冷冻干燥法制备甲苯磺酸拉帕替尼固体分散体及其大鼠药动学评价

胡献跃[1]，胡亚男[2]，黄东纬[1]，王晨霞[1](1.金华职业技术学院，浙江 金华 321016；2.金华市妇幼保健院，浙江 金华 321000)

摘要：目的 用冷冻干燥技术制备甲苯磺酸拉帕替尼固体分散体，以提高其生物利用度。**方法** 以 PVPS630 和 soluplus® 为载体，采用冷冻干燥法制备甲苯磺酸拉帕替尼固体分散体，通过 SEM、DSC、XRPD 等手段对固体分散体进行表征，通过表观溶解度、溶出度和大鼠体内药动学测定，评价固体分散体的增溶效果和生物利用度的改善情况。**结果** 在相同药载比的条件下，PVPS630 组的溶出度和表观溶解度均优于 soluplus®组。DSC、XRPD、SEM 等表征结果显示，PVPS630 为载体的固体分散体中，原料均以非晶态存在，而以 soluplus®为载体时，只有药载比为 1∶3 条件下，原料才呈现非晶态特征。大鼠药动学测定结果表明，固体分散体(甲苯磺酸拉帕替尼-PVPS630 为 1∶3)较上市药品 *AUC* 提高 23.64%。**结论** 载体 PVPS630 与甲苯磺酸拉帕替尼的相容性更理想；固体分散技术有助于本品提高生物利用度。

关键词：甲苯磺酸拉帕替尼；固体分散体；PVPS630；soluplus®；冷冻干燥法

中图分类号：R944.4　　**文献标志码：**B　　**文章编号：**1007-7693(2020)03-0299-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2020.03.008

引用本文：胡献跃, 胡亚男, 黄东纬, 等. 冷冻干燥法制备甲苯磺酸拉帕替尼固体分散体及其大鼠药动学评价[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(3): 299-303.

Preparation of Lapatinib Ditosylate Solid Dispersions by Freeze-drying Technology and Its Pharmacokinetic Evaluation in Rats

HU Xianyue[1], HU Yanan[2], HUANG Dongwei[1], WANG Chenxia[1](*1.Jinhua Polytechnic, Jinhua 321016, China; 2.Jinhua Maternal and Child Health Care Hospital, Jinhua 321000, China*)

ABSTRACT: **OBJECTIVE** To improve lapatinib ditosylate's bioavailability by preparation of its solid dispersion with freeze-drying mothod. **METHODS** The solid dispersion was prepared by freeze-drying method using PVPS630 and soluplus® as carriers, respectively. The solid dispersion was characterized using SEM, DSC and XRPD. The apparent solubility, dissolution and pharmacokinetics in rats were determined to evaluate the solubilization effect and the improvement of bioavailability of the solid dispersion. **RESULTS** With the same drug loading ratio, the dissolution and solubility of the PVPS630 group were both better than those of the soluplus® group. DSC, XRPD, SEM characterization results also exhibited that raw material was amorphous in all proportion groups when the carrier was PVPS630. While the raw material exhibited amorphous characteristic only when the drug loading ratio was 1∶3 (lapatinib ditosylate-soluplus®) in the soluplus® groups. The results of rat pharmacokinetic showed that the *AUC* of solid dispersion (lapatinib ditosylate-PVPS630 1∶3) was 23.64% higher than that of reference drug. **CONCLUSION** The compatibility of PVPS630 with lapatinib ditosylate is better than soluplus®; and the solid dispersion technology is useful to improve the bioavailability of lapatinib ditosylate.

KEYWORDS: lapatinib ditosylate; solid dispersion; PVPS630; soluplus®; freeze-drying mothod

甲苯磺酸拉帕替尼属于小分子靶向酪氨酸激酶抑制剂类药物[1-2]，是全球第一个上市的针对人表皮生长因子受体和人表皮生长因子受体 2 阳性的乳腺癌口服药物[3]，临床上用于治疗人表皮生长因子受体 2 过表达且既往接受过包括蒽环类、紫彬类和曲妥珠单抗治疗的晚期或转移性乳腺癌患者的治疗[4-5]。但由于本品水溶性差，水中溶解度为 0.007 mg·mL^{-1}，0.1 mol·L^{-1} HCl 盐酸中溶解度为 0.001 mg·mL^{-1}，造成本品生物利用度较低[6]。

