

## 家兎眼における fluorometholone の代謝に関する研究 (図8, 表1)

鮑 浦 淳 介 (鳥取大学医学部眼科学教室)

## Metabolism of Fluorometholone in Rabbit Eye

Junsuke Akura

Department of Ophthalmology, Tottori University School of Medicine

## 要 約

Fluorometholone (FLM) の眼における代謝産物を明らかにする目的で本実験をおこない、以下の結果を得た。1) FLM を家兎眼球に点眼した後、房水を採取、抽出物を薄層クロマトグラフィー (TLC)、ガスクロマトグラフィー (GC)、ガスクロマトグラフィー・マススペクトロメトリー (GC/MS) 分析し、房水中に代謝産物としての  $20\alpha$ -dihydroFLM の存在を証明した。2) FLM を角膜の細切片とインキュベートし、抽出物を GC、GC/MS 分析の結果、 $20\alpha$ -dihydroFLM の生成が確認された。すなわち、家兎角膜には  $20\alpha$ -hydroxysteroid dehydrogenase 活性が存在する。以上の結果から、点眼された FLM は、眼内移行中にその一部が  $20\alpha$ -dihydroFLM に還元代謝されることが明らかになった。(日眼 91: 1137—1146, 1987)

キーワード：フルオロメトロン、代謝、合成副腎皮質ステロイド剤、家兎眼、ガスクロマトグラフィー・マススペクトロメトリー

## Abstract

This experiment attempted to identify any metabolites of fluorometholone (FLM) in rabbit eye by thin layer chromatography, gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry. After instillation of FLM into the eyes of rabbits,  $20\alpha$ -dihydroFLM was found in the aqueous humor. Furthermore, the same metabolite was also formed by incubating FLM with slices of cornea. The enzymatic activity which metabolizes FLM into  $20\alpha$ -dihydroFLM was thus shown to be present in this tissue. These results show that topically applied FLM is metabolized into  $20\alpha$ -dihydroFLM during its transfer into the aqueous humor. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 91: 1137—1146, 1987)

Key words: fluorometholone, metabolism, synthetic corticosteroid, rabbit eye, gas chromatography-mass spectrometry

## I 緒 言

眼科領域では、前眼部および外眼部の炎症性病変に、広く副腎皮質ステロイド剤が点眼などによって局所投与され、著効をあらわす。しかしこの反面、副腎皮質ステロイド剤の局所投与が長期にわたると、ステロイド緑内障などの重大な副作用が起こることが知られている<sup>1)~5)</sup>。点眼されたステロイドは、主として角膜を通

過して前房に移行する。角膜、虹彩毛様体など眼組織には、ステロイドを代謝する酵素系が存在するため、投与されたステロイドは、角膜通過中またはその後代謝され、房水中には、投与したステロイドと共にその代謝産物が含まれている<sup>6)~13)</sup>。すなわち、線維柱帯、虹彩毛様体、水晶体などの眼組織に作用するのは、投与ステロイドとその代謝産物の両者である。従って、点眼されたステロイドの房水中における代謝産物を知

別刷請求先：683 米子市西町86 鳥取大学医学部眼科学教室 鮑浦 淳介

Reprint requests to: Junsuke Akura, M.D. Dept. of Ophthalmol., Tottori Univ. School of Med.

86 Nishi-machi, Yonago 683, Japan

(昭和62年5月18日受付) (Accepted May 18, 1987)

ることは、眼科の臨床において、ステロイドの作用、副作用を解明する上で重要である。

Fluorometholone (9 $\alpha$ -fluoro-11 $\beta$ , 17 $\alpha$ -dihydroxy-6 $\alpha$ -methyl-1,4-pregnadiene-3,20-dione) は、他の多くの副腎皮質ステロイド剤と異なり、21-水酸基を持っていない<sup>14)15)</sup>。皮膚試験によると、fluorometholone (以下 FLM) は、cortisol の40倍の抗炎症作用を示すのに経口投与では1～2倍にすぎないことから、FLM は局所使用にすぐれたステロイド剤とされている<sup>16)</sup>。眼科領域でも、FLM は抗炎症剤として局所的に使用され、しかも眼圧上昇などの副作用は、他のステロイド剤に比して著しく少ないことが知られている<sup>17)~22)</sup>。このように、FLM の副作用が少ないのは、あるいは FLM が抗炎症的に作用したのち、速やかに代謝されるのではないとも考えられる。しかし、FLM の代謝ないし代謝産物については、眼組織はもとより他の臓器組織においても報告されていない。

本研究は FLM の眼における作用、副作用を解明する一端として、その眼における代謝産物を明らかにするためにおこなった。

## II 実験方法

### 1. Fluorometholone (FLM) の点眼実験

体重2.5～3.5kg の白色家兎10羽を用いた。市販の0.1%FLM 点眼液(フルメトロン)を15分間に頻回両眼結膜嚢内に点眼し、最後の点眼より30分後に27G 針を用いて、両眼より1羽につき房水約0.6ml、計6mlを採取し、これに10倍量のエタノールを加え、分析まで冷室に保存した。

### 2. Fluorometholone (FLM) の角膜組織による代謝実験

耳静脈内に空気を注入し致死させた白色家兎(2.5 kg)の両眼球を摘出した。摘出した眼球から両眼の角膜(湿重量160mg)を分離し、生理食塩水で洗浄後細切した。細切片を5%glucoseを含む Krebs-Ringer phosphate buffer (pH 7.4) 2ml 中で、市販の0.1% FLM 点眼液(フルメトロン)1滴(50 $\mu$ l)と37 $^{\circ}$ C 空气中でインキュベートした。2時間後、10倍量のエタノールを加え反応を止め、冷室に保存した。

