19-Nor steroids の生物学的作用に関する研究*

Studies on the Biological Action of 19-Norsteroids

新 田 武*
Takeshi NITTA

緒 言

1938年に Inhoffen¹⁾らにより Ethisterone が合成されて以来本物質は唯一の経口投与可能耐肝性 Gestagen として広く利用されて来たが、1954年に Djerassi²⁾らにより所謂 19-Nor steroids と称する一連の Gesta-

gen が合成され、これらが極めて強い黄体ホルモン作用を有するため一般に注目されるに至った。

19-Nor steroids はステロイドホルモンの基本骨格である Cyclopentano perhydrophenanthrene の C-19位の $-\text{CH}_3$ 基が $-\text{H}$ に置き換えられたもので、天

図1 19-Nor steroids の化学構造

R=H: 17- α -Methyl 19nor testosterone
R=COCH₃: 17- α -Methyl 19-nor testosterone acetate
R=COC₆H₁₃: 17- α -Methyl 19-nor testosterone enanthate

R=H: 17- α -Ethingl 19-nor testosterone
R=COCH₃: 17- α -Ethynyl 19-nor testosterone acetate
R=COC₆H₁₃: 17- α -Ethynyl 19-nor testosterone enanthate

R=H: 17- α -Ethyl 19-nor testosterone

R=H: 17- α -Ethynyl-5:10 estraene-17- β ol-3-one

R=H: 19Nortestosterone

* 東京医科歯科大学産婦人科教室
帝国臓器製薬株式会社研究部
1960年6月18日受付

然には Estrogen を除き、他のすべての Steroid hormone - Androgens, Gestagens, Corticoids はすべて C-19 位に $-\text{CH}_3$ 基を有し Estrogen 以外の Steroids で 19-Nor 物質はまだ発見されていない。

このように特異的な構造を有するために、その生物学的乃至薬理学的作用も極めて複雑なものと推定される。よつて著者は本物質の黄体ホルモン作用を中心に、各種ホルモン作用を詳細に実験観察し、あわせて化学構造とホルモン作用との関聯を考察した。

実験材料および実験方法

I 実験材料

1. 実験動物

正常又は去勢 Wistar 系雄ラット、雌ラット、および幼若雌ラットを使用し、正常ラットの体重は 250g 前後で、去勢ラットは生後 30 日令、体重 80g 前後で去勢し 28 日目に使用した。又幼若ラットは体重 35~45g, ddN 系幼若マウスは 8g 前後のもので、いずれも室温 $22 \pm 3^\circ\text{C}$, 湿度 $55 \pm 5\%$ の恒温恒湿の飼育室で飼育し飼料はオリエンタル酵母工業社製の固型飼料 M.F. および水を与えた幼若ウサギは体重 650~850g, 成熟ウサギは体重 2~2.5kg のものを使用し飼料には同社製の固型食 RC と水を用いた。

2. 検体およびその使用法

19-Norsteroids は基本骨格の C-17 の α 位につく側鎖により通常次の如きものがある。

- I) 17- α -Methyl-19-Nor testosterone (MNT と略記)
- II) 17- α -Ethyl-19-Nor testosterone (ENT と略記)
- III) 17- α -Ethinyl-19-Nor testosterone (EtNT と略記)
- IV) 17- α -Ethinyl-5:10-estraene-17 β -ol-3-one (EtEO と略記)
- V) 19-Nor testosterone (NT と略記)

ここに I) は内服用男性ホルモンとして早くより使用されているメチルテストステロンの C-19-Nor 化合物であり、II) は 19-Nor 体として始めて臨床上に使用され出したもので Anabolic 作用が特に強いと言われている。III) は内服用黄体ホルモンとしてこれ亦汎用されているエチステロンの 19-Nor 化合物であり、IV) は III) を製造する途上の中間化合物で女性ホルモン作用の比較的強い黄体ホルモン作用物質とされている。V) は最初に合成された 19-Nor 体である。

本研究においては以上の I~V の化合物およびそのエ

スラル類につき各種ホルモン作用を測定したが、男性ホルモン作用は Testosterone propionate (TP と略記)、女性ホルモン作用は Oestradiol (OH_2 と略記)、黄体ホルモン作用は経口時 Ethisterone (ET と略記)、注射には Progesterone (P と略記) とを Standard として比較実験した。なお持続性黄体ホルモン作用の観察には 17- α -Hydroxyprogesterone capronate (HPC と略記) を対照とし、又エステルは Acetate (A と略記) および Enanthate (E と略記) を使用した。

検体はそれぞれゴマ油に溶解し背部皮下に注射するかゾンデにより経口的に投与した。なお EtEO, EtNTA, EtNTE とは鶴見化学研究所より分与されたものおよび当社技術課にてエステル化したもの又は市販錠剤より抽出したもので物理恒数とうによりその構造を確認して使用した。

II 実験方法

1. 男性ホルモンおよび筋肥大作用

去勢雄ラットを用い Eisenberg & Gordan³⁾ 法により実験を行つた。

2. 女性ホルモン作用

幼若ラットを用い Lawson⁴⁾ 法により子宮肥大 (uterotrophic) 作用を観察し Smear test は Allen-Doisy 法によつた。

3. 黄体ホルモン作用

幼若ウサギを使用し Clauberg⁵⁾ 変法により試験し Mc Phail Scale⁶⁾ にて判定した。又持続性は成熟ウサギを使用し Corner⁷⁾ 法により観察した。

4. 下垂体 Gonadotrophin 抑制作用

成熟雄ラットを douar とし高木、小林⁸⁾ のマウス子宮重量法により gonadotrophin 抑制作用を調べた。

5. 妊娠維持実験

正常ラットを交配させ妊娠第 10 日目に卵巣を剔出し、以後 1 週間検体を投与し妊娠の維持効果を観察した。

実験成績

I Androgenic および Anabolic Activity

の比較とその Ratio

動物に男性ホルモンを投与すると尿中窒素の排泄量が減少し摂取窒素量以下 (窒素平衡が正となる) になることは Kochakian および Murlin⁹⁾ (1935) 以来周知の処である。この窒素出納実験は蛋白代謝の動態を観察するには確実な良い方法であるが、実施に面倒な点やバラツキが多い事などから、多数のステロイドの力価を定量的に比較試験するには、必ずしも適切ではない。最近で

は Kochakian¹⁰⁾ の改良した腎肥大作用 (Renotrophic Activity): Papanicolaou & Folk¹¹⁾, Engle¹²⁾ らのウサギ, モルモット等への男性ホルモンの実験より発展し Kochakian により確立された 側頭筋肥大作用 (muscle temporalis の myotrophic activity) や肛門挙筋肥大作用 (muscle levator ani の重量増加-myotrophic action) を指標とする Eisenberg & Gordan³⁾ 法は比較的容易な方法であるし本法の成績は N 出納実験の結果と極めてよく一致するので著者は本法をえらんで実験した. 男性ホルモンの蛋白同化 (Anabolic) 作用と男性ホルモン本来の属性である Androgenic 作用とは必ずしも一致しないので, Anabolic 作用の強さを調べるには本来の副性器肥大作用を同時に測定しその力価の比率をみるのが最も良く, 標準としては TP を同時に使用するのが通常である. この場合 Anabolic/Androgenic 比即ち myotrophic/androgenic 比は m. levator ani/ventral prostate 比或は m. levator ani/seminal vesicle 比のいずれかをとるのであるが, 前者の方が一般的に使われる. すべての androgen は少量では精囊よりも前立腺に対しより強く反応するためである. 実際には m. levator ani/ventral Prostate-Ratio = (extl. l. ani - contr. l. ani)/(exptl. v. prostate - contr. v. prostate) 式で算出される.

著者は Eisenberg & Gordan³⁾ 法に従い去勢後 23 日目の雄ラット (原報では雌ラット) に 1 日 1 回 7 日間検体および TP のゴマ油溶液を 0.2cc 宛注射し 8 日目に屠殺し, 精囊, 前立腺および肛門挙筋をとり出し, 附着せる脂肪を除き, Torsion Balance にて重量を測定し, TP との Activity を比較した. 対照動物にはゴマ油のみ 0.2cc 注射した (1 群 10~15 匹使用).

