



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 118161591 A

(43) 申请公布日 2024.06.11

(21) 申请号 202410217838.X

A61K 31/185 (2006.01)

(22) 申请日 2019.07.02

A61K 9/10 (2006.01)

(30) 优先权数据

A61K 47/12 (2006.01)

18181945.9 2018.07.05 EP

A61P 5/04 (2006.01)

(62) 分案原申请数据

A61P 13/08 (2006.01)

201980041338.2 2019.07.02

A61P 13/00 (2006.01)

(71) 申请人 安迪威有限公司

A61P 7/10 (2006.01)

地址 英国伦敦

A61P 15/08 (2006.01)

(72) 发明人 盖伊·普兰德

A61P 15/00 (2006.01)

弗朗索瓦·布蒂尼翁

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 5/24 (2006.01)

(74) 专利代理机构 中原信达知识产权代理有限

责任公司 11219

专利代理师 刘慧 金海霞

(51) Int. Cl.

A61K 38/09 (2006.01)

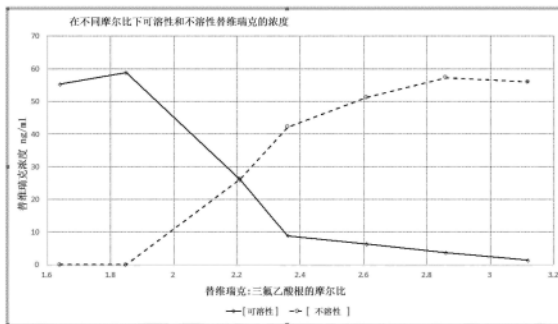
权利要求书1页 说明书10页 附图8页

(54) 发明名称

替维瑞克-TFA组合物

(57) 摘要

本发明涉及替维瑞克-TFA组合物。所述组合物具有至少1:2.2的替维瑞克 (Ac-D-Nal-D-pClPhe-D-Pal-Ser-Tyr-D-Hci-Leu-Lys(iPr)-Pro-D-Ala-NH₂) 与三氟乙酸根的摩尔比。这样的摩尔比将防止不希望的凝胶形成并提供均匀的悬浮液,从而获得独特的替维瑞克生物利用度。



1. 一种替维瑞克-TFA组合物,其具有至少1:2.2的替维瑞克(Ac-D-Na1-D-pClPhe-D-Pal-Ser-Tyr-D-Hci-Leu-Lys(iPr)-Pro-D-Ala-NH₂)与三氟乙酸根的摩尔比。
2. 根据权利要求1所述的替维瑞克-TFA组合物,其中替维瑞克与三氟乙酸根的摩尔比为至少1:2.4。
3. 根据权利要求1或2所述的替维瑞克-TFA组合物,其中替维瑞克与三氟乙酸根的摩尔比等于或低于1:2.8。
4. 根据权利要求1、2或3所述的替维瑞克-TFA组合物,其用作药物。
5. 根据权利要求1、2或3所述的替维瑞克-TFA组合物,其用于治疗与促性腺激素释放有关的病症或疾病。
6. 根据权利要求5所述的替维瑞克-TFA组合物,其中所述病症或疾病是良性前列腺肥大,急性尿潴留,子宫内膜异位症,诸如前列腺癌、乳腺癌或宫颈癌的癌症,化学去势,激素失衡,雄激素敏感性病症,雌激素敏感性病症,或其组合。
7. 一种药物制剂,其包含根据权利要求1至6中任一项所述的替维瑞克-TFA组合物。
8. 根据权利要求7所述的药物制剂,其为均匀的微晶水性悬浮液形式,并且其中替维瑞克与三氟乙酸根的摩尔比在1:2.2和1:2.8之间。
9. 一种包装,其填充有根据权利要求1至6中任一项所述的替维瑞克-TFA组合物或根据权利要求7或8所述的药物制剂。
10. 根据权利要求9所述的包装,其包含单位剂量的根据权利要求1至5中任一项所述的替维瑞克-TFA组合物或根据权利要求6所述的药物制剂。
11. 根据权利要求9或10所述的包装,其中所述包装是适于提供皮下和/或肌肉注射的注射器。

替维瑞克-TFA组合物

[0001] 本申请为国际申请PCT/EP2019/067728于2020年12月18日进入中国国家阶段、申请号为201980041338.2、发明名称为“替维瑞克-TFA组合物”的分案申请。

技术领域

[0002] 本发明涉及一种替维瑞克-TFA组合物。

背景技术

[0003] 替维瑞克(Teverelix)是一种合成的促性腺激素释放激素拮抗剂(GnRH拮抗剂),与内源性神经激素GnRH(或称为黄体生成素释放激素,LHRH)竞争结合其在垂体前叶中的受体。通过降低或阻断GnRH的作用,该GnRH拮抗剂抑制促卵泡激素(FSH)和黄体生成素(LH)从垂体前叶释放。

[0004] FSH和LH均参与正常的生殖功能。在女性中,FSH刺激未成熟的格拉夫卵泡(Graafian follicle)生长至成熟,而LH水平的变化控制排卵。另一方面,在男性中,FSH在精子发生中起重要作用,而LH刺激睾丸中睾酮的产生。

[0005] 因此,替维瑞克适合于治疗激素依赖性病症,例如良性前列腺肥大、激素依赖性前列腺癌、子宫内膜异位症和子宫肌瘤。

[0006] 由于替维瑞克(Ac-D-Nal-D-pClPhe-D-Pal-Ser-Tyr-D-Hci-Leu-Lys(iPr)-Pro-D-Ala-NH₂)是疏水性肽,它在许多抗衡离子的存在下具有形成凝胶的倾向。该问题已经在WO 2003/022243中得到解决,其公开了可以通过使替维瑞克肽与抗衡离子(例如,三氟乙酸根TFA)以肽与抗衡离子至少1:1.6的摩尔比接触来防止凝胶的形成,从而提供了替维瑞克-盐(例如替维瑞克-TFA)的流体乳状微晶水性悬浮液。

[0007] 根据WO 2003/022243,为了确保得到期望的微晶悬浮液,替维瑞克与抗衡离子三氟乙酸根的比率至少为1:1.6是至关重要的,否则将形成凝胶。然而,本发明的发明人发现,这样的摩尔比将导致不希望的凝胶形成并导致悬浮液不均匀。这是一个问题,不仅因为这样的悬浮液将难以注射,而且因为由于凝胶干扰了替维瑞克肽的期望的持续作用从而损害了所述肽的生物利用度。

[0008] 因此,需要提供一种新的替维瑞克-TFA组合物,其可以提供替维瑞克的均匀微晶水性悬浮液,该水性悬浮液将提供替维瑞克的持续释放。

发明内容

[0009] 根据本发明,该方面和其它方面通过提供一种替维瑞克与三氟乙酸根的摩尔比为至少1:2.2的替维瑞克-TFA组合物来实现。

[0010] 在本发明的内容之内,术语“替维瑞克与三氟乙酸根的摩尔比”是指替维瑞克和三氟乙酸根之间的摩尔关系,其中所述摩尔比的第一个数字是组合物中替维瑞克的摩尔含量,第二个数字是指组合物中TFA的摩尔含量。例如,摩尔比为1:2.2意味着对于组合物中的每摩尔替维瑞克而言,所述组合物包含2.2mol TFA,而摩尔比为至少1:2.2意味着对于组合

