



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107224569 A

(43)申请公布日 2017. 10. 03

(21)申请号 201610179691.5

(22)申请日 2016.03.26

(71)申请人 复旦大学

地址 200433 上海市杨浦区邯郸路220号

(72)发明人 陆伟跃 王晓艺 谢操 魏刚

胡雪峰

(74)专利代理机构 上海元一成知识产权代理事

务所(普通合伙) 31268

代理人 吴桂琴

(51) Int. Cl.

A61K 38/05(2006.01)

A61K 47/12(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

权利要求书1页 说明书20页 附图4页

(54)发明名称

一种硼替佐米水溶性药用组合物及其制备方法
和用途

(57)摘要

本发明属于制药领域,公开了一种新型的硼替佐米水溶性药用组合物及其制备方法和在制备抗肿瘤药物中的用途。本发明的药用组合物由硼替佐米和羟基酸在一定的溶液中混合并通过冷冻干燥或溶剂挥发等方式干燥制成;该水溶性药用组合物中硼替佐米的溶解速度明显加快,光照及高温稳定性显著增加,进而表现出比硼替佐米更为稳定的抗肿瘤效果。本发明的药用组合物可进一步与其他药用成分的组合及与药学上可接受载体的组合物制成各种剂型,用于肿瘤的治疗。

1. 一种硼替佐米水溶性药用组合物,其特征在于,由硼替佐米和有机羧酸组成,其中有机羧酸为羟基酸。
2. 根据权利要求1所述的硼替佐米的水溶性药用组合物,其特征在于,所述羟基酸为 α 或 β 羟基酸。
3. 根据权利要求1所述的硼替佐米的水溶性药用组合物,其特征在于,所述的 α 或 β 羟基酸选自枸橼酸、D-(-)-酒石酸、L-(+)-酒石酸、苹果酸、D-葡萄糖酸、扁桃酸、水杨酸、乳酸或甘草酸。
4. 根据权利要求1所述的硼替佐米的水溶性药用组合物,其特征在于,所述羟基酸为枸橼酸。
5. 根据权利要求1所述的硼替佐米的水溶性药用组合物,其特征在于,硼替佐米和羟基酸的摩尔配比为1:1~1:10。
6. 根据权利要求1所述的硼替佐米的水溶性药用组合物,其特征在于,硼替佐米和羟基酸的摩尔配比为1:1~1:2。
7. 根据权利要求1所述的硼替佐米的水溶性药用组合物,其特征在于,所述的水溶性药用组合物与药学上可接受的靶向/非靶向药物递送系统和/或稀释剂组成药物组合物。
8. 根据权利要求1或7所述的硼替佐米的水溶性药用组合物,其特征在于,所述的水溶性药用组合物或与药学上可接受的靶向/非靶向药物递送系统和/或稀释剂组成药物组合物制成各种药物制剂。
9. 根据权利要求8所述的硼替佐米的水溶性药用组合物,其特征在于,所述的制成的药物制剂为注射剂或口服制剂。
10. 根据权利要求9所述的硼替佐米的水溶性药用组合物,其特征在于,所述的注射剂或口服制剂中,硼替佐米的药物含量为1~3.5mg。
11. 权利要求1所述的硼替佐米水溶性药用组合物在用于制备治疗肿瘤的药物中的用途。

一种硼替佐米水溶性药用组合物及其制备方法和用途

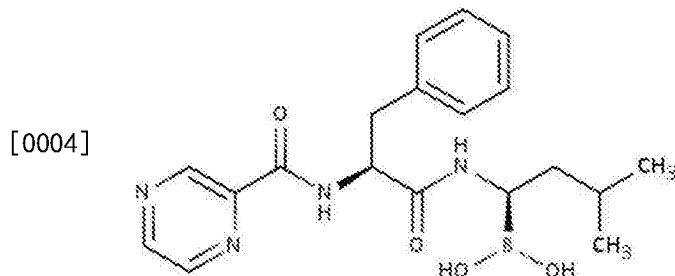
技术领域

[0001] 本发明属于制药领域,涉及一种新型的硼替佐米水溶性药用组合物及其制备方法和在制备抗肿瘤药物中的应用。

背景技术

[0002] 现有技术公开了硼替佐米(bortezomib)是一种脂溶型二肽基硼酸化合物,为高效、选择性26S蛋白酶体糜蛋白酶抑制剂,由美国千年制药公司(Millennium Pharmaceuticals)开发,2005年被美国FDA批准为抗多发性骨髓瘤药物,以及被批准用于治疗套细胞淋巴瘤。有研究表明,硼替佐米不仅对上述两种肿瘤有理想的治疗效果,对于其他肿瘤亦显示出一定的治疗作用;但医疗实践显示,硼替佐米溶解性和稳定性较差,尤其见光易分解,在一定程度上影响其临床应用,故提高硼替佐米的溶解性和稳定性对于扩大其应用范围、保证其抗肿瘤的有效性和安全性具有重要意义。

[0003] 硼替佐米的化学名为:[(1R)-3-甲基-1-[[[(2S)-1-氧-3-苯基-2-[(吡嗪甲酰)氨基]丙基]氨基]丁基]-硼酸,结构如下:



[0005] 为进一步改善硼替佐米的水溶性和稳定性,药学工作者已进行了大量的研究工作。已报道的策略主要包括下述两种,第一种策略是将硼替佐米制备成酯,如硼替佐米酒石酸酯(专利WO 2014/023647)和硼替佐米枸橼酸酯(专利W02009154737)等,但硼替佐米酯的制备需要特定的条件,制备过程较复杂,成本较高,因此市场应用前景不大;第二种策略则是通过将硼替佐米与常用的载体通过简单的混合制成固态或液体的物理混合物或复合物来提高其稳定性,如专利WO 2010/114982将硼替佐米制备成环糊精冻干饼,专利WO 2010/039762将硼替佐米与有机羧酸、氨基酸、维生素、氯化钠等药用载体混合制成溶液剂、冻干制剂或者物理混合制剂,专利W02011/116286将硼替佐米溶于丙二醇等有机溶剂或者与含有两种不同电子供体的路易斯碱在溶液中结合形成路易斯酸碱复合物,此类方法相对于硼替佐米酯工艺简单、条件温和,有更好的市场应用前景,但实践显示,所述方法仍不够理想,需要改进,例如,专利WO 2010/114982环糊精冻干饼的制备过程中除了要添加环糊精,还需要加入至少一种表面活性剂或增溶剂,成分较复杂;专利WO 2010/114982所述的药用载体范围过于广泛,且无足够的证据证明哪类药用载体有效,有研究证实其中部分载体对硼替佐米的稳定性无显著贡献,如上述专利中提及的氨基酸,无论其用量多少(氨基酸的摩尔量为硼替佐米2或10倍),其组合物的冻干品均不能起到显著增加硼替佐米稳定性的作用,且部分氨基酸在不添加其他保护剂或pH调节剂的前提下,冻干品不仅没有起到保护作用,反

而促进了硼替佐米的降解,溶解速度不理想,多数至少需要1.5min;硼替佐米与维生素的冻干粉亦存在同样的问题;此外,所述专利中有机羧酸等用作载体且用量较多(优化的处方中载体的摩尔量为硼替佐米的10~100倍),给药时会产生刺激性大的问题;另外,专利W0 2011/116286存在的问题是,其中优选的与硼替佐米形成路易斯酸碱复合物的路易斯碱为同时含有-OH和-SH,-OH和-NH₂,-SH和-NH₂,-COOH和-NH₂以及-COOH和-SH的化合物,进一步优选氨基酸、多肽及聚乙二醇类,经研究证实,其中优选的氨基酸与专利W0 2010/114982一样,均有失准确;因此,专利W0 2011/116286提及的路易斯酸碱理论在改善硼替佐米稳定性中的应用缺乏普适性和准确性,而且尚未解决硼替佐米溶解速度的问题。

[0006] 综上所述,寻找通过简单的混合制成硼替佐米的物理混合物或复合物,达到同时改善硼替佐米的稳定性和溶解速度的作用,这对于扩大硼替佐米的应用范围、拓宽给药途径、延长药物保质期、确保药物疗效、增加给药的灵活性和顺应性有重要意义。

发明内容

[0007] 本发明的目的在于克服现有技术的缺陷与不足,针对硼替佐米存在溶解速度和稳定性的技术问题,提供一种硼替佐米的水溶性药用组合物及其制备方法和在制备抗肿瘤药物中的用途。

[0008] 本发明提供了一种硼替佐米水溶性药用组合物,所述的水溶性药用组合物由硼替佐米和有机羧酸组成,其中有机羧酸为羟基酸。

[0009] 本发明中,所述羟基酸为 α 或 β 羟基酸;选自枸橼酸、D-(-)-酒石酸、L-(+)-酒石酸、苹果酸、D-葡萄糖酸、扁桃酸、水杨酸、乳酸或甘草酸,本发明的实施例中优选枸橼酸。

[0010] 本发明中,.硼替佐米与羟基酸的摩尔配比为1:1~1:10;本发明的一个实施例中优选硼替佐米与羟基酸的摩尔配比为1:1~1:2。

[0011] 本发明提供了硼替佐米水溶性药用组合物采用干燥方法制备,例如通过冷冻干燥制成冻干粉或通过溶剂挥发法制备。

[0012] 本发明通过实验系统考察了硼替佐米与有机羧酸、氨基酸、无机酸、氨基磺酸的组合对硼替佐米稳定性的影响,结果显示,硼替佐米与有机羧酸中的 α 或 β 羟基酸如:枸橼酸、D-(-)-酒石酸、L-(+)-酒石酸、苹果酸、D-葡萄糖酸等组合均显示出比硼替佐米更为优越的稳定性,其中硼替佐米与枸橼酸的组合同时具备显著提高硼替佐米稳定性和溶解速度的优势;所述的水溶性药用组合物中,硼替佐米与羟基酸的摩尔配比优选1:1~1:10,更优选1:1~1:2;本发明通过实验同时证明了无机酸、氨基酸以及不含羟基的有机羧酸与硼替佐米组合对硼替佐米的稳定与助溶效果均较差,其中还反而促进硼替佐米的降解。

