

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2004-504341

(P2004-504341A)

(43) 公表日 平成16年2月12日(2004.2.12)

(51) Int.Cl.⁷

A61K 31/716

A61K 9/19

A61K 47/26

A61P 35/00

F I

A61K 31/716

A61K 9/19

A61K 47/26

A61P 35/00

テーマコード (参考)

4C076

4C086

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 28 頁)

(21) 出願番号 特願2002-513444 (P2002-513444)
 (86) (22) 出願日 平成13年2月28日 (2001.2.28)
 (85) 翻訳文提出日 平成15年1月20日 (2003.1.20)
 (86) 国際出願番号 PCT/CN2001/000311
 (87) 国際公開番号 W02002/007708
 (87) 国際公開日 平成14年1月31日 (2002.1.31)
 (31) 優先権主張番号 00 1 12407.2
 (32) 優先日 平成12年7月19日 (2000.7.19)
 (33) 優先権主張国 中国 (CN)

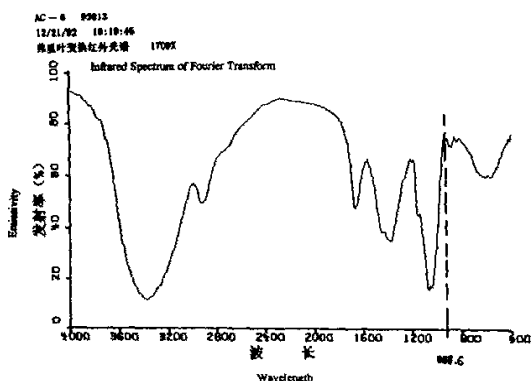
(71) 出願人 503028282
 南京振中生物工程有限公司
 中華人民共和国 210061 ジアング
 ス, ジィアンスシェンナンジンシブコウガ
 オジシュカイファチュイ (番地なし)
 (74) 代理人 100105647
 弁理士 小栗 昌平
 (74) 代理人 100105474
 弁理士 本多 弘徳
 (74) 代理人 100108589
 弁理士 市川 利光
 (74) 代理人 100115107
 弁理士 高松 猛
 (74) 代理人 100090343
 弁理士 栗宇 百合子

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 レンチナン凍結乾燥粉末およびその製造法

(57) 【要約】

本発明は無菌抗腫瘍活性レンチナン凍結乾燥粉末およびその製造法を開示する。レンチナン凍結乾燥粉末はレンチナン0.50～1.40重量部および凍結乾燥賦形剤50～140重量部から主としてなる。該粉末は安定性がよい。該粉末はアレルギー性副作用の原因となり得るデキストランを含まないため、改善された安全性を有する。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

レンチナン 0.50 ~ 1.40 重量部および凍結乾燥賦形剤 50 ~ 140 重量部から主としてなることを特徴とする注射用無菌抗腫瘍活性レンチナン凍結乾燥粉末。

【請求項 2】

レンチナン 0.70 ~ 1.40 重量部および凍結乾燥賦形剤 70 ~ 140 重量部から主としてなることを特徴とする請求項 1 記載の注射用無菌抗腫瘍活性レンチナン凍結乾燥粉末。

【請求項 3】

レンチナン 0.80 ~ 1.20 重量部および凍結乾燥賦形剤 80 ~ 120 重量部から主としてなることを特徴とする請求項 1 記載の注射用無菌抗腫瘍活性レンチナン凍結乾燥粉末。

【請求項 4】

デキストランを含有しないことを特徴とする請求項 1 ~ 3 のいずれかに記載の注射用無菌抗腫瘍活性レンチナン凍結乾燥粉末。

【請求項 5】

凍結乾燥賦形剤がマンニトール、グルコース、スクロースまたはラクトースのいずれか 1 つであってもよいことを特徴とする請求項 1 ~ 3 のいずれかに記載の注射用無菌抗腫瘍活性レンチナン凍結乾燥粉末。

【請求項 6】

凍結乾燥賦形剤がマンニトールであることを特徴とする請求項 1 ~ 3 のいずれかに記載の注射用無菌抗腫瘍活性レンチナン凍結乾燥粉末。

【請求項 7】

以下の工程を含むことを特徴とする注射用無菌抗腫瘍活性レンチナン凍結乾燥粉末の製造法。レンチナン 0.50 ~ 1.40 重量部を採り、これをアルカリ溶液 20 ~ 70 重量部に溶解し、そのアルカリ溶液濃度を 0.5 ~ 1.0 mol/L とし、次いで、酸溶液を添加して pH 6.0 ~ 8.0 に中和した後、凍結乾燥賦形剤 50 ~ 140 重量部と混合し、濾過して除菌し、アンプルまたはビンに充填し、凍結乾燥した後に密封する。

【請求項 8】

以下の工程を含むことを特徴とする請求項 7 記載の注射用無菌抗腫瘍活性レンチナン凍結乾燥粉末の製造法。レンチナン 0.70 ~ 1.40 重量部を採り、これをアルカリ溶液 20 ~ 60 重量部に溶解し、そのアルカリ溶液濃度を 0.5 ~ 1.0 mol/L とし、次いで、酸溶液を添加して pH 6.0 ~ 8.0 に中和した後、凍結乾燥賦形剤 70 ~ 140 重量部と混合し、濾過して除菌し、アンプルまたはビンに充填し、凍結乾燥した後に密封する。

【請求項 9】

以下の工程を含むことを特徴とする請求項 7 記載の注射用無菌抗腫瘍活性レンチナン凍結乾燥粉末の製造法。レンチナン 0.70 ~ 1.40 重量部を採り、これをアルカリ溶液 20 ~ 60 重量部に溶解し、そのアルカリ溶液濃度を 0.5 ~ 1.0 mol/L とし、次いで、酸溶液を添加して pH 6.0 ~ 8.0 に中和した後、凍結乾燥賦形剤 40 ~ 120 重量部と混合し、濾過して除菌し、アンプルまたはビンに充填し、凍結乾燥した後に密封する。

【請求項 10】

該凍結乾燥賦形剤がマンニトール、グルコース、スクロースまたはラクトースのいずれか 1 つであることを特徴とする請求項 7 記載の注射用無菌抗腫瘍活性レンチナン凍結乾燥粉末の製造法。

【請求項 11】

該凍結乾燥賦形剤がマンニトールであることを特徴とする請求項 7 記載の注射用無菌抗腫瘍活性レンチナン凍結乾燥粉末の製造法。

【請求項 12】

10

20

30

40

50

請求項 7 ~ 9 のいずれかに記載の注射用無菌抗腫瘍活性レンチナン凍結乾燥粉末の製造法であって、該アルカリが水酸化ナトリウムであることを特徴とする方法。

【請求項 13】

請求項 7 ~ 9 のいずれかに記載の注射用無菌抗腫瘍活性レンチナン凍結乾燥粉末の製造法であって、当該酸が塩酸であることを特徴とする方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

(技術分野)

本発明は生物反応修飾物質 (BRM) およびその製造法に関し、特に注射用無菌抗腫瘍活性レンチナン凍結乾燥粉末およびその製造法に関する。

10

【0002】

(背景技術)

シイタケ (*Lentinus edodes*) はタンパク質、ヘテロ多糖類、レンチナンなどの幾重にも折り畳まれた成分を含んでいる。レンチナンは多糖類の一種であって、日本の学者である千原呉郎博士がシイタケの本体から抽出、分離、精製したものであり、その一次構造は β - (1 - 3) グルコースの主鎖と β - (1 - 6) グルコースの側鎖を有するブドウ糖である。報告書によると、レンチナンは BRM の一種であって、数種の癌に対して強い阻害作用を有し、化学的発癌物質、ウイルス性発癌物質に対し、特に術後の微小癌組織の転移に対して予防効果がある。同時に、レンチナンは多くの長所、例えば、投与量が少なく、副作用が低く、また安全に使用し得るなどの長所を有する。日本の厚生省は新しい抗腫瘍剤としてレンチナンを認可し、レンチナンは 1985 年に上市された。中国では注射用レンチナン凍結乾燥粉末を日本の味の素 (株) から輸入し、1988 年から臨床適用している。しかし、日本から輸入したレンチナン凍結乾燥粉末の処方レンチナン、デキストランおよびマンニトールからなる。発酵生成物の一種であるため、臨床的に使用した際、デキストランのアナフィラキシーショックにより死に至った幾つかの症例が見つかっている。

20

【0003】

中国特許出願 CN - 96116294.5 はレンチナン注射剤の一種とその製造方法を開示している。最初に、レンチナンを水酸化ナトリウム溶液に溶解させ、次いで、クエン酸を添加して pH を調整し、濾過、滅菌してレンチナン注射剤とする。該注射剤は有効であるが、主生成物の投与形態、分子量および分子量分布が本発明と異なる。

30

【0004】

(発明の開示)

