



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106456654 A

(43)申请公布日 2017.02.22

(21)申请号 201580023235.5

(22)申请日 2015.05.01

(30)优先权数据

61/991,247 2014.05.09 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2016.11.04

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2015/028862 2015.05.01

(87)PCT国际申请的公布数据

W02015/171460 EN 2015.11.12

(71)申请人 奥罗医学制药有限公司

地址 美国新泽西州

(72)发明人 N·R·帕利普 P·C·巴克斯顿

(74)专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494

代理人 张平元

(51)Int.Cl.

A61K 31/664(2006.01)

权利要求书2页 说明书9页

(54)发明名称

环磷酰胺液体浓缩制剂

(57)摘要

公开了含有环磷酰胺的组合物(优选为溶液的形式),其具有延长的稳定性。所述组合物含有环磷酰胺、乙醇和可溶于乙醇的酸化剂例如柠檬酸。本发明的即时稀释型或即用型的含有环磷酰胺的组合物在约5℃的温度储存约18或24个月后保持高水平环磷酰胺含量。

1. 含有环磷酰胺的组合物,其具有延长的稳定性,该组合物包含:
 - a) 环磷酰胺;
 - b) 乙醇;和
 - c) 可溶于乙醇的酸化剂。
2. 权利要求1的含有环磷酰胺的组合物,其中所述组合物为溶液。
3. 权利要求2的含有环磷酰胺的组合物,其中所述可溶于乙醇的酸化剂为有机或无机酸。
4. 权利要求3的含有环磷酰胺的组合物,其中所述可溶于乙醇的酸化剂为柠檬酸或无水柠檬酸。
5. 权利要求2的含有环磷酰胺的组合物,其中环磷酰胺的浓度为约100至约600mg/ml。
6. 权利要求5的含有环磷酰胺的组合物,其中环磷酰胺的浓度为约200至约550mg/ml。
7. 权利要求6的含有环磷酰胺的组合物,其中环磷酰胺的浓度为约200或约400mg/ml。
8. 权利要求2的含有环磷酰胺的组合物,其中所述环磷酰胺为环磷酰胺一水合物。
9. 权利要求2的含有环磷酰胺的组合物,其中所述柠檬酸以如下的量存在:约0.2至约2.0%W/V。
10. 权利要求9的含有环磷酰胺的组合物,其中所述柠檬酸以如下的量存在:约0.4至约0.8%W/V。
11. 权利要求10的含有环磷酰胺的组合物,其中所述柠檬酸以如下的量存在:约0.4至约0.6%W/V。
12. 权利要求1的含有环磷酰胺的组合物,其进一步包含氯离子源。
13. 权利要求1的含有环磷酰胺的组合物,其进一步包含抗氧化剂。
14. 权利要求13的含有环磷酰胺的组合物,其中所述抗氧化剂选自自由以下组成的组:硫代甘油,没食子酸丙酯,甲硫氨酸,半胱氨酸及其组合。
15. 权利要求14的含有环磷酰胺的组合物,其中所述抗氧化剂为硫代甘油。
16. 权利要求2的含有环磷酰胺的组合物,其中所述溶液在约5℃的温度储存约18个月后保持至少约95%的环磷酰胺含量。
17. 权利要求7的含有环磷酰胺的组合物,其中所述溶液在约5℃的温度储存约18个月后保持至少约97%的环磷酰胺含量。
18. 容器,其中包含权利要求1的含有环磷酰胺的溶液,且所述溶液中环磷酰胺的量范围为约0.1g至约4g。
19. 权利要求18的容器,其中所述溶液中环磷酰胺的量为约500mg、约1克或约2克。
20. 权利要求2的容器,其进一步包含药学上可接受的液体稀释剂,且所述含有环磷酰胺的溶液与液体稀释剂之比为约1:1至约1:100。
21. 权利要求20的容器,其中所述含有环磷酰胺的溶液与液体稀释剂之比为约1:25。
22. 权利要求20的容器,其中所述稀释剂选自自由以下组成的组:0.9%NaCl,注射用水(WFI),二分之一生理盐水,D₅W和D₅W/生理盐水。
23. 权利要求20的容器,其中所述稀释的含有环磷酰胺的溶液包括20mg/ml环磷酰胺,且溶液pH为约2至约5。
24. 在哺乳动物中治疗环磷酰胺反应性症状的方法,其包括向有此需要的哺乳动物通

