

## Обзор методических подходов к оценке качества лекарственных средств на основе рекомбинантных интерферонов

О. Б. Устинникова, Л. А. Гайдерова, М. Л. Байкова, Т. Н. Лобанова,  
И. М. Щербаченко, Е. О. Голощапова, В. П. Бондарев

Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации;  
127051, Российская Федерация, Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2

Поступила 15.06.2017 г. Принята к публикации 04.07.2017 г.

Представлен обзор методов, используемых для определения показателей качества лекарственных средств на основе рекомбинантных интерферонов (ИФН) альфа и бета. Показано, что применяемые на сегодняшний день методические подходы в целом обеспечивают надлежащий контроль качества этой группы препаратов. Однако, для унификации контроля и повышения эффективности и безопасности лекарственных препаратов рекомбинантных ИФН необходимо формирование основных требований к общим фармакопейным статьям (ОФС) на субстанции интерферонов альфа-2, бета-1, основанных на принципах гармонизации с требованиями Европейской фармакопеи и фармакопей государств-членов ЕАЭС и учитывающих современные тенденции развития российского рынка лекарственных средств.

**Ключевые слова:** интерферон рекомбинантный; субстанция; оценка качества; метод определения; пегилированные формы.

**Библиографическое описание:** Устинникова О.Б., Гайдерова Л.А., Байкова М.Л., Лобанова Т.Н., Щербаченко И.М., Голощапова Е.О., Бондарев В.П. Обзор методических подходов к оценке качества лекарственных средств на основе рекомбинантных интерферонов. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение* 2017; 17(3): 152–157.

Лекарственные средства, активным компонентом которых являются интерфероны, достаточно широко представлены на современном фармацевтическом рынке и используются в медицинской практике для лечения вирусных, онкологических и инфекционно-воспалительных заболеваний.

Интерфероны (ИФН) относятся к группе цитокинов и представляют собой белки глобулиновой природы, которые являются полифункциональными биорегуляторами широкого спектра действия. Основные биологические свойства интерферонов проявляются в их противовирусном, антипролиферативном и иммуномодулирующем действии.

В соответствии с Соглашением о единых принципах и правилах обращения лекарственных средств в рамках Евразийского экономического союза (ЕАЭС), гармонизация требований к лекарственным средствам является необходимым процессом в условиях функционирования общего рынка лекарственных средств. Наличие опыта гармонизации фармакопей государств-членов ЕАЭС с требованиями Европейской фармакопеи (ЕФ) с одной стороны и недостаточность фармакопейных статей на различные группы лекарственных препаратов в Российской фармакопее с другой стороны, формируют необходимость разработки национальных фармакопейных требований к ряду препаратов, в том числе препаратов на основе рекомбинантных интерферонов [1, 2].

Основными видами рекомбинантных интерферонов, представленных на сегодняшний день на российском фармацевтическом рынке, являются: интерфероны альфа-2, бета-1, а также их пегилированные формы.

Цель работы — формирование основных требований к общим фармакопейным статьям на субстанции интерфе-

ронов альфа-2, бета-1, основанных на принципах гармонизации и учитывающих современные тенденции развития российского рынка лекарственных препаратов.

Показатели качества, обеспечивающие эффективность и безопасность субстанций на основе рекомбинантных ИФН, наиболее объективно можно оценить на уровне очищенного целевого белка до добавления вспомогательных веществ, в частности, стабилизаторов белковой природы, которые могут помешать идентификации основного белка [3].

Основными показателями качества, гарантирующими эффективность и безопасность лекарственных средств на основе интерферонов, независимо от типа рекомбинантного белка, являются:

- подлинность;
- количественное определение специфической противовирусной активности;
- количественное определение целевого белка;
- анализ чистоты и идентификация примесей.

Однако существующие между типами и подтипами интерферонов различия первичных структур и структур высокого порядка, а также индивидуальные особенности посттрансляционных модификаций внутри этой группы цитокинов, являются причиной различий в методических подходах к оценке вышеуказанных показателей [4–8].

