



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102813656 A

(43) 申请公布日 2012. 12. 12

(21) 申请号 201210338859. 4

(22) 申请日 2012. 09. 13

(71) 申请人 广东岭南制药有限公司

地址 510520 广东省广州市天河区沙河龙眼
洞

(72) 发明人 徐文凯 王荣 陈良强

(51) Int. Cl.

A61K 31/519 (2006. 01)

A61P 3/02 (2006. 01)

权利要求书 2 页 说明书 15 页

(54) 发明名称

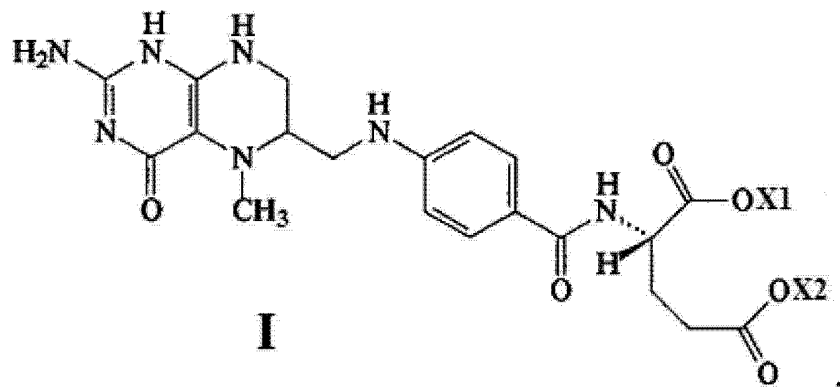
5- 甲基四氢叶酸或其盐的稳定药物组合物

(57) 摘要

本发明涉及 5- 甲基四氢叶酸或其盐的稳定药物组合物。具体地, 该组合物中包含 : (a) 5- 甲基四氢叶酸或其盐 ; (b) 氨基酸或其盐 ; 和 (c) 任选的生理学可接受的辅料。本发明的组合物具有良好的药学性质。

1. 一种组合物,其中包含:(a)5-甲基四氢叶酸或其盐;(b)氨基酸或其盐;和(c)任选的生理学可接受的辅料。

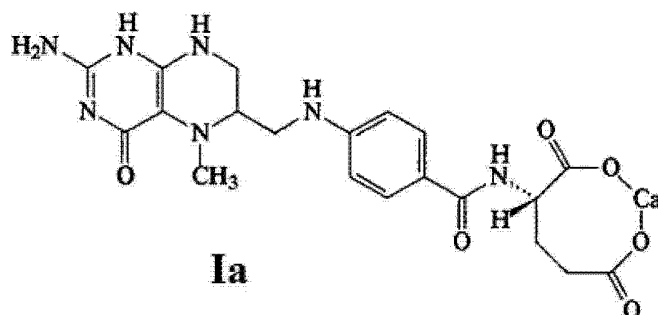
2. 根据权利要求1的组合物,其中所述5-甲基四氢叶酸或其盐是以下式I表示的化合物:



其中 X1 和 X2 各自独立地选自 H、碱金属或者碱土金属。

3. 根据权利要求2的组合物,其中式I所示化合物中 X1 和 X2 可以各自独立地选自 H、Na、K、Ca、Mg 或 Ba。

4. 根据权利要求2的组合物,其中式I所示化合物的盐为钙盐,例如为下式 Ia 结构化合物:



5. 根据权利要求1-4 任一项的组合物,其中:

所述氨基酸是不含巯基的氨基酸;

所述氨基酸或其盐选自精氨酸、蛋氨酸、色氨酸、异亮氨酸、赖氨酸、它们的盐、及其组合;和/或

其中所述氨基酸或其盐选自精氨酸、蛋氨酸、色氨酸、异亮氨酸、赖氨酸、盐酸精氨酸、盐酸赖氨酸、及其组合。

6. 根据权利要求1-5 任一项的组合物,其5-甲基四氢叶酸或其盐与氨基酸或其盐两者的重量比为 100:1~500。

7. 根据权利要求1-6 任一项的组合物,其特征在于:

所述生理学可接受的辅料是与(b)氨基酸或其盐不同的辅料;

其为供哺乳动物特别是人使用的注射用组合物或者口服用组合物;

其可以是注射制剂或者口服制剂;

其是冻干粉针剂或者水针制剂;

其是口服固体制剂,例如片剂或胶囊剂;

其为固体组合物例如但不限于：口服用的片剂、胶囊剂、颗粒剂、干混悬剂等，注射用的粉针剂例如冷冻干燥粉针剂等；和 / 或

其为液体组合物例如但不限于：口服用的溶液剂例如口服溶液或者口服混悬液等，注射用的溶液剂例如含水注射用溶液或混悬液等。

8. 根据权利要求 7 的组合物，其特征在于：

其中对于所述固体组合物例如口服用的固体组合物而言，其中可以任选地含有填充剂、赋形剂、粘合剂、崩解剂、润滑剂、助流剂等。

其中对于固体组合物例如注射用的固体组合物而言，其中可以任选地含有冷冻干燥粉针剂用赋形剂，其可以是各种糖类例如乳糖、甘露醇、果糖、蔗糖、葡萄糖等；

其中对于液体组合物而言其，可以包含溶媒例如水、乙醇、丙二醇、液体聚乙二醇等以及它们的组合；

该组合物还可以包括酸碱调节剂；和 / 或

所述组合物中包含的 5- 甲基四氢叶酸或其盐与任选的生理学可接受的辅料两者的重量比为 100 :0~5000。

9. 制备权利要求 1-8 任一项所述组合物的方法，其包括以下步骤：使 (a) 5- 甲基四氢叶酸或其盐、(b) 氨基酸或其盐、和 (c) 任选的生理学可接受的辅料以任意的顺序混合；任选地，除去其中任选存在的溶剂，即得；进一步地，其特征如说明书第二方面任一实施方案所述。