### 3. 試料の抽出と精製

抽出精製法の概略を Fig. 1 に示した。すなわち、10倍量のエタノールを加えた分析試料を30分間60 $^{\circ}$ C で加熱後濾過し、沈殿を2回エタノールで洗浄する。濾液と洗浄液を合わせ、減圧下で蒸発乾固する。残渣を80%

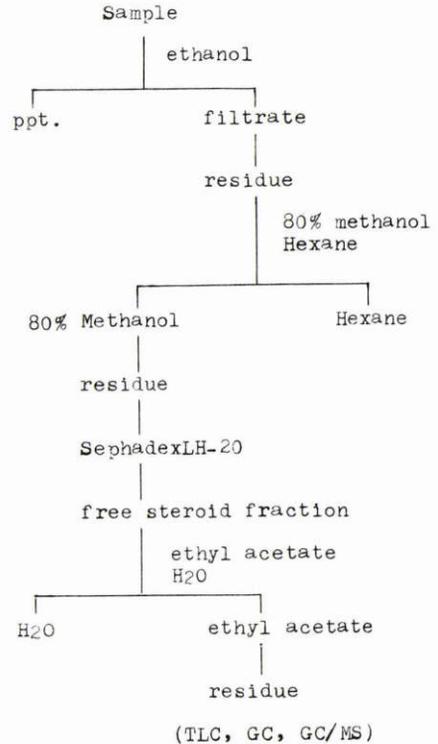


Fig. 1 Extraction and purification of the metabolites

メタノール溶液20mlに溶解し、ヘキサン20mlを加え振とう後ヘキサン層を除去する。水性メタノール層を減圧蒸留して溶媒を除去する。残渣は、Sjövall and Vihkoの方法<sup>23)</sup>に従ってSephadex LH-20カラムクロマトグラフィーをおこない、遊離ステロイド分画を集めた。すなわち、残渣を、0.01M NaClを含むクロロホルム-メタノール(1:1)に溶解し、同じ溶媒で調製したSephadex LH-20カラム(1cm×15cm)に添加、同じ溶媒で溶出する。最初から12mlまでの溶出液を窒素気流下で蒸発乾固する。溶出液中に含まれるNaClを除くため、残渣を酢酸エチルに溶解し、酢酸エチル溶液を水洗、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>にて乾燥後、窒素気流下に溶媒を蒸発乾固した。残渣中のステロイドは、薄層クロマトグラフィー、ガスクロマトグラフィーおよびガスクロマトグラフィー・マススペクトロメトリーによって分析した。

### 4. 薄層クロマトグラフィー (TLC)

試料をTLCシート(Eastman chromatogram sheet No. 6060)にスポットし、クロロホルム-アセトン(7:3)で展開した。クロマトグラム上のステロイドの検

出は、クロマトグラムを紫外線下で観察すると共役二重結合のあるステロイドは黒いスポットとして検出される。その他のステロイドの存否を確かめるため、必要に応じてリンモリブデン酸による呈色反応をおこなった。薄層クロマトグラムからのステロイドの抽出は、各々のスポットを切りとり、メタノールおよびアセトンで抽出した。

#### 5. 誘導体の調製およびガスクロマトグラフィー (GC)

GC および GC/MS 分析に先立って、試料を Thenot and Horning の方法<sup>24)</sup>によってメトオキシム-トリメチルシリル誘導体 (MO-TMS) とした。すなわち、試料を10%塩酸メチルヒドロキシルアミンのピリジン溶液50 $\mu$ l に溶解し、60 $^{\circ}$ Cで30分間加熱後、窒素気流下でピリジンを蒸発する。残渣に50 $\mu$ l のトリメチルシリルイミダゾールを加え、100 $^{\circ}$ Cで3時間加熱する。溶媒を窒素気流下で除去、残渣を20 $\mu$ l のヘキサンに溶解し、その一部をガスクロマトグラフ、又はガスクロマトグラフ・マススペクトロメーターに注入した。ガスクロマトグラフは島津製 GC-4-BPF 型ガスクロマトグラフを使用した。カラムは、1%OV-1 (Gaschrom Q, 60-120mesh) を充填した2m $\times$ 4mm シリコン処理ガラスカラムを使用した。カラム温度は250 $^{\circ}$ C、キャリアガス窒素流量を30ml/min とし、検出は水素イオン化検出器によっておこなった。

#### 6. ガスクロマトグラフィー・マススペクトロメトリ (GC/MS)

GC/MS 分析は、JGC-20K-JMS D-300 (日本電子株式会社製) およびデータ処理システム JMA-2000を使用した。シリコン処理した1m $\times$ 2mm ガラスカラムに1%OV-1を充填したものをガスクロカラムとし、キャリアーガス (ヘリウム) 流量は30ml/min で使用した。

