

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200510090487.8

[51] Int. Cl.

C07D 307/77 (2006.01)

A61K 31/343 (2006.01)

A61K 9/08 (2006.01)

A61K 9/19 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

A61P 9/10 (2006.01)

[43] 公开日 2007年2月21日

[11] 公开号 CN 1915986A

[51] Int. Cl. (续)

A61P 3/06 (2006.01)

A61P 7/02 (2006.01)

A61P 43/00 (2006.01)

G01N 30/02 (2006.01)

G01N 33/15 (2006.01)

[22] 申请日 2005.8.17

[21] 申请号 200510090487.8

[71] 申请人 阿尔贝拉医药控股(通化)有限公司

地址 135000 吉林省梅河口市经济贸易开发
区北环路东段

[72] 发明人 张玉梅 晏四平

权利要求书 2 页 说明书 14 页

[54] 发明名称

一种高纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠、制备方法及其制剂

[57] 摘要

本发明属医药技术领域,涉及一种丹参酮 IIA 磺酸钠,特别是涉及一种高纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠,还涉及该丹参酮 IIA 磺酸钠的制备方法,以及使用该丹参酮 IIA 磺酸钠制成的制剂。本发明中将符合标准-0923 的丹参酮 IIA 磺酸钠纯化后,采用高效液相色谱法测定,原料药的有关物质的总量在 10.0%以下,单个杂质的量在 4.0%以下,含量在 96.0%以上,采用这种高纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠原料药制备丹参酮 IIA 磺酸钠的注射液,可以明显地克服制备水针剂时存在的有关物质上升和容易出现沉淀等问题;同时用这种高纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠制备的大容量输液剂、冻干粉针剂等也可取得良好的效果。

1. 一种高纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠, 其特征在于,

(1) 采用高效液相色谱法测定含量, 其中的丹参酮 IIA 磺酸钠的含量在 96.0%以上,

(2) 采用高效液相色谱法测定有关物质, 其中有关物质的总量在 10.0%以下, 单个杂质的量在 4.0%以下;

所述的高效液相色谱法测定含量和有关物质的方法, 照《中国药典》2005 年版二部附录 VD 进行, 包括以下步骤:

(i) 色谱条件与系统适用性试验: 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂, 以浓度为 0.05mol/L 并用醋酸调 pH 值为 3.0 的醋酸铵溶液与甲醇的体积比为 35: 65 的混合溶液为流动相, 检测波长为 270nm, 调节流速至丹参酮 IIA 磺酸钠的保留时间约为 8 分钟, 理论板数按丹参酮 IIA 磺酸钠峰计算应不低于 2500, 丹参酮 IIA 磺酸钠峰与其它峰的分度应大于 1.2;

(ii) 有关物质检查: 取丹参酮 IIA 磺酸钠适量, 加流动相溶解, 制成浓度约为 100 μ g/ml 的溶液, 作为供试品溶液, 精密量取供试品溶液 1ml, 置 100ml 量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 作为对照溶液; 取对照溶液 20 μ l, 注入液相色谱仪, 调节检测灵敏度, 使主成份色谱峰的峰高约为满量程的 20%; 另取丹参酮 IIA 对照品适量, 加流动相制成浓度为 10 μ g/ml 的溶液, 取 20 μ l 注入液相色谱仪, 记录色谱图至丹参酮 IIA 峰保留时间的 1.2 倍; 再精密量取对照溶液与供试品溶液各 20 μ l, 分别注入液相色谱仪, 记录色谱图至丹参酮 IIA 峰保留时间的 1.2 倍; 供试品溶液的色谱图中各杂质色谱峰面积之和, 除以对照溶液主峰面积, 计算有关物质的总量; 供试品溶液的色谱图中最大的单个杂质的色谱峰面积除以对照溶液主峰面积, 计算单个杂质的量;

(iii) 含量测定: 精密称取丹参酮 IIA 磺酸钠约 25mg, 置 100ml 量瓶中, 加流动相溶解并稀释至刻度, 摇匀, 再精密吸取 5ml, 置 50ml 的量瓶中, 加流动相稀释至刻度, 摇匀, 作为供试品溶液; 以符合中国国家药品标准 WS- 10001- (HD-0923)-2002, 用 (ii) 项方法检查有关物质的总量小于 2%, 单个杂质的量在 1.0%以下, 并在 60 $^{\circ}$ C 下真空干燥至恒重的丹参酮 IIA 磺酸钠为对照品, 精密称取该丹参酮 IIA 磺酸钠对照品适量, 用流动相溶解并制成浓度约为 25 μ g/ml 的对照品溶液; 取供试品溶液和对照品溶液各 20 μ l, 分别注入液相色谱仪, 记录色谱图, 按外标法以峰面积计算含量。

2. 按权利要求 1 的丹参酮 IIA 磺酸钠, 其特征在于,

(1) 采用高效液相色谱法测定含量, 其中的丹参酮 IIA 磺酸钠的含量在 97.0%以上,

(2) 采用高效液相色谱法测定有关物质, 其中有关物质的总量在 8.0%以下, 单个杂质的量在 3.0%以下。

3. 按权利要求 2 的丹参酮 IIA 磺酸钠, 其特征在于,

(1) 采用高效液相色谱法测定含量, 其中的丹参酮 IIA 磺酸钠的含量在 98.0%以

上,

(2) 采用高效液相色谱法测定有关物质, 其中有关物质的总量在 7.0%以下, 单个杂质的量在 2.5%以下。

4. 按权利要求 1 的高纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠的制备方法, 其特征在于, 其中包括以下步骤: 往 50~60°C 的乙醇中, 加入较低纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠粉末, 边加边搅拌使粉末溶解, 获得近饱和的澄清溶液, 按溶液体积比为 3~7%的比例加入氯仿, 将溶液加热到 70±3°C, 在室温下静置, 缓缓降温到室温, 然后降温到 2~6°C, 待结晶析出后, 过滤, 真空干燥, 得砖红色结晶性粉末。

