

Załącznik nr 2 do zapytania ofertowego nr 2.1
QTPP i badania niekliniczne niezbędne do rejestracji produktu leczniczego Insulina R w EMA

Zakres prac wraz z przewidywanym terminem zakończenia

Poniżej przedstawiamy zakres prac, które zostaną zlecone Oferentowi przez Zamawiającego w ramach RFQ 2.1 - QTPP i badania niekliniczne niezbędne do rejestracji produktu leczniczego Insulina R w EMA

Zakres prac obejmuje wykonanie docelowego profilu jakościowego produktu (QTPP), ocenę biopodobieństwa oraz badanie wymuszonej degradacji (FDS) dla formułacji Insulina R.

W oparciu o aktualne założenia dla Projektu w ramach prowadzonych prac analizie zostaną poddane następujące próbki i numery partii:

- Referent: Humulin® R (10 serii produktu referencyjnego o różnej dacie ważności)
- Lek biopodobny: Gensulin® R (obecny produkt firmy Bioton, 10 serii dostarczonych przez Bioton)
- Lek biopodobny: Insulina R (4 serie walidacyjne, które zostaną wyprodukowane przez Bioton)

Projekt składa się z następujących zadań:

Zadanie 0: Zarządzanie projektem

Zadanie 1: Zaopatrzenie i logistyka

Zadanie 2: Opracowanie/implementacja metody

Zadanie 3: Kwalifikacja/potwierdzenie metody

Zadanie 4: Docelowy profil produktu w zakresie jakości (QTPP)

Zadanie 5: Biopodobieństwo

Zadanie 6: Badanie degradacji wymuszonej

Przewidywany termin realizacji:

Zadania	Przewidywany termin realizacji
Zadanie 0: Zarządzanie projektem	od dnia zawarcia Umowy w ramach realizacji Umowy
Zadanie 1: Zaopatrzenie i logistyka	od dnia zawarcia Umowy w ramach realizacji Umowy
Zadanie 2: Opracowanie/implementacja metody	od dnia zawarcia Umowy w terminie 6 miesięcy
Zadanie 3: Kwalifikacja/potwierdzenie metody	od dnia zawarcia Umowy w terminie 6 miesięcy
Zadanie 4: Docelowy profil produktu w zakresie jakości (QTPP)	od dnia zawarcia Umowy w terminie 6 miesięcy
Zadanie 5: Biopodobieństwo	od dnia zawarcia Umowy nie później niż w Q2 2026 r.
Zadanie 6: Badanie degradacji wymuszonej	od dnia zawarcia Umowy nie później niż w Q2 2026 r.

Szczegółowy zakres prac dla Zadań 1-6:**Zadanie 0: Zarządzanie projektem**

- Koordynacja działań projektowych
- Regularne spotkania i raporty z postępów

Zadanie 1: Zaopatrzenie i logistyka

- Pozyskanie materiałów referencyjnych (Humulin® R)
- Odbiór, porcjowanie, przechowywanie i wysyłka próbek

Zadanie 2: Implementacja metody

- Opracowanie/implementacja metod analitycznych
- Korekty specyficzne dla molekuł

Zadanie 3: Kwalifikacja/potwierdzenie metody

- Generowanie próbek naprężeń
- Kwalifikacja i potwierdzenie metod

Zadania 4: QTPP dla Insuliny R

- Charakterystyka 6 serii Humulin® R i 6 serii Gensulin® R.
- Zastosowanie różnych metod analitycznych

Zadanie 5: Biopodobieństwo Insuliny R

- Charakterystyka serii leków oryginalnych i biopodobnych (Humulin® R (4 serie), Gensulin® R (4 serie) i insulina R (4 serie))
- Szczegółowa ocena biopodobieństwa

Zadania 6: Badanie wymuszonej degradacji Insuliny R

- Generowanie i analiza próbek w warunkach stresowych
- Kompleksowy profil degradacji

Sprawozdawczość i zapewnienie jakości

- Oferent przygotowuje szczegółowe raporty przedstawiające metody i wyniki
- Oferent zapewni zgodność z GMP i standardami regulacyjnymi
- Oferent będzie regularnie przekazywał Zamawiającemu aktualne informacje oraz końcowe raporty podsumowujące po wykonaniu zadań 1,2,3,4,5 i 6.

