

聚乙二醇 1000 维生素 E 琥珀酸酯-米托蒽醌前药胶束的制备及其抗肿瘤活性

高雅晗¹, 平其能^{1*}, 宗 莉^{2**}

(中国药科大学¹天然药物活性组分与药效国家重点实验室; ²药剂学教研室,南京 210009)

摘要 为了提高化疗药物的抗肿瘤疗效,将米托蒽醌(MTO)与聚乙二醇 1000 维生素 E 琥珀酸酯(TPGS)通过丁二酸连接臂化学键合形成前体药物(TPGS-MTO)。该前药在水中能够自组装形成胶束,HPLC 测定 MTO 的载药量为($18.61 \pm 0.24\%$)%;粒径电位仪测得的胶束粒径为(25.61 ± 0.92) nm,多分散指数 PDI 为 0.22 ± 0.04 ,Zeta 电位为 $-(3.98 \pm 0.09)$ mV;透射电镜(TEM)显示胶束为均匀的类球形结构;体外生理环境下 24 h 内粒径无明显变化;体外研究显示胶束在生理条件下无突释现象,24 h 释放量为 9.04%,随着 pH 降低,释放速率加快;细胞摄取实验表明,TPGS-MTO 胶束可有效促进 MCF-7 细胞对药物的摄取,6 h 的摄取量较 MTO 溶液提高 1.18 倍。MTT 法结果显示,胶束对乳腺癌细胞 MCF-7 和 MCF-7/MDR 均具有明显的抗肿瘤作用,尤其对耐药株细胞,TPGS-MTO 表现出优于 MTO 的抑制效果。TPGS-MTO 有望开发为一种水溶性抗肿瘤前药制剂,提高其抗肿瘤活性。

关键词 聚乙二醇 1000 维生素 E 琥珀酸酯;米托蒽醌;前药;胶束;抗肿瘤

中图分类号 R944;R965 **文献标志码** A **文章编号** 1000-5048(2016)03-0311-06

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20160311

引用本文 高雅晗,平其能,宗莉. 聚乙二醇 1000 维生素 E 琥珀酸酯-米托蒽醌前药胶束的制备及其抗肿瘤活性[J]. 中国药科大学学报, 2016, 47(3):311–316.

Cite this article as: GAO Yahan, PING Qineng, ZONG Li. Preparation and antitumor activity of mitoxantrone conjugated D- α -tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate prodrug micelle[J]. J China Pharm Univ, 2016, 47(3):311–316.

Preparation and antitumor activity of mitoxantrone conjugated D- α -tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate prodrug micelle

GAO Yahan¹, PING Qineng^{1*}, ZONG Li^{2**}

¹ State Key Laboratory of Natural Medicines;

² Department of Pharmaceutics, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

Abstract To improve the therapeutic effect of chemotherapeutic drugs, D- α -tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate (TPGS) was employed as a carrier of mitoxantrone (MTO). MTO was successfully conjugated to TPGS via succinic anhydride to prepare TPGS-MTO prodrug. The prodrug was then self-assembled into TPGS-MTO micelle, with the particle size of (25.61 ± 0.92) nm, the polydispersity of 0.22 ± 0.04 and the Zeta potential of $-(3.98 \pm 0.09)$ mV. The micelle was homogeneous spheres under the observation of transmission electron microscope (TEM). The drug loading capacity (DLC) was ($18.61 \pm 0.24\%$)% by HPLC. Meanwhile, the particle size of TPGS-MTO micelle remained stable in 24 h. TPGS-MTO showed a controlled drug release profile with only 9.04% MTO being detected in 24 h in neutral conditions, and faster release was achieved by decreasing pH in media. Cellular uptake experiments showed that micelle was 1.18 times more effective than parent drug after 6 h incubation on MCF-7 cells. The cytotoxicity of micelle on MCF-7 and MCF-7/MDR cells was detected by MTT,

both with anti-tumor activity, especially on MCF-7/MDR cells. In conclusion, TPGS-MTO prodrug micelle could be a potential formulation of higher therapeutic effects and fewer side-effects than MTO itself.

