

## Androstane과 Cholestane 유도체의 진통, 소염 및 항고지혈 효과

김학순 · 마은숙<sup>#</sup>

대구가톨릭대학교 약학대학

(Received October 24, 2007; Revised November 29, 2007)

### Antinociceptive, Antiinflammatory and Antihypercholesterolemic Effects of Androstane and Cholestane Derivatives

Haksoon Kim and Eunsook Ma<sup>#</sup>

College of Pharmacy, Catholic University of Daegu, Hayang 712-702, Korea

**Abstract** — Seven epoxy- and hydroxyandrostane derivatives (DH-1~DH-7) and nine epoxy- and hydroxycholestane derivatives (CH-1~CH-9) with unsaturation in ring A and ring B were synthesized from DHEA and cholesterol, respectively. The antinociceptive effects of all synthesized compounds were measured by hot plate method. Most of androstane derivatives except 1 $\alpha$ ,2 $\alpha$ -epoxy-4,6-androstadiene-3,17-dione (DH-3), and CH-6, CH-7 and CH-9 exhibited antinociceptive effect. 1,4-Androstadiene-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diol (DH-5, 100 mg/kg, 35.8 $\pm$ 7.39), 6 $\alpha$ ,7 $\alpha$ -epoxy-1,4-androstadiene-3,17-dione (DH-4, 100 mg/kg, 32.6 $\pm$ 5.50) and 5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -epoxy-17-oxo-androstan-3 $\beta$ -ol (DH-1, 100 mg/kg, 32.5 $\pm$ 2.98) were more effective than morphine (10 mg/kg, 30.6 $\pm$ 0.5). The analgesic effects of androstane derivatives on acetic acid writhing in mice were lower than aspirin. The androstane derivatives were less effective than ibuprofen at inhibiting effects on the carrageenin induced paw oedema. 4,6-Cholestadien-3 $\beta$ -ol (CH-5), 1 $\alpha$ ,2 $\alpha$ -epoxy-4,6-cholestadien-3 $\beta$ -ol (CH-7) and 7 $\alpha$ -hydroxy-4-cholesten-3-one (CH-9) showed the decrease of serum triglyceride and total cholesterol levels in poloxamer P-407 injected rat.

**Keywords** □ androstane, cholestane, antinociceptive, antiinflammatory, antihypercholesterolemic effect

Dehydroepiandrosterone(DHEA)는 adrenal gland에서 생산되는 steroidal hormone으로 항노화작용,<sup>1)</sup> 유방암,<sup>2,3)</sup> 방광암,<sup>4)</sup> 대장암의 억제,<sup>5)</sup> 비만,<sup>6)</sup> 동맥경화증 유발 감소,<sup>7)</sup> 면역력 증강<sup>8)</sup> 및 진통 작용<sup>9)</sup> 등 다양한 생리 활성 작용을 가진 화합물로 알려져 있다. 그러나 나이가 많아지면 DHEA의 체내 생산이 감소되고 이로 인해 여러 질환에 노출되게 된다. 이러한 생체 내 DHEA의 생리 활성작용을 기초로 하여 많은 유도체 합성이 진행되고 있다.

Cholesterol은 DHEA 합성의 전구물질로서 세포막의 구성 성분일 뿐 만 아니라 steroidal hormone, 담즙산 등의 합성에 이용되는 매우 중요한 생체분자로서 cholesterol의 낮은 혈중 농도는 우울, 불면 등의 원인이 된다.<sup>10,11)</sup> 반면 과잉량의 cholesterol은

hypercholesterolemia를 유발하지만, cholesterol 유도체 중에서 25-hydroxy-, 26-hydroxy-, 7-hydroxycholesterol, 또는 24,25(S)-epoxycholesterol 등은 오히려 cholesterol 대사 조절인자로 작용하여 HMG-CoA reductase 저해제 역할을 함으로서 인체 내 cholesterol 합성을 저해한다는 보고가 있다.<sup>12-15)</sup>

