

生物科学与工程系列教材

生物药物分析与检验

杨汝德 吴晓英 编著

华南理工大学出版社
·广州·

内 容 简 介

本书论述了生物药物质量分析与检验的基本原理和生物药物常用的现代分析检验方法。主要内容除包括绪论、酶分析法,免疫法分析,高效液相色谱法及其应用,生物检定法,杂质与安全检查,氨基酸、多肽、蛋白质和酶类药品检验,糖类,脂类和核酸类药品检验等之外,还增加了基因工程药物的质量控制和14种基因工程药物(含重组人胰岛素、生长激素、干扰素、白细胞介素、红细胞生成素、集落刺激因子、组织型纤溶酶原激活剂、肿瘤坏死因子等)的检验方法。

本书既可作为生物工程专业、制药工程专业和相关药学专业本科生、大专生的教材,也可供研究生以及从事生物药物生产、研究和分析检验的人员作为参考书使用。

图书在版编目(CIP)数据

生物药物分析与检验/杨汝德,吴晓英编著. —广州:华南理工大学出版社,2002.2
生物科学与工程系列教材
ISBN 7-5623-1775-5

I. 生… II. ①杨…②吴… III. ①生物制品:药物-药物分析-高等学校-教材②生物制品:药物-检验-高等学校-教材 IV. TQ460.7

中国版本图书馆CIP数据核字(2001)第091277号

总发行:华南理工大学出版社(广州五山华南理工大学17号楼,邮编510640)

发行电话:020-87113487 87111048(传真)

E-mail: scut202@scut.edu.cn

<http://www2.scut.edu.cn/press>

责任编辑:胡元 林炳清

印刷者:广东农垦印刷厂

开本:787×1092 1/16 印张:17.125 字数:417千

版次:2002年2月第1版第1次印刷

印数:1—2000册

定价:27.00元

版权所有 盗版必究

前 言

生物药物 (Biopharmaceutics) 是从生物体、生物组织和生物细胞分离纯化, 或利用微生物进行生物合成, 或采用现代生物技术制取而形成的一大类用于预防、治疗、诊断的药物, 主要包括生化药物、生物合成药物和生物制品等。

虽然传统的生化药物和微生物合成药物在过去和现在仍占据主导地位, 在将来相当长的时间内也仍是研究开发的主要方面, 但随着现代生物技术的研究与应用日趋成熟, 生物技术在生物制药领域将发挥越来越重要的作用。其发展趋势主要表现在: ①应用基因工程技术, 制取天然来源少和过去难以获得的生物活性物质; ②应用蛋白质工程技术研制新型蛋白质类药物; ③大分子物质活性片断的制取和化学修饰; ④发展大分子 (蛋白质、多肽、多糖类) 药物的新剂型。生物制药是医药产业的重要组成部分, 与其他医药产业一样担负着保护人民健康、促进生产力发展的责任, 需要更快更好地发展。进入 21 世纪, 生物制药产业将迎来极好的发展机遇。

生物药品是用于防病、治病、诊断疾病、增强机体抵抗力的特殊商品。为了保证用药的安全、合理和有效, 在药品的研制、生产、供应以及临床使用过程中都应该执行严格的科学管理制度, 并采用各种有效的分析方法, 包括物理学的、化学的、生物学的乃至微生物学的方法等, 对药品进行严格的分析检验, 从而对各个环节全面地保证、控制并研究提高药品的质量, 实现药品的全面质量控制。

对于药物分析人员来说, 不仅应正确地使用药典与药品质量标准, 熟练地掌握药物分析方法的原理与操作技能, 还应熟悉药物生产工艺过程、药品质量标准制订的原则与基本过程以及综合评价的方法。此外, 所采用的分析方法应该更加灵敏、专属、准确和快速, 力求向自动化、最优化和智能化方向发展。

“生物药物分析与检验”课程是在分析化学、生物化学、生化技术以及微生物学、生物制药工艺学、基因工程制药等有关课程的基础上进行学习的。学生通过本课程的学习, 一方面培养学生重视生物药物质量的观念, 另一方面使学生能掌握生物药物质量分析的基础理论知识和生物药物的基本分析检验方法, 从而不断提高独立分析和解决实际问题的能力。

