

16 亚甲基-17 α -乙酰氧基-19-失碳黄体酮(ST-1435)硅胶管埋植剂的抗生育作用

褚真威、王伟成、王月娥、游根梯、顾芝萍 (中国科学院上海药物研究所, 上海 200031, 中国)

Antifertility effect of the implant containing 16-methylene-17 α -acetoxy-19-norprogesterone (ST-1435)

CHU Zhen-Wei, WANG Wei-Cheng, WANG Yue-E, YOU Gen-Di, GU Zhi-Ping
(Shanghai Institute of Materia Medica, The Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China)

ABSTRACT The silastic capsules containing ST-1435 (0.5, 1, 2, 4, 6 or 8 mg) showed "burst effect" with a peak value of 4-15 $\mu\text{g} \cdot \text{h}^{-1}$ after incubation *in vitro*. A constant release rate was gradually approached within 1-2 wk. After the capsules were subcutaneous implanted or vaginally administrated, the rats manifested diestrus within 24-48 h. The normal estrus cycles and fertility were restored as soon as the release rate of implants decreased to 10 $\mu\text{g} \cdot \text{d}^{-1}$ *in vitro*. ST-1435 did not inhibit the superovulation induced by PMSG and HCG in immature ♀ rats, but blocked the ovulation induced by LHRH in mature rats

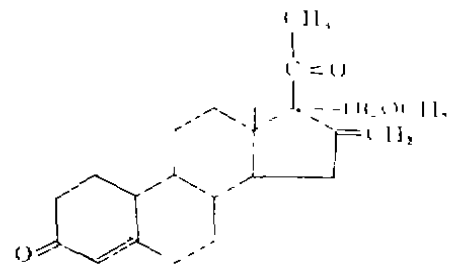
KEY WORDS synthetic progestational hormones; female contraceptive agents; delayed-action preparations

提要 含 ST-1435 0.5, 1, 2, 4, 6 和 8 mg 硅胶管水中释放 1-2 h 后, 出现爆破峰, 峰值 4-15 $\mu\text{g} \cdot \text{h}^{-1}$, 1-2 wk 后达稳态释放。大鼠阴道放置或皮下埋植含药管 24-48 h 后, 出现持续间情期, 当体外释放量低于 10 $\mu\text{g} \cdot \text{d}^{-1}$ 时, 恢复正常动情周期和生育力, ST-1435 不能完全抑制 PMSG 和 HCG 诱发幼年大鼠超排卵, 可完全抑制 LHRH 诱发的成年大鼠排卵。

关键词 合成孕激素; 女用避孕药; 迟效制剂

1965 年 11 月, 在上海举行的上海市化学学会年会上, 我国首先报道了 16 亚甲基-17 α -乙酰氧基-19-失碳黄体酮(ST-1435)的

合成(见年会论文摘要“有机化学”1-2 页), 但在初筛时发现无抗排卵作用, 而未进行深入研究。其后 V Schwarz 等于 1967 年也发表了合成此化合物的论文⁽¹⁾。1976 年 Coutinho 等报道将 ST-1435 做成埋植剂, 经皮下给药具有明显的避孕效果⁽²⁾。E Merck 公司于 1979 所报道 ST-1435 的孕激素活性, 但临床口服的避孕效果很差⁽³⁾。1984 年 PLA Lähteenmäki 证明⁽⁴⁾, ST-1435 口服无效的原因是: 肝脏能迅速将 ST-1435 转化为无活性的代谢产物。本文报道 ST-1435 埋植剂的体外释放率, 抗生育作用以及抗排卵的作用机制。



16-methylene-17 α -acetoxy-19-norprogesterone (ST-1435)

MATERIALS AND METHODS

ST-1435 结晶由中国药科大学廖清江合成提供, ST-1435 硅胶管由上海橡胶制品研究所李佐邦研制, LHRH 为上海东风生化试剂厂生产, PMSG 为吉林长春生物制品研究所生产, HCG 为上海生物化学制药厂生产。Wistar 大鼠 ♀ , 205 \pm SD 4 g, 出生 25 d 的大鼠 ♀ 和 ♂ 295 \pm SD 20 g 均由中国科学院上海分院动物饲养中心站供应。

体外释放量的测定 把不同长度, 各含

Received 1990 Jun 16

Accepted 1991 Jan 12

ST-1435 0.5, 1, 2, 4, 6 或 8 mg 硅胶管放于各磨口瓶内, 加蒸馏水 8-20 ml, 使每天释放液中 ST-1435 的最终浓度不超过饱和度的 10% 或 20%⁽⁵⁻⁸⁾. 然后将瓶置于 37℃ 振荡 70 次·min⁻¹, 于释放第 1 h, 每隔 15 min 换释放液一次, 第 2-12 h, 每隔 1 h 换释放液一次, 以后每 24 h 换释放液一次, 用波长 240 nm 测定释放液中的 ST-1435 量.