Proponowane metody analityczne do realizacji Zadań 2-6:

Proponowane metody	Opracowanie/ Implementacja Zadanie 2	Kwalifikacja Zadanie 3	QTPP Zadanie 4	Biopodobieństwo Zadanie 5	Wymuszona degradacja Zadanie 6
Analiza aminokwasów	X	X	X	X	
Ilościowe oznaczanie zawartości fosforanów	X	X	X	X	
Ilościowe oznaczanie zawartości chlorków	X	X	X	X	
Analiza sekwencji za pomocą LC-ESI-MS i MS/MS	X	X	X	X	
Dalsza ocena danych: Deamidacja Asn/GLN	X	X	X	X	
Dalsza ocena danych: Modyfikacje N/C-Terminal	X	X	X	X	
Sekwencjonowanie N-końcowe Edmana: 15 aminokwasów	X	X	X	X	
Analiza wiązań dwusiarczkowych za pomocą LC-ESI-MS i MS/MS	X	X	X	X	
Masa cząsteczkowa według RP-HPLC-ESI-MS	X	X	X	X	
Profile spektroskopowe za pomocą analizy dichroizmu kołowego (CD)	X	X	X	X	
Dynamiczne rozpraszanie światła (DLS)	X	X	X	X	X
Różnicowa kalorymetria skaningowa (DSC)	X	X	X	X	
Mapa peptydowa RP-HPLC-UV: EP0838	X	X	X	X	
RP-HPLC-UV: EP 0838, EP 0854	X	X	X	X	X
Chromatografia oddziaływań hydrofobowych (HIC-HPLC)	X	X	X	X	
Kapilarne ogniskowanie izoelektryczne (cIEF)	X	X	X	X	
Chromatografia wykluczania SEC-UV: EP 0854 (-MALLS)	X	X	X	X	X
Test SPR IR-A	X	X	X	X	
Test SPR IR-B	X	X	X	X	

Proponowane metody	Opracowanie/ Implementacja Zadanie 2	Kwalifikacja Zadanie 3	QTPP Zadanie 4	Biopodobieństwo Zadanie 5	Wymuszona degradacja Zadanie 6
Potencjometryczne oznaczanie pH: EP 2.2.32.2.3	X	x	x	x	
Osmolalność: EP 2.2.35	X	x	x	x	
Ilościowe oznaczanie zawartości substancji aktywnej	x	x	x	x	
Ilościowe oznaczanie zawartości glicerolu	x	x	x	x	
Ilościowe oznaczanie zawartości sodu	x	x	x	x	
Transport glukozy	x	x	x	x	
Hamowanie lipolizy	x	x	x	x	
Lipogeneza	x	x	x	x	
Fosforylacja receptora insuliny	x	x	x	x	
Wysokosprawna chromatografia cieczowa z odwróconymi fazami (RP-HPLC-UV-MS)	x	x	x	x	
RP-HPLC-UV ilościowe oznaczanie m-krezolu (metoda własna Bioton)	x	x	x	x	
RP-HPLC (metoda własna Bioton)					x
Ilościowe oznaczenie Desamido A21	x	x	x	x	
Całkowite białka pokrewne: EP 0854, EP 2085	x	x	x	x	

Zadanie 3: Kwalifikacja/potwierdzenie metody

Oferent opracuje główny plan kwalifikacji (QMP) obejmujący wszystkie metody i parametry kwalifikacji. Kwalifikacja jest przeprowadzana zgodnie z wydanym masterplanem kwalifikacji i instrukcją roboczą. Po kwalifikacji zostanie wygenerowany raport kwalifikacyjny (QR) dla każdej metody.

Metoda/Parametry kwalifikacyjne	Zakres	Powtarzalność	Liniowości	Dokładność	Pośrednia precyzja	Specyficzność
Analiza aminokwasów	Tożsamość	x	x	x	x	x
Ilościowe oznaczanie zawartości fosforanów	Zawartość	x	x	x	x	x
Ilościowe oznaczanie zawartości chlorków	Zawartość	x	x	x	x	x
Analiza sekwencji za pomocą LC-ESI-MS i MS/MS	Tożsamość	x			x	x
Dalsza ocena danych: Deamidacja Asn/GLN	Tożsamość	x			x	x
Dalsza ocena danych: Modyfikacje N/C-Terminal	Tożsamość	x			x	x
Sekwencjonowanie N-końcowe Edmana: 15 aminokwasów	Tożsamość					x
Analiza wiązań dwusiarczkowych za pomocą LC-ESI-MS i MS/MS	Tożsamość	x			x	x
Masa cząsteczkowa według RP-HPLC-ESI-MS	Tożsamość					x
Dynamiczne rozpraszanie światła (DLS)	Zanieczyszczenia	x			x	x
Profile spektroskopowe za pomocą analizy dichroizmu kołowego (CD)	Zanieczyszczenia	x			x	x
Różnicowa kalorymetria skaningowa (DSC)	Charakterystyka	x			x	x
Chromatografia oddziaływań hydrofobowych (HIC-HPLC)	Zanieczyszczenia	x	x	x	x	x
Kapilarne ogniskowanie izoelektryczne (cIEF)	Zanieczyszczenia	x	x	x	x	x
RP-HPLC-UV Ilościowe oznaczanie m-krezolu (metoda własna Bioton)	Zawartość	x	x	x	x	x