10. 权利要求 1-8 任一项所述组合物在制备治疗或预防哺乳动物例如人与 5- 甲基四氢叶酸或其盐缺乏有关的疾病的药物中的用途。

5-甲基四氢叶酸或其盐的稳定药物组合物

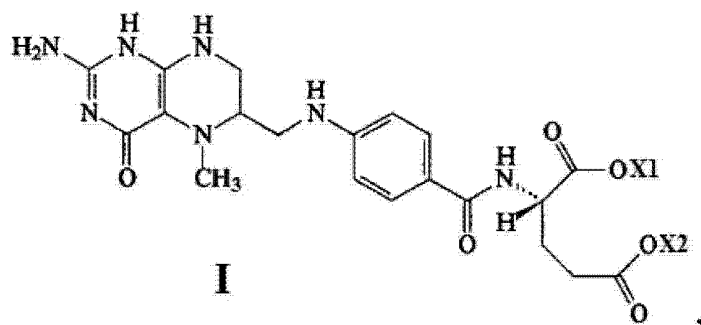
技术领域

[0001] 本发明涉及 5-甲基四氢叶酸或其盐制成的稳定的药物组合物例如药物制剂, 具体涉及 5-甲基四氢叶酸或其盐加入特定药用辅料制成制剂, 该特定药用辅料为氨基酸或其盐中的一种和多种。该制剂可用于高剂量甲氨蝶呤等叶酸拮抗剂的解救。

技术背景

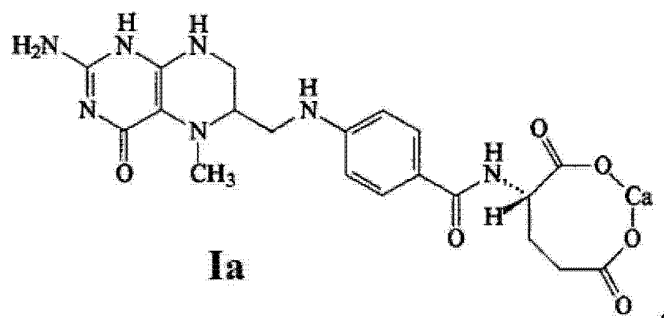
[0002] 5-甲基四氢叶酸和其盐可用如下结构式 I 表示:

[0003]



[0004] 其中 X1 和 X2 各自独立地选自 H、碱金属或者碱土金属, 例如 X1 和 X2 可以各自独立地选自 H、Na、Ca、Mg 或 Ba。例如式 I 化合物的钙盐即 5-甲基四氢叶酸钙具有如下式 Ia 的结构:

[0005]



[0006] 5-甲基四氢叶酸或其盐做成的制剂主要用于高剂量甲氨蝶呤等叶酸拮抗剂的解救。叶酸在小肠内经二氢叶酸还原酶还原并甲基化, 转变为甲基四氢叶酸, 然后作为辅酶参与体内嘌呤核嘧啶核苷酸的合成及某些氨基酸的转化。甲氨蝶呤可与二氢叶酸还原酶结合, 阻断二氢叶酸转变为四氢叶酸, 从而抑制胸腺嘧啶核苷酸、DNA、RNA 以及蛋白质的合成。5-甲基四氢叶酸或其盐做成的制剂进入体内后, 可抑制甲氨蝶呤对正常细胞的损害程度, 并能逆转甲氨蝶呤对骨髓和胃肠粘膜的反应。

[0007] 5-甲基四氢叶酸及其各种盐例如钠盐、钾盐、钙盐、镁盐等的制备方法是公知的, 它们可以参考已公开的文献制备获得, 亦可以从市场上购买得到。

[0008] 5-甲基四氢叶酸或其盐制剂都存在稳定性较差的缺点, 易变色, 在常温下储藏, 色泽加深, 含量明显下降, 降解产物增加。这些对药品质量有显著不利影响的性质对药品制

剂成型是相当不利的,并且由此可能导致药品的疗效下降,毒副作用增加。因此,获得包含 5-甲基四氢叶酸的稳定的组合物例如满足常规贮藏要求的药物制剂是非常令人期待的。

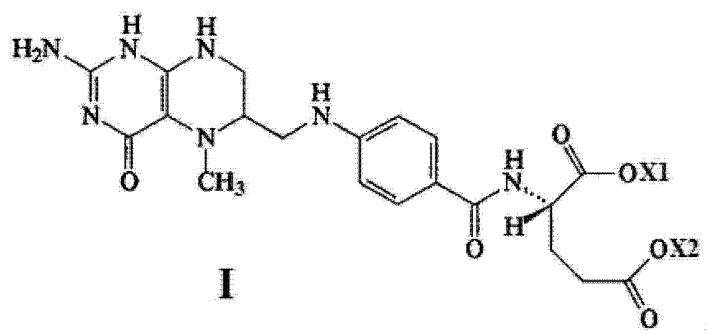
发明内容

[0009] 本发明的目的在于克服 5-甲基四氢叶酸或其盐的制剂稳定性差,易变色,含量明显下降,降解产物增多,毒副作用大的缺点,提供一种包含 5-甲基四氢叶酸的稳定的组合物。本发明人令人惊奇地发现,具有本发明所述的配方组成的包含 5-甲基四氢叶酸的组合物稳定性大大的提高,不易变色,含量稳定,完全满足药品常规贮藏要求,有望使药物在临床使用过程中的毒副作用降到最小。

[0010] 为此,本发明第一方面提供了一种组合物,其中包含:(a) 5-甲基四氢叶酸或其盐;(b) 氨基酸或其盐;和(c) 任选的生理学可接受的辅料。

[0011] 根据本发明第一方面的组合物,其中所述 5-甲基四氢叶酸或其盐是以下式 I 表示的化合物:

[0012]



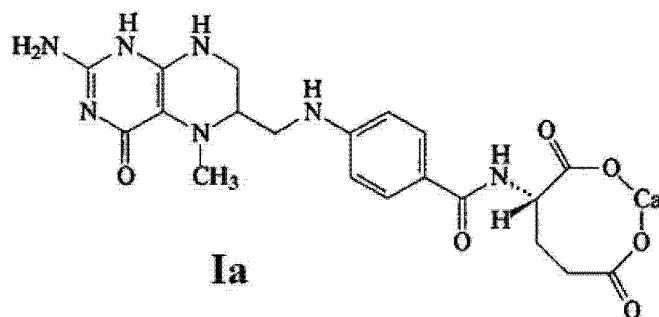
[0013] 其中 X1 和 X2 各自独立地选自 H、碱金属或者碱土金属。

[0014] 根据本发明第一方面的组合物,其中式 I 所示化合物中 X1 和 X2 可以各自独立地选自 H、Na、K、Ca、Mg 或 Ba。

[0015] 根据本发明第一方面的组合物,其中式 I 所示化合物中 X1 和 X2 一起为 Ca (即两个羧基一起形成钙盐)。

[0016] 根据本发明第一方面的组合物,其中式 I 所示化合物的盐为钙盐,例如为下式 Ia 结构化合物:

[0017]



[0018] 根据本发明第一方面的组合物,其中所述氨基酸是不含巯基的氨基酸。

[0019] 根据本发明第一方面的组合物,其中所述氨基酸或其盐选自精氨酸、蛋氨酸、色氨酸、异亮氨酸、赖氨酸、它们的盐、及其组合。

[0020] 根据本发明第一方面的组合物,其中所述氨基酸或其盐选自精氨酸、蛋氨酸、色氨酸、异亮氨酸、赖氨酸、盐酸精氨酸、盐酸赖氨酸、及其组合。

[0021] 根据本发明第一方面的组合物,其中 (a) (即 5- 甲基四氢叶酸或其盐) 与 (b) (即氨基酸或其盐) 两者的重量比为 100 : 1~500,例如为 100 : 5~250,例如为 100 : 10~200,例如为 100 : 20~100。需要说明的是,在本发明中,如未特别说明,提及 5- 甲基四氢叶酸的盐的重量时,均折算成等当量的它的游离形式计,即以 5- 甲基四氢叶酸计。

[0022] 根据本发明第一方面的组合物,其中所述生理学可接受的辅料是与 (b) 氨基酸或其盐不同的辅料。

[0023] 根据本发明第一方面的组合物,其为供哺乳动物特别是人使用的注射用组合物或者口服用组合物,例如其可以是注射制剂或者口服制剂。在一个实施方案中,所述注射制剂是冻干粉针剂或者水针制剂。在一个实施方案中,所述口服制剂是口服固体制剂,例如片剂或胶囊剂。

[0024] 根据本发明第一方面的组合物,其中所述生理学可接受的辅料是用于形成固体组合物或者液体组合物的任意惰性辅料。

[0025] 根据本发明第一方面的组合物,其中固体组合物例如但不限于:口服用的片剂、胶囊剂、颗粒剂、干混悬剂等,注射用的粉针剂例如冷冻干燥粉针剂等。

[0026] 根据本发明第一方面的组合物,其中液体组合物例如但不限于:口服用的溶液剂例如口服溶液或者口服混悬液等,注射用的溶液剂例如含水注射用溶液或混悬液等。

[0027] 根据本发明第一方面的组合物,其中对于固体组合物例如口服用的固体组合物而言,特别是对于片剂、胶囊剂、颗粒剂、干混悬剂等制剂而言,可以使用的惰性辅料例如是本领域技术人员公知的,例如填充剂、赋形剂、粘合剂、崩解剂、润滑剂、助流剂等。典型的填充剂或赋形剂例如但不限于淀粉或衍生物例如玉米淀粉、马铃薯淀粉等以及可压性淀粉、改性淀粉、预胶化淀粉,糊精,糖类例如乳糖、甘露醇等,纤维素及其衍生物例如微晶纤维素等。典型的粘合剂例如玉米淀粉、明胶、甲基纤维素、乙基纤维素、羧甲基纤维素和聚乙烯吡咯酮等。典型的崩解剂例如微晶纤维素、海藻酸、甲基纤维素、羧甲基纤维素钠,交联聚乙烯吡咯酮等。典型的润滑剂和助流剂例如但不限于硬脂酸及其金属盐例如硬脂酸镁、硬脂酸锌、滑石粉、苯甲酸钠、微粉硅胶、固体聚乙二醇等。

[0028] 根据本发明第一方面的组合物,其中对于固体组合物例如注射用的固体组合物而言,特别是对于冷冻干燥粉针剂等制剂而言,可以使用的惰性辅料例如是本领域技术人员公知的,最常用的冷冻干燥粉针剂的辅料是赋形剂,其可以是各种糖类例如乳糖、甘露醇、果糖、蔗糖、葡萄糖等。此外,在制备这些冷冻干燥粉针剂时,还会使用到药物溶剂特别是水,尽管这些水在冷冻干燥的制备过程中被除去。

[0029] 根据本发明第一方面的组合物,其中对于液体组合物而言其,可以包含溶媒例如水、乙醇、丙二醇、液体聚乙二醇等以及它们的组合。液体组合物特别是口服溶液中加入适宜的防腐剂是可以考虑的,这些防腐剂例如但不限于泥泊金酯类等、苯甲醇等。

[0030] 根据本发明第一方面的组合物,其中所述生理学可接受的辅料还可以包括酸碱调节剂(亦可称为 pH 调节剂),例如盐酸、磷酸、氢氧化钠、碳酸氢钠、碳酸钠、磷酸钠等。特别在对于均相分散的组合物,例如口服或注射用溶液剂甚至是通过冷冻干燥工艺获得的冷冻干燥粉针剂,在溶液状态下加入适宜的酸碱调节剂以使组合物的酸碱性控制在特定范围内

是通常考虑的操作方式。

[0031] 本发明人出人意料地发现,使用至少一种特定的氨基酸或其盐与 5- 甲基四氢叶酸或其盐混合制成的组合物具有良好的稳定性能,这种具有良好稳定性能组合物可以与诸多例如本文所述的生理学可接受的辅料混合。因此,对于实现本发明目的而言,这些生理学可接受的辅料在组合物中的用量是不受特别限制的。例如对于冷冻干燥粉针剂,在活性成分具有足够溶解度并且与氨基酸或其盐组合后具有足够的体积的情况下,本发明所述氨基酸或其盐与 5- 甲基四氢叶酸或其盐两者溶解于水中并经冷冻干燥后,得到的冻干粉针剂完全可以满足常规的药品质量标准要求。即,在本发明的组合物中,可以仅仅包含本发明所述氨基酸或其盐与 5- 甲基四氢叶酸或其盐两者。

