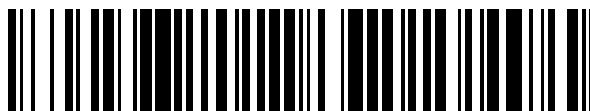


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 553 639**

51 Int. Cl.:

C07J 43/00

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.04.2011** **E 11864391 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.08.2015** **EP 2703408**

54 Título: **Método para purificar bromuro de rocuronio**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente:
10.12.2015

73 Titular/es:

**ZHEJIANG HUAHAI PHARMACEUTICAL CO.,
LTD. (100.0%)
Xunqiao Road
Linhai, Zhejiang 317024, CN**

72 Inventor/es:

**ZENG, ZHIWEN;
WANG, PENG;
ZHANG, WENLING y
ZHANG, XINI**

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 553 639 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

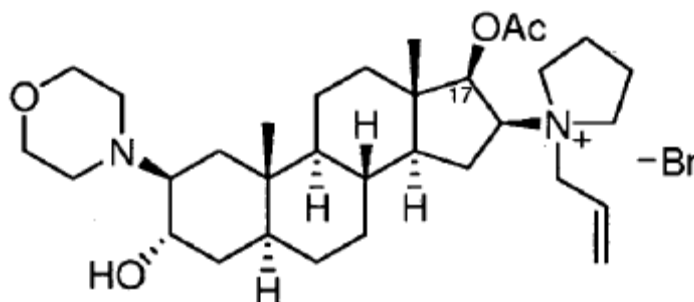
Método para purificar bromuro de rocuronio

Campo de la invención

La presente invención se refiere al campo de la medicina, particularmente a un método para purificar el fármaco bromuro de rocuronio.

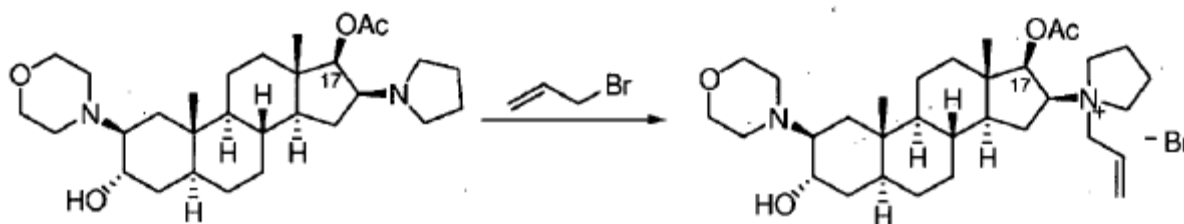
Antecedentes de la invención

El bromuro de rocuronio es un relajante muscular no despolarizante esteroideo desarrollado por la empresa holandesa Organon, y se comercializó por primera vez en los EE.UU. en 1994. Este fármaco es actualmente el relajante muscular más ampliamente usado internacionalmente, y en Norteamérica y en la mayoría de los países europeos, su consumo es el mayor entre todos los relajantes musculares. El bromuro de rocuronio es un relajante muscular de amonio monocuaternario novedoso y se usa como adyuvante anestésico para la intubación endotraqueal bajo anestesia y la relajación muscular durante la cirugía, y es el relajante muscular no despolarizante que tiene el tiempo de comienzo más corto en el uso clínico. Se caracteriza por un rápido comienzo de acción, una rápida recuperación, una débil inhibición del sistema cardiovascular y por no tener efecto de liberación de histamina. El bromuro de rocuronio tiene la siguiente fórmula química estructural:



Bromuro de rocuronio

La patente europea EP0287150 da a conocer por primera vez un procedimiento para preparar bromuro de rocuronio, en el que se obtiene bromuro de rocuronio sometiendo 17 β -acetato de 2 β -(4-morfolinil)-16 β -(1-pirrolidinil)-5 α -androstan-3 α -ol (denominado a continuación en el presente documento Rocu 8) y 3-bromopropileno a una reacción de cuaternización, y la ecuación de la reacción es la siguiente:

