

**胰岛素类产品生物类似药
药学研究与评价技术指导原则**

2022 年 4 月

目 录

一、前言	1
二、适用范围.....	1
三、一般原则.....	1
四、生产用原材料.....	2
(一) 起始原材料	2
1. 生产用菌株/细胞株.....	2
2. 小分子修饰物.....	3
(二) 其他生产用原材料.....	4
五、生产工艺.....	5
(一) 生产工艺开发.....	5
1. 原料药	5
2. 制剂	6
(二) 关键工艺参数和过程控制	7
(三) 生产工艺验证.....	7
六、质量研究与质量标准	8
(一) 质量研究	8
1. 结构确证	8
2. 理化性质	9
3. 生物学活性.....	10
4. 方法学研究.....	10
(二) 质量标准	10
(三) 质量相似性研究.....	11
七、稳定性研究.....	12
八、储存容器和密闭系统	13
九、名词解释.....	14

一、前言

本指导原则的胰岛素类产品是指以重组技术表达、制备的人胰岛素、人胰岛素序列突变体及其脂肪酸修饰物等。该产品总体上具有结构特征明确、作用机制清晰等特点，是控制和治疗糖尿病的主要药物之一。

本指导原则旨在明确胰岛素类产品研发和生产中的共性技术要求，随着科学认知和技术的不断发展，亦可根据药物研发的实际情况，在符合药物研发规律的前提下，采用更有效的方法和手段对产品进行深入研究，并在申报资料中说明其科学性。

二、适用范围

本指导原则适用于采用重组技术表达、制备的七种胰岛素类产品的生物类似药，包括：人胰岛素、甘精胰岛素、门冬胰岛素、赖脯胰岛素、谷赖胰岛素、地特胰岛素和德谷胰岛素。其复方制剂以及经其他改构设计或化学修饰的胰岛素类产品可酌情参考本指导原则。

三、一般原则

本指导原则适用的胰岛素类产品总体上应参照《生物类似药研发与评价技术指导原则（试行）》进行研究，并按照生

物类似药途径申报。其研发和生产过程，应基于“质量源于设计”的理念，对生产工艺和产品质量进行全面而充分的研究，建立全生命周期质量管理体系，确保产品安全、有效、质量可控。同时，由于该类产品存在用药频次较高、周期较长等特点，应更加重视对杂质的控制。

四、生产用原材料

生产用原材料是影响产品质量的关键因素之一。用于胰岛素类产品生产的原材料应结合胰岛素类产品的特点，分析判断各类原材料对产品的安全性、有效性和质量可控性的潜在影响，例如是否参与原料药的分子构成、使用工艺步骤与终产品的距离(即步骤数)等，基于科学和风险等级对生产用原材料进行分类，建立全面的控制体系，明确生产用原材料的来源，合理拟定质量标准，严格供应商审计，确保其质量以及供应链稳定。

(一) 起始原材料

1. 生产用菌株/细胞株

用于胰岛素类产品生产的菌株(细胞株)应符合 ICH Q5B、Q5D 及《中国药典》要求。关于生产用菌株(细胞株)的构建，应明确描述其目的基因、表达载体、宿主菌(细胞)的来源，说明工程菌株(细胞株)和三级种子库(细胞库)的

构建与检定过程。工程菌株（细胞株）在构建过程中建议避免使用携带 β -内酰胺类抗生素抗性基因的质粒；单克隆筛选操作应在获得最终的工程菌株（细胞株）前完成，以确保各级、各批次种子库（细胞库）之间的均一性。细胞库检定项目应涵盖生物学特性、生化特性和分子遗传特性等。

种子库（细胞库）的传代稳定性研究应在无筛选压力的前提下，采用代表性生产工艺进行，并在实际工艺中进行确认，应根据所使用的表达体系对基因稳定性、遗传拷贝数、质粒保有率、表达量、活力等展开研究，合理拟定各级种子库（细胞库）的限传代次。

2. 小分子修饰物

小分子修饰物是改变胰岛素类产品药代动力学行为的重要因素之一，可根据其结构特征及制备工艺，充分评估其质量对产品安全性、有效性和质量可控性的潜在影响，重点关注其杂质控制能力，如降解产物、异构体、遗传毒性杂质、有机溶剂和元素杂质等。尽早确定小分子修饰物的制备工艺或供应商，确保批间质量一致以及临床试验样品的代表性。

