



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103561723 B

(45) 授权公告日 2016. 04. 20

(21) 申请号 201280026572. 6

(22) 申请日 2012. 03. 27

(30) 优先权数据

11305347. 4 2011. 03. 29 EP

61/499, 941 2011. 06. 22 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日  
2013. 11. 29

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2012/055361 2012. 03. 27

(87) PCT国际申请的公布数据

W02012/130819 EN 2012. 10. 04

(73) 专利权人 赛诺菲

地址 法国巴黎

(72) 发明人 W. 卡姆 T. 布思莫 D. 安德特

B. 库恩 E-J. 托特

(74) 专利代理机构 北京市嘉元知识产权代理事

务所(特殊普通合伙) 11484

代理人 张永新

(51) Int. Cl.

A61K 9/00(2006. 01)

A61K 47/12(2006. 01)

A61K 31/4418(2006. 01)

A61P 7/02(2006. 01)

(56) 对比文件

WO 2011012527 A1, 2011. 02. 03,

审查员 王斯婷

权利要求书1页 说明书27页

(54) 发明名称

具有改善稳定性的奥米沙班制剂

(57) 摘要

本发明涉及包含(2R, 3R)-2-{3-[氨基(亚氨基)甲基]苄基}-3-[[4-(1-氧化吡啶-4-基)苯甲酰基]氨基}丁酸甲酯或其可药用盐和可药用的酸性反应性化合物的药物组合物或者涉及所述组合物的含水溶液或混悬液, 以及制备所述组合物的方法, 以及使用所述组合物治疗患有通过给药 Xa 因子抑制剂可缓解的病症的受试者的方法。

1. 注射用的含水药物组合物,其包含

a) 0.1mg/mL 至 60mg/mL 的 (2R, 3R)-2-{3-[氨基(亚氨基)甲基]苄基}-3-{[4-(1-氧化吡啶-4-基)苯甲酰基]氨基}丁酸甲酯,

b) 1mMol/L 至 1000mMol/L 的酸性反应性化合物或其盐或者它们的混合物,以及

c) 调节至 pH 3 至 pH 5.0 的 pH 值,

其中所述酸性反应性化合物选自下组:选自柠檬酸、乙酸、乙醇酸、乳酸、丙酮酸、丙二酸、琥珀酸、戊二酸、富马酸、苹果酸、酒石酸、抗坏血酸、马来酸、羟基马来酸、苯甲酸、羟基苯甲酸、苯基乙酸、肉桂酸、水杨酸、2-苯氧基苯甲酸、对甲苯磺酸、甲磺酸、2-羟基乙磺酸、透明质酸、乙酰水杨酸的有机酸,或者氨基酸,或者选自盐酸或磷酸的无机酸,或者所述有机酸、氨基酸和无机酸的盐,或者一种或多种所述酸性反应性化合物的混合物。

2. 权利要求 1 的药物组合物,其中所述酸性反应性化合物选自柠檬酸和柠檬酸钠或者其混合物。

3. 权利要求 1 或 2 的含水药物组合物,其包含 1.0mg/mL 至 50mg/mL 的 (2R, 3R)-2-{3-[氨基(亚氨基)甲基]苄基}-3-{[4-(1-氧化吡啶-4-基)苯甲酰基]氨基}丁酸甲酯和 20mMol/L 至 25mMol/L 的酸性反应性化合物或其盐或者它们的混合物。

4. 权利要求 3 的含水药物组合物,其包含 1.0mg/mL 至 5mg/mL 的 (2R, 3R)-2-{3-[氨基(亚氨基)甲基]苄基}-3-{[4-(1-氧化吡啶-4-基)苯甲酰基]氨基}丁酸甲酯和 20mMol/L 至 25mMol/L 的酸性反应性化合物或其盐或者它们的混合物。

5. 权利要求 1 或 2 的药物组合物,其中对于所述药物组合物的水溶液或混悬液,所述含水药物组合物具有 pH 3 至 pH 4.7 的 pH 值。

6. 权利要求 5 的药物组合物,其中所述酸性反应性化合物产生 pH 3.7 至 pH 4.3 的 pH 值。

7. 权利要求 5 的药物组合物,其中所述酸性反应性化合物产生 pH 4.0 至 pH 4.2 的 pH 值。

8. 权利要求 1 的药物组合物,其在长期储存后含有不超过 8.0% 的 (2R, 3R)-2-(3-甲脒基-苄基)-3-[4-(1-氧化-吡啶-4-基)苯甲酰基氨基]-丁酸的最高杂质水平。

9. 权利要求 8 的药物组合物,其中所述最高杂质水平为 0.3% 至 4.0%。

10. 权利要求 9 的药物组合物,其中所述最高杂质水平为 0.4% 至 1.8%。

11. 权利要求 1 的药物组合物,其在长期储存后含有不超过 5.0% 的 (2R, 3R)-2-(3-氨甲酰基-苄基)-3-[4-(1-氧化-吡啶-4-基)苯甲酰基氨基]-丁酸甲酯的最高杂质水平。

12. 权利要求 11 的药物组合物,其中所述最高杂质水平为 0.7% 至 4.5%。

13. 权利要求 12 的药物组合物,其中所述最高杂质水平为 0.9% 至 3.5%。

14. 权利要求 1 至 2 和 8 至 13 中任一项的药物组合物,其中所述药物组合物是无菌的。

15. 权利要求 1 至 2 和 8 至 13 中任一项的药物组合物,其用于急性心肌梗塞、非-ST 抬高型心肌梗塞、不稳定型心绞痛、血栓栓塞、与血栓溶解疗法有关的急性血管闭塞、经皮腔内冠状动脉成形术、短暂性缺血发作、卒中、间歇性跛行和再狭窄的治疗。

## 具有改善稳定性的奥米沙班制剂

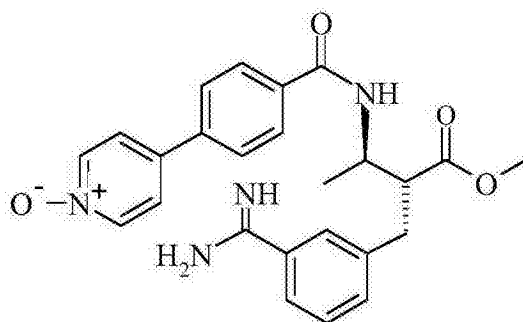
### 技术领域

[0001] 本发明涉及包含 (2R, 3R)-2-{3-[ 氨基 (亚氨基) 甲基 ] 苄基 }-3-{[4-(1- 氧化吡啶 -4- 基) 苯甲酰基] 氨基} 丁酸甲酯或其可药用盐和可药用的酸性反应性化合物的药物组合物或者涉及所述组合物的含水溶液或混悬液, 以及制备所述组合物的方法, 以及使用所述组合物治疗患有通过给药 Xa 因子抑制剂可缓解的病症的受试者的方法。

### 背景技术

[0002] (2R, 3R)-2-{3-[ 氨基 (亚氨基) 甲基 ] 苄基 }-3-{[4-(1- 氧化吡啶 -4- 基) 苯甲酰基] 氨基} 丁酸甲酯 (CAS 编号 193153-04-7) 的国际非专利药品名称为奥米沙班, 并显示式 I 中所示的结构:

[0003]



[0004] 式 I

[0005] W097/24118 中公开了 (2R, 3R)-2-{3-[ 氨基 (亚氨基) 甲基 ] 苄基 }-3-{[4-(1- 氧化吡啶 -4- 基) 苯甲酰基] 氨基} 丁酸甲酯在制备用于治疗患有或经受通过给药 Xa 因子抑制剂可缓解的病症的患者的药物中的用途。

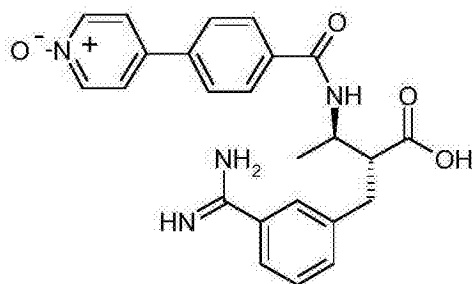
[0006] Xa 因子是凝血级联中的次末端酶。Xa 因子 (fXa) 是位于凝血级联的内源性和外源性通道汇合处的关键性丝氨酸蛋白酶。fXa 经凝血酶原酶络合物催化凝血酶原向凝血酶的转化。它在凝血酶形成中的独特作用, 加上它对血块形成的增效作用, 使它成为治疗性干预的有吸引力的靶标。

[0007] 游离的 Xa 因子和在凝血酶原酶络合物中装配的 Xa 因子 (Xa 因子、Va 因子、钙和磷脂) 都被奥米沙班所抑制。Xa 因子抑制可通过在抑制剂和酶之间直接形成络合物来获得并因此不依赖血浆辅因子抗凝血酶 III。有效的 Xa 因子抑制可通过经连续静脉内输注、大剂量静脉内给药或者任何其它肠胃外途径给药所述化合物来实现, 由此这实现了阻止 Xa 因子诱导的由凝血酶原形成凝血酶的期望效应。体内实验已经证明, 奥米沙班在啮齿类、犬的和猪的血栓症模型中是非常有效的。除此之外, 最近的临床发现表明, 奥米沙班在人类当中是有效的、安全的且良好耐受的并因此具有用于治疗急性冠脉综合征的相当大的潜力 (K. R. Guertin and Yong-Mi Choi; 2007; Current Medicinal Chemistry, Vol. 14, No. 23; p. 2471-2481)。剂量范围临床试验中的临床发现表明, 在最高剂量方案时奥米沙班比未分级肝素更明显地降低凝血酶原片段 1+2 (Cohen et al., Circulation, Vol. 115, No. 20, May 2

007, pages 2642-2651), 但是所述临床发现并未显示年龄或肾损害的比较中的数据。另外的临床试验证明, 奥米沙班在具有稳定的冠状动脉疾病的患者中诱导剂量依赖的、快速直接的 Xa 因子抑制, 所述患者采用他们常用的结合给药法 (comedication), 其中某些患者具有轻度肾损害 (Hinder et al., Clinical Pharmacology and Therapeutics, Vol. 80, No. 6, 2006, pages 691-702)。

[0008] 开发了 ((2R, 3R)-2-{3-[氨基(亚氨基)甲基]苄基}-3-{[4-(1-氧化吡啶-4-基)苯甲酰基]氨基}丁酸甲酯的注射和输注药物组合物用于临床研究。在终端灭菌(高压灭菌)和稳定性研究期间所得观察结果中的一项是两种降解物的强烈增加。一种所述降解物为 (2R, 3R)-2-(3-甲脒基-苄基)-3-[4-(1-氧化-吡啶-4-基)苯甲酰基氨基]-丁酸, 并具有式 II 中所图解的结构:

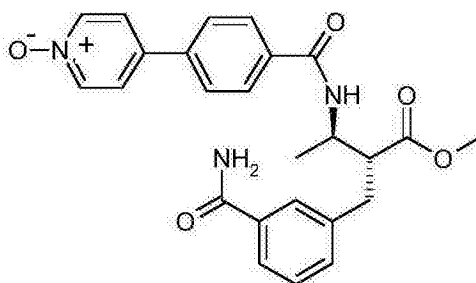
[0009]



[0010] 式 II

[0011] 另一种所述降解物为 (2R, 3R)-2-(3-氨甲酰基-苄基)-3-[4-(1-氧化-吡啶-4-基)苯甲酰基氨基]-丁酸甲酯, 并具有式 III 中所图解的结构:

[0012]



[0013] 式 III

[0014] 在推荐的储存条件下, 在含有 (2R, 3R)-2-{3-[氨基(亚氨基)甲基]苄基}-3-{[4-(1-氧化吡啶-4-基)苯甲酰基]氨基}丁酸甲酯的含水药物组合物中, (2R, 3R)-2-(3-甲脒基-苄基)-3-[4-(1-氧化-吡啶-4-基)苯甲酰基氨基]-丁酸和 (2R, 3R)-2-(3-氨甲酰基-苄基)-3-[4-(1-氧化-吡啶-4-基)苯甲酰基氨基]-丁酸甲酯也达到升高的水平。

[0015] 本发明的一个目的是寻找长期稳定的 (2R, 3R)-2-{3-[氨基(亚氨基)甲基]苄基}-3-{[4-(1-氧化吡啶-4-基)苯甲酰基]氨基}丁酸甲酯的药物组合物, 所述药物组合物不具有在终端灭菌或者长期储存期间出现的 (2R, 3R)-2-(3-甲脒基-苄基)-3-[4-(1-氧化-吡啶-4-基)苯甲酰基氨基]-丁酸或者 (2R, 3R)-2-(3-氨甲酰基-苄基)-3-[4-(1-氧化-吡啶-4-基)苯甲酰基氨基]-丁酸甲酯的浓度增加的缺点。

[0016] 已经发现的是, 在所述药品长期储存期间 (2R, 3R)-2-(3-甲脒基-苄基)

基)-3-[4-(1-氧化-吡啶-4-基)苯甲酰基氨基]-丁酸或者(2R, 3R)-2-(3-氨甲酰基-苄基)-3-[4-(1-氧化-吡啶-4-基)苯甲酰基氨基]-丁酸甲酯的形成是由以下相反的效果(opposite effects)确定的:

[0017] - 在高压灭菌期间, (2R, 3R)-2-(3-氨甲酰基-苄基)-3-[4-(1-氧化-吡啶-4-基)苯甲酰基氨基]-丁酸甲酯的水平随着液体药物组合物pH的增加而明显增加, 然而在高压灭菌期间未观察到液体制剂的pH对(2R, 3R)-2-(3-甲脒基-苄基)-3-[4-(1-氧化-吡啶-4-基)苯甲酰基氨基]-丁酸形成的强烈影响。结论: 药物组合物的pH越低越好!

