



ЗАКЛЮЧЕНИЕ СПЕЦИАЛИСТА

по результатам химического исследования

№20-06/16

от «16» июля 2016 г.

«20» июня 2016 г., 10 час. 00 мин.
(дата, время начала производства экспертизы)

«16» июля 2015 г., 17 час. 00 мин.
(дата, время окончания производства экспертизы)

г. Москва
(место производства экспертизы)

Основание производства исследования:

Договор на оказание услуг №20-06/16 от 20июня 2016 г.

Специалист, выполнивший исследование:

Топилин Сергей Васильевич

ВВОДНАЯ ЧАСТЬ

1. «20» июня 2016 года в ООО «Центр химических исследований» поступил запрос на проведение химического исследования лекарственного препарата, содержащего активное действующее вещество - соматропин.

2. При запросе на исследование представлены материалы:

Образец лекарственного препарата «Соматропин» в количестве 2 флакона.

3. При проведении физико-химического исследования были поставлены следующие задачи:

1. Определить, содержится ли в представленном на исследование лекарственном препарате активное действующее вещество соматропин;

2. Определение количественное содержание соматропина в лекарственном препарате;

3. Определить содержание примесей (родственных белков).

4. Проведение исследования поручено Топилину Сергею Васильевичу.

Сведения о специалисте: химик – судебный эксперт, имеющий высшее химическое образование (Диплом Ростовского государственного университета ДВС №0886528, 2001 г), сертифицирован в качестве негосударственного судебного эксперта (Сертификат соответствия №003558 Палаты судебных экспертов по специальности: «Основы судебной экспертизы», 2012г.), свидетельство о повышении квалификации по программе «Повышение квалификации специалистов, ответственных за качество, упаковку и маркировку лекарственных средств, в т.ч. уполномоченных лиц», прошедшему стажировку на кафедре организации производства и реализации лекарственных средств фармацевтического факультета Первого Московского государственного медицинского университета имени И. М. Сеченова, стаж работы по специальности – 11 лет;

5. Сведения об организации:

Общество с ограниченной ответственностью «Центр химических исследований» (ООО «ЦХИ») зарегистрировано в установленном порядке. Свидетельство о государственной регистрации организации выдано Межрайонной инспекцией Федеральной налоговой службы №46 по г. Москве Москве (ОГРН 1137746231314).

ООО «Центр химических исследований» осуществляет деятельность на основании Устава и действующего законодательства Российской Федерации.

Проведение химических исследований (экспертиз) является уставной деятельностью организации.

ООО «Центр химических исследований» сертифицировано в соответствии с требованиями ГОСТ ISO9001-2011(ISO9001:2008, IDT) «Система менеджмента качества. Требования». Срок действия с 31 августа 2015 г. по 30 августа 2018 г.

Юридический адрес: 115172, г. Москва, ул. М. Каменщики, д. 18, стр. 16

Телефон: 8(499)390-40-13. Интернет-сайт: центр-химических-исследований.рф. Адрес электронной почты: ckkls@yandex.ru

6. Перечень использованной литературы:

При исследовании и разработке методик использовались методы изложенные в следующей специальной литературе:

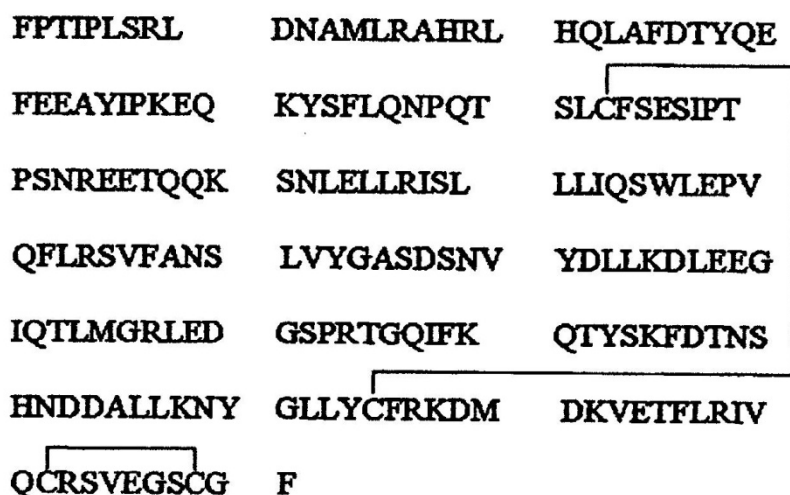
1. База данных Mascot, www.matrixscience.com
2. USP 29 Monograph. Somatropin.

