

抗癌药物靶向载体

---

# 中国多相脂质体研究

顾学裘 主编

中国医药科技出版社

R979.1

GX5

2888/08

Targeting Carrier of Antitumor Chemotherapy

Research on Polyphase Liposome in China

抗癌药物靶向载体

# 中国多相脂质体研究

主 编

Chief-in-Editor

顾学裘

*Gu Xue-qiu*

副主编

Deputy Chief-in-Editor

苏德森

*Su De-sen*

李焕秋

*Li Huan-qiu*

马竹卿

*Ma Zhu-qing*

马远鸣

*Ma Yuan-ming*

黄迪泽 (临床)

*Huang Di-ze*

顾茂瑜

*Gu Mao-yu*

吕兴庄 (临床)

*Lu Xing-zhuang*

赵威伯 (外文编审)

*Zhao Wei-bo*

马洪林

*Ma Hong-lin*

孙美祥

*Sun Mei-xiang*

王凤林

*Wang Feng-lin*

林棋桐

*Lin Qi-tong*

黄景健

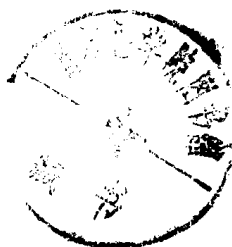
*Huang Jing-jian*

宋正亮

*Song Zheng-liang*



A0046684



中国医药科技出版社

CHINA MEDICO-PHARMACEUTICAL SCIENCE &  
TECHNOLOGY PUBLISHING HOUSE

## 内 容 提 要

脂质体是属于靶向给药系统的一种“导弹式”超微粒药物载体。将抗癌药物包封于脂质体中,通过各种途径给药后,能将药物导向靶区(癌组织或癌细胞),可提高抗癌药物的疗效,减小剂量,降低毒副作用,增加化疗药物的稳定性。本书共分13章,内容有多相脂质体的研究进展,多相脂质体139系列品种(如油酸、唐松草新碱、氟脲嘧啶、喜树碱、高三尖杉酯碱、氨甲喋呤、环磷酰胺、多糖类、顺铂等多相脂质体和肝动注阿霉素温度敏感脂质体)的研制,处方与工艺设计,物理化学性质、稳定性、包封率的测定,药理学、毒理学、动物体内药物动力学、体内分布及细胞动力学的研究,脂质体淋巴显像剂、脂质体原料(如人参多糖、大豆磷脂等)的开发,多相脂质体系列品种的临床应用等。

全书包括作者出席七次国际肿瘤学术会议的论文在内共70余篇,每篇均附有英文文摘与参考文献,是近十年来我国研究多相脂质体的文献荟萃。除供国内医药院校、科研单位、医院及药厂的有关人员参考外,还可供国际学术交流之用。

## 抗癌药物靶向载体 中国多相脂质体研究

顾学裘 主编

\*

中国医药科技出版社 出版  
(北京西直门外北礼士路甲38号)  
(邮政编码 100810)

本社激光照排室 照排  
北京市精工印刷厂 印刷  
新华书店北京发行所 发行

\*

开本 787×1092mm<sup>1</sup>/<sub>16</sub> 印张 23<sup>1</sup>/<sub>2</sub>  
字数 556 千字 印数 1—2300

1991年12月第1版 1991年12月第1次印刷

ISBN 7-5067-0360-2/R·0307

登记证号:(京)075号

定价:25.00元



中国多相脂质体创制者、本书主编 顾学裘教授（沈阳药学院）

主 编 顾学裘

副主编 苏德森 李焕秋 马竹卿 马远鸣 黄迪泽 (临床) 顾茂瑜  
吕兴庄 (临床) 赵威伯 (外文编审) 马洪林 孙美祥 王凤林  
林棋桐 黄景健 宋正亮

作 者 (以姓氏笔划为序)

|      |          |     |     |      |     |     |
|------|----------|-----|-----|------|-----|-----|
| 马冬娣  | 马竹卿      | 马远鸣 | 马宛龙 | 于庆海  | 于保法 | 万建胜 |
| 万雪柏  | 上野雅晴 (日) | 王士贤 | 王公英 | 王文淮* | 王立群 |     |
| 王春旭  | 王德璋      | 王 燕 | 邓英杰 | 丛义滋  | 史宏彰 | 史淑芬 |
| 朱九德* | 朱蓓玲      | 朱慧娟 | 刘世庆 | 刘 海  | 刘 琳 | 刘 锋 |
| 关世侠  | 关慧英      | 吕兴庄 | 江 春 | 孙淑英  | 孙毓庆 | 孙鑑堂 |
| 许德凤  | 邹一愚      | 张月梅 | 张尔志 | 张永恒  | 张玉琴 | 张宝凤 |
| 张俊杰  | 张清民      | 张敬宝 | 邵以德 | 邵永美  | 邵 江 | 李 民 |
| 李东辉  | 李宝媛      | 李 菊 | 李焕秋 | 李德仁  | 李德华 | 杨永泉 |
| 杨 红  | 杨志博      | 杨香媛 | 余永铭 | 余 峰  | 何正善 |     |
| 苏兴仁  | 苏德森      | 沈兴昶 | 沙 沂 | 吴怀英  | 吴家琪 | 吴菊英 |
| 吴善芳* |          | 陈济民 | 陈美丽 | 陈 琪  | 陈滨凌 | 辛顺妹 |
| 闵翠娟  | 林东海      | 林静娟 | 周明伦 | 周晓燕  | 郑俊民 | 郑惠黎 |
| 洪元康  | 赵立平      | 赵德厚 | 胡成久 | 胡连生  | 俞绍音 | 俞惠然 |
| 祝晓华* | 姚崇舜      | 夏东亚 | 唐世军 | 唐 谨  | 高光恩 | 高晓彦 |
| 郭孝达* |          | 郭诗玫 | 党国芬 | 顾茂健  | 顾茂瑜 | 顾学裘 |
| 陶 钧  | 徐莉英      | 徐爱英 | 倪莲娣 | 黄迪泽  | 黄惠珍 | 章英剑 |
| 戚 洪  | 堀越勇 (日)  | 梁 潘 | 梁 潘 | 蒋长英  | 韩冰渡 | 韩贵成 |
| 裴孙琳  | 裴 钢      | 潘秉梅 |     |      |     |     |

