

复方氨基酸注射液仿制药药学研究的相关考虑

吴小飞,刘丹杏,王宏亮,白 玉

(国家药品监督管理局药品审评中心,北京 100022)

[摘要] 复方氨基酸注射液是肠外营养中氮的来源,广泛应用于不能经胃肠道给予或经胃肠道给予不能满足营养需求的患者,在营养治疗和支持中起重要作用。复方氨基酸注射液活性成分复杂,部分氨基酸对光、热、氧等敏感,给该类药物的研发带来一定的挑战。本文结合文献调研及近年审评经验,从原料药质量控制、处方开发、工艺研究、质量研究和控制、包装材料和容器的选择以及稳定性研究等方面,对复方氨基酸注射液仿制药药学研究中可能需要关注的问题进行探讨,以为研发者提供一定参考。

[关键词] 复方氨基酸注射液;仿制药;药学研究;质量控制

[中图分类号] R95 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1003-3734(2023)21-2134-06

Relevant considerations on pharmaceutical research of generic drugs of compound amino acid injection

WU Xiao-fei, LIU Dan-xing, WANG Hong-liang, BAI Yu

(Center for Drug Evaluation, National Medical Products Administration, Beijing 100022, China)

[Abstract] Compound amino acid injection, as the source of nitrogen in parenteral nutrition, is administrated to patients with compromised gastrointestinal function or those whose nutritional needs cannot be met through gastrointestinal tract. Therefore, compound amino acid injection plays an important role in nutritional therapy and support. The active pharmaceutical ingredients of compound amino acid injection are complicated, and some amino acids are sensitive to light, heat, and oxygen, etc., which brings certain challenges to the research and development of such drugs. Based on literature research and evaluation experience in recent years, this paper discusses some issues which may need to consider during the development of generic drugs of compound amino acid injection from the aspects of API quality control, formulation design, manufacturing process development, quality research and control, selection of container enclosure system and stability studies in order to provide reference for researchers in this field.

[Key words] compound amino acid injection; generic drugs; pharmaceutical research; quality control

氨基酸是构成人体营养所需蛋白质的基本单位,是促进人体生长、维持身体正常代谢、提供生命活动的重要物质,也是机体合成所需抗体、激素、酶类等其他分子的前体,在体内参与一系列代谢反应,还可转变为碳水化合物和脂肪,最终代谢为二氧化碳、水及尿素,产生能量,是三大宏量营养素之一^[1]。人体的蛋白质由 20 种不同的氨基酸构成,其中 8 种

氨基酸人体自身无法合成,必须从外源补充,称为必需氨基酸(essential amino acid),包括赖氨酸、色氨酸、苯丙氨酸、蛋氨酸(甲硫氨酸)、苏氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、缬氨酸,其他 12 种氨基酸则为人体内能由前体物质合成,不需要从食物中获取的氨基酸,称为非必需氨基酸(non-essential amino acid)。组氨酸虽然能在人体内合成,但合成速度不能满足身体需要,有时也将其列为必需氨基酸^[2-3]。

伴随着肠外营养学科的发展,含有多种氨基酸的肠外营养制剂相继上市。复方氨基酸注射液主要

[作者简介] 吴小飞,男,工程师,主要从事药品技术审评工作。联系电话:(010)85242673,E-mail:wuxf@ced.org.cn。

由必需氨基酸和非必需氨基酸组成,也可根据营养或治疗需要与糖类、电解质、微量元素及维生素等以适当比例配制而成,是肠外营养的基本供氮来源,在营养治疗中起到重要作用。根据临床上的治疗不同,复方氨基酸注射液主要分为两大类:第1类是适用于大多数患者的平衡型氨基酸制剂,除含8种必需氨基酸外,一般还含有7~12种非必需氨基酸;第2类是用于特殊患者的复方氨基酸制剂,称为治疗

型氨基酸,根据不同疾病状态下需要的氨基酸谱设计而成,主要用于肝病患者、肾病患者以及大面积创伤应急型等^[4]。由于所含氨基酸种类和浓度各异,有的虽然种类相同,但相互间的比例不等,因此国内外上市的复方氨基酸注射品种较多,目前国内已批准上市约有20多种含不同组分(3AA~20AA)、不同配比的复方氨基酸注射液,见表1。

