(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 1842337 B
(45)授权公告日 2010.05.26

(21)申请号 200480017791.3

(22)申请日 2004.06.28

(30)优先权数据
20031123/03 2003.06.26 CH

(85)PCT申请进入国家阶段日
2005.12.26

(86)PCT申请的申请数据
PCT/EP2004/006944 2004.06.28

(87)PCT申请的公布数据
WO2004/112761 DE 2004.12.29

(73)专利权人 默克阿泼洛发股份公司
地址 瑞士沙夫豪森

(72)发明人 R·莫泽 T·安曼

(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 11038
代理人 吴亦华

(51)Int.Cl.
A61K 31/519(2006.01)
A61K 31/191(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)

(56)对比文件
WO 97/27764 A1,1997.08.07, 全文.
US 5434087 A,1995.07.18, 全文.
US 4931441 A,1990.06.05, 全文.
WO 95/26963 A1,1995.10.12, 全文.
M. J. Osborn,et al.The Structure of "Active Formaldehyde"(N5, N10 -MethyleneTetrahydrofolic Acid).Journal of the American Chemical Society82 18.1960,82(18),4921-4927.
odin elisabeth,et al.chemical stability and human plasmapharmacokinetics ofreduced folates.Cancer Investigation16 7.1998,16(7),447-455.

审查员 尹俊亭

权利要求书 2 页 说明书 7 页

(54)发明名称

稳定的5,10-亚甲基四氢叶酸盐药物组合物

(57)摘要

本发明涉及通过将pH值调节到碱性范围并同时使用柠檬酸盐而得到的稳定的5,10-亚甲基-(6R)-、-(6S)-或-(6R,S)-四氢叶酸盐或酯类药物组合物。该稳定化本身在不存在还原剂的情况下实现。由于稳定的MTHF溶液可以在高浓度下装入相应的容器例如管形瓶、安瓿瓶等中,本发明特别适合用来制备冻干溶液和冻干物或者干燥粉和干混物。所述冻干物的储存性出乎意料的好且稳定。通过添加水或含水溶液可以顺利地重新构建,其中形成的清澈的注射液重新获得优越的稳定性。此外,本发明也可以将MTHF的本身难溶的钙盐或酸式盐以高浓度且作为生理兼容的等渗溶液制备。

CN 1842337 B

1. 稳定的 5,10- 亚甲基 -(6R)-、-(6S)- 或 -(6R, S)- 四氢叶酸盐药物组合物,其特征在于,该组合物含有

(i)5,10- 亚甲基 -(6R)-、-(6S)- 或 -(6R, S)- 四氢叶酸或 5,10- 亚甲基 -(6R)-、-(6S)- 或 -(6R,S)- 四氢叶酸的药物学兼容的盐,

(ii) 柠檬酸盐或柠檬酸,

且 pH 值为 7.5-10.5 之间。

2. 权利要求 1 所述的稳定的药物组合物,其特征在于,所述组合物 pH 值为 8.5-9.5 之间。

3. 权利要求 1 所述的药物组合物,其特征在于,所述组合物进一步含有甲醛作为助剂。

4. 权利要求 2 所述的药物组合物,其特征在于,所述组合物含有另一种叶酸盐作为其它的活性成分。

5. 权利要求 4 所述的药物组合物,其特征在于,所述组合物含有四氢叶酸及其盐作为其它的叶酸盐。

6. 权利要求 1 所述的药物组合物,其特征在于,使用钙盐或酸式盐作为 5,10- 亚甲基 -(6R)-、-(6S)- 或 -(6R,S)- 四氢叶酸的药物学兼容的盐。

7. 权利要求 1 所述的药物组合物,其特征在于,所述组合物包含吉西他滨、多西他奇、紫杉醇、托泊替康、依立替康、阿霉素、丝裂霉素、顺铂、环磷酰胺、甲氨蝶呤、培美曲塞、长春新碱、阿糖胞苷、表柔比星、奥沙利铂、它莫昔芬、卡铂、依托泊甙或异环磷酰胺作为其它活性成分。