7. Перечень оборудования:

- MALDI-времяпролетный масс-спектрометр Ultraflextreme BRUKER (Германия)
- ВЭЖХ / хроматомасс спектрометр Agilent 1200 Series.
- УФ-ВИД Спектрофотометр Varian «Cary-100».
- Весы лабораторные OhausRV313.
- pH-метр МЕТРОНМ «827 pH lab»

ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКАЯ ЧАСТЬ

Соматропин (гормон роста человека) - одноцепочечный полипептид, состоящий из 191 аминокислотного остатка. Имеет следующее химическое строение:



Эмпирическая формула соматропина: $C_{990}H_{1528}N_{262}O_{300}S_7$. Молекулярная масса: 22125Да.

1. Определение подлинности соматропина.

Для подтверждения подлинности соматропина исследуемый объект сравнивался по такому параметру как время удерживания со стандартным (эталонным) образцом соматропина, который исследовался ранее с целью подтверждения его подлинности методом трипсического гидролиза и последующего анализа полученных продуктов гидролиза (пептидов) методом MALDI-масс-спектрометрией с последующим поиском полученных молекулярных масс в базе данных Mascot.

Трипсический гидролиз: К 2 мкл раствора белка прибавляли 10 мкл раствора модифицированного трипсина (Promega) с концентрацией 25 мкг/мл в 0.05 М NH_4HCO_3 . Гидролиз проводили в течение 30 мин при 37°C, затем к раствору добавляли 7 мкл 0.5 % ТФУ в 50 % растворе водного ацетонитрила и тщательно перемешивали. Раствор использовали для получения MALDI-масс-спектров.

Подготовка образцов для масс-спектрометрии. На мишени смешивали по 2 мкл раствора образца и 0.5 мкл раствора 2,5-

дигидроксibenзойной кислоты (Aldrich, 10 мг/мл в 20 % водном ацетонитриле, 0.5% ТФУ), полученную смесь высушивали на воздухе.

Масс-спектры были получены на MALDI-времяпролетно-времяпролетном масс-спектрометре Ultraflex extreme BRUKER (Германия), оснащенном УФ лазером (Nd) в режиме положительных ионов с использованием рефлектрона; точность измеренных моноизотопных масс после докалибровки по пикам автолиза трипсина составляла 0.007 % (70 ppm). Спектры получали в диапазоне масс 500-4500 m/z, выбирая мощность лазера оптимальную для достижения наилучшего разрешения.

Идентификация белка. Осуществляли при помощи программы Mascot. Масс-спектры были обработаны с помощью программного пакета FlexAnalysis 3.3 (Bruker Daltonics, Германия). При помощи программы Mascot (опция «пептидный фингерпринт») провели поиск в базе данных NCBI среди белков всех организмов с указанной выше точностью, с учетом возможного окисления метионинов кислородом воздуха. Кандидатные белки, имеющие параметр достоверности score >88 в базе данных NCBI считали определенными надежно (p<0.05).

Результаты анализа. Согласно поиску по базе данных, стандартный (эталонный) образец представляет собой заявленный гормон роста человека (191 аминокислота массой 22125 Да) без примесей других белков. Структура белка набирается полностью.

Препарат исследуемого образца сравнивали со стандартным (эталонным) образцом в нижеприведенных условиях хроматографирования (определение содержания родственных белков), было обнаружено, что оба образца имеют одинаковое время удерживания и масс-спектр, что свидетельствует о том, что данный препарат идентичен стандартному (эталонному) образцу по своему составу.

2. **Определение содержания родственных белков.**

Определение проводили методом обращеннофазовой ВЭЖХ.

Из флакона отбирали 20 мкл имеющегося раствора. Перед началом определения хроматографическую колонку промывали 0,1% раствором трифторуксусной кислоты в 50% растворе ацетонитрила.

Условия хроматографирования. Колонка из нержавеющей стали Reprosil-Pur Basic-C18- 250 x 4,6 мм, заполненная суперчистым силикагелем,

с диаметром пор 100 ангстрем и размером частиц 5 мкм. Подвижная фаза – смесь 29 частей пропанола и 71 части 0,05 М трис-буферного раствора гидрохлорида с рН 7,5. Детектор УФ 220 нм. Скорость подвижной фазы 0,5 мл/мин. Объем вводимой пробы 20 мкл. Температура термостата колонки – 45 °С.

Результаты анализа. Чистота образца поданным УФ– детектора составила 99,0%.

3. Количественное определение содержания белка (соматропина).

Для определения содержания белка в образце готовили раствор стандартного образца содержащего 4,62 мг (14 ед) соматропина на флакон в 2 мл воды и сравнивали с величиной интенсивности пика исследуемого образца приготовленного растворением в 2 мл воды.

В результате проведенного расчета обнаруженное содержание соматропина 3,33 мг (10 единиц) на флакон.

ВЫВОД

По вопросу 1.

Определить, содержится ли в представленном на исследование лекарственном препарате активное действующее вещество соматропин.

Представленный на исследование препарат содержит в своем составе заявленный гормон роста человека – соматропин.

По вопросу 2.

Определение количественное содержание соматропина в лекарственном препарате;

Количественное содержание соматропина в препарате 3,33 мг (10 единиц) на флакон.

