МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООАЯ СТАТЬЯ

**\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_**

**Пэгинтерферон альфа-2b лиофилизат ФС**

**для приготовления раствора**

**для подкожного введения Вводится впервые**

**\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_**

Настоящая фармакопейная статья распространяется на препарат Пэгинтерферон альфа-2b лиофилизат для приготовления раствора для подкожного введения. Препарат представляет собой рекомбинантный человеческий интерферон альфа-2b (ИНФ альфа-2b) безметиониновый, конъюгированный с монометоксиполиэтиленгликолем (ПЭГ). Действующим началом препарата является интерферон альфа - 2b - белок, полученный методом рекомбинантной ДНК и ковалентно конъюгированный с ПЭГ. Продуцентом рекомбинантного белка является штамм бактерии *Escherichia coli* генетически модифицированный плазмидой, содержащей ген человеческого лейкоцитарного интерферона*.*

Препарат обладает противовирусным, иммуномодулирующим и антипролиферативным действием. Противовирусная активность препарата обусловлена способностью ИНФ альфа-2b ингибировать репликацию вирусных белков в клетке. Конъюгация с ПЭГ обеспечивает пролонгированное действие ИНФ альфа-2b.

Содержание пегилированного интерферона альфа - 2b в одном флаконе составляет 50 мкг, 80 мкг, 100 мкг или 120 мкг.

Препарат выпускается в комплекте с растворителем для приготовления раствора для подкожного введения. Препарат предназначен для лечения гепатитов В и С.

В состав препарата входят вспомогательные вещества.

ПРОИЗВОДСТВО

Для производства препарата используют субстанцию человеческого рекомбинантного ИНФ альфа-2b, полученную с помощью генетически модифицированного штамма бактерии *Е. coli.* Субстанция должна соответствовать требованиям ОФС «Биотехнологические лекарственные препараты», ОФС «Лекарственные средства, полученные методами рекомбинантных ДНК».

Производство пэгилированного интерферона альфа - 2b представляет собой сложный многостадийный процесс, в результате которого образуется конъюгат рекомбинантного человеческого ИНФ альфа-2b с монометоксиполиэтиленгликолем (ПЭГ). Все стадии производства должны быть валидированы и должны осуществляться в условиях соблюдения надлежащих требований организации производства и контроля качества биологических лекарственных средств.

ИСПЫТАНИЕ

**Описание.** Лиофильно высушенная масса белого или почти белого цвета. Определение проводят визуально.

**Подлинность.** Должен обладать противовирусной активностью. Молекулярная масса основной полосы испытуемого образца должна лежать в диапазоне от 34 до 48 кДа. Определение проводят двумя методами:

* Биологическим - по способности препарата подавлять цитопатическое действие вируса на культуре клеток. Испытания проводят с использованием линий клеток, чувствительных к данному типу интерферона и к индикаторному вирусу по разделу «Специфическая активность».
* Электрофорезом в полиакриламидном геле с натрием додецилсульфата (в восстанавливающих условиях), в соответствии с ОФС «Электрофорез в полиакриламидном геле».

**Однородность дозирования.** 18/20 не более 10 %, 2/20 не более 20 %. Определение проводят в соответствии с требованиями ОФС «Однородность массы дозированных лекарственных форм».

**Время растворения.** Содержимое флакона должно полностью раствориться в 0,7 мл растворителя в течение 10 мин при перемешивании покачиванием. Определение проводят в соответствии с ОФС «Растворимость».

**Прозрачность** (восстановленный раствор). Должен быть прозрачным. Определение проводят в соответствии с ОФС «Прозрачность и степень мутности жидкостей».

**Цветность** (восстановленный раствор). Должен быть бесцветным. Определение проводят в соответствии с ОФС «Степень окраски жидкостей».

**рН** (восстановленный раствор). От 6,5 до 7,1. Определение проводят потенциометрическим методом в соответствии с ОФС «Ионометрия».

**Механические включения.** Должен соответствовать требованиям ОФС «Видимые механические включения в лекарственных формах для парентерального применения и глазных лекарственных формах».

**Родственные соединения.** Должен содержать не более 10,0 % димеров, не менее 85 % - мономеров, не более 5,0 % - свободного интерферона, сумма примесей неинтерфероновой природы - не более 1,0 %. Определение проводят методом эксклюзионной высокоэффективной жидкостной хроматографии (гель-фильтрация) в соответствии с ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография», хроматографические условия должны быть указаны в нормативной документации.

Содержание димеров и мономеров пегилированного интерферона, свободного интерферона и примесей неинтерфероновой природы в препарате (*Xi*) в процентах вычисляют по формуле:

,

где:

*Si* - среднее значение площади пика компонента на хроматограммах испытуемого раствора;

*ƩS* - среднее значение суммы площадей всех пиков на хроматограммах испытуемого раствора.

**Посторонние примеси.** Не более 2 % в восстанавливающих условиях и не более 3,5 % - в невосстанавливающих условиях. Определение проводят методом электрофореза в полиакриламидном геле в присутствии натрия додецилсульфата в восстанавливающих и невосстанавливающих условиях, в соответствии с ОФС «Электрофорез в полиакриламидном геле». Приготовление испытуемых и стандартных образцов должно быть приведено в нормативной документации.

Интенсивность окрашивания полосы на электрофореграмме пропорциональна количеству белка, присутствующего в полосе. Интенсивность окрашивания полос оценивают с помощью програмного обеспечения.