抗生育试验 将含 ST-1435 0.5, 1, 2, 4, 6 或 8 mg 硅胶管埋于成年♀大鼠颈背部皮下, 另将含 0.5, 1, 2 mg 的硅胶管缝扎固定于大鼠阴道后穹窿内, 按剂量分组, 每组 7 鼠. 对照组则给予不含 ST-1435 的硅胶管. 各鼠于手术后 d 2 分别与有生育力之♂鼠合笼, 每天上午作阴道涂片, 记录间情期持续时间及妊娠大鼠数.

抑制排卵试验 ST-1435 溶于少量乙醇

后, 用生理盐水混匀稀释, 配成所需浓度.

1 Equine gonadotropins (PMSG) + Human chorionic gonadotropins (HCG) 诱发排卵 取出生 25 d 的♀大鼠 3-6 只, 每天 09:00 sc ST-1435 100-1000 μg·kg⁻¹ 持续 3-8 d, 在最后一次给药的前三天 09:00, 同时 ip PMSG 30 IU/鼠, 在给 PMSG 后的第 57 h, ip HCG 30 IU/鼠, 末次给药后 d 2 处死大鼠. 在解剖显微镜下, 冲洗输卵管, 计算卵子数⁽⁹⁾.

2 LHRH 诱发排卵 正常成年♀大鼠 4-7 只, 注射不同剂量的 ST-1435, 连续 1-6 d. 在末次给药当天 17:00-17:30 sc LHRH, 在给予 LHRH 16-22 h 后处死出现动情期的大鼠, 冲洗输卵管, 计算卵子数.

以上两种诱发排卵的对照组大鼠, 均 sc 不含 ST-1435 的生理盐水.