5. 按权利要求 4 的制备方法, 其特征在于, 其中包括以下步骤: 往 55~60°C 的乙醇中, 加入市售的或自制的较低纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠粉末, 边加边搅拌使粉末溶解, 获得近饱和的澄清溶液, 按溶液体积比为 5%的比例加入氯仿, 将溶液加热到 70±2°C, 在室温下静置, 缓缓降温到室温, 然后降温到 2~6°C, 待结晶析出后, 过滤, 真空干燥, 得砖红色结晶性粉末。

6. 按权利要求 5 的制备方法, 其特征在于, 其中包括以下步骤: 往 57~60°C 的乙醇中, 加入市售的或自制的较低纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠粉末, 边加边搅拌使粉末溶解, 获得近饱和的澄清溶液, 按溶液体积比为 5%的比例加入氯仿, 将溶液加热到 70±2°C, 在室温下静置, 缓缓降温到室温, 然后降温到 2~4°C, 待结晶析出后, 过滤, 真空干燥; 再按上述方法重复一次, 得砖红色结晶性粉末。

7. 一种按权利要求 1 的高纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠为生理活性成分制成的制剂, 其特征在于, 该制剂中包括治疗上有效量的丹参酮 IIA 磺酸钠和医药上可接受的辅料。

8. 按权利要求 7 的制剂, 其特征在于, 该制剂为小容量注射液、冻干粉针剂、大容量输液剂、口服液体制剂或口服固体制剂。

9. 按权利要求 7 或 8 的制剂, 其特征在于, 按权利要求 1 的高效液相色谱法测定该制剂中的有关物质, 扣除溶剂和/或辅料的色谱峰, 其中有关物质的总量在 10.0%以下, 单个杂质的量在 4.0%以下。

一种高纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠、制备方法及其制剂

【技术领域】

本发明属医药技术领域，涉及一种丹参酮 IIA 磺酸钠，特别是涉及一种高纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠，还涉及该丹参酮 IIA 磺酸钠的制备方法，以及使用该丹参酮 IIA 磺酸钠制成的制剂。

【背景技术】

丹参(*RADIX ET RHIZOMA SALVIAE MILTIORRHIZAE*)作为一种重要的中药材，已被多版《中国药典》收载。丹参为唇形科植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bge. 的干燥根及根茎。春、秋二季采挖，除去泥沙，干燥而得。丹参性苦，微寒；归心、肝经。具有祛瘀止痛，活血通经，清心除烦的功能。用于月经不调，经闭痛经，癥瘕积聚，胸腹刺痛，热痹疼痛，疮疡肿痛，心烦不眠；肝脾肿大，心绞痛等症。丹参因提取方法的不同，丹参所含的主要化学成分主要有两大类，即脂溶性丹参酮类化合物和水溶性酚酸类化合物。这两类化学成分的生物活性已经被许多医药文献和临床应用所证实。丹参中的脂溶性成分主要是一类以丹参酮 II A 为代表的含有共轭邻醌结构的丹参酮类似物。从丹参中提取丹参酮 II A，经磺化后得到的丹参酮 II A 磺酸钠，大大增强了药物的水溶性，获得了更高疗效的新药物。

丹参酮 IIA 磺酸钠用于冠心病心绞痛和心肌梗塞、脑动脉和视网膜动脉及外周静脉血栓形成、白塞氏综合征、结节性红斑。扩张冠状动脉，增加冠状动脉血流量；减慢心率，增加心肌收缩力，改善缺氧后引起的心肌代谢紊乱及心功能；抑制凝血；促进组织修复；降低血脂；保护红细胞和抑制细菌生长。

目前丹参酮 IIA 磺酸钠在中国上市的剂型只有小水针剂，其质量标准已载入中国国家药品标准(产品标准号: WS-10001-(HD-1014)-2002, 以下简称“标准-1014”)。其相应的原料药的质量标准也已载入中国国家药品标准(产品标准号: WS-10001-(HD-0923)-2002, 以下简称“标准-0923”)。

在对丹参酮 IIA 磺酸钠注射液小水针剂的研究、生产过程中，本发明人发现存在着两个严重的技术问题，即(1)在 40°C 加速试验条件一个月后，制剂的有关物质质量升高快(按标准-0923 的方法测定)，(2)注射液在 40°C 加速试验条件下放置一个月后容易产生沉淀。

尽管本发明人从制剂的处方、工艺等方法进行了全面、深入的研究，但依然没有解决这两个问题。

原料药的质量标准中,含量测定方法采用分光光度法进行测定,限度定为 96%;而有关物质的控制采用薄层色谱法,限度定为:相对于丹参酮 IIA 磺酸钠 5mg/ml 的供试液而言,其中的丹参酮 I 磺酸钠不得过 0.2mg/ml (<4.0%),其中的丹参酮 IIA 不得过 0.2mg/ml (<4.0%)。

