

**ОБЩАЯ ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

---

**Лекарственные средства, получаемые  
методами рекомбинантных ДНК**

**ОФС.1.7.1.0007.15  
Вводится впервые**

---

Настоящая общая фармакопейная статья определяет основные требования к лекарственным средствам, получаемым с использованием методов рекомбинантной ДНК на основе стабильно экспрессирующей конструкции, включая особенности их производства.

Фармацевтические субстанции указанных лекарственных средств (биологические фармацевтические субстанции) получают с помощью культур охарактеризованных клеток, используемых в качестве систем экспрессии, которыми могут быть бактерии, дрожжи, клетки млекопитающих и др. Полученные субстанции, являясь действующим веществом лекарственных средств, представляют собой белки и пептиды, а также их производные. К таким лекарственным средствам относятся цитокины, моноклональные антитела, вакцины с использованием рекомбинантных белков (HBsAg, белки вируса папилломы и др.), факторы плазмы крови человека, рецепторы клеток и другие рекомбинантные белки. Требования к конкретной фармацевтической субстанции и лекарственным препаратам на их основе изложены в соответствующих фармакопейных статьях или нормативной документации.

Общая фармакопейная статья не распространяется на модифицированные клетки и микроорганизмы (например, живые вакцины), ДНК-вакцины, препараты для генной терапии.

Требования, приведенные в настоящей фармакопейной статье, могут быть дополнены в конкретной фармакопейной статье или нормативной

документации с учетом специфических свойств лекарственного средства и технологии его производства.

## ТЕРМИНЫ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ

**Клетки хозяина** – клетки микроорганизмов или эукариотических клеточных линий, используемые для получения продукта, до внесения в них вектора.

**Штамм-продуцент** – комплекс клетки хозяина и вектора.

**Вектор** – агент трансмиссии, переносящий генетическую информацию от одной клетки к другой, например плазмиды, вирусные векторы.

**Экспрессирующая конструкция** – вектор, который содержит кодирующую последовательность рекомбинантного белка и элементы, необходимые для его экспрессии.

**Сайт интеграции** – участок генома клетки-хозяина, в который включаются одна или более копий экспрессирующей конструкции.

**Значимые генотипические и фенотипические маркеры** – маркеры, позволяющие идентифицировать штамм/клеточную линию и наличие экспрессирующей конструкции.

**Фланкирующие регуляторные участки** – некодирующие нуклеотидные последовательности, примыкающие к 5'- и 3'-концам кодирующей последовательности гена, которые содержат важные элементы, влияющие на транскрипцию, трансляцию или стабильность кодирующей последовательности. Эти участки включают, например, промотор, энхансер и последовательности для сплайсинга и не включают точки начала репликации и гены устойчивости к антибиотикам.

**Главный банк клеток (ГБК)** – гомогенная суспензия клеток хозяина, трансформированных экспрессионным вектором. Суспензию разливают в равных объемах в контейнеры, замораживают и хранят при условиях, обеспечивающих их стабильность. ГБК получают в установленных условиях из отобранного клеточного клона, содержащего экспрессирующую конструкцию.

**Рабочий банк клеток (РБК)** – гомогенная суспензия клеток, полученных на определенном уровне пассажа культивированием клеток из одного или более контейнеров ГБК, разлитая в равных объемах в контейнеры с целью хранения в условиях, обеспечивающих их стабильность. РБК используют для производства каждой серии готового продукта. Образцы рабочего банка клеток необходимо хранить, как минимум, до истечения срока годности последней выпущенной партии препарата.

**Биологическая фармацевтическая субстанция** – фармацевтическая субстанция, произведенная с использованием биологического источника, которая должна быть охарактеризована с использованием физических, химических и биологических испытаний и качество которой определяется этими испытаниями в сочетании с контролем процессов ее производства.

**Конечный балк биологической фармацевтической субстанции для хранения (конечный балк)** – биологическая фармацевтическая субстанция, полученная в непрерывном цикле производства, используемая для приготовления готовой лекарственной формы и предназначенная для хранения. Формирование серии конечного балка должно быть установлено и документировано производителем.

