«Фармацевтична галузь», № 3 (108), вересень 2026

Стратегії стабілізації й сучасні досягнення в ліофілізації

для збереження цілісності та ефективності біологічних препаратів нового покоління

Автори:
Ravi Maharjan,
Chang Yell Shin,
Seon-Kwang Lee,
Eun-Sol Ha,
Heejun Park,
Jeong-Soo Kim,
Ki Hyun Kim,
Nam Ah Kim,
Min-Soo Kim,
Seong Hoon Jeong

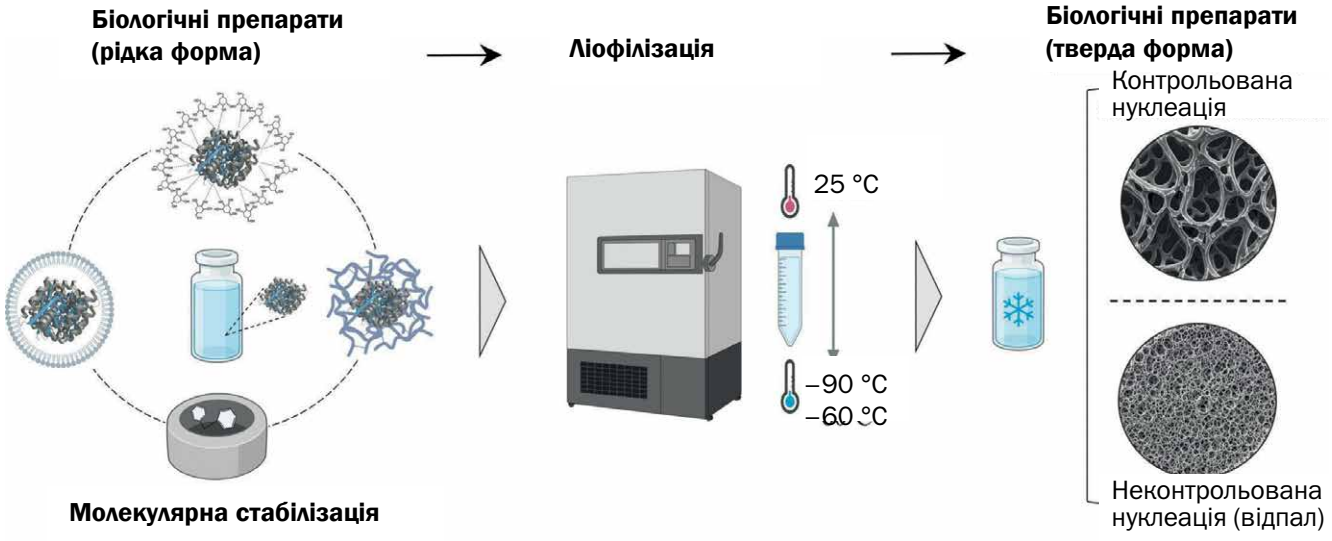
Анотація

Успіх вакцин на основі мРНК-ліпідних наночастинок (LNP) під час пандемії COVID-19 зумовив зростання попиту на стабільні біологічні препарати з підвищеною термостійкістю. Ліофілізація залишається ключовою технологією, спрямованою на підвищення стабільності препаратів, однак етапи заморожування і сушіння можуть негативно впливати на цілісність чутливих LNP.

У цьому огляді розглянуто, як ліопротектори, зокрема цукри, поліоли, амінокислоти та полімери, допомагають зменшити денатурацію під впливом льоду, агрегацію внаслідок дегідратації та дестабілізацію на межі фаз. Особливу увагу приділено оптимізованим комбінаціям сахарози і трегалози й контролю нуклеації льоду як стратегіям збереження ефективності інкапсуляції та цілісності частинок.

Сучасні інструменти для оптимізації процесу, зокрема моделювання цифрового двійника і раманівська спектроскопія в режимі реального часу, додатково підвищують ефективність ліофілізації за одночасного забезпечення критичних показників якості. Новітні підходи до безперервної ліофілізації, зокрема технології ротаційного заморожування, відкривають додаткові можливості для скорочення тривалості циклу.

У сукупності ці розробки допомагають подолати обмеження холодового ланцюга та забезпечити стабільність біологічних препаратів нового покоління.



1. Вступ

Біологічні препарати мають терапевтичні переваги порівняно з низькомолекулярними лікарськими засобами і значний потенціал для лікування небезпечних для життя захворювань. Під час пандемії COVID-19 вакцини на основі матричної РНК (мРНК) були швидко розроблені із застосуванням технології ліпідних наночастинок LNP. Попри їхню ефективність і безпеку, вакцини на основі РНК-LNP за своєю природою нестабільні та потребують дотримання умов холодового ланцюга й глибокого заморожування під час транспортування та зберігання. Для подолання цього обмеження ліофілізація стала одним із ключових підходів до підвищення стабільності біофармацевтичних препаратів. Ліофілізація складається із трьох етапів: заморожування, первинного сушіння та вторинного сушіння, під час яких вода видаляється із заморожених препаратів завдяки сублімації. Однак заморожування й сушіння можуть спричиняти фізико-хімічні стреси, що негативно впливають на стабільність препарату. Тому стабілізація потребує як оптимізації процесу ліофілізації, так і належного підбору стабілізаторів, зокрема цукрів, поліолів, амінокислот, полімерів і поверхнево-активних речовин.

Для оптимізації ліофілізації та підтримання стабільності біологічних препаратів було розроблено різні підходи. Традиційні інструменти, як-от Quality by Design (QbD) і Design of Experiments (DoE), разом із новітніми технологіями, зокрема цифровими двійниками й моніторингом у режимі реального часу, сприяють оптимізації та контролю характеристик препарату й процесу. Оскільки біологічні препарати надзвичайно чутливі до умов виробництва, їхні рецептура, процес виробництва, транспортування і зберігання потребують ретельного контролю. Стабільність зазвичай оцінюють за такими критичними показниками якості, як розмір частинок та його розподіл, поверхневий заряд, утримання лікарської речовини, залишкова вологість, температура колапсу, зовнішній вигляд ліофілізованої маси та час відновлення.

В огляді розглянуто стабільність LNP- і білкових препаратів під впливом стресових факторів ліофілізації з особливим акцентом на взаємозв'язку структури препарату та його стабільності. Досліджено вплив таких чинників, як ліпідний склад, розмір частинок, структура білка і вибір ліопротектора, а також проаналізовано роль сучасних технологій в оптимізації процесу й аналітичних технологій. У процесі поєднання цих аспектів висвітлено актуальні проблеми та нові підходи до підвищення стабільності й ефективності біофармацевтичних препаратів нового покоління.

2. Ліофілізація і роль стабілізаторів

2.1. Механізми ліофілізації

Ліофілізація призначена для стабілізації біологічних препаратів завдяки видаленню води через сублімацію. Процес складається з етапів заморожування, первинного та вторинного сушіння. Під час заморожування утворення льоду спричиняє концентрування розчинених речовин у незамерзлій фазі, що підвищує в'язкість і може призводити до зміни pH. Модальності нового покоління, зокрема мРНК-LNP та вірусні вектори, особливо чутливі до механічного впливу кристалів льоду і міжфазних ефектів, які можуть спричиняти структурні пошкодження, витік лікарської речовини або дестабілізацію частинок.

