



DOI: 10.3969/j.issn.2095-1264.2023.04.05

文章编号: 2095-1264(2023)04-0427-09

拉帕替尼自微乳给药系统的制备与体内外质量评价

张强^{1,2}, 张雪^{2,3}, 符渝昕^{2,3}, 程泽能^{1,2,3*}

(¹徐州医科大学药学院, 江苏徐州, 221000; ²湖南慧泽生物医药科技有限公司, 湖南长沙, 410000;

³中南大学湘雅药学院, 湖南长沙, 410013)

摘要: **目的** 制备拉帕替尼自微乳给药系统, 进行体外质量评价与大鼠体内药动学性质考察。**方法** 通过检测拉帕替尼在不同辅料中的溶解度, 选择合适的辅料绘制伪三元相图, 利用星点设计-效应面法优化处方组分, 确定最终处方。对制备的拉帕替尼自微乳进行粒径、Zeta 电位检测, 采用透射电镜观察微观形态, 并考察不同介质、不同稀释倍数、不同放置时间对粒径的影响, 进行拉帕替尼自微乳与拉帕替尼混悬液体外释放实验与大鼠体内药动学研究。**结果** 最终确定拉帕替尼自微乳处方为玉米油:油酸:RH40:TP=20:20:48:12, 平均粒径为(35.88±0.61) nm, Zeta 电位为(-2.81±0.25) mV; 在不同介质(pH 1.0、pH 4.5、pH 6.8)、不同稀释倍数(1:50、1:100、1:200)下放置 6 h, 粒径稳定; 体外释放 48 h, 药物累计释放量达 70%; 大鼠药动学实验结果显示, 与拉帕替尼混悬液相比, 拉帕替尼自微乳的 C_{max} 与 AUC 显著提高。**结论** 拉帕替尼自微乳给药系统性质稳定, 改善了药物的溶解度, 提高了拉帕替尼在大鼠体内的生物利用度, 对拉帕替尼新剂型的研发有一定的参考价值。

关键词: 拉帕替尼; 自微乳给药系统; 星点设计-效应面法; 释放; 生物利用度

中图分类号: R965 **文献标识码:** A

Preparation and quality evaluation of self-microemulsifying drug delivery system for lapatinib *in vivo/vitro*

ZHANG Qiang^{1,2}, ZHANG Xue^{2,3}, FU Yuxin^{2,3}, CHENG Zeneng^{1,2,3*}

(¹School of Pharmacy, Xuzhou Medical University, Xuzhou, 221000, Jiangsu, China; ²Hunan Huize Bio-pharmaceutical Co., Ltd., Changsha, 410000, Hunan, China; ³Xiangya School of Pharmaceutical Sciences, Central South University, Changsha, 410013, Hunan, China)

Abstract: Objective To prepare a self-microemulsifying drug delivery system of lapatinib, and to evaluate its quality *in vitro* and pharmacokinetic properties in rats. **Methods** Detect the lapatinib solubility in different excipients, and select appropriate excipients to complete ternary phase diagram, and optimize the formulation by central composite design-response surface methodology, Detect the particle size, Zeta potential of the prepared lapatinib microemulsion, and observe its microscopic morphology by transmission electron microscope. Examine the effects of different media, dilution ratio and storage time on the particle size of lapatinib microemulsion. The *in vitro* release test and pharmacokinetics test of lapatinib microemulsion and lapatinib suspension in rats were also performed here. **Results** The optimized lapatinib microemulsion was composed of corn oil: oleic acid: RH40: TP=20:20:48:12. The mean particle size of lapatinib microemulsion was (35.88±0.61) nm, Zeta potential was (-2.81±0.25) mV. The particle size of lapatinib microemulsion was still stable when diluted at 1:50, 1:100, 1:200 in pH 1.0, pH 4.5, pH 6.8 medium respectively and placed for 6 h. The total lapatinib release was found to be 70% at the end of 48 h in the *in vitro* drug release studies. Compared to the lapatinib suspension, the

作者简介: 张强, 男, 硕士研究生, 研究方向: 新制剂研究。

*通信作者: 程泽能, 男, 博士, 教授, 研究方向: 生物药剂学和药物动力学研究。

C_{max} and AUC of lapatinib in microemulsion was significantly improved as showed in pharmacokinetic experiments of rats.

Conclusion The self-emulsifying drug delivery system of lapatinib was stable. It could improve the solubility of lapatinib and the bioavailability in rats, and could be contribute to the development of new forms of lapatinib.

Keywords: Lapatinib; Self-microemulsifying drug delivery system; Central composite design-response surface methodology; Release; Bioavailability

前言

2014年至2018年,乳腺癌的发病率以每年0.5%递增,已成为女性发病率最高的癌症^[1-2]。目前,乳腺癌常用治疗措施有手术治疗、放射治疗、化学治疗、小分子靶向治疗、免疫治疗等,其中靶向治疗具有靶点明确、作用直接、选择性强的优势,已成为热门研究领域^[3-4]。拉帕替尼作为一种可逆的口服小分子表皮生长因子酪氨酸激酶抑制剂(tyrosine kinase inhibitor, TKI),是首款获批用于人表皮生长因子受体-2(human epidermal growth factor receptor-2, HER-2)阳性乳腺癌患者靶向治疗的药物^[5-6]。通过可逆性阻断HER-1和HER-2的ATP结合位点,拉帕替尼可干扰肿瘤细胞生长、增殖信号转导,从而发挥抗肿瘤作用^[6]。

在临床上,拉帕替尼主要与卡培他滨联合用于既往接受蒽环类、紫杉醇、曲妥珠单抗治疗的HER-2阳性转移性乳腺癌或晚期乳腺癌患者。此外,拉帕替尼也可与其他药物联合使用。段海波等^[7]研究发现,拉帕替尼联合曲妥珠单抗及多西紫杉醇一线治疗对表达p95HER-2变异体的乳腺癌细胞仍有较好的抗肿瘤活性,可增强对HER-2阳性乳腺癌的疗效,毒性可耐受,安全性较好。然而,拉帕替尼也存在一定的缺点,其水溶性差($7 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)^[8],口服生物利用度低,患者需每日服用1 250 mg(规格为250 mg),用药后常出现腹泻、恶心、皮疹等不良反应^[9],其中胃肠道不良反应发生率最高,导致患者依从性差。因此,开发一种新的剂型,用于改善拉帕替尼的溶解性、生物利用度,将有助于降低该药物的临床给药剂量,减轻胃肠道不良反应。