본 실험에서는 다양한 활성이 예측되는 androstane과 cholestane 유도체 개발의 일환으로 androstane과 cholestane의 A, B ring을 위치에 따라 선택적으로 epoxy 또는 hydroxy시킨 androstene, androstadiene 및 androstatriene 유도체 7종(DH-1~DH-7)<sup>16)</sup>과 cholestene, cholestadiene 및 cholestatriene 유도체 9종(CH-1~CH-9)<sup>17)</sup>을 이미 합성한 바 있다(Fig. 1, 2). 이들 화합물에 대하여 일차적으로 hot plate method, acetic acid writhing 등을 이용한 진통 효과를 측정하였으며, androstane 유도체는 carrageenin에 의한 부종 유발 억제 효과를, cholestane 유도체에 대해서는 poloxamer P-407 유발 고지혈증 실험모델을 활용<sup>18,19)</sup>하여 지질대사에 미치는 효과를 알아보았다.

<sup>#</sup>본 논문에 관한 문의는 저자에게로  
(전화) 053-850-3621 (팩스) 053-850-3602  
(E-mail) masook@cu.ac.kr

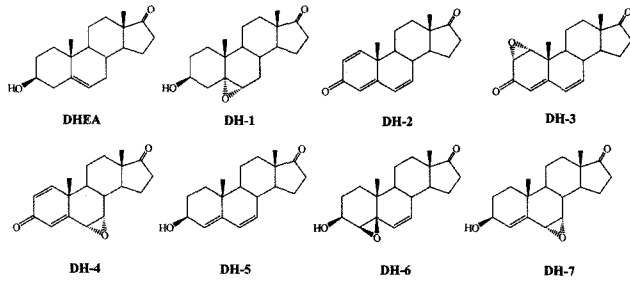


Fig. 1 - Structures of DHEA and synthesized androstane derivatives (DH-1~DH-7).



Fig. 2 - Structures of synthesized cholestane derivatives (CH-1~CH-9).

## 실험 방법

### 합성 화합물

Androstene, androstadiene 및 androstatriene 유도체들은 DHEA를 출발물질로 사용하여 시약에 따라 위치선택적으로 epoxidation 또는 reduction시켜 얻어진 화합물로서 5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -epoxy-17-oxo-androstan-3 $\beta$ -ol(DH-1), 1,4,6-androstatriene-3,17-dione(DH-2), 1 $\alpha$ ,2 $\alpha$ -epoxy-4,6-androstadiene-3,17-dione(DH-3), 6 $\alpha$ ,7 $\alpha$ -epoxy-1,4-androstadiene-3,17-dione(DH-4), 1,4-androstadiene-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diol(DH-5), 4 $\beta$ ,5 $\beta$ -epoxyandrost-6-en-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diol(DH-6), 그리고 7-ethoxy-17-oxo-1,4,6-androstatrien-3 $\beta$ -ol(DH-7) 등을 사용하였다(Fig. 1). Cholestene, cholestadiene 및 cholestatriene 유도체로는 cholesterol을 출발물질로 사용하여 시약에 따라 선택적으로 epoxidation 또는 reduction시켜 얻어진 화합물 5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -epoxycholestan-3 $\beta$ -ol(CH-1), 1,4,6-cholestatrien-3-one(CH-2), 1 $\alpha$ ,2 $\alpha$ -epoxy-4,6-cholestadien-3-one(CH-3), 6 $\alpha$ ,7 $\alpha$ -epoxy-1,4-cholestadien-3-one(CH-4), 4,6-cholestadien-3 $\beta$ -ol(CH-5), 4 $\beta$ ,5 $\beta$ -epoxy-6-cholesten-3 $\beta$ -ol(CH-6), 1 $\alpha$ ,2 $\alpha$ -epoxy-

4,6-cholestadien-3 $\beta$ -ol(CH-7), 2-ethoxy-1,4,6-cholestatrien-3-one(CH-8), 7 $\alpha$ -hydroxy-4-cholesten-3-one(CH-9) 등 9종(Fig. 2)에 대하여 진통, 소염 및 항고지혈 작용을 측정하였다.