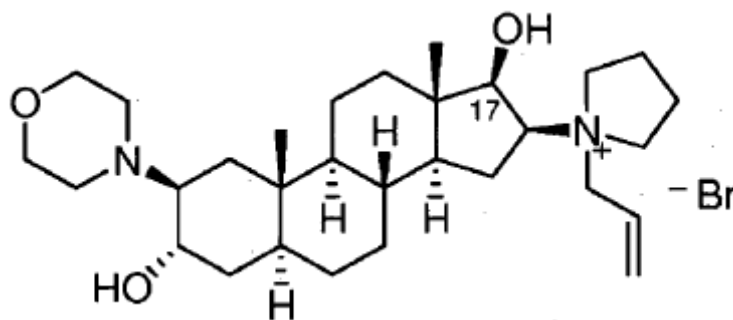


Rocu 8

Bromuro de rocuronio

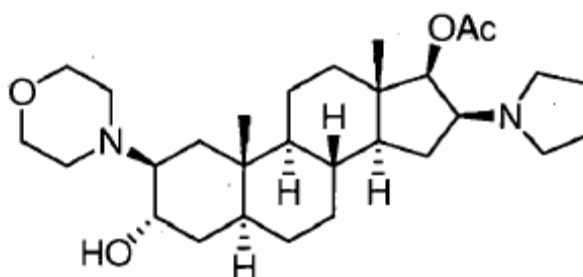
Tras completarse la reacción, se evapora el líquido de reacción hasta la sequedad, se disuelve el producto en diclorometano y se añade la disolución resultante a dietil éter para recoger y obtener bromuro de rocuronio. El bromuro de rocuronio obtenido a partir de este método tiene un contenido muy alto de disolvente residual, y en experimentos se encuentra que el contenido de disolvente residual puede ser de hasta el 16%, y que el 3-bromopropileno residual es de hasta aproximadamente 400 ppm.

Además, el grupo éster en la posición 17 de la estructura del bromuro de rocuronio se hidrolizará para formar una impureza hidrolizada (impureza C en la farmacopea USP), que se forma por la reacción del material del reactante Rocu 8 que reacciona de manera incompleta en la etapa anterior con 3-bromopropileno, y la reacción de hidrólisis simultánea que se produce durante el procesamiento posterior del bromuro de rocuronio o con el agua contenida en el mismo. Es la impureza principal que es necesario controlar en el producto de formulación, y tiene la siguiente fórmula química estructural:



Impureza C

Además, la impureza generada por la descomposición de Rocu 8 que ha reaccionado de manera incompleta y la descomposición del bromuro de rocuronio durante el procesamiento posterior y el almacenamiento (impureza A en la farmacopea USP) también es la principal impureza que es necesario controlar en el producto de formulación, y tiene la siguiente fórmula química estructural:



Impureza A

Además, se notifica que los halohidrocarburos inferiores tienen genotoxicidad, y generalmente la toxicidad disminuye en el orden de bromohidrocarburos, clorohidrocarburos y fluorohidrocarburos. Por consiguiente, el material de partida 3-bromopropileno usado en la síntesis del bromuro de rocuronio también es una posible sustancia que tiene genotoxicidad.

La patente estadounidense US2006058275 da a conocer un método para liofilizar bromuro de rocuronio, en el que se añade una disolución de tampón que comprende ácido acético y acetato de sodio durante la liofilización. Puesto que el agua y el ácido acético en el sistema de tampón tienden a disminuir a medida que avanza la liofilización, el valor de pH durante la liofilización es inestable, el producto final se descompone gravemente y el producto resultante no es un bromuro de rocuronio puro individual. La patente británica GB2445746 menciona un procedimiento para liofilizar una disolución acuosa de bromuro de rocuronio: se disuelve bromuro de rocuronio en una disolución acuosa con un pH de menos de 4~5 (ajustando el valor de pH con dióxido de carbono), después se emplea dióxido de carbono para ajustar el pH a 8 o menos, luego se concentra la disolución y se detecta para determinar la cantidad de disolventes residuales, y después se lleva a cabo la liofilización. Este procedimiento es tedioso de realizar, y la cantidad de 3-bromopropileno residual en el producto resultante es de más de 100 ppm. Por tanto, es de gran importancia desarrollar un método para preparar bromuro de rocuronio con alta pureza.

