

METABOLISME ET DISTRIBUTION TISSULAIRE DE LA *dL* EPHEDRINE ^{14}C

JEAN BRALET, YVES COHEN et GUILLAUME VALETTE

Laboratoire de Pharmacodynamie, Faculté de Pharmacie, Paris

(Received 6 April 1968; accepted 22 June 1968)

Abstract—The excretion and metabolism of *dl* ephedrine- β - ^{14}C have been investigated in rats. After i.p. administration of ephedrine ^{14}C (2 mg/kg), approximately 85 per cent of the radioactivity was eliminated in the first 40 hr, 80 per cent by urine and 5 per cent by feces. Analysis of urinary metabolites indicated two possible metabolic pathways. The major route (25 per cent of the urinary radioactivity) was ring parahydroxylation leading to paraphenolic compounds, parahydroxyephedrine or parahydroxynorephedrine (no distinction being made between these two products): 80 per cent or more of these compounds were excreted as glucuronide conjugates. The minor metabolic pathway (5 per cent) was oxidative deamination of the ephedrine side chain leading to acidic metabolites corresponding to the R_f value of hippuric and benzoic acid. 70 per cent of urinary radioactivity during the first 18 hr was ephedrine ^{14}C but during the following period 18-40 hr, ephedrine paraphenolic derivatives accounted for more than 80 per cent of the urinary radioactivity. Tissue distribution of ephedrine ^{14}C was studied at various times after i.v. injection (5 mg/kg) in the mouse by autoradiography and quantitatively in the rat: 15 min after ephedrine ^{14}C administration, the relative tissue distribution of radioactivity was: kidney > lung, adrenal, spleen, liver > intestine, stomach > brain, heart > plasma. Adrenal uptake was specially important and localized in the medullary part of the gland. Loss of radioactivity in the interval 15-120 min varied from 10 to 50 per cent according to the organs. Ephedrine ^{14}C was slowly metabolized and two hours after injection represented more than 80 per cent of radioactivity in the studied tissues except plasma, kidney and liver.

LES TRAVAUX effectués sur le métabolisme de l'éphédrine chez différentes espèces animales (Axelrod¹⁻³) ont montré que cette amine peut subir deux types de transformation: une *N*-déméthylation qui conduit à la noréphédrine et une parahydroxylation pouvant porter soit sur l'éphédrine soit sur la noréphédrine pour donner naissance soit à la parahydroxyéphédrine soit à la parahydroxynoréphédrine, l'importance relative de l'un ou l'autre processus variant selon l'espèce animale considérée.

Cependant l'existence d'autres voies cataboliques pouvait être soupçonnée car les résultats obtenus,¹ concernant le bilan de l'excrétion urinaire, montrent que dans certains cas la quantité d'amines excrétées (éphédrine + métabolites identifiés) est très inférieure à la quantité d'éphédrine administrée.

L'étude de ce problème a été considérablement facilitée par l'utilisation d'éphédrine radioactive et les premiers résultats concernant le métabolisme de l'éphédrine ^{14}C chez le Rat ont été rapportés récemment par Nagase *et al.*⁴ mais une proportion relativement importante de métabolites de l'éphédrine n'a pas été identifiée par ces auteurs. C'est la raison qui nous a incités à étudier le métabolisme et la distribution tissulaire de la *dl* éphédrine ^{14}C . Nos recherches ont été réalisées d'un point de vue qualitatif

en examinant des autoradiographies de coupes entières de souris et d'un point de vue quantitatif en dosant l'éphédrine ^{14}C et ses métabolites dans les principaux organes du rat.

METHODES

Ephédrine ^{14}C

L'éphédrine utilisée est de la *dl* éphédrine- β - ^{14}C (activité spécifique 2,2 mCi/mM), radiochimiquement pure et exempte de pseudoéphédrine, synthétisée au Centre d'Etudes Nucléaires de Saclay par Pichat *et al.*⁵

Excrétion et métabolisme de l'éphédrine ^{14}C

Des rats mâles (Charles River) d'un poids moyen de 300 g reçoivent par voie intrapéritonéale 2 mg/kg de chlorhydrate de *dl* éphédrine ^{14}C et sont placés dans une cage à métabolisme. L'urine et les matières fécales sont recueillies pendant une période de 40 heures, l'urine étant fractionnée en 2 échantillons, de 0 à 18 et de 18 à 40 heures. La radioactivité, déterminée par scintillation liquide (Tracerlab LSC 10 B), est évaluée dans chaque échantillon d'urine par addition de 0,1 ml d'urine à 12 ml d'un liquide scintillant de composition suivante: POPOP 100 mg, PPO 7 g, naphthalène 80 g, dioxane 400 ml, toluène 400 ml, méthanol 125 ml.

Les matières fécales sont homogénéisées dans 20 ml d'HCl 0,1 N, l'homogénat est additionné de 5 ml de HClO_4 à 30 %, centrifugé, et la radioactivité de 0,1 ml du liquide surnageant est déterminée après addition de 12 ml de liquide scintillant.

Séparation des métabolites

Chaque échantillon d'urine est analysé de manière à séparer l'éphédrine ^{14}C de ses métabolites: 2 méthodes ont été utilisées comparativement, la chromatographie sur papier et l'extraction par solvants. Ces méthodes ont été appliquées à l'urine intacte et à l'urine hydrolysée par la β -glucuronidase: 3 ml d'urine sont additionnés de 1 ml de tampon acétate de sodium/acide acétique de pH 5 et incubés pendant 24 heures à 37°C avec 50 mg de β -glucuronidase (SERAVAC). La solution est ensuite déprotéinisée par 0,5 ml d'acide perchlorique à 30 % et après centrifugation, l'acide perchlorique est éliminé par addition de $\text{K}_2\text{C0}_3$ en poudre jusqu'à pH 6,5. Le précipité de perchlorate de potassium est éliminé par centrifugation après 12 heures de repos à 4°C.

Chromatographie

50 à 100 μl d'urine intacte ou hydrolysée par la β -glucuronidase sont soumis à la chromatographie. Les deux systèmes chromatographiques utilisés fournissent des résultats sensiblement identiques.

I—Chromatographie descendante sur papier Whatman no. 1 (migration 16 heures): acide formique à 88 %, alcool isoamylque, alcool amylique tertiaire, eau (2/5/5/10)⁶.

