

## STEROIDES URINAIRES DANS UN CORTICOSURRENALOME VIRILISANT

RENÉ-JEAN BEGUE, JEAN-MARCEL BRUN, JEAN DESGRES et PRUDENT PADIEU

avec la collaboration technique de

MADELEINE MORINIERE et NICOLE PITOIZET

Groupe de Biochimie de la Différenciation Cellulaire, Laboratoire de Biochimie Médicale,  
Faculté de Médecine, 7 boulevard Jeanne d'Arc, Université de Dijon, France

(Received 24 October 1975)

### SUMMARY

The present report concerns a gas chromatographic-mass spectrometric study on the urinary excretion of steroids during a virilizing malignant corticoadrenaloma resulting in the identification of thirty five steroids. They are: twelve 17-oxo-steroids, two 5 $\alpha$ -androstane-3 $\alpha$ ,17-diols, two 5-androstene-3 $\beta$ ,17-diols, four 5-androstane-3 $\alpha$ ,16,17-triols, the 5 $\beta$ -androstane-3 $\alpha$ ,11 $\beta$ ,17 $\alpha$ -triol, the 5 $\alpha$ -androstane-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -triol, the 5-androstene-3 $\beta$ ,16 $\alpha$ ,17 $\beta$ -triol, the 3 $\alpha$ ,16 $\alpha$ -dihydroxy-5 $\alpha$ -pregnan-20-one, the 3 $\beta$ ,17 $\alpha$ -dihydroxy-5 $\alpha$ -pregnan-20-one, the 5 $\beta$ -pregnane-3 $\alpha$ ,20 $\alpha$ -diol, the 5-pregnene-3 $\beta$ ,20 $\alpha$ -diol, the 5-pregnene-3 $\alpha$ ,16 $\alpha$ ,20 $\alpha$ -triol, the 5 $\beta$ -pregnane-3 $\alpha$ ,17,20 $\alpha$ -triol, the 5-pregnene-3 $\beta$ ,17,20 $\alpha$ -triol and the 3 $\alpha$ ,17,21-trihydroxy-5 $\beta$ -pregnan-20-one.

The quantitative assay of these metabolites done by g.l.c., showed that the 17-oxo-steroid excretion, averaging 111,9 mg/24 h, was linked to a major excretion of 3 $\beta$ -hydroxy-5-androstene-17-one, 3 $\alpha$ -hydroxy-5 $\beta$ -androstane-17-one, 3 $\alpha$ ,11 $\beta$ -dihydroxy-5 $\alpha$ -androstane-17-one, 3 $\alpha$ -hydroxy-5 $\alpha$ -androstane-17-one and 3 $\beta$ ,16 $\alpha$ -dihydroxy-5-androstene-17-one averaging respectively 46,80, 30, 17,40, 6,10 et 5,25 mg/24 h. The relatively important metabolites are 5 $\beta$ -pregnane-3 $\alpha$ ,17,20 $\alpha$ -triol, 5-androstene-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diol, 5 $\alpha$ -androstane-3 $\beta$ ,16 $\beta$ ,17 $\alpha$ -triol, 5 $\beta$ -androstane-3 $\alpha$ ,16 $\alpha$ ,17 $\beta$ -triol, 5 $\alpha$ -androstane-3 $\alpha$ ,17 $\beta$ -diol and 3 $\alpha$ ,17,21-trihydroxy-5 $\beta$ -pregnan-20-one averaging respectively 9,80, 7,60, 6,95, 3,25, 2,90 and 2,35 mg/24 h.

The identification of three 5-androstane-3,16 $\beta$ ,17 $\alpha$ -triols confirms the results of other authors which showed their formation from the 4,16-androstadien-3-one.

### RESUME

L'analyse systématique de stéroïdes excrétés par une malade présentant un corticosurrénalome malin virilisant a été effectuée par chromatographie gaz-liquide et par spectrométrie de masse. 35 stéroïdes sont identifiés. Ce sont douze 17-oxostéroïdes, deux 5 $\alpha$ -androstane-3 $\alpha$ ,17-diols, deux 5-androstène-3 $\beta$ ,17-diols, quatre 5-androstane-3 $\alpha$ ,16,17-triols le 5 $\beta$ -androstane-3 $\alpha$ ,11 $\beta$ ,17 $\alpha$ -triol, le 5 $\alpha$ -androstane-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -triol, le 5-androstène-3 $\beta$ ,16 $\alpha$ ,17 $\beta$ -triol, les 3 $\alpha$ ,16 $\alpha$ -dihydroxy-5 $\alpha$ -prégnan-20-one, et 3 $\beta$ ,17 $\alpha$ -dihydroxy-5 $\alpha$ -prégnan-20-one, les 5 $\beta$ -prégnane-3 $\alpha$ ,20 $\alpha$ -diol, 5-prégnène-3 $\beta$ ,20 $\alpha$ -diol et 5-prégnène-3 $\alpha$ ,16 $\alpha$ ,20 $\alpha$ -triol, et les 5 $\beta$ -prégnane-3 $\alpha$ ,17,20 $\alpha$ -triol, 5-prégnène-3 $\beta$ ,17,20 $\alpha$ -triol, et 3 $\alpha$ ,17,21-trihydroxy-5 $\beta$ -prégnan-20-one.

Le dosage de ces métabolites effectué par cgl montre que l'excrétion des 17-oxostéroïdes à 111,90 mg/24 h est liée aux excrétions massives de 3 $\beta$ -hydroxy-5-androstène-17-one, 3 $\alpha$ -hydroxy-5 $\alpha$ -androstane-17-one, 3 $\alpha$ ,11 $\beta$ -dihydroxy-5 $\alpha$ -androstane-17-one, 3 $\alpha$ -hydroxy-5 $\alpha$ -androstane-17-one et 3 $\beta$ ,16 $\alpha$ -dihydroxy-5-androstène-17-one respectivement à 46,80, 30, 17,40, 6,10 et 5,25 mg/24 h.

Les autres métabolites quantitativement prépondérants sont les 5 $\beta$ -prégnane-3 $\alpha$ ,17,20 $\alpha$ -triol, 5-androstène-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diol, 5 $\alpha$ -androstane-3 $\beta$ ,16 $\beta$ ,17 $\alpha$ -triol, 5 $\beta$ -androstane-3 $\alpha$ ,16 $\alpha$ ,17 $\beta$ -triol, 5 $\alpha$ -androstane-3 $\alpha$ ,17 $\beta$ -diol et 3 $\alpha$ ,17,21-trihydroxy-5 $\beta$ -prégnan-20-one respectivement à 9,80, 7,60, 6,95, 3,25, 2,90 et 2,35 mg/24 h.

L'identification des trois 5-androstane-3,16 $\beta$ ,17 $\alpha$ -triols isolés dans ce travail confirme les résultats obtenus *in vivo* par d'autres auteurs concernant leur formation à partir du 4,16-androstadien-3-one.

### INTRODUCTION

Du point de vue *biologique* il est connu que les corticosurrénalomes androgéniques se caractérisent par une augmentation souvent très importante du taux d'excrétion des 17-oxostéroïdes urinaires, essentiellement liée à l'excrétion du sulfate de déhydroépiandrostérone lequel peut représenter 30 à 85% des 17-oxostéroïdes totaux. L'importance relative des autres 11-désoxy et des 11-oxy-17-oxostéroïdes est faible encore que leur taux d'excrétion soit majoré en valeur absolue. Elle peut s'accompagner d'une

majoration importante de l'excrétion de certains autres catabolites tels les 5-androstène-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diol, 5-pregnène-3 $\beta$ ,17,20 $\alpha$ -triol et 5 $\beta$ -prégnane-3 $\alpha$ ,17,20 $\alpha$ -triol [1] et d'une augmentation de l'excrétion des 17-hydroxystéroïdes avec apparition de 11-désoxy-17,21-dihydroxystéroïdes, témoins pour certains auteurs d'un déficit relatif en 11 $\beta$ -stéroïde hydroxylase [2].