本発明の目的は、副作用を生じる可能性のある成分を含まないレンチナン凍結乾燥粉末を提供することにある。

【0005】

本発明のもう一つの目的は、副作用を生じる可能性のある成分を含まないレンチナン凍結乾燥粉末の製造法を提供することにある。

【0006】

本発明のさらなる目的は、デキストランを含まないレンチナン凍結乾燥粉末を提供することにある。

40

【0007】

本発明の目的はまた、デキストランを含まないレンチナン凍結乾燥粉末の製造法を提供することにある。

【0008】

本発明のこれらすべての目的および他の目的について、以下の記載によりさらに詳細に説明する。

【0009】

(発明を実施するための最良の形態)

本発明による注射用無菌抗腫瘍活性レンチナン凍結乾燥粉末は、レンチナン 0.50 ~ 1

50

． 40重量部および凍結乾燥賦形剤 50～140重量部から主としてなる。

【0010】

さらに、本発明による注射用無菌抗腫瘍活性レンチナン凍結乾燥粉末は、レンチナン 0.70～1.40重量部および凍結乾燥賦形剤 70～140重量部から主としてなる。

【0011】

本発明による注射用無菌抗腫瘍活性レンチナン凍結乾燥粉末はまた、レンチナン 0.80～1.20重量部および凍結乾燥賦形剤 80～120重量部から主としてなる。

【0012】

必要に応じて、本発明の注射用無菌抗腫瘍活性レンチナン凍結乾燥粉末は、他の許容し得るまたは混合可能な添加物および医療用治療薬に添加することも可能である。勿論、これらの添加物および治療薬は、レンチナンの作用を損なわず、かつデキストランを完全に含有しない必要がある。

【0013】

必要に応じて、本粉末は他の抗腫瘍剤に添加するか、またはそれと混合することも可能である。好ましくは、抗腫瘍剤および補助剤は、クマ胆汁粉末、景天 (Red sedum)、ニンジン、西洋参、チャイニーズ・クスター・ピラー (cster pillar) 真菌、マンネンタケ (Lucid ganoderma) および木香 (Sausseurea involucrate) などである。

【0014】

本発明における注射用無菌抗腫瘍活性レンチナン凍結乾燥粉末の凍結乾燥賦形剤は、マンニトール、グルコース、スクロースまたはラクトースのいずれか一つであり、好ましくはマンニトールである。必要に応じて、また可能であれば、マンニトール、グルコース、スクロースまたはラクトースから選択される2種または3種の混合物もまた使用し得る。

【0015】

本発明による注射用無菌抗腫瘍活性レンチナン凍結乾燥粉末の製造法は、以下の工程を含むことができる。レンチナン 0.50～1.40重量部を採り、これをアルカリ溶液 20～70重量部に完全に溶解し、そのアルカリ溶液濃度を 0.5～1.0 mol/L とし、次いで、酸溶液を添加して溶液の pH を 6.0～8.0 に中和した後、凍結乾燥賦形剤 50～140重量部と再び混合し、濾過して除菌し、アンプルまたはガラスビンに充填し、凍結乾燥した後に密封する。

【0016】

さらに、本発明による注射用無菌抗腫瘍活性レンチナン凍結乾燥粉末の製造法は、以下の工程を含むことができる。レンチナン 0.70～1.40重量部を採り、これをアルカリ溶液 20～60重量部に完全に溶解し、そのアルカリ溶液濃度を 0.5～1.0 mol/L とし、次いで、酸溶液を添加して溶液の pH を 6.0～8.0 に中和した後、凍結乾燥賦形剤 70～140重量部と再び混合し、濾過して除菌し、アンプルまたはガラスビンに充填し、凍結乾燥した後に密封する。

【0017】

本発明による注射用無菌抗腫瘍活性レンチナン凍結乾燥粉末の製造法はまた、以下の工程を含んでなる。レンチナン 0.80～1.20重量部を採り、これをアルカリ溶液 20～80重量部に完全に溶解し、そのアルカリ溶液濃度を 0.5～1.0 mol/L とし、次いで、酸溶液を添加して溶液の pH を 6.0～8.0 に中和した後、凍結乾燥賦形剤 40～120重量部と再び混合し、濾過して除菌し、アンプルまたはガラスビンに充填し、凍結乾燥した後に密封する。

【0018】

本発明による注射用無菌抗腫瘍活性レンチナン凍結乾燥粉末の製造法において、適用した凍結乾燥賦形剤は、マンニトール、グルコース、スクロースまたはラクトースの1つであり、好ましくはマンニトールであった。適用したアルカリは水酸化ナトリウムであり、適用した酸は塩酸である。

【0019】

10

20

30

40

50

本発明による注射用無菌抗腫瘍活性レンチナン凍結乾燥粉末の製造法においては、レンチナンを凍結乾燥賦形剤と均一に混合し、次いで、濾過除菌し、含量を測定し（含量は古典的アントロン - 硫酸法により定量）、アンプルまたはガラスビンに充填し、凍結乾燥し、密封またはパッキング閉栓し、漏れをチェックして、ラベルを貼付する。密封またはパッキング閉栓までの作業は無菌条件下で進行すべきである。

【 0 0 2 0 】

本発明にて適用したレンチナンは単一および多成分レンチナンであるが、これらは公知であり、市販されている。さらに、レンチナンの抽出、分離、精製については、ネイチャー（Nature）1965、222、687 - 8および中国特許出願公開94115876号明細書、ならびに他の特許文献または非特許文献を参照することができた。上記の文献はここに本発明に包含される。

【 0 0 2 1 】

本発明による注射用レンチナン凍結乾燥粉末は、手術前または化学療法の前に、週2回、各回1～2mg、または週1回もしくは2回、各回2mg、使用する。投与に際しては、注射用レンチナン凍結乾燥粉末を250mlの生理食塩水またはグルコース溶液に溶かし、静脈内注射する。悪性胸水および腹水を処置するに際しては、各回4～8mgの投与量で腔内投与する。特定の症例では医師の処方に従うべきである。

【 0 0 2 2 】

本発明による注射用レンチナン凍結乾燥粉末は臨床試験を受け、その臨床効果が明確であり、製剤の安定性は非常に良好で、アナフィラキシーの副作用を伴うデキストランを含まないため、その臨床適用もより安全である。さらに、レンチナン凍結乾燥粉末にはデキストランを含まないため、その含量定量に際して、特別のカラムクロマトグラフィー装置によるデキストランの分離を必要とせず、古典的なアントロン - 硫酸法を直接適用して、含量定量をより正確に、かつ容易に行うことができる。

【 0 0 2 3 】

I．本発明の生成物の分子量、分子式、化学構造式

1．分子量の定量

高速ゲル浸透クロマトグラフィーおよび汎用補正曲線により、その分子量の大部分が400,000と800,000ダルトンの間にあると定量された。

2．炭素核磁気共鳴スペクトル（表1）

【 0 0 2 4 】

【表1】

表1

C	レンチナン資料	レンチナン ⁽⁶⁾	分 析
1	104.6	104.6	β -D-(1-3)グルコース
2	74.5	74.3	β -D-(1-3)グルコース
3	87.7	87.7	β -D-(1-3)グルコース
4	70.2	70.2	β -D-(1-3)グルコース
5	77.8	77.9	β -D-(1-3)グルコース
6	62.5	62.5	β -D-(1-3)グルコース
1'	104.9	104.6	β -D-(1-6)グルコース
6'	71.5	71.5	β -D-(1-6)グルコース

【 0 0 2 5 】

3．赤外線スペクトル図（図1）

4．分子式

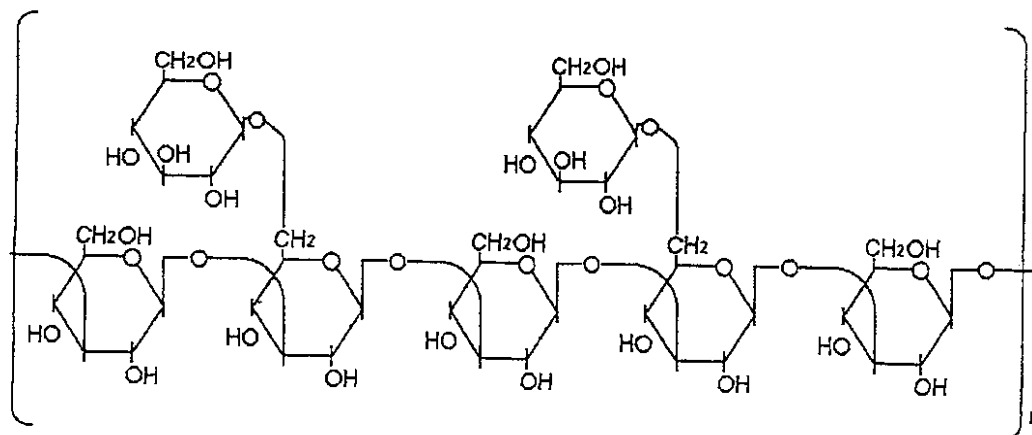
微量元素分析の結果はその分子式が $(C_6H_{10}O_5)_n$ であることを示した。

