



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2007년10월25일
(11) 등록번호 10-0769865
(24) 등록일자 2007년10월18일

(51) Int. Cl.

C07J 53/00(2006.01)

(21) 출원번호 10-2002-7016657
(22) 출원일자 2002년12월06일
심사청구일자 2006년04월06일
번역문제출일자 2002년12월06일
(65) 공개번호 10-2003-0028752
공개일자 2003년04월10일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2001/004868
국제출원일자 2001년05월01일
(87) 국제공개번호 WO 2002/00682
국제공개일자 2002년01월03일

(30) 우선권주장
00201986.7 2000년06월06일
유럽특허청(EPO)(EP)

(56) 선행기술조사문헌
EP 869132 A
US 3194821 A

전체 청구항 수 : 총 7 항

(73) 특허권자

엔.브이.오가는

네덜란드왕국 5349 에이비 오스 클루스터스트라아
트 6

(72) 발명자

로젠후베르트얀요제프

네덜란드엔엘-5403에이씨우텐메르회크602

(74) 대리인

강승욱

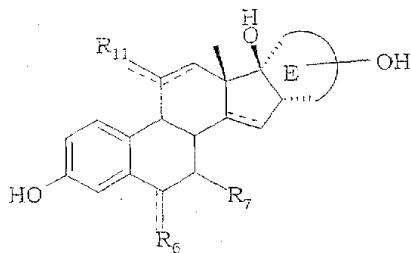
심사관 : 김준경

(54) 선택적 에스트로겐 활성을 가진 16,17-탄소환 축합스테로이드 화합물

(57) 요약

본 발명은 하기 화학식 1의 스테로이드 화합물 또는 그것의 프로드러그를 개시한다. 그러한 화합물은 에스트로겐 수용체의 활성의 선택적 변형 방법 및 치료에 사용될 수 있다.

화학식 1



상기 식에서,

점선 결합은 임의의 이중 결합을 나타내고;

R₆은 H, =CH₂, -CH₃ 또는 -CH₂CH₃이며;

R₇은 H, C₁₋₄알킬, C₂₋₅알켄일 또는 C₂₋₅알킨일이고, 여기서 상기 알킬기, 알켄일기 또는 알킨일기는 불소 또는 염소 원자의 군 중에서 독립적으로 선택되는 1 내지 3 개의 할로젠 원자로 치환될 수 있으며;

R₁₁은 H, C₁₋₄알킬, C₂₋₄알켄일, C₂₋₄알킨일 또는 C₁₋₄알킬리텐이고, 여기서 상기 알킬기, 알켄일기, 알킨일기 또는 알킬리텐기는 불소 또는 염소 원자의 군 중에서 독립적으로 선택되는 1 내지 3 개의 할로젠 원자로 치환될 수 있으며;

E는 스테로이드 골격의 탄소 원자 16번 및 17번과 함께 4원 내지 7원 고리를 형성하고, 상기 고리는 임의로 1 또는 2 개의 고리내 결합을 포함하는, 상기 스테로이드 골격에 관하여 시스 구조에서 α이다.

(81) 지정국

국내특허 : 알바니아, 오스트레일리아, 보스니아 헤르체고비나, 바베이도스, 불가리아, 브라질, 캐나다, 중국, 쿠바, 체코, 에스토니아, 그루지야, 헝가리, 이스라엘, 아이슬란드, 일본, 북한, 대한민국, 세인트루시아, 스리랑카, 리베이라, 리투아니아, 라트비아, 마다가스카르, 마케도니아공화국, 몽고, 멕시코, 노르웨이, 뉴질랜드, 슬로베니아, 슬로바키아, 터어키, 트리니다드토바고, 우크라이나, 미국, 우즈베키스탄, 베트남, 폴란드, 루마니아, 러시아, 싱가포르, 아랍에미리트, 안티구와바부다, 코스타리카, 도미니카, 알제리, 모로코, 남아프리카, 벨리제, 모잠비크, 그라나다, 크로아티아, 인도네시아, 인도, 시에라리온, 세르비아 앤 몬테네그로, 콜롬비아

AP ARIPO특허 : 케냐, 레소토, 말라위, 수단, 스와질랜드, 우간다, 시에라리온, 가나, 감비아, 짐바브웨, 탄자니아, 모잠비크

EA 유라시아특허 : 아르메니아, 아제르바이잔, 벨라루스, 키르기즈스탄, 카자흐스탄, 몰도바, 러시아, 타지키스탄, 투르크멘

EP 유럽특허 : 오스트리아, 벨기에, 스위스, 독일, 덴마크, 스페인, 프랑스, 영국, 그리스, 아일랜드, 이탈리아, 룩셈부르크, 모나코, 네덜란드, 포르투갈, 스웨덴, 핀란드, 사이프러스, 터어키

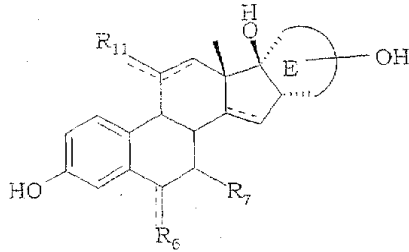
OA OAPI특허 : 부르키나파소, 베닌, 중앙아프리카, 콩고, 코트디부아르, 카메룬, 가봉, 기니, 말리, 모리타니, 니제르, 세네갈, 차드, 토고, 기니 비사우

특허청구의 범위

청구항 1

하기 화학식 1의 스테로이드 화합물:

화학식 1



상기 식에서,

점선은 결합 또는 비결합을 나타내고;

R_6 은 H, $=CH_2$, $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_3$ 이며;

R_7 은 H, C_{1-4} 알킬, C_{2-5} 알켄일 또는 C_{2-5} 알킨일이고, 여기서 상기 알킬기, 알켄일기 또는 알킨일기는 불소 또는 염소 원자의 군 중에서 독립적으로 선택되는 1 내지 3 개의 할로겐 원자로 치환될 수 있으며;

R_{11} 은 H, C_{1-4} 알킬, C_{2-4} 알켄일, C_{2-4} 알킨일 또는 C_{1-4} 알킬리텐이고, 여기서 상기 알킬기, 알켄일기, 알킨일기 또는 알킬리텐기는 불소 또는 염소 원자의 군 중에서 독립적으로 선택되는 1 내지 3 개의 할로겐 원자로 치환될 수 있으며;

E는 스테로이드 골격의 탄소 원자 16번 및 17번과 함께 4원 내지 7원 고리를 형성하고, 상기 고리는 1 또는 2 개의 고리내 결합을 포함하거나 포함하지 않고, 상기 스테로이드 골격에 관하여 시스 구조에서 α 이다.

