

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

A61K 47/44

A61K 31/335 A61P 35/00



[12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 94116580.9

[45] 授权公告日 2004 年 3 月 3 日

[11] 授权公告号 CN 1140297C

[22] 申请日 1994.9.28 [21] 申请号 94116580.9

[30] 优先权

[32] 1993.9.29 [33] US [31] 128026

[71] 专利权人 布里斯托尔 - 米尔斯 · 斯奎布公司

地址 美国新泽西

[72] 发明人 S · N · 阿格哈卡 U · S · 戈盖特

T · 卡瓦内克

审查员 赵喜元

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利
商标事务所

代理人 陈季壮

权利要求书 2 页 说明书 23 页

[54] 发明名称 稳定的药物组合物和稳定化溶剂

[57] 摘要

使用含低羧酸根阴离子含量的溶剂系统制备在贮存中对降低敏感的含太平洋紫杉、替尼泊甙、喜树碱或其它抗肿瘤药的稳定的药物组合物。该溶剂系统是乙醇和聚氧乙烯化蓖麻油的混合物。聚氧乙烯化蓖麻油用酸处理，或与氧化铝接触，以降低溶剂的羧酸根阴离子含量。低羧酸根离子含量的溶剂提供了长的货架寿命和较低量的降解付产物。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1. 一种稳定组合物，包括至少一种药用化合物，选自太平洋紫杉、喜树碱和它们的衍生物；以及一种能分散或溶解所述药用化合物的溶剂，所述溶剂包括有效量的具有足够低的羧酸根阴离子含量的非离子加溶剂，以防止所述药用化合物催化降解，

条件是通过加入一种不为 HBr, HF 和 HI 的酸将包括太平洋紫杉、聚乙氧基化蓖麻油和乙醇的组合物调节到 pH 低于 8.1。

2. 一种稳定组合物，包括至少一种药用化合物，选自太平洋紫杉、喜树碱和它们的衍生物；以及一种能分散或溶解所述药用化合物的溶剂，所述溶剂包括有效量的具有足够低的羧酸根阴离子含量的非离子加溶剂，以防止所述药用化合物催化降解，其中在将所述药用化合物分散在所述溶剂中之前，所述溶剂已被处理以降低羧酸根阴离子含量，所述处理包括使所述溶剂与氧化铝接触。

3. 权利要求 1 或 2 的组合物，其中所述溶剂具有每毫升溶剂 0.6×10^{-6} 克当量羧酸根阴离子。

4. 权利要求 1 或 2 的组合物，其中所述溶剂包括烯化氧和类脂的缩合产物。

5. 权利要求 4 的组合物，其中所述溶剂包括烯化氧和聚氧乙基化蓖麻油或聚氧乙基化 12-羟基硬脂酸的缩合产物。

6. 权利要求 5 的组合物，其中所述聚氧乙基化类脂缩合产物是由蓖麻油和每摩尔蓖麻油 20-40 摩尔环氧乙烷制成。

7. 权利要求 1 或 2 的组合物，其中所述溶剂的至少一种成分是醇。

8. 权利要求 7 的组合物，其中所述醇选自乙醇和聚乙二醇。

9. 权利要求 8 的组合物，其中所述溶剂是乙醇和所述聚氧乙基化蓖麻油混合物，二者的体积比为 50: 50。

10. 权利要求 1 或 2 的组合物，其中所述溶剂含有有效量的酸，以保持羧酸根阴离子含量低于或等于每毫升溶剂 0.6×10^{-6} 克当量。

11. 权利要求 10 的组合物，其中所述酸是无机酸或乙酸。

12. 权利要求 11 的组合物, 其中所述无机酸选自 HCl, HBr, HF, HI, H₂SO₄ 和 HNO₃.

13. 制备权利要求 1-8 中任意一项稳定组合物的方法, 包括以下步骤:

制备溶剂和处理所述溶剂以降低羧酸根含量, 以及将所述药用化合物分散在所述溶剂中。

14. 权利要求 13 的方法, 其中所述处理步骤包括使所述溶剂与氧化铝接触以降低溶剂的羧酸根阴离子含量。

15. 权利要求 13 的方法, 其中所述处理步骤包括加入某一用量的酸, 以提供每毫升所述溶剂至少 5.6×10^{-6} 克 H⁺。

16. 权利要求 15 的方法, 其中所述处理步骤包括加入某一用量的酸, 以提供每毫升所述溶剂 5.6×10^{-6} - 8.4×10^{-6} 克 H⁺。

17. 权利要求 15 的方法, 其中所述酸是无机酸或乙酸。

18. 权利要求 17 的方法, 所述无机酸选自 HCl, HBr, HF, HI, H₂SO₄ 和 HNO₃。

稳定的药物组合物和稳定化溶剂

本发明涉及一种用于制备含药物的稳定的注射浓缩物的溶剂系统。更具体地说,本发明涉及一种使用具有低羧酸根(carboxylate)阴离子含量的处理的溶剂系统的稳定的注射浓缩物以及一种稳定药物组合物的方法。

