(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 117098532 A
(43)申请公布日 2023.11.21

(21)申请号 202280022011.2
(22)申请日 2022.03.14
(30)优先权数据
21305324.2 2021.03.17 EP
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2023.09.15
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/EP2022/056446 2022.03.14
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2022/194734 EN 2022.09.22
(71)申请人 普如制药生命解决方案公司
地址 法国马赛
(72)发明人 玛丽娜·劳伦 巴巴克·萨耶
佛罗莱恩·库里沃
尼古拉斯·洛佩斯
(74)专利代理机构 北京柏杉松知识产权代理事务所(普通合伙) 11413
专利代理师 于作琛 王庆艳
(51)Int.Cl.
A61K 9/00(2006.01)

权利要求书1页 说明书16页

(54)发明名称

稳定的吲哚菁绿制剂

(57)摘要

本发明涉及具有改善的稳定性、尤其是改善的储存稳定性的吲哚菁绿组合物。特别地,本发明涉及包含吲哚菁绿和组氨酸的ICG组合物。

CN 117098532 A

1.一种至少包含吲哚菁绿(a)和组氨酸(b)的组合物,其中组氨酸(b)/吲哚菁绿(a)的重量比大于0.05。

2.根据权利要求1所述的吲哚菁绿组合物,其中组氨酸(b)/吲哚菁绿(a)的重量比为0.05至50。

3.根据权利要求2所述的吲哚菁绿组合物,其中组氨酸(b)/吲哚菁绿(a)的重量比为0.10至40,优选0.10至30,更优选0.10至20。

4.根据权利要求1至3中任一项所述的吲哚菁绿组合物,其还包含至少一种选自乙二胺四乙酸(EDTA)及其盐、半胱氨酸、氯化钠、二硫苏糖醇(DTT)、及其混合物的化合物(c)。

5.根据权利要求4所述的吲哚菁绿组合物,其中化合物(c)与吲哚菁绿(a)的重量比为1:500至100:1,优选1:100至10:1,更优选1:100至4:1。

6.根据权利要求4或5所述的吲哚菁绿组合物,其中化合物(c)与组氨酸(b)的重量比为1:100至100:1,优选1:10至10:1。

7.根据前述权利要求中任一项所述的吲哚菁绿组合物,其中组合物包含基于吲哚菁绿重量的至多5重量%的碘化钠。

8.根据前述权利要求中任一项所述的吲哚菁绿组合物,其为含水组合物。

9.根据权利要求8所述的吲哚菁绿组合物,其中含水组合物中吲哚菁绿的浓度为0.1mg/ml至50mg/ml。

10.根据权利要求8或9所述的含水组合物,其中在储存之前组合物中ICG的含量大于90%或等于90%,吲哚菁绿的含量通过HPLC在240nm处以%面积测量。

11.根据权利要求1至7中任一项所述的吲哚菁绿组合物,其中组合物为冻干粉的形式。

12.根据权利要求1至11中任一项所述的吲哚菁绿组合物,其用作药物或诊断剂。

13.一种试剂盒,其在分开的隔室中至少包含1/如权利要求11所定义的组合物和2/含水稀释剂。

14.一种能够用于制备根据权利要求8至10中任一项所述的组合物的试剂盒,其在分开的隔室中至少包含1/吲哚菁绿(a)和2/水溶液,所述水溶液至少包含组氨酸。

稳定的吲哚菁绿制剂

[0001] 本发明涉及医疗和制药领域。本发明涉及具有改善的稳定性、尤其是改善的储存稳定性的吲哚菁绿组合物。特别地,本发明涉及包含组氨酸的吲哚菁绿组合物。本发明还涉及制备这种组合物的方法及其使用方法。

现有技术

[0002] 吲哚菁绿(ICG)是一种水溶性三碳菁荧光染料,由美国食品和药品监督管理局批准用于医学诊断。吲哚菁绿用于测定肝功能、心输出量、肝血流量、皮瓣微循环和眼科血管造影。ICG的这些医学用途是基于其在人体组织相对透明的光谱区(750nm至800nm)的高吸光率。由于其毒性非常低,使这些医疗用途成为可能。静脉施用后,ICG被肝脏快速提取至胆汁,根据肝功能的不同,其有效半衰期约为3分钟至4分钟。

[0003] 对于上述应用,ICG必须以水溶液的形式施用。市售的冻干粉可溶于注射用无菌水中,通常以试剂盒的形式提供。然而,ICG在含水环境中稳定性差且降解快,这限制了其在时间敏感的外科手术等应用中的有效性。ICG销售商的说明包括立即使用复溶的ICG溶液至在10小时内使用,任何未使用的部分应被丢弃。

[0004] 研究表明,在含水介质中ICG分子会发生聚集等物理化学转化,尤其是在高浓度下。ICG在水中容易形成二聚体和低聚物,而在人血浆、甲醇和二甲基亚砜(DMSO)中保持单体状态[1]。此外,单线态氧可以通过ICG产生,从而生成二氧杂环丁烷,二氧杂环丁烷热分解成几种羰基化合物[2]。这些分解产物会降低细胞在体外的活力。

[0005] 在光照、高温、氧气和高浓度ICG的作用下,ICG更容易发生物理化学转化[3,4,5]。ICG暴露于光的类型和强度也影响其降解。物理化学转化导致ICG的光学性质快速退化,导致变色、荧光强度减弱和峰值吸光度移动。据报道,在水中和直射光下储存10小时后,ICG在其光谱峰值的吸光度降低了10%[4]。

[0006] 为了克服这些缺点,已经进行了许多研究来提高吲哚菁绿在水溶液中的稳定性。

[0007] Engel等人报道了ICG的化学降解可以通过添加单线态氧猝灭剂叠氮化钠NaN_3来抑制[2]。

[0008] Mindt等人研究了在不同温度下储存在黑暗或透明小瓶中的ICG样品的稳定性。吸光度和荧光测量表明,当在4℃的黑暗中储存时,ICG在三天内保持稳定,在此期间损失20%的荧光强度。根据这些试验,如果将ICG溶液储存在4℃的暗处,则建议ICG从原料中制备后可使用超过一天[6]。

[0009] 其他研究人员建议将ICG封装到纳米级载体中,以保护ICG分子不被降解。例如,CN103301482公开了三嵌段多肽ICG负载的胶束,其包含聚赖氨酸核、聚赖氨酸中间层和聚乙二醇壳,其中吲哚菁绿分散在核中。包裹吲哚菁绿的核壳结构使得有效阻止ICG分子聚集,从而增强了ICG的稳定性。

