаллизацию [46] и многократное осаждение сульфатом аммония [47]. Такие методы хорошо концентрируют токсин, но плохо удаляют большое количество сопутствующих белков культуры. Металлосорбент же позволяет удалить значительную часть бактериальных примесей и получить препарат с более высокой удельной активностью, что потенциально снижает общую белковую нагрузку на пациента. В патенте прямо указывается достижение удельной активности порядка $3 \times 10^7 - 10^8$ LD₅₀/мг белка [44, 45].

На втором этапе применяется гель-фильтрация при pH 5,5–6,0. Это уже очистка от низкомолекулярных примесей, остатков солей, компонентов среды и продуктов деградации белка, что крайне важно с точки зрения стабильности. Чем меньше в растворе посторонних компонентов, тем ниже вероятность химической деградации и нежелательных межмолекулярных взаимодействий. Это очень созвучно современной концепции, согласно которой стабильность определяется не только эксципиентами, но и степенью чистоты нейропротеина [48].

Кроме высокой степени очистки, слабокислого pH, низкой температуры хранения и использования ЧСА в качестве белкового стабилизатора следует упомянуть более высокую концентрацию препарата Миотокс® в растворе (100 Ед/1 мл) по сравнению со стандартными разведениями других БоНТ/А (100 Ед/2–2,5 мл), а также использование специальных флаконов и пробок, уменьшающих вероятность адсорбции белка на их поверхностях. Это также является стратегиями, направленными на поддержание стабильности жидкой формы БоНТ/А в препарате Миотокс®.

Эффективность описанной стратегии стабилизации подтверждается результатами программ долгосрочного контроля стабильности препарата Миотокс®, проводившихся в 2016–2026 гг., по данным ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки имму-

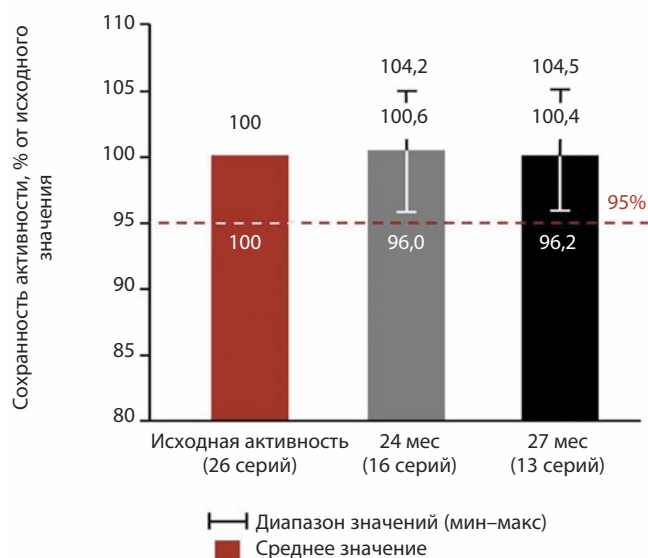
нобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита) [49]. За этот период был выполнен ряд независимых программ оценки стабильности, включавших различные производственные серии препарата и моделирование факторов, потенциально способных влиять на сохранность биологической активности нейропротеина.

Помимо стандартных долгосрочных исследований при регламентированных условиях хранения (2–8°C) продолжительностью до 27 мес оценивались влияние контакта препарата с укупорочным средством при хранении в перевернутом положении, изменения технологического процесса производства, смены поставщика ЧСА, а также стабильность препарата после вскрытия первичной упаковки и после разведения.

