

17 α -甲基睾丸素及其某些衍生物对去势大鼠和小鼠同化作用的观察

張均田 雷海鵬

(中国医学科学院药物研究所药理学系,北京)

提要 本文用去势大鼠和小鼠研究 17 α -甲基睾丸素(I)及一些衍生物的同化和雄性素样作用。同化作用指标是观察大、小鼠提肛肌和小鼠肾脏重量的增加,雄性素样作用是以精囊重量的增加来表示。结果指出, I 的双氢衍生物——17 α -甲基-(5 α)-雄甾烷-17 β -羟-3-酮(II)和 17 α -甲基-(5 α)-雄甾烷-3 β , 17 β -二羟(III)的口服剂量为 30 毫克/公斤时,在去势大鼠的同化和雄性素样作用与 I 无显著不同。剂量为 12.5 毫克/公斤肌肉注射时,则 II 对去势小鼠的同化作用比 I 显著增强,雄性素样作用与 I 无显著不同;而 III 的同化作用和雄性素样作用均有减弱。17 α -甲基-(5 α)-雄甾烷-17 β -羟(IV)系 I 的 3 位脱氧衍生物,当给去势大鼠口服 30 毫克/公斤时,其同化作用比 I 显著增强;给去势小鼠肌肉注射 12.5 毫克/公斤时,其同化作用与 I 大致相同,但雄性素样作用只有 I 的 1/3, 因之,同化与雄性素样作用比值高至 3.63—4.50。睾丸素 17 位脱氧衍生物——5 α -雄甾烷-3-羟(V)和 5 α -雄甾烷-3-酮(VI)的剂量为 30—40 毫克/公斤时,无论口服或注射,在去势大鼠和小鼠均不出现同化和雄性素样作用。以上结果表明,将化合物 I 4, 5 位氢化和 3 位脱氧,可使同化作用: 雄性素样作用比值明显提高, 17 位脱氧则失去同化和雄性素样作用。

1935 年 Kochakian 和 Murlin^[1] 自男子尿液提制出雄性激素,给去势狗注射,在产生雄性化作用的同时发现有氮贮存现象。此后,无论是用天然的雄性素或人工合成的雄性素进行试验,均在大鼠、豚鼠和猴等动物证明有氮贮存和促提肛肌肥大的作用^[2,3]。临床应用说明,雄性激素在人体也有同化作用,但在产生同化作用的同时,伴有雄性化作用,限制了它在临床的用途^[2]。因此,改变雄性素的化学结构,试图把同化作用与雄性化作用分开是研究这类药物的一项重要内容。近年内,由于化学家和药理学家共同努力,已找到不少具有很强的同化作用而只有轻微雄性素样作用的化合物^[4,5]。这在一定程度上满足了临床应用的需要,也对类固醇结构与同化和雄性素样作用间的关系积累了很多有价值的资料。

本文报导 17 α -甲基睾丸素 4, 5 位氢化, 3 或 17 位脱氧对去势大鼠和小鼠同化与雄性素样作用的影响。

药物和方法

本试验所用药物列于表 1。

雄性大鼠, 年龄为 2 月左右, 体重 100—160 克。于腹面切口, 摘除两侧睾丸, 术后 5 天开始给药, 每组 5—6 只动物。所有试验药均悬于淀粉液灌喂, 剂量为 30 毫克/公斤, 每天 1 次, 连给 7 天。对照组给等容积的淀粉液。于末次给药后 24 小时处死动物, 剥出提肛肌和精囊称重。

成年小鼠每组 5—7 只, 于切除睾丸后第 2 天开始给药, 药物均溶在花生油肌肉注射, 剂量为 12.5—40 毫克/公斤, 隔天 1 次, 共给 5 次。对照组注射花生油。于末次给药后 48 小时处死动物, 称肾脏、提肛肌和精囊重量。以提肛肌和肾脏重量的增加作为同化作用的指标; 以精囊重量的增加作为雄性素样作用的指标^[6-8]。同时求试验药的同化和雄性素样