自微乳给药系统(self-microemulsifying drug delivery system, SMEDDS)由水难溶性或亲脂性药物、油相、乳化剂、助乳化剂组成,在体内胃肠道水分稀释与蠕动作用下,自发形成粒径小于250 nm的水包油(O/W)型乳剂。SMEDDS可提高难溶性药物的溶解度,增加药物的吸收及淋巴途径转运,降低首过效应,从而提高药物的生物利用度^[10-12]。本研究旨在通过开发拉帕替尼自微乳给药系统改善拉帕替

尼溶解度差及生物利用度低的问题,为拉帕替尼新剂型的研发提供参考。

1 方法

1.1 药物、试剂与动物 拉帕替尼(原料药,批号:S24GS162167,纯度99%)购自上海源叶生物科技有限公司;中链甘油三酯(medium-chain triglyceride, MCT)、单亚油酸甘油酯(MaisineCC)、丙二醇单辛酸酯(Capryol90)、二乙二醇单乙醚(TP)购自法国Gattefosse公司;三辛酸甘油酯(Captex8000)、辛酸癸酸单双甘油酯(CapmulMCM)购自美国Abitec公司;聚氧乙烯蓖麻油(EL35)、聚氧乙烯40氢化蓖麻油(RH40)购自德国BASF公司;吐温80(Tween80)、玉米油购自山东瑞生;聚乙二醇400(PEG400)、聚乙二醇600(PEG600)购自江西益普生;丙二醇购自湖北葛店人福;油酸购自湖南尔康;乙醇、甲醇(HPLC级)购自美国ACS公司;磷酸氢二钾(分析AR级)购自国药集团。Sprague-Dawley(SD)大鼠12只,体重200~250 g,雌雄各半,由湖南省药物安全评价研究中心提供,许可证号为SCXK(湘)(2019-0004)。

1.2 仪器 BSA224S-CN型电子分析天平(赛多利斯);THZ-92A型气浴恒温振荡器(上海博迅);TG20-WS型高速离心机(湖南迈克尔);VORTEX-5可调式旋涡混合器(上海嘉鹏);U-3000型高效液相色谱仪(赛默飞);三重四极杆液质联用仪(安捷伦);BT-50超声分散器(丹东百特);激光粒度仪(英国马尔文);透射电子显微镜(日本日立)。

1.3 拉帕替尼在辅料中的溶解度测定 称取1 g辅料,置于刻度离心管中,投入过量药物,确保有药物沉淀,涡旋使药物充分分散,水浴超声30 min,气浴恒温振荡箱($25\text{ }^{\circ}\text{C}$, $100\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$)平衡48 h,高速离心机 $4\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心15 min,取上清液测定药物含量。液相检测条件:中谱红AQ-C₁₈柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm);流动相:甲醇:0.01 mol·L⁻¹磷酸氢二钾溶液(75:25);检测波长262 nm;流速1.0 mL·min⁻¹;柱温30 $^{\circ}\text{C}$;进样量10 μL 。

1.4 伪三元相图绘制 依据拉帕替尼在辅料中的溶解度结果,选择溶解度较大的油相、乳化剂、助乳

剂进行考察。将乳化剂与助乳化剂以一定质量比(4:1、3:1、2:1、1:1、1:2、1:3、1:4)混合;再将油相和混合乳化剂按一定质量比(9:1、8:2、7:3、6:4、5:5、3:7、4:6、2:8、1:9)混合,即得空白乳。取 100 μL 空白乳加入 10 mL 预热至 37 $^{\circ}\text{C}$ 的纯化水中,在 100 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 磁力搅拌下使其乳化。以成乳后的状态(澄清透明)和乳化时间(<3 min)以及平均粒径(<100 nm)作为考察指标,用 Origin 2022 软件绘制伪三元相图。

1.5 星点设计-效应面法优化处方 在伪三元相图的基础上采用星点设计-效应面法优化处方。以油相的质量占比 $W_{\text{油}}/\%$ (X_1)、乳化剂与助乳化剂的质量比 K_m (X_2) 为自变量,依据空白乳筛选的结果,确定星点设计的因素 X_1 、 X_2 。

用 Design expert 12.0 软件进行二因素五水平设计,以自微乳的载药量、平均粒径、多分散性指数(polydispersity index, PDI)为评价指标。根据软件生成的 13 个处方,按比例称取油相、乳化剂、助乳化剂,投入过量药物,涡旋使药物充分混匀后超声 30 min,气浴恒温振荡(25 $^{\circ}\text{C}$, 100 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$)平衡 48 h,再以 10 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min,得到拉帕替尼处方。精密称量处方 0.1 g 于 10 mL 容量瓶中,加入稀释剂(乙醇:甲醇=1:4)溶解混匀后定容至刻度,用 0.22 μm 滤膜过滤,取续滤液,采用“1.3”项下方法测定拉帕替尼处方的载药量(Y_1)。精密称量处方 100 μL ,加纯化水 10 mL,在 100 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 磁力搅拌下使其完全乳化,用激光粒度仪检测其平均粒径(Y_2)、PDI(Y_3)。

用 Design expert 12.0 软件对处方的载药量、平均粒径、PDI 进行模拟拟合,绘制二维等高线和三维效应面图。以 $W_{\text{油}}/\%$ (X_1)、平均粒径、PDI、载药量为考察指标,确定最优处方。

1.6 最优处方的验证 依照最优处方制备 3 批拉帕替尼自微乳,采用“1.3”“1.5”项下方法检测处方载药量、平均粒径及 PDI,考察实测值与预测值的误差,验证最优处方的准确性。