[0010] Kirchherr等人公开了将ICG包封在Solutol HS15(12-羟基硬脂酸的聚氧乙烯酯)胶束系统中。与水溶液中的游离ICG相比,该制剂在4周内表现出较低的聚集行为和较高的水稳定性[7]。

[0011] US 6,944,493公开了表现出增强的稳定性和增强的吲哚菁绿浓度的吲哚菁绿组合物。该发明基于吲哚菁绿脂质体制剂,其在复溶后至少稳定24小时。US 6,944,493中公开的所有制剂都用包含乙醇和聚山梨醇酯80等的稀释溶液复溶。

[0012] WO 2016/123864公开了包含嵌入在脂质纳米颗粒的脂质膜中的ICG的组合物。纳米颗粒的荧光强度比游离ICG的荧光强度高4倍至5倍。在4℃下储存0天至300天后,纳米颗粒的荧光强度比水溶液中的游离ICG的荧光强度高4倍至100000倍。

[0013] Dedora等人公开了ICG与高度可溶的甲基β-CyD和FDA批准的磺丁基醚β-CyD(Captisol®)在水溶液中的络合作用。这些络合物可以减少ICG的聚集,并且与水中的游离ICG相比,在24小时内表现出超过两倍的持续荧光增加。然而,已经发现与甲基β-CyD络合的ICG严重降低了一些成纤维细胞的存活能力[8]。

[0014] ICG与上述系统的包封或络合存在缺点,例如与细胞不相容,或可能限制ICG注射到血液中后与血浆蛋白相互作用的能力,因此可能会减慢脉管系统的排泄动力学。

[0015] US2010/0181535公开了一种用于增强荧光染料荧光强度的方法,其中将荧光染料与氧化还原缓冲剂混合。荧光染料可选自罗丹明、碳罗丹明、噁嗪染料,和/或包括吲哚菁绿的菁染料。氧化还原缓冲剂可以包含类胡萝卜素,特别是生育酚;硫醇,特别是谷胱甘肽,N-乙酰基-半胱氨酸,二氢硫辛酸;氨基酸,特别是色氨酸,酪氨酸,组氨酸,半胱氨酸,甲硫氨酸和/或含有它们的肽和蛋白质。作者表明,当在荧光检测仪器中用激光信号照射时,使用抗坏血酸或6-羟基-2,5,7,8-四甲基苯并二氢吡喃-2-羧酸(Trolox®)和甲基紫精可以延长菁染料的暗态长度。作者提到,使用所述氧化还原缓冲剂的另一个优点是,与不含氧化还原缓冲剂的相同荧光染料溶液相比,含有氧化还原缓冲剂的荧光染料溶液的保存期限可以增加10%至20%。然而,该文献没有提及组合物的长期储存稳定性。

[0016] WO2020/240514公开了包含磷酸氢二钠、磷酸二氢钠和氯化钠的吲哚菁绿制剂。组合物可以任选地包括其他药学上可接受的赋形剂,如氯化钠、柠檬酸盐/酯、碳酸钠、碳酸氢钠、酒石酸盐/酯、苯甲酸盐/酯、乙酸盐/酯、硼酸、乳酸、戊二酸、苹果酸、琥珀酸和碳酸、这些酸的碱金属或碱土金属盐、氨基酸缓冲剂如精氨酸、丙氨酸、组氨酸、甘氨酸和赖氨酸缓冲剂。用含水稀释剂复溶后,溶液可稳定长达24小时。

[0017] 所有这些现有技术都报道了增加ICG的水稳定性,但是没有一个提供了在超过1天至3天的时间内具有稳定性的ICG水溶液。因此,需要稳定性超过现有技术制剂的ICG含水组合物。

[0018] 现有技术的一些制剂是在昂贵的设备中制备的,和/或需要长的制造工艺时间和/或专门的赋形剂。一些制剂需要赋形剂如乙醇和聚山梨醇酯,这使得注射ICG组合物是疼痛且具有挑战性的。

[0019] 特别是,需要在室温下稳定一个月或几个月的ICG含水组合物。

[0020] 还需要用于静脉施用的ICG组合物,其与靶组织相容、无毒且其代谢消除迅速。

[0021] 本发明还旨在提供ICG组合物,该组合物是易于配制的并且是基于容易获得的材料,并且具有足以以与现有技术的短保质期ICG制剂相同的方式使用的ICG浓度。

[0022] 出人意料地发现,与现有技术的组合物相比,包含组氨酸的ICG制剂显示出改善的稳定性。

[0023] 根据本发明的制剂包含ICG浓度相当于或优于现有技术的ICG浓度。它们可以被配制成冻干粉或水溶液。与现有技术相比,它们具有改进的储存稳定性和保质期

[0024] 本发明的另一个目的是提供稳定、有成本效益且易于制造的制剂。本发明的目的是提供在施用时不会给患者带来任何不适的制剂。

发明内容

[0025] 本发明涉及包含吲哚菁绿(a)和组氨酸(b)的组合物,其中当组合物在环境温度下储存至少1个月时,通过HPLC在240nm处以%面积测量的组合物中吲哚菁绿的含量的下降小于10%或等于10%。

[0026] 有利地,在储存前,本发明组合物中ICG的含量大于90%或等于90%,吲哚菁绿的含量通过HPLC在240nm处以%面积测量。

[0027] 优选地,在储存前,通过HPLC在240nm处以%面积测量的ICG组合物中杂质的总量小于10%或等于10%。

[0028] 优选地,当组合物在环境温度下储存至少1个月时,通过HPLC在240nm处以面积%变化测量的根据本发明的组合物中杂质的增加小于或等于10%。

[0029] 本发明还涉及包含吲哚菁绿(a)和组氨酸(b)的组合物,其中组氨酸(b)/吲哚菁绿(a)的重量比大于0.05。

[0030] 本发明还涉及试剂盒,其在分开的隔室中至少包含1/包含吲哚菁绿(a)和组氨酸(b)的组合物,其中组氨酸(b)/吲哚菁绿(a)的重量比大于0.05,和2/含水稀释剂。

[0031] 本发明还涉及试剂盒,其在分开的隔室中至少包含1/吲哚菁绿(a)和2/至少包含组氨酸(b)的水溶液,其中试剂盒中组氨酸(b)/吲哚菁绿(a)的重量比大于0.05。

[0032] 本发明还涉及包含吲哚菁绿(a)和组氨酸(b)的组合物,其用作药物或诊断剂,其中组氨酸(b)/吲哚菁绿(a)的重量比大于0.05。

[0033] 本发明还涉及在患者中诊断和/或治疗的方法,包括以有效量,特别是通过静脉途径施用包含吲哚菁绿(a)和组氨酸(b)的组合物,其中组氨酸(b)/吲哚菁绿(a)的重量比大于0.05。

