



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102018714 B

(45) 授权公告日 2014. 01. 08

(21) 申请号 201010513008. X

(22) 申请日 2005. 10. 28

(30) 优先权数据

60/623, 813 2004. 10. 29 US

(62) 分案原申请数据

200510138076. 1 2005. 10. 28

(73) 专利权人 法马马私人股份有限公司

地址 西班牙马德里

(72) 发明人 P·卡沃萨维 M·托比奥巴雷拉

J·H·贝南 B·纽詹

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公

司 72001

代理人 刘健

(56) 对比文件

WO 02/064843 A1, 2002. 08. 22,

WO 00/69441 A1, 2000. 11. 23,

WO 03/039571 A1, 2003. 05. 15,

审查员 金武

(51) Int. Cl.

A61K 31/4995(2006. 01)

A61K 47/26(2006. 01)

A61K 9/19(2006. 01)

A61K 9/08(2006. 01)

A61P 35/00(2006. 01)

权利要求书1页 说明书28页 附图5页

(54) 发明名称

制剂

(57) 摘要

本发明提供了海鞘素制剂、其制备方法、含这种制剂的生产的产品和药盒, 和采用相同制剂治疗增生性疾病的方法。

1. 一种冻干的 ET-743 组合物,其含有 ET-743、缓冲剂和二糖,所述二糖选自乳糖、海藻糖、蔗糖和它们的混合物,其中 ET-743 与二糖的重量 / 重量比例为 1 : 100 到 1 : 1500。

2. 根据权利要求 1 的冻干的 ET-743 组合物,其中 ET-743 组合物在 5℃ 贮藏 3 个月后,该 ET-743 组合物包含少于 1% 的 ET-701。

3. 根据权利要求 1 的冻干的 ET-743 组合物,其中所述二糖是蔗糖。

4. 根据权利要求 1 的冻干的 ET-743 组合物,其中 ET-743 与二糖的重量 / 重量比例为 1 : 250 到 1 : 600。

5. 根据权利要求 4 的冻干的 ET-743 组合物,其中 ET-743 与二糖的重量 / 重量比例是 1 : 400。

6. 根据权利要求 1-5 任一项的冻干的 ET-743 组合物,其中所述缓冲剂选自磷酸盐缓冲剂、柠檬酸盐缓冲剂、甘氨酸 / 盐酸缓冲剂和它们的混合物。

7. 根据权利要求 1-5 任一项的冻干的 ET-743 组合物,其还含有表面活性剂。

8. 根据权利要求 6 的冻干的 ET-743 组合物,其还含有表面活性剂。

9. 根据权利要求 8 的冻干的 ET-743 组合物,其中表面活性剂选自聚氧乙烯 20 脱水山梨醇单油酸酯、硬脂酸 -40- 聚羟氧基酯和它们的混合物。

10. 根据权利要求 1-5 任一项的冻干 ET-743 制剂,其中冻干制剂是在管瓶中,并包括一定量的 ET-743。

11. 根据权利要求 10 的冻干 ET-743 制剂,其中所述 ET-743 的量是 250 μ g。

12. 根据权利要求 11 的冻干 ET-743 制剂,其中所述管瓶包含制剂,制剂含有 :0.25mg ET-743、100mg 蔗糖和 6.8mg 磷酸盐,其中所述 6.8mg 磷酸盐是以磷酸二氢钾计算的。

13. 根据权利要求 10 的冻干 ET-743 制剂,其中所述 ET-743 的量是 1mg。

14. 根据权利要求 13 的冻干 ET-743 制剂,其中所述管瓶包含制剂,制剂含有 :1.0mg ET-743、400mg 蔗糖和 27.2mg 磷酸盐,其中所述 27.2mg 磷酸盐是以磷酸二氢钾计算的。

15. 一种制备包含根据权利要求 1-5 任一项的 ET-743 的冻干制剂的管瓶的方法,包括将含有 ET-743 和二糖的本体溶液冷冻干燥,所述二糖选自乳糖、海藻糖、蔗糖和它们的混合物。

16. 一种减少在 ET-743 的制剂中 ET-701 的形成的方法,包括将含有 ET-743 和二糖的本体溶液冷冻干燥以获得根据权利要求 1-5 任一项的组合物。

17. 一种制备用于冻干以获得根据权利要求 1-5 任一项的组合物的本体溶液的方法,包括在酸性介质中溶解 ET-743,将此预溶的 ET-743 与本体溶液中的其它组分混合,并且任选地,调节最终溶液的 pH。

18. 一种制备用于静脉输注的溶液的方法,包括 :提供含有根据权利要求 1-5 任一项的冻干的 ET-743 组合物管瓶,加水形成一种重新构成的溶液,然后用含水的系统稀释所述重新构成的溶液。

制剂

[0001] 本发明专利申请是申请号为“200510138076.1”，发明名称为“制剂”的专利申请的分案申请。

[0002] 本发明涉及制剂。更特别地，涉及海鞘素 (ecteinascidin) 如海鞘素 743 的组合物和制剂。

[0003] 发明背景

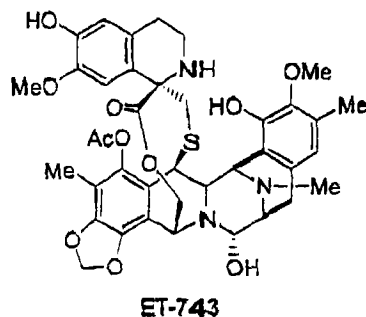
[0004] 海鞘素已被鉴定，其结构上的特征和制备的合成方法已有描述。参见，例如 R. Sakai 等,1992, *Prco. Natl. Acad. Sci. USA* 89, 第 11456-11460 页,“Additional antitumor ecteinascidins from Caribbean tunicate: Crystal structures and activities in vivo”; R. Menchaca 等,2003, *J. Org. Chem.* 68(23), 第 8859-8866 页,“Synthesis of natural ecteinascidins (ET-729, ET-745, ET-759B, ET-736, ET-637, ET-594) from cyanosafracin B”; 和 I. Manzanares 等,2001, *Curr. Med. Chem. -Anti-Cancer Agents*, 1, 第 257-276 页,“Advances in the Chemistry and Pharmacology of Ecteinascidins, A Promising New Class of Anticancer Agents”; 和其中的参考文献。这些参考文献描述了海鞘素类化合物。提供的海鞘素类化合物的例子为: ET-743、ET-729、ET-745、ET-759A、ET-759B、ET-759C、ET-770、ET-815、ET-731、ET-745B、ET-722、ET-736、ET-738、ET-808、ET-752、ET-594、ET-552、ET-637、ET-652、ET-583、ET-597、ET-596、ET-639、ET-641 和它们的衍生物，例如乙酰化形式、甲酰基化形式、甲基化形式和氧化物形式，例如 N-氧化物形式。

[0005] 这种海鞘素类化合物的结构特征在此不再明确地给出，因为从在此提供的参考和引用文献的详细描述中，任何本领域的普通技术人员能从在此引用的和相关的文献中直接获得这样的信息。

[0006] 至少一种海鞘素类化合物，ET-743 已被广泛地研究，在此，特别地，它将被提及用于说明本发明的特征。

[0007] 海鞘素 743 (ET-743) 是从海生的被囊动物 *Ecteinascidia turbinata* 中分离的四氢异喹啉生物碱，且具有如下结构：

[0008]



[0009] US 5, 256, 663 请求保护一种药物组合物，其含有 ET-743 与药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂。

[0010] ET-743、其化学性质、作用机理和临床前和临床进展的最近综述见 van Kesteren,

Ch. 等,2003, *Anti-Cancer Drugs*,14(7), 第 487-502 页:“Yondelis(trabectedin, ET-743):the development of an anticancer agent of marine origin”,和其中的参考文献。

[0011] ET-743 对生长在无胸腺小鼠上的多种人类肿瘤异种移植物,包括黑素瘤与卵巢和乳腺癌具有有效的抗肿瘤活性。

[0012] 在 ET-743 的 I 期临床研究中,在恶性毒瘤和卵巢和乳腺癌的患者身上观察到前途有望的效应。因此,这个新药现在在患有多种肿瘤疾病的癌症患者的数个 II 期临床试验中被深入研究。

[0013] 如在 WO 0069411 中有解释说明,其全文并入作为参考,ET-743 以无菌的冻干产品供应和储存,产品含有 ET-743,甘露醇和磷酸盐缓冲剂。优选制剂由 0.9%氯化钠或其它合适的输注载体,250 μ g ET-743 与 250mg 甘露醇,34mg 磷酸二氢钾和调节 pH 的磷酸制得。然后将此制剂重新构成和稀释用于静脉注射。

[0014] ET-743 是一种复杂的化学物质,如同其结构特征所显示。另外,ET-743 显示有限的水溶性,并且其稳定性,尤其是在生物相容的形式和制剂中,是难于预测和实现的。这些特点挑战本领域的普通技术人员和常规的方法,尤其是当需要制备一种能够容易地用于医疗目的的 ET-743 制剂时。优选地,上述用途依赖于制剂,其特征包括以下一个或多个:生物相容性,在环境条件下或尽可能接近于环境条件下的稳定性,具有尽可能长的半衰期,和易于重新构成的能力以形成在环境条件下或接近于环境条件下有尽可能长时间的稳定性的重新构成的溶液。

[0015] 然而,常规的制剂和制备这种制剂的方法不能提供如上面提及的所需的特点和特征。例如,引用的 van Kesteren Ch. 等 2003 年的综述报道了:

[0016] ET-743 具有有限的水溶性。然而,通过调节 pH 至 4,能达到适当的 ET-743 浓度。ET-743 在水溶液中的不稳定性需要冻干以增加此药用产品的贮藏时的稳定性。为了稳定 ET-743,一般将 ET-743 制备成无菌冻干产品,其每剂量单位含有 250 μ g 活性物质,250mg 的甘露醇作为填充剂和 pH 为 4 的 0.05M 磷酸盐缓冲液。这种制剂在冰箱和室温下长期贮藏时是不稳定的,因此,应该避光贮藏在 -15 到 -25 $^{\circ}$ C 之间。在静脉输注前,加 5ml 注射水重新构成,随后用标准生理盐水稀释。重新构成的溶液在环境温度下稳定最长达 24 小时。

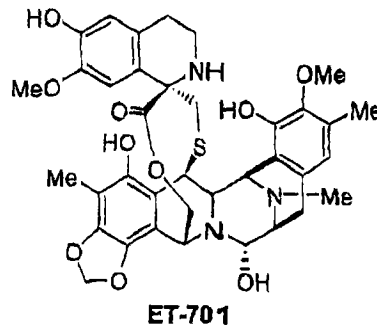
[0017] 实际上含有 250 μ g ET-743 的产品是通过在模制瓶中将含有 ET-743、甘露醇、磷酸盐缓冲剂和水的 5ml 溶液冷冻干燥制成的。含有 1mg ET-743 的模制瓶也是通过将 20ml 的此溶液冷冻干燥制成的。

[0018] 冷冻干燥通常包括冷冻溶液,在第一干燥期减少压力,以将水蒸汽通过升华从被冷冻的物质中除去,得到半干燥物质,和在第二干燥期提高温度,以将残留水分从半干燥物质中除去。然后将管瓶封口。

[0019] 上面描述的常规的 ET-743 制剂有几个缺点。其中之一是为了实现至少 18 个月的贮藏期,冻干的 ET-743 制剂必须贮藏在约 -20 $^{\circ}$ C 以防止 ET-743 的分解。

[0020] 另外,ET-743 制剂面临形成相对大量的作为杂质的 ET-701 的问题。ET-701 是 ET-743 制剂冻干过程和贮藏中主要的杂质。它来自 ET-743 的水解且其结构如下:

[0021]



[0022] 然而,杂质的形成减少或甚至阻碍使制剂符合标准的能力。因此,期望能提供制剂和其制备方法,其提供的实施方案中的组分不会轻易地和不可预期地被不能控制的杂质形成改变。

[0023] 此外,上面描述的常规 ET-743 制剂方法的另一缺点是为了获得冻干制剂必须冷冻干燥相对大量的 5-20ml 灌装体积的溶液。相反,应期望开发一种含有如 ET-743 一样复杂化合物的制剂的制造方法,使制成的制剂含有更高的活性物质浓度,以便因此减少要处理的体积。考虑到相对高的 5 或 20ml 的灌装体积,在冷冻干燥步骤的常规方法中需要时间和能量。随同时间和能量一起,尤其在第二干燥期,还有 ET-743 分解的风险。

