

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷
A61K 38/21



[12] 发 明 专 利 说 明 书

[21] ZL 专利号 99125582.8

[45] 授权公告日 2004 年 11 月 17 日

[11] 授权公告号 CN 1175901C

[22] 申请日 1999. 12. 6 [21] 申请号 99125582. 8

[71] 专利权人 天津华立达生物工程有限公司
地址 300241 天津市河北区中山北路 4 号

[72] 发明人 张 磊
审查员 马文霞

[74] 专利代理机构 北京华科联合专利事务所
代理人 王 为

权利要求书 1 页 说明书 13 页

[54] 发明名称 一种稳定的干扰素水溶液

[57] 摘要

本发明涉及一种稳定的干扰素水溶液，其组成为：a. 有效剂量的 α 干扰素；b. pH4.5 - 9.0 范围的缓冲体系；c. 稳定剂；d. 非离子表面活性剂；e. 等渗剂；f. 注射用水；本发明的干扰素水溶液中不含防腐剂。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1. 一种不含人血提取成分的稳定的干扰素水溶液，包括如下组分：

- a. 有效剂量的 α 干扰素；
- b. PH4.5-9.0 范围的缓冲体系；
- c. 5-60 毫克/毫升的代血浆物质；
- d. 聚氧乙烯失水山梨醇单油酸酯；
- e. 等渗剂；
- f. 注射用水；

其特征在于，其中不含防腐剂。

2. 权利要求 1 的干扰素水溶液，其中缓冲体系是由枸橼酸和磷酸氢二钠组成的。

3. 权利要求 1 的干扰素水溶液，其中的代血浆物质是羟乙基淀粉 40 或右旋糖酐或聚乙烯吡咯烷酮。

4. 权利要求 1 的干扰素水溶液，其中的等渗剂为氯化钠。

5. 权利要求 1 的干扰素水溶液，它由如下组分组成：

- a. 10-10000 万 IU/毫升的重组干扰素 α -2b；
- b. 保持 PH4.5-9 范围的枸橼酸和磷酸氢二钠缓冲溶液；
- c. 1-10 毫克的氯化钠；
- d. 5-60 毫克羟乙基淀粉 40；
- e. 0.02-0.2 毫升聚氧乙烯失水山梨醇单油酸酯；
- f. 溶液总量加到 1 毫升所需的注射用水。

一种稳定的干扰素水溶液

本发明涉及一种稳定的不含防腐剂和人血提取成分的 α 干扰素水溶液制剂，这种制剂保持了 α 干扰素的高生物学活性和稳定性。

干扰素具有广谱的抗病毒、抗肿瘤和免疫调节作用，在国内外已广泛用于治疗多种病毒性、肿瘤性疾病，如慢性病毒性的乙型肝炎、丙型肝炎，慢性粒细胞白血病、慢性毛细胞白血病等。但目前国内外市场销售的干扰素剂型主要是粉针剂，使用时需要加入注射用水，给临床使用带来一些不便，更重要的是粉针剂的制造成本较高，价格昂贵，使许多需要使用干扰素的患者经济上难以承受，严重地限制了干扰素的普及使用。

水针剂型取代冻干剂型是生物制品的发展趋势，许多医药公司都积极将细胞因子类蛋白质药物制成水针剂型，如G-CSF、EPO、胰岛素等。对于干扰素，由于水针剂型无需溶解，可以直接使用，相对于冻干剂型，剂量更容易控制，使用更加方便，而且制造费用也明显降低，易于被医生和患者接受。研制开发干扰素水针剂型无疑具有重要的意义。

稳定的干扰素水针剂在国外已有相应的产品上市，其中含有人血清白蛋白作为稳定剂，使用人血清白蛋白作为稳定剂使生产工艺复杂化，同时也存在血液制品污染的问题，中国专利CN1160355A和CN1141808A描述了两类不含人血清白蛋白的干扰素溶液制剂，其溶液中含有防腐剂，含有防腐剂的溶液制剂注射时会产生注射部位疼

痛，对人体有刺激性，同时会影响干扰素的活性，且防腐剂的毒副作用限制了药物的大量使用。

本发明的发明人发明了一种稳定的不含人血清白蛋白和防腐剂的干扰素溶液制剂，通过实验证明了它的优点。

本发明提供保持高生物学活性和不含人血衍生物的稳定的 α 干扰素水溶液制剂，该制剂包括：

- a. 10 万-10000 万 IU/毫升的 α 干扰素；
- b. 保持 pH4.5-9.0 范围的缓冲体系；
- c. 有效剂量的稳定剂；
- d. 非离子表面活性剂；
- e. 有效量的等渗剂；
- f. 足以制备上述列出组分溶液的一定数量的注射用水。