5．化学構造式

光スペクトル分析を伴う過ヨウ素酸反応、スミス分解反応などの化学反応との組み合わせによると、レンチナンの一次構造は以下のとおりであった。

【 0 0 2 6 】

【 化 1 】



10

【 0 0 2 7 】

II . 製剤安定性成績と結論

影響因子試験、例えば、高温試験（ 4 0 、 6 0 、 8 0 ） 、 高湿度試験（ R H 9 2 . 5 % 、 R H 7 5 % 、 2 5 ） および光照射試験（ 4 0 0 0 L x ） などの試験によると、本発明製品の外観特性、溶解後の澄明性、p H 値、含量、不純物および無菌試験は要件に合致する。

20

【 0 0 2 8 】

3 ヶ月間の加速試験（ 4 0 、 R H 7 5 % ） の後の観察した結果は、本発明製品の外観特性、溶解後の澄明性、p H 値、含量、不純物および無菌試験は要件に合致することを示す。

【 0 0 2 9 】

本発明製品につき、調製後、室温で、それぞれ 1 、 3 、 5 、 1 2 、 1 8 および 2 4 ヶ月に観察、分析した。試料の定期的チェックによると、すべての項目が要件に合致する。従って、有効期間は少なくとも 2 年である。

30

【 0 0 3 0 】

本発明の原材料および賦形剤ならびに添加剤はすべて市販にて入手可能であった。適用した添加剤は、特に指摘したもの以外、注射可能等級の固体として販売されている。

【 0 0 3 1 】

以下の実施例により本発明をさらに説明する。実施例は記載したものに限定されるが、本発明の適用範囲を制限するものではない。

【 0 0 3 2 】

本発明において、部および量は、特に断りのない限り、すべて総重量に基づく重量単位である。

40

【 0 0 3 3 】

実施例 1

本発明による注射用レンチナン凍結乾燥粉末のすぐれた効果を証明するために、第 2 相および第 3 相臨床試験を実施例として使用した。

【 0 0 3 4 】

I . 第 2 相臨床試験

二重盲検法および確率過程を適合させて、国指定病院にて第 2 相臨床試験を進めた。化学療法とプラセボ（凍結乾燥粉末）を組み合わせ対照群とし、化学療法とレンチナンの凍結乾燥粉末を組み合わせを試験群として、異なる種類の癌患者 2 4 0 人に試験した。結果は、試験群の 1 0 8 例において C R + P R は 6 7 例あり奏効率は 6 2 % 、 対照群 1 0 4 例

50

においてCR + PRは44例あり奏効率は43.2%であったことが明らかになった。両結果を比較すると、 $P < 0.01$ 、試験群における胃癌の奏効率は56.6%、対照群での奏効率は19.4%、 $P < 0.01$ 、非小細胞肺癌 (NSCLC) での試験群における奏効率は33.3%、対照群での奏効率は11.5%、 $P < 0.05$ であった。前処置および後処置の効果を比較すると、試験群でのリンパ球細胞変換の変異率、NK細胞活性化、および T_4 / T_8 の率は対照群よりも顕著に高く、 $P < 0.01$ である。悪性胸水および腹水を処置するためにレンチナンを予め使用した場合の奏効率は76.5% (13 / 17) であり、この値は外国文献のものと同一である。

【0035】

II. 第3相臨床試験

中国医学会の指導のもと、ツオンシャン (Zhongshan) 医科大学癌病院を責任病院として、中国国内の約40ヶ所の病院が第3相臨床試験を分担し、レンチナンの臨床効果および副作用を試験した。これらの病院では1106の評価可能な症例を完了したが、その内訳は全身投与例が1047例、悪性胸水および腹水の症例が59例である。

【0036】

1. 併用化学療法群 (565例) の奏効率は41.4%であり、比較した対照群 (301例) では25.2%である。2群の奏効率には有意差があり ($P < 0.01$)、ここでの胃癌とNSCLCの総奏効率は明らかに対照群よりも高い ($P < 0.01$)。同一種類の日本企業の製品について、NSCLCの化学療法増強効果はこれまで報告されていない。

【0037】

2. 悪性胸水および腹水：59例において奏効率は52.5%である。

【0038】

3. 同時に、この試験ではまた細胞性免疫機能の患者の変化も観察したが、その結果は3つの試験指標 (NK細胞活性、 T_3 、 T_4 / T_8) が対照群のものよりも明らかに高いことを示しており、すべての種類の主たる症例はレンチナンの値が細胞性免疫の機能を上昇させることを示している。

【0039】

4. 活性状態 (PS)

1群1647症例であった。併用化学療法群 (565症例) における患者の28.5%のPSが処置後に改善された (前処置と比較した後処置であり、有意差がある。 $P < 0.01$) が、対照群では6.6%のみの患者のPSが改善されたにすぎない (前処置と比較して、処置後と有意差はない。 $P > 0.05$)。対照群と比較して、試験群は有意差をもつ ($P < 0.01$)。

【0040】

5. 放射線療法と化学療法の副作用の低減

併用化学療法、術後併用化学療法：試験群におけるWBC、Ptの発現率低下は対照群よりも有意に低い ($P < 0.01$)。試験群における胃腸管毒性、肝機能病変もまた対照群より低い ($P < 0.01$)。試験群における悪心嘔吐の発生率は対照群よりも有意に低い ($P < 0.01$)。日本企業の味の素 (株) の同種製品がこの作用を有するという臨床上の報告はない。

【0041】

6. 副作用

発生した副作用症例は3件のみであり、レンチナンの全身投与を受けた1121症例の0.27%を占めるにすぎないが、その2例は顔面紅潮であり、1例は胸部不快感である；これらは点滴速度を遅くするか、または投薬中止により短時間で復調した。日本製品の第2相、第3相臨床試験469症例において、副作用の発生は32件であり、6.8%を占める。

【0042】

実施例2

注射用レンチナン材料2.00g (純度98%) を採り、1M水酸化ナトリウム溶液60

10

20

30

40

50

m lを加えた。レンチナンは自然に溶解したが、さらに攪拌して完全に溶解させた。少量の注射用水を加えて希釈し、同様に攪拌した。1 M塩酸を加えて溶液のp Hを6 . 8 ~ 7 . 0に中和した。市販の20 %マンニトール注射液1000 m lを加え、同様に攪拌し、無菌濾過し、含量を定量した(含量定量には古典的アントロン - 硫酸法を用いた)。注射用水を加えて各2 m l溶液がレンチナン1 m gを含有する濃度とし、2 m lずつアンプルまたはビンに充填し、次いで凍結乾燥し、密封し、漏れをチェックし、目視チェックし、ラベル貼付して最終的に最終産物を得た。

【0043】

実施例3

注射用レンチナン3 gを採り、0 . 8 M水酸化ナトリウム100 m lに少しずつとかし、完全に溶解するまで攪拌した。次いで、0 . 8 M塩酸をゆっくり添加し、溶液のp Hを7 . 0 ~ 7 . 2に中和した。市販のマンニトール300 gを採り、注射用水1600 m lを加え、加熱して溶解した。次いで、0 . 1 % W / V注射用活性炭を加え、85 で15分間加熱し、60 に冷却したNo . 3サンド・コア・フィルター・キャンドルを用いて濾過した。次いで、レンチナン溶液をこの濾液に加え、その後、濾過膜を用いて無菌濾過を行った。含量を定量し、注射用水を加えて、各2 m l溶液がレンチナン1 . 5 m gを含有する濃度とし、各アンプル2 m lとなるように充填し、凍結室に移して凍結乾燥した。次いで、それを取り出し、アンプルまたはビンを密封し、漏れをチェックし、ラベルを貼付し、最終製品とした。

10

【0044】

実施例4

注射用レンチナン材料4 . 00 g (純度98 %) (市販品)を採り、1 M水酸化ナトリウム溶液120 m lを加えた。レンチナンは自然に溶解したが、さらに攪拌して完全に溶解させた。少量の注射用水を加えて希釈し、同様に攪拌した。1 M塩酸を加えて溶液のp Hを6 . 8 ~ 7 . 0に中和した。注射用マンニトール400 gを加え、注射用水を加えて総容量3200 m lとし、同様に攪拌して無菌濾過し、含量を定量した。注射用水を加えて各2 m l溶液がレンチナン2 m gを含有する濃度とし、2 m lずつアンプルまたはビンに充填し、次いで凍結乾燥し、取り出し、密封し、漏れをチェックし、目視チェックし、ラベル貼付した。

