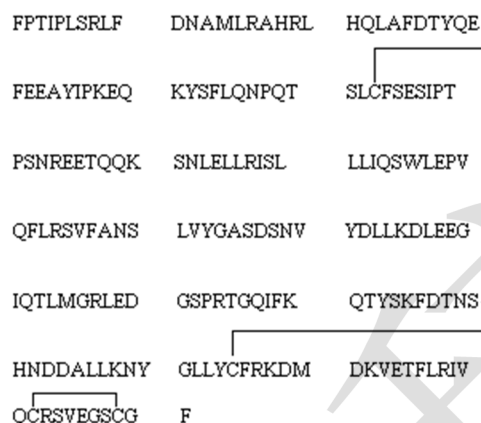


注射用人生长激素

Zhusheyong Ren Shengzhangjisu

Human Somatropin for Injection



分子式：C₉₉₀H₁₅₂₈N₂₆₂O₃₀₀S₇ 分子量：22,125

本品系由含有可高效表达人生长激素基因的工程化细胞，经发酵和纯化后获得人生长激素，加适宜稳定剂和保护剂后冻干制成。本品不含抗生素和抑菌剂。每 1mg 人生长激素相当于 3.0 国际单位。

1 基本要求

生产和检定用设施、原材料及辅料、水、器具、动物等应符合“凡例”的有关要求。

2 制造

2.1 工程细胞

人生长激素工程化细胞名称、来源及种子批检定应符合批准的要求。

2.2 原液

2.2.1 种子液制备

将检定合格的工作种子批细胞接种于适宜的培养基（可含适量抗生素）中培养。

2.2.2 发酵用培养基

采用适宜的不含抗生素的培养基。

2.2.3 种子液接种及发酵培养

在灭菌培养基中接种适量种子液。在适宜温度下根据经批准的发酵工艺进行发酵。发酵液应定期进行质粒丢失率检查（通则 3406）。

2.2.4 发酵液处理

用适宜的方法收集并处理菌体。

2.2.5 纯化

采用经批准的工艺进行纯化，得到人生长激素原液。如需保存，应规定保存条件和时间。

2.2.7 原液检定

按 3.1 项进行。

2.3 半成品

2.3.1 配制与除菌

按经批准的配方配制稀释液。配制后应立即用于稀释。将原液用稀释液稀释至所需浓度，过滤后即為半成品，保存于适宜的温度。

2.3.2 半成品检定

按 3.2 项进行。

2.4 成品

2.4.1 分批

应符合“生物制品分包装及贮运管理（0239）”规定。

2.4.2 分装及冻干

应符合“生物制品分包装及贮运管理（0239）”与“注射剂（通则 0102）”项下有关的规定。

2.4.3 规格

（1）0.85mg （2）1.0mg （3）1.2mg （4）1.33mg （5）1.6mg （6）2.0mg （7）3.7mg （8）4.0mg。

2.4.4 包装

应符合“生物制品分包装及贮运管理（0239）”与“注射剂（通则 0102）”项下的有关规定。

3 检定

3.1 原液检定

3.1.1 外观

应为无色澄明或微浊液体。

3.1.2 鉴别

3.1.2.1 反相色谱法

照高效液相色谱法（通则 0512）试验。

试剂 三羟甲基氨基甲烷缓冲液（Tris 缓冲液） 取三羟甲基氨基甲烷 6.05g，加水溶解并稀释至 900ml，用 1mol/L 盐酸溶液调节 pH 至 7.5 并用水稀释至 1000ml，摇匀。

对照品溶液 取人生长激素对照品适量，加 Tris 缓冲液使溶解并稀释制成每 1ml 中含人生长激素 2mg 的溶液。

供试品溶液 取供试品适量，照对照品溶液方法制备。

测定法 取对照品溶液和供试品溶液，按 3.1.3.1 相关蛋白项下的色谱条件试验，记录色谱图。

结果判定 供试品溶液色谱图中主峰的保留时间应与对照品溶液色谱图中主峰的保留时间一致。

3.1.2.2 凝胶色谱法

在 3.1.4 项下记录的色谱图中，供试品溶液主峰的保留时间应与对照品溶液主峰的保留时间一致。

3.1.2.3 毛细管电泳法

对照品溶液 取人生长激素对照品适量，用水稀释成每 1ml 约含人生长激素 1mg 的溶液。

供试品溶液 取供试品适量，用水稀释成每 1ml 约含人生长激素 1mg 的溶液，该溶液与对照品溶液等体积混合，摇匀。

测定法 取供试品溶液，按 3.1.3.8 电荷变异体项下的条件试验，记录电泳图。

结果判定 在供试品溶液电泳图中，人生长激素主峰应为无分裂单一峰。

3.1.2.4 肽图

照高效液相色谱法（通则 0512）试验。

试剂 胰蛋白酶溶液 取经苯磺酰苯丙氨酰氯甲酮（TPCK）处理的胰蛋白酶适量，加 3.1.2.1 反相色谱法项下的 Tris 缓冲液溶解并制成每 1ml 约含 2mg 的溶液。

