

ACȚIUNEA ESTROGENĂ A UNOR NOI ESTERI NITRAȚI AI ESTRADIOLULUI *

dr. I. Kun

Esterificarea hormonilor steroizi produce de obicei modificări cantitative în acțiunea lor (ca durată și intensitate), uneori duce însă și la schimbări calitative ale efectului. Astfel, în cazul estrogenilor naturali și sintetici utilizați în terapie, esterii formați cu acid acetic, propionic, benzoic, palmitic etc., administrați intramuscular sînt absorbiți mult mai lent, avînd acțiune prelungită (*Goodman și Gilman* 1966).

În ultimii ani, la Institutul de cercetări chimico-farmaceutice, Filiala Cluj, au fost sintetizați o serie de nitrați de steroizi, de către colectivul tov. dr. docent F. Hodoșan*. Dintre aceștia, nitrații de androgeni au manifestat schimbări calitative față de compuşii de bază, dispărînd efectele androgene și anabolice și apărînd acțiuni antiinflamatoare marcate, comparabile cu cele ale glucocorticoizilor (*Cuparencu și colab.* 1970); la unii s-au observat și efecte coronarodilatatoare (*Cuparencu și colab.* 1969).

Deoarece, după cunoștințele noastre, nitrații estradiolului sintetizați de colectivul amintit, n-au fost încă cercetați sub aspectul proprietăților biologice, ne-am propus să studiem acțiunile lor estrogenice și eventual antiestrogenice. Au fost cercetați doi esteri ai estradiolului: 3-acetoxi-estra-

* Autorul exprimă mulțumiri tov. dr. docent. F. Hodoșan pentru substanțele puse la dispoziție.

diol-17-beta-nitratul și estradiol-3-benzoat-17-beta-nitratul (prescurtat: AON resp. OBN).

Material și metodă

Cercetările au fost efectuate pe șobolance ovariectomizate, în testul Allen-Doisy și testul greutateii uterine.

Atît substanțele de cercetat cît și cele de referință (estradiolul, din Estradiol^R fiole și estradiol substanță Merck, respectiv estradiol-3-benzoatul din Ginosedol B^R fiole) au fost dizolvate în alcool benzilic și diluate apoi cu apă sau ulei de floarea soarelui, avîndu-se grijă ca în cadrul unei experiențe, atît substanța de cercetat cît și cea de referință să aibă același vehicul.

In testul Allen-Doisy, substanțele au fost administrate o singură dată, în injecții s. c. respectiv prin gavaj. Un lot de animale a fost tratat cu substanța de cercetat, al doilea lot cu substanța de referință, iar al treilea cu ambele, administrîndu-se substanțele în locuri diferite în țesutul subcutanat. Pe lingă acest tratament cu o doză unică, OBN a mai fost administrat la două animale timp de 3 zile consecutiv, cîte o injecție pe zi.

Frotiurile vaginale s-au recoltat zilnic, la aceeași oră, și s-au colorat cu hemalaun — fuxină acidă — verde de lumină. Am considerat pozitive acele frotiuri care au prezentat un aspect corespunzător estrului, chiar și în prezența citorva leucocite pe cîmp.

Testul greutateii uterine a fost efectuat pe loturi de cîte 6 animale ovariectomizate. Greutatea uterină a animalelor tratate cu substanțele de cercetat în diferite doze, a fost comparată cu loturile martore injectate numai cu apă distilată, cu loturile tratate cu substanța de referință în diferite doze, precum și cu acele loturi care au primit ambele substanțe în dozele respective. Substanțele de cercetat și cele de referință au fost administrate zilnic, timp de 3 zile, la aceeași oră, s. c. La 24 de ore după ultima injecție animalele au fost sacrificate, uterele prelevate, fiind cîntărite în stare umedă cu balanță de torsionare. Am determinat greutatea uterină relativă, raportată la 100 g/corp. Am calculat valorile medii pe loturi, eroarea standard (ES), precum și semnificația diferențelor dintre diferitele loturi cu testul *t* al lui Student.

