(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号
特許第3710470号
(P3710470)
(45)発行日　平成17年10月26日(2005.10.26)　(24)登録日　平成17年8月19日(2005.8.19)

(51)Int.Cl.[7]	F I
C07J 5/00	C07J 5/00
A61K 31/57	A61K 31/57
A61K 31/575	A61K 31/575
A61P 25/18	A61P 25/18
A61P 25/20	A61P 25/20

請求項の数 7　(全 43 頁)　最終頁に続く

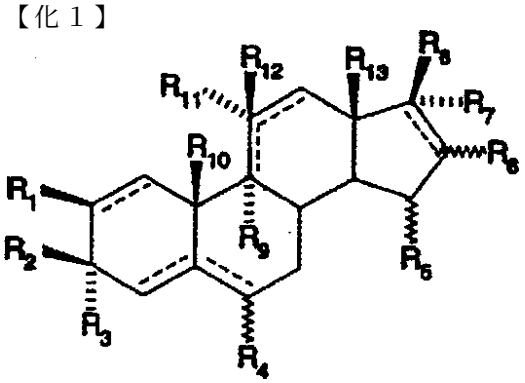
(21)出願番号	特願平5-504385
(86)(22)出願日	平成4年8月10日(1992.8.10)
(65)公表番号	特表平6-501962
(43)公表日	平成6年3月3日(1994.3.3)
(86)国際出願番号	PCT/US1992/006699
(87)国際公開番号	WO1993/003732
(87)国際公開日	平成5年3月4日(1993.3.4)
審査請求日	平成11年8月3日(1999.8.3)
審判番号	不服2003-15573(P2003-15573/J1)
審判請求日	平成15年8月11日(2003.8.11)
(31)優先権主張番号	745,216
(32)優先日	平成3年8月13日(1991.8.13)
(33)優先権主張国	米国(US)

(73)特許権者　500361375
ユーロ－セルティック　エス.　ア.
ルクセンブルグ国　エル－２３３０　ルクセンブルグ,　ブールバード　ドゥ　ラペトリュス　１２２
(74)代理人　100062144
弁理士　青山　葆
(74)代理人　100068526
弁理士　田村　恭生
(72)発明者　ボルガー、マイケル・ブルース
アメリカ合衆国９０７２０カリフォルニア州、ロス・アラミトス、ローウェナ・ドライブ３４１１番

最終頁に続く

(54)【発明の名称】アンドロスタン及びプレグナン系列の構成要素によるＧＡＢＡ受容体のアロステリック修飾のための方法、組成物及び化合物

(57)【特許請求の範囲】
【請求項１】
式
【化１】



［式中、
R_1、R_4、R_5、R_6、R_7、R_9、R_{11}およびR_{12}はそれぞれ水素；
R_2はC_{1-4}アルキル；
R_3はヒドロキシ；
R_8は－ＣＯ－R_{14}、－ＣＨ（ＯＨ）－R_{14}、－ＣＣＨ$_3$（ＯＨ）－ＣＨ$_3$または－ＣＯ－ＣＨ$_2$ＯＨ（式中、R_{14}はC_{1-6}アルキルである。）；
R_{10}は水素またはメチル；

R_{13}はメチル；
点線の箇所は一重結合を示す。］
で表わされる化合物およびその医薬的に許容されるエステル（ただし、エステルはアセテート、メシレート、サクシネート、プロピオネートおよびヘミサクシネートから選択されたものである。）から選択されるステロイド化合物を有効成分とする、ストレス、不安または発作活動を緩和するための薬剤。
【請求項２】
R_8が－ＣＯ－R_{14}または－ＣＨ（ＯＨ）－R_{14}（式中、R_{14}はC_{1-6}アルキルである。）である、請求項１記載の薬剤。
【請求項３】
ストレスまたは不安を緩和するために使用される、請求項１または２記載の薬剤。
【請求項４】
発作活動を緩和するために使用される、請求項１または２記載の薬剤。
【請求項５】
有効成分の単位投与量が約５～５００ｍｇである、請求項１～４のいずれか記載の薬剤。
【請求項６】
３α,２０－ジヒドロキシ－３β,２０－ジメチル－５α－プレグナンまたはその医薬的に許容されるエステル（ただし、エステルはアセテート、メシレート、サクシネート、プロピオネートおよびヘミサクシネートから選択されたものである。）を有効成分とする、ストレス、不安または発作活動を緩和するための薬剤。
【請求項７】
３α－ヒドロキシ－３β－メチル－５α－プレグナン－２０－オンまたはその医薬的に許容されるエステル（ただし、エステルはアセテート、メシレート、サクシネート、プロピオネートおよびヘミサクシネートから選択されたものである。）を有効成分とする、ストレス、不安または発作活動を緩和するための薬剤。
【発明の詳細な説明】
［発明の背景］
この発明はγ－アミノ酪酸（ＧＡＢＡ）受容体－クロリド・イオノホア複合体（ＧＲ複合体）を介する動物の脳の興奮性を修飾する方法、組成物、および化合物に関する。
脳の興奮性は昏睡状態から痙攣に至る連続する動物の覚醒水準として定義され、さまざまな神経伝達物質によって調節される。一般に神経伝達物質は、ニューロン膜を横断するイオンのコンダクタンスを調節する役割を担う。安静時では、ニューロン膜は約－８０ｍＶのポテンシャル（即ち、膜電圧）を有し、細胞内側は細胞外側に対して負である。この電位（電圧）はニューロン半透膜を横断するイオン（K^+、Na^+、Cl^-、有機アニオン）平衡の結果である。神経伝達物質はシナプス前小胞に貯蔵され、ニューロン性活動電位の影響下に放出される。シナプス間隙へ放出されると、アセチルコリンのような興奮性の化学伝達物質は膜の脱分極（－８０ｍＶから－５０ｍＶへの電位の変化）を起す。この効果は、Na^+イオンへの膜透過性を増大するアセチルコリンによって刺激されるシナプス後のニコチン性受容体により仲介される。低下した膜電位はシナプス後の活動電位の形でニューロンの興奮性を刺激する。
ＧＲ複合体の場合、脳の興奮性に対する効果は神経伝達物質であるＧＡＢＡによって仲介される。脳内ニューロンの４０％までがＧＡＢＡを神経伝達物質として利用するから、ＧＡＢＡは脳全体の興奮性に対して著しい影響をもつ。ＧＡＢＡはニューロン膜を横断するクロリドイオンのコンダクタンスを調節することによって、個々のニューロンの興奮性を調節する。ＧＡＢＡはＧＲ複合体上にあるＧＡＢＡの認識部位と相互作用し、ＧＲ複合体の電気化学的勾配を細胞の方へ流れるクロリドイオンの流れを促進する。このアニオン濃度の細胞内増加はトランスメンブラン電位の過分極をもたらし、興奮入力に対するニューロンの感受性を低下する（即ち、ニューロンの興奮性が低下する）。換言すれば、クロリドイオン濃度が高ければ高いほど、脳の興奮性（覚醒水準）は低下する。
ＧＲ複合体は、不安、発作活性、および鎮静の仲介に関与することがよく知られている。

従ってＧＡＢＡおよびＧＡＢＡ様の作用をする薬物、もしくはＧＡＢＡの効果を増強する薬物［例えば治療的に有用なバルビツレート類、および「バリウム」のようなベンゾジアゼピン類（ＢＺ）］は、ＧＲ受容体複合体上の特異的な調節部位と相互作用することによってその治療上有用な効果を発揮する。
また一連のステロイド代謝産物はＧＲ受容体複合体と相互作用することにより脳の興奮性を変化させることが判明した［マジェフスカ、Ｍ.Ｄ.ら、「ステロイド・ホルモン・メタボライツ・アー・バルビツレート・ライク・モジュレーターズ・オブ・ザ・ＧＡＢＡ・レセプター」、サイエンス、２３２巻、１００４～１００７頁（１９８６年）、ハリソン、Ｎ.Ｌ.ら、「ストラクチャーーアクティビティー・リレーションシップス・フォア・ステロイド・インターラクション・ウイズ・ザ・ガンマ・アミノブチリック・アシッドーア・レセプター・コンプレックス」、ジャーナル・オブ・ファーマコロジー・アンド・エキスペリメンタル・セラピューティックス、２４１巻、３４６～３５３頁（１９８７年）］。作用の効力およびその部位に関する理解の不完全性のため、この発明以前は、これらのステロイド代謝産物の治療的な有用性はこの分野の研究者によって認められなかった。出願人らの発明の一部は、ある種のステロイド化合物の効力および部位に関する一層発達した理解から得られた知識を製薬上に適用することに関する。
卵巣ホルモンであるプロゲステロンおびその代謝産物は脳の興奮性に対して著しい効果を有することが証明された［バックストローム、Ｔ.ら、「オバリアン・ステロイド・ホルモンズ：エフェクツ・オン・ムード・ビヘービア・アンド・ブレイン・エキサイタビリティー」、アクタ・オブステトリカ・エ・ギネコロジカ・スカンジナビカ、増刊、１３０巻、１９～２４頁（１９８５年）、プファフ、Ｄ.Ｗ.およびマッキウエン、Ｂ.Ｓ.、「アクションズ・オブ・エストロジェンズ・アンド・プロジェスティンズ・オン・ナーブ・セルズ」、サイエンス、２１９巻、８０８～８１４頁（１９８３年）、ジアメックら、「ストラクチャー・アクティビティー・リレーションシップ・オブ・サム・ステロイダル・ヒプノティック・エージェンツ」、ジャーナル・オブ・メジシナル・ケミストリー、１１巻、１１７頁（１９６８年）、ランバート、Ｊ.ら、「アクションズ・オブ・シナプティック・アンド・エンドジーナス・ステロイズ・オン・ザ・ＧＡＢＡ$_A$・レセプター」、トレンズ・イン・ファーマコロジー、８巻、２２４～２２７頁（１９８７年）］。プロゲステロンおよびその代謝産物の値は月経周期の時期にともなって変化する。プロゲステロン類およびその代謝産物は月経開始前に減少することはよく証明されている。月経開始に先立って毎月繰り返されるある種の身体的症状もよく証明されている。月経前症候群（ＰＭＳ）に伴って起るこれらの症状はストレス、不安、および偏頭痛等である［ダルトン、Ｋ.、「プレメンストルアル・シンドローム・アンド・プロジェステロン・セラピー」、第２版（シカゴ）、シカゴ・イヤーブック（１９８４年）］。ＰＭＳの患者は、月経前に現れ月経後になくなる症状を毎月繰り返す。
これと類似の形で、プロゲステロンの低下は女性てんかん患者における発作回数の増加と時間的に相関する（即ち月経てんかん）［レイドロー、Ｊ.、「カタメニアル・エピレプシー」、ランセット、１２３５～１２３７頁（１９５６年）］。プロゲステロン代謝産物の低下との間で一層直接的な相関が観察された［ロシツェフスカら、「オバリアン・ホルモンズ・アンチコンバルサント・ドラッグズ・アンド・シージャーズ・デュアリング・ザ・メンストルアル・サイクル・イン・ウイミン・ウイズ・エピレプシー」、ジャーナル・オブ・ニューロロジー・ニューロサージャリー・アンド・サイキアトリー、４９巻、４７～５１頁（１９８６年）］。また原発全汎小発作てんかん患者で、発作の時間的発生頻度は月経前症候群の症状の発生頻度と相関した［バックストローム、Ｔ.ら、「エンドクリノロジカル・アスペクツ・オブ・サイクリカル・ムード・チェンジズ・デュアリング・ザ・メンストルアル・サイクル・オア・ザ・プレメンストルアル・シンドローム」、ジャーナル・オブ・サイコソマティック・オブステトリックス・アンド・ジャイネコロジー、２巻、８～２０頁（１９８３年）］。ステロイドであるデスオキシコルチコステロンは月経周期と相関したてんかん発作をもつ患者を処置するのに有効であることが判明した［エアド、Ｒ.Ｂ.およびゴーダン、Ｇ.、「アンチコンバルシブ・プロパティーズ・オブ・デス

オキシコーチコステロン」、ジャーナル・オブ・ジ・アメリカン・メジカル・ソサエティー、１４５巻、７１５～７１９頁（１９５１年）］。
また低いプロゲステロン濃度と関連ある症候群は出産後の抑うつ（ＰＮＤ）である。出産直後のプロゲステロン濃度の減少は劇的にＰＮＤの発症をもたらす。ＰＮＤの症状は軽度の抑うつから入院加療を必要とする精神病に至る範囲にわたる。ＰＮＤは重篤な不安・過敏を伴う。ＰＮＤに伴う抑うつは、古典的な抗うつ剤による処置にあまり反応せず、ＰＮＤを経験した婦人はＰＭＳの発生頻度の増加を示す［ダルトン、Ｋ．（１９８４年）、前掲］。
以上を総括すると、これらの知見は脳の興奮のホメオスタティックな調節におけるプロゲステロンおよびその代謝産物のきわめて重大な役割を示唆しており、この興奮性は月経てんかん、ＰＭＳ、およびＰＮＤに随伴する発作活性および症状の増大として現れる。プロゲステロンの濃度低下とＰＭＳ、ＰＮＤ、および月経てんかんに随伴する症状との相関関係［バックストロームら（１９８３年）、前掲、ダルトン、Ｋ．（１９８４年）、前掲］は、これらの疾患の処置にプロゲステロンの使用を促した［マトソンら、「メドロキシプロジェステロン・セラピー・オブ・カタメニアル・エピレプシー」、アドバンシズ・イン・エピレプトロジー：第ＸＶ回エピレプシー・インターナショナル・シンポジウム、レーブン・プレス社（ニューヨーク）、２７９～２８２頁（１９８４年）、およびダルトン、Ｋ．（１９８４年）前掲］。然しながらプロゲステロンは上記の症候群の処置に必ずしも常に有効とは限らない。例えばＰＭＳの処置ではプロゲステロンの用量－反応関係は存在しない［マドックスら、「ア・ダブル・ブラインド・プラシーボ・コントロールド・トライアル・オブ・プロジェステロン・バギナル・サポジトリーズ・イン・ザ・トリートメント・オブ・プレメンストルアル・シンドローム」、オブステトリックス・アンド・ジャイネコロジー、１５４巻、５７３～５８１頁（１９８６年）、デナースタインら、ブリティッシュ・メジカル・ジャーナル、２９０巻、１６～１７頁（１９８６年）］。
本明細書で上記および以下に挙げた出版物および文献類は、参考文献として本明細書に包含させた。
【図面の簡単な説明】
当業者であれば添付した図面を参照することによって、この発明を一層よく理解し、その利点を評価し得よう。
図１Ａおよび１Ｂは［^{35}Ｓ］第３級ブチルビシクロホスホロチオナートのラット脳細胞膜への結合％を（＋）ビククリンの種々の濃度におけるアルファキサロン（アルファキサロンとも呼ぶ）の対数濃度でプロットしたグラフである。
図２Ａおよび２Ｂは［^{35}Ｓ］第３級ブチルビシクロホスホロチオナートのラット脳細胞膜への結合％をインキュベーション時間でプロットしたグラフである。
図３はラット海馬ホモジネートで、［^{3}Ｈ］－フルニトラゼパム結合の３α－ヒドロキシ－５α－プレグナン－２０－オン（３α－ＯＨ－ＤＨＰ）による修飾に対するペントバルビタール１回投与の効果を示したグラフである。
図４はＧＡＢＡ刺激した^{36}Ｃｌ取り込みの５α－プレグナン－３α，２０α－ジオールによる増強に対する３α－ＯＨ－ＤＨＰの効果をプロットしたグラフである。
図５はこの発明に有用なステロイド化合物のさまざまな濃度による間代性筋痙攣惹起までの時間を示した棒グラフである。
図６は３α－ＯＨ－ＤＨＰの種々のプロドラッグおよび合成誘導体の抗痙攣活性の時間的経過をプロットしたグラフである。
図７は神経活性ステロイド・プロドラッグおよび直接作用する分子の経口による抗痙攣活性をプロットしたグラフである。
図８はラット子宮で［^{3}Ｈ］－Ｒ５０２０のプロゲステロン受容体への結合に対するプロゲステロン代謝産物およびプロモゲステロン（Ｒ５０２０）の効果を示したグラフである。
図９は３α－ＯＨ－ＤＨＰを種々の用量で投与後１０分以内に起る移行数のグラフである。

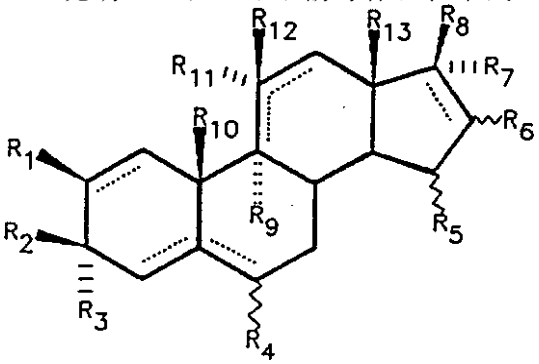
図１０は３α，２１－ジヒドロキシ－５α－プレグナン－２０－オン（５α－ＴＨＤＯＣ）を種々の用量で投与後１０分以内に起る移行数のグラフである。
図１１はジアゼパムを種々の用量で投与後１０分以内に起る移行数のグラフである。
図１２は担体（β－シクロデキストリン）、３β－ヒドロキシ－５α－プレグナン－２０－オン（３β－ＯＨ－ＤＨＰ）、および３α－ＯＨ－ＤＨＰを投与後１０分以内に起る移行数を比較したグラフである。
図１３は３α－ＯＨ－ＤＨＰ、およびジアゼパムによって起る移行数の増強、および実験薬ＣＧＳ－８２１６のその増強に対する効果を対比して示したグラフである。
図１４は３α－ＯＨ－ＤＨＰによって起された罰反応の増加％を、対照（クロルジアゼポキシド）によって起された増加と対比して示した図である。

［発明の要約］
この発明は脳の興奮性を修飾する方法、組成物、および化合物に関する。より詳細にはこの発明は、ＧＲ複合体上に新たに確認した部位で作用し、ＧＲ作用薬に反応し得るストレス、不安、不眠、情緒障害（抑うつのような）、および発作活性を緩和し得る態様で脳の興奮性を修飾する３α－ヒドロキシル化したステロイド誘導体の用途を提供する。そのような処置に有効な組成物および化合物は、この発明の範囲に包含される。
この発明に使用され、この発明の一部を構成する化合物は、ＧＡＢＡ受容体複合体に備わるクロリドイオン・チャンネルを調節する働きにより作動する中枢神経系の興奮性の修飾物質である。出願人らの実験から、この発明に使用され、この発明を構成する化合物は、ＢＺ類のような既知の抗不安剤の作用に類似した抗痙攣・抗不安作用を有するが、ＧＲ複合体上の異なった部位で作用することが明らかにされた。
生殖能（発情周期および妊娠）に関わる過程へのプロゲステロンの内在性代謝産物の関係は十分に確立されている［マーカー、Ｒ.Ｅ.、カム、Ｏ.、マックグルー、Ｒ.Ｖ.、「アイソレーション・オブ・エピープレグナノール－３－オン－２０・フロム・ヒューマン・プレグナンシー・ユーリン」、ジャーナル・オブ・ジ・アメリカン・ケミカル・ソサエティー、５９巻、６１６～６１８頁（１９３７年）］。然しながらこの発明以前には、プロゲステロン代謝産物の使用による脳の興奮性の修飾によって、障害を処置する方法は認められていなかった。従ってこの発明は、この発明の化合物を使用して脳の興奮性を修飾することにより、障害を処置する方法、組成物、および化合物を提供する。この発明で処置し得る代表的な障害は、ＧＲ作用薬に反応し得るてんかん、不安、月経前症候群（ＰＭＳ）、出産後の抑うつ（ＰＮＤ）、情緒障害（抑うつのような）、および不眠である。

［発明の詳細な説明］
この発明に含まれ、そして使用される化合物は、各種の３－ヒドロキシル化プレグナン－２０－オン類、３，２１－プレグナンジオール－２０－オン類、３，２０－プレグナンジオール類および３－ヒドロキシル化アンドロスタン類、およびそれらのエステル、エーテル、スルホナート、サルフェート、ホスホナート、ホスフェート、オキシムおよびチアゾリジン誘導体であって、これらの誘導体をプロドラッグという。「プロドラッグ」という表現は既知の直接作用する薬物の誘導体を表し、それらの誘導体が、もとの薬物と比べて増強された薬物送達特性および治療価値を有し、酵素的または化学的処理によって活性薬へ変形される誘導体であることを意味する［ノタリ、Ｒ.Ｅ.、「セオリー・アンド・プラクティス・オブ・プロドラッグ・キネティックス」、メソッズ・イン・エンジモロジー、１１２巻、３０９～３２３頁（１９８５年）；ボーダー、Ｎ.、「ノベル・アプローチズ・イン・プロドラッグ・デザイン」、ドラッグズ・オブ・ザ・ヒューチャー、６巻（３）、１６５～１８２頁（１９８１年）；バンドガード、Ｈ.、「デザイン・オブ・プロドラッグズ：バイオリバーシブル・デリバティブズ・フォア・ベアリアス・ファンクショナル・グループス・アンド・ケミカル・エンティティーズ」、デザイン・オブ・プロドラッグズ（Ｈ.バンドガード編）、エルセビル社（ニューヨーク）（１９８５年）参照］。この発明の一部を構成する合成誘導体のあるものは、上記の特徴に加えて固有の活性を有しているから、真のプロドラッグとはいい得ないことを付記すべきである。ただしこの出願の目的のため、それらをプロドラッグとよぶ。