### 실험동물

실험동물은 (주)대한 바이오링크(충북 음성)로부터 분양받아 동물 사육실에서 일정한 조건(온도 : 22 $\pm$ 1 $^{\circ}$ C, 습도 55 $\pm$ 3%, 명암 12시간 light/dark cycle)으로 1주 동안 고형 사료로 적응시킨 체중 18 $\pm$ 2 g의 ICR계 웅성 mouse와 체중 200 $\pm$ 10 g의 Sprague-Dawley계 rat를 각 group 당 6마리씩 사용하였다. 시료의 투여는 실험동물에 5% tween 80에 현탁시켜 100 mg/kg을 경구 투여한 후 1시간 후에 측정하였다. Normal 군은 5% tween 80의 동일 용량을 경구로 투여하였다.

### 통계처리

통계처리는 평균치 $\pm$ 표준편차로 표시하였고, 통계적 유의성 검증은 Duncan's multiple range test를 이용하였다.

### Hot plate 법에 의한 진통효과 측정

Hot plate 법에 의한 진통작용 측정은 실험동물에 시료를 각각 경구 투여하고 한 시간 후에 70 $^{\circ}$ C hot plate 위에 올려놓고 mouse가 열판에 접촉함과 동시에 뛰어 오를 때까지의 시간(sec)을 측정하였다.<sup>20)</sup> 시험물질은 100 mg/kg을 시험 60분 전에 경구로 투여하였고 양성대조약물로 morphine과 diclofenac을 사용하였으며 각각 10 mg/kg, 25 mg/kg을 투여하였다.

### Acetic acid writhing 법에 의한 진통효과 측정

Whittle의 방법<sup>21)</sup>에 준하여 시료를 각각 경구 투여하고 한 시간 후에 0.7% acetic acid 생리식염수를 피하주사하고 mouse의 writhing syndrome을 20분 간격으로 측정하였다. 각 군당 6마리의 mouse를 사용하였고 양성대조약물로 aspirin 100 mg/kg를 사용하여 비교하였다.

### Carrageenin 유발에 의한 소염효과 측정

부종의 측정은 Winter 등의 방법<sup>22)</sup>에 따라 각 약물을 경구로 투여한 후 1% carrageenin 용액 0.1 ml씩 흰 쥐의 right hind paw에 주사하고 최초의 용적과 주사 후 1시간 간격으로 5시간 동안의 부종을 용적법에 따라 흰쥐의 right hind paw의 일정 부위(malleous lateral)까지 용적(ml)을 Plethysmometer(Ugo Basile, Varese, Italy)를 사용하여 측정하였으며 양성대조약물로 ibuprofen 100 mg/kg를 사용하였다.

### Poloxamer P-407을 이용한 항고지혈 효과 측정

Poloxamer P-407(Pluronic F-127, M.W.=12,600)로 고지혈증

을 유도하기 위하여 poloxamer P-407 용액을 cold method에 따라 조제하였으며, 증류수에 용해시켜 시료를 일주일간 투여한 마지막 날 300 mg/kg씩 복강 내 투여하고 24시간 후 처치하였다.

실험동물을 이산화탄소 가스로 가볍게 마취시킨 후 복부 정중선을 개복하여 복부 대동맥에서 혈액을 채취한 다음 실온에서 30분간 방치한 후 원심분리기로 3,000 rpm에서 15분간 원심 분리하여 혈청을 분리하였다. 혈청 중의 total cholesterol 함량은 Richmond 등의 효소법<sup>23</sup>에 의하여 조제된 kit(AM 202-K, Asan)을 사용하여 측정하였다. Triglyceride 함량은 McGowan 등의 방법<sup>24</sup>에 준하여 조제된 kit(AM 157S-K, Asan)을 사용하여 측정하였다.

