

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2007-538094

(P2007-538094A)

(43) 公表日 平成19年12月27日(2007. 12. 27)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C07C 235/24 (2006.01)	C O 7 C 235/24 C S P Z	4 C O 5 7
C07C 59/13 (2006.01)	C O 7 C 59/13	4 C O 8 6
C07C 309/46 (2006.01)	C O 7 C 309/46	4 C 2 O 6
C07C 233/22 (2006.01)	C O 7 C 235/24 B	4 H O O 6
C07C 323/41 (2006.01)	C O 7 C 233/22	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 98 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2007-527445 (P2007-527445)
 (86) (22) 出願日 平成17年3月19日 (2005. 3. 19)
 (85) 翻訳文提出日 平成18年11月17日 (2006. 11. 17)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2005/017588
 (87) 国際公開番号 W02005/113565
 (87) 国際公開日 平成17年12月1日 (2005. 12. 1)
 (31) 優先権主張番号 10/849, 039
 (32) 優先日 平成16年5月20日 (2004. 5. 20)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 504326686
 ユニバーシティ・オブ・テネシー・リサーチ・ファウンデーション
 アメリカ合衆国テネシー州37996-1527・ノックスビル・スイート 403・ホワイトアベニュー 1534
 (74) 代理人 100089266
 弁理士 大島 陽一
 (72) 発明者 ダルトン、ジュームズ・ティー
 アメリカ合衆国オハイオ州43220・アップーアーリントン・グリーンズビュードライブ 4180

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 選択的アンドロゲン受容体調節剤化合物の代謝物及びその使用方法

(57) 【要約】

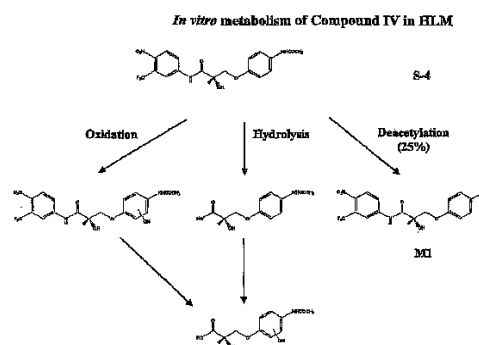
【課題】 アンドロゲン受容体に対する非ステロイド性リガンドとしてのアンドロゲン活性及びタンパク同化作用を示す新規なアンドロゲン受容体標的物質を提供する。

【解決手段】 本発明に係る SARM 化合物及び／又はその代謝物は、単独で使用しても医薬組成物として使用しても、次の (a) ～ (h) に役立つ。(a) 男性の避妊。(b) 様々なホルモンに関連する病気 (例えば、高齢男性におけるアンドロゲン減少に関連する病気の治療。

(c) 女性におけるアンドロゲン減少に関連する病気の治療。(d) 急性及び／又は慢性の筋萎縮症の治療及び／又は予防。(e) ドライアイの治療及び／又は予防。

(f) 経口アンドロゲン代償療法。(g) 前立腺癌の発生率の減少、前立腺癌の進行抑制又は退行。(h) 癌細胞の。

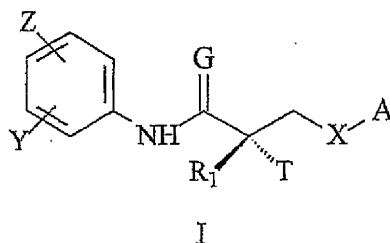
【選択図】 図 1 2 B



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

次の化学構造式 I で表される選択的アンドロゲン受容体調節剤 (SARM) 化合物の代謝物。



10

ただし、

G は、O 又は S であり、

X は、O であり、

T は、OH、OR、 $-\text{NHCOCH}_3$ 又は NHCOR であり、

Z は、 NO_2 、CN、COOH、COR、NHCOR 又は CONHR であり、

Y は、H、アルキル、ヒドロキシアルキル、アルキルアルデヒド、 CF_3 、F、I、Br、Cl、CN、 CR_3 又は SnR_3 であり、

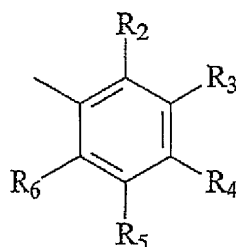
R は、アルキル、ハロアルキル、ジハロアルキル、トリハロアルキル、 CH_2F 、 CHF_2 、 CF_3 、 CF_2CF_3 、アリル、フェニル、ハロゲン、アルケニル又は OH であり

、

R_1 は、 CH_3 、 CH_2F 、 CHF_2 、 CF_3 、 CH_2CH_3 又は CF_2CF_3 であり

、

A は、



30

であって、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 は、互いに独立して、H、ハロゲン、CN、 NHCOCF_3 、アセトアミド又はトリフルオロアセトアミドである。

【請求項 2】

G が O であることを特徴とする請求項 1 に記載の SARM 化合物の代謝物。

【請求項 3】

T が OH であることを特徴とする請求項 1 に記載の SARM 化合物の代謝物。

【請求項 4】

R_1 が CH_3 であることを特徴とする請求項 1 に記載の SARM 化合物の代謝物。

40

【請求項 5】

Z が CN であることを特徴とする請求項 1 に記載の SARM 化合物の代謝物。

【請求項 6】

Y が CF_3 であることを特徴とする請求項 1 に記載の SARM 化合物の代謝物。

【請求項 7】

Q がパラ位にあることを特徴とする請求項 1 に記載の SARM 化合物の代謝物。

【請求項 8】

Z がパラ位にあることを特徴とする請求項 1 に記載の SARM 化合物の代謝物。

【請求項 9】

50

Yがメタ位にあることを特徴とする請求項1に記載のSARM化合物の代謝物。

【請求項10】

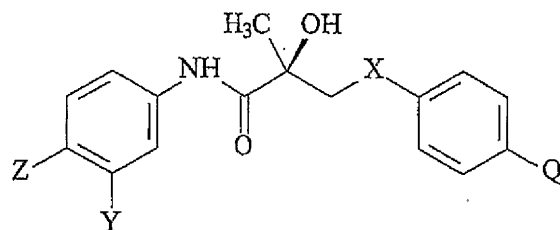
アンドロゲン受容体作動薬であることを特徴とする請求項1に記載のSARM化合物の代謝物。

【請求項11】

アンドロゲン受容体拮抗薬であることを特徴とする請求項1に記載のSARM化合物の代謝物。

【請求項12】

前記SARM化合物が次の化学構造式IIで表されることを特徴とする請求項1に記載のSARM化合物の代謝物。

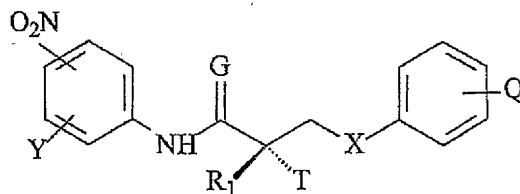


II

ただし、Qはアセトアミド又はトリフロロアセトアミドである。

【請求項13】

前記SARM化合物が次の化学構造式VIIで表されることを特徴とする請求項1に記載のSARM化合物の代謝物。

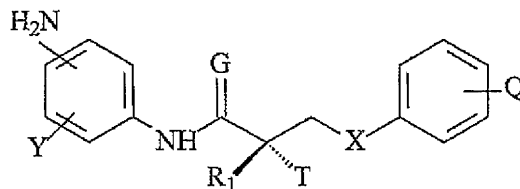


VII

ただし、Qはアセトアミド又はトリフロロアセトアミドである。

【請求項14】

次の化学構造式で表されることを特徴とする請求項13に記載のSARM化合物の代謝物。



ただし、Qはアセトアミド又はトリフロロアセトアミドである。

【請求項15】

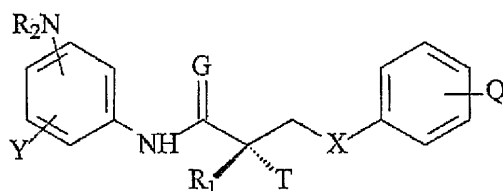
次の化学構造式で表されることを特徴とする請求項13に記載のSARM化合物の代謝物。

10

20

30

40

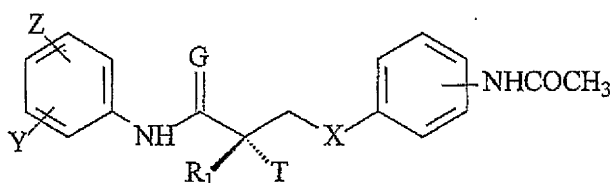


ただし、Qはアセトアミド又はトリフロロアセトアミドであり、
NR₂はNO、NHOH、NHOSO₃、NHO-グルコナイドである。

【請求項16】

10

前記SARM化合物が次の化学構造式VIIIで表されることを特徴とする請求項1に記載のSARM化合物の代謝物。

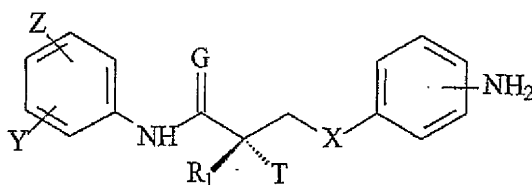


VIII

20

【請求項17】

次の化学構造式で表されることを特徴とする請求項16に記載のSARM化合物の代謝物。



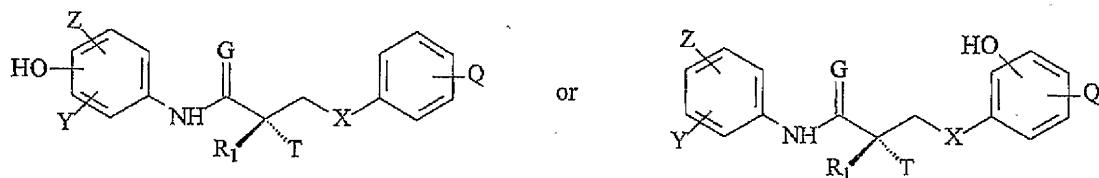
30

【請求項18】

前記した化学構造式Iで表されるSARM化合物の水酸化誘導体であることを特徴とする請求項1に記載のSARM化合物の代謝物。

【請求項19】

次の化学構造式で表されることを特徴とする請求項18に記載のSARM化合物の代謝物。

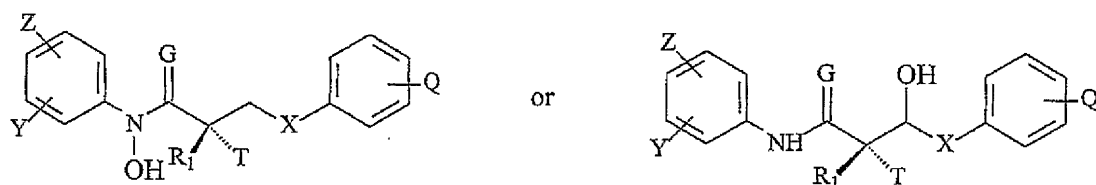


40

ただし、Qはアセトアミド又はトリフロロアセトアミドである。

【請求項20】

次の化学構造式で表されることを特徴とする請求項18に記載のSARM化合物の代謝物。



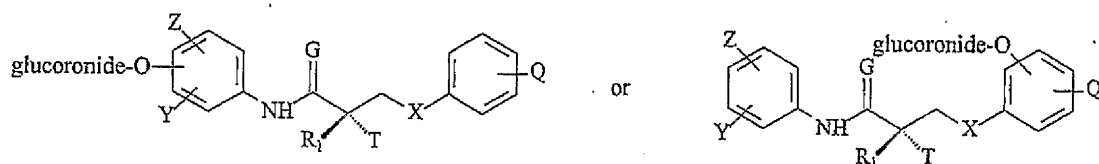
ただし、Qはアセトアミド又はトリフロロアセトアミドである。

【請求項 2 1】

前記した化学構造式 I で表わされる SARM 化合物の O-グルコナイド誘導体である 10
ことを特徴とする請求項 1 に記載の SARM 化合物の代謝物。

【請求項 2 2】

次の化学構造式で表されることを特徴とする請求項 2 1 に記載の SARM 化合物の代謝 物。

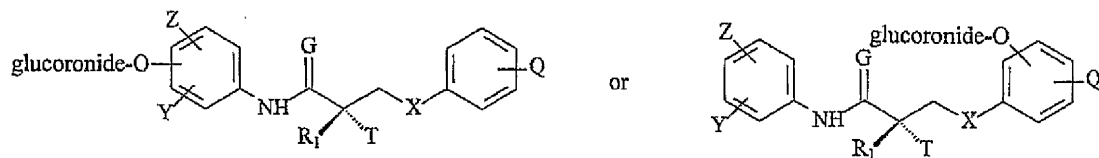


20

ただし、Qはアセトアミド又はトリフロロアセトアミドである。

【請求項 2 3】

次の化学構造式で表されることを特徴とする請求項 2 1 に記載の SARM 化合物の代謝 物。



30

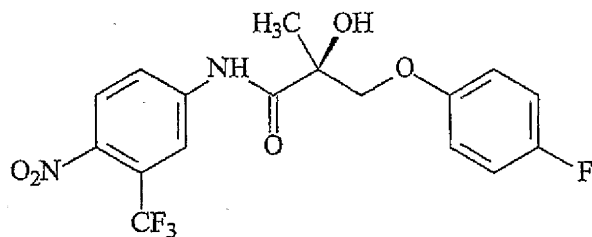
ただし、Qはアセトアミド又はトリフロロアセトアミドである。

【請求項 2 4】

前記した化学構造式 I で表わされる SARM 化合物のメチル化誘導体であることを特徴 10
とする請求項 1 に記載の SARM 化合物の代謝物。

【請求項 2 5】

前記 SARM 化合物が次の化学構造式 I I I で表されることを特徴とする請求項 1 に記 載の SARM 化合物の代謝物。

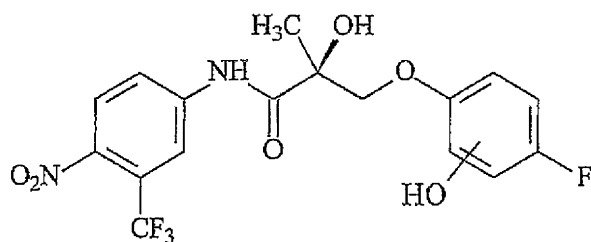


III

40

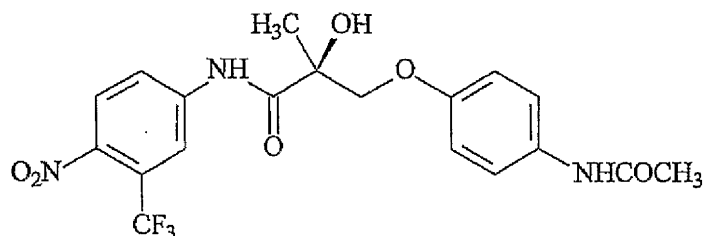
【請求項 2 6】

次の化学構造式で表されることを特徴とする請求項 2 5 に記載の SARM 化合物の代謝 物。



【請求項 27】

前記 SAR 化合物が次の化学構造式 IV で表されることを特徴とする請求項 1 に記載の SAR 化合物の代謝物。 10

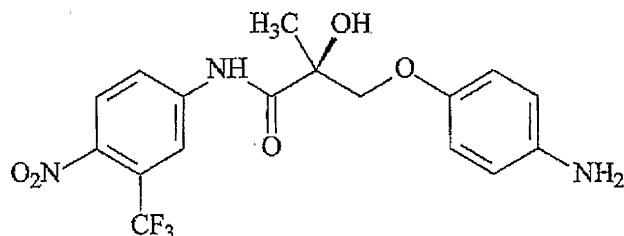


IV

20

【請求項 28】

次の化学構造式で表されることを特徴とする請求項 27 に記載の SAR 化合物の代謝物。



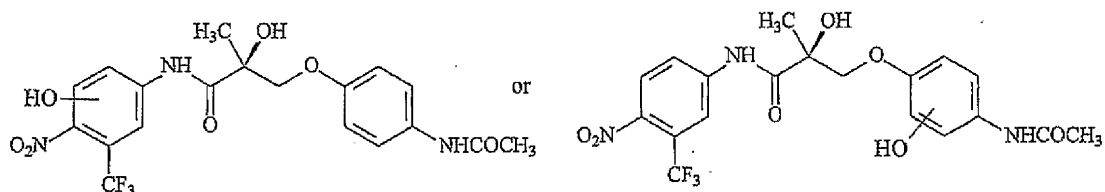
30

【請求項 29】

前記した化学構造式 IV で表わされる SAR 化合物の水酸化誘導体であることを特徴とする請求項 27 に記載の SAR 化合物の代謝物。

【請求項 30】

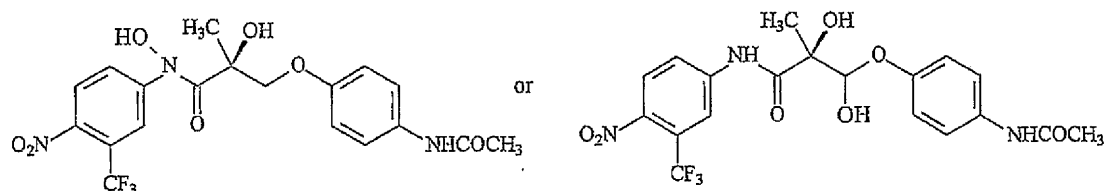
次の化学構造式で表されることを特徴とする請求項 29 に記載の SAR 化合物の代謝物。



40

【請求項 31】

次の化学構造式で表されることを特徴とする請求項 29 に記載の SAR 化合物の代謝物。

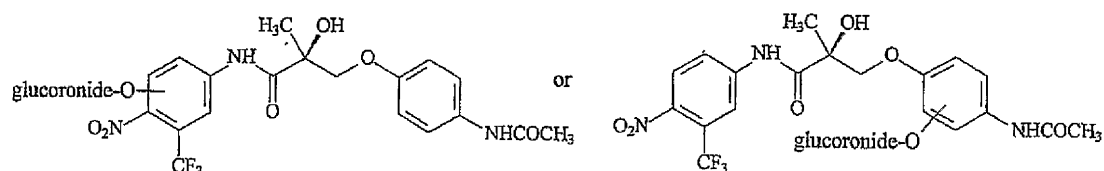


【請求項 3 2】

前記した化学構造式 I で表わされる SAR 化合物の O-グルコナイド誘導体であることを特徴とする請求項 2 7 に記載の SAR 化合物の代謝物。 10

【請求項 3 3】

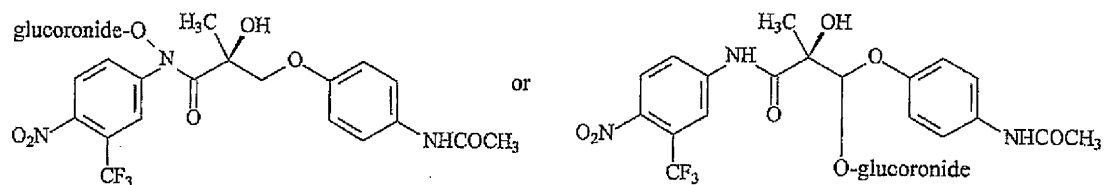
次の化学構造式で表されることを特徴とする請求項 3 2 に記載の SAR 化合物の代謝物。



20

【請求項 3 4】

次の化学構造式で表されることを特徴とする請求項 3 2 に記載の SAR 化合物の代謝物。



【請求項 3 5】

前記した化学構造式 I V で表わされる SAR 化合物のメチル化誘導体であることを特徴とする請求項 2 7 に記載の SAR 化合物の代謝物。 30

【請求項 3 6】

請求項 1 に記載の SAR 化合物の代謝物と、適切な担体又は希釈剤とを含む組成物。

【請求項 3 7】

有効な量の請求項 1 に記載の SAR 化合物の代謝物と、薬学的に許容される担体又は希釈剤とを含む医薬組成物。

【請求項 3 8】

SAR 化合物をアンドロゲン受容体に結合させる方法であって、

前記 SAR 化合物の代謝物を前記アンドロゲン受容体に結合させるのに有効な量の請求項 1 に記載の SAR 化合物の代謝物を、前記アンドロゲン受容体に接触させるステップを含む方法。 40

【請求項 3 9】

精子形成を抑制する方法であって、

精子生成を抑制するのに有効な量の請求項 1 に記載の SAR 化合物の代謝物を、患者のアンドロゲン受容体に接触させるステップを含む方法。

【請求項 4 0】

男性患者の避妊方法であって、

精子生成を抑制するのに有効な量の請求項 1 に記載の SAR 化合物の代謝物を、前記患者に投与するステップを含み、それによって前記患者の避妊を効果的に行う方法。 50

【請求項 4 1】

ホルモン療法であって、
アンドロゲン依存状態を変化させるのに有効な量の請求項 1 に記載の S A R M 化合物の代謝物を、患者のアンドロゲン受容体に接触させるステップを含む方法。

【請求項 4 2】

ホルモン補充療法であって、
アンドロゲン依存状態を変化させるのに有効な量の請求項 1 に記載の S A R M 化合物の代謝物を、患者のアンドロゲン受容体に接触させるステップを含む方法。

【請求項 4 3】

ホルモンに関連する病気の患者を治療する方法であって、
アンドロゲン依存状態を変化させるのに有効な量の請求項 1 に記載の S A R M 化合物の代謝物を、前記患者に投与するステップを含む方法。 10

【請求項 4 4】

前立腺癌を治療する方法であって、
前立腺癌を治療するのに有効な量の請求項 1 に記載の S A R M 化合物の代謝物を、前立腺癌患者に投与するステップを含む方法。

【請求項 4 5】

前立腺癌を予防する方法であって、
前立腺癌を予防するのに有効な量の請求項 1 に記載の S A R M 化合物の代謝物を、前立腺癌患者に投与するステップを含む方法。 20

【請求項 4 6】

前立腺癌の進行を遅延させる方法であって、
前立腺癌の進行を遅延させるのに有効な量の請求項 1 に記載の S A R M 化合物の代謝物を、前立腺癌患者に投与するステップを含む方法。

【請求項 4 7】

前立腺癌の再発を防止する方法であって、
前立腺癌の再発を防止するのに有効な量の請求項 1 に記載の S A R M 化合物の代謝物を、前立腺癌患者に投与するステップを含む方法。

【請求項 4 8】

前立腺癌の再発を治療する方法であって、
前立腺癌の再発を治療するのに有効な量の請求項 1 に記載の S A R M 化合物の代謝物を、前立腺癌患者に投与するステップを含む方法。 30

【請求項 4 9】

ドライアイを治療する方法であって、
ドライアイを治療するのに有効な量の請求項 1 に記載の S A R M 化合物の代謝物を、ドライアイ患者に投与するステップを含む方法。

【請求項 5 0】

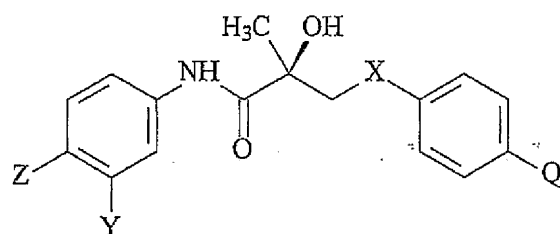
ドライアイを予防する方法であって、
ドライアイを予防するのに有効な量の請求項 1 に記載の S A R M 化合物の代謝物を、ドライアイ患者に投与するステップを含む方法。 40

【請求項 5 1】

癌細胞のアポトーシスを誘発させる方法であって、
アポトーシスを誘発させるのに有効な量の請求項 1 に記載の S A R M 化合物の代謝物を、前記癌細胞に接触させるステップを含む方法。

【請求項 5 2】

次の化学構造式 I I で表される選択的アンドロゲン受容体調節剤 (S A R M) 化合物の代謝物。



II

ただし、

Xは、Oであり、

Zは、NO₂、CN、COOH、COR、NHCOR又はCONHRであり、

Yは、CF₃、F、I、Br、Cl、CN、CR₃又はSnR₃であり、

Qは、アセトアミド又はトリフルオロアセトアミドであり、

Rは、アルキル、ハロアルキル、ジハロアルキル、トリハロアルキル、CH₂F、CHF₂、CF₃、CF₂CF₃、アリル、フェニル、F、Cl、Br、I、アルケニル又はOHであり、

R₁は、CH₃、CH₂F、CHF₂、CF₃、CH₂CH₃又はCF₂CF₃である。

10

【請求項53】

ZがCNであることを特徴とする請求項52に記載のSARM化合物の代謝物。

20

【請求項54】

YがCF₃であることを特徴とする請求項52に記載のSARM化合物の代謝物。

【請求項55】

アンドロゲン受容体作動薬であることを特徴とする請求項52に記載のSARM化合物の代謝物。

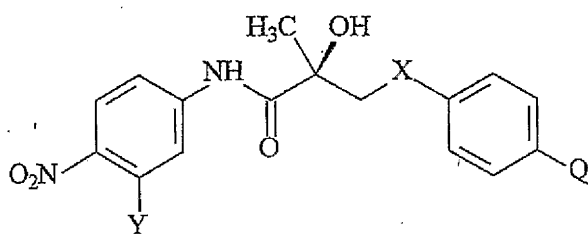
【請求項56】

アンドロゲン受容体拮抗薬であることを特徴とする請求項52に記載のSARM化合物の代謝物。

【請求項57】

前記SARM化合物が次の化学構造式IXで表されることを特徴とする請求項52に記載のSARM化合物の代謝物。

30

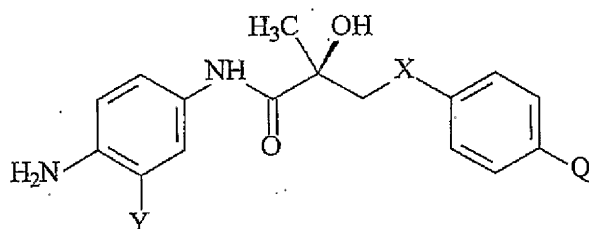


IX

40

【請求項58】

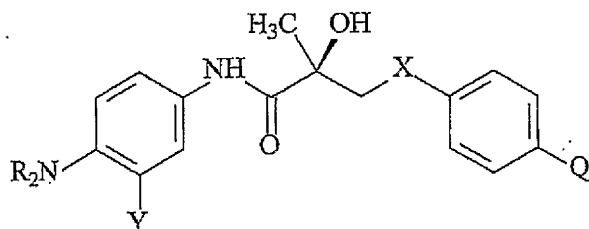
次の化学構造式で表されることを特徴とする請求項57に記載のSARM化合物の代謝物。



50

【請求項 59】

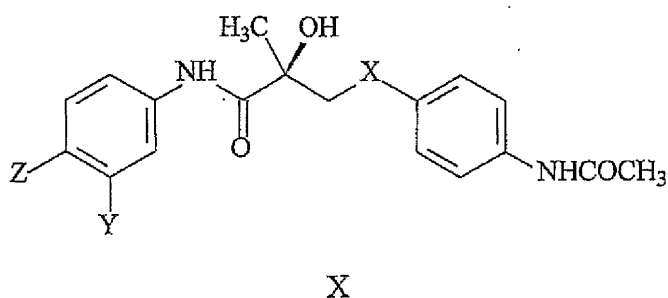
次の化学構造式で表されることを特徴とする請求項 57 に記載の SARM 化合物の代謝物。



10

【請求項 60】

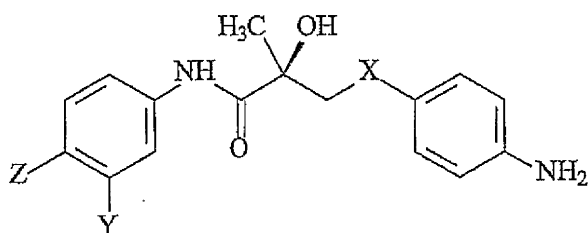
前記 SARM 化合物が次の化学構造式 X で表されることを特徴とする請求項 52 に記載の SARM 化合物の代謝物。



20

【請求項 61】

次の化学構造式で表されることを特徴とする請求項 60 に記載の SARM 化合物の代謝物。



30

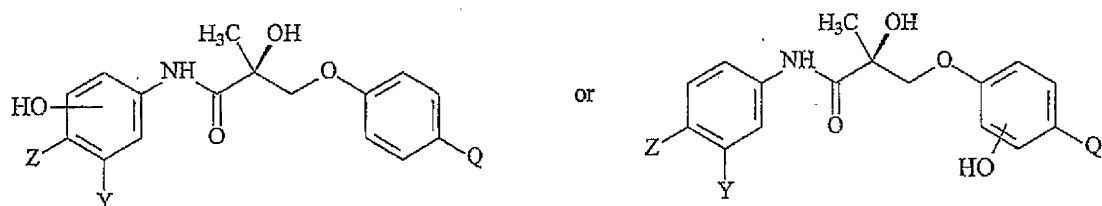
【請求項 62】

前記した化学構造式 I I で表わされる SARM 化合物の水酸化誘導体であることを特徴とする請求項 52 に記載の SARM 化合物の代謝物。

【請求項 63】

次の化学構造式で表されることを特徴とする請求項 62 に記載の SARM 化合物の代謝物。

40

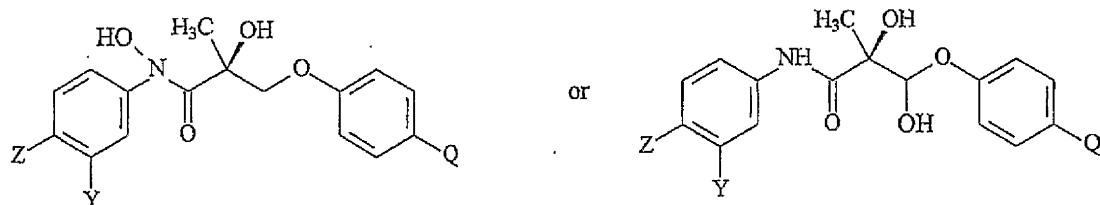


【請求項 64】

次の化学構造式で表されることを特徴とする請求項 62 に記載の SARM 化合物の代謝

50

物。



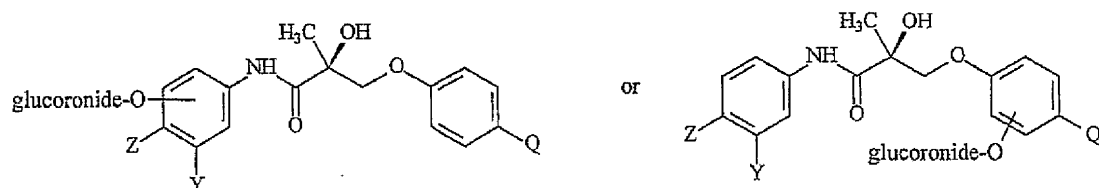
【請求項 65】

10

前記した化学構造式 I I で表わされる S A R M 化合物の O-グルコナイド誘導体であることを特徴とする請求項 52 に記載の S A R M 化合物の代謝物。

【請求項 66】

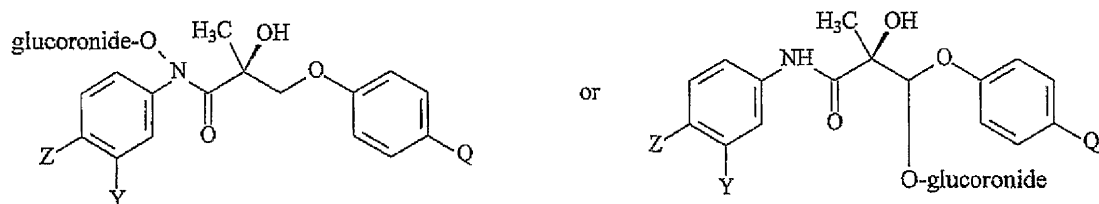
次の化学構造式で表されることを特徴とする請求項 65 に記載の S A R M 化合物の代謝物。



20

【請求項 67】

次の化学構造式で表されることを特徴とする請求項 65 に記載の S A R M 化合物の代謝物。



30

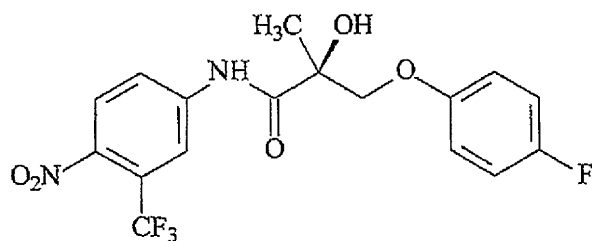
【請求項 68】

前記した化学構造式 I I で表わされる S A R M 化合物のメチル化誘導体であることを特徴とする請求項 52 に記載の S A R M 化合物の代謝物。

【請求項 69】

前記 S A R M 化合物が次の化学構造式 I I I で表されることを特徴とする請求項 52 に記載の S A R M 化合物の代謝物。

40

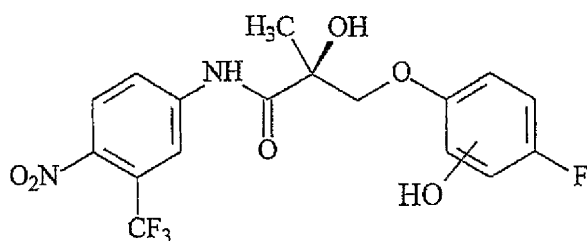


III

【請求項 70】

50

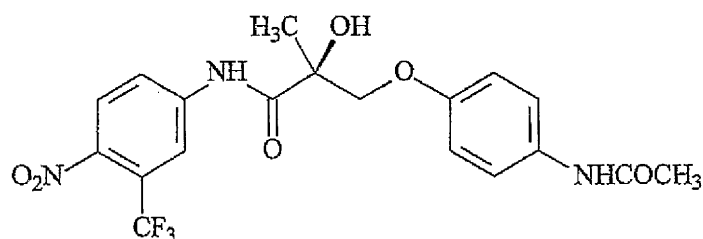
次の化学構造式で表されることを特徴とする請求項 6 9 に記載の S A R M 化合物の代謝物。



10

【請求項 7 1】

前記 S A R M 化合物が次の化学構造式 I V で表されることを特徴とする請求項 5 2 に記載の S A R M 化合物の代謝物。

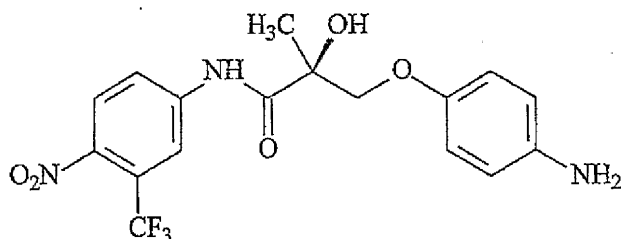


IV

20

【請求項 7 2】

次の化学構造式で表されることを特徴とする請求項 7 1 に記載の S A R M 化合物の代謝物。



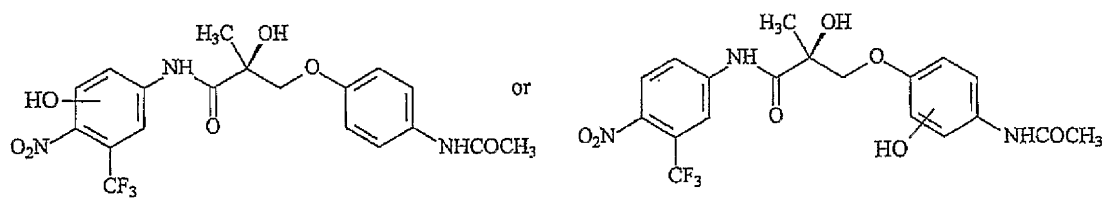
30

【請求項 7 3】

化学構造式 I V で表わされる S A R M 化合物の水酸化誘導体であることを特徴とする請求項 7 1 に記載の S A R M 化合物の代謝物。

【請求項 7 4】

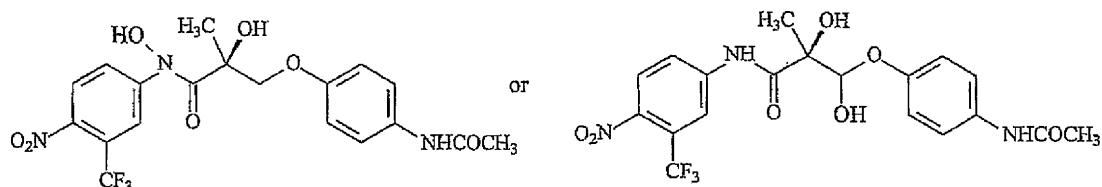
前記 S A R M 化合物が次の化学構造式で表されることを特徴とする請求項 7 3 に記載の S A R M 化合物の代謝物。



40

【請求項 7 5】

次の化学構造式で表されることを特徴とする請求項 7 3 に記載の S A R M 化合物の代謝物。

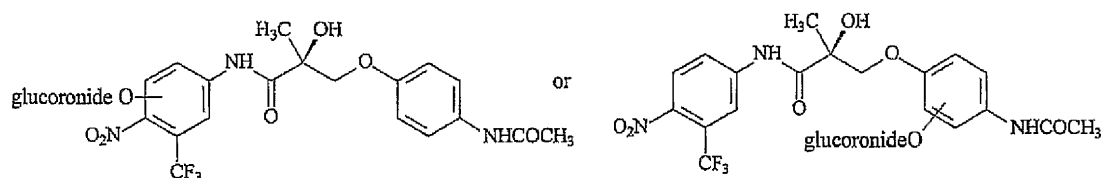


【請求項 7 6】

前記した化学構造式 I V で表わされる SAR 化合物の O-グルコナイド化誘導体であることを特徴とする請求項 7 1 に記載の SAR 化合物の代謝物。

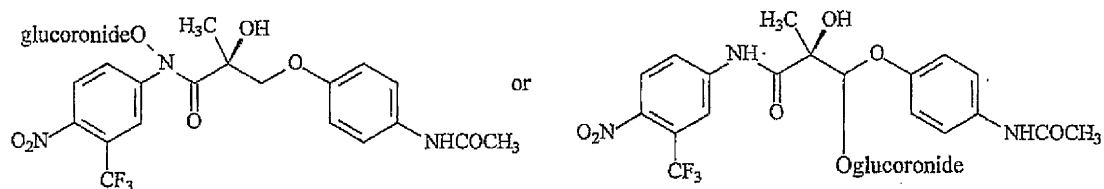
【請求項 7 7】

次の化学構造式で表されることを特徴とする請求項 7 6 に記載の SAR 化合物の代謝物。



【請求項 7 8】

次の化学構造式で表されることを特徴とする請求項 7 6 に記載の SAR 化合物の代謝物。



【請求項 7 9】

前記した化学構造式 I V で表わされる SAR 化合物のメチル化誘導体であることを特徴とする請求項 7 1 に記載の SAR 化合物の代謝物。

【請求項 8 0】

請求項 5 2 に記載の SAR 化合物の代謝物と、適切な担体又は希釈剤とを含む組成物。

【請求項 8 1】

有効な量の請求項 5 2 に記載の SAR 化合物の代謝物と、薬学的に許容される担体又は希釈剤とを含む医薬組成物。

【請求項 8 2】

SAR 化合物をアンドロゲン受容体に結合させる方法であって、

前記 SAR 化合物の代謝物を前記アンドロゲン受容体に結合させるのに有効な量の請求項 5 2 に記載の SAR 化合物の代謝物を、前記アンドロゲン受容体に接触させるステップを含む方法。

【請求項 8 3】

精子形成を抑制する方法であって、

精子生成を抑制するのに有効な量の請求項 5 2 に記載の SAR 化合物の代謝物を、患者のアンドロゲン受容体に接触させるステップを含む方法。

【請求項 8 4】

男性患者の避妊方法であって、

精子生成を抑制するのに有効な量の請求項 5 2 に記載の SAR 化合物の代謝物を、前記患者に投与するステップを含み、それによって前記患者の避妊を効果的に行う方法。

【請求項 8 5】

10

20

30

40

50

ホルモン療法であって、

アンドロゲン依存状態を変化させるのに有効な量の請求項 5 2 に記載の SARM 化合物の代謝物を、患者のアンドロゲン受容体に接触させるステップを含む方法。

【請求項 8 6】

ホルモン補充療法であって、

アンドロゲン依存状態を変化させるのに有効な量の請求項 5 2 に記載の SARM 化合物の代謝物を、患者のアンドロゲン受容体に接触させるステップを含む方法。

【請求項 8 7】

ホルモンに関連する病気の患者を治療する方法であって、

アンドロゲン依存状態を変化させるのに有効な量の請求項 5 2 に記載の SARM 化合物の代謝物を、前記患者に投与するステップを含む方法。 10

【請求項 8 8】

前立腺癌を治療する方法であって、

前立腺癌を治療するのに有効な量の請求項 5 2 に記載の SARM 化合物の代謝物を、前立腺癌患者に投与するステップを含む方法。

【請求項 8 9】

前立腺癌を予防する方法であって、

前立腺癌を予防するのに有効な量の請求項 5 2 に記載の SARM 化合物の代謝物を、前立腺癌患者に投与するステップを含む方法。

【請求項 9 0】

前立腺癌の進行を遅延させる方法であって、

前立腺癌の進行を遅延させるのに有効な量の請求項 5 2 に記載の SARM 化合物の代謝物を、前立腺癌患者に投与するステップを含む方法。 20

【請求項 9 1】

前立腺癌の再発を防止する方法であって、

前立腺癌の再発を防止するのに有効な量の請求項 5 2 に記載の SARM 化合物の代謝物を、前立腺癌患者に投与するステップを含む方法。

【請求項 9 2】

前立腺癌の再発を治療する方法であって、

前立腺癌の再発を治療するのに有効な量の請求項 5 2 に記載の SARM 化合物の代謝物を、前立腺癌患者に投与するステップを含む方法。 30

【請求項 9 3】

ドライアイを治療する方法であって、

ドライアイを治療するのに有効な量の請求項 5 2 に記載の SARM 化合物の代謝物を、ドライアイ患者に投与するステップを含む方法。

【請求項 9 4】

ドライアイを予防する方法であって、

ドライアイを予防するのに有効な量の請求項 5 2 に記載の SARM 化合物の代謝物を、ドライアイ患者に投与するステップを含む方法。

【請求項 9 5】

癌細胞のアポトーシスを誘発させる方法であって、

アポトーシスを誘発させるのに有効な量の請求項 5 2 に記載の SARM 化合物の代謝物を、前記癌細胞に接触させるステップを含む方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、新規な種類のアンドロゲン受容体標的物質（Androgen Receptor Targeting Agent：ARTA）に関するものであり、詳しくは、選択的アンドロゲン受容体調節剤（Selective Androgen Receptor Modulator：SARM）に関するものである。この SARM 化合物及びその代謝物は、次の（a）～（h）に役立つ。（a）男性の避妊。（b）様々なホルモ 50

