

全国高等院校规划教材

供药理学类、制药工程、生物技术及生命科学等专业使用

生物药物制剂学

主 编 裴 瑾



科学出版社

全国高等院校规划教材

供药学类、制药工程、生物技术及生命科学等专业使用

生物药物制剂学

主 编 裴 瑾

副主编 段明华 高诗珠 韩 冰 张晓红

编 委 (按姓氏笔画排序)

王 曾 (吉林大学)

田 琳 (吉林大学)

刘 琨 (吉林大学)

孙雨馨 (吉林大学)

杨 越 (吉林大学)

张 正 (吉林大学)

张晓红 (吉林大学)

陈景霖 (吉林大学)

郝 强 (吉林大学)

段明华 (长春中医药大学)

高诗珠 (吉林大学)

韩 冰 (吉林大学)

科 学 出 版 社

北 京

内 容 简 介

生物药物制剂学是研究生物药物的配制理论、生产技术、质量控制及合理利用等内容的综合性应用技术学科。本教材共分十章,分别介绍了生物药物概述、生物药物制剂概述、生物药物制剂制备流程、注射给药系统、黏膜给药系统、经皮给药系统、生物药物递送载体、新型靶向药物载体给药系统、车间布局和生物药物制剂法规。

本教材注重学术性和应用性并举的原则,适合生物药学、药学、生物制药、制药工程、生物技术、生命科学等专业的本科生和研究生教学使用或科研参考用书。由于编写时间及编者水平有限,教材中难免出现错误和不当之处,欢迎广大师生提出宝贵意见。

图书在版编目(CIP)数据

生物药物制剂学 / 裴瑾主编. —北京:科学出版社,2015. 11

全国高等院校规划教材

ISBN 978-7-03-046308-1

I. ①生… II. ①裴… III. ①生物制品-药物-制剂学-高等学校-教材
IV. ①TQ464

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2015)第 267744 号

责任编辑:王 超 胡治国 / 责任校对:于佳悦

责任印制:徐晓晨 / 封面设计:陈 敬

科学出版社 出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

北京中石油彩色印刷有限责任公司 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2015 年 11 月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2016 年 1 月第二次印刷 印张:10 1/4

字数:262 400

定价:45.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

目 录

第一章 绪论	(1)
第一节 生物药物概述	(1)
第二节 生物药物制剂概述	(5)
第二章 生物药物制剂的分类和特点	(9)
第一节 蛋白质类和多肽类药物的分类和特点	(9)
第二节 核酸和多糖类药物的分类和特点	(17)
第三章 生物药物制剂制备流程、原液质量标准及稳定性	(19)
第一部分 生物药物制剂原液制备工艺流程	(19)
第一节 菌种的选育	(19)
第二节 种子的制备	(23)
第三节 发酵	(24)
第四节 分离纯化	(26)
第五节 生物药物制剂的分装	(31)
第二部分 生物药物原液质量控制与检测	(33)
第三部分 生物药物制剂稳定性	(35)
第一节 生物药物的不稳定性因素及解决方法	(35)
第二节 生物药物制剂的稳定性试验方法和要求	(38)
第四部分 灭菌、无菌技术与空气净化技术	(41)
第一节 灭菌和无菌操作概述	(41)
第二节 主要灭菌方法	(42)
第五部分 生物药物制剂辅料	(45)
第四章 注射给药系统	(46)
第一节 注射剂简介	(46)
第二节 生物药物注射剂的制备流程	(47)
第三节 预防用生物制品	(54)
第四节 治疗用生物制品	(57)
第五章 黏膜给药系统	(61)
第一节 喷雾剂、气雾剂	(61)
第二节 片剂	(65)
第三节 滴眼剂	(69)
第四节 栓剂	(72)
第五节 颗粒剂	(76)
第六节 胶囊剂	(79)
第六章 经皮给药系统	(83)
第一节 概述	(83)

第二节 凝胶剂	(85)
第三节 软膏剂	(87)
第四节 贴剂	(89)
第五节 膜剂	(92)
第六节 被动扩散经皮给药	(93)
第七章 生物药物递送载体	(96)
第一节 纳米粒	(96)
第二节 树状大分子	(103)
第三节 微球与微囊	(105)
第四节 微乳药物传递系统	(108)
第五节 脂质体	(112)
第六节 环糊精包合物	(123)
第八章 新型靶向药物载体给药系统	(127)
第一节 概述	(127)
第二节 靶向给药系统的分类和靶向性评价	(127)
第三节 改善生物药物靶向性质的方法	(129)
第四节 常用的靶向修饰剂	(131)
第五节 常用的靶向修饰剂在生物药物中的应用	(139)
第九章 车间布局	(141)
第一节 概述	(141)
第二节 车间厂址选择及车间布置设计	(142)
第三节 洁净车间设计	(144)
第四节 药品生产安全及卫生	(145)
第十章 生物药物制剂法规	(149)
第一节 生物制品稳定性研究技术指导原则	(149)
第二节 生物类似药研发与评价技术指导原则	(152)
主要参考文献	(159)

第一章 绪 论

第一节 生物药物概述

一、生物药物的概念

生物药物是利用微生物学、生物学、医学、生物化学等研究成果,从生物体、生物组织、细胞、体液等有机成分中提取,综合应用医学、微生物学、生物化学、分子生物学、免疫学、工程学以及药学等科学的原理和方法加工制造而成的一大类用于预防、诊断和治疗药物的总称。

广义来说,生物药物包括以动物、植物、微生物、海洋生物为原料制取的各种天然生物活性物质及其人工合成或部分合成的天然物质类似物;同时也包括应用生物工程技术手段(基因工程、细胞工程、酶工程、发酵工程和蛋白质工程等)制造生产的新生物技术药物。

生物技术药物与天然生化药物、微生物药物、海洋药物和生物制品一起归类为生物药物。

二、生物药物发展历史

依照生物技术制药工业发展的技术特征,生物药物的历史可以分为三个阶段:

1. 传统生物药物发展阶段 从远古到 20 世纪中叶是传统生物药物发展阶段,传统生物药物是来自于生物体的某些天然活性物质加工制成的制剂。由于早期的生物药物多数来自于动物脏器,有效成分不明确,因此,曾被称之为脏器制剂。

