

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200510059621.8

[51] Int. Cl.

A61K 45/00 (2006.01)  
A61K 31/704 (2006.01)  
A61K 9/00 (2006.01)  
A61K 9/19 (2006.01)  
A61P 35/00 (2006.01)

[43] 公开日 2006 年 10 月 4 日

[11] 公开号 CN 1840193A

[22] 申请日 2005.3.29

[21] 申请号 200510059621.8

[71] 申请人 中国科学院生物物理研究所

地址 100029 北京市朝阳区北沙滩大屯路 15 号

[72] 发明人 梁 伟 唐 宁 张春玲 饶子和

[74] 专利代理机构 中科专利商标代理有限责任公司  
代理人 王 旭

权利要求书 2 页 说明书 10 页 附图 2 页

[54] 发明名称

聚乙二醇衍生化磷脂包载的蒽环类抗肿瘤抗生  
素的纳米胶束制剂

[57] 摘要

本发明提供了可静脉注射的蒽环类抗肿瘤抗生  
素的纳米胶束制剂，其含有治疗有效量的蒽环类抗  
肿瘤抗生素、聚乙二醇衍生化磷脂、以及药学上可  
接受的辅剂。其制备是将药物包裹于形成的纳米胶  
束中，制备成可供注射的蒽环类抗肿瘤抗生素的纳  
米胶束制剂。蒽环类抗肿瘤抗生素与聚乙二醇衍生  
化磷脂形成粒径非常均一的纳米胶束。在胶束中，  
聚乙二醇分子于包载药物的疏水核周围形成亲水性  
保护层，避免药物与血液中的酶等蛋白分子接触和  
被体内网状内皮系统识别、吞噬，延长胶束在体内  
的循环时间。

1. 一种可静脉注射的蒽环类抗肿瘤抗生素的纳米胶束制剂, 包含蒽环类抗肿瘤抗生素、聚乙二醇衍生化磷脂、以及药学上可接受的辅剂。
2. 按照权利要求 1 的胶束制剂, 其中蒽环类抗肿瘤抗生素和聚乙二醇衍生化磷脂的摩尔比是 1: 0.5 至 1: 10, 优选 1: 1 至 1: 3。
3. 按照权利要求 1 的胶束制剂, 其中所述蒽环类抗肿瘤抗生素为一种或多种选自下组的药物: 阿霉素、柔红霉素、表阿霉素、吡喃阿霉素和阿克拉霉素。
4. 按照权利要求 1 的胶束制剂, 其中所述聚乙二醇衍生化磷脂为聚乙二醇分子通过共价键与磷脂分子上的含氮碱基结合而形成。
5. 根据权利要求 4 所述的胶束制剂, 其中所述聚乙二醇衍生化磷脂中磷脂部分的脂肪酸包含 10-24 个碳原子, 脂肪酸链是饱和的或部分饱和的, 优选月桂酸、肉豆蔻酸、棕榈酸、硬脂酸或油酸或亚油酸、甘酸、山俞酸、或 lignocerate。
6. 根据权利要求 4 所述的胶束制剂, 其中所述聚乙二醇衍生化磷脂中的磷脂为磷脂酰乙醇胺、磷脂酰胆碱、磷脂酰肌醇、磷脂酰丝胺酸、二磷脂酰甘油、缩酸磷脂、溶血胆碱磷脂、或溶血乙醇胺磷脂。
7. 根据权利要求 6 所述的胶束制剂, 其中所述聚乙二醇衍生化磷脂中的磷脂为二硬脂酰磷脂酰乙醇胺、二棕榈酰磷脂酰乙醇胺、二油酰磷脂酰乙醇胺。
8. 根据权利要求 4 所述的给药系统, 其中所述聚乙二醇衍生化磷脂结构中的聚乙二醇分子量范围为 200~20000, 优选 500~10000, 更优选 1000~10000, 最优选的聚乙二醇分子量为 2000。
9. 根据权利要求 4 所述的胶束制剂, 其中所述聚乙二醇衍生化磷脂是聚乙二醇 2000 衍生化二硬脂酰磷脂酰乙醇胺。
10. 根据权利要求 1 所述的胶束制剂, 其中所述胶束制剂是溶液形式或冻干形式。