[0018] - 在长期储存期间, (2R, 3R)-2-(3-甲脒基-苄基)-3-[4-(1-氧化-吡啶-4-基)苯甲酰基氨基]-丁酸的水平随着液体药物组合物pH的降低而明显增加, 然而在长期储存期间未观察到液体制剂的pH对(2R, 3R)-2-(3-氨甲酰基-苄基)-3-[4-(1-氧化-吡啶-4-基)苯甲酰基氨基]-丁酸甲酯形成的强烈影响。结论: 药物组合物的pH越高越好!

[0019] 已经发现的是, pH值低于5的(2R, 3R)-2-{3-[氨基(亚氨基)甲基]苄基}-3-{[4-(1-氧化吡啶-4-基)苯甲酰基]氨基}丁酸甲酯或其可药用盐的液体药物组合物, 对于限制由高压灭菌或长期储存相反效果的(2R, 3R)-2-(3-甲脒基-苄基)-3-[4-(1-氧化-吡啶-4-基)苯甲酰基氨基]-丁酸和(2R, 3R)-2-(3-氨甲酰基-苄基)-3-[4-(1-氧化-吡啶-4-基)苯甲酰基氨基]-丁酸甲酯两者的增加是有益的。

[0020] 低于5的pH提供了本发明药物组合物的明显优点, 所述药物组合物为(i)长期稳定的药物组合物以及(II)经高压灭菌(蒸汽灭菌)的无菌注射液, 所述高压灭菌法是简单、经济且安全的灭菌方法。

## 发明内容

[0021] 本发明提供了(2R, 3R)-2-{3-[氨基(亚氨基)甲基]苄基}-3-{[4-(1-氧化吡啶-4-基)苯甲酰基]氨基}丁酸甲酯或其可药用盐和可药用的酸性反应性化合物的药物组合物。

[0022] 本发明还提供了(2R, 3R)-2-{3-[氨基(亚氨基)甲基]苄基}-3-{[4-(1-氧化吡啶-4-基)苯甲酰基]氨基}丁酸甲酯或其可药用盐和可药用的酸性反应性化合物的无菌药物组合物。

## 具体实施方式

[0023] 本发明提供了(2R, 3R)-2-{3-[氨基(亚氨基)甲基]苄基}-3-{[4-(1-氧化吡啶-4-基)苯甲酰基]氨基}丁酸甲酯或其可药用盐和可药用的酸性反应性化合物的药物组合物。

[0024] 本文所用的术语具有在本申请说明书中所定义的含义。

[0025] “可药用的酸性反应性化合物”指能够赋予(2R, 3R)-2-{3-[氨基(亚氨基)甲基]苄基}-3-{[4-(1-氧化吡啶-4-基)苯甲酰基]氨基}丁酸甲酯或其可药用盐的含水溶液或混悬液低于5的pH的无毒化合物。示例性酸性反应性化合物为柠檬酸、乙酸、乙醇酸(glycolic acid)、己二酸(adipic acid)、乳酸、丙酮酸(pyruvic acid)、丙二酸(malonic acid)、琥珀酸、戊二酸(glutaric acid)、葡糖醛酸、富马酸、苹果酸、酒石酸、抗坏血酸、马

来酸、羟基马来酸、苯甲酸、羟基苯甲酸、透明质酸、乙酰水杨酸；或者无机酸，如盐酸；或者无机酸的盐，如磷酸二氢钾；或者氨基酸，如甘氨酸及其盐；或者一种或多种所述酸性反应性化合物的混合物。优选地，所述酸性反应性化合物为柠檬酸。

[0026] 赋予 (2R, 3R)-2-{3-[氨基(亚氨基)甲基]苄基}-3-{[4-(1-氧化吡啶-4-基)苯甲酰基]氨基}丁酸甲酯或其可药用盐的含水溶液或混悬液低于 5 的 pH 的可药用的酸性反应性化合物的必要量取决于相应的化合物，并可由本领域普通技术人员通过以下方法确定：例如将含有约 1mg 的 (2R, 3R)-2-{3-[氨基(亚氨基)甲基]苄基}-3-{[4-(1-氧化吡啶-4-基)苯甲酰基]氨基}丁酸甲酯的样品悬浮或者溶解在约 1mL 的纯净水中并加入足量的可药用的酸性反应性化合物直至在上清液中测量的 pH 低于 5。上清液的 pH 用 pH 计或者通过 pH 指示剂测量。

[0027] “缓冲溶液”是由弱酸及其共轭碱或者弱碱的混合物及其共轭酸的混合物组成的水溶液。它具有以下性质：当向其中加入少量强酸或者强碱时溶液的 pH 变化非常小。缓冲溶液在多种化学应用中用于将 pH 值保持在几乎恒定值的工具。

[0028] “降解物”指在本发明的药物组合物制备之后产生的任何基于药物的物质。如本领域中已知的，使用反相 HPLC 技术对样品进行杂质和降解物的分析。

[0029] “冷冻干燥”也称作“冻干”，指脱水方法 (dehydration process)。冷冻干燥通过以下步骤进行：将物质冷冻，然后降低环境压力，并加热至足以使物质中的冻结水从固相直接升华至气相。

[0030] “i. v.”指静脉内注射或输注并且是直接向静脉内给予液体物质。单词静脉内简单地表示“在静脉内”。

[0031] “长期”指 1 至 3 个月。

[0032] “长期储存”指药物组合物在 40℃ 和 75% 的相对湿度储存 1 至 3 个月。

[0033] “极长期”指 3 至 6 个月。

[0034] “极长期储存”指药物组合物在 40℃ 和 75% 的相对湿度储存 3 至 6 个月。

[0035] “mL”指毫升，定义为升的千分之一，并且还经常被 SI 导出单位名称立方厘米所引用。

[0036] “非-ST 抬高型心肌梗塞”指基于 ACC/AHA、ESC 及 WHF 共识的心肌梗塞的定义；还参见非-ST 抬高型急性冠脉综合征的诊断和治疗的指导方针；Eur Heart J, 2007, 28(13):1598-1660.

[0037] “生理盐水”或“等渗盐水”指具有约 308mOsmol/L 的摩尔渗透压浓度 (osmolality) 的 0.9% 的氯化钠水溶液，其显示与血浆大约相同的摩尔渗透压浓度。

[0038] “奥米沙班”指 (2R, 3R)-2-{3-[氨基(亚氨基)甲基]苄基}-3-{[4-(1-氧化吡啶-4-基)苯甲酰基]氨基}丁酸甲酯的国际非专利药品名称。

[0039] “患者”表示灵长类例如人，或者温血动物例如大鼠、小鼠、狗、猫或豚鼠。

[0040] “病理状态”指患者的疾病、病症或病情，特别是其中 Xa 因子可发挥作用的疾病、病症或病情。

[0041] “pH”是溶液酸度或碱度的量度 (measure)。它近似但不等于  $p[H]$ ，即溶解的氢离子 ( $H^+$ ) 摩尔浓度的负对数 (以 10 为底)。本发明固体药物组合物中的 pH 测定通过将含有约 1mg 奥米沙班的药物组合物的样品悬浮或溶解在约 1mL 的纯净水中来进行。上清液的 pH

是用 pH 计或者通过 pH 指示剂测定。可使用 pH 指示剂（例如以溶液或者 pH 试纸形式的酚酞）或者使用电位分析法测量 pH。当需要 0.2 至 0.5pH 单位准确度时试纸是非常有用的。当需要更高的精确度时，pH 计是唯一有效的手段。在电位分析法中测量已知的参比电极和测量 pH 用的电极之间的电位差。pH 电极的电位取决于水合氢离子的活度。这种相关性通过 Nernst 方程来描述，因此一旦已经测量了电位就可以计算活度。作为第一个近似值，活度等同于离子浓度。pH 计是用于电位分析 pH 测量的装置。pH 计只不过是精密的电压表，其与 pH 电极连接，并且以这样的方式标度使得它不显示所测量的电位，而显示 pH 值。

[0042] “可药用盐”为碱性化合物 (2R, 3R)-2-{3-[氨基(亚氨基)甲基]苄基}-3-{[4-(1-氧化吡啶-4-基)苯甲酰基]氨基}丁酸甲酯的任何酸式盐，其能够在临床前和临床使用的药物组合物中给药。形成合适盐的示例性无机酸包括无机酸，如盐酸、磷酸和氨基磺酸；以及有机酸，如乙酸、柠檬酸、乳酸、酒石酸、丙二酸、苯甲酸、氨基酸等。优选地，所述酸加成盐是衍生自无机酸，优选盐酸。

[0043] “RH”指相对湿度；将空气-水混合物的相对湿度定义为在规定温度混合物中水蒸汽的分压与水的饱和蒸汽压的比率。

[0044] “灭菌”指有效地杀死或者消除来自药物组合物的可传播因子 (agents) 的任何方法，所述可传播因子如真菌、细菌、病毒或孢子形式。灭菌可（例如）通过应用热、化学试剂、辐照、高压或者过滤或者其组合来实现。

[0045] “蒸汽灭菌”指广泛使用的高压灭菌器中的热灭菌方法。高压灭菌器通常使用加热到 121℃ 至 134℃ 的蒸汽。为了实现无菌，需要有效的保持时间，至少在 121℃ 保持 15 分钟或者至少在 134℃ 保持 3 分钟。适当的高压灭菌器处理将会灭活所有真菌、细菌、病毒及具有相当有抵抗力的细菌孢子。

[0046] “经过滤灭菌”指通常用于将被热、辐照或化学灭菌损坏的液体的方法。孔径为 0.2 μm 的过滤器将有效地除去细菌。如果还必须除去病毒，需要更小的大约 20nm 的孔径。

[0047] “治疗有效量”表示在治疗所述病症或病情中有效的化合物的量。

[0048] “张力 (Tonicity)”表示被半透膜所分离的两种溶液渗透压（通过两种溶液的水电位来定义的）的量度。当描述活细胞浸入外部溶液的响应时常使用张力。如同渗透压，张力仅受不能穿过膜的溶质影响，因为只有这些溶质产生渗透压。能自由穿过膜的溶质不影响张力，因为在一定时间后它们在膜的两侧将会是等浓度的。

[0049] “治疗 (Treat)”或“处置 (treating)”表示任何治疗或处置，其包括，但不限于，减轻症状、暂时地或者永久地消除症状的病因 (causation)，或者预防或减缓症状的出现及所述病症或病情的进展。

[0050] (2R, 3R)-2-{3-[氨基(亚氨基)甲基]苄基}-3-{[4-(1-氧化吡啶-4-基)苯甲酰基]氨基}丁酸甲酯的合成已经被公开，并通过本领域技术人员所熟知的方法来完成。例如国际申请 W097/24118 公开了合成的方法。

[0051] 酸性反应性化合物的实例是有机酸，例如柠檬酸、乙酸、乙醇酸、乳酸、丙酮酸、丙二酸、琥珀酸、戊二酸、富马酸、苹果酸、酒石酸、抗坏血酸、马来酸、羟基马来酸、苯甲酸、羟基苯甲酸、苯基乙酸、透明质酸、乙酰水杨酸、肉桂酸、水杨酸、2-苯氧基苯甲酸、对甲苯磺酸以及磺酸（如甲磺酸和 2-羟基乙磺酸）或其盐或者一种或多种所述有机酸及其盐的混合物。酸性反应性化合物的其它实例是无机酸，例如盐酸或磷酸或者无机酸的盐（如磷酸二

氢钾),或者氨基酸及其盐或者一种或多种所述无机酸或氨基酸及其盐的混合物。优选地,所述酸性反应性化合物为柠檬酸或柠檬酸钠或其混合物。

[0052] 在本发明另外的实施方案中,向奥米沙班加入酸性反应性化合物在本发明的药物组合物中产生约 pH3 至约 pH4.5,或者约 pH3.7 至约 pH4.3,约 pH3.8 至约 pH4.3,或者约 pH4.0 至约 pH4.2 的 pH 或者约 pH4.0 的 pH。在从所述药物组合物中取样后进行 pH 测定。pH 用 pH 计或者通过 pH 指示剂来测定。

[0053] 在另外的实施方案中,本发明涉及注射用的含水药物组合物,其含有:

[0054] a) 0.1mg/mL 至 60mg/mL (2R, 3R)-2-{3-[氨基(亚氨基)甲基]苄基}-3-{[4-(1-氧化吡啶-4-基)苯甲酰基]氨基}丁酸甲酯,或者 1.5mg/mL 至 50mg/mL 或者 5mg/mL 至 25mg/mL,

[0055] b) 1mMol/L 至 1000mMol/L 酸性反应性化合物或其盐或者其混合物,或者 20mMol 至 25mMol,或者 4mMol 至 6mMol,以及