， [吴善芳]、[郭孝达]、王文淮、朱九德、祝晓华等医师对脂质体作为抗癌药物载体的临床观察和咨询等作了大量工作，限于篇幅未收录他们的文章，特此说明。

# 目 录

|                                                                                                |        |
|------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| 第一章 多相脂质体研究的进展 .....                                                                           | ( 1 )  |
| 〔一〕 脂质体的形成及其结构 .....                                                                           | ( 1 )  |
| 〔二〕 多相脂质体处方及制备工艺 .....                                                                         | ( 4 )  |
| 〔三〕 处方设计的科学依据 .....                                                                            | ( 6 )  |
| 〔四〕 多相脂质体的作用特点 .....                                                                           | ( 7 )  |
| 〔五〕 临床疗效评价 .....                                                                               | ( 11 ) |
| 〔六〕 多相脂质体的物理化学性质与稳定性 .....                                                                     | ( 11 ) |
| 〔七〕 多相脂质体 139 系列品种研究的展望 .....                                                                  | ( 17 ) |
| 第二章 油酸多相脂质体 139 的研究 .....                                                                      | ( 21 ) |
| 〔一〕 多相脂质体 139 等抗癌活性的筛选 ( I 报) .....                                                            | ( 21 ) |
| 〔二〕 多相脂质体 (139, 76) 混悬型静脉注射液的研究 ( II 报) .....                                                  | ( 29 ) |
| 〔三〕 多相脂质体 139 液晶态的物理特性观察 .....                                                                 | ( 35 ) |
| 〔四〕 多相脂质体 139 注射液物理稳定性的研究 .....                                                                | ( 38 ) |
| 〔五〕 多相脂质体 139 注射液化学稳定性的研究 .....                                                                | ( 45 ) |
| 〔六〕 多相脂质体 139 的气相色谱分析 .....                                                                    | ( 49 ) |
| 〔七〕 多相脂质体 139 不同温度下的 <sup>1</sup> H-NMR 谱变化和 <sup>13</sup> C-NMR 谱 T <sub>1</sub><br>的研究 ..... | ( 54 ) |
| 〔八〕 相转化温度法测定多相分散系制剂稳定性的研究 .....                                                                | ( 58 ) |
| 〔九〕 混悬型多相脂质体 139 静脉输注液粒径及异物检查方法 .....                                                          | ( 62 ) |
| 〔十〕 油酸多相脂质体 139 注射液包封率测定方法的研究 .....                                                            | ( 66 ) |
| 〔十一〕 多相脂质体 139 中油酸 <sup>3</sup> H 标记物体内分布及药物动力学研究<br>.....                                     | ( 72 ) |
| 〔十二〕 多相脂质体 139 对 Lewis 肺癌大小、转移灶、cAMP 和 cGMP<br>水平的影响 .....                                     | ( 77 ) |
| 〔十三〕 多相脂质体 139 抑制 DNA、RNA、蛋白质生物合成机制的<br>初步研究 .....                                             | ( 80 ) |
| 第三章 复方唐松草新碱多相脂质体 139-2 的研究 .....                                                               | ( 87 ) |
| 〔一〕 复方唐松草新碱多相脂质体的研究 .....                                                                      | ( 87 ) |
| 〔二〕 唐松草新碱多相脂质体 139-2 注射液的包封率测定 (Sephadex<br>凝胶柱——荧光法) .....                                    | ( 89 ) |

|                                                  |              |
|--------------------------------------------------|--------------|
| 〔三〕 多相脂质体 139-2 注射液中唐松草新碱的荧光光谱测定法 .....          | ( 9 2 )      |
| 〔四〕 唐松草新碱 (TD) 在水溶液中和多相脂质体中的化学稳定性研究 .....        | ( 9 6 )      |
| 〔五〕 变价态唐松草新碱-PVC 膜离子选择电极的研制及解离常数的测定 .....        | (105)        |
| 〔六〕 唐松草新碱两种剂型的药物动力学比较 .....                      | (108)        |
| <b>第四章 复方氟脲嘧啶多相脂质体 139-3 的研究 .....</b>           | <b>(114)</b> |
| 〔一〕 复方氟脲嘧啶多相脂质体 139-3 的研究进展 .....                | (114)        |
| 〔二〕 复方 5-氟脲嘧啶多相脂质体体内分布研究 .....                   | (120)        |
| 〔三〕 用正交函数分光光度法测定多相脂质体中的氟脲嘧啶 .....                | (123)        |
| 〔四〕 Kalman 滤波分光光度法同时测定多相脂质体口服液中氟脲嘧啶和尼泊金的含量 ..... | (129)        |
| 〔五〕 氟脲嘧啶多相脂质体 139-3 对小鼠肿瘤抗转移作用的研究 .....          | (135)        |
| <b>第五章 喜树碱多相脂质体 139-10 的研究 .....</b>             | <b>(139)</b> |
| 〔一〕 复方喜树碱多相脂质体的研究进展及临床疗效分析 .....                 | (139)        |
| 〔二〕 喜树碱多相脂质体包封率测定方法及渗漏的研究 .....                  | (145)        |
| 〔三〕 喜树碱多相脂质体 139-10 注射液中微粒的电泳性质研究 .....          | (150)        |
| 〔四〕 喜树碱钠注射液化学稳定性的研究 .....                        | (155)        |
| 〔五〕 喜树碱前体的药物动力学研究 .....                          | (159)        |
| 〔六〕 喜树碱前体多相脂质体的药理学研究 .....                       | (167)        |
| 〔七〕 喜树碱多相脂质体的肿瘤细胞动力学及分子药理学研究 .....               | (173)        |
| <b>第六章 高三尖杉酯碱多相脂质体 139-5 的研究 .....</b>           | <b>(181)</b> |
| 〔一〕 高三尖杉酯碱多相脂质体 139-5 制剂和药理学研究 .....             | (181)        |
| 〔二〕 高三尖杉酯碱多相脂质体 139-5 小鼠体内分布研究 .....             | (185)        |
| 〔三〕 高三尖杉酯碱多相脂质体注射液物理性质的研究 .....                  | (188)        |
| 〔四〕 高三尖杉酯碱多相脂质体注射液物理稳定性的研究 .....                 | (193)        |
| 〔五〕 高三尖杉酯碱多相脂质体注射液化学稳定性的研究 .....                 | (197)        |
| <b>第七章 氨甲喋呤多相脂质体 139-6 的研究 .....</b>             | <b>(201)</b> |
| 〔一〕 氨甲喋呤多相脂质体的制备及其动物抑瘤活性和临床前药理学实验研究 .....        | (201)        |
| 〔二〕 氨甲喋呤多相脂质体小鼠体内的药物动力学和药物分布的实验研究 .....          | (207)        |
| 〔三〕 氨甲喋呤多相脂质体化学稳定性的研究 .....                      | (213)        |
| 〔四〕 氨甲喋呤多相脂质体的包封率测定与渗漏研究 .....                   | (219)        |