20

【0045】

実施例5

注射用レンチナン材料2 . 00 g (純度98 %)を採り、1 M水酸化ナトリウム溶液50 m lを加えた。レンチナンは自然に溶解したが、さらに攪拌して完全に溶解させた。適量の注射用水を加えて希釈し、同様に攪拌した。1 M塩酸を加えて溶液のp Hを6 . 8 ~ 7 . 0に中和した。注射用グルコース200 gを加え、これに注射用水1600 m lを加え、同様に攪拌し、無菌濾過し、含量を定量した。注射用水を加えて各2 m l溶液がレンチナン2 m gを含有する濃度とし、2 m lずつアンプルまたはビンに充填し、次いで凍結乾燥し、取り出し、密封し、漏れをチェックし、目視チェックし、ラベル貼付した。

30

【0046】

実施例6

注射用レンチナン材料2 . 00 g (純度98 %)を採り、1 M水酸化ナトリウム溶液60 m lを加えた。レンチナンは自然に溶解したが、さらに攪拌して完全に溶解させた。適量の注射用水を加えて希釈し、同様に攪拌した。1 M塩酸を加えて溶液のp Hを6 . 8 ~ 7 . 0に中和した。注射用ラクトース200 gを加え、これに注射用水3200 m lを加え、同様に攪拌し、無菌濾過し、含量を定量した。注射用水を加えて各2 m l溶液がレンチナン1 m gを含有する濃度とし、2 m lずつアンプルまたはビンに充填し、次いで凍結乾燥し、取り出し、密封し、漏れをチェックし、目視チェックし、ラベル貼付した。

40

【0047】

実施例7

注射用レンチナン材料6 . 00 g (純度98 %)を採り、1 M水酸化ナトリウム溶液18

50

0 m l を加えた。レンチナンは自然に溶解したが、さらに攪拌して完全に溶解させた。少量の注射用水を加えて希釈し、同様に攪拌した。1 M 塩酸を加えて溶液の p H を 6 . 8 ~ 7 . 0 に中和した。注射用マンニトール 4 0 0 g を加え、これに注射用水 3 2 0 0 m l を加え、同様に攪拌し、無菌濾過し、含量を定量した。注射用水を加えて各 2 m l 溶液がレンチナン 3 m g を含有する濃度とし、2 m l ずつアンプルまたはビンに充填し、次いで凍結乾燥し、取り出し、密封し、漏れをチェックし、目視チェックし、ラベル貼付した。

【 0 0 4 8 】

実施例 8

注射用レンチナン材料 6 . 0 0 g (純度 9 8 %) を採り、1 M 水酸化ナトリウム溶液 1 8 0 m l を加えた。レンチナンは自然に溶解したが、さらに攪拌して完全に溶解させた。少量の注射用水を加えて希釈し、同様に攪拌した。1 M 塩酸を加えて溶液の p H を 6 . 8 ~ 7 . 0 に中和した。注射用グルコース 4 0 0 g を加え、これに注射用水 3 2 0 0 m l を加え、同様に攪拌し、無菌濾過し、含量を定量した。注射用水を加えて各 2 m l 溶液がレンチナン 3 m g を含有する濃度とし、2 m l ずつアンプルまたはビンに充填し、次いで凍結乾燥し、取り出し、密封し、漏れをチェックし、目視チェックし、ラベル貼付した。

10

【 0 0 4 9 】

実施例 9

注射用レンチナン材料 8 . 0 0 g (純度 9 8 %) を採り、1 M 水酸化ナトリウム溶液 2 4 0 m l を加えた。レンチナンは自然に溶解したが、さらに攪拌して完全に溶解させた。少量の注射用水を加えて希釈し、同様に攪拌した。1 M 塩酸を加えて溶液の p H を 6 . 8 ~ 7 . 0 に中和した。注射用スクロース 4 0 0 g を加え、これに注射用水 3 2 0 0 m l を加え、同様に攪拌し、無菌濾過し、含量を定量した。注射用水を加えて各 2 m l 溶液がレンチナン 4 m g を含有する濃度とし、2 m l ずつアンプルまたはビンに充填し、次いで凍結乾燥し、取り出し、密封し、漏れをチェックし、目視チェックし、ラベル貼付した。

20

【 0 0 5 0 】

実施例 1 0

注射用レンチナン材料 8 . 0 0 g (純度 9 8 %) を採り、1 M 水酸化ナトリウム溶液 2 4 0 m l を加えた。レンチナンは自然に溶解したが、さらに攪拌して完全に溶解させた。少量の注射用水を加えて希釈し、同様に攪拌した。1 M 塩酸を加えて溶液の p H を 6 . 8 ~ 7 . 0 に中和した。注射用グルコース 4 0 0 g を加え、これに注射用水 3 1 0 0 m l を加え、同様に攪拌し、無菌濾過し、含量を定量した。注射用水を加えて各 2 m l 溶液がレンチナン 4 m g を含有する濃度とし、2 m l ずつアンプルまたはビンに充填し、次いで凍結乾燥し、取り出し、密封し、漏れをチェックし、目視チェックし、ラベル貼付した。

30

【 0 0 5 1 】

実施例 1 1

注射用レンチナン材料 8 . 0 g (純度 9 8 %) を採り、1 M 水酸化ナトリウム溶液 2 4 0 m l を加えた。レンチナンは自然に溶解したが、さらに攪拌して完全に溶解させた。少量の注射用水を加えて希釈し、同様に攪拌した。1 M 塩酸を加えて溶液の p H を 6 . 8 ~ 7 . 0 に中和した。注射用ラクトース 4 0 0 g を加え、これに注射用水 3 1 0 0 m l を加え、同様に攪拌し、無菌濾過し、含量を定量した。注射用水を加えて各 2 m l 溶液がレンチナン 4 m g を含有する濃度とし、2 m l ずつアンプルまたはビンに充填し、次いで凍結乾燥し、取り出し、密封し、漏れをチェックし、目視チェックし、ラベル貼付した。

40

【 0 0 5 2 】

実施例 1 2

注射用レンチナン 8 . 0 g (純度 9 8 %) を使用すること、0 . 8 M 水酸化ナトリウム溶液 2 4 0 m l を加えること、塩酸溶液を加えて該溶液の p H を 6 . 0 ~ 6 . 2 に調整すること、および次いで注射用マンニトール 4 0 0 g を添加し、注射用水 3 1 0 0 m l を加えること、その他は実施例 1 1 と同じである。

【 0 0 5 3 】

実施例 1 3

50

注射用レンチナン 4.0 g (純度 98%) を使用すること、0.8 M 水酸化ナトリウム溶液 200 ml を加えること、塩酸溶液を加えて該溶液の pH を 6.3 ~ 6.4 に調整すること、および次いで注射用ラクトース 200 g を添加し、注射用水 3100 ml を加えること、その他は実施例 5 と同じである。

【0054】

実施例 14

注射用レンチナン 4.0 g (純度 98%) を使用すること、0.8 M 水酸化ナトリウム溶液 50 ml を加えること、塩酸溶液を加えて該溶液の pH を 6.5 ~ 6.6 に調整すること、および次いで注射用スクロース 200 g を添加し、注射用水 3100 ml を加えること、その他は実施例 4 と同じである。

10

【0055】

実施例 15

注射用レンチナン 1.0 g (純度 98%) を使用すること、0.8 M 水酸化ナトリウム溶液 50 ml を加えること、塩酸溶液を加えて該溶液の pH を 6.0 ~ 6.2 に調整すること、および次いで注射用マンニトール 200 g を添加し、注射用水 3100 ml を加えること、濃度が各 2 ml に対し 0.5 mg であること、その他は実施例 4 と同じである。

【0056】

実施例 16

注射用レンチナン 1.0 g (純度 98%) を使用すること、1 M 水酸化ナトリウム溶液 50 ml を加えること、塩酸溶液を加えて該溶液の pH を 7.0 ~ 7.2 に調整すること、および次いで注射用グルコース 200 g を添加し、注射用水 3200 ml を加えること、その他は実施例 15 と同じである。

20

【0057】

実施例 17

注射用レンチナン 1.0 g (純度 98%) を使用すること、0.8 M 水酸化ナトリウム溶液 50 ml を加えること、塩酸溶液を加えて該溶液の pH を 7.4 ~ 7.6 に調整すること、および次いで注射用スクロース 200 g を添加し、注射用水 3200 ml を加えること、その他は実施例 15 と同じである。

【0058】

実施例 18

注射用レンチナン 1.0 g (純度 98%) を使用すること、0.8 M 水酸化ナトリウム溶液 50 ml を加えること、クエン酸溶液を加えて該溶液の pH を 7.6 ~ 7.8 に調整すること、および次いで注射用ラクトース 200 g を添加し、注射用水 3200 ml を加えること、その他は実施例 15 と同じである。