[0032] 在本发明第一方面的另外一些实施方案中,所述组合物中包含的 (a) (即 5- 甲基四氢叶酸或其盐) 与 (c) (即任选的生理学可接受的辅料) 两者的重量比为 100 :0~5000,例如为 100 :10~5000,例如为 100 :25~5000,例如为 100 :50~2000,例如为 100 :50~1000,例如为 100 :50~500。在本发明中,上述“生理学可接受的辅料”是不同于本发明所述“(b) 氨基酸或其盐”的辅料,尽管这些氨基酸或其盐亦可称为生理学可接受的辅料。

[0033] 本发明第二方面提供了制备本发明第一方面所述组合物的方法,其包括以下步骤:使 (a) 5- 甲基四氢叶酸或其盐、(b) 氨基酸或其盐、和 (c) 任选的生理学可接受的辅料以任意的顺序混合;任选地,除去其中任选存在的溶剂,即得。

[0034] 根据本发明第二方面的方法,其中所述的组合物是口服固体制剂例如片剂、胶囊剂、颗粒剂、干混悬剂等,该方法包括以下步骤:使 (a) 5- 甲基四氢叶酸或其盐、(b) 氨基酸或其盐、和 (c) 任选的生理学可接受的辅料以任意的顺序混合;任选地,将所得混合物制片剂、胶囊剂、颗粒剂、干混悬剂,即得。

[0035] 根据本发明第二方面的方法,其中所述的组合物是冷冻干燥粉针剂,该方法包括以下步骤:使 (a) 5- 甲基四氢叶酸或其盐和 (b) 氨基酸或其盐以任意的顺序混合溶解于注射用水中;加入 (c) 任选的生理学可接受的辅料(例如但不限于赋形剂例如甘露醇等、酸碱调节剂例如盐酸或氢氧化钠等),溶解;过滤并除菌;将所得药液在 -25~-45° C (特别是在 -30~-40° C) 下预冻 1-5 小时,然后在 12~60 小时(特别是 12~36 小时)内经线性或非线性方式升温至 30~50° C (特别是升温至 35~45° C),再在 30~50° C (特别是在 35~45° C) 维持 1~5 小时,使药液中的水除去(一般而言使水份含量降低至固体残余物的 10% 以下,优选 8% 以下),即得。

[0036] 根据本发明第二方面的方法,其中所述的组合物是液体制剂例如口服液溶液或者注射溶液等,该方法包括以下步骤:使 (a) 5- 甲基四氢叶酸或其盐、(b) 氨基酸或其盐、和 (c) 溶媒以任意的顺序混合溶解;加入 (c) 任选的生理学可接受的辅料并使其溶解;使药液过滤,必要时进行过滤灭菌或者热压灭菌,即得。

[0037] 另外,本发明组合物还可用于制备治疗或预防哺乳动物例如人与 5- 甲基四氢叶酸或其盐缺乏有关的疾病的药物。例如本发明组合物为冷冻干燥粉针剂时,其可以在临用前用注射用水或者其它注射用溶媒,例如氯化钠注射液、葡萄糖注射液溶解,稀释,得到可直接使用的药物,然后经注射给予该哺乳动物。在本发明中,短语“与 5- 甲基四氢叶酸或其盐缺乏有关的疾病”例如但不限于:叶酸缺乏或相关病症,肿瘤或癌症特别是与使用叶酸拮抗剂有关疾病例如肿瘤或癌症。例如,本发明组合物可以用于高剂量甲氨蝶呤等叶酸拮抗

剂的解救。

[0038] 本发明任一方面或该任一方面的任一实施方案所具有的任一技术特征同样适用其它任一实施方案或其它任一方面的任一实施方案,只要它们不会相互矛盾,当然在相互之间适用时,必要的话可对相应特征作适当修饰。下面对本发明的各个方面和特点作进一步的描述。

[0039] 本发明所引述的所有文献,它们的全部内容通过引用并入本文,并且如果这些文献所表达的含义与本发明不一致时,以本发明的表述为准。此外,本发明使用的各种术语和短语具有本领域技术人员公知的一般含义,即便如此,本发明仍然希望在此对这些术语和短语作更详尽的说明和解释,提及的术语和短语如有与公知含义不一致的,以本发明所表述的含义为准。

[0040] 下面对本发明的各个方面作进一步描述。

[0041] 在本发明中,如无另外说明,%是重量/重量的百分数。

[0042] 本发明目的在于提供一种 5- 甲基四氢叶酸或其盐的制剂,该制剂稳定性好,降解产物少。实现该目的的方式是本发明在制备中加入至少一种氨基酸和其盐中的一种或多种,其中氨基酸及其盐为精氨酸、蛋氨酸、色氨酸、异亮氨酸和赖氨酸以及相应的盐。

[0043] 本发明组合物的活性成分可以选自 5- 甲基四氢叶酸或其盐,5- 甲基四氢叶酸盐包括钠盐、钙盐、镁盐和钡盐。

[0044] 本发明 5- 甲基四氢叶酸或其盐稳定的制剂包括注射剂和口服固体制剂,其中注射剂为冻干粉针剂和水针制剂,口服固体制剂为片剂和胶囊剂。

[0045] 在本发明组合物的一个实施方案中,该组合物为冻干粉针制剂,其中包含:

[0046]

(a) 5- 甲基四氢叶酸或其盐	25 重量份 (按 5- 甲基四氢叶酸计),
(b) 氨基酸或其盐	0.025 ~ 25 重量份,
(c) 生理学可接受的辅料	100 ~ 200 重量份。

[0047] 在本发明组合物的一个实施方案中,该组合物为水针制剂,其中包含:

[0048]

(a) 5- 甲基四氢叶酸或其盐	25mg/ml (按 5- 甲基四氢叶酸计),
(b) 氨基酸或其盐	0.025 ~ 25mg/ml,
(c) 等渗调节剂	调节到等渗溶液,
(c) 注射用水	适量,定容。

[0049] 在本发明组合物的一个实施方案中,该组合物为口服固体制剂例如片剂、胶囊剂等,其中包含:

[0050]

(a) 5- 甲基四氢叶酸或其盐	25 重量份 (按 5- 甲基四氢叶酸计)
------------------	-----------------------

(b) 氨基酸或其盐	0.025 ~ 25 重量份
(c) 生理学可接受的辅料	100 ~ 200 重量份

[0051] 在本发明中,在以上的配方中的 5- 甲基四氢叶酸或其盐包括 5- 甲基四氢叶酸、5- 甲基四氢叶酸钠、5- 甲基四氢叶酸钙、5- 甲基四氢叶酸镁和 5- 甲基四氢叶酸钡。

[0052] 在本发明中,在以上的配方中的氨基酸或其盐选自精氨酸、蛋氨酸、色氨酸、异亮氨酸和赖氨酸以及相应盐中的一种或多种。

[0053] 在本发明中,在冻干粉针剂配方中的赋形剂选自甘露醇、注射用乳糖、氯化钠、甘氨酸钠、山梨醇或低分子右旋糖酐的一种。

[0054] 在本发明中,在水针制剂配方中的等渗调节剂为氯化钠、葡萄糖、甘露醇、碳酸氢钠和磷酸二氢钠中的一种,调节溶液渗透压近似人体生理等渗点。

[0055] 在本发明中,口服固体制剂配方中的其他辅料指的是填充剂、粘合剂、崩解剂和润滑剂,具体填充剂为乳糖、淀粉、甘露醇;粘合剂为玉米淀粉、明胶、甲基纤维素、乙基纤维素、羟丙基纤维素和聚乙烯吡咯酮;崩解剂为微晶纤维素、海藻酸、甲基纤维素、羧甲基纤维素钠,交联聚乙烯吡咯酮;润滑剂为硬脂酸金属盐、滑石粉、苯甲酸钠和微粉硅胶。

[0056] 在本发明中,口服固体制剂配方可以直接压制成片剂,也可以直接采用胶囊填充剂填充为胶囊剂。

[0057] 本发明上述提供的 5- 甲基四氢叶酸或其盐各种剂型的配方,实验证明,根据以上配方做成的制剂稳定性好,均可在常温下保存,与不添加特定的氨基酸或其盐的配方相比,稳定性得到了极大的改善。

[0058] 本发明通过在注射用 5- 甲基四氢叶酸钙盐冻干粉针中添加特定的氨基酸或其盐的处方,与添加其它氨基酸例如半胱氨酸的处方相比,稳定性有显著提高。

[0059] 例如,下表显示了本发明组合物以冻干粉针形式提供的配方(1000 瓶量)、制成的制剂和一些产品性能,其中活性成分为 5- 甲基四氢叶酸钙,其量以 5- 甲基四氢叶酸计。

[0060]

配方编号	#601	#602	#603	#604	#605	#606	#607	#608
活性成分	50g	50g	50g	50g	50g	50g	50g	50g
甘露醇	200g	200g	200g	200g	200g	200g	200g	200g
精氨酸		10g					0.05g	50g
色氨酸			10g					
蛋氨酸				10g				
半胱氨酸					10g			
盐酸精氨酸						10g		

[0061] #601 至 #608 各配方分别配制成 50mg/2.5ml 的水溶液,经冷冻干燥制成粉针剂。具体工艺为:使 5-甲基四氢叶酸或其盐和氨基酸或其盐溶解于适量注射用水中;加入甘露醇,溶解,用 1M 氢氧化钠或者 1M 盐酸调节 pH 至 7.5 ± 0.05 ,加水定容;过滤并除菌;将所得药液在 -30°C ~ -40°C 下预冻 4 小时,然后在 24 小时内经基本呈线性的方式升温至 30°C ~ 50°C (特别是升温至 40°C ~ 45°C ,再在 40°C ~ 45°C 维持 3 小时,使药液中的水除去至 5% 以下,密塞,即得。

[0062] 各配方在冷冻干燥后的冻干物外观色泽,以及这些样品在用注射用水复溶成冻干前的浓度后溶液的 pH 值和复溶后可见异物,分别如下:

[0063]

配方编号	#601	#602	#603	#604	#605	#606	#607	#608
冻干后 pH 值	7.4	7.6	7.6	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5
外观色泽	微黄色 块状物	白色块 状物	白色块 状物	白色块 状物	白色块 状物	白色块 状物	白色块 状物	白色块 状物
复溶后可见异物	澄清	澄清	澄清	澄清	澄清	澄清	澄清	澄清

[0064] 在本发明中可以使用以下高效液相色谱法测定本发明组合物的含量和有关物质:

[0065] 色谱条件:用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;以含 0.1% 四丁基氢氧化铵的磷酸氢二钠缓冲液(取 10% 四丁基氢氧化铵水溶液 8.0ml 和磷酸氢二钠 2.2g,加水溶解使成 780ml,并用磷酸调节 pH 值至 7.8)-甲醇(78:22)为流动相;柱温为 40°C ;检测波长为 280nm。

[0066] 测定法:精密称取装量差异项下的内容物适量(相当于 5-甲基四氢叶酸 20mg)置 100ml 量瓶中,用水溶解并稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液,精密量取 $20\mu\text{l}$ 注入液相色谱仪,记录色谱图;另精密称取 5-甲基四氢叶酸钙对照品适量,同法测定,按外标法以峰面积计算,即得。

[0067] 按照药品注册审批要求和中国药典 2010 版二部附录 XIX C 原料药与药物制剂稳定性试验指导原则,对上文制备的编号为 #601 至 #608 的各 5-甲基四氢叶酸钙冻干粉针剂进行影响因素试验,并分别考察各样品的外观色泽(肉眼观察)、酸碱度(用注射用水复溶至冻干前的浓度、测定溶液的 pH 值)、可见异物(用注射用水复溶至冻干前的浓度,肉眼观察)、相对含量(% ,HPLC 法测定,计算各时间点相对于 0 时间点的含量百分数)。结果如下:

[0068] #601:

[0069]