11. 根据权利要求 1 所述的胶束制剂, 其中所述药学上可接受的辅剂为药学上可接受的抗氧化剂、渗透压调节剂、pH 值调节剂。

12. 根据权利要求 11 所述的胶束制剂, 其中所述 pH 值调节剂为柠檬酸-柠檬酸钠、醋酸-醋酸钠、或磷酸盐、或其组合。

13. 一种制备按照权利要求 1 的可静脉注射的蒽环类抗肿瘤抗生素的纳米胶束制剂的方法, 包括将蒽环类抗肿瘤抗生素包裹于聚乙二醇衍生化磷脂形成的纳米胶束中, 制成可供静脉注射的蒽环类抗肿瘤抗生素的纳米胶束制剂。

14. 根据权利要求 13 的方法, 包括以下步骤:

(1) 将蒽环类抗肿瘤抗生素和聚乙二醇衍生化磷脂溶于有机溶剂中;

(2) 除去有机溶剂, 制得含蒽环类抗肿瘤抗生素的聚合物脂膜;

(3) 向上述 (2) 得到的聚合物脂膜中加入水或缓冲溶液, 在 25°C~60°C 下水化;

(4) 涡旋振摇或超声, 得到包载蒽环类抗肿瘤抗生素的聚乙二醇衍生化磷脂纳米胶束。

15. 根据权利要求 14 的方法, 其中在步骤 (1) 中的所述有机溶剂为甲醇、乙醇、氯仿、或它们的混合物。

16. 根据权利要求 14 的方法, 其中在步骤 (2) 中通过减压除去有机溶剂和/或在真空条件下除去有机溶剂。

17. 根据权利要求 14 的方法, 其中在步骤 (3) 中的缓冲溶液为柠檬酸或磷酸缓冲液。

18. 根据权利要求 14 的方法, 其中在步骤 (3) 中在 25°C-60°C、优选 35°C-45°C 的水浴中水化 1~2 小时。

19. 根据权利要求 14 的方法, 其中在步骤 (4) 中涡旋振摇或超声 1-5 分钟。

20. 根据权利要求 14 的方法, 进一步包括用 pH 调节剂将得到的胶束溶液的 pH 值调节至 3.0-8.0、优选 6.5-7.4。

21. 根据权利要求 13 的方法, 进一步包括将得到的胶束溶液冷冻干燥, 制成冻干形式的制剂。

## 聚乙二醇衍生化磷脂包载的蒽环类抗肿瘤抗生素的纳米胶束制剂

### 技术领域

本发明涉及可静脉注射的蒽环类抗肿瘤抗生素的纳米胶束制剂及其制备方法。

### 背景技术

蒽环类抗肿瘤抗生素是一类有效的广谱的重要抗肿瘤药物，临床上广泛用于治疗各种癌症，如白血病、淋巴瘤、乳腺癌、肺癌、肝癌及多种其他实体瘤。这类抗肿瘤药物主要包括：阿霉素（Doxorubicin, ADM），柔红霉素（Daunorubicin, DNR），表阿霉素（Epirubicin, EPI），吡喃阿霉素（Pirarubicin, THP-ADM），阿克拉霉素（Aclacinomycin, ACM）。然而，像其他细胞毒抗肿瘤药物一样，缺乏对肿瘤组织的选择性，存在着严重的剂量依赖性急性毒性，临床上表现为：恶心、呕吐、脱发、骨髓抑制。更为严重的是：反复用药，药物蓄积在心脏组织导致严重的不可逆的心脏损伤。蒽环类抗肿瘤抗生素的毒副作用严重地限制了其长期重复用于临床上肿瘤的治疗。

改变蒽环类抗肿瘤抗生素的组织分布和提高其对肿瘤组织的选择性可显著降低毒性。蒽环类抗肿瘤抗生素的脂质体制剂可减少药物在心脏的蓄积，增加药物在肿瘤组织的分布，从而减轻剂量依赖的急性毒性，并获准用于治疗临床上的各种类型的癌症，且取得了较好的治疗效果。已上市的蒽环类抗肿瘤抗生素脂质体产品有阿霉素脂质体、柔红霉素脂质体。另外，在我国已获国家药监局批准的脂质体产品有两性霉素脂质体、紫衫醇脂质体。但是蒽环类抗肿瘤抗生素脂质体也存在着诸多缺点。如：药物被包封在内水相，药物只有从脂质体中释放出来才能发挥效果；脂质体的最小极限粒径为 50nm，脂质体进入细胞往往是通过融合和内吞的机制完成的，因此药物经脂质体包裹后细胞毒作用较游离的药物弱；脂质体的制备过程复杂，需要多种脂质成分的复合（至少两种脂质成分），粒径控制需要特殊的设备

