·新药注册与审评技术·

关于药物中抑菌剂使用相关问题的思考

唐　溱,赵晓霞,关宏峰,张永文
(国家药品监督管理局药品审评中心,北京 100022)

[摘要]　抑菌剂作为非固体制剂中常见的附加剂,对防止药品微生物污染和保证药品质量具有重要作用。由于抑菌剂具有一定毒性,应严格控制应用范围和用量。通过查阅《中华人民共和国药典》2020 年版和欧洲 EMA 指导原则,本文总结了我国和 EMA 对药品中使用抑菌剂的相关要求,提出药物研发中使用抑菌剂应关注必要性和用量等问题,对抑菌剂的适用范围进行了思考和探讨,旨在为药品研发提供参考。

[关键词]　抑菌剂;适用范围;用量;质量控制
[中图分类号] R921.2;R927.11　[文献标志码] A　[文章编号] 1003-3734(2021)21-1944-05

Considerations on the application of antimicrobial preservatives in drugs

TANG Zhen, ZHAO Xiao-xia, GUAN Hong-feng, ZHANG Yong-wen
(*Center for Drug Evaluation, National Medical Products Administration, Beijing* 100022, *China*)

[**Abstract**]　Antimicrobial preservatives, as a kind of common additives in non-solid drug preparations, play an important role in preventing microbial contamination and ensuring drug quality. Due to its toxicity, the application range and level of preservatives should be strictly concerned. Referring to ChP 2020 and EMA related guidelines, this article summarizes the related requirements of preservatives when being used in preparations in ChP and EMA. It is therefore proposed that necessity and level of the application of antimicrobial preservatives should be greatly concerned in developing new drug preparations. The scope of application is also discussed in this article, hoping a helpful reference will be provided for research and development of drugs.

[**Key words**]　antimicrobial preservatives; sphere of application; level; quality control

抑菌剂也称防腐剂,《中华人民共和国药典》2020 年版(以下简称 ChP 2020)[1]定义为抑制微生物生长的化学物质。抑菌剂在食品和药品等领域有着广泛应用,对防止微生物污染、保证产品质量具有重要作用。抑菌剂的种类很多,大体可分为酸类、醇类、季铵盐类、对羟基苯甲酸酯类和有机汞类等[2-3]。一般认为抑菌剂对微生物的抑制作用是通过影响细胞亚结构而实现的,这些亚结构包括细胞壁、细胞膜、蛋白质合成系统、与代谢有关的酶及遗传物质等。例如,苯甲酸和山梨酸等酸类是通过改变细胞内 pH 状态及蓄积毒性阴离子,抑制细胞的基础代谢反应,以达到抑菌目的[4]。

由于抑菌剂对细胞具有明确的毒性,用于人体可能产生安全性风险,在能通过药剂学其他方法满足制剂卫生学要求时,一般应尽量不用或少用抑菌剂[5]。作者通过梳理 ChP 2020 和欧洲 EMA 公布的相关要求,对药物制剂中使用抑菌剂应关注的问题进行了总结和探讨。

1　抑菌剂使用的总体要求

EMA 对人用药品中抑菌剂(preservatives)的相关研究有特别的规定,目前主要参考《Guideline On Excipients In The Dossier For Application For Marketing Authorisation Of a Medicinal Product》(EMEA/CHMP/

[作者简介]　唐溱,女,硕士研究生,主要从事中药、天然药物药学技术审评工作。联系电话:(010)85242884,E-mail:tangqin@cde.org.cn。
[通讯作者]　张永文,男,研究员,高级审评员,主要从事天然药物化学研究、中药和天然药物药学评价与研究。联系电话:(010)85242941,E-mail:zhangyw@cde.org.cn。