1.7 外观性状、粒径、Zeta 电位、透射微观形态考察 取空白乳和拉帕替尼自微乳各 100 μL ,缓慢加入 10 mL 37 $^{\circ}\text{C}$ 纯化水中(100 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$),观察外观性状;取拉帕替尼自微乳乳液适量,用激光粒度分析仪测定自微乳的平均粒径和 Zeta 电位;另取自微乳乳液适量,滴在覆有支持膜的铜网上,静置 10 min 后用滤纸吸去多余液体,再滴加 2% 磷钨酸溶液染色 5 min,自然挥干,采用透射电镜观察微观形态。

1.8 不同稀释倍数对自微乳的影响 取 100 μL 拉帕替尼自微乳,以 1:50、1:100、1:200 的体积比加入纯化水中,37 $^{\circ}\text{C}$, 100 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 乳化,放置 6 h。考察自微乳乳化后在不同稀释倍数下、放置一定时间后粒径与 PDI 是否发生改变。

1.9 不同介质对自微乳的影响 取 100 μL 拉帕替尼自微乳,以 1:100 的体积比分别加入 pH 1.0、pH 4.5、pH 6.8 介质中乳化(37 $^{\circ}\text{C}$, 100 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$),放置 6 h。考察自微乳乳化后在不同介质中、放置一定时间后粒径与 PDI 是否发生改变。

1.10 药物体外释放试验 用透析袋(3 500 Da)考察拉帕替尼混悬液(以 0.5% 羧甲基纤维素钠为助悬液)、拉帕替尼自微乳在 pH 6.8 介质(磷酸盐缓冲液)中的释放情况。取拉帕替尼混悬液与拉帕替尼自微乳各 1 mL(5 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)封存至透析袋中,置于含 100 mL pH 6.8 介质的烧杯中,并加入 0.5% Tween80 以满足漏槽条件^[13]。37 $^{\circ}\text{C}$, 100 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 搅拌,分别于 5、15、30、60、120、180、240、300、360、1 440、2 160 和 2 880 min 从烧杯中取 1 mL 溶液,并补液 1 mL,用高效液相色谱仪检测药物含量,计算药物的累计释放量。

1.11 大鼠体内药代动力学实验 在大鼠体内开展拉帕替尼混悬液与拉帕替尼自微乳的药代动力学研究。将 12 只 SD 大鼠分为两组(每组雌鼠 3 只,雄鼠 3 只),以灌胃的形式分别给予拉帕替尼混悬液和拉帕替尼自微乳。大鼠实验前禁食 12 h,给药 4 h 后允许进食,期间自由饮水。给药剂量均为 25 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,分别于给药前和给药后 0.25、0.5、0.75、1、1.5、2、3、4、6、8、12、24 h 眼眶静脉丛采血 0.2 mL,置于肝素钠 EP 管中,以 3 500 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min,分离血浆后,-80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存待测。

取 50 μL 血浆置于 EP 管中,加入阿比特龙(内标)甲醇溶液(质量浓度 40 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$) 50 μL 、沉淀剂乙腈 300 μL ,涡旋 3 min 后离心 10 min(4 $^{\circ}\text{C}$, 3 500 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$) 取上清液,通过三重四极杆液质联用仪检测拉帕替尼浓度。

检测条件:色谱柱 Xterra MS C_{18} (4.6 mm \times 50 mm, 5 μm);流动相:甲醇:0.1% 甲酸水(95:5);流速:0.75 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$;柱温:30 $^{\circ}\text{C}$;进样量:1 μL 。离子源为电喷雾离子源(electrospray ion source, ESI),正离子方式检测,扫描方式为多反应监测模式(multiple reaction monitoring, MRM),用于监测的离子对分别为 m/z 581.1 \rightarrow 365.2(拉帕替尼),350.2 \rightarrow 155.9(阿比特

龙,内标);驻留时间:150 ms,碎裂电压:250 V,碰撞能量:40 V,碰撞池加速电压:4 V。

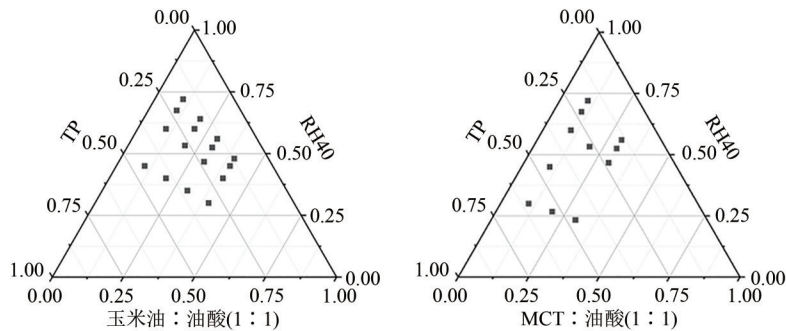
利用GraphPad Prism 软件绘制拉帕替尼血药浓度-时间曲线图;Phoenix 软件对不同时间点血浆药物浓度与时间进行拟合,计算相关药动学参数;SPSS 21.0 统计学软件进行数据分析,考察数据的统计学意义。

2 结果

2.1 拉帕替尼在辅料中的溶解度 拉帕替尼在油相、乳化剂、助乳化剂中的溶解度检测结果显示,拉帕替尼在油酸、RH40、Tween80、TP、PEG400 和 PEG600 中溶解度较好(表1)。

2.2 伪三元相图绘制 依据拉帕替尼辅料溶解度结果,选择油酸作为油相考察。但油酸作为单一的油相很难被乳化,需与其他油相混合。根据经验将油酸与玉米油/MCT 以 1:1 质量比混合,以 RH40、TP 为乳化剂、助乳化剂,采用 Origin 2022 软件绘制伪三元相图,结果显示,玉米油与油酸混合乳化后,符合“1.4”项考察指标的点更多(图1)。

选择玉米油与油酸作为油相,根据药物的溶解



注:RH40 为乳化剂;TP 为助乳化剂。

Note: RH40 was emulsifier; TP was co-emulsifier.