[0013] 本发明的硼替佐米水溶性药用组合物使用时可迅速溶解于水中,体外实验验证其具有与硼替佐米相当的抗肿瘤效果,稳定性亦显著增强,可较大程度地减缓因硼替佐米不稳定而导致的药物失效。

[0014] 本发明进一步提供了硼替佐米的水溶性药用组合物在制备抗肿瘤药物中的应用。本发明的硼替佐米水溶性药用组合物可进一步与其他药用成分的组合物及其与一种或多种药学上可接受的靶向/非靶向药物递释系统和/或稀释剂制成的组合物。

[0015] 本发明提供的硼替佐米的水溶性药用组合物可用于制成注射液、注射用浓溶液和注射用无菌粉末,供注射给药。

[0016] 本发明提供的硼替佐米的水溶性药用组合物可用于制成常规的固体制剂,包括片剂、胶囊剂、颗粒剂和丸剂等。

[0017] 需要注意的是,本申请基于溶解性和稳定性的考虑优选硼替佐米与枸橼酸形成的水溶性药用组合物,根据给药方式以及剂型的具体需要,还可优选其他溶解性能不同的羧基酸组合物。

[0018] 本发明的硼替佐米的羧基酸水溶性药用组合物具有以下优点:

[0019] (1)本发明的硼替佐米水溶性药用组合物,尤其是硼替佐米的枸橼酸组合物,比硼替佐米溶解速度大大增加;

[0020] (2)本发明的硼替佐米水溶性药用组合物比硼替佐米光照稳定性显著提高,有利于提高贮存的稳定性及临床应用的安全性和有效性;

[0021] (3)本发明的硼替佐米水溶性药用组合物表现出比硼替佐米更好的耐高温性能;

[0022] (4)本发明提供了硼替佐米的水溶性药用组合物的制备方法工艺简单、成本低、药品纯度高、收率高、质量稳定,适于规模生产;

[0023] (5)本发明的硼替佐米水溶性药用组合物,其体外抗肿瘤活性与硼替佐米相当,在各种促降解因素存在的条件下抗肿瘤效果更为稳定。

附图说明

[0024] 图1,硼替佐米、枸橼酸、硼替佐米枸橼酸物理混合物、硼替佐米冻干粉、枸橼酸冻干粉、硼替佐米枸橼酸组合物冻干粉的DSC图谱,

[0025] 其中显示了:硼替佐米熔点为178.6℃,枸橼酸熔点159.3℃;硼替佐米枸橼酸物理混合物则表现出两化合物各自的吸热特征,分别出现枸橼酸和硼替佐米的熔点峰;硼替佐米冻干粉熔点峰消失,提示形成无定型;枸橼酸冻干粉熔点与枸橼酸原料药相近,说明冻干未改变枸橼酸的结晶性能;各比例硼替佐米枸橼酸组合物冻干粉的DSC曲线中硼替佐米和枸橼酸的熔点峰均消失。说明通过冷冻干燥制备的硼替佐米枸橼酸组合物均为无定型粉末。

[0026] 图2,硼替佐米、枸橼酸、硼替佐米枸橼酸物理混合物、溶剂挥发法-硼替佐米、溶剂挥发法-枸橼酸、溶剂挥发法-硼替佐米枸橼酸组合物的XRPD图谱,

[0027] 图中显示:硼替佐米、枸橼酸、溶剂挥发法-枸橼酸均有衍射峰;硼替佐米枸橼酸物理混合物的衍射峰为硼替佐米和枸橼酸衍射峰的叠加;溶剂挥发法制备的硼替佐米枸橼酸组合物中硼替佐米与枸橼酸比例为1:1和1:1.5时硼替佐米和枸橼酸的特征衍射峰均消失,提示硼替佐米与枸橼酸形成了新的无定型复合物;比例为1:2时组合物开始出现较弱的溶剂挥发法-枸橼酸的特征衍射峰,1:5和1:10时溶剂挥发法-枸橼酸的特征峰更强,各比例均无硼替佐米的特征峰。说明硼替佐米枸橼酸组合物中枸橼酸比例高于一定程度时,枸橼酸趋向于形成本身固有的晶格,硼替佐米枸橼酸复合物则以无定型的形式分散于枸橼酸晶格中,形成硼替佐米枸橼酸无定型复合物与枸橼酸晶体的混合物。

[0028] 图3,硼替佐米、枸橼酸、硼替佐米枸橼酸物理混合物、溶剂挥发法-硼替佐米、溶剂挥发法-枸橼酸、溶剂挥发法-硼替佐米枸橼酸组合物的DSC图谱,

[0029] 其中显示:硼替佐米熔点为178.6℃,枸橼酸熔点159.3℃;硼替佐米枸橼酸物理混合物则表现出两化合物各自的吸热特征,分别出现枸橼酸和硼替佐米的熔点峰;经溶剂挥

发制备的硼替佐米熔点峰消失,在117.8℃出现放热峰,枸橼酸经相同溶剂挥发处理熔点与枸橼酸原料药相近;溶剂挥发法制备的硼替佐米枸橼酸组合物比例为1:1和1:1.5时,既无熔点峰,又无放热峰。说明该比例下组合物与硼替佐米、枸橼酸、硼替佐米枸橼酸的物理混合物、溶剂挥发法-硼替佐米、溶剂挥发法-枸橼酸均不相同,提示形成了新的无定型复合物。溶剂挥发法制备的硼替佐米枸橼酸组合物中硼替佐米与枸橼酸比例为1:2时开始出现弱的熔点峰,比例为1:5和1:10时均为具有固定熔点的结晶态,熔点均与枸橼酸和溶剂挥发法-枸橼酸相近,即随组合物中枸橼酸比例增大,组合物表现出与枸橼酸相似的结晶态,DSC结果与XRPD结果吻合。

[0030] 图4,硼替佐米的药用组合物冻干粉和硼替佐米冻干粉、硼替佐米在光照4500Lx、25℃和60%RH条件下稳定性的比较;其中显示,硼替佐米的羟基酸组合物具有比硼替佐米冻干粉和硼替佐米的光照稳定性显著提高。

[0031] 图5,硼替佐米的药用组合物冻干粉和硼替佐米冻干粉、硼替佐米在高温40℃、75%RH条件下稳定性的比较,其中显示,硼替佐米的羟基酸组合物具有比硼替佐米冻干粉和硼替佐米的高温稳定性显著提高。

[0032] 图6,硼替佐米枸橼酸组合物溶液(PBS缓冲液,pH 7.4)与硼替佐米溶液(PBS缓冲液,pH 7.4)光照前和光照2天后对RPMI 8226细胞生存抑制曲线,其中显示,硼替佐米枸橼酸组合物显著提高了硼替佐米的药效稳定性。

[0033] 图7,硼替佐米枸橼酸组合物溶液(PBS缓冲液)与硼替佐米溶液(PBS缓冲液)光照前和光照2天后对U87细胞生存抑制曲线,其中显示,硼替佐米枸橼酸组合物可显著提高硼替佐米的药效稳定性。

[0034] 图8,枸橼酸及光照2天后对RPMI 8226细胞及U87细胞生存率的影响,其中显示,枸橼酸对RPMI 8226细胞和U87细胞生长状态的影响可忽略不计。

具体实施方式

[0035] 以下通过实施例对本发明的内容做进一步详细说明,但不应将此理解为本发明保护范围仅限于以下实施例;凡基于本发明上述内容所实现的技术均属于本发明的保护范围。

[0036] 实施例1硼替佐米及其水溶性药用组合物的检测方法

[0037] 硼替佐米及其水溶性药用组合物用HPLC进行检测分析,方法如下:C18柱在35℃用270nmUV检测,流速为0.7mL/min,注射体积为40μL,流动相为甲醇:水=60:40(V/V),洗脱时间为15分钟。样品加入1mL的去离子水或无菌注射用水,振动或超声处理约10秒钟,至所有固体溶解。硼替佐米及其水溶性药用组合物百分比纯度可使用本领域已知的面积归一化法来评估。

[0038] 实施例2硼替佐米冻干粉的制备

[0039] 取硼替佐米1mg,加入0.5mL无水乙醇,超声溶解后,与2mL纯水混合,减压蒸发除去乙醇。样品于-80℃预冻2小时后,在冷冻干燥机上于温度-47℃、压力0.12mbar下冷冻干燥48小时,即可得到白色疏松粉末状硼替佐米冻干粉,纯度为98.04%。

[0040] 实施例3硼替佐米枸橼酸组合物冻干粉的制备

[0041] 取硼替佐米5mg,加入2.5mL无水乙醇,超声溶解后,分五等份分别与0.1mL、

0.15mL、0.2mL、0.5mL或1mL的5.47mg/mL枸橼酸溶液混合(硼替佐米与枸橼酸的摩尔比分别为1:1、1:1.5、1:2、1:5、1:10),均补纯水至2mL,减压蒸发除去乙醇。样品于-80℃预冻2小时后,在冷冻干燥机上于温度-47℃、压力0.12mbar下冷冻干燥48小时,即可得到白色疏松粉末状硼替佐米枸橼酸组合物冻干粉,纯度大于99%。将各比例硼替佐米枸橼酸组合物样品及硼替佐米、枸橼酸、硼替佐米枸橼酸物理混合物(1:1)、硼替佐米冻干粉及枸橼酸冻干粉进行差示扫描量热(DSC)分析,结果如图1所示。

[0042] 实施例4溶剂挥发法制备硼替佐米枸橼酸组合物

[0043] 取硼替佐米5mg,加入2.5mL无水乙醇,超声溶解后,分五等份分别与0.1mL、0.15mL、0.2mL、0.4mL、0.5mL或1mL的5.47mg/mL枸橼酸水溶液混合(硼替佐米与枸橼酸的摩尔比分别为1:1、1:1.5、1:2、1:5、1:10),减压蒸发除去乙醇和水后真空干燥,析出透明或半透明结块状硼替佐米枸橼酸(1:1、1:1.5)无定型复合物、具有明显结晶形态的硼替佐米枸橼酸组合物(1:5、1:10)及结晶度较低的硼替佐米枸橼酸组合物(1:2),纯度均大于99%。将各比例组合物样品及硼替佐米、枸橼酸、硼替佐米枸橼酸物理混合物(1:1)及经过相同处理过程的溶剂挥发法-硼替佐米、溶剂挥发法-枸橼酸进行X射线粉末衍射(XRPD)及差示扫描量热(DSC)分析,结果如图2、3及表1~10所示。