过肠胃外途径给药有效量的药学上可接受的组合物,所述组合物含有药学上可接受的权利要求1的含有环磷酰胺的溶液。

环磷酰胺液体浓缩制剂

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求保护美国临时申请61/991,247 (提交于2014年5月9日)的优先权的权益,其内容以引用方式整体并入本文。

发明领域

[0003] 本发明涉及改良的环磷酰胺制剂及其制备方法。

[0004] 发明背景

[0005] 环磷酰胺是“2-[双(2-氯乙基)氨基]四氢-2H-1,3,2-氧氮磷杂环己烷-2-氧化物一水合物”的通用名称,该物质广泛用作抗肿瘤药物,化学上与氮芥相关。环磷酰胺是一类环状磷酸酯酰胺的一个实例,其公开并请求保护于美国专利3,018,302中(1962年1月23日授权),权利人为H.ArnoId等。环磷酰胺以商品名CYTOXAN销售。ENDOXAN和NEOSAR是环磷酰胺的类似药物制剂的其他商品名。市售环磷酰胺产品是环磷酰胺一水合物的无菌干燥混合物。

[0006] 尽管这些产品中所用环磷酰胺的晶体形式为一水合物,其为最易于分离和产生作用的形式,但同样存在无水形式。如本文所用,术语“环磷酰胺”一般指药物物质本身,无论晶体形式如何;术语“环磷酰胺一水合物”特指一水合物且术语“无水环磷酰胺”指无水形式。一水合物形式优选用于药学操作,因为无水形式在约25℃、暴露于约20-30%或更高的相对湿度时易于吸水,从而形成一水合物。尽管一水合物是稳定的,然而在干燥条件下(例如相对湿度为约20%或更小),一水合物开始失去水合物中的水,其可能在生产过程中降低稳定性。无水形式和一水合物形式之间的内在转化可能部分地导致稳定性方面的局限性,因此建议环磷酰胺产品的存储温度不超过30℃(86°F),且优选储存于约25℃(77°F)或更低的温度。

[0007] 目前,环磷酰胺的肠胃外给药制剂由无菌包装的充满环磷酰胺一水合物的干燥粉末组成。在给药前将无菌粉末溶解于水或生理盐水中,其可口服以及肠胃外施用。在制备好之后意在将溶液本身迅速给药,但在制备好之后多至几小时的时间里使用更令人满意。在生产 and/或储存过程中,目前可得的干燥粉末制剂产品可得到玻璃状或粘着的性质,使得产生溶解时间延长、效能下降的不期望的物质。随着存储时间延长,或者若超过了存储温度的上限,这一恶果将变得更显著。

[0008] 无菌固体溶解的通常操作是在容器中使用经升温的适当的水性载体,从而促进溶解过程,特别是当固体溶解缓慢时。D.Brooke等报道了一项研究,其中检验了简单加热环磷酰胺溶液的效果(American Journal of Hospital Pharmacy,32:44-45(1975))。该研究的结论是,在加入水性载体后为了促进溶解对环磷酰胺的小瓶进行加热可能导致最终可注射产品的效能下降。总之,稳定性的局限性和溶解的困难性经常可能导致在临床上使用有效性降低的环磷酰胺溶液。

[0009] 发明概述

[0010] 因此,本发明的一个目标是提供含有环磷酰胺的液体组合物,其具有改良的稳定

性特征以及改善的外观,同时保持适于用作药物剂型的效能。

[0011] 本发明包括含有环磷酰胺的组合物,例如药学上可接受的含有环磷酰胺的溶液,其具有延长的稳定性。所述组合物包括:a)环磷酰胺;b)乙醇;和c)可溶于乙醇的酸化剂。

