b) MAD caused more marked improvement in muscle strength in patients with progressive muscular dystrophies when administered as an adjunct to amino acid treatment compared with patients treated with other types of treatment.

c) MAD caused the decrease in the urinary excretion of urea in patients suffering from various diseases e.g. malnutrition, muscular atrophies, nephrotic syndrome, addison's disease and ulcerative colitis. Serum level of cholesterol was often found to be decreased in these cases.

Studies of Long Acting Sex Hormones

I. Comparison of Effectiveness of Long Acting Male Sex Hormones

By

Minoru HOSOI, Joji YAMADA and Akira KAMBEGAWA

(Research Laboratory, Teikoku Hormone Manufacturing Co.)

Long acting sex hormones, namely testosterone heptanoate, testosterone cyclopentylpropionate, testosterone phenylpropionate and testosterone isobutyrate, corresponding to 5mg. of free testosterone were injected only once into castrated male rats and the effectiveness of these hormones were compared each other. The weights of seminal vesicle, prostate gland, penis and bulbocavernosus muscle, and the fructose contents of seminal vesicle and prostate glands were determined weekly for the eight weeks to be compared each other. The result were as follows :

1) The greatest effects were obtained with testosterone heptanoate and testosterone cyclopentylpropionate on the 4th week, with testosterone phenylpropionate on the 3rd week and testosterone isobutyrate on the 2nd week.

2) As to the weight of sexual gland, fructose content, and durability of male sex hormones, the activity of these hormones are in the following order. Testosterone heptanoate>Testosterone cyclopentylpropionate>Testosterone phenylpropionate>Testosterone isobutyrate.

Studies of Long Acting Sex Hormones

II. Comparison of Effectiveness of Long Acting Male Sex Hormones

By

Minoru HOSOI, Akira KAMBEGAWA and Masaaki Tarutani

(Research Laboratory, Teikoku Hormone Manufacturing Co.)

1) For comparative experiments of the effectiveness of long acting male sex hormones. Each 100mg. of testosterone propionate, testosterone heptanoate, testosterone cyclopentylpropionate, testosterone isobutyrate and testosterone undecylate was dissolved in oil and injected into normal male rabbits subcutaneously and 17-ketosteroids and steroid alcohol in urine were determined and these results were compared.

2) The effectiveness of testosterone heptanoate, testosterone cyclopentylpropionate and testosterone undecylate are durable for 8 days or more. No sudden upward ascension was shown in determination of both excretes (17-ketosteroid and steroid alcohol). With testosterone isobutyrate and testosterone phenylpropionate, the durableness was inferior while testosterone propionate is temporary, and the excretive value takes sudden upward tendency.

3) The sum of the recovered values of 17-ketosteroid after the injection of each experimental steroids during 15 days were 4.0mg. for testosterone propionate, 4.47mg. for testosterone heptanoate, 3.3mg. for testosterone phenylpropionate, 5.17mg. for testosterone cyclopentylpropionate, 4.93mg. for testosterone undecylate, and 4.4mg. for testosterone isobutyrate. In the same manner, the recovered values for steroid alcohol were 53mg. for testosterone propionate, 39mg. for testosterone heptanoate 48mg. for testosterone phenylpropionate, 61mg. for testosterone cyclopentylpropionate, 43mg. for testosterone undecylate, and 21mg. for testosterone isobutylate.

Studies of Long Acting Sex Hormones

III. Comparison of Effectiveness of Long Acting Protein Anabolic Hormones

By

Minoru HOSOI, Joji YAMADA, Akira KAMBEGAWA

and **Osamu KOBAYASHI**

(Research Laboratory, Teikoku Hormone Manufacturing Co.)

Methylandrostenediol (MAD), androstanolone (ASL), and 19-norsteroids and their esters were injected into castrated male rats and levator ani muscle, penis, adrenal, kidney, etc., were removed and their weights were determined to be compared. The anabolic and androgenic activities of these steroids were examined.

1) Each five mg. of MAD, MAD-3-propionate, MAD-17-propionate, and MAD-3,17-dipropionate was administered once a day for 5 days. On following such days after injection as 5th, 10th and 15th day, each levator ani muscle and seminal vesicles were removed and weighed. With the comparison of these weights, it was shown that the activities of esters were inferior than the free MAD. Among these esters, 3-propionate was superior than other esters in activities. 10mg. of each steroids and their esters were injected once a day for 5 days, and in the comparison on the 5th day, the best result was given with MAD and followed with 3-propionate.

