

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.

A61K 31/427 (2006.01)

A61K 9/127 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)



# [12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200510045196.7

[43] 公开日 2006 年 8 月 9 日

[11] 公开号 CN 1813721A

[22] 申请日 2005.11.22

[21] 申请号 200510045196.7

[71] 申请人 菏泽睿鹰制药集团有限公司

地址 274039 山东省菏泽市牡丹区北城薛楼

[72] 发明人 彭继先

[74] 专利代理机构 济南圣达专利商标事务所

代理人 郑华清

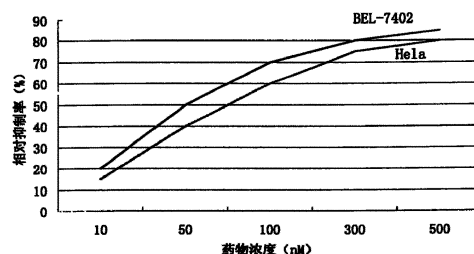
权利要求书 2 页 说明书 8 页 附图 1 页

## [54] 发明名称

一种埃坡霉素 B 脂质体制剂及应用

## [57] 摘要

本发明公开了一种埃坡霉素 B 脂质体制剂，是由埃坡霉素 B、磷脂、胆固醇、氨基酸和甘露醇组成，其重量百分比为：埃坡霉素 B 0.1% ~ 2%，磷脂 10% ~ 50%，胆固醇 5% ~ 50%，氨基酸 0.5% ~ 5%，甘露醇 10% ~ 70%。本发明所述的埃坡霉素 B 脂质体制剂为非肠道用制剂，用于制备治疗起源于人及动物组织或器官的原发或继发的癌、肉瘤或癌肉瘤的药物。本发明的埃坡霉素 B 脂质体制剂稳定性好，不易结晶，且易于溶解，临床使用可提高埃坡霉素 B 的治疗效果，降低毒性，减轻变态和免疫反应。



1. 一种埃坡霉素 B 脂质体制剂, 其特征在于, 由埃坡霉素 B、磷脂、胆固醇、氨基酸和甘露醇组分组成, 其重量百分比为:

埃坡霉素 B	0.1%—2%
磷 脂	10%—50%
胆 固 醇	5%—50%
氨 基 酸	0.5%—5%
甘 露 醇	10%—70%

2. 如权利要求 1 所述的埃坡霉素 B 脂质体制剂, 其特征在于, 所述组分的重量百分比为:

埃坡霉素 B	0.1%—1%
磷 脂	20%—40%
胆 固 醇	5%—30%
氨 基 酸	0.5%—3%
甘 露 醇	40%—70%

3. 如权利要求 2 所述的埃坡霉素 B 脂质体制剂, 其特征在于, 所述组分的重量百分比为:

埃坡霉素 B	0.5%
磷 脂	30%
胆 固 醇	18%
氨 基 酸	1.5%
甘 露 醇	50%

4. 如权利要求 1~3 之一所述的埃坡霉素 B 脂质体制剂, 其特征在于, 所述的磷脂是自然类磷脂或合成类磷脂以及二者的混合物, 该混合物的重量比例是 9: 1 至 1: 9。

5. 如权利要求 4 所述的埃坡霉素 B 脂质体制剂, 其特征在于, 所述的自然类磷脂为卵磷脂、脑磷脂或豆磷脂。

6. 如权利要求 4 所述的埃坡霉素 B 脂质体制剂, 其特征在于, 所述的合成类磷脂为二肉豆蔻酰卵磷脂、二棕榈酰磷脂酰胆碱、二肉豆蔻酰磷脂酰胆碱、聚乙二醇二硬脂酰磷脂酰乙醇胺、脑磷脂丁二酸单酰胺、二油酰磷脂酰甘油、二油酰磷脂酰胆碱、二油酰磷脂酰乙醇胺、磷酸卵磷脂、硬脂酰胺、氢化豆磷脂、磷脂酰丝氨酸、磷脂酸。

