

**Производство лекарственных средств  
КОНТРОЛЬ И КРИТЕРИИ ПРИЕМЛЕМОСТИ ДЛЯ  
ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ И СУБСТАНЦИЙ, ПОЛУ-  
ЧЕННЫХ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИМИ СПОСОБАМИ**

**Вытворчасць лекавых сродкаў  
КАНТРОЛЬ І КРЫТЭРЫІ ПРЫЙМАЛЬНАСЦІ ДЛЯ ЛЕКА-  
ВЫХ СРОДКАЎ І СУБСТАНЦЫЙ, АТРЫМАНЫХ  
БІЯТЭХНАЛАГІЧНЫМІ СПАСАБАМІ**

Издание официальное

**Ключевые слова:** спецификация, критерии приемлемости, биологическая активность, примесь, испытания, эталонный материал

## Предисловие

Цели, основные принципы, положения по государственному регулированию и управлению в области технического нормирования и стандартизации установлены Законом Республики Беларусь «О техническом нормировании и стандартизации».

1 РАЗРАБОТАН Государственным предприятием «НПЦ ЛОТИОС»

ВНЕСЕН Департаментом фармацевтической промышленности Министерства здравоохранения Республики Беларусь

2 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ приказом Департамента фармацевтической промышленности Министерства здравоохранения Республики Беларусь от «24» декабря 2013 г. № 71

3 Настоящий технический кодекс установившейся практики разработан на основе руководства «ICH Topic Q6B. Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for Biotechnological/Biological Products» (Спецификации: Процедуры контроля и критерии приемлемости для биотехнологических/биологических лекарственных средств)

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Настоящий технический кодекс установившейся практики не может быть воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Департамента фармацевтической промышленности

Издан на русском языке

## ТЕХНИЧЕСКИЙ КОДЕКС УСТАНОВИВШЕЙСЯ ПРАКТИКИ

### Производство лекарственных средств КОНТРОЛЬ И КРИТЕРИИ ПРИЕМЛЕМОСТИ ДЛЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ И СУБСТАНЦИЙ, ПОЛУЧЕННЫХ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИМИ СПОСОБАМИ

#### Вытворчасць лекавых сродкаў КАНТРОЛЬ І КРЫТЭРЫІ ПРЫЙМАЛЬНАСЦІ ДЛЯ ЛЕКАВЫХ СРОДКАЎ І СУБСТАНЦЫЙ, АТРЫМАНЫХ БІЯТЭХНАЛАГІЧНЫМІ СПАСАБАМІ

Manufacture of pharmaceutical products  
Test procedures and acceptance criteria for biotechnological drugs and substances

Дата введения 2014-04-01

### 1 Область применения

Настоящий технический кодекс установившейся практики (далее – технический кодекс) устанавливает общие требования к разработке спецификаций по контролю качества биологических лекарственных средств (субстанций).

Под биологическими лекарственными средствами (субстанциями) в техническом кодексе понимают протеины и полипептиды, их производные, полученные посредством рекомбинантных/нерекомбинантных клеточных систем, а также выделенные из тканей и биологических жидкостей, прошедшие очистку и стандартизацию для медицинского применения у человека. Требования технического кодекса не применимы к антибиотикам, синтетическим пептидам и полипептидам, гепаринам, витаминам, клеточным метаболитам, ДНК продуктам, аллергенным экстрактам, традиционным вакцинам, клеткам, цельной крови и ее клеточным компонентам.

Настоящий технический кодекс следует использовать совместно с правилами Надлежащей производственной практики для биологических лекарственных средств (ТКП 030, приложение 2).

Требования технического кодекса распространяются на все научно-исследовательские учреждения и фармацевтические предприятия, осуществляющие производство биологических лекарственных средств на территории Республики Беларусь.

