



(21)申請案號：108121551

(22)申請日：中華民國 108 (2019) 年 06 月 20 日

(51)Int. Cl.:

A61K31/519 (2006.01)

A61K9/08 (2006.01)

A61K47/22 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2018/06/20

日本

2018-117235

(71)申請人：日商日本化藥股份有限公司(日本)NIPPON KAYAKU KABUSHIKI KAISHA (JP)
日本

(72)發明人：関口綾美 SEKIGUCHI, AYAMI (JP)；今井義寛 IMAI, YOSHIHIRO (JP)；酒向弘毅 SAKOU, HIROKI (JP)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：11 項 圖式數：5 共 49 頁

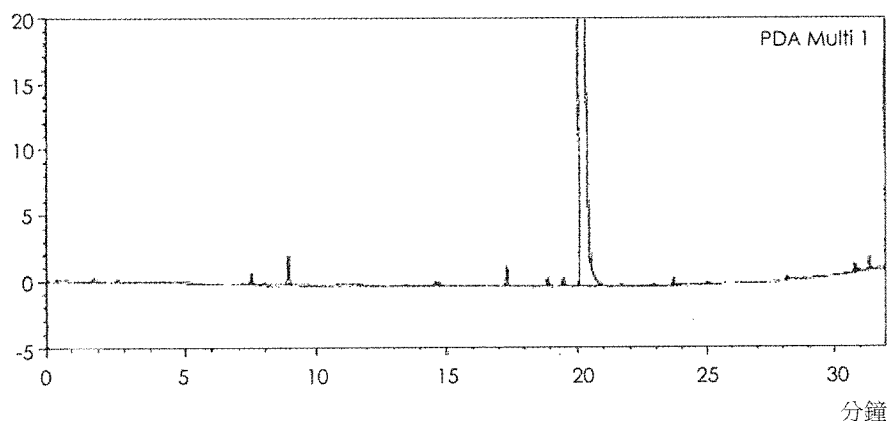
(54)名稱

培美曲塞鈉注射用溶液製劑及其製造方法

(57)摘要

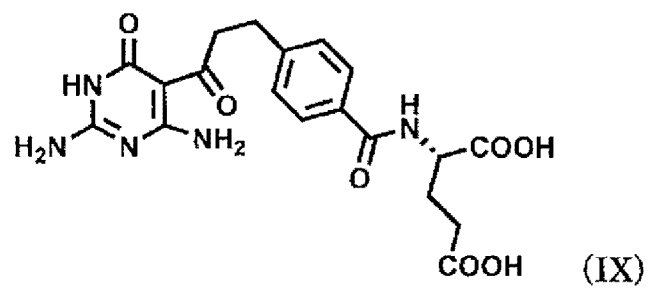
於醫療現場中，要求相較於冷凍乾燥製劑，無需繁雜之溶解步驟且可稀釋後立即投予等方便性高之溶液形態之 RTU(Ready-to-use，即用型)製劑。本發明之課題在於提供一種於保存期間抑制了類似物質之生成並且抑制了溶液著色之含有培美曲塞之注射用溶液製劑。根據本發明，提供一種注射用溶液製劑之製造方法，其係含有培美曲塞二鈉作為有效成分之注射用溶液製劑之製造方法，該方法包括：(1)使用含培美曲塞二鈉之原料而製備注射用溶液之步驟、及(2)將上述注射用溶液填充於製劑用容器中，以空隙部分之氧氣濃度為 1 體積%以下之氣氛藉由橡皮塞加以塞緊之步驟，且上述原料含有 0.10%以下之 HPLC 分析中以培美曲塞之保持時間(RT)作為指標之相對保持時間(RRT)為 0.41 ± 0.03 的成分。

指定代表圖：



【圖1】

特徵化學式：



【發明說明書】

【中文發明名稱】

培美曲塞鈉注射用溶液製劑及其製造方法

【技術領域】

【0001】

本發明係關於一種於保存中抑制了著色之含有培美曲塞鈉之注射用溶液製劑及其製造方法、以及用於製備注射用溶液製劑之含培美曲塞二鈉之原料。

【先前技術】

【0002】

培美曲塞鈉(化學名：N-[4-[2-(2-胺基-4-氧代-4,7-二氫-1H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-基)乙基]苯甲醯基]L-麩胺酸二鈉)係惡性胸膜間皮瘤及無法切除之進行性、復發性之非小細胞肺癌之治療劑，並以培美曲塞(ALIMTA 註冊商標)之商品名作為冷凍乾燥製劑進行市售。該製劑係於投予時加入生理鹽水以使之溶解，抽出所需量之溶液，適當利用生理鹽水進行稀釋，靜脈內投予來使用。

【0003】

一般而言，冷凍乾燥製劑雖保存穩定性優異，但使用時需要繁雜之溶解步驟。因此，於醫療現場中，要求一種無需繁雜之溶解步驟，可稀釋後立即投予之溶液製劑。因此，培美曲塞鈉製劑亦有對於方便性較高之注射用溶液製劑之迫切需求。

然而，已知培美曲塞鈉之溶液穩定性較低，於水溶液中會發生氧化分解，又，於保存中漸漸地可見溶液著色。為了製備穩定性得到確保之培

美曲塞納之注射用溶液製劑，此前報告有嚴格地控制小瓶內之氧氣濃度及溶氧，又，製成添加有抗氧化劑之組合物之方法。

【0004】

例如專利文獻1中揭示有一種氧分壓為0.2%以下之培美曲塞納溶液製劑，且記載有使用減壓脫氣、蒸餾脫氣、通入氮氣、膜脫氣或觸媒樹脂脫氣方法。

又，亦已知有使用抗氧化劑之配方，專利文獻2中記載有一種培美曲塞水溶液製劑，其使用單硫甘油、半胱胺酸或硫代乙醇酸作為抗氧化劑。專利文獻3中記載有一種培美曲塞溶液製劑，其含有選自硫辛酸、二氫硫辛酸、甲硫胺酸或其等之混合物之抗氧化劑；及選自乳糖酸、三鹼性檸檬酸鈉或其等之混合物之螯合劑。專利文獻4中記載有一種培美曲塞溶液製劑，其含有選自檸檬酸及半胱胺酸之抗氧化劑。專利文獻5中記載有一種培美曲塞溶液製劑，其含有半胱胺酸、精胺酸及丙二醇。專利文獻6中記載有一種培美曲塞溶液製劑，其含有半胱胺酸及硫甘油。專利文獻7中記載有一種培美曲塞溶液製劑，其含有乙醯半胱胺酸及檸檬酸鈉。

記載有該等以培美曲塞納作為有效成分之注射用溶液製劑係以於保存中可抑制類似物質之生成為主要目標，且可一併抑制溶液之著色。

[先前技術文獻]

[專利文獻]

【0005】

[專利文獻1]國際公開2012/121523號

[專利文獻2]日本專利特表2003-521518號公報

[專利文獻3]日本專利特表2013-540104號公報

[專利文獻4]日本專利特開2014-237607號公報

[專利文獻5]國際公開2015/193517號

[專利文獻6]國際公開2015/145911號

[專利文獻7]日本專利特表2016-518404號公報

【發明內容】

[發明所欲解決之問題]

【0006】

關於培美曲塞納之注射用溶液製劑，已知於保存中發現類似物質漸漸地增多，又發現溶液之著色。尤其是有時溶液之著色可藉由目視辨識，而著色之製劑於醫療現場中被視為不良品。在此之前，作為保存穩定性得到確保之培美曲塞納溶液製劑，對嚴格管理包含溶氧在內之溶液製劑中之氧氣濃度，及/或使用抗氧化劑等添加劑之情況進行了研究。該等係以抑制培美曲塞納之分解而抑制類似物質之生成為主要目標之方法。然而，關於類似物質之量與著色之關係，並無表示相關聯之資料，即便減少類似物質亦無法抑制著色，類似物質之量與著色之關係並不明確。

本發明之課題在於提供一種於保存中抑制了著色之以培美曲塞二鈉作為有效成分之注射用溶液製劑。

[解決問題之技術手段]

【0007】

本發明係基於如下發現者，即用於製備培美曲塞納注射用溶液製劑之含培美曲塞二鈉之原料中所含有之類似物質之構成及含量會對該溶液製劑之保存中之溶液之著色造成影響。即，藉由將特定類似物質之含量得到控制之培美曲塞二鈉用於製劑製備用原料藥，而提供抑制著色且保存穩定

性優異之培美曲塞納之注射用溶液製劑。

【0008】

本案發明係將以下之[1]至[7]所記載之培美曲塞納之注射用溶液製劑之製造方法作為第1發明。

[1]一種注射用溶液製劑之製造方法，其係含有培美曲塞二鈉為有效成分之注射用溶液製劑之製造方法，該方法包括：

(1)使用含培美曲塞二鈉之原料而製備注射用溶液之步驟，及

(2)將上述注射用溶液填充至製劑用容器中，以空隙部分之氧氣濃度為1體積%以下之氣氛藉由橡皮塞加以塞緊之步驟，

上述原料含有0.10%以下之HPLC(High Performance Liquid Chromatography，高效液相層析法)分析中以培美曲塞之保持時間(RT)作為指標之相對保持時間(RRT)為 0.41 ± 0.03 的成分，

上述HPLC分析之條件係如下所示之分析條件；

[HPLC分析條件]

測定波長：228 nm

管柱：C8管柱，150×4.6 mm，3.5 μm

管柱溫度：30℃

流動相A：25 mM 磷酸鈉緩衝液(pH值2.5)/乙腈 = 97/3

流動相B：25 mM 磷酸鈉緩衝液(pH值2.5)/乙腈 = 30/70

流動相之濃度梯度控制(流動相A之濃度(vol%)梯度(注入後之時間))：100→75(0-20分鐘)，75→0(20-32分鐘)，其餘部分係流動相B。

流量：1.0 mL/分鐘

面積測定範圍：試樣溶液注入後32分鐘

【0009】

即，於製備培美曲塞納之注射用溶液製劑時，藉由使用將檢測出RRT為 0.41 ± 0.03 之類似物質控制在0.10%以下之含培美曲塞二鈉之原料，可製造著色得到抑制之注射用溶液製劑。

【0010】

[2]如[1]所記載之製造方法，其中含培美曲塞二鈉之原料含有0.05%以下之HPLC分析中以培美曲塞之保持時間作為指標之相對保持時間(RRT)為 0.34 ± 0.03 的成分。

進而亦著眼於檢測出RRT為 0.34 ± 0.03 之類似物質，較佳為使用將該成分控制在0.05%以下之含培美曲塞二鈉之原料。

【0011】

[3]如[1]或[2]所記載之製造方法，其中含培美曲塞二鈉之原料之HPLC純度為98.50%以上。

含培美曲塞二鈉之原料較佳為其他類似物質之含量較少，為極高純度。

【0012】

培美曲塞納會於氧之存在下敏銳地發生反應而導致溶液著色。發現尤其是於製備培美曲塞之溶液製劑時，注射用製劑之小瓶之作為密封材料之橡皮塞亦具有透氧性，該穿透之氧會對溶液中之培美曲塞納之著色或類似物質生成造成不良影響。即，於培美曲塞納溶液製劑之製備中，重要的是選擇作為密封材料之橡皮塞，藉由採用透氧性之溫度依存性較低之橡皮塞，可抑制溶液著色、及/或類似物質生成。

【0013】

[4]如[1]至[3]中任一項所記載之製造方法，其中使用於在60℃之溫度條件下保存2週之期間中穿透至容器內之氧氣量為0.0013 mmol以下之橡皮塞加以塞緊。

[5]如[1]至[4]中任一項所記載之製造方法，其中自製劑用容器之容積去除上述注射用溶液之體積後所得之容器之空隙部分的容積相對於容器之容積為60%以下。

【0014】

藉由使用特定特定之密封材料，可提供一種於5℃至室溫以上之廣泛溫度範圍內之保存條件下，著色得到抑制，且類似物質之生成得到抑制之培美曲塞納之注射用溶液製劑。又，可藉由減小空隙部分而減少製劑內之氧氣量，故而較佳。

【0015】

本發明中所製造之培美曲塞納溶液製劑之特徵在於：即便於保存中類似物質含量亦較少，且溶液著色得到抑制。即，將以下之[6]及[7]之類似物質概況(profile)作為特徵。

