

# 發明專利說明書 200530263

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號： 83136621

※ 申請日期： 93 11 26

※IPC 分類： C07J 1/00, 4/00,

A61K 31/565,

A61P 9/04, 9/10, 9/12

## 一、發明名稱：(中文/英文)

以選擇性雌激素8 $\beta$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,17 $\beta$ -二醇及17 $\beta$ -氟-9 $\alpha$ -

乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,16 $\alpha$ -二醇預防及治療高血壓性心臟病

PREVENTION AND TREATMENT OF HYPERTENSIVE HEART

DISEASES BY THE SELECTIVE ESTROGENS

8 $\beta$ -VINYL-ESTRA-1,3,5(10)-TRIEN-3,17 $\beta$ -DIOL AND

17 $\beta$ -FLUOR-9 $\alpha$ -VINYL-ESTRA-1,3,5(10)-TRIEN-3,16 $\alpha$ -DIOL

## 二、申請人：(共 1 人)

姓名或名稱：(中文/英文)

德商先靈公司

SCHERING AKTIENGESELLSCHAFT

代表人：(中文/英文)

1. 安德列斯 波莎曼拉  
BROSAMLE, ANDREAS

2. 席莫納 庫利拉  
KURILLA, SIMONE

住居所或營業所地址：(中文/英文)

德國柏林市木勒街 178 號

178 MULLERSTRASSE D-13342 BERLIN GERMANY

國 籍：(中文/英文)

德國 GERMANY

三、發明人：(共 5 人)

姓 名：(中文/英文)

1. 卡爾-海恩里克 福瑞茲米爾  
FRITZEMEIER, KARL-HEINRICH
2. 克里斯塔 海格-哈恩  
HEGELE-HARTUNG, CHRISTA
3. 魯德玉 奈希斯  
NEYSES, LUDWIG
4. 提歐 皮瑟  
PELZER, THEO
5. 歐福 彼得斯  
PETERS, OLAF

國 籍：(中文/英文)

1. 德國 GERMANY
2. 德國 GERMANY
3. 德國 GERMANY
4. 德國 GERMANY
5. 德國 GERMANY

#### 四、聲明事項：

主張專利法第二十二條第二項  第一款或  第二款規定之事實，其事實發生日期為： 年 月 日。

申請前已向下列國家（地區）申請專利：

【格式請依：受理國家（地區）、申請日、申請案號 順序註記】

有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1. 歐洲專利機構；2003 年 11 月 26 日；03090406.4

2.

無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1.

2.

主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號 順序註記】

主張專利法第三十條生物材料：

須寄存生物材料者：

國內生物材料 【格式請依：寄存機構、日期、號碼 順序註記】

國外生物材料 【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼 順序註記】

不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

## 九、發明說明：

### 【發明所屬之技術領域】

本發明係關於高血壓性心臟病之預防及治療。

### 【先前技術】

高血壓係決定人類心血管發病率及死亡率之關鍵因素之一 (Vasan RS, Larson MG, Leip EP, Evans JC, O'Donnell CJ, Kannel WB, Levy D. Impact of high-normal blood pressure on the risk of cardiovascular disease. *N Engl J Med* 2001; 345:1291-1297)。與同齡男性相比，停經前女性的高血壓發病率明顯較低 (Corrao JM, Becker RC, Ockene IS, Hamilton GA. CHD risk factors in women. *Cardiology* 1990; 77:8-24)。但在停經之後觀察不到該等性別差異 (August P, Oparil S. Hypertension in women. *Jclin Endocrinol Metabol* 1999; 84:1826-1866)，此係歸因於卵巢功能衰退所導致之雌激素缺損。藥理學介入 (pharmacological intervention) 亦可導致雌激素缺損，例如用於治療視雌激素而定之癌症 (例如乳癌及前列腺癌)、子宮內膜異位及其它疾病所使用之 GnRH 促效劑或拮抗劑、芳香酶抑制劑或抗雌激素。雌激素缺損之臨床症狀與此類型之治療的關聯得到很好證明。因此，藉由 GnRH 類似物之治療與熱潮紅 (hot flash) 之誘發及骨骼礦物質密度 (bone mineral density) 降低相關聯 (Sagsveen M. 等人 2003, *Cochrane Database Syst Rev* 4: CD001297)。同樣對於芳香酶抑制劑而言已經描述了抑制雌激素作用之負面效應係血管舒縮症狀之誘發及骨骼礦物質密度之減小

(Wickman S. 等人2003, J. Clin. Endocrinol Metab. 88:3785-93)。  
。已知雌激素對血管壁發揮有益效應，其包括內皮一氧化氮合成酶之向上調節(up-regulation)(Hayashi T, Yamada K, Esaki T, Kuzuya M, Satake S, Ishikawa T, Hidaka H, Iguchi A. Estrogen increases endothelial nitric oxide by a receptor mediated system. Biochem Biophys Res Comm 1995; 214:847-855; MacRitchie AN, Jun SS, Chen Z, German Z, Yuhanna IS, Sherman TS, Shaul PW. Estrogen upregulates endothelial nitric oxide synthase gene expression in fetal pulmonary artery endothelium. Circ Res. 1997; 81:355-62)及血管收縮素-1受體表達(Nickenig G, Baumer AT, Grohe C, Kahlert S, Strehlow K, Rosenkranz S, Stablein A, Beckers F, Smits JF, Daemen MJ, Vetter H, Boehm M. Estrogen modulates AT1 receptor gene expression in vitro and in vivo. Circulation 1998; 97:2197-2201)。  
。作為天然、無選擇性ER $\alpha$ 及ER $\beta$ 促效劑之雌二醇降低了停經後女性之血壓(Modena MG, Molinari R, Muia N, Castelli A, Pala F, Rossi R. Double blind randomized placebo controlled study of transdermal estrogen replacement therapy on hypertensive postmenopausal women. Am J Hypertens 1999; 12:1000-1008; Szekas B, Vajo Z, Acs N, Hada P, Csuzi L, Bezeredi J, Magyar Z, Brinton EA. HRT reduces mean 24 hr blood pressure and its variability in postmenopausal women with treated hypertension. Menopause 2000; 7:31-35)。  
。高血壓增加了心臟的工作負荷，其引起心