表1 国内上市的复方氨基酸注射液

名称	活性成分	类型
复方氨基酸注射液(3AA)	3种氨基酸	治疗型氨基酸
复方氨基酸注射液(6AA)	6种氨基酸	治疗型氨基酸
复方氨基酸注射液(9AA)	9种氨基酸	治疗型氨基酸
复方氨基酸注射液(14AA)、复方氨基酸注射液(14AA-SF)	14种氨基酸	平衡型氨基酸
复方氨基酸注射液(15AA)	15种氨基酸	治疗型氨基酸
复方氨基酸注射液(15-HBC)	15种氨基酸	治疗型氨基酸
复方氨基酸注射液(17AA)	17种氨基酸、山梨醇	治疗型氨基酸
复方氨基酸注射液(17AA-I)	17种氨基酸、山梨醇	治疗型氨基酸
复方氨基酸注射液(17AA-II)	17种氨基酸	治疗型氨基酸
复方氨基酸注射液(17AA-III)	17种氨基酸	治疗型氨基酸
复方氨基酸注射液(18AA)	18种氨基酸、山梨醇	平衡型氨基酸
复方氨基酸注射液(18AA-I)	18种氨基酸、氯化钙、氯化钾、硫酸镁、氢氧化钠、氢氧化钾	平衡型氨基酸
复方氨基酸注射液(18AA-II)	18种氨基酸	平衡型氨基酸
复方氨基酸注射液(18AA-III)	18种氨基酸	平衡型氨基酸
复方氨基酸注射液(18AA-IV)	18种氨基酸、葡萄糖	平衡型氨基酸
复方氨基酸注射液(18AA-V)、复方氨基酸注射液(18AA-V-SF)	18种氨基酸、木糖醇	平衡型氨基酸
复方氨基酸注射液(18AA-VII)	18种氨基酸	平衡型氨基酸
复方氨基酸注射液(18AA-IX)	18种氨基酸	治疗型氨基酸
小儿复方氨基酸注射液(18AA-I)	18种氨基酸	平衡型氨基酸
小儿复方氨基酸注射液(18AA-II)/小儿复方氨基酸注射液(19AA-I)	18种氨基酸、牛磺酸	平衡型氨基酸
复方氨基酸注射液(20AA)	20种氨基酸	治疗型氨基酸

复方氨基酸注射液中活性成分复杂,特别是侧链上含活泼基团(如羟基、巯基、羧基、氨基、胍基、咪唑基、酰胺基、吡啶基等)的氨基酸在生产和储存过程中易发生降解,同时不同成分之间可能发生相互作用,产生相应的杂质,影响产品的质量^[5]。本文着重分析和探讨在复方氨基酸注射液仿制药研发中需要关注的问题,对加强复方氨基酸注射液的质量控制提出一般建议,以期为相关研发者提供参考。需要指出的是,本文中的观点仅代表笔者个人,不代表任何监管机构对该类药物审评的相关技术要求。

1 原料药质量控制

氨基酸的生产工艺有多种,主要包括化学合成法、酶催化法、发酵法、蛋白质水解提取法等,氨基酸的不同生产工艺所产生的杂质谱有所不同。对于化学合成法,潜在的杂质谱主要包括起始原料、中间体、反应副产物、对映异构体、残留溶剂等;采用酶催化的合成法,与普通化学合成法相比,潜在的杂质谱还应包括酶残留;对于蛋白质水解提取法,主要为其他氨基酸;对于发酵法,主要为培养基残留物、宿主细胞残留物、代谢产物等^[6]。用于制备复方氨基酸注射液的原料药应符合注射用原料药的一般要求,

在制定内控标准时,应结合制备工艺对其潜在的工艺杂质谱及降解杂质进行全面分析、研究和控制,并参照国内外药典(如中华人民共和国药典、美国药典、欧洲药典等)对其他项目(如性状、鉴别、酸度、溶液的透光率、铵盐、氯化物、硫酸盐、干燥失重、炽灼残渣、铁盐、重金属、砷盐、含量等)进行控制,同时关注对微生物限度、细菌内毒素/热原等的控制,以满足制剂生产的质量控制要求。