图1 不同油相的伪三元相图

Fig. 1 Pseudo-ternary phase diagrams of different oils

2.3 星点设计-效应面法优化处方 通过空白乳的筛选,确定 X_1 的范围为 10%~40%, X_2 的范围为 1~9, 计算得出星点设计的因素水平(表2)。用 Design expert 12.0 软件进行星点设计,测定软件生成处方的载药量、平均粒径、PDI(表3)。对拉帕替尼处方的载药量(Y_1)、平均粒径(Y_2)、PDI(Y_3)进行二项式模拟拟合,其中校正相关系数 r 与显著性相关水平(P)均满足要求,结果具有统计学意义($P<0.05$),对应的

表1 拉帕替尼在不同辅料中的溶解度($n=3$)

Tab. 1 The solubility of lapatinib in different medium($n=3$)

种类	名称	溶解度/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)
油相	油酸	46.53±0.51
	玉米油	3.05±0.09
	MCT	2.41±0.11
	CapmulMCM	11.05±0.20
	Capryol90	7.77±0.21
	MaisineCC	4.72±0.15
	Captex8000	2.03±0.05
乳化剂	RH40	33.87±0.65
	EL35	11.71±0.30
	Tween80	14.72±0.17
助乳化剂	TP	48.93±0.21
	PEG400	41.96±0.59
	PEG600	48.78±0.31
	丙二醇	3.03±0.03

度,乳化剂选择 RH40、Tween80,助乳化剂选择 PEG400、PEG600、TP,绘制伪三元相图,结果表明,当油相为玉米油和油酸、乳化剂为 RH40、助乳化剂为 TP 时,空白乳更容易乳化为澄清透明的乳液,在伪三元相图中符合“1.4”项考察指标的点最多(图2)。

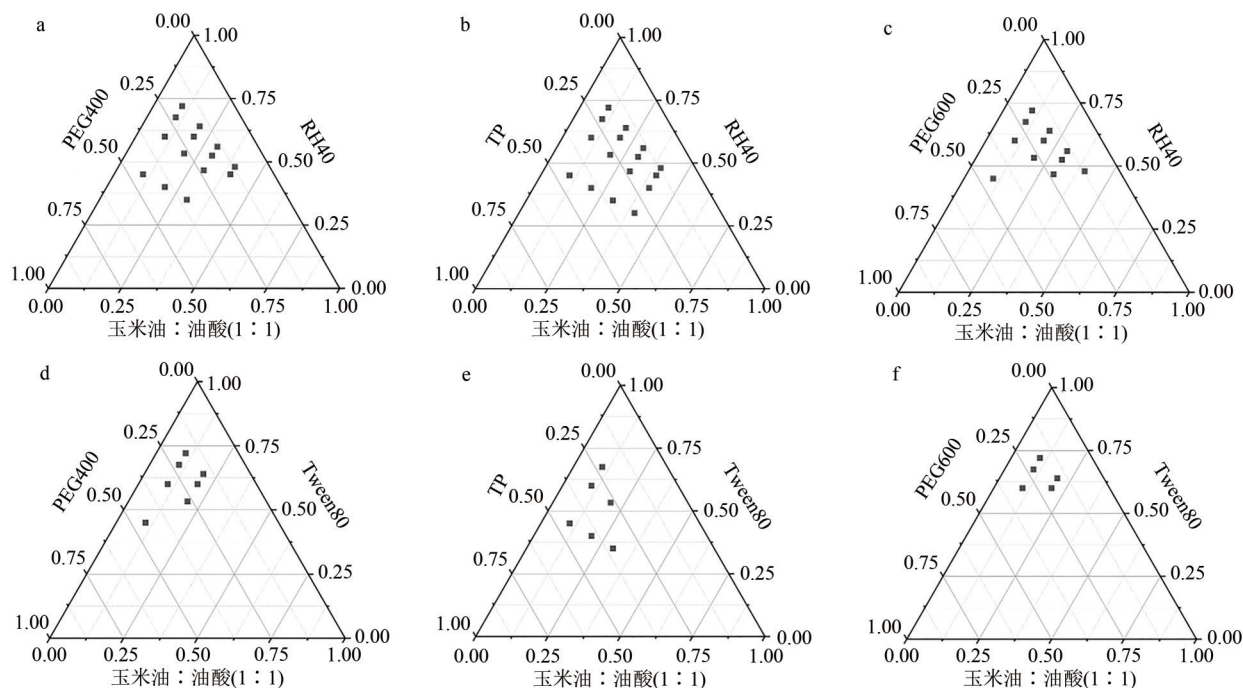
响应方程如下:

$$Y_1=32.24-1.56X_1-1.97X_2-2.16X_1X_2+1.72X_1^2+3.41X_2^2, r=0.9028, P=0.0167;$$

$$Y_2=55.28+15.79X_1+15.20X_2+15.56X_1X_2-14.05X_1^2+0.684X_2^2, r=0.9085, P=0.0139;$$

$$Y_3=0.3588+0.0817X_1+0.0348X_2-0.0042X_1X_2-0.1402X_1^2-0.0522X_2^2, r=0.9326, P=0.0053$$

用 Design expert 12.0 软件绘制油相质量占比



注:(a-c)乳化剂为RH40,助乳化剂分别为PEG400、TP、PEG600;(d-f)乳化剂为Tween80,助乳化剂分别为PEG600、TP、PEG400。

Note: (a-c) The emulsifier was RH40 and the co-emulsifier was respectively PEG400, TP and PEG600; (d-f) The emulsifier was Tween80 and the co-emulsifier was respectively PEG400, TP and PEG600.