### Интерфероны альфа 2

**Подлинность.** Интерфероны альфа представляют собой белки, состоящие из 165 аминокислот и содержащие две дисульфидные связи: между остатками цистеина в 1-м и 98-м положениях и в 29-м и 138-м положениях. Молеку-

лярная масса негликозилированного белка составляет около 19240 Да. Подсемейства интерферона альфа-2а и альфа-2b различаются аминокислотами в положениях 23: лизин и аргинин соответственно.

Для подтверждения подлинности интерферона альфа-2а и альфа-2b Европейским директором по качеству лекарственных средств (EDQM) предусмотрены следующие препараты сравнения: стандартные образцы интерферона — Interferon alfa-2a CRS (I03203000) и Interferon alfa-2b CRS (I0320301) для оценки физико-химических показателей, подтверждающих подлинность методами изоэлектрического фокусирования, пептидного картирования и вертикального электрофореза в полиакриламидном геле (ПААГ) [7]. Для количественного определения специфической противовирусной активности используют: Interferon alpha 2b, human, rDNA, E.coli-derived 2-ud WHO International Standart 1999 NIBSC, Code: № 95/566; Interferon alpha 2a, human, rDNA, derived 2-ud WHO International Standart 1999 NIBSC, Code: № 95/650 [7].

Кроме вышеуказанных методов, в части физико-химических показателей, подтверждающих подлинность, используют метод иммуноблоттинга и метод обращенно-фазовой ВЭЖХ, также в сравнении с образцами CRS.

Надо отметить, что физико-химические методы, описанные выше и рекомендованные ЕФ, являются современными и информативными. Однако существует ряд лекарственных форм препаратов интерферона, в основном для наружного и местного применения (мази, гели, суппозитории, спреи и пр.), которые выпускают исключительно отечественные производители. В связи с особенностями пробоподготовки такого рода лекарственных форм, применение физико-химических методов, рекомендованных ЕФ для подтверждения подлинности, становится недоступным. В данном случае многие отечественные производители используют биологический метод определения подлинности ИФН с помощью реакции нейтрализации противовирусной активности с применением специфических поли- или моноклональных антител.

Реакцию нейтрализации противовирусной активности проводят в культуре клеток, чувствительных к ИФН, в присутствии индикаторного вируса. Испытуемый образец должен инактивироваться анти-интерфероновыми моноклональными или поликлональными антителами аналогично стандартному образцу [9].

При проведении испытаний необходимо:

- проверить выбранные антитела на чувствительность к исследуемому виду интерферона и определить их активность;
- использовать в испытании либо 1/10 титра препарата после определения его противовирусной активности, либо расчетную величину титра, определенную, исходя из номинальной активности испытуемого и стандартного образцов. Выбранная доза (титр) должна обеспечить четкую картину нейтрализации действия интерферона антителами при отсутствии таковой в контролях.

На сегодняшний день не полностью определены и унифицированы методические рекомендации к данному методу, требования к подбору нейтрализующих антител, их разведению, порядку проведения реакции и т.д. Необходимо в дальнейшем продолжить работу по совершенствованию методики с целью унификации и повышения качества контроля подлинности препаратов интерферона.

Особого внимания в структуре молекулы заслуживает N-концевой метионин, образующийся при синтезе рекомбинантного белка рибосомой бактериальной клетки, что

отличает его от эндогенного интерферона, который N-концевым аминокислотным остатком содержит цистеин, связанный дисульфидной связью с 98 цистеином белка. Поскольку данное отличие может влиять на иммуногенность и стабильность рекомбинантного белка, тенденция последнего времени — производство безметиониновых субстанций интерферона альфа. Для субстанций, заявленных как «безметиониновые», необходимым подтверждением подлинности является оценка N-концевой последовательности методом аминокислотного секвенирования.

**Количественное определение специфической противовирусной активности.** Для определения противовирусной (специфической) активности субстанций интерферона используют биологический метод на культуре клеток, рекомендованный ЕФ [5, 7, 8]. Проявление противовирусной активности является также одним из способов подтверждения подлинности препарата.

