|  |  |
| --- | --- |
| **Соматропин, субстанция-раствор** | **ФС** |
|  |  |
| **Somatropin** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
| F-P-T-I-P-L-S-R-L-F-D-N-A-M-L-R-A-H-R-L-H-Q-L-A-F-D-T-Y-Q-E-F-E-E-A-Y-I-P-K-E-Q-K-Y-S-F-L-Q-N-P-Q-T-S-L-C-F-S-E-S-I-P-T-P-S-N-R-E-E-T-Q-Q-K-S-N-L-E-L-L-R-I-S-L-L-L-L-Q-S-W-L-E-P-V-Q-F-L-R-S-V-F-A-N-S-L-V-Y-G-A-S-D-S-N-V-Y-D-L-L-K-D-L-E-E-G-I-Q-T-L-M-G-R-L-E-D-G-S-P-R-T-G-Q-l-F-K-Q-T-Y-S-K-F-D-T-N-S-H-N-D-D-A-L-L-K-N-Y-G-L-L-Y-C-F-R-K-D-M-D-K-V-E-T-F-L-R-I-V-Q-С-R-S-V-E-G-S-С-G-F |
| C990 H1528 N262 O300 S7 | М.м. 22, 125 |

Настоящая фармакопейная статья распространяется на соматропин, субстанцию-раствор.

Продуцентом соматропина является генетически модифицированная культура клеток *E.coli*.

Субстанция предназначена для производства готовых лекарственных средств.

В состав субстанции входит консервант и вспомогательные вещества.

ПРОИЗВОДСТВО

Производство субстанции, полученной с использованием метода 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.

Все этапы процесса производства должны быть валидированы, производство субстанции должно проводиться в условиях соблюдения правил надлежащей производственной практики и в соответствии с требованиями ОФС «Лекарственные средства, получаемые методом рекомбинантной ДНК», ОФС «Биологические лекарственные препараты», ОФС «Биотехнологические лекарственные препараты».

ИСПЫТАНИЯ

**Описание.** Бесцветная прозрачная или опалесцирующая жидкость.

**Подлинность.** Определение проводят методом пептидного картирования в соответствии с ОФС «Пептидное картирование» или другим подходящим валидированным методом.

*Пептидное картирование*

Хроматографические профили растворов триптических гидролизатов субстанции-раствора и стандартного образца соматропина должны совпадать. Определение проводят методом обращенно-фазовой ВЭЖХ.

*Буферный раствор* Около 6,06 г трис(гидроксиметил)амипометана помещают в мерную колбу вместимостью 1 л. растворяют в 900 мл воды, раствором хлористоводородной кислоты 1 М, доводят pH до 7.5. Объем полученного раствора доводят водой до метки, перемешивают и фильтруют через мембранный фильтр с диаметром пор 0,45 мкм.

*Раствор трипсина* Около1,0 мг (точная навеска) трипсина помещают в полипропиленовую пробирку вместимостью 1.5 мл, прибавляют 1,0 мл 0,05 М буферного раствора и перемешивают.

*Подвижная фаза А* Трифторуксусная кислота.

*Подвижная фаза Б* Трифторуксусная кислота в ацетонитриле.

Обессоленный испытуемый раствор. Для обессоливания субстанцию-раствор пропускают через одноразовую колонку, предварительно промытую 10,0 мл 0,05 М буферного раствора. 0.5 мл субстанции-раствора наносят на колонку, первый элюат отбрасывают. Затем наносят 1,0 мл 0,05 М трис-гидрохлорида буферного раствора. Полученные фракции собирают в пробирку.

*Раствор стандартного образца.* К содержимому 1 флакона СО прибавляют 1,0 мл воды и перемешивают до полного растворения.

*Гидролизованный испытуемый раствор, гидролизованный раствор СО и раствор сравнения*. Обессоленный испытуемый раствор (с учетом 2-х кратного разведения при обессоливавии) и раствор СО разбавляют 0,05 М буферным раствором pH 7,5 до содержания соматропииа 1,0 мг/мл.