Key words D- α -tocopherylpolyethylene glycol 1000 succinate; mitoxantrone; prodrug; micelle; antitumor

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81273467)

聚乙二醇 1000 维生素 E 琥珀酸酯(TPGS)是一种天然维生素 E 的水溶性衍生物,因被美国 FDA 认定为安全的药用材料,近年来受到了广泛的关注。它是由聚乙二醇 1000 和 D- α -生育酚琥珀酸酯通过酯化反应合成得到,应用于制备或修饰多种纳米载体,如胶束、TPGS 修饰的脂质体、聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA)、聚乳酸(PLA)共聚物等,这些制剂可以明显提高药物的溶解度、渗透性和稳定性^[1]。TPGS 载体可以提高制剂中药物的稳定性、渗透性,实现缓释和控释的递送效果^[2],同时可以有效抑制 P-gp 外排,起到逆转多药耐药的作用^[3]。

广谱细胞毒类抗肿瘤药物米托蒽醌(mitoxantrone, MTO)是一种人工合成的蒽醌类抗生素,为非特异性抗肿瘤药物,临幊上作为治疗乳腺癌的一线药物,辅助治疗急性白血病、恶性淋巴瘤等^[4]。但因其相对分子质量小,进入体内容易扩散,组织分布无特异性,而易产生心、肝、骨髓等的不良反应^[5]。长期用药还易产生多药耐药性,使得 MTO 的临床应用受到限制^[6]。

将药物与聚合物通过化学键偶联形成高分子前药是一种常用的药物改性手段。药物经聚合物修饰后分子结构发生变化,使药物的理化性质和体内行为得到改善,有利于降低药物本身的不良反应,提高其生物活性^[7]。王竟等^[8]通过制备透明质酸-紫杉醇前药的胶束,延缓了紫杉醇药物在体内的滞留时间,提高了药效。Cao 等^[9]设计了阿霉素-TPGS 前药递药系统,有效抑制 MCF-7 肿瘤细胞的增殖,与阿霉素原料药相比前药的体内半衰期和 AUC 分别提高了 4.5 和 24 倍。本研究选用生物相容性良好的 TPGS 通过丁二酸连接臂偶联 MTO 制备得 TPGS-MTO 前药,以期提高 MTO 的体内活性和增加抑瘤效果。

1 材 料

1.1 药品与试剂

TPGS、3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮

唑溴盐(MTT)[西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司];MTO(湖北健源化工有限公司);琥珀酸(SA)、对二甲氨基吡啶(DMAP)和 N,N-二乙基乙胺(TEA)(国药集团化学试剂有限公司);N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)、1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC)(上海阿拉丁试剂有限公司);其他试剂均为分析纯。

1.2 仪 器

LC-10AT 高效液相色谱仪(日本岛津公司);ZetaPlus 粒径电位测定仪(美国布鲁克海文公司);H-7650 透射电镜仪(日本日立公司);酶联免疫测定仪(美国赛默飞世尔公司);电子天平(德国赛多利斯公司)。

1.3 细 胞

人乳腺癌细胞株(MCF-7)和人乳腺癌耐药细胞株(MCF-7/MDR)均购于南京凯基生物技术有限公司。

2 方 法

2.1 TPGS-MTO 胶束的制备

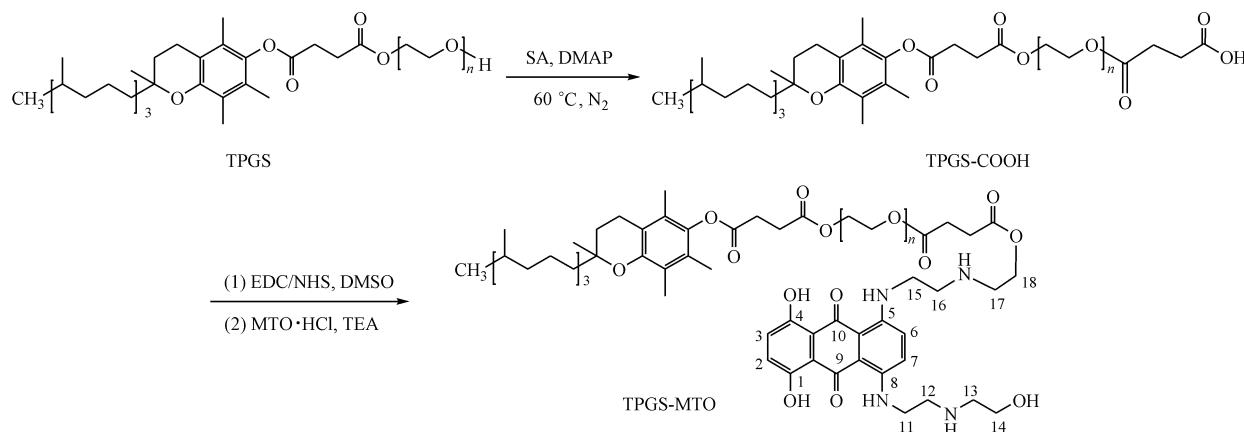
TPGS-MTO 前药的合成采用两步合成法^[9](图 1),首先制备 TPGS 活化产物 TPGS-COOH,产率为 86.27%。活化的 TPGS-COOH 再与游离的 MTO 反应得 TPGS-MTO 前药。精密称取制备得的 TPGS-MTO 前药 50 mg 溶于二氯甲烷,室温下旋转蒸发 4 h,除去有机溶剂,真空干燥过夜。去离子水滴入 TPGS-MTO 薄膜,振荡超声,使形成聚合物胶束。