1. 19-Nor-steroid-free 化合物の Activity

a) 男性ホルモン作用

a-1: 精囊重量増加を指標とした場合

ENT は投与総量 250 γ にて精囊は 32mg, 500 γ にて 57mg, 1,000 γ にて著しく増加し 108mg を示し, MNT では 250 γ では同じく 32mg, 500 γ では ENT より幾分低く 41mg, 1,000 γ では遙かに弱く僅か 53mg を認めたに過ぎない. 又 EtNT はこれら 3 者中で最も弱く 250 γ のとき 26mg, 500 γ で 34mg, 1,000 γ に至つても僅かに 48mg 程度で 17 α 位に置換基のない NT は MNT の場合と大体同じ程度で 500 γ の時 47mg, 1000 γ で 50mg であつた.

ここに対照の動物の精囊重量の平均値は約 10mg であり, 又効力標準 TP による精囊重量増加は 25 γ で

表 I 19-Nor steroids の Androgenic 作用及び Myotrophic 作用

去勢ラット 7 日間注射 (1 群 10~15 匹:)

精囊重量 (mg) 平均値

検体	投与量	25	50	100	200	250	500	1000 γ
TP		39	58	120	148			
ENT						32	57	108
MNT						32	41	53
EtNT						26	34	48
NT				12	18		47	50
ET						14	23	37
EtNTA						12	30	
MNTA						11	14	
MNTE						11	11	

去勢対照 10mg

前立腺重量 (mg) 平均値

検体	投与量	25	50	100	200	250	500	1000 γ
TP		61	112	144	178			
ENT						48	71	131
MNT						46	61	83
EtNT						38	46	56
NT				25	37		48	50
ET						26	35	54
EtNTA						26	39	
MNTA						24	27	
MNTE						21	23	

去勢対照 20mg

肛門挙筋重量 (mg) 平均値

検体	投与量	25	50	100	200	250	500	1000 γ
TP		45	48	65	83			
ENT						61	72	93
MNT						60	65	72
EtNT						38	55	66
NT				65	93		104	109
ET						21	23	26
EtNTA						48	67	
MNTA						40	54	
MNTE						34	40	

去勢対照 30mg

39mg, 50 γ で 58mg で ENT の 250 γ , 500 γ に相当し, 100 γ では 120mg, 200 γ で 148mg と最高を示した. 19nor steroid ではないが testostesone から誘導

される内服用黄体ホルモン作用物質 ET は精囊作用甚だ弱く 250 γ 注射で 14mg, 500 γ で 23mg, 1,000 γ で 37mg で使用した検体中最も弱く実際上ほとんど精囊作用がないと言つてよい。

a-2: 前立腺重量増加を指標とした場合 (表 1)

ENT は投与総量 250 γ で 48mg, 500 γ で 71mg, 1,000 γ では 131mg を示し MNT では 250 γ では同じく 46mg, 500 γ で 61mg, 1,000 γ では前者より遙かに弱く 83mg を認めたに過ぎず, 又 EtNT はこの 3 者中最も弱く 250 γ のとき 38mg, 500 γ で 46mg, 1,000 γ に至つても僅か 50mg で精囊を指標とした場合と略々同じ傾向にある。NT は EtNT の場合と大体同じ程度で 500 γ で 48mg, 1,000 γ で 50mg を示した。なお対照去勢ラットの前立腺平均重量は 20mg, TP は 25 γ で 61mg, 50 γ で 112mg 100 γ で 144mg 200 γ では 178mg で当然ながら最高を示した。又 ET の前立腺肥大効果は弱く, 250 γ で 26mg, 500 γ で 35mg, 1,000 γ で 54mg を示し使用した検体中最も弱い。

b) 肛門挙筋重量増加を指標とした場合 (表 1)

ENT は投与総量 250 γ で 61mg, 500 γ で 72mg, 1,000 γ の時に 93mg と相当な効果を示し, MNT は大体 ENT に近く 250 γ , 500 γ , 1,000 γ でそれぞれ 60, 65, 72mg を与えた。又 EtNT は前 2 者より幾分低く同量の注射でそれぞれ 38, 55, 60mg であつたが, NT は前 3 者より相当強く 100 γ で 65mg, 200 γ で 93mg を与え, 500 γ では 104mg, 1,000 γ では 109mg を示した。即ち ENT は 17 α 位に置換基のあるものの中では最も強い。対照の TP は当然ながら強く 25 γ で 45mg, 50 γ

表 2-1 Myotrophic Androgenic Ratio

i. m. levator ani/seminal vesicle Ratio

投与量 γ	25	50	100	200	250	500	1000
検体							
TP	0.25	0.39	0.23	0.39			
MNT					1.80	1.16	1.00
EtNT					0.68	1.08	0.97
ENT					1.39	0.91	0.65
NT			17.5	7.96		2.0	1.95
EtNTA					9.0	1.85	
MNTA					10.0	6.0	
MNTE					4.0	5.0	

表 2-2

ii. m. levator ani/ventral Prostate Ratio

投与量 γ	25	50	100	200	250	500	1000
検体							
TP	0.39	0.20	0.21	0.34			
MNT					1.38	0.87	0.68
EtNT					0.50	1.00	1.02
ENT					0.86	0.84	0.58
NT			7.0	3.70		2.64	2.19
EtNTA					3.0	2.0	
MNTA					2.5	3.4	
MNTE					4.0	3.3	

図 3 19-Nor steroids の Myotrophic 作用 (Eisenberg-Gordan 法)

図 2 19-Nor steroids の Androgenic 作用 (Eisenberg-Gordan 法)

で48mg, 又100 γ では65mgでMNTの500 γ , EtNTの1,000 γ に相当し, 200 γ の場合は83mgを示した. 又ETには全くmyotrophic作用を認めなかつた(第1表).

c) Anabolic-Activity/Androgenic Activity-Ratio
c-1: Muscle levator ani/seminal vesicle-Ratio

肛門挙筋の重量増加値を精囊増加値で除した値を比較するとTPでは25 γ で0.25, 50 γ で0.39, 100 γ で0.23, 200 γ で0.39となりanabolic作用に比しandrogenic作用が強いいためそのRatioは0.25~0.39と極めて小さい. MNTは250 γ 投与の時1.80, 500 γ で1.16, 1,000 γ になると1.00となりanabolic作用が相当に強い事を示している. 又ENT 250 γ , 500 γ および1,000 γ のときそれぞれ1.39, 0.91, 0.65, EtHTではそれぞれ0.68, 1.08, 0.97でいづれもanabolic効果はかなり強い. 又NTではさらに高く100 γ で17.5, 200 γ で7.96, 500 γ で2.0, 1,000 γ で1.95であつた.

c-2: Muscle levator ani/prostate-Ratio 肛門挙筋の重量増加値を前立腺の重量増加値で除した比で比較すると, TPでは0.25 γ のとき0.39, 50 γ で0.20, 100 γ では0.21, 200 γ の時0.34となりいづれも0.2~0.39で低く, MNT投与では250 γ , 0.86, 500 γ で0.84, 1,000 γ で0.58, 又EtNTは250 γ のとき0.50, 500 γ で1.0, 1,000 γ で1.02となりいづれもanabolic効果はかなり強いがNTはさらに強く, 100 γ で7.0, 200 γ で3.7, 500 γ のとき2.04, 1,000 γ では2.19であつた.

2. 19-Nor steroid ester 化合物の Activity

a. 男性ホルモン作用

a-1: 精囊重量増加を指標とした場合(表1)

EtNTAは250 γ で12mg, 500 γ で30mgを示したが, MNTAおよびMNTAはいづれもFree化合物に比して, その作用弱まり, それぞれ250 γ のとき11mg, 11mg 又500 γ で14mg, 11mgを示し全く精囊作用を認めない.

a-2: 前立腺重量加増を指標とした場合(表1)

EtNTAは250 γ の投与で, 26mg, 500 γ で39mgを示し又, MNTA, MNTAではそれぞれ24mg, 21mg, 500 γ で27mg, 23mgで前立腺作用を認めなかつた.

