

中图分类号: R972; TQ460.6
doi: 10.3969/j.issn.1006-4931.2024.17.017

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2024)17-0073-04



生产工艺对注射用奥扎格雷钠澄清度的影响研究

胡雯, 何人可, 陈永盛, 勾磊, 周爱玲, 胡赛赛

(宜昌人福药业有限责任公司, 湖北 宜昌 443002)

摘要:目的 探讨影响注射用奥扎格雷钠澄清度的关键工艺参数。方法 通过设计和实施全因子析因试验(DOE), 分析预冻速率、配液温度、pH、胶塞类型、西林瓶真空条件5个因素对注射用奥扎格雷钠澄清度影响的显著性水平。通过单因素试验分析胶塞处方对澄清度的影响, 找到最优的备选胶塞。结果 胶塞类型和西林瓶真空条件是影响澄清度的主要因素, 且两者间存在交互作用。拟合得到最优工艺参数, 即配液温度为25℃, 药液pH调至 9.0 ± 0.1 , 采用氯化丁基胶塞d, 并保持西林瓶内充氮气状态, 预冻速率选择快冻, 保持升华干燥工艺不变。按此工艺制备3批样品, 经验证可得到澄清度合格的产品。结论 胶塞类型与西林瓶真空条件为注射用奥扎格雷钠工业化生产的关键控制条件, 胶塞中的潜在成分会影响产品的澄清度。使用优化后的工艺参数可实现工业化规模生产, 能保证产品质量。

关键词: 注射用奥扎格雷钠; 澄清度; 生产工艺; 全因子析因试验

Effect of Production Process on the Clarity of Ozagrel Sodium for Injection

HU Wen, HE Renke, CHEN Yongsheng, GOU Lei, ZHOU Ailing, HU Saisai

(Yichang Humanwell Pharmaceutical Co., Ltd., Yichang, Hubei, China 443002)

Abstract: Objective To investigate the critical process parameters affecting the clarity of Ozagrel Sodium for Injection. **Methods** By designing and implementing a full factorial design of experiment (DOE), the significance levels of the effects of five factors (including the pre-freezing rate, batching temperature, pH, type of rubber stopper and vacuum conditions in the vial) on the clarity of Ozagrel Sodium for Injection were analyzed. The effect of rubber stopper prescription on the clarity was analyzed through the single factor experiment to find the optimal alternative rubber stopper. **Results** The main factors affecting the clarity were the type of rubber stopper and vacuum conditions in the vial, and there was an interaction between the two factors. The optimal process parameters obtained by fitting were as follows: the solution temperature was 25℃, the pH value of drug liquid was 9.0 ± 0.1 , the chlorinated butyl rubber stopper was used, and nitrogen gas was maintained in the vial, the pre-freezing rate was selected as fast freezing, and the sublimation drying process remained unchanged. Three batches of samples were prepared by this process, and it was verified that products with qualified clarity could be obtained. **Conclusion** The type of rubber stopper and the vacuum conditions in the vial are critical control conditions for the industrial-scale production of Ozagrel Sodium for Injection. The potential components in the rubber stopper can affect the clarity of the product. The optimized process parameters can realize the industrial-scale production and ensure the quality of products.

Key words: Ozagrel Sodium for Injection; clarity; production process; full factorial design of experiment

奥扎格雷是一种高效、高选择性的血栓素(TX)合成酶抑制剂, 可抑制TXA₂的产生, 促进前列环素(PGI₂)的分泌, 从而改善两者间的平衡失调, 且具有抗血小板聚集和扩张血管作用, 临床用于治疗急性脑血栓性脑梗死和脑梗死所致运动障碍^[1]。注射剂为奥扎格雷的主要剂型, 澄清度是反映其质量的关键性指标。澄清度较

差的注射剂中存在细微颗粒, 当直射光通过溶液时可发生光散射和光吸收, 溶液微显浑浊。当微粒进入人体后会堵塞毛细血管而形成血栓, 严重者可致局部堵塞、供血不足及组织缺氧, 进而发生水肿和静脉炎^[2]。注射剂澄清度的控制是生产工艺研究的要点。影响冻干粉针剂复溶澄清度的因素因产品而异, 如顺铂澄清度主

第一作者: 胡雯, 女, 硕士研究生, 高级工程师, 研究方向为药物制剂学, (电子信箱) huwen@renfu.com.cn。

的影响及其分子机制的探究[D]. 南昌: 南昌大学, 2022.