[0024] 考虑到 ET-743 制剂作为抗肿瘤剂的潜力,需要提供一种制剂,其能解决常规制剂和制备方法不能达到或不能完全解决的问题。这些问题包括 ET-743 稳定性问题。ET-743 制剂的实施方案应该优选显示有利的冷冻干燥特性,应该优选易于重新构成,和应该优选显示稀释特性,如用输注液体稀释,同时呈现出与此处提及的用于医疗用途的制剂一样多的所需特性。如上所述,ET-743 制剂的实施方案应该在长期贮藏期间稳定。另外,该制剂及其制备方法应该满足生物相容性标准,并应该至少在用于输液的浓度下,有效使用无毒的制剂载体。

[0025] Akers, MJ, 在 *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 91, 2002, 2283-2300 中提供了胃肠外用药物制剂中赋形剂-药物之间的相互作用的综述。这篇参考提供,尤其是,关于填充剂和冻干保护剂 (lyoprotectants) 的章节,包括这种冻干的专题。

[0026] 除了 ET-743 以外,可以设想本发明中开发的制剂和方法还能应用到其它海鞘素。

[0027] 发明目的

[0028] 本发明目的之一是提供稳定的海鞘素制剂,及制备这种制剂的方法。

[0029] 本发明一个特定目的是提供一种新的稳定的 ET-743 制剂。特别地,需要具有更高的贮藏稳定性的制剂。特别地,需要避免杂质的形成。特别地,期望提供基本上不含 ET-701 的制剂的实施方案。

[0030] 另外,本发明的其它目的涉及制备方法的开发,其允许制备具有高于常规方法能达到的 ET-743 浓度的 ET-743 制剂。其它目的涉及提高像 ET-743 一样复杂的化合物的溶解度的方法的开发,最终提高用于冻干的溶液中 ET-743 的浓度,这样就能减少制剂冻干前管瓶中的灌装体积。

[0031] 发明概述

[0032] 依照本发明,提供 ET-743 组合物,它包含 ET-743 和二糖,及制备这种组合物的方法。这种组合物优选的实施方案是具有药学纯度。

[0033] 本发明的其它实施方案提供包含海鞘素和二糖的组合物。

[0034] 这种组合物的一些实施方案提供了包含如 ET-743 的海鞘素和二糖的冻干制剂。提供了这种制剂的制备方法。

[0035] 本发明提供了减少,或甚至基本上消除在 ET-743 制剂中杂质形成的方法。一些实施方案包括减少,或甚至基本上消除在 ET-743 制剂中 ET-701 形成的方法。

[0036] 本发明也提供了更有效处理如 ET-743 的海鞘素的制剂的方法,包括制备更高浓度制剂的方法,和当生产冻干制剂时,减少管瓶中的灌装体积的方法。

[0037] 本发明也提供了复杂化合物,如海鞘素,包括但不限于 ET-743 的增溶方法。这样的方法允许制备用于冻干的本体溶液中更高浓度的 ET-743 溶液,导致灌装体积减少。

[0038] 发明详述

[0039] 我们发现在本发明中二糖使海鞘素制剂稳定。海鞘素,包括 ET-743,是复杂的化合物,在制剂中其性能不能根据其它不相关的化学物质的性能预料。为满足生物相容性标准,包括医疗标准,当制剂中包含至少一种作为活性物质的海鞘素时这样的性能更难预料。我们进一步发现在 ET-743 组合物的冻干过程和贮藏期间,二糖作为填充剂的使用能显著减少杂质的形成。

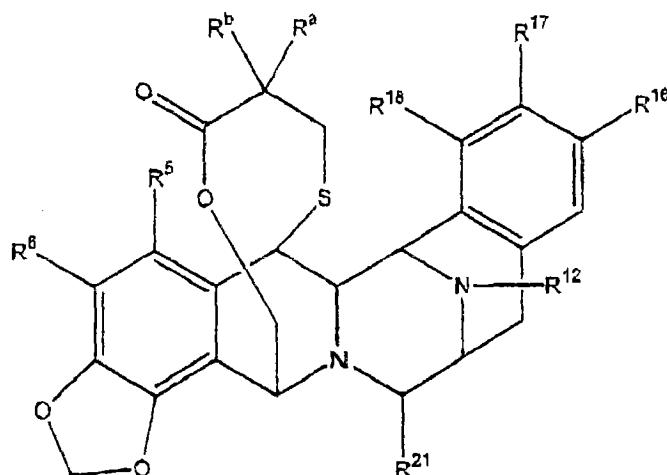
[0040] 当本发明的实施方案提供 ET-743 制剂,其基本上不含其它的例如 ET-701 的海鞘素,或至少 ET-701 的含量尽可能低时,则 ET-701 被认作是一种杂质,至少应该减少它在组合物中的存在。

[0041] 另外,二糖的使用也改善贮藏条件,允许冻干制剂在广泛的温度范围内,包括冷藏条件和室温,长期贮藏。在此使用的术语“稳定”,例如“一种稳定的 ET-743 制剂”的表达,指的是一种能满足如在此所报道的稳定性特点的制剂,和它的等价物,这是常规制剂不具有的和当制剂采用常规的制备方法制备时所不能实现的。

[0042] 本发明实施方案的实施例提供新的药学上可接受的组合物,其包含例如 ET-743 的海鞘素和二糖。

[0043] 正如在介绍中所述,海鞘素已被广泛的描述。它们有如下的通式 (I) 的结构:

[0044]



[0045] 其中:

[0046] R^5 是 OH、烷氧基或烷酰氧基;

[0047] R^6 是氢、烷基、烯基、炔基或芳基;

[0048] R^{12} 是氢、烷基、烯基、炔基或芳基;

[0049] R^{16} 是氢、烷基、烯基、炔基或芳基；

[0050] R^{17} 是 OH、烷氧基或烷酰氧基；

[0051] R^{18} 是 OH、烷氧基或烷酰氧基；

[0052] R^{21} 是 H、OH、CN 或其它亲核基团；和

[0053] R^a 是氢且 R^b 是任选取代的氨基，或

[0054] R^a 同 R^b 形成一个羰基官能团 $=O$ ，或

[0055] R^a 、 R^b 和它们连接的碳形成一个四氢异喹啉基。

[0056] 在这些化合物中，取代基能依照如下的指导进行选择：

[0057] 烷基和烷氧基优选有 1-12 个碳原子。烷基和烷氧基更优选的一类有 1 至约 6 个碳原子，最优选 1、2、3 或 4 个碳原子。本发明的化合物中的烷基特别地优选为甲基、乙基和丙基，包括异丙基。本发明的化合物中的烷基特别地优选为甲氧基、乙氧基和丙氧基，包括异丙氧基。烷基和烷氧基另一类更优选的基团有 4 至约 12 个碳原子，更优选有 5 至约 8 个碳原子，和最优选 5、6、7 或 8 个碳原子。在此应用的术语烷基，除非另外指明，指的是环状和非环状的基团，尽管环状基团将包含至少 3 个环碳。

[0058] 本发明的化合物中优选的烯基和炔基有一个或多个不饱和的键，和 2 至约 12 个碳原子。烯基或炔基更优选的一类有 2 至约 6 个碳原子，和最优选 2、3 或 4 个碳原子。烯基或炔基另一类更优选的基团有 4 至约 12 个碳原子，更优选 5 至约 8 个碳原子，和最优选 5、6、7 或 8 个碳原子。在此应用的术语烯基和炔基指的是环状和非环状的基团。

[0059] 本发明化合物中合适的芳基包括单环或多环化合物，包括含有分离的和 / 或稠合的芳基的多环化合物。典型的芳基含有 1 到 3 个分离或稠合的环和 6 至约 18 个碳环原子。特别优选的芳基包括取代的或非取代的苯基、萘基、联苯基、菲基和蒽基。

[0060] 合适的烷酰氧基和烷酰基有 2 至约 20 个碳原子，更优选有 2 至约 8 个碳原子，还更优选有 2 至约 6 个碳原子，最优选 2 个碳原子。烷酰氧基的另一类优选基团有 12 至约 20 个碳原子，还更优选有 14 至约 18 个碳原子，和最优选 15、16、17 或 18 个碳原子。

[0061] 上面提到的基团可以在一个或多个可用的位置被一个或多个合适的基团取代，该基团如： OR' 、 $=O$ 、 SR' 、 SOR' 、 SO_2R' 、 NO_2 、 NHR' 、 $N(R')$ 、 $=N-R'$ 、 $NHCOR'$ 、 $N(COR')$ 、 $NHSO_2R'$ 、 CN 、卤素、 $C(=O)R'$ 、 CO_2R' 、 $OC(=O)R'$ ，其中每个 R' 独立的选自 H、OH、 NO_2 、 NH_2 、SH、CN、卤素、 $=O$ 、 $C(=O)H$ 、 $C(=O)CH_3$ 、 CO_2H 、取代或非取代的 C_1-C_{12} 烷基、取代或非取代的 C_2-C_{12} 烯基、取代或非取代的 C_2-C_{12} 炔基和取代或非取代的芳基。本发明的化合物中合适的卤素包括 F、Cl、Br 和 I。

[0062] 本发明的优选化合物是通式 (I) 的那些化合物，其中一个或多个下面的定义将被应用：

[0063] R^5 是烷酰氧基；

[0064] R^6 是甲基；

[0065] R^{12} 是甲基；

[0066] R^{16} 是甲基；

[0067] R^{17} 是甲氧基；

[0068] R^{18} 是 OH；

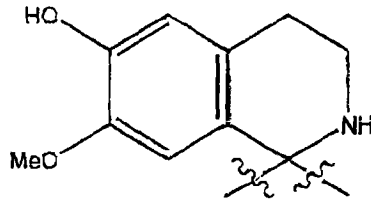
[0069] R^{21} 是 H、OH、CN；和

[0070] R^a 是氢且 R^b 是酰氨基, 或

[0071] R^a 同 R^b 形成 = O, 或

[0072] R^a 、 R^b 和它们连接的碳形成式 (II) 的一个基团:

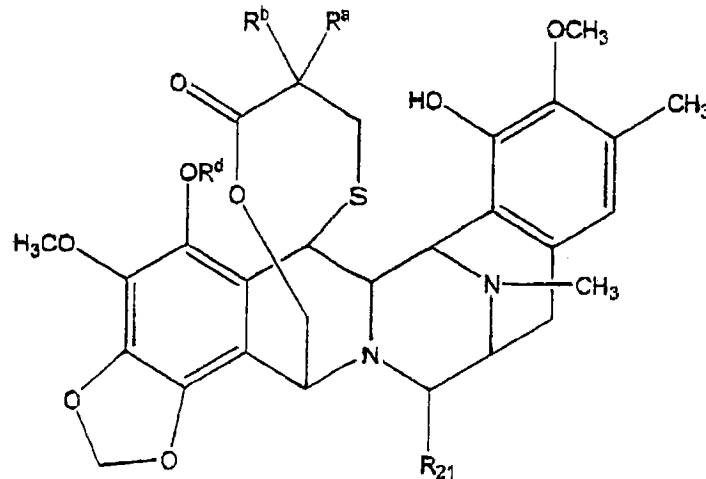
[0073]



[0074] 本发明的化合物的例子包括天然的海鞘素, 例如海鞘素 743 和其它的 1,4 桥接的稠合海鞘素化合物, 公开在例如 US 5,089,273、US 5,478,932、US 5,654,426、US 5,721,362、US 6,124,293、US 5,149,804、US 09/546,877、US 5,985,876 和 WO 01/77115 中。

[0075] 特别地, 优选下面式 (III) 的化合物:

[0076]



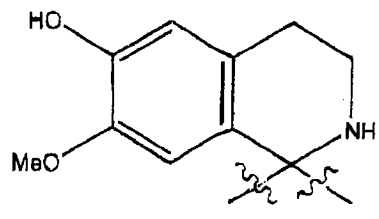
[0077] 其中

[0078] R^a 是氢且 R^b 是式 $-NHR^f$ 的酰氨基, 其中 R^f 是烷基, 或

[0079] R^a 同 R^b 形成 = O, 或

[0080] R^a 、 R^b 和它们连接的碳形成式 (II) 的一个基团:

[0081]



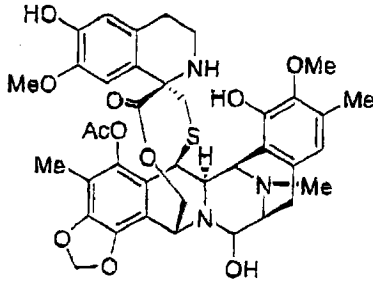
[0082] R^d 是烷基; 和

[0083] R^{21} 是 H、OH 或 CN。

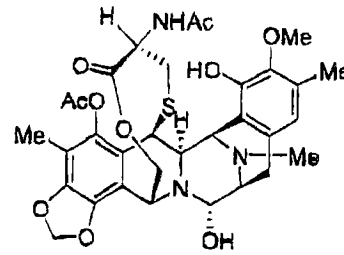
[0084] 烷基可以是乙酰基或更高级, 例如最高达 C_{20} 烷基。

[0085] 因此, 本发明优选的化合物包括:

[0086]

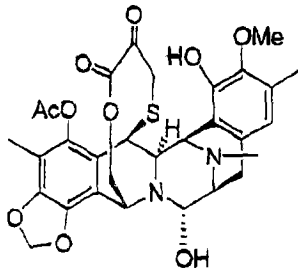


[0087] ET743

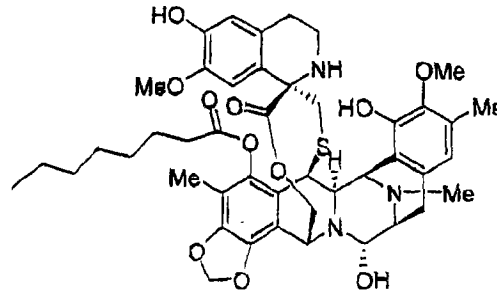


ET637 衍生物 A

[0088]

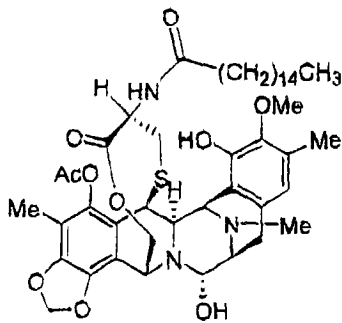


[0089] ET594

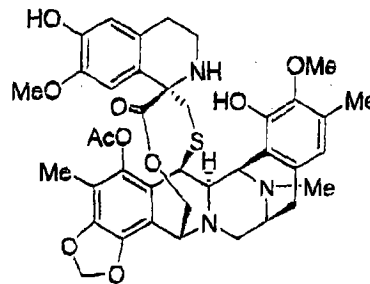


ET743 衍生物 A

[0090]



[0091] ET637 衍生物 B 或 ET745



[0092] 和相关的具有不同酰基的化合物。

[0093] 特别地, 优选海鞘素 743, 其也已知为 ET743 或海鞘素 743。

[0094] 本发明组合物中合适的二糖的例子包括乳糖、海藻糖、蔗糖和它们的组合。本发明的一些实施方案能使用的二糖的其它例子包括麦芽糖、异麦芽糖、纤维二糖、异蔗糖、异海藻糖、山梨糖、松二糖、蜜二糖、龙胆二糖和它们的混合物中至少一种。一般优选蔗糖。

[0095] 在本发明其它实施方案中, 组合物包含如 ET-743 的海鞘素和不含乳糖的二糖。在本发明其它实施方案中, 该组合物包含如 ET-743 的海鞘素和不含海藻糖的二糖。在本发明其它实施方案中, 组合物包含如 ET-743 的海鞘素和不含蔗糖的二糖。在本发明其它实施方案中, 组合物包含如 ET-743 的海鞘素和不含麦芽糖的二糖。在本发明其它实施方案中, 组合物包含如 ET-743 的海鞘素和不含异麦芽糖的二糖。在本发明其它实施方案中, 组合物包含如 ET-743 的海鞘素和不含纤维二糖的二糖。在本发明其它实施方案中, 组合物包含如 ET-743 的海鞘素和不含异蔗糖的二糖。在本发明其它实施方案中, 组合物包含如 ET-743 的海鞘素和不含异海藻糖的二糖。在本发明其它实施方案中, 组合物包含如 ET-743 的海鞘素

和不含山梨糖的二糖。在本发明其它实施方案中,组合物包含如 ET-743 的海鞘素和不含松二糖的二糖。在本发明其它实施方案中,组合物包含如 ET-743 的海鞘素和不含蜜二糖的二糖。在本发明其它实施方案中,组合物包含如 ET-743 的海鞘素和不含龙胆二糖的二糖。

[0096] 因此,在一些实施例中,本发明的组合物含有小于 2%或小于 1%或小于 0.5%或小于 0.2%或小于 0.1%重量的乳糖、海藻糖、蔗糖、麦芽糖、异麦芽糖,纤维二糖、异蔗糖、异海藻糖、山梨糖、松二糖、蜜二糖、和龙胆二糖中至少一种,优选每一种。

[0097] 在此使用的术语“它们的混合物”和“它们的组合”指的是先前的为术语“它们的混合物”和“它们的组合”所提供的化合物中的至少两种。由下述方法说明,但不受其限制,术语“包含 A、B、C 和它们的混合物中的至少一种的产品”指的是符合以下任何一项要求的产品的实施方案:A 在产品中;B 在产品中;C 在产品中;A 和 B 在产品中;A 和 C 在产品中;B 和 C 在产品中;A、B 和 C 在产品中。

[0098] 另外,在此应用到化合物中术语如“反应”,“形成”,和相关的术语理解为下面的任何一个:(a) 这样的化合物,和 (b) 以一种形式存在的化合物,这样的化合物存在于反应介质中。类似地,命名一个在操作和反应步骤中的化合物或给出它的分子式,或命名一个存在于介质,不管是固体或液体,包括产品、制剂和组合物中的化合物或给出它的分子式,在此指的是以下任一个:(a) 这样的化合物,和 (b) 以一种形式存在的化合物,这样的化合物存在于介质中。例如,在此命名一种酸性化合物指的是在其被命名的内容中以任何形式存在的这种化合物。作为说明,但不受其限制,如果它是存在于相关的介质中的氯化钠的形式,命名一种化合物“氯化钠”或提供它的化学分子式在此指的是作为双原子分子的化合物 NaCl;如果在相关的介质中的氯化钠完全或部分离解,也指非离解和 / 或离解的化合物,包括在这样介质中被溶剂化,笼状化合物的部分,同其它物质缔合的物质等。

[0099] 在此指的任何化合物意图代表这种特定的和有确定的变化或形式的化合物。特别地,在此指的化合物可以有不对称的中心,因此以不同的对映异构体形式存在。在此指的化合物的所有光学异构体和立体异构体,和它们的混合物,都被认为在本发明的制剂和方法的范围内。因此,在此指的任何特定的化合物意图代表任何一个外消旋化合物、一个或多个对映异构体形式、一个或多个非对映异构体形式、一个或多个阻转异构体形式,和它们的混合物。

[0100] 另外,在此指的化合物可以以几何异构体(即顺式和反式异构体)、互变异构体或阻转异构体存在。另外,当介质中存在这样的形式时,在此指的任何化合物,意图代表水合物、溶剂化物和多晶型物,和它们的混合物。另外,在此指的化合物可以以同位素标记的形式存在。在此指的化合物的所有几何异构体、互变异构体、阻转异构体、水合物、溶剂化物、多晶型物和同位素标记的形式,和它们的混合物,都被认为在本发明的制剂和方法的范围内。

[0101] 为了提供更简明的描述,在此给出的一些定量表达不用术语“约”限制。可以理解,不管术语“约”是否明确地使用,在此给出的每个量意指实际给出的值,也意指这种给出的值的近似值,其可基于本领域普通技术人员合理的推知,包括由于这种给出值的实验和 / 或测量条件得到的等价值和近似值。

[0102] 本发明中的活性物质可以是天然的、半合成的或合成的来源,包括这些来源的组合。在活性物质是一种如 ET-743 的海鞘素的实施方案中,ET-743 可以是天然来源,从例如

海鞘类被囊动物中,优选 *Ecteinascidiaturbinata* 中分离得到的。ET-743 可以是半合成的或合成的来源。参考文献如 WO 0069862 和 WO 0187895, 此两篇参考文献全文引入参考。

[0103] 本发明实施方案中活性物质与填充剂的比例取决于填充剂的溶解性和填充剂在制剂冷冻干燥时的冷冻干燥的能力。可以设想此比例 (w/w) 在一些实施方案中可以是约 1 : 1, 在另一些实施方案中是约 1 : 5, 在另一些实施方案中是约 1 : 10, 而其它实施方案说明了比例范围从约 1 : 10 至约 1 : 1。可以设想其它实施方案比例范围从约 1 : 10 至约 1 : 100, 还有的实施方案比例范围从约 1 : 100 至约 1 : 1500。当活性化合物是 ET-743 时, ET-743 与填充剂的比例 (w/w) 典型地为从约 1 : 100 至约 1 : 1500, 优选从约 1 : 200 至约 1 : 800, 更优选从约 1 : 250 至约 1 : 600, 最优选约 1 : 400。

[0104] 冻干的材料通常置于管瓶中, 管瓶中含有一定量的海鞘素或活性化合物。当活性化合物是 ET-743 时, 标明活性量是 250 μ g 和 1mg。

[0105] 本发明不受特定容器形式和设计所限制, 只要容器满足其所需的用途和标准。本发明的实施方案提供了置于管瓶中, 优选管型瓶中的制剂。

[0106] 本发明的冻干的制剂能重新构成和稀释, 得到用于准备供静脉注射的溶液形式的本发明组合物。实际重新构成的液体量不受本发明实施方案特征的限制。作为说明, 但不受其限制, 依照本发明冻干制剂的实施方案是用一定体积的水重新构成的。这样的体积大都不超过约 20ml, 优选的体积范围在约 1ml 到约 15ml, 更优选的体积范围在约 1ml 到约 10ml, 和最优选的体积范围在约 1ml 到约 4ml。当采用活性物质 ET-743, 在这样实施方案中的重新构成的液体包含最高达 500 μ g/ml、约 50 μ g/ml、约 100 μ g/ml 和优选约 250 μ g/ml 的 ET-743 浓度。

[0107] 本发明重新构成的实施方案, 如果期望如此的话, 能进一步被稀释, 这种进一步稀释不受本发明限制。这种进一步稀释优选用水系统, 通常是 0.9% 的氯化钠或 5% 葡萄糖进行。重新构成的溶液将根据重新构成的溶液浓度和所期望的稀释溶液浓度进行稀释。

[0108] 依照本发明 ET-743 制剂的实施方案能用于治疗各种癌症, 包括治疗肉瘤、平滑肌肉瘤、脂肉瘤、骨肉瘤、卵巢癌、乳腺癌、黑色素瘤、结肠直肠癌、间皮瘤、肾癌、子宫内膜癌和肺癌中的任一种, 和大多数上述癌症的状况。可以理解, 本文的“治疗”指的是一种导致癌症状况改善的作用。依照本发明 ET-743 制剂的实施方案也能用于治疗对其它治疗不能产生有利反应的难治性癌症的状况。另外, 依照本发明组合物的实施方案能用于实验室的组织试验, 包括但不限于为临床试验、分析试验和模型分析。

[0109] 本发明的包含如 ET-743 的海鞘素的实施方案优选输液给药。输液步骤通常循环重复, 这可以是适当地重复如 1-20 个循环。此循环包括一个输注 ET-743 制剂期, 通常也包括一个不输注 ET-743 期。通常, 此循环通常进行数周, 因此, 循环通常包含一或多周的 ET-743 输注期, 一或多周的循环完成期。优选 3 周一循环, 但也可为 1-6 周。输注期本身可以是每次循环的 1-72 小时, 更常用的是约 1、3 或 24 小时内的一次给药; 或者每天输液的循环输注期优选 1-5 小时, 特别地 1 或 3 小时; 或者每周输液的循环输注期优选 1-3 小时, 特别地 2 或 3 小时。在每个循环开始单次给药是优选的。输注时间优选约 1、3 或 24 小时。

[0110] 重新构成的和稀释的溶液举例说明了本发明实施方案。重新构成的和稀释的制剂能使用可行的方案静脉给药。剂量将依照剂量时间表选择, 并考虑现有剂量限制的毒性数据, 这参见如: WO 0069441、WO 0236135 和 WO 0339571, 以及 van Kesteren, Ch. 等., 2003,

Anti-Cancer Drugs, 14(7), 第 487-502 页。这三篇 WO 专利说明书和 van Kesteren 的文章作为特定的参考并入。

[0111] 优选的剂量方案包括：

[0112] a) 约 1.5mg/m² 体表面积, 静脉输液给药 24 小时以上, 循环之间间隔 3 周；

[0113] b) 约 1.3mg/m² 体表面积, 静脉输液给药 3 小时以上, 循环之间间隔 3 周；

[0114] c) 约 0.580mg/m² 体表面积, 3 周内每周一次, 静脉输液给药 3 小时以上, 和 1 周的休息期。

[0115] 如 ET-743 的海鞘素能与其它药联用。例如, 能与另一种抗肿瘤药一起给药。读者可参考 WO 0069441 和 WO 0236135 中的列表, 其作为特定的参考在此并入。其它药物的例子包括阿霉素、顺铂、紫杉醇、卡铂、PEG 修饰的阿霉素脂质体、多西紫杉醇、卡培他滨和吉西他滨。其它作用方式的药物, 包括地塞米松也能使用。其它药物的给药能在如 ET-743 的海鞘素的给药之前, 期间或之后进行。

