

## **Untersuchungen zur Pharmakokinetik von Östradiol-17 $\beta$ , Östradiol-Benzoat, Östradiol-Valerianat und Östradiol-Undezylat bei der Frau: Der Verlauf der Konzentrationen von Östradiol-17 $\beta$ , Östron, LH und FSH im Serum**

**G. Leyendecker, G. Geppert, W. Nocke, J. Ufer**

Universitäts-Frauenklinik Bonn-Venusberg (Direktor: Prof. Dr. E. J. Plotz),  
Abteilung für Gynäkologische Endokrinologie (Leiter: Prof. Dr. W. Nocke),  
Abteilung für Klinische Forschung, Schering AG Berlin

### *Zusammenfassung*

Östradiol-17 $\beta$ , Östradiol-Benzoat, Östradiol-Valerianat und Östradiol-Undezylat wurden Frauen in der Postmenopause und Kastratinnen in äquimolarer Dosierung bezogen auf 20 mg Östradiol-17 $\beta$  parenteral injiziert. Durch radioimmunologische Messung der Serumkonzentrationen von Östradiol-17 $\beta$ , Östron, FSH und LH vor und nach Applikation des Hormons und seiner Ester konnten Wirkungsweise und Wirkungsdauer der einzelnen Depotöstrogene verglichen werden.

Durch die Anwendung von Steroidestern ist es gelungen, die Wirkung von therapeutisch verabreichten Steroidhormonen zu verlängern. Die Wirkungsdauer von Depotöstrogenen ist in früheren Untersuchungen indirekt vaginalzytologisch (13) und direkt durch Messung der Östrogenausscheidung im Harn (6) und zusätzlich durch Messung der Östrogenkonzentration im Blut (5) erfaßt worden.

Die Einführung radioimmunologischer Meßmethoden für Gonadotropine und Steroide im Serum ermöglicht heute ohne größere Belästigung der Patientin Serienbestimmungen dieser Hormone im Blut über einen längeren Zeitraum. Angesichts der breiten therapeutischen Anwendung von Östradiolestern erschien uns eine Untersuchung über ihre Pharmakokinetik mit diesen Methoden wünschenswert. Es war daher das Ziel der Arbeit, den Verlauf der Konzentrationen Östradiol-17 $\beta$  und Östron im

Estradiol-17 $\beta$ , estrone, LH and FSH in serum after administration of estradiol-17 $\beta$ , estradiol-benzoate, estradiol-valeriate and estradiol-undecylate in the female

Estradiol-17 $\beta$ , estradiol-benzoate, estradiol-valerianate, and estradiol-undecylate were injected intravenously and intramuscularly to postmenopausal woman and to female castrates. Equal doses were used corresponding to 20 mg of free estradiol-17 $\beta$ . Estradiol-17 $\beta$ , estrone, FSH and LH were measured in serum by radioimmunoassay before and after application of the hormone and the estradiol esters. Thus, the depot effect of the different esters could be compared.

Serum nach Gabe verschiedener Östradiolestern zu verfolgen. In der gleichzeitigen Messung der Serumgonadotropine wurde ein weiterer wertvoller Parameter für Beurteilung und Vergleich der Wirkungsweise der verschiedenen Depotöstrogene gesehen.

### *Material und Methodik*

Frauen im Alter von 36—61 Jahren stellten sich als Versuchspersonen zur Verfügung. Acht bis 14 Tage vor Versuchsbeginn waren vaginale oder abdominale Hysterektomien mit oder ohne Ovariectomie vorausgegangen. Nicht ovariectomierte Frauen befanden sich mindestens zwei Jahre in der Postmenopause. Jeweils drei Frauen erhielten äquimolare Dosen von Östradiol-17 $\beta$ , Östradiol-Benzoat, Östradiol-Valerianat und Östradiol-Undezylat in parenteraler Applikationsform: Östradiol-

17 $\beta$  (20,0 mg) wurde in 4 ml Propylenglycol und 50 ml 20% Humanalbumin gelöst und in Form einer Kurzinfusion intravenös verabreicht. Östradiol-Benzoat (27,6 mg), Östradiol-Valerianat (26,2 mg) und Östradiol-Undezylat (32,2 mg) wurden in 4 ml öliger Lösung intragluteal injiziert.