和装置；储存过程中易絮凝等。

在水中、当双亲性分子的浓度超过临界胶束浓度时可自发地聚集形成胶束，利用这一性质，将药物包载于胶束的疏水核中。药物的胶束制剂早已被用于临床治疗实践中，如去氧胆酸钠用于两性霉素 B 的增溶等。Kun 等发表了题为“聚合物胶束：一种新型的药物载体”的文章，综述了胶束作为药物载体方面的应用（*Adv. Drug. Del. Rev.* , 21:107-116, 1976）。最近，聚合物胶束作为一种缓释、靶向、长循环的药物载体，引起了人们的极大关注，并成为给药系统研究的热点。Yokoyama et al 采用能形成胶束的聚合物包载抗肿瘤药物，研究了其抗实体瘤的活性和细胞毒性，以及它在血液中长循环的特性（*Cancer res.*51:3229-3236(1991)。聚乙二醇-磷脂修饰的脂质体在动物以及人体中业已证明具有长循环的特点，并被安全地用于临床治疗（*Gregoriadis, G. TIBTECH, 13: 527-537, 1995*）。用聚乙二醇-磷脂胶束作为难溶性药物的载体已被研究者进行了较为详尽的综述（*Torchilin, V. P. J. controlled Release, 73:137-172*）。

聚乙二醇（polyethylene glycol, PEG）是一种在生理条件下可以稳定存在的水溶性聚合物。由于它的空间结构可以阻止血浆蛋白的靠近，已广泛的应用于改变磷脂、蛋白类药物性质。在微粒给药系统方面，PEG 能够在微粒的表面形成亲水性保护层，防止微粒聚集，避免被体内的网状内皮系统识别、吞噬，从而延长药物在血液循环中的保留时间，达到长循环的目的。

基于 PEG 衍生化磷脂制备的纳米胶束不仅具有一般纳米微粒的优点：粒径小，基本在 10nm~50nm 之间，是一种动力学稳定的体系，一方面避免了其他微粒给药系统例如脂质体，易于聚集成团的缺点；另一方面更易于深入病变部位，改善药物分布，提高药物的肿瘤组织靶向性。

## 发明内容

本发明的目的在于提供可静脉注射的蒽环类抗肿瘤抗生素的纳米胶束制剂，它是一种动力学稳定的体系，具有良好的稳定性，并在体内具有靶向作用，能增加药物在肿瘤组织的分布，从而提高疗效、降低毒性。

本发明的另一个目的是提供可静脉注射的蒽环类抗肿瘤抗生素的纳米胶束制剂的制备方法。

本发明提供可静脉注射的蒽环类抗肿瘤抗生素的纳米胶束制剂，其含有治疗有效量的蒽环类抗肿瘤抗生素、聚乙二醇衍生化磷脂、以及药学上可接受的辅剂。

本发明的主要内容是利用聚乙二醇（PEG）衍生化磷脂为主要辅料，采用适当的制剂学手段制备成蒽环类抗肿瘤抗生素纳米胶束制剂。

## 发明详述

本发明提供了一种可静脉注射的蒽环类抗肿瘤抗生素的纳米胶束制剂，包含蒽环类抗肿瘤抗生素、聚乙二醇衍生化磷脂、以及药学上可接受的辅剂。

按照本发明，其中蒽环类抗肿瘤抗生素和聚乙二醇衍生化磷脂的摩尔比是 1: 0.5 至 1: 10，优选 1: 1 至 1: 3。

在本发明中，所述的蒽环类抗肿瘤抗生素为一种或多种选自下组的药物：阿霉素，柔红霉素，表阿霉素，吡喃阿霉素，阿克拉霉素。

本发明的聚乙二醇衍生化磷脂为聚乙二醇分子通过共价键与磷脂分子上的含氮碱基结合而形成。

用于本发明的磷脂为聚乙二醇衍生化磷脂，其结构中磷脂部分的脂肪酸包含的碳原子数为 10~24 个，优选的是 12、14、16、18、20、22、24 个碳原子，脂肪酸链可以是饱和的，也可以是部分饱和的，特别需要指出的脂肪酸为月桂酸（12 碳）、肉豆蔻酸（14 碳）、棕榈酸（16 碳）、硬脂酸或油酸或亚油酸（18 碳）、廿酸（20 碳）、山俞酸（22 碳）、lignocerate（24 碳）。

聚乙二醇衍生化磷脂，其磷脂部分可以是磷脂酰乙醇胺（PE）、磷脂酰胆碱（PC）、磷脂酰肌醇（PI）、磷脂酰丝氨酸（PS）二磷脂酰甘油、缩酸磷脂、溶血磷脂胆碱（LPC）、溶血乙醇胺磷脂（LPE）等。