2.2 TPGS-MTO 胶束的载药量、粒径、电位和形貌

MTO 的含量采用 HPLC 法测定^[10],计算 TPGS-MTO 胶束的载药量。TPGS-MTO 胶束经粒径电位测定仪测定粒径、多分散指数和电位。形貌特征通过透射电镜(TEM)观察。

2.3 TPGS-MTO 胶束体外稳定性

取 TPGS-MTO 冻干样品室温下分散于 PBS(pH 7.4)中制备胶束,分别在 5,15,30 min,1,2,4,6,8,12,18 和 24 h 时测定粒径变化。

**Figure 1** Synthesis of TPGS-MTO prodrugTPGS: D-*a*-tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate; MTO: Mitoxantrone

2.4 TPGS-MTO 胶束的体外释放

将 TPGS-MTO 胶束溶液 (MTO 质量浓度为 1 mg/mL) 取 1 mL 置于透析袋 (截留相对分子质量 1 kD), 分别浸入不同 pH 的释放介质 (pH 4.5, 5.5, 6.5, 7.4) 50 mL, 控制温度 (37 ± 0.5) °C, 以 100 r/min 的恒速搅拌。以 MTO 原料药作为对照组浸入 pH 7.4 释放介质。分别于 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24 h 吸取释放介质 2 mL, 并补充同体积新鲜释放介质。提取的样品液进 HPLC 测定其中的 MTO 含量, 计算出不同时间的累积释放度百分率, 拟合释放曲线。

2.5 TPGS-MTO 胶束的细胞摄取研究

取对数生长期的 MCF-7 细胞, 以每孔 1×10^4 个细胞用含有 10% 胎牛血清培养基接种于 24 孔板中进行细胞培养, 37 °C 孵育过夜。待细胞约达到 80% 贴壁后, 弃去培养基, 分别加入不含血清的培养基稀释的 MTO 溶液和 TPGS-MTO 胶束溶液 500 μL, 细胞置于 37 °C 孵育, 分别在 0, 0.5, 1.5, 4.0 和 6.0 h 后, 移去介质, 每孔用 4 °C 冰 PBS (pH 7.4) 清洗 3 遍后加入含有 0.5% Triton 裂解缓冲液的 0.2 mol/L NaOH 溶液 150 μL, 37 °C 孵育 10 min。HPLC 法测定各孔的药物浓度, 以不含细胞的制剂组作对照, 以测试组与对照组浓度比对浓度作图, 研究不同制剂的细胞摄取行为。

2.6 TPGS-MTO 胶束对肿瘤细胞毒性研究

采用 MTT 法考察 TPGS-MTO 胶束对 MCF-7 细胞和 MCF-7/MDR 细胞的毒性作用。取对数生长期生长良好的 MCF-7 和 MCF-7/MDR 细胞, 用 0.25% 胰蛋白酶消化后, 以每孔 1×10^4 个细胞的