对照品溶液 取人生长激素对照品，加 Tris 缓冲液溶解并制成每 1ml 中约含 2mg 的溶液。取此液 300 μ l、胰蛋白酶溶液 20 μ l 与 Tris 缓冲液 300 μ l，混匀，置 37 $^{\circ}$ C 水浴 4 小时，立即置 -20 $^{\circ}$ C 终止反应。

供试品溶液 取供试品适量，必要时用 Tris 缓冲液稀释制成每 1ml 中约含 2mg 的溶液，其他同对照品溶液方法制备。

空白溶液 取供试品适量，不加胰蛋白酶溶液，其他同供试品溶液方法制备。

色谱条件 用辛基硅烷键合硅胶为填充剂，柱温为 35℃；以 0.1%三氟乙酸溶液为流动相 A，以含 0.1%三氟乙酸的 90%乙腈溶液为流动相 B，按下表进行梯度洗脱，流速为每分钟 1.0ml；检测波长为 214nm；进样体积 100μl。

时间（分钟）	A 相（%）	B 相（%）
0	100	0
20	80	20
45	75	25
70	50	50
75	20	80

测定法 取空白溶液、对照品溶液和供试品溶液，分别注入液相色谱仪，记录色谱图。

结果判定 排除空白溶液色谱峰后，供试品溶液肽图应与对照品溶液肽图基本一致。

3.1.2.5 N 末端氨基酸序列

至少每年测定 1 次。采用氨基酸序列分析仪或其他适宜方法测定。N 端序列应为：F-P-T-I-P-L-S-R-L-F-D-N-A-M-L。

3.1.3 检查

3.1.3.1 相关蛋白质

照高效液相色谱法（通则 0512）试验。

供试品溶液 取供试品适量，用 3.1.2.1 反相色谱法项下的 Tris 缓冲液稀释并制成每 1ml 中含人生长激素 2.0mg 的溶液。

系统适用性溶液 取人生长激素对照品适量，用 Tris 缓冲液溶解并制成每 1ml 中约含人生长激素 2mg 的溶液，过滤除菌，放置 24 小时。

色谱条件 用丁基硅烷键合硅胶为填充剂，柱温为 45℃；以 Tris 缓冲液-正丙醇(71:29)为流动相，可调节流动相中正丙醇比例使人生长激素峰保留时间为 30~36 分钟，流速为每分钟 0.5ml；检测波长为 220nm；进样体积 20μl。

系统适用性要求 系统适用性溶液色谱图中，人生长激素主峰与脱氨人生长激素峰之间的分离度应不小于 1.0，人生长激素峰的拖尾因子应为 0.9~1.8。

测定法 取供试品溶液，注入液相色谱仪，记录色谱图至主成分峰保留时间的 2 倍。按面积归一化法进行计算相关蛋白质含量。

限度 不得大于 6.0%。

3.1.3.2 高分子蛋白质

供试品溶液、色谱条件与系统适用性要求 见 3.1.4.

测定法 取供试品溶液,注入液相色谱仪,记录色谱图至主成分峰保留时间的 2 倍。保留时间小于主成分峰的峰均视为高分子蛋白质峰,按面积归一化法计算高分子蛋白质含量。保留时间大于主成分峰的色谱峰忽略不计。

限度 不得大于 4.0%。

3.1.3.3 电荷变异体

照毛细管电泳法(通则 0542)测定。

系统适用性溶液 取人生长激素系统适用性对照品适量,加水溶解并稀释成每 1ml 约含人生长激素 1mg 的溶液。

灵敏度溶液 取人生长激素对照品适量,加水溶解并定量稀释成每 1ml 含人生长激素 20 μ g 的溶液。

供试品溶液 取供试品适量,用水稀释成每 1ml 含人生长激素 2.0mg 的溶液。

磷酸盐缓冲液 取磷酸氢二铵 13.2g,加水 1000ml 使溶解,调 pH 至 6.0。

电泳条件 经预处理(50psi 压力,40 $^{\circ}$ C 下,依次用 1mol/L 氢氧化钠溶液、水、磷酸盐缓冲液冲洗 20 分钟、10 分钟、20 分钟)的未涂层熔融石英毛细管(有效长度 70~75cm,内径 50 μ m),毛细管柱温 30 $^{\circ}$ C;样品盘温度 4~8 $^{\circ}$ C;进样前以 50psi 的压力,依次用 0.1mol/L 氢氧化钠溶液、水、磷酸盐缓冲液冲洗毛细管 2、3、6 分钟;进样时以 0.5psi 压力进样 10 秒,进样后以 0.2psi 压力注入磷酸盐缓冲液 1.5 秒。电泳电压为 217V/cm;检测波长 200nm。