### 2 Нормативные ссылки

В настоящем техническом кодексе использованы ссылки на следующие технические нормативные правовые акты в области технического нормирования и стандартизации (далее – ТНПА):

ТКП 030-2013 (02040) Надлежащая производственная практика

ТКП 428-2012 (02041) Производство лекарственных средств. Контроль качества

ТКП 432-2012 (02041) Производство лекарственных средств. Валидация методик испытаний

ТКП 521-2013 (02041) Производство лекарственных средств. Испытания стабильности лекарственных средств и субстанций, полученных биотехнологическими способами

ТКП 522-2013 (02041) Производство лекарственных средств. Клеточные субстраты

ТКП 515-2013 (02041) Производство лекарственных средств. Вирусная безопасность лекарственных средств, полученных биотехнологическим способом с использованием клеток человеческого и животного происхождения

Примечание - При пользовании настоящим техническим кодексом целесообразно проверить действие ТНПА по каталогу, составленному по состоянию на 1 января текущего года, и по соответствующим информационным указателям, опубликованным в текущем году.

Если ссылочные ТНПА заменены (изменены), то при пользовании настоящим техническим кодексом, следует руководствоваться замененными (измененными) ТНПА. Если ссылочные ТНПА отменены без замены, то положение, в котором дана ссылка на них, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

### 3 Термины и определения

В настоящем техническом кодексе применяют термины, установленные в ТКП 030, ТКП 428, ТКП 432, а также следующие термины с соответствующими определениями:

**3.1 вещества, связанные с целевым продуктом:** Молекулярные формы целевого продукта, которые образуются в процессе производства и/или хранения, обладающие активностью и не оказывающие негативного влияния на эффективность и безопасность биологического лекарственного средства (субстанции).

**3.2 примесь:** Любое вещество, присутствующее в биологическом лекарственном средстве (субстанции), не являющееся целевым продуктом и не связанное с ним, не относящееся к вспомогательным. При-

меси подразделяются на обусловленные производственным процессом и связанные с целевым продуктом (см. приложение Б).

**3.3 продукты деградации (распада):** Молекулярные формы, являющиеся результатом изменения свойств целевого продукта и/или связанных с ним веществ, под влиянием света, температуры, pH, влаги, взаимодействия с вспомогательными веществами и также системой контейнер/укупорка и др. Образуются в ходе производственного процесса и/или при хранении (например, из-за окисления, агрегации, протеолиза). Могут быть отнесены либо к веществам, связанным с целевым продуктом, либо к примесям, обусловленным целевым продуктом.

**3.4 целевой продукт:** Белок, имеющий ожидаемую структуру, либо получаемый на основе известной ДНК последовательности и установленных посттрансляционных модификаций (включая гликоформы), используемый для получения биологически активной молекулы.

## 4 Обозначения и сокращения

В настоящем техническом кодексе применяются следующие обозначения и сокращения:

**ВЭЖХ:** Высокоэффективная жидкостная хроматография.

**ДНК:** Дезоксирибонуклеиновая кислота.

**ЖХ:** Жидкостная хроматография.

**ЯМР:** Ядерный магнитный резонанс.

**SDS-PAGE:** Электрофорез в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия.

## 5 Общие требования

**5.1** Разработка и обоснование спецификаций на биологические лекарственные средства (субстанции) является частью общей стратегии обеспечения качества в соответствии с принципами Надлежащей производственной практики (1.9 ТКП 030).

**5.2** Общие требования к разработке, обоснованию и оформлению спецификаций, изложенные в 4.13-16, 11.1 ТКП 030 и 10.3 ТКП 428, распространяются и на спецификации для биологических лекарственных средств (субстанций).

**5.3** Производителю следует учитывать следующие положения:

- спецификации разрабатываются на основе предварительных данных, полученных в процессе разработки биологического лекарственного средства (субстанции), а также в ходе изучения серий для доклинических исследований и клинических испытаний, качество которых репрезентативно отражает качество серий, производимых в промышленных масштабах;

- также используют результаты, полученные в ходе анализа серий, наработанных для подтверждения постоянства параметров производственного процесса. Это имеет особое значение для установления профиля веществ, связанных с целевым продуктом; а также нормирования примесей. Изменения, вносимые в производственный процесс, могут модифицировать характеристики гетерогенности продукции по сравнению с показателями, полученными на сериях для доклинических исследований и клинических испытаний. Начиная с такого влияния на качество биологических лекарственных средств (субстанций) должна быть оценена;

- необходимо принимать во внимание результаты изучения стабильности из-за возможного образования продуктов деградации. С учетом сложного строения макромолекул и неоднородности их свойств невозможно разработать единый профиль изучения стабильности для всех биологических лекарственных средств (субстанций). Общие подходы к изучению стабильности изложены в ТКП 521.