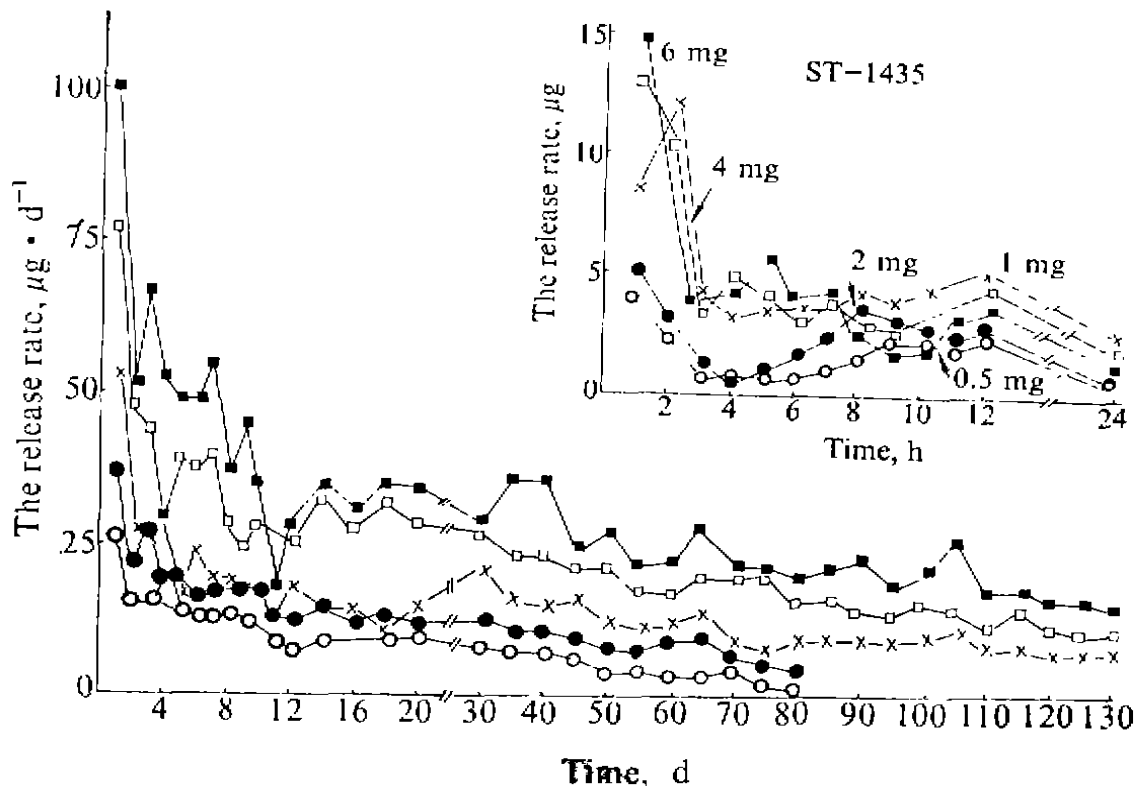


Fig 1. Release rate of ST-1435 from silastic capsules *in vitro*. 0.5 mg (○), 1 mg (●), 2 mg (×), 4 mg (□), 6 mg (■).

RESULTS

ST-1435 硅胶管的体外释放率 用 uv 分光光度法测得 ST-1435 的标准曲线为 $A=0.44+0.00436C$, (A 为吸收率, C 为溶液浓度), $r=0.999$, 浓度范围为 $0.4-4 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$. ST-1435 硅胶管在水中释放的最初 1-2 h 内, 出现“爆破效应”, 释放峰值随管内药量而异, 其范围在 $4-15 \mu\text{g} \cdot \text{h}^{-1}$, 含药量愈大, 峰值愈高, 释放 1-2 wk 后, 基本达到稳态释放, 见 Fig 1. 每天释放量与管中 ST-1435 的含量呈正相关, 与释放时间呈负相关.

ST-1435 埋植剂对大鼠的抗生育作用 大鼠在皮下埋植不同剂量的 ST-1435 硅胶管 24-48 h 后, 均出现持续间情期, 阴道给药组则在 24 h 内起效 (Tab 1), 出现持续间情期的大鼠无一妊娠, 间情期持续的长短与管内 ST-1435 的含量成正比, 当剂量为每管 0.5, 1, 2 mg 时, 间情期的持续时间分别为 2, 4 和 6-8 wk, 当剂量高达 4 mg/管时, 抗生育作用可维持 5 个月, 超过 4 mg 时, 持续时间就更长. 将抗生育作用的持续时间与体外释放率平行观察, 发现剂量为每管 0.5, 1, 2 mg 的硅胶管体外释放 2, 4 和 6-8 wk 后, 每天释放量均降至 $10 \mu\text{g}$, 而剂量 4 mg/管在释放 5 个月, 每天释放量仍高于 $10 \mu\text{g}$, 由此

可知, 无论管内 ST-1435 的含量多寡, 当体外的每天释放量低于 $10 \mu\text{g}$ 时, 大鼠均将恢复正常动情周期和生育力.

Tab 1. Antifertility effect of ST-1435 implant, which were subcutaneously implanted or fixed on the form of vagina in rats.

ST-1435 (mg)	n	Disappearance of cornified cells (h)	Duration of effect (months)	Number of pregnancy	
sc	0	7	-	7	
	0.5	7	72	0.5-1	0
	1	7	48-72	1	0
	2	7	48	2.5-3	0
	4	6	48	5	0
	6	3	24-48	5.5	0
	8	3	24-48	5.5	0
	vaginal	0	7	-	5
0.5		7	48	0.5-1	0
1		6	24-48	1.5	0
2		7	24-48	1.5	0

ST-1435 抗排卵的作用部位 如 Tab 2 所示, 大鼠 sc ST-1435 对 PMSG 和 HCG 诱导的超排卵作用影响较小, 即使剂量增大到 $1000 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1} \times 8 \text{d}$, 也不能完全抑制排卵, 而 sc ST-1435 $200 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1} \times 1 \text{d}$ 或 $400 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1} \times 3 \text{d}$, 就可明显减少 LHRH 诱发的排卵数, 当剂量增大到 400

Tab 2. Inhibition of ST-1435 on ovulation induced by PMSG (30 IU/rat) + HCG (30 IU/rat) or LHRH in rats. * $P > 0.05$, ** $P < 0.05$, *** $P < 0.01$ vs control.

