



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0103745
 (43) 공개일자 2017년09월13일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07J 1/00 (2006.01) *C07J 13/00* (2006.01)
C07J 15/00 (2006.01) *C07J 21/00* (2006.01)
C07J 5/00 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07J 1/00 (2013.01)
C07J 1/0062 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2017-7010293
- (22) 출원일자(국제) 2015년09월17일
 심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2017년04월14일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2015/050633
- (87) 국제공개번호 WO 2016/044559
 국제공개일자 2016년03월24일
- (30) 우선권주장
 62/051,898 2014년09월17일 미국(US)
 62/052,457 2014년09월18일 미국(US)

- (71) 출원인
프리바쿠스, 인코포레이티드
 미국, 플로리다주 32308, 텔러해시, 케어 드라이브 샵3 2580
- (72) 발명자
레비 다니엘 이.
 미국 캘리포니아주 94402 샌 마테오 레이크우드 서클 37
- (74) 대리인
특허법인아주김장리

전체 청구항 수 : 총 35 항

(54) 발명의 명칭 **C-20 스테로이드 화합물, 뇌진탕을 포함하는 외상성 뇌손상(TBI)을 치료하기 위한 조성물 및 이의 용도**

(57) 요약

본 발명은 C-20 스테로이드 화합물, 뇌진탕을 포함하는 외상성 뇌손상(TBI)(중증의 TBI, 중등증 TBI 및 경증의 TBI를 포함)을 치료하고/하거나 최소화하고/하거나 예방하기 위한 이의 조성물 및 사용 방법에 관한 것이다.

(52) CPC특허분류

C07J 13/007 (2013.01)

C07J 15/00 (2013.01)

C07J 21/00 (2013.01)

C07J 21/006 (2013.01)

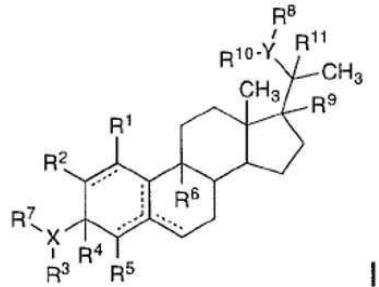
C07J 5/0015 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 에스터, 프로드러그 또는 공결정:



식 중,

X는 O, N 또는 S이고;

Y는 O, N 또는 S이거나; 또는, YR⁸R¹⁰은 존재하지 않고;

R¹, R², R⁵ 및 R⁶은 독립적으로 H, C₁-C₆ 알킬, 할로젠, OR¹², NR¹³R¹⁴, SR¹⁵, SOR¹⁶ 또는 SO₂R¹⁷이며;

R⁴는 H 또는 C₁-C₆ 알킬이고; R⁴는 R³ 및 X와 함께 1 내지 2개의 질소, 산소 또는 황 원자를 함유하는 선택적으로 치환된 5 내지 6원 헤테로사이클을 형성하거나; 또는 R⁴ 및 R⁷은 함께 이중 결합을 형성하고;

R³은 H 또는 C₁-C₆ 알킬이며; R³은 R⁴ 및 X와 함께 1 내지 2개의 질소, 산소 또는 황 원자를 함유하는 선택적으로 치환된 5 내지 6원 헤테로사이클을 형성하거나, 또는 R³은 존재하지 않고;

R⁷은 존재하지 않거나, H, C(O)-C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알킬이거나; 또는 R⁷ 및 R⁴는 함께 이중 결합을 형성하며;

R⁸은 H, C(O)-C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알킬이고; R⁸은 R⁹ 및 Y와 함께 1 내지 2개의 질소, 산소 또는 황 원자를 함유하는 선택적으로 치환된 5 내지 6원 헤테로사이클을 형성하거나, 또는 R⁸은 존재하지 않고;

R⁹은 H 또는 C₁-C₆ 알킬이며; R⁹은 R⁸ 및 Y와 함께 1 내지 2개의 질소, 산소 또는 황 원자를 함유하는 선택적으로 치환된 5 내지 6원 헤테로사이클을 형성하고; R⁹ 및 R¹¹은 함께 이중 결합을 형성하고;