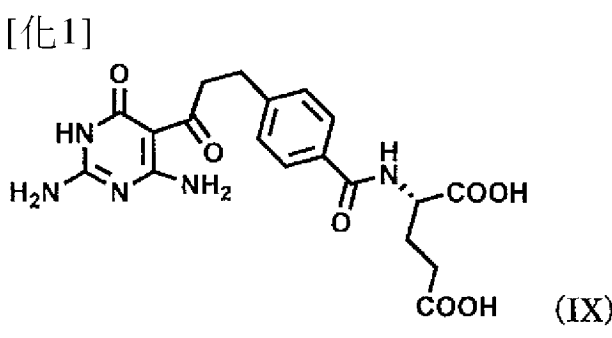
【0016】

[6]如[1]至[5]中任一項所記載之製造方法，其中含有培美曲塞二鈉作為有效成分之注射用溶液製劑含有0.05%以下之HPLC分析中以培美曲塞之保持時間(RT)作為指標之相對保持時間(RRT)為1.07±0.03的成分。

[7]如[1]至[6]中任一項所記載之製造方法，其中含有培美曲塞二鈉作為有效成分之注射用溶液製劑含有0.05%以下之式(IX)所表示之化合物或其鹽。

【0017】

再者，式(IX)所表示之化合物係作為培美曲塞類似物之一而為人所知之化合物(亦稱為 Keto-Amine(酮胺)體)，且係利用HPLC分析檢測出RRT為 0.94 ± 0.03 之成分。



【0018】

本發明亦包括於保存中著色得到抑制之培美曲塞納溶液製劑。即，具備以下之[8]及[9]所記載之類似物質概況之溶液製劑。

【0019】

[8]一種注射用溶液製劑，其係含有培美曲塞二鈉為有效成分且含有0.05%以下之HPLC分析中以培美曲塞之保持時間(RT)作為指標之相對保持時間(RRT)為 1.07 ± 0.03 的成分者，上述HPLC分析之條件係如下所示之分析條件。

[HPLC分析條件]

測定波長：228 nm

管柱：C8管柱，150×4.6 mm，3.5 μm

管柱溫度：30℃

流動相A：25 mM 磷酸鈉緩衝液(pH值2.5)/乙腈 = 97/3

流動相B：25 mM 磷酸鈉緩衝液(pH值2.5)/乙腈 = 30/70

流動相之濃度梯度控制(流動相A之濃度(vol%)梯度(注入後之時間))：100→75(0-20分鐘)，75→0(20-32分鐘)，其餘部分係流動相B。

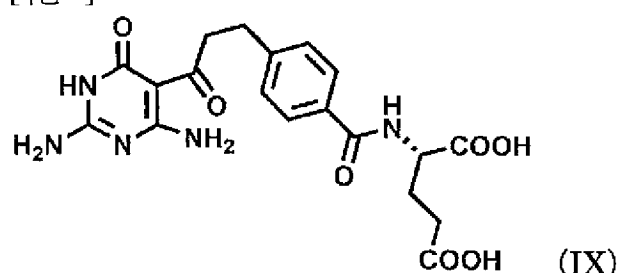
流量：1.0 mL/分鐘

面積測定範圍：試樣溶液注入後32分鐘

【0020】

[9]如[8]所記載之注射用溶液製劑，其含有0.05%以下之式(IX)所表示之化合物。式(IX)所表示之化合物係利用HPLC分析檢測出RRT為0.94±0.03之成分。

[化2]



【0021】

本發明亦包括含培美曲塞二鈉之原料，其係用以製造於保存中著色得到抑制之培美曲塞納溶液製劑之原料。即，具備以下之[10]及[11]所記載之類似物質概況之含培美曲塞二鈉之原料。

【0022】

[10]一種注射用溶液製劑用含培美曲塞二鈉之原料，其係用於製造醫藥品之注射用溶液製劑者，且含有0.10%以下之HPLC分析中以培美曲塞之保持時間(RT)作為指標之相對保持時間(RRT)為0.41±0.03的成分，且上述HPLC分析之條件係如下所示之分析條件。

[HPLC分析條件]

測定波長：228 nm

管柱：C8管柱，150×4.6 mm，3.5 μm

管柱溫度：30℃

流動相A：25 mM 磷酸鈉緩衝液(pH值2.5)/乙腈 = 97/3

流動相B：25 mM 磷酸鈉緩衝液(pH值2.5)/乙腈 = 30/70

流動相之濃度梯度控制(流動相A之濃度(vol%)梯度(注入後之時間))：100→75(0-20分鐘)，75→0(20-32分鐘)，其餘部分係流動相B。

流量：1.0 mL/分鐘

面積測定範圍：試樣溶液注入後32分鐘

【0023】

上述發明[10]亦為如下發明，即一種包含特定類似物質之含培美曲塞二鈉之原料之用途，其用以製造以培美曲塞二鈉作為有效成分之注射用溶液製劑，上述特定類似物質含有0.10%以下之HPLC分析中以培美曲塞之保持時間(RT)作為指標之相對保持時間(RRT)為 0.41 ± 0.03 的成分。

【0024】

[11]如[10]所記載之注射用溶液製劑用含培美曲塞二鈉之原料，其含有0.05%以下之HPLC分析中以培美曲塞之保持時間作為指標之相對保持時間(RRT)為 0.34 ± 0.03 的成分。

【0025】

上述發明[11]亦為如下發明，即一種包含特定類似物質之含培美曲塞二鈉之原料之用途，其用以製造以培美曲塞二鈉作為有效成分之注射用溶液製劑，上述特定類似物質含有0.10%以下之HPLC分析中以培美曲塞之保持時間(RT)作為指標之相對保持時間(RRT)為 0.41 ± 0.03 的成分，及0.05%以下之RRT為 0.34 ± 0.03 之成分。

[發明之效果]

【0026】

本發明藉由著眼於用於製備培美曲塞納之注射用溶液製劑之含培美曲塞二鈉之原料中所含有之類似物質之構成及其含量，可提供一種於該溶液製劑之保存中可抑制溶液之著色之方法。尤其是可提供一種於5℃至室溫以上之廣泛溫度範圍內之保存條件下，溶液之著色得到抑制之含有培美曲塞之注射用溶液製劑。

【圖式簡單說明】

【0027】

圖1係實施例1之注射用溶液製劑所使用之培美曲塞二鈉原料藥之HPLC圖。

圖2係實施例4之注射用溶液製劑之HPLC圖(A：試驗開始時，B：60℃、2週後之分析)。

圖3係比較例2之注射用溶液製劑之HPLC圖(A：試驗開始時，B：60℃、2週後之分析)。

圖4係HPLC分析之相對保持時間(RRT)為0.34之成分之LC-MS光譜(上圖：正離子模式，下圖：負離子模式)。

圖5係HPLC分析之相對保持時間(RRT)為0.41之成分之LC-MS光譜(上圖：正離子模式，下圖：負離子模式)。

【實施方式】

【0028】

本發明藉由將特定類似物質之含量得到控制之含培美曲塞二鈉之原料作為溶液製劑製備用原料藥來進行應用，而提供一種抑制著色，且保存穩定性優異之含有培美曲塞納之注射用溶液製劑。以下，對其詳情進行說明。

【0029】

[注射用溶液製劑所使用之含培美曲塞二鈉之原料]

本發明中之培美曲塞二鈉係化學名為N-[4-[2-(2-胺基-4-氧代-4,7-二氫-1H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-基)乙基]苯甲醯基]L-麩胺酸二鈉，其作為抗代謝性抗腫瘤劑之有效成分為人所知，若為作為醫藥品用原料藥適當之品質者，則無特別問題可使用。該培美曲塞二鈉可為無水物，亦可為水合物或任意之溶劑合物。作為水合物，已知有2.5水合物或7水合物，可無特別限定地使用。

【0030】

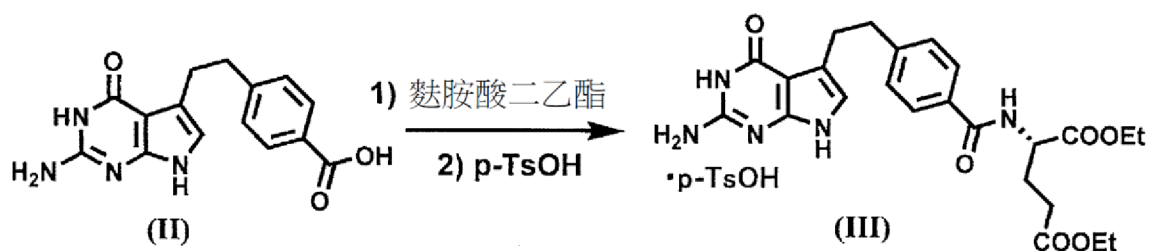
關於培美曲塞二鈉之製造方法，存在大量先前技術文獻，例如日本專利特表2003-530321號公報中記載有培美曲塞二鈉7水合物之製備方法。本發明之培美曲塞二鈉之製造方法並無特別限定，依據公知之方法並適宜將純化步驟應用於該方法，藉此可製造類似物質組成及其含量得到控制之培美曲塞二鈉。較佳為可依據基於以下之第1至4步驟之方法而獲得培美曲塞二鈉。

【0031】

[第1步驟]醯胺化反應

該步驟係使式(II)所表示之化合物、與麩胺酸二乙酯進行縮合反應，而合成式(III)所表示之培美曲塞之二乙醚。

[化3]

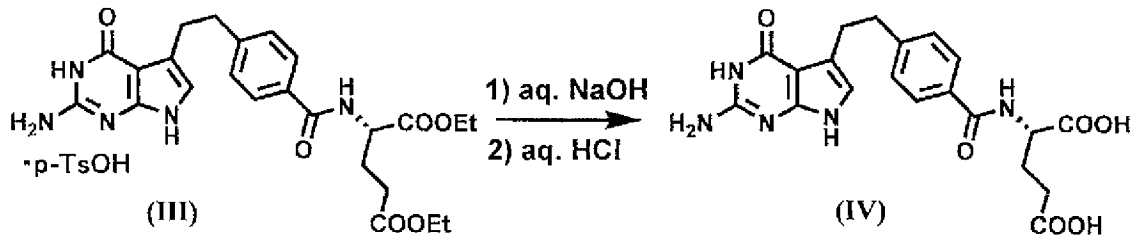


【0032】

[第2步驟]水解反應

該步驟係使培美曲塞之二乙醚(III)水解而製成培美曲塞二酸(IV)。

[化4]

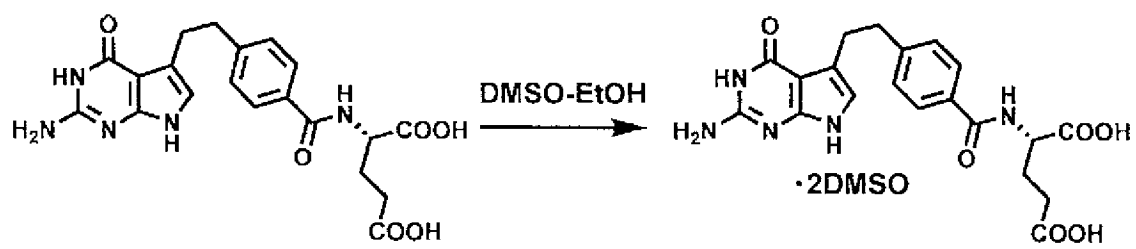


【0033】

[第3步驟]純化步驟

該步驟係使培美曲塞二酸(IV)自二甲基亞磺及乙醇再結晶，獲得培美曲塞二酸(IV)之DMSO(Dimethyl Sulfoxide，二甲基亞磺)合物。

[化5]

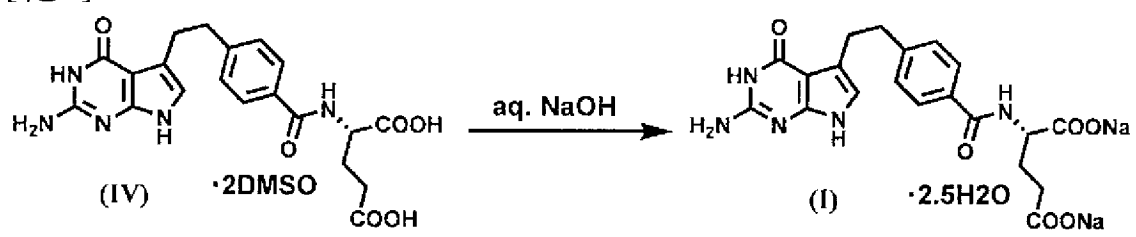


【0034】

[第4步驟]鈉鹽製備步驟

該步驟係藉由使培美曲塞二酸(IV)之DMSO合物溶解於氫氧化鈉溶液中而獲得培美曲塞二鈉(I)，藉此培美曲塞二鈉。

[化6]



