



## (12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 110709061 B

(45) 授权公告日 2023.09.08

(21) 申请号 201880036611.8

A61K 47/16 (2006.01)

(22) 申请日 2018.05.31

A61K 47/20 (2006.01)

(65) 同一申请的已公布的文献号

A61K 47/22 (2006.01)

申请公布号 CN 110709061 A

A61K 9/08 (2006.01)

(43) 申请公布日 2020.01.17

A61K 31/5513 (2006.01)

(30) 优先权数据

62/514,474 2017.06.02 US

## (56) 对比文件

CN 1558755 A, 2004.12.29

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

CN 103619338 A, 2014.03.05

2019.12.02

CN 101437478 A, 2009.05.20

(86) PCT国际申请的申请数据

CN 101815713 A, 2010.08.25

PCT/US2018/035473 2018.05.31

US 5919485 A, 1999.07.06

(87) PCT国际申请的公布数据

WO 2006040038 A1, 2006.04.20

W02018/222922 EN 2018.12.06

CN 105392469 A, 2016.03.09

(73) 专利权人 XERIS药物公司

WO 2009046444 A2, 2009.04.09

地址 美国伊利诺斯州

US 2009156562 A1, 2009.06.18

(72) 发明人 史蒂夫·J·普莱斯特斯基

AU 2004267882 A1, 2005.03.10

迈克尔·A·桑多瓦尔

EP 2030610 A1, 2009.03.04

布莱恩·R·斯洛特

MX 2010001911 A, 2010.05.13

(74) 专利代理机构 北京柏杉松知识产权代理事

CN 101842079 A, 2010.09.22

务所(普通合伙) 11413

CN 104394848 A, 2015.03.04

专利代理人 邱俊霞 刘继富

CN 103796656 A, 2014.05.14

(51) Int.Cl.

US 2016000803 A1, 2016.01.07

A61K 9/00 (2006.01)

US 2006211982 A1, 2006.09.21

A61K 47/14 (2006.01)

焦成美,等.鼻腔给药地西泮微乳的制备及

性质考察.《中国药剂学杂志》.2008,

审查员 马蕊华

权利要求书2页 说明书19页 附图3页

(54) 发明名称

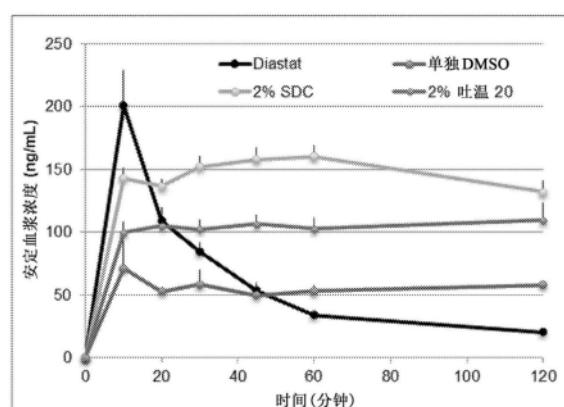
抗沉淀的小分子药物制剂

(57) 摘要

本发明的实施方案涉及当以高度浓缩的制剂施用时提供解决注射部位小分子(例如安定)沉淀问题的制剂。在某些方面,制剂在非水性制剂中包含至少一种表面活性剂,其防止小分子沉淀并通过增强进入体循环的吸收来改善药物的生物利用度。

CN

B



1. 一种用于肠胃外注射的稳定的抗沉淀液体制剂, 其包含:

(a) 生物相容的非水性非质子极性溶剂, 选自二甲基亚砜、二甲基甲酰胺、乙酸乙酯、N-甲基吡咯烷酮、二甲基乙酰胺、碳酸亚丙酯或其混合物;

(b) 溶解在非水性非质子极性溶剂中的苯二氮草类或其盐; 和

(c) 2重量/重量%至30重量/重量%的表面活性剂, 选自脱氧胆酸钠、聚山梨酸酯80、聚山梨酸酯20、十二烷基麦芽糖昔和十二烷基硫酸钠;

其中当注射至对象时, 所述表面活性剂减弱苯二氮草类的沉淀; 和

其中所述表面活性剂以表面活性剂与苯二氮草类的摩尔比为0.5:1至4:1存在。

2. 根据权利要求1所述的制剂, 其中所述表面活性剂以表面活性剂与苯二氮草类的摩尔比为1:1至2:1存在。

3. 根据权利要求1至2中任一项所述的制剂, 其中液体制剂包含小于10重量%的水分含量。

4. 根据权利要求1至2中任一项所述的制剂, 其中肠胃外注射的液体制剂的体积为3mL或小于3mL。

5. 根据权利要求1至2中任一项所述的制剂, 其还被包含在用于分配所述制剂的装置内。

6. 根据权利要求5所述的制剂, 其中所述装置是注射器、笔式注射装置、自动注射器装置、外部或可植入的泵或灌注袋。

7. 根据权利要求1所述的制剂, 其中非质子极性溶剂是二甲基亚砜、N-甲基吡咯烷酮或其混合物。

8. 根据权利要求1至2中任一项所述的制剂, 其中液体制剂包含0.5mg/mL至750mg/mL的苯二氮草类。

9. 根据权利要求1至2中任一项所述的制剂, 其中肠胃外注射的液体制剂的体积为1μL至10μL。

10. 根据权利要求1至2中任一项所述的制剂, 其中肠胃外注射的液体制剂的体积为10μL至100μL。

11. 根据权利要求1至2中任一项所述的制剂, 其中肠胃外注射的液体制剂的体积为100μL至1mL。

12. 根据权利要求1所述的制剂, 其中所述苯二氮草类是安定。

13. 根据权利要求1所述的制剂, 其中液体制剂包含25mg/mL至300mg/mL的苯二氮草类。

14. 权利要求1至13中任一项所述的制剂在制备用于向有需要的对象施用的药物中的用途, 其中将制剂肠胃外注射至该对象。

15. 根据权利要求14所述的用途, 其中肠胃外注射通过皮内注射进行。

16. 根据权利要求14或15所述的用途, 其中所述制剂在施用之前不被稀释。

17. 权利要求1所述的制剂在制备用于治疗或预防焦虑、肌肉痉挛或癫痫发作的药物中的用途, 其中向有此需要的对象肠胃外注射所述制剂。

18. 根据权利要求17所述的用途, 还包括在用于分配液体制剂的装置内的可注射体积。

19. 根据权利要求18所述的用途,其中所述装置是注射器、笔式注射装置、自动注射器装置、外部或可植入的泵或灌注袋。

20. 根据权利要求17所述的用途,其中液体制剂包含25mg/mL至300mg/mL的苯二氮䓬类。

21. 根据权利要求20所述的用途,其中所述苯二氮䓬类是安定。

22. 根据权利要求17所述的用途,其中肠胃外注射的液体制剂的体积为1μL至10μL。

23. 根据权利要求17所述的用途,其中肠胃外注射的液体制剂的体积为10μL至100μL。

24. 根据权利要求17所述的用途,其中肠胃外注射的液体制剂的体积为100μL至1mL。

25. 根据权利要求17至24中任一项所述的用途,其中液体制剂在施用之前不被稀释。

## 抗沉淀的小分子药物制剂

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2017年6月2日提交的序列号为62/514474的美国专利申请的优先权，该申请通过引用整体并入本文。

### 背景技术

#### A. 技术领域

[0003] 本发明总体上涉及药物制剂，更具体地，涉及具有改善的溶解度、稳定性和生物利用度的小分子药物的治疗制剂，以及使用这种药物制剂治疗各种疾病、病症和障碍的方法。

#### B. 相关技术说明

[0005] 尽管许多小分子药物可口服生物利用，但在药物口服生物利用度不足、患者不能口服药物或需要更快开始药物作用的情况下也使用肠胃外注射。例如，用于癫痫发作紧急治疗的苯二氮草类药物、用于过敏反应的儿茶酚胺类药物和用于偏头痛治疗的“曲坦类药物”的施用代表了口服施用并不有效或不可取的情况，因此，这些药物必须通过非口服途径施用，通常是肠胃外施用。

[0006] 制备含有小分子药物的制剂的标准惯例是开发用于肠胃外注射的水溶液。主要原因是人体的大部分由水构成，包括作为水环境的血浆。因此，施用与药物预期到达的环境所相容的药物制剂是自然趋势。然而，几种小分子药物在这样的水性环境中溶解度有限且稳定性差。通过在制剂中包括助溶剂和/或稳定剂以更有效地在水溶液中溶解和稳定小分子药物，至少部分地解决了该问题。

[0007] 通过安定可以看到肠胃外注射小分子药物相关的一些困难的一个例子。这种用于癫痫发作紧急治疗的药物因其水溶性差而发展受限。因此，当前可用的紧急治疗由直肠凝胶组成。还尝试开发基于水性制剂和助溶剂的大剂量（最多3mL）肌内注射剂（由于安定的溶解度较低，因此需要更大的剂量）。然而，由于难以向痉挛性患者进行深层的大剂量的肌内注射、以及这种大剂量所带来的疼痛，这种药物的开发受到了限制。

[0008] 此外，由于小分子药物在水性环境中的稳定性问题，当前产品通常以冻干粉的形式出售，冻干粉需要在注射前在水性载体中重新溶解。这样能够延长药物的保质期。有些产品甚至以液体形式出售，需要在注射之前用无菌水、磷酸盐缓冲液或等渗盐水进一步稀释。

[0009] 由于与治疗相关的苯二氮草类药物（例如安定）的水溶性有限，因此先前曾尝试了将这些药物配制成非水组合物。例如，美国专利8946208（Castile等人）描述了用于鼻内施用的组合物，其中小分子药物（例如安定）溶解在包含丙二醇和一种选自N-甲基吡咯烷酮（NMP）和二甲基亚砜（DMSO）的其他非水性溶剂的非水性载体中。Castile等人描述的用于鼻内施用的药物组合物可以是高度浓缩的，实施例中称安定的浓度范围高达200mg/mL，优选实施方案中的浓度为50mg/mL。Castile等人描述的鼻喷雾制剂无法解决药物施用至患者时遇到的水溶性差的问题，特别是当这种制剂作为高度浓缩的注射制剂施用至患者时出现的

生物利用度低的问题。

[0010] 另一个实例是如美国专利号9125805(专利'805)中所述的用于肠胃外注射的非水性小分子组合物。专利'805公开的组合物包括溶于非水性溶剂(包括DMSO和NMP)的浓缩安定制剂(例如50mg/mL和100mg/mL溶液),实施例描述了在加速储存条件下(40°C/75%相对湿度)优异的长期稳定性。然而,尽管这些制剂在储存于药物相关的容器封闭系统(例如小瓶、预充式注射器)中时可能表现出优异的长期稳定性,但是由于安定在生理pH下的极低水溶性,它们在注射到患者时表现出差的生物利用度,导致药物在注射部位沉淀。

[0011] 本申请中描述的技术基于Xeris制药公司的先前发现(例如,专利'805),该发现解决了许多小分子药物水溶性差和稳定性差的问题,从而能够开发使用非质子极性溶剂的可注射溶液。然而,尽管这些制剂对水溶性差的药物具有极好的溶解性,例如安定 $\geq 50\text{mg/mL}$ ,并在小瓶和预填充注射器中具有出色的长期储存稳定性,但由于药物在注射部位沉淀,注射后活性药物成分(API)的生物利用度极低。