肌質量之適應性增加(心肌肥大)。雖然心臟肥大本身代表一代償機制(compensatory mechanism)，但其仍為發展成心臟衰竭及心因性猝死(sudden cardiac death)之確定及獨立風險因素(Levy D, Garrison RJ, Savage DD, Kannel WB, Castelli WP. Prognostic implications of echocardiographically determined left ventricular mass in the Framingham Heart Study. *N Engl J Med* 1990; 322:1561-1566)。性別本身在決定左心室肥大之程度中充當關鍵要素的原理發現已報導於若干基於人群之研究中，該等研究包括Framingham人群及患有主動脈瓣狹窄(aortic stenosis)之患者(Carroll JD, Carroll EP, Feldman T, Ward DM, Lang RM, McGaughey D and Karp RB. Sex-associated differences in left ventricular function in aortic stenosis of the elderly. *Circulation* 1992; 86:1099-1107; Krumholz HM, Larson M, Levy D. Sex differences in cardiac adaptation to isolated systolic hypertension. *Am J Cardiol* 1993; 72:310-313; Dannenberg AL, Levy D, Garrison RJ. Impact of age on echocardiographic left ventricular mass in a healthy population (the Framingham study). *Am J Cardiol* 1989; 64:1066-1068)。最近，心臟肥大與性激素含量之間之直接聯繫已在雌性SHR大鼠之主動脈縮窄(aortic constriction)或發展為高血壓後之動物模型中得以確定(Wallen WJ, Cserti Ch, Belanger MP, Wittnich C. Gender-differences in myocardial adaptation to afterload in normotensive and hypertensive rats. *Hypertension*

2000; 36:774-779; van Eickels M, Grohe C, Cleutjens JP, Janssen BJ, Wellens HJ, Doevendans PA. 17beta-estradiol attenuates the development of pressure-overload hypertrophy. *Circulation*. 2001; 18;104:1419-1423; Pelzer T, de Jager T, Muck J, Stimpel M, Neyses L. Oestrogen action on the myocardium in vivo: specific and permissive for angiotensin-converting enzyme inhibition. *J Hypertens* 2002; 20:1001-1006)。心肌肥大、冠狀動脈疾病以及瓣膜性心臟病最終會引起心臟衰竭，心臟衰竭定義為心臟不能將心輸出量維持在提供周邊組織(peripheral tissue)上所需充氧血的足夠水平上。心臟衰竭晚期具有與惡性疾病晚期相比擬之不良預後(prognosis)，且係工業國家中代表心血管死亡率之單一最重要原因(Haddy FJ. Heart failure - incidence and survival. *N Engl J Med*. 2002; 347:1397-402)。類似於心臟肥大及高血壓，女性患心臟衰竭與男性相比較不常見，且在女性患者中顯現之心臟衰竭的預後明顯地較好(Luchner A, Brockel U, Muscholl M, Hense HW, Doring A, Riegger GA, Schunkert H. Gender-specific differences of cardiac remodeling in subjects with left ventricular dysfunction: a population-based study. *Cardiovasc Res*. 2002; 53:720-7)。

雌激素會調節標靶基因之表達作用，且因此經由兩種不同胞核內激素受體(nuclear hormone receptor)(雌激素受體 $\alpha$ (ER $\alpha$ )及雌激素受體 $\beta$ (ER $\beta$ ))來調節心肌以及血管功能，該等受體充當視配位體而定之轉錄因子(Walters P, Green S,

Greene G, Krust A, Bornert JM, Jeltsch JM, Staub A, Jensen E, Scrace G, Waterfield M, Chambon P. Cloning of the human estrogen receptor cDNA. Proc Natl Acad Sci USA 1985; 82:7889-7893; Kuiper GG, Enmark E, Peltö-Huikko M, Nilsson S, Gustafsson JA. Cloning of a novel receptor expressed in rat in rat prostate and ovary. Proc Natl Acad Sci USA 1996; 93:5925-5930)。ER $\alpha$ 以及ER $\beta$ 在包括小鼠、大鼠及人類之若干物種之血管細胞以及心臟肌細胞中得以表達且具有功能性。

兩種已知之雌激素受體(ER)亞型(ER $\alpha$ 及ER $\beta$ )均由不同基因編碼，其顯示具有高度之序列同源性。因此，激素結合區域內之胺基酸序列僅有三個胺基酸是不同的。兩種受體同質型(isotype)在若干器官系統中調控相異但亦眾多的生物效應(Kuiper GG, Carlsson B, Grandien K, Enmark E, Haggblad J, Nilsson S, Gustafsson JA. Comparison of the Ligand Binding Specificity and Transcript Tissue Distribution of Estrogen Receptors  $\alpha$  and  $\beta$  Endocrinology 1997; 138:863-870; Jankowski M, Rachelska G, Donghao W, McCann SM, Gutkowska J. Estrogen Receptors activate atrial natriuretic peptide in the rat heart. Proc Natl Acad Sci USA 2001; 98:11765-11770)。

#### 雌激素受體 $\beta$ (ER $\beta$ )之組織分佈及功能

ER $\beta$ 於1995/96年經驗明為第二ER亞型(Kuiper 等人(1996), Proc. Natl. Acad. Sci. 93:5925-5930; Mosselman,

Dijkema (1996) *Febs Letters* 392: 49-53; Tremblay 等人 (1997), *Molecular Endocrinology* 11: 353-365)。ER $\beta$ 之表達模式不同於ER $\alpha$ (Kuiper 等人 (1996), *Endocrinology* 138: 863-870)。ER $\beta$ 在大鼠前列腺中高度表達而其在子宮內低度表達。其它展示ER $\beta$ 之高度表達的器官為卵巢顆粒細胞(Couse 等人 *Endocrinology* 138, 1997, S. 4612-4613)。除此之外，具有ER $\beta$ 之高度表達之器官包含骨骼(Onoe Y 等人，1997, *Endocrinology* 138:4509-4512)、血管系統(Register TC, Adams MR 1998, *J Steroid Molec Biol* 64: 187-191)、肺、泌尿生殖道(Kuiper GJM 等人 1997, *Endocrinology* 138: 863-870)、胃腸道(Campbell-Thopson 1997, *BBRC* 240: 478-483)及睪丸(Mosselmann S 等人 1996 *Febs Lett* 392 49-53)。ER $\alpha$ 、ER $\beta$ 及ER $\alpha/\beta$ 基因剔除小鼠之表型已經提供了血管系統中ER $\beta$ 之功能重要性之證據。因此，雌二醇在ER $\alpha$ 及ER $\beta$ 基因剔除小鼠兩者中顯示了於動脈硬化(artherosclerosis)模型(血管損傷回應模型)中之保護性效應，其表明了剩餘ER同種型調控該保護性效應(lafrati MD 等人 1997, *Nature Medicine* 3: 545-548)。在ER $\alpha$ /ER $\beta$ 雙基因剔除小鼠中雌二醇之保護性效應失去(Karas RH 等人 2001, *Circ. Res* 89: 534-539)。

