

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200810183092.6

[51] Int. Cl.

A61K 31/7068 (2006.01)

A61K 47/42 (2006.01)

A61K 9/08 (2006.01)

A61K 9/19 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

[43] 公开日 2009 年 5 月 13 日

[11] 公开号 CN 101428035A

[22] 申请日 2008.12.4

[21] 申请号 200810183092.6

[30] 优先权

[32] 2007.12.11 [33] CN [31] 200710191184.4

[71] 申请人 常州安孚立德药业技术有限公司

地址 213022 江苏省常州市新北区科技园 2
号楼创业中心 A-502

[72] 发明人 贺欣 贺明

[74] 专利代理机构 南京天华专利代理有限责任公
司

代理人 夏平 刘成群

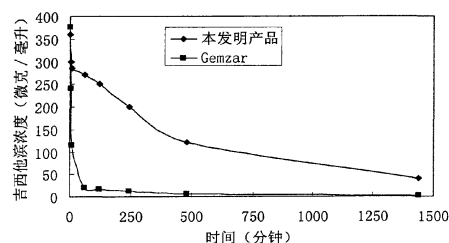
权利要求书 1 页 说明书 15 页 附图 1 页

[54] 发明名称

一种盐酸吉西他滨或吉西他滨组合物

[57] 摘要

本发明属于制药领域，公开了一种盐酸吉西他滨或吉西他滨组合物。该组合物含有下列重量比的组份：盐酸吉西他滨或吉西他滨：聚合物：蛋白质为 0.1~20：0.00~50：0.00~20，其中聚合物和蛋白质不同时为零。该组合物能有效地防止盐酸吉西他滨或吉西他滨在体内迅速失去活性，具有稳定性好、毒性低、疗效好的优点。



1、一种盐酸吉西他滨或吉西他滨组合物，其特征在于该组合物含有下列重量比的组份：

盐酸吉西他滨或吉西他滨：聚合物：蛋白质为 0.1~20：0.00~50：0.00~20；

其中：

聚合物和蛋白质不同时为零；

聚合物为以下一种或几种：聚乙烯吡咯烷酮、聚乙二醇、聚乙烯吡咯烷酮和聚交脂的共聚物、泊洛沙姆；

蛋白质为以下一种或几种：人血清白蛋白、牛血清白蛋白、 α -球蛋白、 β -球蛋白、 γ -球蛋白、纤维蛋白原、铁传递蛋白、铁蛋白。

2、根据权利要求 1 所述的组合物，其特征在于聚合物分子量为 300-100,000Da。

3、根据权利要求 1 所述的组合物，其特征在于聚乙烯吡咯烷酮和聚交脂的共聚物为 $(C_6H_9NO)_m-(C_3H_6O_3)_n$ ，其中 m，n 为 30-80。

4、根据权利要求 1 所述的组合物，其特征在于聚合物为聚乙烯吡咯烷酮。

5、根据权利要求 1 所述的组合物，其特征在于蛋白质分子量为 5000-500,000 Da。

6、根据权利要求 1 所述的组合物，其特征在于蛋白质为人血清白蛋白。

7、根据权利要求 1 所述的组合物，其特征在于该组合物的剂型为注射用溶液或冻干粉针。

一种盐酸吉西他滨或吉西他滨组合物

技术领域

本发明属于制药领域，涉及一种稳定性好、毒性低、高疗效的抗肿瘤盐酸吉西他滨或吉西他滨组合物。

背景技术

盐酸吉西他滨或吉西他滨为抗肿瘤化合物，1996年美国FDA批准了美国Lilly公司生产的盐酸吉西他滨作为治疗胰腺癌的一线药物。1998年批准作为治疗非小细胞肺癌药。1999年我国批准进口盐酸吉西他滨抗肿瘤药物，国产仿制产品与2003年批准上市。

美国专利4808614记录了盐酸吉西他滨或吉西他滨作为一种抗滤过性病原体的化合物，它的抗肿瘤特性被记录在美国专利5464826，该两专利在此引为参考。该两专利中盐酸吉西他滨或吉西他滨的配方技术描述了它可以配制成冻干粉针用于注射，该冻干粉针在注射使用前需水化成溶液。目前，国内外市售盐酸吉西他滨均为冻干粉针剂，在注射或输液前必须水化成溶液。

对盐酸吉西他滨或吉西他滨抗实体肿瘤机理有限的了解导致了盐酸吉西他滨或吉西他滨只能稍微延长癌症病人的生命及中等程度地改善生活质量。主要原因是其在体内很短的血清半衰期（约8-12分钟）抑制了它的抗癌活性。盐酸吉西他滨或吉西他滨在体内很快发生去氨基化反应成没有活性的代谢物。另外，市售盐酸吉西他滨产品的毒性也限制了病人治疗的剂量。