[0012] 因此,仍然需要一种制剂来解决包括苯二氮草类在内的小分子的水溶性差和稳定性差的问题,同时在肠胃外施用于患者时提供高度浓缩的制剂的改善的生物利用度。

## 发明内容

[0013] 当以高度浓缩的制剂形式施用时,小分子(例如安定)在注射部位沉淀的问题通过在非水性制剂中包含至少一种表面活性剂来解决,这防止了小分子沉淀并通过增强药物在体循环中的吸收来改善药物的生物利用度。本发明提供了对如上所述在治疗应用中使用小分子药物所面临的当前问题的解决方案。该解决方案的前提是在非水性环境中溶解和稳定小分子药物,然后通过肠胃外施用直接将溶解的药物注射到患者,而无需在施用前进行重新溶解和/或稀释步骤。制剂可以是液体形式的。制剂制备后,可以将其保存更长的时间(甚至在注射装置中),并直接注射到对象(例如人)体内,而无需像当前产品那样重新溶解或稀释步骤。实际上,该解决方案与现行的行业标准相悖。在这方面,发明人的解决方案为药物提供了更稳定的环境,并为需要治疗的对象提供了更有效和高效的救生药物。重要的是,发明人的发现可广泛用于递送许多在水性环境中的稳定性和溶解性差或受限制的小分子药物,例如安定。

[0014] 本申请中描述的非水性载剂适合于制备用于皮内递送多种药物化合物的药物组合物。在给出当前描述的情况下,本领域普通技术人员可以确定特定的非质子极性溶剂体系是否适合与特定的药物组合使用。例如,这可以通过测量药物化合物在载剂中的溶解度来完成。可以通过向载剂中添加过量的药物并将混合物在室温下搅拌24小时来测试其溶解度。然后通过过滤或离心去除未溶解的药物,并通过适当的分析方法例如高效液相色谱(HPLC)对溶液中溶解的药物含量进行分析。

[0015] 不受理论的束缚,据信在非质子极性溶剂制剂中使用表面活性剂通过防止高浓度小分子(例如苯二氮草)制剂在注射到患者时的沉淀来改善生物利用度。特别地,据信表面活性剂通过将药物例如安定捕获在胶束中而提高了溶解度,使得在注射到水性环境中时,表面活性剂促进安定从注射部位扩散开,从而使安定能快速吸收和具有更高的生物利用度。在不使用表面活性剂的情况下,在生理pH下将高度浓缩的安定制剂注射到水性环境中

时,安定部分沉淀并缓慢地溶解和吸收。

[0016] 本发明的某些实施方案涉及用于肠胃外注射的稳定的抗沉淀制剂。所述制剂可包含(a)生物相容性非水性溶剂;(b)溶解在非水性溶剂中的小分子药物或其盐;(c)1重量/重量%、2重量/重量%、3重量/重量%、4重量/重量%、5重量/重量%、6重量/重量%、7重量/重量%、8重量/重量%、9重量/重量%、10重量/重量%、11重量/重量%、12重量/重量%、13重量/重量%、14重量/重量%、15重量/重量%至16重量/重量%、17重量/重量%、18重量/重量%、19重量/重量%、20重量/重量%、21重量/重量%、22重量/重量%、23重量/重量%、24重量/重量%、25重量/重量%、26重量/重量%、27重量/重量%、28重量/重量%、29重量/重量%、30重量/重量% (包括其间的所有值和范围)的表面活性剂,其中当注射到对象体内时,表面活性剂减弱小分子药物的沉淀。在某些方面,表面活性剂以表面活性剂与小分子药物的摩尔比为0.5:1至4:1或1:1至2:1存在。表面活性剂可以是脱氧胆酸钠、聚山梨酸酯80、聚山梨酸酯20、十二烷基麦芽糖昔、十二烷基硫酸钠、十四烷基硫酸钠、醇乙氧基化物、烷基二甲胺氧化物或烷基甜菜碱。在某些方面,液体制剂包含小于10重量%、9重量%、8重量%、7重量%、6重量%、5重量%、4重量%、3重量%、2重量%或1重量%的水分含量。权利要求1的制剂,其中肠胃外注射的液体制剂的体积为3mL或小于3mL。该制剂可以包括在用于分配制剂的装置内。在某些方面,该装置是注射器、笔式注射装置、自动注射器装置、外部或可植入的泵或灌注袋。生物相容性非水性溶剂可以是非质子极性溶剂、苯甲酸烷基酯或芳基酯溶剂、脂质溶剂、质子溶剂或其混合物。在某些方面,制剂包含非质子极性溶剂,并且其中所述非质子极性溶剂为二甲基亚砜(DMSO)、二甲基甲酰胺(DMF)、乙酸乙酯、N-甲基吡咯烷酮(NMP)、二甲基乙酰胺(DMA)、碳酸亚丙酯或其混合物。在特定方面,非质子极性溶剂是DMSO、NMP或其混合物。制剂还可以包括苯甲酸芳基酯或烷基酯溶剂,并且其中苯甲酸芳基酯或烷基酯溶剂是苯甲酸乙酯、苯甲酸苄酯或其混合物。制剂可包含0.5mg/mL、5mg/mL、10mg/mL、20mg/mL、40mg/mL、80mg/mL、160mg/mL、320mg/mL至350mg/mL、400mg/mL、450mg/mL、500mg/mL、550mg/mL、600mg/mL、650mg/mL、700mg/mL、750mg/mL(包括其间的所有值和范围)的小分子药物。在某些方面,肠胃外注射的液体制剂的体积为1μL至10μL、10μL至100μL或100μL至1mL。在某些方面,小分子药物是苯二氮草。在一个特定的方面,苯二氮草为安定。该制剂可以包含25mg/mL、50mg/mL、75mg/mL、100mg/mL、125mg/mL、150mg/mL至175mg/mL、200mg/mL、225mg/mL、250mg/mL、275mg/mL、300mg/mL(包括其间的所有值和范围)的苯二氮草。溶剂可以是但不限于DMSO、NMP或其混合物。

[0017] 某些实施方案涉及向有此需要的对象施用本发明的制剂的方法,包括将制剂肠胃外注射至该对象。在某些方面,注射是通过肠胃外注射或皮内注射进行的。在某些方面,在施用之前不稀释该制剂。

[0018] 本发明的其他实施方案涉及通过向有需要的对象肠胃外施用本发明所要求保护的制剂来治疗或预防病症的方法,该制剂具有一定量的有效治疗或预防所述病症的小分子药物。

[0019] 某些方面涉及用于治疗或预防焦虑、肌肉痉挛或癫痫发作的方法,该方法包括向有此需要的对象肠胃外施用苯二氮草制剂。该方法可以包括以在用于分配制剂的装置内的可注射体积施用制剂。该装置可以是注射器、笔式注射装置、自动注射器装置、外部或可植

入的泵或灌注袋。在某些方面，液体制剂包括25mg/mL至300mg/mL的苯二氮草。在一个特定的方面，苯二氮草为安定。肠胃外注射的液体制剂的体积可以是1μL至10μL、10μL至100μL或100μL至1mL。在某些方面，在施用前不稀释液体制剂。

[0020] 如本文所用，术语“苯二氮草类”是指包含双环核心单元的化合物的类别，其中苯环与二氮杂环稠合。苯二氮草类是广泛使用的亲脂性药物，作用于中枢神经系统，引起镇静作用、焦虑减轻、肌肉松弛和抗惊厥作用。苯二氮草类的非限制性实例包括安定、氯硝西泮、劳拉西泮、阿普唑仑、咪达唑仑和替马西泮。

[0021] 如本文所用，术语“表面活性剂”是指可以吸附到体系的表面和/或界面上并改变表面或界面自由能以及表面或界面张力的表面活性剂。表面活性剂的非限制性功能包括用作润湿剂、乳化剂、分散剂和助悬剂。表面活性剂是具有特征结构的单体两亲分子，该特征结构具有称为“尾部”的非极性(疏水)区域和称为“头部”的极性(亲水)区域。表面活性剂分子的疏水尾部通常由不饱和或饱和烃链或杂环或芳香环体系组成。表面活性剂分子的亲水头部是极性的，并且取决于表面活性剂的极性头部中存在的电荷基团，它们可以分类为非离子型、阳离子型、阴离子型或两性离子型(两性型)。如果分子的头部不带电荷基团，则表面活性剂为非离子型表面活性剂。如果极性头部上的电荷基团是正电荷，则该分子是阳离子型表面活性剂，而阴离子型表面活性剂在分子的极性头部上具有负电荷基团。两性离子型(或两性型)表面活性剂同时具有带正电荷和带负电荷的基团，并且取决于溶液的pH值，可以以阳离子型或阴离子型表面活性剂的形式存在。阴离子型表面活性剂的实例包括但不限于羧酸根、磷酸根、硫酸根和磺酸根离子。阴离子表面活性剂的非限制性实例是十二烷基硫酸钠(SDS)和十四烷基硫酸钠(STS)。阳离子表面活性剂的非限制性实例包括氯化烷基吡啶鎓和烷基三甲基溴化铵。非离子表面活性剂的实例包括但不限于醇乙氧基化物，而两性离子表面活性剂的非限制性实例包括烷基二甲胺氧化物和烷基甜菜碱。

[0022] 如本文所用，术语“溶解”是指在气体、固体或液体状态下的物质成为溶剂的溶质、溶解组分，在溶剂中形成气体、液体或固体的溶液的过程。在某些方面，治疗剂或赋形剂，例如电离稳定赋形剂，以直至其溶解度受限或完全溶解的量存在。术语“使溶解”是指将气体、液体或固体加入溶剂中以形成溶液。

[0023] 如本文所用，术语“赋形剂”是指与药物的活性成分或治疗成分(不是活性成分的成分)一起配制的天然或合成物质，用于稳定、填充，或者对最终剂型中的活性成分进行治疗性增强，例如促进药物吸收、降低黏度、提高溶解度、调节张力、减轻注射部位不适、降低凝固点或增强稳定性。赋形剂也可用于制造过程中，除了有助于体外稳定性例如防止在预期的保质期内变性或聚集之外，还例如通过促进粉末流动性或不黏特性来帮助处理有关活性物质。

[0024] 在本发明的上下文中，“小分子药物”是可以对对象带来期望的、有益的和/或药理作用的生物活性化合物(及其盐)。这些“小分子药物”是有机或无机化合物。因此，在本发明的上下文中，小分子药物不是聚合的化合物。通常，小分子药物的分子量小于约1000道尔顿。某些小分子药物“对水分敏感”，因为它们在水的存在下变得越来越不稳定。同样，可与小分子药物一起使用的盐是本领域技术人员已知的，包括与无机酸、有机酸、无机碱或有机

碱形成的盐。

[0025] 本文所用的“抑制”或“减少”或这些术语的任何变体包括实现期望结果的任何可测量的减少或完全的抑制。

[0026] 如本文所用,“有效”或“治疗”或“预防”或这些术语的任何变体意味着足以完成所需的、预期的或期望的结果。

[0027] 如本文所用,当提及治疗剂时,“化学稳定性”是指通过化学途径例如氧化和/或水解和/或断裂和/或其他化学降解途径产生的降解产物的可接受百分比。具体地,如果在预期的产品储存温度(例如室温)下储存一年;或者产品在25°C/60%相对湿度(RH)下储存一年;或者产品在40°C/75%相对湿度下储存一个月、优选三个月后形成不超过约20%的降解产物,那么认为制剂是化学稳定的。在一些实施方案中,化学稳定的制剂具有在预期的产品储存温度下长时间储存后所形成的小于20%、小于15%、小于10%、小于5%、小于4%、小于3%、小于2%或小于1%的降解产物。

[0028] 如本文所用,当提及治疗剂时,“物理稳定性”是指形成不溶性沉淀物和/或聚集体(例如,二聚体、三聚体和更大形式的聚集体)的可接受百分比。具体地,如果在预期的产品储存温度(例如室温)下储存一年,或者产品在25°C/60%相对湿度下储存一年,或者产品在40°C/75%相对湿度下储存一个月、优选三个月后形成不超过约15%的聚集体,那么认为制剂是物理稳定的。在一些实施方案中,物理稳定的制剂具有在预期的产品储存温度下长时间储存后所形成的小于15%、小于10%、小于5%、小于4%、小于3%、小于2%或小于1%的聚集体。