発明者らの研究［ギー、Ｋ.Ｗ.ら、「ＧＡＢＡ・ディペンデント・モジュレーション・オブ・ザ・Ｃｌ・イオノホア・バイ・ステロイズ・イン・ラット・ブレイン」、ヨーロピアン・ジャーナル・オブ・ファーマコロジー、１３６巻、４１９～４２３頁（１９８７年）］によって、この発明に使用した３－ヒドロキシル化－５－還元－ステロイド類は、ＧＲ複合体の修飾物質としてこれまで報告された他のステロイド類［マジェフスカ、Ｍ.Ｄ.ら（１９８６年）（前掲）、およびハリソンＮ.Ｌ.ら（１９８７年）（前掲）］よりはるかに高い効力を有することが立証された。マジェフスカらおよびハリソンらは３－ヒドロキシル化－５－還元－ステロイド類がはるかに低水準の有効性でしかあり得ないことを報告した。発明者らのイン・ビボ実験成績で、これらのステロイド類の高度の効力はＧＲ複合体を介する脳の興奮性の修飾に治療的に有用であり得ることが証明された。この発明で有用な最も強力なステロイド類は、プロゲステロンおよびデオキシコルチコステロンの主な代謝産物を含んでいる。これらのステロイド類は、ＧＲ作用薬に反応し得るストレス、不安、不眠、情緒障害（抑うつのような）、および発作障害における脳の興奮性を修飾するのに治療的に好ましい態様で特異的に使用できる。さらに発明者らは、これらのステロイド類の場合、ストレス、不安、睡眠、情緒障害、および発作障害に対する治療的に好ましい効果［ギー、Ｋ.Ｗ.およびヤマムラ、Ｈ.Ｉ.、「ベンゾジアゼピンズ・アンド・バルビツレーツ：ドラッグズ・フォア・ザ・トリートメント・オブ・アングザイアティー・インソムニア・アンド・シージャー・ディスオーダーズ」、イン・セントラル・ナーバス・システム・ディスオーダーズ、１２３～１４７頁（Ｄ.Ｃ.ホーベル編、１９８５年）、ロイド、Ｋ.Ｇ.およびモーセリ、Ｐ.Ｌ.、「サイコファーマコロジー・オブ・ＧＡＢＡアージック・ドラッグズ」、サイコファーマコロジー：ザ・サード・ジェネレーション・オブ・プログレス、１８３～１９５頁、Ｈ.Ｙ.メルツァー編）、レーブン・プレス社（ニューヨーク）（１９８７年）］が、これまで誘発された他の既知の相互作用部位（即ち、バルビツレート、ＢＺ、およびＧＡＢＡの場合）とは異なったＧＲ複合体上の独自の部位で作用することを証明した。これらの化合物は、時効性、効力および経口活性（他の投与形態と併せて）の点で好ましいものである。

この発明のステロイド誘導体は、下式



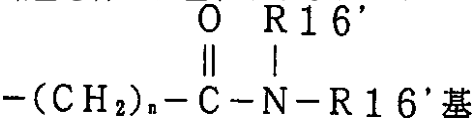
で示される構造式を有するものである。Ｒ３はヒドロキシル、チオ、またはプロドラッグをドラッグ形へ変換する際にエステルが切断される事実から、任意のエステルの何れかであり得る。これらを本明細書では切断可能なエステルとよぶ。

上記の式（Ｉ）の置換基の説明で、以下に挙げた各Ｒ１４は、ハロゲン化または非ハロゲン化$Ｃ_1$基、ハロゲン化または非ハロゲン化飽和または不飽和の直鎖$Ｃ_2$－$Ｃ_6$基、ハロゲン化または非ハロゲン化飽和または不飽和の分枝鎖$Ｃ_3$－$Ｃ_6$基、環式$Ｃ_3$－$Ｃ_6$基、芳香族$Ｃ_5$－$Ｃ_6$基、および酸素、窒素、硫黄からなる群から選ばれた１、２、または３個の複素原子を含んでいる４員、５員、または６員のＣ－またはＮ－結合した複素環基であって、ただし２個またはそれ以上の隣接したＯまたはＳ原子を有する複素環基を除いた群からそれぞれ独立して選ばれる。

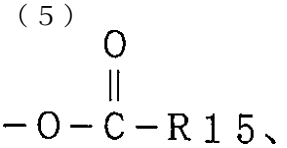
以下に挙げた各Ｒ１４'は、基Ｒ１４および水素からそれぞれ独立して選ばれる。

以下に挙げた各Ｒ１５は、ハロゲン化または非ハロゲン化$Ｃ_1$基、ハロゲン化または非ハロゲン化飽和または不飽和の直鎖$Ｃ_2$－$Ｃ_4$基、ハロゲン化または非ハロゲン化飽和または

不飽和の分枝鎖C_3－C_4基を含む群からそれぞれ独立して選ばれる。
以下に挙げた各Ｒ１５'は、基Ｒ１５および水素からそれぞれ独立して選ばれる。
以下に挙げた各Ｒ１６は、ハロゲン化または非ハロゲン化C_1基、ハロゲン化または非ハロゲン化飽和または不飽和の直鎖C_2－C_{20}基、ハロゲン化または非ハロゲン化飽和または不飽和の分枝鎖C_3－C_{20}基、脂環式C_3－C_{10}基、芳香族C_5－C_{10}基、および酸素、窒素、硫黄からなる群から選ばれた１、２、または３個の複素原子を含んでいる１またはそれ以上の飽和または不飽和環を有する４員、５員、６員、または７員のＣ－またはＮ－結合した複素環基であって、ただし２個またはそれ以上の隣接したＯまたはＳ原子を有する複素環基を除いた群からそれぞれ独立して選ばれる。
以下に挙げた各Ｒ１６'は、基Ｒ１６および水素からそれぞれ独立して選ばれる。
以下に挙げた各Ｒ１７は、ハロゲン化または非ハロゲン化C_1基、ハロゲン化または非ハロゲン化飽和または不飽和の直鎖C_2－C_{10}基、ハロゲン化または非ハロゲン化飽和または不飽和の分枝鎖C_3－C_{10}基、脂環式C_3－C_{10}基、芳香族C_5－C_{10}基、酸素、窒素、硫黄からなる群から選ばれた１、２、または３個の複素原子を含んでいる１またはそれ以上の飽和または不飽和環を有する４員、５員、６員、または７員のＣ－またはＮ－結合した複素環基であって、ただし２個またはそれ以上の隣接したＯまたはＳ原子を有する複素環基を除いた基、およびアミド

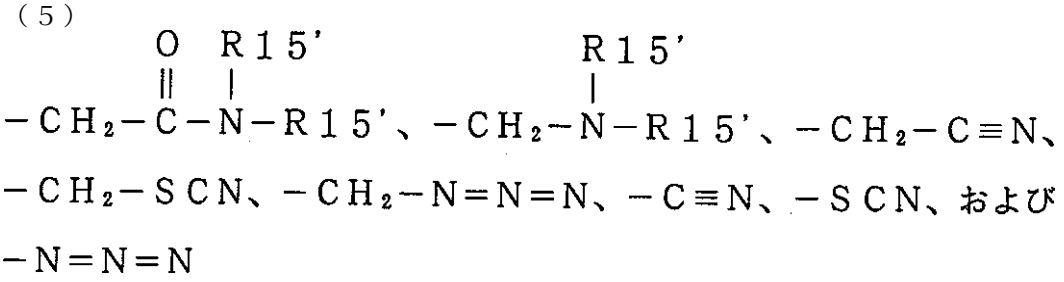


（式中、ｎは１～１０、Ｒ１６'は前記と同意義であって、各Ｒ１６'は独立して定める）からそれぞれ独立して選ばれる。
以下に挙げた各Ｒ１７'は、基Ｒ１７および水素からそれぞれ独立して選ばれる。
各Ａは、酢酸、プロピオン酸、直鎖形および異性体形の酪酸、吉草酸、ヘキサン酸、ヘプタン酸、オクタン酸、ノナン酸、デカン酸、ウンデカン酸およびドデカン酸、桂皮酸、ベンジル酸、安息香酸、マレイン酸、フマル酸、アスコルビン酸、ピメリン酸、コハク酸、ビスメチレン－サリチル酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、シュウ酸、酒石酸、サリチル酸、アセチルサリチル酸、クエン酸、グルコン酸、アスパラギン酸、ステアリン酸、パルミチン酸、イタコン酸、グリコール酸、ｐ－アミノ安息香酸、グルタミン酸、ベンゼンスルホン酸、シクロヘキシルスルファミン酸、γ－アミノ酪酸、α－（２－ヒドロキシエチルアミノ）－プロピオン酸、リン酸、ホスホン酸、硫酸、スルホン酸、グルクロン酸、および１－メチル－１，４－ジヒドロニコチン酸からなる群からそれぞれ独立して選ばれる。
各Ｘは、酸素、窒素、または硫黄からそれぞれ独立して選ばれる。
各Ｙは、２価性酸素結合または硫黄結合の何れかである。
これらの化合物で使用できる置換基の例を挙げれば、
R_1、R_4、R_5、およびR_6は
（１）水素、
（２）製薬上許容し得るエーテルおよびチオエーテル基－Ｙ－Ｒ１４'、
（３）ハロゲン原子、
（４）Ｒ１４基、
（５）

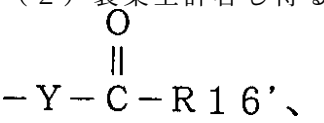


および
（６）－ＳＣＮ
からそれぞれ独立して選ばれ、
R_2は
（１）水素、

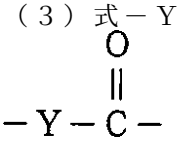
（２）Ｒ３がヒドロキシルである場合を除き、ハロゲン原子、
（３）製薬上許容し得る－CH_2－Ｙ－Ｒ１４、または
－CH_2－Ｙ－CH_2－Ｒ１４'、
（４）Ｒ１５基、および
（５）



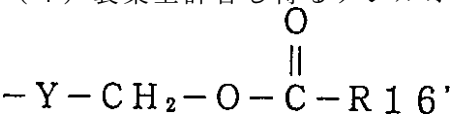
から選ばれ、
Ｒ３は
（１）ヒドロキシル、およびチオ、
（２）製薬上許容し得るエステル、およびチオエステル基



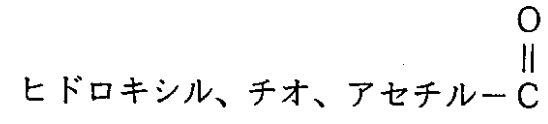
（３）式－Ｙ－Ｑ（式中、Ｑは天然または合成アミノ酸であって、Ｑはアミノ酸

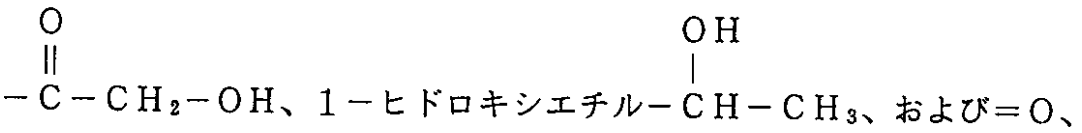


のカルボニル炭素を介してＹへ結合している）で示される天然または合成アミノ酸からなる製薬上許容し得る切断可能なエステル、
（４）製薬上許容し得るアシルオキシアルキルオキシ、またはアシルオキシアルキルチオ

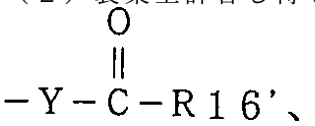


［ここで、このアシルオキシアルキルオキシまたはアシルオキシアルキルチオの態様は、本明細書で説明する天然産の化合物を、有機アシルオキシアルキルハライド（炭素原子１～２０個）またはアリールオキシアルキルハライド、特にアセチルオキシメチルハライド、ジアセチルオキシメチルハライド、またはアミノアセチルオキシメチルハライドと当業界既知の方法によって反応することにより作成する］、および
（５）酸Ａの製薬上許容し得るエステル［ここで、このエステルは、本明細書で説明する天然産の化合物のヒドロキシル基を、有機酸、酸ハロゲン化物、酸無水物、またはエステル（ここで、有機酸は例えば上記のＡで挙げた酸）と当業界既知の方法によって反応することにより作成する］
から選ばれ、
Ｒ７は
（１）水素、
（２）ハロゲン原子、
（３）製薬上許容し得るエーテルおよびチオエーテル基－Ｙ－Ｒ１５'、および
（４）Ｒ１５基
から選ばれ、ただし、Ｒ８がヒドロキシルである場合は、Ｒ７はヒドロキシルではなく、式（Ｉ）でＣ１６－Ｃ１７の炭素間の結合が二重結合である場合は、Ｒ７は置換されず、
Ｒ８は
（１）

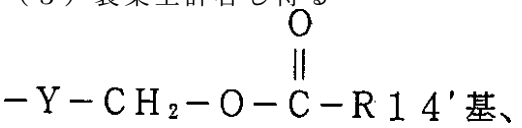

ヒドロキシル、チオ、アセチル－C－CH$_3$、２－ヒドロキシエタノイル


－C－CH$_2$－OH、１－ヒドロキシエチル－CH－CH$_3$、および＝O、

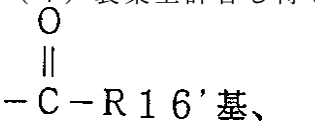
（２）製薬上許容し得るエステルまたはチオエステル基


－Y－C－R１６’、

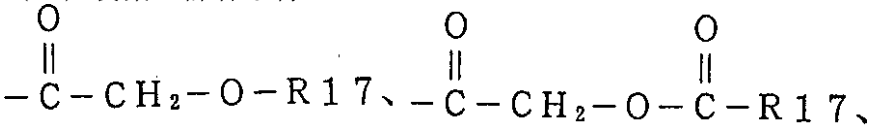
（３）製薬上許容し得る

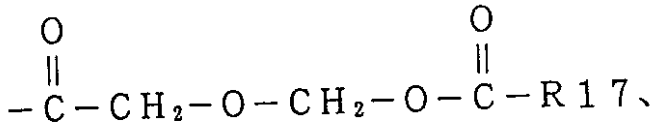

－Y－CH$_2$－O－C－R１４’基、

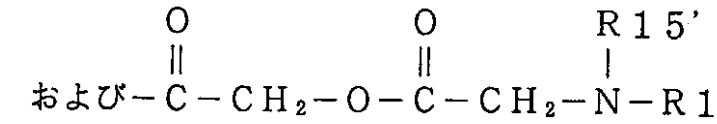
（４）製薬上許容し得る


－C－R１６’基、

（５）製薬上許容し得る

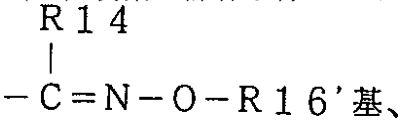

－C－CH$_2$－O－R１７、－C－CH$_2$－O－C－R１７、


－C－CH$_2$－O－CH$_2$－O－C－R１７、


および－C－CH$_2$－O－C－CH$_2$－N－R１５’基、

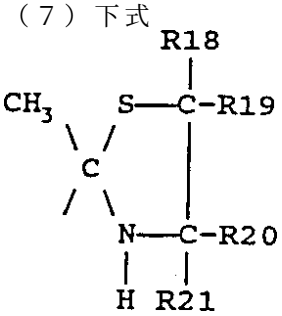
［ここで、Ｒ１７がアミドであるこの発明の化合物の例を示せば、３α－ヒドロキシ－５α－プレグナン－２１－（Ｎ，Ｎ－ジエチルスクシナメート）－２０－オンが挙げられる。これらの化合物は、３，２１－ジヒドロキシル化プレグナン－２０－オンを、アルキルハライド、または前記のＡで挙げたような有機酸、酸ハロゲン化物、酸無水物、またはエステルと当業界既知の方法で反応することによって作成する］、

（６）製薬上許容し得るオキシム

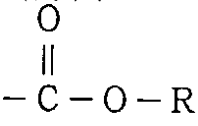

－C＝N－O－R１６’基、

および

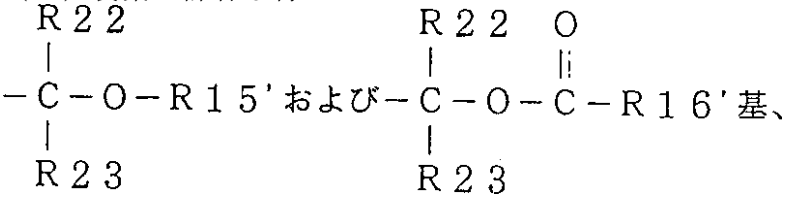
（７）下式



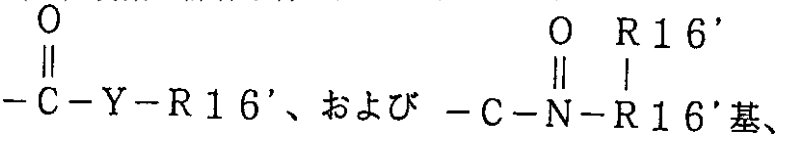
（式中、Ｒ２０およびＲ２１のうちの１つは



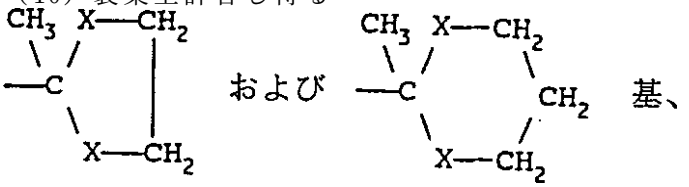
残りのＲ１８、Ｒ１９、Ｒ２０、およびＲ２１のうちの任意の２つはそれぞれＲ１４'基であって、その残りのＲ１８、Ｒ１９、Ｒ２０、Ｒ２１は水素である）
で示される製薬上許容し得るチアゾリジン誘導体、
（８）製薬上許容し得る



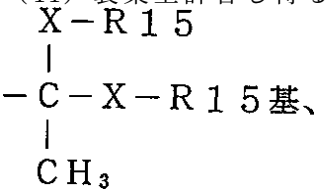
（式中、Ｒ２２およびＲ２３のうちの一方は水素またはメチルであって、他方はＲ１７'基である）、
（９）製薬上許容し得るカルボキシレート



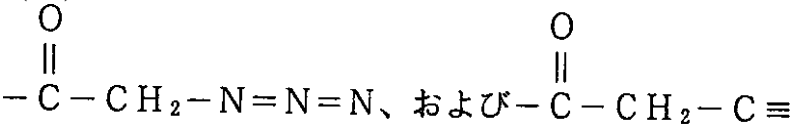
（10）製薬上許容し得る



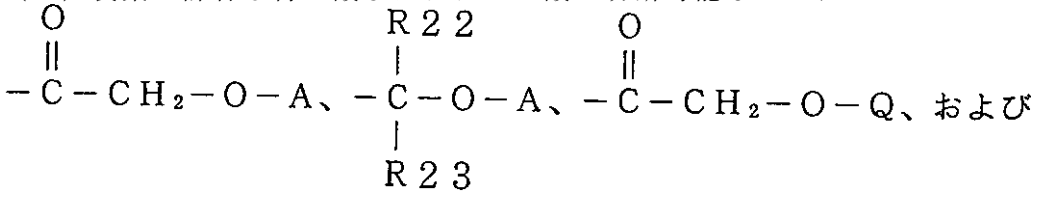
（11）製薬上許容し得る

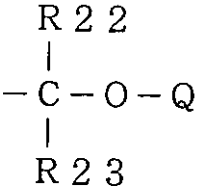


（12）－Ｃ≡Ｎ、－Ｃ≡ＣＨ、および－Ｎ＝Ｎ＝Ｎ、
（13）

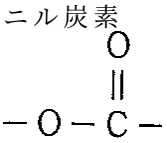


（14）製薬上許容し得る酸またはアミノ酸の切断可能なエステル

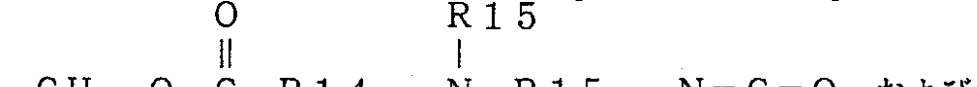




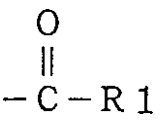
（式中、Ｑは天然または合成アミノ酸であって、ＡおよびＱは酸またはアミノ酸のカルボニル炭素



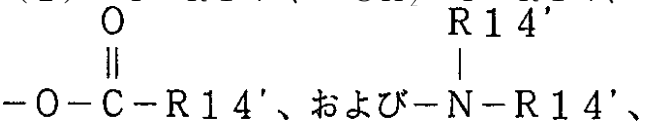
を介してＯへ結合し、Ｒ２２およびＲ２３のうちの一方は水素またはメチルであって、他方はＲ１７'基である）、
から選ばれ、またはＲ７およびＲ８は一緒になって＝ＣＨ－Ｒ１４、または＝ＣＨ－Ｏ－Ｒ１４であり、
Ｒ９は
（１）水素、ハロゲン、
（２）C_1－C_6アルキル、ハロゲン化アルキル、ジハロゲン化アルキル、およびトリハロゲン化アルキル
から選ばれ、ただし式（Ｉ）でＣ９－Ｃ１１の炭素原子の間の結合が二重結合である場合は、Ｒ９は置換されず、
Ｒ１０およびＲ１３は
（１）水素、ハロゲン、－Ｃ≡Ｎ、－CH_2－Ｃ≡Ｎ、－CH_2－ＯＨ、