资料显示脂质体作为盐酸吉西他滨或吉西他滨的载药系统可以防止它在体内迅速失去活性。然而目前传统的脂质体技术还很难将盐酸吉西他滨或吉西他滨稳定地包裹入脂质体系统内，因为吉西他滨在体内中性pH值时，其分子量小而能很快地自由出入脂质体双层膜。因此，在盐酸吉西他滨或吉西他滨脂质体制备后不久，盐酸吉西他滨或吉西他滨能快速地扩散出脂质体双层膜，从而降低了产品的稳定性和临床效用。

发明内容

本发明的目的是提供一种稳定性好、毒性低、高疗效的抗肿瘤盐酸吉西他滨或吉西他滨组合物。

本发明的目的是通过下列技术措施实现的：

一种盐酸吉西他滨或吉西他滨组合物，其特征在于该组合物含有下列重量百分比的组份：

盐酸吉西他滨或吉西他滨：聚合物：蛋白质为 0.1~20：0.00~50：0.00~20。

其中：聚合物和蛋白质不同时为零；聚合物为以下一种或几种：聚乙烯吡咯烷酮、聚乙二醇、聚乙烯吡咯烷酮和聚交脂的共聚物、泊洛沙姆；聚合物分子量为 300-100,000 Da。更进一步，聚合物优选聚乙烯吡咯烷酮。聚乙烯吡咯烷酮和聚交脂的共聚物为 $(C_6H_9NO)_m-(C_3H_6O_3)_n$ ，其中 m, n 为 30-80。

蛋白质为以下一种或几种：人血清白蛋白、牛血清白蛋白、 α -球蛋白、 β -球蛋白、 γ -球蛋白、纤维蛋白原、铁传递蛋白、铁蛋白。蛋白质分子量为 5000-500,000 Da。更进一步，蛋白质优选人血清白蛋白。

所述的组合物，其剂型为注射用溶液或冻干粉针。

所述的组合物，该组合物还包括缓冲溶液、渗透压调节剂、抗氧化剂、防腐剂的一种或多种。

其中：

缓冲溶液为磷酸盐、柠檬酸盐、醋酸盐、琥珀酸盐、组氨酸、甘氨酸、碳酸盐、HEPES 缓冲溶液中一种或多种，浓度为 0.1-1000 mM，pH 为 3-12。

渗透压调节剂为氯化钠、氯化钙、蔗糖、麦芽糖、山梨醇、海藻糖、葡萄糖、甘露醇、乳糖、羟丙基-B-环糊精(HPBCD)中一种或多种，用量为组合物总重量的 0.0%-20%。

抗氧化剂为抗坏血酸维生素 C、硫酸氢钠、焦亚硫酸钠、半胱氨酸、N-乙酯基半胱氨酸、EDTA、柠檬酸钠中的一种或多种，用量为组合物总重量的 0.0%-1.5%。

防腐剂为对羟基苯甲酸乙酯、对羟基苯甲酸丙酯、对羟基苯甲酸甲酯、氯化甲酚、苯甲醇中的一种或多种，用量为组合物总重量的 0.0%-2.0%。

制备冻干粉针时可加入以下一种或多种冻干保护剂：甘露醇、蔗糖、乳糖、海藻糖，用量为组合物总重量的 0.1%-30%。

注射用溶液中吉西他滨的浓度为 1mg/ml 至 100mg/ml，其溶液 pH 值为 3.0 至 9.0。

该组合物可与其它抗肿瘤药一起用于制备治疗癌症及细胞增生的药物，例如：顺铂，紫杉醇，阿霉素，5-氟尿嘧啶等。

本发明中“吉西他滨”是指 2'-脱氧-2',2'-二氟胞苷(β -异构体)的各种稳定盐、酸或自由碱的形式。本发明中更适宜的是盐酸吉西他滨。

本发明所提供的组合物可与常用静脉注射液混合使用。例如，但并不仅限于：葡萄糖注射液、氯化钠注射液、乳酸盐缓冲液等一种或多种混合液。

本发明中提供的组合物的制备方法为将聚合物、蛋白质及适量的一种或几种渗透压调节剂、抗氧化剂、防腐剂等溶解在合适的缓冲溶液中，加入盐酸吉西他滨或吉西他滨，待彻底溶解后调节 pH 值。无菌过滤消毒并封灌在玻璃瓶或塑料袋中。本配方亦可选用高温灭菌消毒。最终产品可为溶液或进一步制备成冻干粉。

本发明所提供的组合物可用于人类及动物的肿瘤治疗。用本发明制备的盐酸吉西他滨或吉西他滨组合物可治疗的肿瘤包括但不限于：肺癌，卵巢癌，肠胃系统的癌症包括直肠癌，大肠癌，胰腺癌及胃癌，肝细胞肿瘤，头颈癌，前列腺癌，肾脏细胞癌变，腺棘皮癌，恶性毒瘤，淋巴瘤，白血病，黑素瘤，恶性胶质瘤及脑癌等。

