

發明專利說明書

公告本

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號： 96141918

C07D403/10 (2006.01)

※ 申請日期： 96.11.6

C07D403/62 (2006.01)

※IPC 分類： ~~A61K~~

A61K31/501 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

A61K31/4184 (2006.01)

包含匹莫苯坦(PIMOBENDAN)之液體製劑

A61K9/08 (2006.01)

A61K47/40 (2006.01)

LIQUID PREPARATION COMPRISING PIMOBENDAN A61K9/04 (2006.01)

二、申請人：(共 1 人)

姓名或名稱：(中文/英文)

德商百靈佳殷格翰維美迪加股份有限公司

BOEHRINGER INGELHEIM VETMEDICA GMBH

代表人：(中文/英文)

1. 漢茲 哈蒙

HAMMANN, HEINZ

2. 麥可 康特

KOMPTER, MICHAEL

住居所或營業所地址：(中文/英文)

德國英格翰市55216賓根街173號

BINGER STRASSE 173, 55216 INGELHEIM, GERMANY

國 籍：(中文/英文)

德國 GERMANY

三、發明人：(共 2 人)

姓 名：(中文/英文)

1. 馬汀 A 佛格
FOLGER, MARTIN A.
2. 史蒂芬 藍儂
LEHNER, STEFAN

國 籍：(中文/英文)

1. 德國 GERMANY
2. 德國 GERMANY

四、聲明事項：

☐ 主張專利法第二十二條第二項 ☐ 第一款或 ☐ 第二款規定之事實，其事實發生日期為： 年 月 日。

☒ 申請前已向下列國家（地區）申請專利：

【格式請依：受理國家（地區）、申請日、申請案號 順序註記】

☒ 有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1. 歐洲專利機構；2006年11月07日；06123567.7

2.

☐ 無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1.

2.

☐ 主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號 順序註記】

☐ 主張專利法第三十條生物材料：

☐ 須寄存生物材料者：

國內生物材料 【格式請依：寄存機構、日期、號碼 順序註記】

國外生物材料 【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼 順序註記】

☐ 不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

五、中文發明摘要：

本發明係關於包含經取代之苯并咪唑(較佳為匹莫苯坦(pimobendan))作為醫藥活性化合物的新穎液體製劑。詳言之，本發明係關於包含醚化環糊精衍生物(較佳約20%至70% (w/v)濃度)及該經取代苯并咪唑(較佳約0.005%至0.15% (w/w)濃度)的液體製劑。

六、英文發明摘要：

The invention relates to novel liquid preparation comprising a substituted benzimidazol, preferably pimobendan as pharmaceutically active compound. In particular, the present invention relates to liquid preparation comprising an etherified cyclodextrin derivative, preferably in a concentration of about 20 to 70% (w/v) and said substituted benzimidazol, preferably in a concentration of about 0.005 to 0.15 % (w/w).

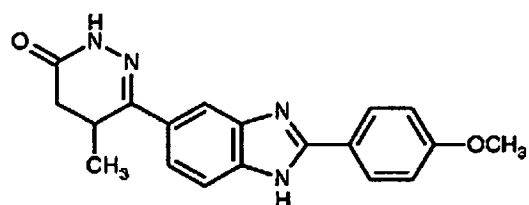
七、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第(2)圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

(無元件符號說明)

八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：



九、發明說明：

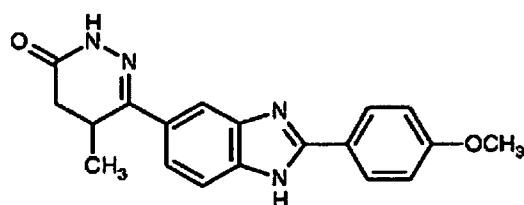
【發明所屬之技術領域】

本發明係關於醫藥領域。詳言之，本發明係關於包含經取代之苯并咪唑、較佳匹莫苯坦作為醫藥活性化合物的新穎液體製劑。

【先前技術】

匹莫苯坦為用於治療動物(尤其狗)之因例如擴張型心肌症(DCM)或失償型心內膜炎(DCE)而引起之充血性心臟衰竭(CHF)的熟知化合物(WO 2005/092343)。匹莫苯坦亦為獲准用於人類心血管治療之藥品。

匹莫苯坦(4,5-二氫-6-[2-(4-甲氧基苯基)-1H-苯并咪唑-5-基]-5-甲基-3(2H)-噻嗪酮)揭示於EP B-008 391(該專利以引用方式全文併入本文中)中，且其具有下式：



如EP A-439 030及WO 2005/08467中已描述，匹莫苯坦藥物不溶於水，1 g物質可溶於超過10000 ml水中。在pH 7下，匹莫苯坦之溶解度為約0.1 mg/100 ml。

該物質可藉由經口途徑、每日投藥兩次。但無法獲得包含匹莫苯坦之液體製劑。為使對上述所有新型適應症即時發生作用，須藉由靜脈內及/或皮下途徑非經腸投與可注射溶液。為將藥品藉由靜脈內/皮下途徑投與人類或動

物，需要水性調配物，具有非水性溶劑之調配物因存在嚴重耐受性問題之風險而既不可接受亦非現行技術。

在水溶液中之溶解度視pH值而定。匹莫苯坦之溶解度在pH 1至3下顯著較高，然而，在溶液中之化學穩定性降低，以致無法獲得具有合理存放期之穩定溶液。此外，該調配物之局部耐受性極其不佳。此係歸因於目標劑量所需要溶液中之藥物濃度僅可藉由約pH 3及低於pH 3之pH值獲得。在溶液中之所需濃度比匹莫苯坦在水中之溶解度超出約250倍，1至1000倍可能為最大所需提高範圍。

已知某些醚化 β -環糊精衍生物可改良微溶藥物之溶解度(WO85/02767)。然而，在WO85/02767中描述僅使用濃度至多10%之醚化 β -環糊精衍生物。考量1:6至4:1之藥物與醚化 β -環糊精衍生物之莫耳比。在上述指定比率內，氟苯達唑(flubendazol)之溶解度僅增加30倍。然而，彼等調配物不適於製備包含至多5 mg/ml、較佳0.5至3 mg/ml、甚至更佳0.5至1.5 mg/ml之治療有效量之匹莫苯坦或其他任何經取代之苯并咪唑的液體製劑。如上所述，包含至多1.5 mg/ml匹莫苯坦之調配物至少需要在pH 7下之溶解度提高約1000倍至1500倍。

