

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2014-508784

(P2014-508784A)

(43) 公表日 平成26年4月10日 (2014. 4. 10)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 0 7 J 1/00 (2006.01)	C 0 7 J 1/00 C S P	4 C 0 8 5
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 1 1	4 C 0 8 6
A 6 1 K 31/565 (2006.01)	A 6 1 K 31/565	4 C 0 9 1
C 0 7 J 5/00 (2006.01)	C 0 7 J 5/00	
A 6 1 K 31/567 (2006.01)	A 6 1 K 31/567	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 162 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2014-500216 (P2014-500216)
 (86) (22) 出願日 平成24年3月26日 (2012. 3. 26)
 (85) 翻訳文提出日 平成25年11月22日 (2013. 11. 22)
 (86) 国際出願番号 PCT/CA2012/000316
 (87) 国際公開番号 W02012/129673
 (87) 国際公開日 平成24年10月4日 (2012. 10. 4)
 (31) 優先権主張番号 61/467, 764
 (32) 優先日 平成23年3月25日 (2011. 3. 25)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 503312206
 ユニヴェルシテ ラヴァル
 カナダ・ケベック・G 1 V・O A 6・ケベ
 ック・リュ・デ・ビブリオテーク・2 3 2
 O・ローカル・1 4 3 4・パヴィリオン・
 デ・サイエンス・ドゥ・レドゥカシオン・
 ヴィスールクトラ・ア・ラ・ルシュルシュ
 ・エ・ア・ラ・クレアシオン
 (74) 代理人 100108453
 弁理士 村山 靖彦
 (74) 代理人 100064908
 弁理士 志賀 正武
 (74) 代理人 100089037
 弁理士 渡邊 隆

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 17β -HSD 1、 17β -HSD 3、および 17β -HSD 1 O の阻害剤

(57) 【要約】

本出願は、 17β -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ (17β -HSD) 1 型、3 型、1 O 型の阻害剤、ならびに癌および他の疾患の治療における、それらの使用 (単独および併用) を開示する。 17β -HSD 1 阻害剤には、C 16 に m-カルバモイルベンジル置換基を有するエストラジオール誘導体が含まれる。 17β -HSD 3 / HSD 1 O 阻害剤には、C 3 位にスルホンアミドピペラジンが置換したアンドロステロン誘導体が含まれる。また、C 20 にスピロ-モルホリン置換基を有する、 17β -HSD 1 および 17β -HSD 3 の両方の阻害剤である化合物も開示される。

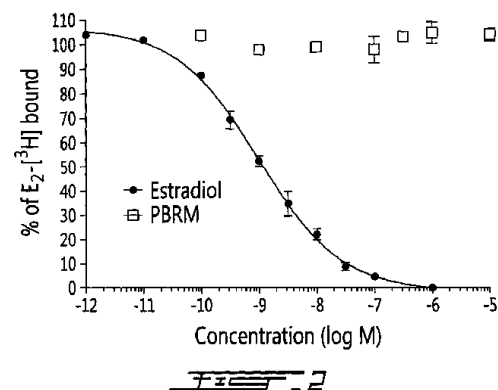


Figure 2

【特許請求の範囲】

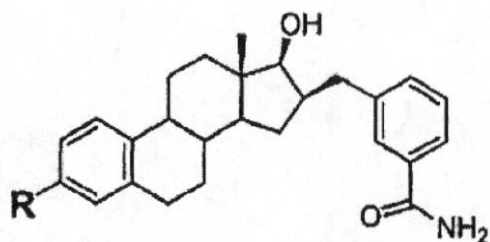
【請求項 1】

17 - HSD 1 の阻害剤。

【請求項 2】

下記の構造：

【化 1】



10

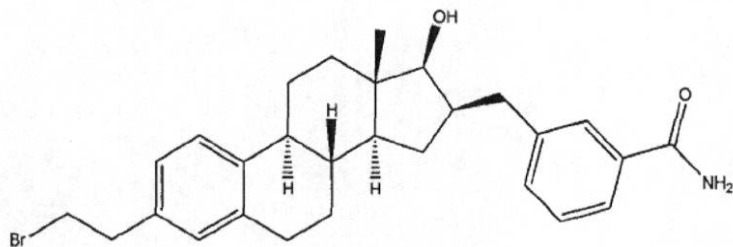
[式中、R は、- OH、ハロ、- NH₂、アルキル、アルコキシ、アラルキル、カルボキシ、- CH₂-ヘテロシクリル、ヘテロシクリロイル、- C(O)N(R')(R'')、または- B(OH)₂ (式中、R' および R'' は、独立してまたは同時に H もしくはアルキルであるか、または R' および R'' は、それらが結合する窒素原子と共に互いに結合して複素環を形成する) である] を有する、請求項 1 に記載の阻害剤、またはそれらの薬学的に許容可能な塩もしくは互変異性体。

20

【請求項 3】

下記の構造

【化 2】



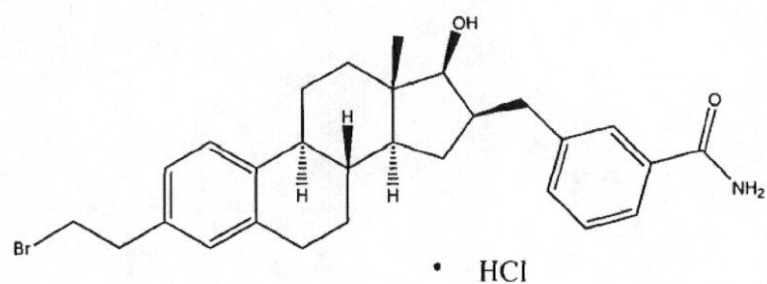
30

を有する、請求項 2 に記載の阻害剤、またはその薬学的に許容可能な塩。

【請求項 4】

下記の構造

【化 3】



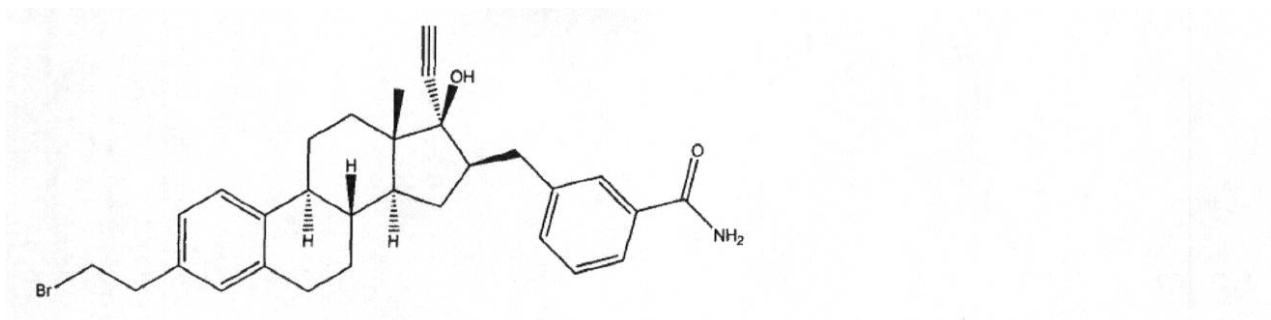
40

を有する、請求項 3 に記載の阻害剤。

【請求項 5】

下記の構造：

【化 4】



10

を有する、請求項 1 に記載の阻害剤、またはその薬学的に許容可能な塩。

【請求項 6】

17 - HSD 3 の阻害剤。

【請求項 7】

下記の構造：

【化 5】



20

[式中、R はヘテロシクリルまたは $-NR_aR_b$ (式中、 R_a および R_b はそれぞれ独立してアルキルまたはアラルキルである) である] を有する、請求項 6 に記載の阻害剤、またはその薬学的に許容可能な塩もしくは互変異性体。

【請求項 8】

下記の構造：

【化 6】

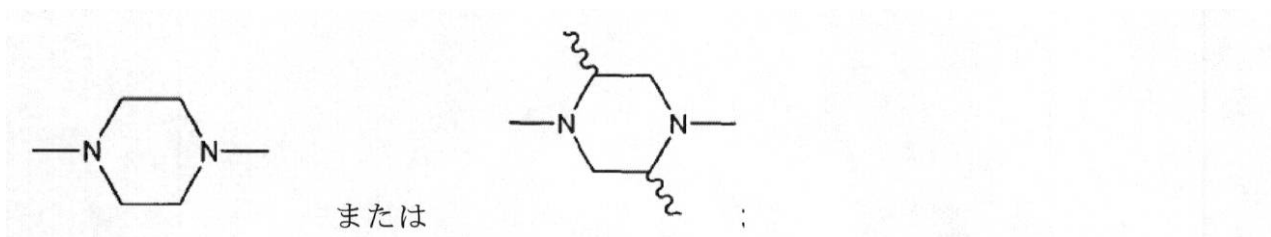


30

[式中、

X は、

【化 7】



40

であり；

Y は、 $-CH_2-$ 、 $-C(O)-$ 、または $-S(O)_2$ であり；

かつ Z は、シクロアルキル、アリール、またはヘテロシクリルである]

を有する、請求項 6 に記載の阻害剤、またはその薬学的に許容可能な塩もしくは互変異性

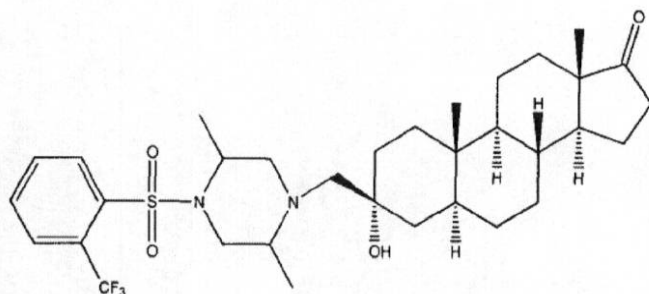
50

体。

【請求項 9】

下記の構造

【化 8】



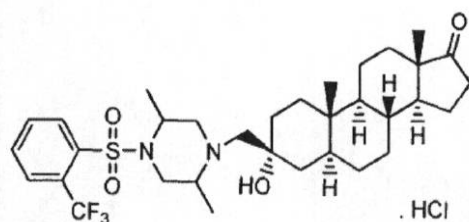
10

を有する、請求項 8 に記載の阻害剤、またはその薬学的に許容可能な塩。

【請求項 10】

下記の構造

【化 9】



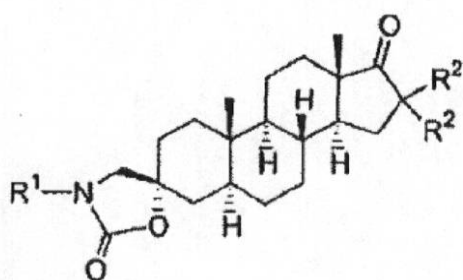
20

を有する、請求項 9 に記載の阻害剤。

【請求項 11】

下記の構造：

【化 10】



30

[式中、

R^1 は、アルキル、アラルキル、ヘテロシクリル、シクロアルキル、 $-CH_2CH_2S(O)_2-$ アリール、ヘテロシクリル、 $-CH_2CH_2CH(O-アシル)CH_2-$ ヘテロシクリル、または $-CH_2CH_2NR_aR_b$ (式中、 R_a および R_b はそれぞれ独立して、アルキル、シクロアルキル、アシル、またはアラルキルである) であり；

40

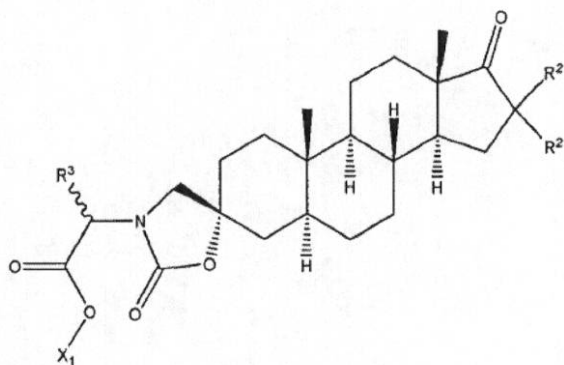
かつ R^2 は、それぞれ独立して水素またはアルキルである]

を有する、請求項 6 に記載の阻害剤、またはその薬学的に許容可能な塩もしくは互変異性体。

【請求項 12】

下記の構造

【化 1 1】



10

[式中、

 X_1 はアルキルであり、 R^2 は独立して水素またはアルキルであり、 R^3 は水素、アルキル、またはアラルキルである]

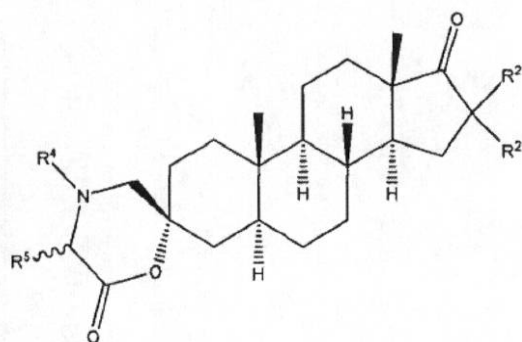
を有する、請求項 1 1 に記載の阻害剤、またはその薬学的に許容可能な塩もしくは互変異性体。

【請求項 1 3】

前記阻害剤が下記の構造：

20

【化 1 2】



30

[式中、

 R^2 は、独立して水素またはアルキルであり、 R^4 は、水素またはアラルキルであり、 R^5 は、水素、アルキル、またはアラルキルである]

を有する、請求項 6 に記載の阻害剤、またはその薬学的に許容可能な塩もしくは互変異性体。

【請求項 1 4】

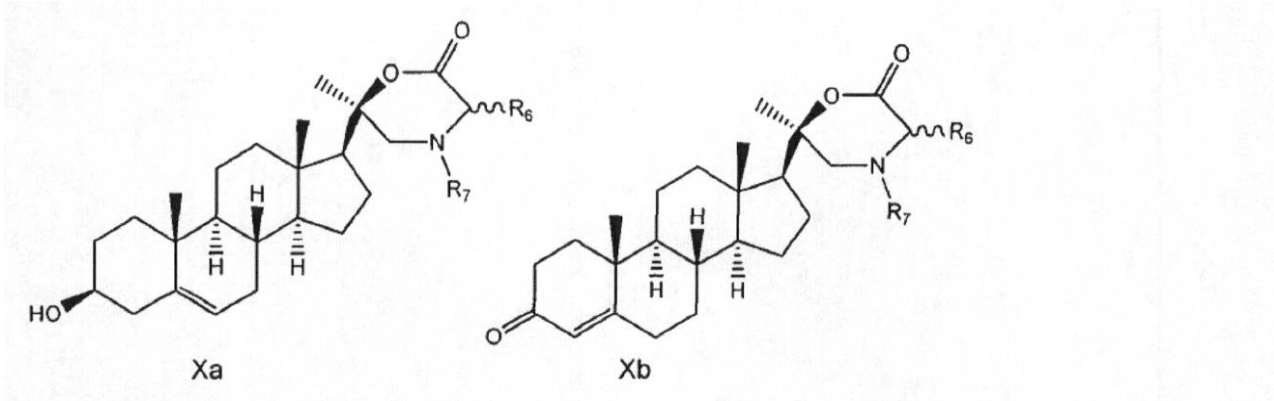
1 7 - H S D 1 および 1 7 - H S D 3 の阻害剤。

【請求項 1 5】

40

下記の構造 $X a$ または $X b$ ：

【化 1 3】



10

[式中、 R^6 および R^7 は、独立してまたは同時に、 H 、アルキル、シクロアルキル、アリール、アラルキル、またはヘテロシクリルである] を有する、請求項 1 4 に記載の阻害剤、またはその薬学的に許容可能な塩もしくは互変異性体。

【請求項 1 6】

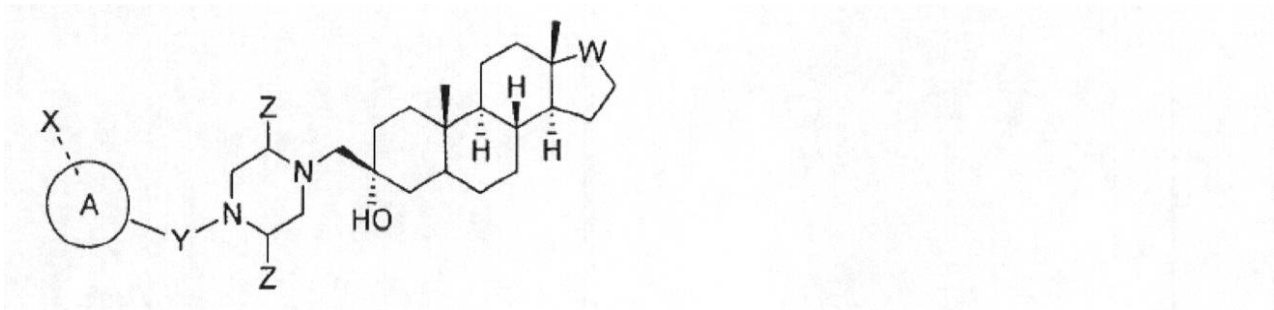
1 7 - HSD 1 0 の阻害剤。

【請求項 1 7】

前記阻害剤が下記の構造：

【化 1 4】

20



[式中、

30

A は、アリールまたはヘテロアリールであり；

W は、 $-C(=O)-$ 、 $-CH(-OH)-$ 、または $-CH(-COCH_3)-$ であり；

X は、 H 、アルキル、チオアルキル、ハロ、またはアルコキシであり；

Y は、 $-CH_2-$ 、 $-C(=O)-$ 、または $-S(=O)_2$ であり；

Z は、 H またはアルキルである]

を有する、請求項 1 6 に記載の阻害剤、またはその薬学的に許容可能な塩もしくは互変異性体。

【請求項 1 8】

被験体の癌を治療する方法であって、前記被験体に請求項 1 ~ 1 7 のいずれか一項に記載の化合物を投与することを含む方法。

【請求項 1 9】

40

前記癌がエストロゲン感受性癌である、請求項 1 8 に記載の方法。

【請求項 2 0】

前記癌が乳癌である、請求項 1 9 に記載の方法。

【請求項 2 1】

前記化合物が、請求項 1 ~ 5 または 1 4 ~ 1 5 のいずれか一項に記載の化合物である、請求項 2 0 に記載の方法。

【請求項 2 2】

前記癌がアンドロゲン感受性癌である、請求項 1 8 に記載の方法。

【請求項 2 3】

前記癌が前立腺癌である、請求項 1 8 に記載の方法。

50

【請求項 24】

前記化合物が、請求項 1 ~ 17 のいずれか一項に記載の化合物である、請求項 23 に記載の方法。

【請求項 25】

二次癌療法により前記被験体を治療することをさらに含む、請求項 18 に記載の方法。

【請求項 26】

前記二次癌療法が、化学療法、毒素療法、放射線療法、ホルモンもしくは抗ホルモン療法、外科手術、凍結療法、または免疫療法からなる群から選択される、請求項 25 に記載の方法。

【請求項 27】

被験体に請求項 1 ~ 17 のいずれか一項に記載の化合物を投与することを含む、非癌性疾患を治療する方法。

10

【請求項 28】

前記非癌性疾患が子宮内膜症である、請求項 27 に記載の方法。

【請求項 29】

前記化合物が、請求項 1 ~ 5 または 14 ~ 15 のいずれか一項に記載の化合物である、請求項 28 に記載の方法。

【請求項 30】

前記非癌性疾患が良性前立腺肥大症である、請求項 27 に記載の方法。

【請求項 31】

前記化合物が請求項 6 ~ 15 のいずれか一項に記載の化合物である、請求項 30 に記載の方法。

20

【請求項 32】

前記非癌性疾患がアルツハイマー病である、請求項 27 に記載の方法。

【請求項 33】

前記化合物が請求項 9 または 10 に記載の化合物である、請求項 32 に記載の方法。

【請求項 34】

前記被験体を二次療法により治療することをさらに含む、請求項 27 に記載の方法。

【請求項 35】

前記化合物を少なくとも 2 回投与することをさらに含む、請求項 18 ~ 34 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 36】

前記化合物が、静脈内、動脈内、皮下、局所的、または筋肉内に投与される、請求項 18 ~ 34 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 37】

前記化合物が、全身性に、腫瘍 / 疾患部位に局部的に、腫瘍 / 疾患部位に局所的に、腫瘍 / 組織血管中に、または腫瘍内に投与される、請求項 18 ~ 34 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 38】

前記癌が多剤耐性である、請求項 18 ~ 26 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 39】

前記癌が転移性である、請求項 18 ~ 26 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 40】

前記癌が再発性である、請求項 18 ~ 26 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 41】

治療が、癌増殖の阻害、癌細胞の死滅、腫瘍量の減少、腫瘍サイズの減少、前記被験体の生活の質の改善、または前記被験体の生存期間の延長を含む、請求項 18 ~ 26 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 42】

前記癌が、肺癌、脳腫瘍、頭頸部癌、皮膚癌、肝癌、脾癌、胃癌、結腸癌、直腸癌、子

50

宮癌、子宮頸癌、卵巣癌、精巣癌、皮膚癌、または食道癌である、請求項 18 ~ 26 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 43】

前記被験体がヒトである、請求項 18 ~ 34 のいずれか一項に記載の方法。

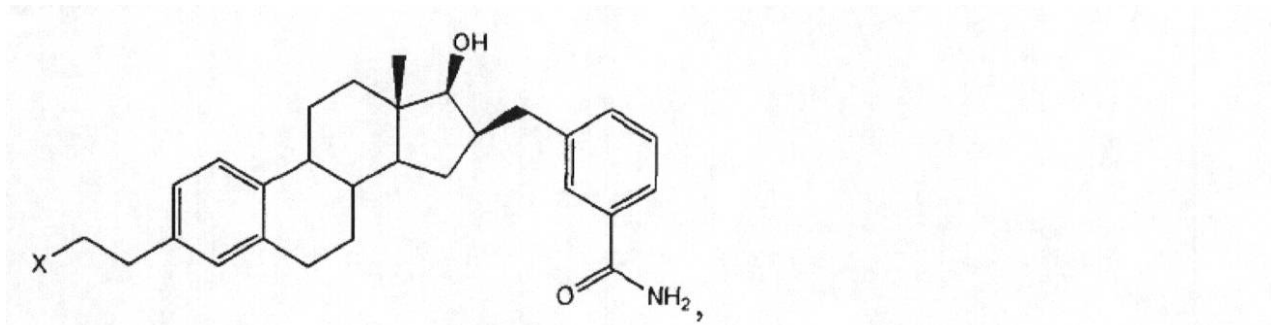
【請求項 44】

前記被験体が非ヒト動物である、請求項 18 ~ 34 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 45】

下記の構造

【化 15】



10

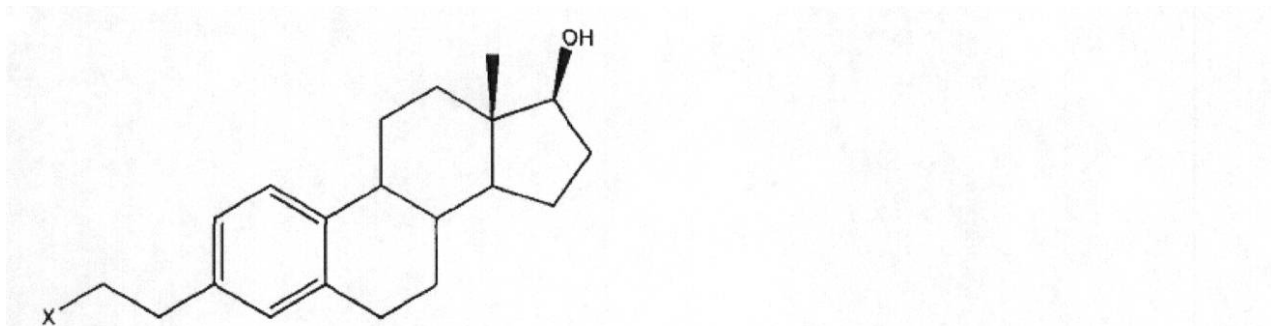
〔式中、XはI¹²³、I¹²⁵、I¹³¹、またはBr⁷⁶である〕を含む放射標識化合物、またはその薬学的に許容可能な塩もしくは互変異性体。

20

【請求項 46】

下記の構造

【化 16】



30

〔式中、XはI¹²³、I¹²⁵、I¹³¹、またはBr⁷⁶である〕を含む放射標識化合物、またはその薬学的に許容可能な塩もしくは互変異性体。

【請求項 47】

乳癌または前立腺癌の放射性イメージングまたは治療のための、請求項 45 に記載の放射標識化合物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

40

本明細書は、概して、17 β -HSD1、17 β -HSD3、および17 β -HSD10の少なくとも1つの阻害剤に関する。

【背景技術】

【0002】

17 β -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ1型(17 β -HSD1)は、エストロゲン受容体(ER)に対する最も強力な天然リガンドであるエストラジオール(E2)にエストロン(E1)を変換する。この酵素はまた、弱いエストロゲンであるが、閉経後に特に重要となる5 α -アンドロステン-3 β ,17 β -ジオール(5 α -ジオール)へのデヒドロエピアンドロステロン(DHEA)の還元を触媒する(非特許文献1、2)。したがって、17 β -HSD1の阻害剤は、乳癌および子宮内膜症などのエストロゲン依存

50

性疾患を制御するための興味深い治療剤になる（非特許文献 3、4）。過去 30 年間、この鍵となるステロイド産生酵素の強力な阻害剤を設計する目標に向かって懸命な努力が展開されたが（非特許文献 5～8）、極めて良好な阻害活性を有するリード候補が報告されたのは、ほんの最近である（非特許文献 9～10）。エストランスキャフォールド周辺で構築されることが多い（非特許文献 11）ステロイド阻害剤に関連した残存エストロゲン様活性の存在が、それらの開発における主要な障害になった。

【0003】

16 - (m - カルバモイルベンジル) エストラジオール (I) が、17 - HSD 1 の強力な阻害剤として報告されている（非特許文献 12）。その良好な阻害効力にもかかわらず、I は、MCF - 7 および T - 47 D エストロゲン感受性乳癌細胞株の両方を *in vitro* で刺激したため、その治療可能性は大幅に低下した。

10

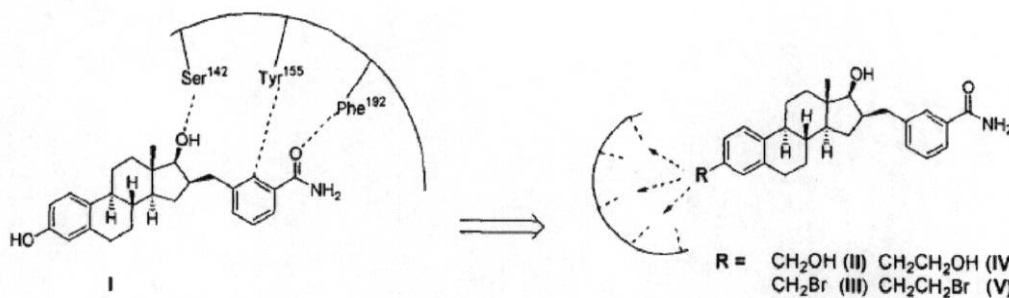
【0004】

その望ましくない残存エストロゲン様活性を除去するために、C 3 位のフェノール基の置換によって異なった官能性を有する短鎖を位置させることによる、17 - HSD 1 の阻害およびエストロゲン性の両方への影響がこれまでに探索されている。I のフェノール基を 3 - アルキル鎖に置換する選択は、阻害活性の鍵となる相互作用を示す（スキーム 1）、阻害剤 I と 17 - HSD 1 との複合体結晶の X 線解析から導かれた（非特許文献 13）。実際、3 つの主要な相互作用が 17 - HSD 1 と阻害剤 I との二元複合体で同定された。すなわち、17 - OH が、Ser 142 と水素結合を形成し；CONH₂ 基が、Phe 192 と水素結合を形成し；C 16 のフェニル環が、Tyr 155 と - 相互作用を形成する。しかしながら、酵素の天然基質である E 1 とは対照的に、I の 3 - OH は、Glu 282 と H₂O とともに水素結合を形成しない。

20

【0005】

【化 1】



30

スキーム 1：17 - HSD 1 に対する阻害活性の鍵となる相互作用

【0006】

前立腺癌は、米国男性の間で最も一般的な癌であり、2010 年には新たに診断された症例が推定 217730 例あり、関連死が 32050 例ある（非特許文献 14）。内分泌療法が、前立腺癌の最も効果的な治療法の 1 つとして認識されており、最初の治療後に症例のほぼ 80% において、癌退縮の陽性反応がある（非特許文献 15）。精巣のアンドロゲン供給源を遮断するか（内科的または外科的去勢）、またはアンドロゲン受容体に対するアンドロゲンテストステロン (T) およびジヒドロテストステロン (DHT) の作用を遮断するか（抗アンドロゲン）のいずれかの異なる内分泌治療法が、現在利用可能である（非特許文献 16、17）。生存期間の改善はあるが、これらのアンドロゲン遮断治療法は、重大な副作用が付随しており、進行した前立腺癌の症例では治療的でない（非特許文献 18～20）。したがって、生存期間および治療患者の生活の質を改善するために、新しい治療選択肢の開発が強く求められている（非特許文献 21）。

40

【0007】

精巣 17 - ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼとも名付けられた 17 - ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ 3 型 (17 - HSD 3) は、補因子として NADPH を使用する、非アンドロゲン性 4 - アンドロステン - 3, 17 - オン (4 - ジオン) (

50

非特許文献 22) の強力なアンドロゲン T への還元を触媒するステロイド産生酵素である (非特許文献 9、23 ~ 25)。この酵素は、精巣微小管部分のライディッヒ細胞に主として見出され、男性の全活性アンドロゲンの約 60% の産生に寄与する (非特許文献 26)。活性アンドロゲンの他の 40% は、3 - ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ、5 - レダクターゼ、および 5 型または 15 型などの他の 17 - HSD の作用により、不活性な副腎由来前駆体デヒドロエピアンドロステロン (DHEA) および 4 - ジオンから前立腺で直接合成されるであろう (非特許文献 27、28)。しかしながら、17 - HSD 3 の発現レベルは正常な前立腺組織では極めて低いが、前立腺癌組織中では、17 - HSD 3 が、副腎ステロイドの潜在的なアンドロゲンへの変換に重要な役割を果たすと考えられるとの報告がある (非特許文献 29、30)。実際、悪性腫瘍を有する前立腺組織中の 17 - HSD 3 mRNA の発現レベルは、悪性腫瘍のない前立腺組織中のものよりも顕著に高い (31 倍)。さらに、去勢療法に抵抗性の患者から入手された転移組織から単離された LUCAP 23 および LUCAP 35 細胞株で 17 - HSD 3 が過剰発現 (8 倍) されていることが最近示された (非特許文献 31 ~ 34)。重要なことには、血流中の T が去勢レベルにもかかわらず、転移性腫瘍内の T のレベルが、癌細胞の増殖を刺激するのに十分な高さであることが見出された。

10

【0008】

17 - ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ 10 型 (17 - HSD 10) は、エストロゲン不活化、アンドロゲン活性化、脂肪酸の - 酸化、および胆汁酸の異性化に關与するミトコンドリア酵素である。この酵素は基質としてエストラジオール (E2) を使用するの、この酵素が神経保護のエストロゲンレベルを低下させることによりアルツハイマー病の病変形成に寄与する証拠がある。さらに、この酵素は非古典的アンドロゲン合成経路に重要な役割を果たしており、その発現は特定の前立腺癌細胞ではアップレギュレートされているため、これらの細胞にはアンドロゲン除去療法から残存するための有利性が付与されている (非特許文献 6、35 ~ 37)。その結果、17 - HSD 10 の阻害は、これらの疾患の治療に新しい手法を提供する。

20

【0009】

本明細書では、いくつかの文献が参照されるが、その内容全体は本明細書に組み込まれる。

30

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0010】

【非特許文献 1】Luu - The, V.; Zhang, Y.; Poirier, D.; Labrie, F. Characteristics of human types 1, 2 and 3 17 beta - hydroxysteroid dehydrogenase activities: oxidation/reduction and inhibition. J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 1995, 55, 581 - 587.

【非特許文献 2】Simard, J.; Vincent, A.; Duchesne, R.; Labrie, F. Full estrogenic activity of C19 - delta 5 adrenal steroids in rat pituitary lactotrophs and somatotrophs. Mol. Cell. Endocrinol. 1988, 55, 233 - 242.

40

【非特許文献 3】Theobald, A. J. Management of advanced breast cancer with endocrine therapy: the role of the primary healthcare team. Int. J. Clin. Pract. 2000, 54, 665 - 669.

【非特許文献 4】Dizerega, G. S.; Barber, D. L.; Hodgen, G. D. Endometriosis: role of ovarian steroids in initiation, maintenance, and suppre

50

ssion. Fertil. Steril. 1980, 33, 649 - 653.

【非特許文献5】Penning, T. M. 17 - hydroxysteroid dehydrogenase: inhibitors and inhibitor design. Endocr. Relat. Cancer, 1996, 3, 41 - 56.

【非特許文献6】Poirier, D. Advances in Development of Inhibitors of 17 - Hydroxysteroid Dehydrogenases. Anticancer Agents Med. Chem., 2009, 9, 642 - 660.

【非特許文献7】Moeller, G.; Adamski, J. Integrated view on 17 - hydroxysteroid dehydrogenase. Mol. Cell. Endocrinol. 2009, 301, 7 - 19.

【非特許文献8】Poirier, D. Contribution to the development of inhibitors of 17 - hydroxysteroid dehydrogenase type 1 and 7: Key tools for studying and treating estrogen-dependent diseases. J. Steroid Biochem. Mol. Biol., 2011, 125, 83 - 94.

【非特許文献9】Poirier, D. 17 - Hydroxysteroid dehydrogenase inhibitors: a patent review. Expert. Opin. Ther. Patents, 2010, 20, 1123 - 1145.

【非特許文献10】Poirier, D. Inhibitors of 17 - hydroxysteroid dehydrogenase. Curr. Med. Chem., 2003, 10, 453 - 477.

【非特許文献11】Tremblay, M. R.; Poirier, D. Overview of a rational approach to design type I 17 beta-hydroxysteroid dehydrogenase inhibitors without estrogenic activity: chemical synthesis and biological evaluation. J. Steroid Biochem. Mol. Biol., 1998, 66, 179 - 191.

【非特許文献12】Laplante, Y.; Cadot, C.; Fournier, M. C.; Poirier, D. Estradiol and Estrone C - 16 derivatives as inhibitors of type 1 17 - hydroxysteroid dehydrogenase: Blocking of ER+ breast cancer cell proliferation induced by estrone. Bioorg. Med. Chem. 2008, 16, 1849 - 1860.

【非特許文献13】Mazumdar, M.; Fournier, D.; Zhu, D. W.; Cadot, C.; Poirier, D.; Lin, S. X. Binary and ternary crystal structure analyses of a novel inhibitor with 17 - HSD type 1: a lead compound for breast cancer therapy. Biochem. J. 2009, 10, 357 - 366.

【非特許文献14】<http://www.cancer.org/Cancer-ProstateCancer/DetailedGuide/prostate-cancer-key-statistics>.

【非特許文献15】Group. VACUR. Treatment and survival of patients with cancer of the prostate. Surg. Gynecol. Obstet. 1967, 124, 1011 - 101

10

20

30

40

50

7 .

【非特許文献16】Seidenfeld, J.; Samson, D. J.; Hasselblad, V.; Aronson, N.; Albertsen, P. C.; Bennett, C. L.; Wilt, T. J. Single-therapy androgen suppression in men with advanced prostate cancer: a systematic review and meta-analysis. *Ann. Intern. Med.* 2000, 132, 566-577.

【非特許文献17】Santen, R. J. Clinical Review 37: Endocrine treatment of prostate cancer. *J. Clin. Endo. Metab.* 1992, 75, 685-689.

【非特許文献18】Hedlund, P. O. Side effects of endocrine treatment and their mechanisms: castration, antiandrogens and estrogens. *Prostate Suppl* 2000, 10, 32-37.

【非特許文献19】Wysowski, D. K.; Freiman, J. P.; Tourtelot, J. B.; Horton, M. L. Fatal and nonfatal hepatotoxicity associated with flutamide. *Ann. Intern. Med.* 1993, 118, 860-864.

【非特許文献20】Shahinian, V. B.; Kuo, Y. F.; Freeman, J. L.; Goodwin, J. S. Risk of fracture after androgen deprivation for prostate cancer. *N. Engl. J. Med.* 2005, 352, 154-164.

【非特許文献21】a) Tammela, T. Endocrine treatment of prostate cancer. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2004, 92, 287-295; b) Nakamura et al., *The Prostate*, 2006, 66, 1005-1012.

【非特許文献22】Laplante, Y.; Poirier, D. Proliferative effect of androst-4-ene-3,17-dione and its metabolites in the androgen-sensitive LNCaP cell line. *Steroids* 2008, 73, 266-271.

【非特許文献23】Inano, H.; Tamaoki, B. I. Testicular 17-hydroxysteroid dehydrogenase: molecular properties and reaction mechanism. *Steroids* 1986, 48, 1-26.

【非特許文献24】Mohler, M. L.; Narayanan, R.; He, Y.; Miller, D. D.; Dalton, J. T. Recent Patents Endocrine Metabolic Immune Drug Discovery 2007, 1, 103-118.

【非特許文献25】Day, J. M.; Tutill, H. J.; Purohit, A.; Reed, M. J. *Endocr. - Relat. Cancer* 2008, 15, 665-692.

【非特許文献26】Labrie, F. Intracrinology. *Mol. Cell. Endocrinol.* 1991, 78, C113-C118.

【非特許文献27】Poirier, D. New cancer drugs targeting the biosynthesis of estrogens and androgens. *Drug. Dev. Res.* 2008, 69, 304-318.

【非特許文献28】Luu-The, V.; Belanger, A.; Labrie, F. Androgen biosynthetic pathways in the human prostate. *Best Pract Res Clin Endocr*

10

20

30

40

50

inol Metab 2008, 22, 207 - 221.

【非特許文献29】Koh, E.; Noda, T.; Kanya, J.; Namiki, M. Differential expression of 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase isozyme genes in prostate cancer and non-cancer tissues. The Prostate 2002, 53, 154 - 159.

【非特許文献30】Deqtyar, V. G.; Babkina, T. V.; Kazantseva, I. A.; Morozov, A. P.; Trapeznikova, M. F.; Kushlinski, N. E. Reductase activity of 17 β -hydroxysteroid oxidoreductase in prostatic tumors of different histological structure. Bull. Exp. Biol. Med. 2005, 139, 715 - 717.

【非特許文献31】Montgomery, R. B.; Mostaghel, E. A.; Vessella, R.; Hess, D.; Kalhorn, T. F.; Higano, C. S.; True, L. D.; Nelson, P. S. Maintenance of intratumoral androgens in metastatic prostate cancer: mechanism for castration-resistant tumor growth. Cancer Res. 2008, 68, 4447 - 4454.

【非特許文献32】Locke, J. A.; Guns, E.; Lubik, A. A.; Adomat, H. H.; Hendy, S. C.; Wood, C. A.; Ettienger, S. L.; Gleave, M. E.; Nelson, C. C. Androgen levels increase by intratumoral De novo steroidogenesis during progression of castration-resistant prostate cancer. Cancer Res. 2008, 68, 6407 - 6415.

【非特許文献33】Mostaghel, E. A.; Page, S. T.; Lin, D. W.; Fazli, L.; Coleman, I. M.; True, L. D.; Knudsen, B.; Hess, D. L.; Nelson, C. C.; Matsumoto, A. M.; Bremner, W. J.; Gleave, M. E.; Nelson, P. Intraprostatic androgens and androgen-regulated gene expression persist after testosterone suppression: therapeutic implications for castration-resistant prostate cancer. Cancer Res. 2007, 67, 5033 - 5041.

【非特許文献34】Page, S. T.; Lin, D. W.; Mostaghel, E. A.; Hess, D. L.; True, L. D.; Amory, J. K.; Nelson, P. S.; Matsumoto, A. M.; Bremner, W. J. Persistent intraprostatic androgen concentration after medical castration in healthy men. J. Clin. Endocrinol. Metab. 2006, 91, 3850 - 3856.

【非特許文献35】Nordling, E.; Oppermann, U. C.; Jornvall, H.; Persson, B.; Human type 10 β -hydroxysteroid dehydrogenase: molecular modelling and substrate docking. J. Mol. Graph. Model 2001, 19, 514 - 520.

【非特許文献36】He, H. Y.; Merz, G.; Yang, Y. Z.; Mehta, P.; Schulz, H.; Yang, S. Y. Characterization

10

20

30

40

50

and localization of human type 10 17 beta-hydroxysteroid dehydrogenase. Eur. J. Biochem. 2001, 268, 4899-4907.

【非特許文献37】Yang, S. Y.; He, X. Y.; Schulz, H. Multiple functions of type 10 17 beta-hydroxysteroid dehydrogenase. Trends Endocrinol. Metab. 2005, 16, 167-175.

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0011】

10

本開示は、17 - HSD 1、17 - HSD 3、および17 - HSD 10の阻害剤に関する。一実施形態では、本開示は、17 - HSD 1、17 - HSD 3、および17 - HSD 10の少なくとも1つの阻害剤に関する。一実施形態では、本開示は、17 - HSD 1、17 - HSD 3、または17 - HSD 10の選択的阻害剤に関する。本開示の一実施形態では、阻害剤は、非エストロゲン性(17 - HSD 1)または非アンドロゲン性(17 - HSD 3)プロファイルを示す。

【0012】

以下に添付図を説明する。

【図面の簡単な説明】

【0013】

20

【図1】種々の濃度での7日間処理後における、エストロゲン枯渇状態のエストロゲン感受性MCF-7細胞の増殖に対する阻害剤I~Vの効果を示す図である。対照細胞の増殖を100%とする。結果は、三つ組の平均値 \pm SEMとして表す。*対照に対して、 $P=0.05$ 。**対照に対して、 $P=0.01$ 。

【図2】ヒトエストロゲン受容体アッセイにおける、化合物Vおよびエストラジオールの競合的結合アッセイを示す図である。

【図3】T-47D無傷細胞における、化合物VおよびIの阻害効力を示す図である。結果は、三つ組の平均値(\pm SEM)である。

【図4】図4Aは、種々の濃度の阻害剤化合物IおよびVの存在下または非存在下で、生理学的濃度のE1(0.1nM)により誘導されるT-47D細胞の細胞増殖を示す図である。結果は、三つ組の平均値(\pm SEM)として表す。図4Bは、エストロゲン感受性(ER⁺)ヒト乳癌T-47D細胞のE2(0.1nM)誘導増殖の阻害(抗エストロゲン活性)に対する阻害剤化合物Vおよび純粋な抗エストロゲンEM-139の効果を示す図である。結果は、三つ組の平均値(\pm SEM)として表す。

30

【図5】図5Aは、7日間処理後における、エストロゲン枯渇状態のT-47D(ER⁺)ヒト乳癌細胞の増殖に対する阻害剤化合物IおよびVの効果を示す図である。結果は、三つ組の平均値(\pm SEM)として表す(* $P<0.05$ および** $P<0.01$)。図5Bは、ヒトER⁺への[³H]-E2結合の置換における、化合物IおよびVの濃度増加の効果を示す図である。

【図6】図6Aは、7日間処理された卵巢摘出マウスの子宮重量に対する阻害剤化合物IおよびVの効果を示す図である(* $P<0.05$ および** $P<0.01$ 、実験動物対OVX対照動物(CTR))。図6Bは、7日間処理された卵巢摘出マウスの膈重量に対する阻害剤化合物IおよびVの効果を示す図である(* $P<0.05$ および** $P<0.01$ 、実験動物対OVX対照動物(CTR))。

40

【図7】Sprague-Dawleyラットへの2.3mg/kgの皮下(s.c.)注射後の化合物IおよびVの血漿濃度の時間経過を示す図である。

【図8】卵巢摘出(OVX)ヌードマウスにおける、E1(s.c.)刺激のT-47D腫瘍(異種移植片)の増殖に対する化合物Vの効果を示す図である。(* $P<0.05$ および** $P<0.01$ 、E1-化合物VおよびOVX対照動物(CTR)対E1)。

【図9】図9Aは、32日間処理後の卵巢摘出ヌードマウスの体重に対する化合物V阻害

50

剤およびエストロン（E 1）の効果を示す図である。CTR：対照。図9Bは、32日間処理後の卵巢摘出ヌードマウスの子宮重量に対する化合物V阻害剤およびエストロン（E 1）の効果を示す図である。CTR：対照。図9Cは、32日間処理後の卵巢摘出ヌードマウスの上重量に対する化合物V阻害剤およびエストロン（E 1）の効果を示す図である。CTR：対照。

【図10】精巣（内分泌）、副腎（内分泌）、および腫瘍内組織（細胞内分泌）を含む種々の供給源における、非アンドロゲン性4-アンドロステン-3, 17-ジオン（⁴-ジオン）からのアンドロゲンテストステロン（T）生合成における17-HSD3の寄与について示す概略図である。LH：黄体形成ホルモン、5-R：5-レダクターゼ、AR：アンドロゲン受容体、DHT：ジヒドロテストステロン、17-HSD5および17-HSD15：17-ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼの5型および15型。

【図11】図11Aは、SAR研究により確立された、アンドロステロンステロイドスキヤフォールドの3位に結合した種々の化学基（すなわち、アルキル、アルキルアミド、およびカルバメート誘導体）の相対的重要度および17-HSD3阻害に対するそれらの効果を示す図である。図11Bは、17-HSD3の代表的阻害剤を示す図である。

【図12】無傷HEK-293細胞で過剰発現された17-HSD3による[¹⁴C]-4-アンドロステン-3, 17-ジオン（[¹⁴C]-⁴-ジオン）（50 nM）の[¹⁴C]テストステロン（[¹⁴C]-T）への変換の阻害を示す図である。

【図13】強力なアンドロゲンジヒドロテストステロン（DHT）および17-HSD3阻害剤CS-213、5、7a、15b、および17aにより誘導される、アンドロゲン感受性シオノギ（Shionogi）細胞に対する増殖効果（アンドロゲン活性）を示す図である。データは、三つ組での一実験の平均値±SEMとして表す。対照（CTL）と有意に異なる：*（p<0.01）。

【図14】図14Aは、種々の濃度（<1 μM）における、MCF-7（ER⁺）細胞増殖に対する化合物（1~4）の増殖（エストロゲン様）効果を示す図である。図14Bは、高濃度（>1 μM）における、MCF-7（ER⁺）細胞に対する化合物（1~4）の細胞毒性効果を示す図である。化合物なしの細胞増殖を100%とした。相対的な増殖効力（RPP）または相対的な細胞傷害性効力（RCP）を、IC₅₀（17-E2）/IC₅₀（化合物1、2、3、または4）×100として算出した。

【図15】図15Aは、種々の濃度（<1 μM）における、T-47D（ER⁺）細胞に対する化合物1~4の増殖（エストロゲン様）効果を示す図である。図15Bは、高濃度（>1 μM）における、T-47D（ER⁺）細胞に対する化合物（1~4）の細胞毒性効果を示す図である。化合物なしの細胞増殖を100%とした。相対的な増殖効力（RPP）または相対的な細胞傷害性効力（RCP）を、IC₅₀（17-E2）/IC₅₀（化合物1、2、3、または4）×100として算出した。

【図16】種々の濃度における、BT-20（ER⁻）細胞増殖に対する化合物1~4の効果を示す図である。

【図17】ラット子宮エストロゲン受容体アルファ（ER^α）への[³H]-17-E2結合の置換における、17-E2（1）、17-E2（2）、18-epi-17-E2（3）、および18-epi-17-E2（4）の濃度増加の効果を示す図である。RBA：相対的結合親和性。

【図18】図18Aは、1、10、および100 μg/kg（s.c.BID）の化合物1、2、3、または4で7日間処置されたマウスの子宮重量を示す図である。図18Bは、1、10、および100 μg/kg（s.c.BID）の化合物1、2、3、または4で7日間処置されたマウスの上重量を示す図である。*対照に対して、P<0.05、*対照に対して、P<0.01。

【図19】鍵となる17-OH基の位置を示す、4種のE2異性体（化合物1~4）の重なり図である。17-E2（1）を赤で、17-E2（2）を青で、18-epi-17-E2（3）を緑で、18-epi-17-E2（4）をピンクで示す。構造工

10

20

30

40

50

エネルギー最小化および重ね合わせをChem3D (Proバージョン5.0)ソフトウェアを使用して実施した。エネルギー最小化は、MM2最小化法(RMS勾配=0.100)を用いて達成した。

【図20】17-HSD10および補因子NAD⁺(酸化型)またはNADH(還元型)により触媒される反応を示す図である。

【図21】無傷HEK-293細胞における、化合物21およびE2による、トランスフェクトされた17-HSD10の阻害を示す図である。IC₅₀値を決定するために、種々の濃度で化合物を試験した。エラーバーが示されない場合は、エラーバーが記号よりも小さいためである。

【0014】

本明細書で使用される用語について、明確で一貫した理解を提供するために、いくつかの定義を以下に提供する。また、他に定義されていない限り、本明細書で使用される技術用語および科学用語はすべて、本開示が属する分野の当業者が通常理解するものと同じ意味を有する。

【0015】

特許請求の範囲および/または本明細書において用語「含む(comprising)」と併せて使用される場合、単語「a」または「an」の使用は、「1つの」を意味することもあるが、「1つまたは複数の」、「少なくとも1つの」、「1つまたは1より多くの」という意味と一致することもある。同様に、単語「別の(another)」は少なくとも二番目またはそれより多くを意味することがある。

【0016】

本明細書および特許請求の範囲で使用される場合、単語「含む(comprising)」(ならびに「含む(comprise)」および「含む(comprises)」など、含む(comprising)の任意の形態)、「有する(having)」(ならびに「有する(have)」および「有する(has)」など、有する(having)の任意の変化形)、「含む(including)」(ならびに「含む(include)」および「含む(includes)」など、含む(including)の任意の変化形)、「含有する(containing)」(ならびに「含有する(contains)」および「含有する(contains)」など、含有する(containing)の任意の変化形)は、包含的すなわちオープンエンド形式であり、追加の列挙していない要素または工程ステップを除外しない。

【0017】

用語「約(about)」は、値がその値を決定するために使用される装置または方法に対して固有の変動を含むことを示すために使用される。

【0018】

本明細書で互換的に使用される用語「アシル」または「アルカノイル」は、本明細書で定義されるカルボニル基を介して親分子基に結合した、本明細書で定義されるアルキル基または水素を表し、ホルミル、アセチル、プロピオニル、ブタノイル等により例示される。代表的な非置換アシル基は2~10個の炭素を含む。

【0019】

本明細書で使用される用語「アルキル」または「アルク(alk)」は、特に明記されない限り、1~15個の炭素原子を含む直線または分岐鎖の飽和炭化水素に由来する一価の基を表わし、メチル、エチル、n-およびイソ-プロピル、n-、sec-、イソ-、およびtert-ブチル、ネオペンチル等により例示され、場合によっては、以下のものからなる群から独立して選択される、1つ、2つ、3つ、または2個以上の炭素を含むアルキル基の場合には4つの置換基で置換されていてもよい：(1)1~6個の炭素原子のアルコキシ；(2)1~6個の炭素原子のアルキルスルフィニル；(3)1~6個の炭素原子のアルキルスルホニル；(4)2~6個の炭素原子のアルキニル；(5)アミノ；(6)アリール；(7)アルキレン基が1~6個の炭素原子を含むアリールアルコキシ；(8)アジド；(9)3~8個の炭素原子のシクロアルキル；(10)ハロ；(11)ヘテ

10

20

30

40

50

ロシクリル；(12)(複素環)オキシ；(13)(複素環)オイル；(14)ヒドロキシ
 シル；(15)1～6個の炭素原子のヒドロキシアシル；(16)N-保護アミノ；(17)ニトロ；(18)オキソまたはチオオキソ；(19)1～4個の炭素原子のペルフル
 オロアルキル；(20)1～4個の炭素原子のペルフルオロアルコキシ；(21)3
 ～8個の炭素原子のスピロアルキル；(22)1～6個の炭素原子のチオアルコキシ；(23)チオール；(24) $\text{OC}(\text{O})\text{R}^{\text{A}}$ 、式中、 R^{A} は、(a)置換または非置換 $\text{C}_{1\sim6}$
 アルキル、(b)置換または非置換 C_6 または C_{10} アリール、(c)アルキレン基
 が1～6個の炭素原子を含む置換または非置換 $\text{C}_{7\sim16}$ アリールアルキル、(d)置換
 または非置換 $\text{C}_{1\sim9}$ ヘテロシクリル、および(e)アルキレン基が1～6個の炭素原子
 を含む置換または非置換 $\text{C}_{2\sim15}$ ヘテロシクリルアルキルからなる群から選択される；
 (25) $\text{C}(\text{O})\text{R}^{\text{B}}$ 、式中、 R^{B} は、(a)水素、(b)置換または非置換 $\text{C}_{1\sim6}$
 アルキル、(c)置換または非置換 C_6 または C_{10} アリール、(d)アルキレン基が1～
 6個の炭素原子を含む置換または非置換 $\text{C}_{7\sim16}$ アリールアルキル、(e)置換または
 非置換 $\text{C}_{1\sim9}$ ヘテロシクリル、および(f)アルキレン基が1～6個の炭素原子を含む
 置換または非置換 $\text{C}_{2\sim15}$ ヘテロシクリルアルキルからなる群から選択される；(26)
 $\text{CO}_2\text{R}^{\text{B}}$ 、式中、 R^{B} は、(a)水素、(b)置換または非置換 $\text{C}_{1\sim6}$ アルキル、
 (c)置換または非置換 C_6 または C_{10} アリール、(d)アルキレン基が1～6個の炭
 素原子を含む置換または非置換 $\text{C}_{7\sim16}$ アリールアルキル、(e)置換または非置換 $\text{C}_{1\sim9}$
 ヘテロシクリル、および(f)アルキレン基が1～6個の炭素原子を含む置換また
 は非置換 $\text{C}_{2\sim15}$ ヘテロシクリルアルキルからなる群から選択される；(27) $\text{C}(\text{O})$
 $\text{NR}^{\text{C}}\text{R}^{\text{D}}$ 、式中、 R^{C} および R^{D} はそれぞれ独立して、(a)水素、(b)アルキル
 、(c)アリール、および(d)アルキレン基が1～6個の炭素原子を含むアリールアル
 キルからなる群から選択される；(28) $\text{S}(\text{O})\text{R}^{\text{E}}$ 、式中、 R^{E} は、(a)アルキル
 、(b)アリール、(c)アルキレン基が1～6個の炭素原子を含むアリールアルキル、
 および(d)ヒドロキシルからなる群から選択される；(29) $\text{S}(\text{O})_2\text{R}^{\text{E}}$ 、式中、
 R^{E} は、(a)アルキル、(b)アリール、(c)アルキレン基が1～6個の炭素原子を
 含むアリールアルキル、および(d)ヒドロキシルからなる群から選択される；(30)
 $\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^{\text{F}}\text{R}^{\text{G}}$ 、式中、 R^{F} および R^{G} はそれぞれ独立して、(a)水素、(b)
 アルキル、(c)アリール、および(d)アルキレン基が1～6個の炭素原子を含むアリ
 ールアルキルからなる群から選択される；および(31)- $\text{NR}^{\text{H}}\text{R}^{\text{I}}$ 、式中、 R^{H} およ
 び R^{I} はそれぞれ独立して、(a)水素；(b)N-保護基；(c)1～6個の炭素原子
 のアルキル；(d)2～6個の炭素原子のアルケニル；(e)2～6個の炭素原子のアル
 キニル；(f)アリール；(g)アルキレン基が1～6個の炭素原子を含むアリールアル
 キル；(h)3～8個の炭素原子のシクロアルキル、(i)シクロアルキル基が3～8個
 の炭素原子を含み、アルキレン基が1～10個の炭素原子を含むアルクシクロアルキル
 (alkycycloalkyl)、(j)1～6個の炭素原子のアルカノイル、(k)6～
 10個の炭素原子のアリーロイル(aryloyl)、(l)1～6個の炭素原子のアル
 キルスルホニル、および(m)6～10個の炭素原子のアリールスルホニルからなる群か
 ら選択されるが、2つの基がカルボニル基またはスルホニル基を介して窒素原子に結合し
 ていることはない。

10

20

30

40

【0020】

本明細書で互換的に使用される用語「アルコキシ」または「アルキルオキシ」は、酸
 素原子を介して親分子基に結合したアルキル基を表す。

【0021】

本明細書で使用される用語「アルキルスルフィニル」は、 $\text{S}(\text{O})$ 基を介して親分子基
 に結合したアルキル基を表す。

【0022】

本明細書で使用される用語「アルキルスルホニル」は、 $\text{S}(\text{O})_2$ 基を介して親分子基
 に結合したアルキル基を表す。

【0023】

50

本明細書で使用される用語「アルキルチオ」は、イオウ原子を介して親分子基に結合したアルキル基を表す。

【0024】

本明細書で使用される用語「アルキレン」は、2個の水素原子の除去により、直鎖または分岐鎖の飽和炭化水素から誘導される飽和二価炭化水素基を表わし、メチレン、エチレン、イソプロピレン等により例示される。

【0025】

本明細書で使用される用語「アルケニル」は、特に明記されない限り、例えば、1個または複数の炭素-炭素二重結合を含有する2~6個の炭素原子または2~4個の炭素原子など、2~15個の炭素の一価直鎖基または分岐鎖基を表し、エテニル、1-プロペニル、2-プロペニル、2-メチル-1-プロペニル、1-ブテニル、2-ブテニル等により例示され、場合によっては、以下のものからなる群から独立して選択される1つ、2つ、3つ、または4つの置換基で置換されていてもよい：(1) 1~6個の炭素原子のアルコキシ；(2) 1~6個の炭素原子のアルキルスルフィニル；(3) 1~6個の炭素原子のアルキルスルホニル；(4) 2~6個の炭素原子のアルキニル；(5) アミノ；(6) アリール；(7) アルキレン基が1~6個の炭素原子を含むアリールアルコキシ；(8) アジド；(9) 3~8個の炭素原子のシクロアルキル；(10) ハロ；(11) ヘテロシクリル；(12) (複素環) オキシ；(13) (複素環) オイル；(14) ヒドロキシル；(15) 1~6個の炭素原子のヒドロキシアルキル；(16) N-保護アミノ；(17) ニトロ；(18) オキソまたはチオオキソ；(19) 1~4個の炭素原子のペルフルオロアルキル；(20) 1~4個の炭素原子のペルフルオロアルコキシ；(21) 3~8個の炭素原子のスピロアルキル；(22) 1~6個の炭素原子のチオアルコキシ；(23) チオール；(24) $OC(O)R^A$ 、式中、 R^A は、(a) 置換または非置換 C_{1-6} アルキル、(b) 置換または非置換 C_6 または C_{10} アリール、(c) アルキレン基が1~6個の炭素原子を含む置換または非置換 C_{7-16} アリールアルキル、(d) 置換または非置換 C_{1-9} ヘテロシクリル、および(e) アルキレン基が1~6個の炭素原子を含む置換または非置換 C_{2-15} ヘテロシクリルアルキルからなる群から選択される；(25) $C(O)R^B$ 、式中、 R^B は、(a) 水素、(b) 置換または非置換 C_{1-6} アルキル、(c) 置換または非置換 C_6 または C_{10} アリール、(d) アルキレン基が1~6個の炭素原子を含む置換または非置換 C_{7-16} アリールアルキル、(e) 置換または非置換 C_{1-9} ヘテロシクリル、および(f) アルキレン基が1~6個の炭素原子を含む置換または非置換 C_{2-15} ヘテロシクリルアルキルからなる群から選択される；(26) CO_2R^B 、式中、 R^B は、(a) 水素、(b) 置換または非置換 C_{1-6} アルキル、(c) 置換または非置換 C_6 または C_{10} アリール、(d) アルキレン基が1~6個の炭素原子を含む置換または非置換 C_{7-16} アリールアルキル、(e) 置換または非置換 C_{1-9} ヘテロシクリル、および(f) アルキレン基が1~6個の炭素原子を含む置換または非置換 C_{2-15} ヘテロシクリルアルキルからなる群から選択される；(27) $C(O)NR^C R^D$ 、式中、 R^C および R^D はそれぞれ独立して、(a) 水素、(b) アルキル、(c) アリール、および(d) アルキレン基が1~6個の炭素原子を含むアリールアルキルからなる群から選択される；(28) $S(O)R^E$ 、式中、 R^E は、(a) アルキル、(b) アリール、(c) アルキレン基が1~6個の炭素原子を含むアリールアルキル、および(d) ヒドロキシルからなる群から選択される；(29) $S(O)_2 R^E$ 、式中、 R^E は、(a) アルキル、(b) アリール、(c) アルキレン基が1~6個の炭素原子を含むアリールアルキル、および(d) ヒドロキシルからなる群から選択される；(30) $S(O)_2 NR^F R^G$ 、式中、 R^F および R^G はそれぞれ独立して、(a) 水素、(b) アルキル、(c) アリール、および(d) アルキレン基が1~6個の炭素原子を含むアリールアルキルからなる群から選択される；および(31) $-NR^H R^I$ 、式中、 R^H および R^I はそれぞれ独立して、(a) 水素；(b) N-保護基；(c) 1~6個の炭素原子のアルキル；(d) 2~6個の炭素原子のアルケニル；(e) 2~6個の炭素原子のアルキニル；(f) アリール；(g) アルキレン基が1~6個の炭素原子を含むアリールアルキル；

10

20

30

40

50

(h) 3 ~ 8 個の炭素原子のシクロアルキル、(i) シクロアルキル基が 3 ~ 8 個の炭素原子を含み、アルキレン基が 1 ~ 10 個の炭素原子を含むアルクシクロアルキル、(j) 1 ~ 6 個の炭素原子のアルカノイル、(k) 6 ~ 10 個の炭素原子のアリーロイル、(l) 1 ~ 6 個の炭素原子のアルキルスルホニル、および(m) 6 ~ 10 個の炭素原子のアリールスルホニルからなる群から選択されるが、2つの基がカルボニル基またはスルホニル基を介して窒素原子に結合していることはない。

【0026】

本明細書で使用される用語「アルキニル」は、炭素 - 炭素三重結合を含む 2 ~ 6 個の炭素原子の一価直鎖基または分岐鎖基を表わし、エチニル、1 - プロピニル等より例示され、場合によっては、以下のものからなる群から独立して選択される 1 つ、2 つ、3 つ、または 4 つの置換基で置換されていてもよい：(1) 1 ~ 6 個の炭素原子のアルコキシ；(2) 1 ~ 6 個の炭素原子のアルキルスルフィニル；(3) 1 ~ 6 個の炭素原子のアルキルスルホニル；(4) 2 ~ 6 個の炭素原子のアルキニル；(5) アミノ；(6) アリール；(7) アルキレン基が 1 ~ 6 個の炭素原子を含むアリーラルコキシ；(8) アジド；(9) 3 ~ 8 個の炭素原子のシクロアルキル；(10) ハロ；(11) ヘテロシクリル；(12) (複素環) オキシ；(13) (複素環) オイル；(14) ヒドロキシル；(15) 1 ~ 6 個の炭素原子のヒドロキシアルキル；(16) N - 保護アミノ；(17) ニトロ；(18) オキソまたはチオオキソ；(19) 1 ~ 4 個の炭素原子のペルフルオロアルキル；(20) 1 ~ 4 個の炭素原子のペルフルオロアルコキシ；(21) 3 ~ 8 個の炭素原子のスピロアルキル；(22) 1 ~ 6 個の炭素原子のチオアルコキシ；(23) チオール；(24) $OC(O)R^A$ 、式中、 R^A は、(a) 置換または非置換 C_{1-6} アルキル、(b) 置換または非置換 C_6 または C_{10} アリール、(c) アルキレン基が 1 ~ 6 個の炭素原子を含む置換または非置換 C_{7-16} アリーラルアルキル、(d) 置換または非置換 C_{1-9} ヘテロシクリル、および(e) アルキレン基が 1 ~ 6 個の炭素原子を含む置換または非置換 C_{2-15} ヘテロシクリルアルキルからなる群から選択される；(25) $C(O)R^B$ 、式中、 R^B は、(a) 水素、(b) 置換または非置換 C_{1-6} アルキル、(c) 置換または非置換 C_6 または C_{10} アリール、(d) アルキレン基が 1 ~ 6 個の炭素原子を含む置換または非置換 C_{7-16} アリーラルアルキル、(e) 置換または非置換 C_{1-9} ヘテロシクリル、および(f) アルキレン基が 1 ~ 6 個の炭素原子を含む置換または非置換 C_{2-15} ヘテロシクリルアルキルからなる群から選択される；(26) CO_2R^B 、式中、 R^B は、(a) 水素、(b) 置換または非置換 C_{1-6} アルキル、(c) 置換または非置換 C_6 または C_{10} アリール、(d) アルキレン基が 1 ~ 6 個の炭素原子を含む置換または非置換 C_{7-16} アリーラルアルキル、(e) 置換または非置換 C_{1-9} ヘテロシクリル、および(f) アルキレン基が 1 ~ 6 個の炭素原子を含む置換または非置換 C_{2-15} ヘテロシクリルアルキルからなる群から選択される；(27) $C(O)NR^C R^D$ 、式中、 R^C および R^D はそれぞれ独立して、(a) 水素、(b) アルキル、(c) アリール、および(d) アルキレン基が 1 ~ 6 個の炭素原子を含むアリーラルアルキルからなる群から選択される；(28) $S(O)R^E$ 、式中、 R^E は、(a) アルキル、(b) アリール、(c) アルキレン基が 1 ~ 6 個の炭素原子を含むアリーラルアルキル、および(d) ヒドロキシルからなる群から選択される；(29) $S(O)_2 R^E$ 、式中、 R^E は、(a) アルキル、(b) アリール、(c) アルキレン基が 1 ~ 6 個の炭素原子を含むアリーラルアルキル、および(d) ヒドロキシルからなる群から選択される；(30) $S(O)_2 NR^F R^G$ 、式中、 R^F および R^G はそれぞれ独立して、(a) 水素、(b) アルキル、(c) アリール、および(d) アルキレン基が 1 ~ 6 個の炭素原子を含むアリーラルアルキルからなる群から選択される；および(31) $-NR^H R^I$ 、式中、 R^H および R^I はそれぞれ独立して、(a) 水素；(b) N - 保護基；(c) 1 ~ 6 個の炭素原子のアルキル；(d) 2 ~ 6 個の炭素原子のアルケニル；(e) 2 ~ 6 個の炭素原子のアルキニル；(f) アリール；(g) アルキレン基が 1 ~ 6 個の炭素原子を含むアリーラルアルキル；(h) 3 ~ 8 個の炭素原子のシクロアルキル、(i) シクロアルキル基が 3 ~ 8 個の炭素原子を含み、アルキレン基が 1 ~ 10 個の炭素原子を含むアルクシクロアルキル、(j) 1 ~ 6 個

の炭素原子のアルカノイル、(k) 6 ~ 10 個の炭素原子のアリーロイル、(l) 1 ~ 6 個の炭素原子のアルキルスルホニル、および(m) 6 ~ 10 個の炭素原子のアリールスルホニルからなる群から選択されるが、2つの基がカルボニル基またはスルホニル基を介して窒素原子に結合していることはない。

【0027】

本明細書で使用される用語「アリール」は、単環式および/もしくは二環式炭素環系ならびに/または縮合多環を表わし、フェニル、ナフチル、1, 2 - ジヒドロナフチル、1, 2, 3, 4 - テトラヒドロナフチル、フルオレニル、インダニル、インデニル等により例示され、場合によっては、以下のものからなる群から独立して選択される1つ、2つ、3つ、4つ、または5つの置換基で置換されていてもよい：(1) 1 ~ 6 個の炭素原子のアルカノイル；(2) 1 ~ 6 個の炭素原子のアルキル；(3) 1 ~ 6 個の炭素原子のアルコキシ；(4) アルキル基およびアルキレン基が独立して1 ~ 6 個の炭素原子を含むアルコキシアルキル；(5) 1 ~ 6 個の炭素原子のアルキルスルフィニル；(6) アルキル基およびアルキレン基が独立して1 ~ 6 個の炭素原子を含むアルキルスルフィニルアルキル；(7) 1 ~ 6 個の炭素原子のアルキルスルホニル；(8) アルキル基およびアルキレン基が独立して1 ~ 6 個の炭素原子で構成されるアルキルスルホニルアルキル；(9) アリール；(10) アルキル基が1 ~ 6 個の炭素原子を含むアリールアルキル；(11) アミノ；(12) 1 ~ 6 個の炭素原子のアミノアルキル；(13) アリール；(14) アルキレン基が1 ~ 6 個の炭素原子を含むアリールアルキル；(15) アリーロイル；(16) アジド；(17) 1 ~ 6 個の炭素原子のアジドアルキル；(18) カルボキサルデヒド；(19) アルキレン基が1 ~ 6 個の炭素原子を含む(カルボキサルデヒド)アルキル；(20) 3 ~ 8 個の炭素原子のシクロアルキル；(21) シクロアルキル基が3 ~ 8 個の炭素原子を含み、アルキレン基が1 ~ 10 個の炭素原子を含むアルクシクロアルキル；(22) ハロ；(23) 1 ~ 6 個の炭素原子のハロアルキル；(24) ヘテロシクリル；(25) (ヘテロシクリル)オキシ；(26) (ヘテロシクリル)オイル；(27) ヒドロキシ；(28) 1 ~ 6 個の炭素原子のヒドロキシアルキル；(29) ニトロ；(30) 1 ~ 6 個の炭素原子のニトロアルキル；(31) N - 保護アミノ；(32) アルキレン基が1 ~ 6 個の炭素原子を含むN - 保護アミノアルキル；(33) オキソ；(34) 1 ~ 6 個の炭素原子のチオアルコキシ；(35) アルキル基およびアルキレン基が独立して1 ~ 6 個の炭素原子を含むチオアルコキシアルキル；(36) $(CH_2)_q CO_2 R^A$ 、式中、q は0 ~ 4の範囲の整数であり、 R^A は、(a) アルキル、(b) アリール、および(c) アルキレン基が1 ~ 6 個の炭素原子を含むアリールアルキルからなる群から選択される；(37) $(CH_2)_q C(O)NR^B R^C$ 、式中、 R^B および R^C は独立して、(a) 水素、(b) アルキル、(c) アリール、および(d) アルキレン基が1 ~ 6 個の炭素原子を含むアリールアルキルからなる群から選択される；(38) $(CH_2)_q S(O)_2 R^D$ 、式中、 R^D は、(a) アルキル、(b) アリール、および(c) アルキレン基が1 ~ 6 個の炭素原子を含むアリールアルキルからなる群から選択される；(39) $(CH_2)_q S(O)_2 NR^E R^F$ 、式中、 R^E および R^F はそれぞれ独立して、(a) 水素、(b) アルキル、(c) アリール、および(d) アルキレン基が1 ~ 6 個の炭素原子を含むアリールアルキルからなる群から選択される；(40) $(CH_2)_q NR^G R^H$ 、式中、 R^G および R^H はそれぞれ独立して、(a) 水素；(b) N - 保護基；(c) 1 ~ 6 個の炭素原子のアルキル；(d) 2 ~ 6 個の炭素原子のアルケニル；(e) 2 ~ 6 個の炭素原子のアルキニル；(f) アリール；(g) アルキレン基が1 ~ 6 個の炭素原子を含むアリールアルキル；(h) 3 ~ 8 個の炭素原子のシクロアルキル、および(i) シクロアルキル基が3 ~ 8 個の炭素原子を含み、アルキレン基が1 ~ 10 個の炭素原子を含むアルクシクロアルキル、からなる群から選択されるが、2つの基がカルボニル基またはスルホニル基を介して窒素原子に結合していることはない；(41) オキソ；(42) チオール；(43) ペルフルオロアルキル；(44) ペルフルオロアルコキシ；(45) アリールオキシ；(46) シクロアルコキシ；(47) シクロアルキルアルコキシ；(48) アリールアルコキシ、ならびに(49) チオハロアルキル。

10

20

30

40

50

【 0 0 2 8 】

用語「アラルキル」は、アルキル基を介して親分子基に結合したアリール基を表す。

【 0 0 2 9 】

用語「アルクヘテロシクリル」は、アルキル基を介して親分子基に結合した複素環基を表す。

【 0 0 3 0 】

本明細書で使用される用語「アリールオキシ」は、酸素原子を介して親分子基に結合したアリール基を表す。

【 0 0 3 1 】

本明細書で使用される用語「アルコキシアルキル」は、アルキルが上記に定義されているアルキル - O - アルキル - を意味する。

10

【 0 0 3 2 】

本明細書で使用される用語「アルコキシアリール」は、アルキルが上記に定義されているアルキル - O - アリール - を意味する。

【 0 0 3 3 】

本明細書で使用される用語「チオアルキル」は、アルキルが上記に定義されているアルキル - S - を意味する。

【 0 0 3 4 】

本明細書で使用される用語「アルクチオアルキル」は、アルキルが上記に定義されているアルキル - S - アルキル - を意味する。

20

【 0 0 3 5 】

本明細書で使用される用語「アルクチオアリール」は、アルキルが上記に定義されているアルキル - S - アリール - を意味する。

【 0 0 3 6 】

本明細書で互換的に使用される用語「アリーロイル」または「アロイル」は、カルボニル基を介して親分子基に結合したアリール基を表す。

【 0 0 3 7 】

本明細書で使用される用語「カルボニル」は、 $C=O$ としても表すことができる $C(O)$ を表す。

【 0 0 3 8 】

本明細書で互換的に使用される用語「カルボキシ」または「カルボキシル」は、 CO_2H 基を表す。

30

【 0 0 3 9 】

本明細書で使用される用語「シクロアルキル」は、特に明記されない限り、3～8個の炭素原子の一価飽和または不飽和非芳香族環式炭化水素基を表し、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチル、ビスシクロ[2.2.1]ヘプチル等により例示される。本開示のシクロアルキル基は、場合によっては以下のもので置換されていてもよい：(1) 1～6個の炭素原子のアルカノイル；(2) 1～6個の炭素原子のアルキル；(3) 1～6個の炭素原子のアルコキシ；(4) アルキル基およびアルキレン基が独立して1～6個の炭素原子を含むアルコキシアルキル；(5) 1～6個の炭素原子のアルキルスルフィニル；(6) アルキル基およびアルキレン基が独立して1～6個の炭素原子を含むアルキルスルフィニルアルキル；(7) 1～6個の炭素原子のアルキルスルホニル；(8) アルキル基およびアルキレン基が独立して1～6個の炭素原子を含むアルキルスルホニルアルキル；(9) アリール；(10) アルキル基が1～6個の炭素原子を含むアリールアルキル；(11) アミノ；(12) 1～6個の炭素原子のアミノアルキル；(13) アリール；(14) アルキレン基が1～6個の炭素原子を含むアリールアルキル；(15) アリーロイル；(16) アジド；(17) 1～6個の炭素原子のアジドアルキル；(18) カルボキサリド；(19) アルキレン基が1～6個の炭素原子を含む(カルボキサリド)アルキル；(20) 3～8個の炭素原子のシクロアルキル；(21) シクロアルキル基が3～8個の炭素原子を含み、アルキレン基が1～1

40

50

0 個の炭素原子を含むアルクシクロアルキル；(22)ハロ；(23)1～6 個の炭素原子のハロアルキル；(24)ヘテロシクリル；(25)(ヘテロシクリル)オキシ；(26)(ヘテロシクリル)オイル；(27)ヒドロキシ；(28)1～6 個の炭素原子のヒドロキシアルキル；(29)ニトロ；(30)1～6 個の炭素原子のニトロアルキル；(31)N-保護アミノ；(32)アルキレン基が1～6 個の炭素原子を含むN-保護アミノアルキル；(33)オキソ；(34)1～6 個の炭素原子のチオアルコキシ；(35)アルキル基およびアルキレン基が独立して1～6 個の炭素原子を含むチオアルコキシアルキル；(36)(CH₂)_qCO₂R^A、式中、qは0～4の範囲の整数であり、R^Aは、(a)アルキル、(b)アリール、および(c)アルキレン基が1～6 個の炭素原子を含むアリールアルキルからなる群から選択される；(37)(CH₂)_qC(O)NR^BR^C、式中、R^BおよびR^Cはそれぞれ独立して、(a)水素、(b)アルキル、(c)アリール、および(d)アルキレン基が1～6 個の炭素原子を含むアリールアルキルからなる群から選択される；(38)(CH₂)_qS(O)₂R^D、式中、R^Dは、(a)アルキル、(b)アリール、および(c)アルキレン基が1～6 個の炭素原子を含むアリールアルキルからなる群から選択される；(39)(CH₂)_qS(O)₂NR^ER^F、式中、R^EおよびR^Fはそれぞれ独立して、(a)水素、(b)アルキル、(c)アリール、および(d)アルキレン基が1～6 個の炭素原子を含むアリールアルキルからなる群から選択される；(40)(CH₂)_qNR^GR^H、式中、R^GおよびR^Hはそれぞれ独立して、(a)水素；(b)N-保護基；(c)1～6 個の炭素原子のアルキル；(d)2～6 個の炭素原子のアルケニル；(e)2～6 個の炭素原子のアルキニル；(f)アリール；(g)アルキレン基が1～6 個の炭素原子を含むアリールアルキル；(h)3～8 個の炭素原子のシクロアルキル、および(i)シクロアルキル基が3～8 個の炭素原子を含み、アルキレン基が1～10 個の炭素原子を含むアルクシクロアルキル、からなる群から選択されるが、2つの基がカルボニル基またはスルホニル基を介して窒素原子に結合していることはない；(41)オキソ；(42)チオール；(43)ペルフルオロアルキル；(44)ペルフルオロアルコキシ；(45)アリールオキシ；(46)シクロアルコキシ；(47)シクロアルキルアルコキシ；および(48)アリールアルコキシ。

10

20

30

40

50

【0040】

本明細書で互換的に使用される用語「ハロゲン」または「ハロ」は、F、Cl、Br、およびIを表す。

【0041】

本明細書で使用される用語「ヘテロアリール」は、芳香族（すなわち、単環式または多環式環系内に4n+2 電子を含有する）である、本明細書で定義されるヘテロシクリルのサブセットを表す。

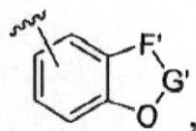
【0042】

本明細書で互換的に使用される用語「複素環」または「ヘテロシクリル」は、特に明記されない限り、窒素、酸素、およびイオウからなる群から独立して選択される1、2、3、または4 個のヘテロ原子を含む5 員環、6 員環、または7 員環を表す。5 員環には0～2 個の二重結合があり、6 員環および7 員環には0～3 個の二重結合がある。用語「複素環」はまた、任意の上記複素環式環が、アリール環、シクロヘキサン環、シクロヘキセン環、シクロペンタン環、シクロペンテン環、およびインドリル、キノリル、イソキノリル、テトラヒドロキノリル、ベンゾフラニル、ベンゾチエニル等の別の単環式複素環からなる群から独立して選択される1つまたは2つの環に縮合している、二環式基、三環式基、および四環式基を含む。複素環としては、ピロリル、ピロリニル、ピロリジニル、ピラゾリル、ピラゾリニル、ピラゾリジニル、イミダゾリル、イミダゾリニル、イミダゾリジニル、ピリジン、ペリリジニル、ホモペリリジニル、ピラジニル、ペラジニル、ピリミジニル、ピリダジニル、オキサゾリル、オキサゾリジニル、イソオキサゾリル、イソオキサゾリジニル、モルホルニル、チオモルホルニル、チアゾリル、チアゾリジニル、イソチアゾリル、イソチアゾリジニル、インドリル、キノリニル、イソキノリニル、ベンズイミダゾリル、ベンゾチアゾリル、ベンゾオキサゾリル、フリル、チエニル、チアゾリジニル、