**Очищенный белок** – белок, полученный после завершения последней стадии очистки технологического процесса производства до добавления стабилизаторов и вспомогательных веществ, и предназначенный для дальнейшего производства лекарственного препарата.

## ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

Производство лекарственных средств, получаемых с использованием методов рекомбинантной ДНК, должно быть основано на системе серий посевного материала (системе банков клеток), в которой используются Главный банк клеток (ГБК) и Рабочий банк клеток (РБК).

Используемые в процессе производства клетки и материалы биологического происхождения должны быть охарактеризованы и

соответствовать требованиям микробиологической и вирусной безопасности в соответствии с ОФС «Требования к клеточным культурам-субстратам производства ИЛП».

Все этапы процесса производства должны быть валидированы, в том числе, эффективность каждого этапа очистки в отношении удаления и/или инактивации посторонних агентов и примесей, источником которых могут быть клетки хозяина (вирусы и вирусные частицы, белки), штамм-продуцент (ДНК), а также в отношении удаления примесей, связанных с процессом производства, например, гетерологичных белков (компоненты питательных сред, иммуносорбенты для афинной хроматографии).

Набор методов исследования белка в процессе разработки препарата и методов испытаний очищенного белка, биологической фармацевтической субстанции или конечного балка биологической фармацевтической субстанции, а также готового препарата, должен быть определен и обоснован индивидуально для каждого препарата.

Оценка экспрессирующей конструкции показывает, что в клетку хозяина введена последовательность, соответствующая требуемому белку, и что она сохраняется в клеточной культуре без изменений до конца продуктивного периода.

Схема получения экспрессирующей конструкции и ее характеристика должны быть документально подтверждены и включают следующее:

- характеристику клетки-хозяина, включая источник клеток, фенотип, генотип и среду для культивирования;
- источник и характеристику гена, кодирующего целевой белок;
- происхождение составных частей экспрессирующей конструкции, информацию о входящих в её состав генах, схему её сборки, структуру полного экспрессионного вектора.

- анализ нуклеотидных последовательностей клонированного гена и фланкирующих регуляторных областей экспрессионного вектора; идентификацию всех экспрессируемых последовательностей.

Схема получения штамма-продуцента и его характеристики должны быть документально подтверждены и включают следующее:

- методы введения вектора в клетку хозяина, отбор и клонирование трансформированных клеток;
- способы индуцирования экспрессии гена и ее контроля в процессе производства;
- методы, используемые для подтверждения включения вектора в клетку хозяина, например, с использованием различных рестриктаз, метода иммуноблоттинга (саузерн-блот), анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов, конформационного полиморфизма одноцепочечных фрагментов ДНК;
- последовательность ДНК в клонированном гене подтверждают на стадии штамма-продуцента, ГБК и РБК;
- копияность, состояние и стабильность вектора в клетке-хозяине.

Стабильность генетических и фенотипических характеристик штамма-продуцента должна быть показана на материале, полученном до и после количества удвоений или количества пассажей клеток, ожидаемых при полномасштабном производстве. Данные должны включать сведения о проценте клеток, удерживающих экспрессирующую конструкцию, копияность гена, уровень экспрессии белка, характеристику рекомбинантного белка установленными методами и/или нуклеотидную последовательность гена (при использовании любого метода должен быть указан предел обнаружения отклонений от установленных параметров).

## ПРОИЗВОДСТВО

**Система банков клеток.** Для получения рекомбинантного белка должна использоваться система банков клеток, которая обычно включает

Главный банк клеток (ГБК) и Рабочий банк клеток (РБК). Банки клеток должны быть охарактеризованы в соответствии с ОФС «Требования к клеточным культурам – субстратам производства ИЛП» с учетом требований к характеристике экспрессирующей конструкции.