[0034] 有利地,组氨酸(b)/吲哚菁绿(a)的重量比为0.05至50。

[0035] 根据实施方案,组氨酸(b)/吲哚菁绿(a)的重量比为0.05至50,优选0.05至40,更优选0.10至30,并且仍更优选0.10至20。

[0036] 有利地,根据本发明的吲哚菁绿组合物还包含至少一种选自乙二胺四乙酸(EDTA)或其盐、半胱氨酸、氯化钠、二硫苏糖醇(DTT)、及其混合物的化合物(c)。

[0037] 优选地,化合物(c)与吲哚菁绿(a)的重量比为1:500至100:1,优选1:100至10:1,更优选1:100至4:1。

[0038] 优选地,化合物(c)与组氨酸(b)的重量比为1:100至100:1,优选1:10至10:1。

[0039] 根据实施方案,组合物包含基于吲哚菁绿重量的至多5重量%的碘化钠。

[0040] 根据优选的实施方案,根据本发明的吲哚菁绿组合物是含水组合物。

[0041] 根据更优选的实施方案,根据本发明的吲哚菁绿组合物是包装在小瓶或安瓿中的含水组合物。

[0042] 有利地,含水组合物中吲哚菁绿的浓度为0.1mg/ml至50mg/ml,优选0.1mg/ml至

30mg/ml。

[0043] 根据实施方案,含水组合物由试剂盒复溶,所述试剂盒在分开的隔室中至少包含1/包含吲哚菁绿(a)和组氨酸(b)的组合物,其中组氨酸(b)/吲哚菁绿(a)的重量比大于0.05,和2/含水稀释剂。

[0044] 根据另一个实施方案,含水组合物由试剂盒复溶,该试剂盒在分开的隔室中至少包含1/吲哚菁绿(a)和2/包含组氨酸的水溶液(b),其中组氨酸(b)/吲哚菁绿(a)的重量比大于0.05。

[0045] 有利地,由上述和下文详述的任何试剂盒复溶的含水组合物中吲哚菁绿的浓度为0.1mg/ml至50mg/ml,优选0.1mg/ml至30mg/ml。

[0046] 根据另一个实施方案,组合物是冻干粉的形式。

具体实施方式

[0047] 术语“基本上组成为”后跟一个或多于一个特征,是指除了明确列出的组分或步骤外,实质上不影响本发明的性质和特征的组分或步骤也可以包括在本发明的方法或材料中。

[0048] 除非另有明确说明,表述“包含X至Y”包括边界。这个表达意味着目标范围包括X和Y值,以及从X到Y的所有值。

[0049] 说明书中对治疗方法的引用可以解释为对本发明的化合物、药物组合物和药物的引用,其用于通过疗法来治疗人(或动物)体的方法或用于诊断方法。

[0050] 根据本发明的吲哚菁绿组合物的稳定性

[0051] 本发明旨在提供与现有技术组合物相比具有改进的稳定性的吲哚菁绿组合物。

[0052] 术语“稳定的组合物”和“稳定性”是指其中吲哚菁绿含量在储存一定时间(例如1周、1个月、2个月、6个月、1年、2年等)时保持稳定的组合物。

[0053] 组合物的稳定性通过测量组合物在长时间储存后吲哚菁绿含量的变化来评价。

[0054] 优选地,根据本发明的组合物是有利的,因为它们基本上没有显示出聚集、降解、沉淀的迹象,并且基本上没有或很少形成由于长时间储存后吲哚菁绿的化学改性而导致的杂质。此外,根据本发明的组合物是有利的,因为它们在长期储存后没有显示出显著的变色或荧光强度或峰值吸光度的降低。

[0055] 特别地,本发明提供了与目前可获得的吲哚菁绿制剂相比表现出改进的的稳定性的包含吲哚菁绿的组合物。

[0056] 有利地,相对于目前批准的吲哚菁绿制剂,根据本发明的组合物表现出至少10倍、更优选至少30倍、更优选至少50倍、还更优选100倍的稳定性。

[0057] 一方面,当在环境温度下储存至少一个月,优选至少3个月,更优选至少6个月,还要更优选至少12个月,最优选至少2年时,根据本发明的组合物是稳定的。

[0058] 术语“环境温度”是指据美国药典定义的20℃至25℃,短时间在15℃至30℃的受控室温,或根据欧洲药典定义的15℃至25℃。

[0059] 优选地,根据本发明的组合物在环境温度下在1个月至3年、优选3个月至3年、更优选1年至3年、还更优选1年至2年内是稳定的。

[0060] 有利地,当根据本发明的组合物在保护其免受自然光和/或紫外光和/或荧光照射

的容器中储存至少一个月、优选至少3个月、更优选至少6个月、最优选至少2年时是稳定的。

[0061] 能够保护组合物免受自然光和/或紫外光和/或荧光照射的容器是其壁在任何波长下具有至少50％的最大透光率的容器。通常,容器可以是不透明的或琥珀色的容器和/或不透明的二次包装部件(例如,纸箱或外包装)。

[0062] 有利地,根据本发明的组合物在密闭或密封容器中储存至少一个月、优选至少3个月、更优选至少6个月、最优选至少2年时是稳定的。

[0063] 根据本发明的组合物的稳定性可以通过目测颜色和/或透明度和/或其他分析方法来评估。

[0064] 评估组合物稳定性的分析方法是本领域技术人员已知的。它们可以包括核磁共振(NMR)、高效液相色谱(HPLC)、尺寸排阻色谱(SEC)、液相色谱结合质谱分析(LC-MS)、动态光散射(DLS)、差示扫描量热法(DSC)、紫外光谱和傅里叶变换红外光谱(FTIR)或这些方法的组合。

[0065] 有利地,通过HPLC测量组合物中吲哚菁绿含量在长期储存前后的变化来评估组合物的稳定性。更有利地,组合物中的ICG含量和该含量的变化通过HPLC在240nm处以％面积评估。

[0066] 优选地,当本发明的组合物在环境温度下储存至少1个月,优选3个月,更优选6个月,还要更优选12个月,最优选至少2年时,本发明组合物的稳定性对应于通过HPLC在240nm处以面积％测量的组合物中吲哚菁绿含量的下降小于10％或等于10％。

[0067] 优选地,当组合物在环境温度下储存至少1个月,优选3个月,更优选6个月,还更优选12个月,最优选至少2年时,本发明组合物稳定性的证据对应于通过HPLC在240nm下处以％面积测量的组合物中吲哚菁绿含量的下降小于5％或等于5％。

