

十一酸睾酮原位凝胶植入剂避孕效果及对雄性大鼠生殖系统的影响*

张晓伟^{1,2,3}, 金瑛^{2,3}, 易东旭^{2,3}, 杨立群^{2,3}, 张翀^{2,3}, 刘丹华^{2,3}, 孟胜男¹

(1. 中国医科大学药学院药剂教研室, 沈阳 110122; 2. 辽宁省计划生育科学研究所, 沈阳 110031; 3. 国家卫生健康委生殖健康与遗传医学重点实验室, 沈阳 110031)

摘要 目的 制备十一酸睾酮原位凝胶植入剂(TU-ISFI), 考察其在大鼠体内避孕效果及对雄性大鼠生殖系统的影响。方法 以聚己内酯丙交酯为凝胶骨架材料, *N*-甲基吡咯烷酮为有机溶剂, 制备 TU-ISFI。以市售十一酸睾酮注射液为阳性对照, 大鼠皮下注射植入 TU-ISFI, 考察大鼠血药浓度、精子计数、精子活动力、生殖能力和睾丸、附睾等生殖器官变化。结果 体内外药物释放结果表明, TU-ISFI 3 个月内能够稳定释放, 大鼠体内血药浓度平稳, 无明显波谷现象。皮下植入 1 个月后, TU-ISFI 各剂量组大鼠附睾精子计数和精子活动力均明显下降。给药 3 个月后, TU-ISFI 大、中剂量组(600, 300 mg)生殖配对, 大鼠完全丧失生殖能力, TU-ISFI 小剂量组(150 mg)部分大鼠保留繁殖能力, 子代个数明显低于对照组。结论 TU-ISFI 具有平稳药物缓释能力, 对雄性大鼠避孕效果优良, 是一种具有广阔应用前景的激素补充制剂和男性避孕制剂。

关键词 十一酸睾酮; 原位凝胶植入剂; 避孕; 精子发生; 药物缓释

中图分类号 R979.2; R965

文献标识码 A

文章编号 1004-0781(2020)11-1496-06

DOI 10.3870/j.issn.1004-0781.2020.11.008

开放科学(资源服务)标识码(OSID)



Hormonal Contraceptive Effect of Testosterone Undecanoate Loaded In Situ Forming Implants in Reproductive System of Adult Male Rats

ZHANG Xiaowei^{1,2,3}, JIN Ying^{2,3}, YI Dongxu^{2,3}, YANG Liqun^{2,3}, ZHANG Chong^{2,3}, LIU Danhua^{2,3}, MENG Shengnan¹ (1. Department of Pharmaceutics, School of Pharmacy, China Medical University, Shenyang 110122, China; 2. Liaoning Research Institute of Family Planning, Shenyang 110031, China; 3. Key Laboratory of Reproductive Health and Medical Genetics, National Health Commission, Shenyang 110031, China)

ABSTRACT Objective To prepare testosterone undecanoate-loaded injectable in situ forming implants (TU-ISFI), and to investigate the influence on reproductive system and contraceptive effect in adult male rats. **Methods** The TU-loaded ISFI was prepared with adult male SD rats were treated with vehicle, TU-ISFI or TU injection. Fertility test, serum testosterone concentration, epididymal sperm count, motility, morphology and histology of testis were detected. **Results** The *in vitro* drug release test showed TU-loaded ISFI increased serum testosterone levels in rats steadily without fluctuations in three months. One month after administration, epididymal sperm count, sperm motility and percent of normal spermatozoa were all decreased significantly in all experimental groups. After three months, the animals treated with 600 and 300 mg TU-ISFI were 100% infertility, and no implantation sites were produced in the mated females. However, part of males in 150 mg TU-ISFI group and TU injection group still hold fertility but implantation were also significantly lower than control value. **Conclusion** The present findings suggest that TU-ISFI at an appropriate dose has potential as a long-acting male contraceptive drug or hormone replacement supplement drug.