本发明人发现,按现行标准-0923 执行的丹参酮 IIA 磺酸钠原料药,采用高效液相色谱法测定,其含量不到 94%,而有关物质总量却高达 13%以上,单个杂质高达 6%以上。

本发明人意外的发现,将符合标准-0923 的丹参酮 IIA 磺酸钠纯化后,采用高效液相色谱法测定,原料药的有关物质的总量在 10.0%以下,单个杂质的量在 4.0%以下,含量在 96.0%以上,采用这种高纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠原料药制备丹参酮 IIA 磺酸钠的注射液,可以明显地克服上述制备水针剂时存在的问题。而用这种高纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠制备的大容量输液剂、冻干粉针剂等也可取得良好的效果。

因此,本发明的目的在于,提供一种高纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠、这种高纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠的制备方法、以及使用这种高纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠制成的制剂。

【发明内容】

本发明所要解决的技术问题是提供了一种高纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠、这种高纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠的制备方法、以及使用这种丹参酮 IIA 磺酸钠制成的制剂。

如前所述,现有技术,即现行的原料药国家药品标准(标准-0923)中,含量测定方法采用分光光度法进行测定,限度定为 96%;而有关物质的控制采用薄层色谱法,限度定为:相对于丹参酮 IIA 磺酸钠 5mg/ml 的供试液而言,其中的丹参酮 I 磺酸钠不得过 0.2mg/ml (<4.0%),其中的丹参酮 IIA 不得过 0.2mg/ml (<4.0%)。

市售产品丹参酮 IIA 磺酸钠(购自上海第一生化药业有限公司,产品批号为 Y041120),按标准-0923 测定,扣除水分后,含量为 96.3%,有关物质按两种杂质分别计算,均小于 4%(但均大于 3%,以 4%、3%对照)。

以上述原料药(批号 Y041120)制备丹参酮 IIA 磺酸钠注射液,在 40°C 加速试验条件下放置 3 个月后,出现以下问题:

(1)制剂的有关物质量升高快(按原料药标准-0923 的方法测定),两种杂质分别计算,由初始时的均小于 4%(但均大于 3%,以 4%、3%对照)增加到 3 月时的均大于 6%(但均小于 7%,以 6%、7%对照);

(2) 注射液容易产生白色块状沉淀。

基于这些问题, 本发明人发现, 采用高效液相色谱法, 用自行摸索的色谱条件, 测定丹参酮 IIA 磺酸钠 (Y041120), 其含量按扣除水分后计算, 仅为 93.8%, 而有关物质总和却高达 13.42% (最大的单个杂质量达 6.11%)。造成这种含量和有关物质较大差异是可能的, 因为现行标准-0923 中分光光度法测定含量, 薄层色谱法测定有关物质, 其分析方法的专属性、准确度、灵敏度等均不及高效液相色谱法。

为此, 对原料药 (Y041120) 进行纯化, 采用高效液相色谱法进行质量控制, 纯化后的含量在 96.0% (HPLC) 以上, 有关物质总量在 10.0% 以下, 单个杂质的量在 4.0% 以下 (HPLC)。采用这种经过纯化, 并且含量和有关物质达到上述要求后, 与用未纯化的原料药制成的注射液相比 (处方相同), 用纯化原料制成的注射液在 40°C 放置 1 个月后, 有关物质的变化小, 而且未见有沉淀出现。这就是本发明的基础。

因此, 本发明是这样实现的:

(1) 一种高纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠: 采用高效液相色谱法测定含量和有关物质, 其丹参酮 IIA 磺酸钠的含量在 96.0% 以上, 有关物质总量在 10.0% 以下, 单个杂质的量在 4.0% 以下。

(2) 一种高纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠的制备方法: 以纯度较低的丹参酮 IIA 磺酸钠原料药为起始材料, 进行重结晶, 得到符合以上 (1) 项所述质量要求的高纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠。

上述的纯度较低的丹参酮 IIA 磺酸钠原料药, 可以是市售的丹参酮 IIA 磺酸钠 (例如, 购自上海第一生化药业有限公司), 按标准-0923 测定, 含量为 96.3%, 两种杂质均小于 4% (但大于 3%, 以 4%、3% 对照)。

上述的纯度较低的丹参酮 IIA 磺酸钠原料药, 也可以是自制的低纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠, 其含量可以低于标准-0923 规定的 96%, 如含量在 90% 以上, 但低于 96%; 而有关物质的量高于标准-0923 规定的 4%+4%, 如在 8%+8% 以下, 但在 4%+4% 以上。

(3) 一种含有高纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠的制剂: 即以本发明高纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠为药理活性成分, 制成含丹参酮 IIA 磺酸钠的制剂, 如小容量水针剂、冻干粉针剂、大容量输液剂、口服固体制剂、口服液体制剂、外用制剂等。

具体地说, 本发明可以按以下方案实现。

一种高纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠，其特征在于，

(1) 采用高效液相色谱法测定含量，其中的丹参酮 IIA 磺酸钠的含量在 96.0% 以上，

(2) 采用高效液相色谱法测定有关物质，其中有关物质的总量在 10.0% 以下，单个杂质的量在 4.0% 以下；

所述的高效液相色谱法测定含量和有关物质的方法，照《中国药典》2005 年版二部附录 VD 进行，包括以下步骤：

(i) 色谱条件与系统适用性试验：用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂，以浓度为 0.05mol/L 并用醋酸调 pH 值为 3.0 的醋酸铵溶液与甲醇的体积比为 35: 65 的混合溶液为流动相，检测波长为 270nm，调节流速至丹参酮 IIA 磺酸钠的保留时间约为 8 分钟，理论板数按丹参酮 IIA 磺酸钠峰计算应不低于 2500，丹参酮 IIA 磺酸钠峰与其它峰的分离度应大于 1.2；

