

T/SZLSBA

深圳市生命科学与生物技术协会团体标准

T/SZLSBA 002-2019

多肽原料药生产技术规程：醋酸阿托西班

（征求意见稿）

2020-XX-XX 发布

2020-XX-XX 实施

深圳市生命科学与生物技术协会发布

目 次

目次 错误!未定义书签。

前言 II

1 范围 错误!未定义书签。

2 规范性引用文件 错误!未定义书签。

3 术语和定义 错误!未定义书签。

4 醋酸阿托西班生产工艺程序的构成 错误!未定义书签。

5 醋酸阿托西班的生产 错误!未定义书签。

6 追溯方法 错误!未定义书签。

7 证实方法 错误!未定义书签。

前 言

本标准根据 GB/T 1.1-2009《标准化工作导则 第1部分：标准的结构和编写》给出的规则起草。

本标准由深圳市生命科学与生物技术协会提出并归口。

本标准起草单位：XX公司、XX公司、XX公司、XX公司、XX公司。

本标准主要起草人：XX、XXX、XXX。

本标准为首次发布。

多肽原料药生产技术规程:醋酸阿托西班

1 范围

本标准确立了多肽原料药中醋酸阿托西班的生产技术流程,规定了合成工序、纯化工序、冻干工序、出厂检验工序等阶段的操作指示,以及上述阶段之间的转换条件,描述了标记、过程记录等追溯方法和测量、试验的证实方法。

本标准适用于氨基酸经偶联反应制得多肽类原料药:醋酸阿托西班的生产技术规程。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅所注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

《中国药典2015版》

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1 肽树脂合成

将保护氨基酸按照特定顺序依次连接在树脂上、形成肽树脂的过程。

3.2 肽树脂裂解

采用化学方法将多肽产品由肽树脂上切割下来、得到粗肽的过程。

3.3 粗肽纯化

采用高效液相色谱法提纯粗肽、得到精肽溶液的过程。

3.4 旋蒸

采用减压蒸馏的方法,将精肽溶液浓缩、去除其中溶剂的过程。

3.5 冻干

在低温条件下,将精肽溶液冷冻干燥、得到多肽固体产品的过程。

4 醋酸阿托西班生产工艺程序的构成

醋酸阿托西班生产工艺程序包括4个阶段。其中,合成工序分为肽树脂合成和肽树脂裂解2个步骤,纯化工序分为粗肽纯化、精肽浓缩2个步骤,冻干工序分为精肽分装、冻干2个步骤。程序流程图如图1所示。