KEY WORDS Testosterone undecanoate; In situ forming implants; Contraception; Spermatogenesis; Drug release

男性激素避孕是一种非常有力度的避孕手段, 目

前已经有大量临床试验证明了其安全性和有效性^[1-2]。但是药物制剂释放速度不平稳导致体内激素水平急剧变化带来的不良反应, 如情绪变化、痤疮、性功能障碍等, 降低了人们对这种避孕方法的接受度, 也成为男性激素避孕手段继续发展的瓶颈^[3]。因此, 对该类激素相关药物的剂型加以改善, 降低激素相关不良反应发生率, 不仅有助于男性激素避孕手段的继续发展, 也有助于改进激素补充疗法等相关药物平台。植入剂是避孕领域最常见的药物缓释剂型, 但传统植入剂制备工艺复杂, 成本高昂, 需要在局部麻醉下进行外科切口后埋植。如果植入剂为生物不可降解型物质, 还需额外

收稿日期 2020-04-28 修回日期 2020-08-20

基金项目 * “十三五”国家重点研发计划(2016YFC1000902); 辽宁省自然科学基金资助项目(20180551281)。

作者简介 张晓伟(1986-), 女, 内蒙古赤峰人, 副研究员, 博士, 主要从事新型缓释给药系统的开发工作。ORCID: 0000-0002-9372-7107, 电话: 024-86800665, E-mail: sally00125@163.com。

通信作者 孟胜男(1966-), 女, 辽宁沈阳人, 教授, 博士, 主要从事药物吸收和代谢特征的评价、药动学、药物新剂型研究。电话: 024-31939448, E-mail: shnmeng@hotmail.com。

手术进行清除,使用极为不便,患者顺应性差^[4-5]。

溶剂沉淀型原位凝胶植入剂(solvent-removal precipitation based in situ forming implant, SRP-ISFI)是将高分子聚合物与药物一同溶解或溶胀于可与水互溶的适宜有机溶剂中所得可注射制剂^[6]。局部注射后,SRP-ISFI 中有机溶剂与生理环境中的水相互交换,聚合物沉淀凝固形成半固体或固体药物缓释贮库。目前,SRP-ISFI 已经有多种制剂被美国食品药品监督管理局(FDA)批准上市,包括 Atridox[®]、Eligard[®]等^[7-9]。SRP-ISFI 克服了传统植入剂缺点,具有可用于病变部位局部给药、延长释药周期、降低给药剂量和药物不良反应、避免植入剂手术植入的痛苦、患者顺应性好、制备工艺相对简单等优点。

笔者之前采用聚己内酯丙交酯制备十一酸睾酮原位凝胶植入剂(testosterone undecanoate-loaded injectable in situ forming implants, TU-ISFI),并对该制剂工艺和药物体外释放机制等进行初步考察, TU-ISFI 可以在体外稳定释放药物长达 3 个月^[10]。笔者在本实验观察该药在大鼠体内避孕效果及可逆性,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 十一酸睾酮(testosterone undecanoate, TU, 纯度:98%,购自武汉远成药业有限责任公司);TU 注射液(浙江仙居制药股份有限公司生产,批号:180601);TU-ISFI(本实验室自行制备^[10])。聚己内酯丙交酯[poly(DL-lactide-ε-caprolactone), PLCA, 购自山东岱刚生物技术有限公司,批号:20171110]。其他试剂均为分析纯。

8 周龄 Sprague-Dawley 大鼠,雄性体质量 200~220 g,雌性体质量 180~200 g,由辽宁长生生物技术有限公司提供,实验动物生产许可证号:SCXK(辽)2010-0001。本实验涉及的动物实验研究内容,严格按照中国医科大学实验伦理学相关政策文件规定要求执行。

1.2 TU-ISFI 的制备 按 20% 浓度比例称取适量 PLCA 溶于 *N*-甲基吡咯烷酮(*N*-methylpyrrolidone, NMP), 37℃ 搅拌保存过夜,直至得到透明澄清 PLCA 溶液。将该溶液在 65℃ 加热,除去其中所溶解气体。分批称取适量过筛孔内径 0.148 mm 筛(100 目)TU 药粉,分散在 PLCA/NMP 溶液,搅拌至完全溶解,使最终所得 TU-ISFI 载药量 16%。