【0035】

本製造步驟中，作為用於取得特定類似物質之含量得到抑制之培美曲塞二鈉之較佳條件，較佳為於氮氣氣流下進行製造步驟之所有操作，且控制氧含量而實施；及/或於鹼性條件下進行處理時，維持低溫條件。即，於整個製造步驟中，較佳為以氧氣氛圍為5 v/v%以下、更佳為2 v/v%進行操作。又，於各步驟中，當於鹼性條件下進行處理時，較佳為控制為15℃以下而進行，更佳為控制為10℃以下而進行。

【0036】

已知培美曲塞二鈉之物性為穩定性略有不足，尤其是已知於水溶液等溶液狀態下主要經由氧化反應而生成類似物質。即便於製造含培美曲塞二鈉之原料(亦稱為培美曲塞二鈉原料藥)之過程中，亦不可避免該等類似物質之生成，即便經過純化步驟，藉由高效液相層析法(HPLC)亦會檢測出複數種類似物質。

【0037】

作為含培美曲塞二鈉之原料中所含有之主要類似物質，可列舉：HPLC分析中以培美曲塞之保持時間(RT)作為指標之相對保持時間(RRT)為 0.34 ± 0.03 之成分、RRT為 0.41 ± 0.03 之成分、RRT為 0.55 ± 0.03 之成分(式V，亦稱為 α -Hydroxy Lactone(α -羥基內酯)體)；RRT為 0.69 ± 0.03 及RRT為 0.70 ± 0.03 之成分(式VI，亦稱為Keto-Pemetrexid(酮培美曲塞))；RRT為 0.83 ± 0.03 之成分(式VII，亦稱為N-Me體)；RRT為 0.91 ± 0.03 之成分(式VIII，亦稱為Oxidateve Dimer(氧化二聚體))；RRT為 0.94 ± 0.03 之成分(式IX，亦稱為Keto-Amine(酮胺)體)；RRT為 1.07 ± 0.03 之成分、RRT為 1.12 ± 0.03 之成分、RRT為 1.14 ± 0.03 之成分(式X，亦稱為Keto-

Formamide(酮甲醯胺)體)；RRT為1.17±0.03之成分等。關於主要之類似物質與其利用HPLC分析所得之RRT值，彙總於表1。於作為醫藥品之製造等級之含培美曲塞二鈉之原料中共存有該等類似物質之1種以上。

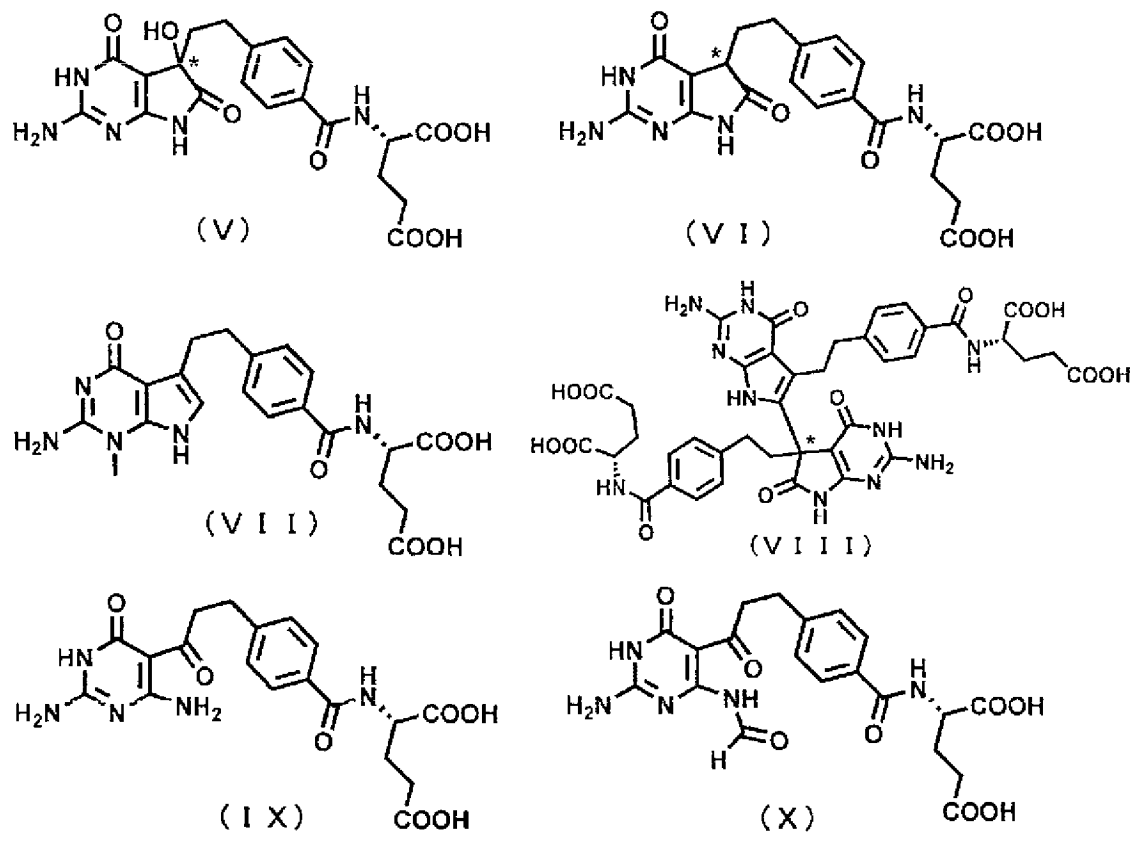
【0038】

[表1]

HPLC RRT	化合物結構
0.34±0.03	(未鑑定)
0.41±0.03	(未鑑定)
0.55±0.03	α-羥基內酯體(式V)
0.69±0.03、 0.70±0.03	酮培美曲塞(式VI)
0.83±0.03	N-Me體(式VII)
0.91±0.03	氧化二聚體(式VIII)
0.94±0.03	酮胺體(式IX)
1.00	培美曲塞
1.07±0.03	(未鑑定)
1.12±0.03	(未鑑定)
1.14±0.03	酮甲醯胺體(式X)
1.17±0.03	(未鑑定)

【0039】

[化7]



【0040】

本發明中之用於培美曲塞二鈉之純度及類似物質分析之HPLC分析條件如下所述。

[HPLC分析條件]

- 檢測器：紫外吸光光度計(測定波長：228 nm)
- 管柱：Zorbax SB-C8，150×4.6 mm，3.5 μm(Agilent公司製造)
- 管柱溫度：30℃附近之固定溫度
- 流動相A：25 mM 磷酸鈉緩衝液(pH值2.5)/乙腈＝97/3
- 流動相B：25 mM 磷酸鈉緩衝液(pH值2.5)/乙腈＝30/70
- 流動相之送液：將流動相A及B之混合比如表2所示般變更而控制濃度梯度。
- 流量：1.0 mL/分鐘
- 面積測定範圍：試樣溶液注入後32分鐘

類似物質測定法：溶出時間0～32分鐘為止之除空白峰以外之層析圖
波峰面積百分率

【0041】

[表2]

注入後之時間(分鐘)	流動相A(vol%)	流動相B(vol%)
0-20	100→75	0→25
20-32	75→0	25→100
32-34	0	100
34-34.01	0→100	100→0
34.01-40	100	0

【0042】

為了製備本發明之溶液著色得到抑制之培美曲塞納之注射用溶液製劑，於含培美曲塞二鈉之原料中，著眼於HPLC分析中以培美曲塞之保持時間(RT)作為指標之相對保持時間(RRT)為 0.41 ± 0.03 的成分，使用其含量為0.1%以下之培美曲塞二鈉。即，該注射用溶液製劑之溶液著色之原因在於含有上述RRT為 0.41 ± 0.03 之成分，藉由控制該成分之含量，可抑制保存中之溶液著色。RRT為 0.41 ± 0.03 之成分之含量較佳為0.075%以下，進而較佳為0.05%以下。

【0043】

本發明之更佳態樣係使用如下培美曲塞二鈉，其係於含培美曲塞二鈉之原料中相對保持時間(RRT)為 0.41 ± 0.03 之成分之含量為0.10%以下，且RRT為 0.34 ± 0.03 之成分之含量為0.05%以下。RRT為 0.34 ± 0.03 之成分較佳為含有0.03%以下，進而較佳為0.02%以下。

再者，上述RRT為 0.41 ± 0.03 之成分、以及RRT為 0.34 ± 0.03 之成分之結構未鑑定。該等成分由於為於該注射用溶液製劑之保存中漸漸地消失之

物性，故而被假定為著色性成分之前驅物。

【0044】

RRT為0.41±0.03之成分係藉由利用高效液相層析-質譜儀(LC-MS)之分析而檢測出m/z = 478([M+H]⁺)者。又，RRT為0.34±0.03之成分亦為藉由同樣之LC-MS分析而檢測出m/z = 478([M+H]⁺)者。

用於檢測RRT為0.41±0.03之成分、及RRT為0.34±0.03之成分之LC-MS測定條件例如利用以下之分析條件進行。

[LC-MS分析]

流動相流量：0.2 mL/min

流動相A：0.1%甲酸溶液

流動相B：0.1%甲酸乙腈溶液

流動相之送液：將流動相A及B之混合比如表3所示般變更而控制濃度梯度。

【0045】

[表3]

注入後之時間(分鐘)	流動相A(vol%)	流動相B(vol%)
0-15	90→60	10→40
15-20	60→30	40→70
20-20.01	30→90	70→10
20.01-30	90	10

【0046】

管柱：Zorbax SB-C8，150×4.6 mm，3.5 μm(Agilent公司製造)

離子化模式：ESI(+/-)

掃描範圍：m/z 350-900

【0047】

本發明中，重點是控制含培美曲塞二鈉之原料之RRT為 0.41 ± 0.03 之成分、及RRT為 0.34 ± 0.03 之成分之含量，但更佳為使用其他類似物質之含量較少者。即，作為基於上述HPLC分析中之面積百分率之含量，較佳為使用以培美曲塞計為98.50%以上之含培美曲塞二鈉之原料。更佳為培美曲塞為99.00%以上之純度，進而更佳為99.50%以上之純度。即，較佳為所有類似物質含量低於1.50%之含培美曲塞二鈉之原料，更佳為低於1.00%，進而更佳為低於0.50%。

【0048】

本發明之含培美曲塞二鈉之原料有時進而含有HPLC分析中以培美曲塞之保持時間(RT)作為指標之相對保持時間(RRT)為 0.94 ± 0.03 的成分(式IX，酮胺體)、及/或RRT為 1.14 ± 0.03 之成分(式X，酮甲醯胺體)，可與其含量一併作為特徵。較佳為RRT為 0.94 ± 0.03 之成分(式IX，酮胺體)為0.10%以下、及/或RRT為 1.14 ± 0.03 之成分(式X，酮甲醯胺體)為0.10%以下。更佳為RRT為 0.94 ± 0.03 之成分(式IX，酮胺體)為0.05%以下、及/或RRT為 1.14 ± 0.03 之成分(式X，酮甲醯胺體)為0.05%以下。

【0049】

又，作為進一步之其他類似物質，有時含有RRT為 0.69 ± 0.03 及RRT為 0.70 ± 0.03 之成分(式VI，酮培美曲塞)以及/或者RRT為 0.91 ± 0.03 之成分(式VIII，氧化二聚體)。較佳為RRT為 0.69 ± 0.03 及RRT為 0.70 ± 0.03 之成分(式VI，酮培美曲塞)之含量為0.10%以下，以及/或者RRT為 0.91 ± 0.03 之成分(式VIII，氧化二聚體)之含量為0.10%以下。更佳為RRT為 0.69 ± 0.03 及RRT為 0.70 ± 0.03 之成分(式VI，酮培美曲塞)之含量為0.01%以上0.075%以下，以及/或者RRT為 0.91 ± 0.03 之成分(式VIII，氧化二聚體)之

含量為0.01%以上0.075%以下。

【0050】

作為其他類似物質，亦有時含有RRT為 0.55 ± 0.03 之成分(式V， α -羥基內酯體)、及RRT為 0.83 ± 0.03 之成分(式VII，N-Me體)。RRT為 0.55 ± 0.03 之成分(式V， α -羥基內酯體)之含量為0.10%以下，更佳為含量為0.05%以下。RRT為 0.83 ± 0.03 之成分(式VII，N-Me體)之含量為0.10%以下，更佳為含量為0.05%以下。