これらの結果からみると, EtNTおよびMNTはいづれもAcetate又はEnanthateにエステル化することにより, 男性ホルモン作用が全く失われることを知つた.

b.: 肛門挙筋重量増加を指標とした場合(表1)

EtNTAは250 γ で48mg, 500 γ で67mg, MNTA, MNTAでは250 γ のときそれぞれ40mg, 34mg, 500 γ では各々54mg, 40mgを与え, エステル化しても精囊および前立腺に対する程の低下は見られなかつた.

c. Anabolic Activity/Androgenic Activity-Ratio (表2)

c-1: Muscle levator ani/Seminal vesicle-Ratio

MNTAでは投与量250 γ のとき10.0, 500 γ では6.0を示しMNTAは250 γ で4.0, 500 γ で5.0とかなり大

図4 19-Nor steroid ester の Androgenic 作用 (Eisenberg-Gordan 法)

図5 19-Nor steroid ester の Myotrophic 作用 (Eisenberg-Gordan 法)

きい Ratio を示し EtNTA でも 250 γ 9.0, 500 γ で 1.85 となり同じく比率はかなり大きい。

c-2: Muscle levator ani/prostate-Ratio

MNTA では 250 γ の時 2.5, 500 γ で 3.4, MNT はそれぞれ 4.0, 3.3 となり, 又 EtNTA は 250 γ で 3.0, 500 γ では 2.0 を示し, 前項の比率と同じく Free 化合物より Ratio は大きい。

これらの成績からみると, Free 化合物は Ester 化することにより, その比が明らかに増大するが a5abolic 作用が増強されたのではなく androgenic 作用が極度に低下するためである。

II Estrogenic Activity

19-Nor steroids はその構造から見て若干の Estrogen 作用があると推定されるので Allen-Doisy の

Smear test により発情作用を見 Lauson⁴⁾ 法により子宮重量増加作用を調べた。

1. 19-Nor steroid free 化合物の Smear test

検体のゴマ油溶液を去勢マウスに 0.1cc 宛皮下注射後 1 日 1 回 3 日間 Smear を採取しギムザ染色を行い鏡検し発情期を示したものを陽性としその陽性率を求めた。対照に用いた OH₂ は 0.012 γ で 20%, 0.025 γ で 60%, 0.05 γ では 80% に陽性を示し, 0.1 γ では 100% 発情期像を与えた。これに対し MNT では 50 γ で 60%, 100 γ , 250 γ , 500 γ いずれも 80% 又 1000 γ でも 80% であつたが EtNT は 12.5 γ で 40%, 25 γ で 60%, 50 γ 以上で 100% を与え MNT よりかなり発情効果は強いことを認めた。なお, 比較のために実験した ET は 100 γ で 60%, 250 γ 以上で 100% を示した。

表 3-1 19-Nor steroids の Estrogenic作用

i. Uterotrophic-Activity (幼若ラット 10 匹平均)

検体	投与量 γ	0.025	0.05	75	150	300	600	1500
		mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg
OH ₂	51	67						
MNT					45	51	69	79
EtNT				62	68	78	104	
ENT				37	48	64		
NT					50	63	87	
TP					47	55	69	94
ET					36	58	86	120

対照幼若ラット子宮 33mg

表 3-2 ii. Smear test (去勢マウス Allen-Doisy 法)

検体	投与量 γ	0.012	0.025	0.65	0.1	12.5	25	50	100	250	500	1000
		%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
OH ₂	20	60	80	100								
MNT								60	80	80	80	80
EtNT					40	60	100	100	100	100		
ET								60	100	100		

2. 19-Nor steroid free 化合物の子宮肥大作用

生後 22~23 日体重 35~45g の一群 10 匹の幼若雌ラットに 1 日 1 回 3 日間検体のゴマ油溶液を 0.2 cc 宛皮下注射し 4 日目に屠殺後子宮を剔出し圧搾して内腔液をのぞき, その重量を Torsion Balance にて秤量し比較した。

対照に用いた OH₂ は 0.025 γ 投与で 51mg, 0.05 γ では 67mg であるが MNT では 150 γ で 45mg, 300 γ では 51mg, 600 γ の時 69mg, 1,500 γ では 79mg を示し又

ENT 投与群では 150 γ のとき 48mg, 300 γ では 64mg であつた。EtNT の場合は 150 γ 投与で 68mg, 300 γ で 78mg, 600 γ で 104mg を示したが, NT では 150 γ で 50mg, 300 γ で 63mg を与え, 大略 ENT と同じ程度であつた。TP は男性ホルモンとして, 筋肥大作用は相対的に強く, そのため, 子宮肥大作用も或程度見られ, 150 γ では 47mg, 300 γ で 55mg, 600 γ で 69mg, 1,500 γ では 94mg を示し, 又 ET で 150 γ の時 36mg, 300 γ では 58mg, 600 γ で 86mg, 1,500 γ では 120mg を示した。

表4 19-Nor steroid ester の Estrogenic 作用
幼若ラット子宮肥大作用 10匹平均

投与量 r	0.025	0.05	37.5	75	150	300	600
検体	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg
OH ₂	51	67					
MNTA						31	34
MNTE						35	44
EtNTA			38	55	58	65	75
EtNTE					28	48	65

対照幼若ラット子宮 33mg

3. 19-Nor steroid ester 化合物の子宮肥大作用

MNTA は300 r 投与で31mg, 600 r で34mgを示したが, MNTE でもほぼ同様で300 r のとき35mg, 600 r

で44mg, とエステル化することにより, 効果は弱まり又 EtNTA では75 r で55mg, 150 r で58mg, 300 r で65mg, 600 r で75mg となり, Enanthate ではAcetate より弱く150 r で28mg, 300 r では48mg, 600 r で65mgを示しいづれも Free 化合物に比し子宮肥大作用は弱まることを認めた.

III Progesterational Activity

1. 19-Nor steroid free 化合物の黄体ホルモン作用

Clauberg⁸⁾ 変法により 幼若ウサギに1日1回3 r の Estrone ゴマ油溶液を5日間注射し6日目より5日間検体のゴマ油溶液を皮下に0.2cc 宛注射, 又はゾンデにより経口投与し最終投与の翌日子宮を剔出し組織標本をつくり Mc Phail⁹⁾ scale によつてその効果を判定した.

1-1: 注射法 対照に用いた P は投与総量0.125mg

表5 19-Nor steroids の Progesterational 作用 (Clauberg 変法)

投与法	皮 下 注 射				経 口 検 与			
検 体 投 与 量mg	MNT	EtNT	P	ET	MNT	EtNT	P	ET
0.125			1 2 0/2 0%			1 1 1 0/3 0%		
0.25			2 2 3 2 1/4 25%		2 2 1 0/3 0%	1 2 0/2 0%		
0.5	1 0 1 ×0/3 ×0%	1 1 1 1 2 0/5 0%	3 3 2 3 3 4 5/6 83%		2 3 2 3 3 2 3/6 50%	3 2 3 2 2 3 4/7 58%		
1.0	2 1 2 1 2 1 1 0/7 0%	2 2 1 0/2 0%			2 3 2 3 2 2 2/6 33%	3 2 3 2 2/4 50%		
2	2 2 2 1 0/4 0%			2 2 3 2 1 1/5 20%	3 3 3 3/3 100%			
3	2 2 0/2 0%			3 2 2 1/3 33%				2 1 0/2 0%
4	1 1 0/2 0%			3 3 4 3/3 100%				2 2 2 0/3 0%
5	1 2 1 1 0/4 0%						1 1 0/2 0%	3 2 3 2/3 66%
10	2 1 1 1 2 0/5 0%	1 2 0/2 0%				1 1 2 0/3 0%		
15	3 2 1/2 50%	1 1 0/2 0%						
20	4 3 3 3/3 100%						1 1 2 0/3 0%	
40							2 1 1 2 0/4 0%	
50							2 2 0/2 0%	
100							3 2 1/2 50%	

× 分母は例数, 分子は陽性 (3 期以上) を示した例数

×× 陽性率……以下の表もこれに準ずる

表6 19-Nor steroid ester の Progestational 作用 (Clauberg 変法)