イソチアゾリル、イソインダゾイル、トリアゾリル、テトラゾリル、オキサジアゾリル、ウリシル、チアジアゾリル、ピリミジル、テトラヒドロフラニル、ジヒドロフラニル、テトラヒドロチエニル、ジヒドロチエニル、ジヒドロインドリル、テトラヒドロキノリル、テトラヒドロイソキノリル、ピラニル、ジヒドロピラニル、ジチアゾリル、ベンゾフラニル、ベンゾチエニル等が挙げられる。複素環基はまた、式

【 0 0 4 3 】

【 化 2 】



10

[式中、 F' は CH_2 、 CH_2O 、および O からなる群から選択され、 G' は、 $C(O)$ および $(C(R')(R''))_v$ (式中、 R' および R'' はそれぞれ独立して、水素、および 1 ~ 4 個の炭素原子のアルキルからなる群から選択され、 v は 1 ~ 3 の範囲の整数である) からなる群から選択される] の化合物を含み、1, 3 - ベンゾジオキサソリル、1, 4 - ベンゾジオキサニル等の基を含む。本明細書に記載の任意の複素環基は、場合によっては、以下のものからなる群から独立して選択される 1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、または 5 つの置換基で置換されていてもよい：(1) 1 ~ 6 個の炭素原子のアルカノイル；(2) 1 ~ 6 個の炭素原子のアルキル；(3) 1 ~ 6 個の炭素原子のアルコキシ；(4) アルキル基およびアルキレン基が独立して 1 ~ 6 個の炭素原子を含むアルコキシアルキル；(5) 1 ~ 6 個の炭素原子のアルキルスルフィニル；(6) アルキル基およびアルキレン基が独立して 1 ~ 6 個の炭素原子を含むアルキルスルフィニルアルキル；(7) 1 ~ 6 個の炭素原子のアルキルスルホニル；(8) アルキル基およびアルキレン基が独立して 1 ~ 6 個の炭素原子を含むアルキルスルホニルアルキル；(9) アリール；(10) アルキル基が 1 ~ 6 個の炭素原子を含むアリールアルキル；(11) アミノ；(12) 1 ~ 6 個の炭素原子のアミノアルキル；(13) アリール；(14) アルキレン基が 1 ~ 6 個の炭素原子を含むアリールアルキル；(15) アリーロイル；(16) アジド；(17) 1 ~ 6 個の炭素原子のアジドアルキル；(18) カルボキサリド；(19) アルキレン基が 1 ~ 6 個の炭素原子を含む (カルボキサリド) アルキル；(20) 3 ~ 8 個の炭素原子のシクロアルキル；(21) シクロアルキル基が 3 ~ 8 個の炭素原子を含み、アルキレン基が 1 ~ 10 個の炭素原子を含むアルクシクロアルキル；(22) ハロ；(23) 1 ~ 6 個の炭素原子のハロアルキル；(24) 複素環；(25) (複素環) オキシ；(26) (複素環) オイル；(27) ヒドロキシ；(28) 1 ~ 6 個の炭素原子のヒドロキシアルキル；(29) ニトロ；(30) 1 ~ 6 個の炭素原子のニトロアルキル；(31) N - 保護アミノ；(32) アルキレン基が 1 ~ 6 個の炭素原子を含む N - 保護アミノアルキル；(33) オキソ；(34) 1 ~ 6 個の炭素原子のチオアルコキシ；(35) アルキル基およびアルキレン基が独立して 1 ~ 6 個の炭素原子を含むチオアルコキシアルキル；(36) $(CH_2)_q CO_2 R^A$ 、式中、 q は 0 ~ 4 の範囲の整数であり、 R^A は、(a) アルキル、(b) アリール、および (c) アルキレン基が 1 ~ 6 個の炭素原子を含むアリールアルキルからなる群から選択される；(37) $(CH_2)_q C(O) NR^B R^C$ 、式中、 R^B および R^C はそれぞれ独立して、(a) 水素、(b) アルキル、(c) アリール、および (d) アルキレン基が 1 ~ 6 個の炭素原子を含むアリールアルキルからなる群から選択される；(38) $(CH_2)_q S(O)_2 R^D$ 、式中、 R^D は、(a) アルキル、(b) アリール、および (c) アルキレン基が 1 ~ 6 個の炭素原子を含むアリールアルキルからなる群から選択される；(39) $(CH_2)_q S(O)_2 NR^E R^F$ 、式中、 R^E および R^F はそれぞれ独立して、(a) 水素、(b) アルキル、(c) アリール、および (d) アルキレン基が 1 ~ 6 個の炭素原子を含むアリールアルキルからなる群から選択される；(40) $(CH_2)_q NR^G R^H$ 、式中、 R^G および R^H はそれぞれ独立して、(a) 水素；(b) N - 保護基；(c) 1 ~ 6 個の炭素原子のアルキル；(d) 2 ~ 6 個の炭素原子

20

30

40

50

のアルケニル；(e) 2～6個の炭素原子のアルキニル；(f) アリール；(g) アルキレン基が1～6個の炭素原子を含むアリールアルキル；(h) 3～8個の炭素原子のシクロアルキル、および(i) シクロアルキル基が3～8個の炭素原子を含み、アルキレン基が1～10個の炭素原子を含むアルクシクロアルキル、からなる群から選択されるが、2つの基がカルボニル基またはスルホニル基を介して窒素原子に結合していることはない；(41) オキソ；(42) チオール；(43) ペルフルオロアルキル；(44) ペルフルオロアルコキシ；(45) アリールオキシ；(46) シクロアルコキシ；(47) シクロアルキルアルコキシ；および(48) アリールアルコキシ。

【0044】

本明細書で互換的に使用される用語「ヘテロシクリルオキシ」または「(複素環)オキシ」は、酸素原子を介して親分子基に結合した、本明細書に定義される複素環基を表す。

10

【0045】

本明細書で互換的に使用される用語「ヘテロシクリルオイル」または「(複素環)オイル」は、カルボニル基を介して親分子基に結合した、本明細書に定義される複素環基を表す。

【0046】

本明細書で使用される用語「アミノ酸」は、天然アミノ酸のLおよびD異性体の両方ならびにペプチドの合成類似体を調製するためにペプチド化学で使用される他の非タンパク質性アミノ酸を含むものと理解される。天然アミノ酸の例としては、これらに限定されないが、グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、セリン、およびスレオニンが挙げられる。非タンパク質性アミノ酸の例としては、これらに限定されないが、ノルロイシン、ノルバリン、シクロヘキシルアラニン、ピフェニルアラニン、ホモフェニルアラニン、ナフチルアラニン、ピリジンアラニン、および置換フェニルアラニン（これらに限定されないが、アルコキシ基、ハロゲン基、およびニトロ基を含む、1つまたは複数の置換基で置換された）が挙げられる。ベータおよびガンマアミノ酸もまた、用語「アミノ酸」の範囲内である。ペプチド合成で一般に使用される標準的な保護基で保護されたアミノ酸もまた、用語「アミノ酸」の範囲内である。これらの化合物はペプチド化学の当業者には公知である。

20

【0047】

本明細書で使用される用語「オキソ」は、=Oを表す。

30

【0048】

本明細書で使用される用語「ペルフルオロアルキル」は、アルキル基に結合した各水素ラジカルがフッ化物ラジカルで置換されている、本明細書に定義されるアルキル基を表す。ペルフルオロアルキル基は、トリフルオロメチル、ペンタフルオロエチル等により例示される。

【0049】

本明細書で使用される用語「ヘテロ原子」は、酸素、イオウ、または窒素であると理解される。

【0050】

本明細書で使用される用語「スルホニル」は、S(O)₂基を表わす。

40

【0051】

本明細書で使用される用語「チオアルコキシ」は、イオウ原子を介して親分子基に結合したアルキル基を表す。代表的な非置換チオアルコキシ基は、1～6個の炭素原子を含む。

【0052】

本明細書で使用される用語「チオカルボニル」は、C=Sとしても表すことができるC(S)を表す。

【0053】

本明細書で使用される用語「薬学的に許容可能な塩」は、健全な医学判断の範囲内で、過度の毒性、刺激作用、アレルギー反応等がなしにヒトの組織に接触させて使用するのに

50

適し、かつ妥当な有益性／リスク比に相応するような塩を指す。薬学的に許容可能な塩は当技術分野で周知である。塩は、化合物の最終単離の間にその場で調製しても、または遊離の塩基または酸官能基をそれぞれ適切な有機の酸または塩基と反応させることによって別個に調製してもよい。代表的な酸付加塩としては、酢酸塩、アジピン酸塩、アルギン酸塩、アスコビル酸塩、アスパラギン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、安息香酸塩、硫酸水素塩、ホウ酸塩、酪酸塩、樟脳酸塩、カンファースルホン酸塩、クエン酸塩、シクロペンタンプロピオン酸塩、ジグルコン酸塩、ドデシル硫酸塩、エタンスルホン酸塩、フマル酸塩、グルコヘプタン酸塩、グリセロリン酸塩、ヘミ硫酸塩、ヘプタン酸塩、ヘキサノ酸塩、臭化水素酸塩、塩酸塩、ヨウ化水素酸塩、2 - ヒドロキシ - エタンスルホン酸塩、ラクチン酸塩、乳酸塩、ラウリン酸塩、ラウリル硫酸塩、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、マロン酸塩、メタンスルホン酸塩、2 - ナフタレンスルホン酸塩、ニコチン酸塩、硝酸塩、オレイン酸塩、シュウ酸塩、パルミチン酸塩、パモ酸塩、ペクチン酸塩、過硫酸塩、3 - フェニルプロピオン酸塩、リン酸塩、ピクリン酸塩、ピバル酸塩、プロピオン酸塩、ステアリン酸塩、コハク酸塩、硫酸塩、酒石酸塩、チオシアン酸塩、トルエンスルホン酸塩、ウンデカン酸塩、吉草酸塩等が挙げられる。塩基付加塩は、カルボキシ基（または他の酸成分）を、金属陽イオンの水酸化物、炭酸塩、もしくは炭酸水素塩などの適切な塩基と、またはアンモニアもしくは有機一級、二級、もしくは三級アミンと反応させることにより、化合物の最終的な単離および精製の間に調製することができる。薬学的に許容可能な塩の陽イオンとしては、リチウム、ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム、およびアルミニウム、ならびにアンモニウム、テトラメチルアンモニウム、テトラエチルアンモニウム、メチルアミン、ジメチルアミン、トリメチルアミン、トリエチルアミン、ジエチルアミン、エチルアミン、トリブチルアミン、ピリジン、N, N - ジメチルアニリン、N - メチルピペリジン、N - メチルモルホリン、ジシクロヘキシルアミン、プロカイン、ジベンジルアミン、N, N - ジベンジルフエネチルアミン、1 - エフェナミン、およびN, N' - ジベンジリエチレンジアミンなどの無毒な四級アミン陽イオンが挙げられる。塩基付加塩の形成に有用な他の代表的な有機アミンとしては、エチレンジアミン、エタノールアミン、ジエタノールアミン、ピペリジン、およびピペラジンが挙げられる。

10

20

30

40

【0054】

17 - HSD1

I の3位に近接する結合ポケット中でさらなる相互作用（水素結合または疎水的相互作用）を得るために、したがって、I と17 - HSD1 との結合を向上させるために、種々の官能基および種々の長さの側鎖が探索された（スキーム1）。さらに、C3位のOHを置換すると、ERへの結合が妨害されて、望ましくないエストロゲン様活性が除去され得るであろうと広く推測されている。実際、フェノール性OHは、ER結合のための決定的な必要条件であるように見える^{3, 8}。SAR（構造活性相関）研究に基づいて、Iの数多くのC3誘導体が調製および試験されており、それらの例として、化合物II - V（スキーム1）が挙げられる。C3のこの改変により、17 - HSD1の結合ポケット中にさらなる相互作用を有する化合物が得られ、したがって、それらの結合が向上すると同時に、Iに観察された望ましくないエストロゲン様活性が除去されるであろうと推測された。

【0055】

化合物IIおよびIIIは、3 - カルボキシ - エストロンから合成された。^{3, 9} ベンジルカルバミド側鎖が、3 - ホルミルベンズアミドとのアルドール縮合反応によってC16位に導入された^{40, 41}。次いで、C17ケトンが水素化ホウ素ナトリウムを使用して還元され、続いて、16 - エキソ二重結合が木炭（10%）上のPd（10%）による水素添加を使用して還元された。次いで、3 - カルボン酸がBOPを用いて活性化され、水素化ホウ素ナトリウムを使用する還元が促進されて、対応するアルコールIIが得られた。続いて、アルコールIIはトリフェニルホスフィンおよび四臭化炭素を使用して臭化され、プロモメチル臭化物誘導体IIIが得られた（スキーム2）。

【0056】

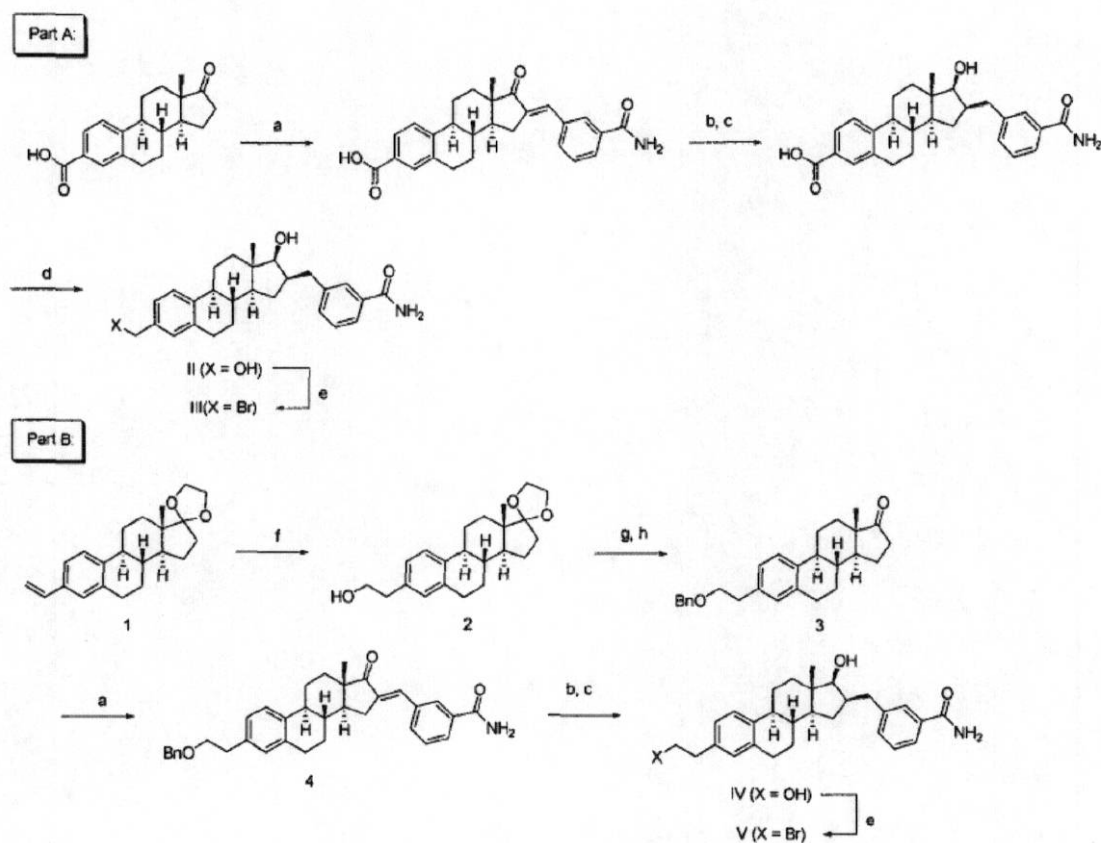
50

化合物ⅣおよびⅤは、エストロントリフレートのカルボニル的ビニル化 (c a r b o n y l a t i v e v i n y l a t i o n) およびその後の C 17 ジオキソラン保護から容易に得られる 3 - ビニル - 17 - ジオキソラン - エストロン (1) から合成された^{4 2}。ビニル基は、最初に、B H₃ - D M S を使用する酸化的ヒドロホウ素化により一級アルコール 2 に変換された^{4 3}。続いて、アルコール 2 は、ベンジルエーテルとして保護され、その後酸性条件下でジオキソランが脱保護され、3 が得られた。ベンジルカルバミド側鎖が、3 - ホルミルベンズアミドとのアルドール縮合反応により C 16 位に導入された。次いで、C 17 ケトンが水素化ホウ素ナトリウムを使用して還元され、続いて 16 - エキソ二重結合が木炭 (10 %) 上の P d (10 %) による水素添加を使用して還元された。水素添加反応により、3 - O - ベンジルエーテルが同時に切断され、m - 16 - カルバモイルベンジル誘導体Ⅳが得られた。続いて、アルコールⅣはトリフェニルホスフィンおよび四臭化炭素を使用して臭素化され、プロモエチル誘導体Ⅴが得られた (スキーム 2) 。

10

【 0 0 5 7 】

【 化 3 】



20

30

スキーム 2 : 試薬および条件 : (a) 3 - カルボキサミド - ベンズアルデヒド、K O H 、 E t O H 、 r t ; (b) N a B H₄、M e O H ; (c) H₂、P d / C、M e O H ; (d) 1) B O P、D I P E A、D M F、r t ; 2) N a B H₄、M e O H ; (e) P P h₃、C B r₄、D C M、r t ; (f) 1) B H₃ - D M S、T H F、- 78 ; 2) H₂ O₂、N a H C O₃ ; (g) N a H、臭化ベンジル、D M F ; (h) 10 % H C l : アセトン (1 : 1)

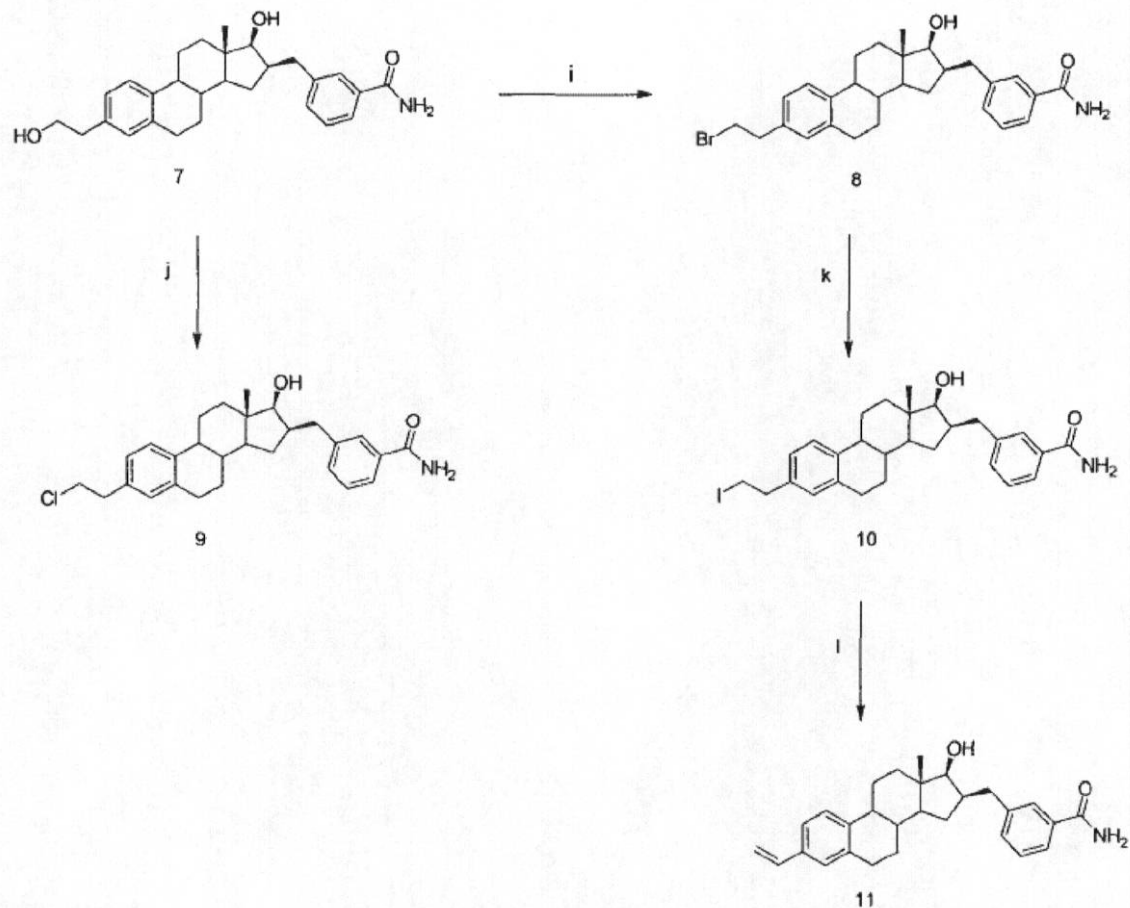
40

【 0 0 5 8 】

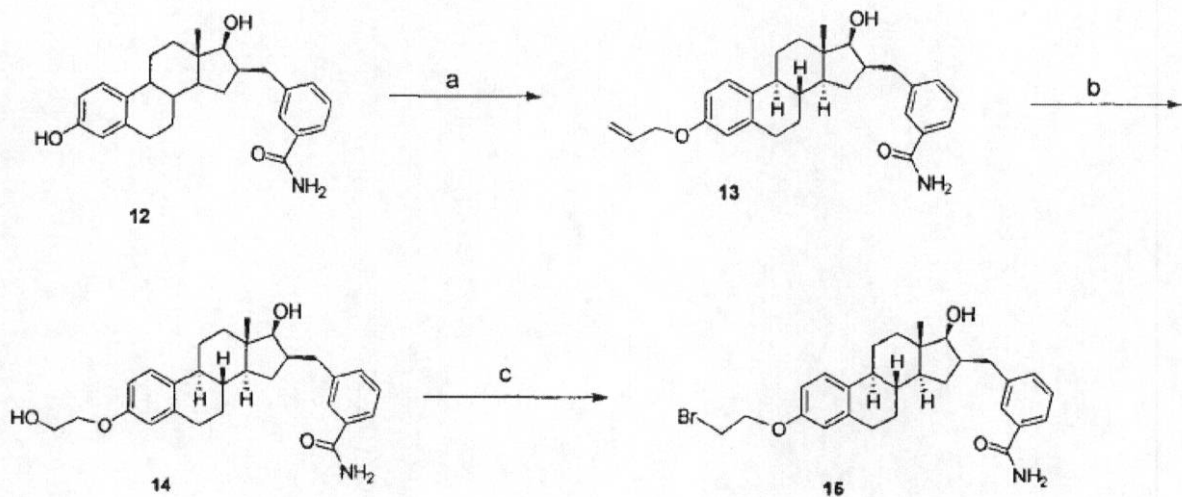
Ⅰのさらなる C 3 誘導体が、本明細書の以下のスキーム 3 ~ 14 に図示するように調製された。

【 0 0 5 9 】

【化 4】

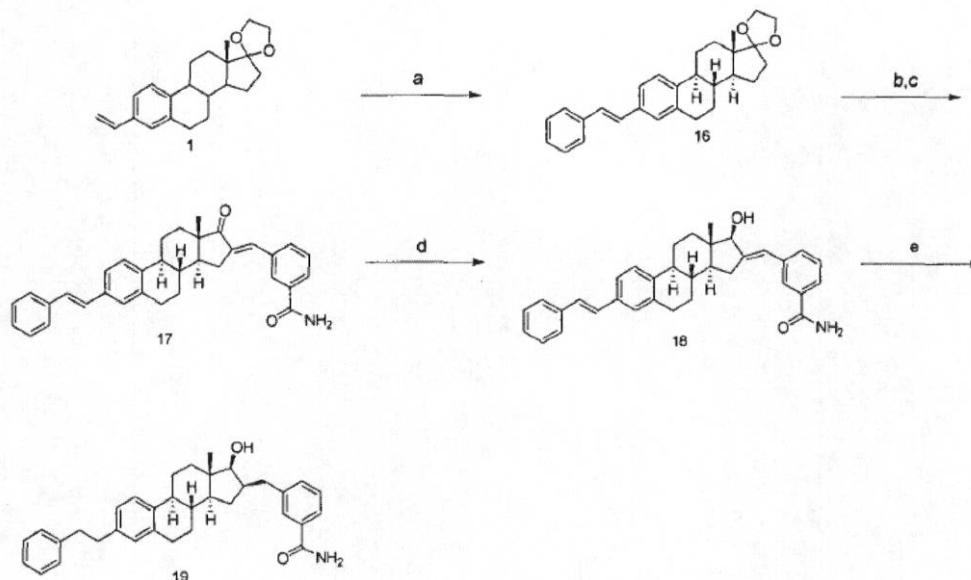


試薬および条件：(i) PPh_3 、 CBr_4 、DCM、rt；(j) CPMA、DCM
スキーム 3

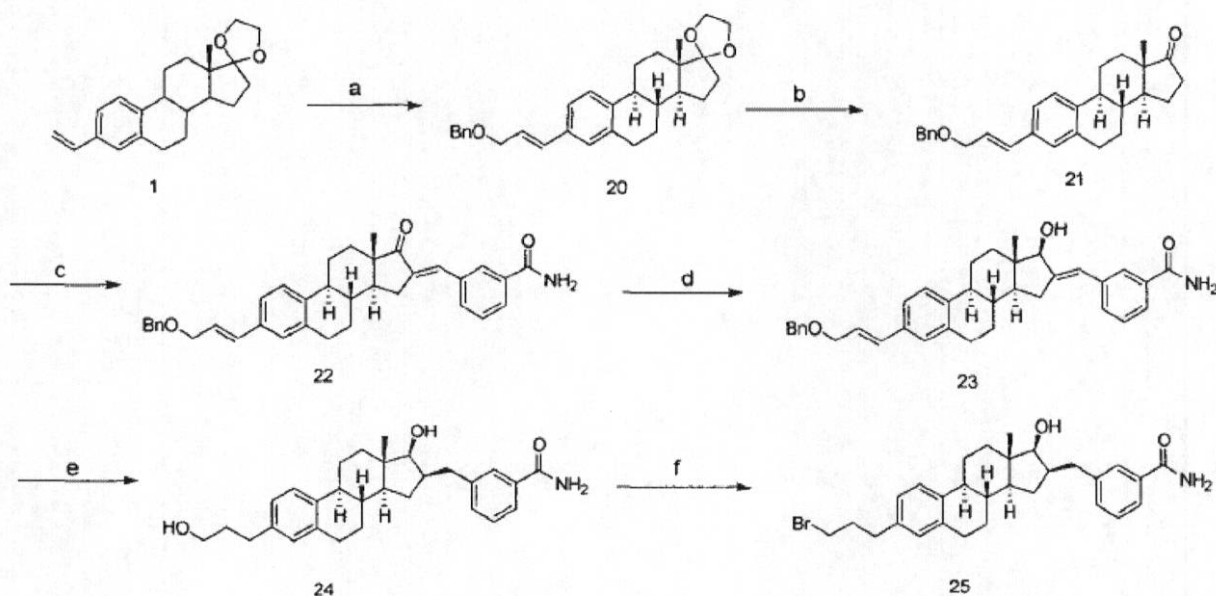


試薬および条件：(a) 臭化アリル、 NaOH 、アセトン、rt；(b) i) NaIO_4 、 $\text{RuCl}_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ 、 EtOAc/ACN 、ii) NaBH_4 、 H_2O ；(c) PPh_3 、 CBr_4 、DCM、0～rt
スキーム 4

【化 5】



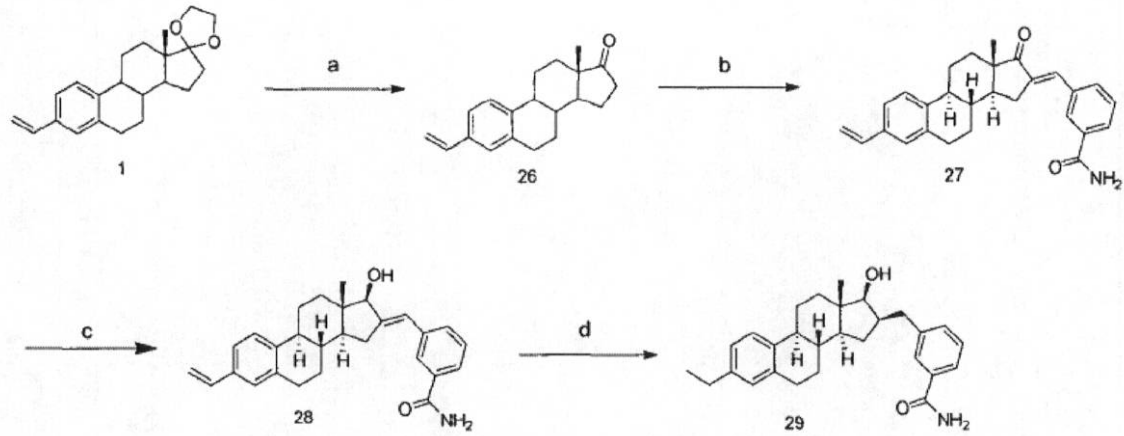
試薬および条件：(a) スチレン、Grubbs (II) 触媒；ジクロロエタン、rt；
 (b) HCl 10%のMeOH溶液、rt；(c) 3-カルボキサミドベンズアルデヒド、KOH、EtOH、rt；
 (d) NaBH₄、MeOH；(e) H₂、Pd/C、EtOH、rt
 スキーム 5



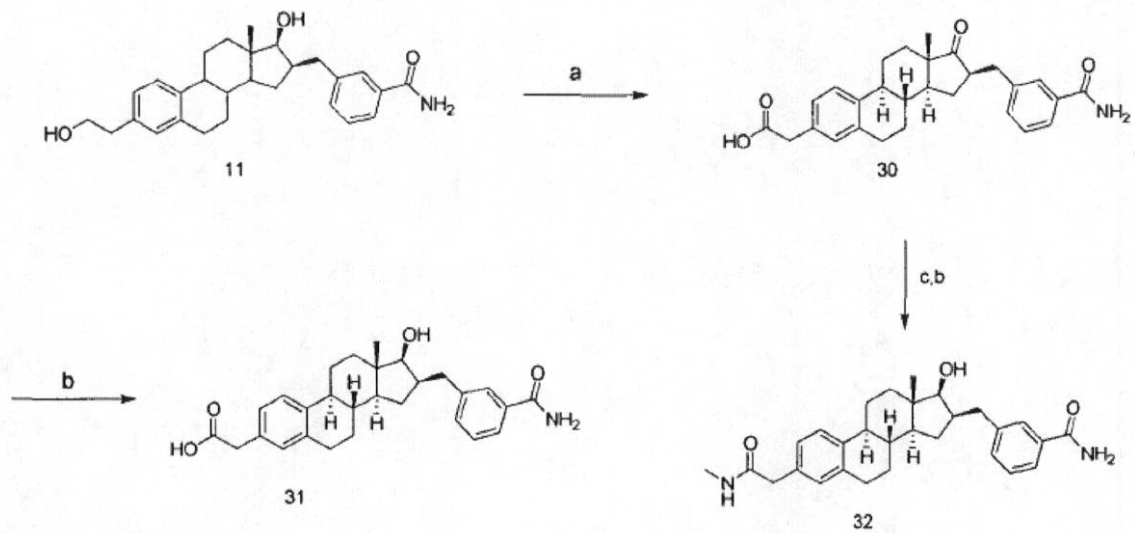
試薬および条件：(a) Grubbs II 触媒、アリルオキシメチルベンゼン；(b)
 HCl、MeOH；(c) 3-カルボキサミドベンズアルデヒド、KOH、EtOH、rt；
 (d) NaBH₄、MeOH；(e) H₂、Pd/C、MeOH、rt；(f)
 PPh₃、CBr₄、DCM、rt
 スキーム 6

【0061】

【化 6】



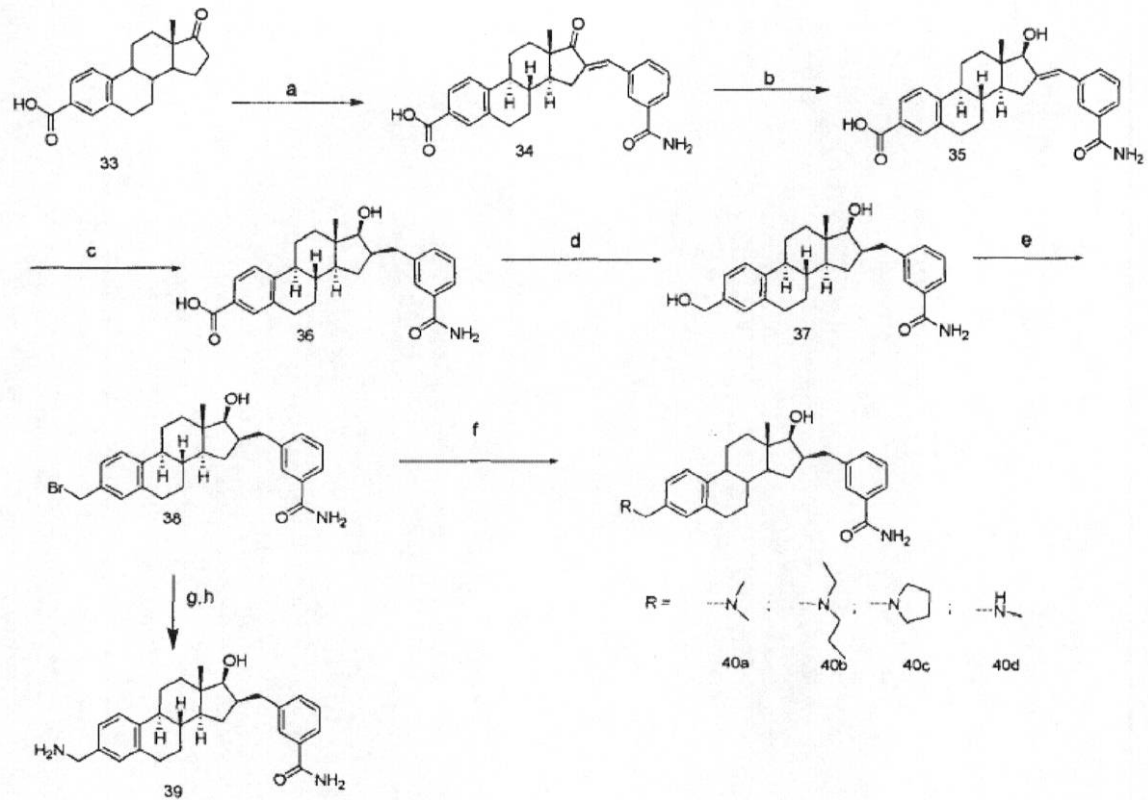
試薬および条件：(a) HCl 10%のMeOH溶液、rt；(b) 3-カルボキサミド-ベンズアルデヒド、KOH、EtOH、rt；(d) NaBH₄、MeOH；(e) H₂、Pd/C、EtOH、rt
スキーム 7



試薬および条件：(a) Dess-Martin、NaOCl₂、t-BuOH、2-メチル-2-ブテン、KH₂PO₄；(b) NaBH₄、MeOH；(c) BOP、DIPEA、メチルアミンのTHF溶液
スキーム 8

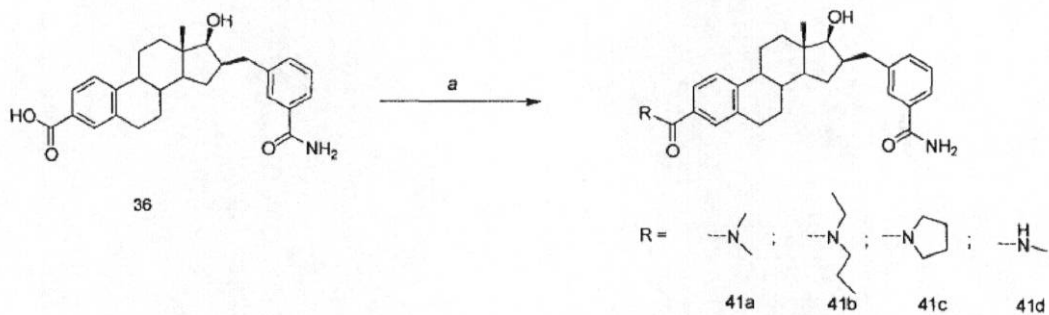
【0062】

【化 7】



試薬および条件：(a) 3-カルボキサミドベンズアルデヒド、KOH、EtOH、rt；(b) NaBH₄、MeOH/DCM (1:1)；(c) H₂、Pd/C (10%)、EtOH；(d) i) BOP、DIPEA、THF；ii) NaBH₄、rt；(e) PPh₃、CBr₃、DCM、0~rt；(f) NHR₁R₂、Et₃N、DCM、rt；(g) NaN₃、DMF、60°C；(h) H₂、Pd/C (10%)、EtOH

スキーム 9

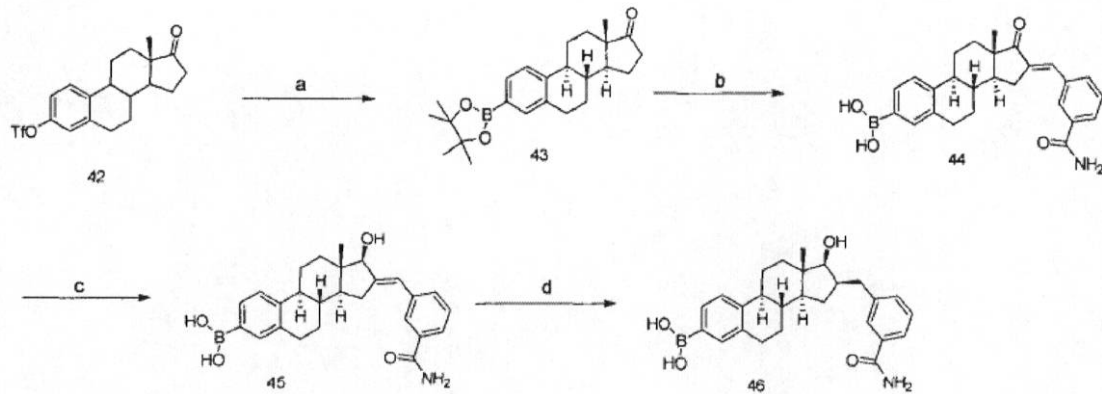


試薬および条件：(a) R₁R₂NH、BOP、DIPEA、DMA

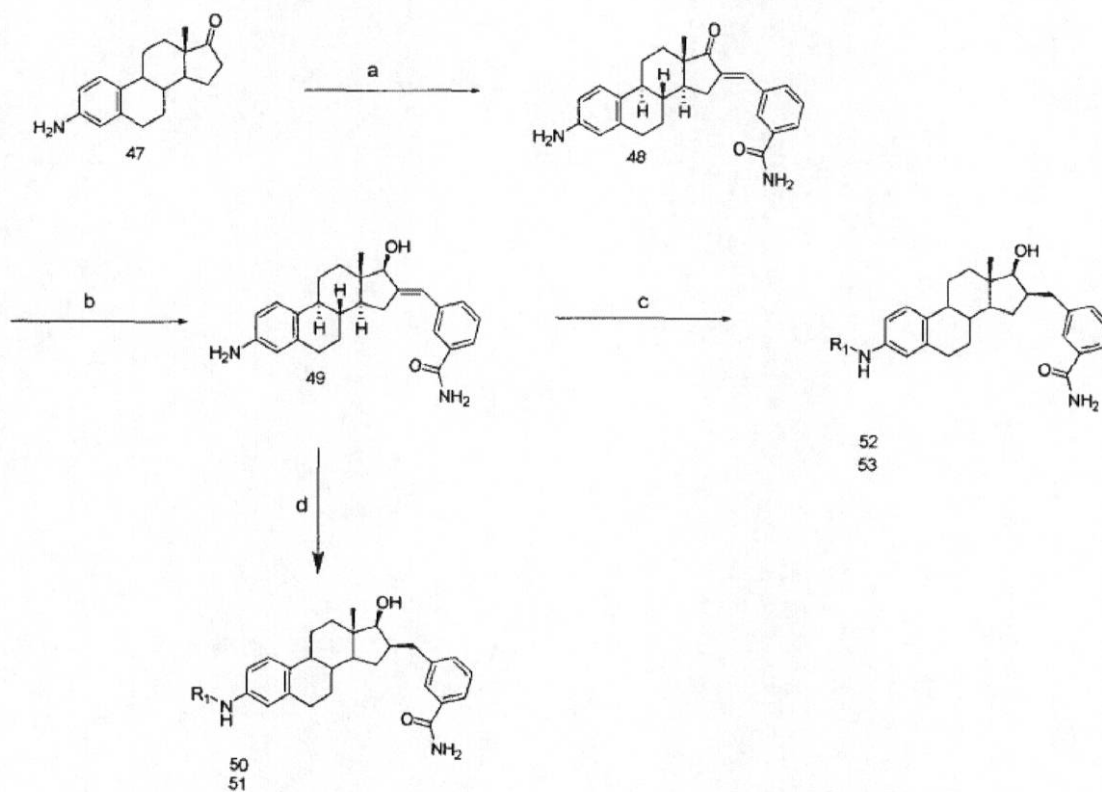
スキーム 10

【0063】

【化 8】



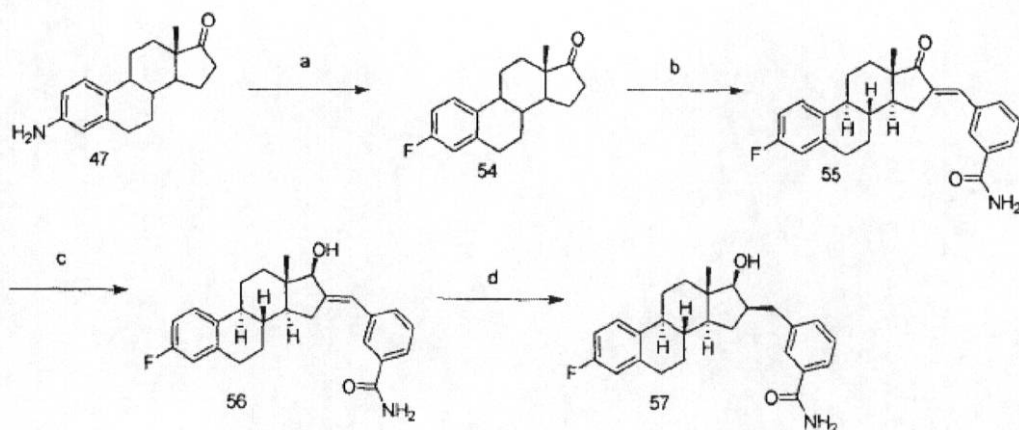
試薬および条件：(a) ピナコールボラン、Pd (dppf) Cl₂、DCM、ジオキサン、100℃；(b) 3-カルボキサミドベンズアルデヒド、KOH、EtOH、*rt*；(c) NaBH₄、MeOH；(d) H₂、Pd/C (10%)、EtOH
スキーム 11



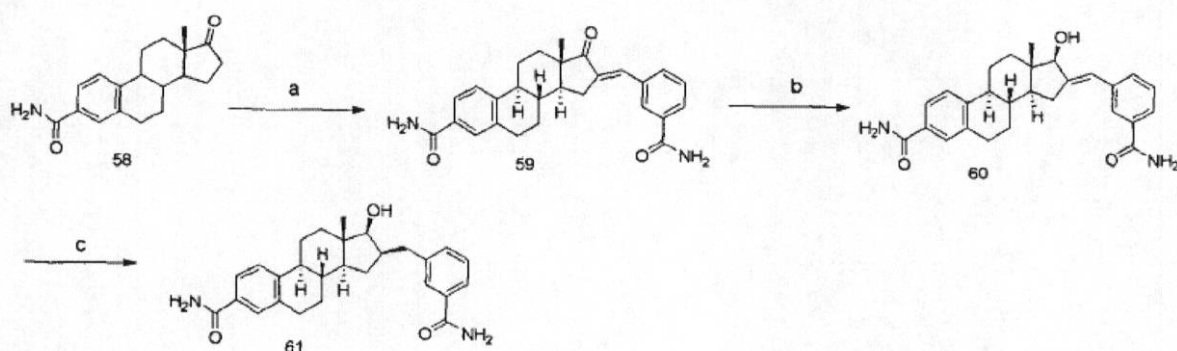
試薬および条件：(a) 3-カルボキサミドベンズアルデヒド、KOH、EtOH、*rt*；(b) NaBH₄、MeOH、*rt*；(c) Pd/C (10%)、MeOH；(d) Pd/C (10%)、EtOH、*rt*
スキーム 12

【0064】

【化 9】



試薬および条件：(a) 亜硝酸 t-ブチル、 $\text{BF}_3 \cdot \text{O}(\text{Et})_2$ 、DCM；(b) 3-カルボキサミド-ベンズアルデヒド、KOH、EtOH、rt；(c) NaBH_4 、MeOH；(d) H_2 、Pd/C (10%)、EtOH
スキーム 13



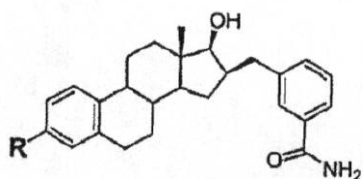
試薬および条件：(a) 3-カルボキサミド-ベンズアルデヒド、KOH、EtOH、rt；(b) NaBH_4 、MeOH/DCM (9:1)、rt；(c) Pd/C (10%)、EtOH、rt
スキーム 14

【0065】

本開示の一実施形態では、下記の構造

【0066】

【化 10】



〔式中、Rは、-OH、ハロ、-NH₂、アルキル、アルケニル、アルコキシ、アラルキル、カルボキシ、-CH₂-ヘテロシクリル、ヘテロシクリロイル、-C(O)N(R')(R'')、または-B(OH)₂ (式中、R'およびR''は、独立してまたは同時にHもしくはアルキルであるか、またはR'およびR''は、それらが結合する窒素原子と共に

10

20

30

40

50

互いに結合して複素環を形成する)である]を有する 17 - H S D 1 阻害剤、またはその薬学的に許容可能な塩もしくは互変異性体が含まれる。

【 0 0 6 7 】

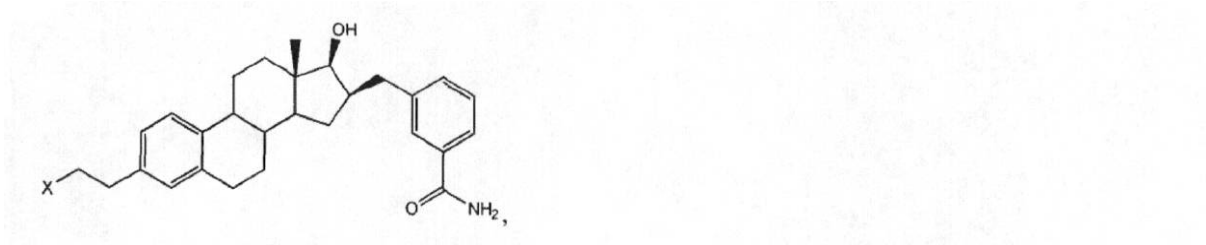
一実施形態では、17 - H S D 1 阻害剤は化合物 V、またはその薬学的に許容可能な塩である。一実施形態では、阻害剤は、化合物 V の対応する塩酸 (H C l) 塩、または化合物 V のカルボキサミド成分上の他の酸付加塩である。

【 0 0 6 8 】

別の実施形態では、17 - H S D 1 阻害剤は、下記の構造

【 0 0 6 9 】

【 化 1 1 】



[式中、X は、I ^{1 2 3}、I ^{1 2 5}、I ^{1 3 1}、または B r ^{7 6} である] を有する化合物 V の放射標識誘導体である。

【 0 0 7 0 】

別の実施形態では、17 - H S D 1 阻害剤は、下記の構造

【 0 0 7 1 】

【 化 1 2 】



[式中、X は I ^{1 2 3}、I ^{1 2 5}、I ^{1 3 1}、または B r ^{7 6} である] を有する化合物 V の放射標識誘導体である。

【 0 0 7 2 】

別の実施形態では、放射標識が、化合物 V のステロイド核上の適切な位置に配置されて (例えば、I ^{1 2 3}、I ^{1 2 5}、I ^{1 3 1} または B r ^{7 6})、さらなる放射標識誘導体が提供される。

【 0 0 7 3 】

子宮内膜癌など、17 - H S D を発現する任意の他の癌に加えて、乳癌および前立腺癌は、17 - H S D を発現することが知られているので、上記に示されるような化合物 V の放射標識誘導体は、乳癌および前立腺癌の放射性イメージングおよび放射線治療に有用である。

【 0 0 7 4 】

別の実施形態では、17 - H S D 1 阻害剤は、下記の構造

【 0 0 7 5 】

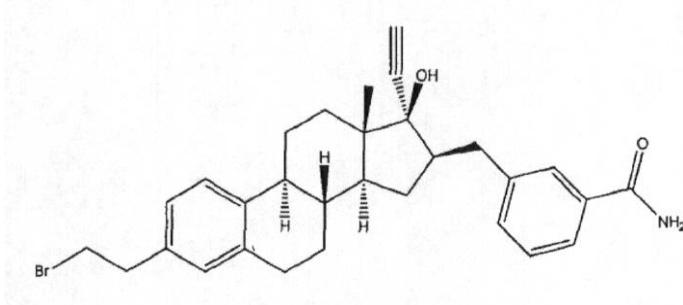
10

20

30

40

【化 1 3】



を有する化合物 V のアルファ - アセチレン誘導体である。

【 0 0 7 6】

生物活性

化合物 I ~ V について、内在性の 17 - H S D 1 を発現することが周知の細胞株である T - 4 7 D 細胞における、17 - H S D 1 による E 1 の E 2 への変換を阻害する、それらの能力が試験された (表 1)。エストロゲン枯渇状態のエストロゲン感受性 M C F - 7 細胞の増殖に対する阻害剤の効果も評価された (表 1)。アルコール系列では、ステロイド構造の A 環から遠方にヒドロキシルが延びると、阻害効力に対して負の効果がもたらされ、0.1 μ M で試験された場合、フェノール I の 66% からメチルアルコール I I の 37% およびエチルアルコール I V の 17% まで値が減少することが観察された。これらの結果およびより低濃度 (0.01 μ M) で得られた結果から、17 - H S D 1 の結合ポケット中に、さらなる相互作用が得られなかったという事実が浮き彫りになる。プロモアルキル誘導体の I I I および V は、より有望であることが判明した。実際、V の阻害活性 ($I C_{50} = 68$ nM) は基準阻害剤 I ($I C_{50} = 27$ nM) よりもわずかに 2 倍の低下であった。より重要なことは、エストロゲン様活性が、C 3 側鎖の存在により大幅に調節されることである (図 1)。C 3 位にヒドロキシルを有する化合物 I は、0.1 μ M ~ 5 μ M の範囲の濃度でエストロゲン感受性 M C F - 7 細胞を強力に刺激した。ステロイド構造の A 環から遠方にヒドロキシルが延びると (化合物 I I)、化合物のエストロゲン性は大幅に低下するが、0.5 mM ~ 5 μ M の範囲の用量では、顕著なエストロゲン様活性が維持される。ヒドロキシルがさらにメチレン単位延びると (化合物 I V)、いかなるエストロゲン様活性も完全に除去された。対応する臭化物 (化合物 V) についても同じ観察がなされ、0.5 μ M ~ 5 μ M の範囲のいかなる濃度でもエストロゲン性が示されなかった。

【 0 0 7 7】

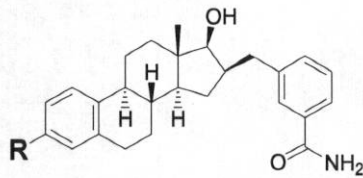
10

20

30

【表 1】

表 1：化合物 I～V についての阻害値およびエストロゲン様活性



化合物	R	阻害% (0.01 μ M) ^a	阻害% (0.1 μ M) ^a	IC ₅₀ (nM) ^b
I	OH	35	66	27 \pm 4
II	CH ₂ OH	14	37	N/A
III	CH ₂ Br	20	36	N/A
IV	CH ₂ CH ₂ OH	7	17	N/A
V	CH ₂ CH ₂ Br	23	49	68 \pm 6

^aT-47D 無傷細胞における、17 β -HSD1 による [¹⁴C]-E1(60nM)の[¹⁴C]-E2 への変換の阻害。実験は、三つ組で実施した(SD \leq 5%)。 ^b三つ組で実施した実験の平均 \pm SD。

【0078】

化合物 V が最も活性な阻害剤であることが判明し、C 3 位に導入された疎水性鎖が 17-HSD1 に許容されることが実証された。最も重要なことには、I のヒドロキシル基の V の疎水性鎖による置換が、阻害活性のほんの軽微な低下をもたらすものの、いかなる残存エストロゲン様活性の除去にも極めて効果的であることが判明した。V の極めて良好な阻害活性 (IC₅₀ = 68 nM) を考慮し、かつより重要なことにはエストロゲン感受性乳癌細胞上で観察されるいかなるエストロゲン様効果もないことを考慮すると、V は、17-HSD1 を標的とする *in vivo* 研究に対する優れた候補である。

【0079】

化合物 V はまた、ヒトエストロゲン受容体アルファ上の競合的結合アッセイにおいて、エストラジオールと共に試験された。図 2 は、化合物 V がすべての濃度で受容体に結合する競合的結合を示す。

【0080】

化合物 V はまた、5 nM ~ 20 μ M にわたる試験濃度で、E2 を E1 に変換する 17-HSD2 酵素について試験され、この酵素に対する阻害がないことが実証された。

【0081】

化合物 V はまた、CYP3A4 について試験され、化合物 I に対する 1.52 \pm 0.29 μ M と比較して、4.06 \pm 0.57 μ M の IC₅₀ を示した。

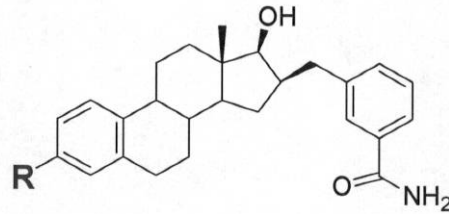
【0082】

化合物 7 ~ 10、15、19、24、25、29、31、32、36 ~ 41、46、50、57、および 61 について、内在性の 17-HSD1 を発現することが周知の細胞株である T-47D 細胞における、17-HSD1 による E1 の E2 への変換を阻害するそれらの能力が試験された (表 2)。エストロゲン枯渇状態のエストロゲン感受性 MCF-7 細胞の増殖に対する阻害剤の効果も評価された (表 2)。

【0083】










【表 2 A】

表 2：化合物 7～10、15、19、24、25、29、31、32、36～41、46、50、57、および 61 についての阻害値およびエストロゲン様活性



化合物番号	R	阻害 ^a (0.1 μM)	阻害 ^a (1 μM)	エストロゲン性 ^b (0.1 μM)	エストロゲン性 ^b (1.0 μM)
DP-156	--OH	75	90	++	++
7		19	57	+	++
8		56	89	—	—
9		55	N/A	N/A	N/A
10		7	N/A	N/A	N/A
15		39	81	N/A	N/A
19		13	N/A	N/A	N/A
24		16	N/A	N/A	N/A
25		37	82	N/A	N/A
29		12	N/A	N/A	N/A
31		12	29	—	+
32		5	15	—	—
36		5	8	—	++
37		56	73	—	+
38		19	66	—	—
39		35	73	++	++
40a		12	49	—	—
40b		5	27	—	—
40c		1	28	—	—

【表 2 B】

40d		26	65	—	—
41d		3	5	—	+
41a		2	16	+	+
41b		1	14	—	—
41c		0	13	—	—
46		39	N/A	++	++
50		35	43	—	+
57		48	50	—	+
61		3	23	—	++

^aT-47D 無傷細胞における、17 β -HSD1 による [¹⁴C]-E1(60nM)の[¹⁴C]-E2 への変換の阻害。実験は、三つ組で実施した(SD < \pm 5%)。阻害剤は 0.1 および 1 μ M の 2 つの濃度で試験した。^b種々の濃度での 7 日間処理後における、エストロゲン枯渇状態のエストロゲン感受性 MCF-7 細胞の増殖に対する阻害剤の効果。凡例: — = なし; + = 弱 ++ = 中程度から強。

【実施例】

【0085】

実験

材料、方法、合成、および特性評価

化学試薬は、Sigma-Aldrich Canada Ltd. (Oakville, ON, Canada) から購入した。通常の溶媒は、Fisher Scientific (Montreal, QC, Canada) から入手し、そのまま使用した。無水ジクロロメタン (DCM)、ジメチルホルムアミド (DMF)、およびテトラヒドロフラン (THF) は、Sigma-Aldrich から入手した。薄層クロマトグラフィー (TLC) およびフラッシュカラムクロマトグラフィーはそれぞれ、0.20 mm のシリカゲル 60 F254 プレート上、および 230 ~ 400 メッシュの ASTM シリカゲル 60 (E. Merck; Darmstadt, Germany) で実施した。赤外スペクトル (IR) は、Horizon MB 3000 ABB FT-IR スペクトロメータを使用して記録し、重要なバンドを cm^{-1} で報告した。核磁気共鳴 (NMR) スペクトルは、Bruker Avance 400 デジタルスペクトロメータ (Billerica, MA, USA) を使用して、¹H については 400 MHz、¹³C については 100.6 MHz で記録した。化学シフト () は、ppm で表現し、¹H および ¹³C NMR についてそれぞれ、クロロホルム (7.26 および 77.0 ppm)、アセトン (2.06 および 29.24 ppm) またはメタノール (3.31 ppm および 49.0) を基準とした。低解像度質量スペクトル (LRMS) は、ターボイオンスプレー源を装備した PE Sciex API-150 ex 装置 (Foster City, CA, USA) を使用して記録し、m/z で表現した。高解像度質量スペクトル (HRMS) は、De

partement de Chimie de l'Universite Laval (Quebec, QC, Canada) で Pierre Audet により提供された。化合物の純度は、Luna フェニルヘキシルカラム (75 × 4.6 mm id、3 μm、シリアル N°: 338048-2、60) または Nova Pak C18 逆相カラム (150 mm × 3.0 mm id、4 μm、60) を使用する高速液体クロマトグラフィー (HPLC) (Waters Associates Milford, MA, USA) により決定した。

【0086】

細胞培養

ER 陽性乳癌細胞株の T-47D および MCF-7 細胞は、米国培養細胞系統保存機関 (American Type Culture Collection) (ATCC) から入手し、5% CO₂、加湿雰囲気下、37℃ にて 175 cm² 培養フラスコ中で維持した。T-47D 細胞は、10% (v/v) ウシ胎児血清 (FBS)、L-グルタミン (2 nM)、ペニシリン (100 IU/mL)、ストレプトマイシン (100 μg/mL)、および エストラジオール (1 nM) 添加の RPMI 培地中で増殖させた。MCF-7 細胞は、5% FBS、グルタミン (2 nM)、ペニシリン (100 IU/mL)、ストレプトマイシン (100 μg/mL)、および エストラジオール (1 nM) 添加の Dubelcco's Modified Eagle Medium: Nutrient Mixture F-12 HAM (DMEM-F12) 培地中で増殖させた。

【0087】

T-47D 細胞における 17β-HSD 1 の阻害

T-47D 細胞を、インスリン (50 ng/mL) と、10% FBS ではなく、残存ホルモンを除去するためにデキストラン被覆炭で処理された 5% FBS とを添加した培地中、24 ウェルプレート (3000 細胞/ウェル) に播種した。24 時間後、細胞を 60 nM の [¹⁴C]-エストロン (American Radiolabeled Chemicals, Inc., St. Louis, MO, U.S.A) と共にインキュベートした。すべての阻害剤について 0.01 μM および 0.1 μM 濃度の阻害剤のエタノール溶液 (0.5% v/v) を新たに交換した培地に加え、24 時間にわたり細胞をインキュベートした。最も活性な阻害剤については、0.01 μM ~ 10 μM の濃度範囲で試験して、それらの IC₅₀ 値を決定した。阻害剤はそれぞれ三つ組で評価した。インキュベーション後、培地を取り出し、標識ステロイド (E1 および E2) を 1 mL のジエチルエーテルで抽出した。有機相を分離し、窒素を使用して蒸発乾固した。残査をジクロロメタンに溶解し、シリカゲル薄層クロマトグラフィープレート (EMD Chemicals Inc., Gibbstown, NJ, USA) 上に滴下し、トルエン/アセトン (4:1) 溶媒系で溶出した。基質 [¹⁴C]-E1 および代謝産物 [¹⁴C]-E2 を、基準ステロイドと比較して同定し、Storm 860 システム (Molecular Dynamics, Sunnyvale, CA, USA) を使用して定量した。変換および阻害のパーセントは以下のように算出した: % 変換 = 100 × [¹⁴C]-E2 / ([¹⁴C]-E1 + [¹⁴C]-E2) および 阻害の % = 100 × (阻害剤なしの % 変換 - 阻害剤ありの % 変換) / 阻害剤なしの % 変換。

【0088】

MCF-7 細胞におけるエストロゲン様活性

MCF-7 細胞を、インスリン (50 ng/mL) と、10% FBS ではなく、残存ホルモンを除去するためにデキストラン被覆炭で処理された 5% FBS とを添加した培地と共に播種した。細胞懸濁液のアリコート (100 μL) を 96 ウェルプレート (3000 細胞/ウェル) に播種した。48 時間後、培地を、試験される生成物を適切な濃度で含有する新たな培地と交換し、さらに 2 日ごとに交換した。化合物の非存在下または存在下のいずれかで、7 日間にわたり細胞を増殖させた。細胞増殖の定量は、製造業者の説明書に従い、Cell Titer 96 (登録商標) Aqueous Solution Cell Proliferation Assay (Promega, Nepean, ON

10

20

30

40

50

、Canada) を使用して行った。増殖(エストロゲン様)活性を決定するために、表示濃度の試験化合物の非存在下(100%とする対照)または存在下で、細胞を増殖させた。

【0089】

化合物Vに関するERアルファ結合アッセイ

精製された完全長組換えヒトERα(Life Technologies, Grand Island, NY)を使用する競合的結合アッセイを、以前に記載されたように(Davis et al., J. Steroid Biochem. Mol. Biol., 2008, 108, 23-31; Arcaro et al., J. Cell. Biochem. 1999, 72, 94-102)実施した。手短に言えば、各反応は、100 μLの全反応容量で、アッセイ緩衝液(10 mM Tris、1.5 mM EDTA、1 mM ジチオスレイトール、10%グリセロール、1 mg/mL BSA、pH 7.5)中の1.2 nM rhERαおよび2.5 nM [³H] エストラジオールと、種々の濃度の化合物または非放射性エストラジオールとからなっていた。非特異的結合は、過剰量の非放射性エストラジオール(1 μM)とインキュベートすることにより決定した。4 で一晚インキュベートした後、100 μLの冷50%ヒドロキシアパタイトスラリーを加えて、受容体/リガンド複合体を結合させた。15分後、1 mLの洗浄緩衝液(40 mM Tris、1 mM EDTA、1 mM EGTA、100 mM KCl、pH 7.4)を加え、チューブを4 で5分間、4500 rpmで遠心分離した。洗浄工程を2回繰り返した。ペレットの放射活性を、室温で1時間、1 mLのエタノールとインキュベートすることにより抽出した。次いで、懸濁液を10 mLのBiodegradable Counting Scintillantに入れ、Wallac 1411 Liquid Scintillation Counterで放射活性をカウントした。IC₅₀ 値を、GraphPad Prism 5を使用して求め、RBA値を以下の式を使用して得た：
(17 - エストラジオールのIC₅₀ / 化合物のIC₅₀) × 100。

【0090】

【表3】

	IC ₅₀	RBA
エストラジオール	1.02 nM ± 0.09 nM	100
化合物V	-	-

【0091】

化合物Vによる17 - HSD 2の阻害

阻害アッセイは、24ウェルプレートを使用し、ウェル当たり5000細胞を用い、安定な17 - HSD 2 HEK-293トランスフェクト無傷細胞を使用して実施した(Poirier et al., Mol. Cell. Endocrinol., 2001, 171, 119-128)。1 mLのMEM培地(ステロイドを含まない)中で、37にて1時間、60 nM C¹⁴ エストラジオールと細胞をインキュベートした。次いで、17 - HSD 1酵素活性について以前に記載のように、ステロイドを抽出、定量、および分離し、%阻害を算出した(Tremblay et al., J. Enzyme Inhib. Med. Chem., 2005, 20, 153-163)。化合物Vは、5 nM ~ 20 μMにわたる試験濃度において、E2のE1への変換について17 - HSD 2酵素をまったく阻害しなかった。

【0092】

化合物VによるCYP3A4の阻害

BD Biosciencesから購入したP450 Inhibition Kit CYP3A4/DBFを、5% DMSO / 95% アセトニトリルの混合物に化合物Vを溶解したことを除いて、会社の推奨どおりに使用した。

【0093】

化合物VによるCYP3A4の阻害は、化合物Iの場合の $1.52 \pm 0.29 \mu\text{M}$ と比較して、 $4.06 \pm 0.57 \mu\text{M}$ の IC_{50} を示し、弱いことが実証された。

【0094】

化合物Vによる、乳癌細胞株における17 β -HSD1の阻害

in vitro 研究 - 細胞培養

乳癌細胞株T-47Dを米国培養細胞系統保存機関(ATCC)から入手し、5% CO_2 、加湿雰囲気下、37℃にて 175 cm^2 培養フラスコ中で維持した。10%(v/v)ウシ胎児血清(FBS)、L-グルタミン(2 nM)、ペニシリン(100 IU/mL)、ストレプトマイシン(100 $\mu\text{g/mL}$)、およびエストラジオール(1 nM)添加のRPMI培地中で細胞を増殖させた。

10

【0095】

17 β -HSD1の阻害アッセイ

T-47D細胞を、インスリン(50 ng/mL)と、未処理10% FBSではなく、残存するステロイドホルモンを除去するためにデキストラン被覆炭で処理された5% FBSとを添加した培地990 μL 中で、24ウェルプレート(3000細胞/ウェル)に播種した。阻害剤化合物IおよびVの原液を、予めエタノールで調製し、使用前に適切な濃度になるように培地で希釈した。24時間インキュベーション後に、5 μL の希釈溶液を、1 nM~10 μM の範囲の最終濃度が得られるように細胞に加え、 IC_{50} 値を決定した。ウェル中のエタノールの最終濃度を0.1%に調整した。さらに、[^1H]-エストロン(American Radiolabeled Chemicals, Inc., St. Louis, MO, USA)の溶液5 μL を、60 nMの最終濃度が得られるように加えた。細胞を24時間インキュベートし、各阻害剤を三つ組で評価した。インキュベーション後、培地を取り出し、標識ステロイド(E1およびE2)を、1 mLのジエチルエーテルで抽出した。有機相を窒素で蒸発乾固した。残渣をジクロロメタンに溶解し、シリカゲル薄層クロマトグラフィープレート(EMD Chemicals Inc., Gibbstown, NJ, USA)上に滴下し、溶媒系としてトルエン/アセトン(4:1)を用いて溶出した。基質[^1H]-E1および代謝産物[^1H]-E2を、基準ステロイド(E1およびE2)と比較して同定し、Storm 860システム(Molecular Dynamics, Sunnyvale, CA, USA)を使用して定量した。変換のパーセントおよび阻害のパーセントを以下のように算出した： $\% \text{変換} = 100 \times [\text{E2}] / ([\text{E1}] + [\text{E2}])$ および $\% \text{阻害} = 100 \times (\% \text{変換なし} - \% \text{変換あり}) / \% \text{変換なし}$ (Tremblay MR, Boivin RP, Luu-The V, Poirier D. Inhibitors of type 1 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase with reduced estrogenic activity: modifications of the positions 3 and 6 of estradiol. J Enzyme Inhib Med Chem 2005; 20:153-63; Cadot C, Laplante Y, Kamal F, Luu-The V, Poirier D. C6-(N,N-butyl-methyl-heptanamide) derivatives of estrone and estradiol as inhibitors of type 1 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase: Chemical synthesis and biological evaluation. Bioorg Med Chem 2007; 15:714-2)。

20

30

40

【0096】

細胞増殖アッセイ(17 β -HSD1阻害活性、エストロゲン様活性、および抗エストロゲン活性)

細胞増殖の定量は、製造業者の説明書に従い、Cell Titer 96(登録商標) Aqueous Solution Cell Proliferation Assa

50

y (Promega, Nepean, ON, Canada) を使用して行った。T-47D細胞を、インスリン(50 ng/mL)と、10% FBSではなく、残存ホルモンを除去するためにデキストラン被覆炭で処理された5% FBSとを添加した培地に再懸濁した。細胞懸濁液のアリコート(100 µL)を96ウェルプレート(3000細胞/ウェル)に播種した。48時間後、培地を、試験される生成物を適切な濃度で含有する新たな培地と交換し、さらに2日ごとに交換した。化合物の非存在下または存在下のいずれかで、細胞を7日間増殖させた。増殖(エストロゲン様)活性を決定するために、エストロゲン感受性T-47D細胞を、0.5~10 µMで試験される化合物の非存在下(基礎細胞増殖を100%とした)または存在下で増殖させた。効力のあるエストロゲンE2を基準対照として使用した。E1誘導細胞増殖の阻害を決定するために、T-47D細胞を、阻害剤なしで(対照)、または0.5、1、2.5、および5 µMの濃度の阻害剤と共に、E1(0.1 nM)の存在下で増殖させた。E1なし±阻害剤(対照)での細胞増殖を100%とした。阻害剤化合物Vの潜在的な抗エストロゲン活性を決定するために、T-47D(ER⁺)細胞を、エストロゲンE2(0.1 nM)および純粋な抗エストロゲンEM-139(0.5 µM)[34]または阻害剤化合物V(0.5 µM)の存在下で増殖させた。E2および試験化合物の非存在下の細胞増殖(対照)を100%とした。

【0097】

ER 結合アッセイ

精製された完全長組換えヒトER (Life Technologies, Grand Island, NY) を使用する競合的結合アッセイ。手短に言えば、各反応は、100 µLの全反応容量で、アッセイ緩衝液(10 mM Tris、1.5 mM EDTA、1 mM ジチオスレイトール、10% グリセロール、1 mg/mL BSA、pH 7.5)中の1.2 nM rhER および2.5 nM [³H] エストラジオールと、種々の濃度の化合物または非トリチウム標識エストラジオール(E2)とからなっていた。非特異的結合は、過剰量のE2(1 µM)とインキュベートすることにより決定した。4で一晩インキュベートした後、100 µLの冷50%ヒドロキシアパタイトスラリーを加えて、受容体/リガンド複合体を結合させた。15分後、1 mLの洗浄緩衝液(40 mM Tris、1 mM EDTA、1 mM EGTA、100 mM KCl、pH 7.4)を加え、チューブを4で5分間、4500 rpmで遠心分離した。洗浄工程を2回繰り返した。ペレットの放射活性を、室温で1時間、1 mLのエタノールとインキュベートすることにより抽出した。次いで、懸濁液を10 mLのBiodegradable Counting Scintillantに入れ、Wallac 1411 Liquid Scintillation Counterで放射活性をカウントした。IC₅₀値を、GraphPad Prism 5を使用して求め、RBA値を以下の式を使用して得た： $(17 - E2のIC_{50} / 試験化合物のIC_{50}) \times 100$ 。

【0098】

in vivo 研究 - 動物

すべての動物を、環境条件(温度：22 ± 3 °C；湿度：50 ± 20%；12時間明/12時間暗のサイクル、07:15時に点灯)に、実験開始前の少なくとも3日間馴化させた。動物には、水および認定済み商業用げっ歯類食物(Rodent Diet #T, 2018.15, Harlan Teklad, Madison, WI, USA)を自由に摂取させ、それらの体重に従って無作為化した。動物実験は、Canadian Council on Animal Care (CCAC) およびAssociation for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Careにより承認された動物施設で実施した。試験は、CCAC Guide for Care and Use of Experimental Animalsに準拠して実施した。施設内の承認を得た。

【0099】

単回皮下注射後の阻害剤の血漿濃度

体重約220 gの6週齢雄性Sprague-Dawleyラット(Crl:CD(登

10

20

30

40

50

録商標) (SD) Br VAF / Plus (商標)) を、Charles - River , Inc . (St - Constant , Qc . , Canada) から入手した。動物は1ケージ当たり3匹収容した。薬物動態試験は、1濃度 (0 . 5 mL ビヒクル液体中の 2 . 3 mg / kg 体重) の阻害剤を1回皮下 (s . c .) 注射して実施した。阻害剤は、エタノール (EtOH) に最初溶解した後、EtOHの最終濃度が8%になるようにプロピレングリコール (PG) を加えた。この実験期間中は、ラットは個々に収容し、阻害剤注射前に8時間絶食させたが、水は自由に摂取させた。阻害剤の血漿濃度測定のための血液試料 (動物ごとに 0 . 4 mL) は、化合物Vについては投与後3、7、12、および24時間、CC - 156については3および12時間の目標間隔で、各時点3匹のラットから頸静脈で採取した。7時間目の採取後、補充液体 (0 . 9 % の生理食塩液注射 USP) をラットに注射した。血液試料は、Microvetteカリウム - EDTA (エチレンジアミン四酢酸) コーティングチューブ (Sarstedt , Aktiegesellschaft & Co , Germany) に採取し、4 で10分間、3200 rpmで遠心分離した。血漿を回収して、液体クロマトグラフィー / 質量分析 / 質量分析 (LC / MS / MS) 分析により分析するまで、- 80 に保存した。

10

【0100】

血漿濃度の測定

阻害剤 (化合物IおよびV) 濃度は、CHUQ (CHUL) - Research Center (Quebec , Qc , Canada) で開発された手法を使用して、LC / MS / MS分析により決定した。手短に言えば、血清からの抽出のために、100 μ Lの血清試料を個々のチューブに移し、600 μ Lの酢酸アンモニウム (1 mM) を加える。次いで、ステロイドの内部標準を含有するメタノール溶液 (50 μ L) を、各チューブに加える。2 mLのメタノールおよび2 mLの水で調整したStrata - X SPEカラム (Phenomenex , Torrance , CA , USA) 上に試料を移す。各カラムを2 mLのメタノール : 水 (10 : 90 , v / v) で洗浄する。次いで、5 mM酢酸アンモニウムを含有するメタノール5 mLで阻害剤を溶出する。不活性雰囲気下、45 でメタノールを蒸発させ、残査を100 μ Lのメタノール : 水 (85 : 15 , v / v) に溶解する。ステロイド分析のために、HPLCシステムでは、75 \times 4 . 6 mm、3 - μ m逆相Luna Phenyl - Hexylカラム (Phenomenex , Torrance , CA , USA) を、0 . 8 mL / 分の流速で使用する。TurboIonSpray (Applied Biosystems , Canada) を装備したAPI 3000質量分析計を使用して、阻害剤を検出する。ESIはブラスイオンモードで使用した。線形台形公式を使用して、曲線下面積 (AUC) を算出した。

20

30

【0101】

in vivoエストロゲン性アッセイ

体重約20 gの雌性卵巢摘出 (OVX) BALB / cマウスを、Charles - River , Inc . (St - Constant , Qc . , Canada) から入手した。動物は1ケージ当たり5匹収容した。5匹のマウス群を、E1 (8 % EtOH / 92 % PG中に 0 . 02 μ g) または10、50、および250 μ gの17 - HSD1阻害剤 (0 . 1 mL、s . c .) で7日間毎日処置した。化合物の最終用量の投与24時間後に動物を屠殺し、子宮および膈を摘出し、脂肪を切除して秤量した。マウスの全体重も記録した。

40

【0102】

ヌードOVXマウス (異種移植片モデル) におけるE1刺激T - 47D腫瘍増殖の阻害

体重約20 gの雌性OVX BALB / c無胸腺ヌードマウスをCharles - River , Inc . (St - Constant , Qc . , Canada) から入手した。動物は1ケージ当たり5匹収容した。T - 47D腫瘍増殖の阻害については、マウス当たりE1 (0 . 1 μ g) をs . c . 前投与した24時間後に、各マウスの両側腹部に50 μ LのMatrigel (BD Biosciences , Bedford , MA) 中の1 \times 10⁷ 個のT - 47D細胞をs . c . 接種した。T - 47D腫瘍増殖を、15日間、毎日

50

マウス当たり $0.1 \mu\text{g}$ の $\text{E}1$ (s.c.) を使用して刺激した。16日目から、腫瘍を有する動物を、腫瘍容積に基づいて無作為化し、3群に分けた。群1 (対照マウス) は、毎日マウス当たり $100 \mu\text{L}$ のビヒクル単独 (8% EtOH / 92% PG) で、s.c. 処置した。群2 ($\text{E}1$ $0.1 \mu\text{g}$) は、 $\text{E}1$ (マウス当たり $0.1 \mu\text{g}$ / 日、s.c.) で32日間処置した。群3 ($\text{E}1$ $0.1 \mu\text{g}$ + 化合物V $250 \mu\text{g}$) は、マウス当たり $\text{E}1$ ($0.1 \mu\text{g}$ / 日) および化合物V ($250 \mu\text{g}$ / 日) で32日間、混合s.c. 注射で処置した。開始時にマウスの体重を測定し、1週間に2回、外部カリパスにより腫瘍容積を測定し、最大縦径 (長さ) および最大横径 (幅) を決定した。カリパス測定に基づく腫瘍容積は、以下の修正楕円体公式により算出した: 腫瘍容積 = $1/2$ (長さ \times 幅²) (Jensen MM, Jorgensen JT, Binderup T, Kjaer A. Tumor volume in subcutaneous mouse xenografts measured by microCT is more accurate and reproducible than determined by ^{18}F -FDG-microPET or external caliper. BMC Med Imaging 2008; 8:16)。試験の終了時に、マウスに終末麻酔を施し、最終体重および腫瘍サイズを測定した。子宮および膣を摘出し、脂肪を切除して秤量した (Day JM, Foster PA, Tutill HJ, Parsons MF, Newman SP, Chander SK, et al. 17beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1, and not type 12, is a target for endocrine therapy of hormone-dependent breast cancer. Int J Cancer 2008; 122:1931-40; Husen B, Huhtinen K, Poutanen M, Kangas L, Messinger J, Thole H. Evaluation of inhibitors for 17beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in vivo in immunodeficient mice inoculated with MCF-7 cells stably expressing the recombinant human enzyme. Mol Cell Endocrinol 2006; 248:109-13; Husen B, Huhtinen K, Saloniemä T, Messinger J, Thole HH, Poutanen M: Human hydroxysteroid (17-beta) dehydrogenase 1 expression enhances estrogen sensitivity of MCF-7 breast cancer cell xenografts. Endocrinology 2006; 147:5333-9; Messinger J, Hirvelä L, Husen B, Kangas L, Koskimies P, Pentikainen O, et al. New inhibitors of 17beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1. Mol Cell Endocrinol 2006; 248:192-8)。

10

20

30

40

【0103】

統計分析

統計的有意性はDuncan-Kramerの多重範囲検定に従って判定した (Kramer C. Extension of multiple range tests to group with unique numbers of replications. Biometrics 1956; 12:307-10)。0.05未満のP値を、統計的に有意であると見なした。