[26] 蒋礼祥, 邓文文, 谷宁, 等. SCN5A基因突变与遗传性心脏疾病的相关关系[J]. 生理科学进展, 2021, 52(5): 352-356.

[27] 张丽娥, 樊伟军. 老年慢性心力衰竭患者去甲肾上腺素转运体SLC6A2基因启动子区甲基化水平及其与预后的相关性[J]. 临床和实验医学杂志, 2019, 18(17): 1838-1841.

[28] 侯文, 卢建森, 左怀文, 等. 熊果酸通过调控PTGS2对小鼠肝缺血/再灌注损伤的保护作用[J]. 实用器官移植电

子杂志, 2022, 10(4): 353-359.

[29] 李杨, 周岚, 汪典, 等. 不同剂量活血、破血中药对动脉粥样硬化小鼠主动脉PTGS2、PADI4、ITGAM基因表达的影响[J]. 疑难病杂志, 2016, 15(11): 1182-1186.

[30] 郑妩媚, 初海平, 王燕, 等. 力竭运动后不同时相大鼠心肌pp38MAPK、NF-κB、COX-2表达的动态变化[J]. 中国应用生理学杂志, 2016, 32(1): 88-91.

(收稿日期: 2023-10-10; 修回日期: 2024-03-11)

要影响因素为预冻速率^[3], 头孢类注射剂澄清度与胶塞型号有直接关联^[4-5]。注射用奥扎格雷钠中间体药液的pH低于限度会导致可见异物不合格, 可能是影响其澄清度的潜在风险点^[6]。本研究中针对生产工艺条件中注射用奥扎格雷钠复溶澄清度的影响因素设计全因子析因试验(DOE), 分析各影响因素的显著性, 以便开发高耐受性工艺。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

XPR3003S型电子天平(精度为百分之一), S400-K型pH计, 均购自瑞士Mettler Toledo公司; 85-2型恒温磁力搅拌器(常州光启实验仪器有限公司); UV-2600型紫外分光光度计(株式会社岛津制作所); Epsilon2-10DLSCplus型冻干机(德国Marin Christ公司); YB-2型澄明度检测仪(天津市天大天发科技有限公司)。

1.2 试剂

奥扎格雷(天津太平洋化学制药有限公司, 批号为AZ211201); 奥扎格雷对照品[中国食品药品检定研究院, 批号为100557-201605, 含量为99.6%(高效液相色谱法检测), 100%(紫外光谱法检测)]; 氢氧化钠(湖南尔康制药股份有限公司, 批号为100920220105); 枸橼酸钠(湖南华日制药有限公司, 批号为20210302); 甘露醇(石家庄华旭药业有限责任公司, 批号为2103014); 活性炭(上海活性炭厂有限公司, 批号为2151113); 西林瓶(重庆正川医药包装材料有限公司, 批号为20190721); 胶塞a(江苏华兰药用新材料股份有限公司, 批号为220344183-01); 胶塞b-e(湖北华润科技有限公司, 批号分别为2200145, 2200147, 2200151, 2200168)。

2 方法与结果

2.1 澄清度检查法

参照2020年版《中国药典(四部)》“澄清度检查法”^[7]检测注射用奥扎格雷钠复溶后的澄清度, 取冻干后的样品, 在室温条件下用水复溶并定容, 与等量的浊度标准液分别置配对的比浊玻璃管(内径15~16 mm, 平底, 具塞, 以无色、透明、中性硬质玻璃制成)中, 5 min后垂直同置伞棚灯下的暗室, 照度为1 000 lx, 从水平方向观察、比较, 并判断澄清度。供试品溶液的澄清度与所用溶剂相同, 或不超过0.5号浊度标准液的浊度, 为澄清; 供试品溶液的浊度介于0.5号至1号浊度标准液的浊度, 为几乎澄清; 超过1号浊度标准液的浊度, 为浑浊。

2.2 样品制备

将11.0 g奥扎格雷(批号为AZ211201)加入600.0 mL注射用水中, 边搅拌边滴加0.1 mol/L氢氧化钠水溶液, 调节药液的pH至8.5~9.0。然后分别加入10%枸

橼酸钠溶液12.0 mL、10%甘露醇溶液18.0 mL, 搅拌10 min后加入6.0 g活性炭, 再搅拌10 min。经0.22 μm微孔滤膜滤过, 灌装, 每瓶理论装量为1.0 mL, 备用。