ンに関連する病気（例えば、高齢男性におけるアンドロゲン減少（Androgen Decline in Aging Male: ADAM）に関連する病気）の治療。ADAMに関連する病気としては、例えば、疲労、うつ病、性欲減退、性的不全、勃起不全、性腺機能低下症、脱毛症、貧血、肥満、筋肉減少症、骨減少症、骨粗鬆症、良性前立腺肥大症、気分・認識力の変調、及び前立腺腺癌がある。（c）女性におけるアンドロゲン減少（Androgen Decline in Female: ADIF）に関連する病気の治療。ADIFに関連する病気としては、例えば、性的不全、性欲減退、性腺機能低下症、筋肉減少症、骨減少症、骨粗鬆症、気分・認識力の変調、うつ病、貧血、脱毛症、肥満、子宮内膜症、乳ガン、子宮癌、及び卵巣癌がある。（d）急性及び/又は慢性の筋萎縮症の治療及び/又は予防。（e）ドライアイの治療及び/又は予防。（f）経口アンドロゲン代償療法。（g）前立腺癌の発生率の減少、前立腺癌の進行抑制又は退行。（h）癌細胞のアポトーシスの誘発。 10

【背景技術】

【0002】

アンドロゲン受容体（Androgen Receptor: AR）は、自身の内因性アンドロゲンとの活性を介して男性の性的発育及び機能の誘導を仲立ちする、リガンド活性化転写調節タンパク質である。アンドロゲンは、一般に、男性ホルモンとして知られている。男性ホルモンは、体内で睾丸及び副腎の皮質により生成される、又は実験室で合成されるステロイドである。アンドロゲン性ステロイドは、男性の性的特徴（例えば筋肉や骨量など）の発達及び維持、前立腺の成長、精子形成、及び男性の髪状態などの数多くの生理学的過程において重要な役割を果たす（Matsumoto, Endocrinol. Met. Clin. N. Am. 23:857-75(1994) 20）。内因性のステロイド性アンドロゲンとしては、テストステロンやジヒドロテストステロン（dihydrotestosterone: DHT）がある。テストステロンは、睾丸から分泌される主要なステロイドである。また、テストステロンは、男性の血漿中に含まれている、主要な循環アンドロゲンである。テストステロンは、多くの末梢組織で、5 α レダクターゼによってDHTに変換される。したがって、DHTは、ほとんどのアンドロゲン作用において、細胞内媒介物としての機能を果たすと考えられている（Zhou, et al., Molec. Endocrinol. 9:208-18(1995)）。他のステロイド性アンドロゲンとしては、テストステロンのエステル類や、他の合成アンドロゲンがある。テストステロンのエステル類としては、例えば、シピオネート、プロピオン酸、フェニルプロピオン酸、シクロペンチルプロピオネート、イソカルポレート（isocarporate）、エナント酸、及びデカン酸エステルがある。合成ア 30
ンドロゲンとしては、例えば、7-メチル-ノルテストステロン（7-Methyl-Nortestosterone: MENT）や、その酢酸エステルがある（Sundaram et al., "7 Alpha-Methyl-Nortestosterone(MENT): The Optimal Androgen For Male Contraception," Ann. Med., 25:199-205(1993)）。ARは男性の性的発達及び機能に関与しているので、ARは効果的な男性避妊や他のホルモン補充療法に有望である。

【0003】

世界的な人口増加に伴って家族計画に対する社会意識が高まったことにより、避妊についての多くの調査が行われた。どのような場合でも、避妊は難しい問題である。それは、文化的及び社会的な不名誉、宗教的な意味合い、そして、間違いなく、重大な健康上の懸念を伴っている。こうした状況は、男性避妊について焦点を当てた場合は、とても深刻である。適切な避妊具を利用できるのにもかかわらず、従来、社会は、避妊の決断とその結果 40
についての責任は女性にあると見なしていた。また、性病への関心によって、男性は安全で責任のある性癖を向上させる必要性をより強く意識するようになったが、女性依然として頻繁に避妊具の選択について矢面に立たされている。女性は、スポンジやペッサリー（diaphragm）などの一時的な機械的器具から、殺精子剤などの化学的器具まで、多くの選択肢を有している。また、女性は、例えば避妊リング（intrauterine device: IUD）や子宮頸管キャップなどの物理的器具という、より長時間持つ選択肢を有している。同様に、女性は、経口避妊薬や皮下植込錠などの化学的処置という、より長時間持つ選択肢を有している。しかしながら、今日まで、男性が利用できる選択肢は、コンドームとパイプカ 50
ットだけであった。コンドームの使用は、性的感度の減少、性的な自然さの障害、及び破

損や誤用により妊娠する可能性が高いことにより、多くの男性にとって好まれてはいない。また、パイプカットも好まれてはいない。もし、男性がより便利な避妊方法を利用できれば、特に、準備が不要で、性行為の直前に作用し、長時間持つ方法があれば、そのような方法は男性が避妊に対してより多くの責任を取るようになる可能性を著しく増大させるであろう。

【0004】

この点について、男性ステロイド（例えば、テストステロン及びその派生物）の投与は、それらの化合物のゴナドトロピン抑制とアンドロゲン代用特性との組み合わせにより、特に有望である（Steinberger et al., "Effect of Chronic Administration of Testosterone Enanthate on Sperm Production and Plasma Testosterone, Follicle Stimulating Hormone, and Luteinizing Hormone Levels: A Preliminary Evaluation of a Possible Male Contraceptive," *Fertility and Sterility* 28: 1320-28, 1977）。大量のテストステロンの長期投与は、精子増殖を完全に止める（無精子症）、又は精子増殖をとて低いレベルまで減少させる（精子減少）。不妊症を実現するために、ある程度の精子形成の抑制が必要であるということは、正確には知られていない。また、世界保健機関（World Health Organization: WHO）による最近の報告では、週1回のテストステロン・エナント酸の筋肉注射は、無精子又は重度の精子減少（例えば、精子は3百万個/ml未満となる）をもたらし、治療を受けた男性の98%が不妊症となることが分っている（World Health Organization Task Force on Methods And Regulation of Male Fertility, "Contraceptive Efficacy of Testosterone-Induced Azoospermia and Oligospermia in Normal Men," *Fertility and Sterility* 65: 21-29, 1996）。 10 20

【0005】

筋肉注射後にゆっくりと吸収されて男性ホルモン作用を強める、様々な種類のテストステロン・エステルが開発されている。テストステロン・エナント酸は、それらのエステルの中で最も幅広く使用されている。テストステロン・エナント酸は、男性避妊用のホルモン剤を実現するという点で有益である。しかし、週1回の注射が必要であることや、筋肉注射の直後にテストステロンのピーク水準が生理的環境を超えることなどのいくつかの欠点を含んでいる（Wu, "Effects of Testosterone Enanthate in Normal Men: Experience From a Multicenter Contraceptive Efficacy Study," *Fertility and Sterility* 65: 6 26-36, 1996）。 30

【0006】

ARと結合し、アンドロゲン（例えば、テストステロン・エナント酸）又は抗アンドロゲン（例えば、酢酸シプロテロン）としての機能を果たすステロイド性のリガンドは、長年知られており臨床的に使用されている（Wu 1988）。また、非ステロイド系の抗アンドロゲンはホルモン依存性前立腺癌の臨床に用いられるが、非ステロイド系のアンドロゲンについては報告されていない。そのため、男性の避妊及びホルモン補充におけるアンドロゲンの有用性に関する研究は、もっぱらステロイド系合成物に集中している。

【0007】

前立腺癌は、アメリカ合衆国の男性に最も頻繁に発生する癌の1つであり、毎年、数十万人もの新しい患者が診断されている。残念なことに、新しく診断された患者の60%以上が病的に進行しており、不治であり予後は思わしくないことが分っている。この問題に対する1つの方法は、検診によって前立腺癌を早期に発見し、それによって進行性の前立腺癌患者の数を減少させることである。また、他の方法は、前立腺癌を予防する薬剤を開発することである。50歳以上の全男性の3分の1は、生命にかかわる臨床的な前立腺癌の形態を活性化させる潜在性の前立腺癌を有している。潜在性の前立腺腫瘍の発生頻度は、50代（5.3~14%）から90代（40~80%）までの間で、10年間毎に大幅に増加することが知られている。全ての文化、民族及び人種の間で潜在性の前立腺癌を有している人が同じように増えているが、臨床的に悪性な癌の発生頻度は著しく異なっている。これは、潜在性の前立腺癌を活性化させる上で、環境の要因が重要な役割を果たしていることを示唆している。したがって、前立腺癌の治療方法及び予防方法の開発は、前 40 50

立腺癌について医学的及び経済的に大きな全体的な影響を与えるであろう。

【0008】

骨粗鬆症は全身性の骨疾患であり、骨量の低下及び骨組織の劣化という特徴がある。そのため、骨粗鬆症にかかると、骨が脆くなって骨折しやすくなる。アメリカ合衆国では、毎年、2500万人以上がこの病気にかかっており、130万人以上が骨折している（50万人が背骨を、25万人が股関節を、24万人が手首を骨折している）。股関節の骨折は骨粗鬆症における最も深刻な問題であり、患者の5～20%は骨折後1年以内に死に至る。また、死に至らなかったとしても、その50%以上は再起不能となる。高齢者は骨粗鬆症にかかる危険性が非常に高いため、高齢化社会が進むにつれてこの問題が一層深刻化することが懸念されている。全世界での骨折の発生率は、次の60年間で3倍になると予測される。また、ある調査によれば、2050年には全世界で450万人が股関節骨折すると推測される。 10

【0009】

女性は、骨粗鬆症に対して、男性よりも大きな危険性にさらされている。女性は、閉経後の5年間で、骨量が急激に減少する。前記危険性を高める他の要因としては、喫煙、アルコール過剰摂取、座りがちな生活、及びカルシウム摂取不足がある。また、骨粗鬆症は、男性にも高い頻度で発生する。男性の骨ミネラル濃度が年を取ると共に減少することはよく知られている。骨塩量及び濃度の減少は骨強度の減少と相関しており、骨塩量及び濃度が減少すると骨折しやすくなる。非再生組織における性ホルモンの多面発現効果の基礎をなす分子構造は、まだ理解され始めたばかりであるが、アンドロゲン及びエストロゲンの生理学的濃度が、生涯を通じて骨の恒常性において重要な役割を果たすことは明らかである。したがって、アンドロゲン又はエストロゲンが欠乏すると、骨再形成の割合が増加し、吸収と形成のバランスが吸収の方に傾く。その結果、総体的な骨量は減少する。男性では、壮年時における性ホルモンの自然的な減少（アンドロゲンは、アンドロゲンの末梢組織の芳香化に由来するエストロゲンと同様の低いレベルまで減少する）は、骨のもろさに関連する。このことは、去勢された男性にも見られる。 20

【0010】

アンドロゲン生成の進行性の減少が原因である高齢男性におけるアンドロゲンの減少（Androgen Decline In The Aging Male: ADAM）は、中年以降の男性によく見られる。この症候群は、アンドロゲン環境と相関関係にある身体的領域及び知的領域の変質に特徴があり、アンドロゲン環境の操作により修正することができる。ADAMは、生化学的に、血清アンドロゲンの減少だけではなく、他のホルモン（例えば、成長ホルモン、メラトニン、及びデヒドロエピアンドロステロン）の減少を特徴とする。臨床的な徴候としては、疲労、うつ病、性欲減退、性的不全、勃起不全、性腺機能低下症、骨粗鬆症、脱毛症、肥満、筋肉減少症、骨減少症、貧血、及び気分・認識力の変調がある。 30

【0011】

様々なホルモン関連の病気が原因である女性におけるアンドロゲンの欠乏（Androgen Deficiency In Female: ADIF）は、中年以降の女性によく見られる。この症候群は、性的不全、性欲減退、性腺機能低下症、筋肉減少症、骨減少症、骨粗鬆症、気分・認識力の変調、うつ病、貧血、脱毛症、肥満、及び子宮内膜症を特徴とする。また、他のホルモン関連の病気としては、女性生殖器の癌（例えば、乳ガン、子宮癌、及び卵巣癌）がある。 40

【0012】

筋肉疲労は、進行性の筋量の減少、及び／又は進行性の筋肉の弱体化及び退化が原因で起こる。前記筋肉としては、運動を司る骨格筋又は随意筋、心拍制御を行う心筋、及び平滑筋がある。慢性の筋肉疲労は、進行性の筋量の減少、筋肉の弱体化及び退化を特徴とする慢性症状（長期に渡って持続する）である。筋肉疲労中に起こる筋量の減少は、筋肉タンパクを破壊又は分解するという性質を持っている。タンパク分解は、異常に高い率のタンパク質分解、異常に低い率のタンパク質合成、又はそれらの組み合わせにより起こる。タンパク質分解は、高度のタンパク質分解に起因する場合でも、低度のタンパク質合成に起因する場合でも、筋量の減少と筋肉疲労をもたらす。筋肉疲労は、慢性、神経性、遺伝 50

性又は伝染性の、病状、疾病、疾患又は状態と関連している。それらの病状としては、筋ジストロフィー（例えば、デュシェンヌ型筋ジストロフィーや、筋強直緊張性ジストロフィー）、筋萎縮（例えば、ポリオ後筋萎縮。Post-Polio Muscle Atrophy: PPMA）、悪液質（例えば、心臓悪液質や、エイズ悪液質及び癌悪液質）、栄養失調、ハンセン病、糖尿病、腎臓病、慢性閉塞性肺疾患（Chronic Obstructive Pulmonary Disease: COPD）、癌、末期腎不全、気腫、骨軟化症、H I V感染、エイズ、及び心筋症がある。さらに、他の環境や状況が筋肉疲労と関係あり、筋肉疲労の原因となる。それらは、慢性的な腰痛、老化、中枢神経系の損傷、末梢神経の損傷、脊髄の損傷、化学的損傷、中枢神経系の傷害、末梢神経の傷害、脊髄の傷害、化学的傷害、熱傷、手足が固定化されたときに生じる廃用症、病気又は負傷のための長期間の入院、及びアルコール依存症などがある。筋肉疲労を治療しないまま放置すると、悲惨な健康状態となる。例えば、筋肉疲労の間に起こる変化は、健康状態を悪化させ個人の健康に害を及ぼす。その結果、感染症にかかりやすくなり、一般状態不良をもたらし、負傷しやすくなる。

10

【0013】

以上の理由により、次の（a）～（g）に役立つ化合物を開発するための、基礎科学と臨床レベルの両方において新規で革新的なアプローチが緊急に必要とされている。（a）男性の避妊。（b）様々なホルモンに関連する病気（例えば、高齢男性におけるアンドロゲン減少（Androgen Decline in Aging Male: ADAM）に関連する病気）の治療。ADAMに関連する病気としては、例えば、疲労、うつ病、性欲減退、性的不全、勃起不全、性腺機能低下症、脱毛症、貧血、肥満、筋肉減少症、骨減少症、骨粗鬆症、良性前立腺肥大症、気分・認識力の変調、及び前立腺腺癌がある。（c）女性におけるアンドロゲン減少（Androgen Decline in Female: ADIF）に関連する病気の治療。ADIFに関連する病気としては、例えば、性的不全、性欲減退、性腺機能低下症、筋肉減少症、骨減少症、骨粗鬆症、気分・認識力の変調、うつ病、貧血、脱毛症、肥満、子宮内膜症、乳ガン、子宮癌、及び卵巣癌がある。（d）急性及び/又は慢性の筋萎縮症の治療及び/又は予防。（e）ドライアイの治療及び/又は予防。（f）経口アンドロゲン代償療法。（g）前立腺癌の発生率の減少、前立腺癌の進行抑制又は退行。

20

【発明の開示】

【課題を解決するための手段】

【0014】

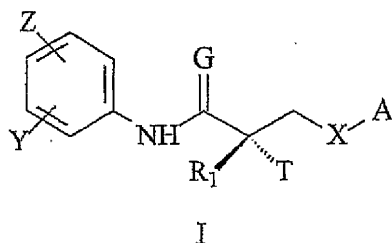
30

本発明は、アンドロゲン受容体標的物質（Androgen Receptor Targeting Agent: ARTA）の一種である代謝物を提供する。この物質は、選択的アンドロゲン受容体調節剤（Selective Androgen Receptor Modulator: SARM）化合物の新しいサブクラスを定義する。このSARM化合物及びその代謝物は、単独で使用しても医薬組成物として使用しても、次の（a）～（h）に役立つ。（a）男性の避妊。（b）様々なホルモンに関連する病気（例えば、高齢男性におけるアンドロゲン減少（Androgen Decline in Aging Male: ADAM）に関連する病気）の治療。ADAMに関連する病気としては、例えば、疲労、うつ病、性欲減退、性的不全、勃起不全、性腺機能低下症、脱毛症、貧血、肥満、筋肉減少症、骨減少症、骨粗鬆症、良性前立腺肥大症、気分・認識力の変調、及び前立腺腺癌がある。（c）女性におけるアンドロゲン減少（Androgen Decline in Female: ADIF）に関連する病気の治療。ADIFに関連する病気としては、例えば、性的不全、性欲減退、性腺機能低下症、筋肉減少症、骨減少症、骨粗鬆症、気分・認識力の変調、うつ病、貧血、脱毛症、肥満、子宮内膜症、乳ガン、子宮癌、及び卵巣癌がある。（d）急性及び/又は慢性の筋萎縮症の治療及び/又は予防。（e）ドライアイの治療及び/又は予防。（f）経口アンドロゲン代償療法。（g）前立腺癌の発生率の減少、前立腺癌の進行抑制又は退行。（h）癌細胞のアポトーシスの誘発。

40

【0015】

ある実施形態では、本発明は、次の化学構造式 I で表される選択的アンドロゲン受容体調節剤（SARM）化合物の代謝物を提供する。



ただし、

Gは、O又はSであり、

Xは、Oであり、

Tは、OH、OR、 $-\text{NHCOCH}_3$ 又は NHCOR であり、

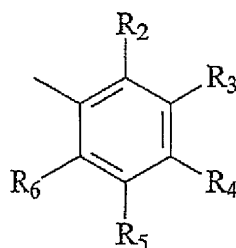
Zは、 NO_2 、CN、 COOH 、COR、 NHCOR 又は CONHR であり、

Yは、H、アルキル、ヒドロキシアルキル、アルキルアルデヒド、 CF_3 、F、I、Br、Cl、CN、 CR_3 又は SnR_3 であり、

Rは、アルキル、ハロアルキル、ジハロアルキル、トリハロアルキル、 CH_2F 、 CHF_2 、 CF_3 、 CF_2CF_3 、アリル、フェニル、ハロゲン、アルケニル又はOHであり、

R_1 は、 CH_3 、 CH_2F 、 CHF_2 、 CF_3 、 CH_2CH_3 又は CF_2CF_3 であり、

Aは、



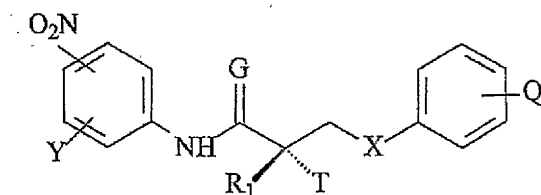
であって、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 は、互いに独立して、H、ハロゲン、CN、 NHCOCF_3 、アセトアミド又はトリフルオロアセトアミドである。

【0016】

ある実施形態では、化合物IにおけるGはOである。他の実施形態では、化合物IにおけるTはOHである。他の実施形態では、化合物Iにおける R_1 は CH_3 である。他の実施形態では、化合物IにおけるZは NO_2 である。他の実施形態では、化合物IにおけるZはCNである。他の実施形態では、化合物IにおけるYは CF_3 である。他の実施形態では、化合物IにおけるQは NHCOCH_3 である。他の実施形態では、化合物IにおけるQはパラ位にある。他の実施形態では、化合物IにおけるZはパラ位にある。他の実施形態では、化合物IにおけるYはメタ位にある。他の実施形態では、化合物IにおけるGはOであり、TはOHであり、 R_1 は CH_3 であり、Zは NO_2 であり、Yは CF_3 であり、Qは NHCOCH_3 である。他の実施形態では、化合物IにおけるGはOであり、TはOHであり、ZはCNであり、Yは CF_3 であり、Qは NHCOCH_3 である。

【0017】

ある実施形態では、前記した化学構造式IのSARM化合物は、次の化学構造式VIIで表される。

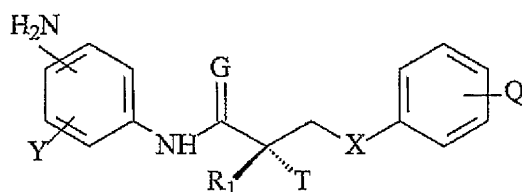


VII

ただし、Qはアセトアミド又はトリフルオロアセトアミドである。

【0018】

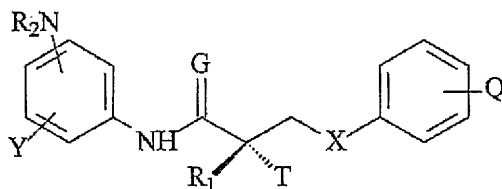
ある実施形態では、上記した化学構造式VIIのSARM化合物の代謝物は、次の化学構造式で表される。



ただし、Qはアセトアミド又はトリフルオロアセトアミドである。

【0019】

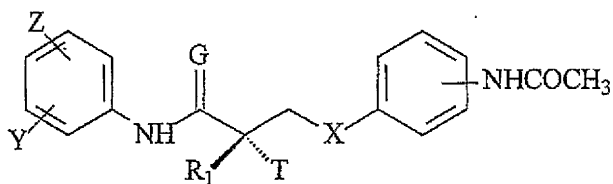
ある実施形態では、上記した化学構造式VIIのSARM化合物の代謝物は、次の化学構造式で表される。



ただし、Qは、アセトアミド又はトリフルオロアセトアミドであり、NR₂は、NO、NHOH、NHOSO₃又はNHOGルコナイドである。

【0020】

ある実施形態では、前記した化学構造式IのSARM化合物は、次の化学構造式VIIで表される。



VIII

【0021】

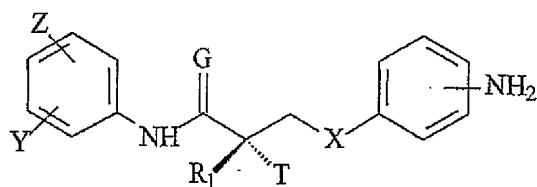
ある実施形態では、上記した化学構造式VIIのSARM化合物の代謝物は、次の化学構造式で表される。

10

20

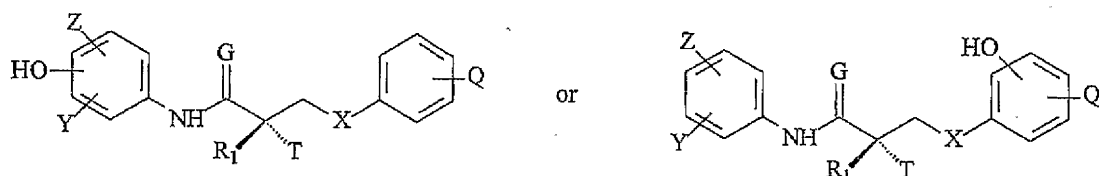
30

40



【0022】

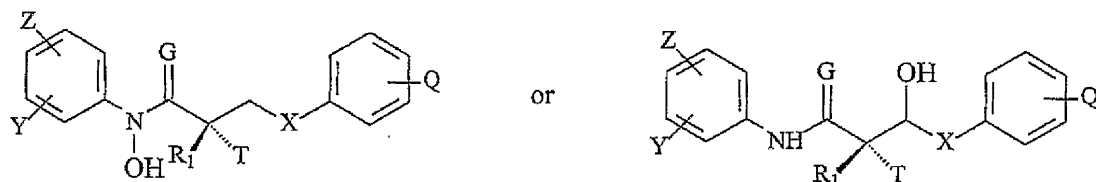
ある実施形態では、本発明に係る SAR 化合物の代謝物は、前記した化学構造式 I の SAR 化合物の水酸化誘導体である。この実施形態では、前記代謝物（水酸化誘導体）は、次の化学構造式で表される。



ただし、Q は、アセトアミド又はトリフロロアセトアミドである。

【0023】

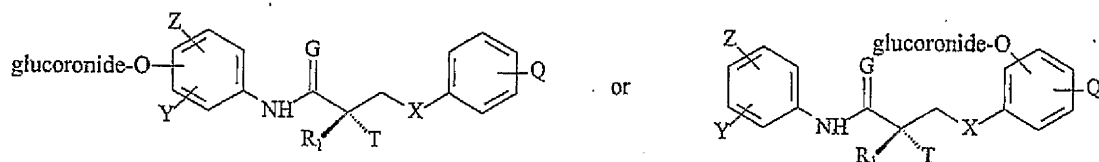
ある実施形態では、前記代謝物（水酸化誘導体）は、次の化学構造式で表される。



ただし、Q は、アセトアミド又はトリフロロアセトアミドである。

【0024】

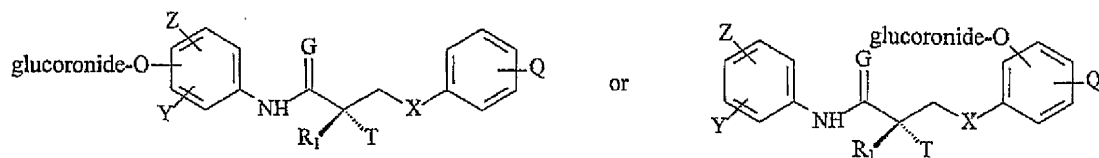
他の実施形態では、前記 SAR 代謝物は、前記した化学構造式 I の SAR 化合物の O-グルコロナイド誘導体である。この実施形態では、前記代謝物（O-グルコロナイド誘導体）は、次の化学構造式で表される。



ただし、Q は、アセトアミド又はトリフロロアセトアミドである。

【0025】

他の実施形態では、前記代謝物（O-グルコロナイド誘導体）は、次の化学構造式で表される。



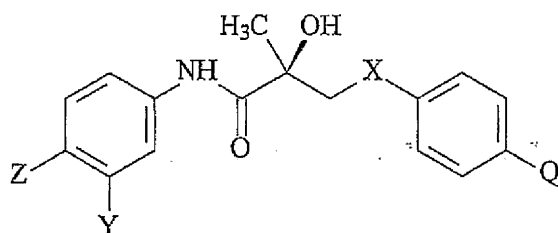
ただし、Qは、アセトアミド又はトリフロロアセトアミドである。

【0026】

他の実施形態では、前記SARM代謝物は、前記した化学構造式IのSARM化合物のメチル化誘導体である。

【0027】

他の実施形態では、本発明は、次の化学構造式IIで表される選択的アンドロゲン受容体調節剤(SARM)化合物の代謝物を提供する。



II

10

ただし、

Xは、Oであり、

Zは、NO₂、CN、COOH、COR、NHCOR又はCONHRであり、

Yは、CF₃、F、I、Br、Cl、CN、CR₃又はSnR₃であり、

Qは、アセトアミド又はトリフルオロアセトアミドであり、

20

Rは、アルキル、ハロアルキル、ジハロアルキル、トリハロアルキル、CH₂F、CHF₂、CF₃、CF₂CF₃、アリル、フェニル、F、Cl、Br、I、アルケニル又はOHであり、

R₁は、CH₃、CH₂F、CHF₂、CF₃、CH₂CH₃又はCF₂CF₃である。

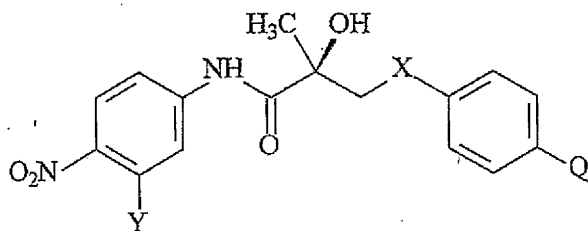
【0028】

ある実施形態では、化合物IIにおけるZはNO₂である。他の実施形態では、化合物IIにおけるZはCNである。他の実施形態では、化合物IIにおけるYはCF₃である。他の実施形態では、化合物IIにおけるQはNHC(=O)CH₃である。他の実施形態では、化合物IIにおけるZはNO₂であり、YはCF₃であり、QはNHC(=O)CH₃である。他の実施形態では、化合物IIにおけるZはCNであり、YはCF₃であり、QはNH

30

【0029】

他の実施形態では、前記した化学構造式IIのSARM化合物は、次の化学構造式IXで表される。

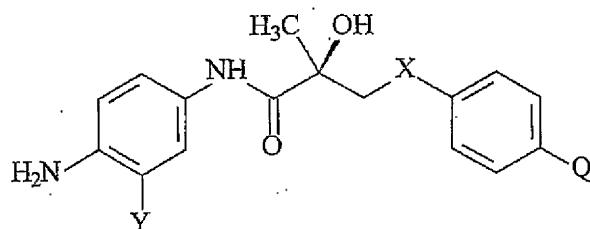


IX

40

【0030】

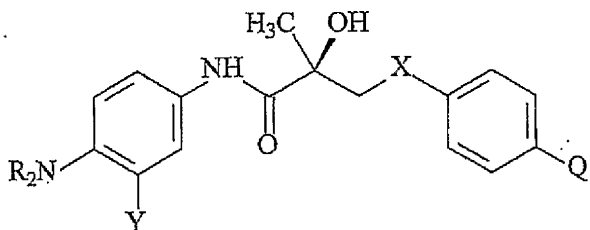
ある実施形態では、上記した化学構造式IXのSARM化合物の代謝物は、次の化学構造式で表される。



【0031】

ある実施形態では、上記した化学構造式 I X の SAR 化合物の代謝物は、次の化学構造式で表される。

10

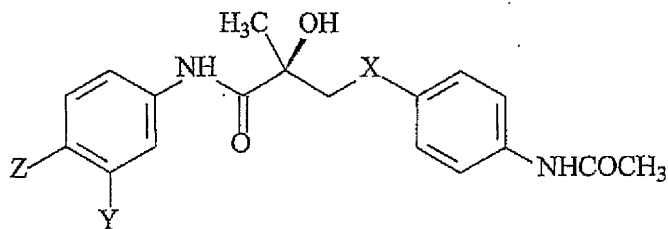


ただし、 NR_2 は、 NO 、 NHOH 、 NHOSO_3 又は NHO −グルコナイドである。

【0032】

20

ある実施形態では、前記した化学構造式 I I の SAR 化合物は、次の化学構造式 X で表される。

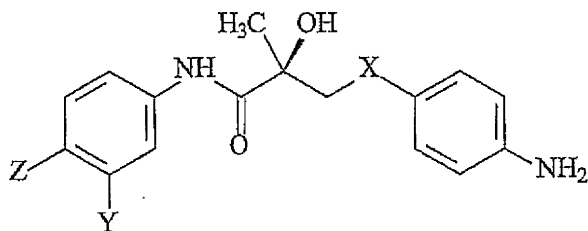


X

30

【0033】

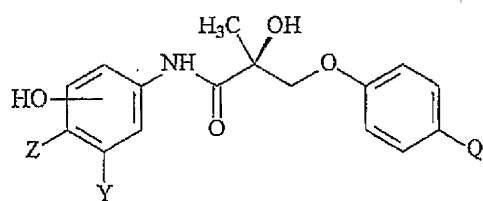
ある実施形態では、上記した化学構造式 X の SAR 化合物の代謝物は、次の化学構造式で表される。



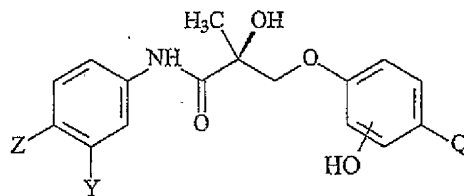
40

【0034】

ある実施形態では、本発明に係る SAR 化合物の代謝物は、前記した化学構造式 I I の SAR 化合物の水酸化誘導体である。この実施形態では、前記代謝物（水酸化誘導体）は、次の化学構造式で表される。



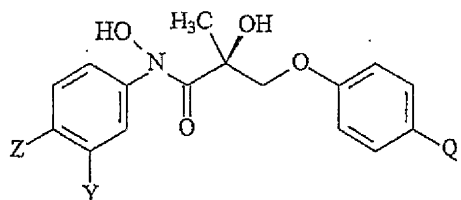
or



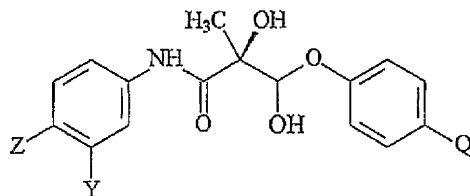
【0035】

他の実施形態では、前記代謝物（水酸化誘導体）は、次の化学構造式で表される。

10



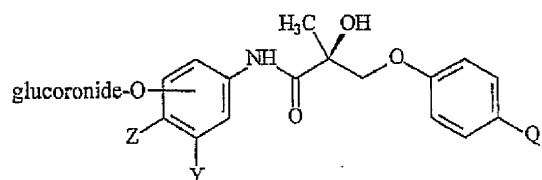
or



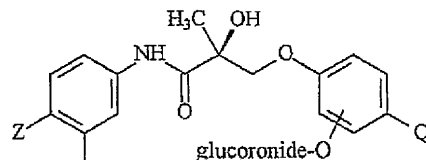
【0036】

ある実施形態では、前記 SARM 代謝物は、前記した化学構造式 I I の SARM 化合物の O-グルコナイド誘導体である。この実施形態では、前記代謝物（O-グルコナイド誘導体）は、次の化学構造式で表される。

20



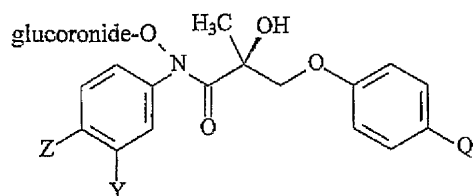
or



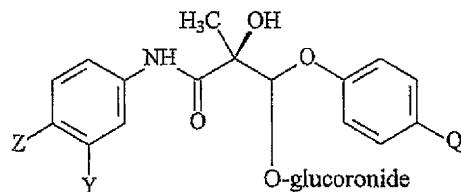
30

【0037】

他の実施形態では、前記代謝物（O-グルコナイド誘導体）は、次の化学構造式で表される。



or



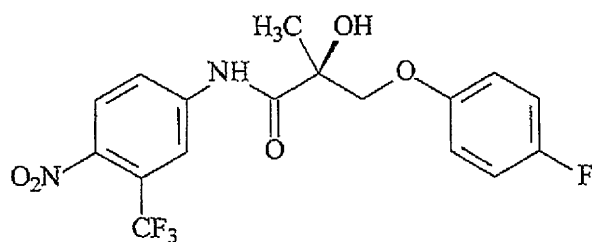
40

【0038】

他の実施形態では、前記 SARM 代謝物は、前記した化学構造式 I I の SARM 化合物のメチル化誘導体である。

【0039】

ある実施形態では、本発明は、次の化学構造式 I I I で表される選択的アンドロゲン受容体調節剤（SARM）化合物の代謝物を提供する。

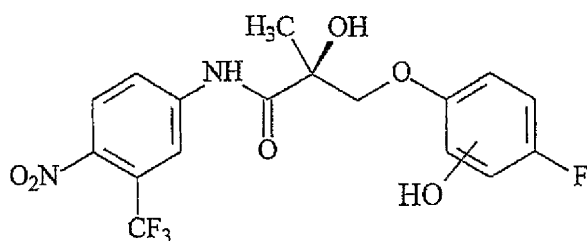


III

【0040】

10

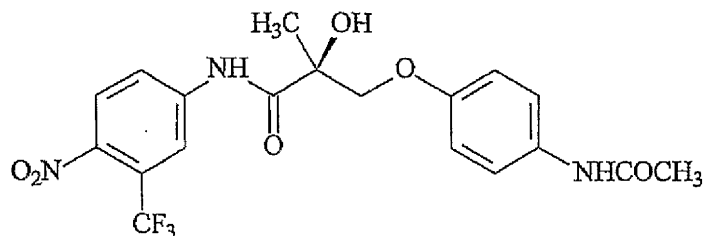
ある実施形態では、上記した化学構造式 III で表される SAR M 化合物の代謝物は、次の化学構造式で表される。



20

【0041】

ある実施形態では、本発明は、次の化学構造式 IV で表される選択的アンドロゲン受容体調節剤 (SAR M) 化合物の代謝物を提供する。

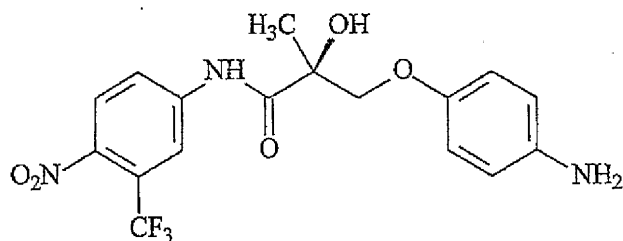


IV

30

【0042】

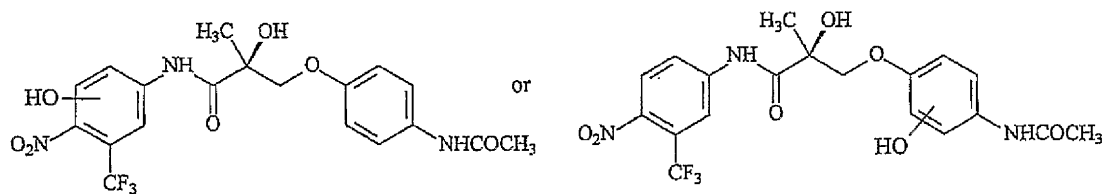
ある実施形態では、上記した化学構造式 IV で表される SAR M 化合物の代謝物は、次の化学構造式で表される。



40

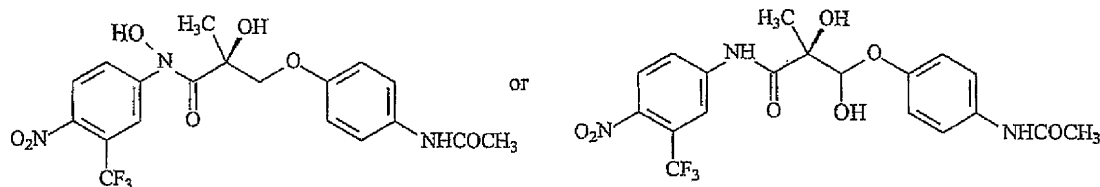
【0043】

ある実施形態では、前記 SAR M 代謝物は、化学構造式 IV の SAR M 化合物の水酸化誘導体である。この実施形態では、前記代謝物 (水酸化誘導体) は、次の化学構造式で表される。



【0044】

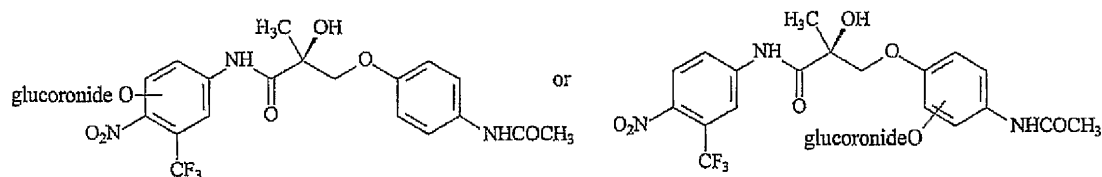
ある実施形態では、前記代謝物（水酸化誘導体）は、次の化学構造式で表される。



10

【0045】

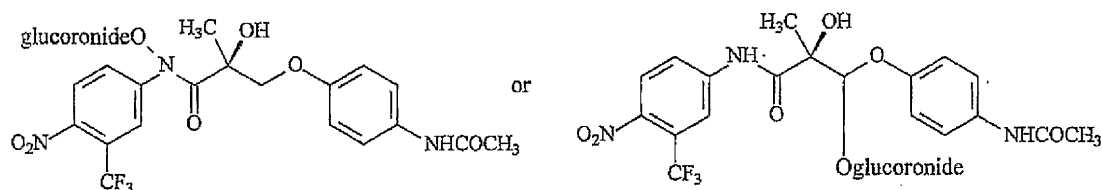
ある実施形態では、前記 SAR 代謝物は、上記した化学構造式 IV の SAR 化合物の O-グルコロナイド化誘導体である。この実施形態では、前記代謝物（O-グルコロナイド誘導体）は、次の化学構造式で表される。



20

【0046】

他の実施形態では、前記代謝物（O-グルコロナイド誘導体）は、次の化学構造式で表される。



30

【0047】

他の実施形態では、前記 SAR 代謝物は、上記した化学構造式 IV の SAR 化合物のメチル化誘導体である。

【0048】

ある実施形態では、前記 SAR 代謝物は、アンドロゲン受容体作動薬である。他の実施形態では、前記 SAR 代謝物は、アンドロゲン受容体拮抗薬である。

【0049】

ある実施形態では、本発明は、本発明に係る SAR 代謝物と、適切な担体又は希釈剤とを含む組成物を提供する。

40

【0050】

他の実施形態では、本発明は、本発明に係る SAR 代謝物と、薬学的に許容される担体又は希釈剤とを含む医薬組成物を提供する。

【0051】

他の実施形態では、本発明は、SAR 化合物をアンドロゲン受容体に結合させる方法であって、前記アンドロゲン受容体に、本発明に係る SAR 代謝物を、当該 SAR 化合物を前記アンドロゲン受容体に結合させるのに有効な量で接触させるステップを含む方法を提供する。

50

【0052】

他の実施形態では、本発明は、精子形成を抑制する方法であって、精子生成を抑制するのに有効な量の本発明に係るSARM代謝物を、患者のアンドロゲン受容体に接触させるステップを含む方法を提供する。