【0104】

17 - HSD 1 阻害活性

化合物Vおよび化合物Iの IC_{50} 値は、17 - HSD 1を内因性に強く発現する乳癌T-47D細胞株を使用して決定した (図3) (Day JM, Foster PA,

50

Tutill HJ, Parsons MF, Newman SP, Chander SK, et al. 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1, and not type 12, is a target for endocrine therapy of hormone-dependent breast cancer. *Int J Cancer* 2008; 122: 1931-40)。化合物Vは、17-HSD1に対して、IC₅₀値が68 nMの良好な阻害効果を示す。基準として、阻害剤化合物Iは、27 nMのIC₅₀で酵素を阻害した。このIC₅₀値は、同じ細胞株であるが、異なるロットで、また異なる継代数でもある細胞を使用して得られた44 μ Mの以前の値と一致している(Laplante Y, Cadot C, Fournier MA, Poirier D. Estradiol and estrone C-16 derivatives as inhibitors of type 1 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase: blocking of ER⁺ breast cancer cell proliferation induced by estrone. *Bioorg Med Chem* 2008; 16: 1849-60)。

10

【0105】

E1刺激細胞増殖の阻害

エストロゲン感受性乳癌細胞株T-47DにおいてE1により誘導される増殖効果を遮断する化合物VおよびIの有効性を検討した。効力のあるエストロゲンE2へのE1(0.1 nM)の変換により誘導される細胞増殖を阻害するこれらの17-HSD1阻害剤の能力を検討した。E1のこの濃度は、乳癌細胞における細胞内濃度に近い(Pasqualini JR, Cortes-Prieto J, Chetrite G, Talbi M, Ruiz A. Concentrations of estrone, estradiol and their sulfates, and evaluation of sulfatase and aromatase activities in patients with breast fibroadenoma. *Int J Cancer* 1997; 70: 639-43)。化合物Vは、E1により誘導される増殖効果を濃度依存的に阻害することができた(図4A)。化合物Vは、2.5および5 μ Mでそれぞれ、250%から156および125%に細胞増殖を低下させた。

20

【0106】

阻害剤化合物Vを使用したときに得られたE1誘導細胞増殖の低下はまた、このE2誘導体の抗エストロゲン活性の結果である可能性もある。実際、抗エストロゲン化合物は、エストロゲン受容体(ER)に対するE2の作用により媒介されるE2の増殖(エストロゲン様)効果を遮断するであろう。図4Bに示すように、酵素阻害剤化合物Vは、純粋な抗エストロゲンEM-139(Levesque C, Merand Y, Dufour JM, Labrie C, Labrie F. Synthesis and biological activity of new halo-steroidal antiestrogens. *J Med Chem* 1991; 34: 1624-30)がするように、E2(0.1 nM)のER⁺細胞に対する増殖効果を逆戻りさせることはない。この結果により、化合物Vは抗エストロゲン化合物としては働かないが、その代わり17-HSD1により触媒されるE1のE2への変換の阻害剤として作用することが示される。

30

40

【0107】

T-47D(ER⁺)細胞株に対するエストロゲン様活性およびER結合親和性

17-HSD1阻害剤のいかなる望ましくないエストロゲン様活性も検出するために、エストロゲン受容体(ER⁺)を発現することが知られているT-47D細胞株について、細胞増殖アッセイを実施した(Keydar I, Chen L, Karby S, Weiss FR, Delarea J, Radu M, et al. Establishment and characterization of a cell line of human breast carcinoma origin. *Eur J*

50

Cancer 1979; 15: 659 - 70)。化合物VおよびIの増殖活性を、0.5、1、2.5、および5 μ Mで評価した(図5A)。化合物Vは試験されたいかなる濃度でもエストロゲン様ではなかったことが明らかであり、望ましくないエストロゲン性を除去するために3-プロモエチル鎖が重要であることが明白である。

【0108】

ER⁺細胞増殖に対する化合物VおよびIの*in vitro*エストロゲン様活性、それらのERに対する親和性(図5B)を評価したので、エストロゲン様作用に關与する主な受容体アイソフォームを検討した。非標識天然リガンド(E2)がERに対する[³H]17 β -E2の特異的結合の半分を置換する濃度(IC₅₀)を、非線形回帰分析を使用するデータのコンピュータフィッティングにより決定し、次いで、相対的結合親和性(RBA)を算出した。E2のRBAが100%として設定されるのに対して、阻害剤化合物IのRBAは1.5%であった。低いけれども、ERに対するこの結合親和性は、T-47Dエストロゲン感受性細胞株で測定された、増殖(エストロゲン様)活性を説明することができる。化合物Vについては、結合親和性は検出されなかった。

【0109】

マウスにおける阻害剤のエストロゲン様活性

T-47D細胞増殖アッセイで*in vitro*で観察された、化合物Vのエストロゲン性の欠如が、*in vivo*環境に移行されることを確認するために、化合物Vのエストロゲン性を、OVXマウスモデルを使用して、2つのエストロゲン感受性(ER⁺)組織である子宮(図6A)および膣(図6B)の重量測定により検討した。OVXマウス対照群(OVX-CTR)については、22mgの低重量が子宮に対して観察された。しかしながら、OVXマウスにs.c.投与されると、E1(0.02 μ g/マウス/日)は17 β -HSD1によりE2に変換され、OVX-CTRに比較して、2.5倍の子宮重量の増加(22mg対55mg; P<0.01)が観察された。すべての化合物V用量群(10、50、および250 μ g/マウス/日)からの子宮重量については、7日間の処置後、OVX-CTR群との差は有意ではなかった(それぞれ25、24、および23mg)。したがって、これらの結果により、化合物Vが*in vivo*で非エストロゲン性であることが確認された。膣重量の測定により、化合物Vについて、上記での子宮の観察と同じ傾向があることが明確に実証された。

【0110】

阻害剤の血漿濃度

阻害剤のバイオアベイラビリティを決定するために、阻害剤化合物VおよびIの単回皮下注射(2.3mg/kg)を、ラットの異なる2群に行った。種々の時点での阻害剤化合物VおよびIの平均血漿濃度および対応する曲線下面積(AUC)を図7に提示する。各試料採取時点の血漿濃度を比較して、有意差が生じる時点を決した。最初に、両方の阻害剤について、最大血漿濃度(C_{max})が注射3時間後に達成されることがわかった。化合物Vについては、73.8および50.7 ng/mLの値がそれぞれ、注射の7および12時間後に見出された。24時間後に、11.7 ng/mLの血漿濃度が化合物Vについて測定され、したがって、1146 ng*h/mLのAUC_{0-24時間}が化合物Vに対して得られた。

【0111】

OVXヌードマウスにおけるE1刺激T-47D腫瘍増殖の阻害

化合物Vが1日単回s.c.注射後に血漿中に見出されることが証明された後、*in vivo*での化合物Vの有効性を検討した。接種がマウスの両側腹部になされたことを除いて、Dayらにより記載された手順(Day JM, Foster PA, Tutill HJ, Parsons MF, Newman SP, Chander SK, et al. 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1, and not type 12, is a target for endocrine therapy of hormone-dependent breast cancer. Int J Cancer 2008; 122: 1931 - 40

）どおりに、雌性OVX Balb/cヌードマウスにマトリゲル中の 1×10^7 T47-D (ER⁺)細胞を接種した。17 β -HSD1によりE2に変換された後に腫瘍増殖を刺激するE1 (0.1 μ g/日)をマウスに投与した。0.1 μ g E1/マウス・s.c.による15日間処置の後に良好に定着した腫瘍を有するマウスのみを選択して、試験を継続した。250 μ g/マウスの用量が、非エストロゲン性であることが判明した、*in vivo*のエストロゲン性アッセイで試験された最高用量であるので、化合物Vをこの用量で使用した。図8に、0.1 μ g E1/マウス/日で刺激された腫瘍増殖に対する化合物Vの効果を示す。処置の最初の18日間では、腫瘍は活発に増殖せず、処置開始時のそれらの初期サイズを維持した。19日目から、対照 (CTR) 群の腫瘍容積は減少し始めて、28日後に初期容積の約74%に到達し、32日目 (77%) まで同じレベルが継続した。しかしながら、E1処置群では、腫瘍は増殖してそれらの初期サイズの136%に到達した。一方、E1-化合物V処置マウスでは、腫瘍の増殖は阻害され (74%)、処置の終了時にはCTR群のレベルにまで低下した (28および32日目に $P < 0.01$ 、E1-化合物V対E1)。明らかに、化合物Vは、17 β -HSD1の阻害により腫瘍内でのE2の形成を遮断し、したがって腫瘍増殖を遮断する。

【0112】

試験の終了時に、マウスの体重を記録し、エストロゲン感受性組織 (子宮および膣) を分析のために摘出した。32日間の処置期間にわたるマウス体重に対する効果はE1にも化合物Vにもなく (図9)、250 μ g/日/マウス (s.c.) において化合物Vには明白な毒性はないことが示された。子宮および膣の重量は両方のE1処置群で有意に増加したが ($P < 0.01$ 、E1およびE1-化合物V対CTR)、化合物Vによる処置は、E1刺激子宮および膣重量の増加に対して何ら効果がなかった (図9Bおよび9C)。

【0113】

3-(2-ヒドロキシエチル)エストラ-1(10), 2, 4-トリエン-17-ジオキソラン(2)の合成

-78 $^{\circ}$ CのBH₃-ジメチルスルフィド (THF中2.0 M、10.4 mL) の無水THF (70 mL) 溶液に、3-ビニル-エストラ-1(10), 2, 4-トリエン-17-ジオキソラン(1) (2.25 g、6.93 mmol) のTHF (5 mL) 溶液を、アルゴン雰囲気下で滴下して加えた。得られた溶液を室温で16時間にわたり攪拌した。次いで、溶液を0 $^{\circ}$ Cに冷却し、NaHCO₃水溶液 (1 M、27.7 mL) を加え、その後30% H₂O₂ (11.7 mL) を加えた。この溶液を、室温で3時間にわたり激しく攪拌した後、EtOAc (50 mL) で希釈した。得られた溶液を水 (200 mL) に注ぎ、EtOAc (5 \times 75 mL) で抽出した。有機層を合わせて食塩水で洗浄し、MgSO₄で乾燥して減圧下で蒸発させた。粗化合物をフラッシュクロマトグラフィー (EtOAc/ヘキサン: 4:6) により精製して、1.18 g (50% 収率) の化合物2を得た。¹H NMR: (400 MHz, アセトン-d₆) 0.88 (s, 18-CH₃), 1.27-2.38 (未帰属CHおよびCH₂), 2.73 (t, J = 7.1 Hz, CH₂CH₂OH), 2.82 (m, 6-CH₂), 3.62 (br t, OH), 3.71 (m, CH₂CH₂OH), 3.87 (m, 2 \times ジオキソランのCH₂), 6.92 (s, 4-CH), 6.97 (d, J = 8.0 Hz, 2-CH), 7.19 (d, J = 7.9 Hz, 1-CH); ¹³C NMR (100.6 MHz およびアセトン-d₆): 13.9, 22.1, 25.9, 27.0, 28.4, 28.6, 30.7, 33.9, 39.0, 39.1, 44.1, 45.9, 49.3, 63.1, 64.3, 64.9, 118.8, 125.1, 126.2, 129.4, 136.1, 136.5, 137.7。C₂₂H₃₁O₃のLRMS [M+H]⁺ 343.4 m/z。

【0114】

3-[2-(ベンジルオキシ)エチル]エストラ-1(10), 2, 4-トリエン-17-オン(3)の合成

化合物2 (1.1 g、3.5 mmol) の無水DMF (50 mL) 溶液に、NaH (油中60%) (168 mg、4.2 mmol) をアルゴン雰囲気下、0 $^{\circ}$ Cで加えた。この溶

10

20

30

40

50

液を0 で1時間にわたり攪拌し、臭化ベンジル(898mg、627 μ L、5.3mmol)を1回で加えた。続いて、溶液を室温に戻した後、一晚攪拌して、水(300mL)に注ぎ、EtOAc(3 \times 75mL)で抽出した。有機層を合わせて食塩水で洗浄し、MgSO₄で乾燥して減圧下で蒸発させた。次いで、粗化合物をHCl(10%)のアセトン水溶液(1:1)(50mL)で処理し、室温で5時間にわたり攪拌した。得られた溶液を、NaHCO₃(10%)水溶液を使用して中和し、EtOAc(2 \times 75mL)で抽出した。有機層を合わせて食塩水で洗浄し、MgSO₄で乾燥して減圧下で蒸発させた。粗化合物をフラッシュクロマトグラフィー(EtOAc/ヘキサン:1:9)により精製して、1.04g(73%収率、2工程)の化合物3を得た。¹H NMR(400MHz, CDCl₃): 0.91(s, 18-CH₃), 1.20-2.40(未帰属CHおよびCH₂), 2.51(dd, J₁=8.5Hz, J₂=18.9Hz, 16-CH), 2.88(m, 6-CH₂およびCH₂CH₂O), 3.68(t, J=7.3Hz, CH₂CH₂O), 4.54(s, OCH₂Ph), 6.97(s, 4-CH), 7.02(d, J=8.0Hz, 2-CH), 7.22(d, J=7.9Hz, 1-CH), 7.23-7.38(m, 5H, OCH₂Ph); ¹³C NMR(100.6Hz, CDCl₃): 13.8, 21.6, 25.7, 26.5, 29.4, 31.6, 35.8, 35.9, 38.2, 44.3, 48.0, 50.5, 71.3, 72.9, 125.3, 126.3, 127.5, 127.6, 128.3, 129.6, 136.3(2 \times), 136.4(2 \times), 137.6, 138.4, 232.5。C₂₇H₃₃O₂のLRMS [M+H]⁺ 389.4m/z。

10

20

【0115】

3-{(E)-[(16E)-3-[2-(ベンジルオキシ)エチル]-17-オキソエストラ-1(10), 2, 4-トリエン-16-イリデン]メチル}ベンズアミド(4)の合成

化合物3(400mg、1.03mmol)のEtOH溶液(25mL)に、3-ホルミル-ベンズアミド(344mg、2.05mmol)およびKOH(10%)水溶液(4.5mL)を加えた。得られた反応混合物を30分間にわたり還流加熱した。得られた溶液を水(200mL)で希釈して、HCl水溶液(10%)で中和し、EtOAc(3 \times 50mL)で抽出した。有機層を合わせて食塩水で洗浄し、MgSO₄で乾燥して減圧下で蒸発させ、400mg(76%収率)の化合物4を得た。¹H NMR(400MHz, CDCl₃): 1.00(s, 18-CH₃), 1.25-2.65(未帰属CHおよびCH₂), 2.89(t, J=7.3Hz, CH₂CH₂O), 2.93(m, 6-CH₂), 3.00(m, 15-H), 3.69(t, J=7.3Hz, CH₂CH₂O), 4.54(s, OCH₂Ph), 5.82および6.17(2 broad s, NH₂), 6.99(s, 4-CH), 7.03(d, J=8.0Hz, 2-CH), 7.22-7.38(m, 5H, OCH₂Phの4Hおよび1-CHの1H), 7.49(d, 1H, J=3.7Hz, 1'-CH), 7.52(t, J=7.7Hz, OCH₂Phの1H), 7.71(d, J=7.8Hz, 6"-CH), 7.77(d, J=7.8Hz, 4"-CH), 8.04(s, 2"-CH); ¹³C NMR(100.6Hz, CDCl₃): 14.5, 25.7, 26.9, 29.1, 29.3, 31.7, 35.8, 37.8, 44.3, 47.9, 48.6, 71.2, 72.9, 125.3, 126.4, 126.9, 127.5, 127.6, 127.7, 128.4(2 \times), 129.0, 129.2, 129.6, 131.9, 133.5, 133.8, 136.2, 136.3, 136.4, 137.4, 137.5, 138.4, 168.9, 209.4。C₃₅H₃₇NO₃NaのLRMS [M+Na]⁺ 542.4m/z。

30

40

【0116】

3-{[(17)-17-ヒドロキシ-3-(2-ヒドロキシエチル)エストラ-1(10), 2, 4-トリエン-16-イル]メチル}ベンズアミド(IV)の合成

化合物4を含むMeOHとDCM(4:1)の混合溶液に、NaBH₄(85mg、2.23mmol)を加えた。この溶液を室温で1時間にわたり攪拌した。得られた溶液を

50

真空下で濃縮してDCM (30 mL) で希釈し、水で洗浄してMgSO₄ で乾燥し、減圧下で蒸発させて、375 mg の粗17 - アルコールを得た。続いて、粗17 - アルコールを、アルゴン雰囲気下でEtOH (100 mL) に溶解した後、木炭上のPd (10%) (80 mg) を加えた。反応容器をH₂ で3回フラッシュし、36時間にわたり攪拌した後、セライト上で濾過し、減圧下で蒸発させた。粗化合物をフラッシュクロマトグラフィー (EtOAc / ヘキサン : 4 : 6) により精製して、255 mg (84% 収率、2工程) の化合物IVを得た。¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) : 0.90 (s, 18 - CH₃), 1.10 - 2.55 (未帰属CHおよびCH₂), 2.74 (t, J = 7.2 Hz, CH₂CH₂OH), 2.79 (m, 6 - CH₂), 3.17 (dd, J₁ = 2.7 Hz, J₂ = 12.5 Hz, 1H), 3.71 (t, J = 7.2 Hz, CH₂CH₂OH), 3.83 (d, J = 9.4 Hz, 17 - H), 6.89 (s, 1H, 4 - CH), 6.96 (d, J = 8.0 Hz, 2 - CH), 7.19 (d, J = 8.0 Hz, 1 - CH), 7.35 - 7.45 (m, 5" - CHおよび6" - CH), 7.70 (d, J = 7.0 Hz, 4" - CH), 7.75 (s, 2" - CH); ¹³C NMR (100.6 Hz, CD₃OD) : 13.3, 27.4, 28.6, 30.5, 33.0, 38.9, 39.0, 39.7, 39.8, 43.3, 45.4, 50.0, 64.4, 83.0, 126.0, 126.2, 127.2, 129.1, 129.2, 129.4, 130.4, 133.5, 134.8, 137.2, 137.5, 139.3, 144.3, 172.0。C₂₈H₃₆NO₃ のLRMS [M + H]⁺ 434.4。

10

20

【0117】

3 - { [(16, 17) - 3 - (2 - ブロモエチル) - 17 - ヒドロキシエストラ - 1(10), 2, 4 - トリエン - 16 - イル] メチル } ベンズアミド (V) の合成

化合物IV (175 mg、0.40 mmol) のDCM溶液 (15 mL) に、トリフェニルホスフィン (200 mg、0.76 mmol) および四臭化炭素 (252 mg、0.76 mmol) を0 で加えた。この溶液を0 で40分間にわたり攪拌した後、トリフェニルホスフィン (100 mg、0.38 mmol) および四臭化炭素 (126 mg、0.38 mmol) をさらに加えた。溶液を0 でさらに1時間攪拌した。得られた混合物を水 (150 mL) に注ぎ、DCM (50 mL) で抽出して、MgSO₄ で乾燥し減圧下で蒸発させた。粗化合物をフラッシュクロマトグラフィー (DCM / MeOH : 97 : 3) により精製して、168 mg (84% 収率) の化合物Vを得た。¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) : 0.91 (s, 18 - CH₃), 1.10 - 2.55 (未帰属CHおよびCH₂), 2.82 (m, 6 - CH₂), 3.06 (t, J = 7.3 Hz, CH₂CH₂Br), 3.17 (dd, J₁ = 2.7 Hz, J₂ = 12.5 Hz, 1H), 3.55 (t, J = 7.2 Hz, CH₂CH₂Br), 3.84 (d, J = 9.4 Hz, 17 - H), 6.91 (s, 4 - CH), 6.97 (d, J = 8.0 Hz, 2 - CH), 7.22 (d, J = 8.0 Hz, 1 - CH), 7.36 - 7.44 (m, 5" - CHおよび6" - CH), 7.69 (d, J = 7.0 Hz, 4" - CH), 7.75 (s, 2" - CH); ¹³C NMR (100.6 Hz, CD₃OD) : 13.3, 27.3, 28.5, 30.5, 33.0, 34.0, 38.8, 38.9, 39.6, 40.1, 43.3, 45.4, 45.7, 50.0, 83.0, 126.0, 126.4, 127.0, 129.1, 129.4, 130.1, 133.5, 134.8, 137.4, 137.8, 140.0, 144.3, 175.1。C₂₈H₃₄NO₂ のLRMS [M + H - Br]⁺ 496.0および498.1; HPLC (MeOH / H₂O : 70 : 30) : 純度98.5%。

30

40

【0118】

3 - { [(16, 17) - 3 - (2 - クロロエチル) - 17 - ヒドロキシエストラ - 1(10), 2, 4 - トリエン - 16 - イル] メチル } ベンズアミド (9) の合成

化合物7 (20 mg、0.05 mmol) のDCM溶液 (1.0 mL) に、クロロジメチル (フェニルチオ) - クロリドメタナミニウム (45 mg、0.19 mmol) をアルゴン雰囲気下、0 で加えた。次いで、この溶液を室温に戻し、さらに3時間攪拌した。

50

粗化合物をフラッシュクロマトグラフィー（DCM/MeOH：97：3）により直接精製して、12 mg（57%）の化合物9を得た。¹H NMR（MeOD）：0.91（s, 3H, 18-CH₃）, 1.14-2.48（残りのCHおよびCH₂）, 2.82（m, 2H, 6-CH₂）, 2.96（t, 2H, J = 7.3 Hz, 3-CH₂CH₂Cl）, 3.19（m, 1H）, 3.69（t, 2H, J = 7.40 Hz, 3-CH₂CH₂Cl）, 3.84（d, 1H, J = 9.4 Hz, 17-H）, 6.92（s, 1H, 4-CH_{ar}）, 6.98（d, 1H, CH_{ar}, J = 8.0 Hz）, 7.22（d, 1H, CH_{ar}, J = 8.0 Hz）, 7.36-7.44（m, 2H, CH_{ar}-ベンズアミド）, 7.69（d, 1H, CH_{ar}-ベンズアミド, J = 7.0 Hz）, 7.75（s, 1H, CH_{ar}-ベンズアミド）; ¹³C NMR（MeOD）：13.3, 27.3, 28.6, 30.5, 33.0, 38.8, 39.0, 39.6, 39.8, 43.4, 45.4, 45.7, 46.0, 50.0, 83.0, 126.0, 126.4, 127.1, 129.1, 129.4, 130.3, 133.6, 134.8, 136.7, 137.8, 140.0, 144.4, 172.7。

10

【0119】

3- {[(16, 17) - 17-ヒドロキシ-3-(2-ヨードエチル) エストラ-1(10), 2, 4-トリエン-16-イル] メチル} ベンズアミド(10)の合成

化合物8（35 mg、0.07 mmol）のアセトン溶液（5 mL）に、ヨウ化ナトリウム（15 mg、0.1 mmol）を加えた。この溶液を室温でアルゴン雰囲気下、24時間にわたり攪拌した後、もう1回ヨウ化ナトリウム（52 mg、mmol）を加えた。溶液をさらに24時間攪拌した。続いて、反応混合物を水（100 mL）に注ぎ、EtOAc（3×25 mL）で3回抽出した。合わせた有機層を食塩水で洗浄し、MgSO₄で乾燥し濃縮した。粗化合物をフラッシュクロマトグラフィー（DCM/MeOH：95：5）により精製して、18 mg（47%）の化合物10を得た。¹H NMR（MeOD）：0.91（s, 3H, 18-CH₃）, 1.14-2.03（残りのCHおよびCH₂）, 2.81（m, 2H, 6-CH₂）, 3.07（t, 2H, J = 7.7 Hz, 3-CH₂CH₂I）, 3.19（m, 1H）, MeODピーク下で3.35（t, 2H, 3-CH₂CH₂I）, 3.84（d, 1H, J = 9.4 Hz, 17-H）, 6.92（s, 1H, 4-CH_{ar}）, 6.95（d, 1H, CH_{ar}, J = 8.0 Hz）, 7.21（d, 1H, CH_{ar}, J = 8.0 Hz）, 7.37-7.42（m, 2H, CH_{ar}-ベンズアミド）, 7.69（d, 1H, CH_{ar}-ベンズアミド, J = 7.0 Hz）, 7.76（s, 1H, CH_{ar}-ベンズアミド）; ¹³C NMR（MeOD）：4.8, 11.9, 25.9, 27.2, 29.1, 31.6, 37.4, 37.6, 38.2, 39.7, 42.0, 44.0, 44.3, 48.6, 81.6, 124.6, 125.1, 125.2, 127.7, 128.0, 128.4, 132.1, 133.4, 136.5, 137.8, 138.6, 143.0, 171.3。

20

30

【0120】

3- {[(16, 17) - 3-エテニル-17-ヒドロキシエストラ-1(10), 2, 4-トリエン-16-イル] メチル} ベンズアミド(11)の合成

化合物10（20 mg）の無水ジオキサン溶液（1.5 mL）に、TBAF（THF中1.0 M、37 mg）をアルゴン雰囲気下、室温で加えた。次いで、この溶液を室温で3時間にわたり攪拌した。次いで、得られた溶液を水（100 mL）に注ぎ、EtOAc（3×25 mL）で3回抽出した。合わせた有機層を食塩水で洗浄し、MgSO₄で乾燥し濃縮した。粗化合物をフラッシュクロマトグラフィー（DCM/MeOH：95：5）により精製して、8 mg（53%）の化合物11を得た。¹H NMR（CDCl₃）：0.88（s, 3H, 18-CH₃）, 1.11-2.49（残りのCHおよびCH₂）, 2.83（m, 2H, 6-CH₂）, 3.18（m, 1H）, 3.87（d, 1H, J = 9.5 Hz, 17-H）, 5.18（d, 1H, CH₂=CH-, J = 10.9 Hz）, 5.69（d, 1H, CH₂=CH-, J = 17.5 Hz）, (5.7および6.2, 2 br s, 2H, CONH₂）, 6.66（dd, 1H, CH₂=CH, J₁ = Hz

40

50

, J_2 Hz), 7.11 (s, 1H, CHar), 7.20 (d, 1H, CHar, $J = 8.2$ Hz), 7.26 (d, 溶媒ピーク下, 1H, CHar), 7.38 (m, 2H, CHar), 7.40 (d, 1H, $J = 7.2$ Hz, CHar), 7.71 (s, 1H, CHar); ^{13}C NMR (MeOD): 13.3, 27.3, 28.6, 30.5, 33.0, 38.9, 39.0, 39.6, 43.4, 45.4, 45.9, 50.0, 83.0, 112.8, 124.4, 126.0, 126.4, 127.8, 129.1, 129.4, 133.5, 134.8, 136.2, 137.8, 138.2, 141.4, 144.4, 170.0。

【0121】

3 - { [(16, 17) - 17 - ヒドロキシ - 3 - (プロブ - 2 - エン - 1 - イルオキシ) エストラ - 1 (10), 2, 4 - トリエン - 16 - イル] メチル } ベンズアミド (13) の合成

化合物12 (150 mg、0.37 mmol) のアセトン溶液 (3 mL) に、NaOH (50 mg、1.25 mmol) および臭化アリル (40 μL 、0.46 mmol) を加えた。次いで、得られた溶液を60 で5時間にわたりで撹拌した。次いで、反応混合物をEtOAcで希釈し、塩化アンモニウムの飽和溶液で洗浄した。有機層を食塩水で洗浄し、 MgSO_4 で乾燥し、濃縮して、165 mg (99%) の化合物13を得た。粗化合物13はさらに精製することなく次の工程で使用するのに十分な純度があることがわかった。 ^1H NMR (アセトン- d_6): 0.87 (s, 3H, 18-CH₃), 1.07 - 2.47 (残りのCHおよびCH₂), 2.79 (m, 2H, 6-CH₂), 3.15 (m, 1H), 3.83 (d, 1H, $J = 10.2$ Hz, 17-H), 4.49 (d, 2H, OCH₂CH=CH₂, $J = 5.3$ Hz), 5.26 (d, 1H, $J = 10.4$ Hz, CH₂=CH), 5.39 (d, 1H, $J = 17.3$ Hz, CH₂=CH), 6.04 (m, 1H, CH₂=CH), 6.12 および 6.33 (2 br s, CONH₂), 6.62 (s, 1H, CHar), 6.71 (dd, 1H, $J_1 = 2.4$ Hz, $J_2 = 8.6$ Hz), 7.18 (d, 1H, CHar, $J = 8.6$ Hz), 7.33 (m, 2H, CHar), 7.60 (d, 1H, CHar, $J = 7.3$ Hz), 7.71 (s, 1H, CHar)。

【0122】

3 - { [(16, 17) - 17 - ヒドロキシ - 3 - (2 - ヒドロキシエトキシ) エストラ - 1 (10), 2, 4 - トリエン - 16 - イル] メチル } ベンズアミド (14) の合成

過ヨウ素酸ナトリウム (108 mg、0.50 mmol) を水 (0.5 mL) に加え、0 で5分間にわたり撹拌した後、続けて $\text{RuCl}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (4 mg、0.02 mmol)、EtOAc (1 mL)、およびアセトニトリル (1 mL) を加えた。次いで、化合物13 (150 mg、0.33 mmol) をこの溶液に加え、反応混合物を約2分間撹拌した。次いで、 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (2 mL) の飽和水溶液の添加により、反応混合物をクエンチした。相を分離して、水相をEtOAc (3 \times 3 mL) で抽出した。合わせた有機層を、 Na_2SO_4 で乾燥し濃縮した。次いで、残渣を、THF (1 mL) と水 (1 mL) の混合物に溶解した後、 NaBH_4 (13 mg、0.34 mmol) を加えた。反応混合物を室温で20分間にわたり撹拌した後、続けて水 (10 mL) を加えた。次いで、反応混合物をDCM (3 \times 15 mL) で抽出して、合わせた有機層を飽和炭酸水素塩溶液で洗浄し、 Na_2SO_4 で乾燥し濃縮した。残渣をTHF (1 mL) および水 (1 mL) に0

で溶解した後、過ヨウ素酸ナトリウム (144 mg、0.67 mmol) を小分けにして加えた。続いて、溶液を室温で20分間にわたり撹拌した。次いで、エチレングリコール (50 μL) を加え、反応混合物を水 (3 mL) で希釈した。反応混合物をEtOAc (3 \times 5 mL) で抽出し、合わせた有機層を Na_2SO_4 で乾燥し濃縮した。残渣をTHF (1 mL) と水 (1 mL) の混合物に再溶解した後、 NaBH_4 (13 mg、0.34 mmol) を加えた。得られた反応混合物を室温で1時間にわたり撹拌した後、水 (1 m

L)を加えた。反応混合物をDCM(3×5 mL)で抽出して、合わせた有機層を飽和炭酸水素塩溶液で洗浄し、Na₂SO₄で乾燥し濃縮した。粗化合物をフラッシュクロマトグラフィー(EtOAc/ヘキサン:9:1)により精製して、25 mg(15%)の化合物14を得た。¹H NMR(MeOD): 0.91(s, 3H, 18-CH₃), 0.96-2.48(残りのCHおよびCH₂), 2.79(m, 2H, 6-CH₂), 3.18(m, 1H), 3.84(m, 3H, OCH₂CH₂OHおよび17-H), 3.99(m, 2H, OCH₂CH₂OH), 6.69(d, 1H, 4-CH_{ar}, J=2.8 Hz), 6.72(d, 1H, CH_{ar}, J=2.7 Hz), 7.17(d, 1H, CH_{ar}, J=8.0 Hz), 7.38-7.42(m, 2H, CH_{ar}-ベンズアミド), 7.69(d, 1H, CH_{ar}-ベンズアミド, J=7.4 Hz), 7.76(s, 1H, CH_{ar}-ベンズアミド)。

10

【0123】

3-{[(16, 17)-3-(2-プロモエトキシ)-17-ヒドロキシエストラ-1(10), 2, 4-トリエン-16-イル]メチル}ベンズアミド(15)の合成

化合物14(20 mg、0.46 mmol)を含む無水DCM(2 mL)と無水THF(1 mL)の混合溶液に、トリフェニルホスフィン(23 mg、0.87 mmol)および四臭化炭素(29 mg、0.87 mmol)を0 で加えた。反応混合物を0 で40分間にわたり攪拌した後、トリフェニルホスフィン(20 mg、0.46 mmol)および四臭化炭素(23 mg、0.87 mmol)をさらに加えた。反応混合物を0 でさらに40分間攪拌した後、トリフェニルホスフィン(20 mg、0.46 mmol)および四臭化炭素(23 mg、0.87 mmol)をさらに加えた。次いで、反応混合物を0 でさらに1時間攪拌した。続いて、反応混合物を水(100 mL)に注ぎ、DCM(2×25 mL)で抽出した。合わせた有機層を、MgSO₄で乾燥し濃縮した。粗化合物をフラッシュクロマトグラフィー(DCM/エーテル/MeOH:75:20:5)により精製して、12 mg(52%)の化合物15を得た。¹H NMR(MeOD): 0.91(s, 3H, 18-CH₃), 1.13-2.48(残りのCHおよびCH₂), 2.78(m, 2H, 6-CH₂), 3.17(m, 1H), 3.67(t, 2H, J=7.2 Hz, 3-OCH₂CH₂Br, J=Hz), 3.84(d, 1H, J=9.4 Hz, 17-H), 4.25(t, 2H, 3-OCH₂CH₂Br, J=5.7 Hz), 6.62(s, 1H, 4-CH_{ar}), 6.69(d, 1H, CH_{ar}, J=8.7 Hz), 7.19(d, 1H, CH_{ar}, J=8.6 Hz), 7.38-7.42(m, 2H, CH_{ar}-ベンズアミド), 7.69(d, 1H, CH_{ar}-ベンズアミド, J=7.4 Hz), 7.76(s, 1H, CH_{ar}-ベンズアミド); ¹³C NMR(CDCl₃): 13.3, 27.5, 28.6, 30.7(2x), 33.0, 38.8, 39.0, 39.8, 43.3, 45.4(2x), 49.9, 69.2, 83.0, 113.3, 115.6, 126.0, 127.4, 129.1, 129.4, 133.6, 134.5, 134.8, 139.1, 144.4, 157.5, 172.4。

20

30

【0124】

(8R, 9S, 13S, 14S)-13-メチル-3-[(E)-2-フェニルエテニル]-6, 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16-デカヒドロスピロ[シクロペンタ[a]フェナントレン-17, 2'-[1, 3]ジオキサラン](16)の合成

アルゴン雰囲気下の化合物1(350 mg、1.07 mmol)のDCM(75 mL)溶液に、スチレン(257 μL、233 mg、2.24 mmol)を加えた。この溶液を5分間にわたりアルゴン通気によりパージした後、Grubbs(II)触媒(48 mg、0.056 mmol)を加えた。続いて、反応混合物を、アルゴン雰囲気下で24時間にわたり還流した。次いで、反応混合物を水に注ぎ、DCM(2×50 mL)で2回抽出し、相分離装置(Biotage)を使用して濾過し濃縮した。粗化合物をフラッシュクロマトグラフィー(EtOAc/ヘキサン:95:5)により精製して、50 mg(11%)の化合物16を得た。¹H NMR(CDCl₃): 0.89(s, 3H, 18-CH₃), 1.34-2.39(残りのCHおよびCH₂), 2.90(m, 2H, 6-CH

40

50

₂), 3.89 (m, 4H, 2 × ジオキソランのCH₂), 7.19 (s, 2H,), 7.23 - 7.38 (m, 6H, CH_{ar} および CH = CH), 7.58 (d, 2H, CH_{ar}, J = 8.2 Hz)。

【0125】

3 - { (E) - [(16E) - 17 - オキソ - 3 - [(E) - 2 - フェニルエテニル] エストラ - 1 (10), 2, 4 - トリエン - 16 - イリデン] メチル } ベンズアミド (17) の合成

化合物 16 (42 mg、0.105 mmol) のメタノール溶液 (3 mL) に、HCl 10% (1 mL) 水溶液を加えた。次いで、反応混合物を室温で 2 時間にわたり攪拌した。次いで、反応混合物を炭酸水素ナトリウム溶液 (50 mL) に注ぎ、EtOAc (2 × 20 mL) で 2 回抽出した。合わせた有機層を食塩水で洗浄し、MgSO₄ で乾燥し濃縮して、40 mg の脱保護ケトン生成物を得た。¹H NMR (CDCl₃): 0.92 (s, 3H, 18 - CH₃), 1.25 - 2.53 (残りのCHおよびCH₂), 2.95 (m, 2H, 6 - CH₂), 7.08 (s, 2H), 7.23 - 7.38 (m, 6H, CH_{ar} + CH = CH), 7.51 (d, 2H, J = 8.4 Hz)。次いで、粗ケトン化合物 (38 mg) をエタノール (5 mL) に溶解した後、3 - ホルミル - ベンズアミド (34 mg、0.227 mmol) および KOH 水溶液 (10%、0.6 mL) を加えた。次いで、反応混合物を 60 分間にわたり還流加熱した。次いで、得られた反応混合物を水 (50 mL) で希釈して、HCl 水溶液 (10%) で中和し、EtOAc (3 × 20 mL) で抽出した。合わせた有機層を食塩水で洗浄し、MgSO₄ で乾燥し濃縮して、40 mg (72%) の化合物 17 を得た。¹H NMR (CDCl₃): 1.03 (s, 3H, CH₃ - 18), 1.25 - 2.67 (残りのCHおよびCH₂), 2.99 (m, 2H, 6 - CH₂), 5.7 および 6.1 (br s, 2H, CONH₂), 7.08 (s, 1H), 7.23 - 7.52 (m, 8H, CH_{ar} および PhCH = CHPh), 7.71 (d, 1H, CH_{ar}, J = Hz), 7.77 (d, 1H, CH_{ar}, J = Hz), 8.04 (s, 1H, CH_{ar})。

【0126】

3 - { (E) - [(16E, 17) - 17 - ヒドロキシ - 3 - [(E) - 2 - フェニルエテニル] エストラ - 1 (10), 2, 4 - トリエン - 16 - イリデン] メチル } ベンズアミド (18) の合成

化合物 17 (40 mg、0.082 mmol) の MeOH 溶液 (3 mL) に、NaBH₄ (10 mg、0.26 mmol) を加えた。次いで、反応混合物を室温で 1 時間にわたり攪拌し、続いて水に注ぎ、EtOAc (20 mL) で 2 回抽出した。合わせた有機層を食塩水で洗浄し、MgSO₄ で乾燥し濃縮した。粗化合物をフラッシュクロマトグラフィー (EtOAc / ヘキサン: 95 : 5) により精製して、24 mg (60%) の化合物 18 を得た。¹H NMR (CDCl₃): 0.76 (s, 3H, 18 - CH₃), 0.79 - 2.46 (残りのCHおよびCH₂), 2.80 (m, 2H, 6 - CH₂), 4.18 (d, 1H, 17 - H, J = 9.0 Hz), 5.7 および 6.1 (br s, 2H, CONH₂), 6.60 (s, 1H, C = CH - ベンズアミド), 7.08 (s, 2H, CH_{ar}), 7.23 - 7.62 (m, 8H, CH_{ar} および PhCH = CHPh), 7.71 (d, 1H, CH_{ar}, J = 7.8 Hz), 7.77 (d, 1H, CH_{ar}, J = 7.8 Hz), 8.04 (s, 1H)。

【0127】

3 - { [(16, 17) - 17 - ヒドロキシ - 3 - (2 - フェニルエチル) エストラ - 1 (10), 2, 4 - トリエン - 16 - イル] メチル } ベンズアミド (19) の合成

室温およびアルゴン雰囲気下の化合物 18 (20 mg、0.041 mmol) を含む EtOH / DCM (1 : 1) 混合溶液 (3 mL) に、木炭上のパラジウム (10%) (5 mg) を加えた。次いで、反応容器を水素で 3 回フラッシュし、24 時間にわたり攪拌した。得られた反応混合物をセライト上で濾過し、次いで濃縮した。粗化合物をフラッシュクロマトグラフィー (EtOAc / ヘキサン: 7 : 3) により精製して、6 mg (32%)

の化合物 19 を得た。 ^1H NMR (CDCl_3) : 0.88 (s, 3H, 18- CH_3), 0.91 - 2.50 (残りのCHおよび CH_2), 2.77 - 2.93 (m, 6H, 6- CH_2 および $2 \times \text{CH}_2\text{Ph}$), 3.17 (m, 1H), 3.87 (m, 1H), 5.7 および 6.1 (br s, 2H, CONH_2), 6.94 (s, 1H), 7.19 (dd, 1H, $J_1 = 7.9\text{ Hz}$, $J_2 = 1.3\text{ Hz}$), 7.22 - 7.53 (m, 7H, CHar), 7.60 (d, 1H, $J = 5.9\text{ Hz}$), 7.72 (s, 1H); ^{13}C NMR (MeOD) : 13.3, 27.4, 28.7, 30.5, 33.0, 38.7, 38.8, 39.0, 39.2, 39.7, 43.4, 45.4, 45.7, 50.0, 83.0, 126.0, 126.1, 126.8 (2x), 129.1, 129.2 (2x), 129.4, 129.5 (2x), 129.9, 133.5, 134.8, 137.4, 139.0, 140.1, 143.3, 144.4, 167.6。

10

【0128】

(8R, 9S, 13S, 14S) - 3 - [(1E) - 3 - (ベンジルオキシ)プロブ - 1 - エン - 1 - イル] - 13 - メチル - 6, 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16 - デカヒドロスピロ[シクロペンタ[a]フェナントレン - 17, 2' - [1, 3]ジオキソラン](20)の合成

アルゴン雰囲気下の化合物 1 (1.5 g、4.82 mmol) のDCM溶液(400 mL)に、[(プロブ - 2 - エン - 1 - イルオキシ)メチル]ベンゼンベンジルプロブ - 2 - エン - 1 - イルエーテル(1.3 g、9.55 mmol)を加えた。続いて、反応混合物を5分間にわたり攪拌した後、Grubbs (II) 触媒(204 mg、0.24 mmol)を加えた。次いで、得られた溶液を、アルゴン雰囲気下、60 で48時間にわたり攪拌した。次いで、反応混合物を濃縮し、溶出液としてEtOAc/ヘキサン(5:95)を使用してフラッシュクロマトグラフィーにより精製し、130 mg (6%)の化合物 20 を得た。 ^1H NMR (CDCl_3) : 0.91 (s, 3H, 18- CH_3), 1.25 - 2.42 (残りのCHおよび CH_2), 2.78 (m, 2H, 6- CH_2), 3.74 - 4.06 (m, 4H, $2 \times$ ジオキソランの CH_2), 4.18 (d, 2H, $J = 6.1\text{ Hz}$, $\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{Ph}$), 4.56 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{Ph}$), 6.24 - 6.31 (m, 1H, $\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{O}$), 6.57 (d, 1H, $J = 16.2\text{ Hz}$, $\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{O}$), 7.11 (s, 1H, CHar), 7.18 (d, 1H, $J = 8.2\text{ Hz}$, CHar), 7.25 - 7.39 (m, 6H, CHar)。

20

30

【0129】

3 - [(1E) - 3 - (ベンジルオキシ)プロブ - 1 - エン - 1 - イル] エストラ - 1 (10), 2, 4 - トリエン - 17 - オン(21)の合成

化合物 20 (120 mg、0.28 mmol) のアセトン溶液(3 mL)に、HCl水溶液(10%、3 mL)を加えた。次いで、反応混合物を室温で6時間にわたり攪拌した。次いで、反応混合物を水(60 mL)で希釈し、炭酸水素塩溶液で中和し、EtOAc (3x20 mL)で3回抽出した。合わせた有機層を食塩水で洗浄し、 MgSO_4 で乾燥し濃縮した。粗化合物をフラッシュクロマトグラフィー(EtOAc/ヘキサン:5:95)により精製して、80 mg (69%)の化合物 21 を得た。 ^1H NMR (CDCl_3) : 0.91 (s, 3H, 18- CH_3), 1.22 - 2.32 (残りのCHおよび CH_2), 2.52 (dd, 1H, $J_1 = 19.1\text{ Hz}$, $J_2 = 8.9\text{ Hz}$, 16- CH), 2.92 (m, 2H, CH_2 -6), 4.19 (d, 2H, $J = 6.1\text{ Hz}$, $\text{OCH}_2\text{CH}=\text{CH}$), 4.57 (s, 2H, OCH_2Ph), 6.26 - 6.33 (m, 1H, $\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{O}$), 6.58 (d, 1H, $J = 16.0\text{ Hz}$, $\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{O}$), 7.14 (s, 1H, CHar), 7.19 (d, 1H, $J = 8.2\text{ Hz}$, CHar), 7.25 - 7.39 (m, 6H, CHar)。

40

【0130】

3 - {(E) - [(16E) - 3 - [(1E) - 3 - (ベンジルオキシ)プロブ - 1 - エン - 1 - イル] - 17 - オキソエストラ - 1 (10), 2, 4 - トリエン - 16 - イリデン]メチル}ベンズアミド(22)の合成

50

化合物 21 (80 mg) の EtOH 溶液 (10 mL) に、3 - ホルミル - ベンズアミド (62 mg) および KOH 水溶液 (10%、1.7 mL) を加えた。次いで、得られた反応混合物を 30 分間にわたり還流加熱した。次いで、得られた反応混合物を水 (100 mL) で希釈し、HCl 水溶液 (10%) で中和し、EtOAc (3 × 25 mL) で抽出した。合わせた有機層を食塩水で洗浄し、MgSO₄ で乾燥し濃縮した。粗化合物をフラッシュクロマトグラフィー (EtOAc / ヘキサン : 1 : 1) により精製して、65 mg (61%) の化合物 22 を得た。¹H NMR (MeOD) : 1.05 (s, 3H, 18-CH₃), 0.89 - 3.24 (残りの CH および CH₂), 4.20 (d, 2H, J = 6.1 Hz, OCH₂CH=CH), 4.58 (s, 2H, OCH₂Ph), 6.26 - 6.33 (m, 1H, CH=CHCH₂O), 6.58 (d, 1H, J = 16.0 Hz, CH=CHCH₂O), 7.16 (s, 1H, CH_{ar}), 7.21 (d, 1H, J = 8.1 Hz, CH_{ar}), 7.25 - 7.39 (m, 6H, CH_{ar}) 7.49 (s, 1H, CH_{ar} - ベンズアミド), 7.59 (t, 2H, OCH₂Ph, J = 7.7 Hz), 7.81 (d, 1H, ベンズアミドの CH_{ar}, J = 7.7 Hz), 7.91 (d, 1H, CH_{ar} - ベンズアミド, J = 8.2 Hz), 8.14 (s, 1H, CH_{ar} - ベンズアミド)。

【0131】

3 - { (E) - [(16E, 17) - 3 - [(1E) - 3 - (ベンジルオキシ) プロポ - 1 - エン - 1 - イル] - 17 - ヒドロキシエストラ - 1 (10), 2, 4 - トリエン - 16 - イリデン] メチル } ベンズアミド (23) の合成

化合物 22 (55 mg、0.11 mmol) を含む MeOH と DCM (4 : 1) の混合溶液に、NaBH₄ (12 mg、0.32 mmol) を加えた。反応混合物を室温で 2 時間にわたり攪拌し、濃縮した。残査を DCM (15 mL) で希釈し、水で洗浄した。次いで、有機層を MgSO₄ で乾燥し濃縮して、50 mg (91%) の化合物 23 を (さらに精製することなく) 得た。¹H NMR (MeOD) : 0.77 (s, 3H, 18-CH₃), 0.80 - 2.84 (残りの CH および CH₂), 2.89 (m, 2H, CH₂-6), 4.14 (br s, 1H, 17-H), 4.19 (d, 2H, J = 6.2 Hz, OCH₂CH=CH), 4.57 (s, 2H, OCH₂Ph), 6.27 - 6.34 (m, 1H, CH=CHCH₂O), 6.56 (m, 2H, CH=CHCH₂O および C=CHPhCONH₂), 7.13 (s, 1H, CH_{ar}), 7.20 (d, 1H, J = 8.1 Hz, CH_{ar}), 7.27 - 7.42 (m, 6H, CH_{ar}) 7.46 (t, 1H, J = 7.7 Hz, CH_{ar} - ベンズアミド), 7.60 (d, 1H, ベンズアミドの CH_{ar}, J = 7.7 Hz), 7.70 (d, 1H, CH_{ar} - ベンズアミド, J = 8.2 Hz), 7.94 (s, 1H, CH_{ar} - ベンズアミド)。

【0132】

3 - { [(16, 17) - 17 - ヒドロキシ - 3 - (3 - ヒドロキシプロピル) エストラ - 1 (10), 2, 4 - トリエン - 16 - イル] メチル } ベンズアミド (24) の合成

室温およびアルゴン雰囲気下の化合物 23 (45 mg、0.086 mmol) を含む EtOH / DCM (4 : 1) 混合溶液 (5 mL) に、木炭上のパラジウム (10%) (20 mg) を加えた。次いで、反応容器を水素で 3 回フラッシュし、36 時間にわたり攪拌した。得られた反応混合物をセライト上で濾過し、次いで濃縮した。粗化合物をフラッシュクロマトグラフィー (EtOAc) により精製して、38 mg (99%) の化合物 24 を得た。¹H NMR (MeOD) : 0.91 (s, 3H, 18-CH₃), 1.22 - 2.48 (残りの CH および CH₂), 2.59 (t, 2H, J = 7.4 Hz, CH₂CH₂OH), 2.78 (m, 2H, 6-CH₂), 3.16 (m, 1H), 3.56 (t, 2H, J = 6.6 Hz, CH₂CH₂OH), 3.84 (d, 1H, J = 9.4 Hz, 17-H), 6.87 (s, 1H, 4-CH_{ar}), 6.93 (d, 1H, CH_{ar}, J = 8.0 Hz), 7.18 (d, 1H, CH_{ar}, J = 8.0 Hz), 7.38 - 7.44 (m, 2H, CH_{ar} - ベンズアミド), 7.41 (d, 1H, CH_{ar} - ベンズアミド)

ド, $J = 7.0 \text{ Hz}$), $7.76 (s, 1H, CHar - \text{ベンズアミド})$; $^{13}C \text{ NMR (MeOD)}$: $13.3, 27.4, 28.7, 30.5, 32.6, 33.0, 35.5, 38.9, 39.0, 39.8, 43.4, 45.4, 45.7, 50.0, 62.3, 83.0, 126.0, 126.2, 126.7, 129.1, 129.4, 129.9, 133.5, 134.8, 137.5, 138.9, 140.3, 144.4, 172.7$ 。

【0133】

3 - { [(16, 17) - 3 - (3 - プロモプロピル) - 17 - ヒドロキシエストラ - 1 (10), 2, 4 - トリエン - 16 - イル] メチル } ベンズアミド (25) の合成

化合物 24 (28 mg、0.063 mmol) の DCM (3 mL) 溶液に、トリフェニルホスフィン (33 mg、0.13 mmol) および四臭化炭素 (42 mg、0.13 mmol) を加えた。次いで、反応混合物を 0 で 40 分間にわたり攪拌した後、トリフェニルホスフィン (13 mg、0.05 mmol) および四臭化炭素 (17 mg、0.05 mmol) の第 2 回分を加えた。次いで、反応混合物を 0 でさらに 1 時間攪拌した。続いて、反応混合物を水 (50 mL) に注ぎ、DCM (2 x 25 mL) で抽出した。次いで、合わせた有機層を、 $MgSO_4$ で乾燥し濃縮した。粗化合物をフラッシュクロマトグラフィー (DCM / MeOH: 97:3) により精製して、8 mg (25%) の化合物 25 を得た。 $^1H \text{ NMR (CDCl}_3)$: $0.88 (s, 3H, 18 - CH_3)$, $1.11 - 2.55$ (残りの CH および CH_2), $2.70 (t, 2H, J = 7.2 \text{ Hz}, CH_2CH_2Br)$, $2.78 (m, 2H, 6 - CH_2)$, $3.16 (m, 1H)$, $3.41 (t, 2H, J = 6.6 \text{ Hz}, CH_2CH_2Br)$, $3.88 (m, 1H, 17 - H)$, 5.6 および 6.2 (2 br s, $CONH_2$), $6.91 (s, 1H, 4 - CHar)$, $6.97 (d, 1H, CHar, J = 8.0 \text{ Hz})$, $7.22 (d, 1H, CHar, J = 8.0 \text{ Hz})$, $7.35 - 7.42 (m, 2H, CHar - \text{ベンズアミド})$, $7.40 (d, 1H, CHar - \text{ベンズアミド}, J = 7.0 \text{ Hz})$, $7.72 (s, 1H, CHar - \text{ベンズアミド})$; $^{13}C \text{ NMR (MeOD)}$: $13.3, 27.4, 28.6, 30.5, 33.0, 33.7, 34.4, 35.7, 38.8, 39.0, 39.7, 43.4, 45.4, 45.7, 50.0, 83.0, 126.0, 126.4, 126.8, 129.1, 129.4, 130.0, 133.8, 134.8, 137.7, 139.0, 139.3, 144.4, 172.7$ 。

【0134】

3 - エテニルエストラ - 1 (10), 2, 4 - トリエン - 17 - オン (26) の合成

化合物 1 (180 mg、0. mmol) のアセトン溶液 (18 mL) に、HCl 水溶液 (10%、2 mL) を加えた。次いで、反応混合物を室温で 2 時間にわたり攪拌した。次いで、この溶液を炭酸水素ナトリウム溶液 (50 mL) に注ぎ、EtOAc (2 x 20 mL) で 2 回抽出した。合わせた有機層を食塩水で洗浄し、 $MgSO_4$ で乾燥し濃縮して、140 mg の脱保護ケトン生成物を得た。 $^1H \text{ NMR (アセトン-}d_6)$: $0.90 (s, 3H, 18 - CH_3)$, $1.38 - 2.48$ (残りの CH および CH_2), $2.86 (m, 2H, 6 - CH_2)$, $5.16 (d, 1H, PhCH=CH_2, J = 10.9 \text{ Hz})$, $5.74 (d, 1H, PhCH=CH_2, J = \text{Hz})$, $6.69 (m, 1H, PhCH=CH_2)$, $7.16 (s, 1H, CHar)$, $7.26 (m, 2H, CHar)$ 。

【0135】

3 - { (E) - [(16E, 17) - 3 - エテニル - 17 - ヒドロキシエストラ - 1 (10), 2, 4 - トリエン - 16 - イリデン] メチル } ベンズアミド (27) の合成

化合物 26 (115 mg、0.40 mmol) の EtOH 溶液 (10 mL) に、3 - ホルミル - ベンズアミド (125 mg、0.84 mmol) および KOH 水溶液 (10%、1.7 mL) を加えた。次いで、反応混合物を 40 分間にわたり還流加熱した。次いで、得られた反応混合物を水 (100 mL) で希釈して、HCl 水溶液 (10%) で中和し、EtOAc (3 x 25 mL) で抽出した。合わせた有機層を食塩水で洗浄し、 $MgSO_4$ で乾燥し濃縮した。粗化合物をフラッシュクロマトグラフィー (EtOAc / ヘキサン:

7 : 3) により精製して、80 mg (47 %) の化合物 27 を得た。¹H NMR (CDCl₃) : 0.90 (s , 3 H , 18 - CH₃) , 1.28 - 2.65 (残りの CH および CH₂) , 2.98 (m , 3 H , 6 - CH₂ および 15 - CH) , 5.20 (d , 1 H , PhCH = CH₂ , J = 10.9 Hz) , 5.72 (d , 1 H , PhCH = CH₂ , J = 17.5 Hz) , 5.9 および 6.2 (2 br s , CONH₂) , 6.67 (m , 1 H , PhCH = CH₂) , 7.16 (s , CHar) , 7.24 (m , 2 H , CHar) , 7.49 (s , 1 H , CHar) , 7.51 (t app , 1 H , CHar , J = 7.7 Hz) , 7.71 (d , 1 H , CHar , J = 7.8 Hz) , 7.77 (d , 1 H , CHar , J = 7.8 Hz) , 7.79 (s , 1 H) 。

【 0 1 3 6 】

10

3 - { (E) - [(16 E , 17) - 3 - エテニル - 17 - ヒドロキシエストラ - 1 (10) , 2 , 4 - トリエン - 16 - イリデン] メチル } ベンズアミド (28) の合成

化合物 27 (80 mg 、 0.19 mmol) を含む MeOH と DCM (9 : 1) の混合溶液に、NaBH₄ (22 mg 、 0.58 mmol) を加えた。反応混合物を室温で 2 時間にわたり攪拌し、濃縮した。残渣を DCM (25 mL) で希釈し、水で洗浄した。次いで、有機層を MgSO₄ で乾燥し濃縮した。粗化合物をフラッシュクロマトグラフィー (DCM / MeOH : 95 : 5) により精製して、74 mg (92 %) の化合物 27 を得た。¹H NMR (MeOD) : 0.74 (s , 3 H , 18 - CH₃) , 1.26 - 2.78 (残りの CH および CH₂) , 2.88 (m , 2 H , 6 - CH₂) , 4.17 (br d , 1 H , 17 - H , J = 8.6 Hz) , 5.17 (d , 1 H , PhCH = CH₂ , J = 11.5 Hz) , 5.71 (d , 1 H , PhCH = CH₂ , J = 17.5 Hz) , 5.7 および 6.2 (2 br s , CONH₂) , 6.60 (s , 1 H , 16 - CH = Ph) , 6.67 (m , 1 H , PhCH = CH₂) , 7.15 (s , CHar) , 7.21 (d , 2 H , CHar , J = 8.1 Hz) , 7.28 (d (溶媒ピーク下) , 1 H , CHar , J = 10.7 Hz) , 7.43 (t , 1 H , CHar , J = 7.7 Hz) , 7.56 (d , 1 H , CHar , J = 7.8 Hz) , 7.61 (d , 1 H , CHar , J = 7.8 Hz) , 7.87 (s , 1 H) 。

20

【 0 1 3 7 】

3 - { [(16 , 17) - 3 - エチル - 17 - ヒドロキシエストラ - 1 (10) , 2 , 4 - トリエン - 16 - イル] メチル } ベンズアミド (29) の合成

30

室温およびアルゴン雰囲気下の化合物 28 (74 mg 、 0.18 mmol) の EtOH 溶液 (5 mL) に、木炭上のパラジウム (10 %) (15 mg) を加えた。次いで、反応容器を水素で 3 回フラッシュし、48 時間にわたり攪拌した。得られた反応混合物をセライト上で濾過し、次いで濃縮した。粗化合物をフラッシュクロマトグラフィー (EtOAc) により精製して、40 mg (54 %) の化合物 29 を得た。¹H NMR (CDCl₃) : 0.87 (s , 3 H , 18 - CH₃) , 1.10 - 2.60 (残りの CH および CH₂) , 1.22 (t , 3 H , CH₃CH₂Ph) , 2.59 (q , 2 H , J = 7.4 Hz , CH₃CH₂Ph) , 2.82 (m , 2 H , 6 - CH₂) , 3.16 (m , 1 H) , 3.56 (t , 2 H , J = 6.6 Hz , CH₂CH₂OH) , 3.88 (m , 1 H , 17 - H) , 5.7 および 6.2 (2 br s , CONH₂) , 6.92 (s , 1 H , 4 - CHar) , 6.99 (d , 1 H , CHar , J = 8.0 Hz) , 7.22 (d , 1 H , CHar , J = 8.0 Hz) , 7.37 (m , 2 H , CHar - ベンズアミド) , 7.60 (d , 1 H , CHar - ベンズアミド , J = 7.0 Hz) , 7.72 (s , 1 H , CHar - ベンズアミド) ; ¹³C NMR (MeOD) : 13.3 , 16.3 , 27.4 , 28.7 , 29.4 , 30.5 , 33.0 , 38.9 , 39.0 , 39.7 , 43.3 , 45.4 , 45.6 , 50.0 , 83.0 , 126.0 , 126.1 , 126.2 , 129.1 , 129.2 , 129.4 , 133.5 , 134.8 , 137.4 , 138.6 , 142.4 , 144.3 , 172.7 。

40

【 0 1 3 8 】

[(16) - 16 - (3 - カルバモイルベンジル) - 17 - オキシエストラ - 1 (10

50

), 2, 4 - トリエン - 3 - イル] 酢酸 (30) の合成

デス - マーチンペルヨージナン (Des s Martin periodane) (67 mg、0.16 mmol) を、アルコール 11 (50 mg、0.12 mmol) の DCM 溶液 (4 mL) に室温で一度に加えた。この反応混合物を室温で 1 時間にわたり攪拌し、続いて、NaHSO₃ の飽和水溶液 (0.25 mL) で処理した後、NaHCO₃ (5 mL) で処理した。次いで、水層を EtOAc (2 × 5 mL) で抽出し、合わせた有機層を MgSO₄ で乾燥して濾過し、濃縮した。続いて、粗生成物 (49 mg) を、t - BuOH (2.2 mL) および水 (0.2 mL) に溶解した後、2 - メチル - 2 - ブテン (64 μL、0.76 mmol)、NaClO₂ (13 mg、0.14 mmol)、および KH₂PO₄ (19 mg、0.14 mmol) を加えた。続いて、懸濁液を室温で 12 分間にわたり攪拌した。次いで、有機相を濃縮し、水相を HCl 水溶液 (1 N、1 mL) で酸性にした。次いで、水相を EtOAc (3 × 10 mL) で抽出した。次いで、合わせた有機層を食塩水で洗浄し、MgSO₄ 上で乾燥し濃縮した。粗生成物を MeOH から粉砕することにより精製して、30 mg (59%) の化合物 30 を得た。¹H NMR (アセトン - d₆) : 0.68 (s, 3H, 18 - CH₃), 1.33 - 2.73 (残りの CH および CH₂), 2.78 (m, 2H, 6 - CH₂), 3.09 (m, 1H), 3.46 (s, 2H, CH₂COOH), 6.92 (s, 1H, CHar), 6.98 (d, 1H, CHar, J = 8.2 Hz), 7.20 (d, 1H, CHar, J = 8.0 Hz), 7.36 (m, 2H, CHar), 7.71 (m, 2H, CHar), 12.1 (br, s, COOH)。

10

20

【0139】

[(16, 17) - 16 - (3 - カルバモイルベンジル) - 17 - ヒドロキシエストラ - 1 (10), 2, 4 - トリエン - 3 - イル] 酢酸 (31) の合成

化合物 30 (30 mg、0.067 mmol) の MeOH 溶液 (5 mL) に、NaBH₄ (7 mg、0.18 mmol) を加えた。次いで、この反応混合物を室温で 2 時間にわたり攪拌した後、NaBH₄ をさらに 2 回に分けて (7 mg、0.18 mg)、2 時間にわたり連続して加えた。次いで、反応混合物を濃縮し、DCM (25 mL) で希釈し、水で洗浄した。有機層を、MgSO₄ で乾燥し濃縮した。粗生成物をフラッシュクロマトグラフィー (DCM / MeOH : 9 : 1) により精製して、15 mg (50%) の化合物 31 を得た。¹H NMR (MeOD) : 0.91 (s, 3H, 18 - CH₃), 1.13 - 2.49 (残りの CH および CH₂), 2.81 (m, 2H, 6 - CH₂), 3.17 (m, 1H), 3.52 (s, 2H, CH₂COOH), 3.84 (d, 1H, 17 - H, J = 9.4 Hz), 6.96 (s, 1H, CHar), 7.01 (d, 1H, CHar, J = 8.0 Hz), 7.23 (d, 1H, CHar, J = 8.0 Hz), 7.40 (m, 2H, CHar), 7.69 (d, 2H, CHar, J = 6.0 Hz), 7.75 (s, 1H, CHar); ¹³C NMR (MeOD) : 13.3, 27.3, 28.6, 30.5, 33.0, 38.8, 39.0, 39.6, 43.4, 45.4, 45.7, 50.0, 83.0, 126.0, 126.4, 127.6, 129.1, 129.4, 130.8, 133.3, 133.6, 134.8, 137.8, 140.1, 144.4, 172.7。

30

40

【0140】

3 - { [(16, 17) - 17 - ヒドロキシ - 3 - [2 - (メチルアミノ) - 2 - オキソエチル] エストラ - 1 (10), 2, 4 - トリエン - 16 - イル] メチル } ベンズアミド (32) の合成

アルゴン雰囲気下の化合物 30 (37 mg、0.08 mmol) の無水 DMF 溶液 (3 mL) に、BOP (40 mg、0.09 mmol)、メチルアミン (115 μL、0.03 mmol; THF 中 2.0 M)、および DIPEA (18 μL、0.11 mmol) を加えた。この反応混合物を室温で 3 時間にわたり攪拌し、続いて水に注ぎ、EtOAc (2 × 10 mL) で 2 回抽出した。合わせた有機層を食塩水で洗浄し、MgSO₄ で乾燥し濃縮して、41 mg の粗生成物を得た。粗生成物をメタノール / DCM (9 : 1) の混合

50

物に溶解した後、 NaBH_4 (15 mg、0.40 mmol) を加えた。次いで、反応混合物を室温で30分間にわたり攪拌し、水に注いだ。反応混合物を EtOAc (2 × 10 mL) で2回抽出し、合わせた有機層を食塩水で洗浄し、 MgSO_4 で乾燥し濃縮した。粗化合物をフラッシュクロマトグラフィー (DCM / MeOH : 95 : 5) により精製して、6 mg (15%) の化合物32を得た。 ^1H NMR (MeOD) : 0.91 (s, 3H, 18- CH_3), 1.14 - 2.49 (残りのCHおよび CH_2), 2.71 (s, 3H, $\text{CH}_2\text{CONHCH}_3$), 2.80 (m, 2H, 6- CH_2), 3.16 (m, 1H), 3.41 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{CONHCH}_3$), 3.84 (d, 1H, 17-H, $J = 9.4\text{ Hz}$), 6.96 (s, 1H, CHar), 7.01 (d, 1H, CHar, $J = 8.0\text{ Hz}$), 7.23 (d, 1H, CHar, $J = 8.0\text{ Hz}$), 7.42 (m, 2H, CHar), 7.69 (d, 2H, CHar, $J = 6.0\text{ Hz}$), 7.76 (s, 1H, CHar); ^{13}C NMR (MeOD) : 13.3, 26.5, 27.3, 28.6, 30.5, 33.0, 38.9, 39.0, 39.7, 43.4 (2x), 45.4, 45.7, 50.0, 83.0, 125.4, 126.0, 126.5, 127.3, 129.1, 129.4, 130.5, 133.5, 134.8, 138.0, 140.2, 144.4, 175.1。

10

【0141】

(16E) - 16 - (3 - カルバモイルベンジリデン) - 17 - オキシエストラ - 1, 3, 5 (10) - トリエン - 3 - カルボン酸 (34) の合成

20

化合物33 (250 mg、0.84 mmol) の EtOH 溶液 (10 mL) に、3 - ホルミル - ベンズアミド (250 mg、1.67 mmol) および KOH 水溶液 (10%、1.7 mL) を加えた。次いで、得られた反応混合物を30分間にわたり還流加熱した。次いで、得られた反応混合物を水 (200 mL) で希釈して、 HCl 水溶液 (10%) で中和し、 EtOAc (3 × 50 mL) で抽出した。合わせた有機層を食塩水で洗浄し、 MgSO_4 で乾燥し濃縮した。粗化合物をフラッシュクロマトグラフィー (DCM / MeOH : 95 : 5) により精製して、143 mg (40%) の化合物34を得た。 ^1H NMR (MeOD) : 1.06 (s, 3H, 18- CH_3), 1.31 - 2.77 (残りのCHおよび CH_2), 3.40 (m, 2H, 6- CH_2), 7.42 (d, 1H, CHar, $J = \text{Hz}$), 7.50 (s, 1H, $\text{CH}=\text{CH}$), 7.59 (t, 1H, CHar, $J = 7.8\text{ Hz}$), 7.77 (d, 1H, CHar, $J = 10.2\text{ Hz}$), 7.83 (d, 1H, CHar, $J = 7.7\text{ Hz}$), 7.91 (d, 1H, CHar, $J = 7.8\text{ Hz}$), 8.14 (s, 1H, CHar)。

30

【0142】

(16E, 17) - 16 - (3 - カルバモイルベンジリデン) - 17 - ヒドロキシエストラ - 1, 3, 5 (10) - トリエン - 3 - カルボン酸 (35) の合成

40

化合物34 (140 mg、0.33 mmol) を含む MeOH と DCM (1 : 1) の混合溶液に、 NaBH_4 (21 mg、0.55 mmol) を加えた。この反応混合物を室温で2時間にわたり攪拌し、濃縮した。残渣を DCM (25 mL) で希釈し、水で洗浄した。次いで、有機層を MgSO_4 で乾燥し濃縮した。粗化合物をフラッシュクロマトグラフィー (DCM / MeOH : 95 : 5) により精製して、68 mg (48%) の化合物35を得た。 ^1H NMR (MeOD) : 0.79 (s, 3H, 18- CH_3), 1.31 - 2.41 (残りのCHおよび CH_2), 2.97 (m, 2H, 6- CH_2), 4.16 (br s, 1H, 17-H), 6.59 (br s, 1H, $\text{CH}=\text{CH}$), 7.38 (d, 1H, CHar, $J = 8.1\text{ Hz}$), 7.46 (t, 1H, CHar, $J = 7.7\text{ Hz}$), 7.62 (d, 1H, CHar, $J = 7.8\text{ Hz}$), 7.72 (m, 2H, CHar), 7.94 (s, 1H, CHar)。

【0143】

(16, 17) - 16 - (3 - カルバモイルベンジル) - 17 - ヒドロキシエストラ - 1, 3, 5 (10) - トリエン - 3 - カルボン酸 (36) の合成

50

室温およびアルゴン雰囲気下の化合物35 (68 mg、0.158 mmol) の EtO

H 溶液 (5 m L) に、木炭上のパラジウム (1 0 %) (1 0 m g) を加えた。次いで、反応容器を水素で 3 回フラッシュし、4 8 時間にわたり攪拌した。得られた反応混合物をセライト上で濾過し、次いで濃縮した。粗化合物を、溶出系として D C M / M e O H (9 5 : 5) を使用してフラッシュクロマトグラフィーにより精製し、1 0 m g (1 5 %) の化合物 3 6 を得た。¹ H N M R (M e O D) : 0 . 9 2 (s , 3 H , 1 8 - C H ₃) , 1 . 1 6 - 2 . 4 9 (残りの C H および C H ₂) , 2 . 8 8 (m , 2 H , 6 - C H ₂) , 3 . 1 7 (m , 1 H) , 3 . 8 5 (b r d , 1 H , 1 7 - H , J = 9 . 5 H z) , 7 . 4 1 (m , 3 H , C H a r) , 7 . 7 1 (m , 3 H) , 7 . 7 6 (s , 1 H , C H a r) ; ¹³ C N M R (M e O D) : 1 3 . 3 , 2 7 . 2 , 2 8 . 3 , 3 0 . 4 , 3 3 . 0 , 3 8 . 8 , 3 8 . 9 , 3 9 . 3 , 4 3 . 3 , 4 5 . 4 , 5 0 . 0 , 8 3 . 0 , 1 2 6 . 0 , 1 2 6 . 4 , 1 2 8 . 0 , 1 2 9 . 1 , 1 2 9 . 2 , 1 2 9 . 4 , 1 3 1 . 3 , 1 3 3 . 5 , 1 3 4 . 8 , 1 3 8 . 0 , 1 4 4 . 3 , 1 4 3 . 6 , 1 4 6 . 8 , 1 7 1 . 0 , 1 7 2 . 7 。

【 0 1 4 4 】

3 - { [(1 6 , 1 7) - 1 7 - ヒドロキシ - 3 - (ヒドロキシメチル) エストラ - 1 , 3 , 5 (1 0) - トリエン - 1 6 - イル] メチル } ベンズアミド (3 7) の合成

アルゴン雰囲気下の化合物 3 6 (3 0 0 m g 、 0 . 7 0 m m o l) の無水 T H F 溶液 (2 0 m L) に、B O P (3 3 8 m g 、 0 . 7 6 m m o l) および D I P E A (1 4 5 μ L 、 0 . 8 4 m m o l) を室温で連続して加えた。この反応混合物を 1 0 分間にわたり攪拌した後、N a B H ₄ (3 0 m g 、 0 . 7 9 m m o l) を加えた。次いで、反応混合物をさらに 1 時間攪拌し、水に注ぎ、E t O A c (2 × 3 0 m L) で 2 回抽出した。次いで、合わせた有機層を食塩水で洗浄し、M g S O ₄ で乾燥し濃縮した。粗化合物を、第 1 回の精製では溶出液として D C M / M e O H (9 5 : 5) を使用し、第 2 回の精製では溶出液としてアセトン / ヘキサン (1 : 1) を使用するフラッシュクロマトグラフィーによる連続精製に供して、8 8 m g (3 0 %) の化合物 3 7 を得た。¹ H N M R (M e O D) : 0 . 9 2 (s , 3 H , 1 8 - C H ₃) , 1 . 1 5 - 2 . 4 9 (残りの C H および C H ₂) , 2 . 8 3 (m , 2 H , 6 - C H ₂) , 3 . 1 7 (m , 1 H) , 3 . 8 5 (b r d , 1 H , 1 7 - H , J = 9 . 5 H z) , 4 . 8 9 (s , 2 H , C H ₂ O H) , 7 . 0 3 (s , 1 H , C H a r) , 7 . 0 8 (d , 1 H , C H a r , J = 8 . 1 H z) , 7 . 2 7 (d , 1 H , C H a r , J = 8 . 0 H z) , 7 . 4 1 (m , 2 H , C H a r) , 7 . 6 9 (d , 1 H , C H a r , J = 7 . 8 H z) , 7 . 7 6 (s , 1 H , C H a r) ; ¹³ C N M R (M e O D) : 1 3 . 3 , 2 7 . 4 , 2 8 . 6 , 3 0 . 5 , 3 3 . 0 , 3 8 . 8 , 3 9 . 0 , 3 9 . 7 , 4 3 . 4 , 4 5 . 4 , 4 5 . 8 , 5 0 . 0 , 6 5 . 1 , 8 3 . 0 , 1 2 5 . 5 , 1 2 6 . 0 , 1 2 6 . 3 , 1 2 8 . 6 , 1 2 9 . 1 , 1 2 9 . 4 , 1 3 3 . 5 , 1 3 4 . 8 , 1 3 7 . 6 , 1 3 9 . 6 , 1 4 0 . 6 , 1 4 4 . 4 , 1 7 2 . 7 。

【 0 1 4 5 】

3 - { [(1 6 , 1 7) - 3 - (ブロモメチル) - 1 7 - ヒドロキシエストラ - 1 , 3 , 5 (1 0) - トリエン - 1 6 - イル] メチル } ベンズアミド (3 8) の合成

0 の化合物 3 7 (6 5 m g 、 0 . 1 5 m m o l) の D C M (7 m L) 溶液に、トリフェニルホスフィン (6 1 m g 、 0 . 2 3 m m o l) および四臭化炭素 (7 7 m g 、 0 . 2 3 m m o l) を加えた。次いで、反応混合物を 0 で 5 時間にわたり攪拌した。続いて、反応混合物を水に注ぎ、D C M (2 × 2 0 m L) で抽出した。次いで、合わせた有機層を、M g S O ₄ で乾燥し濃縮した。粗化合物をフラッシュクロマトグラフィー (D C M / M e O H : 9 7 : 3) により精製して、4 5 m g (6 0 %) の化合物 3 8 を得た。¹ H N M R (アセトン - d ₆) : 0 . 9 2 (s , 3 H , 1 8 - C H ₃) , 1 . 1 4 - 2 . 4 8 (残りの C H および C H ₂) , 2 . 8 2 (m , 2 H , 6 - C H ₂) , 3 . 2 2 (m , 1 H) , 3 . 8 5 (m , 2 H , 1 7 - H および O H) , 4 . 5 8 (s , 2 H , C H ₂ B r) , 6 . 6 (b r s , 1 H , C O N H ₂) , 7 . 1 2 (s , 1 H , C H a r) , 7 . 1 9 (d , 1 H , C H a r , J = H z) , 7 . 2 9 (d , 1 H , C H a r , J = H z) , 7 . 3 5 (t , 1 H , J = H z) , 7 . 4 1 (d および b r s ピーク下 , C H a r の 1 H お

10

20

30

40

50

よびCONH₂の1H, J = Hz), 7.74 (d, 1H, CHar, J = Hz), 7.84 (s, 1H, CHar)。

【0146】

3 - { [(16, 17) - 3 - (アミノメチル) - 17 - ヒドロキシエストラ - 1, 3, 5 (10) - トリエン - 16 - イル] メチル } ベンズアミド (39) の合成

化合物38 (30 mg、0.06 mmol) の無水DMF溶液 (3 mL) に、アジ化ナトリウム (12 mg、0.18 mmol) を加えた。次いで、この溶液を、アルゴン雰囲気下、60 で3時間にわたり攪拌した。続いて、反応混合物を水に注ぎ、EtOAcで2回抽出した。合わせた有機層を食塩水で洗浄し、MgSO₄で乾燥し濃縮した。次いで、粗化合物 (25 mg) をエタノール (3 mL) に溶解した。次いで、アルゴン雰囲気下で、木炭上のパラジウム (10%) (10 mg) を加えた。次いで、反応容器を水素で3回フラッシュし、24時間にわたり攪拌した。得られた反応混合物をセライト上で濾過し、次いで濃縮した。粗化合物を、溶出系としてDCM/MeOH (95:5) を使用してフラッシュクロマトグラフィーにより精製し、15 mg (58%) の化合物39を得た。

¹H NMR (MeOD): 0.91 (s, 3H, 18-CH₃), 1.13 - 2.49 (残りのCHおよびCH₂), 2.82 (m, 2H, 6-CH₂), 3.17 (m, 1H), 3.84 (d, 1H, 17-H, J = 9.4 Hz), 4.41 (s, 2H, CH₂NH₂), 7.01 (s, 1H, CHar), 7.25 (d, 1H, CHar, J = 8.1 Hz), 7.33 (m, 2H, CHar), 7.69 (d, 1H, CHar, J = 7.5 Hz), 7.76 (s, 1H, CHar); ¹³C NMR (MeOD): 13.3, 27.4, 28.5, 30.5, 33.0, 38.8, 39.0, 39.7, 43.4, 45.4, 45.7, 45.9, 50.0, 83.0, 126.0, 126.2, 126.7, 129.1, 129.2, 129.4, 133.5, 134.8, 138.0, 138.8, 140.7, 144.4, 172.7。

【0147】

3 - { [(16, 17) - 3 - (ブロモメチル) - 17 - ヒドロキシエストラ - 1, 3, 5 (10) - トリエン - 16 - イル] メチル } ベンズアミド (化合物40a~d) のN-アルキル化のための基本手順

化合物38 (25 mg、0.06 mmol) のDCM溶液 (3 mL) に、トリエチルアミン (43 μL、3.0 mmol) および適切なアミン (3.0 mmol) を加えた。得られた反応混合物を室温で3時間にわたり攪拌した。次いで、反応混合物を水に注ぎ、DCMで2回抽出し、相分離装置 (Biotope) を使用して濾過し濃縮した。所望のN-アルキルアミン誘導体を単離した後、フラッシュクロマトグラフィー (DCM/MeOH 95:5 ~ 9:1) により精製した。

【0148】

3 - { [(16, 17) - 3 - [(ジメチルアミノ) メチル] - 17 - ヒドロキシエストラ - 1, 3, 5 (10) - トリエン - 16 - イル] メチル } ベンズアミド (40a): 収率 (10 mg、43%); ¹H NMR (MeOD): 0.91 (s, 3H, 18-CH₃), 1.14 - 2.49 (残りのCHおよびCH₂), 2.24 (s, 6H, CH₂N(CH₃)₂), 2.82 (m, 2H, 6-CH₂), 3.17 (m, 1H), 3.41 (s, 3H, CH₂N), 3.84 (d, 1H, 17-H, J = 9.4 Hz), 4.41 (s, 2H, CH₂N), 7.00 (s, 1H, CHar), 7.05 (d, 1H, CHar, J = 8.1 Hz), 7.26 (d, 1H, CHar, J = 8.1 Hz), 7.41 (m, 2H, CHar), 7.69 (d, 1H, CHar, J = 7.5 Hz), 7.76 (s, 1H, CHar); ¹³C NMR (MeOD): 13.3, 27.3, 28.6, 30.5, 33.0, 38.8, 39.0, 39.6, 43.4, 45.1 (2x), 45.4, 45.8, 50.0, 64.6, 83.0, 126.0, 126.3, 128.0, 129.1, 129.4, 131.3, 133.5, 134.8, 135.4, 137.7, 140.9, 144.4, 172.7。

【0149】

10

20

30

40

50

3 - { [(1 6 , 1 7) - 3 - [(ジブロピルアミノ) メチル] - 1 7 - ヒドロキシエストラ - 1 , 3 , 5 (1 0) - トリエン - 1 6 - イル] メチル } ベンズアミド (4 0 b) : 収率 (5 m g 、 2 1 %) ; ^1H NMR (Me OD) : 0 . 8 8 (t , 3 H , $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}$) , $J = 7 . 4 \text{ Hz}$) , 0 . 9 2 (s , 3 H , 1 8 - CH_3) , 1 . 2 7 (t , 3 H , $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{N}$, $J = 7 . 2 \text{ Hz}$) , 1 . 1 5 - 2 . 6 5 (残りのCHおよび CH_2) , 2 . 8 2 (m , 2 H , 6 - CH_2) , 3 . 1 7 (m , 1 H) , 3 . 4 1 (s , 3 H , CH_2N) , 3 . 5 8 (s , 2 H , PhCH_2N) , 3 . 8 4 (d , 1 H , 1 7 - H , $J = 9 . 4 \text{ Hz}$) , 4 . 4 1 (s , 2 H , CH_2NH_2) , 7 . 0 1 (s , 1 H , CHar) , 7 . 0 7 (d , 1 H , CHar , $J = 8 . 1 \text{ Hz}$) , 7 . 2 6 (d , 1 H , CHar , $J = 8 . 1 \text{ Hz}$) , 7 . 4 1 (m , 2 H , CHar) , 7 . 7 0 (d , 1 H , CHar , $J = 7 . 5 \text{ Hz}$) , 7 . 7 6 (s , 1 H , CHar) ; ^{13}C NMR (Me OD) : 1 1 . 3 , 1 2 . 1 , 1 3 . 3 , 2 0 . 1 , 2 7 . 3 , 2 8 . 6 , 3 0 . 5 , 3 3 . 0 , 3 8 . 8 , 3 9 . 0 , 3 9 . 6 , 4 3 . 4 , 4 5 . 4 , 4 5 . 8 , 4 8 . 1 , 5 0 . 0 , 5 5 . 8 , 5 8 . 8 , 5 8 . 4 , 8 3 . 0 , 1 2 6 . 0 , 1 2 6 . 3 , 1 2 8 . 1 , 1 2 9 . 1 , 1 2 9 . 4 , 1 3 1 . 3 , 1 3 3 . 5 , 1 3 4 . 8 , 1 3 7 . 7 , 1 4 0 . 8 , 1 4 4 . 4 , 1 7 2 . 7 .