图2 不同乳化剂、助乳化剂的伪三元相图

Fig. 2 Pseudo-ternary phase diagrams of different emulsifiers and co-emulsifiers

表2 星点设计的因素和水平

Tab. 2 The factors and levels of the central composite design

因素	水平				
	-1.414	-1	0	1	1.414
$W_{oil}/\%$ (X_1)	10	14.4	25	35.6	40
K_m (X_2)	1	2.17	5	7.83	9

表3 星点设计的实验和结果

Tab. 3 The design and the results of central composite design

序号	$X_1/\%$	X_2	载药量(Y_1) /($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	平均粒径(Y_2) /nm	PDI(Y_3)
1	25	1	44.39	33.88	0.18
2	25	9	35.07	77.80	0.38
3	25	5	31.58	42.44	0.30
4	25	5	31.37	47.64	0.33
5	35.6	7.83	31.12	97.78	0.24
6	39.99	5	35.84	36.22	0.18
7	14.4	7.83	40.96	17.41	0.03
8	10	5	36.86	16.30	0.03
9	14.4	2.17	37.94	18.79	0.02
10	35.6	2.17	36.73	36.93	0.25
11	25	5	33.77	66.18	0.40
12	25	5	33.63	72.32	0.39
13	25	5	30.85	47.83	0.37

$W_{oil}/\%$ (X_1), 乳化剂与助乳化剂质量之比 K_m (X_2) 的载药量、平均粒径的二维等高线和三维效应面图(图3)。由图可知, 当 $W_{oil}/\%$ 一定时, 拉帕替尼自微乳的载药量随着 K_m 的增加而减小; 平均粒径随着 K_m 的增加而增大, $K_m > 6$ 时粒径过大; PDI 随着 K_m (X_2) 的增加而增大, 当 $W_{oil}/\% > 20\%$ 时, PDI 随着油相的增大而减小。

综上, 以 $W_{oil}/\%$ (X_1) 最大、平均粒径 < 100 nm、PDI < 0.3 、处方载药量最大为标准进行优化, 优选处方为: $X_1 = 40, X_2 = 4, Y_1 = 35.67, Y_2 = 36.44, Y_3 = 0.17$ 。

2.4 最优处方验证 依照玉米油:油酸:RH40:TP=20:20:48:12 处方制备 3 批拉帕替尼自微乳, 处方的载药量、粒径、PDI 检测值与预测值的差值 $< 0.1\%$ (表 5), 证明所建立的数学模型有良好的预测性。

2.5 外观性状、粒径、Zeta 电位、透射微观形态表征 空白乳与拉帕替尼自微乳均为澄清透明乳液(图 4c)。用激光粒度分析仪测得自微乳的平均粒径和 Zeta 电位, 自微乳粒径呈正态分布(图 4a), 平均粒径 (35.88 ± 0.61) nm; Zeta 电位 (-2.81 ± 0.25) mV (图 4b)。在透射电镜图中, 100 nm 和 200 nm 标尺下, 拉帕替尼自微乳乳化后形成 O/W 型球形粒子, 分布均匀(图 4d、图 4e)。

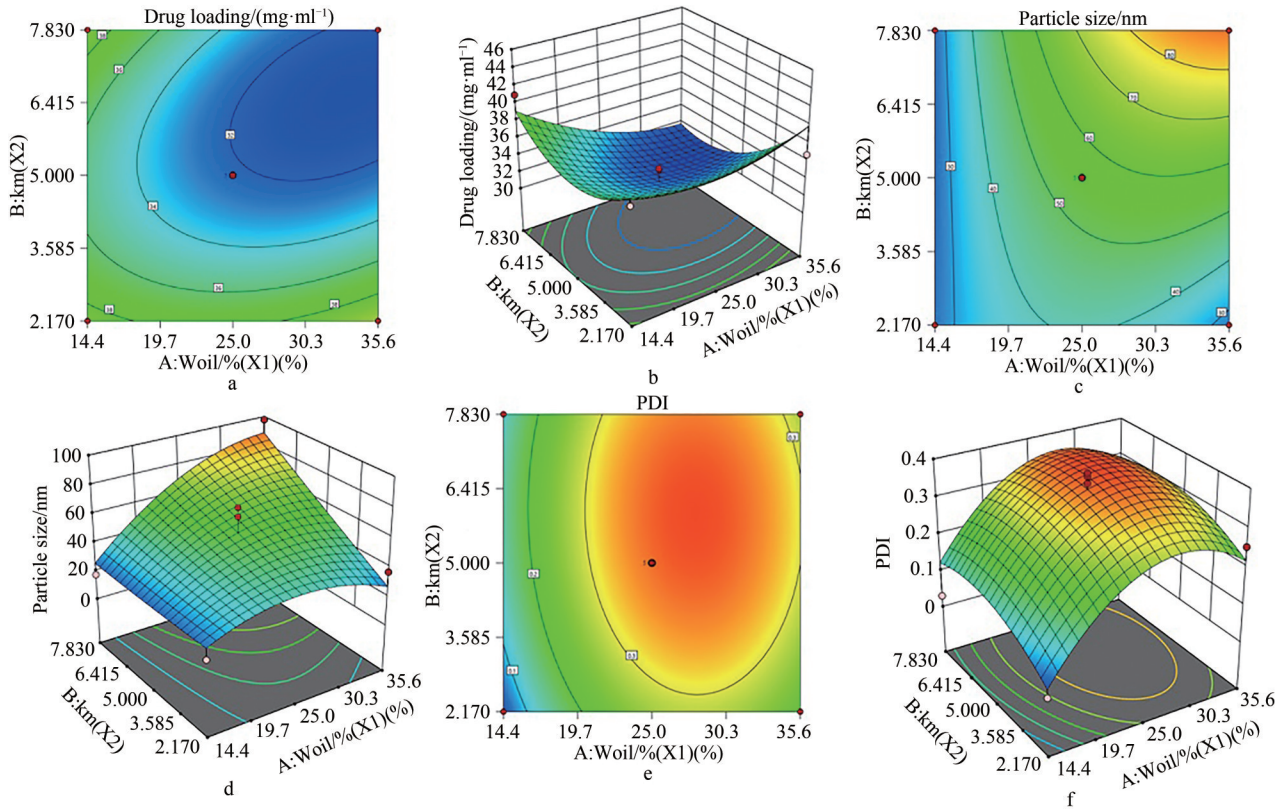


图3 载药量、平均粒径和PDI的二维等高线图(a,c,e)和三维效应图(b,d,f)