【0053】

他の実施形態では、本発明は、男性患者の避妊方法であって、精子生成を抑制するのに有効な量の本発明に係るSARM代謝物を、前記患者に投与するステップを含み、それによって前記患者の避妊を効果的に行う方法を提供する。

【0054】

他の実施形態では、本発明は、ホルモン療法であって、アンドロゲン依存状態を変化させるのに有効な量の本発明に係るSARM代謝物を、患者のアンドロゲン受容体に接触させるステップを含む方法を提供する。 10

【0055】

他の実施形態では、本発明は、ホルモン補充療法であって、アンドロゲン依存状態を変化させるのに有効な量の本発明に係るSARM代謝物を、患者のアンドロゲン受容体に接触させるステップを含む方法を提供する。

【0056】

他の実施形態では、本発明は、ホルモンに関連する病気の患者を治療する方法であって、アンドロゲン依存状態を変化させるのに有効な量の本発明に係るSARM代謝物を、前記患者に投与するステップを含む方法を提供する。 20

【0057】

他の実施形態では、本発明は、前立腺癌を治療する方法であって、前立腺癌を治療するのに有効な量の本発明に係るSARM代謝物を、前立腺癌患者に投与するステップを含む方法を提供する。

【0058】

他の実施形態では、本発明は、前立腺癌を予防する方法であって、前立腺癌を予防するのに有効な量の本発明に係るSARM代謝物を、前立腺癌患者に投与するステップを含む方法を提供する。

【0059】

他の実施形態では、本発明は、前立腺癌の進行を遅延させる方法であって、前立腺癌の進行を遅延させるのに有効な量の本発明に係るSARM代謝物を、前立腺癌患者に投与するステップを含む方法を提供する。 30

【0060】

他の実施形態では、本発明は、前立腺癌の再発を防止する方法であって、前立腺癌の再発を防止するのに有効な量の本発明に係るSARM代謝物を、前立腺癌患者に投与するステップを含む方法を提供する。

【0061】

他の実施形態では、本発明は、前立腺癌の再発を治療する方法であって、前立腺癌の再発を治療するのに有効な量の本発明に係るSARM代謝物を、前立腺癌患者に投与するステップを含む方法を提供する。 40

【0062】

他の実施形態では、本発明は、ドライアイを治療する方法であって、ドライアイを治療するのに有効な量の本発明に係るSARM代謝物を、ドライアイ患者に投与するステップを含む方法を提供する。

【0063】

他の実施形態では、本発明は、ドライアイを予防する方法であって、ドライアイを予防するのに有効な量の本発明に係るSARM代謝物を、ドライアイ患者に投与するステップを含む方法を提供する。

【0064】

他の実施形態では、本発明は、癌細胞のアポトーシスを誘発させる方法であって、アポ 50

トーシスを誘発させるのに有効な量の本発明に係るSARM代謝物を、前記癌細胞に接触させるステップを含む方法を提供する。

【0065】

本発明に係る新規なSARM代謝物は、単独で使用しても医薬組成物として使用しても、次の(a)～(h)に役立つ。(a)男性の避妊。(b)様々なホルモンに関連する病気(例えば、高齢男性におけるアンドロゲン減少(Androgen Decline in Aging Male: ADAM)に関連する病気)の治療。ADAMに関連する病気としては、例えば、疲労、うつ病、性欲減退、性的不全、勃起不全、性腺機能低下症、脱毛症、貧血、肥満、筋肉減少症、骨減少症、骨粗鬆症、良性前立腺肥大症、気分・認識力の変調、及び前立腺腺癌がある。

(c)女性におけるアンドロゲン減少(Androgen Decline in Female: ADIF)に関連する病気の治療。ADIFに関連する病気としては、例えば、性的不全、性欲減退、性腺機能低下症、筋肉減少症、骨減少症、骨粗鬆症、気分・認識力の変調、うつ病、貧血、脱毛症、肥満、子宮内膜症、乳ガン、子宮癌、及び卵巣癌がある。(d)急性及び/又は慢性の筋萎縮症の治療及び/又は予防。(e)ドライアイの治療及び/又は予防。(f)経口アンドロゲン代償療法。(g)前立腺癌の発生率の減少、前立腺癌の進行抑制又は退行。(h)癌細胞のアポトーシスの誘発。 10

【0066】

本発明に係るSARM代謝物は、ステロイド性アンドロゲン治療における著しい進歩を提供する。本発明に係るSARM化合物のいくつかは、アンドロゲン受容体に対する非ステロイド性リガンドとしての、予期しないアンドロゲン活性及びタンパク同化作用を有している。その他の本発明に係るSARM化合物には、アンドロゲン受容体に対する非ステロイド性リガンドとしての、予期しない抗アンドロゲン活性を有している。したがって、本発明に係るSARM化合物による治療は、副作用、投与の不便さ、コスト高を伴うことがない。また、経口バイオアベイラビリティ、他のステロイド受容体との交叉反応の欠如、生物学的半減期が長いという利点も有したままである。 20

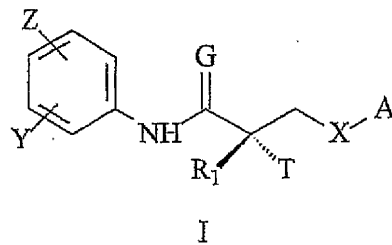
【発明を実施するための最良の形態】

【0067】

ある実施形態では、本発明は、アンドロゲン受容体標的物質(Androgen Receptor Targeting Agent: ARTA)の一種である代謝物を提供する。この物質は、選択的アンドロゲン受容体調節剤(Selective Androgen Receptor Modulator: SARM)化合物の新しいサブクラスを定義する。このSARM化合物のいくつかには、予期せぬことに、アンドロゲン受容体に対する非ステロイド性リガンドとしてのアンドロゲン活性及びタンパク同化作用を有することが見いだされた。このSARM化合物は、単独で使用しても医薬組成物として使用しても、次の(a)～(h)に役立つ。(a)男性の避妊。(b)様々なホルモンに関連する病気(例えば、高齢男性におけるアンドロゲン減少(Androgen Decline in Aging Male: ADAM)に関連する病気)の治療。ADAMに関連する病気としては、例えば、疲労、うつ病、性欲減退、性的不全、勃起不全、性腺機能低下症、脱毛症、貧血、肥満、筋肉減少症、骨減少症、骨粗鬆症、良性前立腺肥大症、気分・認識力の変調、及び前立腺腺癌がある。(c)女性におけるアンドロゲン減少(Androgen Decline in Female: ADIF)に関連する病気の治療。ADIFに関連する病気としては、例えば、性的不全、性欲減退、性腺機能低下症、筋肉減少症、骨減少症、骨粗鬆症、気分・認識力の変調、うつ病、貧血、脱毛症、肥満、子宮内膜症、乳ガン、子宮癌、及び卵巣癌がある。(d)急性及び/又は慢性の筋萎縮症の治療及び/又は予防。(e)ドライアイの治療及び/又は予防。(f)経口アンドロゲン代償療法。(g)前立腺癌の発生率の減少、前立腺癌の進行抑制又は退行。(h)癌細胞のアポトーシスの誘発。 30 40

【0068】

ある実施形態では、本発明は、次の化学構造式Iで表される選択的アンドロゲン受容体調節剤(SARM)化合物の代謝物を提供する。



ただし、

Gは、O又はSであり、

Xは、Oであり、

Tは、OH、OR、 $-\text{NHCOCH}_3$ 又は NHCOR であり、

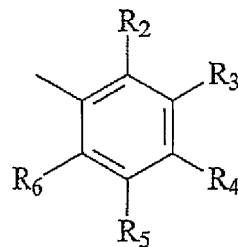
Zは、 NO_2 、CN、COOH、COR、NHCOR 又は CONHR であり、

Yは、H、アルキル、ヒドロキシアルキル、アルキルアルデヒド、 CF_3 、F、I、Br、Cl、CN、 CR_3 又は SnR_3 であり、

Rは、アルキル、ハロアルキル、ジハロアルキル、トリハロアルキル、 CH_2F 、 CHF_2 、 CF_3 、 CF_2CF_3 、アリル、フェニル、ハロゲン、アルケニル又はOHであり、

R_1 は、 CH_3 、 CH_2F 、 CHF_2 、 CF_3 、 CH_2CH_3 又は CF_2CF_3 であり、

Aは、



であって、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 は、互いに独立して、H、ハロゲン、CN、 HCOCF_3 、アセトアミド又はトリフルオロアセトアミドである。

【0069】

本発明は、上記した化学構造式 I の SAR M の代謝物を提供する。本発明は、化学構造式 I の化合物の類似体、異性体、代謝物、誘導體、薬学的に許容される塩、医薬品、水和物、N酸化物、不純物、多形体、結晶、又はそれらの組み合わせを含む。

【0070】

ある実施形態では、本発明は、化学構造式 I の化合物の類似体を提供する。ある実施形態では、本発明は、化学構造式 I の化合物の誘導體を提供する。ある実施形態では、本発明は、化学構造式 I の化合物の異性体を提供する。ある実施形態では、本発明は、化学構造式 I の化合物の代謝物を提供する。ある実施形態では、本発明は、化学構造式 I の化合物の薬学的に許容される塩を提供する。ある実施形態では、本発明は、化学構造式 I の化合物の医薬品を提供する。ある実施形態では、本発明は、化学構造式 I の化合物の水和物を提供する。ある実施形態では、本発明は、化学構造式 I の化合物のN酸化物を提供する。ある実施形態では、本発明は、化学構造式 I の化合物の不純物を提供する。ある実施形態では、本発明は、化学構造式 I の化合物の多形体を提供する。ある実施形態では、本発明は、化学構造式 I の化合物の結晶を提供する。

【0071】

他の実施形態では、本発明は、上記した化学構造式 I の化合物の類似体、誘導體、代謝物、異性体、薬学的に許容される塩、医薬品、水和物、N酸化物、不純物、多形体、又は結晶の任意の組み合わせを提供する。

【0072】

ある実施形態では、化合物 I における G は O である。他の実施形態では、化合物 I にお

けるTはOHである。他の実施形態では、化合物Iにおける R_1 は CH_3 である。他の実施形態では、化合物IにおけるZは NO_2 である。他の実施形態では、化合物IにおけるZはCNである。他の実施形態では、化合物IにおけるYは CF_3 である。他の実施形態では、化合物IにおけるQは $NHCOCH_3$ である。他の実施形態では、化合物IにおけるQはパラ位にある。他の実施形態では、化合物IにおけるZはパラ位にある。他の実施形態では、化合物IにおけるYはメタ位にある。他の実施形態では、化合物IにおけるGはOであり、TはOHであり、 R_1 は CH_3 であり、Zは NO_2 であり、Yは CF_3 であり、Qは $NHCOCH_3$ である。他の実施形態では、化合物IにおけるGはOであり、TはOHであり、ZはCNであり、Yは CF_3 であり、Qは $NHCOCH_3$ である。

【0073】

10

置換基Z及びYは、それらの置換基を保持する環（以降は「A環」という）の任意の位置に位置することができる。ある実施形態では、置換基ZはA環のパラ位にある。他の実施形態では、置換基YはA環のメタ位にある。他の実施形態では、置換基ZはA環のパラ位にあり、置換基YはA環のメタ位にある。

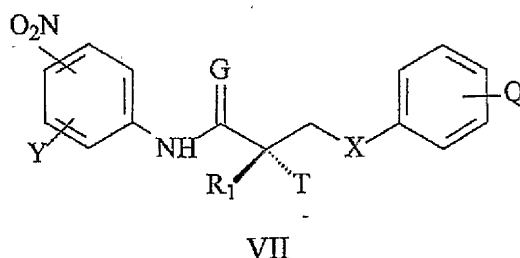
【0074】

置換基Qは、その置換基を保持する環（以降は「B環」という）の任意の位置に位置することができる。ある実施形態では、置換基QはB環のパラ位にある。他の実施形態では、置換基Qは $NHCOCH_3$ にあり、B環のパラ位にある。他の実施形態では、置換基QはFであり、B環のパラ位にある。

【0075】

20

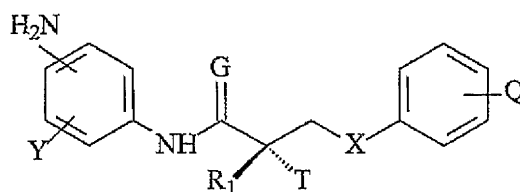
ある実施形態では、前記した化学構造式IのSARM化合物は、次の化学構造式VIIで表される。



30

【0076】

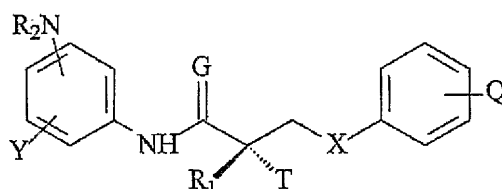
ある実施形態では、上記した化学構造式VIIのSARM化合物の代謝物は、次の化学構造式で表される。



40

【0077】

ある実施形態では、上記した化学構造式VIIのSARM化合物の代謝物は、次の化学構造式で表される。

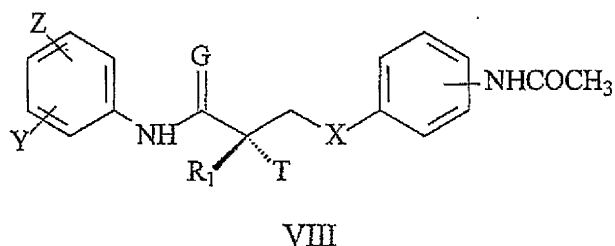


50

ただし、 NR_2 は、 NO 、 NHOH 、 NHOSO_3 又は NHO —グルコナイドである。

【0078】

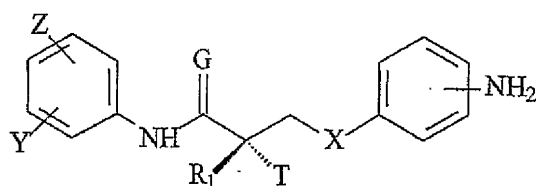
ある実施形態では、前記した化学構造式 I の前記 SAR M 化合物は、次の化学構造式 V I I I で表される。



10

【0079】

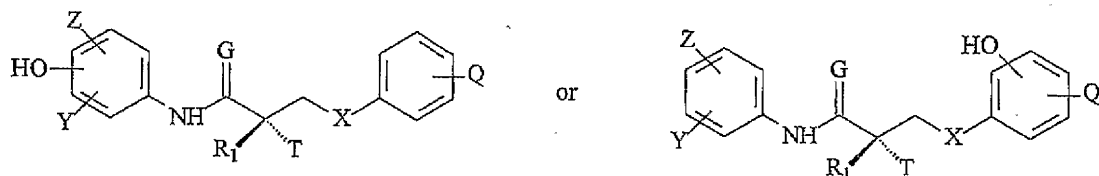
ある実施形態では、上記した化学構造式 V I I I の SAR M 化合物の代謝物は、次の化学構造式で表される。



20

【0080】

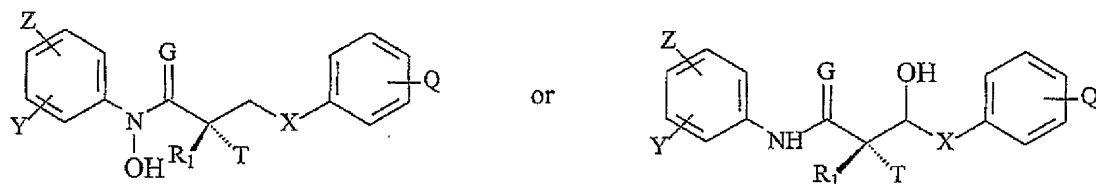
ある実施形態では、本発明に係る SAR M 化合物の代謝物は、前記した化学構造式 I の SAR M 化合物の水酸化誘導体である。この実施形態では、前記代謝物（水酸化誘導体）は、次の化学構造式で表される。



30

【0081】

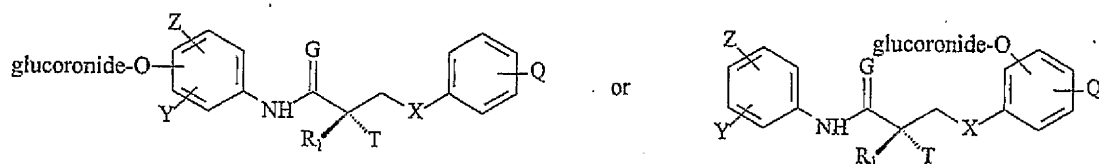
他の実施形態では、前記代謝物（水酸化誘導体）は、次の化学構造式で表される。



40

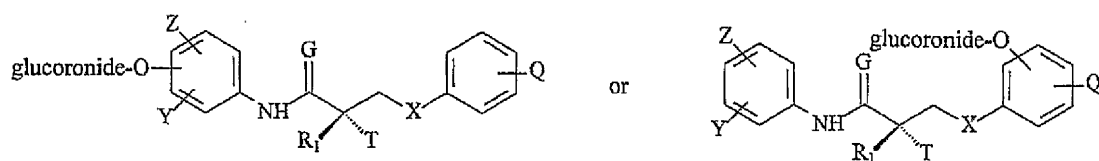
【0082】

ある実施形態では、前記 SAR M 代謝物は、前記した化学構造式 I の SAR M 化合物の O—グルコナイド誘導体である。この実施形態では、前記代謝物（O—グルコナイド誘導体）は、次の化学構造式で表される。



【0083】

他の実施形態では、前記代謝物（O-グルコナイド誘導体）は、次の化学構造式で表される。



10

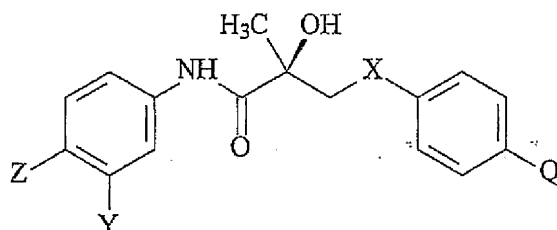
【0084】

他の実施形態では、前記SARM代謝物は、前記した化学構造式IのSARM化合物のメチル化誘導体である。

【0085】

他の実施形態では、本発明は、次の化学構造式IIで表される選択的アンドロゲン受容体調節剤（SARM）化合物の代謝物を提供する。

20



II

ただし、

Xは、Oであり、

Zは、NO₂、CN、COOH、COR、NHCOR又はCONHRであり、

Yは、CF₃、F、I、Br、Cl、CN、CR₃又はSnR₃であり、

Qは、アセトアミド又はトリフルオロアセトアミドであり、

Rは、アルキル、ハロアルキル、ジハロアルキル、トリハロアルキル、CH₂F、CHF₂、CF₃、CF₂CF₃、アリル、フェニル、F、Cl、Br、I、アルケニル又はOHであり、

R₁は、CH₃、CH₂F、CHF₂、CF₃、CH₂CH₃又はCF₂CF₃である。

【0086】

本発明は、上記した化学構造式IIのSARMの代謝物を提供する。本発明は、化学構造式IIの化合物の類似体、異性体、代謝物、誘導体、薬学的に許容される塩、医薬品、水和物、N酸化物、不純物、多形体、結晶、又はそれらの組み合わせを含む。

40

【0087】

ある実施形態では、本発明は、化学構造式IIの化合物の類似体を提供する。ある実施形態では、本発明は、化学構造式IIの化合物の誘導体を提供する。ある実施形態では、本発明は、化学構造式IIの化合物の異性体を提供する。ある実施形態では、本発明は、化学構造式IIの化合物の代謝物を提供する。ある実施形態では、本発明は、化学構造式IIの化合物の薬学的に許容される塩を提供する。ある実施形態では、本発明は、化学構造式IIの化合物の医薬品を提供する。ある実施形態では、本発明は、化学構造式IIの化合物の水和物を提供する。ある実施形態では、本発明は、化学構造式IIの化合物のN

50

酸化物を提供する。ある実施形態では、本発明は、化学構造式 I I の化合物の不純物を提供する。ある実施形態では、本発明は、化学構造式 I I の化合物の多形体を提供する。ある実施形態では、本発明は、化学構造式 I I の化合物の結晶を提供する。

【0088】

他の実施形態では、本発明は、上記した化学構造式 I I の化合物の類似体、誘導体、代謝物、異性体、薬学的に許容される塩、医薬品、水和物、N酸化物、不純物、多形体、又は結晶の任意の組み合わせを提供する。

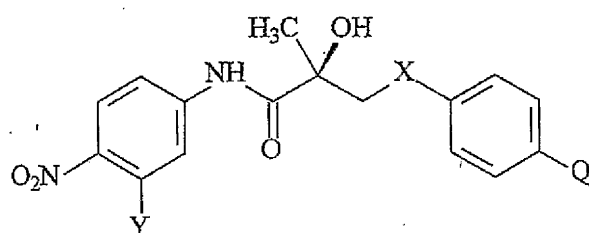
【0089】

ある実施形態では、化合物 I I における Z は NO_2 である。他の実施形態では、化合物 I I における Z は CN である。他の実施形態では、化合物 I I における Y は CF_3 である。他の実施形態では、化合物 I I における Q は NHCOCH_3 である。

10

【0090】

他の実施形態では、前記した化学構造式 I の SARM 化合物は、次の化学構造式 I X で表される。

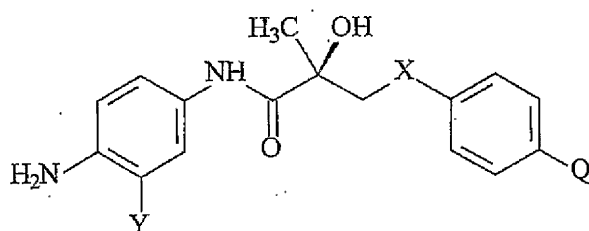


20

IX

【0091】

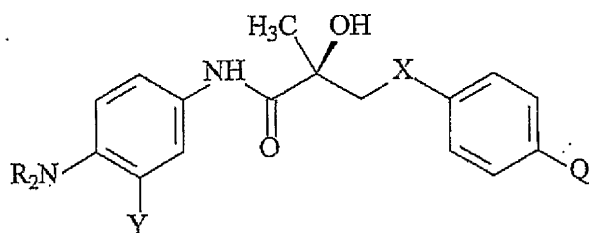
ある実施形態では、上記した化学構造式 I X の SARM 化合物の代謝物は、次の化学構造式で表される。



30

【0092】

他の実施形態では、上記した化学構造式 I X の SARM 化合物の代謝物は、次の化学構造式で表される。

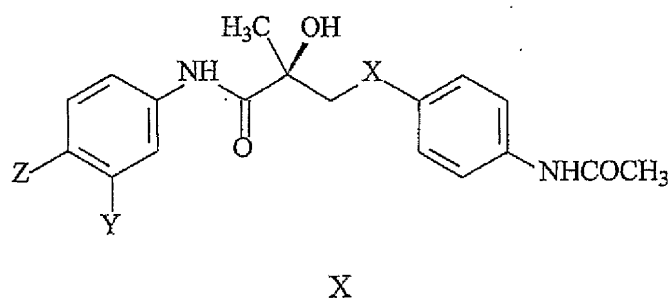


40

ただし、 NR_2 は、 NO 、 NHOH 、 NHOSO_3 又は NHO —グルコナイドである。

【0093】

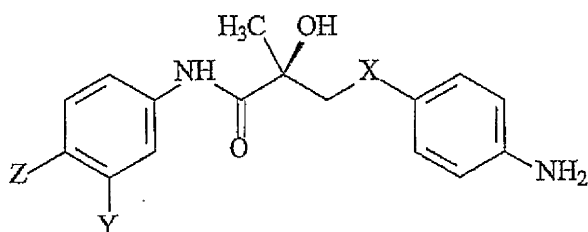
ある実施形態では、前記した化学構造式 I I の SARM 化合物は、次の化学構造式 X で表される。



【0094】

10

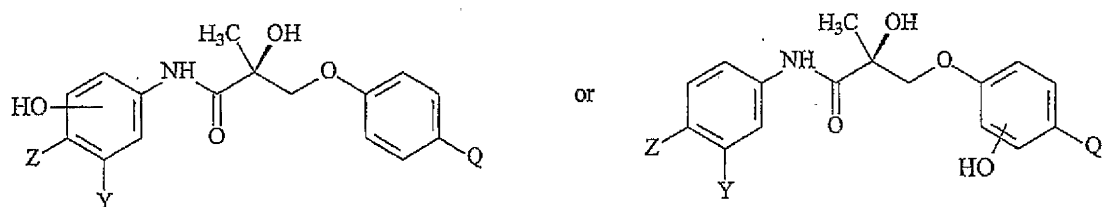
ある実施形態では、上記した化学構造式 X の SARM 化合物の代謝物は、次の化学構造式で表される。



20

【0095】

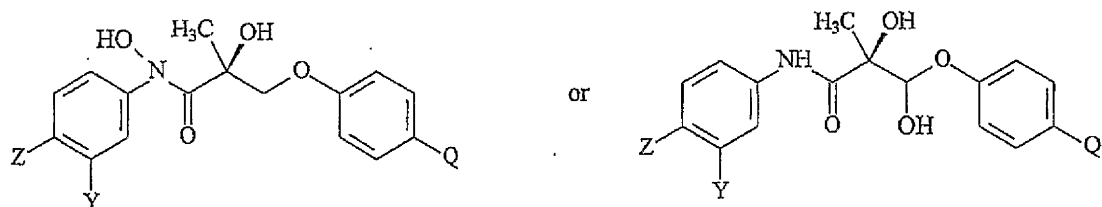
ある実施形態では、本発明に係る SARM 化合物の代謝物は、前記した化学構造式 I I の SARM 化合物の水酸化誘導体である。この実施形態では、前記代謝物（水酸化誘導体）は、次の化学構造式で表される。



30

【0096】

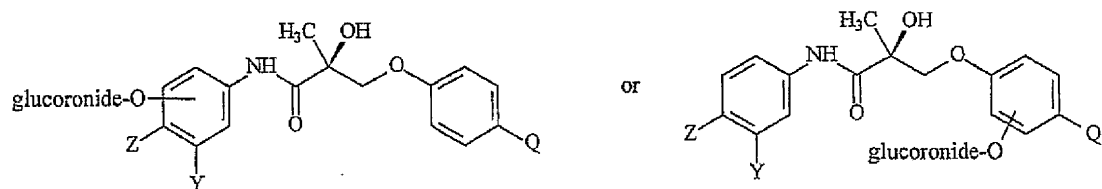
他の実施形態では、前記代謝物（水酸化代謝物）は、次の化学構造式で表される。



40

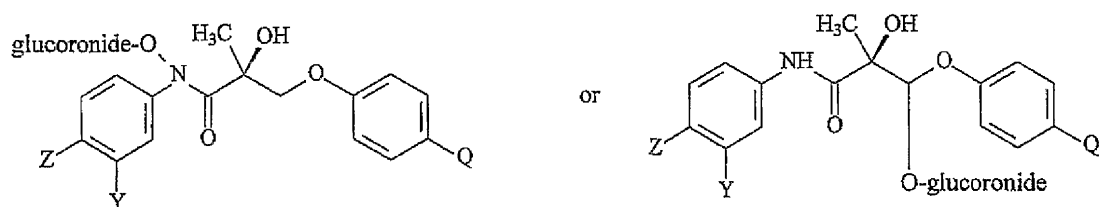
【0097】

ある実施形態では、前記 SARM 代謝物は、前記した化学構造式 I I の SARM 化合物の O-グルコナイド誘導体である。この実施形態では、前記代謝物（O-グルコナイド誘導体）は、次の化学構造式で表される。



【0098】

他の実施形態では、前記代謝物（O-グルコナイド誘導体）は、次の化学構造式で表される。 10

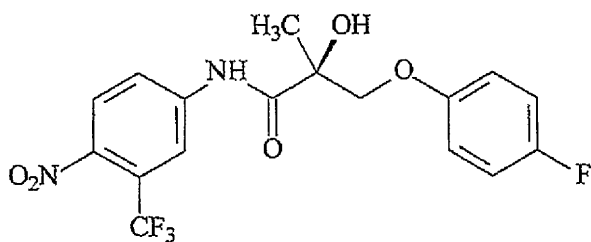


【0099】

他の実施形態では、前記SARM代謝物は、前記した化学構造式IIのSARM化合物のメチル化誘導体である。 20

【0100】

ある実施形態では、本発明は、次の化学構造式IIIで表される選択的アンドロゲン受容体調節剤（SARM）化合物の代謝物を提供する。

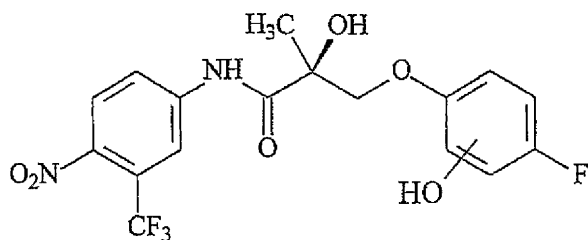


III

30

【0101】

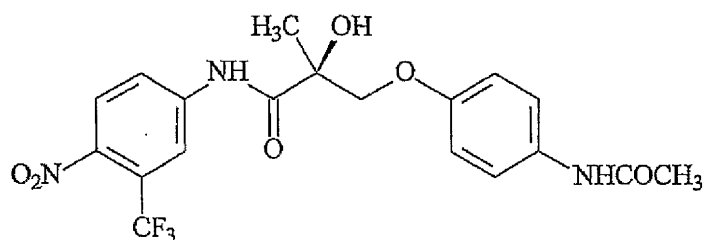
ある実施形態では、上記した化学構造式IIIのSARM化合物の代謝物は、次の化学構造式で表される。



40

【0102】

ある実施形態では、本発明は、次の化学構造式IVで表される選択的アンドロゲン受容体調節剤（SARM）化合物の代謝物を提供する。

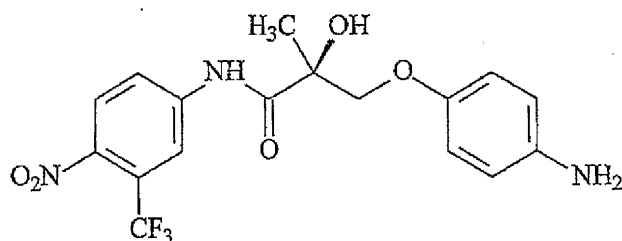


IV

【0103】

10

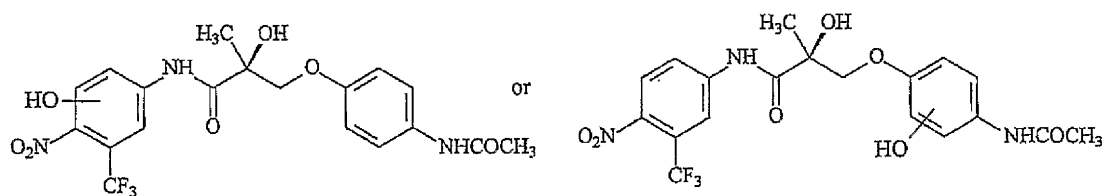
ある実施形態では、上記した化学構造式 IV の SARM 化合物の代謝物は、次の化学構造式で表される。



20

【0104】

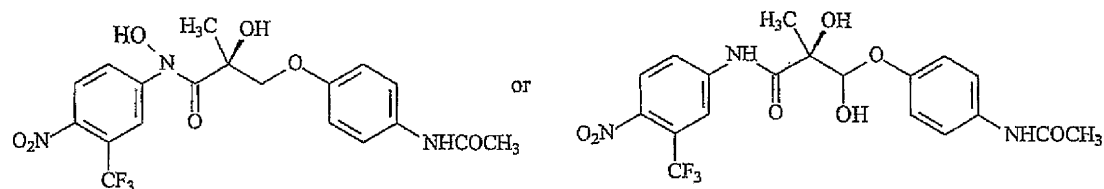
ある実施形態では、本発明に係る SARM 化合物の代謝物は、上記した化学構造式 IV の SARM 化合物の水酸化誘導体である。この実施形態では、前記代謝物（水酸化誘導体）は、次の化学構造式で表される。



30

【0105】

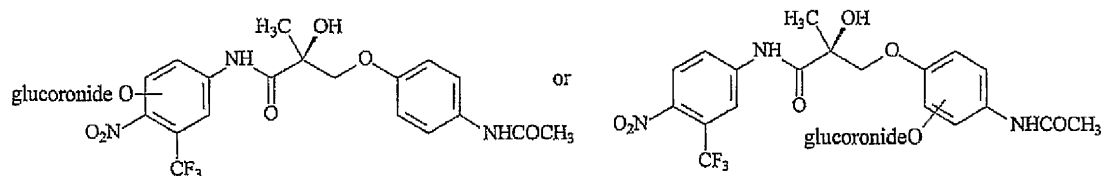
ある実施形態では、前記代謝物（水酸化誘導体）は、次の化学構造式で表される。



【0106】

40

ある実施形態では、前記 SARM 代謝物は、上記した化学構造式 IV の SARM 化合物の O-グルコロナイド化誘導体である。この実施形態では、前記代謝物（O-グルコロナイド化誘導体）は、次の化学構造式で表される。

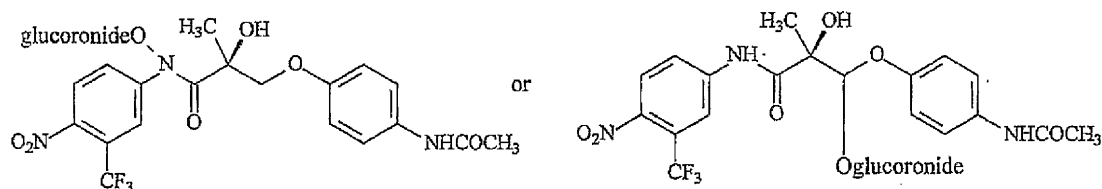


【0107】

他の実施形態では、前記代謝物（O-グルコロナイド化誘導体）は、次の化学構造式で

50

表される。



【0108】

他の実施形態では、前記 SAR M代謝物は、上記した化学構造式 IV の SAR M化合物のメチル化誘導体である。

10

【0109】

ある実施形態では、前記 SAR M代謝物は、アンドロゲン受容体作動薬である。他の実施形態では、前記 SAR M代謝物は、アンドロゲン受容体拮抗薬である。

【0110】

ある実施形態では、前記 SAR M代謝物は、異なる肝臓酵素製剤を使用して識別することができる。

【0111】

ある実施形態では、本発明に係る SAR Mの代謝物は、アセチル基が取り除かれた誘導体、加水分解された誘導体、又は酸化された誘導体を含む。他の実施形態では、本発明に係る SAR Mの代謝物は、ニトロ基が還元された、又は芳香環が還元された誘導体を含む。

20

【0112】

ある実施形態では、本発明に係る SAR Mの代謝物は、代謝的に不安定な部位の変更を含む。前記変更は、ある実施形態では前記化合物の代謝安定性を向上させ、他の実施形態ではアゴニスト作用を維持する。

【0113】

ある実施形態では、アセチル基が取り除かれた代謝物は AR と結合し、他の実施形態ではインビボでの前記化合物の S4 薬理活性の一因となる、インビボにおける転写活性を開始させる。

【0114】

アミド結合加水分解及びアセトアミド脱アセチル化は、ここで例示したように、ヒト肝臓製剤の細胞質及びミクロソーム分画の両方で生じる。ミクロソーム酵素は主に脱アセチル化反応を触媒するのに対して、細胞質内酵素は主に加水分解反応を触媒する。このことは、ミクロソーム CYP 酵素は、分子の加水分解及び脱アセチル化に関与し得ることを示唆する。CYP3A4 は市販薬物の 70% 以上の代謝作用に関与し、最も一般的な代謝反応である酸化を有する。同様に、CYP3A4 は、インビボにおける S4 の酸化に関与し、ヒトにおけるビカルタミド (bicalutamide) 酸化にも関与する。しかしながら、驚くべきことに、ヒト CYP3A4 は、主要なミクロソーム CYP 酵素の 1 つに見えるが、その上に加水分解反応を触媒することができる。

30

【0115】

ある実施形態では、インビトロでの代謝産物の同定は、代謝産物の HPLC 分離及び MS 分析により行われる。ある実施形態では、そのような分子内のカルボキシル及びアミン基の両方の存在により、親水性が極めて高くなる。分子が酸性又は塩基性条件下で容易に溶媒先端から分離しないので、ここに例示したように、そのような分析は困難である。サンプル作成及び／又は分離に厳密な条件を用いることなく、そのような分離を容易にするためには、アミノ酸分析でよく使用される誘導体化法が用いられる（たとえば、第 1 級アミン基を就職するのに使用される NHS-ビオチン）。芳香族アミン基は、同様の修飾で基質とすて作用する。大きいビオチン分子を加えると、ここに例示するように、MS 分析中における、分子のカラム保持時間及びイオン化効率が增加する。穏和な反応条件（室温、中性 pH）は、人為的な作用（例えば、強力な酸性条件）によって、あり得る加水分解

40

50

を除外する。このデザインは、他の実施形態では、第1級アミン基を含む高親水性の代謝産物の分析方法を提示する。

【0116】

《定義》

【0117】

本明細書中では、置換基Rは、アルキル、ハロアルキル、ジハロアルキル、トリハロアルキル、 CH_2F 、 CHF_2 、 CF_3 、 CF_2CF_3 、アリル、フェニル、ハロゲン、アルケニル、又は水酸基(OH)と定義される。

【0118】

“アルキル”基は、ある実施形態では、直鎖型、分枝型又は環状の飽和脂肪族炭化水素である。ある実施形態では、アルキル基は、1～12個の炭素を有する。他の実施形態では、アルキル基は、1～7個の炭素を有する。ある実施形態では、アルキル基は、1～6個の炭素を有する。ある実施形態では、アルキル基は、1～4個の炭素を有する。アルキル基は、ハロゲン(例えば、F、Cl、Br、I)、水酸基、アルコキシ・カルボニル基、アミド基、アルキルアミド基、ジアルキルアミド基、ニトロ基、アミノ基、アルキルアミノ基、ジアルキルアミノ基、カルボニル基、チオ基及びチオアルキル基から成る群より選択される1つ又は複数の基と置換される又は置換されない。

【0119】

“ハロアルキル”基は、上記に定義したアルキル基を1つ又は複数のハロゲン原子(例えば、F、Cl、Br又はI)で置換したものである。“ハロゲン”は、周期表VII族の元素(例えば、F、Cl、Br又はI)である。

【0120】

“アリル”基は、ハロゲン基(例えば、F、Cl、Br又はI)、ハロアルキル基、水酸基、アルコキシ・カルボニル基、アミド基、アルキルアミド基、ジアルキルアミド基、ニトロ基、アミノ基、アルキルアミノ基、ジアルキルアミノ基、カルボニル基、チオ基、及びチオアルキル基から成る群より選択される1つ又は複数の基と置換される又は置換されない、少なくとも1つの炭素環式芳香族基又は複素環式芳香族基を有する芳香族基である。アリル環としては、例えば、フェニル、ナフチル、ピラニル、ピロリル、ピラジニル、ピリミジニル、ピラゾリル、ピリジニル、フラニル、チオフエニル、チアゾリル、イミダゾリル、イソオキサゾリルなどがある(ただし、これらに限定されるものではない)。

【0121】

“ヒドロキシル”基は、OH基である。“アルケニル”基は、少なくとも1つの炭素間二重結合を有する基である。

【0122】

“アリルアルキル”基は、アリル基と結合したアルキル基である。なお、アルキル基とアリル基は、上記に定義したとおりである。アリルアルキル基としては、例えば、ベンジル基がある。

【0123】

本発明は、本発明に係るSARM化合物の代謝物の使用も含む。また、本発明に係るSARM化合物の類似体、異性体、代謝物、誘導体、薬学的に許容される塩、医薬品、水和物、N酸化物、不純物、多形体、結晶、又はそれらの組み合わせも本発明の範囲に含まれる。

【0124】

ある実施形態では、本発明は、本発明に係るSARM化合物の類似体の使用に関する。他の実施形態では、本発明は、本発明に係るSARM化合物の異性体の使用に関する。他の実施形態では、本発明は、本発明に係るSARM化合物の代謝物の使用に関する。他の実施形態では、本発明は、本発明に係るSARM化合物の誘導体の使用に関する。他の実施形態では、本発明は、本発明に係るSARM化合物の薬学的に許容される塩の使用に関する。他の実施形態では、本発明は、本発明に係るSARM化合物の医薬品の使用に関する。他の実施形態では、本発明は、本発明に係るSARM化合物の水和物の使用に関する。

。他の実施形態では、本発明は、本発明に係る SARM 化合物の N 酸化物の使用に関する。他の実施形態では、本発明は、本発明に係る SARM 化合物の類似体の使用に関する。他の実施形態では、本発明は、本発明に係る SARM 化合物の不純物の使用に関する。他の実施形態では、本発明は、本発明に係る SARM 化合物の多形体の使用に関する。他の実施形態では、本発明は、本発明に係る SARM 化合物の結晶の使用に関する。

【0125】

他の実施形態では、本発明は、本発明に係る SARM 化合物の類似体、誘導体、代謝物、異性体、薬学的に許容される塩、医薬品、水和物、N 酸化物、不純物、多形体、又は結晶を任意に組み合わせた使用に関する。

【0126】

“代謝物”は、例えば、加水分解、エステル化、脱エステル化、活性化、塩生成などの反応によって、インビボで生理活性物質に変換することができる物質を意味する。

【0127】

ここで定義される“異性体”という用語は、光学異性体とその類似体、構造異性体とその類似体、及び配座異性体とその類似体などを含む（ただし、これらに限定されるものではない）。

【0128】

ある実施形態では、本発明は、本発明に係る SARM 化合物の様々な光学異性体の使用を含む。本発明に係る SARM 化合物が少なくとも 1 つのキラル中心を有していることは、当業者には周知である。したがって、本発明に係る方法で使用される SARM 化合物は、光学活性体又はラセミ体で存在している、及び単離される。また、いくつかの化合物は、多形性を示す。当然のことながら、本発明は、前述した方法に有用な特性を有する、任意のラセミ体、光学活性体、多形体、立体異性体、又はそれらの混合物を含む。ある実施形態では、本発明に係る SARM 化合物は、純粋な (R) 異性体である。他の実施形態では、本発明に係る SARM 化合物は、純粋な (S) 異性体である。他の実施形態では、本発明に係る SARM 化合物は、(R) 異性体と (S) 異性体との混合物である。他の実施形態では、本発明に係る SARM 化合物は、同量の (R) 異性体と (S) 異性体とを含むラセミ混合物である。当該技術分野では、光学活性体を生成する方法は公知である（例えば、再結晶法によるラセミ体の分解、光学体活体開始物質の合成、キラル合成、又はキラル固定相を使用したクロマトグラフ分離など）。

