

## 研究论文

## 醋酸戈舍瑞林缓释微球的制备及体外释药研究

崔升淼 (广东药学院, 广州 510006)

**摘要:** 目的 制备醋酸戈舍瑞林缓释微球, 考察其一般性质和体外释药特性。方法 采用复乳-液中干燥法制备醋酸戈舍瑞林微球, 测定微球的外观形态、粒度分布和体外释药曲线。结果 微球形态规则, 粒径约为 85.6 μm, 微球体外释药规律符合 Higuchi 方程:  $Q = 16.202 t^{1/2} + 1.5503$ ,  $r = 0.9910$ 。结论 制备的醋酸戈舍瑞林微球具有长时间的缓释作用。

**关键词:** 醋酸戈舍瑞林; 缓释微球; 体外释药

中图分类号: R944.9

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981 (2009) 11-0801-03

## Preparation and in vitro release of goserelin acetate sustained-release microspheres

CUI Sheng-miao (Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006)

**Abstract:** **Objective** To prepare goserelin acetate sustained-release microspheres and investigate their general and in vitro properties. **Methods** Goserelin acetate microspheres were prepared by double emulsion-drying in liquid. The morphology, particle size distribution and in vitro release curve were measured. **Results** The shape of microspheres was normal, and diameters of all particles were about 85.6 μm. The in vitro release profile was figured by Higuchi equation:  $Q = 16.202 t^{1/2} + 1.5503$ ,  $r = 0.9910$ . **Conclusion** The prepared goserelin acetate microspheres have long-time sustained-release effect.

**Key words:** goserelin acetate; sustained-release microspheres; in vitro release

醋酸戈舍瑞林是促性腺激素释放激素 (luteinising hormone-releasing hormone, LHRH), 即 gonadotropin-releasing hormone, GnRH) 人工合成 10 肽<sup>[1]</sup>。长期使用醋酸戈舍瑞林可抑制脑垂体促黄体生成素的合成, 从而引起男性血清睾酮和女性血清雌二醇的下降, 停药后这一作用可逆, 初期用药时醋酸戈舍瑞林同其他 GnRH 激动药一样, 可暂时增加男性血清睾酮和女性血清雌二醇的浓度<sup>[2-4]</sup>。戈舍瑞林在结构上是 GnRH 的结构类似物, 但与 GnRH 相比, 其稳定性好、与 GnRH 受体亲和力强、半衰期长, 其效价约是 GnRH 的 100 倍。醋酸戈舍瑞林缓释植入剂 (含戈舍瑞林 3.6 mg) 是阿斯利康公司于 1987 年研究上市的, 每 28 日 1 次, 腹前壁皮下注射, 进口价格昂贵, 且我国尚无同类产品问世。

聚乳酸-羟基乙酸共聚物 (PLGA) 是临床常用的一种载体材料, 以其良好的组织相容性和可生物降解而被广泛应用<sup>[5-7]</sup>。本文以 PLGA 为载体, 制备缓释一个月的醋酸戈舍瑞林缓释微球, 并对其体外释放特性进行了考察。

### 1 仪器与试剂

#### 1.1 仪器

Waters 高效液相色谱仪 (Waters 515 泵, 2487 双波长紫外检测器, Rheodyne 7725i 进样阀) (美国 Waters 公司); XHF-1 型高速分散器 (上海金达生化仪器厂); 400F 型热场发射扫描电镜 (德国 Zeiss 公司); LS-13320 粒度分析仪 (Beckman Coulter)。

#### 1.2 试剂

醋酸戈舍瑞林 (广州华拓生物科技有限公司, 批号: 051014); 聚乳酸-羟基乙酸共聚物 (PLGA, 平均分子量 1.5 万) (山东济南岱罡生物科技有限公司); 乙腈 (色谱纯, 山东禹城化工厂); 其余试剂均为分析纯。