在本发明中，聚乙二醇衍生化磷脂中的磷脂优选为磷脂酰乙醇胺，尤其是二硬脂酰磷脂酰乙醇胺、二棕榈酰磷脂酰乙醇胺、二油酰磷脂酰乙醇胺。

聚乙二醇衍生化磷脂，其聚乙二醇分子量范围为 200~20000（与聚乙二醇长链上乙氧基的数量有关），优选聚乙二醇分子量范围为 500~10000，更优选的范围 1000~10000（乙氧基的数量为 22~220），最优选的聚乙二醇分子量为 2000。

按照本发明的一个优选实施方案，聚乙二醇衍生化磷脂是聚乙二醇 2000 衍生化二硬脂酰磷脂酰乙醇胺。

本发明所涉及的蒽环类抗肿瘤抗生素的纳米胶束制剂根据需要可以是溶液形式，也可以是冻干形式。

在本发明的蒽环类抗肿瘤抗生素的纳米胶束制剂中，胶束的粒径范围为 5-100nm，优选 10nm~50nm，最优选 10nm~20nm。蒽环类抗肿瘤抗生素的用量为 1 mg/ml~10 mg/ml 的制剂，优选 1 mg/ml~3mg/ml，聚乙二醇衍生化磷脂的用量为 1 mg/ml~500 mg/ml，优选 10 mg/ml~30 mg/ml。

在本发明中，所述聚乙二醇衍生化磷脂为聚乙二醇分子通过共价键与磷脂分子结合而形成。

本发明所述的蒽环类抗肿瘤抗生素的纳米胶束制剂，是采用 PEG 衍生化磷脂作为载体，或与其他磷脂配合使用，通过一定的制剂学手段，将治疗量的蒽环类抗肿瘤抗生素包裹于所形成的纳米胶束中，根据需要添加一定抗氧化剂、渗透压调节剂、pH 值调节剂。

按照本发明的胶束制剂，其含有蒽环类抗肿瘤抗生素、双亲性分子、以及药学上可接受的抗氧化剂、渗透压调节剂、pH 值调节剂。所述的双亲性分子为 PEG 衍生化磷脂和其他磷脂。其他磷脂材料包括、磷脂酸、磷脂酰肌醇、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰甘油、心磷脂、大豆磷脂、磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、氢化卵磷脂等。

在本发明的胶束制剂中，PEG 衍生化磷脂占总的磷脂的摩尔比例范围为 20%~100%，优选 60%~100%。

胶束最终制剂可以是溶液形式，含有 1 mg/ml~10 mg/ml 的蒽环类抗肿瘤抗生素和 1 mg/ml~500 mg/ml 的总磷脂。其他添加剂的浓度 0.01%~5%。

胶束最终制剂可以是冻干粉形式，含有 0.02%~50%(重量百分比)的蒽环类抗肿瘤抗生素、50%~95%(重量百分比)的总磷脂和 10%~90%(重量百分比)的其他添加剂。

由于蒽环类抗肿瘤抗生素、磷脂均易被氧化，根据需要，本发明所述的蒽环类抗肿瘤抗生素胶束制剂还含有抗氧化剂，如水溶性抗氧化剂（坏血酸、亚硫酸氢钠、EDTA，用量范围 0.01~1.0%(重量百分比)和脂溶性抗氧化剂（生

育酚、BHA、没食子酸丙酯，用量范围 0.01~1.0%(重量百分比)。

根据需要，本发明的胶束制剂可以加入 pH 调节剂（各类缓冲系统如柠檬酸-柠檬酸钠、醋酸-醋酸钠、磷酸盐等），用量范围 1mM~100mM，调节药液 pH 为 3.0~8.0、最佳 pH 值范围是 6-7.5。

根据需要，本发明的胶束制剂可以加入渗透压调节剂（氯化钠、葡萄糖、甘露醇）。所述的渗透压调节剂指各类药剂学上可接受的用于调节等渗的盐和碳水化合物，调节渗透压至人体等渗或偏高渗（人体液渗透压范围 290-310mmol/L）。

本发明还提供了蒽环类抗肿瘤抗生素的纳米胶束制剂的制备方法，包括将蒽环类抗肿瘤抗生素包裹于聚乙二醇衍生化磷脂形成的纳米胶束中，制备成可供静脉注射的蒽环类抗肿瘤抗生素的纳米胶束制剂。