Sumario de la invención

El objeto de la presente invención es proporcionar un método para preparar bromuro de rocuronio con alta pureza.

El bromuro de rocuronio es un fármaco soluble en agua que es extremadamente propenso a hidrólisis e inestable. Se generan fácilmente impurezas desconocidas cuando se calienta, y se forman fácilmente solvatos con muchos disolventes, de manera que los disolventes residuales son muy difíciles de eliminar. Puesto que los disolventes orgánicos unidos se disocian una vez que el bromuro de rocuronio se disuelve en agua, el disolvente es fácil de eliminar en este momento, y el bromuro de rocuronio es relativamente estable a baja temperatura. En vista de esto, resulta muy adecuado purificar este producto mediante el uso de liofilización. Sin embargo, en un procedimiento de liofilización normal todavía no pueden controlarse bien los disolventes residuales en el producto.

Tras una investigación, los presentes inventores han encontrado los siguientes aspectos.

En primer lugar, el bromuro de rocuronio se formula con agua para dar una disolución acuosa al 5~40% en masa, con un valor de pH de entre 8~9,5, y cuanto mayor es la concentración de bromuro de rocuronio, menor es el valor

de pH de la disolución. La disolución acuosa de bromuro de rocuroonio se hidroliza más lentamente a baja temperatura, a un valor de pH de 8~9,5, y bajo buena protección de gas nitrógeno.

En segundo lugar, el uso de carbono activo o gel de sílice para eliminar impurezas, especialmente para absorber 3-bromopropileno, en bromuro de rocuroonio es muy eficaz. Tras una investigación, los presentes inventores han encontrado que, empleando la misma tecnología, sin adición de carbono activo o gel de sílice, la cantidad de 3-bromopropileno residual en el bromuro de rocuroonio resultante es de más de 100 ppm, mientras que tras la adición de carbono activo o gel de sílice, la cantidad puede controlarse a 10 ppm o menos.

De manera más interesante, los presentes inventores han encontrado que, tras haberse tratado con el método de la presente invención, el producto resultante también es más estable en comparación con el producto no tratado. Tras una investigación, los presentes inventores han encontrado que, cuando la humedad en el bromuro de rocuroonio es del 4% o más, un periodo de almacenamiento de aproximadamente 10 días a temperatura ambiente da lugar a que las impurezas hidrolizadas estén fuera de los límites y hace que aparezcan una gran cantidad de impurezas desconocidas; tras purificarse con el método de la presente invención, y controlarse la humedad para que sea del 4% o menos y preferiblemente del 0,5% o menos, el nivel de impurezas no cambia sustancialmente tras un periodo de almacenamiento de un mes a temperatura ambiente.

La presente invención proporciona un método para purificar bromuro de rocuroonio bruto, que emplea el siguiente protocolo:

formular bromuro de rocuroonio bruto que va a purificarse en una disolución acuosa al 5~40% en masa, destilar a presión reducida de preferiblemente 20±5 mbar, añadir carbono activo o gel de sílice en una cantidad del 1~5% en masa del bromuro de rocuroonio bruto para adsorción, filtrar y congelar rápidamente el filtrado en hielo, que se somete después a liofilización para obtener bromuro de rocuroonio.

Preferiblemente, la disolución acuosa contiene el 15~35% de bromuro de rocuroonio en masa.