1.3 大鼠血药浓度测定 将雄性大鼠按体质量随机分为给药组和空白对照组,每组 40 只,给药组给予 TU-ISFI,空白对照组给予不含药物的同基质同处方原

位凝胶注射植入剂。将大鼠麻醉,以 20-21 号针头背部皮下注射。注射前后称重,精密确定给药剂量。分别于给药后适当时间点随机取大鼠 5 只,尾静脉取血约 0.7 mL。取血后处死大鼠,取出剩余埋植剂,去除包裹组织,蒸馏水洗涤,冻干,甲醇复溶,浸泡,超声处理 2 h,过滤,高效液相色谱(HPLC)法测定埋植剂中残余 TU 量(LA-30A, Shimadzu, 日本)。血样经 3500 r·min⁻¹离心 10 min(*r* = 10 cm)得血浆, -20℃ 冷冻保存。电子发光法测定其中睾酮含量(cobas e 411, Roche, 德国)。

1.4 药效学动物分组 将雄性大鼠随机分为 TU-ISFI 大、中、小剂量组和十一酸睾酮注射液组(阳性对照组)、空白对照组,每组 30 只。TU-ISFI 大、中、小剂量组分别注射 TU-ISFI 600, 300, 150 mg(相当于 TU 3.0, 1.5 和 0.75 mg·kg⁻¹·d⁻¹),空白对照组给予空白原位凝胶植入剂 0.3 g,阳性对照组按 1.5 mg·kg⁻¹·d⁻¹ 剂量按月给药,共注射 3 次。给药后 1, 3, 4 个月(因 TU-ISFI 可持续释放 3 个月,给药后 4 个月相当于停药 1 个月),每组取 10 只进行生育力实验。

1.5 生育力实验 交配生育实验:取各组雄性大鼠与 12 周龄雌性大鼠,按 ♂ : ♀ = 1 : 2 合笼。合笼后每天 10:00 之前检测雌性大鼠阴道涂片,阴道涂片内出现精子或阴栓时,算一次交配行为。记录交配情况,将交配过的雌性大鼠编号取出,18 d 后处死,记录子宫内存活胎仔及死胎数。检测交配行为共进行 6 d, 6 d 后未发现交配行为的雌鼠,也在 18 d 后处死,观察怀孕情况。实验结束计算怀孕率、平均胎仔数、死胎率。

1.5.1 生殖系统发育 雄性大鼠配对结束后称重,脱臼处死,解剖,记录睾丸、附睾和精囊质量,计算生殖器相对质量。生殖器相对质量 = 器官质量/体质量×100。

1.5.2 睾丸组织细胞形态学 取新鲜分离的大鼠睾丸组织, Bouin's 固定液固定至少 24 h。常规上行梯度乙醇脱水、石蜡包埋,切取厚度 5 μm 组织切片。常规苏木精-伊红(HE)染色,观察睾丸内细胞形态和精子发生状况。

1.5.3 精子计数和精子活动力测定 另取两侧附睾尾组织各约 100 mg,剪碎置 15 mL 任氏液, 37℃ 孵育 10 min,使精子在培养液内分散均匀。取一滴精子悬液滴在血细胞计数板上,按照血细胞计数法测定精子密度,并分别计算活动精子数和不活动精子数,换算成精子活动力百分比和每个附睾中精子总数。

1.5.4 精子形态 取上述精子悬液 30 μL 滴在载玻片上,盖玻片与载玻片呈 45 度角迅速推膜,制成精液涂片,水平放置 10 min,晾干。晾干后浸入 95% 乙醇与甲

醇混合液中固定 2~3 min,取出后再次晾干。常规 HE 染色,磷酸盐缓冲液冲洗调色,高倍显微镜下观察精子形态。

1.6 统计学方法 采用 SPSS 19.0 版软件对实验数据进行统计分析,计数资料采用卡方检验,计量资料采用单因素方差分析法和 *t* 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠体内释放情况 TU-ISFI 在血浆中的睾酮浓度-时间曲线见图 1。植入后,给药组血浆睾酮浓度迅速超过空白对照组,7 d 后给药组血浆睾酮水平开始急剧上升,28 d 达到最大值,然后开始缓慢下降,90 d 血浆睾酮浓度与空白对照组持平。实验结果提示 TU-ISFI 可在 3 个月内持续维持大鼠体内较高血浆睾酮浓度,3 个月后大鼠体内睾酮水平回落至正常。植入剂残余药量测定结果表明,TU-ISFI 在大鼠体内药物突释量较小,第 7 天共释放约 14.7% 药物,第 28 天共释放约 47.3%,第 63 天累积释放量达到 89.9%,第 90 天时基本全部释放。