物中的每摩尔替维瑞克而言,所述组合物包含至少2.2摩尔三氟乙酸根(TFA)。

[0011] 本发明的发明人已经发现,当替维瑞克与三氟乙酸根的摩尔比为至少1:2.2时,组合物将包含可溶性和不溶性替维瑞克二者,从而提供替维瑞克的独特生物利用度。

[0012] 为了使替维瑞克在体内被吸收,所述成分必须在吸收部位以溶液的形式存在。各种技术被用于提高难溶性药物例如替维瑞克的溶解度,然而本发明人已经发现,晶体工程(其中替维瑞克和三氟乙酸根提供了替维瑞克肽及其抗衡离子以结晶结构的组织)提供了有效的替维瑞克持续释放,改善了理化性质(例如溶解性和稳定性),并改善了功效(例如生物利用度)。

[0013] 不受理论的束缚,所述可溶性替维瑞克为水溶液形式,在一些情况下为凝胶形式。凝胶的存在将抑制任何自由的水性替维瑞克,因此防止或至少减少了立即释放。所述不溶性替维瑞克为微晶形式。所述微晶将防止凝胶形成,因此“解锁”所述水性替维瑞克。随着时间流逝,本发明的组合物中的TFA将被身体吸收,使比率降低,使得微晶随后转变成凝胶,形成了缓慢释放的贮库。因而,所述非凝胶可溶性替维瑞克是立即可用的,提供了几乎立即的作用起效,而所述凝胶可溶性和不溶性替维瑞克(微晶)将有助于提供替维瑞克的持续释放。因此,本发明的组合物在施用部位提供了可溶-不溶的转换,并因此提供了替维瑞克的持续释放。

[0014] 因此,本发明的组合物既具有作用的立即起效,导致促性腺激素的快速抑制;而且具有拮抗剂的持续释放,从而确保对象在血浆中维持治疗有效浓度。这不仅将提供更可靠的用于治疗促性腺激素相关疾病和病症的组合物,而且由于需要的施用(例如注射)较少而改善了患者依从性。

[0015] 替维瑞克与三氟乙酸根的摩尔比优选为至少1:2.2,即,对于每摩尔替维瑞克而言,所述组合物包含至少2.2摩尔三氟乙酸根(TFA),更加优选至少1:2.4,因为这将提供可直接使用的水性药物制剂,即,该制剂是即用的。

[0016] 由于替维瑞克在与水和酸接触时会脱去酰胺基,因此在储存期间会在组合物/制剂中出现不希望的降解产物(杂质)。所述杂质可影响替维瑞克组合物/制剂的质量、安全性和功效,从而潜在地引起严重的健康危害。

[0017] 本发明的发明人已经发现,当替维瑞克与TFA的摩尔比等于或低于1:2.8时,即当TFA的摩尔含量等于或低于2.8/摩尔替维瑞克时,杂质水平保持在可接受的水平。因此,本发明的组合物中的最佳摩尔比优选在1:2.2(或1:2.4)和1:2.8之间。

[0018] 本发明的组合物通过抑制促性腺激素例如睾酮和双氢睾酮(DHT),尤其适合于治疗诸如前列腺癌的病症。由于这样的组合物既将具有作用的立即起效,导致深度的睾酮抑制,又将具有拮抗剂的持续释放,从而确保对象维持化学去势,因此所述组合物在治疗需要快速控制疾病的前列腺癌患者中和对于仅有持续释放与之相关的患者都是有价值的。

[0019] 然而,本发明的组合物可以同样好地用于至少部分改善与促性腺激素释放有关的其它疾病或病症。所述疾病或病症可以是良性前列腺肥大;急性尿潴留;子宫内膜异位症;诸如前列腺癌、乳腺癌或宫颈癌的癌症;化学去势;激素失衡;雄激素敏感性病症;雌激素敏感性病症;或其组合。

[0020] 本发明还涉及一种水性药物制剂,优选乳状的微晶均匀水性悬浮液,其由本发明的替维瑞克-TFA组合物组成或包含所述组合物,所述组合物中替维瑞克与三氟乙酸根的摩

尔比为至少1:2.2,优选至少约1:2.4。在所述水性药物制剂的一个优选实施方式中,替维瑞克与三氟乙酸根的摩尔比低于1:2.8,即每1摩尔替维瑞克,所述制剂有2.8mol TFA或更少。

[0021] 如果需要,所述水性药物制剂可含有等渗剂,例如甘露醇和/或可药用的赋形剂。

[0022] 在本发明的一个简单且优选的实施方式中,所述替维瑞克-TFA组合物作为单位剂量提供,其中替维瑞克与TFA的摩尔比为至少1:2.2并更加优选约1:2.4,从而确保提供的悬浮液基本上不含凝胶,或至少凝胶浓度小得使该悬浮液可以用于注射。

[0023] 因此,本发明的另一方面的特征为一种充有单位剂量的所述替维瑞克-TFA组合物的包装,例如注射器或小瓶。在本发明的上下文内,术语“单位剂量”是在单剂量中施用于患者的活性成分(替维瑞克)的量。所述单位剂量被例如放置在合适的注射器中以便提供容易的施用。

[0024] 在一个实施方式中,单位剂量提供了替维瑞克与抗衡离子的摩尔比为1:2.4的最终的水性替维瑞克-TFA制剂。优选地,替维瑞克的浓度在30mg/ml和100mg/ml之间,更加优选在45mg/ml和90mg/ml之间,例如约75mg/ml。在一些情况下,替维瑞克的浓度可高于约100mg/ml。体积可在0.4ml和1.6ml之间,例如约1.2ml。已证明以该浓度和体积皮下和/或肌肉内给予注射只产生轻微的注射部位反应。

附图说明

[0025] 图1a-图1g:悬浮液A1至G1的显微镜检查。

[0026] 图2:在不同摩尔比下可溶性和不溶性替维瑞克的浓度。

[0027] 图3:在不同摩尔比下可溶性和不溶性替维瑞克的比例。

[0028] 图4:在TFA:替维瑞克的不同摩尔比下1小时的替维瑞克血浆浓度。

[0029] 图5:用于施用在TFA:替维瑞克的不同摩尔比下的替维瑞克TFA的全选平均值PK曲线。

[0030] 图6:在TFA:替维瑞克的不同摩尔比下的溶液在40℃储存期间替维瑞克-TFA溶液中杂质的增加。

[0031] 图7:在TFA:替维瑞克的不同摩尔比下的溶液在40℃储存一个月期间替维瑞克TFA 10mg/ml溶液中的杂质增加。

具体实施方式

[0032] 实施例:

[0033] 为了确定替维瑞克与抗衡离子三氟乙酸根的摩尔比的影响,进行了许多测试。

[0034] 实施例1:具有不同摩尔比的替维瑞克-TFA组合物的制备

[0035] 获得定制批次的具有低TFA含量的替维瑞克,批次A。该批次的特性示于表1。

[0036] 表1

[0037]