【發明內容】

本發明潛藏之目的在於提供包含經取代之苯并咪唑、較佳匹莫苯坦作為醫藥活性化合物的液體製劑。

本發明潛藏之目的在於提供包含經取代之苯并咪唑、較佳匹莫苯坦作為醫藥活性化合物的醫藥學上可接受之溶

液。

本發明潛藏之另一目的在於提供包含經取代之苯并咪唑、較佳匹莫苯坦作為醫藥活性化合物的可注射溶液。

【實施方式】

在本發明之實施例之前，應注意，除非上下文有明確規定，否則如本文中及隨附申請專利範圍中所使用之單數形式"一"及"該"包括複數個提及物。因此，舉例而言，提及"一種製劑"包括複數種該等製劑；提及該"載劑"為提及一或多種熟習此項技術者已知之載劑及其等效物，諸如此類。除非另外定義，否則本文中所使用之所有技術及科學術語所具有的含義與一般熟習本發明所屬技術者通常所瞭解之含義相同。除非另外指明或熟習此項技術者另外已知，否則所有給定範圍及值可變化1%至5%，因此術語"約"在本說明書中省去。儘管與本文中所述之彼等方法及材料相似或相當的任何方法及材料均可在本發明之實施或測試中使用，但現描述較佳之方法、裝置及材料。出於描述並揭示可結合本發明使用之如公開案中所報導之物質、賦形劑、載劑及方法之目的，本文中所提及之所有公開案係以引用方式併入本文中。本文中無任何內容將被解釋為承認本發明無資格先於先前發明之該等揭示內容。

藉由本說明書及申請專利範圍中所表徵之實施例獲得上述技術問題之解決方案。

本發明係基於以下意想不到之觀測：在約5或7之pH值下，羥基丙基- β -環糊精(HP β CD)(醚化環糊精衍生物)濃度

之升高與匹莫苯坦(在結構上為經取代之苯并咪唑之成員)溶解度之增加之間存在非線性關係。可藉由使用最終調配物之15%以上、較佳約20% (w/v)至高達70%(w/v)之HP β CD濃度來獲得含有約0.5至1.5 mg/ml目標濃度之匹莫苯坦的溶液。圖1教示，基於此非線性關係，20%(w/v)以上之HP β CD濃度可使匹莫苯坦之溶解度大幅提高，匹莫苯坦可以針對經取代之苯并咪唑所述之例示性方式使用。一般而言，如本文中所使用之"(w/v)"意謂以每體積最終製劑/調配物計之物質重量。

此外，一意想不到之觀測為藉由HP β CD所達成之溶解度提高在升高之pH值下並未降低。匹莫苯坦在低pH值下之溶解度原則上高於在較高pH值下之溶解度。此效應已自WO 2005/08467獲知。此亦見於包含醚化環糊精衍生物HP β CD之溶液中(參見圖1)。然而，此效應在pH 7.0下驚人地逆轉。匹莫苯坦在HP β CD存在下、在pH 5下之溶解度與pH 3相比大大降低。相反，匹莫苯坦在HP β CD存在下、在pH 7下之溶解度大大高於在pH 5下之溶解度。HP β CD濃度(以質量計)之增加與匹莫苯坦飽和溶解度之增加之間的關係在pH 3下為線性，但在pH 7下則為非線性(參見圖1)。HP β CD濃度愈高，則匹莫苯坦溶解度愈高。該等非線性效應容許溶解度增加1000倍以上，此係製備包含治療有效量之匹莫苯坦或其他任何經取代之苯并咪唑的彼等活性成份之液體製劑所需要的。

因此，根據一態樣，本發明係關於包含醚化環糊精衍生

物及經取代之苯并咪唑的液體製劑，其中該醚化環糊精衍生物係選自由 α -環糊精醚、 β -環糊精醚及 γ -環糊精醚組成之群。

如本文中所使用之術語"液體製劑"僅意謂製劑之大部分係以液體形式存在。如本文中所使用之術語"液體製劑"包括任何形式之水溶液以及任何類型之懸浮液。若液體製劑以懸浮液形式獲得，則其為分散系統。"分散系統"大體上意謂由兩個或兩個以上的相組成的系統，其中一種形式(分散相)精細地分配於另一種形式(分散劑)中。根據本發明，"懸浮液"意謂固體顆粒於液體中之混合物。較佳地，本發明之液體製劑為水溶液，更佳為非醇性水溶液。甚至更佳地，彼等液體製劑為水溶液，其適於用作供靜脈內及/或皮下施藥於動物內之用的可注射溶液。如本文中所使用之術語"水溶液"僅意謂製劑之大部分係以溶解形式存在。如本文中所使用之術語"非醇性水溶液"意謂製劑係以溶解形式存在，但不包括醇性溶劑或其他有機溶劑。

因此，根據另一態樣，本發明係關於包含醚化環糊精衍生物及經取代之苯并咪唑的水溶液，其中該醚化環糊精衍生物係選自由 α -環糊精醚、 β -環糊精醚及 γ -環糊精醚組成之群。較佳地，彼等水溶液為用於靜脈內及/或皮下施藥於動物內之可注射溶液，或可用於製備供靜脈內及/或皮下施藥於動物之用的可注射溶液。

如本文中所使用之術語"醚化環糊精衍生物"包括但不限於 α -環糊精、 β -環糊精或 γ -環糊精。較佳地，如本文中所

使用之醚化環糊精衍生物意謂醚化 β -環糊精，更佳具有下式：



其中殘基R為羥基烷基，且殘基R之部分視需要可為烷基。較佳使用式I之部分醚化 β -環糊精，其中殘基R為羥基乙基、羥基丙基或二羥基丙基，殘基R之部分視需要可為例如甲基或乙基；在 β -環糊精分子中使用具有7至14個甲基之部分甲基化 β -環糊精醚因其已知於德國公開案31 18 218中而不歸入本發明。僅包含烷基(甲基、乙基)之 β -環糊精之部分醚若具有0.05至0.2之低取代度(如下文中所定義)，則適用於本發明。

甚至更佳地，如本文中所使用之醚化環糊精衍生物為羥基乙基- β -環糊精、羥基丙基- β -環糊精、二羥基丙基- β -環糊精。最佳地，如本文中所使用之醚化環糊精衍生物為羥基丙基- β -環糊精(HP β CD)，例如如歐洲藥典(European Pharmacopoeia)(2005年第5版，歐洲藥品品質理事會(European Directorate for the Quality of Medicines, EDQM)，歐洲藥典，226 avenue de Colmar, F-67029 Strasbourg, France, <http://www.pheur.org>)中所述。醫藥級之羥基丙基- β -環糊精(HP β CD)例如在Kleptose® HP商標下市售且可自Roquette, France定購。