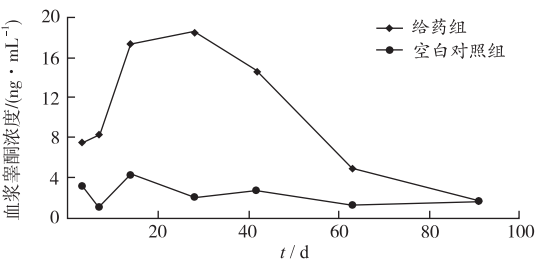


图 1 两组大鼠血浆睾酮浓度变化

Fig.1 Changes of serum testosterone levels in two groups of rats

2.2 交配生育实验结果 结果见表 1。给药 1 个月后,TU-ISFI 大、中、小剂量组和阳性对照组怀孕率和平均胎仔数均较空白对照组高,此时外源性睾酮已经开始抑制新的精子产生,但由于大鼠精子整个发生时程为 48 d,睾酮主要在精子产生初期发生作用,因此 1 个月时还不能达到避孕效果。大鼠精子发生周期时程为 12 d,整个精子发生时程为 48 d,给药 1 个月,因为睾丸内睾酮水平下降,导致减数分裂期和精子形成期生精细胞大量丢失,但对已经成熟或者接近成熟的精子不起抑制作用,因此不能达到完全避孕效果。给药 3 个月,TU-ISFI 大、中剂量组可达到 100% 成功避孕; TU-ISFI 小剂量组避孕成功率 75%,怀孕胎仔数明显下降;阳性对照组避孕成功率 90%,10 只雄鼠中有 1 只雄鼠的两只配对雌鼠怀孕,未达到 100% 避孕效果。

停药 1 个月后,TU-ISFI 大、中、小剂量组繁殖能力开始恢复,阳性对照组繁殖能力仍受到抑制。

表 1 大鼠交配生育实验的结果

Tab.1 Results of mating experiment in rats <i>n</i> = 20			
组别与时间	怀孕率/ %	平均胎仔 数/个	死胎率/ %
空白对照组			
1 个月	75.0	13.38	7.47
3 个月	80.0	13.00	5.13
4 个月	85.0	12.78	3.91
阳性对照组			
1 个月	95.0	13.95	4.53
3 个月	10.0	10.00	5.00
4 个月	0.0	0.00	0.00
TU-ISFI 大剂量组			
1 个月	75.0	16.09	1.30
3 个月	0.0	0.00	0.00
4 个月	25.0	11.40	5.26
TU-ISFI 中剂量组			
1 个月	90.0	14.8	4.05
3 个月	0.0	0.00	0.00
4 个月	40.0	15.63	8.80
TU-ISFI 小剂量组			
1 个月	90.0	14.73	4.32
3 个月	25.0	7.57	5.66
4 个月	55.0	13.36	6.12

2.3 生殖系统发育分析 结果见图 2。给药后 1 个月,与空白对照组比较,TU-ISFI 大、中、小剂量组生殖器整体相对质量增加,睾丸质量减轻,精囊增大,附睾无明显变化;阳性对照组生殖系统整体质量下降,睾丸、附睾均缩小,精囊稍增大。给药后 3 个月,与空白对照组比较,其他各组生殖系统整体质量较低,主要由于睾丸和附睾萎缩,其中 TU-ISFI 大、中、小剂量组睾丸质量约为空白对照组的 50%,阳性对照组睾丸质量为空白对照组的三分之一。停药后 1 个月,TU-ISFI 大、中、小剂量组睾丸和附睾大小恢复较快,阳性对照组生殖系统恢复较慢。

2.4 睾丸组织细胞形态学检测 结果见图 3。给药后 1 个月,TU-ISFI 各剂量组睾丸曲细精管内各级精母细胞、精子细胞、精子及间质细胞均清晰可辨,未见明显形态学变化;阳性对照组部分曲细精管内生殖细胞蜕变,坏死脱落。给药后 3 个月,TU-ISFI 大剂量组和阳性对照组大部分曲细精管内生殖细胞明显减少,排列疏松,层次变薄,腔缘不整齐;精子、精子细胞及精母细胞部分蜕变,脱落;部分区域管腔皱缩,细胞稀少,腔内空虚,近基底膜仅见少许散在精原细胞、精母细胞或支