QWP/396951/2006)[6],该指导原则阐述了含抑菌剂药品在上市许可申请时需提交的资料,同时对抑菌剂使用的总体原则提出了建议。

ChP 2020 在制剂通则和抑菌效力检查法等内容中对抑菌剂使用的原则做了规定。EMA 和 ChP 2020 对抑菌剂使用的总体要求见表 1。

表 1 EMA 和 ChP 2020 对抑菌剂使用的总体要求

总体要求	EMA 指导原则[6]	ChP 2020
上市许可申请时需提交的资料	① 使用理由和抑菌剂浓度的合理性。② 安全性和抑菌效力的证明。③ 在药品中的控制方法。④ 贮藏过程中的抑菌剂水平(容器未开启和开启状态)。⑤ 在产品标签中的详细说明	—
合理性	应具有充足的理由;不应使用抑菌剂替代良好生产规范(GMP)	抑菌剂不能用于替代药品生产的 GMP 管理,不能作为非无菌制剂降低微生物污染的唯一途径,也不能作为控制多剂量包装制剂灭菌前的生物负载的手段
用量	抑菌剂浓度应在最低有效水平	制剂中抑菌剂的量应为最低有效量
有效性(抑菌效力)和安全性	应符合抑菌效力检查的相关规定;应以文献和/或实验数据为依据说明安全性,除非抑菌剂是常见的且通常以相同浓度和相同给药途径使用	应符合抑菌效力检查的相关规定;成品制剂中的抑菌剂有效浓度应低于对人体有害的浓度
质量控制	药品质量标准中,对处方中每一个抑菌剂应建立鉴别和含量测定检测,有接受标准和限度;药品货架期质量标准也应包括对抑菌剂的限度要求	部分药品标准项下要求检测抑菌剂

我国虽然没有明确要求含抑菌剂制剂在上市许可申请时需提交的研究资料,但对抑菌剂使用的总体要求与 EMA 基本一致,包括:① 应具有充分的理由。② 制剂中抑菌剂的量应为最低有效量。③ 有效性(抑菌效力)和安全性应符合要求。此外,针对不同制剂或用药人群等特点,对抑菌剂的使用及用量也有其他具体的考虑和规定,制剂在研发过程中均应予以关注。

2 抑菌剂在不同制剂中使用的考虑

通常含水分多的制剂受微生物污染的风险较大,如口服溶液剂、混悬剂、乳剂、外用液体制剂、乳膏剂及可多次使用的无菌制剂(如多剂量滴眼剂等)。一般对于多剂量包装、药物本身不具有充分抑菌效力的非固体制剂,研发时需进行相关研究,考虑添加适当抑菌剂。对于口服溶液,根据制剂中的水活度确定是否需加抑菌剂是目前处方研究的共识,美国药典中收载了关于水活度测定及应用的一般要求。对于酒剂、酊剂和煎膏剂(膏滋)等含有高浓度乙醇或较高渗透压的剂型,制剂本身具有一定防腐作用,可考虑研究不加抑菌剂。此外,对于眼用制剂、注射剂以及儿童用药需重点关注抑菌剂使用的合理性和安全性。

2.1 眼用制剂 研究表明绝大多数抑菌剂对眼部均有不同程度的刺激,长期使用可导致眼部炎症、过敏、纤维化和干眼症等。对于滴眼剂等剂型,常采用多剂量包装,以防止使用过程中由于微生物污染和繁殖导致药品变质而对患者造成危害,ChP 2020 对于多剂量眼用制剂的建议还是应适当使用抑菌剂,并尽量选用安全风险小的抑菌剂。但对于眼内注射溶液、眼内插入剂、供外科手术用和急救用的眼用制剂,ChP 2020 规定不得加抑菌剂,且应采用一次性使用包装。

对于抑菌剂不耐受患者、治疗周期较长、儿童尤其是新生儿,抑菌剂的使用会带来较高风险,EMA 建议治疗此类患者应首选不含抑菌剂的眼用制剂,若必须使用,对所选用抑菌剂应有充分的理由,同时建议进行适当的非临床和临床研究设计以确保制剂理想的获益/风险[7]。

对于多剂量包装的抗生素类眼用制剂是否需要加入抑菌剂、加入何种类型的抑菌剂,目前业界普遍共识是应根据具体品种特点(如抗菌谱等)进行综合评价后确定。有研究显示部分抗生素滴眼液,特别是喹诺酮类滴眼剂,不加抑菌剂也可以满足抑菌效力检查法的要求[8]。ChP 2020 规定眼用制剂在启