Más preferiblemente, la destilación a presión reducida se lleva a cabo bajo la protección de gas nitrógeno.

Más preferiblemente, la destilación a presión reducida se lleva a cabo a una temperatura de 0~15°C, y el tiempo de destilación es de no más de 5 horas, preferiblemente 2~5 horas.

Preferiblemente, la temperatura para congelar rápidamente el material en hielo es de -80~20°C, preferiblemente -40~20°C.

Preferiblemente, la temperatura del material para el secado primario al inicio de la liofilización es de -80~10°C, preferiblemente -40~10°C.

Preferiblemente, el secado primario se lleva a cabo durante 0~30 horas, más preferiblemente en el plazo de 15 horas.

Preferiblemente, la temperatura para el secado por desorción en la liofilización es de 15~40°C, preferiblemente 25~40°C.

Preferiblemente, el secado por desorción se lleva a cabo durante 0~20 horas, preferiblemente 3~15 horas.

En comparación con la técnica anterior, el método de purificación de la presente invención puede controlar eficazmente la cantidad de 3-bromopropileno residual y el aumento de impureza C hidrolizada, y permite que tanto el contenido de agua como de disolventes residuales se adapten a la norma USP33 estipulada en la farmacopea de los EE.UU. La técnica del método de la presente invención es sencilla en cuanto a la tecnología, conveniente en cuanto a la operación y fácil de controlar, y el producto obtenido a partir del mismo tiene buena calidad. La pureza mediante HPLC del bromuro de rocuroonio obtenido que puede lograrse es de hasta el 99% o más, el área de HPLC de la impureza C es de menos del 0,20%, la cantidad de 3-bromopropileno residual es de menos de 10 ppm, la humedad es de menos del 4,0% y los disolventes residuales se adaptan a los requisitos de la farmacopea. El método de la presente invención logra la mejora y optimización de la técnica anterior, es muy beneficioso para la producción industrial y es muy competitivo en el mercado.

Descripción de los dibujos

La figura 1 es un espectro de difracción de rayos X del polvo liofilizado de bromuro de rocuroonio.

Realizaciones detalladas

Para entender mejor la presente invención, las realizaciones preferidas de la presente invención se describen en combinación con ejemplos. Sin embargo, ha de entenderse que estas descripciones son sólo para la ilustración adicional de las características y ventajas de la presente invención, más que para limitar las reivindicaciones de la presente invención.

El método para purificar bromuro de rocurnio proporcionado en la presente invención se lleva a cabo específicamente de la siguiente forma.

Etapa 1: formular el bromuro de rocurnio bruto que va a purificarse en una disolución acuosa al 5~40% en masa, destilar preferiblemente a presión reducida de 20 ± 5 mbar, añadir carbono activo o gel de sílice en una cantidad del 1~5% en masa del bromuro de rocurnio bruto para adsorción.

En la misma, la concentración en masa de la disolución acuosa de bromuro de rocurnio es preferiblemente del 15~35%. La destilación a presión reducida se lleva a cabo preferiblemente a una temperatura de 0~15°C, más preferiblemente de 0~10°C. El tiempo de destilación es preferiblemente de 0~5 horas, más preferiblemente de 2~5 horas.

Preferiblemente, la destilación a presión reducida se lleva a cabo bajo la protección de gas nitrógeno.

Etapa 2: filtrar la disolución acuosa de bromuro de rocurnio y liofilizar el filtrado.

Se filtra la disolución acuosa tratada mediante carbono activo o gel de sílice, y el filtrado se coloca en bandejas de liofilización del liofilizador. Para garantizar el efecto de liofilización, el espesor del material líquido no debe ser demasiado grande.

Etapa 3: congelar rápidamente el filtrado, y después comenzar la liofilización.