【0051】

[以培美曲塞二鈉作為有效成分之注射用溶液製劑]

關於本發明之培美曲塞納之注射用溶液製劑，第1步驟為：使用滿足上述類似物質概況之含培美曲塞二鈉之原料作為原料藥，而製備該含培美曲塞二鈉之原料之溶液。

作為用於製備該溶液之溶劑，若為作為非經口投予用溶劑所容許者，則可無特別限定地使用。例如可列舉：水、乙醇、聚山梨糖醇酯80、聚乙二醇類、甘油、聚氧乙烯氫化蓖麻油等，該等可單獨使用，或者亦可為2種以上之混合溶劑。作為溶劑，較佳為能夠非經口投予之品質。作為尤佳之溶劑，係以水作為主成分之含水溶劑。亦可為僅使用水作為溶劑之態樣。

【0052】

本發明之注射用溶液製劑中之培美曲塞之濃度較佳為設定為5 mg/mL以上50 mg/mL以下。更佳為以培美曲塞濃度計為10 mg/mL以上且40 mg/mL以下。

【0053】

又，溶液製備溫度並無特別限定，較佳為考慮培美曲塞之穩定性而於60°C以下進行製備。

【0054】

本發明之溶液製劑亦可含有作為醫藥品所容許之添加劑。作為添加劑，若為能夠非經口投予者，則可無特別限定地使用。作為添加劑之種類，亦可含有抗氧化劑、緩衝劑、pH值調節劑、等張劑、螯合劑、穩定劑。

【0055】

所謂抗氧化劑，係指用以抑制有效成分之因氧化所導致之分解之添加劑。例如可列舉：抗壞血酸、半胱胺酸、亞硫酸鈉、亞硫酸氫鈉、焦亞硫酸鈉、 α -硫甘油、檸檬酸、硫代乙醇酸鈉、乙二胺四乙酸鈉、甲硫胺酸、生育酚、丁基羥基甲氧苯、二丁基羥基甲苯等。

所謂緩衝劑，係指用以保持pH值固定之添加劑。例如使用檸檬酸鹽、磷酸鹽、乙酸鹽等。

【0056】

所謂pH值調節劑，係指用以使pH值為所設定之pH值之範圍內之添加劑。例如使用鹽酸、氫氧化鈉、乙酸或其鹽、磷酸或其鹽、檸檬酸或其鹽、酒石酸或其鹽等。

所謂等張劑，係指用以接近血清之滲透壓之添加劑。例如，可列舉：氯化鈉、氯化鈣、氯化鎂、甘油、果糖、木糖醇、山梨糖醇、海藻糖、菸鹼醯胺、葡萄糖、精製白糖、甘露醇、聚乙二醇等。

所謂螯合劑，係指藉由與金屬離子形成錯合物，而間接地抑制由金屬離子之存在所導致之分解之添加劑。例如可列舉：乙二胺四乙酸四乙酸

二鈉、檸檬酸或其鹽、酒石酸或其鹽、葡萄糖酸或其鹽等。

【0057】

穩定劑係以有效成分之分解抑制、粒子之穩定化等各種目的而使用。例如可列舉：乙醯色胺酸、丙胺酸、精胺酸或其鹽、白蛋白、苯甲酸或其鹽、肌醇、乙醇、組胺酸或其鹽、果糖、卡地醯胺鈉(Caldiamide sodium)、卡巴克絡磺酸鈉(Carbazochrome sulfonate sodium)、碳酸鈉、木糖醇、甘胺酸、麩胺酸或其鹽、肌酸酐、磷酸二氫鈉、軟骨素硫酸鈉、二乙醇胺、二仲乙基三胺五乙酸、肱胺酸、二丁基羥基甲苯、溴化鈣、精製明膠、精製大豆卵磷脂、明膠、山梨醇酐脂肪酸酯、山梨醇酐三油酸酯、山梨糖醇、碳酸氫鈉、硫氰酸鉀、葡聚糖、糖酸鈣、三乙醇胺、氨丁三醇、甲醛合次硫酸氫鈉、菸鹼醯胺、乳酸、乳糖、脲、對羥苯甲酸丙酯、對羥苯甲酸甲酯、冰乙酸、丁基羥基甲氧苯、丙二醇、苳烷鉍、苳醇、苳鉍松寧、聚氧乙烯氫化蓖麻油、聚氧乙烯蓖麻油、聚山梨糖醇酯20、聚山梨糖醇酯80、聚乙二醇類、麥芽糖、焦磷酸鈉、馬來酸、磷酸或其鹽、葡甲胺、間磺酸苯甲酸鈉(metasulfobenzoate sodium)、單乙醇胺、離胺酸鹽酸鹽、硫酸鎂等。

本發明之溶液製劑由於為使用有易受到氧化之有效成分者，故而較佳為含有抗氧化劑。

【0058】

關於本發明之注射用溶液製劑，包括如下步驟：於製備含培美曲塞二鈉之原料之溶液後，將上述溶液填充至製劑用容器中，以空隙部分之氧氣濃度為1體積%以下之氣氛藉由橡皮塞加以塞緊。由於本發明係注射用溶液製劑，故藉由無菌地填充至製劑用容器中，控制為氧氣濃度為1體積

%以下之氣氛，並利用氣密性較高之橡皮塞進行密封，而以密封填充製劑之形式進行製備。

【0059】

作為所使用之容器，若為能夠利用橡皮塞等加以密封者，則小瓶狀、注射器狀等形狀無特別限定，較佳為小瓶狀之形狀。作為容器之材質，例如可列舉：鈉鈣玻璃製、硼矽酸玻璃製、環狀聚烯烴聚合物製、環狀聚烯烴共聚物製。

【0060】

培美曲塞就與二價金屬離子形成錯合物而形成不溶性微粒子之方面而言，較佳為使用玻璃成分之溶出得到抑制之小瓶。尤其是關於填充水並進行密封之小瓶，較佳為以121℃進行高壓蒸氣殺菌處理1小時後，溶出至水中之矽為1 ppm以下的小瓶。作為此種矽之溶出得到抑制之玻璃小瓶，較佳為使用視玻璃成分之溶出抑制等目的而進行過表面處理之容器。

【0061】

作為玻璃成分之溶出得到抑制之小瓶，可列舉VIST小瓶(Daiwa Special Glass(股)製造)、VIALEX(NIPRO(股)製造)、type1 plus(SCHOTT(股)製造)等。尤佳為使用內表面經氧化矽處理之硼矽酸玻璃小瓶。作為內表面經氧化矽處理之小瓶之例，可列舉SILICORT小瓶(FUJI GLASS(股)製造)。

【0062】

使用該等容器，利用本發明之方法進行脫氧處理，利用氣密性之橡皮塞加以密封，藉此可製備經高度脫氧之注射用溶液製劑。作為橡皮塞之材質，較佳為使用丁基橡膠製橡皮塞、進而由氟樹脂層壓而成之丁基橡膠

製橡皮塞。

該等能夠密封之容器較佳為藉由適當之方法對容器及橡皮塞均實施過殺菌處理之包裝材料。

【0063】

已知培美曲塞主要因氧化而生成類似物質。因此，本發明之注射用溶液製劑需要控制溶液中之溶氧之濃度。該製劑之容器之空隙之氧氣濃度為1%以下。較佳為容器之空隙之氧氣濃度為0.5%以下之注射用溶液製劑，更佳為氧氣濃度為0.3體積%以下。

【0064】

容器之空隙中之氧氣濃度可藉由使用氧氣感測器之氧氣濃度測定器進行測定。例如，使用連接有針式氧氣感測器之氧氣濃度計(MicroxTX3，製造來源：PreSens公司)，並使該注射用溶液製劑之溶液與氧氣濃度計之氧氣感測器接觸，藉此可測定本發明之密封狀態之小瓶製劑中之氧氣濃度。

【0065】

再者，本發明之注射用製劑之小瓶中之空隙部分(頂部空間)較佳為填充有氮氣或氬氣等惰性氣體。頂部空間內之氧分壓係與製劑溶液中之溶氧濃度相關。因此，藉由去除頂部空間內之氧氣，可減少培美曲塞溶液之溶氧濃度，而有效地確保保存穩定性。

【0066】

作為控制本發明之注射用溶液製劑中之空隙部分之氧氣濃度之方法，可列舉如下方法：向填充有溶液之容器內直接注入氮氣或氬氣等惰性氣體，注入一定量之惰性氣體後，利用橡皮塞等將容器加以密封。藉由使

用該方法，變得能夠將容器內之空隙氧氣濃度控制為1.0體積%以下。

【0067】

又，亦可使用如下方法：將填充有本發明之注射用溶液之容器設置於密閉空間中，對於空間內進行減壓直至不低於藥液之任意溫度下之蒸氣壓之程度，其後，注入氮氣或氬氣等惰性氣體直至成為大氣壓為止，靜置數小時後，利用橡皮塞等塞緊。藉由使用該方法，變得能夠將容器內之空隙氧氣濃度控制為1.0體積%以下。

【0068】

容器中之除所填充之溶液以外之空間(頂部空間)之體積亦會對培美曲塞之穩定性造成影響。頂部空間部分之體積相對於所填充之體積之比率變得越大，容器內之氧氣量變得越多，從而培美曲塞之氧化分解越易進行。因此，較佳為容器中之頂部空間之體積較小。具體而言，較佳為頂部空間之體積之比率相對於容器之容積為70%以下，更佳為60%以下。

【0069】

培美曲塞因微量之氧流入亦會敏銳地發生反應而導致溶液著色。本發明人等發現，於製備培美曲塞之溶液製劑時，作為注射用製劑之小瓶之密封材料之橡皮塞亦具有透氧性，該穿透之氧會對溶液中之培美曲塞納之著色或類似物質生成造成不良影響。即，於培美曲塞納溶液製劑之製備中，重要的是選擇作為密封材料之橡皮塞，藉由採用透氧性之溫度依存性較低之橡皮塞，可抑制溶液著色、及/或類似物質生成。因此，該注射用溶液製劑所使用之橡皮塞需為氧氣之穿透得到高度地抑制者。尤佳為透氧性不會因溫度而產生變化者。具體而言，需要使用於在60℃下保存2週之期間中通過橡皮塞穿透至容器之空隙內之氧氣量為0.0013 mmol以下之橡

皮塞。更佳為同條件下透氧量為0.0010 mmol以下之橡皮塞，進而較佳為透氧量為0.0008 mmol以下之橡皮塞。

【0070】

本說明書中，橡皮塞之透氧量係依據以下之方法算出。透氧量(mmol) = 氧氣增加量(體積%) ÷ 100 × 容器內空隙容積(mL) ÷ (0.082 × (273 + 溫度(°C)))

氧氣增加量(體積%) = 以60°C保存2週後之空隙氧氣濃度(體積%) - 剛製造後之空隙氧氣濃度(體積%)

【0071】

作為上述橡皮塞之材質，若為上述之透氧量以下，則可選擇任何之材質，較佳為丁基橡膠製橡皮塞、進而由氟樹脂層壓而成之丁基橡膠製橡皮塞。進一步具體地列舉，較佳為Daikyo Seiko(股)製造之D713及D777之由氟樹脂層壓而成之材質之橡皮塞。

作為橡皮塞之厚度，一般而言若為相同之材質，則厚度越厚者透氧量越低。作為較佳之橡皮塞之厚度，接液部分之最小厚度為1.5 mm以上，更佳為2 mm以上。

【0072】

又，橡皮塞之接液部分之面積越小，則透氧量越低。橡皮塞之接液部分之面積係取決於容器之口內徑，因此容器之口內徑越小，則橡皮塞之接液部分之面積越小，透氧量越低。因此，容器之口內徑較佳為20 mm以下，更佳為15 mm以下。

該等能夠密封之容器較佳為藉由適當之方法對容器及橡皮塞均實施了殺菌處理之包裝材料。

【0073】

本發明中，關於橡皮塞，明確了其具有極小之透氧性。因此，關於該注射用溶液製劑，藉由降低容器周邊之氧氣濃度，可抑制穿透至製劑容器內之氧氣而可確保穩定性。尤其是該注射用溶液製劑藉由配置於氧氣濃度為1體積%以下之氣氛中，可確實地確保保存穩定性。