(ii) 有关物质检查：取丹参酮 IIA 磺酸钠适量，加流动相溶解，制成浓度约为 100 μ g/ml 的溶液，作为供试品溶液，精密量取供试品溶液 1ml，置 100ml 量瓶中，加流动相稀释至刻度，摇匀，作为对照溶液；取对照溶液 20 μ l，注入液相色谱仪，调节检测灵敏度，使主成份色谱峰的峰高约为满量程的 20%；另取丹参酮 IIA 对照品适量，加流动相制成浓度为 10 μ g/ml 的溶液，取 20 μ l 注入液相色谱仪，记录色谱图至丹参酮 IIA 峰保留时间的 1.2 倍；再精密量取对照溶液与供试品溶液各 20 μ l，分别注入液相色谱仪，记录色谱图至丹参酮 IIA 峰保留时间的 1.2 倍；供试品溶液的色谱图中各杂质色谱峰面积之和，除以对照溶液主峰面积，计算有关物质的总量；供试品溶液的色谱图中最大的单个杂质的色谱峰面积除以对照溶液主峰面积，计算单个杂质的量；

(iii) 含量测定：精密称取丹参酮 IIA 磺酸钠约 25mg，置 100ml 量瓶中，加流动相溶解并稀释至刻度，摇匀，再精密吸取 5ml，置 50ml 的量瓶中，加流动相稀释至刻度，摇匀，作为供试品溶液；以符合中国国家药品标准 WS-10001-(HD-0923)-2002，用 (ii) 项方法检查有关物质的总量小于 2%，单个杂质的量在 1.0% 以下，并在 60 $^{\circ}$ C 下真空干燥至恒重的丹参酮 IIA 磺酸钠为对照品，精密称取该丹参酮 IIA 磺酸钠对照品适量，用流动相溶解并制成浓度约为 25 μ g/ml 的对照品溶液；取供试品溶液和对照品溶液各 20 μ l，分别注入液相色谱仪，记录色谱图，按外标法以峰面积计算含量。

基于上述的高效液相色谱法测定含量和有关物质的方法，优选的，本发明提供

的一种高纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠，其特征在于，

(1) 采用高效液相色谱法测定含量，其中的丹参酮 IIA 磺酸钠的含量在 97.0% 以上，

(2) 采用高效液相色谱法测定有关物质，其中有关物质的总量在 8.0% 以下，单个杂质的量在 3.0% 以下。

基于上述的高效液相色谱法测定含量和有关物质的方法，更优选的，本发明提供的一种高纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠，其特征在于，

(1) 采用高效液相色谱法测定含量，其中的丹参酮 IIA 磺酸钠的含量在 98.0% 以上，

(2) 采用高效液相色谱法测定有关物质，其中有关物质的总量在 7.0% 以下，单个杂质的量在 2.5% 以下。

一种高纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠的制备方法：

(1) 往 50~60°C 的乙醇中，加入的较低纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠粉末，边加边搅拌使粉末溶解，获得近饱和的澄清溶液，按溶液体积比为 3~7% 的比例加入氯仿，将溶液加热到 70±3°C，在室温下静置，缓缓降温到室温，然后降温到 2~6°C，待结晶析出后，过滤，真空干燥，得砖红色结晶性粉末；

(2) 测定含量和有关物质，结果含量在 96.0% 以上，有关物质的总量在 10.0% 以下，单个杂质的量在 4.0% 以下。

优选的方案是，一种高纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠的制备方法：

(1) 往 55~60°C 的乙醇中，加入市售的或自制的较低纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠粉末，边加边搅拌使粉末溶解，获得近饱和的澄清溶液，按溶液体积比为 5% 的比例加入氯仿，将溶液加热到 70±2°C，在室温下静置，缓缓降温到室温，然后降温到 2~6°C，待结晶析出后，过滤，真空干燥；

(2) 测定含量和有关物质，结果含量在 96.0% 以上，有关物质的总量在 10.0% 以下，单个杂质的量在 4.0% 以下。

更优选的方案是，一种高纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠的制备方法：

(1) 往 57~60°C 的乙醇中，加入市售的或自制的较低纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠粉末，边加边搅拌使粉末溶解，获得近饱和的澄清溶液，按溶液体积比为 5% 的比

例加入氯仿，将溶液加热到 $70\pm 2^{\circ}\text{C}$ ，在室温下静置，缓缓降温到室温，然后降温到 $2\sim 4^{\circ}\text{C}$ ，待结晶析出后，过滤，真空干燥；

(2) 再按上述方法重复一次，得砖红色结晶性粉末；

(3) 测定含量和有关物质，结果含量在 96.0%以上，有关物质的总量在 10.0%以下，单个杂质的量在 4.0%以下。

上述的本发明使用的较低纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠，可以是市售的，如从上海第一生化药业有限公司购买（如批号为 Y041120），按质量标准-0923 检验，含量为 96.3%，有关物质按两种杂质分别计算，均小于 4%（但均大于 3%，以 4%、3%对照）；也可以是自制的，如用市售的丹参酮 IIA 经过磺化反应制成较低纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠。