#### 7. Fluorometholone (FLM) の20-dihydro 体の合成

20 $\alpha$ -dihydroFLM (9 $\alpha$ -fluoro-6 $\alpha$ -methyl-11 $\beta$ , 17, 20 $\alpha$ -trihydroxy-1,4-pregnadien-3-one) および20 $\beta$ -dihydroFLM (9 $\alpha$ -fluoro-6 $\alpha$ -methyl-11 $\beta$ , 17, 20 $\beta$ -trihydroxy-1,4-pregnadien-3-one) の合成は、Norymberski and Woods<sup>25)</sup>に従っておこなった。すなわち、FLMのメタノール溶液を0 $^{\circ}$ CにおいてNaBH<sub>4</sub>で還元した。このとき20 $\alpha$ -dihydroFLMと20 $\beta$ -dihydroFLMが生成するが、両者はTLCで分離した。FLMの20 $\beta$ -dihydroxy体への特異的な還元は、Hübener and Lehmann<sup>26)</sup>に従って20 $\beta$ -

hydroxysteroid dehydrogenase (ペーリンガー・マンハイム山之内株式会社) を用いておこなった。

### III 結 果

#### 1. 房水中の FLM 代謝産物の同定

FLM 点眼後の房水中ステロイドを抽出精製し、この試料を TLC 分析したクロマトグラムを紫外線下で観察した結果を Fig. 2 に示した。紫外線下で房水抽出物は、2つの濃いスポットの他に幾つかの淡いスポットを認めた。この2つの濃いスポットのうち極性の低いスポット (b) の Rf 値は FLM のそれと一致し、極性の高いスポット (a) の Rf 値は20 $\alpha$ -dihydroFLM のそれと一致する。

スポット a を抽出し、抽出物を MO-TMS 化して GC をおこなったクロマトグラムを Fig. 3-A に示した。この物質は二峰性のピークを示すが、各峰の保持時間は図中に示した。Fig. 3-B, Fig. 3-C および Fig. 3-D に各々標品20 $\alpha$ -dihydroFLM, 20 $\beta$ -dihydroFLM および FLM の MO-TMS 誘導体のガスクロマトグラムを示したが、いずれも二峰性のピークを与える。Fig. 3-E に物質 a と標品 FLM の混合物を MO-TMS 化した試料のガスクロマトグラムを示した。このクロマトグラム (Fig. 3-E) から、FLM の最初のピークを基準にしたときの物質 a の相対保持時間が求められる。このようにして求めた物質 a, 20 $\alpha$ -dihydroFLM および 20 $\beta$ -dihydroFLM の相対保持時間を Table 1 に示し

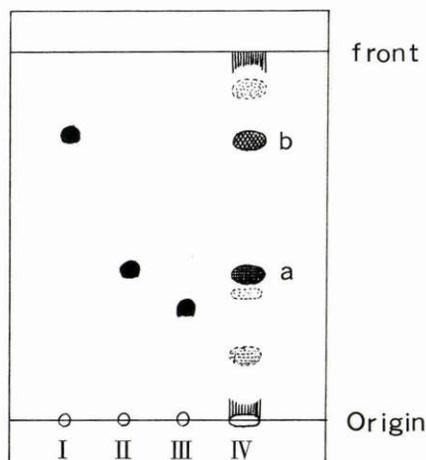


Fig. 2 Thin layer chromatogram of the extract from aqueous humor after instilling FLM  
I : standard FLM, II : standard 20 $\alpha$ -dihydroFLM, III : standard 20 $\beta$ -dihydroFLM, IV : extract

