

· 论 著 ·

索拉非尼固体分散体的制备及性质研究

单兴杰, 闫占宽, 于超峰, 李传筠 (江苏恒瑞医药股份有限公司, 江苏 连云港 222000)

[摘要] 目的 制备索拉非尼(sorafenib, SFN)/介孔硅的固体分散体,并进行体内性质研究。方法 利用溶剂挥发法制备固体分散体,以溶出度为指标筛选药物和介孔硅比例;采用差示扫描量热法(DSC)和粉末 X 射线衍射(XRD)技术,考察药物存在状态及物理稳定性;通过电镜观察样品形貌;以大鼠为实验动物,以自制 SFN 粉末为对照,对固体分散体进行体内药动学研究。结果 原料药为结晶态,溶出度 $<10\%$;随着介孔硅的比例增大,固体分散体的溶出度增加,当 SFN 与介孔硅的比例为 1:5 时,SFN 以非晶态存在,溶出度 $>90\%$,在 6 个月的加速实验中,药物存在状态和溶出度未见明显改变。固体分散体组的 c_{max} 是 SFN 粉末组的 1.8 倍,相对生物利用度为 175%。结论 SFN/介孔硅固体分散体物理稳定性良好,能提高 SFN 的溶出度,改善其口服吸收效果。

[关键词] 索拉非尼;介孔硅;固体分散体;溶出度;稳定性;生物利用度

[中图分类号] R94 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2016)04-0320-05

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2016.04.009

The preparation and characterization of sorafenib solid dispersion

SHAN Xingjie, YAN Zhankuan, YU Chaofeng, LI Chuanjun (Jiang Su Heng Rui Medicine Co., Ltd., Lianyungang 222047, China)

[Abstract] **Objective** To prepare sorafenib (SFN)/mesoporous silica solid dispersion (SD) and investigate characteristics *in vitro* and *in vivo*. **Methods** The SD was prepared by solvent evaporation method; the optimal ratio of SFN to mesoporous silica was determined by examining the dissolution of formula, the drug state and physical stability of SD were examined by DSC and XRD; the surface morphology was characterized by electron microscope; the pharmacokinetics of SD was studied for the solid dispersion which compared with SFN powders *in vivo* study using rats. **Results** SFN raw drug was crystalline and its dissolution was $<10\%$; the dissolution of SD increased with an increase in amount of mesoporous silica; when the ratio of SFN to mesoporous silica was 1:5, drug in SD was non-crystalline state and the dissolution was $>90\%$. The physical state and dissolution of SFN in SD were hardly changed during the six months accelerated test. The c_{max} of SD group was 1.8 times that of powder group, relative bioavailability was 175%. **Conclusion** The physical stability of self-preparing solid dispersions is good, the dissolution and oral absorption are improved by solid dispersion.

[Key words] sorafenib; mesoporous silica; solid dispersion; dissolution; stability; bioavailability

索拉非尼(sorafenib, SFN)是一种新型二芳基脲类和口服多靶点分子靶向药物,具有双重抗肿瘤效应,既可通过阻断由 RAF/MEK/ERK 介导的细胞信号传导通路而直接抑制肿瘤细胞的增殖,还可通过抑制血管内皮生长因子(VEGF)和血小板衍生生长因子(PDGF)受体而阻断肿瘤新生血管的形成,间接抑制肿瘤细胞的生长^[1]。它的问世开创了进展期肝细胞癌系统治疗的里程碑^[2]。2005 年 12

月,SFN 以其甲苯磺酸盐的形式被美国 FDA 批准上市,用于先前使用 α -干扰素或 IL-2 没有应答或者不适用这些疗法的晚期肾细胞癌(RCC)、肝癌和甲状腺癌患者。SFN 属于 BSC II 类药,即低溶解性和高渗透性药物^[3]。目前临床常用剂型为片剂,因其药物分子在 pH 值 1.2~7.4 的水介质中均难溶,导致其在胃肠道中溶出缓慢、生物利用度低且个体差异大,临床应用受到限制^[4]。近年来,有研究者将难溶性药物装载于多孔材料的孔道中,制成的固体分散体(solid dispersions, SD)能使药物长期保持物理稳定性,提高药物表观溶解度和溶出速率^[5,6]。本研究采用球形介孔硅负载 SFN 制备固体分散体,研究药物体外溶出度、稳定性和体内药动学。