药物组合物一般要求合适的溶剂或载体系统分散活性成分,以使组合物能给患者服用。溶剂一般要能溶解或分散治疗有效量的活性成分以制备有效的注射组合物。此外,溶剂系统必须能与活性溶剂相容且对患者无毒。

多种药物不能充分溶于任一种溶剂使所得组合物效率不高。为了克服溶剂溶解活性剂不足的缺点,有时使用两种或多种溶剂的混合物。这些助溶剂系统适于溶解许多在载体系统中不溶或不分散的药物。

助溶剂系统的一例掺入了极性溶剂和非溶剂的混合物,例如聚乙二醇和 *Cremophor EL* 的混合物。*Cremophor EL* 是蓖麻油和环氧乙烷的缩合物(BASF 产)。另一种适用于多种药物的助溶剂系统

是乙醇和 *Cremophor EL* 的 50 : 50 混合物。虽然这些助溶剂系统能有效地溶解许多化合物，但它们并不是没有其缺点。例如，已知乙醇和 *Cremophor* 的助溶剂在用浸液稀释时形成颗粒。另外，在某些组合物长期贮存的过程中形成了未知组成的纤维质沉淀。一般认为，这样的沉淀是诸组分在溶剂中或加溶剂中的分解产物。

在 WO91/02531(1991 年 3 月 7 日公告)中，公开了 *Cremophor* 对肿瘤细胞的耐多药性表型有逆转作用，不改变母细胞系的药物敏感性。还公开，在骨髓受到微扰之后，*Cremophor* 提高了红细胞生成重建能力和/或维持红细胞生成重建能力，以保护在辐射和/或化疗癌的过程中的患者。

包括助溶剂系统的药物组合物另一例子是 *Taxol*，它含有于乙醇和 *Cremophor EL* 的 50 : 50 混合物中的太平洋紫杉(*paclitaxel*)。太平洋紫杉是从太平洋黄树皮分离出的，已用于治疗癌症患者。虽然乙醇和 *Cremophor EL* 助溶剂系统有效地溶解了足够量的太平洋紫杉，但已表明所得组合物具有有限的货架寿命。在长期贮存的过程中，组合物的效力或药物活性可降低 60% 之多。

已发现，用乙醇作助溶剂的市售的 *Cremophor EL* 虽然在溶解药物方面有效，但制得的组合物显示出长期贮存不稳定。具体地说，*Taxol* 于 50 : 50(体积)脱水乙醇和商品级 *Cremophor EL* 助溶剂中的药物组合物显示了在 50℃ 贮存 13 星期之后效力损失高于 60%。效力的损失归因于在贮存过程中太平洋紫杉分解。

以前在开发货架稳定的某些药物组合物于各种助溶剂系统中的尝试都没有完全成功。所以,在本领域仍需要一种能用于制备稳定组合物、特别是含药物的稳定的注射组合物的助溶剂系统。

本发明涉及溶剂系统,特别是适用于制备含至少一种药物的稳定的注射组合物的助溶剂系统。所以,本发明的一个主要目的是提供一种制备溶剂的方法和制备包括这种新型溶剂和稳定的药物组合物的方法。

本发明公开了以下内容:

1.一种稳定组合物,包括至少一种药用化合物,选自太平洋紫杉、喜树碱和它们的衍生物;以及一种能分散或溶解所述药用化合物的溶剂,所述溶剂包括有效量的具有足够低的羧酸根阴离子含量的非离子加溶剂,以防止所述药用化合物催化降解,

条件是通过加入一种不为 HBr, HF 和 HI 的酸将包括太平洋紫杉、聚氧乙基化蓖麻油和乙醇的组合物调节到 pH 低于 8.1。

2.一种稳定组合物,包括至少一种药用化合物,选自太平洋紫杉、喜树碱和它们的衍生物;以及一种能分散或溶解所述药用化合物的溶剂,所述溶剂包括有效量的具有足够低的羧酸根阴离子含量的非离子加溶剂,以防止所述药用化合物催化降解,其中在将所述药用化合物分散在所述溶剂中之前,所述溶剂已被处理以降低羧酸根阴离子含量,所述处理包括使所述溶剂与氧化铝接触。