Metoda/Parametry kwalifikacyjne	Zakres	Powtarzalność	Liniowości	Dokładność	Pośrednia precyzja	Specyficzność
Mapowanie peptydów protaminy (HPLC-MS): EP 0569	Tożsamość	x			x	x
Test SPR IR-A	Test	x			x	x
Test SPR IR-B	Test	x			x	x
Ilościowe oznaczanie zawartości glicerolu, HPLC	Zawartość	x	x	x	x	x
Ilościowe oznaczanie zawartości Desamido A21	Zawartość	x	x		x	x
Transport glukozy	Test	x		x	x	x
Hamowanie lipolizy	Test	x		x	x	x
Lipogeneza	Test	x		x	x	x
Fosforylacja receptora insuliny	Test	x		x	x	x

Zadanie 4: Docelowy profil produktu w zakresie jakości (QTPP)

Celem tego zadania jest wykonanie badań QTPP na 6 seriach Humulin® R i 6 seriach Gensulin® R.

Proponowana metoda	Ilość serii Humulin vs. Ilość serii Gensulin
Analiza aminokwasów	6 na 6
Ilościowe oznaczanie zawartości fosforanów	6 na 6
Ilościowe oznaczanie zawartości chlorku	6 na 6
Analiza sekwencji za pomocą LC-ESI-MS i MS/MS	6 na 6
Dalsza ocena danych: Deamidacja Asn/GLN	6 na 6
Dalsza ocena danych: Modyfikacje N/C-Terminal	6 na 6
Sekwencjonowanie N-końcowe Edmana: 15 aminokwasów	6 na 6
Analiza wiązań dwusiarczkowych za pomocą LC-ESI-MS i MS/MS	6 na 6
Masa cząsteczkowa według RP-HPLC-ESI-MS	6 na 6
Profile spektroskopowe za pomocą analizy dichroizmu kołowego (CD)	6 na 6
Dynamiczne rozpraszanie światła (DLS)	6 na 6
Różnicowa kalorymetria skaningowa (DSC)	6 na 6
Mapa peptydowa RP-HPLC-UV: EP0838	6 na 6
RP-HPLC-UV: EP 0838, EP 0854	6 na 6
Chromatografia oddziaływań hydrofobowych (HIC-HPLC)	6 na 6
Kapilarne ogniskowanie izoelektryczne (cIEF)	6 na 6
Chromatografia wykluczania (SEC-UV)-MALLS	6 na 6

Proponowana metoda	Ilość serii Humulin vs. Ilość serii Gensulin
Test SPR IR-A	6 na 6
Test SPR IR-B	6 na 6
Potencjometryczne oznaczanie pH: EP 2.2.3	6 na 6
Osmolalność: EP 2.2.35	6 na 6
Ilościowe oznaczanie zawartości substancji aktywnej	6 na 6
Ilościowe oznaczanie zawartości glicerolu	6 na 6
Ilościowe oznaczanie zawartości sodu	6 na 6
Transport glukozy	6 na 6
Hamowanie lipolizy	6 na 6
Lipogeneza	6 na 6
Fosforylacja receptora insuliny	6 na 6
Wysokosprawna chromatografia cieczowa z odwróconymi fazami (RP-HPLC-UV-MS)	6 na 6
RP-HPLC-UV Ilościowe oznaczanie m-krezolu	6 na 6

Zadanie 5: Biopodobieństwo

Celem tego zadania jest charakterystyka Humuliny® R (4 serie), Gensulin® R (4 serie) i insuliny R (4 serie) w badaniu biopodobieństwa.