### 2 方法与结果

#### 2.1 微球的制备

采用复乳-液中干燥法<sup>[8]</sup>制备醋酸戈舍瑞林微球, 工艺为: 将聚乳酸-羟基乙酸共聚物溶于二氯甲烷中形成油相 (o), 醋酸戈舍瑞林溶于蒸馏水中形成水相 (w) (1%, w/v)。将油相加入水相中涡旋混合成初乳 (w/o), 高速搅拌下将初乳注入 PVA 水溶液中成复乳 (w/o/w), 继续搅拌除

基金项目: 广东省医学科研基金项目 (编号 B2008084)。

作者简介: 崔升淼, 女, 博士, 副教授, 主要从事新型给药系统的研究, Tel: (020) 39352169, E-mail: cuihengmiao@yahoo.com

去二氯甲烷, 5 μm 微孔滤膜过滤收集微球。加 0.8% 吐温 80 溶液 2 mL, 离心水洗, 反复 3 次, 弃去上层漂浮物, 5 μm 微孔滤膜过滤, 蒸馏水淋洗 3 次, 置真空干燥器干燥过夜, 过 120 目筛即得。

### 2.2 SEM 表征分析

扫描电子显微镜 (SEM) 观察已制备醋酸戈舍瑞林微球的表现形态特征, 如图 1 所示, 微球外观规整, 呈圆形, 分布均匀。

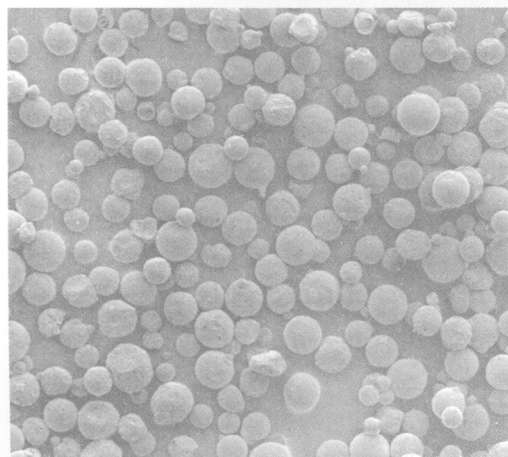


图 1 醋酸戈舍瑞林微球扫描电镜照片  
Fig 1 Scanning electron micrograph of goserelin acetate microspheres

### 2.3 粒径分布

结果如图 2 所示, 载药微球体积平均粒径为 85.6 μm, 基本呈正态分布。

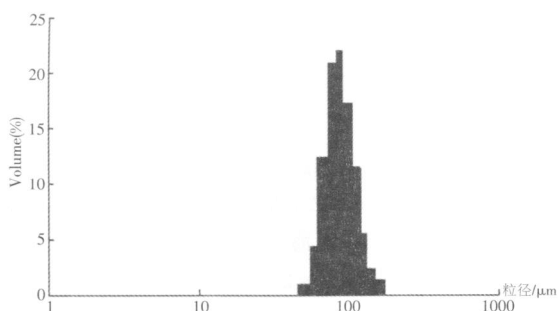


图 2 醋酸戈舍瑞林微球粒径分布  
Fig 2 Particle size distribution of goserelin acetate microspheres

### 2.4 微球的体外释放

**2.4.1 色谱条件<sup>[9]</sup>** 色谱柱: Diamonsil C<sub>18</sub> 柱 (150 mm × 4.6 mm, 5 μm) (DIKMA); 流动相: 水-乙腈 (78:22, 含 1% 三氟乙酸, v/v); 检测波长: 214 nm; 柱温: 室温; 流速: 1.2 mL · min<sup>-1</sup>; 进样量: 20 μL。

**2.4.2 药物含量测定** 精密称取载药微球约 7 mg 溶于 1 mL 二氯甲烷中, 分次加入 2 mL 重蒸馏水提取药物, 涡旋萃取 1 min, 离心 3 min, 吸取合并上清液, 移取上清液 0.5 mL 以蒸馏水定容至 10 mL, 进样 20 μL, 按“2.4.1”项下方法测定。