По вопросу 3.

Определить содержание примесей (родственных белков).

Чистота представленного на исследование препарата составляет 99 %.

Специалист

С.В. Топилин

Стр. 6

Приложения:

Приложение 1. Внешний вид объекта исследования.

Приложение 2. Масс-спектр трипсического гидролизата выделенного белка стандартного (эталонного) образца.

Приложение 3. Хроматограммы с УФ, ELSD и масс-детекторами стандартного (эталонного) образца соматропина.

Приложение 4. Хроматограммы с УФ и ELSD и масс-детекторами исследуемого образца.

Приложение 5. Копии документов, подтверждающих компетенцию специалиста.

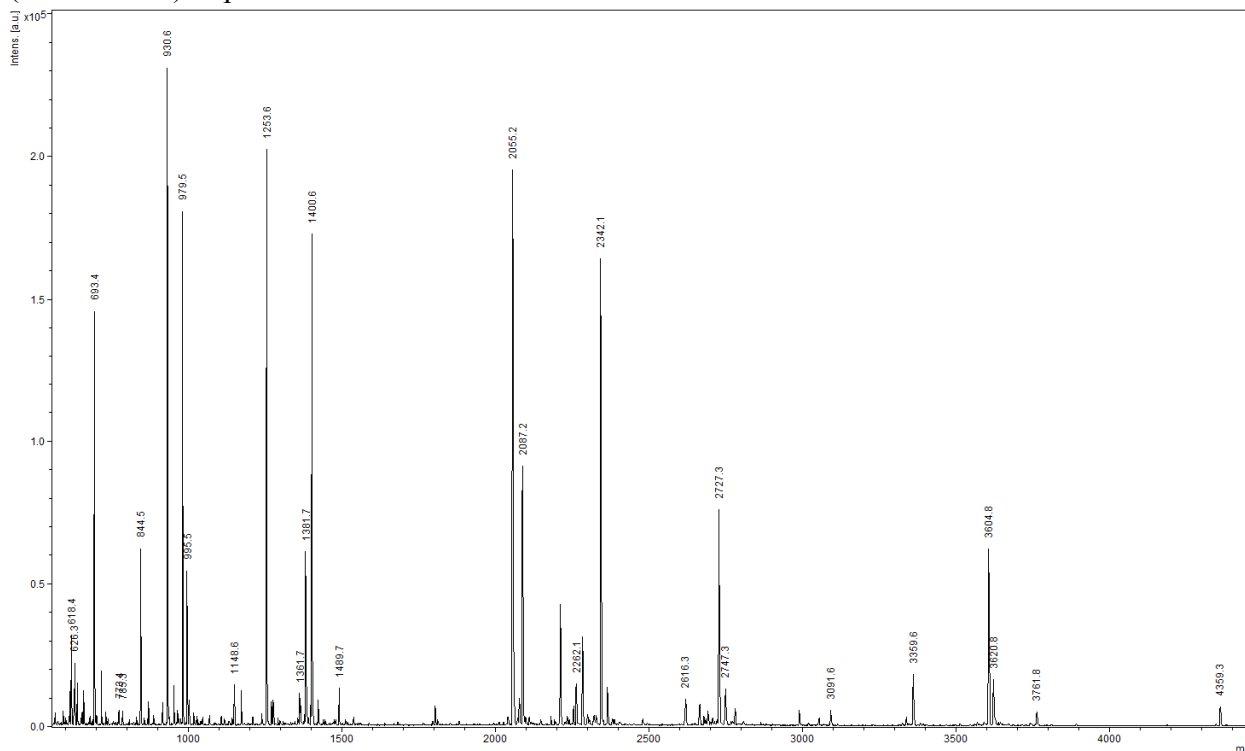
Приложение 6. Сертификаты соответствия экспертного учреждения.

Приложения:

Приложение 1. Внешний вид объекта исследования.



Приложение 2. Масс-спектр трипсического гидролизата выделенного белка стандартного (эталонного) образца.



Сопоставление стандартного (эталонного) образца с базой данных Mascot.

MATRIX SCIENCE Mascot Search Results

Database : NCBIInr 20140220 (36984152 sequences; 13075283088 residues)
 Timestamp : 27 February 2014 at 09:06:05 GMT
 Top Score : 369 for **gi|2781338**, Chain A, 1:2 Complex Of Human Growth Hormone With Its Soluble Binding Protein