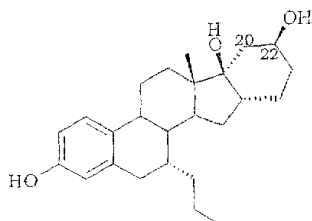
청구항 2

제1항에 있어서, R_6 는 H이고, R_7 은 C_{1-3} 알킬이며, E 고리는 S 입체 구조에서 22번 위치에 히드록시를 가진 이중 결합이 없는 5원 또는 6원 고리인 스테로이드 화합물.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 화합물이 하기 화학식 2의 (7 α , 16 β , 17 α , 22S)-7-프로필-16,24-시클로-19,21-디노르콜라-1,3,5(10)-트리엔-3,17,22-트리올인 스테로이드 화합물:

화학식 2



청구항 4

삭제

청구항 5

제1항 또는 제2항에 따른 화합물을 에스트로겐 수용체와 접촉시킴으로써 에스트로겐 수용체의 활성을 선택적으

로 변형시키는 비의료적인 방법.

청구항 6

삭제

청구항 7

제5항에 있어서, 상기 방법은 제1항 또는 제2항에 따른 화합물을 에스트로겐 수용체 α 와 접촉시킴으로써 에스트로겐 수용체 α 의 활성을 선택적으로 변형시키는 것인 방법.

청구항 8

제5항에 있어서, 상기 방법은 제1항 또는 제2항에 따른 화합물을 에스트로겐 수용체 β 와 접촉시킴으로써 에스트로겐 수용체 β 의 활성을 선택적으로 변형시키는 것인 방법.

청구항 9

제1항 또는 제2항에 따른 스테로이드 화합물을 포함하는 폐경 징후의 예방 또는 치료용 또는 피임 치료용 약학 조성물.

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

명세서

기술 분야

<1> 본 발명은 에스트로겐 활성을 가진 스테로이드 골격의 고리 D에 연결된 추가의 E 고리를 가진 스테로이드 화합물에 관한 것이다.

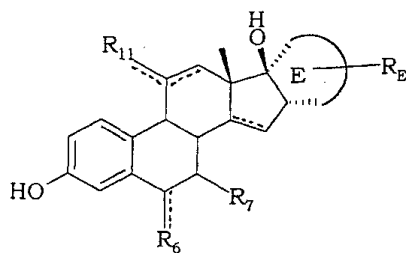
배경 기술

<2> 에스트로겐 수용체에 대한 친화성을 가진 새로운 화합물이 계속 관심을 끌고 있다. 이것은 ER α 및 ER β 로 표시된 두 가지 상이한 아류의 수용체 발견에 유래한다(Mosselman 등, *FEBS Letters* **392** (1996) 49-53 뿐만 아니라 EP-A-0 798 378 참조). 그러한 아류의 수용체에 대해 선택적인 화합물은 보다 선택적인 에스트로겐 수용체 관련 치료를 제공하는 것을 가능하게 한다. 예를 들면, 사람 조직에서 수용체 아류의 상이한 분포로부터 이점을 얻을 수 있다. 이것은 에스트로겐 관련 부작용에 대한 우려가 낮은 치료를 할 수 있게 한다. 선택성 화합물로부터 이점을 취할 수 있는 에스트로겐 관련 의료 처치의 예로는 피임, 폐경 징후의 치료, 골다공증 및 에스트로겐 의존성 종양 제어에 대한 것들이 있다.

발명의 상세한 설명

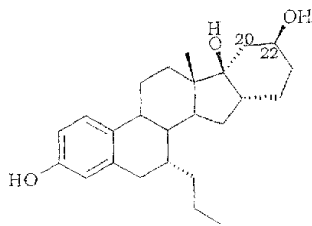
<3> EP 0 869 132호에는, 하기 화학식 1을 가진 에스트로겐성 스테로이드 화합물이 기재되어 있다:

화학식 1



- <4>
- <5> 상기 식에서,
- <6> 점선 결합은 임의의 이중 결합을 나타내고;
- <7> R_6 은 H, $=CH_2$, $-CH_3$ 또는 $-CH_2CH_3$ 이며;
- <8> R_7 은 H, C_{1-4} 알킬, C_{2-5} 알켄일 또는 C_{2-5} 알킨일이고, 여기서 상기 알킬기, 알켄일기 또는 알킨일기는 불소 또는 염소 원자의 군 중에서 독립적으로 선택되는 1 내지 3 개의 할로젠 원자로 치환될 수 있으며;
- <9> R_{11} 은 H, C_{1-4} 알킬, C_{2-4} 알켄일, C_{2-4} 알킨일 또는 C_{1-4} 알킬리텐이고, 여기서 상기 알킬기, 알켄일기, 알킨일기 또는 알킬리텐기는 불소 또는 염소 원자의 군 중에서 독립적으로 선택되는 1 내지 3 개의 할로젠 원자로 치환될 수 있으며;
- <10> E는 스테로이드 골격의 탄소 원자 16번 및 17번과 함께 4원 내지 7원 고리를 형성하고, 상기 고리는 임의로 1 또는 2 개의 고리내 결합을 포함하며, 다양한 의미를 가진 R_8 로 치환된, 상기 스테로이드 골격에 관하여 시스 구조에서 α 이다.
- <11> 화학식 1을 가진 스테로이드 화합물 내에서 임의의 알킬기, 알켄일기, 알킨일기 및 알킬리텐기는 분지 또는 비분지될 수도 있다고 EP 0 869 132호에 더 기재되어 있다. R_6 또는 R_{11} 가 단일 결합을 통하여 스테로이드 골격에 연결된 경우, 스테로이드 골격의 치환된 탄소 원자는 수소 원자를 포함하거나 또는 탄소-탄소 이중 결합에 개입한다. 화합물은 상이한 키랄 중심을 포함할 수 있으며, 거울상 입체 이성질체 및 부분 입체 이성질체로 존재할 수 있다. 히드록실기는 아실 또는 알킬과 같은 치환기로 캡핑되어 화학식 1에 다른 화합물의 프로드러그를 형성할 수 있다.
- <12> 이제, 본 발명자들은 R_8 가 β -히드록시기인 것을 특징으로 하는, 상기 정의된 바와 같은 의미를 가진 기호와 용어의 화학식 1을 가진 스테로이드 화합물 또는 그것의 프로드러그는 고 에스트로겐 α 효능과 조합된 에스트로겐 수용체 α 에 대하여 예기치 못하고 일관되게 더 나은 선택성을 가진다는 것을 발견하였다. 통상적으로, 이하에 본 발명의 화합물로서 언급되는 그러한 화합물은 에스트로겐 수용체 β 에 대하여 매우 약하게 활성일 뿐만 아니라, 대체로 사실상 에스트로겐 수용체 β 에 대한 길항제인데, 에스트로겐 수용체 α 에 대한 매우 큰 선택성에 기여하며, 또한 에스트로겐 수용체 β 의 차단을 기준으로 한 선택적 처치를 가능하게 한다. 본 발명의 화합물은 본 발명의 범주 내에서 전술한 거울상 입체 이성질체 및 부분 입체 이성질체와, 다른 한 거울상 입체 이성질체가 거의 없는, 즉 5% 미만, 바람직하게는 2% 미만, 특히 1% 미만으로 관련된 개별 (R) 및 (S) 거울상 입체 이성질체, 및 2 개의 거울상 입체 이성질체를 실질적으로 동일한 양으로 함유하는 라세미 혼합물을 비롯하여 임의 비율의 그러한 거울상 입체 이성질체의 혼합물을 포함한다.
- <13> 본 발명의 바람직한 구체예는 상기 정의되고, 더욱 더 R_6 이 H이고, R_7 이 분지쇄 또는 비분지쇄 C_{1-3} 알킬인 것을 특징으로 하는 스테로이드 화합물이며, E 고리는 S 입체 구조에서 22번 위치에 이중 결합이 없는 5원 또는 6원 고리이며, 바꾸어 말하면, 그 구조는 스테로이드 입체화학 견지에서 통상의 의미를 따라서 스테로이드 골격에 관하여 β 이다.
- <14> 코드 번호 Org 41621의 (7 α , 16 β , 17 α , 22S)-7-프로필-16,24-시클로-19,21-디노르콜라-1,3,5(10)-트리엔-3,17,22-트리올인 하기 화학식 2에 따른 화합물이 가장 바람직하다.