**결과 및 고찰**

**Hot plate 법에 의한 진통효과 측정 결과**

Hot plate method는 열에 의한 유해 수용기 자극을 통한 동통 반응 시간을 지표로 하여 진통 효과를 측정하는 방법으로 중추성 진통 효과를 알아보는 시험법으로 알려져 있다.<sup>25,26</sup> 본 실험에서는 양성대조 물질로 중추작용성 진통제인 morphine과 비스테로이드성 소염진통제인 diclofenac을 각각 사용하여 측정하였다. Androstane 유도체의 진통효과 측정 결과는 다음과 같다 (Table I). 정상군의 동통 반응시간은 19.5±1.61초였으며, 1α,2α-epoxy-4,6-androstadiene-3,17-dione(DH-3)를 제외하고는 morphine 10 mg을 투여한 군 30.6±0.5초 보다 우수하거나 유사한 한 진통효과를 나타냈으며, 출발물질인 DHEA 100 mg/kg 투여군은 42.1±11.7초로 morphine 10 mg/kg 투여군 보다 우수하였다.

Cholestane 유도체의 진통효과 측정 결과는 Table II에 나타난 바와 같다. 4β,5β-epoxycholest-6-en-3β-ol(CH-6)과 1α,2α-

**Table I** – Antinociceptive effects of DHEA derivatives by hot plate method in mice

Treatment	Dose (mg/kg, po)	Retention time (sec.)
Normal		19.5±1.61 <sup>h,i,1,2)</sup>
DHEA	100	42.1±11.7 <sup>a</sup>
DH-1	100	32.5±2.98 <sup>b,c,d</sup>
DH-2	100	29.3±4.52 <sup>c,d,e,f</sup>
DH-3	100	25.2±5.54 <sup>e,f,g,h</sup>
DH-4	100	32.6±5.50 <sup>b,c,d</sup>
DH-5	100	35.8±7.39 <sup>a,b,c</sup>
DH-6	100	30.2±9.06 <sup>d,e,f,g</sup>
DH-7	100	31.3±4.43 <sup>d,e,f,g</sup>
Morphine	10	30.6±0.5 <sup>d,e,f,g</sup>
Diclofenac	25	19.6±2.3 <sup>h,i</sup>

The assay procedure was described in the experimental methods. <sup>1)</sup>Values represent mean±S.D. (n=6). <sup>2)</sup>Values sharing the same superscript letter are not significantly different each other (P<0.05) by Duncan's multiple range test.

**Table II** – Antinociceptive effects of cholesterol derivatives by hot plate method in mice

Treatment	Dose (mg/kg, po)	Retention time (sec.)
Normal		19.5±1.61 <sup>h,i,1,2)</sup>
CH-1	100	25.5±5.98 <sup>e,f,g,h</sup>
CH-2	100	19.4±1.28 <sup>h,i</sup>
CH-3	100	23.1±0.48 <sup>f,g,h,i</sup>
CH-4	100	17.4±2.86 <sup>i</sup>
CH-5	100	21.9±0.61 <sup>g,h,i</sup>
CH-6	100	30.2±9.06 <sup>d,e,f,g</sup>
CH-7	100	30.4±4.07 <sup>d,e,f,g</sup>
CH-8	100	28.3±5.73 <sup>d,e,f,g</sup>
CH-9	100	25.5±2.98 <sup>e,f,g,h</sup>
Morphine	10	30.6±0.5 <sup>d,e,f,g</sup>
Diclofenac	25	19.6±2.3 <sup>h,i</sup>

The assay procedure was described in the experimental methods. <sup>1)</sup>Values represent mean±S.D. (n=6). <sup>2)</sup>Values sharing the same superscript letter are not significantly different each other (P<0.05) by Duncan's multiple range test.

epoxy-4,6-cholestadien-3β-ol(CH-7)이 30.2±9.06초, 30.4±4.07초로 morphine 10 mg/kg 투여군과 유사한 효과를 보였다. 진통 시간의 증가를 보인 CH-6과 CH-7는 4, 5위치와 1, 2 위치에 각각 epoxy ring을 가진 화합물임을 알 수 있었다. Diclofenac 25 mg 투여군은 hot plate method에서의 진통효과는 19.6±2.3초로 정상군과 별다른 차이가 없었다. 그러므로 이들 화합물의 진통작용은 중추성인 것으로 생각되었다.