ГБК является производным от отобранного клеточного клона, содержащего экспрессирующую конструкцию. РБК используют для производства каждой серии готового продукта. Образцы рабочего банка клеток необходимо хранить, как минимум, до истечения срока годности последней выпущенной партии препарата.

Хранение контейнеров с клетками в обоих банках клеток осуществляют в одинаковых условиях. Контейнеры с клетками используется только один раз, повторное замораживание клеточного материала не допускается.

Аналогичная система банков должна быть предусмотрена для клеток хозяина. Рекомендуется также создание банка экспрессионного вектора.

Сведения о банках клеток должны быть документированы и включать следующую информацию:

- назначение;
- история создания клеточной линии и получения банков клеток, включая методы и реагенты, использованные в процессе культивирования;
- условия их хранения и стабильность, включая среду для криоконсервирования;
- указание значимых фенотипических и генетических маркеров;
- способ введения вектора в клетку хозяина;
- способы индукции и контроля уровня экспрессии;
- отсутствие в банке онкогенных и посторонних агентов: вирусов, бактерий (в том числе, микоплазм), грибов;
- отсутствие у клеточных линий онкогенности, если не обосновано иное в фармакопейной статье или нормативной документации;
- характеристика экспрессирующей конструкции.

В характеристике экспрессирующей конструкции указывают:

- физическую (рестрикционную) карту экспрессирующей конструкции (вектора);
- число копий гена, наличие вставок или делеций, число мест интеграции методом картирования с помощью рестрикционных эндонуклеаз или других подходящих методик;
- процент клеток, удерживающих экспрессирующую конструкцию;
- нуклеотидную последовательность, кодирующую рекомбинантный белок.

С учетом предела обнаружения используемого метода последовательность нуклеиновой кислоты должна быть идентична последовательности, установленной для экспрессирующей конструкции, и соответствовать планируемой аминокислотной последовательности белка. Нуклеотидная последовательность гена должна быть подтверждена не только на стадии посевного материала, но и на конечной стадии роста клеточной популяции (при использовании для ферментации в производстве новой серии РБК и ГБК). При отсутствии возможности такого анализа (например, при непрерывном культивировании клеточных линий с мультикопийным геном) следует использовать анализ матричной РНК (мРНК) или анализ общей клеточной ДНК методом саузерн-блота. Подтверждением нуклеотидной последовательности экспрессирующей конструкции может быть уровень экспрессии и характеристика очищенного белка. При выявлении каких-либо различий между запланированным и полученным вариантами нуклеотидных последовательностей, необходимо их чёткое обозначение, обоснование допустимости различий и представление данных о том, что они являются устойчивыми и способными к постоянной экспрессии целевого белка;

В нормативной документации должны быть указаны методы контроля соответствующих показателей.

Если создается только РБК, исследования должны проводиться для каждого нового РБК.

Происхождение, описание, методы и результаты испытаний, хранение,

использование клеток ГБК и РБК, а также их стабильность в течение времени должны документироваться в полном объеме.

### **Культивирование и сбор продукта**

Культивирование клеток и сбор продукта может быть выполнен одним из следующих способов.

***Производство с однократным сбором продукта.*** Клетки культивируются до определенного числа пассажей или уровня удвоения популяции клеток, которое устанавливается на основе данных по изучению стабильности клеточной линии и которое нельзя превышать в процессе производства. Продукт собирается одновременно.

***Производство с многократным сбором продукта (непрерывное культивирование).*** Клетки культивируются непрерывно в течение определенного периода, установленного на основе данных по стабильности системы и постоянства качества продукта до и выше установленного предела возраста клеток *in vitro*. В течение всего периода культивирования клеток необходим мониторинг системы. Требуемая частота и тип мониторинга зависят от природы системы экспрессии и продолжительности непрерывного культивирования. Необходим сбор данных о молекулярной целостности экспрессируемого гена и о значимых фенотипических и генотипических маркерах штамма-продуцента.

