



高等职业教育“十二五”规划教材



生物药物检测技术

赵 丽 陈红英 主编



中国轻工业出版社

全国百佳图书出版单位

职业教育“十二五”规划教材

高等职业教育“十二五”规划教材

生物药物检测技术

赵丽 陈红英 主编



中国轻工业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

生物药物检测技术/赵丽, 陈红英主编. —北京: 中国轻工业出版社,
2015. 3

高等职业教育“十二五”规划教材

ISBN 978 - 7 - 5184 - 0213 - 7

I. ①生… II. ①赵… ②陈… III. ①生物制品—检测—高等职业
教育—教材 IV. ①R927. 1

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2015) 第 019527 号

责任编辑: 王 朗

策划编辑: 江 娟

责任终审: 张乃东

封面设计: 锋尚设计

版式设计: 王超男

责任校对: 燕 杰

责任监印: 张 可

出版发行: 中国轻工业出版社 (北京东长安街 6 号, 邮编: 100740)

印 刷: 三河市万龙印装有限公司

经 销: 各地新华书店

版 次: 2015 年 3 月第 1 版第 1 次印刷

开 本: 720 × 1000 1/16 印张: 14

字 数: 277 千字

书 号: ISBN 978 - 7 - 5184 - 0213 - 7 定价: 29.00 元

邮购电话: 010 - 65241695 传真: 65128352

发行电话: 010 - 85119835 85119793 传真: 85113293

网 址: <http://www.chlip.com.cn>

Email: club@chlip.com.cn

如发现图书残缺请直接与我社邮购联系调换

120900J2X101ZBW

目 录

模块一 基础篇	1
项目一 生物药物检测基本要素	1
任务一 了解生物药物	1
任务二 生物药物的质量及其控制	5
任务三 生物药物检验的基本程序及内容	9
项目二 生物药物的杂质与安全检查	20
任务一 一般杂质及其检查技术	22
任务二 特殊杂质及其检查技术	33
任务三 安全性检查	37
任务四 无菌检查	40
任务五 微生物限度检查	43
项目三 生物制品的质量检定	56
任务一 生物制品概述	56
任务二 生物制品质量检定的内容	58
任务三 生物制品检定实例	73
项目四 抗生素类药物的检测	105
任务一 概述	105
任务二 抗生素的微生物检定	106
项目五 蛋白质类药物的检测	118
任务一 氨基酸、蛋白质类药物的检测	118
任务二 酶类药物的检测	135
项目六 维生素及辅酶类药物的检测	143
任务一 维生素类药物的检测	143
任务二 辅酶类药物的检测	158

项目七 糖类、脂类和核酸类药物的检测	161
任务一 糖类药物的检测	161
任务二 脂类药物的检测	170
任务三 核酸类药物的检测	177
模块二 实践技能操作篇	186
实训一 丙氨酸的一般杂质检查	186
实训二 灭菌制剂的无菌检查	190
实训三 口服制剂的微生物限度检查	193
实训四 TCID ₅₀ 测定猪伪狂犬病毒活疫苗的病毒含量	196
实训五 血凝试验测定鸡新城疫活疫苗的病毒含量	198
实训六 血凝抑制试验测定猪细小病毒灭活疫苗的效力	200
实训七 琼脂扩散试验测定马传染性贫血活疫苗的效力	202
实训八 红霉素的效价测定	204
实训九 维生素 C 注射液的含量测定	206
附录 生物药物检测技术常用试剂配制	208
参考文献	212

模块一 基础篇

随着生物技术的不断发展,人类健康越来越离不开生物药物,而生物药物检测技术也越来越受到人们的重视。本模块简要介绍了生物药物检测的基本技术、质量标准及常用生物药物检测技术,要求学生重点掌握生物药物的基本检测技术和常用生物药物的检测技术,了解生物药物的常用检测方法、检测新技术和新方法。

项目一 生物药物检测基本要素

由于生物药物种类繁多,应用和涉及面很广,因此学习生物药物检测技术,首先要认识和了解生物药物及检测技术。通过本项目的学习,要能够了解生物药物的性质、应用及分类,了解生物药物分析检验的特点,了解《中国药典》及生物药物的质量标准,熟悉生物药物检验工作的基本程序及内容,了解常用生物药物检测技术及方法。

任务一 了解生物药物

一、生物药物及其分类

生物药物是利用生物体、生物组织或其成分,综合应用生物学、生物化学、微生物学、免疫学、物理化学和药学等多门学科的原理与方法,采用现代生物技术加工、制造而成的一大类用于预防、诊断、治疗的药物。