根据本发明的蒽环类抗肿瘤抗生素的纳米胶束制剂的制备方法具体包括以下步骤：

- (1) 将蒽环类抗肿瘤抗生素和聚乙二醇衍生化磷脂溶于有机溶剂中；
- (2) 除去有机溶剂，制得含蒽环类抗肿瘤抗生素的聚合物脂膜；
- (3) 向上述(2)得到的聚合物脂膜中加入水或缓冲溶液，在 25℃~60℃下水化；
- (4) 涡旋振摇或超声，得到包载蒽环类抗肿瘤抗生素的聚乙二醇衍生化磷脂纳米胶束。

在本发明的方法步骤(1)中的所述有机溶剂为甲醇、乙醇、氯仿、或它们的混合物。

在本发明的方法步骤(2)中通过减压除去有机溶剂和/或在真空条件下除去有机溶剂。

在本发明的方法步骤(3)中的缓冲溶液为柠檬酸或磷酸缓冲液。

在本发明的方法步骤(3)中在 25℃-60℃、优选 35℃-45℃的水浴中水化 1~2 小时。

在本发明的方法步骤(4)中涡旋振摇或超声 1-5 分钟。

按照本发明的方法，进一步包括用 pH 调节剂将得到的胶束溶液的 pH 值调节至 3.0-8.0、优选 6.5-7.4。

按照本发明的方法，进一步包括将得到的胶束溶液冷冻干燥，制成冻



干形式的制剂。

具体地，本发明所述的胶束制剂是采用了以下制备方法制成的：将蒽环类抗肿瘤抗生素、聚乙二醇衍生化磷脂、脂溶性添加剂溶于有机溶剂中，置于茄形瓶中，利用旋转蒸发仪，挥干有机溶剂，在茄形瓶表面形成薄而均匀的脂膜，将水溶性添加剂（水溶性抗氧化剂、渗透压调节剂、pH 值调节剂）溶于水中，将该水溶液加入到茄形瓶中，振荡水化，过 0.22 $\mu\text{m}$  的微孔滤膜过滤除菌，制备成可供静脉注射的蒽环类抗肿瘤抗生素胶束制剂，所形成的纳米胶束的粒径范围 10-50nm，优选 10-30nm。根据需要可采用溶液形式，也可以是冻干形式。

为了更好的理解本发明的内容，我们对一些专业术语解释如下。

“胶束”是指双亲性分子在水溶液中的浓度超过临界胶团浓度时（CMC），能够自发地聚合形成胶束。胶束的结构与脂质体不同，不具有脂双层的结构特征。一般来讲，胶束的结构为疏水部分向内，形成疏水核，亲水部分向外形成亲水表面。胶束粒径小，平均粒径在 10~20 nm 左右。因此，其不但是热力学稳定体系，而且是动力学稳定体系。另外，胶束颗粒不易聚集分层，包载容量高，即在低浓度时可包载较高的药量。

“磷脂”，磷脂的分子结构和脂肪相似，不同的是在甘油分子上只连有两个脂肪酸，第三个羟基与磷酸结合成脂。磷脂的这一结构使它成为一种双亲性分子，它的磷酸或磷酸酯一端是极性的，易与水相吸，构成磷脂分子的亲水性头部，而它的脂肪酸一端是非极性的，不与水相吸，构成磷脂分子的疏水性尾部。本发明所涉及的磷脂主要为聚乙二醇衍生化磷脂。在本发明中，聚乙二醇衍生化磷脂也可以与其他磷脂配合使用。

“治疗有效量”是指蒽环类抗肿瘤抗生素产生治疗效果的用量。根据本发明，蒽环类抗肿瘤抗生素的单位剂量为 5~100 mg，优选单位剂量 10~20 mg，最优单位剂量为 20 mg，剂量将根据每个特殊个体的需要而调整。

本发明的蒽环类抗肿瘤抗生素的纳米胶束制剂以聚乙二醇（PEG）衍生化磷脂为主要基质，可以保护纳米胶束不被体内的网状内皮系统吞噬，延长纳米胶束在血液循环中的保留时间，同时改变药物在体内分布的动力学性质，进而增强疗效、降低毒性。