β -環糊精為具有由7個脫水葡萄糖單元組成之環結構的化合物；其亦稱為環庚直鏈澱粉(cycloheptaamylose)。7個葡萄糖環各自在2位、3位及6位含有三個可經醚化之羥

基。在根據本發明所使用之部分醚化 β -環糊精衍生物中，該等羥基中僅部分係用羥基烷基醚化且視需要進一步用烷基醚化。當經羥基烷基醚化(其可藉由與相應氧化烯反應來執行)時，取代度被描述為莫耳取代度(MS)，亦即，每個脫水葡萄糖單元之氧化烯莫耳數，參見美國專利3,459,731第4行。在根據本發明所使用之 β -環糊精之羥基烷基醚中，莫耳取代度介於0.05與10之間、較佳介於0.2與2之間。約0.40至約1.50之莫耳取代度尤其較佳。經烷基醚化可直接描述為每個葡萄糖單元之取代度(DS)，如上所述，其為3則表示完全取代。除羥基烷基外亦包含烷基、尤其甲基或乙基直至取代度為0.05至2.0、較佳0.2至1.5之部分醚化 β -環糊精可用於本發明。最佳地，經烷基取代之取代度介於約0.5與約1.2之間。

因此，根據另一態樣，本發明係關於包含醚化環糊精衍生物及經取代之苯并咪唑的如上所述之液體製劑，其中該醚化環糊精衍生物為醚化 β -環糊精。較佳地，彼醚化 β -環糊精為羥基乙基- β -環糊精、羥基丙基- β -環糊精或二羥基丙基- β -環糊精。甚至更佳地，彼醚化 β -環糊精為羥基丙基- β -環糊精(HP β CD)，例如如歐洲藥典(2005年第5版，歐洲藥品品質理事會(EDQM)，歐洲藥典，226 avenue de Colmar, F-67029 Strasbourg, France, <http://www.pheur.org>)中所述。最佳地，彼醚化 β -環糊精為Kleptose® HP(Roquette, France)。

如本文中所使用之術語"經取代之苯并咪唑"意謂但不限

於噻苯咪唑(thiabendazol)、麥穗寧(fuberidazol)、丙氧咪唑(oxibendazol)、帕苯達唑(parbendazol)、康苯達唑(cambendazol)、甲苯達唑(mebendazol)、芬苯達唑(fenbendazol)、氟苯達唑、阿苯達唑(albendazol)、奧芬達唑(oxfendazol)、諾考達唑(nocodazol)、艾斯特索(astemisol)及匹莫苯坦，其醫藥學上可接受之鹽、衍生物、代謝物或前藥。較佳地，如本文中所使用之術語"經取代之苯并咪唑"意謂匹莫苯坦或其任何醫藥學上可接受之鹽、衍生物、代謝物或前藥。匹莫苯坦本身係如上文中所述。

因此，根據另一態樣，本發明係關於包含醚化環糊精衍生物及經取代之苯并咪唑的如上所述之液體製劑，其中：

- a) 該醚化環糊精衍生物為醚化 β -環糊精，較佳為羥基乙基- β -環糊精、羥基丙基- β -環糊精或二羥基丙基- β -環糊精，甚至更佳為羥基丙基- β -環糊精(HP β CD)且最佳為Kleptose® HP(Roquette, France)；及
- b) 該經取代之苯并咪唑為噻苯咪唑、麥穗寧、丙氧咪唑、帕苯達唑、康苯達唑、甲苯達唑、芬苯達唑、氟苯達唑、阿苯達唑、奧芬達唑、諾考達唑、艾斯特索或匹莫苯坦，其醫藥學上可接受之鹽、衍生物、代謝物或前藥，較佳為如上所述之匹莫苯坦或其任何醫藥學上可接受之鹽、衍生物、代謝物或前藥。

該液體製劑所需之醚化環糊精之量視最終液體製劑之pH值、經取代之苯并咪唑及所用部分而定。然而，驚人地發

現，將約15-70%(w/v)之醚化環糊精衍生物(較佳為HP β CD)用於該最終製劑中適於溶解治療有效量之上述任何經取代之苯并咪唑。詳言之，其顯示將約15-70%(w/v)之如上所述之醚化環糊精衍生物(較佳為HP β CD)用於該最終製劑中適於溶解治療有效量之匹莫苯坦。因此，根據另一態樣，如本文中所述之任何最終液體製劑包含約15至70% (w/v) 醚化環糊精衍生物(較佳為HP β CD)。較佳地，該最終液體製劑中之醚化環糊精衍生物(較佳為HP β CD)部分為20-50% (w/v)、更佳為20-40%、甚至更佳為20-30% (w/v)、甚至更佳為22-28%、甚至更佳為23-27% (w/v)、甚至更佳為24-26% (w/v)，例如最終製劑中之該部分為15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%(w/v)或其任何分數。

如本文中所述之液體製劑中之經取代之苯并咪唑部分通常介於0.005%與0.15% (w/v)之間，較佳介於0.01%與0.15% (w/w)之間，更佳介於0.05%與0.15% (w/w)之間，且甚至更佳介於0.075%與0.10% (w/w)之間。因此，該部分例如為0.001%、0.002%、0.003% ... 0.008%、0.009%等；

0.01%、0.02%、0.03%、0.04%、0.05% ... 0.08%、0.09%等；0.10%、0.11%、0.12% ... 0.14%、0.15%(w/v)。較佳地，經取代之苯并咪唑為本文中所述之彼等物中之任一者，較佳匹莫苯坦。

因此，根據另一態樣，本發明係關於包含醚化環糊精衍生物及如上所述之經取代之苯并咪唑、較佳HP β CD及匹莫苯坦的液體製劑，其中彼液體製劑包含：

- a) 約15至70% (w/v)、較佳20-50% (w/v)、更佳20-40%、甚至更佳20-30% (w/v)、甚至更佳22-28%、甚至更佳23-27% (w/v)、最佳24-26% (w/v)之該醚化環糊精衍生物、較佳HP β CD；及
- b) 介於0.005%與0.15% (w/v)之間、較佳介於0.01%與0.15% (w/w)之間、更佳介於0.05%與0.15% (w/w)之間且甚至更佳介於0.075%與0.1% (w/w)之間的如本文中所述之經取代之苯并咪唑、較佳匹莫苯坦。

一般治療有效目標劑量(詳言之不僅用於治療急性CHF，而且可用於本文中所述之其他任何治療用途)以動物每公斤體重計為約0.05至0.5 mg匹莫苯坦，較佳約0.1至0.3 mg匹莫苯坦，甚至更佳約0.15 mg匹莫苯坦。藥品中匹莫苯坦之目標濃度應設定為0.75 mg/ml，從而允許投與安全且均勻之注射量。舉例而言，具有10公斤體重之狗可恰好接受含有1.5 mg匹莫苯坦之2 ml劑量。因此，根據另一態樣，本發明係關於包含如上所述之醚化環糊精衍生物、較佳HP β CD及0.75 mg/ml(0.075%(w/v))匹莫苯坦的液體製

