

ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

ФС.4.0001

Взамен ФС.3.3.2.0006.18

АЛЬБУМИН ЧЕЛОВЕКА

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Альбумин человека представляет собой стерильный жидкий лекарственный препарат, содержащий основной белок, выделенный из плазмы крови здоровых доноров, соответствующей требованиям *ФС «Плазма человека для фракционирования»*.

Лекарственный препарат содержит вспомогательные вещества, такие как натрия каприлат (натрия октаноат) или *N*-ацетилтриптофан или их комбинацию.

ПРОИЗВОДСТВО (ОСОБЕННОСТИ ТЕХНОЛОГИИ)

Выделение фракции альбумина проводят в условиях, обеспечивающих контроль pH, ионной силы и температуры, таким образом, чтобы в лекарственном препарате альбумин составлял не менее 95 % общего белка. Раствор альбумина человека производят в виде концентрированного раствора, содержащего от 100 г/л до 250 г/л общего белка, или изотонического раствора, содержащего от 35 г/л до 50 г/л общего белка.

Лекарственные препараты альбумина человека не должны содержать антибиотиков и антимикробных консервантов.

Альбумин человека после стерилизующей фильтрации в асептических условиях помещают в стерильную упаковку и герметично укупоривают для предотвращения контаминации. Раствор в герметичной упаковке нагревают до $(60,0 \pm 1,0)$ °C и выдерживают не менее 10 ч, затем инкубируют при температуре от 30 °C до 32 °C не менее 14 дней или при температуре от 20 °C до 25 °C не менее четырёх недель и исследуют визуально для обнаружения признаков микробной контаминации.

СВОЙСТВА

Описание: прозрачная, слегка вязкая, почти бесцветная или жёлтого, янтарного, зелёного цвета жидкость.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

Испытания проводят методом иммуноэлектрофореза (ОФС «Имуноэлектрофорез в агаровом геле»). Разводят контрольный образец (сыворотку крови человека) и испытуемый образец до концентрации белка 10 г/л. Подлинность подтверждают наличием основного компонента, соответствующего альбумину сыворотки крови человека. Лекарственный препарат может содержать небольшое количество других белков плазмы крови человека.

ИСПЫТАНИЯ

Гемпигменты (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»). Оптическая плотность испытуемого раствора при длине волны 403 нм (в кювете с толщиной слоя 10 мм) должна быть не более 0,15.

Испытуемый раствор. Лекарственный препарат разводят раствором 9 г/л натрия хлорида *P* до концентрации белка 10 г/л.

Компенсационная жидкость. Вода.

pH (ОФС «Потенциометрическое определение pH»). От 6,7 до 7,3. Лекарственный препарат разводят раствором 9 г/л натрия хлорида *P* до концентрации белка 10 г/л.

Видимые механические включения (ОФС «Механические включения: видимые частицы»). Должны отсутствовать.

Извлекаемый объём (ОФС «Испытание на извлекаемый объём парентеральных лекарственных препаратов»). Не менее номинального.

Общий белок. Содержание белка должно составлять от 95 % до 105 % от заявленного количества.

Лекарственный препарат разводят раствором 9 г/л натрия хлорида *P* до концентрации белка около 15 мг в 2 мл. В круглодонную центрифужную

пробирку помещают 2 мл полученного раствора, прибавляют 2 мл раствора 75 г/л *натрия молибдата Р* и 2 мл смеси *серной кислоты, свободной от азота, Р* и *воды Р* (1:30 об/об), встряхивают, центрифугируют в течение пяти минут. Удаляют надосадочную жидкость и переворачивают пробирку на фильтровальную бумагу для высушивания. Определяют азот в осадке (ОФС «*Определение азота после минерализации серной кислотой*») и рассчитывают содержание белка, умножая полученное значение на 6,25.

Допустимо проведение испытания биуретовым методом (ОФС «*Определение белка*», метод 5).

Электрофоретическая однородность (ОФС «*Электрофорез*»). На электрофореграмме испытуемого раствора, не более 5 % белка имеет подвижность, отличную от подвижности основной полосы.

В качестве носителя используют подходящие плёнки из ацетата целлюлозы или агарозного геля, а в качестве электролита – *барбиталовый буферный раствор рН 8,6 Р1* или другой подходящий буферный раствор.

Если в качестве носителя используют ацетат целлюлозу, испытание может быть проведено описанной ниже методикой. Если используют агарозные гели, являющиеся частью автоматизированной системы, то следуют инструкциям производителя.

Испытуемый раствор. Лекарственный препарат разводят раствором 9 г/л *натрия хлорида Р* до концентрации белка 20 г/л.