冷冻干燥技术可以在制剂制备过程中抑制原料晶核的生长，而且产物堆积疏松，表面积大，有助于原料的溶解与溶出，广泛应用于固体分散体的制备[7]。本项研究采用冷冻干燥技术，制备甲苯磺酸拉帕替尼固体分散体，以提高其表观溶解度和溶出度，进而达到提高生物利用度的目的。

1　仪器、试剂与动物

1.1　仪器与试剂

甲苯磺酸拉帕替尼原料(扬州市钦源医药科技

基金项目：浙江省科技计划项目(2017C37169)

作者简介：胡献跃，男，硕士，高级工程师　Tel: 13586998205　E-mail: 617144485@qq.com

有限公司，批号：170904；含量：99.73%)；聚乙烯己内酰胺-聚乙酸乙烯酯-聚乙二醇接枝共聚物(soluplus®，德国 BASF，批号：84414368E0)；PVPS630(上海德祥医药科技有限公司，批号：DX1608250235)；甲苯磺酸拉帕替尼对照品(TYKERB®，GSK，批号：17045073)；乙腈、醋酸胺、冰醋酸等均为分析纯。

STA-449F5 差示扫描量热仪(德国 Netzsch)；X'Pert Powder X 射线衍射仪(荷兰 Panalytical)；Supra 55 扫描电镜(德国 Zeiss)；RCZ-6C3 型智能溶出仪(天津天大)；Agilent 1200 高效液相色谱仪(美国安捷伦公司)。

1.2 动物

SD 大鼠 12 只，♂，体质量(200±20)g，由浙江维通利华实验动物有限公司提供，生产许可证号：SCXK(浙)2018-0001；饲养于浙江省中医药研究院动物中心，试验许可证号：SYXK(浙)2014-0003。

2 方法与结果

2.1 甲苯磺酸拉帕替尼含量测定

2.1.1 色谱条件 Agilent HC-C_{18} 柱(4.6 mm×250 mm，5 mm)色谱柱；以乙酸铵缓冲液(取乙酸铵 3.0 g，加水 1 L 使溶解，用冰乙酸调至 pH 4.0)-乙腈(1∶1)为流动相，流速为 1 mL·min^{-1}；柱温为 40 ℃，检测波长为 260 nm，进样量为 10 μL[8]。

2.1.2 样品含量测定 取样品，置研钵中研细，精密称取适量(约含拉帕替尼 10 mg)，置于 25 mL 量瓶中，加流动相适量，超声溶解，加流动相定容，即得样品溶液；另取甲苯磺酸拉帕替尼对照品适量，加流动相制成含拉帕替尼 0.4 mg·mL^{-1}的对照品溶液，按外标法测定。

2.2 载体对药物的增溶作用

载体 soluplus®、PVPS630 为高分子材料，均具有表面活性，对拉帕替尼具有一定的胶束增溶作用。按表 1 配制不同比例的物理混合物，称取适量(约含拉帕替尼 40 mg)，置 25 mL 量瓶中，加水 20 mL，超声 20 min，定容，置室温 2 h，按“2.1.1”项下色谱条件测定。各样品的表观溶解度结果见表 1。从试验结果可知，在相同药载比条件下，soluplus®的增溶效果优于 PVPS630。

2.3 固体分散体的制备

按表 1 的药载比配制物理混合物，取混合物(含甲苯磺酸拉帕替尼 500 mg)，加入到 30 mL 乙腈溶液中(乙腈-水为 2∶1)，超声使全溶，溶液置于液氮中迅速冷冻，置冷冻干燥器中(隔板温度 −40 ℃，真空度 10~100 Pa，自然升温，冷井温度 −60 ℃)干燥 48 h，取出置 P_2O_5 干燥器中 24 h，过 80 目筛备用。

表 1 载体对拉帕替尼原料药的增溶效果

Tab. 1 Effect of carrier on the solubility of lapatinib bulk drug

载体	药载比	溶解度/mg·mL^{-1}
甲苯磺酸拉帕替尼∶soluplus®	1∶1	0.017±0.001
	1∶2	0.024±0.001
	1∶3	0.030±0.002
甲苯磺酸拉帕替尼∶PVPS630	1∶1	0.008±0.002
	1∶2	0.008±0.002
	1∶3	0.010±0.002