本发明所提供的组合物可与其它制剂一起使用，如抗真菌制剂、抗肿瘤制剂和抗生素等。

很明显，可对本发明技术进行一些变更或改善，如原料和方法，但这并不意味着这些改变超出本公开发明的范畴。

本发明有益效果：

本发明专利实际包含了三个配方体系：配方体系一：含有盐酸吉西他滨或吉西他滨，聚合物和白蛋白的溶液或冻干粉；配方体系二：含有盐酸吉西他滨或吉西他滨和聚合物的溶液或冻干粉；配方体系三：含有盐酸吉西他滨或吉西他滨和白蛋白的溶液或冻干粉；本专利发明所研制的三个配方体系均能有效地防止盐酸吉西他滨或吉西他滨在体内迅速失去活性，并有效地降低毒副作用，从而提高了其抗肿瘤疗效。本发明涉及到盐酸吉西他滨或吉西他滨、聚合物和白蛋白形成分子粘合，或盐酸吉西他滨或吉西他滨单独与聚合物或白蛋白形成分子粘合，从而保护了盐酸吉西他滨或吉西他滨在体内迅速发生去氨基化反应成为无活性的代谢物，提高了盐酸吉西他滨或吉西他滨在体内的半衰期，大大提高其疗效。另外，盐酸吉西他滨或吉西他滨所形成的分子粘合这一体系有助于盐酸吉西他滨或吉西他滨有效地作用于体内癌细胞，使其毒副作用得到降低，同时也提高了疗效。相对于市售同类产品，本发明提供的三个配方体系的盐酸吉西他滨或吉西他滨组合物对人体毒性显著降低，其疗效也明显提高。

本发明专利的三个配方体系均具有相同的稳定性。配方体系三具有较高的药物耐受性但其盐酸吉西他滨或吉西他滨与白蛋白的粘合率相对较低，因此其所考察的老鼠异种移植模型疗效相对稍低。配方体系二中盐酸吉西他滨或吉西他滨与聚合物具有相对稍高

的粘合率故其在去氧胞啶脱氨酶存在时相对较稳定。另外该配方体系的产品可用高温灭菌从而最大限度地保证了产品的无菌性。且该配方体系生产工艺简单，成本低并且临床使用简单方便。但该配方体系的药物耐受性相对较低。配方体系一中盐酸吉西他滨或吉西他滨、聚合物和白蛋白形成的分子粘合率较高且其所考察的老鼠异种移植模型疗效相对稍高，但其在去氧胞啶脱氨酶存在时稳定性及药物耐受性表现一般，且该配方体系成本较高。但本发明专利的三个配方体系相对于市售同类产品均明显地提高了药物耐受性，很大程度上提高了盐酸吉西他滨或吉西他滨在去氧胞啶脱氨酶存在时的稳定性，从而大大提高了疗效。

附图说明

图 1：血液中吉西他滨的浓度与时间的关系。

具体实施方式

以下通过实施例对本发明作进一步的阐述。

以下实施例中采用“~”表示“约”或“左右”的意思，亦包括“等于”。

制备实施例 1：100 ml 盐酸吉西他滨溶液和 100 mg/瓶盐酸吉西他滨冻干粉

制备组成：盐酸吉西他滨	1000 mg
人血清白蛋白 (~MW 66K)	10000mg
聚乙烯吡咯烷酮 (K17)	10000 mg
磷酸氢二钠	1420 mg
甘露醇	3000 mg
维生素 C	0.5 mg
注射水	适量
盐酸或氢氧化钠	适量

制备方法：将磷酸氢二钠溶解于注射水中，调节 pH 值到 7.5 后制备成磷酸氢二钠缓冲溶液。将人血清白蛋白，聚乙烯吡咯烷酮，甘露醇，维生素 C 溶解于磷酸氢二钠缓冲溶液中，完全溶解后加入盐酸吉西他滨，待彻底溶解后调节 pH 值到 7.5 并用制备的缓冲溶液定容，过滤灭菌后将溶液灌装于 type I 玻璃瓶中成最终产品或真空冷冻干燥后制成冻干粉产品。

制备实施例 2：10 ml 盐酸吉西他滨溶液

制备组成：盐酸吉西他滨	150 mg
-------------	--------

牛血清白蛋白(~MW69K)	600 mg
聚乙烯吡咯烷酮 (K17)	1000 mg
磷酸二氢钠	120 mg
蔗糖	300 mg
EDTA	0.05 mg
注射水	适量
盐酸或氢氧化钠	适量

制备方法：将磷酸二氢钠溶解于注射水中，调节 pH 值到 7.4 后制备成磷酸二氢钠缓冲溶液。将牛血清白蛋白，聚乙烯吡咯烷酮，蔗糖和 EDTA 溶解于磷酸二氢钠缓冲溶液中，完全溶解后加入盐酸吉西他滨，待彻底溶解后调节 pH 值到 7.4 并用制备的缓冲溶液定容，过滤灭菌后将溶液灌装于 type I 玻璃瓶中成最终产品。