- критическими показателями качества, как правило, являются активность, природа и количество веществ, связанных с целевым продуктом, а также примесей, обусловленных целевым продуктом и производственным процессом. Данные показатели могут быть оценены различными аналитическими методами, при этом при использовании каждого из них возможно получение отличающихся результатов. В ходе разработки допускается параллельное применение нескольких методик, однако на момент подачи заявки на регистрацию биологического лекарственного средства (субстанции) производитель должен принять обоснованное решение о выборе наиболее подходящей.

## 6 Этапы разработки спецификаций

### 6.1 Предварительное установление характеристик

**6.1.1** Предварительное установление характеристик биологических лекарственных средств (субстанций) является начальным этапом разработки спецификации и заключается в изучении физико-химических и иммунохимических свойств, определении биологической активности, чистоты и других показателей соответствующими физико-химическими (биологическими) методами.

**6.1.2** Исследования проводятся по обширной программе на этапе разработки, а также при внесении существенных изменений в технологический процесс. В дальнейшем, при рутинном контроле качества, как правило, используется меньшее количество тестов.

## 6.2 Изучение физико-химических свойств

**6.2.1** Программа изучения физико-химических свойств, как правило, включает определение состава, физических показателей, анализ первичной структуры целевого продукта. При необходимости проводят исследование структур более высокого порядка, особенно, при обнаружении корреляции их свойств с выявленной биологической активностью.

**6.2.2** Из-за особенностей процессов, протекающих в живых системах, часто наблюдается структурная гетерогенность, приводящая к тому что целевой продукт является смесью идентифицированных пост-трансляционно модифицированных молекулярных форм (например, гликоформ). Данные модификации могут обладать определенной активностью, но не оказывать негативного воздействия на безопасность и эффективность получаемой продукции. Производителю следует определить профиль гетерогенности целевого продукта и продемонстрировать его стабильность на сериях, предназначенных для доклинических исследований и клинических испытаний. В случае постоянства профиля, нет необходимости в проведении оценки активности, эффективности и безопасности (включая иммуногенность) каждой модифицированной формы.

**6.2.3** Гетерогенность также может быть обусловлена особенностями производственного процесса или условиями хранения биологического лекарственного средства (субстанции). Поскольку ее наличие существенно влияет на качество продукции, профиль гетерогенности необходимо оценивать при контроле качества последовательных серий для подтверждения постоянства параметров производственного процесса. Если модифицированные формы обладают характеристиками активности, эффективности и безопасности, сопоставимыми с таковыми для целевого продукта, они являются связанными с ним веществами и не относятся к примесям.

**6.2.4** Если изменения, вносимые в производственный процесс, или образующиеся при хранении продукты деградации модифицируют профиль гетерогенности настолько, что утрачивается идентичность с сериями, предназначенными для доклинических исследований и клинических испытаний, производитель оценивает необходимость проведения дополнительных исследований, направленных на подтверждение качества и безопасности получаемого лекарственного средства (субстанции).

**6.2.5** Перечень аналитических методов, рекомендуемых для характеристики физико-химических свойств биологических лекарственных средств (субстанций), приведен в приложении А. При разработке спецификации производитель должен обосновать выбор используемого набора тестов и критериев приемлемости значений показателей качества.

## 6.3. Изучение биологических свойств

**6.3.1** Исследование биологических свойств является одной из основных задач на предварительном этапе разработки спецификаций на биологические лекарственные средства (субстанции). При этом важно установить корреляцию между биологической активностью и наблюдаемыми фармакологическими эффектами.