En la misma, el material se congela rápidamente hasta una temperatura de -80~-20°C, preferiblemente de -40~-30°C. La temperatura para el secado primario en la liofilización se establece en -40~-10°C, preferiblemente en -25~-10°C. El tiempo de duración para el secado primario es de 0~30 horas, más preferiblemente de 15 horas o menos. La temperatura para el secado por desorción se establece en 15~40°C, preferiblemente en 25~40°C. El tiempo de duración para el secado por desorción es de 0~20 horas, más preferiblemente de 3~15 horas. El espectro de difracción de rayos X del polvo cristalino obtenido de bromuro de rocurnio se muestra en la figura 1, a partir de la cual puede observarse que el polvo obtenido es amorfo.

El método de purificación de la presente invención puede controlar eficazmente la cantidad de 3-bromopropileno residual y el aumento de impureza C hidrolizada, y permite adaptar tanto el contenido de agua como de disolventes residuales a la norma USP33 estipulada en la farmacopea de los EE.UU. La técnica del método de la presente invención es sencilla en cuanto a la tecnología, conveniente en cuanto a la operación y fácil de controlar, y el producto obtenido a partir del mismo tiene buena calidad. La pureza mediante HPLC del bromuro de rocurnio obtenido que puede lograrse es de hasta el 99% o más, el área de HPLC de la impureza C es de menos del 0,20%, la cantidad de 3-bromopropileno residual es de menos de 10 ppm, la humedad es de menos del 4,0% y la cantidad total de disolventes residuales se adapta a los requisitos de la farmacopea.

Los efectos de la presente invención se ilustrarán mediante ejemplos específicos. Sin embargo, el alcance de protección de la presente invención no se limita por los siguientes ejemplos.

Ejemplo 1: Purificación del bromuro de rocurnio bruto con el método de la presente invención

Se preparó un bromuro de rocurnio bruto con referencia al método en el documento EP0287150. Tras la detección, los disolventes residuales en el producto bruto fueron: 379 ppm de 3-bromopropileno, 3000 ppm de diclorometano y el 15% de dietil éter. La pureza mediante HPLC de la impureza A es del 0,08%, y no se detectó impureza C.

Se disolvieron 10,0 g del bromuro de rocurnio bruto anterior en 30,0 g de agua desionizada y se enfrió la disolución hasta 5°C. Se llevaron a cabo desplazamiento con gas nitrógeno y luego destilación a presión reducida. Se controló la presión de destilación para que fuera de aproximadamente 20 ± 5 mbar (presión positiva). Tras el tratamiento durante 3,5 horas, se añadieron 0,4 g de gel de sílice y se mantuvo la mezcla a la temperatura con agitación durante 30 min. Se filtró la mezcla y se recogió el filtrado en una bandeja y después se congeló rápidamente en hielo a -40°C. Se controló el grado de vacío a 0~5 Pa para llevar a cabo la liofilización. Finalmente, se calentó la mezcla hasta 35°C y se llevó a cabo secado a vacío a la temperatura durante 10 horas, para producir 8,2 g de bromuro de rocurnio.

Tras la liofilización, los disolventes residuales en el bromuro de rocurnio fueron 3-bromopropileno: 6,0 ppm, dietil éter: 200 ppm. La humedad fue del 0,50%, el área de HPLC de la impureza A fue del 0,02% y el área de HPLC de la impureza C fue del 0,09%.

Ejemplo 2: Comparación del método de la presente invención con un método de purificación convencional

Preparación de bromuro de rocurnio bruto: se añadieron 200,0 g de 17β-acetato de 2β-(4-morfolinil)-16β-(1-pirrolidinil)-5α-androstan-3α-ol y 140 ml de 3-bromopropileno en una botella de 1000 ml bajo la protección de gas nitrógeno a una temperatura constante de 25°C con agitación mecánica. Se completó la reacción tras 1,25 horas. Se añadió 500 ml de acetonitrilo con agitación para la disolución. Se filtró la disolución mediante succión y se concentró el filtrado mediante evaporación rotatoria hasta la sequedad. Se añadieron 800 ml de diclorometano para la

disolución y se añadió lentamente la disolución gota a gota a 48 l de metil terc-butil éter con agitación vigorosa. Tras completarse la adición, se agitó la mezcla en un baño de hielo durante 1 hora. Se filtró la mezcla y se sometió la torta de filtro recogida a secado a vacío a temperatura ambiente durante 2 días para producir 260,5 g de bromuro de rocurnio bruto.