II—Chromatographie descendante sur papier Whatman no. 2 (migration 14 heures): Isobutanol, acide formique à 99 %, eau (100/12/10)⁴.

La répartition de la radioactivité sur le chromatogramme est évaluée en découpant ce dernier sur toute sa longueur en fragments de 1 cm. Chaque fragment est ensuite placé dans une fiole à scintillation contenant 20 ml de liquide scintillant et les comptages sont effectués après 24 heures. Un histogramme est construit, portant en abscisses

la distance parcourue en cm et en ordonnées la radioactivité de chaque échantillon, exprimée en % de la radioactivité totale présente sur le chromatogramme.

L'identification des pics radioactifs est réalisée par chromatographie simultanée des substances de référence suivantes: éphédrine (Merck), noréphédrine (Boyer), parahydroxynoréphédrine (Smith, Kline et French), parahydroxyéphédrine (Hoechst), acide benzoïque et acide hippurique (Merck).

La révélation de ces divers produits est obtenue comme suit: l'éphédrine, la noréphédrine, la parahydroxyéphédrine et la parahydroxynoréphédrine sont révélées par la ninhydrine,⁶ l'acide benzoïque et l'acide hippurique par pulvérisation d'une solution de rouge de méthyle à 0,03 % dans le tampon borate de sodium 0,05 M de pH 8 après séchage du chromatogramme pendant 24 heures à 80 °C pour évaporer l'acide formique contenu dans le solvant de chromatographie. Le tableau ci-après montre la séparation obtenue à l'aide des 2 systèmes chromatographiques utilisés.

Substance	R_f Moyen	
	Syst. I	Syst. II
<i>p</i> -hydroxyéphédrine	0,36	0,25
<i>p</i> -hydroxynoréphédrine		
noréphédrine	0,46	0,46
éphédrine	0,52	0,50
acide hippurique	0,90	0,88
acide benzoïque		

Les valeurs de R_f mentionnées ci-dessus montrent que les produits essayés sont séparés en 3 groupes: les dérivés aminés phénoliques (parahydroxyéphédrine et parahydroxynoréphédrine), les dérivés aminés benzéniques (éphédrine et noréphédrine) et les dérivés acides (acide benzoïque et acide hippurique).

Extraction par solvants

Les méthodes utilisées sont dérivées de celles qui ont été décrites par Axelrod.¹

Evaluation de l'éphédrine et de la noréphédrine

L'éphédrine et la noréphédrine sont extraites par le benzène en milieu alcalin: 1 ml d'urine, additionné de 0,2 ml de NaOH 10 N, est extrait pendant 10 minutes par 3 ml de benzène (préalablement lavé par NaOH N, HCl N et H_2O); 2 ml de la phase benzénique sont ajoutés à 12 ml de liquide scintillant et comptés. Le rendement d'extraction de l'éphédrine ^{14}C a été trouvé égal, dans ces conditions, à $90 \pm 5\%$.

L'éphédrine peut être différenciée de la noréphédrine par extraction à l'éther de pétrole en milieu alcalin: 1 ml d'urine additionné de 0,2 ml de NaOH 10 N et d'un excès de NaCl est extrait pendant 10 minutes par 3 ml d'éther de pétrole; 2 ml d'éther de pétrole sont ajoutés à 12 ml de liquide scintillant. Dans ces conditions, l'éther de pétrole extrait environ 90 % de l'éphédrine et seulement 30 % de la noréphédrine, ces rendements ayant été déterminés par dosage colorimétrique de l'éphédrine et de la noréphédrine.¹ La comparaison entre les valeurs de la radioactivité urinaire extraite d'une part par le benzène (qui extrait l'ensemble éphédrine + noréphédrine) et d'autre part par l'éther de pétrole (qui extrait préférentiellement l'éphédrine) permet d'évaluer la quantité de noréphédrine.

Evaluation des dérivés phénoliques

Les dérivés phénoliques (parahydroxyéphédrine et parahydroxynoréphédrine) qui ne passent pas dans le benzène en milieu alcalin sont extraits à pH 9,5 par l'alcool isoamylque. Etant donné que l'éphédrine et la noréphédrine sont également extraites par l'alcool isoamylque dans ces conditions, il est nécessaire de procéder à leur élimination préalable par extraction au benzène en milieu alcalin: 1 ml d'urine additionné de 0,2 ml de NaOH 10 N est extrait à deux reprises pendant 10 minutes par 3 ml de benzène; 1 ml de la phase aqueuse est alors transféré dans un autre tube et son pH est ajusté à 9,5 par addition d'HCl 10 N. Un excès de NaCl est ajouté et l'extraction est réalisée pendant 10 minutes par 5 ml d'alcool isoamylque: après centrifugation 3 ml d'alcool sont ajoutés à 12 ml de liquide scintillant et comptés. Le rendement de l'extraction, qui a été déterminé par dosage colorimétrique de la parahydroxynoréphédrine¹ a été trouvé égal à 90%.

Distribution tissulaire de l'éphédrine ¹⁴C

Etude autoradiographique chez la souris. Des souris mâles d'un poids moyen de 20 g reçoivent une injection intraveineuse de 5 mg/kg de chlorhydrate de *dl* éphédrine ¹⁴C et sont sacrifiées par congélation dans un mélange acétone-neige carbonique, 2, 15 et 120 minutes après l'injection. Les souris sont ensuite débitées au microtome à congélation en coupes de 20 μ d'épaisseur qui sont désséchées à -20°C puis appliquées sur un film radiographique Kodirex selon la méthode de Cohen et Delassue.⁸

Etude quantitative chez le rat

Des rats mâles d'un poids moyen de 250 g, anesthésiés à l'uréthane (1,2 g/kg par voie intrapéritonéale) reçoivent par voie intraveineuse 5 mg/kg de chlorhydrate de *dl* éphédrine ¹⁴C et sont sacrifiés par section des carotides 15 et 120 minutes après l'injection. Le sang, recueilli sur héparine, est centrifugé et le plasma est décanté; 2 ml de plasma sont additionnés de 6 ml de HCl 0,1 N et de 2 ml de HClO₄ à 30%. Le cœur, la rate, le cerveau, l'estomac, le rein, un fragment de foie et d'intestin grêle sont homogénéisés (Ultra-Turrax) dans 8 ml de HCl 0,1 N et les homogénats obtenus sont déprotéinés par addition de 2 ml de HClO₄ à 30%. Les glandes surrénales sont broyées au mortier à l'aide de sable lavé dans 1,8 ml de HCl 0,1 N et l'homogénat est additionné de 0,2 ml de HClO₄ à 30%.

