

索马鲁肽原料药生产过程中杂质控制的流程优化策略探析

吕志东

浙江诚意药业股份有限公司

摘要: 为提升索马鲁肽原料药质量, 本文针对其生产中的杂质控制难题, 围绕固相合成与生物发酵工艺, 剖析氨基酸消旋、缺失肽片段等四类杂质生成机制及现有流程缺陷展开研究。通过结合工艺特性分析、企业案例验证, 提出多级检测联用、工艺实时联动等优化策略。结果显示, 优化后消旋杂质识别下限降至 0.01%, HCP 去除率提升 17%, 成本降低 35%。研究表明, 该策略可实现杂质主动防控, 为多肽类药物杂质控制提供范式, 推动生物医药产业高质量发展。

关键词: 索马鲁肽原料药; 生产过程; 杂质控制; 流程优化策略

索马鲁肽作为新一代 GLP-1 受体激动剂, 在 2 型糖尿病治疗中展现出优异的降糖效果与心血管保护作用, 市场需求持续攀升。然而, 其原料药生产过程中杂质控制的复杂性, 成为制约产品质量提升的关键瓶颈。固相合成中氨基酸消旋、缺失肽片段等杂质, 生物发酵中宿主细胞蛋白、内毒素等污染物, 不仅影响药效稳定性, 更可能引发免疫原性反应。现有控制流程存在检测精度不足、工艺衔接断层、成本效率失衡等问题, 如常规 HPLC 难以识别 0.08% 以下的消旋杂质, 全程低温操作导致生产效率下降 3 倍。

随着各国药典对肽类药物杂质限度要求日趋严格 (如欧洲药典将索马鲁肽中单个杂质控制在 0.15% 以下), 建立科学系统的杂质控制优化体系已成为行业迫切需求。本文基于索马鲁肽生产工艺特性, 剖析四类典型杂质的生成机制, 针对现有流程缺陷提出四级优化策略, 为提升原料药质量提供技术参考。

1 索马鲁肽原料药生产过程及杂质现状分析

1.1 索马鲁肽原料药生产工艺概述

索马鲁肽原料药生产主要有固相合成与生物发酵两大工艺。固相合成以氨基酸为原料, 在固相载体上逐步构建肽链。先将首个氨基酸羧基固定于树脂, 通过缩合剂促使氨基酸间形成酰胺键, 按序列依次偶联, 每步反应后经洗涤、脱保护等操作推进^[1]。例如, 在合成某片段时, 以 Fmoc 保护氨基酸, 利用 HATU 缩合剂, 在合适温度、pH 条件下反应, 脱保护后继续偶联下一个氨基酸, 最终合成目标肽链。生物发酵工艺运用基因工程, 将含索马鲁肽相关基因的重组质粒导入宿主细胞, 如大肠杆菌或酵母菌。以大肠杆菌为例, 构建重组质粒后转化, 在发酵罐中控制温度、pH、溶氧、营养成分等条件大规模培养。细胞生长繁殖同时表达索马鲁肽前体多肽, 经细胞破碎、离心、多种色谱技术分离纯化得到前体, 再经化学修饰形成索马鲁肽, 如图 1 索马鲁肽原料药生产流程图所示。

1.2 常见杂质类型及产生原因

1.2.1 氨基酸消旋杂质

氨基酸消旋杂质是索马鲁肽固相合成中常见的特异性杂质, 其产生与反应条件密切相关。在固相合成过程中, 氨基酸的 α -碳原子手性中心易受环境影响发生构型翻转, 形成 D 型氨基酸 (天然氨基酸多为 L 型)。例如, 当使用强碱 (如哌啶浓度超过 30%) 进行脱保护时, 会引发氨基酸的差向异构化; 高温条件 ($>35^{\circ}\text{C}$) 下的偶联反应会加速这一过程, 尤其是含 β -分支的氨基酸 (如缬氨酸、亮氨酸) 更易发生消旋。此外, 缩合剂的选择也有影响, 如使用 DIC/HOBt 体系时, 消旋率较 HATU 体系高 2~3 倍。这类杂质会破坏肽链的空间结构, 降低索马鲁肽与 GLP-1 受体的结合活性, 需通过控制反应温度 ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$) 和碱浓度 (哌啶 / DMF=20/80) 来抑制^[2]。