2) Each one mg. of ASL, ASL-valerate, ASL-heptanoate, MAD, MAD-heptanoate and testosterone propionate was injected once a day for 10 days, and after the completion of injection, levator ani muscle, seminal vesicle, and prostate gland were removed and weighed to be compared. The good durable activities were shown with either ASL-valerate or ASL-heptanoate, and a pretty strong vililism was shown with ASL-valerate. The same male hormone activity was shown by an experiment in which each 5mg. of steroids and esters was injected only once into the animals to be sacrificed after 10 days, 20 days and 30 days.

3) Each one mg. of 19-nor-testosterone phenylpropionate (19-nor-TPP), 19-nor-methyltestosterone (19-nor-MT), ASL-valerate and TP was injected once a day for 10 days into male rats, and after the completion of injection, namely on the following day, after 5 days and 10 days, levator ani muscle,

持 続 性 性 ホ ル モ ン の 研 究

第Ⅱ報 持続性男性ホルモンの効力比較

帝国臓器製薬株式会社 研究部

細 井 稔
神 戸 川 明
樽 谷 正 朗

緒 言

持続性男性ホルモン諸エステル類の生物実験による効力比較を前報¹⁾に於いて報告した。即ち testosteroneheptanoate (T.H.), testosterone cyclopentylpropionate (T.C.P.), testosterone phenylpropionate (T.P.P.) 及び testosterone isobutyrate (T.I.B.) の油溶液を testosterone 5mg 相当量を 1 回去勢雄ラットに注射し 8 週迄毎週屠殺し精囊、前立腺、陰茎、球海綿体筋の重量と精囊と前立腺中のフラクトース含量を測定した。その結果 T.H., T.C.P. の最大効果は第 4 週, T.P.P. は第 3 週, T.I.B. は第 2 週に現われ、最大効果の比較では T.H. > T.C.P. > T.P.P. > T.I.B. の傾向にあつた。男性ホルモンの効力測定法としては上記の様なラットの精囊と前立腺の重量、組織より判定する方法、去勢鶏の鶏冠増大を測る方法が主として行われて居る。臨床的には人尿中 17-Ketosteroid の定量が主として行われその他 semen の量, erection の回数, sexual libido や potent 等を測定する方法が行われて居る。17-Ketosteroid 測定以外の方法は精神的、肉体的の複雑な要因による変動を多く受け不正確をまねがれない。Hamburger²⁾ は健康正常男子に testosterone propionate (T.P.), T.H., T.C.P. の油溶と testosterone furanate, T.I.B. の microcrystal の水性 suspension を注射し、尿中 17-Ketosteroid を測定し、T.P. は最も一過性で T-furanate は非常に吸収悪く 17-Ketosteroid に殆んど変化なく、T.I.B. の水性 suspension は約 20 日の持続性あり T.H. T.C.P. はこの中間の持続性を示す事を発表した。Schneider³⁾ は Malchypogenitalism に T.P. T.H. を投与し同様の実験を行つた。我々は雄家兎に T.H., T.C.P. T.I.B. 及び testosterone-undecylate (T.U.) 等の持続性男性ホルモン諸エステル類を夫々 100mg 1 回注射し、尿中 17-Ketosteroid と steroid alcohol の日中変動を検討し、それ等ホルモンの持続性を検討した。尿中 steroid alcohol の測定については我国では未だ本格的に行われて居らぬのでこの点に我々は特に興味を持った。本測定法については Engel⁴⁾ の方法及び我々の変法⁵⁾があるが本邦では未だ殆んど行われてない。

実 験 方 法

使 用 検 体

T.H., T.C., T.P.P., T.I.B., T.U. 等は我々の合成した純品を使用し 1cc 100mg の油溶液とし用いた。

実 験 動 物

体重 2kg 附近の雄家兎を一匹宛採尿ケージに入れ同一条件下に飼育し 24 時間尿を注射前 1 週間採尿して注射前の 17-ketosteroid 値を測定し、前記検体 100mg/cc を注射後 15 日迄毎日採尿測定した。同一検体につき 3 回の繰返し実験を行つた。