纯度	99.3%
替维瑞克含量	85.56重量%
TFA含量	10.9重量%
乙酸盐含量	0.3重量%
水含量	4.3重量%

[0038] 如果需要含有75mg替维瑞克的初始组合物,组合物A,则必须使用88.28mg的批次A,计算如下:

$$[0039] \quad \frac{75 \text{ mg 替维瑞克}}{99.3/100 (\text{纯度}) \times 85.56/100 (\text{替维瑞克含量})} = 88.28 \text{ mg}$$

[0040] 然后可以计算出组合物A中替维瑞克与TFA的摩尔比: $88.28 \text{ mg} \times 10.9/100$ (TFA的%含量) = 9.62mg

[0041] 由于TFA的摩尔质量, M_{TFA} , 为114g/mol, 并且替维瑞克的摩尔质量, M_{TEV} , 为1459g/mol, 可以计算出75mg替维瑞克组合物中TFA的摩尔浓度为0.084mmol, 而替维瑞克的摩尔浓度为0.051mmol。因此, 组合物A中替维瑞克与TFA的摩尔比为1:1.64。

[0042] 为了制备具有不同摩尔比的许多不同的替维瑞克-TFA水性组合物, 将21个含有44.14mg+5% (41.93至46.35mg) 的组合物A的样品精确称重到2ml带盖玻璃试管中, 可借助微量移液器穿过盖子添加重构溶液。

[0043] 使用从比利时Geel的Acros Organics获得的TFA组合物制备7种在5%甘露醇中含有TFA的溶液。所述TFA组合物的纯度为99%, 密度为1.535g/ml。相应的重构溶液示于表2。

[0044] 表2

溶液	A	B	C	D	E	F	G
TFA mol/L	0	0.01	0.023	0.036	0.049	0.062	0.075

[0046] 使用微量移液器穿过二十一个含有44.14mg+5% (41.93至46.35mg) 组合物A的玻璃试管的盖子添加0.5ml每种上述重构溶液, 来制备相应的替维瑞克-TFA水性组合物, 即制备三个具有相同摩尔比的替维瑞克-TFA水性组合物。使用涡旋将所述混合物搅拌1分钟, 并目视观察所述溶液10分钟, 以确定是否获得了期望的替维瑞克-TFA流体乳状微晶均匀水性悬浮液, 或者是否形成了凝胶。结果总结在下表3中:

[0047] 表3

试管	摩尔比	凝胶形成	微晶形成	乳状悬浮液形成	均匀悬浮液
A1, A2, A3	1:1.64	是	否	否	-
B1, B2, B3	1:1.85	是	否	否	-
C1, C2, C3	1:2.1	否	是	是	否
D1, D2, D3	1:2.36	否	是	是	是
E1, E2, E3	1:2.61	否	是	是	是
F1, F2, F3	1:2.86	否	是	是	是
G1, G2, G3	1:3.12	否	是	是	是

[0050] 在法国Realux供应的偏光显微镜下进一步观察了1号试管中替维瑞克-TFA水性组合物的微晶含量。

[0051] 相应的摩尔比的结果示于图1a-图1g中。从这些观察结果清楚看出, 在摩尔比为1:1.85及以下时, 未观察到微晶形成, 因此, 为了引发期望的微晶形成, 替维瑞克与抗衡离子

TFA的摩尔比必须高于1:1.85。

[0052] 此外,从表3明显看出,摩尔比等于或低于1:2.1时没有得到替维瑞克-TFA的均匀悬浮液,因此,相应地优选在替维瑞克-TFA水性悬浮液中的摩尔比高于1:2.2并优选更高,例如至少1:2.36 (~ 1:2.4),否则所述组合物不能经由注射来施用。

[0053] 实施例2:可溶性替维瑞克和不溶性替维瑞克的含量与摩尔比的关系

[0054] 为了确定相应的试管中可溶性替维瑞克相对于不溶性替维瑞克的含量,将各个摩尔比的2号和3号试管以10,000rpm离心10至20分钟,并使用HPLC分析来测量上清液和沉淀团中的替维瑞克浓度。

[0055] 表4:HPLC分析的色谱条件示于表4。

[0056]	柱	类型 (Aptys N°)	Lichrospher 100 RP18 (N°128)
		粒度	5 µm
		直径	4 mm
		长度	125 mm
[0056]	预柱	类型	Lichrocart 100 RP18
		粒度	5 µm
		直径	4 mm
		长度	4 mm
	流动相		乙腈/水/TFA (35:65:0.1 V/V/V)
[0057]	进样器清洁		乙腈/水 (50:50 V/V)
	流速		1.0 mL/min
	压力		约 65 巴
	烘箱温度		30°C
	波长		210 nm
	进样量		10 µL
	进样器温度		20°C
	替维瑞克的保留时间		约 5.6 min
	运行时间		10 min

[0058] 通过称量59.9mg替维瑞克乙酸盐(批次080113)到容量瓶中,并用水:乙腈65:35v/v将体积补足至100ml,制备两个100%标准。用相同的溶剂将10ml的该溶液补足至50ml,提供0.1mg/ml的替维瑞克肽浓度。

[0059] 通过用相同的溶剂将2ml的100%标准稀释至200ml来提供0.001mg/ml的替维瑞克肽浓度,制备1%标准溶液。

[0060] 使用所述两个100%标准进行内部标准化。所述1%标准用于检查响应的线性。用100%标准的回收率必须在95%-105%的区间内。

[0061] 将离心后得到的沉淀团溶解在65:35v/v的水:乙腈中,并用相同的溶剂补足至100mL。将该溶液稀释5倍(10mL加入50mL中),并进行HPLC。

[0062] 将上清液转移至容量瓶中,并用相同的溶剂,即水:乙腈65:35v/v,将体积补足至100mL。将该溶液稀释5倍(10mL加入50mL中),并进行HPLC。HPLC分析的结果示于表5。

[0063] 表5

试管	摩尔比	上清液 - 替维瑞克浓度 (mg/ml)	沉淀团 - 替维瑞克浓度 (mg/ml)
A2	1:1.64	52.0	N/A
A3	1:1.64	58.5	N/A
B2	1:1.85	57.2	N/A
B3	1:1.85	60.3	N/A
C2	1:2.1	25.9	26.9
C3	1:2.1	26.1	25.5
D2	1:2.36	9.4	39.3
D3	1:2.36	8.3	44.9
E2	1:2.61	5.4	50.8
E3	1:2.61	7.2	51.6
F2	1:2.86	3.7	56.2
G3	1:2.86	3.6	58.4
G2	1:3.12	1.5	53.6
G3	1:3.12	1.2	58.4

[0065] 计算各摩尔比的平均浓度,见表6,结果在图2和图3中描绘。

[0066] 表6

试管	摩尔比	上清液 - 平均替维瑞克浓度 (mg/ml)	沉淀团 - 平均替维瑞克浓度 (mg/ml)	总(沉淀团+上清液) 替维瑞克浓度 (mg/ml)
A	1:1.64	55.3	N/A	55.3
B	1:1.85	58.8	N/A	58.8
C	1:2.1	26.0	26.2	52.2
D	1:2.36	8.9	42.1	51.0
E	1:2.61	6.3	51.2	57.5
F	1:2.86	3.7	57.3	61.0
G	1:3.12	1.4	56.0	57.4