[0116] 本发明的包含如 ET-743 的海鞘素的制剂的实施方案的制备是通过将以含有海鞘素和二糖的本体溶液形式存在的本发明的组合物冷冻干燥。通常本体溶液将被缓冲至, 如约 pH4。合适的缓冲剂包括磷酸盐缓冲剂和柠檬酸盐缓冲剂。能用的其它可能缓冲剂, 如磷酸盐 / 柠檬酸盐缓冲剂 (一种磷酸盐缓冲剂和柠檬酸盐缓冲剂的混合物)、乳酸盐缓冲剂、抗坏血酸盐缓冲剂、酒石酸盐 / 柠檬酸盐缓冲剂、碳酸氢盐 / 盐酸缓冲剂、醋酸盐缓冲剂、琥珀酸盐缓冲剂和甘氨酸 / 盐酸缓冲剂。能使用缓冲剂的混合物。允许 pH 控制在期望值的生物相容缓冲剂提供本发明另外的实施方案。

[0117] 在填充剂溶液中能包含其它组分, 例如: 表面活性剂如聚氧乙烯 20 脱水山梨醇单油酸酯或硬脂酸-40-聚羟氧基酯。其它可能的表面活性剂包括磷脂, 如卵磷脂; 聚氧乙烯-聚氧丙烯共聚物, 如 Pluronic 表面活性剂; 12-羟基硬脂酸的聚氧乙烯酯, 如 Solutol 表面活性剂; 胆固醇的乙氧基化物, 如双酰基甘油、二烷基甘油; 胆汁盐, 如胆酸钠、去氧胆酸钠; 蔗糖酯, 如蔗糖单月桂酸酯、蔗糖单油酸酯; 聚乙烯吡咯烷酮 (PVP); 聚乙烯醇 (PVA)。

[0118] 制剂通常采用含此冻干产品的管瓶供应。然而, 本发明不受这种供应形式的限制。为了提供含冻干产品的管瓶, 将本体溶液加入管瓶中, 然后冷冻干燥。在此所提及的, 本发明的另一个目的是提供一种方法, 它用于改善如 ET-743 的海鞘素的溶解性以便增加溶液中海鞘素的浓度和减少开始冻干前管瓶中的灌装体积。本发明内容中开发的方法涉及制备本体溶液的实施方案, 其中活性物质的浓度高于常规方法所能获得的浓度。因此用本发明方法能获得与常规含甘露醇的制剂相比更少的灌装体积。这种灌装体积减少可以节约冷冻干燥步骤中的时间和能量。另外, 也减少 ET-743 的分解的风险, 尤其是在第二干燥期。

[0119] 正如上述所提及的, ET-743 水溶性是有限的, 参见例如: vanKesteren, Ch. 等., 2003, Anti-Cancer Drugs, 14(7), 第 487-502 页。常规的方法提供了采用缓冲剂调节介质的 pH 到 4 以增溶 ET-743。这种 pH 控制通常用 0.05M 磷酸盐缓冲剂实现 pH 等于 4。本发明发现凭借在酸中形成 ET-743 的预溶液 (pre-solution) 能提高在本体溶液中 ET-743 的溶解性。凭借此预溶解, 能够增加 ET-743 在本体溶液和管瓶中的浓度和能够减少管瓶中的灌装体积。在本发明的这些实施方案中, 与其常规的灌装体积相比, 灌装体积能够减少约 80%。作为说明, 但不受其限制, 本发明的实施方案对于含有 0.25mg ET-743 的管瓶提供 1ml 灌装体积, 对于含有 1mg ET-743 的管瓶提供 4ml 灌装体积。在本发明的其它实施方案中, 还可

以通过增加 ET-743 的浓度任选地进一步减少其灌装体积。

[0120] 常规的方法包括用注射用水将 ET-743、甘露醇和 pH4 的 0.05M 磷酸盐缓冲液溶解；本体溶液的溶解性受在这种介质中 ET-743 低的溶解性的限制。本发明中发现在酸溶液预处理 ET-743 能增加 ET-743 的溶解性，使本体溶液中有更高的 ET-743 的浓度。因此，本发明提供用来提高本体溶液中 ET-743 的溶解性的方法，其包括在酸性介质溶解 ET-743，将含 ET-743 的介质与本体溶液的其他组分混合，和，任选地，调节 pH。在一些说明性，但不受其限制，本发明的实施方案中，pH 的调节采用磷酸盐缓冲剂来完成。适合的酸性介质不含或基本上不含缓冲成分，并且通常由酸的水溶液组成。

[0121] 提供的依照本发明的用于冷冻干燥的本体溶液的说明性实施方案是：一种用磷酸二氢钾和磷酸缓冲到 pH4 的，采用蔗糖作为填充剂的 ET-743 的溶液。

[0122] 提供的依照本发明的方法的一个说明性实施方案下：将 ET-743 溶解在 0.1N 磷酸中。然后将注射用水（“WFI”）、磷酸二氢钾、蔗糖和 ET-743（ET-743 预先溶解在 0.1N 磷酸中）混合。继续前目视检查溶解性，只有观察到才认为溶解完全。检查和通过缓慢加入合适的酸调节溶液的 pH 值到约 1 至约 5 的范围内，更优选约 2 至约 4.5 的范围内，还更优选约 3 至约 4.5 的范围内，和最优选 pH 约 4.0。这种酸的优选实例是磷酸，其中优选的浓度为约 0.1N。任选加入一种合适的碱以控制 pH。这种碱优选的实例是氢氧化钾，优选在溶液中，其中优选的浓度为约 0.1N。最后加入合适的生物相容性液体，优选 WFI，调节容积。然后将本体溶液依照期望的剂量灌装到管瓶中。

[0123] 本发明的一些实施方案中冷冻干燥是通过减少第二干燥期的时间来实现的。优选的方案包含降温至约 -40°C ，在 40–80 微巴初始干燥 10–50 小时，在低压和 0°C 以上再次干燥 10–50 小时。在本发明的其它方案降温至 -40°C 以下。

[0124] 本发明的实施例包括通过将产品降温至 -40°C 以下冻干。在温度约 -20°C 至约 -26°C ，压力约 60 毫巴初始干燥进行大约 15–40 小时。在温度约 20°C 至约 30°C ，压力约 100 毫巴再次干燥进行大约 20–40 小时。

[0125] 本发明冻干制剂的实施方案适合的贮藏温度显著高于常规制剂的贮藏温度。依照本发明的制剂的贮藏温度的实例是大约 $+5^{\circ}\text{C}$ 。这些温度是容易通过普通的冰箱达到的。

[0126] 发明附图

[0127] 图 1. 稳定性的对比研究。在 5°C 贮藏 6 个月后 ET-743 的纯度评估。

[0128] 图 2. 稳定性的对比研究。在 5°C 贮藏 12 个月后 ET-743 的纯度评估。

[0129] 图 3. 在 5°C 贮藏 9 个月期间不同制剂中 ET-701 杂质含量。

[0130] 图 4. 新制剂与 3 批参照制剂在 5°C 贮藏 3 个月期间的 ET-743 的 % 纯度变化对比。

[0131] 图 5. 在 5°C 贮藏 3 个月期间不同制剂中 ET-701 杂质含量。

[0132] 图 6. 新制剂与 3 批参照制剂在 $25^{\circ}\text{C} / 65\% \text{ RH}$ 时贮藏 3 个月期间的 ET-743 的 % 纯度变化对比。

[0133] 图 7. 在 $25^{\circ}\text{C} / 65\% \text{ RH}$ 时贮藏 3 个月期间的不同制剂中 ET-701 杂质含量。

[0134] 图 8. 新制剂在 $40^{\circ}\text{C} / 70\% \text{ RH}$ 时贮藏 3 个月期间的 ET-743 的 % 纯度变化对比。

[0135] 图 9. 新制剂在 $40^{\circ}\text{C} / 70\% \text{ RH}$ 时贮藏 3 个月期间的 ET-743 的 % 纯度变化对比。

实施例

[0136] 实施例 1

[0137] 本实施例披露了 8 个新制剂同常规 ET-743 制剂（含甘露醇）的稳定性对比研究。乳糖和蔗糖被用于说明本发明。参照制剂用甘露醇。其它已知的填充剂例如葡聚糖（Dextran 40）和聚乙烯吡咯酮（Kollidon 12, PVP）也用于对比试验。表面活性剂硬脂酸-40-聚炔氧基酯（Myrj 45）或聚氧乙烯 20 脱水山梨醇单油酸酯（Polysorbate 80）在一些制剂中使用，且缓冲剂在一些制剂中是省略的。

[0138] 采用标准的过程制备和冷冻干燥本体溶液。体积 150ml 的每个制剂的制备如下：

[0139] 称取一定量的用于最终溶液的磷酸钾（1.02g）并溶解在 90% 最终体积（135ml）水中。然后用 0.1N 磷酸调节 pH 到 pH4.0。

[0140] 将 7.85mg 的 ET-743 加到一种配药玻璃容器中，用磁力搅拌大约 1 小时使其溶解在 2/3 体积（90ml）的磷酸钾溶液中（目视检查溶解性）。

[0141] 加入一定量的填充剂和表面活性剂并溶解在 1/3 体积的磷酸钾溶液中。然后，将此溶液加到 ET-743 溶液中，再持续搅拌 1 小时。

[0142] 溶液用水补充到最终重量（所有的制剂采用 1.019g/cc 的密度）。

[0143] 溶液通过 0.22 μ m 纤维素过滤器滤过。

[0144] 溶液灌装到 25ml 的玻璃瓶中，每瓶 5ml，保持在 -20°C 直到冻干过程。

[0145] 依照下表 I 进行冻干：

[0146] 表 I

[0147]

冷冻到 -48°C 的时间	4h
第一干燥期：	48h
第二干燥期：	44h

[0148] 在冷冻干燥后，将管瓶封口。管瓶转到冷藏区域（-20°C）

[0149] 每瓶的组分如下（表 II），注意在冷冻干燥过程中水分被蒸发。

[0150] 表 II

	参照	蔗糖	葡聚糖	PVP	乳糖
ET-743	0.250mg	0.250mg	0.250mg	0.250mg	0.250mg
甘露醇	250mg				
蔗糖		500mg			
葡聚糖 40			500mg		
Kollidon 12				375mg	
乳糖					500mg
磷酸二氢钾	34mg	34mg	34mg	34mg	34mg
磷酸	适量, pH 4.0	适量, pH 4.0	适量, pH 4.0	适量, pH 4.0	适量, pH
					4.0
[0151] 注射用水	适量, 5ml	适量, 5ml	适量, 5ml	适量, 5ml	适量, 5ml

[0152] 表 II (续)

[0153]

	ET-poly80	ET-myrj	Et-poly80sacc	无缓冲剂的 ET-p80sacc
ET-743	0.250mg	0.250mg	0.250mg	0.250mg
甘露醇	250mg	250mg		
蔗糖			500mg	500mg
Polysorbate 80	50mg		50mg	50mg
Myrj 45		50mg		
磷酸二氢钾	34mg	34mg	34mg	
磷酸	适量, pH 4.0	适量, pH 4.0	适量, pH 4.0	
注射用水	适量, 5ml	适量, 5ml	适量, 5ml	适量, 5ml

[0154] 稳定性试验在温度 $5 \pm 3^\circ\text{C}$ 时进行。

[0155] 在 5°C 3 个月期间 9 个制剂的纯度评估显示在表 III 和图 1 中。在一些制剂中显示更高的稳定性 (参照, 蔗糖, 乳糖和 ET-poly80sacc), 此稳定性试验延长到 9 个月, 和在一些含乳糖和蔗糖的制剂中由于它们的高度稳定性, 稳定性试验甚至延长到 12 个月。表 III 中的数据和图 2 显示含乳糖和蔗糖的制剂呈现提高的稳定性, 其纯度减少只有 2%。其减少量显著低于在其它试验的制剂中观察到的减少量。

[0156] 表 III

[0157]

	ET-743 纯度 (%)			
	参照	蔗糖	乳糖	ET-poly80sacc
冷冻干燥前	98.04	98.34	98.06	97.96
t=0	97.67	98.15	97.21	97.85
1 个月	96.06	96.89	96.35	97.72
3 个月	94.37	96.64	95.33	97.58
6 个月	92.81	97.01	94.07	95.98
9 个月	88.17	95.36	94.83	96.01

[0158]

12 个月		96.31	95.22	
-------	--	-------	-------	--

[0159] 表 III(续)

[0160]

	ET-743 纯度 (%)				
	葡聚糖	PVP	ET-poly80	ET-myr j	无缓冲剂的 ET-poly80sacc c
冷冻干燥前	96.18	97.62	96.45	97.46	97.45
t=0	94.64	93.72	92.46	96.36	95.80
1 个月	93.42	91.96	89.38	94.36	91.84
3 个月	84.90	90.40	81.18	85.31	88.46