- 5 Se detectaron los disolventes residuales del bromuro de rocurnio bruto anterior: 550 ppm de 3-bromopropileno, el 9,0% de metil terc-butil éter, 2000 ppm de acetonitrilo fueron y el 0,5% de diclorometano. El área de HPLC de bromuro de rocurnio fue de más del 99,5%, el área de HPLC de la impureza A fue del 0,02% y no se detectó impureza C.

Se sometió el bromuro de rocurnio bruto a tres métodos de purificación que se describen en detalle a continuación.

10 Método 1. Secado a vacío convencional

Se molieron 10,0 g del bromuro de rocurnio bruto anterior para dar polvos finos y se sometió a secado a vacío en un horno de secado a vacío a 40°C durante un día, para producir 8,8 g de bromuro de rocurnio.

- 15 Se sometió a prueba el bromuro de rocurnio obtenido a partir del secado a vacío, y los resultados de los disolventes residuales fueron los siguientes: 60 ppm de 3-bromopropileno, 400 ppm de metil terc-butil éter, 150 ppm de acetonitrilo, 60 ppm de diclorometano fueron; la humedad era del 3,50%; el área de HPLC de la impureza C fue del 0,11%, el área de HPLC de la impureza A fue del 0,26% y aparecieron dos impurezas desconocidas respectivamente a 1,1 y 1,3 veces del tiempo pico principal, siendo el área de HPLC de cada una de ellas del 0,05%.

Método 2. Purificación del bromuro de rocurnio bruto mediante el método de la presente invención sin añadir carbono activo y gel de sílice

- 20 Se disolvieron 10,0 g del bromuro de rocurnio bruto anterior en 50,0 g agua desionizada y se enfrió la disolución hasta 10°C. Se llevaron a cabo desplazamiento con gas nitrógeno y luego destilación a presión reducida. Se controló la presión de destilación para que fuera de aproximadamente 20±5 mbar (presión positiva). Tras el tratamiento durante 3,5 horas, se recogió el material líquido en una bandeja y después se congeló rápidamente en hielo a -40°C. Se controló el grado de vacío a 0~5 Pa para llevar a cabo la liofilización. Finalmente, se calentó la mezcla hasta 35°C y se llevó a cabo secado a vacío a la temperatura durante 3 horas, para producir 8,9 g de bromuro de rocurnio.

Tras la liofilización, los disolventes residuales en el bromuro de rocurnio fueron 3-bromopropileno: 17,9 ppm, metil terc-butil éter: N.D., acetonitrilo: 78 ppm, humedad del 2,60%; el área de HPLC de la impureza A fue del 0,10% y el área de HPLC de la impureza C fue del 0,30%.

30 Método 3. Purificación del bromuro de rocurnio bruto mediante el método de la presente invención

- Se disolvieron 10,0 g del bromuro de rocurnio bruto anterior en 50,0 g de agua desionizada y se enfrió la disolución hasta 10°C. Se llevaron a cabo desplazamiento con gas nitrógeno y luego destilación a presión reducida. Se controló la presión de destilación para que fuera de aproximadamente 20±5 mbar (presión positiva). Tras el tratamiento durante 3,5 horas, se añadieron 0,4 g de carbono activo y se mantuvo la mezcla a la temperatura con agitación durante 30 min. Se filtró la mezcla y se recogió el filtrado en una bandeja y después se congeló rápidamente en hielo a -40°C. Se controló el grado de vacío para que fuera de 0~5 Pa para llevar a cabo la liofilización. Finalmente, se calentó la mezcla hasta 35°C y se llevó a cabo secado a vacío a la temperatura durante 6 horas, para producir 8,7 g de bromuro de rocurnio.