投与法	皮下注射					経口投与				
検体 投与 量mg	P	MNTA	MNTE	EtNTA	EtNTE	ET	MNTA	MNTE	EtNTA	ENT
0.125	1 2 × × × 0/2 0%									
0.25	2 2 1 3 1/4 2.5%				2 2 2 0/3 0%					
0.5	3 3 4 2 3 4/5 80%			2 1 0/2 0%	3 3 4 3/3 100%		1 1 0/2 0%	3 1 1/2 50%	2 2 0/2 0%	3 3 2 2/3 66%
1.0		2 1 0/2 0%	1 1 0/2 0%	3 3 2 3 3/4 75%			1 2 1 1 0/4 0%	2 3 1/2 50%	3 2 3 4 3/4 75%	3 2 3 2/3 66%
2.0		3 3 3 3/3 100%	2 1 0/ 20%			1 2 0/2 0%	3 3 2 2/3 66%	3 3 4 3/3 100%	3 4 4 3 4/4 100%	3 3 2/2 100%
4.0			3 3 2 2/3 66%			2 2 2 0/3 0%				4 4 2/2 100%
5.0						3 3 2 3 3/4 75%				

では効果2例中陽性1例もなく、0.25mgで1/4例(4例中1例の意、以下同じ)に第3期を示し、0.5mgで5/6例陽性を示した。しかしMNTは注射ではかなり弱く0.5mg~10mgでは全く反応せず、いずれも陰性、15mgにて1/2例陽性、20mgにして始めて3例共すべて陽性を示した。又EtNTでも同様で0.5~15mgでは全く陰性であった。

比較に実験したETでは2.0mgで1/5例陽性3.0mgでは1/3例4.0mgで始めて3/3例即ち全例が陽性を示した。

1-2: 経口法 対照に用いたETは3.0mg又は4mgで全例陰性、5.0mgで2/3例が第3期即ち陽性を示した。しかるにMNTは0.25mgでは3例とも陰性を示したが0.5mgでは既に3/6例第3期像を与え1.0mgでは2/6例陽性2.0mgで3/3例100%陽性であった。又EtNTは0.125mgおよび0.25mgで全例とも陰性、0.5mgで4/7例第3期像を示し、1.0mgで2/4例陽性を示した。

比較のため実験したPは5.0~50mgではいずれも陰性で、100mgに至つてはじめて1/2例が陽性を呈したのみであった。

2. 19-Norsteroid ester 化合物の黄体ホルモン作用

2-1: 注射法 対照に用いたPでは0.125mgで2例共陰性、0.25mgで1/4例陽性、0.5mgで4/5例が陽性を与えた。しかるにMNTAは1.0mgで2例とも陰性2.0mgとも全く陰性、4.0mgで2/3例陽性を示した。

又EtNTAは0.5mgで陰性、1.0mgで3/4例陽性を示し、EtNTEは0.25mgで陰性、0.5mgでは100%陽性を呈した。即ちester化することによりその効果は著しく増強される。

2-2: 経口法 対照に用いたETは2.0mg又は4.0mgで全例陰性なるも5.0mgでは3/4例に陽性を与えた。又MNTAは0.5mg、1.0mgともに全例陰性であったが2.0mgでは2/3例陽性を示した。MNTEはAcetateと少々趣を異にし0.5mg、1.0mgとも1/2例陽性、2.0mgでは3/4例全例陽性、EtNTAは0.5mgで2例とも陰性1.0mgでは3/4例陽性、2.0mgで4例全例陽性、又ENTは0.5~1.0mgでともに2/3例陽性、2.0mg以上では全部陽性を示した(表6)。

3. 19-Nor steroid 及び ester 化合物の黄体ホルモン持続作用

Corner⁷⁾法により1回大量の検体を投与しその黄体ホルモン持続効果を観察した。即ち成熟雌ウサギを去勢し、同時に検体20mgを1回に注射し試験中は1日1回0.1rのOH₂を注射しつつ5日目、10日目および15日目に子宮の一部を剔出し、組織標本をつくり、McPhail⁹⁾Scaleによりその効果を調べた。Pは5日目、5例ともすべて陽性であったが、10日目および15日目に全例が陰性、HPC投与群は5日目6例全部陽性、10日目もなお陽性を示したが、15日目は2/6例が陽性を呈し、Depot効果のあることを示した。MNTは5日目1/4例陽性、10日目および15日目にいずれも全例無効であつ

た. MNTA は5日目 1/3 例のみに陽性を認め10日目および15日目には全く陰性で持続効果は認められなかった. MNTE は5日目 3/4 例有効, 10日目では2/4 例がなお第3期像を示したが15日目は全例陰性であった. EtNTE は5日目 3 例全例有効であり10日目なお2/3 例陽性であったが, 15日目には全例陰性を示した(表7)

表7 Progesterational 持続作用 (Corner 法)
検体 20mg 1回注射 (OH₂ 0.1γ 毎日注射)

検体	日数	5 日 目	10 日 目	15 日 目
P		3 3 3 3 3 × × × 5/5 100%	+ 0 1 2 2 2/4 0%	0 1 1 1 0/4 0%
HPC		4 4 4 3 3 3 6/6 100%	4 4 4 3 3 3 6/6 100%	3 3 2 1 1 0 2/6 33%
MNT		2 3 1 1 1/4 25%	0 1 0 0 0/4 0%	0 1 0 0 0/4 0%
MNTA		2 2 3 1/3 33%	0 1 2 0/3 0%	0 0 1 0/3 0%
MNTE		4 3 2 3 3/4 75%	3 3 2 2 2/4 50%	1 1 0 0 0/4 0%
EtNTE		4 3 4 3/3 100%	3 2 3 2/3 65%	2 0 1 0/3 0%

× 分母は例数, 分子は陽性 (第3期以上を示した例数)
×× 陽性率 + 死亡

IV 下垂体 gonadotrophic potency の抑制

1. 雄ラット性器の重量を指標とした場合

雄ラットに各種 steroid hormone を長期間投与すると, これらが下垂体 gonadotrophic potency (以下GP) を抑制するためにその睾丸, 副性器重量は2次的に減少することは高木, 小林⁹⁾らの実験が示す通りである. この際投与した steroid hormone が androgenic potency を属性とする steroid にあつては性器重量は必ずしも GP の抑制度を反映しない. しかしながら, 前項の実験が示すように 19-Nor steroids の androgenic 作用は極めて弱から性器重量の減少度よりその下垂体抑制の強さを或程度知りうると考え次の実験を行つた.

即ち高木, 小林⁹⁾にしたがい成熟雄ラット 1 群 5 匹に 19-Nor steroids を毎日 1mg 宛ゴマ油溶液にして20日間投与しその睾丸, 精囊前立腺の重量を Torsion Balance にて秤量し減少度を比較観察した結果は第8表に示す通りである.

表8によると対照の睾丸重量は平均 2440mg であるが, MNT 投与群では 1766 mg, ENT は 2040 mg,

表8-1 19-Nor steroids の下垂体抑制作用雄成熟ラットに1日1回 1mg 20日間連続注射

i. Organ Weight		5 匹平均		
検 体	体 重 g	睾丸 mg	精囊 mg	前立腺 mg
MNT	246	1766	753	543
MNTA	250	2483	307	307
MNTE	270	2430	970	720
EtNT	320	1580	196	366
EtNTA	269	1768	208	302
EtNTE	270	2200	750	641
ENT	288	2040	886	700
OH ₂ *	220	724	117	147
Control	285	2440	724	771

* 1 日 1 回 50γ 20 日間

表8-2 ii. Gonadotrophic Potency
幼若マウス子宮重量法

検体	下垂体個数	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
MNT		100%	100%	80%	20%	0%
MNTA	100	100	60	0	0	0
MNTE	100	100	20	0	0	0
EtNT	100	40	0	0	0	0
EtNTA	100	100	50	0	0	0
ENT	100	80	0	0	0	0
OH ₂	80	0	0	0	0	0
Control	100	100	100	40	0	0