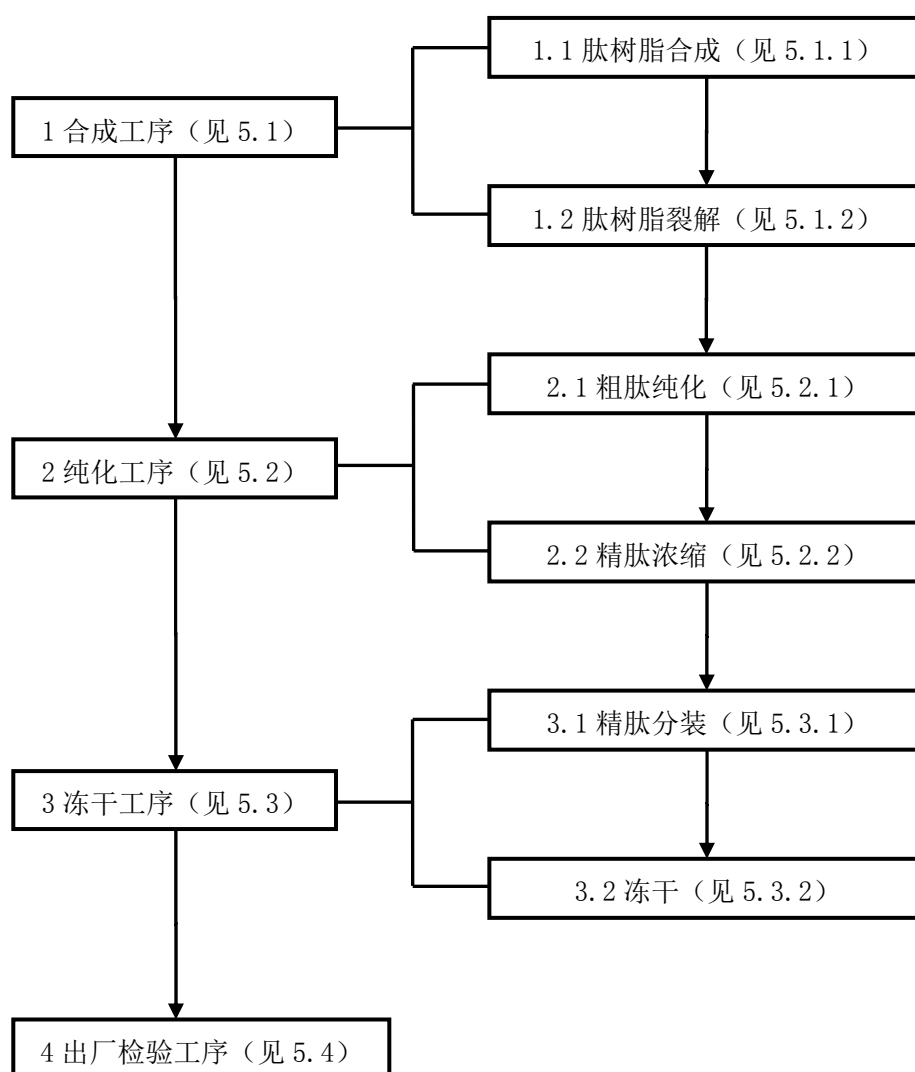


图1 醋酸阿托西班生产工艺流程图

5 醋酸阿托西班的生产

5.1 合成工序

5.1.1 肽树脂合成

5.1.1.1 肽树脂合成的工序如下：

a) 脱除保护基：按照工艺规定称取树脂并投料，用 N，N-二甲基甲酰胺（DMF）洗涤、溶胀、脱除保护基，再洗涤 3~6 次。

b) 偶联反应：进行第一个保护氨基酸的偶联反应，偶联反应时间为 1~3 小时。反应完成后，取小样树脂进行茚三酮检测，若树脂无色则表示偶联完全。

c) 偶联反应完全后，再次洗涤树脂 6~12 次，重复脱除保护基和偶联反应操作，直至全部氨基酸偶联反应结束，采用甲醛收缩，再进行真空干燥，得到干燥肽树脂。

5.1.1.2 只准许在偶联反应完全的情况下进入肽树脂裂解步骤。

5.1.2 肽树脂裂解

5.1.2.1 肽树脂裂解的工序如下：

- a) 配制裂解液：配制 95:5 的三氟乙酸（TFA）水溶液作为裂解液。
- b) 裂解反应：将干燥肽树脂加入裂解液中，常温搅拌 60~90 分钟进行裂解反应。
- c) 制取粗肽：裂解反应结束，经过滤收集反应液，反应液经过沉降、离心、三氟乙酸（TFA）洗涤、真空干燥，得到粗肽。
- d) 测量粗肽纯度、含量：采用液相色谱法测量粗肽的纯度、含量。

5.1.2.2 只准许粗肽纯度 $\geq 60\%$ ，西曲瑞克有效含量 $\geq 30\%$ 的情况下进入纯化工序。

5.2 纯化工序

5.2.1 粗肽纯化

将粗肽用冰醋酸溶解后过滤，使用制备型 HPLC 纯化仪对粗肽进行纯化分离，去除各种杂质，使产品纯度、杂质含量控制在标准要求范围内，再进行转盐操作，得到精肽溶液。

5.2.2 精肽浓缩

5.2.2.1 精肽溶液经过旋蒸浓缩工艺，去除有机溶剂。

5.2.2.2 只准许纯度 $\geq 98.5\%$ ，杂质 $\leq 0.5\%$ 的精肽溶液进入下一步冻干工序。

5.3 冻干工序

5.3.1 精肽分装

将处理好的精肽溶液稀释至 50g/L 的浓度，并分装至冻干盘中，分装厚度为 1cm 左右。

5.3.2 冻干

5.3.2.1 将冻干盘转入冻干箱中，先于 -40°C 下预冻，再经过一次升华干燥、二次解析干燥，最后采用升压测试进行冻干终点判断。

5.3.2.2 只准许升压测试 $\leq 1\text{Pa/min}$ 的产品进行下一步。

5.4 出厂检验

5.4.1 将产品装入规定的包装内，抽检产品按产品质量标准进行出厂检验，检验指标包括外观、溶解性、理化鉴别、液相鉴别、分子量、氨基酸比值、酸度、水分、醋酸、含量、有关物质、残留溶剂、微生物限度。