[0029] 如本文所用,“稳定制剂”是其中在室温下储存两个月后至少约65%的治疗剂(例如,肽或其盐)在化学和物理上保持稳定的制剂。特别优选的制剂是其中在这些储存条件下剩余至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的化学和物理稳定的治疗剂的那些。尤其优选的稳定制剂是在杀菌辐照(例如 $\gamma$ 射线、 $\beta$ 射线或电子束)后不表现出降解的那些。

[0030] 如本文所用,“肠胃外施用”是指通过消化道以外的途径向患者施用治疗剂,任何不通过消化道的施用。

[0031] 如本文所用,“肠胃外注射”是指通过在动物例如人的一层或多于一层皮肤或黏液膜下或穿过动物例如人的一层或多于一层的皮肤或黏液膜的注射来施用治疗剂(例如,肽或小分子)。将标准的肠胃外注射剂注射到动物例如人的皮下、肌内或皮内区域。这些深层部位是有针对性的,因为组织相对于浅层皮肤部位更容易扩张,以适应输送大多数治疗剂所需的注射体积,例如0.1cc(mL)至3.0cc。

[0032] 术语“皮内注射”涵盖向表皮、真皮或皮下皮肤层的施用。

[0033] 如本文所用,术语“非质子极性溶剂”是指不包含酸性氢并且因此不充当氢键供体的极性溶剂。极性非质子溶剂包括但不限于二甲基亚砜(DMSO)、二甲基甲酰胺(DMF)、乙酸乙酯、N-甲基吡咯烷酮(NMP)、二甲基乙酰胺(DMA)和碳酸亚丙酯。

[0034] 如本文所用,术语“非质子极性溶剂体系”是指其中溶剂为单一非质子极性溶剂(例如,纯DMSO)或两种或多于两种非质子极性溶剂的混合物(例如,DMSO和NMP的混合物)的溶液。

[0035] 如本文所用,“残留水分”可以指制造商/供应商制备后药物粉末中的残留水分。典

型的粉末通常具有高达10重量/重量%的残留水分含量。当将这些粉末溶解在非质子极性溶剂体系中时,粉末中的残留水分会掺入制剂中。另外,非质子极性溶剂还可能含有一定程度的残留水分。例如,一瓶刚打开的USP级DMSO通常含有高达0.1重量/重量%的水分。残留水分与“添加水分”不同,后者是有意将水添加到制剂中的,例如以用作助溶剂或降低非质子极性溶剂体系的凝固点。在添加电离稳定赋形剂的过程中,例如通过添加无机酸的水性储备溶液(例如1N HC1),也可以将水分引入制剂中。刚配制的制剂中的“总水分”(重量/重量%,除非另有说明)是由残留水分和添加水分共同贡献的。

[0036] 当在权利要求和/或说明书中与术语“包含”一起使用时,要素前面不使用数量词可以表示“一个”,但是其也符合“一个或更多个”、“至少一个”和“一个或多于一个”的意思。

[0037] 词语“包含”、“具有”、“包括”或“含有”是包括性的或开放式的,并且不排除附加的、未列举的要素或方法步骤。

[0038] 术语“大约”或“约”或“基本上不变”定义为如本领域普通技术人员所理解的接近于,并且在一个非限制性实施方案中该术语定义为在10%以内,优选在5%以内,更优选在1%以内,最优选在0.5%以内。另外,“基本上无水”是指以水的重量或体积计小于5%、4%、3%、2%、1%或更小。

[0039] 如本文所用的“药物可接受的”成分、赋形剂或组分是与合理的收益/风险比相称的适合对人类和/或动物使用而没有过度不良副作用(例如毒性、刺激性和过敏反应)的成分、赋形剂或组分。

[0040] 如本文所用,“药学上可接受的载体”是指用于将本发明的药物化合物递送至哺乳动物例如人的药学上可接受的溶剂、助悬剂或载剂。

[0041] 本发明的其它目的、特征和优点通过下面的详细描述会变得明显。然而,应理解详细的描述和实施例在表明本发明的具体实施方案时仅以举例说明给出。另外,期望通过该详细描述,本发明的精神和范围内的变化和修改对于本领域技术人员会变得明显。在本申请全文讨论本发明的其他实施方案。所讨论关于本发明的一方面的任何实施方案也可以应用于本发明的其他方面,反之亦然。这里描述的每个实施例应理解为适用于本发明所有方面的本发明的实施例。预期本文所讨论的任何实施方案可以针对本发明的任何方法或组合物实施,反之亦然。此外,本发明的组合物和试剂盒可以用于实现本发明的方法。

## 附图说明

[0042] 以下附图构成本说明书的一部分,并且被包括在内,以进一步说明本发明的某些方面。通过参照这些附图的一个或多于一个结合本文所提供的说明书实施方案的详细说明可以更好地理解本发明。

[0043] 图1说明了通过几个冻融循环溶解在DMSO中的安定的稳定性。

[0044] 图2说明了与 Diastat® 商业制剂相比,DMSO制剂中安定的药代动力学特征。

[0045] 图3说明了与赫士睿公司(Hospira)的IM制剂相比,安定和去甲安定在含有10重量/体积% SDS的DMSO制剂中的药代动力学特征。

[0046] 图4:施用安定后小型猪的安定血浆浓度。

[0047] 图5:在75°C下储存20天后,剩余的安定百分比。

[0048] 图6:在不同储存条件下储存30天后,剩余的安定百分比。

## [0049] 描述

[0050] 以下讨论针对本发明的各种实施方案。术语“发明”无意于指代任何特定实施方案或以其他方式限制本公开的范围。尽管这些实施方案中的一个或多于一个可能是优选的，但是不应将包括权利要求在内的所公开的实施方案解释为或限制所公开的范围。另外，本领域技术人员将理解，以下描述具有广泛的应用，并且任何实施方案的讨论仅意在作为该实施方案的示例，而无意于暗示包括权利要求在内的本公开的范围限于该实施方案。

## [0051] A. 小分子药物

[0052] 除苯二氮草类外，可用于本发明的其他非限制性小分子药物包括肾上腺素、纳洛酮、纳曲酮、瑞芬太尼、加奈索酮、芬氟拉明、布瓦西坦、阿扑吗啡、卡比多巴、左旋多巴、二氢麦角胺、左旋甲状腺素、氯高铁血红素、帕洛诺司琼、舒马曲坦、阿瑞吡坦、诺肖林、化疗小分子（例如米托蒽醌）、皮质类固醇小分子（例如甲泼尼龙）、免疫抑制小分子（例如硫唑嘌呤、克拉屈滨、环磷酰胺、甲氨蝶呤）、抗炎小分子（例如水杨酸、乙酰水杨酸、二氟尼柳、胆碱三水杨酸镁、水杨酸盐、扑炎痛、氟芬那酸、甲芬那酸、甲氯芬那酸、三氟酸（triflumic acid）、双氯芬酸、芬氯酸、阿氯芬酸、芬替酸、布洛芬、氟比洛芬、酮洛芬、萘普生、非诺洛芬、芬布芬、舒洛芬、吲哚布洛芬、噻洛芬酸、苯恶洛芬、吡洛芬、托美汀、佐美酸、氯吡酸（clopinac）、吲哚美辛、舒林酸、苯乙丁氮酮、羟保松、阿扎丙宗、戊烯保泰松、吡罗昔康、伊索西康）、用于治疗神经系统疾病的小分子（例如西咪替丁、雷尼替丁、法莫替丁、尼扎替丁、他克林、多奈哌齐、美曲磷脂、卡巴拉汀、司立吉林（selegilene）、丙咪嗪、氟西汀、奥氮平、舍吲哚、利培酮、帕利哌酮、阿立哌唑、丙戊酸半钠、加巴喷丁、卡马西平、托吡酯、苯妥英钠（phenyloin）、氟哌啶醇）和用于治疗癌症的小分子（例如长春新碱、长春碱、紫杉醇、多西紫杉醇、顺铂、伊立替康、拓扑替康、吉西他滨、替莫唑胺、伊马替尼、硼替佐米）、他汀类药物（例如阿托伐他汀、氨氯地平、瑞舒伐他汀、西他列汀、辛伐他汀、氟伐他汀、匹伐他汀、洛伐他汀、普伐他汀、辛伐他汀）和其他紫杉烷衍生物。在特定实施方案中，可以使用的小分子包括治疗结核病的那些（例如利福平）、小分子抗真菌剂（例如氟康唑）、小分子抗焦虑剂和小分子抗惊厥剂（例如劳拉西泮）、小分子抗胆碱药（例如阿托品）、小分子β激动剂（例如硫酸沙丁胺醇）、小分子肥大细胞稳定剂和用于治疗过敏的小分子药物（例如色甘酚钠）、小分子麻醉剂和小分子抗心律失常药物（例如利多卡因）、小分子抗生素药物（例如妥布霉素、环丙沙星）、小分子抗偏头痛药物（例如舒马曲坦）和小分子抗组胺药（例如苯海拉明）。此外，剂型中小分子药物的量可以根据当前可接受的量、对象/患者的需求等而变化。

[0053] 关于生物相容性非水性溶剂的实例包括非质子极性溶剂、苯甲酸烷基酯或芳基酯溶剂、脂质溶剂、质子溶剂或其混合物。非质子极性溶剂的非限制性实例包括二甲基亚砜（DMSO）、二甲基甲酰胺（DMF）、乙酸乙酯、N-甲基吡咯烷酮（NMP）、二甲基乙酰胺（DMA）、碳酸亚丙酯或其混合物。然而，在某些情况下，本发明的制剂不必包括上述溶剂（即，可以使用其他溶剂）。在一种情况下，例如制剂不包含非水性非质子极性溶剂和/或不包含非水性非质子溶剂（例如，聚乙二醇（PEG）、丙二醇（PG）、聚乙烯吡咯烷酮（PVP）、甲氧基丙二醇（MPEG）、甘油、四氢呋喃聚乙二醇醚及其混合物）。如上所述，小分子药物溶解度的增加可导致小的剂量体积（进而导致小的储存装置和容器），这提供了更容易和更少痛苦的肠胃外施用。苯甲酸芳基酯或烷基酯溶剂的非限制性实例包括苯甲酸甲酯、苯甲酸乙酯、苯甲酸丙酯、C12至C15烷基苯甲酸酯（其中R为C12至15烷基）、C16至C17烷基苯甲酸酯（其中R为C16至C17脂

肪醇基)、和苯甲酸苄酯。脂质的非限制性实例是三乙酰甘油，其为甘油和乙酸的三酯。质子溶剂的非限制性实例包括聚乙二醇(PEG)、丙二醇(PG)、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、甲氧基丙二醇(MPEG)、甘油、四氢呋喃聚乙二醇醚或其混合物。在某些方面，制剂不包括助溶剂，而在其他方面，其可以包括助溶剂。在一种情况下，该制剂可以包含单一/仅一种生物相容性非水性溶剂(即，纯的或纯粹的形式)。在其他方面，该制剂包括两种、三种、四种或多于四种生物相容性非水性溶剂的混合物。在另外的方面，该制剂可以排除可以帮助或增加小分子药物在非水性溶剂中的溶解度的助溶剂、盐和其他成分。例如，该制剂可以由小分子药物和非水性溶剂(或非水性溶剂的混合物)组成或基本上由其组成，并且仍通过肠胃外施用直接注射给对象，其中基本上由……组成的意思是在这句话的背景下，排除了可能增加药物在非水性溶剂或非水性溶剂混合物中溶解度的其他成分，例如可以包含防腐剂以进一步保存可注射制剂。