生物药物按其发展过程大致可分为三代,第一代生物药物是利用生物材料加工制成的含有某些天然活性物质与混合成分的粗提物制剂,如胎盘制剂、脑垂体后叶制剂、肾上腺提取物、眼制剂、混合血清等;第二代生物药物是利用近代生化技术从生物材料中分离、纯化获得的有针对性治疗作用的生物活性物质,如纯化胰岛素、前列腺素E、尿激酶、肝素钠、人丙种球蛋白、转铁蛋白、狂犬病免疫球蛋白等;第三代生物药物是利用生物工程技术生产的天然生理活性物质,以及通过生物工程手段改造的具有比天然物质更高药理活性的新物质,为新型的生物药物,其种类繁多。

生物药物按其来源和生产方法可大致分为三类。

(1) 生化药物 一般是指从动物、植物及微生物中提取的,也可用于生物化学半合成或用现代生物技术制得的生命基本物质及其衍生物、降解物、大分子

结构修饰物等，如氨基酸、多肽、蛋白质、酶、辅酶、多核苷酸、糖、脂类等。

(2) 生物合成药物 由微生物代谢所产生的药物和必须利用微生物代谢及其酶转化反应共同完成的半合成药物，如醇酮类、有机酸、氨基酸、核苷酸、维生素、生物碱、甾体激素、抗生素、酶和辅酶类等。

(3) 生物制品 凡是从微生物、原虫、动物或人体材料直接制备或用现代生物技术、化学方法制成，作为预防、治疗、诊断特定传染病或其他疾病的制剂，统称为生物制品，如疫苗、免疫血清、血液制剂、免疫调节剂（各种细胞因子、转移因子、胸腺肽、免疫核糖核酸）、诊断试剂等。

以上三类药物之间并无明显的界限。随着现代生物制药技术的发展和运用，上述三者正在彼此交叉、相互融合，因而统称为生物药物。

生物药物按其化学本质和化学特性可分为如下几类。

(1) 氨基酸及其衍生物类药物 包括天然的氨基酸和氨基酸混合物，以及氨基酸衍生物。

(2) 多肽和蛋白质类药物 多肽和蛋白质的化学本质是相同的，性质也相似。多肽类药物有催产素、降钙素、胰高血糖素等。蛋白质类药物有血清白蛋白、丙种球蛋白、胰岛素等。

(3) 酶与辅酶类药物 酶类药物按其功能可分为消化酶类、消炎酶类、心脑血管疾病治疗酶类、抗肿瘤酶类、氧化还原酶类等。辅酶种类繁多，结构各异，一部分辅酶也属于核酸类药物。

(4) 核酸及其降解物和衍生物类药物 包括核酸（DNA，RNA）、多聚核苷酸、单核苷酸、核苷、碱基等，以及人工化学修饰的核苷酸、核苷、碱基等的衍生物，如5-氟尿嘧啶、6-巯基嘌呤等。

(5) 糖类药物 以黏多糖为主。多糖类药物的特点是具有多糖结构，由糖苷键将单糖连接而成。但由于单糖结构中糖苷键的位置不同，因而多糖种类繁多，药理功能各异。

(6) 脂类药物 脂类药物具有相似的性质，能溶于有机溶剂而不易溶于水，在化学结构上差异较大。主要有脂肪和脂肪酸类、磷脂类、胆酸类、固醇类、卞啉类等。

(7) 细胞生长因子类 细胞生长因子是人类或动物的各类细胞分泌的具有多种生物活性的因子。细胞生长因子类药物是近年来发展最迅速的生物药物之一，也是生物技术在该领域应用最多的产品，如基因工程白细胞介素（IL）、红细胞生成素（EPO）等。它们对人类或动物体内细胞的生长与分化起重要的调节作用。近十年来，人们广泛研究的有干扰素、白细胞介素、肿瘤坏死因子、集落刺激因子四大系列十几种细胞生长因子。

(8) 生物制品类 从微生物、原虫、动物或人体材料直接制备或用现代生物技术、化学方法制成的预防、治疗、诊断特定传染病或其他疾病的制剂，统称

为生物制品。

二、生物药物的性质

1. 生物学特性

(1) 化学构成上 生物药物十分接近于人体内的正常生理物质，进入人体后也更易被机体吸收利用，并参与人体的正常代谢与调节。

(2) 药理学上 生物药物具有更高的生化机制合理性和特异治疗有效性。如细胞色素 C 为呼吸链的一个重要成员，用它治疗因组织缺氧所引起的一系列疾病，效果显著。

(3) 医疗上 生物药物具有药理活性高、针对性强、毒性低、副作用小、疗效可靠、营养价值高等特点。像蛋白质、核酸、糖类、脂类等生物药物可直接供给机体，对人体不仅无害，而且还是重要的营养物质。

