**Интерлейкин-1b лиофилизат ФС**

**для приготовления раствора**

**для внутривенного введения,**

**лиофилизат для приготовления**

**раствора подкожного введения Взамен ФС 42-2823-96**

Настоящая фармакопейная статья распространяется на препарат «Интерлейкин-1β лиофилизат для приготовления раствора для внутривенного введения, лиофилизат для приготовления раствора для подкожного введения». Действующим веществом препарата является человеческий рекомбинантный интерлейкин 1β (рИЛ-1β), синтезированный бактериями *Escherichia coli* генетически модифицированного штамма.

Препарат стимулирует кроветворение, иммунитет и раннее постлучевое восстановление.

Содержание рИЛ-1β в одной дозе препарата составляет 0,05 мкг, 0,5 мкг или 1,0 мкг.

Препарат предназначен для стимуляции лейкопоэза, коррекции вторичных иммунодефицитных состояний, а также для экстренной противолучевой терапии.

В состав препарата входят вспомогательные вещества.

ПРОИЗВОДСТВО

Производство препарата основано на использовании субстанции рИЛ-1β, полученной биотехнологическим методом. Производство субстанции рИЛ-1β осуществляется путем культивирования производственного штамма-продуцента, представляющего собой клон рекомбинантной бактерии *E. coli*, в генетический аппарат которой встроен ген, кодирующий синтез человеческого ИЛ-1β. Штамм-продуцент должен:

* иметь стабильные генетические и биологические свойства;
* быть охарактеризованным в полном объеме;
* быть депонированным в официальной коллекции;
* регулярно контролироваться.

Все этапы производства препарата должны:

* осуществляться с соблюдением надлежащих требований организации производства и контроля качества лекарственных средств;
* соответствовать требованиям ОФС «Биотехнологические лекарственные препараты» и ОФС «Лекарственные средства, полученные методами рекомбинантных ДНК»;
* осуществляться в соответствии с санитарно-эпидемиологическими правилами «Безопасность работы с микроорганизмами III - IV группы патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней», действующими на территории РФ.

Процесс производства рИЛ-1β представляет собой высокотехнологичный многоэтапный процесс. Штамм-продуцент культивируют в специальных жидких питательных средах в условиях, обеспечивающих стабильную и высокую продукцию рекомбинантного белка. После завершения ферментации биомассу отделяют от культуральной жидкости и дезинтегрируют. Затем методом центрифугирования из лизата удаляют осадок, надосадочную жидкость, содержащую целевой белок, очищают от балластных веществ, используя подходящие хроматографические методы, и стерилизуют.

В полученную субстанцию рИЛ-1β вводят вспомогательные вещества и подвергают стерилизующей фильтрации.

ИСПЫТАНИЯ

**Описание.** Пористая масса или порошок белого цвета, обладающие гигроскопичностью. Определение проводят визуально.

Восстановленный раствор. Бесцветная прозрачная жидкость.

**Подлинность.** Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого образца должно соответствовать времени удерживания основного пика на хроматограмме стандартного раствора государственного стандартного образца (ГСО) ИЛ-1β. Должен усиливать пролиферацию лимфоцитов тимуса мышей. Должен окрашивать реакционную смесь в коричневый цвет. Определение проводят тремя методами.

* Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) - по времени удерживания основного пика на хроматограмме. Определение проводят по разделу «Количественное определение»;
* Биологическим методом в сравнении с ГСО ИЛ-1β. Определение проводят по разделу «Специфическая активность»;
* Качественной реакцией с йодом. В ампулу с препаратом добавляют 4 мл воды и перемешивают. Отбирают 0,5 мл полученного раствора и переносят в пробирку, прибавляют 3,0 мл рабочего раствора йода и перемешивают. Должно наблюдаться коричневое окрашивание реакционной смеси, сравнение проводят с контрольным раствором, представляющим собой смесь 3,0 мл рабочего раствора йода с 0,5 мл воды.

Примечания

Приготовление 0,1 н раствора йода. Раствор готовят из фиксанала, в соответствии с инструкцией по применению. Раствор хранят в плотно закрытой стеклянной посуде в темном месте в течение одного мес при комнатной температуре.

Приготовление 0,2 М раствора уксусной кислоты. В мерную колбу вместимостью 1000 мл вносят 800 мл воды, прибавляют 11,6 мл уксусной кислоты ледяной, перемешивают на магнитной мешалке, доводят объем раствора водой до метки и вновь перемешивают. Раствор хранят в течение 3 мес при комнатной температуре.