劑、較佳注射用之水溶液。更佳地，彼液體製劑中之醚化環糊精衍生物部分包含約15至70% (w/v)、較佳20-50% (w/v)、更佳20-40% (w/v)、甚至更佳20-30% (w/v)、甚至更佳22-28% (w/v)、甚至更佳23-27% (w/v)、最佳24-26% (w/v)之該醚化環糊精衍生物。最佳為最終調配物中包含0.75 mg/ml(0.075%(w/v))匹莫苯坦及約15至70% (w/v)、較佳20-50% (w/v)、更佳20-40% (w/v)、甚至更佳20-30% (w/v)、甚至更佳22-28% (w/v)、甚至更佳23-27% (w/v)、最佳24-26% (w/v)HP β CD的液體製劑、較佳注射用之水溶液。

液體製劑可容許添加緩衝劑、抗氧化劑(諸如乙二胺四乙酸鈉)、等張劑(諸如氯化鈉)且適於用作供靜脈內及/或皮下施藥於動物(尤其狗)內之用的單次使用性可注射溶液。因此，根據另一態樣，本發明係關於包含如本文所述之醚化環糊精衍生物(較佳HP β CD)及如本文所述之經取代之苯并咪唑(較佳匹莫苯坦)的上述任何液體製劑、較佳注射用之水溶液，其中該製劑進一步包含醫藥學上可接受之賦形劑及/或鹽。

僅舉例而言，標準液體製劑中之賦形劑、詳言之本發明之注射溶液中之賦形劑可為葡甲胺、聚乙二醇(macrogol)、泊洛沙姆188(poloxamer 188)、對羥基苯甲酸酯及甘胺酸。本發明之調配物可含有錯合劑作為其他成份。在本發明之範疇內，錯合劑意謂能夠形成錯合鍵的分子。較佳地，該等化合物應具有使陽離子(最佳金屬陽離

子)錯合之作用。本發明之調配物較佳含有乙二胺四乙酸(EDTA)或其一種已知鹽、例如二水合乙二胺四乙酸鈉或乙二胺四乙酸二鈉(乙二胺四乙酸鈉)作為錯合劑。較佳地，乙二胺四乙酸鈉視需要以其水合物形式、更佳以其二水合物形式使用。若將錯合劑用於本發明之調配物內，則其含量以10 ml本發明之調配物計較佳在1至20 mg範圍內，更佳在2至10 mg範圍內。較佳地，本發明之調配物以10 ml本發明之調配物計含有約5 mg量之錯合劑。當然，亦可使用熟習此項技術者已知的其他賦形劑。

因此，根據另一態樣，本發明係關於包含如本文中所述之醚化環糊精衍生物(較佳HP β CD)及如本文中所述之經取代之苯并咪唑(較佳匹莫苯坦)的上述任何液體製劑、較佳注射用之水溶液，其中該製劑進一步含有一或多種較佳選自由以下各物組成之群的適當防腐劑：葡甲胺、聚乙二醇、對羥基苯甲酸酯及乙二胺四乙酸。

在鹽之情況下，該等鹽為例如無機鹽，諸如氯化物、硫酸鹽、磷酸鹽、二磷酸鹽、溴化物及/或硝酸鹽。此外，本發明之粉末亦可含有有機鹽，諸如蘋果酸鹽、順丁烯二酸鹽、反丁烯二酸鹽、酒石酸鹽、丁二酸鹽、乙基丁二酸鹽、檸檬酸鹽、乙酸鹽、乳酸鹽、甲烷磺酸鹽、苯甲酸鹽、抗壞血酸鹽、對甲苯磺酸鹽、雙羥萘酸鹽、水楊酸鹽、硬脂酸鹽、依託酸鹽(estolate)、葡庚糖酸鹽或乳糖酸鹽。同時，對應鹽可含有醫藥學上可接受之陽離子，諸如鈉、鉀、鈣、鋁、銨。

然而，本發明展示，該鹽可能降低在固定量之HP β CD存在下匹莫苯坦之溶解度。克服此問題存在兩種方式。第一選項為進一步增加HP β CD之濃度。另一方式為限制鹽之量。已展示，在添加磷酸鹽從而產生約300 mOsm/Kg之滲透壓度之後，匹莫苯坦之溶解度以例示性方式未受影響。因此，根據另一態樣，本發明係關於包含如本文中所述之醚化環糊精衍生物(較佳HP β CD)及如本文中所述之經取代之苯并咪唑(較佳匹莫苯坦)的上述任何液體製劑、較佳注射用之水溶液，其中該液體製劑含有約250至350 mOsm/Kg之滲透壓度、較佳約270至320 mOsm/Kg之滲透壓度、更佳約280至300 mOsm/Kg之滲透壓度。熟習此項技術者能夠藉由此項技術中熟知之方式將任何該等液體製劑之滲透壓度調節為上述範圍。舉例而言，包含約24% (w/v)HP β CD及0.75 mg/ml匹莫苯坦的液體製劑可含有10 mM鹼式磷酸鹽(較佳磷酸鈉)以將最終液體製劑之滲透壓度調節為約290至300 mOsm/kg。

本發明之液體製劑之pH值較佳介於5.5與8.5之間。詳言之，在可注射溶液之情況下，pH值較佳介於6.5與7.5之間。可用於將pH值調節為6.5至7.5的較佳緩衝系統為例如磷酸鹽、乙酸鹽及檸檬酸鹽緩衝系統。任何彼等緩衝系統之製備描述於例如歐洲藥典(2005年第5版，歐洲藥品品質理事會(EDQM)，歐洲藥典，226 avenue de Colmar, F-67029 Strasbourg, France, <http://www.pheur.org>)。因此，根據另一態樣，本發明係關於包含如本文中所述之醚化環

糊精衍生物(較佳HP β CD)及如本文中所述之經取代之苯并咪唑(較佳匹莫苯坦)的上述任何液體製劑、較佳注射用之水溶液，其中該液體製劑在可注射溶液之情況下可經調節為pH 5.5至8.5、較佳調節為pH 6.5至7.5。

如上所述，本發明之較佳實施例係關於包含如本文中所述之醚化環糊精衍生物(較佳HP β CD)及如本文中所述之經取代之苯并咪唑(較佳匹莫苯坦)、已經調節為pH 6至7.5的可注射溶液。在此種情況下，等張溶液之製劑更佳。