화학식 2



<15>

<16> Org 41621

<17> 그러므로, 본 발명에 따른 화합물은 유기체 내 에스트로겐 α 또는 β 수용체의 활성의 보다 지향적인, 바꾸어 말하면 선택적인 변성을 가능하게 한다.

<18> 프로드러그는 수용자의 체내에서 R_E 가 β -히드록실기인 화학식 1에 따른 화합물로 전환되는 화합물로 정의된다. 현저하게, 3번, 17번 위치 및 E 고리 상의 히드록시기는, 예를 들면 에테르(알킬*옥시) 또는 에스테르, 예컨대 아실*옥시, 포스페이트, 술페이트, 술포네이트 또는 방향족 카르복실레이트로 전환될 수 있으며, 여기서 별표(*)로 표시된 기의 탄소쇄 길이는 명확하게 범위를 정하는 것을 고려하지 않는다. 아실기는 직쇄 또는 분지쇄 알칸*으로부터 유도되며, 일반적으로 방향족 카르복실레이트는 페닐, 피리딘일 또는 피리미딜을 포함한다. 알킬기와 아실기의 길이는 프로드러그의 소정 성질에 따라 선택되며, 여기서 예컨대 라우릴쇄 또는 카프로일쇄를 가진 더 장쇄의 프로드러그는 서방형 제제 및 저류 제제에 보다 적절하다. 그러한 치환기는 호합물의 골격 상에서 유리 히드록실 치환기로 자발적으로 가수분해되거나 또는 효소적으로 가수분해되는 것으로 알려져 있다. 그러한 프로드러그는 이들이 수용자의 체내에서 전환되는 화합물에 필적할 만한 생물학적 활성을 가질 것이다. 프로드러그가 전환되는 활성 화합물은 모체 화합물이라고 한다. 프로드러그의 체내 작용 개시 및 작용 기간, 뿐만 아니라 체내 분포는 그러한 모체 화합물의 성질과는 상이할 수 있다.

<19> 의학적 치료 뿐만 아니라 생리학적, 의학적 및 약리학적 실험을 위하여 이제 발견된 바의 그러한 선택성 화합물이 매우 필요하다. 본 발명의 양태는 본 발명의 화합물이 사람 또는 동물, 바람직하게는 포유류인 수용자에게 상기 화합물을 투여함으로써 치료에 사용될 수 있다는 것이다. 유기체의 상이한 조직에 대한 α 및 β 수용체의 상이한 분포는 상이한 조직의 기능으로 보다 선택적인 간섭을 위한 표적을 제공한다. 종 의존성인 에스트로겐 수용체 α 가 질 조직과 간 조직에서 우세하게 발현되는 반면에, β 수용체는 전립선 조직, 래트 방광의 상피 세포층, 혈관 내피 평활근 및 특정한 뇌 부위, 예컨대 기저 전뇌, 신피질 및 해마에서 우세하게 발현된다. 두 수용체가 존재하는 조직은, 예컨대 뇌하수체, 시상하부, 흉선, 자궁, 난소 및 골에 존재한다.

<20> 본 발명의 화합물의 에스트로겐 수용체 친화도 프로파일은 이들을 최소화된 에스트로겐 관련 부작용 하에 개선된 에스트로겐 또는 항에스트로겐으로서 적절하게 만든다. 따라서, 본 발명은 본 발명의 화합물을 에스트로겐 수용체와 접촉시킴으로써 에스트로겐 수용체의 활성을 선택적으로 변형시키는 방법을 개시한다. 그러한 방법은 사람 또는 동물 신체의 치료일 수 있지만, 또한 이는 비의학적 방법일 수 있다. 후자의 방법은 실험 방법, 예컨대 선택성 화합물에 대한 분석 또는 에스트로겐 수용체 또는 그것과 상호작용하는 화합물에 대한 정보를 얻기 위한 시험관내 실험실 방법일 수 있다. 이러한 화합물은 선택적 에스트로겐 α 또는 β 관련 피임, 실험 또는 의료 처치, 예컨대 에스트로겐 수용체 관련 장애, 폐경 징후, 골다공증, 심혈관 장애, 뇌하수체 호르몬 조절의 변조, 양성 전립선 비대, 에스트로겐 의존성 종양 제어, 결장암, 자궁내막증 또는 중추 신경계 장애의 치료 또는 예방을 위한 처치에 사용할 수 있다. 이러한 선택적 방법 및 처치의 중요한 공통적인 특징은 이러한 것들이 본 발명의 화합물을 에스트로겐 수용체와 접촉시키는 것을 포함한다는 것이다.

<21> 또한, 본 발명은 본 발명에 따른 화합물(적절한 약학적 제형으로)을 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 선택적 에스트로겐 수용체 관련 처치를 위한 약물 및 에스트로겐 수용체 α 관련 장애의 처치를 위한 약물의 제조에서의 본 발명에 따른 화합물의 용도에 관한 것이다. 또한, 에스트로겐 수용체 β 에 대한 본 발명에 따른 화합물의 길항 효과의 관점에서, 본 발명은 본 발명에 따른 화합물(적절한 약학적 제형으로)을 환자에게 투여하는 것을 포함하는, 에스트로겐 수용체 β 관련 장애의 처치를 위한 약물의 제조에서의 용도를 제공한다.