[作者简介] 单兴杰,工程师,研究方向:药品研发检测,E-mail: shanxj_1128@163.com

[通讯作者] 闫占宽,工程师,研究方向:药品分析、工艺开发等质量研究.E-mail: yanzkwh@163.com

1 仪器与试药

1.1 仪器 高效液相色谱泵(日立 L-7100);高效液相检测器(日立 L-7400);DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器(巩义市子华仪器有限公司);H-9000 型透射电子显微镜(日本 Hitachi 公司);扫描电子显微镜(JEOL-6700,日本电子株式会社);UV-2000 紫外-可见分光光度计(美国 UNICO 公司);RC-8D 型智能溶出测定仪(天津国铭医药设备有限公司);TDL-6A 低速离心机(上海菲恰尔分析仪器有限公司)。

1.2 试药 SFN(上海江莱生物科技有限公司,纯度 $\geq 99\%$);球形介孔硅(粒径约 300 nm,比表面积 600~800 m^2/g ,孔径 10~20 nm,孔容 1.00~1.30 m^3/g);十二烷基硫酸钠(SDS,分析纯,中国禹王化工有限公司);甲醇、二氯甲烷及其他试剂(分析纯,天津市恒兴化学试剂制造有限公司)。

2 方法与结果

2.1 固体分散体的制备 采用溶剂挥发法制备固体分散体:称取一定量 SFN 原料药置于甲醇-二氯甲烷(1:4)的混合液中,加热溶解,制备成 40 g/L 的溶液,加入介孔硅,使 SFN 与介孔硅的质量比分别为 1:1、1:2、1:3、1:4、1:5,避光密闭搅拌 8~10 h,40 $^{\circ}\text{C}$ 减压蒸除溶剂,过筛整粒,即得 SFN/介孔硅的固体分散体。

2.2 分析方法 精密称取 SFN 对照品 10.00 mg,在小烧杯中用流动相溶解,转移至 100 ml 容量瓶,配制成 100 mg/L 的储备液。再用流动相稀释成浓度(C)分别为 4、10、20、30、40、60 mg/L 的系列溶液。采用高效液相色谱法检测,记录色谱峰面积(A)。以 A 对 C 进行线性回归,得标准曲线: $A = 78\ 969C + 1\ 289$ ($r = 0.999\ 9$)。结果表明,SFN 浓度在 4~60 mg/L 范围内具有良好的线性关系,精密密度、重复性和回收率检测结果均符合要求。

2.3 溶出实验 精密称取 20.0 mg SFN 原料药(过 100 目筛)和相当于 20.0 mg 的固体分散体,分别以 900 ml 含 0.2% SDS 的 pH 6.8 的 PBS 液、pH 4.5 的 PBS 液、pH 1.2 的盐酸为溶出介质,参照《中华人民共和国药典(二部)》2010 年版附录 XC 第二法,以温度(37.0 \pm 0.3) $^{\circ}\text{C}$,转速 50 r/min,进行溶出实验。分别于 5、10、15、20、30、45 及 60 min 取

溶出介质 5 ml(立即补加等量空白溶出介质),过 0.45 μm 微孔滤膜,取续滤液,在 265 nm 处测定吸光度。计算累积溶出度,结果见图 1、图 2。为考察其溶出稳定性,将固体分散体在加速实验[RH(75 \pm 5)% ,40 $^{\circ}\text{C}$]条件下放置 6 个月,再进行溶出实验,结果如图 2。每个时间点数值为 3 个样品的平均值。