Disposant d'une méthode analytique qui, en associant deux procédés chromatographiques complémentaires autorise l'analyse spécifique et le dosage d'une large gamme de C-18, C-19 et C-21 stéroïdes [3] il

nous a semblé intéressant de l'appliquer à l'analyse systématique des métabolites excrétés par une malade présentant un tel syndrome, pour isoler et identifier les catabolites qui auraient pu échapper aux investigations antérieures, préciser leur filiation métabolique, et leur impact physiopathologique.

#### MATERIEL ET METHODES

(1) *L'échantillon urinaire* étudié provient d'une patiente âgée de 47 ans présentant un syndrome majeur de virilisation, un syndrome tumoral clinique et radiologique et un syndrome biologique comportant:

(a) une excrétion globale de 17-oxostéroïdes totaux à 136 mg/24 h, essentiellement représentée par les 3 $\beta$ -hydroxy-5-androsten-17-one (57 mg/24 h), 3 $\alpha$ -hydroxy-5 $\alpha$ -androstane-17-one (38 mg/24 h) et 3 $\alpha$ ,11 $\beta$ -dihydroxy-5 $\alpha$ -androstane-17-one (21 mg/24 h).

(b) une excrétion des 17-hydroxystéroïdes à 30 mg/24 h.

(c) La négativité des épreuves dynamiques d'exploration fonctionnelle de la corticosurrénale.

L'ensemble de ces données permet d'affirmer l'existence d'une tumeur virilisante maligne de la corticosurrénale gauche. L'examen anatomopathologique de la pièce d'exérèse chirurgicale confirme le diagnostic de carcinome dont le type cytologique reproduit celui de la zone réticulée.

(2) *Produits*. Les stéroïdes suivants: 3 $\alpha$ ,16 $\alpha$ -dihydroxy-5 $\alpha$ -androstane-17-one, 3 $\alpha$ ,16 $\alpha$ -dihydroxy-5 $\beta$ -androstane-17-one et 3 $\alpha$ ,16 $\alpha$ -dihydroxy-5 $\alpha$ -pregnan-20-one nous ont été donnés par le J. A. Gustafsson, Karolinska Institutet, Stockholm, tandis que les autres stéroïdes de référence proviennent des laboratoires Ikapharm Ramat-Gan, Israël. Le 5 $\beta$ -cholestane-3 $\alpha$ -ol provient de Sigma-Chemical Company, PO Box 14508 Saint Louis, U.S.A. La [7 $\alpha$ -<sup>3</sup>H]-déhydroépiandrosterone (activité spécifique 22 Ci/mmol) provient de Radiochemical Center, Amersham, Buckinghamshire, Angleterre.

Le Sephadex LH-20 (granulométrie 25 à 100  $\mu$ m) provient de Pharmacia, France SA, rue de Marly, Parly 2, F18150 Le Chesnay.

La kétodase (en solution à 5000 unités Fischman par ml de  $\beta$ -glucuronidase dans le tampon acide acétique-acétate de sodium, pH5) et le suc digestif d'hélix pomatia (SHP) utilisé en solution à 5000 unités Fischman par ml de  $\beta$ -glucuronidase dans le tampon acide acétique, acétate de sodium, 0,1M, pH 5,20, proviennent respectivement de Précibio, 2 rue Lhomond, Paris V° et de l'Industrie Biologique Française, 35 quai du Moulin de Cage, 92. Gennevilliers.

Les autres produits, les solvants, les réactifs silylants, comme l'ensemble du matériel utilisé: chromatographe en phase gazeuse, chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse, compteur à scintillation liquide ont été décrits précédemment [4].

(3) *Préparation des extraits urinaires*. Dans les deux

séries de manipulation effectuées, l'hydrolyse enzymatique des stéroïdes conjugués a été réalisée sur un volume urinaire correspondant au 1/50 de la diurèse, complété à 50 ml avec de l'eau distillée, en utilisant dans leurs conditions optimales d'efficacité soit le SHP, soit la kétodase. Dans les deux cas la quantité de  $\beta$ -glucuronidase ajoutée aux échantillons urinaires a été de 2000 unités Fischman par ml d'urines soumis à l'hydrolyse.

Après 48 h à 37°C sous agitation constante, les stéroïdes libérés sont extraits deux fois par l'acétate d'éthyle (2:1, v/v) et une fois par l'éther éthylique (1:1, v/v). Les phases organiques réunies sont lavées deux fois avec 10 ml d'une solution molaire de bicarbonate de sodium et trois fois avec 10 ml d'eau distillée, séchées sur du sulfate de sodium anhydre puis évaporées à sec sous vide partiel à 50°C dans un évaporateur rotatif. Le résidu obtenu est dissout par action des ultrasons dans 2 ml d'un mélange de chloroforme-heptane-méthanol (5:5:1, par vol.). La solution est appliquée sur une colonne de 0,7 cm. de dia. contenant 10 g de Sephadex LH-20 préparé dans le même système de solvant. Douze fractions de 7,5 ml chacune sont recueillies. Chaque fraction est évaporée à sec sous courant d'azote et le résidu obtenu est dissout dans 0,15 ml de mélange pyridine-N.O-bis-(triméthylsilyl)-trifluoroacétamide (1:3, v/v). Après une h à 60°C, les solutions obtenues sont analysées par c.g.l. et c.g.l.-s.m.

(4) *Analyses par c.g.l. et par c.g.l.-s.m.* Les analyses par c.g.l. sont effectuées en programmation de température sur une colonne d'OV-1 et sur une colonne d'OV-17 [4] et en isotherme à 230°C sur une colonne de SE-30. Dans certains cas, il a été nécessaire de chromatographier l'échantillon sur une colonne de QF-1 en isotherme à 210°C. Les analyses par c.g.l.-s.m. ont été effectuées en programmation de température sur une colonne d'OV-1. L'énergie de bombardement des électrons était fixée à 22,5 eV et le courant d'ionisation à 60  $\mu$ A.

(5) *Analyse qualitative*. L'identité des stéroïdes est reconnue pour certaine lorsque les diverses coordonnées chromatographiques: valeurs en unité méthylène (UM) [5] et indices de rétention par rapport au 5 $\alpha$ -cholestane d'une part et les spectres de masse d'autre part, sont identiques à ceux obtenus avec les composés de référence.

(6) *Analyse quantitative*. Les rendements d'extraction ont été déterminés en ajoutant aux échantillons urinaires après l'hydrolyse 5.10<sup>3</sup> d.p.m. de DHEA tritiée. Les comptages sont effectués sur des fractions aliquotes correspondant respectivement au 1/100 du vol. de l'hydrolysate et au 1/100 du vol. de la solution obtenue avant la chromatographie sur Sephadex LH-20.

Le rendement de la chromatographie sur Sephadex LH-20 a été déterminé par c.g.l. selon une méthode décrite précédemment [3] en utilisant une solution méthanolique à 100  $\mu$ g/ml de chacun des stéroïdes de référence suivants: 3 $\alpha$ -hydroxy-5 $\alpha$ -androstane-17-

one, 3 $\alpha$ -hydroxy-5 $\beta$ -androstan-17-one, 3 $\beta$ -hydroxy-5-androsten-17-one, 3 $\alpha$ -hydroxy-5 $\beta$ -androstan-11,17-dione, 3 $\alpha$ , 11 $\beta$ -dihydroxy-5 $\alpha$ -androstan-17-one, 5-androstène-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diol, 5-androstène-3 $\beta$ ,16 $\alpha$ ,17 $\beta$ -triol, 3 $\beta$ ,16 $\alpha$ -dihydroxy-5-androsten-17-one, 5 $\alpha$ -androstan-3 $\alpha$ ,17 $\beta$ -diol, 5 $\alpha$ -androstan-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diol, de 5 $\beta$ -prégnane-3 $\alpha$ ,20 $\alpha$ -diol et de cholestérol.

Le dosage par c.g.l. des stéroïdes identifiés dans les diverses fractions analysées est effectué après détermination du coefficient de réponse des stéroïdes de référence en utilisant le 5 $\beta$ -cholestan-3 $\alpha$ -ol comme standard interne [4].