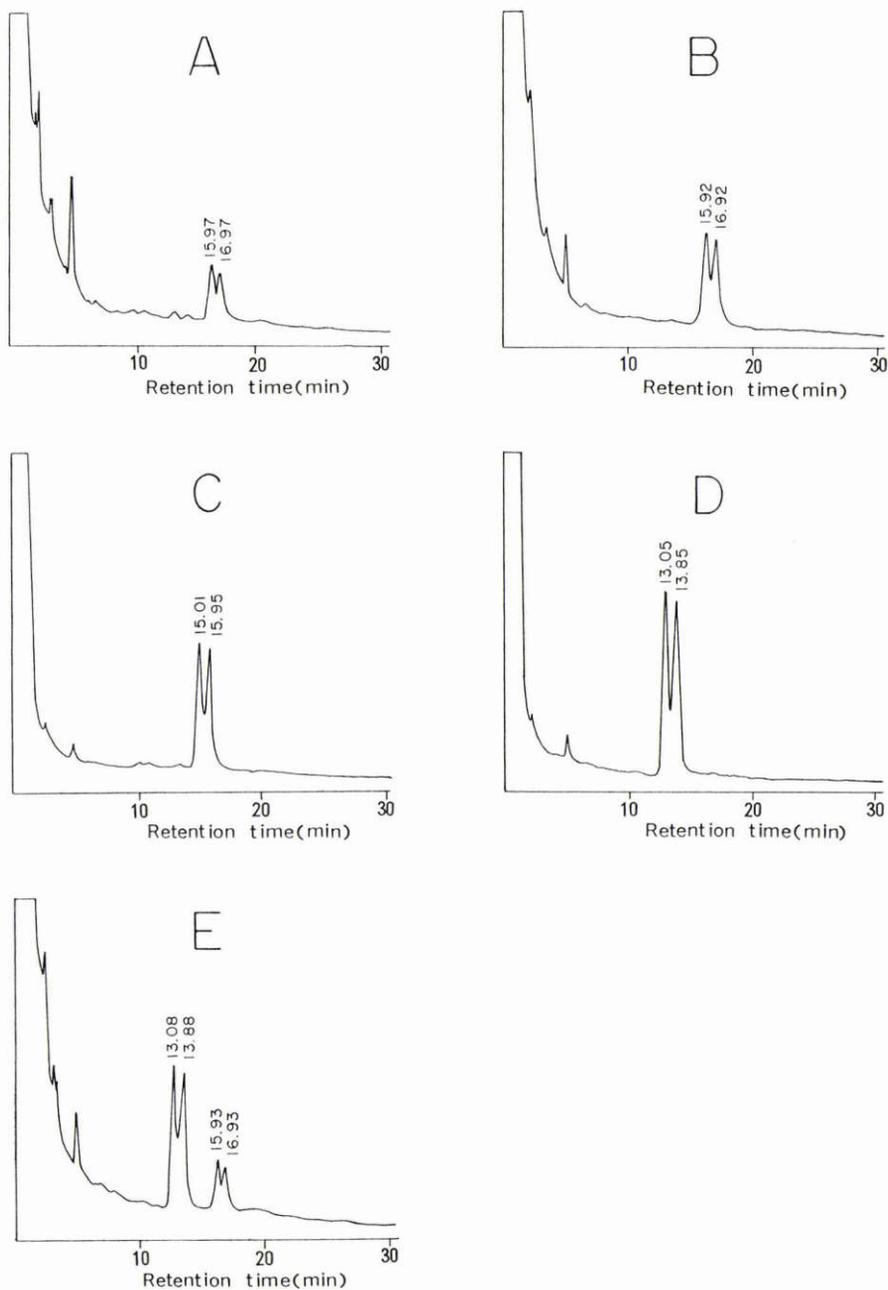


Fig. 3 Gas chromatograms of the MO-TMS derivatives

A: Material in spot a, B: Standard  $20\alpha$ -dihydroFLM, C: Standard  $20\beta$ -dihydroFLM, D: StandardFLM, E: Material in spot a + standardFLM (Retention times are indicated in the chromatograms)

た。

物質 a および  $20\alpha$ -dihydroFLM を MO-TMS 誘導体として GC/MS 分析したときのマススペクトルを

Fig. 4 に示したが、両スペクトルは完全に一致した。

以上、TLC 分析において Rf 値が一致すること、GC 分析で相対保持時間が一致すること、GC/MS 分析で

**Table 1** Relative retention times of the MO-TMS derivatives

Sample	relative retention time*	
	first peak	second peak
material in spot a	1.22	1.29
20 $\alpha$ -dihydroFLM	1.22	1.29
20 $\beta$ -dihydroFLM	1.16	1.23
FLM	1.00	1.06

マススペクトルが一致することから、物質 a は 20 $\alpha$ -dihydroFLM と同定される。

房水抽出物の薄層クロマトグラム上 FLM と同一の Rf 値を示す物質 b は、物質 a の同定と同じ方法で GC および GC/MS 分析した結果、FLM と同定された。

薄層クロマトグラム上で淡い紫外線の吸収を示すスポット中の物質は、MO-TMS 化後 GC/MS 分析し、そのスペクトルを解析したが、いずれにもステロイド骨格に特有なフラグメントイオンは存在しないためステロイドとは考えられない。また、FLM の A 環の還元された、即ち紫外線を吸収しない代謝産物を検出する目的で、クロマトグラムをリンモリブデン酸で呈色反応をおこなったが、内因性コレステロール以外のステロイドは検出されなかった。

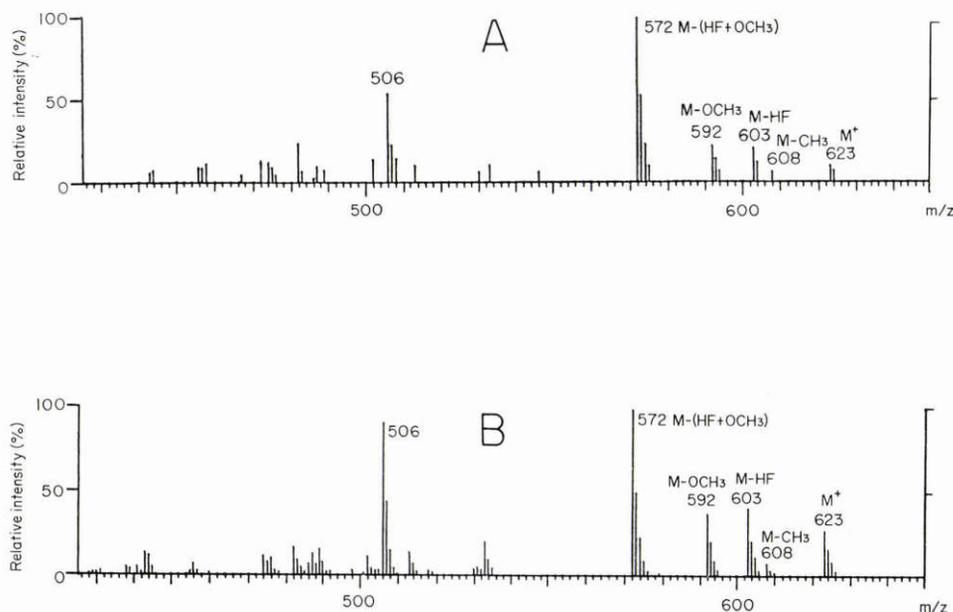
以上から、FLM 点眼後の房水中には、FLM の他 20 $\alpha$ -dihydroFLM が代謝産物として検出された (Fig. 5)。

## 2. 角膜組織による FLM の代謝

角膜を FLM とインキュベートした抽出精製物を MO-TMS 誘導体として GC 分析したクロマトグラムを Fig. 6 に示した。2つの二峰性ピークが得られるが、これらの保持時間は、各々 FLM, 20 $\alpha$ -dihydroFLM のそれとほぼ一致した。GC/MS 分析した結果、これら 2つのピークは、各々 FLM とその代謝産物 20 $\alpha$ -dihydroFLM によることが確認された。すなわち、角膜には、FLM を 20 $\alpha$ -dihydroFLM に代謝する酵素活性が存在することが明らかになった。

