

重组人干扰素 $\alpha 1b$ 注射剂评价性抽验结果与质量分析

裴德宁, 丁有学, 郭莹, 史新昌, 毕华, 秦玺, 饶春明*

中国食品药品检定研究院 重组药物室, 北京 100050

摘要: 目的 评价重组人干扰素 $\alpha 1b$ 注射剂的质量现状及存在问题。方法 抽取 2 个企业生产的 31 批注射用重组人干扰素 $\alpha 1b$ 和 11 批重组人干扰素 $\alpha 1b$ 注射液, 按照《中国药典》2010 年版三部标准进行检验, 统计分析生物学活性、渗透压摩尔浓度、水分、pH 值等检验结果, 对国产重组人干扰素 $\alpha 1b$ 注射剂的质量现状进行评价。结果 42 批样品检验全部合格, 各生产企业生产工艺比较稳定。结论 该品种总体质量状况良好, 现行质量标准能够保证产品的安全有效, 渗透压摩尔浓度项目的标准规定应进一步完善。

关键词: 重组人干扰素 $\alpha 1b$; 注射用重组人干扰素 $\alpha 1b$; 重组人干扰素 $\alpha 1b$ 注射液; 评价性抽验; 质量分析

中图分类号: R927.11 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2017)03-0341-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2017.03.010

Sampling results and quality assessment of recombinant human interferon $\alpha 1b$ injection

PEI De-ning, DING You-xue, GUO Ying, SHI Xin-chang, BI Hua, QIN Xi, RAO Chun-ming

Division of Recombinant Biological Products, National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China

Abstract: **Objective** To evaluate the quality status of recombinant human interferon $\alpha 1b$ injection and find out some quality problems. **Methods** Totally 31 batches of recombinant human interferon $\alpha 1b$ for injection and 11 batches of recombinant human interferon $\alpha 1b$ injection from two enterprises were examined according to *Chinese Pharmacopoeia* Volume III (2010), and the quality status of recombinant human interferon $\alpha 1b$ injection was evaluated by statistical analysis of the results. **Results** All 42 batches of samples were qualified. The production process of each enterprise was steady. **Conclusion** At present the quality of recombinant human interferon $\alpha 1b$ injection is generally good. The current standards are feasible, but the specified standard of osmolality needs to be improved.

Key words: recombinant human interferon $\alpha 1b$; recombinant human interferon $\alpha 1b$ for injection; recombinant human interferon $\alpha 1b$ injection; evaluative testing; quality evaluation

重组人干扰素 $\alpha 1b$ 注射剂是中国第一个基因工程药物, 适应证为病毒性疾病和某些恶性肿瘤, 主要用于治疗慢性乙型肝炎、丙型肝炎和毛细胞白血病等^[1-3], 慢性乙型肝炎 514 例经 3 个月治疗后, HBeAg 阴转率为 51.4%、HBV DNA 阴转率 65.8%、ALT 复常率 57.7%^[4]。包括注射用重组人干扰素 $\alpha 1b$ 、重组人干扰素 $\alpha 1b$ 注射液 2 个品种, 国内共有 2 家生产企业, 药品批准文号 17 个。根据国家药品抽验计划, 2015 年 10 月前对该类制品进行了首次评价性抽验, 抽取 31 批注射用重组人干扰素 $\alpha 1b$ 和 11 批重组人干扰素 $\alpha 1b$ 注射液样品, 按照《中

国药典》2010 年版三部进行检验分析, 评价该品种的质量状况, 为合理与安全用药提供保障。

1 材料

重组人干扰素 $\alpha 1b$ 活性测定国家标准品 (批号 97/01, 生物学活性 15 000 IU/支), 由中国食品药品检定研究院提供; 人羊膜细胞和水泡性口炎病毒为本实验室保存; M5 型酶标仪, 美国 Molecular Devices 公司产品; 756KF 型库仑法水分测定仪, 瑞士 Metrohm 公司产品; 2020 型渗透压摩尔浓度仪, 美国 Advanced Instruments 公司产品; S220 酸度计, 中国梅特勒托利多公司产品。