- 40 Tras la liofilización, los disolventes residuales en el bromuro de rocurnio fueron 3-bromopropileno: 3,0 ppm, metil terc-butil éter: N.D., acetonitrilo: 78 ppm. La humedad fue del 2,6%, el área de HPLC de la impureza A fue del 0,02% y el área de HPLC de la impureza C fue del 0,10%.

La tabla 1 muestra los detalles.

Tabla 1. Comparación del método de la presente invención para purificar bromuro de rocurnio bruto con un método convencional

	3-Bromo propileno	Metil terc- butil éter	Acetonitrilo	Humedad	Impureza A	Impureza C	Impurezas desconocidas
Método 1	60 ppm	400 ppm	150 ppm	3,5%	0,26%	0,11%	2, 0,05%
Método 2	17,9 ppm	N.D.	78 ppm	2,6%	0,10%	0,30%	N.D.
Método 3	3,0 ppm	N.D.	78 ppm	1,7%	0,02%	0,10%	N.D.

45 Ejemplo 3: Prueba de humedad y estabilidad del bromuro de rocurnio bruto

Con respecto a la estabilidad de propio bromuro de rocurnio, cuanto menor es la humedad residual, más estable es el producto. Tras una investigación, los presentes inventores encontraron que cuando la humedad en el bromuro de

5 rocuronio era del 4% o más, un periodo de almacenamiento de aproximadamente 10 días a temperatura ambiente da lugar a que las impurezas hidrolizadas estén fuera de los límites tal como se estipula en la norma USP33 y hace que aparezcan un gran número de impurezas desconocidas (véanse los datos que se muestran en la tabla 2); cuando la humedad se controló a aproximadamente el 0,5%, los niveles de impurezas no cambiaron sustancialmente tras un periodo de almacenamiento de un mes a temperatura ambiente.

Tabla 2. Estabilidad en almacenamiento a temperatura ambiente de una muestra de bromuro de rocuronio con una humedad del 4,5%

	Sustancias implicadas (HPLC)			Impurezas totales
	Impureza A	Impureza C	Impureza desconocida individual	
Día 0	0,02%	0,06%	N.D.	0,08%
Día 10	0,25%	0,36%	0,12%	0,73%
Día 20	0,30%	0,40%	0,20%	0,90%
Día 30	0,35%	0,50%	0,20%	1,05%

Tabla 3. Estabilidad en almacenamiento a temperatura ambiente de una muestra de bromuro de rocuronio con una humedad del 0,5%

	Sustancias implicadas (HPLC)			Impurezas totales
	Impureza A	Impureza C	Impureza desconocida individual	
Día 0	0,02%	0,06%	N.D.	0,08%
Día 10	0,02%	0,06%	N.D.	0,08%
Día 20	0,03%	0,06%	N.D.	0,09%
Día 30	0,03%	0,06%	N.D.	0,09%