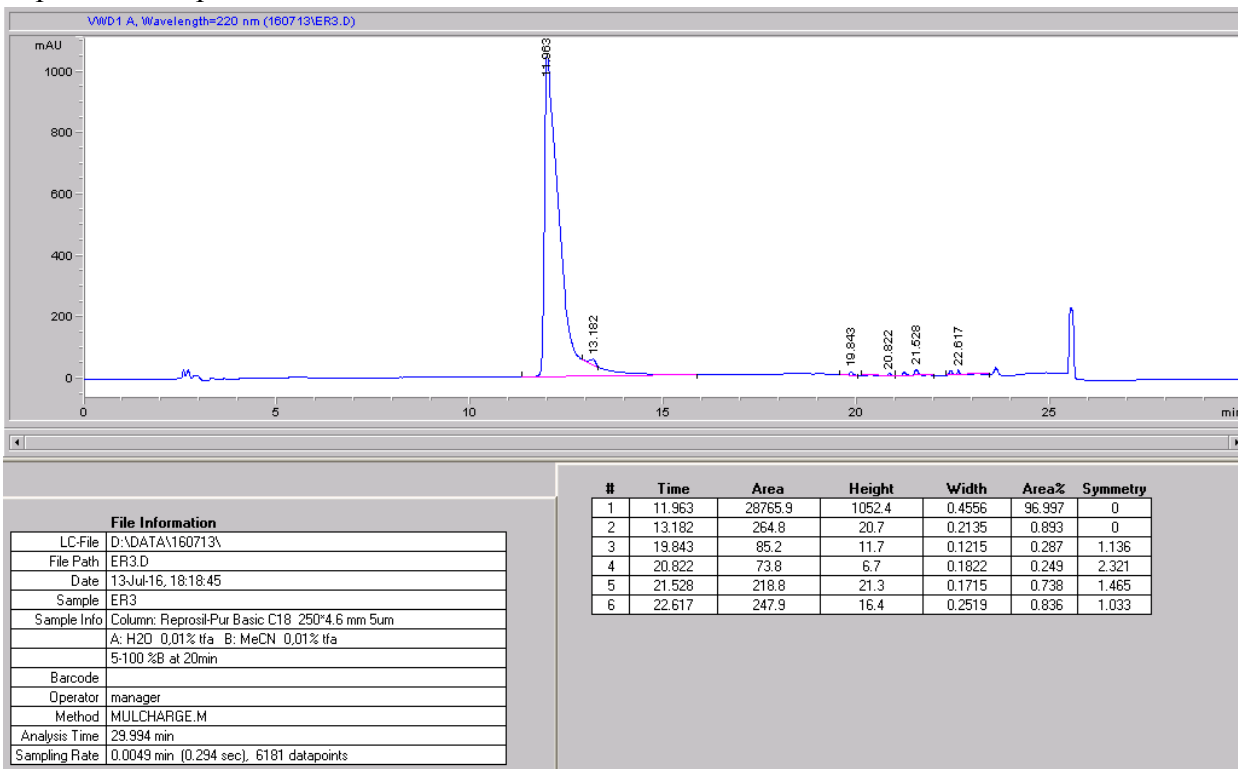
	NCBIInr	Decoy
Protein hits above identity threshold	52	0
Highest scoring protein hit	369	85