Sur les extraits ainsi préparés on évalue d'une part la radioactivité totale et d'autre part la radioactivité extraite par le benzène en milieu alcalin (éphédrine + noréphédrine). La radioactivité totale est déterminée par addition de 0,5 ml d'extrait tissulaire à 2 ml de méthanol et 12 ml de liquide scintillant; d'autre part 3 ml d'extrait, additionné de 0,6 ml de NaOH 10 N sont agités pendant 10 minutes avec 9 ml de benzène; 6 ml de benzène sont ajoutés à 12 ml de liquide scintillant et comptés. Dans le cas des extraits surrénaux, les volumes d'extraction sont réduits par un facteur 3.

Pour toutes les mesures de scintillation liquide, l'autoextinction des échantillons est évaluée par addition d'un étalon interne. Les valeurs de la radioactivité totale sont exprimées en $\mu\text{g/g}$ sur la base du poids moléculaire de l'éphédrine.

RESULTATS

(1) Excrétion de l'éphédrine ¹⁴C chez le rat

Le Tableau 1 montre les modalités de l'excrétion de la radioactivité après administration par voie intrapéritonéale de 2 mg/kg de chlorhydrate d'éphédrine ¹⁴C chez

5 rats. En moyenne 75 % de la radioactivité administrée sont éliminés par l'urine au cours des 18 heures qui suivent l'injection et 6,9 % sont excrétés par l'urine entre la dixhuitième et la quarantième heure. L'excrétion fécale des 40 heures représente 4,5 % de la radioactivité injectée. En définitive, l'excrétion totale, urinaire et fécale, des 40 heures représente en moyenne 86,4 % (valeurs extrêmes 76,5-90,3) de la quantité d'éphédrine ^{14}C administrée.

TABLEAU 1. EXCRÉTION DE LA *dl* ÉPHÉDRINE ^{14}C CHEZ LE RAT
(2 mg/kg par voie intrapéritonéale)

Rat No.	Radioactivité excrétée en % de la quantité injectée			
	urine 0-18 h.	urine 18-40 h.	matières fécales 0-40 h.	Total 0-40 h.
1	79,8	4,2	3,0	87,0
2	78,5	7,9	3,5	89,9
3	67,6	5,9	3,0	76,5
4	72,7	9,3	6,1	88,1
5	76,3	7,0	7,0	90,3
Moyenne	75,0	6,9	4,5	86,4

(2) *Nature de l'excrétion urinaire*

La nature de la radioactivité urinaire a été déterminée chez chaque animal sur les 2 échantillons d'urine correspondant aux intervalles de temps 0-18 et 18-40 heures (Tableau 2). Dans le cas des échantillons d'urine 0-18 heures, deux méthodes d'analyse ont été utilisées simultanément : la chromatographie sur papier et l'extraction par solvants, ces deux méthodes ayant été appliquées d'une part à l'urine intacte et d'autre part à l'urine hydrolysée par la β -glucuronidase.

TABLEAU 2. DISTRIBUTION DE LA RADIOACTIVITÉ URINAIRE CHEZ LE RAT APRÈS INJECTION INTRAPÉRITONÉALE DE 2 mg/kg DE *dl* ÉPHÉDRINE ^{14}C (moyennes de 5 animaux)

Enchantillon	Méthode utilisée	Nature de la radioactivité en % de la radioactivité totale		
		éphédrine	parahydroxyéphédrine + parahydroxynoréphédrine	métabolites acides*
urine 0-18 h.	Chromatographie	70,8 \pm 2,3	25,2 \pm 2,1 (libre 18%; glucurono conjugué 82%)	4,0 \pm 0,2
	Extraction par solvants	67,7 \pm 2,7	24,7 \pm 2,2	—
urine 18-40 h.	extraction par solvants	12,0 \pm 2,0	82,4 \pm 1,6	—

* Les métabolites acides possèdent le même R_f que l'acide benzoïque et l'acide hippurique dans le système chromatographique utilisé.

La Fig. 1 montre les résultats obtenus par chromatographie de l'urine du rat no. 3. L'analyse du chromatogramme obtenu à partir de l'urine intacte montre que la radioactivité est localisée au niveau de 4 pics: A, B, C et D. Le pic C, qui représente 72,4% de la radioactivité, correspond au R_f de l'éphédrine, le pic B (3,2%) à celui des dérivés paraphénoliques (parahydroxyéphédrine et parahydroxynoréphédrine, la méthode utilisée ne permettant pas de séparer ces 2 composés d'une manière satisfaisante) et le pic D (3,1%) à celui des dérivés acides (acide benzoïque et acide hippurique). La nature du pic A ($R_f = 0$), qui représente 21,3% de la radioactivité, a été élucidée après hydrolyse de l'urine par la β -glucuronidase. Sur le chromatogramme obtenu dans ces conditions (Fig. 2), on remarque que le pic A a presque complètement disparu et que la radioactivité s'est déplacée au niveau du pic B qui représente alors 24,2% de la radioactivité. Ces résultats indiquent que le pic A est constitué essentiellement par les glucuronides des dérivés paraphénoliques de l'éphédrine.