Метод основан на сравнении способности препарата ИФН защищать клетки от цитопатического эффекта вируса с той же способностью соответствующего международного стандарта или стандарта, откалиброванного в международных единицах (МЕ). При проведении испытаний используют клетки, чувствительные к интерферону альфа и к вирусу-индикатору. Выбор комбинации «клеточная культура/вирус» основывается на том, какая из них обеспечивает наиболее чувствительный ответ для данного типа интерферона в сравнении со стандартным образцом (СО). Наиболее часто используют следующие комбинации клетка/вирус: клетки почек быка Madin-Darby (MDBK), лимфоидные клетки человека Л-41, перевиваемые клетки почки эмбриона свиньи СПЭВ/вирус везикулярного стоматита (VSV); клетки линии Vero, Hep2C, L929, Л-41/вирус энцефаломиокардита мышей (ЕМСВ), или иные.

Учет активности интерферона возможно осуществлять визуально (микроскопически). Применяют также инструментальный способ учета результатов, рекомендованный ЕФ, с использованием селективного окрашивания живых клеток, защищенных интерфероном от действия вируса, элюирования красителя, фотометрирования оптической плотности элюата и последующей компьютерной обработки результатов.

Несмотря на многолетний опыт использования данной методики для определения специфической активности препаратов интерферона, остается необходимость уточнения методических рекомендаций в части адекватного выбора стандартных образцов, пробоподготовки, рабочих разведений, наиболее чувствительных комбинаций клетка/вирус, состава среды для анализа, оптимальных по времени условий проведения анализа, способа учета результатов анализа и т.д.

**Количественное определение целевого белка.** Количественное определение целевого белка в препаратах интерферонов альфа традиционно проводят методом Лоури, где в качестве стандартного раствора используют раствор бычьего сывороточного альбумина, а также методом ВЭЖХ или другим пригодным методом [7].

**Анализ чистоты и идентификация примесей.** Испытания на чистоту и примеси заключаются в оценке содержания специфических и неспецифических примесей.

К специфическим примесям относят низкомолекулярные белки интерфероновой природы (димеры, олигомеры) — примеси с молекулярной массой, отличной от интерферона альфа-2, а также продукты деградации ИФН (окисленные формы) — родственные белки.

Для оценки низкомолекулярных белков применяют метод вертикального электрофореза в ПААГ с натрия додецилсульфатом с использованием в качестве стандартного раствора Interferon alfa CRS соответствующего подтипа и стандарта молекулярных масс в диапазоне от 15 до 67 кДа.

На электрофореграмме определяют интенсивность, подвижность и ширину полос испытуемого раствора и раствора стандартного образца. Молекулярную массу вычисляют путем сравнения с маркерными белками с известными молекулярными массами. Основная полоса на электрофореграмме испытуемого раствора должна соответствовать основной полосе на электрофореграмме раствора стандартного образца CRS соответствующего подтипа [7].

Окисленные формы анализируют с помощью обращенно-фазовой ВЭЖХ, применяя пероксид водорода для обработки исследуемого образца.

К неспецифическим примесям относят белки и ДНК штамма-производителя. Белки штамма-производителя обычно определяют методом количественного иммуоферментного анализа (ИФА), используя коммерческие тест-системы. Также при проведении ИФА возможно использование реагентов, получаемых самим производителем. Однако данные методики, как и любые другие, нуждаются в предварительной валидации — оценке пригодности системы для решения конкретной задачи.

ДНК штамма-производителя традиционно определяют методом молекулярной гибридизации с зондами, мечеными биотином, диоксигенином или другой меткой [9, 10]. В настоящее время существует тенденция отказа от данной методики в пользу других, более современных методов, при условии подтверждения их пригодности.

Также к неспецифическим примесям можно отнести бактериальные эндотоксины, которые традиционно определяют с помощью ЛАЛ-теста.

Суммируя вышесказанное, может быть рекомендован следующий перечень показателей и методов, необходимых для оценки качества лекарственных средств на основе рекомбинантного интерферона альфа:

1. Подтверждение подлинности методами изоэлектрического фокусирования, пептидного картирования, вертикального электрофореза в полиакриламидном геле, иммуоблотинга, обращенно-фазовой ВЭЖХ, с помощью реакции нейтрализации противовирусной активности специфическими антителами.

2. Установление N-концевой последовательности методом аминокислотного секвенирования (для безметиониновых форм).

3. Количественное определение специфической противовирусной активности биологическим методом.

4. Количественное определение целевого белка методом ВЭЖХ или любым другим пригодным методом.

