

重组人干扰素 α -2b 栓的质量研究和稳定性研究

段明华¹, 裴瑾^{1*}, 韩冰¹, 荣梅^{2a}, 周长龙^{2b}(1.吉林大学药学院, 长春 130012; 2.空军航空大学, a.飞行基础训练基地门诊部, b.飞行训练基地一团, 长春 130012)

摘要: 目的 本次试验研究的目的是将重组人干扰素 α -2b 制备成通过直肠局部给药达到全身作用的栓剂。方法 应用脂肪酸甘油酯 suppciore BM 为基质, 以 Triton X-100 为促吸收剂, 制备重组人干扰素 α -2b 栓。以稳定性为指标, 考察重组人干扰素 α -2b 栓的处方。结果 用此方法制备的重组人干扰素 α -2b 栓稳定性强, 在 2~8 °C 条件下可保存 24 个月。结论 重组人干扰素 α -2b 栓的应用可增强患者的顺应性, 在临床中应用性强。

关键词: 重组人干扰素 α -2b; 栓剂; 质量研究; 稳定性

中图分类号: R943.44

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2009)12-0971-04

Study on Quality Control and Stability of Recombinant Human Interferon α -2b Suppository

DUAN Minghua¹, PEI Jin^{1*}, HAN Bing¹, RONG Mei^{2a}, ZHOU Changlong^{2b}(1.Pharmacy School of Jilin University, Changchun 130012, China; 2.The Aeronautical University of the China People Liberation Airforce, a.Flight Training Base Out-patient; b. Flight Training Base Corps One of the China People Liberation Airforce, Changchun 130012, China)

作者简介: 段明华, 女, 博士, 讲师 Tel: 13500827639 E-mail: duanduan-2007@163.com *通信作者: 裴瑾, 女, 博士, 博士生导师
Tel: (0431)85619252 E-mail: peijin_2008@126.com

ABSTRACT: OBJECTIVE In order to provide a formulation of recombinant interferon α -2b suppository for clinical application, a systemic studies of its quality control and stability was carried out. **METHODS** Methods used for quality control and stability studies were based on protocols published in China Pharmacopeia 2005. **RESULTS** For quality control, the appearance, melting time limit, microbial limit and biological activity were all to be in line with the standards published in China Pharmacopeia 2005. The stability study data showed that recombinant interferon α -2b suppository can be stored for 24 months at the temperature of 2-8°C. **CONCLUSION** Recombinant interferon α -2b suppository prepared above exhibit a high quality control and very good stability. **KEY WORDS:** recombinant interferon α -2b; suppository; quality control; stability

重组人干扰素 α -2b 为抗病毒药物,临床上主要用于疱疹病毒、生殖器病毒、肝炎病毒的治疗。目前市场上常用的剂型为注射剂,由于长期频繁的注射不仅会给病人带来痛苦,且存在着给药的潜在危险,患者的依从性较差。基于上述原因,笔者力图开发一种非注射途径给药制剂,以期将患者从痛苦中解脱出来^[1]。

通过局部给药达到全身作用的非注射途径给药生物制品是近几年人们研究的一个课题,研究的剂型有经鼻、口给药制剂,涂抹制剂等。在此类药物研究过程中,药物中的促吸收剂和药物的稳定性成为研究的关键和重点。在研究过程中,促吸收剂的选择需要结合动物体内药代动力学数据;产品的稳定性研究需要结合产品的质量研究数据。目前,此类生物制品在体内的生物利用度均在 10%以下,无法达到同类产品的药效,所以此类产品需要更多的科学工作者进行深入的研究。

1 仪器与材料

融变时限检测仪(天津药典仪器厂),恒温磁力搅拌器(上海雷磁仪器厂),百级洁净台(北京生物科技发展有限公司),Anthos2010 酶标仪(北京生物科技发展有限公司),重组人干扰素 α -2b 冻干粉(长春金赛药业有限责任公司),脂肪酸甘油酯 suppciore BM(法国加法赛);Triton X-100(美国 Gibicol 公司);MEM(Minimum Essential Medium)培养基(基本培养基)(美国 Gibicol 公司),重组人干扰素 α -2b 活性标准品(中国药品生物制品检定所,批号:20051005,纯度:95%),水泡口炎病毒(中国药品生物制品检定所)。