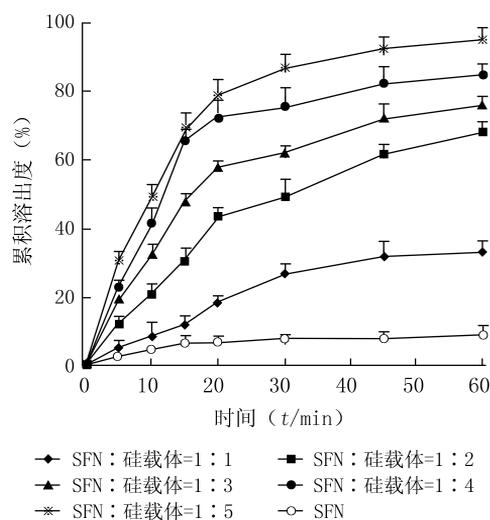


图 1 SFN 与载体不同比例制得的固体分散体在 pH1.2 盐酸中的溶出曲线

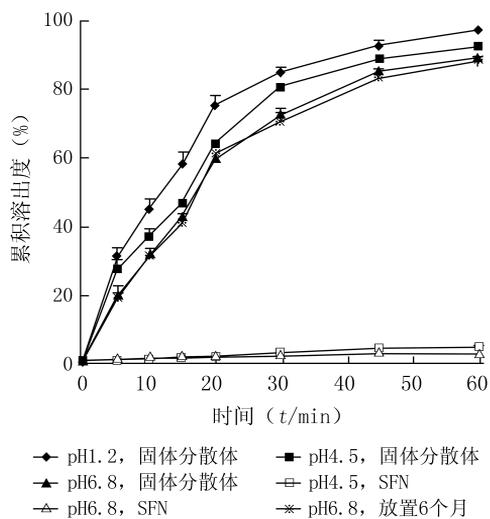


图 2 SFN 原料药和固体分散体(药物:载体=1:5)在不同介质中的溶出曲线

2.4 固体分散体中的药物状态分析

2.4.1 差示扫描量热(DSC)分析 准确称取 2.00 mg SFN 原料药(粉碎,过 100 目筛)和相当于 2.00 mg SFN 的固体分散体,置于氮气(50 ml/min)保护的铝锅中,温度范围为 30~

300 °C, 升温速率为 10 °C/min, 进行 DSC 测定, 结果见图 3。

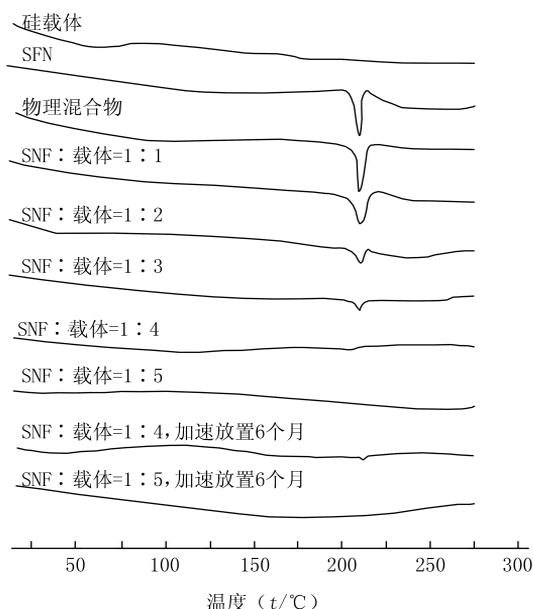


图 3 SFN 原料药、物理混合物和不同固体分散体的 DSC 曲线

2.4.2 粉末 X 射线衍射 (XRD) 分析 采用 X 射线衍射仪扫描 SFN 原料药、介孔硅、SFN 原料药与介孔硅按质量比 1 : 5 制成的物理混合物 (过 100 目筛) 和固体分散体及固体分散体的加速实验样品。采用 Cu-K α 辐射在 2 θ 角 (5°~40°) 以 4°/min 的扫描速度进行分析, 步宽 0.02°, 管电压 40 kV, 管电流 30 mA, 结果见图 4。