已經在ER $\beta$ 缺損小鼠中觀察到異常血管功能及高血壓(Zhu Y 等人 2002, *Science* 295: 505-508)。該等資料證明了ER $\beta$ 在調整血管功能及血壓方面之重要作用。

### **ER配位體及其對心血管系統之影響**

與荷爾蒙替代療法(hormone replacement therapy)(HRT)中所使用之天然ER配位體 $17\beta$ -雌二醇及共軛雌激素(普力馬林(PREMARIN)中之活性要素)相比，亞型選擇性ER促效劑於心血管系統中之效應尚未詳細研究。儘管 $17\beta$ -雌二醇以及共軛雌激素及合成雌激素刺激子宮內膜且因此經常與黃體素組合使用，但預期同種型選擇性雌激素可允許進行不導致產生對(例如)子宮及肝臟之不當刺激效應的雌激素治療。用雌激素刺激子宮內膜據認為係與子宮內膜癌之風險增加有關聯(Harlap S 1992, Am J Obstet Gynecol 166: 1986-1992)。

一種對骨骼及血管系統顯示類雌激素效應而對子宮及乳腺顯示抗雌激素效應的選擇性雌激素為ER部分促效劑/拮抗劑。此類型選擇性雌激素被稱為選擇性雌激素受體調節劑(SERM)(R.F. Kauffman, H.U. Bryant 1995, DNAP 8 (9): 531-539)。歸因於SERM，已經展示出內皮功能之改良，然而SERM對血壓、心臟肥大及心輸出量之有益效應尚未描述(Nickenig G, Baumer AT, Grohe C, Kahlert S, Strehlow K, Rosenkranz S, Stablein A, Beckers F, Smits JF, Daemen MJ, Vetter H, Boehm M. Estrogen modulates AT1 receptor gene expression in vitro and in vivo. Circulation 1998; 97: 2197-22019)。

最近，已經驗明ER $\beta$ 選擇性雌激素(例如在WO 01/77139; PCT/EP03/06172, WO 02/26763; DE 100486349中)。

### 【發明內容】

本發明係關於使用 8 $\beta$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,17 $\beta$ -二醇及 17 $\beta$ -氟-9 $\alpha$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,16 $\alpha$ -二醇(兩種顯示雌激素受體 $\beta$ (ER $\beta$ )之選擇性之類固醇雌激素受體配位體)及 8 $\beta$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,17 $\beta$ -二醇及 17 $\beta$ -氟-9 $\alpha$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,16 $\alpha$ -二醇之前藥來預防及治療一或多種選自(1)高血壓、(2)心臟肥大及(3)心臟衰竭之群之病症。

本發明係基於如下發現：ER- $\beta$ 選擇性促效劑 8 $\beta$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,17 $\beta$ -二醇及 17 $\beta$ -氟-9 $\alpha$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,16 $\alpha$ -二醇在高血壓之臨床前模型(即自發性高血壓大鼠(SHR))中可

- (i) 降低收縮、平均及舒張血壓，
- (ii) 預防心臟肥大之發展及
- (iii) 增加心輸出量。

儘管已在 ER $\beta$  缺損之小鼠中已觀察到異常血管功能及高血壓(Zhu Y 等人 2002, Science 295: 505-508)，且該等觀察表明了 ER $\beta$  在血管功能及血壓調整中起重要作用，但兩種 ER- $\beta$  促效劑 8 $\beta$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,17 $\beta$ -二醇及 17 $\beta$ -氟-9 $\alpha$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,16 $\alpha$ -二醇在高血壓之臨床前模型(即自發性高血壓大鼠(SHR))中可

- (i) 降低收縮、平均及舒張血壓，
- (ii) 預防心臟肥大之發展及
- (iii) 增加心輸出量

之實證係新穎的。

ER $\beta$ 基因剔除小鼠(knockout mice)中失常血管功能之表型係2001年4月4日申請之Gustafsson JA及Bian Z(Karo Bio AB, Sweden)之專利申請案GB 2374412A之基礎。發明者觀察到，與野生型(wt)同窩出生小鼠(littermate)相比，年齡大於5個月之雄性及雌性ER $\beta$ 基因剔除小鼠之平均動脈壓(MAP)升高。各個ER $\beta$ 缺損小鼠之心臟質量與野生型同窩出生小鼠沒有差別且未在心臟、肺或腎中偵測到諸如肥大或纖維化之病理性變化。儘管發明者申請ER $\beta$ 調節化合物用於調節血壓且尤其用於治療高血壓之用途的專利，但迄今為止尚未公佈可證明該等效應之有關ER $\beta$ 選擇性促效劑之研究。

考慮到GB 2374412中所描述之ER $\beta$ 缺損小鼠之表型未證明如心臟肥大或纖維化之病理性變化，本發明者於本研究中所使用之ER $\beta$ 促效劑8 $\beta$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,17 $\beta$ -二醇(WO 0177139)及17 $\beta$ -氟-9 $\alpha$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,16 $\alpha$ -二醇(PCT/EP03/06172)抑制SHR心臟肥大之發現係出乎預料且新穎的。

此外，已發現所調查之兩種ER $\beta$ 促效劑8 $\beta$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,17 $\beta$ -二醇及17 $\beta$ -氟-9 $\alpha$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,16 $\alpha$ -二醇在降低SHR血壓方面比17 $\beta$ -雌二醇及選擇性ER $\alpha$ 促效劑3,17 $\beta$ -二羥基-19-降-17 $\alpha$ -孕-1,3,5(10)-三烯-21,16 $\alpha$ -內酯(WO 02/26763)更有效。

該等觀察提供了可建議使用兩種ER $\beta$ 促效劑8 $\beta$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,17 $\beta$ -二醇及17 $\beta$ -氟-9 $\alpha$ -乙烯基-雌

-1,3,5(10)-三烯-3,16 $\alpha$ -二醇供預防及/或治療

(1)高血壓

(2)心臟肥大及

(3)心臟衰竭

的基礎。

### 【實施方式】

本發明者已研究了自發高血壓性大鼠中選擇性ER $\beta$ 促效劑8 $\beta$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,17 $\beta$ -二醇及17 $\beta$ -氟-9 $\alpha$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,16 $\alpha$ -二醇之心血管效應，自發高血壓性大鼠係大體上模擬人類高血壓及心臟肥大之較完善模型系統(Dantas AP, Scivoletto R, Fortes ZB, Nigro D, Carvalho MH. Influence of female sex hormones on endothelium-derived vasoconstrictor prostanoid generation in microvessels of spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*. 1999; 34:914-9)。在進行該等研究中，觀察到用化合物8 $\beta$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,17 $\beta$ -二醇及17 $\beta$ -氟-9 $\alpha$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,16 $\alpha$ -二醇治療之動物中收縮血壓以及舒張血壓的顯著降低。