2 方法

2.1 制剂处方的确定

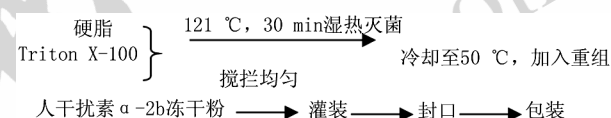
规格: 500×10^4 IU·g⁻¹·枚⁻¹。处方^[2]: 每 1 000 枚栓剂中含重组人干扰素 α -2b 冻干粉 50 mg、半合成脂肪酸甘油酯 949.95 g、Triton X-100 50.0 mL。

2.2 制备工艺

2.2.1 促吸收剂的筛查 促吸收剂是该产品研发

的一个瓶颈,笔者将促吸收剂划定在表面活性剂的范畴内进行选择。促吸收剂的种类和剂量结合大鼠体内药代动力学实验数据进行。在实验过程中,曾经研究过的促吸收剂有阿斯巴甜、月桂氮卓酮、水杨酸钠、octoxynol-9 等。主要是进行剂量的调整,促吸收剂应用的剂量在药典规定范围内进行。同时进行干扰素注射剂的大鼠体内药代动力学实验研究,以期比较栓剂在大鼠体内的吸收情况。从而确定本产品的促吸收剂种类和剂量。最终,确定本产品的促吸收剂为 Triton X-100。

2.2.2 工艺路线



2.3 制备工艺的确定^[3]

2.3.1 包材处理 将包材于 75%乙醇中浸泡 24 h,控水后置于百级洁净台中紫外照射 30 min,间隔 30 min 后,再进行紫外照射 30 min。

2.3.2 产品制备 按处方量称取硬脂和 Triton X-100,在 121 °C 条件下湿灭 30 min,于百级洁净区内在 50 °C 下加入处方量重组人干扰素 α -2b 冻干粉,搅拌均匀,浇模,冷却,封口。

2.3.3 包装 制品贴标签,检验合格后,包装得成品。

2.4 外观、融变时限、微生物限度

2.4.1 外观 应为白色或黄色栓剂,外形应均匀、光滑,质硬。

2.4.2 融变时限 应在 30 min 内全部软化无硬心。

2.4.3 微生物限度 栓剂应该符合微生物限度要求,检测细菌、霉菌和酵母菌。

2.5 重组人干扰素 α -2b 栓生物学活性测定方法验证

按照中国药典 2005 年版三部要求,重组人干扰素 α -2b 栓需进行生物学活性测定,应用 Wish 细胞及 VSV 病毒进行生物学活性检测。

2.6 稳定性考察

进行了重组人干扰素 α -2b 栓配方研究的 25 °C(3

个月)、4℃(24个月)长期稳定性试验,用外观、融变时限、pH值、生物学活性、微生物限度、重量差异的方法检测稳定性变化情况。

3 结果

3.1 外观

制备的重组人干扰素 α -2b 栓均为白色或黄色栓剂,外形均匀、光滑,质硬。

3.2 融变时限

制备的重组人干扰素 α -2b 栓均在 30 min 内全部软化无硬心。

3.3 微生物限度

根据中国药典 2005 年版二部进行微生物限度检查(附录 XII G),应用营养琼脂培养基和玫瑰红钠培养基 3 个稀释级的检测,均无菌生长,符合要求。

3.4 生物学活性检测

根据中国药典 2005 年版三部细胞病毒抑制法进行生物学活性检测,每枚栓剂的生物学活性均为标

示量的 80%~150%^[4]。

3.5 重量差异检测

根据中国药典 2005 年版三部栓剂项下重量差异检查法进行重量差异检测,应符合规定。

3.6 稳定性考察

按照制备工艺进行栓的制备,将栓分别放置于 25℃、4℃,考察温度对栓的稳定性的影响,通过考察,可确定栓储存条件和温度^[5]。重组人干扰素 α -2b 栓(20060901)25℃稳定性加速试验结果见表 1;重组人干扰素 α -2b 栓(20060902)25℃稳定性加速试验结果见表 2;重组人干扰素 α -2b 栓(20060903) 25℃稳定性加速试验结果见表 3;重组人干扰素 α -2b 栓(20070101)4℃长期稳定性试验结果见表 4;重组人干扰素 α -2b 栓(20070102)4℃长期稳定性试验结果见表 5;重组人干扰素 α -2b 栓(20070103)4℃长期稳定性试验结果见表 6。

表 1 重组人干扰素 α -2b 栓(20060901)25℃长期稳定性试验结果

Tab 1 The accelerated stability test results in 25℃ of suppository(20060901)