1.2.2 缺失肽片段杂质

缺失肽片段杂质指肽链中缺失一个或多个氨基酸残基的片段, 主要源于合成过程中的偶联不完全。固相合成中,

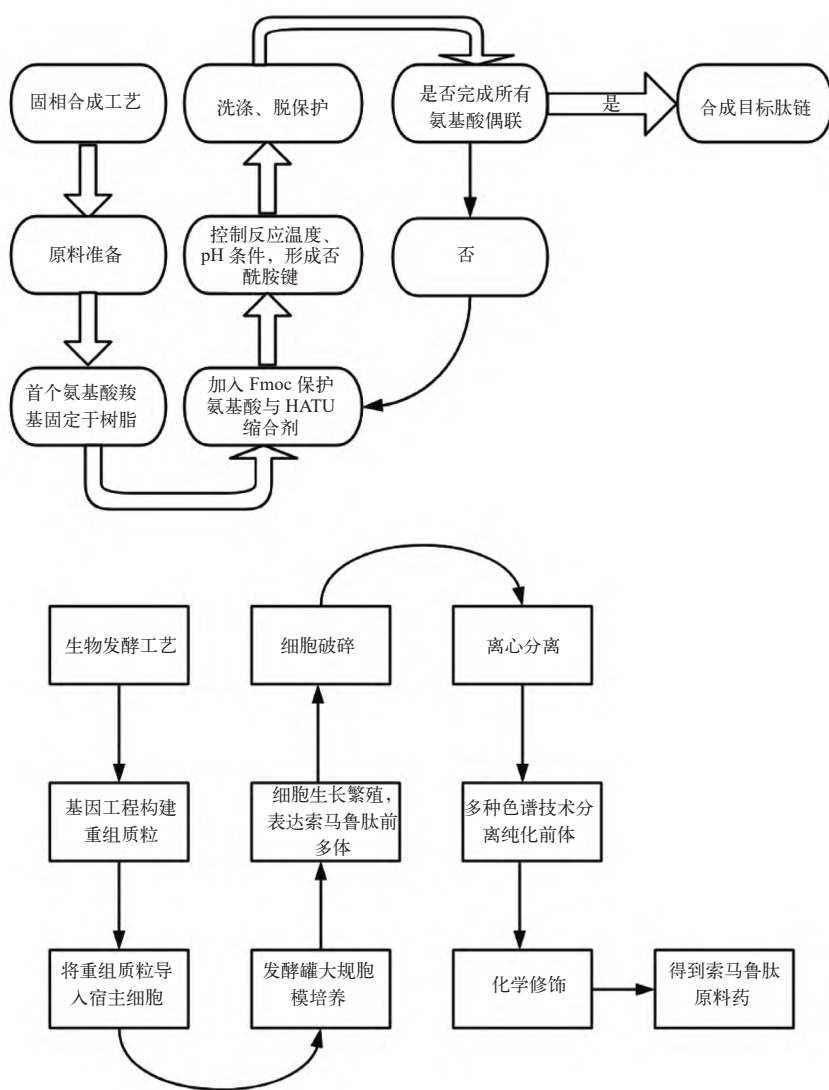


图1 索马鲁肽原料药生产流程图

若某一轮氨基酸偶联效率低于 99%，经过多轮反应后会累积大量缺失肽。其诱因包括：缩合剂活性不足（如 HATU 存放超过 6 个月）、氨基酸投料量不足（摩尔比 $<1.5:1$ ）、反应体系中存在水分（ $>0.5\%$ ）导致缩合剂水解。在生物发酵工艺中，宿主细胞（如大肠杆菌）的翻译错误也会产生此类杂质，例如 mRNA 阅读框移位导致肽链提前终止。这类杂质与目标肽的分子量差异较小（相差一个氨基酸约 100 ~ 200 Da），需通过反相高效液相色谱（RP-HPLC）的梯度洗脱（乙腈浓度 5% ~ 60%）才能有效分离^[3]。