系统适用性要求 系统适用性溶液图谱应与人生长激素系统适用性对照品说明书中所附图谱相似,参考附图进行峰归属和峰面积积分(主峰迁移时间通常约在 40~65 分钟之内),脱酰胺组分峰(P5,通常以双峰形式出现,相对主峰保留时间约为 1.02~1.11)与主峰之间应能检出 P4 峰,P4 峰与主峰的分离度应不小于 1.5;灵敏度溶液图谱中,主峰信噪比应不低于 10。

测定法 取供试品溶液进样,记录电泳图至主成分峰迁移时间的 2 倍。在供试品溶液电泳图中,除主峰外的其它峰均视为电荷变异体峰,按校正峰面积(峰面积与迁移时间之比)归一化法计算电荷变异体含量。

限度 应不得过 10.0%。

3.1.3.4 宿主菌 DNA 残留量

依法测定（通则 3407）或采用经验证并批准的其他适宜方法。每 1mg 人生长激素中宿主菌 DNA 残留量不得过 1.5ng。

3.1.3.5 宿主菌蛋白质残留量

依法检查（通则 3412、3413 或 3414）或采用经验证并批准的其他适宜方法。每 1mg 人生长激素中宿主菌蛋白质残留量应不得过 10ng。

3.1.3.6 残余抗生素活性

如在生产（例如种子液制备）中使用抗生素，应依法检查（通则 3408），或按照经验证并批准的方法检查，不应有残余氨苄西林或其他抗生素活性。

3.1.3.7 细菌内毒素

依法检查（通则 1143），每 1mg 人生长激素中含内毒素的量应小于 5.0EU。

3.1.4 含量测定

照分子排阻色谱法（通则 0514）测定。

试剂（1）0.063mol/L 磷酸盐缓冲液 取无水磷酸氢二钠 5.18g 和磷酸二氢钠 3.65g，加水 950ml，用磷酸或氢氧化钠试液调节 pH 值至 7.0，加水至 1000ml，摇匀。

（2）0.025 mol/L 磷酸盐缓冲液 取 0.063mol/L 磷酸盐缓冲液 100ml，用水稀释至 250ml，必要时调 pH 至 7.0。

对照品溶液 精密称取人生长激素对照品适量，加 0.025mol/L 磷酸盐缓冲液使溶解并定量稀释制成每 1ml 中约含 1.0mg 的溶液。

供试品溶液 精密量取供试品适量，用 0.025mol/L 磷酸盐缓冲液定量稀释并制成每 1ml 中约含人生长激素 1.0mg 的溶液。

系统适用性溶液 取人生长激素单体-二聚体混合物对照品适量，加 0.025mol/L 磷酸盐缓冲液溶解并制成每 1ml 中约含 1.0mg 的溶液。

色谱条件 以适合分离质量为 5000-60000Da 球状蛋白的亲水改性硅胶为填充剂；以异丙醇-0.063mol/L 磷酸盐缓冲液（3:97）为流动相；流速为每分钟 0.6ml；检测波长为 214nm；进样体积 20 μ l。

系统适用性要求 系统适用性色谱图中，人生长激素单体峰与二聚体峰之间的分离度应符合要求。

测定法 取供试品溶液和对照品溶液，注入液相色谱仪，记录色谱图。按外标法以峰面积计算供试品溶液中人生长激素浓度，乘以稀释倍数，即为供试品中人生长激素含量（mg/ml）。