REIVINDICACIONES

1. Método para purificar bromuro de rocurnio bruto, caracterizado por formular el bromuro de rocurnio bruto que va a purificarse en una disolución acuosa al 5~40% en masa, destilar a presión reducida, añadir carbono activo o gel de sílice en una cantidad del 1~5% en masa del bromuro de rocurnio bruto para adsorción, filtrar y congelar rápidamente el filtrado en hielo, que se somete después a liofilización para obtener bromuro de rocurnio.
2. Método según la reivindicación 1, caracterizado porque la disolución acuosa contiene el 15~35% de bromuro de rocurnio en masa.
3. Método según la reivindicación 1, caracterizado porque la destilación a presión reducida se lleva a cabo bajo la protección de gas nitrógeno.
4. Método según la reivindicación 1, caracterizado porque la destilación a presión reducida se lleva a cabo a una temperatura de 0~15°C.
5. Método según la reivindicación 1, caracterizado porque la destilación a presión reducida se lleva a cabo durante no más de 5 horas, preferiblemente 2~5 horas.
6. Método según la reivindicación 1, caracterizado porque la congelación rápida en hielo se lleva a cabo a una temperatura del material de -80~-20°C.
7. Método según la reivindicación 6, caracterizado porque la congelación rápida en hielo se lleva a cabo a una temperatura del material de -40~-20°C.
8. Método según la reivindicación 1, caracterizado porque, al inicio de la liofilización, la temperatura del material para el secado primario es de -80~-10°C.
9. Método según la reivindicación 8, caracterizado porque, al inicio de la liofilización, la temperatura del material para el secado primario es de -40~-10°C.

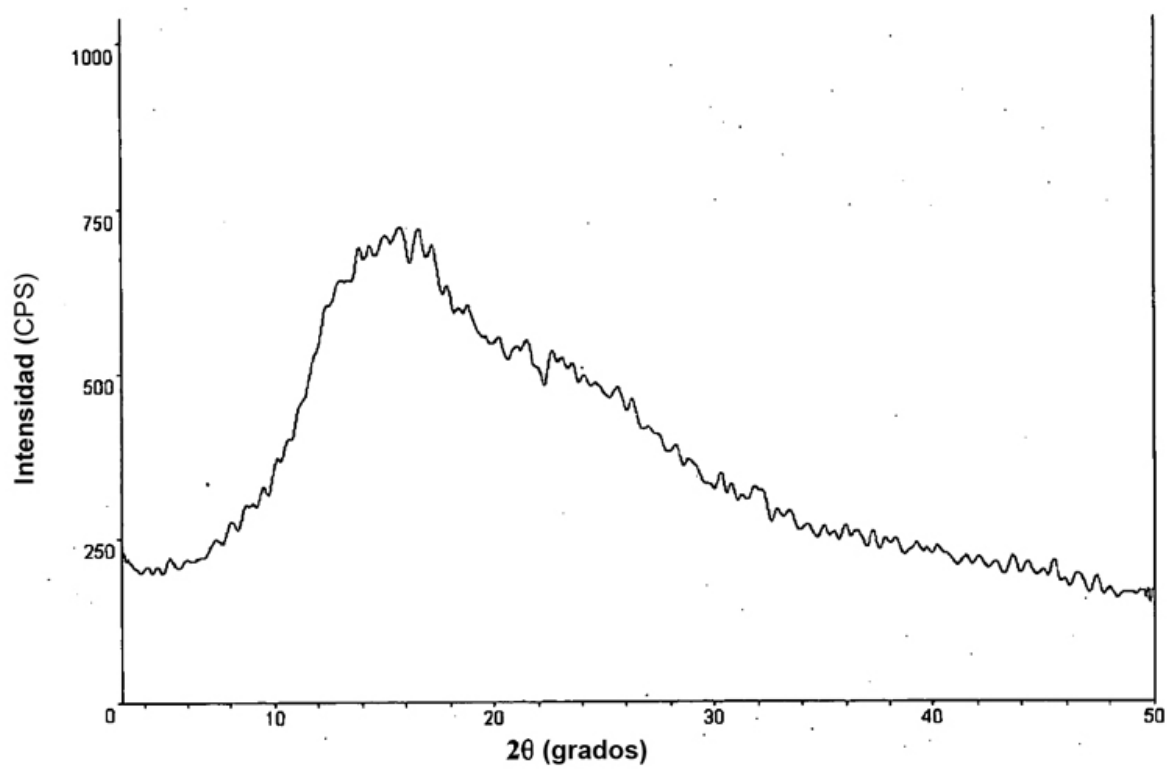


Figura 1