我们的处方选择主要依据是稳定性好、不含防腐剂，副作用小。

从这一点出发，我们选择缓冲体系的时候，除了考虑它是否具有适合的 pH 值，而且还考虑溶液应具备的上述特性。适于本发明的缓冲体系是那些保持水溶液制剂的 PH 范围在 4.5-9 的任何一种缓冲体系，包括磷酸、枸橼酸、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、Tris 等物质及其组合，优选的是枸橼酸和磷酸氢二钠缓冲体系。这两种成分组合后的 pH 范围与人体内环境 pH 值一致，可尽量避免对人体的刺激性，注射后不会引起不适反应，同时该体系成分具有络合金属离子和防止自氧化作用。

我们在选择稳定剂时，考虑的原则是寻找一种无人血提取成分的代血浆物质，因为干扰素与血浆结合稳定性最好。曾经考虑过几种不同的物质以及这几种物质的组合，一共设计了 7 种方案，并制

作了7批样品。将这些样品分别置于 $8\pm 2^{\circ}\text{C}$ 、 25°C 、 37°C 的条件下测量其稳定性（见附表），根据结果我们优选了羟乙基淀粉-40作为稳定剂，优选处方为实施例2。当本发明制剂每毫升含有10万-10000万单位的干扰素时，稳定剂的用量范围是5-60毫克/毫升。当本发明制剂每毫升含有100万-10000万单位的干扰素时，优选浓度为10-20毫克/毫升。

羟乙基淀粉40的选择是本发明的一个独特之处。在这种稳定剂存在下，药物溶液在制备过程中无需充入氮气，但也可以起到稳定干扰素分子的空间构象，稳定其活性，并且防氧化的作用。

本发明由于采用了合适的稳定剂，因此不加防腐剂的药物溶液经过1年多以后也没有染菌的现象发生。

本发明的优选等渗剂是氯化钠，作为渗透压调节剂用于维持干扰素溶液的离子强度。每毫升本发明制剂含有等渗剂的用量范围是1-10毫克/毫升，优选含量为4毫克/毫升。

聚氧乙烯失水山梨醇单油酸酯是非离子型表面活性剂，对干扰素分子起到助悬作用，防止蛋白质聚集，也是干扰素的一种稳定剂。本发明的量为0.02-0.2毫升/毫升，优选用量为0.1毫升/毫升。

本发明优选的配方组成为：

- a. 10-10000万IU/毫升的重组干扰素 α -2b；
- b. 保持PH4.5-9范围的枸橼酸和磷酸氢二钠缓冲溶液；
- c. 1-10毫克的氯化钠；
- d. 5-60毫克羟乙基淀粉40；
- e. 0.02-0.2毫升聚氧乙烯失水山梨醇单油酸酯；
- f. 溶液总量加到1毫升所需的注射用水。

本发明的重组干扰素 α -2b注射液具有很好的稳定性,在室温下可稳定8周时间,在规定条件下可保存两年。与其它公司的重组干扰素 α -2b水剂相比,在耐受冻融、温度、光照、振摇、减少注射部位局部刺激等方面均有显著提高,为贮存、运输和使用带来便利;而且,重组干扰素 α -2b注射液可使干扰素的制造成本显著下降,有利于干扰素的普及应用。

以下实施例用于说明本发明。

实施例1:

组合物配方

a. 重组干扰素 α -2b	300 万 IU;
b. 枸橼酸	0.2 毫克;
c. 磷酸氢二钠	2.5 毫克;
d. 氯化钠	4.0 毫克;
e. 右旋糖酐	20 毫克;
f. 聚氧乙烯失水山梨醇单油酸酯	0.1 毫升;
g. 注射用水	适量加至 1.0 毫升。

制备工艺:

按处方称料,用无菌无热原注射水溶解,加入干扰素 α -2b 半成品溶液使稀释至规定浓度。除菌过滤用 0.22 μ m 孔径滤膜除菌过滤,保存于 $8\pm 2^{\circ}\text{C}$,取样作无菌和热原检查合格后分装于密闭容器中。分装在百级洁净区进行,分装于西林瓶中,单剂量装每瓶 1.1ml。分装后成品置 $2-10^{\circ}\text{C}$ 下暗处保存。

实施例 2

组合物配方

a. 重组干扰素 α -2b	300 万 IU;
b. 枸橼酸	0.2 毫克;
c. 磷酸氢二钠	2.5 毫克;
d. 氯化钠	4.0 毫克;
e. 羟乙基淀粉 40	20 毫克;
f. 聚氧乙烯失水山梨醇单油酸酯	0.1 毫升;
g. 注射用水	适量加至 1.0 毫升。