ST-1435 ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1} \times \text{d}$)	LHRH (ng)	Number of Ovulation rats				Number of Ovulations ($\bar{x} \pm \text{SD}$)			
		PMSG +HCG	LHRH	PMSG +HCG	LHRH	PMSG+HCG	LHRH	PMSG+HCG	LHRH
100×3	-	3	-	3	-	11.3±2.5	-	7.0±5.3*	-
100×6	-	6	-	6	-	12.5±2.0	-	8.2±4.2**	-
200×1	250	-	7	-	6	-	5.7±3.0	-	3.0±2.6*
200×6	-	6	-	6	-	13.8±1.5	-	2.3±2.0*	-
400×3	250	5	7	6	4	13.8±3.0	5.7±3.0	9.8±3.5**	1.9±2.2**
400×6	125	6	4	6	0	15.0±3.1	5.8±2.1	5.7±3.7**	0***
1000×8	-	5	-	5	-	15.0±1.6	-	9.2±4.0**	-

$\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1} \times 6 \text{ d}$ 时, 则可完全阻断排卵。

DISCUSSION

ST-1435 硅胶管在 4 个多月的体外释放试验过程中, 每天释放量基本保持稳定, 说明该剂型符合长效制剂的要求, 但由于在 ST-1435 硅胶管制备过程中, 药粉与硅橡胶不可能绝对混匀, ST-1435 在硅橡胶内的扩散速度也就不可能绝对恒定, 所以体外释放曲线仍呈一定的波动。另外实验中所用的蒸馏水纯度, 振荡频率及温度的控制精度等都会影响测定结果。

ST-1435 硅胶管具显著抗生育作用, 体外释放和大鼠抗生育试验结果显示, 抗生育时间与管内含药量成正相关, 因此我们可通过改变硅胶管内的含药量来调节抗生育作用时间。ST-1435 是一强效孕激素, 硅胶管只要每天释放量高于 $10 \mu\text{g}$, 即可使大鼠处于动情间期, 这也说明, ST-1435 硅胶管在释放早期的每天释放量远远超过抗生育实际需要量, 特别是爆破峰较高, 如能进一步改进硅胶管基质的配方、管壁厚度和 ST-1435 的含量, 可望减慢释放率和延长抗生育作用的持续时间, 体外释放量和体内释放量的相关性有待研究。

本文通过 ST-1435 对 PMSG 和 LHRH 诱发排卵的影响, 分析了 ST-1435 抗生育的部位, 说明 ST-1435 对垂体性腺轴均有抑制作用, 其中垂体对 ST-1435 的抑制作用较卵巢更为敏感。此结果与临床报道⁽¹⁰⁻¹²⁾相符。

REFERENCES

- 1 Schwarz V, Zachova J, Syhora K. Steroid derivatives L. A synthesis of 16-methylene-17 α -acetoxo-19-norprogesterone. *Tetrahedron*

- Lett* 1967; May(20); 1925
- 2 Coutinho EM, da Silva AR, Kraft H-G. Fertility control with sub-dermal silastic capsules containing a new progestin (ST-1435). *Int J Fertil* 1976; 21: 103
- 3 Hillier K. ST-1435 progestagen contraceptive. *Drugs Future* 1979; 4: 743
- 4 Lahteenmaki PLA. Intestinal absorption of ST-1435 in rats. *Contraception* 1984; 30: 143
- 5 Jin ZY, Xu HL, Zheng LM, Wang MZ, Zhang P. Study of precision drug delivery systems for female contraception, I: development of a progesterone-releasing intrauterine device. *Acta Acad Med Prim Shanghai* 1983; 10: 7
- 6 Chien YW, Lambert HJ, Grant DE. Controlled drug release from polymeric devices I: technique for rapid *in vitro* release studies. *J Pharm Sci* 1974; 63: 365
- 7 Chien YW, Lambert HJ. Controlled drug release from polymeric delivery devices II: differentiation between partition-controlled and matrix-controlled drug release mechanisms. *J Pharm Sci* 1974; 63: 515
- 8 Chien YW. *In vitro-in vivo* correlation on the subcutaneous release of progestins from silicone capsules. *Chem Pharm Bull* 1976; 24: 1471
- 9 Hagino N, Goldzicher JW. Effect of timing and quantity of estrogen on gonadotrophin-induced ovulation in immature rats. *Estrog Ovulat* 1970; 86: 29
- 10 Lahteenmaki P, Weiner E, Lahteenmaki P, Johansson EDB, Luukkainen T. Pituitary and ovarian function during contraception with one subcutaneous implant releasing a progestin, ST-1435. *Contraception* 1982; 25: 299
- 11 Lahteenmaki PLA, Lahteenmaki P. Concentration-dependent mechanisms of ovulation inhibition by the progestin ST-1435. *Fertil Steril* 1985; 44: 20
- 12 Lahteenmaki P, Weiner E, Lahteenmaki P, Johansson E, Luukkainen T. Contraception with subcutaneous capsules containing ST-1435. Pituitary and ovarian function and plasma levels of ST-1435. *Contraception* 1981; 23: 63