[0054] 此外，本发明的制剂可以是非水性的或基本上非水性的(例如，小于总水分(即最初制备时制剂中的水分)的10重量%、9重量%、8重量%、7重量%、6重量%、5重量%、4重量%、3重量%、2重量%、1重量%、0.5%或少于0.5重量%)。在某些情况下，小分子药物在溶解于非水性溶剂之前，先在缓冲剂的存在下干燥。如下所述，这可以增加小分子药物的稳定性。在一些情况下，干燥的小分子药物具有约等于在水性缓冲剂存在时的小分子药物的pH记忆，使得生物相容性非水性溶剂中溶解的小分子药物的pH约等于在缓冲剂存在下的小分子药物的pH。记忆pH值可以为1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或大于11，或者可以为1至3、2至4、3至5、4至6、5至7、6至8、7至9、8至10、或9至11。在某些方面，缓冲剂是非挥发性缓冲剂(其非限制性实例包括甘氨酸缓冲剂、柠檬酸盐缓冲剂、或磷酸盐缓冲剂、或其混合物)。在其他情况下，缓冲剂可以是挥发性缓冲剂。此外，小分子药物的水分含量可以小于5重量/重量%、4重量/重量%、3重量/重量%、2重量/重量%、1重量/重量%、0.5重量/重量%或少于0.5重量/重量%。

[0055] 在某些方面，制剂包括0.5mg/mL至约300mg/mL、10mg/mL至50mg/mL、20mg/mL至50mg/mL、5mg/mL至15mg/mL、或0.5mg/mL至2mg/mL的小分子药物。在一些情况下，小分子药物的量可以高达400mg/mL、500mg/mL、600mg/mL、700mg/mL、800mg/mL、900mg/mL、1000mg/mL、2000mg/mL或3000mg/mL或高于3000mg/mL。本发明的制剂的独特方面之一是制剂可以具有高含量的药物，但是制剂的剂量可以是相对较低(例如0.1 $\mu$ L、1 $\mu$ L、10 $\mu$ L、20 $\mu$ L、50 $\mu$ L、75 $\mu$ L、100 $\mu$ L、200 $\mu$ L、300 $\mu$ L、400 $\mu$ L、500 $\mu$ L、600 $\mu$ L、700 $\mu$ L、800 $\mu$ L、900 $\mu$ L、1mL、2mL或3mL、或根据需要更多(例如4mL、5mL、6mL、7mL、8mL、9mL、10mL或多于10mL)。在某些情况下，肠胃外注射的液体制剂的体积为3mL或少于3mL(例如3mL、2.5mL、2mL、1.5mL、1mL、0.5mL、0.1mL或少于0.1mL)、或0.1 $\mu$ L至3mL、或0.1 $\mu$ L至1 $\mu$ L、或1 $\mu$ L至10 $\mu$ L、或10 $\mu$ L至1mL、或0.1 $\mu$ L至2.5mL、或0.1 $\mu$ L至2mL、或0.1 $\mu$ L至1.5mL、或0.1 $\mu$ L至1mL、或0.1 $\mu$ L至0.5mL、或0.1 $\mu$ L至0.1mL。本发明制剂的另一个独特方面是其可以包含在容器或装置中，可以存储，且可以根据需要立即用于肠胃外注射，而不必重新配制或稀释该制剂。该装置可以是注射器、笔式注射装置、自动注射器装置、可以泵送或施用制剂的装置(例如，自动或非自动外部泵、可植入泵等)或灌注袋。还预期了在制剂中使用其他成分/药物赋形剂，其非限制性实例包括：抗氧化剂(实例包括抗坏血酸、半胱氨酸、蛋氨酸、硫代甘油、硫代硫酸钠、亚硫酸盐、BHT、BHA、抗坏血酸棕榈酸酯、没食子酸丙酯或维生素E)；螯合剂(实例包括EDTA、EGTA、酒石酸、甘油或柠檬酸)；或防

防腐剂(实例包括烷基醇、苄醇、对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯或其混合物)。制剂可以是液体形式、半固体形式或凝胶形式。如以上所讨论的,制剂可以具有期望的黏度范围(在一个非限制性实例中,这种范围可以在0.5cps至1.5cps之间)。制剂可以使得当该制剂在室温下存储两个月时,制剂中至少65%的小分子药物保持化学和物理稳定,或者当制剂在室温下储存两个月时,制剂中至少80%的治疗剂保持化学和物理稳定。

[0056] 在本发明的一个特定方面,公开了用于肠胃外注射的稳定的液体制剂,其包含安定或其盐、至少一种表面活性剂和生物相容性非水性溶剂,其中安定和表面活性剂溶解在非水性溶剂中,其中制剂在制备时的总水含量小于5重量/重量%,其中肠胃外注射制剂的体积为50 $\mu$ L至1000 $\mu$ L或其中的任何范围(例如,75 $\mu$ L、100 $\mu$ L、150 $\mu$ L、200 $\mu$ L、300 $\mu$ L、400 $\mu$ L、500 $\mu$ L、600 $\mu$ L、700 $\mu$ L、800 $\mu$ L、900 $\mu$ L等)。在另一方面,所述制剂可包含其他赋形剂。如上所述,这种制剂可以包含在选自密封注射器、密封笔式注射装置、密封自动注射器装置或泵的容器中。同样,如上所述,安定可以在溶解于非水性溶剂之前,在缓冲剂的存在下干燥。这可以为干燥的安定提供pH记忆,该pH记忆约等于在水性缓冲剂存在下安定的pH,使得溶解在生物相容性非水性溶剂中的安定的pH约等于在水性缓冲剂(例如,前述非挥发性缓冲剂,例如甘氨酸缓冲剂、柠檬酸盐缓冲剂或磷酸盐缓冲剂、或其的混合物)存在下的安定的pH。

[0057] 更进一步地,本发明的制剂除了表面活性剂之外还可以包括一种或多于一种其他赋形剂。在一些实施方案中,其它赋形剂选自糖、淀粉、糖醇、抗氧化剂、螯合剂、聚合物和防腐剂。合适的糖赋形剂的实例包括但不限于海藻糖、葡萄糖、蔗糖等。用于稳定赋形剂的合适的淀粉的实例包括但不限于羟乙基淀粉(HES)。合适的糖醇(也称为多元醇)的实例包括但不限于甘露醇和山梨糖醇。合适的抗氧化剂的实例包括但不限于抗坏血酸、半胱氨酸、甲硫氨酸、单硫代甘油、硫代硫酸钠、亚硫酸盐、BHT、BHA、抗坏血酸棕榈酸酯、没食子酸丙酯、N-乙酰基-L-半胱氨酸(NAC)和维生素E。合适的螯合剂的实例包括但不限于EDTA、EDTA二钠盐(乙二胺四乙酸二钠)、酒石酸及其盐、甘油和柠檬酸及其盐。合适的无机盐的实例包括氯化钠、氯化钾、氯化钙、氯化镁、硫酸钙和硫酸镁。合适的防腐剂的实例包括但不限于苄醇、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸丙酯及其混合物。其他制剂成分包括局部麻醉药,例如利多卡因或普鲁卡因。在一些实施方案中,其他稳定赋形剂以约0.05重量/体积%至约60重量/体积%、约1重量/体积%至约50重量/体积%、约1重量/体积%至约40重量/体积%、约1重量/体积%至约30重量/体积%、约1重量/体积%至约20重量/体积%、约5重量/体积%至约60重量/体积%、约5重量/体积%至约50重量/体积%、约5重量/体积%至约40重量/体积%、约5重量/体积%至约30重量/体积%、约5重量/体积%至约20重量/体积%、约10重量/体积%至约60重量/体积%、约10重量/体积%至约50重量/体积%、约10重量/体积%至约40重量/体积%、约10重量/体积%至约30重量/体积%、约10重量/体积%至约20重量/体积%、约10重量/体积%至约40重量/体积%的量存在于制剂中。在一些实施方案中,其他稳定赋形剂以约、至多或至少0.1重量/体积%、0.5重量/体积%、1重量/体积%、2重量/体积%、3重量/体积%、4重量/体积%、5重量/体积%、6重量/体积%、7重量/体积%、8重量/体积%、9重量/体积%、10重量/体积%、15重量/体积%、20重量/体积%、25重量/体积%、30重量/体积%、35重量/体积%、40重量/体积%、45重量/体积%、50重量/体积%、55重量/体积%或60重量/体积%的量存在于制剂中。

[0058] B. 制备方法

[0059] 在某些实施方案中,本发明还提供了配制组合物的方法,该组合物包含小分子药物和以下的一种或多于一种:药学上可接受的溶剂;表面活性剂;载体;增溶剂;乳化剂;防腐剂;和/或其他赋形剂。这样的组合物可以包含有效量的至少一种小分子药物。因此,还包括一种或多于一种小分子药物在制备药物的药物组合物中的用途。用于药物制剂的可接受的制剂组分在所采用的剂量和浓度下对接受者是无毒的。制剂组分以施用部位可接受的浓度存在。用于体内施用的药物组合物通常是无菌的。可以通过无菌过滤膜过滤来完成灭菌。

[0060] 配制本发明的药物组合物后,可以将其作为溶液储存在无菌小瓶中。这样的制剂可以以即用形式储存。用来配制药物组合物的组分优选具有高纯度且基本上不含潜在有害的污染物(例如至少为国家食品(NF)级,通常至少为分析级,更典型地至少为药用级)。此外,旨在用于体内使用的组合物通常是无菌的。

[0061] 治疗上有效的剂量将被本领域技术人员容易地确定,并将取决于疾病的严重程度和病程、患者的健康状况和对治疗的反应、患者的年龄、体重、身高、性别、既往病史和治疗医生的判断。

[0062] 本发明的其他实施方案涉及稳定配制小分子药物(例如苯二氮草类药物)的方法,该方法包括以下步骤:将药物(例如苯二氮草类)和表面活性剂(以及任何其他附加的赋形剂)溶解在DMSO中-溶解顺序可能重要,也可能不重要。

### [0063] C.治疗方法

[0064] 在本发明的另一方面,公开了一种用于治疗或预防病症、疾病、障碍等的方法,该方法包括向有此需要的对象施用治疗或预防病症、疾病、障碍等的有效量的本发明制剂。可以在本发明的方法中施用任何合适剂量的治疗剂(例如小分子)。取决于治疗制剂包含的小分子,将由它们被批准的适应症控制其用途。

[0065] 作为非限制性实例,苯二氮草类例如安定被指示用于短期缓解焦虑症的症状或用于焦虑症的管理。适应症还包括缓解急性酒精戒断症状,包括震颤、障碍性或急性震颤谵妄、幻觉和急性激越,以及用作缓解骨骼肌痉挛的辅助药物。其他适应症包括癫痫持续状态和严重的复发性或惊厥性癫痫发作。可注射的安定也可用于所选癫痫患者的管理,对其采用稳定的抗癫痫药物(AED)施用方案,该患者可能需要间歇性使用安定来控制癫痫发作活动的增加。

[0066] 当然,所施用的剂量会根据已知因素改变,例如特定的组合物、盐或其组合的药效动力学特性;对象的年龄、健康情况或体重;症状的性质和程度;药物和患者的代谢特性、同期治疗的种类;治疗的频率;或希望的效果。在某些方面,可以通过施用本文所述的包含有效量的安定的制剂来治疗癫痫发作。

[0067] 虽然众所周知苯二氮草类用于治疗癫痫,但苯二氮草类例如安定也可用于预防癫痫发作。描述使用苯二氮草作为预防性/预防措施来消除癫痫发作的一个报告的实例是使用安定来预防高热惊厥。Shinnar等人Pediatric Epilepsy:Diagnosis and Therapy,第19章高热惊厥,2007,3:293-301(以下简称“Shinnar”)教导安定可以在发烧时服用,但在癫痫发作之前可以预防高热惊厥。Shinnar指出:“尽管高热状态癫痫仅占高热惊厥发作的5%,但约占儿童期癫痫状态发作总数的四分之一,在两岁以内癫痫状态病例的三分之二以上。”(Shinnar,第293页)。“根据人们认为的高热惊厥的近期和长期风险,已经开发出两种