表 1 17 α -甲基睾丸素及其衍生物的化学结构

化 合 物 名 称	代 号	熔 (°C) 点	结 构 式
17 α -甲基睾丸素	I	167—168	
17 α -甲基-(5 α)-雄甾烷-17 β -羟-3-酮	II	191—195	
17 α -甲基-(5 α)-雄甾烷-3 β , 17 β -二羟	III	215—217	
17 α -甲基-(5 α)-雄甾烷-17 β -羟	IV	162—166	
5 α -雄甾烷-3-羟	V	151—153	
5 α -雄甾烷-3-酮	VI	102—104	

[注] I 为上海通用药厂制, II—VI 均为本所合成甾激素组合成。

作用的比值, 比值大者表示同化作用强, 比值小者表示同化作用弱。

本文报导的5个新合成化合物均系17 α -甲基睾丸素(I)的衍生物(表1), 故每次试验结果皆以I的同化和雄性素样作用作为100%(即以I组肾脏、提肛肌和精囊重量比对照组增加的数值作为100%), 其它化合物的作用则分别与I比较, 并作变异数分析或t测验求组间显著性。

结 果

(一) 17 α -甲基睾丸素及其衍生物对去势大鼠同化和雄性素样作用的观察

4, 5 位氢化对同化和雄性素样作用的影响 给去势大鼠口服II和III后, 其提肛肌重量的增加分别为I的 98.8 ± 16.6 和 76.4 ± 10.8 , 精囊重量的增加分别为I的 120.4 ± 18.3 和 106.0 ± 24.4 , 增加或减少的数值与I比较均无显著差别(见表2)。

3 位脱氧对同化和雄性素样作用的影响 IV在去势大鼠促提肛肌肥大的作用为I的2.9倍, 精囊重量的增加略高于I, 前者比较差别显著, 后者无显著差别。由于IV的促提肛肌肥大作用明显增加, 其同化作用: 雄性素样作用比值高至2.16(见表2)。

17 位脱氧对同化和雄性素样作用的影响 V和VI均系17位脱氧化合物, 在本文所用剂量下未表现刺激精囊和促提肛肌肥大的作用(见表2)。

表2 口服17 α -甲基睾丸素及其一些衍生物30毫克/公斤对去势大鼠促提肛肌肥大和雄性素样作用的比较

化 合 物	动物数	提 肛 肌		精 囊		促提肛肌作用与雄性素样作用比值
		平均重量*	P 值	平均重量	P 值	
17 α -甲基睾丸素(I)	6	100		100		1
17 α -甲基-(5 α)-雄甾烷-17 β -羟-3-酮(II)	5	98.8 $\pm 16.6^{**}$	>0.5	120.4 ± 18.3	>0.5	0.82
17 α -甲基-(5 α)-雄甾烷-3 β , 17 β -二羟(III)	5	76.4 ± 10.8	>0.5	106.0 ± 24.4	>0.5	0.72
17 α -甲基-(5 α)-雄甾烷-17 β -羟(IV)	5	288.1 ± 15.4	<0.001	133.5 ± 9.2	<0.4 >0.2	2.16
5 α -雄甾烷-3-羟(V)	5	1	<0.01	0	<0.001	
5 α -雄甾烷-3-酮(VI)	5	0	<0.025	0	<0.005	

* 以I的平均重量比对照组增加的数值作为100%。

** 标准误。

(二) 17 α -甲基睾丸素及其衍生物对去势小鼠同化和雄性素样作用的观察

4, 5 位氢化对同化和雄性素样作用的影响 II的剂量为12.5毫克/公斤时, 其同化作用较I显著加强, 如促肾脏和提肛肌生长的作用分别为I的 322.7 ± 17.2 和 281.8 ± 16.6 , II刺激精囊生长的作用为I的 150.5 ± 11.5 , 但差别不显著。其促肾脏作用: 雄性素样作用比值和促提肛肌作用: 雄性素样作用比值各为2.32和1.80, III的促提肛肌和促肾脏作用分别为I的 64.8 ± 3.5 和 40.9 ± 4.9 , 差别均不显著。III在此剂量不出现刺激精囊生长的作用(见表3)。