5. Определение специфических примесей:

- примеси с молекулярной массой, отличной от интерферона альфа-2 методом вертикального электрофореза в ПААГ;

- родственные белки (окисленные формы) методом обращенно-фазовой ВЭЖХ.

5. Определение неспецифических примесей (любым пригодным методом):

- белки штамма-производителя;
- ДНК штамма-производителя;
- бактериальные эндотоксины.

## Интерфероны бета-1

**Подлинность.** Эндогенный интерферон бета представляет собой белок, состоящий из 166 аминокислотных остатков с одной внутрицепочечной дисульфидной связью, имеющий один сайт N-гликозилирования по аспарагиновому остатку в позиции 80 и цистеин в позиции 17. В настоящее время 6 гликоформ, обусловленных дифференциальным гликозилированием сайта и отличающихся количеством олигосахаридов и степенью их сиалирования, идентифицированы как интерферон бета-1а. Для оценки подлинности интерферона бета-1а Европейским директором по качеству лекарственных средств предусмотрены: препарат сравнения — стандартный образец интерферона Interferon beta-1a CRS (Y0001101) для подтверждения физико-химических показателей подлинности методами масс-спектрометрии и пептидным картированием (ВЭЖХ), а также стандартный образец Interferon beta (Human, rDNA, Glycosylated), NIBSC, code: 00/572 для определения биологических показателей [8, 11, 12].

Метод масс-спектрометрии используют для оценки распределения изоформ (гликоформ): типичный спектр состоит из 6 основных гликоформ по степени их сиалирования и (или) количеству участвующих в гликозилировании олигосахаридов (antennarity). Масс-спектр испытуемого препарата должен соответствовать масс-спектру стандартного образца [8].

При проведении пептидного картирования стандартный и испытуемый раствор подвергают обработке эндопротеазой LysC в одних и тех же условиях и далее проводят испытание методом высокоэффективной жидкостной хроматографии [8].

Рекомбинантный интерферон бета-1b выделяют из клеток *Escherichia coli*, в геном которых внедрен ген человеческого интерферона бета, кодирующий аминокислоту серин в 17-й позиции. Интерферон бета-1b представляет собой негликозилированный белок с молекулярной массой 18500 Да, состоящий из 165 аминокислот и не содержащий N-концевого метионина. В качестве образца сравнения для определения биологической специфической активности предусмотрен Working Standard Interferon beta ser17 mutein (Human, rDNA derived), NIBSC, code: 00/574 [8].

Существенные отличия структуры интерферона бета-1b от структуры интерферона бета-1а, как было показано выше, а также отсутствие соответствующего стандартного образца CRS для подтверждения качества по физико-химическим показателям, обуславливают следующие особенности оценки качества: исключается метод масс-спектрометрии для подтверждения распределения изоформ, характеризующих структуру гликозилирования; необходимо подтверждение отсутствия гликозилирования; а также подтверждение наличия серина в позиции 17 и отсутствия метионина в N-концевой части белка.

Референтным препаратом интерферона бета-1b, зарегистрированным в Российской Федерации, является Бетаферон, производства «Шеринг АГ», Германия [11].

В связи с отсутствием международного стандартного образца интерферона бета-1b, целесообразно в качестве образца сравнения использовать референтный препарат или собственную субстанцию, охарактеризованную как стандартный образец предприятия (СОП), с обязательным полным исследованием первичной структуры белка и структур высокого порядка для подтверждения наличия серина в позиции 17, отсутствия метионина в N-концевой части и отсутствия гликозилирования.

Также для подтверждения подлинности может быть использован метод иммуноферментного анализа.

Для количественного определения специфической противовирусной активности интерферона бета-1 используют метод, описанный выше для интерферонов альфа-2а и альфа-2б в сравнении с соответствующими стандартными образцами.

#### **Количественное определение целевого белка.**

Традиционно количественное определение белка интерферона бета-1а проводят методом ВЭЖХ в сравнении со стандартным образцом. Количественное определение белка интерферона бета-1b целесообразно проводить методом Лоури в сравнении со стандартным раствором, приготовленным на основе бычьего сывороточного альбумина.

