

[6,7-³H] 炔诺酮庚酸酯在大鼠的代谢

桑国卫 赵秀菊 (浙江人民卫生实验院药物研究所, 杭州)

提要 iv[6,7-³H] 炔诺酮庚酸酯后血浆中³H放射性消除曲线有快速及缓慢两相, 其生物半衰期分别为49 min及77 h。其平均分布体积 V_1 及 \bar{V} 分别为80 ml及2014 ml。可被主要脏器及神经、生殖器官迅速摄取。在iv后30 min, 以肝脏分布为最高, 脂肪中甚低。im后, 在注射局部的储存以及缓慢释放可以解释它的长效作用。im或iv后的排泄途径相似。主要通过粪, 其次尿。

关键词 [6,7-³H] 炔诺酮庚酸酯; 吸收; 分布; 排泄

炔诺酮庚酸酯 (norethisterone enanthate, 简称庚炔诺酮) 为19去甲睾酮类长效孕激素, 具有长效抗排卵作用。它有抗雌激素作用, 仅具微弱的雌激素活性和蛋白同化作用, 而几无雄激素活性⁽¹⁾。临床避孕效率为98.60—99.97%⁽²⁾。为了临床更合理用药, 以进一步提高疗效, 我们用[6,7-³H]庚炔诺酮研究了在大鼠体内的吸收、分布和排泄。

材料及方法

[6,7-³H]庚炔诺酮系由我所与上海原子核研究所协作合成, 比活性为96 $\mu\text{Ci}/\text{mg}$ 。经尼龙薄板在环己烷-乙酸乙酯(9:1)系统中展开2次, 做放射自显影, 与标准庚炔诺酮对照, 证明为单一放射性物质。纯化率在95%以上。溶解于花生油-苯甲酸苄酯(6:4)作im, 或加入Tween 80研磨后加入生理盐水使成乳剂作

iv。im或iv剂中均加非标记庚炔诺酮, 使相应于80 μCi 的溶液中含有10 mg庚炔诺酮。

用125-250g的雌性大鼠。iv 50 $\mu\text{Ci}/\text{kg}$, im 400 $\mu\text{Ci}/\text{kg}$ 。

自大鼠尾端放血或断头取血, 肝素抗凝。血浆和尿均以直接法测量放射性。称取新鲜组织或粪便100 mg, 加入60%过氧酸0.2 ml及29% H_2O_2 0.4 ml, 加辛醇1滴, 置80°C水浴中加热30 min, 取消化液测定总放射性。

游离甾体及结合甾体的分离按Dugwekar等氏法⁽³⁾。游离甾体提取部分蒸去乙醚后用少量氯仿溶解, 点样于硅胶G板上。以苯-丙酮(9:1)为展开剂。展开后分段收集硅胶于样品瓶中, 加二氧六环闪烁液测定其放射活性。标准庚炔诺酮及炔诺酮用碘蒸气定位。

放射性测定用均相或乳状液测量。组织及粪的消化液采用的闪烁液组成为0.6% PPO的甲苯5 ml及乙二醇乙醚3 ml。直接测定血浆及尿液放射性的闪烁液组成为0.4% PPO, 0.01% POPOP, 6% 萘的二氧六环7 ml。加入样品0.3 ml, 每个样品均取2份, 分别测定后求均值。仪器为国产FJ-353型液体双道闪烁计数器, 以道比法进行淬灭校正。

结 果

一、血浆中放射性的消失

1. im 大鼠 12 只肌内注射 [6,7-³H] 庚炔诺酮后不同时间自尾部取血。结果见图 1。im 后 2 h 血浆中出现明显放射活性，48—96 h 达到峰值。给药 6 d 后逐步缓慢下降，其生物半衰期约为 12 d。im 后 45 d，血浆中放射性尚有峰值的 8—10%。有 2 鼠观察到 132 d，血浆中放射性约为峰值的 1.8—2.2%。