Каждый сбор проверяется на содержание белка, полученного методами рекомбинантной ДНК; микробиологическую чистоту; наличие эндотоксинов и микоплазмы. Рутинный контроль на посторонние вирусы выполняется на определенном этапе в зависимости от производственной схемы и природы используемых материалов.

Критерии приемлемости сбора определяются установленной процедурой мониторинга.

### **Очистка продукта**

Сборы могут быть объединены перед началом процедуры очистки.

Процедуры удаления и/или инактивации инфекционных агентов и

удаления примесей, связанных с продуктом или процессом производства, должны быть валидированы и обеспечивать постоянство качества и биологической активности продукта. Процесс очистки продукта должен также включать стадии, позволяющие удалять и/или инактивировать оболочечные и безоболочечные вирусы.

Если в процессе производства предусматривается хранение очищенного белка или других промежуточных продуктов, должны быть указаны сроки хранения каждого промежуточного продукта, подтвержденные данными о стабильности продукта в течение указанного времени.

При валидации производственного процесса следует документировать:

- удаление или снижение содержания и инактивацию посторонних агентов, например, вирусов;
- удаление или снижение содержания ДНК штамма-производителя и белков клетки хозяина до установленных пределов в конечном продукте;
- удаление гетерологичных белков и веществ, используемых при очистке (например, белков питательной среды, белков, использовавшихся в носителях для аффинной хроматографии, реагентов для центрифугирования в градиенте плотности и других способов очистки, и т.п.);
- содержание основного компонента и родственных соединений;
- стабильность полупродуктов на промежуточных стадиях производства в случае необходимости их хранения;
- качество партий очищенного белка, серий биологической фармацевтической субстанции (или конечного белка биологической фармацевтической субстанции для хранения, если препарат производится в непрерывном производственном цикле), серий препарата.

Качество должно контролироваться в соответствии с установленными требованиями на этапах производства или спецификациями. Требования к показателям чистоты устанавливаются для конкретного препарата и должны

обеспечивать его безопасность и эффективность. Рекомендуемое содержание мономера (основного компонента) – не менее 92,5 %, мономера вместе с димером – не менее 95 %.

### **Очищенный белок**

Очищенный белок является промежуточным продуктом технологического процесса и может быть не предназначен для хранения. Формирование партии очищенного белка должно быть установлено и документировано производителем.

Показатели качества очищенного белка устанавливаются на основе результатов исследований характеристики белка, т.е. показателей, установленных на этапе разработки препарата и максимально полно характеризующих физико-химические, иммунохимические и биологические свойства белка, полученного с помощью методов рекомбинантной ДНК, до добавления стабилизаторов и вспомогательных веществ.

Для характеристики белка следует использовать широкий набор аналитических методов, основанных на оценке различных химических и физических свойств белковой молекулы (например, размер, заряд, изоэлектрическая точка, аминокислотная последовательность, гидрофобность). В ходе испытаний необходимо оценить первичную структуру белка и его конформацию, т.е. структуры белка более высокого порядка (вторичная, третичная, четвертичная). Должны быть идентифицированы и соответствующим образом охарактеризованы посттрансляционные модификации белка, например, гликозилированные формы, родственные соединения, а также посторонние примеси. Особое внимание следует уделить структурам или углеводородным остаткам, не обнаруживаемым у природного белка, наличие которых может привести к нежелательным побочным эффектам. Должна быть охарактеризована биологическая активность белка, количественным выражением которой является специфическая активность. Для оценки активности предпочтительно использование биологического метода, который

характеризует биологическую активность белка при клиническом применении. При необходимости следует охарактеризовать иммунохимические свойства. Все используемые методы должны быть обоснованы. Характеристика белка, полученная данными методами, формирует требования к стандартному образцу, необходимому для оценки подлинности и чистоты белка.