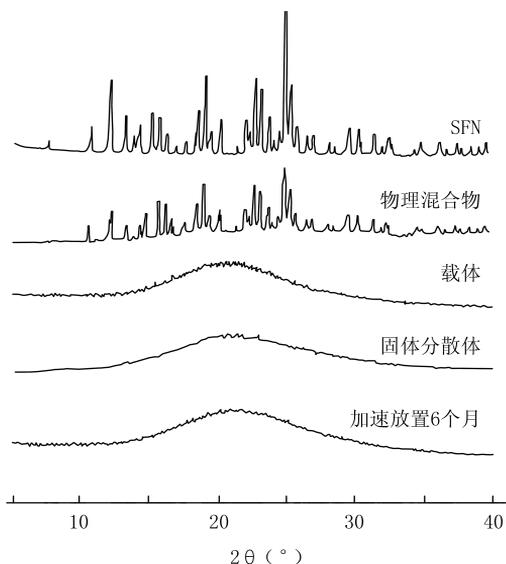


图 4 X 射线粉末衍射谱图

2.5 形貌分析 分别将原料药、球形介孔硅和固体分散体粘在导电胶上, 喷金后用扫描电镜观察。将样品置于乙醇或去离子水中超声分散, 将分散好的悬浊液滴于镀有碳膜的铜网上, 烘干后, 抽真空, 用透射电子显微镜 (TEM) 观察纳米球的结构。结果见图 5。

2.6 固体分散体的体内药动学

2.6.1 给药与采血 将 10 只健康大鼠 (250~280 g), 随机分为 2 组 ($n=5$)。给药前 24 h 禁食, 自由饮水, 给药 8 h 后统一进食标准餐。给药前乙醚轻微麻醉, 将自制固体分散体和 SFN 粉末 (平均

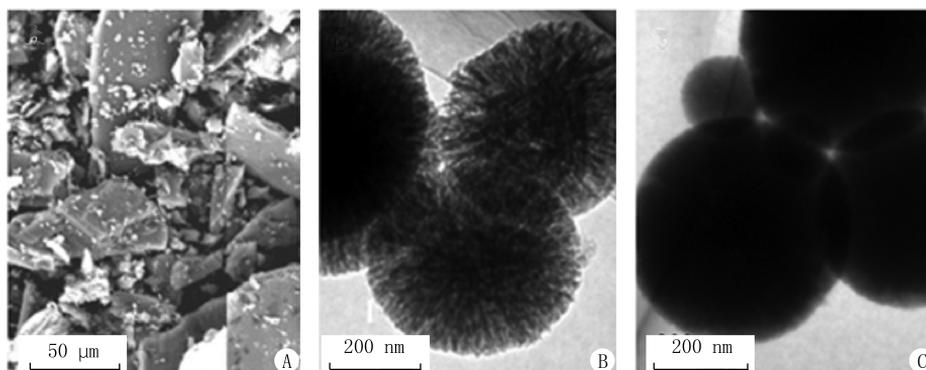


图 5 SFN 的扫描电镜图 (A)、球形介孔硅 (B) 和固体分散体 (C) 的透射电镜图

粒径为 5~10 μm) 分散于水中, 分别灌胃给药, 剂量为 20 mg/kg。给药后分别于 0.5、1、1.5、2、2.5、3、4、6、8、10、12 和 24 h 眼窝静脉丛取 0.3 ml 血, 收集于肝素化离心管中。

2.6.2 血药浓度曲线及药动学参数 精密吸取血浆 50 μl , 加乙腈 250 μl , 涡旋 5 min, 10 000 \times g 下离心 10 min。取上清液 20 μl 注入高效液相色谱仪^[7]。记录色谱图及峰面积, 根据标准曲线计算血