Температура склування об'ємної рецептури (Tg) характеризує перехід від жорсткого склоподібного до рухливого гумоподібного стану. З метою запобігання нестабільності її потрібно контролювати під час зберігання. Температура максимально замороженого концентрованого розчину (Tg′) досягається під час заморожування, коли залишкова незамерзла фаза стає високов'язкою, обмежуючи подальшу кристалізацію льоду. Температура колапсу (Tc) визначає верхню температурну межу, за якої заморожена матриця може зберігати свою структуру під час первинного сушіння. Хоча Tc тісно пов'язана з Tg′, зазвичай вона на кілька градусів вища і є практичною межею температури матеріалу під час первинного сушіння, у процесі якого лід видаляється завдяки сублімації, тоді як під час вторинного сушіння зв'язана вода видаляється завдяки десорбції. На цих етапах необхідно контролювати температуру матеріалу для збереження цілісності ліофілізованої маси та стабільності препарату (Randolph, 1997).

Дегідратація є основним стресовим фактором під час сушіння. Видалення гідратаційної оболонки білка може порушувати водневі зв'язки і спричиняти структурні зміни, тоді як зміни заряду білка здатні посилювати гідрофобні взаємодії та агрегацію (Wang, 2000; Hubbard and Haider, 2010; Hung et al., 2021). Щодо препаратів на основі РНК-LNP дегідратація додатково впливає на стабільність частинок через зміни водневих зв'язків і гідрофобних взаємодій (Hardianto et al., 2023).

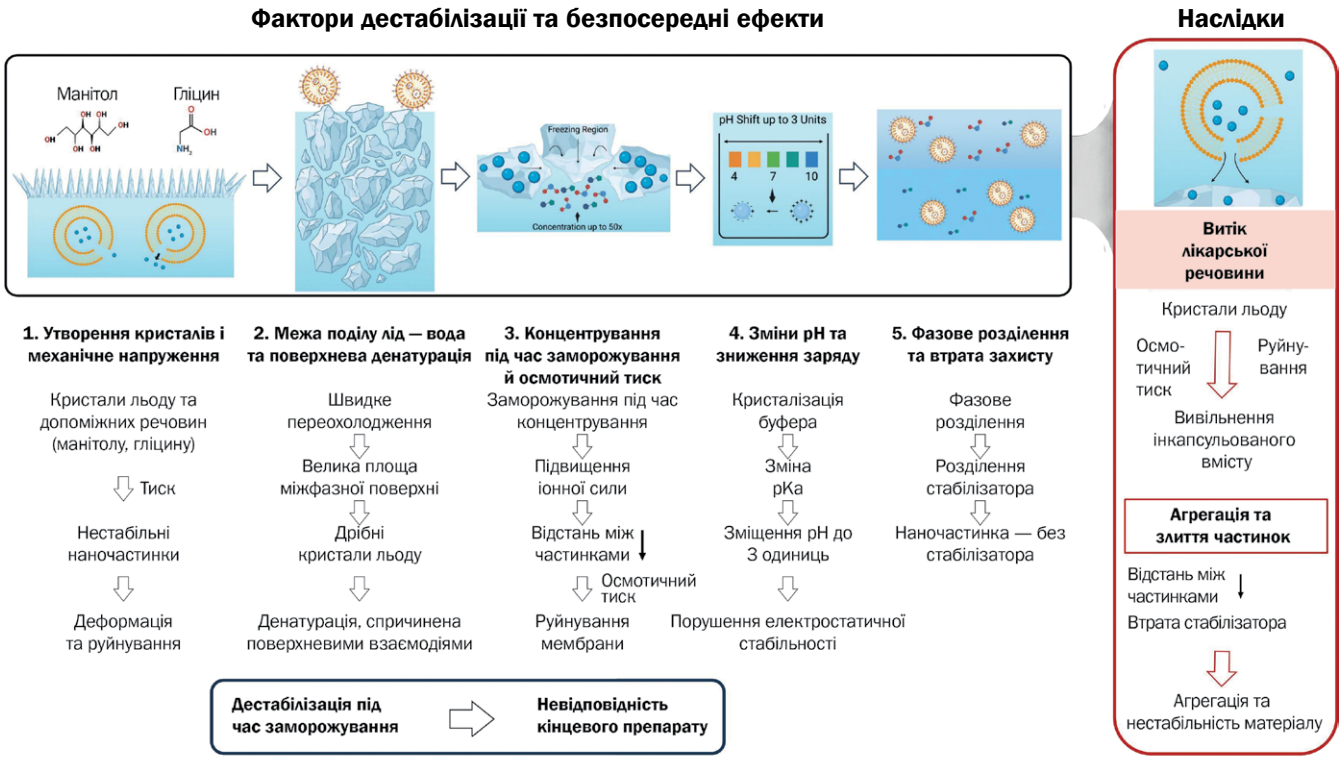


Рис. 1. Фактори дестабілізації та безпосередні ефекти під час етапу заморожування у процесі ліофілізації (зліва направо)

Попри те, що ліофілізовані препарати зазвичай залишаються стабільними безпосередньо після завершення процесу, під час зберігання вони можуть втрачати біологічну активність. На їхню стабільність упливають температура зберігання, температура склування рецептури, pH, вміст вологи й тип допоміжної речовини (рис. 1). До описаних механізмів деградації належать агрегація, хімічна деградація, реакції Майяра, окиснення, деамідування та гідроліз. Пакувальні матеріали, а також екстраговані та вимивні речовини додатково впливають на стабільність ліофілізованих препаратів (Wang, 2000; Fonte et al., 2016; Butreddy et al., 2021).

2.2. Роль стабілізаторів

Для підтримання стабільності складних біологічних препаратів під час ліофілізації та тривалого зберігання настійно рекомендовано додавати до їхнього складу стабілізатори (Degobert and Aydin, 2021). Хоча багато допоміжних речовин використовують у різних платформах, їхня ефективність значною мірою залежить від конкретного типу біологічного препарату. Дисахариди, як-от сахароза, стабілізують білки переважно через заміщення води, тоді як у LNP вони також сприяють збереженню внутрішніх водних доменів. Отже, стабілізатори для LNP мають забезпечувати як формування склоподібної матриці, так і безпосередній захист ліпідно–РНК-структур. Вторинні стабілізатори виконують специфічні для певного типу препарату завдання; наприклад, аргінін може знижувати в'язкість і підвищувати розчинність білка у висококонцентрованих препаратах моноклональних антитіл (mAb). У вірусних векторах і LNP іонні допоміжні речовини часто обмежують або не використовують, оскільки вони можуть знижувати Tg препарату або спричиняти зміни pH, що негативно впливають на стабільність частинок.

2.2.1. Цукри та поліоли

Цукри та поліоли, зокрема сахароза, трегалоза, мальтоза, манітол і сорбітол, широко використовують для стабілізації ліофілізованих препаратів (Chauhan et al., 2026). Механізми їхньої стабілізувальної дії охоплюють заміщення води, стабілізацію у склоподібному стані, ущільнення матриці та створення середовища, подібного до водного (Butreddy et al., 2021). Заміщення води сприяє збереженню гідратаційних оболонок білків і запобігає денатурації та агрегації під час сушіння, тоді як утворення склоподібної матриці знижує молекулярну рухливість. Стабілізувальна дія залежить від концентрації: необхідне мінімаль-

не масове співвідношення цукру до білка зазвичай становить приблизно 1:1, а вищі співвідношення часто забезпечують більшу стабільність (Thakral et al., 2021). Водночас надмірна концентрація цукрів може негативно впливати на стабільність. Дисахариди, як-от сахароза, зазвичай є переважними завдяки їхнім сприятливим властивостям щодо утворення склоподібного стану.