[0056] c) 具有低于 5.0 的 pH。

[0057] 在另外的实施方案中,本发明涉及含水药物组合物,其含有 0.8mg/mL 至 30mg/mL (2R, 3R)-2-{3-[氨基(亚氨基)甲基]苄基}-3-{[4-(1-氧化吡啶-4-基)苯甲酰基]氨基}丁酸甲酯,或者 0.9mg/mL 至 26mg/mL,或者 0.9mg/mL 至 6mg/mL。在另外的实施方案中,本发明涉及含水药物组合物,其含有 2.0mg/mL 至 30mg/mL (2R, 3R)-2-{3-[氨基(亚氨基)甲基]苄基}-3-{[4-(1-氧化吡啶-4-基)苯甲酰基]氨基}丁酸甲酯,或者 2.0mg/mL 至 25mg/mL,或者 16mg/mL 至 25mg/mL 或者 3.0mg/mL 至 6mg/mL。

[0058] 在另外的实施方案中,本发明涉及含水药物组合物,其中使用缓冲溶液作为酸性反应性化合物,其能够赋予 (2R, 3R)-2-{3-[氨基(亚氨基)甲基]苄基}-3-{[4-(1-氧化吡啶-4-基)苯甲酰基]氨基}丁酸甲酯或其可药用盐的组合物的含水溶液或混悬液低于 5.0 的 pH。在所述另外的实施方案中,向奥米沙班加入缓冲溶液在含水药物组合物中产生约 pH3 至约 pH5.0,或者约 pH3 至约 pH4.7,或者约 pH3.5 至约 pH4.6 或者约 pH3.6 至约 pH4.3,约 pH3.6 至约 pH4.2,或者约 pH3.6 至约 pH4.1 的 pH。

[0059] 适合的缓冲液的示例性实例包含缓冲物质,例如柠檬酸及其钠盐或钾盐、磷酸及其钠盐或钾盐或磷酸氢盐 (hydrogen phosphate) 或者磷酸氢二钠、乙酸及其钠盐、乳酸及其盐、琥珀酸及其盐、酒石酸及其盐、抗坏血酸及其盐、天冬氨酸及其盐、苯甲酸及其盐、己二酸及其盐、葡糖醛酸及其盐,或者无机酸,例如盐酸或盐、氨基酸及其盐如甘氨酸或丝氨酸,或者这些缓冲物质的混合物。优选的实例为柠檬酸和柠檬酸钠的混合物。这些混合物的实例为柠檬酸与柠檬酸钠(柠檬酸一钠、柠檬酸二钠)和柠檬酸或者磷酸二氢钾和磷酸氢钾。

[0060] 在本发明另外的实施方案中,在含水药物组合物中产生低于 5.0pH 的缓冲溶液的浓度为 1mMol/L 至 1000mMol/L 或者 20mMol 至 25mMol,或者 4mMol 至 6mMol。

[0061] 在本发明另外的实施方案中,可向本发明的液体药物制剂中加入另外的张力调节剂,得到摩尔渗透压浓度显示为 260mOsmol/L 至 350mOsmol/L 或者约 308mOsmol/L 的溶液,其具有与血浆大约相同或相似的摩尔渗透压浓度。

[0062] 张力调节剂的示例性实例是盐,例如氯化钠或者糖(如葡萄糖)或者糖醇(如甘露糖醇)。在通过高压灭菌进行灭菌的情况下,盐或者糖醇(例如甘露糖醇)是优选的。取决

于奥米沙班的浓度和酸性反应性化合物的浓度,盐的浓度可以为 0mg/mL 至 20mg/mL。取决于奥米沙班的浓度和酸性反应性化合物的浓度,葡萄糖或糖醇(如甘露糖醇)的浓度可以为 0mg/mL 至约 60mg/mL。整个溶液的张力不应超过限度并且摩尔渗透压浓度为 260mOsmol/L 至 350mOsmol/L。

[0063] 本发明的含水药物组合物可通过以下方法制备:将 (2R, 3R)-2-{3-[氨基(亚氨基)甲基]苄基}-3-{[4-(1-氧化吡啶-4-基)苯甲酰基]氨基}丁酸甲酯或其可药用盐和酸性反应性化合物以相应的需要量,加入水中,需要时水加入本申请所列举的各种其它成分,然后混合适当的时间。

[0064] 在另外的实施方案中,本发明涉及 (2R, 3R)-2-{3-[氨基(亚氨基)甲基]苄基}-3-{[4-(1-氧化吡啶-4-基)苯甲酰基]氨基}丁酸甲酯或其可药用盐和可药用的酸性反应性化合物在水溶液中的无菌药物组合物或者所述组合物的混悬液。

[0065] 在另外的实施方案中,本发明涉及 pH 低于 5.0 的 (2R, 3R)-2-{3-[氨基(亚氨基)甲基]苄基}-3-{[4-(1-氧化吡啶-4-基)苯甲酰基]氨基}丁酸甲酯或其可药用盐、可药用的酸性反应性化合物和水的无菌含水药物组合物或者所述组合物的混悬液。

[0066] 无菌药物组合物可通过对本发明药物组合物进行灭菌来制备。灭菌指有效杀死或消除来自药物组合物的可传播因子的任何方法,所述可传播因子如真菌、细菌、病毒或孢子形式。灭菌可通过应用热、化学物质、辐照、高压或者过滤来实现。蒸汽灭菌是优选的灭菌方法并指在高压灭菌器中的热灭菌方法。高压灭菌器通常使用加热到 121℃ 至 134℃ 的蒸汽。为了实现无菌,需要有效的保持时间,至少在 121℃ 保持 15 分钟或者至少在 134℃ 保持 3 分钟。如果具有溶液或粉末的小瓶又包装在布层中,因为它们需要更长时间达到需要的温度,所以对于液体和器械需要额外的灭菌时间。

[0067] 本发明的无菌液体药物组合物可通过以下方法制备:以需要的量,将 (2R, 3R)-2-{3-[氨基(亚氨基)甲基]苄基}-3-{[4-(1-氧化吡啶-4-基)苯甲酰基]氨基}丁酸甲酯或其可药用盐和可药用的酸性反应性化合物加入水中,并且需要时任选地具有多种本文所列举的其它成分,然后灭菌。灭菌可通过应用热、化学试剂、辐照、高压或者过滤来实现。

[0068] 一般而言,混悬液可通过以下方法制备:将已灭菌的 (2R, 3R)-2-{3-[氨基(亚氨基)甲基]苄基}-3-{[4-(1-氧化吡啶-4-基)苯甲酰基]氨基}丁酸甲酯或其可药用盐和可药用的酸性反应性化合物加入到含有分散介质和本文所列举的其它成分的无菌媒介物中。

[0069] 注射或输注的粉剂是固体、无菌物质或者物质的混合物,其包含分布在它们最终的容器中的 (2R, 3R)-2-{3-[氨基(亚氨基)甲基]苄基}-3-{[4-(1-氧化吡啶-4-基)苯甲酰基]氨基}丁酸甲酯和可药用的酸性反应性化合物,并且当与规定体积的规定无菌液体振摇时迅速形成澄清的且实际上无颗粒的溶液。溶解后,它们满足注射或输注用的要求。可使用本领域已知的任何混合技术进行所述物质的混合。

[0070] 肠胃外使用的冷冻干燥产品被认为是注射或输注用的粉剂。

[0071] 在提供固体形式的奥米沙班和可药用的酸性反应性化合物组合物中,可将奥米沙班和可药用的酸性反应性化合物及本发明药物组合物的任选另外组分混合成粉剂。可使用本领域已知的任何混合技术进行该混合。优选使用高剪切混合器、V-共混器(或其它双壳

共混器)、料箱共混器(bin blender)或Turbula混合器-振荡器进行该混合。共混通常进行足够的时间从而确保完全混合。一旦制得所述共混物,通过本领域已知的操作制备固体形式。

[0072] 在供无菌药物组合物制备用的无菌粉剂情况下,优选的制备方法可包括真空干燥和冷冻干燥技术,这可得到(2R,3R)-2-{3-[氨基(亚氨基)甲基]苄基}-3-{[4-(1-氧化吡啶-4-基)苯甲酰基]氨基}丁酸甲酯或其可药用盐和可药用的酸性反应性化合物及任选加上本文所列举的任何其他成分(例如来自其先前无菌过滤溶液或蒸汽灭菌溶液的那些)的粉剂。所制备的粉剂的灭菌可通过应用热、化学试剂或辐照来实现。蒸汽灭菌是优选的灭菌方法并且指在高压灭菌器中热灭菌的方法。在适当小瓶或媒介物中粉剂是已灭菌的。

[0073] 可将无菌粉剂储存,直到通过加入预灭菌的适当溶剂(如水)然后将组合物混合来制备无菌注射液。还可以加入预灭菌的适当溶剂并储存所制备的液体药物组合物。

[0074] 在另外的实施方案中,本发明涉及供注射用的含水药物组合物,长期储存后其含有不超过约8.0%的(2R,3R)-2-(3-甲脒基-苄基)-3-[4-(1-氧化-吡啶-4-基)苯甲酰基氨基]-丁酸的最高杂质水平。在某些实施方案中,(2R,3R)-2-(3-甲脒基-苄基)-3-[4-(1-氧化-吡啶-4-基)苯甲酰基氨基]-丁酸的最高杂质水平为0.3%至4.0%,或者0.4%至3.0%,或者0.4%至1.8%,或者0.4%至0.8%,或者0.43%至0.7%。

[0075] 在另外的实施方案中,本发明涉及供注射用的含水药物组合物,长期储存后其含有不超过约5.0%的(2R,3R)-2-(3-氨甲酰基-苄基)-3-[4-(1-氧化-吡啶-4-基)苯甲酰基氨基]-丁酸甲酯的最高杂质水平。在某些实施方案中,(2R,3R)-2-(3-氨甲酰基-苄基)-3-[4-(1-氧化-吡啶-4-基)苯甲酰基氨基]-丁酸甲酯的最高杂质水平为0.7%至4.5%,或者0.8%至4.0%,或者0.9%至3.5%,或者1.2%至2.2%,或者1.4%至2.0%。

[0076] 在另外的实施方案中,本发明涉及供注射用的含水药物组合物,其含有不超过约13%的最高总杂质水平。在一些实施方案中,所述总杂质水平为1.0%至8.5%,或者1.1%至8.0%,或者1.3%至6.0%,或者1.6%至4.0%,或者1.8%至3.5%。

[0077] (2R,3R)-2-{3-[氨基(亚氨基)甲基]苄基}-3-{[4-(1-氧化吡啶-4-基)苯甲酰基]氨基}丁酸甲酯和其盐中的酸抗衡离子的相对量是可变化的并取决于(例如)在制备盐时所选择的具体酸和所使用的方法。优选地,针对约每个当量的(2R,3R)-2-{3-[氨基(亚氨基)甲基]苄基}-3-{[4-(1-氧化吡啶-4-基)苯甲酰基]氨基}丁酸甲酯,本发明的盐包含约一当量的酸。

[0078] (2R,3R)-2-{3-[氨基(亚氨基)甲基]苄基}-3-{[4-(1-氧化吡啶-4-基)苯甲酰基]氨基}丁酸甲酯的酸加成盐可通过以下方法制备:将游离的碱溶于含有适当酸的水溶液或含水醇溶液或其它适合的溶剂中或者向其中加入适当的酸,并通过蒸发溶液分离所述盐,或者通过游离的碱与酸在有机溶剂中反应,在该情况下所述盐可直接分离和/或可通过对溶液进行浓缩获得。

[0079] 本发明的药物组合物可用于抑制Xa因子。相应地,本发明提供了治疗或预防能够通过抑制Xa因子的产生来调节的病理状态的方法。

[0080] 能够用本发明的药物组合物治疗的病理状态的实例包括,例如,急性心肌梗塞(AMI)、非-ST抬高型心肌梗塞、不稳定型心绞痛、血栓栓塞、与血栓溶解疗法有关的急性血

管闭塞、经皮腔内冠状动脉成形术 (PTCA)、短暂性缺血发作、卒中、间歇性跛行和再狭窄。

[0081] 本申请描述的药物组合物由于它们抑制凝血级联中的次末端酶,即 Xa 因子,而非凝血酶的一般能力,由此可特别地用于抑制血液凝固。根据文献中所描述的试验,包括体内试验和体外试验,本发明范围内的药物组合物可表现出显著的药理学活性,体外测定被认为与人和其它哺乳动物中的药理学活性有关联。例如,可抑制游离的 Xa 因子和在凝血酶原酶络合物中装配的因子 (Xa 因子、Va 因子、钙和磷脂)。Xa 因子抑制可通过在抑制剂和酶之间直接形成络合物来获得并因此不依赖血浆辅因子抗凝血酶 III。有效的 Xa 因子抑制可如下实现:通过连续静脉内输注、大剂量静脉内给药或者任何其它合适途径给予本发明的药物组合物,使得期望的效果得以实现,即防止由凝血酶原经 Xa 因子诱导形成凝血酶。