8. 权利要求 1 所述的药物组合物,其特征在于,所述组合物包含 5- 氟化尿嘧啶、卡培他滨、替加氟、UFT、去氧氟尿苷或 2′ - 脱氧 -5- 氟代尿苷作为其它活性成分。

9. 权利要求 1 所述的药物组合物,其还包含维生素 C、维生素 E、还原的谷胱甘肽、β - 巯基乙醇、硫代甘油或乙酰半胱氨酸。

10. 权利要求 3 所述的药物组合物,其还包含维生素 C、维生素 E、还原的谷胱甘肽、β - 巯基乙醇、硫状甘油或乙酰半胱氨酸。

11. 权利要求 4 所述的药物组合物,其还包含维生素 C、维生素 E、还原的谷胱甘肽、β - 巯基乙醇、硫代甘油或乙酰半胱氨酸。

12. 权利要求 7 所述的药物组合物,其还包含维生素 C、维生素 E、还原的谷胱甘肽、β - 巯基乙醇、硫代甘油或乙酰半胱氨酸。

13. 权利要求 8 所述的药物组合物,其还包含维生素 C、维生素 E、还原的谷胱甘肽、β - 巯基乙醇、硫代甘油或乙酰半胱氨酸。

14. 权利要求 1-13 任一项的药物组合物,其特征在于,该细合物以冻干物形式存在。

15. 权利要求 1-13 任一项的药物组合物,其特征在于,该组合物以干燥粉形式存在。

16. 权利要求 1-13 任一项的药物组合物,其特征在于,该组合物以干燥混合物形式存在。

17. 权利要求 1-13 任一项的药物组合物,其特征在于,该组合物以冻干物溶液的形式存在。

18. 使含有 5,10- 亚甲基 -(6R)-、-(6S)- 或 -(6R, S)- 四氢叶酸盐的组合物稳定化的方法,其特征在于,将柠檬酸盐与 5,10- 亚甲基 -(6R)-、-(6S)- 或 -(6R,S)- 四氢叶酸混合,

并将 pH 值调节到 7.5-10.5。

19. 使含有 5,10- 亚甲基 -(6R)-、-(6S)- 或 -(6R, S)- 四氢叶酸盐的组合物稳定化的方法,其特征在于,将柠檬酸盐与 5,10- 亚甲基 -(6R)-、-(6S)- 或 -(6R,S)- 四氢叶酸混合,并将 pH 值调节到 8.5-9.5。

稳定的 5,10- 亚甲基四氢叶酸盐药物组合物

[0001] 本发明涉及稳定的 5,10- 亚甲基 -(6R)-、-(6S)- 或 -(6R,S)- 四氢叶酸盐或酯类药物组合物。

[0002] 在本文中，术语 5,10- 亚甲基四氢叶酸盐或酯类（缩写为 MTHF）指以游离酸、药物学兼容的盐、特别是酸式盐以及碱金属或碱土金属盐形式的 5,10- 亚甲基四氢叶酸及其聚谷氨酸酯。5,10- 亚甲基四氢叶酸及其聚谷氨酸酯既包括各种旋光异构体的混合物，特别是 1 ： 1 的非对映异构体混合物，而且也包括纯的非对映异构体。特别是旋光纯的天然 5,10- 亚甲基 -(6R)- 四氢叶酸。