药浓度。色谱柱为 Kromasil C₁₈ 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm, 瑞典), 流动相为甲醇-乙腈-1% 乙酸溶液 (40 : 40 : 20, V/V/V), 检测波长 265 nm, 流速 1.0 ml/min, 柱温 35 °C, 进样量 20 μl。标准曲线回归方程为 $A = 1\ 957\ C + 856$, $r = 0.998\ 9$ 。SFN 在 0.1~10.0 μg/ml 浓度范围内呈现良好线性关系, 精密度和回收率符合方法学要求。血药浓度曲线见图 6。采用非隔室模型, 用 DAS2.0 软件分析, 药动学参数见表 1。

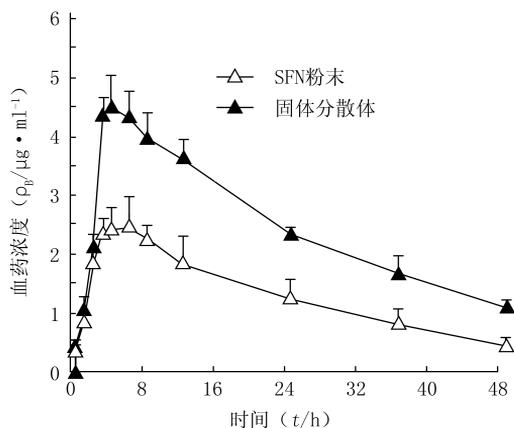


图 6 大鼠口服自制 SFN 粉末和固体分散体的血药浓度曲线 (n=5)

表 1 大鼠口服自制 SFN 粉末和固体分散体的药动学参数 (n=5)

参数	SFN	固体分散体
t_{max}/h	4.56 ± 1.23	3.56 ± 0.32*
$c_{max}/\mu g \cdot L^{-1}$	2.48 ± 0.54	4.48 ± 0.36*
$AUC_{0-12}/\mu g \cdot h \cdot L^{-1}$	76.43 ± 34.67	134.23 ± 45.78*
$t_{1/2}/h$	18.07 ± 1.45	20.65 ± 2.11
K_e/h^{-1}	0.039 ± 0.008	0.036 ± 0.006

* $P < 0.05$, 与 SFN 比较; K_e : 消除速率常数

3 讨论

由 DSC 结果可见, SFN 在 210 °C 有熔点吸热峰, 说明药物以结晶态存在。固体分散体随着介孔硅比例增大, SFN 的熔点吸热峰减小, 当药物与介孔硅质量比为 1 : 4 和 1 : 5 时, 固体分散体中药物熔点吸热峰消失, 推测药物以无定型或分子等非晶形式存在。介孔硅比例较小 (1 : 4) 的固体分散体加速实验放置 6 个月后, 出现熔点吸热峰, 而介孔硅比例较大 (1 : 5) 的固体分散体没有出现吸热峰。文献 [8] 报道, 吸热峰减小或者消失说明结晶度减少或者药物可能以非晶状态存在。本研究以介孔硅负载药物, 载体的巨大表面积有利于吸附药物分子, 并限制其迁移; 孔壁对药物有分隔作用, 纳米孔道的空间

阻碍作用能抑制药物结晶的生长 [9], 所以能在实现较高载药量的同时抑制药物结晶析出。但该体系需足够多的载体 (药物与载体的比例 > 1 : 5) 才能确保药物被高度分散在载体孔道中。

XRD 分析 SFN 原料药的晶体衍射峰在 2θ 角等于 11.36°、18.56°、22.42°、22.87°、24.71°、25.15° 等处明显, 表明其为高度晶化结构。物理混合物在相应位置上也显示衍射峰, 说明简单混合过程不能改变 SFN 的结晶态。固体分散体仅显示与载体相似的离散峰, 未见晶体对应特征衍射峰。文献 [9] 报道, 当没有特征峰出现时, 说明药物以非晶状态存在。本实验发现, 药物投入量较高时, 固体分散体有衍射峰。这是由于药物不能全部进入介孔孔道中, 部分药物可能以结晶形式分布在载体表面而显示衍射峰。而当药物与载体比例为 1 : 5 时, 加速实验 6 个月的固体分散体未见晶体衍射峰, 说明物理稳定性良好。