作為注射用溶液製劑配置於氧氣濃度為1體積%以下之氣氛中之具體方法，可列舉將容器放入至隔氧性之袋中，利用氮氣或氬氣等惰性氣體填滿袋之內部後加以密封等。此時之袋之內部之氧氣濃度較佳為1體積%以下，更佳為0.5體積%以下。又，向注射用溶液製劑之容器與隔氧性之袋之間之空間中插入脫氧劑，加以密封，藉此可使得袋之內部之氧氣被吸收，進而提高穩定性。再者，關於隔氧性之袋之內部之氧氣濃度，藉由相對於相當於該袋內容積之氧氣含量，應用與氧氣吸附能力對應之脫氧劑，可將袋之內部之氧氣濃度調整為1體積%以下、較佳為調整為0.5體積%以下。

【0074】

隔氧性之袋之透氧度較佳為 $1 \text{ mL/m}^2 \cdot 24 \text{ hr} \cdot \text{atm}$ 以下，更佳為 $0.5 \text{ mL/m}^2 \cdot 24 \text{ hr} \cdot \text{atm}$ 以下，進而較佳為 $0.2 \text{ mL/m}^2 \cdot 24 \text{ hr} \cdot \text{atm}$ 以下。作為隔氧性之袋所使用之隔氧性之膜的材質，可使用鋁箔、尼龍、聚偏二氯乙烯、乙烯-乙烯醇共聚物、無機蒸鍍膜(作為例，有氧化鋁蒸鍍聚對苯二甲酸乙二酯、氧化矽蒸鍍聚對苯二甲酸乙二酯等)。

【0075】

作為脫氧劑，可列舉作為鐵系自反應型脫氧劑之三菱瓦斯化學(股)製造之AGELESS S、SP、ZP、Z-PKC、ZJ-PT、NIPPONKAYAKU FOOD TECHNO(股)製造之MODURAN S等。

【0076】

本發明之可抑制保存中之溶液著色之培美曲塞納之注射用溶液製劑可於保存期間抑制HPLC分析中以培美曲塞之保持時間(RT)作為指標之相對保持時間(RRT)為 1.07 ± 0.03 之成分的生成。又，可抑制RRT為 0.94 ± 0.03 之式(IX)所表示之化合物(酮胺體)之生成。該等類似物質係於培美曲塞溶液製劑之保存中會增多之成分。該等成分與溶液著色之關聯雖不明確，但本發明之溶液製劑之特徵在於保存中之該等成分之含量較少。

【0077】

具體而言，於將該溶液製劑於 60°C 下保存了2週之情形時，RRT為 1.07 ± 0.03 之成分為0.05%以下(面積百分率)。較佳為0.03%以下，更佳為未達0.01%。又，於相同之保存條件下，式(IX)所表示之化合物(RRT： 0.94 ± 0.03 ，酮胺體)為0.05%以下(面積百分率)，更佳為0.03%以下。

又，本發明之培美曲塞納之注射用溶液製劑於保存期間可抑制所有類似物質之生成。具體而言，於將該溶液製劑於 60°C 下保存了2週之情形時，所有類似物質含量為0.70%以下(面積百分率)，更佳為0.50%以下。

【0078】

本發明之培美曲塞納之注射用溶液製劑於保存期間可抑制溶液之著色。培美曲塞納之溶液製劑係通常於保存中漸漸地呈黃色，隨著時間經過而變化為明顯之黃色澄明溶液者，但該溶液製劑可維持於目視下無色～極微弱之黃色之著色範圍的澄明溶液狀態。作為溶液製劑之著色之評價，若以基於色彩色差計之 b^* 值作為指標，則本發明之溶液製劑係 b^* 值為 ± 30 以下。 b^* 值表示色度，若其數值為正，則表示黃色方向，若為負數則表示藍色方向，數值越接近於零，則表示為無色溶液。本發明之溶液製劑較佳為

b*值為 ± 20 以下，更佳為 ± 15 以下。即，本發明之溶液製劑於 60°C 下保存了2週之情形時，基於色彩色差計之b*值為 ± 30 以下，較佳為 ± 20 以下，更佳為 ± 15 以下。

【0079】

本發明之培美曲塞之注射用溶液製劑如以下之步驟所示，可藉由注射用溶液製劑之製造中一般之步驟進行製造。但是，本發明並不受以下之製造方法限定。

步驟(a) 稱量含培美曲塞二鈉之原料、以及視需要之製藥上可容許之添加劑，並使其等溶解於適當之溶劑中。

步驟(b) 視需要，向上述溶液添加製藥上可容許之pH值調節劑。

步驟(c) 視需要向步驟(b)之溶液補充製藥上可容許之溶劑以填滿最終容積。

步驟(d) 對步驟(c)之溶液進行過濾殺菌。

步驟(e) 將藉由步驟(d)所獲得之溶液填充至製藥上可容許之容器中。

步驟(f) 視需要，藉由製藥上可容許之惰性氣體對容器內進行沖淨。

步驟(g) 利用橡皮塞將容器塞緊，並視需要藉由鋁蓋進行密封。

步驟(h) 視需要進行製藥上可容許之最終殺菌。

【0080】

視需要，可於自步驟(a)至步驟(c)之步驟時向混合物吹入惰性氣體。藉由以上之步驟，可製造本發明之注射用溶液製劑。再者，進而該注射用溶液製劑可設為如下態樣：藉由與任意之脫氧劑一併收納至隔氧性之袋中並進行密封，可更為抑制由氧氣導致之不良影響。該隔氧性袋內亦可於吹入惰性氣體後進行密封。

[實施例]

【0081】

以下，藉由實施例進一步對本發明進行說明。但是，本發明並不受該等實施例限定。

培美曲塞二鈉鹽、注射用溶液製劑之分析係於以下之HPLC分析之條件下進行。

[HPLC分析]

檢測器：紫外吸光光度計(測定波長：228 nm)

管柱：Zorbax SB-C8，150×4.6 mm，3.5 μm(Agilent公司製造)

管柱溫度：30℃附近之固定溫度

流動相A：25 mM 磷酸鈉緩衝液(pH值2.5)/乙腈＝97/3

流動相B：25 mM 磷酸鈉緩衝液(pH值2.5)/乙腈＝30/70

流量：1.0 mL/分鐘

面積測定範圍：試樣溶液注入後32分鐘

流動相之送液：將流動相A及B之混合比如表4所示般變更而控制濃度梯度。

【0082】

[表4]

注入後之時間(分鐘)	流動相A(vol%)	流動相B(vol%)
0-20	100→75	0→25
20-32	75→0	25→100
32-34	0	100
34-34.01	0→100	100→0
34.01-40	100	0

【0083】

於該HPLC分析條件中，培美曲塞溶出之保持時間(RT)為20.2分鐘。
各類似物質係以其作為指標並根據各溶出成分之相對保持時間(RRT)而特定出。

【0084】

藉由HPLC分析並於以下之條件下進行RRT為0.41之成分及RRT為0.34之成分之LC-MS分析。

[LC-MS分析]

流動相流量：0.2 mL/min

流動相A：0.1%甲酸溶液

流動相B：0.1%甲酸乙腈溶液

流動相之送液：將流動相A及B之混合比如下述般變更而控制濃度梯度。

【0085】

[表5]

注入後之時間(分鐘)	流動相A(vol%)	流動相B(vol%)
0-15	90→60	10→40
15-20	60→30	40→70
20-20.01	30→90	70→10
20.01-30	90	10

【0086】

管柱：Zorbax SB-C8，150×4.6 mm，3.5 μm(Agilent公司製造)

離子化模式：ESI(+/-)

掃描範圍：m/z 350-900

【0087】

[藥液之著色評價]

關於藥液之著色，利用色彩色差計CR-5(柯尼卡美能達(股)製造)進行測定，算出 b^* 值。 b^* 值表示色度，若數值為正，則表示黃色方向，若為負數則表示藍色方向。若數值為 ± 15 之範圍，則目視評價上判斷為無著色。

【0088】

[實施例1]注射用溶液製劑所使用之含培美曲塞二鈉之原料之製造

(1)加入4-[2-(2-胺基-4-氧代-4,7-二氫-1H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-基)乙基]苯甲酸(4.0 kg)、N,N-二甲基甲醯胺(18.9 kg)、及N-甲基咪啉(3.0 kg)，於氮氣氛圍下冷卻至 10°C 後，加入2-氯-4,6-二甲氧基-1,3,5-三吡啶(2.6 kg)，加以攪拌。加入L-麩胺酸二乙酯鹽酸鹽(3.5 kg)，於 25°C 下進行反應。

將反應液投入至15%食鹽水(40.0 kg)與乙酸乙酯(36.0 kg)之混合液中並加以攪拌，其後進行分液。利用乙酸乙酯(18.0 kg)萃取分液後之水層，將萃取液與所分液之乙酸乙酯層混合。將經混合之乙酸乙酯層加溫至 50°C ，滴加對甲苯磺酸一水合物(3.0 kg)之乙醇(31.6 kg)溶液，使結晶析出。冷卻至 25°C 後，對所析出之結晶進行過濾，利用乙醇洗淨。將所獲得之結晶以 50°C 進行減壓乾燥，獲得N-{4-[2-(2-胺基-4-氧代-4,7-二氫-1H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-基)乙基]苯甲醯基}-L-麩胺酸二乙酯對甲苯磺酸鹽(產量7.7 kg)。

【0089】

(2)加入2 mol/L氫氧化鈉溶液(25.7 kg)，冷卻至 5°C 後，加入N-{4-[2-(2-胺基-4-氧代-4,7-二氫-1H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-基)乙基]苯甲醯基}-L-麩胺酸二乙酯對甲苯磺酸鹽之結晶(7.7 kg)及純化水(3.1 kg)，於氮氣氛

圍進行反應。

滴加經稀釋之鹽酸，於50℃下將pH值調整為3.0，使結晶析出。將該懸濁液加溫至70℃並加以攪拌後，冷卻至25℃，對所析出之結晶進行過濾，利用純化水及乙醇加以洗淨。將所獲得之結晶於50℃進行減壓乾燥，獲得N-{4-[2-(2-胺基-4-氧代-4,7-二氫-1H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-基)乙基]苯甲醯基}-L-麩胺酸(產量4.9 kg)。

【0090】

(3)加入N-{4-[2-(2-胺基-4-氧代-4,7-二氫-1H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-基)乙基]苯甲醯基}-L-麩胺酸之結晶(4.9 kg)及二甲基亞砷(23.2 kg)，於氮氣氛圍下使結晶溶解。滴加乙醇(33.3 kg)，使結晶析出，其後於45℃下加以攪拌。冷卻至5℃後，對所析出之結晶進行過濾，利用乙醇加以洗淨，獲得N-{4-[2-(2-胺基-4-氧代-4,7-二氫-1H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-基)乙基]苯甲醯基}-L-麩胺酸二甲基亞砷溶劑合物之粗結晶。反覆實施同樣之再結晶操作後，將所獲得之結晶於50℃下進行減壓乾燥，獲得N-{4-[2-(2-胺基-4-氧代-4,7-二氫-1H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-基)乙基]苯甲醯基}-L-麩胺酸二甲基亞砷溶劑合物之純化結晶(產量6.3 kg)。

【0091】

(4)於氮氣氛圍下，加入0.5 mol/L氫氧化鈉溶液(40.0 kg)後，加入N-{4-[2-(2-胺基-4-氧代-4,7-二氫-1H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-基)乙基]苯甲醯基}-L-麩胺酸二甲基亞砷溶劑合物之純化結晶(5.2 kg)，利用純化水(6.3 kg)加以洗淨。利用氫氧化鈉溶液將pH值調整為8.0，使結晶溶解，其後將活性碳加入至純化水中並使之懸浮，加以攪拌。

對活性碳進行過濾，利用純化水將活性碳洗淨。將濾液加溫至50℃

後，滴加乙醇(114.4 kg)，使結晶析出。冷卻至5℃後，對所析出之結晶進行過濾，利用乙醇與純化水之混合液加以洗淨。將所獲得之結晶於50℃下進行減壓乾燥，獲得N-{4-[2-(2-胺基-4-氧代-4,7-二氫-1H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-5-基)乙基]苯甲醯基}-L-麩胺酸二鈉2.5水合物(培美曲塞二鈉2.5水合物)(產量4.9kg)。

作為實施例1所獲得之培美曲塞二鈉鹽2.5水合物於HPLC分析中純度為99.80%(面積百分率)。

又，RRT為0.34之成分為0.02%(面積百分率)，RRT為0.41之成分為0.05%(面積百分率)。將包含其他類似物質在內之HPLC分析結果彙總於表6。又，將其層析圖示於圖1。