2. iv 大鼠 3 只 iv [6,7-³H] 庚炔诺酮后 2, 5, 15, 30 min 及 1, 4, 8, 24, 48,

72 h 自尾部取血。按每 5 ml 血浆占注入剂量的 % 画于半对数坐标纸上。按 Laumas 等氏法⁽⁴⁾，求 A, B, α 及 β 值。见表 1。

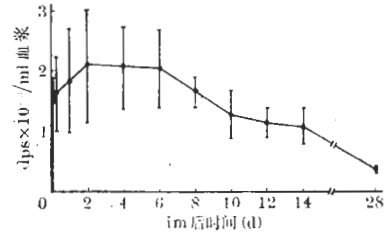


图 1 im [6,7-³H] 庚炔诺酮后的血浆总放射性(每点为 4—6 只大鼠的平均值, 纵柱为 SD)

表 1 iv [6,7-³H] 庚炔诺酮的生物半衰期、分布容积和代谢廓清率

鼠 号	A	α	B	β	V_1 (ml)	$V_1 + V_2$ (ml)	\bar{v} (ml)	$t_{1/2\alpha}$ (min)	$t_{1/2\beta}$ (h)	M.C.R (ml/d)
11	6.3	0.4	0.23	0.0114	76.4	79.2	2130	96	61	338
6	5.9	1.4	0.33	0.0077	80.3	84.8	1502	31	90	253
8	4.6	2.0	0.17	0.0088	84.6	87.7	2408	21	82	439
平均	5.6	1.3	0.24	0.0092	80.4	83.9	2014	49	77	343

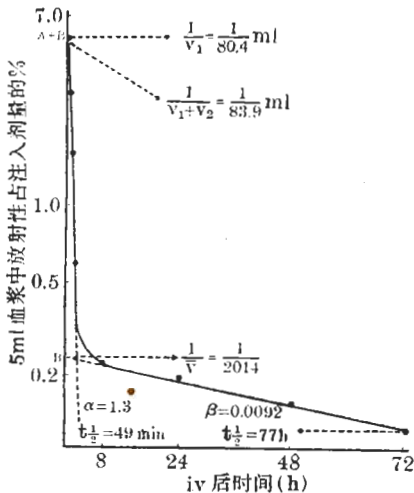


图 2 iv [6,7-³H] 庚炔诺酮后血浆中放射性的消除曲线

图 2 为按平均值绘制出 iv [6,7-³H] 庚炔诺酮后血浆中放射性的消除曲线。

依据两室模型，庚炔诺酮及其代谢产物的放射性的血浆消除曲线可以近似地以下列二元指数函数式表示：

$$X = 5.6e^{-1.37t} + 0.24e^{-0.00927t}$$

式中 X 为每 5 ml 大鼠血浆中总放射性占注入剂量的 %。由式 $M.C.R = D\alpha\beta / (A\beta + B\alpha)$ 算得其代谢廓清率为 343 ml/d。

二、球浆比 在 iv 实验中，分离血浆后残存之血球经生理盐水洗涤 3 次，与等体积之血浆同时按消化法测定其放射性。结果表明药后 2 min, ³H 在血浆内的活性为血球的 15—23 倍，药后 24 h 为 9 倍左右。

三、组织分布

1. im im 后 3, 18 及 30 d 各断头 2 鼠，测定各组织的放射性。结果见图 3。im 18 d 后，各组织中放射性均明显降低。im 30 d 后，除肝和肾外，其他组织的放射性均相当低。但是垂体中放射性却始终维持在相近水平，甚至略有升高。

im 局部剩余的放射性占总注入量，第 7 d 为 40%，第 18 d 为 19%，第 30 d 为 9%，第 133 d 为 1.2%，第 137 d 为 1.0%。im 后 7 d 及 14 d，注射局部中游离甾体、结合甾体、水溶部分及残渣部分所含放射性的比例分别为