令人吃驚地，用8 $\beta$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,17 $\beta$ -二醇及17 $\beta$ -氟-9 $\alpha$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,16 $\alpha$ -二醇治療時，如藉由活體內形態測量法及心臟磁共振造影(cardiac MRI)評估之心臟肥大的發展在該等動物中得到顯著抑制。介入性(invasive)以及非介入性血液動力學研究表明用8 $\beta$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,17 $\beta$ -二醇及17 $\beta$ -氟-9 $\alpha$ -乙烯基-雌

-1,3,5(10)-三烯-3,16 $\alpha$ -二醇治療之動物中心輸出量顯著改良。

基於該等結果，可作出結論，選擇性ER- $\beta$ 促效劑8 $\beta$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,17 $\beta$ -二醇及17 $\beta$ -氟-9 $\alpha$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,16 $\alpha$ -二醇提供一種預防及治療人類中一或多種選自(1)高血壓、(2)心臟肥大及(3)心臟衰竭之群之病症的新穎方法。

根據本發明，ER $\beta$ 選擇性促效劑8 $\beta$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,17 $\beta$ -二醇及17 $\beta$ -氟-9 $\alpha$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,16 $\alpha$ -二醇及其前藥可用於產製供預防及治療一或多種選自(1)高血壓、(2)心臟肥大及(3)心臟衰竭之群之病症的藥物。

該等化合物適合用於女性及男性之該等適應症(indication)。

ER $\beta$ 選擇性促效劑8 $\beta$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,17 $\beta$ -二醇及17 $\beta$ -氟-9 $\alpha$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,16 $\alpha$ -二醇可在無額外黃體素之共同投用下而用於本發明之目的。此係歸因於ER $\beta$ 選擇性促效劑將不會引起對子宮內膜之刺激，在使用ER $\alpha$ 促效化合物之情況下必須藉由黃體素之共同投用來拮抗該刺激。

ER $\beta$ 選擇性促效劑8 $\beta$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,17 $\beta$ -二醇及17 $\beta$ -氟-9 $\alpha$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,16 $\alpha$ -二醇尤其適合用於本發明之目的，即用於由於停經後卵巢功能衰退或化學或手術去勢而顯示出內源性雌激素水平降低的婦

女。

在本發明之另一態樣中，ER $\beta$ 選擇性促效劑可與抗雌激素及/或芳香酶抑制劑組合(即附加於彼等)而投用，該等抗雌激素及/或芳香酶抑制劑用於治療激素依賴性及非依賴性腫瘤。投用ER $\beta$ 選擇性促效劑之目的係預防雌激素喪失對心血管系統之有害效應，尤其是對血壓及心臟功能之負面效應。

在本發明之另一態樣中，ER $\beta$ 選擇性促效劑可與用於治療前列腺增生之抗雌激素、芳香酶抑制劑或選擇性雌激素受體調節劑(SERM)組合使用以預防雌激素喪失對心血管系統之有害效應，尤其是對血壓及心臟功能之負面效應。

待使用之抗雌激素可為(例如)7 $\alpha$ -[9-[(4,4,5,5,5-五氟苯基)亞磺醯基]壬基]雌-1,3,5(10)-三烯-3,17 $\beta$ -二醇(氟維司群(fulvestrant))。

待使用之芳香酶抑制劑可選自下列化合物之群：安美達錠(anastrozole)、阿他美坦(atamestane)、法倔唑(fadrozole)、福美斯坦(formestane)、來曲唑(letrozole)。

待使用之SERM可選自下列化合物之群：雷洛昔芬(raloxifene)、他莫昔芬(tamoxifene)、5-(4-{5-[(RS)-(4,4,5,5,5-五氟苯基)亞磺醯基]戊氧基}苯基)-6-苯基-8,9-二氫-7H-苯并環庚烯-2-醇(WO 00/03979)。

該等化合物可按照經口及非經腸投用兩種方式而用於所提及之適應症。

具有ER $\beta$ 促效活性待投用之化合物劑量係在廣泛範圍內

變化，且可涵蓋任何有效劑量。基於待治療之病症或待達成之效應及投用之類型，化合物之劑量可為每日0.001毫克/公斤體重-100毫克/公斤體重，較佳0.003毫克/公斤體重-30毫克/公斤體重。

對於人而言，此對應於每日0.080毫克至8000毫克之劑量，較佳0.240至2400毫克。

根據本發明，一劑量單位中含有0.08毫克至2000毫克之一或兩種具有ER $\beta$ 促效活性之化合物。

根據本發明待使用之包含具有ER $\beta$ 促效活性之化合物之醫藥組合物或醫藥製劑含有作為活性成份之一或兩種化合物8 $\beta$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,17 $\beta$ -二醇及17 $\beta$ -氟-9 $\alpha$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,16 $\alpha$ -二醇，其視情況可與其它藥理或醫藥活性物質混合。醫藥製劑之產製可以已知之方式進行，藉以可使用已知及通常所使用之醫藥佐劑以及其它通常所使用之媒劑及稀釋劑。

舉例而言，下列文獻對照案中所推薦或指明可作為用於醫藥品、美容品及相關領域之佐劑的彼等物質適合於作為此等媒劑及稀釋劑：Ullmans Encyklopadie der technischen Chemie [Ullman's Encyclopedia of Technical Chemistry]，第4卷(1953)，第1至39頁；Journal of Pharmaceutical Sciences，第52卷(1963)，第918頁及其後，Czetsch-Lindenwald發行，Hilfsstoffe für Pharmazie und angrenzende Gebiete [Adjuvants for Pharmaceutics and Related Fields]；Pharm. Ind.，第2期，1961，第72頁及其後；Dr. H. P. Fiedler，Lexikon der

Hilfsstoffe für Pharmazie, Kosmetik und angrenzende Gebiete [Dictionary of Adjuvants for Pharmaceutics, Cosmetics and Related Fields], Cantor KG, Aulendorf in Württemberg 117β-Fluor-9α-vinyl-estra-1,3,5(10)-trien-3,16α-diol 971。

可將該等化合物以經口或非經腸方式(例如腹膜內、肌肉內、皮下、經皮膚或靜脈內)投用。亦可將該等化合物以滲入組織之緩釋型系統形式植入於皮下。

對於經口投用而言，膠囊、藥丸、錠劑、塗覆錠劑等皆適合。除了活性成份之外，劑量單位可含有醫藥上相容之媒劑，諸如(例如)澱粉、糖、山梨糖醇、明膠、潤滑劑、矽酸、滑石粉等。