[0161] 正如表 IV 和图 3 所示,当 ET-743 在蔗糖或乳糖存在下配制时,参照制剂中主要的降解产物,ET-701,显著减少。

[0162] 表 IV

[0163]

	ET-701 (%)			
	参照	蔗糖	乳糖	ET-poly80sac c
t=0	0.188	0.066	0.060	0.050
1 个月	0.533	0.063	0.076	0.060
3 个月	0.890	0.057	0.054	0.050
6 个月	1.732	0.050	0.062	0.050
9 个月	3.225	0.050	0.050	0.050

[0164] 本发明发现与甘露醇相比,二糖提高 ET-743 的稳定性。这种二糖的实例包括乳糖、蔗糖和它们的混合物。与含其它常规填充剂,例如葡聚糖和聚乙烯吡咯酮的其它制剂相比,含二糖制剂的稳定性也提高了。依照本发明的二糖制剂的实施方案在 5°C 时至少 12 个月被测定是稳定的。与常规制剂中的杂质含量相比,依照本发明的制剂的实施方案的杂质含量显著降低。存在的 ET-701 相应地减少。本发明的实施方案包含至少一种表面活性剂,例如 polysorbate 80。这些实施方案呈现有利的 ET-743 的溶解性质和稳定特性。然而,至少一种表面活性剂的存在不是本发明的限制性特征,并且其它实施方案不含有这样的表面活性剂。

[0165] 实施例 2

[0166] 本研究的目的是比较 ET-743 标准制剂与 5 个新制剂的稳定性。本研究评估了这些制剂在 +5°C 时的稳定性。

[0167] 测试的制剂的成分如下(表 V),注意在冷冻干燥过程中水分被蒸发。

[0168] 表 V

[0169]

	参照	ETtreal	ETP80treal	ETP80treal 250	ETP80sa cc 250	ETP80trealg ly 250
ET-743	0.250m g	0.250m g	0.250mg	0.250mg	0.250mg	0.250mg
甘露醇	250mg					
海藻糖		500mg	100mg	100mg		200mg
蔗糖					100mg	
Polysorbate 80			10mg	10mg	10mg	150mg
甘氨酸						15mg
磷酸二氢钾	34mg	34mg	34mg	6.8mg	6.8mg	
磷酸	适量, pH 4.0	适量, pH 4.0	适量, pH 4.0	适量, pH 4.0	适量, pH 4.0	
盐酸						适量, pH 4.5
注射用水	适量, 5ml	适量, 5ml	适量, 5ml	适量, 1ml	适量, 1ml	适量, 1ml

[0170] 采用下面特别的方案制备和冷冻干燥本体溶液：

[0171] 制剂 ETtreal、ET80treal 和参照制剂

[0172] 100g 重量的每个制剂如下制备：

[0173] 称取一定量的用于最终溶液的磷酸钾，溶解在 90% 最终体积 (90ml) 的水中。然后用 0.1N 磷酸调节 pH 到 pH4.0。

[0174] 将一定量的 ET-743 (5.0mg) 加到一种配药玻璃容器中，用磁力搅拌大约 1 小时使其溶解在 2/3 体积 (60ml) 的磷酸钾溶液中（目视检查溶解性）。

[0175] 加入一定量的填充剂和表面活性剂，溶解在 1/3 体积的磷酸钾溶液中。然后，将此溶液加到 ET-743 溶液中，再持续搅拌 1 小时。

[0176] 溶液用水补充到最终重量。

[0177] 溶液通过 0.22 μm 纤维素过滤器滤过，在滤过前取出等分部分用于 IPC。

[0178] 溶液灌装到 25ml 的管瓶中，每瓶 5ml，保持在 -20℃ 直到冻干过程。

[0179] 制剂 ETP80sacc250、ETP80treal250、ETP80trealgly250

[0180] 30g 重量的每个制剂如下制备：

[0181] 称取一定量的用于最终溶液的磷酸钾或甘氨酸，溶解在 90% 的最终体积 (27ml) 的水中。然后用 0.1N 磷酸或 0.1N HCl 调节 pH 到 pH4.0。

[0182] 称取一定量的 polysorbate 80，加到 1/3 体积的缓冲溶液中。

[0183] 将一定量的 ET-743 (7.5mg) 加到一种配药玻璃容器中,用磁力搅拌大约 1 小时使其溶解在 2/3 体积 (60ml) 的磷酸钾溶液中 (目视检查溶解性)。

[0184] 加入一定量的填充剂,溶解在 2/3 体积的缓冲溶液中。然后,将此溶液加到 ET-743 溶液中,持续搅拌 10 分钟。

[0185] 溶液用水补充到最终重量。

[0186] 溶液通过 0.22 μ m 纤维素过滤器滤过。

[0187] 溶液灌装到 10ml 的管瓶中,每瓶 1ml,保持在 -20°C 直到冻干过程。

[0188] 所有 6 个制剂的冻干步骤依照下表 VI 进行:

[0189] 表 VI

[0190]

冷冻到 -48°C 的时间	2.5h
第一干燥期:	29h
第二干燥期	36h

[0191] 在冷冻干燥后,将管瓶封口。管瓶转到冷藏区域 (-20°C)

[0192] 稳定性试验在温度 5 \pm 3°C 时进行。

[0193] 在 5°C 时所有的制剂比参照制剂更稳定。在新的制剂之间没有观察到显著的不同。

表 VII 披露了研究中制剂的 ET-743 的色谱纯度。

[0194] 表 VII

[0195]

	ET-743 纯度 (%)					
	参照	ETtreal	ETP80treal	ETP80treal 250	ETP80sacc 250	ETP80trealgly 250
过滤前	98.63	98.30	97.10	97.67	97.22	98.3
过滤后	98.62	98.46	97.27	97.67	97.06	98.46
冷冻干燥后	97.96	98.18	97.65	97.37	97.79	98.18
1 个月	97.35	98.22	97.78	96.39	97.40	98.22
3 个月	97.65	98.53	98.25	96.61	96.66	98.53
6 个月	95.28	97.38	96.93	97.01	97.06	97.38

[0196] 实施例 3

[0197] 制备 ET-NF A、ET-NF B、ET-NF C、ET-NF D、ET-NF E 和 ET-NF F 的 6 个制剂并用于在不同温度下的稳定性的进一步研究。

[0198] 选择蔗糖和乳糖作为填充剂。采用两种不同缓冲液:pH 4 的 0.1M 柠檬酸钠缓冲液和 pH 4 的 0.05M 磷酸钾缓冲液。测试了本体溶液中两种不同的 ET-743 的浓度:0.250mg/

ml 和 0.100mg/ml。依据灌装体积 (4ml 对 10ml) 采用两种不同的冷冻干燥循环。每个制剂每批生产至少 125 瓶。

[0199] 每瓶本体溶液的成分如下 (表 VIII), 注意在冷冻干燥过程中水分被蒸发。

[0200] 表 VIII

[0201]

	ET-NF A	ET-NF B	ET-NF C	ET-NF D	ET-NF E	ET-NF F
组分						
ET-743	1mg	1mg	1mg	1mg	1mg	1mg
蔗糖	400mg	---	---	1000mg	1000mg	---
乳糖	---	400mg	1000mg	---	---	200mg
柠檬酸一水合物	43.6mg	43.6mg	109mg	109mg	---	43.6mg
柠檬酸钠二水合物	45.12mg	45.12mg	112.8mg	112.8mg	---	45.12mg
磷酸二氢钾	---	---	---	---	68mg	---
磷酸	---	---	---	---	适量, pH 4	---
注射用水	4ml	4ml	10ml	10ml	10ml	4ml

[0202] 采用下面特别的方案制备和冷冻干燥本体溶液:

[0203] 制剂 ET-NF A、ET-NF B 和 ET-NF F

[0204] 制备 2L 约 0.2M 柠檬酸: 76.96g 的柠檬酸在 2L 容量瓶中溶解, 溶液用注射用水加至最终体积。柠檬酸溶液的最后摩尔浓度是 0.183M。

[0205] 制备 2L 约 0.2M 柠檬酸钠: 117.64g 的柠檬酸钠在 2L 容量瓶中溶解, 溶液用注射用水加至最终体积。柠檬酸钠溶液的最后摩尔浓度是 0.175M。

[0206] 制备 4L 约 0.1M pH 4 柠檬酸盐缓冲液: 1125ml 的 0.2M 柠檬酸溶液和 875ml 的 0.2M 柠檬酸钠溶液在 4L 容量瓶中混合。溶液用注射用水加至最终体积。检查溶液的 pH 并调节到 pH 4。柠檬酸盐缓冲溶液的最后摩尔浓度是 0.089M。

[0207] 将 143.83mg 的 ET-743 加到一种配药玻璃容器中, 用磁力搅拌大约 1 小时使其溶解在占所需总体积约 80% 的 0.1M 柠檬酸盐缓冲溶液中 (目视检查溶解性)。

[0208] 然后, 加入一定量的蔗糖或乳糖 (制剂 A 和 B 用 55g 蔗糖, 制剂 F 用 27.5g 乳糖), 将混合物再搅拌约 1 小时直至溶解。

[0209] 在 pH 检查后, 溶液通过加入 0.1M pH 4 柠檬酸盐缓冲溶液来补至最终体积。制剂 A 需要重新用柠檬酸调节到 pH 4。最后溶液的密度: 1.04g/1。最终重量 572mg。

[0210] 溶液通过 0.22 μ m 的 PVDF 过滤器滤过。

[0211] 使用自动泵和 3.2mm 铂加工处理的硅氧烷管将溶液灌进 25ml 的管瓶中。标准灌装体积是 4ml。以规则的间隔 (每 15 瓶) 检查灌装体积, 如果需要, 调整灌装体积。

[0212] 在灌装完后, 放置冻干塞子并于 5°C 将管瓶放入冻干器。

[0213] 冻干步骤依照下表 IX 进行:

[0214] 表 IX

[0215]

周期	步骤	压力	设定 T (°C)	斜率 (min)	保持时间
放入	Shelves T ^a	atm	5°C		
冷冻	冷冻 1	atm	-50°C	1h 50min 0.5°C/min	
	冷冻 2	atm	-50°C		6 h
真空	Ch 真空	0.5 mb			
升华	1°干燥	0.080 mb	-27°C	45min 0.5°C/min	
	1°干燥	0.080 mb	-27°C		58 h
第二干燥期	2°干燥	<0.020 mb	25°C	3h 30min 0.25°C/min	
	2°干燥	<0.020 mb	25°C		40 h
	塞上塞子	0.010 mb	25°C		

[0216] 将管瓶封口。完成最后的调节。管瓶转到冷藏区域 (-20°C)。

[0217] 制剂 ET-NF C 和 ET-NF D

[0218] 制备 1L 约 0.2M 柠檬酸 :38.48g 的柠檬酸在 1L 容量瓶中溶解,溶液用注射用水加至最终体积。柠檬酸溶液的最后摩尔浓度是 0.183M。

[0219] 制备 1L 约 0.2M 柠檬酸钠 :58.82g 的柠檬酸钠在 1L 容量瓶中溶解,溶液用注射用水加至最终体积。柠檬酸钠溶液的最后摩尔浓度是 0.175M。

[0220] 制备 2L 约 0.1M pH 4 柠檬酸盐缓冲液 :850ml 的 0.2M 柠檬酸溶液和 650ml 的 0.2M 柠檬酸钠溶液在 2L 容量瓶中混合,溶液用注射用水加至最终体积。检查溶液的 pH 和调节到 pH 4。柠檬酸盐缓冲溶液的最后摩尔浓度是 0.089M。

[0221] 将 141.21mg 的 ET-743 加到一种配药玻璃容器中,用磁力搅拌大约 1 小时使其溶解在占所需总体积约 80% 的 0.1M 柠檬酸盐缓冲溶液中 (目视检查溶解性)。

[0222] 加入一定量的蔗糖或乳糖 (135g),该混合物再搅拌约 1 小时直至溶解。

[0223] 在 pH 检查后,溶液用 0.1M pH 4 柠檬酸盐缓冲溶液加至最终体积。不需要再调节 pH。最后溶液的密度 :1.04g/l。最终重量 1404mg。

[0224] 溶液通过 0.45 μm 的 PVDF 过滤器滤过。

[0225] 使用自动泵和 3.2mm 铂加工处理的硅氧烷管将溶液灌入 25ml 的管瓶中。标准灌装体积是 10ml。以规则的间隔 (每 15 瓶) 检查灌装体积,如果需要,调整灌装体积。