用后最多可使用 4 周,考虑到用药安全,若没有充分理由应考虑添加适宜的抑菌剂。

2.2 注射剂 大多数注射剂是经过无菌控制且采用单剂量包装,一般无需加抑菌剂。国家药品监督管理局药品审评中心于 2018 年公开征求《药物注射剂研发技术指导意见》意见,其中明确注射剂中应对抑菌剂的使用严格控制,原则上不建议使用抑菌剂。必须加入抑菌剂的注射剂,应建立抑菌剂的质量要求,并按照《中华人民共和国药典》现行版要求提供抑菌效力验证结果及安全性的综合评价。ChP 2020 注射剂通则下列出的常用抑菌剂包括 0.5% 苯酚、0.3% 甲酚、0.5% 三氯叔丁醇、0.01% 硫柳汞等。同时,ChP 2020 规定静脉给药与脑池内、硬膜外、椎管内用的注射液中禁止加抑菌剂。

2.3 儿童用药 儿童相比成人在器官和代谢发育方面还不成熟,抑菌剂在儿童体内的药动学特征与成人有所差异,使用不当可能会带来安全性问题。海莉丽等[9]报道苯甲醇可能导致儿童产生代谢性酸中毒、哮喘、癫痫发作及接触性皮炎等不良反应,还会增加新生儿高胆红素血症的风险;苯扎氯铵局部应用于耳部可产生耳毒性、皮肤刺激,还会诱发过敏性哮喘患者的支气管收缩;对羟基苯甲酸酯类可引起新生儿高胆红素血症及药物刺激性、过敏反应、雌激素效应等;苯甲酸钠可导致荨麻疹及新生儿高胆红素血症的风险增加。

EMA 建议儿童用药应尽可能避免使用抑菌剂,当然对于口服给药制剂的研发,该因素也不应是决定剂型是液体或固体的唯一考虑。对于眼用制剂,为避免抑菌剂对眼角膜及黏膜产生潜在的局部毒性,尽可能选择单剂量包装或专用多剂量容器等可免用抑菌剂的包装方式,这对用于新生儿或使用周期较长的药物尤为重要。若必须使用抑菌剂,在满足抑菌作用的前提下应为最低浓度,并且在风险/获益平衡方面是合理的[6,10]。

此外,食品领域相关的法规指南也应纳入考虑。例如,羟苯丙酯目前没有明确规定每日最大摄入量(acceptable daily intake, ADI),欧盟食品法规中也不推荐使用,另有研究显示其会影响雄性大鼠生殖器官,因此在治疗周期较长的儿童制剂中应慎重使用[11-12]。

3 抑菌剂用量的考虑

抑菌剂的用量影响着药品的安全性,用量不足会导致微生物污染,过量又可能引起安全性风险。抑菌剂的用量应从有效性(抑菌效力)和安全性进行考虑。

3.1 抑菌剂用量的有效性 抑菌剂用量应使制剂的抑菌效力符合规定,保证制剂在放置过程中符合微生物限度的要求。我国从 ChP 2010 开始收载抑菌效力检查法,该方法用于测定无菌及非无菌制剂的抑菌活性,以指导生产企业在研发阶段确定制剂中抑菌剂的浓度。如需加抑菌剂,除另有规定外,ChP 要求处方的抑菌效力应符合“抑菌效力检查法”的规定,同时应验证制剂的抑菌效力在效期内不因贮藏条件而降低。

相比 ChP 2010,ChP 2015 对该方法中抑菌效力判断标准进行了修订(ChP 2020 与 ChP 2015 基本一致)。杨晓莉等[13]研究探索了硫酸软骨素滴眼液中抑菌剂的合理添加剂量,分别按 ChP 2010 和 ChP 2015 抑菌效力检查法测定,结果显示按 ChP 2010,滴眼液对试验菌的抑菌性符合药典要求,而按 ChP 2015 则不符合要求,可见 ChP 2015 相比 ChP 2010 对抑菌效力的要求更严格。

