

Title	合成副腎皮質ホルモンの生物学的活性に関する研究[第3報]
Sub Title	Studies on biological activities of synthesized corticoid [III] on activities of 21-chloro-9 α -fluoro-11 β -hydroxy-16 β -methyl-17 α -propionyloxypregna-1, 4-diene-3, 20-dione
Author	中村, 悦郎(Nakamura, Etsuro) 木村, 都(Kimura, Miyako) 加藤, 礼子(Kato, Reiko) 吉原, 民子(Yoshihara, Tamiko) 年光, 芳信(Toshimitsu, Yoshinobu)
Publisher	共立薬科大学
Publication year	1974
Jtitle	共立薬科大学研究年報 (The annual report of the Kyoritsu College of Pharmacy). No.19 (1974.) ,p.13- 25
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	原報
Genre	Technical Report
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00062898-00000019-0013

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

合成副腎皮質ホルモンの生物学的活性に関する研究〔第3報〕

中村悦郎, 木村 都, 加藤礼子, 吉原民子, 年光芳信

Studies on Biological Activities of Synthesized Corticoid [Ⅲ] On Activities
of 21-Chloro-9 α -fluoro-11 β -hydroxy-16 β -methyl-17 α -
-propionyloxypregna-1,4-diene-3,20-dioneETSURO NAKAMURA, MIYAKO KIMURA, REIKO KATO, TAMIKO YOSHIHARA and
YOSHINOBU TOSHIMITSU

(Received September 30, 1974)

The present investigations were undertaken to determine the anti-inflammatory and other activities of 21-chloro-9 α -fluoro-11 β -methyl-17 α -propionyloxy-pregna-1,4-diene-3,20-dione (clobetasol propionate, abr. CBP) : edema and cotton pellet granuloma inhibiting, androgenic-anabolic, estragenic and anti-estrogenic activities

The following results were obtained :

- 1) In the cases of the granuloma inhibition potency test by the method of the cotton pellet implantation in adrenalectomized rat, CBP was 2.3 times greater than betamethasone-17-valerate.
- 2) In carrageenin and formalin edema-inhibition test, CBP was about 100 times as potent as hydrocortisone and about 2 times the activity of betamethasone-17-valerate.
- 3) Thymus involuting activity of CBP in mice was 32 times as potent as hydrocortisone and 3.5 times greater than betamethasone-17-valerate.
- 4) Increasing of sodium and potassium excretion and of urine volume were observed by CBP.

From a consideration of these results, it seems most reasonable to conclude that clobetasol propionate has marked anti-inflammatory activities with no sodium retention and also that it has no androgenic-anabolic and estrogenic activities.

先に私共は諸種の合成副腎ステロイドの生物活性について報告¹⁾したが、今回は fluorocortisol 誘導体である clobetasol propionate (以下 CBP と略) の生物学的活性に関し、hydrocortisone および betamethasone-17-valerate と比較検討したので報告する。

実験材料および実験方法

実験薬物

本実験に用いたステロイド clobetasol propionate は下記の構造を有する化合物で白〜クリーム色の無臭結晶性粉末、分子量 467.0, 融点 194.5~197.0°C, $[\alpha]_D^{20}$ (1 w/w% ジオキサン溶液) +97~+105° であり、水に難溶、アルコール, アセトン, 植物油などに可溶である。

実験には比較薬物として、hydrocortisone, betamethasone-17-valerate を用いた。

実験方法

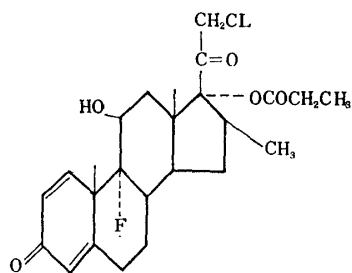


Fig 1 Structural formula
21-chloro-9 α -fluoro-11 β -hydroxy-16 β -methyl-17 α -propionyloxypregna-1,4-dien-3,20-dione (Clobetasol propionate)

抗炎症作用，胸腺退縮作用，男性ホルモン・蛋白同化ホルモン作用，卵胞ホルモンおよび抗卵胞ホルモン作用，肝グリコーゲン沈着試験並びに電解質排泄作用について観察した。

1. 抗炎症作用

抗炎症作用の活性を知る目的で肉芽腫抑制作用，後肢 carrageenin, formalin 浮腫抑制作用について観察した。

i). 肉芽腫抑制作用

体重 200~250g の S. D. 系雄性ラットを用い，1群5匹として，Meier ら²⁾ (1950) の方法によりエーテル麻酔下に副腎を摘出し，摘出した皮膚の切開口より背部甲骨下部皮下に予め秤量滅菌した綿球を挿入して，綿球挿入日より4日間1日1回薬物を背部皮下に投与し，最終注射の24時間後にラットを断頭屠殺，綿球を取り出し，その直後の湿潤重量および乾燥重量 (60 \pm 2 $^{\circ}$ C の乾燥器内にて恒量になるまで乾燥) を測定した。この重量から綿球の挿入前の重量を差引き対照群と比較検討した。薬物は落花生油溶液とし，1ml/Kg/day となるよう調製し，対照群には同容量の落花生油を投与した。なお，綿球は日局脱脂綿を重量 40 \pm 1mg とり，堅さ，大きさ (径約 7mm) をできるだけ一定となるよう作製した。

ii). 浮腫抑制作用

体重 150g 前後の S. D. 系雄性ラット1群8匹を用い，宇田³⁾ (1960)，島本ら⁴⁾ (1960) の方法に従い，起炎剤として1% carrageenin 生理食塩水溶液 0.05ml あるいは10% formalin 生理食塩水溶液 0.1ml を用いた。