在我国,最早应用生物材料作为治疗药物的先行者是神农,他开创了应用天然产品治疗疾病的先河,如应用鸡内金消食健胃及治疗遗尿;应用羊靥(包括甲状腺的头部肌肉)治疗甲状腺肿等。孙思邈(公元 581~公元 682 年)首先应用含维生素 A 较丰富的羊肝治疗“雀目”。秋石是从男性尿中沉淀出的物质,我国的提取方法出自于 11 世纪沈括(公元 1031~公元 1095)所著的《沈存中良方》,这也是最早从尿中分离类固醇激素的方法。

18 世纪,显微镜的出现帮助人类以分子的角度观察生命体,借助显微镜人们发现人体是由细胞和蛋白质组成,同时发现人体对致病微生物的侵袭能够进行有效地抵抗,由此人们展开了以生物学为基础的生物技术制药研究。1706 年,英国医生琴纳发明了预防天花的牛痘苗,从此应用生物制品预防传染病的方法得到了肯定。

随着科学技术的发展,自 20 世纪 20 年代之后,人类对疾病的认识更加深入,对动物脏器的研究更加透彻,于是疫苗种类日益增加;各种蛋白质、酶的纯化技术更加成熟;高纯度的胰岛素、甲状腺激素、必需氨基酸相继问世;制造工艺也发生着日新月异的变化。

2. 近代生物药物发展阶段 1928 年,细菌学教授弗莱明在英国伦敦大学圣玛莉医学院(现属伦敦帝国学院)实验室中发现青霉菌具有杀菌作用,从此揭开了人类从微生物体内寻

找抗生素的崭新时代。20 世纪 40 年代,由于第二次世界大战爆发,世界各地临床急需疗效好而毒副作用小的抗细菌感染药物。1941 年,美国和英国合作完成了青霉素的分离与纯化,经临床证明其具有卓越的疗效和低毒性。经大量研究,终于在 1943 年把原本需要花费大量劳动力并且占用大量空间的表面培养法,改进为生产率高、产品质量好、通入无菌空气进行搅拌发酵的沉没培养法。产品的产量和质量都得到大幅度提高,成本显著下降,生产效率明显提高。沉没培养法为发酵工业带来了革命性的变化,并由此产生了以微生物发酵技术主导的近代生物制药技术。

在此之后,红霉素、链霉素、金霉素相继问世,抗生素工业随之兴起,自此工业微生物的生产进入了一个崭新的阶段。其他发酵产品迅速吸收了抗生素生产的经验,最突出的成果首先是 20 世纪 50 年代的氨基酸发酵工业的发展,随后 60 年代的酶制剂工业异军突起,一些原来采用表面培养法生产的产品都改用沉没培养法进行生产。近代生物技术产业的主要产品有:医药业的甾体激素类药物、氨基酸类药物、维生素类药物、抗生素类药物;酵母、轻工食品业的工业酶制剂、啤酒、食用氨基酸等;农林业的农用抗生素等农药;化工的丁醇、乙醇、沼气、丙酮等;环境保护业的生物治理污染等。

第二次世界大战期间,疫苗产业发展经历了从低产期到多产期的过渡时期。此时期的一个重大突破是 1931 年著名生物学家古得派斯德证明病毒可在鸡胚胎里生长,通过这种方法泰勒制造出了抗黄热病的鸡组织疫苗 17D。于是,人们寻找到了大量培养病毒的方法。

为战争服务是此期间许多疫苗研究的主要目的。美国华特瑞陆军研究院的希尔曼等研究人员通过利用鸡胚的卵黄大量培育出了斑疹伤寒疫苗。这项成果投入使用后,生产出的斑疹伤寒疫苗挽救了无数伤病员的生命。此外,研究员们通过持续流动离心法对流感病毒疫苗进行纯化,由此开创了纯化病毒疫苗的先河。

在流行性感期间,希尔曼还发现了腺病毒。他在同事的协助下从一个死亡的新兵身上获得了一段新鲜的气管样本,然后将气管的内皮组织分离后进行体外培养,获得了气管纤毛上皮细胞,并通过对某些地区患者的咽拭子培养,从中分离出了三株新的病毒,日后被确认为腺病毒。腺病毒疫苗在 1956 年一个大型临床试验中被证明有效性可达 98%。1958 年灭活的腺病毒疫苗取得了上市许可证,用于小儿接种。恩德斯于 1946 年发现脊髓灰质炎病毒可在胚胎组织细胞中繁殖,从此开启了在细胞中培养病毒的序幕。

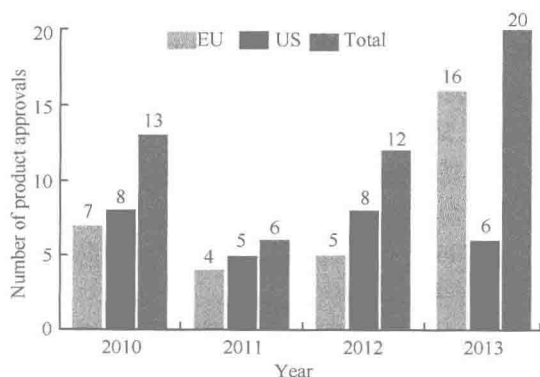


图 1-1 美国和欧洲在 2010~2013 年期间获得批准的生物药物数量柱形图

3. 现代生物药物发展 应用更新颖的生物研究技术,现代生物药物已经进入空前快速的发展状态,根据《生物药物产业报告 2014》的统计显示,单克隆抗体在最近 4 年中继续扩展市场,通过优化现有的生物药物制剂形式而制成的生物药物也已经拥有一席之地,但是生物仿制药物的增长率却在近几年不断下降。

在过去的 4 年中,美国和欧洲对生物制药审批的批准率与之前相比基本相同,见图 1-1。近期的调查显示已经有 54 种生物药物制剂得到审批通过。这会使美国和

欧洲两个市场获得许可的生物药物产品总数增加至 246 个。246 产品中只有 166 个拥有独

特的活性成分,但是在美国和欧洲已经有 34 个产品被撤回,所以在美国和欧洲允许在市场流通的生物药物仅仅 212 种,在过去 4 年中每年获得批准的数目最低 6 个(2011 年),最高 20 个(2013 年)。