[0003] 药物学兼容的盐可以是酸式盐，例如是硫酸盐或磺酸盐，优选硫酸盐，也可以是碱金属盐或碱土金属盐，例如钠、钾、镁或钙盐。

[0004] MTHF 是一种与氟化的嘧啶如 5- 氟化尿嘧啶 (5-FU)（一种宽范围的治疗实体肿瘤的细胞生长抑制剂 (Zytostatikum)）联合使用的优选胃肠外应用的活性物质 [CoFactor Biokeys Pharmaceuticals.Seley,K.L.IDrugs 4(1),99-101(2001)]。MTHF 是一种经还原的叶酸盐，与碱性类似物 5-FdUMP 一起通过抑制胸苷酸合酶 (TS) 来实现化学治疗作用，后者对脱氧尿苷酸 (dUMP) 转化成为脱氧胸苷酸 (dTMP) 的反应起催化作用，脱氧胸苷酸是 DNS 合成的核心要素。由于该步骤是细胞内脱氧胸苷酸的唯一从头的 (de novo) 来源，通过使用氟化的嘧啶碱如 5-FU 或 5-FU 前药卡培他滨 (Xeloda) 来抑制该关键的酶是肿瘤治疗的主要切入点。TS 的失活通过在 TS、碱性类似物 5-FdUMP 与 MTHF 之间形成一种共价的抑制性三元复合物来实现，其中 5-FdUMP 是 5-FU 的一种代谢产物。5-FU 细胞毒作用的加强可以通过细胞内 MTHF 浓度的提高来实现，其中三元复合物的稳定性同时提高。这引起了对 DNS 合成和修复的直接抑制，最终导致细胞死亡和肿瘤生长的延缓。

[0005] MTHF 的药学应用由于其对于空气氧化具有特别高的敏感性而受到限制 [Chemical Stability and Human Plasma Pharmacokinetics of Reduced Folates. Odin,E.et al,Cancer Investigation 16(7),447-455(1998),The Structureof “Active Formaldehyde”(N^5, N^{10}-Methylene Tetrahydrofolic Acid)Osborn,M.J.et al.J.Am. Chem.Soc.82,4921-4927(1960),Folates in foods:Reactivity,stability during processing,and nutritional implications.Hawkes,J.and Villota,R.Food Sci. Nutr.28,439-538(1989)]。MTHF 是四氢叶酸 (THF) 和甲醛的加合物 [5,10-Methylene-5, 6,7,8-tetrahydrofolate.Conformation of the Tetrahydropyrazine andImidazolidine Rings.Poe,M.et al.Biochemistry 18(24),5527-5530(1979),Tetrahydrofolic Acid and Formaldehyde.Kallen,R.G.Methods inEnzymology 18B,705-716(1971)]。MTHF 一方面与 THF 和甲醛另一方面在含水溶液中保持平衡。为了稳定 MTHF 溶液，迄今为止采取了以下措施：

[0006] 通过使用特殊的工业设备来严格排除空气氧，以便重新构建固体配制剂，并在没有空气的环境下注射 MTHF[Chemical Stability and Human PlasmaPharmacokinetics of Reduced Folates.Odin,E.et al.Cancer Investigation16(7),447-455(1998),Fluid Transfer Systems US 4564054]。

[0007] 添加一种还原剂如 L(+)- 抗坏血酸及其盐类、还原的 γ - 谷胱甘肽、β - 氢硫基乙醇、硫代甘油、N- 乙酰基 -L- 半胱氨酸等作为敏感的 MTHF 和特别是 THF 的氧化保护。