まず対照として一側の後肢足蹠皮下に起炎剤を注射し，ラット用足容積測定装置 (Ugo basile 製) を用いて経時的に腫脹の程度を測定し，翌々日落花生油溶液とした薬物を背部皮下に注射し，その1時間後に他側の足蹠に前々日と同様に起炎剤処置を行ない，経時的に足の容積を測定し，ステロイド投与前との容積差より浮腫抑制率を算出した。

2. 胸腺退縮作用

i). マウスを用いた実験

体重 20g 前後の ICR 雌性マウスを用い，1日2回 (12時間間隔) 2日間薬物を皮下あるいは経口投与し，最終投与の16時間後に屠殺，胸腺を摘出，重量を測定した。薬物は皮下注射の場合には落花生油溶液あるいは生理食塩水に懸濁し，経口投与では tween 80 の 0.05% 溶液 (精製水を用いた) に懸濁させて用いた。

ii). ラットを用いた実験

生後22~23日令の S. D. 系ラット雌性5匹を1群として1日2回 (12時間間隔) 2日間薬物を皮下注射し，最終投与の16時間後にラットを屠殺，胸腺重量を測定した。ステロイドは落花生油溶液とし，対照群には同容量 (0.1ml/rat/once) の落花生油を投与した。

3. 男性ホルモン・蛋白同化ホルモン作用

i). マウスを用いた実験

Hershberger ら⁹⁾ (1953) の方法を改変し、体重 17~21g の ICR 雄性マウスに薬物を 1日 1回 7日間背部皮下に注射し、最終注射後24時間目に屠殺、肛門拳筋、前立腺、精囊、包皮腺、腎臓、睪丸の重量を測定した。薬物は落花生油に溶解させて投与した。

ii). ラットを用いた実験

離乳直後 (22日令) の S. D. 系雄性ラットを去勢し、落花生油溶液とした薬物 (容量 0.1ml/rat/day) を去勢当日より 1日 1回 7日間皮下投与し、その24時間後に屠殺、肛門拳筋、前立腺、精囊、包皮腺および腎臓重量を秤量した。対照群には同容量の落花生油を同様に投与した。

4. 卵胞ホルモンおよび抗卵胞ホルモン作用

卵胞ホルモン作用の検定には Lauson ら⁹⁾ (1939), Evans ら⁷⁾ (1940) の 72時間法を用いた。すなわち離乳直後の ICR 雌性マウスに落花生油に溶解した薬物を 1日 1回 3日間背部皮下に投与し、最初の注射より72時間後に屠殺、子宮重量を測定した。1回の投与容量を 0.05ml/mouse となるように調製した。

抗卵胞ホルモン作用検定は卵胞ホルモン作用と全く同様の方法で検体 500 μ g (total dose) に estrone 0.1 μ g (total dose) を加えたものを投与し、estrone 単独投与群と比較検討した。

5. 肝グリコーゲン沈着作用

体重 22~31g の ICR 雌性マウスを用い、副腎を摘出、手術後飲料水として 1%食塩水および日本クレア製 CE-2 型固型餌糧を与え、副腎摘出30時間後より絶食させ、副腎摘出48時間後に生理食塩水に懸濁させた薬物を背部皮下に注射した。薬物投与より 7.5時間後に動物を断頭、肝臓を摘出し Good ら⁹⁾ (1933) の方法に従って肝グリコーゲンの抽出を行い、Somogyi⁹⁾ (1952) 法にて定量した。

6. 電解質排泄作用

体重 130~160g の S. D. 系雄性ラットを 1群 6匹とし、副腎摘出後 1%食塩水および固型餌糧 (日本クレア製 CE-2) を与えた。副腎摘出より 3日後、被検薬物を生理食塩水に懸濁させて背部皮下に注射した。その30分後に 0.9%生理食塩水 5ml を腹腔内に投与し、糞尿分離代謝ケージ中にて 5時間の尿を採取、炎光光度計により Na⁺ および K⁺ 量を測定した。

実験結果

1. 抗炎症作用

i). 肉芽腫抑制作用

副腎摘出ラットにおいて、CBP 0.9mg/Kg/day 皮下投与で綿球の湿潤重量は対照に比し 39%の抑制を認め、乾燥重量においては 70%の抑制を示した。Hydrocortisone および betamethasone-17-valerate においても同様に乾燥重量における抑制が強かった。綿球の乾燥重量より granuloma抑制効果を比較してみた場合、hydrocortisone, betamethasone-17-valerate および CBP の dose-response curve の間には平行性が認められなかったが、しかし、その dose-response curve より推定すると hydrocortisone に対して CBP は約 112倍、betamethasone-17-valerate は約48倍の抑制作用を有することがうかがわれた (Table 1)。