RESULTATS

(I) *Analyse qualitative* (Tableau 1). Le cholestérol est élué dans la fraction LH-20 n° 2.

Les composés n° 1 et 2 élués dans les fractions 3 et 4 présentent des spectres de masse respectivement identiques à ceux des 3 $\alpha$ -hydroxy-5 $\alpha$ -androstan-17-one et 3 $\alpha$ -hydroxy-5 $\beta$ -androstan-17-one sous forme de leur dérivé 3 $\alpha$ -triméthylsilyloxy [6]: pic moléculaire

à  $m/e = 362$ , pic de base à  $m/e = 272$  (M-90), et pics à  $m/e = 306$  (M-56) et 305 (M-57) caractéristiques des stéroïdes présentant un groupement oxo dans le cycle D.

Les composés n° 3, 4, 5 et 6 sont élués dans la fraction LH-20 n° 4.

Le composé n° 3 présente un spectre de masse dont le pic moléculaire à  $m/e = 360$ , le pic de base à  $m/e = 129$  caractéristique des 3 $\beta$ -hydroxy-5-en-stéroïdes [7] et la séquence à  $m/e = 345$  (M-15), 304 (M-56), 270 (M-90), 255 (M-(90 + 15)) et 231 (M-129) l'identifie à la 3 $\beta$ -hydroxy-5-androsten-17-one [6].

Le composé n° 4 présente un spectre de masse caractéristique des éthers bis-triméthylsilyloxy des 5-androsten-3,17-diols [6, 8]. Il est identifié par c.g.l. au 5-androsten-3 $\beta$ ,17 $\alpha$ -diol.

Le composé n° 5 avec un pic moléculaire à  $m/e = 524$  et une séquence à  $m/e = 169, 182, 239, 329, 419$  et 434(pic de base) est rapporté à un 5 $\zeta$ -androstane-3 $\zeta$ ,X,17 $\zeta$ -triol.

Le composé n° 6: pic moléculaire à  $m/e = 522$  et séquence à  $m/e = 129, 169, 182, 237, 327, 417$  et

Tableau 1. Stéroïdes identifiés par c.g.l.-s.m. dans l'hydrolysate urinaire étudié. La colonne de gauche indique le numéro de la fraction LH-20 dans laquelle les stéroïdes sont élués.

Fraction LH-20	Composé n°	*UM/OV-1	**Ir/SE-30	Stéroïdes identifiés par c.g.l.-s.m.
2		30,68		Cholestérol
3 et 4	1	24,39	0,42	3 $\alpha$ -hydroxy-5 $\alpha$ -androstan-17-one
3 et 4	2	24,50	0,42	3 $\alpha$ -hydroxy-5 $\beta$ -androstan-17-one
4	3	24,92	0,49	3 $\beta$ -hydroxy-5-androsten-17-one
4	4	24,93	0,50	5-androstène-3 $\beta$ ,17 $\alpha$ -diol
4	5	24,95	0,51	5-androstan-3 $\zeta$ ,7 $\zeta$ ,17 $\zeta$ -triol
4	6	25,43	0,58	5-androstène-3 $\zeta$ ,X,17 $\zeta$ -triol
5	7	24,15	0,34	5 $\alpha$ -androstan-3 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -diol
5	8	24,41	0,40	3 $\alpha$ ,16 $\beta$ -dihydroxy-5-androsten-17-one
5	9	25,04	0,50	3 $\alpha$ -hydroxy-5 $\beta$ -androstan-11,17-dione
5	10	25,58	0,60	3 $\alpha$ ,16 $\alpha$ -dihydroxy-5-androsten-17-one
5	11	26,54	0,87	3 $\beta$ ,15 $\alpha$ -dihydroxy-5 $\alpha$ -androstan-17-one
5	12	27,09	0,94	5 $\beta$ -prégnane-3 $\alpha$ ,20 $\alpha$ -diol
5	13	27,63	1,11	5-prégnène-3 $\beta$ ,20 $\alpha$ -diol
5	14	28,17	1,22	5-prégnène-3 $\alpha$ ,16 $\alpha$ ,20 $\alpha$ -triol
5 et 6	15	25,00	0,50	5 $\alpha$ -androstan-3 $\alpha$ ,17 $\beta$ -diol
5 et 6	16	25,57	0,62	5-androstène-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diol
5 et 6	17	26,06	0,71	3 $\alpha$ ,11 $\beta$ -dihydroxy-5 $\alpha$ -androstan-17-one
6	18	26,28	0,76	3 $\alpha$ ,11 $\beta$ -dihydroxy-5 $\beta$ -androstan-17-one
6	19	27,39	1,03	3 $\beta$ ,17-dihydroxy-5 $\alpha$ -prégnan-20-one
6	20	27,44	1,00	3 $\alpha$ ,16 $\alpha$ -dihydroxy-5 $\alpha$ -prégnan-20-one
6	21	28,30	1,24	5 $\alpha$ -prégnane-3 $\alpha$ ,16 $\alpha$ ,20 $\alpha$ -triol
6	22	28,61	1,42	5 $\beta$ -prégnane-3 $\alpha$ ,17,20 $\alpha$ -triol
6 et 7	23	25,67	0,64	3 $\alpha$ ,16 $\alpha$ -dihydroxy-5 $\alpha$ -androstan-17-one
6 et 7	24	26,42	0,79	3 $\beta$ ,16 $\alpha$ -dihydroxy-5 $\alpha$ -androstan-17-one
6 et 7	25	26,62	0,84	3 $\beta$ ,16 $\alpha$ -dihydroxy-5-androsten-17-one
7	26	26,01	0,69	5 $\alpha$ -androstan-3 $\alpha$ ,16 $\beta$ ,17 $\alpha$ -triol
7	27	26,86	—	X,17 $\zeta$ -dihydroxy-4-androsten-3-one
7	28	28,85	1,44	3 $\alpha$ ,17,21-trihydroxy-5 $\beta$ -prégnan-20-one
7	29	29,27	1,66	5-prégnène-3 $\beta$ ,17 $\alpha$ ,20 $\alpha$ -triol
7 et 8	30	27,32	0,97	5 $\alpha$ -androstan-3 $\beta$ ,16 $\beta$ ,17 $\alpha$ -triol
8	31	26,34	0,77	5 $\alpha$ -androstan-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,17 $\beta$ -triol
9	32	26,40	0,76	5 $\beta$ -androstan-3 $\alpha$ ,11 $\beta$ ,17 $\alpha$ -triol
9	33	26,88	0,84	5 $\beta$ -androstan-3 $\alpha$ ,16 $\alpha$ ,17 $\beta$ -triol
10	34	25,89	0,64	5 $\beta$ -androstan-3 $\alpha$ ,16 $\beta$ ,17 $\alpha$ -triol
10, 11, 12	35	27,89	1,15	5-androsten-3 $\beta$ ,16 $\alpha$ ,17 $\beta$ -triol

\* UM/OV-1: valeur en unité méthylène sur une colonne d'OV-1.

\*\* Ir/SE-30: indice de rétention par rapport au 5 $\alpha$ -cholestane, sur une colonne de SE-30.