|                                                                    |              |
|--------------------------------------------------------------------|--------------|
| 〔五〕 纸层析-荧光法测定多相脂质体中氨甲喋呤的含量 .....                                   | (223)        |
| <b>第八章 环磷酰胺多相脂质体 139-7 的研究 .....</b>                               | <b>(228)</b> |
| 〔一〕 环磷酰胺多相脂质体的研究进展 .....                                           | (228)        |
| 〔二〕 环磷酰胺的含量分析方法及其在环磷酰胺多相脂质体化学稳定性<br>研究中的应用 .....                   | (235)        |
| 〔三〕 环磷酰胺脂质体 (CPL) 重建型的制备及重建后 CPL 的特性和<br>抑瘤作用的研究 .....             | (239)        |
| 〔四〕 冻干环磷酰胺多相脂质体在大鼠体内药物代谢动力学的研究 .....                               | (246)        |
| 〔五〕 用气相色谱法测定环磷酰胺多相脂质体在大鼠血中的环磷酰胺<br>浓度 .....                        | (250)        |
| <b>第九章 多糖类及顺铂多相脂质体的研究 .....</b>                                    | <b>(254)</b> |
| 〔一〕 多糖类的生物活性及其发展趋向 .....                                           | (254)        |
| 〔二〕 双多糖多相脂质体的研究——多糖中有效成分的选择和鉴定 .....                               | (258)        |
| 〔三〕 双多糖多相脂质体的药理作用 .....                                            | (264)        |
| 〔四〕 多糖多相脂质体的物理性质与稳定性研究 .....                                       | (271)        |
| 〔五〕 复方顺铂多相脂质体的初步研究 .....                                           | (276)        |
| <b>第十章 多相脂质体淋巴显像剂的研究 .....</b>                                     | <b>(280)</b> |
| 〔一〕 $^{99m}\text{Tc}$ -油酸多相脂质体注射液的动物实验与临床初步应用 .....                | (280)        |
| 〔二〕 淋巴结显像剂 $^{99m}\text{Tc}$ -脂质体的制备与动物实验 .....                    | (286)        |
| 〔三〕 双分子层液晶膜-脂质体淋巴结显像剂的研究 .....                                     | (290)        |
| 〔四〕 $^{99m}\text{Tc}$ -脂质体腹部淋巴结显像 .....                            | (294)        |
| 〔五〕 $^{99m}\text{Tc}$ -双分子层液晶膜-脂质体乳内淋巴显像 .....                     | (299)        |
| 〔六〕 新的淋巴结显像剂—— $^{99m}\text{Tc}$ -油酸多相脂质体药盒的研制及<br>临床应用 (摘要) ..... | (302)        |
| <b>第十一章 肝动注阿霉素温度敏感脂质体的药物传递和治疗开发的实验研究 .....</b>                     | <b>(304)</b> |
| 〔一〕 阿霉素温度敏感脂质体的制剂及其可控性研究 .....                                     | (304)        |
| 〔二〕 阿霉素及 LADM 的体内外定量分析 .....                                       | (310)        |
| 〔三〕 阿霉素温度敏感脂质体的靶行为研究和治疗应用的探索 .....                                 | (315)        |
| <b>第十二章 多相脂质体系列品种临床应用的研究 .....</b>                                 | <b>(331)</b> |
| 〔一〕 多相脂质体 139 治疗肺癌 245 例的临床研究报告 .....                              | (331)        |
| 〔二〕 多相脂质体 139 合并大剂量联合化疗对小细胞未分化肺癌的<br>疗效报告 .....                    | (339)        |
| 〔三〕 多相脂质体 139 对肺癌患者巨噬细胞功能的作用 .....                                 | (346)        |



|                                                           |              |
|-----------------------------------------------------------|--------------|
| 〔四〕 多相脂质体 139 治疗脉管炎 1 例 .....                             | (349)        |
| <b>第十三章 脂质体原料的研究 .....</b>                                | <b>(351)</b> |
| 〔一〕 人参多糖对健康人和肺癌患者淋巴细胞 DNA 合成的影响 .....                     | (351)        |
| 〔二〕 豆磷脂对人体淋巴细胞 DNA 合成的影响 .....                            | (357)        |
| 〔三〕 豆磷脂对小鼠吞噬功能的影响 .....                                   | (360)        |
| 〔四〕 核磁共振法测定非离子表面活性剂 HLB 值的研究——几种混合体系<br>HLB 值的测定与计算 ..... | (362)        |

# 第一章 多相脂质体研究的进展

顾学裘 苏德森 李焕秋

## 〔一〕脂质体的形成及其结构

脂质体(或称类脂小球、液晶微囊)是一种类似微型胶囊的新剂型,它能够将药物包封于类脂质双分子层形成的超微型球状载体内。所谓载体,大多是一组分子,包封于药物外,通过渗透或被巨噬细胞吞噬后,由酶类分解而释放药物,从而发挥作用。自1971年英国莱门(Rymen)等人提出将脂质体用作药物载体后,引起各国学者的重视,因此,近十年来美国、西欧及日本等对脂质体在药物传递系统(Drug Delivery System)中的研究有了较迅速的进展。已将脂质体用作抗癌药物、酶制剂、锑制剂及抗生素药物的载体,特别是用作抗癌药物载体,每年都有大量论文发表,已见文献报道的有阿霉素、柔红霉素、长春新碱、博来霉素、氟脲嘧啶、氨甲喋呤、放线菌素D、丝裂霉素C、阿糖胞苷及甲环亚硝脒(Me-CNU)等脂质体制剂。70年代末沈阳药学院制剂研究室和上海长宁区中心医院也开始了多相脂质体的研究。