(4) 生物药物的原料中有效成分含量低，杂质含量相对比较高，生理副作用常有发生。不同生物，甚至相同生物的不同个体之间的活性物质的结构都有很大差异，这种差异致使在应用生物药物时表现出副作用，如免疫反应、过敏反应等。

2. 在生产、制备、检验中的特殊性

(1) 原料中有效物质含量低 如胰腺中胰岛素含量仅为 0.002%，还含有多种酶、蛋白质等杂质，提纯工艺很复杂。

(2) 稳定性差 生物药物的分子结构中一般具有特定的活性部位，生物大分子药物是以其严格的空 间构象来维持其生物活性功能的，其空间构象一旦遭到破坏，就会失去其药理作用。引起活性破坏的因素有温度、压力、重金属、pH、自身酶水解等。

(3) 易腐败 由于生物药物原料及产品均为营养高的物质，因此极易染菌、腐败，从而造成有效物质被破坏，失去活性，并且产生热原或致敏物质等。因此生产过程中要求低温、无菌操作等。

(4) 注射用药有特殊要求 生物药物由于易被胃肠道中的酶所分解，所以主要给药途径是注射用药，对药品制剂的均一性、安全性、稳定性、有效性等都有严格要求。其制造工艺设计与质量标准的制定也应与一般化学药物有较多区别。

(5) 检验的特殊性 对生物药物有效成分的检测，除应用一般化学方法外，更应根据制品的特异生理效应或专一生化反应拟定其生物活性检测方法。

三、生物药物分析与检验的特点

(1) 需进行相对分子质量的测定 生物药物除氨基酸、核苷酸、辅酶及甾体激素等属化学结构明确的小分子化合物外，大部分为大分子物质（如蛋白质、

多肽、核酸、多糖类等),其相对分子质量一般为几千至几十万。对大分子的生物药物而言,即使组分相同,往往由于相对分子质量不同而产生不同的生理活性。所以生物药物常需进行相对分子质量的测定。

(2) 需检查生物活性 在制备多肽类或蛋白质类药物时,有时因工艺条件的变换,导致活性多肽或蛋白质失活。因此对这类生物药物除了用通常的理化法检验外,尚需结合生物检定法检定其生物活性。

(3) 需做安全性检查 由于生物药物的性质特殊,生产工艺复杂,易引入特殊杂质,故生物药物常需做安全性检查,如热原检查、过敏试验、异常毒性试验等。

(4) 需做效价测定 生化药物多数可通过含量测定以表明其主药的含量。但对某些药物需进行效价测定或酶活力测定,以表明其有效成分含量的高低。

(5) 要用生化法确证结构 在大分子生物药物中,由于有效结构或相对分子质量不确定,其结构的确证很难沿用元素分析、红外、紫外、核磁、质谱等分析方法加以证实,往往还要用生化法如氨基酸序列分析等方法加以确证。

四、生物药物的应用

(1) 作为治疗药物 对许多常见病、多发病,生物药物都有较好的疗效。对目前危害人类健康最严重的一些疾病如恶性肿瘤、艾滋病、糖尿病、心血管疾病、乙型肝炎、内分泌障碍、免疫性疾病、遗传病等,生物药物发挥着其他药物不可比拟的治疗作用。

按其药理作用主要有以下几大类:①内分泌障碍治疗剂;②维生素类药物;③中枢神经系统药物;④血液和造血系统药物;⑤呼吸系统药物;⑥心血管系统药物;⑦消化系统药物;⑧抗病毒药物;⑨抗肿瘤药物;⑩抗辐射药物;⑪计划生育用药;⑫生物制品类治疗药。

(2) 作为预防药物 许多疾病尤其是传染病的预防比治疗更为重要。通过预防,许多传染病得以控制,直到根绝。常见预防用生物药物有菌苗、疫苗、类毒素及冠心病防治药物等。

(3) 作为诊断药物 生物药物用作诊断试剂是其最突出又独特的另一临床用途,具有速度快、灵敏度高、特异性强等特点。绝大多数临床诊断试剂都来自生物药物。

诊断用药有体内(注射)和体外(试管)两大使用途径。主要有:①免疫诊断试剂;②酶诊断试剂;③器官功能诊断药物;④放射性核素诊断药物;⑤单克隆抗体(McAb)诊断试剂;⑥基因诊断药物。