Fig. 3 The response surface graph 2D (a, c, e) and the response surface graph 3D (b, d, f) of the drug loading, partical size and PDI

表4 星点设计-效应面优化的验证试验(n=3)

Tab. 4 Verification experiment of central composite design and response surface optimization method (n=3)

参数	实测值	预测值
载药量/(mg·g ⁻¹)	35.88±0.61	35.67
粒径/nm	35.05±0.55	36.44
PDI	0.126	<0.2

2.6 不同稀释倍数及放置时间对自微乳粒径的影响 将拉帕替尼自微乳与纯化水以 1:50、1:100、1:200 的体积比乳化,粒径与 PDI 无显著区别;常温放置 6 h 后,粒径与 PDI 值未发生显著改变,表明拉帕替尼自微乳不会因为稀释倍数变化而发生改变,并且拉帕替尼乳液随着时间推移趋向稳定(表 6)。

2.7 不同介质对自微乳粒径的影响 在 pH 1.0、pH 4.5、pH 6.8 的介质中,拉帕替尼自微乳乳化后的粒径与 PDI 无显著区别。常温放置 6 h 后,粒径与 PDI 未发生显著改变,表明一定时间内拉帕替尼乳液在不同介质中可保持稳定(表 7)。

2.8 药物体外释放试验 拉帕替尼自微乳与混悬液在体外释放有显著区别。拉帕替尼自微乳在介质中搅拌 12 h 后开始快速释放,48 h 后累计释放达

70%,并趋于平稳;拉帕替尼混悬液释放十分缓慢,48 h 后累计释放不足 3%(图 5)。实验结果表明,在接近肠道 pH 下,自微乳给药系统显著提高了拉帕替尼的释放速度。因此,自微乳给药系统可促进药物释放,改善难溶药物的吸收。

2.9 大鼠体内药代动力学实验 拉帕替尼制备成自微乳后,药物在大鼠中的生物利用度显著提高(图 6)。拉帕替尼自微乳在雌鼠中的 C_{max} 提高了 8.48 倍,AUC 提高了 11.69 倍;在雄鼠中的 C_{max} 提高了 2.48 倍,AUC 提高了 2.47 倍(表 8)。拉帕替尼自微乳与拉帕替尼混悬液的药动学参数有明显差异,数据具有统计学意义($P<0.05$)。同时,大鼠性别对拉帕替尼的药动学参数存在影响:拉帕替尼自微乳组雌鼠的 C_{max} 是雄鼠的 4.88 倍,AUC 是雄鼠的 12.28 倍;拉帕替尼混悬液组雌鼠的 C_{max} 是雄鼠的 1.43 倍,AUC 是雄鼠的 2.60 倍。

3 讨论

拉帕替尼自微乳给药系统中,油相是重要组成部分,因其一方面可溶解大量药物,提高自微乳给药系统载药量;另一方面可促进药物淋巴转运,其

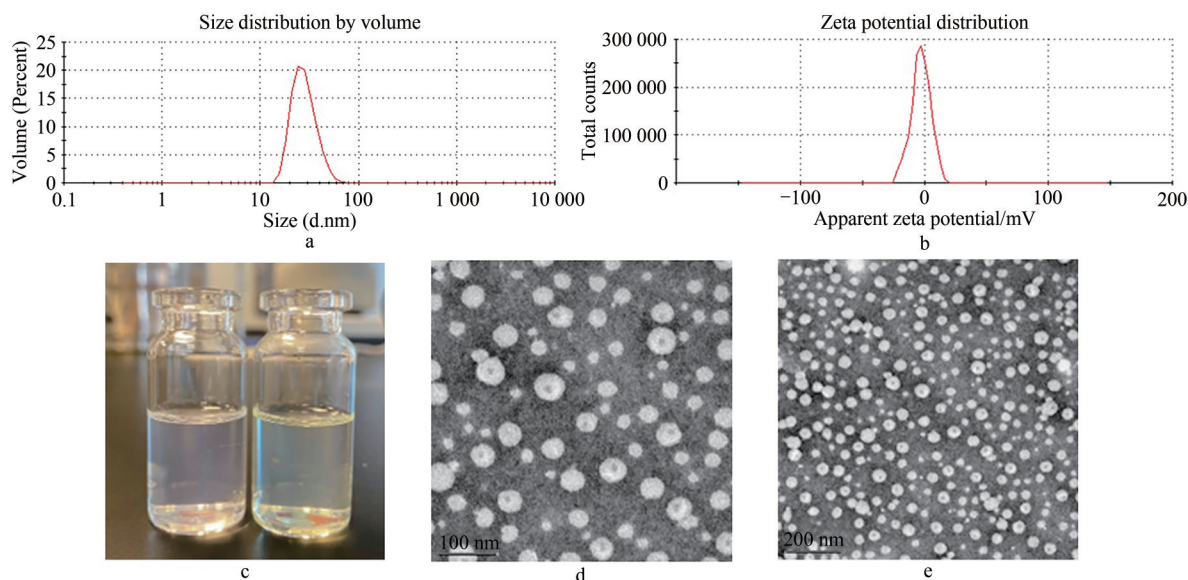


图 4 拉帕替尼自微乳的粒径分布(a)、Zeta 电位图(b)、空白乳液与自微乳液(左→右)外观图(c)和透射电镜图(d、e)

Fig. 4 The droplet size (a), Zeta potential (b), transmission electron microscopy (d, e) of lapatinib-SMEDDS and blank-SMEDDS (left→right) (c)

表 6 不同稀释倍数对自微乳粒径和 PDI 的影响

Tab. 6 Effects of different dilution ratio on the droplet size and PDI of self-microemulsion

时间	参数	稀释倍数		
		1:50	1:100	1:200
0 h	粒径/nm	34.52±0.37	35.05±0.55	31.26±0.29
	PDI	0.177	0.126	0.144
6 h	粒径/nm	31.82±0.53	34.23±1.10	29.4±0.38
	PDI	0.063	0.048	0.137