17-Ketosteroid 測定法

家兎 1 日尿は平均 200cc 前後である。尿 50cc に対し 5 倍稀釈ホルマリン水を 1cc 宛色素除去の目的で加え、更に尿の 15% vol の濃塩酸を加え 100°C 15 分加熱する。冷後同量のベンゼンで 3 回良く抽出し、ベンゼンは N-NaOH 100cc で 3 回洗い、更に中性になるまで水洗、ベンゼンは脱水蒸溜、中性部分を得る。これより $\frac{1}{10}$ をとり Callow の Zimmerman 変法⁶⁾で 17-Ketosteroid を測定した。即ち試料, standard (dehydroepi-

androsterone) 及び blank の試験管に 1% metadinitrobenzene のアルコール液 0.4cc と 2.5N-KOH のエタノール液 0.2cc を加え 20°C で 30 分放置後メタノール 4cc で稀め 520 μ m, 430 μ m で吸光度を測定し, Fraser の補正式より尿中 17-Ketosteroid を算出した。

Steroid alcohol 測定法

細井, 神戸川の方法⁵⁾によつた。即ち上記 17-Ketosteroid 測定の残部を無水酢酸, ピリジンの等量混液 0.1cc を加えグリセリン浴で 110~120°C で 30 分加熱, メタノールを少量加え加熱して無水酢酸, ピリジンを蒸発させ最後にデシケーター中で完全に乾燥する。Standard とし dehydroepiandrosterone 500 γ と blank も同様に操作する。この乾燥物に 5N-NaOH 0.2cc を加え 25°C 30 分放置後 0.5N-HCl 1.5cc を加え, pH を 1.2~1.8 とする。次に加水 4.5cc とし, これに 0.6% KClO₃ 含有の 2.5% FeCl₃ 液 0.5cc を加え, 次にエーテル 4cc を加え良く振盪し, 30 分後下層をコマゴメピペットで採取し 420 μ m と 510 μ m の吸光度を測定し Fraser 補正式により mg 数を算出した。

実験結果

第 1 図に 17-Ketosteroid, 第 2 図に steroidalcohol の注射前後の日中変動を示す。第 1 図についてみると注射後 2 日か 3 日目に何れも極大を示す。比較的速効性の T.P., T.I.B. は急激に他よりも高く上昇するがその低下の割合も早く持続性に乏しい。T.H., T.C.P., T.U. 等は注射後の上昇は T.P. の様に急激でないが 8 日以上明かに上昇値が続く持続性のある事が判る。T.P.P. は比較的回収値低いが大体 T.P. と T.H. 等の中間型の傾向を示した。注射後 15 日間の測定値合計 (注射前 7 日間の平均測定値を毎日の測定値より引いた) は T.P.=4.0mg, T.H.=4.47mg, T.P.P.=3.30mg, T.C.P.=5.17mg, T.U.=4.93mg, T.I.B.=4.44mg であった。

Steroid alcohol 測定値は T.P., T.I.B., T.P.P. は注射後 2~3 日に極大値を示すが T.H., T.C.P., T.U. 等はやや遅い傾向がある。T.P. 等の速効性のものの極大値は 17-Ketosteroid の場合と同様他の持続性のものに比較しかなり高いが持続性が少い。一方 T.H. 等は極大値は低いが持続性の良い事が判る。注射後 15 日間の測定値合計を 17-Ketosteroid の場合と同様に算出すると T.P.=53mg, T.H.=39mg, T.P.P.=48mg, T.C.P.=61mg, T.U.=43mg, T.I.B.=21mg であった。