【0129】

本発明は、有機酸又は無機酸（例えばクエン酸や塩酸など）を有するアミノ置換化合物の薬学的に許容される塩を含む。また、本発明は、ここに記載した化合物のアミノ置換基の N 酸化物を提供する。薬学的に許容される塩は無機塩基（例えば水酸化ナトリウムなど）を処理することにより、フェノール化合物から生成することもできる。また、フェノール化合物のエステルは、脂肪族カルボン酸や芳香族カルボン酸（例えば酢酸エステルと安息香酸エステルなど）から生成することもできる。

【0130】

本発明は、さらに、本発明に係る SARM 化合物の誘導体を含む。“誘導体”という用語は、エーテル誘導体、酸誘導体、アミノ誘導体、エステル誘導体などを含む（ただし、これらに限定されるものではない）。さらに、本発明は、本発明に係る SARM 化合物の水和物を含む。“水和物”という用語は、半水和物、一水和物、二水和物、三水和物などを含む（ただし、これらに限定されるものではない）。

【0131】

本発明は、さらに、本発明に係る SARM 化合物の代謝産物を含む。“代謝産物”という用語は、代謝作用又は代謝過程によって、別の物質から生成された物質を意味する。

【0132】

本発明は、さらに、本発明に係る SARM 化合物の医薬品を含む。“医薬品”という用語は、医薬品としての使用（医薬組成物）に適した組成物を意味する。

【0133】

10

20

30

40

50

本発明は、さらに、本発明に係るSARM化合物の結晶を含む。さらに、本発明は、本発明に係るSARM化合物の多形体を含む。“結晶”という用語は、結晶状態の物質を意味する。“多形体”という用語は、特別な物理的性質（例えば、X線回折、IRスペクトル、融点など）を有する、物質の特別な結晶状態を意味する。

【0134】

《選択的アンドロゲン受容体調節剤の生物活性》

【0135】

選択的アンドロゲン受容体調節剤 (Selective Androgen Receptor Modulator: SARM) 化合物は、アンドロゲン受容体標的物質 (Androgen Receptor Targeting Agent: ARTA) の新しい種類であり、次の (a) ~ (h) に役立つことが以前より知られている。(a) 男性の避妊。(b) 様々なホルモンに関連する病気（例えば、高齢男性におけるアンドロゲン減少 (Androgen Decline in Aging Male: ADAM) に関連する病気）の治療。ADAMに関連する病気としては、例えば、疲労、うつ病、性欲減退、性的不全、勃起不全、性腺機能低下症、脱毛症、貧血、肥満、筋肉減少症、骨減少症、骨粗鬆症、良性前立腺肥大症、気分・認識力の変調、及び前立腺腺癌がある。(c) 女性におけるアンドロゲン減少 (Androgen Decline in Female: ADIF) に関連する病気の治療。ADIFに関連する病気としては、例えば、性的不全、性欲減退、性腺機能低下症、筋肉減少症、骨減少症、骨粗鬆症、気分・認識力の変調、うつ病、貧血、脱毛症、肥満、子宮内膜症、乳ガン、子宮癌、及び卵巣癌がある。(d) 急性及び慢性の筋萎縮症の治療及び／又は予防。(e) ドライアイの治療及び／又は予防。(f) 経口アンドロゲン代償療法。(g) 前立腺癌の発生率の減少、前立腺癌の停止、又は前立腺癌を退行させる。(h) 癌細胞のアポトーシスの誘発。

【0136】

本明細書中における“細胞外シグナル伝達分子の受容体”は、まとめて“細胞シグナル伝達受容体”と呼ばれている。多くの細胞シグナル伝達受容体は、細胞表面上の膜貫通タンパク質である。それらの受容体は、細胞外シグナル伝達分子（すなわちリガンド）と結合すると活性化し、細胞の行動を変える細胞内シグナル伝達のカスケードを生成する。一方で、ある場合では、前記受容体は細胞の内部にあり、それらの受容体を活性化するためには、シグナル伝達リガンドは細胞内に進入しなければならない。そのため、それらのシグナル伝達分子は、細胞の血漿膜を透過して拡散できるように、十分に小さく、疎水性である必要がある。

【0137】

ステロイドホルモンは、小さな疎水性分子の一例であって、標的細胞の血漿膜を透過して直接的に拡散し、細胞内の細胞シグナル伝達受容体と結合する。この受容体は、構造的に関連しており、細胞内受容体スーパーファミリー（又はステロイドホルモン受容体スーパーファミリー）を構成する。ステロイドホルモン受容体としては、プロゲステロン受容体、エストロゲン受容体、アンドロゲン受容体、及び鉱質コルチノイド受容体がある。本発明は、特に、アンドロゲン受容体を対象としている。

【0138】

リガンドが容体に結合することに加えて、リガンド結合を妨げるべく受容体をブロックすることもできる。物質が受容体に結合するとき、前記物質の3次元構造は、前記受容体の3次元受容体によって作成された空間に適合する（ボール及びソケット立体配置において）。ボールがソケットにより良く適合すればするほど、堅固に保持される。この現象は、親和性と呼ばれる。物質の親和性がオリジナルのホルモンと比較して高ければ高いほど、ホルモンと競争し、より頻繁に結合部位と結合する。一度結合すると、信号は受容体を介して細胞内へと送信され、何らかの方法で細胞に反応を生じさせる。このことを活性化と呼ぶ。活性化すると、活性化された受容体は、その後、特定遺伝子の転写を直接的に調節する。ただし、物質及び受容体は、親和性以外の、細胞を活性化するための特性をいくつか有し得る。物質の原子と受容体の原子との間には、化学結合が生じる。ある場合では、前記化学結合は、活性化プロセス（シグナル伝達と呼ばれる）を開始するのに十分な受

容体の立体配置の変化をもたらす。

【0139】

ある実施形態では、本発明は、アゴニスト化合物であるSARM化合物を対象とする。受容体アゴニストは、受容体と結合して、その受容体を活性化させる物質である。したがって、ある実施形態では、本発明に係るSARM化合物は、ステロイド性ホルモン受容体と結合して活性化するのに有用である。ある実施形態では、本発明に係るアゴニスト化合物は、アンドロゲン受容体と結合するアゴニスト（作動薬）である。他の実施形態では、アゴニスト化合物は、アンドロゲン受容体に対して高い親和性を有する。また、他の実施形態では、アゴニスト化合物は、タンパク同化作用を有する。他の実施形態では、本発明は、アンドロゲン受容体に対する非ステロイド性リガンドとしてのアゴニスト作用及びタンパク同化作用を有するSARM化合物を提供する。 10

【0140】

他の実施形態では、本発明は、アンタゴニスト化合物であるSARM化合物を対象とする。受容体アゴニストは、受容体と結合して、その受容体を不活性化させる物質である。したがって、ある実施形態では、本発明に係るSARM化合物は、ステロイドホルモン受容体と結合し不活性するのに有用である。ある実施形態では、本発明に係るアンタゴニスト化合物は、アンドロゲン受容体と結合するアンタゴニスト（拮抗薬）である。他の実施形態では、アンタゴニスト化合物は、アンドロゲン受容体に対して高い親和性を有する。

【0141】

別の実施形態では、本発明に係るSARM化合物は、部分的ARアゴニスト／アンタゴニストとして分類することもできる。本発明に係るSARM化合物は、ある組織内ではARアゴニストであり、AR反応遺伝子の転写を増加させる（例えば、筋肉同化効果）。また、本発明に係るSARM化合物は、他の組織内では、ARで阻止因子として作用し、天然アンドロゲンのアゴニスト作用を防止する。 20

【0142】

本発明に係るSARM化合物がARに対するアゴニストであるかアンタゴニストであるかを判断するための分析方法は、当該技術分野では公知である。例えば、ARアゴニスト作用は、SARM化合物における、AR含有組織（例えば前立腺や精囊）の成長を維持及び／又は促進する能力を、重量測定によってモニタリングすることで判断できる。ARアンタゴニスト活性は、SARM化合物における、AR含有組織の成長を阻害する能力をモニタリングすることで判断できる。 30

【0143】

本発明に係る化合物は、アンドロゲン受容体（AR）と、可逆的又は不可逆的に結合する。ある実施形態では、前記アンドロゲン受容体は、哺乳類のアンドロゲン受容体である。他の実施形態では、前記アンドロゲン受容体は、ヒトのアンドロゲン受容体である。ある実施形態では、本発明に係るSARM化合物は、哺乳類（例えばヒト）のアンドロゲン受容体と可逆的に結合する。化合物が受容体と可逆的に結合することは、結合後に前記受容体から化合物が脱離できることを意味する。

【0144】

他の実施形態では、本発明に係るSARM化合物は、哺乳類（例えばヒト）のアンドロゲン受容体と不可逆的に結合する。したがって、ある実施形態では、本発明に係るSARM化合物は、アンドロゲン受容体（すなわち共有結合構造）をアルキル化することが可能な、官能基（例えば親和性標識）を有している。そのため、この場合は、SARM化合物は、受容体と不可逆的に結合するアルキル化因子である（したがって、内在性リガンドDHTやテストステロンなどのステロイドによって置換されない）。ここでは、“アルキル化因子”という用語は、DNA、RNA及び酵素などの細胞成分をアルキル化する（共有結合を形成する）因子と定義する。アルキル化因子は高反応性の化学物質であり、アルキル・ラジカルを生物学的に活性な分子内に取り込み、そのことによりその正常な機能を阻害する。アルキル化成分は、細胞成分の求核性成分と相互作用する親電子基である。 40

【0145】

本発明のある実施形態では、本発明に係るSARM化合物を、アンドロゲン受容体に結合させる方法を提供する。この方法は、SARM化合物をアンドロゲン受容体に結合させるのに有効な条件下で、SARM化合物及び／又はその類似体、異性体、代謝産物、誘導体、薬学的に許容される塩、医薬品、N酸化物或いはそれらの任意の組み合わせを、アンドロゲン受容体に接触させるステップを含んでいる。本発明に係るSARM化合物をアンドロゲン受容体に結合させることによって、本発明に係るSARM化合物を男性避妊及び多くのホルモン療法に使用することができる。アゴニスト化合物はアンドロゲン受容体と結合して、そのアンドロゲン受容体を活性化する。アンタゴニスト化合物はアンドロゲン受容体と結合して、そのアンドロゲン受容体を不活性化する。アゴニスト又はアンタゴニスト化合物の結合は、可逆的又は不可逆的である。

10

【0146】

本発明のある実施形態では、精子生成を抑制する方法を提供する。この方法は、精子生成を抑制するのに有効な量の本発明に係るSARM化合物及び／又はその類似体、異性体、代謝産物、誘導体、薬学的に許容される塩、医薬品、N酸化物或いはそれらの任意の組み合わせを、患者のアンドロゲン受容体に接触させるステップを含んでいる。

【0147】

本発明の他の実施形態では、男性患者の避妊方法を提供する。この方法は、精子生成を抑制するのに有効な量の本発明に係るSARM化合物及び／又はその類似体、異性体、代謝産物、誘導体、薬学的に許容される塩、医薬品、N酸化物或いはそれらの任意の組み合わせを、患者のアンドロゲン受容体に接触させるステップを含んでおり、それによって前記患者の避妊を効果的に行う方法を提供する。

20

【0148】

本発明の他の実施形態では、ホルモン療法を提供する。この方法は、アンドロゲン依存状態を変化させるのに有効な量の本発明に係るSARM化合物及び／又はその類似体、異性体、代謝産物、誘導体、薬学的に許容される塩、医薬品、N酸化物或いはそれらの任意の組み合わせを、患者（アンドロゲンに関連する病気の患者）のアンドロゲン受容体に接触させるステップを含んでいる。

【0149】

本発明の他の実施形態では、ホルモン補充療法を提供する。この方法は、アンドロゲン依存状態を変化させるのに有効な量の本発明に係るSARM化合物及び／又はその類似体、異性体、代謝産物、誘導体、薬学的に許容される塩、医薬品、N酸化物或いはそれらの任意の組み合わせを、患者のアンドロゲン受容体に接触させるステップを含んでいる。

30

【0150】

本発明の他の実施形態では、ホルモンに関連する病気の患者を治療する方法を提供する。この方法は、アンドロゲン依存状態を変化させるのに有効な量の本発明に係るSARM化合物及び／又はその類似体、異性体、代謝産物、誘導体、薬学的に許容される塩、医薬品、N酸化物或いはそれらの任意の組み合わせを、患者に投与するステップを含んでいる。

【0151】

本発明によって治療することができるアンドロゲン依存症としては、例えば、性腺機能低下症、筋肉減少症、赤血球生成、骨粗鬆症、アンドロゲン（例えば、テストステロン）のレベルが低いことに起因する他の病気などの高齢に関連する病気が挙げられる。

40

【0152】

本発明の他の実施形態では、前立腺癌を治療する方法を提供する。この方法は、前立腺癌を治療するのに有効な量の本発明に係るSARM化合物及び／又はその類似体、異性体、代謝産物、誘導体、薬学的に許容される塩、医薬品、N酸化物或いはそれらの任意の組み合わせを、前立腺癌患者に投与するステップを含んでいる。

【0153】

本発明の他の実施形態では、前立腺癌を予防する方法を提供する。この方法は、前立腺癌を予防するのに有効な量の本発明に係るSARM化合物及び／又はその類似体、異性体

50

、代謝産物、誘導体、薬学的に許容される塩、医薬品、N酸化物或いはそれらの任意の組み合わせを、前立腺癌患者に投与するステップを含んでいる。

【0154】

本発明の他の実施形態では、前立腺癌の進行を遅延させる方法を提供する。この方法は、前立腺癌の進行を遅延させるのに有効な量の本発明に係るSARM化合物及び／又はその類似体、異性体、代謝産物、誘導体、薬学的に許容される塩、医薬品、N酸化物或いはそれらの任意の組み合わせを、前立腺癌患者に投与するステップを含んでいる。

【0155】

本発明の他の実施形態では、前立腺癌の再発を防止する方法を提供する。この方法は、前立腺癌の再発を防止するのに有効な量の本発明に係るSARM化合物及び／又はその類似体、異性体、代謝産物、誘導体、薬学的に許容される塩、医薬品、N酸化物或いはそれらの任意の組み合わせを、前立腺癌患者に投与するステップを含んでいる。 10

【0156】

本発明の他の実施形態では、前立腺癌の再発を治療する方法を提供する。この方法は、前立腺癌の再発を治療するのに有効な量の本発明に係るSARM化合物及び／又はその類似体、異性体、代謝産物、誘導体、薬学的に許容される塩、医薬品、N酸化物或いはそれらの任意の組み合わせを、前立腺癌患者に投与するステップを含んでいる。

【0157】

さらには、アンドロゲン受容体を刺激することによって涙の生成が促進されるので、本発明に係るSARM化合物はドライアイの治療に使用することができる。そのため、本発明の他の実施形態では、ドライアイを治療する方法を提供する。この方法は、ドライアイを治療するのに有効な量の本発明に係るSARM化合物及び／又はその類似体、異性体、代謝産物、誘導体、薬学的に許容される塩、医薬品、N酸化物、水和物、プロドラッグ、結晶、多形体或いはそれらの任意の組み合わせを、ドライアイ患者に投与するステップを含んでいる。 20

【0158】

本発明の他の実施形態では、ドライアイを予防する方法を提供する。この方法は、ドライアイを予防するのに有効な量の本発明に係るSARM化合物及び／又はその類似体、異性体、代謝産物、誘導体、薬学的に許容される塩、医薬品、N酸化物或いはそれらの任意の組み合わせを、ドライアイ患者に投与するステップを含んでいる。 30

【0159】

本発明の他の実施形態では、癌細胞のアポトーシスを誘発させる方法を提供する。この方法は、アポトーシスを誘発させるのに有効な量の本発明に係るSARM化合物及び／又はその類似体、異性体、代謝産物、誘導体、薬学的に許容される塩、医薬品、N酸化物或いはそれらの任意の組み合わせを、癌細胞に接触させる過程を含んでいる。

【0160】

ここで定義されている“接触”という用語は、本発明に係るSARM代謝物が、試験管、フラスコ、組織培養、チップ、アレイ、プレート、マイクロプレート、毛細管などの内部の、酵素を含んでいるサンプル内に導入され、SARMを酵素に結合可能な温度又は時間で培養することを意味する。SARM又は他の特異結合成分をサンプルに接触させる方法は、当業者には周知であり、実施する分析方法の種類に応じて選択できる。また培養方法は標準的なものであり、当業者には周知である。 40

【0161】

他の実施形態では、“接触”という用語は、本発明に係るSARM代謝物が治療を受ける患者に投与され、インビボにおいて、SARM化合物がアンドロゲン受容体と接触可能であることを意味する。

【0162】

本明細書中で使用される“性欲”という用語は、性的衝動を意味する。

【0163】

本明細書中で使用される“勃起”という用語は、勃起可能であることを意味する。勃起 50

組織は、大きく拡張可能であり、多くの血管が膨張することにより硬直する組織のことである。

【0164】

“性腺機能低下症”は、生殖腺の機能活性の異常低下により生じる又は特徴付けられる病気であり、性的な成長及び発育の遅滞を伴う。“骨減少症”は、石灰化が減少する又は骨密度が減少する病気である。これは、そのような病気が顕著である骨格系すべてを含む用語である。

【0165】

“骨粗鬆症”は、カルシウムや骨タンパク質の不足に起因して骨質量が減少し、骨が薄くなる病気である。骨粗鬆症にかかると、骨折しやすくなる。また、骨折した際に、治るのが遅くなったり、うまく治らなかったりする。骨粗鬆症を放置すると、姿勢の変化、身体

10

【0166】

“前立腺肥大症 (benign prostatic hyperplasia: BPH)”は、良性の前立腺肥大であり、任意の臓器に見られる最も一般的な悪性でない増殖異常であり、成人男性における疾病率の主たる原因である。BPHは、50歳以上の男性では75%以上に発生し、90歳代迄には有病率は88%にも達する。BPHは、しばしば、前立腺を横切る尿道 (尿道前立腺部) の一部を段階的に圧迫する。このことにより膀胱は完全に空にならないので、患者に頻繁に尿意を覚えさせる。尿流の妨げは、排尿の制御不能 (所望時に排尿開始することの障害を含む) や、残留尿による失禁防止の困難をもたらす。溢流性尿失禁は、尿路閉塞と排尿の失敗をもたらす。

20

【0167】

“認識”という用語は、知るプロセス、特に、気づく、知る、考える、学ぶ、及び判断するなどのプロセスを意味する。認識という用語は、心理学、言語学、コンピュータサイエンス、神経科学、数学、動物行動学、及び哲学の分野に関連している。“気分”という用語は、精神の性質又は状態である。変調は、認識力及び／又は気分のポジティブ又はネガティブな変化を意味する。

【0168】

“うつ病”という用語は、肉体、気分及び意識を含む病気のことであり、その人の食事、睡眠、自己についての感じ方、及び物事についての感じ方に影響を与える。うつ病の兆候及び症候としては、活動に対する興味の消失、過食又は拒食、感情の消失、無気力、絶望感、悲観、罪悪感又は孤独感、社会逃避、疲労、睡眠障害、集中力低下、記憶障害、決断障害、情動不安、頭痛、消化不良、又は慢性的痛みがある。

30

【0169】

“脱毛症”という用語は、医学的には脱毛 (alopecia) として知られており、とても一般的なタイプの男性型脱毛症のことである。はげは、一般的には、頭皮の部分的な脱毛から始まる。そして、場合によっては、その後、完全なはげ頭になることや、体毛脱毛を伴うこともある。脱毛症は、男性及び女性の両方で生じる。

【0170】

“貧血”という用語は、血液中で、赤血球数が通常よりも少ない状態、又はヘモグロビン含有量が通常よりも少ない状態を意味する。貧血のとき、血液の酸素運搬量は減少する。貧血の人は、すぐに疲労感を覚え、蒼白となり、動悸を覚え、息切れする。貧血は次の4つの主要な原因 (a~d) によって引き起こされる。(a) 出血 (失血)、(b) 溶血 (赤血球の過剰破壊)、(c) 赤血球の生成不足、及び (d) 通常ヘモグロビンの不足。貧血には様々なタイプがあり、再生不良性貧血、ベンゼン中毒、ファンコーニ貧血、新生児溶血性疾患遺伝性球状赤血球症、鉄欠乏性貧血、大理石骨病、悪性貧血、鎌状細胞貧血、地中海貧血症、脊髄形成異常症候群、及び様々な骨髄疾患などがある。ここに定義するように、本発明に係るSARM化合物は、上記した貧血の1つ又は複数のタイプの貧血を、予防及び／又は治療するのに役立つ。

40

【0171】

50

“肥満”という用語は、その人の正常な体重を大きく超過した状態を意味する。従来、理想的な体重を20%超過すると肥満であると見なされる。肥満とは肥満度指数（Body to Mass Index：BMI）が30以上であると、国立衛生研究所（National Institute of Health：NIH）によってより正確に定義されている。多くの場合、肥満は多因子性であり、遺伝的要素及び行動的要素の双方に起因する。肥満による体重超過は、健康に大きく影響し、次のような様々な病気を発症するリスクを増大させる。2型（成人）糖尿病、高血圧、脳卒中（脳血管障害、CVA：cerebrovascular accident）、心臓麻痺（心筋梗塞、MI：myocardial infarction）、心不全（うっ血性心不全）、癌（前立腺、大腸、直腸癌など）、胆石及び胆嚢の病気（胆嚢炎）、痛風及び痛風関節炎、膝、臀部及び下背の骨関節炎（変性性関節炎）、睡眠時無呼吸（睡眠時の呼吸不全、血中酸素濃度の低下）、及びピックウィック症候群（肥満、赤面、呼吸低下、及び傾眠）など。ここに定義するように、“肥満”という用語は、上記した肥満に関連する病気のいずれか1つを含む。したがって、本発明に係るSARM化合物は、肥満及び上記した肥満に関連する病気のいずれか1つ又は複数を、予防及び／又は治療するのに役立つ。

10

20

30

40

50

【0172】

“前立腺癌”という用語は、米国の男性に最も頻繁に発生する癌の1つであり、毎年、数百から数千人の新規患者が前立腺癌であると診断されている。前立腺癌であると診断された新規患者の60%以上が病的に進行しており、不治であり、予後は思わしくないと認められる。50歳以上の全男性の3分の1は、生命にかかわる臨床的な前立腺癌の形態を活性化させる潜在性の前立腺癌を有している。潜在性の前立腺腫瘍の発生頻度は、50代（5.3～14%）から90代（40～80%）までの間で、10年間毎に大幅に増加することが知られている。全ての文化、民族及び人種の間で、潜在性の前立腺癌を有している人が同じように増えているが、臨床的に悪性な癌の発生頻度は著しく異なる。このことは、潜在性の前立腺癌を活性化させる上で、環境の要因が重要な役割を果たしていることを示唆している。

【0173】

《医薬組成物》

【0174】

ある実施形態では、本発明に係る治療方法は、SARM化合物（例えば、本発明に係るSARM代謝物）を含んでいる医薬組成物を投与するステップを含んでいる。他の実施形態では、本発明に係る治療方法は、SARM化合物（例えば、本発明に係るSARM代謝物）の類似体、誘導體、異性体、代謝産物、薬学的に許容される塩、医薬品、水和物、N酸化物、多形体、結晶、又はこれらの任意の組み合わせと、薬学的に許容される担体とを含んでいる医薬組成物を投与するステップを含んでいる。

【0175】

本明細書中における“医薬組成物”は、薬学的に許容される担体又は希釈液と共に、“有効な量”の活性成分（すなわちSARM化合物）を含んでいる組成物である。

【0176】

本明細書中における“有効な量”は、与条件及び投薬計画に治療効果を与える量を意味する。本明細書中におけるSARM化合物の“有効な量”は、1～500mg/日の範囲である。ある実施形態では、投与量は1～100mg/日の範囲である。他の実施形態では、投与量は100～500mg/日の範囲である。他の実施形態では、投与量は45～60mg/日の範囲である。他の実施形態では、投与量は15～25mg/日の範囲である。他の実施形態では、投与量は55～65mg/日の範囲である。他の実施形態では、投与量は45～60mg/日の範囲である。SARM化合物は、1日1回の投与でもよい（その場合は、1回で1日分を投与する）、1日2回、1日3回などの1日に複数回に分けての投与でもよい。また、SARM化合物は、1日おき、週に3日、週に4日、週に5日など断続的に投与することもできる。

【0177】

本明細書中における“治療”という用語は、病気を軽減する治療は勿論のこと、予防も

含んでいる。ここで使用される“減少”、“抑止”及び“抑制”という用語は、一般的な解釈では、「低下」又は「減少」の意味である。ここで使用される“促進 (facilitating)”という用語は、一般的な解釈では、割合の増加を意味する。ここで使用される“助長 (promoting)”という用語は、一般的な解釈では、増加を意味する。ここで使用される“進行”という用語は、範囲や重傷度の増大、進行、成長、又は悪化を意味する。

【0178】

ここで使用される“投与”という用語は、本発明に係るSARM化合物を患者に接触させることを意味する。ここで使用される“投与”という用語は、インビトロ（すなわち試験管内）又はインビボ（すなわち、例えばヒトなどの生体の細胞又は組織内）で実施される。ある実施形態では、本発明は、本発明に係る化合物を患者に投与することを含んでいる。ある実施形態では、患者は哺乳類である。他の実施形態では、患者はヒトである。 10

【0179】

本発明に係るSARM物質を含んでいる医薬組成物は、例えば、非経口、側癌的 (paracancerally)、経粘膜、経皮、筋肉内、静脈内、皮内、皮下、腹膜内、脳室内、脳内、腔内又は腫瘍内投与などの当業者に周知の方法によって患者に投与される。

【0180】

ある実施形態では、本発明に係る医薬組成物は経口投与される。そのため、本発明に係る医薬組成物は、経口投与に適した形態（すなわち、固形又は液体製剤）に製剤化される。適切な経口用固形製剤としては、錠剤、カプセル、ピル、顆粒、ペレットなどがある。また、適切な経口用液体製剤としては、溶液、懸濁液、分散液、乳濁液、油などがある。本発明のある実施形態では、SARM化合物はカプセル状に製剤化される。この実施形態では、本発明に係る組成物は、SARM活性化化合物及び不活性担体（又は希釈液）に加えて、硬ゲル化カプセルを含む。 20

【0181】

さらに、他の実施形態では、本発明に係る医薬組成物は、液体製剤の静脈内注射、動脈内注射又は筋肉内注射によって投与される。適切な液体製剤としては、溶液、懸濁液、分散液、乳濁液、油などがある。ある実施形態では、本発明に係る医薬組成物は、静脈内投与に適した形態に製剤化され、静脈内に投与される。他の実施形態では、本発明に係る医薬組成物は、動脈内投与に適した形態に製剤化され、動脈内に投与される。他の実施形態では、本発明に係る医薬組成物は、筋肉内投与に適した形態に製剤化され、筋肉内に投与される。 30

【0182】

さらに、他の実施形態では、本発明に係る医薬組成物は、局所投与に適した形態に製剤化され、体の表面に局所的に投与される。適切な局所性製剤としては、ゲル、軟膏、クリーム、ローション、液滴などがある。局所的に投与するために、SARM物質又はその誘導体であって生理学的に相容性を示すもの（例えば塩、エステル、N酸化物）を作成し、薬品担体を用いて又は用いることなく、生理学的に認容される希釈液と共に、水溶液、懸濁液、又は乳状液として投与される。

【0183】

さらに、他の実施形態では、本発明に係る医薬組成物は、直腸座薬や尿道座薬などの座薬として投与される。さらに、他の実施形態では、本発明に係る医薬組成物は、ペレットの皮下埋め込みによって投与される。さらなる実施形態では、ペレットは、長期間に渡ってSARM物質を制御放出する。 40

【0184】

他の実施形態では、活性化化合物は、小胞（特にリポソーム）に送達される。詳細については、Langer, Science 249: 1527-1533, 1990; Treat et al., in Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer, Lopez-Berestein and Fidler (eds.), Liss, New York, 353-365, 1989; Lopez-Berestein, ibid, 317-327を参照されたい（主にibidを参照されたい）。

【0185】

本明細書中における“薬学的に許容される担体又は希釈液”は、当業者に周知である。担体又は希釈液としては、固形製剤用の固形担体又は希釈液、液体製剤用の液体担体又は希釈液、又はこれらの混合物がある。

【0186】

固形製剤／希釈液としては、ガム、デンプン（例えばコーンのデンプン、予めゲル化されたデンプン）、糖（例えば乳糖、マンニトール、ショ糖、ブドウ糖）、セルロース系材料（例えば微結晶性セルロース）、アクリル酸塩（例えばポリメチルアクリレート）、炭酸カルシウム、酸化マグネシウム、滑石、又はこれらの混合物がある（ただし、これらに限定されるものではない）。

【0187】

液体製剤の場合、薬学的に許容される担体としては、水溶性或いは非水性の溶液、懸濁液、乳濁液、又は油がある。非水溶媒の例としては、プロピレン・グリコール、ポリエチレン・グリコールや、注射用有機エステル（例えばオレイン酸エチル）がある。水溶性担体としては、水、アルコール性／水溶性の溶液、乳濁液又は懸濁液（生理食塩水及び緩衝培地を含む）がある。油の例としては、石油、動物性、植物性、又は合成されたものがある（例えばラッカセイ油、大豆油、鉱油、オリーブ油、ひまわり油、魚肝油）。

【0188】

非経口媒体（皮下注射、静脈内注射、動脈内注射、又は筋肉内注射用）としては、塩化ナトリウム溶液、リンガー・デキストロース、デキストロース及び塩化ナトリウム、乳酸加リンガーオイル及び固定油がある。経静脈媒体としては、液体及び栄養補充薬、電解質補充薬（例えばリンガー・デキストロースに基づくもの）などがある。一例としては、界面活性剤及び他の薬学的に許容されるアジュバントを添加した又は添加しない、水や油などの無菌液がある。一般的に、水、生理食塩水、水溶性デキストロースや関連糖液、及びグリコール（例えばプロピレン・グリコールやポリエチレン・グリコール）は、液体担体として適している（特に、注射用溶液に適している）。油の例としては、石油、動物性、植物性又は合成されたものがある（例えばラッカセイ油、大豆油、鉱油、オリーブ油、ひまわり油、魚肝油）。

【0189】

また、本発明に係る医薬組成物は、さらに、結合剤（例えば、アカシア、コーンスターチ、ゼラチン、カルボマー、エチルセルロース、グアールガム、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポビドン）、崩壊剤（例えば、コーンスターチ、ジャガイモデンプン、アルギン酸、二酸化ケイ素、クロスカルメロースナトリウム、クロスポビドン、グアールガム、澱粉グリコール酸エステルナトリウム）、様々なpH及びイオン強度の緩衝液（例えば、トリス-HCl、アセテート、リン酸塩）、界面に対する吸収を防止するための添加物（例えば、アルブミン又はゼラチン）、洗剤（例えば、トウィーン20、トウィーン80、プルロニックF68、胆汁酸塩）、プロテアーゼインヒビター、界面活性剤（例えば、ラウリル硫酸ナトリウム）、浸透エンハンサー、可溶化剤（例えば、グリセロール、ポリエチレングリセロール）、抗酸化剤（例えば、アスコルビン酸、メタ重亜硫酸ナトリウム、ブチルヒドロキシアニソール）、安定剤（例えば、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース）、粘度上昇剤（例えば、カルボマー、コロイド状二酸化ケイ素、エチルセルロース、グアールガム）、甘味料（例えば、アスパルテム、クエン酸）、防腐剤（例えば、チメロサル、ベンジルアルコール、パラオキシ安息香酸エステル類）、潤滑剤（例えば、ステアリン酸、ステアリン酸マグネシウム、ポリエチレン・グリコール、ラウリル硫酸ナトリウム）、流動助剤（例えば、コロイド状二酸化ケイ素）、可塑剤（例えば、フタル酸ジエチル、クエン酸トリエチル）、乳化剤（例えば、カルボマー、ヒドロキシプロピルセルロース、ラウリル硫酸ナトリウム）、ポリマーコーティング（例えば、ポロキサマー、ポロキサミン）、被覆及び膜形成剤（例えば、エチルセルロース、アクリル酸塩、ポリメタクリル酸塩）、及び／又は、アジュバントを含むことができる。

【0190】

10

20

30

40

50

ある実施形態では、本発明に係る医薬組成物は、投与後にSARM化合物を長期間に渡って放出する制御放出組成物である。制御又は持続放出組成物としては、脂溶性の持続性製剤（例えば、脂肪酸、ワックス、オイル）がある。他の実施形態では、本発明に係る医薬組成物は、投与後に全てのSARM化合物を直ちに放出する即放組成物である。

【0191】

さらに他の実施形態では、本発明に係る医薬組成物は、制御放出システムによって送達される。例えば、前記製剤は、静脈内注入、植込型浸透圧ポンプ、経皮パッチ、リポソーム、又は他の投与形態により投与される。ある実施形態では、ポンプを使用することができる（例えば、Langer, supra; Sefton, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201, 1987; Buchwald et al., Surgery 88:507, 1980; Saudek et al., N. Engl. J. Med. 321:574, 1989を参照されたい）。他の実施形態では、高分子材料を使用することができる。さらに他の実施形態では、制御放出システムは、治療標的すなわち脳の近くに設けることができる。その場合、必要とされる投与量は、全身投与量と比べるとほんの少量である（例えば、Goodson, in Medical Applications of Controlled Release, supra, vol. 2, pp.115-138, 1984を参照されたい）。他の制御放出システムは、Langer (Science 249:1527-1533, 1990) によるレビューに記載されている。

【0192】

本発明に係る医薬組成物は、活性物質を、ポリマー化合物（例えば、ポリ乳酸、ポリグリコール酸、ヒドロゲルなど）の粒子状製剤や、リポソーム、マイクロエマルジョン、ミセル、単層或いは多層状の小胞、赤血球ゴースト、又はスフェロプラストなどの活性物質と結合させることを含む。そのような組成物は、物理的状态、溶解度、安定性、インビボでの放出速度、及びインビボでの排出速度に影響を与える。

【0193】

ポリマー（例えば、ポロキサマー又はポロキサミン）でコートされた粒子状組成物も本発明に含まれる。また、組織特異性受容体、リガンド又は抗原に対する抗体と結合した化合物や、組織特異性受容体のリガンドと結合した化合物も本発明に含まれる。

【0194】

また、水溶性ポリマーの共有結合によって修飾された化合物も本発明に含まれる。前記水溶性ポリマーとしては、例えば、ポリエチレン・グリコール、ポリエチレン・グリコールとポリプロピレン・グリコールのコポリマー、カルボキシメチル・セルロース、デキストラン、ポリビニル・アルコール、ポリビニルピロリドン、及びポリプロリンがある。これらの修飾された化合物は、対応する修飾されていない化合物と比較すると、静脈注射後に血液中で著しく長い半減期を示すことが知られている（詳しくは、Abuchowski et al., 1981; Newmark et al., 1982; 及び Katre et al., 1987を参照されたい）。また、そのような修飾は、化合物の水溶液中での溶解度を高め、凝集を防止し、化合物の物理的及び化学的安定性を向上させ、化合物の免疫原性及び反応性を著しく低下させる。そのため、前記ポリマー化合物を、修飾されていない化合物よりも低い頻度で又は少ない用量で投与することにより、インビボでの望ましい生物学的活性を得ることができる。

【0195】

活性成分を含有する医薬組成物の作成は、当該技術分野で公知である（例えば、混合、顆粒化、又は錠剤製剤化によって作成する）。活性治療成分は、多くの場合は、薬学的に許容されるかつ活性化成分と適合する媒体と混合される。経口投与の場合は、SARM物質又はその誘導体であって生理学的に耐容性を示すもの（例えば、塩、エステル、N酸化物）は、この目的に通常使用される添加物（例えば、媒体、安定剤、不活性希釈液）と混合され、通常の方法によって投与に適した形態（例えば、錠剤、コート錠、硬ゼラチンカプセル、軟ゼラチンカプセル、水溶性、アルコール性溶液、油性溶液）に変換される。非経口投与の場合は、SARM物質又はその誘導体であって生理学的に耐容性を示すもの（例えば、塩、エステル、N酸化物）は、必要に応じて、この目的に通常使用される適切な物質（例えば可溶化剤）によって、溶液、懸濁液又は乳濁液に変換される。

【0196】

活性成分は、中和された薬学的に許容される塩の形態で、医薬組成物内に配合することができる。薬学的に許容される塩としては、例えば、無機酸（例えば、塩酸、リン酸）や有機酸（例えば、酢酸、シュウ酸、酒石酸、マンデル酸）により生成された酸付加塩（ポリペプチド又は抗体分子の遊離アミノ基により生成される）がある。遊離カルボキシル基から生成される塩は、例えば、無機塩（例えば、ナトリウム、カリウム、アンモニウム、カルシウム、水酸化第二鉄）や、有機塩基（例えば、イソプロピルアミン、トリメチルアミン、2-エチルアミノエタノール、ヒスチジン、プロカイン）からも生成できる。

【0197】

医学的に使用するために、本発明に係るSARMの塩を、薬学的に許容される塩として使用することができる。また、本発明に係る化合物又はその薬学的に許容される塩の作成に、他の塩を使用することができる。本発明に係る化合物の適切な薬学的に許容される塩としては、例えば、本発明に係る化合物の溶液と、薬学的に許容される酸（例えば、塩酸、硫酸、メタンスルホン酸、フマル酸、マレイン酸、コハク酸、酢酸、安息香酸、シュウ酸、クエン酸、酒石酸、炭酸、リン酸）の溶液とを混合することによって作成した酸付加塩がある。

10

【0198】

ある実施形態では、本発明に係る方法は、SARM化合物を唯一の活性化成分として投与するステップを含む。また一方、SARM化合物を1つ又は複数の治療物質と組み合わせて投与するステップを含む、次の(a)～(h)の方法も本発明の範囲に含まれる。(a)男性の避妊。(b)様々なホルモンに関連する病気（例えば、高齢男性におけるアンドロゲン減少(Androgen Decline in Aging Male: ADAM)に関連する病気）の治療。(c)女性におけるアンドロゲン減少(Androgen Decline in Female: ADIF)に関連する病気の治療。(d)急性及び/又は慢性の筋萎縮症の治療及び/又は予防。(e)ドライアイの治療及び/又は予防。(f)経口アンドロゲン補充療法。(g)前立腺癌の発生率の減少、前立腺癌の進行抑制又は退行。(h)癌細胞のアポトーシスの誘発。前記治療物質としては、LHRH類似体、可逆的抗アンドロゲン、抗エストロゲン、抗癌剤、5- α レダクターゼ阻害剤、アロマトラーゼ阻害剤、プロゲスチン、又は他の核ホルモン受容体を介して作用する物質がある（ただし、これらに限定されるものではない）。

20

【0199】

したがって、ある実施形態では、本発明は、LHRH類似体と組み合わせて投与される、SARM代謝物を含んでいる組成物及び医薬組成物を提供する。他の実施形態では、本発明は、可逆的抗アンドロゲンと組み合わせて投与される、SARM化合物を含んでいる組成物及び医薬組成物を提供する。他の実施形態では、本発明は、抗エストロゲンと組み合わせて投与される、SARM化合物を含んでいる組成物及び医薬組成物を提供する。他の実施形態では、本発明は、抗癌剤と組み合わせて投与される、SARM化合物を含んでいる組成物及び医薬組成物を提供する。他の実施形態では、本発明は、5- α レダクターゼ阻害剤と組み合わせて投与される、SARM化合物を含んでいる組成物及び医薬組成物を提供する。他の実施形態では、本発明は、アロマトラーゼ阻害剤と組み合わせて投与される、SARM化合物を含んでいる組成物及び医薬組成物を提供する。他の実施形態では、本発明は、プロゲスチンと組み合わせて投与される、SARM化合物を含んでいる組成物及び医薬組成物を提供する。他の実施形態では、本発明は、他の核ホルモン受容体を介して作用する物質と組み合わせて投与される、SARM化合物を含んでいる組成物及び医薬組成物を提供する。

30

40

【0200】

以下の実施例は、本発明の実施形態をより詳細に説明するためのものである。ただし、これらの実施例は、本発明の範囲を限定するものではない。

【実施例】

【0201】

《実施例1：アンドロゲン活性及びタンパク同化作用を有する非ステロイド性リガンド》

50

【0202】

ここに示したいくつかのSARM化合物を、デザイン及び合成し、インビトロ及びインビボでの薬理的活性を評価した。去勢動物における、インビトロでのアンドロゲン受容体の結合親和性と、アンドロゲン依存性組織成長を維持する能力とを実験した。重量によって測定される、SARM化合物が前立腺及び精囊の成長を維持及び／又は刺激する能力として、アンドロゲン活性をモニタした。また、重量によって測定される、SARM化合物が肛門挙筋の成長を維持及び／又は刺激するの能力として、タンパク同化作用をモニタした。

【0203】

<合成方法>

10

【0204】

(2R)-1-メタクリロイルピロリジン-2-カルボン酸(R-129)。D-プロリン(R-128、14.93g、0.13mol)を2NのNaOH(71mL)に溶解させ、氷浴で冷却し、得られたアルカリ溶液をアセトン(71mL)で希釈した。氷浴で、D-プロリンの水溶液に、塩化メタクリロイル127(13.56g、0.13mol)のアセトン溶液(71mL)と2NのNaOH溶液(71mL)とを同時に加えた(40分間以上)。塩化メタクリロイルを加える間は、10~11℃で混合物のpHを維持した。攪拌後(3時間、室温)、35~45℃の温度で混合物を真空蒸発させて、アセトンを除去した。得られた溶液をエチルエーテルで洗浄し、濃縮HClによってpH=2まで酸性化した。酸性混合物をNaClで飽和させ、EtOAc(100mL×3)で抽出した。複合抽出物をNa₂SO₄で乾燥させ、セライト(Clite)でろ過し、真空蒸発させ、粗生成物である無色油を得た。エチルエーテル及びヘキサンからの油の再結晶により、16.2(68%)の所望の化合物である無色結晶が得られた。mp 102-103℃(lit. [214] mp 102.5-103.5℃)；この化合物のNMRスペクトルは、標記の化合物に2つの回転異性体が存在することを証明した。第1の回転異性体については、¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆) δ 5.28(s)及び5.15(s)であり、第2の回転異性体については5.15(s)及び5.03(s)である(両方の回転異性体の合計は2H、ビニルCH₂)、第1の回転異性体については4.48-4.44(m)、第2の回転異性体については4.24-4.20(m)であり、(両方の回転異性体の合計は1H、CH、キラル中心で)、3.57-3.38(m, 2H, CH₂)、2.27-2.12(1H, CH), 1.97-1.72(m, 6H, CH₂, CH, Me)；¹³C NMR(75MHz, DMSO-d₆) δは、主要な回転異性体については173.3, 169.1, 140.9, 116.4, 58.3, 48.7, 28.9, 24.7, 19.5であり、他方の回転異性体については174.0, 170.0, 141.6, 115.2, 60.3, 45.9, 31.0, 22.3, 19.7である。IR(KBr) 3437(OH), 1737(C=O), 1647(CO, COOH), 1584, 1508, 1459, 1369, 1348, 1178 cm⁻¹；[α]_D²⁶ +80.8°(c=1, MeOH)；C₉H₁₃NO₃に対するAnal. Calcd.；C:59.00, H:7.15, N:7.65. Found；C:59.13, H:7.19, N:7.61。

40

【0205】

(3R, 8aR)-3-ブロモメチル-3-メチル-テトラヒドロ-ピロロ[2, 1c][1, 4]オキサジン-1, 4-ジオン(R, R-130)。室温、アルゴン下で、NBS(23.5g、0.132mol)を溶解させたDMF(100mL)を、70mLのDMFに化合物R-129(16.1g、88mmol)を溶解させた攪拌溶液に滴下し、得られた混合物を3日間攪拌した。真空蒸発により溶媒を除去し、黄色固体を沈殿させた。固体を水中で懸濁させ、室温で一晩攪拌して、ろ過し、乾燥し、黄色固体として18.6(81%)(乾燥時には重量が小さくなる~34%)の標記の化合物を得た。mp 152-154℃(lit. [214] mp 107-109℃、S-異性体については)；¹H NMR(300MHz, DMSO-d₆) δ 4.69(dd, J=9.6Hz

50

, $J = 6.7 \text{ Hz}$, 1 H , CH 、キラル中心で), 4.02 (d, $J = 11.4 \text{ Hz}$, 1 H , CHH_a), 3.86 (d, $J = 11.4 \text{ Hz}$, 1 H , CHH_b), $3.53 - 3.24$ (m, 4 H , CH_2), $2.30 - 2.20$ (m, 1 H , CH), $2.04 - 1.72$ (m, 3 H , CH_2 及び CH), 1.56 (s, 2 H , Me); ^{13}C NMR (75 MHz , $\text{DMSO}-d_6$) δ 167.3 , 163.1 , 83.9 , 57.2 , 45.4 , 37.8 , 29.0 , 22.9 , 21.6 ; IR (KBr) 3474 , 1745 ($\text{C}=\text{O}$), 1687 ($\text{C}=\text{O}$), 1448 , 1377 , 1360 , 1308 , 1227 , 1159 , 1062 cm^{-1} ; $[\alpha]_D^{26} +124.5^\circ$ ($c = 1.3$, クロロホルム), $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{BrNO}_3$ に対する Anal. Calcd. C: 41.24 , H: 4.61 , N: 5.34 . Found; C: 41.46 , H: 4.64 , N: 5.32 .