Blutproben wurden täglich um 9 Uhr, im Fall der Gaben von Östradiol-17 $\beta$  und Östradiol-Benzoat zusätzlich auch um 18 Uhr am Tag der Injektion und am darauffolgenden Tag entnommen. Die Injektion von Östradiol-17 $\beta$  und seiner Ester erfolgte am vierten Tag im Anschluß an die Blutentnahme um 9 Uhr. Nach Abseren wurden die Proben bis zur Aufarbeitung bei -20° C gelagert.

LH und FSH wurden radioimmunologisch bestimmt (8) unter Verwendung von Dioxan zur Trennung von freier und Antikörper-gebundener Radioaktivität (12). Die Bestimmung von Östradiol-17 $\beta$  und Östron erfolgte ebenfalls radioimmunologisch (9). Die Trennung der beiden Steroide wurde durch Verteilungschro-

mographie an Kieselgursäulen (6) erzielt unter Verwendung eines modifizierten Elutionsverfahrens (10).

*Ergebnisse*

**Östradiol:** Die mittlere Konzentration von Östradiol-17 $\beta$  im Serum betrug vor der Hormongabe 45,1 pg/ml mit einer Schwankungsbreite von 7—104 pg/ml. Neun Stunden nach i.v.-Gabe von 20 mg Östradiol stieg die Serumkonzentration auf fast 3,0 ng/ml. Vierundzwanzig Stunden später waren die Werte in den Bereich physiologischer Konzentrationen zurückgefallen und hatten 48 Stunden nach der Gabe wieder das Niveau der Ausgangswerte erreicht (Abb. 1).

Der Anstieg von Östradiol-17 $\beta$  im Serum war ebenfalls schnell nach i.m.-Gabe von 27,6 mg Östradiol-Benzoat in öliger Lösung. Neun Stunden nach der Injektion wurden bereits mehr als 2,0 ng/ml gemessen. Mit 2,1 ng/ml wurde 24 Stunden nach der Gabe ein Maximal-