[0068] 从表5和表6以及图2和图3明显看出,当三氟乙酸根的量相对于替维瑞克增加时,不溶性替维瑞克的程度增加,因此在1:2.1的摩尔比下,药物制剂的约50%由不溶性替维瑞克组成,而在药物制剂中,在1:2.2的摩尔比下不溶性(微晶)替维瑞克的量为约80%,并且在1:2.36(~1:2.4)的摩尔比下为约82%。

[0069] 实施例3:血浆浓度与摩尔比的关系

[0070] 为了评估摩尔比对替维瑞克血浆浓度的相关性,如实施例1中所述制备了五个含

有不同摩尔比的玻璃小瓶,提供了包含表7中所示的替维瑞克-TFA水性组合物的试管:

[0071] 表7

[0072] 试管	I	II	III	IV	V
摩尔比	1:1.64	1:2.1	1:2.36	1:2.61	1:2.86

[0073] 每个摩尔比测试五只大鼠。使用25mm 21G luer 6%常规斜角针(可从比利时Leuven的Terumo获得)和100 μ l luer滑动注射器(可从美国Reno的Hamilton公司获得)向每只大鼠注射60 μ l相应的溶液。在施用前、然后在施用后1小时、6小时、24小时、48小时、7天、10天、14天、21天和28天测量血浆浓度。

[0074] 注射到每只个体大鼠中之后替维瑞克的峰值血浆浓度, C_{max} , 示于表8, 并在图4中描绘。

[0075] 表8

试管	摩尔比	C_{max}	C_{max}	C_{max}	C_{max}	C_{max}	C_{max} 平均值	C_{max} 中位数
[0076] I	1:1.64	57.6	58.8	35.4	32.5	25	41.86	35.4
II	1:2.1	96	82.6	57.4	50.1	n.a.	76.525	70
III	1:2.36	67.6	50	67.9	64.2	88.6	67.66	67.6
IV	1:2.61	78.8	48.6	85.5	77.5	55.3	69.14	77.5
V	1:2.86	111	99.7	94.9	91.9	84.8	96.46	94.9

[0077] 从这些结果清楚地看出,直至摩尔比为1:2.1之前,替维瑞克的 C_{max} 增加,此后血浆浓度基本稳定。

[0078] 还通过定期采集血样来测量四周期间的血浆浓度。

[0079] 图5显示了四周期间的平均血浆水平,显然,替维瑞克的释放曲线取决于摩尔比。

[0080] 实施例4:替维瑞克的稳定性与摩尔比的关系

[0081] 为了确定替维瑞克与抗衡离子三氟乙酸根的摩尔比对替维瑞克稳定性的影响,进行了以下测试。

[0082] 以两种浓度:10mg/mL(按碱替维瑞克表示)和1mg/mL(按碱替维瑞克表示),制备替维瑞克与TFA不同摩尔比(低:1:1.7;中范围:1:2.16;高:1:2.8;极高:1:4.0)的四个批次替维瑞克TFA溶液。

[0083] 获得了作为干粉提供的可重构替维瑞克TFA组合物。所述批次的特性示于表9:

[0084] 表9

[0085] 替维瑞克含量	79.8%
TFA含量	13.5%
水含量	3.1%

[0086] 起始材料的摩尔比使用以下计算来确定:

$$\frac{\text{替维瑞克含量} / \text{替维瑞克的分子量}}{\text{TFA 含量} / \text{TFA 的分子量}} \Rightarrow$$

[0087]

$$\frac{79.8/1459}{13.1/114} = \frac{1}{2.16} = 1:2.16$$

[0088] 如下制备八个批次,10mg/ml的四个摩尔比各一个,1mg/ml的四个摩尔比各一个。

[0089] 10mg/mL时的低摩尔比(1:1.7)

[0090] 1.将0.312g的替维瑞克TFA(替维瑞克净重)用注射用水重构,使该悬浮液达到3.0mL以形成104mg/mL的均匀乳状悬浮液。以前的研究证明,在该浓度下,96%的替维瑞克将形成固体替维瑞克,因此,离心后大约300mg的替维瑞克将作为固体替维瑞克回收。

[0091] 2.将该制备物立即在4°C下以10,000rpm(8,500g)离心10分钟。

[0092] 3.弃去离心材料的上清液。以前的研究证明,该固体替维瑞克具有大约1:1.7的替维瑞克与TFA摩尔比。

[0093] 4.将离心沉淀团用注射用水重悬,并补足到30mL,以形成约10mg/mL并且摩尔比为约1:1.7的溶液。

[0094] 10mg/mL时的中摩尔范围比(1:2.16)

[0095] 1.将0.1g替维瑞克TFA(替维瑞克净重)在10mL锥形瓶中用注射用水重构,制成10.0mL体积的溶液,以形成替维瑞克10mg/mL并且替维瑞克与TFA的摩尔比为1:2.16的溶液。

[0096] 10mg/mL时的高摩尔比(1:2.8)

[0097] 1.将0.1g替维瑞克TFA(替维瑞克净重)在10mL锥形瓶中用5mL的含0.0097M三氟乙酸的注射用水重构。

[0098] 2.将该溶液用注射用水补足到10.0mL以形成替维瑞克10mg/mL并且替维瑞克与TFA的摩尔比为1:2.8的溶液。

[0099] 10mg/mL时的极高摩尔比(1:4.0)

[0100] 1.将0.1g替维瑞克TFA(替维瑞克净重)在10mL锥形瓶中用5mL的含0.0252M三氟乙酸的注射用水重构

[0101] 2.将该溶液用注射用水补足到10.0mL以形成替维瑞克10mg/mL并且替维瑞克与TFA的摩尔比为1:4.0的溶液。

[0102] 1mg/mL时的低摩尔比(1:1.7)

[0103] 1.将0.312g的替维瑞克TFA(替维瑞克净重)用注射用水重构,使该悬浮液达到3.0mL以形成104mg/mL的均匀乳状悬浮液。

[0104] 2.将该制备物立即在4°C下以10,000rpm(8,500g)离心10分钟。

[0105] 3.弃去离心材料的上清液。

[0106] 3.将离心沉淀团用注射用水重悬(终体积300mL),以制成约1mg/mL并且替维瑞克与TFA的摩尔比为约1:1.7的溶液。

[0107] 4.将10.0mL转移到10mL锥形瓶中。

[0108] 1mg/mL时的中摩尔范围比(1:2.16)

[0109] 1. 制备替维瑞克TFA在注射用水中的1mg/mL溶液。

[0110] 1mg/mL时的高摩尔比(1:2.8)

[0111] 1. 将0.010g替维瑞克TFA(替维瑞克净重)在10mL锥形瓶中用5mL的含0.001M三氟乙酸的注射用水重构。

[0112] 2. 用注射用水将体积补足至10mL。

[0113] 1mg/mL时的极高摩尔比(1:4.0)