[0044] 表1、XRPD Peak List:硼替佐米

[0045]

Pos. [$^{\circ}$ 2 θ .]	Height [cts]	FWHM [$^{\circ}$ 2 θ .]	d-spacing [\AA]	Rel. Int. [%]	Tip width [$^{\circ}$ 2 θ .]
4.0691	130.85	0.1004	21.71542	5.33	0.1204
4.5809	205.28	0.1171	19.29037	8.36	0.1405
5.6600	2454.63	0.1506	15.61470	100.00	0.1807
6.0495	1033.93	0.1171	14.61010	42.12	0.1405
7.4886	193.43	0.2342	11.80543	7.88	0.2810
8.4430	272.65	0.1004	10.47292	11.11	0.1204
9.7769	966.89	0.1338	9.04684	39.39	0.1606
11.3615	419.65	0.1004	7.78839	17.10	0.1204
12.9138	293.74	0.1673	6.85547	11.97	0.2007
13.8722	37.67	0.2342	6.38392	1.53	0.2810
15.1451	220.77	0.2676	5.85013	8.99	0.3212
16.7214	193.42	0.2007	5.30203	7.88	0.2409
17.0668	295.11	0.2342	5.19549	12.02	0.2810
18.1081	537.30	0.2676	4.89900	21.89	0.3212
18.8169	192.76	0.1673	4.71603	7.85	0.2007
19.6850	215.67	0.2676	4.50998	8.79	0.3212
20.4258	632.94	0.2676	4.34804	25.79	0.3212
20.6614	531.75	0.1338	4.29899	21.66	0.1606
21.4121	519.39	0.1171	4.14994	21.16	0.1405
22.0502	294.30	0.2676	4.03127	11.99	0.3212
23.5479	365.78	0.2676	3.77816	14.90	0.3212
24.1443	193.71	0.2676	3.68616	7.89	0.3212
24.4654	209.90	0.2007	3.63851	8.55	0.2409
25.0043	143.71	0.2007	3.56130	5.85	0.2409
26.2224	188.66	0.1673	3.39856	7.69	0.2007
27.7519	109.75	0.2676	3.21464	4.47	0.3212
28.8679	63.36	0.2007	3.09286	2.58	0.2409
29.8955	40.60	0.2676	2.98885	1.65	0.3212
32.0357	13.28	0.4015	2.79389	0.54	0.4818
33.4192	32.05	0.6691	2.68132	1.31	0.8029
36.8862	46.98	0.2676	2.43688	1.91	0.3212
38.8653	17.60	0.8029	2.31723	0.72	0.9635
39.9585	18.82	0.4015	2.25631	0.77	0.4818
43.9545	19.81	0.3346	2.06002	0.81	0.4015

[0046]

44.9755	14.37	0.4896	2.01393	0.59	0.5875
---------	-------	--------	---------	------	--------

[0047] 表2、XRPD Peak List:枸橼酸

[0048]

Pos. [$^{\circ}2\theta$.]	Height [cts]	FWHM [$^{\circ}2\theta$.]	d-spacing [\AA]	Rel. Int. [%]	Tip width [$^{\circ}2\theta$.]
11.4893	417.03	0.0502	7.70206	5.77	0.0602
13.9730	107.11	0.0669	6.33809	1.48	0.0803
14.9421	1098.95	0.0502	5.92915	15.19	0.0602
15.1927	1363.05	0.1171	5.83188	18.85	0.1405
16.8509	299.50	0.0836	5.26158	4.14	0.1004
17.0442	2130.20	0.0836	5.20232	29.45	0.1004
17.9153	762.11	0.0669	4.95128	10.54	0.0803
18.1259	2334.77	0.0669	4.89423	32.28	0.0803
18.2679	1165.73	0.0502	4.85652	16.12	0.0602
19.1059	111.12	0.0669	4.64535	1.54	0.0803
19.2729	191.29	0.0502	4.60547	2.64	0.0602
19.7776	93.31	0.0836	4.48907	1.29	0.1004
20.5795	22.53	0.4015	4.31593	0.31	0.4818
21.7568	57.26	0.1338	4.08497	0.79	0.1606
22.2232	723.04	0.0612	3.99696	10.00	0.0734
22.3264	889.48	0.0669	3.98203	12.30	0.0803
23.0452	2344.90	0.0502	3.85943	32.42	0.0602
23.7852	417.38	0.0669	3.74101	5.77	0.0803
24.4760	513.67	0.0836	3.63695	7.10	0.1004
24.9870	89.97	0.1338	3.56372	1.24	0.1606
25.9820	75.77	0.1673	3.42947	1.05	0.2007
26.9638	190.59	0.0502	3.30678	2.64	0.0602
27.1127	885.97	0.0502	3.28895	12.25	0.0602
28.3357	81.30	0.0502	3.14972	1.12	0.0602
28.6271	385.64	0.0669	3.11832	5.33	0.0803
28.8691	450.68	0.0335	3.09273	6.23	0.0401
29.3418	7232.39	0.0612	3.04146	100.00	0.0734
29.4330	3327.46	0.0408	3.03977	46.01	0.0490
30.0888	497.70	0.1428	2.96763	6.88	0.1714
30.6516	113.38	0.1632	2.91441	1.57	0.1958
31.0959	102.46	0.1632	2.87377	1.42	0.1958
32.1640	388.15	0.0612	2.78073	5.37	0.0734
32.2655	639.85	0.0612	2.77222	8.85	0.0734
32.6195	550.11	0.0612	2.74293	7.61	0.0734
33.8199	135.37	0.1224	2.64827	1.87	0.1469
34.1402	124.74	0.0612	2.62416	1.72	0.0734
35.2706	216.39	0.0612	2.54260	2.99	0.0734
36.2534	80.50	0.1224	2.47589	1.11	0.1469
36.6366	163.60	0.0612	2.45087	2.26	0.0734
37.7089	142.11	0.2040	2.38361	1.96	0.2448

[0049]

38.0112	135.11	0.0612	2.36535	1.87	0.0734
38.1953	176.32	0.0612	2.35436	2.44	0.0734
38.7130	50.08	0.1224	2.32406	0.69	0.1469
38.9356	128.45	0.0612	2.31129	1.78	0.0734
39.7963	609.82	0.0816	2.26326	8.43	0.0979
39.9125	357.01	0.0612	2.26255	4.94	0.0734
40.8344	186.91	0.0612	2.20809	2.58	0.0734
40.9460	105.37	0.0612	2.20780	1.46	0.0734
41.7050	138.66	0.0612	2.16399	1.92	0.0734
42.0658	684.55	0.0816	2.14625	9.47	0.0979
42.1835	377.77	0.0408	2.14585	5.22	0.0490
43.5375	100.65	0.1224	2.07705	1.39	0.1469
44.6379	49.51	0.2040	2.02837	0.68	0.2448
45.8259	144.74	0.0816	1.97851	2.00	0.0979
48.2174	149.79	0.0612	1.88582	2.07	0.0734
49.0349	207.13	0.0612	1.85627	2.86	0.0734
49.1724	98.41	0.0612	1.85600	1.36	0.0734

[0050] 表3、XRPD Peak List: 硼替佐米枸橼酸物理混合物(1:1)

[0051]

Pos. [$^{\circ}2\theta$.]	Height [cts]	FWHM [$^{\circ}2\theta$.]	d-spacing [\AA]	Rel. Int. [%]	Tip width [$^{\circ}2\theta$.]
5.6926	404.95	0.1338	15.52527	16.47	0.1606
6.0888	191.75	0.1338	14.51599	7.80	0.1606
7.4221	28.83	0.4015	11.91107	1.17	0.4818
8.4928	51.19	0.2676	10.41156	2.08	0.3212
9.7767	273.29	0.1840	9.04702	11.11	0.2208
11.3667	80.65	0.2007	7.78486	3.28	0.2409
12.9140	91.19	0.2007	6.85537	3.71	0.2409
13.9384	108.37	0.1004	6.35375	4.41	0.1204
14.9974	336.47	0.0502	5.90738	13.68	0.0602
15.2011	283.28	0.0836	5.82870	11.52	0.1004
16.5844	209.68	0.0669	5.34550	8.53	0.0803
17.0730	94.73	0.2676	5.19362	3.85	0.3212
17.6353	528.69	0.0836	5.02925	21.50	0.1004
17.9212	583.13	0.0836	4.94967	23.71	0.1004
18.0623	688.31	0.0502	4.91132	27.99	0.0602
18.2381	2459.09	0.0502	4.86438	100.00	0.0602
19.3308	129.53	0.1673	4.59180	5.27	0.2007
20.5813	261.66	0.0669	4.31555	10.64	0.0803
21.4153	114.63	0.2007	4.14934	4.66	0.2409
22.0567	105.22	0.1673	4.03010	4.28	0.2007
22.3266	92.18	0.1004	3.98199	3.75	0.1204
22.9578	1119.53	0.0669	3.87392	45.53	0.0803
23.7202	97.64	0.1673	3.75110	3.97	0.2007
24.3577	33.86	0.2676	3.65436	1.38	0.3212

[0052]

24.9788	166.93	0.0669	3.56488	6.79	0.0803
25.9045	192.55	0.1673	3.43955	7.83	0.2007
26.8495	121.44	0.2342	3.32060	4.94	0.2810
28.7077	70.04	0.2342	3.10975	2.85	0.2810
29.8626	33.48	0.2676	2.99206	1.36	0.3212
30.5386	36.27	0.2007	2.92736	1.47	0.2409
31.2765	167.89	0.0502	2.85995	6.83	0.0602
32.5568	31.87	0.2007	2.75035	1.30	0.2409
33.5084	49.56	0.1004	2.67439	2.02	0.1204
35.9991	101.96	0.1338	2.49486	4.15	0.1606
36.9011	559.96	0.0408	2.43391	22.77	0.0490
37.0048	301.94	0.0502	2.42934	12.28	0.0602
38.5710	56.38	0.2342	2.33423	2.29	0.2810
38.9486	63.53	0.0502	2.31246	2.58	0.0602
41.8236	81.05	0.0502	2.15991	3.30	0.0602
43.0615	46.30	0.2676	2.10064	1.88	0.3212
45.0648	76.14	0.0669	2.01181	3.10	0.0803
47.6684	12.29	0.4015	1.90783	0.50	0.4818
49.4383	51.47	0.0816	1.84207	2.09	0.0979