<22> 또한, 본 발명은 피임 활성을 가진 약물의 제조에서의 본 발명에 따른 화합물의 용도에 관한 것이다. 따라서,

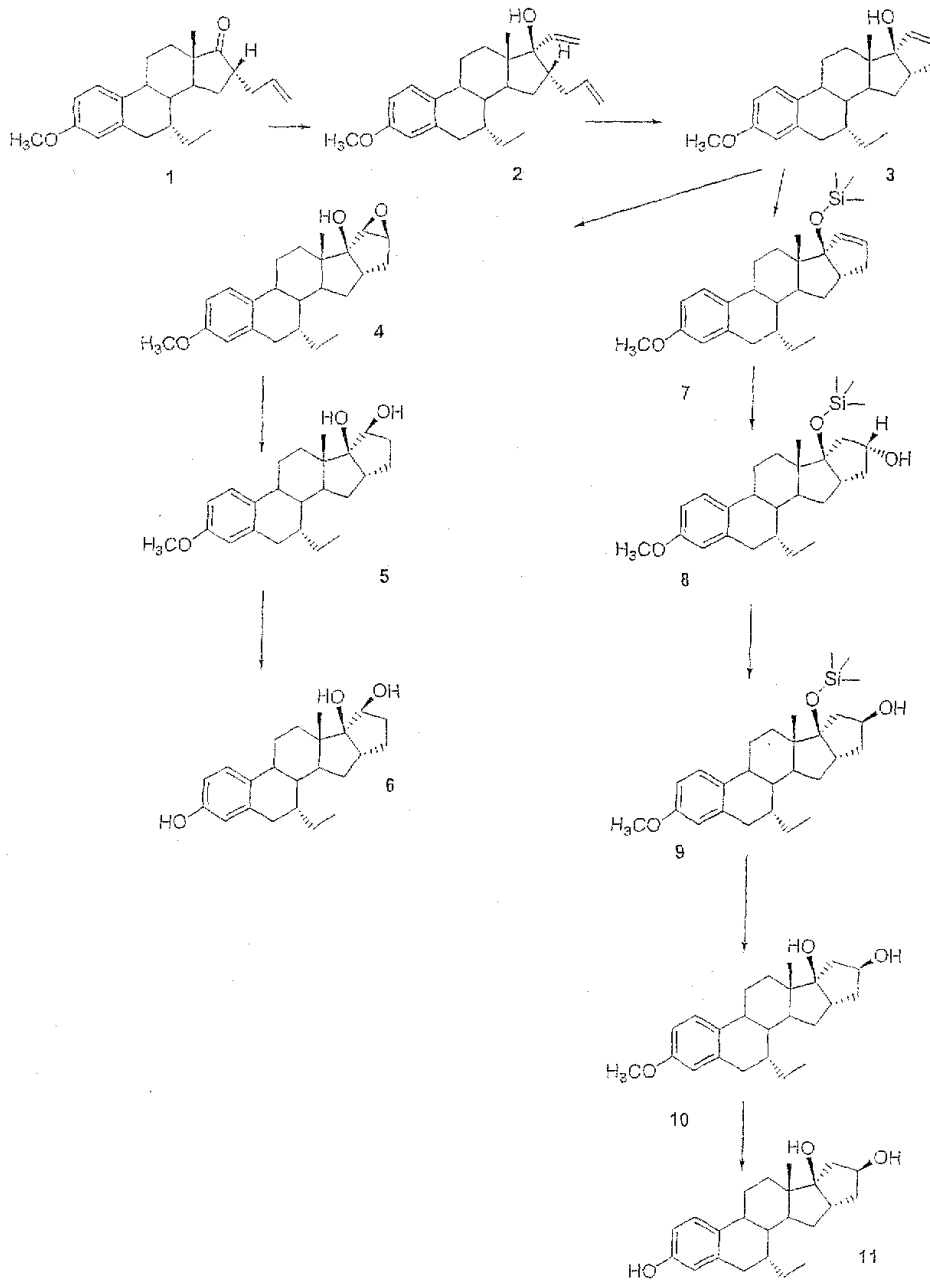
본 발명은 또한 피임의 의학적 조치, 즉 당업계에서 그 자체로 통상적인 프로게스테겐 및 에스트로겐을 여성 또는 암컷 동물인 대상자에게 투여하는 것을 포함하는 피임 방법에 관한 것이며, 상기 에스트로겐은 본 발명에 따른 화합물(적절한 약학적 제형으로)이다.

- <23> 끝으로, 본 발명은 선택적 에스트로겐 활성을 가진 약물, 예컨대 폐경 징후 완화, 특히 항골다공 활성을 가진 HRT(호르몬 대체요법)의 분야에 대체로 적절한 약물의 제조에서의 본 발명에 따른 화합물의 용도에 관한 것이다.
- <24> 본 발명의 화합물의 투여량은 에스트로겐 관련 화합물에 대한 보통 정도, 예컨대 투여당 0.01 내지 100 mg 정도이다. 이를 위하여, 전술한 저치 투여량과 동일한 정도로 본 발명의 화합물의 양을 함유하는 투여 단위를 제조할 수 있다. 그러므로, 또한 본 발명은 1 종 이상의 약학적으로 허용 가능한 보조제와 혼합된 본 발명의 화합물을 포함하는 약학적 조성물에 관한 것이다.
- <25> 본 발명의 화합물은 일반적으로 유기 화학 분야, 특히 스테로이드 화학 분야에 공지된 다양한 방법에 의해 생성될 수 있다. 예컨대, 문헌[Fried, J. 및 Edwards, J. A., "Organic Reactions in Steroid Chemistry", Volumes I 및 II, Van Nostrand Reinhold Company, New York, 1972; 및 C. Djerrassi, "Steroid Reactions", Holden-Day, Inc., San Francisco, 1963]을 참조할 수 있다.
- <26> 본 발명에 따른 화합물의 합성을 위하여, 추가의 16, 17 환형(anellated) 고리를 가진 스테로이드를 합성해야 한다. 그렇게 하기 위한 방법은 EP 0 869 132호에 기재되어 있다. 본 발명의 화합물에 대하여 추가의 히드록시 작용기를 환형 고리에 도입해야 한다. 이 목적을 위하여 적절하게 위치된 이중 결합을 합성 절차로부터, 예컨대 널리 알려져 있는 올레핀 상호 교환 절차를 사용함으로써 얻을 수 있는 방식으로 고리화(anellation) 반응을 수행하는 것이 용이하며, 여기서 예컨대, 루테늄, 몰리브덴 또는 텅스텐으로부터 유도된 전이 금속 촉매를 사용하여 16 α , 17 α -비스 불포화 단편을 불포화 환형 5원 또는 6원 고리 내로 폐쇄한다. 이와 같이 합성된 올레핀 고리를 우선 입체 선택적으로 에폭시화한다. 일반적으로, 이것은 과산화물 같은 제제(바람직하게는 완충 매질 중) 또는 산화제(예컨대, 과산화수소 또는 t-부틸히드رو퍼옥사이드)의 존재 하에 금속 착체를 사용하는 촉매 시스템으로 수행할 수 있다. 본 경우에서, 퍼벤조산과 중탄산나트륨 완충제는 대체로 양호한 결과를 제공한다. 에폭시드는 히드록시 시약으로 거의 영역 선택적으로 환원되어 소정의 베타-알콜로 개방된다. 또한, 히드록시기는 불화 수소화/산화 절차의 적용에 의해 용이하게 합성될 수 있다. α -히드록시 화합물을 얻는 경우, 미즈노부 반전이 용이하게 의도한 것인 β -알콜을 초래한다. 히드록시 화합물은 필요에 따라 적절한 알킬 할로젠화물 또는 산 염 화물과의 반응에 의해 알킬 에테르, 아실 에스테르, 카르보네이트, 술포네이트 또는 포스포네이트와 같은 프로드러그로 전환시킬 수 있다.
- <27> 본 발명에 따른 1 종 이상의 화합물을 포함하는 약학적 조성물은 표준 참고 문헌[Gennaro 등, Remington's Pharmaceutical Science, 18판, Mack publishing Company, 1990, 특히 Part 8: Pharmaceutical Preparations and Their Manufacture 참조]에 기재된 것과 같은 약학적으로 허용 가능한 보조제와 조합하거나 또는 조합하지 않고 제조할 수 있다. 본 발명에 따른 1 종 이상의 화합물과 1 종 이상의 약학적으로 허용 가능한 보조제의 혼합물은 환제 또는 정제와 같은 고정 투여 단위로 압축하거나 또는 캡슐 또는 좌제로 가공할 수 있다. 또한, 약학적으로 적절한 액체에 의해, 상기 화합물은 용액, 현탁액, 에멀션 또는 스프레이, 예컨대 점비 스프레이의 형태로 주사 제제로서 적용할 수 있다. 또한, 본 발명의 화합물은 임플란트, 질부 링, 패치, 겔 및 임의의 기타 서방형 제제에 포함될 수 있다. 투여 단위, 예컨대 정제를 제조하기 위하여, 충전제 또는 담체, 착색제, 중합체 결합제 등과 같은 통상의 첨가제를 사용하는 것을 생각할 수 있다. 일반적으로, 활성 화합물의 기능을 간섭하지 않는 임의의 약학적으로 허용 가능한 첨가제를 사용할 수 있다. 조성물이 투여될 수 있는 적절한 담체로는 적절한 양으로 사용되는 락토스, 전분, 셀룰로스 유도체 등, 또는 그것의 혼합물이 있다.