ii). 浮腫抑制作用

起炎剤として carrageenin を用いた場合の浮腫の経過は Fig. 2 に示す様にほぼ 3時間でピークに達し、以後徐々に減少した。

Table 1 Effect of steroids on cotten pellet granuloma in adrenalectomized rats

Treatment	Dose (mg/kg/day)	Cases	Wet weight (mg)	Inhibition (%)	Dry weight (mg)	Inhibition (%)	Relative potency
Control (Arachis oil)	—	10	219.4±8.0 ^{a)}		27.3±1.2		
Hydrocortisone	10	10	157.7±4.0**	28.1	13.1±0.9**	52.0	1.0
	30	10	157.6±5.5**	28.2	10.6±0.4**	61.2	
	90	10	140.5±6.1**	36.0	8.0±0.4**	70.7	
V-Betamethasone	0.1	10	199.9±6.7	8.9	23.4±0.9*	14.3	47.8
	0.3	10	179.9±6.8*	18.0	21.6±1.0*	20.9	
	0.9	10	177.6±5.6*	19.1	20.9±1.1*	23.4	
CBP	0.1	10	143.8±3.1**	34.5	11.5±0.5**	57.9	112.5
	0.3	10	137.4±3.2**	37.4	8.5±0.3**	68.9	
	0.9	10	134.1±2.1**	38.9	8.1±0.3**	70.3	

a) Mean±S.E.

* Significantly different from control ($P \leq 0.05$)

** Significantly different from control ($P \leq 0.01$)

V-Betamethasone : Betamethasone-17-valerate

CBP : Clobetasol propionate

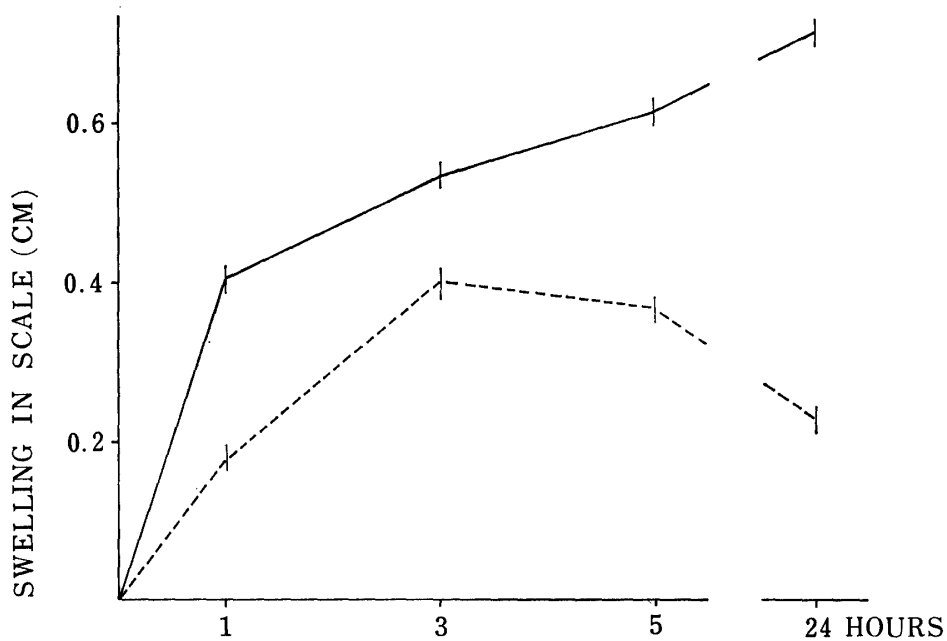


Fig 2 The pattern of the edema induced by formalin and carrageenin

— formalin
 carrageenin

Hydrocortisone 60mg/kg 皮下注射で起炎剤投与の1時間後より約46%の抑制を示し、24時間後まで持続した。Betamethasone-17-valerate は 0.9mg/Kg 皮下投与で5時間後まで持続的に抑制し、以後その効果は減少した。CBP 0.9mg/Kg 皮下投与では carrageenin 投与の1

Table 2 Effect of steroids on the edema induced by subplantar injection of 1 % carrageenin

Treatment	Dose (mg/kg)	Cases	Inhibition (%)					Relative potency		
			1 hr	3 hrs	5 hrs	24 hrs	1 hr	3 hrs	5 hrs	
Hydrocortisone	20	8	36.2±4.7	38.9±5.1	40.8±4.3	70.1±4.2	1.0	1.0	1.0	
	60	8	45.5±6.0	47.9±5.3	67.9±7.5	86.5±2.7				
V-Betamethasone	0.3	8	23.8±2.8	33.2±2.9	46.9±3.0	27.4±3.9	33.7 b)	63.6	52.5	
	0.9	8	40.3±4.8	53.9±3.0	54.3±2.6	32.7±2.5				
CBP	0.3	8	30.1±4.1	33.2±6.5	63.5±3.4	80.8±3.6	87.8	91.0	160.9	
	0.9	8	54.8±2.6	65.3±4.7	81.6±6.2	90.8±1.6				

a) Mean±S.E.
b) Fiducial range (P=0.95)

Table 3 Effect of steroids on the edema induced by subplantar injection 0.1ml of 10% formalin

Treatment	Dose (mg/kg)	Cases	Inhibition (%)						Relative potency		
			1 hr	3 hrs	5 hrs	24 hrs	48 hrs	1 hr	5 hrs	24 hrs	
Hydrocortisone	20	8	18.4±1.8	28.3±4.3	16.7±1.3	15.3±1.5	8.9±1.8	1.0	1.0	1.0	
	60	8	29.0±2.9	36.1±2.9	35.0±3.1	24.9±2.8	16.5±1.7				
V-Betamethasone	0.3	8	7.6±0.9	6.8±0.4	9.9±1.1	6.8±0.8	6.4±0.8	27.9 b)	45.0	25.9	
	0.9	8	20.9±1.4	30.9±2.9	28.6±2.3	12.5±1.3	9.6±1.0				
CBP	0.3	8	9.0±1.4	17.2±2.7	23.3±2.4	31.6±3.7	12.3±1.6	35.9	72.7	138.4	
	0.9	8	24.0±1.8	30.0±3.3	30.5±3.2	32.4±4.4	26.9±2.7				

a) Mean±S.E.
b) Fiducial range (P=0.95)