[0008] 借助于 EP0579996(Eprova) 的环糊精嵌入化合物实现稳定化。使用高浓度的活性物质。

[0009] 为了稳定其它四氢叶酸衍生物，还公开了以下方法：

[0010] 如 EP0755396(Pharmachemie) 所述，通过添加柠檬酸钠、醋酸钠或氯化钠来稳定含有 5- 甲酰基四氢叶酸的溶液。

[0011] 如 EP0677159(SAPEC) 所述，在 pH 值为 7.5-8.5 之间来稳定含有 5- 甲酰基四氢叶酸的钠盐或钾盐的注射液。

[0012] 如 US4931441(Luitpold Pharmaceutical) 所述，通过添加柠檬酸钠来稳定含有 5- 甲酰基四氢叶酸的钙盐的溶液。

[0013] 然而，5- 甲酰基四氢叶酸特别是英溶液的稳定化并不能与 5,10- 亚甲基四氢叶酸溶液的稳定化相提并论。在 5,10- 亚甲基四氢叶酸中的五元环中结合的亚甲基，与 5- 甲酰基四氢叶酸相比，它具有显然不同的物质特性。其表现为例如明显另一种稳定行为和另一种降解途径。与 5- 甲酰基四氢叶酸相反，5,10- 亚甲基四氢叶酸在溶液中总是与甲醛和四氢叶酸 (THF) 保持平衡，这表现为极高的氧化敏感性。与此相反，5- 甲酰基四氢叶酸不具有这种离解行为，且作为一种药物学兼容的含水溶液通常非常稳定，即使不添加柠檬酸钠和氢氧化钠也行。

[0014] 因此，迄今还没有公开过任何稳定的 MTHF 药物组合物。

[0015] 现发明人出人意料地发现，通过调节 pH 值到一个碱性范围并同时使用柠檬酸盐，可以显著提高在含水溶液、悬浮液和固体形式例如粉末或冻干物 (Lyophilisaten) 中的 MTHF 的稳定性。出乎意料的是，该稳定化是在不存在还原剂的情况下实现的。

[0016] 因此，不用添加还原剂（抗氧化剂）且不用排除空气氧即可使 MTHF 溶液稳定数小时。更加出乎意料的是，在用醋酸盐、草酸盐、马来酸盐和其它酸类代替柠檬酸盐的情况下根本得不到 MTHF 的稳定组合物。相反，在 5- 甲酰基四氢叶酸的情况下，使用醋酸盐可以得到与柠檬酸盐相类似的效果 (EP0755396)。柠檬酸盐在 5- 甲酰基四氢叶酸溶液中降低骨架的水解和氧化分解，由此减少产物如邻氨基苯酰基谷氨酸、蝶呤和四氢蝶呤衍生物的形成。与此相反，在 MTHF 的碱性范围内，柠檬酸盐抑制甲醛从分子中裂解（水解）。这在这两种同属于叶酸盐物质类别的化合物的行为中是一个显著的、惊人的区别。

[0017] 本发明经此使得 MTHF 的难溶性钙盐或酸式盐 [Eprova 的 5,10- 亚甲基四氢叶酸稳定盐专利 EP0537492] 在高浓度生理兼容的等渗溶液中的制备成为可能。

[0018] 由柠檬酸盐在碱性 pH 范围引起的无法预期的 MTHF 的稳定化基于柠檬酸盐缓冲液在该 pH 范围出乎意料的协同作用。一方面在柠檬酸盐与 MTHF 之间、另一方面在柠檬酸盐与 MTHF 的抗衡离子（盐）之间的复合物形成，通过抑制甲醛由 MTHF 分子裂解（水解），对亚甲基的稳定化作出了决定性的贡献。由此阻止了氧化极敏感的 THF 的产生和 MTHF 的分解。

[0019] 在本发明的组合物中，pH 值范围调节到 7.5-10.5，优选 8.5-9.5。这借助于氢氧化钠溶液、盐酸在 MTHF 溶液中实现，该溶液含有柠檬酸、二氢柠檬酸钠或柠檬酸三钠二水合物作为稳定化物质和缓冲物质。同样也可以添加还原剂例如 L(+)- 抗坏血酸或其盐类、还

原的 γ－谷胱甘肽、β－氢硫基乙醇、硫代甘油、N- 乙酰基 -L- 半胱氨酸等作为氧化保护。

[0020] 本发明的配制剂也特别适合于制备冻干溶液和冻干物或干燥粉和干混物，因为可以将稳定的 MTHF 溶液以高浓度装入到相应的容器例如管形瓶、安瓿瓶等中。所术冻干物具有出乎意料的良好储存性和稳定性。通过添加水或含水溶液，可以顺利地重新构建，并使得所形成的清澈的注射液重新具有优越的稳定性质。