Анализ показал отсутствие направленной тенденции к снижению специфической активности препарата при длительном хранении (рис. 2). Средняя специфическая активность исследованных серий составляла $119,3 \pm 2,3$ Ед/мл в программах 24-месячного хранения и $115,1 \pm 5,6$ Ед/мл – в программах 27-месячного хранения. По завершении соответствующих периодов хранения эти показатели составляли $118,6 \pm 3,9$ Ед/мл и $114,2 \pm 5,7$ Ед/мл соответственно [49]. Таким образом, активность сохранялась на уровне не менее 95% от исходного значения во всех программах контроля, а наблюдавшиеся изменения составляли, как правило, лишь несколько процентов и носили разнонаправленный характер: наряду с небольшим снижением активности в отдельных сериях наблюдались ее незначительные повышения. Подобные колебания отражают аналитическую вариативность биологического метода определения активности и не свидетельствуют о систематической деградации нейротоксина.

Рис. 2. Сохранность специфической активности препарата Миотокс® после длительного хранения в различных программах контроля стабильности за 2016–2026 гг. [49].

Fig. 2. Miotox® specific activity preservation after the long-term storage in various stability control programs, 2016–2026 [49].



Не менее важным представляется отсутствие выраженного влияния технологических факторов на стабильность препарата. Смена поставщика ЧСА, внедрение обновленной технологии производства и использование нового посевного материала не сопровождались ухудшением показателей специфической активности. Аналогично, длительный контакт препарата с элементами упаковки при хранении во флаконе в перевернутом положении не приводил к заметному снижению активности, что косвенно подтверждает эффективность выбранной системы упаковки и минимизацию процессов адсорбции белка на поверхностях.

Особенно интересны результаты исследований стабильности после вскрытия флакона и после разведения препарата. Несмотря на то, что официальные инструкции определяют значительно более короткие рекомендуемые сроки использования вскрытого препарата, полученные данные свидетельствуют о сохранении специфической активности в течение исследованных интервалов хранения при соблюдении температурного режима. Эти результаты согласуются с опубликованными данными, демонстрирующими возможность более длительного сохранения биологической активности ряда препаратов БоНТ/А при соблюдении условий асептики и холодовой цепи [37, 39].

Таким образом, результаты независимых программ стабильности, проведенных в течение 10 лет, показывают, что стабильность препарата Миотокс® является результатом комплексного подхода (рис. 3).

Это подтверждает основную концепцию современной разработки препаратов БоНТ/А: стабильность жидкой формы определяется не отдельным эксципиентом, а согласованной работой всех элементов технологической платформы – от степени очистки нейротоксина и со-

Рис. 3. Стабильность препарата Миотокс® при разных технологических факторах. Во всех проведенных исследованиях не выявлено значимого снижения специфической активности препарата [49].

Fig. 3. Miotox® stability with various technological factors. The studies conducted revealed no significant decrease in specific activity of the drug [49].



става вспомогательных веществ до условий хранения и характеристик первичной упаковки.

КОБ в составе препаратов БоНТ/А

Обсуждая состав препаратов БоНТ/А, необходимо отдельно рассмотреть роль КОБ, которые не относятся к эксципиентам, но потенциально могут влиять на стабильность нейротоксина. Нативный ботулинический токсин, продуцируемый *C. botulinum*, существует в виде белкового комплекса, включающего 150 кДа нейротоксин и КОБ – гемагглютинины и негемагглютининовый белок (NTNH). Размер такого комплекса может варьировать от 300 до 900 кДа. В природных условиях КОБ выполняют защитную функцию, предохраняя токсин от действия кислот и протеолитических ферментов желудочно-кишечного тракта. Однако при физиологическом pH связь между нейротоксином и КОБ становится нестабильной, и после попадания препарата в ткани комплекс быстро диссоциирует с высвобождением активного 150 кДа нейротоксина [14, 29, 35].

В лекарственных препаратах БоНТ/А значение КОБ остается предметом дискуссии. С одной стороны, наличие дополнительных стабилизирующих компонентов снижает необходимость сохранения природного белкового комплекса, поэтому в ряде препаратов, например incobotulinumtoxinA, КОБ удаляются в процессе очистки [16]. Предполагается, что отсутствие дополнительных клостридиальных белков может уменьшать общую белковую нагрузку препарата. С другой стороны, некоторые исследователи рассматривают КОБ как потенциальные естественные стабилизаторы нейротоксина в растворе, способные снижать его поверхностную инактивацию и агрегацию. Некоторые авторы высказывают предположение, что КОБ могут влиять на функциональные свойства комплекса и его стабильность до момента диссоциации. Однако клиническое значение этих наблюдений остается предметом дальнейшего изучения [50].