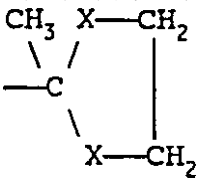
－Ｃ－Ｒ１４、－Ｎ－Ｒ１５、－Ｎ＝Ｃ＝Ｏ、および



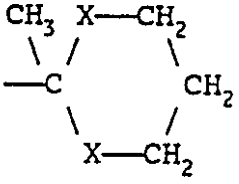
（２）－CH_3、－CH_2Ｔ、－ＣＨT_2、および－CT_3（ここで、Ｔはハロゲンである）
から選ばれ、
Ｒ１１およびＲ１２のうちの一方は水素で、他方は
（１）水素、ヒドロキシ、ハロゲンおよびチオ、
（２）－Ｙ－Ｒ１４'、－CH_2－Ｙ－Ｒ１４、－CH_2－Ｙ－CH_2－Ｒ１４'、



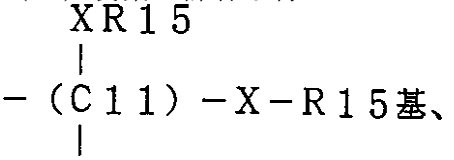
－Ｏ－Ｃ－Ｒ１４'、および－Ｎ－Ｒ１４'、
（３）Ｒ１４基、
（４）製薬上許容し得る



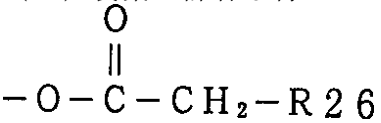
および



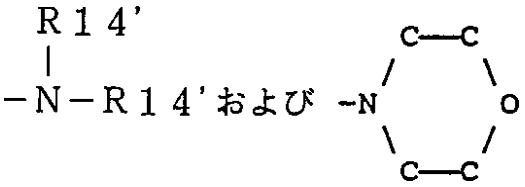
基、
（５）製薬上許容し得る



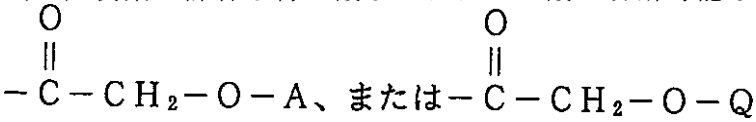
－（Ｃ１１）－Ｘ－Ｒ１５基、
（６）製薬上許容し得る



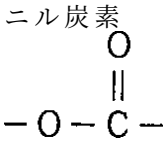
［式中、Ｒ２６は



から選ばれる］、
（７）製薬上許容し得る酸またはアミノ酸の切断可能なエステル



（式中、Ｑは天然または合成アミノ酸であって、ＡおよびＱは酸またはアミノ酸のカルボニル炭素



を介してＯへ結合する）、
から選ばれ、
またはＲ１１およびＲ１２はともに酸素または硫黄と二重結合を作って、ケトまたはスルホを生成し、ただし式（Ｉ）でＣ９－Ｃ１１の炭素間の結合が二重結合であれば、Ｒ１２は置換されない。
上記の式（Ｉ）の化合物で、Ｃ１－Ｃ２では単結合であるか、または二重結合である。Ｃ４－Ｃ５およびＣ５－Ｃ６では、単結合であることができ、あるいはＣ４－Ｃ５またはＣ５－Ｃ６の何れかで二重結合であることができるが、その場合、他方は単結合である。Ｃ９－Ｃ１１およびＣ１１－Ｃ１２では、単結合であることができ、あるいはＣ９－Ｃ１１またはＣ１１－Ｃ１２の何れかで二重結合であることができるが、その場合、他方は単結合である。Ｃ１６－Ｃ１７では単結合または二重結合であることができる。
代表的なアルキル基は、メチル、エチル、プロピル、ブチル、オクチル、第３級ブチル、オクター－デシル等である。代表的なアリール基は、フェニル、ベンジル、トリル、ナフチル等である。代表的なトリフルオロアルキル基は、トリフルオロメチル、トリフルオロエチル等である。
Ｒ１１およびＲ１２の代表的なアルキルオキシ基は、メトキシ、エトキシ、プロポキシ、ブトキシ、オクトキシ、ドデコキシ、およびオクタデコキシ等である。Ｒ１１およびＲ１２部分として有用なアリールオキシ基は、フェノキシ、トリルオキシ等である。
代表的な複素環基は、１－メチル－１，４－ジヒドロニコチン、フラン、チオフェン、テトラヒドロフラン、１，４－ジオキサン、１，３，５－トリオキサン、ピロリジン、ピペリジン、キヌクリジン、ピリジン、ピロール、オキサゾール、インドール、プリン、ピリミジン、１，３－ジチアン、アゼチジン、テトラヒドロピラン、イミダゾール、チアゾール、イソオキサゾール、ピラゾール、キノリン、シトシン、チミン、ウラシル、アデニン、グアニン、ピラジン、１－メチル－１，４－ジヒドロニコチン、ピコリン酸、ピコリン、フランカルボン酸、フルフラール、フルフリルアルコール、カルバゾール、イソキノリン、３－ピロリン、チオフェン、フラン、ヘキサメチレンイミン、ε－カプロラクトン、ε－カプロラクタム、ω－チオカプロラクタム、およびモルホリンからなる基である。
以下に示す製造例および実施例は、この発明を構成し、この発明に使用される化合物の製造に関するものである。
製造例１
３β－ヒドロキシ－５α－プレグナン－２０－オン
３β－ヒドロキシ－５－プレグネン－２０－オン（９８０mg、３１６.５g／モル、３.１ミリモル）および５％Ｐｄ／Ｃ　５０mgの無水エチルアルコール（５０ml）溶液の混合物を気体水素（１気圧）下で室温で５時間撹拌した。反応をセライト充填物で濾過し、濾液を減圧下に蒸発して、３β－ヒドロキシ－５α－プレグナン－２０－オン９５０mgを得た

（収量９６％）。
製造例２
２α，３α－エポキシ－５α－プレグナン－２０－オン
５α－プレグナン－２－エン－２０－オン（３．０５ｇ）のクロロホルム（５０ml）溶液をm－クロロ過安息香酸（５０～６０％、４．０ｇ）で処理した。溶液をアルゴン大気下に室温で１夜（１４時間）撹拌した。クロロホルム（２５０ml）を追加して溶液を希釈し、希重炭酸カリウム溶液（２×１５０ml）、および水（２×１００ml）、最後に食塩水で洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥し、蒸発して油状物質を得た。これを静置すると結晶化した。シリカゲルカラム（２００ｇ）でフラッシュクロマトグラフィーに掛け、ヘキサン／酢酸エチル（９０：１０）で溶出すると画分６７－１１０（採取容量２０ml）から表題の化合物１．１９４ｇを回収した。
製造例３
５α－プレグナン－２－エン－２０－オン
３α－ヒドロキシ－５α－プレグナン－２０－オン（５．１２ｇ）のピリジン（４０ml）溶液をトルエン－ｐ－スルホニルクロリド（５．６ｇ）で処理し、反応混合物を室温で１８．０時間撹拌した。この溶液を５％希塩酸２００mlへ投入し、クロロホルムで３回（１５０mlずつ）洗浄した。合わせた有機層をさらに５％塩酸および水で抽出し、硫酸マグネシウムで乾燥し、蒸発して油状物質を得た。これを静置すると結晶化し、３α－トルエン－ｐ－スルホニルオキシ－５α－プレグナン－２０－オンが白色の固体として得られた。粗製物３α－トルエン－ｐ－スルホニルオキシ－５α－プレグナン－２０－オンをコリジン（３０ml）溶液中で１．０時間還流した。溶液を放冷し、ついで冷希塩酸（２００ml）へ投入し、CH_2Cl_2で３回（１００mlずつ）抽出した。合わせた有機層を硫酸マグネシウムで乾燥し、濃縮した。シリカゲルカラム（１００ｇ）でフラッシュクロマトグラフィーに掛け、ヘキサン／酢酸エチル（８０：２０）で溶出して５α－プレグナ－２－エン－２０－オン４．６５ｇを得た（２段階を通じての収量９７％）。
製造例４
３α－第３級ブチルジメチルシリルオキシ－５α－アンドロスタン－１７－オン
乾燥ピリジン６５mlに溶解した３α－ヒドロキシ－５α－アンドロスタン－１７－オン（２５．２２ｇ、２９０．５ｇ／モル、８６．８ミリモル）へ乾燥ジメチルホルムアミド６５ml、イミダゾール（１４．７７ｇ、６８．１ｇ／モル、２１７ミリモル）、および塩化第３級ブチルジメチルシリル（１６．３６ｇ、１５１ｇ／モル、１０９ミリモル）を加え、反応を室温で１２時間静置した。ついで反応混合物を水２２０mlおよび酢酸エチル２２０mlで分液し、合わせた有機層を水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒を真空で蒸発し、－２０℃に冷却しながら無水エタノールを加えて表題の化合物を得た（３２ｇ、収量９１％）。
製造例５
３α－第３級ブチルジメチルシリルオキシ－（５α）－シス－プレクナ－１７（２０）－エン
カリウム－第３級ブトキシド（９３ml、９３ミリモル、１M溶液）のＴＨＦ（１６１ml）溶液へ臭化（エチル）トリフェニルホスホニウム（３５．４ｇ、３７１．３ｇ／モル、９５ミリモル）、および３α－第３級ブチルジメチルシリルオキシ－５α－アンドロスタン－１７－オン（１０ｇ、４０４．７８ｇ／モル、２５ミリモル）を加えた。橙赤色の反応混合物をアルゴン大気下に脱気し、１０時間還流した。ついで反応を室温へ冷却し、氷水３５０mlへ投入した。混合物をエーテル３５０mlで２回抽出し、合わせた有機層を水７００mlで洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を留去して油状物質を得た。エタノールから結晶化して、表題の化合物を得た（９．３ｇ、４１６．８ｇ／モル、収量９０％）。
製造例６
（３Ｒ）－５α－プレグナン－３－スピロ－２'オキシラン－２０－オン
ヨウ化トリメチルスルホキソニウム（５．２９０ｇ、２４．０４ミリモル）のＤＭＳＯ（７

５ml）溶液を室温で撹拌しながら、これへＮａＨ（９７％、４８８mg、１９.７２ミリモル）を一度に加えた。約１０分間で透明になった混合物を、窒素大気下に室温で１時間撹拌した。ついで５α－プレグナン－３，２０－ジオン（１.５３８ｇ、４.８６０ミリモル）を懸濁したＤＭＳＯ（４０ml＋洗浄用として１０ml）の懸濁液を等圧ロートから滴下した。得られた混合物は完全に透明ではないが、窒素大気下に室温で合計２.５時間撹拌した［１.５時間後のＴＬＣ（ヘキサン／ＥｔＯＡｃ、３：１）では出発物質の完全な消失は認められなかった］。ついで混合物を氷／水へ投入し、エーテル（×３）で抽出した。合わせた有機層を水（×３）および食塩水で洗浄し、乾燥し（$MgSO_4$）、濾過し、減圧下に蒸発して、固体を得た。熱メタノール／アセトン（１：１、約５０ml）から再結晶して、エポキシドを白色の結晶として得た（１.１７６ｇ、収量７３％）。

実施例１

３β，２１－ジヒドロキシ－５α－プレグナン－２０－オン　２１－アセタート

３β－ヒドロキシ－５α－プレグナン－２０－オン（３.１５ｇ、９.９mmol）を、ベンゼン（１２７ml）中の四酢酸鉛（４.７ｇ、１０mmol）および三フッ化ホウ素エーテラート（１８.５ml）を含むメタノール（７ml）と共に、室温で４時間撹拌した。生成物をクロロホルムで抽出し、水による後処理の後に分離した。有機相を１０％重炭酸ナトリウムで２回洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥し、最後に濃縮して固体とした。この粗製の固体生成物を酢酸エチルおよび石油エーテル（３０－６０℃）から再結晶して、３β，２１－ジヒドロキシ－５α－プレグナン－２０－オン　２１－アセタート２.０ｇ（収率５６％）を得た。

実施例２

３α，２１－ジヒドロキシ－５α－プレグナン－２０－オン　３，２１－ジアセタート

新たに蒸留したＴＨＦ４０mlに入れた３β，２１－ジヒドロキシ－５α－プレグナン－２０－オン　２１－アセタート（５００mg、１.３２mmol）の撹拌混合物に、トリフェニルホスフィン（３６６mg、２６２.３ｇ／m、１.３９mmol）および氷酢酸（０.０９ml、１.５mmol）を加えた。この撹拌混合物に、ＴＨＦ１０ml中のジイソプロピルアジドジカルボキシラート（ＤＩＡＤ）（０.２７５ml、１.０２７ｇ／ml、２０２.２ｇ／m、１.３９mmol）の溶液を、室温、窒素雰囲気下で４５分間かけて導入した。合した反応混合物を２.０時間撹拌した後、溶媒を減圧下に除いた。この粗生成物をヘキサン／酢酸エチル（７：３）を用いてクロマトグラフィーに付し（４インチのシリカゲルカラム上でフラッシュ技術法を使用）、４６０mg（収率８６％）の３α，２１－ジヒドロキシ－５α－プレグナン－２０－オン　３，２１－ジアセタートを白色固体として得た。

実施例３

３α，２１－ジヒドロキシ－５α－プレグナン－２０－オン

メタノール４０mlに入れた３α，２１－ジヒドロキシ－５α－プレグナン－２０－オン　３，２１－ジアセタート（１.００ｇ、４１８.５ｇ／m、２.３９mmol）の混合物を氷浴を用いて０℃に冷却した。７０.０％の過塩素酸（１０.０ml、０.１１６mole）をこの混合物に滴下した。過塩素酸の添加が完了した後、反応混合物を０℃でさらに３０分間撹拌し、氷水浴を除いた。この混合物を室温で２２時間撹拌した。反応混合物を水（２５０ml）に注ぎ、白色固体を濾過し、濾液がｐＨ７となるまで水洗した。この固体をヘキサン：酢酸エチル（６０：４０）から再結晶して３α，２１－ジヒドロキシ－５α－プレグナン－２０－オン０.７２５ｇ（９０.７％、３３４.５ｇ／m）を得た。

実施例４

３α－アセトキシ－５α－プレグナン－２０－オン

新たに蒸留したＴＨＦ１５０mlに入れた３β－ヒドロキシ－５α－プレグナン－２０－オン（４.５ｇ、３１８.５ｇ／m、１４mmol）の撹拌溶液に、トリフェニルホスフィン（５.５８ｇ、２６２.３ｇ／m、２１mmol）および酢酸（１.２２ml）を加えた。この撹拌反応混合物に、テトラヒドロフラン７５mlに入れたジイソプロピルアジドジカルボキシラート（ＤＩＡＤ）（４.１８ml、１.０２７ｇ／ml、２０２.２ｇ／m、

２１ｍｍｏｌ）の溶液を室温で１０分間かけて滴下した。３０分後、反応混合物を減圧濃縮し、クロロホルム１００ｍｌに再溶解し、水で２回抽出した。クロロホルム抽出液を硫酸マグネシウムで乾燥し蒸発させた。生成残留物をシリカゲル上のフラッシュクロマトグラフィーによりヘキサン／酢酸エチル（９：１）を用いて精製した。表記化合物に対応する画分を濃縮して３α－アセトキシ－５α－プレグナン－２０－オン４．９５ｇ（９７．５％）を白色固体として得た。

実施例５

３α－ヒドロキシ－５α－プレグナン－２０－オン

メタノール１５０ｍｌ中の３α－アセトキシ－５α－プレグナン－２０－オン（４．８ｇ）を氷浴で０℃に冷却し、過塩素酸１５．０ｍｌを滴下した。３０分間攪拌した後、氷浴を取り除き、反応混合物を３日間攪拌した。反応混合物を水中に注ぎ、クロロホルムで３回抽出した。クロロホルム抽出液を合し、硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を蒸発させると４．５７ｇの粗生成物が得られた。

実施例６

３α－（Ｎ－［２－ヒドロキシエチル］－ＤＬ－アラニルオキシ）－５α－プレグナン－２０－オン　塩酸塩

$CH_2Cl_2$１００ｍｌ中の３α－ヒドロキシ－５α－プレグナン－２０－オン（８１０ｍｇ、２．４５ｍｍｏｌ）の溶液を、２－ブロモプロピオニルクロリド（１．０ｍｌ）、触媒量のジメチルアミノピリジン（５０ｍｇ）およびトリエチルアミン（２ｍｌ）で処理した。この混合物を室温で２．０時間攪拌した。粗反応混合物を水およびCH_2Cl_2に注いだ。有機相を１０％ＨＣｌ、水、飽和重炭酸ナトリウム水および最後にさらなる水によって数回洗浄し、乾燥し減圧で蒸発させた。この物質のＴＬＣ試験は、出発物質が完全にブロモエステル生成物に変換したことを示した（１個のスポット。ｒ．ｆ．＝０．９。ヘキサン／ＥｔＯＡｃ（９０：１０）で溶出。）。アセトニトリル（３０ｍｌ）に入れたこの粗製のブロモエステルを０℃において２－ヒドロキシエチルアミン（２．０ｍｌ）で処理し、混合物を一夜冷蔵庫に保存した。溶媒を減圧で除き、残留物をエーテルおよび水の間に分配した。有機相を分離しＨＣｌ（１０％）で抽出した。水性の酸溶液をエーテルで洗浄し、過剰の水酸化アンモニウム水溶液により０℃で処理した。遊離塩基化した生成物を次に数回のエーテル洗浄により有機相に抽出した。合した有機相を減圧濃縮し、油状残留物をジオキサンに溶解し、ＥｔＯＡｃに溶解した濃塩酸ガスによってｐＨ３とした。混合物を凍結乾燥し、得られた白色アモルファスの固体を水に取り、水相を酢酸エチルおよびエーテルで洗浄した。水相を凍結乾燥して、純粋な表記化合物（７００ｍｇ）をアモルファス固体として得た。

実施例７

３α－ヒドロキシ－５α－アンドロスタン－１７β－カルボン酸

水（１８ｍｌ）に入れた水酸化ナトリウム（１．１ｇ）の溶液を－５℃で攪拌し、臭素（０．４ｍｌ）を極めて徐々に加えた。冷ジオキサン（１２ｍｌ）を加え、得られた次亜臭素酸ナトリウム溶液を、ジオキサン（３０ｍｌ）中の３α－ヒドロキシ－５α－プレグナン－２０－オン（０．６ｇ）の溶液に０℃で加えた。得られた混合物をこの温度に１時間保持し、濃塩酸で中和し、水中に注いだ。次いで過剰の２Ｎ塩酸を加え、沈澱した固体を濾過によって集め、減圧で乾燥して表記化合物を得た。

実施例８

ａ．３α－アセトキシ－１７α－ブロモ－５α－プレグナン－２０－オン

四塩化炭素５０ｍｌに溶解した３α－アセトキシ－５α－プレグナン－２０－オン（３ｇ、３６０．５ｇ／ｍ、８．３ｍｍｏｌ）、Ｎ－ブロモスクシンイミド（２．７ｇ、１７８ｇ／ｍ、１５ｍｍｏｌ）および過酸化ベンゾイル（２００ｍｇ、２４２ｇ／ｍ、０．８３ｍｍｏｌ）を一夜（約１６時間）還流した。反応混合物を冷却し、濾過し、亜硫酸水素ナトリウム、水、および塩水で洗浄し、次いで濃縮して粗製の赤みがかかった油状物を得た。

ｂ．３α－アセトキシ－５α－プレグノ－１６－エン－２０－オン

上の赤みがかった油状物をベンゼン１５０ｍｌおよび１，５－ジアザビシクロ［５．４．０

］ウンデカ－５－エン（ＤＢＵ、１５２ｇ／ｍ、１．０２ｇ／ｍｌ、１３．４ｍｍｏｌ）２ｍｌに溶解し、次いで１６時間還流した。ＤＢＵ（２ｍｌ）を加え、還流を４日間継続した。溶媒を減圧で除去し、残留物をエーテルに取り、１Ｎ　ＨＣｌで洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥し、濃縮すると粗製の油状生成物が得られた。これをヘキサン／酢酸エチル（１０：１．５）溶出によってシリカゲル層で濾過することにより精製した。中程の画分に生成物を回収して黄色生成物１．１ｇ（３５８．５ｇ／ｍ、３．１ｍｍｏｌ、通算３７％）を得た。

実施例９

（２０Ｓ）３α，２０－ジヒドロキシ－５α－プレグナン

乾燥イソプロパノール１３０ｍｌ中の３α－アセトキシ－５α－プレグノ－１６－エン－２０－オン（９７０ｍｇ、３５８．５ｇ／ｍ、２．７ｍｍｏｌ）の攪拌溶液に、金属ナトリウム（８．０ｇ、２３ｇ／ｍ、３４８ｍｍｏｌ）を少量ずつ１時間かけて徐々に加えた。１時間還流した後、追加量のナトリウム（３．５ｇ）を加え、還流を１時間継続した。反応混合物を１０％ＨＣｌで酸性化し、クロロホルムで抽出した。有機相を硫酸マグネシウムで乾燥し、濃縮して粗生成物を得た。冷凍庫中で冷却しつつアセトンから再結晶して、２０αおよび２０βの混合物（９３：７）８０ｍｇを得た。メタノールからさらに再結晶して純粋な表記化合物を得た。