為使經取代之苯并咪唑(較佳匹莫苯坦)對所有適當適應症即時發生作用，可注射溶液必須藉由靜脈內及/或皮下途徑非經腸投與。為將藥品藉由靜脈內/皮下途徑投與人類或動物，需要水性調配物，具有非水性溶劑之調配物因存在嚴重耐受性問題之風險而既不可接受亦非現行技術。

因此，根據另一態樣，本發明係關於包含如上所述之任何液體製劑的可注射溶液，亦即供靜脈內及/或皮下途徑非經腸投藥之用的可注射溶液。將藥物在限定時段內連續投與而不以單次注射施藥投與可能是適用的。在此種情況下，藉由輸注投與包含經取代之苯并咪唑(較佳匹莫苯坦)的水溶液是有利的。因此，根據另一態樣，本發明係關於包含如上所述之任何液體製劑的輸注用之可注射溶液。

靜脈內投藥絕對需要溶液，懸浮顆粒具有高栓塞風險且必須排除在外。與在投藥之前必須藉由添加稀釋劑/溶劑復水的凍乾產品相比，即用溶液較佳。將欲投藥之藥品復水將使治療延遲幾分鐘，在危及生命情況下必須避免此發

生。此外，局部耐受性將視調配物之等張性及pH值範圍而定。約pH 7之中性範圍內之pH值通常較佳，實際pH值偏離此目標值愈高，不可接受之局部耐受性之風險可能性更大。

因此，根據另一態樣，本發明係關於包含如本文中所述之醚化環糊精衍生物(較佳HP β CD)及如本文中所述之經取代之苯并咪唑(較佳匹莫苯坦)的如本文中所述之任何液體製劑，其中該液體溶液為即用溶液。即用溶液通常經調節為約6.5至7.5之pH值，較佳約6.8至7.2之pH值，更佳約7.0之pH值。此外，彼即用溶液亦經調節為約250至350 mOsm/Kg之滲透壓度、較佳約270至320 mOsm/Kg之滲透壓度、甚至更佳約280至300 mOsm/Kg之滲透壓度。驚人地發現，添加某些鹽從而產生約300 mOsm/Kg之滲透壓度，其大大降低經取代之苯并咪唑(詳言之匹莫苯坦)之溶解度。然而，熟習此項技術者將瞭解，將彼即用溶液之滲透壓度稍微增至約300 mOsm/Kg，例如增至約305至310 mOsm/Kg，可確保經取代之苯并咪唑(詳言之匹莫苯坦)之適當溶解度。

根據另一態樣，本發明係關於如上文所述之液體製劑，其中該製劑包含：i)約20至30% (w/w)HP β CD；ii)約0.005至0.15% (w/w)匹莫苯坦、其醫藥學上可接受之鹽、衍生物、代謝物或前藥；及可選的iii)約0.025至0.075%(w/w)穩定劑、較佳EDTA；且其中該液體製劑之pH值經調節為約6.5至7.5且滲透壓度為約280至300 mOsm/Kg。

根據另一態樣，本發明亦關於製備如本文中所述之任何液體製劑的製造方法。瞭解上述任何液體調配物之具體配方後，可根據熟習此項技術者已知之標準程序製備彼等調配物。彼方法包含以下步驟：

- a) 將醚化環糊精衍生物溶於溶劑中；
- b) 將經取代之苯并咪唑添加至在步驟(a)所獲得之溶液中；及
- c) 將步驟(b)所獲得之混合物混合，以獲得水溶液形式之液體製劑。

較佳地，彼醚化環糊精衍生物為HP β CD。此外，溶劑較佳為注射用水。

根據更佳實施例，彼製造方法包含以下步驟：

- a) 稱取醚化環糊精(較佳HP β CD)，置於製造容器內；
- b) 添加水至約40至80%之最終體積；
- c) 使用磁力攪拌器或槳式攪拌器進行混合直至醚化環糊精溶解；
- d) 添加任何緩衝組份，用水轉移且混合直至溶解；
- e) 檢查pH值以確保其接近設定值。需要時，用氫氧化鈉或鹽酸調節；
- f) 添加經取代之苯并咪唑(較佳匹莫苯坦)，用水轉移且混合直至溶解；
- g) 用水補足體積。

根據一更佳態樣，該製造方法包含以下步驟：

- h) 將步驟g)之液體製劑過濾且分配於小瓶內；

i) 在121°C下將小瓶高壓滅菌較佳30分鐘。

根據另一態樣，本發明係關於如本文中所述之任何液體製劑作為藥物之用途。較佳地，彼藥物為獸醫學藥物。甚至更佳地，彼藥物為注射用溶液。根據另一態樣，彼注射用溶液為輸注溶液。

如上文所述，在有關治療動物及人類(尤其狗)之急性充血性心臟衰竭(急性CHF)之醫藥領域中存在未滿足的需求。因此，如本文中提供之液體製劑可用於人類及獸醫學中，較佳用於獸醫學中。迄今為止，尚未有用於此適應症之獸醫學產品獲得許可。因此在危及生命情況下，急性CHF之治療將為在急性病危急情況下拯救動物生命的重要創新舉措。由於藥物作用即時發生，因此快速目測動物狀態之變化可讓獸醫與動物主人評估為克服事態所採取之措施是否成功。此外，在經口治療不可行之情況下，此治療方式可為治療選項。在麻醉期間維持心血管功能及/或腎灌注之圍手術投藥以及對於休克及/或胃擴張扭結狀況之治療為具即時發生作用之匹莫苯坦調配物之其他潛在適應症。

因此，根據另一實施例，本發明亦關於包含本文中所述之匹莫苯坦之任何液體製劑的用途，其係用於製備供治療或預防需要該治療之受檢者之疾病的醫藥組合物，該等疾病係選自以下適應症：充血性心臟衰竭(CHF)、急性CHF、失償型心內膜炎(DCE)、擴張型心肌症(DCM)、無症狀(隱匿性)CHF、無症狀DCM、麻醉期間心血管功能及/或腎灌注之維持、休克、胃擴張、腸扭結、心肌缺血及腎

缺血。如上文所述，以動物每公斤體重及每次施用計，匹莫苯坦之一般治療有效量為約0.05至0.5 mg匹莫苯坦，較佳係約0.1至0.3 mg匹莫苯坦，甚至更佳係約0.15 mg匹莫苯坦。較佳地，每日投與單次劑量。

