

抗癌新药埃博霉素 B 中试生产及产业化

埃博霉素 (Epothilones)，又名埃坡霉素，埃坡西龙。是由黏细菌纤维堆囊菌 *Sorangium cellulosum* 产生的次级代谢产物，其结构为 16 元内酯大环为中心体，噻唑环配基为侧链的一类细胞毒性化合物。埃博霉素的抗肿瘤作用机理与紫杉醇相似，即抑制微管解聚。埃博霉素在 p-糖蛋白表达型的多药耐药性肿瘤细胞系中显示很强的抗肿瘤活性，这种肿瘤细胞系紫杉醇是杀不死的，加之埃博霉素比紫杉醇有更好的水溶性，且毒副作用很小，被公认为 21 世纪最有效的抗癌药物。由美国施贵宝公司开发的埃博霉素 B 内酰胺衍生物 Ixabepilone (商品名 Ixempra, “伊沙匹隆”)，于 2007 年 10 月 16 日获得 FDA 批准在美国上市，这是迄今第一个上市的埃博霉素衍生物

一、项目的背景及实施的必要性

1、项目所属行业或产业在我国经济发展中的地位、发展现状、技术瓶颈以及亟待解决的技术问题

本项目属生物医药行业，即药物生物技术产业化。本项目是采用基因工程育种技术培育埃博霉素 B 高产菌株，以该菌株高产率发酵生产抗癌药物埃博霉素 B，以及通过半合成方法获得埃博霉素衍生物，作为抗癌药物的原料药和用于生产相应制剂。该技术产业化将为我国生物制药行业增添一个新的产品和产业类型。本项目目标是抗癌药物的研发与生产。

目前，在国内有 4 家研发埃博霉素单位，他们是：①山东大学，主要是粘细菌生物学基础研究；②广州华南理工大学，主要是粘细菌分离鉴定及高产菌株诱变研究；③华北制药集团新药中心，已经建立了粘细菌研究平台，着手埃博霉素 B 的研发；④阎家麒教授主持的课题组，主要研究埃博霉素全长基因簇及其质粒构建，获得埃博霉素 B 的高产菌株并进行实验室制备和中试生产。

国内觊觎并实施埃博霉素 B 研发的生产企业主要是浙江华东药业集团股份有限公司和浙江海正药业，目前两家的实验室研究阶段尚未结束，产率均达不到中试要求的最低水平，以及产物分离等难题正在摸索之中，现阶段尚不具备大规模生产的条件。

制约埃博霉素规模化生产的瓶颈，在技术层面上有如下几个问题：(1) 粘细菌纤维堆囊菌的生长速度非常缓慢，其倍增时间是 16 小时，原宿主菌发酵产率很低：埃博霉素 A 0.25-1mg/L；埃博霉素 B 0.12-0.5mg/L。(2) 目前，国内外采用物理、化学方法进行原宿主菌的诱变育种，提高了埃博霉素的产率，埃博霉素 A 达到 18-20mg/L，埃博霉素 B 达到 8-9mg/L，但依然离规模化生产所要求的埃博霉素 B ≥ 30 mg/L 还有一定距离。(3) 粘细菌纤维堆囊菌的遗传背景非常模糊。(4) 由于该种黏细菌的外源 DNA 的转化效率低，加之可用的分子生物学工具的限制，对此菌进行 DNA 分子改造相当困难，因而，影响埃博霉素的工业化生产。

因此，如何提高埃博霉素的产量（使埃博霉素 B 产率达到 $\geq 30\text{mg/L}$ ）是规模化生产抗癌药物埃博霉素亟待解决的技术问题。

2、项目研发的必要性，对产业技术提升和转型升级的作用及其能够产生的重大经济、社会、生态效益

癌症是威胁人类健康的第二大疾病，死亡率仅次于心血管疾病，任何一个国家都把抗癌药物的研发列为重中之重。尤其是埃博霉素，以其巨大的商机将各国药物科学家和制药厂商目光聚焦在产业化上面。目前，世界上已经有 6 个埃博霉素衍生物相继进入 I 期、II 期和 III 期临床试验，预计不到 5 年就可以陆续上市。我们前期研究工作起步于 2000 年，起初（2000-2004 年）是埃博霉素（当时名称为“埃坡西龙”）的全合成研究，目标产物是埃博霉素 A 和埃博霉素 B，然后是全合成埃博霉素 B 的内酰胺衍生物（即现在美国上市的“依沙匹隆”），2004 年之后，我们只用了一年多的时间完成了埃博霉素生物合成的研究，选育了埃博霉素 B 的高产菌株，并且完成了埃博霉素全基因簇的构建并与科斯质粒完整地缝合在一起，再转化到宿主菌表达，获得埃博霉素 B 的高产菌株。使埃博霉素 B 的产率大幅度提高，达到 $30\text{mg}-100\text{mg/L}$ ，为埃博霉素产业化奠定了可靠的基础。