[0012] 本发明的一些优选方面包括溶剂系统,其包括含有乙醇和其他赋形剂例如柠檬酸、二水氯化钙或其组合的那些系统。

[0013] 发明详述

[0014] 如前文所述,本发明包括药学上可接受的含有环磷酰胺的组合物,优选为液体形式,其具有延长的稳定性。本发明一些宽泛的方面包括含有环磷酰胺的组合物,其包含环磷酰胺、乙醇和可溶于乙醇的酸化剂。优选地,含有环磷酰胺的组合物的形式为基本上无水的乙醇溶液,其易于即时稀释和给药至有此需要的患者。

[0015] 本发明的组合物中所包含的环磷酰胺是该分子的药学上可接受的形式之一,例如环磷酰胺一水合物(美国药典)或环磷酰胺无水物。

[0016] 本发明的组合物中所包含的乙醇可为任何乙醇,优选满足美国或欧洲药典要求的乙醇。在本发明的特定方面中,乙醇是无水的。

[0017] 在一些实施方式中,本文所述组合物中包含的可溶于乙醇的酸化剂的pKa值小于5.0。在诸多方面中,所述可溶于乙醇的酸化剂为有机或无机酸,其适于被加入肠胃外组合物中。例如,适当的酸包括但不限于有机酸(例如琥珀酸、乙酸、乳酸和酒石酸)和无机酸(例如磷酸、硫酸、盐酸和硝酸)。在一些优选的方面中,组合物中包括的酸化剂为无水形式。一个特别优选的酸化剂为无水柠檬酸。在替代性方面中,酸化剂可包括缓冲剂例如药学上可接受的缓冲剂,其包括但不限于以下缓冲剂:例如柠檬酸盐缓冲剂、磷酸盐缓冲剂、乙酸盐缓冲剂、硫酸缓冲剂和基于HCl的缓冲剂。通常,组合物中所包含的可溶于乙醇的酸化剂的量足以在稀释于静脉注射液中(环磷酰胺浓度为20mg/ml)时使溶液pH保持在约3至约4之间。

[0018] 在本发明的一些方面中,在稀释至给药患者的体积之前,可溶于乙醇的酸化剂的充足的量范围将为所述组合物的约0.2至约2%W/V。在一些方面中,酸化剂的量为1.0至1.8%W/V,优选约1.6%。替代性的方面包括量为约0.4至约0.8%W/V、和量为约0.4至约0.6%W/V。在此说明,这可相当于可溶于乙醇的酸化剂在所述组合物的浓度为约1至约8mg/ml、约2至约6或约2至约4mg/ml(稀释至给药患者的体积之前)。出于例示的目的,含有200mg/ml环磷酰胺的组合物可含有约4mg/ml柠檬酸,而含有400mg/ml环磷酰胺的组合物可含有约8mg/ml柠檬酸。因此,该乙醇组合物中药物与酸化剂的适当的比可为50mg药物:1mg酸化剂。本领域普通技术人员理解,可溶于乙醇的酸化剂的充足的量可在一定程度上取决于所选酸化剂而变化。尽管所需要的量通常在上述范围之内,但本领域普通技术人员也能够确定任何酸化剂的具体量。

[0019] 在本发明的溶液中,在稀释和给药于患者之前,环磷酰胺的浓度在诸多方面中为约100至约600mg/ml,或为约250至约550mg/ml。在其他优选实施方式中,环磷酰胺浓度为约200、400或500mg/ml。本发明的这些方面通常用于储存的目的。如本领域普通技术人员所能够理解,在静脉注射或肠胃外给药至有此需要的患者之前,所述高浓度的基于醇的组合物通常将经历显著的稀释。