项目 \ 指标		外观色泽	酸碱度	可见异物	相对含量(%)
强 光 照 射 实 验	0 天	微黄色冻干块状物	7.4	澄清	100.0
	5 天	黄色冻干块状物	7.7	澄清	92.3
	10 天	黄色冻干块状物	8.0	有不溶物	86.5
60℃ 高 温 实 验	0 天	微黄色冻干块状物	7.4	澄清	100.0
	5 天	黄色冻干块状物	8.1	有不溶物	84.7
	10 天	黄色冻干块状物	8.3	有不溶物	72.4

[0070] #602 :

[0071]

项目 \ 指标		外观色泽	酸碱度	可见异物	相对含量(%)
强 光 照 射 实 验	0 天	白色冻干块状物	7.6	澄清	100.0
	5 天	白色冻干块状物	7.6	澄清	99.8
	10 天	白色冻干块状物	7.6	澄清	99.6
60℃ 高 温 实 验	0 天	白色冻干块状物	7.6	澄清	100.0
	5 天	白色冻干块状物	7.6	澄清	99.7
	10 天	白色冻干块状物	7.7	澄清	99.4

[0072] #603 :

[0073]

项目 \ 指标		外观色泽	酸碱度	可见异物	相对含量(%)
强 光 照 射 实 验	0 天	白色冻干块状物	7.6	澄清	100.0
	5 天	白色冻干块状物	7.6	澄清	100.0
	10 天	白色冻干块状物	7.7	澄清	99.7
60℃ 高 温 实 验	0 天	白色冻干块状物	7.6	澄清	100.0
	5 天	白色冻干块状物	7.7	澄清	99.9
	10 天	白色冻干块状物	7.7	澄清	99.6

[0074] #604 :

[0075]

项目 \ 指标		外观色泽	酸碱度	可见异物	相对含量(%)
强光照实验	0 天	白色冻干块状物	7.5	澄清	100.0
	5 天	白色冻干块状物	7.5	澄清	100.0
	10 天	白色冻干块状物	7.5	澄清	99.6
60℃高温实验	0 天	白色冻干块状物	7.5	澄清	100.0
	5 天	白色冻干块状物	7.6	澄清	99.8
	10 天	白色冻干块状物	7.6	澄清	99.6

[0076] #605 :

[0077]

项目 \ 指标		外观色泽	酸碱度	可见异物	相对含量(%)
强光照实验	0 天	白色冻干块状物	7.5	澄清	100.0
	5 天	白色冻干块状物	7.5	澄清	98.6
	10 天	白色冻干块状物	7.5	澄清	96.3
60℃高温实验	0 天	白色冻干块状物	7.5	澄清	100.0
	5 天	白色冻干块状物	7.6	澄清	96.5
	10 天	白色冻干块状物	7.6	有不溶物	90.2

[0078] #606 :

[0079]

项目 \ 指标		外观色泽	酸碱度	可见异物	相对含量(%)
强光照实验	0 天	白色冻干块状物	7.5	澄清	100.0
	5 天	白色冻干块状物	7.6	澄清	99.8
	10 天	白色冻干块状物	7.5	澄清	99.7
60℃高温实验	0 天	白色冻干块状物	7.5	澄清	100.0
	5 天	白色冻干块状物	7.6	澄清	99.8
	10 天	白色冻干块状物	7.6	澄清	99.6

[0080] #607 :

[0081]

项目 \ 指标		外观色泽	酸碱度	可见异物	相对含量(%)
强光照 射实验	0 天	白色冻干块状物	7.5	澄清	100.0
	5 天	白色冻干块状物	7.6	澄清	99.8
	10 天	白色冻干块状物	7.5	澄清	99.6
60℃ 高温 实验	0 天	白色冻干块状物	7.5	澄清	100.0
	5 天	白色冻干块状物	7.6	澄清	99.7
	10 天	白色冻干块状物	7.6	澄清	99.4

[0082] #608 :

[0083]

项目 \ 指标		外观色泽	酸碱度	可见异物	相对含量(%)
强光照 射实验	0 天	白色冻干块状物	7.5	澄清	100.0
	5 天	白色冻干块状物	7.6	澄清	99.9
	10 天	白色冻干块状物	7.5	澄清	99.9
60℃ 高温 实验	0 天	白色冻干块状物	7.5	澄清	100.0
	5 天	白色冻干块状物	7.6	澄清	100.0
	10 天	白色冻干块状物	7.6	澄清	99.9

[0084] 通过以上注射用 5- 甲基四氢叶酸钙冻干粉针的影响因素结果可以看出, 不添加氨基酸的处方成品极其不稳定, 而添加精氨酸、色氨酸、蛋氨酸和精氨酸盐酸盐的处方做出来的成品很稳定, 在强光和高温的条件下, 性状几乎无变化, 含量下降不明显。同时对精氨酸的添加量按 5- 甲基四氢叶酸的 0.1% ~ 100% 进行考察, 考察结果发现, 该添加量能满足 5- 甲基四氢叶酸制剂的稳定性。

[0085] 按中国药典 2010 版二部附录 XI X C 原料药与药物制剂稳定性试验指导原则对以上 #602、#603 和 #604 三个试样进行加速和长期实验, 并分别考察各样品的性状 (肉眼观察, 结果显示各样品在不同取样时间点均为白色冻干块状物)、pH 值 (用注射用水复溶至冻干前的浓度、测定溶液的 pH 值)、可见异物 (用注射用水复溶至冻干前的浓度, 肉眼观察)、有关物质 (HPLC 法测定, 计算杂质峰面积点总峰面积的百分数, 杂质量小于 2% 记为符合规定)、相对含量 (% , HPLC 法测定, 计算各时间点相对于 0 时间点的含量百分数)。结果如下:

[0086]

方法	样品	月	pH	可见异物	有关物质	相对含量
加速 试验	#602	1	7.6	合格	符合规定	100.0%
		3	7.7	合格	符合规定	99.7%
		6	7.7	合格	符合规定	99.2%
	#603	1	7.6	合格	符合规定	100.0%
		3	7.6	合格	符合规定	99.7%
		6	7.7	合格	符合规定	99.3%
	#604	1	7.5	合格	符合规定	100.0%
		3	7.5	合格	符合规定	99.6%
		6	7.6	合格	符合规定	99.1%

[0087]