[0021] 要求保护的配制剂优选胃肠外施用。当然，由冻干物和配制剂也可以制备成肠内给药（例如口服、舌下或直肠给药）或者局部施用（例如透皮）的剂型。

[0022] 这些配制剂优选直接作为水基的溶液或油基的悬浮液或者作为冻干物施用。胃肠外施用的制剂含有活性化合物的无菌含水和不含水的注射溶液和悬浮液，它们优选为等渗组合物。

[0023] 所述配制剂也可以与载体一起服用。可以使用与活性物质不发生反应的有机或无机物质作为载体，例如水、油、苄基醇、聚乙二醇、甘油三醋酸酯或者其它的脂肪酸甘油酯、明胶、卵磷脂、环糊精、碳水化合物如乳二糖或淀粉、硬脂酸镁、滑石粉或纤维素。口服施用优选片剂、糖衣药丸、胶囊、粉剂、糖浆、浓缩物或滴剂，直肠施用优选栓剂。

[0024] 同样可以使用悬浮液、乳液或植入体，局部施用可用膏剂或霜剂。

[0025] 所述制剂可以含有稳定剂、控制药物活性化合物释放的添加剂、抗氧化剂、缓冲剂、抑菌剂和用于调节等渗溶液用的助剂。含水和不含水的无菌悬浮液可以含有悬浮液添加物和增稠剂。所述制剂可以放在单一剂量或多次剂量容器中，例如放在带栓塞和密封盖的熔封安瓿瓶或管形瓶中，可以作为冷冻干燥（冻干的）的产物存放，在需要时用无菌液体例如水或生理盐溶液提供使用。以此方式也可以使用无菌粉末、颗粒或片剂。

[0026] 所有制剂还可以含有一或多种单独或有协同作用的活性化合物。它们是氟化的嘧啶碱，例如 5- 氟化尿嘧啶 (5-FU)、卡培他滨 (Xeloda)、替加氟、UFT、去氧氟尿苷、2’－脱氧 -5- 氟代尿苷，各种细胞生长抑制剂，例如吉西他滨 (Gemzar)、多西他奇 (Taxotere)、紫杉醇 (Taxol)、托泊替康 (Hycamtin)、依立替康 (CPT-11)、阿霉素 (Rubex)、丝裂霉素 (MTC)、顺铂 (CDDP)、环磷酰胺 (CPM)、甲氨蝶呤（氨甲蝶呤）、培美曲塞 (Alimta)、长春新碱 (VCR)、阿糖胞苷 (Ara-C)、表柔比星 (Ellence)、奥沙利铂 (Eloxatin)、它莫昔芬（三苯氧胺）、卡铂 (CBDCA)、依托泊甙 (Etopophos)、异环磷酰胺 (Ifex)，或者抗氧化剂，例如维生素 C、维生素 E、谷胱甘肽、硫代甘油、酰基半胱氨酸，以及两种 MTHF 的离解产物甲醛和四氢叶酸。

[0027] 每剂量的制剂含有 0.001mg-10000mg MTHF。治疗时使用每剂量含有 1mg-1000mg MTHF 的制剂。

[0028] 剂量取决于治疗方式、制剂的施用方式、病人的年龄、体重、营养和状态。治疗可以由在最佳剂量以下的低剂量开始，逐步提高剂量以达到最佳的治疗效果。优选的治疗剂量在每天 1mg 和 1000mg 之间变化，特别是每天 100mg 和 500mg 之间。可以一次性服用，也可以多次服用。

[0029] 该制剂可以用于所有叶酸盐或酯类的应用领域。

[0030] 基于上述描述，本领域的技术人员可以直接采用本发明的决定性要素，而不偏离本发明的基本思路和范围，即可作出各种改进和补充，由此使得本发明适合于各种不同的需求和条件。

[0031] 本文引用的所有申请、专利及出版物公开的所有内容，都通过参考而包括在内。

[0032] 下面的实施例通过更换常见或特殊描述的产物和/或本发明下述实施例所采用的工艺条件，可以得到类似的效果。同样，以下具体描述的实施方式纯粹是举例性的，根本不应当视为限制本发明公开的范围。