5.4.2 只准许出厂检验指标合格的产品入库。

6 追溯方法

6.1 标记方法

在醋酸阿托西班的合成、纯化、冻干、出厂检验工序中，标记的内容包括：

- 做标记时各工序中间产品的状态；
- 标记的编号；
- 做标记的人员姓名；
- 标记时间；
- 其他。

6.2 过程记录

在执行第 5 章所规定的各个阶段的程序指示过程中，记录并保持以下内容：

- 执行各个阶段程序指示的人员姓名；
- 时间；
- 地点；
- 执行的具体操作内容；
- 操作的结果或观察到的现象：

a) 茚三酮法检测偶联反应显色情况；

b) 升压测试中升压速度：关闭冻干机中隔阀，读取前箱压力升高速度，如果升压速度 $\leq 1\text{Pa/min}$ 说明冻干已经到达终点，否则还没达到终点，需要继续冻干；

c) 出厂检验结果及观察到的现象。

- 其他。

7 证实方法

7.1 茚三酮检测偶联反应

取树脂样品于试管中洗涤数次，倒掉洗涤溶剂，再加入 N，N-二甲基甲酰胺（DMF）约 1mL，加 3 滴 5%茚三酮溶液，120℃~140℃加热约 3min，小心倒掉试管中 N，N-二甲基甲酰胺（DMF）液体，再用 N，N-二甲基甲酰胺（DMF）洗涤树脂三次，观察树脂颜色。有颜色说明偶联反应不完全，无色说明偶联反应完全。