方法	样品	月	pH	可见异物	有关物质	相对含量
长期试 验	#602	3	7.6	合格	符合规定	100.0%
		12	7.7	合格	符合规定	99.8%
		24	7.8	合格	符合规定	99.4%
	#603	3	7.6	合格	符合规定	100.0%
		12	7.6	合格	符合规定	99.5%
		24	7.7	合格	符合规定	99.2%
	#604	3	7.5	合格	符合规定	100.0%
		12	7.6	合格	符合规定	99.4%
		24	7.7	合格	符合规定	99.3%

[0088] 发明人在另外试验中,使用赖氨酸替换 #602 中的氨基酸,获得的样品进行上文所述影响因素试验以及加速和长期实验,结果显示与 #602 样品一致。

[0089] 由上可知,本发明一些实例制备的制剂产品稳定性良好,长期实验 2 年质量符合要求。

具体实施方式

[0090] 以下结合实施例清晰说明本发明,但不限定本发明的实施范围

[0091] 实施例 1:注射用 5- 甲基四氢叶酸的制备 (1000 瓶量)

[0092]

5-甲基四氢叶酸(钙盐)	50g(以 5-甲基四氢叶酸计)
精氨酸	10g
甘露醇	200g
1mol/L 氢氧化钠溶液	调节 pH 值至 7.5 左右
注射用水加至	2L

[0093] 工艺:取约 1.5L 注射用水,加入甘露醇、精氨酸和 5-甲基四氢叶酸钙,搅拌溶解后用 1mol 氢氧化钠溶液调节 pH 值至 7.5 左右,加注射用水至 2L,将溶液在无菌条件下进行除菌过滤,溶液进行分装,装量为 2ml,并进行冷冻干燥。每瓶含 5-甲基四氢叶酸 50mg。

[0094] 实施例 2:注射用 5-甲基四氢叶酸的制备(1000 瓶量)

[0095]

5-甲基四氢叶酸(钙盐)	50g(以 5-甲基四氢叶酸计)
异亮氨酸	10g
精氨酸	5g
甘露醇	200g
1mol/L 氢氧化钠溶液	调节 pH 值至 7.5 左右
注射用水加至	2L

[0096] 工艺:取约 1.5L 注射用水,加入甘露醇、异亮氨酸、精氨酸和 5-甲基四氢叶酸钙,搅拌溶解后用 1mol 氢氧化钠溶液调节 pH 值至 7.5 左右,加注射用水至 2L,将溶液在无菌条件下进行除菌过滤,溶液进行分装,装量为 2ml,并进行冷冻干燥。每瓶含 5-甲基四氢叶酸 50mg。

[0097] 实施例 3:5-甲基四氢叶酸水针制剂的制备(1000 瓶量)

[0098]

5-甲基四氢叶酸(钙盐)	50g(以 5-甲基四氢叶酸计)
蛋氨酸	50g
氯化钠	86g
1mol/L 氢氧化钠溶液	调节 pH 值至 7.5 左右
注射用水加至	2L

[0099] 工艺:取约 1.5L 注射用水,加入氯化钠、蛋氨酸和 5-甲基四氢叶酸钙,搅拌溶解后用 1mol 氢氧化钠溶液调节 pH 值至 7.5 左右,加注射用水至 2L,将溶液在无菌条件下进行除菌过滤,溶液进行分装,装量为 2ml。每瓶含 5-甲基四氢叶酸 50mg。

[0100] 实施例 4:5-甲基四氢叶酸片剂的制备(1000 片量)

[0101]

5-甲基四氢叶酸(钙盐)	25g(以 5-甲基四氢叶酸计)
色氨酸	5g
乳糖	100g
微晶纤维素	15g

[0102]

PVP(10%的乙醇溶液)	适量
硬脂酸镁	1.5g

[0103] 工艺:原辅料分别粉碎,并过 100 目筛,取 5- 甲基四氢叶酸钙、色氨酸、乳糖和微晶纤维素投入混合机混合均匀,加入适量 PVP 溶液制成软材,再转移至制粒机中制粒,制粒后在不超过 65℃ 条件下干燥,用整粒机整粒,加入硬脂酸镁混合均匀,压片。制成 1000 片 5- 甲基四氢叶酸片剂,每片含 5- 甲基四氢叶酸 25mg。

[0104] 实施例 5:5- 甲基四氢叶酸胶囊剂的制备 (1000 颗胶囊量)

[0105]

5-甲基四氢叶酸(钙盐)	25g(以 5-甲基四氢叶酸计)
色氨酸	5g
乳糖	100g
微晶纤维素	15g
PVP(10%的乙醇溶液)	适量
硬脂酸镁	1.5g

[0106] 工艺:原辅料分别粉碎,并过 100 目筛,取 5- 甲基四氢叶酸钙、色氨酸、乳糖和微晶纤维素投入混合机混合均匀,加入适量 PVP 溶液制成软材,再转移至制粒机中制粒,制粒后在不超过 65℃ 条件下干燥,用整粒机整粒,加入硬脂酸镁混合均匀,用胶囊机进行填充,每颗胶囊含 5- 甲基四氢叶酸 25mg。

[0107] 实施例 6:不同物料和投料比对试样性能的考察

[0108] 以精氨酸、赖氨酸及其盐作为氨基酸,考察不同物料配比对本发明组合物性能的影响。

[0109] 试样 R1:

[0110] 5- 甲基四氢叶酸钙 100mg(以 5- 甲基四氢叶酸计)、

[0111] 精氨酸 10mg、

[0112] 1M 氢氧化钠或 1M 盐酸(适量,调节终溶液的 pH 值至 7.5 ± 0.1)、

[0113] 注射用水(适量,加至 2ml)

[0114] 制备工艺:取注射用水适量,加入、氨基酸和活性成分使溶液,调节 pH 值,补加注射用水至全量,过滤除菌,分装到 7ml,进行冷冻干燥;将所得药液在 -30°C ~ -40°C 下预冻 4 小时,然后在 24 小时内经基本呈线性的方式升温至 30°C ~ 50°C (特别是升温至 40°C ~ 45°C ,再在 40°C ~ 45°C 维持 3 小时,使药液中的水除去至 4% 以下,密塞,即得冷冻干燥的本发明组合物。