7. 如权利要求 1~3 之一所述的埃坡霉素 B 脂质体制剂, 其特征在于, 所述的氨基酸是赖氨酸、苏氨酸或蛋氨酸。

8. 权利要求 1~3 之一所述的埃坡霉素 B 脂质体制剂, 其特征在于, 所述的埃坡霉素 B 脂质体制剂为非肠道用制剂。

9. 如权利要求 8 所述的埃坡霉素 B 脂质体制剂, 其特征在于, 所述的埃坡霉素 B 脂质体制剂为非肠道用冻干制剂。

10. 权利要求 1~3 之一所述之埃坡霉素 B 脂质体制剂的应用, 用于制备治疗起源于人及动物大脑、中枢神经系统、肾脏、肝脏、胆囊、胰腺、甲状腺、肺脏、食管、纵隔、胃、乳腺、子宫、子宫内膜、子宫颈、卵巢、输卵管、前列腺、膀胱、结直肠、头颈部、眼睛、鼻咽部、口腔、淋巴结、淋巴管等淋巴系统、皮肤、粘膜、腺体、血液、血管、骨组织、脂肪的原发或继发的癌、肉瘤或癌肉瘤的药物。

## 一种埃坡霉素B脂质体制剂及应用

### 技术领域

本发明涉及一种脂质体制剂及其应用。更具体地说，本发明涉及一种埃坡霉素 B 的脂质体制剂及其制备方法，与在制备抗肿瘤疾病的药物中的应用。

### 背景技术

天然产物埃坡霉素 A-F (Epothilones A-F) 为具有细胞毒作用的十六元环大环内酯类化合物，最早是从 *Sorangium Cellulosum* Stain 90 菌株中分离得到。研究表明，埃坡霉素 B 不仅具有强效的抗肿瘤作用，而且在抑制肿瘤多药耐药性方面有较强的作用，其抗肿瘤作用机制与紫杉醇非常相似，是一类新型的微管稳定剂，具有促进 GTP 依赖性微管蛋白聚合形成微管的作用，并且对微管具有稳定作用，而通过稳定微管组装过程抑制微管的解聚，导致微管束的排列异常，形成星状体，进而抑制了细胞形成正常的有丝分裂纺锤体，从而抑制肿瘤细胞的生长，甚至诱导其死亡。在国外，瑞士 Novartis 公司研制的埃坡霉素 B (EP0906) 正在进行 II 期临床研究。

临床上，在将埃坡霉素 B 用于治疗患者疾病之前，必须将其配制成可给予患者的制剂形式。目前，国外采用主药和可药用溶剂制成注射液或冻干制剂，其中国专利 CN99803672 对此有详细描述，而中国专利 CN02806992 则公开了一种该品口服给药形式的口服药用剂型。

埃坡霉素 B 全身用药后，具有如骨髓抑制、呕吐、腹泻等胃肠道反应及其他毒性，因此将埃坡霉素 B 制成脂质体制剂给药，能够克服其毒性大的难题，降低药物不良反应而保持其药理学作用，显得十分必要。

### 发明内容

针对现有技术的不足，本发明要解决的问题是提供一种埃坡霉素 B 的脂质体制剂及其制备方法，与在制备抗肿瘤疾病的药物中的应用。

本发明的埃坡霉素 B 脂质体制剂，由治疗有效量的埃坡霉素 B、磷脂、胆固醇、氨基酸、甘露醇等组分组成，其重量百分比为：

埃坡霉素 B	0.1%—2%
磷 脂	10%—50%
胆 固 醇	5%—50%
氨 基 酸	0.5%—5%
甘 露 醇	10%—70%

上述埃坡霉素 B 脂质体制剂，其组分的优选重量百分比为：

埃坡霉素 B	0.1%—1%
磷 脂	20%—40%
胆 固 醇	5%—30%

氨基酸	0.5%—3%
甘露醇	40%—70%

上述的埃坡霉素 B 脂质体制剂，其组分的最优选重量百分比为：

埃坡霉素 B	0.5%
磷脂	30%
胆固醇	18%
氨基酸	1.5%
甘露醇	50%

其中所述的磷脂，是自然类磷脂或合成类磷脂以及二者的混合物，该混合物的重量比例是 9：1 至 1：9。其自然类磷脂，优选为卵磷脂、脑磷脂或豆磷脂；合成类磷脂优选为二肉豆蔻酰卵磷脂、二棕榈酰磷脂酰胆碱、二肉豆蔻酰磷脂酰胆碱、聚乙二醇二硬脂酰磷脂酰乙醇胺、脑磷脂丁二酸单酰胺、二油酰磷脂酰甘油、二油酰磷脂酰胆碱、二油酰磷脂酰乙醇胺、磷酸卵磷脂、硬脂酰胺、氢化豆磷脂、磷脂酰丝氨酸、磷脂酸等。