実施例１０

３α－ベンゾイルオキシ－５α－プレグナン－２０－オン

３β－ヒドロキシ－５α－プレグナン－２０－オン（２８５ｍｇ、３１８．５ｇ／ｍ、０．８９ｍｍｏｌ）、トリフェニルホスフィン（２５８ｍｇ、２６２．３ｇ／ｍ、０．９４ｍｍｏｌ）および安息香酸（１２０ｍｇ、１２２．２ｇ／ｍ、０．９８ｍｍｏｌ）の混合物をテトラヒドロフラン２５ｍｌ（新たに蒸留）に溶解した。この攪拌反応混合物に、テトラヒドロフラン５ｍｌ中にジイソプロピルアジドジカルボキシラート（ＤＩＡＤ）（０．１９４ｍｌ、１．０２７ｇ／ｍｌ、２０２．２ｇ／ｍ、０．９８ｍｍｏｌ）の溶液を、室温で５分間かけて滴下した。出発物質が消費されるにつれて反応を薄層クロマトグラフィー（ＴＬＣ）で追跡した。２時間後、反応混合物を減圧濃縮し、ヘキサン／酢酸エチル（９：１）の混合物を用いてシリカゲル層（１０ｇ）で濾過した。表記化合物に対応する画分を濃縮して、３α－ベンゾイルオキシ－５α－プレグナン－２０－オン３４９ｍｇ（収率９２％）を白色固体として得た。

実施例１１

３α－ベンゾイルオキシ－５α－プレグナン－２０－オキシム

エチルアルコール２５ｍｌ中の３α－ベンゾイルオキシ－５α－プレグナン－２０－オン（３００ｍｇ、４２２．６２ｇ／ｍ、０．７１ｍｍｏｌ）の攪拌混合物に、水５ｍｌに入れたヒドロキシルアミン（２３ｍｇ、３３ｇ／ｍ、０．７１ｍｍｏｌ）および酢酸ナトリウム（２９０ｍｇ、１３６ｇ／ｍ、２．１ｍｍｏｌ）の溶液を加える。６時間還流した後、反応混合物を冷却し、水および酢酸エチルで抽出する。有機相を硫酸マグネシウムで乾燥し、蒸発乾固して、約８０％の収率で３α－ベンゾイルオキシ－５α－プレグナン－２０－オキシムを得る。

実施例１２

３α－ベンゾイルオキシ－２０－カルボキシメチルオキシム－５α－プレグナン

無水エチルアルコール２５ｍｌ中のナトリウム（１１．５ｍｇ、２２．９９ｇ／ｍ、０．５ｍｍｏｌ）および３α－ベンゾイルオキシ－５α－プレグナン－２０－オキシム（２１９ｍｇ、４３７．６ｇ／ｍ、０．５ｍｍｏｌ）の溶液を調製する。この攪拌混合物にブロモ酢酸（７３ｍｇ、１３７．９ｇ／ｍ、０．５３ｍｍｏｌ）を一度に加え、湿らせたｐＨ試験紙によってｐＨが７より低いことが示されるまで、反応を浴（８０℃）中で加熱する。反応混合物を蒸発させ、残留物をテトラヒドロフラン２５ｍｌで２回抽出する。有機相を硫酸マグネシウムで乾燥し、濃縮して、α－（３α－ベンゾイルオキシ－５α－プレグナン－２０－イリデンアミノオキシ）酢酸（収率約８０％）を得る。

実施例１３

３α－ヒドロキシ－５α－プレグナン－２０－オン　３－ヘミスクシナートナトリウム塩
無水琥珀酸（２８０ｍｇ）を、乾燥ピリジン（４ｍｌ）中の３α－ヒドロキシ－５α－プレグナン－２０－オン（２００ｍｇ）の溶液に加えた。この攪拌溶液を還流した（温度を１４０℃に設定した油浴で４時間）。反応混合物を冷却し、水に注ぎ、１０％塩酸で酸性化し、クロロホルムで数回抽出した。有機相を水洗し、硫酸マグネシウムで乾燥し、最後に濃縮して油状物とした。この粗製の油状物をヘキサンおよび酢酸エチルから結晶化して、３α－ヒドロキシ－５α－プレグナン－２０－オン　３－ヘミスクシナート（２２０ｍｇ、収率８４％）を、微細な白色結晶として得た。
３α－ヒドロキシ－５α－プレグナン－２０－オン　３－ヘミスクシナート（１０８ｍｇ）をメタノール１５ｍｌに溶解し、重炭酸ナトリウム水溶液（水１ｍｌ中２２ｍｇ）を加えた。溶媒を減圧下に除き、生成物をエーテルおよび酢酸エチルで摩砕し、最後に乾燥して、表記化合物９９ｍｇを白色固体として得た。
実施例１４
３α，２１－ジヒドロキシ－５α－プレグナン－２０－オン　２１－ヘミスクシナート　ナトリウム塩
無水ピリジン６ｍｌに入れた３α，２１－ジヒドロキシ－５α－プレグナン－２０－オン（２３４ｍｇ）および無水琥珀酸（７０ｍｇ）の混合物を、室温、窒素雰囲気下で５日間攪拌した。反応混合物は、ＴＬＣにより出発物質の消失を監視した。反応混合物を５％塩酸およびクロロホルムに注ぎ、有機相を希酸、水で数回洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧で除き、定量的収量（２９９ｍｇ）の３α，２１－ジヒドロキシ－５α－プレグナン－２０－オン　２１－ヘミスクシナートを白色固体として得た。
メタノール２０ｍｌに入れた上のヘミスクシナート（８４ｍｇ）を、重炭酸ナトリウムの水溶液（水１.５ｍｌ中１８ｍｇ）で処理した。反応混合物を減圧濃縮し、エーテル、次いで酢酸エチルで洗浄し、恒量となるまで蒸発させ、表記化合物を白色固体として得た。
実施例１５
３α，３'－アセチルサリシルオキシ－５α－プレグナン－２０－オン
塩化メチレン（７０ｍｌ）中のトリエチルアミン（５ｍｌ）の攪拌溶液に、３α－ヒドロキシ－５α－プレグナン－２０－オン２５４ｍｇを室温で溶解する。この混合物を氷浴中で冷却し、アセチルサリシロイルクロリド（２００ｍｇ）を加える。１時間後に氷浴を取り除き、反応混合物を室温で１８時間攪拌する。反応物を１０％重炭酸ナトリウム水溶液に注ぎ、さらなる塩化メチレンを加える。
有機相を再度重炭酸塩、水で洗浄し、次いで硫酸マグネシウムで乾燥し、濾過し、蒸発させる。
実施例１６
３α－５'－クロロベンゾイルオキシ－５α－プレグナン－２０－オン
乾燥ジクロロメタン１７ｍｌに溶解した３α－ヒドロキシ－５α－プレグナン－２０－オン（２６０ｍｇ、３１８.５ｇ／ｍ、０.８２ｍｍｏｌ）、トリエチルアミン（０.１７ｍｌ）および４－ジメチルアミノピリジン（触媒的ＤＭＡＰ、１０ｍｇ、１２２.１７ｇ／ｍ、８２μｍｏｌ）の氷冷攪拌混合物に、４－クロロベンゾイルクロリド（１６１ｍｇ、１７４.９ｇ／ｍ、０.９２ｍｍｏｌ）を窒素雰囲気下で加えた。反応物を０℃で１０時間攪拌し、次いで１０％ＨＣｌ　１００ｍｌおよびエーテル２００ｍｌに注いだ。有機相を再度酸で洗浄し、飽和重炭酸ナトリウムで２回洗浄し、次いで硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧で除去した後、粗生成物を、ヘキサン／酢酸エチル（１５：３５）溶出によりシリカゲル層で濾過することにより精製した。生成物を最も早い二つの画分（各１００ｍｌ）から単離して得た（３１７ｍｇ、４５７ｇ／ｍ、９.６９ｍｍｏｌ、８４％）。
実施例１７
３α－ペンタフルオロプロピオニルオキシ－５α－プレグナン－２０－オン
乾燥ジクロロメタン１７ｍｌに溶解した３α－ヒドロキシ－５α－プレグナン－２０－オン（２６０ｍｇ、３１８.５ｇ／ｍ、０.８２ｍｍｏｌ）、トリエチルアミン（０.１７ｍｌ）および４－ジメチルアミノピリジン（触媒的ＤＭＡＰ、１０ｍｇ、１２２.１７ｇ／

ｍ、８２ｕｍｏｌ）の氷冷撹拌混合物に、ペンタフルオロプロピオニルクロリド（１６８ｍｇ、１８２．５ｇ／ｍ、０．９２ｍｍｏｌ）を窒素雰囲気下で加えた。反応物を０℃で１０時間撹拌し、次いで１０％ＨＣｌ
１００ｍｌおよびエーテル２００ｍｌに注いだ。有機相を再度酸で洗浄し、飽和重炭酸ナトリウムで２回洗浄し、次いで硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧で除去した後、粗生成物を、ヘキサン／酢酸エチル（１５：３５）溶出によりシリカゲル層で濾過することにより精製した。生成物を最も早い二つの画分（各１００ｍｌ）から単離して得た（３３０ｍｇ、４６４．５ｇ／ｍ、０．７１ｍｍｏｌ、８７％）。

実施例１８

３α－ニコチノイルオキシ－５α－プレグナン－２０－オン

乾燥ピリジン１０ｍｌに溶解した３α－ヒドロキシ－５α－プレグナン－２０－オン（４６４ｍｇ、３１８．５ｇ／ｍ、１．５ｍｍｏｌ）および４－ジメチルアミノピリジン（ＤＭＡＰ、１９５ｍｇ、１２２．１７ｇ／ｍ、１．６ｍｍｏｌ）に、ニコチノイルクロリド　ヒドロクロリド（２８５ｍｇ、１７８．０２ｇ／ｍ、１．６ｍｍｏｌ）を加えた。反応混合物を９０℃で５時間加熱し、エーテル３００ｍｌ中に注いだ。有機層を飽和重炭酸ナトリウムで２回、水で２回洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥し、減圧濃縮して粗生成物を得た。この粗製物質を、ヘキサン／酢酸エチル（５０：５０）溶出を用いてシリカゲル層で濾過した。最初の二つの画分が表記化合物を与えた（６０４ｍｇ、４２１　６／ｍ、１．４３ｍｍｏｌ、９６％）。

実施例１９

３α－Ｎ－メチル－ニコチノイルオキシ－５α－プレグナン－２０－オン　ヨウ化物

アセトン３０ｍｌ中の３α－ニコチノイルオキシ－５α－プレグナン－２０－オン（７７０ｍｇ、４２１ｇ／ｍ、１．８ｍｍｏｌ）およびヨウ化メチル（３．０ｍｌ、１４１ｇ／ｍ、～２０ｍｍｏｌ）の混合物を穏やかに１７時間還流した。反応混合物を減圧濃縮して粗生成物を得た。

実施例２０

３α－Ｎ－メチル－ジヒドロニコチノイルオキシ－５α－プレグナン－２０－オン

水性メタノール１５０ｍｌ（メタノール１００ｍｌおよび水５０ｍｌ、脱気）に入れた３α－Ｎ－メチル－ニコチノイルオキシ－５α－プレグナン－２０－オン　ヨージド塩（１．０１ｇ、５６２ｇ／ｍ、１．８ｍｍｏｌ）の氷冷溶液に、重炭酸ナトリウム（６２０ｍｇ、８４ｇ／ｍ、７．４ｍｍｏｌ）およびジチオン酸ナトリウム（１．３ｇ、１７４ｇ／ｍ、７．４ｍｍｏｌ）を加えた。この混合物を０℃で１時間撹拌した。反応混合物を水５００ｍｌに注ぎ、クロロホルムで数回抽出した。合した有機層を炭酸カリウムで洗浄し濃縮した。粗生成物を、ヘキサン／酢酸エチル（５：１）溶出を用いてシリカゲル層で濾過した。生成物を最初の画分中に回収し、１８０ｍｇ（４３９ｇ／ｍ、０．４ｍｍｏｌ、２２％）を得た。

実施例２１

３α－イソブチリルオキシ－５α－プレグナン－２０－オン

新たに蒸留したテトラヒドロフラン（ＴＨＦ）２００ｍｌ中の３β－ヒドロキシ－５α－プレグナン－２０－オン（８ｇ、３１８．５ｇ／ｍ、２５ｍｍｏｌ）の撹拌溶液に、トリフェニルホスフィン（９．８８ｇ、２６２．３ｇ／ｍ、３８ｍｍｏｌ）およびイソ酪酸（３．５ｍｌ）を加えた。この撹拌反応混合物に、ＴＨＦ７５ｍｌ中のジイソプロピルアジドジカルボキシラート（ＤＩＡＤ、７．４２ｍｌ、１．０２７ｇ／ｍｌ、２０２．２ｇ／ｍ、３８ｍｍｏｌ）の溶液を室温で１０分間かけて滴下した。この溶液を一夜撹拌した。ＴＬＣは反応が完結していないことを示した。トリフェニルホスフィン（６．５８ｇ）、ＤＩＡＤ（４．９４ｍｌ）およびイソ酪酸（２．３３ｍｌ）を反応に加え、室温でさらに３時間撹拌した。ＴＬＣは反応の完結を示した。過剰のＴＨＦを蒸発させ、残留物を９０：１０のヘキサン：酢酸エチルで溶出するシリカゲル上のカラムクロマトグラフィーにより精製し、７．３ｇ（３４６．５ｇ／ｍ、８３．９％）を得た。

実施例２２

（２０Ｒ）３α，２０－ジヒドロキシ－５α－プレグナン
メタノール１６０ｍｌおよびジクロロメタン３０ｍｌに入れた３α－ヒドロキシ－５α－プレグナン－２０－オン（３.２ｇ、３１８.５ｇ／ｍ、１０ｍｍｏｌ）の攪拌溶液に、水素化ホウ素ナトリウム（３.３ｇ、３７.８ｇ／ｍ、８７ｍｍｏｌ）を室温で２時間かけてゆっくり添加した。混合物をさらに１時間攪拌し、次いで氷冷水（７００ｍｌ）に注ぎ、エーテルで３回抽出した。合した有機相を水で数回洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥し、濃縮して白色固体（２.３５ｇ、３２０.５ｇ／ｍ、７.３ｍｍｏｌ、７３％）を得た。
実施例２３
２β－メトキシ－３α－ヒドロキシ－５α－プレグナン－２０－オン
メタノール８０ｍｌ中の２α，３α－エポキシ－５α－プレグナン－２０－オン（３２５ｍｇ）を、室温で、濃硫酸７滴を含むメタノールの溶液１ｍｌで処理した。この混合物をこの温度で１０分間攪拌し、次いで重炭酸ナトリウムの冷飽和溶液およびエーテル中に注いだ。有機相を重炭酸塩、塩水の少量で数回洗浄し、炭酸カリウムで乾燥した。濃縮した有機相をＴＬＣにより反応の完結について試験した。ヘキサン／酢酸エチル溶媒混合物（８０：２０）によるシリカゲル上のフラッシュクロマトグラフィーにより、２０９ｍｇ（収率６０％）を得た。
実施例２４
２β－エトキシ－３α－ヒドロキシ－５α－プレグナン－２０－オン
２α，３α－エポキシ－５α－プレグナン－２０－オン（１８０ｍｇ）を無水エタノール２０ｍｌに溶解し、　℃に冷却し、濃硫酸３滴を含む冷エタノール溶液１.０ｍｌに加えた。この反応混合物をこの温度で３０分間、室温でさらに３０分間攪拌し、２０％重炭酸ナトリウム溶液中に注ぎ、クロロホルムで数回洗浄した。合した有機相を炭酸カリウムで乾燥し、濃縮し、ヘキサン／酢酸エチル（１：１）中の調製用ＴＬＣシリカプレートにより精製して、表記化合物を微細な白色結晶として得た（８０ｍｇ、収率４０％）。
実施例２５
２β－プロピルオキシ－３α－ヒドロキシ－５α－プレグナン－２０－オン
２α，３α－エポキシ－５α－プレグナン－２０－オン（３６０ｍｇ）をプロパノール８０ｍｌに溶解し、　℃に冷却し、濃硫酸５滴を含む冷プロパノール溶融液１.０ｍｌに加えた。この反応混合物をこの温度で３０分間、室温でさらに３０分間攪拌し、２０％重炭酸ナトリウム溶液中に注ぎ、クロロホルムで数回洗浄した。合した有機相を炭酸カリウムで乾燥し、濃縮した。ヘキサン／酢酸エチル（７０：３０）で溶出するシリカゲルカラム上で粗生成物を精製して、表記化合物を白色結晶として得た（２０６ｍｇ、収率５０％）。
実施例２６
ａ.（３Ｒ）－２０，２０－エチレンジオキシ－５α－プレグナン－３－スピロ－２'オキシラン－２０－オン。
ジメチルスルホキシド１６ｍｌに入れたトリメチルスルフオキソニウムヨージド（１.１１ｇ）の攪拌溶液に、室温、窒素雰囲気下で水素化ナトリウム（９７％）７２ｍｇを加えた。この混合物をこの温度で１時間攪拌した。次に、ジメチルスルホキシド１０ｍｌ中の２０,２０－エチレンジオキシ－５α－プレグナン－３－オン（３００ｍｇ）（懸濁液として）を反応混合物に加え、１.５時間攪拌した。混合物を水に注ぎエーテルで洗浄した。有機相を水、塩水で繰り返し抽出し、最後に硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧で除去すると表記化合物が白色固体として得られた（２６２ｍｇ、８４％）。
ｂ.３α－ヒドロキシ－３β－メチル－２０，２０－エチレンジオキシ－５α－プレグナン。
（３Ｒ）－２０，２０－エチレンジオキシ－５α－プレグナン－３－スピロ－２'－オキシラン（２６２ｍｇ、３７４ｇ／ｍ、０.７ｍｍｏｌ）を含有する乾燥ＴＨＦ（１０ｍｌ）の溶液を、水素化アルミニウムリチウム（１３３ｍｇ、３７.９ｇ／ｍ、３.５ｍｍｏｌ。乾燥ＴＨＦ１０ｍｌ中に懸濁。）の攪拌溶液に加えた。添加は室温下に３０分間で完了させた。還流しつつ４時間攪拌を継続し、次いで塩化アンモニウム（１００ｍｌ）で処理

し、エーテルで３回抽出した。合した有機相を水で数回洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥し、濃縮して白色固体を得た。
ｃ.３α－ヒドロキシ－３β－メチル－５α－プレグナン－２０－オン。
湿性アセトンに入れた３α－ヒドロキシ－３β－メチル－２０，２０－エチレンジオキシ－５α－プレグナンおよびｐ－トルエンスルホン酸（触媒的）の溶液を一夜加熱還流した。反応物を減圧濃縮しクロロホルムに取った。有機相を重炭酸ナトリウムで洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥し、濃縮し、メタノールから再結晶して表記化合物を得た。
実施例２７
３α－ヒドロキシ－３β－メチル－５α－プレグナン－２０－オン
無水１，２－ジメトキシエタン（ＤＭＥ）（５ｍｌ）に入れた（３Ｒ）－５α－プレグナン－３－スピロ－２'－オキシラン－２０－オン（１０１ｍｇ、０.３０５ｍｍｏｌ）およびＮａＩ（１１５ｍｇ、０.７６７ｍｍｏｌ）の溶液（淡黄色）に、室温で^{n}－Bu_3SnＨ（０.２２ｍｌ、０.２３８ｇ、０.８１８ｍｍｏｌ）を加えた。反応溶液は無色となった。次にアゾビスイソブチルニトリル（ＡＩＢＮ）（１０ｍｇ、０.０６１ｍｍｏｌ）を加えた。得られた溶液を窒素雰囲気下で２１時間還流し、この時点でＴＬＣ（ヘキサン／アセトン＝３：１）は反応の完結を示した。反応をメタノールにより鎮め、混合物を室温でしばらく攪拌した。溶媒を減圧で除いてエーテルに溶解しない油状物を得た。CH_2Cl_2を添加して溶液とし、これを水、１Ｎ　ＨＣｌおよび飽和$NaHCO_3$で洗浄した。有機相を乾燥し（$MgSO_4$）、濾過し、減圧濃縮して白色固体を得た。勾配フラッシュクロマトグラフィー（ヘキサン、７：１のヘキサン／アセトン、５：１のヘキサン／アセトン）による精製は表記化合物（９３ｍｇ、９２％）を与えた。
実施例２８
３α，２０－ジヒドロキシ－３β，２０－ジメチル－５α－プレグナン
５α－プレグナン－３，２０－ジオン（１.５ｇ、３１６.４８ｇ／ｍ、４.７ｍｍｏｌ）を乾燥ベンゼン２５０ｍｌに溶解し、３Ｍの臭化メチルマグネシウム１５ｍｌを加えた。反応混合物を室温で３０分間攪拌した。過剰の臭化メチルマグネシウムを、１Ｍ　$H_2SO_4$１００ｍｌを０℃で滴下することにより分解した。生成物の溶液をジエチルエーテル２５０ｍｌで抽出した。有機抽出液を合し、硫酸マグネシウムで乾燥し、蒸発させて３β－メチルおよび３α－メチル異性体の６０：４０混合物を得た。生成混合物を７０：３０のヘキサン：酢酸エチルおよび１％メタノールで溶出するシリカゲル上のフラッシュクロマトグラフィーにより分離して、０.４７６ｇ（収率２４％）の所望生成物を得た。
実施例２９
３α，２０－ジヒドロキシ－２０－メチル－５α－プレグナン
乾燥ベンゼン２５ｍｌ中の３α－アセトキシ－５α－プレグナン－２０－オン（１２０ｍｇ、３６０.５ｇ／ｍ、０.３２ｍｍｏｌ）の攪拌混合物に、３Ｍの臭化メチルマグネシウム４.６ｍｌを滴下した。臭化メチルマグネシウムの滴下が終了した後、反応混合物を室温で１８時間攪拌し、次に２時間還流した。過剰の臭化メチルマグネシウムを、氷浴中で飽和塩化アンモニウム溶液３０ｍｌを滴下することにより分離した。溶液生成物を水に注ぎ、クロロホルムで２回抽出した。抽出物を硫酸マグネシウムで乾燥し、蒸発させて１１０ｍｇの粗生成物を得た。この生成物をメタノール中で再結晶して８３ｍｇの３α，２０－ジヒドロキシ－２０－メチル－５α－プレグナンを得た。
実施例３０
３α－ヒドロキシ－(５α)－シス－プレグナ－１７(２０)－エン
３α－ｔ－ブチルジメチルシリルオキシ－(５α)－シス－プレグナ－１７(２０)－エン（３ｇ、４１６.８g/mol、７.２mmol）を、１％（ｖ／ｖ）濃ＨＣｌ（３７％）を含む５０ｍｌのアセトンに５５℃で溶解した。５５℃で８時間後、反応混合物を冷アセトンで希釈し、－２０℃で結晶化し標題化合物を得た（１.４６ｇ、３０２.５g/mol、収率６７％）。
上記の混合物が、個々のジアステレオマーに分離し得るジアステレオマーの混合物で存在することは当業者には明白であろう。ジアステレオマーの分割は天然源からガスまたは液