收稿日期: 2016-12-15

作者简介: 裴德宁, 副研究员, 研究方向为生物制品的质量控制。E-mail: peidening@nifdc.org.cn

*通信作者 饶春明, 研究员, 研究方向为生物制品的质量控制。E-mail: raocm@nifdc.org.cn

2 方法

抽取了2家企业(A、B)生产的31批注射用重组人干扰素 $\alpha 1b$ 和11批重组人干扰素 $\alpha 1b$ 注射液,样本分布于13个省市自治区,规格包括10、20、30、40、50、60 $\mu\text{g}/\text{支}$,抽样涉及的批准文号占文号总数的71%,在生产环节、经营环节、使用环节抽样的比例分别为29%、31%和40%。42批样品按照《中国药典》2010年版三部标准进行全检^[5],检验项目包括鉴别试验、外观、可见异物、装量、水分、pH值、渗透压摩尔浓度、生物学活性、残

余抗生素活性、无菌检查、细菌内毒素检查、异常毒性检查。对与产品质量密切相关的定量检查项目如生物学活性、水分、渗透压摩尔浓度、pH值的结果进行统计分析。

3 结果

3.1 生物学活性测定

生物学活性是评价产品有效性的主要指标,也是对温度敏感的指标^[6]。《中国药典》中该项标准规定为“应为标示量的80%~150%”。使用细胞病变抑制法测定42批产品的生物学活性,结果见表1、2。

表1 注射用重组人干扰素 $\alpha 1b$ 生物学活性、水分、渗透压摩尔浓度及pH值测定结果

Table 1 Determination results of bioactivity, moisture content, osmolality, and pH of recombinant human interferon $\alpha 1b$ for injection

生产单位	规格/ $(\mu\text{g}\cdot\text{支}^{-1})$	批号	生物学活性/%	水分/%	渗透压摩尔浓度/ $(\text{mOsmol}\cdot\text{kg}^{-1})$	pH值	
A	10	201503008	125	1.0	294	6.8	
		201503010	111	0.8	286	6.8	
		201412083	136	0.7	299	6.8	
		201412085	148	0.4	294	6.9	
		201503009	135	0.5	282	6.8	
		201412087	121	0.5	286	6.8	
	20	201503010	126	0.9	286	6.8	
		201502006	130	0.6	292	6.9	
		201503017	132	0.7	283	6.8	
		201506042	136	0.7	290	6.9	
		201504021	139	0.7	297	6.9	
		201503014	120	0.7	287	6.8	
		201412086	124	0.6	294	6.8	
		201503011	142	0.5	302	6.8	
		30	201504022	135	0.7	299	6.8
			201411073	145	0.8	284	6.8
			201505032	143	0.9	298	6.9
		40	201502007	142	0.6	292	6.9
			50	201411077	128	0.7	289
		201409054		144	0.8	290	6.9
		201411072		133	0.7	299	6.9
201503015	136	0.8		282	6.8		
201505031	134	0.8		285	6.9		
201504026	137	0.7		284	6.9		
60	201503013	128	0.6	285	6.8		
	B	10	20150704	85	2.4	224	7.0
			20150321	109	1.5	216	7.0
20150319			88	1.9	204	7.0	
20150322			94	1.9	198	7.0	
30			20141005	86	2.1	213	7.0
	20150605	92	2.3	242	7.0		

其中 A 企业 25 批产品生物学活性（以与标示量的百分比表示，下同）平均值为 133%，相对标准偏差（RSD）值为 6.66%；B 企业 17 批产品生物学活性平均值为 93%，RSD 为 6.9%。两家企业各批次产品间的变异度较小，说明两家企业的生产工艺均比较稳定。

根据抽样环节的不同进行统计，A 企业产品在生产环节抽样 10 批，生物学活性平均值为 137%，在经营环节抽样 4 批，生物学活性平均值为 139%，在使用环节抽样 11 批，生物学活性平均值为 128%；B 企业产品在生产环节抽样 2 批，生物学活性平均值为 88%，在经营环节抽样 9 批，生物学活性平均值为 96%，在使用环节抽样 6 批，生物学活性平均值为 90%。两家企业在不同环节抽样产品的生物学活性平均值无显著差别，说明贮存、运输环节符合冷链要求。