[0068] 甚至更优选地,当组合物在环境温度下储存至少1个月,优选3个月,更优选6个月,还更优选12个月,最优选至少2年时,本发明组合物稳定性的证据对应于通过HPLC在240nm处以％面积测量的组合物中吲哚菁绿含量的下降小于2％或等于2％。

[0069] 在本申请的含义内,“含量下降”应理解为在储存之前测量的组合物中ICG含量与在确定的储存时间之后测量的组合物中ICG含量之间的百分比差异,该含量通过HPLC在240nm处以％面积测量。

[0070] 优选地,储存前组合物中ICG的测定含量大于90％或等于90％,优选大于95％或等于95％,更优选大于97％或等于97％,最优选大于99％或等于99％,吲哚菁绿的含量通过HPLC在240nm处以％面积测量。

[0071] 本发明的吲哚菁绿组合物的稳定性也可以对应于本发明的组合物中所含的杂质总量在储存期间不会增加,特别是不会增加到降低吲哚菁绿组合物用于医学和/或诊断应用的能力的水平。

[0072] 例如,当组合物在环境温度下储存至少1个月,然后通过HPLC测量这些杂质时,在组合物中仅观察到少量的杂质,并且该量不会随时间显著增加。

[0073] 在本发明的上下文中,术语“杂质”应理解为不是吲哚菁绿或吲哚菁绿发明组合物的赋形剂或其他添加剂的化学实体。

[0074] 杂质可以是工艺相关杂质,例如在吲哚菁绿的制造过程中可能形成的副产物或中间体,或者是由储存过程中吲哚菁绿的化学转化产生的降解相关杂质。降解相关杂质是在

储存过程中可能形成的产物,例如响应于光暴露、温度和湿度,或与氧的反应。

[0075] 在实施方案中,当组合物在环境温度下储存至少1个月,优选2个月,更优选6个月,最优选至少2年时,通过HPLC在240nm处以面积%变化测量的根据本发明的组合物中杂质的增加小于10%或等于10%,优选小于5%或等于5%,更优选小于2%或等于2%。

[0076] 在实施方案中,储存前,通过HPLC在240nm处以面积%测量的ICG组合物中的杂质总量小于10%或等于10%,优选小于5%或等于5%,更优选小于1%或等于1%。

[0077] 术语"杂质总量"包括如上所述的工艺相关杂质和降解相关杂质。

[0078] 吲哚菁绿组合物

[0079] 本发明提供了包含吲哚菁绿(a)和组氨酸(b)的组合物。

[0080] 出人意料地,发明人已经观察到组氨酸能够稳定和/或避免ICG组合物在含水稀释剂中的降解,和/或减少降解,和/或防止降解,和/或提高保存期限,和/或增加保存期限。

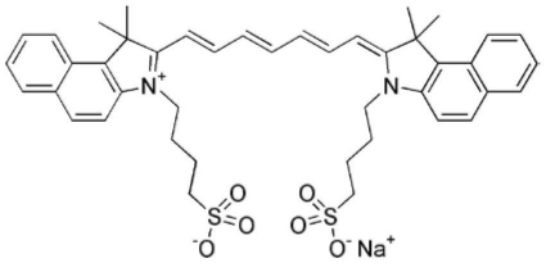
[0081] 出人意料地,发明人已经观察到组氨酸与一些其他化合物的结合能够提高组氨酸在含水稀释剂中对ICG的稳定作用。

[0082] 有利地,根据本发明的组合物可以包含至少一种共稳定化合物(c)。

[0083] 吲哚菁绿(a)

[0084] 术语吲哚菁绿是指吲哚菁绿及其药学上可接受的盐、溶剂化物、水合物、酸、其无水形式和其游离碱形式,优选地是指吲哚菁绿。

[0085]



吲哚菁绿(CAS 编号:3599-32-4)

[0086] 吲哚菁绿可以通过本领域技术人员已知的任何方法制备。例如,吲哚菁绿可以根据WO95/07888或WO2017093889中描述的方法制备。优选地,吲哚菁绿制备方法包括纯化所得产物的步骤。

[0087] 有利地,根据本发明的组合物中使用的吲哚菁绿基本上是纯的。优选地,根据本发明的组合物中使用的吲哚菁绿以通过HPLC测量的纯度大于90.0%,优选大于95.0%,更优选大于97.0%,还更优选大于99.7%的组合物形式提供。

[0088] 本文使用的术语"纯度"是指原料吲哚菁绿不含不需要的或掺杂的化学实体的程度。

[0089] 根据本发明,吲哚菁绿材料中的纯度和杂质通过HPLC在240nm下评估,以面积%表示。

[0090] 优选地,根据本发明组合物中使用的吲哚菁绿以包含通过HPLC测量的小于5.0%、优选小于1.0%、更优选小于0.5%的杂质的组合物提供。

[0091] 优选地,根据本发明的组合物中使用的吲哚菁绿以包含通过HPLC测量的小于0.50%、优选小于0.40%、更优选小于0.20%、最优选小于0.15%的每种杂质的组合物提供。

[0092] 包含在吲哚菁绿中的杂质可以是生产过程中产生的任何反应副产物或中间产物。例如,如文献US2019/0337896中所述,杂质可以包括N-苯基乙酰胺、4-(1,1,2-三甲基-1H-苯并[e]吲哚-3-基)丁烷-1-磺酸盐、4-(1,1,2-二甲基-2-((1E,3E,5E)-6-(N-苯乙酰胺基)六-1,3,5-三烯基)-1H-苯并[e]吲哚-3-基)丁烷-1-磺酸盐,但不限于此。

[0093] 优选地,吲哚菁绿以组合物的形式提供,该组合物包含的基于吲哚菁绿重量的金属污染物含量小于200ppm,优选小于100ppm,更优选小于50ppm,甚至更优选小于20ppm。吲哚菁绿中的金属污染物含量可以通过电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)来测量。

[0094] "金属污染物"应理解为所谓的"重"金属,特别是:Al、As、Cd、Cr、Cu、Fe、Sn、Mn、Hg、Mo、Ni、Pb、Zn、及其有机和无机衍生物。

[0095] 更优选地,吲哚菁绿不包含或包含少于2ppm的铅和砷。

[0096] 本发明组合物中使用的吲哚菁绿还可以作为包含碘化钠的组合物提供。碘化钠是吲哚菁绿商业组合物中经常存在的添加剂。当碘化物存在时,基于吲哚菁绿的重量,碘化物的含量理想地限制在小于5重量%。吲哚菁绿中的碘化钠含量可以通过电位分析法测定。

[0097] 本发明组合物中使用的吲哚菁绿可以以任何合适的形式提供,例如冻干物或结晶粉末。

[0098] 组氨酸(b)