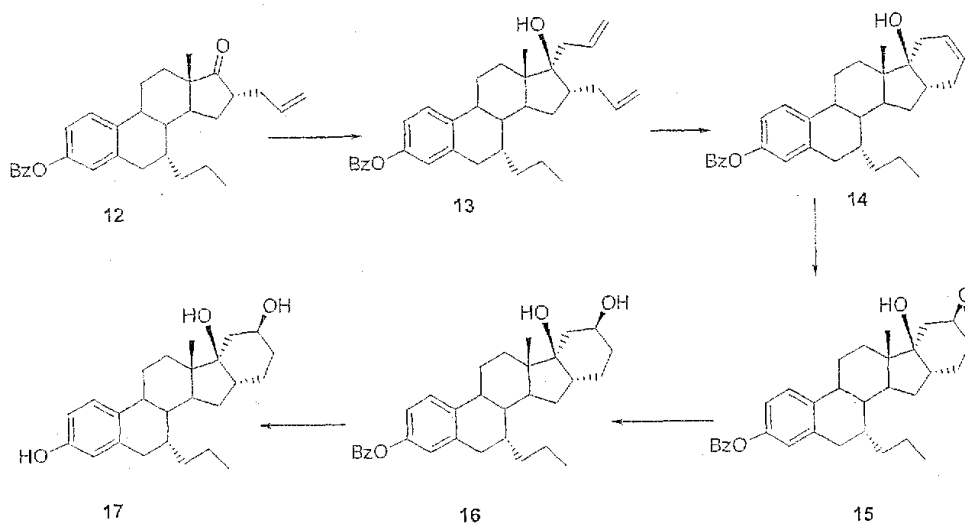
실시예

- <28> 하기 실시예에 사용되는 합성 경로는 반응식 I 및 II로 예시되어 있다. 화합물을 표시하는 데 사용된 숫자는 이들 반응식에서 구조식으로 정의되어 있다.

반응식 1



반응식 2



화합물 (2)

무수 THF 50 ml 중의 비닐트리부틸주석 5.65 ml의 용액에 헥산 중의 1.6 M BuLi 12 ml를 -50℃에서 적가하였다. 0.5 시간 더 교반한 후, 무수 THF 20 ml 중의 16 α -알릴, 7 α -에틸에스트론-3-O-메틸에테르(1) 6.2 g의 용액을 -50℃에서 가하였다. 0.5 시간 더 교반한 후, 혼합물을 포화 NH₄Cl에 붓고, 에틸아세테이트로 추출하였다. 유기상을 농축시킨 후, 실리카 겔 크로마토그래피를 행하여 오일로서 화합물 (2) 4.2 g을 얻었다.

R_f 0.47(톨루엔/에틸 아세테이트 95/5), 화합물 1에 대하여 R_f 0.65. NMR(CDCl₃) δ 5.80(m, 1, CH 알킬), 6.07(m, 1, CH 비닐), 0.98(s, CH₃), 0.93(t, 3, 에틸), 3.78(s, 3, CH₃).

화합물 (3)

염화메틸렌 80 ml 중의 화합물 (2) 4.2 g의 용액에 벤질리덴트리시클로헥실포스피노루테늄디클로라이드(그럽스(Grubbs) 상호 교환 촉매) 0.32 g을 가하였다. 1 시간 동안 교반한 후, 추가 분량의 촉매 0.3 g을 가하였다. 반응 종결 후(2 시간), 혼합물을 농축시키고, 잔류물을 칼럼 크로마토그래피에 의해 정제하여 화합물 (3) 3.5 g을 얻었다. R_f 0.29(헵탄/에틸 아세테이트 8/2, 화합물 (2)에 대하여 R_f 0.55). NMR(CDCl₃) δ 5.72(m, CH=), 6.02(m, 1, C=), 0.99(s, CH₃), 0.89(t, 3, CH₃), 3.77(OCH₃), 0.92(m, 3, CH₃).

화합물 (4)

염화메틸렌 12 ml 중의 스테로이드(3) 0.4 g과 NaHCO₃ 0.5 g의 혼합물을 m-Cl-퍼벤조산 0.34 g으로 처리하였다. 수 시간 동안 상온에서 교반한 후, 반응물을 물로 희석하고, 티오황산나트륨 용액으로 처리하여 잔류 과산화물을 파괴하였다. 유기 물질을 에틸 아세테이트로 추출하고, 최종적으로 크로마토그래피에 의해 정제하여 소정의 β -에폭시드(4) 110 mg을 제공하였다; R_f 0.50(톨루엔-아세톤 9/1); NMR(CDCl₃) δ 0.98(t, 3, CH₃), 0.92(t, 3, CH₃), 3.65 + 3.70(2 x m, 에폭시드 CH).