(4) 用作其他生物医药用品 生物药物应用的另一个重要发展趋势就是渗入到生化试剂、生物医学材料、保健品、营养品、食品、日用化工和化妆品等各个领域。

任务二 生物药物的质量及其控制

一、生物药物质量控制的重要性与特殊性

生物药物是一类特殊的商品，它除用于临床治疗和诊断以外，还用于健康人特别是儿童的预防接种，以增强机体对疾病的抵抗力。生物药物的质量与人们的生命密切相关，质量好的制品可增强人的免疫力，治病救人，造福于人类；质量差的制品不但不能保障人类的健康，还可能危害人的生命。如许多基因工程药物，特别是细胞因子药物都可参与人体机能的精细调节，在极微量的情况下就会产生显著的效应，任何性质或数量上的偏差，都可能贻误病情，甚至造成严重危害。因此，对生物药物及其产品进行严格的质量控制就显得十分必要。

为了保证用药的安全、合理和有效，在生物药物的研制、生产、供应以及临床使用过程中都应该进行严格的质量控制和科学管理，并采用各种有效的分析检测方法对生物药物进行严格的分析检验，从而对各个环节进行全面控制、管理，以提高药品的质量，实现药品的全面质量控制。

二、生物药物的质量标准

药品的质量标准是国家对药品质量、规格及检验方法所做的技术规定，是药品生产、供应、使用、检验和监督管理部门共同遵循的法定技术依据，也是药品生产和临床用药水平的重要标准。为确保药品的质量，应遵循国家规定的药品质量标准（药典、部颁标准、地方标准）进行药品检验和质量控制工作。国家卫生行政管理部门的药政机构和药品检验机构代表国家行使对药品的管理和质量监督。《中华人民共和国药品管理法》规定药品必须符合国家药品标准。《中华人民共和国标准化法实施条例》规定药品标准属于强制性标准。

药品质量标准包括国家标准和企业标准。药典是一个国家关于药品标准的法典，是国家管理药品生产与质量的依据，和其他法令一样具有约束力。凡属药典的药品，其质量不符合规定标准的均不得出厂、不得销售、不得使用。

《中华人民共和国药典》为我国药典的全称，简称《中国药典》，其后以括号注明是哪一年版，如最新版药典可以表示为《中国药典》（2010年版）；如用英文表示则为 Chinese Pharmacopoeia（缩写为 Ch. P）。新中国成立以来，我国已经出版了9版药典（1953年版、1963年版、1977年版、1985年版、1990年版、1995年版、2000年版、2005年版、2010年版）。

《中国药典》（2010年版）经过第九届药典委员会执行委员会审议通过，并经国家食品药品监督管理局批准颁布，自2010年10月1日起执行。本版药典分为一部、二部和三部。一部包括中药材、中药饮片、中药提取物、中药成方及单味制剂等；二部包括化学药品、抗生素、生化药品、放射性药品、药用辅料等；

三部为生物制品。

药典的内容一般分为凡例、正文、附录和索引四部分。

《中国药典》的内容分为：凡例、正文（名称、性状、鉴别、含量测定、类别、剂量、注意、规格、贮藏、制剂）、附录和索引，还有配套的《药品红外光谱集》和《临床用药须知》。

1. 凡例部分

“凡例”是解释和使用《中国药典》正确进行质量检定的基本原则，并把与正文品种、附录及质量检定有关的共性问题加以规定，避免在全书中重复说明。“凡例”中的有关规定具有法定的约束力。“凡例”的分类项目有名称及编排、标准规定、检验方法和限度、标准品和对照品、计量、精确度、试药、试液、指示剂、动物实验、包装和标签等，以便于查阅和使用。主要项目如下：

(1) 名称及编排 正文刊载的中文药名是按照《中国药品通用名称》命名均为法定名称。

英文名采用国际非专利药品。药品化学结构式采用世界卫生组织推荐的“药品化学结构式书写指南”书写。

有机药物化学名称根据中国化学会编撰的《化学命名原则》命名，母体的选定与《化学文摘》(CA)系统一致。此条规定保证了药品只有一个法定名，避免了药品名称的混乱以及同物异名或同名异物的问题。

(2) 标准规定 溶解度测定方法规范化，使同一药品对指定溶剂的溶解度在不同研制单位均能得到相同结果；另外还规定了化工原料作为药用时，必须制定药用的标准，并需经国家食品药品监督管理局部门批准。