對於非經腸投用而言，活性成份可溶解或懸浮於生理上相容稀釋劑中。經常使用添加或未添加有增溶劑、界面活性劑、懸浮劑或乳化劑之油作為稀釋劑。所使用之油之實例為橄欖油、花生油、棉籽油、大豆油、蓖麻油及芝麻油。

亦可以儲槽式注射劑(depot injection)或植入製劑之形式使用該等化合物，可調配該等化合物以使活性成份之延遲釋放成為可能。

作為惰性材料，植入物可含有(例如)生物可降解聚合物或諸如(例如)聚矽氧橡膠之合成聚矽氧。此外，對於經皮膚投用而言，可將活性成份添加至(例如)貼片。

為了產製裝填有ERβ促效活性化合物之陰道內系統(例如，陰道環)或子宮內系統(例如，子宮栓、圈、IDUs、Mirena®)

供局部投用，各種聚合物皆適合，諸如(例如)聚矽氧聚合物、乙烯醋酸乙烯酯(ethylene vinyl acetate)、聚乙烯或聚丙烯。為達成活性成份之較好生體利用性，亦可將化合物調配為環糊精包合物(cyclodextrin clathrate)。出於此目的，使該化合物與 $\alpha$ 、 $\beta$ -或 $\gamma$ -環糊精或後者之衍生物(PCT/EP95/02656)反應。

根據本發明，亦可將具有ER $\beta$ 促效活性之化合物用脂質體封裝成膠囊。

## 方法

### 雌激素受體結合研究

使用作為配位體之[3H]-雌二醇藉由競爭實驗測定8 $\beta$ -乙炔基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,17 $\beta$ -二醇及17 $\beta$ -氟-9 $\alpha$ -乙炔基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,16 $\alpha$ -二醇之結合親和力。含有受體之細胞溶質(cytosol)係製備自大鼠前列腺(含有ER $\beta$ 之細胞溶質)及大鼠子宮(含有ER $\alpha$ 之細胞溶質)。

如(Stack, Gorski 1985, Endocrinology 117, 2024-2032)所描述並進行如Fuhrmann等人所描述之一些變更(Fuhrmann U.等人1995, Contraception 51: 45-52)來執行大鼠子宮細胞溶質之製備及結合研究。

如(Testas J.等人，1981, Endocrinology 109: 1287-1289)所描述執行大鼠前列腺細胞溶質之製備及結合研究。

與大鼠子宮雌激素受體相比8 $\beta$ -乙炔基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,17 $\beta$ -二醇及17 $\beta$ -氟-9 $\alpha$ -乙炔基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,16 $\alpha$ -二醇顯示了與大鼠前列腺較高之結合親和力，ER $\beta$

為大鼠前列腺中主導性ER，ER $\alpha$ 為大鼠子宮中主導性ER。根據此假定，已發現與ER $\alpha$ 相比8 $\beta$ -乙炔基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,17 $\beta$ -二醇及17 $\beta$ -氟-9 $\alpha$ -乙炔基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,16 $\alpha$ -二醇顯示出與人類ER $\beta$ 之較高親和力，人類受體藉由桿狀病毒(Baculovirus)/SF-9表達系統來表達。

### 自發高血壓性大鼠(SHR)中ER $\beta$ 促效劑8 $\beta$ -乙炔基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,17 $\beta$ -二醇及17 $\beta$ -氟-9 $\alpha$ -乙炔基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,16 $\alpha$ -二醇對血壓及心臟功能之影響的研究

在三個獨立研究中調查ER $\beta$ 促效劑對卵巢切除SHR之血壓(BP)的影響，卵巢切除之SHR係已廣泛接受之高血壓性心臟病之動物模型。作為參照使用雌二醇及類固醇ER $\alpha$ 促效劑3,17-二羥基-19-降-17 $\alpha$ -孕-1,3,5(10)-三烯-21,16 $\alpha$ -內酯。

### 動物圈養及照料

將雌性自發高血壓性大鼠(SHR-Nico；12週大；Charles River Laboratories)用於實驗。使所以動物保持於標準狀況下(例如12小時啟/閉光照週期、商業級飼料及飲水無限制)。如下所概述隨機地將動物分派至不同治療組。藉由耳牌將所有動物分別進行標記。

### 卵巢切除及治療：

將雌性大鼠(SHR；12週大)之卵巢切除(ovx)且根據下述方案在ovx後一天開始治療4週。

### 藥物：

使用乙醇(EtOH)/花生油4+1作為媒劑每日注射所有化合物。

### 研究方案及血液動力學量測

群組	治療階段	動物/組
1. 虛擬OP	年齡之12至16週	10
2. ovx, EtOH/花生油	年齡之12至16週	10
3. ovx, 17 $\beta$ -雌二醇(2 $\mu$ g/kg bw/d)	年齡之12至16週	10
4. ovx, 3,17 $\beta$ -二羥基-19-降-17 $\alpha$ -孕-1,3,5(10)-三烯-21,16 $\alpha$ -內酯(30 $\mu$ g/kg BW/d/sc)	年齡之12至16週	10
5. ovx, ER $\beta$ 促效劑8 $\beta$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,17 $\beta$ -二醇(30 $\mu$ g/kg BW/d/sc)[或17 $\beta$ -氟-9 $\alpha$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,16 $\alpha$ -二醇(30 $\mu$ g/kg BW/d/sc),分別地]	年齡之12至16週	10

將12週大之雌性SHR(Charles River™)的卵巢切除或進行虛擬手術(sham-operated)。自卵巢切除後一天開始隨機選擇動物進行每日皮下注射17 $\beta$ -雌二醇(E2, 2  $\mu$ g/kg體重/d)、選擇性ER $\alpha$ 促效劑3,17 $\beta$ -二羥基-19-降-17 $\alpha$ -孕-1,3,5(10)-三烯-21,16 $\alpha$ -內酯(WO 02-26763)(30  $\mu$ g/kg體重/d/sc)、選擇性ER $\beta$ 促效劑8 $\beta$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,17 $\beta$ -二醇(或17 $\beta$ -氟-9 $\alpha$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,16 $\alpha$ -二醇,分別為30  $\mu$ g/kg體重)或安慰劑。所有動物可自由獲取標準大鼠食物及水。將E2, 3,17 $\beta$ -二羥基-19-降-17 $\alpha$ -孕-1,3,5(10)-三烯-21,16 $\alpha$ -內酯及8 $\beta$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,17 $\beta$ -二醇(或17 $\beta$ -氟-9 $\alpha$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,16 $\alpha$ -二醇)溶解於乙醇且使用花生油作為載劑物質每日進行注射,安慰劑動物