2.3 澄清度影响因素分析

2.3.1 DOE设计与分析

首先按照前述工艺进行溶液配制, 在一定的温度和速度下进行干燥升华。具体如下: 设定导热油温度为-5℃, 升华8 h, 维持真空度为0.1~0.2 mbar; 设定导热油温度为30℃, 升华6 h, 维持真空度为0.1~0.2 mbar。保持上述条件不变, 针对预冻速率(因素A)、配液温度(因素B)、pH(因素C)、胶塞类型(因素D)、西林瓶真空条件(因素E)5个因素进行DOE二水平因子设计, 因素与水平见表1。在40℃和相对湿度75%条件下加速考察1个月; 快冻为设置1 h降温至-45℃, 保温3 h; 慢冻为设置3 h降温至-45℃, 保温3 h; 胶塞a为注射用冷冻干燥用覆聚四氟乙烯/乙烯共聚物膜氯化丁基橡胶塞(覆膜), 胶塞b为注射用冷冻干燥用氯化丁基橡胶塞(非覆膜)。使用Minitab®19.1软件进行正交试验设计^[8], 分析各因素影响样品澄清度的显著性水平。

表1 正交试验因素与水平

Tab. 1 Factors and levels of the orthogonal test

水平	因素A	因素B(℃)	因素C	因素D	因素E
1	快冻	20	8.8±0.1	胶塞a	真空
2	慢冻	25	9.0±0.1	胶塞b	氮气

试验结果表明, 新鲜样品复溶后均“澄清”或“几乎澄清”。在加速试验1个月, 部分样品出现“浑浊”, 故对加速试验结果进行赋值, 澄清度为浑浊、几乎澄清、澄清的响应值分别赋值为1, 2, 3。

2.3.2 效应显著性分析

选择“主效应”与“二因子交互效应”进行因子设计分析, 得标准化效应帕累托图(见图1)。标准化效应帕累托图是将各效应的t检验所得t值作为横坐标, 按绝对值的大小排列, 根据选定的显著性水平α设定t值的临界值为2.12, 绝对值超过临界值为显著效应^[9]。由图1可知, 在显著性水平α=0.05情况下, 因素D、因素E为显著因子, 且因素D与因素E为有显著交互效应; 其余因素对应的P值均大于0.05, 为非显著因子。

预冻速率(因素A)对冻干制剂复溶的影响屡见报道, 通常速冻产品更细腻, 外观均匀, 比表面积大, 多孔结构好, 溶解速率快^[10]。样品的澄清度可能与预冻过程中冰晶结构有关, 由于样品在留样过程中会发生聚集, 导致样品溶解度降低, 而冰晶越大的样品聚集度越大, 对溶解度的影响也越大。本研究中设计的快冻、慢冻工艺对样品澄清度的影响不显著, 可能是由于样品自身浓度较低、溶解度良好。

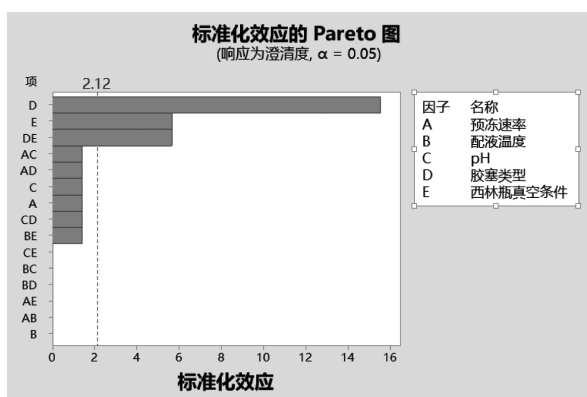


图1 标准化效应帕累托图

Fig. 1 Pareto chart of the standardized effects

胶塞类型(因素D)对注射用奥扎格雷钠澄清度的影响可能来源于胶塞中所含挥发性物质。关于其对药品澄清度的影响已有报道,如胶塞中抗氧化剂^[11]、硫化剂^[12]及外表面二甲硅油^[13]均能迁移进入药品而被吸附,从而影响药品澄清度,且药品浊度值也与贮存时间呈显著正相关^[14]。有研究显示,覆膜胶塞可避免胶塞与药物的直接接触,极大地降低胶塞内物质对药物成分的影响,进而改善胶塞与药物间的相容性问题^[15]。