時間後より55%の浮腫抑制を示し、24時間後まで持続した。これらステロイドの carrageenin 投与3時間後における浮腫抑制効果は、hydrocortisone に比し、betamethasone-17-valerate は63.6倍 (26.3~145.1:95%信頼限界、以下同様)、CBP は91.0倍 (49.1~218.2) であり、CBPの方がbetamethasone-17-valerate に比し強い浮腫抑制作用を認めた (Table 2)。

Formalin による浮腫は Fig. 2 に示す如く、1時間目に強く出現し、その後も24時間まで持続的に増加した。

対照に対する浮腫抑制率は hydrocortisone では起炎剤投与後3時間、betamethasone-17-valerate では同じく3~5時間、CBP では24時間目に最も高い値を示した。Formalin による浮腫に対する抑制効果を hydrocortisone と比較すると起炎剤投与1時間後においては、betamethasone-17-valerate は27.9倍 (15.5~41.0)、CBP は35.9倍 (21.4~51.9) であり、5時間後では前者が45.0倍 (33.0~58.5)、後者が72.7 (44.7~123.8) であった (Table 3)。

2. 胸腺退縮作用

i) マウスにおける実験

マウスにおける胸腺退縮作用を hydrocortisone と比較すると被検薬を落花生油溶液として背部皮下投与した場合、betamethasone-17-valerate は13.6倍 (12.0~15.4)、CBP は60.3倍 (51.0~73.4) の効力を認めた。CBP 投与群では軽度の体重減少が認められた (Table 4)。生理食塩水懸濁液を背部皮下に投与した場合では betamethasone-17-valerate は8.9倍 (6.1~10.7)、CBP は28.3倍 (22.2~35.6) であり、更に水性懸濁液の経口投与の場合は hydrocortisone に比べ前者は4.4倍 (3.7~5.3)、後者は6.6倍 (5.6~8.2) の効力を示した。Hydrocortisone 高用量群 (400 μ g/mouse)、betamethasone-17-valerate および CBP 投与群に軽度の体重減少が認められた (Table 5, 6)。

Table 4 Thymolytic activities of CBP and others in arachis oil administered subcutaneously to mice

Treatment	Total dose (μ g/body)	Cases	Initial body weight (g)	Final body weight (g)	Thymus weight (mg)	Relative potency
Control (Arachis oil)	—	9	21.4 \pm 0.3 ^{a)}	22.4 \pm 0.4	118.3 \pm 7.0	
Hydrocortisone	100	9	20.7 \pm 0.2	20.5 \pm 0.3	79.7 \pm 2.8	1.0
	200	9	21.5 \pm 0.4	20.8 \pm 0.4	49.3 \pm 2.9	
	400	9	20.1 \pm 0.6	19.6 \pm 0.4	30.6 \pm 2.1	
V-Betamethasone	10	9	21.6 \pm 0.3	21.5 \pm 0.5	60.6 \pm 1.2	13.6 ^{b)} (12.0~15.4)
	20	9	20.0 \pm 0.3	20.2 \pm 0.2	41.9 \pm 1.4	
	40	9	20.1 \pm 0.3	19.9 \pm 0.4	31.5 \pm 0.6	
CBP	5	9	21.0 \pm 0.2	20.2 \pm 0.3	37.6 \pm 1.3	60.3 (51.0~73.4)
	10	9	21.9 \pm 0.3	19.8 \pm 0.2	21.7 \pm 0.5	
	20	9	22.1 \pm 0.2	19.9 \pm 0.2	17.0 \pm 0.5	

a) Mean \pm S.E.

b) Fiducial range (P=0.95)

マウスにおける胸腺退縮作用の相対的活性はいずれの投与方法においても、CBP, beta-

methasone-17-valerate, hydrocortisone の順に強い活性を示した。

Table 5 Thymolytic activities of CBP and others in saline administered subcutaneously to mice

Treatment	Total dose ($\mu\text{g}/\text{body}$)	Cases	Initial body weight (g)	Final body weight (g)	Thymus weight (mg)	Relative potency
Control (Saline)	—	10	21.5 \pm 0.4 ^{a)}	21.9 \pm 0.5	105.5 \pm 3.2	
Hydrocortisone	150	10	22.4 \pm 0.3	22.0 \pm 0.4	66.7 \pm 1.8	1.0
	300	10	22.4 \pm 0.3	21.7 \pm 0.4	56.9 \pm 3.5	
V-Betamethasone	50	10	21.6 \pm 0.2	20.2 \pm 0.1	32.8 \pm 1.9	8.9
	100	10	21.4 \pm 0.2	20.0 \pm 0.2	22.2 \pm 1.5	
CBP	5	10	22.0 \pm 0.2	22.0 \pm 0.2	80.3 \pm 5.3	28.3 ^{b)} (22.2~35.6)
	10	10	21.3 \pm 0.3	20.5 \pm 0.4	46.9 \pm 1.8	

a) Mean \pm S.E.