3.2 水分测定

水分含量的高低与注射用冻干制剂稳定性密切相关，不同批次产品水分含量的变化还能反映冻干等工艺的稳定性^[7]。《中国药典》中该项的标准规定为“应不高于 3.0%”。使用库仑滴定法测定 42 批产品的水分含量，结果见表 1、2。其中 A 企业 25 批注射用重组人干扰素 $\alpha 1b$ 水分含量的平均值为 0.7%，RSD 值为 20%；B 企业 6 批注射用重组人干扰素 $\alpha 1b$ 水分含量的平均值为 2.0%，RSD 值为 16%。两家企业各批次产品之间水分的变异度均在合理范围内，说明冻干生产工艺比较稳定。

3.3 渗透压摩尔浓度测定

渗透压摩尔浓度由产品中各成分的种类及含量决定，能够反映配制、稀释等生产工艺的稳定性，

《中国药典》中该项的标准规定为“依法测定，应符合批准的要求”。使用渗透压摩尔浓度仪（采用冰点下降原理设计）测定 42 批产品的渗透压摩尔浓度，结果见表 1、2。A 企业 25 批注射用重组人干扰素 $\alpha 1b$ 的渗透压摩尔浓度的平均值为 290 mOsmol/kg，为厂家规定的中间值 290 mOsmol/kg 的 100%，RSD 值为 2.12%。B 企业 6 批注射用重组人干扰素 $\alpha 1b$ 的渗透压摩尔浓度的平均值为 216 mOsmol/kg，为厂家规定的中间值 225 mOsmol/kg 的 96%，RSD 值为 7.22%；11 批重组人干扰素 $\alpha 1b$ 注射液的渗透压摩尔浓度的平均值为 273 mOsmol/kg，为厂家规定的中间值 290 mOsmol/kg 的 94%，RSD 值为 4.30%。两家企业各批次产品之间渗透压摩尔浓度的变异度均较小，说明配制、稀释等生产工艺比较稳定。

3.4 pH 值测定

pH 值能够影响产品中干扰素蛋白的有效性、稳定性，通过分析不同批次产品 pH 值的变异度还能考察生产工艺的稳定性，《中国药典》中该项的标准规定为 pH 值“6.5~7.5”。使用酸度计测定 42 批产品的 pH 值，结果见表 1、2。其中 A 企业 25 批注射用重组人干扰素 $\alpha 1b$ pH 值的平均值为 6.8，RSD 值为 0.74%。B 企业 6 批注射用重组人干扰素 $\alpha 1b$ pH 值的平均值为 7.0，RSD 值为 0；11 批重组人干扰素 $\alpha 1b$ 注射液 pH 值的平均值为 6.8，RSD 值为 0.77%。两家企业各批次产品之间 pH 值的变异度都很小，反映了配制、稀释等工艺比较稳定。

3.5 其他检验项目

鉴别试验、外观、可见异物、装量、残余抗生素活性、无菌检查、细菌内毒素检查、异常毒性检

表 2 重组人干扰素 $\alpha 1b$ 注射液生物学活性、水分、渗透压摩尔浓度及 pH 值测定结果

Table 2 Determination results of bioactivity, moisture content, osmolality, and pH of recombinant human interferon $\alpha 1b$ injection

生产单位	规格/($\mu\text{g}\cdot\text{支}^{-1}$)	批号	生物学活性/%	渗透压摩尔浓度/($\text{mOsmol}\cdot\text{kg}^{-1}$)	pH 值	
B	10	20141127	99	264	6.7	
		20150309	91	256	6.7	
		20150107	90	264	6.8	
		20141216	88	264	6.7	
	20	20150412	103	281	6.7	
		30	20150203	92	273	6.8
	50	20141212	93	267	6.8	
			20150306	98	277	6.7
		20150316	86	287	6.8	
			20150105	95	276	6.8
			20150316	89	296	6.8