其中所述的氨基酸优选是赖氨酸、苏氨酸或蛋氨酸。

本发明的埃坡霉素 B 脂质体制剂的制备方法，包括但不限于如下操作步骤：将磷脂和胆固醇按一定比例混合（磷脂和胆固醇的比例为 1：5 至 10：1），用氯仿溶解后，在旋转蒸发膜蒸发器上，真空蒸发至呈干燥薄层，备用；用 60%叔丁醇水溶液溶解埃坡霉素 B，转入上述含有磷脂的容器中，以每分钟 8-20 转的速度搅拌，使之充分水合，即有脂质体生成，将此混悬液在 4℃~6℃条件下放置 8-15 小时，即得埃坡霉素 B 脂质体溶液。

利用上述制备的埃坡霉素 B 脂质体溶液，可以制备非肠道用制剂，优选为非肠道用冻干制剂。

上述非肠道用冻干制剂可以采用常规的冷冻干燥法制备，如将氨基酸与甘露醇以 1：140 至 1：2 比例混合后加水溶解，然后将上述制备的埃坡霉素 B 脂质体溶液与之混合，用超声波仪超声粉碎或高压匀浆泵进行匀浆，采用 0.01 μm~0.4 μm 滤膜过滤，优选采用 0.1 μm~0.22 μm 微孔滤膜过滤，将无菌过滤后的溶液分装于药用玻璃瓶内，预冷至 -40℃±2℃，恒温 6 至 8 小时，再将冷阱温度降至 -55℃±2℃，开启真空系统，冷冻固体升华干燥，20 小时~24 小时后，将温度升至 0℃，保持 24 小时进行冻干，通入无菌过滤的惰性气体如氮气等封口，即获得埃坡霉素 B 脂质体冻干制剂。

利用本发明的制备方法获得的埃坡霉素 B 脂质体制剂，性能稳定，全部粒子粒径在 2 μm 以下，毒性低，符合药用标准，制作方便，成品率高，能够满足人们的需要。

本发明的埃坡霉素 B 脂质体制剂一般应存储在适合的容器中，如棕色可药用的玻璃瓶中，更适合于存储在灌入有惰性气体，如氮气、氩气等，优选为氮气的可药用玻璃瓶中。由于埃坡霉素 B 对低 pH 敏感，对光敏感，易发生降解作用，因此在制备、实验、储藏、运输过程中应避光操作。

本发明提供的埃坡霉素 B 脂质体冻干制剂的使用方法，如但不限于如下方法：使用水性溶液稀释本发明的埃坡霉素 B 脂质体冻干制剂后，给被治疗对象非胃肠道使用。

在本发明所述的埃坡霉素 B 脂质体制剂中，

埃坡霉素 B 为一种微管稳定剂，具有促进 GTP 依赖性微管蛋白聚合形成微管的作用，并且对微管具有稳定作用，通过稳定微管组装过程抑制其解聚，抑制有丝分裂，从而抑制肿瘤细胞的生长，甚至诱导其死亡。埃坡霉素 B 具有很强的抗肿瘤活性，能在较低浓度杀死癌细胞。

磷脂为两性物质，其结构上含有亲水亲油基团，具有两条疏水链，在水中能自发的形成脂质双分子层，作为成膜材料使用。

胆固醇也属于两性物质，其结构上亦具有亲水亲油两种基团，它可以调节双分子层的流动性、通透性等。胆固醇和磷脂是共同构成脂质体的基础物质，二者结合后形成“U”型排列，将药物溶于其中的水膜或双分子层中，从而改变了药物的部分性质。