(3) 检验方法和限度 本版药典收录的原料药及制剂，均应按规定的方法进行检验，若采用其他方法，应该做检验分析，但在仲裁时应该以药典方法为准。

(4) 标准品和对照品 除对标准品、对照品的制备、标定、供应等做了规定外，还规定标准品须用国际标准品进行标定，并规定凡标准品与对照品的建立或变更其原有活性成分和含量时，应与原标准品、对照品或国际标准品进行对比。

标准品是指用于生物检定、抗生素或生化药品中含量或效价测定的标准物质，按效价单位（或 μg ）计，以国际标准品进行标定。对照品是指用于生物制品理化等方面测定的特定物质，须由国家药品鉴定机构审查认可，除另有规定外，均按干燥品（或无水物质）进行计算后使用。

(5) 计量 温度以摄氏度（ $^{\circ}\text{C}$ ）表示：水浴温度， $98\sim 100^{\circ}\text{C}$ ；热水， $70\sim 80^{\circ}\text{C}$ ；室温， $10\sim 30^{\circ}\text{C}$ ；冷水， $2\sim 10^{\circ}\text{C}$ ；冰浴， 2°C 以下；放冷至室温。

液体的滴，是指 20°C 时，以 1.0mL 水为20滴进行换算。

溶液后记录的（ $1\rightarrow 10$ ），是指固体溶质 1.0g 或液体溶质 1.0mL 加溶剂使成

10mL 的溶液，未指明用何种溶剂时，均是指水溶液；两种或两种以上液体的混合物，品名间用半字线“-”隔开，其后括号内所示的“:”符号，是指各液体混合时的容量比例。

(6) 精确度 药典规定取样量的准确度和试验的精密度。

试验中供试品与试药等“称重”或“量取”的量，均以阿拉伯数字表示，其精确度可根据数值的有效数位来确定，如称取“0.1g”是指称取量可为0.06~0.14g；称取“2g”是指称取量可为1.5~2.5g；称取“2.0g”是指称取量可为1.95~2.05g；称取“2.00g”是指称取量可为1.995~2.005g。

“精密称定”是指称取质量应准确至所取质量的千分之一；“称定”是指称取质量应准确至所取质量的百分之一；“精密量取”是指量取体积的准确度应符合国家标准中对该体积移液管的精度要求；“量取”是指可用量筒或按照量取体积的有效数位选用量具。取用量为“约”若干时，是指取用量不得超过规定量的 $\pm 10\%$ 。

恒重，除另有规定外，是指供试品连续两次干燥或炽灼后的质量差异在0.3mg 以下的质量。干燥至恒重的第二次及以后各次称重均应在规定条件下继续干燥1h 后进行；炽灼至恒重的第二次称重应在继续炽灼30min 后进行。

(7) 试药、试液、指示剂 试验用水除另有规定外均是指纯化水。酸碱度检查所用水均是指新沸并放冷至室温的水。乙醇未指明浓度时，均是指95% 体积分数的乙醇。

2. 正文部分

正文是药典的主要内容，为所收载药品或制剂的质量标准。每一品种项下根据品种和剂型的不同，按顺序可分别列有：①品名（包括中文名，汉语拼音名与英文名）；②来源；③基本要求；④制造；⑤鉴定（鉴别、检查、含量测定）；⑥使用说明等。

3. 附录部分

附录部分记载了制剂通则、通用检测方法、一般鉴别试验、一般杂质检查方法、有关物理常数测定、试剂配制法等内容。

4. 索引部分

《中国药典》采用“汉语拼音索引”和“英文名称索引”这两个索引，与药典正文前的“品名目次”相配合可快速查询有关药物品种。

目前世界上已有数十个国家编制了国家药典。另外尚有区域性药典及世界卫生组织（WHO）编制的《国际药典》。在药物分析工作中可供参考的国外药典主要有：《美国药典》（The United States Pharmacopoeia, USP）、《英国药典》（British Pharmacopoeia, BP）、《日本药局方》（Japanese Pharmacopoeia, JP）、《欧洲药典》（European Pharmacopoeia, Ph. Eur）、《国际药典》（The International Pharmacopoeia, Ph. Int）等。

三、生物药物质量管理规范

一个有科学依据、切合实际的药品质量的控制涉及药物的研制、生产、供应、临床以及检验等诸多环节，需要多方面、多学科密切配合。我国陆续公布了以下对药品质量控制的全过程具有指导性作用的法令文件。