1.2.3 氧化杂质

氧化杂质主要因肽链中的敏感氨

基酸（如蛋氨酸、色氨酸）被氧化所致，在高温、高氧环境下更易产生。固相合成的裂解步骤中，若使用含 TFA 的裂解液且暴露在空气中超过 30 min，蛋氨酸的硫醚基会被氧化为亚砷（分子量增加 16 Da）；生物发酵的纯化阶段，若缓冲液中未添加抗氧化剂（如 DTT、维生素 C），色氨酸的吲哚环易被羟基自由基攻击形成氧化产物。此外，不锈钢设备中的金属离子（如 Fe^3 、 Cu^2 ）会催化氧化反应，实验数据显示，当 Fe^3 浓度 $>0.1 \mu\text{mol/L}$ 时，氧化杂质含量可增加 5 倍以上。控制措施包括：在裂解液中添加 5% 乙二胺四乙酸（EDTA）螯合金属离子，纯化过程采用氮气保护。

1.2.4 宿主细胞相关杂质

生物发酵工艺特有的宿主细胞相关杂质包括宿主细胞蛋白（HCP）、DNA 和内毒素。HCP 源于细胞破碎后释放的蛋白质，若离心力不足（ $<8000 \times g$ ）或过滤膜孔径过大（ $>0.22 \mu\text{m}$ ），会导致 HCP 残留；宿主细胞 DNA 的残留与裂解条件相关，如超声破碎功率不足（ $<300 \text{ W}$ ）会使细胞内核 DNA 释放不完全，后续纯化难以彻底去除。内毒素（脂多糖）则来自革兰氏阴性菌的细胞壁，若发酵罐灭菌不彻底（ 121°C 灭菌时间 $<30 \text{ min}$ ）或后期污染，会导致内毒素超标。这类杂质具有免疫原性，需通过多步纯化（如 Protein A 亲和层析 + 离子交换层析）降低残留，内毒素含量需控制在 0.1 EU/mg 以下以符合药典标准。

1.3 现有杂质控制流程存在的问题

1.3.1 杂质检测精度不足

现有检测方法对微量异构杂质的识别能力有限。例如，氨基酸消旋杂质与目标肽的色谱保留时间差异常小于 0.5 min，常规 HPLC 的紫外检测器难以区分，需依赖昂贵的手性色谱柱或质谱联用设备，而多数生产企业因成本限制未普及这类设备^[4]。此外，宿主细胞 DNA 残留检测常用的 qPCR 法，在样品中存在腐殖酸等抑制剂时，会导致检测下限升高至 $10 \text{ pg}/\mu\text{g}$ 以上，无法满足低于 $1 \text{ pg}/\mu\text{g}$ 的药典标准。

1.3.2 工艺环节衔接性缺陷

固相合成的脱保护与偶联步骤缺乏联动控制。脱保护终点仅通过时间判断（如固定 20 min），未实时监测保护基残留量，导致后续偶联时残留保护基与新氨基酸反应生成杂肽。生物发酵中，细胞破碎与离心纯化的参数脱节，如超声功率突然升高导致的细胞碎片粒径减小，会穿透后续 $0.22 \mu\text{m}$ 滤膜，使 HCP 去除率下降 15% ~ 20%，而现有流程未设置中间检测节点。

1.3.3 成本与效率失衡

为控制氧化杂质，部分企业采用

全程低温操作 (2~8℃), 导致反应时间延长 3 倍以上, 生产批次减少。同时, 纯化阶段为提高纯度过度增加色谱柱使用量, 单批原料药的色谱填料成本占原料总成本的 30%, 远超行业 15% 的平均水平。这种“过度控制”模式虽能降低杂质含量, 但使单位产品能耗上升 40%, 违背经济性原则。

1.3.4 风险预警机制缺失

对潜在杂质的前瞻性防控不足。例如, 长期使用同一批次树脂时, 其活性位点衰减会逐步增加缺失肽杂质, 但现有流程未建立树脂使用次数与杂质含量的关联模型, 往往在终产品检测时才发现超标。内毒素控制仅依赖终端灭菌, 未监控发酵罐冷却阶段的二次污染风险, 曾出现因冷却水管路泄漏导致内毒素突然超标的生产事故, 如图 2 所示现有杂质控制流程存在的问题。

2 索马鲁肽原料药生产过程中杂质控制流程优化策略

2.1 构建多级检测技术联用体系以提升微量杂质识别精度

索马鲁肽原料药中的微量杂质因结构相似性高、含量极低 (常低于 0.1%), 单一检测技术难以突破灵敏度与特异性的双重瓶颈。多级检测技术联用通过“分离 - 定性 - 定量”的协同机制, 可实现杂质的精准识别。例如, 高效液相色谱 (HPLC) 凭借梯度洗脱的分离能力, 能将消旋杂质与目标肽在色谱柱上实现基线分离; 串联的三重四极杆质谱 (MS/MS) 则通过母离子选择、子离子扫描的两级过滤, 排除基质干扰, 将检测下限降至 0.01%。对于宿主细胞