本发明所用的氨基酸包括赖氨酸、苏氨酸或蛋氨酸，氨基酸系两性物质，在一定 pH 条件下可以产生带电性，从而防止聚集，而不会有埃坡霉素结晶。且成本低，原料易得。

本发明所用的甘露醇为分散性支架剂，以便得到不会裂开或收缩的最终块状物，这种块状物为多孔材料，易于溶解，并具有优良的外观。

通过以上组分制备的埃坡霉素 B 脂质体制剂，可以将埃坡霉素 B 包封于磷脂双分子层形成的薄膜中间，稳定性好，不易结晶，且易于溶解，适于临床使用。

本发明的埃坡霉素 B 脂质体制剂的应用，用于制备治疗起源于人及动物大脑、中枢神经系统、肾脏、肝脏、胆囊、胰腺、甲状腺、肺脏、食管、纵隔、胃、乳腺、子宫、子宫内膜、子宫颈、卵巢、输卵管、前列腺、膀胱、结直肠、头颈部、眼睛、鼻咽部、口腔、淋巴结、淋巴管等淋巴系统、皮肤、粘膜、腺体、血液、血管、骨组织、脂肪的原发或继发的癌、肉瘤或癌肉瘤的药物。

本发明的埃坡霉素 B 脂质体制剂，一般以治疗人体的肿瘤疾病为主，包括减缓肿瘤增长或使肿瘤消退等。由于埃坡霉素 B 脂质体对淋巴系统的靶向性和对癌细胞的亲和性，改变了埃坡霉素 B 在组织中的分布，使药物选择性的杀伤癌细胞或抑制癌细胞的繁殖，从而提高疗效，降低毒性，减轻变态和免疫反应。

本发明的埃坡霉素 B 脂质体制剂的使用剂量，取决于很多因素，其主要因素为肿瘤的体积以及病理分型、病人的身体状况、给药方式、疾病的进展情况及治疗反应等。其常用的剂量以埃坡霉素 B 计为  $0.1\text{mg}/\text{m}^2 \sim 300\text{mg}/\text{m}^2$ （指体表面积），以  $0.1\text{mg}/\text{m}^2 \sim 100\text{mg}/\text{m}^2$  为理想，以  $1\text{mg}/\text{m}^2 \sim 50\text{mg}/\text{m}^2$  为最理想。

利用本发明所述的埃坡霉素 B 脂质体冻干制剂进行动物体内试验，以小鼠抑瘤试验为例，结果表明：接种 S180 肿瘤细胞株的小鼠腹腔注射埃博霉素 B 脂质体冻干制剂 7 天， $0.01\text{mg}/\text{ml}$  和  $0.005\text{mg}/\text{ml}$ （以埃坡霉素 B 计）的高、中浓度的埃坡霉素 B 脂质体冻干制剂组的抑瘤率明显高于常规埃坡霉素冻干制剂组，相同浓度的埃坡霉素脂质体制剂组的抑瘤率高于常规埃坡霉素阳性对照组，且对动物的体重影响较小，说明本发明的埃坡霉素 B 脂质体制剂是一个比常规埃坡霉素 B 制剂更为安全和有效的制剂。

#### 附图说明

图 1 埃博霉素脂质体制剂对肿瘤细胞的细胞毒作用剂量反应曲线

## 具体实施方式

### 实施例 1

按如下重量称取各组分：

埃坡霉素 B	0.05g
DPPC	2.0g
DMPC	1.5g
硬脂酰胺	0.5g
胆固醇	2.0g
氨基酸	0.6g
甘露醇	13g

将 DPPC、DMPC、硬脂酰胺和胆固醇混合均匀，用 100ml 氯仿溶解后，在旋转蒸发膜蒸发器上，30℃水浴真空蒸发除去溶媒，使脂质在瓶内壁均匀成膜，抽干。将埃坡霉素 B 溶解于 20ml 60%叔丁醇溶液中，缓缓加入到含磷脂膜的容器中，密封，以 18 转/分钟的速度搅拌 5 分钟，使充分溶胀水合，将此混悬液在 4℃低温下放置 10 小时。用 80ml 水溶解氨基酸和甘露醇形成溶液，和上述低温放置的埃坡霉素 B 混悬液充分混合后，用高压匀浆泵匀浆 2 次，采用 0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜过滤后，经检验粒径小于 2  $\mu\text{m}$ ，包封率高于 80%，即可分装于药用西林瓶内，冷冻干燥，通入惰性气体，封口，即得埃坡霉素 B 脂质体冻干制剂。