화합물 (5)

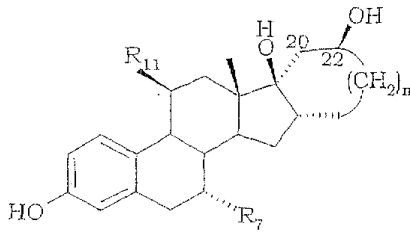
THF 3 ml 중의 스테로이드(4) 80 mg의 용액을 LiAlH₄ 10 mg으로 환류시켰다. 2 시간 후, 출발 물질은 사라졌다. 포화 Na₂SO₄ 용액 30 μ l와 Na₂SO₄ 0.20 g을 첨가하여 혼합물을 켄칭하고, 15 분 동안 교반하였으며, 셀라이트 상에 통과시켰다. 여액을 농축시키고, 잔류물은 짧은 실리카 칼럼에 통과시켜서 화합물 (5) 55 mg을 얻었다; R_f 0.24(톨루엔-아세톤 9/1); NMR(CDCl₃) δ 4.04(m, 1, CHOH), 3.78(s, 3, OCH₃), 2.85(m, 2, C6에서 CH₂), 0.92(s, 3, CH₃).

화합물 (6)

- <41> DMF 9 ml 중의 나트륨에탄티올레이트(에탄티올 0.7 ml와 60% NaH 분산액 0.27 g으로부터 제조함)의 용액에 스테로이드(5) 120 mg을 가하였다. 혼합물을 3 시간 동안 환류시켰다. 그 다음, 반응물을 물에 붓고, 에틸 아세테이트로 추출하였다. 유기 물질을 크로마토그래피하여 화합물 (6) 80 mg을 얻었다. Mp 224-226; R_f 0.30(톨루엔-아세톤 8/2); NMR(CDC₁₃) δ 4.00(m, 1, CHOH), 7.12(ar H₁), 6.20(ar H₂), 6.54(ar H₄).
- <42> **화합물 (7)**
- <43> 염화메틸렌 20 ml 및 피리딘 3 ml 중의 스테로이드(3) 2.7 g의 용액에 염화트리메틸실릴 1.9 ml를 0℃에서 가하였다. 0.5 시간 동안 교반한 후, 반응물을 물에 붓고, 에틸 아세테이트로 추출하여 본질적으로 순수한 실릴옥시 유도체(7) 3.3 g을 얻었다. R_f 0.8(헵탄-아세톤 8/2); NMR(CDC₁₃) δ 0.03(s, 9, TMS), 5.68, 5.91(2 x s, CH 올레핀).
- <44> **화합물 (8)**
- <45> 무수 THF 25 ml 중의 화합물 (7) 3.2 g의 용액을 0℃에서 THF 20 ml 중의 2.2 ml 보란-디메틸술피드 착체의 용액으로 처리하였다. 그 후, 반응물을 2 시간 동안 45℃에서 교반하였다. 무수 에탄올 4.5 ml, 이어서 2 N NaOH 11 ml 및 30% 과산화수소 7.7 ml를 신중하게 첨가하여 과량의 시약을 파괴하였다. 반응물을 밤새도록 교반하고, 물로 희석하였으며, 에틸 아세테이트로 추출하였다. 이와 같이 얻어진 미정제 생성물을 칼럼 크로마토그래피에 의해 정제하여 소정의 α -알콜(8) 1.7 g을 얻었다. R_f 0.36(헵탄-아세톤 8/2); NMR(CDC₁₃) δ 4.42(m, 1, CHOH), 0.12(s, 9, TMS), 0.79(s, 3, CH₃).
- <46> **화합물 (9)**
- <47> 톨루엔 60 ml 중의 화합물 (8) 1.6 g과 트리페닐포스핀 1.3 g의 용액을 0℃에서 p-니트로벤조산 0.84 g과 디에틸아조디카르복실레이트 0.8 ml로 처리하였다. 1 시간 동안 교반한 후, 반응을 종결시켰다. 혼합물을 포화 수성 NaHCO₃ 용액에 붓고, 에틸 아세테이트로 추출하였다. 크로마토그래피로 정제하여 β -니트로벤조에이트 2.9 g을 얻었다. R_f 0.64(헵탄-아세톤 8/2); NMR(CDC₁₃) δ 5.34(m, 1, CHOC(O)Ar), 0.91(s, 3, CH₃), 0.95(t, 3, CH₃), 3.80(s, 3, OCH₃). 이 물질을 THF-메탄올(1/1 v/v) 40 ml의 혼합물에 용해시키고, 2 N NaOH 용액 4 ml로 처리하였다. 15 분 동안 교반한 후, 반응물을 물에 붓고, 생성물을 에틸 아세테이트로 추출하였다. 짧은 실리카 칼럼을 통과시킨 후, β -알콜(9) 1.3 g을 얻었다; R_f 0.64(헵탄-아세톤 8/2); NMR(CDC₁₃) δ 4.31(m, 1, CHOH).
- <48> **화합물 (10)**
- <49> 아세톤 30 ml 중의 화합물(9) 1.3 g의 용액을 2 N HCl 2 ml로 처리하였다. 1 시간 후, 포화 NaHCO₃를 첨가하여 혼합물을 중화시키고, 농축시켰다. 잔류물을 물로 희석하고, 에틸 아세테이트로 추출하여 화합물 (10)을 얻었다. R_f 0.10(헵탄-아세톤 8/2); NMR(CDC₁₃) δ 0.90(t, 3, CH₃), 0.95(s, 3, CH₃), 4.48(m, 1, CHOH).
- <50> **화합물 (11)**
- <51> DMF 9 ml 중의 나트륨에탄티올레이트(에탄티올 0.7 ml와 60% NaH 분산제 0.3 g으로부터 제조함)의 용액에 스테로이드(10) 120 mg을 가하였다. 혼합물을 3 시간 동안 환류시켰다. 그 다음, 반응물을 물에 붓고, 에틸 아세테이트로 추출하였다. 유기 물질을 크로마토그래피하여 화합물 (11) 80 mg을 얻었다. Mp 143-145℃(에탄올-물); R_f 0.41(톨루엔-아세톤 7/3); NMR(CDC₁₃) δ 4.45(m, 1, CHOH), 0.93(s, 3, CH₃), 0.90(t, 3, CH₃), 6.62 + 7.10(AB, 2, H₁, 2), 6.53(d, 1, H₄).
- <52> **화합물 (13)**
- <53> 에테르 중의 1 M 브롬화알릴마그네슘 29 ml의 용액에 무수 THF 80 ml를 가하였다. -50℃에서 THF 40 ml 중의 7 α -프로필, 16 α -알릴에스트론-3-O-벤질에테르(12)를 가하였다. 0.5 시간 동안 교반한 후, 혼합물이 실온이 되게 하고, 포화 수성 NH₄Cl 300 ml에 부었다. 생성물을 에틸 아세테이트로 추출하고, 실리카 겔 상에서 크로마토그래피에 의해 정제하여 입체 이성질체를 제거함으로써 소정의 16 α , 17 α -디알릴 유도체(13) 7.2 g을 얻었다. R_f 0.26(헵탄-에틸아세테이트 9/1); 17 β -알릴 이성질체 R_f 0.45. NMR(CDC₁₃) δ 0.88(t, 3, CH₃), 0.96(s, 3, CH₃), 6.08(m, 1, CH 알릴), 5.80(m, 1, CH 알릴), 4.95-5.20(m, 4, 2x CH₂ 알릴), 5.20(CH₂OBz).