2 处方开发

按照注射剂仿制药的一般技术要求,仿制药与参比制剂处方的辅料种类(Q1)和辅料用量(Q2)通常应一致^[7-8],其中仿制药处方中的抑菌剂、缓冲剂、pH调节剂、抗氧化剂、金属离子络合剂可以与参比制剂不同,但需阐述选择的理由,并研究证明上述不同不影响产品的安全性和有效性。此外,根据《化学药品注射剂基本考虑(试行)》要求,在满足需要的前提下,注射剂所用辅料的种类及用量应尽可能减少。复方氨基酸注射液中的部分氨基酸,尤其是色氨酸容易被氧化,导致输液颜色变深,含量下降。早期受到制药设备、过程控制检测技术及包装材料等限制,且存在对生产工艺的理解和研究不足,国内上市的复方氨基酸注射液中普遍添加抗氧化剂(如亚硫酸氢钠、焦亚硫酸钠等),以保证制剂的稳定性。然而,亚硫酸盐对人体具有一定的危害,主要表现为诱发超敏反应、诱发基因突变或破坏遗传物质、器官和神经系统毒性^[9]。由于亚硫酸盐在易感人群(如哮喘人群)中易造成过敏反应,甚至引发毒性作用,增加临床应用风险,美国FDA在1985年已正式要求药品生产企业在药品说明书中标识添加的抗氧化剂含量及其不良反应^[10-11]。2016年9月由原国家食品药品监督管理总局发布的《总局关于修订复方氨基酸注射液(18AA)及同类制剂说明书的公告》也做了同样的要求^[12]。在美国、欧盟及日本批准上市的复方氨基酸注射液中绝大多数均不含抗氧化剂,通常只含活性成分及适量pH调节剂。

截至2023年6月,在国家药品监督管理局公布的共69批仿制药参比制剂目录中,包含的复方氨基酸注射液及含复方氨基酸腔的多腔肠外营养液的品种约有20多个。经查询上述参比制剂的说明书,其中处方中含有抗氧化剂的有4个,其他均不含抗氧化剂。如所选参比制剂处方中含有抗氧化剂,建议其仿制药的研发遵循ICH Q8的基本思路,在保证仿制药的质量及稳定性不低于参比制剂前提下,尽量考虑在

处方中不加抗氧化剂,以提高产品的安全性。通过对参比制剂的质量进行充分剖析,建立目标产品质量概况(QTPP),明确产品关键质量属性(CQAs),基于风险评估对影响CQAs的物料特性和工艺参数等开展相关研究并建立适当的控制策略,建议通过加强对原辅包特性、生产工艺及参数、中间体质量等过程控制,提高质量控制水平,保证产品的质量和稳定性。

3 工艺研究

复方氨基酸注射液中含有多种不稳定的氨基酸(如色氨酸、甲硫氨酸、半胱氨酸、苯丙氨酸、谷氨酸、组氨酸等),易在生产及储存过程中发生降解,并且影响复方氨基酸注射液稳定性的因素众多,包括氧、温度、光、金属离子、pH值等^[13]。因此,对影响复方氨基酸注射液稳定性的工艺步骤及工艺参数进行详尽研究,并建立全面有效的过程控制策略,对保证复方氨基酸注射液的质量至关重要。

组成人体蛋白质的20种氨基酸原料均为固体,并以一定的结晶形状存在,其结晶形状对溶解度有一定的影响。各种氨基酸在水中溶解度不同,根据《中华人民共和国药典》2020年版,色氨酸、门冬氨酸、谷氨酸在水中微溶,异亮氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸在水中略溶,其他氨基酸在水中溶解或易溶。溶解度随温度升高而增大,但随着温度的升高,部分氨基酸易发生降解,影响药物的稳定性。还有部分氨基酸对氧含量、pH值、光照强度及离子强度等敏感,在生产过程中短时间脱离稳定环境,会给氨基酸类药物造成不良影响。因此,对工艺细节的研究和控制尤为重要,一般需对氨基酸投料顺序及加入温度、搅拌时间和速度、是否需要避光和控制离子强度、充氮工艺参数、配液和灌装全过程的氧残留量(顶空和溶液中)、中间体存放时限及生产过程时限控制等进行详细研究,筛选和优化制备工艺及参数,通过加强过程控制,使氨基酸在生产及储存过程中保持稳定^[14-15]。