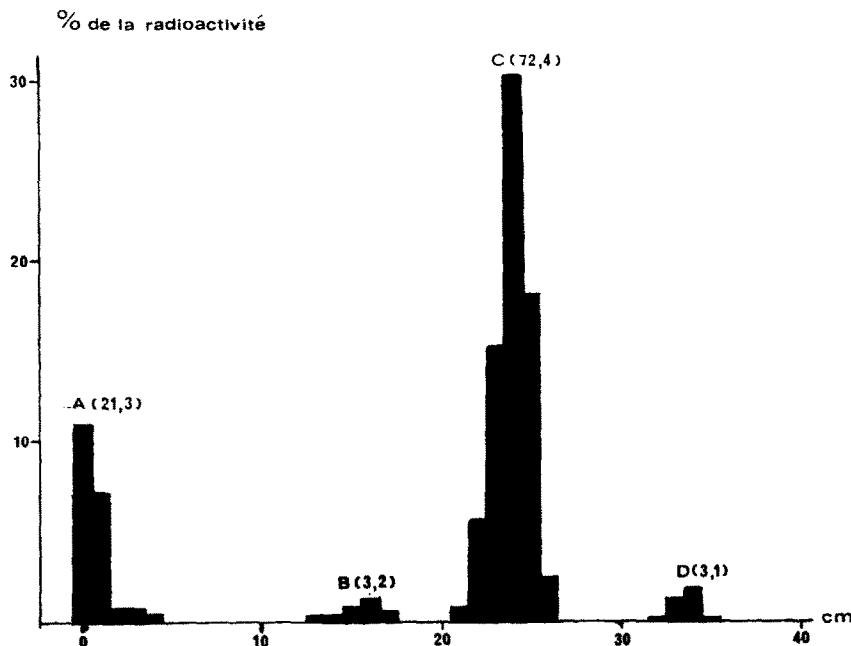


FIG. 1. Histogramme obtenu après chromatographie de l'urine des 18 heures du rat no. 3—papier Whatman no. 2—isobutanol, acide formique, eau (100/12/10).
 pic A: glucuronides de parahydroxyéphédrine et para hydroxynoréphédrine.
 pic B: para hydroxyéphédrine + para hydroxynoréphédrine
 pic C: éphédrine
 pic D: acide benzoïque + acide hippurique.

La distribution des métabolites de l'éphédrine ^{14}C dans l'urine des 18 heures, évaluée par chromatographie, s'établit selon les moyennes suivantes: l'éphédrine ^{14}C représente $70,8 \pm 2,3\%$ et les dérivés paraphénoliques ^{14}C $25,2 \pm 2,1\%$ de la radioactivité urinaire; 18% des dérivés phénoliques étant éliminés sous forme libre et

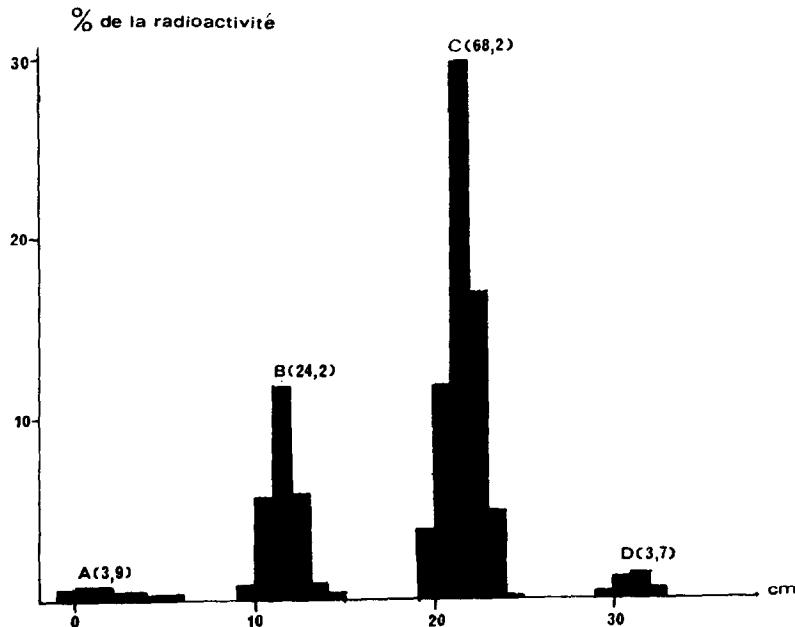


FIG. 2. Histogramme obtenu après chromatographie de l'urine des 18 heures du rat no. 3, hydrolysée par la β -glucuronidase: même système chromatographique que pour la Fig. 1. On constate, par rapport à la Fig. 1, que le pic A a pratiquement disparu et que la radioactivité s'est déplacée au niveau du pic B.

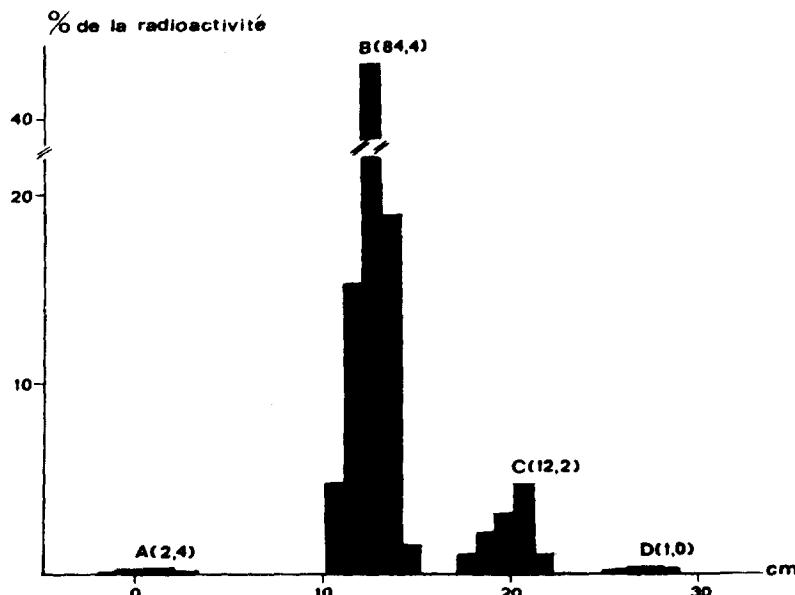


FIG. 3. Histogramme obtenu après chromatographie de l'urine de 18 à 40 heures du rat no. 4, hydrolysée par la β -glucuronidase: même système chromatographique que pour la Fig. 1. Durant cet intervalle de temps (18-40 heures), la majeure partie de la radioactivité est localisée au niveau du pic B.

82 % sous forme de glucuroconjugués. Les dérivés acides (acide benzoïque et acide hippurique) représentent $4,0 \pm 0,2\%$ de la radioactivité urinaire.

Les résultats obtenus par extraction par solvants (Tableau 2) montrent une bonne corrélation avec ceux qui sont fournis par la chromatographie. L'extraction de l'urine en milieu alcalin par le benzène et l'éther de pétrole indique que la quantité de noréphédrine présente dans l'urine est négligeable ($<5\%$) par rapport à celle de l'éphédrine.