【0092】

[實施例2]注射用溶液製劑所使用之含培美曲塞二鈉之原料之製造

利用與實施例1同樣之製造方法，獲得培美曲塞二鈉2.5水合物。所獲得之培美曲塞二鈉2.5水合物於HPLC分析中純度為99.83%(面積百分率)。

又，RRT為0.34之成分為0.00%(面積百分率)，RRT為0.41之成分為0.01%(面積百分率)。將包含其他類似物質在內之HPLC分析結果彙總於表6。

【0093】

[實施例3]注射用溶液製劑所使用之含培美曲塞二鈉之原料之製造

利用與實施例1同樣之製造方法，獲得培美曲塞二鈉2.5水合物。所獲得之培美曲塞二鈉2.5水合物於HPLC分析中純度為99.90%(面積百分率)。

又，RRT為0.34之成分為0.01%(面積百分率)，RRT為0.41之成分為0.01%(面積百分率)。將包含其他類似物質在內之HPLC分析結果彙總於表6。

【0094】

[比較例1]注射用溶液製劑所使用之含培美曲塞二鈉之原料之製備

藉由與實施例1同樣之製造方法，獲得培美曲塞二鈉2.5水合物。將其於大氣氛圍下以溫度40℃保管1個半月，將所得者作為比較例1之培美曲塞二鈉2.5水合物。

比較例1之培美曲塞二鈉 2.5水合物之HPLC純度為99.65%。又，RRT為0.34之成分為0.05%(面積百分率)，RRT為0.41之成分為0.13%(面積百分率)。將包含其他類似物質在內之HPLC分析結果彙總於表6。

【0095】

關於比較例1之含培美曲塞二鈉2.5水合物之原料，藉由LC-MS分析對HPLC分析中之RRT為0.34之成分及RRT為0.41之成分進行質譜分析，結果檢測出RRT為0.34及RRT為0.41之兩者均於正離子模式下為m/z = 478([M+H]⁺)。將各者之成分之MS光譜資料示於圖4及圖5。

【0096】

[表6]

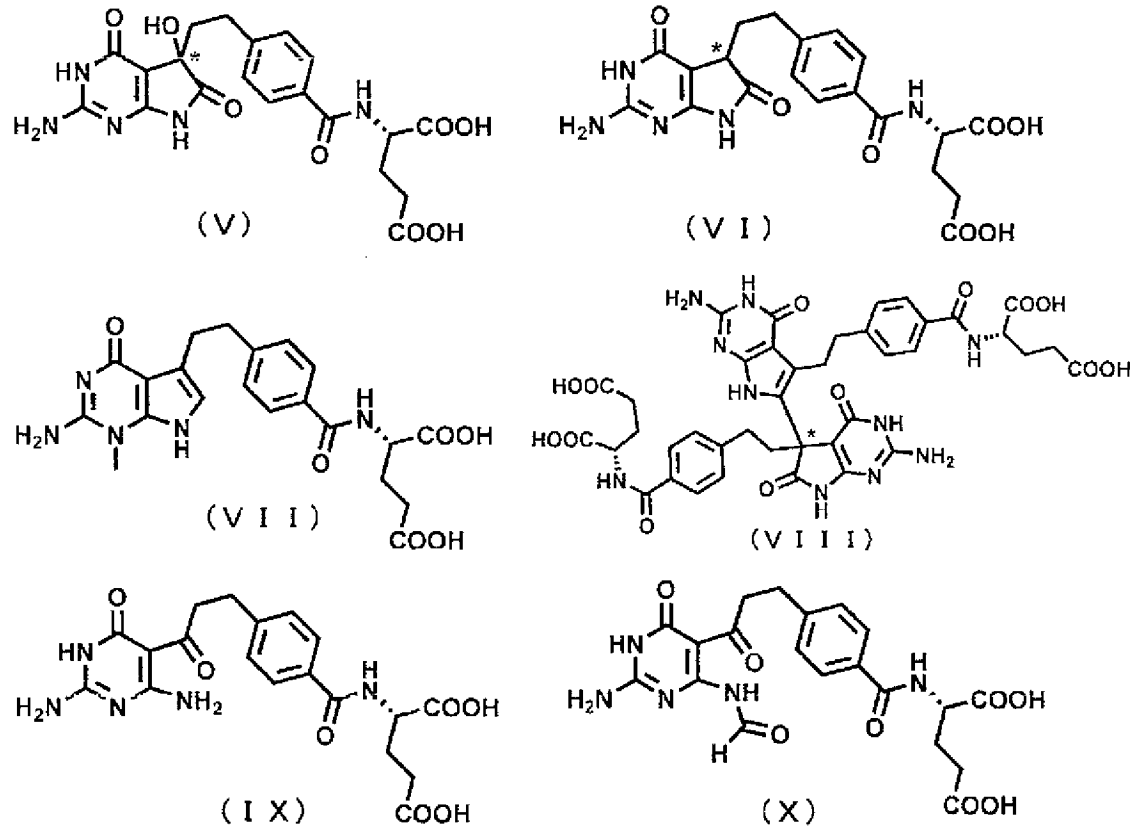
		實施例1	實施例2	實施例3	比較例1
培美曲塞(%)		99.80	99.83	99.90	99.65
類似物質(%)	RRT為0.34	0.02	0.00	0.01	0.05
	RRT為0.41	0.05	0.01	0.01	0.13
	RRT為0.55(V)	0.01	0.02	N.D.	0.01
	RRT為0.69、0.70(VI)	0.02	0.04	0.02	0.02
	RRT為0.83(VII)	0.04	0.03	0.04	0.04
	RRT為0.91(VIII)	0.02	0.03	0.01	0.01
	RRT為0.94(IX)	N.D.	0.01	N.D.	0.03
	RRT為1.14(X)	0.01	0.00	N.D.	0.04

N.D.：未檢測出

【0097】

結構已知之類似物質(式(V)~(X))如下所示。

[化8]



【0098】

[實施例4]注射用溶液製劑之製造

使實施例1之培美曲塞二鈉2.5水合物(RRT為0.34之成分：0.02%，RRT為0.41之成分：0.05%)2719 mg(以培美曲塞計為2250 mg)溶解至87.28 mL之注射用水(總量90 mL 以培美曲塞計為25 mg/mL)。

使用孔徑0.22 μm之膜濾器對該溶液進行無菌過濾，將4 mL經過濾之液體填充於容量10 mL、口內徑12.5 mm之硼矽酸玻璃製之小瓶(FUJI GLASS(股)製造)中，以小瓶之空隙部分之氧氣濃度成為0.5體積%以下之方式注入氮氣，利用Daikyo Seiko(股)製造之由氟樹脂層壓而成之D713丁

基橡膠塞(厚度2 mm)進行打塞，利用鋁蓋加以蓋緊。其後，將蓋緊之小瓶與脫氧劑(NIPPONKAYAKU FOOD TECHNO(股)製造，MODURAN S-500)一併放入至無機蒸鍍膜製之袋(透氧度 $0.2 \text{ mL/m}^2 \cdot 24 \text{ hr} \cdot \text{atm}$ 以下)中，藉由熱封機加以密封而進行二次包裝，製備實施例4之培美曲塞納之注射用溶液製劑。

【0099】

[實施例5]注射用溶液製劑之製造

使用實施例2之培美曲塞二鈉2.5水合物(RRT為0.34之成分：0.00%，RRT為0.41之成分：0.01%)，藉由與實施例4同樣之操作製備實施例5之注射用溶液製劑。

【0100】

[比較例2]注射用溶液製劑之製造

購買作為醫藥品原料藥流通之培美曲塞二鈉2.5水合物。藉由HPLC分析，培美曲塞純度為99.25%(面積百分率)，以RRT為0.34之成分為0.08%(面積百分率)，RRT為0.41之成分為0.22%(面積百分率)。將包含其他類似物質在內之HPLC分析結果彙總於表7。

【0101】

使該培美曲塞二鈉2.5水合物952 mg(以培美曲塞計為788 mg)溶解至30.55 mL之注射用水(總量31.5 mL)中，進行與實施例4同樣之操作，製備比較例2之注射用溶液製劑。

【0102】

[表7]

比較例2之培美曲塞二鈉原料藥

培美曲塞(%)		99.25
類似物質 (%)	RRT為0.34	0.08
	RRT為0.41	0.22
	RRT為0.55(V)	0.02
	RRT為0.69、0.70(VI)	0.04
	RRT為0.83(VII)	0.01
	RRT為0.91(VIII)	0.02
	RRT為0.94(IX)	0.10
	RRT為1.14(X)	0.10

【0103】

[試驗例1]注射用溶液製劑之60℃保存穩定性試驗

將實施例4及5、以及比較例2之注射用溶液製劑於60℃之條件下保存2週。對各製劑進行著色(b*值、目視評價)、以及源自培美曲塞之類似物質之評價。將各製劑之著色以及源自培美曲塞之類似物質之評價結果示於表8。又，將實施例4及比較例2中之試驗開始時(A)及以60℃保存2週後(B)之HPLC圖示於圖2及圖3。

【0104】

[表8]

		實施例4		實施例5		比較例2	
		開始	2 W	開始	2 W	開始	2 W
培美曲塞(%)		99.80	99.55	99.83	99.70	99.25	98.81
類似物質 (%)	RRT為0.34	0.02	N.D.	N.D.	N.D.	0.08	N.D.
	RRT為0.41	0.05	N.D.	N.D.	N.D.	0.22	N.D.
	RRT為0.91(VIII)	0.02	0.16	0.03	0.15	0.02	0.18
	RRT為0.94(IX)	N.D.	0.04	0.01	0.01	0.10	0.24
	RRT為1.07	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.01
	總類似物	0.20	0.45	0.17	0.30	0.75	1.19
著色(b*值)		1.37	14.88	1.03	9.32	4.29	38.24
著色(目視評價)		無	無	無	無	無	黃色

N.D.：未檢測出

【0105】

比較例2與實施例4及5相比，化合物(IX)以高含量存在，且著色顯著地增加。認為其原因在於：比較例2中使用之含培美曲塞二鈉之原料中RRT為0.34及RRT為0.41之類似物質之含量較多，因該成分而導致含有培美曲塞之注射用溶液製劑之著色於保存期間增加。

【0106】

如實施例4及5所述，明確了藉由使用減少了RRT為0.34及RRT為0.41之類似物質之含量之含培美曲塞二鈉之原料作為注射用溶液製劑之原料藥，可大幅地抑制於保存中之著色。又，明確了可提供所有類似物質亦較少，且化學穩定性優異之注射用溶液製劑。

【0107】

[實施例6]注射用溶液製劑之製造

使培美曲塞純度為98.55%(面積百分率)、RRT為0.34之成分為0.01%、RRT為0.41之成分為0.01%之培美曲塞二鈉2.5水合物1960 mg(以培美曲塞計為1625 mg)溶解至63.04 mL之注射用水(總量65 mL)。

使用孔徑0.22 μm 之膜濾器對該溶液進行無菌過濾，將4 mL過濾過之液體填充至容量10 mL、口內徑12.5 mm之硼矽酸玻璃製之小瓶(FUJI GLASS(股)製造)中，以小瓶之空隙部分之氧氣濃度成為0.5體積%以下之方式注入氮氣，利用Daikyo Seiko(股)製造之由氟樹脂層壓而成之D713丁基橡膠塞(厚度2 mm)打塞，利用鋁蓋加以蓋緊。其後，將蓋緊之小瓶與脫氧劑(NIPPONKAYAKU FOOD TECHNO(股)製造，MODURAN S-500)一併放入至無機蒸鍍膜製之袋(透氧度 $0.2 \text{ mL/m}^2 \cdot 24 \text{ hr} \cdot \text{atm}$ 以下)中，藉由熱封機加以密封而進行二次包裝，製備實施例6之培美曲塞納之

注射用溶液製劑。

【0108】

[比較例3]注射用溶液製劑之製造

含培美曲塞二鈉之原料中使用將實施例6中所使用之培美曲塞二鈉2.5水合物於大氣氛圍下以溫度40℃保管1個半月後所得者，除此以外，進行與實施例6同樣之操作，製備比較例3之注射用溶液製劑。

再者，比較例3中所使用之含培美曲塞二鈉之原料(於大氣氛圍下以溫度40℃保管1個半月後之培美曲塞二鈉鹽2.5水合物)中，RRT為0.34之成分為0.05%(面積百分率)、RRT為0.41之成分為0.13%(面積百分率)。