Отдельно обсуждается возможная роль КОБ в иммуногенности препаратов БоНТ/А. Ряд авторов предполагают, что гемагглютинины способны усиливать иммунный ответ и потенциально участвовать в индукции нейтронизирующих антител [16, 21, 51]. Однако прямые клинические доказательства значимого влияния КОБ на иммуногенность при использовании эстетических доз остаются ограниченными.

Удаление КОБ требует дополнительных этапов очистки и хроматографии, что усложняет и удорожает производство препарата. По этой причине многие производители препаратов БоНТ/А сохраняют нативный комплекс, особенно если технология производства исторически разрабатывалась именно для комплексной формы токсина. В подобных продуктах функцию дополнительной стабилизации после восстановления раствора обеспечивают как сами КОБ, так и эксципиенты.

Таким образом, современные представления об иммуногенности препаратов БоНТ/А рассматривают не отдельные компоненты формулы, а совокупность фак-

торов, включая содержание посторонних белков, наличие агрегатов, степень очистки препарата и особенности производственного процесса [21].

Влияние эксципиентов на фармакодинамику, переносимость и иммуногенность препаратов БоНТ/А

Несмотря на отсутствие прямого влияния на механизм действия нейротоксина, эксципиенты способны косвенно влиять на клинический эффект через изменение стабильности препарата и сохранности активного нейротоксина. При недостаточной защите белка часть токсина может теряться вследствие адсорбции, агрегации или денатурации, что потенциально влияет на фактическую биологическую активность препарата после восстановления раствора.

Косвенное влияние стабилизирующих компонентов на воспроизводимость клинического эффекта было продемонстрировано в исследовании В. Mohammadi и соавт. (2009), в котором abobotulinumtoxinA применялся после восстановления в растворе, содержащем 0,1% альбумина. Авторы наблюдали возможность достижения сопоставимого терапевтического эффекта у неврологических пациентов при использовании меньших доз препарата по сравнению с традиционно применяемыми схемами. Было высказано предположение, что добавление альбумина могло уменьшать потерю активного нейротоксина вследствие адсорбции и тем самым повышать воспроизводимость клинического эффекта [52].

Помимо стабильности белка, состав препарата может влиять и на некоторые субъективные параметры терапии, в частности на переносимость инъекций. После восстановления лиофилизированных препаратов pH раствора может смещаться в кислую сторону [53], что связано как с характеристиками физиологического раствора, так и с особенностями буферной системы конкретного препарата. Предполагается, что кислотность раствора и состав буферов могут влиять на субъективную болезненность инъекций, однако прямые сравнительные данные по этому вопросу ограничены.

Особое значение при обсуждении препаратов БоНТ/А имеет проблема иммуногенности. Несмотря на ее активное обсуждение, большинство препаратов демонстрирует высокий профиль безопасности, а серьезные иммунологические реакции и клинически значимая вторичная неэффективность остаются относительно редкими событиями в эстетической практике. На иммунный ответ к белковым препаратам влияют многочисленные факторы, включая структурные особенности молекулы, процессы денатурации и агрегации, наличие примесей, белковую нагрузку, режим введения, длительность терапии, а также индивидуальные генетические особенности пациента [5, 8].

В отношении препаратов БоНТ/А предполагается, что эксципиенты могут косвенно влиять на иммуногенность через способность предотвращать агрегацию [1, 54], поверхностную денатурацию и образование ча-

стично деградированных белковых форм. В последние годы все больше внимания уделяется не только наличию КОБ, но и общей белковой нагрузке препарата, включая неактивный нейротоксин (токсоид) и агрегаты [21]. Считается, что именно частично денатурированные или агрегированные белковые структуры могут обладать повышенной иммунореактивностью по сравнению с нативным нейротоксином.