На электрофореграммах растворов испытуемого образца (в восстанавливающих и невосстанавливающих условиях) в качестве полос белковых примесей неинтерфероновой природы принимают полосы, отличающиеся по подвижности от основных полос на электрофореграммах растворов стандартного образца пегилированного интерферона альфа-2b в тех же условиях.

Учет результатов проводят, если система удовлетворяет требованиям:

* на электрофореграммах белковых маркеров молекулярных масс полосы распределены по всей длине геля;
* на электрофореграммах растворов стандартного образца ИНФ альфа-2b с концентрацией 0,001 мг/мл четко определяется одна полоса и ее интенсивность окрашивания превышает интенсивность окрашивания фона в 3 раза;
* молекулярная масса основной полосы на электрофореграммах растворов стандартного образца ИНФ альфа-2b с концентрацией 0,0025 мг/мл, рассчитанная по маркерам молекулярных масс, находится в диапазоне от 16 до 21 кДа;
* на электрофореграммах растворов стандартного образца пегилированного интерферона альфа-2b с концентрацией 0,05 мг/мл допускается наличие не более трех полос интерфероновой природы:
  + - * 1. полоса с наибольшей электрофоретической подвижностью соответствует основной полосе на электрофореграммах растворов стандартного образца ИНФ альфа-2b с концентрацией 0,0025 мг/мл, принадлежащей свободному ИНФ альфа-2b. Полосы считаются соответствующими по подвижности, если разница их подвижностей не превышает половину среднего значения ширины этих полос;
        2. полоса с наименьшей электрофоретической подвижностью, определенная по стандартам молекулярных масс, соответствует димерам пегилированного интерферона альфа-2b и находится в диапазоне более 60 кДа.
        3. молекулярная масса наиболее интенсивной полосы, определенная по стандартам молекулярных масс, соответствует мономерам пегилированного интерферона альфа-2b и находится в диапазоне от 34 до 48 кДа.

Содержание примесей неинтерфероновой природы в препарате (*X*) в процентах вычисляют по формуле:

,

где:

- суммарная интенсивность окрашивания полос примесей неинтерфероновой природы на электрограмме одного из растворов испытуемого образца (в восстанавливающих и невосстанавливающих условиях);

- суммарная интенсивность окрашивания всех детектируемых полос на электрофореграмме одного из растворов испытуемого образца (в восстанавливающих и невосстанавливающих условиях).

Препарат считают прошедшим испытание, если:

* наличие и положение полос на электрофореграммах растворов испытуемого образца (в восстанавливающих и невосстанавливающих условиях) по электрофоретической подвижности и интенсивности окрашивания визуально соответствует профилю полос на электрофореграммах растворов стандартного образца пегилированного интерферона альфа-2b с концентрацией 0,05 мг/мл (в восстанавливающих и невосстанавливающих условиях);
* на электрофореграммах растворов испытуемого образца (в восстанавливающих и невосстанавливающих условиях) молекулярная масса наиболее интенсивной полосы, определенная по стандартам молекулярных масс, находится в диапазоне от 34 до 48 кДа;
* содержание примесей неинтерфероновой природы не более 2 % в восстанавливающих условиях;
* содержание примесей неинтерфероновой природы не более 3,5 % в невосстанавливающих условиях.

**Вода.** Не более 3,0 %. Определение проводят методом К.Фишера в соответствии с ОФС «Определение воды» или в соответствии с ОФС «Потеря в массе при высушивании» Методика испытания должна быть указана в нормативной документации.

**Бактериальные эндотоксины.** Не более 2,0 ЕЭ/мкг. Испытание проводят в соответствии с ОФС «Бактериальные эндотоксины» (метод А).

**Аномальная токсичность.** Должен быть не токсичным. Определение проводят в соответствии с ОФС «Аномальная токсичность». Тест-доза 50 мкг в 0,5 мл вводится мышам внутривенно. Срок наблюдения 48 ч.

**Стерильность.** Должен быть стерильным. Испытание проводят в соответствии с ОФС «Стерильность» методом мембранной фильтрации. Препарат не обладает антимикробным действием в условиях испытания. Для испытания используют препарат без пробоподготовки.

**Количественное определение.** От 86 и до 116 % от номинального значения. Определение проводят спектрофотометрическим методом в соответствии с требованиями ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях», методика должна быть указана в нормативной документации.

**Специфическая активность.** От 50 до 150 % от номинального значения. В 0,5 мл специфическая активность пегилированного интерферона альфа-2b с содержанием:

* 50 мкг составляет 10000000 МЕ/мл;
* 80 мкг - 16000000 МЕ/мл;
* 100 мкг -20000000 МЕ/мл;
* 120 мкг - 24000000 МЕ/мл;
* 150 мкг - 30000000 МЕ/мл.

Испытание проводят в соответствии с требованиями ОФС «Биологические методы испытания препаратов интерферона с использованием культур клеток». Активность препарата определяют по его способности подавлять цитопатическое действие вируса на культуре клеток в сравнении с аналогичным действием международного стандартного образца активности интерферона альфа - 2b.

**Растворитель.** Должен соответствовать требованиям ФС «Вода для инъекций».

**Упаковка и маркировка.** В соответствии с ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственных средств» и ОФС «Лекарственные формы».

**Транспортирование и хранение.** В соответствии с ОФС «Упаковка, маркировка и транспортирование лекарственных средств», и «Хранение лекарственных средств» при температуре от 2 до 8 °С, в защищенном от света месте. Замораживание не допускается.