《药品非临床研究管理规范》(Good Laboratory Practice, GLP): 非临床研究是指为了评价药品的安全性, 在实验室条件下, 用实验系统进行的各种毒性试验, 包括单次给药的毒性试验、生殖毒性试验、致突变试验、致癌试验、各种刺激性试验、依赖性试验以及与评价药品安全性有关的其他毒性试验。实验系统是指用于毒性试验的动物、植物、微生物和细胞等。GLP正是为提高药品非临床研究的质量, 确保实验资料的真实性、完整性和可靠性, 保障人民用药安全, 根据《中华人民共和国药品管理法》制订的, 主要适用于为申请药品注册而进行的非临床研究。

《药品临床试验管理规范》(Good Clinical Practice, GCP): 为了保证药品临床试验资料的科学性、可靠性和重现性, 涉及新药临床研究的所有人员都应明确责任, 必须执行GCP的规定。本规范主要起两个作用: 一是为了在新药研究中保护受试者的权益并保障其安全; 二是有助于生产厂家申请临床试验和销售许可时, 能够提供有价值的临床资料。

《药品生产质量管理规范》(Good Manufacture Practice, GMP): 适用于药品制剂生产的全过程、原料药生产中影响成品质量的关键工序, 是药品生产和质量管理的基本准则。GMP是对生产的全面质量管理, 即涉及人员、厂房和设备、原材料采购、入库、检验、发料、加工、制品及半成品检验、分包装、成品检定、出品销售、运输、用户意见及反应处理等在内的全过程质量管理。生产企业为了生产出全面符合药品质量标准的药品, 必须按照GMP的规定组织生产和加强管理。

《药品经营质量管理规范》(Good Supply Practice, GSP): 为保证经销药品的质量, 保护用户、消费者的合法权益和用药安全有效而制订的规定。主要内容包括医药商品进、存、销三个环节确保质量所必需的硬件设施, 人员资格及职称, 质量管理程序和制度及文件管理系统等。

除了药品研究、生产、供应和临床各环节的科学管理外, 有关药品检验工作本身的质量管理更应重视。分析质量管理(Analytical Quality Control, AQC)即用于检验分析结果的质量。分析质量管理是指对仪器、试剂、方法和操作技术等进行分析质量管理, 监督分析质量所处的状况, 通过对测定结果的分析, 对该次测定结果进行评价并决定取舍。也可发现和分析质量差的原因, 以便改进实验设计, 提高测定质量。分析质量管理又可分为内部质量管理(Internal QC)和外部质量管理(External QC)。

任务三 生物药物检验的基本程序及内容

一、生物药物质量检验的程序与方法

《中华人民共和国药品管理法》规定药品监督管理部门设置或确定的药品检验机构，承担依法实施药品审批和药品质量监督检查所需的药品检验工作。

国家食品药品监督管理局下属的国家级药品检验所是中国药品生物制品检定所，各省、市、自治区药品检验所均承担各辖区内的药品检验工作。

药品检验工作的根本目的是保证人民用药的安全、有效。药品检验工作的基本程序一般为取样、性状、鉴别、检查、含量测定、写出检验报告。

1. 取样

分析任何药品首先是取样，要从大量的样品中取出少量样品进行分析，应考虑取样的科学性、真实性与代表性。取样的基本原则应该是均匀、合理。必要时用特殊装置，如固体原料药用取样探子取样。

取样量：设样品总件数为 x ，当 $x \leq 3$ 时，每件取样；当 $x \leq 300$ 时，按 $\sqrt{x} + 1$ 随机取样；当 $x > 300$ 时，按 $\sqrt{x}/2 + 1$ 随机取样。

2. 性状

性状项下记述药品的外观、臭、味和一般的稳定性情况、溶解度以及物理常数等。物理常数包括相对密度、馏程、熔点、凝点、比旋度、折射率、黏度、吸收系数、碘值、皂化值和酸值等。测定结果不仅对药品具有鉴别意义，也反映药品的纯度，是评价药品质量的主要指标之一。