- <54> **화합물 (14)**
- <55> 벤질리덴트리시시클로헥실포스포노루테늄 디클로라이드(그럽스 상호 교환 촉매) 40 mg의 분액을 염화메틸렌 10 ml 중의 화합물 (13) 450 mg의 용액에 가하였다. 1 시간 동안 교반한 후, 촉매 400 mg을 더 가하였다. 2 시간 후, 용매를 제거하고, 톨루엔 20 ml로 대체하였으며, 혼합물을 60℃에서 염기성 알루미늄 5 g과 함께 교반하여 촉매를 흡수시켰다. 셀라이트 상에서 여과시키고, 톨루엔과 에틸 아세테이트로 세척한 후, 거의 순수한 화합물 (14) 400 mg을 얻었다; R_f 0.34(헵탄-에틸아세테이트 8/2); R_f 화합물 (13) 0.45. NMR(CDC_l₃) δ 5.02(s, 2, CH₂O), 5.97(s, 2, CH=CH), 0.97(s, 3, CH₃).
- <56> **화합물 (15)**
- <57> 염화메틸렌 0.5 ml 중의 화합물 (14) 340 mg의 용액에 피리딘 8 μ l, 30% 수성 H₂O₂ 0.14 ml, 이어서 메틸트리옥소레늄 2 mg을 가하였다. 1 시간 동안 교반한 후, 에폭시드화를 종결시켜서 소정의 β -에폭시드뿐만 아니라 약간의 α -이성질체를 주로 얻었다. 혼합물을 물과 포화 Na₂S₂O₃에 붓고, 에틸아세테이트로 추출하였다. 크로마토그래피를 행하여 화합물 (15) 230 mg과 원치않는 α -에폭시드 80 mg을 얻었다. R_f 0.36(톨루엔-에틸아세테이트 95/5; 참고: R_f 화합물 (14): 0.39). NMR(CDC_l₃) δ 3.31, 3.38(m, 2, CH(O)CH).
- <58> **화합물 (16)**
- <59> 무수 THF 20 ml 중의 화합물 (15) 4.2 g과 LiAlH₄ 350 mg의 혼합물을 2 시간 동안 환류시켰다. 그 다음, 혼합물을 냉각시킨 후, 포화 수성 Na₂SO₄ 1 ml, 에틸 아세테이트 28 ml 및 Na₂SO₄ 8 g으로 처리하였다. 상온에서 0.5 시간 동안 교반한 후, 반응물을 셀라이트 상에서 여과하고, 여액을 농축시켰으며, 크로마토그래피를 행하여 화합물 (16) 3.4 g을 얻었다. Mp 147-148℃, R_f 0.20(톨루엔-에틸아세테이트 8/2; R_f 화합물 (23) 0.55). NMR(CDC_l₃) δ 4.25(broad s, 1, CHOH), 0.90(s, 3, CH₃), 0.86(t, 3, CH₃), 5.02(s, 2, OCH₂Ar).
- <60> **화합물 (17); (=7 α , 16 β , 17 α , 22S)-7-프로필-16,24-시클로-19,21-디노르콜라-1,3,5(10)-트리엔-3,17,22-트리올**
- <61> 에탄올 200 ml 중의 화합물 (16) 3.3 g의 용액을 5% Pd/C 300 mg의 존재 하에 수소화 처리하였다. 반응 종결 후, 촉매를 셀라이트 상에서 여과시키고, 용매를 농축시켰다. 잔류물을 에테르로 분쇄한 다음, 물로 분쇄하여 화합물 (17) 1.7 g을 제공하였다; Mp 146-147℃, R_f 0.53(톨루엔-에틸아세테이트 1.1; R_f 화합물 (16) 0.60). NMR(CDC_l₃) δ 4.26(broad s, 1, CHOH), 7.14, 6.62 AB, 2, H1, H2), 6.54(d, H4).
- <62> **시험관내 에스트로겐 활성에 대한 테스트**
- <63> 화합물들을, 사람 에스트로겐 수용체 α 또는 β 를 사용하여 결합 분석 및 전사활성 분석에서 이들의 에스트로겐 수용체 활성화에 대하여 테스트한다.
- <64> 재조합 중국 햄스터 난소(CHO) 세포로부터 세포질 사람 에스트로겐 수용체 α 또는 β 에 대한 경쟁적 결합을 사용하여 사람 에스트로겐 수용체 α (hER α) 또는 β 수용체(hER β)로 안정하게 트랜스펙션된, 재조합 CHO 세포의 시토졸에 존재하는 에스트로겐 α 또는 β 에 대한 (17 β)-에스트라디올(E2)와 비교하였을 때의 테스트 화합물의 상대 결합 친화도(=RBA)(효능비)를 평가한다.
- <65> 화합물의 에스트로겐 활성과 항에스트로겐 활성은 사람 에스트로겐 수용체 α (hER α) 또는 β (hER β), 래트 옥시토신 프로모터(RO) 및 루시페라제 수용체 유전자(LUC)로 안정하게 공트랜스펙션된 재조합 중국 햄스터 난소(CHO) 세포로 시험관내 생분석에서 결정한다. 에스트로겐 수용체 hER α 또는 hER β 를 통하여 매개되는 효소 루시페라제의 전사활성을 평가하기 위한 테스트 화합물의 에스트로겐 작동 전사활성(효능비)를 표준 에스트로겐 에스트라디올과 비교한다. (17 β)-에스트라디올에 의한 에스트로겐 수용체 hER α 또는 hER β 를 통하여 매개되는 효소 루시페라제의 전사활성을 저해하는 테스트 화합물의 항에스트로겐 활성(효능비)은 표준 ICI 164.384(=7 α , 17 β)-N-부틸-3,17-디히드록시-N-메틸에스트라-1,3,5(10)-트리엔-7-운데칸아미드)와 비교한다.
- <66> 결과:

화학식 3



<67>

<68>

화학식 3의 화합물	R ₇	R ₁₁	6원 고리(n=1) 또는 5원 고리(n=0)	결합 분석 Er α /Er β	전사활성 Er α /Er β	작용제 선택도 Er α /Er β
A	H	H	6원 고리	8.6/0.3	5.5/0.2	27
B	CH ₃	H	6원 고리	20/5.2	16/<0.1	>160
C(= 11)	C ₂ H ₅	H	5원 고리	18/14	12/<0.1	>120
D	C ₂ H ₅	H	6원 고리	17/8.7	11.5/<0.1	>115
E(= 17 ¹⁾)	C ₃ H ₇	H	6원 고리	42/13.9	26/<0.1	>260
F	H	C ₃ H ₇	5원 고리	16.3/0.4	11/0.2	55

<69>

¹⁾ 17은 Org 41621이다.