电镜图显示 SFN 药物粉末呈 50~200 μm 的块状, 介孔硅粒径在 200~300 nm, 孔径为 10~20 nm, 载药介孔硅保持了空载体的球形形貌, 但孔道形貌不清晰, 在载体表面未见药物结晶存在。这说明药物被高度分散在载体孔道中。介孔硅巨大的表面积以及较大的孔容有助于吸附大量药物, 被吸附的药物能够均匀分散在孔道中 [6]。

SFN 粉末在 pH 1.2 的介质中比在 pH 4.5 和 pH 6.8 的介质中溶出度略高, 这与 SFN 为弱碱性药物, 其溶解度有 pH 依赖性有关。随着载体比例增大, 固体分散体的溶出度随之增加。当药物与载体比例为 1 : 5 时, 在各溶出介质中的溶出度均 > 85%, 即随着 pH 值升高, 药物溶出减慢。总之, 固体分散体药物溶出度明显高于原料药, 主要是由于: ① 固体分散体中, 药物以非结晶态存在, 非晶态分子间的结合能低于结晶态, 有利于加快药物的溶出; ② 固体分散体中, 药物分散度远高于药物晶体, 增加了药物和溶出介质的接触面积, 利于药物快速溶出。加速实验 6 个月的固体分散体溶出曲线没有明显变化, 进一步证明固体分散体的物理稳定性良好。

微粉化是提高药物溶出度和生物利用度的一种有效方法。因此, 本实验将 SFN 制成 5~10 μm 的微粉, 以其混悬液给药, 作为对照组, 固体分散体组的相对生物利用度为 175% ($P < 0.05$), c_{max} 提高至 1.80 倍 ($P < 0.05$), t_{max} 减小 1 h ($P < 0.05$)。SFN 属于 BSCII 类药, 其低溶解性和低溶出度 (水中的溶解度 < 25 ng/ml) 限制了其生物吸收速度。固体分

丹参酮 II A 为脂溶性成分,丹酚酸 B 为水溶性成分,新脑灵颗粒主要采取水提醇沉的方法制备而成,因此,本研究以丹酚酸 B 作为含量测定指标。

本研究建立了 HPLC 测定新脑灵颗粒中丹酚酸 B 含量的方法,3 批样品的检测结果显示,不同批次间存在一定差异,主要与不同批次在生产过程中的损耗及丹参药材的质量差异有关,有必要应用本法对新脑灵颗粒中丹酚酸 B 进行含量检测,为制定新脑灵颗粒质量标准提供科学依据。

【参考文献】

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典 2010 年版一部 [S].北京:中国医药科技出版社,2010:附录 VI B.
- [2] Koon CM, Woo KS, Leung PC, et al. *Salviae Miltiorrhizae Radix* and *Puerariae Lobatae Radix* herbal formula mediates anti-atherosclerosis by modulating key atherogenic events both

in vascular smooth muscle cells and endothelial cells [J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 138 (1): 175-183.

- [3] Ren ZZ, Wang X, Wang SF, et al. Mechanism of action of salvianolic acid B by module-based network analysis [J]. *Bio-med Mater Engineer*, 2014, 23(1):S1385-S1392.
- [4] 王俊杰,刘弘,于天杰,等. HPLC 法同时测定精制冠心颗粒中芍药苷与丹酚酸 B 含量[J]. *中国药师*, 2013, 16 (8): 1175-1177.
- [5] 谢琳,庄满贤,王亚琦,等. HPLC 法同时测定养心宁神丸中丹参酮 II A 和丹酚酸 B 的含量[J]. *广东药学院学报*, 2015, 31 (1):58-61.
- [6] 李怀斌,王毅. 丹芍生脉胶囊中丹酚酸 B 与芍药苷的含量测定 [J]. *陕西中医*, 2013, 34 (8): 1059-1061.
- [7] 马慧萍,李兰茹,董志臣,等. HPLC 法测定安神益智胶囊中丹酚酸 B 的含量 [J]. *中国药师*, 2014, 17 (2):314-316.