3 位脱氧对同化和雄性素样作用的影响 IV的剂量为12.5毫克/公斤时, 其促肾脏和促提肛肌生长的作用与I无显著不同, 但刺激精囊生长的作用只有I的1/3, 促肾脏生

长作用：雄性素样作用比值为 3.63，促提肛肌作用：雄性素样作用比值为 4.5（见表 3）。

17 位脱氧对同化和雄性素样作用的影响 V 和 VI 所用剂量（40 毫克/公斤）均比其它化合物的剂量为高，但既不出现促肾脏和促提肛肌生长的作用，也无雄性素样作用（见表 3）。

表 3 肌肉注射 17 α -甲基睾丸素及其一些衍生物对去势小鼠同化和雄性素样作用的比较

化 合 物	鼠 数	剂 量 (毫克/ 公斤)	肾 脏		提 肛 肌		精 囊		促肾作用与 雄性素样 作用比值	促提肛 肌作用 与雄性 素样作 用比值
			平 均 重 量*	P 值	平均 重量*	P 值	平均 重量*	P 值		
17 α -甲基睾丸素 (I)	6 6	40 12.5	100 100		100 100		100 100		1 1	1 1
17 α -甲基-(5 α)-雄甾烷-17 β - 羰-3-酮 (II)	5	12.5	322.7 \pm 17.2**	<0.01	281.8 \pm 16.6	<0.005	150.5 \pm 11.5	<0.2 >0.1	2.14	1.8
17 α -甲基-(5 α)-雄甾烷-3 β , 17 β -二羰 (III)	6	12.5	64.8 \pm 3.5	<0.4 >0.2	40.9 \pm 4.9	<0.2 >0.1	0	<0.01		
17 α -甲基-(5 α)-雄甾烷-17 β - 羰 (IV)	7	12.5	116.2 \pm 3.3	>0.5	147.8 \pm 7.4	<0.2 >0.1	32.0 \pm 4.9	<0.05	3.63	4.5
5 α -雄甾烷-3-羰 (V)	7	40	15.9 \pm 0.6	<0.001	0	<0.001	0	<0.001		
5 α -雄甾烷-3-酮 (VI)	7	40	27.0 \pm 0.7	<0.005	0	<0.001	0	<0.001		

* 以 I 的平均重量比对照组增加的数值作为 100%。

** 标准误。

讨 论

上述实验结果指出，给去势大鼠口服 II 和 III，剂量为 30 毫克/公斤时，其同化和雄性素样作用与 I 无显著不同。注射剂量为 12.5 毫克/公斤时，则 II 的同化作用远较 I 为强，而雄性素样作用改变不大；III 的同化作用则很弱，且不出现刺激精囊生长的作用。这两种化合物作用的不同可试从化学结构的不同来解释：I 与 II 在结构上所不同的，仅仅是后者在 4, 5 位无双键存在。因此，其同化作用显著增强可能与 4, 5 位氢化有关。III 在 4, 5 位也无双键，但 3 位酮基为羰基所取代，或许由于这种基团的改变，所以雄性素样作用减弱。这一结果与文献资料提出的 3 位酮基比 3 位羰基的生物活性较强的看法是一致的^[9]。

过去的文献资料认为，类固醇 3 位酮基或可氧化的羰基是保持生物活性所必需的基团。但 Kochakian^[10]，Clinton 等^[11,12]证明同化类固醇的生物活性无需 3 位氧基的存在。1963 年 Dorfman 和 Kincl^[13] 报告 3 位脱氧化合物 17 α -甲基- Δ^2 -(5 α)-雄甾烯-17 β -羰给去势大鼠皮下注射，其雄性素样作用比睾丸素略低，而促提肛肌肥大的作用为睾丸素的 3.6 倍，同化与雄性素样作用比值约等于 4。同时，Bowers 等^[14]，Cross 等^[15]合成了一系列 A 环含不饱和键的 3 位脱氧类固醇，发现 Δ^2 -雄甾烯-17 β -羰的同化作用：雄性素样作用比值较高（约等于 2）。他们把同化作用增强的原因解释为 C₂ 和/或 C₃ 位置上的电子密度增强所致。本实验证明，17 α -甲基-(5 α)-雄甾烷-17 β -羰 (IV) 给去势大鼠口服，同化