EtNT では 1580mg とかなり重量の減少を認めた. エスラル頻では MNTA は 2483mg, MNTE は 2430mg, EtNTA では 1768mg, EtNTE は 2200mg であつた. 即ち EtNTA を除き, ほとんど抑制効果が見られなかった. 又比較のため実験した OH₂ は 1 日 50γ の少量投与にも拘らず睾丸重量の減少度は大きく 724mg で, その抑制効果は Nor steroids に比し極めて大きい. この成績からみると EtNT の下垂体抑制効果は最も強く次いで ENT で MNT にはほとんど抑制効果がないように見える. 又精囊, 前立腺の重量変化をみると対照動物のそれぞれ 724mg, 771mg に対し OH₂ 群では 117mg, 147mg と著明に萎縮し極めて強い抑制効果を思わせる. 19-Nor steroids ではこの点必ずしも睾丸の重量減少度と比例しない. 即ち EtNT では 196mg, 366mg とかなり低下し EtNTA では 208mg, 302mg と睾丸重量低下度と略々比例して減少しているが, MNT では睾丸重量低下を或程度認めるにも拘らず精囊前立腺重量にそれぞ

れ 753mg, 543mg と必ずしも減少していない。

これらの矛盾した成績は試料自体に伴う androgenic 作用によるものであろう (後述)

2. マウス子宮重量増加を指標とした場合

前項の実験成績を確認するために donar ラットの下垂体 GP を直接測定した。即ち前項実験に使用した雄ラットの下垂体を剔出し高木, 小林³⁾法にしたがい gonadotrophin を抽出し幼若マウスの子宮重量増加を指標として GP を調べた。成績は第8表に記載の通りで MNT 投与群では下垂体 EX 1/64 コ分では無反応, 1/32 コ分では 20% 陽性, 1/16 コ分では 80% 陽性, 1/8 コ分, 1/4 コ分投与では 100% 陽性をみた。又 MNTA では 1/64 コ分, 1/32 コ分投与いずれも陰性, 1/16 コ分では 60%, 1/8 コ分では 100% 陽性を示した。又 MNTE では 1/64 コ分, 1/32 コ分ともに陰性, 1/16 コ分で 20%, 1/8 コ分, 1/4 コ分ではともに 100% 陽性, 又 EtNT は 1/64 コ分, 1/32 コ分, 1/16 コ分いずれも陰性, 1/8 コ分で 40% 陽性を与え, 1/4 コ分投与では 100% 陽性。EtNTA では 1/64 コ分, 1/32 コ分ともに陰性, 1/16 コ分で 50% 陽性, 1/8 コ分, 1/4 コ分で 100% 有効。ENT 投与では 1/64 コ分, 1/32 コ分, 1/16 コ分ともに全く陽性反応を呈せず 1/8 コ分に始めて 80% 陽性, 1/4 コ分で 100% 有効であった。

対照実験の OH₂ (50γ/day) 投与群では 1/8 コ分以下は全く無効, 1/4 コ分にて始めて 80% 陽性, しかるに対照ラットの下垂体は 1/32 コ分で 40%, 1/16 コ分で 100% 陽性を呈した。即ち GP 抑制効果のもつとも強いのは EtNT および ENT。ついで MNTE, EtNTA, MNTA で MNT はもつとも弱い。しかし OH₂ の抑制効果に比すれば 19-Nor steroids ははるかに弱い (表 8)。

V 去勢ラットの妊娠維持作用

雌雄ラットを交配させ, 毎朝 Vaginal smear を調べ精子の存在を認めた日を妊娠第 1 日目とし 1 匹ずつ分離して飼育し第 10 日目に開腹して妊娠子宮を確認後両側の卵巣を剔出しその後 7 日間各種検体のゴマ油溶液を 0.2cc ずつ皮下注射しその間妊娠が維持されるや否やを調べた。

5-1: 注射法。対照に用いた P では毎日 1mg 投与で 1/10 例, 妊娠の維持に成功し 2mg では 3/5 例, 3mg では 5/5 例即ち全例成功をみた。P 3mg に OH₂ 0.1γ 併用では 10 例中 100% に成功し, しかも子宮内に残存する胎児数は OH₂ 併用の方が P 単独投与よりも多い。ET 20mg 又はこれに OH₂ 0.1γ を加えた場合は 5 例

表 9 19-Nor steroids の Progestational 作用
妊娠維持作用 (ラット妊娠 10 日目去勢, 以後投与)

検 体	投与法	投 与 量	投与回数	成 績	
				動物数	* 成功率 %
P	注射	1mg	7	10	10
	〃	2 〃	7	5	60
	〃	3 〃	7	5	100
P+OH ₂	〃	3+0.1γ	7	10	100
ET	〃	20mg	7	4	0
ET+OH ₂	〃	20+0.1γ	7	5	0
Control 無 処 置	去勢後		1 日 目	2	100
			2 〃	2	100
			3 〃	2	50
			4 〃	2	0
			5 〃	2	0

$$* \text{成功率} = \frac{1 \text{ 匹以上生存胎児を有する母体の数}}{\text{母体の全数}} \times 100$$

表 10 19-Nor steroids の Progestational 作用
妊娠維持作用 (ラット妊娠 10 日目去勢, 以後投与)

検 体	投与法	投 与 量	投与回数	成 績	
				動物数	* 成功率 %
MNT	注射	1mg	7	3	33.3
	〃	2.5 〃	7	4	50.0
	〃	5.0 〃	7	3	33.3
MNT + OH ₂	〃	2.5 〃 0.5γ	7	4	0
	〃	5.0mg 1.0γ	7	4	25.0
	経口	3.0mg 0.1γ	7	3	0
		20.0mg 0.1γ	7	4	25.0
EtNT	〃	20.0mg	7	4	0
	注射	2.5 〃	7	4	0
		5.0 〃	7	5	0
EtNTA	〃	2.0 〃	7	8	75.0
ENT	〃	2.0 〃	7	4	75.0

$$* \text{成功率} = \frac{1 \text{ 匹以上生存胎児を有する母体の数}}{\text{母体の全数}} \times 100$$

全部不成功に終った。無処置対照では去勢第2日目までは100%維持されたが3日目には50%, 4日目以後は全例流産した。MNTでは1mgで1/3例成功, 2.5mgでは2/4例, 5mgで1/3例維持をみた。又MNTにOH₂を併用した場合は2.5mgに0.5rでは4例全例不成功, 5.0mgに1.0r併用では1/4例成功した。又EtNTでは2.5mgで4例全部失敗, 5.0mgでも成功しなかった。しかるにAcetateでは2.0mgで75%成功, 又ENTでも2.0mgで75%の維持成功をみた。

5-2: 経口法。EtNTは20mgの大量でも4例全例失敗, MNTではOH₂を同時に投与しても成績は極めて悪く3.0mgにOH₂ 0.1r(注射)では1/3例も成功せず, 20mgに0.1rの併用でも1/4例の成功を見たに過ぎなかった。

第6節 ラットの性周期に及ぼす影響

成熟ラットにMNT, EtNT各々5mgをゴマ油1ccに溶解しその0.2ccずつを毎日1回連続注射し毎朝Vaginal smearを検査し, 小山・中尾¹³⁾法により第1期(Diestrus), 第2期(Proestrus), 第3期(Estrus I), および第4期(Estrus II)を区別して投与steroidsの性周期に及ぼす影響を24日間にわたり観察した。なお実験に用いたラットはあらかじめ3~4週間性周期を観察し周期の整調なもののみを採んだ。その成績は

表11 各種 Steroid のラットの性周期に及ぼす影響

(1期: Diestrus 3期: Estrus I)
(2期: Proestrus 4期: Estrus II)

検体	投与量	体重	日	日					24	体重	子量	子宮	胎動	下室動
				1	5	10	15	20						
MNT	1%/日	195	√						217	79	377	36	51	8
		185	√						219	372	47	48	11	
		182	√						210	350	33	54	11	
		179 (185)	√						214	407	25	56	11	
									237	457	33	52	(10)	
EtNT	1%/日	180	√						164	418	17	54	7	
		180	√						198	540	23	57	10	
		170	√						192	560	21	61	10	
ET	1%/日	170 (170)	√						198	490	18	55	9	
									188	402	20	57	(9)	
		195	√						191	428	28	60	8	
		190	√						196	426	55	74	10	
TP	1%/日	180 (188)	√						204	416	54	59	12	
									197	423	46	64	(10)	
		160	√						168	394	34	40	5	
Control	1%/日	155	√						169	540	29	38	5	
		160 (158)	√						190	540	37	55	7	
									176	450	33	44	(6)	
Control	1%/日	175	√						180	387	65	52	10	
		185	√						199	388	78	64	13	
		200 (175)	√						214	491	67	73	13	