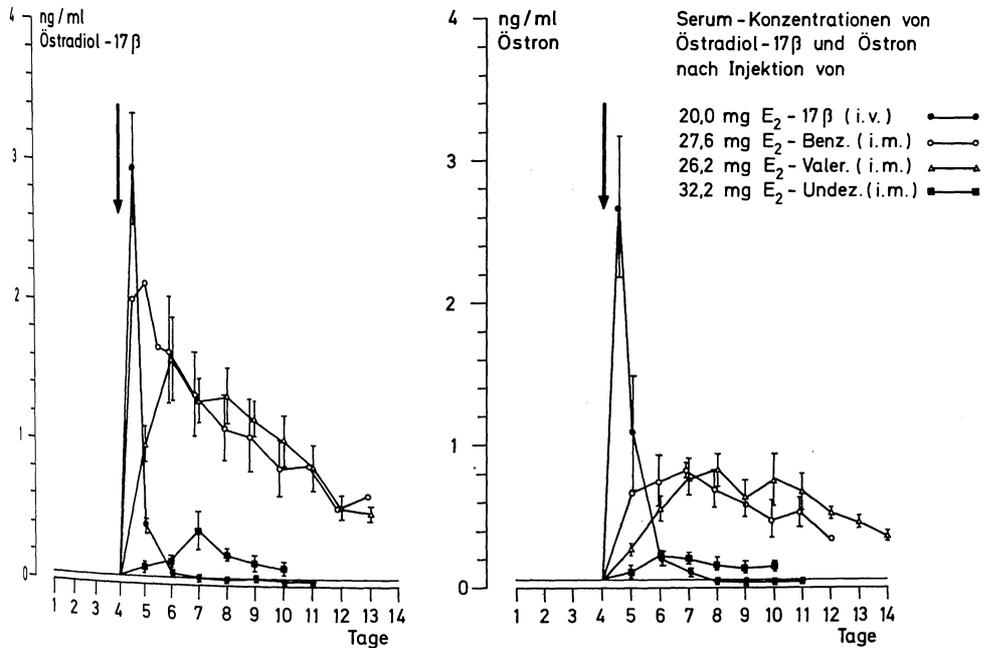


Abb. 1 Die Serumkonzentrationen von Östradiol-17 $\beta$  und Östron nach parenteraler Gabe von Östradiol-17 $\beta$ , Östradiol-Benzoat, Östradiol-Valerianat und Östradiol-Undezylat. Mittelwerte  $\pm$  SEM. Die Linie parallel zur Abszisse markiert die Ausgangskonzentrationen.

wert erreicht. Der anschließende graduelle Abfall erstreckte sich über mehr als neun Tage.

Langsamer war der Anstieg der Serumkonzentrationen von Östradiol-17 $\beta$  nach Gabe von 26,2 mg Östradiol-Valerianat. Erst 48 Stunden nach Injektion wurde mit 1,6 ng/ml ein Maximum erreicht. Der anschließende Abfall der Östradiol-Konzentration im Serum verlief weitgehend parallel derjenigen nach Injektion von Östradiol-Benzoat.

Nach i.m.-Injektion von 32,2 mg Östradiol-Undezylat wurden Konzentrationen von Östradiol-17 $\beta$  im Serum erreicht, die nicht über den Bereich physiologischer Konzentrationen während des menstruellen Zyklus hinausgingen.

**Östron:** Die Serumkonzentration von Östron betrug vor der Hormongabe im Mittel 56,6 pg/ml mit einer Schwankungsbreite von 8—248 pg/ml. Die Konzentrationsverläufe von

Östron im Serum nach Gabe von Östradiol-17 $\beta$  und seiner Ester ähnelten jenen von Östradiol-17 $\beta$ , waren jedoch flacher und erschienen um Stunden bzw. Tage verschoben. So wurde das Maximum der Östron-Konzentration im Serum 72 Stunden nach Gabe von Östradiol-Benzoat und 96 Stunden nach Gabe von Östradiol-Valerianat erreicht. Das Verhalten der Östronkonzentration zeigt deutlicher den stärkeren „Depoteffekt“ von Östradiol-Valerianat gegenüber Östradiol-Benzoat als der Verlauf der Östradiol-Werte im Serum.

**Gonadotropine** (Abb. 2): Die mittlere Serumkonzentration von LH betrug 53,7 mIE/ml mit einer Schwankungsbreite von 9—128 mIE/ml und die von FSH 80,2 mIE/ml mit einer Schwankungsbreite von 28—190 mIE/ml vor Gabe von Östradiol-17 $\beta$  und seiner Ester. Während des kurzzeitigen Anstiegs von Östra-