[收稿日期] 2015-09-28 [修回日期] 2015-12-01

[本文编辑] 李睿旻

(上接第 323 页)

散体使药物溶出加快,故 t_{max} 减小。固体分散体使得相对生物利用度提高的原因可能在于:①药物的非结晶存在状态和高度分散性,有利于药物快速溶出;②较快的溶出导致药物在胃肠道中的浓度较高,高浓度梯度有利于药物的扩散吸收^[10];③纳米尺寸及较大的表面积利于载药体系吸附在胃肠黏膜表面,并长时间滞留,利于促进药物吸收^[11,12];④药物浓度迅速升高,可能使代谢药物的酶饱和,从而使药物的降解比例降低。固体分散体与 SFN 微粉的 $t_{1/2}$ 和消除速率常数 (K_e) 没有明显差异,说明固体分散体未能改变药物的消除速率。

【参考文献】

- [1] Liu L, Cao Y, Chen C, et al. Sorafenib blocks the RAF/MEK/ERK pathway, inhibits tumor angiogenesis, and induces tumor cell apoptosis in hepatocellular carcinoma model PLC/PRF/5 [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(24):11851-11858.
- [2] Furuse J. Sorafenib for the treatment of unresectable hepatocellular carcinoma [J]. *Biologics*, 2008, 12 (4): 779-788.
- [3] Wang XQ, Fan JM, Liu YO et al. Bioavailability and pharmacokinetics of sorafenib suspension, nanoparticles and nanomatrix for oral administration to rat [J]. *Int J Pharm*, 2011, 419(1-2): 339-346.
- [4] Kim MS. Soluplus-coated colloidal silica nanomatrix system for enhanced supersaturation and oral absorption of poorly water-soluble drugs [J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2013, 41 (6): 363-367.
- [5] Wang L, Cui FD, Sunada H. Preparation and evaluation of solid dispersions of nitrendipine prepared with fine silica parti-

cles using the melt-mixing method [J]. *Chem Pharm Bull*, 2006, 54(1): 37-43.

- [6] Charnay C, Bégu S, Tourné-Péteilh C, et al. Inclusion of ibuprofen in mesoporous templated silica: drug loading and release property [J]. *Eur J Pharm Biopharm*. 2004, 57 (3): 533-540.
- [7] Gupta P, Chawla G, Bansal AK. Physical stability and solubility advantage from amorphous celecoxib: the role of thermodynamic quantities and molecular mobility [J]. *Mol Pharm*, 2004, 1 (6): 406-413.
- [8] Salonen J, Laitinen L, Kaukonen AM, et al. Mesoporous silicon microparticles for oral drug delivery: loading and release of five model drugs [J]. *J Control Release*, 2005, 108 (2-3): 362-374.
- [9] Blanchet B, Billemont B, Cramard J, et al. Validation of an HPLC-UV method for sorafenib determination in human plasma and application to cancer patients in routine clinical practice [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2009, 49 (4): 1109-1114.
- [10] Wang XQ, Dai JD, Zhang H, et al. Absorption mechanism of cyclosporine A loaded pH-sensitive nanoparticles in rats [J]. *J Nanosci Nanotechnol*, 2008, 8(5): 2422-2431.
- [11] Miller DA, Di Nunzio JC, Yang W, et al. Targeted intestinal delivery of supersaturated itraconazole for improved oral absorption [J]. *Pharm Res*, 2008, 25(6), 1450-1459.
- [12] Janssens S, De Zeure A, Paudel A, et al. Influence of preparation methods on solid state supersaturation of amorphous solid dispersions: a case study with itraconazole and Eudragit E100 [J]. *Pharm Res*, 2010, 27(5), 775-785.

[收稿日期] 2015-09-09 [修回日期] 2016-01-14

[本文编辑] 李睿旻