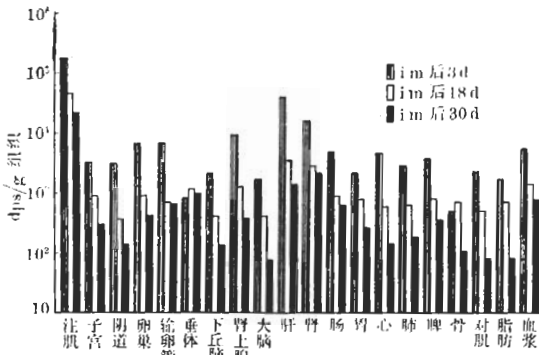


图 3 im [6,7-³H]庚炔诺酮在大鼠体内的分布

1563:88:1:14 及 316:4:1:12。游离甾体提取物的硅胶G板层析结果表明, 相应于标准庚炔诺酮及炔诺酮层析斑点处的放射性之比, im 后 7 d 为 16.2:1, im 后 14 d 为 4.4:1。

2. iv 大鼠 16 只分为 8 组, 分别于 iv 后不同时间, 取样测定。结果如图 4, 5 所示。在子宫、卵巢及阴道可有迅速摄取。iv 后 5 min 放射性达峰值。其后放射性随即迅速降低, 而在 iv 后 1—12h 间呈一缓慢降低过程。乳腺则有一连续摄取过程, 至 iv 后 4 h 达最高值, 后即逐步缓慢下降(图 4)。与生殖系统相比较, 肝、肾、心及肾上腺有着较高水平的摄取, iv 后 2 min, 肝和肾中已达最高值。放射性水平分别为 88363 及 6696 dps/g 湿组织。心与肾上腺内分布于 5 min 达最高值, 分别为 9370 与 5284 dps/g 湿组织。随即都分别呈现一快速消除与缓慢消除相。其下降趋势几与血浆中 ³H 水平的下降相平行。神经系统显示有类似的摄取与消除曲线。iv 后 5 min 达最高分布, 垂体、下丘脑与大脑的放射性动态曲线见图 5。iv 后, 脂肪组织中分布甚少, 于 iv 后 1 h 达最高值, 仅 936 dps/g 湿组织。随即下降。肌肉组织的摄取量更低, 于 iv 1 h 后逐渐出现放射性, 始终为 100 dps/g 湿组织左右。肠内容的放射性水平从给药后 1 h 起明显上升, 至 4 h 后可高达 43797 dps/g 湿组织。但是胃内容物含量则始终低微。在 iv 后 30 min 处, ³H 在各组织中的分布见图 6。

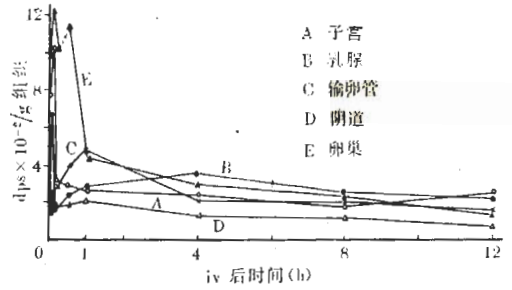


图 4 iv [6,7-³H]庚炔诺酮后放射性水平的变化

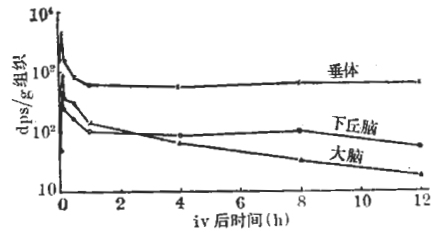


图 5 iv [6,7-³H]庚炔诺酮后, 垂体、下丘脑和大脑放射性水平的变化

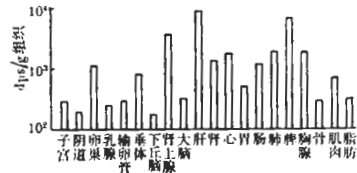


图 6 iv [6,7-³H]庚炔诺酮 30 min 后在大鼠体内的分布

3. 血浆中游离甾体及结合甾体的分离: 上述 iv 组大鼠血浆游离甾体在总放射性中的 % 逐步下降。然而血浆结合甾体的 % 却上升。(图 7)。血浆中游离甾体提取物的硅胶 G 板层