Proponowana metoda	Humulin R	Gensulin R	Insulina R
Analiza aminokwasów	4	4	4
Ilościowe oznaczanie zawartości fosforanów	4	4	4
Ilościowe oznaczanie zawartości chlorku	4	4	4
Analiza sekwencji za pomocą LC-ESI-MS i MS/MS	4	4	4
Dalsza ocena danych: Deamidacja Asn/GLN	4	4	4
Dalsza ocena danych: N/C- Modyfikacje terminala	4	4	4
Sekwencjonowanie N-końcowe Edmana: 15 aminokwasów	4	4	4
Analiza wiązań dwusiarczkowych za pomocą LC-ESI-MS i MS/MS	4	4	4
Masa cząsteczkowa według RP-HPLC-ESI-MS	4	4	4
Profile spektroskopowe za pomocą analizy dichroizmu kołowego (CD)	4	4	4
Dynamiczne rozpraszanie światła (DLS)	4	4	4
Różnicowa kalorymetria skaningowa (DSC)	4	4	4
Mapa peptydowa RP-HPLC-UV: EP0838	4	4	4
RP-HPLC-UV: EP 0838, EP 0854	4	4	4
Chromatografia oddziaływań hydrofobowych (HIC-HPLC)	4	4	4
Kapilarne ogniskowanie izoelektryczne (cIEF)	4	4	4

Proponowana metoda	Humulin R	Gensulin R	Insulina R
Chromatografia wykluczania (SEC-UV) - MALLS	4	4	4
Test SPR IR-A	4	4	4
Test SPR IR-B	4	4	4
Potencjometryczne oznaczanie pH: EP 2.2.3	4	4	4
Osmolalność: EP 2.2.35	4	4	4

Zadanie 6: Badanie degradacji wymuszonej

Celem Badania degradacji wymuszonej jest wykonanie badań porównawczych produktu referencyjnego Humuliny® R z seriami leków biopodobnych (Gensulin® R i Insuliny R) metodą analizy wymuszonej degradacji. Próbkę zostaną poddane warunkom stresowym i zostaną przeanalizowane za pomocą metod wskazujących stabilność.

Próbki stresowe zostaną wygenerowane poprzez zastosowanie próbki produktu referencyjnego i biopodobnego (1 seria Humuliny R, 1 seria Gensulin R i 1 seria Insuliny R) do określonych czynników stresogennych. Zakłada się, że zostanie wygenerowanych do 6 punktów czasowych. Jakość wybranych próbek poddanych warunkom stresowym zostanie sprawdzona za pomocą odpowiednich metod analitycznych w celu wykrycia najbardziej odpowiedniego stanu każdego typu warunków do późniejszego porównania. Przegląd próbek warunków stresowych, które zostaną wygenerowane, znajduje się poniżej:

Warunki stresowe	Punkty czasowe	Metoda badania	Liczba próbek		
			Humulin R	Gensulin R	Insulina R
Utlenianie	Zostanie wygenerowanych 5 punktów czasowych (w tym "0") (np. H ₂ O ₂ w różnych temperaturach + czas trwania)	Masa całkowita białka (MS) w warunkach redukujących	5	5	5
Redukcja	Zostanie wygenerowanych 5 punktów czasowych (w tym "0") (np. dodatek DTT w różnych temperaturach + czas trwania)	Masa całkowita białka (MS) w warunkach redukujących	5	5	5
Niskie pH	Zostaną wygenerowane 4 punkty czasowe (w tym "0") (np. pH 4 w różnych temperaturach + czas trwania)	Kapilarne ogniskowanie izoelektryczne (cIEF)	4	4	4
Wysokie pH	Zostaną wygenerowane 4 punkty czasowe (w tym "0") (np. pH 8 w różnych temperaturach + czas trwania)	Kapilarne ogniskowanie izoelektryczne (cIEF)	4	4	4

Warunki stresowe	Punkty czasowe	Metoda badania	Liczba próbek		
			Humulin R	Gensulin R	Insulina R
Podwyższona temperatura	Zostanie wygenerowanych 6 punktów czasowych (w tym "0") (różne temperatury + czas trwania)	Chromatografia wykluczania (SEC-UV)	6	6	6
Wytrząsanie	Zostaną wygenerowane 4 punkty czasowe (w tym "0") (wytrząsanie + czas trwania)	Chromatografia wykluczania (SEC-UV)	4	4	4
Fotodegradacja	Zostaną wygenerowane 3 punkty czasowe (w tym "0") (naświetlanie + czas trwania)	Chromatografia wykluczania (SEC-UV)	3	3	3
Suma całkowita			31	31	31