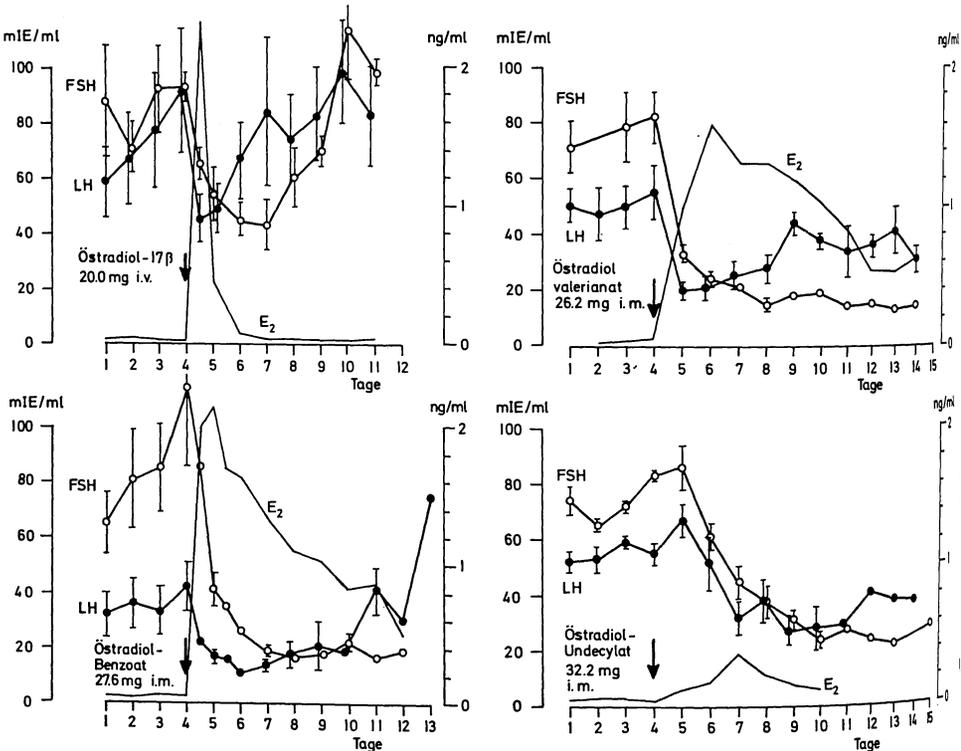


Abb. 2 Die Konzentrationsverläufe von LH und FSH sowie Östradiol-17 $\beta$  vor und nach parenteraler Gabe von Östradiol-17 $\beta$ , Östradiol-Benzoat, Östradiol-Valerianat und Östradiol-Undezylat. Mittelwert  $\pm$  SEM.

diol-17 $\beta$  im Serum nach i.v.-Gabe von freiem Östradiol erfolgte eine deutliche Senkung der LH- und FSH-Werte, die jedoch nicht auf das Niveau während des menstruellen Zyklus abfielen. Nach Applikation der Ester fiel die erhöhte Serumkonzentration der Gonadotropine in den Bereich der Werte während des menstruellen Zyklus ab. Dieser Abfall erfolgte langsamer nach Gabe von Östradiol-Undezylat entsprechend dem protrahiert verlaufenden Anstieg von Östradiol-17 $\beta$  im Serum. Nach anfänglich fast parallelem Abfall von LH und FSH kam es im späteren Verlauf der Konzentrationen im Serum nach Gabe von Östradiol-17 $\beta$  zu einem früheren Anstieg von LH als FSH und nach Gabe der Ester nur zu einem Anstieg von LH während der Beobachtungszeit. Dies wird in der graphischen Darstellung (Abb. 2) in einer Überkreuzung der Konzentrationsverläufe von LH und FSH sichtbar.

#### Diskussion

Der Konzentrationsverlauf von Östradiol-17 $\beta$  im Serum nach Gabe von Östradiolestern in öliger Lösung ist das Resultat verschiedener Vorgänge, deren Bedeutung im einzelnen schwer abschätzbar ist. Folgende Faktoren müssen diskutiert werden:

- die Feinverteilung des Depots und dessen Verweildauer innerhalb der Muskulatur,
- die Lipidlöslichkeit des Esters im öligen Depot,
- die Löslichkeit in einem sekundären Depot (Fettgewebe),
- die Geschwindigkeit der Esterspaltung,
- die Metabolisierung und Ausscheidung des freien Steroids.

Bei vergleichbarem primärem Depot (4 ml ölige Lösung; i.m.-Applikation) und vergleichbarer Metabolisierung und Ausscheidung des freien Steroids müssen die Unterschiede in den Konzentrationsverläufen von Östradiol-17 $\beta$  im Serum auf unterschiedliche Affinitäten der Ester zum primären und eventuell sekundären Depot und auf eine unterschiedlich schnelle Esterspaltung zurückgeführt werden.

