

- [10] Hoogstraate AJ, Verhaef J, Brussee J. Kinetics, ultrastructural aspects and molecular modeling of transdermal peptide flux enhancement by N-alkylazacycloheptanones. *Int J Pharm*, 1991;76(1):37
- [11] 刘志邦, 余谨发. 月桂氮革酮的作用及其应用. *药学实践杂志*, 1996;14(2):107
- [12] 管加瑜, 马珂. 氮酮对氯霉素透皮吸收作用的研究. *中国医院药学杂志*, 1991;11(9):415
- [13] 齐媛晶, 王建国. 布洛芬软膏渗透促进剂的选择及体外透皮吸收释放测定. *中国药学杂志*, 1992;27(6):346
- [14] Turunen TM. Enhanced delivery of 5-fluorouracil through shed snake skin by two new transdermal penetration enhancers. *Int J Pharm*, 1993;92(1-3):81
- [15] Pavel D. ϵ -Aminocaproic acid esters as transdermal penetration enhancing agents. *Pharm Res*, 1993;10(7):1015
- [16] 曾衍霖. 蛋白质及多肽类药物的药剂学研究进展. *中国新药杂志*, 1997;6(1):13~7
- [17] 丁友真. 载药脂质体的研究动态. *河北医药*, 1995;17(3):161
- [18] Toutou E, Junginer HE, Weiner ND, et al. Liposomes as carriers for topical and transdermal delivery. *J Pharm Sci*, 1994;83(9):1189
- [19] Toutou E, Levi-Schaffer F, Dayan N, et al. Modulation of caffeine skin delivery by carrier design: liposomes versus permeation enhancers. *Int J Pharm*, 1994;130(1):131
- [20] Fleisher D, Niemiec S.M, Oh C.K, et al. Topical delivery of growth-hormone releasing peptide using liposomal systems - an in vitro study using hairless mouse skin. *Life Sci*, 1995;57(13):1293
- [21] Gregor C, Andreas S, Gabriele B. Transdermal drug carriers basic properties optimization and transfer efficiency in the case of epicutaneously applied peptides. *J Controlled Release*, 1995;36(1):3
- [22] 毛磊, 吴畏, 庄林根. 影响肽类及蛋白类药物吸收的因素及促进药物吸收的方法. *中国药学杂志*, 1993;28(10):586
- [23] Meallgard B, Hoelgaard A, Bundgaard H. Pro-drugs as drug delivery systems XXIII, Improved dermal delivery of 5-fluorouracil through human skin via N-acyloxymethyl pro-drug derivatives. *Int J Pharm*, 1992;12(6):153
- [24] Eiji Mukai Keido Arase, Mitsuru Hashida Hitoshi Sezaki. Enhanced delivery of mitomycin prodrugs through the skin. *Int J Pharm*, 1985;25(1):95
- [25] Kahns AH, Bundgaard H. Prodrugs of peptides 14 bioreversible derivatization of the tyrosyl peptide phenol group to effect protection of tyrosyl peptides against α -chymotrypsin. *Int J Pharm*, 1991;76(1-2):99
- [26] Kahns AH, Bundgaard H. Prodrugs of peptides. B Stabilization of peptide amides against α -chymotrypsin by the prodrug approach. *Pharm Res*, 1991;8(12):1533
- [27] 高见囡, 高建青, 张丽菊. 药物经皮离子电渗的影响因素. *中国药学杂志*, 1996;31(1):6

人血丙种球蛋白稳定性观察

赵风华 徐贯芬 王期中 赵军 李荣贞

(山东省生物制品研究所 泰安市 271000)

摘要 人血丙种球蛋白用于被动免疫, 主要预防和治疗多种传染病及丙种球蛋白缺乏症。为确保临床使用和预防免疫中的安全性和有效性, 我们对留样观察效期(2年半)后 6mo 制品的外观、pH、蛋白质含量、纯度、IgG 各组分进行了检测, 并与有效期内同批制品进行了对照, 目的在于探讨制品的稳定性。

关键词 人血丙种球蛋白; IgG 稳定性; 裂解与聚合

人血丙种球蛋白(以下简称丙球)系由乙型肝炎疫苗免疫健康人的血浆中提取制成。含有多种特异性抗体, 主要是 IgG, 而丙球的稳定性与 IgG 抗体分子的裂解与聚合有密切关系, 早在 1960 在 Skvaril 首先报道, 丙种球

蛋白制剂在存放过程中有“自然裂解”现象。裂解的丙种球蛋白含量下降、非蛋白氮上升, 电泳区带增多(见电泳图谱), 在体内排泄速度快, 疗效降低, 影响预防和治疗效果。当丙球在一定条件下, 尤其是受热后, 易于聚合。