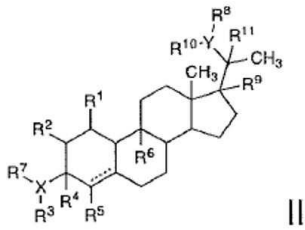
R¹⁰은 존재하지 않거나, H, C(O)-C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알킬이거나; 또는 R¹⁰ 및 R¹¹은 함께 이중 결합을 형성하고;

R¹¹은 H 또는 C₁-C₆ 알킬이거나; 또는 R¹¹ 및 R¹⁰은 함께 이중 결합을 형성하고; R¹¹ 및 R⁹은 함께 이중 결합을 형성하고;

R¹², R¹³, R¹⁴, R¹⁵, R¹⁶ 및 R¹⁷은 독립적으로 H, C(O)-C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알킬이며; 상기 점선은 단일 또는 이중 결합의 존재를 나타내되, 단일 결합의 원자가는 수소에 의해 완전하게 된다.

청구항 2

제1항에 있어서, 하기 화학식 II로 나타내는, 화합물:



X는 O, N 또는 S이고;

Y는 O, N 또는 S이거나; 또는, YR⁸R¹⁰은 존재하지 않고;

R¹, R², R⁵ 및 R⁶은 독립적으로 H, C₁-C₆ 알킬, 할로젠, OR¹², NR¹³R¹⁴, SR¹⁵, -SOR¹⁶ 또는 SO₂R¹⁷이며;

R⁴는 H 또는 C₁-C₆ 알킬이고; R⁴는 R³ 및 X와 함께 1 내지 2개의 질소, 산소 또는 황 원자를 함유하는 선택적으로 치환된 5 내지 6원 헤테로사이클을 형성하거나; 또는 R⁴ 및 R⁷은 함께 이중 결합을 형성하고;

R³은 H 또는 C₁-C₆ 알킬이며; R³은 R⁴ 및 X와 함께 1 내지 2개의 질소, 산소 또는 황 원자를 함유하는 선택적으로 치환된 5 내지 6원 헤테로사이클을 형성하거나, 또는 R³은 존재하지 않고;

R⁷은 존재하지 않거나, H, C(O)-C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알킬이거나; 또는 R⁷ 및 R⁴는 함께 이중 결합을 형성하며;

R⁸은 H, C(O)-C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알킬이고; R⁸은 R⁹ 및 Y와 함께 1 내지 2개의 질소, 산소 또는 황 원자를 함유하는 선택적으로 치환된 5 내지 6원 헤테로사이클을 형성하거나, 또는 R⁸은 존재하지 않고;

R⁹은 H 또는 C₁-C₆ 알킬이며; R⁹은 R⁸ 및 Y와 함께 1 내지 2개의 질소, 산소 또는 황 원자를 함유하는 선택적으로 치환된 5 내지 6원 헤테로사이클을 형성하고; R⁹ 및 R¹¹은 함께 이중 결합을 형성하고;

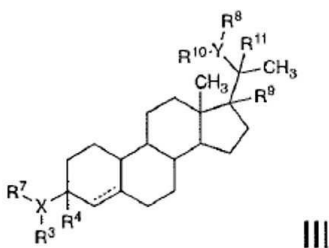
R¹⁰은 존재하지 않거나, H, C(O)-C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알킬이거나; 또는 R¹⁰ 및 R¹¹은 함께 이중 결합을 형성하고;

R¹¹은 H 또는 C₁-C₆ 알킬이거나; 또는 R¹¹ 및 R¹⁰은 함께 이중 결합을 형성하고; R¹¹ 및 R⁹는 함께 이중 결합을 형성하고;

R¹², R¹³, R¹⁴, R¹⁵, R¹⁶ 및 R¹⁷은 독립적으로 H, C(O)-C₁-C₆ 알킬 또는 C₁-C₆ 알킬이며; 상기 점선은 단일 또는 이중 결합의 존재를 나타내되, 상기 단일 결합의 원자가는 수소에 의해 완전하게 된다.