体クロマトグラフィーまたは分離により便利になされ得る。特別な記載がない限り、本発明の化合物の明細書及び請求の範囲での開示は、上記のように、単離体であれ混合物であれ全ての異性体を含む。

異性体が分離された場合、目的の薬理活性は１つのジアステレオマーがしばしば優勢である。ここに示されているように、これらの化合物は高い立体特異性を示す。特に、ＧＡＢＡ受容体複合体に最大の親和性をもつ化合物は３α－置換－５α－プレグナンステロイド骨格を有するものである。加えて、３α－置換－５β－プレグナン、３α－置換４－プレグナンおよび３α－置換－１６－プレグナン骨格は活性であることが証明された。好ましい神経活性ステロイドは３α－ヒドロキシ－２β－メトキシ－５α－プレグナン－２０－オン；３α,２１－ジヒドロキシ－５α－プレグナン－２０－オン；３α,２０α－ジヒドロキシ－５α－プレグナン；３α,２０－ジヒドロキシ－２０－メチル－５α－プレグナン；３α,２０－ジヒドロキシ－３β,２０－ジメチル－５α－プレグナン；３α－ヒドロキシ－３β－メチル－５α－プレグナン－２０－オン；３α－ヒドロキシ－５α－プレグナン－２０－オン；３α－ヒドロキシ－３β－メトキシメチル；３α－ヒドロキシ－３β－フルオロメチル；３α－ヒドロキシ－３β－トリフルオロメチル；３α－ヒドロキシ－５α－シス－プレグナ－１７(２０)－エン；３α－ヒドロキシ－１７－メトキシメチレン－５－アンドロスタン；および３α－イソブチリルオキシ－５α－プレグナン－２０－オンを含む。

本発明の、及び本発明に使用される化合物は、非毒性の、薬理学的に許容しうる、天然および合成の、プロゲステロンおよびアンドロスタン代謝物の直接作用並びに「プロドラッグ」形であり、現在まで脳のＧＡＢＡ受容体に対する作用は知られていない。本発明はこのこれまで知られていない機構および活性の発見という利点を示す。

本発明の化合物は当分野で既知のまたは今後開発される全ての適当な技術を用いて製造し得る。例えば、プロゲステロンの自然に起こる代謝は種々の動物の排泄源、例えば尿から抽出されまたは豆またはイモのような植物性産物から抽出され得る。このような抽出物は以下の工程に使用する：（ｉ）グルクロン酸抱合体または硫黄エステル接合体を開裂するためのＨＣｌまたは適当な酵素による尿の加水分解；（ii）有機溶媒による抽出；（iii）有機抽出物から酸性物質の除去；（iv）希釈ＮａＯＨおよび水を用いるエタノール性溶液からの沈殿による中性有機溶媒可溶性画分からのプレグナン以外の物質の除去；および（ｖ）得られた精製プレグナンの秤量。マリアンら、“ジ・アイソレーション・オブ・プレグナン－３α－オール－２０－オン”、バイオケミストリー、４０巻：３７６－３８０頁（１９７４年）参照。次いでこれらの抽出化合物は所望の合成誘導体を形成するために化学的に変えられまたは直接使用され得る。

本発明の医薬組成物は、本発明の活性物質またはそのような化合物の混合物を、動物または人の被験者に所望の薬力学活性を産生するのに充分な非毒性量内で、非毒性医薬担体と容認された方法で混合することにより通常の用量単位形に製造する。好ましくは、この組成物は、用量単位当たり約５㎎から約５００㎎の活性成分の中で選択される活性であるか、非毒性量である活性成分を含む。この量は所望する特異的生物活性および患者の状態に依存する。本発明の組成物および方法の望ましい目的は、これらの中枢神経系異常にかかっている患者に共通する不安、筋肉緊張、および鬱を回復または予防するためのストレス、不安、ＰＭＳ、ＰＮＤおよび発作、例えば（大発作以外の）てんかんによるものの処置である。組成物および方法の他の付加的な望ましい目的は不眠症の予防および催眠活性の産生である。

用いられる薬理学的担体は、例えば固体、液体または徐放（例えばレミントンのファーマシューティカル・サイエンシズ、１４版、１９７０年参照）でありうる。代表的な固体担体はラクトース、白土、シュークロース、タルク、ゼラチン、寒天、ペクチン、アカシア、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸、微少結晶セルロース、ポリマーヒドロゲルなどである。典型的な液体担体はポリプロピレングリコール、β－シクロデキストリンの水性溶液、シロップ、ピーナッツ油およびオリーブ油およびそのような乳濁液である。同様に、担体または希釈剤は当分野で既知の、全ての時間遅延性物質、例えばモノステアリ

ン酸グリセロールまたはジステアリン酸グリセロール単独またはワックス、ミクロカプセル、ミクロスフェア、リポソーム、および／またはヒドロゲルとの組み合わせを含み得る。

広範囲の薬理学的形態を用いることができる。したがって、固体担体を用いる場合、処方は、油中でよく磨砕し、微粒子化し又はナノサイズに砕き、錠剤とし、微粒粉末またはペレットの形で、ハードゼラチン又は腸溶性被覆カプセルとし、またはトローチ、口腔錠または座薬の形でとすることができる。液体担体を使用する場合、処方はアンプルのような液体または水溶性または非水溶性懸濁液の形であることができる。液体調剤形はまた薬理学的に許容可能な保存剤などまた必要である。加えて、本明細書に開示するデータを基にしているように要求される低用量のため、経鼻スプレー、舌下投与および徐放皮膚貼剤もまた局所投与に適当な医薬的形態である。

本発明による緩和安定、抗痙攣、気分変更（例えば抗鬱剤）または催眠活性を生ずる方法は、通常上記のような、該活性を生ずるのに充分な非毒性用量の薬理学的担体との組成物に製造される本発明の化合物をそのような活性を必要とする患者に投与することを含む。月経の間、排泄される代謝物の量は約４倍変化する（ロシスカワら、前掲）。したがって、症状を制御するための治療は、ＰＭＳ患者の月経前期状態で通常より高レベルのプロゲステロン代謝物で患者を維持することを含む。活性および主要代謝物の血漿レベルを患者の前月経および後月経の間追跡する。単一または混合物として投与した本発明の化合物の量は、このように前月経状態の間プロゲステロン代謝物のレベルを上昇することを意図する。

投与の経路は活性物質を刺激されるべきＧＡＢＡ受容体に効果的に輸送する全ての経路であり得る。投与は経口、経腸、経直腸、膣内、皮内、舌下、または経鼻のいずれでもなし得る。例えば、皮膚貼薬での１用量は、１週間以上にわたって、患者に活性成分を供給し続け得る。

ＧＲ部位での効力および効能

イン・ビトロおよびイン・ビボ実験データは、プロゲステロン／デオキシコルチコステロンおよびそれらの誘導体の自然発生代謝物が、ＧＡＢＡに感受性の神経膜を通過する塩素イオンのコンダクタンスを容易にするためにＧＲ複合体の新規で特異的な認識部位に高い親和力で相互作用していることを示す（ジーら、１９８７年）。

当業者には、［^{35}Ｓ］－ブチルビシクロフォスフォロチオネート（［^{35}Ｓ］ＴＢＰＳ）結合の調節が、ＧＲ複合体で作用する薬物の効力および効能の測定であることは既知であり、このような薬物はストレス、不安、および発作疾患の処置に有効な治療価値を有し得る。（スクイレス、アール・エフら“［^{35}Ｓ］ｔ－ブチルビシクロフォスフォロチオネート・バインズ・ウィズ・ハイ・アフィニティー・トゥ・ブレイン－スペシフィック・サイツ・カップルド・トゥ・ア・ガンマ・アミノブチリックアシッド－Ａ・アンド・イオン・レコグニション・サイト”モレキュラー・ファーマコロジー、２３巻：３２６頁；ローレンス、エル・ジェーら“ベンゾジアゼピン・アクチィコンバルサント・アクション；ガンマ－アミノブチリック・アシッド－ディペンデント・モデュレーション・オブ・ザ・クロリド・イオノフォア”バイオケミカル・バイオフィジカル・リサーチ・コミュニケーションズ、１２３巻：１１３０－１１３７頁（１９８４年）、ウッドら“イン・ビトロ・キャラクテリゼーション・オブ・ベンゾジアゼピン・レセプター・アゴニスツ、アンタゴニスツ、インバース・アゴニスツ・アンドアゴニスト／アンタゴニスツ”ファーマコロジカル・エクスペリメンタル・セラピー、２３１巻：５７２－５７６頁（１９８４年））。我々は本発明の化合物により達成されるように［^{35}Ｓ］ＴＢＰＳの調節を決定するために測定を行い、これらの化合物がＧＲ複合体に、このような活性に必要な厳格な構造要求と共に高い効力および効能を有することを発見した。

この測定を行う方法は：（１）ジーら１９８７年、前掲；および（２）ジー、ケー・ダブリュー、エル・ジェー・ローレンス、およびエイチ・アイ・ヤマムラ、“モデュレーション・オブ・ザ・クロリド・イオノフォア・バイ・ベンゾジアゼピン・レセプター・リガンズ：インンフルエンス・オブ・ガンマ－アミノブチリック・アシッド・アンド・リガンド

・エフィカシー”モレキュラー・ファーマコロジー、３０巻、２１８頁（１９８６年）に十分記載されている。これらの方法は以下のように行った：
雄スプラーグ－ダウリーラットの脳を殺した直後に回収し、大脳皮質は氷の上で解剖した。P_2ホモジネートは既に記載されたように調製した（ジーら、（１９８６年）前掲）。簡単には、大脳を、０.３２Mシュークロース中ゆるやかにホモジナイズし続いて１０００×ｇで１０分間遠心した。上清を回収し、９０００×ｇで２０分間遠心した。得られたP_2ペレットは５０mMＮａ／Ｋリン酸緩衝液（ｐＨ７.４）２００mMＮａＣｌ中１０％（元の湿重量／容量）懸濁液としてで懸濁し、ホモジネートを形成させた。
１００マイクロリットル（μl）アリコットのP_2ホモジネート（０.５ミリグラム（mg）蛋白）を2ナノモル（nM）の［^{35}Ｓ］ＴＢＰＳ（７０－１００キュリー／ミリモル；ニューイングランド・ヌクレアー、ボストン、エムエー）と共に試験されるべき天然起源ステロイドおよびその合成誘導体プロドラッグの存在または非存在下でインキュベーションを行った。試験化合物はジメチルスルフォキシド（ベーカー・ケミストリー・カンパニー、フィリップスバーリー、エヌジェー）に溶解し、５μlアリコットをインキュベーション混合物に添加した。インキュベーション混合物は緩衝液で最終量１mlとした。非特異的結合は２μMＴＢＰＳの存在下結合として定義した。ＧＡＢＡ（シグマ・ケミカル・カンパニー、セント・ルイス、エムオー）の効能および特異性はＧＡＢＡと（＋）ビククリン（シグマ・ケミカル・カンパニー）の存在下で全ての検定を行うことにより評価した。インキュベーションは２５℃で９０分維持し（一定条件）、ガラス繊維フィルター（３２番、シュライシャーおよびシュエル、キーン、エヌエイチ）の急速濾過により終えた。濾紙結合放射活性は液体シンチレーションスペクトル光度測定法により定量した。運動性のデータおよび化合物／［^{35}Ｓ］ＴＢＰＳ容量依存曲線は、コンピューター化した反復相方法を用いて非直線回帰分析し、速度定数およびIC_{50}（基本［^{35}Ｓ］ＴＢＰＳ結合能を最大の半分阻害する化合物の量）値を得た。
この検定により得られた実験データもジーら（１９８７年）に公表されている。この参考文献に記載のデータは、図１Ａおよび１Ｂにプロットとして示す。これらのプロットはラット大脳皮質に結合する２nMの［^{35}Ｓ］ＴＢＰＳのプレグナンステロイドアルファキサロン（１Ａ）およびＧＡＢＡ（１Ｂ）調節に対する（＋）ビククリンの効果を示す。これらの図で（○）はビククリンなしの対照を示す；（●）は０.５μMビククリンを示す；（□）は１.０μMビククリンを示す；（■）は２.０μMビククリンを示す；そして（△）は３.０μMビククリンを示す。この実験で、（＋）アルファキサロンまたはＧＡＢＡの［^{35}Ｓ］ＴＢＰＳの結合を阻害する能力に対するビククリンの効果を測定した。ビククリンはＧＡＢＡの競合的拮抗剤として知られており、容量依存曲線において古典的な平行シフトが図１Ｂで観察される。これに対し、本発明で同定されたステロイド結合部位は図１ＡのＧＡＢＡ／ビククリン部位と全く異なる。［^{35}Ｓ］ＴＢＰＳ結合の阻害がアルファキサロンにより起こる場合、ビククリンにより誘造された容量依存曲線は平行ではない。これはＧＡＢＡ及びステロイド部位が重なっていないことを示す。
ラット大脳皮質膜における［^{35}Ｓ］ＴＢＰＳの解離運動性に対するペントバルビタールの効果を決定するため検定を行った。この検定は概略上記にしたがって行った。これらのデータは本発明の化合物の作用部位が独特でこれまでに知られたバルツレートの作用部位と異なることを示す。イン・ビトロ検定の結果は図２Ａおよび２Ｂに示す。図２Ａおよび２Ｂのプロットは、大脳P_2ホモジネート中の２nM［^{35}Ｓ］ＴＢＰＳの解離運動性に対するペントバルビタール、アルファキサロン、または５α－プレグナン－３α－ヒドロキシ－２０－オン（３α－ＯＨ－ＤＨＰ）の効果を示す。［^{35}Ｓ］ＴＢＰＳ結合の解離は、全ての場合２μMＴＢＰＳで開始される。ペントバルビタール（図２Ａ）は３０μMで、アルファキサロン（３００nM）および３α－ＯＨ－ＤＨＰ（２０μM）では存在しない２相性解離機構を誘導する（図２Ｂ）。
この検定で得られた運動性速度定数および半減期を表１に示す。表１に示される情報は、バルビツレートが解離半減期並びに遅延および急速分離因子の割合－臨床的に有効なＧＡＢＡアゴニスト、バルビツレートおよびＢＺｓの［^{35}Ｓ］ＴＢＰＳ結合にに対する品質証

明効果－に誘導することを示す（ジーら（１９８６年）；マックセー・ジーおよびチック、エム“ディスソシエーション・オブ・［^{35}Ｓ］ｔ－ブチルビシクロフォスフォロチオネート・バインディング・ディファレンシエーテス・コンバルサント・アンド・デプレッサント・ドラッグス・ザット・モデュレート・ＧＡＢＡエルギック・トランスミッション”ジャーナル・オブ・ニューロケミストリー、４４巻：４８０－４８６頁（１９８５年））。これに対して、プロゲステロン代謝物３α－ＯＨ－ＤＨＰおよびプレグナンアルファキサロンは［^{35}Ｓ］ＴＢＰＳ結合の急速および遅延解離運動性の割合に影響を与えない。ステロイドおよびバルビツレート部位は、したがって異なる。

表１

条件	$T_{1/2}$（分）		K_{-1}（分$^{-1}$）		特異的部位の全パーセント	
	S	R	S	R	S	R
対照	50±4	6±1	0.0145±0.0008	0.131±0.016	73±2	30±2
30 μM Naペントバルビタール	38±3	4.4±0.3	0.0186±0.0015	0.158±0.013	61±6*	48±6**
300 nMアルファキサロン	67±12	4.9±1	0.0120±0.003	0.180±0.040	73±4	34±5
3α-OH-DHP	76±11	6.4±1	0.011±0.002	0.122±0.030	68±3	35±3

対照との有意差@＊スチューテンドのｔ検定でｐ＜０．０５および**ｐ＜０．０１。ＳおよびＲはそれぞれ遅延および急速解離要素を示す。

さらに、３α－ＯＨ－ＤＨＰは、大脳ホモジネートにおいて［^{3}Ｈ］－フルニトラゼパム（［^{3}Ｈ］ＦＬＵ）のＢＺ受容体への結合増強にペントバルビタールと相互に作用せず（図３）、ステロイドおよびバルビツレートが同じ作用部位を分けあっていないことを示す。図３のデータは、ラット海馬ホモジネートにおけるＢＺ受容体に結合している０．２５ｎＭ［^{3}Ｈ］ＦＬＵの３α－ＯＨ－ＤＨＰ調節に対するペントバルビタールの単一の濃度（１．０ｍＭ）の効果を測定するため検定を実施することにより得た。この検定は概略上で述べた方法により実施した。図３のプロットのそれぞれの点は４－６個の独立した測定の平均＋ＳＥＭを示す。両方の曲線のデータの点は、［^{3}Ｈ］ＦＬＵ結合のパーセント増強で表し、それは３α－ＯＨ－ＤＨＰの非存在下、マイナス１００％の制御条件で測定した、［^{3}Ｈ］ＦＬＵ結合のパーセントとして定義する。全ての検定はＧＡＢＡの非存在下で行った。

上記のデータは、本発明のおよび本発明で使用される化合物が、ＧＲ複合体のバルビツレートまたはＢＡ制御部位と離れた新規部位と相互作用することを証明する。

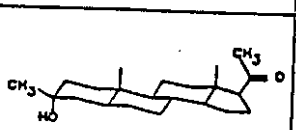
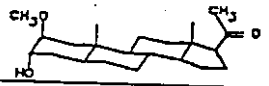
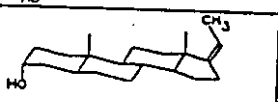
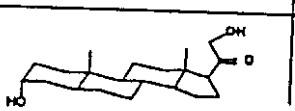
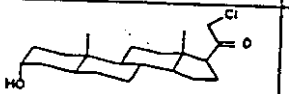
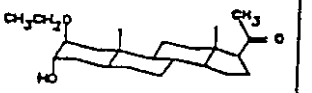
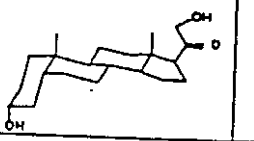
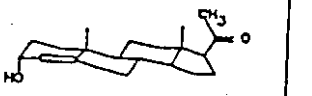
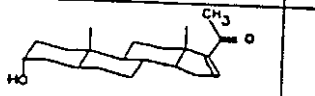
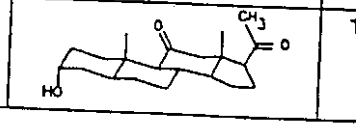
種々の化合物を、イン・ビトロにおいて［^{35}Ｓ］ＴＢＰＳ結合の調節剤としての有効性を決定するためにふるいわけした。これらの検定は上記の方法に従って行った。これらの検定を基にして、我々は、ＧＲ複合体における相互作用に要求される構造活性およびそれらの有効性および効力のランクを決定した。下記表２は試験した直接作用化合物にふさわしいデータを提供し、一方表３は３α－ＯＨ－ＤＨＰのプロドラッグエステルに対するデータを提供する。