根據另一態樣，本發明亦關於強心物質、降血壓物質、消炎物質及抗血栓性物質於其中具有治療益處之疾病之治療及/或預防方法，該方法包含以下步驟：將治療有效量之如本文中所述之任何液體製劑投與需要該治療之該受檢者。較佳地，以動物每公斤體重及每次施用計，該液體製劑係以約0.05至0.5 mg匹莫苯坦之治療有效量投與，較佳係以約0.1至0.3 mg匹莫苯坦之治療有效量投與，甚至更佳係以約0.15 mg匹莫苯坦之治療有效量投與。較佳地，每日投與單次劑量。

如上所述，匹莫苯坦為尤其治療充血性心臟衰竭(CHF)、失償型心內膜炎(DCE)、擴張型心肌症(DCM)、無症狀(隱匿性)CHF、無症狀DCM的公認藥物。因此根據另一態樣，本發明直接係關於一種治療及/或預防罹患或患有以下病症之受檢者之方法：充血性心臟衰竭(CHF)、失償型心內膜炎(DCE)、擴張型心肌症(DCM)、無症狀(隱匿性)CHF、無症狀DCM、心肌缺血及腎缺血、休克，該方法包含以下步驟：將包含治療有效量之匹莫苯坦之如本文中所述之任何液體製劑投與需要該治療之該受檢者。詳言之，以動物每公斤體重及每次施用計，治療CHF之治療有效量為約0.05至0.5 mg匹莫苯坦，較佳約0.1至0.3 mg匹莫

苯坦，甚至更佳約0.15 mg匹莫苯坦。較佳地，每日投與單次劑量。在麻醉期間心血管功能及/或腎灌注之維持、休克、胃擴張或腸扭結(例如起因於手術、尤其胃腸手術以及外傷)之情況下，該治療亦為有利的。

需要上述任何該種治療之受檢者為哺乳動物，較佳人類或動物。如本文中所使用之術語"動物"包括但不限於伴侶動物，諸如狗、貓、豚鼠、倉鼠、馬、牛、山羊、綿羊或其類似動物。較佳地，需要該治療之受檢者為狗、馬或貓，最佳為狗。然而，需要該治療之該動物亦包括動物園動物，諸如猴、象、長頸鹿及其他有蹄動物、熊、小鼠及其他小型哺乳動物。

本發明此外係關於多部件套組，其包含

- a) 具有如本文中所述之本發明液體製劑(較佳可注射溶液)的容器，
- b) 及包括以下資訊之包裝插頁：本發明之液體製劑(較佳可注射溶液)欲較佳經由注射(皮下或靜脈內)而用於預防及/或治療需要該預防或治療之受檢者(較佳為如上定義之哺乳動物)之充血性心臟衰竭。

在治療動物之情況下，彼包裝插頁較佳包括以下資訊：匹莫苯坦欲以如上文所述之劑量使用，該劑量以每公斤體重及每次施用計較佳為約0.15 mg。較佳地，每日投與單次劑量。更佳地，包裝插頁包括如上所述之具體適應症。

根據另一態樣，該容器包含2 ml、5 ml、10 ml、50 ml或250 ml液體製劑。較佳地，該容器包含3.75 mg、7.5 mg

或 37.5 mg 匹莫苯坦。

實例

以下實例用於進一步闡明本發明；但該等實例不應解釋為限制本文中所揭示之本發明之範疇。

實例：1

匹莫苯坦在不同 pH 值下、在羥基丙基- β -環糊精(HP β CD)存在下之溶解度

在羥基丙基- β -環糊精(HP β CD)之各種濃度下且在 pH 3、5 及 7 下測試匹莫苯坦(經取代之苯并咪唑)之溶解度。使用 Kleptose® HP(Roquette, France)作為醫藥級之 HP β CD。在 pH 3、5 及 7 下、在 10 至 40%(w/v)HP β CD 存在下研究匹莫苯坦之飽和溶解度。將溶液用磷酸鈉溶液緩衝。利用以下方法製備樣本溶液：

- a) 將約 3 ml 之測試溶液置放於配有磁力攪拌棒的 7 ml 玻璃小瓶中；
- b) 用鹽酸調節 pH 值；
- c) 添加過量的匹莫苯坦。將樣本置放於超音波浴中且超音波處理 5 分鐘以確保存在過量的匹莫苯坦，且需要時可添加更多的匹莫苯坦；
- d) 將樣本置放於 25°C 之水浴中且攪拌至少 16 小時；
- e) 使用 0.2 μ m PVDF 針筒過濾器過濾樣本；
- f) 藉由 HPLC 檢定樣本。

結果展示於圖 1 及圖 2 中。驚人地發現，由於在約 5 或 7 之 pH 值下 HP β CD 濃度之升高與匹莫苯坦溶解度之增加之間存

在非線性關係，因此含有目標濃度之匹莫苯坦的溶液可藉由使用15%以上之(HP β CD)濃度來獲得(參見圖1)。此外，意想不到地觀測到，藉由HP β CD所達成之溶解度提高並未隨著pH值降低而增加，而是在一定HP β CD濃度下，在pH 7下之溶解度低於在pH 3下之溶解度，但高於在pH 5下之溶解度。HP β CD濃度(以質量計)之增加與匹莫苯坦飽和溶解度之增加之間的關係在pH 3下為線性，但在pH 5及pH 7下為非線性(參見圖2)。

實例：2

調配物研製

1. 羥基丙基- β -環糊精(HP β CD)之含量

在pH 7.0下，在10 mM磷酸鹽緩衝液中，在20至25% (w/v)HP β CD存在下研究匹莫苯坦之飽和溶解度。對三批不同的HP β CD進行研究且每種溶液雙重複測試(參見圖3)。利用以下方法製備該等溶液：

- 將約3 ml之測試溶液置放於配有磁力攪拌棒的7 ml玻璃小瓶中；
- 添加過量的匹莫苯坦。將樣本置放於超音波浴中且超音波處理5分鐘以確保存在過量的匹莫苯坦，且需要時可添加更多的匹莫苯坦；
- 將樣本置放於25°C之水浴中且攪拌至少16小時；
- 使用0.2 μ m PVDF針筒過濾器過濾樣本；
- 藉由HPLC檢定樣本。

將含量為22至24%(w/v)之HP β CD選用於包含0.5、0.75及

1.0 mg/ml匹莫苯坦之調配物。

2. 滲透壓度：

調配物需要等張溶液。含有24%(w/v)HP β CD及10 mM磷酸鹽緩衝液之調配物具有287 mOsm/Kg之滲透壓度。添加氯化鈉以使滲透壓度增至303 mOsm/Kg。研究0.75 mg/ml匹莫苯坦在24% (w/v)HP β CD存在下之飽和溶解度，且將結果與不補充氯化鈉之彼等調配物對比。結果展示於圖4中。可溶匹莫苯坦之量由約1.23 mg/ml大幅降至約0.71 mg/ml。