查等项目按《中国药典》2010年版三部方法进行检定,结果均符合规定。

4 讨论

重组人干扰素 $\alpha 1b$ 注射剂是由高效表达人干扰素 $\alpha 1b$ 基因的大肠杆菌,经发酵、分离和高度纯化后获得的重组人干扰素 $\alpha 1b$ 制成,生产工艺包括种子液制备、种子液接种及发酵培养、发酵液处理、初步纯化、高度纯化,稀释与除菌,分装(及冻干)。《中国生物制品规程》2000年版首次收录了重组人干扰素 $\alpha 1b$ 注射剂^[8]。随着药典改版,重组人干扰素 $\alpha 1b$ 注射剂质量标准不断完善,《中国药典》2010年版三部质量标准从鉴别、纯度和杂质、生物学活性、含量、安全性试验等方面对重组人干扰素 $\alpha 1b$ 的原液和成品进行质量控制,保证了重组人干扰素 $\alpha 1b$ 注射剂的安全、有效、质量可控。

渗透压是溶液的主要理化性质之一,在制备注射剂等药物制剂时,必须关注其渗透压。对于重组蛋白药物,渗透压还能够影响蛋白质的稳定性,渗透压摩尔浓度反映的是溶液中各种溶质对溶液渗透压作用的总和,渗透压如果发生变化,则反映处方中各组成成分所占比例可能会发生变化,因此渗透压摩尔浓度也是考核产品工艺稳定性的一项重要指标^[9-11]。与其他定量检测项目都明确规定数值范围或百分比范围不同,《中国药典》2010年版三部对渗透压摩尔浓度项目的规定是:“依法测定,应符合批准的要求”。但是各企业自行规定的渗透压摩尔浓度的百分比范围各不相同,造成了渗透压摩尔浓度标准的不统一,不利于监管部门对产品进行标准一致的质量评价。如,A企业规定注射用重组人干扰素 $\alpha 1b$ 渗透压摩尔浓度范围应为中间值的86%~114%,B企业规定渗透压摩尔浓度范围应为中间值的84%~116%。随着国家评价性抽验的开展,已经积累了大量渗透压摩尔浓度测定数据,为在下一版《中国药典》统一规定渗透压摩尔浓度的百分比范围提供了依据。

通过此次评价性抽验,表明重组人干扰素 $\alpha 1b$ 注射剂质量状况总体较好,《中国药典》标准基本可行。但是也有需要完善的地方,建议规定统一的渗透压摩尔浓度的百分比范围。今后将继续对该产品进行质量评价,开展质控研究,进一步提高该产品质量水平。

参考文献

- [1] Masci P, Olencki T, Wood L, et al. Gene modulatory effects, pharmacokinetics, and clinical tolerance of interferon-alpha1b: a second member of the interferon-alpha family [J]. Clin Pharmacol Ther, 2007, 81(3): 354-361.
- [2] Huang X, Zhang X, Wang F, et al. Clinical efficacy of therapy with recombinant human interferon $\alpha 1b$ in hand, foot, and mouth disease with enterovirus 71 infection [J]. PLoS One, 2016, 11(2): e0148907.
- [3] Gao K, Wang J. The biopharmaceutical industry in China: history and future perspectives [J]. Front Med, 2012, 6(2): 101-111.
- [4] rhIFN $\alpha 1b$ 赛若金治疗乙型肝炎临床协作组. 基因工程干扰素 $\alpha 1b$ 治疗慢性乙型肝炎III期临床研究报告 [J]. 实用肝脏病杂志, 1997, 2(1): 10-13.
- [5] 中国药典 [S]. 三部. 2010: 252-255.
- [6] 王军志. 生物技术药物研究开发和质量控制 [M]. 北京: 科学出版社, 2007.
- [7] Duru C, Swann C, Dunleavy U, et al. The importance of formulation in the successful lyophilization of influenza reference materials [J]. Biologicals, 2015, 43(2): 110-116.
- [8] 中国生物制品规程 [S]. 2000: 370-375.
- [9] 梁成罡, 吕萍, 丁晓丽, 等. 脑蛋白水解物注射液的渗透压分析 [J]. 药物分析杂志, 2009, 29(9): 1582-1584.
- [10] 张金岩, 邱野, 李帅, 等. 冰点下降法测定注射用胸腺肽的渗透压 [J]. 中国生物制品学杂志, 2013, 26(3): 377-379.
- [11] 曹凤习, 张文. 常见静脉注射剂渗透压考察 [J]. 中国药业, 2008, 17(10): 36-37.