## 3. 20 $\alpha$ -および 20 $\beta$ -dihydroFLM の化学的合成

FLM を Norymberski and Woods 法で還元すると、20 $\alpha$ -および 20 $\beta$ -dihydro 体の 2つのエピマーを生成し、20 $\beta$  体が 20 $\alpha$  体より多いと予測される<sup>27)28)</sup>。還元物を TLC をおこない、クロマトグラムを紫外線下で観察すると 2つのスポットが認められた (Fig. 2 参照)。このうち極性の低いスポットは淡く、極性の高いスポットは濃い。極性の高いスポットの Rf 値は、FLM を 20 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase で特異的に還元して合成した 20 $\beta$ -dihydroFLM のそれと一致する。



**Fig. 4** Mass spectra of the MO-TMS derivatives of the material in spot a and 20 $\alpha$ -dihydroFLM

A: Material in spot a, B: 20 $\alpha$ -dihydroFLM

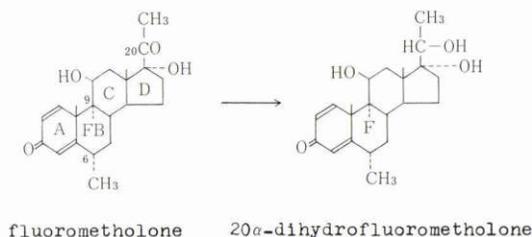


Fig. 5 Metabolism of FLM in rabbit eye

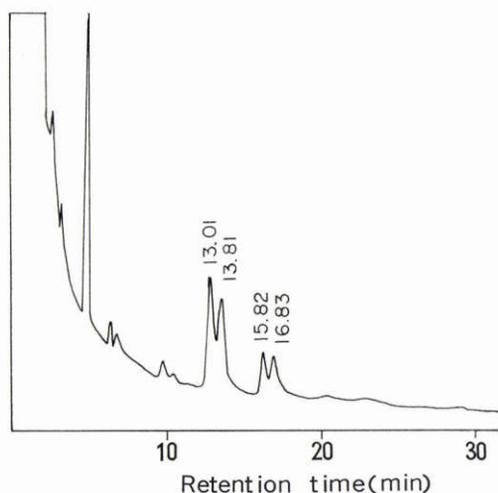


Fig. 6 Gas chromatogram of the MO-TMS derivatives of the extract obtained after incubation of FLM with corneal tissue

両スポットから抽出されたステロイドの紫外線スペクトルは、いずれも  $\lambda_{\max}$  238nm (メタノール) であって、FLM の A 環が還元されずそのままであることを示している。したがって、極性の低い還元体は 20 $\alpha$ -dihydroFLM、極性の高い還元体は 20 $\beta$ -dihydroFLM であると考えられる。両還元体のマススペクトルを FLM のそれと共に Fig. 7 に示した。FLM の分子イオン 376 に対し、還元体は分子イオン 378 なので、dihydro 体であることを示している。また、スラグメントイオンも 20-dihydroFLM であると説明されるので、両物質は 20 $\alpha$ -および 20 $\beta$ -dihydroFLM と確認された。

#### IV 考 按

FLM の *in vivo*、および眼組織を含めその他の臓器組織による *in vitro* 代謝産物に関する報告は、著者の知る限り存在しない。Yamauchi ら<sup>9)</sup>は、家兎に<sup>3</sup>H-FLM を点眼した後、角膜および房水中のステロイド

を TLC により分析し、<sup>3</sup>H-FLM の他に、これより極性の高い代謝産物が唯一だけ生成することを報告している。しかし、彼らはこの代謝産物が何であるかは明らかにしていない。著者は、FLM を家兎に点眼し、房水中に FLM とその代謝産物 20 $\alpha$ -dihydroFLM が存在することを、TLC、GC および GC/MS 分析によって明らかにし、更に、FLM は角膜組織によって 20 $\alpha$ -dihydroFLM に代謝されることを証明した。20 $\alpha$ -dihydroFLM は、薄層クロマトで FLM より極性が高く、その極性から考えて、Yamauchi ら<sup>9)</sup>の未知の代謝産物は、20 $\alpha$ -dihydroFLM であったものと考えられる。

FLM および 20 $\alpha$ -dihydroFLM の MO-TMS 誘導体が、OV-1 カラムによる GC 分析で二峰性ピークを与えたのは、これらの物質の特徴の 1 つである。一般に、3-ケトステロイドを MO 化した場合、*syn/anti* 両異性体が生成するが、OV-1 カラムによる GC 分析では多くの 3-ケトステロイドの両異性体は分離せず、1 つのピークとして検出される<sup>29)</sup>。しかし、ステロイドによっては二峰性のピークを与える場合がある<sup>30)</sup>。なお GC/MS 分析で、両峰は同一のマススペクトルを与える。

ヒトの *in vivo*、動物の肝臓その他の組織におけるステロイド代謝に関する研究は多数報告されているが<sup>31)~33)</sup>、眼におけるステロイド代謝に関する報告は少ない。C<sub>21</sub> ステロイドの眼における代謝研究は、cortisol と progesterone に代表されるが (Fig. 8)、現在までに次のような報告がある。*in vitro* の代謝については、Ono ら<sup>11)</sup>はウシ、ブタおよびラットの水晶体ホモジネートを cortisol とインキュベートすると、cortisol の側鎖が切断されて 11 $\beta$ -hydroxyandrostenedione が生成されると報告した。Gallegos ら<sup>34)</sup>は、家兎水晶体組織および虹彩毛様体を、コルチコステロイドおよび progesterone とインキュベートし、次のように報告している。cortisol、cortisone および corticosterone などの主な代謝は、11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase による 11 $\beta$ -水酸基の可逆的酸化還元反応であり、11-deoxycortisol および 11-deoxycorticosterone などは代謝されなかった。これらステロイドの A 環の還元反応は、cortisone では多少おこっているようであるが、他のステロイドでは全く認め得なかった。また、何れのコルチコステロイドでも、側鎖切断代謝産物は証明し得なかった。progesterone からは、20 $\alpha$ -dihydroprogesterone と A 環が還元された代謝産物が得られた。