本书由杨汝德、吴晓英编著。全书共分九章, 内容除包括绪论, 酶分析法, 免疫法分析, 高效液相色谱法及其应用, 生物检定, 杂质与安全检查,

氨基酸、多肽、蛋白质和酶类药品检验，糖类、脂类和核酸类药品检验等之外，还以较大篇幅增加了基因工程药物的质量控制和主要基因工程药物的检验方法。

本书适用于理工科院校的生物工程专业、制药工程专业和相关药学专业的本科生、大专生作为教科书，也可供从事生物药物生产、研究和分析检验的人员作为参考书使用。限于编者的学识和水平，书中不当乃至错误之处，殷切希望广大学生、读者和同行给予批评指正。

本书在编写过程中，得到了国家质量监督检验检疫总局进出口食品安全局李朝伟副局长的支持帮助，在此表示衷心谢意。

编 者

2001年11月

目 录

第一章 绪 论	(1)
第一节 生物药物概述	(1)
一、生物药物及其分类	(1)
二、生物药物的性质	(2)
三、生物药物的特点	(3)
四、生物药物的用途	(3)
第二节 生物药物的质量及其控制	(4)
一、生物药物质量的重要性与特殊性	(4)
二、生物药物的质量标准	(4)
三、生物药物质量控制与管理	(6)
第三节 生物药物的分析检验	(7)
一、生物药物质量检验的程序与方法	(7)
二、生物制品的质量检定	(8)
三、生物药物常用定量分析法	(12)
第二章 酶分析法	(14)
第一节 酶活力测定法	(14)
一、基本概念	(14)
二、酶促反应的条件	(15)
三、酶活力的测定方法	(15)
四、测定过程中应注意的问题	(18)
第二节 酶法分析	(20)
一、终点测定法	(20)
二、反应速度法	(25)
第三章 免疫分析法	(27)
第一节 概述	(27)
第二节 抗原	(28)
一、全抗原和半抗原	(28)
二、人工抗原的合成	(29)
第三节 抗体	(41)
一、抗体的制备	(41)
二、抗体的纯化	(44)
三、特异性抗体的筛选与效价测定	(47)
第四节 免疫分析方法	(50)
一、均相免疫分析体系	(50)

二、液-固免疫分析体系	(59)
三、应用实例	(60)
四、应用示例	(65)
第五节 免疫扩散法	(66)
一、双向双扩散	(66)
二、药物分析应用实例	(67)
第六节 免疫电泳法	(68)
一、简易免疫电泳	(68)
二、对流免疫电泳	(70)
三、“火箭”免疫电泳	(70)
四、双向免疫电泳	(72)
第四章 高效液相色谱法及其应用	(73)
第一节 概述	(73)
一、史程、专用术语	(73)
二、色谱分离过程和类型	(73)
三、色谱流程和仪器	(73)
四、HPLC 的特点	(74)
第二节 基本理论	(75)
一、色谱分离过程	(75)
二、色谱流出曲线和保留值	(76)
三、色谱柱参数	(78)
四、分离度及其影响因素	(79)
五、速率理论及色谱峰扩大的影响因素	(82)
第三节 定性和定量分析	(84)
一、定性分析	(84)
二、定量分析	(85)
第四节 实际操作中的问题	(89)
一、HPLC 方法的建立	(89)
二、溶剂的处理	(93)
三、系统适用性试验	(95)
四、无参比标准的纯度评价	(96)
五、仪器的使用	(96)
六、操作中常出现的问题及其解决方法	(97)
第五节 高效液相色谱法在生物药物分析中的应用	(99)
一、反相高效液相色谱法 (RP-HPLC)	(99)
二、高效离子交换色谱法 (HPIEC)	(100)
三、高效凝胶过滤色谱法 (HPGFC)	(100)
第五章 生物检定法	(103)
第一节 概述	(103)

一、生物检定的应用范围	(103)
二、标准品	(104)
三、效价检定的基本概念	(104)
四、生物检定的常用方法	(106)
第二节 胰岛素生物检定法	(113)
一、供试用动物	(113)
二、试剂准备(均用 AR 规格)	(113)
三、操作	(114)
四、注意事项	(117)
第三节 肝素生物检定法	(117)
一、供试用动物	(117)
二、操作	(117)
三、注意事项	(119)
第四节 抗生素的微生物检定法	(120)
一、概述	(120)
二、琼脂扩散法-管碟法的原理	(121)
三、基本设备、用具和试验材料	(122)
四、效价测定方法	(125)
五、效价计算公式的推导	(125)
六、可靠性测验、效价及可信限计算	(128)
七、影响效价测定的因素	(133)
八、硫酸庆大霉素的效价检定	(134)
第五节 生物制品的效力检定	(135)
一、动物保护力试验	(135)
二、活菌数和活病毒滴度测定	(136)
三、类毒素和抗毒素的单位测定	(136)
四、血清学试验	(136)
五、其他有关效力的检定和评价	(137)
第六章 杂质与安全检查	(138)
第一节 概述	(138)
第二节 一般杂质及其检查方法	(139)
一、氯化物检查法	(139)
二、硫酸盐检查法	(140)
三、铁盐检查法	(141)
四、重金属检查法	(142)
五、砷盐检查法	(143)
六、溶液澄清度检查法	(146)
七、溶液颜色检查法	(147)
八、易炭化物检查法	(149)