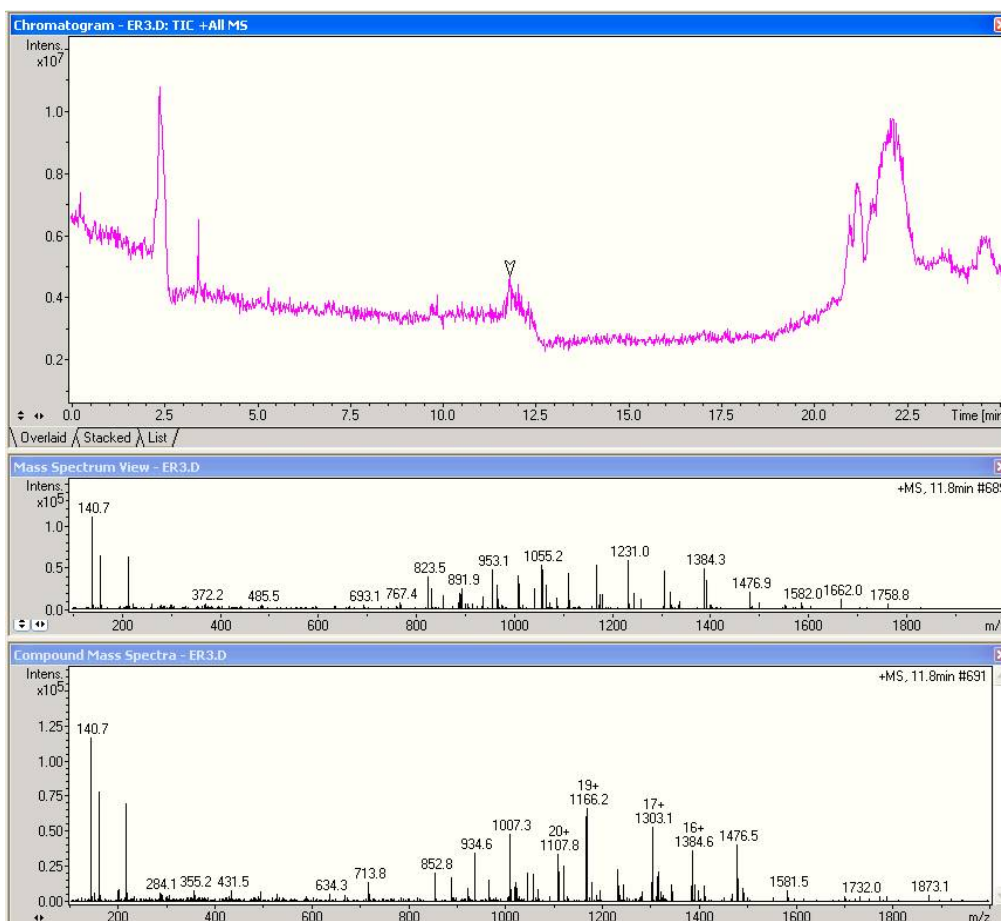
Mascot Score Histogram

Protein score is $-10 \cdot \log(P)$, where P is the probability that the observed match is a random event.

Protein scores greater than 88 are significant ($p < 0.05$).

Приложение 3. Хроматограмма с УФ и масс-детекторами стандартного (эталонного) образца соматропина.





Результаты Деконволюции масспектра пика с временем удерживания 11,96 мин.

Component	Molecular Mass	Average Mass	Molecule	Absolute Abundance	Relative Abundance
A	22138.0	22138.0	[M + H] ⁺	210500	100.00
B	22144.7	22144.7	[M + H] ⁺	75082	35.67
C	22351.5	22351.5	[M + H] ⁺	37998	18.05

Component A Detail

Actual Peak	Charge	Isotopic Mass ([M + H] ⁺)	Predicted Peak
1107.8	20+	22136.5	1107.9
1166.2	19+	22139.7	1166.2
1230.9	18+	22138.7	1230.9
1303.1	17+	22136.3	1303.1
1384.6	16+	22138.3	1384.6

Molecular Mass ([M + H]⁺): 22138.0 Std. Deviation: 0.773106
 Average Mass ([M + H]⁺): 22138.0

Component B Detail

Actual Charge Peak	Isotopic Mass ([M + H] ⁺)	Predicted Peak
1007.5 22+	22144.0	1007.5
1055.5 21+	22144.3	1055.5
1108.3 20+	22146.1	1108.2

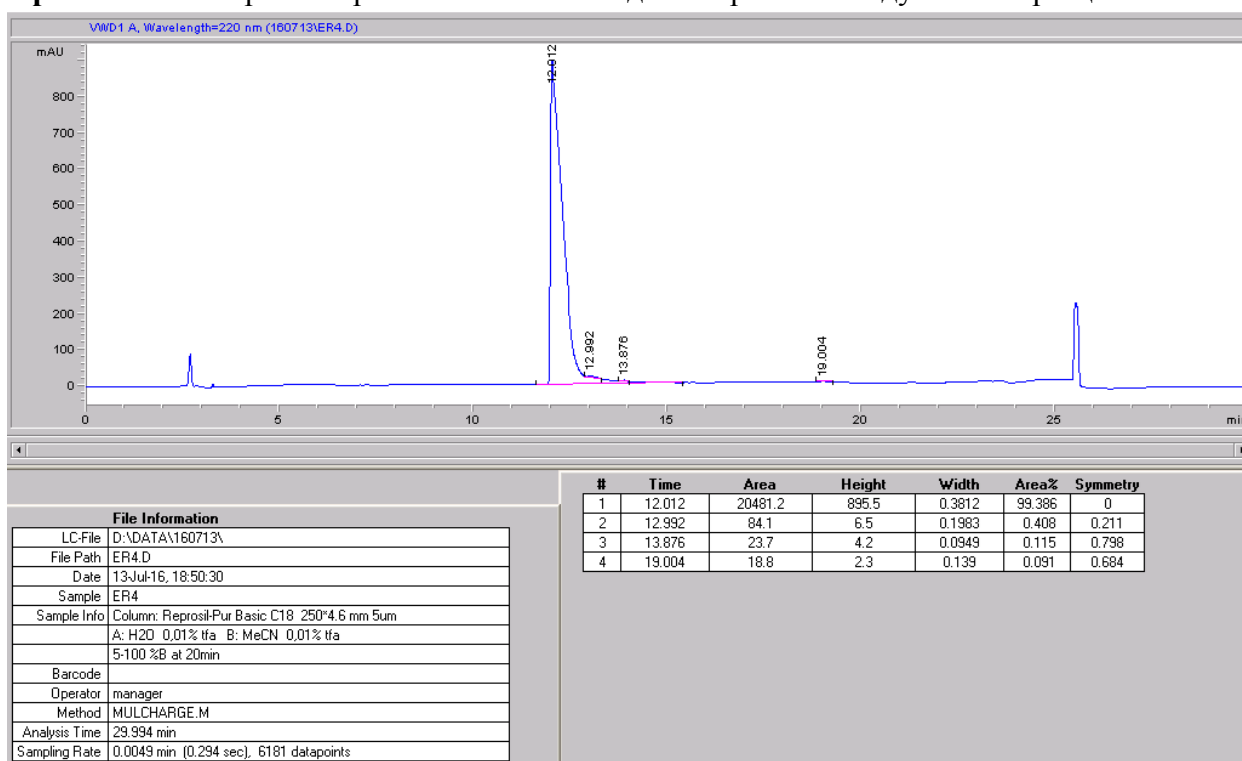
Molecular Mass ([M + H]⁺): 22144.7 Std. Deviation: 0.486649
 Average Mass ([M + H]⁺): 22144.7