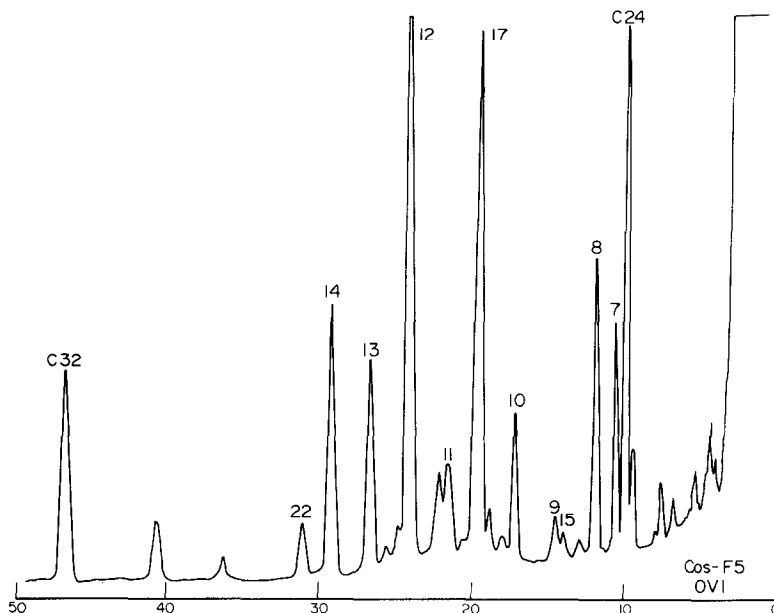


Fig. 1. Analyse par c.g.l. sur une colonne d'OV-1 des stéroïdes urinaires élués dans la fraction LH-20 n° 5. Les métabolites identifiés sont les 5 $\alpha$ -androstane-3 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -diol [7], 3 $\alpha$ ,16 $\beta$ -dihydroxy-5-androsten-17-one [8], 5 $\alpha$ -androstane-3 $\alpha$ ,17 $\beta$ -diol [15], 3 $\alpha$ -hydroxy-5 $\beta$ -androstane-11,17-dione [9], 3 $\alpha$ ,16 $\alpha$ -dihydroxy-5-androsten-17-one [10], 3 $\alpha$ ,11 $\beta$ -dihydroxy-5 $\alpha$ -androstan-17-one [17], 3 $\beta$ ,15 $\alpha$ -dihydroxy-5 $\alpha$ -androstan-17-one [11], 5 $\beta$ -prégnane-3 $\alpha$ ,20 $\alpha$ -diol [12], 5-prégnène-3 $\beta$ ,20 $\alpha$ -diol [13], 5-prégnène-3 $\alpha$ ,16 $\alpha$ ,20 $\alpha$ -triol [14] et 5 $\beta$ -prégnane-3 $\alpha$ ,17,20 $\alpha$ -triol [22].

432(pic de base) est rapporté à un 5-androstène-3 $\xi$ ,17 $\xi$ -triol. Pour chacun des composés n° 5 et 6 la présence de pics à  $m/e = 169$  et  $182$  suggère que la troisième fonction hydroxyle (X) soit en position 11 $\beta$ .

Huit composés sont élués quantitativement dans la fraction LH-20 n° 5 (Fig. 1).

Le composé n° 7 présente un pic moléculaire à  $m/e = 436$  et une séquence à  $m/e = 129, 217, 241$  ( $M-(2 \times 90 + 15)$ ),  $256$  ( $M-(2 \times 90)$ ),  $331$  ( $M-(90 + 15)$ ),  $346$  ( $M-90$ ) et  $421$  ( $M-15$ ) caractéristiques des éthers bis-triméthylsilyloxy des androstane-3,17-diols [6]. Ce composé est identifié par c.g.l. au 5 $\alpha$ -androstane-3 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -diol.

Le composé n° 8: avec un spectre de masse caractéristique des éthers bis-triméthylsilyloxy des 3,16-dihydroxy-5-androsten-17-one [6,9]: pic moléculaire à  $m/e = 448$  et séquence à  $m/e = 117, 129, 196, 199, 214$  (pic de base) et  $304$ , est identifié par c.g.l. à la 3 $\alpha$ ,16 $\beta$ -dihydroxy-5-androsten-17-one.

Le composé n° 9 présente un pic moléculaire à  $m/e = 376$  et une séquence à  $m/e = 232, 271$  (pic de base),  $286$  ( $M-90$ ), le rapportant à la 3 $\alpha$ -hydroxy-5 $\beta$ -androstane-11,17-dione [4].

Le composé n° 10 est identifié à la 3 $\alpha$ ,16 $\alpha$ -dihydroxy-5-androsten-17-one [10,11] pic moléculaire à  $m/e = 448$ , et pics prédominants à  $m/e = 129, 196, 199, 214$  (pic de base) et  $304$ .

Le composé n° 11 présente un spectre de masse dont le pic moléculaire à  $m/e = 450$  et le pic de base à  $m/e = 143$  indiquent qu'il s'agit du dérivé bis-triméthylsilyloxy d'une 3,15 $\alpha$ -dihydroxy-androstan-17-one [12]. L'indice de rétention de ce composé permet

d'éliminer les isomères en 3 $\alpha$ /5 $\alpha$ , 3 $\alpha$ /5 $\beta$  et 3 $\beta$ /5 $\beta$  de sorte que ce composé est identifié au 3 $\beta$ ,15 $\alpha$ -dihydroxy-5 $\alpha$ -androstan-17-one [12].

Les composés n° 12, 13, 14 sont respectivement identifiés aux 5 $\beta$ -prégnane-3 $\alpha$ ,20 $\alpha$ -diol [13] au 5-prégnène-3 $\beta$ ,20 $\alpha$ -diol [6] et au 5-prégnène-3 $\alpha$ ,16 $\alpha$ ,20 $\alpha$ -triol [14].

Les composés n° 15, 16 et 17 sont élués dans les fractions LH-20 n° 5 et 6.

Le composé n° 15 est identifié au 5 $\alpha$ -androstane-3 $\alpha$ ,17 $\beta$ -diol [6].

Le composé n° 16 présente un spectre de masse caractéristique des éthers bis-triméthylsilyloxy des 5-androstène-3,17-diols [6]: pic moléculaire à  $m/e = 434$  et séquence à  $m/e = 129, 213, 215$  ( $M-(129 + 90)$ ),  $239$  ( $M-(2 \times 90 + 15)$ ),  $254$  ( $M-(2 \times 90)$ ),  $305$  ( $M-129$ ),  $329$  ( $M-(90 + 15)$ ),  $344$  ( $M-90$ ),  $419$  ( $M-15$ ). Il est identifié au 5-androstène-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diol.

Le composé n° 17 présente un spectre de masse avec un pic moléculaire à  $m/e = 450$  et une séquence à  $m/e = 156$  (pic de base),  $184$  et  $199$  l'identifiant à la 3 $\alpha$ ,11 $\beta$ -dihydroxy-5 $\alpha$ -androstan-17-one sous forme de son dérivé bis-triméthylsilyloxy [12].

Cinq composés sont quantitativement élués dans la fraction LH-20 n° 6 (Fig. 2). Ce sont:

Le composé n° 18 dont le spectre de masse se distingue du précédent par un pic à  $m/e = 108$  et par des différences affectant l'abondance relative des pics à  $m/e = 184$  et  $199$ . Il est identifié à la 3 $\alpha$ ,11 $\beta$ -dihydroxy-5 $\beta$ -androstan-17-one. Les composés n° 19, 20, 21 et 22 sont identifiés par c.g.l.-s.m. aux:

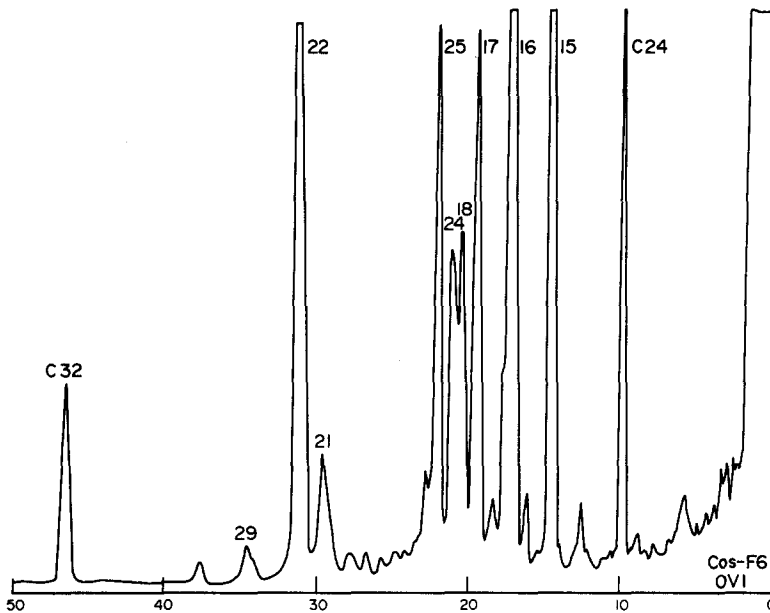


Fig. 2. Analyse par c.g.l. sur une colonne d'OV-1 des stéroïdes urinaires élués dans la fraction LH-20 n° 6. Les métabolites identifiés sont les 5 $\alpha$ -androstane-3 $\alpha$ ,17 $\beta$ -diol [15], 5-androstène-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diol [16], 3 $\alpha$ ,11 $\beta$ -dihydroxy-5 $\alpha$ -androstane-17-one [17], 3 $\alpha$ ,11 $\beta$ -dihydroxy-5 $\beta$ -androstane-17-one [18], 3 $\beta$ ,16 $\alpha$ -dihydroxy-5 $\alpha$ -androstane-17-one [24], 3 $\beta$ ,16 $\alpha$ -dihydroxy-5-androstène-17-one [25], 5 $\alpha$ -pregnane-3 $\alpha$ ,16 $\alpha$ ,20 $\alpha$ -triol [21], 5 $\beta$ -pregnane-3 $\alpha$ ,17,20 $\alpha$ -triol [22] et 5-pregnène-3 $\beta$ ,17,20 $\alpha$ -triol [29].

3 $\beta$ ,17-dihydroxy-5 $\alpha$ -pregnan-20-one: pic moléculaire à  $m/e = 478$ , pic de base à  $m/e = 255$  ( $(M-(90 \times 2 + 43))$ ) et pic à  $m/e = 435$  ( $M-43$ ) caractéristique des 17-hydroxy-20-oxo-21-déoxystéroïdes [15, 16].

3 $\alpha$ ,16 $\alpha$ -dihydroxy-5 $\alpha$ -pregnan-20-one: pic moléculaire à  $m/e = 478$  et séquence à  $m/e = 96, 109, 157, 172$  (pic de base) et 186 caractéristique des 16 $\alpha$ -hydroxy-20-oxo-21-déoxystéroïdes [17], 5 $\alpha$ -pregnane-3 $\alpha$ ,16 $\alpha$ ,20 $\alpha$ -triol: pic moléculaire à  $m/e = 552$ , séquence typique à  $m/e = 117, 141, 156, 157$  et 462 [14] et 5 $\beta$ -pregnane-3 $\alpha$ ,17,20 $\alpha$ -triol: pic moléculaire à  $m/e = 480$ , séquence à  $m/e = 117, 255$  (pic de base) et 273 typique des 17-hydroxy-3,20-bis-triméthyl-silyloxy-21-déoxystéroïdes [18].

Trois composés sont élués dans les fractions LH-20 n° 6 et 7. Ce sont:

Les composés n° 23 et 24 lesquels présentent un spectre de masse caractéristique des éthers bis-triméthylsilyloxy des 3,16-dihydroxyandrostane-17-one: pic moléculaire à  $m/e = 450$  et séquence à  $m/e = 117, 162, 201$  ( $M-(144 + 90 + 15)$ ) et 216 ( $M-(144 + 90)$ ) [12] ils sont identifiés par c.g.l. respectivement aux 3 $\alpha$ ,16 $\alpha$ -dihydroxy-5 $\alpha$ -androstane-17-one et 3 $\beta$ ,16 $\alpha$ -dihydroxy-5 $\alpha$ -androstane-17-one [19].

Le composé n° 25 avec un pic moléculaire à  $m/e = 448$  et la séquence à  $m/e = 117, 129, 196, 199, 214$  et 304 est identifié à la 3 $\beta$ ,16 $\alpha$ -dihydroxy-5-androstène-17-one [6].

Dans la fraction LH-20 n° 7 sont élués 4 composés:

Le composé n° 26 présente un spectre de masse caractéristique des éthers Tris-triméthylsilyloxy des androstane-3,16,17-triols [20]: pic moléculaire à  $m/e$

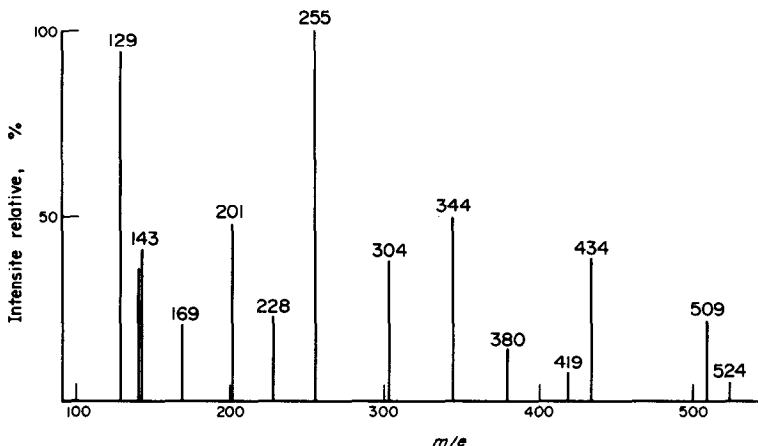


Fig. 3. Spectre de masse du composé n° 31 identifié au 5 $\alpha$ -androstane-2 $\alpha$ ,3 $\alpha$ ,17 $\beta$ -triol sous forme de son dérivé Tris-triméthylsilyloxy.

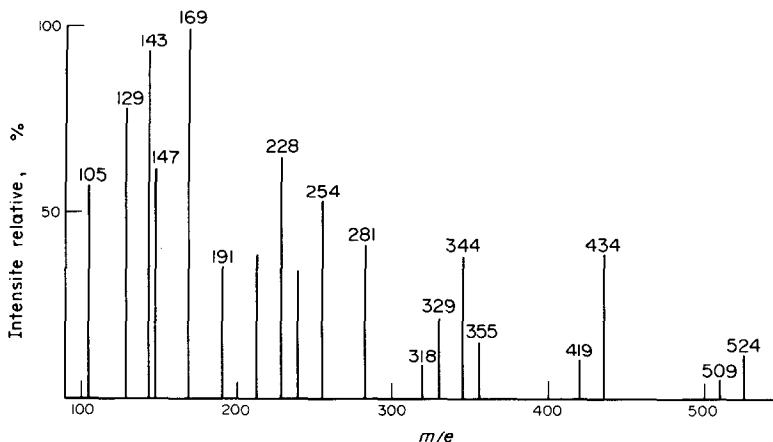


Fig. 4. Spectre de masse du composé n° 32 identifié au  $5\beta$ -androstane- $3\alpha,11\beta,17\alpha$ -triol sous forme de son dérivé Tris-triméthylsilyloxy.

= 524 et pic de base à  $m/e = 191$  [20, 21]. Il est identifié par c.g.l. au  $5\alpha$ -androstane- $3\alpha,16\beta,17\alpha$ -triol [22].

Le composé n° 27 présente un spectre de masse indiquant une X,17 $\xi$ -dihydroxy-4-androsten-3-one: pic moléculaire à  $m/e = 448$  et pic de base à  $m/e = 343$ .

Le composé n° 28 présente les coordonnées chromatographiques et un spectre de masse dont le pic moléculaire à  $m/e = 566$  et la séquence à  $m/e = 231, 255$  ( $M-131 + (2 \times 90)$ ), 344, 345, 434, 435 et 538 l'identifient au  $3\alpha,17,21$ -trihydroxy- $5\beta$ -prégnan-20-one, et le composé n° 29: pic moléculaire à  $m/e = 478$  et séquence à  $m/e = 117, 129, 213, 253, 271$  (pic de base) identifié par c.g.l. au 5-prégnène- $3\beta,17,20\alpha$ -triol [18].

Le composé n° 30 est élué dans les fractions LH-20 n° 7 et 8. Son spectre de masse est caractéristique des éthers Tris-triméthylsilyloxy des androstane- $3,16,17$ -triol [20]. Il est identifié par c.g.l. au  $5\alpha$ -androstane- $3\beta,16\beta,17\alpha$ -triol [23].