- [0115] 试样 R2 :除了精氨酸用量改为 100mg 外,其它同 R1。
- [0116] 试样 R2a :将精氨酸改为精氨酸和赖氨酸,其它同 R2。
- [0117] 试样 R3 :除了精氨酸用量改为 200mg 外,其它同 R1。
- [0118] 试样 R4 :除了精氨酸改为盐酸精氨酸外,其它同 R1。
- [0119] 试样 R5 :除了精氨酸改为盐酸精氨酸外,其它同 R3。
- [0120] 试样 R6 :除了精氨酸改为赖氨酸外,其它同 R1。
- [0121] 试样 R7 :除了精氨酸改为赖氨酸外,其它同 R2。
- [0122] 试样 R8 :除了精氨酸改为赖氨酸外,其它同 R3。
- [0123] 试样 R9 :除了赖氨酸改为盐酸赖氨酸外,其它同 R1。
- [0124] 试样 R10 :除了赖氨酸改为盐酸赖氨酸外,其它同 R3。
- [0125] 试样 R11 :除了精氨酸改为半胱氨酸外,其它同 R2。
- [0126] 试样 R12 :除了精氨酸改为巯基乙胺外,其它同 R2。
- [0127] 试样 R13 :除了精氨酸改为泛酰巯基乙胺外,其它同 R2。
- [0128] 试样 R14 :除了精氨酸改为还原型谷胱甘肽外,其它同 R2。
- [0129] 试样 R15 :将 5- 甲基四氢叶酸钙改用 5- 甲基四氢叶酸,其它同 R2。
- [0130] 试样 R16 :将 5- 甲基四氢叶酸钙改用 5- 甲基四氢叶酸镁,其它同 R2。
- [0131] 试样 R17 :将 5- 甲基四氢叶酸钙改用 5- 甲基四氢叶酸钠,其它同 R2。
- [0132] 将以上各试样密封,置于 55° C 避光条件下,放置 20 天,用 HPLC 法测定各试样在放置 20 天后相对于相应样品 0 天时的百分含量。结果显示,R1 至 R10 各样品含量均在 98~101% 之间。对于使用相同氨基酸但用量不同的试样,含量差异不明显,例如 R1、R2、R3 三试样 20 天的相对含量分别为 99.3%、99.6%、99.4%。在终产品调节 pH 值一致的情况下,使用氨基酸的游离形式和盐型对结果基本无影响,例如 R4 和 R1 在放置 20 天后的相对含量仅相差 0.2 个百分点。然而出人意料的是,在放置 20 天后 R11 至 R14 各样品含量降至 93% 以下,例如 R11 为 91.1%、R12 为 88.7%。另外,使用的活性成分不同对于结果无影响,例如 R2、R15、R16、R17 四个样品在放置 20 天后的相对含量相差小于 0.4 个百分点。
- [0133] 另外参考 R1 配方和制法,不同的是将其中的活性成分 5- 甲基四氢叶酸钙更换为 5- 甲酰四氢叶酸钙 (即亚叶酸钙),得到的冻干粉针照上述 55° C 放置 20 天后,其中活性成分的相对含量为 94.2%。另外参考 R1 配方和制法,不同的是将其中的活性成分 5- 甲基四氢叶酸钙更换为 5- 甲酰四氢叶酸钙 (即亚叶酸钙),并且将其中的精氨酸换成赖氨酸,得到的冻干粉针照上述 55° C 放置 20 天后,其中活性成分的相对含量为 93.4%。
- [0134] 另外,将以上各试样配制成水溶液后,不进行冷冻干燥即直接密封在安瓿瓶中,同样 55° C 放置 20 天处理,比较本发明组合物在水溶液状态与冷冻干燥状态下的性能。结果显示,本发明特定氨基酸制备的组合物水溶液 (例如由以上 R1 至 R10 获得) 在 55° C 放置 20 天各样品含量均在 97~101% 之间,并且与其对应处方的冷冻干燥产品相比相对含量仅不超过 1 个百分点。
- [0135] 另外,分别参考 R1、R2、R3 的制备工艺,将氨基酸分别替换成蛋氨酸、色氨酸、或异亮氨酸,配制成 9 种配方的药液,将这些药液照 R1 的方法进行冷冻干燥。冻干品在 5 秒钟内缓缓加注射用水 2ml 后静置,完全溶解的时间在 90 秒以上。出人意料地发现,本发明上述使用精氨酸和赖氨酸或其盐制成的粉针剂 (R1 至 R10,R15 至 R17) 完全溶解时间均在 45

秒以内。

[0136] 实施例 7 :不同混合工艺对试样性能的考察

[0137] 尽管上文通过冷冻干燥的方式可以使活性成分与氨基酸以基本上均匀的方式混合,显示活性成分具有良好的稳定性。本试验试图考察简单物理混合对活性成分的影响。

[0138] 试样 21 :处方为 :5- 甲基四氢叶酸钙 100mg (以 5- 甲基四氢叶酸计)、盐酸精氨酸 200mg (基本上同上文 R5,但不使用水)。制备方法为 :将活性成分与氨基酸充分混合均匀,然后在研钵中充分研细,使混合粉末能通过 160 目筛子,必要时在 50° C 干燥至水份低于 4%,密封于西林瓶中,即得本发明组合物。

[0139] 试样 22 :除了氨基酸改用盐酸赖氨酸外,其它同试样 21。

[0140] 试样 23 :除了氨基酸改用精氨酸外,其它同试样 21。

[0141] 试样 24 :除了氨基酸改用赖氨酸外,其它同试样 21。

[0142] 将以上各密封试样,置于 55° C 避光条件下,放置 20 天,用 HPLC 法测定各试样在放置 20 天后相对于相应样品 0 天时的百分含量。结果显示, R21 至 R24 各样品含量均在 97.5~101% 之间。并且与上文通过冷冻干燥方式获得的样品相比,在放置 20 天后的相对含量相差小于 0.5 个百分点,例如试样 21 与其对应的试样 R5 在放置 20 天后的相对含量相差 0.31 个百分点。由此表明不同混合工艺对产品性能无明显影响。