密度将细胞接种于 96 孔板, 将培养板移入培养箱中, 在 37 °C、5% CO₂ 及饱和湿度条件下培养 24 h。孵育后, 吸去培养液, 分别加入不含血清培养基稀释的不同浓度 MTO 溶液和 TPGS-MTO 胶束溶液 200 μL, 37 °C 孵育 48 h。随后每孔加入 MTT 溶液 (5 mg/mL, pH 7.4 PBS) 20 μL, 37 °C 继续孵育 4 h。弃去上清液, 每孔再加入 DMSO 150 μL, 振摇溶解蓝紫色的甲瓒结晶, 用酶联免疫测定仪于 570 nm 测定各孔吸收度。以不含血清的培养液孵育细胞, 相同操作作为对照, 计算细胞存活率。每个样品做 6 个复孔。

3 结果与讨论

3.1 TPGS-MTO 胶束的制备和表征

TPGS-MTO 前药经两步酯化反应合成得到。¹H NMR 图谱分析, 中间产物 TPGS-COOH 在 δ: 3.35 ~ 3.57 处有新峰出现, 属丁二酰基的二亚甲基氢, 确认丁二酸酐解环后成功接在 TPGS 上。TPGS-MTO ¹H NMR 图谱分析得 4.38 和 7.02、6.52 信号峰, 分别归属于 TPGS 和 MTO, 证实了目标物 TPGS-MTO 的成功制备 (图略)。

TPGS-MTO 载药胶束的粒径、多分散指数、载药量及电位见表 1。其中, TPGS-MTO 胶束平均粒径相对于无药物偶联的 TPGS 材料形成的胶束, 粒径略有增加且分布更为均匀, 这是由于 TPGS 偶联药物后疏水链段增加、胶束形成能力增强、空间结构发生改变所致^[11]。药物偶联前后的电位没有发生明显的变化。TEM 图可观察到胶束的尺寸和形貌, 如图 2, 胶束呈现类球形, 尺寸分布比较均匀。

Table 1 Characteristics of TPGS-MTO and TPGS micelle ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Sample	Size/nm	PDI	DL/%	Zeta potential/mV
TPGS-MTO	25.61 ± 0.92	0.22 ± 0.04	18.61 ± 0.24	-3.98 ± 0.09
TPGS	18.94 ± 1.26	0.35 ± 0.17	/	-3.52 ± 0.17

PDI: Polydispersity index; DL: total drug-loading content consist of micelles

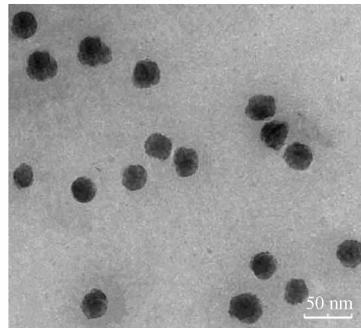


Figure 2 TEM image of TPGS-MTO micelles

3.2 TPGS-MTO 胶束的体外稳定性

为了研究前药胶束的稳定性,考察了模拟生理 pH 条件下,TPGS-MTO 胶束粒径随时间的变化规律。如图 3 所示,胶束在 24 h 内粒径及其分布没有明显变化,表明 TPGS-MTO 胶束能够在生理条件下保持稳定。这有利于药物经体内运输至肿瘤部位发挥药效,同时可以满足正常的贮存条件。

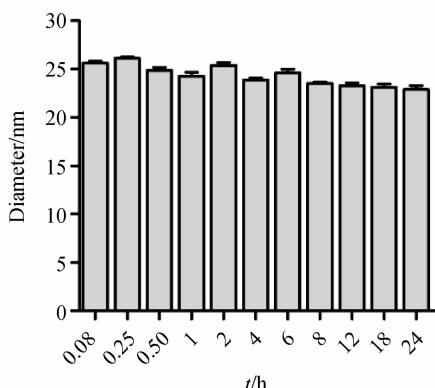


Figure 3 Real-time changes of diameter of TPGS-MTO micelles in PBS (pH 7.4) ($\bar{x} \pm s, n=3$)

3.3 TPGS-MTO 胶束的体外释放

图 4 显示了 TPGS-MTO 在不同模拟生理环境下的体外释放曲线,图中 TPGS-MTO 胶束的释药行为具有 pH 依赖性。在 pH 7.4 环境下 TPGS-MTO 胶束只有少量 MTO 缓慢释放出来,24 h 后药物的累积释放量不到 10%。随着 pH 降低至 5.5 和 4.5,胶束变得不稳定,MTO 释放量增加,但是没有突释现象。而 MTO 药物溶液组快速释药,8 h 基本释放完全。这些现象说明 TPGS-MTO 胶束在 pH 7.4 条件下表

