

炔诺酮肟(NETO)与炔诺酮(NET)在猴体内的药代动力学

傅官铭 左明达 李敦周 周美英* 赵夏令*
王国平* 魏振年** 王训立** 李志雄**

(同济医科大学计划生育研究所, 武汉 430030; * 中国科学院上海原子核研究所, 上海 201800;
** 福建省计划生育科学研究所, 福州 350001)

提要 利用 HPLC 分离和液闪测定放射性的方法, 研究了恒河猴 iv 和鼻饲 NETO 和 NET 的药代动力学。鼻饲后 NETO 和 NET 吸收迅速, 24 h 内均基本消除。鼻饲或 iv NETO 后, 一部分迅速转变为 NET, 一部分以原药形式存在。两药的血药浓度—时间曲线符合 po 或 iv 的二室开放模型。二原药的主要药代动力学参数无显著差异。NETO 与 NET 的鼻饲绝对生物利用度分别为 64.46 ± 34.60 与 $35.02 \pm 26.49\%$ 。

关键词 炔诺酮肟; 炔诺酮; 恒河猴; 药代动力学

炔诺酮肟(norethindrone-3-oxime, NETO)是炔诺酮(norethindrone, NET)C₃位酮基肟化后的一种甾体酮肟类化合物。其抗着床作用及激素活性已由动物实验所证实^(1,2)。刘洁等曾以家兔为对象测定了 po NETO 与 NET 的血药浓度—时间曲线⁽³⁾。为掌握灵长类的资料, 使之更能临床所借鉴, 本实验以恒河猴(*Rhesus monkey*)为对象, 研究了 NETO 鼻饲和青 iv 后体内血药浓度的动态变化, 计算了鼻饲绝对生物利用度及其它主要药代动力学参数并与 NET 进行了比较。

材 料 和 方 法

试剂 (6,7-³H)-NETO 与 (6,7-³H)-NET 比放射性分别为 2.12×10^{11} Bq/mmol 与 1.87×10^{12} Bq/mmol, 放射性浓度分别为 9.25×10^7 Bq/ml 和 7.40×10^7 Bq/ml。两者纯化纯度均不低于 98%, 由中国科学院上海原子核研究所提供。NETO 与 NET 标准化合物由湖北医药工业研究所提供, 经伦敦城市大学化学系鉴定其含量均达 99% 以上。

动物及给药设计 选体重 7 ~ 8 kg, 一般状况良好 经 TTT, ZnTT 及 GPT 测定证明肝功能正常的雌性恒河猴 20 只, 平均分为 4 组, 于排卵后 d4 ~ 5(依性皮肤确定) 每只猴分别鼻饲给予或 iv (6,7-³H)-NETO 3.7×10^7 Bq 和 NETO 标准品 1 mg 或 (6,7-³H)-NET 3.7×10^7 Bq 和 NET 标准品 1 mg。

采血及血清中药物的提取 各实验组于上午 8 h 左右给药。依鼻饲或 iv 后在不同时间抽血。血样于 3000r/min 条件下离心 15 min 所得血清(约 1 ml)用无水乙醚 5 ml 提取一次, N₂ 吹干后备用。由于血清中 NETO 与 NET 化学量很低, 故提取时每份血清中均加入等量的 NETO 和 /或 NET, 以利高效液相色谱(HPLC)分离。

本文于 1989 年 9 月 25 日收到。

本课题由世界卫生组织资助。

HPLC分离 提取后的样本用无水乙醇 $100/\mu\text{l}$ 重溶,经HPLC(Waters)分离,依每批标准样品的保留时间收集NETO和/或NET。分离条件如下:分离柱为Waters反相 C_{18} 柱,流动相:甲醇—水(70:30),流速:1ml/min,纸速:2.5mm/min,紫外吸收检测器(Waters M441),波长为254nm,灵敏度为0.1ng/ml。

放射性测定 HPLC分离后的样品及未经HPLC分离的总放射性(total radioactivity),用中国科学院上海原子核研究所自制的80型 β 液体闪烁计数器计数,采用外标准法进行猝灭校正。

回收率 在试管中加入定量标准品和氘标化合物, N_2 吹干后加入空白猴血清,依前述方法进行提取、分离和计数,计算回收率。

结果处理 首先根据动物给入的标记物量和比放射性求算动物实际服用的甾体的化学量,并依照动物服用的标记甾体的放射性活度算出每dpm所相当的化学量,按所实测的dpm数求出所相当的化学量,再用提取血清体积、回收率等校正成实际血药浓度。采用南京军区总医院编制的PKBP-N1程序包计算有关药代动力学参数。NETO与NET的主要药代动力学参数采用t检验法进行差异显著性检验。