30

【0059】

実施例 19

注射用レンチナン 2.0 g (純度 98%) を使用すること、0.8 M 水酸化ナトリウム溶液 60 ml を加えること、塩酸溶液を加えて該溶液の pH を 7.8 ~ 8.0 に調整すること、および次いで注射用マンニトール 200 g を添加し、注射用水 3100 ml を加えること、その他は実施例 6 と同じである。

40

【0060】

実施例 20

注射用レンチナン 2.0 g (純度 98%) を使用すること、1.0 M 水酸化ナトリウム溶液 50 ml を加えること、塩酸溶液を加えて該溶液の pH を 7.8 ~ 8.0 に調整すること、および次いで注射用グルコース 100 g を添加し、注射用マンニトール 100 g を添加し、注射用水 3100 ml を加えること、その他は実施例 6 と同じである。

【0061】

実施例 21

注射用レンチナン 2.0 g (純度 98%) を使用すること、1.0 M 水酸化ナトリウム溶液 100 ml を加えること、塩酸溶液を加えて該溶液の pH を 7.0 ~ 7.1 に調整する

50

こと、および次いで注射用ラクトース 100 g を添加し、注射用マンニトール 100 g を添加し、注射用水 3000 ml を加えること、その他は実施例 6 と同じである。

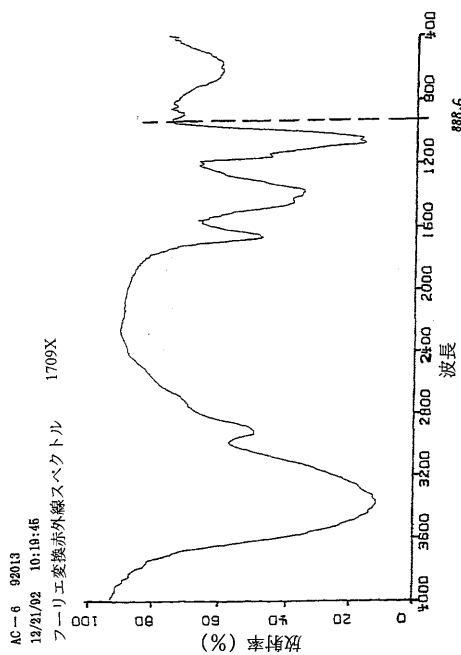
【0062】

本発明において、実施例は単に説明のためにのみ使用するものである。これらは本発明の特許請求の範囲を限定するものではなく、いずれの改良も変更も本発明の範囲に含まれると判断すべきであり、本発明の請求項によってのみ限定されるべきである。

【図面の簡単な説明】

【図 1】 図 1 は本発明レンチナンの赤外線スペクトル図を示す。

【図 1】



【国际公开パンフレット】

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局(43) 国际公布日:
2002年1月31日(31.01.02)

PCT

(10) 国际公布号:
WO 02/07708 A1

(51) 国际分类号: A61K 9/19, 31/715, A61P 35/00

(21) 国际申请号: PCT/CN01/00311

(22) 国际申请日: 2001年2月28日(28.02.01)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权: 00112407.2 2000年7月19日(19.07.00) CN

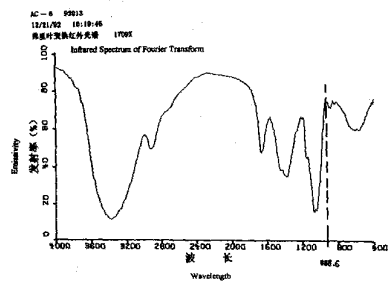
(71) 申请人(对除美国以外的所有指定国): 南京新中生物工程
有限公司(NANJING NEW(NANJING
NEW@HIGH TECHNOLOGY INDUSTRY
DEVELOPING ZONE) [CN/CN]; HIGH
TECHNOLOGY INDUSTRY DEVELOPING ZONE)
[CN/CN]; 中国江苏省南京市浦口高新技术开发区,
Jiangsu 210061 (CN).

(72) 发明人: 及

(75) 发明人/申请人(仅对美国): 程培元(CHENG, Peiyuan)
[CN/CN]; 翁静(WENG, Jing) [CN/CN]; 方贻功
(FANG, Yigong) [CN/CN]; HIGH TECHNOLOGY
INDUSTRY DEVELOPING ZONE) [CN/CN]; 中国
江苏省南京市浦口高新技术开发区, Jiangsu 210061
(CN).(74) 代理人: 中科专利商标代理有限公司(CHINA
SCIENCE PATENT & TRADEMARK AGENT
LTD); 中国北京市海淀区海润路80号中科大学16层,
Beijing 100080 (CN).(81) 指定国(国家): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA,
BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CR, CU, CZ, DE, DK,
DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU,
ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR,
LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX,
MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK,
SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU,
ZA, ZW(84) 指定国(地区): ARIPO专利(GH, GM, KE, LS, MW,
MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), 欧亚专利(AM, AZ,
BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧洲专利(AT, BE,
CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU,
MC, NL, PT, SE, TR), OAPI专利(BF, BJ, CF, CG,
CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)本国际公布:
— 包括国际检索报告。所引用双字母代码和其它缩写符号, 请参考刊登在每期
PCT公报期刊起始的“代码及缩写符号简要说明”。

(54) Title: LYOPHILIZED POWDER OF LENTINAN AND THE PROCESS OF PREPARATION THEREOF

(54) 发明名称: 香菇多糖冻干粉针剂及其制备方法



(57) Abstract: The present invention discloses an antineoplastic sterile lyophilized powder of lentinan and the process of preparation thereof. The lyophilized powder of lentinan is essentially consisted of 0.50-1.40 parts of lentinan and 50-140 parts of excipient for lyophilization, based on weight. It has good stability. It has improved safety as it does not contain dextran which may cause allergic side effect.

[见续页]

WO 02/07708 A1



(57) 摘要

本发明公开了一种无菌抗肿瘤的香菇多糖冻干粉针剂及其制备方法，其基本上由下述重量配比原料组成：香菇多糖0.50~1.40份，冻干赋形剂50~140份。本发明的产品经临床验证疗效确切，制剂稳定性好，并且由于不含可能引起过敏副作用的右旋糖酐，所以临床使用更安全。

WO 02/07708

PCT/CN01/00311

香菇多糖冻干粉针剂及其制备方法

本发明是关于一种生物反应调节剂及其制备方法，更特别的是关于一种无菌抗肿瘤的香菇多糖冻干粉针剂及其制备方法。

香菇中含蛋白质、杂多糖和香菇多糖等多种成分。香菇多糖(Lentinan)是日本学者千原吴郎从香菇子实体中提取、分离、纯化的一种多糖，其一级结构是以 β -(1-3)葡萄糖为主链， β -(1-6)葡萄糖为侧链的葡聚糖。据文献报道，香菇多糖是一种生物反应调节剂，对多种肿瘤有强的抑制作用，对化学诱癌剂、病毒诱癌剂有预防效果，特别是对于手术后微转移有效，同时具有给药剂量小、副作用小和使用安全等优点。1985年日本厚生省批准香菇多糖作为抗肿瘤新药上市。我国1988年开始进口日本味之素的香菇多糖冻干剂，并用于临床，但日本进口的香菇多糖冻干剂的配方为香菇多糖、右旋糖酐和甘露醇。由于右旋糖酐为发酵产物，作为药用临床上已发现其有过敏性休克导致死亡的案例多起。

在中国专利申请CN-96116294.5中公开了一种香菇多糖注射液及其制备方法，其将香菇多糖溶解在氢氧化钠溶液中，然后加入柠檬酸调节PH值，过滤、消毒得香菇多糖注射液，尽管其可能是有效的，但与本发明的剂型及主要产品的分子量及分子量分布等均不同。

本发明的目的是提供一种不含会产生不良反应的成份的香菇多糖冻干粉针剂。

本发明的目的之二是提供一种制备不含会产生不良反应的成份的香菇多糖冻干粉针剂的制备方法。

本发明的目的之三是提供一种不含右旋糖酐的香菇多糖冻干粉针剂。

本发明的目的之四是提供一种不含右旋糖酐的香菇多糖冻干粉针剂的制备方法。

本发明的这些以及其它目的将通过下列详细说明来进一步描述和体现。

在本发明中，无菌抗肿瘤的香菇多糖冻干粉针剂基本上由下述重量配比原料组成：香菇多糖0.50~1.40份，冻干赋形剂50~140份。

WO 02/07708

PCT/CN01/00311

进一步的, 本发明的无菌抗肿瘤的香菇多糖冻干粉针剂基本上由下述重量配比原料组成: 香菇多糖0.70~1.40份, 冻干赋形剂70~140份。

在本发明中, 无菌抗肿瘤的香菇多糖冻干粉针剂也可以基本上由下述重量配比原料组成: 香菇多糖0.80~1.20份, 冻干赋形剂80~120份。

本发明的无菌抗肿瘤的香菇多糖冻干粉针剂如有必要也可以加入其它医学上可以接受或混用的添加剂和治疗药物, 当然, 这些添加剂和治疗药物不能破坏香菇多糖本身的疗效, 但绝对不含右旋糖酐。