3. 物理穩定性：

將包含24%(w/v)HP β CD、0.75 mg/ml匹莫苯坦、10 mM磷酸鹽緩衝液之最終調配物樣本(pH 7.0)經由0.2 μ m PVDF針筒過濾器過濾至兩個螺旋蓋玻璃小瓶內。一個小瓶在室溫下儲存且另一小瓶在5°C下儲存。最初、一週後及兩週後對樣本外觀之變化及沈澱之跡象進行評價。觀測到外觀無變化且無沈澱跡象。

3. 過濾研究及高壓滅菌研究：

A) 將包含24% (w/v)HP β CD、0.75 mg/ml匹莫苯坦、10 mM磷酸鹽緩衝液之最終調配物樣本(pH 7.0)經由三個不同的過濾器(Fluorodyne®, 0.2 μ m(Pall)；Durapore®, 0.22 μ m(Millipore)；及Supor®, 0.2 μ m(Pall))過濾。對於每次實驗而言，將30 ml測試溶液置放於50 ml針筒中且接著迫使其通過罩有各類型之47 mm膜之同軸固持器。在取樣點1、2、3、4、5、10、15及25 ml處收集濾液樣本，且分析

其匹莫苯坦含量。對於各過濾系統而言，未量測到匹莫苯坦含量變化。

B) 將包含 24% (w/v)HP β CD、0.75 mg/ml匹莫苯坦、10 mM磷酸鹽緩衝液之最終調配物樣本(pH 7.0)經由 0.2 μ m PVDF針筒過濾器過濾，且將濾液在 121°C 下高壓滅菌 30 分鐘。結果展示於圖 5 中。當高壓滅菌調配物時，觀測到僅少量降解。降解物含量極低且表明調配物可經高壓滅菌。

實例：3

製造方法

製備包含 HP β CD 及匹莫苯坦之最終調配物之製造方法為：

- a) 稱取 HP β CD 置於製造容器內；
- b) 添加水至約 60% 之最終體積；
- c) 使用磁力攪拌器或槳式攪拌器進行混合直至 HP β CD 溶解；
- d) 添加緩衝組份，用水轉移且混合直至溶解；
- e) 檢查 pH 值以確保其接近 pH 7.0。需要時，用氫氧化鈉或鹽酸調節；
- f) 添加匹莫苯坦，用水轉移且混合直至溶解；
- g) 用水補足體積；
- h) 過濾溶液且分配入小瓶內；
- i) 在 121°C 下將小瓶高壓滅菌 30 分鐘。

實例：4

液體製劑

A)

	mg / 10 ml	
材料	配方# 1	配方# 2
匹莫苯坦	10	7.5
Kleptose HP(HP β CD)	3000.0	3000.0
單水合檸檬酸	200.0	200.0
NaOH 0.1 N	調節為pH 6.0之量	調節為pH 6.0之量
乙二胺四乙酸二鈉	5.0	5.0
注射用水	補足至10 ml之量	補足至10 ml之量

B)

	mg / 10 ml	
材料	配方# 1	配方# 2
匹莫苯坦	10	7.5
Kleptose HP(HP β CD)	2600.0	2400.0
十二水合磷酸氫二鈉	0.1343	0.1343
二水合磷酸二氫鈉	0.0975	0.0975
注射用水	補足至10 ml之量	補足至10 ml之量

C)

	mg / 10 ml	
材料	配方# 1	配方# 2
匹莫苯坦	10	7.5
Kleptose HP(HP β CD)	2600.0	2400.0
十二水合磷酸氫二鈉	0.1343	0.1343
二水合磷酸二氫鈉	0.0975	0.0975
乙二胺四乙酸二鈉	5.0	5.0
注射用水	補足至10 ml之量	補足至10 ml之量

D)

	mg / 10 ml	
材料	配方# 1	配方# 2
匹莫苯坦	10.0	7.5

Kleptose HP(HP β CD)	3300.0	3000.0
十二水合磷酸氫二鈉	17.6	17.6
二水合磷酸二氫鈉	8.0	8.0
對羥基苯甲酸甲酯	20.0	10.0
對羥基苯甲酸丙酯	5.0	5.0
乙二胺四乙酸二鈉	5.0	5.0
注射用水	補足至10 ml之量	補足至10 ml之量

E)

	mg / 10 ml	
材料	配方# 1	配方# 2
匹莫苯坦	10	7.5
Kleptose HP(HP β CD)	2500.0	2300.0
十二水合磷酸氫二鈉	17.6	17.6
脫水磷酸二氫鈉	8.0	8.0
乙二胺四乙酸二鈉	5.0	5.0
注射用水	補足至10 ml之量	補足至10 ml之量

【圖式簡單說明】

圖 1 及 圖 2 展示，在 pH 3、5 及 7 下，匹莫苯坦(經取代之苯并咪唑)在包含多種濃度之醚化環糊精衍生物羥基丙基- β -環糊精(HP β CD)之水溶液中的飽和溶解度。

圖 3 展示，在 pH 7 下，匹莫苯坦(經取代之苯并咪唑)在包含溶於 10 mM 磷酸鹽緩衝液中之多種 20% 至 25% (w/v) 醚化環糊精衍生物羥基丙基- β -環糊精(HP β CD)之水溶液中的飽和溶解度。

圖 4 展示，在 pH 7 下，匹莫苯坦(經取代之苯并咪唑)在包含溶於 10 mM 磷酸鹽緩衝液及氯化鈉中之 24% (w/v) 醚化環糊精衍生物羥基丙基- β -環糊精(HP β CD)之水溶液中的飽和溶解度。

圖 5 展示高壓滅菌對匹莫苯坦(經取代之苯并咪唑)之可溶性調配物的影響。

十、申請專利範圍

102年10月9日修(更)正本 p.1-2

1. 一種包含醚化環糊精衍生物及匹莫苯坦(pimobendan)或其醫藥學上可接受之鹽的液體製劑，其中該醚化環糊精衍生物係選自由 α -、 β -及 γ -環糊精醚組成之群，且其中該液體製劑具有5.5至7.5之pH值。
2. 如請求項1之液體製劑，其中該醚化環糊精衍生物為羥基丙基- β -環糊精。
3. 如請求項1或2之液體製劑，其中該醚化環糊精衍生物部分占約15至40% (w/v)。
4. 如請求項3之液體製劑，其中該醚化環糊精衍生物部分占約20至30% (w/v)。
5. 如請求項1或2之液體製劑，其中該經取代之苯并咪唑部分占約0.005至0.15% (w/v)。
6. 如請求項1或2之液體製劑，其中該製劑具有約6.5至7.5之pH值及約280至300 mOsm/Kg之滲透壓度。
7. 如請求項1或2之液體製劑，其中該製劑包含約：
 - a) 20至30% (w/w)之羥基丙基- β -環糊精；
 - b) 0.005至0.15% (w/w)匹莫苯坦或其醫藥學上可接受之鹽；且其中該液體之pH值經調節為約6.5至7.5且該滲透壓度為約280至300 mOsm/Kg。
8. 一種製備如請求項1至7中任一項之液體製劑的方法，其包含以下步驟：
 - a) 將該醚化環糊精衍生物溶於溶劑中；