制备实施例 3：10 ml 盐酸吉西他滨溶液

制备组成：盐酸吉西他滨	50 mg
人血清白蛋白(~MW66K)	1000 mg
聚乙烯吡咯烷酮(K17)	500 mg
柠檬酸	154 mg
氯化钠	500 mg
维生素 C	0.05 mg
甘露醇	100 mg
注射水	适量
盐酸或氢氧化钠	适量

制备方法：将柠檬酸溶解于注射水中，调节 pH 值到 7.0 后制备成柠檬酸缓冲溶液。将人血清白蛋白，聚乙烯吡咯烷酮，氯化钠，维生素 C 和甘露醇溶解于柠檬酸缓冲溶液中，完全溶解后加入盐酸吉西他滨，待彻底溶解后调节 pH 值到 7.0 并用制备的缓冲溶液定容，过滤灭菌后将溶液灌装于 type I 玻璃瓶中成最终产品。

制备实施例 4：100 mg/瓶盐酸吉西他滨冻干粉

制备组成：盐酸吉西他滨	100 mg
α -球蛋白(~100K)	1000 mg

聚乙烯吡咯烷酮(K17)	1000 mg
组氨酸	155 mg
乳糖	1000 mg
注射水	适量
盐酸或氢氧化钠	适量

制备方法：将组氨酸溶解于注射水中，调节 pH 值到 6.5 后制备成组氨酸缓冲溶液。将 α -球蛋白，聚乙烯吡咯烷酮和乳糖溶解于组氨酸缓冲溶液中，完全溶解后加入盐酸吉西他滨，待彻底溶解后调节 pH 值到 6.5 并用制备的缓冲溶液定容，过滤灭菌后将溶液灌装于 type I 玻璃瓶中，真空冷冻干燥后制成冻干粉产品。

制备实施例 5：10 ml 吉西他滨溶液

制备组成：吉西他滨	200 mg
铁传递蛋白 (~MW75K)	1000 mg
聚乙二醇 (~MW600)	250 mg
组氨酸	155 mg
葡萄糖	300 mg
对羟基苯甲酸甲酯	10 mg
对羟基苯甲酸丙酯	0.5 mg
盐酸或氢氧化钠	适量

制备方法：将组氨酸溶解于注射水中，调节 pH 值到 5.5 后制备成组氨酸缓冲溶液。将铁传递蛋白，聚乙二醇，葡萄糖，对羟基苯甲酸甲酯和对羟基苯甲酸丙酯溶解于组氨酸缓冲溶液中，完全溶解后加入吉西他滨，待彻底溶解后调节 pH 值到 5.5 并用制备的缓冲溶液定容，过滤灭菌后将溶液灌装于 type I 玻璃瓶中成最终产品。

制备实施例 6：10 ml 盐酸吉西他滨溶液

制备组成：盐酸吉西他滨	100 mg
人血清白蛋白 (~MW 66K)	1000mg
聚乙烯吡咯烷酮和聚交脂的共聚物 m=n=50 (~MW100K)	1000 mg
醋酸钠	50 mg
乳糖	500 mg

EDTA	0.05 mg
氯化甲酚	5.0mg
注射水	适量
盐酸或氢氧化钠	适量

制备方法：将醋酸钠溶解于注射水中，调节 pH 值到 6.0 后制备成醋酸钠缓冲溶液。将聚乙烯吡咯烷酮和聚交脂的共聚物，乳糖，EDTA 和氯化甲酚溶解于醋酸钠缓冲溶液中，完全溶解后加入盐酸吉西他滨，待彻底溶解后调节 pH 值到 6.0 并用制备的缓冲溶液定容，过滤灭菌后将溶液灌装于 type I 玻璃瓶中成最终产品。

制备实施例 7：200 mg/瓶盐酸吉西他滨冻干粉

制备组成：盐酸吉西他滨	200 mg
人血清白蛋白 (~MW66K)	800 mg
泊洛沙姆 188	1200 mg
组氨酸	155 mg
维生素 C	0.1 mg
葡萄糖	2000 mg
注射水	适量
盐酸或氢氧化钠	适量

制备方法：将组氨酸溶解于注射水中，调节 pH 值到 7.0 制备成组氨酸缓冲溶液。将人血清白蛋白，泊洛沙姆 188，维生素 C 和葡萄糖溶解于组氨酸缓冲溶液中，完全溶解后加入盐酸吉西他滨，待彻底溶解后调节 pH 值到 7.0 并用制备的缓冲溶液定容，过滤灭菌后将溶液灌装于 type I 玻璃瓶中，真空冷冻干燥后制成冻干粉产品。

