

Подготовка белка к гидролизу, в т.ч. этап выделения и очистки являются обязательными при проведении испытания нерасфасованных или дозированных форм лекарственных средств, содержащих белки, в тех случаях, когда они содержат мешающие испытанию вспомогательные вещества или белковые носители.

Количественное извлечение белка из дозированной формы должно быть валидировано.

В зависимости от размера, конфигурации белка, а также состава лекарственного средства и готовой лекарственной формы, используются различные подходы в подготовке белка к гидролизу.

В некоторых случаях может быть необходимо концентрирование образца либо отделение белка от используемых в готовой лекарственной форме сопутствующих веществ и стабилизаторов, которые могут исказить результаты картирования.

Для обеспечения полного доступа фермента к местам разрыва связей во многих случаях необходимо сократить число дисульфидных связей путем их восстановления и алкилирования, а так же использовать частичную денатурацию белка добавлением соответствующих агентов. В качестве восстанавливающих агентов возможно использование, например, дитиотрейтола или меркаптоэтанола, для алкилирования йодацетамида, 4-винилпиридина, йодуксусной кислоты, для денатурирования мочевины, и гуанидина.

Физические методы выделения и очистки белка с использованием колоночной хроматографии, диализа, ультрафильтрации, лиофилизации могут использоваться в ходе подготовки белка к гидролизу наряду с восстановлением, алкилированием и денатурацией или как самостоятельные процедуры.

Очистка белка от низкомолекулярных компонентов, входящих в состав лекарственного средства или лекарственного препарата может проводиться различными методами. Наиболее часто используются следующие способы,