10

【 0 1 5 0 】

3 - { [(1 6 , 1 7) - 1 7 - ヒドロキシ - 3 - (ピロリジン - 1 - イルメチル) エストラ - 1 , 3 , 5 (1 0) - トリエン - 1 6 - イル] メチル } ベンズアミド (4 0 c) : 収率 (7 m g 、 2 8 %) ; ^1H NMR (Me OD) : 0 . 9 1 (s , 3 H , 1 8 - CH_3) , 1 . 1 5 - 2 . 6 5 (残りのCHおよび CH_2) , 2 . 8 2 (m , 2 H , 6 - CH_2) , 3 . 1 7 (m , 1 H) , 3 . 5 7 (s , 3 H , CH_2N) , 3 . 8 4 (d , 1 H , 1 7 - H , $J = 9 . 4 \text{ Hz}$) , 7 . 0 2 (s , 1 H , CHar) , 7 . 0 7 (d , 1 H , CHar , $J = 8 . 1 \text{ Hz}$) , 7 . 2 5 (d , 1 H , CHar , $J = 8 . 1 \text{ Hz}$) , 7 . 4 1 (m , 2 H , CHar) , 7 . 7 1 (d , 1 H , CHar , $J = 7 . 5 \text{ Hz}$) , 7 . 7 6 (s , 1 H , CHar) ; ^{13}C NMR (Me OD) : 1 1 . 9 , 2 2 . 6 , 2 5 . 9 , 2 7 . 2 , 2 9 . 1 , 3 1 . 6 , 3 7 . 4 , 3 7 . 6 , 3 8 . 2 , 4 2 . 0 , 4 4 . 0 , 4 4 . 4 , 4 7 . 0 , 4 8 . 2 , 4 8 . 6 , 5 3 . 4 , 5 9 . 7 , 8 1 . 6 , 1 2 4 . 6 , 1 2 4 . 9 , 1 2 6 . 4 , 1 2 7 . 7 , 1 2 8 . 0 , 1 2 9 . 6 , 1 3 2 . 1 , 1 3 3 . 4 , 1 3 4 . 6 , 1 3 6 . 3 , 1 3 9 . 4 , 1 4 3 . 0 , 1 7 1 . 3 .

20

30

【 0 1 5 1 】

3 - { [(1 6 , 1 7) - 1 7 - ヒドロキシ - 3 - [(メチルアミノ) メチル] エストラ - 1 , 3 , 5 (1 0) - トリエン - 1 6 - イル] メチル } ベンズアミド (4 0 d) : 収率 (2 m g 、 8 %) ; ^1H NMR (Me OD) : 0 . 9 1 (s , 3 H , 1 8 - CH_3) , 1 . 1 4 - 2 . 4 9 (残りのCHおよび CH_2) , 2 . 5 1 (s , 3 H , NHCH_3) , 2 . 8 2 (m , 2 H , 6 - CH_2) , 3 . 1 7 (m , 1 H) , 3 . 8 4 (m , 2 H , 1 7 - H および CH_2NH) , 7 . 0 7 (s , 1 H , CHar) , 7 . 1 3 (d , 1 H , CHar , $J = 8 . 3 \text{ Hz}$) , 7 . 3 3 (d , 1 H , CHar , $J = 8 . 0 \text{ Hz}$) , 7 . 4 0 (m , 2 H , CHar) , 7 . 6 9 (d , 1 H , CHar , $J = 7 . 5 \text{ Hz}$) , 7 . 7 6 (s , 1 H , CHar) .

40

【 0 1 5 2 】

(1 6 E , 1 7) - 1 6 - (3 - カルバモイルベンジリデン) - 1 7 - ヒドロキシエストラ - 1 , 3 , 5 (1 0) - トリエン - 3 - カルボン酸 (3 5) (化合物 4 1 a ~ d) の N - アシル化のための基本手順

化合物 3 6 (5 0 m g 、 0 . 1 2 m m o l) の DMF 溶液 (3 m L) に、BOP (4 3 μL 、 0 . 1 4 m m o l) 、適切なアミン (0 . 3 6 m m o l) 、および DIPEA (2 8 μL 、 0 . 1 7 m m o l) を加えた。得られた反応混合物を室温で 2 時間にわたり攪拌した。次いで、反応混合物を水に注ぎ、EtOAc で 2 回抽出した。合わせた有機層を水、食塩水で洗浄し、 MgSO_4 で乾燥し濃縮した。所望の N - アシル化誘導体を単離した後、フラッシュクロマトグラフィー (DCM / Me OH 9 5 : 5 ~ 9 : 1) により精製

50

した。

【0153】

(16, 17) - 16 - (3 - カルバモイルベンジル) - 17 - ヒドロキシ - N, N - ジメチルエストラ - 1, 3, 5 (10) - トリエン - 3 - カルボキサミド (41a) : 収率 (7 mg、13%) ; ^1H NMR (MeOD) : 0.92 (s, 3H, 18 - CH_3), 1.16 - 2.49 (残りのCHおよび CH_2), 2.51 (s, 3H, NHCH_3), 2.86 (m, 2H, 6 - CH_2), 3.10および3.32 (2 s, 6H, (CH_3)₂ NCO), 3.17 (m, 1H), 3.85 (m, 2H, 17 - H), 7.11 (s, 1H, CHar), 7.17 (d, 1H, CHar, J = 8.1 Hz), 7.33 (d, 1H, CHar, J = 8.0 Hz), 7.41 (m, 2H, CHar), 7.70 (d, 1H, CHar, J = 8.1 Hz), 7.76 (s, 1H, CHar) ; ^{13}C NMR (MeOD) : 13.3, 30.4, 33.0, 35.6, 38.0, 38.8, 38.9, 39.4, 41.9, 43.4, 45.0, 45.4, 45.8 (d), 50.0, 83.0, 88.2, 125.3, (126.0および126.2 (d)), 126.5, 128.5, 129.1および129.2 (d), (129.4および129.5 (d)), (133.5および133.6 (d)), (134.3, 134.8、および134.9 (t)), 138.3, (143.6, 143.7、および143.8 (t)), 144.3, 172.6, 174.2。

10

【0154】

(16, 17) - 16 - (3 - カルバモイルベンジル) - N - エチル - 17 - ヒドロキシ - N - プロピルエストラ - 1, 3, 5 (10) - トリエン - 3 - カルボキサミド (41b) : 収率 (17 mg、30%) ; ^1H NMR (MeOD) : 0.92 (s, 3H, 18 - CH_3), 1.16 - 2.49 (残りのCHおよび CH_2), 2.51 (s, 3H, NHCH_3), 2.86 (m, 2H, 6 - CH_2), 3.10および3.32 (2 s, 6H, (CH_3)₂ NCO), 3.17 (m, 1H), 3.85 (m, 2H, 17 - H), 7.11 (s, 1H, CHar), 7.17 (d, 1H, CHar, J = 8.1 Hz), 7.33 (d, 1H, CHar, J = 8.0 Hz), 7.41 (m, 2H, CHar), 7.70 (d, 1H, CHar, J = 8.1 Hz), 7.76 (s, 1H, CHar) ; ^{13}C NMR (MeOD) : 13.3, 21.8, 23.0, 27.2, 28.3, 30.4, 33.0, 38.8, 38.9, 45.4, 45.8, 50.0, 82.9, 88.2, 124.4および124.6 (d), 126.5, 127.7および127.9 (d), 129.1, 129.4, 133.5, 134.8, 135.2, 138.3, 143.3, 144.3, 172.6, 174.2。

20

30

【0155】

3 - { [(16, 17) - 17 - ヒドロキシ - 3 - (ピロリジン - 1 - イルカルボニル) エストラ - 1, 3, 5 (10) - トリエン - 16 - イル] メチル } ベンズアミド (41c) : 収率 (17 mg、30%) ; ^1H NMR (MeOD) : 0.91 (s, 3H, 18 - CH_3), 1.15 - 2.49 (残りのCHおよび CH_2), 2.66 (d, 2H, $\text{CH}_2\text{PhCONH}_2$, J = 9.4 Hz), 2.85 (m, 2H, 6 - CH_2), 3.17 (m, 1H), 3.47 (t, 2H, ピロリジンの CH_2N , J = 6.6 Hz), 3.58 (t, 2H, ピロリジンの CH_2N , J = 6.9 Hz), 3.84 (d, 2H, 17 - H, J = 9.4 Hz), 7.21 (s, 1H, CHar), 7.26 (d, 1H, CHar, J = 8.2 Hz), 7.40 (m, 2H, CHar), 7.69 (d, 1H, CHar, J = 8.1 Hz), 7.76 (s, 1H, CHar) ; ^{13}C NMR (MeOD) : 13.3, 25.3, 27.2 (2x), 28.3, 30.4, 33.0, 38.9, 39.4, 43.3, 45.4, 45.8, 50.0, 50.9, 82.0, 88.2, 125.3, 126.0, 126.4, 128.6, 129.4, 133.5, 134.8, 135.1, 138.2, 144.1, 144.3, 172.1, 172.6。

40

【0156】

50

(16, 17) - 16 - (3 - カルバモイルベンジル) - 17 - ヒドロキシ - N - メチルエストラ - 1, 3, 5 (10) - トリエン - 3 - カルボキサミド (41d) : 収率 (22 mg、42%) ; ^1H NMR (MeOD) : 0.92 (s, 3H, 18 - CH_3), 1.15 - 2.49 (残りのCHおよび CH_2), 2.51 (s, 3H, NHCH_3), 2.9 (m, 5H, 6 - CH_2 および CH_3NH), 3.17 (m, 1H), 3.85 (m, 2H, 17 - H), 7.51 (s, 1H, CHar), 7.55 (d, 1H, CHar, $J = 8.2\text{ Hz}$), 7.69 (d, 1H, CHar, $J = 7.5\text{ Hz}$), 7.76 (s, 1H, CHar) ; ^{13}C NMR (MeOD) : 13.3, 27.2, 28.3, 30.5, 33.0, 38.8, 38.9, 39.3, 43.3, 45.3, 45.9, 50.0, 82.9, 88.2, 125.4, 126.0, 126.5, 128.7, 129.1, 129.4, 132.6, 133.5, 134.8, 138.2, 144.3, 145.6, 170.9, 172.7。

【0157】

3 - (4, 4, 5, 5 - テトラメチル - 1, 3, 2 - ジオキサボロラン - 2 - イル) エストラ - 1 (10), 2, 4 - トリエン - 17 - オン (43) の合成

室温のエストロントリフレート (42) (455 mg、1.12 mmol) の無水ジオキサン溶液 (5 mL) に、ピナコールボラン、Pd(dppf) Cl_2 、およびトリエチルアミン (923 μL 、6.62 mmol) をアルゴン雰囲気下に加えた。反応混合物を5分間にわたりアルゴン通気し、次いで、100 で24時間にわたり加熱した。ジオキサンを減圧除去した後、EtOAc (50 mL) を加えた。有機層を水および食塩水で連続して洗浄し、 MgSO_4 で乾燥し濃縮した。粗化合物をフラッシュクロマトグラフィー (EtOAc / ヘキサン : 95 : 5 ~ 8 : 2) により精製して、275 mg (64%) の化合物43を得た。 ^1H NMR (CDCl_3) : 0.91 (s, 3H, 18 - CH_3), 1.34 (12H, 4xボロランの CH_3), 1.39 - 2.54 (残りのCHおよび CH_2), 2.93 (m, 2H, 6 - CH_2), 7.32 (d, 1H, CHar, $J = 7.8\text{ Hz}$), 7.57 (s, 1H, CHar), 7.60 (d, 1H, CHar, $J = 7.9\text{ Hz}$)。

【0158】

[(16E) - 16 - (3 - カルバモイルベンジリデン) - 17 - オキシエストラ - 1 (10), 2, 4 - トリエン - 3 - イル] ボロン酸 (44) の合成

化合物43 (150 mg、0.39 mmol) のEtOH溶液 (10 mL) に、3 - ホルミル - ベンズアミド (118 mg、0.79 mmol) およびKOH水溶液 (10%、1.5 mL) を加えた。次いで、得られた反応混合物を30分間にわたり還流加熱した。次いで、得られた反応混合物を水 (200 mL) で希釈して、HCl水溶液 (10%) で中和し、EtOAc (3x50 mL) で抽出した。合わせた有機層を食塩水で洗浄し、 MgSO_4 で乾燥し濃縮して、80 mgの化合物44を得た。 ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) : 0.94 (s, 3H, 18 - CH_3), 1.24 - 2.97 (残りのCHおよび CH_2), 4.05 (s, 2H, $\text{B}(\text{OH})_2$), 7.27 (d, 1H, CHar, $J = 7.8\text{ Hz}$), 7.37 (s, 1H, CHar), 7.49 - 7.58 (m, 3H, CHar), 7.81 (d, 1H, CHar, $J = 7.7\text{ Hz}$), 7.90 (d, 1H, CHar, $J = 7.8\text{ Hz}$), 8.1 (s, 1H, CHar)。

【0159】

[(16E, 17) - 16 - (3 - カルバモイルベンジリデン) - 17 - ヒドロキシエストラ - 1 (10), 2, 4 - トリエン - 3 - イル] ボロン酸 (45) の合成

化合物44 (70 mg、0.16 mmol) のMeOH溶液 (6 mL) に、 NaBH_4 (10 mg、0.26 mmol) を加えた。この反応混合物を室温で1時間にわたり攪拌し、濃縮した。残渣をEtOAc (25 mL) で希釈し、水で洗浄した。次いで、有機層を食塩水で洗浄し、 MgSO_4 で乾燥し濃縮した。粗化合物をフラッシュクロマトグラフィー (DCM / MeOH : 9 : 1) により精製して、54 mg (77%) の化合物45を得た。 ^1H NMR (MeOD) : 0.77 (s, 3H, 18 - CH_3), 1.24 - 2

10

20

30

40

50

・ 9.7 (残りのCHおよびCH₂) , 4.05 (s, 2H, B(OH)₂ , 7.27 (d, 1H, CHar, J = 7.8 Hz) , 7.37 (s, 1H, CHar) , 7.49 - 7.58 (m, 3H, CHar) , 7.81 (d, 1H, CHar, J = 7.7 Hz) , 7.90 (d, 1H, CHar, J = 7.8 Hz) , 8.1 (s, 1H, CHar)。

【0160】

[(16, 17) - 16 - (3 - カルバモイルベンジル) - 17 - ヒドロキシエストラ - 1 (10) , 2, 4 - トリエン - 3 - イル] ボロン酸 (46) の合成

室温およびアルゴン雰囲気下の化合物45 (47 mg、0.11 mmol) のEtOH溶液 (4 mL) に、木炭上のパラジウム (10%) (8 mg) を加えた。次いで、反応容器を水素で3回フラッシュし、24時間にわたり攪拌した。得られた反応混合物をセライト上で濾過し、次いで濃縮した。粗化合物を、溶出系としてDCM/MeOH (95:5) を使用してフラッシュクロマトグラフィーにより精製し、13 mg (28%) の化合物46を得た。¹H NMR (MeOD) : 0.91 (s, 3H, 18 - CH₃) , 1.14 - 2.49 (残りのCHおよびCH₂) , 2.82 (m, 2H, 6 - CH₂) , 3.17 (m, 1H) , 3.84 (d, 1H, 17 - H, J = 9.4 Hz) , 7.291 (m, 2H, CHar) , 7.35 - 7.43 (m, 1H, CHar) , 7.70 (d, 1H, CHar, J = 7.4 Hz) , 7.76 (s, 1H, CHar) ; ¹³C NMR (MeOD) : 13.3, 27.2, 28.6, 30.5, 33.0, 38.8, 39.0, 39.6, 43.4, 46.0, 50.0, 83.0, 125.4および125.5 (d) , 126.0, 129.1, 129.4, 131.9および132.2 (d) , 133.5, 134.8, 135.4および135.7 (d) , 143.0および143.7, 144.4, 172.7。

【0161】

3 - {(E) - [(16E) - 3 - アミノ - 17 - オキシエストラ - 1, 3, 5 (10) - トリエン - 16 - イリデン] メチル} ベンズアミド (48) の合成

3 - アミノ - エストロン (47) (68 mg、0.25 mmol) のEtOH溶液 (3.5 mL) に、3 - ホルミル - ベンズアミド (75 mg、0.50 mmol) およびKOH水溶液 (10%、0.5 mL) を加えた。次いで、反応混合物を1時間にわたり還流加熱した。次いで、得られた反応混合物を水 (50 mL) で希釈して、HCl水溶液 (10%) で中和し、EtOAc (3 × 15 mL) で抽出した。合わせた有機層を食塩水で洗浄し、MgSO₄で乾燥し濃縮した。粗化合物を、溶出系としてDCM/MeOH (95:5) を使用してフラッシュクロマトグラフィーにより精製し、40 mg (40%) の化合物48を得た。¹H NMR (アセトン - d₆) : 1.00 (s, 3H, 18 - CH₃) , 1.29 - 3.06 (残りのCHおよびCH₂) , 4.33 (br s, 2H, PhNH₂) , 6.40 (s, 1H, CHar) , 6.47 (d, 1H, CHar, J = 8.3 Hz) , 7.00 (d, 1H, CHar, J = 8.3 Hz) , 7.40 (s, 1H, CHar) , 7.57 (t, 1H, CHar, J = 7.7 Hz) , 7.83 (d, 1H, CHar, J = 7.8 Hz) , 7.96 (d, 1H, J = 7.8 Hz) , 8.20 (s, 1H, CHar)。

【0162】

3 - {(E) - [(16E, 17) - 3 - アミノ - 17 - ヒドロキシエストラ - 1, 3, 5 (10) - トリエン - 16 - イリデン] メチル} ベンズアミド (49) の合成

化合物48 (40 mg、0.10 mmol) のMeOH溶液 (6 mL) に、NaBH₄ (19 mg、0.50 mmol) を加えた。この反応混合物を室温で1時間にわたり攪拌し、濃縮した。残渣をEtOAc (25 mL) で希釈し、水で洗浄した。次いで、有機層を食塩水で洗浄し、Na₂SO₄で乾燥し濃縮した。粗化合物をフラッシュクロマトグラフィー (DCM/MeOH: 95:5) により精製して、26 mg (65%) の化合物49を得た。¹H NMR (MeOD) : 0.77 (s, 3H, 18 - CH₃) , 1.29 - 2.82 (残りのCHおよびCH₂) , 4.13 (s, 1H, 17 - H) , 6.50 (s, 1H, CHar) , 6.56 (m, 2H, CHar) , 7.07 (d, 1H, CH

ar, J = 8.0 Hz), 7.46 (t, 1H, CHar, J = 7.7 Hz), 7.60 (d, 1H, CHar, J = 7.8 Hz), 7.69 (d, 1H, CHar, J = 7.9 Hz), 7.94 (s, 1H)。

【0163】

3 - { [(16, 17) - 3 - アミノ - 17 - ヒドロキシエストラ - 1, 3, 5 (10) - トリエン - 16 - イル] メチル } ベンズアミド (50) および 3 - { [(16, 17) - 3 - (エチルアミノ) - 17 - ヒドロキシエストラ - 1, 3, 5 (10) - トリエン - 16 - イル] メチル } ベンズアミド (51) の合成

室温およびアルゴン雰囲気下の化合物 49 (15 mg、0.04 mmol) の EtOH 溶液 (2 mL) に、木炭上のパラジウム (10%) (5 mg) を加えた。次いで、反応容器を水素で 3 回フラッシュし、24 時間にわたり攪拌した。得られた反応混合物をセライト上で濾過し、次いで濃縮した。粗化合物を、溶出系としてアセトン/ヘキサン (1:1) を使用してフラッシュクロマトグラフィーにより精製し、4 mg (27%) の化合物 50 および 5 mg (33%) の化合物 51 を得た。

10

【0164】

化合物 50: ^1H NMR (MeOD): 0.91 (s, 3H, 18-CH₃), 1.14 - 2.85 (残りの CH および CH₂), 3.83 (d, 1H, 17-H, J = 9.4 Hz), 6.46 (s, 1H, CHar), 6.55 (d, 1H, CHar, J = 8.3 Hz), 7.04 (d, 1H, CHar, J = 8.5 Hz), 7.41 (m, 2H, CHar), 7.69 (d, 1H, CHar, J = 7.4 Hz), 7.75 (s, 1H); ^{13}C NMR (MeOD): 13.3, 27.5, 28.7, 30.7, 33.0, 38.9, 39.0, 40.0, 43.4, 45.5, 50.0, 83.1, 88.4, 114.9, 117.2, 126.0, 126.8, 129.1, 129.4, 132.0, 133.5, 134.8, 138.2, 144.4, 145.5, 172.7。

20

【0165】

化合物 51: ^1H NMR (MeOD): 0.91 (s, 3H, 18-CH₃), 1.22 (t, 3H, CH₃CH₂NH, J = 7.1 Hz), 1.12 - 2.48 (残りの CH および CH₂), 2.74 (2H, 6-CH₂), 3.08 (q, 2H, CH₃CH₂NH, J = 7.1 Hz), 3.17 (m, 1H), 3.83 (d, 1H, 17-H, J = 9.4 Hz), 6.39 (s, 1H, CHar), 6.49 (d, 1H, CHar, J = 8.3 Hz), 7.06 (d, 1H, CHar, J = 8.5 Hz), 7.41 (m, 2H, CHar), 7.69 (d, 1H, CHar, J = 7.4 Hz), 7.76 (s, 1H); ^{13}C NMR (MeOD): 13.4, 14.9, 27.6, 28.8, 30.9, 33.0, 38.9, 39.0, 40.0, 40.1, 43.4, 45.5, 50.0, 51.7, 83.1, 113.0, 115.0, 126.0, 126.2, 129.1, 129.4, 131.1, 133.5, 134.8, 138.2, 144.4, 147.8, 167.7。

30

【0166】

3 - { [(16, 17) - 17 - ヒドロキシ - 3 - (メチルアミノ) エストラ - 1, 3, 5 (10) - トリエン - 16 - イル] メチル } ベンズアミド (53) の合成

40

室温およびアルゴン雰囲気下の化合物 49 (22 mg、0.05 mmol) の EtOH 溶液 (3 mL) に、木炭上のパラジウム (10%) (5 mg) を加えた。次いで、反応容器を水素で 3 回フラッシュし、24 時間にわたり攪拌した。得られた反応混合物をセライト上で濾過し、次いで濃縮した。粗化合物を、溶出系として EtOAc/ヘキサン (1:1) を使用して分取クロマトグラフィーにより精製し、3 mg (14%) の化合物 50 および 6 mg (27%) の化合物 53 を得た。

【0167】

化合物 53: ^1H NMR (MeOD): 0.91 (s, 3H, 18-CH₃), 1.13 - 2.48 (残りの CH および CH₂), 2.74 (5H, 6-CH₂ および CH₃NH), 3.17 (m, 1H), 3.83 (d, 1H, 17-H, J = 9.4 Hz),

50

6.39 (s, 1H, CHar), 6.47 (d, 1H, CHar, J = 8.3 Hz), 7.07 (d, 1H, CHar, J = 8.5 Hz), 7.41 (m, 2H, CHar), 7.69 (d, 1H, CHar, J = 7.4 Hz), 7.76 (s, 1H); ^{13}C NMR (MeOD): 13.4, 27.6, 28.8, 30.9, 31.3, 33.0, 35.2, 38.9, 39.0, 40.1, 43.4, 45.5, 50.0, 83.1, 112.4, 114.2, 126.0, 126.8, 129.1, 129.4, 130.9, 133.5, 134.8, 138.1, 144.4, 148.9, 151.1, 167.7。

【0168】

3 - { (E) - [(16E) - 3 - フルオロ - 17 - オキシエストラ - 1 (10), 2, 4 - トリエン - 16 - イリデン] メチル } ベンズアミド (55) の合成

10

3 - フルオロ - エストロン (54) (169 mg、0.62 mmol) の EtOH 溶液 (10 mL) に、3 - ホルミル - ベンズアミド (175 mg、1.17 mmol) および KOH 水溶液 (10%、1.7 mL) を加えた。次いで、反応混合物を1時間にわたり還流加熱した。次いで、得られた反応混合物を水 (100 mL) で希釈して、HCl 水溶液 (10%) で中和し、EtOAc (3 × 30 mL) で抽出した。合わせた有機層を食塩水で洗浄し、MgSO₄ で乾燥し濃縮した。粗化合物を、溶出系として EtOAc / ヘキサン (1 : 1) を使用してフラッシュクロマトグラフィーにより精製し、146 mg (62%) の化合物 55 を得た。 ^1H NMR (MeOD): 1.05 (s, 3H, 18 - CH₃), 1.23 - 2.76 (残りのCHおよびCH₂), 6.84 (m, 2H, CHar), 7.32 (t, 1H, CHar, J = 7.7 Hz), 7.49 (s, 1H, CHar), 7.59 (t, 1H, CHar, J = 7.8 Hz), 7.82 (d, 1H, CHar, J = 7.8 Hz), 7.92 (d, 1H, J = 7.7 Hz), 8.14 (s, 1H, CHar)。

20

【0169】

3 - { (E) - [(16E, 17) - 3 - フルオロ - 17 - ヒドロキシエストラ - 1 (10), 2, 4 - トリエン - 16 - イリデン] メチル } ベンズアミド (56) の合成

化合物 55 (140 mg、0.35 mmol) を含む MeOH / DCM (2 : 1) 混合溶液 (15 mL) に、NaBH₄ (26 mg、0.68 mmol) を加えた。反応混合物を室温で30分間にわたり攪拌し、濃縮した。残査をDCM (50 mL) で希釈し、水で洗浄した。次いで、有機層を食塩水で洗浄し、Na₂SO₄ で乾燥し濃縮した。粗化合物をジエチルエーテルで粉碎し、濾過して、140 mg (99%) の化合物 56 を得た。 ^1H NMR (MeOD): 0.77 (s, 3H, 18 - CH₃), 1.30 - 2.82 (残りのCHおよびCH₂), 2.92 (m, 2H, 6 - CH₂), 4.13 (s, 1H, 17 - H), 6.58 (s, 1H, CHar), 6.82 (m, 2H, CHar), 7.30 (m, 1H, CHar), 7.45 (t, 1H, CHar, J = 7.7 Hz), 7.58 (d, 1H, CHar, J = 7.9 Hz), 7.69 (d, 1H, CHar, J = 7.8 Hz), 7.94 (s, 1H, CHar)。

30

【0170】

3 - { [(16, 17) - 3 - フルオロ - 17 - ヒドロキシエストラ - 1 (10), 2, 4 - トリエン - 16 - イル] メチル } ベンズアミド (57) の合成

40

室温およびアルゴン雰囲気下の化合物 56 (140 mg、0.35 mmol) の EtOH 溶液 (5 mL) に、木炭上のパラジウム (10%) (28 mg) を加えた。次いで、反応容器を水素で3回フラッシュし、48時間にわたり攪拌した。得られた反応混合物をセライト上で濾過し、次いで濃縮した。粗化合物を、溶出系としてアセトン / ヘキサン (6 : 4) を使用してフラッシュクロマトグラフィーにより精製し、59 mg (42%) の化合物 57 を得た。 ^1H NMR (MeOD): 0.91 (s, 3H, 18 - CH₃), 1.14 - 2.62 (残りのCHおよびCH₂), 2.82 (m, 2H, 6 - CH₂), 3.17 (m, 1H), 3.84 (d, 1H, 17 - H, J = 9.4 Hz), 6.78 (m, 2H, CHar), 7.07 (d, 1H, CHar, J = 8.5 Hz), 7.30 (

50

m, 1H, CHar), 7.41 (m, 2H, CHar), 7.69 (d, 1H, CHar, J = 7.4 Hz), 7.76 (s, 1H); ^{13}C NMR (MeOD): 13.3, 27.4, 28.3, 30.5, 33.0, 38.8, 39.4, 43.3, 45.3, 49.8, 82.9, 88.2, 113.0 および 113.2 (d), 115.6 および 115.8 (d), 125.9, 127.9 (d), 129.1, 129.4, 133.5, 134.7, 137.3, 140.1 (d), 144.3, 161.0 および 163.4 (d), 172.6。

【0171】

(16E) - 16 - (3 - カルバモイルベンジリデン) - 17 - オキシエストラ - 1, 3, 5 (10) - トリエン - 3 - カルボキサミド (59) の合成

3 - カルボキサミド - エストロン (58) (250 mg、0.84 mmol) の EtOH 溶液 (10 mL) に、3 - ホルミル - ベンズアミド (250 mg、1.67 mmol) および KOH 水溶液 (10%、1.7 mL) を加えた。次いで、反応混合物を 40 分間にわたり還流加熱した。次いで、得られた反応混合物を水 (150 mL) で希釈して、HCl 水溶液 (10%) で中和し、EtOAc (3 × 35 mL) で抽出した。合わせた有機層を食塩水で洗浄し、MgSO₄ で乾燥し濃縮した。粗化合物を、溶出系として DCM / MeOH (95 : 5) を使用してフラッシュクロマトグラフィーにより精製し、70 mg (19%) の化合物 59 を得た。 ^1H NMR (DMSO): 0.95 (s, 3H, 18-CH₃), 1.43 - 2.74 (残りの CH および CH₂), 2.95 (m, 3H), 7.24 および 7.50 (2 s, 2H, CONH₂), 7.37 (d, 2H, CHar, J = 7.6 Hz), 7.57 (t, 1H, CHar, J = 7.7 Hz), 7.63 (d, 2H, CHar, J = 9.7 Hz), 7.82 (d, 1H, CHar, J = 7.9 Hz), 7.87 および 8.07 (2 s, 2H, CONH₂), 7.90 (d, 1H, J = 7.8 Hz), 8.10 (s, 1H, CHar)。

【0172】

(16E, 17) - 16 - (3 - カルバモイルベンジリデン) - 17 - ヒドロキシエストラ - 1, 3, 5 (10) - トリエン - 3 - カルボキサミド (60) の合成

化合物 59 (68 mg、0.16 mmol) を含む MeOH / DCM (1 : 1) の混合溶液 (30 mL) に、NaBH₄ (10 mg、0.26 mmol) を加えた。この反応混合物を室温で 1 時間にわたり攪拌し、濃縮した。残渣を DCM (50 mL) で希釈し、水で洗浄した。次いで、有機層を食塩水で洗浄し、Na₂SO₄ で乾燥し濃縮した。粗化合物をジエチルエーテルで粉砕し、濾過して、68 mg (99%) の化合物 60 を得た。 ^1H NMR (MeOD): 0.78 (s, 3H, 18-CH₃), 1.43 - 2.86 (残りの CH および CH₂), 3.01 (m, 2H, 6-CH₂), 4.15 (s, 1H, 17-H), 6.59 (s, 1H, CHar), 7.47 (m, 2H, CHar), 7.62 (m, 3H, CHar), 7.69 (d, 1H, CHar, J = 7.8 Hz), 7.95 (s, 1H, CHar)。

【0173】

(16, 17) - 16 - (3 - カルバモイルベンジル) - 17 - ヒドロキシエストラ - 1, 3, 5 (10) - トリエン - 3 - カルボキサミド (61) の合成

室温およびアルゴン雰囲気下の化合物 60 (64 mg、0.148 mmol) の EtOH 溶液 (5 mL) に、木炭上のパラジウム (10%) (11 mg) を加えた。次いで、反応容器を水素で 3 回フラッシュし、16 時間にわたり攪拌した。得られた反応混合物をセライト上で濾過し、次いで濃縮した。粗化合物を、溶出系として DCM / MeOD (95 : 5) を使用してフラッシュクロマトグラフィーにより精製し、21 mg (32%) の化合物 61 を得た。 ^1H NMR (MeOD): 0.93 (s, 3H, 18-CH₃), 1.17 - 2.49 (残りの CH および CH₂), 2.89 (m, 2H, 6-CH₂), 3.18 (m, 1H), 3.86 (d, 1H, 17-H, J = 9.5 Hz), 7.40 (m, 3H, CHar), 7.58 (s, 1H, CHar), 7.62 (d, 1H, CHar, J = 8.2 Hz), 7.69 (d, 1H, CHar, J = 6.1 Hz), 7.76 (

10

20

30

40

50

s, 1H)。¹³C NMR (MeOD) : 11.9, 25.8, 26.9, 29.0, 31.6, 37.4, 37.5, 37.9, 41.9, 43.9, 44.5, 48.6, 81.5, 124.5, 124.6, 125.1, 127.7, 127.8, 128.0, 130.5, 132.1, 133.4, 136.7, 142.9, 144.6, 171.2。

【0174】

17 - HSD3

17 - HSD3 酵素は、精巣（内分泌）、副腎（細胞内分泌）、および腫瘍内組織（細胞内分泌）に由来する、種々の供給源の活性なアンドロゲンTを遮断することにより、進行した前立腺癌を治療するための有望な標的である（図10）。さらに、実際の内分泌療法に相補的な17 - HSD3 阻害剤を使用すると、相乗効果が得られることにより、抗アンドロゲン、LHRHアゴニスト、およびアンドロゲン生合成酵素（5 - レダクターゼおよび17 - リアーゼ）阻害剤の効果を増大させることができると信じられている^{44, 45}。アンドロゲン受容体（AR）のこのより完全な不活性化はまた、変異するその能力を限定し、かつ/またはアンドロゲン非依存性クローンがアンドロゲン非依存性に進展する能力を低下させるであろう。

10

【0175】

17 - HSD3 の阻害に関する以前の構造活性相関（SAR）研究により、阻害活性にとって重要な基準が同定された（図11A）⁴⁶⁻⁵²。しかしながら、17 - HSD3 を過剰表現するHEK-293細胞のホモジネートにおけるそれらの良好な効果にもかかわらず、これらの阻害剤は最適ではなかった。3 - アルキル - アンドロステロン系列の第一世代の阻害剤は、シオノギ（AR⁺）細胞に関して、アンドロゲン感受性疾患の治療場面では望ましくないアンドロゲン性プロファイルを示した。これらの阻害剤の阻害効力はまた、17 - HSD3 を過剰表現するHEK-293細胞のホモジネートよりも無傷細胞で低く、したがって、細胞透過性が低いことが示唆された。

20

【0176】

17 - HSD3 阻害剤に非アンドロゲン性プロファイルを付与するために、アンドロステロン（ADT）核の3位に導入される新しい多様な置換基に対する酵素の許容性を探索した。より具体的には、2系列のADT誘導体（三級アミンおよびカルバメート）を、17 - HSD3 の新しい阻害剤として設計、合成、および試験した（図11B）。

30

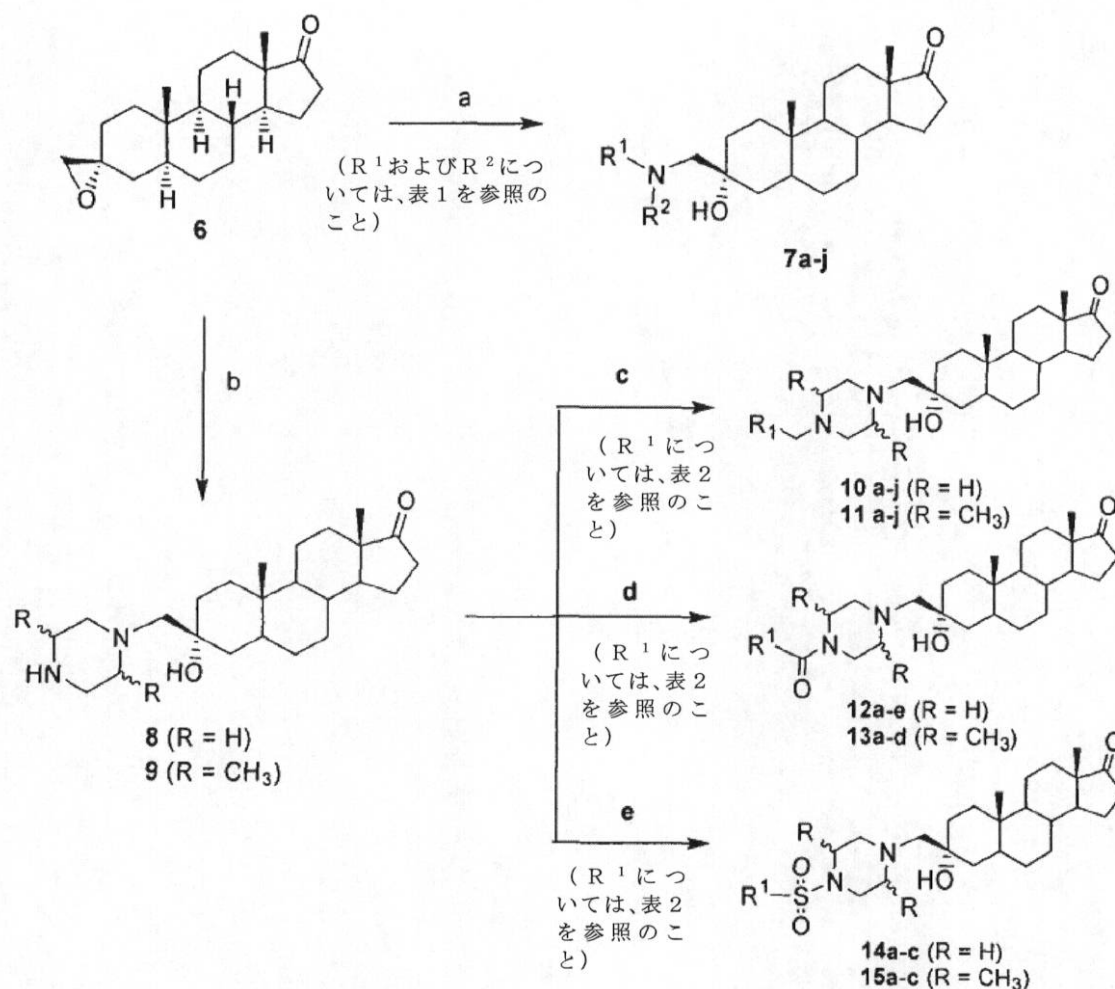
【0177】

ADT誘導体7a~jは、一連の市販二級アミン（スキーム15）を使用して、エタノール還流でのオキシラン6の開環から許容収率（35%~70%）で容易に得られた。同様にまた、オキシラン6を、ピペラジンまたはトランス-2,5-ジメチルピペラジンで開環して、中間体8および9を得た。続いて、8および9の遊離NHを、種々のビルディングブロック（例えば、臭化ベンジル、塩化アシル、および塩化スルホニル）を使用する、一連の付加反応に供して、対応するピペラジン誘導体の10a~jおよび11a~j（アミン）；12a~eおよび13a~d（アミド）；ならびに14a~cおよび15a~c（スルホンアミド）を得た。

【0178】

40

【化 1 4】



10

20

30

スキーム 15 : 試薬および条件 : (a) R¹ R² NH、エタノール、60 °C ; (b) ピペラジンまたは 2 , 5 - ジメチルピペラジン、エタノール、60 °C ; (c) R¹ CH₂ Br ; TEA、DCM、rt ; (d) R¹ COCl、TEA、DCM、rt ; (e) R¹ SO₂ Cl、TEA、DCM

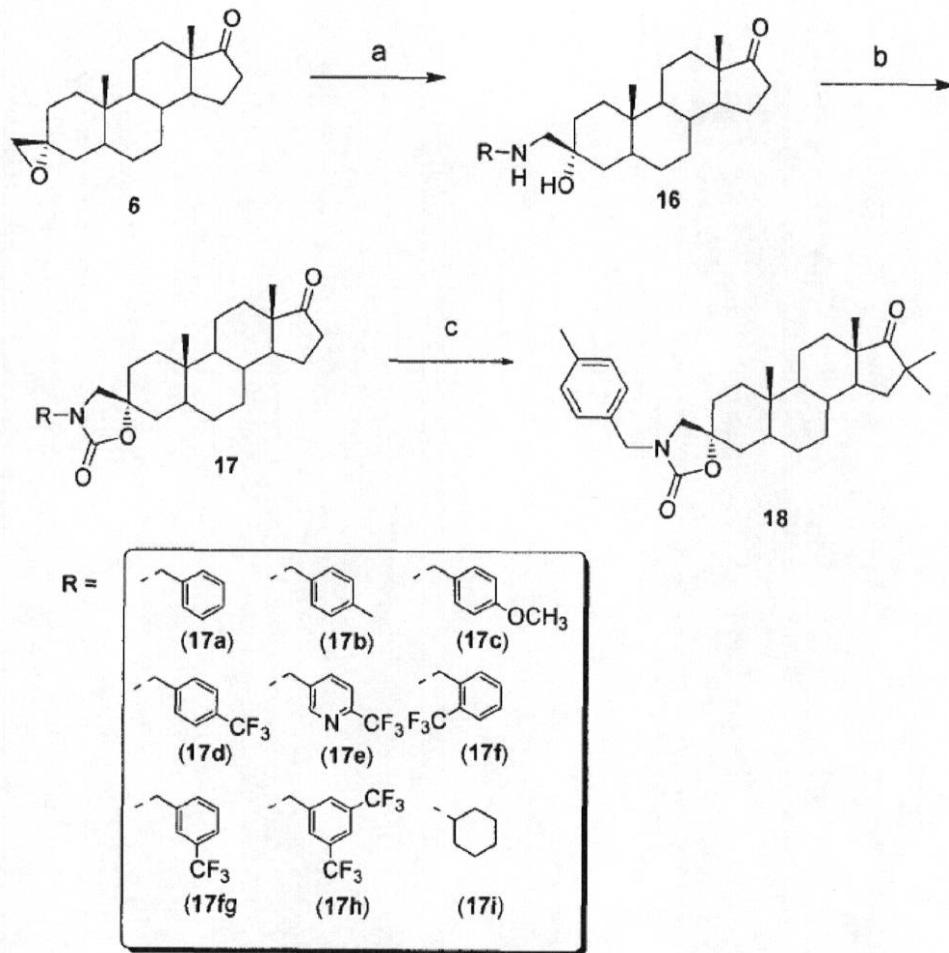
【 0 1 7 9 】

本明細書の以下のスキーム 16 および 17 に図示するように、カルバメート誘導体 17 a ~ i、18、21、22、および 23 a ~ g を調製した。カルバメート 17 a ~ i および 18 は、一連の市販一級アミンを使用して、エタノール還流でオキシラン 6 を開環した後、アミノアルコールをカルバメートに変換する環化反応を行って調製した。最終的に、17 b の C 16 ジメチル化により 18 が得られた (スキーム 16)。

【 0 1 8 0 】

40

【化 1 5】



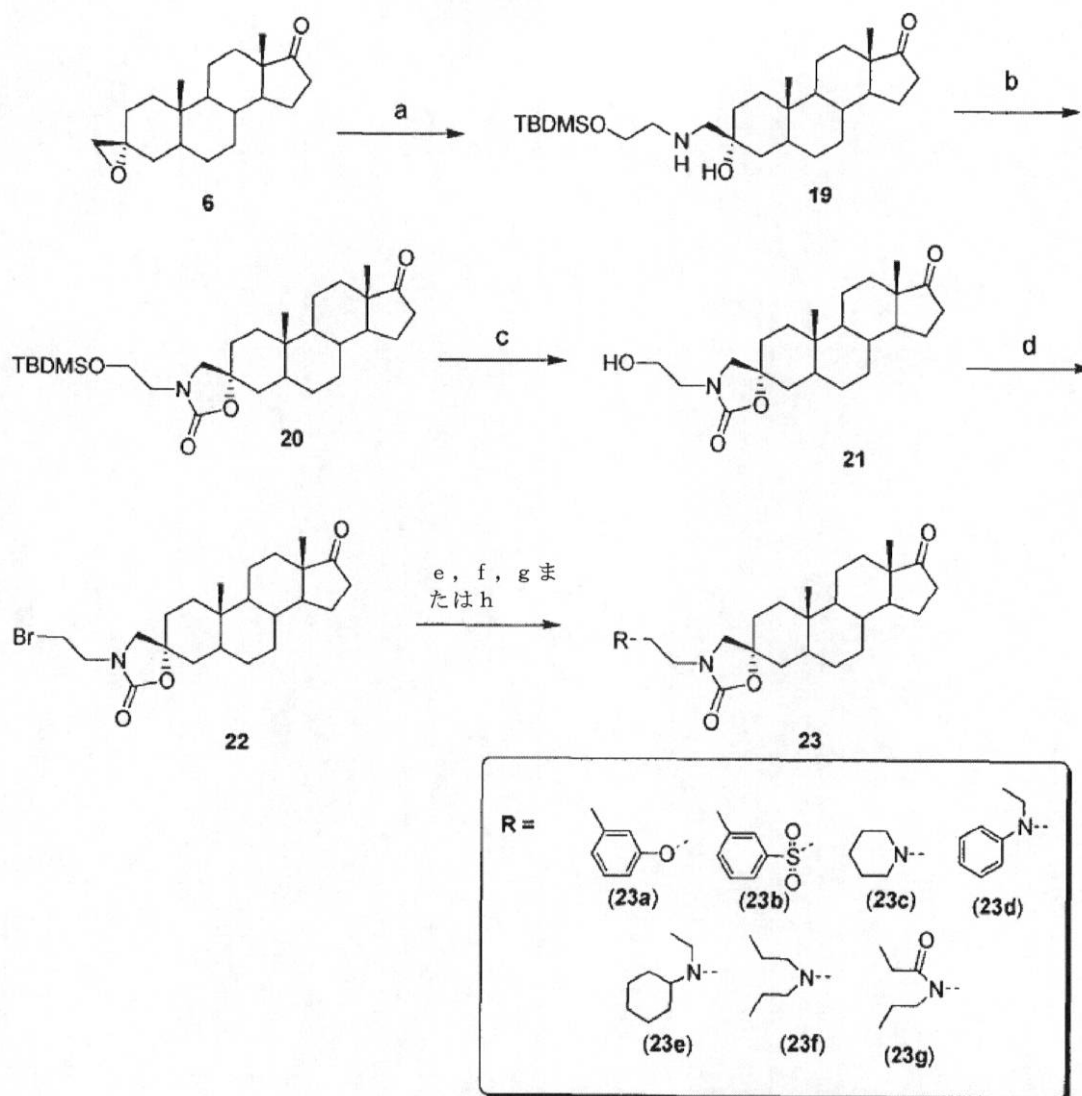
スキーム 16：試薬および条件：(a) $R-NH_2$ 、エタノール、60℃；(b) トリホスゲン、DIPEA、DCM；(c) NaH、MeI、DMF

【0181】

カルバメート 21、22、および 23a～g は、アミノエタノール-O-TBDMS を使用して、エタノール還流でオキシラン 6 を開環した後、アミノアルコール 19 をカルバメート 20 に変換する環化反応を行って調製した。TBDMS 保護基を除去すると、対応する臭化物 22 に容易に変換されるアルコール 21 が得られた。最終的に、カルバメート 23a～g は、鍵となる臭化アルキル中間体 22 (スキーム 17) の種々の N、O、および S-アルキル化反応により得られた。

【0182】

【化 16】



スキーム 17：試薬および条件：(a) $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_2\text{OTBDMS}$ 、エタノール、60；(b) トリホスゲン、DIPEA、DCM；(c) TBAF、THF、rt；(d) PPh_3 、 CBr_4 、DCM、0 ~ rt；(e) 3-メチルフェノール (23a について)；(f) i) 3-メチルチオフェノール、 K_2CO_3 、DMF、80；ii) KHSO_5 、 $\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (23b について)；(g) 適切な $\text{R}^1\text{R}^2\text{NH}$ 、エタノール、60 (23c、23d、23e、および 23f について)；(h) i) プロピルアミン、 Na_2CO_3 、DMF、80；ii) プロピオン酸クロライド、トリエチルアミン、DCM、rt (23g について)

【0183】

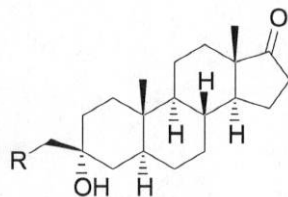
細胞ホモジネートにおける 17 β -HSD3 の阻害
 三級アミン誘導体

以前の SAR 研究により、ADT の 3 位の疎水性鎖が 17 β -HSD3 により良好に許容されることが示された^{4,8}。残念ながら、これらの化合物はまた、アンドロゲン感受性細胞の増殖を刺激し、フェニルプロピル-ADT (1) について図 11B に図示されているように、比較的高い疎水性を有することが見出された。低い疎水特性および構造多様性のための潜在力を考慮して、種々の三級アミン誘導体を検討した^{5,3}。ADT スキャフォールドを、種々の非環式 (7a ~ d) および環式 (7e ~ 7j) アミンを使用して 3 位で修飾し、得られた化合物について、17 β -HSD3 の阻害剤としてのそれらの可能性を評価した (表 2)。

【 0 1 8 4 】

【 表 4 】

表 2：ADT の種々の三級アミン誘導体(化合物 7a~j)による、細胞ホモジネートおよび無傷細胞における 17 β -HSD3 の阻害^a



10

化合物	R	ホモジネート (%) (0.01 μ M)	ホモジネート (%) (0.1 μ M)	ホモジネート (%) (1 μ M)	無傷細胞 (%) (0.1 μ M)	無傷細胞 (%) (1 μ M)
7a		42	85	90	86	94
7b		28	79	89	48	92
7c		0	10	60	N/A	14
7d		13	70	85	53	90
7e		9	19	69	N/A	23
7f		40	82	90	N/A	52
7g		0	4	69	N/A	20
7h		0	0	40	2	N/A
7i		13	78	89	N/A	68
7j		35	72	90	37	80

20

30

^a 表示濃度の試験化合物における、[¹⁴C]-4-アンドロステン-3,17-ジオン(50nM)の[¹⁴C]テストステロンへの変換について

40

【 0 1 8 5 】

ヒト胎生腎 (HEK) - 293 細胞 (ホモジネート) にトランスフェクトされた 17-HSD3 を阻害する化合物 7a ~ 7j の能力を、補因子としての NADPH の存在下で、天然標識基質⁴ - ジオンから形成される標識 T の量を測定することにより決定した。結果は、所与の化合物について阻害活性のパーセントとして表現した。非環式誘導体の系列では、化合物 7a が最も活性な阻害剤であった (0.01 μ M で 42% および 0.1 μ M で 85%)。環式誘導体の場合は、化合物 7f および 7j が最良の阻害剤であり、0.01 μ M でそれぞれ 40% および 35% の阻害を示した。しかしながら、ピペラジン誘導体 7j が、その低い疎水性 (7f と比較して) を考慮するとより興味深いものと考えられた。

50

【 0 1 8 6 】

ピペラジン誘導体

種々のピペラジン誘導体を調製し分析した（表 3）。阻害値は、置換アリール基（Z）がピペラジン部分に結合した種々の 3 - ピペラジン - A D T 誘導体（化合物 1 0 a ~ j）について実質的に変わることはなかった。さらに、電子吸引基（例えば、 CF_3 ；Cl）または電子供与基（例えば、 OCH_3 ）のいずれかの存在は、阻害値に対してほとんどまたはまったく効果を及ぼさなかった。化合物 1 0 a は、基準化合物 7 j よりも良好な阻害を示した。ピリジン環（化合物 1 0 g）は、1 7 - H S D 3 の阻害に対して負の影響を及ぼすように見え、極性置換基に対する許容性が見かけ上悪いことが示される。さらにまた、リンカー（Y）（例えば、 CH_2 、CO、または SO_2 ）の改変は、阻害活性に対してほとんどまたはまったく効果を及ぼさなかった（化合物の残りの部分は不変のままである）。trans - 2 , 5 - ジメチルピペラジン部分の使用は、ピペラジン部分を含む対応する化合物と比較したとき、化合物のアミン（ $\text{Y} = \text{CH}_2$ ）またはアミド（ $\text{Y} = \text{CO}$ ）系列においては阻害を増大させなかったが、スルホンアミド系列において阻害を増大させた。0 . 0 1 μM において 5 5 % および 7 9 % の阻害値が、それぞれ化合物 1 5 b および 1 5 c について記録された。スルホンアミド 1 5 c は、その対応するアミド 1 3 d（1 7 %）およびその対応するアミン 1 1 c（1 4 %）よりも高い阻害パーセント（0 . 0 1 μM で 7 9 %）を示した。阻害に対する強力な負の影響はまた、C 1 9 - ステロイド核で C 2 1 - ステロイド核が置換されたときに観察することができ、これにより、1 7 - H S D 3 がアンドロスタンスキャフォールドに対して、プレグナンスキャフォールドと比較して明らかな選択性を有することが示される（ $\text{Z} = \text{C}_6\text{H}_5$ ； $\text{Y} = \text{CH}_2$ 、および $\text{X} =$ ピペラジンの場合、0 . 1 μM でそれぞれ 8 4 % 阻害対 1 2 % 阻害）。最後に、アンドロスタン誘導体 7 j の C 4 - C 5 位の不飽和の存在は、酵素阻害に重要な影響を及ぼさなかった。

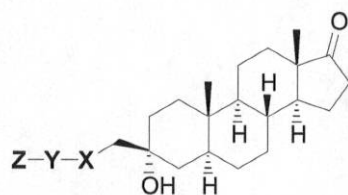
10

20

【 0 1 8 7 】

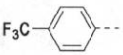
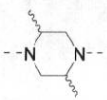
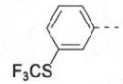
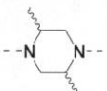

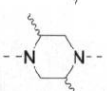
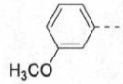
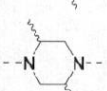

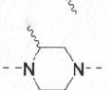
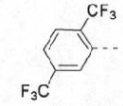
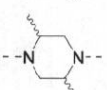
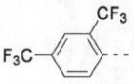
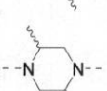
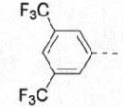
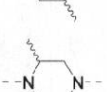

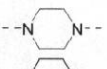

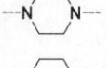

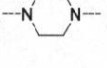

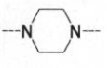
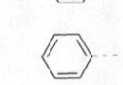
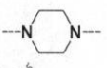

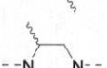



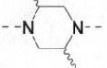
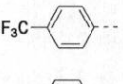
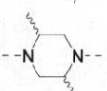

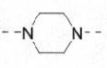

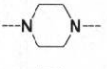
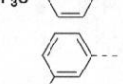
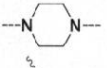

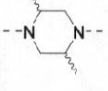
【表 5 A】

表 3：細胞ホモジネートおよび無傷細胞における 17β -HSD3 の阻害: 3β -ピペラジン
ADT 系列の最適化(化合物 10a~j、11a~j、12a~e、13a~d、14a~c、および 15a-c)^a


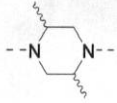
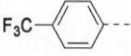
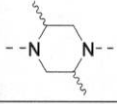


化合物	Z	Y	X	ホモジネート(%) (0.01 μ M)	ホモジネート(%) (0.1 μ M)	無傷細胞(%) (0.1 μ M)
7j		CH ₂		36	74	38
10a		CH ₂		51	88	52
10b		CH ₂		18	86	20
10c		CH ₂		14	81	33
10d		CH ₂		3	91	N/A (62) ^b
10e		CH ₂		26	85	N/A (75) ^b
10f		CH ₂		21	83	47
10g		CH ₂		10	33	N/A (63) ^b
10h		CH ₂		18	85	12
10i		CH ₂		22	75	16
10j		CH ₂		25	83	25
11a		CH ₂		31	89	N/A (78) ^b
11b		CH ₂		22	85	36

【表 5 B】

11c		CH ₂		14	87	36	
11d		CH ₂		18	88	N/A (58) ^b	
11e		CH ₂		26	84	N/A (55) ^b	
11f		CH ₂		19	87	50	10
11g		CH ₂		17	47	N/A (58) ^b	
11h		CH ₂		16	71	23	
11i		CH ₂		15	71	21	
11j		CH ₂		25	74	16	20
12a		CO		17	76	50	
12b		CO		19	75	N/A (70) ^b	
12c		CO		31	86	62	
12d		CO		10	92	91	
12e		CO		22	84	56	30
13a		CO		24	87	78	
13b		CO		24	90	77	
13c		CO		28	89	70	
13d		CO		17	91	61	40
14a		SO ₂		21	82	N/A (71) ^b	
14b		SO ₂		45	92	63	
14c		SO ₂		21	78	34	
15a		SO ₂		32	91	77	

【表 5 C】

15b		SO ₂		55	92	84
15c		SO ₂		79	92	47

^a表示濃度の試験化合物における、[¹⁴C]-4-アンドロステン-3,17-ジオン(50 nM)の[¹⁴C]-テストステロンへの変換について。^b1 μMでの試験。

10

【0190】

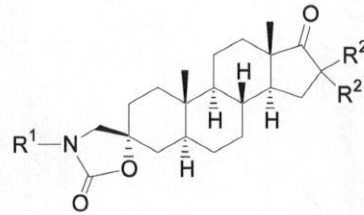
カルバメート誘導体

17 - HSD3 に対して有望な阻害活性を示す、3 - カルバメート - ADT 誘導体の小規模ライブラリーが以前合成された^{4 6}。良好な活性にもかかわらず、これらの化合物は、*in vivo*で加水分解を受けやすいエステル基(図11Bの4および5を参照のこと)を有する。カルバメート部分上により安定な置換基を有する改良された阻害剤を提供するために、さらなる一連の新しいカルバメートアナログを調製した(表4)。

【0191】

【表 6 A】

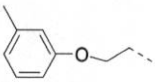
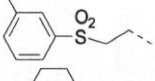
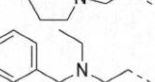
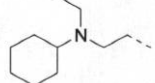
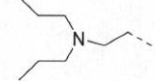
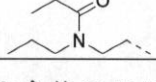
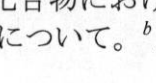
表 4：細胞ホモジネートおよび無傷細胞における 17β -HSD3 の阻害: 3-カルバメート ADT 系列の最適化(化合物 17a~i、18、21、22、および 23a~g)^a



化合物	R ¹	R ²	ホモジネート(%) (0.01 μM)	ホモジネート(%) (0.1 μM)	ホモジネート(%) (1.0 μM)	無傷細胞(%) (0.1 μM)
4		H	2	79	94	49
17a		H	21	86	93	44
17b		H	17	81	93	38
17c		H	5	84	93	43
17d		H	25	80	nd	43
17e		H	3	65	nd	36
17f		H	17	81	nd	35
17g		H	16	80	nd	36
17h		H	12	66	nd	35
17i		H	13	75	78	29
18		CH ₃	2	22	74	18
21		H	0	9	38	16 ^b
		H	17	69	93	31

【 0 1 9 2 】

【表 6 B】

22						
23a		H	13	85	95	40
23b		H	0	52	93	5
23c		H	0	0	21	10 ^b
23d		H	14	71	93	40
23e		H	2	21	72	2
23f		H	0	10	62	8 ^b
23g		H	0	35	80	25

^a 表示濃度の試験化合物における、[¹⁴C]-4-アンドロステン-3,17-ジオン(50nM)の[¹⁴C]-テストステロンへの変換について。^b 別の実験での試験。

【0193】

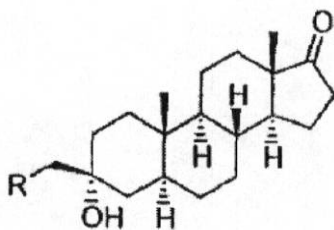
化合物 17 a、17 b、17 d、17 f、17 g、17 h、17 i、22、および 23 a により示されるように、酵素は、疎水性鎖を有するすべてのカルバメートに対して良好な許容性を示した。化合物 17 e、21、23 b、23 c、23 e、23 f、および 23 g により示されるように、親水性鎖を有するカルバメートについては、弱い阻害結果が得られた。これは、アルコール 21 の阻害活性を対応する臭化物 22 と比較する場合、および p - C F₃ - フェニル誘導体 17 d の阻害活性を p C F₃ - ピリジン誘導体 17 e と比較する場合に特に明らかである。さらに、スルホン誘導体 23 b はその対応するエーテル 23 a よりも効力が低かった。化合物 17 b の C 16 位への 2 つのメチル基の付加は、明らかに酵素による許容性が十分でなく、その結果、化合物 18 は、17 - H S D 3 に対し極めて弱い阻害を示すのみであった。基準化合物 4 に対する、阻害活性のわずかな改善が、化合物 17 a、17 b、17 d、17 f、17 g、および 23 a で観察された。

【0194】

本開示の一実施形態では、下記の構造

【0195】

【化 17】



[式中、R はヘテロシクリルまたは - N R_a R_b (式中、R_a および R_b はそれぞれ独立して、アルキルまたはアラキルである) である] を有する 17 - H S D 3 の阻害剤、またはその薬学的に許容可能な塩もしくは互変異性体が含まれる。

【0196】

別の実施形態では、下記の構造：

【0197】

10

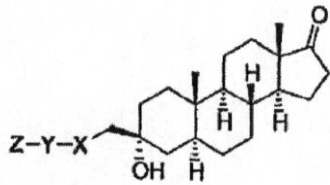
20

30

40

50

【化 1 8】



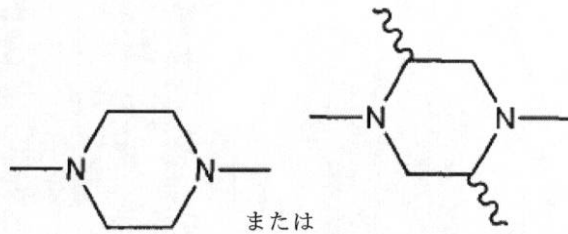
[式中 :

X は、

【 0 1 9 8 】

【 化 1 9 】

10



であり ;

Y は、 $-CH_2-$ 、 $-C(O)-$ 、または $-S(O)_2$ であり ; かつ Z は、シクロアルキル、アリール、またはヘテロシクリルである] を有する 17 - HSD3 のさらなる阻害剤、またはその薬学的に許容可能な塩もしくは互変異性体が含まれる。

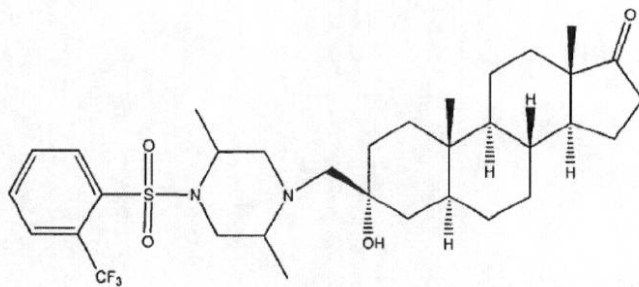
20

【 0 1 9 9 】

一実施形態では、17 - HSD3 阻害剤は、下記の構造、

【 0 2 0 0 】

【 化 2 0 】



30

またはその薬学的に許容可能な塩を有する。一実施形態では、阻害剤は、上記化合物の対応する塩酸 (HCl) 塩、または上記化合物のピペラジン部分上の他の酸付加塩である。

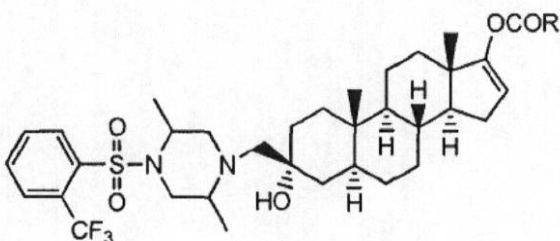
【 0 2 0 1 】

別の実施形態では、17 - HSD3 阻害剤は、以下のプロドラッグ構造

40

【 0 2 0 2 】

【 化 2 1 】



50

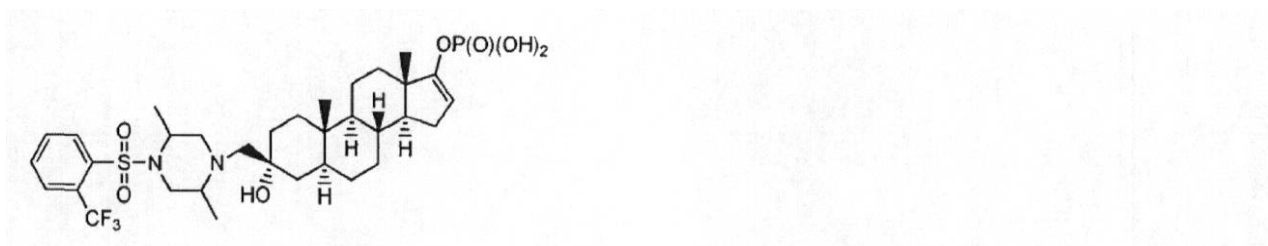
またはその薬学的に許容可能な塩を有する。一実施形態では、阻害剤は、上記化合物の対応する塩酸（HCl）塩、または上記化合物のピペラジン部分上の他の酸付加塩である。
RはC1～C4アルキル基を含む。

【0203】

別の実施形態では、17-HSD3阻害剤は、以下のプロドラッグ構造、

【0204】

【化22】



10

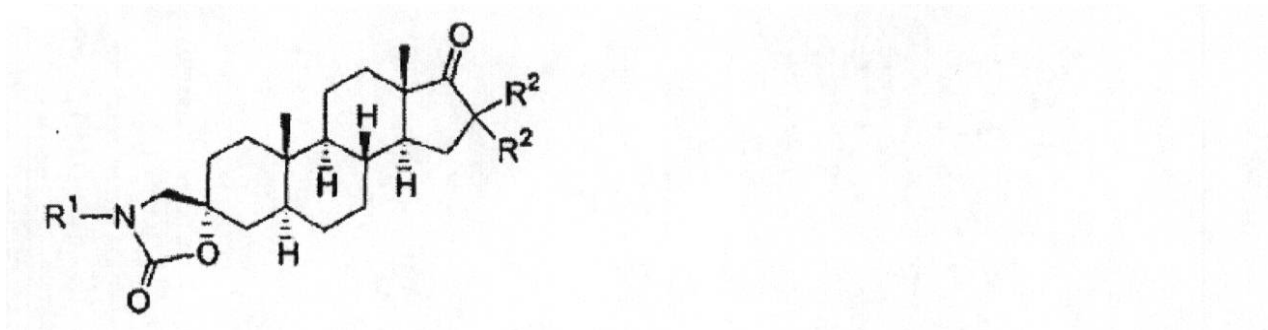
またはその薬学的に許容可能な塩を有する。一実施形態では、阻害剤は、上記化合物の対応する塩酸（HCl）塩、または上記化合物のピペラジン部分上の他の酸付加塩である。

【0205】

別の実施形態では、下記の構造

【0206】

【化23】



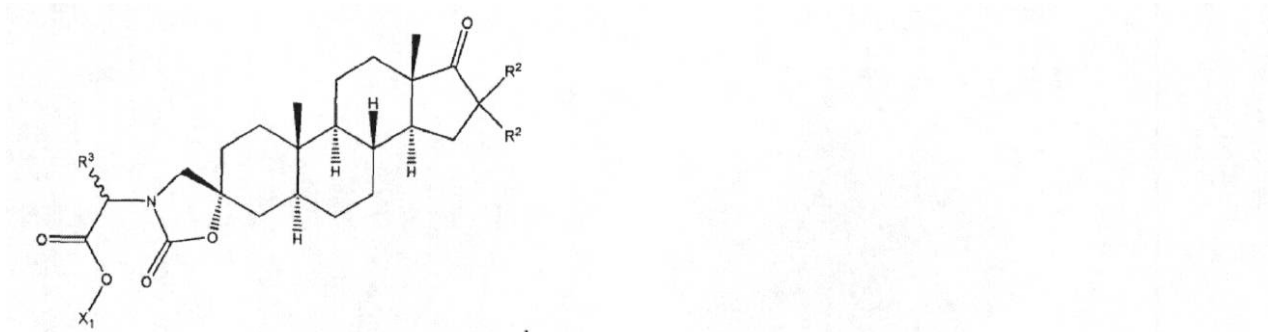
20

[式中、R¹は、アルキル、アラルキル、ヘテロシクリル、シクロアルキル、-CH₂CH₂S(O)₂-アシル、ヘテロシクリル、-CH₂CH₂CH(O-アシル)CH₂-ヘテロシクリル、または-CH₂CH₂NR_aR_b（式中、R_aおよびR_bはそれぞれ独立して、アルキル、シクロアルキル、アシル、またはアラルキルである）であり；R²はそれぞれ独立して、水素またはアルキルである]を有するまたさらなる17-HSD3阻害剤、またはその薬学的に許容可能な塩もしくは互変異性体が含まれる。別の実施形態では、上記化合物は、下記の構造：

30

【0207】

【化24】



40

[式中、

X₁はアルキルであり、

R²は独立して水素またはアルキルであり、

50

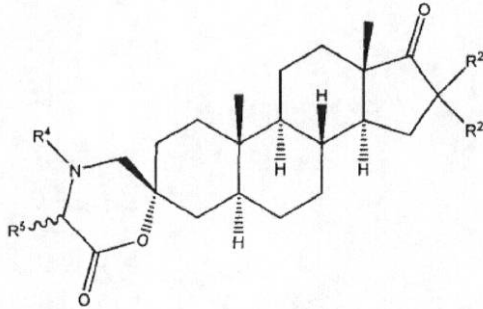
R^3 はアルキル、水素、またはアラルキルである]、
またはその薬学的に許容可能な塩もしくは互変異性体を有する。

【 0 2 0 8 】

別の実施形態では、下記の構造

【 0 2 0 9 】

【 化 2 5 】



10

[式中、

R^2 は独立して水素またはアルキルであり、

R^4 は水素またはアラルキルであり、

R^5 はアルキル、水素、またはアラルキルである]

を有するまたさらなる 17 - HSD3 阻害剤、またはその薬学的に許容可能な塩もしくは互変異性体が含まれる。

20

【 0 2 1 0 】

無傷細胞における 17 - HSD3 の阻害

HEK - 293 細胞のホモジネートにおける化合物の阻害活性を確定した後、これらの化合物が、17 - HSD3 を過剰発現する無傷細胞においてそれらの阻害作用を発揮する能力を判定した。表 2 の結果 (無傷細胞について得られた) は、三級アミン 7 a が最良の阻害剤であることを示している。表 3 の結果は、化合物 10 a、14 b、15 b、および 15 c のみが、細胞ホモジネートにおいて活性の 40 % 超を阻害したことを示す (0.01 μ M でそれぞれ 51、45、55、79 % の阻害)。さらに、無傷細胞の結果は、15 b が最良の阻害特性を有することも示した。4 - ジオンの T への変換において、0.1 μ M で 84 % の阻害を示したので、化合物 15 b は、52、45、および 47 % の値をそれぞれ示した 10 a、14 b、および 15 c よりも、無傷細胞において効力のある阻害剤である。表 4 に示すカルバメートベースの阻害剤は、表 2 および 3 に示す化合物系列のいずれよりも効力の少ない阻害剤であるように見える。表 4 に示す化合物はいずれも、細胞ホモジネートにおいて、0.01 μ M で 40 % を超える阻害値を示さなかった。さらに、化合物 17 a ~ i、22、23 a、および 23 d のみが、0.1 μ M のより高い報告濃度で、このレベルの酵素阻害を上回った。化合物 17 a は、無傷細胞において 17 - HSD3 活性を 44 % 阻害することを考慮して、カルバメート - ADT 誘導体のこの系列の代表的な阻害剤として選択した。

30

【 0 2 1 1 】

ピペラジン誘導体 15 b、第一世代阻害剤 5、および天然基質 4 - ジオンの IC_{50} 値を測定した。細胞ホモジネートおよび無傷細胞の両方におけるアッセイで効力が低かったため、カルバメート誘導体 17 a は、 IC_{50} 測定用には選択しなかった。さらに、アンドロゲン性化合物であることが示されたため、三級アミン誘導体 7 a も選択しなかった。17 - HSD3 を過剰発現する無傷 HEK - 293 細胞について得られた阻害曲線から (図 12)、15 b は、基準化合物 5 よりも 8 倍良好な阻害剤であることが見出された (それぞれ $IC_{50} = 6$ および 51 nM)。化合物 15 b はまた、それ自体が阻害剤として使用された非標識 4 - ジオンよりも ($IC_{50} = 337$ nM)、標識 4 - ジオンの T への変換の阻害において、56 倍良好であることが見出された。

40

【 0 2 1 2 】

50

シオノギ細胞に対する増殖（アンドロゲン様）活性

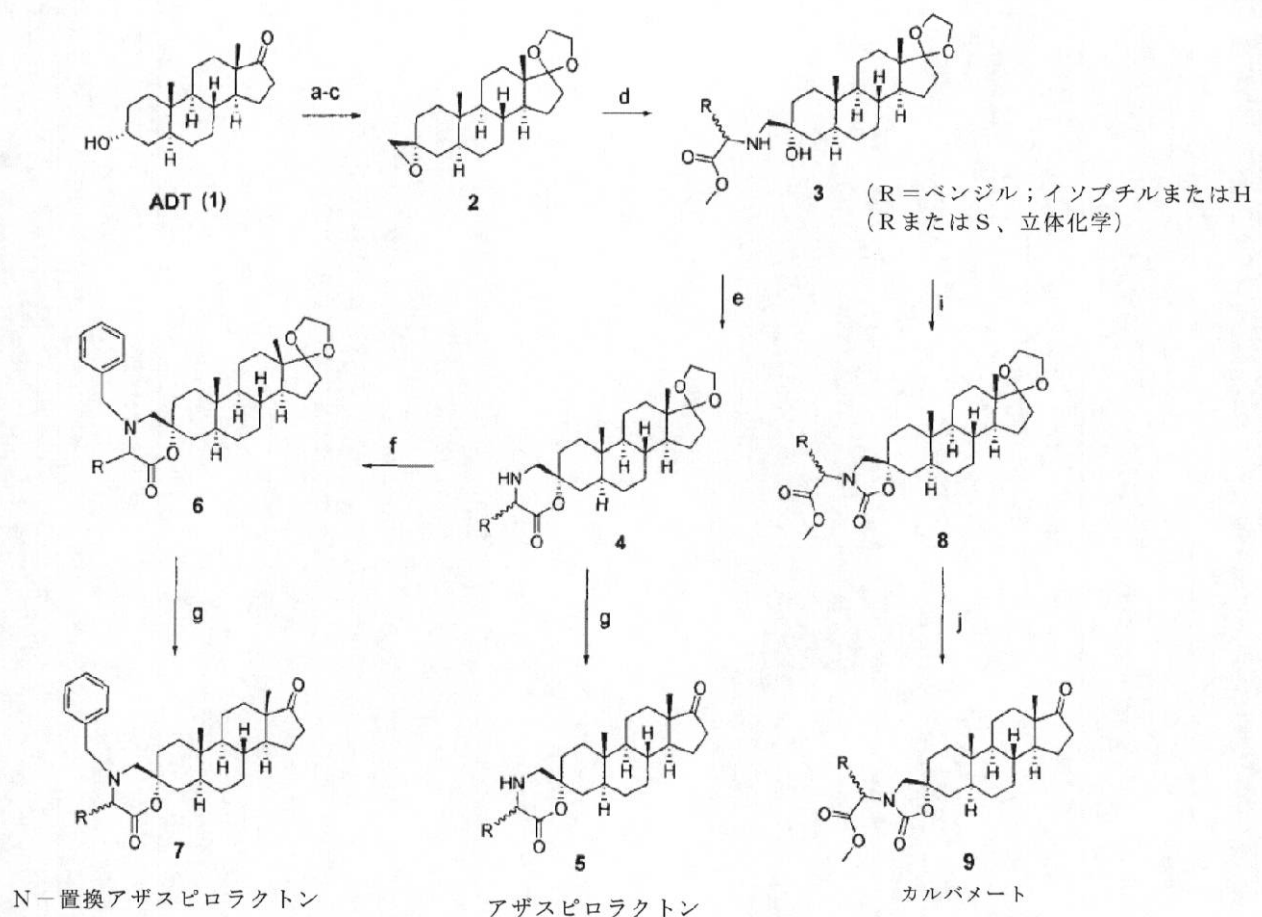
アンドロゲン依存性疾患の治療場面では、有望な 17 - HSD 3 候補の開発にとって重要な基準は、それらの非アンドロゲン特性またはアンドロゲン受容体（AR）を活性化しないそれらの能力である。したがって、アンドロゲン感受性（AR⁺）シオノギ細胞に対する、アゴニスト（増殖）活性阻害剤 7a、15b、17a、5、および 3 - ベンジル - 3 - ヒドロキシ - 5 - アンドロスタン - 17 - オンを評価した（図 13）。このアッセイでは（基礎細胞増殖（対照）を 100%とした）、効力のあるアンドロゲンジヒドロテストステロン（0.1 μM）は、320%まで細胞増殖を刺激し、抗アンドロゲン（ARアンタゴニスト）は、細胞増殖を刺激しなかった。細胞増殖を顕著に刺激しなかった阻害剤 5 とは対照的に、第一世代阻害剤 CS - 213 は、完全にアンドロゲン様であり、0.1 および 1 μM でそれぞれ、基礎細胞増殖の 225% および 396% を誘導する。化合物 7a は、強力な増殖効果を示した（0.1 および 1 μM でそれぞれ 292% および 314%）。しかしながら、これらの 2 つの濃度では、化合物 17a および 15b は、AR⁺細胞の増殖を刺激せず、したがって、アンドロゲン様活性のないことが示唆された。こうして、スルホンアミド 15b は、17 - HSD 3 を過剰表現する、トランスフェクトされた HEK - 293 無傷細胞における 4 - ジオンの T への変換に対する強力な阻害活性（IC₅₀ = 5 nM）を有する非アンドロゲン性阻害剤である。