不同的治疗高热惊厥的方法。一种方法是基于旧观念,即高热惊厥是有害的,并可能导致癫痫的发展;该方法旨在通过间歇性或慢性药物治疗来预防高热惊厥。第二种方法基于流行病学数据,即高热惊厥是良性的;唯一关注的重点是中止高热惊厥以预防癫痫持续状态。”(Shinnar,第297页,着重强调)。“通常在高热病发作时口服或直肠施用的安定,已显示出统计学上显著但临幊上适度的降低高热惊厥可能性的能力。”(Shinnar,第298页,着重强调)。

[0068] Knudsen在Archives of Disease in Childhood,1985第60卷,第1045至1049页(下文中称为“Knudsen”)教导了非口服安定提供了有效的预防性癫痫发作控制并且降低了高危和中危儿童的复发率。Knudsen指出:“我们最近的研究表明,短期安定预防将18个月的复发率从39%降低至12%,从而防止了三分之二的进一步高热发作。分层显示,未接受治疗的儿童的复发率范围非常广,发烧时响应于安定预防的复发率始终很低,并且就降低风险而言,预防的效果明显不同。”(Knudson,第1048页,着重强调)。

[0069] 如现有技术中所述,使用了非口服安定,例如以商品名 Diastat® 出售的市售安定,用于预防癫痫发作。

#### [0070] D. 施用方法

[0071] 还公开了通过将制剂肠胃外施用至有需要的对象来施用本发明的制剂的方法。可以在不必重新配制和/或稀释制剂的情况下进行施用。此外,可以用注射器、笔式注射装置、自动注射器装置、泵或灌注袋进行施用。同样,制剂可以存储在所述注射器、笔式注射装置、自动注射器装置、泵或灌注袋中,然后可以立即使用(无需再次重新配制和/或稀释制剂)。此外,如上所述,所施用的制剂的量可以为1μL、10μL、20μL、50μL、75μL、100μL、200μL、300μL、400μL、500μL、600μL、700μL、800μL、900μL、1mL、2mL、3mL、4mL、5mL、6mL、7mL、8mL、9mL、或10mL或根据需要多于10mL。在某些方面,制剂应使小分子药物保持稳定和可溶(即小分子药物没有聚结或结晶),并且在室温(约20°C至25°C)下储存至少1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、7个月、8个月、9个月、10个月、11个月或12个月。

#### E. 实施例

[0072] 包括以下实施例以及附图以说明本发明的某些实施方案。本领域技术人员应该理解的是,实施例或附图中公开的技术代表发明人发现的在本发明的实践中能够很好地起作用的技术,因此可以认为是构成其实践的模式。然而,根据本公开内容,本领域技术人员应当理解,在不脱离本发明的精神和范围的情况下,可以对所公开的具体实施方案进行许多改变并仍然获得相同或相似的结果。

[0073] 将通过具体实施例来更详细地描述本公开的一些实施方案。提供以下实施方案仅用于说明目的,并不旨在以任何方式限制任何本发明。例如,本领域技术人员将容易地认识到可以改变或修改各种非关键参数以产生基本相同的结果。

#### [0074] 实施例1

[0075] 在此实施例中,将1重量/体积%或2重量/体积%的脱氧胆酸钠 (SDC) (CAS 302-95-4) 溶解于单独的二甲亚砜 (DMSO) (CAS 67-68-5) 中或含有5体积/体积% 苯醇 (BA) 的 DMSO (CAS 100-51-6) 中,随后将安定 (CAS 439-14-5) 溶解至100mg/mL的浓度。使用抗沉淀测定法和反相高效液相色谱法(RP-HPLC)筛选安定制剂防止安定沉淀的能力。

[0076] 用于筛选安定制剂的抗沉淀试验包括将安定稀释到模拟的细胞外液 (SEF) 中,以

使制剂溶剂稀释50倍。SEF由0.7mM氯化镁(CAS 7786-30-3)、1.2mM氯化钙(CAS 10043-52-4)、2.0mM氯化钾(CAS 7447-40-7)、2.0mM磷酸一钾(CAS 7778-77-0)、0.5mM硫酸钠(CAS 7757-82-6)、104mM氯化钠(CAS 7440-23-5)和28.3mM碳酸氢钠(CAS 144-55-8)组成。将安定制剂稀释到SEF后,将样品颠倒数次进行混合,使样品平衡10分钟。通过离心收集沉淀物,并且通过RP-HPLC测量上清液中的可溶性安定含量。上层清液中更大的溶解度预计转化为皮下施用后安定在注射部位以外更好的溶解。

[0077] 用于测定可溶性安定的RP-HPLC方法是一种等度方法,其流动相由20体积/体积%的3.2mM甲酸铵(CAS 540-69-2)和80体积/体积%甲醇(CAS 67-56-1)组成。使用C18色谱柱(Luna<sup>TM</sup>, Phenomenex, 3.9mm内径x 150mm长, 粒度5微米), 色谱柱温度为40℃, 流速为0.6mL/min, 进样量为5μL, 检测波长为230nm。

[0078] 在抗沉淀试验中,含有SDC的样品制剂显著提高了安定的回收率(表1)。在没有SDC的情况下,添加BA和未添加BA的样品的安定回收率分别为11.4%和9.1%。向制剂中添加1重量/体积% SDC使安定的回收率提高了2.6倍,添加2重量/体积% SDC使安定的回收率提高了4.1倍。使用抗沉淀测定法和RP-HPLC测定的可溶性安定的回收率的提高有望转化为改善安定从注射部位的溶解并防止皮下给施用后的安定沉淀。因此,改善溶解有望产生具有快速吸收和缓慢消除的更理想的药代动力学特征。

[0079] 表1用脱氧胆酸钠的DMSO溶液制备的安定制剂防止了SEF中的安定沉淀。

| 制剂 | 安定<br>mg/mL | 重量/体积<br>% SDC | 体积/体积<br>% DMSO | 体积/体积<br>% BA | 回收的安定, %   |
|----|-------------|----------------|-----------------|---------------|------------|
| 1  | 100         | 0 %            | 100 %           | 0 %           | 9.1 ± 2.2  |
| 2  | 100         | 0 %            | 95 %            | 5 %           | 11.4 ± 1.8 |
| 3  | 100         | 1 %            | 95 %            | 5 %           | 29.3 ± 0.4 |
| 4  | 100         | 2 %            | 95 %            | 5 %           | 46.8 ± 3.6 |

[0081] 实施例2

[0082] 在此实施例中,将1体积/体积%、10体积/体积%、20体积/体积%或30体积/体积%的聚山梨酯80(PS80)(CAS 9005-65-5)分散到具有5体积/体积%BA的DMSO中,随后以50mg/mL、75mg/mL或100mg/mL的浓度溶解安定。使用抗沉淀测定法和RP-HPLC,筛选含有PS80的安定制剂防止安定沉淀的能力(如以上实施例1中详述的)。

[0083] 在抗沉淀试验中,含有PS80的样品制剂显著提高了安定的回收率(表2)。当将安定以100mg/mL的浓度溶于含有5%BA和浓度不断增加的PS80(最高30体积/体积%)的DMSO中时,最高浓度的PS80产生了最佳的安定回收率。30体积/体积%PS80将安定的回收率提高了7.9倍。当将安定以75mg/mL的浓度溶于含有5体积/体积%BA和浓度不断增加的PS80(最高30体积/体积%)的DMSO中时,最高浓度的PS80产生了最佳的安定回收率。百分之三十(30%)的PS80将安定的回收率提高了8.4倍。同样,当将安定以50mg/mL的浓度溶于含有20体积/体积%PS80的DMSO和5体积/体积%BA中时,安定的回收率提高了8.8倍。

[0084] 表2中的数据表明,在固定浓度的安定(50mg/mL、75mg/mL或100mg/mL)下,可回收的安定百分比随PS80浓度的增加而增加。数据表明,PS80与安定之间的最佳比例使安定在SEF中的溶解度最大化。对于PS80,约为1:1摩尔比的安定和PS80防止SEF沉淀。

[0085] 表2用PS80的DMSO溶液制备的安定制剂防止了SEF中的安定沉淀。

| 制剂 | 安定<br>mg/mL | 体积/体积<br>% PS80 | 体积/体积<br>% DMSO | 体积/体积<br>% BA | 回收的安定, %    |
|----|-------------|-----------------|-----------------|---------------|-------------|
| 1  | 100         | 0 %             | 100 %           | 0 %           | 9.1 ± 2.2   |
| 2  | 100         | 0 %             | 95 %            | 5 %           | 11.4 ± 1.8  |
| 3  | 100         | 1%              | 94 %            | 5 %           | 5.8 ± 11.0  |
| 4  | 100         | 10%             | 85 %            | 5 %           | 37.6 ± 7.4  |
| 5  | 100         | 20%             | 75 %            | 5 %           | 47.9 ± 2.5  |
| 6  | 100         | 30%             | 65 %            | 5 %           | 90.3 ± 1.6  |
| 7  | 75          | 10%             | 85 %            | 5 %           | 60.4 ± 3.2  |
| 8  | 75          | 20%             | 75 %            | 5 %           | 72.5 ± 4.4  |
| 9  | 75          | 30%             | 65 %            | 5 %           | 96.3 ± 7.6  |
| 10 | 50          | 10%             | 85 %            | 5 %           | 72.9 ± 2.7  |
| 11 | 50          | 20%             | 75 %            | 5 %           | 100.7 ± 4.7 |

## [0087] 实施例3

[0088] 在此实施例中,将1重量/体积%、5重量/体积%、10重量/体积%或17.7重量/体积%的十二烷基麦芽糖昔(DM) (CAS 69227-93-6)溶解在具有5体积/体积%BA的DMSO中,然后以50mg/mL、75mg/mL或100mg/mL的浓度溶解安定。使用抗沉淀测定法和RP-HPLC,筛选含有DM的安定制剂防止安定沉淀的能力(如以上实施例1中详述的)。

[0089] 表3中显示了用DM制备的制剂的安定百分回收率数据。对于每种浓度的安定(50mg/mL、75mg/mL或100mg/mL),当制剂稀释到SEF中时,增加的DM浓度增加了保持可溶的安定百分比。例如,以50mg/mL溶解于具有5%重量/体积BA和17.7重量/体积%DM的DMSO中的安定具有在SEF中接近100%的溶解度。与PS80一样,表3中的数据表明存在防止安定沉淀的理想比例,在此实施例中,DM与安定的比例为约2:1。

[0090] 表3用DM的DMSO溶液制备的安定制剂防止了SEF中的安定沉淀。

| 制剂 | 安定<br>mg/mL | 重量/体积<br>% DM | 体积/体积<br>% DMSO | 体积/体积<br>% BA | 回收的<br>安定, % |
|----|-------------|---------------|-----------------|---------------|--------------|
| 1  | 100         | 0 %           | 100 %           | 0 %           | 9.1 ± 2.2    |
| 2  | 100         | 0 %           | 95 %            | 5 %           | 11.4 ± 1.8   |
| 3  | 100         | 1%            | 95 %            | 5 %           | 22.5 ± 1.1   |
| 4  | 100         | 5%            | 95 %            | 5 %           | 32.8 ± 2.1   |
| 5  | 100         | 10%           | 95 %            | 5 %           | 46.4 ± 2.9   |
| 6  | 75          | 5%            | 95 %            | 5 %           | 36.2 ± 0.5   |
| 7  | 75          | 10%           | 95 %            | 5 %           | 51.1 ± 0.6   |
| 8  | 75          | 17.7%         | 95 %            | 5 %           | 75.1 ± 2.8   |
| 9  | 50          | 5%            | 95 %            | 5 %           | 44.3 ± 1.4   |
| 10 | 50          | 10%           | 95 %            | 5 %           | 68.5 ± 0.4   |
| 11 | 50          | 17.7%         | 95 %            | 5 %           | 97.9 ± 1.2   |