Аллергические и гиперчувствительные реакции описаны для различных препаратов БоНТ/А. Анализ базы FDA за 2014–2019 гг., включавший более 10 тыс. сообщений о нежелательных явлениях после применения препаратов БоНТ/А по эстетическим показаниям, показал, что реакции типа аллергии, крапивницы и зуда встречались примерно в 3,4% зарегистрированных сообщений [55]. Однако интерпретация подобных данных затруднена, поскольку в большинстве случаев невозможно достоверно определить, какой именно компонент препарата стал причиной реакции [56].

ЧСА считается низкоиммуногенным стабилизатором и широко используется в современных белковых препаратах. Несмотря на плазменное происхождение, случаи передачи инфекционных агентов при его применении в составе препаратов БоНТ/А не зарегистрированы. Описанные реакции гиперчувствительности к ЧСА встречаются редко и обычно ограничиваются легкими кожными проявлениями [57]. Например, опубликован случай контактного дерматита после инъекции БоНТ/А, связанный с аллергией на человеческий альбумин [58].

Желатин обладает значительно меньшей антигенностью по сравнению с нативным коллагеном вследствие разрушения его пространственной структуры при гидролизе. Однако для желатина описаны IgE-опосредованные реакции гиперчувствительности, преимущественно в составе вакцин и некоторых инфузионных препаратов [25, 26, 59]. Данные о частоте реакций на желатинсодержащие препараты БоНТ/А ограничены.

В отдельных публикациях описаны уртикарные и гиперчувствительные реакции после применения желатинсодержащих препаратов БоНТ/А [60, 61]. Следует подчеркнуть, что антигенность и аллергенность не являются тождественными понятиями, поэтому снижение иммуногенности по сравнению с коллагеном не исключает возможности развития аллергических реакций у сенсibilизированных пациентов.

Прямых сравнительных исследований, демонстрирующих более высокую частоту аллергических реакций для желатинсодержащих препаратов по сравнению с альбуминсодержащими, в настоящее время нет. Это может быть связано как с существенно меньшим количеством желатина, используемого в составе ботулотоксинов, так и с относительно небольшим числом желатинсодержащих препаратов на мировом рынке. Кроме того, отсутствие опубликованных сообщений не исключает влияния особенностей систем фармаконадзора и регистрации нежелательных явлений в различных странах. Поскольку в Европе и США желатинсодержащие препараты практически не применяются, в меди-

цинских базах этих стран сообщения о реакциях на желатин крайне редки. Поэтому потенциальная аллергенность желатина рассматривается скорее как теоретическое ограничение его применения, чем как доказанная клиническая проблема препаратов БоНТ/А. В ранних публикациях, посвященных доклиническим исследованиям препарата Релатокс, аллергизирующего действия препарата в модели активной системной анафилаксии у морских свинок выявлено не было [20].

В отношении новых эксципиентов – полисорбатов, полимерных стабилизаторов и синтетических пептидов – данных о клинической иммуногенности значительно меньше. Полисорбаты широко используются в современных белковых препаратах благодаря способности снижать поверхностную денатурацию, однако для некоторых биологических препаратов описаны редкие реакции гиперчувствительности и иммуногенности, связанные с продуктами их окисления [18]. Аналогично, декстран традиционно считается низкоиммуногенным полисахаридом, однако для инфузионных форм декстрана описаны анафилактоидные реакции и образование антидекстрановых антител. Клиническое значение этих механизмов в препаратах БоНТ/А остается недостаточно изученным.

Заключение

Современные препараты БоНТ/А представляют собой сложные белковые формулы, стабильность которых является результатом взаимодействия компонентов рецептуры и технологии производства. В последние годы системы стабилизации становятся все более многоуровневыми и включают комбинации белковых эксципиентов, сахаров, сурфактантов, буферных систем и полимерных компонентов.