Приготовление 0,2 М раствора натрия ацетата. В мерную колбу вместимостью 1000 мл вносят 27,22 г натрия ацетат трехводного и растворяют в воде, затем доводят объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивают. Раствор хранят в течение 3 мес при комнатной температуре.

Приготовление 0,2 М ацетатного буферного раствора рН 4,6. К 73,5 мл 0,2 М раствора натрия ацетат прибавляют 76,6 мл 0,2 М раствора уксусной кислоты и перемешивают. Раствор хранят в течение 3 мес при комнатной температуре.

Приготовление рабочего раствора йода. К 5,0 мл 0,1 н раствора йода прибавляют 145 мл 0,2 М ацетатного буферного раствора и перемешивают. Раствор хранят в плотно закрытой стеклянной посуде в темном месте в течение 1 мес при комнатной температуре.

**Время растворения.** Определение проводят при необходимости, в соответствии с ОФС «Растворимость», требования указывают в нормативной документации.

**Прозрачность восстановленного раствора.** Должен быть прозрачным. Содержимое ампулы растворяют в 5 мл воды. Определение проводят в соответствии с ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей».

**рН восстановленного раствора.** От 5,0 до 7,3. Определение проводят потенциометрическим методом в соответствии с ОФС «Ионометрия» с раствором, приготовленным для испытания «Прозрачность».

**Механические включения.** Восстановленный раствор должен соответствовать требованиям ОФС «Видимые механические включения в лекарственных формах для парентерального применения и глазных лекарственных формах».

**Пирогенность.** Должен быть апирогенным. Определение проводят в соответствии с ОФС «Пирогенность». Тест-доза составляет 0,05 мкг препарата в 2,0 мл 0,9 % раствора натрия хлорида или воды для инъекций на 1 кг массы тела кролика.

Примечание

Приготовление исследуемого раствора препарата. В мерную колбу вместимостью 200 мл вносят 1,0 мл раствора препарата, приготовленного для проведения испытания «Аномальная токсичность» и доводят 0,9 % раствором натрия хлорида или водой для инъекций до метки и перемешивают. Содержание ИЛ-1β в полученном растворе составляет 0,025 мкг/мл. Раствор готовят непосредственно перед использованием.

**Аномальная токсичность.** Должен быть нетоксичным. Определение проводят в соответствии с ОФС «Аномальная токсичность». Тест-доза 1,0 мкг препарата в 0,2 мл 0,9 % раствора натрия хлорида или воды для инъекций на одно животное. Пробоподготовка должна быть указана в нормативной документации.

**Стерильность.** Должен быть стерильным. Определение проводят в соответствии с ОФС «Стерильность» методом прямого посева или мембранной фильтрации.

**Однородность дозирования.** Не более чем 15 % от номинального содержания. Определение проводят методом ВЭЖХ по разделу «Количественное определение».

**Количественное определение.** От 90 до 110 % от номинального содержания ИЛ-1β в ампуле, что составляет для препарата:

* 0,05 мкг - от 0,045 до 0,055 мкг;
* 0,5 мкг - от 0,45 до 0,55 мкг;
* 1,0 мкг - от 0,9 до 1,1 мкг.

Определение проводят методом ВЭЖХ в сравнении с ГСО ИЛ-1β. Методика определения должна быть указана в нормативной документации.

**Специфическая активность.** От 90 до 110 % от номинального содержания, ИЛ-1β в ампуле. Для препарата с содержанием:

* 0,05 мкг составляет от 0,045·105 до 0,055·105 ед;
* 0,5 мкг - от 0,45·105 до 0,55·105 ед;
* 1,0 мкг - от 0,9·105 до 1,1·105 ед.

Определение проводят биологическим методом по способности препарата усиливать пролиферацию лимфоцитов тимуса мышей на фоне стимуляции субоптимальными дозами митогенного лектина конканавалина А в сравнении с ГСО ИЛ-1β. Методика определения должна быть указана в нормативной документации.

**Упаковка и маркировка.** В соответствии с ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственных средств» и ОФС «Лекарственные формы».

**Транспортирование и хранение.** В соответствии с ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственных средств», и «Хранение лекарственных средств» при температуре от 2 до 15 °С. Допускается транспортирование в течение 5 сут при температуре не более 25 °С.