청구항 3

제1항에 있어서, 화학식 III에 의해 나타내는, 화합물:



식 중,

X는 O, N 또는 S이고;

Y는 O, N 또는 S이거나; 또는, YR⁸R¹⁰은 존재하지 않고;

R⁴는 H 또는 C₁-C₆ 알킬이고; R⁴는 R³ 및 X와 함께 1 내지 2개의 질소, 산소 또는 황 원자를 함유하는 선택적으로 치환된 5 내지 6원 헤테로사이클을 형성하거나; 또는 R⁴ 및 R⁷은 함께 이중 결합을 형성하고;

R³은 H 또는 C₁-C₆ 알킬이며; R³은 R⁴ 및 X와 함께 1 내지 2개의 질소, 산소 또는 황 원자를 함유하는 선택적으로 치환된 5 내지 6원 헤테로사이클을 형성하거나, 또는 R³은 존재하지 않고;

R⁷은 존재하지 않거나, H, C(O)-C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알킬이거나; 또는 R⁷ 및 R⁴는 함께 이중 결합을 형성하며;

R⁸은 H, C(O)-C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알킬이고; R⁸은 R⁹ 및 Y와 함께 1 내지 2개의 질소, 산소 또는 황 원자를 함유하는 선택적으로 치환된 5 내지 6원 헤테로사이클을 형성하거나, 또는 R⁸은 존재하지 않고;

R⁹은 H 또는 C₁-C₆ 알킬이며; R⁹은 R⁸ 및 Y와 함께 1 내지 2개의 질소, 산소 또는 황 원자를 함유하는 선택적으로 치환된 5 내지 6원 헤테로사이클을 형성하고; R⁹ 및 R¹¹은 함께 이중 결합을 형성하고;

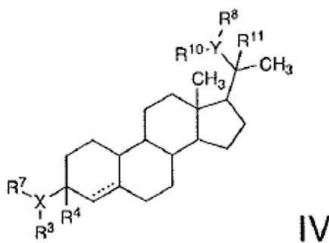
R¹⁰은 존재하지 않거나, H, C(O)-C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알킬이거나; 또는 R¹⁰ 및 R¹¹은 함께 이중 결합을 형성하고;

R¹¹은 H 또는 C₁-C₆ 알킬이거나; 또는 R¹¹ 및 R¹⁰은 함께 이중 결합을 형성하고; R¹¹ 및 R⁹은 함께 이중 결합을 형성하고; 그리고

상기 점선은 단일 또는 이중 결합의 존재를 나타내되, 단일 결합의 원자가는 수소에 의해 완전하게 된다.

청구항 4

제1항에 있어서, 화학식 IV에 의해 나타내는, 화합물:



식 중;

Y는 O, N 또는 S이거나; 또는, YR⁸R¹⁰은 존재하지 않고;

R⁴는 H 또는 C₁-C₆ 알킬이며; R⁴는 R³ 및 X와 함께 1 내지 2개의 질소, 산소 또는 황 원자를 함유하는 선택적으로 치환된 5 내지 6원 헤테로사이클을 형성하거나; 또는 R⁴ 및 R⁷은 함께 이중 결합을 형성하고;

R³은 H 또는 C₁-C₆ 알킬이며; R³은 R⁴ 및 X와 함께 1 내지 2개의 질소, 산소 또는 황 원자를 함유하는 선택적으로 치환된 5 내지 6원 헤테로사이클을 형성하거나, 또는 R³은 존재하지 않고;

R⁷은 존재하지 않거나, H, C(O)-C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알킬이거나; 또는 R⁷과 R⁴는 함께 이중 결합을 형성하고;

R⁹은 존재하지 않거나, H, C(O)-C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알킬이며;

R¹⁰은 존재하지 않거나, H, C(O)-C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알킬이거나; 또는 R¹⁰ 및 R¹¹은 함께 이중 결합을 형성하고;

그리고

R^{11} 은 H 또는 C_1-C_6 알킬이거나; 또는 R^{11} 과 R^{10} 은 함께 이중 결합을 형성하고; R^{11} 및 R^9 은 함께 이중 결합을 형성하고; 그리고

상기 점선은 단일 또는 이중 결합의 존재를 나타내며, 단일 결합의 원자는 수소에 의해 완전하게 된다.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 화학식 I의 조성물은 천연 스테로이드의 입체화학적 입체 배치를 갖는, 화합물.