如有必要, 在本发明中还可加入或与其它抗肿瘤药物混用, 适宜的抗肿瘤药物和辅剂可以是熊胆粉、红景天、人参、西洋参、冬虫夏草、灵芝和雪莲花等。

在本发明的无菌抗肿瘤的香菇多糖冻干粉针剂中, 所述的冻干赋形剂可以是甘露醇、葡萄糖、蔗糖或乳糖中的一种, 较好的冻干赋形剂是甘露醇, 如有必要和可能, 也可以使用甘露醇、葡萄糖、蔗糖或乳糖中的任意二者或三者的混合物。

本发明的无菌抗肿瘤的香菇多糖冻干粉针剂的制备方法, 取香菇多糖0.50~1.40重量份, 用20~70重量份的0.5~1.0摩尔浓度的碱液溶解完全, 然后加酸液中和至PH为6.0~8.0, 再与冻干赋形剂50~140重量份混合均匀, 过滤除菌, 分装入瓶, 冻干后, 封口等步骤组成。

进一步的, 本发明的无菌抗肿瘤的香菇多糖冻干粉针剂的制备方法, 由取香菇多糖0.70~1.40重量份, 用20~60重量份的0.5~1.0摩尔浓度的碱液溶解完全, 然后加酸液中和至PH为6.0~8.0, 再与冻干赋形剂70~140重量份混合均匀, 过滤除菌, 分装入瓶, 冻干后, 封口等步骤组成。

本发明的无菌抗肿瘤的香菇多糖冻干粉针剂的制备方法, 也可以由取香菇多糖0.80~1.20重量份, 用20~80重量份的0.5~1.0摩尔浓度的碱液溶解, 然后加酸液中和至PH为6.0~8.0, 再与冻干赋形剂40~120重量份混合均匀, 过滤除菌, 分装入瓶, 冻干后, 封口等步骤组成。

在本发明的无菌抗肿瘤的香菇多糖冻干粉针剂的制备方法中, 所用的冻干赋形剂可以是甘露醇、葡萄糖、蔗糖或乳糖中的一种, 较好的冻干赋形剂是甘露醇; 所用的碱为氢氧化钠, 所用的酸为盐酸。

在本发明的无菌抗肿瘤的香菇多糖冻干粉针剂的制备方法中, 香菇多糖与冻干赋形剂混匀后, 过滤除菌, 测含量 (含量测定采用经典的葱

WO 02/07708

PCT/CN01/00311

酮硫酸法)，灌装于安瓿或西林瓶中，冻干，封口或压盖，检漏或轧盖，贴标签，上述封口或压盖以前的各步操作均在无菌条件下进行。

在本发明中，所使用的香菇多糖包括单香菇多糖和多组份香菇多糖，其为现有技术公知的，并可以从市场购得。进一步的，香菇多糖的提取、分离、纯化方法可参考Nature 1965, 222, 687-8和CN-94115876以及其它专利或非专利文献，上述文献在此并入本发明。

本发明的香菇多糖冻干粉针剂手术前使用或化疗前使用，1~2毫克/次，每周两次；或2毫克/次，每周1~2次。用时溶于250毫克生理盐水或葡萄糖液中，静脉滴注。治疗癌性胸腹水患者，腔内注射4~8毫克/次。具体病例应遵医嘱。

本发明的香菇多糖冻干粉针剂经临床验证疗效确切，制剂稳定性极好，并且由于不含可能引起过敏副作用的右旋糖酐，所以临床使用更安全。而且，由于注射用香菇多糖冻干粉针剂不含右旋糖酐，所用含量测定方法无需先进行特殊装置的柱层析分离去右旋糖酐，可以直接采用蒽酮硫酸法，使含量检测更准确、简便。

一、本发明产品的分子量、分子式、化学结构式

1、分子量测定

经高效凝胶渗透色谱，采用普适校正曲线方法测定分子量大多在40~80万之间。

2、碳核磁共振谱（见表1）

表1

C	香菇多糖样品	Lentinan ⁽⁶⁾	解析
1	104.6	104.6	β -D-(1-3)葡萄糖
2	74.5	74.3	β -D-(1-3)葡萄糖
3	87.7	87.7	β -D-(1-3)葡萄糖
4	70.2	70.2	β -D-(1-3)葡萄糖
5	77.8	77.9	β -D-(1-3)葡萄糖
6	62.5	62.5	β -D-(1-3)葡萄糖
1'	104.9	104.6	β -D-(1-6)葡萄糖
6'	71.5	71.5	β -D-(1-6)葡萄糖

WO 02/07708

PCT/CN01/00311

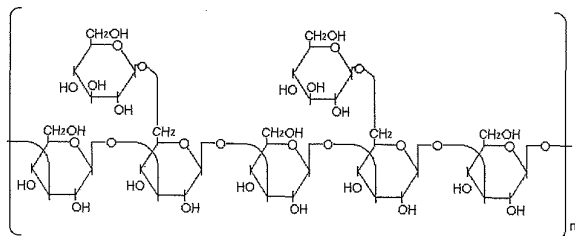
3、红外光谱图（见图1）

4、分子式

经微量元素分析结果表明，分子式为 $(C_6H_{10}O_5)_n$

5、化学结构式

经高碘酸氧化及Smith降解等化学反应结合光谱分析法，香菇多糖的一级结构如下：



二、制剂稳定性考察结果与结论

本发明产品经高温（40℃、60℃、80℃）、高湿（RH92.5%、RH75%、25℃）及光照（4000Lx）等影响因素试验后，外观性状、溶解后澄明度、PH值、含量及无菌检查均符合要求。

本发明产品加速试验（40℃ RH75%）3个月的考察结果，外观性状、溶解后澄明度、PH值、含量、杂质及无菌检查均符合要求。

本发明产品在室温分别留样考察1、3、5、12、18和24个月，经定期取样检查各项项目均符合要求，故本品有效期至少为两年。

在本发明中，所有的原料及辅料等均可以从市场购得，使用的赋形剂除特别指出的外均为注射剂用固体。

以下通过具体实施例来进一步说明本发明，但实施例仅用于说明，并不能限制本发明范围。

在本发明中，若非特指，所有的份、量均为以总重量为基础的重量单位。

例 1

本实施例通过 II 期和 III 期临床试验来证明本发明的香菇多糖冻干剂

WO 02/07708

PCT/CN01/00311

有较好的疗效。

一、II期临床试验:

临床试验由国家指定医疗单位采取双盲、随机方法进行二期临床试验,对各类癌症患者240例采用联合化疗加安慰剂(冻干粉针剂)作为对照组以及联合化疗加香菇多糖作为试验组的试验结果表明,试验组108例,CR+PR 67例,总有效率62%,对照组104例,CR+PR 44例,总有效率43.2%,两者相比, $P < 0.01$,其中胃癌试验组总有效率56.6%,对照组19.4%, $P < 0.01$,非小细胞肺癌试验组总有效率33.3%,对照组11.5%, $P < 0.05$ 。试验组治疗前后淋巴细胞转化率, NK细胞活性和T₄/T₈比值均显著高于对照治疗前后的变化, $P < 0.01$ 。初步试用香菇多糖治疗癌性胸腹水的有效率(13/17) 76.5%的结果与国外文献报道近似。

二、III期临床试验

在中华医学会组织领导下,由中山医科大学肿瘤医院作为负责单位,全国40余家医院参加了三期临床,进一步考察了香菇多糖临床疗效及不良反应,完成可评价指标病例1106例,包括全身用药1047例和胸腹水59病例。

1、并用化疗试验组(565例)总有效率41.1%,对照组(301例)25.2%,两组有显著性差异($P < 0.01$),其中胃癌、NSCLC(非小细胞肺癌)的总有效率试验明显高于对照组($P < 0.01$)。NSCLC的化疗增效作用在此之前未见临床报道日本味之素公司同类产品有此作用。

2、胸腹水:共59例,总有效率52.5%。

3、本试验同时观察了患者细胞免疫功能的变化,结果显示试验三项指标(NK细胞活性T₃ T₄/8)均明显高于对照组,在各主要病种均显示了香菇多糖提高细胞免疫功能的价值。

4、活动状态(PS)

全组1647例,并用化疗试验组(565例)治疗后28.5%病人PS有改善(治疗后比治疗前有显著性差异 $P < 0.01$),而对照组仅6.6%的病人有改善(治疗后比治疗前无差异 $P > 0.05$),试验组与对照组比较有显著差异($P < 0.01$)。