上述的本发明使用的较低纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠，对其纯度并不需要进行严格的控制，因为可以通过上述的纯化方法进行多次操作，可以获得本发明所述的高纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠，因此，上述的本发明使用的较低纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠，按标准-0923 测定，其含量可以是 90%以上的，两种杂质均小于 8%的原材料。

使用本发明的高纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠制备的制剂，其中包括治疗上有效量的丹参酮 IIA 磺酸钠和医药上可接受的辅料。

使用本发明的高纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠制备的制剂，包括小容量水针剂、冻干粉针剂、大容量输液剂、口服液体制剂、口服固体制剂等。

上述的小容量水针剂，每支可装 1~25ml，其中含有本发明所述的高纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠 1~200mg，其中还含有药学上可接受的辅料。

上述的冻干粉针剂，每瓶中含有本发明所述的高纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠 1~200mg，其中还含有药学上可接受的辅料。

上述的大容量输液剂，每瓶可装 50~1000ml，其中含有本发明所述的高纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠 1~500mg，其中还含有药学上可接受的辅料。

上述的口服液体药剂，以每 10ml 计，其中含有本发明所述的高纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠 1~200mg，其中还含有药学上可接受的辅料。

使用本发明的高纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠制备的制剂，采用高效液相色谱法测定有关物质，扣除溶剂和/或辅料的色谱峰，其中有关物质的总量在 10.0%以下，单个杂质的量在 4.0%以下。

制剂的有关物质检查和含量测定也可采用上述原料药质量控制的高效液相色谱法进行,只要在配液过程中作简单的调整,这是本领域技术人员很容易做到的,比如,取适量的制剂,用流动相溶解或稀释成相应浓度,必要时过滤即可。

以小容量水针剂为例,用相同的处方,分别用低纯度和高纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠原料药制成的注射液。结果表明,在 40°C 加速试验条件下一个个月后,两种原料制成的小水针剂在沉淀形成、有关物质变化方面有明显的差异:

(1) 低纯度原料制成的小水针约有 20~30% 的样品产生白色块状沉淀,有关物质总量由 0 月的约 13.5% 增加到 3 月的约 16.5%,最大单一杂质的量由 0 月的约 6.1% 增加到 3 月的约 7.8%,分别增加约 3.0% 和 1.7%。

(2) 高纯度原料制成的小水针样品未见产生沉淀,有关物质总量由 0 月的约 6.4%~9.8%,增加到 3 月的约 6.9%~10.4%,最大单一杂质的量由 0 月的约 2.4%~3.8%,增加到 3 月的约 2.6%~4.1%,分别增加约 0.5% 和 0.25%。

这种有益效果是由于原料药纯度提高而产生的。在将原料药提纯后,小水针的质量有了明显提高。本领域技术人员可以容易地做到,使用这种高纯度的原料药制备其它的制剂,也会使制剂的质量提高。即本发明的用高纯度丹参酮 IIA 磺酸钠制成的制剂,不仅包括小容量水针剂,还包括大容量注射液,如葡萄糖注射液、氯化钠注射液等,还包括粉针剂、口服溶液剂、口服固体制剂等。

因此,本发明的目的在于,提供一种高纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠、这种高纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠的制备方法、以及使用这种丹参酮 IIA 磺酸钠制成的制剂。

本发明的基础在于:丹参酮 IIA 磺酸钠原料药按标准-0923 检验合格的,但按上述的高效液相色谱法检验,含量在 96.0% 以下,有关物质的总量在 10.0% 以上,单个杂质的量在 4.0% 以上,用这种原料药制备注射液时,在 40°C 加速试验条件下一个个月后,制剂的有关物质升高快(按 HPLC 法测定),并且容易产生沉淀。但是,在将上述这种纯度较低的丹参酮 IIA 磺酸钠原料药经过纯化,制成含量在 96.0% 以上,有关物质的总量在 10.0% 以下,单个杂质的量在 4.0% 以下的高纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠后,用这种纯化的原料药制备制剂,可以明显地克服制剂在 40°C 加速试验条件下易出现沉淀和有关物质增加较快的缺陷。

在此基础上,本发明人完成了本发明。

【具体实施方式】

下面实施例进一步描述本发明,但所述实施例仅用于说明本发明而不是限制本

发明。

实施例1

(1) 原材料为低纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠 (批号为 Y041120), 购自上海第一生化药业有限公司, 按标准-0923 测定, 含量为 96.3%, 有关物质总量小于 8%, 单一杂质的量小于 4%[但分别大于 6%和 3%, 以 4%、3%对照], 其余项目符合规定。检验合格后, 用本发明的高效液相色谱法测定含量和有关物质, 含量为 93.8%。有关物质的总量为 13.42%, 单个杂质的量为 6.11%。

(2) 往 56°C 的乙醇 1000ml 中, 加入较低纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠 (批号 Y041120) 粉末 200g;

(3) 边加边搅拌使粉末溶解, 获得近饱和的澄清溶液;

(4) 按体积比 5%的比例加入的氯仿 50ml, 搅拌均匀, 将溶液加热到 72°C, 搅拌溶解;

(5) 在室温下静置, 缓缓降温到室温, 静置 12 小时, 然后降温到 2~4°C, 静置 12 小时;

(6) 待结晶析出后, 过滤, 真空干燥, 得砖红色结晶性粉末 (批号 Y050415)。

制成的高纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠, 按照中国国家药品标准 WS- 10001-(HD-0923)- 2002 测定, 各项指标均符合规定。再按照本发明的高效液相色谱法, 测定含量和有关物质