结 果

一. 回收率及HPLC分离

血清中NETO和NET经无水乙醚提取后的回收率分别为 $58.70 \pm 8.23\%$ 与 $63.38 \pm 3.92\%$,而经提取和HPLC分离后总的回收率分别为 $43.63 \pm 8.54\%$ 与 $52.17 \pm 4.07\%$ (mean \pm SD, $n = 5$)。

HPLC分离后的色谱图见图1,由图可见:血清样品及标准样品中NETO与NET均达到了基线分离,即分离是完全的。本实验每批样品分离前均采用标准品校准保留时间。

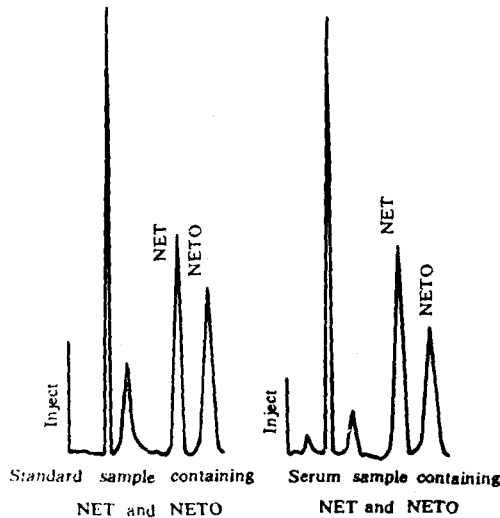


Fig1. Chromatogram of standard and serum samples .

二、血药浓度

血清样品中 NETO, NET 及未经 HPLC 分离的总放射性物质的浓度见图 2 ~ 5。NETO 及 NET 鼻饲后吸收迅速, 平均达峰时间(T_m)分别为 1.10 ± 0.32 (h) 及 0.95 ± 0.17 (h)。iv 或鼻饲后两药的血药浓度一时间曲线均有分布和消除两相, 符合二室开放模型。NETO 鼻饲或 iv 后在体内均有一部分迅速转变为 NET。由 NETO 转变而来的 NET, 无论鼻饲或 iv, 其血药浓度一时间曲线开始均迅速上升, 达峰后再较快下降, 与原药鼻饲时的曲线相似, 而与 iv 时无吸收相的曲线不同。NETO 鼻饲 4 h 和 iv 0.75 h 后血清中 NET 的浓度均大于原药 NETO。NETO 及 NET 无论 iv 或鼻饲后消除均较快, 24 h 时其血药浓度接近于 1 ng/ml。

三、药代动力学参数

根据血药浓度一时间曲线及 AIC 值确定 NETO 和 NET iv 和鼻饲后的药代动力学过程符合二室开放模型。依此计算的主要参数见表 1。NETO 与 NET 同种给药途径间各自原药的药代参数无显著性差异 ($P > 0.05$)。鼻饲的绝对生物利用度依总放射性和原药分别计算, NETO 为 $39.14 \pm 11.40\%$ 与 $64.46 \pm 34.60\%$, 而 NET 为 $52.23 \pm 23.77\%$ 与 $35.02 \pm 26.49\%$ (mean \pm SD, $n = 5$)。

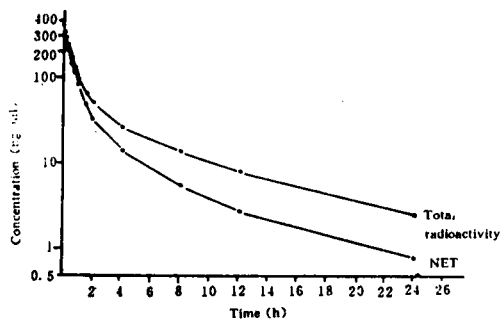


Fig 2. Mean serum concentrations of total radioactivity and NET after intravenous administration of NET 1.01 mg per rhesus monkey ($n = 5$).

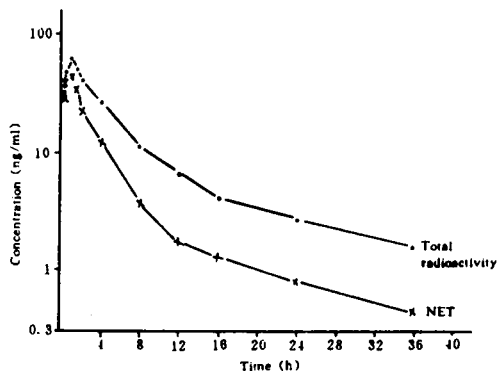


Fig 3. Mean serum concentrations of total radioactivity and NET after nasal feeding of NET 1.01 mg per rhesus monkey ($n = 5$).

