

醋 炔 诺 酮 肟 的 生 物 学 活 性

浙江医学研究院计划生育研究所 沈康元 卢凤英 袁玉英 张寅忞

提 要: 本文对抗着床新药醋炔诺酮肟的某些生物学活性进行了研究。应用幼兔子宫内膜转化作用和碳酸酐酶活性测定试验, 结果表明醋炔诺酮肟有中等强度的孕激素活性。以5mg/kg 剂量给去卵巢妊娠大鼠口服或皮下注射, 均不能证实有维持妊娠作用, 而孕酮组却有明显的妊娠维持作用。应用小鼠子宫增重试验和大鼠阴道细胞角化试验表明醋炔诺酮肟有一定的雌激素活性和抗雌激素活性。阉割雄性幼大鼠提肛肌、腹前列腺和贮精囊增重试验表明, 醋炔诺酮肟无明显蛋白同化作用和雄激素活性。

据 Shroff 报导醋炔诺酮肟(17 α -乙炔基-17 β 乙酰基-19-去甲基-4-雄烯-3-酮肟)的抗生育活性较炔诺酮为高, 其黄体反应并不相应增强^[1]。本品经动物实验证明有较好的抗生育作用, 对小鼠、大鼠、家兔的受精卵着床有明显的抑制作用, 以1~2mg/kg/日给狗连续口服一年未见明显毒性。临床上以探亲方式试用1591例, 2507个周期, 避孕有效率为99.3%, 亦未见明显毒、副反应。它的生物学活性尚未见详细报导, 为此, 我们对醋炔诺酮肟的某些性激素活性进行了研究, 现将结果报告于下。

材料、方法与结果

一、材 料

1. 醋炔诺酮肟系本所药化室合成, 批号791130, 纯度99.5%, 熔点234~236℃, 溶于花生油内, 制成油溶液。

2. 苯甲酸雌二醇, 上海第九制药厂生产。

3. 黄体酮, 上海第十二制药厂生产。

4. 丙酸睾丸酮, 上海试剂厂生产。

二、方法与结果

1. 醋炔诺酮肟的抗排卵作用

取雌兔12只, 体重2.5~3.0kg, 隔离3周确证无孕后, 分成对照组和给药组, 家兔于交配前一天以苯甲酸雌二醇处理, 并于交配前20~22小时口服本品10mg/kg, 交配后24小时解剖, 检查两侧卵巢排卵出血点。结果表明, 醋炔诺酮肟有一定的抗排 卵 作 用 (见表1)。

表1 醋炔诺酮肟对家兔的抗排卵作用

组 别	剂 量 (mg/kg)	实 验 兔 数	排 卵 免 数	平 均 排卵点
醋炔诺酮肟	10	6	4	2.5
对 照	—	6	6	5.23

2. 醋炔诺酮肟的孕激素活性

(一) 对幼兔子宫内膜转化作用和碳酸

酞酶活性的影响。

采用改良的 Emmens 和 Mcphail 方法^[2], 取体重 0.8~1.2kg 未成熟的雌兔 35 只, 分成 11 组, 除对照组外其他各组用苯甲酸雌二醇 5mg/只处理 6 天, 第 7~11 天分别给黄体酮和醋炔诺酮皮下注射, 末次注射后 24 小时处死动物, 取出子宫, 清除脂肪和结缔组织, 在二侧子宫中央及两端各取二小段, 固定后 HE 染色。按 Mcphail 评定子宫内膜增殖级数^[3], 取三位研究者独立看片评级的最后平均数。同时将各组剩下的子宫内膜在冰冻下用滤纸吸干称重, 研磨成 1:20 匀浆, 以 2000 转/分离心 10 分钟, 取上清液按 Mcphail 和 Pincus 氏改良法测定碳酸酞酶活性^[4], 以酶单位/克湿重组织表示。结果表明(见表

2), 在经典的 Clauberg^[5] 试验中, 本品具有中等强度的孕激素活性, 约相当于标准黄体酮的 2/3。0.25mg/只醋炔诺酮对幼兔子宫内膜具有明显的转化作用, 但较黄体酮为弱, 当增加至 10mg 时, 内膜转化指数减弱。给黄体酮 0.2mg/只再加醋炔诺酮 10mg/只组, Mcphail 指数和碳酸酞酶活力明显下降, 可见本品具有一定的抗孕激素活性。当以醋炔诺酮 2.5mg/只取代雌二醇预处理子宫, 再给孕酮 0.2mg/只时, 结果 Mcphail 指数和碳酸酞酶活性较黄体酮要低, 说明醋炔诺酮有一定的雌激素活性, 但不能代替雌二醇。醋炔诺酮 0.25mg/只能升高幼兔子宫内膜碳酸酞酶活性, 其孕激素活性随剂量增加而递减。