3.上款 1 或 2 的组合物,其中所述溶剂具有每毫升溶剂 0.6×10^{-6} 克当量羧酸根阴离子。

4.上款 1 或 2 的组合物,其中所述溶剂包括烯化氧和类脂的缩合产物。

5.上款 4 的组合物,其中所述溶剂包括烯化氧和聚氧乙基化蓖麻油或聚氧乙基化 12-羟基硬脂酸的缩合产物。

6.上款 5 的组合物,其中所述聚氧乙基化类脂缩合产物是由蓖麻油和每摩尔蓖麻油 20-40 摩尔环氧乙烷制成。

7. 上款 1 或 2 的组合物, 其中所述溶剂的至少一种成分是醇。
8. 上款 7 的组合物, 其中所述醇选自乙醇和聚乙二醇。
9. 上款 8 的组合物, 其中所述溶剂是乙醇和所述聚氧乙基化蓖麻油混合物, 二者的体积比为 50: 50。
10. 上款 1 或 2 的组合物, 其中所述溶剂含有有效量的酸, 以保持羧酸根阴离子含量低于或等于每毫升溶剂 0.6×10^{-6} 克当量。
11. 上款 10 的组合物, 其中所述酸是无机酸或乙酸。

已经表明, 由本发明溶剂系统制得的稳定的药物组合物具有比以前的组合物更大的货架寿命。本发明的助溶剂系统特别适用于那些在被羧酸根阴离子催化时显示出分解性的药物化合物。特别重要的是抗肿瘤药, 例如太平洋紫杉、替尼泊甙、喜树碱以及它们的衍生物。

本发明的溶剂系统包括一种非离子加溶剂。这种溶剂系统一般包括溶剂和加溶剂。在本发明优选形式中, 加溶剂是聚氧化烯改性的类脂类和烯化氧, 如聚乙二醇及其衍生物。加溶剂可以是烯化氧和类脂或脂肪酸的缩合产物。优选的溶剂系统包括聚氧乙基化蓖麻油, 如以商品名 *Cremophor EL* 销售的物质。对 *Cremophor EL* 进行处理以将羧酸根阴离子含量降到足够低的浓度, 从而最大限度地减少被羧酸根阴离子催化的药物的分解。通过使 *Cremophor EL* 与氧化铝床接触分离羧酸根阴离子以及其它杂质或通过加入酸, 特别是无机酸, 如 HCl 或 HNO_3 来降低 *Cremophor EL* 的羧酸根阴离子

含量。在其它方案中，用反应物处理溶剂以降低羧酸根阴离子或转化羧酸根阴离子成非反应形式。

通过制备稳定的药物组合物也获得本发明的诸优点，所述组合物包括至少一种抗肿瘤化合物和一种适用于分散抗肿瘤化合物的溶剂，该溶剂包括加容量的一种具有足够低的羧酸根阴离子含量的聚氧乙烯化的蓖麻油以基本上防止抗肿瘤化合物的羧酸根阴离子催化降解。

通过提供一种稳定含选自太平洋紫杉和替尼泊甙的一种药物和一种含乙醇的溶剂和加容量的至少一种加溶剂的药物组合物的方法获得了本发明的其它优点，该方法包括处理溶剂以将羧酸根含量降到足够低的水平，从而基本上防止药物的羧酸根阴离子催化降解。

本发明克服了以前注射组合物和溶剂系统的缺点和局限性，提供了一种方便有效的制备溶剂系统的方法和稳定适用注射的药物组合物的方法。本发明主要针对适用于制备稳定的药物组合物的溶剂系统以及制备和稳定药物组合物的方法。

令人惊奇地发现，在贮存过程中太平洋紫杉与乙醇在 50 : 50 (V/V) 乙醇 : Cremophr 的媒体中反应；在媒体中羧酸根阴离子使太平洋紫杉分解催化。已发现，降低溶剂的羧酸根浓度在药物组合物中产生了稳定效果。由于降低了药物组合物的分解速率和降低了分解产物的形成速率，较低的羧酸根浓度延长了组合物的货架寿命。

溶剂系统具有足够低的杂质含量，以在药物组合物中提供稳定

作用。通过用药用载体或稀释剂稀释,由本方法制得的所得药物组合物可用于制备注射组合物。这种组合物足够稳定,最大限度地降低了活性化合物的降解和减少贮存过程中的药效损失。稀释的组合物未见形成沉淀,从而药用活性化合物可以容易使用的剂型贮存。