[0053] 表4、XRPD Peak List:溶剂挥发法-硼替佐米

[0054]

Pos. [$^{\circ}$ 2Th.]	Height [cts]	FWHM [$^{\circ}$ 2Th.]	d-spacing [\AA]	Rel. Int. [%]	Tip width [$^{\circ}$ 2Th.]
6.8440	268.03	0.1538	12.91571	100.00	0.1846
18.9884	183.10	0.6214	4.67383	68.31	0.7456

[0055] 表5、XRPD Peak List:溶剂挥发法-枸橼酸

[0056]

Pos. [$^{\circ}$ 2Th.]	Height [cts]	FWHM [$^{\circ}$ 2Th.]	d-spacing [\AA]	Rel. Int. [%]	Tip width [$^{\circ}$ 2Th.]
8.4946	74.39	0.2007	10.40936	3.73	0.2409
14.2544	662.49	0.2676	6.21358	33.18	0.3212
16.6847	256.16	0.2007	5.31359	12.83	0.2409
17.9375	1322.88	0.2007	4.94522	66.25	0.2409
18.2338	1952.72	0.3346	4.86551	97.80	0.4015
19.6518	1996.74	0.2007	4.51753	100.00	0.2409
21.7401	199.55	0.3346	4.08808	9.99	0.4015
23.0704	70.37	0.2007	3.85526	3.52	0.2409
23.9993	1241.39	0.2007	3.70810	62.17	0.2409
25.0553	375.31	0.2007	3.55416	18.80	0.2409
26.1264	1570.43	0.3346	3.41084	78.65	0.4015
27.5516	139.61	0.2007	3.23756	6.99	0.2409
28.9442	309.88	0.2007	3.08488	15.52	0.2409
30.0244	196.17	0.2007	2.97631	9.82	0.2409
31.4332	1013.77	0.2007	2.84605	50.77	0.2409
32.9055	151.71	0.3346	2.72200	7.60	0.4015
33.6915	527.49	0.2676	2.66027	26.42	0.3212

[0057]

33.9876	406.94	0.2007	2.63777	20.38	0.2409
35.3642	216.95	0.2676	2.53819	10.87	0.3212
36.2518	300.43	0.3346	2.47805	15.05	0.4015
36.7598	365.31	0.2007	2.44497	18.30	0.2409
37.3775	189.94	0.2007	2.40596	9.51	0.2409
37.6670	285.55	0.2007	2.38814	14.30	0.2409
39.3973	92.52	0.3346	2.28715	4.63	0.4015
40.2852	82.29	0.2342	2.23877	4.12	0.2810
41.1530	324.99	0.2007	2.19354	16.28	0.2409
42.2718	141.37	0.2676	2.13804	7.08	0.3212
43.2510	288.55	0.3346	2.09188	14.45	0.4015
45.4312	201.68	0.2007	1.99643	10.10	0.2409
46.2646	203.91	0.2007	1.96239	10.21	0.2409
47.0174	136.31	0.2007	1.93272	6.83	0.2409
48.3364	19.36	0.2448	1.88145	0.97	0.2938

[0058] 表6、XRPD Peak List:溶剂挥发法-硼替佐米枸橼酸组合物(1:1)

[0059]

Pos. [$^{\circ}$ 2Th.]	Height [cts]	FWHM [$^{\circ}$ 2Th.]	d-spacing [\AA]	Rel. Int. [%]	Tip width [$^{\circ}$ 2Th.]
7.9456	90.49	0.2201	11.12741	97.71	0.2642
19.3427	92.61	0.0789	4.58900	100.00	0.0946

[0060] 表7、XRPD Peak List:溶剂挥发法-硼替佐米枸橼酸组合物(1:1.5)

[0061]

Pos. [$^{\circ}$ 2Th.]	Height [cts]	FWHM [$^{\circ}$ 2Th.]	d-spacing [\AA]	Rel. Int. [%]	Tip width [$^{\circ}$ 2Th.]
7.2494	1492.27	1.0822	12.19444	98.56	1.2986
19.8974	1514.00	0.0100	4.46232	100.00	0.0120

[0062] 表8、XRPD Peak List:溶剂挥发法-硼替佐米枸橼酸组合物(1:2)

[0063]

Pos. [$^{\circ}$ 2Th.]	Height [cts]	FWHM [$^{\circ}$ 2Th.]	d-spacing [\AA]	Rel. Int. [%]	Tip width [$^{\circ}$ 2Th.]
14.0509	55.28	0.2007	6.30313	21.73	0.2409
16.5250	43.30	0.2007	5.36460	17.02	0.2409
18.0195	254.44	0.2342	4.92289	100.00	0.2810
19.3882	86.34	0.2007	4.57835	33.93	0.2409
23.7909	66.33	0.2007	3.74011	26.07	0.2409
25.9411	117.61	0.1673	3.43478	46.22	0.2007
28.7859	50.83	0.2676	3.10148	19.98	0.3212
31.2014	48.68	0.2676	2.86666	19.13	0.3212
36.0425	28.16	0.2007	2.49196	11.07	0.2409
42.8730	7.28	0.9792	2.10770	2.86	1.1750

[0064] 表9、XRPD Peak List:溶剂挥发法-硼替佐米枸橼酸组合物(1:5)

[0065]

Pos. [$^{\circ}$ 2Th.]	Height [cts]	FWHM [$^{\circ}$ 2Th.]	d-spacing [\AA]	Rel. Int. [%]	Tip width [$^{\circ}$ 2Th.]
14.1229	328.73	0.1004	6.27116	26.33	0.1204
16.5114	165.90	0.2676	5.36898	13.29	0.3212

[0066]

17.6744	460.38	0.1673	5.01824	36.88	0.2007
18.0720	1248.36	0.1506	4.90872	100.00	0.1807
19.3998	457.73	0.2676	4.57564	36.67	0.3212
21.5844	129.18	0.1004	4.11721	10.35	0.1204
21.7402	120.46	0.1004	4.08805	9.65	0.1204
23.8615	342.78	0.1004	3.72920	27.46	0.1204
24.9776	92.45	0.1673	3.56505	7.41	0.2007
25.9637	647.65	0.1338	3.43184	51.88	0.1606
27.3986	41.58	0.3346	3.25528	3.33	0.4015
28.8309	226.77	0.2007	3.09674	18.17	0.2409
29.7603	55.14	0.1338	3.00212	4.42	0.1606
31.2575	345.51	0.2007	2.86165	27.68	0.2409
32.9325	48.29	0.2676	2.71983	3.87	0.3212
33.5613	158.66	0.2676	2.67030	12.71	0.3212
33.9267	91.44	0.2007	2.64237	7.32	0.2409
35.2148	93.13	0.1673	2.54861	7.46	0.2007
36.0658	250.83	0.2342	2.49040	20.09	0.2810
36.6296	142.67	0.2007	2.45335	11.43	0.2409
37.4924	101.04	0.4684	2.39886	8.09	0.5621
39.2479	48.19	0.2676	2.29551	3.86	0.3212
40.2395	32.22	0.4015	2.24121	2.58	0.4818
40.9267	75.99	0.1632	2.20332	6.09	0.1958
41.0257	79.11	0.1338	2.20005	6.34	0.1606
42.1828	31.54	0.2676	2.14234	2.53	0.3212
43.1932	86.57	0.3011	2.09454	6.93	0.3613
45.2891	61.09	0.3346	2.00237	4.89	0.4015
46.1648	29.90	0.2448	1.96478	2.40	0.2938

[0067] 表10、XRPD Peak List:溶剂挥发法-硼替佐米枸橼酸组合物(1:10)

[0068]

Pos. [$^{\circ}$ 2 θ .]	Height [cts]	FWHM [$^{\circ}$ 2 θ .]	d-spacing [\AA]	Rel. Int. [%]	Tip width [$^{\circ}$ 2 θ .]
13.8388	396.61	0.0836	6.39923	11.82	0.1004
14.1641	239.04	0.0836	6.25300	7.12	0.1004
14.8354	300.78	0.1004	5.97154	8.96	0.1204
16.5397	129.30	0.1673	5.35986	3.85	0.2007
18.0438	822.13	0.0669	4.91632	24.49	0.0803
19.4930	3356.65	0.0836	4.55396	100.00	0.1004
21.5189	200.68	0.1004	4.12959	5.98	0.1204
21.7556	114.08	0.1004	4.08520	3.40	0.1204
23.9219	278.75	0.0836	3.71993	8.30	0.1004
24.9197	102.31	0.1338	3.57319	3.05	0.1606
25.9954	1086.08	0.0816	3.42490	32.36	0.0979
26.0991	1062.53	0.0669	3.41435	31.65	0.0803
27.4613	67.82	0.2007	3.24799	2.02	0.2409
28.8351	420.25	0.0836	3.09630	12.52	0.1004

[0069]

29.9310	614.46	0.1171	2.98538	18.31	0.1405
31.0895	312.51	0.1004	2.87673	9.31	0.1204
31.2884	726.08	0.0669	2.85889	21.63	0.0803
33.0593	341.50	0.0502	2.70969	10.17	0.0602
33.4738	139.72	0.1338	2.67708	4.16	0.1606
33.9742	685.96	0.0502	2.63878	20.44	0.0602
35.1966	136.45	0.1673	2.54988	4.07	0.2007
35.9137	158.47	0.2007	2.50060	4.72	0.2409
36.5426	105.27	0.3346	2.45899	3.14	0.4015
37.2712	130.96	0.1338	2.41258	3.90	0.1606
37.5870	147.37	0.1673	2.39304	4.39	0.2007
39.1862	56.48	0.2676	2.29898	1.68	0.3212
41.1603	238.63	0.0502	2.19317	7.11	0.0602
43.1662	354.99	0.1171	2.09579	10.58	0.1405
45.4275	280.23	0.0669	1.99659	8.35	0.0803
46.0397	118.69	0.0612	1.96982	3.54	0.0734