2.4 固体分散体表观溶解度的测定

取“2.3”项下制备的固体分散体，按“2.2”项下方法配制溶液，按“2.1.1”项下色谱条件测定表观溶解度，比较增溶效果，结果见表 2。从试验结果可知，制备的固体分散体能显著增加本品的表观溶解度，而高分子胶束的增溶作用基本可忽略不计。在相同药载比的条件下，PVPS630 对原料的增溶效果更显著。在药载比为 1∶3 条件下，2 组固体分散体表观溶解度分别为原料的 32.04 倍(soluplus®)和 54.27 倍(PVPS630)。这可能是因为药物在固体分散体中以微晶、无定形等状态存在，且由于亲水性载体增加了药物的可润湿性，在溶液中快速形成了过饱和溶液，同时由于溶液中高分子载体的抑晶作用，阻滞了药物的结晶析出，维持溶液处于过饱和状态[9-10]。

表 2 固体分散体的表观溶解度测定

Tab. 2 Determination of apparent solubility of solid dispersion

载体	药载比	表观溶解度/mg·mL^{-1}
甲苯磺酸拉帕替尼∶soluplus®	1∶1	0.1284±0.002
	1∶2	0.154±0.001
	1∶3	0.2243±0.002
甲苯磺酸拉帕替尼∶PVPS630	1∶1	0.2136±0.001
	1∶2	0.3150±0.003
	1∶3	0.3799±0.001

2.5 差示扫描量热分析(DSC)

以空铝坩埚为参比物，气氛为氮气，升温速度为 10 ℃·min^{-1}，在 30~300 ℃内扫描。分别取

甲苯磺酸拉帕替尼原料、PVPS630、soluplus®、物理混合物、固体分散体进行检测，结果表明，原料熔点在 251 ℃附近，与文献[11]报道一致。以 soluplus®为载体的固体分散体中，当药载比为 1∶1 和 1∶2 时，仍有明显的原料晶体熔点峰，但当药载比为 1∶3 时，原料晶体熔点峰已消失。而以 PVPS630 为载体的固体分散体中，各药载条件下均无明显的原料晶体熔点峰，表明甲苯磺酸拉帕替尼在固体分散体中呈非晶态分布。结果见图 1。

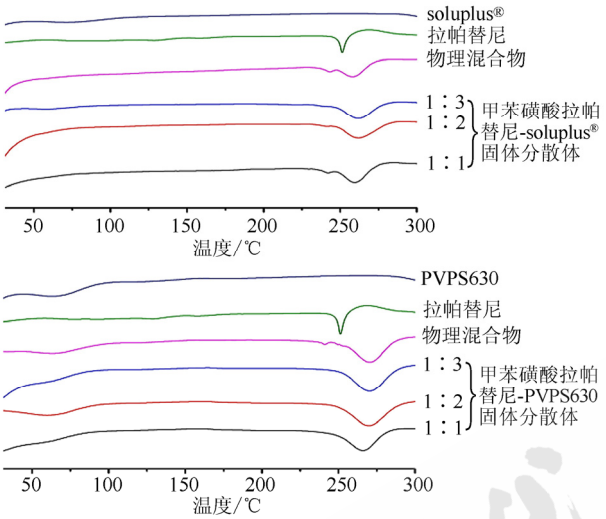

图 1 以 soluplus®和 PVPS630 为载体的 DSC 检测结果

Fig. 1 Result of DSC test with the carriers of soluplus® and PVPS630

2.6 X-射线粉末衍射测定(XRPD)

测定条件：管电流 40 mA，管电压 40 kV，起始角度 3.0°，终止角度 90°，扫描速度 12°·min^{-1}，步长 0.02°。分别对原料药、载体、物理混合物、固体分散体进行 XRPD 分析。结果显示，甲苯磺酸拉帕替尼晶体在 6.7°，8.4°，11.5°，12.1°，18.1°，21.2°，24°等处有特征峰，与文献[12]报道一致，在以 PVPS630 和 soluplus®为载体的物理混合物中，相应的位置均有特征峰，但由于载体的稀释作用，峰的强度减弱。以 soluplus®为载体制备的固体分散体中，当药载比为 1∶1 和 1∶2 时，固体分散体在 8°左右仍出现有微弱的晶体峰，表明原料仍有部分呈微晶状态；当药载比为 1∶3 时，已无晶体峰出现，表明原料呈非晶态分布。以 PVPS630 为载体制备的固体分散体中，各药载比条件下甲苯磺酸拉帕替尼的晶体峰均不明显，表明原料呈无定形态存在。XRPD 检测结果与 DSC 检测结果基本一致。结果见图 2。