2.1 生产工艺

若自行生产小分子修饰物，其制备用起始原材料的选择应参考 ICH Q11 和相关技术要求，建立合理的内控标准；对关键的工艺中间体拟定合理的控制标准。

2.2 结构确证

可参考《化学药物原料药制备和结构确证研究的技术指导原则》等的要求，结合工艺路线，采用多种分析测试方法对小分子修饰物化学结构进行结构研究，对含有立体构型的小分子修饰物，可采用单晶 X 衍射、核磁共振等手段进行立体结构的确证研究。

2.3 质量标准

根据胰岛素类产品质量控制要求，结合小分子修饰物制备工艺，合理拟定小分子修饰物质量标准的控制项目、方法和限度。对于潜在的、具有遗传毒性的杂质可按照 ICH M7 的要求进行风险评估和控制。

2.4 稳定性

应参照 ICH Q1A (R2)、Q1B 和《化学药物（原料药和制剂）稳定性研究技术指导原则》进行相关研究，拟定合理的贮藏条件和复验期。

（二）其他生产用原材料

应特别关注生产用原材料中的动物源性组分，充分评估其生物安全方面的潜在风险。如生产过程中应避免使用动物来源的蛋白酶，已使用的应开展重组蛋白酶的替代研究，鼓励自行生产重组蛋白酶。

若为自行生产的重组蛋白酶，应提供完整的生产工艺、质

量控制和稳定性研究资料，特别关注蛋白酶的纯度、比活等关键质量属性的批间一致性以及生产过程中可能存在的抗生素、宿主 DNA、宿主蛋白等的残留控制。此外，若存在多个关键生产用原材料供应商，应充分研究比对不同供应商来源的原材料对产品质量的潜在影响，并开展必要的可比性研究，优选优用。

五、生产工艺

胰岛素类产品应遵循生物类似药生产工艺开发的一般规律，在临床试验申报阶段基本达到可与商业化生产阶段对接的工艺和规模，以支持临床试验样品、商业化产品与参照药的可比性/相似性评价中物质基础的一致性。围绕参照药的目标质量概况（QTPP）和关键质量属性（CQA），通过完善的工艺研究，确定合理的工艺步骤、工艺参数和中间控制项目及限度，并开展充分的工艺验证研究。

（一）生产工艺开发

1. 原料药

1.1 发酵规模

基于现阶段常见生产用菌株/细胞株的表达水平，临床试验申报阶段发酵体积原则上应不低于 1000L，上市注册阶段发酵体积原则上应不低于 5000L，鼓励采用商业化发酵规模

和工艺生产样品开展临床试验。

1.2 抗生素的使用

胰岛素类产品的生产应尽量避免使用抗生素。根据《中国药典》要求，除另有规定外，生产过程中不得使用青霉素或其他 β -内酰胺类抗生素。若种子复苏扩增阶段需添加抗生素，应选择安全性风险相对较低的抗生素，种类不超过一种，且应充分验证后续生产工艺对抗生素的去除能力和效果，并在原液或制剂质量标准中对抗生素残留量进行严格控制，应符合《中国药典》要求。

2. 制剂

2.1 制剂处方及辅料

由于不同来源辅料的质量对制剂的质量具有重要影响，因此，胰岛素类产品无论制剂处方是否与参照药一致，均应开展必要的处方筛选研究。对于多剂量产品中抑菌剂种类和含量的确定，应参照《中国药典》规定方法开展研究，结合稳定性研究结果进行综合评估，尽可能降低抑菌剂使用量。

需提供详细的辅料供应商、质量标准、检定结果等信息，严格做好供应商审计工作。所用辅料一般不得低于药用级标准。拟采用多家供应商提供辅料的，需对不同辅料制备的制剂进行必要的可比性研究，优选优用。

2.2 双时相预混胰岛素

双时相预混胰岛素类产品由于硫酸鱼精蛋白在处方中的特殊性和重要性，考虑不同来源及不同批次的硫酸鱼精蛋白与胰岛素的结合能力不同，需与参照药进行鱼精蛋白含量的头对头对比研究，关注沉降，粒度分布，再悬浮能力等指标，并严格控制硫酸鱼精蛋白的来源及质量，使用前规范开展等相点研究，以保证胰岛素类产品质量的批间一致性。