[0226] 在灌装完后,放置冻干塞子并于 5°C 将管瓶放入冻干器。

[0227] 冻干步骤依照前述制剂 ET-NF A、ET-NF B 和 ET-NF F 的步骤 (表 IX) 进行。

[0228] 由于瓶中大量的体积,计划的周期不能产生合适的冻干且产生塌陷。为避免重新

制备,所有的管瓶用 10ml 纯净水重新构成,检查一些重新构成的溶液的纯度,塞子用两孔塞替换,使用下面新的周期(表 X):

[0229] 表 X

[0230]

周期	步骤	压力	设定 T (°C)	斜率 (min)	保持时间
	冷冻 2	atm	-50°C		6 h
真空	Ch 真空	0.5mb			
升华	1°干燥	0.080mb	-23°C	45 min 0.5°C /min	
	1°干燥	0.080mb	-23°C		80 h
第二干燥期	2°干燥	<0.020 mb	0°C	10 h 0.045°C /min	
	2°干燥		25°C	62 h 0.006°C /min	
	塞上塞子	0.010 mb	25°C		

[0231] 冷冻干燥后,将管瓶封口。完成最后的调节。管瓶转到冷藏区域(-20°C)

[0232] 制剂:ET-NF E

[0233] 将 141.21mg 的 ET-743 加到一种配药玻璃容器中,用磁力搅拌大约 1 小时使其溶解在 1080ml 的注射用水 +3,240ml 1N 的磷酸中(目视检查溶解性)。

[0234] 加入一定量的蔗糖(135g)和磷酸钾(9.18g),再搅拌混合物约 1 小时直至分子全部溶解。

[0235] 在 pH 检查后,用 1N 磷酸重新调节到 pH 4。溶液用注射用水加至最终体积。最后溶液的密度:1.04g/l。最终重量 1404mg。

[0236] 溶液通过 0.45 μm 的 PVDF 过滤器滤过。

[0237] 使用自动泵和 3.2mm 铂加工处理的硅氧烷管将溶液灌进 25ml 的管瓶中。标准灌装体积是 10ml。以规则的间隔(每 15 瓶)检查灌装体积,如果需要,调整灌装体积。

[0238] 在灌装完后,放置冻干塞子,于 5°C 将管瓶放入冻干器。

[0239] 冻干步骤依照前述制剂 ET-NF A、ET-NF B 和 ET-NF F 步骤(表 IX)进行。

[0240] 由于瓶中大量的体积,计划的周期不能产生合适的冻干并产生塌陷。为避免重新制备,所有的管瓶用 10ml 纯净水重新构成,检查一些重新构成的溶液的纯度,塞子用两孔塞替换,在制剂 ET-NF C 和 ET-NF D 中使用一种新的周期(表 X)。

[0241] 冷冻干燥后,将管瓶封口。完成最后的调节管瓶转到冷藏区域(-20°C)。

[0242] 在所有的例子中均达到期望的 ET-743 浓度且这些制剂之间的杂质相似。在这制备过程(滤过前和滤过后,或灌装后)中 ET-743 浓度和杂质没有不同。含乳糖制剂中的本体溶液的颜色是轻微的浅黄色。

[0243] 4ml 或 10ml 灌装体积的制剂依照指定的方案开始冷冻干燥。然而 4ml 灌装体积的

制剂是恰当地冻干,10ml 灌装体积的制剂塌陷。在第二干燥期的压力变量显示冷冻干燥团块的塌陷和喷瓶。制剂 ET-NF C、ET-NF D 和 ET-NF E 的管瓶用 10ml 纯净水重新构成。检查制剂的纯度。因为与本体溶液相比没有观察到纯度的改变,决定使用所示的修正的冷冻干燥周期重新冻干。如所描述的冻干批数产生没有塌陷,但有些底部收缩的良好外观。

[0244] 管瓶中 ET-743 的含量在规范内 (95% -105%)。制剂之间杂质呈现相似性,并与本体溶液的杂质一致。残留水分的含量小于或等于 2%,10ml 灌装体积的制剂具有最大值。

[0245] 在所有情况下重新构成的溶液的 pH 在 4 到 4.2 之间。溶液是澄清的且无色,没有可见的异物或沉淀。所有制剂重新构成的时间相似并小于 30 秒。

[0246] 实施例 4

[0247] 本研究的目的是调查不同的温度条件下,每瓶 1mg 的 ET-NF A、ET-NF B、ET-NF C、ET-NF D、ET-NF E 和 ET-NF F 的不同制剂中的 ET-743 的稳定性。

[0248] 每个制剂 ET-NF A、ET-NF B、ET-NF C、ET-NF D、ET-NF E 和 ET-NF F 一批 130 瓶,每瓶 1mg ET-743,按照实施例 3 制备。

[0249] 在 5°C,25°C /65% RH 和 40°C /70% RH 时进行稳定性试验。

[0250] 图 4 和表 XI 显示与 3 个常规制剂 (含 ET-743、甘露醇和磷酸盐缓冲剂) 相比,在 5°C 贮藏期间新制剂的 ET-743 的纯度变化。

[0251] 表 XI

[0252]

	ET-743 纯度 (%)				
	参照 1	参照 2	参照 3	ET-NF A	ET-NF B
t=0	97.70	96.90	97.70	99.06	99.00
1 个月	94.70	94.60	94.00	99.28	98.86
2 个月	93.80	92.70	93.70	99.21	98.97
3 个月	92.50	91.00	91.20	99.22	98.88

[0253] 表 XI (续)

[0254]

	ET-743 纯度 (%)			
	ET-NF C	ET-NF D	ET-NF E	ET-NF F
t=0	98.83	98.98	99.15	98.88
1 个月	98.53	99.03	99.14	98.71
2 个月	98.88	99.15	99.21	98.80
3 个月	98.86	99.12	99.16	98.92

[0255] 图 6 和表 XII 显示与 3 个常规制剂 (含 ET-743、甘露醇和磷酸盐缓冲剂) 相比, 在 25°C /65% RH 贮藏期间新制剂的 ET-743 的纯度变化。

[0256] 表 XII

[0257]

	ET-743 纯度 (%)				
	参照 1	参照 2	参照 3	ET-NF A	ET-NF B
t=0	97.70	96.90	97.70	99.06	99.00
15 天	84.70	84.50	89.50	98.97	98.09
1 个月	74.50	72.40	81.90	99.08	98.13
2 个月				99.10	98.38
3 个月				98.98	98.15

[0258] 表 XII (续表)

[0259]

	ET-743 纯度 (%)			
	ET-NF C	ET-NF D	ET-NF E	ET-NF F
t=0	98.83	98.98	99.15	98.88
15 天	98.35	98.90	99.11	98.31
1 个月	98.01	99.03	99.13	98.32
2 个月	98.35	98.99	99.10	98.28
3 个月	98.33	98.93	99.09	98.14

[0260] 图 8 和表 XIII 显示与常规制剂 (含 ET-743、甘露醇和磷酸盐缓冲剂) 相比, 在 40°C /70% RH 贮藏期间新制剂的 ET-743 的纯度变化。

[0261] 表 XIII

[0262]

	ET-743 纯度 (%)						
	参照 4	ET-NF A	ET-NF B	ET-NF C	ET-NF D	ET-NF E	ET-NF F
	t=0	94.92	99.06	99.00	98.83	98.98	99.15
2 天	87.17	99.02	98.10	98.48	98.95	99.12	97.53
7 天	82.04	98.68	97.08	97.86	98.63	98.89	97.20
15 天	76.33	98.75	97.33	97.77	98.55	98.71	96.66
1.5 个 月		98.52	96.99	97.53	97.54	98.47	95.79
3 个月		98.24	95.92	96.67	94.79	97.84	95.91

[0263] 另外,图 5 和表 XIV 显示与 3 个常规制剂(含 ET-743、甘露醇和磷酸盐缓冲剂)相比,在 5°C 贮藏期间新制剂的 ET-701 杂质含量。

[0264] 表 XIV

[0265]

	ET-701(%)				
	参照 1	参照 2	参照 3	ET-NF A	ET-NF B
t=0	0.70	0.84	0.53		0.11
1 个月	2.56	3.09	1.73		0.12
2 个月	3.45	3.54	2.69	0.12	0.13
3 个月	4.61	5.04	4.28	0.13	0.13

[0266] 表 XIV(续)

[0267]

	ET-701(%)			
	ET-NF C	ET-NF D	ET-NF E	ET-NF F
t=0	0.15	0.16	0.15	0.11
1 个月	0.12	0.12	0.14	0.11
2 个月	0.16	0.14	0.15	0.12
3 个月	0.16	0.15	0.15	0.12

[0268] 图 7 和表 XV 显示与 3 个常规制剂(含 ET-743、甘露醇和磷酸盐缓冲剂)相比,在 25°C /65% RH 贮藏期间新制剂的 ET-701 杂质含量。

[0269] 表 XV

[0270]

	ET-701 (%)				
	参照 1	参照 2	参照 3	ET-NF A	ET-NF B
t=0	0.70	0.84	0.53	0.09	0.11
15 天	7.99	8.20	4.22	0.14	0.12
1 个月	10.56	14.18	6.86	0.11	0.12
2 个月				0.15	0.16
3 个月				0.17	0.17

[0271] 表 XV(续)

[0272]

	ET-701(%)			
	ET-NF C	ET-NF D	ET-NF E	ET-NF F
t=0	0.15	0.16	0.15	0.11
15 天	0.18	0.17	0.16	0.13
1 个月		0.18	0.18	
2 个月	0.18	0.19	0.24	0.15
3 个月	0.22	0.23	0.24	0.18

[0273] 正如这些图中所示,新制剂的稳定性高于常规制剂的稳定性。另外,常规制剂主要的降解产物,ET-701,在新制剂中显著地减少。

[0274] 实施例 5

[0275] 基于蔗糖为填充剂的 3 个新制剂用于稳定性的进一步研究。这些新制剂的不同在于磷酸盐缓冲剂的摩尔浓度 (0.05M 对 0.1M) 和灌装体积或,换句话说,在于本体溶液 (10ml 对 4ml) 中 ET-743 的浓度。

[0276] 描述了每种至少 50 瓶一批的这些制剂的制备。每瓶的药方说明书概述如下 (表 XVI),注意在冷冻干燥过程中水分被蒸发。

[0277] 表 XVI

[0278]

	ET-NF G		ET-NF H		ET-NF I	
组分	浓度 (mg/ml)	最终组成	浓度 (mg/ml)	最终组成	浓度 (mg/ml)	最终组成
ET-743	0.250	1mg	0.100	1mg	0.250	1mg
蔗糖	100	400mg	100	1g	100	400mg
磷酸二氢钾	6.8	27.2 mg	13.6	136mg	13.6	54.4 mg
磷酸	适量, pH 4.0	适量, pH 4.0	适量, pH 4.0	适量, pH 4.0	适量, pH 4.0	适量, pH 4.0
注射用水	适量, 至 1ml	4ml	适量, 至 1ml	10ml	适量, 至 1ml	4ml

[0279] 240ml 体积的制剂 ET-NF-G 和 ET-NF-I 制备如下：

[0280] 将 62.76mg 的 ET-743 加到一种配药玻璃容器中,用磁力搅拌大约 1 小时使其溶解在 192ml 的注射用水 +1N 的磷酸 (NF G 用 576 μ l, NF I 用 816 μ l) 的溶液中 (目视检查溶解性)。

[0281] 加入一定量的蔗糖 (24g) 和磷酸钾 (NF G 用 1.63g, NF I 用 3.26g), 该混合物再搅拌约 1 小时直至溶解。

[0282] 在 pH 检查后, 如果需要, 用 1N 磷酸溶液重新调节到 pH 4.00。溶液用注射用水加至最终体积。最后溶液的密度 :1.04g/l。最终重量 249.6g。溶液通过 0.45 μ m 的 PVDF 过滤器滤过。

[0283] 使用自动泵和 3.2mm 铂加工处理的硅氧烷管将溶液灌进 25ml 的管瓶中。标准灌装体积是 4ml。以规则的间隔 (每 15 瓶) 检查灌装体积, 如果需要, 调整灌装体积。

[0284] 在灌装完后, 放置冻干塞子, 于 5°C 将管瓶放入冻干器。

[0285] 冻干步骤依照下述参数 (表 XVII) 进行：

[0286] 表 XVII

[0287]

周期	步骤	压力	设定 T (°C)	斜率 (min)	保持 时间
	Shelves T ^a	atm	5°C		
冷冻	冷冻 1	atm	-50°C	1 h 50 min 0.5°C/min	
	冷冻 2	atm	-50°C		6 h
真空	Ch 真空	0.5mb			
升华	1°干燥	0.080mb	-27°C	45 min 0.5°C/min	
	1°干燥	0.080mb	-27°C		58 h
第二干燥期	2°干燥	<0.020mb	25°C	3 h 30 min 0.25°C/min	
	2°干燥		25°C		40 h
	结束	0.010mb	25°C		