【0109】

[試驗例2]注射用溶液製劑之60℃保存穩定性試驗

將實施例6及比較例3之注射用溶液製劑於60℃之條件下保存2週。對各製劑進行著色(b*值、目視評價)、源自培美曲塞之類似物質進行評價。將各製劑之著色、源自培美曲塞之類似物質之評價結果示於表9。

【0110】

[表9]

		實施例6		比較例3	
		開始	2 W	開始	2 W
培美曲塞(%)		99.90	99.71	99.65	99.28
類似物質 (%)	RRT為0.34	0.01	N.D.	0.05	N.D.
	RRT為0.41	0.01	0.00	0.13	0.05
	RRT為0.91(VIII)	0.01	0.13	0.01	0.17
	RRT為0.94(IX)	N.D.	0.01	0.03	0.08
	RRT為1.07	N.D.	N.D.	0.01	0.09
	總類似物	0.10	0.29	0.35	0.72
著色(b*值)		1.45	8.44	1.51	18.84
著色(目視評價)		無	無	無	微黃色

N.D.：未檢測出

【0111】

關於比較例3，其與實施例6相比，化合物(IX)以高含量存在，且著色大幅地增加。認為其原因在於：由於比較例3中使用之培美曲塞二鈉於溫度40℃保管了1個半月，故而RRT為0.34及RRT為0.41之類似物質增多，因該成分而導致含有培美曲塞之注射用溶液製劑之著色於保存期間增加。

根據以上之驗證結果明確了，藉由使用RRT為 0.34 ± 0.03 及RRT為 0.41 ± 0.03 之類似物質得到抑制之含培美曲塞二鈉鹽之原料，可大幅地抑制含有培美曲塞之注射用溶液製劑於保存期間之著色。



202000204

【發明摘要】

【中文發明名稱】

培美曲塞鈉注射用溶液製劑及其製造方法

【中文】

於醫療現場中，要求相較於冷凍乾燥製劑，無需繁雜之溶解步驟且可稀釋後立即投予等方便性高之溶液形態之RTU(Ready-to-use，即用型)製劑。本發明之課題在於提供一種於保存期間抑制了類似物質之生成並且抑制了溶液著色之含有培美曲塞之注射用溶液製劑。根據本發明，提供一種注射用溶液製劑之製造方法，其係含有培美曲塞二鈉作為有效成分之注射用溶液製劑之製造方法，該方法包括：(1)使用含培美曲塞二鈉之原料而製備注射用溶液之步驟、及(2)將上述注射用溶液填充於製劑用容器中，以空隙部分之氧氣濃度為1體積%以下之氣氛藉由橡皮塞加以塞緊之步驟，且上述原料含有0.10%以下之HPLC分析中以培美曲塞之保持時間(RT)作為指標之相對保持時間(RRT)為 0.41 ± 0.03 的成分。

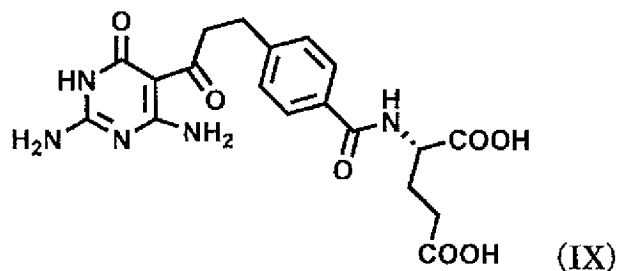
【指定代表圖】

圖1

【代表圖之符號簡單說明】

無

【特徵化學式】



【發明申請專利範圍】

【第1項】

一種注射用溶液製劑之製造方法，其係含有培美曲塞二鈉作為有效成分之注射用溶液製劑之製造方法，該方法包括：

(1)使用含培美曲塞二鈉之原料而製備注射用溶液之步驟，及

(2)將上述注射用溶液填充至製劑用容器中，以空隙部分之氧氣濃度為1體積%以下之氣氛藉由橡皮塞加以塞緊之步驟，

上述原料含有0.10%以下之HPLC分析中以培美曲塞之保持時間(RT)作為指標之相對保持時間(RRT)為 0.41 ± 0.03 的成分，

上述HPLC分析之條件係如下所示之分析條件：

[HPLC分析條件]

測定波長：228 nm

管柱：C8管柱，150×4.6 mm，3.5 μ m

管柱溫度：30℃

流動相A：25 mM 磷酸鈉緩衝液(pH值2.5)/乙腈 = 97/3

流動相B：25 mM 磷酸鈉緩衝液(pH值2.5)/乙腈 = 30/70

流動相之濃度梯度控制(流動相A之濃度(vol%)梯度(注入後之時間))：100→75(0-20分鐘)、75→0(20-32分鐘)、其餘部分為流動相B，

流量：1.0 mL/分鐘

面積測定範圍：試樣溶液注入後32分鐘。

【第2項】

如請求項1之製造方法，其中含培美曲塞二鈉之原料含有0.05%以下之HPLC分析中以培美曲塞之保持時間作為指標之相對保持時間(RRT)為

0.34±0.03的成分。

【第3項】

如請求項1或2之製造方法，其中含培美曲塞二鈉之原料之HPLC純度為98.50%以上。

【第4項】

如請求項1或2之製造方法，其中使用於在60°C之溫度條件下保存2週之期間中穿透至容器內之氧氣量為0.0013 mmol以下之橡皮塞來塞緊。

【第5項】

如請求項1或2之製造方法，其中自製劑用容器之容積去除上述注射用溶液之體積後所得之容器之空隙部分的容積相對於容器之容積為60%以下。

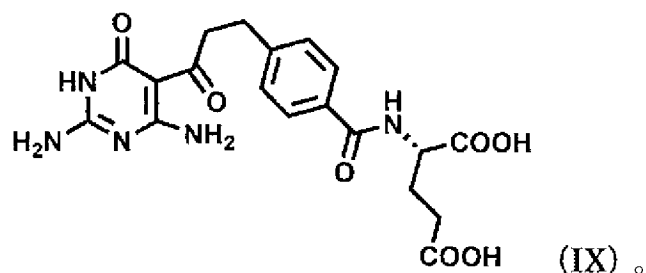
【第6項】

如請求項1或2之製造方法，其中含有培美曲塞二鈉作為有效成分之注射用溶液製劑含有0.05%以下之HPLC分析中以培美曲塞之保持時間(RT)作為指標之相對保持時間(RRT)為1.07±0.03的成分。

【第7項】

如請求項1或2之製造方法，其中含有培美曲塞二鈉作為有效成分之注射用溶液製劑含有0.05%以下之式(IX)所表示之化合物或其鹽，

[化1]



【第8項】

一種注射用溶液製劑，其係含有培美曲塞二鈉作為有效成分且含有0.05%以下之HPLC分析中以培美曲塞之保持時間(RT)作為指標之相對保持時間(RRT)為 1.07 ± 0.03 的成分者，上述HPLC分析之條件係如下所示之分析條件：

[HPLC分析條件]

測定波長：228 nm

管柱：C8管柱，150×4.6 mm，3.5 μm

管柱溫度：30℃

流動相A：25 mM 磷酸鈉緩衝液(pH值2.5)/乙腈＝97/3

流動相B：25 mM 磷酸鈉緩衝液(pH值2.5)/乙腈＝30/70

流動相之濃度梯度控制(流動相A之濃度(vol%)梯度(注入後之時間))：100→75(0-20分鐘)，75→0(20-32分鐘)，其餘部分係流動相B，

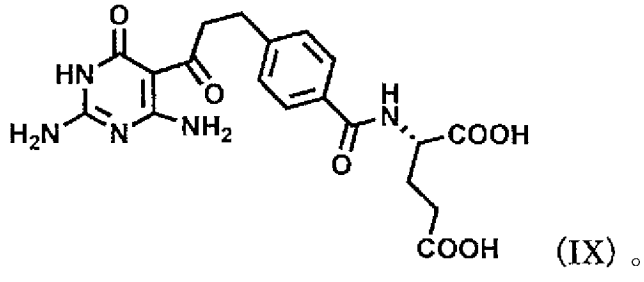
流量：1.0 mL/分鐘

面積測定範圍：試樣溶液注入後32分鐘。

【第9項】

如請求項8之注射用溶液製劑，其含有0.05%以下之式(IX)所表示之化合物，

[化2]



【第10項】

一種注射用溶液製劑用含培美曲塞二鈉之原料，其係用於製造醫藥

品之注射用溶液製劑者，含有0.10%以下之HPLC分析中以培美曲塞之保持時間(RT)作為指標之相對保持時間(RRT)為 0.41 ± 0.03 的成分，且上述HPLC分析之條件係如下所示之分析條件：

[HPLC分析條件]

測定波長：228 nm

管柱：C8管柱，150×4.6 mm，3.5 μm

管柱溫度：30℃

流動相A：25 mM 磷酸鈉緩衝液(pH值2.5)/乙腈 = 97/3

流動相B：25 mM 磷酸鈉緩衝液(pH值2.5)/乙腈 = 30/70

流動相之濃度梯度控制(流動相A之濃度(vol%)梯度(注入後之時間))：100→75(0-20分鐘)，75→0(20-32分鐘)，其餘部分係流動相B，

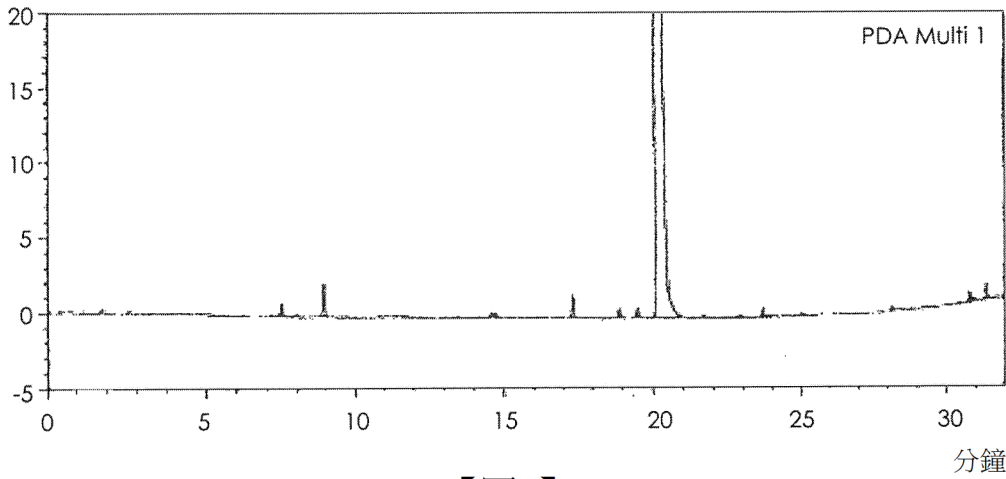
流量：1.0 mL/分鐘

面積測定範圍：試樣溶液注入後32分鐘。

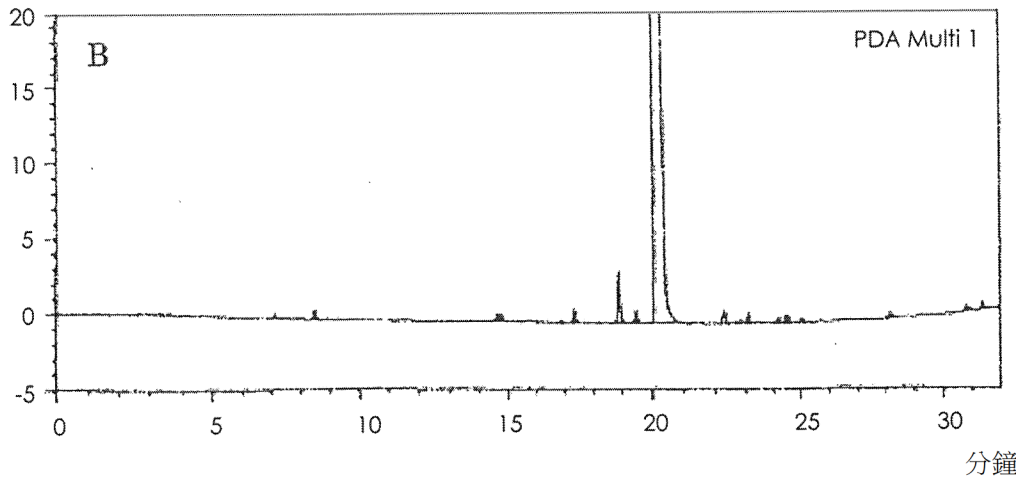
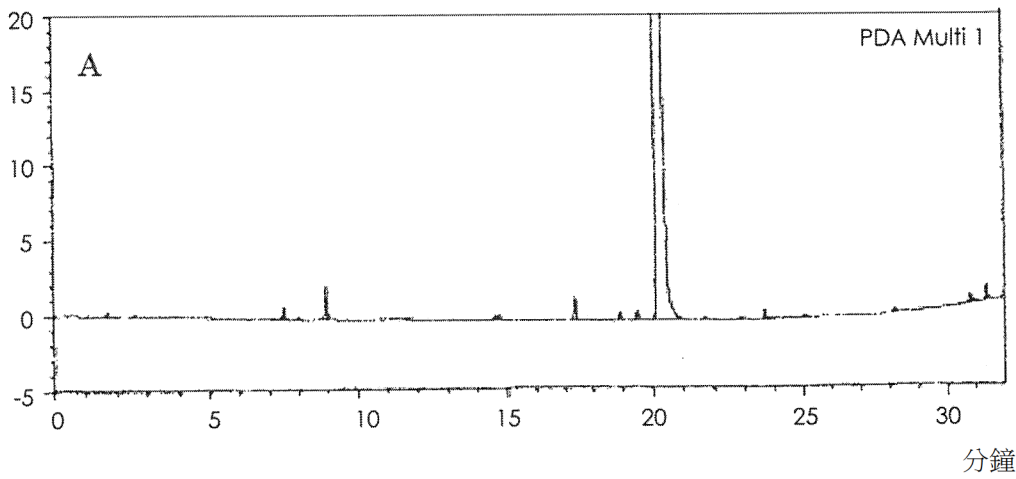
【第11項】