[0114] 1. 将0.010g替维瑞克TFA(替维瑞克净重)在10mL锥形瓶中用5mL的含0.0205M三氟乙酸的注射用水重构。

[0115] 2. 用注射用水将体积补足至10mL。

[0116] 在分析替维瑞克纯度之前,所有溶液均保持在实验室温度(20°C)下。

[0117] 从每个溶液中一式两份取样品,并使用常规RP-HPLC方法分析替维瑞克纯度。色谱条件如表10所示:

[0118] 表10

[0119]	柱	Phenomenex Aqua C18 150 2.0 mm, 3 μ m, 125Å, LCC-012
	柱温	65 °C
	自动进样器温度	4 °C
	流速	0.3 ml/min
	进样量	3 μ l
	运行时间	60 分钟
	检测	UV 检测, 226 nm

[0120] 制备后,即零时间,溶液中的替维瑞克纯度示于表11:

[0121] 表11

	10 mg/mL	1 mg/mL
[0122]	0 时间	时间: 0
	1:1.7	99.47% 99.58%
	1:2.16	99.45% 99.49%
	1:2.8	99.48% 99.48%
	1:4.0	99.47% 99.48%

[0123] 为了评价随时间的稳定性,然后将相应的溶液在+40°C和相对湿度75%的舱室中储存在有塞子的玻璃锥形瓶中。

[0124] 对于10mg/mL溶液在一个月后和对于1mg/mL溶液在两周后,使用已描述的方法重复替维瑞克纯度分析。下表12显现了所述溶液在相关时间段后的纯度。

[0125] 表12

摩尔比	10 mg/mL	1 mg/mL
	时间: 1 个月	时间: 15 天
[0126] 1:1.7	97.49%	98.92%
1:2.16	95.99%	98.68%
1:2.8	93.49%	98.37%
1:4,0	86.16%	97.97%

[0127] 稳定性结果示于图6和图7中,并根据溶液的摩尔比描绘了储存期间杂质百分比的增加。

[0128] 从所述图中明显看出,溶液中较高浓度的三氟乙酸根提供了明显较高的杂质浓度,因此结果证实,当替维瑞克与高浓度的酸(三氟乙酸根)接触时,将少量出现不希望的降解产物(杂质)。因此,为了获得稳定的替维瑞克-TFA制剂,重要的是提供具有低三氟乙酸根浓度/含量的组合物,即对于每摩尔替维瑞克而言,三氟乙酸根的摩尔含量应保持尽可能低。

[0129] 从图6和图7可以看出,当悬浮液中替维瑞克与三氟乙酸根的摩尔比低于1:2.8(即,1mol替维瑞克比2.8mol TFA,或更低)时,由例如脱酰胺基造成的杂质(即,不希望的降解产物)的水平保持在可接受的水平。

[0130] 从所述图还清楚看出,替维瑞克的浓度也与杂质水平有关。然而,为了减少注射量,关系到使悬浮液包含的替维瑞克浓度为至少10mg/ml,优选至少30mg/ml,因此实际上不可能简单降低最终制剂中的替维瑞克浓度。然而,该因素使组合物中酸(三氟乙酸根)的含量在储存期间更加重要,因为低水平的酸将提供更稳定的产品。

[0131] 因此,对于每摩尔替维瑞克而言,TFA的摩尔含量应等于2.2和2.8或在2.2和2.8之间。

[0132] TFA摩尔含量等于或高于2.2/摩尔替维瑞克对于确保组合物/制剂/悬浮液包含可溶性和不溶性替维瑞克二者是至关重要的,从而既提供独特的替维瑞克生物利用度又确保所述悬浮液易于通过皮下和/或肌内注射施用。摩尔比低于1:2.2将导致不希望的凝胶形成,使得悬浮液非常难以注射。此外,TFA的摩尔含量等于或低于2.8/摩尔替维瑞克与提供稳定的替维瑞克-TFA产品有关,其中杂质(例如,不希望的脱酰胺基产物)的量保持在可接受的水平。