**Acetic acid writhing 법에 의한 진통효과 측정 결과**

말초성 진통 효과를 관찰하기 위해 통증 유발 인자의 유리와 관계된 통증 모델인 acetic acid writhing 법을 이용하여 DHEA 유도체들의 진통 효과를 측정하여 Table III에 제시하였다. 정상군에서 20분 내에 61.6±3.21회 writhing 하였고 DH-3를 제외한 모든 화합물에서 유의성 있는 진통작용을 나타냈으며, 특히 출발물질인 DHEA가 39.4±3.36회, DH-5가 41.4±3.58회로 나타났다. 그러나 이들 유도체 전부가 양성대조약물인 aspirin

**Table III** – Analgesic effects of DHEA derivatives by acetic acid writhing in mice

Treatment	Dose (mg/kg, po)	Frequency (count/20 min.)
Normal		61.6±3.21 <sup>a,1,2)</sup>
DHEA	100	39.4±3.38 <sup>c</sup>
DH-1	100	49.4±3.05 <sup>b</sup>
DH-2	100	51.8±4.09 <sup>b</sup>
DH-3	100	58.0±2.24 <sup>a</sup>
DH-4	100	48.0±2.74 <sup>b</sup>
DH-5	100	41.4±3.58 <sup>c</sup>
DH-7	100	49.2±4.76 <sup>b</sup>
Aspirin	100	14.7±1.43 <sup>e</sup>

The assay procedure was described in the experimental methods. <sup>1)</sup>Values represent mean±S.D. (n=6). <sup>2)</sup>Values sharing the same superscript letter are not significantly different each other (P<0.05) by Duncan's multiple range test.

Table IV - Inhibitory effect of androstane derivatives on carrageenin-induced paw oedema in rat

Treatment	Dose (mg/kg)	ml				
		1 hr	2 hr	3 hr	4 hr	5 hr
Control		1.28±0.05 <sup>k,1,2)</sup>	2.40±0.09 <sup>f</sup>	3.08±0.19 <sup>a</sup>	2.48±0.07 <sup>e,f</sup>	1.90±0.03 <sup>i</sup>
DHEA	100	1.25±0.05 <sup>k</sup>	1.97±0.07 <sup>h</sup>	2.51±0.06 <sup>e,f</sup>	2.09±0.06 <sup>h</sup>	1.80±0.07 <sup>j</sup>
DH-2	100	1.29±0.07 <sup>k</sup>	2.51±0.07 <sup>e,f</sup>	2.90±0.09 <sup>b,c</sup>	2.50±0.05 <sup>e,f</sup>	1.85±0.06 <sup>j</sup>
DH-3	100	1.31±0.06 <sup>k</sup>	2.49±0.05 <sup>e,f</sup>	3.00±0.04 <sup>a,b,c</sup>	2.47±0.07 <sup>e,f</sup>	1.86±0.04 <sup>ij</sup>
DH-4	100	1.29±0.06 <sup>k</sup>	2.43±0.07 <sup>e,f</sup>	2.89±0.09 <sup>b,c</sup>	2.51±0.05 <sup>e,f</sup>	1.84±0.03 <sup>j</sup>
DH-5	100	1.28±0.03 <sup>k</sup>	2.17±0.05 <sup>g,h</sup>	2.51±0.06 <sup>e,f</sup>	2.26±0.04 <sup>g</sup>	1.82±0.05 <sup>j</sup>
DH-7	100	1.27±0.04 <sup>k</sup>	2.45±0.04 <sup>e,f</sup>	2.95±0.07 <sup>b,c</sup>	2.51±0.07 <sup>e,f</sup>	1.86±0.06 <sup>ij</sup>
Ibuprofen	100	0.96±0.04 <sup>n</sup>	1.21±0.04 <sup>m</sup>	1.58±0.04 <sup>l</sup>	1.20±0.03 <sup>m</sup>	0.98±0.06 <sup>n</sup>

The assay procedure was described in the experimental methods.