持细胞,部分仅衬覆几个精原细胞,管腔内明显可见多个多核巨细胞。TU-ISFI 中、小剂量组可见局部曲细精管内生殖细胞减少,排列疏松,层次变薄,细胞稀少,部分腔内空虚,近基底膜仅见少许散在的精原细胞,支持细胞或蜕化中的精母细胞亦见多核巨细胞。与 TU-ISFI 大剂量组比较,TU-ISFI 中、小剂量组形态学变化及范围具有明显剂量依赖性。

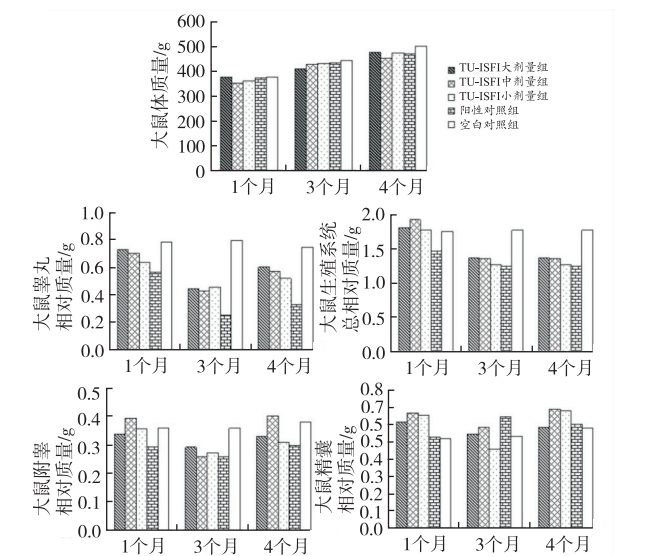


图2 TU-ISFI对大鼠体质量和生殖系统发育的影响

Fig.2 Effect of TU-ISFI on body mass and reproductive system of rats

停药后1个月,阳性对照组大部分曲细精管仍皱缩,生殖细胞明显较少,排列疏松,层次变薄,细胞稀少,腔内空虚,近基底膜仅见少许精原细胞、精母细胞及支持细胞,小部分曲细精管内生精细胞清晰可见,仍见精子发生。TU-ISFI大、中、小剂量组可见部分区域曲细精管内生殖细胞减少,排列疏松,层次变薄。局部曲细精管内生殖细胞蜕变,坏死,脱落,腔内空虚,但大部分曲细精管内各级精母细胞、精子细胞及正常精子均清晰可辨,间质未见明显形态学变化,其形态学变化及范围具有明显剂量依赖性。

2.5 精子计数和精子活动力 结果见表2。给药后1个月,与空白对照组比较,其他各组精子数量明显下降,下降程度依次为:阳性对照组>TU-ISFI大剂量组>TU-ISFI中剂量组>TU-ISFI小剂量组,可能由于外源性睾酮作用,TU-ISFI大、中、小剂量组精子活力与空白对照组相比显著提高。给药3个月后,除空白对照组外,其他各组精子数均极少,TU-ISFI大、中剂量组精子活动力为0,TU-ISFI小剂量组和阳性对照组精子活动