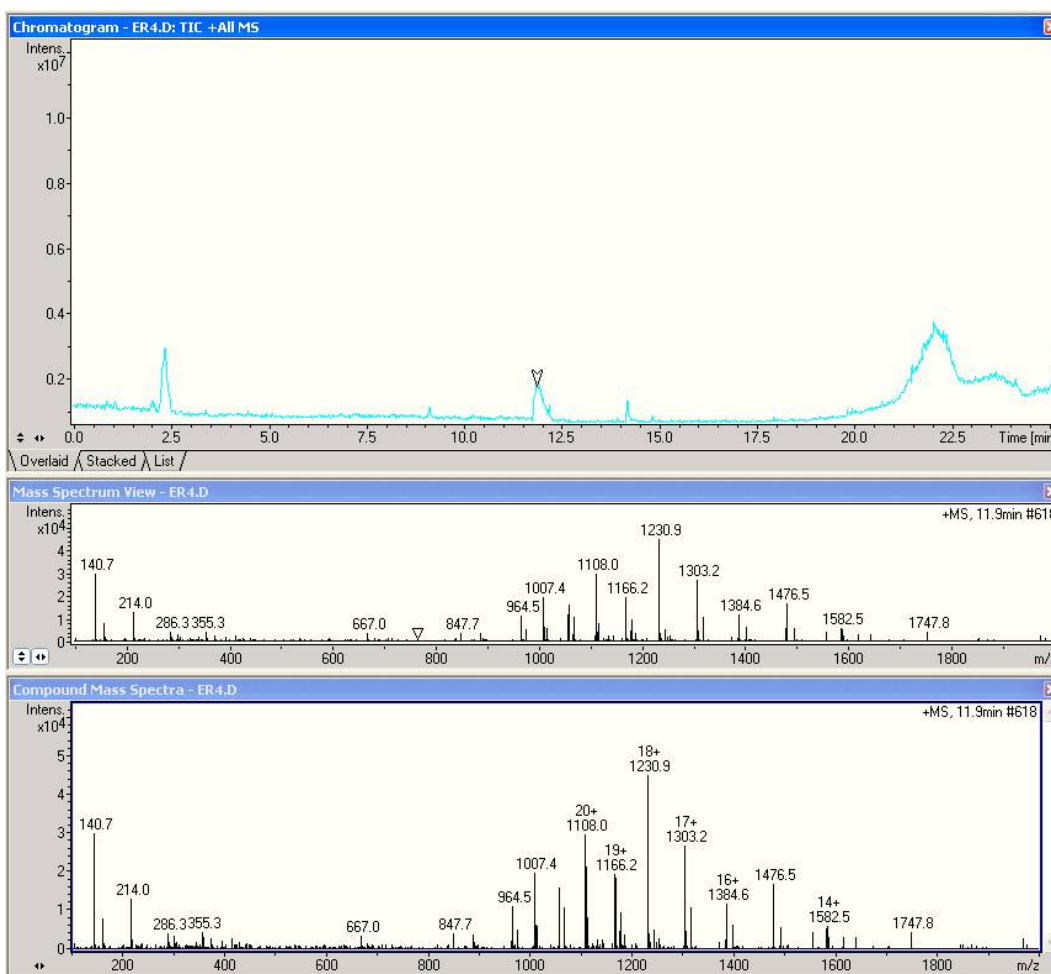
Component C Detail

Actual Charge Peak	Isotopic Mass ([M + H] ⁺)	Predicted Peak
1177.3 19+	22350.4	1177.3
1242.8 18+	22352.4	1242.8
1315.8 17+	22352.0	1315.8

Molecular Mass ([M + H]⁺): 22351.5 Std. Deviation: 0.671013
 Average Mass ([M + H]⁺): 22351.5

Приложение 4.Хроматограммы с УФ и масс-детекторами исследуемого образца.





Результаты деконволюции.