<sup>1)</sup>Values represent mean±S.D. (n=6). <sup>2)</sup>Values sharing the same superscript letter are not significantly different each other (P<0.05) by Duncan's multiple range test.

14.7±1.43회에 비하여 진통효과가 낮음을 알 수 있었으며 말초성 진통효과보다는 중추성 진통 작용이 있는 것으로 생각되었다.

#### Carrageenin 유발에 의한 소염효과 측정 결과

DHEA, DH-2, DH-3, DH-4, DH-5, DH-7 100 mg/kg를 각 경구 투여 후 carrageenin으로 paw oedema를 유발하고 부종 유발 1, 2, 3, 4, 5시간 후까지 시간 별로 부종 용적(ml)을 측정하여 Table IV에 나타내었다. 부종 용적 감소 효과는 DHEA가 좋은 결과를 보이나 양성대조약물인 ibuprofen에 비하면 약하였다.

#### Poloxamer p-407을 이용한 항고지혈 효과 측정 결과

Poloxamer P-407은 계면활성제의 하나로 간에서 cholesterol을 합성하는데 가장 중요한 효소 중의 하나인 HMG-CoA reductase의 활성을 증진시킨다. 또한 이 물질은 상피세포 표면에 존재하며 순환하고 있는 혈중 triglyceride의 가수분해에 관여하는 효소인 lipoprotein lipase를 강력히 억제함으로써 고지혈증이나 고콜레스테롤증을 야기 시킴으로 이를 이용하여 화합물의

화학적 활성 증진 효과를 측정하고 새로운 실험 model로서 기존의 방법에 비해 고지혈증 발생 기전을 검토하는데 유리한 장점을 가지고 있는 방법으로 이를 이용하여 합성한 cholesterol 유도체 7종에 대한 항고지혈 효과를 측정하였고 그 결과를 Table V에 나타내었다.

Poloxamer 투여군의 triglyceride가 1004±58.9 mg/dl. Total cholesterol이 750.8±52.5 mg/dl이었으며, CH-5, CH-7, CH-9의 triglyceride가 각각 719.8±33.5 mg/dl, 844.7±41.1 mg/dl, 614.8±34.5 mg/dl이었으며, total cholesterol이 570.8±24.5 mg/dl, 670.8±40.0 mg/dl, 340.9±23.9 mg/dl로서 유의성 있는 감소를 보였으며, 특히 7 $\alpha$ -hydroxy-cholest-4-en-3-one(CH-9)이 가장 좋은 항고지혈 효과를 나타냄을 알 수 있었다. 이는 구조적으로 유사한 화합물인 7-hydroxycholesterol이 HMG-CoA reductase inhibitor로 작용하여 항고지혈작용을 나타내는 것과 유사한 결과로 생각되었다.

## 결 론

선택적인 위치에 epoxy 또는 hydroxy기를 가진 androstane 유도체 7종과 cholestane 유도체 9종에 대하여 hot plate method를 이용하여 중추성 진통작용을 실험한 결과 androstane유도체는 DH-3를 제외한 모든 화합물에서 유의성 있는 진통작용이 관찰되었으며 cholestane 유도체는 CH-6과 CH-7이 진통작용을 나타냈다. Androstane유도체는 acetic acid writhing test에 의한 말초성 진통 작용, carrageenin 유발 부종에 대한 억제효과를 측정한 결과 DHEA가 가장 활성이 좋았다. Cholestane유도체의 항고지혈 작용에 대한 실험 결과 CH-5, CH-7, CH-9가 유의성 있는 감소 효과를 나타내었다.