优选方案中的药用组合物包括至少一种在贮存过程中有可能降解的药用化合物,其中分解反应受羧酸根阴离子的作用而被催化。优选的药用化合物具有抗肿瘤活性(如以商品名 *Taxal* 销售的太平洋紫杉)。也可以使用 *Taxol* 的各种类似物和衍生物。

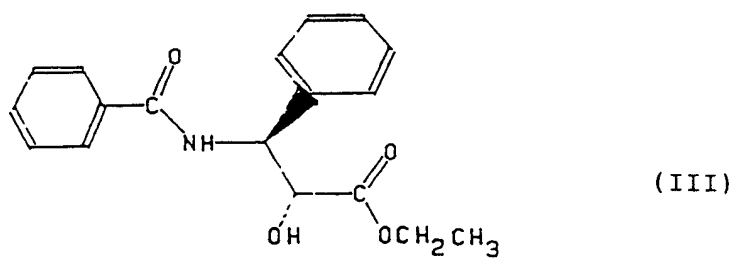
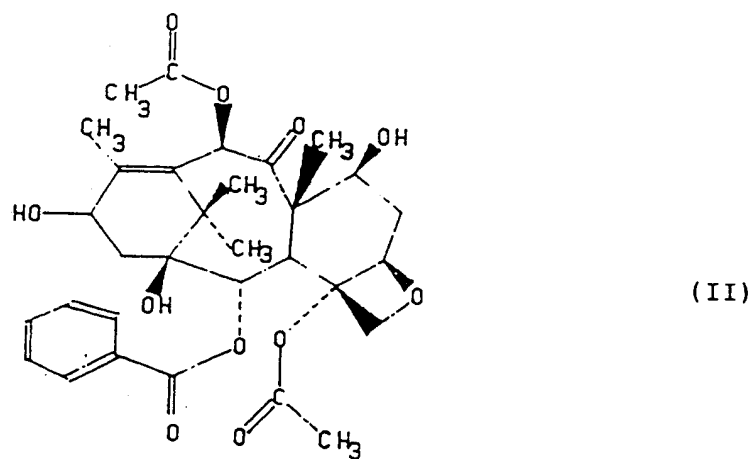
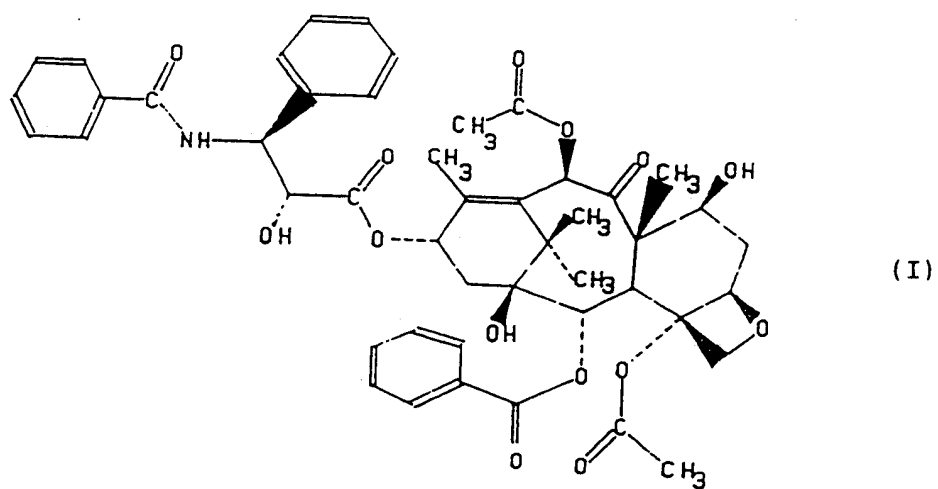
Taxol 是作为在 50:50(体积)乙醇和聚氧乙烯蓖麻油中含 6mg/ml 太平洋紫杉的注射浓缩物制备的。聚氧乙烯化蓖麻油是以商品名 *Cremophor EL* 销售的。太平洋紫杉是一种从太平洋紫杉树皮上分离出的活性组分。近来,已发现太平洋紫杉是从紫杉树皮中发现的少量真菌制备的。已知太平洋紫杉具有抗肿瘤活性。

另一种适用于本发明的、具有抗肿瘤活性的化合物是替尼泊忒。它是一种化学名 4'-去甲基表鬼臼毒素 9-(4,6-O-2-噻吩甲叉- β -D-吡喃葡糖)的鬼臼毒系的半合成衍生物。替尼泊忒及其类似物是市售的,也可以通过美国专利 3,524,844 公开的方法制备。