时间检测指标	0 月	1 月	2 月	3 月
外观	白色	白色	乳黄色	黄色
融变时限	30 min 内全部软化,无硬心	30 min 内全部软化,无硬心	30 min 内全部软化,无硬心	30 min 内全部软化,无硬心
pH 值	7.05	7.12	6.95	6.87
生物学活性	5.4×10^6 IU·枚 ⁻¹	5.0×10^6 IU·枚 ⁻¹	4.2×10^6 IU·枚 ⁻¹	3.6×10^6 IU·枚 ⁻¹
微生物限度	符合规定	符合规定	符合规定	不符合规定
重量差异	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定

表 2 重组人干扰素 α -2b 栓(20060902)25℃长期稳定性试验结果

Tab 2 The accelerated stability test results in 25℃ of suppository(20060902)

时间检测指标	0 月	1 月	2 月	3 月
外观	白色	白色	乳黄色	黄色
融变时限	30 min 内全部软化,无硬心	30 min 内全部软化,无硬心	30 min 内全部软化,无硬心	30 min 内全部软化,无硬心
pH 值	7.14	7.10	6.87	6.85
生物学活性	5.5×10^6 IU·枚 ⁻¹	5.1×10^6 IU·枚 ⁻¹	4.5×10^6 IU·枚 ⁻¹	3.9×10^6 IU·枚 ⁻¹
微生物限度	符合规定	符合规定	符合规定	不符合规定
重量差异	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定

表 3 重组人干扰素 α -2b 栓(20060903)25℃长期稳定性试验结果

Tab 3 The accelerated stability test results in 25℃ of suppository(20060903)

时间检测指标	0 月	1 月	2 月	3 月
外观	白色	白色	乳黄色	黄色
融变时限	30 min 内全部软化,无硬心	30 min 内全部软化,无硬心	30 min 内全部软化,无硬心	30 min 内全部软化,无硬心
pH 值	7.07	7.02	6.91	6.87
生物学活性	4.9×10^6 IU·枚 ⁻¹	5.1×10^6 IU·枚 ⁻¹	4.7×10^6 IU·枚 ⁻¹	4.0×10^6 IU·枚 ⁻¹
微生物限度	符合规定	符合规定	符合规定	不符合规定
重量差异	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定

表 4 重组人干扰素 α -2b 栓(20070101) 4℃长期稳定性试验结果

Tab 4 The long-term stability test results in 4℃ of suppository(20070101)

时间检测指标	0 月	1 月	3 月	6 月	9 月	12 月	18 月	24 月
外观	白色	白色	白色	白色	白色	白色	白色	白色
融变时限	30 min 内全部 软化, 无硬心	30 min 内全部 软化, 无硬心	30 min 内全部 软化, 无硬心	30 min 内全部 软化, 无硬心	30 min 内全部 软化, 无硬心	30 min 内全部 软化, 无硬心	30 min 内全部 软化, 无硬心	30 min 内全部 软化, 无硬心
pH 值	7.02	7.02	7.05	7.01	7.07	6.98	7.05	7.02
生物学活性	$4.9 \times 10^6 \text{ IU} \cdot \text{枚}^{-1}$	$5.1 \times 10^6 \text{ IU} \cdot \text{枚}^{-1}$	$4.8 \times 10^6 \text{ IU} \cdot \text{枚}^{-1}$	$5.2 \times 10^6 \text{ IU} \cdot \text{枚}^{-1}$	$5.3 \times 10^6 \text{ IU} \cdot \text{枚}^{-1}$	$4.9 \times 10^6 \text{ IU} \cdot \text{枚}^{-1}$	$4.8 \times 10^6 \text{ IU} \cdot \text{枚}^{-1}$	$5.0 \times 10^6 \text{ IU} \cdot \text{枚}^{-1}$
微生物限度	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定
重量差异	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定

表 5 重组人干扰素 α -2b 栓(20070102) 4℃长期稳定性试验结果

Tab 5 The long-term stability test results in 4℃ of suppository(20070102)

时间检测指标	0 月	1 月	3 月	6 月	9 月	12 月	18 月	24 月
外观	白色	白色	白色	白色	白色	白色	白色	白色
融变时限	30 min 内全部 软化, 无硬心	30 min 内全部 软化, 无硬心	30 min 内全部 软化, 无硬心	30 min 内全部 软化, 无硬心	30 min 内全部 软化, 无硬心	30 min 内全部 软化, 无硬心	30 min 内全部 软化, 无硬心	30 min 内全部 软化, 无硬心
pH 值	6.98	7.01	6.97	6.99	7.02	7.05	7.02	7.03
生物学活性	$5.2 \times 10^6 \text{ IU} \cdot \text{枚}^{-1}$	$5.1 \times 10^6 \text{ IU} \cdot \text{枚}^{-1}$	$5.2 \times 10^6 \text{ IU} \cdot \text{枚}^{-1}$	$5.3 \times 10^6 \text{ IU} \cdot \text{枚}^{-1}$	$5.0 \times 10^6 \text{ IU} \cdot \text{枚}^{-1}$	$5.1 \times 10^6 \text{ IU} \cdot \text{枚}^{-1}$	$5.4 \times 10^6 \text{ IU} \cdot \text{枚}^{-1}$	$5.3 \times 10^6 \text{ IU} \cdot \text{枚}^{-1}$
微生物限度	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定
重量差异	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定