九、炽灼残渣检查法	(150)
十、干燥失重测定法	(150)
第三节 特殊杂质及其检查方法	(151)
一、特殊杂质检查方法的依据	(151)
二、特殊杂质的检查方法	(153)
第四节 热原检查法	(153)
一、供试验用家兔	(153)
二、试验前准备	(153)
三、试验	(153)
四、结果判断	(154)
第五节 毒性试验法	(154)
一、急性毒性试验	(155)
二、长期毒性试验	(162)
三、蓄积毒性	(164)
四、特殊毒性试验	(165)
第六节 刺激性试验	(170)
一、皮肤刺激性试验	(170)
二、肌肉刺激性试验	(171)
三、家兔眼急性刺激性试验	(171)
四、滴鼻剂和吸入剂刺激性试验	(173)
五、应用于直肠、阴道制剂的刺激性试验	(173)
第七节 过敏试验	(173)
一、速发型过敏反应	(173)
二、皮肤过敏试验	(174)
第八节 降压物质检查法	(175)
一、供试用动物	(175)
二、试剂与器材	(175)
三、实验操作	(176)
第七章 氨基酸、多肽、蛋白质和酶类药品检验	(177)
第一节 氨基酸类药品检验	(177)
一、酸碱滴定法	(177)
二、非水溶液滴定法	(177)
三、定氮法	(178)
四、碘量法或溴量法	(178)
五、HPLC 或氨基酸自动分析仪法	(179)
第二节 多肽类药品检验	(179)
一、酸碱滴定法	(179)
二、紫外分光光度法	(179)
三、效价测定法	(180)

第三节 蛋白质类药品检验	(181)
一、定氮法	(181)
二、电泳法	(182)
三、生物检定法	(182)
第四节 酶类药品检验	(185)
一、活力测定	(185)
二、效价测定	(190)
第八章 糖类、脂类和核酸类药品检验	(194)
第一节 糖类药品检验	(194)
一、硫酸软骨素	(194)
二、芸芝多糖	(194)
三、绒促性素	(195)
四、肝素钠	(195)
五、低分子肝素	(196)
第二节 脂类药品检验	(198)
一、酸碱滴定法	(198)
二、重量法	(198)
三、紫外分光光度法	(198)
四、气相色谱法	(199)
第三节 核酸类药品检验	(200)
一、6-氨基嘌呤	(200)
二、肌苷	(201)
三、阿糖腺苷	(201)
四、三氮唑核苷	(202)
五、腺嘌呤核苷三磷酸	(202)
六、免疫核糖核酸	(204)
七、聚肌胞	(205)
八、辅酶 A	(206)
第九章 基因工程药物检验	(207)
第一节 基因工程药物概述	(207)
一、基因工程与制药	(207)
二、主要的基因工程药物	(207)
三、基因工程药物的特点	(208)
第二节 基因工程药物质量控制	(209)
一、基因工程药物质量要求	(209)
二、基因工程药物的质控要点	(209)
三、基因工程药物的制造及检定规程	(213)
第三节 基因工程药物的检验	(215)
一、基因工程药物常用几种检验方法	(215)

二、主要基因工程药物的检验	(226)
主要参考书目	(263)

第一章 绪 论

第一节 生物药物概述

一、生物药物及其分类

生物药物是利用生物体、生物组织或组成生物体的各种成分，综合应用多学科的原理和方法，特别是采用现代生物技术，进行加工、制造而形成的一大类用于预防、治疗、诊断的药物。广义的生物药物包括：①从动植物和微生物中直接制取的各种天然生理活性物质；②人工合成或半合成的天然物质类似物。