[0033] 用于详细解释本发明的实施例

[0034] 实施例 1

[0035] 含有 5,10- 亚甲基 -(6R,S)- 四氢叶酸的冻干物

[0036] 用氩气饱和9900毫升水。在搅拌条件下向其完全溶入421.9g柠檬酸。添加232.0g 5,10- 亚甲基 -(6R,S)- 四氢叶酸的钙盐。用氢氧化钠溶液将pH值调节到8.0，其中5,10- 亚甲基 -(6R,S)- 四氢叶酸缓慢地溶解。此后用氢氧化钠溶液将 pH 值调节到 8.5。将溶液在无菌条件下过滤，在 10ml 的玻璃管形瓶中每瓶装入 5.0ml。此后使溶液冻结并冷冻干燥。

[0037] 得到若干含有 5,10- 亚甲基 -(6R,S)- 四氢叶酸的管形瓶。

[0038] 实施例 2

[0039] 5,10- 亚甲基 -(6R,S)- 四氢叶酸（冻干物）的稳定化

[0040] 按实施例 1 制备的管形瓶显示了以下的稳定值 (Am 1466-A)：

[0041] 在 +4℃存放（相对稳定性%）

[0042]

时间（月）							
0	3.0	6.0	9.0	12.0	18.0	24.0	36.0
100.0	100.4	99.3	98.5	99.0	99.4	98.0	

[0043] 在 -15℃存放（相对稳定性%）

[0044]

时间（月）							
0	3.0	6.0	9.0	12.0	18.0	24.0	36.0
100.0	99.8	97.9	98.3	98.8	98.8	98.4	

[0045] 与此相比，未经处理的 5,10- 亚甲基 -(6R)- 四氢叶酸的钙盐的对照样品显示了以下稳定值 (Co 751)：

[0046] 在 +25℃存放（相对稳定性%）

[0047]

时间（月）							
0	0.5	1.0	1.75	2.5	4.5	9.2	19.0
100.0	92.3	83.4	77.2	71.9	65.5	49.1	43.0

[0048] 实施例 3

[0049] 5,10- 亚甲基 -(6R,S)- 四氢叶酸（溶液）的稳定化

[0050] 按实施例 1 制备的组合物作为生理食盐溶液中的稀释溶液显示了以下的稳定值

(AC 0448)：

[0051] 在 +25℃存放（相对稳定性%），未排除空气

[0052]

时间（小时）							
0	0.67	1.33	2.0	2.67	3.33	4.0	32.2
100.0	97.6	95.1	94.6	93.7	92.1	89.9	51.8

[0053] 按实施例 1 制备的细合物作为稀释的含水溶液显示了以下的稳定值 (AC0447)：

[0054] 在 +25℃存放（相对稳定性%），未排除空气

[0055]

时间（小时）							
0	0.67	1.33	2.0	2.67	3.33	4.0	23.2
100.0	97.7	97.0	96.6	94.8	93.8	93.3	70.9

[0056] 按实施例 1 制备的组合物作为浓缩的水溶液显示了以下的稳定值 (AC0447)：

[0057] 在 +25℃存放（相对稳定性%），未排除空气

[0058]

时间（小时）							
0	2.0	4.0	6.0	12.0	24.0		
100.0	100.2	99.2	98.1	95.9	86.2		

[0059] 在现有技术中可以找到 5,10- 亚甲基 -(6R, S)- 四氢叶酸的钙盐在生理食盐溶液中的数据作为对比，其稳定性数值如下 [参见 Chemical Stability andHuman Plasma Pharmacokinetics of Reduced Folates. Odin, E. et al. CancerInvestigation 16(7), 447-455(1998)]：

[0060] 在 +25℃存放（相对稳定性%）

[0061]

	时间（小时）						
	0	4.0	24.0	26.0	48.0		
排除空气	100.0	58.0	38.0	18.0	8.0		
不排除空气	100.0	84	12.0	8.0	6.0		