#### **Анализ чистоты и идентификация примесей.**

Классификацию примесей и их идентификацию проводят аналогично интерферону альфа. Для оценки специфических примесей для интерферона бета-1а в качестве стандартного образца используют раствор интерферона бета-1а CRS. Анализ чистоты и примесей интерферона бета-1b из-за отсутствия образца сравнения сопряжен с определенными сложностями. Приемлемым решением в данном случае может быть использование собственной субстанции, охарактеризованной как стандартный образец предприятия (СОП) или интерферона бета-1а CRS с учетом различий и доказательством возможности его использования в каждом конкретном случае.

### **Пегилированные формы**

В настоящее время существует ряд различных методов модификации терапевтически значимых белков (в частности, интерферонов). Одним из наиболее эффективных является химическая модификация белка полиэтиленгликолем (ПЭГ), так называемое пегилирование [13]. Она заключается в физико-химической трансформации, достигаемой соединением нативной молекулы белка с ПЭГ. Применение этого метода позволяет значительно повысить терапевтическую эффективность фармакологических препаратов пептидной структуры и обеспечить их пролонгированное действие.

Для пегилированных интерферонов оценка качества, помимо полной характеристики целевого белка, должна заключаться в анализе характеристик полимера и конъюгата. Для полимера необходима оценка всех показателей качества, предусмотренная нормативным документом на реагент, включая полидисперсность массы.

Характеристика конъюгированного интерферона должна включать: степень модификации (среднее число молекул полимера, связанных с белком); расположение участков пегилирования; конформационную структуру, включая общий размер молекулы; количественное определение свободного, неконъюгированного белка; остаточные количества свободного полимерного реагента; молярное отношение полимера к белку.

Структура такого белка может быть описана следующим образом: «тип белка» конъюгирован с «название полимера» в степени замещения «л молей полимера/моль белка», с указанием средней молекулярной массы конъюгата и части белковой массы.

Если определение какой-либо характеристики методически недоступно, это должно быть отражено в пояснительных материалах. Дополнительными характеристиками сопоставимости пегилированных белков в этом случае

может быть сравнение изоформ (при их релевантности) или различий их активности, молярной активности конъюгата по сравнению с незамещенным белком и т.д. [14].

### **Выводы**

Анализ методических подходов к определению показателей качества лекарственных средств на основе рекомбинантных интерферонов выявил, что в ряде случаев базовой оценки качества, рекомендованной и обеспеченной EDQM, может быть недостаточно. Таким образом, возникает ряд вопросов, требующих дополнительного рассмотрения.

1. Подтверждение подлинности ряда лекарственных форм препаратов интерферона альфа-2 (мази, гели, суппозитории, спреи и пр.) в реакции нейтрализации противовирусной активности.

2. Подтверждение N-концевой последовательности безметиониновых субстанций.

3. Уточнение выбора стандартных образцов, рабочих разведений, способов пробоподготовки, оптимальных с точки зрения чувствительности комбинаций клетка/вирус и т.д. для методики определения специфической противовирусной активности субстанции интерферона альфа-2.

4. Оценка качества интерферона бета-1b в части установления подлинности, анализа чистоты и идентификации примесей, в связи с отсутствием стандартного образца EDQM, требует в каждом конкретном случае обоснованного выбора стандартного образца сравнения.

5. Особенности оценки качества пегилированных форм интерферонов, базирующиеся на последних документах ЕМЕА, однако не нашедшие отражения в Европейской фармакопее, требуют дополнительного изучения.

6. Необходимо формирование ОФС на субстанции интерферонов альфа-2, бета-1, основанных на принципах гармонизации с требованиями фармакопей государств-членов ЕАЭС и Европейской фармакопей.

### **Литература**

1. *Федеральный закон «О ратификации Соглашения о единых принципах и правилах обращения медицинских изделий (изделий медицинского назначения и медицинской техники) в рамках Евразийского экономического союза» № 4-ФЗ от 31.01.2016 г.*
2. *ICH Q6B Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for Biotechnological / Biological Products. International Conference on Harmonisation. 1999. Available from: <https://goo.gl/CYCLvi>.*
3. *Волнова РА, Авдеева ЖИ, Эльберт ЕВ, Алпатова НА, Борисевич ИВ. Требования к характеристике экспрессирующей конструкции и очищенного белка при проведении доклинических испытаний иммунобиологических лекарственных препаратов, полученных с использованием методов генной инженерии. БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение 2011; (3): 49–52.*
4. *Олефир ЮВ, Медуницын НВ, Авдеева ЖИ, Мовсесянц АА, Меркулов ВА, Бондарев ВП. Современные биологические/биотехнологические лекарственные препараты. Актуальные вопросы разработки и перспективы использования. БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение 2016; 16 (2): 67–77.*
5. *Алпатова НА, Гайдерава ЛА, Яковлев АК, Мотузова ЕВ, Лыскова СЛ, Солдатов АА, Авдеева ЖИ. Особенности определения специфической активности биотехнологических лекарственных средств. БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение 2017; 17 (1): 13–26.*
6. *Остерман ЛА. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот. М.: Наука; 1981.*