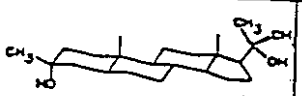
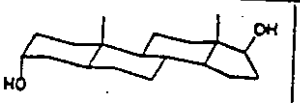
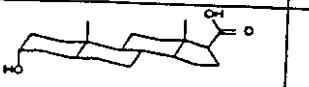
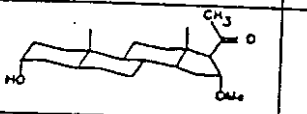
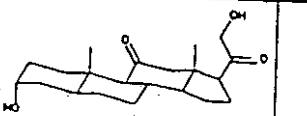
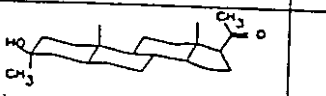
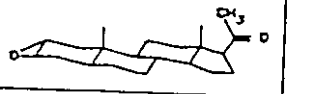
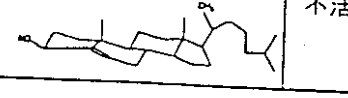
表２のカラム１および２は、ＧＡＢＡの非存在下および存在下で［^{35}Ｓ］ＴＢＰＳの結合を調節する能力の測定をした種々の直接作用医薬のイン・ビトロ活性を示す。表から判るように、３α－ＯＨ－ＤＨＰはIC_{50}、または［^{35}Ｓ］ＴＢＰＳの結合の５０％最大阻害を達成するのに必要な濃度が最も低く、一方性ステロイドおよびコレステロールのような化合物は本質的に不活性である。イン・ビボデータはメトラゾール投与後の種々の時間における痙攣から守られた動物のパーセントとしてカラム４に示す。この表からイン・ビボデータはイン・ビトロデータとよく関連していることが容易に判る。このデータはまた、参考として本明細書に包含されているパーディー、アール・エイチら、“シンセシズ、メタボリズム、アンド・ファーマコロジカル・アクティビティー・オブ・３α－ヒドロキシ

・ステロイズ・ウィッチ・ポテンシエート・ＧＡＢＡ－レセプター・メディエーティッド・クロライド・イオン・アップテイク・イン・ラット・セレブラル・コルチカル・シナプトニューロソムズ”ジャーナル・オブ・メディショナル・ケミストリー、３３巻：１５７２－１５８１頁（１９９０年）に記載される種々の３α－ヒドロキシステロイドにより促進された３６Ｃｌイオン取り込み効果に対するデータと良く関連する。

表３は３α－ＯＨ－ＤＨＰのプロドラッグエステルに関するイン・ビボデータを提供する。ステロイド骨格における２つの異なった位置でのプロドラッグエステルの効果を、表２のように、メトラゾール投与後の種々の時間における痙攣から守られた動物のパーセントとして測定する。このデータから幾つかのプロドラッグが痙攣剤の効果からの均一な防御を一定期間にわたって提供し、一方他は急速な防御を提供し、そしてさらに他のものは遅延防御を提供することは明白である。

表２

化合物	構造	GABA無し[1] IC_{50}	+5μMGABA[2] IC_{50}	最大阻害 (%)	抗ーメトラゾール ED_{50}(mg/kg)
5α-プレグナン-3α-オール-20-オン（エピアロプレグナノロン）		230	38	100	5
3α-ヒドロキシ-3β-メチル-5α-プレグナン-20-オン		—	60	100	9
3α-20-ジヒドロキシ-20-メチル-5α-プレグナン		—	65	45	—
2β-メトキシ-3α-ヒドロキシ-5α-プレグナン-20-オン		—	66	100	60
3α-ヒドロキシ-5α-シス-プレグナ-17(20)-エン		—	68	100	—
5α-プレグナン-3α,21-ジオール-20-オン テトラヒドロデオキシコルチコステロン(THDOC)		—	80	100	8
21-クロロ-5α-プレグナン-3α-オール-20-オン		—	80	100	—
5α-プレグナン-3α,20α-ジオール（エピアロプレグナンジオール）		359	82	52	40 (iv)
2β-エトキシ-3α-ヒドロキシ-5α-プレグナン-20-オン		—	97	100	6
5β-プレグナン-3α,21-ジオール-オン		—	100	100	10
3α-ヒドロキシ-4-プレグネン-20-オン		—	154	80	20
3α-ヒドロキシ-5α-プレグナ-16-エン-20-オン		—	161	100	—
5α-プレグナン-3-オール-11,20-ジオン（アルファキサロン）		11000	264	100	—

3α,20-ジヒドロキシ-3β,20-ジメチル-5α-プレグナン		—	550	50	—
5α-アンドロスタン-3α,17β-ジオール		15000	1000	100	—
5α-プレグナン-3α,20β-ジオール		—	1000	100	—
3α-ヒドロキシ-5β-プレグナ-16-エン-20-オン		—	1000	100	—
3α-ヒドロキシ-5α-アンドロスタン-17β-カルボキシレート		—	2680	63	—
3α-ヒドロキシ-5α-プレグナン-16α-メトキシ-20-オン		—	4500	73	—
プロゲステロン		>10^5	5200	100	—
5α-プレグナン-3α,21-ジオール-11,20-ジオン		>10^5	5500	100	—
3β-ヒドロキシ-3α-メチル-5α-プレグナン-20-オン		—	7400	55	—
5α-アンドロスタン-17β-オール-3-オン		>10^5	18000	52	—
2,3-エポキシ-5α-プレグナン-20-オン		—	100000	—	—
5α-プレグナン-3β-オール-20-オン（アロプレグナノロン）		不活性	>10^5	33	—
5-プレグネン-3β-オール-20-オン（プレグネノロン）		不活性	>10^5	30	—
4-プレエグネン-11b,21-ジオール-3,20-ジオン（コルチコステロン）		不活性	>10^5	21	—
17β-エストラジオール		不活性	不活性	0	—
コレステロール		不活性	不活性	0	—

説明

1.ＧＡＢＡ添加なしの洗浄シナプス性神経細胞体における［^{35}Ｓ］ＴＢＰＳ結合阻害。

IC_{50}は５０％最大阻害を成し遂げるのに必要な試験化合物の濃度（nM）である。

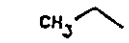
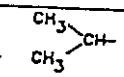
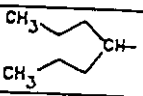
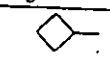
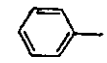
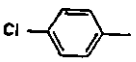
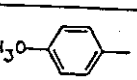
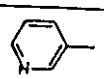
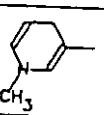
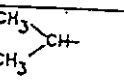
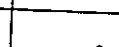
２．５μＭＧＡＢＡの存在下の［^{35}Ｓ］ＴＢＰＳ結合阻害。ＩＣ$_{50}$は５０％最大阻害を成し遂げるのに必要な試験化合物の濃度（ｎＭ）である。
３.試験化合物の飽和濃度で示される［^{35}Ｓ］ＴＢＰＳの特異的結合の最大％。
４.メトラゾール誘導痙攣の阻害により測定した抗痙攣活性。ＥＤ$_{50}$は５０％最大阻害を成し遂げるのに必要な試験化合物の濃度（ｎＭ）である。

表３

３α－ヒドロキシ－５α－プレグナン－２０－オンのプロドラッグエステル



抗メトラゾール活性(30mg/kg)。
腹腔内注射後防御の動物の%で表す。

プロドラッグ R1=	プロドラッグ R2=	1時間	4時間	20時間
CH_3—	H	25	—	—
	H	75	0	—
	H	75	13	—
	H	33	33	33
	H	75	29	—
	H	0	16	—
	H	17	—	17
	H	33	—	—
	H	50	<16	—
	H	17	17	—
	H	—	—	50
	H	0	0	63
3α-OH		50	0	—
CH_3—		0	0	—
		63	13	—

部分的アゴニスト活性
望ましい治療効果は、最小の望ましくない副作用で患者に利用されるべきであるため、本

発明の顕著な態様は２０α－水酸基をもつ５ａ－プレグナン化合物または２０α－水酸基をもつ化合物のプロドラッグ又は２０β－水酸基をもつ５β－プレグナン化合物の部分的アゴニスト活性の発見を含む。不安または痙攣の回復を望んでいる患者にとって、催眠は望ましくない。部分的アゴニストとして記載した化合物および活性は最小の望ましくない効果と共に望ましい効果をもつ。

本発明のおよび本発明で使用された化合物の部分的アゴニストの効果を示すために、ラット大脳皮質シナプス性神経細胞体中、３α－ＯＨ－ＤＨＰの存在下または非存在下、ＧＡＢＡ促進^{36}Ｃｌ取り込みを変える５α－プレグナン－３α，２０α－ジオール（５α－プレグナンジオール）の能力を研究した。加えて、５α－プレグナンジオール存在下または非存在下、^{36}Ｃｌ取り込みを調節するＢＺクロナゼパムの能力を評価した。

大脳皮質からのシナプス性神経細胞体は雄スプラーグ－ダウレーラットからスダックら（１９８６年）が既に述べたように調整した。簡単に言うと、組織を、mMで１４５ＮａＣｌ、５ＫＣｌ、１$MgCl_2$、１０－グルコース、１$CaCl_2$（シグマ・ケミカル・カンパニー、セントルイス、エムオー）を含む１０mMトリス－ＨＥＰＥＳ（ｐＨ７.５）緩衝液中ホモジネートした（１０％ｗ／ｖ）。ホモジネートは最終量４０mlになるように緩衝液で希釈し、３層のナイロンメッシュ（１６０μｍ）を通して濾過した。濾液を２回１０００×ｇで１５分遠心することにより洗浄し、最後のペレットは再び氷冷緩衝液に再び懸濁し、蛋白濃度７－１０mg/mlとした。

一定量の膜調整物（２００μl）を３０℃、１０分間、前インキュベーションした。相互作用は、最終インキュベーション量が０.４mlになるように薬／ステロイドおよび０.２ml^{36}Ｃｌ（ニューイングランド・ヌクレアー・ボストン、エムエー、０.５５mCi/mmol、０.８μCi/ml）を同時に添加することにより開始した。ステロイドおよび試験薬はジメチルスルフォキシド（ＤＭＳＯ）に溶解し、２μlの一定量の反応混合物に添加した。等量の溶媒を対照反応混合物中常に含有させた。混合物は穏やかに混合し、^{36}Ｃｌ取り込みを５秒後に１００μMピクロトキシン（シグマ・ケミカル・カンパニー）を含む５mlの氷冷緩衝液を加えることにより停止し、続いてすぐに急速濾過をガラス繊維フィルター（ワットマン・ジーエフ／シー）で真空下行った。フィルターを５mlの氷冷緩衝液で洗浄し、フィルター結合放射活性は液体シンチレーションスペクトル光度測定法により定量した。特異的取り込みは、シナプス性神経細胞体の非存在下フィルターに結合した^{36}Ｃｌ量をそれらの存在下に観察されたものから引くことにより計算した。促進パーセントは基本の^{36}Ｃｌ取り込みのそれ以上の取り込みの増加パーセントを示す。統計的な比較を相違の分析（ＡＮＯＶＡ）に利用した。

ＧＡＢＡ（２５μM）単独で有意な^{36}Ｃｌ取り込みの促進をなす（表４、後述）。検定でのＧＡＢＡの$GABA_4$受容体に対する特異性はＧＡＢＡ刺激効果を完全に阻止する（＋）ビククリン（１０μM）の能力により示す。５α－プレグナンジオール（表４）または３α－ＯＨ－ＤＨＰ（データは示していない）単独の大脳皮質シナプス性神経細胞体への添加は基本^{36}Ｃｌ取り込みに影響を与えない。ＧＡＢＡ存在下、５α－プレグナンジオールおよび３α－ＯＨ－ＤＨＰは両方とも濃度依存性の方法で、ＧＡＢＡ（２５μM）単独で産生した量より上に^{36}Ｃｌ取り込みを促進する（図４）。この図では、（●）は５００nM３α－ＯＨ－ＤＨＰを添加してからの^{36}Ｃｌ流入の促進パーセントを示し、（○）は対照レベルを示す。図４に示されるように、５α－プレグナンジオールによるＧＡＢＡ刺激^{36}Ｃｌ取り込みの能力は、ＧＡＢＡ単独での産生の最大促進の約３０％上で濃度３μMで平行に達する。５α－プレグナンジオールが３α－ＯＨ－ＤＨに関する［^{35}Ｓ］ＴＢＰＳ結合の立体阻害剤として能力に限界があるという先の観察を基にして（ジーら（１９８８年））、我々は５α－プレグナンジオールの、単一濃度（５００nM）の３α－ＯＨ－ＤＨＰの存在下でのＧＡＢＡ刺激^{36}Ｃｌ取り込みを調節する能力を測定した。３α－ＯＨ－ＤＨＰ単独で、ＧＡＢＡ刺激^{36}Ｃｌ取り込みの６０％の促進を示し（図４）、５α－プレグナンジオール単独で得られる最大の効果より大きい。これらの条件下、ＧＡＢＡ刺激^{36}取り込みに効果のある３α－ＯＨ－ＤＨＰの部分的拮抗現象は５α－プレグナンジオールが部分的アゴニストであれば期待される。したがって、ＧＡＢＡ刺激^{36}Ｃｌ取り込みを促進

する３α－ＯＨ－ＤＨＰの能力は、５α－プレグナンジオールによる用量依存方法で、２５μＭのＧＡＢＡ単独で得られるより６０から３１％上で拮抗する（図４）。これらの観察は、３α－ＯＨ－ＤＨＰおよび５α－プレグナンジオールが、それぞれＧＲに関連した通常のステロイド部位で完全および部分的アゴニストとして働くことを示す。ＢＺクロナゼパムが５α－プレグナンジオールと同様の限られた効力で［^{35}Ｓ］ＴＢＰＳ結合を調節することが報告されていたので、クロナゼパムおよび５α－プレグナンジオールのＧＡＢＡ促進^{36}Ｃｌ取り込みを調節する能力を比較することは興味深かった。表４に記載のように、５α－プレグナンジオールおよびクロナゼパムにより誘導されるＧＡＢＡ促進^{36}Ｃｌ取り込みの最大効果はほとんど同じ（すなわち、１６２±４％対１６４±２％）であった。しかし、５α－プレグナンジオールはクロナゼパムのＧＡＢＡ促進^{36}Ｃｌ取り込みの効果を促進した（すなわち付加的に）（表４）。これは５α－プレグナンジオールおよびクロナゼパムの異なった活性部位を示唆する。

表４

ＧＡＢＡ(25μM)存在下または非存在下のステロイド、クロナゼパムおよび(+)ビククリンの^{36}Ｃｌ取り込みにおける効果

条件	基本^{36}Ｃｌ取り込みを越える促進％
+GABA	133 ± 6
+GABA + (+)ビククリン (10 μM)	3 ± 2
+ 5α-プレグナンジオール(3 μM)	2 ± 1
+ クロナゼパム (1 μM)	1 ± 0.5
+GABA + 3α-OH-DHP (500 nM)	194 ± 8
+GABA + 5α-プレグナンジオール(3 μM)	162 ± 4
+GABA + クロナゼパム (1 μM)	164 ± 2
+GABA + 5α-プレグナンジオール(3μM) + クロナゼパム (1 μM)	192 ± 16[a]

[a]AVONAにおいてGABA+5α－プレグナンジオール(３μM)との有意差p<0.05

抗痙攣活性

実験はまたスイス－ウェブスターマウスでＴＢＰＳ誘導痙攣刺激に対する本発明および本発明に使用される化合物の調節能力を測定することによりこれらの相互作用の生物学的な関連を測定した。マウスに図５に示したように種々の量の本発明の化合物を、ＴＢＰＳを注射する１０分前に注射した。ＴＢＰＳによって誘発された間代性痙攣（前脚間代性痙攣活性の存在）のおこる時間を４５分間それぞれのマウスを観察することにより測定した。対照マウスとステロイド処置マウスの開始時間の間の有意差をスチューデントのｔ検定により計算した。これらのステロイドのイン・ビボでの有効性および効果の相対的ランクはイン・ビトロで測定した値とよく対応していた。３α－ＯＨ－ＤＨＰの抗痙攣剤および毒性学的性質をさらに測定した。抗痙攣剤のふいるいわけでは、マウスに種々の量の３α－ＯＨ－ＤＨＰまたは溶媒（ジメチルスルフォキシド）を以下の化学痙攣剤の投与１０分前に注射した：メトラゾール（８５mg/kg）；（＋）ビククリン（２.７mg/kg）；ピクロトキシン（３.１５mg/kg）；ストリキニーネ（１.２５mg/kg）；または溶媒（０.９％食塩水）。痙攣剤または溶媒の投与直後、マウスを３０から４５分間観察した。緊張および／または間代性痙攣を伴う動物の数を記録した。最大電気試験では、６０Hzで５０mAの電流を緊張性発作を誘発するため角膜の電極を通って２００msec送った。緊張要素を除去する３α－ＯＨ－ＤＨＰの能力は末端で測定された。沈静効果は３α－ＯＨ－ＤＨＰ注射後１０分の回転試験で測定し、そこでそれぞれ３回の実験で回転（６rpm）棒に

＞

１分滞在するマウスの数を測定した。ED_{50}（最大の半分の効果が得られる用量）を各スクリーンで測定した。急性LD_{50}（試験動物の半分が死亡する用量）を３α－ＯＨ－ＤＨ

Ｐ投与後４８時間の生存を数えることにより測定した。結果は後述の図５に示し、３α－ＯＨ－ＤＨＰは他の臨床的に有効な抗痙攣剤と比較してＢＺクロナゼパムと同様な性質をもつ高い効果があることを証明する。抗痙攣量での鎮静傾向は回転試験でのED_{50}の値および（＋）ビククリン誘導発作を比較することにより示されるように低い。３α－ＯＨ－ＤＨＰの治療指数（LD_{50}とED_{50}の比）は、（＋）ビククリン誘導発作に対するED_{50}を基にした場合＞１２２であり、したがって低い毒性を示す。これらの観察はこれらの化合物の脳活性調節剤としての治療利用性を証明し、それはイン・ビトロでの高いＧＲ複合体への親和性相互作用と対応する。

表５

マウスにおける３α－ＯＨ－ＤＨＰおよび治療に使用されている抗痙攣剤から選択されたものの抗痙攣および急性毒性性質

化合物	RR	ED_{50} (mg/Kg) MES	MTZ	BIC	PICRO	STR	LD_{50}
フェノバルビタール *	40-100	28.6	18.8+1.1	4.1+1.7	31.7+1.1	1300	16000
3α-OH-DHP(a)	30	28.6	4.9	12.3	10.2	>300	--
5α-THDOC(a)	22.9	26.7	8.1	17.8	5.6	>300	--
3α-OH-DHP(b)*	40-100	>300	18.8±1.1	4.1±1.7	31.7±1.1	>300	>500
クロナゼパム *	0.184	93	0.009	0.0086	0.043	NP	>6000
フェノバルビタール*	69	22	13	38	28	95	265
フェニトイン *	65	10	NP	NP	NP	**	230
プロガバイド ***	-	75	30	30	105	75	3000
バロプレート*	426	272	149	360	387	293	1105

略語はＲＲ（回転）；ＭＥＳ（最大電気刺激）；ＭＴＺ（メトラゾール）；ＢＩＣ（ビククリン）；ＰＩＣＲＯ（ピクロトキシン）；ＳＴＲ（ストリキニーネ）；ＮＰ（防御なし）である。

（ａ）２０％ヒドロキシプロピル－β－シクロデキストリンに水中で溶解。ステロイドおよび痙攣剤の投与経路はそれぞれ腹腔内、皮下である。

（ｂ）ＤＭＳＯに溶解。データはベレリーら（１９８９年）から取った。ED_{50}値は９５％信頼限界を含む。

＊抗痙攣剤データはスウィニャードおよびウッドヘッド、ジェネラル・プリンシパルス：エクスペリメンタル・ディテクション、クアンティフィケション・アンド・エバルエーション・オブ・アンチコンバルサンツ、アンチエピレプティック・ドラッグス、ディー・エム・ウッドバリー、ジェー・ケー・ペンリー、およびシー・イー・ピッペンガー編集１１１頁（ラベン・プレス、ニューヨーク）（１９８２年）からである。

**５５－１００mg/kgでの最大防御の５０％。

***プロガバイド研究での化学的痙攣剤は、静脈内で投与し、全てのデータはウォームスら、ガンマアミノ酪酸（ＧＡＢＡ）受容体刺激からである。プロガバイド（エスエル７６００２）およびエスエル７５１２０の神経生理学的性質は、その抗痙攣スペクトルを増強する、ジャーナル・オブ・ファーマコロジー・アンド・エクスペリメンタル・セラピューティクス、２２０巻：６６０－６７１頁（１９８２年）。

プロドラッグの抗痙攣活性の更なる研究を、基本化合物３α－ＯＨ－ＤＨＰの修飾を伴う時間経過にわたり行った。成熟雄ＣＦ１マウス（２０－３０ｇ）をこれらの研究に使用した。抗痙攣活性はスウィニャードおよびウッドヘッド（１９８２年、前掲）に記載の方法で行った。メトラゾール誘導発作に対する防御パーセントは化合物を投与したのち時間に

対してプロットした。マウスにメトラゾール（８５mg/kg皮下）を化合物（３α－ＯＨ－ＤＨＰを３０mg/kg、３α－ＡＣ－ＤＨＰ、３α－ＰＲ－ＤＨＰ、および３α－ＢＵ－ＤＨＰは全て６０mg/kg）投与後、種々の時間に注射した。１０ないし１２匹のマウスを試験薬の１用量当たり使用した。マウスにＤＭＳＯまたは２－ヒドロキシプロピル－β－シクロデキストリンに溶解した化合物、または溶媒単独（ＤＭＳＯで、５μl/体重kg）をＣＤ$_{97}$（スウィニャードおよびウッドヘッドによる９７％の動物が発作を起こす用量（１９８２年））のメトラゾール（８５mg/kg）または溶媒（０.９％食塩水、５μl/体重g）投与（皮下）する前の種々の時間に注射した。痙攣剤または溶媒を投与した直後、マウスを３０－４５分の間の時間観察した。緊張及び／又は間代痙攣を有する動物の数を記録した。ステロイドの緊張要素を回避する能力は末端で測定した。催眠効果は回転試験で測定し、そこで各３回の試験で回転（６rpm）棒