制备实施例 8：10 ml 盐酸吉西他滨溶液

制备组成：盐酸吉西他滨	200 mg
聚乙烯吡咯烷酮 (K17)	1500 mg
磷酸氢二钠	142 mg
维生素 C	0.5 mg
注射水	适量
盐酸或氢氧化钠	适量

制备方法：将磷酸氢二钠溶解于注射水中，调节 pH 值到 8.0 后制备成磷酸氢二钠缓冲溶液。将聚乙烯吡咯烷酮、维生素 C 溶解于磷酸氢二钠缓冲溶液中，完全溶解后加入盐酸吉西他滨，待彻底溶解后调节 pH 值到 7.0 并用制备的磷酸氢二钠缓冲溶液定容，过滤灭菌后将溶液灌装于 type I 西林瓶中成最终产品。

制备实施例 9：10 ml 盐酸吉西他滨溶液

制备组成：盐酸吉西他滨	400 mg
聚乙烯吡咯烷酮 (K17)	2000 mg
磷酸二氢钠	71 mg
氯化钠	30 mg
EDTA	0.5 mg
注射水	适量
盐酸或氢氧化钠	适量

制备方法：将磷酸二氢钠溶解于注射水中，调节 pH 值到 7.4 后制备成磷酸二氢钠缓冲溶液。将聚乙烯吡咯烷酮，氯化钠和 EDTA 溶解于磷酸二氢钠缓冲溶液中，完全溶解后加入盐酸吉西他滨，待彻底溶解后调节 pH 值到 7.4 并用制备的磷酸二氢钠缓冲溶液定容，高温灭菌后将溶液灌装于 type I 西林瓶中成最终产品。

制备实施例 10：400 mg/瓶盐酸吉西他滨冻干粉

制备组成：盐酸吉西他滨	400 mg
牛血清白蛋白(~MW69K)	600 mg
聚乙烯吡咯烷酮 (K17)	1000 mg
蔗糖	2000 mg
注射水	适量

制备方法：将牛血清白蛋白，聚乙烯吡咯烷酮及蔗糖溶解于水溶液中，完全溶解后加入盐酸吉西他滨，待彻底溶解后定容，过滤灭菌后将溶液灌装于 type I 玻璃瓶中真空冷冻干燥后成最终产品。

制备实施例 11：250 mg/瓶盐酸吉西他滨冻干粉

制备组成：盐酸吉西他滨	250 mg
-------------	--------

人血清白蛋白(~MW66K)	500 mg
蔗糖	2500 mg
注射水	适量

制备方法：将人血清白蛋白及蔗糖溶解于水溶液中，完全溶解后加入盐酸吉西他滨，待彻底溶解后定容，过滤灭菌后将溶液灌装于 type I 玻璃瓶中真空冷冻干燥后成最终产品。

制备实施例 12：400 mg/瓶盐酸吉西他滨冻干粉

制备组成：盐酸吉西他滨	400 mg
聚乙烯吡咯烷酮(K17)	2000 mg
蔗糖	2500 mg
注射水	适量

制备方法：将聚乙烯吡咯烷酮及蔗糖溶于水溶液中，完全溶解后加入盐酸吉西他滨，待彻底溶解后用水定容，过滤灭菌后将溶液灌装于 type I 玻璃瓶中真空冷冻干燥后成最终产品。

制备实施例 13：400 mg/瓶盐酸吉西他滨冻干粉

制备组成：盐酸吉西他滨	400 mg
牛血清白蛋白(~MW69K)	1000 mg
聚乙烯吡咯烷酮 (K17)	3000 mg
注射水	适量

制备方法：将牛血清白蛋白和聚乙烯吡咯烷酮溶解于水溶液中，完全溶解后加入盐酸吉西他滨，待彻底溶解后用水溶液定容，过滤灭菌后将溶液灌装于 type I 玻璃瓶中真空冷冻干燥后成最终产品。

制备实施例 14：400 mg/瓶盐酸吉西他滨冻干粉

制备组成：盐酸吉西他滨	400 mg
人血清白蛋白(~MW66K)	1000 mg
磷酸二氢钠	142 mg
EDTA	0.5 mg

蔗糖	2500 mg
注射水	适量
盐酸或氢氧化钠	适量

制备方法：将磷酸二氢钠溶解于注射水中，调节 pH 值到 5.5 后制备成磷酸二氢钠缓冲溶液。将人血清白蛋白，蔗糖，和 EDTA 溶解于磷酸二氢钠缓冲溶液中，完全溶解后加入盐酸吉西他滨，待彻底溶解后调节 pH 值到 4.5 并用制备的缓冲溶液定容，过滤灭菌后将溶液灌装于 type I 玻璃瓶中真空冷冻干燥后成最终产品。