청구항 6

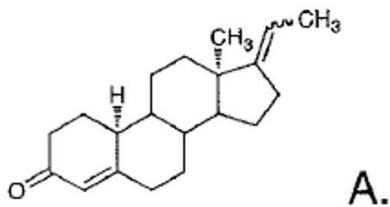
제1항에 있어서, 상기 화학식 I의 조성물은 라세미체인, 화합물.

청구항 7

제1항에 있어서, 상기 화학식 I의 조성물은 천연 스테로이드의 입체화학적 입체 배치와 반대인 입체화학적 입체 배치를 갖는, 화합물.

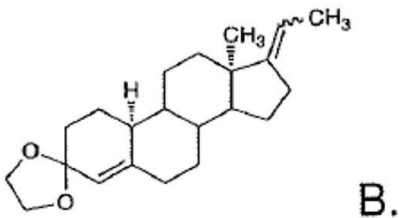
청구항 8

제1항에 있어서, 하기 구조식 A로 나타내는, 화합물



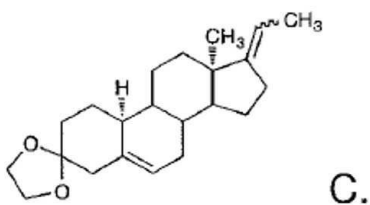
청구항 9

제1항에 있어서, 하기 구조식 B로 나타내는, 화합물



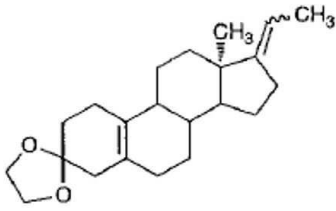
청구항 10

제1항에 있어서, 하기 구조식 C로 나타내는, 화합물



청구항 11

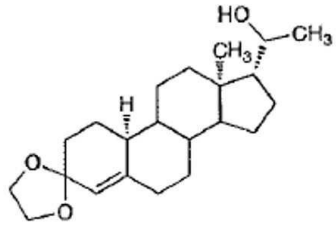
제1항에 있어서, 하기 구조식 D로 나타내는, 화합물



D.

청구항 12

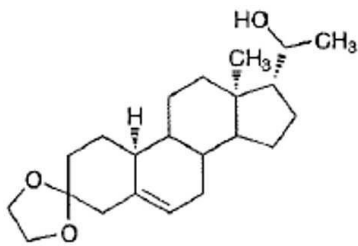
제1항에 있어서, 하기 구조식 E로 나타내는, 화합물



E.

청구항 13

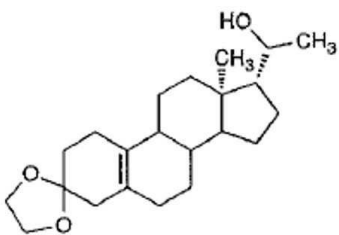
제1항에 있어서, 하기 구조식 F로 나타내는, 화합물



F.

청구항 14

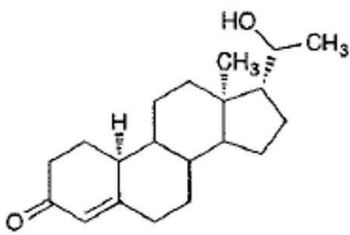
제1항에 있어서, 하기 구조식 G로 나타내는, 화합물



G.

청구항 15

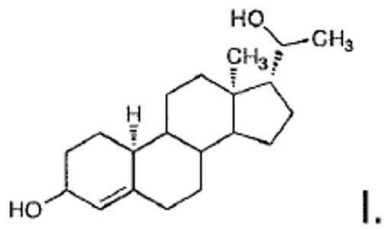
제1항에 있어서, 하기 구조식 H로 나타내는, 화합물



H.