5、减轻化、放疗毒副反应

并用化疗、术后并用化疗:血WBC、P_i下降发生率,试验组明显低于对照组($P < 0.01$),胃肠毒性、肝功能损害试验组亦低于对照组

WO 02/07708

PCT/CN01/00311

($P < 0.01$)，恶心呕吐的发生率试验组明显低于对照组 ($P < 0.01$)。在此之前未见临床报道日本味之素公司同类产品有此作用。

6、不良反应

在所有全身应用香菇多糖的1121例病人中有2例出现颜面潮红，1例胸闷，共计3例，占0.27%，减慢滴注速度或停药后短期内恢复。日本香菇多糖Lentinan II、III期临床试验计469例，不良反应发生32例，占6.8%。

实施例2:

取注射用香菇多糖原料2.00克（纯度98%），加60毫升 1M的氢氧化钠溶液，让其自然溶胀，然后搅拌使其完全溶解，加少量注射用水稀释，搅匀，加1M盐酸中和至PH为6.8~7.0，加市售20%甘露醇注射液1000毫升，搅拌均匀，除菌过滤，测含量（含量测定采用经典的蒽酮硫酸法），加注射用水至药液浓度为每2毫升溶液含香菇多糖1毫克，分装为2毫升/瓶，进行冷冻干燥，出箱、封口、检漏、目检和贴标签即为成品。

实施例3:

取注射用香菇多糖3克，在搅拌下分次逐渐溶于100毫升0.8M氢氧化钠溶液中，并使其完全溶解，然后慢慢加入0.8M盐酸中和，至PH为7.0~7.2。取市售注射用甘露醇300克，加1600毫升注射用水加热溶解，加0.1% W/V注射用活性炭于85℃加热15分钟，冷却至60℃时用3号砂芯滤棒过滤，滤液中加入香菇多糖溶液，然后用滤膜进行除菌过滤，测含量，加注射用水至药液浓度为每2毫升溶液含香菇多糖1.5毫克，灌封于安瓿中，每瓶2毫升至冻干箱中进行冻干，出箱后封口，检漏，贴标签即得。

实施例4:

取注射用香菇多糖原料（市售）4.00克（纯度98%），加120毫升1M的氢氧化钠溶液，让其自然溶胀，搅拌溶解，加少量注射用水稀释，搅匀，加1M盐酸中和至PH为6.8~7.0，加注射用甘露醇400克，加注射用水至总体积为3200毫升，搅拌均匀，除菌过滤，测含量，加注射用水至药液浓度为每2毫升溶液含香菇多糖2毫克，分装为2毫升/瓶，进行冷冻干燥，出箱，封口，检漏，目检，贴标签。

实施例5

取注射用香菇多糖原料2.00克（纯度98%），加50毫升 1M的氢氧化

WO 02/07708

PCT/CN01/00311

钠溶液，让其自然溶胀，搅拌溶解，加适量注射用水稀释，搅匀，加1M盐酸中和至PH6.8~7.0，加注射用葡萄糖200克，加注射用水1600毫升，搅拌均匀，除菌过滤，测含量，加注射用水至药液浓度为每2毫升溶液含香菇多糖2毫克，分装，2毫升/瓶，进行冷冻干燥，出箱，封口，检漏，目检，贴标签。

实施例6:

取注射用香菇多糖原料2.00克（纯度98%），加60毫升 1M的氢氧化钠溶液，让其自然溶胀，搅拌完全溶解，加适量注射用水稀释，搅匀，加1M盐酸中和至PH6.8~7.0，加注射用乳糖200克，加注射用水3200毫升，搅拌均匀，除菌过滤，测含量，加注射用水至药液浓度为每2毫升溶液含香菇多糖1毫克，分装，2毫升/瓶，进行冷冻干燥，出箱，封口，检漏，目检，贴标签。

实施例7:

取注射用香菇多糖原料6.00克（纯度98%），加180毫升 1M的氢氧化钠溶液，让其自然溶胀，搅拌溶解，加少量注射用水稀释，搅匀，加1M盐酸中和，至PH6.8~7.0，加注射用甘露醇400克，加注射用水3200毫升，搅拌均匀，除菌过滤，测含量，加注射用水至药液浓度为每2毫升溶液含香菇多糖3毫克，分装，2毫升/瓶，进行冷冻干燥，出箱，封口，检漏，目检，贴标签。

实施例8:

取注射用香菇多糖原料6.00克（纯度98%），加180毫升 1M的氢氧化钠溶液，让其自然溶胀，搅拌溶解，加少量注射用水稀释，搅匀，加1M盐酸中和，至PH为6.8~7.0，加注射用葡萄糖400克，加注射用水3200毫升，搅拌均匀，除菌过滤，测含量，加注射用水至药液浓度为每2毫升溶液含香菇多糖3毫克，分装，2毫升/瓶，进行冷冻干燥，出箱，封口，检漏，目检，贴标签。

实施例9:

取注射用香菇多糖原料8.00克（纯度98%），加240毫升 1M的氢氧化钠溶液，让其自然溶胀，搅拌溶解，加少量注射用水稀释，搅匀，加1M盐酸中和，至PH为6.8~7.0，加注射用蔗糖400克，加注射用水3200毫升，搅拌均匀，除菌过滤，测含量，加注射用水至药液浓度为每2毫升溶液含香菇多糖4毫克，分装，2毫升/瓶，进行冷冻干燥，出箱，封口，检

WO 02/07708

PCT/CN01/00311

漏，目检，贴标签。

实施例10：

取注射用香菇多糖原料8.00克（纯度98%），加240毫升 1M的氢氧化钠溶液，让其自然溶胀，搅拌溶解，加少量注射用水稀释，搅匀，加1M盐酸中和，至PH6.8~7.0，加注射用葡萄糖400克，加注射用水3100毫升，搅拌均匀，除菌过滤，测含量，加注射用水至药液浓度为每2毫升溶液含香菇多糖4毫克，分装，2毫升/瓶，进行冷冻干燥，出箱，封口，检漏，目检，贴标签。

实施例11：

取注射用香菇多糖原料8.0克（纯度98%），加240毫升 1M的氢氧化钠溶液，让其自然溶胀，搅拌溶解，加少量注射用水稀释，搅匀，加1M盐酸中和，至PH6.8~7.0，加注射用乳糖400克，加注射用水3100毫升，搅拌均匀，除菌过滤，测含量，加注射用水至药液浓度为每2毫升溶液含香菇多糖4毫克，分装，2毫升/瓶，进行冷冻干燥，出箱，封口，检漏，目检，贴标签。

实施例12

除采用注射用香菇多糖8.0克（纯度98%）、加240毫升0.8M氢氧化钠溶液、加盐酸调PH为6.0~6.2，加注射用甘露醇400克，加注射用水3100毫升之外，其余同实施例11。

实施例13

除采用注射用香菇多糖4.0克（纯度98%）、加200毫升0.8M氢氧化钠溶液、加盐酸调PH为6.3~6.4，加注射用乳糖200克，加注射用水3100毫升之外，其余同实施例5。

实施例14

除采用注射用香菇多糖4.0克（纯度98%）、加50毫升0.8M氢氧化钠溶液、加盐酸调PH为6.5~6.6，加注射用蔗糖200克，加注射用水3100毫升之外，其余同实施例4。

实施例15

除采用注射用香菇多糖1.0克（纯度98%）、加50毫升0.8M氢氧化钠溶液、加盐酸调PH为6.0~6.2，加注射用甘露醇200克，加注射用水3100毫升，药液浓度0.5毫克/每2毫升之外，其余同实施例4。

实施例16

WO 02/07708

PCT/CN01/00311

除采用注射用香菇多糖1.0克(纯度98%)、加50毫升1M氢氧化钠溶液、加盐酸调PH为7.0~7.2,加注射用葡萄糖200克,加注射用水3200毫升之外;其余同实施例15。

实施例17

除采用香菇多糖1.0克(纯度98%)、加50毫升0.8M氢氧化钠溶液、加盐酸调PH为7.4~7.6,加注射用蔗糖200克,加注射用水3200毫升之外,其余同实施例15。

实施例18

除采用香菇多糖1.0克(纯度98%)、加50毫升0.8M氢氧化钠溶液、加柠檬酸调PH为7.6~7.8,加注射用乳糖200克,加注射用水3200毫升之外,其余同实施例15。

实施例19

除采用香菇多糖2.0克(纯度98%)、加60毫升0.8M氢氧化钠溶液、加盐酸调PH为7.8~8.0,加注射用甘露醇200克,加注射用水3100毫升之外,其余同实施例6。

实施例20

除采用香菇多糖2.0克(纯度98%)、加50毫升1.0M氢氧化钠溶液、加盐酸调PH为7.8~8.0,加注射用葡萄糖100克,加注射用甘露醇100克,加注射用水3100毫升之外,其余同实施例6。