如前面所述，蒽环类抗肿瘤抗生素存在着严重的剂量依赖性急性毒性，

且缺乏对肿瘤组织的选择性。普通的蒽环类抗肿瘤抗生素注射液注入体内后，药物蓄积在心脏组织导致严重的不可逆的心脏损伤。蒽环类抗肿瘤抗生素的毒副作用严重地限制了其长期重复用于临床上肿瘤的治疗。虽然，蒽环类抗肿瘤抗生素脂质体可减少药物在心脏的蓄积，增加药物在肿瘤组织的分布，从而减轻剂量依赖的急性毒性，并获准用于治疗临床上的各种类型的癌症，且取得了较好的治疗效果。但是蒽环类抗肿瘤抗生素脂质体也存在着诸多缺点。如：药物被包封在内水相，药物只有从脂质体中释放出来才能发挥效果；脂质体的最小极限粒径为 50nm，脂质体进入细胞往往是通过融合和内吞的机制完成的，因此药物经脂质体包裹后细胞毒作用较游离的药物弱；脂质体的制备过程复杂，需要多种脂质成分的复合（至少两种脂质成分），粒径控制需要特殊的设备和装置；储存过程中易絮凝等。

为了克服上述制剂的缺点，本发明采用聚乙二醇衍生化磷脂为主要载体，或辅以其他磷脂，制备蒽环类抗肿瘤抗生素胶束制剂，药物的包封率达到 90%以上。本发明的主要技术优势在于利用聚乙二醇衍生化磷脂在水溶液中可自动形成粒径非常均一的纳米胶束。纳米胶束的粒径范围达到 10-30nm。

胶束中，聚乙二醇分子在包载药物的疏水核外形成亲水性保护层，避免药物与血液中的酶等蛋白分子接触和被体内网状内皮系统识别、吞噬，延长胶束在体内的循环时间；药物包载于胶束中的疏水核中，可以使药物免受外界因素（水、氧、光）的破坏，大大提高药物在储存过程中的稳定性，除此以外，胶束制剂可以改变药物在体内分布的动力学性质，增加药物在肿瘤组织的分布，进而提高疗效、降低毒性。

以下实施例主要是用于进一步说明本发明，而不是限制本发明的范围。

### 附图说明：

图 1 为阿霉素胶束制剂的体外细胞毒试验。

图 2 为阿霉素胶束制剂的体内肿瘤生长抑制试验。

### 具体实施方式

实施例 1： 蒽环类抗肿瘤抗生素的纳米胶束制剂的制备  
处方见表 1：

表 1 实施例 1 蒽环类抗肿瘤抗生素的纳米胶束制剂处方

药物	脂类/药物 (mol/mol)	药物 (mg/ml)	水合溶液
ADM	2:1	2	磷酸盐缓冲液 pH 7.0
DNR	2:1	2	磷酸盐缓冲液 pH 7.0
EPI	2:1	2	磷酸盐缓冲液 pH 7.0
THP-ADM	2:1	2	磷酸盐缓冲液 pH 7.0
ACM	2:1	2	磷酸盐缓冲液 pH 7.0

制备工艺：按上述处方比例称取 ADM、DNR、EPI、THP-ADM、ACM 溶于乙醇中 (1-5mg/ml)。另称取聚乙二醇 2000 二硬脂酰磷脂酰乙醇胺 (PEG2000-DSPE)，溶于适量的氯仿中，置于 100ml 茄形瓶中，利用旋转蒸发仪，挥干有机溶剂，在茄形瓶表面形成薄而均匀的磷脂膜。将磷酸缓冲溶液加入到茄形瓶中，37℃ 振荡水化 1 小时，氮气保护，0.22 $\mu$ m 的微孔滤膜过滤除菌，制得成可供静脉注射的蒽环类抗肿瘤抗生素胶束制剂。所得样品外观呈橘红色澄明的溶液，平均粒径 15nm，粒径分布 10nm~20nm 之间，包封率大于 90%。

实施例 2： ADM-PEG2000-DSPE 胶束的包封效率

处方见表 2:

表 2 实施例 2 ADM-PEG2000-DSPE 胶束的包封效率

脂类/药物(mol/mol)	药物 (mg/ml)	水合溶液	包封率(%)
05:1	2	磷酸盐缓冲液 pH 7.0	70
1:1	2	磷酸盐缓冲液 pH 7.0	92
2:1	2	磷酸盐缓冲液 pH 7.0	97
5:1	2	磷酸盐缓冲液 pH 7.0	99
10:1	2	磷酸盐缓冲液 pH 7.0	99

制备工艺: 按上述处方中药脂比, 称取 ADM 溶于乙醇中 (2mg/ml), 称取 PEG2000-DSPE, 溶于适量的氯仿中, 置于 100ml 茄形瓶中。置旋转蒸发器, 除尽有机溶剂, 在茄形瓶表面形成薄而均匀的磷脂膜。将磷酸缓冲溶液加入到茄形瓶中, 37°C 振荡水化 1 小时, 氮气保护, 0.22um 的微孔滤膜过滤除菌, 制得成可供静脉注射的阿霉素胶束制剂。所得样品外观呈橘红色澄明的溶液, 平均粒径 15nm, 粒径分布 10.nm~20nm 之间。