脂质体(Liposome)与多相脂质体(Polyphase Liposome)根据其处方组成与制备工艺不同,大体上有以下区别:

1. 国外文献中报道的脂质体是将包好的脂质体混悬液通过分子筛分离除去其游离药物,特别是脂溶性药物,然后将分离出来的脂质体经过洗涤后,再混悬在缓冲液中制成混悬型静脉滴注液或口服液。这样制备的脂质体可分为三类:①小单室脂质体(Small Unilamellar Vesicles, SUV),粒径在20~50nm,对于水溶性药物的溶液只被一层类脂质双分子层所包封,脂溶性药物则分散于双分子层中。凡经超声波分散的脂质体混悬液,绝大部分为单室脂质体;②多室脂质体(Multilamellar Vesicles, MLV),粒径约在400~3500nm,有几层脂质双分子层将被包含的药物(水溶性药物)的水膜隔开,形成不均匀的聚合体,脂溶性药物则分散于几层双分子层中;③大单室脂质体(Large Unilamellar Vesicles, LUV),粒径为200~1000nm。

2. 我们设计的多相脂质体处方是属于胶体分散系的载体,其中除脂质体的骨架物质外,还加入一些非离子表面活性剂与高效固体分散剂。包成的脂质体混悬液不经分子筛分离,因为没有包入脂质体的游离药物,被非离子表面活性剂分散成多相分散的混悬液或乳剂,因此,多相脂质体中绝大部分为单室脂质体与多室脂质体,极少量为增溶胶团, o/w 或 w/o/w 型乳剂等胶体分散系,如图1所示为多相脂质体139-10的电子显微镜照片。

多相脂质体139系列品种,经过九年数千例的临床观察,充分证明了临床使用是安全的。

脂质体的结构与由表面活性剂构成的胶团不同<sup>〔1〕</sup>,后者多是由单分子层所组成的,而脂

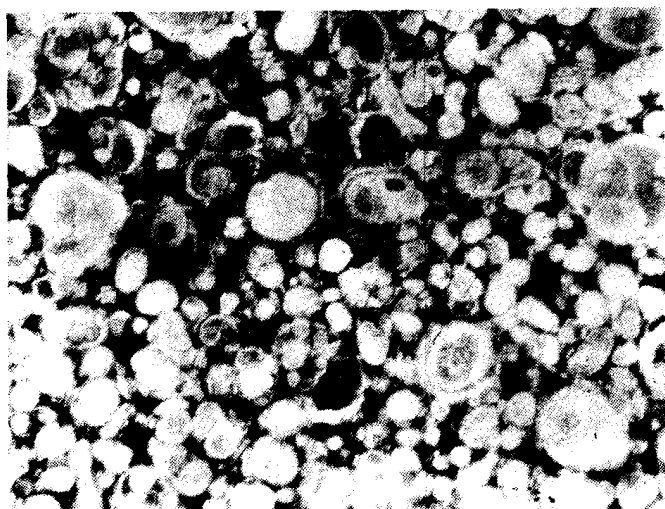


图1 多相脂质体 139-10 电子显微镜照片 (放大 24 万倍)

脂质体由双分子层所组成。胶团增溶的溶液用肉眼观察呈透明状，而脂质体是用类脂质（如卵磷脂、胆固醇等）构成的双分子层为膜材包含而成。磷脂的结构中含有一个磷酸基团和一个含氮的碱基（季铵盐），均为亲水性基团，还有两个较长的烃链为亲油基团。分子中磷酸部分极性很强，溶于水；但烃链  $R_1$  与  $R_2$  为非极性部分，不溶于水，其结构与肥皂分子相似，肥皂是长链脂肪酸（烃链非极性部分）的钠和钾盐（极性部分）。把类脂质的醇溶液倒入水面时，它们的极性部分在水里，亲油的非极性部分则伸向空气中，如图 2-A 所示。当极性类脂分子被水完全包围时，其极性基团面向两侧的水相，而非极性的烃链彼此面对面缔合成双分子层，如图 2-B 所示，也可以形成球状，如图 2-C 所示。

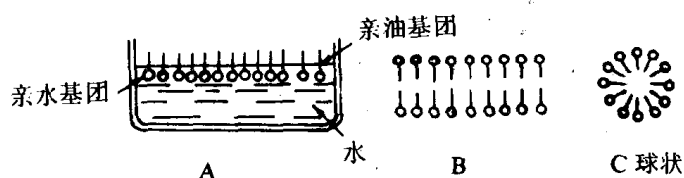
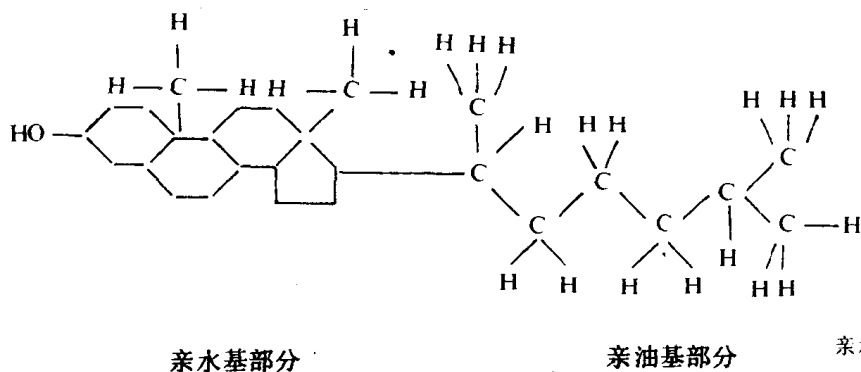


图2 磷脂类在水中的排列形式示意图

B. 磷脂所变成的双分子层，分子的极性端浸于水相中，而非极性部分缔合成双分子层

胆固醇亦属于两亲物质，其结构上亦具有亲油与亲水两种基团：



胆固醇结构式

从胆固醇的结构看来，其亲油性较亲水性强。用磷脂与胆固醇作脂质体的膜材时，必须先将类脂质溶于有机溶剂中配成溶液，然后蒸发除去有机溶剂，在器壁上使成均匀的一类脂质薄膜，此薄膜是由磷脂与胆固醇混合分子相互间隔定向排列的双分子层所组成。磷脂与胆固醇的排列方式，如图 3-A 所示；磷脂分子的极性端呈弯曲的弧线，形似“手杖”，与胆固醇分子的极性基团相结合，故亲水基团上接有两个亲油基团，如图 3-B 所示。