Очищенный белок должен оцениваться на подлинность, чистоту, специфическую активность, удельную активность (активность на единицу массы белка), микробиологическую чистоту, бактериальные эндотоксины с использованием соответствующих методов и стандартных образцов (СО). При оценке подлинности необходимо подтверждение первичной структуры белка. При оценке чистоты необходимо определение родственных соединений и посторонних примесей. К родственным соединениям относятся димеры, полимеры, агрегаты, модифицированные формы (окисленные, деамидированные, укороченные формы белка, продукты деградации белка), формы белка с нетипичным формированием дисульфидных связей, наличием N- и O-гликозидных модификаций. К посторонним примесям относятся субстраты, появление которых связано с технологическим процессом (например, компоненты питательных сред, белок и ДНК клеток хозяина и штамма-продуцента, иммуносорбенты для афинной хроматографии и другие вещества, использовавшиеся в процессе производства).

При необходимости в очищенном белке оценивают степень и профиль гликозилирования, содержание углеводов и липидов.

Требования к очищенному белку указывают во внутренней спецификации.

Для подтверждения подлинности получаемого белка возможно использование комплекса различных методов:

- секвенирование N-концевой последовательности и определение C-концевой аминокислоты;
- пептидное картирование, с применением химического или

ферментативного расщепления белка. Последующий анализ полученных пептидных фрагментов с помощью жидкостной хроматографии, в том числе с масс-спектрометрическим детектором, капиллярного электрофореза или двумерного гель-электрофореза, должен показать отсутствие существенных различий между испытуемым образцом и образцом сравнения (международные стандартные образцы, стандартные образцы отечественной или зарубежных Фармакопей, стандартные образцы производителя); полученные результаты должны быть сравнены с теоретически возможными результатами;

– круговой дихроизм, ИК спектроскопия с преобразованием Фурье, рентгеноструктурный анализ, дифференциальная сканирующая калориметрия, протонный ядерный магнитный резонанс, масс-спектрометрия водородно-дейтериевого обмена могут быть использованы для исследования вторичной, третичной и четвертичной структур белка;

– углеводное картирование, аминокислотный анализ, электрофоретические и другие обоснованные методы также могут быть использованы для подтверждения подлинности получаемого белка.

Для оценки чистоты белка могут использоваться различные методы: химические (определение белка, углеводов, липидов и др.); физико-химические (углеводное картирование, электрофорез в полиакриламидном геле в восстанавливающих и невосстанавливающих условиях, капиллярный электрофорез, изоэлектрическое фокусирование, высокоэффективная жидкостная хроматография (эксклюзионная, обращенно-фазная, ионообменная)); иммунохимические методы – иммуноферментный анализ, иммуноблоттинг, а также другие обоснованные методы.

Требования к показателям и набор соответствующих методов контроля очищенного белка, которые используются в процессе производства, зависят от результатов валидации технологического процесса, постоянства качества и количества примесей, появление которых связано с продуктом или процессом очистки, и может включать не все методы, используемые для

характеристики белка при разработке препарата. Требования к показателям и набор методов контроля должен быть обоснован и включать контроль показателей, которые не могут быть оценены в фармацевтической субстанции/конечном балке, но являются значимыми для обеспечения безопасности и эффективности готового препарата.

## ИСПЫТАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ СУБСТАНЦИИ

Биологическую фармацевтическую субстанцию или, если препарат производится в непрерывном цикле, конечный балк биологической фармацевтической субстанции для хранения (далее – субстанция или конечный балк) готовят из одной или нескольких партий очищенных белков. В процессе приготовления субстанции или конечного балка могут быть внесены стабилизирующие агенты и другие вспомогательные вещества.

Для производства серии готового препарата могут быть использованы субстанция или конечный балк, удовлетворяющие требованиям спецификации на субстанцию или установленные для конечного балка (внутренняя спецификация). Если после добавления стабилизирующих агентов и вспомогательных веществ какой-либо из показателей не может быть определен, его контроль должен проводиться на очищенном белке.