[0099] 就本发明而言,"组氨酸"是指氨基酸组氨酸的L-对映体或D-对映体。有利地,组氨酸是指氨基酸组氨酸的L-对映体。

[0100] 发明人出人意料地观察到,当组氨酸(b)与吲哚菁绿(a)结合时,吲哚菁绿组合物在含水介质中的稳定性增强。

[0101] 在优选的实施方案中,组氨酸(b)与吲哚菁绿(a)的重量比大于0.05。有利地,组氨酸(b)与吲哚菁绿(a)的重量比为0.05至50,优选0.10至40,更优选0.10至30,还更优选0.10至20。当组氨酸(b)与吲哚菁绿(a)的重量比太大时,已经观察到组氨酸在储存过程中沉淀。

[0102] 在本发明的优选的实施方案中,组合物基本上由吲哚菁绿(a)和组氨酸(b)组成。

[0103] 在本发明的另一个优选的实施方案中,组合物基本上由吲哚菁绿(a)、组氨酸(b)、和碘化物组成。

[0104] 根据另一方面,本发明涉及组氨酸用于改善ICG组合物的储存稳定性的用途,其中组合物中组氨酸(b)与吲哚菁绿(a)的重量比大于0.05,优选0.05至50,优选0.10至40,更优选0.10至30,还更优选0.10至20。

[0105] 共稳定化合物(c)

[0106] 在本发明的另一个实施方案中,组合物还可以包含一种或多于一种化合物(c)。

[0107] 有利地,化合物(c)可以选自乙二胺四乙酸(EDTA)及其盐、半胱氨酸、氯化钠、二硫苏糖醇(DTT)、及其混合物。

[0108] "其混合物"是指两种或多于两种上述化合物以所有比例的混合物。

[0109] 乙二胺四乙酸盐包括但不限于EDTA二钠、EDTA钠钙、EDTA四钠、EDTA二钙、及其混合物。在优选的实施方案中,EDTA盐选自EDTA四钠和EDTA钙钠、或其混合物。这些乙二胺四乙酸盐也可以是水合盐的形式。

[0110] 就本发明而言,"半胱氨酸"是指氨基酸半胱氨酸的L-对映或D-对映体。有利地,半胱氨酸是指氨基酸半胱氨酸的L-对映体。

[0111] 发明人出人意料地观察到,当化合物(b)和化合物(c)与吲哚菁绿(a)结合时,吲哚菁绿组合物在含水介质中的稳定性增强。

[0112] 优选地,化合物(c)与吲哚菁绿(a)的重量比为1:500至100:1,优选1:500至10:1,更优选1:100至10:1,最优选1:100至4:1。

[0113] 优选地,化合物(c)与化合物(b)的重量比为1:100至100:1,优选1:10至10:1。

[0114] 共稳定化合物可以以任何形式例如固体、液体或半固体提供。共稳定化合物也可以是水溶液的形式。

[0115] 在本发明的优选的实施方案中,组合物基本上由吲哚菁绿(a)、组氨酸(b)和共稳定化合物(c)组成,共稳定化合物(c)选自乙二胺四乙酸(EDTA)及其盐、半胱氨酸、氯化钠、二硫苏糖醇(DTT)、及其混合物。

[0116] 在本发明的另一个优选的实施方案中,组合物基本上由吲哚菁绿(a)、组氨酸(b)、碘化物和共稳定化合物(c)组成,共稳定化合物(c)选自乙二胺四乙酸(EDTA)及其盐、半胱氨酸、氯化钠、二硫苏糖醇(DTT)、及其混合物。

[0117] 其他添加剂

[0118] 根据本发明的组合物还可以包含至少一种药学上可接受的添加剂。

[0119] 如本文所用,术语“药学上可接受的”是指适合用于与人和动物的组织接触而没有过度毒性、刺激或其他问题或并发症的化合物、材料和组合物,具有合理的效益/风险比。

[0120] 术语“添加剂”包括包含在组合物中的除了如上定义的成分(a)、(b)和(c)或碘化钠之外的组分。这种添加剂的实例包括缓冲剂、pH调节剂、等渗剂、表面活性剂、防腐剂、增渗剂、抗菌剂、湿润剂和乳化剂。

[0121] 例如,本发明的组合物可以包括一种或多于一种添加剂,其选自:氢氧化钠、氢氧化钾、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸丙酯、乙酸钠、柠檬酸钠、碳酸钠、碳酸铵、碳酸氢钠、苯甲酸盐/酯、乙酸盐/酯、硼酸、乳酸、戊二酸、苹果酸、琥珀酸和碳酸,以及这些酸的碱金属盐或碱土金属盐、葡甲胺、盐酸、环糊精衍生物、单月桂酸山梨糖醇酯、乙酸三乙醇胺酯、油酸三乙醇胺酯、柠檬酸、乳酸、磷酸、硫酸、精氨酸、丙氨酸、甘氨酸和赖氨酸。

[0122] 这些添加剂通常是本领域普通技术人员可获得的,并且可以是任何形式,例如固体、液体或半固体。

[0123] 优选地,本发明的组合物中添加剂的量在基本上不会对吲哚菁绿的活性产生实质性不利影响的范围内。优选地,本发明的组合物包含提供稳定和有效的组合物所需的最小数量和量的添加剂。

[0124] 根据本发明的组合物的形式

[0125] 根据本发明的组合物可以以任何合适的形式提供,但是优选以含水组合物或冻干固体组合物的形式提供。

[0126] 含水组合物

[0127] 根据第一方面,根据本发明的组合物是含水组合物的形式。

[0128] “含水组合物”应理解为水溶液、含水悬浮液、胶态含水悬浮液、含水分散体,优选水溶液。

[0129] 术语“水溶液”是指如上所述的吲哚菁绿组合物,其成分可溶于含水介质。

[0130] 有利地,根据该变体,该组合物包含水稀释剂、吲哚菁绿(a)、组氨酸(b)、任选的一

种或多于一种如上定义的化合物(c)以及任选的一种或多于一种药学上可接受的添加剂。

[0131] 含水稀释剂是一种药学上可接受的溶剂,对人或动物施用时是安全无毒的,并可用于制备药物制剂。

[0132] 含水稀释剂包含水,并且可以包含一种或多于一种药学上可接受的添加剂。在下文公开的方法的一些变体中,在与ICG混合之前,将如上定义的组氨酸(b)、任选的一种或多于一种如上定义的化合物(c)引入到含水稀释剂中。在这样的实施方案中,可以认为组氨酸(b)、任选的一种或多于一种化合物(c)是含水稀释剂的一部分。