另一种合适的药物是喜树碱,其化学名为 4-乙基-羟基-1H-吡喃并[3',4':6,7]中氮茛并[1,2-b]喹啉-3,14(4H,12H)二酮。喜树碱是从中国树的主干木分离出的且业已表明,它具有抗白血病和抗肿瘤活性。

特别关心的药物是那些在贮存过程中显示了降解和活性损失的药物。本发明的溶剂系统和方法对在溶剂中反应或不稳定的药物特别有利。具体地说,关心的药物是那些具有酯键,在羧酸根阴离子存在下由醇断键的药物。几种已知的药物长时间稀释之后形成沉淀。虽然抗肿瘤剂特别引人注目,但其它在贮存过程中降解的药物也是合适的。例如,药物也可以是抗真菌的或抗细菌的。

太平洋紫杉一般是以浓缩物的形式制备的,或以适用于注射的媒体中的溶液形式(6m/ml)制备的。该媒体一般是乙醇和 *Cremophor EL* 的混合物(体积比 50:50)。贮存过程中,已知太平洋紫杉的活性下降。太平洋紫杉具有式 I 结构,其 HPLC 表明降解成式 II 的浆果赤霉素 III 和式 III 的乙基酯侧链。



在优选实施方案中，溶剂是至少一种溶剂和加溶剂的助溶剂混合物。优选的溶剂包括醇，如脱水乙醇和药用多醇，如聚乙二醇。优选实施方案中的加溶剂是聚氧乙烯化蓖麻油，如 *BASF* 以商品名 *Cremophor EL* 出售的物质。优选实施方案中的助溶剂含有约 40—60% (体积) 的聚氧乙烯化蓖麻油，余量是醇或多醇。在本发明特别优选的实施方案中，助溶剂包括约 50 : 50 (体积) 的脱水乙醇和 *Cremophor EL*。

本发明的助溶剂最好包括一种非离子表面活性剂作为加溶剂，以 *Cremophor EL* 为最佳。*Cremophor EL* 是蓖麻油和每摩尔蓖麻油约 20—40 摩尔 (优选 30—35 摩尔) 环氧乙烷的缩合物。*Cremophor EL* 可按 3, 070, 499 中介绍的方法制备。*Cremophor EL* 也是公知的，其通用名为聚氧乙烯甘油三蓖麻醇三酯和甘油—聚氧乙二醇蓖麻醇三酯。也可使用生物和化学等同物或 *Cremophor EL* 的衍生物。

在另外的实施方案中，非离子表面活性剂或加溶剂可包括其它环氧乙烷改性的类脂、羟基化妥尔油、聚山梨醇酯 85 (也称作 *Tween80*)、聚氧乙基化 12—羟基硬脂酸、聚氧乙烯山梨醇硬脂酸酯、聚乙二醇酯、聚乙烯脂肪酸酯、环氧乙烷和环氧丙烷的嵌段共聚物、乙基化脂肪醇醚和辛基—苯氧基聚乙氧基乙醇化合物。这些非离子加溶剂可通过本技术领域公知的方法制备，或从市场上买到。

加溶剂可包括烯化氧的其它缩合产物，虽然一般优选烯化氧改性的类脂。合适的加溶剂的例子是 PEG400 和 PEG40 蓖麻油。

可通过多种方法降低溶剂的羧酸根阴离子含量。在本发明的第一个实施方案中，使 *Cremophor EL* 或其它溶剂通过氧化铝标准色谱柱。氧化铝吸附了羧酸根阴离子以及其它杂质，由此降低溶剂的羧酸根阴离子含量。

在本发明的另一实施方案中，溶剂通过加入稳定量的酸进行处理以便将羧酸根阴离子含量降低到足够低的水平，从而基本防止药用化合物催化降解。可以在与药用化合物混合之前或之后将酸加到溶剂中。一般来说，使用无机酸，如 *HCl, HBr, HF, HI, H₂SO₄* 和 *HNO₃*。也可以使用有机酸，如乙酸。一般不优选有机酸，因为它们可提供羧酸根阴离子源，妨碍了酸处理的稳定作用。最好以每 ml 溶剂提供 5.6×10^{-6} — 8.4×10^{-6} 克 H^+ 的量加入酸。通过加入每 ml 能提供约 7.0×10^{-6} H^+ 的酸获得了组合物的有效稳定作用。加入酸使羧酸根阴离子含量降低到每 ml 溶剂低于或等于 0.6×10^{-6} 克当量。

含有 0.6×10^{-6} 克当量羧酸根阴离子的 *Taxol* 溶液在于 50°C 贮存 28 天后仍具有 94% 太平洋紫杉。用每当量 1.0 克 H^+ 中和 1.0 克当量阴离子。