考 按

Schneider³⁾は T.H. 油溶 250mg 注射の持続性が 3~5 週である事を 17-Ketosteroid 排泄量測定より知つた。即ち類官能症に 250mg の T.H. 油溶液を 1 回注射し 20 日以上明かに持続性を認めた。投与前の 17-Ketosteroid 排泄値が 1 日 6~15mg を示したものが注射後は最高 1 日 28mg を示し注射量の 62% が 17-Ketosteroid とし回収された。同様な実験の他の 1 例では 16 日迄明かな持続性あり 56% が回収された。100mg 投与では 17-Ketosteroid の値は 4 日迄明かであったが臨床的には 12 日迄は明瞭な持続性が感ぜられたと云う。本実験に於ては我々は家兎尿中の 17-Ketosteroid 測定値では Schneider³⁾ の様な高い回収値を得られなかつた。即ち最高は T.C.P. の 5.17% 最低は T.P.P. の 3.3% であった。McCullagh⁷⁾は T.C.P. 300mg 注射し 17-Ketosteroid を測定し 10~20 日の持続性があると云ひ、Hamburger²⁾は T.-valerate 300mg は 9 日間に 38% が 17-Ketosteroid とし排泄されるとしている。以上何れの報告に於いても人に於いては T.P. は一過性で上昇も早いが一方向低下も早く、T.H., T.C.P. は持続性あるが最大値は T.P. より相当低い。T.P.P. はこれに次ぎ、T.I.B. は T.P.P. より持続性少い事が結論されて居る。我々が家兎にこれ等ホルモン 100mg 1 回注射した本実験に於いても、排泄の型は 17-Ketosteroid 及び steroid alcohol 共に極めて良く類似して居り、且つ前記の諸臨床報告とも大体回収率以外では良く一致する。Steroid hormone の代謝物質とし 17-Ketosteroid の様に特有の Ketogroup を持たぬ alcohol 性 steroid は pregnanediol 類, androstanediol 類, Pregnanetriol 類等重要な代謝物が多数排泄されるが、これ等は一般には測定されぬ事が多かつた。Engel⁴⁾は特にこれ等の重要性を指摘し、hydroxam 酸による steroid alcohol 測定法を発表し我々もこの変法⁵⁾を検討した。本研究に於いても steroid alcohol 測定が hormonebalance を良く反映する事を知つた。即ち T.H. T.C.P. T.U. は最も持続性あり、T.P.P.

第 1 図 17-Ketosteroid の 比 較

第 2 図 Steroid Alcohol の 比 較

T.I.B. はこれに次ぎ T.P. は最も一過性である事が 17-Ketosteroid のみならず steroid alcohol 測定でも我々は新たに証明する事が出来た。Hamburger²⁾は T.I.B. の microcrystal suspension が20日の持続性ありとして居るが油溶液を用いた我々の実験ではこの様な持続性がなかつた。この点については前報Ⅰの去勢ラットの性腺重量やそれに含まれるフラクトース含量比較の成績と良く一致して居る事が判つた。

結 論

1) 持続性男性ホルモン効果の比較実験法とし testosterone propionate (T.P.), testosterone heptanoate (T.H.), testosterone cyclopentylpropionate (T.C.P.), testosterone phenylpropionate (T.P.P.), testosterone isobutyrate (T.I.B.) 及び testosterone undecylate (T.U.) 等の100mg 含有油溶液を正常雄家兎に皮下注射し尿中 17-Ketosteroid と steroid alcohol の測定比較を行つた。

2) T.H., T.C.P., T.U. は8日以上持続性あり両測定法排泄の型は余り急激な上昇は無い。T.I.B., T.P.P. はこれ等より持続は劣り、T.P. は最も一過性であるが排泄値は急に上昇する。

3) 各検体を注射してから15日間の 17-Ketosteroid の回収値合計は T.P.=4.0mg, T.H.=4.47mg, T.P.P.=3.3mg, T.C.P.=5.17mg, T.U.=4.93mg, T.I.B.=4.44mg であつた。同様に steroid alcohol の回収値は T.P.=53mg, T.H.=39mg, T.P.P.=48mg, T.C.P.=61mg, T.U.=43mg, T.I.B.=21mg であつた。

文 献

- 1) 細井, 山田, 神戸川: 持続性男性ホルモン効力比較 (本誌前報).
- 2) Hamburger, C.: Acta Endoc. **22**, 379 (1956).
- 3) Schneider, J.A.: Arztlicher Wochenschr. **9**, 392 (1954).
- 4) Engel, L.L.: J, Biol. Chem. **213**, 87 (1955).
- 5) 細井, 神戸川: 金沢大学, 結核研究所年報 16巻 (上) 135 (1958).
- 6) Callow, N.H.: Biochem. J. **32**, 1312 (1938).
- 7) Mc. Cullagh, E.P.: J. Clin. Endoc. **12**, 3 (1952).