只接收乙醇/花生油。在4週治療之後如先前所描述 (Fraccarollo D, Hu K, Galuppo P, Gaudron P, Ertl G. (1997), Circulation. 1997; 96: 3963-3973)量測血液動力學參數且使動物安樂死。

#### **活體內血液動力學：**

量測下列各參數：收縮血壓、舒張血壓、平均血壓；左心室射出分率(ejection fraction)；左心室收縮及舒張壓以及左心室中血壓增加及減小之速度；心輸出量、心臟指數、心率；系統性血管阻力(systemic vascular resistance)。於異氟烷(isofluran)麻醉下在靜止時進行所有量測。

#### **心臟肥大：**

藉由量測心臟總重量並隨後對於脛骨長度進行規格化判定所有動物之心臟肥大。

#### **子宮重量：**

量測作為經典ER $\alpha$ 調控雌激素作用之指示物子宮鮮重(fresh weight)。

#### **統計**

將量測值表達為來自不同動物之參數的平均值 $\pm$ 標準偏差(SEM)。藉由單因子變異數分析(one-way analysis of variance)(ANOVA)繼之以事後(post hoc)Bonferroni測試來執行統計學分析。 $<0.05$ 之P值視作具有統計學上顯著性。

#### **結果**

實驗結果清楚證明了8 $\beta$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,17 $\beta$ -二醇及17 $\beta$ -氟-9 $\alpha$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,16 $\alpha$ -

二醇對高血壓、心臟肥大及心臟衰竭之動物模型(SHR大鼠)之有利效應。

- 與天然雌激素雌二醇(2  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{d}$ )及ER $\alpha$ 促效劑3,17 $\beta$ -二羥基-19-降-17 $\alpha$ -孕-1,3,5(10)-三烯-21,16 $\alpha$ -內酯(劑量:30  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{d}$ )相比,8 $\beta$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,17 $\beta$ -二醇(劑量:30  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{d}$ )既未導致子宮生長之刺激亦未影響ovx SHR之ovx誘發脂肪表型(圖1、圖2)。
- 8 $\beta$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,17 $\beta$ -二醇與媒劑治療(安慰劑)之動物相比降低了SHR之血壓水平。該化合物與雌二醇及ER $\alpha$ 促效劑3,17 $\beta$ -二羥基-19-降-17 $\alpha$ -孕-1,3,5(10)-三烯-21,16 $\alpha$ -內酯相比更有效(圖3)。
- 8 $\beta$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,17 $\beta$ -二醇增大了雌二醇缺損之SHR大鼠的左心室整體(global)效能指數,諸如心輸出量、左心室搏出量(圖4、圖5)及心臟指數。
- 與雌二醇及ER $\alpha$ 促效劑3,17 $\beta$ -二羥基-19-降-17 $\alpha$ -孕-1,3,5(10)-三烯-21,16 $\alpha$ -內酯不同,8 $\beta$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,17 $\beta$ -二醇導致對心臟肥大之抑制效應,此由與安慰劑治療之大鼠相比心臟重量之降低所表明(圖6)。
- 使用相同研究設計在獨立實驗中測試17 $\beta$ -氟-9 $\alpha$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,16 $\alpha$ -二醇(30  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{d}$ )。ER $\beta$ 促效劑對SHR顯示出與8 $\beta$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,17 $\beta$ -二醇類似之藥理學概況(資料未圖示)。

#### 【圖式簡單說明】

在下列各圖中ER $\beta$ 促效劑代表8 $\beta$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,17 $\beta$ -二醇且ER $\alpha$ 促效劑代表3,17 $\beta$ -二羥基-19-降-17 $\alpha$ -孕-1,3,5(10)-三烯-21,16 $\alpha$ -內酯。

圖 1 係展示用不同 ER 配位體進行治療對卵巢切除 (ovx)SHR 之子宮重量影響的圖解。

圖 2 係展示用不同 ER 配位體進行治療對卵巢切除 SHR 之體重影響的圖解。

圖 3 係展示用不同 ER 配位體進行治療對卵巢切除 SHR 之血壓 (SAP) 影響 (兩次研究之平均值) 的圖解。

圖 4 係展示用不同 ER 配位體進行治療對卵巢切除 SHR 之心輸出量影響 (兩次研究之平均值) 的圖解。

圖 5 係展示用不同 ER 配位體進行治療對卵巢切除 SHR 之心搏出量 (stroke volume) 影響 (兩次研究之平均值) 的圖解。

圖 6 係展示用不同 ER 配位體進行治療對卵巢切除 SHR 之心臟重量影響 (兩次研究之平均值) 的圖解。

## 五、中文發明摘要：

本發明係關於ER $\beta$ 促效劑8 $\beta$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,17 $\beta$ -二醇及17 $\beta$ -氟-9 $\alpha$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,16 $\alpha$ -二醇之用途，其係用於產製供預防及/或治療高血壓性心臟病之藥物，尤其係供預防及/或治療一或多種選自(1)高血壓、(2)心臟肥大及(3)心臟衰竭之群之病症。

## 六、英文發明摘要：

## 十、申請專利範圍：

1. 一種ER $\beta$ 促效劑8 $\beta$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,17 $\beta$ -二醇及17 $\beta$ -氟-9 $\alpha$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,16 $\alpha$ -二醇之應用，其係用於產製供預防及/或治療高血壓性心臟病之藥物。
2. 如請求項1之ER $\beta$ 促效劑8 $\beta$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,17 $\beta$ -二醇及17 $\beta$ -氟-9 $\alpha$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,16 $\alpha$ -二醇之應用，其係用於產製供預防及/或治療一或多種選自(1)高血壓、(2)心臟肥大及(3)心臟衰竭之群之病症的藥物。
3. 如請求項1之ER $\beta$ 促效劑8 $\beta$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,17 $\beta$ -二醇及17 $\beta$ -氟-9 $\alpha$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,16 $\alpha$ -二醇之應用，其係用於預防及/或治療與雌激素缺乏相關之心血管系統功能障礙。
4. 如請求項3之應用，其係用於預防及/或治療與高血壓相關之血管功能障礙。
5. 如請求項4之應用，其係用於預防及/或治療與血管NO(一氧化氮)產製削弱相關之血管功能障礙。
6. 如請求項4之應用，其係用於預防及/或治療心臟衰竭。
7. 如請求項4之應用，其係用於預防及/或治療心臟肥大。
8. 一種如請求項3至7中任一項之ER $\beta$ 促效劑8 $\beta$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,17 $\beta$ -二醇及17 $\beta$ -氟-9 $\alpha$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,16 $\alpha$ -二醇於停經後女性上之應用。
9. 一種如請求項3至8中任一項之ER $\beta$ 促效劑8 $\beta$ -乙烯基-雌