### 实施例 3 阿霉素胶束制剂的制备

处方见表 3:

表 3 实施例 3 阿霉素胶束制剂处方

组分	浓度 (mM)
DNR	3.68
PEG2000-DPPE	4.9
PG	2.46
VE	0.1
EDTA	0.02
水	100 ml

制备工艺: 按上述处方, 称取 DNR 溶于乙醇中 (2mg/ml), 称取 PEG2000-DPPE、磷脂酰甘油 (PG)、维生素 E (VE) 溶于适量的氯仿中,

置于 100ml 茄形瓶中。置旋转蒸发器，除尽有机溶剂，在茄形瓶表面形成薄而均匀的磷脂膜，将含 EDTA 水溶液加入到茄形瓶中，37℃振荡水化 1 小时，氮气保护，0.22 $\mu$ m 的微孔滤膜过滤除菌，制得成可供静脉注射的阿霉素胶束制剂。所得样品外观呈橘红色澄明的溶液，平均粒径 15nm，粒径分布 10.0nm~20nm 之间，包封率大于 90%。上述胶束溶液经冷冻干燥后可得冻干粉。

#### 实施例 4 阿霉素胶束制剂的体外细胞毒试验

用体外细胞毒试验和体内肿瘤生长抑制试验来检验本发明制备的葱环类抗肿瘤抗生素的纳米胶束制剂的抗肿瘤效果。

A549 细胞按  $8.0 \times 10^3$  个/孔接种 96 孔板中，培养过夜，洗去培养基，分别加入不同阿霉素浓度的下列样品各 5  $\mu$ l：游离阿霉素和聚乙二醇二硬脂酰磷脂酰乙醇胺胶束包载的阿霉素，每一样品三复孔。每孔中加入 100  $\mu$ l 含 10% 胎牛血清的培养基，于 37℃、5%CO<sub>2</sub> 的培养箱中继续培养 24 h、48 h。于各设定时间点取出细胞，每孔加入 MTT 20  $\mu$ l (5 mg/ml)，再培养 4 h 后，每孔加入 150  $\mu$ l DMSO 溶解，置于酶标仪，在 590 nm 处检测其最大吸收，绘制各浓度组的生长曲线，结果见图 1。

#### 实施例 5 阿霉素胶束制剂的体内肿瘤生长抑制试验

将生长良好的荷 Lewis 肺癌的小鼠脱臼处死，碘酒消毒皮肤，75%的乙醇脱碘，剥离肿瘤，置无菌生理盐水中，研磨，于每只小鼠背部皮下接种 0.2ml。将荷瘤小鼠随即分为三组，每组 10 只。1 组为盐酸阿霉素溶液 (5 mg/ml) 组，5.0mg/kg；2 组为阿霉素纳米胶束 (5 mg/ml) 组，阿霉素与聚乙二醇 2000 二硬脂酰磷脂酰乙醇胺的摩尔比是 1: 2，5.0mg/kg；3 组为生理盐水对照组，0.2ml/只。于接种肿瘤的第 3 天尾静脉给药一次。给药后，每日测量肿瘤的体积和小鼠体重。于给药后第 15 天处死小鼠，剥离肿瘤并称重，结果见图 2。