[0070] 实施例5 硼替佐米D(-)-酒石酸组合物冻干粉的制备

[0071] 取硼替佐米3mg,加入1.5mL无水乙醇,超声溶解后,分三等份分别与0.1mL、0.2mL或1mL的3.9mg/mL D(-)-酒石酸溶液混合(硼替佐米与D(-)-酒石酸的摩尔比分别为1:1、1:2、1:10),减压蒸发除去乙醇。样品于-80 $^{\circ}$ C预冻2小时后,在冷冻干燥机上于温度-47 $^{\circ}$ C、压力0.12mbar下冷冻干燥48小时,即可得到纯度大于99%的白色疏松粉末状硼替佐米D(-)-酒石酸组合物(1:1、1:2)冻干粉及纯度为97.86%的白色粉末状硼替佐米D(-)-酒石酸组合物(1:10)冻干粉。

[0072] 实施例6 硼替佐米L(+)-酒石酸组合物冻干粉的制备

[0073] 取硼替佐米3mg,加入1.5mL无水乙醇,超声溶解后,分三等份分别与0.1mL、0.2mL或1mL的3.9mg/mL L-(+)-酒石酸溶液混合(硼替佐米与L-(+)-酒石酸的摩尔比分别为1:1、1:2、1:10),减压蒸发除去乙醇。样品于-80℃预冻2小时后,在冷冻干燥机上于温度-47℃、压力0.12mbar下冷冻干燥48小时,即可得到纯度大于99%的白色粉末状硼替佐米L-(+)-酒石酸组合物(1:1、1:2)冻干粉及纯度为96.33%的硼替佐米L-(+)-酒石酸组合物(1:10)冻干粉。

[0074] 实施例7硼替佐米D-葡萄糖酸组合物冻干粉的制备

[0075] 取硼替佐米1mg,加入0.5mL无水乙醇,超声溶解后,与2mL的0.51mg/mL D-葡萄糖酸溶液混合(硼替佐米与D-葡萄糖酸的摩尔比为1:2),减压蒸发除去乙醇。样品于-80℃预冻2小时后,在冷冻干燥机上于温度-47℃、压力0.12mbar下冷冻干燥48小时,即可得到白色结块状硼替佐米D-葡萄糖酸冻干粉,纯度大于99%。

[0076] 实施例8硼替佐米苹果酸组合物冻干粉的制备

[0077] 取硼替佐米1mg,加入0.5mL无水乙醇,超声溶解后,与2mL的0.35mg/mL苹果酸溶液混合(硼替佐米与苹果酸的摩尔比为1:2),减压蒸发除去乙醇。样品于-80℃预冻2小时后,在冷冻干燥机上于温度-47℃、压力0.12mbar下冷冻干燥48小时,即可得到白色粉末状硼替佐米苹果酸组合物(1:2)冻干粉,纯度大于99%。

[0078] 实施例9硼替佐米马来酸组合物冻干粉的制备

[0079] 取硼替佐米2mg,加入1mL无水乙醇,超声溶解后,分两等份分别与0.2mL或1mL的3.02mg/mL马来酸溶液混合(硼替佐米与马来酸的摩尔比分别为1:2、1:10),均补纯水至2mL,减压蒸发除去乙醇。样品于-80℃预冻2小时后,在冷冻干燥机上于温度-47℃、压力0.12mbar下冷冻干燥48小时,即可得到白色疏松粉末状硼替佐米马来酸组合物(1:2)冻干粉和白色结块状硼替佐米马来酸组合物(1:10)冻干粉,纯度分别为95.04%和77.20%。

[0080] 实施例10硼替佐米富马酸组合物冻干粉的制备

[0081] 取硼替佐米1mg,加入0.5mL无水乙醇,超声溶解后,与2mL的0.302mg/mL富马酸溶液混合(硼替佐米与富马酸的摩尔比为1:2),减压蒸发除去乙醇。样品于-80℃预冻2小时后,在冷冻干燥机上于温度-47℃、压力0.12mbar下冷冻干燥48小时,即可得到白色疏松粉末状硼替佐米富马酸组合物冻干粉,纯度为93.60%。

[0082] 实施例11硼替佐米琥珀酸组合物冻干粉的制备

[0083] 取硼替佐米2mg,加入1mL无水乙醇,超声溶解后分两等份,分别与0.2mL或1mL的3.02mg/mL琥珀酸溶液混合(硼替佐米与琥珀酸的摩尔比分别为1:2、1:10),补纯水至2mL,减压蒸发除去乙醇。样品于-80℃预冻2小时后,在冷冻干燥机上于温度-47℃、压力0.12mbar下冷冻干燥48小时,即可得到白色疏松粉末状硼替佐米琥珀酸组合物(1:2)冻干粉和白色结块状硼替佐米琥珀酸组合物(1:10)冻干粉,纯度分别为99.61%和98.20%。

[0084] 实施例12硼替佐米醋酸组合物冻干粉的制备

[0085] 取硼替佐米1mg,加入0.5mL无水乙醇,超声溶解后,与2mL的0.16mg/mL醋酸溶液混合(硼替佐米与醋酸的摩尔比为1:2),减压蒸发除去乙醇。样品于-80℃预冻2小时后,在冷冻干燥机上于温度-47℃、压力0.12mbar下冷冻干燥48小时,即可得到白色疏松粉末状硼替佐米醋酸组合物冻干粉,纯度大于99%。

[0086] 实施例13硼替佐米硫酸组合物冻干粉的制备

[0087] 取硼替佐米1mg,加入0.5mL无水乙醇,超声溶解后,与0.28mL稀释一千倍的硫酸溶液混合(硼替佐米与硫酸的摩尔比为1:2),补纯水至2mL,减压蒸发除去乙醇。样品于-80℃预冻2小时后,在冷冻干燥机上于温度-47℃、压力0.12mbar下冷冻干燥48小时,即可得到透明结块状硼替佐米硫酸组合物,纯度为97.63%。

[0088] 实施例14硼替佐米甲磺酸组合物冻干粉的制备

[0089] 取硼替佐米1mg,加入0.5mL无水乙醇,超声溶解后,与2mL的0.97mg/mL甲磺酸溶液混合(硼替佐米与甲磺酸的摩尔比为1:2),减压蒸发除去乙醇。样品于-80℃预冻2小时后,在冷冻干燥机上于温度-47℃、压力0.12mbar下冷冻干燥48小时,即可得到透明或半透明结块状硼替佐米甲磺酸组合物冻干样品,纯度大于99%。

[0090] 实施例15硼替佐米L-天冬氨酸组合物冻干粉的制备

[0091] 取硼替佐米2mg,加入1mL无水乙醇,超声溶解后分两等份,分别与0.2mL或1mL的3.46mg/mL L-天冬氨酸溶液混合(硼替佐米与L-天冬氨酸的摩尔比分别为1:2、1:10),均补纯水至2mL,减压蒸发除去乙醇。样品于-80℃预冻2小时后,在冷冻干燥机上于温度-47℃、压力0.12mbar下冷冻干燥48小时,即可得到白色疏松粉末状硼替佐米L-天冬氨酸组合物冻干粉,纯度分别为98.09%和97.05%。

[0092] 实施例16硼替佐米L-精氨酸组合物冻干粉的制备

[0093] 取硼替佐米2mg,加入1mL无水乙醇,超声溶解后分两等份,分别与0.2mL或1mL的4.53mg/mL L-精氨酸溶液混合(硼替佐米与L-精氨酸的摩尔比分别为1:2、1:10),均补纯水至2mL,减压蒸发除去乙醇。样品于-80℃预冻2小时后,在冷冻干燥机上于温度-47℃、压力0.12mbar下冷冻干燥48小时,即可得到白色疏松粉末状硼替佐米L-精氨酸组合物(1:2)冻干粉和白色粉末状硼替佐米L-精氨酸组合物(1:10)冻干粉,纯度分别为87.79%和61.84%。

[0094] 实施例17硼替佐米L-赖氨酸组合物冻干粉的制备

[0095] 取硼替佐米2mg,加入1mL无水乙醇,超声溶解后分两等份,分别与0.2mL或1mL的4.75mg/mL L-赖氨酸溶液混合(硼替佐米与L-赖氨酸的摩尔比分别为1:2和1:10),均补纯水至2mL,减压蒸发除去乙醇。样品于-80℃预冻2小时后,在冷冻干燥机上于温度-47℃、压力0.12mbar下冷冻干燥48小时,即可得到白色疏松粉末状硼替佐米L-赖氨酸组合物(1:2)冻干粉及淡黄色粉末状硼替佐米L-赖氨酸组合物(1:10)冻干粉,纯度分别为88.35%和72.62%。

[0096] 实施例18硼替佐米甘氨酸组合物冻干粉的制备

[0097] 取硼替佐米2mg,加入1mL无水乙醇,超声溶解后分两等份,分别与0.2mL或1mL的1.95mg/mL甘氨酸溶液混合(硼替佐米与甘氨酸的摩尔比分别为1:2和1:10),均补纯水至2mL,减压蒸发除去乙醇。样品于-80℃预冻2小时后,在冷冻干燥机上于温度-47℃、压力0.12mbar下冷冻干燥48小时,即可得到白色疏松粉末状硼替佐米甘氨酸组合物(1:2和1:10)冻干粉,纯度分别为98.09%和98.79%。

[0098] 实施例19硼替佐米L-异亮氨酸组合物冻干粉的制备

[0099] 取硼替佐米2mg,加入1mL无水乙醇,超声溶解后分两等份,分别与0.2mL或1mL的3.41mg/mL L-异亮氨酸溶液混合(硼替佐米与L-异亮氨酸的摩尔比分别为1:2和1:10)冻干粉,均补纯水至2mL,减压蒸发除去乙醇。样品于-80℃预冻2小时后,在冷冻干燥机上于温

度-47℃、压力0.12mbar下冷冻干燥48小时,即可得到白色疏松粉末状硼替佐米L-异亮氨酸组合物(1:2和1:10)冻干粉,纯度分别为97.44%和97.94%。