7. Interferon alfa-2 concentrated solution. European Pharmacopoeia 9.0. Available from: <http://online6.edqm.eu/ep900>.
8. Interferon beta-1a concentrated solution. European Pharmacopoeia 9.0. Available from: <http://online6.edqm.eu/ep900>.
9. МУК 4.1/4.2.588–96 «Методы контроля медицинских иммунобиологических препаратов, вводимых людям».
10. ОФС. 1.7.1.0007.15. Лекарственные средства, получаемые методами рекомбинантных ДНК. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII изд. 2016. С. 521–41.
11. Betaferon®: 25 Jahre Multiple Sklerose Forschung. Berger T, Linnebank M, Wiendl H, eds. Springer; 2013.
12. Murdoch DJ, Lyseng-Williamson KA. Spotlight on Subcutaneous Recombinant Interferon-β-1a (Rebif®) in Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis. *BioDrugs*. 2005; 19(5): 323–25.
13. Mero A, Clementi C, Veronese FM, Pasut G. Covalent conjugation of poly(ethylene glycol) to proteins and peptides: strategies and methods. *Methods Mol Biol*. 2011; 751: 95–129.
14. Guidance on the description of composition of pegylated (conjugated) proteins in the SPC (EMA/CPMP/BWP/3068/03). European Medicines Agency. Available from: <https://goo.gl/GUC2Le>.

## Об авторах

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 127051, Российская Федерация, Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2.

Устинникова Ольга Борисовна — начальник лаборатории биохимии МИБП Центра экспертизы и контроля МИБП, канд. биол. наук.

Гайдерова Лидия Александровна, начальник лаборатории иммунологии Испытательного центра экспертизы качества МИБП, канд. мед. наук.

Байкова Марина Леонидовна, эксперт 2 категории лаборатории иммунологии Испытательного центра экспертизы качества МИБП.

Лобанова Татьяна Николаевна, ведущий эксперт лаборатории иммунологии Испытательного центра экспертизы качества МИБП, канд. биол. наук.

Щербаченко Ирина Михайловна, ведущий эксперт лаборатории биохимии МИБП Испытательного центра экспертизы качества МИБП, канд. биол. наук.

Голощапова Евгения Олеговна, эксперт 2 категории лаборатории биохимии МИБП Испытательного центра экспертизы качества МИБП.

Бондарев Владимир Петрович, Директор Центра экспертизы и контроля МИБП, д-р мед. наук.

**Адрес для переписки:** Устинникова Ольга Борисовна; [Ustinnikova@expmed.ru](mailto:Ustinnikova@expmed.ru)

## Review of methodological approaches to quality evaluation of recombinant interferon products

O. B. Ustinnikova L. A. Gayderova, M. L. Baykova, T. N. Lobanova, I. M. Shcherbachenko, E. O. Goloshchapova, V. P. Bondarev

Federal State Budgetary Institution

«Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products»

of the Ministry of Health of the Russian Federation,

Petrovsky boulevard 8, bld. 2, Moscow, 127051, Russian Federation

The article summarises methods used to control the quality of recombinant interferon alpha and beta (IFNs) products. It demonstrates that currently used methodological approaches generally ensure proper quality control of this group of medicines. However, it is necessary to formulate basic requirements for the pharmacopoeial general chapters on interferon alpha-2 and beta-1 products in order to standardize the control procedures and increase the efficacy and safety of recombinant IFNs products. These requirements should be harmonized with requirements of both the European Pharmacopoeia and pharmacopoeias of the Eurasian Economic Union member-states, and should take account of the current trends in the Russian pharmaceutical industry.