**6.3.2** Производитель должен использовать валидированные методики определения биологической активности, примерами которых являются:

- тест-системы с использованием животных, позволяющие установить биологическую реакцию организма на вводимое вещество;
- тест-системы с использованием клеточных культур, позволяющие установить биохимическую и физиологическую реакции на клеточном уровне;
- биохимические наборы для измерения биологической активности, например скорости ферментативной реакции, инициированной определенным воздействием на иммунную систему;
- наборы для изучения взаимодействия различных лигандов, связывания с рецепторами и т.п.

**6.3.3** Эффективность (potency) является количественной мерой биологической активности, оцениваемой на основе результатов измерений биологических свойств, специфических для данной продукции, в то время как количество (выраженное в единицах массы) представляет собой измерение концентрации белка физико-химическими методами. Корреляция между биологической активностью, количественным содержанием и фармакологическим эффектом устанавливается в ходе фармакодинамических доклинических исследований или клинических испытаний.

**6.3.4** Для сложных макромолекул полученная с помощью физико-химических методов информация часто не позволяет подтвердить свойства структур высшего порядка, которые, тем не менее могут быть оценены исходя из данных по биологической активности.

Физико-химические тесты для измерения биологической активности могут быть использованы только в следующих случаях:

- физико-химическими методами может быть получено достаточное количество сведений о биологическом лекарственном средстве (субстанции), включая данные о свойствах структур высшего порядка и о наличии корреляции с проявляемой биологической активностью;
- существует установившаяся традиция производства данного лекарственного средства.

Результаты определения биологической активности, выполненные физико-химическими методами, выражают в единицах массы.

6.3.5 В ходе разработке спецификации производитель должен обосновать выбор используемого набора методов (физико-химических или биологических) определения биологической активности.

#### 6.4 Изучение иммунохимических свойств

6.4.1 Когда целевой продукт является антителом, его иммунологические свойства должны быть подробно описаны. Для определения связывающих характеристик и иммунореактивности (включая перекрестную реактивность) используются наборы, позволяющие оценить связывание антитела с очищенными антигенами и/или их определенными участками. Для некоторых биологических лекарственных средств (субстанций) может понадобиться тестирование молекулы белка иммунохимическими методами (например, твердофазным иммуноферментным анализом, вестерн-блоттингом). Результаты таких исследований могут быть использованы для подтверждения подлинности, однородности или чистоты, а также с целью количественного определения содержания белка.

6.4.2 При включении иммунохимических показателей в спецификацию необходимо предоставление всей доступной информации об установленных характеристиках антитела.

#### 6.5 Установление чистоты, наличия примесей и контаминантов

6.5.1 Установление как абсолютной, так и относительной чистоты биологических лекарственных средств (субстанций) представляет определенные аналитические сложности, а результаты зачастую зависят от применяемого метода.

6.5.2 Относительную чистоту, как правило, выражают в единицах специфической активности (единицах биологической активности на мг). Рекомендуется устанавливать чистоту биологических лекарственных средств (субстанций) комбинацией аналитических методик, выбор которых должен быть обоснован при разработке спецификации.

6.5.3 Производитель должен оценить наличие примесей, которые могут присутствовать в продукции из-за особенностей самого биологического лекарственного средства (субстанции) или нюансов производственного процесса (приложение Б).

6.5.4 К контаминантам относят все непреднамеренно внесенные материалы химического/биохимического происхождения (например, микробные протеазы), не являющиеся частью производственного процесса, а также микроорганизмы. Следует принимать меры, позволяющие избежать попадания контаминантов в продукцию, либо нормировать их содержание при разработке спецификации. В случае возможной контаминации вирусами или микоплазмой, производитель должен руководствоваться требованиями, изложенными в ТКП 522 и ТКП 515.

#### 6.6 Количественное определение

Под количеством биологического лекарственного средства (субстанции) обычно принимают концентрацию белка, измеренную физико-химическими методами. В ряде случаев может быть показано прямое соответствие со значениями, полученными альтернативными биологическими методами. При наличии указанной корреляции допускается использование количественного определения, а не установление биологической активности, например, в целях осуществления производственного контроля (при розливе и т.п.).