[0288] 冷冻干燥后,将瓶封口。完成最后的调节。管瓶转到冷藏区域(-20°C)

[0289] 600ml 体积的制剂 ET-NF-H 制备如下:

[0290] 将 62.76mg 的 ET-743 加到一种配药玻璃容器中,用磁力搅拌大约 1 小时使其溶解在 480ml 的注射用水 +1.44ml 1N 的磷酸的溶液中(目视检查溶解性)。

[0291] 加入一定量的蔗糖(60g)和磷酸钾(8.16g),将混合物再搅拌约 1 小时直至溶解。

[0292] 在 pH 检查后,如果需要,用 1N 磷酸溶液重新调节到 pH 4.00。溶液用注射用水加至最终体积。最后溶液的密度:1.04g/l。最终重量 624g。

[0293] 溶液通过 0.45 μm 的 PVDF 过滤器滤过。

[0294] 使用自动泵和 3.2mm 铂加工处理的硅氧烷管将溶液灌进 25ml 的管瓶中。标准灌装体积是 10ml。以规则的间隔(每 15 瓶)检查灌装体积,如果需要,调整灌装体积。

[0295] 在灌装完后,放置冻干塞子,于 5°C 将管瓶放入冻干器。

[0296] 冻干步骤依照下述参数(表 XVIII)进行:

[0297] 表 XVIII

[0298]

周期	步骤	压力	设定 T (°C)	斜率 (min)	保持时间
	Shelves T ^a	atm	5°C		
冷冻	冷冻 1	atm	-50°C	1 h 50 min 0.5°C /min	
	冷冻 2	atm	-50°C		6 h
真空	Ch 真空	0.5mb			
升华	1°干燥	0.080mb	-27°C	45 min 0.5°C /min	
	1°干燥	0.080mb	-27°C		62 h
第二 干燥期	2°干燥	<0.020mb	25°C	3 h 30 min 0.25°C /min	
	2°干燥		25°C		50 h
	结束	0.010mb	25°C		

[0299] 冷冻干燥后,将管瓶封口。完成最后的调节。管瓶转到冷藏区域(-20°C)。

[0300] ET-743 的含量在规范内(95% -105%)。所有制剂的杂质呈现相似性,并与本体溶液的杂质一致。残留的水分含量小于2%,10ml 灌装体积的制剂具有最大值。

[0301] 在所有情况下重新构成的溶液的 pH 在 4 到 4.28 之间。溶液是澄清的且无色,没有可见的异物或沉淀。所有制剂重新构成的时间相似并小于 30 秒。

[0302] 稳定性试验是在贮藏温度为 40°C /70% RH,3 个月期间进行的。

[0303] 图 9 和表 XIX 显示在 40°C /70% RH 贮藏期间新制剂的 ET-743 纯度变化。

[0304] 表 XIX

[0305]

	ET-743 纯度 (%)		
	ET-NF G	ET-NF H	ET-NF I
t=0	99.18	99.23	99.00
7 天	99.04	98.68	
15 天	98.97	98.86	98.79
1.5 个月	98.72	98.61	98.40
2 个月	98.29		
3 个月			97.71

[0306] 另外,图 8 中稳定性数据显示与常规制剂(含 ET-743、甘露醇和磷酸盐缓冲剂)的对比。

[0307] 从实施例 4 和 5 中获得的结果表明所有含二糖作为填充剂的制剂比含甘露醇作为填充剂的常规制剂更稳定。制剂 ET-NF-G 是优选的制剂。

[0308] 依照本发明制剂实施方案在多种贮藏条件（包括温度为 -20℃、4℃和 25℃ /60% RH），在各种贮藏时间（包括贮藏时间为 3 个月、6 个月和 9 个月）贮藏后进行了试验。测定结果表明：在 -20℃贮藏 9 个月至少余留 99.5% ET-743，在 4℃贮藏 9 个月至少余留 99% ET-743，在 25℃ /60% RH 贮藏 9 月后至少余留 97% ET-743。最终的杂质，包括 ET-701、ET-745 和其它杂质在 25℃ /60% RH 贮藏 9 月后不超过 1.66%。另外，ET-701 杂质的量在所述贮藏条件贮藏 9 个月不超过 0.21%。

[0309] 所有在此引用的参考文献全文并入。依照在此提供的公开，本发明的特点和优点是明显的。基于此公开，对各种情况和用途的改进和适应是能进行的，因此产生在本发明的范围内的实施方案。