效果实施例 1：本发明中盐酸吉西他滨或吉西他滨粘合率测试

分离粘合与非粘合盐酸吉西他滨或吉西他滨可通过过滤及离心技术来完成。具体来说，将 0.5 ml 盐酸吉西他滨或吉西他滨溶液（本效果实施例分别考察了实施例 1，实施例 9，实施例 11 及同浓度的盐酸吉西他滨水溶液）置入一过滤小管中过滤膜上。该过滤小管中装有的过滤膜为 3000 分子量截留过滤膜，将装完样品的过滤小管放入另一约 1.5 ml 的聚丙烯套管内并加盖住，该聚丙烯套管用于收集过滤后的滤液，将此装有过滤小管的聚丙烯套管放入离心机离心 45 分钟以将非粘合的盐酸吉西他滨或吉西他滨从样品中分开，收集离心后溶液(为非粘合盐酸吉西他滨或吉西他滨溶液)并用液相色谱法（Phenomenex Luna C8 column； 紫外线检测波长 275 nm；流动相 A 为甲醇，流动相 B 为磷酸盐缓冲液；用梯度法分析，甲醇组份从起始时的 95%到 20 分钟时的 55%。）分析其含量，其粘合率计算为：（样品中盐酸吉西他滨或吉西他滨总量 - 非粘合盐酸吉西他滨或吉西他滨）/样品中盐酸吉西他滨或吉西他滨总量 x 100%。 实施例 1，9 及 11 中盐酸吉西他滨粘合率均大于 70%（见表 1），而同浓度的盐酸吉西他滨水溶液其粘合率为 0.1%。

表 1：盐酸吉西他滨配方的粘合率测试

检测日期 (月)	贮存条件	粘合率(%)			
		实施例 1		实施例 9	实施例 11
		注射溶液	冻干粉	注射溶液	冻干粉
0		92.3	73.5	85.2	72.1
0.25	40°C	82.7	82.3	8.1	75.6
0.5	40°C	85.0	91.0	83.7	74.3
	25°C	91.3	88.7	87.6	75.5
0.75	40°C	91.7	89.2	83.9	73.2
1.0	40°C	88.0	80.9	82.0	72.8
	25°C	87.6	84.6	83.1	77.9

	2-8°C	80.6	88.2	82.5	75.1
1.25	40°C	93.5	81.4	83.4	72.6
1.5	40°C	82.1	92.5	88.3	73.0
2.0	40°C	83.1	91.3	82.2	71.8
	25°C	86.2	87.6	86.7	74.7
	2-8°C	90.0	85.4	90.2	74.6
2.5	40°C	91.1	92.0	80.9	71.6
	25°C	91.7	93.8	83.2	73.8
3.0	40°C	82.9	90.5	82.9	72.2
	25°C	81.8	86.8	81.3	75.6
	2-8°C	94.1	89.6	87.1	75.7
6.0	40°C	93.0	83.4	82.0	71.1
	25°C	81.8	88.0	85.2	74.9
	2-8°C	83.1	92.3	81.1	73.7

效果实施例 2：盐酸吉西他滨或吉西他滨在去氧胞啶脱氨酶存在时的稳定性

将盐酸吉西他滨组合物（按实施例 1，实施例 9 及实施例 11 制备）及市售 Lilly 公司生产的盐酸吉西他滨冻干粉“Gemzar”（200 毫克/瓶）分别用磷酸缓冲盐溶液（pH7.4）配制成溶液，各溶液中其盐酸吉西他滨或吉西他滨浓度均为 0.1 mg/ml。将去氧胞啶脱氨酶（50 单位/ml）加入以上各稀释后的溶液中，其去氧胞啶脱氨酶的最后浓度调节为 5 单位/ml，将该两混合液在 37°C 下孵化 24 小时，在不同的时间各抽取一定量的混合液并用液相色谱法（Phenomenex Luna C8 column；紫外线检测波长 275 nm；流动相 A 为甲醇，流动相 B 为磷酸盐缓冲液；用梯度法分析，甲醇组份从起始时的 95% 到 20 分钟时的 55%）检测其盐酸吉西他滨或吉西他滨的含量。计算盐酸吉西他滨或吉西他滨在不同检测点的浓度。数据显示（见表 2），发明专利的三个配方体系比市售 Lilly 公司生产的盐酸吉西他滨冻干粉“Gemzar”（200 毫克/瓶）在去氧胞啶脱氨酶溶液中更稳定。

表 2：盐酸吉西他滨或吉西他滨在去氧胞啶脱氨酶存在时的稳定性

检测时间(分钟)	浓度(%)			
	Gemzar	实施例 1	实施例 9	实施例 11
0	100	100	100	100
5	85.9	99.4	99.9	92.1
10	73.6	94.8	95.6	90.0
20	21.3	88.9	93.8	86.9
30	18.6	75.6	88.7	75.1
60	6.8	68.7	71.2	66.3

120	2.4	52.7	58.6	50.8
240	1.2	34.2	42.5	31.5
480	0	21	30.0	21.8
1440	0	10.4	21.4	11.2