加入溶剂中的酸的量将取决于助溶剂系统中的非离子表面活性剂的量和表面活性剂的类型。非离子表面活性剂(由其制备方法获得的物质本身含有较高含量的羧酸根阴离子杂质)一般要求较高含

量的酸以降低羧酸根阴离子含量。

在其它实施方案中，溶剂可以用其它能降低溶液的羧酸根阴离子浓度的表面活性剂处理。例如，可以形成羧酸或羧酸衍生物的无机盐。一般优选使用在组合物中不形成沉淀的试剂脱除羧酸根阴离子。一般优选加入强的无机酸，因为无机酸和所得羧酸无毒，且易溶于溶剂。当羧酸根阴离子以形成不溶沉淀的方式反应时，沉淀应在给患者服用该组合物之前从组合物中分离出。

以下非限制性实施例旨在说明本发明的优选实施方案。本领域专业人员很容易识别出实施本发明的多种实施方案能取得稳定作用。

实施例 1

本例分析了 *Taxol* 和太平洋紫杉在乙醇和 *Cremophor EL* 溶液中的性质。在 *Cremophor EL* 和脱水乙醇的 50 : 50(体积比)的混合物中，所得 *Taxol* 含 6mg/ml 太平洋紫杉。用不同批料的处理过的 *Cremophor EL* 制备第一组样品 1—4，用不同批料的未处理过的商品级 *Cremophor EL* 制备第二组样品 5—7。处理过的 *Cremophor EL* 是通过使 100kg *Cremophor EL* 穿过含 19.5Kg 氧化铝的标准色谱柱(以商品名 *CAMAG* 出售)制备的。为了弄清楚在未处理过的 *Cremophor EL* 中 *Taxol* 不稳定的原因，通过观测 *Karl-Fischer* 湿度、钾离子含量、酸值和过氧化物值分析各样品。观测结果归纳在表 1 中。

表 1

Cremophor E L 类型	样品号	KF 水分 %	钾含量 (ppm)	酸值	过氧化值
处理过的	样品 1	0.2	<1	0.2	8
	样品 2	0.3	2	0.3	8
	样品 3	0.4	2	0.2	9
	样品 4	0.8	4	0.3	3
未处理过的	样品 5	2.7	463	3.4	18
	样品 6	2.6	482	1.6	n.d.
	样品 7	2.6	n.d.	1.4	15

n.d. = 未测定

表 1 的数据表明了用于制备样品 1-4 的处理过的 *Cremophor EL* 批料之间湿含量、钾含量、酸值和过氧化值的一致性。该数据进一步一致表明未处理过的 *Cremophor EL* 的高的湿含量、钾含量、酸值和过氧化值。

实施例 2

进行本例是为了表明 *Taxol* 和太平洋紫杉在含 *Cremophor EL* 的助溶剂中的不稳定性,以确定分解产物的性质。具体地说,进行本例是为了确定按实施例 1 测定的未处理过的 *Cremophor EL* 的高含量湿分、酸值和过氧化值是否与 *Taxol* 分解速率和药效损失有关。

样品 8-21 是通过将 6mg/ml 太平洋紫杉溶于处理过的 *Cremophor EL* 和脱水乙醇的 50:50(体积比)的混合物中而制备的。样品 8-21 的 *Cremophor EL* 按以上实施例 1 中讨论的方法处理。样品 22 作为对照样品由未处理的 *Cremophor EL* 溶于 6mg/ml 太平洋紫杉的 50:50(体积比)的混合物而制备。将每一种样品 8-20 与表 2 和 3 所列的组分混合。将 3ml 等份试样置于 6cc I 型燧石玻璃管形瓶。用贴了 West 4455/45 *Teflon* 的塞子盖住这些瓶子,密封并于 50℃ 贮存四周,然后用 *HPLC* 分析 *Taxol* 浓度。*HPLC* 的对照参数如下:

柱	<i>Jones Cyano RP5μ, 25cm</i> × 4.6mm ID
检测器波长	227nm

移动相	35%乙腈:65% 20mM 乙酸盐缓冲剂(pH4)
流速	1.5ml/min
稀释剂	移动相
样品浓度	0.05mg/ml
注射体积	20 微升
滞留时间	<i>Taxol</i> 10.5 分钟