制备方法同实施例 1。

实施例 3

组合物配方

a. 重组干扰素 α -2b	300 万 IU;
b. 枸橼酸	0.2 毫克;
c. 磷酸氢二钠	2.5 毫克;
d. 氯化钠	4.0 毫克;
e. 聚乙烯吡咯烷酮	20 毫克;
f. 聚氧乙烯失水山梨醇单油酸酯	0.1 毫升;
g. 注射用水	适量加至 1.0 毫升。

制备方法同实施例 1。

实施例 4

组合物配方

a. 重组干扰素 α -2b	300 万 IU;
b. 枸橼酸	0.2 毫克;
c. 磷酸氢二钠	2.5 毫克;
d. 氯化钠	4.0 毫克;
e. 羟乙基淀粉 40	10 毫克;
f. 右旋糖酐	10 毫克;
g. 聚氧乙烯失水山梨醇单油酸酯	0.1 毫升;
h. 注射用水	适量加至 1.0 毫升。

制备方法同实施例 1。

实施例 5

组合物配方

a. 重组干扰素 α -2b	300 万 IU;
b. 枸橼酸	0.2 毫克;
c. 磷酸氢二钠	2.5 毫克;
d. 氯化钠	4.0 毫克;
e. 聚乙烯吡咯烷酮	10 毫克;
f. 右旋糖酐	10 毫克;
g. 聚氧乙烯失水山梨醇单油酸酯	0.1 毫升;

h. 注射用水 适量加至 1.0 毫升。

制备方法同实施例 1。

实施例 6

组合物配方

a. 重组干扰素 α -2b	300 万 IU;
b. 枸橼酸	0.2 毫克;
c. 磷酸氢二钠	2.5 毫克;
d. 氯化钠	4.0 毫克;
e. 羟乙基淀粉 40	10 毫克;
f. 聚乙烯吡咯烷酮	10 毫克;
g. 聚氧乙烯失水山梨醇单油酸酯	0.1 毫升;
h. 注射用水	适量加至 1.0 毫升。

制备方法同实施例 1。

实施例 7

组合物配方

a. 重组干扰素 α -2b	100 万 IU;
b. 枸橼酸	0.2 毫克;
c. 磷酸氢二钠	2.5 毫克;
d. 氯化钠	4.0 毫克;
e. 羟乙基淀粉 40	1.0 毫升;

- | | |
|----------|--------------|
| f. 尼泊金乙酯 | 1.8 毫克; |
| g. 注射用水 | 适量加至 1.0 毫升。 |
- 制备方法同实施例 1。

实施例 8

组合物配方

- | | |
|-----------------------|--------------|
| a. 重组干扰素 α -2b | 100 万 IU; |
| b. 枸橼酸 | 0.2 毫克; |
| c. 磷酸氢二钠 | 2.5 毫克; |
| d. 氯化钠 | 4.0 毫克; |
| e. 羟乙基淀粉 40 | 1.0 毫升; |
| f. 苯扎溴胺 | 0.36%; |
| g. 注射用水 | 适量加至 1.0 毫升。 |

制备方法同实施例 1。

实施例 9

- | | |
|-----------------------|--------------|
| a. 重组干扰素 α -2b | 300 万 IU; |
| b. 磷酸二氢钠 | 0.36 毫克; |
| c. 磷酸氢二钠 | 2.74 毫克; |
| d. 氯化钠 | 4.0 毫克; |
| e. 右旋糖酐 | 20 毫克; |
| f. 聚氧乙烯失水山梨醇单油酸酯 | 0.1 毫升; |
| g. 注射用水 | 适量加至 1.0 毫升; |

实施例 10

- a. 重组干扰素 α -2b 300 万 IU;
- b. 枸橼酸 0.2 毫克;
- c. 磷酸氢二钠 2.5 毫克;
- d. 氯化钠 4.0 毫克;
- e. 右旋糖酐 20 毫克;
- f. 聚氧乙烯失水山梨醇单油酸酯 0.1 毫升;
- g. 注射用水 适量加至 1.0 毫升;

实施例 9 和实施例 10 不同缓冲体系中干扰素生物学活性的比较数据
(单位: 10^6 IU):

时间 (周)	0	1	2
实施例 9	3.2	1.4	无法测出
实施例 10	3.2	3.2	3.2

按实施例 2 方法配制的干扰素水针剂稳定性的观察数据:

1. 振摇对其的影响: 将待测样品置于 33°C , 250rpm 摇床中振摇, 抽样检查, 结果如下:
 - a. 外观: 样品振摇 7 天, 外观均为无色透明液体, 未见蛋白质聚集。
 - b. 无菌检查: 样品振摇 7 天, 无菌合格。

c. 生物学活性的测定（单位： 10^6 IU）：实验条件下无明显变化。

振摇时间（天）	0	1	7
样品生物学活性	3.41	3.41	3.41

d. pH：样品振摇 7 天，pH 值均在 7.14-7.21 内。

2. 光照对其的影响：将样品在 25℃ 条件，置于 4000 勒克斯强光下照射，抽样检查，结果如下：

a. 外观：样品光照 10 天，外观均为无色透明液体，未见蛋白质聚集。

b. 无菌检查：样品光照 10 天，无菌合格。

c. 生物学活性的测定（单位： 10^6 IU）：实验条件下无明显变化。

光照时间（天）	0	10
样品生物学活性	3.41	3.32

d. pH：样品振摇 7 天，pH 值均在 7.14-7.21 内。

3. 冰冻复融对其的影响：将样品置于冰箱-15℃冷冻室中冻结，然后在室温下融化，反复多次，抽样检查，结果如下：

a. 外观：反复冻融 12 次，外观均为无色透明液体，未见蛋白质聚集。

b. 无菌检查：反复冻融 12 次，无菌合格。

c. 生物学活性的测定(单位: 10^6 IU): 实验条件下无明显变化。

冻融次数(次)	0	3	6	9	12
生物学活性	3.41	3.32	3.46	3.41	3.56

d. pH: 样品振摇 7 天, pH 值均在 7.14-7.21 内。

实施例 1-8 的稳定性考察对比(在不同温度下存放, 定期抽样检查):

1. 实施例 1- 8 (300 万 IU/毫升) $8\pm 2^\circ\text{C}$ 下的稳定性考察状况:

a. 外观: 实施例 1-8 注射液 $8\pm 2^\circ\text{C}$ 下存放 26 个月, 外观均为无色透明液体, 未见蛋白质聚集。

b. 无菌检查: 实施例 1-8 注射液 $8\pm 2^\circ\text{C}$ 下存放 26 个月, 无菌合格。

c. 生物学活性的测定(单位: 10^6 IU):

考察时 间	实施 例 1	实施 例 2	实施 例 3	实施 例 4	实施 例 5	实施 例 6	实施 例 7	实施 例 8
0	4.1	3.4	3.9	3.6	4.2	3.2	3.2	3.2
1 周	3.9	3.5	4.2	3.6	4.0	3.2	1.0	3.0
2 周	3.8	3.5	4.0	3.0	3.9	3.0	0.4	2.6
3 周	4.0	3.5	3.7	3.2	4.1	3.0	0.33	2.6
1 个月	3.9	3.7	3.8	2.6	3.0	2.4	-	-
2 个月	3.2	3.4	3.1	-	-	-	-	-

4 个月	3.2	3.5	-	-	-	-	-	-
8 个月	3.2	3.4	-	-	-	-	-	-
14 个月	3.0	3.6	-	-	-	-	-	-
20 个月	3.1	3.4	-	-	-	-	-	-
22 个月	3.0	3.3	-	-	-	-	-	-
24 个月	3.0	3.3	-	-	-	-	-	-
26 个月	-	3.4	-	-	-	-	-	-

2. 实施例 1 -6 (300 万 IU/毫升) 25℃下的干扰素效价稳定性考察

a. 外观：实施例 1-6 注射液 25℃下存放 8 周，外观均为无色透明液体，未见蛋白质聚集。

b. 无菌检查：实施例 1-6 注射液 25℃下存放 8 周，无菌合格。

c. 生物学活性的测定（单位： 10^6 IU）：

考察日期	实施例 1	实施例 2	实施例 3	实施例 4	实施例 5	实施例 6
（原始效价）	4.1	3.4	3.9	3.6	4.2	3.2
第一周	4.0	3.3	3.8	3.7	4.0	4.0
第二周	3.4	3.4	3.9	2.8	3.7	2.7
第三周	3.5	3.6	3.4	2.6	3.8	2.7
第四周	3.3	3.4	3.3	1.9	2.7	1.7
第八周	2.8	3.2	2.9	-	-	-

3. 实施例 1 -6 (300 万 IU/毫升) 37℃下的干扰素效价稳定性考察

a. 外观：实施例 1-6 注射液 37℃下存放 8 周，外观均为无色透明液体，未见蛋白质聚集。

b. 无菌检查：实施例 1-6 注射液 37℃下存放 8 周，无菌合格。

c. 生物学活性的测定（单位： 10^6 IU）：

考察日期	实施例 1	实施例 2	实施例 3	实施例 4	实施例 5	实施例 6
(原始效价)	4.1	3.4	3.9	3.6	4.2	3.2
第一周	3.9	-	3.5	2.4	3.6	3.0
第二周	3.3	3.3	3.5	-	-	-
第三周	2.7	3.1	3.0	-	-	-
第四周	1.8	3.1	2.8	-	-	-
第八周	1.2	3.0	2.2	-	-	-