## 감사의 말씀

본 연구는 대구가톨릭대학교의 지원에 의해 수행되었기에 감

Table V - Effects of cholestane derivatives on the serum triglyceride and total cholesterol levels in poloxamer P-407 injected rat

Treatment	Dose (mg/kg)	Triglyceride	Total cholesterol
		mg/dl	mg/dl
Normal		78.4±7.60 <sup>i,1,2)</sup>	69.4±7.30 <sup>g</sup>
Poloxamer P-407		1004.1±58.9 <sup>b,c</sup>	750.8±52.7 <sup>a,b</sup>
CH-1	100	980.7±46.5 <sup>c,d,e</sup>	728.3±17.9 <sup>c</sup>
CH-2	100	1089.2±60.3 <sup>a,b</sup>	760.1±33.8 <sup>a,b,c</sup>
CH-3	100	1101.9±54.8 <sup>a,b</sup>	754.6±31.1 <sup>b,c</sup>
CH-4	100	916.6±49.2 <sup>c,f</sup>	758.4±15.2 <sup>b,c</sup>
CH-5	100	719.8±33.5 <sup>g</sup>	570.8±24.5 <sup>e</sup>
CH-7	100	844.7±41.1 <sup>f</sup>	670.5±40.0 <sup>d</sup>
CH-9	100	614.8±34.5 <sup>h</sup>	340.9±23.9 <sup>f</sup>

The assay procedure was described in the experimental methods.

<sup>1)</sup>Values represent mean±S.D. (n=6) <sup>2)</sup> Values sharing the same superscript letter are not significantly different each other (P<0.05) by Duncan's multiple range test.

사드립니다.