### 7 Требования к аналитическим процедурам

#### 7.1 Стандартные образцы

7.1.1 В ходе разработки и обоснования спецификации, а также при последующем контроле качества биологического лекарственного средства (субстанции) производителю следует использовать первичные и вторичные стандартные образцы, а также, при необходимости, разрабатывать внутренние стандартные образцы. Иерархия стандартных образцов, их разработка, производство, хранение, использование, документация – в соответствии с 5.12 [1].

7.1.2 Желательно использование одних и тех же стандартных образцов при работе с биологическими тест-системами и физико-химическими методами.

7.1.3 Может понадобиться разработка отдельных стандартных образцов содержания веществ, связанных с целевым продуктом, а также примесей.

#### 7.2 Валидация

На момент подачи заявки на регистрацию производитель должен представить отчеты по валидации аналитических методик, использовавшихся при разработке спецификаций, проведенной в соответствии с требованиями ТКП 432, а при наличии специфических особенностей, присущих биологическими тестам, согласно [2].

### 8 Тесты, включаемые в спецификации

ГФ РБ [3] содержит важные требования к аналитическим методам и критериям приемлемости получаемых с их помощью результатов, которые могут быть использованы для характеристики биологических ле-

карственных средств (субстанций). Примерами монографий, применимых к данной продукции, являются статьи на стерильность, содержание эндотоксинов (пирогенность), микробиологическую чистоту, однородность дозирования и ряд других. При необходимости, производитель разрабатывает собственные процедуры тестирования и критерии приемлемости, идентичные или методологически эквивалентные фармакопейным.

### 8.1 Спецификации на биологические субстанции

Приведенные ниже показатели включаются в спецификации на все биологические субстанции. В зависимости от природы целевого продукта используют дополнительные тесты, указанные в ГФ РБ (например, пирогенность).

#### 8.1.1 Внешний вид и описание

Необходимо представить описание физического состояния (например, твердое, жидкое), и других свойств (гигроскопичность, запах, кристалличность, прозрачность (для жидкостей), цвет и др.) субстанции.

#### 8.1.2 Подлинность

Тесты на подлинность должны быть высокоспецифичными для каждой субстанции и учитывать уникальные свойства молекулярной структуры и/или другие отличительные особенности. Для установления подлинности может потребоваться проведение более одного испытания (физико-химического, биологического и/или иммунохимического).

#### 8.1.3 Чистота, наличие примесей

Абсолютную чистоту биологических субстанций, как правило, трудно установить, а результаты в значительной степени зависят от используемого метода. Поэтому рекомендуется использовать комбинацию методов. При выборе и оптимизации аналитических процедур основное внимание должно быть уделено отделению целевого продукта от примесей или от веществ, связанных с ним.

Информация по классификации примесей и аналитических методов, используемых для их оценки, приведена в приложении Б.

#### 8.1.4 Эффективность (potency)

Используют подходящий валидированный метод определения биологической активности.

#### 8.1.5 Количественное определение

Количество фармацевтической субстанции, как правило, соответствует содержанию белка, установленному соответствующим методом.

### 8.2. Спецификации на биологические лекарственные средства

Приведенные ниже показатели включаются в спецификации на все биологические лекарственные средства. К конкретным типам лекарственных форм применяются соответствующие требования, изложенные в ГФ РБ.

#### 8.2.1 Внешний вид и описание

Необходимо представить описание физического состояния (например, твердое, жидкое) и других свойств (гигроскопичность, запах, кристалличность, прозрачность (для жидкостей), цвет и др.) лекарственного средства.

#### 8.2.2 Подлинность

Тесты на подлинность должны быть высокоспецифичными для каждого лекарственного средства и учитывать уникальные свойства молекулярной структуры и/или другие отличительные особенности. Они могут носить качественный характер. Для установления подлинности может потребоваться проведение более одного испытания (физико-химического, биологического и/или иммунохимического). Примеры рекомендуемых методов, используемых для установления подлинности, приведены в приложении А.