（二）关键工艺参数和过程控制

胰岛素类产品在临床试验申报时需对生产关键工艺参数和产品关键质量属性间的关联性进行较为充分和全面的研究，特别是原料药结晶、制剂生产物料加入顺序、pH调节等对产品关键质量属性具有潜在影响的工艺步骤。一般需依据工艺开发和多批次原料药及制剂生产阶段的工艺监控信息，拟订合理的中间控制项目及限度。对于必要的临床试验期间的变更，需开展充分的工艺、质量和稳定性可比性研究。

（三）生产工艺验证

为确保生产的可控性和可衔接性，上游培养、下游纯化和制剂工艺的规模应尽量匹配，以保证工艺稳健性和产品的批间一致性，并满足上市后的持续供应需求。对于制剂生产阶段确需进行原料药混批的，应开展充分的验证研究，根据验证情况明确混批原则（应涵盖混批批次数量、混合总量、混批所使用原料药及混批后获得工艺中间品的质量要求等），

应符合《药品生产质量管理规范》原料药先进先出的要求，不得随意混批。不允许通过混批解决单批产品质量问题，或采用不同工艺生产的原料药混批进行后续生产。

在双时相预混胰岛素类产品的生产中，建议先将符合质量标准的原料药混合、溶解，而后按等相点添加硫酸鱼精蛋白制备成为均一的双时相预混胰岛素类产品。

六、质量研究与质量标准

质量研究应全面深入地研究产品的质量属性，明确其关键质量属性，研究项目应包括可能与其安全性、有效性相关的特性，并合理拟定原料药和制剂的质量标准项目及限度。质量标准相关检定方法应根据药典要求开展适当的方法学确认或验证研究。

（一）质量研究

应采用多批次代表性样品，在确保研究方法准确、可靠的前提下，对样品的结构特征、理化性质和生物学活性展开研究。重点关注有关物质和杂质的残留水平，尽可能对原料药、有关物质和杂质的结构特征、理化性质和生物学活性进行全面表征。

1. 结构确证

结构确证研究应结合胰岛素类产品的结构特点，选择合

理的研究手段，一般包括：质谱分子量、氨基酸序列分析、肽图、氨基酸覆盖率、N-端序列、二硫键分析、游离巯基、等电点研究、圆二色谱研究（远、近紫外光谱）、修饰位点确认（如有）等。推荐采用 X 射线单晶衍射、热稳定性分析、动态和静态光散射等方法对产品的高级结构进行表征。对德谷胰岛素、地特胰岛素等修饰类的长效胰岛素，应尽可能对其发挥作用相关的三级和四级结构，如胰岛素六聚体和多六聚体进行结构确证研究。

2. 理化性质

质量分析中一般应包括：性状、鉴别、微生物限度、细菌内毒素、宿主蛋白残留量、外源性 DNA 残留量、各类溶剂残留、含量测定，以及各类有关物质和杂质残留水平等。

对于产品相关杂质，应采用足够灵敏的分析方法与参照药进行头对头的对比分析。当产品中出现与参照药同时具有的同种杂质，其含量应不高于参照药。当产品中出现参照药中不存在的新杂质，需进行安全性评估，当其含量超出 0.1% 时，应通过富集等方式进行定性或/和定量研究。如杂质中存在具有潜在的遗传毒性的物质，应严格按照 ICH M7 对其进行风险评估。

针对小分子修饰胰岛素类产品，如地特胰岛素、德谷胰岛素等，应对其侧链脂肪链空间、位置异构体和手性异构体

进行充分的鉴定和研究，提升对产品的认知及质量控制能力。脂肪酸链和未修饰蛋白应作为关键中间体应进行充分的质量和稳定性研究。

3. 生物学活性

胰岛素类产品的生物学活性检定，应在根据《中国药典》胰岛素生物测定法研究的基础上，开展受体结合力、胰岛 β 细胞增殖、受体磷酸化、代谢功能（葡萄糖摄取、脂肪合成、糖原合成等）等体外活性研究。小分子修饰胰岛素类产品还应关注其与人血白蛋白的亲合活性研究。

4. 方法学研究

准确可靠的分析方法是质量控制、稳定性研究和可比性/相似性研究的重要基础。分析方法应经过完整、规范的开发和验证，以所需的专属性、线性、范围、准确性、精密度、检测限、定量限、耐用性等性能，测量目标分析物的一个或多个属性。