[0133] 本发明提供的组合物和制剂制造起来便宜,并且由于容易使用,它们还提供了非常简单的剂量方案。

[0134] 在本发明的范围内,可以预见上述原理和组合的修改和组合。

悬浮液A1的显微镜检查

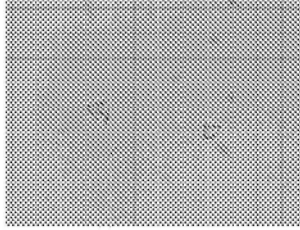


图1a

悬浮液B1的显微镜检查

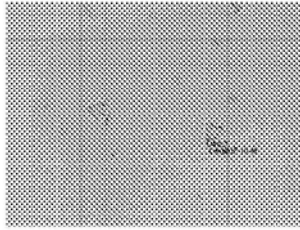


图1b

悬浮液C1的显微镜检查

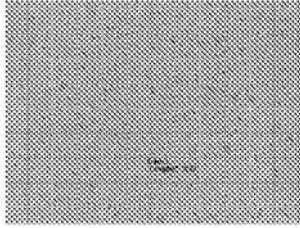


图1c

悬浮液D1的显微镜检查

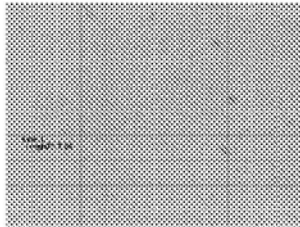


图1d

悬浮液E1的显微镜检查

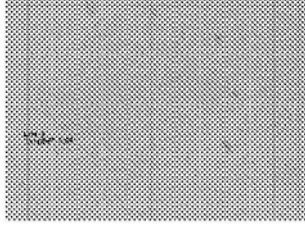


图1e

悬浮液F1的显微镜检查

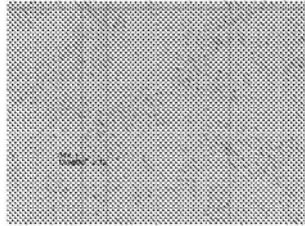


图1f

悬浮液G1的显微镜检查

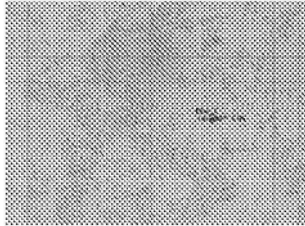


图1g