表 2 醋炔诺酮的内膜转化作用及其对碳酸酞酶活性的影响

组 别	动物数	药 物 与 剂 量 (mg/只)		Mcphail 指 数 (平均)	碳 酸 酞 酶 活 性 酶单位/gm, 湿重
		第 1~6 天	第 7~11 天		
对 照	2	溶 媒		0	16.0
雌 二 醇	3	雌二醇 5μg/只		0.08	25.6
孕 酮	4	"	0.2	3.56	68.4
醋 炔 诺 酮	2	"	0.25	3.15	45.2
	4	"	0.5	2.52	36.6
	2	"	2.5	1.71	23.6
	4	"	5.0	1.53	24.4
	3	"	10.0	1.47	28.9
醋炔诺酮+孕酮	4	"	醋炔诺酮 10+孕酮 0.2	1.79	21.2
炔 诺 酮	3	"	2.5	2.61	31.2
醋炔诺酮+孕酮	3	醋炔诺酮 2.5mg/只	孕酮 0.2	2.11	24.4

(二) 对去卵巢大鼠的妊娠维持作用

实验用 Wistar 成年大鼠, 体重 200~300 克。以日光灯光照 12 小时, 黑暗 12 小时, 室温保持 18~20℃, 自由摄取食物和饮水。选择动情周期 4 天的雌大鼠, 在动情前期与雄鼠合笼过夜, 次日作阴道涂片, 发现精子作

为妊娠第一天。大鼠 24 只, 分成 4 组, 于妊娠第 8 天切除两侧卵巢, 观察子宫内有无胚胎着床, 以确定其是否受孕, 弃去未孕动物。每天给药 1 次, 直到第 14 天, 解剖并记录存活和死胎数, 结果表明(见表 3), 每天皮下注射黄体酮 5mg/只组, 维持妊娠, 而

5mg/只醋炔诺酮肟无论口服或皮下注射均不能维持妊娠。

表3 醋炔诺酮肟和黄体酮对去卵巢大鼠的妊娠维持作用

组别	给药方法	剂量(mg/只)	平均数	胎仔数		妊娠率(%)
				存活	死亡	
黄体酮	皮下	5	5	49	0	100
醋炔诺酮肟	口服	5	7	0	48	0
	皮下	5	5	0	30	0
对照(溶媒)	口服	花生油	7	0	0	0

3. 醋炔诺酮肟的雌激素活性和抗雌激素活性

(一) 对小鼠子宫增重试验的影响

采用Rubin等方法^[6],用21~22日龄的雌小鼠36只,分成6组,每天给药一次,连续3天,于停药24小时取子宫称重。由表4可见,给醋炔诺酮肟组小鼠子宫重量较对照组明显增加($P < 0.05$),口服醋炔诺酮肟同时注射苯甲酸雌二醇组小鼠子宫重量和注射苯甲酸雌二醇组相比明显减轻($P < 0.05$),表明本品有一定的雌激素活性和抗雌激素活性。

表4 醋炔诺酮肟对未成熟小鼠子宫重量的影响

组别	剂量(只)	动物数	子宫重量(mg/g体重)
对照	溶媒	6	0.49 ± 0.08
苯甲酸雌二醇	1μg	6	3.42 ± 0.04
醋炔诺酮肟	0.25mg	6	1.78 ± 0.16*
	0.5mg	6	2.02 ± 0.26*
醋炔诺酮肟 + 苯甲酸雌二醇	0.25mg + 1μg	6	2.34 ± 0.46**
苯甲酸雌二醇	0.5mg + 1μg	6	1.95 ± 0.16**

- 醋炔诺酮肟组与对照组相比,差异显著($P < 0.05$)
- • 醋炔诺酮肟 + 苯甲酸雌二醇组与苯甲酸雌二醇组相比,差异显著($P < 0.05$)。

表5 醋炔诺酮肟引起阉割大鼠阴道角化细胞

组别	剂量(/kg)	动物数	出现角化鼠数	平均角化天数
苯甲酸雌二醇	1μg	6	4	0.7
	2μg	6	6	1.6
醋炔诺酮肟	0.05mg	6	4	0.7
	0.1mg	6	5	1.3
	0.5mg	6	6	1.8
	1.0mg	6	6	1.8
	5.0mg	6	6	2.2