### 实施例 2

按如下重量称取各组分：

埃坡霉素 B	0.1g
MPEG-DSPE	5.5g
卵磷脂	0.5g
胆固醇	3.6g
氨基酸	0.3g
甘露醇	10g

将磷脂酰胆碱、磷脂酸和胆固醇混合均匀，用 200ml 氯仿溶解后，在旋转蒸发膜蒸发器上，30℃水浴真空蒸发除去溶媒，使脂质在瓶内壁均匀成膜，抽干。然后将埃坡霉素 B 溶解于 20ml 60%叔丁醇溶液中，缓缓加入到含磷脂膜的容器中，密封，13 转/分钟的速度搅拌 7 分钟，使充分溶胀水合，将此混悬液在 5℃低温下放置 12 小时。用 50ml 水溶解氨基酸和甘露醇形成溶液，和上述低温放置的埃坡霉素 B 混悬液充分混合后，用高压匀浆泵匀浆 2 次，采用 0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜过滤后，经检验粒径小于 2  $\mu\text{m}$ ，包封率高于 80%，即可分装于药用西林瓶内，冷冻干燥，通入惰性气体，封口，即获得所说的冻干制剂。

### 实施例 3

按如下重量称取各组分：

埃坡霉素 B	0.15g
磷脂酰胆碱	2.0g
磷脂酸	6.0g
胆固醇	5.5g
氨基酸	0.2g
甘露醇	6.0g

将 MPEG-DSPE、卵磷脂和胆固醇混合均匀，用 300ml 氯仿溶解后，在旋转蒸发膜蒸发器上，30℃水浴真空蒸发除去溶媒，使脂质在瓶内壁均匀成膜，抽干。然后将埃坡霉素 B 溶解于 30ml 60%叔丁醇溶液中，缓缓加入到含磷脂膜的容器中，密封，以 10 转/分钟的速度搅拌 10 分钟，使充分溶胀水合，将此混悬液在 4℃低温下放置 8 小时。将上述重量的氨基酸和甘露醇溶解于 40ml 水中形成混合物溶液，和上述制备的低温混悬液充分混合，用高压匀浆泵匀浆 2 次，采用 0.22 μm 微孔滤膜过滤后，经检验粒径小于 2 μm，包封率高于 80%，即可分装于药用西林瓶内，冷冻干燥，通入惰性气体，封口，即得埃坡霉素 B 脂质体冻干制剂。

#### 实施例 4

按如下重量称取各组分：

埃坡霉素 B	0.1g
MPEG-DSPE	0.5g
氢化豆磷脂	6.0g
胆固醇	3.0g
氨基酸	0.3g
甘露醇	8.0g

将按以上重量称取的 MPEG-DSPE、氢化豆磷脂、胆固醇和埃坡霉素 B 置于 100ml 烧瓶中，加入 60ml 氯仿溶解，在氮气流下旋转蒸发（速度：40-60 转/分钟），减压除去有机溶媒，再真空干燥 24-36 小时，得到恒重的脂质薄膜，然后加入 80ml 的 0.01mol/L 磷酸盐缓冲液（PH7.0，内含磷酸二氢钠和磷酸氢二钠），旋转摇动烧瓶，制成脂质体悬浊液，静置 24-30 小时后，超声处理 30 分钟，以减小脂质体粒径，用葡聚糖凝胶透析除盐，得埃坡霉素 B 脂质体，然后加入氨基酸和甘露醇的水溶液 50ml，经冷冻干燥制成冻干制剂。