表 6 重组人干扰素 α -2b 栓(20070103) 4℃长期稳定性试验结果

Tab 6 The long-term stability test results in 4℃ of suppository(20070103)

时间检测指标	0 月	1 月	3 月	6 月	9 月	12 月	18 月	24 月
外观	白色	白色	白色	白色	白色	白色	白色	白色
融变时限	30 min 内全部 软化, 无硬心	30 min 内全部 软化, 无硬心	30 min 内全部 软化, 无硬心	30 min 内全部 软化, 无硬心	30 min 内全部 软化, 无硬心	30 min 内全部 软化, 无硬心	30 min 内全部 软化, 无硬心	30 min 内全部 软化, 无硬心
pH 值	6.92	6.95	6.91	6.98	6.93	6.94	6.96	6.95
生物学活性	$5.1 \times 10^6 \text{ IU} \cdot \text{枚}^{-1}$	$5.0 \times 10^6 \text{ IU} \cdot \text{枚}^{-1}$	$5.2 \times 10^6 \text{ IU} \cdot \text{枚}^{-1}$	$5.2 \times 10^6 \text{ IU} \cdot \text{枚}^{-1}$	$5.4 \times 10^6 \text{ IU} \cdot \text{枚}^{-1}$	$5.2 \times 10^6 \text{ IU} \cdot \text{枚}^{-1}$	$5.0 \times 10^6 \text{ IU} \cdot \text{枚}^{-1}$	$5.1 \times 10^6 \text{ IU} \cdot \text{枚}^{-1}$
微生物限度	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定
重量差异	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定	符合规定

综上数据显示,重组人干扰素 α -2b 栓在 2~8℃条件下保存,活性稳定。

4 讨论

蛋白质类药物非注射途径给药剂型的研究,关键是要解决蛋白质大分子在体内的吸收问题。所以在进行处方制备研究时,结合药物代谢动力学研究和稳定性研究进行,进行处方中促吸收剂剂量和种类的调整。

在进行干扰素生物学活性检测时,由于细胞病毒抑制法的影响因素较多,所以在进行检测之前,笔者进行了检测方法的验证。在实验进行过程中,每更换一批细胞或一批病毒,都要进行方法的再验证,因为细胞的状态在变化,同时病毒的毒力也会随着环境的变化而变化,所以要及时进行观察和验证。

制备的栓剂中蛋白质类药物进行了冻干处理,将冻干粉均匀分散于基质中。经过检测,其具有良好的稳定性。

5 结论

应用脂肪酸甘油酯 *suppciore* BM 为基质,以 Triton X-100 为促吸收剂,制备脂溶性重组人干扰素 α -2b 栓,通过直肠局部给药达到全身抗病毒的疗效。制备的栓剂以稳定性为指标,考察重组人干扰素 α -2b 栓的处方。数据表明用此方法制备的重组人干扰素 α -2b 栓稳定性强,在 2~8℃条件下可至少保存 24 个月。

REFERENCES

- [1] LIU J, CUI Y Z, LÜ Y. Application of novel preparation technigaes to drug delivery systems of polypeptides and proteins [J]. Chin J Anim Husb Vet Med(畜牧兽医科技信息), 2007, (12):16-17.
- [2] Ch.P(2005)Vol III(中国药典 2005 版·三部)[S].2005: 211-214.
- [3] WANG Y,LI Z X. Research on intranasal and oral formulations of insulin [J]. Prog Pharm Sci(药学进展), 1993, 17(2):24-26.
- [4] ZHANG J L. Studies on the preparation of insulin using in nasal cavity [J]. Tianjin Pharm(天津药学), 2006, 18(4):48-49.
- [5] YANG C Z. An experimental study on the oral administration of insulin and the mechanisms of its absorption by the gastrointestinal tract [J]. J Fourth Mil Med Univ (第四军医大学学报), 1997, 8(2):28-30.

收稿日期: 2009-04-14