#### 8.2.3 Чистота и примеси

Примеси могут появиться или накопиться в процессе производства и/или хранения биологического лекарственного средства. Их состав может быть аналогичным профилю примесей, установленному для активной субстанции, либо отличаться от него благодаря особенностям технологического процесса получения и условий хранения.

Если количественный и качественный состав примесей в субстанции и лекарственном средстве совпадает, то нет необходимости проводить дополнительные тесты. В противном случае, профиль образующихся примесей должен быть охарактеризован, допустимые пределы их содержания следует обосновать.

#### 8.2.4 Эффективность (potency)

Используют подходящий валидированный метод определения биологической активности.

#### 8.2.5 Количественное определение

Количество фармацевтической субстанции в лекарственном средстве, как правило, соответствует содержанию белка, установленному соответствующим методом. В случае если производственный процесс основан на показателях эффективности, не требуется использование дополнительных методов количественного определения.

#### 8.2.6 Общие тесты

Описание физического состояния и показатели других качественных характеристик (рН, осмолярность и др.) также включают в спецификации на биологические лекарственные средства, в зависимости от их типа.

**8.2.7 Дополнительные тесты для конкретных лекарственных форм (способов дозирования)**

Для конкретных лекарственных форм (способов дозирования) производители включают специфические тесты.

№ 202311311431\_218935\_34800 Рабочий экземпляр Производственное республиканское унитарное предприятие "Минсклиттеркаст"  
Дата печати: 13.11.2023 11:14:31 Распечатан Сиволош Юрий Николаевич для Сиволош Юрий Николаевич



## Приложение А (рекомендуемое)

### Аналитические методы, используемые для характеристики физико-химических свойств биологических лекарственных средств (субстанций)

В приложении приведены примеры методов, использование которых рекомендуется для характеристики физико-химических свойств биологических лекарственных средств (субстанций). Выбор конкретных методик определяется особенностями целевого продукта. Допускается применение иных методов, в том числе вновь разработанных или усовершенствованных.

#### А.1 Установление и подтверждение структуры

##### А.1.1 Аминокислотная последовательность

Следует с максимально возможной точностью установить аминокислотную последовательность целевого продукта и сопоставить с последовательностью, теоретически рассчитанной на основе данных генетического анализа целевого продукта.

**А.1.2** Общий аминокислотный состав определяют с помощью различных гидролитических и аналитических процедур, в том числе 2.2.56 [3] и сопоставляют с составом, теоретически рассчитанным на основе данных генетического анализа целевого продукта, или, при необходимости, природного аналога. В ряде случаев анализ аминокислотного состава позволяет получить полезную информацию относительно структуры пептидов и небольших белков, хотя для более крупных молекул протеинов такие данные, как правило, не обладают высокой точностью. Результаты количественного определения аминокислот могут быть использованы для установления содержания белка.

##### А.1.3 Последовательность терминальных аминокислот

Анализ терминальных аминокислот проводят с целью установления природы и однородности аминок- и карбоксиконцевых аминокислот. Если целевой продукт получается гетерогенным из-за наличия форм с разным соотношением терминальных аминокислот, с помощью соответствующих аналитических процедур следует определить относительное количество модификаций. Последовательность терминальных аминокислот следует сопоставить с терминальной аминокислотной последовательностью, теоретически рассчитанной на основе данных генетического анализа целевого продукта.

##### А.1.4 Пептидное картирование

Селективное расщепление белка на пептиды осуществляют с помощью соответствующих ферментов или химических веществ. Получившиеся в результате процедуры пептидные фрагменты анализируют с помощью ВЭЖХ 2.2.29 [3] или других аналитических методов. Пептидные фрагменты следует, по возможности, идентифицировать с использованием таких методик, как анализ компонентного состава аминокислот, N-терминальное секвенирование, или масс-спектрометрия 2.2.43 [3]. Пептидное картирование 2.2.55 [3] биологических лекарственных средств (субстанций) с использованием подходящих валидированных процедур является методом, который часто используют для подтверждения структуры целевого продукта.