#### 实施例 5、用 MTT 法检测埃博霉素脂质体制剂对肿瘤细胞的细胞毒作用

通过 MTT 法检测埃博霉素脂质体制剂样品对 BEL-7402、Hela 癌细胞株的细胞毒作用。实验采用 96 孔板进行，首先将在培养瓶中培养 48 小时的细胞接入 96 孔板中，细胞培养条件是：温度 37℃，含 5%CO<sub>2</sub>的空气，湿度 RH100%，96 孔板在此条件下继续将细胞孵育 12 小时，细胞培养液加量 100μl/孔。实验设置本底空白对照（包含完全培养基和 MTT，无细胞）和药物空白对照（包含完全培养基和不同浓度的埃博霉素制剂以及 MTT，无细胞）以及细胞对照组，完全培养基使用无血清的 MEM，本底空白组按照



100 $\mu$ l/孔加入 MEM。然后将实施例 1 的方法制备的埃博霉素脂质体制剂中配制成浓度梯度为 10nM, 50nM, 100nM, 300nM, 500nM (以埃博霉素计) 的溶液, 各取 20 $\mu$ l 加入 96 孔板中受试药物组和药物空白组对应的孔中, 每个药物浓度做 3 个平行孔。将 MTT 用 PBS 缓冲液配成 2mg/ml 的溶液加入 96 孔板中, 每孔加量 50 $\mu$ l, 继续孵育 4 小时, 使 MTT 还原为 Formazan 颗粒, 吸出并弃掉上清液, 每孔加入 150  $\mu$ l 二甲基亚砷(DMSO)使 Formazan 颗粒溶解。最后用酶标仪 (Bio-Red 13550 型) 在 560nm 处检测每个孔的光密度值 OD<sub>560</sub>, 将各测试孔的 OD 值减去本底 OD 值或药物空白孔 OD 值, 各重复孔的 OD 值取平均数 $\pm$ SD。相对抑制率以 T/C% (T: 加药细胞的 OD 值, C: 对照细胞的 OD 值), 求出 T/C%为 50%的药物浓度即 IC<sub>50</sub> 值。

埃博霉素脂质体制剂对 BEL-7402、Hela 癌细胞株的 IC<sub>50</sub> 值以埃博霉素计分别为 50 nM 和 77 nM, 其细胞毒作用剂量反应曲线如图 1 所示。

#### 实施例 6、埃博霉素 B 脂质体制剂治疗肿瘤的体内试验

本实施例提供了实施例 2 埃博霉素 B 脂质体冻干制剂用于治疗肿瘤的动物体内试验情况。

具体步骤如下:

##### 1、材料

- 1.1 试验动物: 成年健康 KM 小鼠 60 只, 合格证号 200008001, 雌雄各半, 体重 20 $\pm$ 2 克, 购于山东鲁抗医药集团有限公司。
- 1.2 试验样品: 本发明实施例 2 所述的埃博霉素 B 脂质体冻干制剂。
- 1.3 阳性对照: 埃博霉素 B、顺铂。
- 1.4 肿瘤细胞株: S180, 购于山东省医科院药物研究所。

##### 2、方法

- 2.1 动物称重, 编号, 随机分为 6 组, 每组 10 只, 雌雄各半, 分笼饲养。
- 2.2 样品处理: 精密称取埃博霉素 B 脂质体冻干粉适量, 分别用注射用生理盐水溶解并稀释成 0.01mg/ml、0.005mg/ml、0.001mg/ml (以埃博霉素 B 计) 三个浓度的溶液, 分别作为高、中、低浓度样品组。
- 2.3 埃博霉素 B 阳性对照组: 精密称取 5mg 埃博霉素 B 纯品, 用注射用生理盐水配制成 0.005mg/ml 埃博霉素 B 对照溶液。
- 2.4 顺铂阳性对照组: 将顺铂冻干粉用注射用生理盐水配成 0.01mg/ml 混悬液, 现用现配。
- 2.5 阴性对照: 注射用生理盐水
- 2.6 接种肿瘤: 于每只小鼠右腹股沟皮下注射 0.2ml S180 稀释液。
- 2.7 给药及观察: 48 小时后腹腔注射给药, 样品组与对照组的每只小鼠均注射 0.2ml, 连续注射 7 天, 观察小鼠特征变化, 包括行为活动、被毛、精神状态、口腔、鼻腔、耳道、肛门、生殖器官是否正常, 以及肿瘤生长及小鼠死亡的情况。第 14 天称重后脱椎处死, 解剖剥离瘤块, 称瘤重, 计算肿瘤抑制率。