Nor steroids は $\bar{g}$ estagen として新たな注目をひくことになり多くの 19-Nor 系誘導体が出現するに至つた。元来 19-Nor steroids は化学構造上 C-10 angular- CH_3 を欠くために Estrogenic の性格が導入されると思われるし、Testosterone の誘導体とも見なされるから androgenic の性格をも伴うであろう。このように 19-Nor steroids の生物学的作用は複雑なものと推定されるのでこれらを分析解明し比較検討することは新しい 19-Nor steroids を得るためにも、臨床上からも極めて重要と思われるので著者はこれらの点を同一条件下で詳細に実験した。その結果は第 12 表に綜括した通りであるが、これらの成績にもとづき若干の考察を試みよう。

1) Androgenic および Anabolic 作用

Androgen は本来の androgenic 作用のほかに蛋白同化作用 (anabolic 作用) を有することは Kochakian & Murlin⁹⁾ (1938) 以来周知の事実であるが、NT の出現により androgenic 作用はほぼ完全に分離され、19-Nor steroids はもつとも優れた Anabolic steroids とされている。Herschberger¹⁰⁾ らは NT は Anabolic 作用は TP と同等で Androgenic 作用は TP の 1/10 であると報じ、Saunders および Drill¹⁰⁾ によれば ENT, MNT はいづれも強い myotrophic 作用あり androgenic 作用は弱く TP の 1/10 で特に ENT は 19-Nor steroids 中最も筋肥大効果があるという。又 Drill²⁰⁾ らによれば TP の蛋白同化力: 男性ホルモン作用を 100:100 とし Eisenberg-Gordan³⁾ 法により NT, MNT, ENT を測定した結果は NT は 100:6, MNT は同じく 100:6, EtNT はむしろ Estrogenic であり EtNT は精囊肥大の男性ホルモン効果はあるが、それに対応する前立腺肥大作用はなくこれはむしろ併有する Estrogenic 作用によるものと見ている。McGinty²¹⁾ らによれば Herschberger 変法により幼若去勢ラットに 1 日 1 回、14 日間の経口投与では総量 4.2mg で EtNT は男性ホルモン効果はなく MNT は NT と同程度の男性ホルモン作用あり、肛門挙筋重量法では MT より強いと発表している (MT = メチルテストステロン)。又 Drill らによれば鼠への経口投与では ENT が最も myotrophic 作用強く MNT, NT の約 2 倍、又 MT の 2 倍あり、TP の 5 倍に相当する。以上より 19-Nor steroids 中 NT, ENT, MNT はいづれもラットでの myotrophic 作用は TP と同程度に強く、EtNT はもつとも弱くて TP の 1/100 程度としている。本実験においては Eisenberg-Gordan³⁾ 法により TP を 100 として比較した結果では androgenic 作用のもつと

も強いのが ENT で 10, ついで MNT および EtNT で 5, ET はもつとも弱く 2.5 であつた。myotrophic 作用は TP を 100 とすれば ENT は 40, MNT は 20, EtNT は 10~20 で ET は 1 日 1mg 投与しても反応を示さなかつた。投与量と androgenic Potency との関係を示す反応用量曲線は TP では投与量を増すと反応が強激に上昇し、ENT もこれに近い曲線を示した。これに反して MNT, ET の曲線は TP および ENT と異り甚だゆるく男性ホルモン作用が非常に弱いことを示している。19-Nor steroid ester 類の効果については未だ報告がなく、著者の実験によれば男性ホルモン作用は EtNTA が Ester 中ではもつとも強いが TP に比べれば遙か弱い。Free 化合物では MNT の方が EtNT よりやや強いが Ester にすれば逆に EtNTA の方が強くなる。又 MNTA と MNTE を比較すると前者の方が強く、androgenic 作用はほとんど見られない。

myotrophic (anabolic) activity/androgenic activity-Ratio については Drill-Saunders²⁰⁾ によると、TP の 1.0 に対して NT, MNT, ENT はいづれも 17 となり Herschberger¹⁰⁾ らによれば TP は 0.2~0.3, NT は 0.9~1.2, Barnes および Staffords²²⁾ によれば TP の 1.0 (両 activity をそれぞれ 100 として) に対し NT は 9.4 といづれも anabolic 効果の相当大なることを報告している。本実験においても精囊に対する比は TP 0.25~0.39, MNT は 1.0~1.8, EtNT は 0.68~1.08, ENT は 0.65~1.39 でいづれも TP より高く anabolic 効果の大きいことを示している。前立腺に対する Ratio も大体同じ傾向にありその序列は MNT > ENT > EtNT の順で MNT の anabolic 効果は ENT より強い。

2) Estrogenic 作用

去勢ラットの Smear test による Estrogenic 作用は Pincus²³⁾ によると EtEO の 13.5 γ が OH_2 の 0.065 γ は四敵し (1/200), Drill & Saunders²⁰⁾ によると Estrone の 3~5% の効果があり、ENT は Smear に全く反応しない。又 Overbeek²⁴⁾ らは MNT は Smear test では OH_2 -Benzoate の 1/2500 で弱いと報告している。つぎに経口投与であるが、Armstrong²⁵⁾ は EtNT の Estrogenic 作用は Smear test で Estrone の 1/10 と述べ Schipley¹⁶⁾ は EtNT は Estrone の 1/4, 注射では Estrone の 1/400 で内服の効果が強いと報告している。本実験において去勢マウスの Allen-Doisy 法による陽性動物の百分率を見ると OH_2 は 0.025 γ で、MNT は 50 γ で、EtNT は 25 γ でそれぞれ 60% の陽

性を示した。即ち EtNT は MNT に比し Estrogenic 効果は2倍強い。ET は 100r で始めて陽性を示し事実上無効とみてよい。従つて OH₂ の Smear test による力価を 100 とすれば MNT, EtNT はそれぞれ 0.05, 0.1 となる。マウスの子宮重量法では Saunder¹⁹⁾ らは EtEO は Estrone の 7% 程度の効果あり 19-Norsteroids 中最も強いと述べ、Pincus²⁰⁾ らは EtNT, EtEO, ENT は P より強く EtNT は Estrone の 1/800~1/1000 程度であるとしている。又普通の EtNT 製剤は Estrone の 1/600~1/1000 の Estrogenic 作用を有するが精製したものでは 1/6400~1/10,000 に減ずると述べている。Schipley²⁷⁾ はラットで注射の場合 EtNT は Estrone の 1/200 程度、マウス子宮重量法では 1/600 と言ひ、Pincus らは Rubin test (幼若ラット子宮重量法)によると、EtNT, ENT の発情作用は P より強いと報告している。本実験においては幼若ラット子宮重量法によると MNT 300r の発情効果は OH₂ の 0.25r に匹敵し、EtNT の 150r は OH₂ の 0.05r に相当する。即ち MNT は OH₂ の 1/12,000, EtNT は OH₂ の 1/3,000 に当り MNT は EtNT に比べてその Estrogenic 作用は 1/4 程度である。

3) Progestational 作用

19-Nor steroid の黄体ホルモン作用が経口的に極めて強いことは Hertze¹⁷⁾ (1954) がはじめて報告したのであるが、EtNT は ET の 5 倍強力と述べついで Greenblatt²⁸⁾ は婦人においても ET の 2 倍強いと報告している。又 Saunders¹⁹⁾ らによれば MNT および EtNT は Clauberg 法で注射時 P の 5 倍強いとし、McGinty²¹⁾ らも Mc phail scale にて MNT, EtNT に大体同程度の効果を認めた。又 Pincus²⁰⁾ によると Clauberg 法でウサギに 1 日 5r の OH₂ を 6 日間注射し 5 日間 OH₂ 0.5r と検体を同時に注射した結果は MNT, EtNT とともに大体同じ効力で P の約 10 倍であつた。これらの報告をみると、試験方法により必ずしも成績の一致をみないが、19-Nor 化合物は C-19 位に -CH₃ を有する同系統の化合物に比し黄体ホルモン効果は一般に強く、ことに経口投与では相当に強力になることが分つた。本実験において Clauberg 変法により MNT, EtNT およびその Acetate, ET, P とうの効力を比較すると、注射では P を 100 とすれば MNT, EtNT はそれぞれ 3, MNTA は 25, EtNTA は 50, 経口では ET を 100 とすれば、MNT, EtNT はいづれも 1,000 (10 倍強力), MNTA, EtNTA はそれぞれ 200, 500 であつた。即ち 19-Nor steroid 類は一般に注