总而言之,与少量的几种新型治疗方式获得审批通过相比,过去的这段时间里单克隆抗体的审批合格率逐渐升高;然而在 2012 年,欧洲第一次通过了一种基因治疗方式并且美国第一次批准一种从植物中提取的药物。令人感到惊讶的是,在过去几年中生物仿制药的批准率已经被限制了,只有少数的药物获得了批准。《生物药物产业报告 2014》并没有加入组织工程产品,因为 Food and Drug Administration(FDA)将其划分为纯粹的医疗设备。

在过去的 4 年中,54 种生物制品获得了批准,其中 17 个是单克隆抗体,9 个是激素,8 个血液相关蛋白质,6 种酶,4 种疫苗,4 种融合蛋白和 4 种粒细胞集落刺激因子(G-CSFs; filgrastims),1 种干扰素和 1 种基因治疗产品。有迹象显示,在被批准的药物中的确有迹可循,针对肿瘤的药物就有 9 种,针对其他的疾病的药物如:各种炎症相关的疾病和血友病分别有 6 种药物,代谢性疾病和糖尿病分别有 5 种药物,抗感染疾病的疫苗和嗜中性白细胞减少症分别有 4 种药物。获得批准的新产品中 32 种药物对于市场而言的确是新型药物(59%),其余的药物主要是生物仿制药。

32 种新型的产品包含了 30 种完全新型的有活性的生物制药成分,另外两种活性成分 Eylea 和 Zaltrap(均由 Regeneron, Tarrytown, NY, USA 开发)拥有与 Tresiba(Novo Nordisk, Bagsvaerd, Denmark)和 Ryzodec(insulin degludec)相同的活性生物成分。

美国 and 欧洲审批通过了几乎相同数目的产品(美国 39 个,欧洲 41 个),在同一时间内,美国批准的 147 个药物产品包含了新型生物分子实体。这些数字说明了大约四分之一在美国通过的全新药物是生物药物,这和之前调查所报道的(21%~24%)增长率基本相同。

与前期相比,在目前的调查中批准的产品揭示了一些尽管是预测但很有趣的趋势。自从 1982 年首次批准重组人胰岛素(优泌林,礼来公司,印第安纳波利斯)作为第一个生物药物进入市场以来,只有其他八种产品在这十年中投产。随着行业的成熟,20 世纪 90 年代,获批的生物药物开始大幅增长,1995 年以来每五年批准率始终保持不变,见图 1-2。

2010~2014 年目前是 54 个产品得到批准,至 2014 年年底可能会接近 60 个。单抗批准整体优势自 20 世纪 90 年代末以来一直持续到 21 世纪第二个十年,人类越来越流行使用人源化单克隆抗体而非从前的小鼠嵌合单抗。因此,在 20 世纪 80 年代末之前,单克隆抗体仅占有所有被批准的生物制品的 10%,见图 1-3。

单克隆抗体在 1995~1999 成为生物药物的一个亮点,随着时间的推移,单克隆抗体产品的批准比例增长非常稳定,从 2010 年至 2014 年,单克隆抗体药物几乎占有所有批准的生物

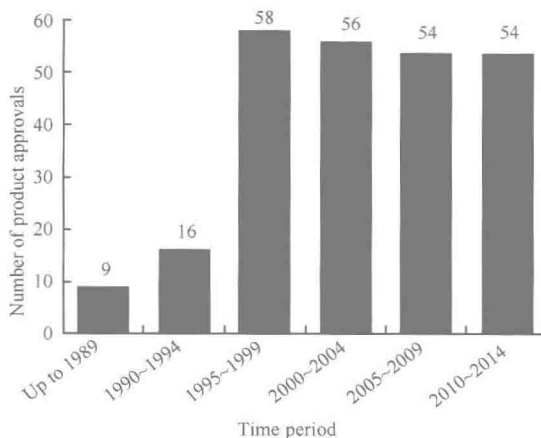


图 1-2 1989 年至今不同阶段获得批准的生物药物数量柱形图

药品的 27%。

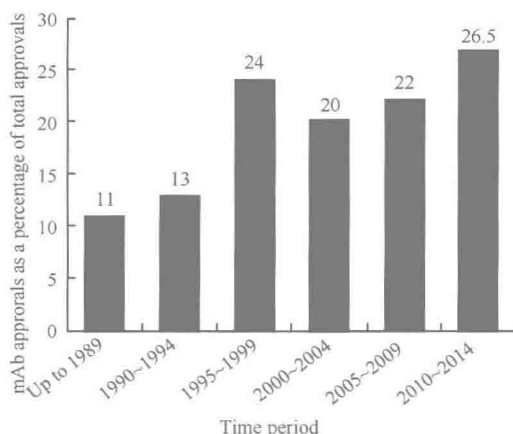


图 1-3 1989 年至今单克隆抗体 (mAb) 的批准数量占总的生物药物批准数量的百分比柱形图

相比之下,近年来传统生物药物产品批准数量有所下降,见图 1-4。例如,自 2010 年,重组溶栓药物、抗凝溶栓剂、白细胞介素或促红细胞生成素没有得到批准,可能反映市场对这些产品的需求可能已经达到饱和。

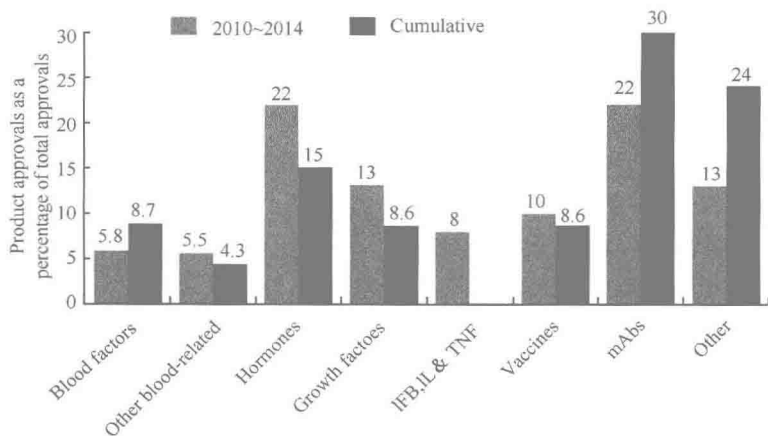


图 1-4 不同种类的生物产品在累计时间期间 cumulative (1982~2014) 以及最近 4 年内 (2010~2014) 批准药物数量占总生物药物批准数量的百分比柱形图