现出良好的缓控释特性,并且在酸性条件下释药速率加快,这可能与酸性条件加速了前药中的酯键连接臂断裂有关^[12]。另外,低 pH 环境下引起的 MTO 质子化和极性增加,可能导致胶束结构失稳和药物的水溶性提高,也将促进药物的释放。这种 pH 响应的释药特征,有利于胶束在正常生理条件下的稳定存在和传输,而到达肿瘤(pH 4.5~6.5)后定位释放药物,提高病灶部位的药物浓度^[13]。

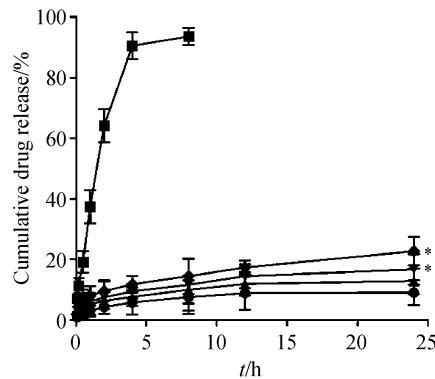


Figure 4 *In vitro* release profiles of MTO and TPGS-MTO in different pH buffer ($\bar{x} \pm s, n=4$)

* $P < 0.05$ vs TPGS-MTO (pH 7.4) group

3.4 TPGS-MTO 胶束细胞摄取研究

如图 5 所示,TPGS-MTO 的细胞摄取具有时间依赖性,即细胞对胶束的摄取随着孵育时间的延长而增加,且胶束制剂明显提高了 MTO 摄取。研究表明 TPGS 能够促进药物的细胞摄取,这主要是通过 TPGS 载体的修饰,改变药物通透性,减少药物的代谢并且抑制外排系统实现的^[14]。因此 TPGS-MTO 前药胶束可以有效增加药物对肿瘤细胞的摄取,提高药物疗效。

3.5 TPGS-MTO 胶束对 MCF-7 和 MCF-7/MDR 细胞的抑制作用

孵育 48 h 后,MTO 溶液和 TPGS-MTO 胶束对 MCF-7 和 MCF-7/MDR 细胞均表现了不同程度的生长抑制作用,且抑制作用呈现出浓度依赖性,随着药物浓度的增加抑制细胞生长的能力增强(如

图 6 所示)。MTO 溶液和 TPGS-MTO 对 MCF-7 细胞的 IC_{50} 分别为 0.77 和 1.21 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 对 MCF-7/MDR 细胞的 IC_{50} 为 1.35 和 1.01 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 显示出 MCF-7/MDR 细胞对 MTO 的敏感度下降, 而 TPGS-MTO 对两种细胞均表现出相当的毒性。这种结果可能与 TPGS 促进药物的细胞摄取, 并能干扰和调控细胞内代谢过程有关^[15]。

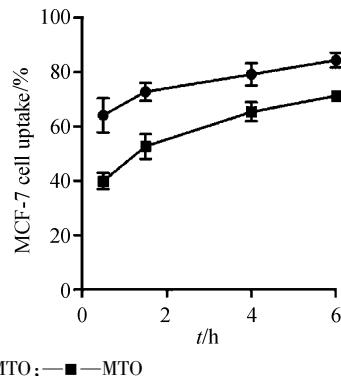


Figure 5 MCF-7 cells uptake efficiency cultured with the pristine MTO and TPGS-MTO micelles at equivalent drug concentration of 1 mg/mL ($\bar{x} \pm s, n=6$)