Si l'éphédrine ^{14}C représente le composé radioactif majeur (70 % environ) de l'urine au cours des 18 heures qui suivent l'injection de l'éphédrine ^{14}C , il n'en est pas de même pour la période comprise entre la dix huitième et la quarantième heure. Dans cet intervalle de temps, l'éphédrine ^{14}C ne représente que $12,0 \pm 2,0\%$ et les dérivés paraphénoliques ^{14}C $82,4 \pm 1,6\%$ de la radioactivité urinaire. Ces résultats sont illustrés par la Fig. 3.

(3) Distribution tissulaire de l'éphédrine ^{14}C et de ses métabolites

Etude autoradiographique chez la souris. Les autoradiographies de coupes entières de souris tuées 2,15 et 120 minutes après l'injection intraveineuse de 5 mg/kg de chlorhydrate d'éphédrine ^{14}C , montrent que la distribution de la radioactivité s'effectue de la manière suivante.

Au temps de 2 minutes (Fig. 4) le sang et le cerveau ne sont que faiblement radioactifs (\pm); dans l'ordre croissant de radioactivité se rangent le cœur et la rate (+); les poumons, les muscles striés, les glandes salivaires, la paroi de l'intestin (2 +); la graisse brune, le foie et la médulosurrénale (3 +); le rein et la vessie (4 +).

Au temps 15 minutes (Figs. 5(a) et 5(b)) la radioactivité a pratiquement disparu du sang (O), elle s'est accrue au niveau du cerveau (+) et subsiste au niveau du cœur (\pm), des poumons et des muscles striés (+) de la rate, du foie et de l'intestin (2 +). La lumière de l'estomac, la médulosurrénale et les glandes salivaires sont fortement marquées (3 +) ainsi que le rein et la vessie (4 +).

TABLEAU 3. DISTRIBUTION TISSULAIRE DE LA *dl* ÉPHÉDRINE ^{14}C CHEZ LE RAT, 15 ET 120 MINUTES APRÈS L'INJECTION INTRAVEINEUSE DE 5 mg/kg

Organe*	Radioactivité totale $\mu\text{g/g}$		Ephédrine ^{14}C en % de la radioactivité totale	
	15 min.	120 min.	15 min.	120 min.
plasma	1,6 \pm 0,1	1,4 \pm 0,1	89 \pm 4	58 \pm 2
coeur	4,6 \pm 0,2	2,9 \pm 0,4	95 \pm 1	80 \pm 3
cerveau	5,6 \pm 0,1	5,3 \pm 0,4	95 \pm 2	95 \pm 3
estomac	7,1 \pm 0,8	6,3 \pm 0,6	96 \pm 1	86 \pm 2
intestin	7,7 \pm 0,7	5,8 \pm 0,9	99 \pm 3	87 \pm 3
foie	13,3 \pm 1,0	25,3 \pm 2,0	64 \pm 4	26 \pm 2
rate	16,5 \pm 0,3	10,6 \pm 1,0	97 \pm 2	91 \pm 2
surrénale	16,8 \pm 0,6	7,6 \pm 1,0	82 \pm 3	85 \pm 3
poumon	18,4 \pm 0,8	12,9 \pm 1,8	95 \pm 2	85 \pm 2
rein	55,8 \pm 4,4	52,2 \pm 8,1	94 \pm 2	63 \pm 5

* Les valeurs mentionnées représentent les moyennes de 4 animaux dans le cas de la surrénales et de 5 animaux dans tous les autres cas.

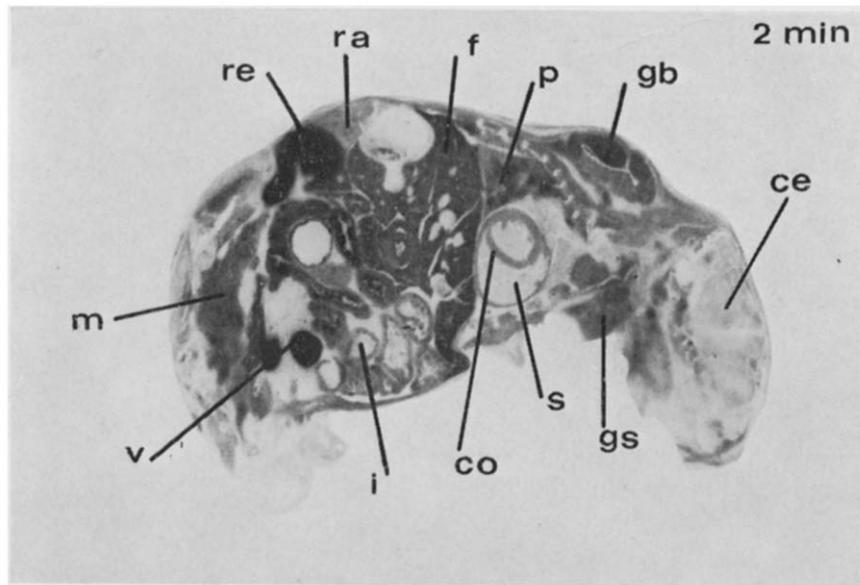


FIG. 4. Répartition de la radioactivité chez la souris, 2 minutes après l'injection intraveineuse de 5 mg/kg de *dl* éphédrine ^{14}C .
ce: cerveau—co: cœur—f: foie—gb: graisse brune—gs: glandes salivaires—i: intestin—m: muscle—p: poumon—ra: rate—re: rein—s: sang—v: vessie.