Component	Molecular Mass	Average Mass	Molecule	Absolute Abundance	Relative
A	22135.5	22135.5	[M + H] ⁺	84327	100.00
B	22460.6	22460.6	[M + H] ⁺	22455	26.63

Component A Detail

Actual Peak	Charge	Isotopic Mass ([M + H] ⁺)	Predicted Peak
1165.9	19+	22133.5	1165.9
1230.8	18+	22137.4	1230.8
1302.9	17+	22133.9	1303.0
1384.4	16+	22134.6	1384.4

Molecular Mass ([M + H]⁺): 22135.5 Std. Deviation: 0.720759
 Average Mass ([M + H]⁺): 22135.5

Component B Detail

Actual Charge Peak	Isotopic Mass ([M + H] ⁺)	Predicted Peak
1070.5 21+	22460.6	1070.5
1124.0 20+	22460.4	1124.0
1183.1 19+	22460.8	1183.1

Molecular Mass ([M + H]⁺): 22460.6 Std. Deviation: 0.163921
Average Mass ([M + H]⁺): 22460.6

Приложение 5. Копии документов, подтверждающих компетенцию специалиста.





СВИДЕТЕЛЬСТВО

О ПОВЫШЕНИИ КВАЛИФИКАЦИИ

Настоящее свидетельство выдано Дополни (фамилия, имя, отчество)
Сергею Васильевичу
 в том, что он(а) с "24" марта 2012 г. по "24" апреля 2012 г.

повышил(а) свою квалификацию в (на) Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Институт Фармацевтических Наук Российской Академии Наук»
 по образовательной программе (специализации) «Повышение квалификации специалистов в области качества, управления и маркетингу лекарственных средств»
за качество, управление и маркетингу лекарственных средств, в т.ч. Уполномоченных ЛМБ
 в объеме 156 часов (количество часов)
 За время обучения сдад(а) зачеты и экзамены по основным дисциплинам программы:

Наименование	Количество часов	Оценка
Законодательные регламентирующие процедуры лекарственных препаратов. Практика GMP	26	зачтено
Система документирования. Термины	28	зачтено
Система обеспечения качества. Взаимодействие	70	зачтено
Интеллектуальные права, роль фармацевта	32	зачтено

Прошел(а) стажировку в на территории организации производства и реализации лекарственных средств фармацевтического предприятия
 выполнил(а) итоговую работу на тему: «Поиск новых лекарственных средств»
по теме: «Поиск новых лекарственных средств» (наименование темы)

Город Москва Год 2012
 М.П. Секретарь [подпись]

Свидетельство является государственным документом о повышении квалификации

Фармацевтический факультет - 3054
 Регистрационный номер _____

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ И СОЦИАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
(ФГБУ НЦЭСМП Минздравсоцразвития России)

СВИДЕТЕЛЬСТВО

Выдано Шопилину
Сергею Васильевичу

в том, что он (а) прошел (ла) обучение в семинаре

*«Современные требования к упаковке,
маркировке и хранению лекарственных
средств»*

И. о. генерального директора



Миронов А.Н.

г. Москва
28 сентября 2010 г.

некоммерческое партнерство
“ПАЛАТА СУДЕБНЫХ ЭКСПЕРТОВ”

Москва

26 декабря 2012 г.

СВИДЕТЕЛЬСТВО

*Топилин Сергей
Васильевич*

прошел (прошла) обучение по программе
повышения квалификации судебных экспертов
в объеме 104 учебных часов:

«Основы судебной экспертизы»

утвержденной Приказом Минюста России от 06 июля 2004 г., № 123.



Генеральный директор
НП «СУДЭК»

 С.Е.Киселев

**Федеральный закон
«О государственной судебно-экспертной деятельности в Российской Федерации»
(№73-ФЗ от 31.05.2001).**

Статья 41. Распространение действия настоящего Федерального закона на судебно-экспертную деятельность лиц,
не являющихся государственными судебными экспертами

В соответствии с нормами процессуального законодательства Российской Федерации судебная экспертиза может
производиться вне государственных судебно-экспертных учреждений лицами, обладающими специальными знаниями
в области науки, техники, искусства или ремесла, но не являющимися государственными судебными экспертами.

**СИСТЕМА ДОБРОВОЛЬНОЙ СЕРТИФИКАЦИИ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ СУДЕБНЫХ
ЭКСПЕРТОВ И СУДЕБНО-ЭКСПЕРТНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ, ОСУЩЕСТВЛЯЮЩИХ
ПРОИЗВОДСТВО СУДЕБНЫХ ЭКСПЕРТИЗ**

Зарегистрирована в Едином реестре зарегистрированных систем добровольной
сертификации Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии
Российской Федерации

Регистрационный № РОСС RU.И998.04ЖЗБ0 от 11.12.2012г.



Орган по сертификации:

Некоммерческое партнерство
"Сибирская Гильдия Судебных Экспертов"

СЕРТИФИКАТ СООТВЕТСТВИЯ

№ 177550147

Действителен с «15» октября 2015г. по «14» октября 2018 г.