[0020] 在进一步实施方式中,本发明的含有环磷酰胺的溶液除了可溶于乙醇的稳定剂还

包括氯离子源,或者所述离子源本身即作为可溶于乙醇的稳定剂。所包含的含量足以达到环磷酰胺的期望的长期储存稳定效果。在诸多实施方式中,稳定剂的量在即时稀释组合物中为约1至约5mg/ml。适当的氯离子源为包含含氯盐的氯离子源,例如二水氯化钙。替代选项包括但不限于:氯化胆碱和六水氯化镁。本领域普通技术人员显然了解替代选项。

[0021] 药学上可接受的含有环磷酰胺的溶液还可包括抗氧化剂,例如硫代甘油,没食子酸丙酯,甲硫氨酸,半胱氨酸及其组合。硫代甘油是优选的抗氧化剂。本发明的组合物中抗氧化剂的可用浓度的范围约为1至约8mg/ml。

[0022] 本文所述的含有环磷酰胺的组合物即溶液的保存期显著延长。在本发明的特定方面,在约5℃的温度约18个月后,含有环磷酰胺的溶液保持至少约90%或约95%的环磷酰胺含量,且替代性地至少保持约97%的环磷酰胺含量。伴随这些优势,本文请求保护的组合物能够与目前在售的产品相区别,因为本发明的液体制剂不需要30分钟的溶解时间,且能够直接溶解于含环磷酰胺的小瓶中达到20mg/ml的浓度,或溶解于输注袋中。

[0023] 在本发明一些替代性的方面中,本发明的组合物包括补充的增溶剂,例如丙二醇,含量为约5至约30% v/v。在这些替代性的方面中,即时稀释组合物中乙醇的量将为至少约70% v/v或约80% v/v。根据本发明这一方面的一个适当的溶剂系统提供了环磷酰胺组合物,其含有约70%乙醇,约30%丙二醇,和约0.5%硫代甘油。

[0024] 本发明进一步包括药学上可接受的容器,其含有本文所述的药学上可接受的含有环磷酰胺的溶液。该容器可为单次使用或多次使用的小瓶,含有一或多个通常剂量的药物。一般来说,容器将包括含有约0.1g至约4g药物的环磷酰胺溶液。本发明的一些其他方面包括容器,其中在乙醇中含有约500mg,约1克或约2克的环磷酰胺,且即时稀释于含此药物的静脉注射液小瓶中。例如,含有500mg环磷酰胺的容器或小瓶可包括约2.5ml所述组合物,环磷酰胺浓度为200mg/ml,且包括用于稀释剂的空间。类似地,设计为装载1或2克环磷酰胺的容器将含有约5ml或10ml的本文所述的200mg/ml环磷酰胺组合物,且当浓度为400或500mg/ml时其体积按比例缩小,即装载2克环磷酰胺的容器还可用于制备:5ml本文所述的400mg/ml环磷酰胺组合物。或者,也涵盖装有1、2或4ml的500mg/ml组合物的容器,任选在其中具有用于稀释的空间。

[0025] 使用中,该容器或者允许向其中加入稀释剂,或者被设计为允许达到剂量被抽取出来(drawn up)并置于适当的更大体积的袋或其他容器中的需求。在上述任一种情况下,容器将允许稀释本文所述的高浓度溶液。适当的稀释剂包括普通技术人员公知的稀释剂,例如生理盐水(0.9%NaCl水溶液),注射用水(WFI),二分之一生理盐水(0.45%NaCl水溶液),D₅W和D₅W/生理盐水,等等。

[0026] 环磷酰胺浓缩液可以500mg的规格(strength)充入25或30cc小瓶中,以1g的规格充入50cc小瓶中,和以1g的规格充入100cc小瓶中。可向其中加入合适量的稀释剂或输注液,以得到最终为20mg/ml的环磷酰胺浓度,用于直接输注。下表总结了自不同浓缩液来制备20mg/ml环磷酰胺所需的填充体积和稀释剂。