能力底下。停药1个月后,TU-ISFI大、中、小剂量组精子数有所恢复,精子活动率回升至20%以上,阳性对照组仍处于被抑制状态。

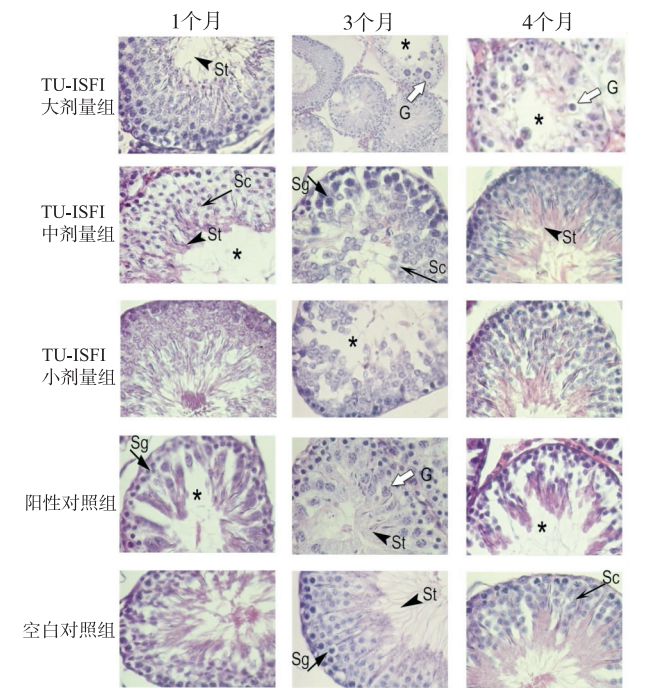


图3 5组睾丸组织形态学变化(St.睾丸精子细胞;Sc.精母细胞;Sg.精原细胞;G.多核巨细胞;* .曲细精管腔空;×400)

Fig.3 Histological changes of testicular sections in five groups [St. spermatids; Sc. spermatocytes; Sg. spermatogenous cells; G. Multinucleated giant cell; * . empty space (crack) between spermatogenic cells;×400]

2.6 精子形态 给药1个月时,TU-ISFI中、小剂量组精子形态未见明显异常;TU-ISFI大剂量组可见个别异常形态精子,主要表现为尾部折叠、头部无钩等;阳性对照组可见大量异常形态精子,主要表现为无定形、胖头等。给药3个月,阳性对照组出现大量精母细胞,精子细胞及精子蜕变、坏死,大量精子出现无头、断尾等畸形表现;TU-ISFI大、中、小剂量组出现大量精母细胞、精子细胞及精子蜕变、坏死,精子形态学变化均与阳性对照组相近,程度略低。

停药1个月后,TU-ISFI大、中、小剂量组仍可见单个精母细胞及精子细胞蜕变、坏死,精子形态大部分完好,畸形率较低,形态学变化与给药1个月时相近;阳性对照组可见部分蜕变坏死精母细胞、精子细胞及精子,部分精子畸形,主要是无钩、胖头、断尾等。

3 讨论

我国曾开展过TU注射液用于男性激素避孕的临

表 2 5 组不同时间附睾精子数和精子活动率

Tab.2 Epididymal sperm count and motility in five groups at different time points

n = 10

组别与时间	附睾精子数/ (个·g ⁻¹)	精子活动力/ %
空白对照组		
1 个月	1975.8	37.67
3 个月	1880.3	29.42
4 个月	2014.6	40.76
阳性对照组		
1 个月	694.4	34.24
3 个月	39.4	1.67
4 个月	135.8	2.72
TU-ISFI 大剂量组		
1 个月	991.6	52.39
3 个月	110.7	0.00
4 个月	643.8	21.19
TU-ISFI 中剂量组		
1 个月	1206.5	45.63
3 个月	97.5	0.00
4 个月	731.2	21.91
TU-ISFI 小剂量组		
1 个月	1520.1	49.03
3 个月	355.8	8.03
4 个月	1301.4	25.27

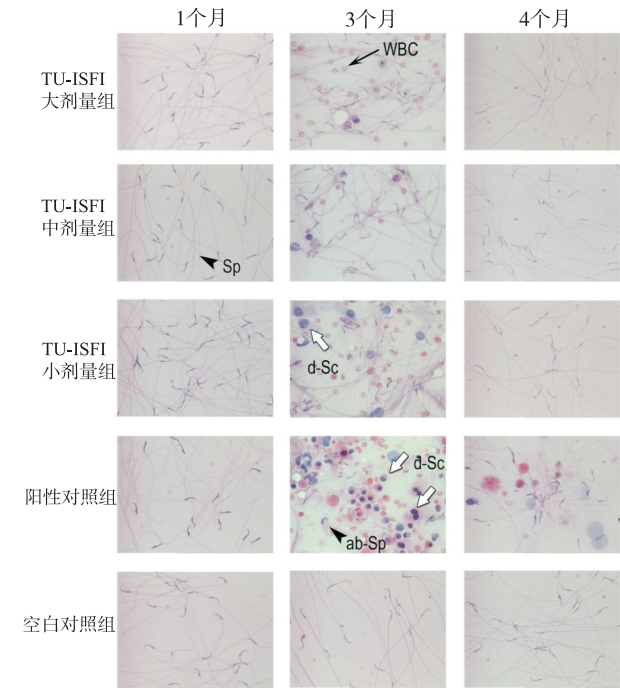


图 4 5 组精子形态变化 (Sp.精子; WBC.白细胞; ab-SP.畸形精子; d-Sc.退变坏死的精母细胞; ×400)