Эксципиенты не изменяют механизм действия БоНТ напрямую, однако определяют условия, в которых активная молекула сохраняет свою структуру и биологическую активность. Их клиническое значение носит преимущественно опосредованный характер и реализуется через влияние на стабильность белка, предотвращение адсорбции, агрегации и денатурации, а также через обеспечение воспроизводимости фактической биологической активности препарата.

На сегодняшний день нет убедительных доказательств того, что отдельные эксципиенты сами по себе определяют силу, длительность действия или диффузию препаратов БоНТ/А. В то же время именно рецептура в целом может влиять на стабильность препарата после восстановления, вариабельность клинического эффекта, переносимость и потенциальную иммуногенность.

Клинические различия между препаратами БоНТ/А, вероятно, обусловлены совокупностью факторов, включая степень очистки, белковую нагрузку, особенности производства, систему стабилизации, условия хранения и контроль деградации белка.

Прогресс в фармацевтических технологиях белковых лекарственных препаратов сделал возможным созда-

ние стабильных жидких форм БоНТ/А. В отличие от лиофилизатов, раствор представляет собой динамическую подвижную систему, в которой молекулы находятся в постоянном взаимодействии. Для предотвращения процессов агрегации, денатурации и адсорбции молекул БоНТ/А в жидких препаратах применяют различные взаимодополняющие стратегии. В частности, в препарате Миотокс®, который является российской разработкой и первой в мире зарегистрированной жидкой формой БоНТ/А, применяются инновационная сверхвысокая система очистки от примесей, контроль pH, холодовая цепь, повышенная концентрация токсина во флаконе и специальные флаконы и пробки со сниженной адсорбционной способностью. Это позволяет сохранять заявленную активность БоНТ/А на протяжении всего срока годности.

Заключение

Таким образом, разработка современных препаратов БоНТ/А представляет собой не поиск универсального эксципиента, а комплексную задачу контроля всех механизмов деградации. Оптимальный состав является компромиссом между стабильностью, безопасностью,

технологической воспроизводимостью и регуляторными требованиями.

Несмотря на отсутствие универсальной «идеальной» рецептуры, современные подходы к разработке препаратов БоНТ/А стремятся соблюдать несколько ключевых принципов:

- минимизация избыточной белковой нагрузки;
- эффективная защита нейротоксина от адсорбции, агрегации и денатурации;
- химическая и физическая стабильность формулы;
- воспроизводимость биологической активности;
- максимально простой и предсказуемый состав препарата.

Таким образом, эксципиенты следует рассматривать не как второстепенные компоненты препарата, а как важную часть системы, обеспечивающей стабильность, воспроизводимость и безопасность терапии БоНТ/А.

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests. The author declares that there is not conflict of interests.

Список литературы доступен на сайте журнала <https://klin-razbor.ru/>

The list of references is available on the journal's website <https://klin-razbor.ru/>

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРЕ

Шарова Алиса Александровна – д-р мед. наук, доц. каф. пластической и реконструктивной хирургии, косметологии и клеточной терапии ФДПО ФГБОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова», проф. каф. дерматологии и косметологии ФГБУ ДПО ЦГМА, науч. рук. КЭМ «Чистые пруды». E-mail: aleca@mail.ru

Поступила в редакцию: 11.07.2026

Поступила после рецензирования: 27.07.2026

Принята к публикации: 20.08.2026

INFORMATION ABOUT THE AUTHOR

Alisa A. Sharova – Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Pirogov Russian National Research Medical University, Professor, Central State Medical Academy of the Presidential Executive Office of the Russian Federation, Clinic of Aesthetic Medicine and Cosmetology "Chistye Prudy". E-mail: aleca@mail.ru

Received: 11.07.2026

Revised: 27.07.2026

Accepted: 20.08.2026