**Подлинность.** Подлинность может быть определена с помощью комплекса методов, включающих определение специфической активности и пептидное картирование, а также такие методы, как электрофорез в полиакриламидном геле (в том числе, с последующим иммуноблоттингом), капиллярный электрофорез и изоэлектрическое фокусирование, ионообменную или обращено-фазную высокоэффективную хроматографию с использованием стандартных образцов. Выбор методов оценки подлинности должен быть обоснован и указан в фармакопейной статье или нормативной документации на субстанцию или при установлении требований к конечному балку во внутренней спецификации.

**Микробиологическая чистота.** Должны быть предусмотрены

требования и испытания микробиологической чистоты субстанции (или конечного балка) до стерилизующей фильтрации.

**Стерильность.** Субстанция (или конечный балк) должны быть стерильными, если хранятся после стерилизующей фильтрации. Испытания проводят в соответствии с ОФС «Стерильность».

**Бактериальные эндотоксины.** Содержание бактериальных эндотоксинов должно соответствовать нормам, определенным в фармакопейной статье или нормативной документации на субстанцию, или требованиям, установленным на конкретный препарат. Испытание проводят в соответствии с ОФС «Бактериальные эндотоксины».

**Чистота. Родственные соединения и посторонние примеси.** Выбор комплекса методов для контроля чистоты должен быть обоснован. Требования к показателям должны обеспечивать безопасность и эффективность препарата.

Родственные соединения (связанные с продуктом) и посторонние примеси (связанные с процессом производства) оценивают на стадии получения очищенного белка, если анализ не может быть выполнен на субстанции (или конечном балке). Должно быть охарактеризовано содержание основного компонента и родственных соединений – димеров, агрегатов, модифицированных форм белка (окисленных, деамидированных, укороченных).

Для определения чистоты используют комплекс методов: электрофорез в полиакриламидном геле (так называемый, SDS-PAGE электрофорез) в восстанавливающих и невосстанавливающих условиях; капиллярный электрофорез; изоэлектрофокусирование; высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ) и другие обоснованные и валидированные производителем методы, при проведении которых должно быть предусмотрено использование стандартных образцов (СО). Методы испытаний указывают в фармакопейной статье или нормативной документации.

Тесты для определения содержания белков клеток-хозяина, ДНК штамма-производителя, а также иных посторонних примесей, связанных с процессом производства (бычий сывороточный альбумин, трансферрин, инсулин, белок А, моноклональные антитела и другие белковые и небелковые примеси) проводятся на достаточном количестве партий (не менее 5) очищенного белка или серий субстанции (конечного балка). Содержание остаточной ДНК штамма-производителя белков клеток-хозяина и других примесей, не должно превышать значений, установленных в фармакопейной статье или в нормативной документации, и не превышать показателей, определенных международными требованиями. Методы оценки примесей и способ расчета данных примесей в лекарственном препарате должны быть приведены в фармакопейной статье или нормативной документации на субстанцию или при указании требований к конечному балку.

**Остаточные белки клетки-хозяина** могут быть определены иммунохимическими методами (например, радиоиммунологическим или ИФА). Для получения антигена, используемого как для последующей выработки поликлональных антител к белкам клетки-хозяина, так и для построения калибровочного графика, следует использовать следующую процедуру (если нет других указаний в фармакопейной статье или нормативной документации). Клетки хозяина культивируются и подвергаются процедуре выделения и очистки. Количество стадий очистки определяется производителем. Из очищенных клеток получают антиген, который представляет собой смесь белков. Следует провести количественное определение белка в составе полученного антигена подходящим методом и хранить в условиях, обеспечивающих его стабильность в течение продолжительного времени. Иммунохимические методы для определения остаточных белков штамма-производителя должны отвечать следующим требованиям:

- антиген должен представлять максимально возможное количество белков-антигенов;
- поликлональные антитела, вырабатываемые на полученный таким образом антиген, должны связывать максимально возможное количество белков-антигенов и не давать перекрестного связывания с целевым белком;
- оценку результатов проводят, сравнивая данные тестирования испытуемого образца с калибровочным графиком, полученным при тестировании антигена;
- для определения остаточных белков клеток хозяина возможно использования готовых наборов реагентов, использование которых должно быть подтверждено материалами валидации методики.