3.1.5 比活性

3.1.5.1 生物学活性

依法测定（通则 3537），计算供试品的效价。

3.1.5.2 比活性

按下式计算供试品的比活性：

供试品比活性 (IU/mg) = 供试品效价 (IU/ml) / 供试品中人生长激素含量 (mg/ml)。

限度 每 1mg 人生长激素的活性不得少于 2.5 IU。

3.2 半成品检定

如需对原液进行稀释或加入其他辅料制成半成品，应确定半成品的质量控制要求，应按如下检项或经批准的检项进行。

3.2.1 细菌内毒素

依法检查（通则 1143）。每 1mg 人生长激素含内毒素的量应小于 5.0EU。

3.2.2 无菌

依法检查（通则 1101 薄膜过滤法），应符合规定。

3.3 成品检定

3.3.1 外观

本品为白色粉末。

3.3.2 鉴别

3.3.2.1 反相色谱法

供试品溶液、对照品溶液与色谱条件 见 3.3.3.3 相关蛋白项下。

测定法 取本品，按 3.3.3.3 项相关蛋白质 1 项下色谱条件试验。

结果判定 在供试品溶液记录的色谱图中，供试品溶液主峰的保留时间应与对照品溶液主峰的保留时间一致。

3.3.2.2 毛细管电泳法

对照品溶液 取人生长激素对照品适量，用水稀释成每 1ml 约含人生长激素 1mg 的溶液。

供试品溶液 取本品适量，用水稀释成每 1ml 约含人生长激素 1mg 的溶液，该溶液与对照品溶液等体积混合，摇匀。

测定法 按 3.1.3.3 电荷变异体项下试验，记录电泳图。

结果判定 供试品溶液电泳图中，人生长激素主峰应为无分裂单一峰。

3.3.3 检查

3.3.3.1 pH 值

取本品，每瓶按说明书标示量加适量注射用水或稀释剂溶解，依法测定（通则 0631），pH 值应为 6.5~8.5。

3.3.3.2 溶液的澄清度与颜色

取本品，用水溶解并稀释制成每 1ml 中含人生长激素 1.6mg 的溶液，依法检查（通则 0901 第一法与 0902 第一法），溶液应澄清无色；如显浑浊，与 2 号浊度标准液比较，不得更浓。

3.3.3.3 相关蛋白质

取本品，照 3.1.3.1 项下的方法检查并计算。

限度 不得大于 12.0%。

3.3.3.4 高分子蛋白质

取本品，照 3.1.3.2 项下的方法试验并计算。

限度 不得大于 6.0%。

3.3.3.5 电荷变异体

供试品溶液 取本品，用水溶解并稀释成每 1ml 约含人生长激素 2mg 的溶液。

空白溶液 按制剂处方和供试品溶液中终浓度，制备不含人生长激素的辅料溶液。

测定法 按 3.1.3.8 电荷变异体项下试验。

限度 应不得大于 11.5%。

3.3.3.6 水分

取本品，照水分测定法（通则 0832 第一法 2 库仑滴定法）或经批准的其他方法，含水分不得过 3.0%。

3.3.3.7 装量差异

依法检查（通则 0102），应符合规定。

3.3.3.8 不溶性微粒

取本品，依法检查（通则 0903），每份容器中含 10 μ m 及 10 μ m 以上的微粒数不得过 6000 粒；含 25 μ m 及 25 μ m 以上的微粒数不得过 600 粒。

3.3.3.9 可见异物

取本品，每瓶按说明书标示量加适量注射用水或附带溶剂溶解，依法检查（通则 0904 第一法），不得检出金属屑、玻璃屑或最大粒径超过 2mm 纤毛和块状物等明显外来的可

见异物。

3.3.3.10 无菌

依法检查（通则 1101 薄膜过滤法），应符合规定。

3.3.3.11 细菌内毒素

依法检查（通则 1143），每 1mg 人生长激素中含内毒素的量应小于 5.0EU。

3.3.3.12 异常毒性

取本品，加氯化钠注射液制成每 1ml 中含人生长激素 1.6mg 的溶液，依法检查（通则 1141 小鼠实验法），按腹腔注射给药，应符合规定。

3.3.4 生物学活性

每年至少测定一次。依法测定（通则 3537），应为标准品的 70%~140%。

3.3.5 含量测定

供试品溶液 取本品 5 瓶，分别加 0.025mol/L 磷酸盐缓冲液适量使内容物溶解，5 瓶全量混合，摇匀并定量稀释制成每 1ml 中约 1.0mg 的溶液。

对照品溶液、色谱条件、适用性要求与测定法 见 3.1.4 项下测定。

限度 含人生长激素应为标示量的 90.0%~110.0%。

4 稀释剂

如产品有专用稀释剂，应符合批准的生产工艺及质量标准要求。

5 保存、运输及有效期

于 2~8℃ 避光、密闭保存和运输。自生产之日起，按批准的有效期执行。

6 使用说明

应符合“生物制品分包装及贮运管理（0239）”规定和批准的内容。