

重组人 α -2b 干扰素泡腾片制备工艺的研究

★ 王茵 (上海中医药大学 上海 201203)

★ 陆直 (中国医学科学院药物研究所 北京 100050)

摘要:以重组人 α -2b 干扰素的活性为指标,设计泡腾片处方及制备工艺。结果表明本法制备工艺简单,质量稳定。

关键词: α -2b 干扰素;泡腾片;制备工艺

中图分类号:TQ 460.6 **文献标识码:**A

重组人 α -2b 干扰素(recombinant human interferon α -2b, I),是一种重要的细胞因子,具有广谱抗病毒、抗肿瘤及免疫调节作用^[1]。近年来,国内外对干扰素制剂的研发进行了大量的工作,外用剂型主要有栓剂、凝胶制剂、软膏剂和涂剂等,临床上多用于治疗尖锐湿疣^[2]及单纯疱疹^[3]。本品为阴道泡腾片,与水接触时,能迅速崩解,药物随泡沫均匀分散,增加药物与阴道、宫颈粘膜的接触,使药物释放较快,并能在患处达到较高的浓度,充分发挥药物的治疗作用,克服栓剂释药慢、易污染衣物和药物易流失等缺点,患者容易接受。本文介绍了以 I 生物活性为指标的处方和工艺筛选工作。

1 仪器与试剂

LABCONCO Freezone 4.5 L 型 冷冻干燥机。

I 半成品(批号 980304,纯度 99.5%,效价 5.0×10^5 IU·mL⁻¹,江中北京药物研究所制备);I 参考品(批号 01/97,效价 1.0×10^7 IU·mL⁻¹,卫生部长春生物制品研究所);牛血清白蛋白和葡聚糖 20000 均系 Sigma 公司产品。

2 方法和结果

2.1 效价的测定方法

采用细胞病变抑制法^[4](CPE),以 WISH 细胞/VSV 病毒为基本检测系统,用国家参考品校准确定效价(IU)。

2.2 冻干保护剂对 I 冻干粉末活性的影响

I 是一种高活性多功能的蛋白质,稳定性受 pH、温度等因素影响较大,贮存不善或辅料配方不当,均可促使其降解,影响效价^[5]。本研究采用冷冻干燥法分别考察冻干保护剂对 I 冻干和贮存 1 周后的效价,结果见表 1。

表 1 不同保护剂对 I 固体粉末活性的影响 IU·mL⁻¹

处方	保护剂/mg	冻干前活性	冻干后活性	1 周后活性
1	—	1.18×10^4	5.18×10^3	3.87×10^3
2	枸橼酸 150	1.19×10^4	5.98×10^3	4.48×10^3
3	甘露醇 250	1.20×10^4	3.78×10^3	3.14×10^3
4	乳糖 250	1.04×10^4	3.46×10^3	2.56×10^3
5	葡聚糖 20000 250	5.13×10^4	1.49×10^4	1.35×10^4
6	牛血清白蛋白 200	2.18×10^5	2.58×10^4	1.60×10^4
7	枸橼酸 150 + 甘露醇 250	9.80×10^4	8.17×10^3	7.06×10^3
8	枸橼酸 150 + 乳糖 250	1.20×10^5	1.10×10^4	1.04×10^4
9	枸橼酸 150 + 葡聚糖 20000 250	6.80×10^4	2.13×10^4	1.92×10^4
10	枸橼酸 150 + 牛血清白蛋白 200	4.50×10^5	1.57×10^5	1.45×10^5

注:冻干条件:步骤 1:升温速率 0.25 °C/min,样品温度 -34 °C,冻干时间 1.5 小时;步骤 2:升温速率 0.15 °C/min,样品温度 -20 °C,冻干时间 8.0 小时;步骤 3:升温速率 0.15 °C/min,样品温度 0 °C,冻干时间 10.0 小时;步骤 4:升温速率 0.07 °C/min,样品温度 20 °C,冻干时间 1.0 小时。各处方总体积均为 10 mL,其中 I 效价 5.0×10^5 IU·mL⁻¹。

结果表明,按处方 10 制得的冻干粉末较稳定,生物活性较高。

2.3 空白泡腾片处方的筛选过程

2.3.1 泡腾剂枸橼酸与碳酸氢钠混合后 pH 变化

表 1 处方 10 制备的样品溶液 pH 为 5.5,这初步表明 I 在酸性条件下较稳定。为了让泡腾片发泡后溶液呈酸性,对泡腾剂枸橼酸与碳酸氢钠单独混合后 pH 变化进行了测定。固定枸橼酸量为 0.5 g,加入不同量的碳酸氢钠,以碳酸氢钠用量为横坐标, pH 为纵坐标作图,得回归方程 $y = 2.8557 + 4.7738x$, $r = 0.9992$ 。当 pH 为 5.50 时,碳酸氢钠需 0.55 g。从上述实验可得出,泡腾剂枸橼酸与碳酸氢钠的比例最佳为 1:1.1 左右。

2.3.2 泡腾剂含量对片剂溶解性能的影响 按表 2 取泡腾剂(枸橼酸和碳酸氢钠的比例为 1:1.1),乳糖,润滑剂和粘合剂,分别制备酸颗粒和碱颗粒,压片,室温下观察所得片剂的溶解性能。

