

## Physico-Chemical Characterization and Biological Evaluation of Recombinant Human Erythropoietin in Pharmaceutical Products

Cleber A. SCHMIDT, Cristiane F. CODEVILLA, Marcio FRONZA,  
Renata Girardi CASALI & Sérgio L. DALMORA\*

*Department of Industrial Pharmacy, Health Science Centre, Federal University of Santa Maria,  
97.105-900 - SANTA MARIA-RS, Brazil.*

---

**SUMMARY.** Recombinant human erythropoietin (rhEPO) from different manufacturers was analysed by non-reducing polyacrylamide gel electrophoresis and by immunodetection with a specific antiEPO anti-serum, revealing a single broad diffuse band in the molecular weight range 30 - 40 kDa. The isoform compositions revealed by isoelectric focusing (IEF) after immunoblotting and lectin blotting showed extensive heterogeneity, with 5 - 8 isoforms evident over the isoelectric point (pI) range 4.4 - 5.2 and with the proportions and the position of the bands differing significantly between preparations. The biological activity of the pharmaceutical preparations of rhEPO was assessed by an *in vivo* bioassay using normocythaemic mice. The IEF and lectin blotting profiles generally correlated with the bioassay results, indicating that the products containing the greater proportion of acidic isoforms had the greater biopotencies. The degree of aggregation of preparations formulated without human serum albumin shown to vary between 1.4 to 13.6% of the total EPO content.

**RESUMEN.** "Caracterización Físicoquímica e Evaluación Biológica de Eritropoyetina Humana Recombinante en Productos Farmacéuticos". El objetivo de este trabajo es efectuar la identificación de eritropoyetina (EPO) humana recombinante en productos farmacéuticos comerciales por electroforesis en gel de poliacrilamida y su detección con anticuerpos específicos, demostrándose típica banda larga con peso molecular entre 30 - 40 kDa. La composición de las isoformas detectadas por isoelectroenfoque (IEF) después de inmunodetección y de ligación a las lectinas presentaron heterogeneidad con 5 - 8 isoformas distribuidas en la banda de punto isoeléctrico (pI) de 4,4 - 5,2 y bandas con proporciones y posiciones significativamente diferentes entre las preparaciones. La actividad biológica fue evaluada por ensayos con ratones normocitémicos. Haciéndose una correlación entre los resultados de los bioensayos con los perfiles de IEF y su ligación a las lectinas, puede observarse que los productos con isoformas ácidas presentan mayor actividad biológica. Se evaluarán los agregados de las preparaciones sin seroalbúmina humana por cromatografía líquida a alta presión obteniendo valores entre 1,4 y 13,6 % del contenido total de EPO.

---

**KEYWORDS:** Bioactivity, Isoelectric focusing, Isoforms, Lectins, Recombinant erythropoietin.

**PALABRAS CLAVE:** Bioactividad, Eritropoyetina recombinante, Isoelectroenfoque, Isoformas, Lectinas.

\* Corresponding author. *E-mail address:* sdalmora@ccs.ufsm.br