表 7 不同介质对自微乳粒径和 PDI 的影响

Tab. 7 Effects of different media on the droplet size and PDI of self-microemulsion

时间	参数	介质		
		pH 1.0	pH 4.5	pH 6.8
0 h	粒径/nm	33.41±0.86	34.47±0.26	31.79±0.92
	PDI	0.073	0.110	0.072
6 h	粒径/nm	33.68±0.53	33.84±0.37	31.25±0.25
	PDI	0.154	0.104	0.080

中长链甘油三酯淋巴转运比例最高,能有效提高药物的生物利用度^[14]。油酸、玉米油均为长链甘油三酯,这可能是拉帕替尼自微乳给药系统有效提高生物利用度的原因之一。

拉帕替尼自微乳乳化后形成 O/W 型乳滴,粒径 <50 nm 且呈正态分布,在微观状态下为球形粒子,分布均匀,表明乳化效果理想。Zeta 电位会影响粒

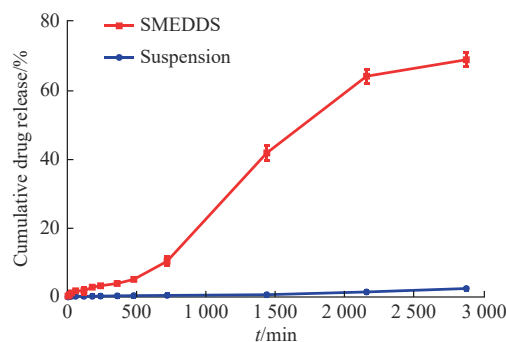


图 5 拉帕替尼自微乳和混悬液 48 h 内的体外释放曲线

Fig. 5 Drug release of lapatinib-SMEDDS and lapatinib-suspension within 48 h *in vitro*

子的状态,电位过低会使粒子发生部分聚集^[15]。拉帕替尼自微乳的 Zeta 电位为 (-2.81 ± 0.25) mV, 电位值较低。但自微乳进入体内后会在胃肠道内迅速乳化并被小肠吸收,不会发生药物的聚集析出。此外,人体肠黏膜顶端与腔内黏液带负电荷,乳液负电荷过大不利于被细胞摄取^[16],故拉帕替尼自微乳的低负电荷不会影响药物在肠道吸收。拉帕替尼自微乳在不同稀释倍数、不同介质条件下放置 6 h, 粒径与 PDI 无显著变化,这是乳化剂与助乳化剂具有两亲性,从而降低油水界面表面张力的结果^[17]。

拉帕替尼体外释放实验中,体外释放 48 h 后,拉帕替尼混悬液累计释放低于 3%,自微乳累计释放达 70%,表明自微乳有效改善了拉帕替尼的体外释放。在拉帕替尼自微乳体外释放实验中,前期药

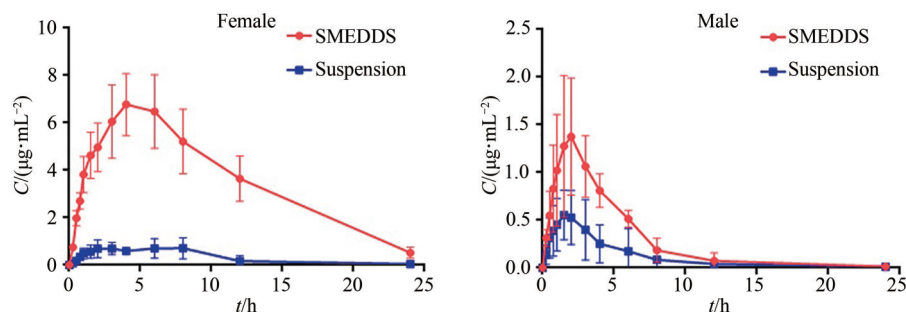


图6 拉帕替尼自微乳和混悬液的血药浓度-时间曲线图($n=3$)
 Fig. 6 Plasma concentration-time profiles of lapatinib-SMEDDS and lapatinib-suspension ($n=3$)

表8 拉帕替尼自微乳和混悬液的药动学参数($n=3$)

Tab. 8 Pharmacokinetic parameters of lapatinib-SMEDDS and lapatinib-suspension ($n=3$)

参数	雌鼠		雄鼠	
	自微乳	混悬液	自微乳	混悬液
t_{max}/h	4.67±0.94	4.0±2.0	1.83±0.24	1.75±0.35
$C_{max}/(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	6.78±1.07	0.80±0.20	1.39±0.52	0.56±0.21
$AUC_{0-24}/(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}\cdot\text{h}^{-1})$	85.95±16.61	7.36±2.67	7.00±0.66	2.83±1.58
RBA/%	1 168.80	—	247.35	—
P	0.003		0.026	

注:RBA:相对生物利用度。

Note:RBA: relative bioavailability.

物释放缓慢,12 h后释放加快,可能是自微乳形成了O/W型乳滴,一部分药物溶解在表面活性剂层,存在于乳滴外表面;另一部分溶解在油相层,存在乳滴内表面;拉帕替尼具有很强的亲脂性,可能延缓了其释放。

与拉帕替尼混悬液相比,拉帕替尼自微乳在大鼠体内的生物利用度显著提高。首先,自微乳给药系统提高了拉帕替尼的溶解度,促进药物吸收;其次,自微乳给药系统提高了肠上皮细胞膜的流动性,推动药物跨膜吸收;此外,自微乳给药系统可改变肠上皮细胞间紧密连接,提高了药物经细胞旁路转运的比例;最重要的是,自微乳给药系统可促使药物经淋巴转运,降低首过效应^[16]。因此,自微乳给药系统可有效提高拉帕替尼在大鼠体内的生物利用度。

拉帕替尼在大鼠体内的药动学实验中存在性别差异。拉帕替尼主要经CYP3A4和CYP3A5酶代谢,而研究显示,雌雄大鼠体内CYP酶的活性与数量不同,且雌性体内脂肪储量高于雄性,因此,亲脂性药物在雌鼠体内分布容积更大^[18]。拉帕替尼生物利用度在大鼠中的性别差异可能与体内酶的差异性代谢及药物在雌鼠体内分布量大相关,但其确