复方氨基酸注射液为大容量注射液,其灭菌工艺的选择应符合《化学药品注射剂灭菌和无菌工艺研究及验证指导原则(试行)》中注射剂灭菌工艺选择的决策树要求,应首选过度杀灭法,即 F_0 值 ≥ 12 min的灭菌工艺^[16]。

4 质量研究和控制

复方氨基酸注射液的CQAs主要包括性状、鉴别、pH值、透光率、有关物质、游离氨、元素杂质、渗

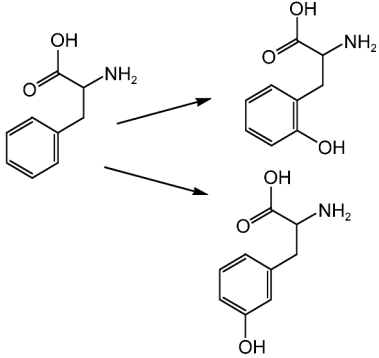
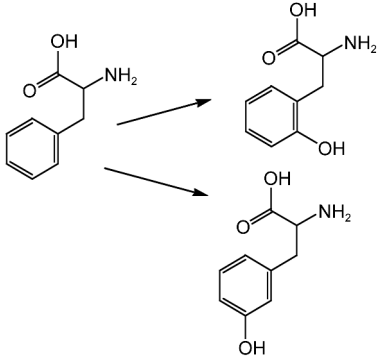
透压摩尔浓度、装量、可见异物、不溶性微粒、细菌内毒素、无菌、含量等。除了注射剂的常规考察项目外,需着重关注以下内容:部分氨基酸(特别是色氨酸)的降解可导致溶液颜色加深^[17],同时氨是氨基酸发生脱氨基作用产生的降解产物,因此透光率、游离氨与主成分氨基酸的降解具有一定的相关性,需对其进行研究和控制;根据 ICH Q3D,需对制剂中的元素杂质开展相关的风险评估及研究;此外,铝具有一定毒性,可导致慢性肾衰竭儿童和成人的骨软化、脑病和贫血,以及长期使用肠外营养患者的骨软化^[18],在体内铝与转铁蛋白和白蛋白结合,并通过肾脏排出,因此,铝对肾功能降低或受损患者的毒性风险最大,复方氨基酸注射液属于全肠外营养(TPN)大容量注射液,需参照美国 FDA 21 CFR 201.323 的规定对铝进行研究和控制,限度为不得超过 $25 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[19]。

复方氨基酸注射液中活性成分多、杂质谱复杂,在杂质谱分析研究时,建议重点结合处方工艺、降解试验及稳定性考察结果,并参考国内外药典及相关文献对制剂的降解杂质,特别是针对性质不稳定氨基酸的降解杂质进行分析和研究,将产生的杂质进行归属,在杂质限度控制时,应符合 ICH Q3B 的一般要求。表 2 汇总了文献报道的一些氨基酸的降解杂质以供参考^[20-23],例如:甲硫氨酸被氧化可产生甲硫氨酸亚砷和甲硫氨酸砷;谷氨酸在高温下分子内缩合环化可形成焦谷氨酸;色氨酸氧化可产生二氧吲哚丙氨酸、犬尿氨酸、5-羟色氨酸、*N*-甲酰犬尿氨酸等。

表 2 部分氨基酸的降解杂质

氨基酸名称	降解杂质
精氨酸 (Arg)	

氨基酸名称	降解杂质
组氨酸 (His)	
半胱氨酸 (Cys)	
酪氨酸 (Tyr)	
谷氨酸 (Glu)	
色氨酸 (Trp)	

氨基酸名称	降解杂质
苯丙氨酸 (Phe)	
甲硫氨酸 (Met)	