[0027] 表A:对于不同浓度的环磷酰胺浓缩液,制备20mg/ml环磷酰胺浓度所需要的填充体积和稀释剂

	浓度	填充体积 (mL)			所加入稀释剂的量(mL)		
		500mg	1g	2g	500mg	1g	2g
[0028]	200mg/ml	2.5	5	10	22.5	45	90
	375mg/ml	1.33	2.67	5.33	23.67	47.33	94.67
	400mg/ml	1.25	2.5	5	23.75	47.5	95
	500mg/ml	1	2	4	24	48	96

[0029] 该溶液可进一步稀释于静脉注射袋中以得到2mg/ml溶液,用于缓慢静脉输注。

[0030] 当给药至患者时,液体中的环磷酰胺的浓度将根据患者的需要而变化。一些适于给药患者的浓度包括20mg/ml或2mg/ml。药物与液体稀释剂之比可为约1:1至约1:100。

[0031] 本发明还包括治疗哺乳动物环磷酰胺反应性症状的方法。所述方法包括向有此需要的哺乳动物给药有效量的药学上可接受的组合物,其含有药学上可接受的含有环磷酰胺的溶液。药物的量和给药频率对于普通技术人员是明显的。申请人以引用方式向本文中并入FDA批准的环磷酰胺产品包装说明书文件。

[0032] 出于本发明的目的,在溶液中“维持环磷酰胺含量”应理解为环磷酰胺的量含量(例如在约5℃的温度经约18个月)与初始含量的比较,所述含量通过高效液相色谱(“HPLC”)确定。因此,损失的药物量是基于所述组合物或制剂中存在环磷酰胺的原始量来计算的。

实施例

[0033] 实施例1-比较实施例

[0034] Alam等在美国专利4,879,286公开了环磷酰胺溶液,用于肠胃外或口服给药。该制剂包括环磷酰胺,溶解于含有有机溶剂(例如多元醇,优选丙二醇、聚乙二醇或甘油,或其组合)的溶液中。其稳定性数据表明基于多元醇的非水制剂不具有足以达到FDA批准要求的稳定性。

[0035] 为了与Alam等的工作进行比较,使用丙二醇、聚乙二醇和注射用水的不同组合制备了11种制剂,用作包括本申请所作工作在内的比较实施例。这些制剂中的环磷酰胺浓度自5mg/ml至100mg/ml变化。所测试的制剂及其稳定性数据列于下面的表1、表2和表3中。

[0036] 表1:环磷酰胺制剂

[0037]

溶剂	溶剂的量(%) / 制剂 #										
制剂 #→	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
丙二醇	25		25		25		25		50	80	80
聚乙二醇										20	20
甘油		25	25			25	25		50		
水	75	75	50	100	75	75	50	100			
环磷酰胺(mg/ml)	5	5	5	5	20	20	20	20	20	20	100

[0038] 表2:制剂1-11在室温的稳定性

[0039]

制剂	相对于初始的百分比 (周)			
	初始	1	2	9
1	100	83.5	71.7	
2	100	80.8	70.2	
3	100	84.8	73.7	
4	100	81.4	69.6	
5	100	83.3	72.2	
6	100	81.5	70.1	
7	100	85.6	76.1	
8	100	81.8	70.5	0.1
9	100	97.6	94.1	74.4
10	100	98.9	97.1	86.6
11	100	96.7	88.0	

[0040] 表3:制剂8-11在4℃的稳定性

[0041]

制剂	相对于初始的百分比 (周)					
	初始	1	2	9	11	15
8	100	97.7	95.0		87.0	70.8
9	100	99.4	99.3		96.2	
10	100	99.2	98.5		98.7	
11	100		99.4	97.3		

[0042] 制剂1至8含有变化量的水。数据表明,在水的存在时降解水平增加。类似于前述美国专利4,879,286中的制剂,制剂9-11完全是基于有机溶剂的制剂,且在室温储存时也显示显著的降解。甚至在冷藏条件下也观察到降解。例如制剂11在4℃储存9周时显示约2.7%的效力损失,这表明在4℃储存一年后将观察到大于10%的效力损失。这样的降解水平是市售产品所不能接受的。此外,环磷酰胺以20mg/mL的浓度给药(例如在制剂9-11中)是十分高渗性的,将导致患者溶血或其他血液不相容性,例如静脉炎。因此,这些制剂不适于用作肠胃外产品。