10

【0206】

(2R)-3-ブロモ-2-ヒドロキシ-2-メチルプロピオン酸 (R-131)。300 mL の 24% HBr に、プロモラクトン (bromolactone) R-130 (18.5 g、71 mmol) を溶解させた混合物を 1 時間還流加熱した。得られた溶液を塩水 (200 mL) で希釈し、エチルアセテート (100 mL $\times$ 4) で抽出した。複合抽出物を飽和 NaHCO_3 溶液 (100 mL $\times$ 4) で洗浄した。水溶液を濃縮 HCl で pH = 1 まで酸性化した後、エチルアセテート (100 mL $\times$ 4) で抽出した。複合有機溶液を Na_2SO_4 で乾燥させ、セライトでろ過し、真空で蒸発乾固させた。トルエンから再結晶することにより、10.2 g (86%) の所望の化合物が無色結晶として産出された。mp $107-109^\circ\text{C}$ (lit. [214] mp $109-113^\circ\text{C}$ for the S-isomer); ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 3.63 (d, $J = 10.1 \text{ Hz}$, 1 H , CHH_a), 3.52 (d, $J = 10.1 \text{ Hz}$, 1 H , CHH_b), 1.35 (s, 3 H , Me); IR (KBr) 3434 (OH), $3300-2500$ (COOH), 1730 ($\text{C}=\text{O}$), 1449 , 1421 , 1380 , 1292 , 1193 , 1085 cm^{-1} ; $[\alpha]_D^{26} +10.5^\circ$ ($c = 2.6$, MeOH); Anal. Calcd. for $\text{C}_4\text{H}_7\text{BrO}_3$: C 26.25, H 3.86. Found: C 26.28, H 3.75.

20

【0207】

N-[4-ニトロ-3-(トリフルオロメチル)フェニル]-(2R)-3-ブロモ-2-ヒドロキシ-2-メチルプロパンアミド (R-132)。塩化チオニル (8.6 g、71 mmol) を、70 mL の DMA にプロモ酸 R-131 (11.0 g、60 mmol) を溶解させた溶液に、5 ~ -10°C 、アルゴン下で滴下した。得られた混合物を同一条件下で 2 時間攪拌した。上記溶液に、80 mL の DMA に 4-ニトロ-3-(トリメチル-アニリン) (12.4 g、60 mmol) が溶解した溶液を滴下し、得られた混合物を室温で一晩攪拌した。高真空オイルポンプを用いて、回転エバポレータ (Rotavapor) 上で溶媒を除去した。残余を飽和 NaHCO_3 溶液で希釈し、エチルエーテル (100 mL $\times$ 3) で抽出した。複合抽出物を無水 Na_2SO_4 で乾燥させ、セライトでろ過し、溶離液として塩化メチレンを使用してフラッシュクロマトグラフィーによってシリカゲルで精製し、18.0 g (80%) の所望の化合物を得た。mp $98-100^\circ\text{C}$ ($R_f = 0.2$, シリカゲル, CH_2Cl_2); ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.54 (s, 1 H , NH), 8.54 (d, $J = 2.1 \text{ Hz}$, 1 H , ArH), 8.34 (dd, $J = 9.0 \text{ Hz}$, $J = 2.1 \text{ Hz}$, 1 H , ArH), 8.18 (d, $J = 9.0 \text{ Hz}$, 1 H , ArH), 6.37 (s, 1 H , OH), 3.82 (d, $J = 10.4 \text{ Hz}$, 1 H , CHH_a), 3.58 (d, $J = 10.4 \text{ Hz}$, 1 H , CHH_b), 1.48 (s, 3 H , Me), ^{13}C NMR (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 173.6 ($\text{C}=\text{O}$), 143.0 , 127.2 , 123.2 , 122.6 (q, $J = 33.0 \text{ Hz}$), 122.0 (q, $J = 271.5 \text{ Hz}$), 118.3 (q, $J = 6.0 \text{ Hz}$), 74.4 , 41.4 , 24.9 ; IR (KBr) 3344 (OH), 1680 ($\text{C}=\text{O}$), 1599 , 1548 ($\text{C}=\text{C}$, Ar), 1427 , 1363 , 1161 cm^{-1} ; MS (ESI): m/z 370.8 (M^+); Anal. Calcd. for $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{BrN}_2\text{O}_4$: C 35.60, H 2.72, N 7.55. Found: C 35.68, H 2.72, N 7.49.

30

40

【0208】

N-[4-ニトロ-3-(トリフルオロメチル)フェニル]-(2S)-3-[4-(アセチルアミノ)フェノキシ]-2-ヒドロキシ-2-メチルプロパンアミド (S-147、化合物 21)。標記の化合物を、化合物 R-132 (0.37 g、1.0 mmol) と、4-アセトアミドフェノール (0.23 g、1.5 mmol) と、 K_2CO_3 (0.28 g、2.0 mmol) と、相間移動触媒としての 10% の塩化ベンジルトリブチルア

50

ンモニウムを20 mLのメチルエチルケトンに溶解させたものから作成し、アルゴン下で一晩還流加熱した。TLC後に反応が行われ、得られた混合物をセライトでろ過し、真空で濃縮して乾燥させた。フラッシュカラムクロマトグラフィーによるシリカゲル（ヘキサノーエチルアセテート，3：1）での精製は、0.38 g（86%）（ $R_f = 0.18$ ヘキサノーエチルアセテート，3：1）の所望の化合物を淡黄色粉末として算出した。mp 70-74°C，固体はエチルアセテート及びヘキサンから再結晶化可能； ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 10.62 (s, 1H, NH), 9.75 (s, 1H, NH), 8.56 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H, ArH), 8.36 (dd, $J = 9.1$ Hz, $J = 1.9$ Hz, 1H, ArH), 8.18 (d, $J = 9.1$ Hz, 1H, ArH), 7.45-7.42 (m, 2H, ArH), 6.85-6.82 (m, 2H, ArH), 6.25 (s, 1H, OH), 4.17 (d, $J = 9.5$ Hz, 1H, CH H_a), 3.94 (d, $J = 9.5$ Hz, 1H, CH H_b), 1.98 (s, 3H, Me), 1.43 (s, 3H, Me); ^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ 174.6 (C=O), 167.7, 154.2, 143.3, 141.6, 132.8, 127.4, 123.0, 122.7 (q, $J = 33.0$ Hz), 122.1 (q, $J = 271.5$ Hz), 120.1, 118.3 (q, $J = 6.0$ Hz), 114.6, 74.9, 73.8, 23.8, 23.0; IR (KBr) 3364 (OH), 1668 (C=O), 1599, 1512 (C=C, Ar), 1457, 1415, 1351, 1323, 1239, 1150 1046 cm^{-1} ; MS (ESI): m/z 464.1 ($M+\text{Na}$) $^+$, Anal. Calcd. for $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_6$: C 51.71, H 4.11, N 9.52. Found: C 52.33, H 4.40, N 9.01.

【0209】

様々な化合物の合成は、最終反応段階である共通中間体を利用する。様々なフェノール化合物の臭化物を置換して所望のエーテル生成物を生成する臭素中間体が用いられる。ブロモヒドリン（Bromohydrin）はエポキシドに変換され、エポキシドを開裂させて同一の所望のエーテル生成物を生成する。

【0210】

SARM化合物（特に化合物IV）のインビトロ活性は、高いアンドロゲン受容体結合親和性（ $K_i = 7.5$ nM）を示した。SARM化合物（特に化合物IV）を使用した動物実験は、当該化合物が強力な非ステロイド性のアンドロゲン薬（男性ホルモン薬）及びアナボリック薬（タンパク同化薬）であることを実証した。これらの実験には4つのラット群、すなわち、（1）無傷対照、（2）去勢対照、（3）プロピオン酸テストステロン（100 $\mu\text{g}/\text{日}$ ）で処置した去勢動物、（4）化合物IV（1000 $\mu\text{g}/\text{日}$ ）で処置した去勢動物を用いた。テストステロン及び化合物IVの送達は、皮下浸透圧ポンプによって、一定の速度で14日間行われた。

【0211】

これらの実験の結果を図1に示す。去勢は、アンドロゲン組織（例えば前立腺や精嚢）及びタンパク同化組織（例えば肛門挙筋）の重量を著しく減少させたが、動物の体重（Body Weight: BW）にはほとんど影響しなかった。去勢動物をプロピオン酸テストステロンまたは化合物IVにより処置すると、アンドロゲン組織の重量は同程度に維持された。化合物IVは、プロピオン酸テストステロンと同様のアンドロゲン活性を有する（すなわち、前立腺重量と精嚢重量は同じである）が、タンパク同化剤としての有効性はより高かった。化合物IVは、検査した用量でプロピオン酸テストステロンよりも高いタンパク同化作用を示した（すなわち肛門挙筋は無傷対照動物と同じ重量に維持され、テストステロンで観察されたものよりも大きかった）。これらの発見は、アンドロゲン受容体に対する非ステロイド性リガンドの組織選択的なアンドロゲン活性及びタンパク同化作用（すなわち、異なるアンドロゲン及びタンパク同化効能）を示す最初のインビボでの結果である。

【0212】

《実施例2：アンドロゲン活性及びタンパク同化作用を有する非ステロイド性リガンド》

【0213】

4つの非ステロイド性アンドロゲン（化合物III、IV、VI及びVII）の、インビボでのラットに対する有効性及び急性毒性を実験した。インビトロでの分析は、これらの化合物が非常に高い親和力でアンドロゲン受容体と結合することを実証している。4つの化合物の構造及び名称を以下に示す。

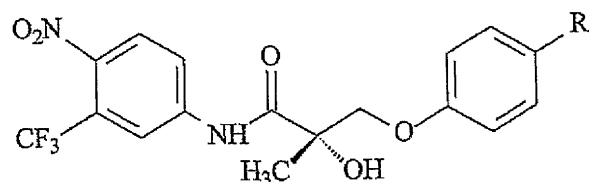
10

20

30

40

50



化合物 I I I R = F

化合物 I V R = N H C O C H₃

化合物 V I R = C O C H₃

化合物 V I I R = C O C₂ H₅

10

【0214】

〈実験方法〉

【0215】

材料について。化合物 I I I、I V、V I 及び V I の S 異性体と、化合物 I I I の R 異性体は、図 9 に示したスキームに従って合成された。プロピオン酸テストステロン (Testosterone propionate: TP)、ポリエチレングリコール 300 (PEG 300、試薬等級) 及び中性緩衝ホルマリン (10% w/v) は、シグマケミカル社 (Sigma Chemical Company; St Louis, MO) から購入した。アルゼット浸透圧ポンプ (2002 年モデル) は、

20

【0216】

動物について。体重 90~100 g の未成熟なオスの S D (Sprague-Dawley) ラットをハーラン・バイオサイエンス社から購入した。動物は、適宜食料及び水を与えながら 12 時間の明暗サイクルで飼育した。動物実験計画書は、研究機関内の動物の管理および使用に関する委員会によって審査及び承認されたものである。

【0217】

研究デザインについて。ラットを、各群に 5 匹ずつ、29 の群に無作為に分けた。処置群については表 1 に示す。薬物処置開始の前日に、群 2~29 の動物を、個々に檻から出して、重量を測定し、ケタミン/キシラジン (87/13 mg/kg; 1 kg 当たり約 1 mL) の腹腔内投与で麻酔した。適切に麻酔された後 (つま先をつまんでも反応がない状態)、動物の耳に識別のための印を付けた。動物は、その後無菌パッド上に置き、腹部及び陰嚢をベータダイン液及び 70% アルコールで洗浄した。精巣は、正中陰嚢切開によって取り出した。各精巣の外科的除去に先立って、上精巣組織は無菌縫合を使用して縫合した。外科的創傷部位を、無菌ステンレス鋼創傷クリップで閉じ、その部位はベータダイン液で洗浄した。動物は、無菌パッド上で (立つことができるまで) 回復させた後、檻に戻した。

30

【0218】

24 時間後、群 2~29 の動物をケタミン/キシラジンで再び麻酔し、肩甲部の皮下にアルゼット浸透圧ポンプ (2002 年モデル) を埋め込んだ。この場合は、肩甲部を剪毛及び洗浄し (ベータダイン液及びアルコールで)、無菌メスを用いて小さく (1 cm) 切開した。浸透圧ポンプを挿入し、創傷は無菌ステンレス鋼創傷クリップで閉じた。動物は回復させた後、檻に戻した。浸透圧ポンプに、ポリエチレングリコール 300 (PEG 300) に溶解させた適切な処理剤 (表 1 に指定されている) を充填した。移植の前日に、浸透圧ポンプに適切な溶液を充填した。動物の、薬物処理に対する急性毒性の兆候 (例えば嗜眠、粗い外皮) の有無をモニタした。

40

【0219】

薬物処置の 14 日後、ラットをケタミン/キシラジンで麻酔した。動物を、麻酔下で放血安楽死させた。全血細胞分析のために、腹大動脈の静脈穿刺によって血液サンプルを回収した。血液の一部を分離チューブに入れ、12,000 g で 1 分間遠心分離して血漿層

50

を除去した後、 -20°C で冷凍した。腹側の前立腺、精嚢、肛門挙筋、肝臓、腎臓、脾臓、肺及び心臓を除去し、外来性組織を取り除き、重量測定し、10%中性緩衝ホルマリン入りのバイアルに入れた。保存された組織は、組織病理学的分析のためにG T x社に送った。

【0220】

データ分析のために、全ての器官の重量は体重に規準化され、単一因子ANOVA（分散分析）により統計学的な有意差を分析した。前立腺及び精嚢重量はアンドロゲン作用の評価に対する指標として用いられ、肛門挙筋の重量はタンパク同化作用を評価するために用いられた。

【0221】

〈結果〉

【0222】

去勢ラットモデルにおける、投与14日後の化合物III、IV、VI及びVIIのS異性体、並びに、化合物IIIのR異性体のアンドロゲン活性及びタンパク同化作用を実験した。投与量を増やしながら投与したプロピオン酸テストステロンを、アンドロゲン活性及びタンパク同化作用効果の陽性対照として用いた。

【0223】

図2及び3に示すように、去勢され媒体処置されたラットの前立腺、精嚢及び肛門挙筋の重量は、内因性アンドロゲン生成物の切除によって、著しく減少した。プロピオン酸テストステロン、アンドロゲン、及びタンパク同化ステロイドの外来投与によって、去勢ラットの前立腺、精嚢及び肛門挙筋の重量は、投与量依存的に増加した。化合物IIIのR異性体と化合物VI及びVIIのS異性体は、去勢動物の前立腺、精嚢及び肛門挙筋の重量における効果は示さなかった（データは示さず）。化合物IVのS異性体（図2：V）及び化合物III（図3：III）は、前立腺、精嚢及び肛門挙筋の重量の投与量依存的な増加を示した。プロピオン酸テストステロンと比較して、化合物IVは、前立腺及び精嚢の重量増加については低い有効性及び固有活性を示したが、肛門挙筋重量の重量増加については高い有効性及び固有活性を示した。特に、化合物IVは、 0.3 mg/日 の投与量で、去勢動物における肛門挙筋重量の重量を、無傷動物における肛門挙筋重量の重量と同じレベルに保つことができた。したがって、化合物IVは、アンドロゲン活性に乏しく、タンパク同化作用がプロピオン酸テストステロンよりも高い、強力な非ステロイド性のアナボリック薬（タンパク同化薬）である。この化合物が、前立腺及び精嚢に作用することなく、筋肉の成長及び他の同化作用を選択的に刺激することは、従来と比べると、大きな改善である。このことは、前立腺癌を患っている高齢者において特に顕著である。

【0224】

化合物IIIは化合物IVより能力が弱い、高い高い組織選択性を示した（図2及び3における前立腺及び精嚢への効果と比べて）。化合物IIIは、肛門挙筋の重量を著しく増加させたが、前立腺及び精嚢の成長を刺激する能力をほとんど又は全く示さなかった（すなわち、前立腺及び精嚢の重量は、無処置動物又はプロピオン酸テストステロンで処置した動物のものと比べて20%以下であった）。

【0225】

この結果は、試験した化合物はどれも、体重又は他の器官（すなわち、肝臓、腎臓、脾臓、肺及び心臓）の重量に対して著しい影響を及ぼさなかったことを示す。また、どの化合物にも、処置を受けた動物の診断血液学試験及び視覚的検査によって測定されるような急性毒性の兆候は認められなかった。重要なことに、化合物IVは、 0.3 mg/日 の投与量（すなわち極大タンパク同化効果を示した投与量）では、黄体形成ホルモン（Luteinizing Hormone: LH）又は卵胞刺激ホルモン（Follicle Stimulating Hormone: FSH）の生成を抑制しなかった。

【0226】

要約すれば、化合物IVは、内部アンドロゲンの除去後に肛門挙筋の重量を維持することにより、動物において例外的なタンパク同化作用を示す。この発見は、治療に使用可能

10

20

30

40

50

な非ステロイド性アンドロゲンの開発において、大幅な進展を示す。また、このクラスの薬物において大幅な向上（すなわち、組織選択性及び有効性）を示す。化合物 I I I 及び I V は、アンドロゲン性及びタンパク同化ステロイドであるプロピオン酸テストステロンと比較すると、選択的なタンパク同化作用を示す。組織選択的活性は、代謝関連用途の点から見ると、実際に、非ステロイド性アンドロゲンの利点の 1 つである。

【0227】

構造及びインビトロでの機能活性が類似しているのにも関わらず、化合物 I I I ~ I V 及び V I ~ V I I の S 異性体は、インビボ活性の点では、大きな違いを示す。化合物 I V は動物に対するもっとも有効なアンドロゲン活性及び同化作用を示し、同化作用はプロピオン酸テストステロンよりも高い。化合物 I I I は、わずかなアンドロゲン活性を示すが、プロピオン酸テストステロンと同程度の同化作用を示す。対照的に、化合物 V I 及び V I I は、インビボでは、アンドロゲン及び同化活性を生成することができなかった。

10

【0228】

これらの研究は、強力なタンパク同化効果（例えば筋肉成長）かつ低いアンドロゲン活性（例えば前立腺成長）を示す、新規な選択的アンドロゲン受容体調節剤化合物（SARM）の 2 つのメンバー（I I I 及び I V）の発見を示す。この新規なクラスの薬剤は、男性及び女性の受精能の調節、赤血球形成、骨粗鬆症、性欲に関する潜在的な治療的使用及び前立腺癌の男性又は前立腺癌になる可能性が高い男性への潜在的な治療的使用などの、非選択的アンドロゲンに対する様々な利点を有している。

【0229】

20

さらに、図 7 及び図 8 は、ラットの LH レベル及び FSH レベルに対する化合物 I I I 及び化合物 I V の効果を示す。これらの結果は、前記 SARM の生殖ホルモンに対する異なる効果に起因する前記 SARM の新規性をさらに実証し、したがって組織特異薬理活性を実証する。図 7 では、TP 及び化合物 I I I で処置された去勢動物の LH レベルは、0.3 mg / 日に等しいかそれ以上の投与量で、無処置動物（すなわち去勢対照）の LH レベルより著しく低かった。しかし、LH レベルの著しい低下が観察される前には、高投与量（すなわち、0.5 mg / 日又はそれ以上）の化合物 I V が必要とされた。したがって、化合物 I V は、肛門挙筋成長の最大刺激を誘発可能な投与量では LH レベルを抑制しない。図 8 では、化合物 I I I で処置した去勢動物の FSH レベルは、0.5 mg / 日又はそれ以上の投与量で、無処置動物（すなわち去勢対照）の FSH レベルより著しく低かった。同様に、TP で処置した動物において、低い FSH レベルが観察された。しかし、この差は、0.75 mg / 日の投与量でのみ著しかった。化合物 I V で処置した動物の FSH レベルは、試験したどの投与量レベルでも無処置動物の FSH レベルとほとんど差がなかった。したがって、肛門挙筋成長の最大刺激を誘発可能な投与量では、化合物 I V は FSH レベルを抑制しない。

30

（表 1：動物群及び実験デザイン）

動物群及び実験デザイン

群	去勢されたか	薬剤	用量	動物の数
1	No	None	None	5
2	Yes	None	媒体のみ	5
3	Yes	テストステロン	0.1 mg/日	5
4	Yes	テストステロン	0.3 mg/日	5
5	Yes	テストステロン	0.5 mg/日	5
6	Yes	テストステロン	0.75 mg/日	5
7	Yes	テストステロン	1.0 mg/日	5
8	Yes	R-1	1.0 mg/日	5
9	Yes	S-1	0.1 mg/日	5
10	Yes	S-1	0.3 mg/日	5
11	Yes	S-1	0.5 mg/日	5
12	Yes	S-1	0.75 mg/日	5
13	Yes	S-1	1.0 mg/日	5
14	Yes	S-1	0.1 mg/日	5
15	Yes	S-21	0.3 mg/日	5
16	Yes	S-21	0.5 mg/日	5
17	Yes	S-21	0.75 mg/日	5
18	Yes	S-21	1.0 mg/日	5
19	Yes	S-22	0.1 mg/日	5
20	Yes	S-23	0.3 mg/日	5
21	Yes	S-23	0.5 mg/日	5
22	Yes	S-23	0.75 mg/日	5
23	Yes	S-23	1.0 mg/日	5
24	Yes	S-21	0.1 mg/日	5
25	Yes	S-21	0.3 mg/日	5
26	Yes	S-21	0.5 mg/日	5
27	Yes	S-21	0.75 mg/日	5
28	Yes	S-21	1.0 mg/日	5
29	Yes	None	媒体のみ	5

10

20

30

【0230】

《実施例3：イヌにおける化合物IVの薬物動態》

【0231】

新規な新規な選択的アンドロゲン受容体調節剤化合物（SARM）である、S-化合物IVの薬物動態を、ビーグル犬において特徴付けた。調査には、オスメス各3匹、全部で6匹のビーグル犬を含む、4つの治療と4つに期間のクロスオーバー・デザインを用いた。各動物には、溶液での3 mg/kgのIV投与、10 mg/kgのIV投与、10 mg/kgのPO投与と、カプセルでの10 mg/kgのPO投与を順不同で行った。治療と治療の間には1週間のウォッシュアウト（休薬）期間を設けた。薬剤投与から72時間までの間、血漿サンプルを採取した。有効なHPLC法によって血漿化合物IV濃度を分析した。クリアランス（CL）、分布容積（Vss）、半減期（ $T_{1/2}$ ）、及び他の薬物動態パラメータは、非コンパートメント解析法により決定した。結果は、IV投与後、化合物IVがイヌの血漿から消えるまでに、 $T_{1/2}$ が約4時間、CLが4.4 ml/分/kgであったことを示している。溶液の静脈内投与及び経口投与、並びに、カプセルの経口投与を行った後の化合物IVの血漿濃度-時間プロファイルをそれぞれ図4、図5及び図6に示す。薬物動態は、用量にも性にも非依存であった。化合物IVの経口的バイオアベ

40

50

イラビリティは剤形によって異なり、平均すると溶液で38%、カプセルで19%であった。従って、化合物IVはビーグル犬において緩やかな半減期、ゆっくりとしたクリアランス、中程度の生体利用性を示したが、これにより、経口的に生体利用可能な組織選択的アンドロゲン受容体調節剤の新たなクラスの第1のものとして特定される。

【0232】

《実施例4：HPLCによる化合物IVの分析》

【0233】

逆相高圧液体クロマトグラフ (Reversed Phase High Pressure Liquid Chromatograph : HPLC) 分析を実施し、イヌの血漿中の化合物IV濃度を定量した。静脈穿刺によって得たイヌの血液サンプルを1000gで15分間遠心分離した。サンプルは分析まで-20℃で保存した。個々のサンプルを急速解凍し、一定分量 (0.5mol) に内部標準物質 (200μg/mlのCM-II-87水溶液を20μl) を加えた。1mlのアセトニトリルの一定分量をサンプルに加えて血漿タンパク質を沈殿させた。サンプルをボルテックスし、その後1000gで15分間遠心分離した。上清をガラス抽出管に静かに移し、7.5mlの酢酸エチルを加えた。抽出混合物を室温で20分間放置し、この間に数回ボルテックスした。サンプルを1000gで10分間遠心分離し、有機相を除いて円錐底のガラス管の中に入れた。有機相を窒素下で蒸発させた。サンプルを200μlの移動相 (アセトニトリル：水の比が35：65) 中で再構成し、HPLCインジェクションのためのオートサンプラーバイアル (ウォーターズ社 (Waters Corp., Milford, MA) 製のウォーターズ717プラス・オートサンプラー) に移した。水に溶解した35% (v/v) のアセトニトリルの定組成移動相を1ml/分の流速でポンピングした (ウォーターズ社製のモデル510)。固定相は、CIS逆相カラム (ノバパックC18、3.9×150mm) であった。検体を、UV検出器 (ウォーターズ社製のモデル486吸収度検出器) によって270nmでモニタした。化合物IV、CM-II-87に対する保持時間は、それぞれ11.1分間、16.9分間であった。クロマトグラフィーデータを採取し、ミレニアム (Millennium) ソフトウェアを用いて解析した。各サンプルにおける化合物IVの血漿濃度は、校正曲線との比較によって決定した。校正曲線は、既知量の化合物IVをイヌの血漿に加えることによって作製した。校正曲線中で用いられるイヌの血漿サンプル中の最終的な化合物IV濃度は、0.08μg/ml、0.2μg/ml、0.4μg/ml、2μg/ml、4μg/ml、10μg/ml、20μg/mlであった。校正曲線はこの濃度範囲では線形であり、0.9935以上の相関係数 (r²) を示した。基準に対する日内及び日間の変動係数は、0.08μg/mlについて6.4%から、20μg/mlについて7.9%までに及んでいた。

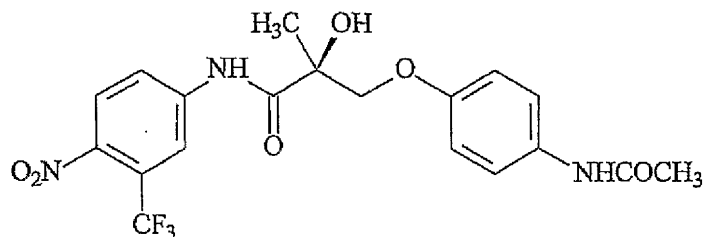
【0234】

融点の決定にはトーマス・フーバー毛管融点装置 (Thomas-Hoover Capillary Melting Point Apparatus) を用いたが、補正は行わなかった。パーキンエルマー (Perkin Elmer) 社製のシステム2000型FT-IR (フーリエ変換赤外分光光度計) で赤外線スペクトルを記録した。旋光度の決定には、オートポール (Autopol, 登録商標) 自動旋光計 (フェアフィールド社 (Fairfield (New Jersey)) 製のルドルフリサーチモデルII-589-10) を用いた。タンパク質及び炭素13の磁気共鳴スペクトルは、ブルカー (Bruker) AX300スペクトロメータにより求めた (¹H、¹³Cに対してそれぞれ300MHz、75MHz)。化学シフト値は、テトラメチルシラン (TMS) に対してppm (part per million) (δ) として報告されている。スペクトルのデータは、与えられた構造と一致した。質量スペクトルの決定には、ブルカーHP社製のエスクァイアLCシステム (Bruker-HP Esquire LC System) を用いた。元素分析はアトランティック・マイクロラボ社 (Atlantic Microlab Inc. (Norcross, GA)) が実施したが、得られた値は理論値の0.4%以内であった。ルーチンの薄層クロマトグラフィー (Thin Layer Chromatography : TLC) は、アルミニウムプレート上でシリカゲルによって行った (アルドリッチケミカル社 (Aldrich Chemical Company Inc., Milwaukee, WI) のシリカゲル60F254、20×20cm)。シリカゲル (メルク社製のシリカゲル60：230~400メッ

シュ) 上でフラッシュクロマトグラフィーを実施した。蒸留によってテトラヒドロフラン (THF) を金属ナトリウムで乾燥させた。P₂O₅ から蒸留によってアセトニトリル (MeCN) 及び塩化メチレン (CH₂Cl₂) を乾燥させた。

【0235】

《実施例5：ラット及び犬における化合物IVの代謝》



IV

10

【0236】

〈目的〉

【0237】

化合物IVは、強力で有効な選択的アンドロゲン受容体調節剤 (SARM) である。これらの研究は、ラット及び犬における化合物IVの尿糞中における代謝プロファイルを評価した。

20

【0238】

〈方法〉

【0239】

代謝研究：ラットに300 mg/kgの化合物IVを経口投与し、ビーグル犬には100 mg/kgの化合物IVを静脈内 (intravenous: IV) 投与した。尿及び糞は、投与前と、投与が行われた8及び24時間後に採取した。糞のサンプルは、6 gの糞当たり10 mLの水で均質化された。全てのサンプルは分析まで-20℃で保存した。試料は、代謝構造を決定するために、LC/MS/MSによって分析した。

【0240】

放射性末端動態研究：C-14標識化合物IVを使用した個別の研究が、全体投与量及び静脈内投与後の化合物IVの物質収支を定量化するために、ラットで実施された。カテーテルがSDラットの頸静脈に埋め込まれ、その動物は24時間で正常な状態に戻された。動物は次にプラスチックのナルゲン (Nalgene) (登録商標) 代謝ケージに収容された。適切な量の[14C]化合物IVがエタノールで溶解され、PEG300で希釈された。エタノールの最終濃度は、投与溶液の5%未満であった。100 µCiの[14C]化合物IVの静脈内注射は、頸静脈カテーテルを介して5分間に渡って行われた。糞及び尿のサンプルは、投与前及び投与が行われた8、24及び48時間後に採取された。動物は投与後24及び48時間後に犠牲にされ、肝臓、脾臓、心臓、腎臓、腸 (小及び大)、肛門挙筋、膀胱、胃壁、腹部脂肪及び前立腺が摘出された。

30

【0241】

サンプル準備及びLC/MS分析：血漿及び糞のサンプルが液液抽出法を使用して準備された。臓器サンプルは、重量を量り、メスによって細分化された。各臓器サンプルの一定分量が、1 mLのシンチゲスト (ScintiGest) (登録商標) 組織可溶化剤 (フィッシャーサイエンティフィック社 (Fisher Scientific Company)、フェアローン、ニュージャージー州) に浸され、次にPro 200ホモゲナイザー (プロサイエンティフィック社 (Pro Scientific)、モンロー、コネチカット州) を使用して均質化された。サンプルは組織が溶解するまで、60℃で培養された。組織、尿及び糞のサンプルの総放射エネルギーは、ベックマンLS 6000 IC 液体シンチレーションカウンタ (ベックマンコールター社 (Beckman-Coulter)、フラートン、カリフォルニア州) を使用して決定された。放射性の尿及び糞のサンプルは、親薬物及び代謝産物の分留物を確認するために逆相カラムを使用し

40

50

て分離も行われた。H P L Cからの溶離液分留物は、2分間隔で採取され、上述の通り測定された。非放射性の尿及び糞のサンプルは、L C / M S nによって濾過及び分析された。L C / M S システムはサーベイヤ (Surveyor) M S ポンプ、サーベイヤ (Surveyor) 自動試料採取装置及びL C Q D e c a M S (サーモフィニガン社 (Thermo-Finnigan)、サンノゼ、カリフォルニア州) から構成されていた。未使用の糞及び尿のサンプルは、薬物関連ピークを確認するために使用済サンプルのバックグラウンドスペクトルから未使用の糞及び尿のサンプルのバックグラウンドスペクトルを引き去るために使用された。代謝産物識別ソフトは、代謝産物スペクトルのM S 及びM S 2を真正化合物I VのM S 及びM S 2と比較することによって、代謝産物ピークを確認するために使用された。

【0242】

10

〈結果〉

【0243】

化合物I V及びそのアミン代謝産物のM S 2スペクトル。化合物I Vの断片化 (m/z 440) は、3つの主な娘イオンを生成した (m/z 150、261及び289) (図10A)。代謝変換部位は、化合物I Vの断片化パターンをそのアミン代謝産物 (m/z 410) と比較することによって確認された (図10B)。加えて、各代謝産物及び化合物I Vの主要な娘イオンの構造を更に検証するために、M S 3スペクトルが採取された (図示せず)。

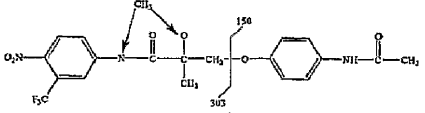
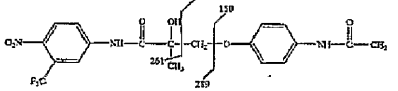
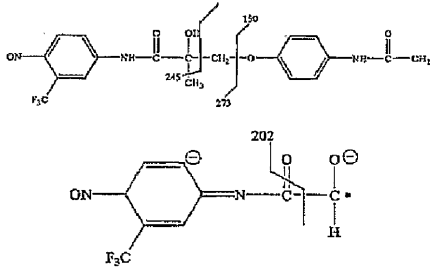
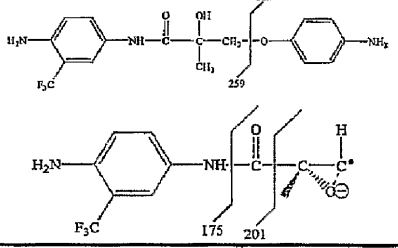
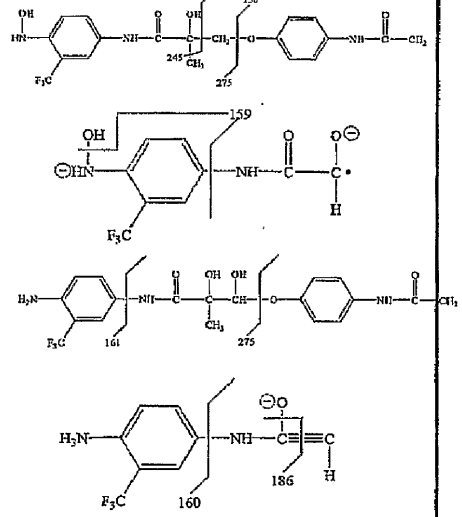
【0244】

ラット及び犬における提示された化合物I V断片化パターン及び代謝産物。代謝産物の構造は、代謝産物のピークのL C / M S 及びL C / M S 2断片化を使用して決定された。代謝産物の断片化パターンは、代謝変更部位を決定するために親化合物と比較された。その結果は表2に表示されている。各行の最後にある構造は、L C / M S 2断片化によって集められた構造情報を示している。

20

(表2)

分子イオン [M-H] ⁻	生成イオン (m/z値)	割り当てられた構造及び 提示された断片化
440 (化合物IV)	150, 205, 261, 289	
娘イオン261	190, 218, 233	
410	150, 259, 308, 380	
娘イオン259	175, 201, 209	
426	166, 220, 259, 324, 336, 365, 396, 408	
		[M-H ₂ O] ⁻ 408
506	225, 275, 366, 406,	
娘イオン426	426 275	

454	150, 303	
440 (化合物IV)	150, 205, 261, 289	
424 (化合物IV-O)	150, 245, 273	
娘イオン245	183, 202	
368	108, 175, 201, 231, 259	
娘イオン259	175, 201, 209	
426	150, 245, 275, 405	
娘イオン245	159	
	161, 216, 275	
娘イオン216	160, 186	

10

20

30

40

50

【0245】

＜放射性末端動態＞

【0246】

24時間に渡るラットの尿及び糞のサンプルの放射線写真。

A. 尿 (図11A) : 2つの主要なピークが5及び47分に見られる。5分時のピーク (加水分解生成物) は、注入投与量の25%に相当し、47分時の小さい方のピーク (アミン代謝産物) は、注入投与量の11%に相当する。

B. 糞 (図11B) : 2つの主要なピークが43及び51分に見られ、3つの小さなピークが7、15及び27分に見られる。51分時のピーク (親化合物) は、注入投与量の18.5%に相当する。3つの小さなピーク (第2相代謝産物) は、注入投与量の0.8%

に相当する。

【0247】

犬及びラットにおける提示された代謝プロフィール。化合物 I V の主要な代謝産物は、ラットの尿中に見られる加水分解生成物である。N-デアクティレイテッド (N-deactylated) 代謝産物 (m/z 368) は、犬に特有であった。全ての第2相代謝産物は、糞中に見られた。化合物 I V の代謝プロフィールは、図12にまとめられている。

【0248】

〈結論〉

【0249】

化合物 I V は、選択的アンドロゲン受容体調節剤 (SARM) のためのインビトロスクリーニング中に確認された複数の新規非ステロイド性アンドロゲン剤のうち、最初のものであった。化合物 I V は、線形薬物動態及び経口バイオアベイラビリティに依存する投与量を明らかにした。これらの研究におけるデータは、ラット及び犬の尿中に見られる1%未満の不変の親薬物により、化合物 I V が頻繁に代謝されることを示している。尿及び糞の代謝プロフィールは、化合物 I V が第1相及び第2相代謝酵素の両方によって代謝されることを示した。

【0250】

化合物 I V の代謝及び最終動態研究は、以下のことを示した。

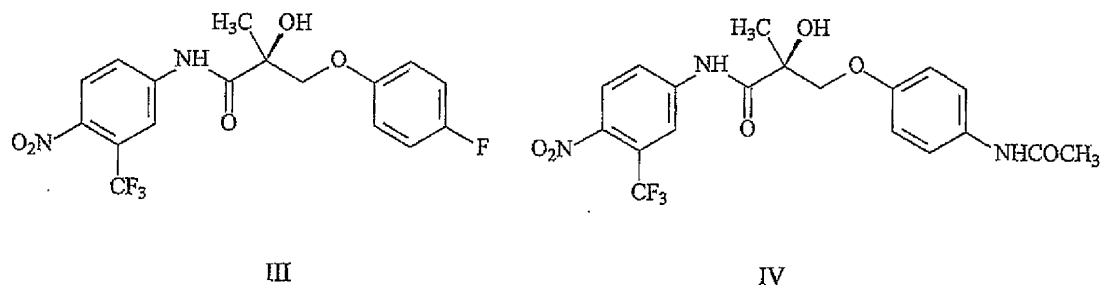
1. 尿及び糞の代謝産物の両方が、アミド結合の開裂から形成される加水分解生成物となる主要な代謝産物を有している。
2. 注入投与量の大部分が、親化合物として糞中に見られた。これは、親化合物又はグルクロネート代謝産物の胆汁中排泄に起因し得る。
3. 犬の尿中に見られるN-デアクティレイテッド代謝産物は、インビトロ転写活性化研究において、アンドロゲン受容体アンタゴニストになることが示された。しかしながら、ラットの放射性動態研究では、この代謝産物は有意な水準で発見されなかった。これはラットがN-アセチルトランフェラーゼを有する一方で、犬は有していないからである。