[0082] 除了它们在抗凝血疗法中的用途,Xa 因子抑制剂可用于治疗或者预防其中凝血酶的产生可发挥病理学作用的其它疾病。例如,已经提出,凝血酶由于它通过细胞表面凝血酶受体的特异性裂解和激活来调节多种不同细胞型的能力,而对慢性和退行性疾病(如关节炎、癌症、动脉粥样硬化和阿尔茨海默病)的发病率和死亡率有作用。Xa 因子的抑制可有效地阻断凝血酶产生并因此抵消凝血酶对多种细胞型的任何病理学作用。

[0083] 肠胃外递送可注射的含水药物组合物的方法是本领域众所周知的。例如,可注射的含水药物组合物可以具体的剂型静脉内递送。所述剂型可以静脉内输注剂量递送。

[0084] 一般而言,在成年人群中,(2R,3R)-2-{3-[氨基(亚氨基)甲基]苄基}-3-{[4-(1-氧化吡啶-4-基)苯甲酰基]氨基}丁酸甲酯的适合输注剂量可以为 0.07mg/Kg 体重/小时至 0.14mg/Kg 体重/小时。另外的适合剂量可以为 0.08mg/Kg 体重/小时至 0.12mg/Kg 体重/小时。所述剂型还可以静脉内大剂量递送。一般而言在成年人群中,(2R,3R)-2-{3-[氨基(亚氨基)甲基]苄基}-3-{[4-(1-氧化吡啶-4-基)苯甲酰基]氨基}丁酸甲酯的适合输注剂量可以为 0.07mg/Kg 体重至 0.14mg/Kg 体重。权衡患者安全性和有效性的适合剂量还将会是在大约 0.08mg/kg 体重的 i. v. 大剂量后接近 0.1mg/kg 体重/小时的剂量。

[0085] 所述可注射的剂型可以与其它药品一起给药,所述药品例如糖蛋白 IIb/IIIa 抑制剂、未分级的肝素、低分子量肝素、伊诺肝素或氯吡格雷。可选择地,所述可注射的剂型可以与血液稀释剂组合,所述血液稀释剂包括但不限于香豆定(coumadin)、华法林或阿司匹林。

[0086] 本发明的液体可注射药物组合物可通过以下方法制备:将 (2R,3R)-2-{3-[氨基(亚氨基)甲基]苄基}-3-{[4-(1-氧化吡啶-4-基)苯甲酰基]氨基}丁酸甲酯或其可药用盐和酸性反应性化合物或缓冲液以需要的量加入水中,需要时任选地加入本申请所列举的各种其它成分,然后搅拌适当时间。

[0087] 液体药物组合物还可含有在配置药物组合物中常规采用的其它组分。所述组分的实例之一为卵磷脂。它在本发明组合物中用作乳化剂,其量可为约 0.05wt% 至约 1wt% (重量百分比),以及其中范围和具体量的所有组合和亚组合。更优选地,乳化剂可以约 0.1wt% 至约 0.5wt% 的量来使用。可使用的组分的其它实例为抗微生物的防腐剂,例如苯甲酸或尼泊金(parabens);助悬剂,如聚山梨酯 80。这些任选组分的选择和它们在本发明组合物中的使用浓度在本领域普通技术人员的水平之内并且将会从下文所提供的操作实施例中得到更好的理解。

[0088] 一般而言,水、适合的油、盐水及二醇(如丙二醇或聚乙二醇)可以是液体药物组

合物的适合溶剂。液体药物组合物的适合溶液可通过以下方法制备：将 (2R, 3R)-2-{3-[氨基(亚氨基)甲基]苄基}-3-{[4-(1-氧化吡啶-4-基)苯甲酰基]氨基}丁酸甲酯或其可药用盐和酸性反应性化合物溶于所述溶剂中，并且必要时加入缓冲物质。另外可加入抗氧化剂，例如单独或者组合加入亚硫酸氢钠、亚硫酸钠或抗坏血酸。还可使用 EDTA 钠。

[0089] 用于给予 (2R, 3R)-2-{3-[氨基(亚氨基)甲基]苄基}-3-{[4-(1-氧化吡啶-4-基)苯甲酰基]氨基}丁酸甲酯或其可药用盐的有用的药物剂型举例说明如下：

[0090] 可注射的

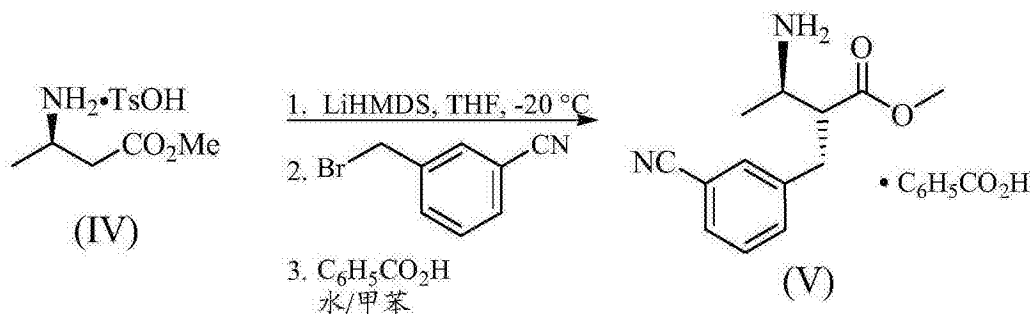
[0091] 适于通过注射给药的肠胃外组合物可通过以下方法制备：将 1mg 至 30mg/mL 按重量计的 (2R, 3R)-2-{3-[氨基(亚氨基)甲基]苄基}-3-{[4-(1-氧化吡啶-4-基)苯甲酰基]氨基}丁酸甲酯或其可药用盐在 1mL 至 200mL 的水中搅拌，并在搅拌下加入 2mg/mL 至 4mg/mL 按重量计的柠檬酸钠和 2mg/mL 至 4mg/mL 的柠檬酸一水合物及 5mg/mL 至 8mg/mL 氯化钠。最后通过加入氢氧化钠或盐酸将 pH 调节至 pH4。将所制备的溶液过滤并装入适当的小瓶中。将溶液和小瓶在高压灭菌器中通过蒸汽灭菌来灭菌。高压灭菌器通常使用加热到 121℃ 至 134℃ 的蒸汽。为了实现灭菌，可使用至少 15 分钟的保持时间。

[0092] 下列非限制性实施例举例说明发明人制备并使用本发明药物组合物的优选方法。

[0093] 实施例

[0094] 实施例 1- 化合物 (V) 的制备

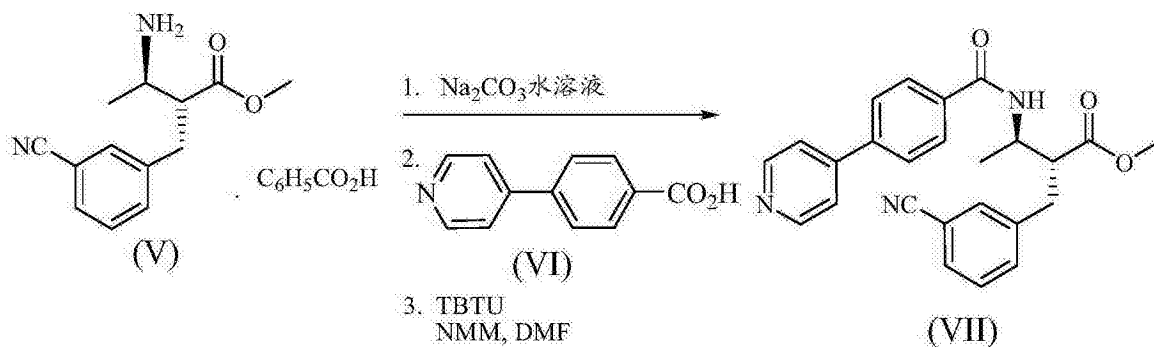
[0095]



[0096] TsOH 为具有式 CH<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>SO<sub>3</sub>H 的对甲苯磺酸。TsOH 指一水合物。向反应器中装入化合物 (IV) (100.0g) 和无水四氢呋喃 (THF) (320g)。将所得混悬液冷却下来至 -20±3℃ 并历时 55 分钟加入六甲基二硅叠氮锂 (lithium hexamethyldisilazide) (LiHMDS) (475.6 克, 1.3M 的 THF 溶液) 并在 -20±3℃ 搅拌 20 分钟。然后历时 40 分钟将 α-溴-间苄基脒在 THF 中的溶液 (65.1g 在 181g THF 中的溶液) 装入反应器同时维持温度在 -20±3℃ 并搅拌另外 30 分钟。向反应器中装入固体苯甲酸 (126.6 克)。然后加入水 (1000g) 并将混合物在 65±3℃ 夹套温度和 200-233 毫巴真空蒸馏。蒸馏至 57℃ 的恒定釜温度且 45℃ 的恒定顶温度后，停止蒸馏。向热溶液中加入甲苯 (432g) 并搅拌同时冷却下来至 10±2℃。然后过滤所得混悬液并用水 (250 克) 和甲苯 (432 克) 洗涤滤饼。在氮气流下将化合物 (V) 在 45-50℃ ~ 350 毫巴真空干燥 24 小时直至恒定重量。分离的固体重 76.0 克 (62.0% 产率)。

[0097] 实施例 2- 化合物 (VII) 的制备

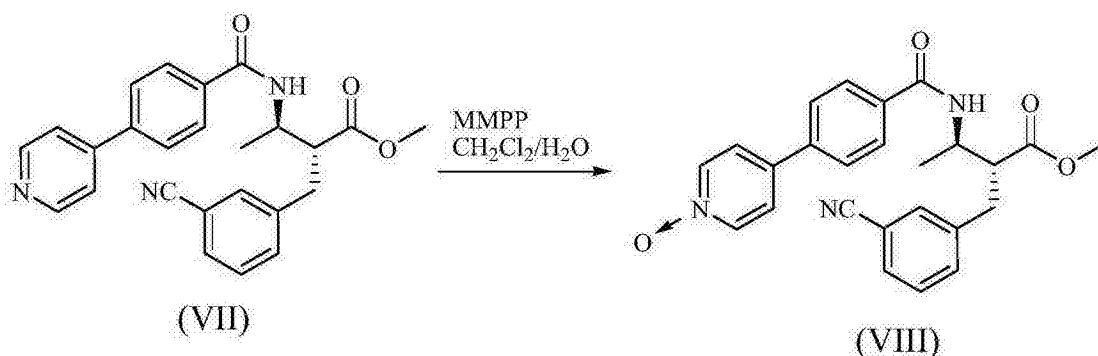
[0098]



[0099] 将化合物 (V) 在二氯甲烷和碳酸钠水溶液之间分配。将有机相 (其含有 (V) 的游离碱) 用另外的碳酸钠水溶液洗涤并减压蒸馏并将溶剂用二甲基甲酰胺 (DMF) 置换。对该溶液测定 (V) 的 wt/wt 含量。向 (VI) (相对于 (V) 的 1.0 当量) 在 DMF 中的混悬液加入 2 当量的 4-甲基吗啉和 1.1 当量的 O-苯并三唑-1-基-N,N',N'-四甲基脲四氟硼酸盐 (TBTU)。将该混合物在环境温度搅拌直至酯活化完全 (约 90 分钟)。加入化合物 (V) (1 当量) 的 DMF 溶液并将所得溶液搅拌过夜, 在此之后 HPLC 表明反应完全。在 75°C 加入水并将混合物冷却至使产物结晶。将混合物冷却至 5°C, 过滤, 并用水洗涤滤饼。在 70°C 将产物减压干燥。

[0100] 实施例 3- 化合物 (VIII) 的制备

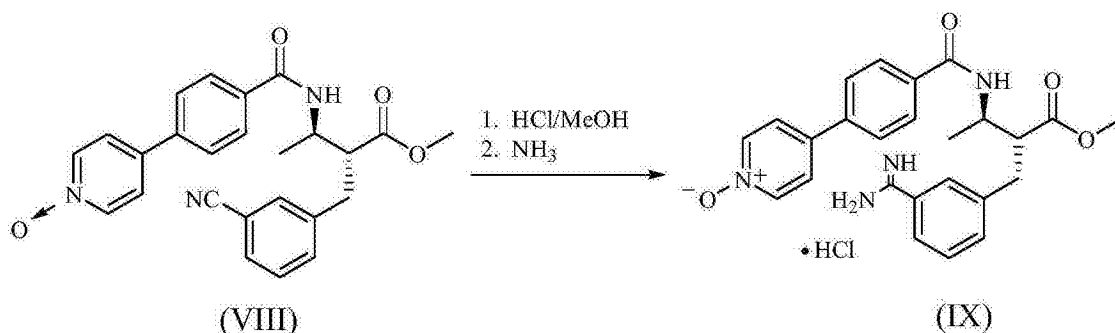
[0101]



[0102] 在充分搅拌的反应器中, 使 450mL 二氯甲烷中的 45g 化合物 (VII) 与在 450g 水中的 61g 单过氧酞酸镁 (基于可用的氧 66.4%, 1.5 当量) 反应至少 5 小时, 直至反应完全。分离各相并相继用等体积的水、5% 碳酸氢钠水溶液和水洗涤有机相。将所得溶液浓缩至大约 40wt% 溶液并用 180g 的甲基异丁基酮 (MIBK) 稀释。进一步蒸馏除去残留的二氯甲烷, 用适当晶体引晶, 并冷却得到产物, 为结晶性固体。将晶体过滤, 用 30g 的 MIBK 冲洗, 并在 50°C 减压干燥, 得到 41.8g 的化合物 (VIII) (89.3% 产率)。