Le composé n° 31 élué dans la fraction LH-20 n° 8, présente un spectre de masse caractéristique des  $5\alpha$ -androstane- $2,3\alpha,17\beta$ -triol [20, 24]: pic moléculaire

à  $m/e = 524$  et séquence à  $m/e = 129, 142, 143, 255$  (pic de base) et 509 (Fig. 3). Son indice de rétention sur SE-30 l'identifie au  $5\alpha$ -androstane- $2\alpha,3\alpha,17\beta$ -triol [24].

Les composés n° 32 et 33 sont élués dans la fraction LH-20 n° 9. Le spectre de masse du composé n° 32 (Fig. 4) présente un pic moléculaire à  $m/e = 524$  et une séquence à  $m/e = 129, 143, 158, 169$  (pic de base), 182, 213, 228 et 239 indiquant qu'il s'agit de l'éther Tris-triméthylsilyloxy d'un androstane- $3,11\beta,17$ -triol. La comparaison des spectres de masse obtenus avec les isomères en  $5\alpha/3\alpha/11\beta/17\alpha, 5\alpha/3\alpha/11\beta/17\beta, 5\alpha/3\beta/11\beta/17\beta, 5\beta/3\alpha/11\alpha/17\beta$  (pic de base à  $m/e = 143$ ),  $5\beta/3\alpha/11\beta/17\alpha$  et  $5\beta/3\alpha/11\beta/17\beta$  (Fig. 5) notamment pour ce qui concerne l'intensité relative des pics à  $m/e = 129, 143, 228, 239$  et 254, exclut pour ce composé une configuration en  $5\alpha$ . Les spectres de masse des  $5\beta$ -androstane- $3\alpha,11\beta,17$ -triol diffèrent par une inversion de l'abondance relative des pics à  $m/e = 129$  et 143, avec pour l'épimère en  $17\beta$  un pic à  $m/e = 129$  supérieur à celui correspondant à  $m/e = 143$  tandis que l'inverse est observé dans le spectre de masse de l'épimère en  $17\alpha$ . Sur la base de ces constatations, le composé n° 32 est identifié

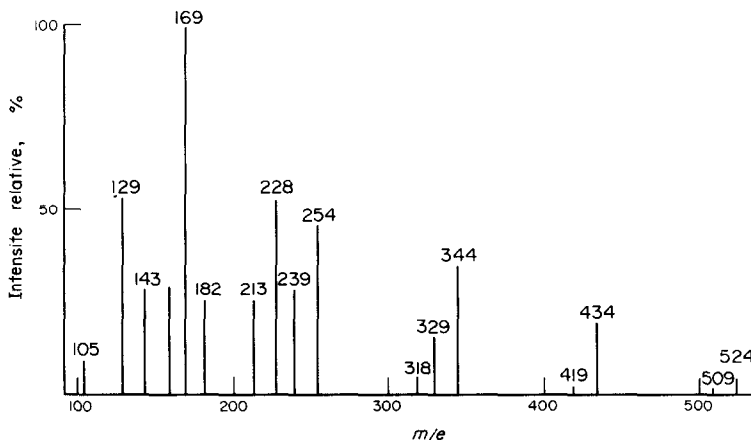


Fig. 5. Spectre de masse du  $5\beta$ -androstane- $3\alpha,11\beta,17\beta$ -triol sous forme de son éther Tris-triméthylsilyloxy

au 5 $\beta$ -androstane-3 $\alpha$ ,11 $\beta$ ,17 $\alpha$ -triol, Le composé n° 33 avec un spectre de masse caractéristique des dérivés Tris-triméthylsilyloxy des androstane-3,16,17-trio [20] est identifié au 5 $\beta$ -androstane-3 $\alpha$ ,16 $\alpha$ ,17 $\beta$ -triol [22].

Le composé n° 34 élué quantitativement dans la fraction LH-20 n° 10 est identifié au 5 $\beta$ -androstane-3 $\alpha$ ,16 $\beta$ ,17 $\alpha$ -triol [22].

Le composé n° 35 élué dans les fractions LH-20 n° 10, 11 et 12, présente un spectre de masse typique des 5-androstène-3,16,17-triols [21]: pic moléculaire à  $m/e = 522$ , et séquence à  $m/e = 129, 191, 213, 239$  (pic de base), 252, 329, 342, 417, 432 et 507. Ses coordonnées chromatographiques l'identifient au 5-androstène-3 $\beta$ ,16 $\alpha$ ,17 $\beta$ -triol [23].

La structure exacte de deux catabolites élués dans la fraction LH-20 n° 8 n'a pu être déterminée.

Le premier (UM/OV-1 = 28,63) avec un spectre de masse caractéristique des Tris-triméthylsilyloxy-mono-oxoprégnane: pic moléculaire à  $m/e = 566$  et séquence à  $m/e = 476$ (M-90), 463 (M-103), 283(M-(2  $\times$  90 + 103)) et 255 (M-(2  $\times$  90 + 131)) est rapporté à une 3 $\xi$ ,X,21-trihydroxy-5 $\xi$ -prégnan-20-one.

Le second (UM/OV-1 = 29,27) avec un pic moléculaire à  $m/e = 640$  et une séquence à  $m/e = 147, 255$  (pic de base), 345, 435 (M-(103 + 102)), 537 (M-103) est rapporté à un 5 $\xi$ -prégnane-3 $\xi$ ,X,20 $\xi$ ,21-tétrol.

(II) *Analyse quantitative.* Le rendement des manipulations précédant le fractionnement des stéroïdes est de 86%  $\pm$  5. Ceux de la chromatographie sur sephadex LH-20 sont compris entre 63%  $\pm$  8 pour la 3 $\alpha$ ,11 $\beta$ -dihydroxy-5 $\beta$ -androstan-17-one et 88%  $\pm$  4 pour les 5-androstène-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diol, 5 $\alpha$ -androstane-3 $\alpha$ ,17 $\beta$ -diol et 5 $\beta$ -prégnane-3 $\alpha$ ,20 $\alpha$ -diol.

Compte tenu de ces facteurs de correction, le dosage par c.g.l. de 30 stéroïdes a été réalisé. Les résultats obtenus sont mentionnés dans le Tableau 2.

(III) *Discussion.* Après hydrolyse acide, le résultat du dosage colorimétrique des 17-oxostéroïdes totaux est de 136 mg/24 h. Pour l'ensemble des 17-oxostéroïdes dosés par c.g.l. il est à 111 mg/24 h après hydrolyse par le suc digestif d'hélix pomatia et de 69 mg/24 h après hydrolyse par la kétodase. Le rapport des résultats obtenus après hydrolyse par le SHP et dosage chromatographique à celui obtenu après hydrolyse acide et dosage colorimétrique à 82% est en accord avec les résultats de Desgres *et al* [4]. La différence entre le résultat de ces deux dosages est liée à plusieurs facteurs parmi lesquels le mode d'hydrolyse et la spécificité des méthodes de dosage utilisés sont prépondérants. En effet les artéfacts introduits par l'hydrolyse acide et la spécificité relative de la réaction de Zimmerman d'une part, l'hydrolyse par-

Tableau 2. Résultats du dosage par c.g.l. des principaux métabolites urinaires isolés, après hydrolyse enzymatique des stéroïdes glycuco et sulfoconjugués par le suc digestif d'hélix pomatia (SHP) et hydrolyse spécifique des stéroïdes glycuco-conjugués par la kétodase.