[0100] 实施例20硼替佐米L-半胱氨酸组合物冻干粉的制备

[0101] 取硼替佐米2mg,加入1mL无水乙醇,超声溶解后分两等份,分别与0.2mL或1mL的3.15mg/mL L-半胱氨酸溶液混合(硼替佐米与L-半胱氨酸的摩尔比分别为1:2和1:10),均补纯水至2mL,减压蒸发除去乙醇。样品于-80℃预冻2小时后,在冷冻干燥机上于温度-47℃、压力0.12mbar下冷冻干燥48小时,即可得到白色疏松粉末状硼替佐米L-半胱氨酸组合物(1:2和1:10)冻干粉,纯度分别为96.85%和86.07%。

[0102] 实施例21稳定性评价实验

[0103] 将硼替佐米、硼替佐米冻干粉和硼替佐米的水溶性药用组合物冻干粉分别在光照4500Lx、25℃和60%RH条件下放置10天,于第5天和第10天取样检测(结果见图4)。结果显示,本发明的硼替佐米的羟基酸组合物,尤其是其枸橼酸组合物(1:1.5、1:2)、D-(-)-酒石酸组合物(1:2)、L-(+)-酒石酸组合物(1:2)、葡萄糖酸组合物(1:2)及苹果酸组合物(1:2)与硼替佐米和硼替佐米冻干粉比较,对光的稳定性获得显著改善。而不含羟基的有机羧酸及专利W0 2010/039762和W0 2011/116286均提到的氨基酸不能起到增加硼替佐米光照稳定性的作用,其中L-精氨酸和L-赖氨酸反而大大促进了硼替佐米的降解程度;

[0104] 将硼替佐米、硼替佐米冻干粉和硼替佐米的水溶性药用组合物冻干粉分别在高温40℃和75%RH的条件下放置10天,于第5天和第10天取样检测(结果见图5)。结果显示,本发明的硼替佐米的羟基酸组合物,尤其是其枸橼酸组合物(1:1.5、1:2)、D-(-)-酒石酸组合物(1:2)、L-(+)-酒石酸组合物(1:2)、葡萄糖酸组合物(1:2)及苹果酸组合物(1:2)与硼替佐米和硼替佐米冻干粉比较,耐高温性能得到显著改善。而不含羟基的有机羧酸及专利W0 2010/039762和W0 2011/116286均提到的氨基酸多数未起到增加硼替佐米高温稳定性的作用,其中琥珀酸、富马酸、L-精氨酸和L-赖氨酸等高温条件下的稳定性远远不如硼替佐米及硼替佐米冻干粉的稳定性。

[0105] 实施例22溶解速度测定实验

[0106] 取硼替佐米、硼替佐米冻干粉及硼替佐米水溶性药用组合物冻干粉和硼替佐米各0.5mg(以硼替佐米计),分别加入1mL水,手动摇晃溶解,记录各样品完全溶解需要的时间(表11)。结果显示本发明的硼替佐米的水溶性药用组合物,尤其是其枸橼酸组合物在水中的溶解速度远远优于硼替佐米。尽管硼替佐米L-精氨酸组合物冻干粉(1:2)的溶解速度亦较快,但由于该组合物可促进硼替佐米的降解,因此无应用价值。

[0107] 表11、硼替佐米、硼替佐米冻干粉和硼替佐米的药用组合物冻干粉和在水中溶解速度的比较

样品	溶解速度
硼替佐米	不溶解
[0108] 硼替佐米冻干粉	超声溶解
硼替佐米枸橼酸组合物(1:1)	< 10 秒钟

	硼替佐米枸橼酸组合物 (1:1.5)	< 10 秒钟
	硼替佐米枸橼酸组合物 (1:2)	< 10 秒钟
	硼替佐米枸橼酸组合物 (1:10)	易吸潮, 瞬间溶解
	硼替佐米 D-(-)-酒石酸组合物 (1:2)	超声溶解
	硼替佐米 L-(+)-酒石酸组合物 (1:2)	超声溶解
	硼替佐米葡萄糖酸组合物 (1:2)	超声溶解
	硼替佐米苹果酸组合物 (1:2)	1.5 分钟
	硼替佐米马来酸组合物 (1:2)	超声溶解
	硼替佐米富马酸组合物 (1:2)	2 分钟
	硼替佐米琥珀酸组合物 (1:2)	3 分钟
[0109]	硼替佐米醋酸组合物 (1:2)	5 分钟
	硼替佐米硫酸组合物 (1:2)	超声溶解
	硼替佐米甲磺酸组合物 (1:2)	超声溶解
	硼替佐米 L-天冬氨酸组合物 (1:2)	1.5 分钟大部分溶解, 10 分钟全部溶解
	硼替佐米 L-精氨酸组合物 (1:2)	33 秒钟
	硼替佐米 L-赖氨酸组合物 (1:2)	2.5 分钟
	硼替佐米甘氨酸组合物 (1:2)	3 分钟
	硼替佐米 L-异亮氨酸组合物 (1:2)	1.5 分钟
	硼替佐米 L-半胱氨酸组合物 (1:2)	1.5 分钟

[0110] 实施例23硼替佐米和硼替佐米枸橼酸组合物冻干粉对多发性骨髓瘤细胞的体外抗肿瘤比较试验

[0111] 取生长状态良好的多发性骨髓瘤细胞(RPMI 8226细胞),以每孔 1×10^4 个细胞的密度接种于96孔培养板中,分别设阴性对照组和实验组。阴性对照组设3复孔,每孔加入200 μ L 10%FBS RPMI1640细胞培养液;

[0112] 实验组共设四组,(1)硼替佐米实验组:分别加入用培养基稀释的一系列适宜浓度的硼替佐米溶液,每孔终体积200 μ L,每个浓度3个复孔;(2)硼替佐米枸橼酸组合物(1:1、1:1.5、1:2)实验组:分别加入用培养基稀释的一系列适宜浓度的硼替佐米枸橼酸组合物(浓度以硼替佐米计),每孔终体积200 μ L,每个浓度3个复孔;(3)硼替佐米光照实验组:硼替佐

米实验组的药物溶液(PBS缓冲液,pH 7.4)放入光照箱(4500Lx、25℃和60%RH)2天后的样品,每孔终体积200μL,每个浓度3个复孔;(4)硼替佐米枸橼酸组合物(1:1、1:1.5、1:2)光照实验组:硼替佐米枸橼酸组合物(1:1、1:1.5、1:2)实验组的药物溶液(PBS缓冲液,pH 7.4)给药后放入光照箱(4500Lx、25℃和60%RH)2天后的样品,每孔终体积200μL,每个浓度3个复孔;

[0113] 37℃孵育72小时后每孔加入CCK-8 10μL,继续孵育4小时后测定供试孔的吸光度值OD_s及对照孔吸光度值OD_{control},试验重复3次。通过以下公式计算细胞存活率(Cell viability,CV),考察光照对硼替佐米枸橼酸组合物和硼替佐米抗RPMI8226细胞活性的影响,

$$[0114] \quad CV(\%) = \frac{OD_s}{OD_{control}} \times 100\%$$

[0115] 硼替佐米和不同摩尔比的硼替佐米枸橼酸组合物光照前后对RPMI8226细胞的IC₅₀值见表12,细胞生存率曲线见图6。光照后,因硼替佐米在溶液中几乎完全降解而各摩尔比的硼替佐米枸橼酸组合物仍有硼替佐米未被破坏,硼替佐米枸橼酸组合物对RPMI 8226细胞的细胞毒性显著强于硼替佐米,可见硼替佐米枸橼酸组合物具有比硼替佐米更为显著的药效稳定性。

[0116] 表12、硼替佐米和硼替佐米枸橼酸组合物冻干粉对RPMI 8226细胞的IC₅₀值

[0117]

样品	硼替佐米	硼替佐米枸橼酸组合物 (1:1)	硼替佐米枸橼酸组合物 (1:1.5)	硼替佐米枸橼酸组合物 (1:2)
光照前 IC ₅₀ 值 (M)	1.99×10 ⁻⁹	2.29×10 ⁻⁹	1.25×10 ⁻⁹	1.54×10 ⁻⁹
光照后 IC ₅₀ 值 (M)	-	1.14×10 ⁻⁷	8.56×10 ⁻⁹	2.01×10 ⁻⁸

[0118] 实施例24硼替佐米和硼替佐米枸橼酸组合物冻干粉对脑胶质瘤细胞的体外抗肿瘤比较试验

[0119] 取生长状态良好的脑胶质瘤细胞(U87细胞),以每孔3×10³个细胞的密度接种于96孔培养板中,同实施例23给药。37℃孵育72小时后每孔加入MTT(5mg/mL)20μL,继续孵育4小时,弃去培养液,每孔加150μL DMSO,于37℃空气摇床振摇15分钟后测定供试孔的吸光度值OD_s及对照孔吸光度值OD_{control},试验重复3次。计算细胞存活率,考察光照对硼替佐米枸橼酸组合物和硼替佐米抗U87细胞活性的影响;

[0120] 硼替佐米和不同摩尔比的硼替佐米枸橼酸组合物光照前后对U87细胞的IC₅₀值见表12,细胞生存率曲线见图7。光照后,硼替佐米枸橼酸组合物对U87细胞的细胞毒性显著优于硼替佐米,表明硼替佐米枸橼酸组合物的药效稳定性更佳。

[0121] 表13、硼替佐米和硼替佐米枸橼酸组合物冻干粉对U87细胞的IC₅₀值

[0122]

样品	硼替佐米	硼替佐米枸橼酸 组合物 (1:1)	硼替佐米枸橼酸 组合物 (1:1.5)	硼替佐米枸橼酸 组合物 (1:2)
光照前 IC ₅₀ 值 (M)	3.07×10 ⁻⁸	1.32×10 ⁻⁸	1.56×10 ⁻⁸	2.19×10 ⁻⁸
光照后 IC ₅₀ 值 (M)	-	2.01×10 ⁻⁷	4.35×10 ⁻⁸	5.30×10 ⁻⁸

[0123] 实施例25枸橼酸抗RPMI 8226细胞和U87细胞活性试验

[0124] 取生长状态良好的RPMI 8226细胞和U87细胞,分别以每孔 1×10^4 和 3×10^3 个细胞的密度接种于96孔培养板中,每孔加入200 μ L的10%FBS DMEM细胞培养液。实验组共设两组。(1)枸橼酸实验组:分别加入用培养基稀释的一系列适宜浓度的枸橼酸,每孔终体积200 μ L,每个浓度3个复孔;(2)枸橼酸光照实验组:枸橼酸溶液放入光照箱(4500Lx、25 $^{\circ}$ C和60%RH)2天后的样品,每孔终体积200 μ L,每个浓度3个复孔;