聚合的丙球,轻者外观无变化,重者出现乳浊;聚合的丙球,肌肉注射可引起局部疼痛,并且有抗补体作用,故不能静脉注射。



图1 电泳图谱

上-健康人血清
中-标准丙种球蛋白
下-水解后丙种球蛋白

一、材料和方法

(一)材料

人血丙种球蛋白(本所生产,成品规格为150mg/支(3ml)置于2~8℃保存);标准丙种球蛋白(购自上海生物制品研究所,批号930101);Sephadex-G200(瑞典Pharmacia产品);醋酸纤维素薄膜(四青生化材料厂出品,批号941213)。

(二)方法

1. 外观 按澄明度检查操作细则进行。
2. pH值 按《中国生物制品检定规程》进行^[1]。
3. 蛋白质含量 用钨酸除蛋白,以半微量凯氏定氮法测定,同时做质控对照品。
4. 纯度 采用醋酸纤维素薄膜电泳法;将膜条(2×8cm)粗糙面向下,浸入pH8.60的巴比妥缓冲液中,待完全浸透,取出用滤纸吸去多余的缓冲液,将膜条粗糙面向上架于电泳支架上的滤纸桥上,于膜上距负极端2cm处,直线滴加蛋白含量为5%的样品2~3μl,电流为0.6±mA/cm宽(总电流量为:每条膜

宽×膜条数),取新鲜人血清作对照,以其中白蛋白与γ-球蛋白的电泳展开距离达3~4cm的时间为宜,同时做质控对照品。电泳完毕,染色、漂洗,于620nm波长处比色测定。

5. IgG各组分含量测定 采用Sephadex-G200凝胶柱层析法,用pH7.0的磷酸盐-氯化钠缓冲液洗脱,在层析柱出口处接一紫外检测仪和电脑自动记录仪,根据各个峰的相对峰面积(百分比)换算各个峰的相对重量百分比。

二、结果

我们对1992~1994年本所生产的丙种球蛋白制品,效期后半年左右随机抽样10批进行部分理化项目的检测;外观为近无色,微带乳光,无异物、混浊和摇不散的沉淀;纯度 $93.96 \pm 1.42\%$,蛋白质含量 $5.09 \pm 0.09\%$,IgG各组分(单体+二聚体) $95.76 \pm 4.14\%$,pH值 6.82 ± 0.10 。各项理化指标均符合《中国生物制品规程》规定,并与有效期内同批制品进行对比;有效期内制品外观为近无色,微带乳光,无异物、混浊和摇不散的沉淀;纯度 $94.50 \pm 1.43\%$,蛋白质含量 $5.18 \pm 0.10\%$,IgG各组分(单体+二聚体) $97.97 \pm 1.90\%$,pH 6.83 ± 0.10 。二者结果经统计学处理,无显著性差异,见表1,表2。

三、讨论

IgG是血清中含量最多的抗体^[2],占血清总量的75%,分子量为160KD,沉降系数为7S。IgG有4个亚类,即IgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄。多以单体形式存在,结构型为γ₂K₂或γ₂λ₂,链间以二硫键相连,因其电泳迁移率位于γ-区带,故通常称为丙种球蛋白(γ-G),也是唯一能够通过胎盘的抗体。

丙种球蛋白IgG稳定性是指丙种球蛋白在有效期(2.5年)内IgG分子保持其天然结构不发生裂解和聚合的特性,是反映丙种球蛋白在质量的一个重要指标。《中国生物制品规程》1990版(一部)明确规定了商品肌注丙种球蛋白中IgG单体和二聚体含量应大于85%,蛋白质含量>

5% (g/ml), 纯度 $\geq 90\%$, pH 值 6.40 ~ 7.40。从表中看出我们所生产的丙种球蛋白, 由于制造过程中严格控制条件, 因而在效期后一

段时间仍保持其抗体活性, 从而保证了临床应用中的安全有效。

表 1 丙球有效期内各项指标化学检测结果($\bar{x} \pm S$)

批号	纯度 (%)	蛋白质含量 (%)	单体 + 二聚体 (%)	pH
	≥ 90	≥ 5	≥ 85	6.40 ~ 7.40
92050101	92.91	5.20	95.49	6.76
92080103	94.05	5.35	96.63	6.91
92090103	95.82	5.10	99.99	6.79
93020103	92.55	5.19	95.56	6.84
93100107	95.12	5.26	99.84	6.75
93120102	92.93	5.33	97.25	6.66
94030201	96.70	5.10	99.99	7.00
94050601	96.04	5.05	99.99	6.96
94080501	94.63	5.11	98.43	6.88
94100502	94.25	5.16	96.49	6.75
$\bar{x} \pm S(n=10)$	94.50 ± 1.43	5.18 ± 0.10	97.97 ± 1.90	6.83 ± 0.10