**2.4.3 微球体外释放** 参考文献<sup>[10]</sup>测定: 精密称取若干份醋酸戈舍瑞林微球, 每份 7 mg, 置于 10 mL 具塞刻度试管中, 加入含 0.06% 吐温-80 的 pH 7.4 的等渗磷酸盐缓冲液

释放介质, 振荡分散, 密封, 置于 37 °C 恒温水浴中, 定时取出 3 份, 测定微球内残余药量, 并计算不同时间点醋酸戈舍瑞林的累积释药百分率 (%), 绘制释药时间曲线。体外释放曲线见图 3。在选择的释放条件下, 至 30 d 时, 释放量达到 85.6%。

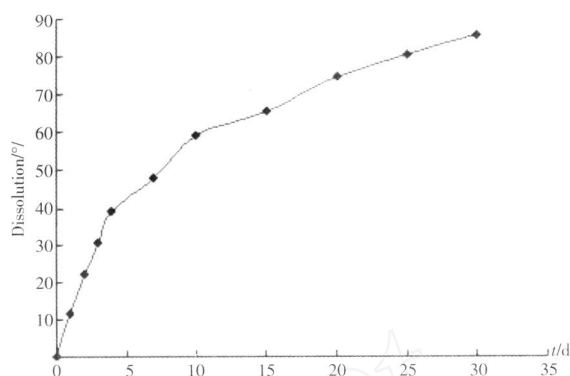


图 3 醋酸戈舍瑞林微球的体外释药曲线  
Fig 3 Dissolution curve of goserelin acetate sustained-release microspheres

### 3 讨论

微球中药物的释放主要取决于药物在微球内所处的部位和微球载体的性质, 药物既有完全包封在微球中的, 也有被微球表面吸附的, 还有分布于微球浅表层和空隙内的, 不同部位的药物释放速率不同。故可推测药物体外释放试验中表现出的初期药物突释是由于吸附在微球表面和分布在微球浅表层和空隙内的药物的释放形成的, 其限速步骤主要是由于药物随着载体材料的降解释放出来的。以累积释放率和时间进行拟合, 微球的体外释药规律符合 Higuchi 方程:  $Q = 16.202 t^{1/2} + 1.5503$ ,  $r = 0.9910$ 。醋酸戈舍瑞林的体外释药曲线也显示 PLGA 微球体外能够持续释药, 具有明显的缓释作用。

目前, 制备微球的常用方法包括复乳-液中干燥法、相分离法、喷雾干燥法等。以蛋白质、多肽等为微球的载体药物时, 复乳-液中干燥法是目前最为常用的制备方法之一, 此法在制备工艺过程中对蛋白质、多肽起到较好的保护作用等<sup>[10-12]</sup>。本试验所选择的成球材料为最常用的可生物降解聚合物 PLGA。因 PLGA 降解产物乳酸和羟基乙酸均具有酸性, 为避免 PLGA 因降解产酸引起的多肽类和蛋白类药物失活, 本试验选用了复乳-液中干燥法制备醋酸戈舍瑞林微球。从本试验结果来看, 所制备的醋酸戈舍瑞林微球外观形态较好, 粒度分布较窄, 大小比较均匀, 体外释药结果较理想。

### 参考文献

[1] Kaisary AV, Tyrrell CJ, Peel IN, et al. Comparison of LHRH analogue (Zoladex) with orchietomy in patients with meta 2 static carcinoma [J]. Br J Urol, 1991, 67 (5): 502-508.  
[2] Cheer SM, Plosker GL, Simpson D, et al. Goserelin: a review of its use in the treatment of early breast cancer in premenopausal and perimenopausal women [J]. Drugs, 2005, 65 (18): 2639-2655.