实施例2

(1) 原材料为上述实施例 1 制成的高纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠(批号 Y050415), 按标准-0923 测定, 含量为 98.6%, 有关物质总量小于 7%, 单一杂质的量小于 4%[但分别大于 6%和 3%, 以 4%、3.5%、3%对照], 其余项目符合规定。检验合格后, 用本发明的高效液相色谱法测定含量和有关物质, 含量为 97.4%, 有关物质的总量为 7.73%, 单个杂质的量为 2.97%。

(2) 往 59 °C 的乙醇 1000ml 中, 加入的较低纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠 (批号 Y050415) 粉末 200g;

(3) 边加边搅拌使粉末溶解, 获得近饱和的澄清溶液;

(4) 按体积比 5%的比例加入的氯仿 50ml, 搅拌均匀, 将溶液加热到 72 °C, 搅拌溶解;

(5) 在室温下静置, 缓缓降温到室温, 静置 12 小时, 然后降温到 2~3 °C, 静置 24 小时;

(6) 待结晶析出后, 过滤, 真空干燥, 得砖红色结晶性粉末[批号 Y050420]。

制成的高纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠, 按照标准-0923 测定, 各项指标均符合规定。再按照本发明的高效液相色谱法, 测定含量和有关物质。

实施例3

(1) 原材料为低纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠 (批号为 Y050212), 自制, 自制方法为: 按现有技术, 从丹参中提取纯度为 81% 的丹参酮 IIA (HPLC 法), 然后用浓硫酸进行磺化反应, 制得丹参酮 IIA 磺酸钠 (批号 Y050212)。按标准-0923 测定, 含量为 93.3%, 有关物质总量小于 12%, 单一杂质的量小于 6% [但分别大于 10% 和 5%, 以 5%、6% 对照], 其余项目符合规定, 检验合格后。用本发明的高效液相色谱法测定含量和有关物质, 含量为 92.6%, 有关物质的总量为 13.66%, 单个杂质的量为 6.03%。

(2) 往 53 °C 的乙醇 1000ml 中, 加入的较低纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠 (批号 050212) 粉末 200g;

(3) 边加边搅拌使粉末溶解, 获得近饱和的澄清溶液;

(4) 按体积比 7% 的比例加入的氯仿 70ml, 搅拌均匀, 将溶液加热到 70 °C, 搅拌溶解;

(5) 在室温下静置, 缓缓降温到室温, 静置 12 小时, 然后降温到 4~6 °C, 静置 12 小时;

(6) 待结晶析出后, 过滤, 真空干燥, 得砖红色结晶性粉末;

(7) 所得粉末再按以上 (2)~(6) 步骤重复结晶一次, 得砖红色结晶性粉末 (批号 Y050425)。

制成的高纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠, 按照标准-0923 测定, 各项指标均符合规定。再按照本发明的高效液相色谱法, 测定含量和有关物质。

实施例4

测定丹参酮IIA磺酸钠的含量和有关物质的高效液相色谱法

高效液相色谱法测定含量和有关物质照《中国药典》2005 年版二部附录 VD 进

行。

(i) 色谱条件与系统适用性试验：用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂，以浓度为 0.05mol/L 并用醋酸调 pH 值为 3.0 的醋酸铵溶液与甲醇的体积比为 35: 65 的混合溶液为流动相，检测波长为 270nm，调节流速至丹参酮 IIA 磺酸钠的保留时间约为 8 分钟，理论板数按丹参酮 IIA 磺酸钠峰计算应不低于 2500，丹参酮 IIA 磺酸钠峰与其它峰的分离度应大于 1.2；

(ii) 有关物质检查：按 (i) 所确定的色谱条件与系统适用性试验的方法进行测定。

取丹参酮 IIA 磺酸钠适量，加流动相溶解，制成浓度约为 100 μ g/ml 的溶液，作为供试品溶液，精密量取供试品溶液 1ml，置 100ml 量瓶中，加流动相稀释至刻度，摇匀，作为对照溶液；取对照溶液 20 μ l，注入液相色谱仪，调节检测灵敏度，使主成份色谱峰的峰高约为满量程的 20%；另取丹参酮 IIA 对照品适量，加流动相制成浓度为 10 μ g/ml 的溶液，取 20 μ l 注入液相色谱仪，记录色谱图至丹参酮 IIA 峰保留时间的 1.2 倍；再精密量取对照溶液与供试品溶液各 20 μ l，分别注入液相色谱仪，记录色谱图至丹参酮 IIA 峰保留时间的 1.2 倍；供试品溶液的色谱图中各杂质色谱峰面积之和，除以对照溶液主峰面积，计算有关物质的总量；供试品溶液的色谱图中最大的单个杂质的色谱峰面积除以对照溶液主峰面积，计算单个杂质的量；

(iii) 含量测定：精密称取丹参酮 IIA 磺酸钠约 25mg，置 100ml 量瓶中，加流动相溶解并稀释至刻度，摇匀，再精密吸取 5ml，置 50ml 的量瓶中，加流动相稀释至刻度，摇匀，作为供试品溶液；以符合中国国家药品标准 WS-10001-(HD-0923)-2002，用 (ii) 项方法检查有关物质的总量小于 2%，单个杂质的量在 1.0% 以下，并在 60 $^{\circ}$ C 下真空干燥至恒重的丹参酮 IIA 磺酸钠为对照品，精密称取该丹参酮 IIA 磺酸钠对照品适量，用流动相溶解并制成浓度约为 25 μ g/ml 的对照品溶液；取供试品溶液和对照品溶液各 20 μ l，分别注入液相色谱仪，记录色谱图，按外标法以峰面积计算含量。