Bei Untersuchungen von *Schenk* und *Junkmann* (11) nahm die Geschwindigkeit der Esterspaltung bei chemischer Hydrolyse mit zu-

nehmender Kettenlänge der Karbonsäure ab. *Dirscherl* u. Mitarb. (4) glaubten zeigen zu können, daß auch die enzymatische Esterspaltung im o. gen. Sinne von der Kettenlänge der Karbonsäure beeinflußt wurde. Diese *in-vitro*-Befunde schienen die Beobachtung beim Menschen zu erklären, wonach langkettige Östradiolester eine längere biologische Wirkung entfalten als kurzkettige (13). *Bellmann* u. Mitarb. (1, 2) zeigten dagegen, daß langkettige Steroidester im Fettgewebe schneller als kurzkettige und im Lebergewebe lang- und kurzkettige Steroidester gleich schnell gespalten werden. *Dirscherl* u. Mitarb. (4) führten ihre Untersuchungen mit Kristallsuspensionen durch, während *Bellmann* u. Mitarb. (1, 2) mit echten Lösungen radioaktiv markierter Ester arbeiteten. Es ist demnach sehr wahrscheinlich, daß Löslichkeitsfaktoren die Diskrepanz der Resultate verursacht haben. Bei schneller Esterspaltung sowohl in Fett- als auch Lebergewebe *in vitro* sehen *Bellmann* u. Mitarb. (1, 2) die Ursache für den „Depot-effekt“ von langkettigen Steroidestern *in vitro* darin, daß der lipophile Ester innerhalb der Fetttropfchen des primären und sekundären Depots den Lipasen und unspezifischen Esterasen für eine Spaltung schwerer zugänglich ist.

Der Verlauf der Konzentrationen von FSH und LH im Serum zeigt, daß schon eine kurzzeitige, allerdings sehr deutliche Erhöhung der Plasmaöstrogene nach i.v.-Gabe von Östradiol-17 $\beta$  zu einer negativen Rückkopplung auf die hypophysäre Gonadotropinsekretion führt. Der sofort eintretende Effekt auf die Gonadotropinkonzentration bei schnellem Anstieg von Östradiol-17 $\beta$  im Serum und der langsame Abfall der Gonadotropine bei flachem Anstieg von Östradiol-17 $\beta$  (nach Gabe von Östradiol-Undezylat) verdeutlichen die Dosis-Wirkungsbeziehungen innerhalb des negativen Rückkopplungsmechanismus zwischen Östradiol- und Gonadotropinkonzentration im Serum. In Übereinstimmung mit den Resultaten von *Vande Wiele* u. Mitarb. (14) kann die negative Rückkopplung oberhalb einer gewissen Östradiolkonzentration im Serum nicht durch einen weiteren Anstieg verstärkt werden. Aufgrund der Ergebnisse der Untersuchungen mit Östradiol-Undezylat dürfte die maximale negative Rückkopplung der Östro-

gene auf die Gonadotropinsekretion im Bereich physiologischer Östradiolkonzentrationen liegen.

Nach Ovariectomie im geschlechtsreifen Alter fanden Czygan und Maruhn (3) einen schnelleren Anstieg von FSH als von LH. Der in der eigenen Untersuchungsreihe beobachtete schnellere Anstieg von LH nach Lockerung der negativen Rückkopplung durch abfallende Östrogene (vor allem nach Gabe von Östradiol-17 $\beta$  i.v.) kann auf positive Rückkopplungseffekte der Östradiolgabe auf die hypophysäre LH-Sekretion zurückgeführt werden. Der Verlauf der LH-Konzentrationen im Serum ist demnach das Resultat einer Überlagerung negativer und positiver Rückkopplungen auf die LH-Sekretion.

Mit der vorliegenden Untersuchung wurden erstmalig die Konzentrationen von Östradiol-17 $\beta$  und Östron im Serum nach Gabe von Östradiol-17 $\beta$  und Östradiolestern radioimmunologisch gemessen und miteinander verglichen. Die Befunde bestätigen frühere Resultate über den unterschiedlichen „Depoteffekt“ der untersuchten Ester (6, 13). Die vorgelegten Ergebnisse ermöglichen eine differenziertere therapeutische Anwendung der Ester, was Auswahl und Dosierung betrifft.