同时,在经历 2006~2008 年欧盟的生物药物审批数量急速增长后,现在的审批速度大幅放缓。与此相反,通过优化现有的生物制剂形式来优化生物药物的给药方式从而得到生物药物的批准,现在已经可以被广泛的接受。例如葛兰素史克的 eperzan (GLP-1 融合) 和长效持续作用聚乙二醇 (PEG 化的蛋白质衍生物) 以及 Biogen Idec 公司 (剑桥, MA, USA) 研制的 plegrixy [聚乙二醇干扰素 (IFN)- β B1] 和 TEVA [佩塔提科瓦 lonquex (以色列)] 研制的聚乙二醇修饰的 G-CSF 都已经得到了相关的批准。在这种情况下,厂商推出这样的产品更有利于在拥挤的市场中与竞争对手抗衡。

第二节 生物药物制剂概述

一、生物药物制剂概念

生物药物制剂学是综合应用医学、微生物学、生物化学、分子生物学、免疫学、工程学以及药学等科学的原理和方法将从生物体、生物组织、细胞、体液等提取制成的生物药物研究其制剂的处方设计、基本理论、制备工艺、质量控制和合理使用等内容的综合性、应用性学科。

二、生物药物制剂现状及发展史

随着基因重组技术的发展,生物药物已经逐渐被患者接受,并在临床中扮演着不可替代的重要角色:曾几何时,人类对流感病毒所带来的病痛和灾难束手无策,而流感病毒疫苗的出现彻底地改变了人类所遭受的困境,在此之后随着疫苗技术的不断发展与推广更多的低价、有效、易于注射的可以针对流行性疾病的疫苗产品得以问世;第二次世界大战期间,无数人类同胞罹难于战火硝烟之下,但是引发死亡的最主要因素是受伤之后的感染,直至高效合成抗生素技术出现才挽救了千万条性命;糖尿病的梦魇随家族的延续如影随形,传统的治疗方法却又昂贵至极,直到人工合成胰岛素的成功,才给千百万患者带来福音。

另一方面,人类在与疾病的斗争过程中虽然逐渐了解了疾病的本质,挽救了无数的生命,但是现实生活中人类仍旧无法彻底打败病魔。尽管疫苗在不断发展,但是在发展中国家中,传染性疾病所引起的致残率和致死率仍旧很高,每年因感染死亡的人数超过九百五十万人。这是由很多的限制性因素所共同决定的:①疫苗的安全性;②复杂的生产过程;③昂贵的发酵系统、净化系统、冷冻保存系统;④冷却运输和无菌转移等。接种疫苗是有效的预防空气传染性疾病的方法之一,但在发展中国家中,由于成本较高使其使用范围受到限制。此外,疫苗运输转移需要健康的从业者进行操作并且注射药物可能会在贮藏或配制期间受到污染。

目前,治疗性蛋白质/疫苗的商业生产主要依赖于细菌、酵母或哺乳动物细胞中的表达系统。生产也需要昂贵的纯化步骤,冷冻储存和附加运输费用都使得药物的成本增高,增加了患者的经济负担。

同样,治疗性蛋白质的传统给药方式就是将药物粉末进行溶解后使用针头和注射器注射给药。在给药的过程中患者的顺应性是最需要考虑的因素之一,特别是对糖尿病患者而言,在他们的生活期间可能需要超过 6000 次的胰岛素注射,这将会是相当痛苦的。虽然胰岛素注射给药已经引进了新技术,如胰岛素注射口、胰岛素注射泵、射流喷射器以及植入泵来替代每天的注射,但这些方法仍然存在诸多缺点,包括皮肤刺激性,容易形成红斑脓肿,瘢痕和局部感染等。

根据 WHO 的统计,每年全球共进行 12 万亿次注射,其中 6 千亿次是疫苗接种,其余 11.4 万亿次是用于其他的治疗方式。不安全的注射方式已经引起了 1500 万次 HBV 感染、100 万次 HCV 感染,34 万次 HIV 感染,300 万次细菌感染及 8500 万次局部脓肿的发生。注射式接种疫苗的另一个巨大的劣势是可能没有进行局部黏膜免疫就可以引起强烈的周系统免疫反应。

所以长久以来如何研制出一种更为方便、成本低廉、安全有效的给药系统就成为了无数药

剂学工作者的共同理想。生物药物制剂学在不断发展的过程中也在努力革新研制出更适合于生物药物的给药方式和剂型。以眼部给药方式为例,虽然有许多新的生物药物都可以通过注射的方式进行给药,但是现代的给药途径可以通过特定的无痛方式将小分子药物以非靶向性的方式在眼部进行吸收从而达到药效。因此,有必要开发一种适用于宏观分子靶向治疗的药物输送技术,比如胰岛素滴眼剂的诞生,即证明了生物药物新剂型的可行性。

生物药物可以以不同的剂型出现在临床中,其目的为:①增强生物药物疗效;挖掘产品的内在潜力给患者提供更多的选择,延长药物的半衰期、提高药物的生物利用度和血药浓度等;②方便患者使用;对患者而言,新型剂型的出现,可以增加药物的疗效、降低不良反应、增加患者的顺应性和服用的舒适程度。

目前,在临床中使用的生物药物剂型主要包括:注射剂、凝胶剂、滴眼剂、口服溶液剂、栓剂、泡腾片、胶囊剂、软膏剂、乳膏剂、喷雾剂、外用溶液剂、吸附制剂、粉针剂、片剂、散剂、划痕剂、颗粒剂、滴剂等。