作用比 I 明显增强；给去势小鼠肌肉注射，则同化作用与 17 α -甲基睾丸素 (I) 大致相同，而雄性素样作用大大减弱，因之，同化作用：雄性素样作用比值有明显提高（等于 3.63—4.5）。从 3 位脱氧可增强同化作用或减低雄性素样作用来说，我们的实验结果与上述作者报告的结果是一致的。但是对 3 位脱氧引起的同化和雄性素样作用改变的解释，我们的实验结果不支持 Bowers 等的假说。因为本研究所用的化合物 IV 是一个 A 环饱和化合物，C₂ 或 C₃ 位置上的电子密度既没有比 Δ^2 -雄甾烯-17 β -羟，也没有比 Δ^4 -雄甾烯-17 β -羟-3-酮 C₂ 或 C₃ 位上的电子密度增强，相反，由于 3 位脱氧，C₃ 位置上的电子密度降低了。可是其同化作用：雄性素样作用比值并不比 Δ^2 -雄甾烯-17 β -羟的比值低，而比 Δ^4 -雄甾烯-17 β -羟-3-酮的比值明显提高。

一般认为，性激素 17 位上的氧功能基团是保持性激素作用所必需的，如雌性素或雄性素 17 位脱氧后，雌性素作用或雄性素作用减弱或消失^[16]。但雄性素类化合物 17 位脱氧对同化作用有何影响尚未见报告。我们的实验证明，V 和 VI 的剂量为 30—40 毫克/公斤，无论口服或注射，在去势大鼠和小鼠均不出现同化和雄性素样作用。因此，我们提出：17 位氧功能基团不仅是保持性激素样作用所必需，也是保持同化作用所必需。

致谢 本文承金蔭昌、宋振玉和黄量先生提供宝贵意见；芦玉华和高由松同志合成本研究所用化合物；屈志焯同志参加技术工作，特此一并致谢。

参 考 文 献

- [1] Kochakian, C. D., Murlin, J. R.: The Effect of Male Hormone on the Protein and Energy Metabolism of Castrate Dogs, *J. Nutrition*, 1935, **10**, 437—459.
- [2] Berczeller, P. H., Kupperman, H. S.: The Anabolic Steroids, *Clin. Pharmacol. Therap.*, 1960, **1**, 464—482.
- [3] Dorfman, R. L., Shipley, R. A.: *Androgens*, John Wiley and Sons, Inc. New York, N. Y., 1956, p. 218—221.
- [4] Camerino, B., Sala, G.: Anabolic Steroids, *Prog. Drug Res.*, 1960, **2**, 71—134.
- [5] Bush, I. E.: Chemical and Biological Factors in the Activity of Adrenocortical Steroids, *Pharmacol. Rev.*, 1962, **14**, 317—445.
- [6] Hershberger, L. G., Shipley, E. G., Meyer, R. K.: Myotrophic Activity of 19-Nortestosterone and Other Steroids Determined by Modified Levator ani muscle method, *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1953, **83**, 175—180.
- [7] Kochakian, C. D.: A Comparison of the Renotrophic with the Androgenic Activity of Various Steroids, *Am. J. Physiol.*, 1944, **142**, 315—325.
- [8] 张均田、雷海鹏：用去势小鼠提肛肌——海绵球肌测定类固醇蛋白同化作用的方法，待发表。
- [9] Dorfman, R. L., Shipley, R. A.: *Androgens*, John Wiley and Sons, Inc. New York, N. Y., 1956, p. 116—118.
- [10] Kochakian, C. D.: Renotrophic-androgenic Properties of Orally Administered Androgens, *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 1952, **80**, 386—388.
- [11] Clinton, R. O., Manson, A. J., Stonner, F. N., Beyler, A. L., Potts, G. O.: Steroidal [3,2-C] Pyrazoles, *J. Am. Chem. Soc.*, 1959, **81**, 1513—1514.
- [12] Clinton, R. O., Manson, A. J., Stonner, F. N., Christiannse, R. G., Beyler, A. L., Potts, G. O.: Steroidal [2,3-d] Isoxazoles, *J. Org. Chem.*, 1961, **26**, 279.
- [13] Dorfman, R. L., Kincl, F. A.: Relative Potency of Various Steroids in an Anabolic-androgenic Assay Using the Castrated Rat, 1963, *Endocrin*, **72**, 259—266.
- [14] Bowers, A., Edwards, C. J. A., Carpio, H., Calzada, M. C., Denot, E.: Steroids CCCV. Ring A Modified Hormone Analogs. Part I. Some Ring A Olefins, *J. Medicinal Chem.*, 1963, **6**, 156—161.
- [15] Cross, A. D., Orr, J. C., Berköz, B., Cervantes, L., Calzada, M. C., Bowers, A.: Steroids. CCVI. Ring A Modified Hormone Analog. Part II. 2-Methylene Androstanes and 2-Methyl- Δ^1 , Δ^2 - and Δ^3 -