【0213】

スキーム 18 ~ 21 で以下に図示するように、さらなる 17 - HSD 3 阻害剤を調製した。

【0214】

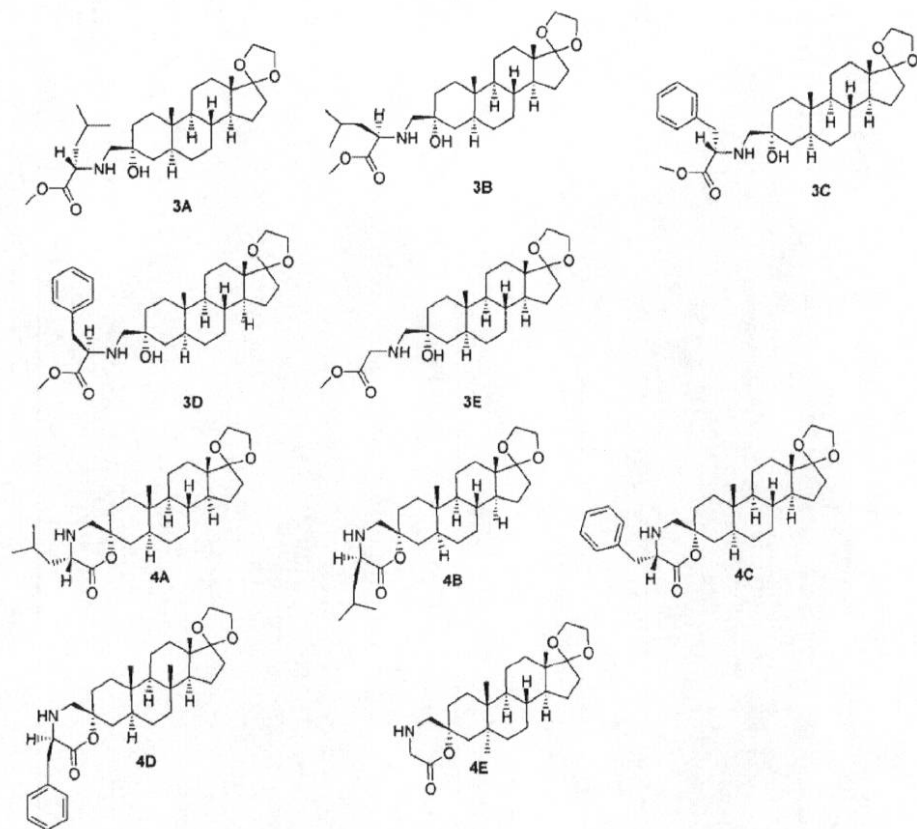
【化 26】



スキーム 18

【0215】

【化 2 7】



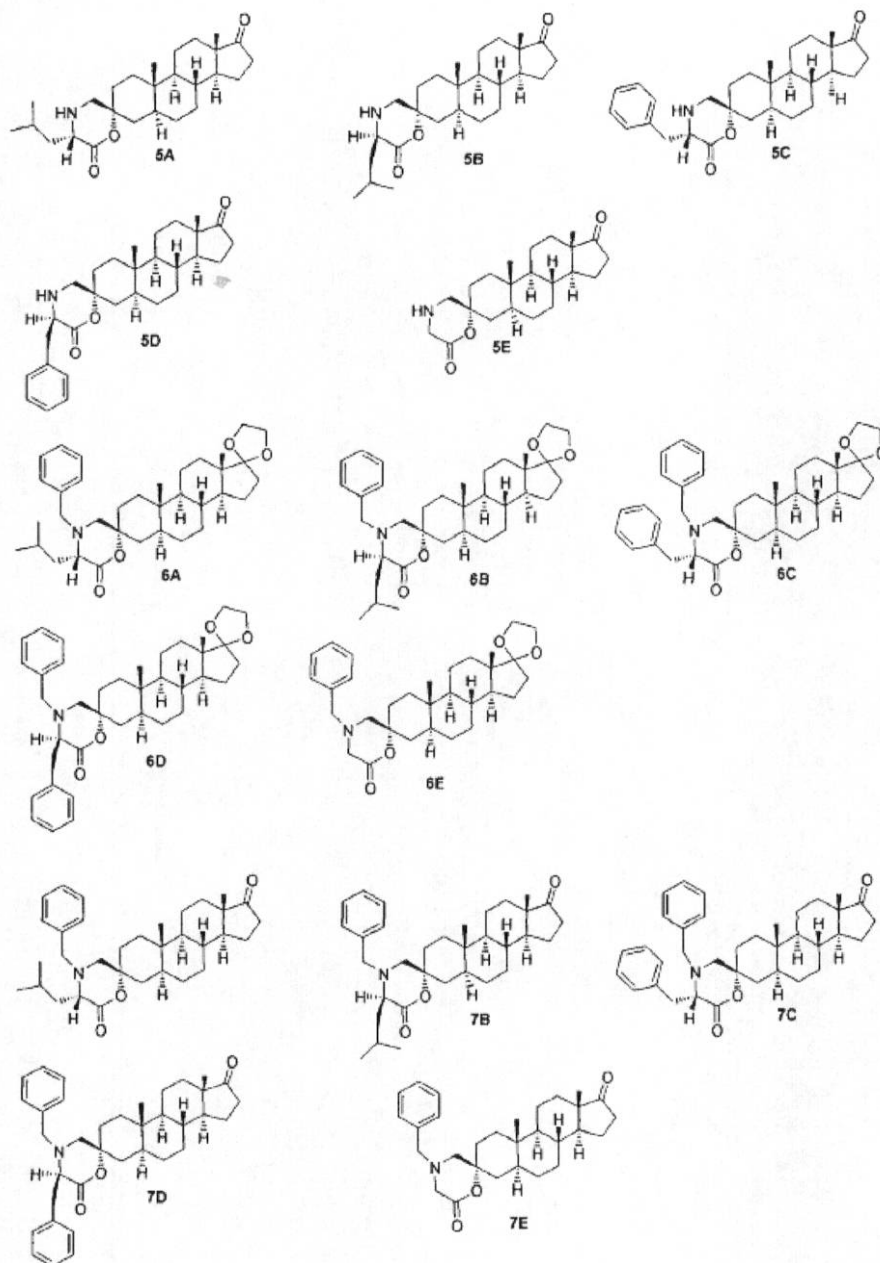
10

20

スキーム 19

【 0 2 1 6 】

【化 2 8】



10

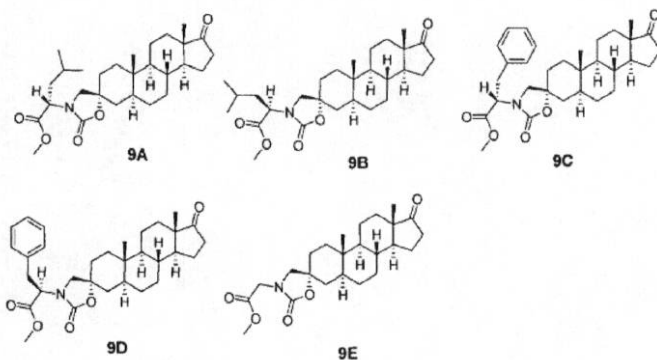
20

30

スキーム 20

【 0 2 1 7 】

【化 2 9】



スキーム 2 1

10

【 0 2 1 8 】

実験

材料、方法、合成、および特性評価

化学試薬は、Sigma-Aldrich Canada Ltd. (Oakville, ON, Canada) から購入した。通常の溶媒は、Fisher Scientific (Montreal, QC, Canada) から入手し、そのまま使用した。無水ジクロロメタン (DCM)、ジメチルホルムアミド (DMF)、およびテトラヒドロフラン (THF) は、Sigma-Aldrich から入手した。薄層クロマトグラフィー (TLC) およびフラッシュカラムクロマトグラフィーはそれぞれ、0.20 mm のシリカゲル 60 F254 プレート上、および Silicycle R10030B 230~400 メッシュのシリカゲル (Quebec, QC, Canada) で実施した。赤外スペクトル (IR) は、Perkin Elmer シリーズ 1600 FT-IR スペクトロメータ (Norwalk, CT) を使用して記録し、重要なバンドを cm^{-1} で報告した。核磁気共鳴 (NMR) スペクトルは、Bruker Avance 400 デジタルスペクトロメータ (Billerica, MA, USA) を使用して、 ^1H については 400 MHz、 ^{13}C については 100.6 MHz で記録した。化学シフト () は、ppm で表現し、 ^1H および ^{13}C NMR についてそれぞれ、クロロホルム (7.26 および 77.0 ppm)、アセトン (2.06 および 29.24 ppm) またはメタノール (3.31 ppm および 49.0) を基準とした。低解像度質量スペクトル (LRMS) は、ターボイオンソースプレートを装備した PE Sciex API-150 ex 装置 (Foster City, CA, USA) を使用して記録し、 m/z で表現した。高解像度質量スペクトル (HRMS) は、Département de Chimie de l'Université Laval (Quebec, QC, Canada) で Pierre Audet により提供された。化合物の純度は、Luna フェニルヘキシルカラム (75 x 4.6 mm id、3 μm 、シリアル N°: 228048-2、60) または Nova Pack C18 逆相カラム (150 mm x 3.0 mm id、4 mM、60) および逆相カラムを装備した高速液体クロマトグラフィー (HPLC) (Water Associates Milford, MA, USA) により決定した。

20

30

40

【 0 2 1 9 】

3 - 置換 - 3 - ヒドロキシ - アンドロスタン - 17 - オン誘導体 (7a から j) の合成のための基本手順

オキシラン 6⁵⁰ (50 mg、0.17 mmol) の無水エタノール溶液 (3 mL) に、適切なアミン (0.5 mmol) を加え、溶液を 60 で 5 時間にわたり攪拌した。続いて溶媒を蒸発させ、得られた混合物をジクロロメタン (10 mL) に溶解した後、メチルイソシアネート樹脂 (300 mg、1.8 mmol/g) を加えた。この懸濁液を 2 時間にわたり攪拌し、濾過して対応する粗アミン生成物を得た。粗アミンを、溶出系として

50

EtOAc / ヘキサン (2 : 8) を使用してフラッシュクロマトグラフィーにより精製し、所望のアミン 7 a ~ j を得た。化合物はすべて、 ^1H NMR および MS 分析により特徴づけた。化合物 7 a については、 ^{13}C NMR、HRMS、および HPLC のデータも収集した。

【0220】

(3, 5) - 3 { [ベンジル (エチル) アミノ] メチル } 3 - ヒドロキシアンドロスタン - 17 - オン (7 a) : (15 mg、20%) ; ^1H NMR (アセトン - d_6) : 0.82 (s, 3H), 0.84 (s, 3H), 1.01 (t, $J = 7.1\text{ Hz}$, 3H), 0.80 - 2.10 (m, 22H), 2.37 (dd, $J_1 = 8.7\text{ Hz}$, $J_2 = 18.2\text{ Hz}$, 1H), 2.45 (s, 2H), 2.52 (q, $J = 7.1\text{ Hz}$, 2H), 3.74 (s, 2H), 7.23 (t, $J = 7.2\text{ Hz}$, 1H), 7.32 (t, $J = 7.7\text{ Hz}$, 2H), 7.39 (d, $J = 7.5\text{ Hz}$, 2H) ; ^{13}C NMR (CDCl_3) : 11.3, 12.1, 13.8, 20.2, 21.8, 28.4, 30.8, 31.6, 32.9, 34.0, 35.1, 35.9 (2x), 39.8, 40.8, 47.8, 49.4, 51.4, 54.3, 60.8, 65.3, 70.0, 127.1, 128.4 (2x), 128.6 (2x), 139.5, 221.6 ; $\text{C}_{29}\text{H}_{44}\text{NO}_2$ の LRMS $[\text{M} + \text{H}]^+$ 438.2 ; $\text{C}_{29}\text{H}_{44}\text{NO}_2$ の HRMS 計算値 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 438.3367、実測値 438.3374 ; HPLC 純度 = 99.2% (RT = 7.2 分 ; 96 : 4 MeOH / H_2O ; 定組成)。

10

20

【0221】

(3, 5) - 3 - { [ベンジル (メチル) アミノ] メチル } - 3 - ヒドロキシアンドロスタン - 17 - オン (7 b) : (29 mg、41%) ; ^1H NMR (アセトン - d_6) : 0.82 (s, 3H), 0.84 (s, 3H), 0.80 - 2.10 (m, 22), 2.25 (s, 3H), 2.37 (dd, $J_1 = 9.0\text{ Hz}$, $J_2 = 18.4\text{ Hz}$, 1H), 2.41 (s, 2H), 3.63 (s, 2H), 7.24 (t, $J = 7.2\text{ Hz}$, 1H), 7.32 (t, $J = 7.4\text{ Hz}$, 2H), 7.37 (d, $J = 7.2\text{ Hz}$, 2H) ; $\text{C}_{28}\text{H}_{42}\text{NO}_2$ の LRMS $[\text{M} + \text{H}]^+$ 424.2。

30

40

【0222】

(3, 5) - 3 - [(ジエチルアミノ) メチル] - 3 - ヒドロキシアンドロスタン - 17 - オン (7 c) : (40 mg、65%) ; ^1H NMR (アセトン - d_6) : 0.81 (s, 3H), 0.84 (s, 3H), 0.99 (t, $J = 7.1\text{ Hz}$, 6H), 0.75 - 2.08 (m, 22H), 2.37 (s, 2H), 2.30 (dd, $J_1 = 8.7\text{ Hz}$, $J_2 = 18.2\text{ Hz}$, 1H), 2.58 (q, $J = 7.1\text{ Hz}$, 4H) ; $\text{C}_{24}\text{H}_{42}\text{NO}_2$ の LRMS $[\text{M} + \text{H}]^+$ 376.2。

【0223】

(3, 5) - 3 - [(ジブチルアミノ) メチル] - 3 - ヒドロキシアンドロスタン - 17 - オン (7 d) : (16 mg、24%) ; ^1H NMR (アセトン - d_6) : 0.81 (s, 3H), 0.84 (s, 3H), 0.91 (t, $J = 7.1\text{ Hz}$, 6H), 0.80 - 2.10 (m, 30H), 2.32 (s, 2H), 2.37 (dd, $J_1 = 8.7\text{ Hz}$, $J_2 = 18.1\text{ Hz}$, 1H), 2.51 (t, $J = 7.4\text{ Hz}$, 4H) ; $\text{C}_{28}\text{H}_{50}\text{NO}_2$ の LRMS $[\text{M} + \text{H}]^+$ 432.2。

【0224】

(3, 5) - 3 - ヒドロキシ - 3 - (ピペリジン - 1 - イルメチル) アンドロスタン - 17 - オン (7 e) : (25 mg、39%) ; ^1H NMR (アセトン - d_6) : 0.81 (s, 3H), 0.84 (s, 3H), 0.75 - 2.09 (m, 28H), 2.18 (s, 2H), 2.37 (dd, $J_1 = 8.6\text{ Hz}$, $J_2 = 18.2\text{ Hz}$, 1H), 2.52 (broad s, 4H) ; $\text{C}_{25}\text{H}_{42}\text{NO}_2$ の LRMS $[\text{M} + \text{H}]^+$ 388.2。

【0225】

(3, 5) - 3 - [(4 - ベンジルピペリジン - 1 - イル) メチル] - 3 - ヒドロ

50

キシアンドロスタン - 17 - オン (7 f) : (34 mg、43%) : ^1H NMR (アセトン - d_6) : 0.81 (s, 3H), 0.84 (s, 3H), 0.75 - 2.10 (m, 27H), 2.20 (s および m, 4H), 2.37 (dd, $J_1 = 8.7\text{ Hz}$, $J_2 = 18.2\text{ Hz}$, 1H), 2.53 (d, $J = 6.9\text{ Hz}$, 2H), 2.88 (broad d, $J = 11.4\text{ Hz}$, 2H), 7.18 (d, $J = 6.7\text{ Hz}$, 3H), 7.27 (t, $J = 7.4\text{ Hz}$, 2H); $\text{C}_{32}\text{H}_{48}\text{NO}_2$ の LRMS $[\text{M} + \text{H}]^+$ 478.1。

【0226】

(3, 5) - 3 - (1, 4' - ビピペリジン - 1' - イルメチル) - 3 - ヒドロキシアンドロスタン - 17 - オン (7 g) : (28 mg、44%) : ^1H NMR (アセトン - d_6) : 0.81 (s, 3H), 0.84 (s, 3H), 0.75 - 2.15 (m, 33H), 2.21 (s, 2H), 2.25 (m, 2H), 2.38 (dd, $J_1 = 8.8\text{ Hz}$, $J_2 = 18.2\text{ Hz}$, 1H), 2.47 (t, $J = 4.9\text{ Hz}$, 4H), 2.93 (d, $J = 11.5\text{ Hz}$, 2H); $\text{C}_{30}\text{H}_{51}\text{N}_2\text{O}_2$ の LRMS $[\text{M} + \text{H}]^+$ 471.3。

10

【0227】

(3, 5) - 3 - ヒドロキシ - 3 - [(4 - メチルピペラジン - 1 - イル)メチル] アンドロスタン - 17 - オン (7 h) : (29 mg、43%) : ^1H NMR (アセトン - d_6) : 0.81 (s, 3H), 0.84 (s, 3H), 0.75 - 2.10 (m, 22H), 2.16 (s, 3H), 2.23 (s, 2H), 2.34 (broad m, 4H), 2.37 (dd, $J_1 = 8.7\text{ Hz}$, $J_2 = 18.2\text{ Hz}$, 1H), 2.58 (broad s, 4H); $\text{C}_{25}\text{H}_{43}\text{N}_2\text{O}_2$ の LRMS $[\text{M} + \text{H}]^+$ 403.2。

20

【0228】

(3, 5) - 3 - ヒドロキシ - 3 - [(4 - フェニルピペラジン - 1 - イル)メチル] アンドロスタン - 17 - オン (7 i) : (54 mg、70%) : ^1H NMR (アセトン - d_6) : 0.83 (s, 3H), 0.84 (s, 3H), 0.75 - 2.10 (m, 21H), 2.32 (s, 2H), 2.37 (dd, $J_1 = 8.7\text{ Hz}$, $J_2 = 18.2\text{ Hz}$, 1H), 2.75 (m, 4H), 3.18 (m, 4H), 6.77 (t, $J = 7.3\text{ Hz}$, 1H), 6.94 (d, $J = 8.6\text{ Hz}$, 2H), 7.21 (d, $J = 8.7\text{ Hz}$, 2H); $\text{C}_{30}\text{H}_{45}\text{N}_2\text{O}_2$ の LRMS $[\text{M} + \text{H}]^+$ 465.0。

30

【0229】

(3, 5) - 3 - [(4 - ベンジルピペラジン - 1 - イル)メチル] - 3 - ヒドロキシアンドロスタン - 17 - オン (7 j) : (60 mg、76%) : ^1H NMR (アセトン - d_6) : 0.81 (s, 3H), 0.84 (s, 3H), 0.75 - 2.10 (m, 22H), 2.24 (s, 2H), 2.37 (dd, $J_1 = 8.8\text{ Hz}$, $J_2 = 18.3\text{ Hz}$, 1H), 2.43 (broad m, 4H), 2.61 (s, 4H), 3.47 (s, 2H), 7.23 (m, 1H), 7.32 (m, 4H); $\text{C}_{31}\text{H}_{47}\text{N}_2\text{O}_2$ の LRMS $[\text{M} + \text{H}]^+$ 478.9。

40

【0230】

中間体 8 および 9 の合成

オキシラン 6⁵⁰ (1.0 g、3.3 mmol) の無水エタノール溶液 (15 mL) に、ピペラジン (573 mg、6.7 mmol) または trans - 2, 5 - ジメチルピペラジン (755 mg、6.7 mmol) のいずれかを加えた。この溶液を 60 で 5 分間にわたり攪拌した。続いて、得られた溶液を水に注ぎ、EtOAc で 3 回抽出した。合わせた有機層を、食塩水で洗浄し、 MgSO_4 で乾燥して濾過し、減圧下で蒸発させて、粗化合物 8 または 9 を得た。溶出系として EtOAc / ヘキサン (1 : 1) を使用するフラッシュクロマトグラフィー後に純粋な化合物を得た。

【0231】

(3, 5) - 3 - ヒドロキシ - 3 - (ピペラジン - 1 - イルメチル) アンドロスタ

50

ン - 17 - オン (8) : (750 mg、61%) ; ^1H NMR : (MeOH - d_4) 0.84 (s, 3H), 0.89 (s, 3H), 1.01 (t, $J = 7.1\text{ Hz}$, 3H), 0.80 - 2.15 (m, 20H), 2.25 (s, 2H), 2.45 (dd, $J_1 = 8.6\text{ Hz}$, $J_2 = 19.2\text{ Hz}$, 1H), 2.58 (broad s, 4H), 2.84 (t, $J = 4.8\text{ Hz}$, 4H)。

【0232】

(3, 5) - 3 - { [(2, 5) - 2, 5 - ジメチルピペラジン - 1 - イル] メチル } - 3 - ヒドロキシアンドロスタン - 17 - オン (9) : (650 mg、53%) ; ^1H NMR (CDCl₃) : 0.77 (s, 3H), 0.85 (s, 3H), 0.99 (d, $J = 6.0\text{ Hz}$, 3H), 1.00 (d, $J = 6.1\text{ Hz}$, 3H), 0.75 - 1.85 (m, 22H), 1.94 (m, 1H), 2.04 (m, 3H), 2.25 (m, 2H), 2.43 (dd, $J_1 = 8.6\text{ Hz}$, $J_2 = 18.9\text{ Hz}$, 1H), 2.54 (t, 1H), 2.61 (d, $J = 13.9\text{ Hz}$, 1H), 2.90 (m, 3H) ; C₂₆H₄₅N₂O₂ の LRMS [M + H]⁺ 417.3。

【0233】

アミン 10a ~ j および 11a ~ j の合成のための基本手順

化合物 8 (25 mg、0.06 mmol) または化合物 9 (30 mg、0.07 mmol) の無水ジクロロメタン溶液 (5 mL) に、トリエチルアミン (24 mg、0.24 mmol、33 μL) および適切な臭化ベンジル (0.12 mmol) を加えた。この混合物を一晩攪拌し、得られた溶液を蒸発させ、溶出系として EtOAc / ヘキサン (3 : 7) を使用してフラッシュクロマトグラフィーにより精製し、ベンジルアミン 10a ~ j および 11a ~ j を得た。化合物はすべて、 ^1H NMR および MS 分析により特徴づけた。化合物 10a および 11a については、 ^{13}C NMR、HRMS、および HPLC のデータも収集した。

【0234】

(3, 5) - 3 - ヒドロキシ - 3 - ({ 4 - [3 - (トリフルオロメチル) ベンジル] ピペラジン - 1 - イル } メチル) アンドロスタン - 17 - オン (10a) : (31 mg、97%) ; ^1H NMR (CDCl₃) : 0.76 (s, 3H), 0.86 (s, 3H), 0.75 - 2.10 (m, 22H), 2.27 (s, 2H), 2.44 (broad m, 5H), 2.66 (broad s, 4H), 3.54 (s, 2H), 7.42 (t, $J = 7.6\text{ Hz}$, 1H), 7.50 (broad d, $J = 7.5\text{ Hz}$, 2H), 7.58 (s, 1H) ; ^{13}C NMR (CDCl₃) : 11.2, 13.8, 20.2, 21.8, 28.3, 30.8, 31.5, 32.7, 33.8, 35.1, 35.8, 35.9, 39.6, 40.7, 47.8, 51.4, 54.2, 55.7 (4x), 62.3, 69.0, 70.1, 124.0 (q, $J_{\text{C}-\text{C}-\text{C}-\text{F}} = 3.6\text{ Hz}$), 124.2 (q, $J_{\text{C}-\text{F}} = 272\text{ Hz}$), 125.6 (q, $J_{\text{C}-\text{C}-\text{C}-\text{F}} = 3.8\text{ Hz}$), 128.7, 130.6 (q, $J_{\text{C}-\text{C}-\text{F}} = 32\text{ Hz}$), 132.4, 139.2, 221.5 ; C₃₂H₄₆F₃N₂O₂ の LRMS [M + H]⁺ 547.3 ; C₃₂H₄₆F₃N₂O₂ の HRMS 計算値 [M + H]⁺ 547.3506、実測値 547.3510 ; HPLC 純度 : 97.2% (RT = 5.5 分 ; 96 : 4 MeOH / H₂O ; 定組成)。

【0235】

(3, 5) - 3 - ヒドロキシ - 3 - ({ 4 - [2 - (トリフルオロメチル) ベンジル] ピペラジン - 1 - イル } メチル) アンドロスタン - 17 - オン (10b) : (33 mg、45%) ; ^1H NMR (CDCl₃) : 0.76 (s, 3H), 0.86 (s, 3H), 0.80 - 2.10 (m, 22H), 2.27 (s, 2H), 2.43 (dd, $J_1 = 8.7\text{ Hz}$, $J_2 = 19.2\text{ Hz}$, 1H), 2.50 (broad s, 4H), 2.66 (broad s, 4H), 3.65 (s, 2H), 7.33 (t, $J = 7.7\text{ Hz}$, 1H), 7.51 (d, $J = 6.7\text{ Hz}$, 1H), 7.62 (d, $J = 7.8\text{ Hz}$, 1H), 7.77 (d, $J = 7.7\text{ Hz}$, 1H) ; C₃₂H₄₆F₃N₂O₂ の LRMS

[M + H] ⁺ 547.1。

【0236】

(3, 5) - 3 - ヒドロキシ - 3 - ({ 4 - [4 - (トリフルオロメチル) ベンジル] ピペラジン - 1 - イル } メチル) アンドロスタン - 17 - オン (10c) : (32 mg、97%) ; ¹H NMR (CDCl₃) : 0.76 (s, 3H), 0.86 (s, 3H), 0.80 - 2.10 (m, 22H), 2.27 (s, 2H), 2.45 (broad m, 5H), 2.65 (broad s, 4H), 3.54 (s, 2H); 7.44 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.57 (d, J = 8.0 Hz, 2H); C₃₂H₄₆F₃N₂O₂ の LRMS [M + H] ⁺ 547.2。

【0237】

(3, 5) - 3 - ヒドロキシ - 3 - [(4 - { 3 - [(トリフルオロメチル) スルファニル] ベンジル } ピペラジン - 1 - イル) メチル] アンドロスタン - 17 - オン (10d) : (25 mg、71%) ; ¹H NMR (CDCl₃) : 0.76 (s, 3H), 0.86 (s, 3H), 0.78 - 2.10 (m, 22H), 2.27 (s, 2H), 2.45 (broad m, 5H), 2.65 (broad s, 4H), 3.52 (s, 2H), 7.37 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 7.43 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 7.54 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 7.62 (s, 1H); C₃₂H₄₆F₃N₂O₂S の LRMS [M + H] ⁺ 579.3。

【0238】

(3, 5) - 3 - { [4 - (3 - クロロベンジル) ピペラジン - 1 - イル] メチル } - 3 - ヒドロキシアンドロスタン - 17 - オン (10e) : (31 mg、94%) ; ¹H NMR (CDCl₃) : 0.76 (s, 3H), 0.86 (s, 3H), 0.80 - 2.10 (m, 22H), 2.27 (s, 2H), 2.43 (broad m, 5H), 2.65 (broad s, 4H), 3.46 (s, 2H); 7.19 (m, 1H), 7.23 (s, 2H), 7.33 (s, 1H); C₃₁H₄₆ClN₂O₂ の LRMS [M + H] ⁺ 513.3。

【0239】

(3, 5) - 3 - ヒドロキシ - 3 - { [4 - (3 - メトキシベンジル) ピペラジン - 1 - イル] メチル } アンドロスタン - 17 - オン (10f) : (21 mg、64%) ; ¹H NMR (CDCl₃) : 0.76 (s, 3H), 0.85 (s, 3H), 0.78 - 2.10 (m, 22H), 2.26 (s, 2H), 2.43 (broad m, 5H), 2.65 (broad s, 4H), 3.48 (s, 2H), 3.81 (s, 3H), 6.80 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 6.88 (s, 1H), 6.89 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.23 (t, J = 8.0 Hz, 1H); C₃₂H₄₉N₂O₃ の LRMS [M + H] ⁺ 509.3。

【0240】

(3, 5) - 3 - ヒドロキシ - 3 - { [4 - (ピリジン - 3 - イルメチル) ピペラジン - 1 - イル] メチル } アンドロスタン - 17 - オン (10g) : (20 mg、65%) ; ¹H NMR (CDCl₃) : 0.76 (s, 3H), 0.85 (s, 3H), 0.78 - 2.10 (m, 22H), 2.27 (s, 2H), 2.43 (broad m, 5H), 2.65 (broad s, 4H), 3.51 (s, 2H), 7.24 (d, J = 4.9 Hz, 1H), 7.65 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 8.51 (dd, J₁ = 1.3 Hz, J₂ = 4.8 Hz, 1H), 8.54 (d, J = 1.4 Hz, 1H); C₃₀H₄₆N₃O₂ の LRMS [M + H] ⁺ 480.2。

【0241】

(3, 5) - 3 - ({ 4 - [2, 5 - ビス (トリフルオロメチル) ベンジル] ピペラジン - 1 - イル } メチル) - 3 - ヒドロキシアンドロスタン - 17 - オン (10h) : (27 mg、73%) ; ¹H NMR (CDCl₃) : 0.77 (s, 3H), 0.86 (s, 3H), 0.78 - 2.10 (m, 22H), 2.29 (s, 2H), 2.43 (dd, J₁ = 8.7 Hz, J₂ = 19.3 Hz, 1H), 2.51 (broad s, 4

10

20

30

40

50

H), 2.68 (broad s, 4H), 3.69 (s, 2H), 7.59 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.75 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 8.12 (s, 1H); C₃₃H₄₅F₆N₂O₂ の LRMS [M+H]⁺ 615.5。

【0242】

(3, 5) - 3 - ({ 4 - [2, 4 - ビス(トリフルオロメチル)ベンジル] ピペラジン - 1 - イル } メチル) - 3 - ヒドロキシアンドロスタン - 17 - オン (10i) : (27 mg、73%) ; ¹H NMR (CDCl₃) : 0.77 (s, 3H), 0.86 (s, 3H), 0.83 - 2.10 (m, 22H), 2.28 (s, 2H), 2.43 (dd, J₁ = 8.5 Hz, J₂ = 19.1 Hz, 1H), 2.51 (broad s, 4H), 2.67 (broad s, 4H), 3.70 (s, 2H), 7.77 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.98 (d, J = 8.2 Hz, 1H); C₃₃H₄₅F₆N₂O₂ の LRMS [M+H]⁺ 615.2。

10

【0243】

(3, 5) - 3 - ({ 4 - [3, 5 - ビス(トリフルオロメチル)ベンジル] ピペラジン - 1 - イル } メチル) - 3 - ヒドロキシアンドロスタン - 17 - オン (10j) : (29 mg、78%) ; ¹H NMR (CDCl₃) : 0.77 (s, 3H), 0.86 (s, 3H), 0.80 - 2.10 (m, 22H), 2.28 (s, 2H), 2.43 (broad m, 5H), 2.67 (broad s, 4H), 3.59 (s, 2H), 7.77 (s, 1H), 7.79 (s, 2H); C₃₃H₄₅F₆N₂O₂ の LRMS [M+H]⁺ 615.5。

20

【0244】

(3, 5) - 3 - ({ (2, 5) - 2, 5 - ジメチル - 4 - [3 - (トリフルオロメチル)ベンジル] ピペラジン - 1 - イル } メチル) - 3 - ヒドロキシアンドロスタン - 17 - オン (11a) : (25 mg、71%) ; ¹H NMR (CDCl₃) : 0.77 (s, 3H), 0.86 (s, 3H), 0.92 (d, J = 6.2 Hz, 3H), 1.10 (d, J = 6.0 Hz, 3H), 0.80 - 2.10 (m, 23H), 2.32 (m, 6H), 2.91 (d, J = 11.1 Hz, 1H), 3.11 (d, J = 13.7 Hz, 1H), 3.22 (d, J = 16.1 Hz, 1H), 4.07 (d, J = 13.7 Hz, 1H), 7.43 (m, 1H), 7.51 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 7.58 (s, 1H); ¹³C NMR (CDCl₃) : 11.3, 13.8 (3x), 20.2, 21.8, 28.3, 30.8, 31.6, 32.7, 33.9, 35.1, 35.9 (2x), 39.4, 40.8, 47.8, 51.4, 54.3, 55.8, 56.3, 57.5, 63.8, 69.4, 123.7 (q, J_{C-C-F} = 3.6 Hz), 125.0 (q, J_{C-F} = 273 Hz), 125.4 (q, J_{C-C-F} = 3.6 Hz), 128.6, 130.5 (q, J_{C-C-F} = 3.2 Hz), 132.1, 140.3, 221.6; C₃₄H₅₀F₃N₂O₂ の LRMS [M+H]⁺ 575.2; C₃₄H₅₀F₃N₂O₂ の HRMS 計算値 [M+H]⁺ 575.3819、実測値 575.3826; HPLC 純度: 99.0%。(RT = 6.6 分; 75:25 ~ 5:95 MeOH/H₂O 定組成勾配)

30

40

【0245】

(3, 5) - 3 - ({ (2, 5) - 2, 5 - ジメチル - 4 - [2 - (トリフルオロメチル)ベンジル] ピペラジン - 1 - イル } メチル) - 3 - ヒドロキシアンドロスタン - 17 - オン (11b) : (17 mg、49%) ; ¹H NMR (CDCl₃) : 0.78 (s, 3H), 0.86 (s, 3H), 0.93 (d, J = 6.2 Hz, 3H), 1.05 (d, J = 6.0 Hz, 3H), 0.75 - 2.10 (m, 23H), 2.33 - 2.60 (m, 6H), 2.93 (d, J = 11.1 Hz, 1H), 3.23 (broad s, 1H), 3.31 (d, J = 15.1 Hz, 1H), 4.07 (d, J = 14.8 Hz, 1H), 7.31 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 7.51 (t, J = 7.4 Hz, 1H), 7.61 (d, J = 7.9 Hz, 1H), 7.87 (d, J = 7.8 Hz, 1H),

50

1 H) ; C₃₄H₅₀F₃N₂O₂ の L R M S [M + H]⁺ 575.3。

【0246】

(3, 5) - 3 - ({ (2, 5) - 2, 5 - ジメチル - 4 - [4 - (トリフル
オロメチル) ベンジル] ピペラジン - 1 - イル } メチル) - 3 - ヒドロキシアンドロスタ
ン - 17 - オン (11c) : (22 mg、63%) ; ¹H NMR (CDCl₃) : 0.
77 (s, 3H), 0.86 (s, 3H), 0.92 (d, J = 6.2 Hz, 3H), 1.
10 (d, J = 6.0 Hz, 3H), 0.75 - 2.15 (m, 24H), 2.30 -
2.60 (m, 6H), 2.91 (d, J = 11.5 Hz, 1H), 3.11 (d, J =
13.6 Hz, 1H), 3.20 (broad s, 1H), 4.07 (d, 1H, J =
13.9 Hz, 1H), 7.37 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 7.43 (d, J = 8
.
0 Hz, 1H), 7.57 (d, J = 8.1 Hz, 1H) ; C₃₄H₅₀F₃N₂O₂
の L R M S [M + H]⁺ 575.2。

10

【0247】

(3, 5) - 3 - { [(2, 5) - 2, 5 - ジメチル - 4 - { 3 - [(トリフ
ルオロメチル) スルファニル] ベンジル } ピペラジン - 1 - イル] メチル } - 3 - ヒドロ
キシアンドロスタン - 17 - オン (11d) : (15 mg、41%) ; ¹H NMR (C
DCl₃) : 0.77 (s, 3H), 0.86 (s, 3H), 0.92 (d, J = 6.2
Hz, 3H), 1.10 (d, J = 6.0 Hz, 3H), 0.75 - 2.10 (m, 23
H), 2.30 - 2.60 (m, 6H), 2.91 (d, J = 10.5 Hz, 1H), 3
.
10 (d, J = 13.2 Hz, 1H), 3.21 (d, J = 16.2 Hz, 1H), 4
.
04 (d, J = 13.1 Hz, 1H), 7.36 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 7.
43 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 7.53 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.62
(s, 1H) ; C₃₄H₅₀F₃N₂O₂S の L R M S [M + H]⁺ 607.2。

20

【0248】

(3, 5) - 3 - { [(2, 5) - 4 - (3 - クロロベンジル) - 2, 5 - ジ
メチルピペラジン - 1 - イル] メチル } - 3 - ヒドロキシアンドロスタン - 17 - オン (1
1e) : (12 mg、37%) ; ¹H NMR (CDCl₃) : 0.77 (s, 3H)
, 0.86 (s, 3H), 0.93 (d, J = 6.2 Hz, 3H), 1.09 (d, J =
6.0 Hz, 3H), 0.75 - 2.10 (m, 23H), 2.30 - 2.62 (m, 6
H), 2.89 (d, J = 11.2 Hz, 1H), 3.03 (d, J = 13.4 Hz, 1
H), 3.22 (broad s, 1H), 4.00 (d, J = 13.3 Hz, 1H),
7.18 (t, J = 7.2 Hz, 1H), 7.23 (s, 2H), 7.33 (s, 1H)
; C₃₃H₅₀³⁵ClN₂O₂ の L R M S [M + H]⁺ 541.3。

30

【0249】

(3, 5) - 3 - ヒドロキシ - 3 - { [(2, 5) - 4 - (3 - メトキシベン
ジル) - 2, 5 - ジメチルピペラジン - 1 - イル] メチル } アンドロスタン - 17 - オン
(11f) : (14 mg、44%) ; ¹H NMR (CDCl₃) : 0.77 (s, 3H)
, 0.86 (s, 3H), 0.92 (d, J = 6.0 Hz, 3H), 1.11 (d, J
= 5.3 Hz, 3H), 0.75 - 2.10 (m, 24H), 2.30 - 2.80 (m,
6H), 2.89 (d, J = 10.2 Hz, 1H), 3.07 (d, J = 13.2 Hz,
1H), 3.81 (s, 3H), 4.01 (d, J = 12.8 Hz, 1H), 6.79 (m,
1H), 6.89 (m, 2H), 7.22 (m, 1H) ; C₃₄H₅₃N₂O₃ の L
R M S [M + H]⁺ 537.4。

40

【0250】

(3, 5) - 3 - { [(2, 5) - 2, 5 - ジメチル - 4 - (ピリジン - 3 -
イルメチル) ピペラジン - 1 - イル] メチル } - 3 - ヒドロキシアンドロスタン - 17 -
オン (11g) : (10 mg、33%) ; ¹H NMR (CDCl₃) : 0.77 (s,
3H), 0.86 (s, 3H), 0.92 (d, J = 6.0 Hz, 3H), 1.12 (d
, J = 5.4 Hz, 3H), 0.75 - 2.10 (m, 22H), 2.30 - 2.68 (m,
7H), 2.90 (d, J = 11.0 Hz, 1H), 3.10 (m, 2H), 4.0

50

2 (d, J = 13.2 Hz, 1H), 7.25 (s, 1H), 7.64 (m, 1H), 8.52 (m, 2H); C₃₂H₅₀N₃O₂ の LRMS [M+H]⁺ 508.3。

【0251】

(3, 5) - 3 - ({ (2, 5) - 4 - [2, 5 - ビス(トリフルオロメチル)ベンジル] - 2, 5 - ジメチルピペラジン - 1 - イル } メチル) - 3 - ヒドロキシアン
ドロスタン - 17 - オン (11h) : (46 mg、98%) ; ¹H NMR (CDCl₃) : 0.78 (s, 3H), 0.86 (s, 3H), 0.95 (d, J = 6.1 Hz, 3H), 1.03 (d, J = 6.0 Hz, 3H), 0.75 - 2.10 (m, 23H), 2.35 - 2.60 (m, 6H), 2.95 (d, J = 11.6 Hz, 1H), 3.18 (broad s, 1H), 3.40 (d, J = 15.8 Hz, 1H), 4.06 (d, J = 15.8 Hz, 1H), 7.58 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.74 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 8.22 (s, 1H); C₃₅H₄₉F₆N₂O₂ の LRMS [M+H]⁺ 643.3。

10

【0252】

(3, 5) - 3 - ({ (2, 5) - 4 - [2, 4 - ビス(トリフルオロメチル)ベンジル] - 2, 5 - ジメチルピペラジン - 1 - イル } メチル) - 3 - ヒドロキシアン
ドロスタン - 17 - オン (11i) : (46 mg、98%) ; ¹H NMR (CDCl₃) : 0.78 (s, 3H), 0.86 (s, 3H), 0.94 (d, J = 6.1 Hz, 3H), 1.03 (d, J = 6.1 Hz, 3H), 0.75 - 2.10 (m, 23H), 2.32 - 2.60 (m, 6H), 2.94 (d, J = 11.0 Hz, 1H), 3.13 (broad s, 1H), 3.39 (d, J = 15.8 Hz, 1H), 4.08 (d, J = 15.4 Hz, 1H), 7.76 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.86 (s, 1H), 8.08 (d, J = 8.2 Hz, 1H); C₃₅H₄₉F₆N₂O₂ の LRMS [M+H]⁺ 643.3。

20

【0253】

(3, 5) - 3 - ({ (2, 5) - 4 - [3, 5 - ビス(トリフルオロメチル)ベンジル] - 2, 5 - ジメチルピペラジン - 1 - イル } メチル) - 3 - ヒドロキシアン
ドロスタン - 17 - オン (11j) : (20 mg、43%) ; ¹H NMR (CDCl₃) : 0.78 (s, 3H), 0.86 (s, 3H), 0.94 (d, J = 6.1 Hz, 3H), 1.09 (d, J = 6.1 Hz, 3H), 0.75 - 2.12 (m, 24H), 2.35 - 2.57 (m, 6H), 2.93 (d, J = 11.4 Hz, 1H), 3.18 (d, J = 11.4 Hz, 1H), 4.09 (d, J = 13.3 Hz, 1H), 7.76 (s, 1H), 7.80 (s, 2H); C₃₅H₄₉F₆N₂O₂ の LRMS [M+H]⁺ 643.4。

30

【0254】

アミド 12a ~ e および 13a ~ d の合成のための基本手順

化合物 8 (40 mg、0.1 mmol) または化合物 9 (25 mg、0.06 mmol) の無水 DCM 溶液 (3 mL) に、トリエチルアミン (4.0 eq) および適切な塩化アシル (2.0 eq) を加えた。次いで、この溶液を室温で 3 時間にわたり攪拌した。得られた溶液を濃縮し、溶出系として EtOAc / ヘキサン (7 : 3 ~ 9 : 1) を使用してフラッシュクロマトグラフィーにより精製し、対応するアミドに 12a ~ e および 13a ~ d を得た。化合物はすべて、¹H NMR および MS 分析により特徴づけた。化合物 12a、12c、および 13a については、¹³C NMR、HRMS、および HPLC のデータも収集した。

40

【0255】

(3, 5) - 3 - ヒドロキシ - 3 - { [4 - (フェニルカルボニル)ピペラジン - 1 - イル] メチル } アンドロスタン - 17 - オン (12a) : (33 mg、64%) ; ¹H NMR (CDCl₃) : 0.77 (s, 3H), 0.86 (s, 3H), 0.80 - 2.12 (m, 22H), 2.31 (s, 2H), 2.43 (dd, J₁ = 8.7 Hz, J₂ = 19.2 Hz, 1H), 2.57 および 2.70 (broad 2s, 4H), 3

50

. 43 (broad s, 2H), 3.79 (broad s, 2H), 7.40 (m, 5H); ^{13}C NMR (CDCl₃) 11.2, 13.8, 20.2, 21.7, 28.3, 30.8, 31.5, 32.4, 33.6, 35.0, 35.8, 35.9, 39.3, 40.6, 47.8, 51.4, 54.1, 55.4 (2x), 55.7 (2x), 69.1, 70.5, 127.0 (2x), 128.5 (2x), 129.8, 135.5, 170.3, 221.5; C₃₁H₄₅N₂O₃ の LRMS [M+H]⁺ 493.0; C₃₁H₄₅N₂O₃ の HRMS 計算値 [M+H]⁺ 493.3425、実測値 493.3433; HPLC 純度: 94.8% (RT = 10.2 分; 75:25 ~ 5:95 MeOH/H₂O 定組成)。

【0256】

(3, 5) - 3 - { [4 - (シクロヘキシルカルボニル) ピペラジン - 1 - イル] メチル } - 3 - ヒドロキシアンドロスタン - 17 - オン (12b): (30mg、56%) ; ^1H NMR (CDCl₃): 0.77 (s, 3H), 0.86 (s, 3H), 0.80 - 2.12 (m, 21H), 2.29 (s, 2H), 2.43 (m, 2H), 2.60 (m, 4H), 2.92 (broad s, 1H), 3.49 (broad s, 2H), 3.61 (broad s, 2H); C₃₁H₅₁N₂O₃ の LRMS [M+H]⁺ 499.3。

【0257】

(3, 5) - 3 - ヒドロキシ - 3 - [(4 - { [2 - (トリフルオロメチル) フェニル] カルボニル } - ピペラジン - 1 - イル) メチル] アンドロスタン - 17 - オン (12c): (30mg、54%) ; ^1H NMR (CDCl₃): 0.76 (s, 3H), 0.86 (s, 3H), 0.80 - 2.12 (m, 22H), 2.30 (s, 2H), 2.43 (dd, J₁ = 8.7 Hz, J₂ = 19.1 Hz, 1H), 2.53 (m, 2H), 2.70 (broad s, 2H), 3.18 (t, J = 5.0 Hz, 2H), 3.82 (broad m, 2H), 7.32 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 7.52 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 7.60 (t, J = 7.5 Hz, 1H), 7.71 (d, J = 7.8 Hz, 1H); ^{13}C NMR (CDCl₃): 11.2, 13.8, 20.2, 21.7, 28.3, 30.8, 31.5, 32.3, 33.6, 35.1, 35.8, 35.9, 39.3, 40.6, 41.9, 47.3, 47.8, 51.4, 54.1, 55.1, 55.2, 69.0, 70.6, 123.6 (q, J_{C-F} = 274 Hz), 126.6 (q, J_{C-C-C-F} = 4.4 Hz), 126.7 (q, J_{C-C-F} = 32 Hz), 127.2, 129.2, 132.2, 134.7, 167.3, 221.4; C₃₂H₄₄F₃N₂O₃ の LRMS [M+H]⁺ 561.1; C₃₂H₄₄F₃N₂O₃ の HRMS 計算値 [M+H]⁺ 561.3299、実測値 561.3304; HPLC 純度: 96.7% (RT = 10.7 分; 75:25 ~ 5:95 MeOH/H₂O 定組成)。

【0258】

(3, 5) - 3 - ヒドロキシ - 3 - [(4 - { [3 - (トリフルオロメチル) フェニル] カルボニル } - ピペラジン - 1 - イル) メチル] アンドロスタン - 17 - オン (12d): (42mg、69%) ; ^1H NMR (CDCl₃): 0.77 (s, 3H), 0.86 (s, 3H), 0.80 - 2.12 (m, 22H), 2.32 (s, 2H), 2.43 (dd, J₁ = 8.7 Hz, J₂ = 19.3 Hz, 1H), 2.59 (broad s, 2H), 2.72 (broad s, 2H), 3.41 (broad s, 2H), 3.80 (broad s, 2H), 7.55 (m, 2H), 7.67 (s, 2H); C₃₂H₄₄F₃N₂O₃ の LRMS [M+H]⁺ 561.4。

【0259】

(3, 5) - 3 - ヒドロキシ - 3 - [(4 - { [4 - (トリフルオロメチル) フェニル] カルボニル } - ピペラジン - 1 - イル) メチル] アンドロスタン - 17 - オン (12e): (44mg、72%) ; ^1H NMR (CDCl₃): 0.77 (s, 3H), 0.86 (s, 3H), 0.80 - 2.10 (m, 22H), 2.32 (s, 2H), 2.

4.3 (dd, $J_1 = 8.7 \text{ Hz}$, $J_2 = 19.3 \text{ Hz}$, 1H), 2.57 (broad s, 2H), 2.73 (broad s, 2H), 3.39 (broad s, 2H), 3.80 (broad s, 2H), 7.51 (d, $J = 8.0 \text{ Hz}$, 2H), 7.68 (d, $J = 8.1 \text{ Hz}$, 2H); $\text{C}_{32}\text{H}_{44}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_3$ の LRMS $[\text{M} + \text{H}]^+$ 561.2。

【0260】

(3, 5) - 3 - { [(2, 5) - 2, 5 - ジメチル - 4 - (フェニルカルボニル) ピペラジン - 1 - イル] メチル } - 3 - ヒドロキシアンドロスタン - 17 - オン (13a): (25 mg, 31%); ^1H NMR (CDCl_3): 0.77 (s, 3H), 0.86 (s, 3H), 1.27 (m, 3H), 1.41 (d, $J = 6.8 \text{ Hz}$, 3H), 0.75 - 2.00 (m, 23H), 2.05 - 2.17 (m, 2H), 2.34 - 2.47 (m, 3H), 2.90 (broad s, 1H), 3.06 (d, $J = 8.8 \text{ Hz}$, 1H), 3.50 (broad s, 1H), 7.30 - 7.42 (m, 5H); ^{13}C NMR (CDCl_3): 8.6, 11.2, 13.8 (2x), 20.2, 21.7, 28.3, 30.8, 31.5, 32.5, 33.8, 35.0, 35.8, 35.9, 39.4, 40.7, 47.8, 51.4, 51.7, 54.0, 54.2, 55.1 (2x), 65.8, 70.9, 126.5, 128.5 (2x), 129.3 (2x), 136.4, 171.2, 221.5; $\text{C}_{33}\text{H}_{49}\text{N}_2\text{O}_3$ の LRMS $[\text{M} + \text{H}]^+$ 521.4; $\text{C}_{33}\text{H}_{49}\text{N}_2\text{O}_3$ の HRMS 計算値 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 521.3738、実測値 521.3745; HPLC 純度: 96.4% (RT = 12.1分; 75:25 ~ 5:95 MeOH/ H_2O 定組成)。

10

20

【0261】

(3, 5) - 3 - { [(2, 5) - 4 - (シクロヘキシルカルボニル) - 2, 5 - ジメチルピペラジン - 1 - イル] メチル } - 3 - ヒドロキシアンドロスタン - 17 - オン (13b): (14 mg, 44%); ^1H NMR (CDCl_3): 0.77 (s, 3H), 0.86 (s, 3H), 1.27 (m, 6H), 0.80 - 2.00 (m, 22H), 2.02 - 2.18 (m, 2H), 2.34 - 2.47 (m, 3H), 2.90 - 3.15 (broad m, 3H), 3.46 および 3.60 (2d, $J = 11.8 \text{ Hz}$, 1H), 4.02, 4.28 および 4.70 (3m, 1H); $\text{C}_{33}\text{H}_{55}\text{N}_2\text{O}_3$ の LRMS $[\text{M} + \text{H}]^+$ 527.3。

30

【0262】

(3, 5) - 3 - { [(2, 5) - 2, 5 - ジメチル - 4 - { [3 - (トリフルオロメチル) フェニル] カルボニル } ピペラジン - 1 - イル] メチル } - 3 - ヒドロキシアンドロスタン - 17 - オン (13c): (27 mg, 77%); ^1H NMR (CDCl_3): 0.77 (s, 3H), 0.86 (s, 3H), 1.26 (m, 3H), 1.43 (d, $J = 6.4 \text{ Hz}$, 3H), 0.78 - 2.00 (m, 22H), 2.02 - 2.20 (m, 2H), 2.35 - 2.47 (m, 3H), 2.95 (broad s, 2H), 3.07 (d, $J = 10.4 \text{ Hz}$, 1H), 3.55 (broad s, 1H), 7.55 (d, $J = 4.5 \text{ Hz}$, 2H), 7.61 (s, 1H), 7.68 (broad s, 1H); $\text{C}_{34}\text{H}_{48}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_3$ の LRMS $[\text{M} + \text{H}]^+$ 589.3。

40

【0263】

(3, 5) - 3 - { [(2, 5) - 2, 5 - ジメチル - 4 - { [4 - (トリフルオロメチル) フェニル] カルボニル } ピペラジン - 1 - イル] メチル } - 3 - ヒドロキシアンドロスタン - 17 - オン (13d): (31 mg, 89%); ^1H NMR (CDCl_3): 0.77 (s, 3H), 0.86 (s, 3H), 1.27 (m, 3H), 1.42 (m, 3H), 0.80 - 1.98 (m, 22H), 2.03 - 2.09 (m, 2H), 2.35 - 2.47 (m, 3H), 2.95 (broad s, 2H), 3.05 (broad s, 1H), 3.58 (broad s, 1H), 7.46 (d, $J = 7.9 \text{ Hz}$, 2H), 7.68 (d, $J = 8.0 \text{ Hz}$, 2H); $\text{C}_{34}\text{H}_{48}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_3$ の LRMS $[\text{M} + \text{H}]^+$ 589.2。

50

【0264】

スルホンアミド14a～cおよび15a～cの合成のための基本手順

化合物8(30mg、0.08mmol)または化合物9(30mg、0.07mmol)の無水ジクロロメタン溶液(3mL)に、トリエチルアミン(33mL、24mg、0.24mmol)および適切な塩化スルホニル(0.12mmol)を加えた。次いで、この溶液を室温で3分間にわたり攪拌した。得られた溶液を濃縮し、溶出系としてEtOAc/ヘキサン(3:7～1:1)を使用してフラッシュクロマトグラフィーにより精製し、対応するスルホンアミド14a～cおよび15a～cを得た。化合物はすべて、¹H NMRおよびMS分析により特徴づけた。化合物14a、15b、および15cについては、¹³C NMR、HRMS、およびHPLCのデータも収集した。

10

【0265】

(3, 5)-3-ヒドロキシ-3-[(4-{[3-(トリフルオロメチル)フェニル]スルホニル}ピペラジン-1-イル)メチル]アンドロスタン-17-オン(14a): (29mg、63%); ¹H NMR(CDCl₃): 0.74(s, 3H), 0.84(s, 3H), 0.75-2.10(m, 21H), 2.28(s, 2H), 2.43(dd, J₁ = 8.7 Hz, J₂ = 19.3 Hz, 1H), 2.50(s, 1H), 2.72(t, J = 4.7 Hz, 4H), 3.05(broad s, 4H), 7.73(t, J = 7.8 Hz, 1H), 7.90(d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.95(d, J = 7.9 Hz, 1H), 8.01(s, 1H); ¹³C NMR(CDCl₃): 11.2, 13.8, 20.2, 21.7, 28.2, 30.7, 31.5, 32.2, 33.6, 35.0, 35.8, 35.9, 39.1, 40.5, 46.3(2x), 47.8, 51.4, 54.1, 54.7(2x), 68.8, 70.6, 123.2(q, J_{C-F} = 273 Hz), 124.7(q, J_{C-C-C-F} = 3.7 Hz), 129.6, 130.0, 130.9, 131.9(q, J_{C-C-F} = 33 Hz), 137.0, 221.4; C₃₁H₄₃F₃N₂O₄SNaのLRMS [M+Na]⁺ 619.5; C₃₁H₄₄F₃N₂O₄SのHRMS計算値 [M+H]⁺ 597.2968、実測値 597.2974; HPLC純度: 98.4% (RT = 15.4分; 70:30～5:95 MeOH/H₂O 定組成)。

20

【0266】

(3, 5)-3-ヒドロキシ-3-[(4-{[2-(トリフルオロメチル)フェニル]スルホニル}ピペラジン-1-イル)メチル]アンドロスタン-17-オン(14b): (33mg、72%); ¹H NMR(CDCl₃): 0.75(s, 3H), 0.85(s, 3H), 0.75-2.12(m, 21H), 2.29(s, 2H), 2.43(dd, J₁ = 8.6 Hz, J₂ = 19.2 Hz, 1H), 2.69(m, 5H), 3.26(broad s, 4H), 7.72(m, 2H), 7.92(d, J = 9.1 Hz, 1H), 8.10(d, J = 9.1 Hz, 1H); C₃₁H₄₃F₃N₂O₄SNaのLRMS [M+Na]⁺ 619.2。

30

【0267】

(3, 5)-3-ヒドロキシ-3-[(4-{[4-(トリフルオロメチル)フェニル]スルホニル}-ピペラジン-1-イル)メチル]アンドロスタン-17-オン(14c): (26mg、56%); ¹H NMR(CDCl₃): 0.74(s, 3H), 0.84(s, 3H), 0.75-2.10(m, 23H), 2.27(s, 2H), 2.43(dd, J₁ = 8.6 Hz, J₂ = 19.2 Hz, 1H), 2.50(s, 1H), 2.72(broad t, J = 4.7 Hz, 4H), 3.06(broad s, 4H), 7.83(d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.89(t, J = 8.3 Hz, 1H); C₃₁H₄₃F₃N₂O₄SNaのLRMS [M+Na]⁺ 619.3。

40

【0268】

(3, 5)-3-{[(2, 5-ジメチル-4-{[3-(トリフルオロメチル)フェニル]スルホニル}ピペラジン-1-イル)メチル]-3-ヒドロキシ}アンドロスタン-17-オン(15a): (30mg、72%); ¹H NMR(CD

50

C_{13}) : 0.75 (s, 3H), 0.85 (s, 3H), 1.00 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H), 1.14 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H), 0.75 - 2.18 (m, 22H), 2.30 - 2.46 (m, 3H), 2.69 (s, 1H), 2.95 (m, 1H), 3.07 (dd, $J_1 = 3.5$ Hz, $J_2 = 11.9$ Hz, 1H), 3.39 (s, 2H), 4.10 (m, 1H), 7.66 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.82 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.99 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 8.06 (s, 1H); $C_{33}H_{47}F_3N_2O_4SNa$ の LRMS $[M+Na]^+$ 647.4。

【0269】

(3, 5) - 3 - { [(2, 5) - 2, 5 - ジメチル - 4 - { [2 - (トリフルオロメチル)フェニル]スルホニル}ピペラジン - 1 - イル]メチル} - 3 - ヒドロキシアンドロスタン - 17 - オン (15b) : (29 mg, 63%); 1H NMR ($CDCl_3$) : 0.75 (s, 3H), 0.85 (s, 3H), 0.89 (m, 3H), 1.19 (m, 3H), 0.75 - 1.98 (m, 19H), 2.00 - 2.17 (m, 2H), 2.33 (t_{app}, $J = 13.2$ Hz, 2H), 2.43 (dd, $J_1 = 8.8$ Hz, $J_2 = 19.2$ Hz, 1H), 2.82 (s, 1H), 2.90 (m, 1H), 3.09 (d, $J = 11.6$ Hz, 1H), 3.35 (m, 2H), 3.52 (d, $J = 13.0$ Hz, 1H), 4.05 (broad s, 1H), 7.69 (d, $J = 4.5$ Hz, 2H), 7.89 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H), 8.18 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$) : 8.6, 11.2, 13.8, 15.6, 20.2, 21.7, 28.3, 30.7, 31.5, 32.4, 33.8, 35.0, 35.8, 35.9, 39.3, 40.7, 46.0, 47.8, 49.5, 51.4, 52.4, 54.2, 54.7, 65.7, 70.9, 122.6 (q, $J_{C-F} = 274$ Hz), 127.5 (q, $J_{C-C-F} = 33$ Hz), 128.5 (q, $J_{C-C-C-F} = 6.4$ Hz), 131.9, 132.1, 132.5, 139.3, 221.5; $C_{33}H_{47}F_3N_2O_4SNa$ の LRMS $[M+Na]^+$ 647.2; $C_{33}H_{48}F_3N_2O_4S$ の HRMS 計算値 $[M+H]^+$ 625.3281、実測値 625.3291; HPLC 純度: 98.9% (RT = 16.1分; 70:30 ~ 5:95 MeOH / H_2O 定組成勾配)。

【0270】

(3, 5) - 3 - { [(2, 5) - 2, 5 - ジメチル - 4 - { [2 - (トリフルオロメチル)フェニル]スルホニル}ピペラジン - 1 - イル]メチル} - 3 - ヒドロキシアンドロスタン - 17 - オン (15c) : (35 mg, 70%); 1H NMR ($CDCl_3$) : 0.75 (s, 3H), 0.85 (s, 3H), 1.01 (d, $J = 5.9$ Hz, 3H), 1.14 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H), 0.75 - 1.98 (m, 20H), 2.00 - 2.18 (m, 2H), 2.30 - 2.45 (m, 3H), 2.68 (s, 1H), 2.95 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H), 3.07 (dd, $J_1 = 3.6$ Hz, $J_2 = 11.8$ Hz, 1H), 3.40 (s, 2H), 4.05 (broad s, 1H), 7.77 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.93 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$) : 9.1, 11.2, 13.8, 14.9, 20.2, 21.7, 28.3, 30.7, 31.5, 32.4, 33.7, 35.0, 35.8, 35.9, 39.3, 40.7, 46.1, 47.8, 49.9, 51.4, 53.0, 54.2, 54.6, 65.6, 71.0, 123.2 (q, $J_{C-F} = 273$ Hz), 126.1, 126.2 (q, $J_{C-C-C-F} = 3.6$ Hz), 127.4 (2x), 134.1 (q, $J_{C-C-F} = 33$ Hz), 144.2, 221.5; $C_{33}H_{47}F_3N_2O_4SNa$ の LRMS $[M+Na]^+$ 647.4; $C_{33}H_{48}F_3N_2O_4S$ の HRMS 計算値 $[M+H]^+$ 625.3281、実測値 625.3287; HPLC 純度: 98.7% (RT = 17.0分; 70:30 ~ 5:95 MeOH / H_2O 定組成)。

【0271】

3 - カルバメート - アンドロステロン誘導体 17a ~ 17i の合成のための基本手順

10

20

30

40

50

オキシラン 6⁵⁰ (75 mg、0.25 mmol) の無水エタノール溶液 (5 mL) に、適切な一級アミン (0.75 mmol) を加えた。続いて、この溶液を 70 で一晚撹拌した。続いて、得られた溶液を濃縮し、溶出系として EtOAc / ヘキサン (7 : 3 ~ 9 : 1) を使用してフラッシュクロマトグラフィーにより精製し、対応する二級アミン生成物 16 を好収率 (70 ~ 90 %) で得た。

【0272】

0 およびアルゴン雰囲気下の化合物 16 (0.22 mmol) の無水 DCM 溶液 (7 mL) に、ジイソプロピルアミン (0.66 mmol) およびトリホスゲン (0.11 mmol) を加えた。続いて、この溶液を室温で一晩撹拌した。次いで、反応混合物を水に注ぎ、DCM で抽出し、相分離器 (Biotage, Uppsala, Sweden) を使用して濾過し濃縮した。粗化合物を、溶出系として EtOAc / ヘキサン (1 : 9 ~ 3 : 7) を使用してフラッシュクロマトグラフィーにより精製し、対応するカルバメート 17a ~ i を得た。化合物はすべて、¹H NMR および MS 分析により特徴づけた。化合物 17a については、¹³C NMR、HRMS、および HPLC のデータも収集した。

10

【0273】

(3R, 5S, 8R, 9S, 10S, 13S, 14S) - 3' - ベンジル - 10, 13 - ジメチルテトラデカヒドロ - 2' H スピロ [シクロペンタ [] フェナントレン - 3, 5' - [1, 3] オキサゾリジン] - 2', 17 (2H) - ジオン (17a) : (20 mg、18 %) ; ¹H NMR (アセトン - d₆) : 0.84 (s, 3H), 0.86 (s, 3H), 0.80 - 2.10 (m, 22H), 2.37 (dd, J₁ = 8.2 Hz, J₂ = 17.7 Hz, 1H), 3.16 (s, 2H), 4.39 (s, 2H), 7.31 (m, 3H), 7.38 (t, J = 7.6 Hz, 1H) ; ¹³C NMR (CDCl₃) : 11.4, 13.8, 20.2, 21.7, 27.8, 30.6, 31.5, 32.8, 33.8, 35.0, 35.4, 35.8, 39.4, 40.8, 47.7, 48.1, 51.3, 53.8, 55.6, 78.9, 127.9, 128.0, 128.8 (2x), 129.7, 135.9, 157.6, 221.3 ; C₂₈H₃₇NO₃Na の LRMS [M + Na]⁺ 458.3 ; C₂₈H₃₈NO₃ の HRMS 計算値 [M + H]⁺ 436.2846、実測値 436.2854 ; HPLC 純度 : 98.7 % (RT = 13.9 分 ; 70 : 30 ~ 5 : 95 MeOH / H₂O 定組成勾配)。

20

【0274】

(3R, 5S, 8R, 9S, 10S, 13S, 14S) - 10, 13 - ジメチル - 3' - (4 - メチルベンジル) テトラヒドロデカヒドロ - 2' H - スピロ [シクロペンタ [] フェナントレン - 3, 5' - [1, 3] オキサゾリジン] - 2', 17 (2H) - ジオン (17b) : (134 mg、38 %) ; ¹H NMR (アセトン - d₆) : 0.84 (s, 3H), 0.86 (s, 3H), 0.80 - 2.10 (m, 21H), 2.32 (s, 3H), 2.37 (dd, J₁ = 8.7 Hz, J₂ = 18.2 Hz, 1H), 3.13 (s, 2H), 4.34 (s, 2H), 7.19 (s, 4H) ; C₂₉H₃₉NO₃Na の LRMS [M + Na]⁺ 472.2。

30

【0275】

(3R, 5S, 8R, 9S, 10S, 13S, 14S) - 3' - (4 - メトキシベンジル) - 10, 13 - ジメチルテトラデカヒドロ - 2' H - スピロ [シクロペンタ [] フェナントレン - 3, 5' - [1, 3] オキサゾリジン] - 2', 17 (2H) - ジオン (17c) : (18 mg、16 %) ; ¹H NMR (アセトン - d₆) : 0.84 (s, 3H), 0.86 (s, 3H), 0.80 - 2.10 (m, 22H), 2.37 (dd, J₁ = 8.7 Hz, J₂ = 18.2 Hz, 1H), 3.12 (s, 2H), 3.79 (s, 3H), 4.31 (s, 2H), 6.93 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.23 (d, J = 8.7 Hz, 2H) ; C₂₉H₄₀NO₄Na の LRMS [M + Na]⁺ 488.3。

40

【0276】

(3R, 5S, 8R, 9S, 10S, 13S, 14S) - 10, 13 - ジメチル - 3' -

50

- [4 - (トリフルオロメチル)ベンジル]テトラデカヒドロ - 2' H - スピロ[シクロペンタ[]フェナントレン - 3, 5' - [1, 3]オキサゾリジン] - 2', 17 (2 H) - ジオン (17 d) : (55 mg、33%) ; ^1H NMR (アセトン - d_6) : 0.84 (s, 3H), 0.87 (s, 3H), 0.80 - 2.10 (m, 21H), 2.38 (dd, $J_1 = 8.8\text{ Hz}$, $J_2 = 18.2\text{ Hz}$, 1H), 3.23 (s, 2H), 4.51 (s, 2H), 7.56 (d, $J = 8.0\text{ Hz}$, 2H), 7.74 (d, $J = 8.1\text{ Hz}$, 2H) ; $\text{C}_{29}\text{H}_{36}\text{F}_3\text{NO}_3\text{Na}$ の LRMS $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 526.1。

【0277】

(3R, 5S, 8R, 9S, 10S, 13S, 14S) - 10, 13 - ジメチル - 3' - [2 - (トリフルオロメチル)ピリジン - 3 - イル]メチル}テトラヒドロデカヒドロ - 2' H - スピロ[シクロペンタ[]フェナントレン - 3, 5' - [1, 3]オキサゾリジン] - 2', 17 (2 H) - ジオン (17 e) : (18 mg、24%) ; ^1H NMR (アセトン - d_6) : 0.84 (s, 3H), 0.87 (s, 3H), 0.80 - 2.10 (m, 21H), 2.38 (dd, $J_1 = 8.8\text{ Hz}$, $J_2 = 18.2\text{ Hz}$, 1H), 3.30 (s, 2H), 4.58 (s, 2H), 7.87 (d, $J = 8.0\text{ Hz}$, 1H), 8.03 (d, $J = 8.0\text{ Hz}$, 1H), 8.73 (s, 1H) ; $\text{C}_{28}\text{H}_{35}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_3\text{Na}$ の LRMS $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 527.4。

10

【0278】

(3R, 5S, 8R, 9S, 10S, 13S, 14S) - 10, 13 - ジメチル - 3' - [2 - (トリフルオロメチル)ベンジル]テトラデカヒドロ - 2' H - スピロ[シクロペンタ[]フェナントレン - 3, 5' - [1, 3]オキサゾリジン] - 2', 17 (2 H) - ジオン (17 f) : (62 mg、37%) ; ^1H NMR (アセトン - d_6) : 0.84 (s, 3H), 0.88 (s, 3H), 0.82 - 2.10 (m, 21H), 2.38 (dd, $J_1 = 8.7\text{ Hz}$, $J_2 = 18.3\text{ Hz}$, 1H), 3.23 (s, 2H), 4.61 (s, 2H), 7.57 (m, 2H), 7.74 (m, 2H) ; $\text{C}_{29}\text{H}_{36}\text{F}_3\text{NO}_3\text{Na}$ の LRMS $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 526.4。

20

【0279】

(3R, 5S, 8R, 9S, 10S, 13S, 14S) - 10, 13 - ジメチル - 3' - [3 - (トリフルオロメチル)ベンジル]テトラデカヒドロ - 2' H - スピロ[シクロペンタ[]フェナントレン - 3, 5' - [1, 3]オキサゾリジン] - 2', 17 (2 H) - ジオン (17 g) : (30 mg、18%) ; ^1H NMR (アセトン - d_6) : 0.84 (s, 3H), 0.87 (s, 3H), 0.82 - 2.10 (m, 21H), 2.38 (dd, $J_1 = 8.7\text{ Hz}$, $J_2 = 18.2\text{ Hz}$, 1H), 3.23 (s, 2H), 4.52 (s, 2H), 7.65 (m, 4H) ; $\text{C}_{29}\text{H}_{36}\text{F}_3\text{NO}_3\text{Na}$ の LRMS $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 526.0。

30

【0280】

(3R, 5S, 8R, 9S, 10S, 13S, 14S) - 3' - [3, 5 - ビス(トリフルオロメチル)ベンジル] - 10, 13 - ジメチルテトラデカヒドロ - 2' H - スピロ[シクロペンタ[]フェナントレン - 3, 5' - [1, 3]オキサゾリジン] - 2', 17 (2 H) - ジオン (17 h) : (28 mg、15%) ; ^1H NMR (アセトン - d_6) : 0.84 (s, 3H), 0.87 (s, 3H), 0.81 - 2.10 (m, 21H), 2.38 (dd, $J_1 = 8.7\text{ Hz}$, $J_2 = 17.7\text{ Hz}$, 1H), 3.31 (s, 2H), 4.64 (s, 2H), 8.00 (s, 3H) ; $\text{C}_{30}\text{H}_{35}\text{F}_6\text{NO}_3\text{Na}$ の LRMS 計算値 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 594.2。

40

【0281】

(3R, 5S, 8R, 9S, 10S, 13S, 14S) - 3' - シクロヘキシル - 10, 13 - ジメチルテトラデカヒドロ - 2' H - スピロ[シクロペンタ[]フェナントレン - 3, 5' - [1, 3]オキサゾリジン] - 2', 17 (2 H) - ジオン (17 i) : (19 mg、18%) ; ^1H NMR (アセトン - d_6) : 0.84 (s, 3H), 0.