Fig.4 Morphological changes of sperms of five groups (Sp. sperm; WBC. leukocyte; ab-SP. abnormal sperm; d-Sc. degenerating spermatocytes; ×400)

床多中心研究,该研究中,TU 在男性避孕方面的有效性得到肯定,但在不良反应发生率以及安全性方面存有质疑。此外,部分受试者希望能够有更长效的 TU 制剂^[11]。

本研究结果表明,给药 1 个月后,TU-ISFI 各剂量组精子数有所下降,但精子活动力上升,因此母鼠妊娠率较空白对照组高。大鼠精子发生周期时程为 12 d,整个精子发生时程为 48 d,给药 1 个月时,因为睾丸内睾酮水平下降,导致减数分裂期和精子形成期生精细胞大量丢失,但对已经成熟或者接近成熟的部分精子起不到抑制作用,因此不能达到完全避孕效果。给药 3 个月后,各剂量组均达到抑制精子发生效果,在避孕效果上,TU-ISFI 大、中剂量组优于阳性对照组,避孕率达到 100%。实验发现,给予大鼠小剂量 TU 并不能对睾丸本身合成和分泌睾酮的功能实现完全干扰,仍有极少部分有活力精子产生,导致避孕失败。从停药 1 个月后恢复情况看,由于后期 TU-ISFI 释放药物量逐渐降低,避免了阳性对照组每个月一次给药带来的波谷现象,有利于停药后精子数目和精子活力恢复。

综上所述,TU-ISFI 以 300~600 mg 剂量(即 1.5~3.0 mg·kg⁻¹·d⁻¹剂量 TU)对大鼠给药后可达到优于阳性对照组的避孕效果,停药后大鼠生殖能力可迅速恢复。后续研究中,笔者还将考察其安全性和不良反应发生情况,对其剂量进一步筛选。从目前研究来看,TU-ISFI 具有平稳药物缓控释能力,对雄性大鼠避孕效果优良,作用更为温和并且可靠,是一种具有广阔应用前景的激素补充制剂和男性避孕制剂。

参考文献

[1] THIRUMALAI A,PAGE S T.Recent developments in male contraception[J].Drugs,2019,79(1): 11-20.

[2] LONG J E,LEE M S, BLITHE D L.Male contraceptive development: update on novel hormonal and nonhormonal methods[J].Clinical Chemistry,2019,65(1): 153-160.

[3] BEHRE H M,ZITZMANN M,ANDERSON R A, et al. Efficacy and safety of an injectable combination hormonal contraceptive for men[J].J Clin Endocrinol Metab, 2016, 101(12):4779-4788.

[4] DASH A K,CUDWORTH G C.Therapeutic applications of implantable drug delivery systems [J].J Pharmacol Tox Met,1998,40(1):1-12.

[5] LEVY R J,LABHASETWAR V, STRICKBERGER S A, et al. Controlled release implant dosage forms for cardiac arrhythmias: review and perspectives [J]. Drug Delivery, 1996,3(3):137-142.

[6] KEMPE S,MDER K.In situ forming implants- an attractive formulation principle for parenteral depot formulations[J].J

- Controlled Release, 2012, 161(2): 668-679.
- [7] JOHNSON L R, STOLLER N H. Rationale for the use of Atridox therapy for managing periodontal patients [J]. Compend Contin Educ Dent, 1999, 20(4 Suppl): 19.
- [8] ZEIDNER N S, MASSUNG R F, DOLAN M C, et al. A sustained-release formulation of doxycycline hyclate (Atridox) prevents simultaneous infection of *Anaplasma phagocytophilum* and *Borrelia burgdorferi* transmitted by tick bite [J]. J Med Microbiol, 2008, 57(4): 463-468.
- [9] BRAECKMAN J, MICHIELSEN D. Efficacy and tolerability of 1- and 3-month leuporelin acetate depot formulations (Eligard®/Depo-Eligard®) for advanced prostate cancer in daily practice: a Belgian prospective non-interventional study [J]. Archives Med Sci, 2014, 3: 477-483.
- [10] ZHANG X, ZHANG C, ZHANG W, et al. Feasibility of poly (ϵ -caprolactone-co-DL-lactide) as a biodegradable material for in situ forming implants: evaluation of drug release and in vivo degradation [J]. Drug Dev Ind Pharm, 2015, 41(2): 342.
- [11] 谷翔群, 王兴海, 徐铎, 等. 十一酸睾酮酯注射液避孕有效性的多中心 II 期临床研究 [J]. 生殖医学杂志, 2003, 12(2): 67-73.