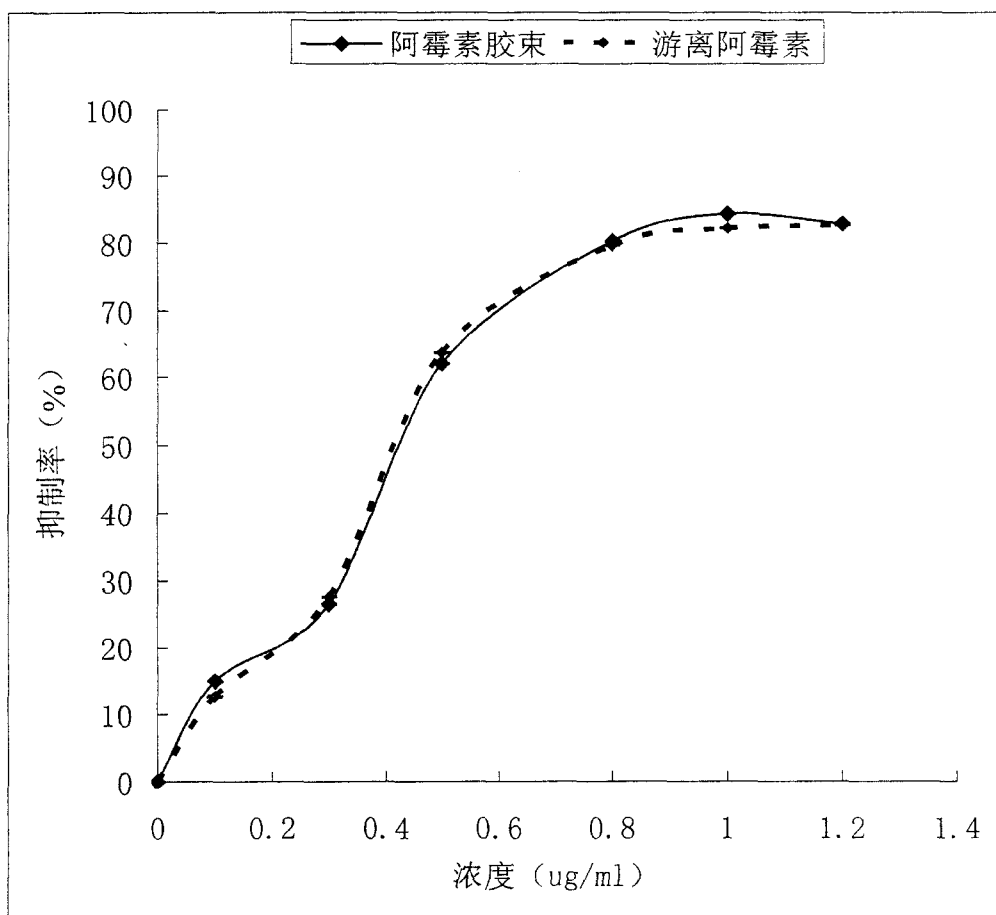


图 1

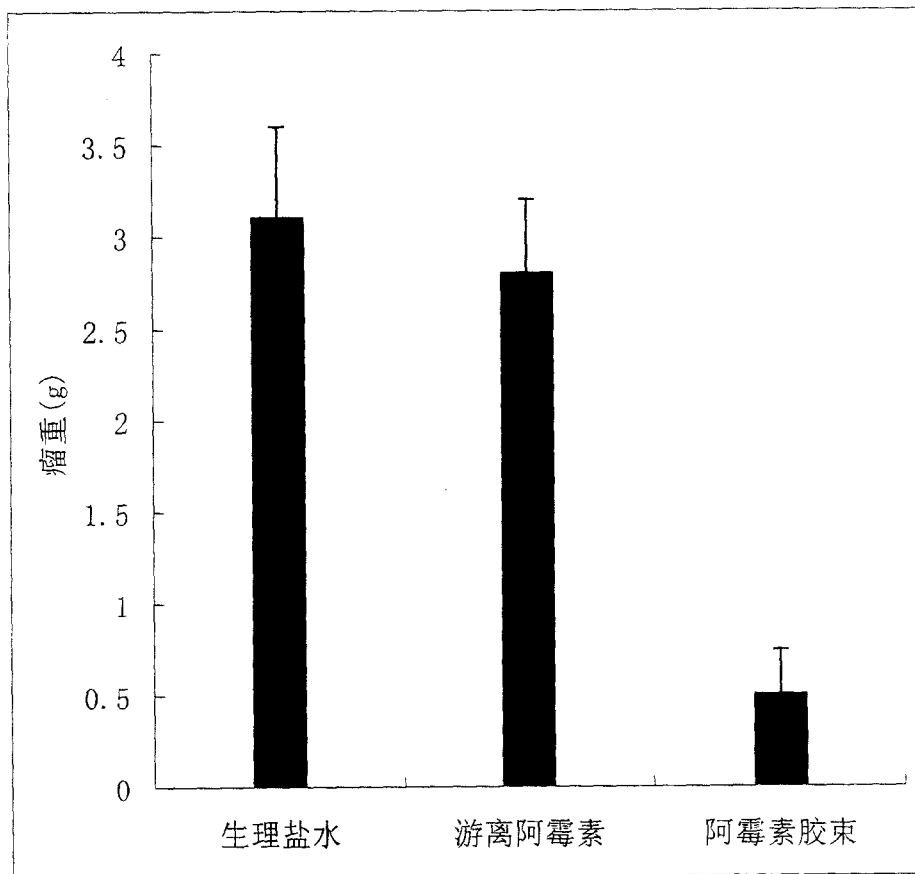


图2