



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103041380 B

(45) 授权公告日 2014. 08. 06

(21) 申请号 201210582536. X

(56) 对比文件

(22) 申请日 2012. 12. 28

WO 0233110 A2, 2002. 04. 25,

(73) 专利权人 中国医学科学院输血研究所

审查员 刘文瀚

地址 610052 四川省成都市东三环二段龙潭  
总部经济城华彩路 26 号

专利权人 贵州泰邦生物制品有限公司

(72) 发明人 曹海军 叶生亮 胡吉军 袁靖

李长清 陈云华 刘欣晏 杨刚

(74) 专利代理机构 贵阳中工知识产权代理事务  
所 52106

代理人 陈忠俊

(51) Int. Cl.

A61K 38/57(2006. 01)

A61K 47/18(2006. 01)

A61P 7/02(2006. 01)

权利要求书1页 说明书4页

(54) 发明名称

人抗凝血酶制剂干热处理过程中的稳定剂

(57) 摘要

本发明涉及人血浆蛋白制品技术领域,是一种人抗凝血酶制剂干热处理过程中的稳定剂,本发明的稳定剂是指苯丙氨酸或其盐中的一种、赖氨酸或其盐中的一种、酪氨酸或其盐中的一种、天冬氨酸或其盐中的一种用去离子水配制成的稳定剂溶液;实验证明,在人抗凝血酶制剂 100℃,30min 干热处理过程,含有质量百分浓度为 1.0-2.0% 苯丙氨酸或其盐中的一种,0.1-0.6% 赖氨酸或其盐酸盐,0.6-2.0% 酪氨酸或其盐,0.6-2.0% 天冬氨酸或其盐中的一种就能有效保护抗凝血酶的活性,并且干热处理后有较好的制剂外观及复溶澄清度。因此,本发明可作为人抗凝血酶制剂干热处理过程中的稳定剂。

1. 一种人抗凝血酶制剂干热处理过程中的稳定剂使用方法,其特征在于:将人抗凝血酶制剂干热处理过程中的稳定剂用去离子水配制成溶液,在冷冻干燥前加入人抗凝血酶制剂中,再将制剂放入干热病毒灭活柜后增压升温,待温度升至 100℃时开始计时,30min 干热处理;所述的人抗凝血酶制剂干热处理过程中的稳定剂是质量百分浓度为 1.0-2.0% 的苯丙氨酸或其盐中的一种,质量百分浓度为 0.1-0.6% 的赖氨酸盐酸盐,质量百分浓度为 0.6-2.0% 的酪氨酸或其盐中的一种、质量百分浓度为 0.6-2.0% 的天冬氨酸或其盐中的一种。

## 人抗凝血酶制剂干热处理过程中的稳定剂

### 技术领域

[0001] 本发明涉及血浆蛋白制品技术领域,是人抗凝血酶制剂干热处理过程中的稳定剂。具体涉及,在抗凝血酶制剂中加入氨基酸或其盐类,可在 100℃,30min 干热处理过程中能有效保护制剂中主要成分抗凝血酶的活性,从而提高抗凝血酶制剂的产率。

### 背景技术

[0002] 人抗凝血酶制剂是血浆蛋白制品中的一种,主要用于先天性抗凝血酶缺乏症和弥散性血管内凝血(DIC)患者的治疗。自 1974 年该制剂试用于临床以来,其适应症日益增多,如在肝硬化、肝功能衰竭、败血症、产后溶血性尿毒症治疗中也取得了较好的效果,但至今我国没有成型的人抗凝血酶制剂上市。

[0003] 作为以血浆为原料生产制备的血浆蛋白制品,不能排除甲型肝炎病毒(HAV)、乙型肝炎病毒(HBV)、丙型肝炎病毒(HCV)、艾滋病毒(HIV)或其他病原体传播的可能,为了提高血浆蛋白制品的安全性,生产过程中应有特定的去除或灭活病毒的方法。目前欧美抗凝血酶制剂制备过程通常采用 60℃,10 小时以上的巴氏病毒灭活法,该方法虽然对 HBV、HIV 等病毒有较好的灭活效果,但经过加热后,抗凝血酶中有大量蛋白变性,活性损失为 20-35%,此外,大量的变性蛋白必须再经过纯化处理,而使生产成本增加,生产效率降低。100℃,30 分钟干热处理对多种病毒(包括脂包膜和非脂包膜病毒)均有作用效果。干热病毒灭活在生产最终步骤进行,处理操作相对简便,可控性强,被越来越多的生产企业所采用,但制剂在高温条件处理,活性蛋白易变性失活,为了维持活性蛋白功能,提高蛋白活性收率,在干热处理过程中通常需添加合适的稳定剂。稳定剂对最终产品的质量、产率有着决定性的影响,至今未见有关苯丙氨酸或赖氨酸或酪氨酸或天冬氨酸用于抗凝血酶制剂干热处理过程稳定剂的文献及专利报道。