- 1,3,5(10)-三烯-3,17 $\beta$ -二醇及17 $\beta$ -氟-9 $\alpha$ -乙炔基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,16 $\alpha$ -二醇於切除卵巢女性上之應用。
10. 如請求項3至8中任一項之ER $\beta$ 促效劑8 $\beta$ -乙炔基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,17 $\beta$ -二醇及17 $\beta$ -氟-9 $\alpha$ -乙炔基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,16 $\alpha$ -二醇於女性上之應用，該女性經以GnRH(促性腺激素釋放激素)促效劑或GnRH拮抗劑治療。
11. 如請求項3至8中任一項之ER $\beta$ 促效劑8 $\beta$ -乙炔基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,17 $\beta$ -二醇及17 $\beta$ -氟-9 $\alpha$ -乙炔基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,16 $\alpha$ -二醇於女性上之應用，該女性經以至少一種選自抗雌激素、SERMs(選擇性雌激素受體調節劑)或芳香酶抑制劑之群之化合物治療。
12. 一種如請求項3至7中任一項之ER $\beta$ 促效劑8 $\beta$ -乙炔基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,17 $\beta$ -二醇及17 $\beta$ -氟-9 $\alpha$ -乙炔基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,16 $\alpha$ -二醇於男性上之應用，該男性經以至少一種選自抗雌激素、SERMs、GnRH促效劑、GnRH拮抗劑、芳香酶抑制劑或黃體素之群之化合物治療。
13. 如請求項6之應用，其係用以改善心臟衰竭中降低之心輸出量(cardiac output)及/或心搏出量(stroke volume)。
14. 一種如請求項13之ER $\beta$ 促效劑8 $\beta$ -乙炔基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,17 $\beta$ -二醇及17 $\beta$ -氟-9 $\alpha$ -乙炔基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,16 $\alpha$ -二醇於停經後女性上之應用。
15. 一種如請求項14之ER $\beta$ 促效劑8 $\beta$ -乙炔基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,17 $\beta$ -二醇及17 $\beta$ -氟-9 $\alpha$ -乙炔基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,16 $\alpha$ -二醇於切除卵巢女性上之應用。

16. 如請求項 13 至 15 中任一項於女性上之應用，該女性經以 GnRH 促效劑或 GnRH 拮抗劑治療。
17. 如請求項 13 至 15 中任一項於女性上之應用，該女性經以至少一種選自抗雌激素、SERMs 或芳香酶抑制劑之群之化合物治療。
18. 一種如請求項 13 或 14 之 ER $\beta$  促效劑 8 $\beta$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,17 $\beta$ -二醇及 17 $\beta$ -氟-9 $\alpha$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,16 $\alpha$ -二醇於男性上之應用，該男性經以至少一種選自抗雌激素、SERMs、GnRH 促效劑、GnRH 拮抗劑、芳香酶抑制劑或黃體素之群之化合物治療。
19. 如請求項 1 之 ER $\beta$  促效劑 8 $\beta$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,17 $\beta$ -二醇及 17 $\beta$ -氟-9 $\alpha$ -乙烯基-雌-1,3,5(10)-三烯-3,16 $\alpha$ -二醇之應用，其係用於預防及/或治療與懷孕相關之高血壓。