[0133] 合适的含水稀释剂可以是生物学上可接受的任何液体,并且本发明的组合物完全可溶于其中。水,特别是无菌注射用水(SWFI)和/或抑菌注射用水(BWFI)是优选的稀释剂,因为它不包含可能影响ICG稳定性的盐或其他化合物。然而,也可以使用另一种含水稀释剂,例如无菌盐溶液、林格氏溶液、右旋糖溶液、葡萄糖溶液等。

[0134] 根据一个实施方案,含水稀释剂选自注射用水、抑菌注射用水、无菌盐溶液、林格氏溶液、右旋糖溶液和葡萄糖溶液。

[0135] 本领域技术人员能够根据期望的用途以及相对于组合物的其他化合物来选择稀释剂。他也能够根据赋形剂在水溶液中的溶解度来调节赋形剂的量。

[0136] 在一个优选的实施方案中,含水稀释剂是注射用水,特别是无菌注射用水(SWFI)和/或抑菌注射用水(BWFI)。

[0137] 含水稀释剂还可以包含缓冲剂、抑菌剂和溶质,它们使组合物与预期接受者的血液等渗。

[0138] 根据一个实施方案,含水稀释剂不是缓冲溶液或不含缓冲剂。

[0139] 有利地,水溶液具有至少1mOsM的渗透压。更有利地,水溶液的渗透压为1mOsM至300mOsM,更优选1mOsM至200mOsM。

[0140] 本发明的含水组合物中吲哚菁绿的浓度可以是适用于医学治疗或诊断、特别是产生令人满意质量的血管造影图像的任何浓度。

[0141] 根据优选的实施方案,根据本发明的含水组合物中的吲哚菁绿浓度为0.1mg/ml至50mg/ml、优选0.1mg/ml至30mg/ml。

[0142] 当ICG溶液的浓度小于0.1mg/ml时,荧光不足以通过分析仪器进行令人满意的检测。

[0143] 根据优选的实施方案,根据本发明的含水组合物的吲哚菁绿浓度为0.1mg/ml至25mg/ml,优选1mg/ml至25mg/ml,更优选1mg/ml至10mg/ml。

[0144] 在本发明组合物的一种或多于一种成分如组氨酸(b)或可能的化合物(c)作为水溶液加入的情况下,可以调节含水稀释剂的体积以获得所需的ICG浓度。

[0145] 在本发明的实施方案中,含水组合物基本上由含水稀释剂、吲哚菁绿(a)和组氨酸(b)组成。

[0146] 在另一个实施方案中,含水组合物基本上由含水稀释剂、吲哚菁绿(a)、组氨酸(b)和碘化钠组成。

[0147] 在另一个实施方案中,含水组合物基本上由含水稀释剂、吲哚菁绿(a)、组氨酸(b)和共稳定化合物(c)组成,共稳定化合物(c)选自乙二胺四乙酸(EDTA)及其盐、半胱氨酸、氯化钠、二硫苏糖醇(DTT)、及其混合物。

[0148] 在本发明的另一个实施方案中,含水组合物基本上由吲哚菁绿(a)、组氨酸(b)、共稳定化合物(c)和碘化钠组成,共稳定化合物(c)选自乙二胺四乙酸(EDTA)及其盐、半胱氨酸、氯化钠、二硫苏糖醇(DTT)、及其混合物。

[0149] 在这些实施方案中,含水组合物中化合物(ICG(a)、组氨酸(b)和共稳定化合物c))的优选百分比与上文"吲哚菁绿组合物"一章中所述的相同。

[0150] 冻干固体组合物

[0151] 根据另一个优选的实施方案,根据本发明的组合物是冻干组合物或冻干粉的形式。

[0152] 术语"冻干组合物"、"冻干粉"或"冻干物"是指通过冻干水溶液获得的根据本发明的固体组合物。

[0153] 术语"冻干"或"冻干的"是指这样一种方法,通过该方法,首先将含水溶剂中的组合物冷冻,然后在真空环境中通过升华除去经冷冻的溶剂。

[0154] 当作为冻干物提供时,使用根据本发明的组合物前可以通过使用其中所述的含水稀释剂转化成溶液。复溶的水溶液,也是根据本发明的组合物,然后在环境温度下稳定至少1个月,优选2个月,更优选6个月,最优选至少2年。

[0155] 上述关于含水稀释剂、ICG浓度、pH、渗透压和稳定性的所有限制也适用于由根据本发明的冻干组合物复溶的水溶液。

[0156] 此外,在实施方案中,根据本发明的冻干组合物具有少于2分钟、优选少于1分钟的短复溶时间,并且在用含水稀释剂稀释后适于静脉内施用。

[0157] "复溶时间"是指用水溶液将冻干组合物再水合为无颗粒澄清溶液所需的时间。

[0158] 在将组合物复溶为用于医疗或诊断用途的水溶液后,优选将溶液储存在避光无氧的容器中。

[0159] 试剂盒

[0160] 根据优选的实施方案,本发明涉及一种试剂盒,其第一部分包含冻干粉形式的本发明组合物,第二部分包含含水稀释剂。

[0161] 根据另一个优选的实施方案,本发明涉及试剂盒,其第一部分包含吲哚菁绿(a),第二部分包含含有组氨酸的水溶液(b)。优选地,水溶液包含如上定义的共稳定化合物(c),和任选的一种或多于一种如上所述的添加剂。

[0162] 根据根据该实施方案,吲哚菁绿优选为冻干粉的形式。

[0163] 上述关于ICG组合物和含水稀释剂的所有优选的实施方案也适用于任何试剂盒变体。

[0164] 根据实施方案,根据本发明的试剂盒由部分(粉末和稀释剂)组成,其量使得从试剂盒复溶的水溶液具有0.1mg/ml至50mg/ml、优选0.1mg/ml至30mg/ml、更优选0.1mg/ml至25mg/ml、还更优选1mg/ml至25mg/ml、最优选1mg/ml至10mg/ml的ICG浓度。

[0165] 根据这些优选的实施方案,试剂盒包括至少两个分开的隔室,其中冻干粉和含水稀释剂分别储存。

[0166] 试剂盒可以包括至少两个分开的小瓶,包装有注射器或没有注射器,或者试剂盒可以包括预先填充的两室注射器,例如双室旁路注射器。

[0167] 这种试剂盒允许在施用前将粉末和水溶液混合。

[0168] 根据一个或另一个变体的试剂盒旨在用于临时复溶本文所述的吲哚菁绿的稳定水溶液。它们的优点是在优化的储存条件下提供注射用组合物的必需组分，并以合适的量提供所需的浓度。因此，除了试剂盒中包含的稀释剂之外，含水组合物可以不用稀释剂稀释而复溶。由于这种作为试剂盒的包装，可以避免剂量误差或引入污染物。