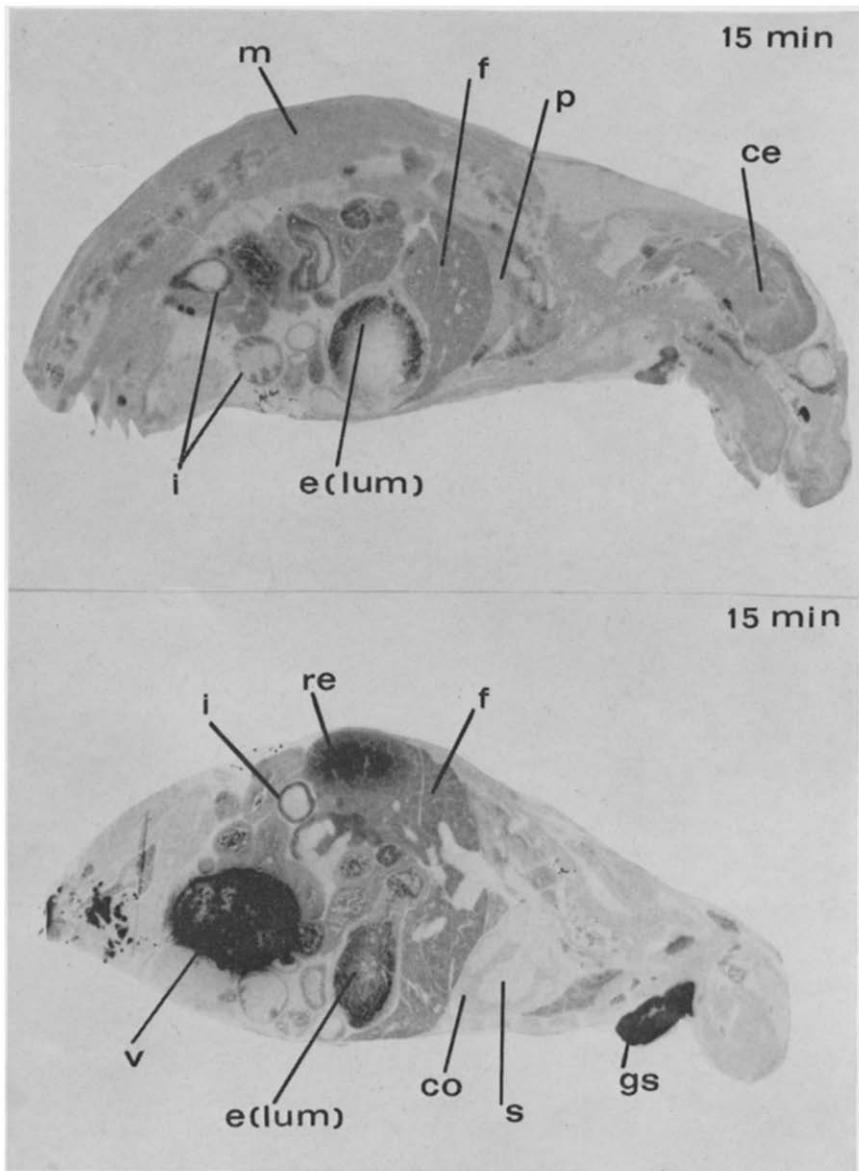


FIG. 5 (a, b) Répartition de la radioactivité chez la souris, 15 minutes après l'injection intraveineuse de 5 mg/kg de *dl* éphédrine ^{14}C .
 ce: cerveau—co: cœur—e (lum): estomac (lumière)—f: foie—gs: glandes salivaires—i: intestin—
 m: muscle—p: poumon—re: rein—s: sang—v: vessie.

Au temps 2 heures, la radioactivité est essentiellement localisée dans la vessie (4 +), le rein et les glandes salivaires (3 +), le foie, l'intestin et le cerveau (+).

Etude quantitative chez le rat

La radioactivité totale et la radioactivité extractible par le benzène en milieu alcalin ont été déterminées dans divers organes 15 et 120 minutes après l'injection intraveineuse de 5 mg/kg de chlorhydrate d'éphédrine ^{14}C (Tableau 3). La radioactivité benzénique, qui peut contenir éphédrine et noréphédrine, a été assimilée à l'éphédrine ^{14}C , l'étude du métabolisme ne nous ayant pas permis de mettre en évidence la présence de noréphédrine.

Au temps 15 minutes, la distribution de la radioactivité totale (éphédrine ^{14}C + métabolites ^{14}C), exprimée en $\mu\text{g/g}$ ou ml sur la base du poids moléculaire de l'éphédrine, s'effectue de la manière suivante: plasma (1,6), cœur (4,6), cerveau (5,6), estomac (7,1), intestin (7,7), foie (13,3), rate (16,5), surrénale (16,8), poumons (18,4) et rein (55,8).

Au temps 2 heures et à l'exception du foie, les taux de radioactivité ont diminué dans les divers organes. La perte de radioactivité dans l'intervalle 15 minutes-2 heures est d'environ 50% dans la surrénale, 30% dans le cœur, la rate, le poumon et l'intestin, et seulement 10% dans l'estomac, le cerveau, le plasma et le rein.

La proportion d'éphédrine ^{14}C par rapport à la radioactivité totale qui rend compte

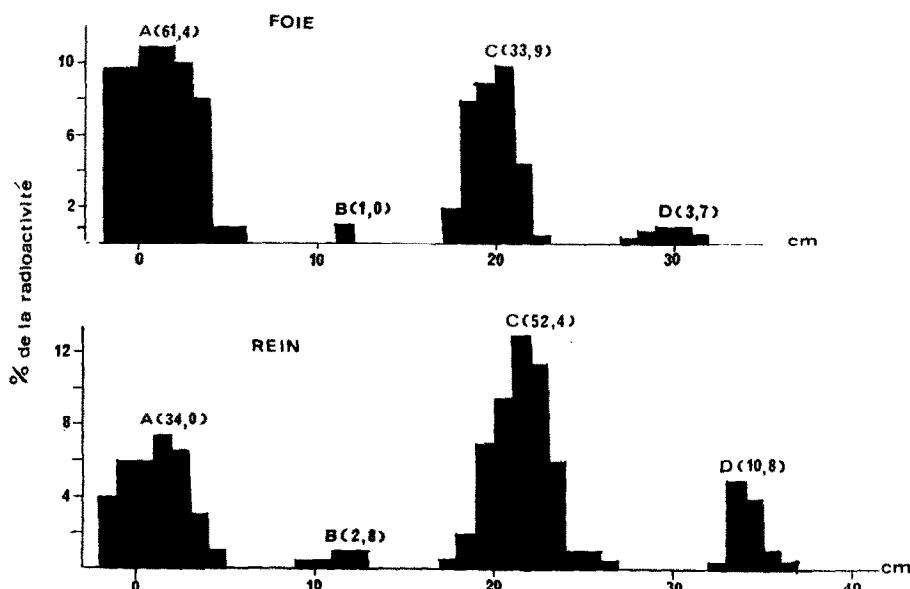


FIG. 6. Histogrammes obtenus après chromatographie d'extrait de foie et de rein, 2 heures après l'administration intraveineuse au rat de 5 mg/kg de *dl* éphédrine ^{14}C : papier Whatman no. 1: acide formique, alcool isoamylique, alcool amylique tertiaire, eau (2,5,5,10).

pic A: glucuronides de para hydroxyéphédrine et para hydroxynoréphédrine

pic B: para hydroxyéphédrine + para hydroxynoréphédrine

pic C: éphédrine

pic D: acide benzoïque + acide hippurique.

de l'intensité du métabolisme varie en fonction du temps et de l'organe considéré (Tableau III).