十一、圖式：

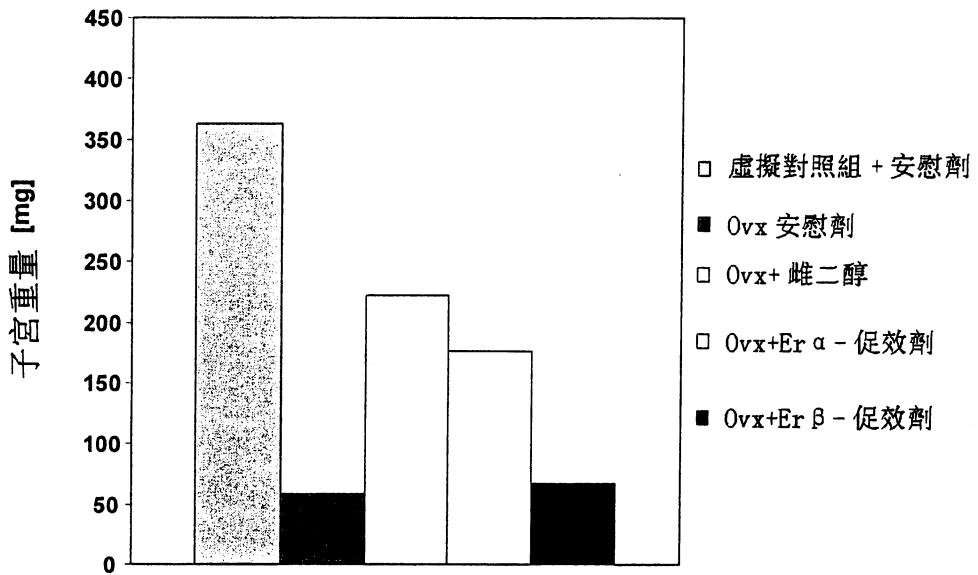


圖 1

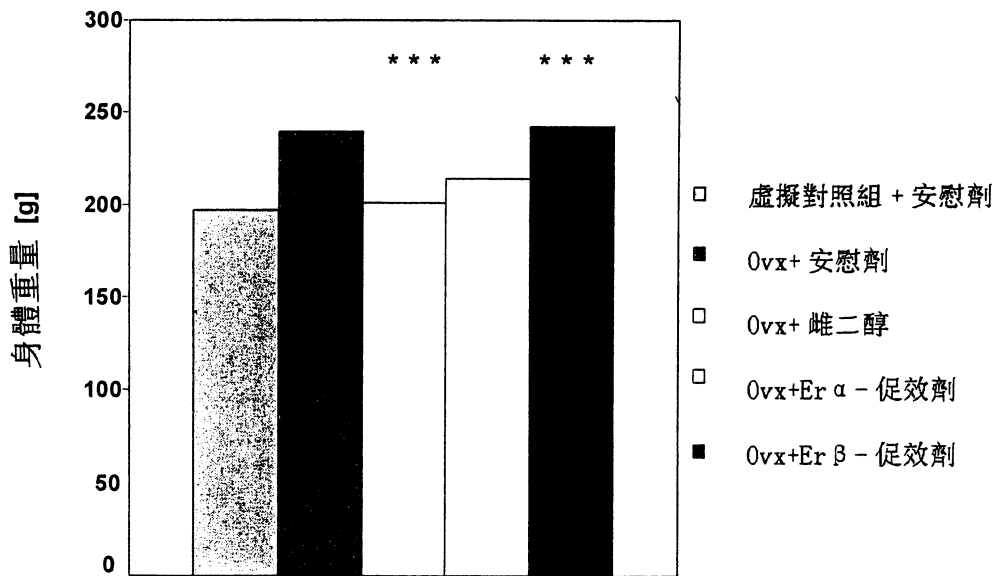


圖 2

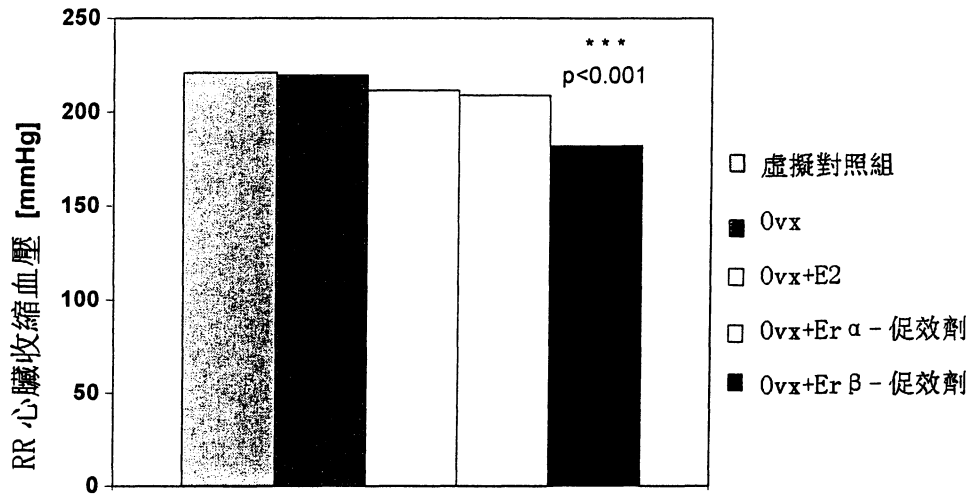


圖 3

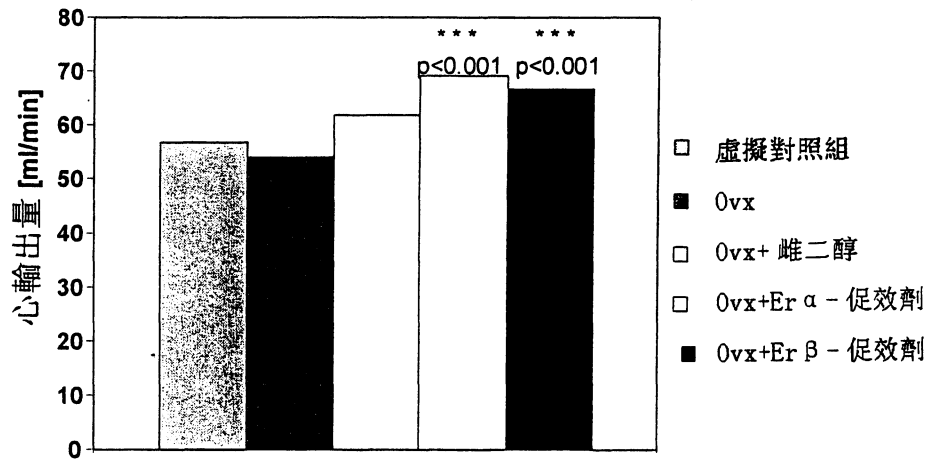


圖 4

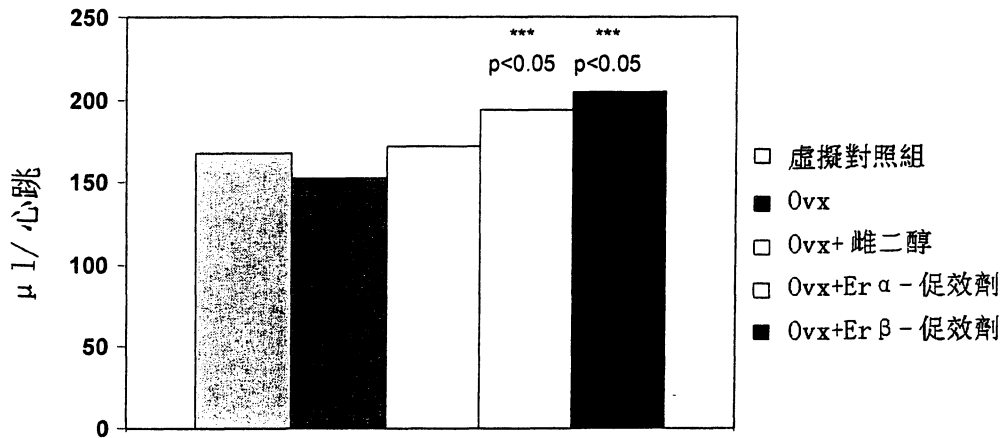


圖 5

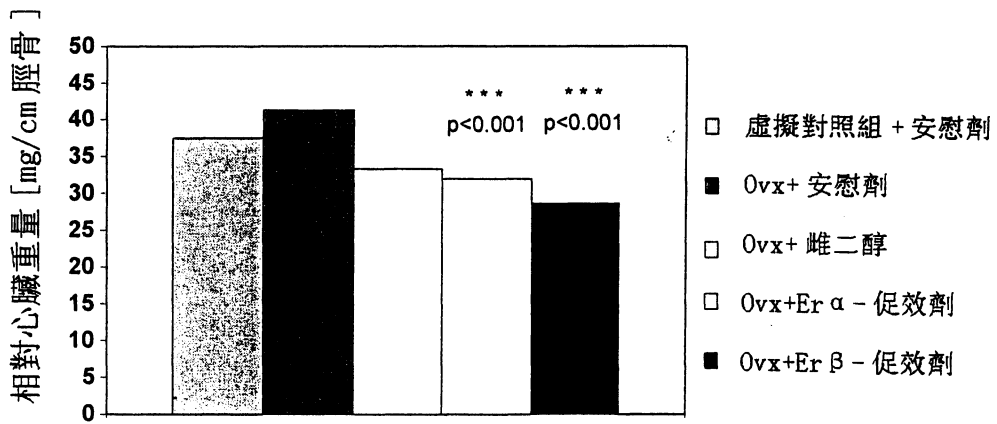


圖 6

**七、指定代表圖：**

(一)本案指定代表圖為：第 ( 3 ) 圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

(無元件符號說明)

**八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：**

(無)