胰岛素类产品应在临床试验申报前完成基本的方法学研究，伴随研究的逐步深入，针对样品和检定方法的开发和验证应持续推进。如上市注册申报阶段应提供采用破坏性研究中分离、纯化的有关物质或杂质开展必要的方法学研究，以确保检验结果的准确性和可靠性。

（二）质量标准

胰岛素类产品的原料药和制剂质量标准的项目及限度，应不少于/不低于参照药的质量标准和《中国药典》的有关要求。可根据生产工艺和质量控制需要对不同工艺阶段的样品制定质量标准，以确保其批间一致性，一般应至少包括原料药和制剂，对于小分子修饰胰岛素类产品，还应将对小分子修饰物和未修饰胰岛素在标准中予以控制。

胰岛素类产品的质量单位和效价单位的特定换算，应基于产品特性进行充分的质量比对和量效关系研究，在充分研究数据积累的基础上，综合临床前和临床药效学研究结果进行评估和对系数进行合理拟定。此外，仅具有国际标准品的产品可以标注为国际单位 IU，不可采取简单的类比推算转化方法标示为国际单位。没有国际/国家标准品的胰岛素类产品应建立内部标准品，并关注赋值准确性及可溯源性。

若拟采用体外活性试验代替体内活性试验，则应进行全面的方法比对，开展体外、体内检测方法相关性研究。

（三）质量相似性研究

胰岛素类产品的质量相似性研究应采用至少三批代表性批次制剂，与多批次中国批准上市的参照药进行全面的头对头质量属性比对。当需要对参照药进行前处理时，应说明处理的具体步骤和操作方法，分析可能对参照药产生的影响，必要时需对处理前、后的样品进行比对研究。此外，当

表达体系与参照药不一致时，应重点关注杂质谱中的潜在差异。

七、稳定性研究

胰岛素类产品的稳定性研究应参照 ICH Q5C 和《生物制品稳定性研究技术指导原则（试行）》规范开展原料药及制剂的稳定性研究。

采用至少三批次代表性批次原料药和制剂，开展加速和长期稳定性研究；采用至少一批次代表性批次原料药和制剂，开展影响因素研究。稳定性研究样品所采用的储存容器应对相应申报阶段拟采用的储存容器在材质、封口方式等方面具有良好的代表性。

临床试验申报阶段的稳定性研究，应能支持临床试验的开展，至少完成 3 个月加速和 3 个月长期稳定性研究。

上市注册申请阶段，应全面开展影响因素、加速稳定性和长期稳定性研究，长期稳定性研究时间应达到原料药和制剂拟定的有效期。此外，还应根据原料药和制剂的实际生产场地及制剂的销售区域，开展能满足实际需求的运输稳定性研究或运输性能验证。

胰岛素类产品应开展模拟使用条件下的稳定性研究，如，高温、高湿、低温等。考察项目应能充分反映产品潜在的使

用环境对产品质量属性的潜在影响，如，纯度、杂质、无菌、细菌内毒素、不溶性微粒、抑菌效力等检项。多剂量胰岛素类产品中一般含有抑菌剂，为验证产品在长期稳定性和模拟使用条件下的无菌保证能力，应在长期稳定性研究的关键时间点和模拟使用条件下，参照《中国药典》开展抑菌效力检查。

胰岛素类产品原料药一般具有较长的有效期，因此，应科学设计有效期末原料药制备制剂的稳定性考察方案，以支持经历较长时间储存的原料药仍能生产出具有相当效期的制剂，并在上市申请的申报资料中提供上市后同步验证研究方案。

与参照药之间的稳定性相似性研究应参照《生物类似药研发与评价技术指导原则（试行）》开展，采用至少一批次代表性制剂与参照药开展影响因素研究，采用至少三批代表性批次制剂与多批次参照药开展加速稳定性研究。

八、储存容器和密闭系统

储存容器和密闭系统一般包括与原料药、半成品（如有）和制剂直接接触的包材，缓冲液储存容器，以及生产过程中与工艺中间品直接接触的生产设备，如生物反应袋、一次性管线等。为避免储存容器或密闭系统对产品的质量产生非预