生物药物按照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；第二代生物药物是根据生物化学和免疫学原理，应用近代生化分离纯化技术从生物体制取的具有针对性治疗作用的特异生化成分，如猪胰岛素、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；第三代生物药物是应用生物工程技术生产的天然生理活性物质，以及通过蛋白质工程原理设计制造的具有比天然物质更高活性的类似物，或与天然品结构不同的全新的药理活性成分。第三代为新型的生物药物，其种类繁多，不再一一列举。

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、核苷酸、多糖、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、酶与辅酶类等。

(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，通称为生物制品，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。

实际上这三大类生物药物并无明显的界线，它们的关系愈来愈密切，其内涵也愈来愈接近，有时不易划分清楚，只是生物制品更多地涉及到免疫学、预防医学和微生物学。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，互相融合，因而可统称为生物药物。

按生物药物的化学本质和化学特性来分类。可分为：

(1) 氨基酸及其衍生物类药物 这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 这类药物包括核酸 (DNA, RNA)、多聚核苷酸、单核苷酸、核苷、碱基等。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，亦属于此类药物。

(5) 糖类药物 糖类药物以粘多糖为主。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 这类药物具有相似的性质，能溶于有机溶剂而不易溶于水，而在化学结构上差异又较大。这类药物，主要有脂肪和脂肪酸类、磷脂类、胆酸类、固醇类、卟啉类等。

(7) 细胞生长因子类 细胞生长因子是人类或动物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中应用最多的产品，如基因工程白细胞介素 (IL)、红细胞生成素 (EPO) 等。它们的功能是在体内对人类或动物细胞的生长与分化起重要调节作用。近 10 年来人们广泛研究的细胞生长因子有干扰素、白细胞介素、肿瘤坏死因子、集落刺激因子等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。

二、生物药物的性质

(1) 在化学构成上，生物药物十分接近于人体内的正常生理物质，进入人体内后也更为机体所吸收利用和参与人体的正常代谢与调节。

(2) 在药理学上，生物药物具有更高的生化机制合理性和特异治疗有效性。

(3) 在医疗上，生物药物具有药理活性高、针对性强、毒性低、副作用小、疗效可靠及营养价值高等特点。

(4) 生物药物的有效成分在生物材料中浓度都很低，杂质的含量相对比较高。

(5) 生物药物常常是一些生物大分子。它们不仅相对分子质量大，组成、结构复杂，而且具有严格的空 间构象，以维持其特定的生理功能。

(6) 生物药物对热、酸、碱、重金属及 pH 变化都较敏感，各种理化因素的变化易对生物活性产生影响。

因此，对生物药物的生产有以下基本要求：

(1) 要从原料制造、工艺过程、制剂、贮存、运输和使用各个环节严加控制，以确保生物药物的有效药理作用。

(2) 必须有严格的制造管理要求即优质产品规范 (good manufacturing practices), 简称 GMP 质量管理要求, 并对制品的有效期、贮存条件和使用方法做出明确规定, 以保证制品的质量。

(3) 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。

(4) 鉴于生物药物多数是生物活性分子, 对人体往往是异源物质, 其化学性质与生物学性质都很不稳定, 又易受到微生物污染, 故对制品的均一性、有效性、安全性和稳定性等应有严格要求。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大区别。

三、生物药物的特点

(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 在制备多肽或蛋白质类药物时, 有时因工艺条件的变化, 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采用的理化法检验外, 尚需用生物检定法进行检定, 以证实其生物活性。

(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证实。

四、生物药物的用途

生物药物广泛用作医疗用品, 特别是在传染病的预防和某些疑难病的诊断和治疗上起着其他药物所不能替代的独特作用。随着预防医学和保健医学的发展, 生物药物正日益渗入到人民生活的各个领域, 大大扩展了其应用范围。

(1) 作为治疗药物 对许多常见病和多发病, 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, 绝大部分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。诊断药物发展迅速, 品种繁多, 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。

第二节 生物药物的质量及其控制

一、生物药物质量的重要性与特殊性

生物药物是一类特殊的药品, 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民生命攸关, 质量好的制品可增强人的免疫力, 治病救人, 造福于人民。质量差的制品不但不能保障人民的健康, 还可能带来灾难, 危害人民。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, 在药品的研制、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, 对药品进行严格的分析检验, 从而对各个环节进行全面地控制、管理并研究提高药品的质量, 实现药品的全面质量控制。