表 2 丙球效期半年各项指标检测结果($\bar{x} \pm S$)

批号	纯度 (%)	蛋白质含量 (%)	单体 + 二聚体 (%)	pH
	≥ 90	≥ 5	≥ 85	6.40 ~ 7.40
92050101	92.42	5.10	87.99	6.76
92080103	93.61	5.28	89.98	6.90
92090103	95.02	4.99	99.90	6.78
93020103	92.00	5.07	93.89	6.84
93100107	94.60	5.10	99.25	6.76
93120102	92.08	5.15	96.65	6.66
94030201	96.00	4.98	99.90	6.98
94050601	95.42	5.01	98.60	6.94
94080501	94.61	5.06	96.63	6.84
94100502	93.82	5.16	94.86	6.75
$\bar{x} \pm S(n=10)$	93.96 ± 1.42	5.09 ± 0.09	95.76 ± 4.14	6.82 ± 0.10

贮存期间 IgG 的裂解有各种原因^[3]: 主要是因制剂中常污染有纤维蛋白溶酶(简称纤溶酶), 在一定条件下自然激活。此酶以两步裂解 IgG 铰链区的两个重链, 形成两个 Fab 和 Fc 片断, 在电泳图谱上出现一条比 γ 快比 β 慢的区带。Fab 能快速的被血循环清除, 因此, 即使 Fab 保留了中和抗原的能力, 但这种效力在体内的持续时间短; 而这些酶的量, 批与批之间有区别。并已观察到, 在裂解过程中, 可出现 3.5S 及 5S 碎片, 完整的 7S 分子

以及大于 IgG 分子的 10S 分子, 还有介于这些大小之间的“中间产物”的分子。在 IgG 的四个亚类中, IgG₂ 及 IgG₄ 是耐酶解的, 因而无论裂解程度如何, 总会残存一部分完整的 7S 分子。

其次, pH 影响裂解速度, 随着 pH 的降低, 裂解速度相应的变慢, pH6.0 时可以大大改善制剂的稳定性。pH6.8 时裂解的速率仅为 pH7.4 的 40%。另外, 还有纤溶酶原和纤溶酶原激活剂的影响。为使丙球保持其天然

结构,延缓裂解速度,生产过程中除严格控制各项条件下,还要采取一些有效措施:①力求采用新鲜原料投入生产。②用氢氧化铝反复吸附,或用硅藻土及氢氧化铝吸附可除去或部分溶纤酶,制造过程中避免激活溶纤酶或将其提取出来。③丙球在 pH6.4 时比在 7.4 时裂解慢,故成品 pH 宜调至酸性侧。同时,保存温度对丙球稳定性影响很大,据文献报道, -20℃ 保存,可多年不变,4℃ 保存,可使

裂解缓慢;温度过高可诱导丙球聚合。④可加入适当稳定剂。注意了以上几点,丙球的稳定性将会得到很大的改观。

参考文献

- [1]中华人民共和国卫生部.中国生物制品规程(一部).北京:卫生部生物制品标准化委员会,1990:227
- [2]董竟亚.医学免疫学与微生物学.北京:人民卫生出版社,1994:14
- [3]王秉瑞,何长民.生物制品基础.兰州:甘肃人民出版社,1986:321

月桂氮革酮对无环鸟苷霜体外透皮吸收作用的影响

陈 钧 何凤慈

(第三军医大学野战外科研究所大坪医院药剂科 重庆 400042)

摘要 考察不同浓度月桂氮革酮对无环鸟苷霜的透皮促渗作用,进行合理的处方筛选。以离体兔皮为渗透屏障,采用改良 Franz 扩散池,研究不同浓度氮革酮对无环鸟苷的透皮促渗作用。无环鸟苷霜的透皮吸收为零级动力学过程,氮革酮对无环鸟苷的透皮促渗作用无浓度依赖性,经试验测得 2% 氮革酮对无环鸟苷的促渗作用最强。

关键词 月桂氮革酮;无环鸟苷;透皮吸收

Effect of azone on the permeability of acyclovir cream through rabbit skin in vitro

Chen Jun, He Fengci

(Department of Pharmacy, Research Institute of Surgery Da-ping Hospital,
The Third Military Medical University, Chongqing 400042)

ABSTRACT To investigate the effect of the different concentration of azone on the acyclovir (ACV) cream, in order to optimize the formulation. We determined the transdermal amount of the ACV and steady-state-rate of penetration in vitro, using the improved-Frenz cell and excised rabbit skin as transdermal barrier in permeation test. The result indicated transdermal absorption of ACV followed zeroorder kinetics, and the penetration enhance effect of Azone was independent with the concentration. The ACV cream containing 2% Azone showed remarkable effect to enhance the transdermal delivery amount of ACV.

KEY WORDS azone, acyclovir, transdermal delivery