[0043] 同样研究了乙醇/PEG 400,乙醇/丙二醇和PEG 400/丙二醇混合物(含和不含柠檬酸)中500mg/mL环磷酰胺的溶液稳定性。对于很多组合而言,溶液稳定性不能满意,因为即使在5℃储存时溶液颜色也常常变黄并出现效力损失。一些溶液在5℃储存一个月后变得混浊。各种混合溶剂的组合中的环磷酰胺溶液的长期稳定性数据(18个月)总结于表4中。

[0044] 表4:环磷酰胺(500mg/mL)在混合溶剂中18个月的稳定性(储存于5℃)

[0045]

溶剂组合	浓度(mg/ml)	相对于 初始的 百分比	外观
乙醇: PG (50:50)	381.2	77.8	混浊
PEG 400: PG (50:50)	329.9	67.8	混浊
乙醇: PEG 400 (50:50)	未分析		混浊
PEG 400: PG (90:10)	未分析		混浊
乙醇: PG (50:50), 含 CA (8 mg/ml)	396.3	79.9	混浊
PEG 400: PG (50:50), 含 CA (8 mg/ml)	328.3	66.5	混浊
乙醇: PEG 400 (50:50), 含 CA (8 mg/ml)	427.7	82.3	混浊
PEG 400: PG (90:10), 含 CA (8 mg/ml)	未分析		混浊
乙醇: PG (50:50), 含 TG (5 mg/ml)	451.6	90.7	澄清
PEG 400: PG (50:50), 含 TG (5 mg/ml)	未分析		混浊
乙醇: PEG 400 (50:50), 含 TG (5 mg/ml)	435.6	88.2	混浊

[0046] CA: 柠檬酸 TG: 硫代甘油

[0047] 为了提供适当的即时稀释型肠胃外制剂, 环磷酰胺的降解必须尽可能减少。理想状态下, 对于抗癌药物, 无论是18个月还24个月的储存期中, 降解优选不超过3-5%。

[0048] 实施例2

[0049] 由于环磷酰胺基本上是高度水溶性的药物, 且Alam等在美国专利4,879,286中测试了低的药物浓度, 因此预期有机溶剂可能将会限制可接受的肠胃外溶剂可得到的溶解度。

[0050] 在此实施例中, 进行了研究以确定环磷酰胺一水合物在药学上可接受的溶剂例如丙二醇、聚乙二醇和乙醇中的溶解度。惊奇地发现, 在上述每种溶剂中, 环磷酰胺一水合物的溶解度均超过了500mg/ml。制备500mg/ml溶液的优势在于, 当稀释以得到所需的适于静脉给药的20mg/ml环磷酰胺溶液时, 混合物中有机溶剂浓度小于约3%, 其对于静脉注射而言是安全的水平。

[0051] 由于这些溶剂提供了远远达到充分溶解水平的溶解度, 检测了环磷酰胺浓度为500mg/ml的溶液的稳定性。然而, 在纯溶剂中得到的研究数据不能令人满意。当使用PG和PEG 400作为单一溶剂时观察到显著的降解, 在所有温度条件下, 溶液均在视觉上颜色变黄。然而, 环磷酰胺在乙醇中的稳定性似乎显著地优于另两种溶剂, 且所得数据归纳于表5中。尽管显著优于前述Alam和美国专利4,879,286中部分含水溶液的数据, 单用乙醇的数据表明仍然难以获得具有可接受的降解水平的可市售产品。