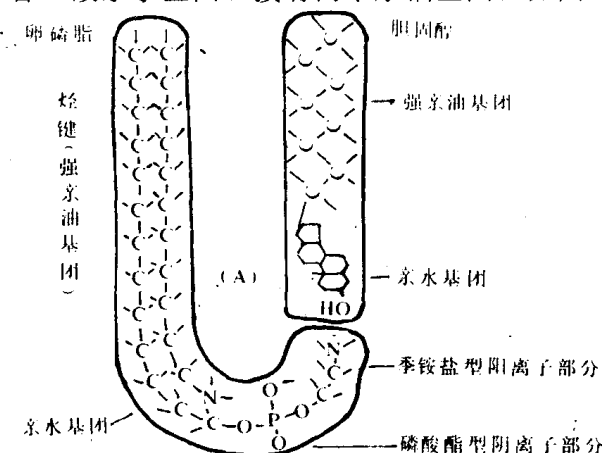
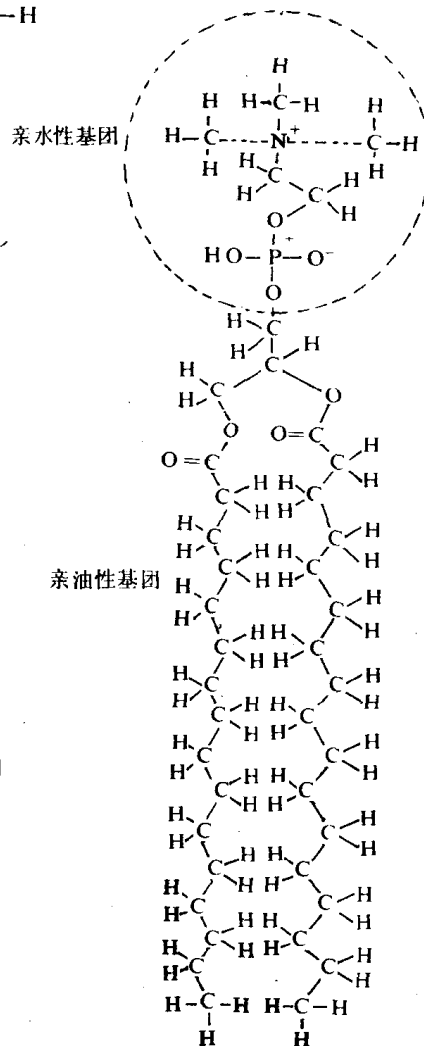
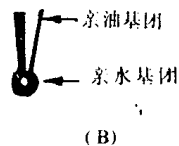


图 3 卵磷脂与胆固醇在脂质体中的排列形式 (示意图)



磷脂结构式



当薄膜形成后，加入磷酸盐缓冲液振荡或搅拌即可形成单室或多室的脂质体。在不断搅拌中，使水膜中容纳大量的水溶性药物，而脂溶性药物则结合于双分子层的亲油基部分。凡由一层类脂质双分子层构成者，称为单室脂质体，如图 4-A 所示。由多层类脂质双分子层构成的，称为多室脂质体，如图 4-B 所示。

脂质体的某些物理性质可根据治疗上的需要加以改变。例如，其半径大小与给药途径及药物释放速度有关，可以调节在  $n$  毫微米至  $n$  微米之间；通过渗入两性带电物质，可改变脂质体表面所带的电荷；对作膜材用的类脂质成分的改变，可以控制被携带药物的通透性和稳定性等。

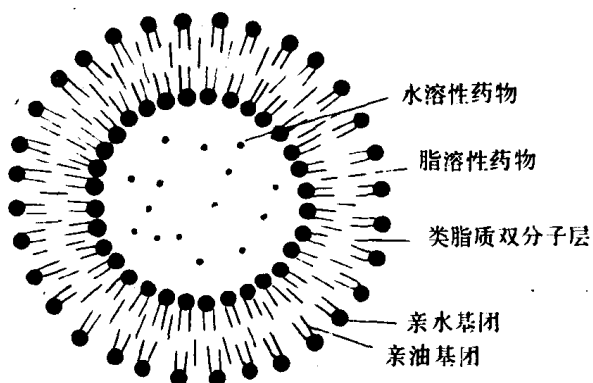


图 4-A 单室脂质体结构示意图

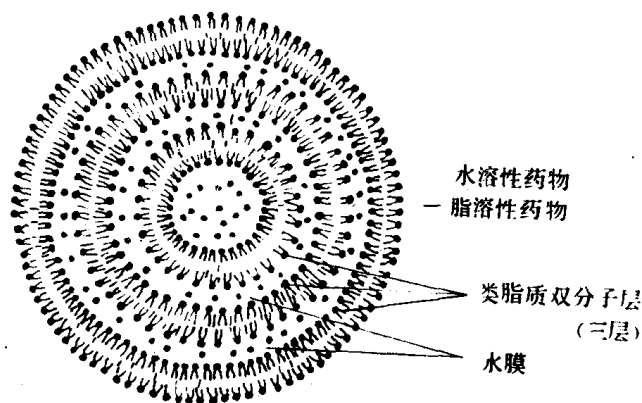


图 4-B 多室脂质体结构示意图

## 〔二〕多相脂质体处方及制备工艺<sup>〔2〕</sup>

我们设计的多相脂质体的处方及工艺与国外文献中报道的有许多不同之处，如处方设计是应用中医“扶正祛邪、攻补兼施”的原则作为科学依据的，因此处方组成比较复杂。制备工艺设计上在我们的早期工作中主要有三点创新：解决了脂溶性药物包封量不足的问题；采用我们设计的熔融法工艺，省略了有机溶剂的消耗，保证了安全生产；可以经受 100℃ 30 分钟的灭菌，而且灭菌并再分散后所得的成品中超微粒的粒径与粒度分布变化不大，故不需要无菌操作，简化生产工艺。此外，在十年的研究工作中，由于各种化疗药物物理化学性质与性状不同，所以处方与工艺加以适当调整。譬如，对水溶性药物解决了渗漏及降低包封率问题，对易水解药物，设计了重建型（冻干态）脂质体的制备；在易氧化的药物处方中加入自由基净化剂并通以惰性气体以保持其化学稳定性，以及不溶性药物先制成前体药物后再包入脂质体中，使成品的物理稳定性显著增加。其优点如下：