### 发明内容

[0004] 本发明的目的是为了改善现有技术问题,提供一种在 100℃,30min 干热处理过程中人抗凝血酶制剂的稳定剂。

[0005] 本发明技术方案为:

[0006] 一种人抗凝血酶制剂干热处理过程中稳定剂,为溶质氨基酸或其盐用去离子水配制成的溶液,所述的氨基酸或其盐为苯丙氨酸或其盐中的一种、赖氨酸或其盐中的一种、酪氨酸或其盐中的一种、天冬氨酸或其盐中的一种,将它们用去离子水配制成稳定剂溶液,在冷冻干燥前加入人抗凝血酶制剂中。

[0007] 上述的稳定剂,其苯丙氨酸或其盐中的一种质量百分浓度为 1.0-2.0%,赖氨酸或其盐中的一种质量百分浓度为 0.1-0.6%、酪氨酸或其盐中的一种质量百分浓度为 0.6-2.0%、天冬氨酸或其盐质中的一种量百分浓度为 0.6-2.0%,所述的赖氨酸或其盐中的一种为赖氨酸盐酸盐;上述的质量百分浓度为加入稳定剂后,各组分在制剂中的质量百分浓度。

[0008] 本发明的有益效果为稳定剂使人抗凝血酶制剂在 100℃,30min 干热处理过程中,抗凝血酶活性损失减少,收率达 83% 以上,且干热后制剂外观、干热后复溶时间及复溶澄清度能够达到美国药典第 32 版(United States Pharmacopeia 32, USP32)和欧洲药典第 7 版(European Pharmacopoeia 7.0, EP7.0)的要求。在抗凝血酶制剂加入 1.0-2.0% 苯丙氨酸或其盐,0.1-0.6% 赖氨酸或其盐,0.6-2.0% 酪氨酸或其盐,0.6-2.0% 天冬氨酸或其盐中的一种就能在干热处理过程有效维持人抗凝血酶的活性,提高抗凝血酶的收率。

### 具体实施方式

[0009] 下面结合实施例对本发明的稳定剂在抗凝血酶制剂干热处理过程中的作用作详细说明,

#### [0010] 1. 抗凝血酶浓缩物的制备

[0011] Cohn 氏法血液制品组分 IV 沉淀糊,柠檬酸钠和 NaCl 抽提液 15℃ 条件抽提 60min,抽提液 6000rpm 条件离心 40min,取上清液,再经 0.80 μm 和 0.45 μm 膜过滤,获得滤液;滤液经有机溶剂/去污剂(S/D)处理后,经亲和层析,获得洗脱液,洗脱液经超滤浓缩处理,即得到抗凝血酶浓缩物( $\geq 6.0$  IU/mg)。

#### [0012] 2. 加入稳定剂,冷冻干燥

[0013] 25-40℃ 水温条件,用去离子水,按质量百分比,配制浓度为 2-16% 的苯丙氨酸,赖氨酸盐酸盐、酪氨酸、天冬氨酸溶液,测定并用 0.1mol/L-1mol/L 的 HCl 或 NaOH 溶液调 pH 至 6.0-7.5;根据所需稳定剂终浓度和抗凝血酶浓缩物的量添加稳定剂,例如:抗凝血酶制剂所需苯丙氨酸稳定剂终质量百分浓度为 1.2%,配制苯丙氨酸母溶液质量百分浓度为 8%,抗凝血酶制剂质量为 300g,则称取 52.9412g 质量百分浓度为 8% 的苯丙氨酸溶液与 300g 抗凝血酶制剂混合均匀;再例如:抗凝血酶制剂所需天冬氨酸稳定剂终质量百分浓度为 0.8%,配制天冬氨酸溶液质量百分浓度为 6%,抗凝血酶制剂质量为 400g,则称取 61.5385g 质量百分浓度为 8% 的天冬氨酸溶液与 400g 抗凝血酶制剂混合均匀。稳定剂添加后除菌、分装,-40℃ 至 30℃ 条件冷冻干燥,真空条件压铝塑盖。