2.2.2. Амінокислоти

Амінокислоти, зокрема аргінін, гліцин і гістидин, використовують як допоміжні речовини у ліофілізованих біофармацевтичних препаратах для підвищення розчинності, зниження в'язкості, контролю pH та поліпшення стабільності (Arakawa et al., 2007; Forney-Stevens et al., 2016). Аргінін і аргініну гідрохлорид є найбільш дослідженими амінокислотами, призначеними для підвищення розчинності білків і зниження в'язкості розчину, особливо у висококонцентрованих препаратах (Izutsu et al., 2005; Stärtzel, 2018; Nguyen et al., 2024). Амінокислоти також можуть сприяти стабілізації завдяки утворенню водневих зв'язків і переважним взаємодіям під час сушіння та зберігання. Однак відносно низькі показники Tg порівняно з такими цукрів можуть обмежувати їхню ефективність у разі самостійного використання, тому їх часто комбінують із цукрами або іншими стабілізаторами (Karunnanithy et al., 2024).

2.2.3. Полімери

Полімери, зокрема циклодекстрин, декстран, поліетиленгліколь (PEG), полівінілпіролідон (PVP), полівініловий спирт, карбоксиметилцелюлоза та желатин, здатні підвищувати фізичну та хімічну стабільність ліофілізованих біологічних препаратів (Thakral et al., 2021; Wang et al., 2023). Наприклад, PEG і декстран формують захисні матриці навколо білків, знижують агрегацію та не порушують структурну цілісність під час зберігання. Механізми їхньої стабілізувальної дії охоплюють стеричне виключення, переважні взаємодії та утворення водневих зв'язків, тоді як відносно високі показникиTg можуть сприяти довготривалій стабільності (Bjelošević et al., 2020; Butreddy et al., 2021). Встановлено, що комбінація декстрану із сахарозою забезпечує стабільність моноклонального антитіла за температури 40 °C протягом 14 днів (Haeuser et al., 2020).

2.2.4. Поверхнево-активні речовини

Поверхнево-активні речовини (ПАР) широко використовують для збереження біологічної активності біофармацевтичних препаратів

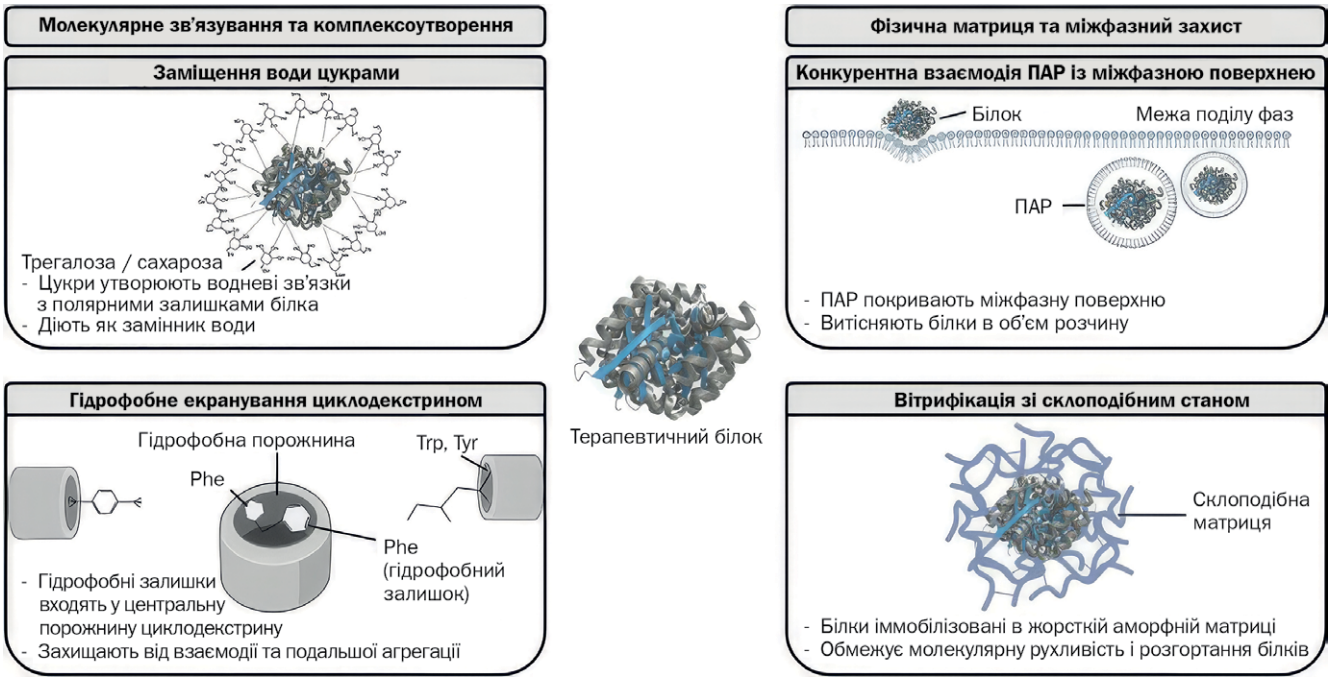


Рис. 2. Молекулярне зв'язування та комплексоутворення — трегалоза / сахароза утворюють водневі зв'язки з полярними залишками білка, що створює альтернативну взаємодію замість води та запобігає денатурації білка (ліворуч, угорі)

під час ліофілізації завдяки зниженню міжфазного напруження та запобігання агрегації (Alejo et al., 2024; Karunnanithy et al., 2024). Під час технологічного процесу білки адсорбуються на межах поділу фаз «повітря — рідина», «лід — рідина» або «лід — повітря», що сприяє агрегації (рис. 2). Неіонні ПАР, як-от полісорбати та полоксамери, здатні перешкоджати цим взаємодіям і підвищувати фізичну стабільність як рідких, так і ліофілізованих препаратів (Kim et al., 2014; Thakral et al., 2021).

2.3. Застосування стабілізаторів

У нещодавно проведених дослідженнях вивчали нові стабілізатори на додаток до традиційних допоміжних речовин (Bjelošević et al., 2020; Tosstorff et al., 2020; Holm et al., 2021). Наприклад, Bodzen et al. досліджували ліофілізовані молочнокислі бактерії з використанням ліопротекторів на основі сироватки, міцелярного казеїну та інуліну в комбінації із сахарозою. Поєднання міцелярного казеїну, який забезпечує стабільність у процесі тривалого зберігання, і сахарози, що створює захист під час заморожування, сприяло збереженню високої життєздатності бактерій (Bodzen et al., 2021).

Для терапевтичних препаратів на основі РНК Herrmann et al. запропонували новий полімерний стабілізатор — гіперрозгалужений poly (3 – (oxiran – 2 – ylmethoxy) propane – 1,2 – diol) (HPOD) — для мРНК та LNP із самопідсилювальною РНК. Стабілізатор підвищує гідратацію та взаємодіє з компонентами препарату, сприяючи збереженню біологічної цілісності (Herrmann et al., 2024).

Результати кількох досліджень також продемонстрували, що традиційні стабілізатори, зокрема сахароза і трегалоза, можуть сприяти збереженню фізико-хімічних властивостей, підвищенню ефективності інкапсуляції та біологічної активності ліофілізованих препаратів на основі РНК за умов зберігання в холодильнику та, у деяких випадках, за високих температур (Voigt et al., 2022; Ai et al., 2023; Li et al., 2023; Shirane et al., 2023).