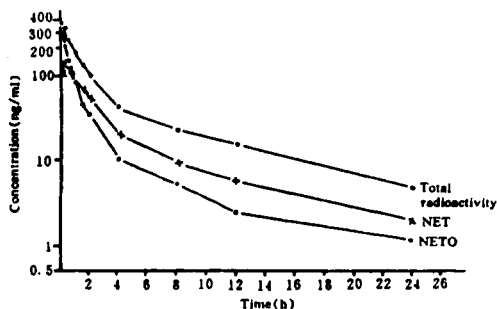


Fig 4. Mean serum concentrations of total radioactivity, NETO and NET after intravenous administration of NETO 1.05 mg per rhesus monkey ($n = 5$).

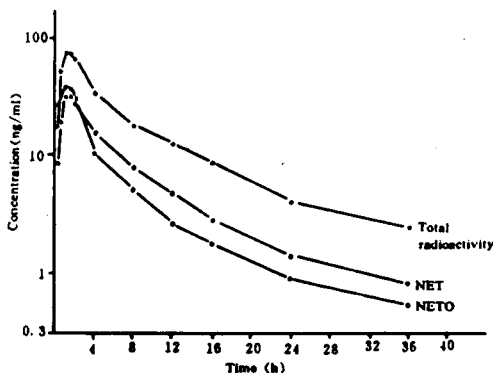


Fig 5. Mean serum concentrations of total radioactivity, NETO and NET after nasal feeding of NETO 1.05 mg per rhesus monkey ($n = 5$).

Tab1. Pharmacokinetic parameters of NETO and NET after intravenous administration or nasal feeding of 1.05 mg NETO or 1.01 mg NET to each female rhesus monkey (mean \pm SD, n = 5)

Parameter	Nasal feeding		Intravenous administration	
	NETO	NET	NETO	NET
$T_{\frac{1}{2}ka}$ (h)	0.37 \pm 0.18	0.20 \pm 0.08		
$T_{\frac{1}{2}z}$ (h)	0.90 \pm 0.16	1.28 \pm 0.31	0.57 \pm 0.15	0.50 \pm 0.12
$T_{\frac{1}{2}\beta}$ (h)	8.55 \pm 2.21	10.01 \pm 4.59	8.54 \pm 5.21	5.92 \pm 2.42
Vd (L)	47.15 \pm 11.38	45.91 \pm 21.78	41.42 \pm 25.23	26.79 \pm 9.77
Cl (L/h)	2.67 \pm 0.71	3.22 \pm 0.43	4.40 \pm 2.16	3.55 \pm 1.81
AUC (ng/ml \cdot h)	165.95 \pm 53.77	165.18 \pm 20.28	281.21 \pm 109.98	364.77 \pm 217.31
T_m (h)	1.10 \pm 0.32	0.95 \pm 0.17		
C_m (ng/ml)	37.67 \pm 15.65	40.83 \pm 10.12		

讨 论

本实验采用放射性HPLC法测定NETO与NET的血药浓度,方法简便、迅速,对标记物要求也低,最低检测量约0.5 ng/ml,能满足本课题要求,并能同时测定原药和代谢产物。但因采用放射性药物,故目前仅用于动物实验。Schöneshöfer等对11种血清肾上腺甾体进行无水乙醚提取及HPLC分离后,氚标甾体回收率为43.5~69.4%⁽⁴⁾。Belkien等对T、NT及DHT进行提取分离,回收率为54.4~63.4%⁽⁵⁾。刘洁等报道了NET及NETO的回收率分别为67.97及69.58%⁽³⁾。本实验结果与前两批作者的结果相近,由于仅用无水乙醚提取一次,故回收率较刘洁等提取两次的结果稍低。

本实验恒河猴鼻饲和iv NET后其 $T_{\frac{1}{2}ka}$ 、 $T_{\frac{1}{2}z}$ 、 $T_{\frac{1}{2}\beta}$ 、 T_m 等均与文献相符,考虑体重因素后其Cl、Vd值亦与文献相近^(6~8)。NET的生物利用度(F),Gomaa等报道兔的po绝对生物利用度为56 \pm 4.2%⁽⁹⁾。Düsterberg等报道了几种动物的相对生物利用度,其中大鼠为31%、猎兔犬为44 \pm 12%、恒河猴为17 \pm 5%、妇女为60%⁽¹⁰⁾,但其结果为po对sc的相对生物利用度,而且两种给药途径间剂量相差10倍。Barkfeldt等报道恒河猴po的绝对生物利用度为38%⁽¹¹⁾。一般认为恒河猴po甾体药物后首过效应较大,故其F值较低。本文以总放射性和HPLC分离后的NET计算的F分别为52.23及35.02%,表明以原药计算的F与Barkfeldt报道的结果相似。由此可见,F值的计算与给药途径、剂量、计算方式有关。