期影响，应对其开展相容性研究、密闭性研究和有关安全性评估。

对于与原料药和制剂直接接触的包材应参照相关指导原则规范完成包材相容性和/或密封性研究。在上市注册申报阶段应提供全面的可提取物和浸出物研究资料。

对于使用硅油进行硅化处理的预填充包装制剂，应关注硅油来源及质量，并结合临床使用特点分析硅油对制剂质量及安全性的影响。产品所使用硅油应满足药用要求，并与制剂作为整体进行综合评价，上市许可持有人作为责任主体，应按照相关技术要求，进行供应商审计。

对于多剂量胰岛素类产品，所使用的多次给药装置应满足对药品的安全性、适应性、稳定性、功能性、保护性和便利性的要求，并参照《中国药典》和相关指导原则展开研究。建议特别关注笔式注射器与笔芯的适配性问题，无论是企业独立开发的笔式注射器，还是直接从供应商处购买相适配的笔式注射器，均应对其与笔芯（卡式瓶）的匹配度和功能性等方面展开必要研究。

九、名词解释

生物类似药：是指在质量、安全性和有效性方面与已获准注册的参照药具有相似性的治疗用生物制品。

有关物质：在生产和/或贮藏中形成的预期产品的分子变异体,它们具有活性且对成品的安全性和有效性无有害影响。这些变异体与预期产品的属性可比,不列为杂质。

杂质：存在于原液或成品中的非预期产品、非产品相关物质或非辅料（包括缓冲液成分）的任何组分,它的存在与工艺或产品有关。

分析方法：指进行分析的方式。应详细描述进行每个分析试验所必需的步骤。它包括但不限于：样品、参比对照品、试剂的配制，仪器的使用，标准曲线的绘制，计算公式的运用等。

参照药：是指已批准注册的，在生物类似药研发过程中与之进行比对研究用的产品，通常为原研产品。

相似性：候选药与已获准注册的参照药整体相似，且在质量、安全性及有效性方面不存在有临床意义的差别。

双时相预混胰岛素：两种不同起效时间和作用时间的胰岛素成分以一定比例混合制备成的预混型胰岛素制剂。

等相点：使一定量的胰岛素完全被结合形成沉淀的最小鱼精蛋白量。

参考文献

1. NMPA. 生物类似药研发与评价技术指导原则（试行）. [EB/OL]. [2005].
<https://www.nmpa.gov.cn/directory/web/nmpa/xxgk/ggtg/qtggtg/20150228155701114.html>
2. 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 [S] .2020 版. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
3. ICH Q5B. Analysis of the Expression Construct in Cells Used for Production of r-DNA Derived Protein Products. [EB/OL]. [1995].
<https://database.ich.org/sites/default/files/Q5B%20Guideline.pdf>
4. ICH Q5D. Derivation and Characterisation of Cell Substrates Used for Production of Biotechnological/Biological Products. [EB/OL]. [1997].
<https://database.ich.org/sites/default/files/Q5D%20Guideline.pdf>
5. ICH Q11. Development and Manufacture of Drug Substances. [EB/OL]. [2012].
<https://database.ich.org/sites/default/files/Q11%20Guideline.pdf>

6. NMPA. 化学药物原料药制备和结构确证研究的技术指导原则. [EB/OL]. [2005].
<http://www.cde.org.cn/zdyz.do?method=largePage&id=03d0b3714c82a68b>
7. ICH M7(R1). Assessment and Control of DNA Reactive (Mutagenic) Impurities in Pharmaceuticals to Limit Potential Carcinogenic Risk. [EB/OL]. [2017].
https://database.ich.org/sites/default/files/M7_R1_Guideline.pdf
8. ICH Q1A(R2). Stability Testing of New Drug Substances and Products [EB/OL]. [2003].
<https://database.ich.org/sites/default/files/Q1A%28R2%29%20Guideline.pdf>
9. NMPA. 化学药物(原料药和制剂)稳定性研究技术指导原则.[EB/OL]. [2015].
<http://www.cde.org.cn/zdyz.do?method=largePage&id=446a4ca29946193c>
10. ICH Q5C. Quality of Biotechnological products : Stability Testing of Biotechnological/Biological Products. [EB/OL]. [1995].
<https://database.ich.org/sites/default/files/Q5C%20Guideline>.

pdf

11.NMPA. 生物制品稳定性研究技术指导原则（试行）.[EB/OL]. [1997].

<https://www.nmpa.gov.cn/directory/web/nmpa/xxgk/ggtg/qtggtg/20150415120001189.html>