Rezultate

In testul Allen-Doisy acțiunea 3-acetoxi-estradiol-17-beta-nitratului a fost cercetată în următoarele doze: 5, 10, 20, 25, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 500, 1000 și 2000 micrograme/kg. Doza de 100 microg/kg a provocat estru la fiecare animal tratat, starea estrală durînd în medie 1,8 zile (5 animale). Estradiolul a cauzat un efect similar în doze mult mai mici, chiar și în 5 microg/kg. Astfel, activitatea AON a fost considerabil mai slabă decît a estradiolului. Doza de 500 microg/kg de AON a indus estru cu o durată medie de 3 zile (10 animale), 1000 microg/kg cu o durată de 4 zile (8 animale), iar 2000 microg/kg timp de 5 zile (7 animale).

Administrat prin gavaj în doze de 4000 și 10.000 microg/kg, AON a provocat estru cu o durată de o zi (3 animale). Substanța n-a manifestat proprietăți antiestrogene în doze de 1, 2, 10, 500 și 1000 microg/kg, poten-

fiind ușor chiar acțiunea estradiolului (administrat în doze de 2, 5 și 10 microg/kg).

Estradiol-3-benzoat-17-beta-nitratul, cercetat în doze de 1, 5, 10, 20, 40, 100, 200 și 1000 microg/kg, a provocat starea de estru în doză de 10 microg/kg, cantitate identică cu doza activă a substanței de referință (estradiol benzoat). Durata estrului după OBN în această doză a fost de 1,4 zile (5 animale), iar după estradiol-3-benzoat 2,3 zile (10 animale). Deci cele două substanțe diferă doar în durata acțiunii lor. Această corelație se menține și la 20 resp. 40 microg/kg : durata medie a estrului indus de substanța cercetată a fost de 1,4 respectiv 2 zile (5 respectiv 4 animale), mai scurtă ca efectul dozelor similare din substanța de referință (3,1 zile la 11 și 3,25 de zile la 5 animale).

La dozele mai mari această corelație nu se observă; esterul dublu în 100, 200 respectiv 1000 microg/kg provocând estru cu o durată de 2,6 și 7,55 zile (media pe 3,3 respectiv 12 animale), mai lung ca estrul indus de estradiol-benzoat în doze similare (2, 3 și 5,86 zile pe 2, 2 respectiv 7 animale). Chiar dacă primele două rezultate nu sînt luate în considerare avînd în vedere numărul mic al animalelor tratate, rezultatele obținute după 1000 microg/kg sînt convingătoare.

Animalele tratate cu substanța cercetată în doză de 1000 microg/kg/zi timp de 3 zile pe cale s. c., au manifestat un estru prelungit de 37 respectiv de 40 de zile.

Acțiunea estrogenă a OBN a fost prezentă și după administrarea lui prin gavaj, în doze de 4000 respectiv 10000 microg/kg, provocînd estru cu durata de o zi (3 animale).

Nici această substanță, în doze de 100, 200 și 1000 microg/kg, n-a manifestat efect antiestrogen față de estradiolul administrat în 2,5 microg/kg.

Testul greutateii uterine. 3-acetoxi-estradiol-17-beta-nitratul, administrat în doze de 10 și de 2000 microg/kg/zi, timp de 3 zile, a crescut semnificativ, respectiv foarte semnificativ ($0,001 < p < 0,01$ resp. $p < 0,001$) greutatea uterină relativă față de loturile martore (de la 64,3 la 118,6 resp. de la 73,1 la 214); substanța de referință, estradiolul, în doze de 5 resp. 10 microg/kg/zi, timp de 3 zile, a indus de asemenea creșterea foarte semnificativă a greutateii uterine (de la 64,3 la 130,9 resp. de la 73,1 la 141,9, $p < 0,001$), efectul fiind ceva mai pronunțat ca acțiunea AON, administrat în doze de 3 ori 10 microg/kg.