#### [0014] 3. 干热处理

[0015] 制剂入干热病毒灭活柜后增压升温,待温度升至 100℃ 时开始计时,30min 干热处理。

#### [0016] 4. 干热处理后制剂成形外观观察

[0017] 干热处理后抗凝血酶制剂成形外观结果见表 1。

[0018] 表 1 不同稳定剂抗凝血酶制剂成形外观

[0019]

稳定剂种类	稳定剂浓度 (%)	干热前后变化及制剂外观
空白	0	整体萎缩, 白色, 致密, 成形一般
苯丙氨酸	1.2	无变化, 白色, 疏松, 成形好
	1.8	无变化, 白色, 疏松, 成形好
赖氨酸	0.2	无变化, 白色, 疏松, 成形较好
	0.4	无变化, 白色, 疏松, 成形较好
酪氨酸	0.8	无变化, 白色, 疏松, 成形好
	1.6	无变化, 白色, 疏松, 成形好
天冬氨酸	0.8	无变化, 白色, 疏松, 成形好
	1.6	无变化, 白色, 疏松, 成形好

[0020] 由表 1 可看出, 添加稳定剂的制剂, 经干热处理后, 其成形外观无变化。

[0021] 5. 干热处理后制剂复溶时间及复溶澄清度观察

[0022] 室温条件下, 注射用水溶解制剂, 观察其复溶时间, 室温放置 30min 后观察澄清度, 结果见表 2。

[0023] 表 2 不同稳定剂抗凝血酶制剂复溶时间及复溶后澄清度

[0024]

稳定剂种类	稳定剂浓度 (%)	干热后复溶时间	干热后复溶澄清度
空白	0	< 70 秒	有 4-6 个较大不溶颗粒, 有较多纤毛
苯丙氨酸	1.2	< 70 秒	澄清
	1.8	< 70 秒	澄清
赖氨酸	0.2	< 70 秒	有 1-2 个极小颗粒
	0.4	< 70 秒	澄清
酪氨酸	0.8	< 70 秒	澄清
	1.6	< 70 秒	澄清
天冬氨酸	0.8	< 70 秒	有 1-2 个极小颗粒
	1.6	< 70 秒	有 1-2 个极小颗粒

[0025] 由表 2 可看出, 添加稳定剂的制剂, 在 70 秒内均能完全溶解, 室温放置 30min 后, 未加稳定剂空白对照有较多颗粒及纤毛, 而添加稳定剂的制剂澄清度较好, 说明本发明稳定剂能在干热处理过程中有效保护抗凝血酶。

[0026] 6. 干热处理后制剂中抗凝血酶活性收率

[0027] 检测干热处理前后制剂中抗凝血酶活性。干热处理后抗凝血酶活性收率结果见表 3。

[0028] 表 3 不同稳定剂干热处理后抗凝血酶活性收率

[0029]

稳定剂种类	稳定剂浓度 (%)	干热后抗凝血酶活性收率 (%)
空白	0	62.92
苯丙氨酸	1.2	83.46
	1.8	88.79
赖氨酸	0.2	91.54
	0.4	93.83
酪氨酸	0.8	92.27
	1.6	103.95
天冬氨酸	0.8	91.89
	1.6	89.54

[0030] 由表 3 可看出,未添加稳定剂的制剂,经干热后抗凝血酶活性收率不超过 63%,而添加稳定剂的制剂,抗凝血酶活性收率不低于 83%,说明本发明稳定剂能在干热处理过程中有效保护抗凝血酶的活性。

[0031] 综上所述,本发明为抗凝血酶制剂的 100℃,30min 干热处理过程提供了有效的稳定剂。

[0032] 以上结合实施例对本发明进行了描述,但并非是对本发明的限制。任何本技术领域人员在本发明所述的技术范围内,所得到的技术方案的简单变化或等效替换均落入本发明的保护范围内。