(二) 阴道细胞角化试验

按Allen和Doisy阴道细胞角化方法^[5]鉴定,选用体重200~250g雌大鼠,切除卵巢二周后,将连续5天阴道涂片出现白细胞的大鼠分成7组,给受试药物后每天定时作阴道涂片检查,出现角化细胞为雌激素样活性指标,并记录持续天数。从表5可见,使全部大鼠阴道涂片出现角化细胞的最低有效量苯甲酸雌二醇为2μg/kg,醋炔诺酮肟为0.5mg/kg,表明醋炔诺酮肟有一定的雌激素活性。

4. 醋炔诺酮肟的蛋白同化作用及雄激素活性

采用Hershberger等的提肛肌、腹前列腺和贮精囊增重法^[7],用性未成熟大鼠,体重50~70克,40只大鼠阉割后分成5组,各组于阉割24小时后注射丙酸睾丸酮及口服醋炔诺酮肟,全部动物于给药后第8天处死,取出提肛肌、腹前列腺和贮精囊称重。从表6结果表明本品无明显蛋白同化作用和雄激素样活性。

讨 论

在生理情况下,卵泡的成熟和排卵过程与丘脑下部—垂体—卵巢轴有关,炔诺酮主要通过抑制排卵达到避孕作用。Shroff等报导将炔诺酮结构改造,17β-OH酰化,3位酮基转化为肟基,抗生育活性是炔诺酮的137倍^[1]。本文家兔抗排卵试验表明,醋炔诺酮

表6 醋炔诺酮肟及丙酸孕九酮对大鼠提肛肌、腹前列腺和贮精囊的影响

组 别	剂 量 (mg/kg)	动 物 数	组 织 平 均 重 量 (mg)		
			提 肛 肌	腹 前 列 腺	贮 精 囊
对 照	溶 媒	7	38±6.5	5.2±1.7	5.2±0.9
丙 酸 孕 九 酮	0.4	7	90.1±21.7	32.1±8.9	43.7±13.3
	4.0	8	1.52±24.4	69.1±16.6	93.3±18.1
醋 炔 诺 酮 肟	1.0	8	45.2±9.7	7.56±1.8	12.6±2.1
	5.0	9	37.0±11.2	7.6±1.8	13.1±1.9

肟与炔诺酮不同,它不能完全抑制家兔排卵;但作者以前的实验证明,醋炔诺酮肟对动物有明显的抗着床、抗早孕作用,其抗着床活性为炔诺酮的12倍^[8]。在经典的Clauberg试验和碳酸酐酶活性测定中,醋炔诺酮肟与典型的孕酮比较,本品具有中等强度的孕激素活性。经雌激素处理的幼兔同时给孕酮和醋炔诺酮肟,幼兔子宫内膜指数和碳酸酐酶活力明显下降。临床25例用药妇女子宫内膜检查除呈药物性子宫膜外,均未见到明显的脱膜样变^[9],这都表明本品具有抗孕激素样活性。本品不能维持阉割大鼠的妊娠作用,这与文献报道去甲睾酮类衍生物在有些动物中不能维持妊娠是一致的。醋炔诺酮肟的抗着床和抗早孕作用可能和其具有雌激素活性,抗雌激素活性和抗孕激素活性有关。由此认

为本品的避孕作用原理是多环节的。

参 考 文 献

- [1] Shroff, A. P., Harper, C. H. Allen, G. O. and Blye, r. p., J. Med. Chemistry 16(2): 113—115 1973.
- [2] Emmens CW: in "Hormones assay" Academic press, p.302, 1950.
- [3] Mcphail K: J. Physiology, 83:145, 1934.
- [4] Pincus G, et al: Endocrinology, 61:528, 1957.
- [5] Brotherton, J: Sax Hormone Pharmacology, p.51, 1977, Academic Press, Land. N. Y. San Francisco.
- [6] Rubin, B. L., Dorfman, A. S., et al: Endocrinol, 49:429, 1951.
- [7] Hershberger, L. G., Shipley, E. G. & Meyer, R. K., Proc. Soc. Expt. Biol. Med. 83:175, 1953.
- [8] 张寅恭 卢凤英等, 生殖与避孕1(4):31, 1981.
- [9] 刘雪莉 卢凤英等, 生殖与避孕2(1):32, 1982.