După administrarea concomitentă a celor două substanțe, greutatea uterină a crescut și mai mult față de loturile martore (de la 64,3 la 155,5 respectiv de la 73,1 la 203,3, $p < 0,001$), creșterea rămînînd totuși inferioară față de suma efectelor parțiale.

În cursul testării acțiunii uterotrope a OBN, estradiolul, utilizat ca substanță de referință în doze de 5 și 10 microg/kg/zi timp de 3 zile, a dus la creșterea aproximativ dublă a greutateii uterine față de loturile martore (de la 76,4 la 148,6 și de la 64,3 la 130,9, $p < 0,001$). Substanța cercetată, în doză de 3 ori 1 microg/kg n-a influențat semnificativ greutatea uterină (martor: 64,3, tratat 57), dar în doză de 3 ori 1000 microg/kg a dus la creșterea sa intensă (de la 76,4 la 184, $p < 0,001$).

Administrarea concomitentă a celor două substanțe a determinat o creștere ponderală și mai intensă a uterului (de la 64,3 la 132,4 respectiv

I. KUN: ACȚIUNEA ESTROGENĂ A UNOR NOI ESTERI NITRAȚI AI ESTRADIOLULUI

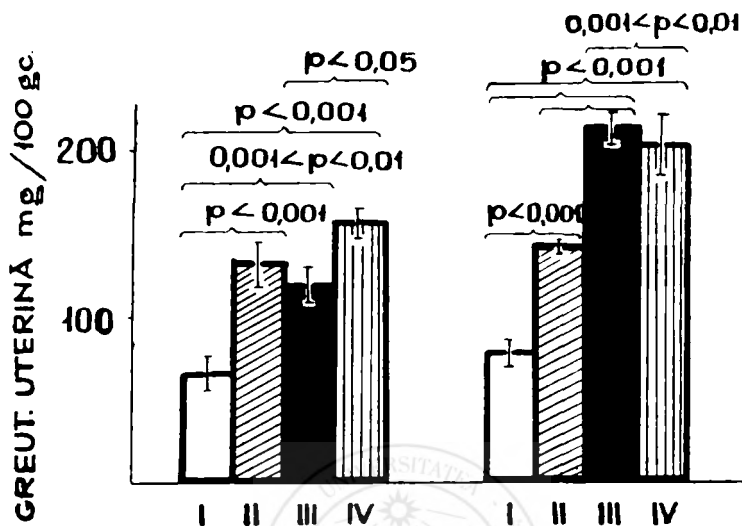


Fig. nr. 1: Acțiunea 3-acetoxi-estradiol-17-beta-nitratului (AON) asupra greutății uterine. Legenda: I - martor, II - estradiol (OD), III = AON, IV = OD + AON. In prima grupă de coloane: OD = 3 ori 10 microg kg, AON = 3 ori 10 microg kg. In a doua grupă de coloane: OD = 3 ori 5 microg kg, AON = 3 ori 2000 microg kg

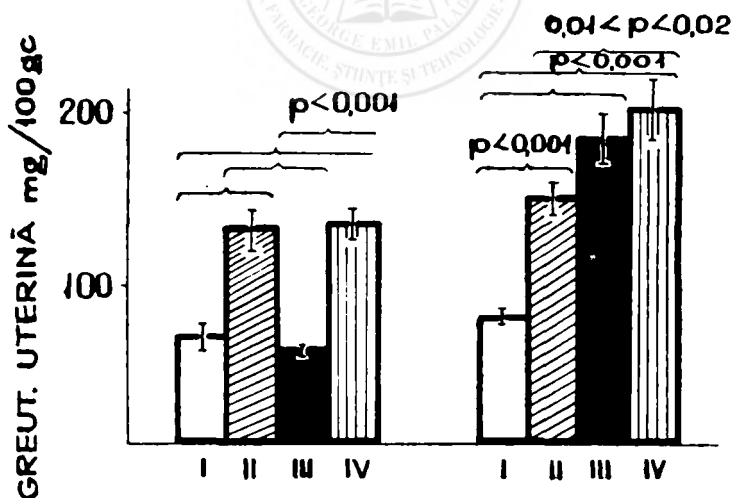


Fig. nr. 2: Acțiunea estradiol-3-benzoat-17-beta-nitratului (OBN) asupra greutății uterine. Legenda: I - martor, II - estradiol (OD), III - OBN, IV = OD + OBN. In prima grupă de coloane: OD = 3 ori 10 microg kg, OBN = 3 ori 1 microg kg. In a doua grupă de coloane: OD = 3 ori 5 microg kg, OBN = 3 ori 1000 microg kg