50

8.8 (s, 3H), 0.80 - 2.08 (m, 31H), 2.38 (dd, $J_1 = 8.8$ Hz, $J_2 = 18.3$ Hz, 1H), 3.23 (s, 2H), 3.53 (m, 1H); $C_{27}H_{41}NO_3Na$ の LRMS $[M+Na]^+$ 450.4。

【0282】

(3R, 5S, 8R, 9S, 10S, 13S, 14S) - 10, 13, 16, 16 - テトラメチル - 3' - (4 - メチルベンジル) テトラヒドロデカヒドロ - 2' H - スピロ [シクロペンタ [] フェナントレン - 3, 5' - [1, 3] オキサゾリジン] - 2', 17 (2H) - ジオン (18) の合成

アルゴン雰囲気下の化合物 17b (100mg、0.22mmol) の無水 THF (15mL) 溶液に、NaH (油中 60%、89mg、2.2mmol) を加えた。得られた溶液を室温で 1 時間にわたり攪拌した。次いで、ヨウ化メチル (110μL、250mg、1.76mmol) を加え、溶液を一晩還流した。続いて、反応混合物を水に注ぎ、EtOAc で 3 回抽出した。合わせた有機層を食塩水で洗浄し、MgSO₄ で乾燥した。粗化合物を、溶出系として EtOAc / ヘキサン (2 : 8) を使用してフラッシュクロマトグラフィーにより精製し、化合物 18 (32mg、30%) を得た。¹H NMR (CDCl₃) : 0.77 (s, 3H), 0.87 (s, 3H), 1.03 (s, 3H), 1.16 (s, 3H), 0.80 - 1.85 (m, 20H), 2.34 (s, 3H), 3.03 (s, 2H), 4.37 (s, 2H), 7.15 (s, 4H); $C_{31}H_{43}NO_3Na$ の LRMS $[M+Na]^+$ 500.2。

【0283】

(3, 5) - 3 - { [(2 { [tert - ブチル (ジメチル) シリル] オキシ} エチル) アミノ] メチル} - 3 - ヒドロキシアンドロスタン - 17 - オン (19) の合成

オキシラン 6⁵⁰ の無水エタノール溶液 (50mL) に、2 - { [tert - ブチル (ジメチル) シリル] オキシ} エタノールアミン (1.75g、10.0mmol) を加え、この溶液を 5 時間にわたり還流した。続いて、得られた溶液を濃縮し、溶出系として EtOAc / ヘキサン (2 : 8) を使用してフラッシュクロマトグラフィーにより精製し、化合物 19 (1.0g、66%) を得た。¹H NMR (アセトン - d₆) : 0.08 (s, 6H), 0.81 (s, 6H), 0.91 (s, 9H), 0.80 - 2.10 (m, 20H), 2.22 および 2.38 (2m, 2H), 2.48 (s, 2H), 2.72 (t, $J = 5.5$ Hz, 2H), 3.25 (m, 1H), 3.72 (t, $J = 5.5$ Hz, 2H), 3.80 (t, $J = 6.0$ Hz, 1H); $C_{28}H_{52}NO_3Si$ の LRMS 計算値 $[M+H]^+$ 478.2。

【0284】

(3R, 5S, 8R, 9S, 10S, 13S, 14S) - 3' (2 - { [tert - ブチル (ジメチル) シリル] オキシ} エチル) - 10, 13 - ジメチルテトラヒドロデカヒドロ - 2' H - スピロ [シクロペンタ [] フェナントレン - 3, 5' - [1, 3] オキサゾリジン] - 2', 17 (2H) - ジオン (20) の合成

0 およびアルゴン雰囲気下の化合物 19 (1.0g、2.2mmol) の無水 DCM 溶液 (100mL) に、ジイソプロピルアミン (760μL、564mg、4.4mmol) およびトリホスゲン (325mg、1.1mmol) を加えた。続いて、この溶液を室温で 8 時間にわたり攪拌した。次いで、反応混合物を水に注ぎ、DCM で 2 回抽出し、相分離器 (Biotage, Uppsala, Sweden) を使用して濾過し濃縮した。粗化合物を、溶出系として EtOAc / ヘキサン (2 : 8) を使用してフラッシュクロマトグラフィーにより精製し、化合物 20 (370mg、36%) を得た。¹H NMR (アセトン - d₆) : 0.09 (s, 6H), 0.85 (s, 3H), 0.89 (s, 3H), 0.91 (s, 9H), 0.80 - 2.07 (m, 22H), 2.38 (dd, $J_1 = 8.6$ Hz, $J_2 = 18.3$ Hz, 1H), 3.30 (t, $J = 5.3$ Hz, 2H), 3.40 (s, 1H), 3.78 (t, $J = 5.4$ Hz, 2H); $C_{29}H_{49}NO_4SiNa$ の LRMS $[M+Na]^+$ 526.5。

【0285】

(3R, 5S, 8R, 9S, 10S, 13S, 14S) - 3' - (2 - ヒドロキシエチル) - 10, 13 - ジメチルテトラヒドロデカヒドロ - 2' H - スピロ[シクロペンタ[]フェナントレン - 3, 5' - [1, 3]オキサゾリジン] - 2', 17(2H) - ジオン(21)の合成

室温およびアルゴン雰囲気下の化合物20(360mg、0.76mmol)の無水THF(70mL)溶液に、フッ化テトラブチルアンモニウム(TBAF)のTHF溶液(1.0M; 1.05mL、1.5mmol)を加えた。この溶液を室温で1時間にわたり攪拌した。次いで、得られた反応混合物を水に注ぎ、EtOAcで2回抽出した。合わせた有機層を、Na₂SO₄で乾燥して濾過し、減圧下で蒸発させて、粗21を得た。粗化合物を、EtOAcを使用してフラッシュクロマトグラフィーにより精製し、純粋な21(225mg、76%)を得た。¹H NMR(アセトン-d₆): 0.85(s, 3H), 0.89(s, 3H), 0.80-2.08(m, 23H), 2.37(dd, J₁ = 8.6Hz, J₂ = 18.3Hz, 1H), 3.29(t, J = 5.3Hz, 2H), 3.40(s, 1H), 3.67(t, J = 5.6Hz, 2H); C₂₃H₃₅NO₄NaのLRMS [M+Na]⁺ 412.2。

【0286】

(3R, 5S, 8R, 9S, 10S, 13S, 14S) - 3' - (2 - ブロモエチル) - 10, 13 - ジメチルテトラヒドロデカヒドロ - 2' H - スピロ[シクロペンタ[]フェナントレン - 3, 5' - [1, 3]オキサゾリジン] - 2', 17(2H) - ジオン(22)の合成

0 およびアルゴン雰囲気下の化合物21(225mg、0.58mmol)の無水DCM溶液(50mL)に、トリフェニルホスフィン(303mg、1.16mmol)および四臭化炭素(383mg、1.16mmol)を加えた。この溶液を室温で1時間にわたり攪拌した。次いで、得られた反応混合物を、水で洗浄し、相分離シリンジ(Biotage)を使用して有機相を乾燥した。粗化合物を、溶出系としてEtOAc/ヘキサン(4:6)を使用してフラッシュクロマトグラフィーにより精製し、化合物22(235mg、90%)を得た。¹H NMR(アセトン-d₆): 0.85(s, 3H), 0.89(s, 3H), 0.82-2.08(m, H, 残りのCHおよびCH₂), 2.38(dd, J₁ = 8.6Hz, J₂ = 18.3Hz, 1H), 3.41(s, 2H), 3.63(s, 4H); C₂₃H₃₄⁷⁹BrNO₃NaのLRMS [M+Na]⁺ 474.1。

【0287】

(3R, 5S, 8R, 9S, 10S, 13S, 14S) - 10, 13 - ジメチル - 3' - [2 - (3 - メチルフェノキシ)エチル]テトラヒドロデカヒドロ - 2' H - スピロ[シクロペンタ[]フェナントレン - 3, 5' - [1, 3]オキサゾリジン] - 2', 17(2H) - ジオン(23a)の合成

3 - メチルフェノール(22μL、22mg、0.200mmol)の無水DMF溶液(2mL)を、70℃で10分間にわたり攪拌した後、化合物22(30mg、0.067mmol)を加えた。反応混合物を、アルゴン雰囲気下、70℃で一晩攪拌した。次いで、反応混合物をNaOH水溶液(1.0N)に注ぎ、ジエチルエーテルで3回抽出した。合わせた有機層を食塩水で連続して洗浄し、Na₂SO₄上で乾燥して濾過し、濃縮した。粗生成物を、溶出系としてEtOAc/ヘキサン(2:8)を使用してフラッシュクロマトグラフィーにより精製し、化合物23a(11mg、34%)を得た。¹H NMR(アセトン-d₆): 0.84(s, 3H), 0.88(s, 3H), 0.80-2.07(m, H, 残りのCHおよびCH₂), 2.29(s, 3H), 2.37(dd, J₁ = 8.7Hz, J₂ = 18.8Hz, 1H), 3.45(s, 2H), 3.59(m, 2H), 4.15(t, J = 5.3Hz, 2H), 6.77(m, 3H), 7.16(t, J = 7.8Hz, 1H); C₃₀H₄₁NO₄NaのLRMS [M+Na]⁺ 502.4。

【0288】

10

20

30

40

50

(3R, 5S, 8R, 9S, 10S, 13S, 14S) - 10, 13 - ジメチル - 3' - { 2 - (3 - メチルフェニル) スルホニル } エチル } テトラヒドロデカヒドロ - 2' H - スピロ [シクロペンタ [] フェナントレン - 3, 5' - [1, 3] オキサゾリジン] - 2', 17 (2H) - ジオン (23b) の合成

3 - メチルベンゼンチオール (41 mg、0.33 mmol) および K_2CO_3 (46 mg、0.33 mmol) の無水 DMF 溶液 (3 mL) を、70 で 10 分間にわたり攪拌した後、化合物 22 (50 mg、0.11 mmol) を加えた。この反応混合物を、アルゴン雰囲気下、70 で 3 時間にわたり攪拌した。次いで、反応混合物を水に注ぎ、ジエチルエーテルで 3 回抽出した。合わせた有機層を食塩水で連続して洗浄し、 Na_2SO_4 上で乾燥して濾過し、濃縮して対応する粗チオエーテル誘導体を得た。続いて、粗チオエーテル生成物 (45 mg) をメタノール / 水混合液 (1 : 1) で希釈した後、オキソソ (112 mg) を加えた。次いで、得られた反応混合物を室温で一晩攪拌した。続いて、粗反応混合物を水に注ぎ、EtOAc で 3 回抽出した。次いで、合わせた有機層を食塩水で洗浄し、 Na_2SO_4 上で乾燥して濾過し、濃縮した。粗生成物を、溶出系として EtOAc / ヘキサン (1 : 1) を使用してフラッシュクロマトグラフィーにより精製し、化合物 23b (連結 2 工程反応の場合、9 mg、16%) を得た。 1H NMR (アセトン - d_6) : 0.84 (s, 3H), 0.86 (s, 3H), 0.80 - 2.07 (m, 21H), 2.38 (dd, $J_1 = 8.7$ Hz, $J_2 = 8.3$ Hz, 1H), 2.46 (s, 3H), 3.30 (s, 2H), 3.50 (t, $J = 6.6$ Hz, 2H), 3.61 (m, 2H), 7.57 (m, 2H), 7.77 (m, 2H); $C_{30}H_{41}NO_5SNa$ の LRMS [$M + Na$]⁺ 550.2。

10

20

【 0289 】

3 - カルバメートアンドロステロン誘導体 23c ~ 23f の合成のための基本手順

化合物 22 (30 mg、0.067 mmol) の無水 DMF 溶液 (2 mL) に、適切な二級アミン (0.20 mmol) および炭酸ナトリウム (21 mg、0.20 mmol) を加えた。この反応混合物を 70 で 3 時間にわたり攪拌した。次いで、反応混合物を水に注ぎ、ジエチルエーテルで 3 回抽出した。合わせた有機層を食塩水で連続して洗浄し、 Na_2SO_4 上で乾燥して濾過し、濃縮した。粗生成物を、溶出系としてジクロロメタン / メタノール / トリエチルアミン (90 : 9 : 1) を使用してフラッシュクロマトグラフィーにより精製して、純粋な 23c、23e および 23f を得るか、または溶出系として EtOAc / ヘキサン (1 : 1) を使用してフラッシュクロマトグラフィーにより精製し、23d を得た。

30

【 0290 】

(3R, 5S, 8R, 9S, 10S, 13S, 14S) - 10, 13 - ジメチル - 3' - [2 - (ピペリジン - 1 - イル) エチル] テトラヒドロデカヒドロ - 2' H - スピロ [シクロペンタ [] フェナントレン - 3, 5' - [1, 3] オキサゾリジン] - 2', 17 (2H) - ジオン (23c) : (7 mg、22%); 1H NMR (アセトン - d_6) : 0.84 (s, 3H), 0.89 (s, 3H), 0.80 - 2.08 (m, 24H), 2.26 (m, 2H), 2.38 (dd, $J_1 = 8.8$ Hz, $J_2 = 18.3$ Hz, 1H), 3.05 - 3.30 (m, 4H), 3.42 (s, 2H), 3.46 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H), 3.80 (t, $J = 6.5$ Hz, 2H); $C_{28}H_{47}N_3O_3$ の LRMS [$M + NH_3$]⁺ 473.3。

40

【 0291 】

(3R, 5S, 8R, 9S, 10S, 13S, 14S) - 3' - { 2 - [エチル (フェニル) アミノ] エチル } - 10, 13 - ジメチルテトラヒドロデカヒドロ - 2' H - スピロ [シクロペンタ [] フェナントレン - 3, 5' - [1, 3] オキサゾリジン] - 2', 17 (2H) - ジオン (23d) : (16 mg、42%); 1H NMR (アセトン - d_6) : 0.85 (s, 3H), 0.88 (s, 3H), 0.82 - 2.07 (m, 24H), 1.03 (t, $J = 7.1$ Hz, 3H), 2.38 (dd, $J_1 = 8.7$ Hz, $J_2 = 18.3$ Hz, 1H), 2.53 (q, $J = 7.1$ Hz, 1H), 2.60 (t, J

50

= 6.1 Hz, 2H), 3.28 (s, 2H), 3.32 (m, 2H), 3.59 (s, 2H), 7.23 (t, J = 7.2 Hz, 1H), 7.30 (t, J = 7.3 Hz, 2H), 7.36 (t, J = 7.3 Hz, 2H); C₃₂H₄₆N₂O₃Na の L R M S [M + Na]⁺ 529.4。

【0292】

(3R, 5S, 8R, 9S, 10S, 13S, 14S) - 3' - {2 - [シクロヘキシル(エチル)アミノ]エチル} - 10, 13 - ジメチルテトラデカヒドロ - 2' H - スピロ[シクロペンタ[]フェナントレン - 3, 5' - [1, 3]オキサゾリジン] - 2', 17 (2H) - ジオン (23e): (13mg, 39%); ¹H NMR (CDCl₃): 0.81 (s, 3H), 0.86 (s, 3H), 1.41 (t, J = 7.2 Hz, 3H), 2.00 (s, 2H), 0.80 - 2.40 (m, 30H), 2.43 (dd, J₁ = 8.6 Hz, J₂ = 19.3 Hz, 1H), 3.45 (m, 4H), 3.63 (m, 1H), 3.72 (m, 1H), 3.85 (m, 2H); C₃₁H₅₃N₃O₃ の L R M S 計算値 [M + NH₃]⁺ 515.2。

10

【0293】

(3R, 5S, 8R, 9S, 10S, 13S, 14S) - 3' - [2 - (ジプロピルアミノ)エチル] - 10, 13 - ジメチルテトラデカヒドロ - 2' H - スピロ[シクロペンタ[]フェナントレン - 3, 5' - [1, 3]オキサゾリジン] - 2', 17 (2H) - ジオン (23f): (13mg, 40%); ¹H NMR (アセトン - d₆): 0.84 (s, 3H), 0.89 (s, 3H), 0.78 - 2.10 (m, 28H), 0.94 (t, J = 7.4 Hz, 3H), 2.38 (dd, J₁ = 8.7 Hz, J₂ = 18.2 Hz, 1H), 3.23 (m, 4H), 3.42 (s, 2H), 3.48 (t, J = 6.6 Hz, 2H), 3.74 (t, J = 6.9 Hz, 2H); C₂₉H₅₁N₃O₃ の L R M S 計算値 [M + NH₃]⁺ 489.3。

20

【0294】

N - {(3R, 5S, 8R, 9S, 10S, 13S, 14S) - 10, 13 - ジメチル - 2', 17 - ジオキソヘキサデカヒドロ - 3' H - スピロ[シクロペンタ[]フェナントレン - 3, 5' - [1, 3]オキサゾリジン - 3' - イル]エチル} - N - プロピルプロパンアミド (23g) の合成

化合物 22 (30mg, 0.067mmol) の無水 DMF 溶液 (3mL) に、K₂CO₃ (21mg, 0.20mmol) および n - プロピルアミン (16μL, 12mg, 0.20mmol) を加えた。この反応混合物を 80 で 5 時間にわたり攪拌した。次いで、反応混合物を水に注ぎ、ジエチルエーテルで 3 回抽出した。合わせた有機層を食塩水で連続して洗浄し、Na₂SO₄ 上で乾燥して濾過し、濃縮した。粗二級アミン生成物は、さらに精製することなく次の工程で使用した。

30

【0295】

粗二級アミン生成物 (30mg) の無水ジクロロメタン溶液 (50mL) に、トリエチルアミン (27μL, 21mg) およびプロピオン酸クロライド (13μL, 13mg) を連続して加えた。この溶液を、アルゴン雰囲気下、室温で 4 時間にわたり攪拌した。次いで、反応混合物をジクロロメタン (15mL) で希釈し、水で洗浄し、相分離シリンジ (Biotage) を使用して乾燥し濃縮した。得られた粗生成物を、溶出系として EtOAc / ヘキサン (1:1) を使用してフラッシュクロマトグラフィーにより精製し、純粋な 23g (11mg, 34%) を得た。¹H NMR (アセトン - d₆): 0.84 (s, 3H), 0.88 (s, 3H), 0.91 (t, J = 7.4 Hz, 3H), 1.04 (t, J = 7.4 Hz, 3H), 0.82 - 2.07 (m, 23H), 2.34 (m, 3H), 3.25 - 3.40 (m, 6H), 3.53 (m, 2H); C₂₉H₄₆N₂O₄Na の L R M S [M + Na]⁺ 509.1。

40

【0296】

細胞ホモジネートにおける 17 β -HSD 3 の阻害

化合物の阻害活性を、公知文献に従って決定した。⁴⁸、⁵³ 手短に言えば、17 β -HSD 3 を過剰表現する HEK-293 細胞をホモジネートして、酵素アッセイに使用した。50 nM の [4-¹⁴C]-4-アンドロステン-3, 17-ジオン ([¹⁴C]-4-ジオン) の [¹⁴C] テストステロン ([¹⁴C]-T) への変換を、過剰量の NADPH (5 mM) およびエタノール (対照) またはエタノールに溶解した阻害剤の存在下で測定し、それを使用して所与濃度での阻害パーセントを決定した。

【0297】

無傷細胞における 17 β -HSD-3 の阻害

非必須アミノ酸 (0.1 mM)、グルタミン (2 mM)、ビルビン酸ナトリウム (1 mM)、10% 胎児ウシ血清、ペニシリン (100 IU/mL)、およびストレプトマイシン (100 μ g/mL) を含有する最小必須培地 (MEM) 中の HEK-293 細胞を、95% 空気、5% CO₂、加湿雰囲気下で、12 ウェルプレート (BD Falcon) 中に 200000 細胞/ウェルで播種した。17 β -HSD 3 をコードする発現ベクターを、Exgen 500 手法 (Fermentas, Burlington, ON, Canada) に従い、1 ウェル当たり 2 μ g の組換えプラスミドを用いてトランスフェクトした。阻害活性アッセイのために、最終濃度 50 nM の [4-¹⁴C]-4-アンドロステン-3, 17-ジオンのエタノール溶液 (53.6 mCi/mmol, Perkin Elmer Life Sciences Inc., Boston, MA, USA) および阻害剤 (0.5% v/v) のエタノール溶液を新たな培地に加え、1 時間にわたりインキュベートした。各阻害剤は、試験濃度にて三つ組で評価した。インキュベーション後、培地を取り出し、細胞ホモジネートにおける酵素アッセイについての記載のように、放射標識ステロイドを抽出し、定量した⁴⁸。以前の報告のように、パーセント変換および IC₅₀ 値を算出した⁴⁸。

【0298】

アンドロゲン感受性 (AR⁺) シオノギ細胞に対する増殖活性

増殖 (アンドロゲン様) 活性は、公知文献の手順に従ってアンドロゲン感受性シオノギ細胞を使用して決定した。⁵⁴ 阻害剤および基準化合物を、2つの濃度 (0.1 および 1.0 μ M) で試験した。アンドロゲン性は、%細胞増殖 (対照に対して) として報告した。基礎細胞増殖 (対照) を 100% とした。

【0299】

3A~3D (スキーム 19) の合成のための基本手順

シュレンク (Schlenk) チューブにおいて、オキシラン 2 (1.7 mmol) を乾燥 MeOH (15 mL) に溶解した後、適切なアミノ酸メチルエステル (17.2 mmol) を加えた。次いで、シュレンクチューブを密閉して、21 時間にわたり攪拌しながら 90 $^{\circ}$ で加熱した。次いで、MeOH を蒸発させて、粗反応混合物を DCM に溶解した。次いで、この溶液をシリカゲル上に予め吸着させ、フラッシュカラムクロマトグラフィー (ヘキサン/EtOAc/TEA (89:10:1)) により精製した。

【0300】

3-メチル-N-[(17, 17-ジエチレンジオキシ-3 β -ヒドロキシ-5 α -アンドロスタン)]-メチル-L-ロイシナート (3A)

収率: 99%; R_f = 0.6 (ヘキサン/EtOAc, 1:1); IR (フィルム): 3479 および 3333 (OH および NH), 1736 (C=O); ¹H NMR (アセトン-d₆): 0.74 (m, 1H), 0.78 (s, CH₃-19), 0.82 (s, 3H, CH₃-18), 0.91 および 0.92 (2d, J = 6.9 Hz, (CH₃)₂-iPr 由来), 1.10 - 1.95 (未帰属 CH および CH₂), 2.21 および 2.57 (AB 系の 2d, J = 11.6 Hz, CH₂N), 3.14 (s, OH), 3.23 (dd, J = 6.4 Hz, J = 8.2 Hz, CHC=O), 3.67 (s, OCH₃), 3.83 (m, OCH₂-CH₂O); ¹³C NMR (CDCl₃): 11.20, 14

. 38, 20.33, 21.92, 22.64, 22.87, 24.82, 28.51, 30.72, 31.23, 31.67, 33.77, 34.18, 35.79, 35.96, 38.58, 40.58, 42.75, 45.96, 50.29, 51.67, 53.87, 59.32, 60.87, 64.52, 65.12, 69.90, 119.48, 176.32。

【0301】

3 - メチル - N - [(17, 17 - ジエチレンジオキシ - 3 - ヒドロキシ - 5 - アンドロスタン)] - メチル - D - ロイシナート (3B)

収率 : 99% ; Rf = 0.3 (ヘキサン / EtOAc、1 : 1) ; IR (フィルム) : 3479 および 3333 (OH および NH) , 1736 (C = O) ; ¹H NMR (CDCl₃) : 0.73 (s, CH₃ - 19) , 0.83 (s, CH₃ - 18) , 0.90 および 0.93 (2d, J = 6.6 Hz, (CH₃)₂ - iPr 由来) , 0.96 - 1.97 (未帰属 CH および CH₂) , 2.17 および 2.62 (AB 系の 2d, J = 11.9 Hz, CH₂N) , 3.04 (s, OH) , 3.21 - 3.25 (t_{app}, J = 6.7 Hz, CHC = O) , 3.72 (s, OCH₃) , 3.87 (m, OCH₂ - CH₂O) ; ¹³C NMR (CDCl₃) : 11.16, 14.35, 20.33, 21.91, 22.61, 22.84, 24.78, 28.44, 30.68, 31.16, 31.54, 33.63, 34.13, 35.76, 35.93, 38.56, 40.56, 42.70, 45.90, 50.25, 51.61, 53.82, 59.31, 60.83, 64.47, 65.07, 69.91, 119.41, 176.28。

10

20

【0302】

3 - メチル - N - [(17, 17 - ジエチレンジオキシ - 3 - ヒドロキシ - 5 - アンドロスタン)] - メチル - L - フェニルアラニナート (3C)

収率 : 77% ; Rf = 0.5 (ヘキサン / EtOAc、1 : 1) ; IR (フィルム) : 3472 - 3340 (NH および OH) , 3024 (CH, Ph) , 1736 (C = O) ; ¹H NMR (アセトン - d₆) : 0.75 (s, CH₃ - 19) , 0.82 (s, CH₃ - 18) , 0.95 (m, 1H) , 1.01 - 1.97 (未帰属 CH および CH₂) , 2.24 - 2.56 (AB 系の 2d, J = 11.6 Hz, CH₂N) , 2.92 (m, CH₂ - Ph) , 3.04 (s, OH) , 3.43 - 3.45 (t_{app}, J = 6.6 Hz, CHC = O) , 3.62 (s, OCH₃) , 3.84 (m, OCH₂ - CH₂O) ; 7.25 (m, Ph) ; ¹³C NMR (CDCl₃) : 11.19, 14.39, 20.33, 22.65, 28.49, 30.71, 31.22, 31.53, 33.67, 34.18, 35.78, 35.93, 38.50, 39.81, 40.49, 45.95, 50.27, 51.72, 53.81, 59.34, 63.92, 64.51, 65.11, 69.97, 70.03, 119.45, 126.74, 128.42, 129.10, 137.28, 175.02。

30

【0303】

3 - メチル - N - [(17, 17 - ジエチレンジオキシ - 3 - ヒドロキシ - 5 - アンドロスタン)] - メチル - D - フェニルアラニナート (3D)

収率 : 87% ; Rf = 0.43 (ヘキサン / EtOAc、1 : 1) ; IR (フィルム) : 3472 - 3340 (NH および OH) , 3024 (CH, Ph) および 1736 (C = O) ; ¹H NMR (アセトン - d₆) : 0.75 (s, CH₃ - 19) , 0.82 (s, CH₃ - 18) , 0.95 (m, 1H) , 1.50 - 1.97 (未帰属 CH および CH₂) , 2.24 - 2.56 (AB 系の 2d, J = 11.6 Hz, CH₂N) , 2.92 (m, CH₂ - Ph) , 3.04 (s, OH) , 3.43 - 3.45 (t_{app}, J = 6.6 Hz, CHC = O) , 3.62 (s, OCH₃) , 3.84 (m, OCH₂ - CH₂O) ; 7.25 (m, Ph) ; ¹³C NMR (CDCl₃) : 11.17, 14.39, 20.35, 22.65, 28.43, 30.71, 31.18, 31.49, 33.61, 34.17, 35.77, 35.93, 38.41, 39.79, 40.47, 45.93, 50.26, 51.70, 53.80, 59.33, 63.96, 64.50

40

50

, 65.10, 69.97, 70.02, 119.43, 126.72, 128.40, 129.10, 137.31, 175.03。

【0304】

3 - メチル - N - [(17, 17 - ジエチレンジオキシ - 3 - ヒドロキシ - 5 - アンドロスタン)] - メチルグリシナート (3 E) の合成

無水メタノール (20 mL) を、シュレンクチューブに入ったグリシンメチルエステル塩酸塩 (1.1 g、8.8 mmol) と DIPEA (2.2 g、17.5 mmol) の混合物に加えた。続いて、得られた溶液を室温で 30 分間にわたり攪拌した。次いで、オキシラン 2 (0.3 g、0.9 mmol) を加え、得られた溶液を 22 時間にわたり 95 で加熱した。次いで、溶液を室温に冷却し濾過した。次いで、得られた濾液を濃縮し、残渣 (1.8 g) を DCM に溶解した。次いで、溶液をシリカゲル上に予め吸着させ、フラッシュカラムクロマトグラフィー (ヘキサン / EtOAc (7 : 3) ; 1 % TEA) により精製した。表題化合物を帯黄色の生成物 (3 E) として単離した。収率 : 53 % ; R_f = 0.17 (ヘキサン / EtOAc、1 : 1) ; IR (フィルム) : 3464 - 3348 (NH および OH) , 1736 (C = O) ; ¹H NMR (CDCl₃) : 0.74 (s , CH₃ - 19) , 0.83 (s , CH₃ - 18) , 0.85 - 1.97 (未帰属 CH および CH₂) , 2.50 (s , CH₂N) , 3.45 (s , NCH₂C = O) , 3.73 (s , OCH₃) , 3.83 - 3.95 (m , OCH₂ - CH₂O) ; ¹³C NMR : (アセトン - d₆) 10.75, 13.91, 20.26, 22.44, 30.65, 31.38, 31.46, 33.34, 33.71, 33.91, 35.79, 35.90, 38.48, 40.45, 45.77, 50.32, 50.73, 51.18, 54.43, 61.09, 64.23, 64.83, 69.95, 118.87, 172.74。

10

20

【0305】

アザスピロラクトン 4 A ~ 4 E (スキーム 19) の合成のための基本手順

0 の MeONa (0.37 mmol) の無水 THF 溶液 (24 mL) に、アルゴン雰囲気下、適切なアミノアルコール (3 A ~ 3 E) (0.61 mmol) の無水 THF 溶液 (28 mL) を加えた。得られた溶液を室温で 2 時間にわたり攪拌した。続いて、反応を飽和塩化アンモニウム溶液でクエンチした。粗生成物を EtOAc (4 x 50 mL) で抽出し、合わせた有機層を無水 MgSO₄ で乾燥し濃縮した。残渣を DCM に溶解し、その溶液をシリカゲル上に予め吸着させ、フラッシュカラムクロマトグラフィー (ヘキサン / EtOAc (8 : 2) ; 1 % TEA) により精製した。

30

【0306】

アザスピロラクトン 4 A : 収率 : 89 % ; R_f = 0.49 (ヘキサン / 酢酸エチル 1 : 1) ; ¹H NMR (アセトン - d₆) : 0.79 (m , 1 H) , 0.83 (s , CH₃ - 19 および CH₃ - 18) , 0.89 および 0.92 (2 d , J = 6.6 Hz , (CH₃)₂ - iPr 由来) , 0.95 - 1.98 (未帰属 CH および CH₂) , 2.83 および 2.93 (AB 系の 2 d , J = 13.5 Hz , CH₂N) , 3.43 (m , NCHC = O) , 3.85 (m , OCH₂ - CH₂O) 。

【0307】

アザスピロラクトン 4 B : 収率 : 84 % ; R_f = 0.49 (ヘキサン / 酢酸エチル 1 : 1) ; ¹H NMR (CDCl₃) : 0.76 (s , 3 H , CH₃ - 19) , 0.83 (s , 3 H , CH₃ - 18) , 0.91 - 0.97 (2 d , J = 6.3 Hz , 3 H , (CH₃)₂ - iPr 由来) , 2.78 - 2.89 (dd , J = 13.5 Hz , 2 H , CH₂N) , 3.41 - 3.50 (m , 1 H , NCHC = O) , 3.83 - 3.94 (m , 4 H , OCH₂ - CH₂O) ; ¹³C NMR (CDCl₃) : 11.33, 14.38, 20.34, 20.94, 22.66, 23.40, 24.46, 28.24, 30.64, 31.49, 32.63, 34.18, 35.74, 36.03, 38.31, 39.25, 39.65, 41.46, 45.93, 50.13, 52.55, 53.38, 5

40

50

5 . 5 4 , 6 4 . 5 4 , 6 5 . 1 4 , 8 2 . 2 9 , 1 1 9 . 3 9 , 1 7 1 . 9 1 .

【 0 3 0 8 】

アザスピロラクトン 4 C : 収率 : 6 2 % ; R f = 0 . 3 (ヘキサン / 酢酸エチル 1 : 1) ; ^1H NMR (アセトン - d_6) : 0 . 7 8 (s , 3 H , CH_3 - 1 9) , 0 . 8 2 (s , 3 H , CH_3 - 1 8) , 2 . 8 6 - 2 . 9 9 (m , 2 H , CH_2N) , 3 . 0 1 - 3 . 2 0 (m , 2 H , CH_2Ph) , 3 . 7 0 - 3 . 7 4 (m , 1 H , $\text{NCHC}=\text{O}$) , 3 . 7 9 - 3 . 8 9 (m , 4 H , OCH_2 - CH_2O) , 7 . 2 2 - 7 . 3 0 (2 m , 5 H , Ph) .

【 0 3 0 9 】

アザスピロラクトン 4 D : 収率 : 6 5 % ; R f = 0 . 2 5 (ヘキサン / 酢酸エチル 1 : 1) ; ^1H NMR (アセトン - d_6) : 0 . 7 7 (s , 3 H , CH_3 - 1 9) , 0 . 8 2 (s , 3 H , CH_3 - 1 8) , 2 . 7 6 - 2 . 9 0 (m , 2 H , CH_2N) , 3 . 0 2 - 3 . 1 6 (m , 2 H , CH_2Ph) , 3 . 7 2 - 3 . 7 5 (m , 1 H , $\text{NCHC}=\text{O}$) , 3 . 7 8 - 3 . 8 9 (m , 4 H , OCH_2 - CH_2O) , 7 . 2 2 - 7 . 3 2 (2 m , 5 H , Ph) .

【 0 3 1 0 】

アザスピロラクトン 4 E : 収率 : 5 2 % ; R f = 0 . 2 7 (ヘキサン / 酢酸エチル 1 : 1) ; ^1H NMR (CDCl_3) : 0 . 7 8 (s , 3 H , CH_3 - 1 9) , 0 . 8 3 (s , 3 H , CH_3 - 1 8) , 2 . 8 2 (s , 2 H , CH_2N) , 3 . 6 3 (s , 2 H , $\text{NCH}_2\text{C}=\text{O}$) , 3 . 8 5 - 3 . 9 5 (m , 4 H , OCH_2 - CH_2O) ; ^{13}C NMR (CDCl_3) : 1 1 . 3 4 , 1 4 . 3 9 , 2 0 . 3 6 , 2 2 . 6 5 , 2 8 . 1 4 , 3 0 . 6 3 , 3 0 . 9 7 , 3 1 . 2 5 , 3 2 . 6 9 , 3 4 . 1 8 , 3 5 . 7 4 , 3 6 . 0 0 , 3 7 . 9 6 , 3 9 . 3 9 , 4 5 . 9 3 , 4 7 . 5 5 , 5 0 . 1 3 , 5 3 . 0 5 , 5 3 . 3 8 , 6 4 . 5 5 , 6 5 . 1 5 , 8 2 . 5 2 , 1 1 9 . 3 9 , 1 6 8 . 7 8 .

【 0 3 1 1 】

N - ベンジル化アザスピロラクトン 6 A ~ 6 E (スキーム 2 0) の合成のための基本手順
シュレンクチューブにおいて、適切なアザスピロラクトン (4 A ~ 4 E) (0 . 1 mmol) を乾燥 DCM (5 mL) に溶解した後、ジイソプロピルエチルアミン (0 . 1 7 mmol) を滴下して加えた。次いで、シュレンクチューブを密閉して、10 分間にわたり攪拌しながら 75 で加熱した。次いで、シュレンクチューブを室温に冷却した後、臭化ベンジル (1 . 7 mmol) を加えた。続いて、反応混合物を攪拌して、さらに 48 時間、75 で加熱した。シュレンクチューブを冷却した後、シリカゲルを加えて混合物を濃縮した。残渣をフラッシュカラムクロマトグラフィー (ヘキサン / EtOAc (8 : 2) ; 1 % TEA) により精製した。

【 0 3 1 2 】

N - ベンジル化アザスピロラクトン 6 A : 収率 : 6 3 % ; R f = 0 . 8 3 (ヘキサン / 酢酸エチル 1 : 1) ; ^1H NMR (アセトン - d_6) : 0 . 7 4 (s , 3 H , CH_3 - 1 9) , 0 . 8 1 (s , 3 H , CH_3 - 1 8) , 0 . 9 2 - 0 . 9 9 (2 d , J = 6 . 7 Hz , 6 H , (CH_3) $_2$ - i Pr 由来) , 2 . 2 2 - 2 . 7 6 (dd , J = 1 2 . 5 Hz , 2 H , CH_2N) , 3 . 1 9 - 4 . 1 0 (dd , J = 1 3 . 7 Hz , 2 H , CH_2 - Ph) , 3 . 1 5 - 3 . 1 8 (m , 1 H , $\text{NCHC}=\text{O}$) , 3 . 7 8 - 3 . 8 8 (m , 4 H , OCH_2 - CH_2O) , 7 . 2 8 - 7 . 4 0 (m , 5 H , Ph) .

【 0 3 1 3 】

N - ベンジル化アザスピロラクトン 6 B : 収率 : 4 9 % ; R f = 0 . 8 3 (ヘキサン / 酢酸エチル 1 : 1) ; ^1H NMR (CDCl_3) : 0 . 6 8 (s , 3 H , CH_3 - 1 9) , 0 . 8 2 (s , 3 H , CH_3 - 1 8) , 0 . 9 4 - 0 . 9 9 (2 d , J = 6 . 7 Hz , 3 H , (CH_3) $_2$ - i Pr 由来) , 2 . 1 6 - 2 . 6 5 (dd , J = 1 2 . 4 Hz , 2 H , CH_2N) , 3 . 1 1 - 4 . 0 4 (dd , J = 1 3 . 5 Hz , 2 H , CH_2 - Ph) , 3 . 1 5 - 3 . 2 0 (m , 1 H , $\text{NCHC}=\text{O}$) , 3 . 8 3 - 3 . 9 4 (m , 4 H , OCH_2 - CH_2O) , 7 . 2 9 - 7 . 3 8 (m , 5 H , Ph) . ^{13}C NMR (C

DC1₃) : 11.37, 14.37, 20.31, 22.09, 22.10, 22.67, 23.93, 25.02, 26.17, 28.34, 30.65, 31.06, 31.95, 32.69, 34.19, 35.72, 36.02, 38.33, 38.59, 39.24, 39.78, 45.95, 50.14, 53.39, 57.84, 58.15, 63.04, 64.56, 65.14, 81.33, 119.41, 127.37, 128.50, 128.53, 137.78, 171.37。

【0314】

N - ベンジル化アザスピロラクトン 6C : 収率 : 70% ; Rf = 0.75 (ヘキサン / 酢酸エチル 1 : 1) ; ¹H NMR (アセトン - d₆) : 0.62 (s, 3H, CH₃ - 19), 0.79 (s, 3H, CH₃ - 18), 2.20 - 2.59 (dd, J = 12.5 Hz, 2H, CH₂N), 2.81 - 4.41 (dd, J = 13.6 Hz, 2H, NCH₂ - Ph), 3.25 - 3.47 (m, 2H, CH₂Ph); 3.50 - 3.52 (m, 1H, NCHC=O), 3.80 - 3.89 (m, 4H, OCH₂ - CH₂O), 7.29 - 7.38 (m, 10H, Ph)。¹³C NMR (アセトン - d₆) : 10.73, 13.88, 20.16, 22.38, 27.86, 28.36, 29.52, 30.56, 30.64, 31.16, 33.10, 33.88, 35.24, 35.65, 35.72, 37.91, 39.53, 45.74, 50.17, 54.04, 57.45, 57.72, 60.95, 64.24, 64.83, 65.89, 80.54, 118.82, 126.42, 127.11, 127.79, 128.34, 128.53, 130.39, 137.98, 138.09, 169.53。

10

20

【0315】

N - ベンジル化アザスピロラクトン 6D : 収率 : 61% ; Rf = 0.75 (ヘキサン / 酢酸エチル 1 : 1) ; ¹H NMR (アセトン - d₆) : 0.62 (s, 3H, CH₃ - 19), 0.78 (s, 3H, CH₃ - 18), 2.19 - 2.60 (dd, J = 12.4 Hz, 2H, CH₂N), 2.81 - 4.43 (dd, J = 13.8 Hz, 2H, NCH₂ - Ph), 3.27 - 3.49 (m, 2H, CH₂Ph); 3.49 - 3.51 (m, 1H, NCHC=O), 3.77 - 3.88 (m, 4H, OCH₂ - CH₂O), 7.25 - 7.34 (m, 10H, Ph)。¹³C NMR (アセトン - d₆) : 10.76, 13.87, 20.18, 22.42, 27.58, 28.36, 29.52, 30.57, 31.14, 31.19, 32.69, 33.91, 35.04, 35.65, 37.26, 39.94, 45.73, 50.19, 54.10, 57.48, 57.83, 64.24, 64.81, 65.83, 80.46, 118.82, 126.54, 127.12, 127.77, 128.35, 128.59, 130.50, 137.88, 138.07, 169.43。

30

【0316】

N - ベンジル化アザスピロラクトン 6E : 収率 : 70% ; Rf = 0.83 (ヘキサン / 酢酸エチル 1 : 1) ; ¹H NMR (CDCl₃) : 0.72 (s, 3H, CH₃ - 19), 0.82 (s, 3H, CH₃ - 18), 2.41 (s - broad, 2H, CH₂N); 3.26 (s, 2H, NCH₂C=O), 3.83 - 3.94 (m, 4H, OCH₂ - CH₂O), 7.26 - 7.36 (m, 5H, Ph)。¹³C NMR (CDCl₃) : 11.4, 14.39, 20.33, 22.66, 28.12, 30.65, 31.01, 31.84, 32.90, 34.19, 35.74, 36.03, 38.43, 39.57, 45.94, 50.14, 53.40, 55.42, 59.79, 60.99, 61.36, 64.55, 65.15, 82.49, 119.40, 127.60, 128.53, 128.71, 136.69, 168.28。

40

【0317】

アザスピロラクトン 5A ~ 5E および N - ベンジル化アザスピロラクトン 7A ~ 7E (スキーム 20) の合成のための基本手順

適切なアザスピロラクトン (4A ~ 4E) または N - ベンジル化アザスピロラクトン (6A ~ 6E) (30 mg ~ 60 mg) のジオキサン溶液 (2 mL) に、硫酸水溶液 (5%

50

； 2 mL) を加え、得られた反応混合物を室温で 2 ～ 5 時間にわたり攪拌した。反応の進行は T L C によりモニターした。次いで、炭酸水素ナトリウムの飽和水溶液 (1 2 mL) を反応混合物に加えた後、酢酸エチル (4 × 1 2 mL) で 4 回抽出した。合わせた有機層を無水 M g S O ₄ で乾燥し濃縮した。粗化合物を、溶出系としてヘキサン / E t O A c (9 : 1) + 1 % T E A (化合物 5 A ～ 5 E) またはヘキサン / E t O A c (9 5 : 5) + 1 % T E A (化合物 7 A ～ 7 E) のいずれかを使用して、フラッシュクロマトグラフィーにより精製した。

【 0 3 1 8 】

アザスピロラクトン 5 A : 収率 : 7 1 % ; I R (フィルム) 3 4 4 8 - 3 3 3 3 (N H) , 1 7 3 6 (C = O) , 1 4 5 8 (C - O) c m ⁻¹ ; ¹ H N M R (アセトン - d ₆) : 0 . 8 4 (s , 3 H , C H ₃ - 1 9) , 0 . 8 5 (s , 3 H , C H ₃ - 1 8) , 0 . 8 9 - 0 . 9 3 (2 d , J = 6 . 6 H z , 6 H , (C H ₃) ₂ - i P r 由来) , 2 . 8 0 - 2 . 9 6 (d d , J = 1 3 . 5 H z , 2 H , C H ₂ N) , 3 . 4 1 - 3 . 4 4 (2 d , J = 4 . 1 H z , 1 H , N C H C = O) ; ¹³ C N M R (アセトン - d ₆) 1 0 . 7 3 , 1 3 . 1 6 , 2 0 . 1 3 , 2 0 . 6 2 , 2 1 . 4 4 , 2 2 . 8 6 , 2 4 . 1 5 , 2 7 . 8 8 , 3 0 . 6 6 , 3 1 . 1 6 , 3 1 . 7 0 , 3 3 . 1 6 , 3 4 . 9 7 , 3 5 . 1 0 , 3 6 . 0 5 , 3 7 . 9 1 , 3 9 . 8 1 , 4 1 . 2 9 , 4 7 . 2 8 , 5 1 . 2 5 , 5 1 . 9 4 , 5 4 . 2 8 , 5 5 . 4 5 , 6 0 . 9 5 , 8 0 . 8 1 , 1 7 0 . 7 7 .

10

【 0 3 1 9 】

アザスピロラクトン 5 B : 収率 : 9 2 % ; I R (フィルム) : 3 4 4 8 - 3 3 4 0 (N H) , 1 7 3 6 (C = O) , 1 4 5 8 (C - O) ; ¹ H N M R (C D C l ₃) : 0 . 8 0 (s , 3 H , C H ₃ - 1 9) , 0 . 8 6 (s , 3 H , C H ₃ - 1 8) , 0 . 9 2 - 0 . 9 9 7 (2 d , J = 6 . 4 H z , 6 H , (C H ₃) ₂ - i P r 由来) , 2 . 8 0 - 2 . 9 0 (d d , J = 1 3 . 5 H z , 2 H , C H ₂ N) , 3 . 4 1 - 3 . 4 4 (2 d , J = 3 . 7 0 H z および J = 3 . 4 3 , 1 H , N C H C = O) ; ¹³ C N M R (C D C l ₃) : 1 1 . 3 5 , 1 3 . 8 2 , 2 0 . 2 2 , 2 0 . 9 5 , 2 1 . 7 5 , 2 3 . 4 0 , 2 4 . 4 7 , 2 8 . 0 2 , 3 0 . 5 3 , 3 1 . 4 4 , 3 1 . 5 1 , 3 2 . 6 0 , 3 5 . 0 0 , 3 5 . 8 3 , 3 6 . 1 2 , 3 8 . 2 4 , 3 9 . 6 6 , 4 1 . 3 9 , 4 7 . 7 6 , 5 1 . 3 7 , 5 2 . 4 8 , 5 3 . 7 8 , 5 5 . 5 8 , 8 2 . 2 3 , 1 7 1 . 8 1 , 2 2 1 . 2 3 .

20

【 0 3 2 0 】

アザスピロラクトン 5 C : 収率 : 9 7 % ; I R (フィルム) : 3 3 3 3 (N H) , 3 0 3 2 (C H , P h) , 1 7 3 6 (C = O) , 1 4 5 0 (C - O) ; ¹ H N M R (アセトン - d ₆) : 0 . 8 1 (s , 3 H , C H ₃ - 1 9) , 0 . 8 4 (s , 3 H , C H ₃ - 1 8) , 2 . 7 7 - 2 . 9 1 (d d , J = 1 3 . 3 H z , 2 H , C H ₂ N) , 2 . 9 9 - 3 . 1 9 (m , 2 H , C H ₂ P h) , 3 . 7 2 - 3 . 7 5 (2 d , J = 4 . 0 H z , 1 H , N C H C = O) , 7 . 2 2 - 7 . 3 0 (m , 5 H , P h) ; ¹³ C N M R (C D C l ₃) : 1 1 . 3 0 , 1 3 . 8 2 , 2 0 . 2 2 , 2 1 . 7 4 , 2 7 . 8 2 , 3 0 . 5 1 , 3 0 . 9 9 , 3 1 . 5 0 , 3 2 . 8 3 , 3 5 . 0 1 , 3 5 . 8 3 , 3 6 . 0 2 , 3 7 . 9 8 , 3 9 . 2 0 , 4 7 . 7 6 , 5 1 . 3 8 , 5 2 . 6 2 , 5 3 . 7 3 , 5 3 . 7 6 , 5 8 . 5 9 , 5 8 . 7 3 , 8 2 . 7 2 , 1 2 7 . 0 8 , 1 2 8 . 7 7 , 1 2 9 . 5 2 , 1 3 7 . 1 7 , 1 7 0 . 7 7 , 2 2 1 . 2 7 .

30

40

【 0 3 2 1 】

アザスピロラクトン 5 D : 収率 : 5 6 % ; I R (フィルム) : 3 4 4 8 - 3 3 2 5 (N H) , 3 0 2 4 (C H , P h) , 1 7 2 8 (C = O) , 1 4 5 0 (C - O) ; ¹ H N M R (アセトン - d ₆) : 0 . 8 0 (s , 3 H , C H ₃ - 1 9) , 0 . 8 3 (s , 3 H , C H ₃ - 1 8) , 2 . 7 7 - 2 . 8 9 (d d , J = 1 3 . 3 H z , 2 H , C H ₂ N) , 3 . 0 3 - 3 . 1 6 (m , 2 H , C H ₂ P h) , 3 . 7 3 - 3 . 7 6 (2 d , J = 4 . 1 H z , 1 H , N C H C = O) , 7 . 2 3 - 7 . 3 0 (m , 5 H , P h) ; ¹³ C N M R (C D C l ₃) : 1 1 . 3 1 , 1 3 . 8 1 , 2 0 . 2 1 , 2 1 . 7 5 , 2 7 . 7 8 , 3 0 . 5 4 , 3 1 . 2 7 , 3 1 . 5 1 , 3 2 . 5 1 , 3 4 . 9 9 , 3 5 . 8 4 , 3 6 . 0 3 , 3 7

50

. 95, 39.59, 47.75, 51.38, 52.66, 53.76, 58.75, 60.82, 82.66, 127.09, 128.77, 129.59, 130.48, 137.23, 170.70, 221.22。

【0322】

アザスピロラクトン5E：収率：54%；Rf = 0.29（ヘキサン/酢酸エチル 1：1）；IR（フィルム）：3448（NH），1736（C=O），1450（C-O）；¹H NMR（CDCl₃）：0.80（s, 3H, CH₃-19），0.86（s, 3H, CH₃-18），2.83（s, 2H, CH₂N），3.63（s, 2H, NCH₂C=O）；¹³C NMR（CDCl₃）：11.36, 13.83, 20.23, 21.75, 27.90, 30.53, 31.19, 31.49, 32.66, 35.00, 35.83, 36.08, 37.88, 39.40, 47.55, 47.6, 51.35, 52.93, 53.78, 82.45, 168.69, 221.27。

10

【0323】

N-ベンジル化アザスピロラクトン7A：収率：81%；Rf = 0.77（ヘキサン/酢酸エチル 1：1）；IR（フィルム）：3448（NH），1736（C=O），1450（C-O）；¹H NMR（アセトン-d₆）：0.77（s, 3H, CH₃-19），0.83（s, 3H, CH₃-18），0.92-0.99（2d, J = 6.3 Hz および J = 6.5 Hz, 6H, (CH₃)₂-iPr 由来），2.26-2.77（dd, J = 12.5 Hz, 2H, CH₂N），3.15-3.18（2d, J = 2.6 および J = 2.7, 1H, NCHC=O），3.19-4.10（dd, J = 13.6 Hz, 2H, CH₂-Ph），7.28-7.40（m, 5H, Ph）；¹³C NMR（アセトン-d₆）：10.81, 13.19, 20.13, 21.44, 21.64, 23.44, 24.85, 27.77, 30.64, 31.52, 31.69, 33.25, 34.94, 35.11, 36.03, 38.15, 38.33, 39.74, 47.29, 51.25, 54.26, 57.63, 57.72, 63.07, 80.48, 127.18, 128.38, 128.57, 128.62, 138.20, 205.18, 205.24, 218.67。

20

【0324】

N-ベンジル化アザスピロラクトン7B：収率：92%；Rf = 0.85（ヘキサン/酢酸エチル 1：1）；IR（フィルム）：3448（NH），3032（CH, Ph），1736（C=O），1450（C-O）；¹H NMR（CDCl₃）：0.71（s, 3H, CH₃-19），0.84（s, 3H, CH₃-18），0.92-0.99（2d, J = 6.5 Hz および J = 6.7 Hz, 6H, (CH₃)₂-iPr 由来），2.17-2.66（dd, J = 12.4 Hz, 2H, CH₂N），3.11-4.04（dd, J = 13.5 Hz, 2H, CH₂-Ph），3.15-3.18（2d, J = 2.8 Hz および J = 3.0 Hz, 1H, NCHC=O），7.29-7.36（m, 5H, Ph）；¹³C NMR（CDCl₃）：11.39, 13.82, 20.19, 21.76, 22.08, 23.95, 25.01, 28.11, 30.63, 31.51, 31.89, 32.65, 34.98, 35.84, 36.10, 38.22, 38.47, 39.80, 47.76, 50.14, 51.40, 53.81, 57.73, 58.13, 63.05, 64.56, 65.14, 127.40, 128.52, 128.55, 137.74, 171.30, 221.25。

30

40

【0325】

N-ベンジル化アザスピロラクトン7C：収率：70%；Rf = 0.23（ヘキサン/酢酸エチル 1：1）；IR（フィルム）：3441（NH），3032（CH, Ph），1728（C=O），1450（C-O）；¹H NMR（アセトン-d₆）：0.65（s, 3H, CH₃-19），0.80（s, 3H, CH₃-18），2.20-2.60（dd, J = 12.5 Hz, 2H, CH₂N），3.26-4.42（dd, J = 13.9 Hz, 2H, NCH₂-Ph），3.31-3.43（m, 2H, CH₂Ph）；3.47-3.53（m, 1H, NCHC=O），7.26-7.36（m, 10H, Ph）。

50

h) ; ^{13}C NMR (アセトン- d_6) : 10.68, 13.14, 20.03, 21.41, 27.71, 30.60, 30.62, 31.64, 33.02, 34.91, 35.09, 35.19, 35.82, 37.85, 39.55, 47.27, 51.21, 54.13, 57.42, 57.72, 65.88, 80.50, 126.45, 127.11, 127.79, 128.35, 128.53, 130.39, 137.96, 138.06, 169.50, 205.17, 205.25, 218.69。

【0326】

N-ベンジル化アザスピロラクトン7D : 収率 : 81% ; IR (フィルム) : 3448 (NH), 3032 (CH, Ph), 1728 (C=O), 1450 (C-O) ; ^1H NMR (アセトン- d_6) : 0.65 (s, 3H, CH_3 -19), 0.80 (s, 3H, CH_3 -18), 2.20-2.61 (dd, J = 12.4 Hz, 2H, CH_2N), 3.27-4.44 (dd, J = 13.8 Hz, 2H, NCH_2 -Ph), 3.38-3.43 (m, 2H, CH_2Ph) ; 3.49-3.51 (m, 1H, NCHC=O), 7.26-7.34 (m, 10H, Ph) ; ^{13}C NMR (アセトン- d_6) : 10.74, 13.15, 20.06, 21.44, 27.42, 30.57, 31.15, 31.67, 32.62, 34.90, 35.04, 35.12, 35.75, 37.18, 39.96, 47.27, 51.23, 54.22, 57.41, 57.84, 60.95, 65.84, 80.45, 126.55, 127.14, 127.77, 128.37, 128.60, 130.54, 137.88, 138.08, 169.42, 205.28, 218.72。

10

20

【0327】

N-ベンジル化アザスピロラクトン7E : 収率 : 71% ; Rf = 0.7 (DCM/MeOH 39:1) ; IR (フィルム) : 3448 (NH), 1720 (C=O), 1450 (C-O) ; ^1H NMR (CDCl_3) : 0.75 (s, 3H, CH_3 -19), 0.85 (s, 3H, CH_3 -18), 2.42 (s-broad, 2H, CH_2N) ; 3.27 (s, 2H, $\text{NCH}_2\text{C=O}$), 3.52-3.53 (d, J = 4.4 Hz, 2H, CH_2 -Ph), 7.29-7.37 (m, 5H, Ph) ; ^{13}C NMR (CDCl_3) : 11.41, 13.82, 20.21, 21.75, 27.90, 30.57, 31.51, 31.77, 32.86, 35.01, 35.84, 36.12, 38.34, 39.59, 47.76, 51.38, 53.81, 55.42, 59.69, 61.36, 82.38, 127.62, 128.54, 128.72, 136.65, 168.19, 221.26。

30

【0328】

カルバメート9A~9E (スキーム21) の合成のための基本手順

0 およびアルゴン雰囲気下の適切なアミノアルコール3 (0.12 mmol) のDCM溶液 (3 mL) に、ジイソプロピルエチルアミン (0.24 mmol) を加えた。次いで、反応混合物を10分間にわたり攪拌した後、トリホスゲン (0.06 mmol) を加えた。次いで、得られた反応混合物を室温で5時間にわたり攪拌した。次いで、HCl/MeOH (10:90) (2 mL) から構成される酸性溶液を加え、得られた反応混合物を一晩攪拌した。続いて、 NaHCO_3 (10 mL) の飽和水溶液の添加により、反応をクエンチした。続いて、所望の生成物をジクロロメタン ($4 \times 10\text{ mL}$) で抽出した。合わせた有機層を、無水 Na_2SO_4 で乾燥し濃縮した。粗化合物を、溶出系としてヘキサン/EtOAc (95:5) + 1% TEAを使用して、フラッシュクロマトグラフィーにより精製した。

40

【0329】

カルバメート9A : 収率 : 73% ; Rf = 0.71 (ヘキサン/酢酸エチル 1:1) ; IR (フィルム) : 3464 (NH), 1744 (C=O), 1435 (C-O) ; ^1H NMR (CDCl_3) : 0.82 (s, 3H, CH_3 -19), 0.85 (s, 3H, CH_3 -18), 0.96-0.98 (2d, J = 1.8 Hz および J = 2.0 Hz, 6H, $(\text{CH}_3)_2$ -iPr由来), 3.12-3.44 (dd, J = 8.1 Hz, 2H

50

, CH₂N), 3.72 (s, 3H, OCH₃), 4.56 - 4.60 (2d, J = 4.8 Hz, 1H, NCHCO); ¹³C NMR (CDCl₃): 11.39, 13.82, 20.23, 21.08, 21.75, 23.15, 24.94, 27.88, 30.59, 31.47, 32.73, 33.81, 35.01, 35.41, 35.83, 37.71, 39.47, 40.77, 40.84, 47.74, 51.31, 52.22, 52.88, 53.58, 53.88, 79.64, 157.58, 171.99, 221.17。

【0330】

カルバメート9B: 収率: 67%; R_f = 0.57 (ヘキサン/酢酸エチル 1:1); IR (フィルム): 3464 (NH), 1736 (C=O), 1443 (C-O); ¹H NMR (CDCl₃): 0.83 (s, 3H, CH₃-19), 0.86 (s, 3H, CH₃-18), 0.96 - 0.98 (d, J = 6.5 Hz, 6H, (CH₃)₂-iPr 由来), 3.13 - 3.45 (dd, J = 8.1 Hz, 2H, CH₂N), 3.72 (s, 3H, OCH₃), 4.58 - 4.62 (2d, J = 4.8 Hz, 1H, NCHCO); ¹³C NMR (CDCl₃): 11.40, 13.80, 20.22, 21.07, 21.72, 23.11, 24.93, 27.81, 30.56, 31.47, 32.88, 33.86, 35.00, 35.37, 35.81, 37.69, 39.28, 40.77, 40.83, 47.71, 51.30, 52.18, 52.83, 53.56, 53.86, 79.64, 157.53, 171.97, 221.13。

10

【0331】

カルバメート9C: 収率: 61%; R_f = 0.40 (ヘキサン/酢酸エチル 1:1); IR (フィルム): 3464 (NH), 3032 (CH, Ph) 1744 (C=O), 1435 (C-O); ¹H NMR (CDCl₃): 0.76 (s, 3H, CH₃-19), 0.84 (s, 3H, CH₃-18), 2.92 - 3.38 (2m, 2H, CH₂Ph), 3.08 - 3.32 (dd, J = 8.0 Hz, 2H, CH₂N), 3.76 (s, 3H, OCH₃), 4.86 - 4.90 (2d, J = 5.5 Hz, 1H, NCHCO); ¹³C NMR (CDCl₃): 11.33, 13.80, 20.19, 21.72, 27.71, 27.79, 30.50, 31.45, 32.44, 33.80, 34.96, 35.07, 35.29, 35.81, 38.80, 40.56, 47.71, 51.28, 52.42, 53.20, 53.83, 55.81, 79.71, 127.07, 128.52, 128.58, 128.71, 136.02, 157.31, 171.00, 221.16。

20

30

【0332】

カルバメート9D: 収率: 75%; R_f = 0.50 (ヘキサン/酢酸エチル 1:1); IR (フィルム): 3456 (NH), 1736 (C=O), 1435 (C-O); ¹H NMR (CDCl₃): 0.77 (s, 3H, CH₃-19), 0.84 (s, 3H, CH₃-18), 2.92 - 3.41 (2m, 2H, CH₂Ph), 3.09 - 3.32 (dd, J = 8.0 Hz, 2H, CH₂N), 3.76 (s, 3H, OCH₃), 4.84 - 4.89 (2d, J = 5.5 Hz, 1H, NCHCO); ¹³C NMR (CDCl₃): 11.35, 13.80, 20.19, 21.72, 27.71, 27.79, 30.54, 31.46, 32.35, 33.72, 34.98, 35.07, 35.30, 35.82, 39.14, 40.78, 47.71, 51.29, 52.41, 53.32, 53.83, 55.91, 79.67, 127.09, 128.52, 128.59, 128.71, 136.02, 157.29, 171.02, 221.16。

40

【0333】

カルバメート9E: 収率: 32%; R_f = 0.48 (ヘキサン/酢酸エチル 1:1); IR (フィルム): 3464 (NH), 1744 (C=O), 1443 (C-O); ¹H NMR (CDCl₃): 0.82 (s, 3H, CH₃-19), 0.85 (s, 3H, CH₃-18), 3.33 (s, 2H, CH₂N), 3.75 (s, 3H, OCH₃), 4.01 - 4.02 (d, J = 4.33 Hz, 1H, NCHCO); ¹³C NMR (

50

CDCl₃) : 11.42, 13.82, 20.23, 21.74, 27.83, 30.58, 31.48, 32.69, 33.84, 35.01, 35.37, 35.83, 39.27, 40.82, 45.01, 47.73, 51.31, 52.26, 53.89, 56.52, 79.61, 157.57, 169.02, 221.17.

【0334】

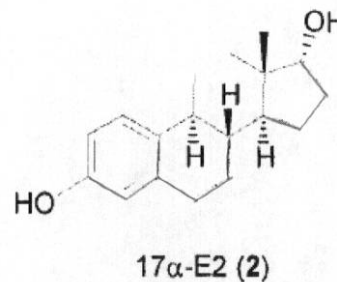
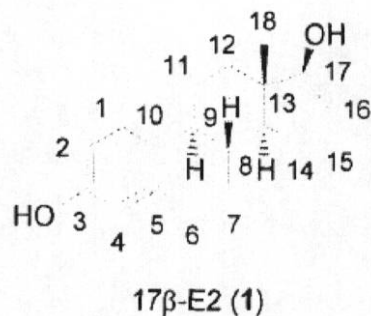
17 - エストラジオール (17 - E2) ; 17 - エストラジオール (17 - E2) ; 18 - epi - 17 - E2 ; および 18 - epi - 17 - E2 ;

反転した 18 - メチル基を有する 2 種の E2 異性体 (18 - epi) である化合物 3 および 4 (スキーム 22A) を調製し、それらのエストロゲン様活性を、代表的な *in vitro* および *in vivo* のアッセイで試験した。⁵⁵

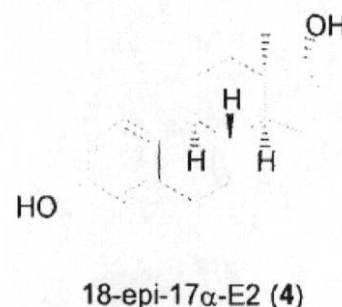
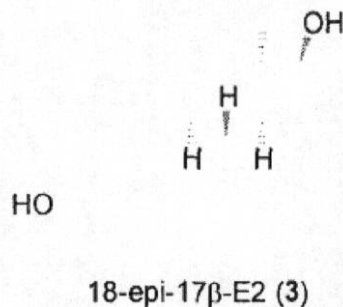
10

【0335】

【化30】



20



30

スキーム 22A

【0336】

[2, 4, 6, 7³H] - 17 - エストラジオールは、American Radiolabeled Chemicals (St. Louis, MO, USA) から入手した。天然エストラジオール (17 - E2 ; 1) および対応する 17 - 異性体 (17 - E2 ; 2) は、Sigma-Aldrich Canada Ltd (Oakville, ON, Canada) から購入した。18 - epi - 17 - E2 (3) および 18 - epi - 17 - E2 (4) は、(13) - 3 - ヒドロキシエストラ - 1 (10), 2, 4 - トリエン - 17 - オン (18 - epi - エストロン) から調製した。化合物 1 ~ 4 の純度は、Waters 996 Photodiodeアレー検出器 (207 nm) を装着した Waters 装置 (Waters Associates Milford, MA, USA)、Phenomenex (Torrance, CA, USA) 製のフェニル / ヘキシル - RP カラム (75 × 4.6 mm id, 3 μm)、およびメタノール / 水の 60 : 40 ~ 95 : 5 の直線溶媒勾配を使用して、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) により決定した。

40

【0337】

18 - epi - 17 - E2 および 18 - epi - 17 - E2 の合成

18 - epi - エストロン (125 mg, 0.46 mmol) の無水 THF 溶液 (5 m

50

L) に、 LiAlH_4 (2.3 mL の 1.0 M THF 溶液) を室温で加えた。この溶液を、アルゴン雰囲気下で 90 分間にわたり攪拌した。次いで、得られた溶液を飽和ロッシェル塩溶液 (50 mL) に注いだ後、EtOAc で 2 回抽出した。合わせた有機層を食塩水で洗浄し、 Na_2SO_4 で乾燥して濾過し、濃縮して 120 mg のアルコール混合物を得た。EtOAc / ヘキサンの 1 : 9 ~ 3 : 7 の溶媒勾配およびシリカゲルカラム (KP-Sil、60 Å) を使用して、Biotage フラッシュクロマトグラフィシステム (Uppsala, Sweden) により精製すると、2 つの分画が得られた。第 1 分画は、HPLC 純度 99.7 % の 18-epi-17-E2 (3) (35 mg、28 % 収率) を含有することが示された。他の分画 (33 mg、27 % 収率) は、2.8 % の所望しない 17-E2 (1) に加えて、HPLC 純度 96.5 % の 18-epi-17-E2 (4) を含有することが示された。17-E2 が存在しないことを保証するために、この分画をアセトニトリル (1 % w/v) から再結晶して、HPLC 純度 99.7 % の化合物 4 を 17 mg 得た。

10

【0338】

(13, 17) - エストラ - 1 (10), 2, 4 - トリエン - 3, 17 - ジオール (3) : HPLC 純度 : 99.7 % ; RT = 9.2 分 (メタノール / 水の 60 : 40 ~ 95 : 5 の勾配、フェニル / ヘキシル - RP カラム (75 × 4.6 mm id、3 μm ; Phenomenex) ; $\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{O}_2\text{Na}$ の LRMS $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 295.4 m/z、または $\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{O}_2$ の LRMS (M - H) $^-$: 271.4 m/z ; ^1H NMR (CD_3OD) : 0.96 (s, 18- CH_3), 1.10 - 2.15 (残りの CH および CH_2), 2.28 (m, 6- CH_2), 2.72 (m, 2H), 3.76 (dd, $J_1 = 4.0$ Hz および $J_2 = 6.0$ Hz, 17-H), 6.46 (d, $J = 2.3$ Hz, 4-CH), 6.55 (dd, $J_1 = 2.4$ Hz および $J_2 = 8.4$ Hz, 2-CH), 7.07 (d, $J = 8.5$ Hz, 1-CH) ; ^{13}C NMR (CD_3OD) : 26.1 (C15), 28.7 (C11), 28.9 (C7), 29.0 (C18), 30.1 (C6), 30.9 (C12), 31.9 (C16), 40.0 (C9), 42.0 (C8), 44.0 (C13), 51.5 (C14), 82.6 (C17), 112.6 (C2), 114.2 (C4), 127.0 (C1), 132.2 (C10), 137.7 (C5), 154.2 (C3) ; NOESY は、14-CH と 18- CH_3 ならびに 18- CH_3 と 17-CH の間の相関を示し、したがって、3 (18-epi-17-E2) の 18-epi- CH_3 および 17-CH の立体配置が実証された。

20

30

【0339】

(13, 17) - エストラ - 1 (10), 2, 4 - トリエン - 3, 17 - ジオール (4) : HPLC 純度 : 99.7 % ; RT = 7.9 分 (メタノール / 水の 60 : 40 ~ 95 : 5 の勾配、フェニル / ヘキシル - RP カラム (75 × 4.6 mm id、3 μm ; Phenomenex) ; $\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{O}_2\text{Na}$ の LRMS $[\text{M} + \text{Na}]^+$: 295.4 m/z、または $\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{O}_2$ の LRMS (M - H) $^-$: 271.3 m/z ; ^1H NMR (CD_3OD) : 0.92 (s, 18- CH_3), 0.95 - 2.30 (残りの CH および CH_2), 2.72 (m, 6- CH_2), 4.19 (t, $J = 8.5$ Hz, 17-H), 6.50 (d, $J = 2.6$ Hz, 4-CH), 6.57 (dd, $J_1 = 2.6$ Hz, $J_2 = 8.4$ Hz, 2-CH), 7.12 (d, $J = 8.5$ Hz, 1-CH) ; ^{13}C NMR (CD_3OD) : 22.0 (C18), 23.5 (C15), 26.5 (C11), 28.5 (C7), 28.7 (C16), 30.1 (C6), 32.8 (C12), 42.3 (C9), 42.7 (C8), 43.2 (C13), 50.3 (C14), 73.1 (C17), 112.5 (C2), 114.5 (C4), 126.4 (C1), 131.1 (C10), 137.8 (C5), 154.5 (C3) ; NOESY は、14-CH と 18- CH_3 の間の相関は示すが、18- CH_3 と 17-CH の間の相関は示さず、したがって、4 (18-epi-17-E2) の 18-epi- CH_3 および 17-CH の立体配置が実証された。

40

50

【0340】

*in vitro*におけるエストロゲン様活性

細胞培養の維持

ヒト乳癌細胞株 (T-47D、MCF-7、およびBT-20) を、米国培養細胞系統保存機関 (ATCC) から入手し、5% CO₂、加湿雰囲気下で、37℃にて培養フラスコ (75 cm³ の増殖面積) 中で維持した。T-47D細胞は、10% (v/v) ウシ胎児血清 (FBS)、L-グルタミン (2 nM)、ペニシリン (100 IU/mL)、ストレプトマイシン (100 µg/mL)、および17β-E2 (1 nM) 添加のRPMI培地中で増殖させた。MCF-7細胞は、5% FBS、グルタミン (2 nM)、ペニシリン (100 IU/mL)、ストレプトマイシン (100 µg/mL)、および17β-E2 (1 nM) 添加のDubelcco's Modified Eagle's Medium nutrient mixture F-12 HAM (DMEM-F12) 培地中で増殖させた。BT-20細胞は、10% (v/v) FBS、グルタミン (2 nM)、ペニシリン (100 IU/mL)、およびストレプトマイシン (100 µg/mL) 添加の最小必須培地 (MEM) 中で増殖させた。

10

【0341】

細胞培養アッセイ

各乳癌細胞株由来の細胞を96ウェルプレート (1ウェル当たり3000細胞) に播種した。内因性ステロイドを除去するためにデキストラン被覆炭で処理された5% (v/v) FBSでFBSを置き換えたこと以外は上記に報告の適切な培地中に、細胞を懸濁し、その培地にインスリン (50 ng/mL) を添加した。48時間枯渇させた後、細胞を、新たに交換された培地中の種々の濃度の17β-E2 (1)、17β-E2 (2)、18-epi-17β-E2 (3)、および18-epi-17β-E2 (4) の存在下、37℃で7日間インキュベートした。3種の異なる細胞株の増殖に対する薬物の効果を、20 µLの3-(4,5-ジメチルチアゾール-2-イル)-5-(3-カルボキシメトキシフェニル)-2-(4-スルホフェニル)-2H-テトラゾリウム (MTS) 試薬 (Owen試薬、Cell Titer 96 (登録商標), Aqueous One Solution, Promega USA) を使用することにより判定した。MTSを各ウェルに加え、4時間後に反応を停止した。試薬は、代謝的に活性な細胞中に存在するデヒドロゲナーゼ酵素により、水溶性の有色ホルマジンに変換される。細胞がMTSを切断する能力は、それらの細胞内のミトコンドリア/細胞呼吸の程度を表す。続いて、96ウェルプレートリーダー (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA) で490 nmの吸光度を記録した。培養期間の終了時の未処理細胞によるMTSの変換を100%とした。示す結果は、三つ組で行われた2つの別々の実験を代表するものである。

20

30

【0342】

エストロゲン受容体 (ER) 結合

ERの組織標本

体重200~300 gの雌性Sprague-Dawleyラットを、Charles-River (St. Constant, QC, Canada) から入手した。全身麻酔 (イソフルラン) 下で、ラットから生殖腺を摘出し、24時間後に頸椎脱臼により屠殺した。子宮を迅速に摘出し、付着する組織を切除して取り除き、ドライアイス上で凍結して、使用前は-80℃で保存した。ER調製に必要とされるその後の工程はすべて、-4℃で実施した。子宮は、10容量 (w/v) の緩衝液A (25 mM Tris-HCl、1.5 mM EDTAジナトリウム塩、10 mM β-モノチオグリセロール、10% グリセロール、および10 mM モリブデン酸ナトリウム、pH 7.4) 中で、Polytron PT-10 ホモジナイザー (Brinkman Instruments, Canada) を使用し、5の設定で、冷却のために10秒の間隔を置いて、10秒間を3回でホモジナイズした。次いで、ホモジネートを、Beckman L5-65 超遠心分離機 (Fullerton, USA) にて、105,000 × gで60分間にわたり遠心分離し

40

50

た。

【0343】

ER結合アッセイ

エストロゲン結合は、デキストラン被覆炭吸着手法を使用して測定した。エタノールに可溶化した放射性 $17\text{-E}2$ ($[^3\text{H}]-17\text{-E}2$) を緩衝液 A の中に希釈した。子宮のサイトゾル調製物のアリコート (0.1 mL) を、表示濃度の化合物 1 ~ 4 (0.1 mL、10% のエタノールを含有する緩衝液 A で調製した) の存在下または非存在下で、5 nM の $[^3\text{H}]-17\text{-E}2$ (約 200,000 cpm、0.1 mL) と、室温で 3 時間インキュベートした。次いで、結合していないステロイドを、緩衝液 B (1.5 mM EDTA ジナトリウム塩、10 mM - モノチオグリセロールおよび 10 mM T
 r i s - H C L、pH 7.4) 中の 0.5% の N o r i t - A および 0.005% の D e
 x t r a n T - 70 の 0.3 mL と室温で 15 分間インキュベートすることにより分離し、3000 × g で 15 分間遠心分離した。上清 (0.3 mL) のアリコートを放射能測定のために取り出した。10 mL の F o r m u l a - 989 シンチレーション液 (N e
 w E n g l a n d N u c l e a r - D u P o n t) を加えた後、B e c k m a n 計数器において 62% の計数効率で放射活性を測定した。試験化合物の相対的結合親和性 (R B
 A) を、 $IC_{50}([^3\text{H}]-17\text{-E}2) / IC_{50}(\text{試験化合物}) \times 100$ として算出した。

10

【0344】

in vivoにおけるエストロゲン様活性 (子宮向性アッセイ)

20

体重 18 g の雌性 B A L B / c マウス (42 ~ 53 日) を、C h a r l e s R i v e
 r (S t . C o n s t a n t , Q C , C a n a d a) から入手し、温度 (22 ± 3) および光 (12 時間 / 日、7 時 15 分に点灯) の制御環境下で、1 ケージ当たり 4 ~ 5 匹を収容した。マウスにげっ歯類用固形飼料および水道水を適宜与えた。イソフルラン麻酔下で両側腹切開により動物から卵巣を摘出し (O V X)、それらの動物を無作為に群に割り当てた (1 群当たり 5 匹の動物)。O V X 対照群のマウスには、7 日間の間、ビヒクル単独 (8% エタノール - 0.4% メチルセルロース) を投与した。試験化合物の可能なエストロゲン様活性を、8% エタノール - 0.4% メチルセルロース中の懸濁液として、O V
 X の雌性マウスに 7 日間、皮下 (s . c .) 注射 [1、10、および 100 $\mu\text{g} / \text{kg}$ 、s . c .、1 日 2 回 (B I D)] することによりそれらを投与した後に評価した。8 日目
 に、マウスを頸椎脱臼により屠殺した。子宮および膈を迅速に摘出し、脂肪および結合組織を取り除いて秤量した。結果は、1 群当たり 5 匹のマウスに対する平均 \pm S E M である。

30

【0345】

統計分析

データは平均 \pm S E M として表し、統計的有意性は D u n c a n - K r a m e r の多重範囲検定に従って判定した。0.05 未満の P 値を、統計的に有意であると見なした。

【0346】

細胞増殖アッセイ

40

ER⁺細胞株

4 種の異性化合物 1 ~ 4 の増殖活性を、ヒト乳癌 (ER⁺) 細胞株の M C F - 7 および T - 47D について評価した。これらの細胞株は、ER、主として ER を発現するので選択したものであり、エストロゲン様化合物の存在下で増殖する。したがって、これらは、ER に対する E2 核構造の改変の効果を評価するのに適した i n v i t r o モデルである。アッセイは、各化合物について、0.02 nM ~ 50 μM の範囲の濃度で実施し、結果を、細胞増殖のパーセントとして表現した (図 14A および 15A)。化合物がない場合の細胞増殖を 100% とした。4 種の E2 異性体は、いずれも ER に感受性である M C F - 7 および T - 47D 細胞の増殖を明らかに調節した。しかしながら、それらには、濃度範囲に応じて活性パターンに相違があり、エストロゲン様および細胞毒性の 2 種類の増殖効果がそれぞれ、低濃度および高濃度で観察された。低濃度 (0.01 - 5 μM) で

50

は、すべての試験化合物が、プラトー（約200%の細胞増殖）に達するまで、種々の程度に細胞増殖を誘導した。予想されるように、17 - E 2（1）は、MCF-7細胞において、4種のE 2異性体の中で最もエストロゲン性の高い化合物であった。17位にOHのある化合物2は、天然の17 - E 2（1）よりも45倍効力が低下していた。17 - E 2の13位に反転した18 - メチルがある化合物3は、17 - E 2（1）よりも1000倍エストロゲン性が低下していた。最後に、17 - OHおよび18 - メチル基の両方が反転した、17 - E 2核の構造に2つの変化がある化合物4は、驚くべきことに、17 - E 2（1）よりもエストロゲン性がわずかに111倍弱いだけであった。同じ傾向がT-47D細胞でも観察され、化合物2、3、および4はそれぞれ、化合物1よりも16、125、および55倍エストロゲン性が低下していた。要約すると、4種のE 2異性体は、1（17 - E 2）> 2（17 - E 2）> 4（18 - epi - 17 - E 2）> 3（18 - epi - 17 - E 2）の順序で、ER⁺細胞に細胞増殖を誘導した。高濃度（5 μM超）の化合物1～4をER⁺細胞に暴露した後では、細胞増殖阻害の観点から見た、重大な細胞毒性効果が両方の細胞株で観察された。こうして、MCF-7細胞では、化合物2および4が、1および3よりも細胞毒性が高いように見え（図14B）、一方T-47D細胞では、化合物4の細胞毒性が高い（図15B）。これらの細胞増殖実験から得られた結果により、天然の効力あるエストロゲンである17 - E 2（1）および17 - E 2（2）のエストロゲン様活性および細胞毒性に対する18 - メチル基の配向（または）の役割が評価された。

10

20

【0347】

ER⁻細胞株

BT-20細胞はエストロゲン受容体が陰性であるが（ER⁻）、エキソン5が欠失しているエストロゲン受容体のmRNAを発現する。ER⁺細胞株で観察された効果がエストロゲン受容体に対する作用によることを実証するために、この細胞株で化合物1～4を試験することを決定した。化合物1～4をBT-20（ER⁻）細胞で試験すると、すべての試験濃度で増殖効果は観察されなかった（図16）。高濃度（> 1 μM）では、BT-20細胞において細胞毒性効果が観察された。ER⁻細胞に対するこの効果は、ER⁺細胞株と同じ濃度範囲で観察された（図16）。本データにより、高濃度の細胞毒性活性はER非依存性機序により作用していることが実証される。

30

【0348】

ER結合親和性

4種のE 2異性体について*in vitro*エストロゲン様活性を評価したので、次にERに対する化合物1～4の親和性を評価した。生殖腺摘出ラットの子宮から得られたERを使用して、結合アッセイを実施した。成熟子宮中の主なアイソフォームが、MCF-7細胞におけるように、ERであるので、ERに対する親和性機能として結果を表した。非標識リガンドが[³H]-17 - E 2のERへの特異的結合を半分置換する濃度（IC₅₀）を、非線形回帰分析を使用してデータのコンピュータフィッティングにより決定した。用量応答曲線により示されるように、化合物1～4のER結合度は異なっていた（図17）。4種のE 2異性体の中でERに対して最も高いER結合親和性を有するので、天然17 - E 2（1）のERに対する相対的結合親和性（RBA）を100%と設定した。化合物2（17 - E 2）のRBAは3.6%であり、17 - OHの17 - OHへの反転がER親和性を28倍低下させることが示された。化合物3および4のRBAはそれぞれ、1.2%および1.6%であり、したがって、弱いER結合親和性が示された。これら2種の化合物は、天然エストロゲン17 - E 2（1）の構造の重要な改変である、13位の18 - メチルの反転を共有しており、この反転はERに対する結合親和性の81倍および66倍低下の大半に対する明らかな原因である。こうして、順序は、17 - E 2（1）> 17 - E 2（2）> 18 - epi - 17 - E 2（4）> 18 - epi - 17 - E 2（3）である（表5）。これらの結果は、ER⁺細胞を用いる*in vitro*増殖試験から得られた発見とよく一致している。

40

50

【0349】

【表 7】

表 5：化合物 1～4 の構造特性および ER に対する放射標識リガンドアッセイ

化合物	18-CH ₃ 配向	17-OH 配向	Δ (17-OHs) ^a (Å)	IC ₅₀ ^b (nM)	ER α -RBA ^c (%)
17 β -E2 (1)	β	β	0	19	100
17 α -E2 (2)	β	α	2.4	542	3.5
18-epi-17 β -E2 (3)	α	β	2.9	1534	1.2
18-epi-17 α -E2 (4)	α	α	1.2	1257	1.5

^a Δ (17-OH): 所与の化合物の 17-OH と 17 β -E2(1)の最適 OH 位置の間の距離。^b標識 17 β -E2 の結合を 50%阻害する試験化合物の濃度(IC₅₀)は用量応答曲線から得られた。^cRBA: 相対的結合親和性。

【0350】

子宮向性活性 (in vivo)

化合物 1～4 のエストロゲン様活性を評価する別の手法は、2つのエストロゲン感受性 (ER⁺) 組織である、子宮 (図 18A) および膣 (図 18B) の重量測定による、卵巢摘出 (OVX) マウスモデルの使用であった。17-E2 (1) を OVX マウスに皮下 (s.c.) 投与すると、子宮重量が、用量 (1、10、および 100 μ g/kg) に応じて、24 mg (対照) からそれぞれ 125、155、および 160 mg に増加することが観察された。17-E2 (2) および 18-epi-17-E2 (4) の場合は、子宮重量の増加は、100 μ g/kg 用量で対照群と有意差がある (P=0.01) (それぞれ 3.6 および 2.6 倍) だけであるが、その用量ではエストロゲン様作用が示唆された。これは、18-epi-17-E2 (3) の場合には同様ではなく、この高用量で弱くかつ有意でない子宮向性活性 (対照群に対して 1.5 倍) が示された。1 および 10 μ g/kg の用量でも同じ応答パターンが示される。膣重量の測定は子宮での観察と同じ傾向を示した。したがって、子宮の場合のように、膣におけるエストロゲン様効力の順序は、17-E2 (1) > 17-E2 (2) > 18-epi-17-E2 (4) であり、一方、18-epi-17-E2 (3) に関しては、有意な子宮向性活性は得られなかった。このような結果は ER 結合親和性データと一致している。

【0351】

構造分析

Chem3D ソフトウェアを使用して、化合物 1～4 の三次元構造の検討を行った (図 19)。4 種の E2 異性体のフェノール性 A 環の重ね合せにより、D 環の配向および形状の変動が受容体結合親和性およびある程度の活性と適合することが示唆される。実際、E2 核の微細な改変が細胞内の応答パターンを調節し得ることが知られている。データから、17-OH および 18-メチル基の配向を改変することにより生じるもののような、官能基および D 環コンフォメーションの変化が、化合物 1～4 の ER 結合親和性およびエストロゲン様活性の変動を説明することができるように見える。予想されるように、最良の ER 結合およびエストロゲン様効力をもたらす、ER の鍵となるアミノ酸との最適な相互作用が得られる 17-OH の理想的な位置は、ER の天然リガンド (17-E2: 化合物 1) のそれである。こうして、1 の 17-OH 配向を 17-OH 配向 (化合物 2) に変更することは、RBA およびエストロゲン性の両方を明らかに低下させた。同じ結果はまた、ベータ面 (天然の R 立体配置) からアルファ面 (非天然の S 立体配置) に 18-メチルの配向を反転させた化合物 3 および 4 の場合にも得られた。このような改変は、1