射では弱いが経口的にはむしろ著しく強力化することが明らかになつた。これらの事実は注目すべき極めて特異的な現象であつて堀内²⁹⁾ が報告しているごとく生体内で特に賦活化することも考えられ、又堀原³⁰⁾ らは Prodox (17 α -hydroxy progesterone acetate) は肝臓を通過するとその活性度が増加するものと考えざるを得ないと述べている。

4) 下垂体 Gonadotrophic potency の抑制

Pincus³¹⁾ らは 19-Nor steroid を動物に与え、その gonadotrophin 排泄に変化を認め Mc Ginty および Drill²¹⁾ は成熟ラットに MNT, EtNT, ENT を 1 日 1 回 14 日間経口投与して睪丸、精囊、前立腺の重量変化を観察し ENT 0.5mg 又は 2.0mg の連続投与では精囊、前立腺の重量減少を認めたが、8.0mg の高用量ではその属性である androgenic 作用が直接副性器に働きこれが下垂体抑制作用に打ちかつために副性器はむしろ肥大することを認めた。本実験において成熟雄ラットに 1 日 1 回 1mg 宛 20 日間連続投与したが MNT では対照の睪丸 2440mg に対し 1766mg と抑制効果がみられ EtNT では 1580mg で前者よりさらに強い抑制作用を認めた。これは EtNT が MNT より Estrogenic 作用の強いことに基因すると考える。又これらの Acetate, Enanthate では Free 化合物に比し睪丸重量からみた抑制作用は弱く殊に Enanthate にはほとんどその効果が見られなかつた。又これらの 19-Norsteroid を与えたラット下垂体中の gonadotrophin を高木、小林法により抽出し幼若マウスの子宮重量増加より GP を測定した結果では対照の OH₂ は 1 日 50r 20 日間投与でも GP は著しく低下し、下垂体抑制効果は極めて強いが 19-Norsteroids では一般に弱く、その序列は EtNT > ENT > MNTA > EtNTA $\approx$ MNTA > MNT であつた。即ち EtNT はもつとも強く MNTA と EtNTA は大体同程度で中間、MNT はもつとも弱かつた。

5) 妊娠維持効果

Overbeek および de Visser²⁴⁾ はラットの妊娠第 10 日目に両側卵巣を剔除し 7 日間検体を投与し第 17 日目に剖検した結果 P の 1.25mg/日の投与では胎児は全部流産し 2.5mg/日では 9 匹中 2 匹死亡、7 匹生存、MNT は 1.25mg/日の注射で胎児は 6 匹全部死亡、2.5mg/日では 10 匹中 6 匹死亡、4 匹生存の 40% 成功率、MNT 1.25mg/日に OH₂B 0.25mg/日併用では同じく 6 匹全部死亡、不成功であつた。又 Lyons³²⁾ は P 4mg と Estrone 1r で奏効した。本実験では去勢後 Steraid を

表 12 各種 Steroids のホルモン作用比較表

検体		TP	MNT	MNTA	MNTE	EtNT	EtNTE	EtNTA	NT	ET	ENT	P	OH ₂
性ホル モン作用	精 囊	100	5~10	<5	<5	5		5	5	2.5	10		
	前 立 腺	100	5	<5	<5	2.5		5	<5	2.5	5~7		
育 肥 大 作 用		100	20	10	5	10~20		20	>100	<2.5	40		
性ホル モン作用	陰 脂 垢		5×10 ⁻²			1×10 ⁻¹				2.5×10 ⁻²			100
	子宮重量		8.3×10 ⁻³	<2.5×10 ⁻³	<2.5×10 ⁻³	3.3×10 ⁻²	8.3×10 ⁻³	1.7×10 ⁻²	4.2×10 ⁻³	1.7×10 ⁻²			100
体ホル モン作用	注 射		3.3	25	12.5	<3.3	100	50		12.5	50	100	
	経 口		1000	200	500	1000	500	500		100	1000		

与えなければ2日目まで100%に維持したが3日目には50%になり4日目以後はすべて流産した。又 P 1mg/日 7日間授与では10%妊娠維持され、2mg/日で60%、3mg/日では100%に成功した。即ち 3mg/日で完全に維持される。MNT では 1mg/日注射では33%、2.5mg/日で50%、5mg/日で33%の成功率をあげたが MNT に OH₂ を併用した場合は 5mg: 1r では25%維持に成功した。即ち Estrogen の同時授与は維持率には影響がないが清水³³⁾によると Estrogen を加えることより子宮内生存胎児数を増し得るという。

経口授与では MNT 3mg に OH₂ 0.1r 併用では不成功、20mg/日に 0.1r 併用で25%に成功した。但し 20mg/日の単独授与では全々維持されない。EtNT は 2.5mg/日でも 5.0mg/日でも全例失敗。EtNTA および ENT は 2mg/日注射でいずれも75%に維持された。

これらの成績から見ると 19-Nor-gestagen はウサギの Clauberg 反応が極めて強いにもかかわらずラットの妊娠維持効果は弱く、この間に相関が見られない。おそらく種の特異性によるものであろう。

6) 化学構造と生物学的作用との関連

19 Nor steroids では非-19-Nor 体に比して androgenic 作用は著しく弱まるが、anabolic 効果は比較的よく保存される。androgenic 作用は C-17 位の alkyl 基序列について比較すると。C₂H₅>H>CH₃≥C≡CH となり Ester 化合物では MNT>MNTA (MNTE): EtNTA≥EtNT: Anabolic 作用は C-17 位 alkyl の比較では H>C₂H₅>CH₃≥C≡CH となり Ester では MNT>MNTA>MNTE: EtNTA≥EtNT となる。

Estrogenic 作用ではマウス子宮重量法では C-17 位 alkyl の比較では、C≡CH>H=C₂H₅>CH₃ となり、Ester では EtNT>EtNTA: MNT>MNTA≈MNTE と見られる。Progestational 作用では Clauberg 変法

で注射時 C-17 位 alkyl については C₂H₅>CH₃>C≡CH の関係があり、Ester では EtNTE>EtNTA>MNTA>MNTE の順となる。経口授与では C-17 位の alkyl 基による差はなくいずれも ET の 10 倍の効果あり CH₃=C₂H₅=(C≡CH) 下垂体 GP の抑制では Free 化合物では C-17 位の alkyl については OH₂>>>C≡CH>C₂H₅>CH₃: Ester では MNTE≥MNTA≥MNT: EtNT>EtNTA の関係があるらしい。

結 論

代表的 19-Nor steroids である MNT, ENT, EtNT, NT およびその Ester につき各種生物学的作用を比較実験し次の結論をえた。

1. androgenic 作用: Eisenberg-Gordan 法によると TP の 1/10~1/20 程度で ET もつとも弱く、1/40 に当り MNT は EtNT よりやや強い。

2. anabolic 作用: 同法により大体 TP の 1/5~1/20 程度で ET もつとも弱く 1/40, EtNT は MNT よりやや弱く NT は TP と同程度、ENT は最強で TP の 1/2.5 であつた。

3. Estrogenic 作用: Allen-Doisy test では OH₂ の 1/1,000~1/4,000 に当り EtTN は MNT の 2 倍強く、Lauson 法による子宮肥大効果は OH₂ の 1/3,000~1/40,000 程度で EtNT がもつとも強い。