效果实施例 3：盐酸吉西他滨配方的稳定性测试

将盐酸吉西他滨溶液及冻干粉（按实施例 1，实施例 9 及实施例 11 制备制备）存放在 2-8℃、25℃及 40℃，在不同的测定用液相色谱法（Phenomenex Luna C8 column；紫外线检测波长 275 nm；流动相 A 为甲醇，流动相 B 为磷酸盐缓冲液；用梯度法分析，甲醇组份从起始时的 95%到 20 分钟时的 55%）检测其盐酸吉西他滨的含量，数据显示（见表 3 和表 4）本发明专利的三个配方体系在所考察温度下六个月内均有相当的稳定性。

表 3：盐酸吉西他滨配方的稳定性测试-----实施例 1

检测日期 (月)	贮存条件	浓度(%)	
		注射溶液	冻干粉
0		100.0	100.0
0.25	40℃	102.0	101.2
0.5	40℃	99.9	99.1
	25℃	100.1	102.3
0.75	40℃	98.8	101.6
1.0	40℃	98.9	99.2
	25℃	98.2	99.3
	2-8℃	100.5	99.8
1.25	40℃	98.7	101.2
1.5	40℃	98.6	101.4
2.0	40℃	97.4	100.3
	25℃	99.5	99.4
	2-8℃	99.3	100.1
2.5	40℃	97.6	98.5
	25℃	99.6	99.7
3.0	40℃	98.1	99.0
	25℃	100.2	100.8
	2-8℃	99.9	101.6
6.0	40℃	97.2	98.9
	25℃	100.4	100.2
	2-8℃	98.9	101.4

表 4：盐酸吉西他滨配方的稳定性测试-----实施例 9 和 11

检测日期 (月)	贮存条件	浓度(%)	
		实施例 9	实施例 11
0		100.0	100.0
0.25	40°C	99.0	100.2
0.5	40°C	98.6	99.9
	25°C	99.1	100.2
0.75	40°C	98.1	100.0
1.0	40°C	96.9	99.6
	25°C	98.4	99.8
	2-8°C	98.6	99.7
1.25	40°C	97.4	99.7
1.5	40°C	97.8	99.1
2.0	40°C	96.3	99.3
	25°C	97.8	100.1
	2-8°C	99.0	100.4
2.5	40°C	95.8	98.8
	25°C	96.6	99.5
3.0	40°C	95.1	98.6
	25°C	97.6	100.2
	2-8°C	98.2	100.6
6.0	40°C	95.3	98.0
	25°C	97.8	100.0
	2-8°C	98.5	100.4

效果实施例 4：最大耐受剂量试验

本实验考察本发明的盐酸吉西他滨组合物（按实施例 1，实施例 9 及实施例 11 制备）及市售 Lilly 公司生产的盐酸吉西他滨冻干粉“Gemzar”（200 毫克/瓶）对乳鼠的最大耐受剂量。在不同考察剂量下，将雄性乳鼠分为四组，每组各 10 只，各组内所有乳鼠均由鼠尾静脉注射相同剂量的所考察的盐酸吉西他滨溶液。第一组乳鼠注射市售 Lilly 公司生产的盐酸吉西他滨冻干粉“Gemzar”（200 毫克/瓶）水化后的溶液，第二组乳鼠注射实施例 1 所配制的盐酸吉西他滨冻干粉水化后的溶液，第三组乳鼠注射实施例 9 所配制的盐酸吉西他滨溶液，第四组乳鼠注射实施例 11 所配制的盐酸吉西他滨冻干粉水化后的溶液。第 1 天注射所考察的最低剂量（10mg/kg），注射剂量每隔七天相应增加。直至所有考察的乳鼠全部死亡。观察所有乳鼠在不同剂量下对所考察的不同盐酸吉西他滨组合物的死亡率。表 5 是数据总结。

表 5：最大耐受剂量试验

剂 量 (mg/kg)	死 亡 率(%)			
	Gemzar	实施例 1（溶液）	实施例 9	实施例 11
10	0	0	0	0
15	0	0	0	0
20	0	0	0	0
25	10	0	0	0
30	30	0	0	0
40	70	0	20	0
50	100	20	30	10
60		60	70	30
70		90	100	50
80		100		80
90				100

效果实施例 5：小鼠药代动力学研究

本实验考察本发明盐酸吉西他滨溶液(实施例 1)及市售 Lilly 公司生产的盐酸吉西他滨冻干粉“Gemzar”（200 毫克/瓶）对乳鼠的药代动力学研究。将 32 只雄性乳鼠分为两组，每组各 16 只，其中一组对所有乳鼠均由鼠尾静脉注射 20 毫克/公斤的本发明盐酸吉西他滨溶液。另外一组所有乳鼠用相同方法注射相同剂量水化后的“Gemzar”冻干粉。在每个测试时间点，从各组随机取 2 只乳鼠并采集每只乳鼠血液于肝素化的采集瓶内。待血红细胞分离后，用液相色谱法（Phenomenex Luna C8 column；紫外线检测波长 275 nm；流动相 A 为甲醇，流动相 B 为磷酸盐缓冲液；用梯度法分析，甲醇组份从起始时的 95%到 20 分钟时的 55%）分析血浆中盐酸吉西他滨或吉西他滨的浓度。将各组血浆中盐酸吉西他滨或吉西他滨的浓度相对于个测试时间点作图得到两条曲线。确定各曲线下面积（AUC）及盐酸吉西他滨的半衰期，见表 6 和图 1。数据显示本发明的盐酸吉西他滨溶液的 AUC 和半衰期明显高于市售盐酸吉西他滨冻干粉。