<70>

화합물 (17)은 길항제 분석에서 <0.1/67의 선택도 비율 Er α /Er β 를 가진다.

<71>

화학식 3을 따르지만, 22-히드록시가 없으며, R₇ 이 α -프로필이고, R₁₁이 수소이며, 6원 E 고리를 갖고, (7 α , 16 β , 17 α)-7-프로필-16,24-시클로-19,21-디노르콜라-1,3,5(10)-트리엔-3,17-디올이라고 불리우는 화합물은 Er α /Er β 비율이 결합 분석에서 15/7이고, 작용제 전사활성 분석에서 0.3<0.1이다.

<72>

래트의 난소 적출 유발 골 손실의 예방을 위한 테스트(항골다공증 테스트)

<73>

서론

<74>

래트의 난소 적출은 골 손실을 유발하는데, 이는 에스트로겐 결핍에 기인한 것이다. 에스트로겐계 화합물을 투여하면, 이 효과를 예방한다. 이 테스트를 난소 적출된(OVX) 래트의 항골다공 활성에 대하여 화합물을 평가하는데 사용한다. 골 질량에 대한 효과는 말초 정량 컴퓨터화 단층 촬영법(pQCT) 또는 X-선 사진의 정량 분석에 의해 평가할 수 있다. 혈장 오스테오칼신과 비노 데옥시피리디놀린 및 포스페이트는 골 대사에 대한 정보를 제공한다. 자궁 질량의 증가 및 체중과 흉선 중량 감소는 에스트로겐 효과를 반영한다.

<75>

테스트 동물

<76>

성숙한 교미하지 않은 225-250 g의 암컷 위스타 래트. 혈통: Hsd/Cpd: Wu, SPF - 네덜란드 차이스트에 소재하는 할란 CPB 사육.

<77>

실험

<78>

실험 제1일째, 래트를 평량하고, 체중순으로 우리에게 분배하며, 여기서 최소 체중을 가진 래트를 제1 우리에게 넣고, 최종량 래트를 최종 우리에게 넣는다. 래트에 대하여 처치를 무작위로 행한다.

<79>

가장 수술(sham-operation)과 난소 적출을 에테르 마취 하에 행한다. 24 시간 이내에 마취로부터 회복시킨 후, 비히클, 기준 화합물 또는 테스트 화합물을 4 주 동안 1일 1회 또는 2회 투여한다. 이 기간 동안 래트를 매주 평량한다. 4 주 후 해부한다. 해부시, 래트를 에테르로 마취시키고, 복대동맥으로부터 채혈한다. 양쪽 대퇴부, 척추 L1L2L3L4(임의로), 자궁, 흉선, 간, 신장, 부신, 갑상선 및 하수체를 절개한다. 골 무기질 밀도와 우측 대퇴의 기하 구조의 측정은 신선한 조직에 대한 해부 당일에 pQCT에 의해 수행한다. 대퇴의 골간단(骨幹端) 부분의 소주(小柱) 골 무기질 밀도(FBMDIS mg/cm³)는 pQCT(말초 정량 컴퓨터화 단층 촬영기; XCT 960A, Stratec, 독일 비르켄펠트 소재)로 측정한다.

- <80> 결과의 해석
- <81> 난소 적출은 원위 골 밀도 및 대퇴의 소주 골 부피의 통계학적으로 유의적인 감소, 그리고 혈장 오스테오칼신 및 비뇨 테옥시피리디놀린 수치의 통계학적으로 유의적인 증가($P \leq 0.05$, 2 방식 ANOVA)를 유발한다.
- <82> 테스트 화합물은 난소 적출된 대조군과 비교하였을 때 원위 대퇴의 평균 골 밀도치가 유의적으로 증가한 경우에 활성인 것으로 간주한다. 비뇨 테옥시피리디놀린 수치에 대한 화합물의 효과는 골 재흡수에 대한 효과를 반영하고, 혈장 오스테오칼신 수치에 대한 효과는 골 재편성에 대한 효과를 반영하며, 작용의 메카니즘을 이해하는 것을 도울 수 있다.
- <83> 최소 활성 투여량(MAD)은 40% 내지 60%의 소주 골 무기질 밀도의 비례 중량 차에 도달하는 투여량이다.
- <84> 참고 문헌
- <85> Wronski T. J. 및 Yen C. F.: The ovariectomised rat as an animal model for postmenopausal bone loss. *Cells and Materials*, Supp. 1 (1991): 69-76.
- <86> Yamazaki I. 및 Yamaguchi H.: Characteristics of an ovariectomised osteopenic rat model. *J. Bone Min. Res.* 4 (1989): 12-22.
- <87> Ederveen A. G. H. 및 Kloosterboer H. J.: Tibolone, a steroid with a tissue-specific hormonal profile, completely prevents ovariectomy-induced bone loss in sexually mature rats. *J. Bone & Mineral Research* Vol 14, pp 1963-1970, 1999.
- <88> 결과:
- <89> 화합물 (17)(Org 41621): 골다공 테스트 경구 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$.
- <90> 종래 화합물(7 α , 16 β , 17 α)-7-프로필-16,24-시클로-19,21-디노르콜라-1,3,5(10)-트리엔-3,17-디올: 경구 190 $\mu\text{g}/\text{kg}$.
- <91> **생체내 에스트로겐 활성에 대한 테스트**
- <92> 생체내 에스트로겐 활성은 문헌[F. Allen, L. A. Doisy, *J. Amer. Med. Assoc.*, **81**, 819-821 (1923)]에 기재된 알렌 도이시 테스트에 의하여 측정하였다.
- <93> 결과:
- <94> 화합물 (17)(Org 41621): 알렌 도이시 피하 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 경구 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$.
- <95> 종래 화합물(7 α , 16 β , 17 α)-7-프로필-16,24-시클로-19,21-디노르콜라-1,3,5(10)-트리엔-3,17-디올: 알렌 도이시 피하 24 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 경구 125 $\mu\text{g}/\text{kg}$.