3. Розширений дизайн складу

3.1. Формування складу на основі вітрифікації

Вітрифікація — це перетворення препарату на склоподібну тверду фазу під час заморожування, що обмежує молекулярну рухливість і захищає біологічні препарати від таких видів деградації, як окиснення, гідроліз та агрегація (Merivaara et al., 2021). У ліофілі-

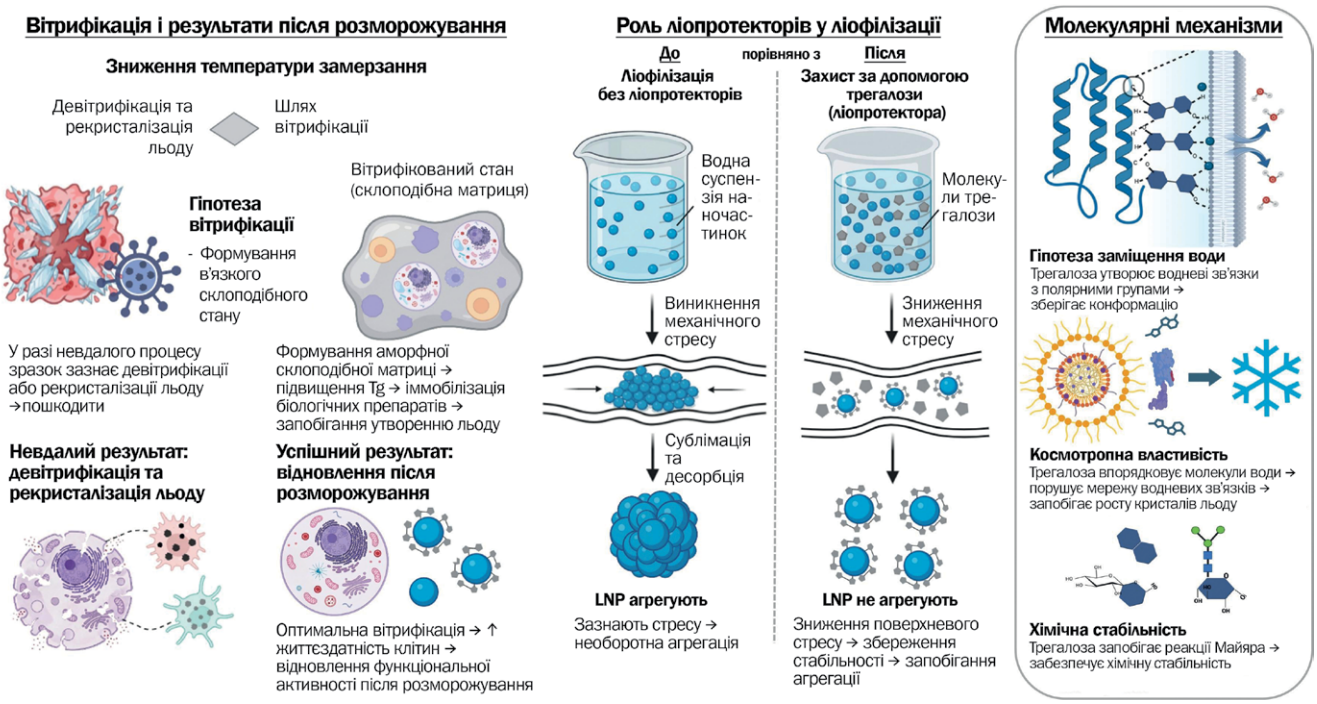


Рис. 3. Схематичне представлення вітрифікації та ролі ліопротекторів у стабілізації біологічних препаратів під час ліофілізації. Вітрифікація формує аморфну склоподібну матрицю, яка обмежує молекулярну рухливість, тоді як ліопротектори, як-от трегалоза, зменшують механічне напруження, спричинене кристалами льоду, та агрегацію (Pardeshi et al., 2023; Murray et al., 2024)

зованих препаратах для забезпечення стабільності важливо підтримувати аморфний, а не кристалічний стан. Тому Tg препарату оптимізують у такий спосіб, щоб зберігати його склоподібний стан під час зберігання та транспортування (Pardeshi et al., 2023). Трегалозу широко використовують як ліопротектор, оскільки вона може заміщувати воду завдяки утворенню водневих зв'язків і формувати захисну склоподібну матрицю, зменшуючи структурні пошкодження та агрегацію під час заморожування і сушіння (рис. 3).

Ліофілізація в поєднанні з використанням відповідних стабілізаторів та безперервним ротаційним заморожуванням сприяє підвищенню термічної стабільності і продовженню терміну придатності біологічних препаратів, потенційно зменшуючи залежність від зберігання за наднизьких температур (Zhi et al., 2023; Liu et al., 2024) (рис. 4).

Для підтримання стабільного склоподібного стану Tg має перевищувати температуру зберігання (Najarian et al., 2024). Якщо Tg є надто низькою, препарат може перейти зі склоподібного у високоеластичний стан, що підвищує молекулярну рухливість і прискорює деградацію. Аморфні стабілізатори, зокрема полімери та вуглеводи, дають можливість підтримувати склоподібний стан під час і після ліофілізації (Merivaara et al., 2021; Petkov et al., 2024).

Ретельний контроль умов заморожування та сушіння має вирішальне значення для підтримання вітрифікації та мінімізації механічного напруження (Siew, 2018). Залишкова волога здатна знижувати Tg і негативно впливати на стабільність; тому умови сушіння необхідно оптимізувати для досягнення необхідного вмісту вологи зі збереженням аморфної структури. Загалом вітрифікація створює основу для оптимізації вибору кріопротектора, Tg, концентрації стабілізатора та швидкості заморожування і сушіння з метою збереження біологічної цілісності та стабільності (King, 1976; Schiewe and Anderson, 2017).

3.2. Контрольована нуклеація під час ліофілізації

Контрольована нуклеація під час ліофілізації передбачає цілеспрямоване ініціювання утворення кристалів льоду на етапі заморожування (Kasper and Friess, 2011; Wang et al., 2022b). Цей підхід спрямований на формування більш однорідних кристалів льоду, що підвищує ефективність первинного сушіння і сприяє збереженню структури препарату