b) Fiducial range (P=0.95)

Table 6 Thymolytic activities of CBP and others in water administered orally to mice

Treatment	Total dose ($\mu\text{g}/\text{body}$)	Cases	Initial body weight (g)	Final body weight (g)	Thymus weight (mg)	Relative Potency
Control (Water)	—	10	24.1 \pm 0.4 ^{a)}	23.7 \pm 0.4	99.8 \pm 3.7	
Hydrocortisone	200	10	23.1 \pm 0.3	22.8 \pm 0.3	57.0 \pm 3.8	1.0
	400	10	23.3 \pm 0.3	21.6 \pm 0.3	40.7 \pm 1.9	
V-Betamethasone	40	10	22.4 \pm 0.4	21.4 \pm 0.3	67.5 \pm 2.7	4.4 ^{b)} (3.7~5.3)
	80	10	22.4 \pm 0.3	21.0 \pm 0.4	38.2 \pm 2.7	
CBP	10	11	22.6 \pm 0.4	20.9 \pm 0.3	53.8 \pm 2.6	6.6 (5.6~8.2)
	20	10	22.4 \pm 0.3	20.6 \pm 0.4	25.8 \pm 1.8	

a) Mean \pm S.E.

b) Fiducial range (P=0.95)

ii). ラットを用いた実験

幼若ラットにおける胸腺退縮作用の実験でも被検ステロイドの dose-response curve の平行性が認められ、効力比は hydrocortisone に対し、betamethasone-17-valerate は 5.6 (4.2~7.0), CBP は 44.0 (23.6~148.0) であった。体重増加率は CBP 高用量 (20 $\mu\text{g}/\text{body}$) 群において他の群に比べ著しく抑制された (Table 7)。

3. 男性ホルモン・蛋白同化ホルモン作用

i). マウスにおける実験

Testosterone 投与群では対照群に比し、総量 400 $\mu\text{g}/\text{body}$ 群で包皮腺重量の有意の増加、更に総量 1600 $\mu\text{g}/\text{body}$ 群で包皮腺、精囊および肛門挙筋重量の著しい増加が認められたが、腎臓および睾丸重量は対照群と差がなかった。Betamethasone-17-valerate 群ではむしろ睾丸重

Table 7 Thymolytic activities of CBP and others in arachis oil administered subcutaneously to weanling rats

Treatment	Total dose ($\mu\text{g}/\text{body}$)	Cases	Increase in body weight (g)	Thymus weight (mg)	Relative potency
Control (Arachis oil)	—	5	11.9 \pm 0.8 ^{a)}	239.1 \pm 22.2	
Hydrocortisone	200	5	9.5 \pm 0.4	198.6 \pm 3.2	1.0
	400	5	9.6 \pm 0.9	114.8 \pm 12.4	
	800	5	5.5 \pm 0.8	127.5 \pm 21.9	
V-Betamethasone	25	5	11.5 \pm 0.5	238.9 \pm 9.2	5.6 ^{b)} (4.2~7.0)
	50	5	14.4 \pm 2.4	223.0 \pm 12.0	
	100	5	6.4 \pm 0.3	73.1 \pm 8.3	
CBP	5	5	9.0 \pm 0.6	95.2 \pm 2.7	44.0 (23.6~148.0)
	10	5	6.4 \pm 0.5	89.6 \pm 4.7	
	20	5	0.9 \pm 0.5	53.5 \pm 5.2	

a) Mean \pm S.E.

b) Fiducial range (P=0.95)

量, 体重増加率の減少および高用量群 (1600 $\mu\text{g}/\text{body}$) では肛門挙筋, 精囊重量に有意の減少を示した. 包皮腺重量は対照群に比し差を認めなかった.

CBP 投与群では睪丸, 肛門挙筋, 精囊重量および体重増加量の減少および高用量 (1600 $\mu\text{g}/\text{mouse}$) 群では包皮腺重量の有意な減少が認められたが, 腎臓には対照群との間に差は認められなかった (Table 8).

ii). ラットにおける実験

Testosterone 投与群では肛門挙筋, 精囊, 前立腺, 包皮腺重量, 更に高用量 (1200 $\mu\text{g}/\text{rat}$) 群において体重に有意の増加がみられた. 腎臓重量には対照群との間に差はなかった.

Betamethasone-17-valerate 投与群では腎臓重量に有意の増加, 肛門挙筋および精囊重量に減少を認めたが, 包皮腺重量には対照群に比し差は認められなかった.

CBP 投与群では肛門挙筋, 体重増加の減少, 更に高用量 (1600 $\mu\text{g}/\text{rat}$) 群の場合のみ精囊重量の減少を示した. 前立腺, 包皮腺, 腎臓重量においては対照群との間に差はなかった (Table 9).

以上の結果より, CBP はマウス並びにラットにおいて男性ホルモン・蛋白同化ホルモン作用を有しないと考えられる.

4. 卵胞ホルモンおよび抗卵胞ホルモン作用

Estrone 単独投与群では子宮重量の有意の増加を示したが, CBP 単独投与群では有意の差は認められなかった. Estrone と CBP 混合投与群では estrone 単独投与群に比し, 子宮重量は約38%減少し有意の差を示した. 体重増加量はいずれのステロイド投与群 (estrone, estrone+CBP, CBP, betamethasone-17-valerate) においても対照群より低かった (Table 10).