作者简介:王茵,博士研究生。专业方向:中药新剂型。

表 2 泡腾剂含量对片剂溶解性能的影响

编号	泡腾剂:乳糖	粘合剂	润滑剂	溶解性能
1	1:10	5%PVP K30	0.5%硬脂酸镁	1min 内溶解
2	1:20	5%PVP K30	0.5%硬脂酸镁	1~2min 溶解
3	1:20	10%PVP K30	0.5%硬脂酸镁	1~2min 溶解
4	1:20	1%甲基纤维素	0.5%硬脂酸镁	1~2min 溶解
5	1:40	1%甲基纤维素	0.5%硬脂酸镁	2~3min 溶解
6	1:40	5%PVP K30	0.5%硬脂酸镁	3~4min 溶解

从溶解结果可知,泡腾剂:乳糖的比例在 1:40 左右时制备的泡腾片发泡时间合适,用 PVP K30 作粘合剂,泡腾片遇水产生的气体稳定,均匀。

2.4 干燥温度对 I 活性的影响

按表 1 处方 10 制备 I 冻干粉,将 I 冻干粉加入稀释剂乳糖,用 5%PVP K30 制备酸颗粒,在不同温度下干燥,测定干燥前后样品的生物活性。

表 3 干燥温度对 I 活性的影响 IU·mL⁻¹

干燥条件	平均生物活性(n=3)
干燥前湿颗粒	1.41×10 ⁴
30℃,40 min	1.12×10 ⁴
30℃,80 min	1.01×10 ⁴
40℃,40 min	3317
40℃,80 min	1164

结果表明,湿酸颗粒的干燥温度宜控制在 30℃。

2.5 压片过程对 I 活性的影响

I 冻干粉的酸颗粒,碳酸氢钠碱颗粒与 0.5%硬脂酸镁混合,为压片前颗粒,采用 ZDY-8 重型单冲压片机压片,其中压片力为压片机压力轮上的刻度值,表示相对压力大小;测定压片后 I 活性并与未压片时比较。

表 4 压片力对 I 活性的影响 IU·mL⁻¹

样品	压片前颗粒	片剂 1 (压片力 1000kg)	片剂 2 (压片力 1500kg)
生物活性	9714	9784	9703

实验结果表明,在压片过程中,一定强度的压力

对 I 生物活性影响甚小。

2.6 片剂的制备方法

I 阴道泡腾片处方:I 半成品含 1 800 万(IU),牛血清白蛋白 0.6 g,枸橼酸 0.45 g,碳酸氢钠 0.5 g,乳糖 38 g,硬脂酸镁 0.2 g,制成 100 片。

制备工艺:I 半成品与牛血清白蛋白和枸橼酸制备 I 冻干粉,将乳糖分成两份,一份与 I 冻干粉混匀,另一份与碳酸氢钠混匀,分别用 5%PVP 水溶液作粘合剂制粒,30℃干燥后,整粒,加入硬脂酸镁混匀,压片,压力范围控制在 1 000~1 500 kg。

3 讨论

I 半成品是 I 工程菌经机械和化学变性剂裂解后,通过各层析等纯化步骤得到的纯品蛋白质,较容易失活和降解。本处方的设计原理为处方内含一酸源和二氧化碳源,根据 I 在酸性条件下较稳定的性质,将主药 I、枸橼酸和保护剂牛血清白蛋白冻干得到 I 冻干粉,赋形剂乳糖分成两份,一份与 I 冻干粉混匀制粒,另一份与碳酸氢钠混匀制粒,临压片时两部分颗粒混匀,泡腾片的 pH 控制在 5.5 左右,制备的泡腾片基本保持 I 生物活性,但对 I 泡腾片稳定性和疗效的确定还有待于进一步的研究。

参考文献

- [1]张磊,田莉.干扰素的开发现状及趋势[J].天津药学,2000,12(4):11
- [2]刘玉林,黄连凤.重组人 α-2b 干扰素凝胶治疗尖锐湿疣 72 例疗效观察[J].临床皮肤科杂志,2003,32(7):375
- [3]郝彦萍,王冬云,郑焱,等.基因重组人干扰素 α-2b 涂膜剂治疗单纯疱疹 24 例疗效观察[J].中国皮肤性病学杂志,2001,15(4):248
- [4]中华人民共和国卫生部.中国生物制品规程(一部)[M].北京:中国人口出版社,1995,257
- [5]于建春,谷峰,孙彦.重组人干扰素 α-2b 水针、粉针的稳定性及与干扰素标准品的比较研究[J].天津师范大学学报(自然科学版),2003,23(1):43

(收稿日期:2005-07-13)

Study on the preparation of effervescent tablets of Recombinant Human Interferon α-2b

Wang Yin¹, Lu Zhi²

(1. Experiment Center of Scientific Technology Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai, 201203 ;2. Chinese Academy of Medical Sciences Institute of Materia Medica, Beijing 100050)

Abstract: The activity of rIFN-α2b served as indices to design the preparing prescription. The results that the preparation method was simple and stable.

Key words: recombinant human interferon α-2b; effervescent tablets; preparation