##### А.1.5 Характеристики сульфгидрильных групп, дисульфидных мостиков

Если, исходя из результатов генетического целевого продукта, предполагается наличие остатков цистеина, следует определить с максимально возможной точностью количество и расположение всех свободных сульфгидрильных групп и/или дисульфидных мостиков. С этой целью используют пептидное картирование (в восстанавливающих/невосстанавливающих условиях), масс-спектрометрию или другие соответствующие методы.

##### А.1.6 Углеводная структура

Для гликопротеинов определяют содержание углеводов (нейтральных сахаров, аминсахаров и сиаловых кислот). Кроме того, по возможности, анализируют структуру углеводных цепочек, профиль распределения олигосахаридов (антенарный профиль) и сайт(ы) гликозилирования полипептидной цепи.

#### А.2 Установление физико-химических свойств

##### А.2.1 Молекулярная масса (размер)

Молекулярную массу (размер) определяют с помощью гель-хроматографии 2.2.30 [3], SDS-PAGE (в восстанавливающих/невосстанавливающих условиях), масс-спектрометрии 2.2.43 [3] и других соответствующих методов.

##### А.2.2 Профиль изоформ

Профиль изоформ определяют изoeлектрическим фокусированием 2.2.54 [3] или другими подходящими методами.

##### А.2.3 Коэффициент экстинкции (молярный коэффициент поглощения)

Во многих случаях желательно определять коэффициент экстинкции (молярный коэффициент поглощения) для целевого продукта при определенной длине волны УФ/видимого диапазона (например, 280 нм). Коэффициент экстинкции определяют с помощью спектрофотометрии раствора, содержащего вещество с

известным содержанием белка, установленным по результатам анализа аминокислотного состава, содержания общего азота и т. д. Если УФ-спектрометрию используют для измерения содержания белка, необходимо указывать молярный коэффициент для каждого конкретного продукта.

**A.2.4 Электрофоретический профиль**

Электрофоретический профиль, а также сведения о подлинности, однородности и чистоте можно получить методами электрофореза в полиакриламидном геле 2.2.31 [3], изоэлектрического фокусирования 2.2.54 [3], SDS-PAGE, вестерн-блоттинга, капиллярного электрофореза 2.2.47 [3] и др.

**A.2.5 Хроматографический профиль**

Хроматографический профиль, а также сведения о подлинности, однородности и чистоте можно получить методами гель-хроматографии 2.2.30 [3], обращенно-фазной ВЭЖХ 2.2.29 [3], ионообменной жидкостной хроматографии, аффинной хроматографии или другими подходящими методами.

**A.2.6 Спектральный профиль**

Спектры поглощения в видимой/УФ области снимают по мере необходимости. Характеристики структур высшего порядка изучают с помощью таких методов, как круговой дихроизм 2.2.41 [3], спектрометрия ЯМР 2.2.33 [3] и др.

## Приложение Б (рекомендуемое)

### Характеристика примесей и аналитические методы, используемые для их обнаружения

В приложении приведена классификация примесей, а также примеры методов, использование которых рекомендуется с целью их обнаружения и количественного определения. Профиль примесей зависит от особенностей целевого продукта и производственного процесса получения биологического лекарственного средства (субстанции). Допускается применение иных методик, в том числе вновь разработанных или усовершенствованных.

#### Б.1 Примеси, обусловленные производственным процессом, и контаминанты

Данные примеси могут быть разделены на следующие категории:

##### Б.1.1 Связанные с клеточным субстратом

К примесям, связанным с клеточным субстратом, относят белки, нуклеиновые кислоты (геном, вектор или полная ДНК), происходящие от клеток хозяина, и т.п. Для обнаружения белков клетки-хозяина, как правило, используют чувствительные тесты, например, иммуноферментный анализ. Содержание ДНК клетки-хозяина можно определить прямыми методами (например, с использованием гибридизации). При условии подтверждения удаления примесей данного класса в ходе производственного процесса (в том числе, и на лабораторных сериях) валидированными методами, можно не проводить их нормирование.