androstenes, *J. Medicinal Chem.*, 1963, 6, 162—166.

- [16] Kirdani, R., Dorfman, R. I., Nes, W. R.: The Preparation, Proof of Structure, Antiestrogenic and Anti-androgenic Activity of 17,17-Dimethyl- $\Delta^{4,14}$ -gonadien-3-one, *Steroids*, 1963, 1, 219—232.

THE ANABOLIC AND ANDROGENIC ACTIVITIES OF 17 α -METHYLTESTOSTERONE AND RELATED STEROIDS IN CASTRATED RATS AND MICE

CHANG CHUN-T' IEN AND LEI HAI-P'ENG

(Department of Pharmacology, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences)

ABSTRACT

17 α -Methyltestosterone (I) and related steroids were studied for their anabolic and androgenic activities in castrated rats and mice. For rats the levator ani weight was taken as the criterion of anabolic activity, and the weight of the seminal vesicles served as a measure of androgenic activity. For mice the same parameters were used and, besides, the kidney weight was employed as an additional measure of anabolic activity.

Results indicated that the anabolic and androgenic activities of 17 α -methyl-(5 α)-androstane-17 β -ol-3-one (II) or 17 α -methyl-(5 α)-androstane-3 β , 17 β -diol (III), 4,5-hydrogenated analogues of (I), at a dosage of 30 mg/kg by gavage in castrated rats, were not significantly different from those of I. However, when the doses were reduced to 12.5 mg/kg, the anabolic activity of II in castrated mice was much greater than that of I, while the androgenic activity of the two compounds was approximately equal. The anabolic and androgenic activities of III were weaker as compared with those of I. The compound 17 α -methyl-(5 α)-androstane-17 β -ol (IV) (3-deoxy-analog of I) at a daily dosage of 30 mg/kg by gavage in castrated rats was shown to be more active on the levator ani and the seminal vesicles than I. In castrated mice, IV caused similar anabolic effects as I in doses of 12.5 mg/kg, while its androgenic potency was only one third of that of I. Castrated rats and mice were treated with 5 α -androstane-3-ol and 5 α -androstane-3-one (17-deoxy analogue of testosterone) by gavage or by injection at a dosage of 30 and 40 mg/kg. Neither anabolic nor androgenic activities were observed. From the above results, it may be concluded that removal of the oxygen atom from C₃ and hydrogenation at C₄ and C₅ in 17 α -methyltestosterone molecule may increase anabolic and/or decrease androgenic activity, while removal of the oxygen from C₁₇ of testosterone results in loss of both anabolic and androgenic activities.

In view of the increase in anabolic activity by removal of the oxygen at C₃, synthesis of and pharmacological studies on a series of 3-deoxy analogues of testosterone and cortisone are in progress and will be reported in due course.