[0062] 实施例 4

[0063] 含有 5,10- 亚甲基 -(6R)- 四氢叶酸的片剂

[0064] 用氩气饱和 990 升水。在搅拌条件下向其完全溶入 42.2kg 柠檬酸。添加 21.4kg 5,10- 亚甲基 -(6R)- 四氢叶酸的游离酸。用氢氧化钠溶液将 pH 值调节到 8.0，其中 5,10- 亚甲基 -(6R)- 四氢叶酸缓慢地溶解。此后用氢氧化钠溶液将 pH 值调节到 8.5。将溶液在无

菌条件下过滤并冷冻干燥。将含有 1000g 5,10- 亚甲基 -(6R)- 四氢叶酸的冻干物与 4kg 乳糖、1.2kg 淀粉、0.2kg 滑石粉和 0.1kg 硬脂酸镁一起压片，使得每片含有 100mg 5,10- 亚甲基 -(6R)- 四氢叶酸。

[0065] 该片剂也可以涂层成为包膜片剂。

[0066] 实施例 5

[0067] 含有 5- 亚甲基 -(6R,S)- 四氢叶酸的栓剂

[0068] 用 50g 羟丙基纤维素和 2kg 半合成的甘油酯将按照实施例 1 制备的含有 500g 5,10- 亚甲基 -(6R,S)- 四氢叶酸的冻干物熔化成栓剂，使得每个栓剂含有 500mg 5,10- 亚甲基 -(6R,S)- 四氢叶酸。

[0069] 实施例 6

[0070] 含有尤其是 5,10- 亚甲基 -(6R,S)- 四氢叶酸和 5- 氟化尿嘧啶的联合制剂

[0071] 类似于实施例 1、4、5 和 7 制备一种联合制剂，除了含有对于相应地应用常规量的 5,10- 亚甲基 -(6R,S)- 四氢叶酸以外，还含有对于该应用是常规量的 5- 氟化尿嘧啶。

[0072] 实施例 7

[0073] 含有 5,10- 亚甲基 -(6R)- 四氢叶酸的冻干物

[0074] 用氩气饱和 9900ml 水。在搅拌条件下向其完全溶入 316.5g 柠檬酸。添加 212.5g 5,10- 亚甲基 -(6R)- 四氢叶酸的硫酸盐。用氢氧化钠溶液将 pH 值调节到 8.0，其中 5,10- 亚甲基 -(6R)- 四氢叶酸硫酸盐缓慢地溶解。此后用氢氧化钠溶液将 pH 值调节到 8.5。将溶液在无菌条件下过滤，在 10ml 的玻璃管形瓶中每瓶装入 5.0ml。此后使溶液冻结并冷冻干燥。

[0075] 得到若干含有 5,10- 亚甲基 -(6R)- 四氢叶酸的管形瓶。

[0076] 实施例 8

[0077] 5,10- 亚甲基 -(6R)- 四氢叶酸（溶液）的稳定化

[0078] 按实施例 7 制备的组合物作为浓缩的含水溶液显示了以下的稳定值 (Am1758-2/a)：

[0079] 在 +25℃存放（相对稳定性%），未排除空气

[0080]

时间（小时）							
0	0.67	1.33	2.67	4.0	5.33		
100.0	100.2	99.1	99.2	98.4	97.7		

[0081] 在现有技术中可以找到 5,10- 亚甲基 -(6R,S)- 四氢叶酸的钙盐在生理食盐溶液中的数据作为对比，其稳定性数值如下 [参见 Chemical Stability andHuman Plasma Pharmacokinetics of Reduced Folates. Odin, E. et al. CancerInvestigation 16(7), 447-455(1998)]：

[0082] 在 +25℃存放（相对稳定性%）

[0083]

	时间（小时）						
	0	4.0	24.0	26.0	48.0		
排除空气	100.0	58.0	38.0	18.0	8.0		
不排除空气	100.0	84	12.0	8.0	6.0		

。