3.2 抑菌剂用量的安全性 为保证抑菌剂的安全性,ChP 2020 要求成品制剂中的抑菌剂有效浓度应低于对人体有害的浓度。EMA 建议以文献和/或实验数据为依据说明抑菌剂及用量的安全性,除非抑菌剂是常见的并且通常以相同浓度和相同给药途径使用[6]。

一般情况下,抑菌剂的用量应该在国内外公布的抑菌剂常用量范围内。ChP 2020 规定糖浆剂和合剂中山梨酸和苯甲酸的用量不得过 0.3%(其钾盐、钠盐的用量分别按酸计)、羟苯酯类的用量不得过 0.05%。EMA 公布的苯甲酸及苯甲酸盐常用浓度为 0.01% ~0.2%[14],苯扎氯铵在眼用溶液中常用浓度为 0.01% ~0.02%[15]。

美国 FDA 对已上市药品中非活性成分在单位剂量的最大用量进行了汇总[16],表 2 列举了滴眼剂(drops)中常用抑菌剂的最大用量。抑菌剂同时也作为食品添加剂,世界卫生组织食物添加剂联合专家委员会(JECFA)对常用抑菌剂的 ADI 也做了限量规定(表 3)[12],口服制剂若添加抑菌剂可参考有关限量规定。当制剂中抑菌剂用量超过了国内外公布的最大量时,还应慎重考虑安全性问题。

表 2 FDA 已上市滴眼剂中抑菌剂的最大用量

抑菌剂	每单位剂量最大用量
苯扎氯铵(benzalkonium chloride)	0.01%,*w/v*
三氯叔丁醇(chlorobutanol)	0.5%,*w/w*
山梨酸(sorbic acid)	0.2%,*w/v*
山梨酸钾(potassium sorbate)	0.47%,*w/v*
羟苯甲酯(methylparaben)	0.05%,*w/v*
羟苯丙酯(propylparaben)	0.01%,*w/v*

表 3 JECFA 对常见抑菌剂 ADI 的规定

抑菌剂	ADI/mg·kg^{-1}
山梨酸(sorbic acid)	0 ~ 25
山梨酸钾(potassium sorbate)	0 ~ 25
苯甲酸(benzoic acid)	0 ~ 5
苯甲酸钠(sodium benzoate)	0 ~ 5
苯甲醇(benzyl alcohol)	0 ~ 5
羟苯甲酯(methylparaben)	0 ~ 10
羟苯乙酯(ethylparaben)	0 ~ 10

4 抑菌剂影响因素的考虑

诸多因素会影响抑菌剂在制剂中发挥作用,研发过程中应综合这些因素选择适宜的抑菌剂种类及用量,保证药品在放置过程中的抑菌效力不会明显改变,同时不会因为化学成分的相互作用影响药品的安全性和有效性,一般应考虑以下因素[2,17]。

4.1 辅料 例如重金属等会加速山梨酸的氧化,而甘油、丙二醇等与山梨酸联合使用则能产生协同作用。此外,表面活性剂、抗氧化剂、碱性化学成分和枸橼酸盐等也会影响不同抑菌剂的抑菌作用。

4.2 制剂理化性质 以苯甲酸为例,苯甲酸及其盐的抑菌活性受 pH 值影响较大,pH > 5 时抑菌效果会明显降低。苯甲酸在混悬剂中会解离,阴离子会吸附于混悬药物粒子上,导致粒子表面电荷分布改变,从而影响混悬剂的物理稳定性。

4.3 包装容器 塑料类容器对某些抑菌剂(如对羟基苯甲酸酯类)会产生吸收,还会因吸附使抑菌剂在容器内表面产生较高浓度,影响抑菌效果;氯丁二烯橡胶塞、丁基橡胶塞还可缓慢吸附苯甲醇。

4.4 药物成分 梁小雯[18]以兔角膜上皮细胞考察了冰片和抑菌剂长期合用对细胞的损伤,结果显示冰片在一定程度上加大了抑菌剂对眼部的损伤,提示冰片的促渗透作用可能会增加眼用制剂中抑菌剂的安全风险。