１分滞在するマウスの数を測定した。急性ＬＤ$_{50}$を投与後（腹腔内）４８時間生存している数を数えることにより測定した。全ての平均有効量はリッチフィールドおよびウィルウコキソン（１９４９年）の方法により測定した。

図６はこれらの実験の結果を示す。基本化合物３α－ＯＨ－ＤＨＰの３α位置での酢酸、プロピオン酸または酪酸基による修飾は化合物による防御の時間を延長した。したがって、本発明の化合物は、防御の程度を変えて、一定時間に渡って抗痙攣活性を提供するように修飾し得る。

抗痙攣活性に関する神経活性分子の経口投与の効果も研究した。図７は神経活性ステロイドプロドラッグおよび直接作用する分子の経口抗痙攣活性を示す。全ての研究は非拘束ＣＦ１マウス（チャールズ・リバー）で昼光時間（０６００－１７００）の間行った。分子は０．９％ＮａＣｌ中０.３５％ヒドロキシプロピルセルロースおよび４％トウィーン８０を含む溶媒（微小化溶液）中で経口的に投与した。分子はガラスミル保温機にガラスビーズと共に置き、投与前に４８時間粉砕した。この方法により薬粒子は、ビデオマイクロスコープで測定したとき約７－３５μメーターの大きさとなる。抗痙攣ステロイド、３α－イソブチリルオキシ－５α－プレグナン－２０－オン（１００mg/kg）（●）および３α－ヒドロキシ－３β－メチル－５α－プレグナン－２０－オン（１０mg/kg）（○）を経口餌管により与えた。化学的痙攣剤メトラゾール（８５mg/kg、皮下）を抗痙攣ステロイド投与後種々の時間で投与した。結果は痙攣剤投与後３０分以内に間代性痙攣のしるしを示さなかった動物のパーセント（すなわち防御パーセント）で表す（図７）。

図７から分かるように、プロドラッグまたは直接作用する抗痙攣神経活性ステロイドのいずれかを経口投与した場合、有効な時間の間抗痙攣活性が現れる。これはこのような薬が治療に使用される場合、重要な特性である。

プロゲステロンの利点

軽減レベルのプロゲステロンおよびＰＭＳ、ＰＮＤ、および月経性癲癇に関連した症状との間の相互関連は（バックストロームら、１９８３年、前掲；ダルトン・ケー（１９８４年）前掲）それらの処置においてプロゲステロンを使用させる（マットソンら（１９８４年）；およびダルトン（１９８４年））。しかしながら、プロゲステロンは前述の症状に完全な治療効果はない。例えば、ＰＭＳの処置ではプロゲステロンは用量依存性の関係を示さない（マドックスら、１９９７年、前掲）。これらの結果は、プロゲステロンが図２で示したように、プロゲステロンの幾つかの代謝物と比較してＧＲ複合体で非常に低い効果であることを証明した我々のイン・ビトロでの結果と照らし合わせたとき、断定できる。

プロゲステロンの有利な効果は、活性プロゲステロン代謝物にプロゲステロンが変化しやすいことに多分関係する。特別なプロゲステロン代謝物を前述の症状の処置に使用することは、代謝物および誘導体の高い有効性および効果に基づいてプロゲステロンの使用よりも明白に優れている（ジーら（１９８７年）および上記表２）。

ホルモン性副作用なし

本発明のおよび本発明で使用される化合物は、プロゲステロン受容体への親和性を欠くた

めホルモン性副作用がないこともまた証明された（図８）。図８に示されたデータは、プロゲステロン代謝物およびプロゲスチンＲ５０２０の［^{3}Ｈ］Ｒ５０２０のラット子宮内のプロゲステロン受容体への結合に対する効果を測定するために、上記の概要にしたがって行った。図８のプロットの全べての点は３回の実験の平均を示す。以下の化合物が図８に挙げたものである：プレグナン－３α－オール－２０－オン（ＤＨＰ）、５α－プレグナン－３α,２１－ジオール－２０－オン（ＴＭ－ＤＯＣ）、および５β－プレグナン－３α,２０α－ジオール（５ＢＥＴＡ）。

本明細書に記載の化合物のホルモン性作用をその有効なエストロゲン様、プロゲステロン様、鉱質コルチコチド様および糖質コルチコチド様活性を通じてさらに研究した。これらの活性はステロイドホルモンのそれぞれのホルモン受容体への結合阻害に対する薬の能力を追跡することにより分析した。結果は表６－９に示す。それらは１０$^{-6}$及び１０$^{-5}$Ｍでの薬で種々のステロイドホルモン受容体への^{3}Ｈ－リガンド結合の阻害パーセントとして示した。対照値は薬の非存在下での結合を表す。

表６では、ラットは死亡前３日間に副腎摘出した。鉱質コルチコイド受容体を単離するために、脳細胞質画分を上記のように調整した。薬は３nMの^{3}Ｈ－アルドステロン（鉱質コルチコイドへの特異的リガンド）と共に、タイプII（糖質コルチコイド）受容体への^{3}Ｈ－アルドステロン結合を阻害する選択的タイプII促進剤ＲＵ２８３６２（０.５μＭ）の存在下インキュベーションした。特異的結合は１７５６cpm／画分であった。

表６

海馬鉱質コルチコイド受容体における^{3}Ｈ－アルドステロン結合の阻害

対照物 (10^{-6} M)	阻害%
アルドステロン	95.5
５α－プレグナン－３α,２１－ジオール－２０－オン	76.7
５β－プレグナン－３α,２１－ジオール－２０－オン	13.8
５α－プレグナン－３α,オール－２０－オン	0
５β－プレグナン－３α,オール－２０－オン	0
５α－プレグナン－３α,２０－ジオール	0
５β－プレグナン－３α,２０－ジオール	0
５α－プレグナン－３α,２０－ジオール－２０－ジメチル	0
５α－プレグナン－３α－オール－３β－メチル－２０－ジメチル	3.2
５α－プレグナン－３β,２０－トリメチル－３α,２０－ジオール	0

表７で、脳細胞質画分は表６のように調整し、薬は３nMの^{3}Ｈ－デキサメタゾン（糖質コルチコイド受容体への特異的リガンド）とともにインキュベーションした。特異的結合は１１７４cpm／画分であった。

表７

糖質コルチコイド受容体における^{3}Ｈ－デキサメタゾン結合の阻害

対照物 (10^{-6} M)	阻害%
デキサメタゾン	100
５α－プレグナン－３α，２１－ジオール－２０－オン	29.5
５β－プレグナン－３α，２１－ジオール－２０－オン	8.2
５α－プレグナン－３α，オール－２０－オン	8.7
５β－プレグナン－３α，オール－２０－オン	5.9
５α－プレグナン－３α，２０－ジオール	2.6
５β－プレグナン－３α，２０－ジオール	1.4
５α－プレグナン－２０－ジメチル－３α，２０－ジオール	2.6
５α－プレグナン－３α－オール－３β－メチル－２０－オン	0.6

表８は^{3}Ｈ－エストラジオール（エストロエゲン受容体への特異的リガンド）の、先述のように調整したウシ子宮細胞質への結合の阻害を示す。^{3}Ｈ－エストラジオールの２種の濃度；（Ａ）０．１５nMおよび（Ｂ）０．２５nMは薬の存在下細胞質と共にインキュベーションした。^{3}Ｈ－エストラジオールの０．１５nMおよび０．２５nMでの特異的結合はそれぞれ１２４１cpm／画分および１９５１cpm／画分であった。

表８

ウシ子宮エストロゲン受容体における^{3}Ｈ－デキサメタゾン結合の阻害

対照物	阻害%			
	対照物 10^{-6} M		対照物 10^{-5} M	
	A[a]	B[b]	A	B
５α－プレグナン－３α，オール－２０－オン	0	0	0	3
５α－プレグナン－３α，２１－ジオール－２０－オン	2	4	23	23
５α－プレグナン－３α，２０－ジオール	0	0	7	13
５α－プレグナン－３α－オール－３β－メチル－２０－オン	0	0	2	6
５β－プレグナン－３α，２１－ジオール－２０－オン	0	4	3	7
５α－プレグナン－３β，２０－トリメチル－３α，２０－ジオール	0	4	3	7
５β－プレグナン－３α，２０－ジオール	8	0	0	0
５β－プレグナン－３α，オール－２０－オン	0	0	5	0
５α－プレグナン－２０－ジメチル－３α，２０－ジオール	0	0	5	5

表９に示すデータについてはウシ子宮細胞質を表７について行ったように単離し、^{3}Ｈ－プロゲステロン、天然リガンドの結合に続いて続いてプロゲステロン受容体に結合した後使用した。^{3}Ｈ－プロゲステロンの２種の濃度、（Ａ）０．１５nMおよび（Ｂ）０．２５nMを薬の存在下細胞質と共にインキュベーションした。０．１５nMおよび０．２５nMでの^{3}Ｈ－プロゲステロンの特異的活性は、それぞれ２８９３cpm／画分および４２２２cpm／画分であった。

表９

ウシ子宮エストロゲン受容体における^{3}Ｈ－プロゲステロン結合の阻害

対照物	阻害％ 対照物 10^{-6} M		対照物 10^{-5} M	
	A[a]	B[b]	A	B
５α－プレグナン－３α，オール－２０－オン	14	2	41	40
５α－プレグナン－３α，２１－ジオール－２０－オン	13	5	35	28
５α－プレグナン－３α，２０－ジオール	6	1	2	3
５α－プレグナン－３α－オール－３β－メチル－２０－オン	4	2	10	5
５β－プレグナン－３α，２１－ジオール－２０－オン	6	2	19	10
５α－プレグナン－３β，２０－トリメチル－３α，２０－ジオール	8	0	5	0
５β－プレグナン－３α，２０－ジオール	0	0	1	1
５β－プレグナン－３α，オール－２０－オン	9	1	17	13
５α－プレグナン－２０－ジメチル－３α，２０－ジオール	0	0	0	0

これらの実験の結果は神経活性ステロイドが上記のいかなるステロイド受容体にも強い親和性をもたないことを明白に示す。したがって、それらはそのようなステロイド受容体結合に起因する予言されたホルモン性副作用を示さない。

緩和安定効果

以下の実験はプロゲステロン代謝物、３α－ＯＨ－ＤＰＨが、緩和安定化合物の行動効果を測定したひとの不安の３種の動物モデルで有効な緩和安定のあることを証明する。加えて、それらは３α－ＯＨ－ＤＰＨの緩和安定効果はＢＺと別の機構を介していることを示す。

明／暗移動試験（クラウリーおよびグッドウィン（１９８９年））は齧歯類が生来新しい環境を探索する傾向があるが、、しかし解放された、明るい場所は齧歯類にとって嫌いで、探索行動を抑制するという観察に基づく（クリスマスおよびマックスウェル（１９７０年）、ファイル（１９８０年））。種々の臨床的に確立された、ジアゼパム、クロナゼパムおよびペントバルビタールを含む緩和安定薬は明箱と暗箱の間の移動の回数を増加することを示し、一方非緩和安定剤はこのような行動結果を示さない（ブルムスタインおよびクラウリー（１９８３年）；クラウリー（１９８１年）；クラウリーおよびデービス（１９８２年）、クラウリーおよびグッドウィン（１９８０年）；クラウリーら（１９８４年））。明／暗移動試験と同様に、解放場所試験で新しい環境を探索する傾向および嫌いな環境（明るい環境）にまだ残る傾向の間の拮抗作用を測定した。ＢＺは解放場所を動き回

るのを増加させる（デイビスおよびシュタインベルグ（１９８４年）；フージズおよびグリック（１９７５年）；サンソン（１９７９年）；ブルッフワイヤーら（１９９０年）；ブルッフワイヤー（１９９０年））。解放場所試験は新規化合物の潜在的緩和安定性質の簡単な非罰則評価を提供する。最後に３α－ＯＨ－ＤＨＰはボーゲル葛藤わく組みにおける緩和安定性質を試験した。ＢＺの、葛藤わく組みでの処罰による行動の抑制を弱める能力は十分に確立した（ジェラーら（１９６２年）；ボーゲルら（１９７１年））。ボーゲル試験は、３α－ＯＨ－ＤＨＰおよび５α－ＴＨＤＯＣの緩和安定効果の試験で不安の２つの“探索”モデルに古典的な行動薬理学的支持を与える。加えて、ＢＺの拮抗剤、ＣＧＳ－８２１６は明／暗試験においてジアゼパムの緩和安定効果を阻害することを示す（クロウリーら（１９８４年））。独特のステロイド部位をイン・ビトロでさらに証明するため、我々は明／暗試験において３α－ＯＨ－ＤＨＰの緩和安定効果をＣＧＳ－８２１６で阻害することを試みた。

体重１５－２０ｇの雄エヌ・アイ・エイチスイス－ウェブスターマウス（ハーラン）をすべての実験に使用した。マウスはおがくずが敷いてあるポリエチレンの檻に４匹／檻で飼った。飼育室の環境は１２時間の明／暗サイクル（０６００－１８００時）によって環境的に抑制した（２２℃）。マウスは餌と水は自由に接種できた。実験は０７００－１５００時に行い、群の日差の影響は補った。

ａ）明／暗移動

方法はクラウリーおよびグッドウィン（１９８０年）が先に述べたものを使用した。装置は小さい箱（１５×２２×１４cm）に出入口（５×６cm）を通じて大きい箱（２６×３３×２４cm）を含む。大きい箱は標準１００Ｗ電球で明るくし、一方小さい箱は暗いままであった。試験薬での前処置に続いて、マウスを大きい箱の中心に置き、１０分間大きい箱と小さい箱の間を移動する回数を数えた。薬の前処置時間は以下の通りであった：ジアゼパム（３０分）；３α－ＯＨ－ＤＨＰ（１０分）；および５α－ＴＨＤＯＣ（１０分）。拮抗剤研究の間ＣＧＳ－８２１６を試験薬の投与３０分前に投与した。

ｂ）解放場所試験

緩和安定効果の第２の測定計として、ナイーブなマウスを大きい明るいプレキシガラス箱（４２×４２×３０.５cm）の中心に置き、１０分の試験時間の間に移動した全距離を測定した。緩和安定剤は新しい環境での“探索”、または運動活動の量を増加する（トレイト（１９８５年）；リスター（１９９０年））。ジギスキャン・アクティビティー・モニター（オムニテック・エレクトロニクス、コロンブス、オーエイチ）は箱を囲む１６個の光ビームを含む。活動モニターはジギスキャン・アナライザー（オムニテック・エレクトロニクス）を通ってコンピューターに接続しており、データはインテグレイテッド・ラブ・アニマル・モニタリング・システム（オムニテック・エレクトロニクス）を使用して分析する。マウスは明／暗移動様に記載したように薬を投与した。

一般的な活性に対する薬の効力を評価するために、マウスは最初１５分間解放装置に慣らした。次の日、マウスは試験薬で前処理され、活動室の真ん中に置かれた。動いた全距離を１０分間測定した。

ｃ）ボーゲルわく組み

アンキソーモニター（オムニテック・エレクトロニクス、コロンブス、オーエイチ）をなめるのの抑制の測定に使用した。試験室は、床から２.５cmで箱に位置し、箱の内に２cm延びた金属飲水管を有するプレキシガラス箱（２９cm×２９cm×２３cm）からなる。刺激は飲水噴水孔から与え、アンキソーモニターで制御した。なめるのを計測し、アンキソーモニターで示した。増強剤は０.１Ｍシュークロースであった。

葛藤試験はボーゲルら（１９８０年）が述べた方法を用いた。この方法は最初にボーゲルら（１９７１年）によって述べられた本来のなめ抑制の変形である。水を断ってから２４時間後、マウスは試験装置を探索させ、１０分または１００回なめる間処罰なしに水を飲ませた。次の日（水を断ってから４８時間後）、マウスを３α－ＯＨ－ＤＨＰ（２０mg/kg）、クロロジアゼポキサイド（ＣＤＰ；１０mg/kg）または溶媒で前処置し、同時に葛藤装置に入れた。マウスは２０回なめるには罰なし飲水管に近付けさせ、その後１０回毎に

０．１mAの刺激で罰した。
ステロイド３α－ＯＨ－ＤＨＰ、３β－ＯＨ－ＤＨＰおよび５α－ＴＨＤＯＣは上記のように合成した。２－ヒドロキシプロピルβ－シクロデキストリン（β－シクロデキストリン）はアルドリッジ（ミルウオーキー、ダブリューアイ）から入手できる。ジアゼパムおよびクロロジアゼポキサイドはシグマ・カンパニー（セントルイス、エムオー）から入手できる。ＣＧＳ－８２１６はチバ－ガイギー（シュミット、エヌジェー）から得られた。すべての薬は２０％β－シクロデキストリン水に溶解し、一晩超音波処理した。すべての薬は腹腔内に１００μｌ／２０ｇの用量で投与した。ＣＧＳ－８２１６は皮下に１００μｌ／２０ｇの用量で投与した。
３α－ＯＨ－ＤＨＰ、５α－ＴＨＤＯＣおよびジアゼパムの明／暗移動試験で得られた用量依存曲線は数日間にわたって続いた。溶媒対照データは分散の１方向分析（ＡＮＯＶＡ）を用いて試験日の間分析した。溶媒データは試験日の間有意差が認められなかったため、対照データはそれぞれの試験薬で失敗した。用量依存曲線は次に１方向ＡＮＯＶＡを用いて分析し、個々の用量と対照の間をダネットのｔ検定を用いて比較した。解放場所および日常の移動データはＡＮＯＶＡで次いでダネットのｔ検定を用いて分析した。３α－ＯＨ－ＤＨＰおよびＣＤＰはなめ抑制試験を別の日に行った。対照群は有意に差があり、それゆえデータはスチューデントｔ検定（両側）を使用して分析し、対比のため対応する対照とのパーセントとしてグラフで示した。すべてのデータは平均±Ｓ.Ｅ.Ｍ.で表す。
ステロイド３α－ＯＨ－ＤＨＰは明／暗わく組みので移動の数の増加により判る（図９）のように緩和安定効果を示した。３α－ＯＨ－ＤＨＰは有意な用量依存反応（Ｆ（４，６３）＝２１.５；ｐ＝.０００１）を示した。移動の数は３α－ＯＨ－ＤＨＰにより１０、２０および４０mg/kgで有意に（ｐ＜.０１）上昇した。３α－ＯＨ－ＤＨＰは用量２０mg/kgで、１０分間の平均７０.２±４.３の移動で最大効果に到達した。最も高い用量の試験、４０mg/kgでは、移動の数が減少し始める傾向にあった。数種の化合物は逆Ｕ形用量依存曲線を明／暗移動わく組みで示した（クラウリーら（１９８６年））。
デオキシコルチコステロイド代謝物、５α－ＴＨＤＯＣは有意な（Ｆ（５，５４）＝１０.０；ｐ＝.０００１）用量依存効果を明／暗移動試験で示す（図１０）。５α－ＴＨＤＯＣは用量２０mg/kgで有意に溶媒と異なる（ｐ＜.０１）。５α－ＴＨＤＯＣは１０mg/kgで溶媒と比較して多くの移動数をるが（４９.４±２.０対３５.２±２.０）差は有意に達しなかった（ｐ＜.０６）。最も高い濃度の試験では、５α－ＴＨＤＯＣ（４０mg/kg）は溶媒対照と比較して有意な移動数の減少（ｐ＜.０５）を示した。
明／暗移動に対するジアゼパムの効果は図１１に示す。ジアゼパムは有意な（Ｆ（５，７２）＝３１.６；ｐ＝.０００１）逆Ｕ形用量依存曲線を示した。ジアゼパムは１.０、５.０、１０および２０mg/kgで有意に（ｐ＜.０１）対照溶媒と異なった。ジアゼパムの最大の反応は８６.４±５.４移動で１０mg/kgであった。２０mg/kgで有意であるが、ジアゼパムの効果は１０mg/kgの効果と比較して減少していた。これらの結果は２つのステロイド３α－ＯＨ－ＤＨＯおよび５α－ＴＨＤＯＣで見られた逆Ｕ形曲線と類似している。
図１２に示されるように、３α－ＯＨ－ＤＨＰのジアステレオマー、３β－ＯＨ－ＤＨＰ（２０mg/kg）は緩和安定作用を明／暗わく組みでは示さない。同じ実験で、において３α－ＯＨ－ＤＨＰ（２０mg/kg）は、明／暗移動わく組みにおいて担体（β－シクロデキストリン）のみで得られるものを越えて有意な（ｐ＜.０１）数の上昇を示した。これらの結果はステロイド３α－ＯＨ－ＤＨＰの緩和安定効果の立体特異性を証明する。
特異的ＢＺ拮抗剤ＣＧＳ－８２１６（１０mg/kg）は３α－ＯＨ－ＤＨＰの緩和安定作用を遮断できなかった（図１３Ａ）。３α－ＯＨ－ＤＨＰ（１０mg/kg）は有意な（ｐ＜.０１）上昇を単独でおよびＣＧＳ－８２１６の存在下で示した（図１３Ａ）。しかしながら、ＣＧＳ－８２１６はジアゼパムの緩和安定作用を遮断できた（図１３Ｂ）。ジアゼパム（１.０mg/kg）は単独で対照と比較して有意な（ｐ＜.０１）移動上昇を示した。ＣＧＳ－８２１６は何らかの本質的な作用を示さず、溶媒対照と比較して有意な（ｐ＞.４）差はなかった。これらの結果はステロイド３α－ＯＨ－ＤＨＰの緩和安定作用がＢＺとは別の神経機構を介していることを証明する。