二、生物药物的质量标准

药品质量标准是药品现代化生产和质量管理的重要组成部分, 是药品生产、供应、使用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。为了确保药品的质量, 应该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。

药典记载着各种药品的标准, 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, 一般由国家卫生行政部门主持编纂、颁布实施。药典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。

我国药典的全称为《中华人民共和国药典》, 其后以括号注明是哪一年版, 可以简称为《中国药典(1995年版)》。药典的内容一般分为凡例、正文、附录和索引四部分。正文部分为所收载药品或制剂的质量标准。药品质量的内涵包括三个方面: 真伪; 纯度; 品质优良度。三者的集中表现即使用过程中的有效性和安全性。因此, 药品质量标准的内容一般应包括以下诸项: 法定名称、来源、性状、鉴别、纯度检查、含量测定、类别、剂

量、规格、贮藏、制剂等等。

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》、《美国国家处方集》、《英国药典》、《日本药局方》、《欧洲药典》、《国际药典》等。

对于生物制品,标准化受到人们的高度重视,因为标准化是组织生物制品生产和提高制品质量的重要手段,是科学管理和技术监督的重要组成部分。它主要包括两个方面的工作:一是生物制品规程的制定和修订;二是国家标准品的审定。

(一) 生物制品规程

各国都有各自的生物制品规程。世界卫生组织早在 20 世纪 60 年代就开始陆续制定《世界卫生组织生物制品规程》,它是国际间生物制品生产和质量的最低要求。《中国生物制品规程》是我国生物制品的国家标准和技术法规。生物制品规程包括生产规程和检定规程两个方面的内容,它是我国生物制品生产和检定的科学经验的总结;它来源于生产,反过来又指导生产;它不但规定了生产和检定的技术指标,还对原材料、工艺流程、检定方法等作了详细规定,对制品质量起保证作用,是国家对生物制品实行监督的准绳,也是国家对生物制品的最低要求。

《中国生物制品规程》2000 年版经第三届中国生物制品标准化委员会审议通过,并经国家药品监督管理局批准颁布。本版规程为原《中国生物制品规程》一、二部的合订本,并经修订、删减及增补,为建国以来的第六版规程。规程分为正式规程和暂行规程两部。

正式规程收载通则 14 个,其中新增通则 4 个。正式规程收载制品共计 137 个,其中新增制品 37 个。按制品类别,预防类品种 36 个,其中新增 11 个,删除 2 个;治疗类品种 39 个,新增 17 个,删除 4 个;诊断类品种 62 个,新增 9 个。

暂行规程收载了因有效性的质量控制标准及其检定方法尚需完善或验证的预防、治疗类品种 10 个,因技术水平不高或不成熟的诊断试剂 29 个。这些制品须在国家规定期限内完善质量控制标准,经审核符合要求者增补入正式规程,否则将予以删除。

本版规程在质量标准及规范化方面均有明显提高。主要技术指标达到了 WHO 现行生物制品规程的标准。本版规程全面统一规范了各类制品规程及使用说明的框架、专业术语和书写格式,并根据 WHO 规程,规范了原液、半成品及成品的制备及检定要求;强调菌、毒种及细胞库的三级管理;增加了生产设施、生产用水、原辅材料等的基本要求;在使用说明中增加了副反应及处理、作用和用途等内容;修订了生物制品名称命名原则;规范了生物制品名称;增补了生物制品常用词汇注释以及规程的英文目录。随着科学技术的不断发展,规程需要不断充实、完善和提高,使其更好地反映我国生物制品生产和质量水平。

(二) 国家标准物质

由于生物制品是不能单纯用理化方法来衡量其效力或活性的,而只能用生物学方法来衡量。但生物学测定往往由于试验动物个体差异、所用试剂或原材料的纯度或敏感性不一致等原因,导致试验结果的不一致性。为此,需要在进行测定的同时,用一已知效价的制品作为对照来校正试验结果,这种对照品就是标准品。国际上将标准品分为两类:国际标准品和国际生物参考试剂。

1. 标准物质的种类和定义

标准物质分为两类:国家标准品和国家参考品。前者系指用国际标准品标定的,或我

国自行研制的（尚无国际标准品者）用于衡量某一制品效价或毒性的特定物质，其生物活性以国际单位或以单位表示。后者系指用国际参考品标定的，或我国自行研制的（尚无国际参考品者）用于微生物（或其产物）鉴定或疾病诊断的生物诊断试剂、生物材料或特异性抗血清以及用于某些不用国际单位表示的制品的定量检定用特定物质。