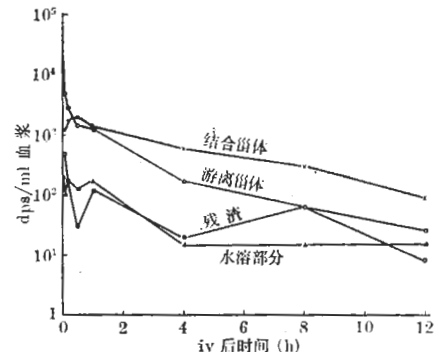


图 7 iv [6,7-³H]庚炔诺酮后, 大鼠血浆中游离甾体、结合甾体、水溶性部分及残渣中放射性的变化

析结果表明, 相当于标准庚炔诺酮及炔诺酮层析斑点处的放射性之比值, *iv* 后 2 min 为 10.2, 1 h 后为 3.9。

四、排泄 分别给 6 鼠 *im* 及 *iv* 后, 尿粪排泄情况见图 8、9。

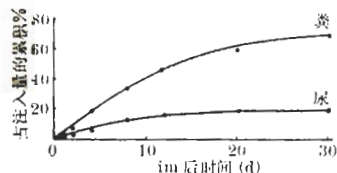


图 8 *im* [6,7-³H] 庚炔诺酮在大鼠尿及粪中的排泄

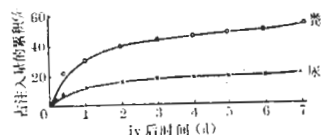


图 9 *iv* [6,7-³H] 庚炔诺酮在大鼠尿及粪中的排泄

从 *iv*[6,7-³H] 庚炔诺酮的大鼠的尿粪中, 应用乙醚不能提取出含 ³H 成份。尿液的乙醚提取物、正丁醇提取物及残留尿液中 ³H 放射性之比为 1:21:15。尿液加 HCl 回流水解后, 可用乙醚或甲苯抽提出含 ³H 物质, 在硅胶 G 板层析上 *R_f* 值接近于炔诺酮, 但未对其化学结构作进一步鉴定。

讨 论

给大鼠 *iv*[6,7-³H] 庚炔诺酮后, 血中放射性消失曲线与 Laumas 报告的异炔诺酮的消除类型⁽⁴⁾十分相似。

给大鼠 *iv* [6,7-³H] 庚炔诺酮后, 肾上腺中也有着高水平的 ³H 分布, 我们曾在 C57BL 小鼠的慢性实验中观察到庚炔诺酮可以引起肾上腺皮质束状带萎缩、网状带棕色萎缩细胞的数目明显增加, 此两者之间的关系值得注意。少量 [6,7-³H] 庚炔诺酮可以通过血脑屏障进入脑内, 其中, 垂体的放射性水平远较其它部分为高。 *im* 给药后 30 d 垂体放射性水平始终维持在相近水平。提示垂体可能是该药主要作

用靶器官。 *iv*[6,7-³H] 庚炔诺酮后, 卵巢对该药的摄取显然高于子宫、阴道及输卵管。 *im* 实验也显示卵巢有较高的 ³H 活性。推测该药对卵巢可能具有直接作用。

值得注意的是 *iv*[6,7-³H] 庚炔诺酮后, 脂肪组织摄取 ³H 甚少, 这点与雌激素类口服长效避孕药炔雌醇环戊醚的情况迥异。炔雌醇环戊醚能贮存于脂肪组织, 然后缓慢释放而达到长效作用⁽⁵⁾。显然庚炔诺酮并非通过此一途径而发挥长效作用。