如請求項10之注射用溶液製劑用含培美曲塞二鈉之原料，其含有0.05%以下之HPLC分析中以培美曲塞之保持時間作為指標之相對保持時間(RRT)為 0.34 ± 0.03 的成分。

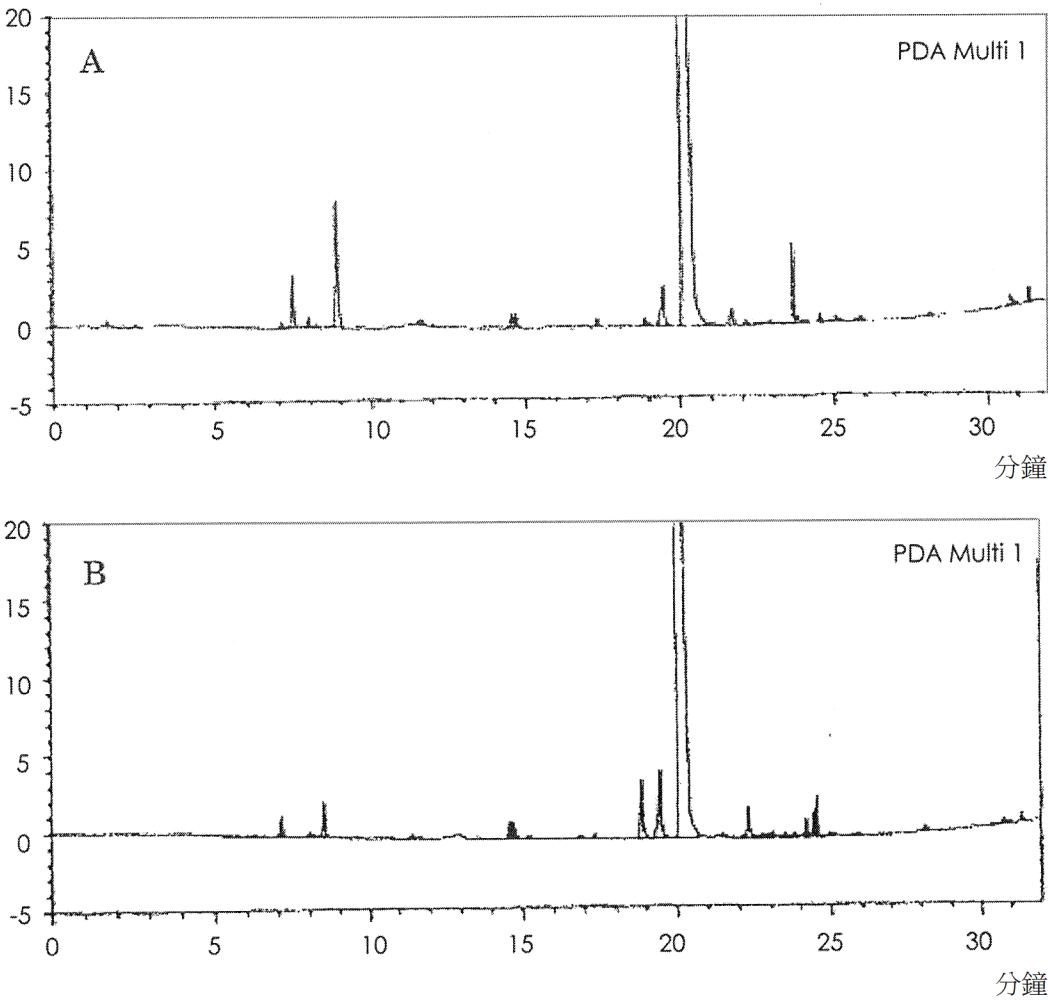
【發明圖式】



【圖1】

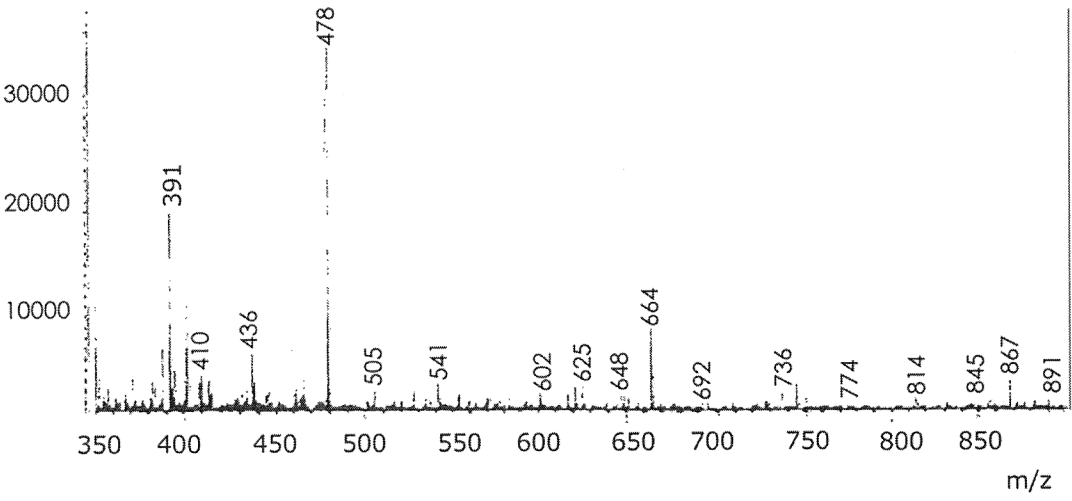


【圖2】

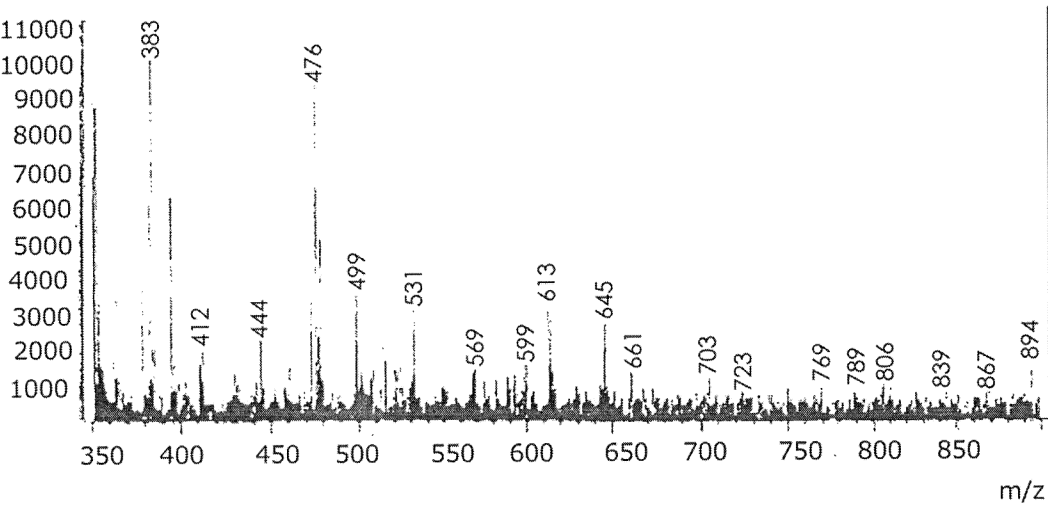


【圖3】

LC-MS保持時間：9.5分鐘
正離子模式

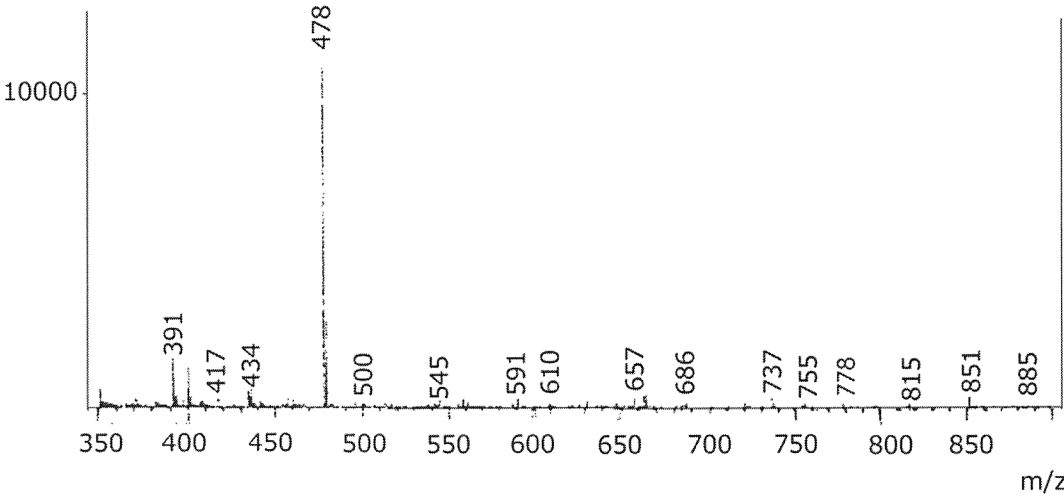


負離子模式

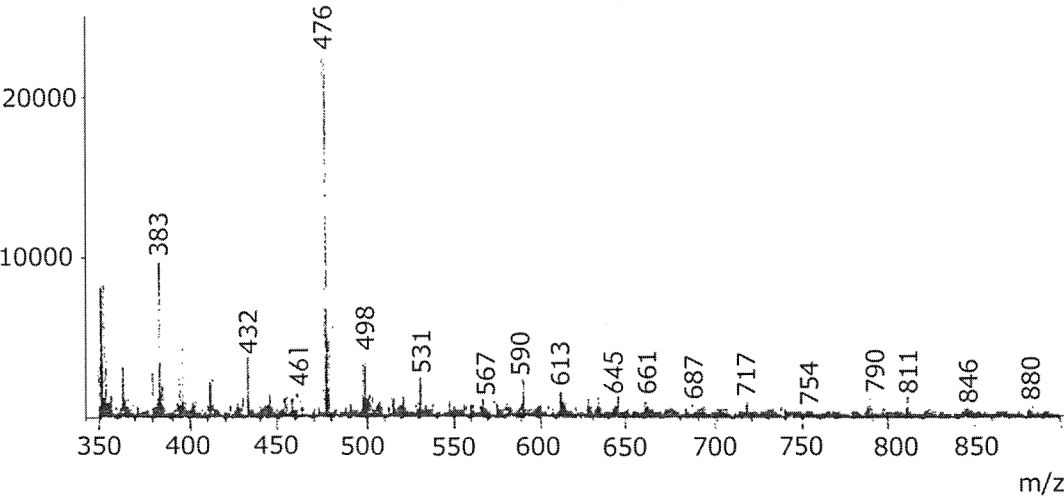


【圖4】

LC-MS保持時間：11.5分鐘
正離子模式



負離子模式



【圖5】