5 包装材料和容器及稳定性研究

药品包装材料对保障药品的质量至关重要,在选择药包材时,应充分考虑其对药品的质量和稳定性的影响^[24-31]。复方氨基酸注射液在储存过程中易受到氧的作用发生降解,因此国内外早期上市的复方氨基酸注射液多采用非渗透性的玻璃瓶包装。随着包装材料的生产技术发展,为了运输和使用等方面,现在越来越多采用半透性共挤输液用袋外加套阻隔袋内置抗氧化剂并抽真空封口的组合式包装。对同时含有葡萄糖、脂肪乳等其他营养物质,为避免相互发生作用(如葡萄糖为还原性物质,容易与溶液中的氨基酸发生美拉德反应;显酸性的氨基酸和葡萄糖降低溶液的 pH 值,影响脂肪乳粒的 Zeta 电位,破坏乳液的稳定性等)对产品的稳定性产生不利影响,通常设计成含多腔室的包装系统,以保证产品的稳定性^[20]。

在复方氨基酸注射液仿制药研究中,应根据产品的特性选择合适的包装系统,需关注仿制药使用的包装材料和容器的质量和性能不低于参比制剂,同时需参考国家药品监督管理局发布的《化学药品注射剂与塑料包装材料相容性研究技术指导原则(试行)》、《化学药品注射剂与药用玻璃包装容器相

容性研究技术指导原则(试行)》、《化学药品与弹性体密封件相容性研究技术指导原则(试行)》等相关技术指导原则开展全面的包材相容性研究和安全性评价。在稳定性考察中需关注对包装系统的密封性、溶液中的溶氧量以及包装系统顶空中的残氧量等进行考察;另对采用非渗透性的包装材料,还需关注稳定性试验的放置条件及对失水率的考察。

6 结语

复方氨基酸注射液由于活性成分复杂,并且各种氨基酸的理化性质各不相同,部分氨基酸对光、热、氧等敏感,因此在该类药物的仿制药研发中需关注的问题相应较多。为保证仿制药与参比制剂的质量和疗效的一致性,建议在对参比制剂进行充分调研的基础上,充分考察物料特性和生产工艺等对关键质量属性的影响,从而建立有效的质量控制策略,有效保障产品的质量。

[参 考 文 献]

- [1] 高纯, 李梦, 韦军民, 等. 复方氨基酸注射液临床应用专家共识[J]. 肿瘤代谢与营养电子杂志, 2019, 6(2): 183-189.
- [2] YARANDI SS, ZHAO VM, HEBBAR G, et al. Amino acid composition in parenteral nutrition: what is the evidence? [J]. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2011, 14(1): 75-82.
- [3] VAN GOUDOEVER JB, CARNIELLI V, DARMAUN D, et al. ESPGHAN/ESPEN/ESPR/CSPEN guidelines on pediatric parenteral nutrition: Amino acids[J]. *Clin Nutr*, 2018, 37(6 Pt B): 2315-2323.
- [4] 李航, 刘立立, 陈路佳, 等. 复方氨基酸注射液的临床合理使用[J]. 中国药业, 2014, 23(5): 57-58.
- [5] 杜秀敏. Fmoc 系列保护氨基酸的制备研究[D]. 南京: 南京工业大学, 2004.
- [6] KOPEC S, HOLZGRABE U. Impurity profile of amino acids? [J]. *Pharmeur Sci Notes*, 2005, 2005(1): 39-45.
- [7] 国家药品监督管理局药品审评中心. 国家药监局药审中心关于发布《化学药品注射剂仿制药质量和疗效一致性评价技术要求》等 3 个文件的通告(2020 年第 2 号)[EB/OL]. (2020-05-14). <https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCommon/d9c6f118b773f54e8feba3519bf78a11>.
- [8] FDA. Controlled correspondence related to generic drug development guidance for industry [EB/OL]. (2020-12-16). <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/controlled-correspondence-related-generic-drug-development-guidance-industry>.
- [9] 李雨晨, 刘海通, 张士靖. 复方氨基酸注射液添加亚硫酸盐抗氧化剂的风险综述[J]. 药物流行病学杂志, 2018, 27(10): 699-703.
- [10] The Executive departments and agencies of the Federal Government. CFR-Code of Federal Regulations Title 21 [EB/OL]. (2017-04-01) [2018-02-27]. <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfCFR/CFRSearch.cfm?fr=201.22#main>.
- [11] FDA. Warning Labels for drug with Sulfites[J]. *Sciences News*, 1985 (397): 21-28.
- [12] 原国家食品药品监督管理局总局. 总局关于修订复方氨基酸注射液(18AA)及同类制剂说明书的公告(2016 年第 144 号)[EB/OL]. (2016-09-12). <https://www.nmpa.gov.cn/xxgk/ggtg/yphsmshxdgg/20160912175101718.html>.