de la 76,4 la 200, $p < 0,001$), dar și în acest caz creșterea a fost mai mică decât suma efectelor parțiale.

Discuții și concluzii

Am cercetat acțiunea biologică a doi nitrați de estradiol: AON și OBN, presupuși a fi dotați cu acțiuni estrogenice și eventual antiestrogenice. Acest lucru ni s-a părut interesant cu atât mai mult, cu cât la o altă categorie de steroizi nitrați, derivați ai androsteronului, *Cuparencu* și colab. (1969, 1970) au observat apariția unor schimbări calitative, dispărînd efectele androgeno-anabolice și apărînd acțiuni antiinflamatoare comparabile cu cele ale glucocorticoizilor.

Ambele substanțe s-au dovedit a poseda proprietăți estrogenice, în ambele teste întrebunțate.

3-acetoxi-estradiol-17-beta-nitratul a provocat estru vaginal numai în doză de 100 microg/kg la fiecare animal tratat (estradiolul fiind eficace în doză de 2,5, 5, 10 microg/kg), dar deja în doză de 3 ori 10 microg/kg/zi a crescut semnificativ greutatea uterină; sub acest aspect eficacitatea nitraturului a fost apropiată de cea a estradiolului. AON are deci o activitate estrogenă inferioară estradiolului, mai ales în testul Allen-Doisy și aproape egală în testul greutății uterine. De remarcat faptul că substanța cercetată s-a dovedit activă și prin administrare orală (în primul test).

Estradiol-3-benzoat-17-beta-nitratul în testul Allen-Doisy a provocat estru în doză identică (10 microg/kg) cu substanța de referință, estradiol-3-benzoatul. Deosebirea dintre cele două substanțe s-a manifestat doar prin durata de acțiune, diferită și în alte doze. Activitatea OBN — tot în reacția Allen-Doisy — este foarte apropiată și de cea a estradiolului. Substanța a fost eficace pe cale orală, ca și AON. Pe baza testului greutății uterine nu ne putem pronunța asupra eficacității minime, deoarece doza mică pe care am utilizat-o n-a avut nici un efect.

Nici una dintre substanțele cercetate n-a prezentat acțiune antiestrogenă în testele și dozele studiate. Remarcăm în acest context că am observat chiar efecte sinergice cu substanțele de referință (estradiol, estradiol-3-benzoat) în anumite doze.

Din cele expuse putem conchide că esterii nitrați ai estradiolului cercetați de noi, mențin caracterul estrogenic al substanței din care provin, modificîndu-se doar intensitatea și durata efectului.

Sosit la redacție: 9 ianuarie 1974.

Bibliografie

1. *Cuparencu B.* și colab.: Pharmacological properties of androgenic steroid nitrats. In: Regional Congress of the Intern. Union of Physiol. Sciences, Brașov, aug. 1970. Abstracts of papers; 2. *Cuparencu B., Tițaș I., Csutak V., Mocan R.*: In: Médicaments et métabolisme du myocarde et du muscle strié. Symposium International, Nancy, 1969, 549; 3. *Dorfman R.*: In: Méthods in hormone research. vol. II, Academic Press, New York, 1962; 4. *Goodman L. S., Gilman A.*: The pharmacological basis of therapeutics. El. MacMillan Comp. New York—London—Toronto, 1966; 5. *Hodoșan F.* și colab: Arzneimittel-Forschung (1969), 19, 684.