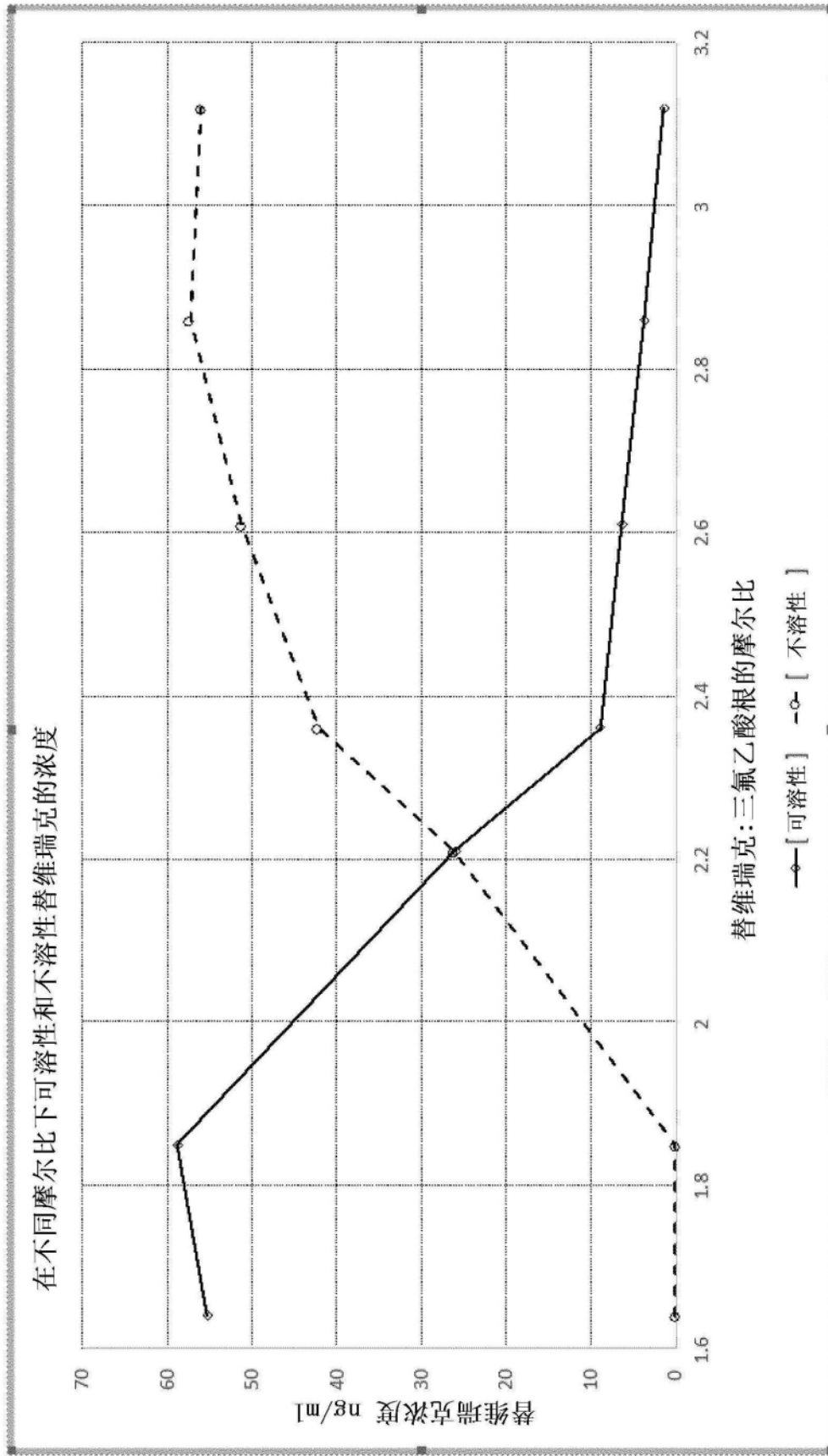


图2

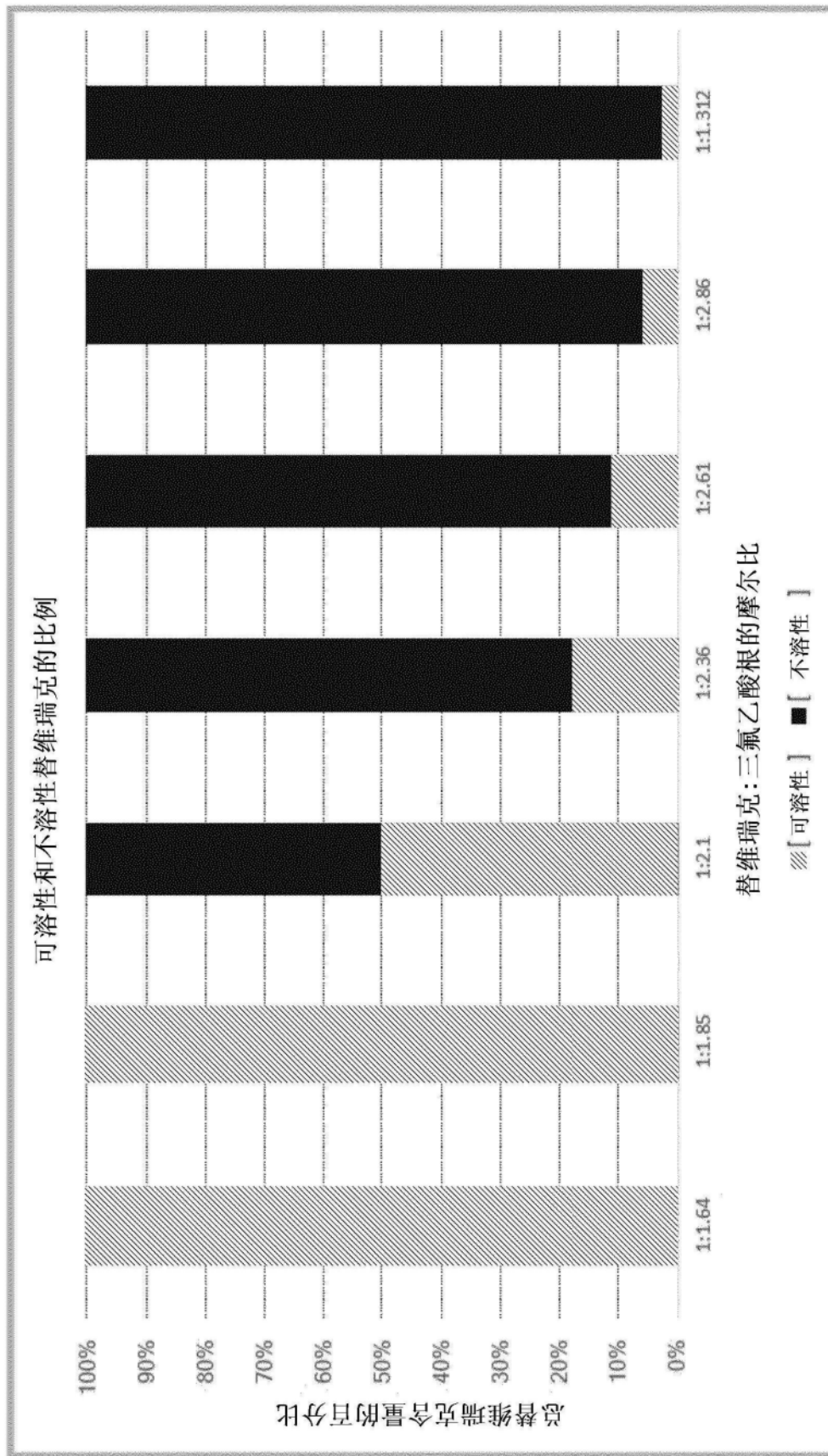


图3

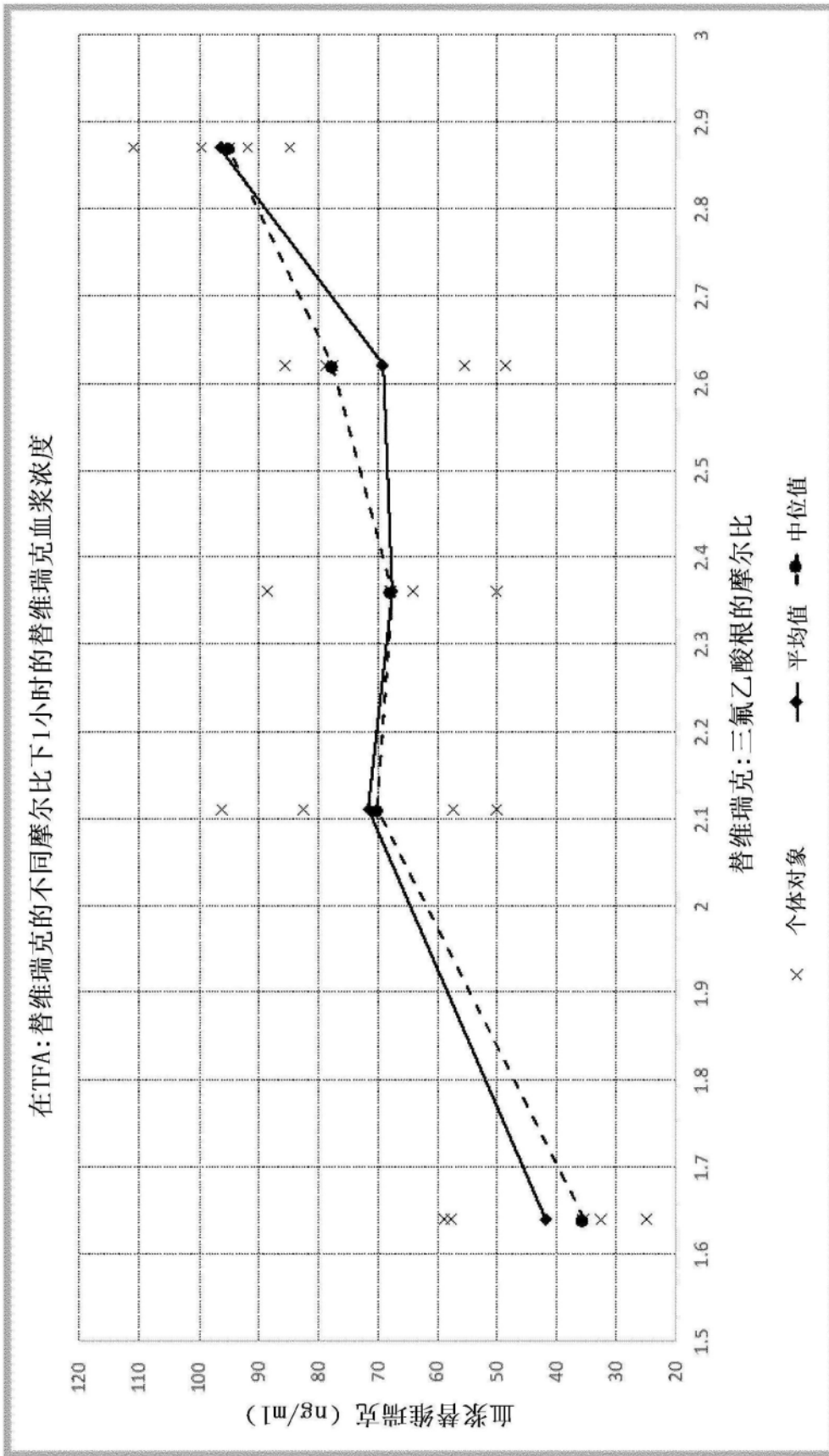


图4

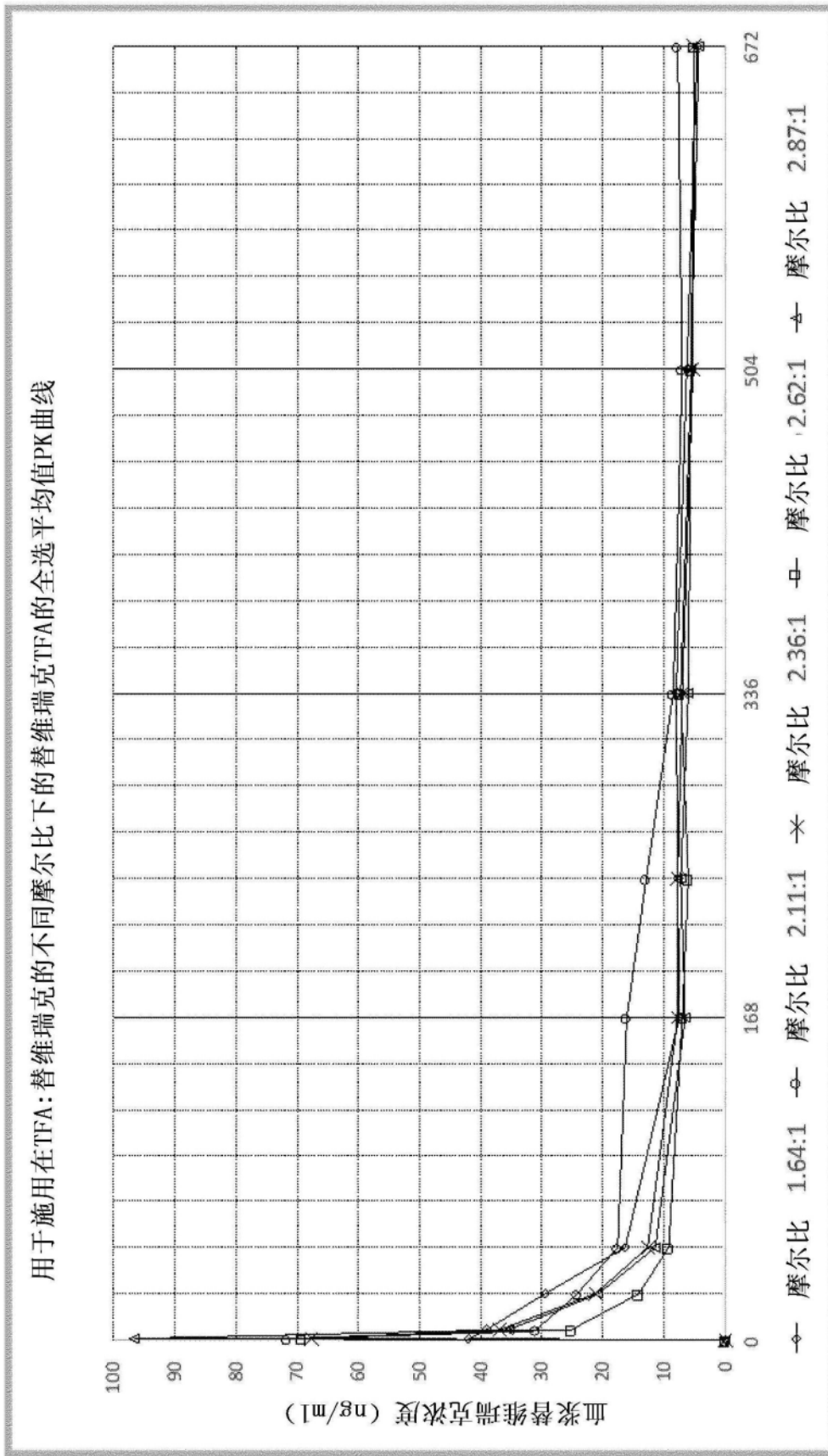


图5

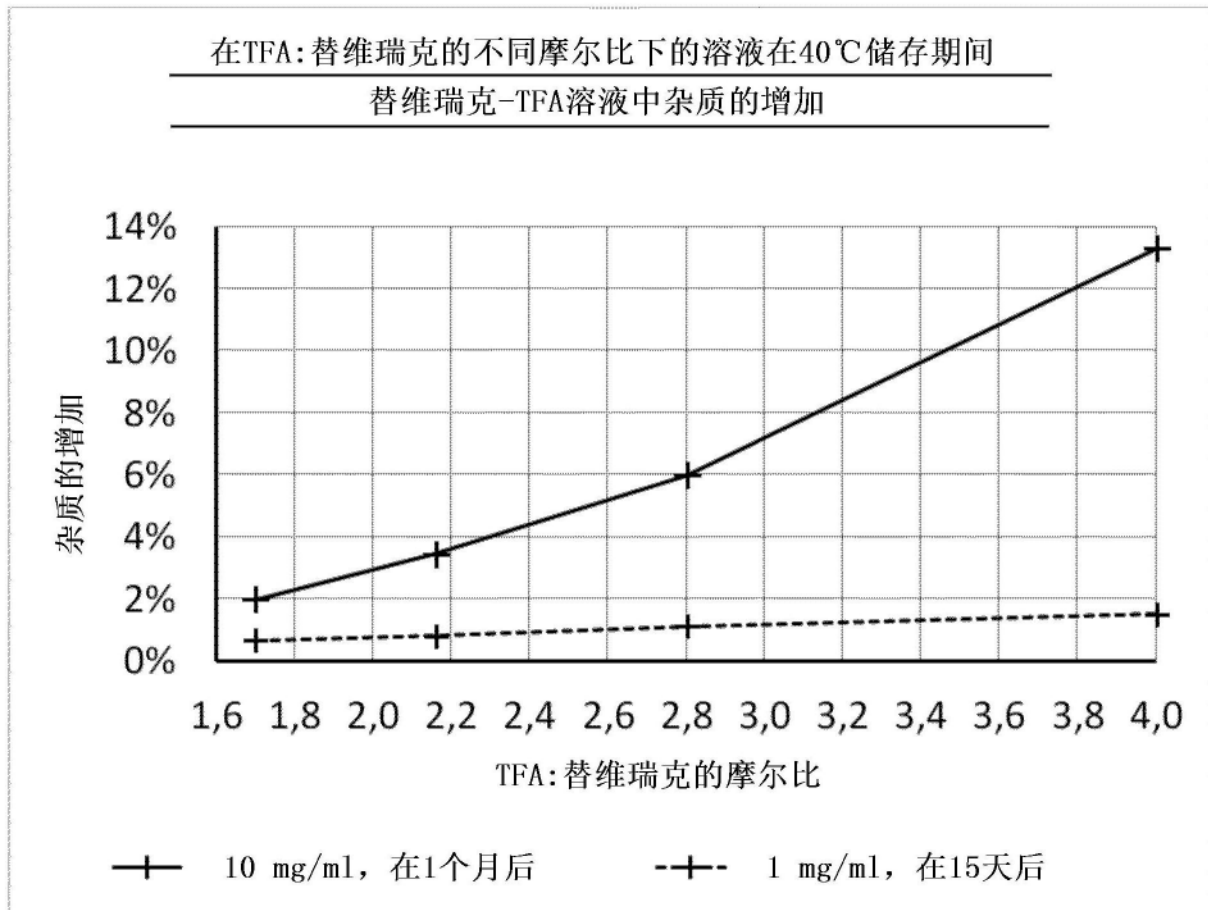


图6

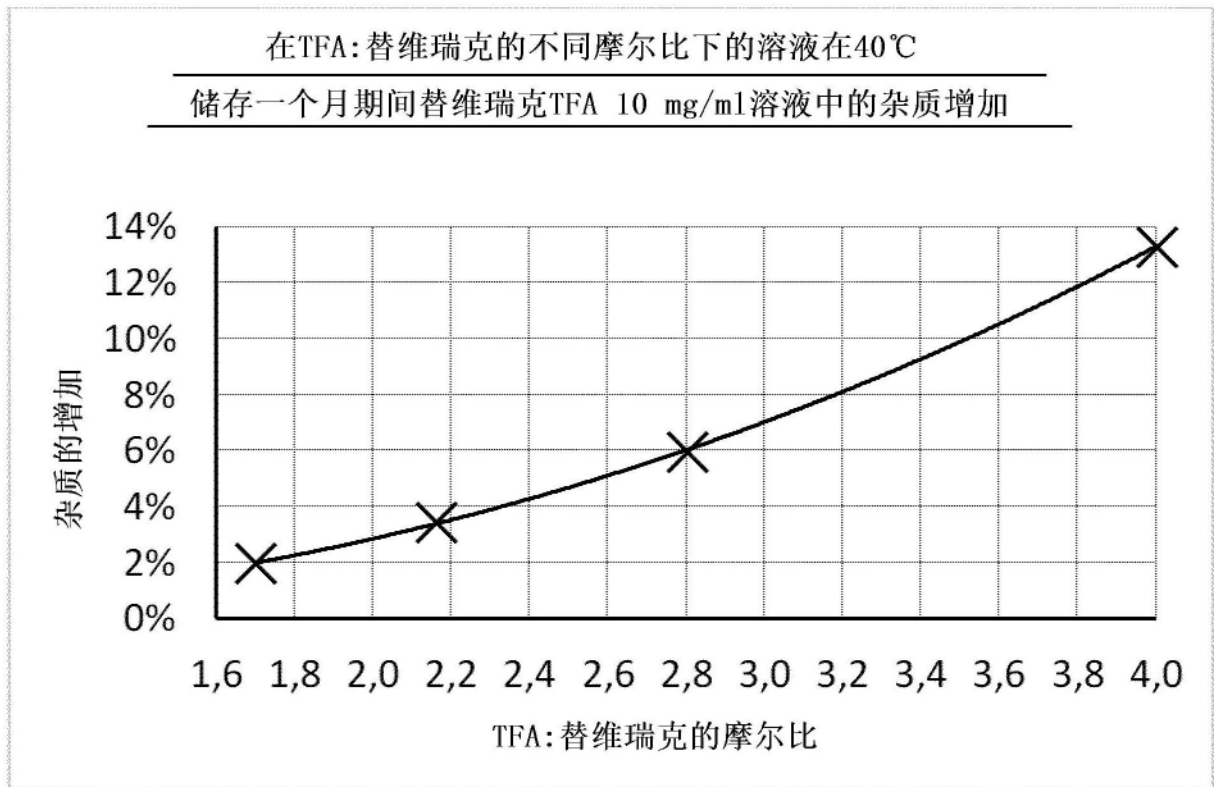


图7