[0125] 各组37 $^{\circ}$ C孵育72小时后经相应的染色处理,测各孔吸光度值OD_{control},试验重复3次。计算细胞存活率,考察光照前后的枸橼酸抗RPMI 8226细胞和U87细胞的活性;

[0126] 枸橼酸对细胞生存率的抑制见图8。由图可见,光照前后,即使在较高浓度下,枸橼酸对RPMI 8226细胞和U87细胞生长状态的影响均可忽略不计,即枸橼酸没有抗肿瘤活性,硼替佐米枸橼酸组合物的抗肿瘤效果是由硼替佐米发挥的。

[0127] 实施例26硼替佐米的水溶性药用组合物注射粉针剂的制备

[0128] 配方1,硼替佐米的水溶性药用组合物35mg(以硼替佐米计),注射用水35mL,共制备10支;配方2硼替佐米的水溶性药用组合物35mg(以硼替佐米计),甘露醇500mg,注射用水35mL,共制备10支;配方3硼替佐米的水溶性药用组合物35mg(以硼替佐米计),葡萄糖500mg,注射用水35mL,共制备10支;配方4硼替佐米的水溶性药用组合物35mg(以硼替佐米计),山梨醇500mg,注射用水35mL,共制备10支;

[0129] 制备工艺:将生产所用西林瓶、胶塞及配液用容器具、仪器设备等进行洗涤、除菌、除热源;按配方称取原料和辅料;将甘露醇、葡萄糖或山梨醇加配液量80%的注射用水,搅拌溶解,然后加入配液量0.05%的针用活性炭,搅拌15分钟,过滤,脱碳,向溶液中加入硼替佐米的水溶性药用组合物,完全溶解后,测溶液的pH,必要时用枸橼酸三钠调节pH,补加注射用水至全量,定容;药液经过0.22 μ m的微孔滤膜精滤,澄明度检验合格后,将药液分装于西林瓶中,半压塞,-80 $^{\circ}$ C预冻2小时后,将样品置于冻干机中,-47 $^{\circ}$ C、0.12mbar低温干燥48小时冻干;冻干结束,压塞扎盖,使用时将该注射用无菌粉末用1mL注射用水溶解。

[0130] 实施例27制备硼替佐米的水溶性药用组合物片剂

[0131] 配方:硼替佐米的水溶性药用组合物35mg(以硼替佐米计),乳糖100mg,干淀粉20mg,2%HPMC乙醇液适量,硬脂酸镁1mg,制备10片;

[0132] 制备工艺:原料和辅料分别粉碎过80目筛备用;取2%HPMC加药用乙醇制成5~10%的制粒溶液;取原料和辅料混匀,加入制粒溶液适量制软材,20目制粒,37 $^{\circ}$ C干燥;颗粒干燥后18目筛整粒,加入硬脂酸镁混匀;颗粒含量测定后,压片即得。