【0251】

つまり、化合物 I V の代謝は、ピカルタミドとは大きく異なっていた。化合物 I V のニトロ還元生成物は、ラット及び犬における主要な代謝産物であると確認された。ラット及び犬は同様な代謝プロフィールを示したが、犬に見られた化合物 I V のN-デアクティレイテッド代謝産物は、ラットでは確認されなかった。このN-デアクティレイテッド生成物は、インビトロ研究においてアンドロゲンアンタゴニストになることが示された。

【0252】

《実施例6：選択的アンドロゲン受容体調節剤 (SARM) の第1相代謝研究—化合物 I I I 及び I V とヒト肝ミクロソーム》



【0253】

〈目的〉

【0254】

化合物 I I I 及び I V は、強力で有効な選択的アンドロゲン受容体調節剤 (SARM) である。このインビトロ研究の目的は、プールヒト肝ミクロソーム (HLM) 及び組み換え型 CYP を使用して、主要な第1相代謝産物、及び化合物 I I I 及び I V の第1相代謝

に關与するシトクロム P 4 5 0 を確認することである。

【0 2 5 5】

〈方法〉

【0 2 5 6】

ヒト組み換え型 C Y P スーパーサムス (Supersomes) (登録商標) による化合物 I I I 及び化合物 I V のインビトロ代謝。ヒト組み換え型 C Y P スーパーサムス (Supersomes) (登録商標) は、B D ジェンテスト社 (BD Gentest) (ウォバーン、マサチューセッツ州) から購入した。全ての試料は 3 7 °C で解凍され、培養は反応バッファ内において、2 µ M の化合物 I V に 4 0 p m o l e の酵素を使用して、3 7 °C で 2 時間に渡って繰返し実施された。比較参照データは、酵素調製品が加えられなかったことを除いて、同じ方法で準備された。反応は、H P L C 分析の内標準を含んだ冷えたアセトニトリル (1 : 1、v : v) の追加によって停止された。各培養における化合物 I I I 及び化合物 I V の濃度は、H P L C によって測定された。化合物 I I I 及び I V の両方が、紫外吸光度 2 3 0 n m において検出された。

10

【0 2 5 7】

H L M による化合物 I I I 及び I V のインビトロ代謝産物の確認。ヒト肝ミクロソームは、2 µ M の化合物 I I I 又は化合物 I V と共に、1 0 0 m M のリン酸緩衝液 (p H 7 . 5) 及び 1 m M の N A D P H の中で、3 7 °C で 2 時間に渡り培養された。反応は冷えたアセトニトリル (1 : 1、v : v) の追加によって停止された。タンパク質の沈澱後、その上清は、培養中の主要な代謝産物を確認するために L C - M S で分析された。

20

【0 2 5 8】

H L M 及びヒト組み換え型 C Y P による M 1 形成のための動態パラメータの測定。H L M (0 . 2 m g / m l) 又は組み換え型 C Y P (各反応当たり 1 0 p m o l e) が、N A D P H (1 m M) 及び化合物 I V (0 . 2 µ M から 1 5 0 µ M) と共に培養された。培養は、3 7 °C で 1 0 分間維持され、反応は H P L C 分析の内標準を含んだ冷えたアセトニトリル (1 : 1、v : v) の追加によって停止された。各培養における M 1 の濃度は、H P L C によって測定された。初期反応速度は、M 1 の出現に基づいて計算され、基質の初濃度と対比して示された。標準基質である、フェナセチン、ジクロフェナク、メフェニトイン、ブフラロール及びテストステロンも、C Y P 1 A 2、C Y P 2 C 9、C Y P 2 C 1 9、C Y P 2 D 6 及び C Y P 3 A 4 の活動を、それぞれ検査するため含まれていた。動態パラメータの K m 及び V m a x は、W i n N o n l i n (バージョン 4 . 0、ファースイト社 (Pharsight Corporation)、マウンテンビュー、カリフォルニア州) 及びシグモイド E m a x モデルを使用して、非線形回帰分析によって決定された。

30

【0 2 5 9】

〈結果〉

【0 2 6 0】

ヒト組み換え型 C Y P スーパーサムス (Supersomes) (登録商標) による化合物 I V のインビトロ代謝 (n = 2)。化合物 I V (2 µ M) は、3 7 °C で 2 時間に渡って、ヒト組み換え型 C Y P スーパーサムス (Supersomes) (登録商標) (4 0 p m o l e) と共に培養された。化合物 I V の消失が測定された。図 1 3 に表されているように、培養後、化合物 I V の 9 5 % 超がヒト C Y P 3 A 4 によって代謝された。

40

【0 2 6 1】

ヒト組み換え型 C Y P スーパーサムス (Supersomes) (登録商標) による化合物 I I I のインビトロ代謝 (n = 2)。化合物 I I I (2 µ M) は、3 7 °C で 2 時間に渡って、ヒト組み換え型 C Y P スーパーサムス (Supersomes) (登録商標) (4 0 p m o l e) と共に培養された。化合物 I I I の消失が測定された。図 1 4 に表されているように、培養後、化合物 I I I の 2 0 % がヒト C Y P 3 A 4 によって代謝された。

【0 2 6 2】

H L M における化合物 I V のインビトロ代謝。図 1 5 に示されているように、化合物の主要な第 1 相代謝は、アミノ基の脱アセチル化 (M 1)、アミド結合及び酸化の加水分解

50

を含んでいる。

【0263】

HLMにおける化合物IIIのインビトロ代謝。図16に示されているように、HLMにおける化合物IIIの主要なインビトロ代謝経路は酸化である。

【0264】

CYPによる化合物IVからM1へのインビトロ代謝。3通りのM1の出現が測定された。CYP3A4の動態パラメータは、 K_m ($1.65 \mu M$) 及び V_{max} ($19.7 \text{ nmol} / (\text{pmol} \cdot \text{CYP} \cdot \text{分})$) であり、CYPを伴う化合物IV ($0.2 \mu M$ から $100 \mu M$) の培養後に決定された。低濃度の化合物IVが、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP1A2 と共に培養された時、M1は検出されなかった。検査された濃度において、化合物IVがCYP2C9と共に培養された時、M1は形成されなかった。その結果は図17に示されている。

【0265】

HLMによる化合物IVからM1へのインビトロ代謝 ($0.2 \text{ mg} / \text{ml}$)。3通りのM1の出現が測定された。動態パラメータの K_m ($58.4 \mu M$) 及び V_{max} ($348.6 \text{ pmol} / (\text{mg} \cdot \text{タンパク質} \cdot \text{分})$) は、HLMを伴う化合物IV ($2 \mu M$ から $150 \mu M$) の培養後に決定された。その結果は、図18に示されている。

【0266】

〈結論〉

【0267】

シトクロムP450媒介酸化は、HLM中の化合物IIIの代謝の主要な経路である。CYP3A4媒介脱アセチル化は、HLM中の化合物IVの代謝の主要な経路である。酸化及び加水分解も発生するが、それほどではない。

【0268】

組み換え型CYP3A4を伴う化合物IVの推定 K_m $1.65 \mu M$ は、HLM中のM1形成のための推定 K_m よりも低い ($58.4 \mu M$ 、図18)。これは高濃度の化合物IVにおいて、M1形成に寄与するCYP2C19、2D6 及び 1A2 が存在することに起因する。

【0269】

CYP3A4は、臨床的に関連する濃度において、化合物IVの代謝に寄与する主要な第1相酵素になることがある。

【0270】

つまり、化合物III及びIVは、組織選択的な男性ホルモン作用及び同化作用を実証する非ステロイド系SARMである (JPET 304(3):1334-1340, 2003)。ヒト肝ミクロソームによる以前のインビトロ第1相代謝研究は、化合物III ($2 \mu M$) 及び化合物IV ($2 \mu M$) の両方が、主にCYP3A4によって代謝されることを示した。

【0271】

《実施例7：人、ラット及び犬における選択的アンドロゲン受容体調節剤 (SARM)》

【0272】

〈物質及び方法〉

【0273】

物質：化合物S4及びM1、及び14C-S4は、我々の研究室で合成された。組み換え型ヒトCYP酵素 (スーパーサム (Supersome) (登録商標))、プールヒト、ラット及び犬肝ミクロソーム、シトソル及びS9調製品は、BDジェンテスト社 (ウォバーン、マサチューセッツ州) から購入した。4'-ヒドロキシジクロフェナク、4'-ヒドロキシメフェニトイン、メフェニトイン、1'-ヒドロキシブフラロール及びブフラロールも、BDジェンテスト社から購入した。エコライト (EcoLite) (登録商標) (+) シンチレーションカクテルは、ICNリサーチプロダクツディビジョン社 (ICN Research Products Division) (コスタメサ、カリフォルニア州) から購入した。それ以外の全ての薬品

及び試薬は、シグマケミカル社 (Sigma Chemical Company) (セントルイス、ミズーリ州) から購入した。全ての分析カラムは、ウォーターズ社 (Waters Corporation) (ミルフォード、マサチューセッツ州) から購入した。NH S ビオチンは、ピアース社 (PIERCE) (ロックフォード、イリノイ州) から購入した。

【0274】

インビトロ代謝反応：インビトロ酵素反応は、BD ジェンテスト社によって提供された説明書に従って実施された。全ての第1相反応は、100 mM のリン酸緩衝液 (pH 7.4) 中に1 mM のNADPH (ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸、還元型) が存在する中で、37℃で何回も実施された。肝ミクロソーム、シトソル又は肝臓S9調製品には、2 mg/ml の総タンパク質濃度が反応に使用され、組み換え型CYP酵素は、200 pmol/ml の終末濃度で使用された。一般に、代謝産物確認のための培養時間は2時間だったが、酵素の動態パラメータを決定するための培養時間は10分だった。動態パラメータのKm及びVmaxは、WinNonlin (バージョン4.0、ファースイト社 (Pharsight Corporation)、マウンテンビュー、カリフォルニア州) 及びシグモイドEmaxモデルを使用して、非線形回帰分析によって決定された。反応は、HPLC分析の内標準 (CM-I I-87、S4の構造的類似体) を含んだ冷えたアセトニトリル (v : v / 1 : 1) を追加することによって停止された。反応混合物中に含まれるタンパク質は、遠心分離 (> 16,000 g、4℃で30分) によって沈澱され、その上清は適切な移動相で希釈されるか、或いはHPLC分析に直接使用される。S4は、45% アセトニトリルの移動相及び脱イオン水中の50 mM のリン酸緩衝液 (pH 4.8) により、1.0 ml/分の流速にて、逆相カラム (シンメトリー (Symmetry) (登録商標)、C8、3.9 x 150 mm) で分離され、紫外吸光度230 nmにおいて検出された。

【0275】

S4の第1相代謝産物の確認：14C-S4 (2 µM) は、ヒト、ラット及び犬肝調製品によって、37℃で2時間に渡って培養された。アセトニトリル (v : v / 1 : 1) を伴ったタンパク質の沈澱後、その上清に残された有機相は、ニトロゲン存在下で気化し、結果的に濃縮されたサンプルがHPLC分析に使用された。14C-S4及びその代謝産物は、脱イオン水中のアセトニトリルの移動相と共に、1.0 ml/minの流速にて、逆相カラム (Nova Pak、C18、3.0 x 300 mm) を使用して分離された。初期移動相は0%のアセトニトリルを含んでおり、この組成は3分間維持された。アセトニトリルの割合は、次の7分に渡って直線的に5%まで増加し、更にその後の5分間で30%まで増加した。アセトニトリルの割合は、更に次の15分に渡って徐々に35%まで増加し、そしてその後の5分間で急速に95%まで変化し、この組成が5分間維持された。最終的に、アセトニトリルの割合は、最後の5分で0%に戻った。HPLCから溶出された分留物 (分留物当たり30秒) が採取され、各分留物における総放射能 (DPM) は、エコライト (EcoLite) (登録商標) (+) シンチレーションカクテルで計測された。

【0276】

同様な実験が非放射性標識化されたS4を使用して実施された。この場合、見込代謝産物を含む溶出分留物は、既に説明されているような (Wu et al., 2004)、負イオンエレクトロスプレーイオン化 (ESI-) 質量分析を用いて分析された (サーモフィニガン社 (ThermoFinnigan)、LCQ DECAイオントラップ質量分析計、サンノゼ、カリフォルニア州)。MSシステムは、加熱毛細血管温度が200℃、スプレー電圧が3.5 kV、シースガス及び補助ガス流速が、それぞれ60及び20 ml/minに設定された。これら以外の全てのパラメータは、S4のイオン化及び検出のための最適な条件に設定された。データ取得は、Xcaliburソフトウェア (修正版B、サーモクエスト社 (ThermoQuest Corp)、サンノゼ、カリフォルニア州) によって制御された。MS2分析のため、S4又は代謝産物イオンは1.5 m/zの幅で単離され、15から50%までの範囲のフラグメンテーションエネルギーを使用して断片化された。

【0277】

加水分解代謝産物のビオチニレーション：勾配法実行の最初の3分間からのHPLC溶

出液は、上述の通り、ニトロゲン存在下で採取され、濃縮された。NH SービオチンはDMSOで溶解され、20 mMの終末濃度にするために濃縮HPLC溶出液(1:10/v)に加えられた。ビオチニレーション反応は、室温で1時間実施された。反応混合物は、次に遠心分離機にかけられ、その上清は、上述の説明と同条件を使用してHPLC分析された。

【0278】

アンドロゲン受容体結合分析：アセチル基を取除いた代謝産物のM1の結合親和力は、既に説明されているような(Mukherjee et al., 1996)、去勢されたオスのSDラット(約250 g)の腹側前立腺から作られる細胞質ARを用いて決定された。

【0279】

転写活性化分析：AR媒介転写活性化に影響を与える化合物の能力は、既に説明されているような(Yin et al., 2003b)、共トランスフェクションシステムを用いて検査された。M1による転写活性化は、0.1から1000 nMの範囲の複合濃度で測定され、0.1 nMのDHTで観察される転写活性化の割合として報告された。

【0280】

〈結果〉

【0281】

S4の第1相代謝産物の確認：14C-S4(2 μM)は、肝S9と共に、37℃で2時間培養され、14C一代謝産物はHPLCで分離された。濃度は、ラットの全身オートラジオグラフィーによって決定されるとして、薬理学的に関連した投与量におけるS4の肝臓の濃度に従って選択された(データは示さず)。同様の実験が、非放射性標識化されたS4を使用して繰り返され、14C一代謝産物に対応する分留物が採取され、MS分析された。

【0282】

4通りの主要な経路が確認された(図19A)。(1) B環アセトアミド基の脱アセチル化、(2) アミド結合の加水分解、(3) A環リングニトロ基の還元、及び(4) B芳香環の酸化。確認された代謝産物に対応するラジオクロマトグラフは、図9Bに図示されている。MS2スペクトル、S4及びその代謝産物の提示された断片化パターンは、図20、21及び23に示されている。脱アセチル化生成物のM1、加水分解生成物のM2、M2-OH及びM3、及び還元生成物のM4は、肝S9におけるS4の主要なインビトロ代謝産物であった。S4及びM1は、B環アセトアミド基の脱アセチル化のため、150 m/zにてフラグメントイオンがM1 MS2スペクトルに存在しないことを除けば、よく似た断片化パターンを有していた(図20)。同様なパターンは、M4及びM5においても観察された。

【0283】

これらの主要な代謝産物の他に、対応酸化生成物のS4-OH、M1-OH及びM4-OHも観察された。図19A及び図21AからCに示されているように、B環上の水酸化位置の違いに起因し得る、S4の複合酸化生成物が確認された。S4のA環水酸化生成物は観察されなかった。しかしながら、S4とは異なって、M1及びM4の酸化はA環のみに観察され、B環では観察されなかった。図21D及びEに示されているように、M1-OH及びM4-OHの断片化パターンも劇的に変化した。また、2つの異なるM1酸化生成物が、HPLCで分離されることによって観察された(図19B)。しかしながら、2つの生成物は、図21Dに示されているような同じ断片化パターンを有していた。

【0284】

確認された全ての代謝産物の中で、加水分解生成物は、カルボキシル基が存在し、そのほとんどが溶媒先端と共溶出されるため、最も親水性があった(図19B)。特に、M3はB環にアミノ酸の組成を擬態するアミン基を含むため、代謝産物の分析をより困難にする。分子の分離及び検出を促進するため、我々是对応HPLC溶出液を採取及び濃縮し、芳香アミン基を変更した。NH Sビオチンは、明確に第1級アミン基を変更する一般的なタンパク質標識試薬である(図22A)。B環アミン基のビオチニレーションは、図22

10

20

30

40

50

Bのクロマトグラムに示されているように、芳香アミン基が含まれた加水分解代謝産物のHPLC分離を大いに促進した。一方で、B環に無傷のアセトアミド基を伴う加水分解生成物のM3は変更されず、溶媒先端と共溶出したままであった。M3、M3-OH及びM2のビオチニレーションされた代謝産物のMS2断片化パターンは、図23に示されている。

【0285】

M3は変更されなかったが、酸性状態は、カルボキシル基のイオン化を減少し、カラムでのその保持時間を増加し得る一方で、アミン基を伴う加水分解生成物は高度にイオン化され、溶媒先端と共に溶出され得る。M3を含んだHPLC溶出（最初の3分間）は、（上述されているように）中性のpHの下で分離されるので、ニトロゲン存在下で採取され、濃縮された。M3は、pH4.0（0.2%酢酸）にて同様なHPLC条件を使用して、溶媒先端から更に分離され、15分で溶出された（データは示さず）。

10

【0286】

異種における第1相代謝産物の特性：異種におけるS4の代謝プロファイルは、ヒト、ラット及び犬肝S9を使用して特徴付けられ、比較された。同様な総タンパク濃度（2mg/ml）が、全ての反応に使用された。異なる反応混合物における各分留物の相対存在量は、代謝された14C-S4の割合として図24Aに表示されている。同様に、4通りの代謝経路の全てが、検査された種の中に観察された。優勢代謝産物のM1は、ヒト、ラット及び犬S9において、代謝されたS4の61%、44%及び58%をそれぞれ占めていた。しかしながら、他の経路の相対的寄与率は、これら3種では全く異なっていた。

20

【0287】

ヒトS9において、脱アセチル化を除く、他の3通りの代謝経路は、S4の代謝に対してほぼ同様に寄与しており、加水分解、還元及び酸化において、代謝されたS4の11%、16%及び12%をそれぞれ占めていた。しかしながら、ラット（7%）及び犬（2%）と比較して、S4の還元は、S4代謝において比較的大きな範囲に寄与していた（16%）。

【0288】

一方で、加水分解はラットS9によるS4代謝において、より大きな役割を果たし、代謝されたS4の27%を占めた。これに対するヒト及び犬S9は、11%及び14%であった。更に興味深いことに、M3はラットS9においてのみ観察された加水分解生成物である一方で、ヒト及び犬S9による加水分解生成物は、M2、M3及びそれらの酸化生成物を含んでおり、ラットS9における加水分解は、脱アセチル化または酸化よりも迅速なプロセスであることが示された。

30

【0289】

また、S4及びM1の酸化は、ラット及び犬S9により代謝されたS4の20%超を占めたが、ヒトS9により代謝されたS4では12%のみであった。酸化加水分解代謝産物が、ラットS9に比較して犬S9の培養でより多く観察される事実を考慮すると、犬S9では、酸化はS4代謝に対してより顕著に寄与し得る。

【0290】

一般に、検査された3種で観察された主要な代謝経路は同様であった。脱アセチル化生成物のM1は、S4の主要な第1相代謝産物であり、加水分解、還元及び酸化生成物も、3種全てにおいて観察された。

40

【0291】

異なる細胞内分留物におけるS4の第1相代謝の特性：S4の第1相代謝は、プールヒト肝ミクロソーム（HLM）及びヒト肝シトソルを含む、ヒト肝調製品の異なる細胞内分留物を伴う培養で更に特徴付けられた。HLM及びヒト肝シトソル分留物を伴った培養後のS4の代謝プロファイルは、劇的に異なった（図24B）。第1相酵素の大部分がHLMに収容されているので、HLMを伴った反応において観察された代謝プロファイルは、上述されたような、ヒト肝S9で観察されたものとほぼ同様であった（図24A）。しかしながら、ヒト肝シトソルの存在下では、脱アセチル生成物のM1は、代謝されたS4の

50

わずか16%を占めるのみであり、これに対してHLM培養での観察では53%だったので、もはや主要な代謝産物として観察されなかった。それとは逆に、還元生成物のM4は、ヒト肝シトソルにより代謝されたS4の50%超を占めており、これに対してHLM培養での観察では11%であった。これらの結果は、S4がミクロソーム酵素によって主としてアセチル基を取除き得る一方で、ヒト肝ではシトソル酵素によって主に還元され得ることを示唆している。

【0292】

アミド結合加水分解反応は、シトソル分留物に含まれるエステラーゼによって触媒されると一般に考えられていたが、S4の加水分解は、HLMによるS4代謝に20%寄与しており、シトソル分留物による9%の寄与と比較して、より大きな範囲に寄与していた。また、脱アセチル化反応はミクロソーム分留物で行われるのが好ましいので、M3はヒト肝シトソル培養における主要な加水分解生成物となる。その一方で、同様な量のアセチル化(M3)及び脱アセチル化加水分解生成物(M2及びM2-OH)が、HLM培養で観察された。従って、ミクロソーム分留物中のシトクロムP450酵素は、S4の加水分解に寄与し得ると推測することは妥当である。

10

【0293】

S4の第1相代謝に関与する主要なCYP酵素を更に確認するため、CYP1A2、2C9、2C19、2D6及び3A4を含む5つの主要なヒトCYP酵素は、S4(2μM)と37℃で2時間培養した後、S4の消失を測定することによって検査された。検査された5つの酵素の中で、CYP3A4が、2μMでS4代謝に関与した主要なCYP酵素であると確認された(データは示さず)。14C-S4(2μM)と培養された時、CYP3A4によるS4の代謝プロフィールは、HLMとの培養後に観察されたものと同様であった(図24B)。組み換え型ヒトCYP3A4は、主に脱アセチル化、加水分解及び酸化反応を触媒し、代謝されたS4の43%、30%及び24%をそれぞれ占めていた。

20

【0294】

組み換え型ヒトCYP3A4によるS4代謝の動態：S4の消失は、CYP3A4の酵素動態パラメータを推定するための当初測定として決定された(図24)。S4はCYP3A4(16.1μM)に対して、テストステロン(13μM)と同様な親和性を示したが、テストステロン(7.6pmole/(pmole*分)、データは示さず)と比較して低いVmax(1.6pmole/(pmole*分))であった。

30

【0295】

S4の活性代謝産物としてのM1の特性：S4脱アセチル化生成物のM1は、活性基のコア構造であると支持したが、ARと相互作用することによって、活性代謝産物として機能し得ることも示唆している。インビトロ受容体結合分析は、M1がS4(Ki、4.0nM)と比較して比較的低い親和性(Ki、24.6nM)でARを結合することを示した(図25)。更に、それがインビトロ転写活性化分析において、0.1nMのDHTと比較して、1μMで42%の相対アゴニスト活性を伴って部分的アゴニストとして機能した(図26)。これらの結果は、M1がARを活性化し、生体内S4の薬理活性に寄与し得ることも示唆している。

40

【0296】

《実施例8：プロパンアミド選択的アンドロゲン受容体モジュレータ(SARM)の代謝》

【0297】

＜材料及び方法＞

【0298】

＜化学薬品及び試薬＞

【0299】

S-1即ち3-(4-フルオロフェノキシ)-2-ヒドロキシ-2-メチル-N-[4-ニトロ-3-(トリフルオロメチル)フェニル]-プロパンアミドは、前述の方法(Ma

50

rhefka et al., 2004) を用いて合成した。2つの内標準物質、S-1の4-クロロ類似体及び4-ブロモ類似体も、これらの手順を用いて入手した。3-(4-フルオロフェノキシ)-2-ヒドロキシ-2-メチルプロピオン酸は類似の手順を用いて合成した。化学純度は、元素分析、質量分析法、及びプロトン磁気共鳴スペクトル法を用いて確認した。HPLCグレードのアセトニトリル、水及び酢酸はフィッシャー・サイエンティフィック社 (Fisher Scientific (Fair Lawn, NJ)) から購入した。ポリエチレングリコール-300 (PEG-300) 及びジメチルスルホキシド (DMSO) はシグマ・ケミカル社 (Sigma Chemical Company (St. Louis, MO)) から入手した。エタノールはファーマコ・ロダクツ社 (Pharmaco Products Inc. (Brookfield, CT)) から購入した。

【0300】

＜動物及び手順＞

【0301】

オハイオ州立大学の実験動物管理使用委員会 (Institutional Laboratory Animal Care and Use Committee) が承認した動物実験計画に基づいて、ハーラン・バイオサイエンス社 (Harlan Bioscience (Indianapolis, IN)) から購入した体重約250gのオスSDラット群を維持した。動物は、自由に食料及び水を摂取させ、12時間の明/暗サイクルで維持した。投薬の20時間前に各ラットの右頸静脈にカテーテルを入れ、血液 (Harlan Teklad 22/5 rodent diet) を除いた。ラットには自由に水を摂取させ、用量投与の直後に体重を計測した。食料は、投薬の12時間後に戻した。40匹のオスSDラットを無作為に処置群に割り振り、0.1、1、10、または30mg/kgの用量レベルで静脈内または経口投与のいずれかをされた。投薬溶液はPEG-300 (v/v) に5%のDMSOを溶かしたものを投薬の12時間前に調整し、-20℃で保存した。頸静脈カテーテルは、静脈内用量の投与直後にヘパリン生理食塩水 (100U/mL、投薬溶液と等量) の水溶液により洗い流した。静脈内経路での投与から5分、10分、20分、30分、60分、120分、240分、480分、720分、1440分後に連続血液サンプルを収集したのに対し、経口胃管栄養法による投薬から30分、60分、90分、180分、240分、360分、480分、720分、1440分、1800分、2160分後に血液サンプルを採取した。直ちに血漿を遠心 (800gで10分間、4℃で) により分離し、分析までサンプルを-20℃で保存した。PEG-300 (v/v) に溶解した5%のDMSO及びPEG-300に溶解した5または10%のエタノールからなる経口投薬溶液を10mg/kgの用量レベルで静脈内経路及び経口経路を経て用い、S-1の経口吸収またはクリアランスへの溶解度または賦形剤の効果を調べた。代謝プロファイリングのために、S-1の静脈内用量 (50mg/kg) をオスSDラット (n=2) に投与した。代謝ケージを用いて尿及び糞便標本を6~12時間間隔で最大48時間収集し、分析のための十分な量の尿及び代謝産物濃度を与えかつ室温で劣化から保護するために分析前に尿及び糞便標本を組み合わせた。尿及び糞便標本は全て分析まで-80℃で保存した。HPLC法のための抽出手順。ラット血漿の一定分量 (100μL) を内標準物質 (30μL、S-1の4-ブロモ類似体をIstdとして用いた) に混ぜ、1mLのアセトニトリルと混合した。サンプルを16,100gで10分間遠心した。上清を取り除き、清潔な遠心管において窒素中で蒸発乾固した。残分を150μLのHPLC移動相で再構成し、16,100gで5分間遠心し、100μLの一定分量をHPLCに注入した。

【0302】

血漿中のS-1のHPLC-UV測定：妥当性確認されたHPLC法を用いて、10及び30mg/kgの静脈内及び経口用量群に対する血漿濃度を決定した。515型HPLCポンプ (ウォーターズ社 (Waters) 製)、717プラス型オートサンプラー (ウォーターズ社製)、486型吸光度検出器 (ウォーターズ社製) を用いてHPLC分析を行った。アセトニトリル/H₂O (54:46 v/v) の移動相を用いてウォーターズ社製ノバパック (Nova-pak) C18カラム (3.9×150mm、4μm) (Milford, MA) 上で1mL/分の流速でHPLC分離を行った。検出波長は297nmに設定した。ミレニアム (Millennium) ソフトウェア (ウォーターズ社製) によって分析データを取得した。H

10

20

30

40

50

P L C アッセイの定量化の限界は $0.05 \mu\text{g}/\text{mL}$ であった。 $0.05 \sim 100 \mu\text{g}/\text{mL}$ の標準校正曲線を作成した。日内及び日間精密度は 1.8 ないし 18.2% の変動係数内にあり、正確さは名目上の濃度の 90.0 ないし 92.4% であった。ラット血漿における S-1 の相対回収率は、 90.5 ないし 97.5% であった。

【0303】

L C / M S アッセイのための抽出手順：ラット血漿の一定分量 ($100 \mu\text{L}$) を内標準物質 (I s t d) ($30 \mu\text{L}$ 、S-1 の 4-クロロ類似体を I s t d として用いた) に混ぜ、 1 mL のアセトニトリルと混合した。サンプルを $16, 100 \text{ g}$ で 10 分間遠心した。上清を取り除き、 1 mL の水と混合し、それから 13 mL の抽出チューブにおいて酢酸エチル (7.5 mL) で抽出した。サンプルを室温で 10 分間振盪し、次に $1, 540 \text{ g}$ で 10 分間遠心した。有機上清を取り除き、清潔な試験管において窒素中で蒸発乾固した。残分を $150 \mu\text{L}$ の初期移動相で再構成し、 $16, 100 \text{ g}$ で 5 分間遠心し、 $100 \mu\text{L}$ の一定分量を L C / M S に注入した。

【0304】

血漿中の S-1 の L C / M S 測定：妥当性確認された H P L C 法を用いて 1.0 及び $0.1 \text{ mg}/\text{kg}$ の静脈内及び経口用量群に対する血漿濃度を決定した。E S I 源及び次の条件を用いて L C / M S (アジレント (Agilent) 1100 シリーズ, Palo Alto, CA) 分析を行った。その条件とは、乾燥ガス流 $12 \text{ L}/\text{分}$ 、ネブライザ圧 45 psi 、乾燥ガス温度 350°C 、キャピラリー電圧 1500 v 、フラグメンタ電圧 180 v である。他の L C / M S パラメータは全てデフォルトにセットした。S-1 及び I s t d の検出のために負イオンモードでそれぞれ $m/z 401.10$ 及び 417.10 の単一イオンモニタリング (S I M) を用いた。個々のサンプルは、分析中 25°C で維持したモノリシックカラム (SpeedRod RP 18e, $4.6 \times 50 \text{ mm}$, Merck KGaA, Darmstadt, Germany) 上へ注入した。アセトニトリル (A) 及び 0.1% 酢酸水 (B) から構成されるグラジエント移動相を用いて $1 \text{ mL}/\text{分}$ の流速で所定の化合物を干渉から分離した。移動相の構成は、各クロマトグラフィ処理の最初の 5 分間は成分 A 及び B の $50:50$ 混合物であったが、 5.1 分から 7.5 分までは直線勾配で B を 100% に増やし、その後 7.6 分で B を 50% に戻した。初期移動相とのカラムの平衡時間は 1.5 分であった。ケムステーション (ChemStation) ソフトウェアによって分析データを取得した。L C / M S アッセイの定量化の限界は $0.3 \text{ ng}/\text{mL}$ であった。 $0.3 \sim 30 \text{ ng}/\text{mL}$ の標準校正曲線を作成した。日内及び日間精密度は 0.4 ないし 12.4% の変動係数内にあり、正確さは名目上の濃度の 87.1 ないし 104.8% であった。ラット血漿における S-1 の相対回収率は、 99.4 ないし 105.7% であった。

【0305】

薬物動態データ分析：WinNonlin 4.0 (Pharsight Corporation, Mountain View, CA) を用いて非コンパートメント解析により血漿濃度-時間データを解析した。時間 0 から無限大までの血漿濃度-時間曲線の曲線下面積 ($AUC_{0-\infty}$) を無限大まで補外して台形公式により計算した。消失半減期 ($t_{1/2}$) を $0.693/\lambda_z$ として計算した。ここで、 λ_z は消失半減期排出定数である。血漿クリアランス (CL) は $CL = \text{dose}_{i.v.} / AUC_{i.v., 0-\infty}$ として計算した。ここで、 $\text{dose}_{i.v.}$ 、 $AUC_{i.v., 0-\infty}$ はそれぞれ静脈内用量、時間 0 から無限大までの対応する曲線下面積である。血漿濃度-時間曲線の目視によって経口用量群における最高血漿濃度 (C_{max}) 及び最高血漿濃度到達時間 (T_{max}) を求めた。平衡状態での見かけの分布容積 (V_{dss}) を $V_{dss} = CL \cdot MRT$ として計算した。ここで、MRT は静脈内大量瞬時投与量後の平均滞留時間である。MRT は $MRT = (AUMC_{i.v., 0-\infty}) / (AUC_{i.v., 0-\infty})$ として計算した。ここで、 $AUMC_{i.v., 0-\infty}$ は、無限大まで補外された血漿濃度-時間曲線のファーストモーメント曲線下面積である。各用量に対する経口バイオアベイラビリティ (F) の計算は $F = (AUC_{p.o.} \times \text{dose}_{i.v.}) / (AUC_{i.v.} \times \text{dose}_{p.o.})$ を用いて行った。ここで、 $\text{dose}_{p.o.}$ 、 $\text{dose}_{i.v.}$ 、 $AUC_{i.v.}$ 、 $AUC_{p.o.}$ はそれぞれ、平均経口用

量、平均静脈内用量、各用量での時間 0 から無限大までの対応する平均曲線下面積である。

【0306】

統計解析：1 要因分散分析（ANOVA）を用いて統計解析を行った。p < 0.05 は統計学的有意差と考えた。

【0307】

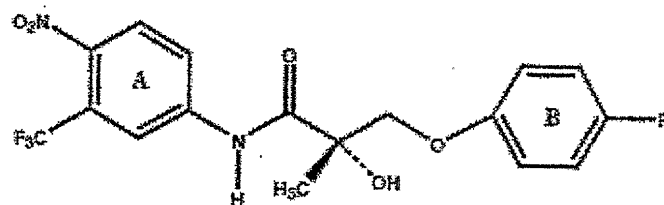
代謝産物の同定：尿標本を解凍し、尿サンプル量の 5 倍の量の酢酸エチルで抽出した。抽出操作を 2 回繰り返して、35℃でロータリーエバポレータ上にて混合性有機相及び混合性水相を蒸発させた。糞便標本を解凍し、30 mL のメタノールで抽出した。メタノールの画分を 1, 540 g で 10 分間遠心し、上清を窒素で蒸発乾固した。残分を 3 mL のメタノール/H₂O (50:50) で溶解させ、7.5 mL の酢酸エチルで抽出した。抽出操作を 2 回繰り返した。窒素を用いて混合性有機相及び混合性水相を蒸発乾固した。有機相及び水相からの残分は、それぞれ ACN:H₂O (50:50) 及び ACN:H₂O (10:90) を用いて溶解させた。各溶液をアクロディスク (Acrodisc) シリンジフィルタ (0.2 µm, 13 mm; Pall Corporation, East Hills, NY) を通して濾過した。負イオンエレクトロスプレーイオン化モードを用いて 20 マイクロリットルの各画分をサーモフィニガン (Thermo Finnigan) LCQ DECA 四重極イオントラップ型質量分析計 (Thermo Electron, Franklin, MA) に直接注入した。0.2 mL/分の流速で XTerra ガードカラム (2.1 × 150 mm, 3.5 µm) を有するウォータース社製 XTerra C18 カラム (2.1 × 150 mm, 3.5 µm) で、1 mL/分の流速でアセトニトリル (A) 及び水 (B) から構成されるグラジエント移動相を用いて HPLC 分離を行った。移動相は、各クロマトグラフィ処理の最初の 10 分間は成分 A 及び B の 90:10 混合物から構成され、10 分から 60 分までは直線勾配で B を 60% に増やし、その後 60 分から 65 分までは B を更に 95% に増やし、最後に 76 分で B を 10% に戻した。10 分間カラムを初期移動相と平衡した。いくつかの例では、A 及び B の両方に 0.1% の酢酸が含まれる第 2 の移動相系を用いた。両移動相系において同じ勾配プログラムを用いた。細管式 (キャピラリー) ヒータを 180℃ または 225℃ に設定し、スプレー電圧を 3.6 kV にした。毎秒 m/z 100 から 900 までスキャンするようにフルスキャン分析をプログラムした。

【0308】

< 結果 >

【0309】

以下の構造



を有する S-1 の薬物動態をオス SD ラットにおいて評価した。S-1 の静脈内及び経口投与後の血漿濃度-時間曲線を図 27 に示す。血漿濃度は、S-1 の静脈内投与後に多指数関数的に減少した。S-1 の全身クリアランス (CL) は、静脈内投与による 0.1、1、10、30 mg/kg の用量レベルで、それぞれ 5.2、4.4、4.0、3.6 mL/分/kg であった。より高用量では CL 値が低くなる傾向があるが、統計分析は 4 つの用量レベルからの CL 値間に有意差がないことを明らかにし、S-1 の CL が用量範囲 (即ち 0.1 ~ 30 mg/kg) にわたり用量依存的でないことを実証した。我々の実験室で行った以前のインビボ研究は、去勢ラットにおいて同化作用を示すかまたは無傷ラットにおいて前立腺重量を選択的に減少させることが要求される用量が、それぞれ皮下浸透圧ポンプまたは毎日の皮下注射により、25 mg/kg/日以下であることを示した。従

って、S-1は、薬理的投与量範囲内で直線的な薬物動態を示した。S-1の半減期($t_{1/2}$)は、経口経路による対応する用量レベル0.1、1、10、30mg/kgで217、241、248、315分間であった。AUCは用量に比例して増加した。S-1の定常状態分布容積(V_{ss})は、調べた4つの静脈内用量レベルで約1.5L/kgであった。このことはS-1が程よく分布されたことを示唆している。尿排泄データは、当該用量の0.4%以下が変わらず排泄されたことを示し、S-1の腎クリアランスを無視してよいことを示している。S-1のCL5.2mL/分/kg、ラットの肝血流量55.2mL/分/kgに基づけば、S-1の肝抽出率(hepatic extraction ratio)は0.1以下である。このことは、初回通過肝代謝が経口投与後S-1への曝露を著しくは制限しないことを示唆した。S-1の T_{max} は、経口投与後4.6時間から8.5時間の範囲にあった。このことは、S-1がゆっくり吸収されたことを示している。経口投与後のS-1の消失半減期を、対応する用量レベルでS-1の静脈内投与後に観察されたものと比較した。S-1の経口バイオアベイラビリティは約60%であり、用量によって変わらなかった。

【0310】

1要因分散分析(ANOVA)を用いて統計解析を行った。 $p < 0.05$ は統計学的有意差と考えた。PEG-300とDMSOの代わりにエタノールを用いて10mg/kgの用量レベルでS-1の薬物動態パラメータに対する投与賦形剤の効果の比較を行った。血漿濃度対時間のプロファイルを図28に示す。投薬溶液においてエタノールを用いてもS-1のCLまたは V_{ss} には影響がなかったが、 T_{max} は4.8時間から1.77時間に減少し、バイオアベイラビリティは54.9%から95.9%に増加した。このことは、溶解度がS-1の経口吸収を支配する重要な因子であることを示唆している。

【0311】

＜ラットの尿及び糞便におけるS-1の代謝産物の同定＞

【0312】

S-1の、特に化学反応代謝産物の主要な代謝経路及び代謝産物を同定し、更にS-1の臨床的可能性を評価するために代謝研究を行った。それに加えて、S-1の完全代謝プロファイルは、SARMとして機能するようなより強力かつ代謝的に安定なプロパンアミド化合物を得るためにプロパンアミド鑄型上の構造修飾を促進することになる。S-1断片化の質量スペクトルを図28に示す。衝突誘発性解離の条件下でのS-1断片化経路を図29に提唱する。S-1の代謝産物の同定は、親化合物の断片化経路の理解に基づいていた。ラットの尿及び糞便から同定したS-1の代謝産物を図30に載せる。S-1は、両移動相系を用いて58.39分で溶出した。静脈内経路を経て50mg/kgのS-1を投与されたオスSDラットの尿及び糞便中に、合計40のS-1のフェーズI(第1段階)及びフェーズII(第2段階)代謝産物が見られた。代謝産物は、24～48時間から収集したラットの尿及び糞便サンプルから同定されたが、0～24時間から収集した尿及び糞便サンプル中に見られた。

【0313】

S-1の2つの主要な尿代謝産物は、S-1またはその代謝産物のアミド加水分解から生じた4-ニトロ-3-トリフルオロメチルフェニルアミンの硫酸抱合体及びカルボン酸であった。M1は、合成標体(図31)のものと同一クロマトグラフィ(即ち滞留時間)及び質量(即ち分子質量及び断片化パターン)の挙動を示すことによって3-(4-フルオロフェノキシ)-2-ヒドロキシ-2-メチルプロピオン酸と確認された。M1は、0～24時間及び24～48時間から収集されたラットの尿サンプル中で観察された。断片化制限が四重極イオントラップ型質量分析計(即ちLCQDECA)を用いておよそ m/z 200のイオンに当てはまることはよくあることである。従って、1環代謝産物の構造は、LCQDECAを用いてMSまたはMS2モードにより明らかにされかつ図28及び図29において提唱されているが、比較のための合成標体を用いるかまたは単離及び精製後の確認のためのNMRデータを入手するかいずれかによって、更に確認される必要がある。しかし、これらの1環代謝産物は、S-1の投薬後、ラットの尿及び糞便サンプル

中に、同じラットから収集したブランク（盲検）の尿と比較すると明らかに出現した。弱酸の存在下で負イオンエレクトロスプレーイオン化効率に関する我々の発見に基づき（Wu et al., 2004）、1 環代謝産物は、特に 1 環代謝産物がより親油性であれば、2 環代謝産物より低いイオン化効率を有する。同一のクロマトグラフィ及び質量条件（データ示さず）下で、入手可能な合成標体（M1）のイオン化効率を親化合物のイオン化効率と比較し、上記結論を確認した。LC/MSを用いて標準物質なしで代謝産物を定量化することは不可能であるが、クロマトグラフィの分離及びイオン化効率の理解に基づき相対量を推定することは合理的である。1 環代謝産物は、2 環代謝産物と同じかまたは更に高いシグナル強度を示したが、このことは 1 環代謝産物が著しく高い濃度に存在することを示唆している。換言すれば、M1 及び M6 は S-1 の 2 つの主要な代謝産物として推定された。