10

20

30

40

50

7 - E 2 および 17 - E 2 の核形状およびその結果としての 17 - OH の位置を大幅に変化させる。実際、17 - OH の最適な位置（化合物 1 のように）と 18 - epi - 17 - E 2 (3) および 18 - epi - 17 - E 2 (4) おける OH の位置との間の距離が生物活性と相関することが観察された。したがって、3 および 4 の 17 - OH が化合物 1 のその位置から移動しているほど（化合物 3 および 4 についてそれぞれ 2.9 および 1.2）、それらのエストロゲン性は低下し、ER への結合は弱くなる（表 5）。しかしながら、それらの 17 - OH と 1 の 17 - OH との間の距離がほぼ同じである（それぞれ 2.4 および 2.9）2 と 4 の間の差を説明するためには、さらなるパラメーター（すなわち、立体障害）を考慮する必要がある。C 18 エピマーの 3 および 4 の環 D は、1 および 2 の環 D よりも平面形状が少なく、ER への接近を制限する。換言すれば、ER と非天然の立体配置を有する化合物の環 D との間の接触障害は、鍵となるアミノ酸と 17 - OH との間の水素結合形成にとって有害である。要約すると、17 - OH 基の位置および 18 - epi - E 2 核の立体障害を使用して、エストロゲン様活性の大幅な低下を説明することができる。

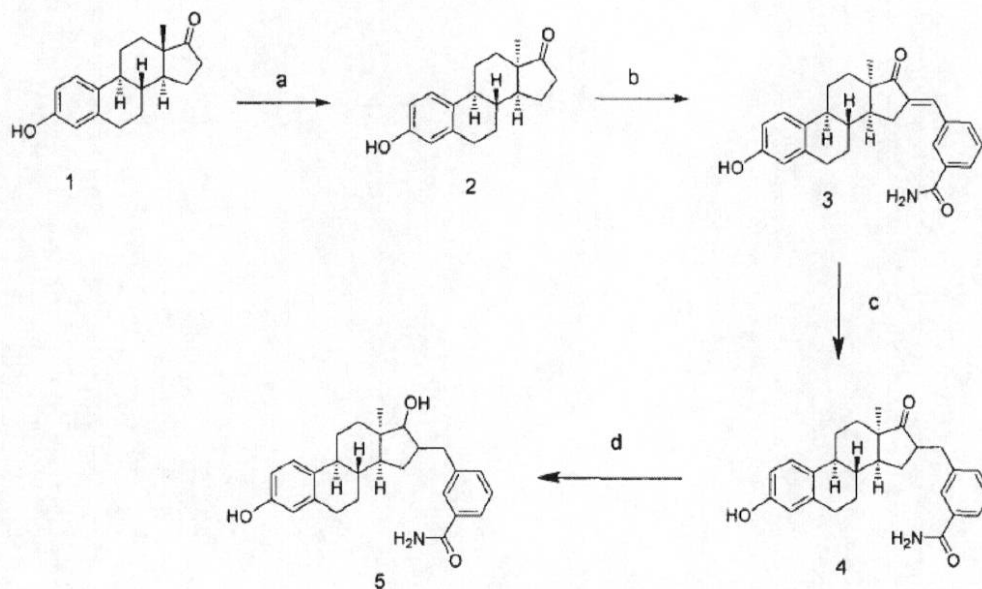
【0352】

E 2 のさらなる異性体

さらなる E 2 異性体の合成は、本明細書の以下のスキーム 22 B に図示する。

【0353】

【化 3 1】



スキーム 22 B

スキーム 22 B：試薬および条件：(a) 1, 2 - フェニレンジアミン、酢酸、還流、5 時間；(b) 3 - カルボキサミド - ベンズアルデヒド、KOH、EtOH、rt；(c) H₂、Pd/C (10%)、MeOH、rt；(d) NaBH₄、MeOH/DCM (5:2)、rt

【0354】

3 - {(E) - [(13, 16E) - 3 - ヒドロキシ - 17 - オキシエストラ - 1(10), 2, 4 - トリエン - 16 - イリデン] メチル} ベンズアミド (3)

化合物 2 (750 mg、2.8 mmol) の EtOH 溶液 (100 mL) に、3 - ホルミル - ベンズアミド (825 mg、5.5 mmol) および KOH 水溶液 (10%; 10 mL) を加えた。次いで、この溶液を 30 分間にわたり還流加熱した。次いで、得られた溶液を水 (500 mL) で希釈し、HCl 水溶液 (10%) で中和して、EtOAc (3 x 150 mL) で抽出した。合わせた有機層を食塩水で洗浄し、MgSO₄ で乾燥し濃縮

した。粗化合物を、溶出系としてEtOAc/ヘキサン(7:3)を使用してフラッシュクロマトグラフィーにより精製し、598mg(54%収率)の化合物3を得た。¹H NMR(CD₃OD): 1.15(s, 18-CH₃), 0.65-2.69(未帰属CHおよびCH₂), 2.98および3.29(m, 15-CH₂), 6.42(d, J = 2.4 Hz, 4-CH), 6.54(dd, J₂ = 2.6 Hz, J₁ = 8.5 Hz, 2-CH), 7.09(d, J = 8.6 Hz, 1-CH), 7.51(s, 1'-CH), 7.59(t, J = 7.8 Hz, 5"-CH), 7.82(d, J = 7.8 Hz, 6"-CH), 7.91(d, J = 7.8 Hz, 4"-CH), 8.14(s, 2"-CH)。

【0355】

3 - { [(13) - 3 - ヒドロキシ - 17 - オキシエストラ - 1(10), 2, 4 - トリエン - 16 - イル] メチル } ベンズアミド(4)

10

アルゴン雰囲気下の化合物3(100mg、0.25mmol)のMeOH溶液(10mL)に、木炭上のPd(10%)(20mg)を加えた。反応容器をH₂で3回フラッシュして、48時間にわたり攪拌し、次いで、セライト上で濾過し、減圧下で蒸発させて、100mgを得た(2つのジアステレオ異性体16 および16 - メチル - m - ベンズアミド - エストロンの混合物)。¹H NMR(DMSO-d₆): 0.79(s, 18-CH₃), 1.07(s, 18-CH₃), 0.60-3.16(未帰属CHおよびCH₂), 6.39(m, 1H), 6.48(m, 1H), 7.02(d, 1H), 7.34(m, 4H), 7.67(m, 2H), 7.91(s, 1H), 9.1(broad s, 1H, 3-OH)。

20

【0356】

3 - { [(13) - 3, 17 - ジヒドロキシエストラ - 1(10), 2, 4 - トリエン - 16 - イル] メチル } ベンズアミド(5)

化合物4(100mg、0.25mmol)のMeOH溶液(5mL)に、NaBH₄(50mg、1.31mmol)を加えた。この溶液を一晩攪拌した。得られた溶液を真空下濃縮してEtOAc(50mL)で希釈し、水(100mL)および食塩水で洗浄してMgSO₄で乾燥し、減圧下で蒸発させて、LCMS-prepにより分離されることになる、100mgの粗17 - アルコール(4種のジアステレオ異性体の混合物)を得た。

30

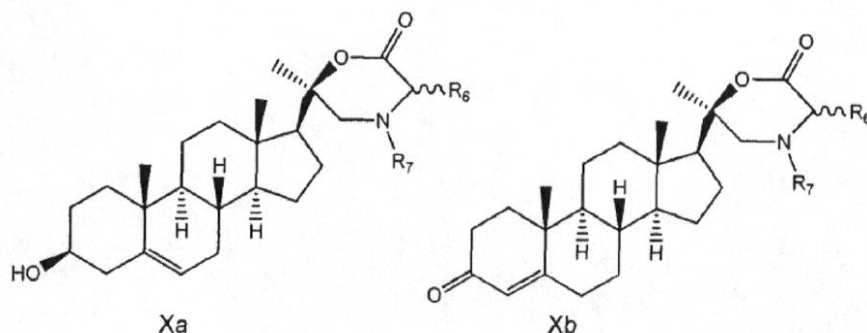
【0357】

17 - HSD1および17 - HSD3のアザラクトン阻害剤

本開示はまた、17 - HSD1および17 - HSD3の両方の阻害剤を含み、これらの阻害剤は、式XaまたはXb:

【0358】

【化32】



40

[式中、R⁶およびR⁷は、独立してまたは同時に、H、アルキル、シクロアルキル、アリール、アラールキル、またはヘテロシクリルである]を有するプレゲネロンのアザラクトン誘導体である。

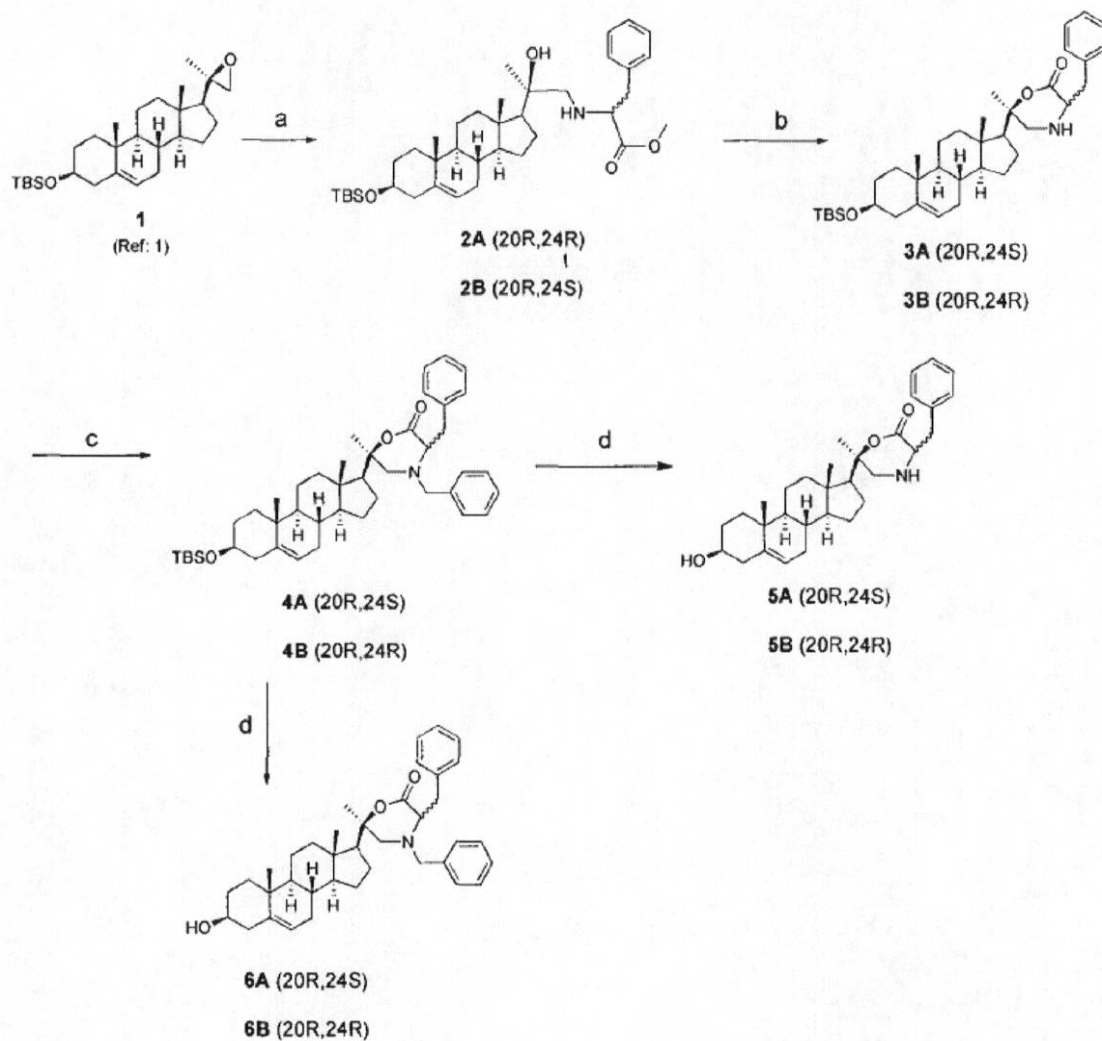
【0359】

式XaまたはXbのそのような化合物の合成を、スキーム23に示す:

50

【 0 3 6 0 】

【 化 3 3 】



スキーム 23

スキーム 23 : (a) フェニルアラニンメチルエステル (L または D) ; MeOH ; 90 ; (b) CH₃ONa ; THF ; rt ; (c) 臭化ベンジル ; DIPEA ; DCM ; 75 (シュレンクチューブ) ; (d) MeOH / HCl (95 / 5) ; THF ; rt

【 0 3 6 1 】

実験

一般事項 : プレグネノロンは、Steraloids (Wilton, NH) から購入した。最高純度の (L) - フェニルアラニンメチルエステル塩酸塩および化学試薬は、Sigma-Aldrich Canada Ltd. (Oakville, ON, Canada) から入手し、溶媒はFisher Scientific (Montreal, QC, Canada) から入手した。反応はオープン乾燥ガラス容器中にて、不活性 (アルゴン) 雰囲気下で行った。分析的薄層クロマトグラフィー (TLC) は、0.20 mm のシリカゲル 60 F254 プレート (Fisher Scientific) 上で実施し、モリブデン酸アンモニウム / 硫酸 / 水を (加熱と共に) 使用して化合物を視覚化した。フラッシュカラムクロマトグラフィーは、Silicycle R10030B 230 ~ 400 メッシュシリカゲル (Quebec, QC, Canada) で実施した。赤外スペクトル (IR) は、CH₂Cl₂ 中に通常可溶化し、NaCl ペレット上に沈着した化合物の薄膜から得られた。それらを Horizon MB 3000 ABB FTIR スペクトロメータ (ABB, Canada) で記録し、特性吸収帯のみを報告する。核

磁気共鳴 (NMR) スペクトルは、Bruker Avance 400 デジタルスペクトロメータ (Billerica, MA, USA) で記録し、ppm で報告した; CDCl₃ の ¹H および ¹³C の NMR 信号 (それぞれ、7.26 および 77.00 ppm) ならびにアセトン-d₆ の ¹H および ¹³C の NMR 信号 (それぞれ、2.05 および 28.94 ppm) を、内部基準として使用した。

【0362】

アミノアルコール 2 A および 2 B の合成のための基本手順

オキシラン⁵⁶ 1 (0.5 g、1.1 mmol) を乾燥 MeOH (13 ml) に溶解し、L-フェニルアラニンメチルエステル (2.0 g、11.2 mmol) をシュレンクチューブ中で加えた。この溶液を攪拌し、90 ° で 4 日間加熱した。次いで、反応混合物を DCM に溶解して濾過し、減圧下で蒸発させた。粗反応混合物を DCM に溶解し、シリカゲル上に予め吸着させて、溶出液としてヘキサン/EtOAc (85:15、1:1 に) を使用してフラッシュカラムクロマトグラフィーにより精製し、主要生成物として化合物 2 B (330 mg; 47%) およびマイナー生成物として化合物 2 A (130 mg; 19%) を得た。出発のエポキシド 1 (40 mg) も回収した。

10

【0363】

メチル (2R) - 2 - ({ (2R) - 2 - [(3S, 8S, 9S, 10R, 13S, 14S) - 3 - { [tert-ブチル (ジメチル) シリル] オキシ } - 10, 13 - ジメチル - 2, 3, 4, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - テトラデカヒドロ - 1H - シクロペンタ [] フェナントレン - 17 - イル] - 2 - ヒドロキシプロピル } アミノ) - 3 - フェニルプロパノアート (2 A)

20

Rf = 0.4 (ヘキサン/EtOAc、7:3); IR (フィルム): 3560 および 3333 (OH および NH), 1732 (エステルの C=O)。¹H NMR (CDCl₃): 0.06 (s, 6H, (CH₃)₂Si), 0.81 (s, 3H, CH₃ - 18), 0.89 (s, 9H, (CH₃)₃CSi), 0.99 (s, 3H, CH₃ - 19), 1.15 (s, 3H, CH₃ - 21), 1.25 - 2.16 (未帰属 CH および CH₂), 2.23 および 2.57 (AB 系の 2d, J = 11.8 Hz, 2H, CH₂N), 2.95 (m, 2H, CH₂ - Ph), 3.44 - 3.46 (t_{app}, J = 6.0 Hz, 1H, CHC=O), 3.47, (m, 1H, CH - 3), 3.68 (s, 3H, OCH₃), 5.31 (d, J = 5.7 Hz, 1H, CH - 6), 7.23 (m, 5H, Ph)。¹³C NMR (CDCl₃): -4.59 (Si (CH₃)₂), 13.42, 18.26 (SiC (CH₃)₃), 19.41, 20.92, 22.31, 23.84, 24.98, 25.93, 31.37, 31.79, 32.07, 36.56, 37.36, 39.96, 42.59, 42.79, 50.09, 51.75, 56.95, 57.22, 57.84, 63.84, 72.61, 72.98, 121.06, 126.79, 128.46, 129.12, 137.18, 141.55, 175.03。

30

【0364】

メチル (2S) - 2 - ({ (2R) - 2 - [(3S, 8S, 9S, 10R, 13S, 14S) - 3 - { [tert-ブチル (ジメチル) シリル] オキシ } - 10, 13 - ジメチル - 2, 3, 4, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - テトラデカヒドロ - 1H - シクロペンタ [] フェナントレン - 17 - イル] - 2 - ヒドロキシプロピル } アミノ) - 3 - フェニルプロパノアート (2 B)

40

Rf = 0.3 (ヘキサン/EtOAc、7:3); IR (フィルム): 3607 および 3313 (OH および NH), 1736 (エステルの C=O)。¹H NMR (CDCl₃): 0.06 (s, 6H, (CH₃)₂Si), 0.78 (s, 3H, CH₃ - 18), 0.89 (s, 9H, (CH₃)₃CSi), 0.99 (s, 3H, CH₃ - 19), 1.13 (s, 3H, CH₃ - 21), 1.14 - 2.15 (未帰属 CH および CH₂), 2.18 および 2.67 (AB 系の 2d, J = 12.3 Hz, 2H, CH₂N), 2.94 (m, 2H, CH₂ - Ph), 3.44 - 3.46 (t_{app}, J = 6.1 Hz, 1H, CHC=O), 3.47, (m, 1H, CH - 3), 3.68 (s, 3H, OCH₃)

50

), 5.32 (d, J = 5.1 Hz, 1H, CH - 6), 7.23 (m, 5H, Ph)。
¹³C NMR (CDCl₃): -4.59 (Si(CH₃)₂), 13.46, 18.25 (SiC(CH₃)₃), 19.41, 20.92, 22.52, 23.86, 24.83, 25.93, 31.38, 31.81, 32.06, 36.57, 37.37, 39.76, 39.83, 42.45, 42.79, 50.13, 51.75, 56.82, 57.27, 58.08, 64.12, 72.60, 73.23, 121.05, 126.76, 128.44, 129.15, 137.33, 141.57, 174.97。

【0365】

アザラクトン 3 A および 3 B の合成のための基本手順

10

ナトリウムメトキシド (969 mg、19 mmol) の無水 THF 溶液 (100 mL) に、アミノアルコール 2 A (590 mg、0.95 mmol) の乾燥 THF 溶液 (30 mL) をアルゴン雰囲気下に加えた。この溶液を室温で 1.5 時間攪拌し、反応混合物を水でクエンチし、130 mL の酢酸エチルで 4 回抽出した。有機層を無水 Na₂SO₄ で乾燥して濾過し、減圧下で乾燥した。残査をシリカゲル上に吸着させ、溶出液としてヘキサン/酢酸エチル (85:15) を使用してフラッシュクロマトグラフィーにより精製し、主要生成物として化合物 3 B (350 mg、63%) およびマイナー生成物として 3 A (157 mg、28%) 得た。

【0366】

(3S, 6R) - 3 - ベンジル - 6 - [(3) - 3 - {[tert - ブチル (ジメチル) シリル] オキシ} アンドロスト - 5 - エン - 17 - イル] - 6 - メチルモルホリン - 2 - オン (3 A)

20

Rf = 0.6 (ヘキサン/EtOAc、3:1); IR (フィルム): 3441 - 3340 (NH), 1728 (エステル C=O)。¹H NMR (CDCl₃): 0.05 (s, 6H, (CH₃)₂Si), 0.86 (s, 3H, CH₃ - 18), 0.89 (s, 9H, (CH₃)₃CSi), 1.00 (s, 3H, CH₃ - 19), 1.31 (s, 3H, CH₃ - 21), 1.36 - 2.50 (未帰属 CH および CH₂), 2.65 および 2.96 (AB 系の 2d, J = 13.2 Hz, 2H, CH₂N), 3.19 (m, 2H, CH₂ - Ph), 3.46 (m, 1H, CH - 3), 3.62 (m, 1H, CHC=O), 5.31 (d, J = 4.8 Hz, 1H, CH - 6), 7.30 (m, 5H, Ph)。
¹³C NMR (CDCl₃): -4.60 (Si(CH₃)₂), 13.62, 18.25 (SiC(CH₃)₃), 19.42, 20.83, 22.83, 23.70, 23.81, 25.92, 31.28, 31.70, 32.03, 36.54, 37.35, 38.06, 39.90, 42.76, 42.82, 50.07, 51.44, 56.82, 57.67, 58.93, 72.56, 86.90, 120.88, 126.98, 128.75, 129.49, 137.36, 141.58, 170.72。

30

【0367】

(3R, 6R) - 3 - ベンジル - 6 - [(3) - 3 - {[tert - ブチル (ジメチル) シリル] オキシ} アンドロスト - 5 - エン - 17 - イル] - 6 - メチルモルホリン - 2 - オン (3 B)

40

Rf = 0.4 (ヘキサン/EtOAc、3:1); IR (フィルム): 3367 - 3028 (NH), 1713 (エステル C=O)。¹H NMR (CDCl₃): 0.07 (s, 6H, (CH₃)₂Si), 0.7 (s, 3H, CH₃ - 18), 0.90 (s, 9H, (CH₃)₃CSi), 0.98 (s, 3H, CH₃ - 19), 1.35 (s, 3H, CH₃ - 21), 1.36 - 2.50 (未帰属 CH および CH₂), 2.72 および 3.07 (AB 系の 2d, J = 14.0 Hz, 2H, CH₂N), 3.20 (m, 2H, CH₂ - Ph), 3.50 (m, 1H, CH - 3), 3.80 (m, 1H, CHC=O), 5.32 (d, J = 5.1 Hz, 1H, CH - 6), 7.30 (m, 5H, Ph)。
¹³C NMR (CDCl₃): -4.58 (Si(CH₃)₂), 13.66, 18.25 (SiC(CH₃)₃), 19.37, 20.75, 22.62, 23.25, 23.

50

36, 25.92, 31.31, 31.70, 32.02, 36.54, 37.30, 37.38, 39.21, 42.07, 42.74, 49.82, 50.03, 55.97, 56.04, 57.48, 72.51, 87.16, 120.90, 127.25, 128.80, 129.83, 137.27, 141.55, 171.11。

【0368】

N - ベンジル化アザラクトン 4 A および 4 B の合成

アザラクトン 3 A (60 mg、0.1 mmol) または 3 B (150 mg、0.25 mmol) の乾燥 DCM 溶液 (3 A : 5 mL ; 3 B : 13 mL) に、ジイソプロピルエチルアミン (1.7 eq) をシュレンクチューブ中で滴下して加えた。この溶液を攪拌して 75 で 10 分間加熱した後、室温に戻した。次いで、臭化ベンジル (1.7 eq) を溶液に加え、反応混合物を攪拌して 75 で 48 時間加熱した。シュレンクチューブを冷却した後、シリカゲルを粗混合物に加え、減圧下で溶媒を蒸発させた。粗化合物を、溶出液としてヘキサン / 酢酸エチル (98 : 2) を使用してフラッシュクロマトグラフィーにより精製し、対応する化合物 4 A (48 mg、70 %) または 4 B (134 mg、79 %) を得た。

【0369】

(3 S , 6 R) - 3 , 4 - ジベンジル - 6 - [(3) - 3 - { [t e r t - ブチル (ジメチル) シリル] オキシ } アンドロスト - 5 - エン - 17 - イル] - 6 - メチルモルホリン - 2 - オン (4 A)

収率 : 70 % ; R f = 0.80 (ヘキサン / 酢酸エチル 3 : 1) ; I R (フィルム) : 1728 (エステルの C = O) . ¹ H NMR (C D C l ₃) : 0.04 (s , 6 H , (C H ₃) ₂ S i) , 0.77 (s , 3 H , C H ₃ - 18) , 0.88 (s , 9 H , (C H ₃) ₃ C S i) , 0.96 (s , 3 H , C H ₃ - 19) , 0.98 - 1.53 (未帰属 C H および C H ₂) , 1.55 (s , 3 H , C H ₃ - 21) , 1.56 - 2.16 (未帰属 C H および C H ₂) , 2.24 および 2.40 (A B 系の 2 d , J = 12.34 H z , 2 H , C H ₂ N) , 3.11 および 4.35 (A B 系の 2 d , J = 13.56 H z , 2 H , P h C H ₂ N) , 3.27 および 3.56 (m , 2 H , C H ₂ P h) , 3.41 (m , 1 H , C H C = O) , 3.42 (m , 1 H , C H - 3) , 5.30 (m , 1 H , C H - 6) , 7.27 (m , 10 H , P h) . ¹³ C NMR (C D C l ₃) : -4.60 (S i (C H ₃) ₂) , 13.42 , 18.24 (S i C (C H ₃) ₃) , 19.40 , 20.78 , 22.76 , 23.51 , 23.66 , 25.91 , 29.69 , 31.20 , 31.66 , 32.01 , 35.69 , 36.49 , 37.31 , 39.79 , 42.74 , 42.79 , 50.02 , 56.40 , 56.76 , 57.50 , 58.23 , 66.15 , 72.57 , 84.96 , 120.87 , 126.62 , 127.35 , 127.96 , 128.08 , 128.47 , 128.51 , 130.36 , 137.40 , 137.51 , 141.55 , 170.94 。

【0370】

(3 R , 6 R) - 3 , 4 - ジベンジル - 6 - [(3) - 3 - { [t e r t - ブチル (ジメチル) シリル] オキシ } アンドロスト - 5 - エン - 17 - イル] - 6 - メチルモルホリン - 2 - オン (4 B)

収率 : 79 % ; R f = 0.78 (ヘキサン / 酢酸エチル 3 : 1) ; I R (フィルム) : 1720 (エステルの C = O) . ¹ H NMR (C D C l ₃) : 0.08 (s , 6 H , (C H ₃) ₂ S i) , 0.77 (s , 3 H , C H ₃ - 18) , 0.89 (s , 9 H , (C H ₃) ₃ C S i) , 0.90 (s , 3 H , C H ₃ - 19) , 0.91 - 1.50 (未帰属 C H および C H ₂) , 1.54 (s , 3 H , C H ₃ - 21) , 1.56 - 2.16 (未帰属 C H および C H ₂) , 2.23 および 2.90 (A B 系の 2 d , J = 12.68 H z , 2 H , C H ₂ N) , 3.23 および 3.46 (m , 2 H , C H ₂ P h) , 3.59 および 3.98 (A B 系の 2 d , J = 13.12 H z , 2 H , P h C H ₂ N) , 3.58 (m , 1 H , C H C = O) , 3.52 (m , 1 H , C H - 3) , 5.32 (d , J = 5.0 H z , 1 H , C H - 6) , 7.29 (m , 10 H , P h) . ¹³ C NMR (C D C l ₃) :

- 4.54 (Si(CH₃)₂), 13.91, 18.28 (SiC(CH₃)₃), 19.37, 20.55, 22.51, 23.03, 23.35, 25.97, 31.26, 31.66, 32.07, 34.50, 36.50, 37.37, 38.52, 41.69, 42.79, 50.09, 54.76, 55.32, 55.40, 58.38, 63.83, 72.56, 85.71, 121.03, 126.75, 127.77, 128.26, 128.29, 130.15, 130.48, 135.47, 137.96, 141.52, 170.52。

【0371】

アザラクトン5A、5B、6A、および6Bの合成：TBS脱保護のための基本手順

化合物3A、3B、4A、または4BのTHF溶液(4mL)に、塩酸メタノール溶液(5%)(3mL)を加えた。この混合物を室温で90分間攪拌した。炭酸水素ナトリウムの飽和水溶液を加え、水相を酢酸エチルで4回抽出した。有機相を無水Na₂SO₄で乾燥し、減圧下で蒸発させた。化合物5A、5Bの場合は、溶出液としてヘキサン/酢酸エチル/トリエチルアミン(79:20:1)を、化合物6Aおよび6Bの場合は、ヘキサン/酢酸エチル(3:1)をそれぞれ使用して、粗化合物をフラッシュクロマトグラフィーにより精製した。

【0372】

(3S, 6R) - 3 - ベンジル - 6 - [(3) - 3 - ヒドロキシアンドロスト - 5 - エン - 17 - イル] - 6 - メチルモルホリン - 2 - オン(5A)

収率: 15 mg、98%; R_f = 0.2 (ヘキサン/EtOAc、1:1); IR (フィルム): 3086 - 3600 (OHおよびNH), 1720 (エステルのC=O)。¹H NMR (CDCl₃): 0.87 (s, 3H, CH₃ - 18), 1.00 (s, 3H, CH₃ - 19), 1.31 (s, 3H, CH₃ - 21), 1.34 - 2.60 (未帰属CHおよびCH₂), 2.65および2.96 (AB系の2d, J = 13.2 Hz, 2H, CH₂N), 3.19 (m, 2H, CH₂ - Ph), 3.51 (m, 1H, CH - 3), 3.62 (m, 1H, CHC=O), 5.34 (d, J = 5.0 Hz, 1H, CH - 6), 7.26 (m, 5H, Ph)。¹³C NMR (CDCl₃): 13.62, 19.38, 20.84, 22.83, 23.69, 23.82, 29.69, 31.26, 31.60, 31.66, 36.45, 37.20, 38.04, 39.87, 42.24, 42.82, 49.97, 51.41, 56.77, 57.65, 58.92, 71.73, 86.88, 121.42, 126.99, 128.75, 129.50, 137.34, 140.77, 170.72。

【0373】

(3R, 6R) - 3 - ベンジル - 6 - [(3) - 3 - ヒドロキシアンドロスト - 5 - エン - 17 - イル] - 6 - メチルモルホリン - 2 - オン(5B)

収率: 79 mg、65%; R_f = 0.15 (ヘキサン/EtOAc、1:1); IR (フィルム): 3086 - 3600 (OHおよびNH), 1713 (エステルのC=O)。¹H NMR (CDCl₃): 0.71 (s, 3H, CH₃ - 18), 0.99 (s, 3H, CH₃ - 19), 1.36 (s, 3H, CH₃ - 21), 1.39 - 2.33 (未帰属CHおよびCH₂), 2.72および3.06 (AB系の2d, J = 13.8 Hz, 2H, CH₂N), 3.20 (m, 2H, CH₂ - Ph), 3.55 (m, 1H, CH - 3), 3.79および3.80 (AB系の2d, J = 4.4 Hz, 1H, CHC=O), 5.36 (d, J = 5.1 Hz, 1H, CH - 6), 7.30 (m, 5H, Ph)。¹³C NMR (CDCl₃): 13.65, 19.34, 20.76, 22.61, 23.27, 23.35, 31.28, 31.56, 31.67, 36.45, 37.26, 37.29, 39.18, 42.06, 42.22, 49.75, 49.95, 55.94, 56.05, 57.42, 71.60, 87.14, 121.39, 127.24, 128.80, 129.82, 137.22, 140.80, 171.13。

【0374】

(3S, 6R) - 3, 4 - ジベンジル - 6 - [(3) - 3 - ヒドロキシアンドロスト -

5 - エン - 17 - イル] - 6 - メチルモルホリン - 2 - オン (6A)

収率: 22 mg、53%; Rf = 0.2 (ヘキサン/酢酸エチル 3:1); IR (フィルム): 3398 (OH), 1720 (C=O), 1454 (C-O). ¹H NMR (CDCl₃): 0.78 (s, 3H, CH₃-18), 0.96 (s, 3H, CH₃-19), 0.97 (s, 3H, CH₃-21), 0.99-2.17 (未帰属CHおよびCH₂), 2.24および2.40 (AB系の2d, J = 12.3 Hz, 2H, CH₂N), 3.10および4.35 (AB系の2d, J = 13.6 Hz, 2H, PhCH₂N), 3.28および3.56 (m, 2H, CH₂Ph), 3.41 (m, J = 3.0 Hz, 1H, CHC=O), 3.49 (m, 1H, CH-3), 5.31 (m, 1H, HC-6), 7.36 (m, 10H, Ph). ¹³C NMR (CDCl₃): 13.43, 19.35, 20.79, 22.77, 23.53, 23.66, 31.18, 31.59, 31.62, 35.69, 36.41, 37.18, 39.76, 42.23, 42.79, 49.92, 56.39, 56.72, 57.48, 58.22, 66.14, 71.69, 71.72, 84.95, 121.41, 126.62, 127.35, 127.95, 128.08, 128.22, 128.46, 128.51, 130.36, 137.40, 137.51, 140.74, 170.95.

10

【0375】

(3R, 6R) - 3, 4 - ジベンジル - 6 - [(3) - 3 - ヒドロキシアンドロスト - 5 - エン - 17 - イル] - 6 - メチルモルホリン - 2 - オン (6B)

収率: 90 mg、83%; Rf = 0.15 (ヘキサン/酢酸エチル 3:1); IR (フィルム): 3402 (OH), 1720 (C=O), 1454 (C-O). ¹H NMR (CDCl₃): 0.57 (s, 3H, CH₃-18), 0.95 (s, 3H, CH₃-19), 1.24 (s, 3H, CH₃-21), 1.26-2.19 (未帰属CHおよびCH₂), 2.24および2.91 (AB系の2d, J = 12.7 Hz, 2H, CH₂N), 3.58および3.97 (AB系の2d, J = 13.2 Hz, 2H, PhCH₂N), 3.23および3.46 (m, 2H, CH₂Ph), 3.55 (m, 1H, CHC=O), 3.59 (m, 1H, CH-3), 5.36 (d, J = 5.1 Hz, 1H, CH-6), 7.29 (m, 10H, Ph). ¹³C NMR (CDCl₃): 13.89, 19.32, 20.56, 22.51, 23.03, 23.38, 31.24, 31.59, 31.62, 34.46, 36.42, 37.23, 38.53, 41.71, 42.26, 50.01, 54.81, 55.23, 55.39, 58.35, 63.80, 71.69, 85.74, 121.53, 126.74, 127.75, 128.26, 128.29, 130.11, 130.45, 135.49, 137.97, 140.78, 170.58.

20

30

【0376】

17 - HSD10

17 - ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ10型 (17 - HSD10) は、エストロゲン不活性化、アンドロゲン活性化、脂肪酸の - 酸化、および胆汁酸の異性化に関与するミトコンドリア酵素である。この酵素は基質としてエストラジオール (E2) を使用するので、この酵素が神経保護のエストロゲンレベルを低下させることによりアルツハイマー病の病変形成に寄与する証拠がある。さらに、この酵素は非古典的アンドロゲン合成経路に重要な役割を果たしており、その発現は特定の前立腺癌細胞ではアップレギュレートされているため、これらの細胞にはアンドロゲン除去療法から残存するための有利性が付与されている。その結果、17 - HSD10の阻害は、これらの疾患の治療に新しい手法を提供することができる。我々の研究室で入手可能な分子についてのスクリーニング研究から、無傷細胞において1 μMで試験したとき、エストラジオール (E2) (1 μM) のエストロン (E1) への変換に対して50%超の阻害を示す一連のステロイド誘導体を同定した。0.55 μMのIC₅₀値が、最良の酵素阻害を示す3 - アンドロステロンステロイド核のRM - 532 - 46について得られた。この阻害活性は、基質としてのE2に対する酵素のKmが43 μMであることを考慮すると好適な出発点である。1

40

50

7 - HSD10 阻害剤を得ると、正常な細胞機能における、またステロイドホルモンレベルの調整における 17 - HSD10 の役割をさらに解明するための有用なツールになり得るであろう。

【0377】

ヒト 17 - ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ 10 型 (17 - HSD10) は、その多機能性が知られている。17 - HSD10 は、ホモ四量体のミトコンドリアタンパク質であり、肝臓ならびに脳および生殖腺を含む他のいくつかの組織で基本的に発現する^{6, 35, 36}。17 - HSD10 は、その 17 - HSD および 3 - HSD 活性によって、性ステロイドホルモンの代謝に重要な役割を果たす (図 19)³⁷。この酵素は、女性におけるエストロゲン様活性の原因である、最も効力のある性ステロイドである E2 を不活化することができる。アルツハイマー病 (AD) の発症と脳におけるアミロイド - ペプチド (A β) の蓄積との間の強い関係が確立されている^{57, 58}。17 - HSD10 が基質として E2 を使用するという発見に基づいて、この酵素が、脳における神経保護的 E2 レベルを低下させることにより、AD の病変形成に寄与し得ることが示唆されている。⁶ AD 脳におけるエストロゲン欠乏状態は、ニューロンおよびシナプスの喪失を促進し、海馬依存性の学習および記憶を損なう可能性がある。Heら⁵⁹は、AD に罹りやすい海馬、視床下部、および杏仁核などの脳領域に、高レベルの 17 - HSD10 を観察している。さらに、E2 は、 α -アミロイドタンパク質前駆体の輸送および代謝を調節することによって神経保護効果を及ぼす。E2 処置が *in vivo* および *in vitro* の実験で A β の形成を低下させることが報告された。⁶⁰ さらに、この酵素は、星状細胞において、GABA_A 受容体の正のアロステリック調節因子であるアロプレグナノロンの 5 - ジヒドロプロゲステロン (5 - DHP) への細胞内酸化を触媒することができる。アロプレグナノロンはニューロンの興奮性を迅速に調節し、人において顕著な不安緩解および抗痙攣性効果を有する⁶¹。Heら⁶²は、17 - HSD10 の発現が、AD 患者の活性化された星状細胞において、大幅にアップレギュレートされていると報告した。まとめると、これらの観察は、17 - HSD10 が AD の進行を激化させ得るという証拠を提供する。

【0378】

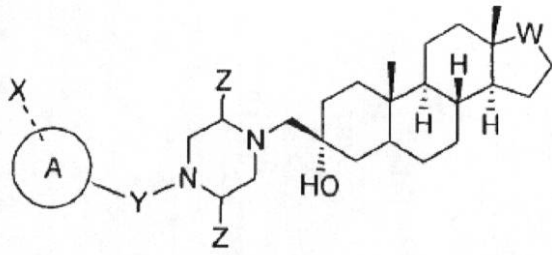
17 - HSD10 はまた、テストステロンがない状態で、前立腺癌細胞がジヒドロテストステロン (DHT) を生成することを可能にするので、非古典的アンドロゲン合成経路において重要な役割を果たす⁶³。実際、このミトコンドリア酵素は、17 - ヒドロキシル基ではなく 3 - ヒドロキシル基の位置選択的な酸化により、ほぼ不活性なアンドロゲンである 5 - アンドロスタン - 3 β , 17 β - ジオール (3 - ジオール) を効力のあるアンドロゲンである DHT に変換することを触媒する (図 19)。DHT は前立腺増殖を刺激し、脱毛症、座瘡、および男性型多毛症に関係する。このデヒドロゲナーゼの高い発現が、特定の前立腺癌細胞で実証されており、これらの高レベルの 17 - HSD10 が、アンドロゲン除去療法から残存するための有利性をこれらの細胞に付与し得るという証拠がある³⁷。したがって、17 - HSD10 酵素活性の阻害は、5 - レダクターゼの既知阻害剤と組み合わせて AD および前立腺癌の治療への新しい手法を提供する。有望な治療用途に加えて、17 - HSD10 阻害剤により、正常細胞機能における、また疾患病変形成における、このステロイド産生酵素の役割も描写される。

【0379】

本開示の一実施形態では、下記の構造

【0380】

【化 3 4】



[式中、

10

A は、アリールまたはヘテロアリールであり；

W は、 $-C(=O)-$ 、 $-CH(OH)-$ 、または $-CH(COCH_3)-$ であり；

X は、H、アルキル、チオアルキル、ハロ、またはアルコキシであり；

Y は、 $-CH_2-$ 、 $-C(O)-$ 、または $S(O)_2$ であり；

Z は、H またはアルキルである]

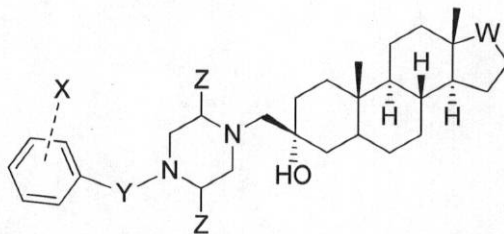
を有する 17 - HSD 10 の阻害剤が含まれる。

【 0 3 8 1】

本開示の 17 - HSD 10 阻害剤は、表 6 に示されるもの等の化合物を含む。

【 0 3 8 2】

【表 8】

表 6 : 17β-HSD10([¹⁴C]-E2 から [¹⁴C]-E1)の阻害

エントリー	化合物	X	Y	Z	W	1 μMでの阻害(%)
1	15a	2-CF ₃	SO ₂	CH ₃	C=O	42
2	--	2-CF ₃	SO ₂	CH ₃	β-OH	16
3	15b	3-CF ₃	SO ₂	CH ₃	C=O	30
4	15c	4-CF ₃	SO ₂	CH ₃	C=O	18
5	14b	2-CF ₃	SO ₂	H	C=O	32
6	14a	3-CF ₃	SO ₂	H	C=O	3
7	14c	4-CF ₃	SO ₂	H	C=O	14
8	13d	4-CF ₃	C=O	CH ₃	C=O	22
9	12c	2-CF ₃	C=O	H	C=O	47
10	11b	2-CF ₃	CH ₂	CH ₃	C=O	25
11	11a	3-CF ₃	CH ₂	CH ₃	C=O	26
12	11c	4-CF ₃	CH ₂	CH ₃	C=O	24
13	11d	3-CF ₃ S	CH ₂	CH ₃	C=O	27
14	11e	3-Cl	CH ₂	CH ₃	C=O	25
15	11f	3-CH ₃ O	CH ₂	CH ₃	C=O	21
16	11g	H (3-Pyr)*	CH ₂	CH ₃	C=O	21
17	10b	2-CF ₃	CH ₂	H	C=O	50
18	10a	3-CF ₃	CH ₂	H	C=O	34
19	10d	3-CF ₃ S	CH ₂	H	C=O	29
20	10e	3-Cl	CH ₂	H	C=O	21
21	10f	3-CH ₃ O	CH ₂	H	C=O	59
22	10g	H (3-Pyr)*	CH ₂	H	C=O	37
23	--	H	CH ₂	H	C=O	53
24	7j	H	CH ₂	H	C=O	57
25	--	H	CH ₂	H	β-COCH ₃	11
26	--	-	-	-	-	6
27	--	-	-	-	-	5

* フェニル誘導体の代わりに 3-ピリジン基。

** 5α-アンドロスタン核の代わりに 4-アンドロステン。

【0383】

さらに、化合物 21 に対する IC₅₀ を決定し（酵素活性の 50 % を阻害する濃度）、また酵素 E2 の天然基質に対しても決定した。図 20 に示すように、化合物 21 については、0.55 μM の IC₅₀ 値が得られ、E2 については、使用した濃度範囲（0.1 ~ 10 μM）で IC₅₀ を決定することができず、IC₅₀ > 10 μM であることが示唆さ

れた。

【0384】

図21では、無傷HEK-293細胞における、化合物21およびE2による、トランスフェクトされた17-HSD10の阻害を示す。IC₅₀値を決定するために、種々の濃度で化合物を試験した。エラーバーが示されない場合は、エラーバーが記号よりも小さいためである。

【0385】

17-HSD10の阻害剤として試験した、表6に示す化合物の化学合成は、17-HSD3の阻害剤を報告する前のセクションで報告した。各試験化合物に対応するセクションを表6に報告した。

10

【0386】

酵素アッセイ(17-HSD10の阻害)

17-ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ10型を発現する、安定にトランスフェクトされたヒト胎生腎(HEK)-293細胞の生成

細胞は、10%(容量/容量)のウシ胎児血清(FBS)(HyClone Laboratories, Inc., Logan, UT, USA)を添加したDubelecco's Modified Eagle's Medium(DMEM)(Life Technologies, Burlington, ON, Canada)中で、約 3×10^5 細胞/ウェルになるまで、95%空気-5%CO₂、加湿雰囲気下で、37℃にて6ウェルファルコンフラスコで培養した。5μgのpCMVneo-h17bHSD10プラスミドを、リポフェクチュートランスフェクションキット(Life Technologies, Burlington, ON, Canada)を使用してトランスフェクトした。37℃での6時間インキュベーション後、トランスフェクション培地を除去し、2mLのDMEMを加えた。細胞をさらに48時間培養した後、10cmのペトリ皿に移し、トランスフェクトされていない細胞の増殖を阻害するために、700μg/mLのジェネテシン(G418; Wisent, Montreal, QC, Canada)を含有するDMEM中で培養した。抵抗性コロニーが観察されるまで、G418を含有する培地を2日ごとに交換した。

20

【0387】

細胞培養

安定にトランスフェクトされたHEK-293細胞は、非必須アミノ酸(0.1nM)、グルタミン(2mM)、ピルビン酸ナトリウム(1mM)、10%FBS、ペニシリン(100IU/mL)、ストレプトマイシン(100μg/mL)、およびG418(0.7mg/mL)を含有する最小必須培地(MEM)中で培養した。

30

【0388】

17-HSD10の阻害:全細胞を使用するin vitro活性

17-HSD10を安定にトランスフェクトされたHEK-293細胞を、990μLの培地中、95%空気-5%CO₂、加湿雰囲気下で、37℃にて、24ウェルプレートに250,000細胞/ウェルで播種した。阻害剤の原液をエタノールで調製し、培地で希釈した。24時間後、阻害剤の最終濃度が1μMになるように、これらの溶液を5μL細胞に加えた。最も活性な阻害剤については、0.01μM~5μMの濃度で試験して、それらのIC₅₀値を決定した。各ウェル中のエタノールの最終濃度を0.5%に調整した。さらに、[¹⁴C]-17-エストラジオール(American Radio Labeled Chemicals, Inc., St. Louis, MO, USA)および17-エストラジオール(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)(1:9)を含有する溶液5μLを、最終濃度が1μMになるように加え、細胞を24時間インキュベートした。阻害剤はそれぞれ三つ組で評価した。インキュベーション後、培地を取り出し、標識ステロイド(E1およびE2)を、1mLのジエチルエーテルで抽出した。有機相を分離し、窒素で蒸発乾固した。残渣をジクロロメタンに溶解し、シリカゲル薄層クロマトグラフィープレート(EMD Chemicals Inc.,

40

50

、Gibbstown, NJ, USA)上に滴下し、トルエン/アセトン(4:1)溶媒系で溶出した。基質[^{14}C]-E2および代謝産物[^{14}C]-E1を、基準ステロイド(E2およびE1)との比較により同定し、Storm 860システム(Molecular Dynamics, Sunnyvale, CA, USA)を使用して定量した。変換および阻害のパーセントを以下のように算出した： $\% \text{変換} = 100 \times [\text{E1}] / ([\text{E2}] + [\text{E1}])$ 、および阻害の $\% = 100 \times (\% \text{変換なし} - \% \text{変換あり}) / \% \text{変換なし}$ 。

【0389】

本明細書は、その適用において、本明細書の上記に記載の構築および部分の詳細に限定されないことを理解されたい。本明細書は、他の実施形態および種々の方法で実行することができる。本明細書で使用される用語または術語は、説明を目的とするものであり、限定するものではない。したがって、本発明を、その例示的な実施形態により本明細書の上記で説明してきたが、本発明は、添付の特許請求項の範囲で定義される開示対象の精神、範囲、および本質から逸脱することなく改変することができる。

10

【0390】

参考文献

(1) Luu-The, V.; Zhang, Y.; Poirier, D.; Labrie, F. Characteristics of human types 1, 2 and 3 17 beta-hydroxysteroid dehydrogenase activities: oxidation/reduction and inhibition. J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 1995, 55, 581-587.

20

(2) Simard, J.; Vincent, A.; Duchesne, R.; Labrie, F. Full estrogenic activity of C19-delta 5 adrenal steroids in rat pituitary lactotrophs and somatotrophs. Mol. Cell. Endocrinol. 1988, 55, 233-242.

(3) Theobald, A. J. Management of advanced breast cancer with endocrine therapy: the role of the primary healthcare team. Int. J. Clin. Pract. 2000, 54, 665-669.

30

(4) Dizerega, G. S.; Barber, D. L.; Hodgen, G. D. Endometriosis: role of ovarian steroids in initiation, maintenance, and suppression. Fertil. Steril. 1980, 33, 649-653.

(5) Penning, T. M. 17-hydroxysteroid dehydrogenase: inhibitors and inhibitor design. Endocr. Relat. Cancer, 1996, 3, 41-56.

(6) Poirier, D. Advances in Development of Inhibitors of 17-Hydroxysteroid Dehydrogenases. Anticancer Agents Med. Chem., 2009, 9, 642-660.

40

(7) Moeller, G.; Adamski, J. Integrated view on 17-hydroxysteroid dehydrogenase. Mol. Cell. Endocrinol. 2009, 301, 7-19.

(8) Poirier, D. Contribution to the development of inhibitors of 17-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 and 7: Key tools for studying and treating estrogen-dependent diseases. J. Steroid Biochem. Mol. Biol.,

50

2011, 125, 83 - 94.

(9) Poirier, D. 17 - Hydroxysteroid dehydrogenase inhibitors: a patent review. Expert. Opin. Ther. Patents, 2010, 20, 1123 - 1145.

(10) Poirier, D. Inhibitors of 17 - hydroxysteroid dehydrogenase. Curr. Med. Chem., 2003, 10, 453 - 477.

(11) Tremblay, M. R.; Poirier, D. Overview of a rational approach to design type I 17 beta - hydroxysteroid dehydrogenase inhibitors without estrogenic activity: chemical synthesis and biological evaluation. J. Steroid Biochem. Mol. Biol, 1998, 66, 179 - 191.

10

(12) Laplante, Y.; Cadot, C.; Fournier, M. C.; Poirier, D. Estradiol and Estrone C - 16 derivatives as inhibitors of type 1 17 - hydroxysteroid dehydrogenase: Blocking of ER⁺ breast cancer cell proliferation induced by estrone. Bioorg. Med. Chem. 2008, 16, 1849 - 1860.

20

(13) Mazumdar, M.; Fournier, D.; Zhu, D. W.; Cadot, C.; Poirier, D.; Lin, S. X. Binary and ternary crystal structure analyses of a novel inhibitor with 17 - HSD type 1: a lead compound for breast cancer therapy. Biochem. J. 2009, 10, 357 - 366.

(14) <http://www.cancer.org/Cancer-ProstateCancer/DetailedGuide/prostate-cancer-key-statistics>.

30

(15) Group. VACUR. Treatment and survival of patients with cancer of the prostate. Surg. Gynecol. Obstet. 1967, 124, 1011 - 1017.

(16) Seidenfeld, J.; Samson, D. J.; Hasselblad, V.; Aronson, N.; Albertsen, P. C.; Bennett, C. L.; Wilt, T. J. Single - therapy androgen suppression in men with advanced prostate cancer: a systematic review and meta - analysis. Ann. Intern. Med. 2000, 132, 566 - 577.

(17) Santen, R. J. Clinical Review 37: Endocrine treatment of prostate cancer. J. Clin. Endo. Metab. 1992, 75, 685 - 689.

40

(18) Hedlund, P. O. Side effects of endocrine treatment and their mechanisms: castration, antiandrogens and estrogens. Prostate Suppl 2000, 10, 32 - 37.

(19) Wysowski, D. K.; Freiman, J. P.; Tourtelot, J. B.; Horton, M. L. Fatal and nonfatal hepatotoxicity associated with flutamide. Ann. Intern. Med. 1993, 118, 860 - 864.

50

- (20) Shahinian, V. B.; Kuo, Y. F.; Freeman, J. L.; Goodwin, J. S. Risk of fracture after androgen deprivation for prostate cancer. *N. Engl. J. Med.* 2005, 352, 154 - 164.
- (21) a) Tammela, T. Endocrine treatment of prostate cancer. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2004, 92, 287 - 295; b) Nakamura et al., *The Prostate*, 2006, 66, 1005 - 1012.
- (22) Laplante, Y.; Poirier, D. Proliferative effect of androst-4-ene-3,17-dione and its metabolites in the androgen-sensitive LNCaP cell line. *Steroids* 2008, 73, 266 - 271. 10
- (23) Inano, H.; Tamaoki, B. I. Testicular 17-hydroxysteroid dehydrogenase: molecular properties and reaction mechanism. *Steroids* 1986, 48, 1 - 26.
- (24) Mohler, M. L.; Narayanan, R.; He, Y.; Miller, D. D.; Dalton, J. T. Recent Patents Endocrine Metabolic Immune Drug Discovery 2007, 1, 103 - 118. 20
- (25) Day, J. M.; Tutill, H. J.; Purohit, A.; Reed, M. J. *Endocr. - Relat. Cancer* 2008, 15, 665 - 692.
- (26) Labrie, F. *Intracrinology. Mol. Cell. Endocrinol.* 1991, 78, C113 - C118.
- (27) Poirier, D. New cancer drugs targeting the biosynthesis of estrogens and androgens. *Drug. Dev. Res.* 2008, 69, 304 - 318.
- (28) Luu-The, V.; Belanger, A.; Labrie, F. Androgen biosynthetic pathways in the human prostate. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2008, 22, 207 - 221. 30
- (29) Koh, E.; Noda, T.; Kanya, J.; Namiki, M. Differential expression of 17-hydroxysteroid dehydrogenase isozyme genes in prostate cancer and non-cancer tissues. *The Prostate* 2002, 53, 154 - 159.
- (30) Deqtyar, V. G.; Babkina, T. V.; Kazantseva, I. A.; Morozov, A. P.; Trapeznikova, M. F.; Kushlinski, N. E. Reductase activity of 17beta-hydroxysteroid oxidoreductase in prostatic tumors of different histological structure. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2005, 139, 715 - 717. 40
- (31) Montgomery, R. B.; Mostaghel, E. A.; Vesella, R.; Hess, D.; Kalhorn, T. F.; Higano, C. S.; True, L. D.; Nelson, P. S. Maintenance of intratumoral androgens in metastatic prostate cancer: mechanism for castration-resistant 50

ant tumor growth. Cancer Res. 2008, 68, 4447-4454.

(32) Locke, J. A.; Guns, E.; Lubik, A. A.; Adomat, H. H.; Hendy, S. C.; Wood, C. A.; Ettinger, S. L.; Gleave, M. E.; Nelson, C. C. Androgen levels increase by intratumoral De novo steroidogenesis during progression of castration-resistant prostate cancer. Cancer Res. 2008, 68, 6407-6415.

(33) Mostaghel, E. A.; Page, S. T.; Lin, D. W.; Fazli, L.; Coleman, I. M.; True, L. D.; Knudsen, B.; Hess, D. L.; Nelson, C. C.; Matsumoto, A. M.; Bremner, W. J.; Gleave, M. E.; Nelson, P. Intraprostatic androgens and androgen-regulated gene expression persist after testosterone suppression: therapeutic implications for castration-resistant prostate cancer. Cancer Res. 2007, 67, 5033-5041.

10

(34) Page, S. T.; Lin, D. W.; Mostaghel, E. A.; Hess, D. L.; True, L. D.; Amory, J. K.; Nelson, P. S.; Matsumoto, A. M.; Bremner, W. J. Persistent intraprostatic androgen concentration after medical castration in healthy men. J. Clin. Endocrinol. Metab. 2006, 91, 3850-3856.

20

(35) Nordling, E.; Oppermann, U. C.; Jornvall, H.; Persson, B.; Human type 10 17 beta-hydroxysteroid dehydrogenase: molecular modelling and substrate docking. J. Mol. Graph. Model. 2001, 19, 514-520.

(36) He, H. Y.; Merz, G.; Yang, Y. Z.; Mehta, P.; Schulz, H.; Yang, S. Y. Characterization and localization of human type 10 17 beta-hydroxysteroid dehydrogenase. Eur. J. Biochem. 2001, 268, 4899-4907.

30

(37) Yang, S. Y.; He, X. Y.; Schulz, H. Multiple functions of type 10 17 beta-hydroxysteroid dehydrogenase. Trends Endocrinol. Metab. 2005, 16, 167-175.

(38) Fang, H.; Tong, W.; Branham, W. S.; Moland, C. L.; Dial, S. L.; Hong, H.; Xie, .; Perkins, R.; Owens, W.; Sheehan, D. M. Study of 202 Natural, Synthetic, and Environmental Chemicals for Binding to the Androgen Receptor. Chem. Res. Toxicol. 2001, 14, 280-294.

40

(39) Maltais, R.; Tremblay, M. R.; Poirier, D. Solid-phase synthesis of hydroxysteroid derivatives using the diethylsilyloxy linker. J. Comb. Chem. 2000, 2, 604-614.

(40) Poirier, D.; Chang, H. J.; Azzì, A.; Boivin, R. P.; Lin, S. X. Estrone and estradiol C-16

50

derivatives as inhibitors of type 1 17-hydroxysteroid dehydrogenase. *Mol. Cell. Endocrinol.* 2006, 27, 236-238.

(41) Sharifi, A.; Mohsenzadeh, F.; Mojtabedi, M.M.; Saidi, M.R.; Balalaie, S. Microwave-promoted transformation of nitriles to amides with aqueous sodium perborate. *Synth. Comm.* 2001, 31, 431-434.

(42) Skoda-Foldes, R.; Kollar, L.; Marinelli, F.; Arcadi, A. Direct and carbonylative vinylation of steroid triflates in the presence of homogeneous palladium catalysts. *Steroids*, 1994, 59, 691-695.

(43) Tian, Y.-S.; Joo, J.-E.; Kong, B.-S.; Pham, V.-T.; Lee, K.-Y.; Ham, W.-H. Asymmetric synthesis of (-) swainsonine. *J. Org. Chem.* 2009, 74, 3962-3965.

(44) Wang, L.G.; Mencher, S.K.; McCarron, J.P.; Ferrari, A.C. The biological basis for the use of an anti-androgen and a 5-alpha-reductase inhibitor in the treatment of recurrent prostate cancer: case report and review. *Oncology Reports* 2004, 11, 1325-1329.

(45) Leibowitz, R.L.; Tucker, S.J. Treatment of localized prostate cancer with intermittent triple androgen blockade: preliminary results in 110 consecutive patients. *Oncologist*, 2001, 6, 177-182.

(46) Maltais, R.; Luu-The, V.; Poirier, D. Synthesis and optimization of a new family of type 3 17 beta-hydroxysteroid dehydrogenase inhibitors by parallel liquid-phase chemistry. *J. Med. Chem.* 2002, 45, 640-653.

(47) Tchedam-Nagtcha, B.; Laplante, Y.; Labrie, F.; Luu-The, V.; Poirier, D. 3-Beta-alkyl-androsteroles as inhibitors of type 3 17 beta-hydroxysteroid dehydrogenase: inhibitory potency in intact cells, selectivity towards isoforms 1, 2, 5 and 7, binding affinity for steroid receptors, and proliferative/antiproliferative activities on AR⁺ and ER⁺ cell lines. *Mol. Cell. Endocrinol.* 2006, 248, 225-232.

(48) Tchedam-Nagtcha, B.; Luu-The, V.; Labrie, F.; Poirier, D. Androsteroles 3-alpha-ether-3beta-substituted and androsteroles 3beta-substituted derivatives as inhibitors of type 3 17 beta-hydroxysteroid dehydrogenase: chemical synthesis and structure-a

10

20

30

40

50

ctivity relationship. J. Med. Chem. 2005, 48, 5257-5268.

(49) Maltais, R.; Poirier, D. A Solution-phase combinatorial parallel synthesis of 3-amido-3-hydroxy-5-androstane-17-ones. Tetrahedron Lett. 1998, 39, 4151-4154.

(50) Maltais, R.; Luu-The, V.; Poirier, D. Parallel solid-phase synthesis of 3beta-peptido-3alpha-hydroxy-5alpha-androstan-17-one derivatives for inhibition of type 3 17beta-hydroxysteroid dehydrogenase. Bioorg. Med. Chem. 2001, 9, 3101-3111.

10

(51) Berube, M.; Laplante, Y.; Poirier, D. Design, synthesis and in vitro evaluation of 4-androstene-3,17-dione/adenosine hybrid compounds as bisubstrate inhibitors of type 3 17-hydroxysteroid dehydrogenase. Med. Chem. 2006, 2, 329-347.

(52) Berube, M.; Poirier, D. Chemical synthesis and in vitro biological evaluation of a phosphorylated bisubstrate inhibitor of type 3 17-hydroxysteroid dehydrogenase. J. Enz. Inhib. Med. Chem. 2007, 22, 201-211.

20

(53) Maltais, R.; Fournier, M.A.; Poirier, D. Development of 3-substituted androsterone derivatives as potent inhibitors of 17-hydroxysteroid dehydrogenase type 3. Bioorg. Med. Chem. 2011, 19, 4652-4668.

(54) Roy, J.; Breton, R.; Martel, C.; Labrie, F.; Poirier, D. Chemical synthesis and biological activities of 16-derivatives of 5-androstane-3,17-diol as antiandrogens. Bioorg. Med. Chem. 2007, 15, 3003-3018.

30

(55) Ayan, D.; Roy, J.; Maltais, R.; Poirier, D. Impact of estradiol structural modifications (18-methyl and/or 17-hydroxy inversion of configuration) on the in vitro and in vivo estrogenic activity. J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 2011, 127, 324-330.

(56) WO2008/089093A2 (2008) to Quatrix Pharmaceuticals Company.

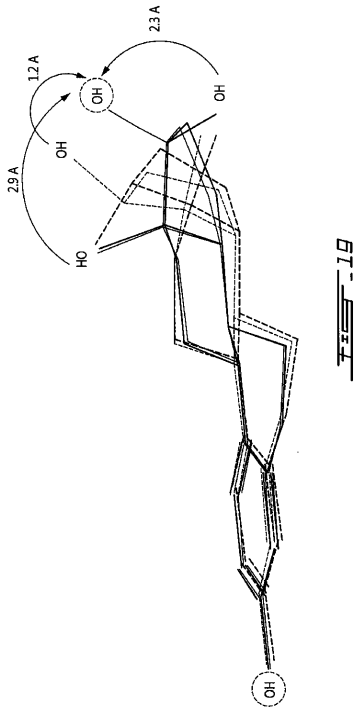
40

(57) Kissinger, C.R.; Rejto, P.A.; Pelletier, L.A.; Thomson, J.A.; Showalter, R.E.; Abreo, M.A.; Agree, C.S.; Margosiak, S.; Meng, J.J.; Aust, R.M.; Vanderpool, D.; Li, B.; Tempczyk-Russell, A.; Villafranca, J.E. Crystal structure of human ABAD/HSD10 with a bound inhibitor: implications for design of Alzheimer's disease therapeutics. J. Mol. Biol. 2004, 342, 943-952.

50

- (58) Ittner, L. M. ; Gotz, J. Amyloid - beta and tau - a toxic pas de deux in Alzheimer's disease, Nat. Rev. Neurosci. 2011, 12, 65 - 72.
- (59) He, H. Y. ; Wen, G. Y. ; Merz, G. ; Lin, D. ; Yang, Y. Z. ; Mehta, P. ; Schulz, H. ; Yang, S. Y. Abundant type 10 17 beta-hydroxysteroid dehydrogenase in the hippocampus of mouse Alzheimer's disease model. Brain Res. Mol. Brain Res. 2002, 99, 46 - 53.
- (60) Xu, H. ; Gouras, G. K. ; Greenfield, J. P. ; Vincent, B. ; Naslund, J. ; Mazzarelli, L. ; Fried, G. ; Jovanovic, J. N. ; Seeger, M. ; Relkin, N. R. ; Liao, F. ; Checler, F. ; Buxbaum, J. D. ; Chait, B. T. ; Thinakaran, G. ; Sisodia, S. S. ; Wang, R. ; Greengard, P. ; Gandy, S. Estrogen reduces neuronal generation of Alzheimer beta-amyloid peptides. Nat. Med. 1998, 4, 447 - 451. 10
- (61) He, X. Y. ; Wegiel, J. ; Yang, S. Y. Intracellular oxidation of allopregnanolone by human brain type 10 17 beta-hydroxysteroid dehydrogenase. Brain Res. 2005, 1040, 29 - 35. 20
- (62) He, X. Y. ; Yang, S. Y. Roles of type 10 17 beta-hydroxysteroid dehydrogenase in intracrinology and metabolism of isoleucine and fatty acids. Endocr. Metab. Immune Disord. Drug Targets 2006, 6, 95 - 102.
- (63) He, X. Y. ; Yang, Y. Z. ; Peehl, D. M. ; Lauderdale, A. ; Schulz, H. ; Yang, S. Y. Oxidative 3alpha-hydroxysteroid dehydrogenase activity of human type 10 17 beta-hydroxysteroid dehydrogenase. J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 2003, 87, 191 - 198. 30