1. 解决了脂溶性药物包封量不足的问题。抗癌药物在脂质体中的包封量，特别是脂溶性药物比较小，因此有一部分没有包入脂质体结构中的药物，往往呈现较小的油珠，漂浮在注射液的表面，如油珠过大就不符合静脉滴注的要求。在国外文献中为了除去这部分游离的脂溶性药物，往往把包好的脂质体混悬液通过分子筛（如 Sephadex G50）分级，将漂浮在溶液中的油珠滤去，分离出来的脂质体（包有药物的）经过洗涤后，再混悬在缓冲液中制成混悬型静脉滴注液，而且制备时多数采用无菌操作工艺，手续繁杂，技术要求特别严格。我们为了增加包封量，简化工艺，提高成品的疗效，保证使用安全，设计了一种抗癌药物新剂型——多相脂质体，处方中除抗癌药物（水溶性或脂溶性）与脂质体的骨架物质（大豆磷脂与胆固醇）外，还加入了一些配比适宜的非离子表面活性剂，把没有包进脂质体结构的油珠分散成超微粒，使符合静脉注射要求。非离子表面活性剂在制剂中常用作增溶剂，当其在水中的浓度达到一定浓度限度时，非离子型表面活性剂分子即互相聚集定向排列，分子上的亲水基团向外（水），亲油基团向内而成胶团，一部分游离的脂溶性药物镶嵌在胶团中，这种分散系属于胶体溶液；另一部分游离的脂溶性药物则被非离子型表面活性剂乳化成 o/w 乳剂或 w/o/w 型多层乳剂。故这一多相复合系统中绝大部分为单室与多室脂

质体, 少量为增溶胶团, o/w 型乳剂及 w/o/w 型多层乳剂共同混悬在水相中, 所有这些超微粒, 都存在着物理界面, 各部分物理化学性质也不能绝对均一, 因此, 从分散系角度分析, 我们设计的脂质体制剂, 是属于多相分散物系, 故命名为多相脂质体。

2. 用熔融法制备脂质体, 避免应用有毒性的有机溶剂。国外文献中制备脂质体大多采用注入法、薄膜分散法、超声波分散法以及冷冻干燥法等, 都要使用有机溶剂, 将磷脂与胆固醇等类脂质及脂溶性药物共溶解于有机溶剂后, 分散在磷酸盐缓冲液中制成脂质体。我们考虑到大量制备时的安全生产, 以及去除残余有机溶剂等问题, 又根据多相脂质体处方的特殊组成, 改用了熔融法制备脂质体, 可省略有机溶剂, 这是国外文献中从未报道的, 也是在脂质体制备工艺上一次重要的改革。多年来在改用熔融法工艺后, 所制备的成品在脂质体的结构、粒径及粒度分布以及其它质量方面, 基本与注入法所制备的成品是一致的。但必须指出, 各种组分在 80℃ 熔融后, 胆固醇结晶应完全溶解, 否则配液过滤时会阻塞滤器, 引起操作上的困难。熔融法必须澄明后才能分散在磷酸盐缓冲液中, 否则遇到强疏水性药物, 往往容易从脂质体结构中析出。碰到这种情况时, 强疏水性药物仍须先用少量有机溶剂 (多半用乙醇等无毒溶剂) 溶解后, 再分散在熔融液中, 然后蒸发除去有机溶剂后分散在缓冲液中制成多相脂质体。总之, 应根据主药的理化性质来制订工艺。

3. 多相脂质体的灭菌。国外大多文献中报道, 制备脂质体必须采用无菌操作法, 因为加热灭菌后脂质体结构容易破坏、分层以至超微粒变大, 成品不稳定。我们设计的多相脂质体处方, 制备的多相脂质体能经受 100℃ 30 分钟灭菌, 而且粒径大小与粒度分布, 几乎与灭菌前无显著差别。经过灭菌前后的实验测定, 反复证明了这一点。

4. 解决水溶性药物的渗漏及降低包封率。水溶性大的药物包入脂质体后, 由于膜的半透性与电解质的影响, 药物外渗而使包封率明显下降, 使靶向性随之减弱, 如处方中加入 PVP 等高分子物质, 使水相的粘滞性增加, 不仅能保持脂质体混悬液的稳定性, 而且亦能延缓渗漏。如配制口服多相脂质体亦可将药物的超微粒分散在油相中制成, 口服后, 油滴在胃内不溶解, 因此避免对胃壁的刺激 (如 CTX 多相脂质体) 或避免被胃酸分解而降低疗效 (如多糖多相脂质体), 当进入肠道后, 大量被巨噬细胞所吞噬, 具有对淋巴系统的靶向性。

5. 重建型 (冻干态) 脂质体的制备。环磷酰胺 (CTX) 在水溶液中极易水解失效, 如按一般脂质体的制备方法, 必须经过加热过程, 最后还须加热灭菌, 必然会导致 CTX 的水解破坏, 高晓彦等<sup>[3]</sup>设计了一种重建型 (冻干态) 环磷酰胺脂质体的制备新工艺 SLV (Sonication-Lyophilization-Vesicle) 法。制备过程中 CTX 的损失量仅为 4.34%, 包封率达 50% 以上, 平均粒径为 0.689μm。重建型的 CTX 脂质体, 临床应用时加注射用水适量, 摇匀后成均匀的混悬液, 包封率、粒径与粒度分布, 以及 CTX 的含量等基本上无变化, 加于 5% 葡萄糖注射液或生理氯化钠注射液中静滴。

6. 不溶性药物包封脂质体。不溶性药物往往疏水性强, 如用有机溶剂溶解后包封在脂质体中, 当有机溶剂在包封过程中, 加热蒸发散失, 药物分散在双分子层中, 常在灭菌后又析出结晶。如喜树碱游离体不溶于水, 制备一般注射液 (水溶液) 时, 往往加入氢氧化钠打破喜树碱结构上的内酯环使成钠盐, 但极不稳定, 在光、热的作用下能加速氧化使产品在短期内颜色变深。为了克服喜树碱多相脂质体注射液容易氧化的缺点, 我们用碱性氨