**Key words:** recombinant interferon; substance; quality control; test methods; pegylated forms.

**For citation:** Ustinnikova OB, Gayderova LA, Baykova ML, Lobanova TN, Shcherbachenko IM, Goloshchapova EO, Bondarev VP. Review of methodological approaches to quality evaluation of recombinant interferon products. *BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment* 2017; 17(3): 152–157.

## References

1. Federal law «On Ratification of the Agreement on Uniform Principles and Rules for the Treatment of Medical Devices (Medical Devices and Medical Equipment) within the Framework of the Eurasian Economic Union» № 4-FZ of January 31, 2016 (in Russian).
2. ICH Q6B Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for Biotechnological / Biological Products. International Conference on Harmonisation. 1999. <https://goo.gl/CYCLvi>.
3. Volkova RA, Avdeeva Zhl, El'bert EV, Alpatova NA, Borisevich IV. The requirements to characteristics of expressing structure and refined protein for performing preclinical trials of new immunobiological preparations, derived using gene engineering methods. *BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment* 2011; 3: 49–52 (in Russian).
4. Olefir YuV, Medunitsyn NV, Avdeeva Zhl, Soldatov AA, Movsesyants AA, Merkulov VA, Bondarev VP. Modern biological/biotechnological medicinal products. Topical issues and prospects for development. *BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment* 2016; 16 (2): 67–77 (in Russian).
5. Alpatova NA, Gayderova LA, Yakovlev AK, Motuzova EV, Lysikova SL, Soldatov AA, Avdeeva Zhl Assessment of biotechnological products specific activity. *BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2017. 17 (1): 13–26 (in Russian).
6. Osterman LA *Methods for studying proteins and nucleic acids*. М.: Nauka; 1981 (in Russian).
7. Interferon alfa-2 concentrated solution. European Pharmacopoeia 9.0. Available from: <http://online6.edqm.eu/ep900>.

8. *Interferon beta-1a concentrated solution. European Pharmacopoeia 9.0. Available from: <http://online6.edqm.eu/ep900>.*
9. MYK 4.1/4.2.588–96 «Methods of monitoring medical immunobiological drugs administered to people» (in Russian).
10. OFS. 1.7.1.0007.15. *Medicines obtained by recombinant DNA methods. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 13th ed. 2016. P. 521–41.*
11. *Betaferon®. 25 Jahre Multiple Sklerose Forschung. Editors: Thomas Berger, Michael Linnebank, Heinz Wiendl. ISBN: 978-3-7091-1765-1 (Print), 978-3-7091-1766-8 (Online).*
12. Murdoch D1, Lyseng-Williamson KA. *Spotlight on Subcutaneous Recombinant Interferon-β-1a (Rebif®) in Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis. BioDrugs. 2005, 19, (5): 323–325.*
13. Mero A, Clementi C, Veronese FM, Pasut G. *Covalent conjugation of poly(ethylene glycol) to proteins and peptides: strategies and methods. Methods Mol Biol. 2011. 751:95–129.*
14. *Guideline on similar biological medicinal products containing biotechnology-derived proteins as active substance: non-clinical and clinical issues (EMA/CPMP/BWP/3068/03). European Medicines Agency. Available from: <https://goo.gl/GUC2Le>.*

## Authors

*Ustinnikova OB.* Head of the Laboratory of MIBPs Biochemistry of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality. Candidate of Biological Sciences.

*Gayderova LA.* Head of the Immunology Laboratory of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality. Candidate of Medical Sciences.

*Baykova ML.* 2nd professional category expert of the Immunology Laboratory of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality.

*Lobanova TN.* Leading expert of the Immunology Laboratory of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality. Candidate of Biological Sciences.

*Shcherbachenko IM.* Leading expert of the Laboratory of MIBPs Biochemistry of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality. Candidate of Biological Sciences.

*Goloshchapova EO.* 2nd professional category expert of the Laboratory of MIBPs Biochemistry of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality.

*Bondarev VP.* Director of the Centre for Evaluation and Control of Medicinal Immunobiological Products. Doctor of Medical Sciences.

**Contact e-mail:** Ustinnikova Olga Borisovna; Ustinnikova@expmed.ru