この結果より CBP 自身には卵胞ホルモン作用を認めないが, estrone の子宮重量増加作用を抑制する抗卵胞ホルモン作用を有するものと考えられる.

Table 8 Androgenic-anabolic activities of CBP and V-Betamethasone in mice

Treatment	Total dose ($\mu\text{g}/\text{body}$)	Cases	Initial body weight (g)	Final body weight (g)	Levator ani weight (mg)	Seminal vesicle weight (mg)	Preputial gland weight (mg)	Kidney weight (mg)	Testicle weight (mg)
Control (Arachis oil)	—	10	20.3 \pm 0.3 ^{a)}	27.2 \pm 0.4	17.8 \pm 0.5	43.4 \pm 2.6	3.2 \pm 0.2	184.2 \pm 3.6	168.7 \pm 5.0
Testosterone	400	10	18.7 \pm 0.1	25.8 \pm 0.3*	19.4 \pm 0.5	52.1 \pm 3.4	10.4 \pm 0.5**	189.6 \pm 3.9	167.1 \pm 1.3
	1600	10	19.7 \pm 0.3	26.4 \pm 0.6	21.0 \pm 1.0*	63.0 \pm 4.3**	11.2 \pm 0.8**	195.5 \pm 3.7	165.4 \pm 2.5
V-Betamethasone	400	10	19.3 \pm 0.4	22.5 \pm 0.4**	17.4 \pm 1.1	50.3 \pm 3.7	3.1 \pm 0.2	157.1 \pm 3.7**	151.4 \pm 5.4*
	1600	10	20.4 \pm 0.2	22.0 \pm 0.4**	13.5 \pm 0.9**	61.6 \pm 4.4**	2.9 \pm 0.1	178.9 \pm 4.2	63.7 \pm 2.9**
CBP	400	10	19.4 \pm 0.1	19.9 \pm 0.2**	13.2 \pm 0.6**	52.4 \pm 2.0*	3.0 \pm 0.1	172.0 \pm 4.1	152.5 \pm 4.3*
	1600	10	19.6 \pm 0.4	19.5 \pm 0.3**	12.1 \pm 0.6**	30.8 \pm 2.6**	2.5 \pm 0.1**	176.6 \pm 2.5	132.4 \pm 3.4**

a) Mean \pm S.E.* Significantly different from control ($P \leq 0.05$)** Significantly different from control ($P \leq 0.01$)

Table 9 Androgenic-anabolic activities of CBP and V-Betamethasone in castrated rats

Treatment	Total dose ($\mu\text{g}/\text{body}$)	Cases	Initial body weight (g)	Final body weight (g)	Levator ani weight (mg)	Seminal vesicle weight (mg)	Prostate weight (mg)	Preputial gland weight (mg)	Kidney weight (mg)
Control (Arachis oil)	—	8	62.8 \pm 1.2 ^{a)}	102.9 \pm 2.1	27.8 \pm 1.0	16.9 \pm 0.9	13.3 \pm 0.8	16.4 \pm 1.1	570.9 \pm 14.0
Testosterone	300	8	64.9 \pm 1.3	108.9 \pm 2.4	43.8 \pm 3.3**	44.7 \pm 4.0**	55.7 \pm 2.9**	25.7 \pm 2.3**	594.7 \pm 14.6
	1200	8	66.4 \pm 0.8	111.7 \pm 2.1*	52.2 \pm 1.5**	72.3 \pm 4.7**	75.3 \pm 3.6**	31.1 \pm 1.6**	624.1 \pm 13.0
V-Betamethasone	400	8	61.0 \pm 0.8	91.0 \pm 2.2**	23.6 \pm 1.3*	11.9 \pm 0.6**	18.6 \pm 1.2*	16.3 \pm 1.6	626.1 \pm 7.8*
	1600	8	60.0 \pm 1.4	97.5 \pm 3.1	22.5 \pm 1.0**	11.7 \pm 0.7**	13.9 \pm 0.9	16.1 \pm 1.1	633.4 \pm 9.0*
CBP	400	8	60.5 \pm 0.9	73.4 \pm 1.3**	18.2 \pm 1.2**	15.1 \pm 1.4	16.9 \pm 1.4	13.7 \pm 0.7	600.6 \pm 5.9
	1600	8	62.1 \pm 1.2	65.1 \pm 1.7**	15.5 \pm 0.6**	13.8 \pm 0.9**	14.9 \pm 1.1	13.6 \pm 1.4	607.8 \pm 8.8

a) Mean \pm S.E.* Significantly different from control ($P \leq 0.05$)** Significantly different from control ($P \leq 0.01$)

Table 10 Estrogenic and anti-estrogenic activities of CBP and V-Betamethasone in weanling mice

Treatment	Total dose ($\mu\text{g}/\text{body}$)	Cases	Initial body weight (g)	Change in body weight (g)	Ovarium weight (mg)	Uterus weight (mg)
Control (Arachis oil)	—	8	10.4 \pm 0.1	3.2 \pm 0.2	3.5 \pm 0.2	14.3 \pm 0.3
Estrone	0.1	8	10.7 \pm 0.4	2.2 \pm 0.1**	3.6 \pm 0.2	25.4 \pm 1.1**
Estrone+CBP	0.1+500	8	9.5 \pm 0.5	1.1 \pm 0.2**	3.2 \pm 0.1	15.8 \pm 1.0☆
CBP	500	8	10.5 \pm 0.7	0.6 \pm 0.2**	2.9 \pm 0.1*	13.2 \pm 1.5
V-Betamethasone	500	8	9.6 \pm 0.1	0.8 \pm 0.2**	3.4 \pm 0.1	12.0 \pm 0.5**

a) Mean \pm S.E.* Significantly different from control ($P\leq 0.05$)** Significantly different from control ($P\leq 0.01$)☆ Significantly different from estron alone ($P\leq 0.01$)