10

【0314】

A 環の芳香族アミンへのニトロ還元及び B 環の水酸化から生じるフェーズ I 代謝産物もラットの尿及び糞便サンプル中で同定された。更に、硫酸化、グルクロン酸抱合、またはメチル化から生じた種々のフェーズ II 代謝産物も見られた。上記した加水分解代謝産物に加えて、A 環のニトロ還元及び B 環の水酸化は、ヒドロキシルアミン中間体を含む 2 環代謝産物の大多数がニトロ還元及び／または B 環の水酸化を組み入れたので、S-1 の生体内変換において重要な役割を果たす。要約すれば、S-1 は、3 つのフェーズ I 代謝経路—アミド結合の加水分解、A 環のニトロ還元、B 環の水酸化の影響を受けやすかった。S-1 のフェーズ II 代謝経路には、硫酸化、グルクロン酸抱合及びメチル化が含まれていた。

20

【0315】

S-1 の主要な代謝経路の概略を図 31 に示す。S-1 代謝にありそうな酵素も示唆されている。S-1 の代謝において 3 つの主要な代謝経路、即ち、ニトロ還元、B 環の水酸化、アミド結合の加水分解がある。ゆっくりではあるが、アミド加水分解は、非特異的な血漿エステラーゼの作用によって起こることができる。それどころか、S-1 のアミド結合は肝臓アミダーゼによって加水分解されることができ、アミダーゼは各組織及び生理液において遍在性に発現されることが分かっていた。P450 は、ニトロ基の還元を招くこともあり得るが、他の酵素（例えばキサンチンオキシダーゼ、ミクロソーム NADPH—チトクロム C）が関与することもある。その上、還元は、経口投与された薬物に対して腸内嫌気性菌中の還元酵素によって実行されることができ。

30

【0316】

非ステロイド性抗アンドロゲンであるビカルタミドは、S-1 と類似の構造であって、A 環上のニトロ基に代えてシアノ基、B 環へのエーテル結合に代えてスルホニル結合を有する構造を有している。ビカルタミドは、2 つの主要な代謝経路即ちアミド結合の加水分解及び B 環の水酸化を示した。ラットにおけるビカルタミドの薬物動態研究中に、ラセミ体のビカルタミドの半減期、CL、V は 0.5 mg/kg の用量レベルでそれぞれ 17.7 時間、80 mL/分/kg、1.23 L/kg であった。S-1 はビカルタミドと類似の V を有していたが、CL は約 6 倍高く、半減期は 5 倍短かった。

【0317】

この現象は、2 つの化合物の異なる代謝によって説明することができた。ラットにおいて数多くの S-1 のニトロ還元代謝産物が観察されたが、このことはこの経路が化合物の迅速な CL に大いに寄与することがあることを示唆している。更に、A 環にニトロ置換が存在することは、アミド加水分解の速度に影響しかつ更に S-1 のより迅速な代謝に寄与し得る。相対的に、ビカルタミドに存在するスルホニル結合は、おそらく B 環を非活性化してより酸化されにくくするような強力な電子求引性基である。一方で、ビカルタミドの A 環中のシアノ置換は、より酸化されにくい。よって、ビカルタミドは、S-1 と類似の分布容積値で S-1 よりもずっと長い半減期を示す。従って、B 環のニトロ還元及び水酸化はおそらく S-1 のインビボ代謝において加水分解よりも重要な役割を果たす。ここでは、0～24 及び 24～48 時間の時間間隔で S-1 の代謝プロファイルを調べた。これら 3 つのフェーズ I 代謝経路及び付随するフェーズ II 反応が如何に S-1 の代謝を定量

40

50

的に支配するかを理解するために、近い将来に放射標識 S-1 を用いて酵素の動力学的研究が行われることになる。

【0318】

第一級アミン含有薬物は、通常、薬物特異体質反応の高発生率に関連する。アリールアミン化合物の反応性代謝産物は、酸素のより良好な脱離基（例えば酢酸塩または硫酸塩）との抱合に続くヒドロキシルアミンになる酸化に関与しているが、アリールアミン化合物は、より良好な脱離基を失う抱合体から生じるニトレニウムイオンを介して発癌反応に至る。しかし、アミン基にパラな電子求引性基を持つ第一級アリールアミンは、低速度でニトレニウムイオンを形成する。これらの代謝産物は、ニトロソ代謝産物を介した共有結合形成に至ることがある。スルフヒドリル基はニトロソ代謝産物と反応してスルフィンアミドを形成することができるが、スルフィンアミドは微弱酸または塩基条件下で容易にアミンに再び加水分解される。アリールアミンはまた、活性化された好中球によって塩素化され、無顆粒球症を引き起こす反応性代謝産物を形成することもできる。

10

【0319】

共有結合形成に加えて、アリールアミンの中間代謝産物は、メトヘモグロビン血症及び溶血性貧血へと導く広範な酸化還元サイクリングの影響を受けやすい。芳香族ニトロ薬物は、いくつかの化学反応代謝産物を形成する点でアリールアミンに類似している。というのも、アリールアミンの酸化によって形成されるものと同じヒドロキシルアミン及びニトロソ代謝産物がニトロ基の還元によって形成されるからである。従って、芳香族ニトロ薬物もまた薬物特異体質反応の高発生率に関連する。図 28 及び図 29 から、加水分解及びニトロ還元によって産出された代謝産物（例えば M6、13、14、15 など）は、化学反応代謝産物と考えられることができる。その上、観察された M34 及び M40 により、尿サンプルにおいて別の化学反応代謝産物の産出がもたらされた。M40 は、インビボで酸化されてアルデヒドに、そしてその後カルボン酸になる可能性を有するジオールである。カルボン酸基及び水分子を失うと、マイケル受容体 (m/z 259) が形成されることことができる。これは、スルフヒドリル基と容易に反応する弱い求電子であり、異なる種類の薬物特異体質反応を生じさせることができる。異なるマイケル受容体 (m/z 289) は、M39 において水分子を失うことによって産出されることができ。マイケル受容体は、スルフヒドリル基と容易に反応する弱い求電子であるので、 m/z 452 (M37) でこのマイケル受容体とのメルカプツール酸抱合であるグルタチオン捕捉から生じる安定的な産物が観察された。これらの発見は、メルカプツール酸抱合型しか観察されなかったがマイケル受容体 (m/z 289) がインビボに存在することを確認した。このマイケル受容体 (m/z 289) は、肝臓、腎臓、肺、腸におけるミクロソームの混合機能オキシダーゼ系による O-脱アルキルによって形成された。M37 の低いシグナル強度は、インビボで低濃度のこのマイケル受容体 (m/z 289) 及びそのグルタチオン抱合を示すことがあり、他方ではアミド結合加水分解から形成されたカルボン酸代謝産物が排泄物中、特に尿中で著しく高レベルを示した。

20

30

【0320】

S-1 の前臨床代謝試験においてこれまで同定された化学反応代謝産物は 3 種類ある。その 3 種類とは、第一級アミン、ニトロ還元代謝産物、マイケル受容体である。

40

【0321】

化合物の物理化学的性質は、小分子薬物の吸収、分布、代謝、排泄及び毒性を決定する際に重要な役割を果たす。薬物の化学構造は、それらの物理化学的性質の機能である。S-1 及びピカルタミドの薬物動態パラメータ、物理化学的性質及び構造情報間の比較は、2 つの化学薬品間の代謝差を同定するのに役立つ。S-4 は、SARM として調べられるリード化合物であるが、B 環のパラ位置でフルオロ基に代えてアセトアミド基が結合されていることを除いて S-1 と同じ化学的部分及び主鎖を有する S-1 の構造類似体である。S-4 の薬物動態研究は、それが S-1 よりも短い半減期、小さい分布容積、低いクリアランスを有することを示した。S-1 のより高い $\log P$ 値及びより少ない血漿タンパク質結合は、S-4 よりも高い S-1 の容積分布を説明するであろう。フルオロ基と比べ

50

て低いアセトアミド置換の電気陰性度は、S-4のB環のより迅速な酸化をもたらすことがある。しかし、生体内変換中のアセトアミド置換の脱アセチル化及びアセチル化は、構造情報を用いてS-4の薬物動態を予想する際に複雑さを生じさせる。

【0322】

ハロゲン基は、多くの場合、代謝を遮断するかまたは環構造を潜在的に非活性化するために用いられる。ハロゲン原子の種類、数、位置は全て、ハロゲン化芳香族の物理的及び生化学的性質、特に代謝を調節する際に重要な役割を果たす。明らかに環構造の本質はまた、潜在的影響を有する。一般的に、酸化的代謝率はハロゲン化物置換の電気陰性度と共に減少する（電気陰性度，F，4.0；Cl，3.0；Br，2.8；I，2.5）。さらに、立体障害のために芳香族環中のハロゲンの数を増加させると代謝率は通常低下する。化合物の親油性は吸収及び分布に有利に働くが、隣接する非置換型炭素原子は代謝そして排泄に傾かせる。C-6は、B環のパラ及びメタ部位でクロロ基及びフルオロ基をそれぞれ有しかつS-1と同じ化学的主鎖及びその他の部分を共有するS-1の別の構造類似体である。C-6の薬物動態研究は、それがS-1よりも長い半減期、低い容積分布、低いクリアランスを有することを示した。C-6のクリアランスがより低いことは、その2つのハロゲン置換が代謝を立体的かつ電子的に阻止する能力によって説明されるかもしれない。驚くべきことに、C-6は、S-1より高いLogP(6.171)を有しているが、より低い分布容積を示した。この観察は、C-6のより高い血漿タンパク質結合によって説明されることが出来るかもしれない。C-6のLogP値がより高いことはおそらく、静脈内及び経口投与後に吸収がより良好でAUCがより高いことに寄与する。B環上のハロゲン原子の異なる置換（即ち数及び位置）は、置換されたプロパンアミドが薬理学的に活性であれば更に酸化的代謝をかなり遮断することが期待されるであろう。

【0323】

まとめると、S-1は、動物モデルにおける高度な効力及び潜在能、前臨床種における許容される薬物動態、適切な物理化学的性質を有しており、臨床開発のための有望な薬物候補SARMである。

【0324】

《実施例9：チトクロムP450酵素発現へのSARMの効果》

【0325】

＜材料及び方法＞

【0326】

＜材料＞

【0327】

組換えヒトCYP酵素（Supersome（登録商標））、肝ミクロソーム標本、新鮮なヒト肝細胞、Hepatocyte-STIM肝細胞培地及び補充物と、ヒトCYP1A2、2C9、2C19、2D6、3A4のための一次抗体は、BD Gentest社（Woburn, MA）から購入した。4'-ヒドロキシジクロフェナク、4'-ヒドロキシメフェニトイン、メフェニトイン、1'-ヒドロキシブフラロール（bufuralol）及びブフラロールもBD Gentest社から購入した。ウサギ抗アクチンIgG、ヤギ抗マウスIgG、ウサギ抗ヤギIgGは、サンタクルズ社（Santa Cruz Biotechnologies (Santa Cruz, CA)）から購入した。6β-ヒドロキシテストステロンは、ステラロイズ社（Sterealoids Inc. (Newport, RI)）から購入した。改良化学ルミネセンスキットは、アマシャム・バイオサイエンス社（Amersham Biosciences (Buckinghamshire, UK)）から購入した。トリゾール（Trizol）（登録商標）試薬及びスーパースクリプト（Superscript）（商標）第一鎖cDNA合成システム（First-strand Synthesis System）は、インビトロゲン社（Invitrogen Corp. (Carlsbad, California)）から購入した。PCRプライマはIDT社（IDT, Inc. (Coralville, IA)）により合成された。SYBR（登録商標）緑色核酸ゲル染色はモルキュラープローブ社（Molecular Probes (Eugene, OR)）から購入した。スマートサイクラー（SmartCycler）（登録商標）添加剤はセフィード社（Cepheid (Sunnyvale, CA)）から購入した。それ以外の化学薬品及び試薬は全てシグマケミカル社（Sigma Chemi

al Company (St Louis, MO)) から購入した。全ての分析カラムはウォーターズ社 (Water s Corporation (Milford, MA)) から購入した。

【0328】

＜Hep G2 細胞における細胞毒性＞

【0329】

Hep G2 細胞を24ウェルプレートに蒔き、溶媒 (0.1% DMSO) または種々の濃度 (1～100 μM) のS-1またはS-4で72時間処置した。各濃度に対し、3ウェルが含まれた。培地は24時間毎に交換した。処置の最後に、スルホローダミンB (SRB) による比色アッセイを用いて細胞数を測定し、対照サンプルにおいて観察された細胞数の割合 (百分率) として報告した。

10

【0330】

＜ヒト肝細胞の初代培養物＞

【0331】

1人のドナーから単離したヒト肝細胞の初代培養物 (BD Gentest、ロット#54、ドナー#HH129、白人女性、49才、脳卒中で死亡) を24または48ウェルプレートに蒔き、単離後24時間輸送した。培養物はHepato-STIM培地中に37℃で維持された。培地にはフェノールレッドが含まれていなかったが、上皮成長因子 (EGF, 1 mg / 100 ml) 及びデキサメタゾン (0.1 M) が補充された。

【0332】

肝細胞は、輸送からの回復を可能にするために到着後Hepato-STIM培地中に2日間維持し、その後、S-1 (2 M)、S-4 (2 M)、リファンピシン (RIF) (10 M)、β-ナフトフラボン (BNF) (50 M) または溶媒 (0.1% DMSO) で72時間インキュベートした。各処置に15ウェルを含め、各活性アッセイに3ウェルを用いた。処置なしの細胞も対象として含めた。DMSOで薬物含有溶液を毎日新たに調製し、培地中で所望の濃度まで希釈した。薬物を含む培地は24時間毎に交換した。

20

【0333】

＜CYP酵素機能アッセイ＞

【0334】

48ウェルプレート中での3日間の処置後、無傷肝細胞をブランク培地で3回洗浄し、その後、酵素活性をテストするために、フェナセチン100 μM (CYP1A2)、ジクロフェナク100 μM (CYP2C9)、メフェニトイン100 μM (CYP2C19)、ブフラロール100 μM (CYP2D6)、テストステロン200 μM (CYP3A4) を含むCYP酵素特異基質と共に37℃で1時間インキュベートした。各反応に3ウェルを用い、培地中の代謝産物の出現を適切な内標準物質 (表3) の存在下でHPLC分析によって評価した。

30

(表3 組換えヒトCYP酵素、NAT1、NAT2のための特異基質及びHPLC分析に用いられる内標準物質)

酵素	基質	代謝産物	HPLC分析のための内標準
CYP1A2	フェナセチン	アセトアミドフェノール	2-アセトアミドフェノール
CYP2C9	ジクロフェナク	4'-ヒドロキシ-ジクロフェナク	イソキシカム
CYP2C19	メフェニトイン	4'-ヒドロキシ-メフェニトイン	フェノバルビタール
CYP2D6	ブフラロール	1'-ヒドロキシ-ブフラロール	CM-II-87*
CYP3A4	テストステロン	6β-ヒドロキシ-テストステロン	デキサメタゾン

40

* S-4の構造類似体

【0335】

機能アッセイ後に細胞を溶解し、ブラッドフォード法 (バイオ・ラッド (Bio-Rad) タ

50

ンパク質アッセイ)を用いて溶解産物中の総タンパク質含量を決定した。全ての酵素活性データは、各ウェルの総タンパク質含量によって規準化された。

【0336】

アセトアミドフェノール (CYP1A2代謝産物)を、1.5 ml/分の流速で、移動相が15%アセトニトリルと脱イオン水の混液である逆相カラム (ボンダパック (Bondapak) C18, 3.9×300 mm)で分離し、244 nmでのUV吸収によって検出した。4'-ヒドロキシジクロフェナク (CYP2C9代謝産物)を、1 ml/分の流速で、移動相が40%アセトニトリル及び0.5%ギ酸 (pH 2.65)と脱イオン水の混液である逆相カラム (ノバパック C18, 3.9×150 mm)で分離し、280 nmでのUV吸収によって検出した。4'-ヒドロキシメフェニトイン (CYP2C19代謝産物)を、1 ml/分の流速で、移動相が25%アセトニトリル及び25 mMリン酸カリウム (pH 7.4)と脱イオン水の混液である逆相カラム (ノバパック C18, 3.9×300 mm)で分離し、214 nmでのUV吸収によって検出した。1'-ヒドロキシブフラロール (CYP2D6代謝産物)を、1 ml/分の流速で、移動相が50%アセトニトリル及び2 mM過塩素酸と脱イオン水の混液である逆相カラム (ノバパック C18, 3.9×150 mm)で分離し、252 nmの励起波長及び302 nmの発光波長で蛍光検出器を用いて検出した。6β-ヒドロキシテストステロン (CYP3A4代謝産物)を、1 ml/分の流速で、移動相が40%アセトニトリルと脱イオン水の混液である逆相カラム (ノバパック C18, 3.9×300 mm)で分離し、254 nmでのUV吸収によって検出した。

10

20

【0337】

＜ウエスタン免疫ブロット分析＞

【0338】

機能アッセイ後に作成した細胞溶解産物をCYPの免疫ブロット分析のために用いた。ローディングコントロールとしてβアクチンも分析した。アマシャム・バイオサイエンス社製の改良化学ルミネセンスキットを用いてシグナルを検出した。既知の酵素含量を有する組換えヒトCYP Supersome (登録商標)を用いて各CYPアイソフォームに対する標準曲線を作成した。Image Jソフトウェア (<http://rsb.info.nih.gov/ij>)を用いてバンド密度を分析した。

30

【0339】

＜リアルタイムPCR分析＞

【0340】

肝細胞のセバレート24ウェルプレートを上記と同様に処置し、各処置に4ウェルを含めた。72時間の処置後、トリゾール (登録商標)試薬を用いてトータルRNAを抽出した。スーパースクリプト (商標)第一鎖cDNA合成システム (First-strand Synthesis System)を用いてcDNAサンプルを単離されたトータルRNAサンプルから調製し、その後当該cDNAサンプルをリアルタイムPCR分析に用いた。プライマ3 (Primer 3) プログラム (http://www.genome.wi.mit.edu/genome_software/other/primer3.html.)を用いて、CYP1A1、2C9、2C19、2D6、3A4及びGAPDHのために遺伝子特異的プライマをデザインした (表4)。

40

(表4 リアルタイムPCR分析のためのオリゴヌクレオチド配列)

プライマ	配列 (5' to 3')	T _m ⁷
CYP1A2 ¹		
移動相	CAGAATGCCCTCAACACCTT	89°C
逆相	CTGACACCACCACCTGATTG	
CYP2C9 ²		
移動相	AAGAACCTTGACACCACTCCA	89°C
逆相	TAATGCCCCAGAGGAAAGAG	
CYP2C19 ³		
移動相	TGGGACAGAGACAACAAGCA	88°C
逆相	TGGGGATGAGGTCGATGTAT	
CYP2D6 ⁴		
移動相	AGGGAACGACACTCATCACC	92°C
逆相	CAGGAAAGCAAAGACACCAT	
CYP3A4 ⁵		
移動相	AATAAGGCACCAACCCACCTA	86°C
逆相	CTTGAATCATCACCACCAC	
GAPDH ⁶		
移動相	GTCAGTGGTGGACCTGACCT	91°C
逆相	TGAGCTTGACAAAGTGGTCG	

10

¹ 発表されたCYP1A2配列 (NM_000761.2) に基づく

20

² 発表されたCYP2C9配列 (NM_000771) に基づく

³ 発表されたCYP2C19配列 (NM_000769) に基づく

⁴ 発表されたCYP2D6配列 (NM_000106) に基づく

⁵ 発表されたCYP3A4配列 (NM_017460) に基づく

⁶ 発表されたGAPDH配列 (NM_002046) に基づく

⁷ 融解曲線解析から得られた単位複製配列融解温度 (商標)

【0341】

スマートサイクラー (セフィード社製) を用いて次のように増幅を行った。95°Cで300s、95°Cで20sの35サイクル、58°Cで30s、72°Cで30s。72°Cで300sの延長サイクルに続いて、60°Cで始まり95°Cまで0.2°C/sの速度で増加する融解分析を行った。負の一次導関数ピークは、PCR産物融解温度の特性であるが、これを用いて特定のPCR産物を同定した。反応条件：1μl (50~100ng) のcDNA溶液、14.6μlのDEPC水、PCRバッファ (10mMのTris-HCl、pH8.3、50mMのKCl、1.5mMのMgCl₂)、200μMのdNTP、200nMのセンス及びアンチセンス両プライマ、DMSOに1:12500希釈のSYBR (登録商標) 緑色核酸ゲル染色10,000X、1.0単位のTaq DNAポリメラーゼ、1反応当たり25μlの全量に対して5μlのスマートサイクラー (登録商標) 添加剤。各cDNAサンプルを、各CYPアイソフォーム及びGAPDHに対する二重反復試験からなる反応にさらした。

30

【0342】

40

mRNA定量化のために比較Ct法 (Livak KJ and Schmittgen TD (2001) Methods 25: 402-408) を用いた。この方法は、所定の遺伝子の相対発現をGAPDHなどの参照遺伝子と比較する。任意の蛍光閾値 (Ct) に到達するために必要なサイクル数を用いて、標的遺伝子のCtから参照遺伝子のCtを減算することによってデルタCt (ΔCt) を計算した。対照 (培地中でインキュベーション) 及び実験的に処置した細胞に対してΔCtを計算した。ΔΔCtをもたらした対照群のΔCtから実験的群のΔCtを減算する。公式2-ΔΔCtを用いて対照に対して何倍変化しているか (fold-change) を決定した。全てのパラメータの統計解析は、α値を先験的にp<0.05に設定して1要因ANOVAによって行った。

【0343】

50

《結果》

【0344】

HepG2細胞におけるS-1及びS-4の細胞毒性：ヒト肝細胞を処置するために用いられることになる濃度を決定するために、肝細胞癌細胞系であるHepG2細胞においてS-1及びS-4の細胞毒性を評価した。S-1及びS-4は、10M以上の濃度でHepG2細胞において毒性を示した（図33）。しかし、より低濃度では毒性は観察されなかった。毒性に必要な濃度は、フェーズI臨床試験中に観察されたS-4の最高血漿濃度（約0.03M）よりずっと高かった。細胞毒性を生じさせることなくCYP発現へのS-1及びS-4の効果を十分に評価するために、ヒト肝細胞研究に対して2Mの濃度が選択された。

10

【0345】

CYP酵素機能、タンパク質発現、及びmRNAレベルに対するS-1及びS-4の効果：代謝産物へのプローブ基質の転換として測定された酵素活性、免疫ブロットによって決定されたCYP酵素タンパク質発現レベル、リアルタイムPCRによって定量化された相対mRNAレベルを含めた個々のCYP酵素に対する結果を図34ないし図38にまとめた。

【0346】

無処置の対照細胞におけるCYP1A2活性（図34）は、約50 pmole / (mg * min) であった。溶媒（0.1% DMSO）、S-1（2M）、S-4（2M）処置は、CYP1A2活性、タンパク質発現レベル、またはmRNAレベルの有意な変化を生じさせなかった。入手できる総RNA量が限られていたので、溶媒処置サンプルにおけるmRNAシグナルは検出されなかった。既知のCYP1A2誘導物質であるBNF（50M）は、CYP1A2タンパク質発現の付随物増加と共にCYP1A2活性を10倍著しく増加させた。相応じて、BNF処置後に酵素のmRNAレベルも7倍以上増加した。このことはCYP1A2活性の増加はBNFによる酵素発現の誘導に起因することを示している。

20

【0347】

CYP2C9（図35）及びCYP2C19（図36）両方の酵素活性及び発現は、異なる処置に対して非常に似た変化を示した。溶媒及びBNF処置は、CYP2C9及び2C19の酵素活性及び発現レベルへの効果をほとんど示さなかった。RIF（10 μM）処置は、CYP2C9及びCYP2C19活性をそれぞれ2倍、6倍増加させ、タンパク質発現レベルをわずかに増加させたが、mRNAレベルは有意には増加させなかった。S-1及びS-4は、CYP2C9及び2C19タンパク質発現またはmRNAレベルの有意な変化を生じさせなかった。しかし、両処置はそれらのプローブ基質に対する酵素活性を低下させた。S-4は、CYP2C9及び2C19活性をそれぞれ57%及び73%減少させ、S-1はCYP2C9及び2C19活性をそれぞれ16%及び47%減少させた。酵素発現の有意な変化が観察されなかったので、またS-4がより高いM濃度でCYP2C19に対する幾分かの親和性を有することを考慮すると（データ示さず）、S-1及びS-4処置されたサンプルにおける酵素活性の減少は、SARM及び／またはその代謝産物による酵素活性の直接的な抑制に関係があると考えられる。

30

40

【0348】

CYP2D6の発現（図37）はRIF及びBNF処置によって僅かに増加し、CYP2D6活性も同様に2倍以上増加した。S-1またはS-4による処置後にCYP2D6酵素、mRNAまたは活性の有意な変化は見られなかった。

【0349】

S-4は、CYP3A4のための基質であるが、肝細胞における酵素発現または活性には影響しなかった（図38）。似たような結果は、溶媒、S-1、BNF処置されたサンプルにおいても同様に観察された。RIFは、CYP3A4のより強力な誘導物質であり、これは酵素活性（7倍）、mRNAでの酵素発現（3.69倍）及びタンパク質レベルでの酵素発現（10倍以上）を著しく増加させるが、このことは酵素活性の増加が酵素発

50

現の増加に起因することを示唆している。

【0350】

RIF (10 μ M) は、CYP2C9、2C19 及び 3A4 の酵素活性をそれぞれ 2、6、7 倍著しく増加させた。BNF (50 μ M) は、CYP1A2 の酵素活性を 10 倍著しく増加させた。これらの酵素活性の変化は、RIF 及び BNF 処置後のタンパク質発現レベルにおいても同様の変化が観察されたので、酵素発現の変化に一層関連している。S-4 で処置された肝細胞においては、CYP2C9 及び 2C19 の酵素活性はそれぞれ 57% 及び 73% 低下した。S-1 で処置された肝細胞においては、CYP2C9 及び 2C19 の酵素活性はそれぞれ 16% 及び 47% 低下した。しかし、これらの酵素のいずれのタンパク質または mRNA レベルの有意な変化も S-1 及び S-4 処置細胞では観察されず、このことは観察された酵素活性の減少がおそらくは酵素の直接的な抑制に起因することを示唆している。

【0351】

前述のように、NR は CYP 酵素発現を調節する際に非常に重要な役割を果たす。この研究に用いられた両モデルの誘導物質 RIF 及び BNF は、実際に NR リガンドである。BNF はアリール炭化水素受容体 (AhR) を活性化することによって CYP1A2 発現を誘導するが、RIF はヒト PXR (プレグナン X 受容体) を活性化することによって CYP2C9 及び 3A4 発現を誘導する。CYP2C19 プロモータに関する最近の研究はまた、CAR (constitutive androstane receptor) 及び GR のための結合部位を同定した。ゲルシフトアッセイは、ヒト PXR が同様に CAR 応答要素に結合することを示し、このことは CYP2C19 発現はまた PXR リガンド (即ちリファンピシン) によって直接調節されることができると示唆した。第一次ヒト肝細胞を用いた CYP2C 遺伝子誘導研究もまた、タンパク質レベル及び mRNA レベルの両方での CYP2C9 及び 2C19 の発現をリファンピシンが誘導することを示した。この研究において観察された結果は、発見されたことと一致する。

【0352】

ヒト CYP2D6 発現は、別のオーファン受容体 HNF4 α (肝細胞核因子 4 α) によって調節される。RIF または BNF が HNF4 α リガンドであることを示す証拠はない。HNF4 α は PXR 及び CAR の遺伝子発現を直接調節するが、PXR 及び CAR が HNF4 α 発現を調節するかどうかは明白ではない。RIF 及び BNF による CYP2D6 発現の誘導は、PXR、CAR 及び HNF4 α 間の「クロストーク」に関係していることもあり得る。

【0353】

SARM 処置は主要な CYP 酵素発現の有意な変化を生じさせなかったが、このことは AR がこれらの CYP 酵素の発現の直接的な調節に関与していないかもしれないことを示唆しており、CYP 酵素発現を直接調節するオーファン受容体と SARM 間の相互作用が発生するとは考えにくい。

【0354】

S-1 及び S-4 は転写またはタンパク質発現レベルのいずれかで CYP 酵素発現への調節作用を示さなかったが、S-1 及び S-4 処置は、CYP2C9 及び 2C19 の酵素活性を低下させた。これは、肝細胞を用いる酵素誘導研究に観察される一般的な問題であるところの培養物に残された薬物または代謝産物の残存量による酵素の直接的な抑制の結果であり得た。それにも拘らず、SARM と CYP2C 酵素間で観察される相互作用を考慮すれば、薬物間相互作用は起こり得る。

【0355】

全体として、S-1 及び S-4 は、CYP2C9 及び 2C19 の酵素活性を直接抑制することができたが、第一次ヒト肝細胞における主要な CYP 酵素の発現を誘導または抑止しない。しかし、この研究に用いられた薬物濃度 (2 μ M) は、臨床的に妥当な用量で達成され得る血漿濃度より 50 倍以上高かった。従って、CYP2C9 及び 2C19 への S-1 及び S-4 の抑制効果は、インビボで観察されないかもしれない。

10

20

30

40

50

【0356】

本発明が本明細書に特に図示及び記載されていることによって限定されるものではないことは、当業者に理解されよう。むしろ、発明の範囲は特許請求の範囲によって確定される。

【図面の簡単な説明】

【0357】

【図1】ラットにおける化合物I Vのアンドロゲン及びアナボリック活性である。ラットは、処置しないままにするか（無傷対照）、去勢するか（去勢対照）、プロピオン酸テストステロン（TP）で処置するか、或いは化合物I Vで処置し、アンドロゲン反応性組織（前立腺、精囊及び肛門挙筋）の重量及び体重の増加を決定した。

10

【図2】ラットにおける化合物I Vのアンドロゲン及びアナボリック活性である。ラットは、処置しないままにするか（無傷対照）、去勢するか（去勢対照）、0.1 mg/日、0.3 mg/日、0.5 mg/日、0.75 mg/日及び1.0 mg/日のプロピオン酸テストステロン（TP）で処置するか、或いは0.1 mg/日、0.3 mg/日、0.5 mg/日、0.75 mg/日及び1.0 mg/日の化合物I Vで処置し、アンドロゲン反応性組織（前立腺、精囊及び肛門挙筋）の重量を決定した。

【図3】ラットにおける化合物I I Iのアンドロゲン及びアナボリック活性である。ラットは、処置しないままにするか（無傷対照）、去勢するか（去勢対照）、0.1 mg/日、0.3 mg/日、0.5 mg/日、0.75 mg/日及び1.0 mg/日のプロピオン酸テストステロン（TP）で処置するか、或いは0.1 mg/日、0.3 mg/日、0.5 mg/日、0.75 mg/日及び1.0 mg/日の化合物I I Iで処置し、アンドロゲン反応性組織（前立腺、精囊及び肛門挙筋）の重量を決定した。

20

【図4】ビーグル犬において3 mg/kg及び10 mg/kgを静脈内投与後の化合物I Vの平均血漿濃度－時間プロファイルである。

【図5】ビーグル犬において溶液で10 mg/kgを経口投与後の化合物I Vの平均血漿濃度－時間プロファイルである。

【図6】ビーグル犬においてカプセルで静脈内投与後の化合物I Vの平均血漿濃度－時間プロファイルである。

【図7】化合物I I I及び化合物I Vの効果に関するLHレベルである。

【図8】化合物I I I及び化合物I Vの効果に関するFSHレベルである。

30

【図9】化合物I Vの合成スキームである。

【図10A】化合物I V及びそのアミン代謝産物のMS2スペクトルである。化合物I Vの断片化パターンである。

【図10B】化合物I V及びそのアミン代謝産物のMS2スペクトルである。アミン代謝産物の断片化パターンである。

【図11A】化合物I V投与後のラットの尿及び糞サンプルの24時間の放射線写真である。ラットの尿サンプルについてである。

【図11B】化合物I V投与後のラットの尿及び糞サンプルの24時間の放射線写真である。ラットの糞サンプルについてである。

【図12】ラット及び犬における化合物I Vの代謝プロファイルである。

40

【図13】ヒト組み換え型CYPスーパーサムス（Supersomes）（登録商標）による化合物I Vのインビトロ代謝（n=2）である。化合物I V（2 µM）は、ヒト組み換え型CYPスーパーサムス（Supersomes）（登録商標）（40 pmole）と共に、37℃で2時間培養された。化合物I Vの消失が測定された。

【図14】ヒト組み換え型CYPスーパーサムス（Supersomes）（登録商標）による化合物I I Iのインビトロ代謝（n=2）である。化合物I I I（2 µM）は、ヒト組み換え型CYPスーパーサムス（Supersomes）（登録商標）（40 pmole）と共に、37℃で2時間培養された。化合物I I Iの消失が測定された。培養後、化合物I I Iの20%が、ヒトCYP3A4によって代謝された。

【図15】ヒト肝ミクロソーム（HLM）中の化合物I Vのインビトロ代謝である。

50

【図 1 6】 ヒト肝ミクロソーム (HLM) 中の化合物 I I I のインビトロ代謝である。

【図 1 7】 CYP による化合物 I V から M 1 へのインビトロ代謝である。3 通りの M 1 の出現が測定された。

【図 1 8】 HLM (0.2 mg/ml) による化合物 I V から M 1 へのインビトロ代謝である。3 通りの M 1 の出現が測定された。

【図 1 9】 (A) ヒト、ラット及び犬肝調製品で測定された ^{14}C -S 4 の第 1 相代謝経路 (均一に標識化された B 環) である。(B) プールヒト肝 S 9 による ^{14}C -S 4 の代謝を表示しているラジオクロマトグラムである。

【図 2 0】 S 4、還元生成物及び脱アセチル化生成物である、M 1、M 4 及び M 5 の MS² スペクトル (ESI 負イオンモード) である。

【図 2 1】 酸化生成物である、S 4-OH、M 1-OH 及び M 4-OH の MS² スペクトル (ESI 負イオンモード) である。異なる断片化パターンを伴う 3 種の異なる S 4 酸化代謝産物 (A、B、C) が確認された。

【図 2 2】 (A) NHS ビオチンによる S 4 のビオチニレーション反応である。(B) ビオチン化 ^{14}C -M 2 及び ^{14}C -M 2-OH の ^{14}C -M 3 からの分離を示すラジオクロマトグラムである。

【図 2 3】 アミド結合加水分解生成物の M 3、M 3-OH 及びビオチン化 M 2 及びビオチン化 M 2-OH の MS² スペクトル (ESI 負イオンモード) (B、C) である。

【図 2 4】 異なる肝酵素調製品を伴って培養した後の ^{14}C -S 4 の主要なインビトロ代謝産物の相対存在量である。(A) ヒト、ラット及び犬肝 S 9 存在下の ^{14}C -S 4 の代謝プロファイルである。(B) ヒト肝の異なる細胞内分留物存在下の ^{14}C -S 4 の代謝プロファイルである。

【図 2 5】 S 4 の消失の測定によって決定される CYP 3A4 による S 4 代謝の酵素動態である。反応は、200 pmol/L の CYP 3A4 存在下で、37℃で 10 分間実行された。

【図 2 6】 共トランスフェクション分析を使用した M 1 によるインビトロ AR 転写活性化である。M 1 による活性化は、0.1 nM の DHT 存在下で得られた活性化の割合で示した。

【図 2 7】 オスの SD ラットにおける静脈内投与及び経口投与後の S-1 の血漿濃度-時間プロファイル (n=5/投与グループ) である。黒記号は経口投与を示し、白記号は静脈内投与を示している。三角は 30 mg/kg、四角は 10 mg/kg、丸は 1 mg/kg、菱形は 0.1 mg/kg。

【図 2 8】 S-1 断片化質量スペクトルである。

【図 2 9】 解離が引起される衝突が起こる状態下での S-1 の提示断片化経路である。

【図 3 0 A】 ラット尿中で確認された S-1 の代謝産物である。

【図 3 0 B】 ラット尿中で確認された S-1 の代謝産物である。

【図 3 0 C】 ラット尿中で確認された S-1 の代謝産物である。

【図 3 0 D】 ラット尿中で確認された S-1 の代謝産物である。

【図 3 0 E】 ラット尿中で確認された S-1 の代謝産物である。

【図 3 0 F】 ラット尿中で確認された S-1 の代謝産物である。

【図 3 0 G】 ラット尿中で確認された S-1 の代謝産物である。

【図 3 0 H】 ラット尿中で確認された S-1 の代謝産物である。

【図 3 0 I】 ラット糞中で確認された S-1 の代謝産物である。

【図 3 0 J】 ラット糞中で確認された S-1 の代謝産物である。

【図 3 0 K】 ラット糞中で確認された S-1 の代謝産物である。

【図 3 1】 M 1 及び合成基準 3-(4-フルオロフェノキシ)-2-ヒドロキシ-2-メチルプロピオン酸 (移動相 2 使用) のクロマトグラフィー及び質量作用の比較である。(A) 0~12 時間の間のラットの尿サンプルである。(B) 合成基準である。

【図 3 2】 オスの SD ラットにおける S-1 の提示主要代謝経路である。

【図 3 3】 処置の 72 時間後に SRB 分析で測定された HepG2 細胞における S-1 及

10

20

30

40

50

びS-4の細胞障害性(n=3)である。データを平均値±標準偏差で示す。

【図34】CYP1A2活性及び発現でのS-4(2 μM)、S-1(2 μM)、リファンピシン(RIF)(10 μM)及びβ-ナフトフラボン(BNF)(50 μM)の効果である。3通りのCYP酵素活性が測定され、その結果を平均値±標準偏差で示す。酵素含有量は、スーパーサム(Supersome)(登録商標)調製品によって形成され、β-アクチン発現レベルによって正規化された標準曲線に対して結合密度を比較することによって測定された。ヒト肝ミクロソーム(HLM)サンプルは、免疫ブロット法のための陽性対照として含まれていた。mRNAレベルの折曲変化は、対照サンプルに対して正規化された。

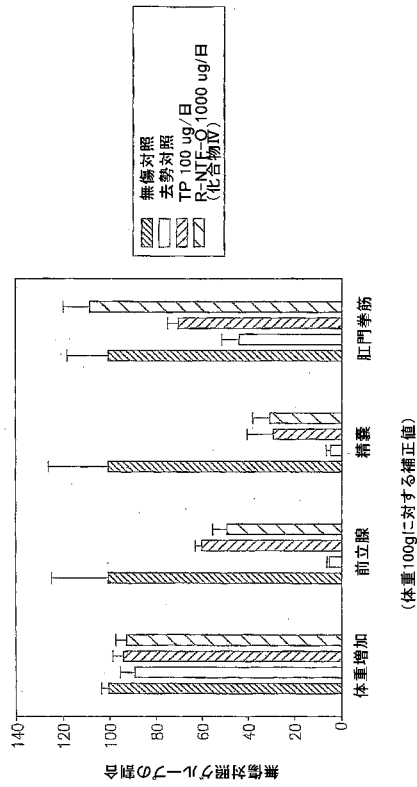
【図35】CYP2C9活性及び発現でのS-4(2 μM)、S-1(2 μM)、リファンピシン(RIF)(10 μM)及びβ-ナフトフラボン(BNF)(50 μM)の効果である。3通りのCYP酵素活性が測定され、その結果を平均値±標準偏差で示す。酵素含有量は、スーパーサム(Supersome)(登録商標)調製品によって形成され、β-アクチン発現レベルによって正規化された標準曲線に対して結合密度を比較することによって測定された。ヒト肝ミクロソーム(HLM)サンプルは、免疫ブロット法のための陽性対照として含まれていた。mRNAレベルの折曲変化は、対照サンプルに対して正規化された。

【図36】CYP2C19活性及び発現でのS-4(2 μM)、S-1(2 μM)、リファンピシン(RIF)(10 μM)及びβ-ナフトフラボン(BNF)(50 μM)の効果である。3通りのCYP酵素活性が測定され、その結果を平均値±標準偏差で示す。酵素含有量は、スーパーサム(Supersome)(登録商標)調製品によって形成され、β-アクチン発現レベルによって正規化された標準曲線に対して結合密度を比較することによって測定された。ヒト肝ミクロソーム(HLM)サンプルは、免疫ブロット法のための陽性対照として含まれていた。mRNAレベルの折曲変化は、対照サンプルに対して正規化された。

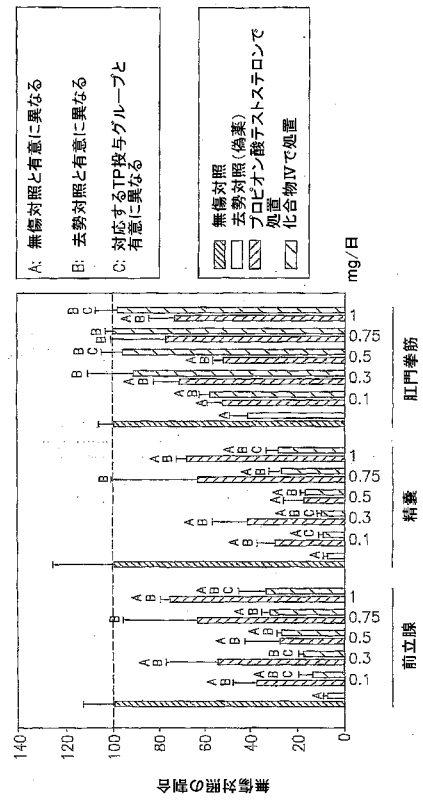
【図37】CYP2D6活性及び発現でのS-4(2 μM)、S-1(2 μM)、リファンピシン(RIF)(10 μM)及びβ-ナフトフラボン(BNF)(50 μM)の効果である。3通りのCYP酵素活性が測定され、その結果を平均値±標準偏差で示す。酵素含有量は、スーパーサム(Supersome)(登録商標)調製品によって形成され、β-アクチン発現レベルによって正規化された標準曲線に対して結合密度を比較することによって測定された。ヒト肝ミクロソーム(HLM)サンプルは、免疫ブロット法のための陽性対照として含まれていた。mRNAレベルの折曲変化は、対照サンプルに対して正規化された。