拉曼光谱法鉴别分析 3 种甾体类避孕药晶型*

周健, 杨世颖, 张丽, 张宝喜, 吕扬

(中国医学科学院 & 北京协和医学院药物研究所晶型药物研究北京市重点实验室, 北京 100050)

摘要 目的 采用拉曼光谱法对 3 种甾体类避孕药米非司酮、炔雌醇、左炔诺孕酮多晶型进行鉴别表征, 并对其开展基于拉曼光谱信息的结构分析, 阐述 3 种药物多晶型与拉曼光谱变化之间的关系。方法 采用粉末 X 射线衍射法 (PXRD) 对 3 种药物多晶型样品进行晶型纯度确证, 确证晶型后采集样品拉曼光谱, 基于拉曼光谱信息进行鉴别分析。结果 3 种甾体类避孕药多晶型由于分子排列方式和对称规律不同, 拉曼光谱峰相对强度、峰数量、峰位置等特征信息不同。米非司酮晶 W 型为无定型, 较其他 2 种晶态物质峰相对强度更弱, 峰展宽更钝; 炔雌醇晶 B 型为水合物, 晶 A 型为无溶剂晶型, 2 种晶型拉曼光谱在 CH 振动高波数波段差异显著; 左炔诺孕酮晶 α 型与晶 β 型构象存在差异, 碳骨架振动强度发生改变, 2 种晶型拉曼光谱相对强度存在差异。结论 拉曼光谱可对 3 种甾体类避孕药多晶型实现较好鉴别分析, 该研究可为利用拉曼光谱技术研究该类药物多晶型问题提供科学依据。

关键词 甾体类避孕药; 拉曼光谱; 多晶型; 鉴别分析

中图分类号 R979.2; R927.1

文献标识码 A

文章编号 1004-0781(2020)11-1501-05

DOI 10.3870/j.issn.1004-0781.2020.11.009

开放科学(资源服务)标识码(OSID)



Identification of Polymorphs of Three Steroidal Contraceptives by Raman Spectroscopy

ZHOU Jian, YANG Shiyang, ZHANG Li, ZHANG Baoxi, LYU Yang (Beijing Key Laboratory of Polymorphic Drug, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

ABSTRACT Objective The polymorphs of mifepristone, ethinylestradiol and levonorgestrel were identified and characterized by Raman spectroscopy, and the structure analysis based on Raman spectrum information was carried out. The relationship between the polymorphs and the changes of Raman spectra was described. **Methods** The structures of the polymorphs of the three drugs were confirmed by PXRD, after the crystal forms were confirmed correctly, the Raman spectra of the samples were collected, and the identification analysis based on Raman spectrum information was carried out. **Results** The polymorphs of the three steroidal contraceptives have different characteristic information such as the relative intensity, the number and the position of the peaks due to the different arrangement and symmetry of the molecules. The form W of mifepristone is amorphous, and the relative intensity of the peak is weaker and the peak broadening is more blunt than the other two crystalline substances; The form B of ethinylestradiol is hydrate, and the form A is solvent-free. Therefore, the Raman spectra of the two forms are significantly different in the high wavenumber band of CH vibration; the vibration intensity of the carbon skeleton of levonorgestrel form α and form β is changed due to the difference of conformation, so the relative intensity of Raman spectra of the two forms is different. **Conclusion** Raman spectroscopy can be used to identify the polymorphs of three kinds of steroidal contraceptives, which provides a scientific basis for the study of polymorphs of these kinds of drug.

KEY WORDS Steroidal contraceptives; Raman spectroscopy; Polymorphism; Identification