## [0092] 实施例4

[0093] 在此实施例中,将0体积/体积%或2体积/体积%的聚山梨酯20(PS20) (CAS9005-64-5)分散到具有5体积/体积%BA的DMSO或具有5体积/体积%BA和5体积/体积%NMP的

DMSO中,随后以100mg/mL的药物浓度溶解安定。使用抗沉淀测定法和RP-HPLC,筛选含有PS20的安定制剂防止安定沉淀的能力(如以上实施例1中详述的)。

[0094] 在抗沉淀试验中,包含PS20的安定制剂显著提高了安定的回收率(表4)。与不含赋形剂的制剂相比,包含1体积/体积%的PS20不足以防止安定沉淀。然而,加入2体积/体积%PS20将安定的回收率提高2.9倍。含有PS20和5体积/体积%NMP的安定制剂比没有NMP的安定制剂在预防安定沉淀方面更有效。制剂中的1体积/体积%PS20和5体积/体积%NMP使安定的回收率提高了4.1倍,加入2体积/体积%PS20与5体积/体积%NMP使安定的回收率提高了5.4倍。

[0095] 表4用PS20的DMSO溶液制备的安定制剂防止了SEF中的安定沉淀。

| 制剂     | 安定<br>mg/mL | 重量/体积<br>% PS20 | 体积/体积<br>% DMSO | 体积/体<br>积% BA | 体积/体<br>积% NMP | 回收的<br>安定, % |
|--------|-------------|-----------------|-----------------|---------------|----------------|--------------|
| [0096] | 1           | 100             | 0 %             | 100 %         | 0 %            | 9.1 ± 2.2    |
|        | 2           | 100             | 0 %             | 95 %          | 5 %            | 11.4 ± 1.8   |
|        | 3           | 100             | 1 %             | 94 %          | 5 %            | 9.9 ± 3.4    |
|        | 4           | 100             | 2 %             | 93 %          | 5 %            | 32.9 ± 6.9   |
|        | 5           | 100             | 1 %             | 89 %          | 5 %            | 46.3 ± 2.8   |
|        | 6           | 100             | 2 %             | 88 %          | 5 %            | 61.3 ± 3.9   |

[0097] 实施例5

[0098] 在此实施例中,将10重量/体积%或少于10重量/体积%的十二烷基硫酸钠(SDS)(CAS 151-21-3)溶解在具有5体积/体积%BA的DMSO中,随后将安定溶解至50mg/mL、75mg/mL或100mg/mL的浓度。使用抗沉淀测定法和RP-HPLC,筛选含有SDS的安定制剂防止安定沉淀的能力(如以上实施例1中详述的)。

[0099] 表5中显示了用SDS制备的制剂稀释到SEF中之后的安定的百分回收率数据。对于每种浓度的安定(50mg/mL、75mg/mL或100mg/mL),当稀释到SEF中时,增加的SDS浓度增加了保持可溶的安定百分比。当将100mg/mL的安定溶解于含有5体积/体积%BA和10重量/体积%的SDS的DMSO中并在SEF中稀释时,安定的回收量比无SDS的DMSO和5体积/体积%BA中的安定提高了8.2倍。随着安定的浓度降低,稀释到SEF中时维持安定溶解度所需的SDS量也减少了。表5中的数据表明存在防止安定沉淀的理想比例,在此实施例中,SDS与安定的摩尔比为约1:1。

[0100] 表5用SDS的DMSO溶液制备的安定制剂防止了SEF中的安定沉淀。

| 制剂     | 安定<br>mg/mL | 重量/体积%<br>SDS | 体积/体积%<br>DMSO | 体积/体积%<br>BA | 回收的<br>安定, % |
|--------|-------------|---------------|----------------|--------------|--------------|
| [0101] | 1           | 100           | 0 %            | 100 %        | 0 %          |
|        | 2           | 100           | 0 %            | 95 %         | 5 %          |
|        | 3           | 100           | 10 %           | 95 %         | 5 %          |
|        | 4           | 100           | 8 %            | 95 %         | 5 %          |
|        | 5           | 100           | 6 %            | 95 %         | 5 %          |
|        | 6           | 100           | 4 %            | 95 %         | 5 %          |
|        | 7           | 75            | 8 %            | 95 %         | 5 %          |
|        | 8           | 75            | 6 %            | 95 %         | 5 %          |
|        | 9           | 75            | 4 %            | 95 %         | 5 %          |
|        | 10          | 50            | 8 %            | 95 %         | 5 %          |
|        | 11          | 50            | 6 %            | 95 %         | 5 %          |
|        | 12          | 50            | 4 %            | 95 %         | 5 %          |
|        | 13          | 50            | 2 %            | 95 %         | 5 %          |

## [0102] 实施例6

[0103] 使用13mm FluroTec® 塞(West Pharmaceuticals生产的涂有碳氟化合物薄膜的橡胶塞)将用DMSO和5体积/体积%BA(包括不同的表面活性剂)制备的安定制剂(100mg/mL)密封在2mL CZ小瓶中(Crystal-Zenith, West Pharmaceuticals, PA, USA),并在40℃/75%相对湿度下储存90天。还用2体积/体积%PS20、5体积/体积%BA和5体积/体积%NMP的DMSO溶液制备了安定制剂。密封的CZ小瓶包装在铝箔袋中以用于稳定性研究。将所有制剂与溶于DMSO(含5体积/体积%BA)的100mg/mL安定进行比较。制剂的稳定性以剩余的安定百分比(±标准偏差)表示在下表6中。

[0104] 表6在40℃/75%相对湿度下,溶于具有多种赋形剂的DMSO中的安定的稳定性。稳定性数据以安定峰值的平均纯度(±标准偏差)%给出,进行N=3次重复。

| 制剂             | 溶剂体系                   | 赋形剂 | 第0天 | 第90天     |
|----------------|------------------------|-----|-----|----------|
| DMSO+5体积/体积%BA | 无                      |     | 100 | 95.3±0.4 |
| DMSO+5体积/体积%BA | 10体积/体积%PS80           |     | 100 | 98.8±0.2 |
| DMSO+5体积/体积%BA | 10重量/体积%SDS            |     | 100 | 97.1±0.1 |
| DMSO+5体积/体积%BA | 2重量/体积%SDC             |     | 100 | 91.0±0.1 |
| DMSO+5体积/体积%BA | 2体积/体积%PS20            |     | 100 | 100±0.2  |
| DMSO+5体积/体积%BA | 2体积/体积%PS20+5体积/体积%NMP |     | 100 | 95.6±0.2 |

[0106] 在40℃和75%相对湿度下储存时,溶于DMSO-BA溶剂体系(无其他赋形剂)的安定在前30天的安定纯度损失了4.2%,但在研究期间保持在约95%。用10体积/体积%PS80、10重量/体积%SDS和2体积/体积%PS20的赋形剂制备的安定制剂在在90天研究结束时显示出不低于97.1%的安定峰值纯度。与在DMSO和5体积/体积%苄醇(无其他赋形剂)中的安定相比,这些制剂具有更高的稳定性。用2体积/体积%PS20和5体积/体积%NMP制备的安定制剂显示出的稳定性与未添加赋形剂的DMSO-BA溶剂体系中观察到的相当。最后,在90天稳定性研究结束时,用2重量/体积%SDC制备的安定制剂具有91%的安定峰值纯度。

## [0107] 实施例7

[0108] 通过40次冻融循环研究了安定制剂在DMSO-BA溶剂体系中的稳定性。将安定(100mg/mL)溶于含有5体积/体积%BA的DMSO中，并如上所述用13mm FluroTec™塞密封在2mL CZ小瓶中。将三小瓶的安定制剂密封在铝箔袋中，并在-20℃的冰箱中储存2小时。储存后，将袋置于室温并解冻2小时。每天以三个冻融循环的速率重复此过程，其中在第三个冷冻循环放置过夜。经过数天的冻融循环后，取出2μL安定制剂以进行RP-HPLC分析。图1中显示的数据显示了安定在5个冻融循环间隔中的剩余百分比±标准偏差。

[0109] 在20次冻融循环后，未测量到安定的明显损失。然而，在25个循环后，剩余的安定百分比与冷冻前样品(0次循环柱， $p < 0.05$ )显著不同。每隔5个冻融循环间隔，安定的剩余百分比会降低。40个循环后，剩余 $81.7 \pm 0.5\%$ 的安定。

#### [0110] 实施例8

[0111] 在该实施例中，在大鼠模型中评估了几种安定DMSO制剂(含有和不含有赋形剂)的药代动力学(PK)曲线。对8周龄至10周龄、275克至325克的成年雄性Sprague-Dawley大鼠(HillTop Lab Animals, Inc., Scottsdale, PA)进行研究，每组至少5只大鼠。将大鼠单独安置在不锈钢笼中，并通过施加在尾巴上的永久标记物进行数字识别。在适应过程中每天观察大鼠两次，并记录任何异常的健康发现。在适应期间，给动物喂食标准的啮齿动物食物和水，但在研究开始前禁食过夜。在研究前使动物适应环境1周。

[0112] 表7中描述了用于药代动力学研究的测试产品。该研究包含两种市售的安定制剂作为对照，它们分别是Diastat®直肠安定(瓦利安特制药)和Hospira的肌内(IM)安定制剂。在开始研究之前对大鼠进行称重以精确地施用3.5mg/kg的研究剂量。第1组经直肠施用Diastat，第2组接受大腿后部肌肉的安定IM注射。使用4种试验制剂中的1种，在肩胛中部区域向第3组至第6组皮下施用安定。在时间为0分钟(施用前)、10分钟、20分钟、30分钟、45分钟、60分钟和120分钟时，通过每只大鼠的颈静脉将全血样品收集在具有K<sub>2</sub>EDTA的小瓶中。对全血样品进行离心(3000rpm, 15分钟)并收集血浆。将血浆样品在-70℃下冷冻，以用于将来的安定和去甲安定分析。

#### [0113] 表7药代动力学研究中施用于大鼠的测试产品和剂量

| 组      | 测试产品                         | 安定浓度      | 施用途径 | 研究剂量     |
|--------|------------------------------|-----------|------|----------|
| [0114] | 1 Diastat® - AcuDial™ (直肠安定) | 5 mg/mL   | 直肠   | 约 200 μL |
|        | 2 Hospira 安定                 | 5 mg/mL   | 肌内   | 约 200 μL |
|        | 3 单独 DMSO                    | 100 mg/mL | 皮下   | 约 10 μL  |
|        | 4 DMSO + 5% BA 中的 2% SDC     | 100 mg/mL | 皮下   | 约 10 μL  |
|        | 5 DMSO + 5% BA 中的 2% PS20    | 100 mg/mL | 皮下   | 约 10 μL  |
|        | 6 DMSO + 5% BA 中的 10% SDS    | 100 mg/mL | 皮下   | 约 10 μL  |

[0115] 使用安定d<sub>5</sub>和去甲安定d<sub>5</sub>作为内标，通过LC/MS测定大鼠血浆样品中安定和去甲安定的浓度。向每25μL样品中加入25μL 25ng/mL的安定d<sub>5</sub>/去甲安定d<sub>5</sub>溶液和0.2mL的水。将样品涡旋振荡，使用Evolute®ABN SPE板(固相萃取，Biotage, Charlotte, NC)，用甲醇洗脱，并在约40℃的氮气下干燥。将干燥的残留物在500μL 1:1的甲醇：水中重新溶解，并通过涡旋振荡混合。反相超高效液相色谱(RP-UPLC)和质谱(MS)方法用于测定安定和去甲安定。梯度法使用色谱柱(Waters Atlantis dC-18, 3μm, 2.1x 50mm)，其中0.1%甲酸的60:40(体积/体积%)乙腈：水溶液为流动相。使用280nm的紫外线检测器进行分析物检测，并使用质