5. 肝グリコーゲン沈着作用

副腎摘出マウスに、生理食塩水に懸濁させたステロイドを皮下投与したとき、肝グリコーゲン沈着作用はいずれのステロイド間においても dose-response curve の平行性が認められ、その効力比は hydrocortisone に対し、betamethasone-17-valerate では 0.8 (0.6~0.9) であり、CBP では 3.8 (3.3~4.4) であった (Table 11).

Table 11 Deposition of glycogen in the liver of adrenalectomized mice by subcutaneous administration of CBP and others

Treatment	Total dose ($\mu\text{g}/\text{body}$)	Cases	Initial body weight (g)	Liver glycogen (mg/100g)	Relative potency
Control (Saline)	—	8	24.2 \pm 0.5 a)	38.7 \pm 2.6	
Hydrocortisone	50	8	23.4 \pm 0.4	210.6 \pm 17.4*	1.0
	100	8	23.1 \pm 0.5	368.2 \pm 28.6*	
	200	8	24.4 \pm 0.5	750.7 \pm 20.4*	
V-Betamethasone	25	8	24.2 \pm 0.7	87.9 \pm 5.1*	0.8 (0.6~0.9)
	50	8	27.2 \pm 1.1	188.5 \pm 18.6*	
	100	8	25.3 \pm 0.5	286.2 \pm 15.8*	
CBP	12.5	8	24.6 \pm 1.0	202.1 \pm 14.8*	3.8 (3.3~4.4)
	25	8	29.3 \pm 0.4	331.5 \pm 47.5*	
	50	8	26.9 \pm 0.7	752.3 \pm 54.2*	

a) Mean \pm S.E.* Significantly different from control ($P\leq 0.01$)

6. 電解質排泄作用

Betamethasone-17-valerate および CBP の電解質排泄作用を DOCA (desoxycorticosterone acetate) と比較した結果を Table 12 に示す。

副腎摘出雄性ラットにおいて、DOCA 50 $\mu\text{g}/\text{rat}$ 投与群では対照群に比し、尿中 Na⁺ 排泄量

Table 12 Mineralocorticoid activities of DOCA, V-Betamethasone and CBP in adrenalectomized rats

Treatment	Dose ($\mu\text{g}/\text{rat}$)	Cases	Initial body weight (g)	Urine volume (ml)	Na ⁺ excreted (mEq/rat)	K ⁺ excreted (mEq/rat)	Na ⁺ /K ⁺ ratio
Control (Saline)	—	6	146.3 \pm 4.0 ^{a)}	3.2 \pm 0.6	0.68 \pm 0.09	0.19 \pm 0.02	3.50 \pm 0.26
DOCA	5	6	163.8 \pm 2.3	4.0 \pm 0.6	0.85 \pm 0.04	0.24 \pm 0.02	3.54 \pm 0.19
	50	6	136.3 \pm 1.4	1.4 \pm 0.1**	0.43 \pm 0.05*	0.28 \pm 0.02*	1.50 \pm 0.14**
V-Betamethasone	100	6	137.4 \pm 1.9	6.5 \pm 0.6**	0.78 \pm 0.06	0.64 \pm 0.04**	1.24 \pm 0.10**
	1000	6	146.3 \pm 2.9	7.3 \pm 0.4**	0.92 \pm 0.04*	0.70 \pm 0.04**	1.33 \pm 0.07**
CBP	100	6	138.7 \pm 1.3	10.8 \pm 0.8**	1.02 \pm 0.04*	0.77 \pm 0.04**	1.34 \pm 0.07**
	1000	6	139.5 \pm 2.0	9.1 \pm 0.5**	1.03 \pm 0.06*	0.77 \pm 0.01**	1.34 \pm 0.03**

a) Mean \pm S.E.* Significantly different from control ($P\leq 0.05$)** Significantly different from control ($P\leq 0.01$)

DOCA : desoxycorticosterone acetate

の減少および K⁺ 排泄量の有意の増加を認めた。Betamethasone-17-valerate あるいは CBP 投与群では尿中への Na⁺, K⁺ 排泄量ともに対照群より増加し、有意の差であった。Na⁺/K⁺ 比は DOCA 50 $\mu\text{g}/\text{rat}$, betamethasone-17-valerate 並びに CBP 投与のいずれの群でも有意の低下を示し、その程度はほぼ同様であった。尿量は DOCA 50 $\mu\text{g}/\text{rat}$ 投与群では対照群に比し有意の減少を示したが、他の2つのステロイドではむしろ有意の増加を示した。

考察ならびに総括

9 α -fluorocortisol 誘導体の clobetasol propionate について、hydrocortisone, betamethasone-17-valerate と比較し、抗炎症作用、糖質、鉍質 corticoid 作用を主とした生物活性を検討した。

抗炎症作用の活性として肉芽腫抑制作用を観察したところ、clobetasol propionate は hydrocortisone, betamethasone-17-valerate に比較して著明な抑制作用が観察された。