三、生物药物剂型与制剂

生物药物按其功能用途可以分为三类:一是治疗药物,治疗疾病是生物药物的主要功能。生物药物以其独特的生理调节作用,对许多常见病、多发病、疑难病均有很好的治疗作用,且毒副作用低。如对糖尿病、免疫缺陷病、心脑血管病、内分泌障碍及肿瘤等的治疗效果是其他药物无法替代的。二是预防药物,对于许多传染性疾病来说,预防比治疗更重要。预防是控制感染性疾病传播的有效手段,常见的预防药物有各种疫苗、类毒素等。在疾病的预防方面只有生物药物可担此重任。三是诊断药物,疾病的临床诊断也是生物药物重要用途之一,用于诊断的生物药物具有速度快、灵敏度高、特异性强的特点。

1. 治疗药物 目前应用较为广泛的治疗药物剂型有:眼用制剂、散剂、栓剂、片剂、凝胶剂、胶囊剂、喷雾剂、颗粒剂、长效缓控释制剂等。

注射剂:目前应用最为广泛的生物药物剂型就是注射剂。例如,目前已经上市的重组人生长激素注射液,主要适用于生长激素分泌不足所致的生长障碍的儿童;性腺发育不全(特纳综合征)所致女孩的生长障碍;慢性肾脏疾病引起的青春期前的儿童生长迟缓以及已确诊下丘脑-垂体疾病(除催乳素外其他一种轴系激素缺乏)的成人患者。

滴眼剂:国外研究人员曾配制出了胰岛素滴眼液,生物利用度很低并且降糖时间仅仅持续了5h。但是,此后,国外多位研究人员陆续进行了研究,发现促渗剂的使用可以提高胰岛素的眼部生物利用度。曾有人考察了促渗剂 Brij-78 对于胰岛素在眼部吸收的作用,发现随着促渗剂量的增加(20~50 μ g),胰岛素的降血糖作用逐渐增强且持续时间逐渐延长;同时还有人制备了不含促渗剂的乙酸处理过的胰岛素盐滴眼液,发现其胰岛素用量减少了一半,但是降血糖效果和持续时间都大大提高。

栓剂:经阴道给药的重组人干扰素 $\alpha 2a$ 栓剂产品,可通过阴道黏膜上皮吸收,直接在局部发挥抗病毒作用。进入体内的干扰素一部分经尿液原型排出体外,另一部分经蛋白酶水解不发挥任何作用。重组人干扰素 $\alpha 2a$ 具有广谱抗病毒作用,其抗病毒机制主要通过干扰素同靶细胞表面干扰素受体结合后,诱导靶细胞内蛋白激酶 PKR(人蛋白激酶 R)、MX 蛋白(抗黏液病毒蛋白)、2'-5'-寡聚苷酸合成酶等多种抗病毒蛋白的合成,同时抑制病毒核酸的复制和转录进而阻止病毒蛋白质的合成。此药品主要用于治疗阴道病毒性感染引起的慢

性宫颈炎、宫颈糜烂、阴道炎同时可以预防宫颈癌。

片剂:胰岛素片剂诺和龙是一种促胰岛素分泌剂,主要适用于2型糖尿病患者。2型糖尿病患者胰岛素分泌功能受损,导致餐后长时间高血糖,使这些患者心血管并发症的危险性增加。诺和龙是一种以 β 细胞为介导的快速作用的餐时血糖调节剂,具有如下特点:首先诺和龙作用时间短,当在餐前服用时,仅在进餐时刺激胰岛素分泌,避免了在空腹期间对 β 细胞产生不必要的刺激;第二,诺和龙仅在进餐时刺激胰岛素的分泌,这与在健康人群中生理性胰岛素分泌模式非常符合,采用“进餐服药,不进餐不服药”的给药方式;第三,进餐前服用诺和龙能灵活适应患者的进餐习惯,当错过一次进餐或进餐延迟时,可避免低血糖的发生,并且如果患者加餐,也可控制血糖;第四,服用诺和龙可有效控制餐后及空腹血糖,可以持续改善患者的血糖水平。

凝胶剂:重组人表皮生长因子凝胶剂。研究人员考察了不同浓度的重组人表皮生长因子(rhEGF)对损伤角膜的修补作用,发现其治疗作用呈剂量依赖性,最佳治疗浓度为 $5\mu\text{g/ml}$ 。另有国外研究人员以卡波姆凝胶为载体制备了表皮生长因子(EGF)半固体药物传递系统,检测得到表皮生长因子在眼内滞留时间可以达8h,对角膜切除术导致的角膜损伤治疗效果要显著优于安慰剂。

胶囊剂:胰岛素肠溶胶囊剂现已有专利申请,发明中的具体制备步骤如下:①原料采用胰岛素粉,每个胶囊10个单位;辅料药采用药用淀粉,每个胶囊0.09g 淀粉颗粒,0.01g 淀粉,胶囊采用普通肠溶性胶囊,将药用淀粉置混合机中,用淀粉浆制成软材,采用20目尼龙筛制粒,干燥后用18目筛整粒,转入混合车间放凉,筛出细粉,剩余的淀粉颗粒备用;②将筛出的细粉与胰岛素细粉充分混匀按递增法混合均匀再与步骤①中的制造的淀粉颗粒充分混匀;③转入胶囊灌装车间,用自动胶囊充填机灌装;④将灌装好的胶囊经打光处理后转入铝箔包装车间进行包装;⑤铝塑后入包装室包装完毕后入冷藏库冷藏。本发明运用口服胰岛素肠溶胶囊治疗糖尿病,经济费用低,疗效好,服用方便,使患者免受打针之苦。

喷雾剂:以胰岛素喷雾剂为例,2014年6月27日,MannKind公司生产的用于成人1型或2型糖尿病的吸入式人胰岛素产品Afrezza获FDA批准上市。作为快速起效的吸入型胰岛素,Afrezza因为突破了传统给药途径的瓶颈而获得了许多的赞誉:如果胰岛素市场真的可以从注射剂全面向吸入剂转变,对于消费者而言无疑是一大福音。作为一种吸入式胰岛素,患者可以在餐前或开始进餐后20min内使用Afrezza。然而,该药物无法替代长效胰岛素,这意味着I型糖尿病患者必须联用Afrezza以及长效胰岛素。另外,医生也并不推荐将Afrezza用于治疗糖尿病酮症酸中毒,也不推荐在吸烟或患有慢性肺病患者中使用。