**Остаточная ДНК штамма-продуцента** может быть определена методом гибридизации с зондами, мечеными биотином, дигоксигенином или другой меткой.

Для получения стандартной пробы проводят выделение ДНК клеток продуцента. Количественное определение содержания ДНК в стандартных пробах проводят спектрофотометрически. При проведении анализа следует убедиться, что белок, полученный в результате производственного процесса, не влияет на определение ДНК.

Оценку результатов проводят, сравнивая данные тестирования испытуемого образца с данными, полученными при тестировании стандартных проб ДНК штамма-продуцента.

Допускается определение остаточной ДНК штамма-продуцента методом ПЦР в реальном времени, а также методами, не связанными со специфической нуклеотидной последовательностью. К ним относятся:

- связывание ДНК с мечеными антителами к ДНК и последующая реакция полученного комплекса с антителом к этому белку (Threshold);
- непосредственное связывание ДНК с флуоресцентным

красителем.

Для оценки посторонних примесей могут использоваться наборы реагентов после валидации методики. Данные тесты могут проводиться не для каждой партии очищенного белка или серии субстанции (или конечного балка), если имеется документально подтвержденное постоянство и эффективность процедуры очистки, в том числе по результатам валидации процесса очистки.

**Транспортирование и хранение.** Контролируемые условия, обоснованные исследованиями по стабильности субстанции (или конечного балка), а также стабильности приготовленного из них лекарственного средства, указывают в фармакопейной статье или нормативной документации на субстанцию или при указании требований к конечному балку.

#### ИСПЫТАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА

Требования и методы испытаний по всем показателям качества указывают в фармакопейной статье или нормативной документации на лекарственное средство. Выбор комплекса методов должен быть обоснован.

**Описание.** Лекарственные препараты в жидкой или восстановленной лиофилизированной лекарственной форме – прозрачные или слегка опалесцирующие бесцветные, с желтоватым или другим оттенком растворы без видимых частиц, если нет других указаний в фармакопейной статье или нормативной документации.

**Подлинность.** В зависимости от природы белка, подлинность может быть определена с помощью различных методов, включая электрофорез в полиакриламидном геле, капиллярный электрофорез, изоэлектрическое фокусирование, ионообменную или обращено-фазную хроматографию, иммуноблоттинг, пептидное картирование с использованием стандартных образцов, которые должны быть указаны в фармакопейной статье или нормативной документации. Для оценки подлинности используется также метод определения специфической активности.

**Прозрачность.** Прозрачный или слегка опалесцирующий раствор (если нет других указаний в фармакопейной статье или нормативной документации). Определение проводят в соответствии с ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей».

**Цветность.** Бесцветный или с желтоватым оттенком раствор (если нет других указаний в фармакопейной статье или нормативной документации). Испытание проводят в соответствии с ОФС «Степень окраски жидкостей».

**Время растворения** (для лиофилизированных лекарственных средств). Не более 5 мин (если в фармакопейной статье или нормативной документации нет других предписаний), с указанием состава и объема восстанавливающей жидкости, а также условий растворения.

**pH.** Значения и допустимые пределы указывают в фармакопейной статье или нормативной документации. Испытание проводят потенциометрическим методом в соответствии с ОФС «Ионометрия».

**Потеря в массе при высушивании** (для лиофилизированных лекарственных средств). Не более 3,0 %, если нет других указаний в фармакопейной статье или нормативной документации. Определение проводят гравиметрическим методом в соответствии с ОФС «Потеря в массе при высушивании».

**Вода** (для лиофилизированных лекарственных средств). Предельно допустимое содержание воды и навеску препарата, в которой проводят определение, указывают в фармакопейной статье или нормативной документации. Определение проводят в соответствии с ОФС «Определение воды».