Настоящий сертификат удостоверяет, что:

Топилин Сергей Васильевич

*является компетентным и соответствует требованиям Системы добровольной
сертификации деятельности судебных экспертов и судебно-экспертных организаций,
осуществляющих производство судебных экспертиз в области:*

**«Применение хроматографических методов при исследовании
объектов судебной экспертизы»**

Основание для выдачи сертификата:

Решение экспертной комиссии № 104
от 15 октября 2015г.



Руководитель органа

А.Н. Дударев

Приложение 6. Сертификаты соответствия экспертного учреждения.



INTERNATIONAL QUALITY STANDART



Система добровольной сертификации
«МЕЖДУНАРОДНЫЙ СТАНДАРТ КАЧЕСТВА»
(СИСТЕМА «МСК»)

Зарегистрирована в Федеральном агентстве по техническому регулированию и метрологии
Регистрационный номер в едином реестре зарегистрированных
Систем добровольной сертификации
РОСС RU.3707.04ЮАЕ0

Орган по сертификации «Современные Стандарты Качества»
115533 г. Москва, проспект Андропова д.22, тел.: 8-800-250-92-90; +7(499)951-01-90

СЕРТИФИКАТ СООТВЕТСТВИЯ

№ RU.MCK.009.005.CM.0516

Срок действия с 31 августа 2015 г. по 30 августа 2018 г.

Выдан: **Обществу с ограниченной ответственностью**
«Центр химических исследований»
107143, г. Москва, ул. Вербная, д.8, стр. 5, офис 207
ОГРН: 1137746231314, ИНН: 7705535640

Настоящий сертификат удостоверяет, что
Система менеджмента качества при осуществлении видов работ,
указанных в приложении к настоящему сертификату соответствия

соответствует требованиям:
ГОСТ ISO 9001-2011 (ISO 9001:2008, IDT) «Система менеджмента качества. Требования»

Основания для выдачи:
Решение экспертной комиссии ОС «Современные Стандарты Качества» № 314 от 31.08.2015 г.

Действие сертификата соответствия не имеет территориальных ограничений

Руководитель органа
по сертификации

Ю.А. Прохоров



Эксперт

В.С. Цой

Зарегистрирован в Реестре Системы «Международный стандарт качества» 31 августа 2015 г.

Подтверждение действия сертификата соответствия:

30.08.2016г.

30.08.2017г.

м.п.

м.п.

Сертификат соответствия без подтверждения его действия недействителен.

№425100





**Система добровольной сертификации
«МЕЖДУНАРОДНЫЙ СТАНДАРТ КАЧЕСТВА»
(СИСТЕМА «МСК»)**

Зарегистрирована в Федеральном агентстве по техническому регулированию и метрологии
Регистрационный номер в едином реестре зарегистрированных
Систем добровольной сертификации
РОСС RU.3707.04ЮАЕ0

Орган по сертификации «Современные Стандарты Качества»
115533 г. Москва, проспект Андропова д.22, тел.: 8-800-250-92-90; +7(499)951-01-90

ПРИЛОЖЕНИЕ К СЕРТИФИКАТУ СООТВЕТСТВИЯ

№ RU.MSK.009.005.CM.0516

Страница №1

Виды работ:

1. Работы в области проведения испытаний:
 - 1.1. Пищевых продуктов.
 - 1.2. Воды питьевой технической сточной и побочных продуктов водного хозяйства.
 - 1.3. Лекарственных средств.
 - 1.4. Биологически-активных добавок к пище и спортивного питания.
 - 1.5. Парфюмерно-косметической продукции.
 - 1.6. Нефти и нефтепродуктов.
 - 1.7. Угля, торфа, топлива.
 - 1.8. Металлов сплавов и металлических изделий.
 - 1.9. Продукции неорганической и органической химии.
 - 1.10. Полимеров пластических масс и изделий из резины и пластмассы.
 - 1.11. Минеральных удобрений.
 - 1.12. Лакокрасочной продукции.
 - 1.13. Бытовой химии.
 - 1.14. Объектов окружающей среды: вода, воздух, почва, отходы.
2. Работы в области проведения судебных экспертиз:
 - 2.1. С применением методов молекулярной спектроскопии.
 - 2.2. С применением методов атомной спектроскопии.
 - 2.3. С применением рентгенографических методов.
 - 2.4. С применением рентгеноспектральных методов и методов электронной микроскопии.
 - 2.5. С применением хроматографических методов.
3. Проведение научных исследований.
 - 3.1. В области аналитической и физической химии.
 - 3.2. В области органического синтеза.
4. Работы в области разработок методик и рецептур.

Руководитель органа
по сертификации

Ю.А. Прохоров



Эксперт

В.С. Цой

Приложение без сертификата соответствия недействительно.

№425101