Раствор сравнения. Фармакопейный стандартный образец *альбумина человека для электрофореза* разводят раствором 9 г/л *натрия хлорида Р* до концентрации белка 20 г/л.

На ацетат целлюлозную плёнку последовательно наносят 2,5 мкл испытуемого раствора полосой шириной 10 мм или 0,25 мкл/мл, если используется более узкая полоска; тот же объём раствора сравнения. Помещают в электрическое поле таким образом, чтобы расстояние, пройденное полосой (самой быстрой) составляло не менее 30 мм. Затем плёнку окрашивают раствором *амидо-чёрного 10 В Р* в течение пяти минут и

обесцвечивают смесью уксусной кислоты ледяной *P* и метанола *P* (10:90 об/об), чтобы фон стал прозрачным. При необходимости снижают интенсивность окраски полос смесью уксусной кислоты ледяной *P* и метанола *P* (19:81 об/об). Сканируют или измеряют оптическую плотность полос при 600 нм (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»). Рассчитывают результат как среднее значение трёх измерений каждой полоски.

Пригодность системы. На электрофореграмме раствора сравнения процентное содержание белка в основной полосе должно находиться в пределах, указанных в инструкции по применению к фармакопейному стандартному образцу.

Полимеры и агрегаты (ОФС «Эксклюзионная хроматография»).

Площадь пика полимеров и агрегатов должна составлять не более 10 % от общей площади пиков на хроматограмме.

Испытуемый раствор. Лекарственный препарат разводят подвижной фазой до концентрации белка 10 г/л.

Раствор сравнения (а). Фармакопейный стандартный образец альбумина человека (молекулярные параметры) растворяют в подвижной фазе для достижения концентрации белка 10 г/л.

Раствор сравнения (б). 0,25 мл раствора сравнения (а) доводят подвижной фазой до объёма 50,0 мл.

Условия хроматографирования:

– колонка: длиной 0,30 м и внутренним диаметром 7,8 мм, заполненная силикагелем гидрофильным для хроматографии *P* с размером частиц 5 мкм, с размером пор 25–30 нм и пригодным для фракционирования глобулярных белков;

– температура колонки: 25 °С;

– подвижная фаза: 1,741 г натрия дигидрофосфата моногидрата *P*, 4,873 г динатрия гидрофосфата дигидрата *P*, 11,688 г натрия хлорида *P*

растворяют в воде для хроматографии *P* и доводят объём раствора тем же растворителем до 1000 мл;

– скорость потока: 0,5 мл/мин;

– детектор: спектрофотометрический, длина волны 280 нм;

– объём вводимой пробы: по 20 мкл;

– время хроматографирования: должно в 2 раза превышать время удерживания мономера.

Идентификация пиков: используют хроматограмму раствора сравнения (а) и хроматограмму, прилагаемую к фармакопейному стандартному образцу альбумина человека (молекулярные параметры).

Относительное удерживание по мономеру (время удерживания – около 17 мин): димер – около 0,88.

Пригодность хроматографической системы:

– хроматограмма раствора сравнения (а) аналогична хроматограмме, прилагаемой к фармакопейному стандартному образцу альбумина человека (молекулярные параметры);

– разрешение (*R_s*): не менее 1,5 между пиками димера и мономера на хроматограмме раствора сравнения (а);

– отношение сигнал/шум (*S/N*) не менее 10 для пика мономера на хроматограмме раствора сравнения (б).

Пределы содержания примесей:

– неучитываемый предел: 0,5 % (пик мономера на хроматограмме раствора сравнения (б)).

Содержание полимеров и агрегатов в препарате в процентах вычисляют согласно методу нормализации (ОФС «Хроматографические методы разделения»).

Натрия каприлат. Лекарственный препарат должен соответствовать установленным требованиям.

N-ацетилтриптофан. Лекарственный препарат должен соответствовать установленным требованиям (если лекарственный препарат содержит N-ацетилтриптофан).

Активатор прекалликреина (ОФС «*Определение активатора прекалликреина в лекарственных препаратах из плазмы крови человека*»). Не более 35 МЕ/мл.

Алюминий. Метод атомно-абсорбционной спектрометрии (ОФС «*Атомно-абсорбционная спектрометрия*», метод 1 или 2). Не более 200 мкг/л.

Для приготовления растворов применяют пластиковые контейнеры и, где применимо, пластиковое оборудование. Перед применением моют стеклянную посуду (или оборудование) в растворе 200 г/л азотной кислоты.

Испытуемый раствор. Испытуемый препарат разводят при необходимости.