**Извлекаемый объем.** Должен соответствовать требованиям, указанным в фармакопейной статье или нормативной документации, и быть не менее номинального. Определение проводят по ОФС «Извлекаемый объем для лекарственных форм для парентерального применения».

**Механические включения.** Допустимые пределы указывают в фармакопейной статье или нормативной документации. Определение

видимых частиц проводят в соответствии с ОФС «Видимые механические включения в лекарственных формах для парентерального применения и глазных лекарственных формах». Определение невидимых частиц проводят в соответствии с ОФС «Невидимые механические включения в лекарственных формах для парентерального применения».

**Общий белок.** Допустимые пределы указывают в фармакопейной статье или нормативной документации. Общее содержание белка определяют по ОФС «Определение белка» с указанием метода определения или другой валидированной методикой, приведенной в нормативной документации

**Распределение по молекулярной массе.** Распределение по молекулярной массе определяют методом эксклюзионной хроматографии (гельфилтрации) или другими валидированными методами. Значение и допустимые пределы указывают в фармакопейной статье или нормативной документации.

**Чистота.** Требования к содержанию примесей должны обеспечивать безопасность и эффективность препарата. Выбор комплекса методов для контроля чистоты должен быть обоснован. Определение проводят различными методами с использованием стандартных образцов: методом электрофореза в полиакриламидном геле с SDS в восстанавливающих и невосстанавливающих условиях (в том числе, в сочетании с иммуноблоттингом); методом капиллярного электрофореза; методом обращено-фазной или ионообменной хроматографии, а также с помощью других обоснованных и валидированных производителем методов.

Препараты должны испытываться на содержание димеров, агрегатов, модифицированных форм белка (окисленных, деамидированных, укороченных) по методикам, приведенным в фармакопейной статье или нормативной документации. Если анализ не может быть проведен в готовой продукции, родственные соединения оценивают на стадии получения очищенного белка или фармацевтической субстанции/конечного балка.

Посторонние примеси оценивают на стадии получения очищенного

белка или субстанции/конечного балка. Содержание примесей должно быть регламентировано, обеспечивать безопасность препарата и не превышать требований указанных в фармакопейной статье. В фармакопейной статье или нормативной документации должен быть указан способ расчета данных примесей в лекарственном препарате.

**Специфическая активность.** Специфическую активность оценивают соответствующими методиками, указанными в фармакопейной статье или нормативной документации, с использованием стандартных и контрольных образцов.

**Стерильность.** Лекарственный препарат Должен быть стерильным. Испытания проводят в соответствии с ОФС «Стерильность».

**Пирогенность или бактериальные эндотоксины.** Лекарственный препарат должен быть апиrogenным или (в зависимости от природы лекарственного средства) должна быть установлена минимальная пирогенная доза. Испытания проводят в соответствии с ОФС «Пирогенность». Содержание бактериальных эндотоксинов должно соответствовать нормам, определенным в фармакопейной статье или нормативной документации. Испытания проводят в соответствии с ОФС «Бактериальные эндотоксины».

Требования к пробоподготовке препарата, тест-дозе в весовых, объемных или других единицах указывают в фармакопейной статье или нормативной документации.

**Аномальная токсичность.** Препарат должен быть нетоксичным. Определение проводят в соответствии с ОФС «Аномальная токсичность». Требования к пробоподготовке препарата, тест-дозе в весовых, объемных или других единицах указывают в фармакопейной статье или нормативной документации.

**Вспомогательные вещества.** При наличии в составе препарата вспомогательных веществ (стабилизаторы, консерванты и др.) методики их определения и допустимые пределы указывают в фармакопейной статье или нормативной документации.

**Упаковка и маркировка.** В соответствии с ОФС «Имунобиологические лекарственные препараты».

**Транспортирование и хранение.** В защищенном от света месте при температуре от 2 до 8 °С, не допускается замораживания (если в фармакопейной статье или нормативной документации нет других указаний). Контролируемые условия, обоснованные исследованиями по стабильности препарата, указывают в фармакопейной статье или нормативной документации.