例 1-1：苯甲酸

〔性状〕本品为白色有丝光的鳞片或针状结晶或结晶性粉末；质轻；无臭或微臭；在热空气中微有挥发性；水溶液显酸性反应。

本品在乙醇、氯仿或乙醚中易溶，在沸水中溶解，在水中微溶。

熔点 本品的熔点 [《中国药典》(2010年版)] 为 $121 \sim 124.5^{\circ}\text{C}$ 。

3. 鉴别

依据药物的化学结构、理化性质和生物学特性来确证生物药物的真伪。通常某一项鉴别试验，如官能团反应，焰色反应，只能表示药物的某一特征，绝不能将其作为判断的唯一依据。因此，药物的鉴别不只由一项试验就能完成，而是采用一组（两个或几个）试验项目全面评价一个药物，力求使结论正确无误。例如，《中国药典》在青霉素的鉴别项下除规定了一个母核呈色反应、一个红外吸收光谱特征外，还规定进行青霉素酶法分析。

例 1-2：苯甲酸

〔鉴别〕①取本品约 0.2g，加 4% 氢氧化钠溶液 15mL，振摇，滤过，滤液中加三氯化铁试液 2 滴，即生成赭色沉淀。

②本品的红外光吸收图谱应与对照的图谱（光谱集 233 图）一致。

4. 检查

检查包括有效性、均一性、纯度要求及安全性四个方面。

纯度要求即药物的杂质检查，也称限度检查、纯度检查。药物在不影响疗效及人体健康的原则下，可以允许生产过程和贮藏过程中引入的微量杂质的存在。通常按照药品质量标准规定的项目进行“限度检查”，有一般杂质检查和特殊杂质检查，以判断药物的纯度是否符合限量规定要求。

生物药物应保证无毒、无菌、无热原、无致敏原和降压物质等的一般安全性要求，故需进行下列安全性检查。

(1) 异常毒性试验 是用一定剂量的药物按指定的操作方法和给药途径给予规定体重的某种试验动物，观察其急性毒性反应。反应的判断以试验动物死亡与否为终点。

(2) 无菌检查 是检查药品及敷料是否染有活菌的一种方法，是药典中较重要的检查项目。由于许多生物药物是在无菌条件下制备的，且不能高温灭菌，无菌检查就更有必要。

(3) 热原检查 指将一定剂量的供试品静脉注入家兔体内（家兔法），以其体温升高的程度，判定该供试品中所含热原是否符合规定，是一种限度试验法。

(4) 过敏试验 指检查异性蛋白的试验。药物中若夹杂有异性蛋白，在临床使用时易引起病人多种过敏反应，因此有可能存在异性蛋白的药物应做过敏试验。

(5) 降压物质试验 指某些药物中含有的能导致血压降低的杂质，包括组胺、类组胺或其他导致血压降低的物质。《中国药典》采用猫（或狗）血压法检查药物中所含的降压物质。

此外，某些生物药物还需要进行药代动力学和毒理学（致突变、致癌、致畸等）的研究。

5. 含量（效价）测定

含量（效价）测定是测定药物中主要有效成分的含量，一般采用化学分析方法或理化分析方法，通过测定，确定药物的有效成分是否符合规定的含量标准。生物药物的含量测定方法有两种：一种用百分含量表示，适用于结构明确的小分子药物或经水解后变成小分子的药物；另一种用生物效价或酶活力单位表示，适用于多肽、蛋白质和酶类药物。

判断一个药物的质量是否符合要求，必须全面考虑鉴别、检查与含量测定三者的检验结果。此外，尚有药物的性状也能综合反映药物的内在质量。

6. 检验报告

上述药品检验及其结果必须有完整的原始记录，实验数据必须真实，不得涂改，全部项目检验完毕后，写出检验报告，并根据检验结果做出明确的结论。必

须有检验人员、复核人员及部门负责人签名或盖章，必要时由检验单位盖章。

结论通常会出现下列四种情况。

(1) 全面检验均符合质量标准。例如，本品为“维生素 C”；符合《中国药典》(2010 年版) 的规定。

(2) 全面检验后有个别项目不符合规定，但尚可药用。例如，本品为“葡萄糖”；检“乙醇溶液的澄清度”不符合规定，其他各项检验均符合《中国药典》(2010 年版) 的规定。认为可改作“口服葡萄糖”用，但不得供制备注射剂用。

(3) 全面检验后不符合规定，或虽未全面检验，但主要项目不符合规定，不可供药用。例如，本品为“葡萄糖注射液”，其热原检查不符合《中国药典》(2010 年版) 的规定，不得供药用。

(4) 根据送检者要求，仅做个别项目检验是否合格的结论。例如，本品(维生素 B₁₂注射液) 的 pH 为 5.5，检“pH”符合《中国药典》(2010 年版) 的规定。