给大鼠 *im*[6,7-³H] 庚炔诺酮后血浆浓度及 *im* 局部残留量测定结果, 提示给药通过储存于注射局部, 并逐步缓慢释放而发挥长效避孕作用。此结果与醋炔诺醇环戊烷丙酸酯储存于肌肉组织中而达到长效的结果是一致的。

im 后 7 d 及 14 d, 在 *im* 局部庚炔诺酮绝大部分仍是游离甾体。这游离甾体提取物的硅胶 G 板层析结果提示绝大部分药物仍以庚炔诺酮形式存在, 当逐步进入血液后, 才被迅速水解, 进而生成炔诺酮及其他代谢物。

iv 后, 血浆游离甾体在总放射性中的 % 逐步下降, 而结合甾体的 % 却逐步上升, 表明该药可与其他成分迅速结合。血浆中游离甾体提取物的硅胶 G 板层析结果提示血浆中之庚炔诺酮可被迅速水解生成炔诺酮。

im 或 *iv* 后的排泄途径相似, 可能主要在体内结合成葡萄糖醛酸苷或硫酸酯经粪及尿排出, 粪中排泄量为尿中 2.6—3.7 倍。 *iv* 4 h 后, 肠及胃内容物中 ³H 放射性水平的比较提示给药可能通过肝肠循环。 *im* 后 12 d, 尿、粪累积总排泄量分别相当于注入剂量的 15.5% 与 46.7%; *im* 30 d 后排出的尿粪累积总放射性则分别为 19.1% 及 69.9%。此结果与其生物半衰期相符, 并提示该药的体内积蓄时间较长以及具有长效的作用。

参 考 文 献

- 1 浙江人民卫生实验院药物研究所避孕药组. 动物学报 1975 年 9 月; 21 (3): 222

- 2 浙江长效避孕针科研协作组. 中华医学杂志 1976年4月; 56(4): 208
 3 Dugwekar YG, Narala RK, Laumas KR. *Contraception* 1973 Jan; 7(1): 27
 4 Laumas KR, Murugesan R, Hingorani V. *Acta*

Acta Pharmacologica Sinica 1981 Mar; 2(1): 37-41

- Endocrinol* 1971 Mar; 66(3): 385
 5 Meli A, Steinitz BG, Beach VL, Wolff A, Giannina T. *Proc Soc Exp Biol Med* 1955 Jul; 119(3): 602

METABOLISM OF [6,7-³H]NORETHISTERONE ENANTHATE IN RATS

SANG Guo-wei, ZHAO Xiu-ju

(Institute of Materia Medica, Zhejiang People's Academy of Experimental Hygiene, Hangzhou)

ABSTRACT The absorption, distribution and excretion of [6,7-³H]norethisterone enanthate in female rats are reported. After iv injections, the plasma radioactivity showed an initial rapid drop ($t_{1/2} = 49$ min) and a subsequent slow decline ($t_{1/2} = 77$ h). The average volumes of distribution V_1 and \bar{V} were about 80 and 2014 ml, respectively. The disappearance curve was analyzed on the basis of a biexponential curve representing a model consisting of 2 compartments. The drug was rapidly taken up by various organs. The disappearance curve showed an initial rapid fall followed by a slow decay. After 30 min a high level of radioactivity was present in the liver, while appreciable radioactivities were present in spleen, adrenals, lungs, heart, kidneys, ovaries, pituitary and intestine. The radioactivities were low in muscle, stomach, fat, uteri, oviducts, mammary glands, vagina, brain, bone and hypothalamus.

The uptake of the drug in fat tissues was low. After an iv injection of the drug 50 $\mu\text{Ci}/\text{kg}$, the radioactivities were found to be 31% in feces and 11.5% in urine in 24 h, and 51% in feces and 19% in urine in 7 d.

After an im injection, its slow release from the injection sites accounted for its prolonged contraceptive action. The radioactivity in the plasma after im injections increased markedly from the 2nd h on and reached its peak within 48-72 h. This peak level in the plasma declined to one-half in about 12 d. About 8-10% of the peak level persisted after 45 d. After an im injection of 400 $\mu\text{Ci}/\text{kg}$, the total radioactivity eliminated in 12 d was 47% in feces and 16% in urine

KEY WORDS [6,7-³H]norethisterone enanthate; absorption; distribution; excretion