表 6：药代动力学研究

考察样品	剂量（毫克/公斤）	AUC（微克小时/毫升）	半衰期(小时)
Gemzar	20	89	0.2
本发明组合物	20	4570	13.0

效果实施例 6：老鼠异种移植模型疗效试验

将培育长大的肺癌细胞(A549)（ 2×10^6 cells）例腹皮下注射于 SCID 老鼠，当接种

的肺癌细胞长大至 $65-120\text{mm}^3$ 时,开始注射所考察的盐酸吉西他滨溶液。将所有接种的老鼠分成不同的组,每组 5 只,分别注射安慰剂、本发明盐酸吉西他滨溶液(按实施例 1 及 9 制备)、本发明盐酸吉西他滨冻干粉(按实施例 11 制备)水化后的溶液、及市售 Lilly 公司生产的盐酸吉西他滨冻干粉“Gemzar”(200 毫克/瓶)水化后的溶液,其考察剂量为 20mg/kg 及 30mg/kg ,每隔一周注射一次,连续注射三周,每 2-3 天观察检测癌细胞的体积。盐酸吉西他滨的疗效用注射后癌细胞的体积占注射前癌细胞的体积百分比来评价,数据总结如下(见表 7、8)。结果显示本发明专利的三个配方体系的疗效明显高于市售盐酸吉西他滨。

表 7: 老鼠异种移植模型疗效试验-----实施例 1

考察时间 (天)	注射后癌细胞的平均体积占注射前癌细胞的平均体积百分比 (注射前癌细胞的平均体积= 82mm^3)				
	安慰剂	剂量: 20mg/kg		剂量: 30mg/kg	
		本发明产品	Gemzar	本发明产品	Gemzar
0	100	100	100	100	100
3	120	101	113	95	112
7	200	99	131	90	125
10	380	104	227	83	161
14	590	110	354	81	160
17	810	119	417	75	312
21	1070	135	565	61	458

表 8: 老鼠异种移植模型疗效试验-----实施例 9 及 11

考察时间 (天)	注射后癌细胞的平均体积占注射前癌细胞的平均体积百分比 (注射前癌细胞的平均体积= 85mm^3)						
	安慰剂	剂量: 20mg/kg			剂量: 30mg/kg		
		实施例 9	实施例 11	Gemzar	实施例 9	实施例 11	Gemzar
0	100	100	100	100	100	100	100
3	120	110	118	111	105	110	115
7	200	102	114	122	97	100	119
10	380	115	122	174	87	90	163
14	590	118	131	214	86	92	197
17	810	120	148	305	85	87	212
21	1070	141	164	478	79	89	395

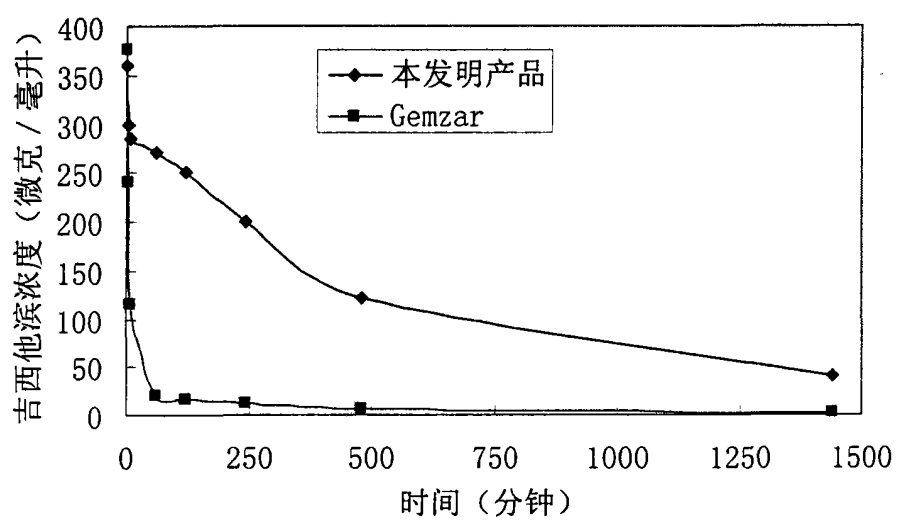


图 1