- [13] 邵义红, 范建伟, 丁美. 复方氨基酸注射液残氧量控制与色氨酸稳定性的关系[J]. 齐鲁药事, 2010, 29(8): 497-499.
- [14] 危媚. 如何保证复方氨基酸注射液的质量[J]. 海峡药学, 2012, 24(9): 14-16.
- [15] 林国英. 复方氨基酸注射液生产质量控制探讨[J]. 海峡药学, 2014, 26(12): 20-23.
- [16] 国家药品监督管理局药品审评中心. 国家药监局药审中心关于发布《化学药品注射剂灭菌和无菌工艺研究及验证指导原则(试行)》的通告(2020年第53号)[EB/OL]. (2020-12-30). <https://www.cde.org.cn/main/news/viewInfoCommon/8a1c258dea8798a6c6d6c1e0a14d1c1f>.
- [17] 危媚. 复方氨基酸注射液的变色原因探讨[J]. 中国医药指南, 2012, 10(26): 400-402.
- [18] POPIŃSKA K, KIERKUŚ J, LYSZKOWSKA M, *et al.* Aluminum contamination of parenteral nutrition additives, amino acid solutions, and lipid emulsions[J]. *Nutrition*, 1999, 15(9): 683-686.
- [19] The Executive departments and agencies of the Federal Government. CFR-Code of Federal Regulations Title 21 [EB/OL]. (2000-01-26) [2022-11-29]. <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm>.
- [20] UNGER N, HOLZGRABE U. Stability and assessment of amino acids in parenteral nutrition solutions[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2018, 147: 125-139.
- [21] 邵天舒, 周长明, 李辉, 等. 复方氨基酸注射液(18AA-II)中甲硫氨酸氧化杂质的研究[J]. 中国药科大学学报, 2021, 52(6): 713-718.
- [22] 郭雷, 周长明, 李辉, 等. 复方氨基酸注射液(18AA-II)中焦谷氨酸杂质的研究[J]. 华西药学杂志, 2020, 35(6): 668-671.
- [23] 郭雷, 周长明, 李辉, 等. 复方氨基酸注射液(18AA-II)中色氨酸有关物质的测定[J]. 中国医药工业杂志, 2021, 52(3): 390-394.
- [24] 朱嘉亮, 李文莉, 王翀, 等. 基于2021年国家药品抽检中成药质量状况分析的监管策略研究[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(18): 2584-2590.
- [25] 袁建龙, 林翼旻, 黄榕珍, 等. 新法规背景下境内药品再注册的技术审查标准研究[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(11): 1544-1548.
- [26] 郭欢欢, 丁毅, 韩玉全, 等. 抗体药物原液储存方法和前景[J]. 今日药学, 2023, 33(4): 262-267.
- [27] 李颖, 韩小旭, 袁淑胜, 等. 国产粒料制与进口粒料制聚丙烯输液瓶的质量对比评估初探[J]. 中国医药工业杂志, 2023, 54(2): 259-267.
- [28] 康美娟, 李辉, 赵霞. 中国药包材微生物检查方法及标准的合理性探讨[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(10): 1435-1440.
- [29] 王云, 宋亚南, 张村. 中药饮片保质期与有效期文献计量学分析[J]. 世界中医药, 2022, 17(18): 2602-2609.
- [30] 张保梅, 高璇, 陆骁骏. 新形势下药品上市许可持有人在药品变更管理中的主体责任[J]. 中国新药杂志, 2022, 31(5): 422-426.
- [31] 王丹丹, 俞辉. 从药典视角谈构建中国药包材标准体系的建议[J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(5): 537-540.

编辑:杨青/接受日期:2023-06-28