Stéroïdes dosés (en mg/24 h)	Hydrolyse par		Pourcentage des	
	le SHP	la kétodase	sulfates	glucuronides
3 $\alpha$ -hydroxy-5 $\alpha$ -androstan-17-one	6,10	4,50	26	74
3 $\alpha$ -hydroxy-5 $\beta$ -androstan-17-one	38,00	37,15	—	100
3 $\beta$ -hydroxy-5-androsten-17-one	46,80	5,60	88	12
5-androstène-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diol	7,60	1,20	84	16
5 $\alpha$ -androstane-3 $\alpha$ ,17 $\alpha$ -diol	0,75	0,65	13	87
5 $\alpha$ -androstane-3 $\alpha$ ,17 $\beta$ -diol	2,90	1,70	41	59
3 $\alpha$ ,11 $\beta$ -dihydroxy-5 $\alpha$ -androstan-17-one	17,40	15,10	14	86
3 $\alpha$ ,11 $\beta$ -dihydroxy-5 $\beta$ -androstan-17-one	2,30	1,60	30	70
3 $\alpha$ -hydroxy-5 $\beta$ -androstane-11,17-dione	traces	0,65	—	—
3 $\beta$ ,15 $\alpha$ -dihydroxy-5 $\alpha$ -androstan-17-one	0,35	0,10	71	29
3 $\alpha$ ,16 $\alpha$ -dihydroxy-5 $\alpha$ -androstan-17-one	1,95	0,95	51	49
3 $\beta$ ,16 $\alpha$ -dihydroxy-5 $\alpha$ -androstan-17-one	traces	0,35	—	100
5 $\alpha$ -androstane-3 $\alpha$ ,16 $\beta$ ,17 $\alpha$ -triol	0,45	0,30	33	67
5 $\alpha$ -androstane-3 $\beta$ ,16 $\beta$ ,17 $\alpha$ -triol	6,95	1,45	79	21
5 $\beta$ -androstane-3 $\alpha$ ,16 $\alpha$ ,17 $\beta$ -triol	3,25	3,50	—	100
5 $\beta$ -androstane-3 $\alpha$ ,16 $\beta$ ,17 $\alpha$ -triol	0,75	0,65	13	87
5-androstène-3 $\beta$ ,16 $\alpha$ ,17 $\beta$ -triol	2,70	0,85	72	28
3 $\alpha$ ,16 $\beta$ -dihydroxy-5-androsten-17-one	1,00	0,85	15	85
3 $\alpha$ ,16 $\alpha$ -dihydroxy-5-androsten-17-one	0,75	0,15	80	20
3 $\beta$ ,16 $\alpha$ -dihydroxy-5-androsten-17-one	5,25	2,05	61	39
5 $\beta$ -androstane-3 $\alpha$ ,11 $\beta$ ,17 $\alpha$ -triol	0,25	0,30	—	—
5 $\beta$ -prégnane-3 $\alpha$ ,20 $\alpha$ -diol	3,05	2,25	26	74
5-prégnène-3 $\beta$ ,20 $\alpha$ -diol	0,75	traces	100	—
3 $\alpha$ ,16 $\alpha$ -dihydroxy-5 $\alpha$ -prégnan-20-one	traces	0,20	—	—
3 $\beta$ ,17 $\alpha$ -dihydroxy-5 $\alpha$ -prégnan-20-one	traces	0,35	—	—
5 $\beta$ -prégnane-3 $\alpha$ ,17,20 $\alpha$ -triol	9,80	6,70	32	68
5-prégnène-3 $\beta$ ,17,20 $\alpha$ -triol	1,50	0,70	53	47
5 $\alpha$ -prégnane-3 $\alpha$ ,16 $\alpha$ ,20 $\alpha$ -triol	0,50	0,65	30	70
5-prégnène-3 $\alpha$ ,16 $\alpha$ ,20 $\alpha$ -triol	1,20	1,05	12	88
3 $\alpha$ ,17,21-trihydroxy-5 $\beta$ -prégnan-20-one	2,35	2,35	—	100

tielle de certains sulfates de stéroïdes tels les 5-androsten-17-one-3 $\beta$ -yl sulfate et 5 $\alpha$ -androstan-17-one-3 $\alpha$ -yl sulfate par le suc digestif d'hélic pomatia d'autre part, expliquent en majeure partie la différence observée.

Après hydrolyse par le SHP, le dosage des composés identifiés à des 17-oxostéroïdes, montre la prédominance quantitative des 3 $\beta$ -hydroxy-5-androsten-17-one, 3 $\alpha$ -hydroxy-5 $\beta$ -androstan-17-one, 3 $\alpha$ , 11 $\beta$ -dihydroxy-5 $\alpha$ -androstan-17-one, 3 $\alpha$ -hydroxy-5 $\alpha$ -androstan-17-one et 3 $\beta$ , 16 $\alpha$ -dihydroxy-5-androsten-17-one (Tableau 2). La 3 $\beta$ -hydroxy-5-androsten-17-one (46,80 mg/24 h) excrétée pour 88% sous forme sulfoconjuguée représente 41% des 17-oxostéroïdes totaux.

Les stéroïdes éliminés sous forme conjuguée à l'acide glucuronique représentent 62% des 17-oxostéroïdes totaux. Ils sont essentiellement représentés par les 3 $\alpha$ -hydroxy-5 $\beta$ -androstan-17-one et 3 $\alpha$ , 11 $\beta$ -dihydroxy-5 $\alpha$ -androstan-17-one. Excrétés respectivement au taux de 37 et de 15 mg/24 h, et formant 75% de la fraction métabolique glucuroconjuguée, ils proviennent respectivement du catabolisme des 4-androstène-3,17-dione et 11 $\beta$ -hydroxy-4-androsten-3,17-dione [25]. L'excrétion de la 3 $\alpha$ , 11 $\beta$ -dihydroxy-5 $\beta$ -androstan-17-one à 2,30 mg/24 h après hydrolyse par le SHP et à 1,60 mg/24 h après hydrolyse par la kéto-dase confirme les résultats obtenus par Saez *et al.* [1] concernant la prédominance quantitative des 11-oxy-5 $\alpha$ -androstan-17-one sur les 11-oxy-5 $\beta$ -androstan-17-one urinaires alors que le résultat du dosage des 3 $\alpha$ -hydroxy-11-désoxy-5-androstan-17-one montre la prédominance des composés réduits en 5 $\beta$ , notamment celle de la 3 $\alpha$ -hydroxy-5 $\beta$ -androstan-17-one. Ces résultats reflètent la dissociation du catabolisme des 4-androstène-3,17-dione et 11 $\beta$ -hydroxy-4-androstène-3,17-dione que'elle soit liée à un débordement des capacités catalytiques de la 5 $\beta$ -stéroïde oxydoréductase impliquée dans le catabolisme de la 4-androstène-3,17-dione et de la 5 $\beta$ -stéroïde oxydoréductase intervenant dans celle de la 11 $\beta$ -hydroxy-4-androsten-3,17-dione ou à toute autre action intrinsèque ou non susceptible de moduler l'activité de ces enzymes.

L'excrétion des 5-prégnène-3 $\beta$ , 17, 20 $\alpha$ -triol, 5 $\beta$ -prégnane-3 $\alpha$ , 17, 20 $\alpha$ -triol et 3 $\alpha$ , 17, 21-trihydroxy-5 $\beta$ -pregnan-20-one, respectivement à 1,50, 9,80 et 2,35 mg/24 h reflète la sécrétion tumorale des 3 $\beta$ -hydroxy-5-prégnen-20-one, 3 $\beta$ , 17-dihydroxy-5-prégnen-20-one, 17-hydroxy-4-prégnen-3, 20-dione et de la 17, 21-dihydroxy-4-prégnène-3, 20-dione.

Des autres métabolites isolés, deux sont des 5-androstène-3 $\beta$ , 17-diol. L'excrétion de l'épimère en 17 $\beta$  à 7,60 mg/24 h en mettant ce catabolite au rang des stéroïdes urinaires quantitativement prépondérant confirme les résultats de Saez *et al.* [1]. Elle traduit la sécrétion tumorale du 5-androstène-3 $\beta$ , 17 $\beta$ -diol, lequel de par ses propriétés androgéniques propres [26] peut contribuer aux manifestations virilisantes observées [27, 28] ceci d'autant que la testostéronémie à 80 ng/100 ml est normale.