在用水 1 : 10 稀释后, 记录各样品的 *pH* 值。如表 2 和 3 所示, 测定过氧化物值(*EO* 法)、酸值(*USP* 法)、湿含量和钾含量。

表 2

样品号	加入的组分	KF 湿分	初始 pH ^a	于50℃贮存 28天后	
				Taxol 保留率%	pH ^a
样品 8 ^b	4% H ₂ O ₂ 溶液	5.5	4.6	94.9	3.6
样品 9 ^c	10% H ₂ O ₂ 溶液	9.6	4.6	96.8	3.5
样品 10 ^d	4% 水	5.8	5.0	94.5	4.2
样品 11 ^e	乙酸 (1.5 mg /mL)	2.6	3.8	94.1	4.1
样品 12 ^f	无 (对照)	2.6	4.4	95.5	4.5

- a 注射用水 1:10 稀释后
b 过氧化值=232
c 过氧化值=652
d 过氧化值=14
e 酸值=1.2
f 酸值=0.5, 过氧化值=4

表 3

样品号	加入的组分	K ^a 含量 (ppm)	初始 pH ^a	于50°C贮存 28天后	
				Taxol 保存率%	pH ^a
样品 13	CH ₃ COOK 0.126% w/v	530	5.6	19.3	5.1
样品 14	KCl 0.10% w/v	551	6.0	98.8	4.7
样品 15	NaCl 0.125% w/v	4	6.3	96.8	4.9
样品 16	CH ₃ COONH ₄ 0.10% w/v	4	5.8	63.7	4.7
样品 17	CH ₃ COONa 0.104% w/v	5	6.1	5.8	5.5
样品 18	CH ₃ CH ₂ COOK 0.144% w/v	468	5.4	15.2	5.1
样品 19	反亚油酸 (LA) 0.2% w/v	5	6.4	99.5	5.4
样品 20	LA的K盐 0.228% w/v	150	6.3	52.8	6.2
样品 21	无 (对照)	<2	4.4	95.5	4.5
样品 22	用未处理过的 Cremophor EL制备	240	4.6	86.5	4.8

a 注射用水1:10稀释后

如表 2 所示, *Taxol* 作为脱水乙醇和 *Cremophor EL*(50 : 50) 混合物的溶液的稳定性不受加入过氧化氢、水或乙酸的影响, 由此表明 *Taxol* 不稳定性与过氧化值、湿含量或 *Cremophor EL* 的酸值无关。样品 8—11 的每一种显示了可比的 *Taxol* 药效损失, 与加入的反应物无关。在每一种样品 8—11 中, 反应样品中太平洋紫杉的量的 *Taxol* 保留率%与对照样品 12 的 95.5% 相比, 为 94.1%—96.8%。

含乙酸钾的表 3 的样品 13 表明, 其稳定性比不含加入组分的对照样品 21 的低。含氯化钾的样品 14 表明可与对照样品 21 进行比较。这些数据暗示, *Taxol* 的稳定性不受存在的钾离子的影响, 而受羧酸的阴离子形式的不利影响。含乙酸钾的样品 13、含乙酸铵的样品 16、含乙酸钠的样品 17、含丙酸钾的样品 18 和含反亚油酸钾的样品 20 均比对照样品的稳定性低。不过, 含乙酸的样品 11 和含反亚油酸的样品 19 的稳定性可与对照样品 22 相比, 这意味着非离子形式的羧酸不影响 *Taxol* 稳定性。含有未处理过的 *Cremophor EL* 的样品 22 还表明, 其稳定性比含有处理过的 *Cremophor EL* 的对照样品 21 的低。各样品的 HPLC 表明降解产物是 *Baccatin III* 和 *Taxol* 侧链的乙基酯。

实施例 3

本例说明加入的酸对含有未处理的 *Cremophor EL* 的 *Taxol* 样品的稳定作用。本例中的样品是由含有 6mg/ml 溶于脱水乙醇和未

处理的工业级 *Cremophor EL* 的 50 : 50v/v 混合物中的太平洋紫杉的 *Taxol* 制备的。如表 4 指出, 样品 23—28 与 *HCl* 混合, 样品 29 与乙酸混合, 样品 30 与硝酸混合。样品 31 是不含加入的酸的对照样品。含乙酸的样品 32 和不含加入的酸的样品 33 也是从未处理过的 *Cremophor EL* 制备的。将各样品分成 3ml 等份并放入 5cc I 型燧石玻璃瓶中, 用贴有 *Daikyo* #731 氟树脂的罩盖上。将瓶子于 50℃ 贮存 56 天, 并用 *HPLC* 分析太平洋紫杉(*Taxol*) 浓度。HPLC 参数如下:

柱	<i>Jones Cyano RP5μ</i> , 25cm \times 4.6mmID
检测器波长	227nm
移动相	35% 乙腈: 65% 20mM 乙酸盐缓冲剂(pH4)
流速	1.5ml/min
稀释剂	移动相
样品浓度	0.05mg/ml
注射体积	20 微升
停留时间	太平洋紫杉约 10.5 分钟。