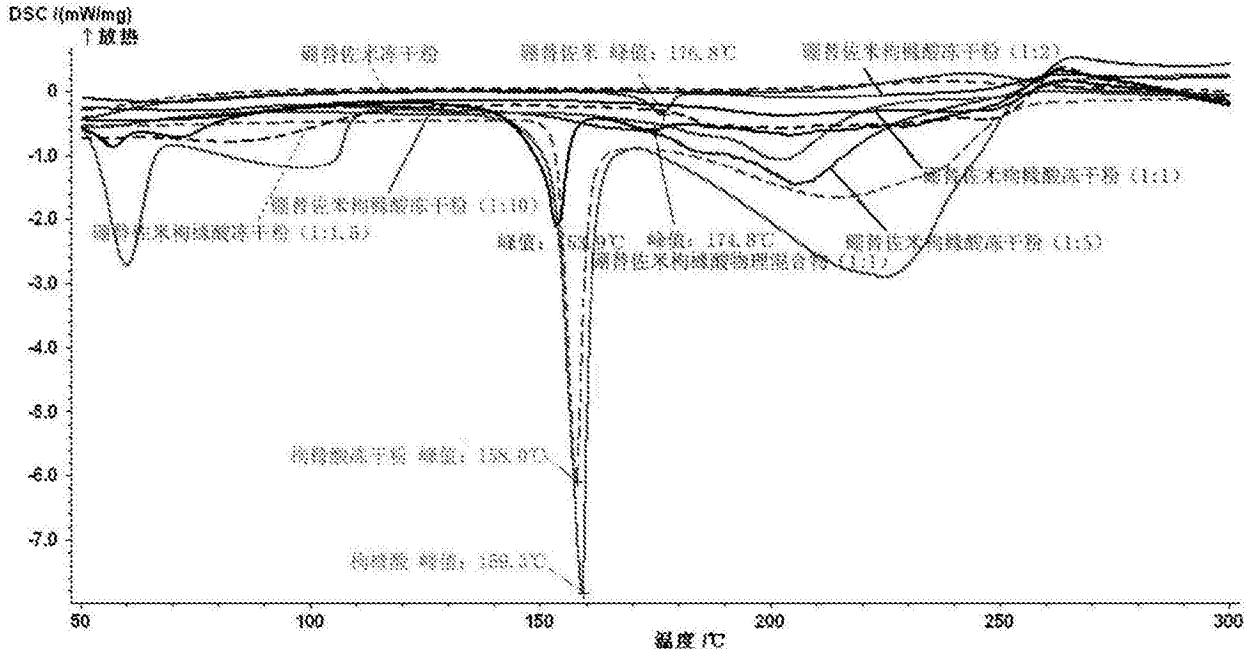


图1

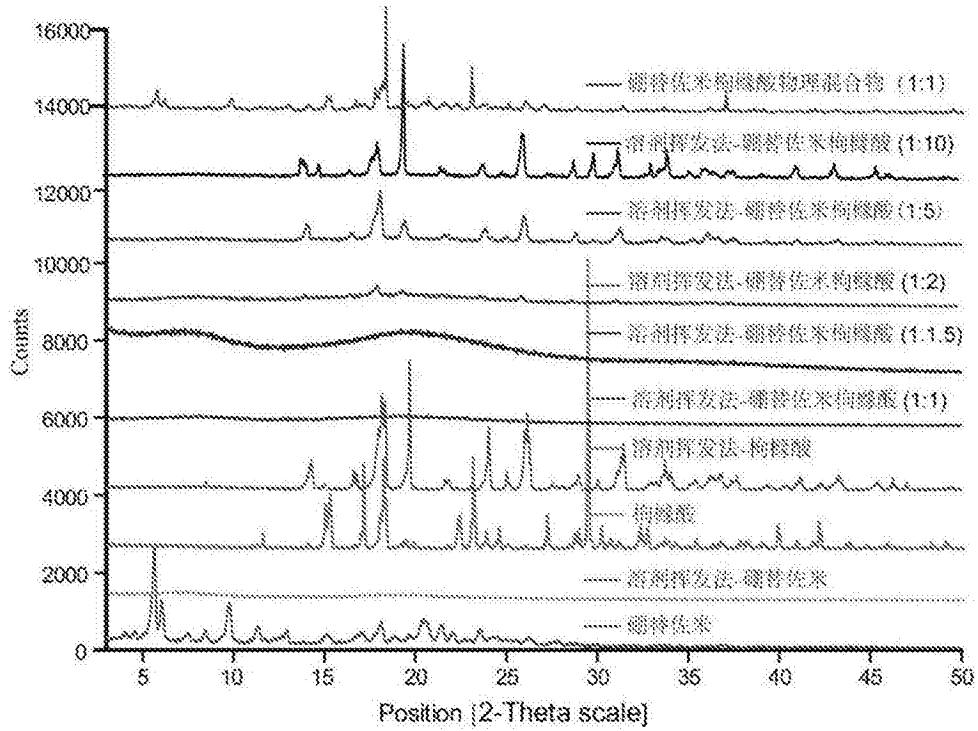


图2

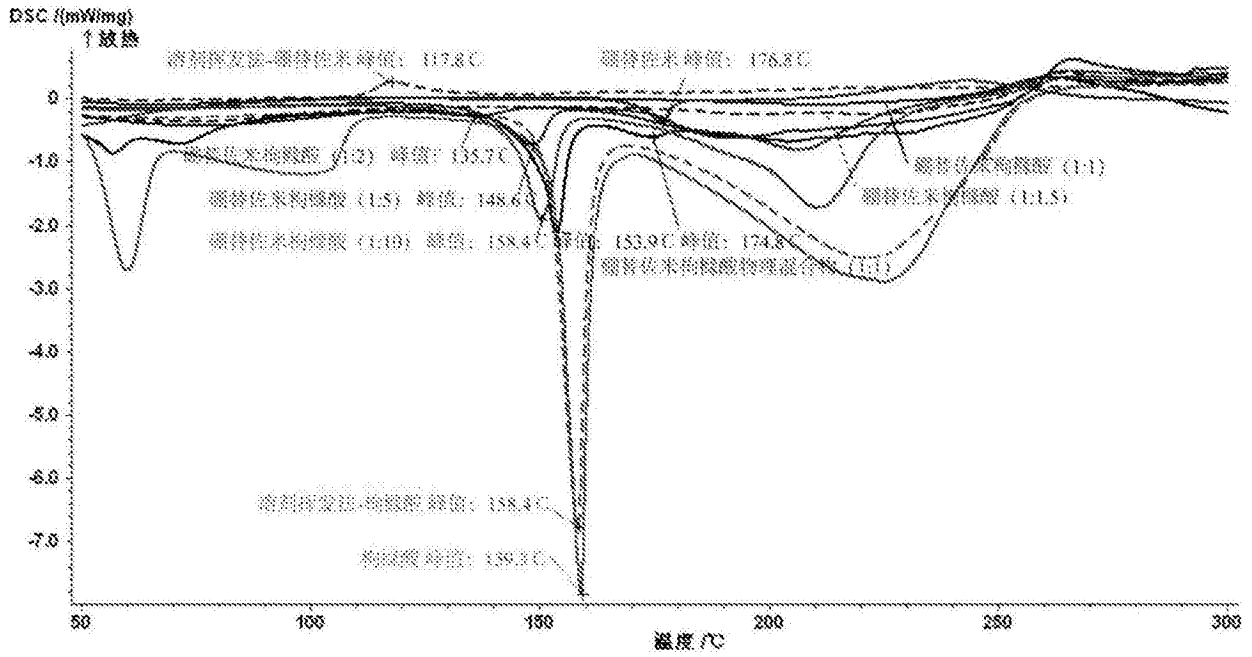


图3

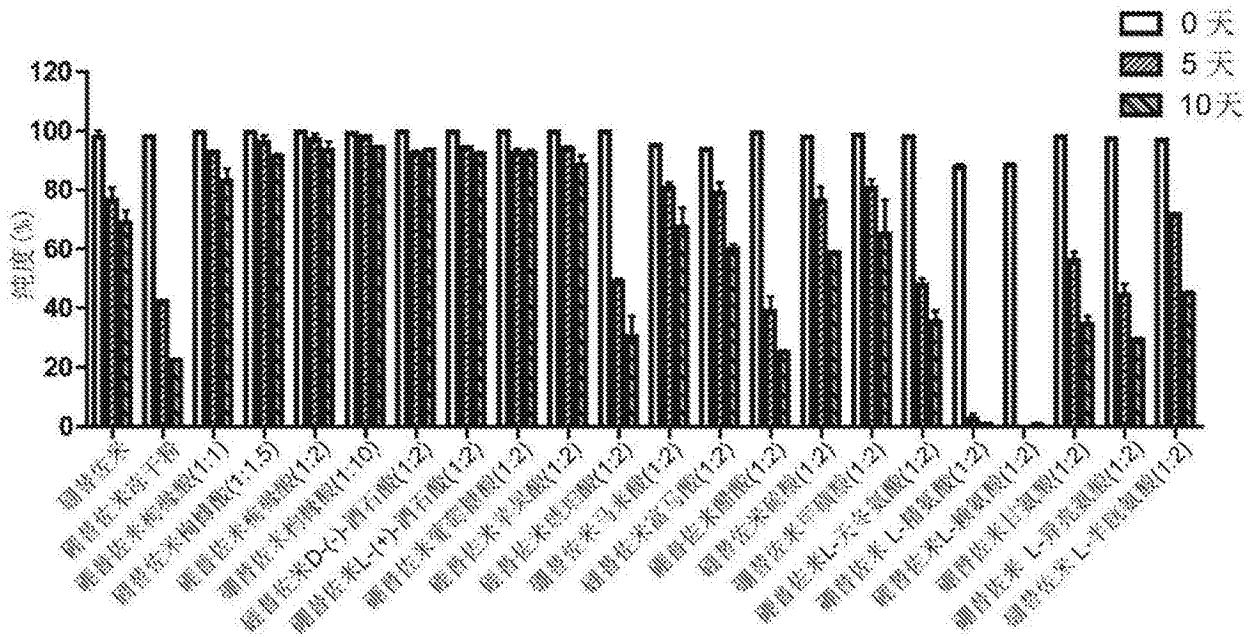


图4

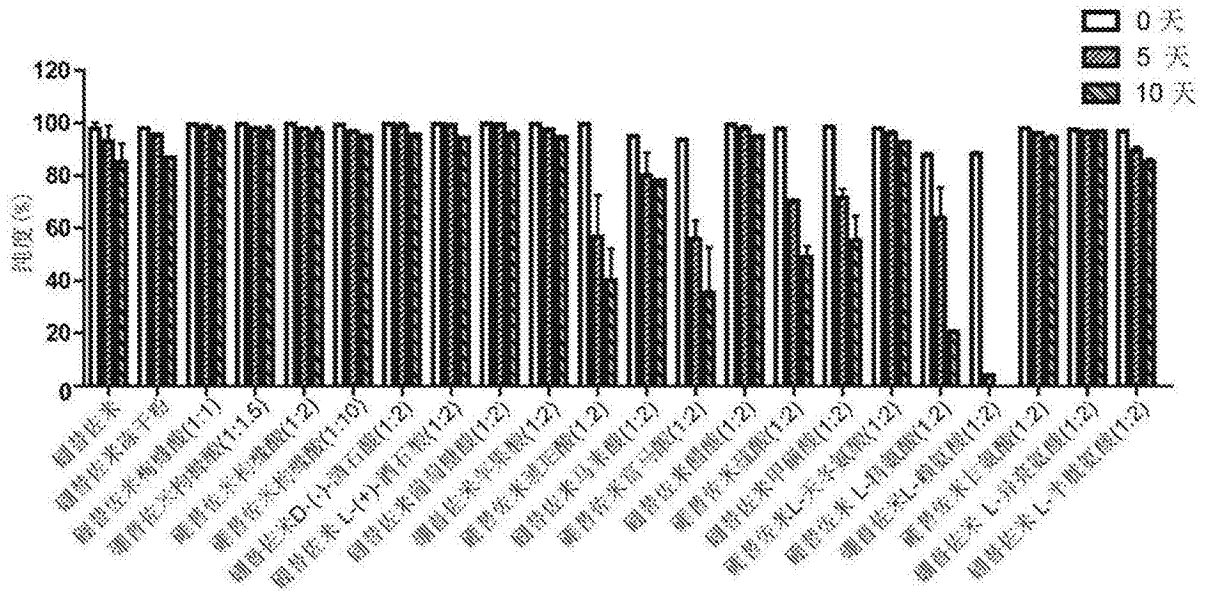


图5

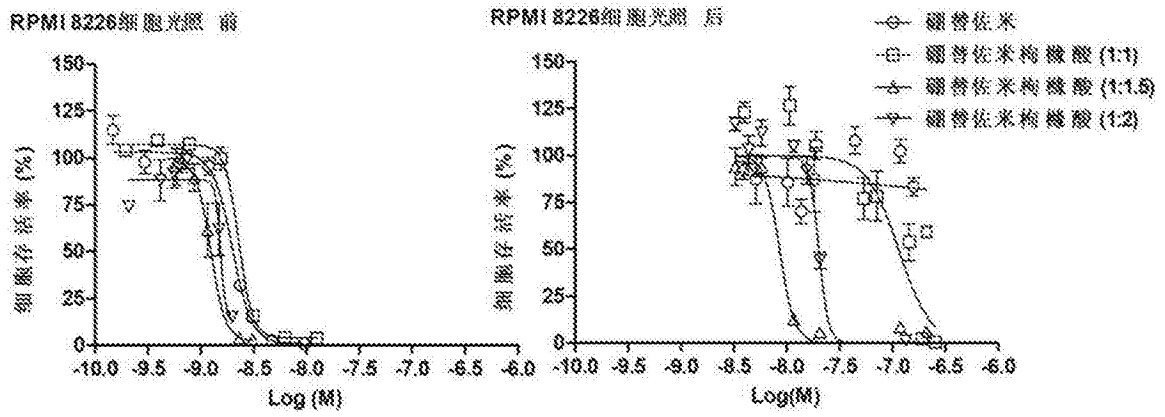


图6

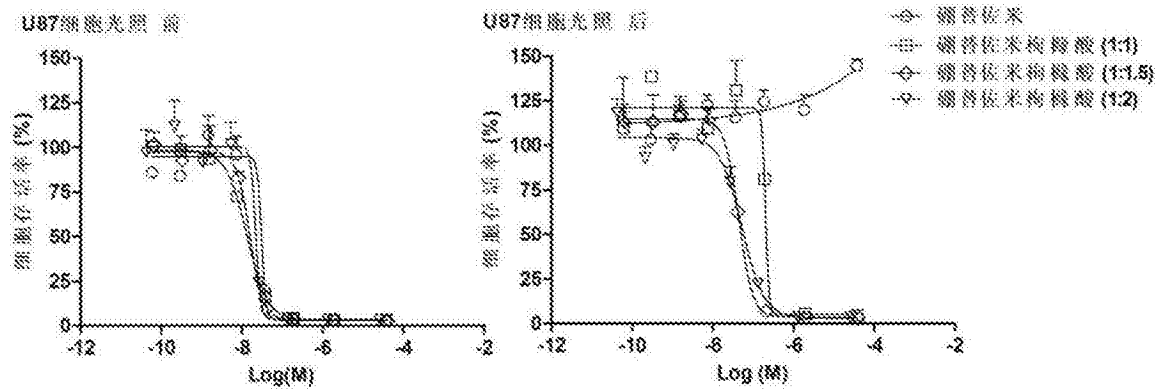


图7

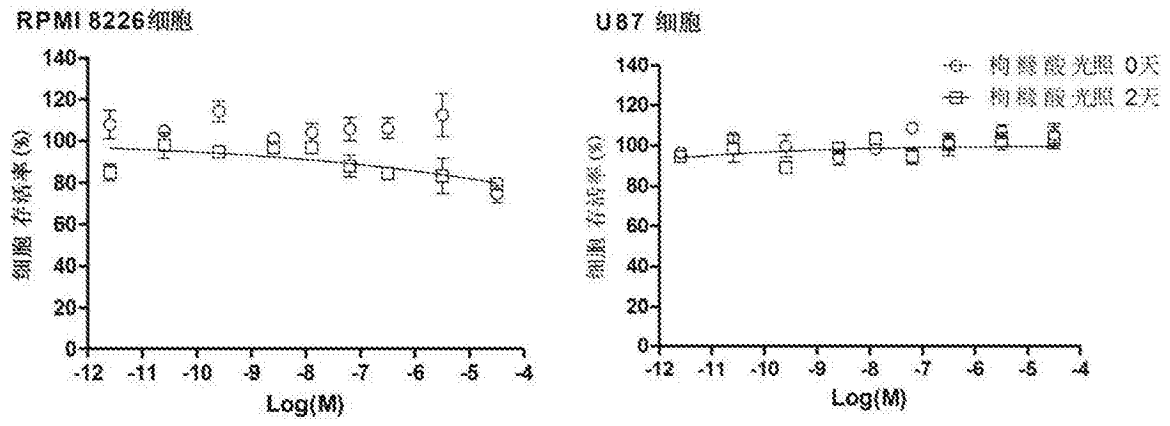


图8