新しい明るい開放場所にマウスを置いた場合、マウスは低レベルの活動（すなわち探索、移動等）を示すが、緩和安定剤は一方新しい環境では活動の量を増す（リスターら（１９９０年））。表１０に示すように、解放場所活動に対し有意な薬の効果があった（Ｆ（４，４４）＝１８．０５；ｐ＝．０００１）。特別には、ステロイド３α－ＯＨ－ＤＨＰおよび５α－ＴＨＤＯＣは対照と比較して有意な（ｐ＜．０１）活動の上昇を示した。加えて、ジアゼパムはβ－シクロデキストリン溶媒対照と比較して有意な（ｐ＜．０１）活動の上昇を示した。しかしながら、３β－ＯＨ－ＤＨＰは解放場所試験においていかなる効果も示さなかった。

表１０
開放運動活動におけるステロイドの効果

薬	用量 (mg/kg)	総合距離(cm)
β-シクロデキストリン		2004.6 ± 134.6
3β-OHDHP	20	1979.8 ± 174.5
3α-OHDHP	20	5344.9 ± 754.5**
5α-THDOC	20	7328.4 ± 769.5**
ジアゼパム	10	4817.7 ± 528.4**

マウスは解放場所装置の真ん中に置く１０分または３０分まえに前処理（ジアゼパム）した。移動した全距離は１０分間測定した（詳細な方法参照）。それぞれの群は９－１０匹のマウスからなる。

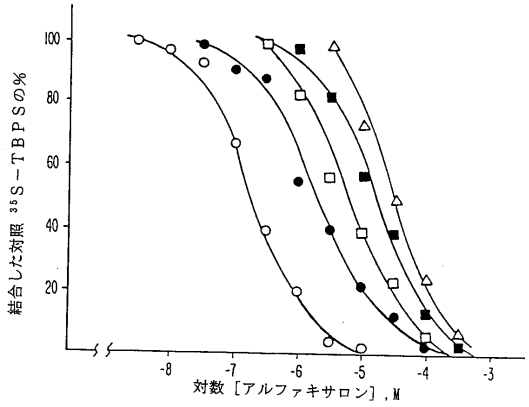
**ｐ＜．０１：β－シクロデキストリン溶媒対照とダネットのｔ検定によると有意に異なる。

３α－ＯＨ－ＤＨＰは、試験室に順応したマウスで移動活動の有意な（ｐ＜．０１）上昇を示す。３α－ＯＨ－ＤＨＰ（２０mg/kg）処置マウスは、対照の２０６１．２±１５７．５cmと比較して５６９４．７±６０８．４cmの総合距離を移動した。ジアゼパム（１０mg/kg）は移動活動に全く影響を与えなかった（２２５８．０±８９７．７cm）。

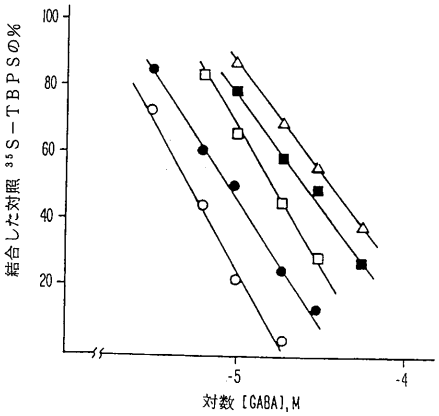
３α－ＯＨ－ＤＨＰ（２０mg/kg）の投与は罰則誘導飲水抑制を阻害しなかった（図１４）。３α－ＯＨ－ＤＨＰは対照と比較して試験期間の５分の間受ける刺激の数を有意な２３５．６％上昇を示した（１３．９±２．１対５．９±０．５４；ｔ＝－３．９８；ｐ＝．０１）。比較して、ＣＤＰ（１０mg/kg）は対象と比較して１９７．４％の罰応答の上昇を示した（６．１４±１．１４対３．１１±０．６８；ｔ＝－２．４；ｐ＝．０３）。

好ましい態様を示したが、種々の置換および修飾が本発明の範囲を逸脱する事なくなし得る。したがって本発明は限定をするためでなく例示のために記載されたことが理解されよう。

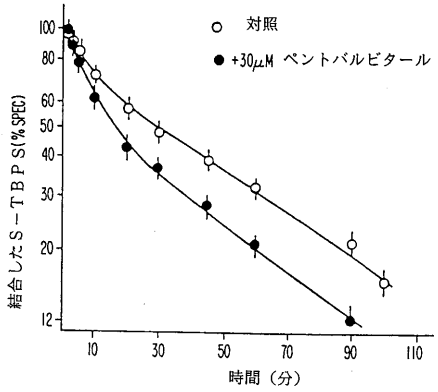
【図１Ａ】
FIG. 1A



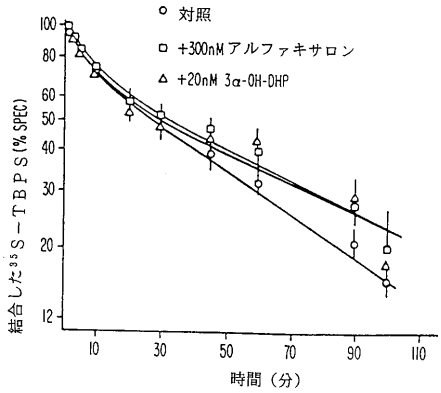
【図１Ｂ】
FIG. 1B



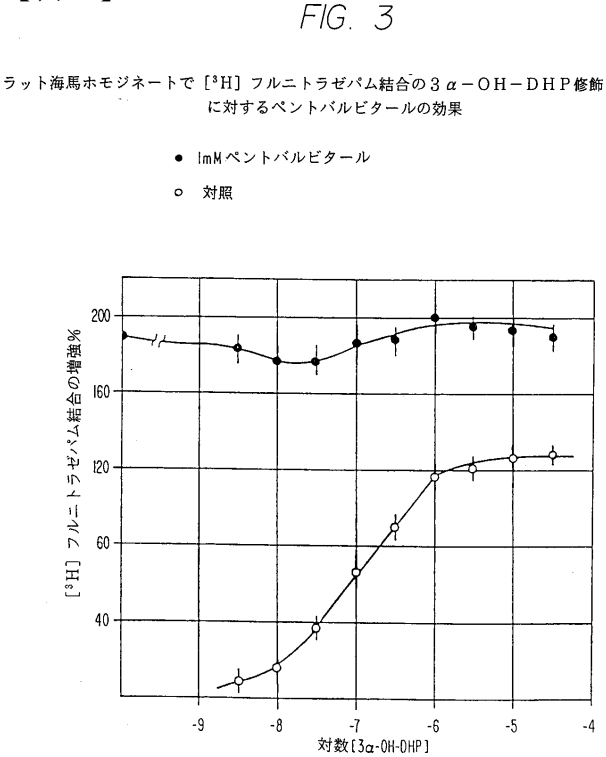
【図２Ａ】
FIG. 2A



【図２Ｂ】
FIG. 2B



【図３】
FIG. 3



【図４】

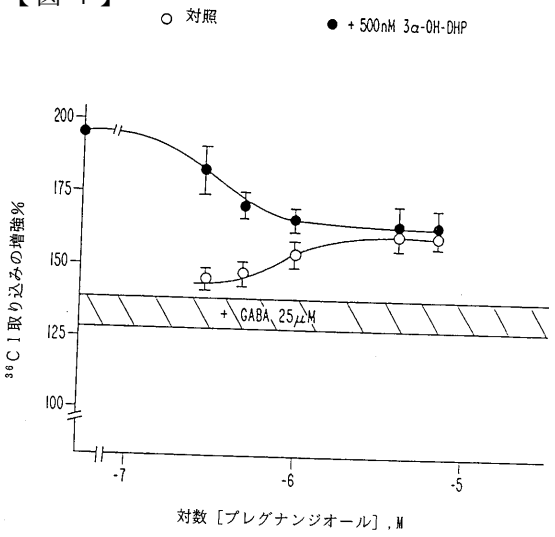


FIG. 4

【図５】

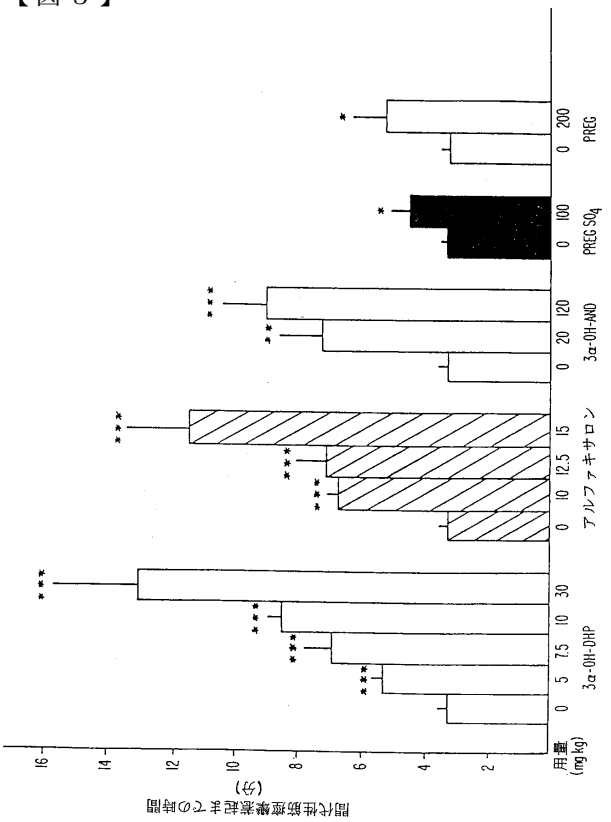


FIG. 5

【図６】

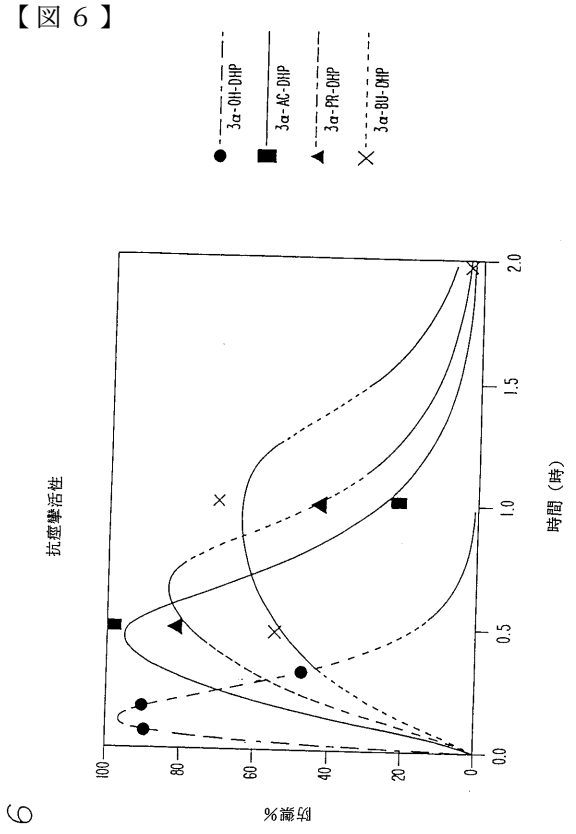


FIG. 6

【図７】

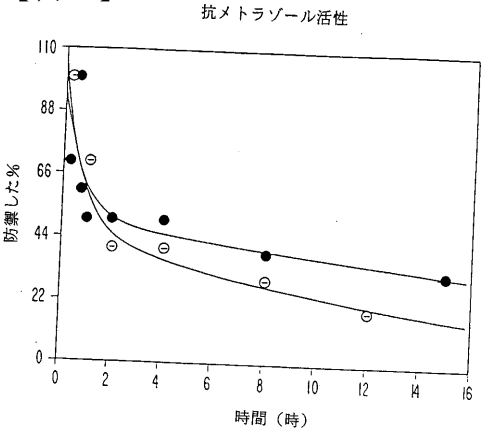


FIG. 7

【図８】

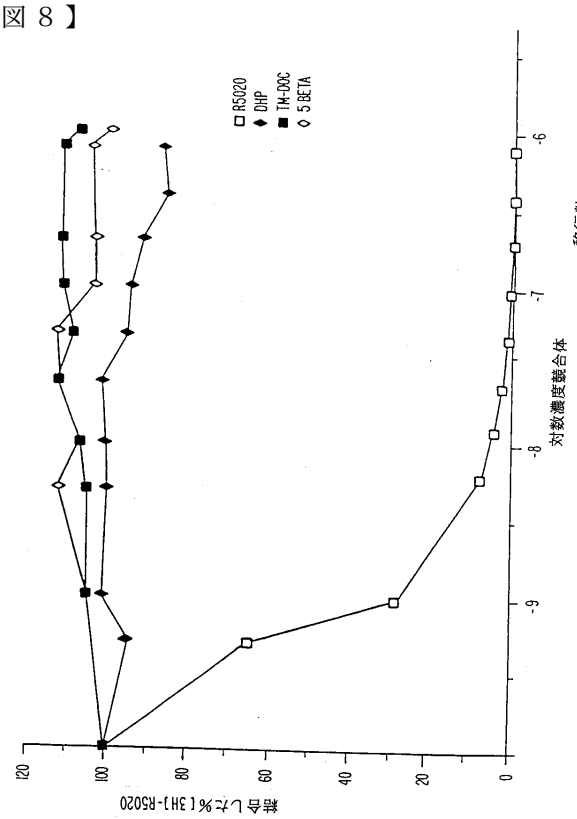


FIG. 8

【図９】

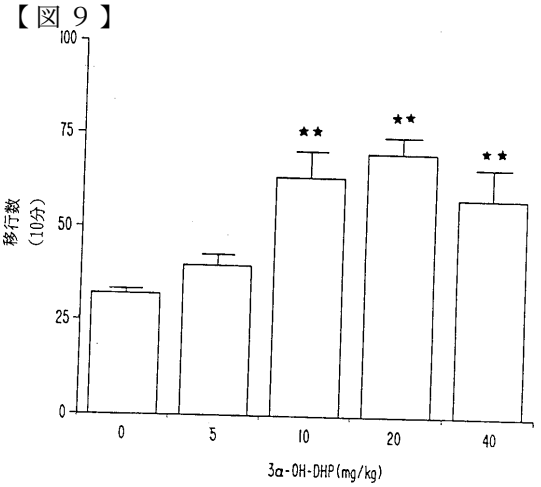


FIG. 9

【図１０】

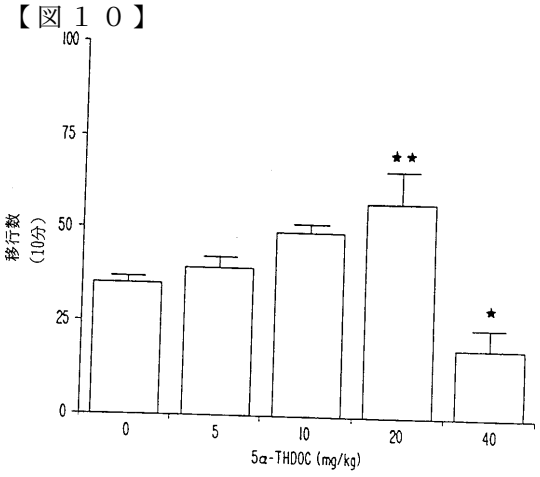


FIG. 10

【図１１】

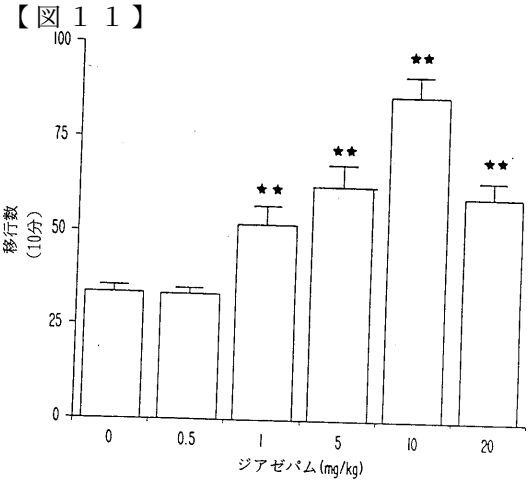
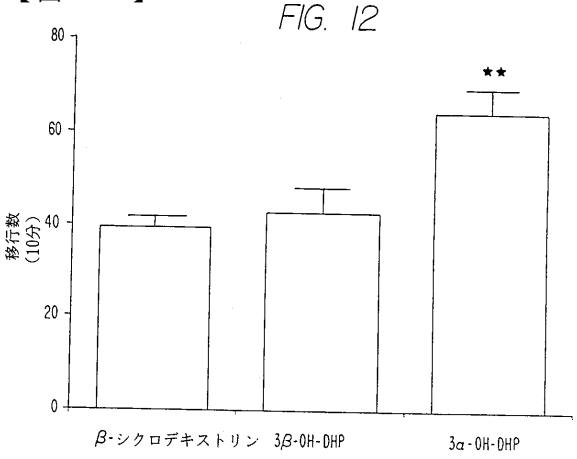


FIG. 11

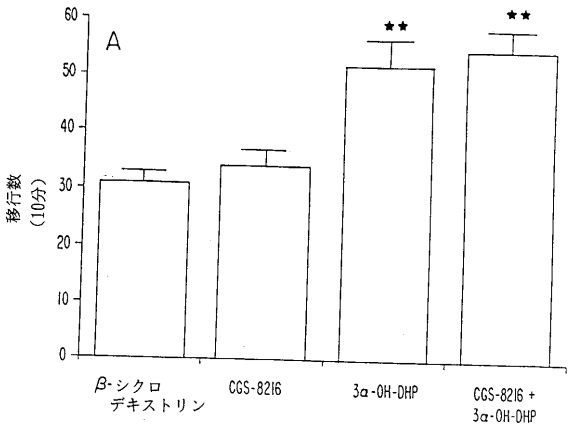
【図１２】

FIG. 12



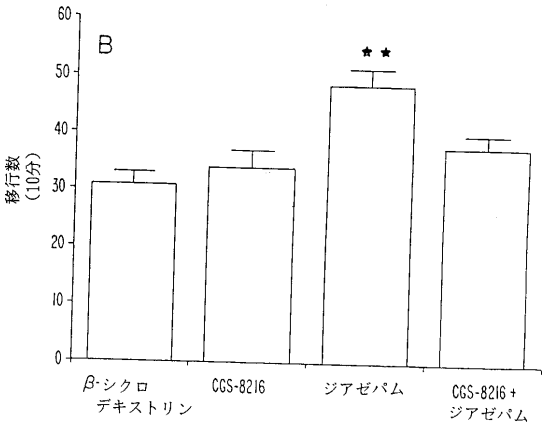
【図１３Ａ】

FIG. 13A



【図１３Ｂ】

FIG. 13B



【図１４】

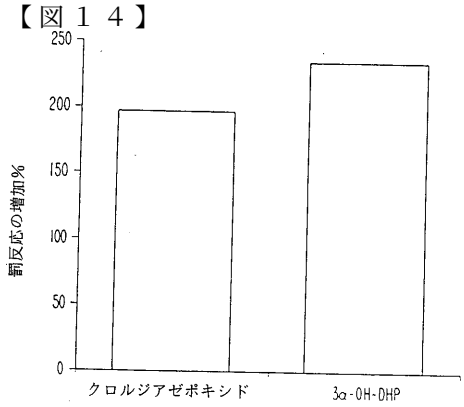


FIG. 14

フロントページの続き

(51)Int.Cl.[7]	FI
Ａ６１Ｐ 25/22	Ａ６１Ｐ 25/22
Ｃ０７Ｊ 7/00	Ｃ０７Ｊ 7/00
Ｃ０７Ｊ 9/00	Ｃ０７Ｊ 9/00

(72)発明者 ジー、ケルヴィン・ウェルマン
アメリカ合衆国９１７４５カリフォルニア州、ハシーンダ・ハイツ、パンタ・デル・エスト・ドライブ３４１０番
(72)発明者 ラン、ナンシー・ツァイ－ユン
アメリカ合衆国９１０３０カリフォルニア州、サウス・パサデナ、ハーモサ・ストリート５２２番
(72)発明者 ベレリ、デリア
アメリカ合衆国９１７４８カリフォルニア州、ローランド・ハイツ、イースト・コリマ・ロード１７８００番、アパートメント５５０
(72)発明者 マーサデジ、スィード
アメリカ合衆国９１４０３カリフォルニア州、シャーマン・オークス、ミードヴィル・ドライブ３６９６番
(72)発明者 パーディ、ロバート・ハイド
アメリカ合衆国７８２０９テキサス州、サン・アントニオ、アイビー・レイン１０４５番
(72)発明者 テイヒア、スィード・ヘイサン
アメリカ合衆国９１１０１カリフォルニア州、パサデナ、サウス・マレンゴ・アベニュー・ナンバー２７ ２７５番

合議体
審判長 竹林 則幸
審判官 福井 悟
審判官 齋藤 恵

(56)参考文献 特開昭５２－１４２０５６（ＪＰ，Ａ）
特表平３－５０００４９（ＪＰ，Ａ）
英国特許出願公開第１３８０２４８（ＧＢ，Ａ）

(58)調査した分野(Int.Cl.[7]，ＤＢ名)
Ｃ０７Ｊ１／００－７５／００ ＣＡ（ＳＴＮ） ＲＥＧＩＳＴＲＹ（ＳＴＮ）