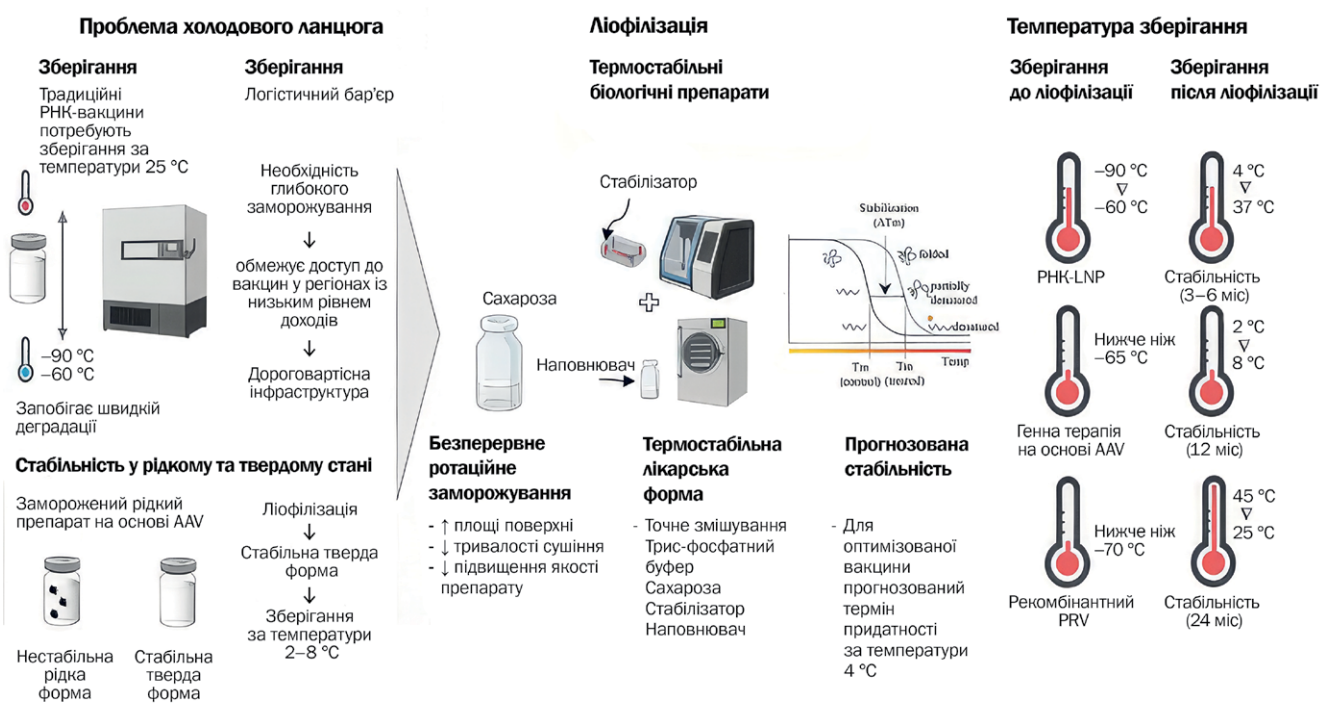


Рис. 4. Вимоги до холодового ланцюга для біологічних препаратів та потенціал поєднання ліофілізації зі стабілізаторами й безперервним ротаційним заморожуванням для підвищення стабільності під час зберігання (Zhi et al., 2023; Liu et al., 2024)

(Oddone et al., 2017). До методів контролю нуклеації належать ультразвукове оброблення, механічне струшування, заморожування під тиском, вакуум-індуковане поверхневе заморожування (Vacuum Induced Surface Freezing — VISF) та методи з використанням крижаного туману (Zhang et al., 2014; Vollrath et al., 2019; Regis et al., 2021). Контрольована нуклеація сприяє формуванню більш однорідної структури льоду, підвищує ефективність сублімації, скорочує тривалість сушіння та знижує ризик колапсу або усадки. Відпал, який проводять за температури нижче температури плавлення, дає змогу кристалам льоду перегруповуватись та збільшуватись у розмірі, підвищуючи їхню однорідність і сприяючи ефективнішому сушінню.

Контрольована кристалізація допомагає запобігати небажаним фазовим переходам, які можуть спричиняти деградацію препарату. Для контролю нуклеації, росту кристалів льоду та первинного сушіння можна оптимізувати температуру, тиск, тривалість сушіння та швидкість охолодження (Emami et al., 2023; Pardeshi et al., 2023). Моделі тепло– та масоперенесення дають змогу додатково прогнозувати температуру матеріалу та тривалість сублімації, забезпечуючи оптимізацію циклів сушіння та масштабування процесу. Експериментально також підтверджено можливість перенесення встановлених робочих діапазонів на промислову установку для ліофілізації (Tchessalov et al., 2023; Vanbillemont et al., 2025).

Результати нещодавно проведених досліджень продемонстрували практичні переваги контрольованої кристалізації. Оптимізація буферів, кріопротекторів і параметрів ліофілізації здатна підвищувати довгострокову стабільність та ефективність біологічних препаратів in vivo, тоді як розроблення з використанням DoE призначене для оптимізації ліофілізації вакцин на основі аденовірусних векторів і збереження їхньої активності та якості ліофілізованої маси (Zhang et al., 2023a; Alejo et al., 2024). Манітол надає структурну підтримку, однак потребує контрольованої кристалізації, тоді як відпал із гліцином сприяє формуванню більш однорідних кристалічних матриць і скороченню часу відновлення. Є повідомлення про зменшення часу відновлення з 3 до 2,1 хв та зниження залишкової вологи з 1,2 до 0,8% (Rodrigues et al., 2021).

3.3. Структурна стабільність

Розуміння взаємозв'язку структури та стабільності має важливе значення для оптимізації LNP- і білкових складів препаратів за умов стресу, спричиненого ліофілізацією. Щодо LNP такі структурні характеристики, як ліпідний склад, розмір частинок і поверхневий заряд, визначають їхню поведінку під час заморожування та сушіння, а також взаємодію з допоміжними речовинами. Щодо білків структурні характеристики і, зокрема, укладання, гідрофобні взаємодії та посттрансляційні модифікації впливають на їхню схильність до денатурації та агрегації. Сучасні аналітичні методи, зокрема кріоелектронна мікроскопія та динамічне розсіювання світла, дають змогу характеризувати ці взаємозв'язки та підтримувати розроблення складу препаратів.

Кріо- та ліопротектори зменшують стрес, спричинений заморожуванням, заміщуючи водневі зв'язки між біомолекулами та водою, що сприяє збереженню структури біологічних препаратів. Трегалоза продемонструвала виражені захисні властивості порівняно з такими сахарози та композицій HES — сахароза, зокрема щодо зниження агрегації та низького ризику глікації (Bae et al., 2024).

Комбінації HES — сахароза є ще одним підходом до підвищення структурної стабільності. HES формує жорстку пористу матрицю та обмежує молекулярну рухливість, тоді як сахароза заміщує воду завдяки утворенню водневих зв'язків і сприяє збереженню нативної конформації білка.

До нових підходів належать біоміметичні стабілізатори, зокрема білки CAHS, отримані з тихоходів, ДНК-орігамі-структури, стабілізатори на основі полімерів, системи на основі циклодекстринів та інші сучасні комбінації допоміжних речовин. Ці підходи спрямовані на підвищення стійкості до стресу під час заморожування та сушіння, зменшення залишкової вологи й збільшення термічної стабільності біофармацевтичних складів препаратів (Kasianchuk et al., 2023; Anoud et al., 2024; Jeon et al., 2025).

3.4. Міжфазна стабільність

ПАР стабілізують біологічні препарати під час ліофілізації та подальшого зберігання внаслідок зниження поверхневого та міжфазного натягу й захищають їх від міжфазного стресу (Imamura et al., 2014; Authelin et al., 2020). Адсорбуючись на таких міжфазних поверхнях, як повітря — вода та лід — вода, ПАР

формують захисні шари, які знижують адсорбцію, денатурацію та агрегацію білків. Вони також можуть взаємодіяти з гідрофобними ділянками білків, сприяючи збереженню їхньої нативної конформації під час ліофілізації (Authelin et al., 2020).

Неіоногенні ПАР, зокрема полісорбат 80 і полоксамери, широко застосовують для захисту біологічних препаратів від міжфазного стресу під час ліофілізації. Полоксамер 188 досліджували як альтернативу традиційним полісорбатам, тоді як HP–β–CD також продемонстрував потенціал як функціональна альтернатива у складах препаратів моноклональних антитіл (Katz et al., 2022; Karunnanithy et al., 2024). На підставі результатів нещодавно проведених досліджень біосурфактанти також розглядають як потенційно більш сталу альтернативу синтетичним ПАР (Ceresa et al., 2023).