谱仪以0.25mL/min的流速进行识别确认。获得的数据以ng/mL表示。使用PKSolver软件(用于Microsoft Excel的菜单驱动的插件程序)分析安定和去甲安定的血浆浓度数据。

[0116] 图2显示了针对Diastat®直肠安定、具有2重量/体积%SDC的DMSO和5体积/体积%BA中的安定、单独DMSO中的安定、以及具有2体积/体积%PS20的DMSO和5体积/体积%BA中的安定的安定血浆浓度分布图(平均值±SEM)。Diastat®组在10分钟时出现 $T_{\text{最大}}$ ,同时 $C_{\text{最大}}$ 为约200ng/mL,在剩余的110分钟内血浆浓度迅速下降。单独DMSO中的安定在10分钟时的 $T_{\text{最大}}$ 约为70ng/mL。与Diastat不同,在剩余的110分钟内,单独DMSO中的安定将安定的血浆浓度维持在约50ng/mL。据信在该组(和其他DMSO组)中观察到消除阶段的缺失是由于在注射部位部分安定沉淀,随后缓慢吸收所致。在安定的DMSO制剂中添加2体积/体积%PS20会在10分钟时安定血浆浓度急升,但由于部分剂量沉淀和吸收缓慢,因此 $T_{\text{最大}}$ 在120分钟时会出现, $C_{\text{最大}}$ 约110ng/mL。向安定的DMSO制剂中添加2重量/体积%SDC会导致在注射后10分钟时安定血浆浓度急升,但在注射后60分钟时会出现延迟的 $T_{\text{最大}}$ , $C_{\text{最大}}$ 约110ng/mL。注射后10分钟,与单独DMSO中的安定相比,向DMSO制剂中的安定添加赋形剂总体上会增加安定的血浆浓度。

[0117] 图3显示肌内注射安定(Hospira IM)和在具有10重量/体积%SDS的DMSO和5体积/体积%BA中的安定制剂的安定(DZ)和去甲安定(NDZ)PK组合曲线(平均值±SEM)。安定及其代谢产物去甲安定均具有药效学活性,并且具有临床意义。市售比较剂和基于DMSO的制剂在30分钟时出现 $T_{\text{最大}}$ , $C_{\text{最大}}$ 分别为424ng/mL和396ng/mL。两组之间的 $C_{\text{最大}}$ 差异在统计学上是等效的( $p=0.3123$ )。图2和图3一起表明,明智地选择赋形剂可以调节安定药代动力学特征,促进快速或延迟/缓慢吸收。

#### [0118] 实施例9

[0119] 在该实施例中,在哥廷根小型猪模型中评估了皮下注射和肌内注射后在DMSO和30重量/体积%聚山梨酯80中的安定的药代动力学(PK)曲线。对体重为10公斤至12公斤的雌性小型猪(Xenometrics,Stilwell,KS)进行研究,每组3只小型猪(2组)。在研究前使动物适应环境2周。动物在两次施用之间有两周的清除期。小型猪单独安置在不锈钢笼中,并通过笼上的标牌进行数字识别。在研究期间每天观察小型猪两次并记录任何异常的健康发现。在开始研究之前至施用后4小时使动物禁食过夜。

[0120] 表8中描述了用于PK研究的测试产品。该研究包含两种市售的安定制剂作为比较剂-Diastat®直肠(PR)安定(瓦利安特制药)和Hospira的肌内(IM)安定制剂。在开始研究之前对小型猪进行称重以准确施用1.0mg/kg的研究剂量。第1组经直肠施用Diastat,第2组接受大腿后部肌肉的Hospira安定IM注射。第3组在耳后皮下注射安定测试制剂,第4组在大腿后部肌肉注射相同制剂。给动物用药时,同一组动物不会同时接受肌内注射。在施用后0小时(施用前)、0.017小时、0.083小时、0.167小时、0.25小时、0.5小时、0.75小时、1.0小时、2.0小时、4.0小时、6.0小时、8.0小时、24.0小时,通过每只小型猪的颈静脉将全血样品收集在具有K<sub>2</sub>EDTA的小瓶中。对全血样品进行离心(3000rpm,15分钟)并收集血浆。将血浆样品在-70°C下冷冻,以用于将来的安定分析。

#### [0121] 表8:药代动力学研究中施用于小型猪的测试产品和剂量

| 组      | 测试产品                   | 安定浓度      | 施用途径 | 研究剂量    |
|--------|------------------------|-----------|------|---------|
| [0122] | 1 Diastat® 直肠安定        | 5 mg/mL   | 直肠   | 1 mg/kg |
|        | 2 Hospira 安定           | 5 mg/mL   | 肌内   |         |
|        | 3 DMSO 和 30% PS80 中的安定 | 100 mg/mL | 皮下   |         |
|        | 4 DMSO 和 30% PS80 中的安定 | 100 mg/mL | 肌内   |         |

[0123] 使用安定d<sub>5</sub>作为内标,通过LC/MS测定小型猪血浆样品中安定的浓度。向每20μL样品或标准品中加入500μL三羟甲基氨基甲烷缓冲剂,然后涡旋混合1分钟。混合后,向每个样品中加入600μL乙酸乙酯,并颠倒40次进行混合。将600μL的该溶液转移到新的收集管中,并在氮气下于60℃干燥。将干燥后的产物在100μL的再水化溶液(1mM甲酸铵和0.1%甲酸的65/35(体积/体积%)甲醇/水溶液)中重新溶解,然后涡旋混合1分钟。使用反相高效液相色谱(RP-HPLC)和质谱(MS)方法测定安定含量。梯度使用色谱柱(WatersACE®C18,3μm,4.6x 30mm),流动相A为1mM甲酸铵和0.1%甲酸的65/35(体积/体积)甲醇/水溶液,流动相B为1%乙酸的90/10(体积/体积)甲醇/水中溶液。使用280nm的紫外线检测器进行安定检测,并使用质谱仪以0.25mL/min的流速进行识别确认。获得的数据以ng/mL表示。

[0124] 图4显示针对通过肌内(IM)或皮下(SC)注射所施用的具有30%聚山梨酯80(30重量/体积%PS80)的DMSO中的100mg/mL安定、通过肌内注射所施用的Hospira的安定、和Diastat®直肠安定的安定血浆浓度分布曲线(平均值±SEM)。Diastat®组在10分钟时出现T<sub>最大</sub>,C<sub>最大</sub>为约271ng/mL,随后在研究的前5个小时内血浆浓度迅速下降。Hospira安定组在10分钟时出现T<sub>最大</sub>,C<sub>最大</sub>为425.3ng/mL,随后血浆浓度迅速下降,尽管不如Diastat直肠凝胶那么快。通过IM注射所施用的具有30%PS80的DMSO中的安定制剂在45分钟时出现T<sub>最大</sub>,C<sub>最大</sub>为391.3ng/mL,消除曲线与Hospira的IM施用相当。在DMSO和30重量/体积%PS80中的安定的SC施用导致了三个峰值血浆浓度,其中在4.0小时的真实C<sub>最大</sub>为202.0ng/mL。根据施用途径,安定在具有30重量/体积%聚山梨酯80的DMSO中的药代动力学特征和峰值血浆浓度可快速起效或延长体循环。

#### [0125] 实施例10

[0126] 研究了安定在具有30重量/体积%聚山梨酯80的DMSO中的稳定性,将其在玻璃小瓶中于75℃下储存20天。将安定(100mg/mL)溶解在含有30重量/体积%聚山梨酯80的DMSO中,并用20mm FluroTec™塞和20mm易拉密封件密封在10mL硼硅酸盐玻璃小瓶中。将小瓶在75℃下储存,并在第5天、12天和20天拉出三个小瓶。通过RP-HPLC测定每个小瓶中残留的安定百分比。图5中的数据显示了剩余的安定百分比±标准偏差。

[0127] 在75℃下储存5天和12天后,剩余的安定百分比与初始(时间为零)测量值无显著差异( $p=0.431$ )。但是,在75℃(第20天)下额外储存8天后,安定百分比降低了约6.5%(106.98%至99.99%, $p=0.001$ )。尽管在75℃储存后剩余的安定百分比有所降低,但结果表明100mg/mL的安定在具有30%聚山梨酸酯80(重量/体积)的DMSO中是稳定的。

#### [0128] 实施例11

[0129] 研究了在4℃至8℃、25℃和60%相对湿度下,30℃、40℃和75%的相对湿度下储存于玻璃小瓶中时,在具有30重量/体积%聚山梨酯80的DMSO中安定的稳定性。将安定(100mg/mL)溶解在含有30重量/体积%聚山梨酯80的DMSO中,并用20mm FluroTec™塞和

20mm易拉密封件密封在10mL硼硅酸盐玻璃小瓶中。将小瓶在上述储存条件下一式三份地储存。储存30天后，通过RP-HPLC测定每个小瓶中剩余的安定百分比。图6中的数据显示剩余的安定百分比±标准偏差。

[0130] 初始安定含量是在时间为零时通过RP-HPLC测定的，并在图中由底部标记为“初始”的柱形图表示。在任何储存条件下(4°C至8°C、25°C/60%RH, 30°C和40°C/75%RH)剩余的安定百分比为100%，表明储存30天后安定没有损失。