切机制需要更深入的研究。

4 结论

制备的拉帕替尼自微乳性质稳定,改善了药物溶解度与生物利用度,有望在临床上大大降低拉帕替尼每日服用剂量,改善因剂量过高引起的胃肠道不良反应,进而提高患者依从性。自微乳给药系统制备方便,工艺简单,有利于制剂工业化,为拉帕替尼新剂型的研发提供了一条新的思路。

参考文献

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209-249. DOI: 10.3322/caac.21660.
- [2] SIEGEL R L, MILLER K D, FUCHS H E, et al. Cancer statistics, 2022 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2022, 72(1): 7-33. DOI: 10.3322/caac.21708.
- [3] 何馨彤, 王上, 张紫箏, 等. HER2阳性乳腺癌靶向治疗药物的临床研究进展[J]. *药物评价研究*, 2021, 44(12): 2697-2704. DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2021.12.024.
- [4] HARBECK N, PENAULT-LLORCA F, CORTES J, et al. Breast cancer [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2019, 5(1): 66. DOI: 10.1038/s41572-019-0111-2.
- [5] ROSKOSKI R. The ErbB/HER family of protein-tyrosine kinases and cancer [J]. *Pharmacol Res*, 2014, 79: 34-74. DOI:

- 10.1016/j.phrs.2013.11.002.[
- [6] 郑维锋, 卢创新, 杨争艳. HER2 阳性乳腺癌靶向药物的研究进展[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2022, 29(6): 587-595. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2022.06.011.
- [7] 段海波, 胡倩, 林颖欣, 等. 曲妥珠单抗联合拉帕替尼及多西紫杉醇一线治疗 HER-2 阳性晚期乳腺癌的安全性和有效性[J]. 现代肿瘤医学, 2020, 28(18): 3159-3163. DOI: 10.3969/j.issn.1672-4992.2020.18.013.
- [8] GAO H L, WANG Y C, CHEN C, et al. Incorporation of lapatinib into core-shell nanoparticles improves both the solubility and anti-glioma effects of the drug [J]. Int J Pharm, 2014, 461(1/2): 478-488. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2013.12.016.
- [9] BURRIS H A 3rd, TAYLOR C W, JONES S F, et al. A phase I and pharmacokinetic study of oral lapatinib administered once or twice daily in patients with solid malignancies [J]. Clin Cancer Res, 2009, 15(21): 6702-6708. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-0369.
- [10] SINGH S, BAJPAI M, MISHRA P. Self-emulsifying drug delivery system (SEDDS): an emerging dosage form to improve the bioavailability of poorly absorbed drugs [J]. Crit Rev Ther Drug Carrier Syst, 2020, 37(4): 305-329. DOI: 10.1615/Crit-RevTherDrugCarrierSyst.2020033111.
- [11] VERMA R, KAUSHIK D. Design and optimization of candesartan loaded self-nanoemulsifying drug delivery system for improving its dissolution rate and pharmacodynamic potential [J]. Drug Deliv, 2020, 27(1): 756-771. DOI: 10.1080/10717544.2020.1760961.
- [12] GAO P, JIANG Z J, LUO Q, et al. Preparation and evaluation of self-emulsifying drug delivery system (SEDDS) of cepharanthine [J]. AAPS PharmSciTech, 2021, 22(7): 245. DOI: 10.1208/s12249-021-02085-9.
- [13] BONDE G V, AJMAL G, YADAV S K, et al. Assessing the viability of Soluplus® self-assembled nanocolloids for sustained delivery of highly hydrophobic lapatinib (anticancer agent): Optimisation and *in-vitro* characterisation [J]. Colloids Surf B Biointerfaces, 2020, 185: 110611. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2019.110611.
- [14] 吴军勇, 杨苏芳, 杨乐, 等. 不同链长油相对葛根素微乳经淋巴转运吸收的影响[J]. 中国医院药学杂志, 2017, 37(15): 1426-1430. DOI: 10.13286/j.cnki.chinhosp-pharmacy.2017.15.02.
- [15] CHERNIAKOV I, DOMB A J, HOFFMAN A. Self-nano-emulsifying drug delivery systems: an update of the biopharmaceutical aspects [J]. Expert Opin Drug Deliv, 2015, 12(7): 1121-1133. DOI: 10.1517/17425247.2015.999038.
- [16] BUYA A B, BELOQUI A, MEMVANGA P B, et al. Self-nano-emulsifying drug-delivery systems: from the development to the current applications and challenges in oral drug delivery [J]. Pharmaceutics, 2020, 12(12): 1194. DOI: 10.3390/pharmaceutics12121194.
- [17] RAJPOOT K, TEKADE M, PANDEY V, et al. Self-micro-emulsifying drug-delivery system: ongoing challenges and future ahead [M]//Drug Delivery Systems. Amsterdam: Elsevier, 2020: 393-454. DOI: 10.1016/b978-0-12-814487-9.00009-0.
- [18] 杨阔, 高茸, 王镜, 等. 性别差异对异补骨脂素在大鼠体内吸收和分布的影响[J]. 中国医院药学杂志, 2021, 41(14): 1395-1399. DOI: 10.13286/j.1001-5213.2021.14.04.

校稿: 王娟 李征

本文引用格式: 张强, 张雪, 符渝昕, 等. 拉帕替尼自微乳给药系统的制备与体内外质量评价[J]. 肿瘤药学, 2023, 13(4): 427-435. DOI: 10.3969/j.issn.2095-1264.2023.04.05.

Cite this article as: ZHANG Qiang, ZHANG Xue, FU Yuxin, et al. Preparation and quality evaluation of self-microemulsifying drug delivery system for lapatinib *in vivo* [J]. Anti-tumor Pharmacy, 2023, 13(4): 427-435. DOI: 10.3969/j.issn.2095-1264.2023.04.05.