Au temps 15 minutes, l'éphédrine ^{14}C représente environ 95 % de la radioactivité présente dans le cœur, la rate, le cerveau, l'intestin, l'estomac, le poumon et le rein, 89 % de la radioactivité plasmatique, 82 % de la radioactivité surrénalienne et 64 % de la radioactivité hépatique.

Au temps 2 heures, la proportion d'éphédrine ^{14}C reste sensiblement constante dans le cerveau et la surrénaïale et diminue d'environ 10 % dans le cœur, la rate, l'estomac et le poumon. Le rein, le plasma et le foie renferment une proportion élevée de métabolites, la proportion d'éphédrine ^{14}C dans ces trois tissus étant respectivement égale en moyenne à 63,58 et 26 %. L'identification, par chromatographie (Fig. 6), des métabolites présents dans le foie et le rein indique que les métabolites hépatiques sont constitués essentiellement par les glucuronides des dérivés paraphénoliques de l'éphédrine : le rein, quant à lui, se caractérise par la présence d'une proportion relativement importante de métabolites acides.

DISCUSSION

Excrétion et métabolisme de l'éphédrine ^{14}C

Environ 85 % de l'éphédrine ^{14}C injectée au rat par voie intrapéritonéale sont éliminés au cours des 40 heures qui suivent l'injection, 80 % étant excrétés par l'urine et 5 % par les fèces. L'analyse des métabolites urinaires indique que l'éphédrine subit essentiellement 2 types de transformation, d'importance inégale. La principale voie catabolique consiste en une parahydroxylation du noyau benzénique qui conduit à des dérivés paraphénoliques, parahydroxyéphédrine ou parahydroxynoréphédrine, la distinction entre ces 2 composés n'ayant pas été réalisée : ces dérivés sont excrétés pour plus de 80 % sous forme de glucuroconjugués. Une voie catabolique mineure de l'éphédrine consiste en une désamination oxydative de la chaîne latérale qui donne naissance à des métabolites acides qui possèdent le même R_f que l'acide benzoïque et l'acide hippurique.

L'importance de la *para hydroxylation* de l'éphédrine chez le rat a été précédemment signalée par Axelrod,¹ qui a montré que les dérivés paraphénoliques de l'éphédrine représentent environ 30 % de la quantité des amines excrétées par l'urine des 24 heures. Ces résultats n'ont pas été confirmés par Nagase et Coll⁴ qui, utilisant de l'éphédrine ^{14}C , indiquent que la parahydroxyéphédrine ne représente que 3 % de la radioactivité urinaire. La raison de cette divergence apparente semble être due au fait que la radioactivité liée aux dérivés glucuroconjugués n'a pas été identifiée par ces derniers auteurs. Or nos résultats montrent que la majeure partie des dérivés paraphénoliques de l'éphédrine est excrétée sous forme de glucuroconjugués.

La présence de métabolites acides résultant de la *désamination oxydative* de la chaîne latérale de l'éphédrine a été signalée par Nagase *et al.*⁴, qui, après administration d'éphédrine ^{14}C , ont observé dans l'urine la présence d'acide benzoïque, d'acide hippurique et d'un autre acide qui n'a pas été identifié. Cette transformation métabolique a également été décrite dans le cas de l'amphétamine ^{14}C par Ellison *et al.*⁶ qui ont montré que l'acide hippurique constituait le métabolite majeur de l'amphétamine chez le Singe.

La *N-déméthylation* de l'éphédrine en noréphédrine qui constitue le mode de transformation majeur de l'éphédrine chez le Chien,¹ et qui a été signalée chez l'Homme,⁹ ne semble pas intervenir de façon notable chez le Rat. Nous n'avons pas pu mettre en évidence de noréphédrine dans l'urine du rat et cette observation est en accord avec les résultats de Nagase et *al.*⁴ qui indiquent que la noréphédrine ^{14}C représente moins de 1 % de la radioactivité urinaire.

Distribution tissulaire de l'éphédrine ^{14}C

L'éphédrine ^{14}C , administrée par voie intraveineuse, disparaît rapidement de la circulation et se trouve fixée d'une manière plus ou moins intense par les différents organes. L'étude comparative des autoradiographies de souris, réalisées 2,15 et 120 minutes après l'injection d'éphédrine ^{14}C permet de mettre en évidence certaines particularités.

Alors que la radioactivité des divers organes diminue au cours du temps, au contraire dans le cerveau, la radioactivité observée est plus intense au temps 15 minutes qu'au temps 2 minutes, ce qui indique que le passage de la barrière hématoencéphalique n'est pas instantané et s'effectue d'une manière relativement lente.

La radioactivité importante observée au temps 15 minutes dans la lumière de l'estomac à l'exclusion de la muqueuse de cet organe est vraisemblablement due à la déglutition de la sécrétion salivaire, les glandes salivaires étant fortement radioactives; elle pourrait également provenir d'une excréption par la muqueuse gastrique.

L'étude de la distribution de l'éphédrine ^{14}C chez le rat montre que cette amine se fixe d'une manière relativement importante dans le poumon et la rate et à un degré moindre dans l'estomac, l'intestin, le cerveau et le cœur. La fixation par la surrénale apparaît très importante: il faut en effet tenir compte du fait que les valeurs de la radioactivité surrénalienne ont été exprimées par rapport à la totalité de la glande. Or l'étude autoradiographique réalisée chez la souris montre que cette radioactivité est localisée au niveau de la partie médullaire de la glande à l'exclusion de la partie corticale. Etant donné que cette dernière représente environ 90 % du poids de la surrénale, la concentration d'éphédrine ^{14}C dans la médullaire est environ 10 fois plus importante que celle qui est mentionnée pour la totalité de la glande.