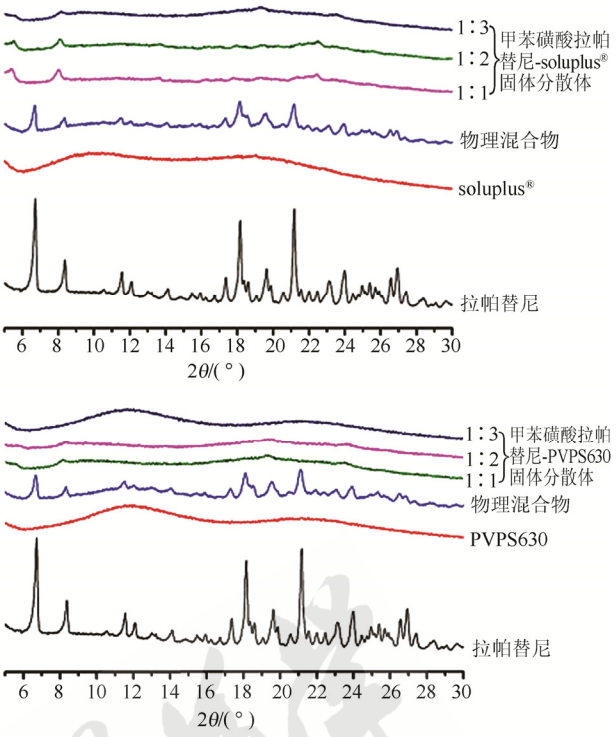

图 2 以 soluplus®和 PVPS630 为载体的 XRPD 检测结果

Fig. 2 Result of PXRD spectra with the carriers of soluplus® and PVPS630

2.7 扫描电子显微镜测定(SEM)

原料、载体、物理混合物以及固体分散体分别经过 3 min 喷金处理以提高其导电性，然后置电镜下观察，从 SEM 图中可看出，甲苯磺酸拉帕替尼呈针状或柱状结晶，soluplus®为块状晶体，PVPS630 呈球状，物理混合物中可明显看出原料粘附在 soluplus®和 PVPS630 表面。在 soluplus®为载体的固体分散体中，当药载比为 1∶1 时，原料晶态明显；药载比为 1∶2 时，仍能看到少量柱状晶体原料；药载比为 1∶3 时已基本看不到原料的晶体。以 PVPS630 为载体的固体分散体中，在各药载比条件下，SEM 中均看不到原料晶体存在。SEM 结果与 DSC 和 XRPD 结果一致。结果见图 3。

2.8 溶出度测定

取原料、物理混合物、固体分散体适量(含拉帕替尼 125 mg)，套于胶囊中，参照 FDA 公布的 TYKERB ®溶出度测定方法[13]，采用浆法(铁丝网固定)，以 2%吐温盐酸溶液(0.1 mol·L^{-1}) 900 mL 为溶出介质(漏槽浓度为 0.429 6 mg·mL^{-1})，转速为 55 r·min^{-1}，分别于 5，10，15，20，30，45，60 min 取样 5 mL，0.45 μm 滤膜滤过，及时补充新鲜的溶出介质。按“2.1.1”项下色谱条件测定。溶出结果见图 4。