基因工程技术在制药领域里的应用并使之产业化，目前在我国方兴未艾，但是，应用最先进的 Red/ET 基因重组技术选育高产菌株用以生产埃博霉素 B 并实施产业化，本项目当属首例。

该项目的实施，在技术层面上占据高端，时间上领先国内所有院校和科研院所，埃博霉素 B 高产菌株属独家拥有。因此，有理由说，目前该项目的实施可以稳定地获得巨大经济、社会效益。迄今，除了美国施贵宝公司，全世界还没有任何一个国家声称他们获得了 30mg/L 以上的生产能力的埃博霉素 B 高产菌株，可以付诸实施埃博霉素 B 产业化。因此，本项目的实施，我国将是世界上第二个实施埃博霉素 B 大规模生产的国家。

采用现代分子生物学技术，生物合成埃博霉素 B 对产业技术的提升具有极大的意义。以高技术含量战胜低水平仿制，做到人无我有，人有我优。就我们这样的中小型生物医药生产企业，资金不是我们的优势，但是，只要我们拥有世界上最先进的生物技术，就会拥有未来的市场。美国金融风暴导致的严重经济危机，必定放缓施贵宝公司依沙匹隆对中国市场的逼近脚步，削弱占领中国市场的力度。况且，依沙匹隆的昂贵价格并不适合中国患者的经济承受能力，依沙匹隆的市场前景并非乐观。这正好给了我们一个千载难逢的发展机遇。

埃博霉素可能是目前所有药物中价格最高的品种（典型的“天价药”），以美国的伊沙匹隆（埃博霉素 B 衍生物）注射剂为例， 15mg/支 平均批发价（AWP）921.96 美元， 45mg/支 的平均批发价（AWP）2765.89 美元。 1kg 伊沙匹隆可以制造出价值 4302 万美元的制剂。 1kg 依沙匹隆是用 4kg 埃博霉素 B 合成的，相当于 1kg 埃博霉素 B 可以制造出 1000 万美元的制剂。而我们生产 1kg 埃博霉素 B 的成本却不到 400 万元人民币。近期，Sigma-Aldrich 公司也推出埃博霉素 B 产品（标准品或对照品），产品号 E2656，2008 年 12 月 11 日报价： $10\mu\text{g} / 145.50$ 美元（ $14,550$ 美元/ g ）（ $\approx 214,227 / \text{g}$ 元人民币）。目前，国内已经有经销埃博霉素 B 的商家，打出的价格是 2400 万元人民币/ 1kg 。由此可以看出，埃博霉素 B

的生产蕴藏着多么大的经济效益!另外,埃博霉素 B 最终要转化为各种衍生物(如埃博霉素 B 内酰胺衍生物、埃博霉素 D、21-氨基-埃博霉素 B 等),这些都是与美国现在上市的依沙匹隆同等疗效的药物,我们将这些衍生物开发出制剂,就不必再进口天价的美国埃博霉素制剂,可以大大减轻我国癌症患者的经济负担,造福于广大癌症病人,也减轻了国家在全民医疗费用上的压力,这是更大的社会效益。

埃博霉素 B 不但可以转化另外几种衍生物,它本身也是一种抗癌活性很强的抗癌药物,在美国现在已经进入 II 期临床试验。

我国食品药品监督管理局于 2008 年 2 月 4 日受理了美国施贵宝公司依沙匹隆的临床申请。但是,其他几种衍生物(包括埃博霉素 B)均没有取得中国专利保护和药品行政保护,这正是我们的机会。迄今,我们在埃博霉素上已经申报了 4 个发明专利:

阎家麒:一种天然产物埃坡西龙全合成新方法, CN 1418881A ;

阎家麒:天然产物埃坡西龙 B 内酰胺衍生物全合成方法, CN 1554659A

阎家麒:埃博霉素 B 内酰胺衍生物的制备方法, CN 101323869A

阎家麒:埃博霉素 D 内酰胺衍生物, 申请号 200810132924.1 (2008-7-2) (初审中) 本项目为拥有自主知识产权的创新技术。

二、项目主要实施内容

前期历时十年的实验室研究工作,曾采用 Red/ET 分子生物学 DNA 同源重组,使埃博霉素全长基因簇完整地缝合在一起,并转化到新的宿主菌中,得到高表达的菌株(10mg/L)。之后又经传统 UV 和亚硝基胍(NTG)诱变育种,得到埃博霉素 B 高产菌株,使埃博霉素 B 的产率达到 30mg-100mg/L,为中试和产业化创造了最为重要的条件。

1. 本项目实施内容

(1) 首先,实验室规模制备供申报新药用的埃博霉素 B 样品, 2-20g。

(2) 中试规模年产埃博霉素 B 1.0-1.5kg, 大规模生产年产埃博霉素 B 5-10kg。

(3) 以埃博霉素 B 为起始原料,通过结构修饰,生产三种埃博霉素系列产品:
①埃博霉素 B 内酰胺衍生物(即“伊沙匹隆”)②埃博霉素 D 和③21-氨基-埃博霉素 B。