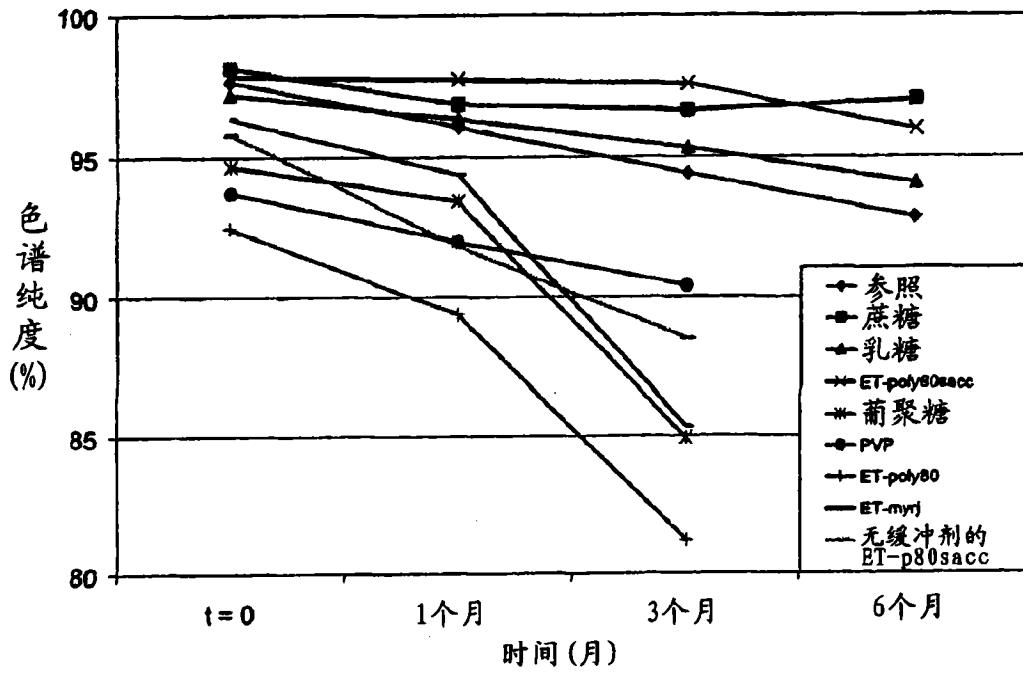


图 1

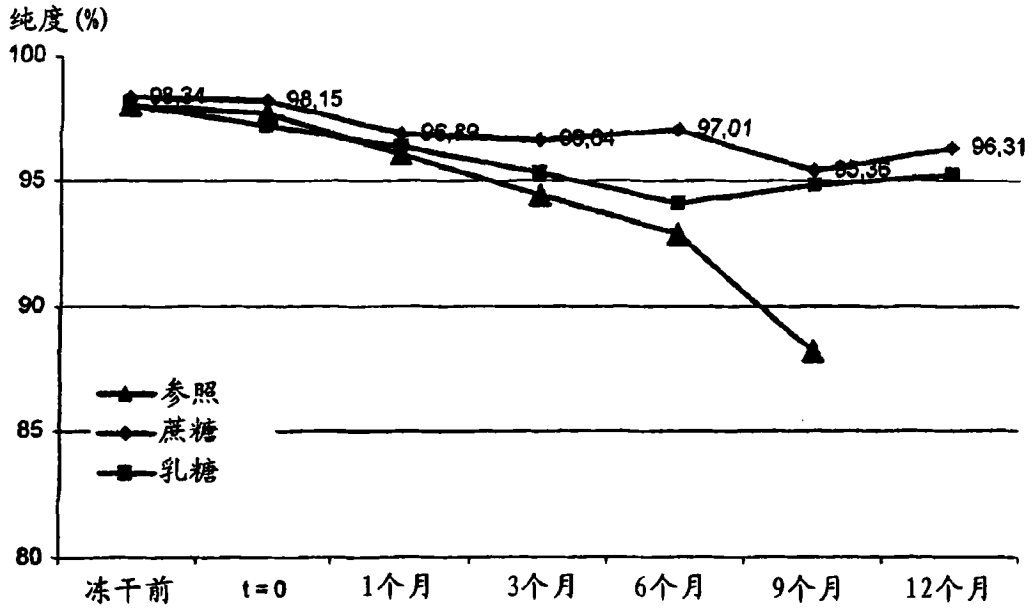


图 2

% ET-701

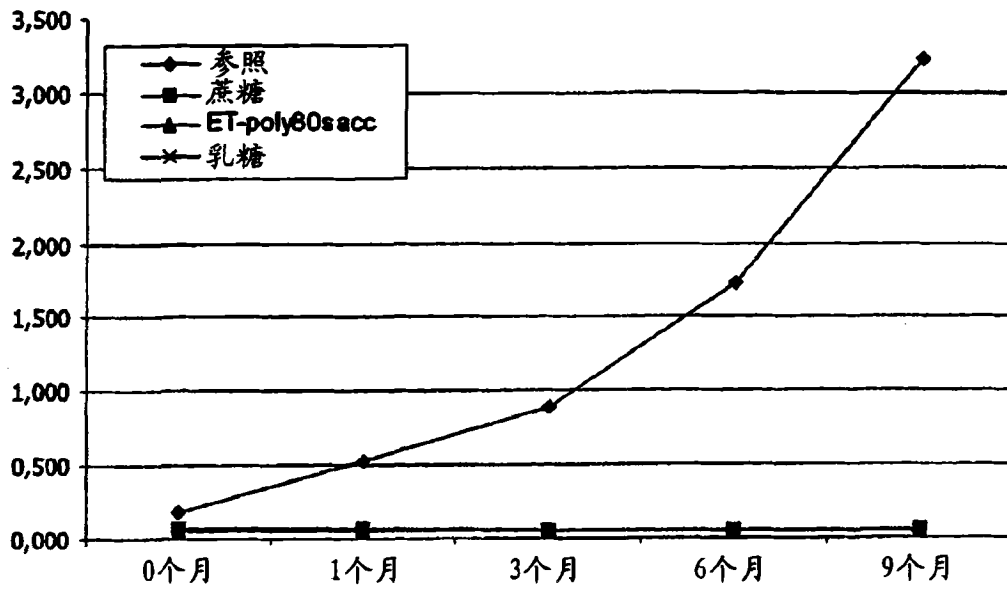


图 3

%纯度ET-743

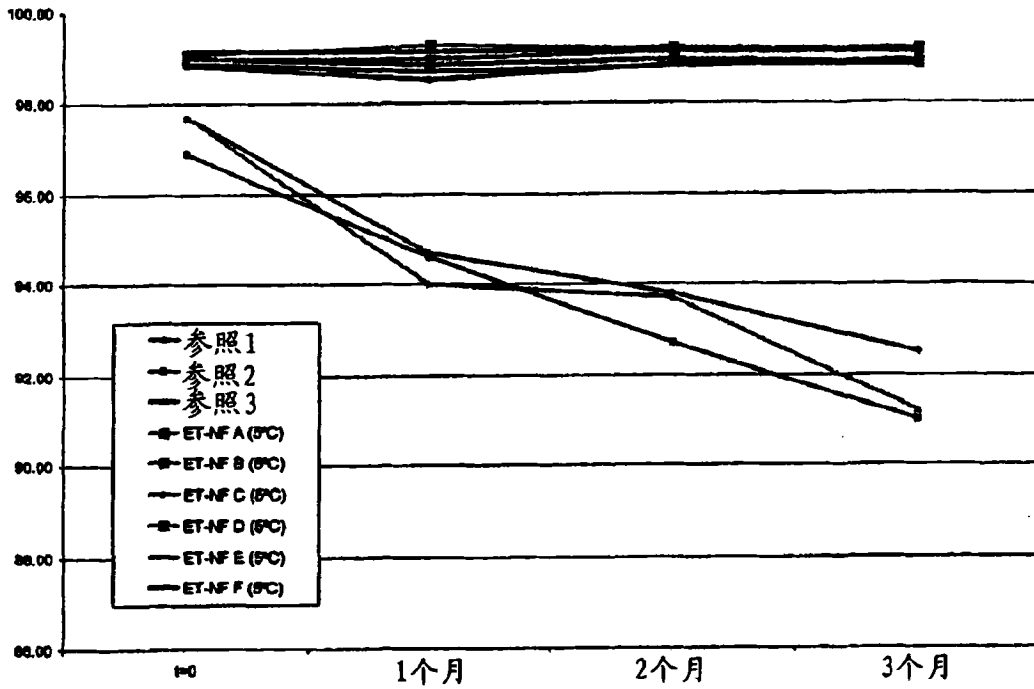


图 4

%纯度ET-701

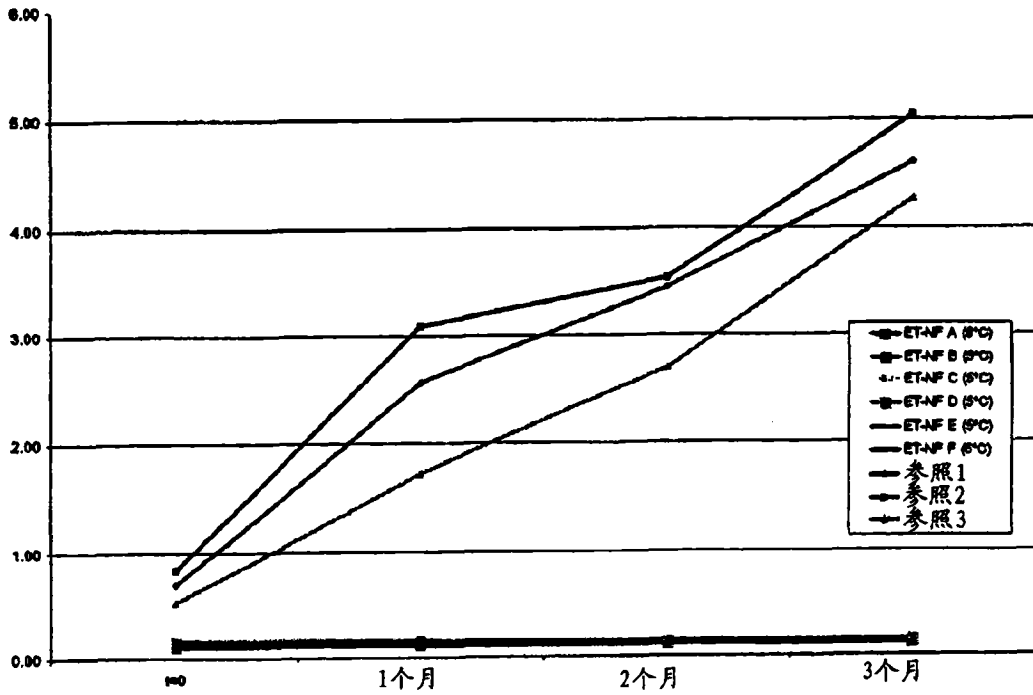


图 5

% ET-743

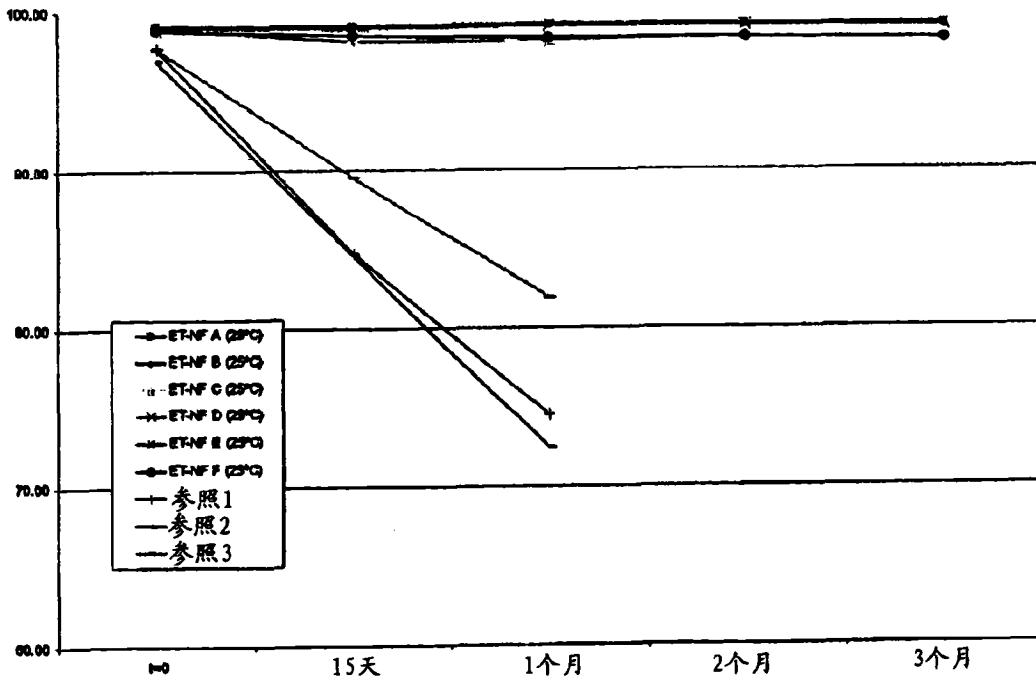


图 6

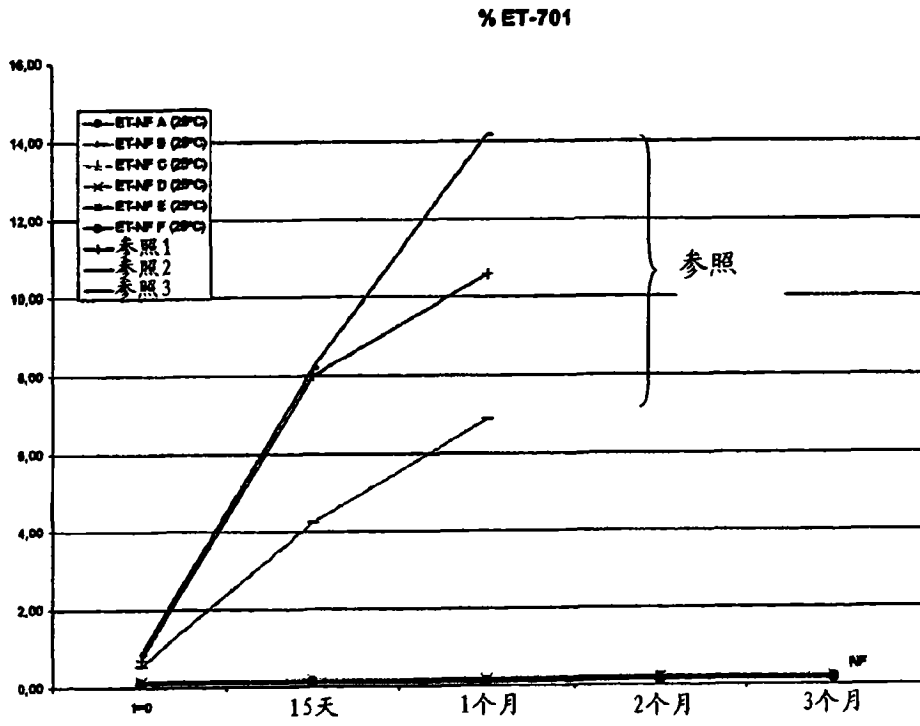


图 7

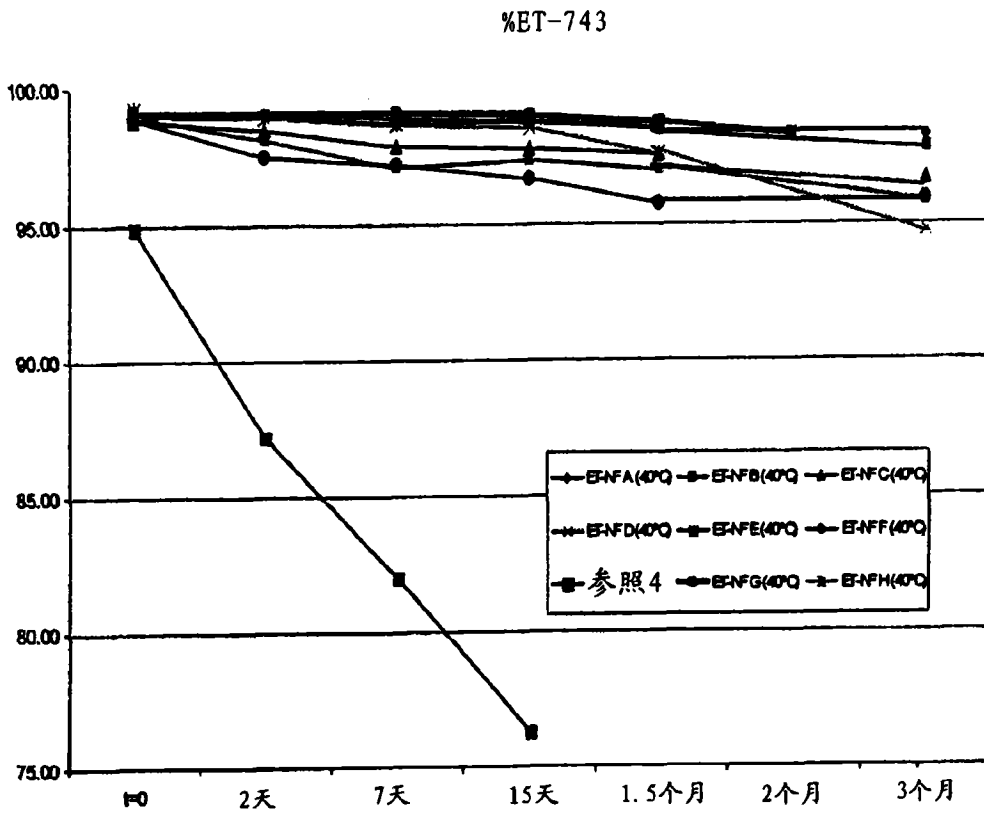


图 8

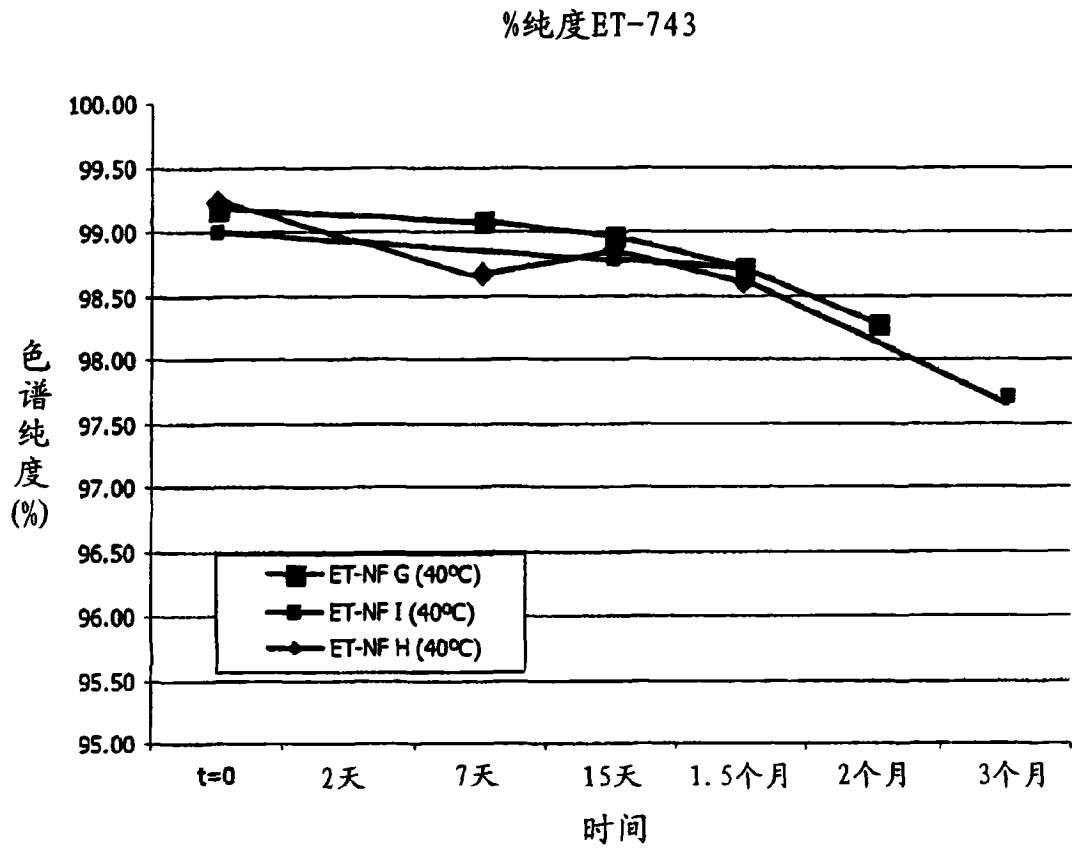


图 9