实施例21

除采用香菇多糖2.0克(纯度98%)、加100毫升1.0M氢氧化钠溶液、加盐酸调PH为7.0~7.1,加注射用乳糖100克,加注射用甘露醇100克,加注射用水3000毫升之外,其余同实施例6。

在本发明中,实施例仅用于说明,但并不能限制本发明的权利要求范围,任何改进和改变均应理解在本发明的范围内,受本发明的权利要求的限制。

权 利 要 求 书

1、一种无菌抗肿瘤的香菇多糖冻干粉针剂，其特征在于其基本上由下述重量配比原料组成：香菇多糖0.50~1.40份，冻干赋形剂50~140份。

2、如权利要求1所述的无菌抗肿瘤的香菇多糖冻干粉针剂，其特征在于其基本上由下述重量配比原料组成：香菇多糖0.70~1.40份，冻干赋形剂70~140份。

3、如权利要求1所述的无菌抗肿瘤的香菇多糖冻干粉针剂，其特征在于其基本上由下述重量配比原料组成：香菇多糖0.80~1.20份，冻干赋形剂80~120份。

4、如权利要求1~3所述的无菌抗肿瘤的香菇多糖冻干粉针剂，其特征在于其不含右旋糖酐。

5、如权利要求1~3所述的无菌抗肿瘤的香菇多糖冻干粉针剂，其特征在于冻干赋形剂可以是甘露醇、葡萄糖、蔗糖或乳糖中的一种。

6、如权利要求1~3所述抗肿瘤的香菇多糖冻干粉针剂，其特征在于冻干赋形剂是甘露醇。

7、一种无菌抗肿瘤的香菇多糖冻干粉针剂的制备方法，其特征在于取香菇多糖0.50~1.40重量份，用20~70重量份的0.5~1.0摩尔浓度的碱液溶解，然后加酸液中和至PH为6.0~8.0，再与冻干赋形剂50~140重量份混合均匀，过滤除菌，分装入瓶，冻干后，封口。

8、如权利要求7所述的无菌抗肿瘤的香菇多糖冻干粉针剂的制备方法，其特征在于取香菇多糖0.70~1.40重量份，用20~60重量份的0.5~1.0摩尔浓度的碱液溶解，然后加酸液中和至PH为6.0~8.0，再与冻干赋形剂70~140重量份混合均匀，过滤除菌，分装入瓶，冻干后，封口。

9、如权利要求7所述的无菌抗肿瘤的香菇多糖冻干粉针剂的制备方法，其特征在于取香菇多糖0.80~1.20重量份，用20~80重量份的0.5~1.0摩尔浓度的碱液溶解，然后加酸液中和至PH为6.0~8.0，再与冻干赋形剂40~120重量份混合均匀，过滤除菌，分装入瓶，冻干后，封口。

10、如权利要求7所述的无菌抗肿瘤的香菇多糖冻干粉针剂的制备方法，其特征在于所述的冻干赋形剂可以是甘露醇、葡萄糖、蔗糖或乳糖

WO 02/07708

PCT/CN01/00311

中的一种。

11、如权利要求7所述的无菌抗肿瘤的香菇多糖冻干粉针剂的制备方法，其特征在于所述的冻干赋形剂是甘露醇。

12、如权利要求7~9所述的无菌抗肿瘤的香菇多糖冻干粉针剂的制备方法，其特征在于所述的碱为氢氧化钠。

13、如权利要求7~9所述的无菌抗肿瘤的香菇多糖冻干粉针剂的制备方法，其特征在于所述的酸为盐酸。

WO 02/07708

PCT/CN01/00311

1/1

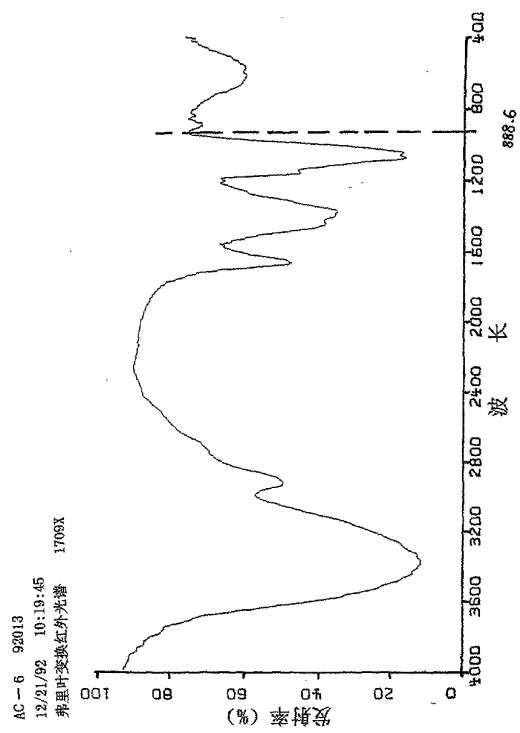


图 1

替换页(细则第26条)

【 国际调查报告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/CN01/00311
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
IPC(7): A61K 9/19, 31/715, A61P 35/00 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC(7): A61K 9, A61K 31		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Chinese Patent Documentation		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) WPI, CAPLUS, CNPAT (lentionan , lyophilize , powder)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Collection of New Variety of Medicin (Pharmaceutical policy office of Ministry of Health, P.R.China) P 418-419, Dec. 1998,	1-13
A	CN1076112A (Guo, Ruming et al.) 15. Sep. 1993 (15.09.93), Whole	1-13
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "I" document which may throw doubts on priority claim (S) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 26.9.2001 (26.09.01)		Date of mailing of the international search report 01 NOV 2001 (01.11.01)
Name and mailing address of the ISA/CN 6 Xilucheng Rd., Jimen Bridge, Haidian District, 100088 Beijing, China Facsimile No. 86-10-62019451		Authorized officer CAO, Jinyu Telephone No. 86-10-62093028

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1998)

国际检索报告		国际申请号 PCT/CN01/00311
A. 主题的分类 IPC(7): A61K 9/19, 31/715, A61P 35/00 按照国际专利分类表(IPC)或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类		
B. 检索领域 检索的最低限度文献(标明分类体系和分类号) IPC(7): A61K 9/19, 31/715		
包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献 中国专利文献		
在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称和, 如果实际可行的, 使用的检索词) WPI, CAPLUS, CNPAT (香菇多糖, 冻干, 粉末)		
C. 相关文件		
类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求编号
A	新药品种资料汇编, 中华人民共和国卫生部药政局编, 1997 年册 第 418 — 419 页, 12 月, 1998	1 — 13
A	CN1076112A (郭如明 等) 15.9 月 1993 (15.09.93), 全文	1 — 13
☐ 其余文件在 C 栏的续页中列出。 ☐ 见同族专利附件。		
* 引用文件的专用类型: "A" 明确叙述了被认为不是特别相关的一般现有技术文件 "B" 在国中专利申请日之前公开的专利文献或专利 "L" 可能引起对优先权要求的怀疑的文件, 为确定另一篇引用文件的公布日期而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件 "O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 "P" 公布于先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 "T" 在申请日或优先权日之后公布的在国文件, 它与申请不相抵触, 但是引用它是为了理解构成发明基础的理论或原理 "X" 特别相关的文件, 仅仅考虑该文件, 权利要求所记载的发明就不能认为是新颖的或不能认为是有创造性 "Y" 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 权利要求记载的发明不具有创造性 "&" 同族专利成员的文件		
国际检索实际完成的日期 26.9 月 2001 (26.09.01)		国际检索报告邮寄日期 01 11 月 2001 (01.11.01)
国际检索单位名称和邮寄地址 ISA/CN 中国北京市海淀区西土城路 6 号(100088) 传真号: 86-10-62019451		受权官员 曹沛燕 电话号码: 86-10-62093028

フロントページの続き

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT,BE,CH,CY,DE,DK,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EE,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NO,NZ,PL,PT,RO,RU,SD,SE,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VN,YU,ZA,ZW

(72)発明者 チェン, グアング

中華人民共和国 2 1 0 0 6 1 ジアングス, ジアンスシェンナンジンシブコウガオジシュカイ
ファチュイ (番地なし)

(72)発明者 程培元

中華人民共和国 2 1 0 0 6 1 ジアングス, ジアンスシェンナンジンシブコウガオジシュカイ
ファチュイ (番地なし)

(72)発明者 翁静

中華人民共和国 2 1 0 0 6 1 ジアングス, ジアンスシェンナンジンシブコウガオジシュカイ
ファチュイ (番地なし)

(72)発明者 方▲貽▼功

中華人民共和国 2 1 0 0 6 1 ジアングス, ジアンスシェンナンジンシブコウガオジシュカイ
ファチュイ (番地なし)

F ターム(参考) 4C076 AA29 BB13 CC27 DD67 FF67 GG07

4C086 AA10 EA20 MA66 NA06 ZB26