##### 3、结果与结论

阴性对照组平均瘤重—给药组平均瘤重

肿瘤抑制率(%) =

阴性对照组平均瘤重

结果：如下表所述

组别	小鼠外观变化	处死平均体重 g (X±SD)	平均瘤重 g (X±SD)	肿瘤抑制率 (%)
高浓度样品组	正常	35.58±1.04	0.264±0.067	79.21
中浓度样品组	正常	31.49±0.85	0.469±0.058	63.14
低浓度样品组	2只腹围增大明显，其余稍增大	27.25±1.48	0.656±0.163	48.43
常规埃坡霉素阳性对照组	2只腹围增大明显，其余稍增大	28.57±2.72	0.556±0.146	56.3
顺铂阳性对照组	3只腹围增大明显，其余稍增大	27.57±2.72	0.622±0.176	51.1
阴性对照组	2只死亡，3只腹围增大明显	25.38±0.95	1.273±0.140	

P<0.05

结论：由以上结果可以看出，对接种 S180 瘤株的小鼠腹腔注射埃博霉素脂质体冻干制剂 7 天，高、中浓度样品组（以埃坡霉素 B 计分别为 0.01mg/ml、0.005mg/ml）小鼠均生长发育正常，被毛浓密而有光泽，运动活泼，鼻腔、口腔、耳道、眼、肛门及生殖器官未见异常，且抑瘤率明显高于阳性对照组，相同浓度的埃坡霉素脂质体制剂组的抑瘤率高于常规埃坡霉素阳性对照组，且对动物的体重影响较小，说明本发明的埃博霉素脂质体冻干制剂具有抑制肿瘤的良好效果和较低的副作用。

实施例 7 埃博霉素 B 脂质体制剂治疗肿瘤的体内试验

本实施例提供了实施例 3 埃博霉素 B 脂质体冻干制剂用于治疗肿瘤的动物体内试验情况。

给雄性 6-8 周龄小鼠接种 5×10<sup>6</sup> 人激素顽固性前列腺肿瘤细胞（PC-3），每周检测 2 次肿瘤生长情况，直到肿瘤体积在 60-100mm<sup>2</sup> 的范围为止。然后将动物分成数组并通过尾静脉注射 0.1mg/kg、0.2mg/kg、0.5mg/kg、1.0mg/kg（以埃坡霉素 B 计）剂量的常规埃坡霉素 B 冻干制剂进行治疗，隔天一次，持续 4 天。同时配制成 0.5mg/kg、1.0mg/kg、2.0mg/kg、5.0mg/kg 剂量（以埃坡霉素 B 计）的埃坡霉素 B 脂质体冻干制剂如上述方法尾静脉注射，对照组动物接受生理盐水或空白脂质体，计算平均存活时间并在第 34 天处死所有存活的动物。

应用 0.1mg/kg、0.2mg/kg、0.5mg/kg 和 1.0mg/kg 剂量的常规埃坡霉素 B 冻干制剂的小鼠到第 34 天时实验动物存活率为 100%、100%、76%和 34%，然而使用埃坡霉素 B 脂质体冻干制剂的实验动物，0.5mg/kg、1.0mg/kg、2.0mg/kg、5.0mg/kg 剂量组的

存活率分别为 100%、98%、53%和 0%。

遵循相同的给药方案，使用 0.1mg/kg、0.2mg/kg 剂量的常规埃坡霉素 B 冻干制剂和 0.5、1.0mg/kg 剂量的埃坡霉素 B 脂质体冻干制剂重复本治疗试验，每周通过三个长轴对肿瘤的体积进行测定。结果 0.5mg/kg、1.0mg/kg 剂量的脂质体制剂治疗组较常规制剂治疗组肿瘤体积明显减少，且对动物的毒性相对减少。因此埃坡霉素 B 脂质体冻干制剂比常规埃坡霉素 B 冻干制剂是更为安全和有效的抗肿瘤药物制剂。