[0103] 实施例 4- 化合物 (IX) 的制备

[0104]



[0105] 向 200-mL 夹套反应烧瓶中装入化合物 (VIII) (50.0g, 116mmol) 和甲醇 (50mL)。将该混合物冷却至  $-5^{\circ}\text{C}$  并在建立部分真空 (约 100 托) 后密封。加入无水 HCl (52.2g, 1.43mol) 同时维持反应温度低于  $0^{\circ}\text{C}$ 。在封闭条件下将反应混合物在  $0 \pm 1^{\circ}\text{C}$  搅拌。16 小时后, 反应完全 (经 HPLC 检测 (VIII) 少于 2A%)。向中间产物溶液中加入无水甲醇 (100mL) 同时维持温度低于  $5^{\circ}\text{C}$ 。将溶液用  $\text{NH}_3$  (27.7g, 1.62mol) 处理, 保持温度低于  $0^{\circ}\text{C}$ 。在将混合物温热至室温之前, pH 检查由溶于蒸馏水的等分溶液构成 (8-10 的 pH 表明足够的氨气负载量)。将反应混合物在  $20^{\circ}\text{C}$  搅拌过夜, 在该点反应是完全的。

[0106] 实施例 5 液体药物组合物的生产方法 (Manufacturing Process)

[0107] 所述液体药物组合物制备如下:

[0108] I. 在由惰性材料 (例如不锈钢或玻璃) 制成的容器 (vessel) 中, 搅拌的同时将 (2R, 3R)-2-{3-[氨基 (亚氨基) 甲基] 苄基}-3-{[4-(1-氧化吡啶-4-基) 苯甲酰基] 氨基} 丁酸甲酯 (量见表 1) 溶于注射用水中。

[0109] II. 在由惰性材料 (例如不锈钢或玻璃) 制成的容器中, 搅拌的同时将氯化钠、柠檬酸一水合物和柠檬酸钠 (二水合物) (量见表 1) 溶于注射用水中直至完全溶解。搅拌的同时向所述溶液中加入来自步骤 I 的 (2R, 3R)-2-{3-[氨基 (亚氨基) 甲基] 苄基}-3-{[4-(1-氧化吡啶-4-基) 苯甲酰基] 氨基} 丁酸甲酯溶液。

[0110] 必要时, 使用氢氧化钠溶液 (例如 1M 氢氧化钠) 或者稀盐酸 (例如 1M 盐酸) 调节 pH 值。加入注射用水来调节最终重量。

[0111] III. 颗粒负载减少的过滤:

[0112] 使用已灭菌的具有  $0.2 \mu\text{m}$  标称孔径的膜滤器 (例如聚偏氟乙烯、聚醚砜或者聚酰胺) 将来自步骤 II 的溶液过滤。

[0113] IV. 将来自步骤 III 的溶液灌装到已灭菌的无色注射小瓶中。

[0114] 然后将注射小瓶用具有插入密封盘的已灭菌 flip-off 盖或者用注射塞和具有撕开盖的法兰盖封闭。

[0115] V. 按照 Ph. Eur. /USP 通过在高压灭菌器中的饱和蒸汽对密封的容器进行灭菌 (例如在  $\geq +121^{\circ}\text{C}$  下  $\geq 15$  分钟)。

[0116] VI. 检查已灭菌容器是否有粗污染物 (coarse contaminants)、完整的密封和颗粒物。

[0117] 所使用设备的灭菌方法

[0118] 通过蒸汽对过滤设备 (作为直接与产品接触的设备的部分)、注射塞和具有插入密封盘的 flip-off 盖灭菌, 例如在  $\geq +121^{\circ}\text{C}$  持续至少 15 分钟 (Ph. Eur. /USP)。

[0119] 所制备的液体药物组合物的组成在表 1 中给出:

[0120] 表 1

[0121]

| 实施例           | A         | B         | C         |
|---------------|-----------|-----------|-----------|
| 奥米沙班 [mg]     | 1.000     | 5.000     | 50.000    |
| 柠檬酸一水合物 [mg]  | 2.53      | 2.53      | 2.53      |
| 柠檬酸钠二水合物 [mg] | 3.15      | 3.15      | 3.15      |
| 氯化钠 [mg]      | 7.00      | 7.00      | 7.00      |
| 注射用水          | 至 1.007mL | 至 1.007mL | 至 1.007mL |

[0122] 实施例 6 依赖于 pH 和重复高压灭菌的杂质水平

[0123] 如实施例 5 中所述,制备含有 1mg/mL 奥米沙班的液体药物组合物。使用氢氧化钠溶液 (1M 氢氧化钠) 或者稀盐酸 (1M 盐酸) 调节为适当的 pH 值。

[0124] 通过 HPLC 分析 (2R, 3R)-2-(3- 氨甲酰基 - 苄基 )-3-[4-(1- 氧化 - 吡啶 -4- 基 ) 苯甲酰基氨基 ]- 丁酸甲酯和 (2R, 3R)-2-(3- 甲脒基 - 苄基 )-3-[4-(1- 氧化 - 吡啶 -4- 基 ) 苯甲酰基氨基 ]- 丁酸的含量并显示在表 2 和 3 中。

[0125] 表 2 : (2R, 3R)-2-(3- 氨甲酰基 - 苄基 )-3-[4-(1- 氧化 - 吡啶 -4- 基 ) 苯甲酰基氨基 ]- 丁酸甲酯的增加 ; 通过 HPLC 测量值并以 % 为单位给出。

[0126]

| pH  | 高温灭菌次数 |      |      |      |
|-----|--------|------|------|------|
|     | 0      | 1    | 2    | 3    |
| 2.5 | 0.39   | 0.71 | 1.02 | 1.32 |
| 3.0 | 0.39   | 0.74 | 1.09 | 1.43 |
| 3.2 | 0.39   | 0.76 | 1.13 | 1.50 |
| 3.5 | 0.39   | 0.81 | 1.23 | 1.65 |
| 3.7 | 0.39   | 0.87 | 1.33 | 1.80 |

[0127]

|     |      |      |      |      |
|-----|------|------|------|------|
| 3.7 | 0.39 | 0.84 | 1.28 | 1.71 |
| 4.0 | 0.39 | 0.95 | 1.48 | 2.02 |
| 4.2 | 0.39 | 1.08 | 1.75 | 2.42 |
| 4.5 | 0.39 | 1.40 | 2.37 | 3.36 |
| 4.7 | 0.39 | 1.84 | 3.20 | 4.58 |

[0128] 表 3 : (2R, 3R)-2-(3- 甲脒基 - 苄基 )-3-[4-(1- 氧化 - 吡啶 -4- 基 ) 苯甲酰基氨基 ]- 丁酸的增加 ; 通过 HPLC 测量值并以 % 为单位给出。

[0129]

| pH  | 高温灭菌次数 |      |      |      |
|-----|--------|------|------|------|
|     | 0      | 1    | 2    | 3    |
| 2.5 | 0.10   | 0.33 | 0.56 | 0.79 |
| 3.0 | 0.08   | 0.18 | 0.26 | 0.36 |
| 3.2 | 0.08   | 0.15 | 0.21 | 0.27 |
| 3.5 | 0.08   | 0.12 | 0.17 | 0.21 |
| 3.7 | 0.08   | 0.11 | 0.16 | 0.20 |
| 3.7 | 0.08   | 0.12 | 0.16 | 0.19 |
| 4.0 | 0.08   | 0.12 | 0.16 | 0.19 |
| 4.2 | 0.07   | 0.13 | 0.18 | 0.22 |
| 4.5 | 0.08   | 0.15 | 0.24 | 0.30 |
| 4.7 | 0.08   | 0.20 | 0.32 | 0.43 |

[0130] (2R, 3R)-2-(3- 氨 甲 酰 基 - 苄 基 )-3-[4-(1- 氧 化 - 吡 啶 -4- 基 ) 苯 甲 酰 基 氨 基 ]- 丁 酸 甲 酯 的 水 平 在 最 低 pH 时 是 最 低 的, 而 (2R, 3R)-2-(3- 甲 脒 基 - 苄 基 )-3-[4-(1- 氧 化 - 吡 啶 -4- 基 ) 苯 甲 酰 基 氨 基 ]- 丁 酸 的 水 平 则 在 pH4 时 显 示 最 小 值。

[0131] 终端灭菌

[0132] 在  $\geq 15$  分钟 /  $\geq +121^{\circ}\text{C}$  的标准条件下在高压灭菌器中进行终端灭菌。

[0133] 奥米沙班、(2R, 3R)-2-(3- 氨 甲 酰 基 - 苄 基 )-3-[4-(1- 氧 化 - 吡 啶 -4- 基 ) 苯 甲 酰 基 氨 基 ]- 丁 酸 甲 酯 和 (2R, 3R)-2-(3- 甲 脒 基 - 苄 基 )-3-[4-(1- 氧 化 - 吡 啶 -4- 基 ) 苯 甲 酰 基 氨 基 ]- 丁 酸 的 测 定 通 过 如 下 梯 度 高 效 液 相 色 谱 系 统 (HPLC) 来 进 行：

[0134]

|       |                                                      |
|-------|------------------------------------------------------|
| 固定相:  | HP Zorbax SB-C18, 3.5 $\mu\text{m}$                  |
| 柱材料:  | 不锈钢                                                  |
| 柱长度:  | 150 mm                                               |
| 柱内径:  | 4.6 mm                                               |
| 柱的平衡: | 在样品注射前, 必须以 1 mL/分钟的流速将柱用流动相 B (%B = 25) 冲洗至少 60 分钟。 |
| 柱的保存: | 柱可以保存在乙腈/水 = 20/80 (v/v) 中                           |

[0135] 流动相 A

[0136] 通常, 将 8.16g 的无水磷酸二氢钾转移到玻璃烧杯中。加入 2000mL 的水并使用 pH- 计用磷酸 (约 4mL) 调节至 2.15 的 pH。通过 1.5  $\mu\text{m}$  过滤器过滤流动相。

[0137] 流动相 A 的稳定性: 在室温 1 个月

[0138] 流动相 B

[0139] 通常, 向 500mL 的乙腈中加入 500mL 的流动相。混合并脱气。

[0140] 流动相 B 的稳定性: 在室温 1 个月

[0141] 梯度:

|        | 时间[分钟] | 流动相 A [%] | 流动相 B [%] |
|--------|--------|-----------|-----------|
| [0142] | 0      | 75        | 25        |
|        | 25     | 69        | 31        |
|        | 45     | 20        | 80        |
|        | 50     | 75        | 25        |
|        | 60     | 75        | 25        |

[0143] 对于标准物的分析和系统适应性测试（不适于空白！），梯度可以下列方式缩短：

|        | 时间[分钟] | 流动相 A [%] | 流动相 B [%] |
|--------|--------|-----------|-----------|
| [0144] | 0      | 75        | 25        |
|        | 25     | 69        | 31        |
|        | 25.01  | 20        | 80        |
|        | 30     | 75        | 25        |
|        | 36     | 75        | 25        |

[0145] 操作

[0146]

流速：1 mL/分钟  
 注射体积：40  $\mu$ l  
 自动进样器温度：设定自动进样器温度为+12°C  
 柱温度：设定炉温为+40°C  
 检测：230 nm (UV)  
 通常总运行时间：60 分钟  
 保留时间：  
 奥米沙班 约 17.2 分钟  
 (2R,3R)-2-(3-氨甲酰基-苄基)-3-[4-(1-氧化-吡啶-4-基)苯甲酰基氨基]-丁酸 约 34.9 分钟  
 甲酯  
 (2R,3R)-2-(3-甲脒基-苄基)-3-[4-(1-氧化-吡啶-4-基)苯甲酰基氨基]-丁酸 约 7.6 分钟

[0147] 实施例 7 依赖于奥米沙班浓度和高压灭菌的杂质水平

[0148] 如实施例 5 中所述，制备含有 1、5 或 50mg/mL 奥米沙班的液体药物组合物。使用氢氧化钠溶液（1M 氢氧化钠）或者稀盐酸（1M 盐酸）调节为适当的 pH 值。

[0149] 如实施例 6 中所述，通过 HPLC 分析 (2R, 3R)-2-(3-氨甲酰基-苄基)-3-[4-(1-氧化-吡啶-4-基)苯甲酰基氨基]-丁酸甲酯的含量并显示在表 4 中。

[0150] 表 4：(2R, 3R)-2-(3-氨甲酰基-苄基)-3-[4-(1-氧化-吡啶-4-基)苯甲酰基氨基]-丁酸甲酯的增加；通过 HPLC 测量值并以 % 为单位给出。