在测定制剂的含量和有关物质时，取与原料药相当量的制剂，用流动相配制供试品溶液，必要时过滤，其余操作与上述 (ii) 和 (iii) 相同。

实施例5

丹参酮IIA磺酸钠原料药的检验

(1) 用标准-0923 的方法测定实施例 1~3 所涉及的低纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠原料药 (Y041120、Y050212) 和高纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠原料药 (Y050415、

Y050420、Y050425), 结果见表 1。

(2)用本发明实施例 4 的方法测定实施例 1~3 所涉及的低纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠原料药和高纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠原料药, 结果见表 1。

含量测定用对照品系本发明人按实施例 1 的方法提纯, 批号为 C050110, 按标准-0923 检查, 符合规定; 用实施例 4 (ii) 项方法检查有关物质的总量为 1.17%, 最大的单个杂质的量为 0.62。

表 1 用国家药品标准的方法测定丹参酮 IIA 磺酸钠原料药的检验结果

| 检验方法 | 检验项目 | 样品批号及来源 | | | | |
|---------|--------|---------------|---------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| | | Y041120 外购 | Y050212 自制 | Y050415 由 Y041120 纯化 | Y050420 由 Y050415 纯化 | Y050425 由 Y050212 纯化 |
| 标准-0923 | 含量 | 96.3% | 93.3% | 98.6% | 99.1% | 97.7% |
| | 杂质总量 | 小于 8% | 小于 12% | 小于 7% | 小于 6% | 小于 8% |
| | 单一杂质质量 | 小于 4% | 小于 6% | 小于 4% | 小于 3% | 小于 4% |
| | 其它项目 | 符合规定 | 符合规定 | 符合规定 | 符合规定 | 符合规定 |
| 实施例 4 | 含量 | 93.8% | 92.6% | 97.4% | 98.8% | 96.9% |
| | 杂质总量 | 13.42% | 13.66% | 7.73% | 6.44% | 9.81% |
| | 单一杂质质量 | 6.11% | 6.03% | 2.97% | 2.38% | 3.79% |

从上表可见, 采用本发明的制备方法, 制成的高纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠原料药, 用高效液相色谱法测定, 含量明显升高, 有关物质明显降低。但采用国家药品标准的方法测定却看不出明显的提高。

实施例 6

用不同纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠制备小容量水针剂

参考标准-1014, 以相同的处方和工艺, 采用不同纯度 (不同批号) 的丹参酮 IIA 磺酸钠制备小容量水针剂, 处方如下:

| 组份 | 用量 | 备注 |
|-------------|-----------|-------|
| 丹参酮 IIA 磺酸钠 | 5g | 主药, |
| EDTA-2Na | 0.5g | 金属络合剂 |
| 注射用水 | 加至 1000ml | 溶媒 |

制备方法: 取处方量的丹参酮 IIA 磺酸钠、EDTA-Na, 加 500ml 注射用水, 搅拌溶解。加 0.1%(w/v)活性炭, 加 1M 盐酸溶液或 1M 氢氧化钠溶液调节 pH 值为

4.5±0.2, 加热至 75~80°C, 搅拌 10 分钟, 冷至 45~50°C, 粗滤脱炭, 补加注射用水至 1000ml, 调节 pH 值至 4.5±0.2, 用 0.22μm 微孔滤膜过滤, 灌装, 每瓶装 5ml, 封口, 115°C 灭菌 20 分钟, 即得丹参酮 IIA 磺酸钠小容量注射液。

所用的 5 批原料分别为 Y041120、Y050212、Y050415、Y050420、Y050425, 按以上处方和工艺制成的注射液的批号分别为 Inj-1120、Inj-0212、Inj-0415、Inj-0420、Inj-0425。

将制成的小容量水针剂置于 40°C 的恒温箱中放置 3 个月, 观察 0 月(未经 40°C 放置即测定)和 3 月时样品沉淀产生情况, 再按照实施例 4 的方法测定含量和有关物质。

另按标准-0923 的方法测定有关物质。

沉淀的观察方法为: 每批样品取 50 支(瓶)观察, 累计产生沉淀的安瓿(瓶)数。结果见表 2。

表 2 丹参酮 IIA 磺酸钠小容量注射液 40°C 留样质量变化结果

| 项目 | 时间 | 样品批号 | | | | | |
|-----------------|---------------|----------|----------|----------|----------|----------|--------|
| | | Inj-1120 | Inj-0212 | Inj-0415 | Inj-0420 | Inj-0425 | |
| 沉淀 (沉淀数/观察数) | 0 月 | 0/50 | 0/50 | 0/50 | 0/50 | 0/50 | |
| | 3 月 | 12/50 | 17/50 | 0/50 | 0/50 | 0/50 | |
| 高效液相色谱法 | 含量 (mg/ml) | 0 月 | 5.06 | 5.03 | 4.96 | 4.91 | 5.09 |
| | | 3 月 | 5.04 | 5.05 | 4.93 | 4.94 | 5.11 |
| | 杂质总量 | 0 月 | 13.47% | 13.62% | 7.84% | 6.41% | 9.86% |
| | | 3 月 | 16.31% | 16.90% | 8.34% | 6.89% | 10.42% |
| | 单一杂质 | 0 月 | 6.23% | 6.07% | 2.96% | 2.44% | 3.77% |
| | | 3 月 | 7.87% | 7.81% | 3.17% | 2.62% | 4.05% |
| 薄层色谱法 | 杂质-I* | 0 月 | <4% | <4% | <3% | <2% | <3% |
| | | 3 月 | <6% | <6% | <4% | <2% | <3% |
| | 杂质-II** | 0 月 | <4% | <4% | <3% | <3% | <3% |
| | | 3 月 | <6% | <6% | <3% | <3% | <4% |