2.3.3 交互效应分析

进一步分析胶塞类型(因素D)与西林瓶真空条件(因素E)是否具有相关性。2个因素间的交互作用运用Minitab®19.1软件作交互效应图。由图2可知,2个因素的线非平行,说明两者存在相关性,且胶塞类型对西林瓶真空条件的交互效应更明显。可能是胶塞所含挥发性物质对产品有影响,西林瓶内为真空负压时,挥发性物质会加速向西林瓶内迁移,从而对样品澄清度的影响更大。可见,胶塞类型(因素D)是注射用奥扎格雷钠澄清度最主要的影响因素。

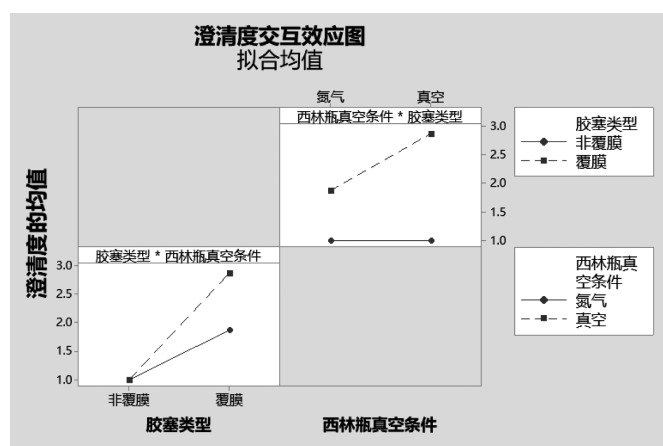


图2 胶塞类型与西林瓶真空条件交互效应图

Fig. 2 Interaction effect plot between the type of rubber stopper and vacuum conditions in the vial

2.4 胶塞处方对澄清度的影响分析

药用卤化丁基橡胶塞的制作需经过配料、混炼、预

成型、硫化、冲切、清洗硅化、包装等工艺,其配方体系包括生胶体系、硫化体系、补强填充体系、软化体系、防老体系、着色体系等^[16]。由DOE试验结果和已有研究可知,覆膜与不覆膜胶塞直接影响注射剂的澄清度,可推论胶塞中的部分成分会影响产品的澄清度。为更好地探讨胶塞处方对样品澄清度的影响,尝试采用不同配方的非覆膜型胶塞进行试验,因素A-C、E分别选择快冻、25℃、9.0±0.1、充氮气,并在40℃和相对湿度75%条件下加速考察1个月,配方采用不同比例灰分(丁基橡胶:煅烧高岭土)、硫化剂,其余辅料均一致。由表2可知,含灰分较高配方的胶塞会使样品澄清度变差,可能是由于胶塞含胶量偏低,对挥发性物质的吸附能力下降,更易挥发;不同卤素丁基胶塞也会影响澄清度,可能是由于溴元素比氯元素活泼,使氯化胶塞的稳定性(惰性)更好,与药品接触后发生反应的风险更低。

表2 胶塞处方对澄清度的影响试验结果

Tab. 2 Experimental results of the effect of rubber stopper prescription on the clarity

胶塞类型	批号	配方		澄清度
		灰分(%)	硫化剂	
氯化丁基胶塞c	2200147	55	氧化锌树脂	浑浊
氯化丁基胶塞d	2200151	50	氧化锌树脂	澄清
溴化丁基胶塞e	2200168	50	氧化镁树脂(硫黄)	浑浊

2.5 工艺优化后样品稳定性考察

根据2.3项下和2.4项下分析结果拟合得最优工艺参数,即配液温度为25℃,药液pH调至9.0±0.1,采用氯化丁基胶塞d,并保持西林瓶内充氮气状态,预冻速率选择快冻,保持升华干燥工艺不变。在此工艺条件下,连续生产3批样品,考察澄清度并进行全检。将样品在40℃和相对湿度75%条件下加速考察3个月,结果各项考察指标均无明显变化,澄清度均合格,样品稳定性良好。工艺优化后样品稳定性试验结果见表3。

表3 工艺优化后样品稳定性试验结果

Tab. 3 Results of the stability test of samples prepared by the optimal process

考察时间	pH	药物含量(%)	有关物质	澄清度
0个月	8.8	101.6	符合规定	澄清
1个月	8.8	99.5	符合规定	澄清
2个月	8.8	98.0	符合规定	澄清
3个月	8.8	99.6	符合规定	澄清

3 讨论

本研究中通过设计和实施DOE,分析了预冻速率、配液温度、pH、胶塞类型和西林瓶真空条件5个因素对注射用奥扎格雷钠澄清度影响的显著性水平。结果表明,胶塞类型是影响澄清度的主要因素,其潜在成分会直接影响产品的澄清度;其次为西林瓶内真空条件;预