表 4 的数据表明, 酸的稳定作用随酸的加入量增大而提高, 这些结果与 *Taxol* 的降解因存在羧酸根阴离子而不是该酸造成的前提一致。该数据进一步表明 *HCl* 和 *NHO₃* 之类的无机酸是更好的稳定剂, 当酸以提供每 ml 5.6×10^{-6} — 8.4×10^{-6} 克 H^+ 的量加入 56 天后 *Taxol* 保留率大于 97%。即使以每 ml 70×10^{-6} 克 H^+ 的较高用

量加入乙酸时，这类无机酸也显示出比乙酸更大的稳定作用。与抑制羧酸根阴离子的有机酸相比，这些结果归因于无机酸的酸强度。另外，作为羧酸根阴离子源的乙酸对太平洋紫杉的降解有一些影响。在样品 26 和 30 中太平洋紫杉保留率大于 100% 是因为测量中的分析误差造成的。

表 4

TAXOL 注射样品号	加酸(每 m l 加 H ⁺ 克数)	初始 pH ^c	于 5 0 °C 5 6 天 贮存后	
			大平洋紫杉 保留率 %	pH ^c
样品 23 ^a	HCl (3.5×10^{-6})	5.1	62.8	4.5
样品 24 ^a	HCl (5.6×10^{-6})	3.9	98.1	3.8
样品 25 ^a	HCl (6.3×10^{-6})	3.8	97.9	3.8
样品 26 ^a	HCl (7.0×10^{-6})	3.8	100.9	3.6
样品 27 ^a	HCl (7.7×10^{-6})	3.6	99.3	3.6
样品 28 ^a	HCl (8.4×10^{-6})	3.6	99.1	3.6
样品 29 ^a	CH ₃ COOH (7.0×10^{-6})	4.4	69.5	4.5
样品 30 ^a	HNO ₃ (7.0×10^{-6})	3.7	100.4	3.8
样品 31 ^a	对照 (不加酸)	5.5	49.0	5.0
样品 32 ^a	CH ₃ COOH (7.0×10^{-6})	3.7	87.8	3.7
样品 33 ^a	对照 (不 加酸)	6.3	22.6	5.5

- a 未处理过的 Cremophor E.L, BASF Lot No. 98—2384
用于这些溶液。
- b 未处理过的 Cremophor E L, BASF Lot No. 14—1213
用于这些溶液。
- c 注射用水 1: 10 稀释后

表 5 所示的样品 34A, 34B, 35A, 35B, 36A 和 36B 是用不同批料的 *Cremophor* 制备的, 显示了无机酸稳定作用的一致性。制备于无水乙醇和未处理过的 *Cremophor EL* 50 : 50 混合物中含 6mg/ml 太平洋紫杉的各样品。样品 34A, 35A 和 36A 以样品 23—28 的方式制备且 *HCl* 的含量应能提供每 ml $7.0 \times 10^{-6} H^+$ 。对照样品 34B, 35B 和 36B 不含加入的酸。将样品于密闭玻璃瓶中 50°C 贮存 56 天。如表 5 所示, 用 *HPLC* 测定太平洋紫杉的保留率%。

表 5

Cremophor EL Lot号 (未处理过的)	加入的酸	起始 pH ^a	于50℃贮存 56天后	
			太平洋紫杉 保留率%	pH ^a
样品 34A	HCl	4.0	98.4	3.9
样品 34B	对照 ^b	6.1	25.0	5.4
样品 35A	HCl	3.9	97.8	4.0
样品 35B	对照 ^b	6.3	22.6	5.5
样品 36A	HCl	3.8	100.9	3.6
样品 36B	对照 ^b	5.5	49.0	5.0

a 注射用水1:10稀释后

b 对照样品中不加酸

表 5 的数据表明了无机酸的一致的稳定性，与对照样品中的低于 50%保留率相比，其 56 天后太平洋紫杉的保留率大于 91%。

实施例 2 和 3 的数据表明了通过与氧化铝接触或用酸处理降低溶剂的羧酸根含量形成 *Cremophor EL* 的稳定作用。本领域专业人员可以理解，也可以采用其它溶剂和加溶剂降低羧酸根阴离子的方法。已证明在本发明优选实施方案中公开的 *Taxol*，由于酸的稳定作用和稳定了羧酸根阴离子含量，提高了货架寿命。在本发明的其它实施方案中，可以使用对羧酸根阴离子降解敏感的其它生物活性剂。