【図 19】



【図 1】

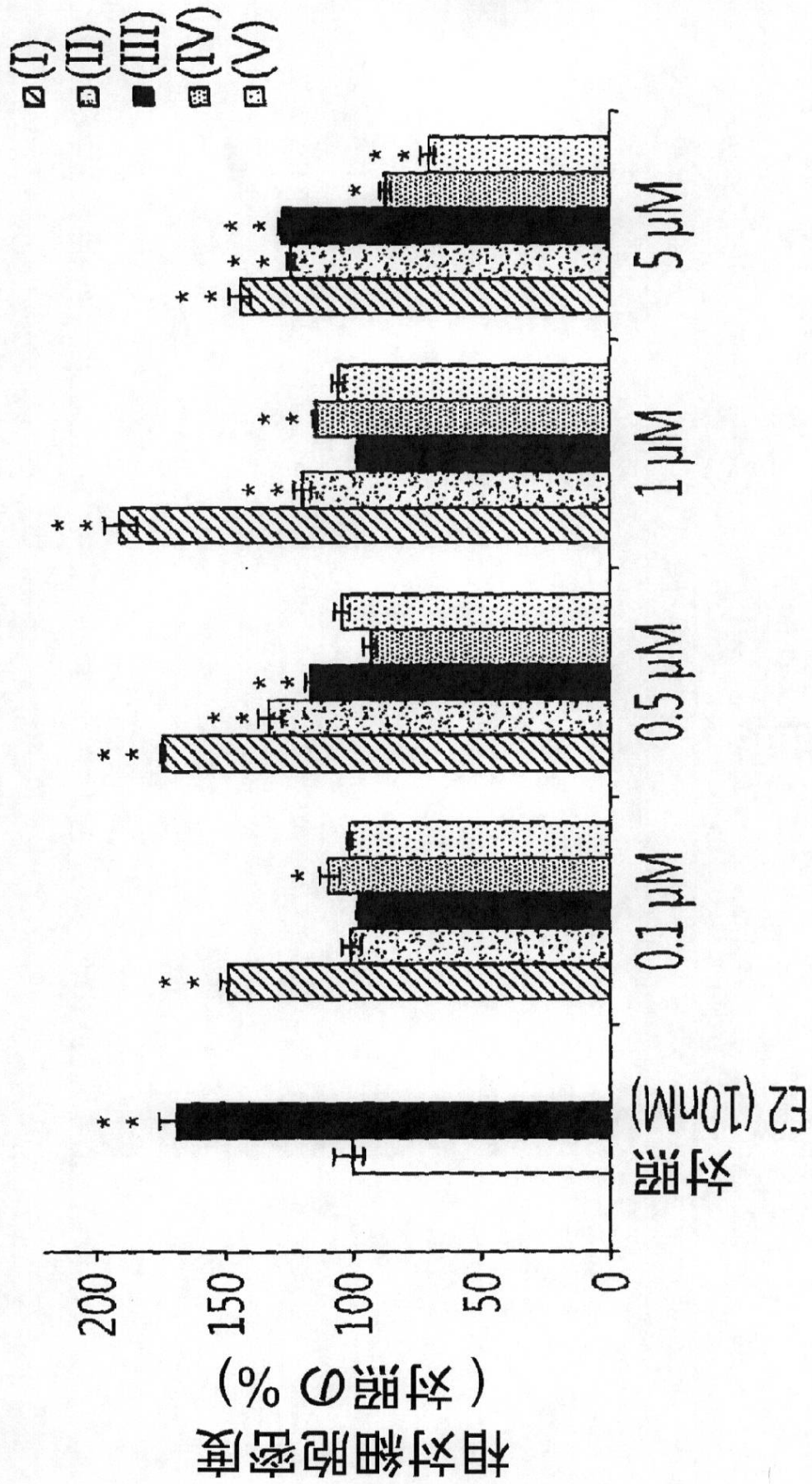


図 1

【図 2】

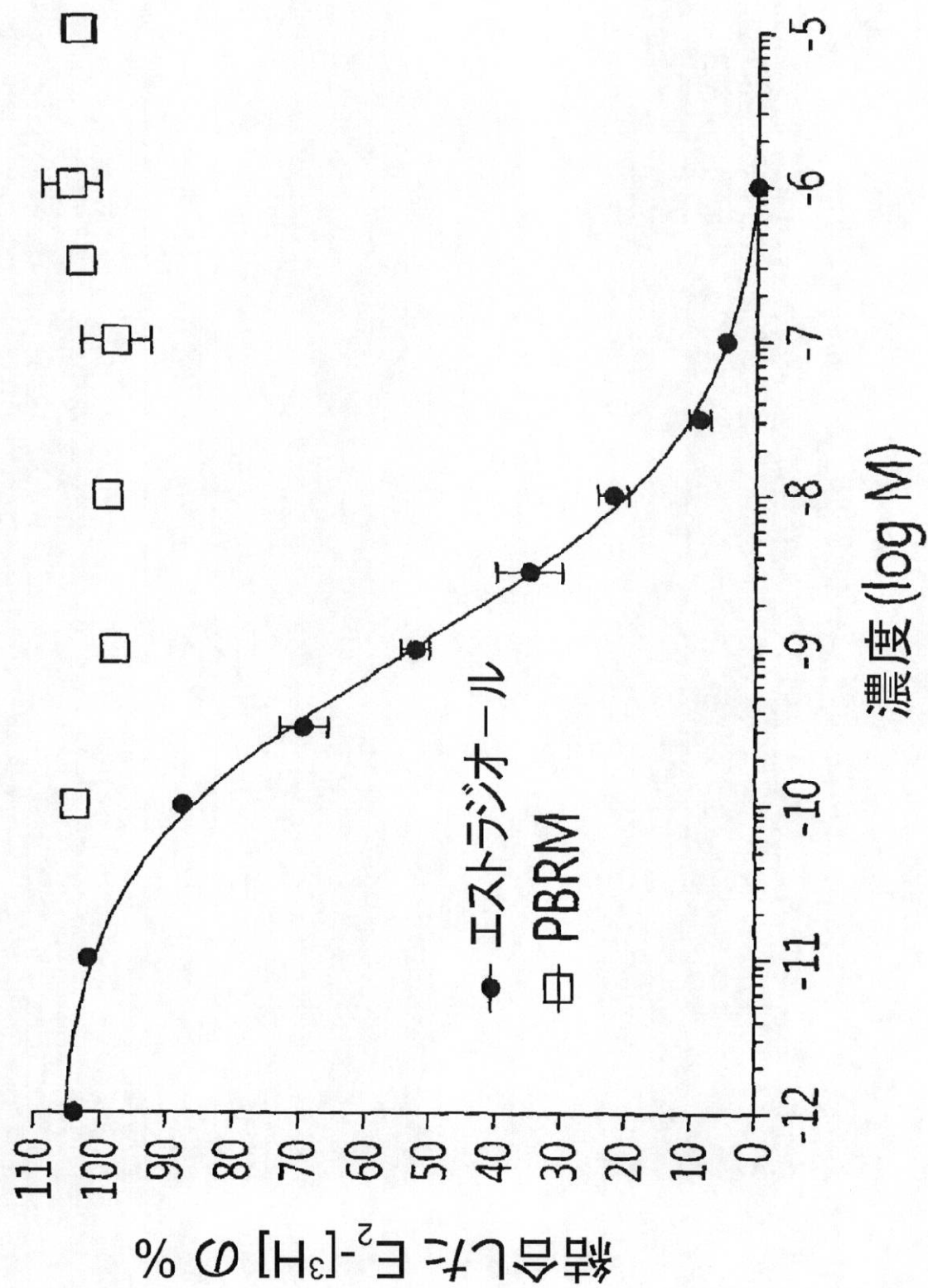


図 2

【 図 3 】

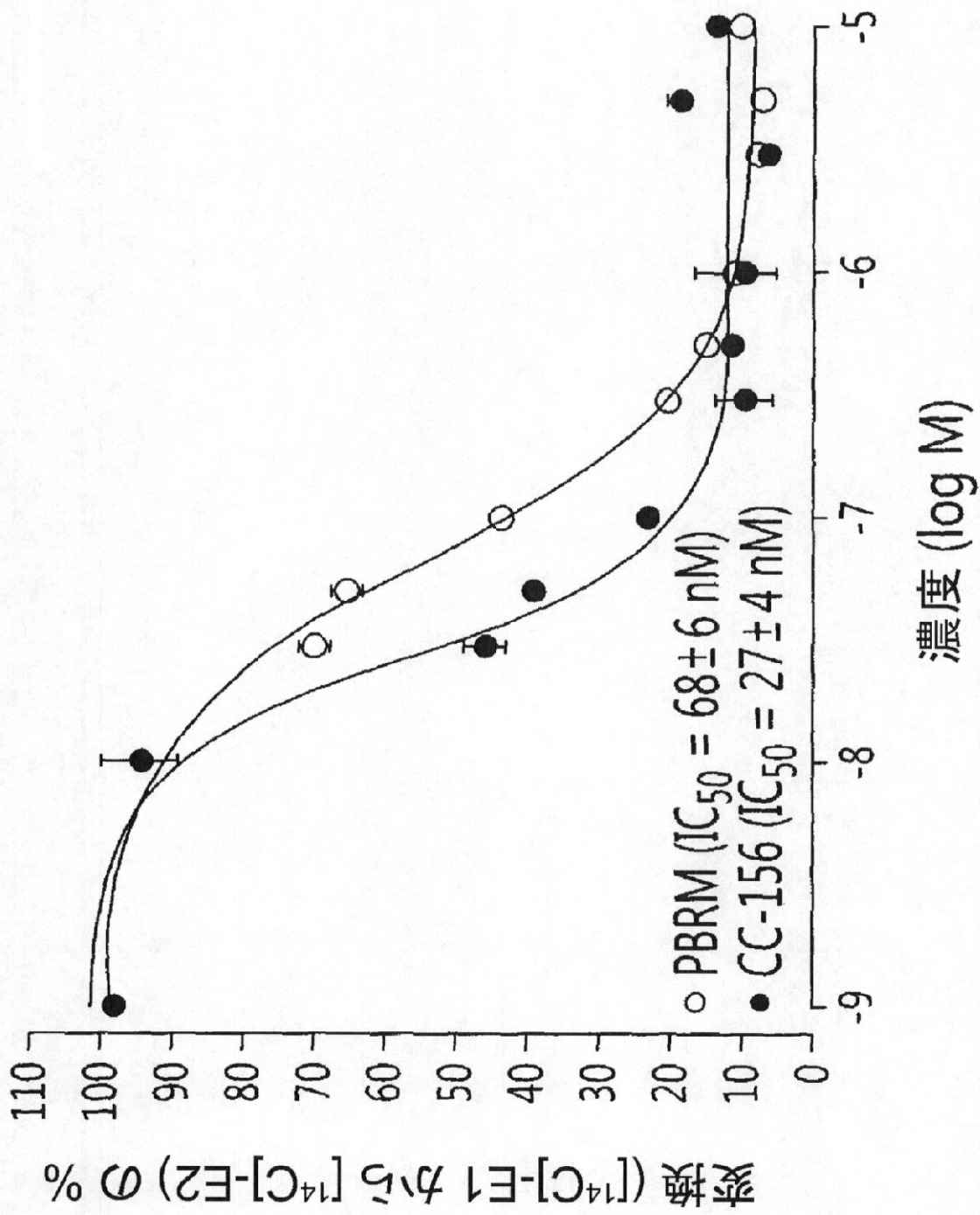


図 3

【図 4】

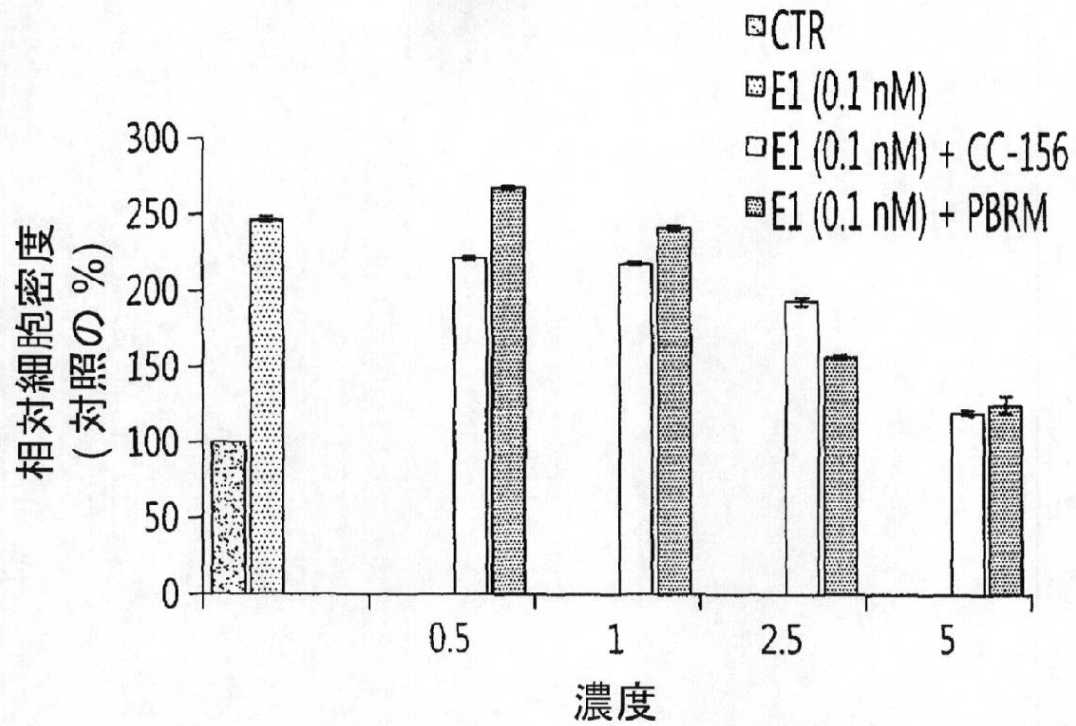


図 4A

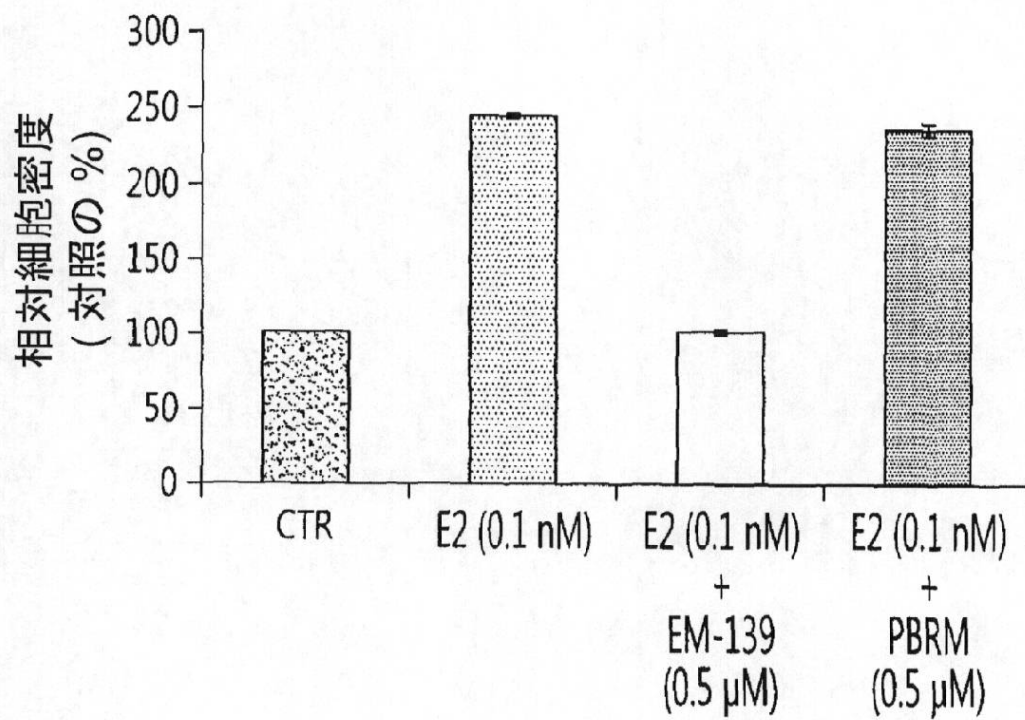


図 4B

【図5】

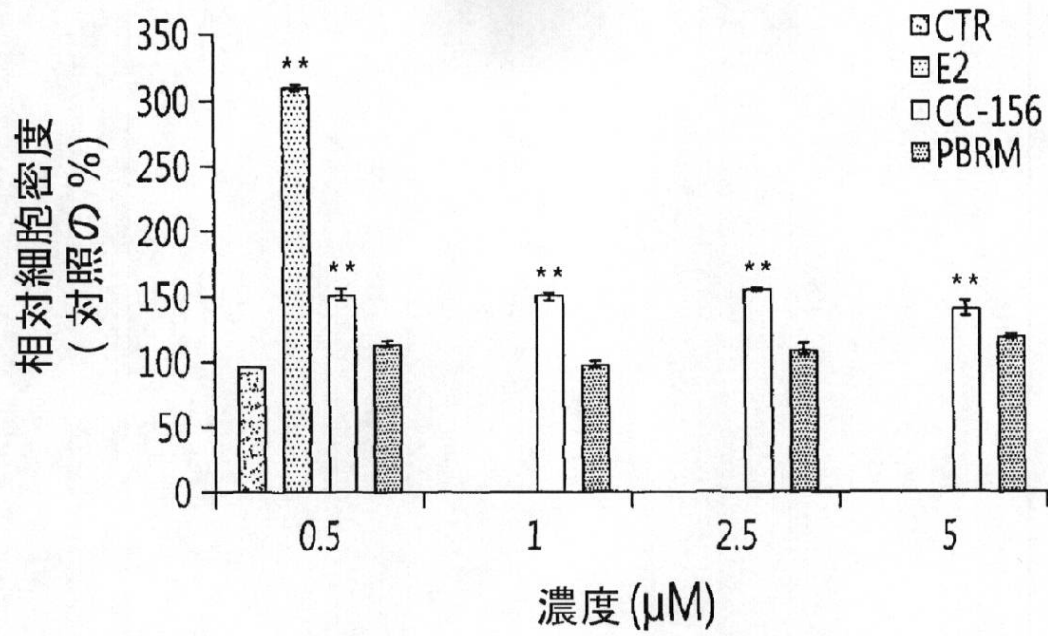


図 5A

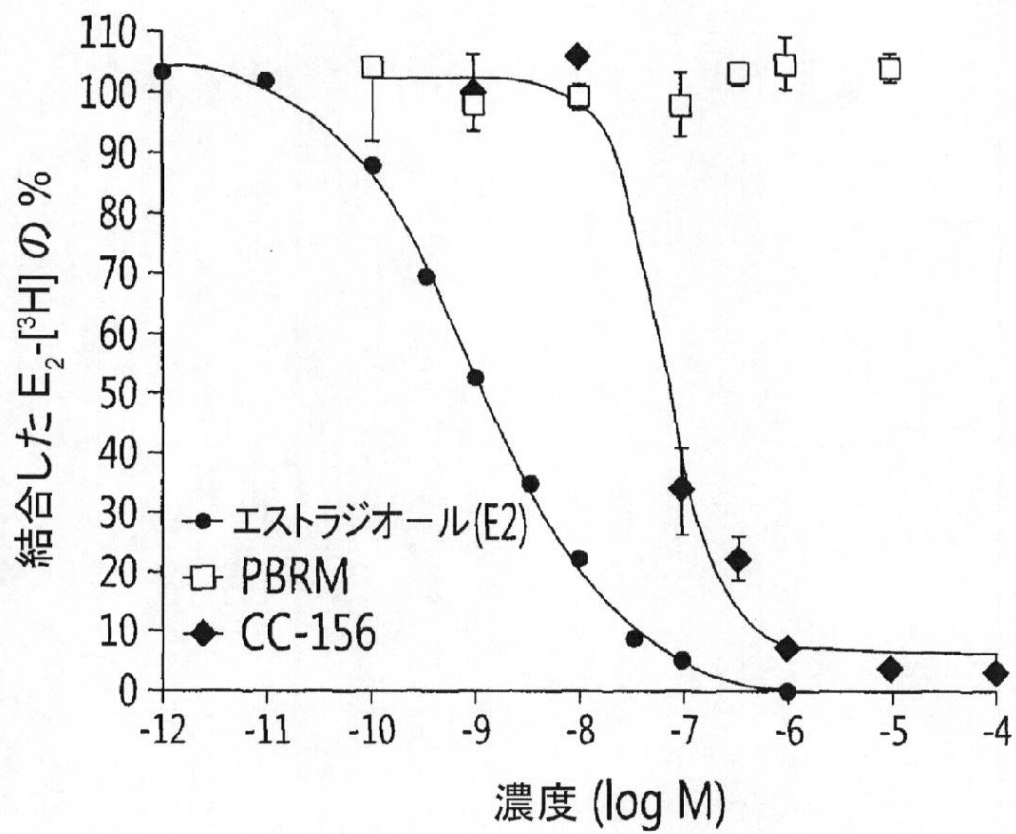


図 5B

【図 6】

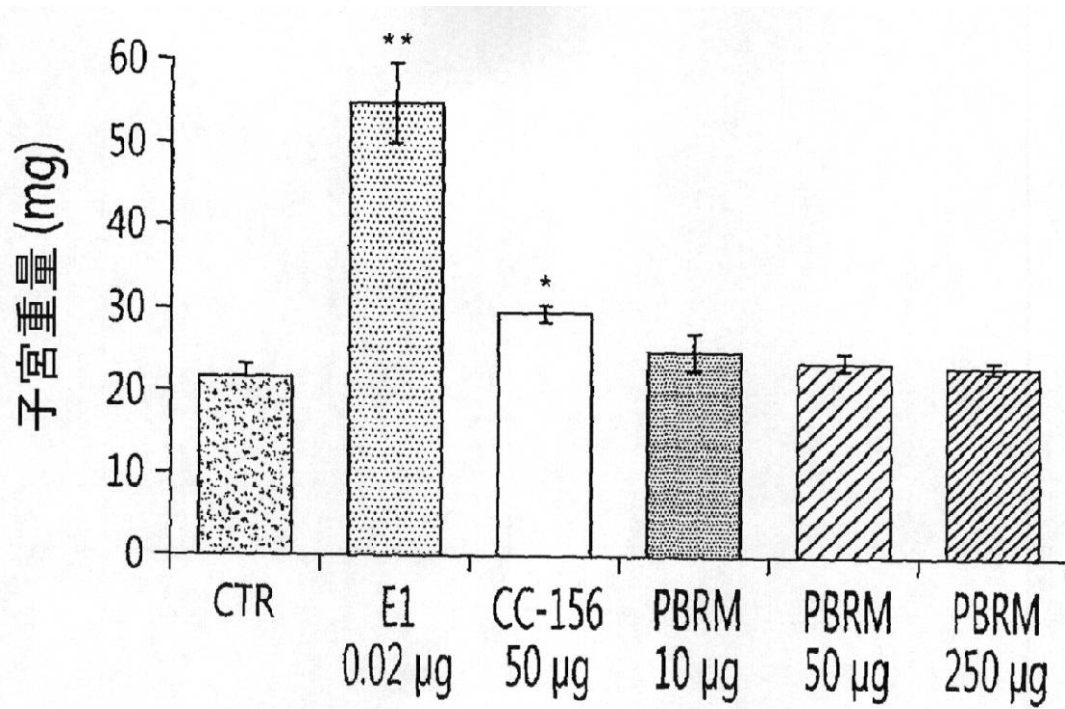


図 6A

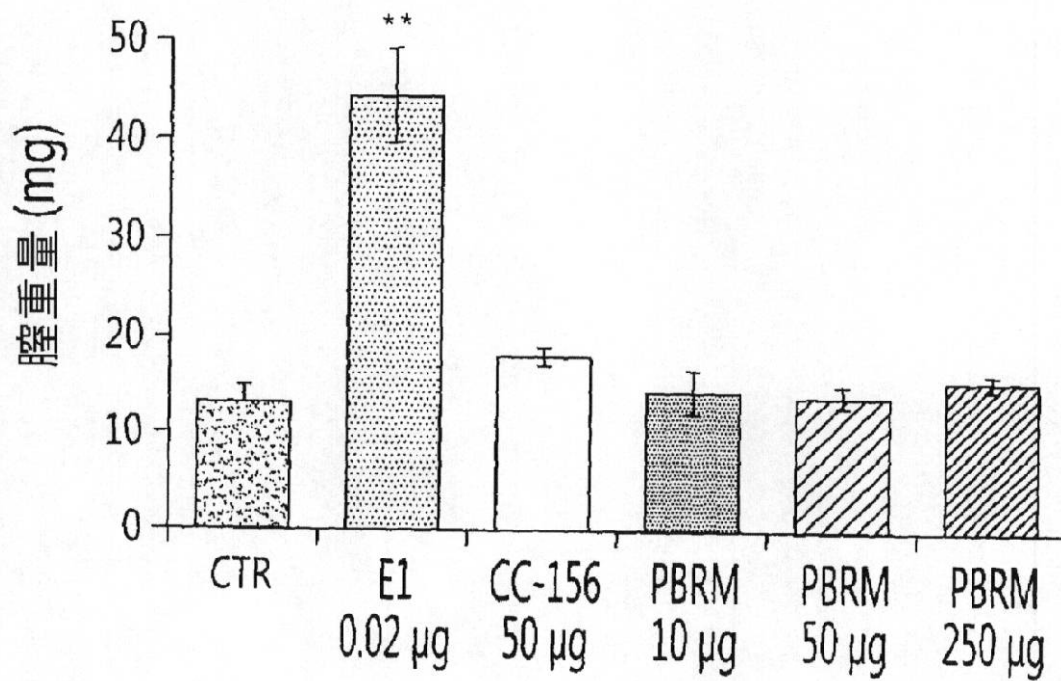


図 6B

【図 7】

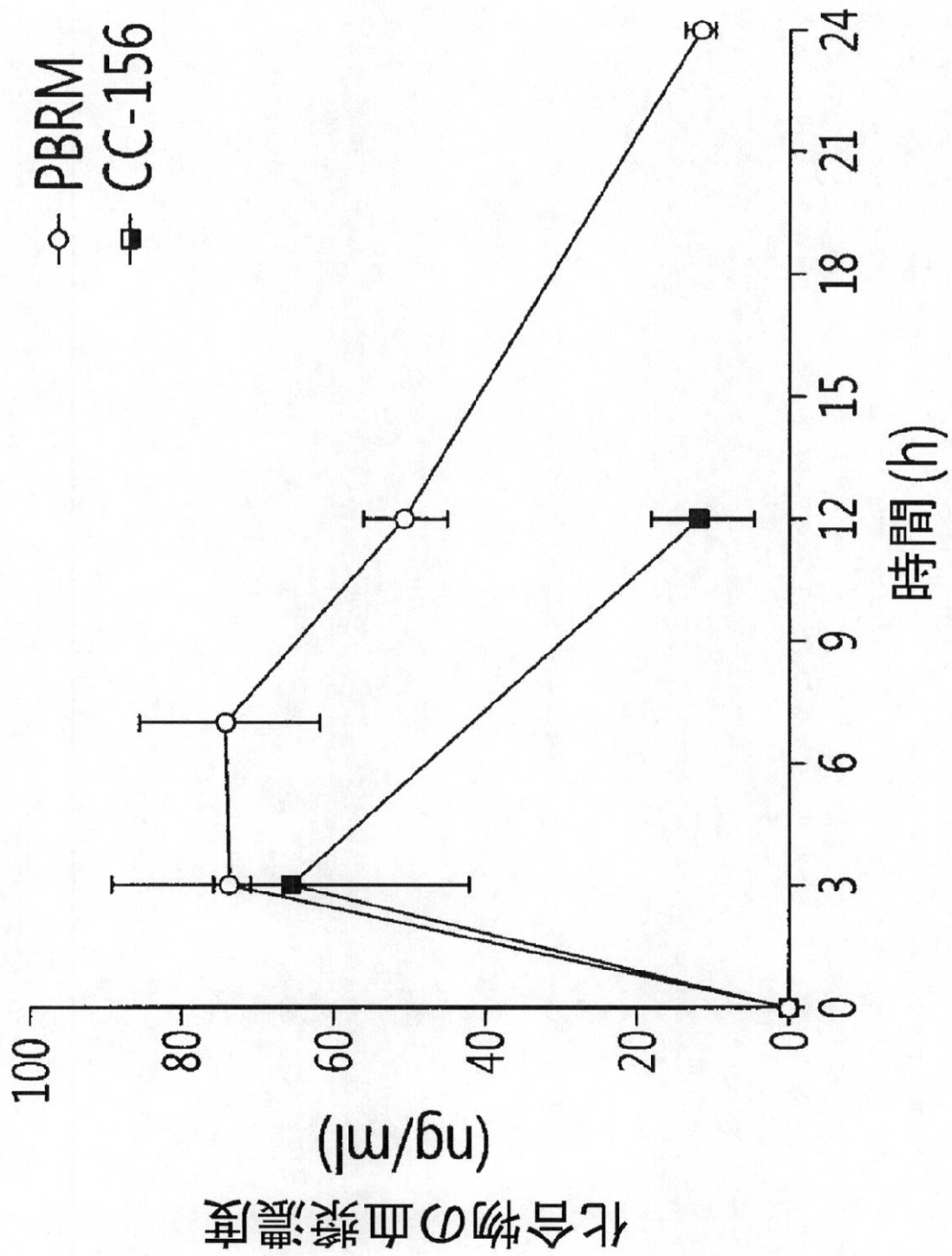


図 7

【 図 8 】

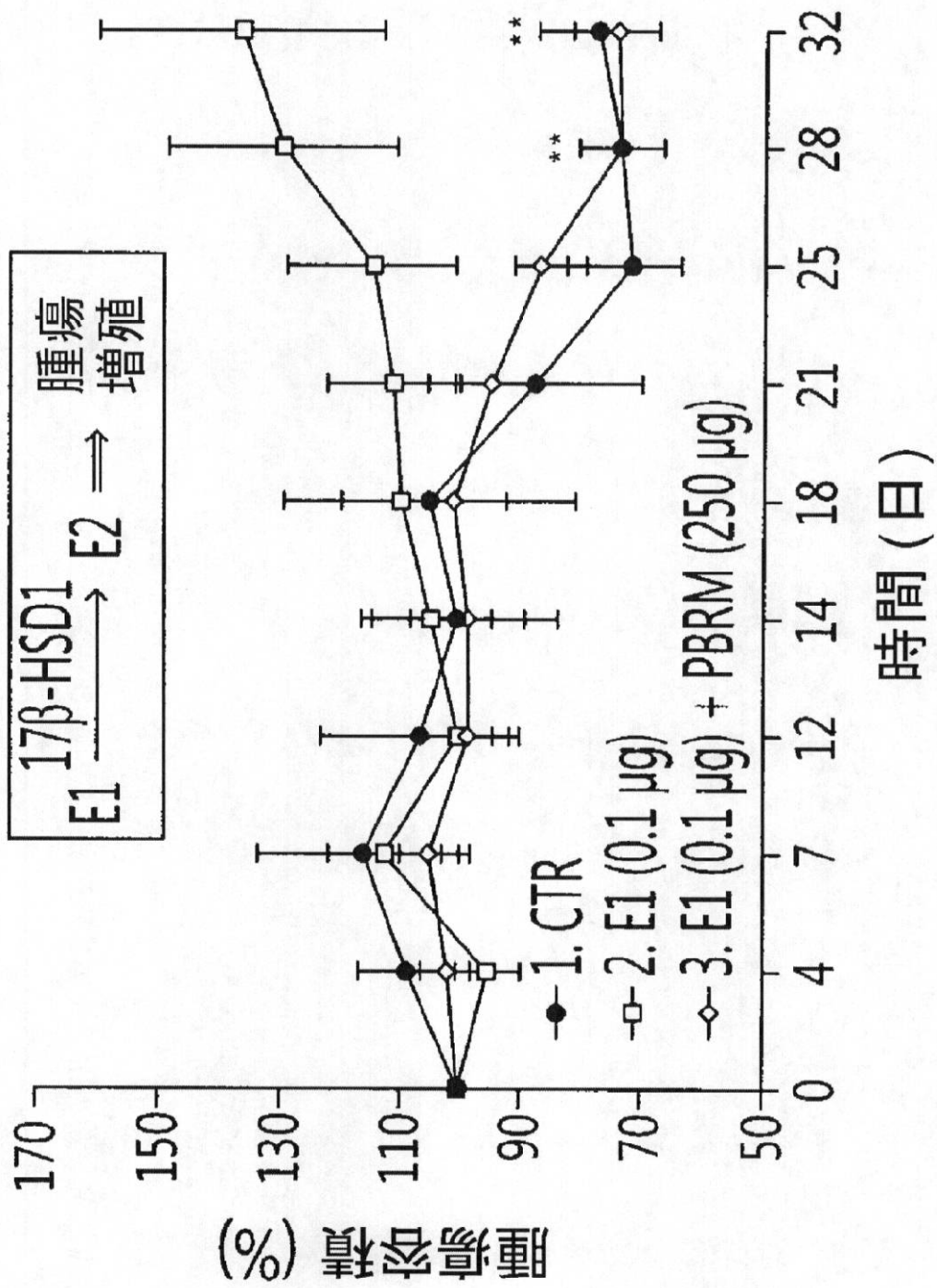


図 8

【図 9】

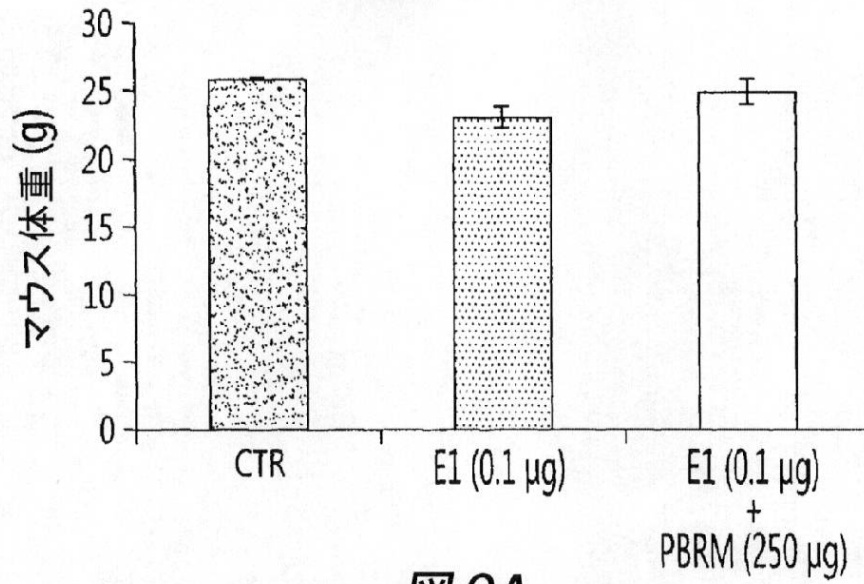


図 9A

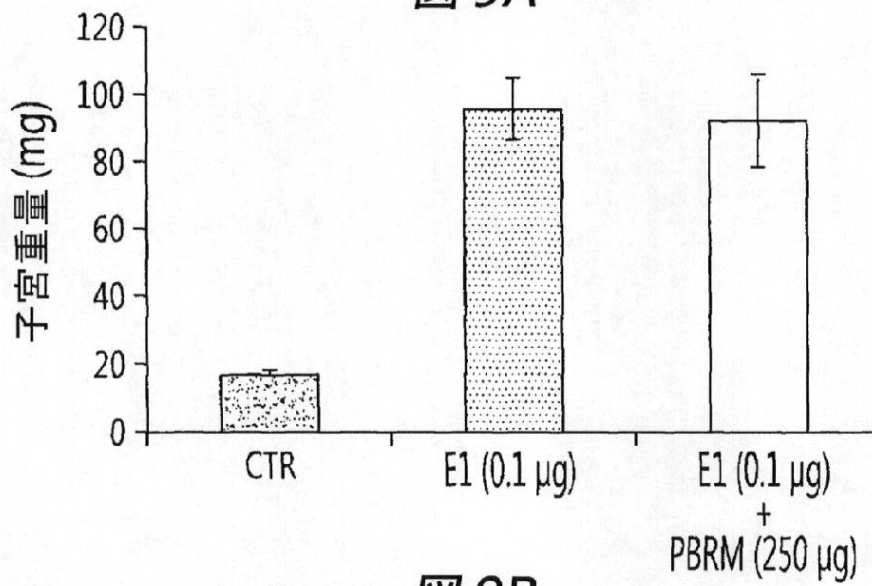


図 9B

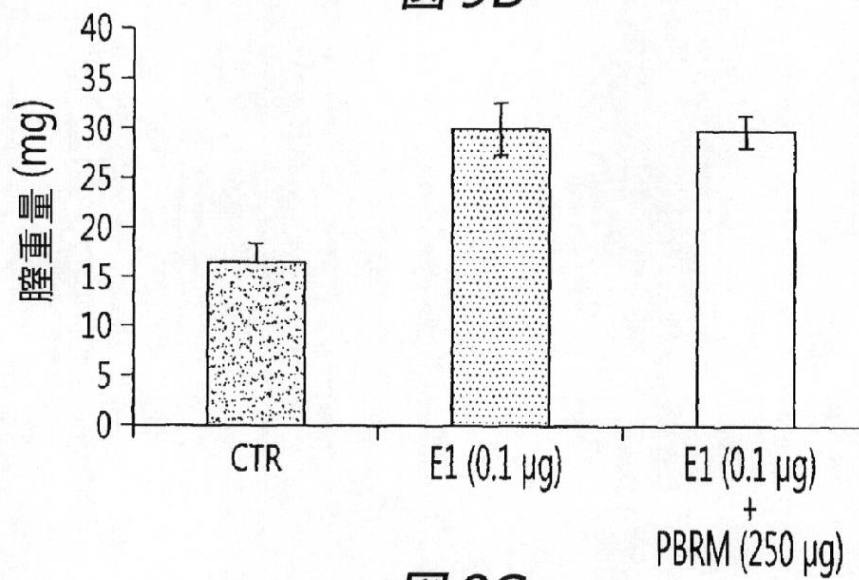


図 9C

【図10】

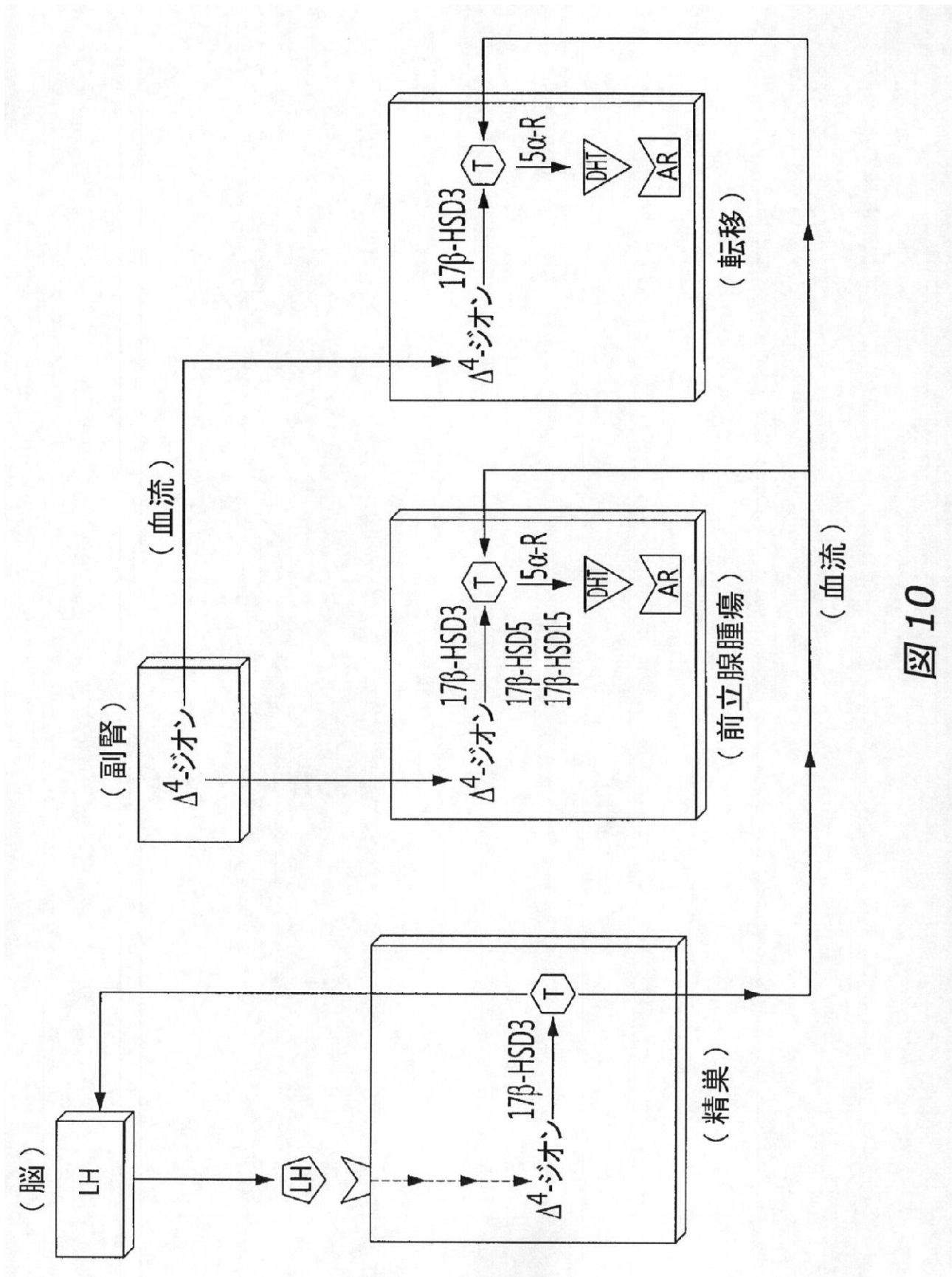


図10

【図 11】

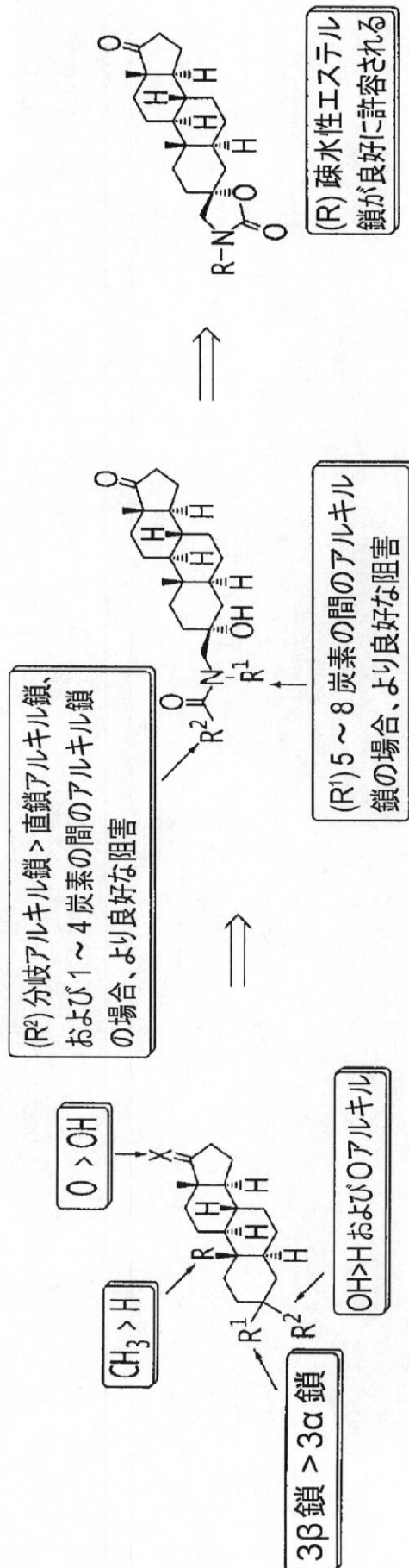


図 11A

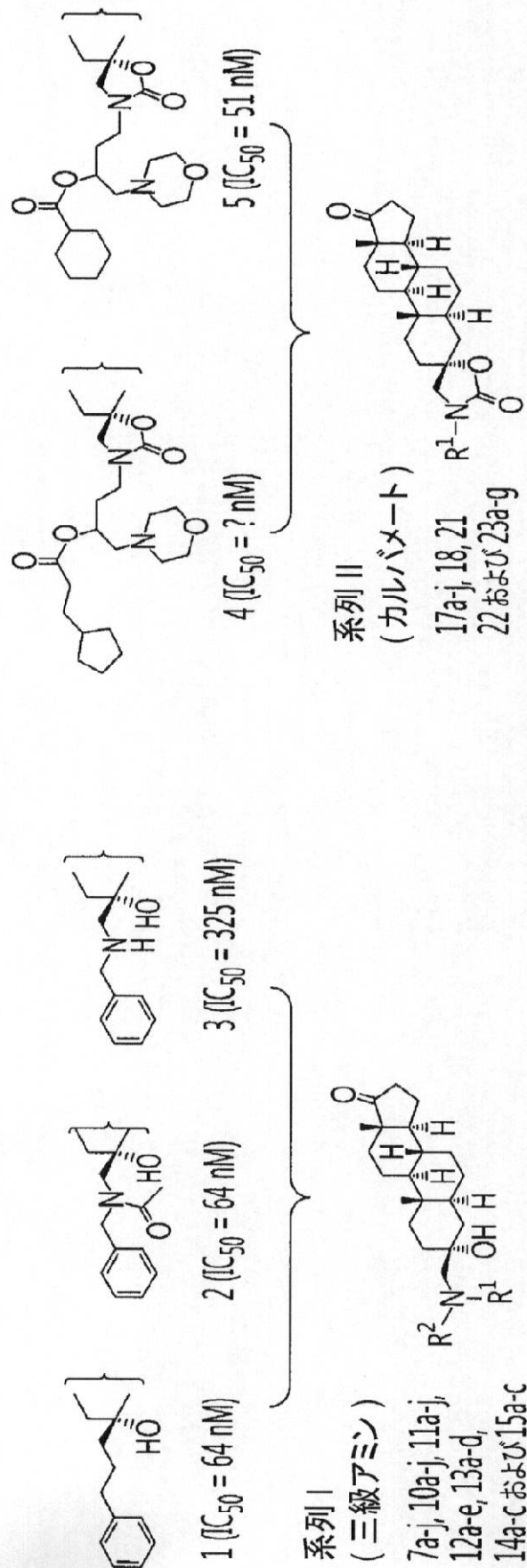


図 11B

【図 12】

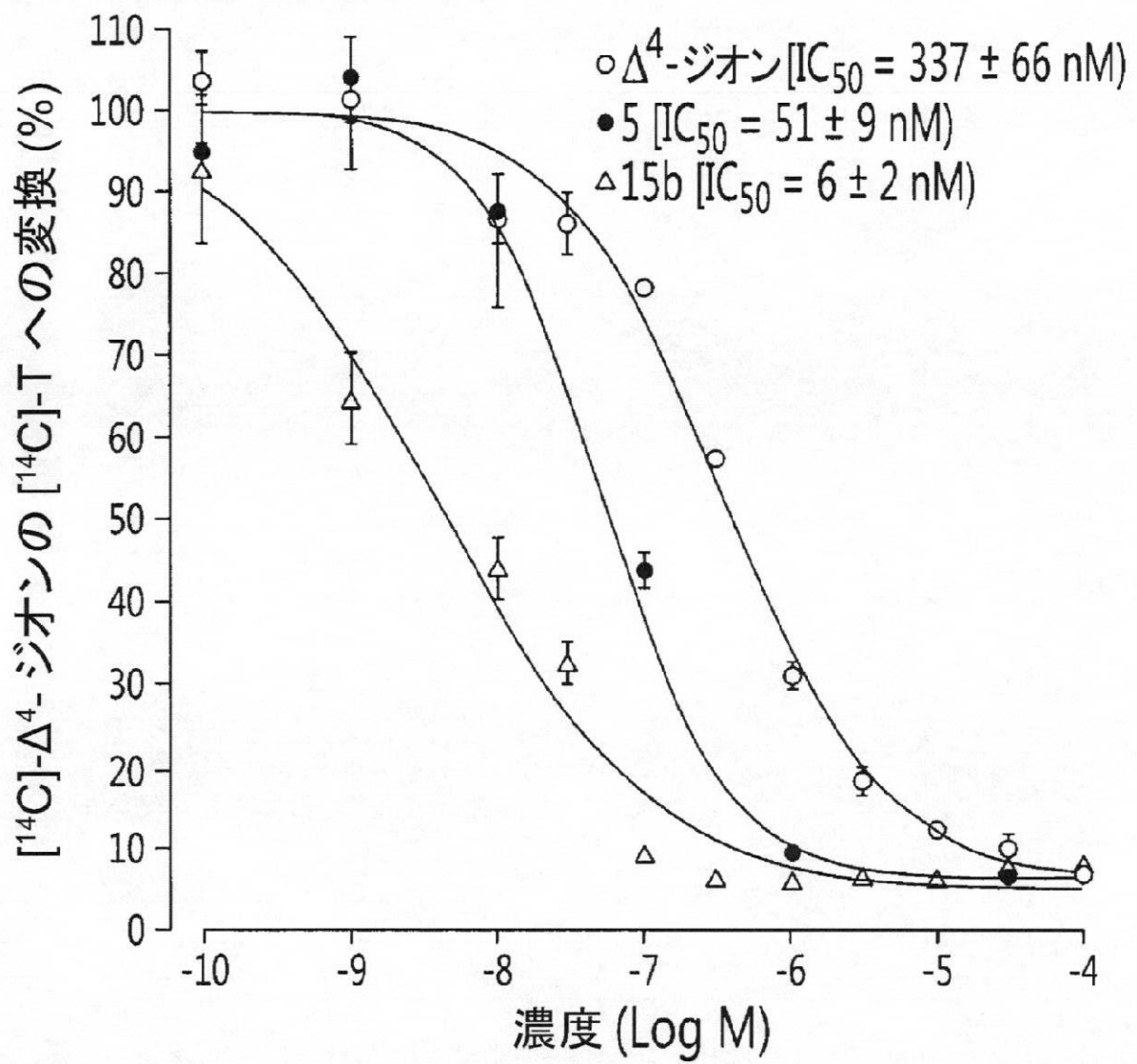


図 12

【 図 1 3 】

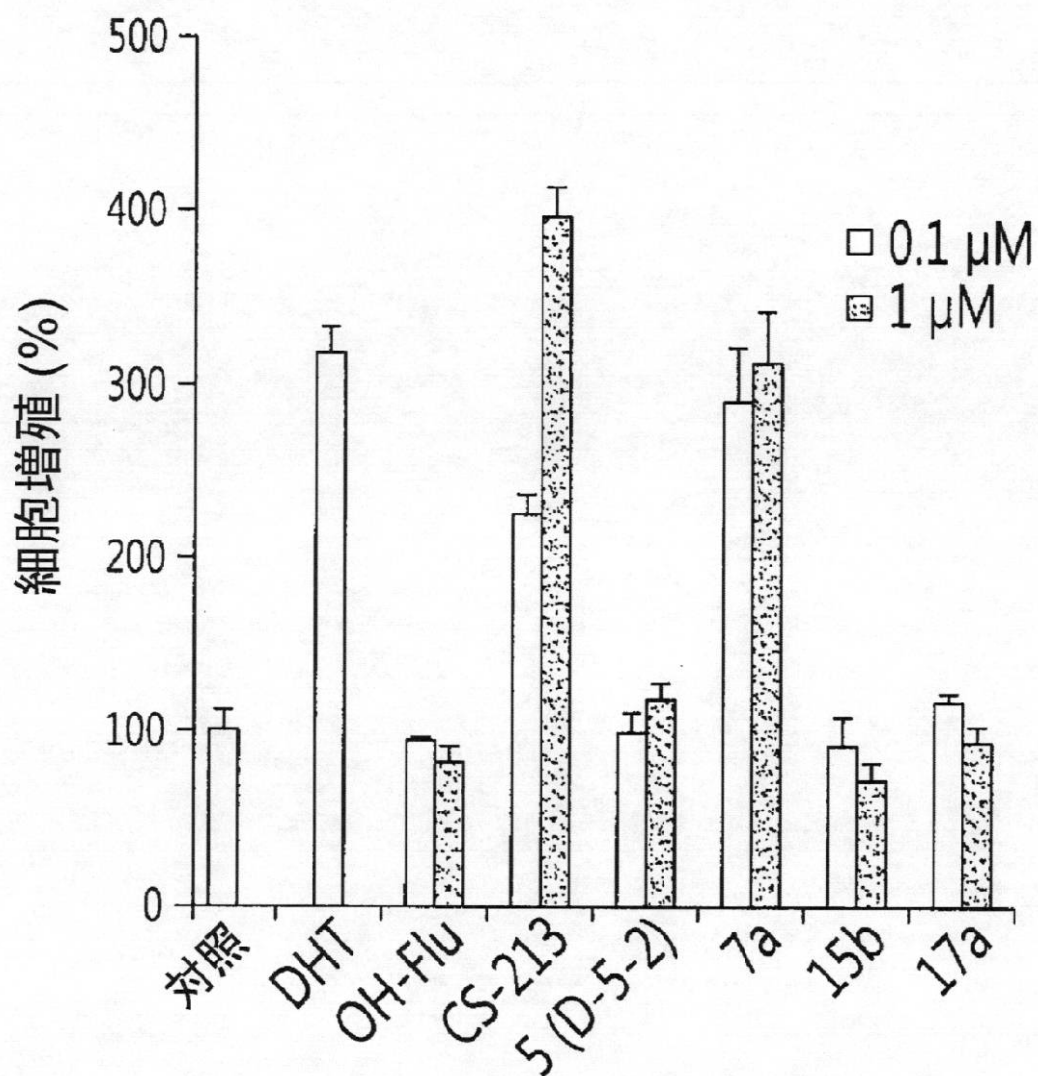


図 13

【図 14】

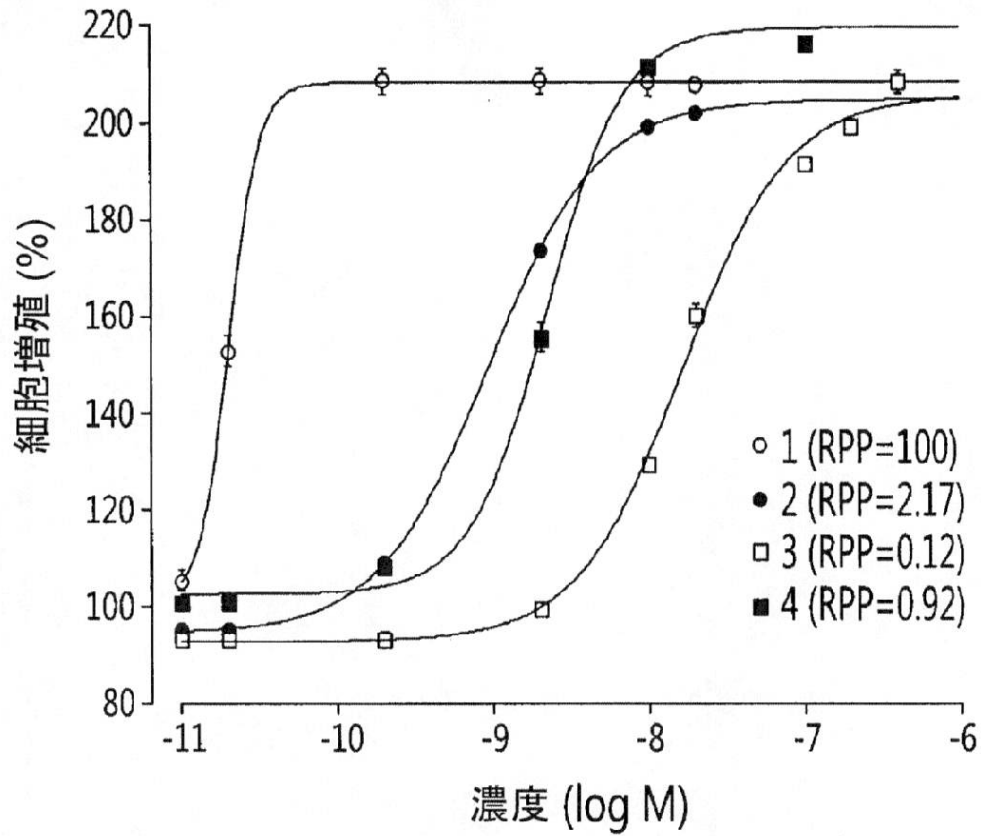


図 14A

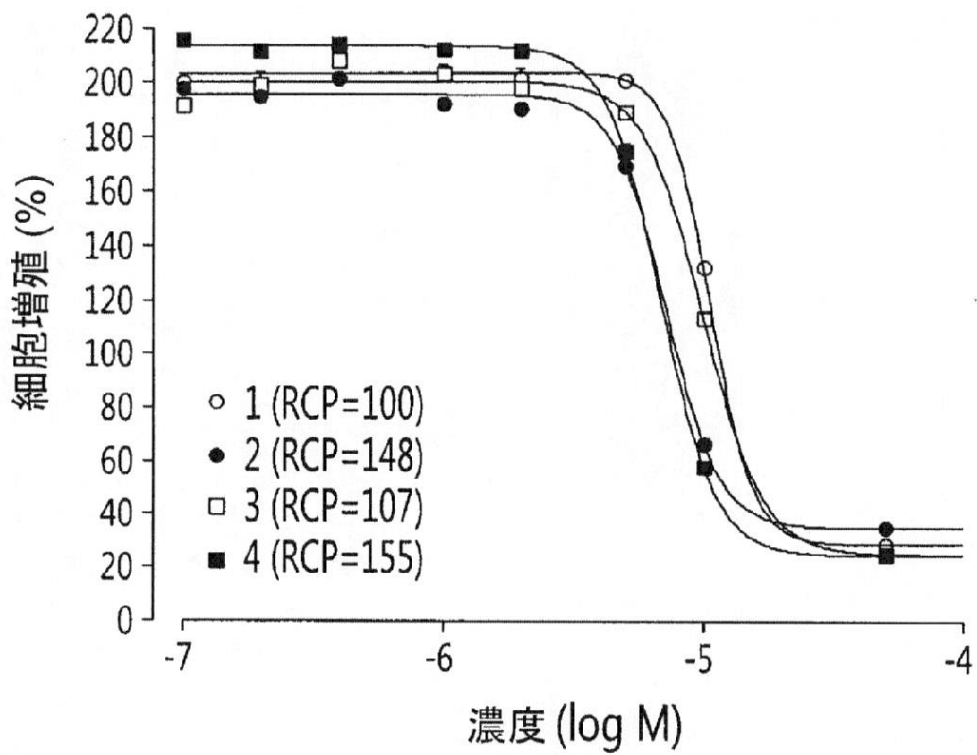


図 14B

【図 15】

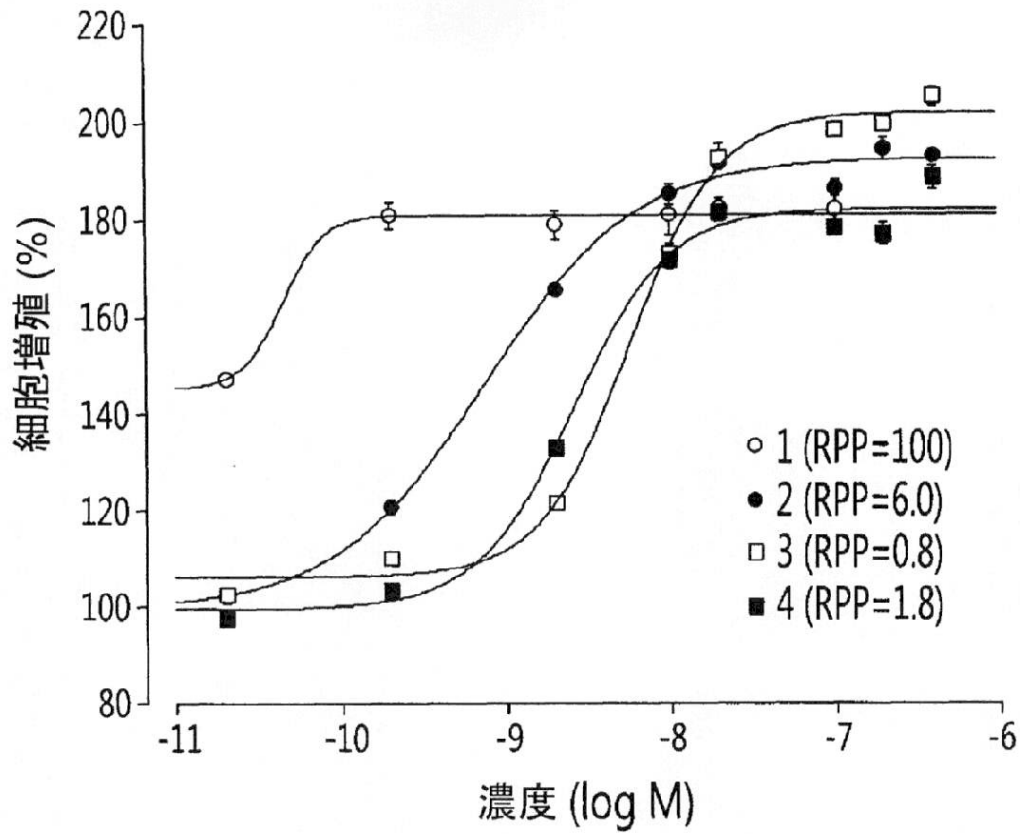


図 15A

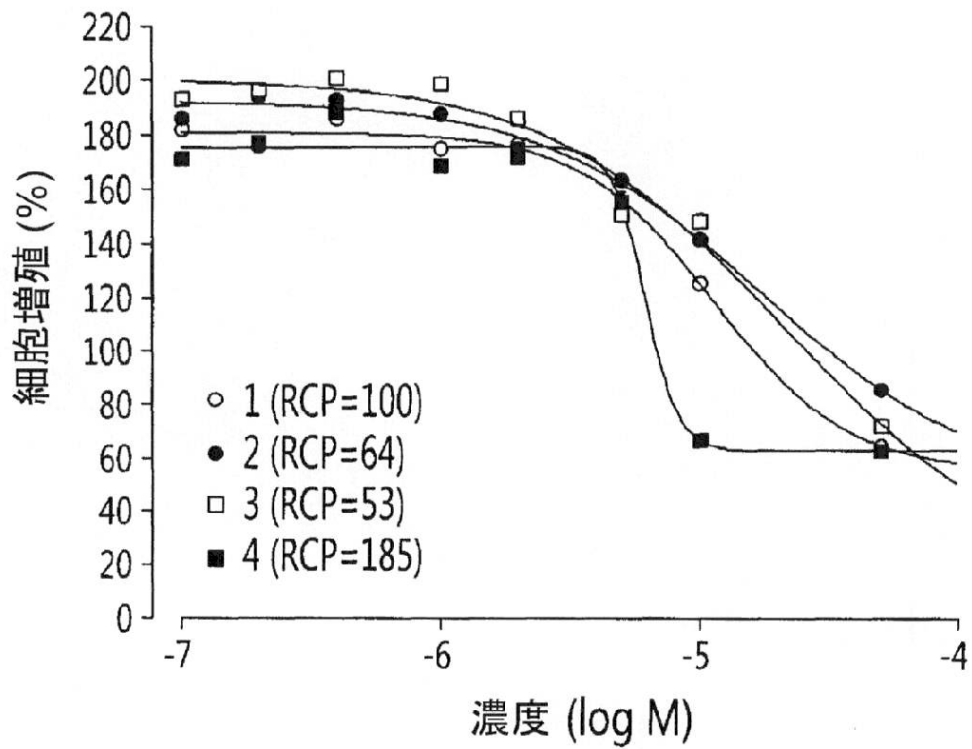


図 15B

【図 16】

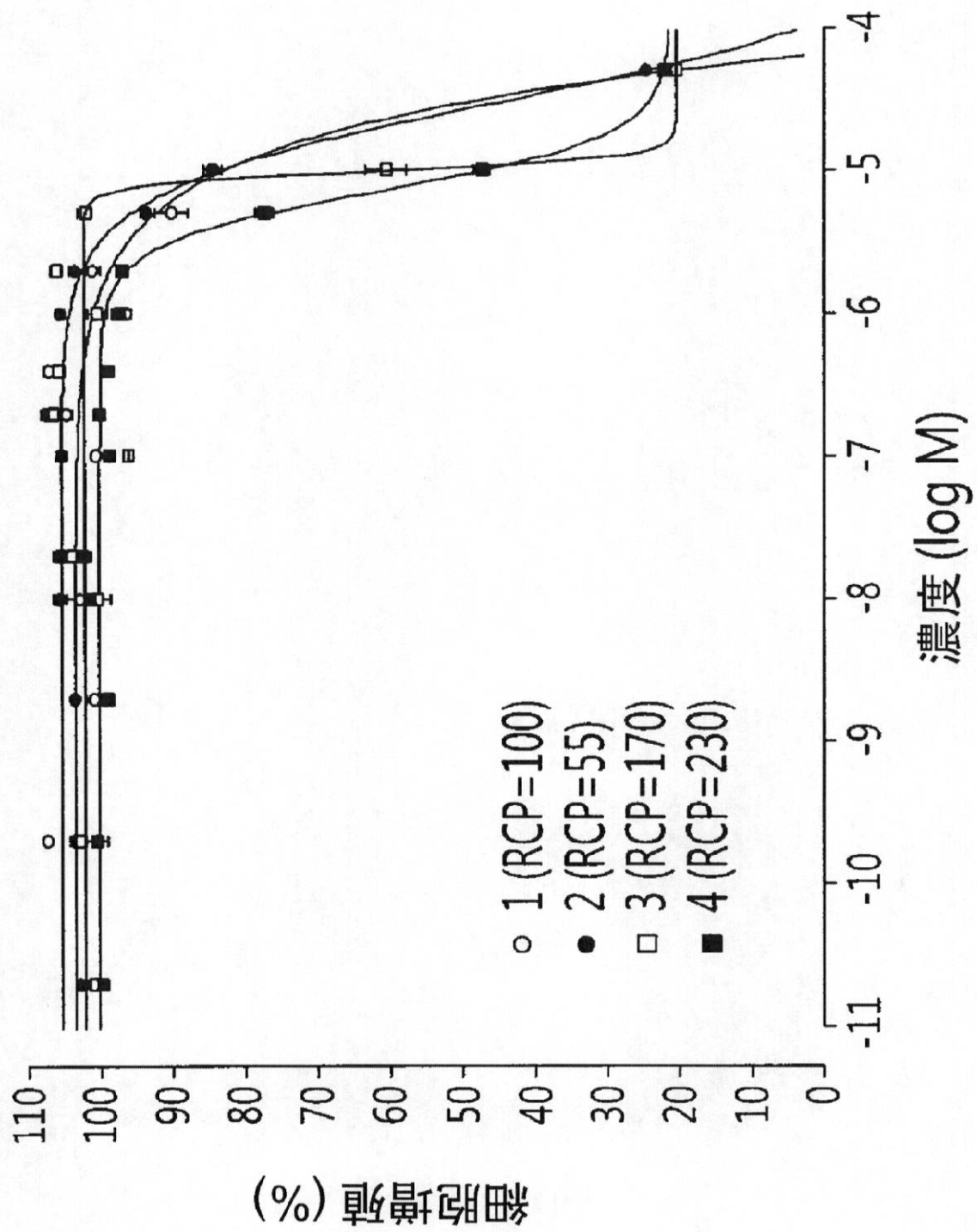


図 16

【図 17】

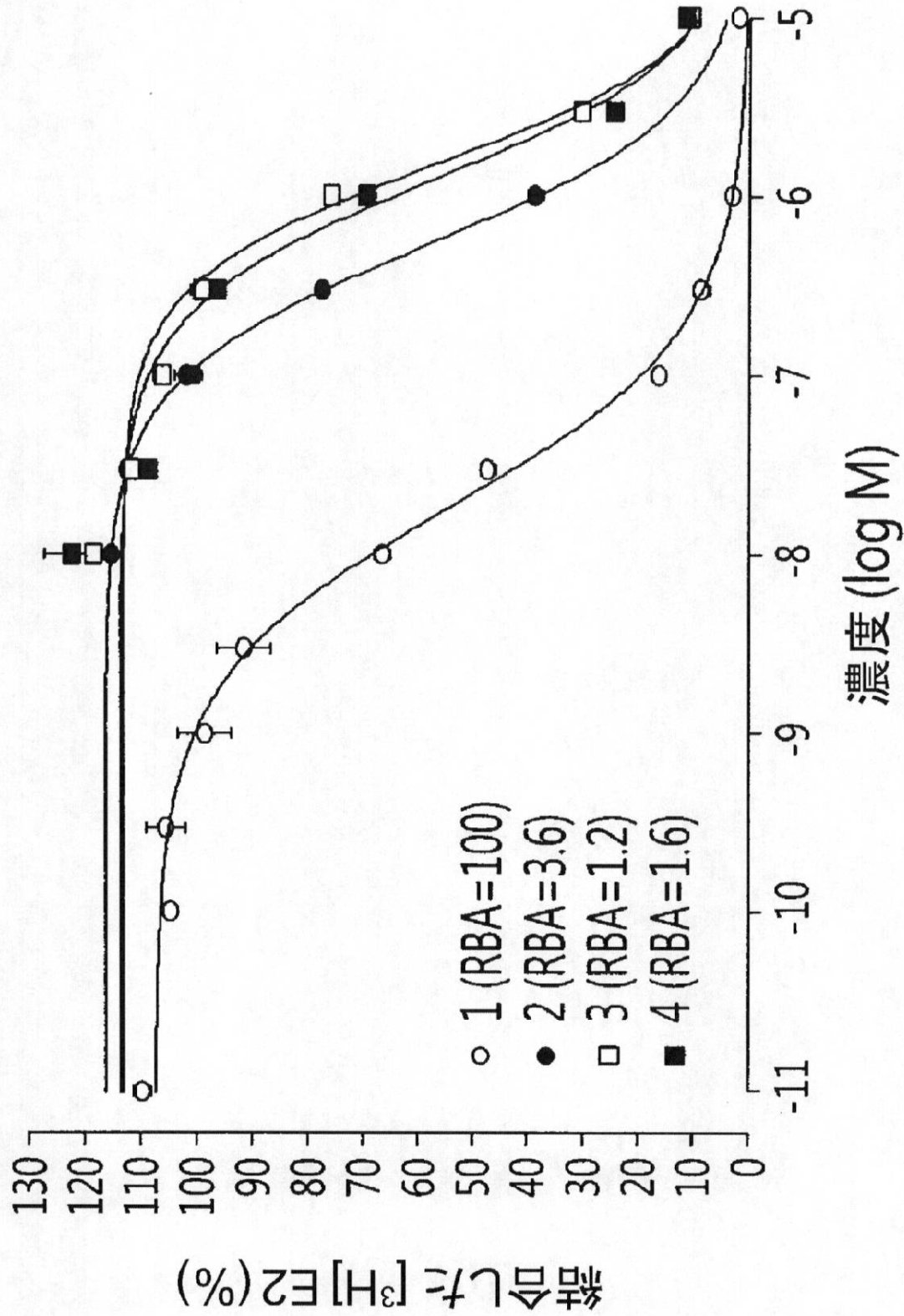


図 17

【図 18】

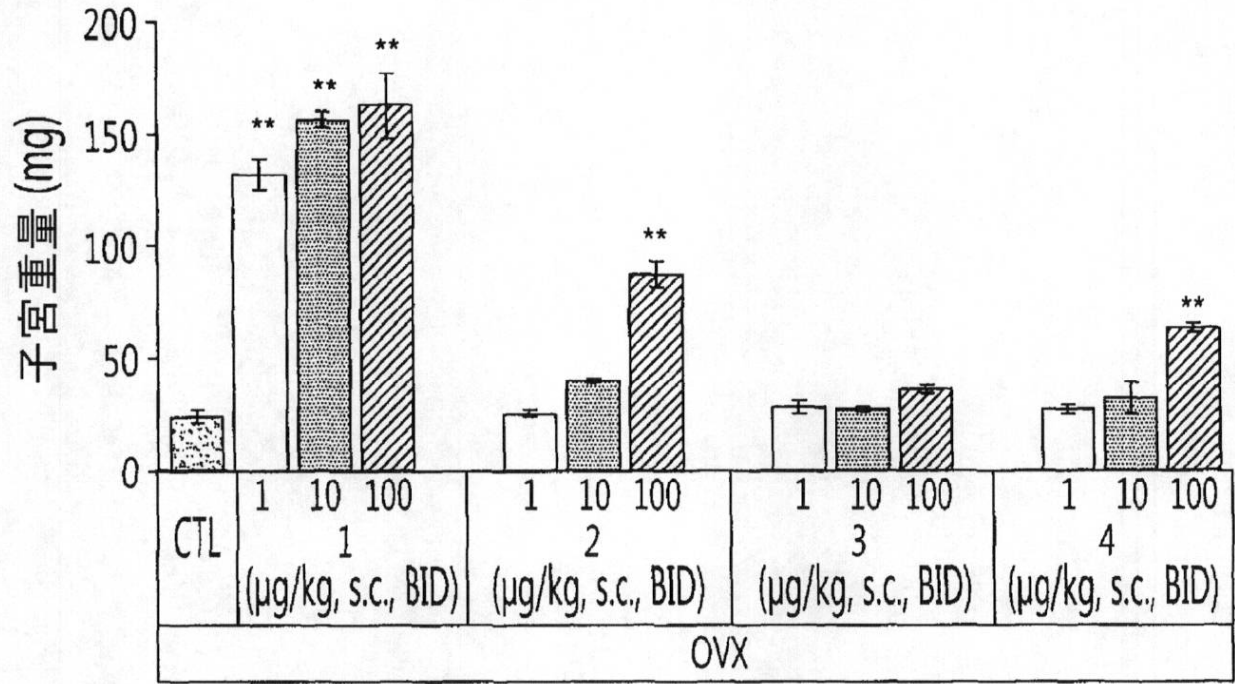


図 18A

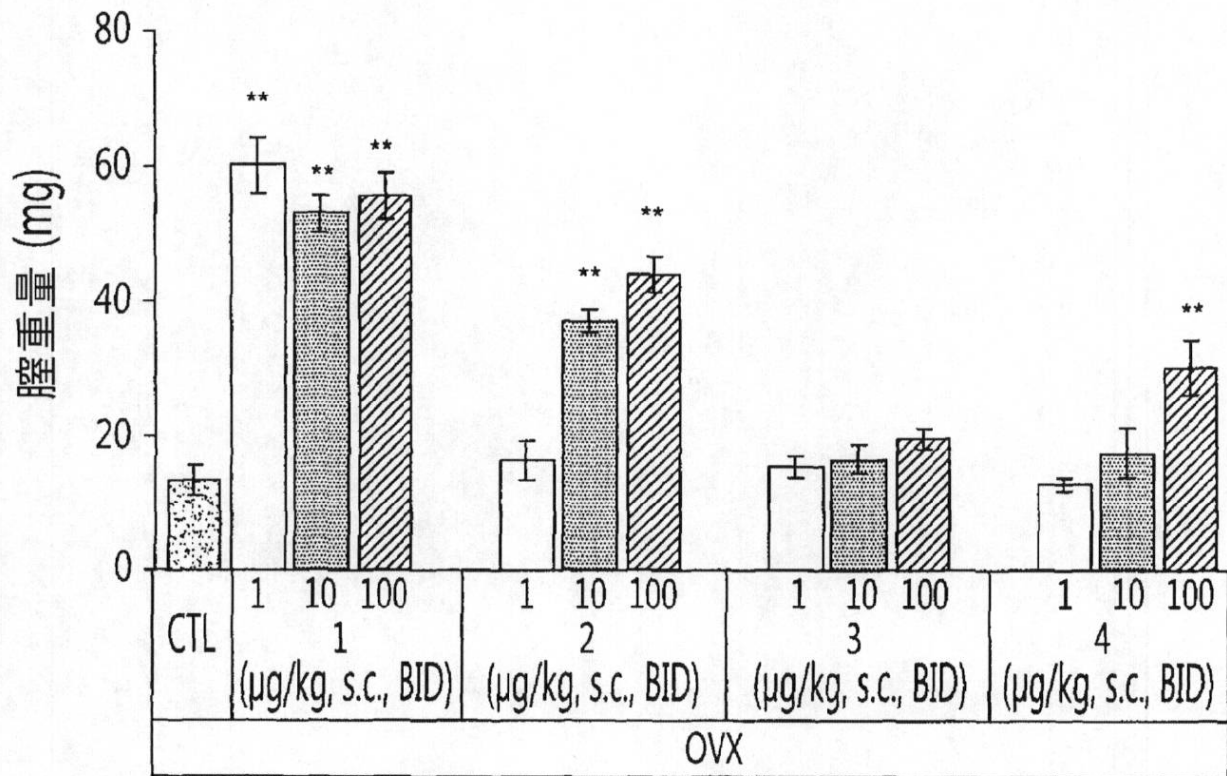


図 18B

【図 20】

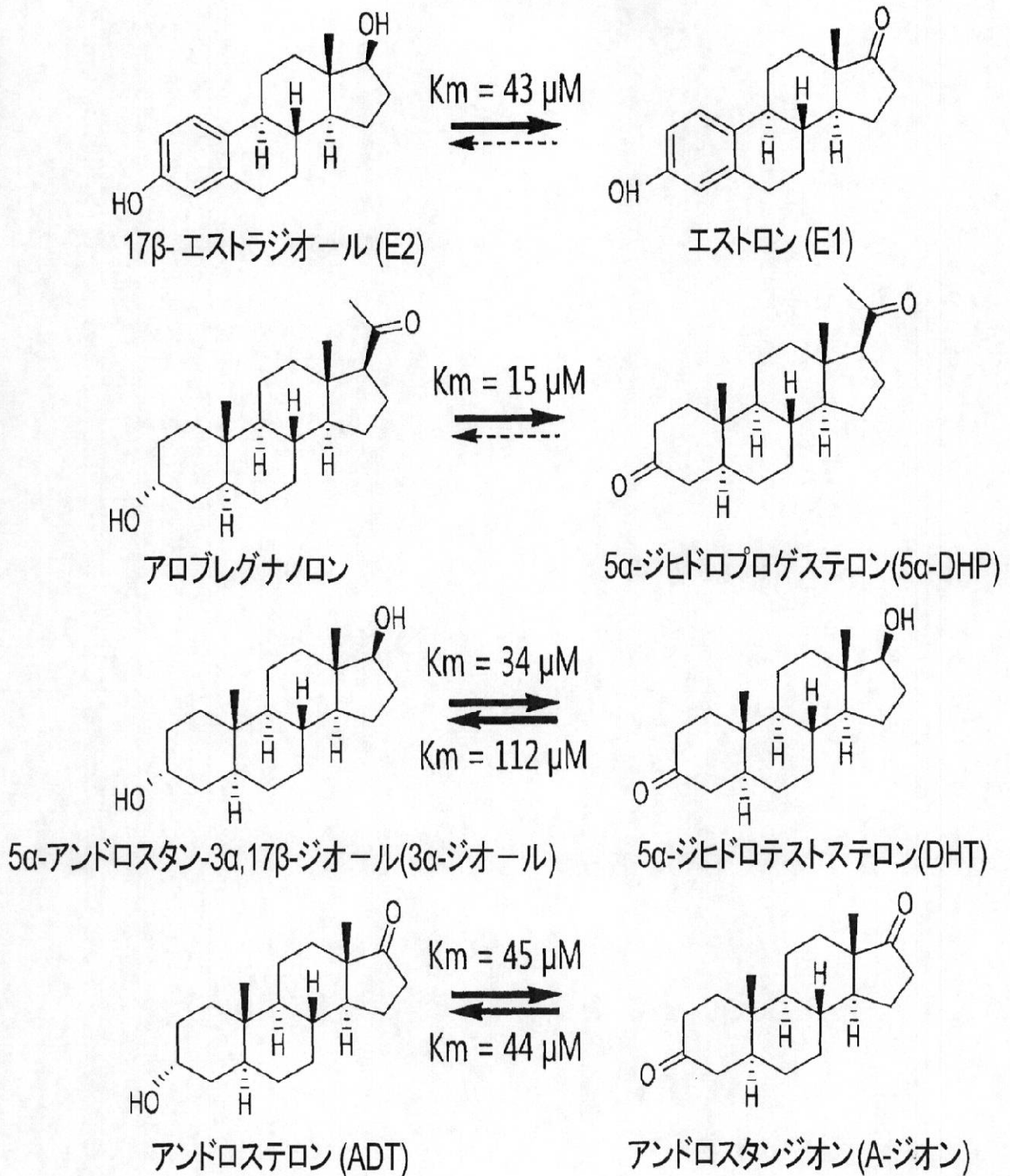


図 20

【図 21】

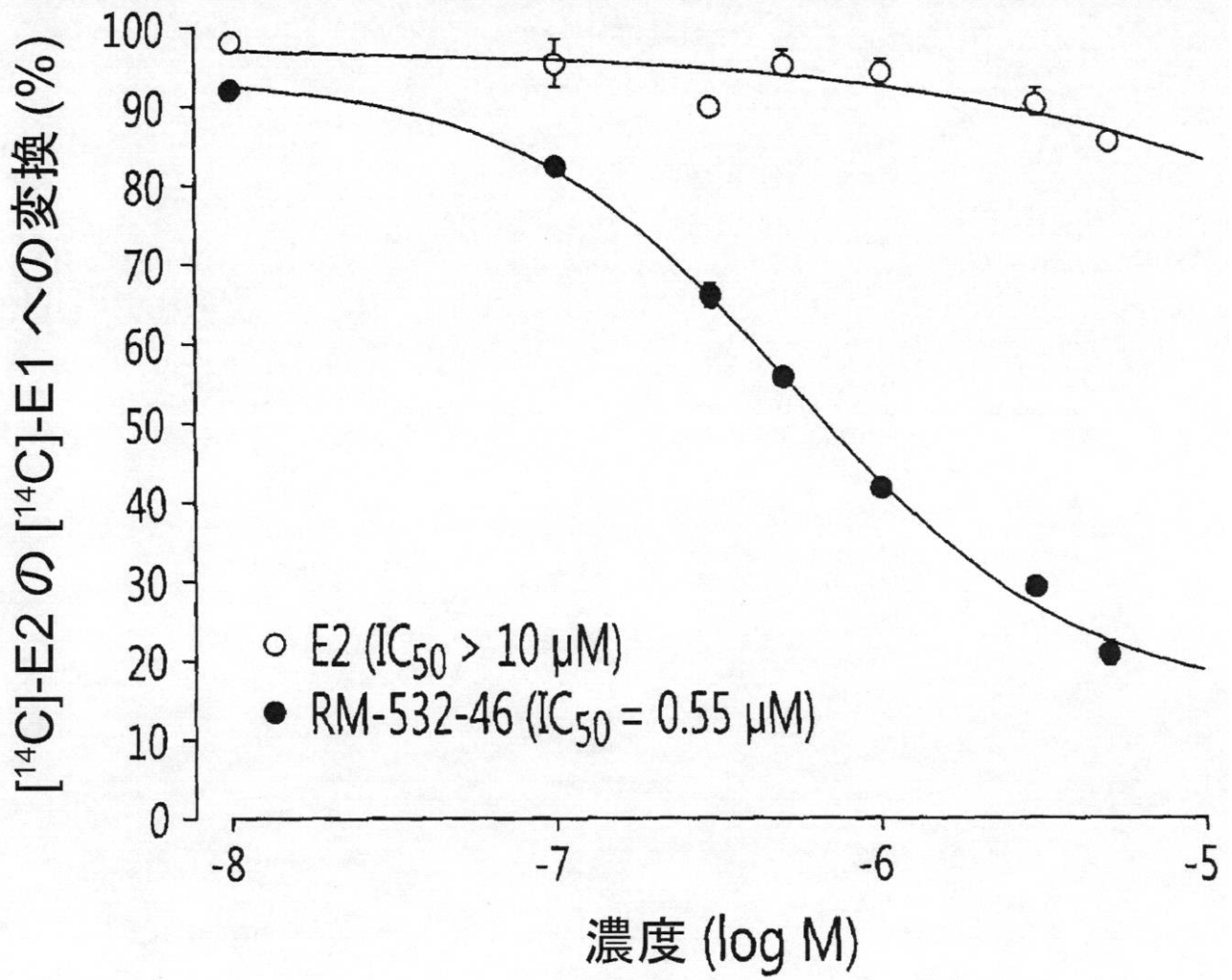


図 21

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/CA2012/000316		
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC: <i>C07J 1/00</i> (2006.01), <i>A61K 31/565</i> (2006.01), <i>A61K 31/566</i> (2006.01), <i>A61K 31/58</i> (2006.01), <i>A61K 31/675</i> (2006.01), <i>A61K 31/69</i> (2006.01), <i>A61K 51/04</i> (2006.01), <i>A61P 35/00</i> (2006.01), <i>C12N 9/04</i> (2006.01) According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC				
B. FIELDS SEARCHED				
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) <i>C07J 1/00</i> (2006.01), <i>A61K 31/565</i> (2006.01), <i>A61K 31/566</i> (2006.01), <i>A61K 31/58</i> (2006.01), <i>A61K 31/675</i> (2006.01), <i>A61K 31/69</i> (2006.01), <i>A61K 51/04</i> (2006.01), <i>A61P 35/00</i> (2006.01), <i>C12N 9/04</i> (2006.01)				
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched C07J, A61K				
Electronic database(s) consulted during the international search (name of database(s) and, where practicable, search terms used) STN, PubMed, Canadian Patent Database: structure, dehydrogenase, hsd1				
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT				
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant	Relevant to claim No.		
P, X	MALTAIS, et al., "Crucial Role of 3-Bromoethyl in Removing the Estrogenic Activity of 17 β -HSD1 Inhibitor 16 β -(<i>m</i> -Carbamoylbenzyl)estradiol", <i>ACS Med. Chem. Lett.</i> , 2011 , 2, p678-681. – see compounds in Table 1	1-5, 18-26, 35-44		
X	MAZUMDAR, et al., "Binary and ternary crystal structure analyses of a novel inhibitor with 17 β -HSD type 1: a lead compound for breast cancer therapy", <i>Biochem J.</i> , 2009 , 424, p357-366. – see whole article, especially figure 1A	1-5, 18-26, 35-44		
X	CADOT, et al., "Estradiol and estrone C-16 derivatives as inhibitors of type 1 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase: Blocking of ER+ breast cancer cell proliferation induced by estrone", <i>Bioorg. Med. Chem.</i> , 2008 , 16, p1849-1860. – see whole article, especially Table 1, compound 4m on page 1852.	1-5, 18-26, 35-44		
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box <input type="checkbox"/> See patent family annex.				
<table border="0"> <tr> <td style="vertical-align: top;"> * Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "B" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed </td> <td style="vertical-align: top;"> "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family </td> </tr> </table>			* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "B" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "B" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family			
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report		
23 May 2012 (23-05-2012)		17 July 2012 (17-07-2012)		
Name and mailing address of the ISA/CA Canadian Intellectual Property Office Place du Portage I, C114 - 1st Floor, Box PCT 50 Victoria Street Gatineau, Quebec K1A 0C9 Facsimile No.: 001-819-953-2476		Authorized officer Karol Gajewski (819) 934-6734		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CA2012/000316

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	BÉRUBÉ, et al., "Preparation of 16 β -Estradiol Derivative Libraries as Bisubstrate Inhibitors of 17 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 1 Using the Multidetachable Sulfamate Linker", <i>Molecules</i> , 2010 , <i>15</i> , p1590-1631. – see compounds 2a, 2b	1-5, 18-26, 35-44
X	FARHANE, et al., "Chemical Synthesis, Characterization and Biological Evaluation of Furanic-Estradiol Derivatives as Inhibitors of 17 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 1", <i>Med. Chem.</i> , 2011 , <i>7</i> (2), p80-91. – see whole article	1, 18-26, 35-44

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No. PCT/CA2012/000316
--

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of the first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons :

1. ☒ Claim Nos. : 18-44
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely :

Claims 18-44 is directed to a method for treatment of the human or animal body by surgery or therapy which the International Search Authority is not required to search. However, this Authority has carried out a search based on the alleged effect or purpose/use of the product defined in claim 1.
2. ☐ Claim Nos. :
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically :
3. ☐ Claim Nos. :
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows :

see extra sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claim Nos. :
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claim Nos. :
1-5, 18-26, 35-44 all in part, 45-47 in full
Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No. PCT/CA2012/000316
--

The examiner considers that the application contains 16 inventions, broken down thus:

Group A: (claims 1-5, 18-26, 35-44 all in part, 45-47 in full) is aimed at 17 β -HSD1 inhibitors, their use in the treatment of cancer and radiolabelled compound for the aforementioned use;

Group B: (claims 1-5, 27-29, 34-37, 43, 44 all in part) is aimed at 17 β -HSD1 inhibitors and their use in the treatment of endometriosis;

Group C: (claims 1-5, 30, 31, 34-37, 43, 44 all in part) is aimed at 17 β -HSD1 inhibitors and their use in the treatment of prostatic hyperplasia;

Group D: (claims 1-5, 32-37, 43, 44 all in part) is aimed at 17 β -HSD1 inhibitors and their use in the treatment of Alzheimer's Disease;

Group E: (claims 6-13, 18-26, 35-44 all in part) is aimed at 17 β -HSD3 inhibitors and their use in the treatment of cancer;

Group F: (claims 6-13, 27-29, 34-37, 43, 44 all in part) is aimed at 17 β -HSD3 inhibitors and their use in the treatment of endometriosis;

Group G: (claims 6-13, 30, 31, 34-37, 43, 44 all in part) is aimed at 17 β -HSD3 inhibitors and their use in the treatment of prostatic hyperplasia;

Group H: (claims 6-13, 32-37, 43, 44 all in part) is aimed at 17 β -HSD3 inhibitors and their use in the treatment of Alzheimer's Disease;

Group I: (claims 14, 15, 18-26, 35-44 all in part) is aimed at a combination of 17 β -HSD1/17 β -HSD3 inhibitors and their use in the treatment of cancer;

Group J: (claims 14, 15, 27-29, 34-37, 43, 44 all in part) is aimed at a combination of 17 β -HSD1/17 β -HSD3 inhibitors and their use in the treatment of endometriosis;

Group K: (claims 14, 15, 30, 31, 34-37, 43, 44 all in part) is aimed at a combination of 17 β -HSD1/17 β -HSD3 inhibitors and their use in the treatment of prostatic hyperplasia;

Group L: (claims 14, 15, 32-37, 43, 44 all in part) is aimed at a combination of 17 β -HSD1/17 β -HSD3 inhibitors and their use in the treatment of Alzheimer's Disease;

Group M: (claims 16-26, 35-44 all in part) is aimed at 17 β -HSD10 inhibitors and their use in the treatment of cancer;

Group N: (claims 16, 17, 27-29, 34-37, 43, 44 all in part) is aimed at 17 β -HSD10 inhibitors and their use in the treatment of endometriosis;

Group O: (claims 16, 17, 30, 31, 34-37, 43, 44 all in part) is aimed at 17 β -HSD10 inhibitors and their use in the treatment of prostatic hyperplasia; and

Group P: (claims 16, 17, 32-37, 43, 44 all in part) is aimed at 17 β -HSD10 inhibitors and their use in the treatment of Alzheimer's Disease.

The present invention is aimed at the identification of certain properties of steroid dehydrogenase inhibitors, particularly for the treatment of cancer as well as other afflictions (i.e. endometriosis, prostatic hyperplasia or Alzheimer's disease).

However, 17 β -hydroxy dehydrogenase enzymes have been known since at least the 1970's (via MeSH) and the description (paragraphs 0002, 0006 and 0007) specifically disclose prior art that describes that HSD inhibitors are known to treat cancers can endometriosis (from reference 3 and 4).

Also, the prior art has already disclosed the use of 17 β -HSD1 inhibitors in the treatment of cancer and endometriosis, which are two different afflictions. Thus, any new affliction being treated is itself a new invention. Consequently, the present claims may be considered to contain 16 inventions: each of the four combinations of 17 β -HSD inhibitors for each of the four afflictions claimed.

Thus, the claims lack unity a priori.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 31/566 (2006.01)		A 6 1 K 31/566	
C 0 7 J 43/00 (2006.01)		C 0 7 J 43/00	
A 6 1 K 31/58 (2006.01)		A 6 1 K 31/58	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)		A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 15/00 (2006.01)		A 6 1 P 15/00	
A 6 1 P 13/08 (2006.01)		A 6 1 P 13/08	
A 6 1 P 25/28 (2006.01)		A 6 1 P 25/28	
A 6 1 P 35/04 (2006.01)		A 6 1 P 35/04	
A 6 1 K 51/00 (2006.01)		A 6 1 K 49/02	C

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KM,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN

(74)代理人 100110364

弁理士 実広 信哉

(72)発明者 ドナルド・ボワリエ

カナダ・G 2 E・5 V 1・ケベック・ランシエンヌ・ロレット・デ・カサンドル・1 5 8 8

(72)発明者 ルネ・マルテ

カナダ・G 2 N・1 T 1・ケベック・ケベック・アヴニユ・ドゥ・ラ・リヴィエール・ジョンヌ・1 8 8 5

(72)発明者 ジュニー・ロイ

カナダ・G 6 Z・3 R 6・ケベック・サン・ジャン・クリソストム・ドゥ・セフェ・1 1 1 8

F ターム(参考) 4C085 HH03 KB18 KB19 KB65 LL18

4C086 AA01 AA02 AA03 DA09 DA10 DA12 MA01 MA04 MA55 MA65

MA66 NA14 ZA16 ZA81 ZB26 ZC20

4C091 AA01 BB03 BB04 BB07 CC01 DD01 EE03 EE04 EE10 FF01

GG01 HH01 JJ03 KK01 LL01 MM03 NN05 PA02 PA03 PA09

PA13 PB02 QQ02 QQ09 RR08 SS07