Растворы сравнения. Готовят не менее трёх растворов сравнения в диапазоне ожидаемой концентрации алюминия в испытуемом растворе соответствующими разведениями алюминия стандартного раствора (10 ppm Al) Р раствором 1 г/л октоксинола 10 Р.

Раствор модификатора. Добавить алюминия стандартный раствор (10 ppm Al) Р или подходящий стандартный раствор к испытуемому раствору для увеличения концентрации алюминия на 20 мкг/л.

Контрольный раствор. Раствор 1 г/л октоксинола 10 Р.

Условия испытания:

- *длина волны:* 309,3 нм или другая подходящая длина волны;
- *атомизация:* графитовая трубчатая печь;
- *ширина щели:* 0,5 нм.

Таблица 1 – Программа печи

Стадия	Конечная температура, °С	Время нарастания, с	Время удерживания, с	Газ
1	120	10	80	аргон

2	200	5	20	аргон
3	650	5	10	аргон
4	1300	5	10	аргон
5	1300	1	10	нет газа
6	2500	0,7	4	нет газа
7	2600	0,5	3	аргон
8	20	12,9	3	нет газа

Примечание.

Программа печи представлена в *таблице 1* в качестве примера, подходящего для данного устройства, её можно модифицировать для получения оптимальных условий.

Пригодность системы:

– содержание алюминия, добавленного при приготовлении раствора модификатора, должно быть от 80 % до 120 %.

Определяют значения атомной абсорбции контрольного раствора, испытуемого раствора, растворов сравнения и раствора модификатора. Для каждого раствора проводят не менее трёх измерений. Строят калибровочную кривую зависимости результатов измерений, полученных для растворов сравнения от их концентрации. По калибровочной кривой рассчитывают концентрацию алюминия в испытуемом растворе.

Калий (ОФС «Атомно-эмиссионная спектрометрия», метод 1). Не более 0,05 ммоль/г.

Определение проводят при длине волны 766,5 нм.

Натрий (ОФС «Атомно-эмиссионная спектрометрия», метод 1). Не более 160 ммоль/л. Содержание натрия должно составлять от 95 % до 105 % от указанного в информации на лекарственный препарат.

Определение проводят при длине волны 589 нм.

Стерильность (ОФС «Стерильность»). Препарат должен быть стерильным.

Пирогенность (ОФС «Пирогенность») или **Бактериальные эндотоксины** (ОФС «Бактериальные эндотоксины»). Препарат должен

выдерживать испытание на пирогенность или, при обосновании, соответствовать методу *in vitro*, например, на бактериальные эндотоксины.

Для лекарственных препаратов с содержанием белка не более 50 г/л содержание бактериальных эндотоксинов должно составлять менее 0,5 МЕ/мл; для лекарственных препаратов с содержанием белка более 50 г/л, но не более 200 г/л – менее 1,3 МЕ/мл; для лекарственных препаратов с содержанием белка более 200 г/л, но не более 250 г/л – менее 1,7 МЕ/мл.

Для испытания на пирогенность раствор с содержанием от 35 г/л до 50 г/л белка вводят из расчёта 10 мл на 1 кг массы кролика; раствор с содержанием от 100 г/л до 250 г/л белка вводят из расчёта 5 мл на 1 кг массы кролика.

Поверхностный антиген вируса гепатита В (HBsAg) (ОФС «Метод иммуноферментного анализа»). Должен отсутствовать. Испытание проводят с использованием готовых тест-систем, разрешённых к применению и имеющих чувствительность не ниже 0,1 МЕ/мл.

Антитела к вирусу гепатита С (ОФС «Метод иммуноферментного анализа»). Должны отсутствовать. Испытание проводят с использованием готовых тест-систем, разрешённых к применению.

Антитела к вирусу иммунодефицита человека (ВИЧ-1 и ВИЧ-2) и антиген р24 ВИЧ-1 (ОФС «Метод иммуноферментного анализа»). Должны отсутствовать. Испытание проводят с использованием готовых тест-систем, разрешённых к применению.

ХРАНЕНИЕ

В защищённом от света месте.

ИНФОРМАЦИЯ О МАРКИРОВКЕ

Указывают:

- содержание белка в первичной упаковке, выраженное в граммах на литр (г/л);
- содержание натрия, выраженное в миллимоль на литр (ммоль/л);

- что лекарственный препарат не применяют при помутнении или образовании осадка;
- наименование и количество вспомогательных веществ;
- на вторичной (потребительской) упаковке «Антитела к ВИЧ-1, ВИЧ-2, к вирусу гепатита С и поверхностный антиген вируса гепатита В отсутствуют».