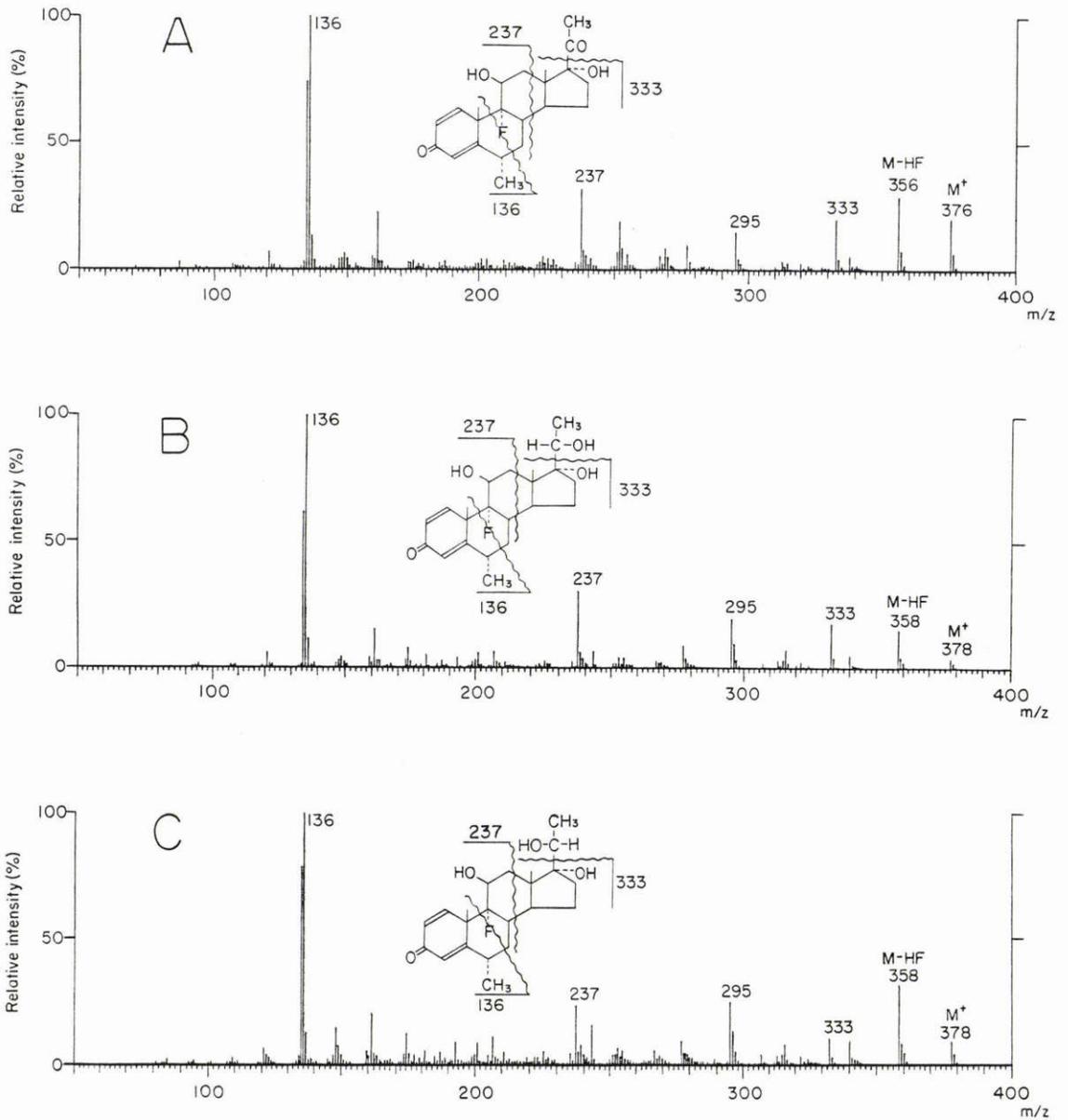


Fig. 7 Mass spectra of FLM and 20-dihydroFLM  
A: FLM, B: 20 $\alpha$ -dihydroFLM, C: 20 $\beta$ -dihydroFLM

眼にステロイドを点眼し、房水その他の眼組織中の代謝産物を研究した *in vivo* の実験として、Hama-shige ら<sup>9)</sup>は、家兎角膜前面に投与した cortisone acetate は房水に移行するが、このとき acetate は大部分が水解され cortisone となり、更に一部は11-ケト基が還元され cortisol になると報告している。Ichigashira and Yamaga<sup>10)</sup>は、dexamethasone を家兎角膜に点眼

すると、房水中にその側鎖が切断されて生じた代謝産物が証明されたと報告している。

FLM が眼において 20 $\alpha$ -dihydroFLM に代謝された本実験の結果を、現在までに報告された眼における C<sub>21</sub>ステロイド代謝に関する知見から考察すると次のようになる。(1) 肝酵素系などによって cortisol の A 環は速やかに還元されるが、眼においては cortisol の