#### Dankvermerk

Fräulein Roswitha Klasen, Fräulein Bärbel Leffek und Herrn Eberhard Jost wird für die unermüdlige technische Mitarbeit gedankt.

Immunoreagenzien wurden von den National Institutes of Health (Bethesda, Md.) und dem Medical Research Council (London) zur Verfügung gestellt.

Östradiol-17 $\beta$  und seine Ester erhielten wir in injizierbarer Form von der Schering A.G., Berlin.

#### Literatur

- 1 Bellmann, O., E. Gerhards: Vergleichende Untersuchungen zur enzymatischen Steroidesterspaltung in verschiedenen Geweben der Ratte und im Fettgewebe des Menschen. Acta endocr. (Kbh.) Suppl. 173 (1973) 138
- 2 Bellmann, O., H. J. Duhme, E. Gerhards: In vitro studies on enzymatic cleavage of steroid esters in the female organism. Acta endocr. (Kbh.), im Druck
- 3 Czygan, P. J., G. Maruhn: Einfluß ablativer gynäkologischer Maßnahmen auf den Serumgonadotropingehalt. Arch. Gynäk. 212 (1972) 176
- 4 Dirscherl, W., U. Dardenne: Spaltung von Steroidhormonestern durch menschliche und tierische Organe. Biochem. Z. 325 (1954) 195
- 5 Uttrich, G., P. Pöts: Östrogenbestimmungen in Blut und Urin nach Verabreichung von Östrogenen. Abhandlungen der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin, Klasse für Medizin 1 (1965) 53
- 6 Kaiser, R.: Die Östrogenausscheidung im Zyklus und nach Injektion von Östradiolestern. Geburtsh. u. Frauenheilk. 21 (1961) 868
- 7 Korenman, S. G., D. Tulchinsky, L. W. Eaton: Radioligand procedures for estrogen assay in normal and pregnancy plasma. Acta endocr. (Kbh.) Suppl. 147 (1970) 291
- 8 Leyendecker, G., D. M. Saunders, B. B. Saxena: Further improvements in the radioimmunoassay of human pituitary follicle stimulating hormone (FSH). Klin. Wschr. 49 (1971) 658
- 9 Leyendecker, G., S. Wardlaw, W. Nocke: Gamma globulin protection of radioimmunoassay and competitive protein binding saturation analysis of steroids. J. clin. Endocr. 34 (1972) 430
- 10 Leyendecker, G., S. Wardlaw, W. Nocke: Radioimmunologische Bestimmung von 17-Hydroxyprogesteron im Serum. In: H. Breuer, D. Hamel, H. L. Krüskemper (Hrsg.): Methoden der Hormonbestimmung. Thieme, Stuttgart 1975, S. 230
- 11 Schenk, M., K. Junkmann: Über protrahiert wirksame Androgene. Arch. exper. Path. Pharmacol. 227 (1955) 201
- 12 Thomas, K., J. Ferin: A new rapid radioimmunoassay for HCG (LH, ICSH) in plasma using dioxan. J. clin. Endocr. 28 (1968) 1667
- 13 Wied, G. L.: Östradiol-valerianat und Östradiolundecylat, zwei neue protrahiert wirkende Östrogene. Wirkungsstärke gleich mit Östradiolbenzoat. Geburtsh. u. Frauenheilk. 14 (1954) 45
- 14 Vande Wiele, R., J. Bogumil, I. Dyrenfurth, M. Ferin, R. Jewellewicz, M. Warren, T. Rizkallah, G. Mikhael: Mechanisms regulating the menstrual cycle in women. Recent Progr. Hormone Res. 26 (1970) 63

Dr. med. G. Leyendecker,  
Klinik und Poliklinik für Geburtshilfe  
und Frauenheilkunde,  
53 Bonn-Venusberg