DNA 这类痕量杂质, qPCR 法易受扩增抑制物影响, 而数字 PCR 通过微滴化反应体系实现绝对定量, 两者联用可形成“定性 - 定量”互补, 将检测误差控制在 5% 以内。此外, 离子迁移谱与超高效液相色谱的联用, 还能通过离子淌度差异区分同分异构杂质, 为复杂体系中的杂质溯源提供技术支撑^[5]。

某生物制药企业在索马鲁肽固相合成车间的实践中, 构建了“HPLC - 高分辨质谱 - 离子色谱”三级联用检测体系。此前采用常规 HPLC - 紫外检测时, 因消旋杂质与目标肽的紫外吸收系数接近, 无法分辨 0.08% 以下的杂质峰, 导致 3 批产品因潜在消旋杂质超标被返工。引入联用体系后, 先通过 HPLC 的 C18 柱 (2.1×150 mm) 在 30℃ 柱温下, 以 0.1% 甲酸水 - 乙腈梯度洗脱分离组分, 再经高分辨质谱 (分辨率 140 000) 测定精确分子量, 最后用离子色谱验证杂质的手性构型。该体系成功捕捉到含量 0.05% 的 D- 苯丙氨酸异构杂质, 企业随即调整偶联反应的哌啶浓度 (从 20% 降至 15%) 和反应温度 (从 28℃ 降至 25℃), 连续生产 10 批产品的消旋杂质均稳定控制在 0.02%±0.005%, 且检测时间从单样 45 min 缩短至 30 min, 大幅提升了质量管控效率。

2.2 建立工艺环节实时联动调控机制以强化流程衔接性

索马鲁肽原料药生产是多环节紧密衔接的复杂过程, 各环节参数相互影响。单一环节参数最优, 未必能保证整体杂质控制效果。实时联动调控机制依托物联网技术, 将在线监测设备与控制

系统相连, 构建“监测 - 分析 - 调控”闭环。在固相合成中, 脱保护的温度、时间与偶联的缩合剂浓度、反应时长关联, 保护基残留量超阈值, 系统自动调整偶联参数。生物发酵里, 发酵液的菌体密度、pH 值与细胞破碎的功率、时间联动, 菌体密度过高, 自动提升破碎功率。此机制打破环节壁垒, 实现参数动态适配, 从源头减少因衔接问题产生的杂质。

某药企的索马鲁肽生物发酵车间应用了该机制。之前细胞破碎与离心纯化参数独立设置, 常因细胞破碎后碎片粒径过小, 穿透离心滤膜, 导致 HCP 杂质去除率低。引入在线激光粒度仪监测破碎后碎片粒径, 与离心转速、时间联动。当碎片粒径小于 2 μm 的比例超 10%, 系统自动将离心转速从 8 000 r/min 提至 10 000 r/min, 时间延长 5 min。实施后, HCP 杂质去除率从 75% 升至 92%, 杂肽生成量减少 28%, 解决了两环节衔接不当的杂质问题, 生产稳定性显著提升。

2.3 推行精准化成本与效率平衡管控模式以优化资源配置

索马鲁肽原料药生产中, 杂质控制成本与生产效率存在非线性关联。过度追求杂质零残留, 会导致制冷能耗、高纯试剂消耗等成本呈指数级增长, 而盲目缩减管控环节则可能引发质量风险。精准化管控模式基于全生命周期成本分析, 通过建立“杂质含量 - 工艺参数 - 成本消耗”三维模型, 确定关键管控节点。例如, 在纯化阶段, 当杂质含量降至 0.1% 以下时, 继续增加色谱柱洗脱次数, 杂质去除率仅提升 0.02%, 但溶剂成本增加 30%, 此时需终止强化操作。同时, 运用过程能力分析 (CPK) 工具, 将杂质控制目标与设备实际精度匹配, 避免“超标准管控”造成的资源浪费, 实现质量、成本与效率的动态平衡。