[0052] 表5: 环磷酰胺(CPP)在乙醇中的液体浓缩液在25℃的稳定性

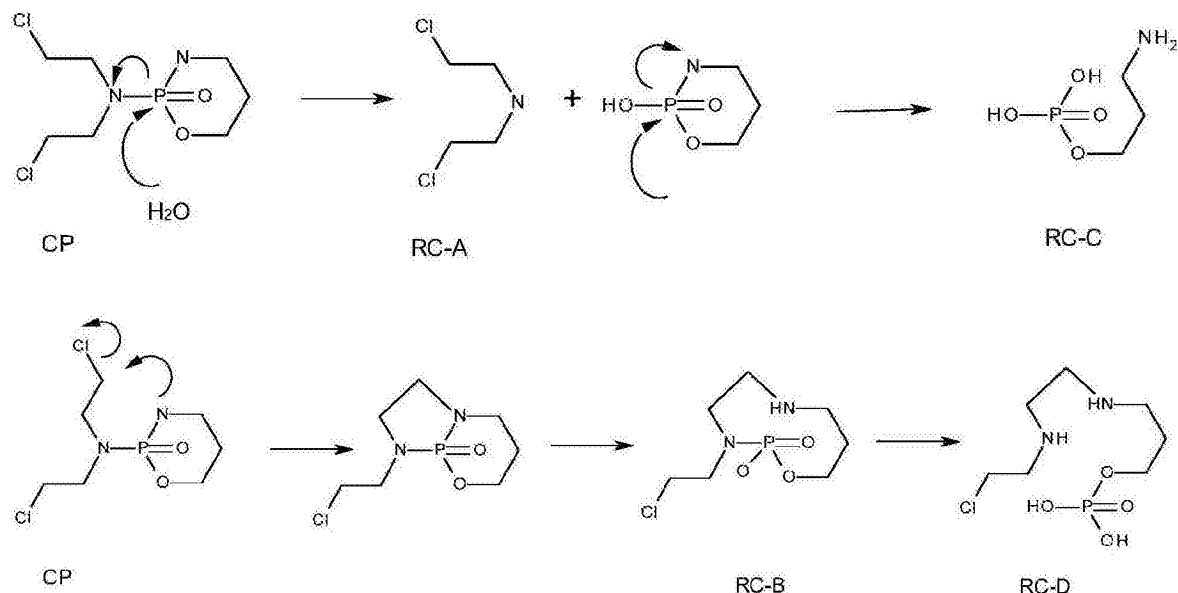
[0053]

存储时间	CPP含量 (mg/mL)	初始值的百分比
初始	454.6	100.0
1周	453.8	99.8
2周	453.6	99.8
3周	449.4	98.9
1个月	449.2	98.8

2个月	425.2	93.5
-----	-------	------

[0054] 为了进一步改善药物在乙醇中的稳定性,需要考虑环磷酰胺降解的化学过程。已知环磷酰胺在水中水解形成四个主要降解产物,其在美国药典专论中描述为“相关化合物A、B、C和D”。涉及相关化合物A和C(RC-A、RC-C)的直接水解以及相关化合物B和D(RC-B、RC-D)的HCl的内部置换的机理,最早由Friedman提出(J.Amer.Chem.Soc.1965,87,4978-9),然后由Gilard等进一步发展(J.Med.Chem.1994,37,3986-93),其概括如下:

[0055]



[0056] Gilard已报道,在适中的酸性pH,环磷酰胺在水中的稳定性是最好的。因此,测试了少量无水柠檬酸的效果,其可溶于乙醇中。此外,也测试了加入氯离子的效果,预期所加入的氯离子能够延迟环磷酰胺氯离子的消除。这一点通过加入可溶于乙醇的二水氯化钙来实现。结果示于表6中。

[0057] 表6:环磷酰胺(CPP)在含有柠檬酸和氯化钙的乙醇中的稳定性

[0058]

赋形剂	存储温度 °C	存储时间(月)	CPP含量 (mg/mL)	初始值的百分比
柠檬酸 2 mg/ml	初始		451.9	100.0
	25	1	448.0	99.1
		3	430.6	95.3
	15	6	437.9	96.9
	5	6	440.0	97.4
		18	451.6	99.9
	初始		425.3	100.0

[0059]