多剂量制剂在开封后,反复使用中的环境因素也会对抑菌剂的抑菌效力产生影响。EMA 建议含有抑菌剂的多剂量制剂,还应考察在模拟使用条件下抑菌剂的有效性[6]。ChP 2020 对药品包装开启后的抑菌效力检查无相关要求,也没有相应的试验方法及抑菌效力判断标准;但对于多剂量包装的无菌制剂,应考虑和关注进行相关的微生物挑战试验。

5 抑菌剂质量控制的考虑

抑菌剂的质量控制一方面是对抑菌剂本身的质量要求,另一方面是对制剂中抑菌剂的质量控制。

5.1 抑菌剂的质量要求 一般情况下,药品中使用的抑菌剂应该满足药用要求。部分已上市制剂中的抑菌剂目前仍没有药用标准,生产企业应该研究相应的企业标准,保证抑菌剂的质量稳定可控。ChP 2020 四部新增了苯甲酸、苯氧乙醇、间甲酚等的药用辅料标准,应注意符合 Chp 的相关要求。

5.2 制剂中抑菌剂的质量控制 EMA 和人用药品注册技术要求国际协调会(ICH)建议在药品质量标准中应建立抑菌剂的定性和限量检查。ICH Q6A 指南建议,对需加入抑菌剂的口服液体制剂/非肠道给药制剂,应制定抑菌剂的含量认可标准,标准应能保证制剂在整个使用期间和货架期内微生物限度在合格范围内,出厂检验中通常要进行抑菌剂的含量测定。

ChP 从 2015 年版开始增加对注射剂和滴眼剂中抑菌剂的控制要求,在部分品种的质量标准项下要求测定抑菌剂,但对于其他剂型的非固体制剂,ChP 2015 没有明确要求。国内相关指导原则[19]建议在制剂稳定性研究中,必要时应进行初步稳定性试验(增加抑菌剂含量检测),以确认产品有效期时抑菌剂的功效。从 ChP 的要求来看,在药品质量标准中增加抑菌剂的定性和定量检测是具有重要意义的,研发过程中应关注。

6 抑菌剂标示信息的考虑

药品说明书中辅料的标示信息对临床医生和患者合理使用药物具有重要意义,便于医生和患者了解所用药物的辅料情况,避免引起不良反应或与其他主药成分相互作用的可能,为临床用药安全性提供参考,也为药物不良反应分析提供依据。ChP 2020 要求对含有抑菌剂的眼用制剂和注射剂,产品说明书、标签中应标明抑菌剂的种类和浓度。

王琛等[20]抽查了眼用制剂说明书中抑菌剂名称和含量的标注情况,结果显示国产眼用制剂的标注率不足 30%,而进口眼用制剂可达到 70% 以上。

由此可见我国在完善药品说明书信息方面还有待提高,眼用制剂和注射剂在药品上市注册申请时,应关注说明书、标签中抑菌剂标示的相关信息,按要求进行标示。

7 小结

综上所述,抑菌剂作为非固体制剂中常用的附加剂,对保证制剂质量具有重要作用。由于抑菌剂对人体存在安全性风险,其相关研究相比其他辅料有更高的要求。结合《中华人民共和国药典》和欧盟 EMA 指导原则中的相关规定,新药研发过程中,对必须使用抑菌剂的制剂应重视抑菌剂种类和用量的研究。在制剂确定处方时,应关注处方的抑菌效力是否符合现行版《中华人民共和国药典》的规定。同时,应验证成品制剂的抑菌效力在有效期内是否会因贮藏条件而降低。在制剂变更研究中,若有需要增加抑菌剂种类或用量的情况,应加强其必要性和使用安全性方面的研究。在满足制剂抑菌效力和微生物限度要求的前提下,应尽量减少用量,并低于对人体有害的浓度。对于可能引起较高安全性风险的眼用制剂、注射剂和儿童用药等,也应关注国外法规指南对合理使用抑菌剂的建议,加强制剂中抑菌剂的质量控制,在保证抑菌效力的前提下,最大限度地减小抑菌剂可能带来的安全性风险。

[参 考 文 献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 2020 年版. 一部. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.

[2] 傅超美, 王世宇. 药用辅料学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2008: 67 - 76.