颗粒剂:盐霉素是一种动物专用的抗生素,在动物医学的研究中得到了广泛的应用,尤其是在兽药的制造和应用的过程中更加受到青睐。这主要是由于盐霉素抗生素的抗菌效果强,能够产生良好的作用;且在动物的体内不会产生大量的药物残留,同时与其他的兽用抗生素相比,所需原料的价格低廉容易购得,并且其生产工艺较为简单,在市场经济的发展过程中体现出了较优越的发展前景。

长效缓控释制剂:现在已有多种长效缓控释制剂上市,例如注射用醋酸奥曲肽微球(善龙)。本品为白色或类白色粉末,装在5ml I型硼硅酸盐管状玻璃瓶内,丁基橡胶塞。每个包装还包括:2瓶(1支储备)溶剂,用于将药物溶解为2ml溶液以及1支5ml注射器和两个针头($0.9\times 40\text{mm}$);注射器CE0123。本药品适用于肢端肥大症患者的治疗;在皮下注射标准剂量的善龙后,病情可以得到充分控制。但是,本药品不适用于外科手术、放疗或治疗无

效的患者,或在放疗充分发挥疗效前,处于潜在反应阶段的患者。

注射用紫杉醇脂质体,本药品主要成分为紫杉醇,辅料为卵磷脂、胆固醇、苏氨酸、葡萄糖。本药品可作为卵巢癌的一线化疗药同时可用于卵巢转移性癌的治疗。本药品可用于曾用过含阿霉素标准化疗的乳腺癌患者的后续治疗或复发患者的治疗。作为一线化疗药,本药品也可与顺铂联合应用,顺铂联合应用于不能手术或放疗的非小细胞肺癌患者的一线化疗。

长效胰岛素注射液,本药品用于治疗中、轻度糖尿病患者,重症患者须与胰岛素合用,有利于减少每日胰岛素注射次数,控制夜间高血糖。

2. 预防药物 对于许多传染性疾病来说,预防比治疗更重要。预防是控制感染性疾病传播的有效手段,常见的预防药物有各种疫苗、类毒素等。在疾病的预防方面只有生物药物可担此重任。

现市售预防类药物剂型主要为注射剂。如狂犬病疫苗、重组乙型肝炎疫苗、吸附破伤风疫苗等。

重组乙型肝炎疫苗:是由重组酵母或重组 CHO 工程细胞表达的乙型肝炎表面抗原,经纯化、灭活后加入佐剂吸附制成。前者为重组酵母乙型肝炎疫苗,后者为重组 CHO 乙型肝炎疫苗。其性状为白色混悬液,静置一段时间后形成可摇散的沉淀。

吸附破伤风疫苗:是高纯度精制破伤风类毒素经氢氧化铝吸附制成,为乳白色均匀悬液,长时间放置后可见吸附剂下沉,溶液上层应澄明无色,经振摇能均匀分散。pH 为 6.0~7.0,吸附剂氢氧化铝含量不超过 3.0mg/ml,氯化钠含量应为 7.5~9.5g/L,防腐剂硫柳汞含量不超过 0.1g/L,游离甲醛含量不超过 0.2g/L。

3. 诊断药物 疾病的临床诊断也是生物药物重要用途之一,用于诊断的生物药物具有速度快、灵敏度高、特异性强的特点。

现诊断类的药物主要为试剂盒,如乙型肝炎病毒核心抗体诊断试剂盒(酶联免疫法)等。

试剂盒是用于盛放检测化学成分、药物残留、病毒种类等化学试剂的盒子。配有进行分析或测定所必需的全部试剂的成套用品。如医学上特定疾病诊断试剂盒、分子生物学使用的核酸提取回收试剂盒、微生物学使用的细菌鉴定试剂盒等。

高效离心柱型 DNA 产物纯化试剂盒:可从各种 DNA 溶液中纯化 DNA 片段,不含盐、蛋白质、RNA 等杂质,纯度与 CsCl 密度梯度离心相仿。500bp 以上片段,回收率可达 85% 以上,200~500bp 回收率 70% 以上,50~200bp 回收率 60%。可回收单链、双链 DNA 片段以及环状质粒 DNA。此方法原理:利用 DNA 溶液及 PCR 产物在高盐,低 pH 的条件下,硅基质膜吸附了溶液及 PCR 产物中的 DNA,独特硅基质膜特异高效的吸附 DNA,最大限度地去除了蛋白质、离子及其他杂质,洗脱下来的 DNA 纯度大大提高。纯化过的基因组 DNA 可以直接用作 PCR 模板、酶切、杂交等生物化学与分子生物学诊断实验。

第二章 生物药物制剂的分类和特点

第一节 蛋白质类和多肽类药物的分类和特点

一、细胞因子药物

(一) 细胞因子药物的临床应用

现代科学技术迅猛发展,促进了分子生物学、细胞生物学和医学生物技术的飞速发展。随着药物生物技术产品研究开发的深入,新的生物技术药品不断被批准上市,越来越多的细胞因子药物投入市场,极大地推动了人类医疗技术水平的发展。

1. 干扰素 干扰素常用剂型为注射剂,分为普通注射剂和长效注射剂。局部用药局部作用的剂型有栓剂、凝胶剂等。药理机制:不直接杀伤或抑制病毒,而主要是通过细胞表面受体作用使细胞产生抗病毒蛋白,从而抑制病毒的复制;同时还可增强自然杀伤细胞、巨噬细胞和T淋巴细胞的活力,从而起到免疫调节作用,增强机体抗病毒能力。

目前,临床使用的干扰素主要是 α -干扰素,包括:长生扶康、远策素、尤尼隆等。可用于治疗白血病、慢性乙肝、慢性丙肝、宫颈糜烂、多发性硬化症、骨髓增生综合征、肾癌、结肠直肠癌、膀胱癌、肺癌、类风湿性关节炎、呼吸道病毒感染性疾病等。