### 참고문헌

- 1) Araghiniknam, M., Chung, S., Tresa, N.-W., Eskelson, C. and Watson, R. R. : Antioxidant activity of dioscorea and dehydroepiandrosterone (DHEA) in older humans. *Life Sci.* **59**(11), 147 (1996).
- 2) Aspinall, S. R., Stamp, S., Davison, A., Shenton, B. K. and Leonard, T. W. : The proliferative effects of 5-androstene-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diol and 5 $\alpha$ -dihydrotestosterone on cell cycle analysis and cell proliferation in MCF7, T47D and MDAMB231 breast cancer cell lines. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **88**(1), 37 (2004).
- 3) Maggolini, M., Carpino, A., Bonofiglio, D., Pezzi, V., Rago, V., Marsico, S., Picard, D. and Ando, S. : The direct proliferative stimulus of dehydroepiandrosterone on MCF-7 breast cancer cells is potentiated by overexpression of aromatase. *Mol. Cell Endocrinol.* **184**(1-2), 163 (2001).
- 4) Gordon, G. B., Helzlsouer, K. J. and Comstock, G. W. : Serum levels of dehydroepiandrosterone and its sulfate and the risk of developing bladder cancer. *Cancer Res.* **51**, 1366 (1991).
- 5) Schulz, S., Klann, R. C., Schonfeld, S. and Nyce, J. W. : Mechanisms of cell growth inhibition and cell cycle arrest in human colonic adenocarcinoma cells by dehydroepiandrosterone : role of isoprenoid biosynthesis. *Cancer Res.* **52**, 1372 (1992).
- 6) Cleary, M. P., Shepherd, A. and Jenks, B. : Effect of DHEA of growth in lean and obese Zucker rats. *J. Nutr.* **114**, 1242 (1984).
- 7) Hayashi, T., Esaki, T., Muto, E., Kano, H., Asai, Y., Thakur, N. K., Sumi, D., Jayachandrin, M. and Iquchi, A. : Dehydroepiandrosterone retards atherosclerosis formation through its conversion to estrogen : the possible role of nitric oxide. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **20**(3), 782 (2000).
- 8) Loria, R. M., Padgett, D. A. and Huynh, P. N. : Regulation of the immune response by dehydroepiandrosterone and its metabolites. *J. Endocrinol.* **150**, S209 (1996).
- 9) Frye, C. A., Van Keuren, K. R., Rao, P. N. and Erskine, M. S. : Analgesic effects of the neurosteroid 3 $\alpha$ -androstenediol. *Brain Res.* **709**, 1 (1996).
- 10) Guggenheim, C. B. and Foster, H. G. Jr. : Serum cholesterol and perception of anger and sadness. *Psychol. Rep.* **77**, 1343 (1995).
- 11) Vevera, J., Fisar, Z., Kvasnicka, T., Zdenek, H., Starkova, L., Cestka, R. and Papezova, H. : Cholesterol-lowering therapy evokes time-limited changes in serotonergic transmission. *Psychiatry Res.* **133**(2-3), 197 (2005).
- 12) Easterman, A. L., Baum, H., Javitt, N. B. and Darlington, G. J. : 26-Hydroxycholesterol: regulation of hydroxymethylglutaryl CoA reductase activity in Chinese hamster ovary cell culture. *J. Lipid Res.* **24**, 1304 (1983).
- 13) Li, D. and Spencer, T. A. : Synthesis of 7 $\beta$ -hydroxy derivatives of regulatory oxysterols. *Steroids* **65**, 529 (2000).
- 14) Saucier, S. E., Kandutsch, A. A., Gayen, A. K., Swahn, D. K. and Spencer, T. A. : Oxysterol regulators of 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase in liver. Effect of dietary cholesterol. *J. Biol. Chem.* **264**, 6863 (1989).
- 15) Taylor, F. R., Kandutsch, A. A., Gayen, A. K., Nelson, J. A., Nelson, S. S., Phirwa, S. and Spencer, T. A. : 24,25-Epoxycholesterol metabolism in cultured mammalian cells and repression of 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase. *J. Biol. Chem.* **261**, 15039 (1986).
- 16) Ma, E. and Kim, E. : Epoxidation and reduction of DHEA, 1,4,6-androstatriene-3,17-dione and 4,6-androstadiene-3 $\beta$ ,17 $\beta$ -diol. *Molecules* **10**, 572 (2005).
- 17) Ma, E., Kim, H. and Kim, E. : Epoxidation and reduction of cholesterol, 1,4,6-cholestatrien-3-one and 4,6-cholestadien-3 $\beta$ -ol. *Steroids* **70**, 245 (2005).
- 18) Johnston, T. P. and Palmer, W. K. : Mechanism of poloxamer 407-induced hypertriglyceridemia in the rat. *Biochem. Pharmacol.* **46**, 1037 (1993).
- 19) Korde, S. S., Baig, M. H., Desai, U. R. and Trivedi, G. K. : Differential behavior of (25R)-5,6-epoxyspirostan-22 $\alpha$ -O-3 $\beta$ -ol and (25R)-5,6-epoxyspiro stan-22 $\alpha$ -O-3 $\beta$ ,4 $\beta$ -diol toward Dowex. *Steroids* **61**, 290 (1996).
- 20) Woolfe, G. and MacDonald, A. D. : The evaluation of the analgesic action of pethidine hydrochloride (Demerol). *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **80**, 300 (1944).
- 21) Whittle, B. A. : The use of changes in capillary permeability in mice to distinguish between narcotic and nonnarcotic analgesics. *Br. J. Pharmacol. Chemother.* **22**, 246 (1964).
- 22) Winter, C. A., Risley, E. A. and Nuss, G. W. : Carrageenin-induced edema hind paw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **111**, 544 (1962).
- 23) Richmond, W. : Use of cholesterol oxidase for assay of total and free cholesterol in serum by continuous flow analysis. *Clin. Chem.* **22**, 1579 (1976).
- 24) McGowan, M. W., Artiss, J. D., Stranbergh, D. R. and Zak, B. : A peroxidase coupled method for the colorimetric determination of serum triglycerides. *Clin. Chem.* **29**, 538 (1983).
- 25) Sandrini, M., Vitale, G. and Pini, L. A. : Central antinociceptive activity of acetylsalicylic acid is modulated by brain serotonin receptor subtypes. *Pharmacology* **65**, 193 (2002).
- 26) Bulka, A., Wiesenfeld-Hallin, Z. and Xu, X. J. : Differential antinociception by morphine and methadone in two sub-strains of Sprague-Dawley rats and its potentiation by dextromethorphan. *Brain Res.* **942**, 95 (2002).