7.2 液相色谱法测量粗肽的纯度、含量

7.2.1 试验步骤

按《中国药典 2015 版》四部 0512 高效液相色谱法操作。

对照品溶液配制：取对照品适量，加样品溶解液使溶解，配制成浓度约 0.25mg/mL 的溶液，平行配制 2 份。

供试品溶液配制：取样品适量，加样品溶解液使溶解，配制成浓度约 0.25mg/mL 的溶液，平行配制 2 份。

取样品溶解液，进液相色谱仪 1 次，记录图谱及杂质峰。

取对照品溶液，进液相色谱仪 3 次，计算峰面积平均值。

取供试品溶液，每个进液相色谱仪 1 次，记录主峰面积，计算含量，第一个样品同时计算主峰纯度。

7.2.2 数据处理

粗肽含量：使用仪器自带软件积分，按外标法，以峰面积计算粗肽含量。

粗肽纯度：使用仪器自带软件积分，按面积归一化法计算粗肽纯度。

7.3 液相色谱法测量精肽的纯度、杂质含量

7.3.1 试验步骤

按《中国药典 2015 版》四部 0512 高效液相色谱法操作。

对照品溶液配制：取对照品适量，加样品溶解液使溶解，配制成浓度约 0.25mg/mL 的溶液，平行配制 2 份。

供试品溶液配制：取样品适量，加样品溶解液稀释，使成浓度约 0.25mg/mL 的溶液，平行配制 2 份。

检测同 7.2.1。

7.3.2 数据处理

同 7.2.2。

7.4 出厂检验

7.4.1 外观

取适量样品目视检查外观，记录结果。

7.4.2 溶解性

取适量样品，加溶解液适量，按《中国药典 2015 版》四部范例要求进行检测，每 5 分钟强烈振摇 30s，观察 30 分钟内的溶解情况。

7.4.3 鉴别

7.4.3.1 理化鉴别

按《中国药典 2015 版》四部 0731 蛋白质含量测定法第三法“双缩脲法”操作，取供试品适量，加水溶解，加双缩脲试剂适量，目视观察现象，记录结果。

7.4.3.2 液相鉴别

含量测定项下的色谱图中，供试品保留时间应与对照品保留时间一致。使用仪器自带软件积分处理，比较供试品与对照品主峰保留时间。

7.4.3.3 分子量

按《中国药典 2015 版》四部 0431 质谱法操作，取供试品适量，用溶解液使溶解，用质谱仪测定其分子量。采用仪器自带软件积分，自动计算分子量。

7.4.3.4 氨基酸比值

按《中国药典 2015 版》四部 0512 高效液相色谱法操作。

取各氨基酸对照品适量，按氨基酸检测方法，加入氨基酸衍生液进行衍生，得对照品溶液。

取供试品，加氨基酸破坏液，于 110℃破坏后，取破坏液适量，吹干，加水适量，溶解后，加氨基酸衍生液，衍生后得供试品溶液。

取对照溶液，进液相色谱仪，连续 5 次，计算各氨基酸主峰面积的平均值。

取供试品溶液，进液相色谱仪，连续 2 次，记录氨基酸主峰面积，并计算各氨基酸之间的比值。

采用仪器自带软件积分处理，以各氨基酸主峰面积及对照品浓度进行计算。

7.4.4 酸度

按《中国药典 2015 版》四部 0631pH 值测定法操作，取供试品适量，加水使溶解，用 pH 计测定 2 次，记录结果。仪器直接读取结果，测定 2 次，计算平均值。

7.4.5 水分

取供试品适量，按中国药典 2015 版四部 0832 水分测定法库伦法测定，平行测定 2 次，记录结果。用仪器读取的结果与样品称样量计算水分含量。

7.4.6 醋酸

按《中国药典 2015 版》四部 0872 合成多肽中醋酸测定法操作。

对照品溶液：取醋酸钠对照品，加水使溶解，制成浓度约含醋酸钠 80ug/mL 的溶液。

供试品溶液：取供试品，加水使溶解，制成浓度约含样品 0.5mg/mL 的溶液。

取对照品溶液，进离子色谱仪，连续 5 次，计算主峰面积的平均值。

取供试品溶液，进离子色谱仪，每个样连续 2 次，记录主峰面积，并计算醋酸含量。

采用仪器自带软件积分，按外标法，以对照品主峰面积、对照品浓度及供试品峰面积，计算供试品浓度，进而计算醋酸含量。

7.4.7 含量

按《中国药典 2015 版》四部 0512 高效液相色谱法操作。

对照品连续进样 5 次，供试品每个连续进样 2 次，其余操作同粗肽一致。

采用仪器自带软件积分，按外标法，以对照品主峰面积、对照品浓度及供试品峰面积，计算供试品浓度，进而计算含量。

7.4.8 有关物质

按《中国药典 2015 版》四部 0512 高效液相色谱法操作。

供试品溶液：取样品适量，加样品溶解液使溶解并稀释，使成浓度约 0.25mg/mL 的溶液，配制 1 份。

供试品对照溶液：取供试品溶液 1mL，加样品溶解液至 100mL，摇匀。

取供试品溶液及供试品对照液，进液相色谱仪，各进样 1 次，记录供试品对照液中主峰面积、供试品溶液中主峰面积及杂质峰面积。

采用仪器自带软件积分，以供试品对照液峰面积计算供试品溶液中杂质含量。

7.4.9 残留溶剂

按《中国药典 2015 版》四部 0861 残留溶剂测定法操作。

对照品溶液配制：取生产工艺中的各溶剂对照品适量，用溶解液稀释制成各溶剂标准限度的浓度。

供试品溶液配制：取供试品适量，加溶解液使溶解，制成浓度约 100mg/mL 的溶液。

取对照品溶液，进气相色谱仪，连续 5 次，计算各溶剂主峰面积的平均值。

取供试品溶液，进气相色谱仪，连续 2 次，记录各溶剂主峰面积，并用外标法计算各溶剂含量。

采用仪器自带软件积分，按外标法，以各溶剂对照品峰面积及浓度、供试品峰面积，计算供试品中各溶剂的浓度，进而计算各溶剂含量。

7.4.10 微生物限度

取适量样品，按《中国药典 2015 版》四部 1105 非无菌产品微生物限度检查法进行测定。