[0151]

| pH      | 奥米沙班<br>[mg/mL] | 小瓶体积<br>[mL] | 灭菌条件         | 高压灭菌次数 |     |      |      |
|---------|-----------------|--------------|--------------|--------|-----|------|------|
|         |                 |              |              | 0      | 1   | 2    | 3    |
| 4.2     | 5               | 5            | 20 分钟 123 °C | 0.3    | 1.0 | 1.8  | 2.6  |
| 4.2-4.3 | 5               | 5            | 20 分钟 123 °C | 0.2    | 0.9 | 1.7  | 2.5  |
| 4.2     | 50              | 5            | 20 分钟 123 °C | 0.3    | 1.1 | 1.9  | 2.7  |
| 4.2     | 1               | 50           | 20 分钟 127 °C | 0.4    | 1.3 | 2.3  | n.t. |
| 4.2     | 1               | 50           | 25 分钟 125 °C | 0.4    | 1.3 | n.t. | n.t. |
| 4.2     | 5               | 50           | 25 分钟 125 °C | 0.4    | 1.4 | n.t. | n.t. |

[0152] n. t. 表示未测试

[0153] (2R, 3R)-2-(3- 氨甲酰基 - 苄基)-3-[4-(1- 氧化 - 吡啶 -4- 基) 苯甲酰基氨基]- 丁酸甲酯的水平不取决于奥米沙班的浓度或者小瓶体积。额外的高压灭菌导致较高的 (2R, 3R)-2-(3- 氨甲酰基 - 苄基)-3-[4-(1- 氧化 - 吡啶 -4- 基) 苯甲酰基氨基]- 丁酸甲酯水平, 这不依赖于奥米沙班的浓度或者小瓶体积。

[0154] 实施例 8 依赖于 pH 和储存时间的杂质水平

[0155] 如实施例 5 中所述, 制备含有 1mg/mL 奥米沙班的液体药物组合物。使用氢氧化钠溶液 (1M 氢氧化钠) 或者稀盐酸 (1M 盐酸) 调节为适当的 pH 值。将准备的小瓶高压灭菌一次并在 40°C 和 75%RH (相对湿度) 储存。

[0156] 如实施例 6 中所记载的, 通过 HPLC 分析 (2R, 3R)-2-(3- 氨甲酰基 - 苄基)-3-[4-(1- 氧化 - 吡啶 -4- 基) 苯甲酰基氨基]- 丁酸甲酯和 (2R, 3R)-2-(3- 甲脒基 - 苄基)-3-[4-(1- 氧化 - 吡啶 -4- 基) 苯甲酰基氨基]- 丁酸的含量并显示在表 5 和 6 中。

[0157] 表 5 : (2R, 3R)-2-(3- 氨甲酰基 - 苄基)-3-[4-(1- 氧化 - 吡啶 -4- 基) 苯甲酰基氨基]- 丁酸甲酯的增加 ; 通过 HPLC 测量值并以 % 为单位给出。

[0158]

| pH  | 储存时间[月] |      |      |      |
|-----|---------|------|------|------|
|     | 0       | 1    | 3    | 6    |
| 2.5 | 0.71    | 0.77 | 0.86 | 0.98 |
| 3.0 | 0.74    | 0.82 | 0.96 | 1.17 |
| 3.2 | 0.76    | 0.85 | 1.00 | 1.24 |
| 3.5 | 0.81    | 0.91 | 1.06 | 1.32 |
| 3.7 | 0.87    | 0.96 | 1.15 | 1.43 |
| 4.0 | 0.95    | 1.04 | 1.23 | 1.53 |
| 4.2 | 1.08    | 1.20 | 1.39 | 1.71 |
| 4.5 | 1.40    | 1.52 | 1.76 | 2.13 |
| 4.7 | 1.84    | 1.97 | 2.24 | 2.65 |

[0159] 表 6 : (2R, 3R)-2-(3- 甲脒基 - 苄基)-3-[4-(1- 氧化 - 吡啶 -4- 基) 苯甲酰基氨基]- 丁酸的增加 ; 通过 HPLC 测量值并以 % 为单位给出。

[0160]

| pH  | 储存时间[月] |      |      |      |
|-----|---------|------|------|------|
|     | 0       | 1    | 3    | 6    |
| 2.5 | 0.33    | 1.47 | 3.73 | 7.10 |
| 3.0 | 0.18    | 0.58 | 1.39 | 2.61 |
| 3.2 | 0.15    | 0.41 | 0.93 | 1.74 |
| 3.5 | 0.12    | 0.27 | 0.55 | 0.99 |
| 3.7 | 0.11    | 0.22 | 0.42 | 0.72 |
| 4.0 | 0.12    | 0.18 | 0.32 | 0.52 |
| 4.2 | 0.13    | 0.18 | 0.27 | 0.43 |
| 4.5 | 0.15    | 0.20 | 0.30 | 0.44 |
| 4.7 | 0.20    | 0.25 | 0.36 | 0.52 |

[0161] (2R, 3R)-2-(3-甲脒基-苄基)-3-[4-(1-氧化-吡啶-4-基)苯甲酰基氨基]-丁酸的水平随着较低的 pH 增加较快, 而 (2R, 3R)-2-(3-氨甲酰基-苄基)-3-[4-(1-氧化-吡啶-4-基)苯甲酰基氨基]-丁酸甲酯的水平在不同 pH 值是平行的 (parallel), 这表明随着储存时间的推移相同的斜率和增加比率。

[0162] 实施例 9 依赖于酸性反应性化合物和储存时间的杂质水平

[0163] 基本上如实施例 5 中所述, 制备含有 1mg/mL 奥米沙班的液体药物组合物。不同于实施例 5 中所使用的柠檬酸一水合物和柠檬酸钠二水合物, 使用酒石酸、琥珀酸、苹果酸和磷酸, 浓度为 22.8mMol/L。为了比较, 还包括无酸性反应性化合物的样品。在所有样品 (还包括“无”样品) 中使用氢氧化钠溶液 (1M 氢氧化钠) 或者稀盐酸 (1M 盐酸) 调节为适当的 pH 值。对所准备的小瓶高压灭菌一次并在 40°C 和 75%RH (相对湿度) 储存。

[0164] 终端灭菌

[0165] 在  $\geq 15$  分钟 /  $\geq +121^{\circ}\text{C}$  的标准条件下在高压灭菌器中进行终端灭菌。

[0166] 奥米沙班、(2R, 3R)-2-(3-氨甲酰基-苄基)-3-[4-(1-氧化-吡啶-4-基)苯甲酰基氨基]-丁酸甲酯和 (2R, 3R)-2-(3-甲脒基-苄基)-3-[4-(1-氧化-吡啶-4-基)苯甲酰基氨基]-丁酸的测定通过如下梯度高效液相色谱系统 (HPLC) 来进行并显示在表 7 中:

[0167]

|       |                                                      |
|-------|------------------------------------------------------|
| 固定相:  | HP Zorbax SB-C18, 3.5 $\mu\text{m}$                  |
| 柱材料:  | 不锈钢                                                  |
| 柱长度:  | 150 mm                                               |
| 柱内径:  | 4.6 mm                                               |
| 柱的平衡: | 在样品注射前, 必须以 1 mL/分钟的流速将柱用流动相 B (%B = 25) 冲洗至少 60 分钟。 |

[0168] 流动相 A

[0169] 将 6.8g 的无水磷酸二氢钾转移至玻璃烧杯中并加入 2000mL 的水。使用 pH-计用磷酸 (约 0.5mL), 将 pH 值调节至 3.1。

[0170] 流动相 B

[0171] 向 800mL 的乙腈中加入 200mL 的流动相 A, 然后混合并脱气。

[0172] 流动相 B 的稳定性 :在室温 1 个月

[0173] 梯度 :

|        | 时间[分钟] | 流动相 A [%] | 流动相 B [%] |
|--------|--------|-----------|-----------|
|        | 0      | 83        | 17        |
|        | 18     | 78        | 22        |
| [0174] | 25     | 44        | 56        |
|        | 28     | 20        | 80        |
|        | 29     | 20        | 80        |
|        | 30     | 83        | 17        |
|        | 36     | 83        | 17        |

[0175] 操作

[0176]

流速:

1 mL/分钟

注射体积:

30  $\mu$ l

自动进样器温度:

设定自动进样器温度为  
+12°C

柱温度:

设定炉温为+25°C

检测:

300 nm

[0177]

典型的总运行时间:

36 分钟

保留时间:

奥米沙班

约 15.0 分钟

(2R,3R)-2-(3-氨甲酰基-苄基)-3-[4-(1-氧化-吡  
啶-4-基)苯甲酰基氨基]-丁酸甲酯

约 24.0 分钟

(2R,3R)-2-(3-甲脒基-苄基)-3-[4-(1-氧化-吡  
啶-4-基)苯甲酰基氨基]-丁酸

约 6.9 分钟

[0178] 表 7 :储存时间开始和 1 个月后市 II 和式 III 的水平 ;通过 HPLC 测量值并以 % 为单位给出。

[0179]

| 酸性反应<br>性化合物 | pH  |      | 式 II |      | 式 III |       | 总杂质   |       |
|--------------|-----|------|------|------|-------|-------|-------|-------|
|              | 开始  | 1 个月 | 开始   | 1 个月 | 开始    | 1 个月  | 开始    | 1 个月  |
| 酒石酸          | 3.0 | 3.1  | 0.14 | 0.51 | 0.56  | 0.63  | 0.82  | 1.27  |
| 酒石酸          | 3.5 | 3.6  | 0.07 | 0.20 | 0.65  | 0.73  | 0.85  | 1.06  |
| 酒石酸          | 4.0 | 4.1  | 0.07 | 0.13 | 0.82  | 0.91  | 1.02  | 1.16  |
| 酒石酸          | 4.6 | 4.6  | 0.14 | 0.18 | 1.37  | 1.47  | 1.63  | 1.78  |
| 酒石酸          | 5.1 | 5.1  | 0.50 | 0.57 | 2.24  | 2.42  | 2.87  | 3.11  |
| 酒石酸          | 5.9 | 6.0  | 1.64 | 2.11 | 12.99 | 13.35 | 15.02 | 15.91 |
|              |     |      |      |      |       |       |       |       |
| 磷酸           | 3.1 | 3.1  | 0.11 | 0.42 | 0.64  | 0.71  | 0.88  | 1.26  |
| 磷酸           | 3.6 | 3.6  | 0.07 | 0.19 | 0.70  | 0.78  | 0.89  | 1.10  |
| 磷酸           | 4.2 | 4.2  | 0.08 | 0.14 | 0.91  | 1.00  | 1.11  | 1.27  |
| 磷酸           | 4.6 | 4.7  | 0.13 | 0.19 | 1.29  | 1.40  | 1.53  | 1.71  |
| 磷酸           | 5.1 | 5.1  | 0.25 | 0.34 | 2.44  | 2.56  | 2.80  | 3.03  |
| 磷酸           | 6.1 | 6.1  | 1.65 | 2.14 | 14.67 | 14.59 | 16.72 | 17.18 |
|              |     |      |      |      |       |       |       |       |
| 琥珀酸          | 3.1 | 3.1  | 0.12 | 0.43 | 0.55  | 0.63  | 0.79  | 1.19  |
| 琥珀酸          | 3.6 | 3.6  | 0.06 | 0.18 | 0.60  | 0.68  | 0.77  | 0.99  |
| 琥珀酸          | 4.0 | 4.1  | 0.06 | 0.11 | 0.77  | 0.86  | 0.95  | 1.09  |
| 琥珀酸          | 4.5 | 4.6  | 0.10 | 0.14 | 1.24  | 1.34  | 1.47  | 1.61  |
| 琥珀酸          | 5.0 | 5.1  | 0.28 | 0.35 | 2.83  | 2.94  | 3.23  | 3.42  |
| 琥珀酸          | 6.0 | 6.1  | 2.20 | 2.65 | 18.88 | 19.21 | 21.66 | 22.54 |
|              |     |      |      |      |       |       |       |       |
| 苹果酸          | 3.0 | 3.2  | 0.14 | 0.50 | 0.58  | 0.65  | 0.85  | 1.28  |
| 苹果酸          | 3.6 | 3.7  | 0.07 | 0.19 | 0.65  | 0.73  | 0.83  | 1.04  |
| 苹果酸          | 4.0 | 4.1  | 0.07 | 0.12 | 0.82  | 0.91  | 1.01  | 1.16  |
| 苹果酸          | 4.5 | 4.6  | 0.11 | 0.16 | 1.31  | 1.44  | 1.55  | 1.72  |
| 苹果酸          | 5.0 | 5.1  | 0.31 | 0.38 | 3.03  | 3.04  | 3.46  | 3.54  |

[0180]

|     |     |     |       |      |       |       |       |       |
|-----|-----|-----|-------|------|-------|-------|-------|-------|
| 苹果酸 | 6.1 | 6.1 | 2.17  | 2.66 | 17.79 | 18.17 | 20.54 | 21.49 |
|     |     |     |       |      |       |       |       |       |
| 无   | 3.2 | 3.3 | 0.09  | 0.30 | 0.52  | 0.59  | 0.73  | 1.02  |
| 无   | 3.7 | 3.8 | <0.05 | 0.14 | 0.57  | 0.66  | 0.69  | 0.92  |
| 无   | 4.8 | 5.5 | 0.09  | 0.23 | 1.07  | 1.36  | 1.27  | 1.72  |
| 无   | 5.1 | 5.5 | 0.27  | 0.37 | 2.52  | 2.51  | 2.91  | 3.02  |
| 无   | 5.6 | 5.7 | 0.28  | 0.59 | 2.45  | 2.53  | 2.86  | 3.24  |
| 无   | 5.5 | 5.8 | 0.45  | 0.84 | 3.78  | 4.52  | 4.35  | 5.54  |