- b) 將該匹莫苯坦或其醫藥學上可接受之鹽添加至步驟(a)所獲得之溶液中；及
 - c) 將步驟(b)所獲得之混合物混合以獲得水溶液形式且具有5.5至7.5之pH值之該液體製劑。
9. 如請求項8之方法，其中該溶劑為水。
10. 一種如請求項1至7中任一項之液體製劑用作藥物之用途。
11. 一種如請求項1至7中任一項之液體製劑之用途，係用於製備供治療或預防需要該治療之個體之疾病之用的醫藥或獸醫學組合物，該等疾病係選自以下適應症：充血性心臟衰竭(CHF)、急性CHF、失償型心內膜炎(DCE)、擴張型心肌症(DCM)、無症狀(隱匿性)CHF、無症狀DCM、麻醉期間心血管功能及/或腎灌注之維持、休克、胃擴張、腸扭結、心肌缺血及腎缺血。
12. 如請求項11之用途，其中需要該治療之該個體為馬、狗或貓。
13. 如請求項11或12之液體製劑之用途，其中該醫藥或獸醫學組合物係經由注射或輸注投與。
14. 一種多部件套組，其包含：
- a) 如請求項1至7中任一項之液體製劑；及
 - b) 包括以下資訊之包裝插頁：該液體製劑係欲用於預防及/或治療需要該預防或治療之個體之充血性心臟衰竭。

十一、圖式：

P111環糊精溶解度結果

FD4063 參考號	Kleptose (%w/v)	起始pH值	P111溶液之pH值	飽和溶 解度(mg/ml)
113A	10	2.74	3.00	0.65
113D	20	2.78	3.24	1.59
113G	25	2.83	3.07	2.68
118E	30	2.76	3.30	3.82
113N	40	2.99	3.48	6.30
113B	10	4.94	4.92	0.10
113E	20	5.03	4.96	0.41
113H	25	5.05	4.99	0.96
118F	30	5.09	5.10	0.93
118H	40	5.26	5.29	4.88
113C	10	7.10	7.08	0.15
113F	20	7.11	7.05	0.70
118D	25	7.14	7.13	1.21
118G	30	7.14	7.14	2.41
134B	35	7.18	7.17	5.68
113Q	40	7.20	7.19	9.94

圖 1

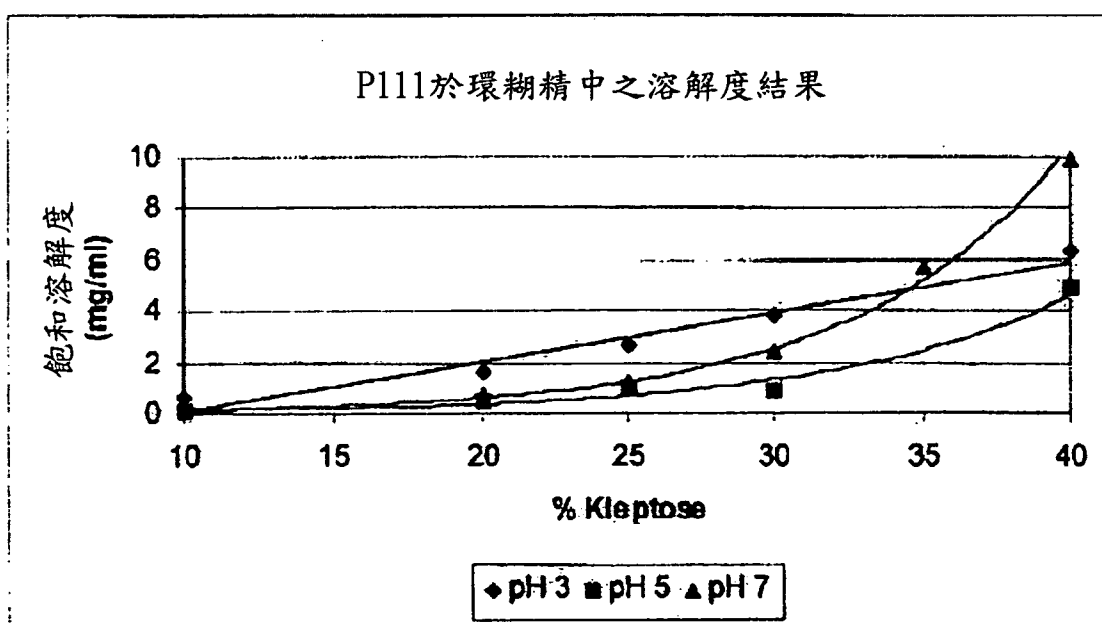


圖 2

HP β CD之濃度 (%w/v)	HP β CD之批號	匹莫苯坦含量 (mg/ml)		平均匹莫苯 坦含量(mg/ml)
20	E0032	0.514	0.544	0.57
	E0033	0.559	0.510	
	E0035	0.773	0.524	
21	E0032	0.617	0.947	0.67
	E0033	0.630	0.566	
	E0035	0.570	0.692	
22	E0032	0.616	0.618	0.73
	E0033	0.642	1.039	
	E0035	0.779	0.656	
23	E0032	0.728	0.771	1.00
	E0033	0.710	1.100	
	E0035	1.206	1.501	
24	E0032	1.451	1.388	1.23
	E0033	1.099	1.383	
	E0035	1.000	1.061	
25	E0032	1.654	1.641	1.37
	E0033	1.095	1.027	
	E0035	ND	1.422	

ND-未偵測到匹莫苯坦峰，結果不用於平均值測定

圖3

HP β CD之批號	匹莫苯坦含量 (mg/ml)		平均匹莫苯 坦含量(mg/ml)
E0032	0.697	0.676	0.71
E0033	0.723	0.707	
E0035	0.716	0.728	

圖4

樣本	檢定 (mg/ml)	雜質V (%)	其他雜質
經高壓滅菌	0.74	0.08	未偵測到
不經高壓滅菌	0.74	未偵測到	未偵測到

圖5