2. 白细胞介素 目前白细胞介素常用剂型为注射剂,以冻干粉针居多。药理机制:在传递信息,激活与调节免疫细胞,介导T、B细胞活化,增殖与分化及在炎症反应中起重要作用。

目前,临床使用的白细胞介素(白介素)主要有:IL-1、IL-2、IL-3、IL-6、IL-11、IL-12。包括:英特康欣、吉巨芬、欣吉尔等。抗肿瘤治疗中以IL-2临床治疗适应证最广,实际应用需求量最大,用于肿瘤与病毒性疾病治疗。

3. 集落刺激因子 集落刺激因子目前常用剂型为注射剂,以液体水针居多。药理机制:选择性刺激造血干细胞增殖、分化为某一谱系的细胞因子。

临床常用的集落刺激因子包括:赛格力、欣粒生、瑞血新等。适用于防治肿瘤患者放、化疗和意外照射所致白细胞减少,治疗慢性白细胞减少,外周血干细胞动员,血液病和肿瘤患者自体骨髓移植或外周血干细胞移植支持治疗等。

(二) 细胞因子药物的检测方法

细胞因子的检测方法较多,一般分为生物学、分子生物学、免疫学三大类。

生物学测定法的原理是根据细胞因子特定的生物学活性,应用相应的指示系统,如各种依赖性细胞株或靶细胞,同时与标准品对比测定,从而得知样品中细胞因子的活性水平,一般用活性单位(U/mg)表示。目前常用的细胞因子生物学测定法包括促进细胞增殖和增殖抑制法、细胞毒活性测定法、抗病毒活性测定法、集落形成法、趋化作用测定法及细胞因

子诱导产物测定法等。这些方法比较耗时耗力,所以它们主要用来评价细胞因子的功能,而不是进行常规细胞因子检测的手段。

目前在基因水平上常用的检测细胞因子表达的分子生物学方法有 RT-PCR、核酸酶保护分析(RPA)、Northern 印迹、原位杂交(ISH)及微孔板定量分析特异性细胞因子 mRNA 的方法。

免疫学检测法的基本原理是将细胞因子作为抗原,用针对该抗原的特异性抗体进行定量或者定性的检测。目前免疫学检测方法主要包括酶联免疫吸附实验(ELISA)、免疫组织化学技术、酶联免疫斑点(enzyme-linked immunospot, ELISPOT)、流式细胞四聚体染色和胞内因子染色技术等。本章节将主要介绍流式胞内因子染色技术。

(三) 细胞因子临床治疗应用展望

随着各个学科的发展和相互渗透,细胞因子的发现、合成及其相关生物学特性不断被阐明。DNA 重组工程使其在生产中提供大量高度纯化的治疗用细胞因子成为可能。越来越多的细胞因子得以商品化生产,如重组人干扰素、重组人白细胞介素、重组人粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子、重组人粒细胞-集落刺激因子、重组人促红细胞生成素等。它们的生物学特性和相应天然细胞因子的生物学特性相同,从而为细胞因子的研制及临床治疗应用奠定了基础。

应用基因工程和蛋白质工程技术,对已知细胞因子加工改造,以获得临床疗效更好的重组细胞因子;利用特异性点突变技术方法,更改细胞因子某些分子结构,可提高其生物学活性及稳定性,降低不良反应等。在人类重大疾病防治方面具有重要意义,且可以获得巨额的经济效益。

二、重组激素类药物

由于生物体内激素含量极少,来源复杂,种间具有特异性,易受病原体污染等因素的影响,利用基因工程的手段生产重组激素成为一种既安全又经济的策略。另外,利用基因工程手段不仅可以得到天然的激素蛋白,还可以通过定点突变的方法有目的的改造蛋白的结构,获得性能更为优越的或者是全新的激素药物。

(一) 重组激素类药物临床应用

激素是调节机体正常活动的重要物质,对动物繁殖、生长发育以及适应内外环境的变化都有重要作用。当某一激素分泌失去平衡时,就会引发疾病。激素类药物按化学本质可分为氨基酸衍生物类、多肽与蛋白质类、甾体类和脂肪酸衍生物类。它们可以通过天然提取、生物技术和化学合成技术获得。目前,国内外上市的肽与蛋白质激素药物已达几十种。

1. 治疗糖尿病、低血糖症 胰岛素适应证为 1 或 2 型糖尿病。不同种属的胰岛素抗原性有明显差异,人胰岛素的免疫原性要比牛或猪源胰岛素小得多。不同种属的胰岛素临床使用剂量相差较大。

根据起效作用快慢和维持作用时间,临床上使用的胰岛素制剂可分为:

(1) 速效型或短效型:重组人胰岛素注射液、重组门冬胰岛素注射液、重组赖脯胰岛素

注射液、重组谷赖胰岛素注射液等。

(2) 中效型:低精蛋白锌重组人胰岛素注射液。

(3) 长效型:精蛋白锌胰岛素、重组甘精胰岛素注射液、重组地特胰岛素注射液。

2. 治疗侏儒症、促生长 目前,人生长激素(hGH)主要用于因内源性GH缺乏引起的儿童侏儒症。临床上使用的制剂有重组人生长激素注射液、注射用重组人生长激素。hGH潜在应用范围很广,对hGH分泌不足的人群,适当补充hGH,还可延缓衰老。

3. 治疗骨质疏松症、高血钙症 降钙素主要用于治疗骨质疏松症、甲状旁腺机能亢进、婴儿维生素D过多症、成人高血钙症、畸形性骨炎等,并可用于诊断溶骨性病变、甲状腺髓细胞癌和肺癌。临床上使用的制剂有:鲑降钙素注射液、注射用鲑降钙素、重组鲑降钙素片;依降钙素注射液。依降钙素作为甲状旁腺及钙代谢调节药,在临床上主要用于治疗骨质疏松症引起的骨痛。人甲状旁腺激素主要用于治疗糖皮质激素引起的骨质疏松症,对因雌激素不足而引起的骨质疏松可起到预防和治疗作用,对皮质骨和松质骨都有保护作用。临床上使用的制剂有:复泰奥注射液。