本文NETO鼻饲后其 $T_{\frac{1}{2}ka}$ 、 $T_{\frac{1}{2}z}$ 、 $T_{\frac{1}{2}\beta}$ 与刘洁等的结果相符⁽³⁾。NETO鼻饲及iv后原药的主要参数及生物利用度相应地与服用NET后相比无明显差异。但服用NETO后,有一部分迅速转变为NET。已知NETO与NET均有激素活性,本实验鼻饲或iv NETO后,其血清中有效成分NETO与NET浓度之和相应地较单用NET高,此亦与刘洁等的结果相似⁽³⁾,这是NETO药效较NET高的原因。由此可见,NETO有望发展成为药效较NET强的新型避孕药。

由图4、图5可见:无论鼻饲或iv NETO后,血中总放射性的血药浓度-时间曲线与原药NETO及主要代谢产物NET相似,提示NETO在血中有一些代谢产物以类似速率消除,具体过程尚待进一步探讨。NET亦有同样情形,需深入研究其代谢产物的药代动力学过程。

致谢 NETO 及 NET 标准品由湖北医药工业研究所提供。

参 考 文 献

1. 周子清, 等. 甾体酮类化合物的研究(I). 43 个化合物的合成和抗生育活性. 生殖与避孕 1981; 1: 24 .
2. 湖北医药工业研究所, 武汉医学院计划生育研究所. 甾体酮类化合物的研究 —— 合成、筛选和内分泌研究. 生育调节剂合成化学新进展 1985; 44.
3. 刘洁, 等. 兔口服炔诺酮和炔诺酮的药代动力学. 药 学 学 报 1989; 24: 161.
4. Schöneshofer M, et al . Assessment of eleven adrenal steroids from a single serum sample by combination of automatic high performance liquid chromatography and radioimmunoassay (HPLC -RIA). *J Steroid Biochem* 1981; 14: 377 .
5. Belkien L, et al . Pharmacokinetics of 19 - nortestosterone esters in normal men. *Ibid* 1985; 22: 623 .
6. Prasad KVS, et al . The rabbit as an animal model to study pharmacokinetics of norethindrone in women. *Contraception* 1979; 20 : 619 .
7. Mills TM, et al . The metabolic clearance rate and urinary excretion of oral contraceptive drugs. *Am J Obstet Gynecol* 1974; 120: 764 .
8. Shi YE, et al . Pharmacokinetics of norethisterone in humans. *Contraception* 1987; 35 : 465.
9. Gomaa AA, et al . Influence of aspirin on the pharmacokinetics of norethindrone. *Ibid* 1987; 35 : 611 .
10. Düsterberg B, et al . Terminal half - lives in plasma and bioavailability of norethisterone, levonorgestrel, cyproterone acetate and gestodene in rats , beagles and rhesus monkey. *Ibid* 1981; 24: 673 .
11. Barkfeldt JOA, et al . Interaction between phenytoin and norethisterone in the rhesus monkey. *Ibid* 1983; 27: 423.

PHARMACOKINETICS OF NORETHINDRONE - 3 - OXIME AND NORETHINDRONE IN RHESUS MONKEYS

GM Fu, MD Zuo, DZ Li, MY Zhou*, XL Zhao*, GP Wang*, ZN Wei**, XL Wang** and ZX Li**

(The Family Planning Research Institute of Tongji Medical University, Wuhan 430030; * Shanghai Institute of Nuclear Research, Academia Sinica, Shanghai 201800; **Research Institute of Planned Parenthood, Fujian, Fuzhou 350001)

ABSTRACT After intravenous administration or nasal feeding of (6, 7 - ³H) - labelled norethindrone - 3 - oxime (NETO) or norethindrone (NET) to rhesus monkeys , the serum concentrations were determined by measuring the radioactivity after separation with HPLC. The serum concentrations of total extractable radioactivity were also measured without HPLC separation . In cases of nasal feeding , NETO and NET were quickly absorbed, and almost all of them were eliminated within 24 hours. NETO, when given via both routes , was partly metabolized to NET and partly remained in original form . The blood concentration — time curves for NETO and NET were adequately fitted to two compartment models. No significant difference in pharmacokinetic parameters between the two drugs was observed . The absolute bioavailability for NETO and NET were found to be $64.46 \pm 34.60\%$ and $35.02 \pm 26.49\%$ respectively.

Key words Norethindrone - 3 - oxime ; Norethindrone ; Rhesus Monkey ; Pharmacokinetics