二、生物制品的质量检验

生物制品质量检定的依据是《生物制品规程》。规程中对每个制品的检定项目、检定方法和质量指标都有明确的规定。生物制品的检定一般分为理化检定、安全检定和效力检定三个方面。

1. 生物制品的理化检定

生物制品中的某些有效成分或无效有害成分，需要通过物理的或化学的方法才能检查出来，这是保证制品安全有效的一个重要方面。近年来由于蛋白质化学、分子生物学和基因工程技术的迅猛发展，纯化菌苗、亚单位疫苗和基因工程产品的不断问世，理化检定更显重要。

(1) 物理性状检查

①外观检查：制品外观异常往往会涉及制品的安全和效力，因此，必须认真进行检查。通过特定的人工光源检测透明度，对外观类型不同的制品（透明液、混悬液、冻干品）有不同的要求。

②真空度及溶解时间检查：冻干制品进行真空封口，可进一步保持制品的生物活性和稳定性。因此，真空封口的冻干制品应进行真空度和溶解时间检查，通常可用高频火花真空测定器检查其真空程度，凡有真空度者瓶内应出现蓝紫色光。取一定量冻干制品，按规程要求，加适量溶剂，检查溶解时间，其溶解速度应在规定时限内。

(2) 蛋白质含量测定 类毒素、抗毒素、血液制品、基因工程产品等，需要测定蛋白质含量，以检查其有效成分，计算纯度和比活性。目前常用的测定蛋白质含量的方法有：①半微量凯氏定氮法；②酚试剂法（Lowry）法；③紫外吸

收法。

(3) 防腐剂含量测定 生物制品在制造过程中,为了脱毒、灭活和防止杂菌污染,常加入适量的苯酚、甲醛、氯仿、汞制剂等作为防腐剂或灭活剂。《生物制品规程》中对各种防腐剂的含量都要求控制在一定限度内,并采用相应的测定方法。①苯酚含量测定(常用溴量法);②汞类防腐剂(硫柳汞或硝酸苯汞)含量测定(可用双硫脲法);③氯仿含量测定;④游离甲醛含量测定。

(4) 纯度检查 精制抗毒素、类毒素、血液制品及基因工程产品在制造过程中经过精制提纯后,检查其纯度是否达到《生物制品规程》的要求。检查纯度的方法通常采用电泳和色谱法。

①区带电泳:带电粒子在某种固态介质上经过电泳,被分离成各个不同的区带,从而达到分析、鉴定或制备的目的,这种实验技术称为区带电泳。因支持介质的不同,区带电泳有醋酸纤维素薄膜电泳、聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)、SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)等多种类型。

②免疫电泳:指琼脂电泳与免疫扩散相联合,以提高对混合组分分辨率的一种免疫化学分析技术,应用于可溶性抗原-抗体系统的检测。免疫电泳较其他电泳的优点在于具有特异性沉淀弧,即使电泳迁移率相同的组分也能检出。主要有火箭免疫电泳(RIE)技术和对流免疫电泳(CIE)技术。

③凝胶色谱:生物大分子通过凝胶柱时,根据它们在网状凝胶孔隙中分配系数的不同而进行分离的技术称凝胶色谱。它具有操作简便、条件温和、分辨率好、重复性强、回收率高等优点,在蛋白质、多肽、核酸、多糖等药物的应用中日益广泛,而且还可以进行相对分子质量的测定。

(5) 其他测定项目

①水分含量测定:冻干制品中残余水分的含量高低,可直接影响制品的质量和稳定性。一些活菌苗和活疫苗含残余水分过高,易造成活菌苗、活疫苗的死亡而失效;含水分过低,使菌体脱水,也可造成活菌苗、活疫苗死亡。冻干血浆、白蛋白、抗毒素等则要求水分越低越好,以有利于长期保存,不易变性。水分测定的方法很多,有烘干失重法、五氧化二磷真空干燥失重法和费休(Fischer)水分测定法,其中后者由于快速、简便、准确而被列为常规法。

②氢氧化铝与磷酸铝含量测定:精制破伤风类毒素、白喉类毒素、流脑多糖菌苗等常用氢氧化铝作吸附剂,以提高制品的免疫原性,因此吸附制剂应测定氢氧化铝的含量。制品的铝含量用配位滴定法测定。

③磷含量测定:流脑多糖菌苗需要测定磷含量,以控制其有效成分的含量。常用的测定方法为钼蓝法。

2. 生物制品的安全检定

生物制品在安全生产过程中须进行安全性方面的检查,排除可能存在的不安全因素,以保证制品用于人体时不致引起严重反应或意外事故。