Ефективність ПАР у ліофілізованих складах препаратів оцінюють за допомогою таких аналітичних методів, як FTIR, DSC, динамічне розсіювання світла (DLS) та високоефективна рідинна хроматографія з ексклюзією за розміром (SEC-HPLC). Вони дають змогу отримувати інформацію про структуру складів препаратів, термічну поведінку, характеристики частинок та агрегацію білків (Bolje and Gobec, 2021). Водночас вибір ПАР та його концентрацію необхідно ретельно оптимізувати, оскільки ПАР та інші леткі компоненти можуть видалятися за умов високого вакууму, потенційно впливаючи на pH та критичні показники якості.

3.5. Вплив буферів та іонних допоміжних речовин

Буфери додають до складу ліофілізованих складів препарату для підтримання стабільного pH, оскільки вибір буферної системи

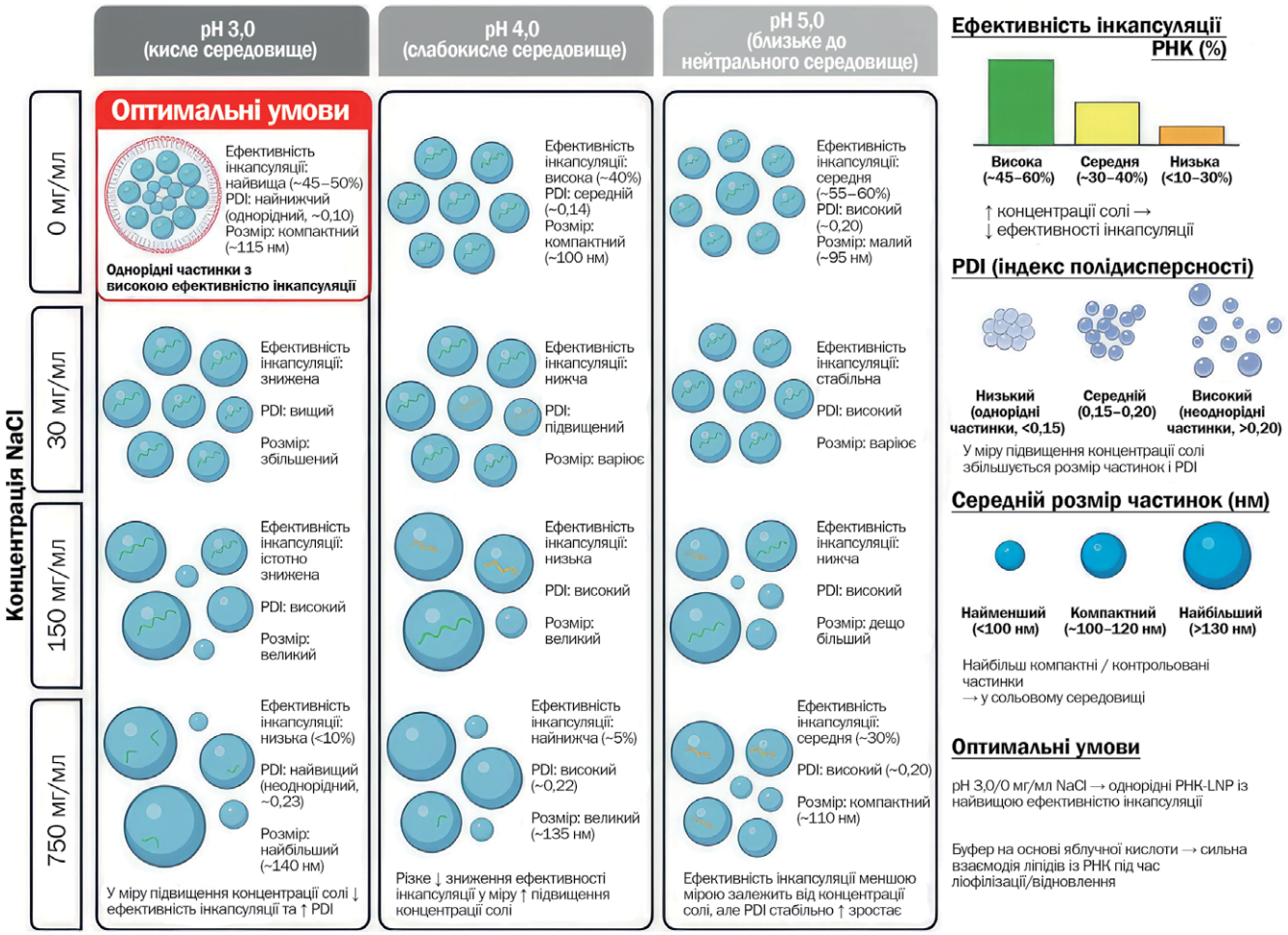


Рис. 5. Систематична оцінка впливу pH (3,0, 4,0, і 5,0) та іонної сили (0, 30, 150 і 750 мг/мл) на фізико-хімічні характеристики та ефективність інкапсуляції LNP

істотно впливає на стабільність і розчинність біологічних препаратів (Pardeshi et al., 2023). На рис. 5 показано вплив pH та концентрації NaCl на фізико-хімічні характеристики й ефективність інкапсуляції РНК-LNP. Склад препарату за pH 3,0 без NaCl продемонстрував найвищу ефективність інкапсуляції, низький індекс полідисперсності та менший розмір частинок, тоді як підвищення концентрації солі призводило до зниження ефективності інкапсуляції та збільшення розміру частинок. Результати свідчать про важливість контролю pH та іонної сили у складах препаратів LNP.

Для білкових складів препаратів вибір буферної системи також має критичне значення, оскільки під час заморожування можуть відбуватися зміни pH, що впливає на стабільність білка. У ліофілізованих складах препаратів широко послуговуються фосфатними, цитратними та гістидиновими буферними системами. Фосфатні буфери можуть зазнавати змін pH під час заморожування, тоді як цитрат забезпечує ефективне буферування в слабокислому середовищі. Гістидин часто використовують для біологічних препаратів завдяки його здатності підтримувати структурну цілісність білків і мінімізувати агрегацію (Wang et al., 2007). Буфери на основі амінокислот, зокрема аргініну, додатково сприяють розчинності білків і знижують в'язкість висококонцентрованих складів препаратів (Patil et al., 2025).

Іонні допоміжні речовини впливають на стабільність біологічних препаратів через їхній вплив на взаємодію білків, іонну силу, розчинність і поведінку під час заморожування (Wang et al., 2022b). Тому їхню концентрацію необхідно ретельно оптимізувати, оскільки надмірна іонна сила негативно впливає на стабільність білків. Поєднання іонних допоміжних речовин із багатофункціональними стабілізаторами є ще одним підходом до підвищення ефективності складів препаратів (Patil et al., 2025).

Для аналітичної характеристики буферних систем та іонних допоміжних речовин застосовують такі методи, як диференціальна сканувальна калориметрія (DSC), динамічне розсіювання світла (DLS) та аналіз траєкторій наночастинок (nanoparticle tracking analysis — NTA), що дають змогу оцінювати термічну поведінку, характеристики частинок і стабільність складів препаратів. Загалом ретельний вибір й оптимізація складу буфера та іонної сили необхідні для підтримання стабільності ліофілізованих біологічних препаратів.