(4) 申报新药: 1.1 类新药:埃博霉素 B、埃博霉素 D 和 21-氨基-埃博霉素 B;
2 类新药:埃博霉素 B 内酰胺衍生物。

2. 实施本项目必要的条件

(1) 中试:

①建立种子细胞库(研究细胞库、原始细胞库和工作细胞库), 200-250 平方米,包括一个百级洁净间。

②中试发酵系统:(摇瓶—15L—50L—500L)。

(2) 产业化: 2 组 30~40t 发酵罐。

三、项目实施目标和预期效果

项目实施目标：（1）埃博霉素 B 中试规模生产，完成年产埃博霉素 B 1.0-1.5kg，大规模生产，完成埃博霉素 B 5-10kg。（2）以埃博霉素 B 为起始材料通过结构修饰，生产埃博霉素 B 内酰胺衍生物以及埃博霉素 D 和 21-氨基-埃博霉素 B 两种有望在国外批准上市的抗癌药物。（3）制备足够样品，将埃博霉素 B、埃博霉素 D 和 21-氨基-埃博霉素 B 三种药物先按一类新药申请注册，待国外一旦批准其中某个品种上市，我国药监局就将其归入二类药物审批程序，从而可以减少审批时间和费用。

预期效果：

（1）埃博霉素 B 产业化规模预计达到年产 5-10kg 以上。在没有得到原料药证书之前，先作为“药物原料”或“化工原料”或“A 物质”，我们预订的出厂价格为 1500 万元/kg（按低于市场价），10kg 埃博霉素 B 产值 1.5 亿元。

（2）制剂生产 待取得新药证书（原料药和制剂）之后，以埃博霉素 B 内酰胺衍生物计，参照目前美国施贵宝公司的埃博霉素 B 内酰胺衍生物（即“依沙匹隆”）规格 45mg/支批发价为 2765.89 美元（约合 19,361 元人民币/支），我们可把该药批发价大大降低成 4840 元人民币/支（相当于美国依沙匹隆价格的 1/4，——绝对的价格竞争优势），以此计算：10kg 埃博霉素 B 可以合成 2.5kg 埃博霉素 B 内酰胺衍生物，制成制剂为 55,500 支，产值 2.68 亿元。

（3）退一步而言，本项目的实际可行的目标可以只建立中试生产规模，每年生产 1.0-1.5kg 埃博霉素 B 或 200g~300g 伊沙匹隆，如果企业没有资金能力申报 1 类新药，则可以将埃博霉素 B 或伊沙匹隆提供给国内有能力申报 1 类新药而又苦于拿不到埃博霉素 B 或伊沙匹隆样品的企业，甚至可能成为这些企业今后的原料供应商。

技术所有者背景资料：（详见附件）

本负责人阎家麒教授是中国药学会高级会员，我国生物医药领域的知名学者。其专业领域为药物生物技术，有机合成和天然产物化学，曾在紫杉醇半合成、紫杉醇手性侧链合成和多烯紫杉醇合成研究上取得成绩。在埃博霉素生物合成研究上，首次应用 Red/ET 基因重组技术，克隆出埃博霉素全长基因簇并缝合在质粒上，转入异质宿主菌中表达，构建高产的工程菌株，在解决黏细菌纤维堆囊菌产率低、制约大规模生产的难题上取得重大突破。阎家麒教授在中国科学核心期刊上发表论文 70 余篇，申报发明专利 13 项，其中有关埃博霉素的论文 10 余篇，专利 4 项。

四、投资与效益

本项目预算总投资约 3000 万元，用于（1）埃博霉素 B 的中试与产业化；（2）埃博霉素 B、埃博霉素 D 和 21-氨基-埃博霉素 B 的新药注册；（3）建成埃博霉素的制剂厂房和 GMP 车间。

本项目可以分期进行，中试阶段总投资 400 万元，建一个中试实验室，面积 700 平方米，中试设备投资 150 万元（包括：摇瓶机、15L-50L-500L 发酵系统；超低温冰箱、培养箱、冻干机、检测设备等）。流动资金 250 万元。

中试阶段主要任务是：①原始资金积累，用中试的收益投资产业化设备及申报新药；②可以向国内外客户提供样品，建立全世界产品销售网络。

生产 1 公斤埃博霉素 B 的生产成本只有 2 万元（埃博霉素 B 昂贵的价格主要体现在高产菌株本身的价值和高技术含量的价值）。

中试实验室制备埃博霉素 B 1000-1500g/年，产值 1500-2250 万元。当年收回中试实验室的全部投资。

产业化阶段总投资约为 2500 万元，用于大型发酵设备及其辅助设备，新药报批等，该资金主要来源于中试生产的产品利润。