La comparaison des résultats obtenus chez le rat respectivement 15 et 120 minutes après l'injection d'éphédrine ^{14}C montre que cette amine est fixée d'une manière relativement durable et qu'elle n'est métabolisée que lentement: 2 heures après son injection, l'éphédrine ^{14}C représente encore plus de 80 % de la radioactivité des divers tissus étudiés, exception faite pour le foie, le rein et le plasma. Cette fixation tissulaire prolongée peut être reliée au fait que l'éphédrine inhibe d'une manière durable la captation de la noradrénaline ^3H par le cœur de rat *in vivo*.¹⁰

Le fait que les dérivés paraphénoliques de l'éphédrine représentent la quasi totalité de la radioactivité excrétée au cours de la période comprise entre la dixhuitième et la quarantième heure après l'administration d'éphédrine ^{14}C indique que ces métabolites sont retenus d'une manière plus durable que l'éphédrine elle-même, ce qui peut être dû au fait que ces composés sont susceptibles d'être incorporés au niveau des granules de stockage de la noradrénaline. Il a été en effet montré que la parahydroxy-noréphédrine, résultant de la transformation métabolique de l'améthyltyramine¹¹ ou de l'amphétamine,¹² est incorporée à l'intérieur des terminaisons nerveuses adrénériques¹³ et se trouve libérée par stimulation nerveuse sympathique.^{11,14} Cette

possibilité pour l'éphédrine de donner naissance à un "faux médiateur," qui devra être vérifiée d'une manière directe, permettrait d'expliquer certaines particularités d'action de cette amine sympathomimétique.

RESUME

L'excration et le métabolisme de la *dl* éphédrine- β - ^{14}C ont été étudiés chez le rat. Environ 85% de l'éphédrine ^{14}C (2 mg/kg, voie intrapéritonéale) sont éliminés au cours des 40 heures qui suivent son injection, 80% étant excrétés par l'urine et 5% par les fèces.

L'analyse de la radioactivité urinaire indique que l'éphédrine ^{14}C peut subir deux types de transformation d'importance inégale. La voie catabolique majeure (environ 25% de la radioactivité urinaire) consiste en une parahydroxylation du noyau benzénique qui donne naissance à des dérivés paraphénoliques (parahydroxyéphédrine ou parahydroxynoréphédrine, la séparation de ces 2 composés n'ayant pas été réalisée): ces dérivés sont excrétés pour plus de 80% sous forme de glucuroconjugués.

Une autre voie catabolique mineure (environ 5% de la radioactivité urinaire) consiste en une désamination oxydative de la chaîne latérale de l'éphédrine qui conduit à des métabolites acides de R_f identique à ceux de l'acide benzoïque et de l'acide hippurique.

L'éphédrine ^{14}C représente le composé radioactif majeur (environ 70%) de l'urine au cours des 18 premières heures qui suivent l'injection d'éphédrine ^{14}C , mais entre la dixhuitième et la quarantième heure, plus de 80% de la radioactivité urinaire sont constitués par les métabolites paraphénoliques de l'éphédrine.

La distribution tissulaire de l'éphédrine ^{14}C (5 mg/kg, voie intraveineuse) a été étudiée au cours du temps chez la souris par autoradiographie et chez le rat d'une manière quantitative. Quinze minutes après l'injection d'éphédrine ^{14}C , la distribution de la radioactivité tissulaire s'établit de la manière suivante: rein > poumon, surrénale, rate, foie > intestin, estomac > cerveau, cœur > plasma. La fixation par la surrénale est particulièrement importante et localisée au niveau de la partie médullaire de la glande. La perte de radioactivité dans l'intervalle 15-120 minutes varie de 10 à 50% selon les organes.

L'éphédrine ^{14}C n'est métabolisée que lentement et 2 heures après l'injection et exception faite pour le plasma, le rein et le foie, l'éphédrine ^{14}C représente encore plus de 80% de la radioactivité des divers organes étudiés.

Remerciements—Nous remercions vivement MM. Pichat, Audinot, Herbert et Nam du service des Molécules marquées de Saclay qui ont réalisé la synthèse de l'éphédrine ^{14}C .

Nous exprimons notre gratitude au Docteur J. Axelrod (Bethesda) et au Docteur G. Ullyot (Laboratoires Smith, Kline et French, Philadelphie) qui nous ont fourni la parahydroxynoréphédrine et au Docteur P. Moreau (Laboratoires Hoechst Somedia, Paris) qui nous a procuré la parahydroxyéphédrine.

BIBLIOGRAPHIE

1. J. AXELROD, *J. Pharmac.* **109**, 62 (1953).
2. J. AXELROD, *J. Pharmac.* **114**, 430, (1955).
3. J. AXELROD, *Physiol. Rev.* **39**, 751 (1959).
4. Y. NAGASE, S. BABA et A. MATSUDA, *J. Pharm. Soc. Jap.* **87**, 123 (1967).
5. L. PICHAT, communication personnelle.
6. T. ELLISON, L. GUTZAIT et E. J. VAN LOON, *J. Pharmac.* **152**, 383 (1966).

7. A. WICKSTRÖM et B. SALVESEN, *J. Pharm. Pharmac.* **4**, 631 (1952).
8. Y. COHEN et H. DELASSUE, *C. r. Séanc Soc. Biol.* **153**, 300 (1959).
9. A. H. BECKETT et G. R. WILKINSON, *J. Pharm. Pharmac.* **17**, Suppl. 107S (1965).
10. J. BRALET, Y. COHEN et G. VALETTE, *Biochem. Pharmac.* **15**, 793 (1966).
11. J. E. FISCHER, W. D. HORST et I. J. KOPIN, *Br. J. Pharmac.* **24**, 477 (1965).
12. M. GOLDSTEIN et B. ANAGNOSTE, *Biochim. Biophys. Acta* **107**, 166 (1965).
13. J. M. MUSACCHIO, I. J. KOPIN et V. K. WEISE, *J. Pharmac.* **148**, 22 (1965).
14. H. THOENEN, A. HÜRLIMANN, K. F. GEY et W. HAEFELY, *Life Sci.* **5**, 1715 (1966).