[0169] 根据本发明的组合物的制备方法

[0170] 根据本发明的组合物可以使用任何已知的方法制备，并且不限于特定的方法。

[0171] 例如，组合物可以通过将吲哚菁绿(a)与组氨酸(b)，任选地与一种或多于一种如上所述的化合物(c)，以及任选地与一种或多于一种药学上可接受的赋形剂混合来制备。

[0172] 优选地，根据本发明的组合物的成分的混合在如上所述的含水溶剂中进行。构成根据本发明的组合物的组分的添加顺序可以变化。例如，吲哚菁绿可以溶解在含水稀释剂中，然后可以加入组氨酸(b)和任选的共稳定化合物(c)和添加剂。化合物(b)和(c)可以在加入到经溶解的吲哚菁绿中之前混合。或者，可以将吲哚菁绿引入到预先溶解了组氨酸(b)和任选的化合物(c)的水溶液中。

[0173] 优选地，混合在惰性气氛下例如在氩气或氮气气氛下进行。含水稀释剂和/或液体成分优选在使用前脱气。

[0174] 当作为冻干物提供时，根据本发明的组合物的冻干可以使用标准的冻干或真空干燥的设备来进行。冻干的周期可以根据所用的设备和设施而变化，其可以由本领域技术人员进行调整。

[0175] 优选地，预冻干水溶液是如上所述的吲哚菁绿水溶液。根据本发明的预冻干水溶液可以在冻干前灭菌。通常通过合适的膜过滤溶液来实现灭菌。

[0176] 优选地，为了防止组合物的任何降解，水溶液在其制备后短时间内被冻干。冻干物在使用前可储存数月。优选地，冻干物储存在避免空气和/或湿气和/或光的条件下。

[0177] 当作为含水组合物提供时，根据本发明的吲哚菁绿组合物也可以通过使用来自上述试剂盒的冻干物和含水稀释剂来复溶。为了进行复溶，可以将冻干组合物引入小瓶中，然后加入含水稀释剂。

[0178] 以冻干或含水形式制备的组合物有利地在制备后立即被放置在不透光的密封容器中。容器可以是例如瓶子、安瓿、小瓶、注射器或管。容器可以由例如玻璃、聚合物、金属等形成。容器可以是单剂量或多剂量容器。

[0179] 在本发明的优选的实施方案中，容器优选为有色玻璃小瓶或有色玻璃安瓿。有利地，容器选自具有真空顶部空间的有色玻璃小瓶或有色玻璃安瓿。优选地，根据本发明的组合物储存在有色玻璃安瓿中。

[0180] 有利地，根据本发明的组合物在环境温度下储存。

[0181] 根据本发明的组合物的用途

[0182] 本发明的组合物可以用于患者的诊断和/或治疗(作为治疗剂)方法。方法包括以有效量施用根据本发明的水溶液。这种施用可以通过肠内途径、肠胃外途径，特别是静脉注射或局部施用来进行。优选地，通过静脉注射进行施用。

[0183] 术语“有效量”是指例如研究人员或临床医生所寻求的将引发组织、系统、动物或人的生物学或医学反应的吲哚菁绿的量。

[0184] 有利的是，本发明的组合物可用于诊断和/或治疗方法，其中含水ICG组合物可在

从其制备或从上述试剂盒之一中复溶后储存至少1个月,优选至少6个月,更优选至少12个月,最优选至少2年后施用于患者。

[0185] 特别地,根据本发明的组合物可用于热疗法、通过ICG增强的选择性光凝固、光动力疗法(PDT)、光动力和热疗(PHT)。更特别地,作为PDT应用,根据本发明的组合物可用于感染治疗、痤疮治疗、黄斑手术、癌症治疗等。根据本发明的组合物的用途可以与其他疗法如免疫疗法、放射疗法、超声波和化学疗法结合。

[0186] 根据本发明的组合物还可以用于获得患者组织的血管造影图像,用于确定心输出量,用于确定肝功能和肝血流量,用于诊断和治疗与年龄相关的黄斑变性、相关的脉络膜新血管形成和肿瘤。

[0187] 根据本发明的组合物基于已经过临床测试并被批准用于人类和/或动物施用的组分。

[0188] 对于诊断应用,已知ICG的峰值吸收和发射位于800nm至850nm,给予患者的ICG组合物的量应该足以允许染料在适当的波长下照射时发出荧光。同样的标准也适用于使用ICG溶液的治疗方法;应该施用足够的染料以保证治疗有效。本领域技术人员可以容易地确定用于施用的ICG组合物的量,并且该量应该至少是目前在眼科血管造影术中使用的可接受的浓度,例如,用于诊断的2ml的20mg/mL ICG溶液。正如本领域技术人员公认的,较高的染料浓度可以有利地用于任何这些诊断和治疗方法中。

[0189] 与现有技术的ICG组合物相比,根据本发明的溶液中ICG的稳定性的提高为具有相同量注射化合物的患者提供了改善的诊断/治疗。这是因为ICG稳定性的提高将提供对荧光照射更强烈的响应。

[0190] 实施例

[0191] I-材料和方法:

[0192] 1.试剂和化学品:

[0193] 吲哚菁绿由Biophore India Pharmaceuticals提供,无需进一步纯化即可使用。半胱氨酸(CAS编号:3374-22-9)由Fisher Scientific提供。抗坏血酸钠(CAS编号:134-03-2)和组氨酸(CAS编号:4998-57-6)由Aldrich提供。其他试剂购自Aldrich,无需进一步纯化即可使用。

[0194] 2.设备:

[0195] 前述实施例中制剂的稳定性通过高压液相色谱(HPLC)测定。用于进行分析的设备是配有二极管阵列检测器(紫外-可见)、Waters Xbridge Shield RP18-4.6x 100-5m色谱柱和MS ESI光谱仪的Agilent Infinity 1260HPLC/MS系统。溶液的注射体积为5μL。流速为1ml/min,柱温为30℃,检测波长为240nm。

[0196] 通过梯度进行洗脱。流动相由10mM pH 5.5的乙酸铵/乙酸缓冲液(洗脱液A)和乙腈(洗脱液B)的混合物组成。根据下表I,在洗脱过程中不断改变流动相的组成:

[0197] 表I

[0198]

时间(min)	洗脱液A%	洗脱液B%
0.0	85	15
3.0	85	15
40.0	30	70

40.1	85	15
47.0	85	1 5

[0199] II-样品制备:

[0200] 如下制备ICG组合物:将组氨酸和共稳定化合物(如果存在的话)称取到I型透明玻璃瓶中。然后将小瓶去皮重,称取25mg吲哚菁绿。用溴丁基橡胶塞(来自VWS)封闭小瓶,然后用氮气流吹扫。然后用注射器加入10ml预先用氮气脱气的WFI。手动轻轻摇动小瓶,直到溶质溶解。然后将小瓶储存在室温和避光的地方。

[0201] III-含吲哚菁绿(a)和组氨酸(b)的组合物:

[0202] 表II

[0203]

	C1	C2	C3
ICG (mg)	25	25	25
组氨酸(mg)	16	200	300
组氨酸/ICG重量比	0.64	8	12
储存稳定性			
储存前ICG面积%(i)	98.26	99.70	99.70
储存(周)	6	5	5
储存前ICG面积%(f)	97.45	98.06	97.86
变化(i-f)%	2.25	1.64	1.84

[0204] 表II中报告的结果表明,在组氨酸的存在下,含水吲哚菁绿组合物的稳定性增强。

[0205] IV-包含吲哚菁绿(a)、组氨酸(b)和共稳定化合物(c)的组合物:

[0206] 表III

[0207]

		C4	C5	C6	C7
ICG (mg)		25	25	25	25
组氨酸(mg)		5	5	5	5
化合物(c)	半胱氨酸(mg)	4	4		
	NaCl (mg)[a]		45	45	
	EDTA 4Na (mg)			1	1
	DTT (mg)				4
组氨酸/ICG重量比		0.20	0.20	0.20	0.20
化合物(c)/ICG的重量比		0.16	1.96	1.84	0.20
储存稳定性					
储存前ICG面积%(i)		99.07	99.07	98.26	99.07
储存(周)		5	1	7	5
储存前ICG面积%(f)		98.43	98.21	97.29	98.35
变化(i-f)%		0.64	0.86	0.97	0.72

[0208] [a]为了制备包含氯化钠的溶液,将一定量的ICG、组氨酸和半胱氨酸/EDTA/抗坏血酸钠称量到小瓶中,用溴化丁基橡胶塞封闭小瓶,然后用氮气流吹扫。然后加入5ml脱气的WFI和5ml 0.9% NaCl脱气溶液。

[0209] 表III中报告的结果表明,当组氨酸和化合物(c)与吲哚菁绿结合时,含水吲哚菁绿组合物的稳定性增强。

[0210] V-对比成分:

[0211] 仅包含共稳定化合物(c)的组合物:

[0212] 表IV

[0213]

	C8	C9	C10	C11	C12
ICG (mg)	25	25	25	25	25
EDTA 4Na (mg) [b]	1				
EDTA 2Na Ca (mg)			2	2	2
NaCl (mg)		45		45	22.5
化合物(c)/ICG的重量比	0.04	1.80	0.08	1.88	0.98
储存稳定性					
储存前ICG面积%(i)	99.70	99.70	99.70	99.70	99.70
储存(周)	7	5天	5	5	5
储存前ICG面积%(f)	95.60	89.54	76.58	94.52	88.88
变化(i-f)%	4.10	9.53	23.12	5.18	10.82

[0214] (b)乙二胺四乙酸四钠盐水合物。

[0215] 表IV中报告的结果表明,化合物(c)在单独使用时提高了吲哚菁绿含水组合物的储存稳定性,但不如组氨酸在单独使用时高。

[0216] 包含根据现有技术的组分的组合物:

[0217] 表V

[0218]

	C13	C14	C15	C16	C17	C18	C20	C21	C22
ICG (mg)	25	25	25	25	25	25	25	25	25
甲硫氨酸(mg)	5								
维生素E(mg)(生育酚)		5							
还原型谷胱甘肽(mg)			1						
硫代乳酸(mg)				5					
硫代苹果酸(mg)					3				
巯基乙酸(mg)						2			
NaCl (mg)		45			45				
赖氨酸(mg)							200		
碳酸氢钠(mg)								16	
戊二酸(mg)									200
化合物/ICG的重量比	0.20	2	0.04	0.20	1.92	0.08	8	0.64	8
储存稳定性									
储存前ICG面积%(i)	99.70	99.07	99.70	99.07	99.07	99.07	99.48	99.48	99.48
储存(周)	6	8	6	8	7	8	6	6	6
储存前ICG面积%(f)	40.76	87.60	13.34	40.8	65.6	58.87	88.45	91.14	4.71
变化(i-f)%	58.94	11.47	86.36	58.27**	33.47	40.2**	7.58	8.34	94.77

[0219] **:在储存过程中观察到ICG沉淀。

[0220] 表V中报告的结果表明,现有技术中公开的其他稳定化合物在ICG的长期稳定性方面不够有效。

[0221] 参考文献

[0222] [1]Holzer W,Mauerer M,Penzkofer A,Szeimies RM,Abels C,Landthaler M,Bäumler W.Photostability and thermal stability ofindocyanine green.J Photochem Photobiol B.1998 Dec;47(2-3):155-64.

[0223] [2]Engel E,Schraml R,Maisch T,Kobuch K,König B,Szeimies RM,Hillenkamp J,Bäumler W,Vasold R.Light-induced decomposition of indocyanine green.Invest Ophthalmol Vis Sci.2008 May;49(5):1777-83.

[0224] [3]Saxena V,Sadoqi M,Shao J.Degradation kinetics of indocyanine green in aqueous solution.J Pharm Sci.2003 Oct;92(10):2090-7.

[0225] [4]Gathje J,Steuer RR,Nicholes KR.Stability studies on indocyanine green dye.J Appl Physiol.1970 Aug;29(2):181-5.

[0226] [5]Barbier f,Deweerdt ga.Chromatography and I.R.spectrography of indocyanine green.Clin Chim Acta.1964 Dec;10:549-54.

[0227] [6]Mindt S,Karampinis I,John M,Neumaier M,Nowak K.Stability and degradation of indocyanine green in plasma,aqueous solution and whole blood.Photochem Photobiol Sci.2018 Sep 12;17(9):1189-1196.

[0228] [7]Kirchherr AK,Briel A,Mäder K.Stabilization of indocyanine green by encapsulation within micellar systems.Mol Pharm.2009 Mar-Apr;6(2):480-91

[0229] [8]DeDora DJ,Suhrland C,Goenka S,Mullick Chowdhury S,Lalwani G,Mujica-Parodi LR,Sitharaman B.Sulfobutyl etherβ-cyclodextrin(Captisol®)and methyl β-cyclodextrin enhance and stabilize fluorescence of aqueous indocyanine green.J Biomed Mater Res B Appl Biomater.2016 Oct;104(7):1457-64.