Deux autres sont des 5 $\alpha$ -androstan-3 $\alpha$ , 17-diol. L'excrétion de l'épimère en 17 $\alpha$  est de 0,75 mg/24 h, celle du 5 $\alpha$ -androstan-3 $\alpha$ , 17 $\beta$ -diol à 2,90 mg/24 h soit, 70 fois supérieure aux valeurs moyennes obtenues chez les femmes normales selon Berthou *et al.* [29] témoigne comme l'ont montré les travaux de Mauvais-Jarvis et de Beaulieu [30, 31] du catabolisme hépatique de la testostérone, cette dernière provenant essentiellement de l'interconversion de la 4-androstène-3, 17-dione et de la DHA. Il est remarquable de noter que l'excrétion du 5 $\beta$ -androstan-3 $\alpha$ , 16 $\alpha$ , 17 $\beta$ -triol est à 3,25 mg/24 h tandis qu'aucun 5 $\beta$ -androstan-3, 17-diol n'a pu être isolé dans ce travail Ceci laisse supposer que l'activité 16 $\alpha$ -hydroxylasique hépatique, s'exerce ici principalement sur les catabolites réduits en 5 $\beta$  de la testostérone.

Les trois autres androstanes-3, 16, 17-triol isolés sont des androstane-3, 16 $\beta$ , 17 $\alpha$ -triol, l'isomère en 5 $\alpha$ /3 $\beta$ /16 $\beta$ /17 $\alpha$  étant quantitativement prépondérant (6,95 mg/24 h). Il est montré après les travaux de Knuppen et Breuer [32] de Brooksbank *et al.* [22] et de Gustafsson [33] qu'une configuration en 16 $\beta$ /17 $\alpha$  implique la transformation d'un 16-déshydro-C<sub>19</sub>-stéroïde en un 16 $\beta$ , 17 $\alpha$ -dihydroxy-C<sub>19</sub>-stéroïde par l'intermédiaire d'un 16 $\alpha$ , 17 $\alpha$ -époxy-C<sub>19</sub>-stéroïde. Dans cette hypothèse il semblerait donc que ces trois métabolites aient comme précurseur le 4, 16-androstadien-3-one, stéroïde identifié par Brooksbank *et al.* dans le plasma humain [34].

#### CONCLUSION

A l'exception de la 3 $\beta$ -hydroxy-5-androsten-7, 17-dione, l'excrétion urinaire des 3 $\alpha$ -hydroxy-5 $\alpha$ -androstan-17-one, 3 $\alpha$ -hydroxy-5 $\beta$ -androstan-17-one, 3 $\beta$ -hydroxy-5-androsten-17-one, 5-androstène-3 $\beta$ , 17 $\beta$ -diol, 3 $\beta$ , 16 $\alpha$ -dihydroxy-5-androsten-17-one, 5 $\beta$ -prégnane-3 $\alpha$ , 17, 20 $\alpha$ -triol, et 3 $\alpha$ , 17, 21-trihydroxy-5 $\beta$ -prégnan-20-one reproduit une silhouette catabolique semblable à celle décrite par d'autres auteurs [1, 29] et la complète notamment pour ce qui concerne les C<sub>19</sub>O<sub>2</sub> et C<sub>19</sub>O<sub>3</sub> stéroïdes identifiés dans ce travail.

Bien que limité à l'analyse des stéroïdes du seul cas de corticosurréalome qu'il nous a été possible d'étudier, l'ensemble des métabolites isolés permet de dégager une carte métabolique qu'il conviendra de retrouver, voire de préciser par l'analyse d'échantillons urinaires provenant d'un nombre plus important de malades. De même, il serait nécessaire de les effectuer et de les interpréter en fonction non seulement du stade évolutif du corticosurréalome mais aussi en fonction de son type anatomopathologique

*Remerciement*—Nous remercions le Professeur J. R. Pasqualini, Fondation pour la Recherche en Hormonologie, Paris, France, pour les conseils qu'il nous a donnés.

Ce travail a pu être réalisé grâce à l'aide du CNRS: ERA 267 de l'INSERM: ATP 74 1387, et de la DES: crédits du VIème Plan.

#### BIBLIOGRAPHIE

1. Saez J. M., Loras B., Morera A. M. et Bertrand J.: *J. clin. Endocr. Metab.* **32** (1971) 462-469.



2. West C. D., Kumagai L. F., Simons E. L., Dominguez O. V. et Berliner D. L.: *J. clin. Endocr. Metab.* **24** (1964) 567-576.
3. Begue R. J., Desgres J., Gustafsson J. Ä. et Padiou P.: *J. steroid Biochem.* **7** (1976) 211-221.
4. Desgres J., Begue R. J. et Padiou P.: *Clin. chim. Acta* **52** (1974) 381-405.
5. Horning E. C., Ikekawa N., Chambaz E. M., Jaakonaki P. I. et Brooks C. J. W.: *J. Gas Chromatog.* **5** (1967) 283-292.
6. Vihko R.: *Acta endocr., Copenh., suppl.* **109** (1966) 1-67.
7. Eneroth P., Hellström K. et Ryhage R.: *J. Lipid. Res.* **5** (1964) 245-262.
8. Janne O. et Vihko R.: *Ann. Med. exp. Fenniae* **46** (1968) 301-311.
9. Shackleton C. H. L. et Gustafsson J. Ä.: *Steroids* **18** (1971) 175-186.
10. Eriksson H. et Gustafsson J. Ä.: *Clin. chim. Acta* **41** (1972) 79-80.
11. Fant L.: *J. Endocr.* **56** (1973) 615-616.
12. Gustafsson J. A. et Sjövall J.: *Eur. J. Biochem.* **6** (1968) 227-235.
13. Sjövall J. et Vihko R.: *Steroids* **7** (1966) 447-452.
14. Gustafsson J. Ä., Shackleton C. H. L. et Sjövall J.: *Eur. J. Biochem.* **10** (1969) 302-311.
15. Gustafsson J. Ä.: *Eur. J. Biochem.* **16** (1970) 252-260.
16. Ericksson H. et Gustafsson J. Ä.: *Eur. J. Biochem.* **16** (1970) 252-260.
17. Gustafsson B. E., Gustafsson J. Ä. et Sjövall J.: *Eur. J. Biochem.* **4** (1968) 568-573.
18. Laatikainen T.: *Eur. J. Biochem.* **14** (1970) 372-378.
19. Gustafsson J. Ä. et Lisboa B. P.: *Eur. J. Biochem.* **16** (1970) 475-480.
20. Gustafsson J. Ä., Lisboa B. P. et Sjövall J.: *Eur. J. Biochem.* **6** (1968) 317-324.
21. Laatikainen T.: *Steroids* **15** (1970) 139-150.
22. Brooksbank B. W. L., Wilson D. A. A. et Gustafsson J. A.: *Steroid Lipid Res.* **3** (1972) 263-285.
23. Jänne O.: *J. steroid Biochem.* **2** (1971) 33-41.
24. Berg A. et Gustafsson J. Ä.: *J. biol. Chem.* **248** (1973) 6559-6567.
25. Goldzicher J. W. et Beering S. C.: *J. clin. Endocr. Metab.* **29** (1969) 171.
26. Dorfman R. I. et Shipley R. A.: In *Androgens: Biochemistry, Physiology and Clinical Significance* (Edited by R. I. Dorfman and R. A. Shipley), John Wiley & Sons (1956) New York, pp. 116-117.
27. Rosenfield R. L. et Otto J.: *J. clin. Endocr. Metab.* **35** (1972) 818-822.
28. Rosenfield R. L.: *J. steroid. Biochem.* **6** (1975) 695-702.
29. Berthou F. L., Bardou L. G. et Floch H. H.: *J. steroid. Biochem.* **2** (1971) 141-153.
30. Mauvais-Jarvis P. et Beaulieu E. E.: *J. clin. Endocr. Metab.* **25** (1965) 1167-1178.
31. Beaulieu E. E. et Mauvais-Jarvis P.: *J. biol. Chem.* **239** (1964) 1578-1584.
32. Knuppen R. et Breuer H.: *Z. Physiol. Chem.* **328** (1962) 226-234.
33. Gustafsson J. Ä.: *Biochem. biophys. Acta* **296** (1973) 179-188.
34. Brooksbank B. W. L., Cunningham A. E. et Wilson D. A. A.: *Steroids* **13** (1969) 29-30.