【図38】CYP3A4活性及び発現でのS-4(2 μM)、S-1(2 μM)、リファンピシン(RIF)(10 μM)及びβ-ナフトフラボン(BNF)(50 μM)の効果である。3通りのCYP酵素活性が測定され、その結果を平均値±標準偏差で示す。酵素含有量は、スーパーサム(Supersome)(登録商標)調製品によって形成され、β-アクチン発現レベルによって正規化された標準曲線に対して結合密度を比較することによって測定された。ヒト肝ミクロソーム(HLM)サンプルは、免疫ブロット法のための陽性対照として含まれていた。mRNAレベルの折曲変化は、対照サンプルに対して正規化された。

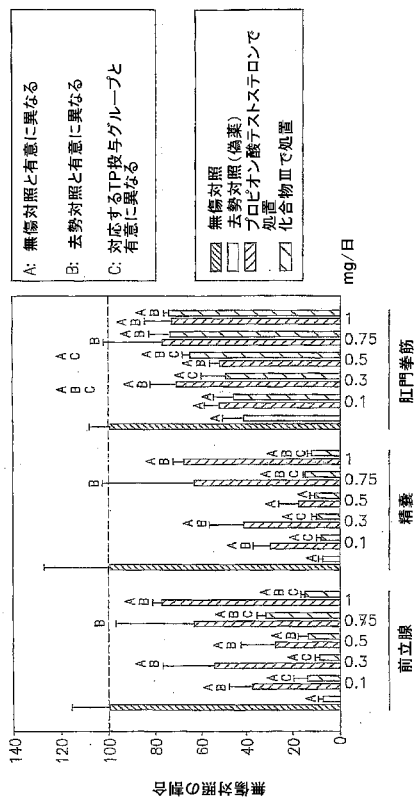
【図 1】



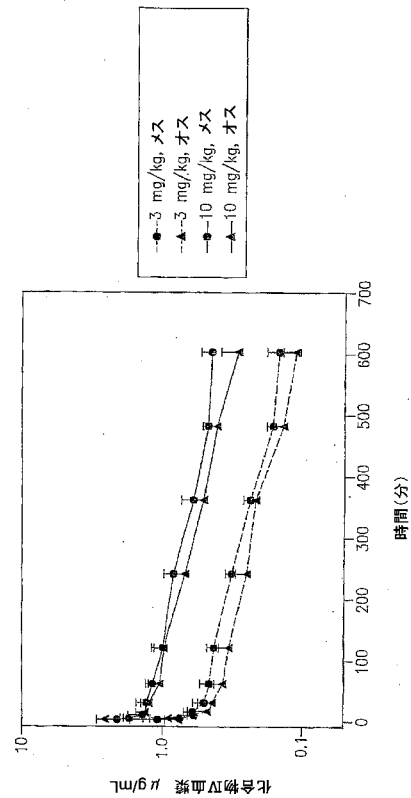
【図 2】



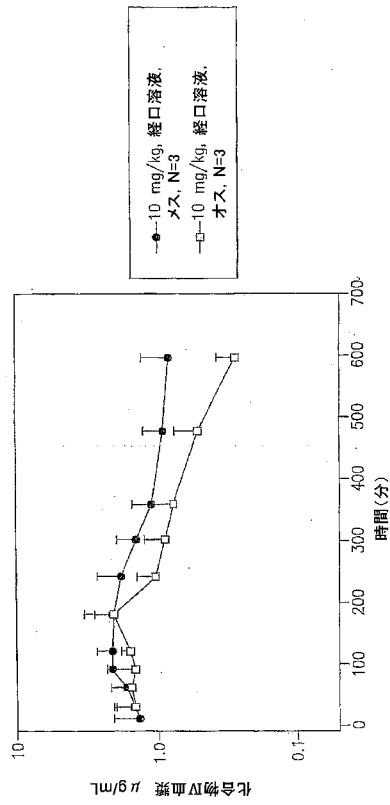
【図 3】



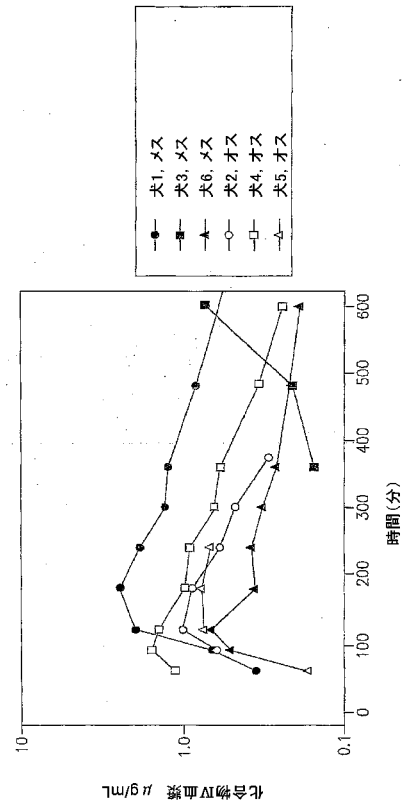
【図 4】



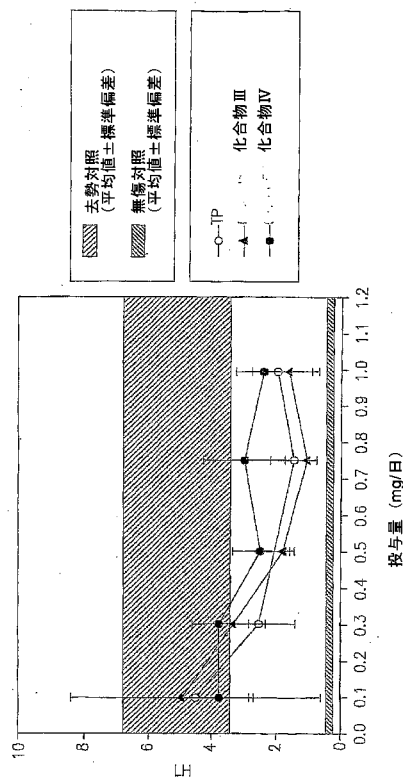
【図 5】



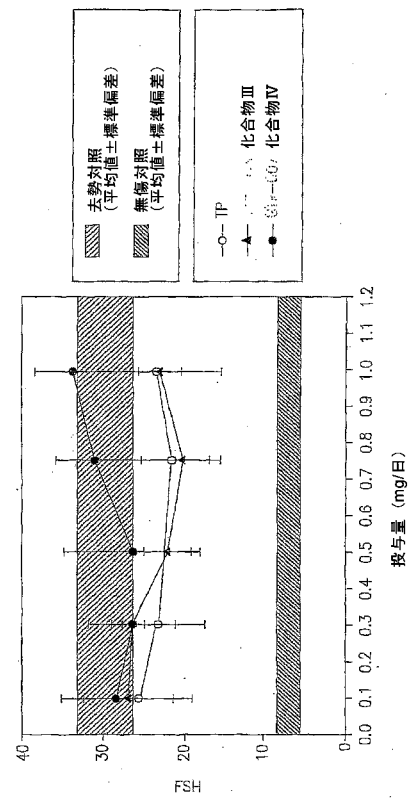
【図 6】



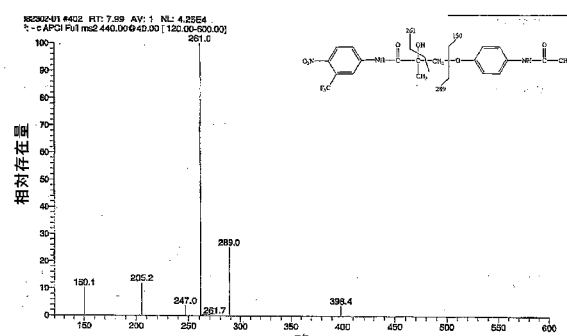
【図 7】



【図 8】



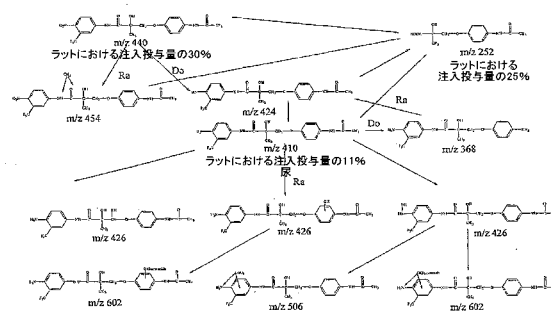
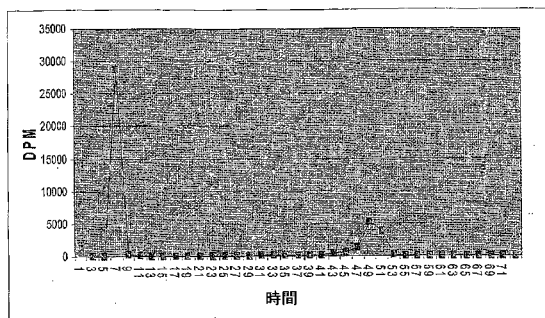
【図 10 A】



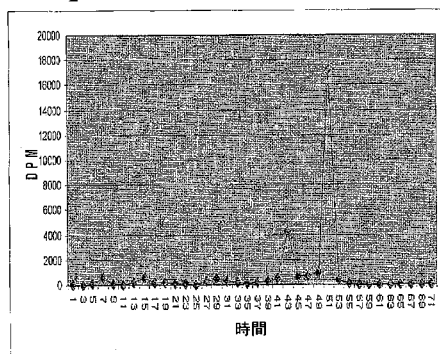
FT-IR (KBr) ν (cm⁻¹): 3065.16, 305.16, 293.34, 178.27, 150.00, 130.00.

Chemical structure of 10b is shown in the inset.

【图 1 2 A】

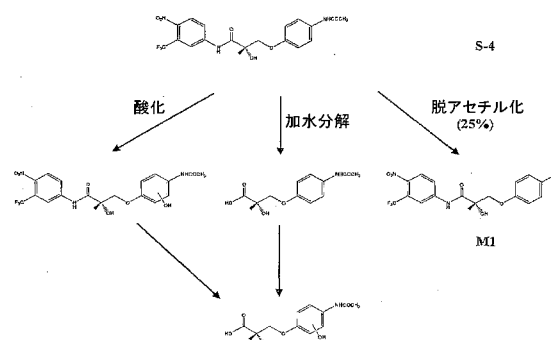


【 ㊦ 1 1 B 】

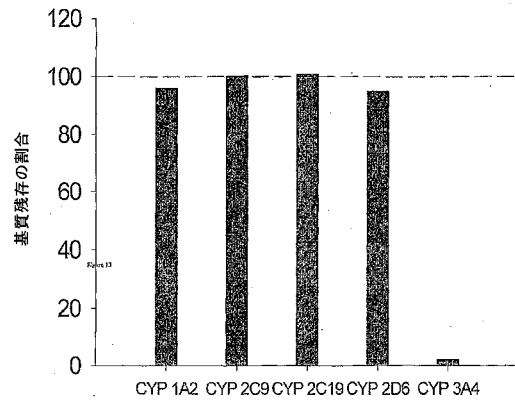


【图 12 B】

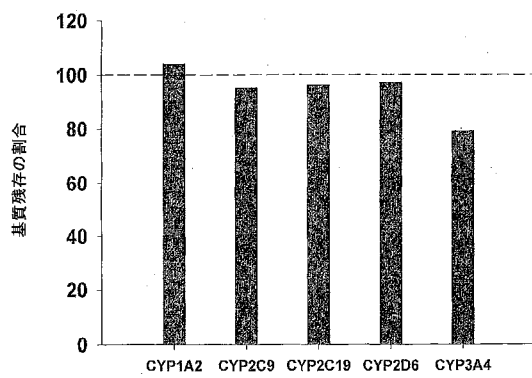
HLM中の化合物IVのインビトロ代謝



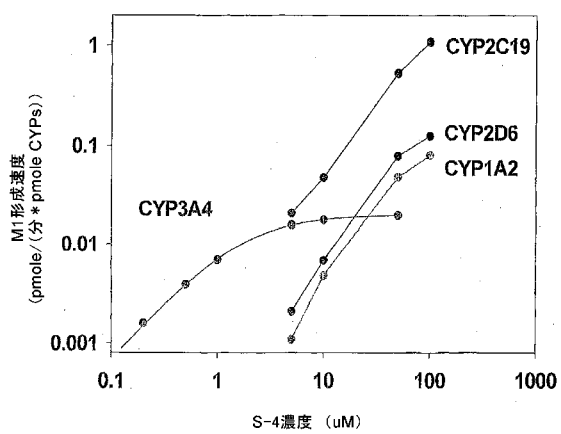
【図 13】



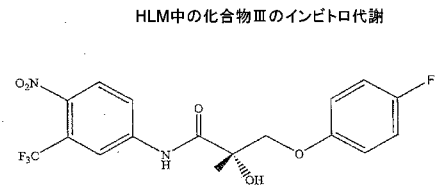
【図 14】



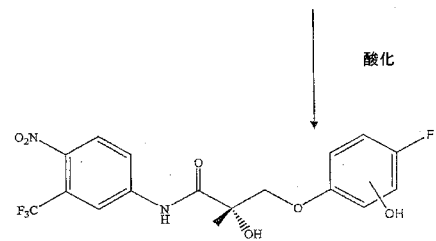
【図 17】



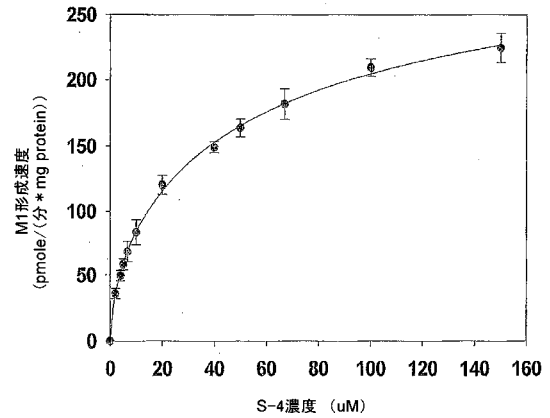
【図 15】



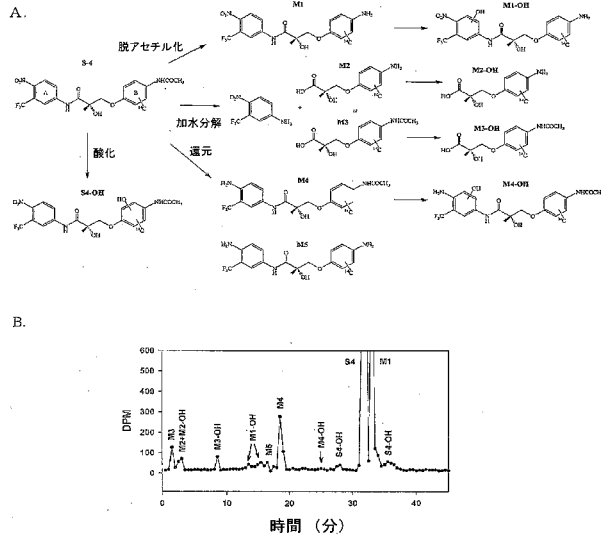
【図 16】



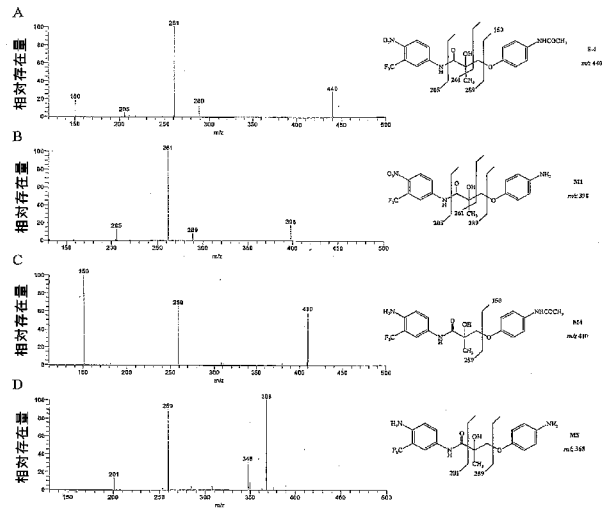
【図 18】



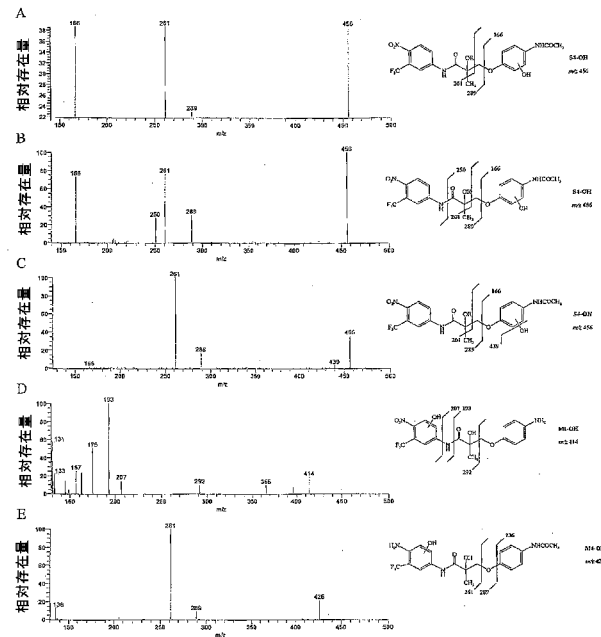
【図 19】



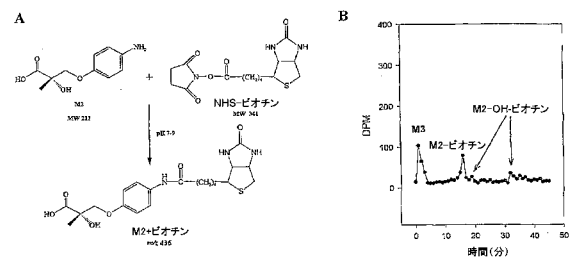
【図 20】



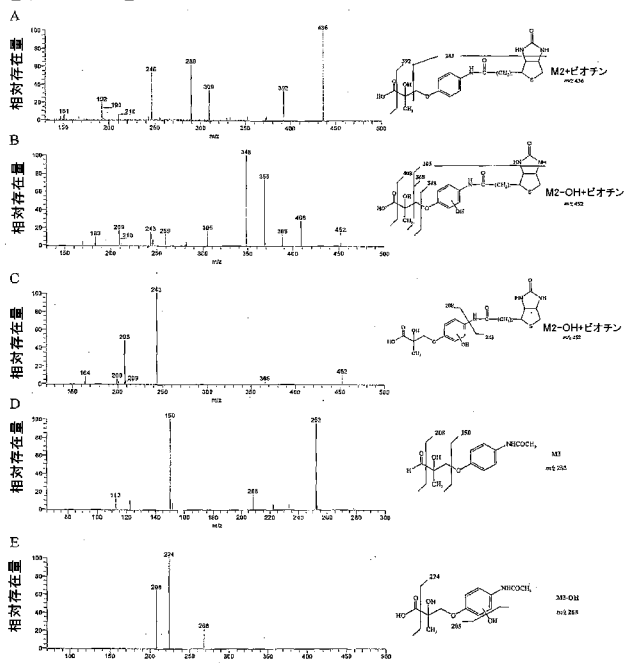
【図 21】



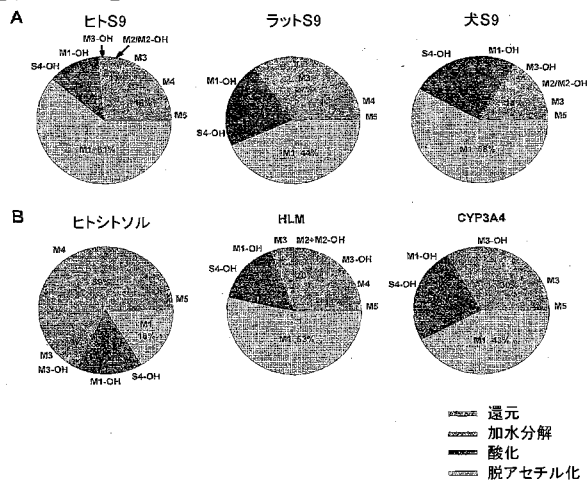
【図 22】



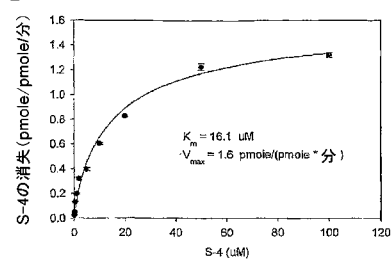
【图 2 3】



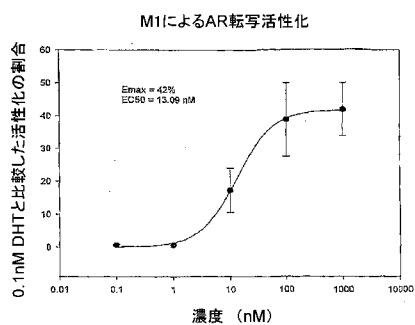
【图 24】



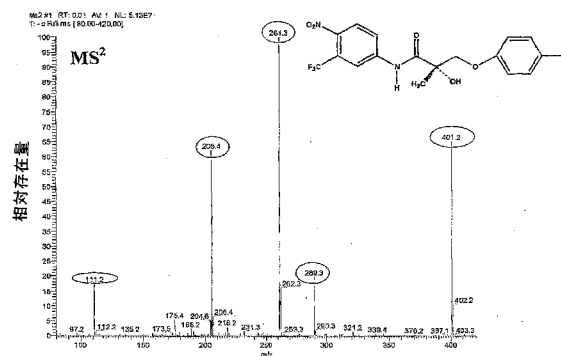
【図 25】



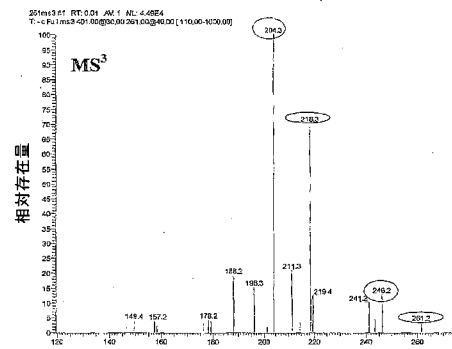
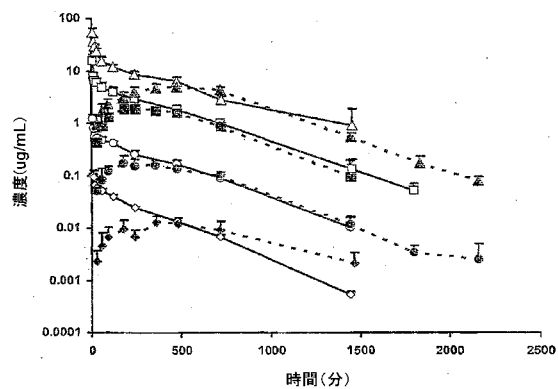
【 図 2 6 】



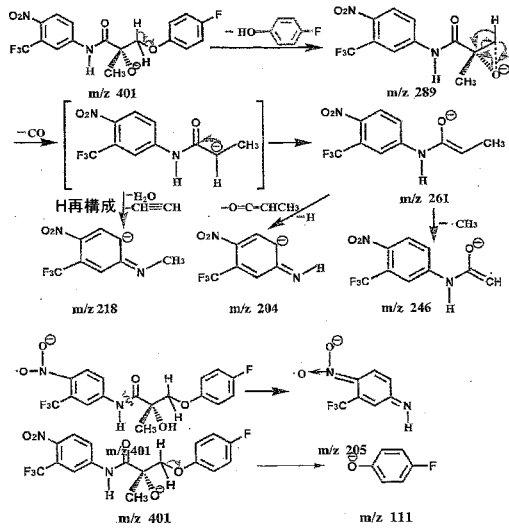
【图 2 8】



【 図 2 7 】



【図 29】



【図 30 A】

0~24時間の間でラットの尿中に確認されたS-10代謝産物(移動相システム1使用)

代謝産物 ID	保持時間 (分)	[M+H] ⁺ m/z	MS/MS m/z	提示構造 (Proposed Structure)
1	15.56	213	111	
2	20.87	591	415; MS ³ of 415 → 287, 127	
3	21.66	579	MS ³ of 287 → 229, 215, 203, 197; 403; MS ³ of 403 → 143	
4	21.69	563	387; MS ³ of 387 → 259, 245, 127	
5	28.17	575	399; MS ³ of 399 → 287, 259, 203; MS ³ of 287 → 229	

【図 30 B】

代謝産物 ID	保持時間 (分)	[M+H] ⁺ m/z	MS/MS m/z	提示構造 (Proposed Structure)
6	29.00	301	221; MS ³ of 221 → 191, 171	
8	29.44	547	287, 203, 127; MS ³ of 287 → 229, 215, 197; MS ³ of 229 → 172, 435, 371, 259, 231, 201, 175; MS ³ of 435 → 277, 231, 175; MS ³ of 277 → 231, 171	
9	30.59	467	387, 127; MS ³ of 387 → 259, 127	
10	31.86	415	287, 259, 229, 203; MS ³ of 287 → 244, 229, 215, 203, 189; MS ³ of 229 → 201, 189	

【図 30 C】

代謝産物 ID	保持時間 (分)	[M+H] ⁺ m/z	MS/MS m/z	提示構造 (Proposed Structure)
11	32.30	483	403; MS ³ of 403 → 143	
12	32.43	467	387; MS ³ of 387 → 259, 127	
13	34.65	483	403; MS ³ of 403 → 275, 259, 221; MS ³ of 275 → 255, 201	
14	34.90	263	221; MS ³ of 221 → 191, 171	
15	35.03	343	263; MS ³ of 263 → 221; MS ³ of 221 → 191, 171	

【図 30 D】

代謝産物 ID	保持時間 (分)	[M+H] ⁺ m/z	MS/MS m/z	提示構造 (Proposed Structure)
16	36.5	467	387; MS ³ of 387 → 275, 235, 191, 171, 111 MS ⁴ of 275 → 255, 191	
17	36.66	387	307, 275, 259, 127	
18	37.20	263	221; MS ³ of 221 → 191, 171	
19	38.07	513	433; MS ³ of 433 → 307, 289, 261, 227, 205, 143	
20	38.55	415	287, 127; MS ³ of 287 → 259, 245, 229, 217, 205, 201 MS ⁴ of 229 → 189	

【図 30 E】

代謝産物 ID	保持時間 (分)	[M+H] ⁺ m/z	MS/MS m/z	提示構造 (Proposed Structure)
21	38.69	387	259, 127; MS ³ of 259 → 229, 201, 175	
22	39	513	433; MS ³ of 433 → 275, 204	
23	40.43	513	433; MS ³ of 433 → 289, 261, 227, 205, 143	
24	40.91	577	401; MS ³ of 401 → 289, 261, 205 MS ⁴ of 261 → 246, 218, 204, 190	
25	41.74	247	205	

【図 30 F】

代謝産物 ID	保持時間 (分)	[M+H] ⁺ m/z	MS/MS m/z	提示構造 (Proposed Structure)
26	41.89	513	433; MS ³ of 433 → 289, 275, 227, 205, 183, 143	
27	42.78	403	143	
28	43.64	385	273, 245, 225, 217, 189 MS ³ of 245 → 225, 205, 203 MS ⁴ of 225 → 205, 259, 201, 127;	
29	44.5	387	417; MS ³ of 417 → 289, 205, 127 MS ⁴ of 205 → 175	
30	45.49	497		

【図 30 G】

代謝産物 ID	保持時間 (分)	[M+H] ⁺ m/z	MS/MS m/z	提示構造 (Proposed Structure)
31	45.52	387	275, 255, 191, 111; MS ³ of 275 → 255	
32	46.62	371	259, 231, 111; MS ³ of 259 → 229, 201, 175	
33	47.31	385	273, 245, 225, 217, 189; MS ³ of 245 → 225, 203	
34	47.9	563	307; MS ³ of 307 → 289, 261, 205	
35	51.50	417	289, 261, 205; MS ³ of 289 → 261 MS ⁴ of 261 → 246, 218, 204, 190	

【図 30 H】

代謝産物 ID	保持時間 (分)	[M+H] m/z	MS/MS m/z	提示構造 (Proposed Structure)
36	55.55	417	305, 289, 261, 205, 127 MS ³ of 261 → 246, 218, 204, 190	
37	66.26	452	407, 289, 261 MS ³ of 289 → 261, 244, 233, 231, 205	

ボールド体の数字は、対応MSスペクトルにおける基本質量ピークでのm/z値。

【図 30 I】

0~24時間の間でラットの糞中に確認されたS-1の代謝産物(移動相システム2使用)

代謝産物 ID	保持時間 (分)	[M+H] m/z	MS/MS m/z	提示構造 (Proposed Structure)
1	26.62	213	111	
9	29.40	467	387, 127; MS ³ of 387 → 259, 201, 175 MS ⁴ of 259 → 229, 209, 201, 175	
17	32.34	387	259, 127; MS ³ of 259 → 201, 175	
12	32.55	467	387, 127; MS ³ of 387 → 259, 201, 175 MS ⁴ of 259 → 230, 201, 175	
6	38.	301	221; MS ³ of 221 → 191, 171	

【図 30 J】

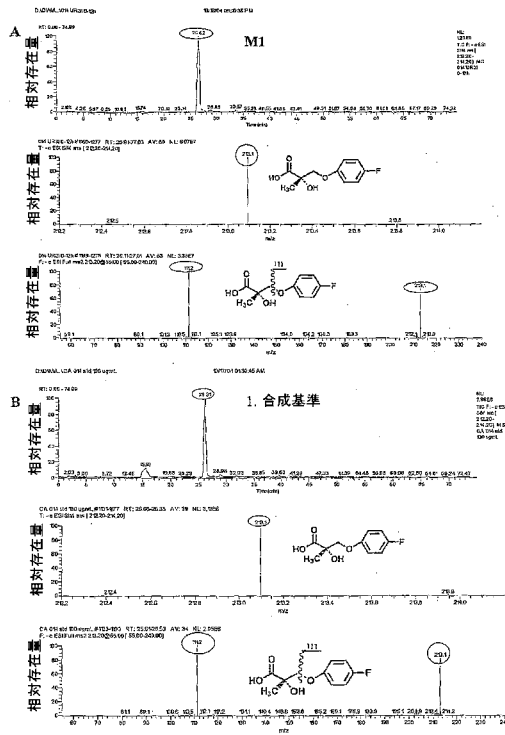
代謝産物 ID	保持時間 (分)	[M+H] m/z	MS/MS m/z	提示構造 (Proposed Structure)
38	38.14	467	387, 127; MS ³ of 387 → 259, 201, 175 MS ⁴ of 259 → 229, 209, 201, 175	
21	39.01	387	259, 201, 127; MS ³ of 259 → 229, 201, 175	
39	40.18	451	371; MS ³ of 371 → 259, 231, 201, 175, 111 MS ⁴ of 259 → 201, 175	
29	44.84	387	259, 127; MS ³ of 259 → 201, 175	
31	45.52	387	275, 255, 111; MS ³ of 275 → 255	

【図 30 K】

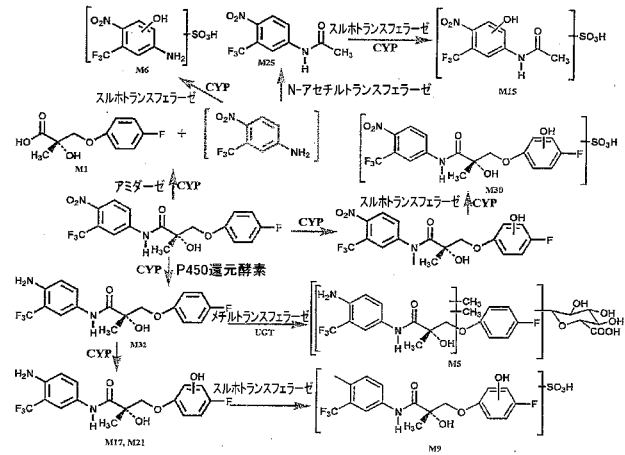
代謝産物 ID	保持時間 (分)	[M+H] m/z	MS/MS m/z	提示構造 (Proposed Structure)
32	47.19	371	259, 231, 201, 175, 111; MS ³ of 259 → 229, 201, 175	
24	50.01	577	401, 307, 261, 205, 175	
40	52.56	307	289, 245, 205; MS ³ of 289 → 245, 204	

ボールド体の数字は、対応MSスペクトルにおける基本質量ピークでのm/z値。

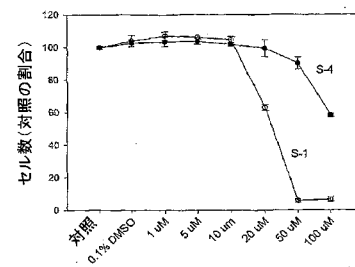
【図 3 1】



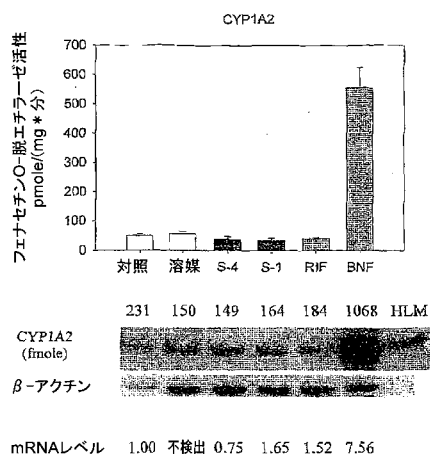
【図 3 2】



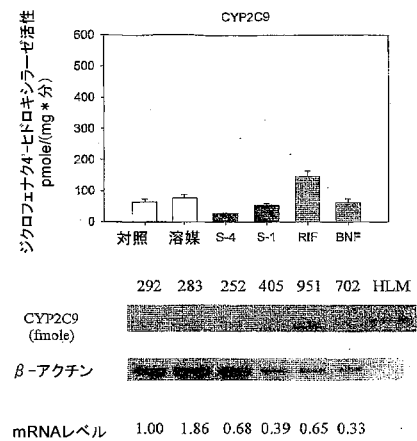
【図 3 3】



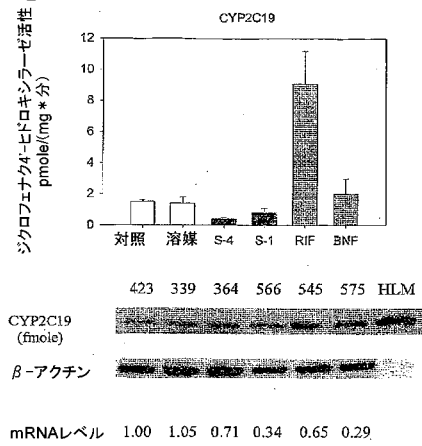
【図 3 4】



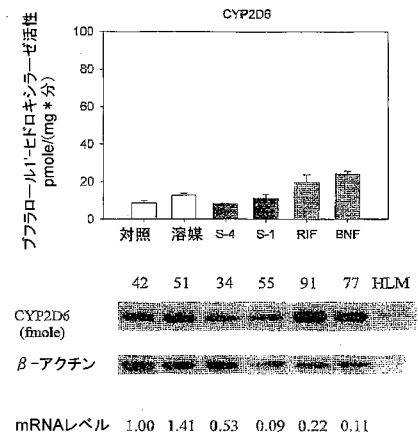
【図 3 5】



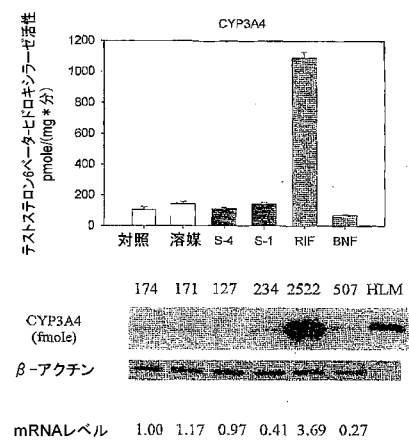
【図 3 6】



【図 3 7】



【図 3 8】



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US05/17588												
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC: A61K 31/275(2006.01);C07C 233/05(2006.01) C07G 3/00(2006.01);A61K 31/70(2006.01) USPC: 564/153,157,158;514/522,524,616,628;558/414 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC														
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) U.S. : 564/153,157,158;514/522,524,616,628;558/414 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CASONLINE SEARCH														
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT <table border="1"> <thead> <tr> <th>Category *</th> <th>Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th> <th>Relevant to claim No.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Y</td> <td>US 4,636,505 A (TUCKER) 13 January 1987 (13.01.1987), column 1, line 30 through column 3, line 20.</td> <td>1-32, 35-37, 52-64, 68-75 and 79-81</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>US 6,019,957 A (MILLER et al) 01 February 2000 (01.02.2000), column 6, line 40 through column 8, line 63.</td> <td>1-32, 35-37, 52-64, 68-75, and 79-81</td> </tr> </tbody> </table>			Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	Y	US 4,636,505 A (TUCKER) 13 January 1987 (13.01.1987), column 1, line 30 through column 3, line 20.	1-32, 35-37, 52-64, 68-75 and 79-81	Y	US 6,019,957 A (MILLER et al) 01 February 2000 (01.02.2000), column 6, line 40 through column 8, line 63.	1-32, 35-37, 52-64, 68-75, and 79-81			
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.												
Y	US 4,636,505 A (TUCKER) 13 January 1987 (13.01.1987), column 1, line 30 through column 3, line 20.	1-32, 35-37, 52-64, 68-75 and 79-81												
Y	US 6,019,957 A (MILLER et al) 01 February 2000 (01.02.2000), column 6, line 40 through column 8, line 63.	1-32, 35-37, 52-64, 68-75, and 79-81												
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.														
<table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="2">Special categories of cited documents:</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>* "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</td> <td>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</td> </tr> <tr> <td>"E" earlier application or patent published on or after the international filing date</td> <td>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</td> </tr> <tr> <td>"I" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</td> <td>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</td> </tr> <tr> <td>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</td> <td>"&" document member of the same patent family</td> </tr> <tr> <td>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>			Special categories of cited documents:		* "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention	"E" earlier application or patent published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone	"I" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art	"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family	"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	
Special categories of cited documents:														
* "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention													
"E" earlier application or patent published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone													
"I" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art													
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family													
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed														
Date of the actual completion of the international search 31 March 2006 (31.03.2006)		Date of mailing of the international search report 14 JUN 2006												
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US Commissioner for Patents P.O. Box 1450 Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. (571) 273-3201		Authorized officer SHAILENDRA . KUMAR <i>J. Roberts for</i> Telephone No. (571)272-1600												

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US05/17588

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

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

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
Please See Continuation Sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
 2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of any additional fees.
 3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
 4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.: 1-32,35-37,52-64,68-75 and 79-81
- Remark on Protest**
- | | |
|--------------------------|---|
| ☐ | The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee. |
| ☐ | The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation. |
| ☐ | No protest accompanied the payment of additional search fees. |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US05/17588

BOX III. OBSERVATIONS WHERE UNITY OF INVENTION IS LACKING

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees must be paid.

Group I, claim(s) 1-32, 35-37, 52-64, 68-75, and 79-81, drawn to SARM compounds, composition.

Group II, claim(s) 33-34, 36-37, 65-67 and 76-78, drawn to glucoronide containing compounds.

Group III, claim(s) 38, 42, and 82 drawn to method of binding selective androgen receptor modulator.

Group IV, claim(s) 39 and 83, drawn to method of suppressing spermatogenesis.

Group V, claim(s) 40 and 84, drawn to method of contraception in male.

Group VI, claim(s) 41-43 and 85-87, drawn to method of hormone therapy.

Group VII, claim(s) 44-48 and 88-92, drawn to method of treating prostate cancer.

Group VIII, claim(s) 49-50 and 93-94, drawn to method of treating eye conditions.

Group IX, claim(s) 51 and 95, drawn to method of inducing apoptosis.

The inventions listed as Groups I-IX do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons: Group I-II compounds are structurally different, Group III-IX are drawn to different methods of treatment, thus lacking the same or corresponding technical feature.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 0 7 H 15/203 (2006.01)	C 0 7 C 323/41	
C 0 7 H 15/04 (2006.01)	C 0 7 H 15/203	
A 6 1 K 31/167 (2006.01)	C 0 7 H 15/04	F
A 6 1 K 31/7034 (2006.01)	C 0 7 H 15/04	Z
A 6 1 P 15/16 (2006.01)	A 6 1 K 31/167	
A 6 1 P 15/12 (2006.01)	A 6 1 K 31/7034	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 15/16	
A 6 1 P 13/08 (2006.01)	A 6 1 P 15/12	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
	A 6 1 P 13/08	
	A 6 1 P 43/00	1 1 1

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

(72)発明者 ミラー、デュアン・ディー
アメリカ合衆国テネシー州 3 8 1 3 9-6 4 3 7・ジャーマンタウン・メープルクリークコーブ
8 7 0 6

(72)発明者 イン、ドングア
アメリカ合衆国コネチカット州 0 6 3 4 0・グロトン・アパートメント 3 0 7・レッジウッドロ
ード 1 3 5

(72)発明者 ヒー、ヤリ
アメリカ合衆国サウスカロライナ州 2 5 9 0 1・フローレンス・テクノロジープレイス 1 0 1

Fターム(参考) 4C057 AA17 BB02 DD01 JJ19 JJ23
4C086 AA01 AA02 AA03 EA07 EA08 MA01 MA04 NA14 ZA81 ZB26
ZC03 ZC41
4C206 AA01 AA02 AA03 GA07 GA31 MA01 MA04 NA14 ZA81 ZB26
ZC03 ZC41
4H006 AA01 AA03 AB20 BJ50 BN10 BP30 BS10