4. Progestational 作用: 注射による Clauberg 反応では P の 1/2~1/30 程度で MNT, EtNT は 1/30, 経口授与ではいずれも相当強く ET の 2~10 倍に当り、MNT, EtNT は両者とも 10 倍であつた。ラットについて Corner 法による 1 回 20mg 注射の持続効果は Free 化合物より Ester のほうが強く MNTE, EtNTE は授与後 10 日目においてもなお効果を認めた。

5. 下垂体 GP 抑制作用: ラット睾丸重量減少から見た抑制作用は EtNT がもつとも強く、次いで MNT および Ester で 19-Nor steroid 投与ラットの下垂体中の GP を実測した成績でも EtNT はもつとも強く抑制した。

6. 妊娠維持効果: ウサギの子宮内膜に対する Clauberg 反応の強度とラットの妊娠維持効果との間には一定の相関係数は認められない。即ち Clauberg 反応(経口投与)では極めて強いが妊娠維持効果はむしろ弱い。又 Clauberg 反応では経口投与のほうが注射よりも強いが妊娠維持効果は注射のほうがむしろ強い。

7. ラットの性周期に及ぼす影響: MNT, EtNT とうは長期投与の場合発情が抑制され性周期の乱れが認められた。

8. 化学構造と生物学的作用との関連: 両者の間には一定の関係がある。

稿を終るに当つて終始御懇篤なる御指導、御校閲を賜った東京医科歯科大学産婦人科教室藤井久四郎教授に深甚なる謝意を表し、なお有益なる御助言を頂いた慶応大学医学部安藤晴弘助教授並びに本研究の機会と援助を与えられた帝国臓器製薬株式会社々長山口栄一博士、研究部長新延信吉博士、御鞭撻下さった早津清一、上野福寿、細井稔、小林修の各博士に深く感謝する。なお、協力頂いた生物試験研究室中野渡亀夫、飯塚和雄、三木徳太郎の諸氏に感謝する。又研究材料を御恵与下された鶴見化学研究所長中馬操博士並びに製造部技術課の諸氏に御礼申し上げます。

引用文献

- 1) Inhoffen, H.H., Longemann, W. & Serini, A.: Ber. 71, 1024, 1938.
- 2) Djerassi, C., Miramontes, L. & Rosenkranz, G.: J.A.C.S. 76, 4092, 1954.
- 3) Eisenberg, E. & Gordan, G.S.: J. Pharmacol Exptl. Therap. 99, 38, 1950.
- 4) Lauson, H.D., Heller, C.G., Godden, J.B.: Endocrinology 24, 35, 1939.
- 5) Clauberg 変法, 日内分泌誌, 18(8), 665.
- 6) McPhail, M.K.: J. Physiol. 83, 145, 1934.
- 7) Corner & Allen: Am. J. Physiol. 88, 326, 1929.
- 8) 高木繁夫, 小林修: ホと臨床, 6, 1138, 1958.
- 9) Kochakian, C.D., Murlin, J.R.: J. Natur. 10, 437, 1935.
- 10) Kochakin, C.D.: Am. J. Physiol. 160, 53, 1950.
- 11) Papanicolaou, G.D. & Folk, E.A.: Science, 87, 238, 1938.
- 12) Engle, P.: Endocrinology, 29, 852, 1941.
- 13) 小山良修, 中尾健: 生体の科学, 6(2), 40, 1954.
- 14) 赤須文男: 臨婦産, 9, 1086, 1955.
- 15) Birch, A.J.: J. Chem. Soc. 367, 1950.
- 16) Herschberger, L.G., Shippley, E.G. & Meyer, R.K.: Proc. Soc. Exptl. Biol. & Med. 83, 175, 1953.
- 17) Hertze, R., Tullner W. & Roffelt, E.: Endocrinology 54, 228, 1954.
- 18) Ferine, J.: Ann. d'endocrinol. 17, 261, 1956.
- 19) Saunders, F.J., Drill, V.A.: Proc. Soc. Exptl. Biol. & Med. 94, 717, 1957.
- 20) Drill, V.A. & Saunders, F.J.: Rec. Prog. Hormone, Res. 14, 33, 1958.
- 21) McGinty, D.A. & Djerassi, C.: Ann. N.Y. Acad. Sci. 71, 501, 1958.
- 22) Barnes, L.E., Guild, M.E. Olson, K.J.: Proc. Soc. Exptl. Biol. & Med. 87, 35, 1954.
- 23) Pincus, G., Chang, M.C. & Merrill, A.: Endocrinology, 59, 655, 1956.
- 24) Overbeek, G.A. & de Visser, J.: Acta Endocrinol. 22, 318, 1956.
- 25) Armstrong, F.C.: Ann. N.Y. Acad. Sci. 71, 505, 1958.
- 26) Pincus, G., Chang, M.C. & Merrill, A.: Endocrinology, 59, 695, 1956.
- 27) Shippley, E.R.: Ann. N.Y. Acad. Sci. 71, 505, 1958.
- 28) Greenblatt, R.B.: J. Clin. End. & Met. 16, 869, 1956.
- 29) 堀内正晴: 日産婦誌, 7(3), 303, 1955.
- 30) 梶原和人他: 臨婦産, 13(10), 877, 1959.
- 31) Pincus, R., Kuppermann & Heller: Proc. a. symp. on 19-Nor progestational steroids. 1957.
- 32) Lyons, W.R.: Proc. Soc. Exptl. Biol. & Med. 54, 65, 1943.
- 33) 清水清美: 日産婦誌, 11(7), 871, 1959.

Summary

Various biological activities of 19-Norsteroids, Methyl 19-Nortestosterone (MNT), Ethinyl 19-Nortestosterone (EtNT), Ethyl 19-Nortestosterone (ENT), 19-Nortestosterone (NT) and their esters were investigated.

1) Androgenic activity: According to Eisenberg and Gordan's test, 19-Norsteroids corresponded to $1/10 \sim 1/20$ of Testosterone propionate (TP). Ethinyltestosterone (ET) was the weakest ($1/40$ of TP) and MNT was a little stronger than EtNT.

2) Anabolic activity: By means of Eisenberg and Gordan's test, they corresponded to $1/5 \sim 1/20$ of TP in anabolic activity, ET was the weakest ($1/40$ of TP). EtNT was a little weaker than MNT, where as NT was equal to TP, ENT was the strongest among them ($1/2.5$ of TP).

3) Estrogenic activity: On Allen-Doisy test, they corresponded to $1/1,000 \sim 1/4,000$ of Estradiol (OH_2) in estrogenic activity, EtNT was two times stronger than MNT. In uterotrophic activity on Lauson's test, they had only $1/3,000 \sim 1/40,000$ of action of OH_2 . EtNT was the strongest of all.

4) Progestational activity: On Clauberg test by injection they corresponded to $1/2 \sim 1/30$ of Progesterone (P). MNT and EtNT was $1/30$ of P. By oral administration they were distinctly activer than ET, in fact at least two-ten times. Both MNT and ENT were ten times activer than ET. As for the duration of Clauberg's progestational action following a single injection of 20mg. their esters were stronger than free compounds. The effects of both MNT-enanthate (MNTE) and EtNT-enanthate (EtNTE) were recognized even on 10th day after injection.

5) Inhibiting activity on pituitary gonadotrophic potency: Of inhibiting activity on pituitary gonadotrophic potency by testes weight decrease test in rats, EtNT was the strongest of others, MNT and their esters were not so active. By means of gonadotrophic potency test in mice following injection with 19-Norsteroids, EtNT inhibited its action and was the strongest of all.

6) Pregnancy maintenance activity: Activity in Clauberg test and pregnancy maintenance effect in rats were not always pararel. The 19-Norsteroids were all quite active in even if given by mouth, but pregnancy maintenance effect was rather weak. On Clauberg test 19-Norsteroids were generally stronger when given by mouth than by injection, while in pregnancy maintenance activity parenteral application was better than peroral treatment.

7) Effect on sexual cycle of rats: MNT and EtNT inhibited the estrus when given for a long time. In generally the sexual cycle became irregular.

8) Chemical structures and biological activities: There seemed to exist a definite relation between the chemical structures and the biological activities of 19-Norsteroids.

*Department of Gynecology, Tokyo Medical and Dental University.
Research Laboratory, Teikoku Hormaon Mfg. Co.*