По 1,0 мл полученных растворов и 0,05 М буферного раствора pH 7,5 помещают в полипропиленовые пробирки вместимостью 1,5 мл и прибавляют в каждую по 50 мкл раствора трипсина. Пробирки закрывают пробками и инкубируют в течение 4 ч при температуре (37.0 ± 0.5) °С. Затем прибавляют в каждую по 50 мкл 1 % раствора трифторуксусной кислоты, перемешивают и центрифугируют в течение 15 мин при 12 000 об/мин.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка  | 25 × 0,46 см 5 мкм |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | рефрактометрический |
| Объем пробы | 10 мкл; |
| Время хроматографирования | 3-кратное от времени удерживания основного пика. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0 | 100 | 0 |
| 20 | 80 | 20 |
| 40 | 75 | 25 |
| 65 | 50 | 50 |
| 70 | 20 | 80 |
| 75 | 0 | 100 |
| 80 | 100 | 0 |
| 90 | 100 | 0 |

В хроматограф последовательно вводят 1 инжекцию раствора сравнения, 5 инжекций *гидролизованного раствора СО,* 3 инжекции *гидролизованнного испытуемого раствора* и записывают хроматограммы.

Пики, принадлежащие раствору сравнения, при оценке хроматограммы не учитывают.

Результаты анализа считаются достоверными, если выполняются требования теста «Проверка пригодности хроматографической системы».

*Пригодность хроматографической системы.*

* время удерживания пиков а, b. и c должно быть от 36 до 46 мин относительное стандартное отклонение времени удерживания и площади каждого из пиков а, b и с должно быть не более 2 %:
* фактор асимметрии пиков а, b и с должен быть не более 1,5;
* разрешение между пиками а и b должно быть не менее 1,0;

**Прозрачность.** Должен быть прозрачным или не превышать эталон сравнения II. Определение проводят в соответствии с ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей».

**Цветность. Д**олжен быть бесцветным. Бесцветной считается жидкость, если ее окраска не отличается от воды (в случае растворов – от соответствующего растворителя) или она окрашена не более интенсивно, чем эталон В7. Определение проводят в соответствии с ОФС «Степень окраски жидкостей».

**рН.** От 6,0 до 6,5. Испытание проводят потенциометрическим методом в соответствии с ОФС «Ионометрия».

**Родственные примеси**

*Димеры и полимеры.*Не более 4 %. Определение проводят методом эксклюзионной хроматографии в соответствии с ОФС «Эксклюзионная хроматография».

*Родственные белки.* Не более 6 %. Определение проводят методом ВЭЖХ в соответствии с ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»

*Дезамидированные формы.* Не более 14 %. Определение проводят методом ВЭЖХ - ионообменная в соответствии с ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»

**Бактериальные эндотоксины.** Не более 22 ЕЭ/мл. Испытание проводят в соответствии с ОФС «Бактериальные эндотоксины».

**Стерильность.** Должна быть стерильной. Испытание проводят в соответствии с требованиями ОФС «Стерильность» методом прямого посева или мембранной фильтрации.

**Количественное определение**

***Соматропин.*** От 4,55 до 5,25 мг/мл Определение проводят методом эксклюзионной хроматографии в соответствии с ОФС «Эксклюзионная хроматография»

***Фенол.*** От 2,3 до 2,7 мг/мл. Определение проводят методом ВЭЖХ в соответствии с ОФС «Количественное определение фенола в биологических лекарственных препаратах».

**Остаточные белки.** Не более 15 нг/мг. Определение проводят в соответствии ОФС «Определение остаточных белков клетки-хозяина».

**Остаточная ДНК.** Не более 50 пг/мл. Определение проводят в соответствии ОФС «Определение остаточной ДНК».

**Аномальная токсичность.** Должна быть нетоксична. Испытания проводят в соответствии с ОФС «Аномальная токсичность».

**Хранение.** При температуре от 2 до 8°С в защищенном от света месте. В соответствии с ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственных средств». Не замораживать.