[0181] 表 8: 储存时间开始和 2 个月后市 II 和式 III 的水平; 通过 HPLC 测量值并以 % 为单位给出。

[0182]

| 酸性反应性<br>化合物 | pH  |      | 式 II |      | 式 III |       | 总杂质   |       |
|--------------|-----|------|------|------|-------|-------|-------|-------|
|              | 开始  | 2 个月 | 开始   | 2 个月 | 开始    | 2 个月  | 开始    | 2 个月  |
| 酒石酸          | 3.0 | 3.0  | 0.14 | 0.97 | 0.56  | 0.73  | 0.82  | 1.82  |
| 酒石酸          | 3.5 | 3.5  | 0.07 | 0.36 | 0.65  | 0.85  | 0.85  | 1.33  |
| 酒石酸          | 4.0 | 4.0  | 0.07 | 0.20 | 0.82  | 1.06  | 1.02  | 1.37  |
| 酒石酸          | 4.6 | 4.5  | 0.14 | 0.22 | 1.37  | 1.62  | 1.63  | 1.97  |
| 酒石酸          | 5.1 | 5.0  | 0.50 | 0.69 | 2.24  | 2.91  | 2.87  | 3.73  |
| 酒石酸          | 5.9 | 6.1  | 1.64 | 2.63 | 12.99 | 13.75 | 15.02 | 16.91 |
|              |     |      |      |      |       |       |       |       |
| 磷酸           | 3.1 | 3.0  | 0.11 | 0.82 | 0.64  | 0.81  | 0.88  | 1.76  |
| 磷酸           | 3.6 | 3.6  | 0.07 | 0.33 | 0.70  | 0.89  | 0.89  | 1.35  |
| 磷酸           | 4.2 | 4.2  | 0.08 | 0.20 | 0.91  | 1.11  | 1.11  | 1.44  |
| 磷酸           | 4.6 | 4.7  | 0.13 | 0.26 | 1.29  | 1.59  | 1.53  | 1.98  |
| 磷酸           | 5.1 | 5.1  | 0.25 | 0.46 | 2.44  | 2.67  | 2.80  | 3.25  |
| 磷酸           | 6.1 | 6.1  | 1.65 | 2.84 | 14.67 | 15.58 | 16.72 | 18.99 |
|              |     |      |      |      |       |       |       |       |
| 琥珀酸          | 3.1 | 3.0  | 0.12 | 0.81 | 0.55  | 0.72  | 0.79  | 1.67  |
| 琥珀酸          | 3.6 | 3.5  | 0.06 | 0.33 | 0.60  | 0.77  | 0.77  | 1.23  |
| 琥珀酸          | 4.0 | 4.0  | 0.06 | 0.18 | 0.77  | 0.96  | 0.95  | 1.26  |
| 琥珀酸          | 4.5 | 4.5  | 0.10 | 0.19 | 1.24  | 1.47  | 1.47  | 1.79  |
| 琥珀酸          | 5.0 | 5.0  | 0.28 | 0.45 | 2.83  | 3.16  | 3.23  | 3.74  |
| 琥珀酸          | 6.0 | 6.1  | 2.20 | 3.20 | 18.88 | 19.53 | 21.66 | 23.52 |
|              |     |      |      |      |       |       |       |       |
| 苹果酸          | 3.0 | 3.0  | 0.14 | 0.93 | 0.58  | 0.72  | 0.85  | 1.78  |
| 苹果酸          | 3.6 | 3.5  | 0.07 | 0.33 | 0.65  | 0.82  | 0.83  | 1.28  |
| 苹果酸          | 4.0 | 4.0  | 0.07 | 0.19 | 0.82  | 1.03  | 1.01  | 1.34  |
| 苹果酸          | 4.5 | 4.5  | 0.11 | 0.21 | 1.31  | 1.58  | 1.55  | 1.97  |

[0183]

|     |     |     |       |      |       |       |       |       |
|-----|-----|-----|-------|------|-------|-------|-------|-------|
| 苹果酸 | 5.0 | 5.0 | 0.31  | 0.47 | 3.03  | 3.24  | 3.46  | 3.83  |
| 苹果酸 | 6.1 | 6.1 | 2.17  | 3.31 | 17.79 | 18.73 | 20.54 | 22.82 |
|     |     |     |       |      |       |       |       |       |
| 无   | 3.2 | 3.2 | 0.09  | 0.56 | 0.52  | 0.67  | 0.73  | 1.36  |
| 无   | 3.7 | 3.8 | <0.05 | 0.28 | 0.57  | 0.77  | 0.69  | 1.18  |
| 无   | 5.1 | 5.4 | 0.27  | 0.69 | 2.52  | 2.97  | 2.91  | 3.79  |
| 无   | 4.8 | 5.8 | 0.09  | 0.62 | 1.07  | 1.76  | 1.27  | 2.50  |
| 无   | 5.6 | 5.9 | 0.28  | 0.71 | 2.45  | 2.62  | 2.86  | 3.46  |
| 无   | 5.5 | 6.0 | 0.45  | 1.05 | 3.78  | 4.24  | 4.35  | 5.52  |

[0184] 表 9 : 储存时间开始和 3 个月后市 II 和式 III 的水平 ; 通过 HPLC 测量值并以 % 为

单位给出。

[0185]

| 酸性反应性<br>化合物 | pH  |      | 式 II |      | 式 III |       | 总杂质   |       |
|--------------|-----|------|------|------|-------|-------|-------|-------|
|              | 开始  | 3 个月 | 开始   | 2 个月 | 开始    | 3 个月  | 开始    | 3 个月  |
| 酒石酸          | 3.0 | 3.0  | 0.14 | 1.37 | 0.56  | 0.81  | 0.82  | 2.30  |
| 酒石酸          | 3.5 | 3.5  | 0.07 | 0.50 | 0.65  | 0.94  | 0.85  | 1.56  |
| 酒石酸          | 4.0 | 4.0  | 0.07 | 0.26 | 0.82  | 1.20  | 1.02  | 1.63  |
| 酒石酸          | 4.6 | 4.6  | 0.14 | 0.27 | 1.37  | 1.76  | 1.63  | 2.15  |
| 酒石酸          | 5.1 | 5.1  | 0.50 | 0.78 | 2.24  | 3.06  | 2.87  | 3.95  |
| 酒石酸          | 5.9 | 6.0  | 1.64 | 3.24 | 12.99 | 14.16 | 15.02 | 18.01 |
|              |     |      |      |      |       |       |       |       |
| 磷酸           | 3.1 | 3.1  | 0.11 | 1.17 | 0.64  | 0.89  | 0.88  | 2.24  |
| 磷酸           | 3.6 | 3.6  | 0.07 | 0.46 | 0.70  | 0.99  | 0.89  | 1.57  |
| 磷酸           | 4.2 | 4.2  | 0.08 | 0.26 | 0.91  | 1.21  | 1.11  | 1.59  |
| 磷酸           | 4.6 | 4.7  | 0.13 | 0.34 | 1.29  | 1.69  | 1.53  | 2.20  |
| 磷酸           | 5.1 | 5.1  | 0.25 | 0.58 | 2.44  | 2.91  | 2.80  | 3.61  |
| 磷酸           | 6.1 | 6.0  | 1.65 | 3.44 | 14.67 | 16.22 | 16.72 | 20.33 |
|              |     |      |      |      |       |       |       |       |
| 琥珀酸          | 3.1 | 3.1  | 0.12 | 1.16 | 0.55  | 0.80  | 0.79  | 2.09  |
| 琥珀酸          | 3.6 | 3.5  | 0.06 | 0.46 | 0.60  | 0.86  | 0.77  | 1.44  |
| 琥珀酸          | 4.0 | 4.0  | 0.06 | 0.23 | 0.77  | 1.07  | 0.95  | 1.42  |
| 琥珀酸          | 4.5 | 4.5  | 0.10 | 0.24 | 1.24  | 1.62  | 1.47  | 1.98  |
| 琥珀酸          | 5.0 | 5.0  | 0.28 | 0.54 | 2.83  | 3.31  | 3.23  | 3.97  |
| 琥珀酸          | 6.0 | 6.0  | 2.20 | 3.70 | 18.88 | 19.85 | 21.66 | 24.44 |
|              |     |      |      |      |       |       |       |       |
| 苹果酸          | 3.0 | 3.0  | 0.14 | 1.33 | 0.58  | 0.80  | 0.85  | 2.32  |
| 苹果酸          | 3.6 | 3.6  | 0.07 | 0.47 | 0.65  | 0.92  | 0.83  | 1.51  |
| 苹果酸          | 4.0 | 4.0  | 0.07 | 0.24 | 0.82  | 1.12  | 1.01  | 1.49  |

[0186]

|     |     |     |       |      |       |       |       |       |
|-----|-----|-----|-------|------|-------|-------|-------|-------|
| 苹果酸 | 4.5 | 4.5 | 0.11  | 0.25 | 1.31  | 1.70  | 1.55  | 2.08  |
| 苹果酸 | 5.0 | 5.1 | 0.31  | 0.56 | 3.03  | 3.49  | 3.46  | 4.18  |
| 苹果酸 | 6.1 | 6.1 | 2.17  | 3.84 | 17.79 | 18.77 | 20.54 | 23.48 |
|     |     |     |       |      |       |       |       |       |
| 无   | 3.2 | 3.2 | 0.09  | 0.80 | 0.52  | 0.76  | 0.73  | 1.69  |
| 无   | 3.7 | 3.8 | <0.05 | 0.32 | 0.57  | 0.83  | 0.69  | 1.28  |
| 无   | 5.1 | 5.8 | 0.27  | 0.94 | 2.52  | 2.92  | 2.91  | 3.98  |
| 无   | 4.8 | 5.7 | 0.09  | 0.50 | 1.07  | 1.66  | 1.27  | 2.29  |
| 无   | 5.6 | 5.8 | 0.28  | 1.26 | 2.45  | 3.12  | 2.86  | 4.50  |
| 无   | 5.5 | 6.1 | 0.45  | 2.18 | 3.78  | 5.40  | 4.35  | 7.85  |

[0187] (2R, 3R)-2-(3-甲脒基-苄基)-3-[4-(1-氧化-吡啶-4-基)苯甲酰基氨基]-丁酸的水平随着较低/较高的 pH 增加较快,而 (2R, 3R)-2-(3-氨甲酰基-苄基)-3-[4-(1-氧化-吡啶-4-基)苯甲酰基氨基]-丁酸甲酯的水平在不同 pH 值是平行的,这表明随着储存时间的推移相同的斜率和增加比率。两种趋势都不依赖于所使用的酸性反应性化合物。

[0188] 实施例 10 依赖于柠檬酸和储存时间的杂质水平

[0189] 如实施例 9 中所述,制备含有 1mg/mL 奥米沙班的液体药物组合物。使用柠檬酸,浓度为 22.8mmol/L。使用氢氧化钠溶液(1M 氢氧化钠)或者稀盐酸(1M 盐酸)调节为适当的 pH。将所准备的小瓶高压灭菌一次并在 40℃和 75%RH(相对湿度)储存。

[0190] 如实施例 9 中所记载的,通过 HPLC 分析 (2R, 3R)-2-(3-甲脒基-苄基)-3-[4-(1-氧化-吡啶-4-基)苯甲酰基氨基]-丁酸(式 II)和 (2R, 3R)-2-(3-氨甲酰基-苄基)-3-[4-(1-氧化-吡啶-4-基)苯甲酰基氨基]-丁酸甲酯(式 III)的含量并显示在表 10 中。

[0191] 表 10:储存时间开始和 1 个月后市 II 和式 III 的水平;通过 HPLC 测量值并以 % 为单位给出。

[0192]

| 柠檬酸 | pH  |      | 式 II |      | 式 III |       | 总杂质   |       |
|-----|-----|------|------|------|-------|-------|-------|-------|
|     | 开始  | 1 个月 | 开始   | 1 个月 | 开始    | 1 个月  | 开始    | 1 个月  |
|     | 3.0 | 3.1  | 0.15 | 0.55 | 0.58  | 0.65  | 0.87  | 1.33  |
|     | 3.6 | 3.6  | 0.08 | 0.22 | 0.62  | 0.70  | 0.83  | 1.06  |
|     | 4.0 | 4.1  | 0.06 | 0.13 | 0.77  | 0.91  | 0.98  | 1.17  |
|     | 4.6 | 4.6  | 0.11 | 0.15 | 1.25  | 1.39  | 1.51  | 1.75  |
|     | 5.1 | 5.1  | 0.32 | 0.40 | 3.12  | 3.28  | 3.57  | 3.80  |
|     | 6.1 | 6.1  | 2.78 | 3.25 | 23.43 | 23.87 | 27.12 | 28.16 |