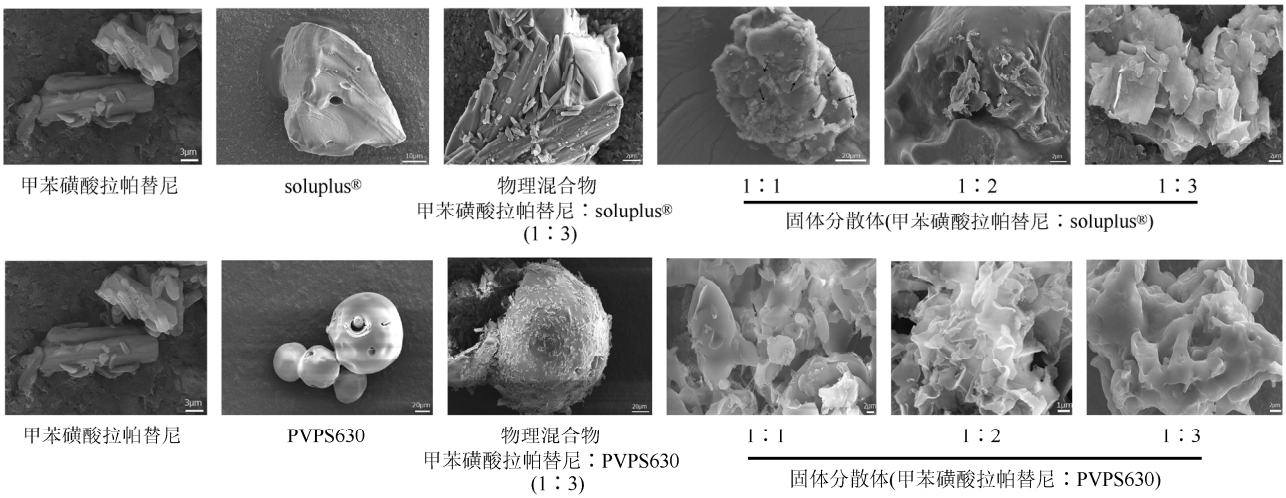

图 3 以 soluplus®和 PVPS630 为载体的 SEM 检测结果(2 000×~5 000×)

Fig. 3 Result of SEM micrographs with the carriers of soluplus® and PVPS630(2 000×−5 000×)

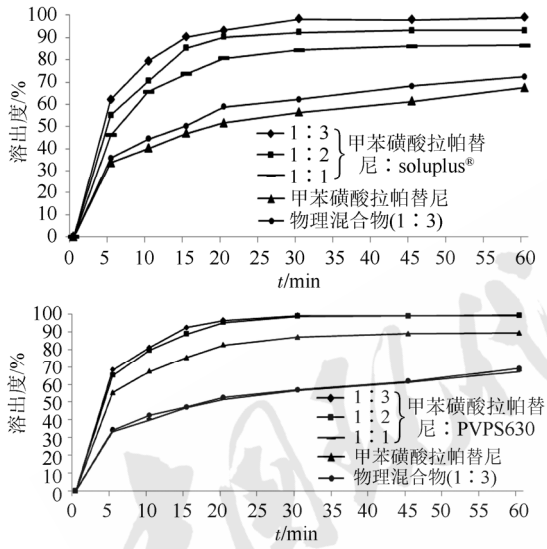

图 4 以 soluplus®和 PVPS630 为载体的溶出度检测结果

Fig. 4 Dissolution test results using soluplus® and PVPS630 as carriers

物理混合物中 soluplus®对原料的增溶效果要优于 PVPS630，可能是因为其表面活性作用较强所致；但固体分散体的溶出度测定中，在相同药载比的条件下，PVPS630 的增溶效果更理想，在药载比>2 时，60 min 基本释放完全。

2.9 大鼠体内药动学研究

取 SD 大鼠 12 只，适应性饲养 1 周后，随机分为 2 组，分别灌胃给予对照药(TYKERB®)和固体分散体(甲苯磺酸拉帕替尼-PVPS630 为 1∶3)混悬液，剂量均为 650 mg·kg^{-1}(以拉帕替尼计)，给药后 0，10，25，40 min 和 1，2，3，4，6，8，12，18，24 h 从大鼠眼眶静脉丛采血 250 μL，将血样置于肝素抗凝的具塞离心管中，4 000 r·min^{-1}离心 10 min，分离血浆，精密吸取 0.1 mL 血浆，加入 0.2 mL 乙腈，沉淀蛋白，13 000 r·min^{-1}离心 10 min，取上清液按“2.1.1”项下色谱条件测定拉帕替尼含量，样品进样量为 20 μL，标准品进样量为 4 μL。测定的平均药时曲线见图 5。采用 DAS 3.0 软件计算药动学参数，结果见表 3。

表 3 固体分散体和对照药的大鼠药动学参数(n=6)

Tab. 3 Pharmacokinetic parameters of solid dispersion and control drug in rats(n=6)

药动学参数	对照药(TYKERB®)	固体分散体
T_{max}/h	5.83±0.91	5.33±0.82
$T_{1/2}$/h	18.46±3.49	19.33±2.58
C_{max}/μg·mL^{-1}	22.73±4.72	27.50±5.30
$AUC_{(0-t)}$/mg·L^{-1}·h	371.47±49.38	459.28±78.65[1)]

注：与对照药相比，[1)]P<0.05。

Note: Compared with control drug, [1)]P<0.05.