基酸代替氢氧化钠,先合成喜树碱前体,再配制多相脂质体,不仅使成品稳定而且在体内特别在肝脏代谢后,游离的碱性氨基酸具有保肝作用<sup>[4]</sup>。

### 〔三〕处方设计的科学依据

祖国医学对肿瘤患者的治疗往往采用“扶正祛邪、攻补兼施”的原则。“正”是指人体的抗病能力和正常的免疫功能,“扶正”就是扶持正气的意思。“邪”是指一切致病因素以及病理产物。所以手术、放疗、化疗等杀灭癌细胞、消除肿块的治疗都是属于“祛邪”。中医的临床实践证明,“扶正”和“祛邪”是相辅相承的。“祛邪”必须有“扶正固本”药的配合,因此“扶正”为“祛邪”创造了条件,“祛邪”又进一步保护了正气,二者是辩证的对立统一,不能形而上学地加以割裂。国内对于中药方剂研究的有关资料中报道,近年来中医应用补益方剂(大多是“扶正固本”、“活血化瘀”药的配合)对肿瘤防治与研究中采用“扶正祛邪”的原则,已取得了可喜的苗头。中医认为在肿瘤的治疗中,必须以扶持正气,培植本元的方剂来调整人体阴阳气血,提高机体免疫功能及抗癌能力。在临床研究方面,可提高临床疗效,延长肿瘤患者的生存期,减轻放疗与化疗毒副反应,提高手术效果,以及防止肿瘤转移的研究等都取得了较好的成果。如促进实验动物的免疫功能,改善骨髓造血功能;提高内分泌体液的调节功能;调节细胞内的cAMP含量及cAMP/cGMP的比值;能抑止肿瘤的浸润和转移以及预防肿瘤的发生和发展等。中医一再强调:如果片面地用毒性比较强烈的药物,想一下子消除肿瘤,往往攻伐太过而损伤正气,影响人的抗病机能。反过来,如果只片面地强调扶正的补药,对肿瘤不用攻药去消除的话,那么就会姑息养奸,不仅不能使肿瘤缩小以至消失,而且会使肿瘤得到相应的增长。因此,在治疗中强调处理好“正”与“邪”的关系,尽量做到“祛邪”而不伤“正”,“扶正”而不留“邪”。癌症早期,一般“正”较强,“邪”尚浅,治疗原则以攻“邪”为主(即西医主张早期发现,早期手术)。到了中期,“正”逐渐减弱,“邪”由浅入深,治疗原则多用攻补兼施。癌症晚期,由于病魔经久缠身,“正”气衰减,“邪”气相对较强,治疗原则主要以“扶正”为主,以固其本。中医药治疗癌症有着无限光明的前途,它与手术、放疗、化疗相比,确实有独特之处。

关于中药的反突变作用的研究,亦表明我国对肿瘤研究已进入了一个新阶段,并且引起国内外学者的关注。研究表明,致变(致癌剂)等因素的持续作用,是癌症屡治不愈的主要原因之一。因而阻断这些因素对细胞的影响是根治肿瘤的必要条件。实验证明,中药治疗是阻断突变的一个理想方法,并且认为中药在反突变方面有着极大的潜在力量。“扶正固本”药的主要药理作用:①能改善机体的代谢失调,如对核酸代谢、环核苷酸、糖类、蛋白质、脂类等代谢及能量代谢有调节作用;②能增强免疫功能,所以中医的“扶正固本”概念与现代免疫学理论有相似之处;③激发机体自卫机制,如改善机体对环境的适应能力与增强机体解毒功能等;④对内分泌系统的调节作用;⑤改善造血系统的功能等。所以“扶正固本”药物的药理作用特点是,在机体病理情况下,它们能增加或恢复机体的调节作用,使机体失调的机能趋于平衡。

我们针对癌症患者免疫功能低下和化疗药的毒副作用,在设计化疗药物多相脂质体的

处方与工艺时,既要保证药物的抗癌疗效,又要减少它们对机体造血系统和免疫功能的影响。如利用多不饱和脂肪酸、大豆磷脂、胆固醇、猪苓多糖、人参多糖、黄芪多糖、粘多糖类以及其它免疫增强剂等能增强机体免疫功能和升白作用,又结合脂质体的结构和作用特点,将化疗药物分别包封于脂质体的类脂相与水相中,以制成既具有靶向性又“扶正祛邪”的八十年代新型抗癌制剂。如中晚期肺癌患者在使用多相脂质体 139 注射液 1~2 个疗程后,自觉症状有明显好转,甚至咯血停止,胸水消失,肿块有不同程度的缩小。个别晚期癌症患者(特别是未分化小细胞癌)用 1~2 个疗程 139 后,如果在 X 光片上与用前对比变化不明显时,可改用小剂量化疗或放疗,X 光片上的改变就比较明显。这种“综合疗法”实际上就是“扶正祛邪”的应用。因为只“祛邪”不“扶正”,在没达到疗效之前,会由于化疗药物强烈的毒副反应而被迫停药,在医疗上处于束手无策的境地。因此,“靶向给药”与“扶正祛邪、攻补兼施”相结合用于肿瘤治疗是我国首创的。

#### 〔四〕多相脂质体的作用特点

根据几年来对该新剂型一系列的基础理论研究工作与临床疗效观察,其特点综合有以下几个方面:

1. 多相脂质体的液晶态与生理功能的关系。多相脂质体(139)混悬型静脉注射液<sup>[5,6]</sup>,主要组成有油酸、大豆磷脂、胆固醇、非离子表面活性剂以及高效分散剂 PVP 等。市售的化学纯油酸,经色谱质谱联用分析<sup>[7]</sup>,实际上是由油酸(68.32%)、亚油酸(15.47%)、棕榈油酸(4.92%)、软脂酸(8.02%)及微量亚麻油酸和二十碳二或三烯酸所组成。据文献报道<sup>[8]</sup>,多数荷瘤动物在组织细胞内不饱和脂肪酸(包括油酸、亚油酸、亚麻酸、花生四烯酸等)的含量水平降低。多相脂质体 139 是给癌症患者补充最主要的必须的不饱和脂肪酸,这些不饱和脂肪酸供应不足或过多氧化会导致细胞线粒体结构改变、癌变,甚至引起死亡。以上海市长宁区中心医院使用本制剂对 41 例胃癌患者的临床观察,病人用药后手术切除的瘤体组织中,癌细胞大片坏死、萎缩、变性、变形。