[0193] 表 11:储存时间开始和 2 个月后市 II 和式 III 的水平;通过 HPLC 测量值并以 % 为单位给出。

[0194]

| 柠檬酸 | pH  |      | 式 II |      | 式 III |       | 总杂质   |       |
|-----|-----|------|------|------|-------|-------|-------|-------|
|     | 开始  | 2 个月 | 开始   | 2 个月 | 开始    | 2 个月  | 开始    | 2 个月  |
|     | 3.0 | 3.0  | 0.15 | 1.03 | 0.58  | 0.75  | 0.87  | 1.92  |
|     | 3.6 | 3.5  | 0.08 | 0.39 | 0.62  | 0.80  | 0.83  | 1.33  |
|     | 4.0 | 4.0  | 0.06 | 0.21 | 0.77  | 1.06  | 0.98  | 1.40  |
|     | 4.6 | 4.5  | 0.11 | 0.20 | 1.25  | 1.53  | 1.51  | 1.94  |
|     | 5.1 | 5.1  | 0.32 | 0.49 | 3.12  | 3.45  | 3.57  | 4.08  |
|     | 6.1 | 6.1  | 2.78 | 3.82 | 23.43 | 24.36 | 27.12 | 29.39 |

[0195] 表 12:储存时间开始和 3 个月后市 II 和式 III 的水平;通过 HPLC 测量值并以 % 为单位给出。

[0196]

| 柠檬酸 | pH  |      | 式 II |      | 式 III |       | 总杂质   |       |
|-----|-----|------|------|------|-------|-------|-------|-------|
|     | 开始  | 3 个月 | 开始   | 3 个月 | 开始    | 3 个月  | 开始    | 3 个月  |
|     | 3.0 | 3.0  | 0.15 | 1.48 | 0.58  | 0.82  | 0.87  | 2.43  |
|     | 3.6 | 3.5  | 0.08 | 0.55 | 0.62  | 0.90  | 0.83  | 1.58  |
|     | 4.0 | 4.0  | 0.06 | 0.27 | 0.77  | 1.12  | 0.98  | 1.53  |
|     | 4.6 | 4.5  | 0.11 | 0.26 | 1.25  | 1.68  | 1.51  | 2.13  |
|     | 5.1 | 5.1  | 0.32 | 0.59 | 3.12  | 3.69  | 3.57  | 4.41  |
|     | 6.1 | 6.1  | 2.78 | 4.37 | 23.43 | 24.52 | 27.12 | 30.23 |

[0197] 实施例 11 依赖于酸性反应性化合物、pH 和重复高压灭菌的杂质水平

[0198] 基本上如实施例 5 中所述,制备含有 1mg/mL 奥米沙班的液体药物组合物。不同于实施例 5 中所使用的柠檬酸一水合物和柠檬酸钠二水合物,使用酒石酸、琥珀酸、苹果酸、柠檬酸和磷酸,浓度为 22.8mMol/L。为了比较,还包括无酸性反应性化合物的样品。在所有样品(还包括“无”样品)中使用氢氧化钠溶液(1M 氢氧化钠)或者稀盐酸(1M 盐酸)调节为适当的 pH 值。将准备的小瓶高压灭菌一次并经终端灭菌两次。在  $\geq 15$  分钟 /  $\geq +121^{\circ}\text{C}$  的标准条件下在高压灭菌器中进行终端灭菌。

[0199] 如实施例 9 中所公开的,通过 HPLC 分析 (2R,3R)-2-(3-甲脒基-苄基)-3-[4-(1-氧化-吡啶-4-基)苯甲酰基氨基]-丁酸(式 II)和 (2R,3R)-2-(3-氨甲酰基-苄基)-3-[4-(1-氧化-吡啶-4-基)苯甲酰基氨基]-丁酸甲酯(式 III)的含量并显示在表 13 和 14 中。

[0200] 表 13:高压灭菌开始和 1 次或者 2 次后式 II 的水平;通过 HPLC 测量值并以 % 为单位给出。

[0201]

| 酸性反应性<br>化合物 | pH/高压灭菌次数 |     |     | 式 II/高压灭菌次数 |      |      |
|--------------|-----------|-----|-----|-------------|------|------|
|              | 开始        | 1   | 2   | 开始          | 1    | 2    |
| 酒石酸          | 3.1       | 3.0 | 3.1 | <0.05       | 0.14 | 0.24 |
| 酒石酸          | 3.6       | 3.5 | 3.5 | <0.05       | 0.07 | 0.12 |
| 酒石酸          | 4.1       | 4.0 | 4.0 | <0.05       | 0.07 | 0.13 |
| 酒石酸          | 4.6       | 4.6 | 4.6 | <0.05       | 0.14 | 0.24 |
| 酒石酸          | 5.1       | 5.1 | 5.0 | 0.29 *      | 0.50 | 0.79 |
| 酒石酸          | 6.0       | 5.9 | 5.9 | <0.05       | 1.64 | 2.94 |
|              |           |     |     |             |      |      |
| 磷酸           | 3.1       | 3.1 | 3.1 | <0.05       | 0.11 | 0.19 |
| 磷酸           | 3.7       | 3.6 | 3.6 | <0.05       | 0.07 | 0.12 |
| 磷酸           | 4.2       | 4.2 | 4.2 | <0.05       | 0.08 | 0.14 |
| 磷酸           | 4.7       | 4.6 | 4.7 | <0.05       | 0.13 | 0.24 |
| 磷酸           | 5.1       | 5.1 | 5.1 | <0.05       | 0.25 | 0.47 |
| 磷酸           | 6.1       | 6.1 | 6.0 | <0.05       | 1.65 | 2.95 |
|              |           |     |     |             |      |      |
| 琥珀酸          | 3.2       | 3.1 | 3.1 | <0.05       | 0.12 | 0.22 |
| 琥珀酸          | 3.7       | 3.6 | 3.6 | <0.05       | 0.06 | 0.11 |
| 琥珀酸          | 4.1       | 4.0 | 4.1 | <0.05       | 0.06 | 0.10 |
| 琥珀酸          | 4.6       | 4.5 | 4.5 | <0.05       | 0.10 | 0.18 |
| 琥珀酸          | 5.1       | 5.0 | 5.1 | <0.05       | 0.28 | 0.55 |
| 琥珀酸          | 6.0       | 6.0 | 6.0 | <0.05       | 2.20 | 3.79 |
|              |           |     |     |             |      |      |
| 苹果酸          | 3.1       | 3.0 | 3.1 | <0.05       | 0.14 | 0.24 |
| 苹果酸          | 3.6       | 3.6 | 3.6 | <0.05       | 0.07 | 0.12 |
| 苹果酸          | 4.1       | 4.0 | 4.1 | <0.05       | 0.07 | 0.11 |
| 苹果酸          | 4.6       | 4.5 | 4.6 | <0.05       | 0.11 | 0.22 |
| 苹果酸          | 5.1       | 5.0 | 5.1 | <0.05       | 0.31 | 0.60 |
| 苹果酸          | 6.1       | 6.1 | 6.0 | <0.05       | 2.17 | 3.81 |
|              |           |     |     |             |      |      |
| 柠檬酸          | 3.0       | 3.0 | 3.1 | <0.05       | 0.15 | 0.28 |
| 柠檬酸          | 3.6       | 3.6 | 3.6 | <0.05       | 0.08 | 0.13 |
| 柠檬酸          | 4.0       | 4.0 | 4.1 | <0.05       | 0.06 | 0.11 |
| 柠檬酸          | 4.6       | 4.6 | 4.6 | <0.05       | 0.11 | 0.19 |
| 柠檬酸          | 5.1       | 5.1 | 5.1 | <0.05       | 0.32 | 0.60 |
| 柠檬酸          | 6.1       | 6.1 | 6.1 | <0.05       | 2.78 | 4.64 |

[0202]

|   |     |     |     |       |       |      |
|---|-----|-----|-----|-------|-------|------|
|   |     |     |     |       |       |      |
| 无 | 3.2 | 3.2 | 3.3 | <0.05 | 0.09  | 0.12 |
| 无 | 3.7 | 3.7 | 3.8 | <0.05 | <0.05 | 0.09 |
| 无 | 5.1 | 5.1 | 6.4 | <0.05 | 0.27  | 0.53 |
| 无 | 4.8 | 4.8 | 5.6 | <0.05 | 0.09  | 0.18 |
| 无 | 5.6 | 5.6 | 5.9 | <0.05 | 0.28  | 0.60 |
| 无 | 5.5 | 5.5 | 5.7 | <0.05 | 0.45  | 0.96 |

[0203] < 表示小于 \* 偏离数据 (outlying data)

[0204] 表 14: 高压灭菌开始和 1 次或者 2 次后式 III 的水平 ; 通过 HPLC 测量值并以 % 为单位给出。

[0205]

| 酸性反应性<br>化合物 | pH/高压灭菌次数 |     |     | 式 III/高压灭菌次数 |       |       |
|--------------|-----------|-----|-----|--------------|-------|-------|
|              | 开始        | 1   | 2   | 开始           | 1     | 2     |
| 酒石酸          | 3.1       | 3.0 | 3.1 | 0.20         | 0.56  | 0.96  |
| 酒石酸          | 3.6       | 3.5 | 3.5 | 0.20         | 0.65  | 1.14  |
| 酒石酸          | 4.1       | 4.0 | 4.0 | 0.20         | 0.82  | 1.56  |
| 酒石酸          | 4.6       | 4.6 | 4.6 | 0.21         | 1.37  | 2.60  |
| 酒石酸          | 5.1       | 5.1 | 5.0 | 0.27         | 2.24  | 5.09  |
| 酒石酸          | 6.0       | 5.9 | 5.9 | 0.21         | 12.99 | 23.93 |
|              |           |     |     |              |       |       |
| 磷酸           | 3.1       | 3.1 | 3.1 | 0.20         | 0.64  | 1.10  |
| 磷酸           | 3.7       | 3.6 | 3.6 | 0.20         | 0.70  | 1.26  |
| 磷酸           | 4.2       | 4.2 | 4.2 | 0.20         | 0.91  | 1.69  |
| 磷酸           | 4.7       | 4.6 | 4.7 | 0.20         | 1.29  | 2.60  |
| 磷酸           | 5.1       | 5.1 | 5.1 | 0.20         | 2.44  | 4.69  |
| 磷酸           | 6.1       | 6.1 | 6.0 | 0.21         | 14.67 | 26.71 |
|              |           |     |     |              |       |       |
| 琥珀酸          | 3.2       | 3.1 | 3.1 | 0.20         | 0.55  | 0.94  |
| 琥珀酸          | 3.7       | 3.6 | 3.6 | 0.20         | 0.60  | 1.04  |
| 琥珀酸          | 4.1       | 4.0 | 4.1 | 0.20         | 0.77  | 1.38  |
| 琥珀酸          | 4.6       | 4.5 | 4.5 | 0.21         | 1.24  | 2.32  |
| 琥珀酸          | 5.1       | 5.0 | 5.1 | 0.21         | 2.83  | 5.55  |
| 琥珀酸          | 6.0       | 6.0 | 6.0 | 0.21         | 18.88 | 32.58 |
|              |           |     |     |              |       |       |
| 苹果酸          | 3.1       | 3.0 | 3.1 | 0.20         | 0.58  | 0.94  |
| 苹果酸          | 3.6       | 3.6 | 3.6 | 0.20         | 0.65  | 1.10  |
| 苹果酸          | 4.1       | 4.0 | 4.1 | 0.20         | 0.82  | 1.43  |
| 苹果酸          | 4.6       | 4.5 | 4.6 | 0.20         | 1.31  | 2.55  |

[0206]

|     |     |     |     |      |       |       |
|-----|-----|-----|-----|------|-------|-------|
| 苹果酸 | 5.1 | 5.0 | 5.1 | 0.21 | 3.03  | 5.84  |
| 苹果酸 | 6.1 | 6.1 | 6.0 | 0.21 | 17.79 | 31.62 |
|     |     |     |     |      |       |       |
| 柠檬酸 | 3.0 | 3.0 | 3.1 | 0.20 | 0.58  | 0.97  |
| 柠檬酸 | 3.6 | 3.6 | 3.6 | 0.20 | 0.62  | 1.07  |
| 柠檬酸 | 4.0 | 4.0 | 4.1 | 0.20 | 0.77  | 1.41  |
| 柠檬酸 | 4.6 | 4.6 | 4.6 | 0.20 | 1.25  | 2.41  |
| 柠檬酸 | 5.1 | 5.1 | 5.1 | 0.21 | 3.12  | 6.01  |
| 柠檬酸 | 6.1 | 6.1 | 6.1 | 0.21 | 23.43 | 38.79 |
|     |     |     |     |      |       |       |
| 无   | 3.2 | 3.2 | 3.3 | 0.20 | 0.52  | 0.94  |
| 无   | 3.7 | 3.7 | 3.8 | 0.20 | 0.57  | 0.98  |
| 无   | 4.8 | 4.8 | 5.6 | 0.21 | 1.07  | 2.03  |
| 无   | 5.5 | 5.5 | 5.7 | 0.21 | 3.78  | 8.08  |
| 无   | 5.6 | 5.6 | 5.9 | 0.21 | 2.45  | 5.21  |
| 无   | 5.1 | 5.1 | 6.4 | 0.20 | 2.52  | 4.77  |

[0207] 式 III 的水平高于式 II 的水平并以与高压灭菌次数的线性依赖性增加。式 II 和式 III 的杂质水平取决于所测试液体药物组合物的 pH 值并且不取决于所使用的酸性反应性化合物。