3.6. Механістичне моделювання, штучний інтелект і цифрові інструменти

3.6.1. Механістичні моделі та моделі з перших принципів

Механістичні моделі, що мають за основу врахування закономірностей тепло- та масопереносу, створюють фізичне підґрунтя для прогнозування температури матеріалу, перебігу сушіння та залишкового вмісту вологи під час ліофілізації (Pikal et al., 1984; Sahni and Pikal, 2017). Надалі ці моделі були розвинені для внутрішньопроцесного моніторингу, оптимізації в реальному часі та побудови проєктного простору (Fissore et al., 2010). Останнім часом механістичні моделі інтегрують із PAT для підтримання застосування цифрових двійників та вдосконалення керування процесом (Srisuma et al., 2024a). Підходи на основі спостерігачів Люенбергера також використовували для оцінювання концентрації зв'язаної води за вимірюваннями температури та механістичними моделями теплопереносу й кінетики десорбції (Srisuma et al., 2024b).

3.6.2. Штучний інтелект і машинне навчання для прогнозування стабілізації

Підходи на основі штучного інтелекту та машинного навчання дедалі ширше застосовують для високопродуктивного скринінгу, оптимізації складу та прогнозування стабільності біологічних препаратів (Maharjan et al., 2023a; Maharjan et al., 2024a). Є повідомлення, що автоматизована ліофілізація з використанням штучного інтелекту дає змогу скоротити терміни скринінгу кандидатних складів із кількох тижнів приблизно до 72 год, одночасно надаючи можливість оцінити понад 1200 складів (Maharjan et al., 2023b; Maharjan et al., 2024b). Моделі машинного навчання також використовували для прогнозування ефективності стабілізаторів та визначення складів із підвищеною стійкістю білків до агрегації (Danishuddin et al., 2023; Kombo et al., 2024). Такі підходи можуть доповнювати механістичні моделі, що пришвидшує скринінг змінних складу і визначення перспективних комбінацій стабілізаторів.

3.6.3. Інтегрований PAT для автономного виробництва

Завдяки інтеграції PAT у реальному часі з механістичними моделями та моделями на основі даних створюється розширений

моніторинг і оптимізується процес. Застосування цифрових двійників у поєднанні із внутрішньопроцесною раманівською спектроскопією дає змогу скоротити тривалість первинного сушіння до 40% зі збереженням критичних показників якості.

4. Оптимізація процесів і показників якості

4.1. Виробниче середовище

мРНК за своєю природою є нестабільною та може зазнавати впливу температури, pH, іонів металів, складу буферного розчину, ліпідних домішок і РНКаз (Kafle et al., 2024; Van Pottelberge et al., 2025). Контамінація РНКазами становить особливий ризик під час виробництва РНК-LNP, оскільки навіть їхні слідові кількості можуть порушити цілісність РНК.

Контамінація виробничого середовища залежить від застосованого обладнання, процедур поводження з матеріалами, процесів очищення або реагентів. Тому для збереження цілісності РНК під час виробництва важливими є суворий моніторинг виробничого середовища, належні процедури очищення та, за доцільності, використання одноразових компонентів і реагентів (Van Pottelberge et al., 2025).

4.2. Оптимізація стадії заморожування

Морфологія кристалів льоду, що утворюються під час заморожування, істотно впливає на подальшу ефективність сушіння. Ступінь переохолодження — різниця між рівноважною температурою замерзання та фактичною температурою нуклеації — є одним із ключових чинників, що впливають на розмір і розподіл кристалів льоду (Wang et al., 2022a).

Сильне переохолодження призводить до утворення значної кількості дрібних кристалів льоду з великою питомою поверхнею, але водночас підвищує опір перенесенню пари, уповільнюючи процес первинного сушіння. Контрольована нуклеація та відпалювання дають змогу зменшити переохолодження та сприяють утворенню більших кристалів льоду, що забезпечує формування більших пор і ефективнішу сублімацію (Chang et al., 1996; Lim et al., 2018; Lin et al., 2023).

Такі теплові характеристики, як евтектична температура, Tg та Tc, є важливими для визначення належних умов процесу. Ці параметри можна характеризувати за допомогою таких методів, як модульована диференціальна сканувальна калориметрія та мікроскопія процесу ліофілізації (Kasper and Friess, 2011; Horn and Friess, 2018).

4.3. Оптимізація стадії сушіння

Сушіння охоплює первинне сушіння, в процесі якого лід видаляється за допомогою сублімації, та вторинне сушіння, під час якого зв'язана вода видаляється через десорбцію (Oddone et al., 2017). Первинне сушіння зазвичай є найбільш тривалою та енергоємною стадією і потребує ретельного контролю температури полиць, тиску в камері, швидкості нагрівання та тривалості сушіння, щоб температура матеріалу залишалась нижчою за Tc (Bjelošević et al., 2020; Alejo et al., 2024).

Оскільки температуру матеріалу неможливо контролювати безпосередньо, нею керують за допомогою регулювання температури полиць і тиску в камері (Jameel et al., 2021). Серед новітніх підходів — ліофілізація із застосуванням мікрохвильового нагрівання, яка продемонструвала потенціал для скорочення тривалості первинного сушіння зі збереженням якості матеріалу (Kalinke et al., 2025).

Під час вторинного сушіння залишкова волога видаляється внаслідок підвищення температури полиць. Кінцеву точку процесу необхідно ретельно контролювати, оскільки залишковий вміст вологи істотно впливає на стабільність біологічних препаратів, зокрема РНК, антитіл і білків (Searles et al., 2017; Butreddy et al., 2021).

Для визначення кінцевої точки сушіння та моніторингу поведінки матеріалу можна застосовувати технології аналітичного процесу. До них належать вимірювання підвищеного тиску, порівняння показань манометра Пірані та ємнісного манометра, ближня інфрачервона (NIR) та раманівська спектроскопія, спектроскопія поглинання з перестроюваним діодним лазером, вимірювання точки роси та інші підходи до моніторингу в реальному часі (Brouckaert et al., 2018; Juckers et al., 2022; Ahammad and Narayanasamy, 2024).

Проєктний простір первинного сушіння забезпечує систематичний підхід до визначення безпечних та ефективних комбінацій тиску в камері й температури. За використання більш сучасних підходів до динамічного проєктного простору враховують невизначеність процесу, що дає змогу надійно вдосконалити оптимізацію (Mortier et al., 2016; Kawasaki et al., 2019; Vanbillemont et al., 2020).

4.4. Зберігання та транспортування

Підтримання належних умов зберігання та транспортування має ключове значення для захисту стабільності ліофілізованих біологічних препаратів (Ammann, 2011; Elsayed et al., 2023).

Температура зберігання, цілісність паковання, характеристики флакона та закупорювальної системи, а також механічні навантаження під час транспортування впливають на стабільність препарату. Результати дослідження показали, що зберігання в охолоджених умовах сприяє вищій стабільності порівняно з такою у разі перебування за кімнатної температури, тоді як геометрія флакона, об'єм наповнення, матеріал пробки та характеристики системи «контейнер — закупорювання» також упливають на характеристики препарату (Liang et al., 2020; Cheng et al., 2025).

Механічні навантаження, спричинені струшуванням під час виробництва, транспортування або введення препарату, також призводять до нестабільності, тому їх необхідно враховувати в процесі розроблення препарату (Ruppl et al., 2024).