文献报道<sup>[9]</sup>类脂质(脂质体的骨架物质为大豆磷脂与胆固醇)、非离子表面活性剂与水形成的复合系统常产生液晶或胶团类的聚集体。当用这种剂型静脉滴注时,容易在淋巴、肝、肺、脾等网状内皮系统丰富组织内集中,到达靶区后释放药物,保持持续的药物浓度,发挥显著的疗效。

生物组织的液晶态与生命活动有关<sup>[10]</sup>,包裹药物的脂质体的液晶态性质也是值得注意的问题,为此我们对冷冻干燥的多相脂质体 139 液晶态的物理特性进行了观察<sup>[11]</sup>,应用 DSC(示差扫描热计)及 TG(热重分析仪)测定冷干多相脂质体 139 的相变温度,发现大约在 108℃ 开始出现一个尖锐的吸热相变峰;应用偏光显微镜及热台显微镜观察,在 15~110℃ 之间,存在双折射现象。以上实验结果说明:在 15~108℃ 范围内,冷冻干燥多相脂质体 139 显示光学异性,具有液晶态结构,故脂质体亦称“液晶微囊”。

2. 淋巴系统定向性。我们研制的多相脂质体的混悬型静脉滴注液(如 139、139-2、139-3 等)属于超微粒药物载体,都具有淋巴系统定向性。这种定向作用,有的是通过内吞作用(Endocytosis),被体内网状内皮系统(如淋巴、肝、肺、脾等)的巨噬细胞作为外来异物所



吞噬,进入溶酶体,然后被酶消化而放出药物;有的是通过融合作用(Fu-sion),即脂质体的膜材料与细胞构成物相似而融合进入细胞内,然后被消化释放药物使药物在靶区组织中维持较高的浓度,以提高抗癌药物制剂的生物利用度。

苏兴仁等<sup>[12]</sup>作了多相脂质体 139 中油酸<sup>3</sup>H 标记物体内分布及药物动力学研究,证明:该制剂用家兔静脉注射后,血药浓度时程曲线具有两隔室开放模型特征。分布相半衰期为 0.2 小时,消除相半衰期为 24.9 小时;在小白鼠的脏器分布具有一定定向性,在脾、肝、肺脏中分布最高,在胸腺、癌组织亦都有检出。

3. 对癌细胞的亲和性。李民报道<sup>[13]</sup>利用显微放射自显影方法研究<sup>3</sup>H-油酸(139 的主要成分)对艾氏腹水癌细胞的代谢定位。

取接种艾氏腹水癌细胞 7 天后的小白鼠,将<sup>3</sup>H-油酸以 100mg/kg 的剂量于小鼠尾静脉注入 11 小时后,显微放射自显影表明,<sup>3</sup>H-油酸可广泛分布在艾氏腹水癌细胞周围,可以看到大量的<sup>3</sup>H-油酸的放射性银颗粒定位在癌细胞膜上,并具有一定亲和性。当时间延长 4 小时,<sup>3</sup>H-油酸可透过细胞膜进入癌细胞内,其分布以胞浆内核膜为多,在细胞核内亦有少量分布。<sup>3</sup>H-油酸在 8 小时后,集中分布在癌细胞核内以及分裂相细胞的纺锤体中。

以上结果表明,油酸在艾氏腹水癌细胞的代谢定位,尤其是在细胞核及分裂相细胞的纺锤体中分布,可能与油酸的抗癌作用密切相关。

4. 对癌细胞动力学的影响。多相脂质体 139 注射液对艾氏腹水癌细胞增殖周期具有一定影响。用药后 8~12 小时,S 期及非 S 期细胞的损伤均呈现高峰,以 S 期细胞损伤尤为明显,损伤率为 32%,观察到部分细胞核膜破裂、核破裂,导致整个细胞瓦解。给药组零时细胞标记指数为 23%,24 小时降至 2.5%,表明给药后 24 小时内处于 S 期的癌细胞大部分被抑制或损伤。实验发现,多相脂质体 139 也可以抑制肝癌细胞的增殖生长,尤其对指数生长的细胞抑制更为明显,提示该药对肝癌细胞增殖 S 期具有一定影响,适用于肝癌等迅速增殖的肿瘤。由秋水仙碱阻断法结合药物杀伤的结果看到,多相脂质体 139 可以抑制或损伤 G<sub>2</sub> 期细胞,从而减少及延长了肿瘤 G<sub>2</sub> 期细胞进入 M 期。药物作用 5 小时,艾氏腹水癌和肝癌 G<sub>0</sub> 细胞损伤率分别为 9.4% 和 8.8%,表明该药对 G<sub>0</sub> 期细胞亦有一定杀伤作用。这可能与多相脂质体结构有关,如类脂膜对癌细胞有较好亲和力,使药物可以充分向癌细胞内渗透,从而提高抗癌效果。多相脂质体 139 对癌细胞 S、G<sub>2</sub> 和 G<sub>0</sub> 期均有一定抑制或损伤作用,因而属于癌细胞增殖周期非特异性药物,但对 S 期细胞作用比较显著。如果利用该药物对 S→M 期的延缓,引起 S 期细胞的堆积现象,在临床给予多相脂质体 139 后联合应用对 S 期敏感的抗代谢类化疗药物,则有希望达到增效作用。由于多相脂质体 139 可引起 M 期细胞减少,故不适于和主要杀伤 M 期的抗癌药物同时联用<sup>[14]</sup>。

多相脂质体 139 抑制癌细胞 DNA、RNA 和蛋白质生物合成机制的研究表明<sup>[15]</sup>,多相脂质体 139 能够明显抑制癌细胞 DNA 合成,最高抑制率达 95.8%。用药后肝癌细胞 DNA 合成曲线为缓慢速增型,与干扰 DNA 代谢型的 5-Fu 相似,停药后仍保留一定后遗效应。该药对 RNA 合成呈现轻度抑制并导致癌细胞核酸含量减少,对肝癌细胞蛋白质合成的抑制率达 47.4%,证明该药的临床疗效与其抑制癌细胞生物大分子合成代谢和杀伤动力学密切相关。研究该药对无细胞体系蛋白质合成的影响进一步表明,该药主要抑制癌细胞球蛋白合成,使癌细胞中核糖核蛋白体在重新由其亚基组合时受到抑制。另外,多相脂质体 139 在抑制肺