Carrageenin および formalin 浮腫に対して hydrocortisone, betamethasone-17-valerate による浮腫抑制は投与3~5時間後に最高となりその後漸次減少したが clobetasol propionate では24時間後まで増加した。

胸腺退縮作用はマウスおよびラットのいずれでも clobetasol propionate は hydrocortisone, betamethasone-17-valerate より強い退縮作用を認めた。特に、clobetasol propionate を落花生油溶液として投与した場合に強い胸腺退縮作用が観察された。

Testosterone を対照として蛋白同化・男性ホルモン作用の有無を検した結果 clobetasol propionate はマウスにおいて肛門挙筋、睪丸重量および体重増加量の減少が認められ、高用量(1600 $\mu\text{g}/\text{mouse}$)では包皮腺重量の減少も認められたが、腎臓には有意な変化はなかった。ラットにおいては肛門挙筋、精囊重量および体重増加量の減少を認めたが、腎臓には影響が認められず、clobetasol propionate には男性ホルモン・蛋白同化ホルモン作用は認められなかった。

Estrone を対照とした卵胞ホルモン作用の観察では、clobetasol propionate には落花生油投与群との間に差はなく、卵胞ホルモン作用が認められず、estrone と clobetasol propionate

混合投与では estrone による子宮重量増加を抑制する抗卵胞ホルモン作用が観察された。

Glucocorticoid 投与による肝グリコーゲン増加作用については周知のことであるが、合成 corticoids についてはステロイド核の特定位への特定基導入により、もとの構造のものとは異なった種々の興味ある作用を示すものも多い。本実験において、肝グリコーゲン沈着作用を検したところ hydrocortisone と比較し clobetasol propionate は 3.8 倍 (3.3~4.4), betamethasone-17-valerate は 0.8 倍 (0.6~0.9) であった。

塩類作用は合成 corticoids, 特に halocorticoids に強く見られるが、C₁₆位に-OHまたは-CH₃が導入されると Na⁺ 排泄量および尿量の増加がみられるという (Oliveto ら¹⁰⁾ 1958)。本実験においても betamethasone-17-valerate および clobetasol propionate は著明な K⁺ 排泄増加に伴う Na⁺ 排泄増加が観察されたが Na⁺/K⁺ 比から観ると betamethasone-17-valerate および clobetasol propionate いずれも低用量 (100μg/rat), 高用量 (1000μg/rat) とともに対照に比し有意に減少した。しかし尿量については有意な増加が認められた。

結 論

Clobetasol propionate の生物学的活性について、hydrocortisone および betamethasone-17-valerate を比較薬物として実験を行い次の結果を得た。

1) Clobetasol propionate には強い抗炎症作用が観察された。即ち副腎摘出ラットを用いた綿球法では hydrocortisone の約 112.5 倍, betamethasone-17-valerate の約 2.3 倍であり, formalin および carrageenin 浮腫抑制作用は 24 時間目まで持続的に増加した。Betamethasone-17-valerate では 3~5 時間目で抑制効果は最高となり以後漸次減少した。浮腫抑制作用は薬物投与後の経過時間によって異なるが, betamethasone-17-valerate の約 2~4 倍であり hydrocortisone に比し極めて強かった。

2) 胸腺退縮作用は、投与方法および溶解液によって差はあるが、マウスを用いた実験では betamethasone-17-valerate の約 3 倍, 幼若ラットでは約 8 倍であった。なお CBP の特に高用量群でマウスにおいては体重の減少が, ラットでは体重増加の抑制がみられた。

3) 卵胞ホルモン, 蛋白同化・男性ホルモン作用は認めなかった。しかしながら抗卵胞ホルモン作用およびマウスにおける肛門挙筋, 精囊, 睪丸, 包皮腺重量, 体重の減少, 幼若ラットにおいては肛門挙筋, 精囊重量, 体重増加率の減少を認めた。

4) 肝グリコーゲン沈着作用は副腎摘出マウスで hydrocortisone の約 3.8 倍であった。

5) Mineralocorticoid 作用を副腎摘出ラットを用い, 生理食塩水を負荷し観察した結果, clobetasol propionate により Na⁺, K⁺ 排泄量は著しく増加した。特に K⁺ 排泄量の増加が著しい為, Na⁺/K⁺ 比は減少した。しかし尿量は有意に増加した。

文 献

- 1) 中村悦郎, 加藤礼子, 大石孝義: 応用薬理, **4**, 679 (1970)
- 2) Meier, R., Schuler, W. and Desaulles, P., *Experientia.*, **6**, 469 (1950)
- 3) 宇田昭夫: 日薬理誌, **56**, 1151 (1960)
- 4) 島本暉郎, 金光修: 日薬理誌, **82**, 821 (1960)
- 5) Herschberger, L. G., Shipley, E. G. and Meyer, R. K., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **83**, 175 (1953)
- 6) Lauson, H. D., Heller, CC., et al., *Endocrinol.*, **24**, 35 (1939)

- 7) Evans, J. S., Hines, L. and Varney, R., *Endocrinol.*, **26**, 1005 (1940)
- 8) Good, C. A., Kramer, H. and Somogyi, M., *J. Biol. Chem.*, **100**, 485 (1933)
- 9) Somogyi, M., *J. Biol. Chem.*, **195**, 19 (1952)
- 10) Oliveto, E. P., et al., *ibid.*, **80**, 4428 (1958)