[3] 张璐, 涂家生. 注射剂和滴眼剂中抑菌剂和抗氧剂的添加及检测[J]. 药学与临床研究, 2012, 20(2): 137 - 141.

[4] 郭新竹, 宁正祥, 胡新宇, 等. 食品防腐剂作用机理的研究进展[J]. 食品科技, 2001, 26(5): 40 - 42.

[5] 程怡. 中药制药辅料应用学[M]. 北京: 化学工业出版社, 2011: 78.

[6] EMA. Guideline on excipients in the dossier for application for marketing authorisation of a medicinal product-Revision 2[EB/OL]. (2006 - 11 - 06)[2020 - 08 - 07]. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-excipients-dossier-application-marketing-authorisation-medicinal-product-revision-2_en.pdf.

[7] EMA. EMEA public statement on antimicrobial preservatives in ophthalmic preparations for human use[EB/OL]. (2009 - 12 - 08)[2020 - 08 - 07]. https://www.ema.europa.eu/en/documents/public-statement/emea-public-statement-antimicrobial-preservatives-ophthalmic-preparations-human-use_en.pdf.

[8] 杨美琴, 曹莹, 戴翠, 等. 国产氧氟沙星滴眼液中抑菌剂使用现状分析[J]. 中国抗生素杂志, 2017, 42(6): 516 - 520.

[9] 海莉丽, 朱琳, 李智平. 药物制剂辅料在儿童群体中的安全性考量[J]. 中国药学杂志, 2019, 54(14): 1121 - 1125.

[10] EMA. Guideline on pharmaceutical development of medicines for paediatric use[EB/OL]. (2013 - 08 - 01)[2020 - 08 - 07]. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-pharmaceutical-development-medicines-paediatric-use_en.pdf.

[11] EMA. Presentation-Preservatives: Are they safe[EB/OL]. (2010 - 05 - 31)[2020 - 08 - 07]. https://www.ema.europa.eu/en/documents/presentation/presentation-preservatives-are-they-safe_en.pdf.

[12] WHO. Evaluations of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA)[EB/OL]. (2019 - 06)[2020 - 08 - 07]. http://apps.who.int/food-additives-contaminants-jecfa-database/search.aspx.

[13] 杨晓莉, 贺聪莹, 绳金房. 硫酸软骨素滴眼液抑菌剂筛选与抑菌效力研究[J]. 药物分析杂志, 2016, 36(4): 678 - 684.

[14] EMA. Questions and answers on benzoic acid and benzoates used as excipients in medicinal products for human use[EB/OL]. (2017 - 10 - 09)[2020 - 08 - 07]. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/questions-answers-benzoic-acid-benzoates-used-excipients-medicinal-products-human-use_en.pdf.

[15] EMA. Questions and answers on benzalkonium chloride used as an excipient in medicinal products for human use[EB/OL]. (2017 - 10 - 09)[2020 - 08 - 07]. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/questions-answers-benzalkonium-chloride-used-excipient-medicinal-products-human-use_en.pdf.

[16] FDA. Inactive Ingredient Search for Approved Drug Products[EB/OL]. (2020 - 01 - 30)[2020 - 08 - 07]. https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/iig/#opennewwindow.

[17] 程怡. 中药制药辅料应用学[M]. 北京: 化学工业出版社, 2011: 31 - 34.

[18] 梁小雯. 冰片与抑菌剂合用在眼用制剂中的安全性研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2015.

[19] 国家药品监督管理局. 国家食品药品监督管理总局关于发布普通口服固体制剂溶出度试验技术指导原则和化学药物(原料药和制剂)稳定性研究技术指导原则的通告(2015 年第 3 号)[EB/OL]. (2015 - 02 - 05)[2020 - 08 - 07]. http://www.nmpa.gov.cn/WS04/CL2138/300001.html.

[20] 王琛, 张钰璇, 王丽, 等. 眼用制剂说明书中防腐剂标注情况对合理用药的影响[J]. 中国药物与临床, 2019, 19(1): 146 - 148.

编辑:杨青/接受日期:2021 - 04 - 26