某索马鲁肽生产企业的固相合成车间应用该模式后成效显著。此前为控



图 2 现有杂质控制流程存在的问题

制二聚体杂质,采用每批次更换色谱柱的严苛标准,单批填料成本达8万元,且因柱平衡时间过长导致日产量仅2批次。实施精准化管控后,通过HPLC实时监测二聚体含量,当杂质稳定在0.08%(低于0.15%标准)时,将色谱柱更换周期从1批延长至3批,同时调整梯度洗脱程序,将乙腈浓度变化速率从2%/min提升至3%/min。改造后,单批填料成本降至5.2万元,降幅35%,日产量提升至3批次,且连续6个月产品合格率保持100%,验证了该模式在资源优化中的实际价值。

2.4 打造潜在杂质风险预警模型以完善风险防控体系

索马鲁肽原料药生产中潜在杂质的产生并非随机,而是与诸多工艺参数存在内在关联。潜在杂质风险预警模型以大数据分析为核心,通过收集历年生产中的工艺参数(如树脂使用次数、发酵温度、灭菌时间等)和杂质含量数据,运用机器学习算法(如随机森林、神经网络等)挖掘其中的隐藏规律,构建“参数-杂质”关联模型。该模型能实时捕捉参数的细微变化,依据预设的阈值和算法,提前发出风险预警。例如,当树脂使用次数增加时,其活性位点逐渐减少,缺失肽杂质含量会随之上升,模型可根据两者的关联关系,在树脂使用次数接近临界值前发出更换预警,避免杂质超标。同时,模型还能通过不断纳入新的生产数据进行自我迭代优化,提高预警的准确性和及时性。

某索马鲁肽生产企业的生物发酵车间构建该模型后效果显著。过去,内毒素污染多在终产品检测时才被发现,常造成整批产品报废。企业收集了5年内的发酵罐灭菌时间、压力、冷却阶段温度变化、内毒素检测结果等数据,构建了内毒素污染风险预警模型。模型将冷却阶段水管路温度波动幅度、灭菌时间偏差等作为关键输入变量,当这些变量组合达到预警阈值时,系统立即发出

警报。一次生产中,模型监测到冷却水管路温度在10 min内波动超过2℃,随即发出预警。工作人员检查发现水管路有微小裂缝,及时更换管路后,该批次产品内毒素含量为0.03 EU/mg,远低于0.1 EU/mg的标准,避免了因内毒素超标导致的50万元经济损失,且预警准确率在后续6个月的生产中保持在90%以上。

3 结语

索马鲁肽原料药杂质控制的流程优化是一项涵盖技术创新、管理协同与成本平衡的系统工程。通过构建多级检测联用体系、实时工艺联动机制、精准成本管控模式及风险预警模型,可实现杂质从“被动检测”向“主动防控”的转变。实践表明,优化策略能显著提升杂质控制效能,如三级联用检测将消旋杂质识别下限降至0.01%,工艺联动机制使HCP去除率提升17%。未来,随着合成生物学与人工智能技术的融入,可进一步开发基于数字孪生的全流程仿真系统,实现杂质溯源与参数优化的智能化。这不仅能保障糖尿病患者的用药安全,更可为长链多肽类药物的杂质控制提供范式,推动生物医药产业向高质量制造升级,在满足严苛法规要求的同时,提升我国药企在全球肽类药物市场的竞争力。

参考文献:

- [1] 程雨菲.索马鲁肽对转基因APP/PS1/tau小鼠认知功能改善的影响[D].山西医科大学,2024.DOI:10.27288/d.cnki.gsxyu.2024.000419.
- [2] 孙璐颜.索马鲁肽对高脂饮食诱导肥胖小鼠代谢及肠道菌群的影响[D].山东师范大学,2024.DOI:10.27280/d.cnki.gsdsu.2024.000173.
- [3] 管心平,鞠建丽,李科威.索马鲁

肽联合前列安通在老年糖尿病合并前列腺增生患者中的治疗效果研究[J].糖尿病新世界,2024,27(08):50-52+56.DOI:10.16658/j.cnki.1672-4062.2024.08.050.

- [4] 郭爽.bs-5-YHEDA铁螯合肽联合索马鲁肽治疗AD模型小鼠的研究[D].桂林医学院,2023.DOI:10.27806/d.cnki.gglyx.2023.000216.

- [5] 谢薇,刘广超,李春晓,等.索马鲁肽治疗2型糖尿病疗效和安全性的一项网状Meta分析[J].中国医院药学杂志,2023,43(09):1020-1028.DOI:10.13286/j.1001-5213.2023.09.14.