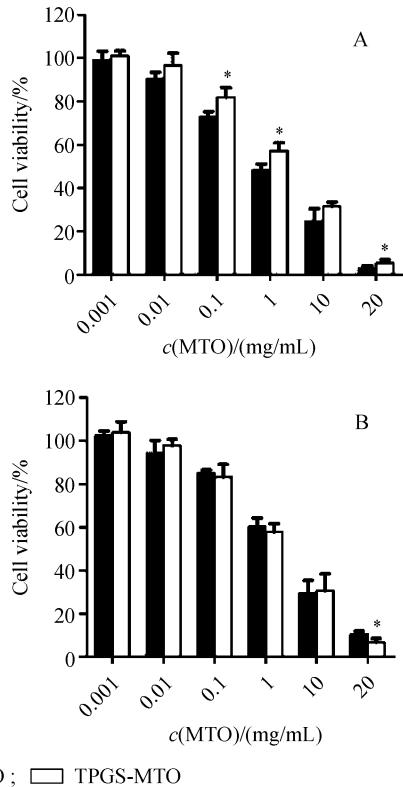


Figure 6 *In vitro* cellular viability of MCF-7 cells (A) and MCF-7/MDR cells (B) after 48 h co-cultured with MTO and TPGS-MTO micelles respectively at various equivalent MTO concentrations ($\bar{x} \pm s, n=6$)

* $P < 0.05$ vs MTO group

4 结 论

本实验将 MTO 和 TPGS 通过丁二酸偶联, 制备了具有抗肿瘤活性的聚合物前药胶束 TPGS-MTO。该前药胶束在生理条件下具有较高的稳定性和缓慢的释放特征, 有效阻滞了药物的突释, 降低对正常组织的不良反应。低 pH 环境下释药速率的加快, 有利于胶束在肿瘤部位弱酸性环境下的释药, 提高病灶区域的药物浓度。在 MCF-7 细胞摄取实验中, TPGS-MTO 表现出时间依赖的摄取行为, 且摄取率高于 MTO 溶液组。体外细胞毒性实验表明, TPGS-MTO 胶束可有效抑制 MCF-7 和 MCF-7/MDR 细胞的增殖, 对耐药细胞 MCF-7/MDR 的抑制率高于 MTO 对 MCF-7/MDR 细胞的作用, 有效提高了药物抗肿瘤活性。因此, TPGS-MTO 有望开发为一种前药胶束制剂, 改善药物理化性质, 提高药物摄取, 减少游离药物的不良反应并且提高抗肿瘤活性。

参 考 文 献

- Zhang Z, Tan S, Feng SS, et al. Vitamin E TPGS as a molecular biomaterial for drug delivery [J]. *Biomaterials*, 2012, 33 (19): 4889–4906.
- Lin WJ, Juang LW, Lin CC. Stability and release performance of a series of PEGylated copolymeric micelles [J]. *Pharm Res*, 2003, 20 (4): 668–673.
- Collnot EM, Baldes C, Schaefer UF, et al. Vitamin E TPGS P-glycoprotein inhibition mechanism: influence on conformational flexibility, intracellular ATP levels, and role of time and site of access [J]. *Mol Pharm*, 2010, 7 (3): 642–651.
- Ferrer A, Marce S, Bellosillo B, et al. Activation of mitochondrial apoptotic pathway in mantle cell lymphoma: high sensitivity to mitoxantrone in cases with functional DNA-damage response genes [J]. *Oncogene*, 2004, 23 (55): 8941–8949.
- Kroger N, Damon L, Zander AR, et al. Secondary acute leukemia following mitoxantrone-based high-dose chemotherapy for primary breast cancer patients [J]. *Bone Marrow Transplant*, 2003, 32 (12): 1153–1157.
- Barar J, Kafil V, Majd MH, et al. Multifunctional mitoxantrone-conjugated magnetic nanosystem for targeted therapy of folate receptor-overexpressing malignant cells [J]. *J Nanobiotechnol*, 2015, 13 (1): 1–16.
- Feng SS, Chien S. Chemotherapeutic engineering: application and further development of chemical engineering principles for chemotherapy of cancer and other diseases [J]. *Chem Eng Sci*, 2003, 58 (18): 4087–4114.
- Wang J, Huo MR, Zhou JP, et al. Drug-loaded micelles based on