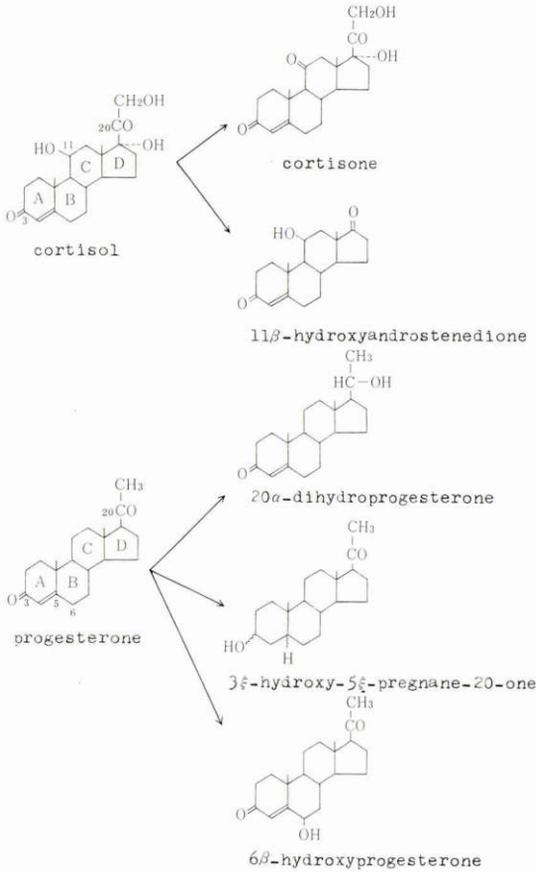


Fig. 8 Metabolism of C<sub>21</sub>-steroids in ocular tissues

A環の還元は報告されていない。cortisolのABC環をFLMと同じ構造に変えた6-methyl-9-fluoroprednisoloneは、肝酵素によってもA環還元が起り難いことが知られているので<sup>35)</sup>、眼においてFLMのA環が還元されなかったのは当然と考えられる。(2) Bush and Mehesh<sup>36)</sup>は、cortisolをヒトに投与後、尿中に11β-水酸基が酸化された代謝産物を検出したが、9α-fluorocortisol投与では、11β-水酸基が酸化された代謝産物を全く認めなかった。このことから彼らは、9α-Fが導入されると、11β-hydroxysteroid dehydrogenaseによる酸化還元平衡を還元に傾け、結果的には11β-水酸基の酸化物は得られなくなると述べている。FLMも9α-Fをもつステロイドなので、11β-水酸基の酸化代謝物が検出されなかったのであろう。(3) 6β-水酸化は、眼では progesterone の場合観察されたという報告があるが<sup>34)</sup>、副腎皮質ステロイドの場合は証明されていない。FLMの場合6β-水酸化さ

れた代謝産物が生成されなかったことは、6β-水酸化に関しては、FLMも副腎皮質ステロイドと類似している。(4) FLMの側鎖に関する代謝については、側鎖切断産物が生成せず20α-dihydroFLMが得られたのは、先に述べた progesterone の家兎眼組織における代謝<sup>34)</sup>と類似している。これはFLMの側鎖が progesterone と同じ methyl ketone であり、他の天然および多くの合成副腎皮質ホルモン製剤のようにC-21水酸基を有しないためと考えられる。

本実験の結果、家兎に点眼されたFLMは、眼内移行に際し、あるいは移行後、20α-dihydroFLMに代謝されることが明らかになった。20α-dihydroFLMの生理作用は明らかでないが、一般に副腎皮質ホルモンの20-ケトン基が還元されると、生理作用を失なうと考えられている<sup>37)</sup>。したがって、20α-dihydroFLMも殆んど生理作用を持たないのではないかと想像される。問題はFLMを臨床でおこなわれるように点眼したとき、眼内あるいは房水中のFLMと20α-dihydroFLMの濃度である。本研究では代謝産物の同定を主目的としていたため、特に頻回のFLM点眼をおこなったので、定量的な点については明らかにし得ない。Yamauchiら<sup>9)</sup>の点眼実験は比較的臨床に近く、房水中ステロイドのTLC分析では、家兎に点眼されたFLMはdexamethasone, prednisoloneに比しはるかに多く代謝されることを想像させるクロマトグラムを得ているが、定量はしていない。本実験の結果、FLMの眼における代謝産物が20α-dihydroFLMであることが明らかにされたので、FLM点眼の抗炎症効果、緑内障その他の眼に対する副作用を解明するために、この代謝の定量的な研究が今後必要である。

稿を終えるにあたり、御指導御校閲を賜りました鳥取大学附属ステロイド医学研究施設生化学部門清水久太郎教授、山家誠夫助教授、鳥取大学眼科学教室藤永豊教授に深謝致します。

#### 文 献

- 1) 梶田英郎, 森富喜子, 新納昭子他: Medrysone と Betamethason の眼圧への影響. 眼臨 69: 1219—1225, 1975.
- 2) 梶田英郎, 石川凜子, 児玉寛典他: ステロイド点眼薬の眼圧上昇に及ぼす影響について. 眼臨 66: 743—749, 1972.
- 3) Beker B, Mills DW: Corticosteroids and intraocular pressure. Arch Ophthalmol 70: 500—507, 1963.
- 4) Linnér E: Adrenocortical steroid and aqueous humor dynamics. Docum Ophthalmol 13:

- 210—224, 1959.
- 5) 玉田康房, 佐瀬義彦, 一迫 浄他: ステロイド剤長期局所投与によるステロイド白内障の成因—全身的影響についての生化学的検索. 眼紀 29: 568—575, 1978.
  - 6) Sugar J, Burde RM, Sugar A, et al: Tetrahydrotriamcinolone and triamcinolone. I. Ocular penetration. Invest Ophthalmol 11: 890—893, 1972.
  - 7) Krupin T, Waltman SR, Becker B: Ocular penetration in rabbits of topically applied dexamethasone. Arch Ophthalmol 92: 312—314, 1974.
  - 8) Hamashige S, Potts AM: The penetration of cortisone and hydrocortisone into the ocular structures. Am J Ophthalmol 40: 211—216, 1955.
  - 9) Yamauchi H, Kito H, Uda K: Studies on intraocular penetration and metabolism of fluorometholone in rabbits: A comparison between dexamethasone and prednisolone acetate. Jap J Ophthalmol 19: 339—347, 1975.
  - 10) Ichigashira N, Yamaga N: Intraocular fate of dexamethasone disodium phosphate topically applied to the eyes of rabbits. Steroid 32: 615—628, 1978.
  - 11) Ono S, Hirano H, Obara K: Degradation of the side-chain of cortisol by lens homogenate. Tohoku J Exp Med 104: 171—175, 1971.
  - 12) Garzone P, Partida PD, Gallegos AJ: Progesterone metabolism by human cornea. J Steroid Biochem 7: 377—379, 1976.
  - 13) Southren AL, Altman K, Vittek J, et al: Steroid metabolism in ocular tissues of the rabbit. Invest Ophthalmol 15: 222—228, 1976.
  - 14) Stafford RO, Robert A, Lyster SC, et al: Fluorometholone, a preferentially anti-inflammatory corticoid. Proc Soc Exptl Biol Med 101: 653—655, 1959.
  - 15) Lipsett MB, Bergenstal DM: A C<sub>21</sub>-desoxysteroid with corticoid activity. J Clin Endocrinol Metab 18: 790—792, 1958.
  - 16) Schlagel CA: Comparative efficacy of topical anti-inflammatory corticosteroids. J Pharm Sci 54: 335—354, 1965.
  - 17) 堀江 武, 北沢克明, 能勢晴美他: 新しいステロイド fluorometholone の眼圧に及ぼす影響について. 眼科 19: 323—329, 1974.
  - 18) 北沢克明: 副腎皮質ステロイド製剤と眼圧. 日本の眼科 47: 345—351, 1976.
  - 19) 東 郁郎, 塚本 尚: Fluoromethorone 点眼の眼圧効果について. 眼紀 912—917, 1974.
  - 20) 平田敏夫, 調枝寛治: Fluorometholone 点眼液の使用経験. 眼紀 26: 225—227, 1975.
  - 21) 石川 哲, 疋田春夫, 北野周作他: フルオロメトロン点眼液の二重盲検法による臨床効果—抗炎症作用および眼圧におよぼす影響—. 医学のあゆみ 88: 442—449, 1974.
  - 22) Fairbairn WD, Thorson JG: Fluorometholone, anti-inflammatory and intraocular pressure effects. Arch Ophthalmol 86: 138—141, 1971.
  - 23) Sjövall J, Vihko R: Chromatography of conjugated steroids on Lipophilic sephadex. Acta Chem Scand 20: 1419—1421, 1966.
  - 24) Thenot JP, Horning EC: Methoxime-trimethylsilyl derivatives of human urinary steroids for gas-chromatographic and gas-chromatographic-mass spectrometric studies. Anal Lett 5: 21—33, 1972.
  - 25) Norymberski JK, Woods GF: Partial reduction of steroid hormones and related substances. J Chem Soc 3426—3430, 1955.
  - 26) Hübener HJ, Lehmann CO: Die enzymatische 20-keto-reduktion durch extrakte aus streptomyces hydrogenans. Z Physiol Chem Hoppe-Seyler's 313: 124—129, 1958.
  - 27) Smith LL, Garbarini JJ, Goodman JJ, et al: 16 $\alpha$ -Hydroxy steroids. IV. Microbiological reduction triamcinolone. J Am Chem Soc 82: 1437—1443, 1960.
  - 28) Vandenhuevel FA: Gas-liquid chromatographic studies of reactions and structural relationships of steroids. J Chromatogr 115: 161—175, 1975.
  - 29) Horning MG, Moss AM, Horning EC: Formation and gasliquid chromatographic behaviour of isomeric steroid keton methoxime derivatives. Anal Chem 22: 284—294, 1968.
  - 30) Maume BF, Millot C, Mesnier D, et al: Quantitative analysis of corticosteroids in adrenal cell cultures by capillary column gaschromatography combined with mass spectrometry. J Chromatogr 186: 581—594, 1979.
  - 31) Dorfaman RI, Ungar F: Metabolism of steroid hormones, in Dorfaman RI, Ungar F (eds): Catabolic Reactions of the Steroids: New York, Academic Press Inc, 289—598, 1965.
  - 32) Fotherby K, James F: Advances in steroid biochemistry and pharmacology, in Briggs MH, Christie GA (eds): Metabolism of Synthetic Steroids: New York, Academic Press Inc, 67—165, 1972.
  - 33) 嶺尾 徹, 宮尾賢爾, 小関忠尚: 合成グルココルチコイドの代謝—抗炎症力増強との関連において

- 一. 最新医学 38: 978—989, 1983.
- 34) **Gallegos AJ, Partida PD, Garzon P:** The presence of  $6\beta$ -steroid hydroxylase in human cornea. *J Steroid Biochem* 7: 135—137, 1976.
- 35) **Dulin WE, Bornes LE, Glenn EM, et al:** Biologic activities of some  $C_{21}$  steroid and some  $6\alpha$ -methyl  $C_{21}$  steroids. *Metabolism* 7: 398—404, 1958.
- 36) **Bush IE, Mahesh VB:** Metabolism of  $9\alpha$ -fluorocortison and  $9\alpha$ -fluorocortisol. *Biochem J* 69: 9—10, 1958.
- 37) **Fried J, Bormann A:** Synthetic derivatives of cortical hormones. *Vitamins and Hormones* 16: 303—374, 1958.
-