- [3] Cockshott ID. Clinical pharmacokinetics of goserelin [J]. Clin Pharmacokinet, 2000, 39 (1): 27-48.
- [4] Perry CM, Brogden RN, Goserelin. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic use in benign gynaecological disorders [J]. Drugs, 1996, 51 (2): 319-346.
- [5] Aubert-Pouessel A, Venier-Julienne MC, Clavreul A, et al. In vitro study of GDNF release from biodegradable PLGA microspheres [J]. J Control Release, 2004, 95 (3): 463-475.
- [6] 魏刚, 陆丽芳, 陆伟跃. 重组人生长激素缓释微球. 制备与体外释放研究 [J]. 中国医药工业杂志, 2006, 37 (10): 669-673.
- [7] 李艳妍, 李立新, 孙智辉. 含紫杉醇 PLGA 缓释微球的研制及理化性质 [J]. 中国生物制品学杂志, 2007, 20 (5): 365-368.
- [8] Giteau A, Venier-Julienne MC, Aubert-Pouessel A, et al. How to achieve sustained and complete protein release from PLGA-based microparticles [J]. Int J Pharm, 2008, 350 (1-2): 14-26.
- [9] Hoitink MA, Beijnen JH, Boschma MU, et al. Degradation kinetics of three gonadorelin analogues: developing a method for calculating epimerization parameters [J]. Pharm Res, 1998, 15 (9): 1449-1455.
- [10] 冯岚, 郭建新, 平其能, 等. 亮丙瑞林缓释微球的研究 [J]. 中国新药与临床杂志, 2004, 10 (23): 680-683.
- [11] 刘世芸, 徐超, 冯乙巳. 白蛋白聚乳酸缓释微球的制备及体外释放研究 [J]. 合肥工业大学学报, 2006, 29 (12): 1584-1587.
- [12] 瞿文, 陈庆华, 赵瑞钦, 等. 丙氨瑞林生物可降解缓释微球注射剂的研究 [J]. 中国医药工业杂志, 2000, 31, (1): 14-18.

(收稿日期: 2009-07-29; 修回日期: 2009-08-13)

## 乌药等 4 种中药饮片基因组 DNA 提取方法的改进

郭纯, 鲁耀邦\*, 聂媛媛, 唐金凤 (湖南中医药大学药学院, 长沙 410208)

**摘要:** 目的 从乌药、云木香、枳壳、槟榔中药饮片中提取可用于 RAPD 扩增的高质量基因组 DNA。方法 采用改良 CTAB 法粗提基因组 DNA, 部分基因组 DNA 再进一步用试剂盒纯化, 采用琼脂糖凝胶电泳、紫外分光光度法及 RAPD 扩增效果进行检测并比较。结果 饮片基因组 DNA 纯化后, 以随机引物 S28 进行 PCR 扩增获得谱带更丰富、条带更清晰的 RAPD 条带。结论 本文所建立的 DNA 提取方法可适合多数中药饮片基因组 DNA 的提取, 并可进一步用于 RAPD 分析。

**关键词:** 乌药; 云木香; 枳壳; 槟榔; DNA 提取

中图分类号: R284

文献标识码: A

文章编号: 1672-2981 (2009) 11-0803-04

## Improvement in the genomic DNA extraction from 4 herbal pieces of *Lindera aggregata* Kosterm

GUO Chun, LU Yao-bang\*, NIE Yuan-yuan, TANG Jin-feng (Pharmaceutical College, Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410208)

**Abstract:** **Objective** To extract high-quality genomic DNA which is used for RAPD amplification from herbal pieces such as *Radix Linderae*, *Radix Aucklandiae*, *Fructus Aurantii* and *Semen Arecae*. **Methods** Genomic DNA was extracted using improved CATB method, purified with kit and determined by agarose gel electrophoresis, UV spectrophotometry and RAPD amplification. **Results** The more profuse and clear RAPD bands were obtained with random primer S28 after DNA purification. **Conclusion** The present method is suitable for isolating genomic DNA from herbal pieces and for further analysis of RAPD.

**Key words:** *Radix Linderae*; *Radix Aucklandiae*; *Fructus Aurantii*; *Semen Arecae*; DNA extraction

随着生命科学研究的不断突破, 采用 DNA 分子标记技术鉴定中药的研究得到了极大的发展, 并逐渐成为中药鉴定

基金项目: 国家中医药管理局中医药留学回国人员择优资助项目 (编号: 2006LHR19)

作者简介: 郭纯, 女, 讲师, 主要从事中药生物技术研究, Tel: (0731) 88458225. \*通讯作者: 鲁耀邦, 男, 教授, 硕士研究生导师, 主要从事中药生物技术研究, Tel: (0731) 88458225, Fax: (0731) 88458227, E-mail: luyb414@sina.com