4.5. Показники якості для оцінювання стабільності

Стабільність біологічних препаратів, особливо колоїдних систем, як-от LNP, залежить як від характеристик складу, так і від умов виробництва, зокрема складу буферного розчину, іонної сили, pH та умов нуклеації льоду (Luo et al., 2021; Trenkenschuh and Friess, 2021).

До ключових показників якості, які використовують для оцінювання стабільності, належать розмір частинок і його розподіл, індекс полідисперсності (PDI), поверхневий заряд (дзета-потенціал), морфологія частинок, ефективність інкапсуляції та утримання лікарської речовини або нуклеїнової кислоти (Gatto and Najahi-Missaoui, 2023).

Розмір частинок і PDI надають інформацію про однорідність частинок та агрегацію, тоді як дзета-потенціал використовують для оцінювання колоїдної стабільності. Аналіз морфології дає змогу виявити структурні зміни після заморожування та сушіння, тоді як ефективність інкапсуляції показує, чи залишається активний компонент пов'язаним із системою доставки після ліофілізації та регідратації (Butreddy et al., 2021; Gatto and Najahi-Missaoui, 2023).

Для препаратів на основі РНК застосовують додаткові аналітичні підходи з метою оцінювання цілісності та визначення концентрації нуклеїнової кислоти, зокрема аналіз методом дисперсії Тейлора (Taylor Dispersion Analysis) (Jiang et al., 2026). У сукупності ці показники якості створюють основу для оцінювання того, чи дають склад препарату та цикл ліофілізації змогу зберегти фізичні й функціональні властивості кінцевого препарату.

5. Перспективи розвитку

Сучасні досягнення у розробленні біофармацевтичних препаратів зумовлюють дедалі більшу потребу в стратегіях стабілізації складних модальностей, як-от клітинна та генна терапія (CGT) і кон'югати антитіло — лікарська речовина (ADC). Ліофілізація у поєднанні з оптимізованими стабілізаторами, новими допоміжними речовинами та сучасними технологіями процесу створює можливості для підвищення стабільності та поліпшення умов зберігання таких препаратів (Rafiq et al., 2017).

5.1. Аденоасоційовані віруси (AAV)

Рекомбінантні AAV широко використовують для доставки генів, однак вони характеризуються природною нестабільністю та часто потребують зберігання за температур нижче ніж –65 °C. Одним із основних викликів під час ліофілізації є дотримання цілісності капсиду під час заморожування та сушіння зі збереженням інкапсульованого генетичного матеріалу.

Результати досліджень ліофілізованих складів на основі AAV продемонстрували важливість збалансованого використання таких допоміжних речовин, як буферні компоненти, ліопротектори, солі, структуроутворювальні агенти та ПАР (Zhi et al., 2023). Збалансований склад на основі сахарози та манітолу одночасно гарантує структурне підтримання та стабілізацію, тоді як неіоногенні ПАР допомагають зменшити міжфазні напруження під час заморожування та регідратації (Merivaara et al., 2021; Zhi et al., 2023).

5.2. Антитіло-кон'югати лікарських засобів (ADC)

Для ADC характерні подвійні вимоги до стабільності, що охоплюють структурну цілісність моноклонального антитіла та хімічну стабільність лінкера, який з'єднує антитіло із цитотоксичним навантаженням (Fu et al., 2022). Ліофілізація сприяє підвищенню стабільності ADC завдяки зниженню гідролітичної деградації під час зберігання (Wen et al., 2025).

Дисахариди з високими Tg можуть стабілізувати ADC, іммобілізуючи кон'югат у склоподібній матриці, тоді як похідні циклодекстринів — сприяти підвищенню розчинності та стабільності лікарської форми (Wang, 2000; Wen et al., 2025). Водночас вибір допоміжних речовин потребує ретельної оптимізації, оскільки іонні компоненти можуть призвести до зниження Tg лікарської форми та впливати на стабільність зв'язку «лікарська речовина — лінкер». Для глибшого розуміння взаємодії білок — матриця у таких складних лікарських формах послуговуються сучасними аналітичними підходами (Cho et al., 2021).

5.3. Безперервне та автономне виробництво

Безперервна ліофілізація є ще одним перспективним напрямом у виробництві біофармацевтичної продукції. Такі підходи, як безперервне сублімаційне сушіння та спін-ліофілізація, сприяють більш рівномірному теплообміну і скороченню тривалості первинного сушіння порівняно з такими за використання традиційних періодичних процесів (Capozzi et al., 2019; Pisano et al., 2019; Leys et al., 2020).

У безперервних системах флакони послідовно проходять зони заморожування, первинного та вторинного сушіння за контрольованих показників температури й тиску. Під час спін-ліофілізації обертальне заморожування сприяє утворенню тонкого шару льоду вздовж стінок флакона, збільшуючи площу поверхні сублімації та потенційно скорочуючи тривалість первинного сушіння (Schaal et al., 2025). Інтеграція із внутрішньо-процесним моніторингом додатково підтримує контроль якості окремих флаконів.

Поєднання безперервного виробництва, цифрових двійників, моделей на основі штучного інтелекту та машинного навчання (AI/ML) і технологій аналітичного контролю процесу в реальному часі (PAT) забезпечують більш ефективні розроблення та виробництво стабільних біологічних препаратів і одночасно зменшують залежність від традиційних умов холодового ланцюга.

Упровадження нових допоміжних речовин і технологій на основі AI/ML також потребуватиме належної регуляторної оцінки. У міру інтеграції цих технологій у фармацевтичне розроблення та виробництво важливими аспектами ставатимуть простежуваність, валідація та контроль процесів ухвалення рішень на основі AI/ML.

6. Висновки та перспективи

Після пандемії COVID-19 інтерес до РНК-LNP значно зріс, що посилило увагу до ліофілізації як стратегії підвищення стабільності біологічних препаратів. Ліофілізація перетворює рідкі лікарські форми на тверді завдяки заморожуванню, первинному та вторинному сушінню. Водночас ці етапи піддають біологічні препарати впливу численних стресових факторів, зокрема низьких температур, концентрування компонентів під час заморожування, формування межі розділу «лід — вода», змін іонної сили та pH, фазового розділення і дегідратації.

Стабілізатори, зокрема цукри, поліоли, амінокислоти, полімери та ПАР, відіграють важливу роль у зменшенні впливу цих стресових факторів і підтриманні стабільності препарату під час виробництва та зберігання. Подальше розроблення нових стабілізаторів і поглиблення розуміння взаємозв'язків структури та стабільності матимуть особливе значення для складних біологічних препаратів, як-от РНК-LNP, вірусні вектори та білкові терапевтичні засоби.

У майбутньому в розробленні складу та процесу дедалі більше почнуть поєднувати усталені підходи, зокрема фармацевтичне розроблення за принципом «якість через дизайн» (Quality by Design — QbD) і «дизайн експериментів» (Design of Experiments — DoE), із AI/ML, механістичним моделюванням, цифровими двійниками та PAT. Оптимізація має охоплювати весь життєвий цикл препарату — від розроблення складу та ліофілізації до зберігання і транспортування — із забезпеченням контролю критичних показників якості.

У міру розвитку нових модальностей, як-от CGT і ADC, передові технології ліофілізації, зокрема безперервне виробництво, набуватимуть дедалі більшого значення. Вони сприятимуть підвищенню стабільності препаратів і ефективності процесів, а також доступності біофармацевтичних препаратів, одночасно зменшуючи залежність від традиційних умов холодового ланцюга. ◘

За матеріалами:

https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2590156726000952?via%3Dihub