2. 标准物质的制备

标准物质的制备由国家药品检定机构负责。国际标准品、国际参考品由国家药品检定机构向 WHO 索取，并保管和使用。生物标准物质原材料应与待检样品同质，不应含有干扰性杂质，应有足够的稳定性和高度的特异性，并有足够的数量。根据各种标准物质的要求，进行配制、稀释。需要加的保护剂等物质应对标准物质活性、稳定性和试验操作过程无影响，并且其本身在干燥时不挥发。经一般质量检定合格后，精确分装，精确度应在 $\pm 1\%$ 以内。需要干燥保存者分装后立即进行冻干和熔封。冻干者水分含量应不高于 3%。整个分装、冻干和熔封过程，必须密切注意各安瓿间效价和稳定性的一致性。

3. 标准物质的标定

标准物质的标定也由国家药品检定机构负责。新建标准物质的研制或标定一般需有至少 3 个有经验的实验室协作进行。参加单位应采用统一的设计方案、统一的方法、统一的记录格式，标定结果须经统计学处理（标定结果至少需取得 5 次独立的有效结果）。活性值（效价单位或毒性单位）的确定一般用各协作单位结果的均值表示，由国家药品检定机构收集各协作单位标定结果，统一整理统计并上报国家药品管理当局批准。研制过程应进行加速破坏试验，根据制品性质以不同温度、不同时间作活性测定，评估其稳定情况。标准物质建立以后应定期与国际标准物质比较，观察活性是否下降。

三、生物药物质量控制与管理

要确保药品的质量能符合药品质量标准的要求，在药物存在的各个环节加强管理是必不可少的，许多国家都根据本国的实际情况制定了一些科学管理规范 and 条例。

对药品质量控制的全过程起指导作用的法令性文件有 GLP、GMP、GSP、GCP 四个科学管理规范，这些规范对加强药品的全面质量控制都有十分重要的意义和作用。其中有的规范我国已经执行，有的条例还有待拟订。

GLP (Good Laboratory Practice) 即《良好药品实验研究规范》。科研单位或研究部门为了研制安全、有效的药物，必须按照 GLP 的规定开展工作。规范从各个方面明确规定了如何严格控制药物研制的质量，以确保实验研究的质量与实验数据的准确可靠。

GMP (Good Manufacture Practice) 即《良好药品生产规范》。在我国制药行业称之为《药品生产质量管理规范》，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。GMP 作为制药企业指导药品生产和质量管理的法规，在国际上已有 30 余年历史。

GSP (Good Supply Practice) 即《良好药品供应规范》。药品供应部门为了药品在运输、贮存和销售过程中的质量和效力，必须按照 GSP 的规定进行工作。

GCP (Good Clinical Practice) 即《良好药品临床试验规范》。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志愿受试者和病人的安全和权利；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。

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。AQC (Analytical Quality Control) 即《分析质量管理》，用于检验分析结果的质量。

第三节 生物药物的分析检验

一、生物药物质量检验的程序与方法

生物药物检验工作的基本程序一般为取样、鉴别、检查、含量测定、写出检验报告。

(一) 药物的取样

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、真实性和代表性，不然就失去了检验的意义。据此，取样的基本原则应该是均匀、合理。如生产规模的固体原料药的取样须采用取样探子。

(二) 药物的鉴别试验

鉴别是采用化学法、物理法及生物学方法来确证生物药物的真伪。通常需用标准品或对照品在同一条件下进行对照试验。依据药物的化学结构和理化性质进行某些化学反应，测定某些理化常数或光谱特征，来判断药物及其制剂的真伪。药物的鉴别不是由一项试验就能完成，而是采用一组试验项目全面评价一种药物，力求使结论正确无误。常用的鉴别方法有：化学反应法、紫外分光光度法、酶法、电泳法、生物法等。

(三) 药物的杂质检查

可用来判定药物的优劣。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”，以判断药物的纯度是否符合限量规定要求，所以也可称为纯度检查。药物的杂质检查又分为一般杂质检查和特殊杂质检查，后者主要是指从生产过程中引入或原料中带入的杂质。

(四) 药物的安全性检查

生物药物应保证符合无毒、无菌、无热原、无致敏原和降压物质等一般安全性要求，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 无菌检查法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之一。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，因此无菌检查就更有必要。

(3) 热原检查 本法是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。