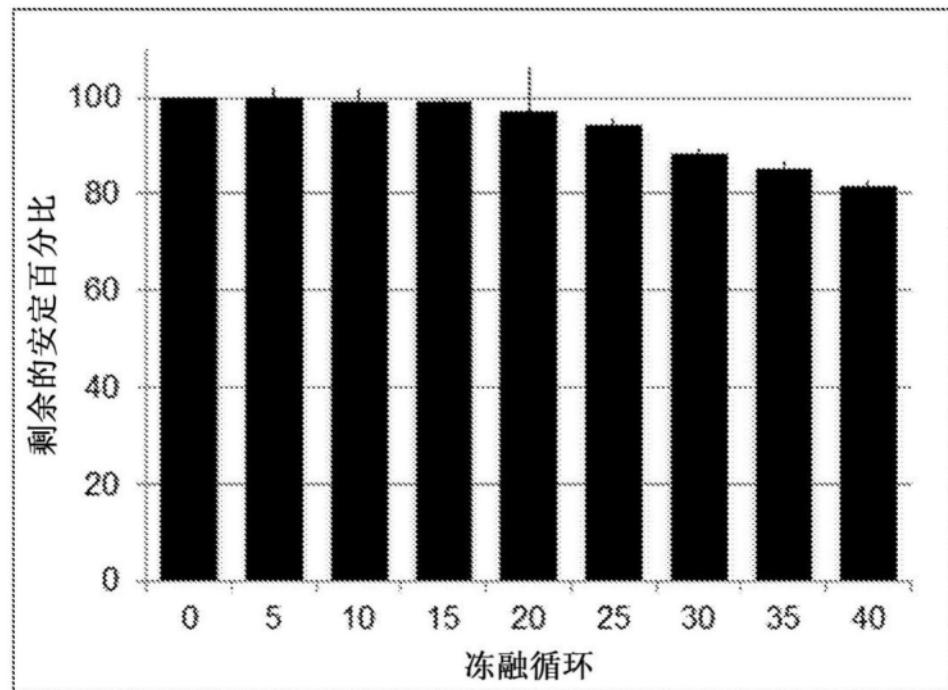


图1

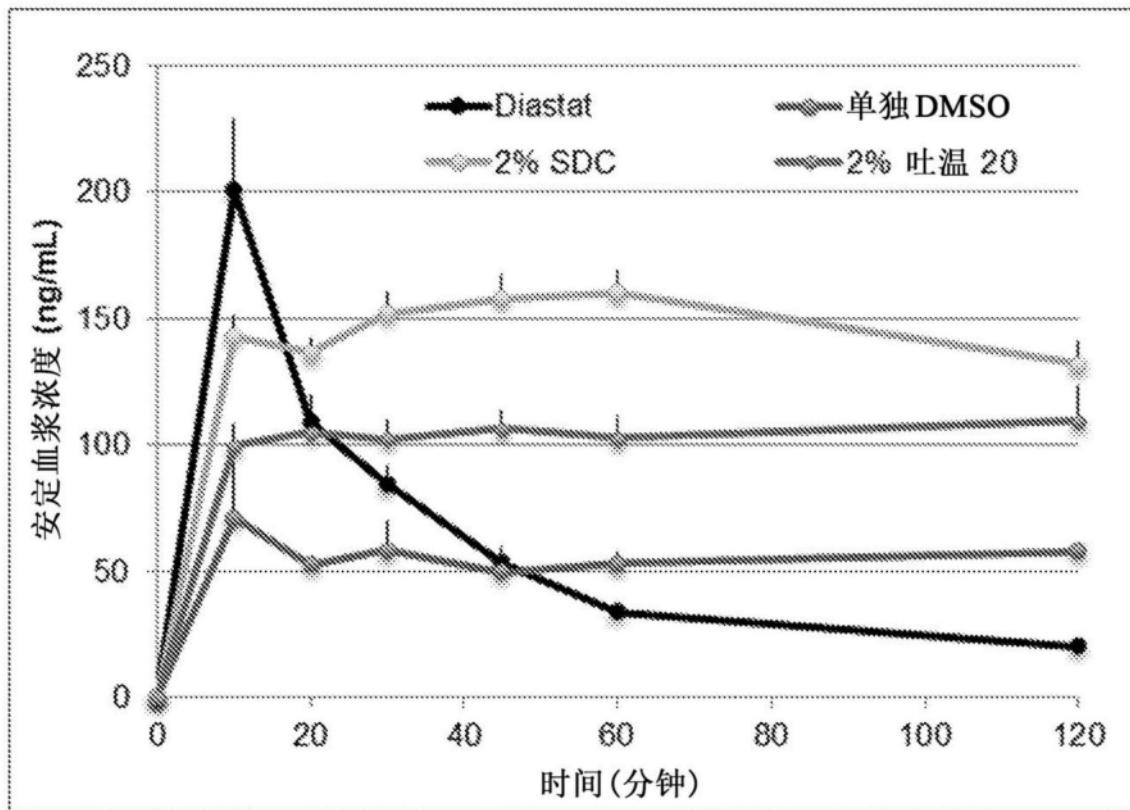


图2

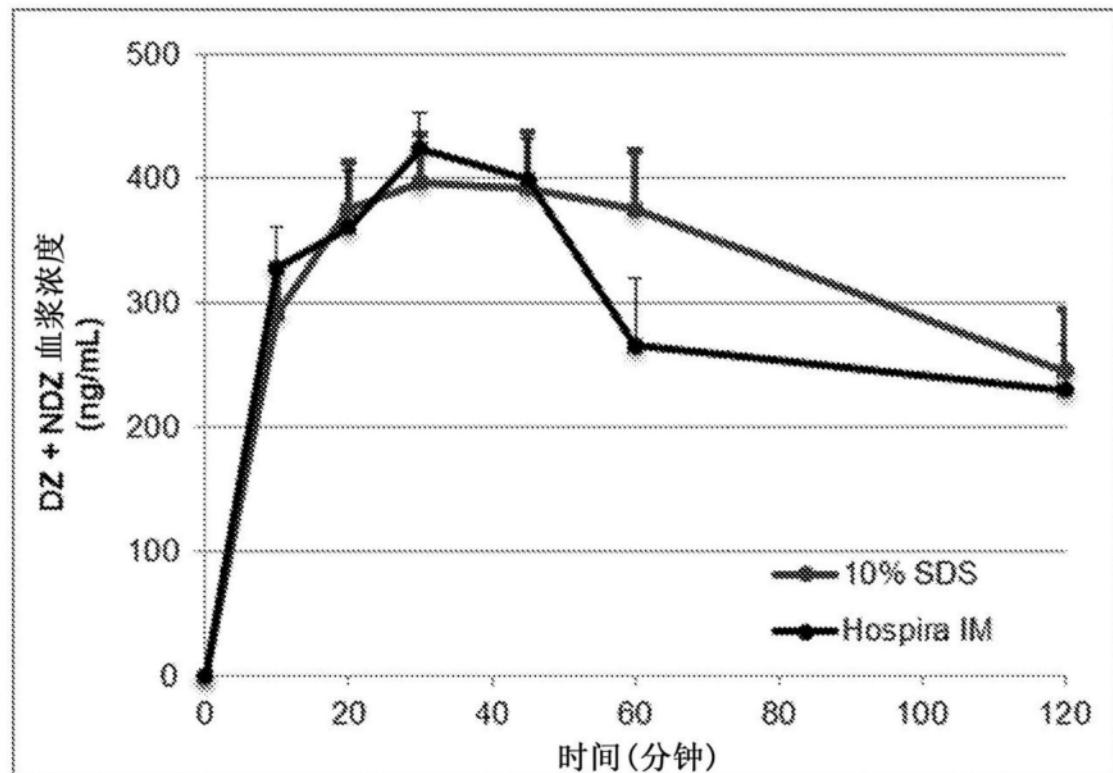


图3

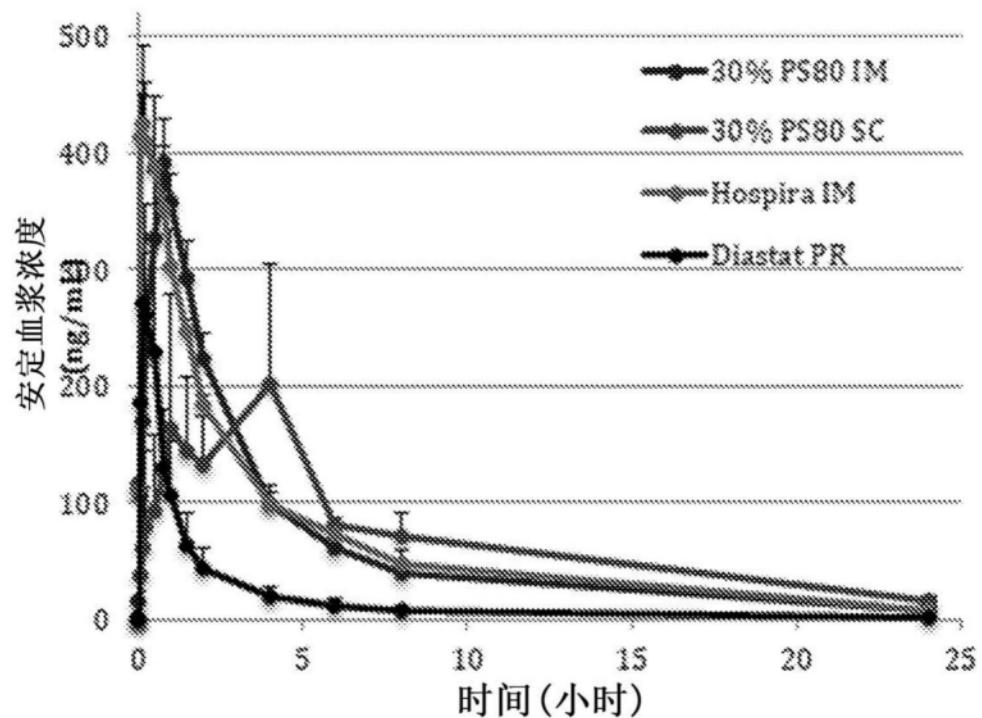


图4

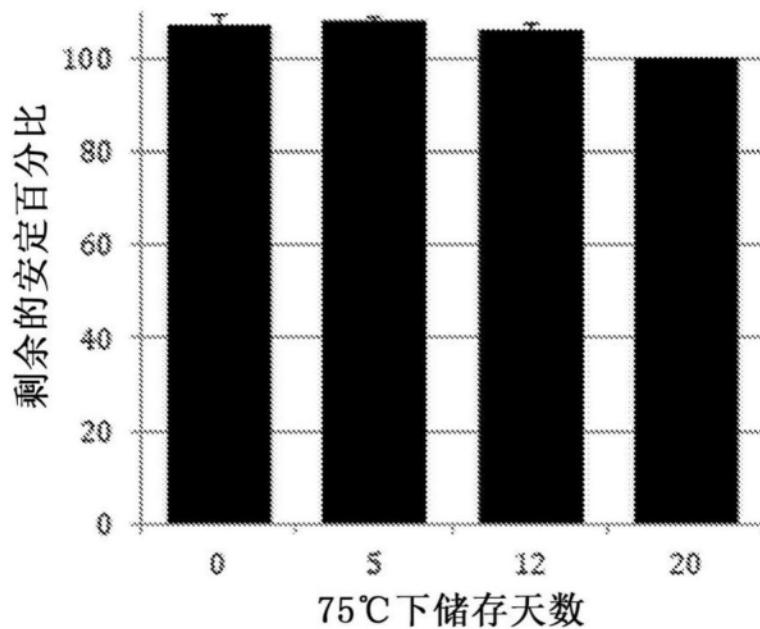


图5

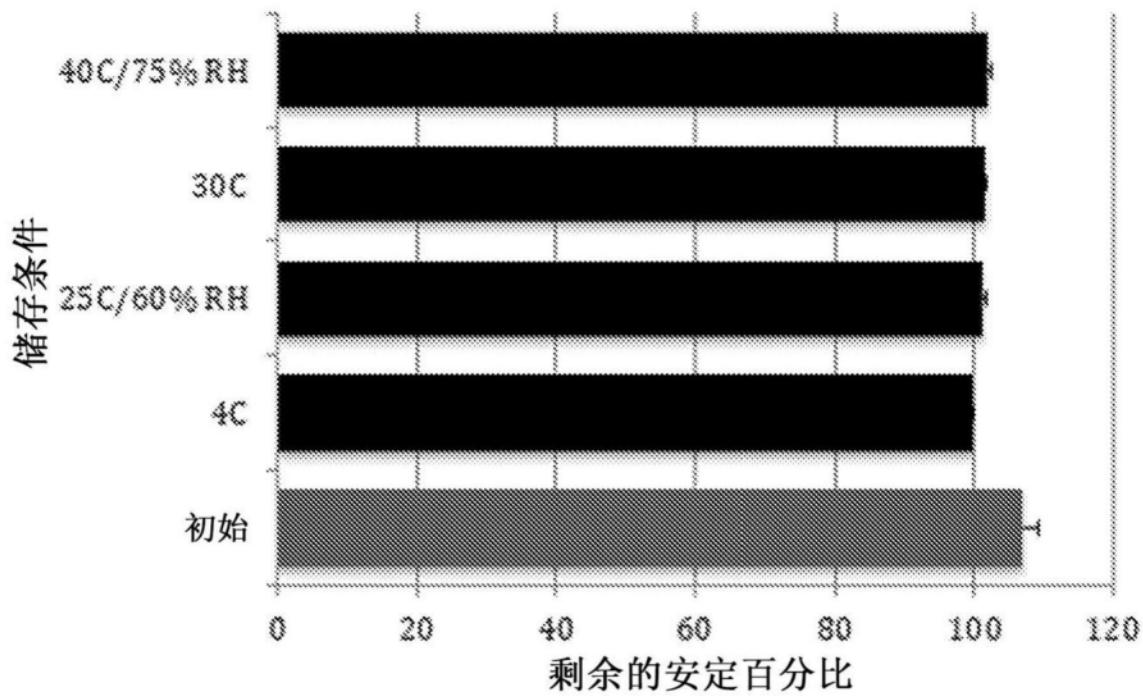


图6