- hyaluronic acid-paclitaxel prodrug: preparation and pharmacokinetic study in rats [J]. *J China Pharm Univ*(中国药科大学学报), 2013, 44(6): 520–525.
- [9] Cao N, Feng SS. Doxorubicin conjugated to D- α -tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate [J]. *Biomaterial*, 2008, 29(28): 3856–3865.
- [10] Shi Y, Su Z, Li S, et al. Multistep targeted nano drug delivery system aiming at leukemic stem cells and minimal residual disease [J]. *Mol Pharm*, 2013, 10(6): 2479–2489.
- [11] Muthu MS, Kulkarni SA, Liu Y, et al. Development of docetaxel-loaded vitamin E TPGS micelles: formulation optimization, effects on brain cancer cells and biodistribution in rats [J]. *Nanomedicine*, 2012, 7(3): 353–364.
- [12] Cavallaro G, Licciardi M, Caliceti P, et al. Synthesis, physico-
- chemical and biological characterization of a paclitaxel macromolecular prodrug [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2004, 58(1): 151–159.
- [13] Giddi HS, Arunagirinathan MA, Bellare JR. Self-assembled surfactant nano-structures important in drug delivery: a review [J]. *Indian J Exp Biol*, 2007, 45(2): 133–159.
- [14] Yu L, Bridgers A, Polli J, et al. Vitamin E-TPGS increases absorption flux of an HIV protease inhibitor by enhancing its solubility and permeability [J]. *Pharm Res*, 1999, 16(12): 1812–1817.
- [15] Wang XF, Witting PK, Salvatore BA, et al. Vitamin E analogs trigger apoptosis in HER2/erbB2-overexpressing breast cancer cells by signaling via the mitochondrial pathway [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 326(2): 282–289.

· 新动态 ·

2015 年销售增速最快药物 Top10

2015 年全球销售额增长最快的前 50 种药物合计比去年增长 410 亿美元。仅吉利德(Gilead)的丙肝药物 Harvoni 带来的增长额就高达 117 亿美元, 占总增长额的 29%。销售增长额超过 10 亿美元的药物共有 8 个(表 1), 其中有 3 个为丙肝药物, 均于 2014 年上市。增长最快的前 10 个药物合计增长额为 230 亿美元, 相当于总增长额的 56%。艾伯维(AbbVie)的修美乐(Humira)和辉瑞(Pfizer)的沛儿(Prevnar)同时位列 2015 年销售额增长最快药物前 10 榜单和 2015 年最畅销药物前 10 榜单中, 新基医药(Celgene)的 Revlimid 未能进入销售增速十强。

表 1 2015 年销售额增长最快的药物 Top10

药物(商品名)	制药公司	适应证/类型	增长额(百万美元)
Harvoni	吉利德	丙型肝炎	11 737
Prevnar	辉瑞	肺炎链球菌疫苗	1 781
Viekira	艾伯维	丙型肝炎	1 591
Humira	艾伯维	自身免疫	1 469
Daklinza	百时美施贵宝	丙型肝炎	1 347
Eliquis	百时美施贵宝	抗凝剂	1 086
Xtandi	安斯泰来	前列腺癌	1 076
Triumeq	葛兰素史克	HIV	1 029
Eylea	再生元	年龄相关的黄斑病变	940
Opdivo	百时美施贵宝	黑色素瘤/非小细胞肺癌	936

在销售增速榜单的前 20 个药物中, 值得注意的是一些新上市的药物。除了丙肝药物以外, 葛兰素史克(Glaxo-SmithKline)2014 年上市的 HIV 药物 Triumeq 有 10 亿美元的增长。百时美施贵宝(Bristol-Myers Squibb)于 2014 年底上市的 PD-1 抑制剂 Opdivo 在 2015 年创造了 9.42 亿美元的销售额(2004 年销售额仅为 600 万美元)。辉瑞在 2015 年初上市的乳腺癌新药获得了 7.23 亿美元的增长, 位列榜单的 13 名。

在销售增速 50 强榜单中, 罗氏(Roche)拥有 5 个药物, 合计增长额为 19 亿美元; 强生(Johnson & Johnson)拥有 4 个药物, 合计增长额为 20 亿美元。有 3 个上榜药物的公司分别是百时美施贵宝(增长额:34 亿美元, 下同)、艾伯维(33 亿美元)、诺和诺德(18 亿美元)、葛兰素史克(18 亿元)、新基医药(15 亿美元)、百健(13 亿美元)。吉利德仅有 2 个药物上榜, 但获得了最高的增长额, 为 124 亿美元。

在这些药物中, 治疗丙肝的药物增长最多, 有 147 亿美元, 肿瘤药物增长 65 亿美元。在美国支付压力越来越大的情况下, 糖尿病药物依然获得了 28 亿美元的增长, 抗凝血剂、免疫治疗药物、HIV 药物各增长 21 亿美元。

(医药经济报)