##### Б.1.2 Связанные с культурой клеток

К примесям, связанным с культурой клеток, относят антибиотики, индукторы, сыворотку и другие компоненты культуральной среды.

##### Б.1.3 Связанные с веществами, использующимися в процессе производства

К примесям, связанным с веществами, использующимися в процессе производства, относят ферменты, химические и биохимические реагенты (например, цианогенбромид, гуанидин, окислители и восстановители), неорганические соли (например, тяжелых металлов, мышьяка, содержащие ионы неметаллов), растворители, переносчики, лиганды (например, моноклональные антитела), и др.

Способность производственного процесса удалять (инактивировать) вирусы (случайно привнесенные или эндогенные) должна быть подтверждена в соответствии с ТКП 515.

#### Б.2 Примеси, связанные с целевым продуктом (включая продукты деградации)

Ниже приведены примеры наиболее часто встречающихся модификаций целевого продукта, также перечень методик, рекомендуемых к использованию с целью оценки их свойств. Могут потребоваться значительные усилия для выделения и тестирования различных молекулярных форм.

##### Б.2.1 Усеченные формы

Гидролитические ферменты или химические вещества могут катализировать расщепление пептидных связей. Данный факт можно обнаружить с помощью ВЭЖХ 2.2.29 [3] и SDS-PAGE. В зависимости от природы целевого продукта может применяться также пептидное картирование 2.2.55 [3].

##### Б.2.2 Другие модифицированные формы

Деаминарованные, изомеризованные, с несопряженной S-S связью, окисленные или преобразованные конъюгированные формы (например, гликозилированные, фосфорилированные) возможно обнаружить при помощи хроматографических, электрофоретических и/или других соответствующих аналитических методов (например, ВЭЖХ 2.2.29 [3], капиллярного электрофореза 2.2.47 [3], масс-спектрометрии 2.2.43 [3], кругового дихроизма 2.2.41 [3]).

##### Б.2.3 Агрегаты

В эту категорию входят димеры и более сложные комплексы. Как правило, их отделяют от целевого продукта и связанных с ним веществ, и количественно определяют соответствующими аналитическими методами (например, гель-хроматографией 2.2.30 [3], капиллярным электрофорезом 2.2.47 [3]).

Б.2.4 Продукты деградации, образующиеся в ходе производственного процесса и/или хранения в значительных количествах, следует мониторировать и обосновывать приемлемые диапазоны их содержания.

## Библиография

- [1] Государственная фармакопея Республики Беларусь, Том 3, Молодечно: Типография «Победа», 2009.
- [2] EMEA/CHMP/EWP/192217/2009  
European Medicines Agency  
Committee for medicinal products for human  
use: London, November 2009  
(Европейское медицинское агентство,  
Комитет по патентованным лекарственным  
средствам для человека, Лондон, Ноябрь  
2009)
- Guideline on validation of bioanalytical methods  
(Руководство по валидации биоаналитических мето-  
дов)  
*Неофициальный перевод Государственного пред-  
приятия «НПЦ ЛОТИОС»*  
*Перевод с английского языка (en)*
- [3] ГФ РБ II – 2-е изд. – т.1. Молодечно, 2012.

Директор государственного предприятия «НПЦ ЛОТИОС»,  
д.м.н., профессор

Гапанович В.Н.

Заведующий отделом экспериментальной медицины и фарма-  
ции Государственного предприятия «НПЦ ЛОТИОС», к.б.н.,  
доцент

Мельнова Н.И.

Заместитель директора по научной работе Государственного  
предприятия «НПЦ ЛОТИОС», к.б.н.

Андреев С.В.

Заведующий отделом промышленной биотехнологии Государ-  
ственного предприятия «НПЦ ЛОТИОС», к.б.н.

Белявский К.М.

Младший научный сотрудник отдела экспериментальной ме-  
дицины и фармации Государственного предприятия  
«НПЦ ЛОТИОС»

Каратай Н.М.