4. 治疗自身免疫性疾病 胸腺肽主要用于治疗各种细胞免疫功能低下的疾病,以及肿瘤的辅助治疗。临床上常用的制剂有:胸腺肽注射液、注射用胸腺肽、注射用胸腺五肽、注射用胸腺肽 $\alpha 1$ 。促甲状腺激素主要用于分化良好型甲状腺癌的甲状腺切除治疗。临床上使用的制剂有:注射用重组人促甲状腺素 α 。

5. 治疗各种出血病症 生长抑素用于治疗急性食管静脉曲张出血,消化道溃疡出血,急性胰腺炎。临床上主要使用注射用生长抑素;奥曲肽主要用于肝硬化所致食管胃静脉曲张出血的紧急治疗,预防胰腺术后并发症,缓解与胃肠内分泌肿瘤有关的症状和体征以及控制肢端肥大症患者症状等。临床上主要使用醋酸奥曲肽注射液;注射用特利加压素,用于治疗食管静脉曲张出血;特利加压素注射液,用于胃肠道和泌尿生殖系统的出血,如食道静脉曲张、胃和十二指肠溃疡、功能性及其他原因引起的子宫出血、生产或流产等引起的出血的治疗以及手术后出血的治疗,特别是腹腔和盆腔区域的出血以及妇科手术的局部应用。

6. 治疗性功能不全引起的各种病症 人促卵泡激素 α (r-hFSH α)治疗无排卵性不孕、男性低促性腺激素性引起的低性腺激素症。可在助孕过程如体外受精、配子输卵管内转移术、合子输卵管内转移术,刺激多卵泡的发育,达到多排卵的目的。临床上使用的制剂有:注射用重组人促黄体激素 α 、注射用重组人绒促性素、重组人促卵泡激素注射液和粉针、重组人促卵泡激素 β 注射液。曲普瑞林临床上用于辅助生殖技术,例如体外受精术、激素依赖型前列腺癌、性早熟、子宫内膜异位症、子宫肌瘤。临床上使用的制剂有:注射用曲普瑞林、醋酸曲普瑞林注射液等。注射用醋酸丙胺瑞林用于治疗子宫内膜异位症。

7. 治疗癌症 戈那瑞林临床主要用于治疗前列腺癌。亮丙瑞林用于妇女子宫内膜异位症,子宫肌瘤等疾病的治疗,临床加大剂量后已应用于一些激素依赖性癌症,如前列腺癌、卵巢癌等疾病的治疗。亮丙瑞林微球缓释制剂临床主要用于治疗前列腺癌、乳腺癌。戈舍瑞林缓释植入剂临床用于前列腺癌、乳腺癌及子宫内膜异位症。

(二) 重组激素类药物检测方法

重组激素类药物检测的主要指标为:生物学活性、含量、相关蛋白、高分子蛋白等。

(三) 重组激素类药物物质控研究难点

随着仪器分析和现代生物技术的发展,生物学技术和新的生化分析技术,以及现代仪器分析技术在药物物质控中的应用越来越多。如何用仪器分析方法与动物体内外生物活性测定法相结合,有效地控制激素类药品的质量,是近年来国内外关注的热点。现结合作者实际工作中遇到的问题归纳为以下几个方面:

1. 非注射型制剂的分析方法研究 为解决患者长期注射的不便,开发研究非注射给药途径的激素制剂已成为热点,新型制剂的分析方法有待进一步研究和规范。如微球缓释制剂、缓释植入剂、控释剂释放度及粒度分布测定,吸入式制剂释放剂量均一性和粒度分布的测定,尤其是某些新型剂型分析所用的仪器装置国内尚不具备,应尽快与国际接轨。肽类片剂溶出度以及辅料的鉴别和定量分析方法,激素栓剂、滴眼液有关物质的分析方法还需进一步验证。

2. 糖蛋白激素的结构分析方法的研究 目前,国际上对糖蛋白结构分析热点主要集中在糖基化位点确定、糖链组成分析等方面,而糖蛋白激素(FSH、LH、TSH、HCG)的结构不同于一般的蛋白质,它的肽骨架上连有不同类型的寡糖。对它的定性确证除了一般蛋白质定性研究中的分子量测定、免疫印迹、圆二色光谱图测定、等电点测定、N端测序及肽图研究外,还需对寡糖的糖组成和糖型进行研究。建立和规范上述各激素的结构分析方法,对于研究糖蛋白激素的分离与纯化,提高产品质量将会有巨大的推动作用。

3. 肽与蛋白质激素类药物检定用标准物质的研究 随着我国医药事业的发展,我国自己开发研制的肽与蛋白类激素逐年增加,如胸腺五肽、丙氨瑞林等。还有一些国外已上市,而国内正处于试产或注册阶段的药物,如戈那瑞林、曲普瑞林、人高血糖素、促肾上腺皮质激素、促甲状旁腺素、促卵泡激素等。我国自己开发研制的肽与蛋白类激素多数无国际通用的理化对照品,需要研究并建立我国的原始基准品,并经详细的结构确认,纯度检查,以及多种方法确定含量。药品检定用标准物质如何满足计量科学的要求,如何提升计量科学在药品质控领域的应用,解决药品分析技术与检测方法中的计量问题,如测量标准、测量的可追溯性、测量的不确定性、测量方法的可比较性,已引起国内外业界的关注。

三、重组血液制品和治疗酶

(一) 重组血液制品

1. 血液制品生产技术与质控 血液制品是指各种人血浆蛋白制品,包括人血白蛋白、人胎盘血白蛋白、静脉注射用免疫球蛋白、肌注人免疫球蛋白、组织胺人免疫球蛋白、特异性免疫球蛋白、乙型肝炎/狂犬病/破伤风免疫球蛋白、人凝血因子Ⅷ、人凝血酶原复合物、人纤维蛋白原、抗人淋巴细胞免疫球蛋白等。血液制品的原料是血浆。根据血液制品的定义,不管是由血液提取纯化制成,还是由重组DNA技术表达,再提取纯化制成,均为蛋白。其生产技术主要包括蛋白质提取纯化技术、分析检定技术以及重组DNA技术等。

血液制品的质控要求除蛋白质生物制品的共性要求外,不同的血液制品还有其自身的质控指标。

(1) 白蛋白制品:多聚体含量、降压作用及外源性污染。