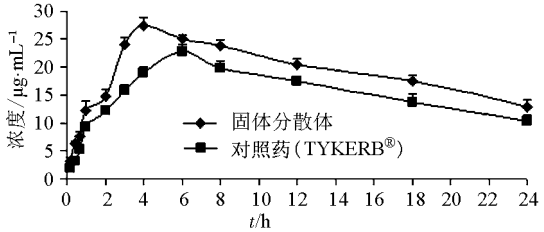

图 5 单剂量给药血药浓度-时间曲线

Fig. 5 Plasma concentration-time curve of single administration

3 讨论

甲苯磺酸拉帕替尼为生物药剂学分类系统Ⅳ类药物，药物的溶解性和渗透性均为药物吸收的限速因素，本项研究考察了提高药物表观溶解度和溶出度对吸收的影响。研究采用冷冻干燥技术

制备固体分散体，并对 PVPS630 和 soluplus® 2 种高分子载体的增溶效果进行了对比研究。结果表明，在相同药载比的条件下，PVPS630 为载体制备的固体分散体溶出度和表观溶解度均明显优于 soluplus®组。DSC、XRPD、SEM 等表征结果也显示，各载药比条件下，PVPS630 为载体的各固体分散体组中原料均以非晶态存在，而以 soluplus® 为载体的固体分散体组中，只有在药载比为 1∶3 时才呈现非晶态特征，表明 PVPS630 与原料的相容性更理想。

对固体分散体(甲苯磺酸拉帕替尼−PVPS630 为 1∶3)与上市药品 TYKERB®进行了大鼠单剂量口服给药的药动学比较，结果表明固体分散体组峰浓度更高，达(27.50±5.30)μg·mL^{-1}，药时曲线下面积较上市样品提高 23.64%，且与上市药品比较差异有统计学意义。研究结果表明，基于冷冻干燥技术的固体分散技术有助于提高甲苯磺酸拉帕替尼的生物利用度。

REFERENCES

[1] AWADA A, SALIBA W, BOZOVIC-SPASOJEVIC I. Lapatinib ditosylate: expanding therapeutic options for receptor tyrosine-protein kinase erbB-2-positive breast cancer [J]. Drugs Today, 2011, 47(5): 335-345.

[2] ARORA A, SCHOLAR E M. Role of tyrosine kinase inhibitors in cancer therapy [J]. J Pharm Exp Therapeut, 2005, 315(3): 971-979.

[3] YU T, CHO B J, CHOI E J, et al. Radiosensitizing effect of lapatinib in human epidermal growth factor receptor 2-positive breast cancer cells [J]. Oncotarget, 2016, 7(48): 79089-79100.

[4] FDA Approves Tykerb for Advanced Breast Cancer Patients [EB/OL]. FDA News P07-44, March 13, 2007. http://www.fda.gov/bbs/topics/NEWS/2007/NEW01586.htmL.

[5] MADDEN R, KOSARI S, PETERSON G M, et al. Lapatinib plus capecitabine in patients with HER2-positive metastatic breast cancer: A systematic review [J]. Int J Clin Pharmacol Ther, 2018, 56(2): 72-80.

[6] YUAN D F, HE Q G, GAO H L. Preparation and characterization of freeze-dried lapatinib incorporated albumin-lipid nanoparticles [J]. West China J Pharm Sci(华西药学杂志), 2015, 30(3): 279-281.

[7] KHODER M, ABDELKADER H, ELSHAER A, et al. The use of albumin solid dispersion to enhance the solubility of unionizable drugs [J]. Pharm Dev Technol, 2018, 23(7): 732-738.

[8] XU J H. Determination of the related substances in lapatinib ditosylate monohydrate by HPLC [J]. Chin J Pharm(中国药学杂志), 2015, 46(10): 1113-1116.

[9] LU Z J, LIU Y. Preparation and characterization of nimodipine solid dispersion [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2018, 35(12): 1786-1791.

[10] HAN H K, LEE B J, LEE H K. Enhanced dissolution and bioavailability of biochanin A via the preparation of solid dispersion: *In vitro* and *in vivo* evaluation [J]. Int J Pharmaceut, 2011, 415(1/2): 89-94.

[11] HU X Y, LOU H, HAGEMAN M J. Preparation of lapatinib ditosylate solid dispersions using solvent rotary evaporation and hot melt extrusion for solubility and dissolution enhancement [J]. Int J Pharmaceut, 2018, 552(1/2): 154-163.

[12] PETER V. X-ray powder diffraction data of lapatinib ditosylate monohydrate [J]. Powder Diffraction, 2009, 24(3): 250-253.

[13] Dissolution methods of lapatinib ditosylate [S/OL]. FDA, 2009, [2009-10-30]. https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/dissolution/dsp_SearchResults.cfm.

收稿日期：2019-02-20

(本文责编：蔡珊珊)

http://www.chinjmap.com