注: *杂质-I: 为丹参酮 I 磺酸钠; *杂质-II: 为丹参酮 IIA。

从上表可见, 以相同的处方和工艺, 采用不同纯度的原料药, 制成丹参酮 IIA 磺酸钠小容量注射液, 其稳定性差异明显: 低纯度的原料药制成的制剂容易出现沉淀, 杂质随留样过程增长较快; 而高纯度的原料药制成的制剂未见出现沉淀, 杂质随留样过程变化较小。

实施例 7

用不同纯度的丹参酮IIA磺酸钠制备大容量葡萄糖注射液、冻干粉针剂

以两批原料 Y050212、Y050420，分别以相同的处方，分别制备丹参酮 IIA 磺酸钠的大容量注射液和冻干粉针剂。

大容量注射液的处方如下：

| 组份 | 用量 | 备注 |
|-------------|-----------|-----|
| 丹参酮 IIA 磺酸钠 | 200mg | 主药， |
| 葡萄糖 | 50g | 等渗剂 |
| 注射用水 | 加至 1000ml | 溶媒 |

制备方法：取处方量的丹参酮 IIA 磺酸钠，加 500ml 注射用水，搅拌溶解，加入处方量的葡萄糖，搅拌溶解。加 0.1%(w/v)活性炭，加盐酸溶液调节 pH 值为 4.5 ± 0.2 ，加热至沸，煮沸 10 分钟，冷至 $55\sim 60^{\circ}\text{C}$ ，粗滤脱炭，补加注射用水至 1000ml，调节 pH 值至 4.5 ± 0.2 ，用 $0.22\mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤，灌装，每瓶装 250ml，封口， 115°C 灭菌 20 分钟，即得含有丹参酮 IIA 磺酸钠的大容量葡萄糖注射液。批号分别为 P0212、P0420。

冻干粉针剂的处方如下：

| 组份 | 用量 | 备注 |
|-------------|-----------|-----|
| 丹参酮 IIA 磺酸钠 | 5g | 主药， |
| 甘露醇 | 150g | 支持剂 |
| 注射用水 | 加至 1000ml | 溶媒 |

制备方法：取处方量的丹参酮 IIA 磺酸钠，加 500ml 注射用水，搅拌溶解，加入处方量的甘露醇，搅拌溶解。加 0.1%(w/v)活性炭，调节 pH 值为 4.5 ± 0.2 ，加热至沸，煮沸 10 分钟，冷至 $50\sim 60^{\circ}\text{C}$ ，粗滤脱炭，补加注射用水至 1000ml，调节 pH 值至 4.5 ± 0.2 ，用 $0.22\mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤，灌装，每瓶 2ml，半加塞，冷冻干燥。即得含有丹参酮 IIA 磺酸钠的冻干粉针剂。批号分别为 D0212、D0420。

冷冻干燥方法可参考相关的教科书，本领域技术人员可以很容易地实现。

将制成的大容量葡萄糖注射液和冻干粉针剂置于 40°C 的恒温箱中放置 3 个月，观察葡萄糖注射液在 0 月和 3 月时样品沉淀产生情况，再按照实施例 4 的方法测定葡萄糖注射液和冻干粉针剂的含量和有关物质。结果见表 3。

表 3 丹参酮 IIA 磺酸钠大容量输液剂和冻干粉针剂 40°C 留样质量变化结果

| 项目 | 时间 | 样品批号 | | | |
|----|-----|-------|-------|-------|-------|
| | | P0212 | P0420 | D0212 | D0420 |
| 沉淀 | 0 月 | 0/50 | 0/50 | — | — |

| | | | | | |
|-----------|----|------------|------------|-----------|-----------|
| (沉淀数/观察数) | 3月 | 6/50 | 0/50 | — | — |
| 含量 | 0月 | 0.207mg/ml | 0.203mg/ml | 10.11mg/瓶 | 10.06mg/瓶 |
| | 3月 | 0.206mg/ml | 0.201mg/ml | 10.04mg/瓶 | 10.03mg/瓶 |
| 杂质总量 | 0月 | 13.52% | 6.44% | 13.46% | 6.46% |
| | 3月 | 16.47% | 6.97% | 16.31% | 6.94% |
| 单一杂质 | 0月 | 6.21% | 2.41% | 6.26% | 2.38% |
| | 3月 | 7.94% | 2.66% | 7.85% | 2.62% |

从上表可见，以相同的处方和工艺，采用不同纯度的原料药，制成丹参酮 IIA 磺酸钠大容量葡萄糖注射液和冷冻干燥针剂，其稳定性差异明显：低纯度的原料药制成的制剂出现沉淀，杂质随留样过程增长较快；而高纯度的原料药制成的制剂未见出现沉淀，杂质随留样过程变化较小。

本发明的高纯度的丹参酮 IIA 磺酸钠还可以用于其它制剂，如口服液体药剂、口服固体制剂等，不言而喻，本发明是延及这些制剂产品的。