柠檬酸 4mg/ml	25	1	432.7	101.7
		3	413.8	97.3
	15	6	419.0	98.5
	5	6	420.0	98.8
		18	433.7	102.0
柠檬酸 6mg/ml	初始		453.2	100.0
	25	1	459.6	101.4
		3	431.4	95.2
	15	6	445.0	98.2
	5	6	446.0	98.4
		18	448.0	98.9
柠檬酸 8 mg/ml	初始		492.1	100.0
	25	1	491.0	99.8
		3	461.0	93.7
	15	6	467.9	95.1
	5	6	489.6	99.5
		18	NA	NA
柠檬酸 10mg/ml	初始		494.2	100.0
	25	1	493.6	99.9
		3	465.0	94.1
	15	6	465.3	94.2
	5	6	488.9	98.9
		18	473.3	95.8
二水氯化 钙 2mg/ml	初始		550.7	100
	25	1	551.1	100.1
		3	523.9	95.0
	15	6	542.5	98.5
	5	6	545.0	99.0
		18	545.8	99.1

[0060] 柠檬酸的加入提高了药物稳定性,在25℃储存3个月后药物含量最多保持97.3%;相比之下,不含柠檬酸的制剂在25℃储存2个月后只观察到保持93.5%的药物含量。

[0061] 氯化钙的存在也是有益的,显示额外的氯离子具有稳定效果。二水合物的存在似乎不会引起任何由于水解导致的变化,如同环磷酰胺的水合似乎不具有降低稳定性的作用一样。

[0062] 然后将样品储存于5℃保持30个月并进行分析。稳定性数据归纳于下表7中:

[0063] 表7:环磷酰胺乙醇溶液的长期稳定性(储存于5℃)

[0064]

环磷酰胺/柠檬酸的浓度	分析时间(月)	保持环磷酰胺的百分比
500/0	32	89.0
500/2	31	89.1
500/4	31	89.4
500/6	31	88.6
500/8	30	93.3

500/10	30	92.4
--------	----	------

[0065] 注：上述数据通过NMR分析生成。

[0066] 在5℃的更长时间的数据表明，超过18个月后，制剂的药物含量基本没有变化，例如参见含有4-6mg/mL柠檬酸的实施例样品，表明此类制剂的长期稳定性满足了市售产品的要求。

[0067] 实施例4-8

[0068] 在不同的浓度和不同尺寸的小瓶中对稳定性进行了测试，以观察乙醇的任何蒸发损失。稳定性数据见表8。

[0069] 表8

实施例 编号	CPP/CA	mg/小瓶	储存条件		% CPP	
					NMR	HPLC
4	375 / 4.5	2g/100cc 小瓶	25°C	3M	90.6	88.3
				6M	78.9	78.8
			15°C	6M	96.7	95.5
				3M	99.4	99.7
			5°C	6M	99.3	99.1
				3M	99.4	99.7
5	500 / 6.0	2g/10cc 小瓶	25°C	3M	87.8	86.7
				6M	74.5	74.7
			15°C	6M	95.7	95.4
				3M	99.3	100.5
			5°C	6M	98.6	98.6
				3M	99.3	100.5
6	200 / 2.4 (1g)	1g/50cc 小瓶	25°C	3M	95.8	96.8
				6M	88.4	89.6
			15°C	6M	97.7	97.2
				3M	99.7	99.4
	200 / 2.4 (500mg)	500mg/25cc	25°C	6M	99.6	100.2
				6M	88.2	88.2
7	200 / 6.0	500mg/25cc 小瓶	5°C	6M	99.5	99.4
				3 M	95.6	96.7
			25°C	6M	87.5	86.6
				3 M	99.9	101.5
			5°C	6M	99.7	100.5
				3 M	99.9	101.5
8	375 / 6.0	1g/50cc 小瓶	25°C	3 M	92.3	93.5
				6M	79.8	81.5
			5°C	3 M	99.4	101.1
				6M	99.3	100.6

[0072] 在所有储存条件和时间点，在任何塞好的小瓶中都没有观察到由于乙醇蒸发造成的重量损失。