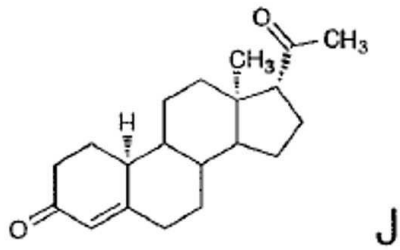
청구항 16

제1항에 있어서, 하기 구조식 I로 나타내는, 화합물



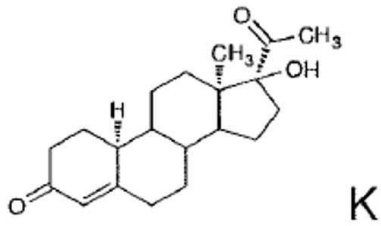
청구항 17

제1항에 있어서, 하기 구조식 J로 나타내는, 화합물



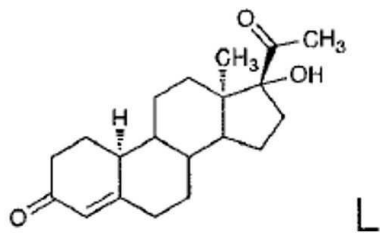
청구항 18

제1항에 있어서, 하기 구조식 K로 나타내는, 화합물.



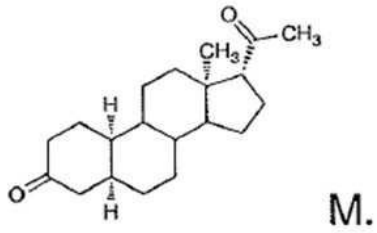
청구항 19

제1항에 있어서, 하기 구조식 L로 나타내는, 화합물



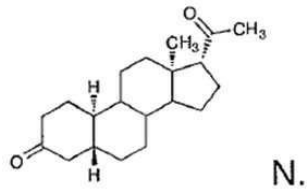
청구항 20

제1항에 있어서, 하기 구조식 M으로 나타내는, 화합물.



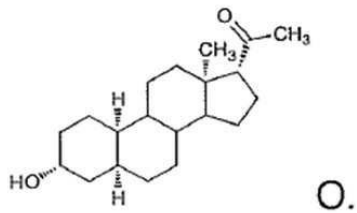
청구항 21

제1항에 있어서, 하기 구조식 N으로 나타내는, 화합물.



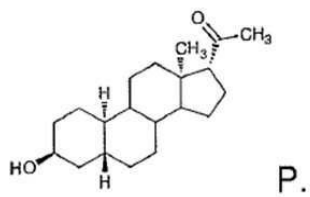
청구항 22

제1항에 있어서, 하기 구조식 O로 나타내는, 화합물.



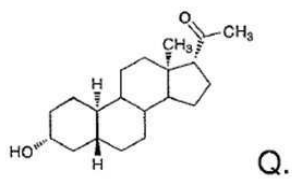
청구항 23

제1항에 있어서, 하기 구조식 P로 나타내는, 화합물.



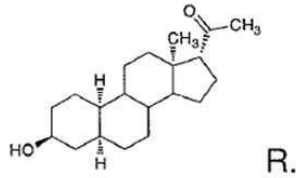
청구항 24

제1항에 있어서, 하기 구조식 Q로 나타내는, 화합물



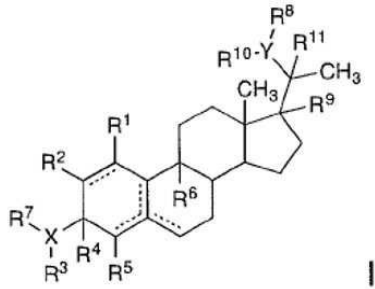
청구항 25

제1항에 있어서, 하기 구조식 R로 나타내는, 화합물



청구항 26

치료적 유효량의 하기 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 에스터, 프로드러그 또는 공결정을 포함하는 약제학적 조성물,



식 중, X는 O, N 또는 S이고;

Y는 O, N 또는 S이거나; 또는, YR⁸R¹⁰은 존재하지 않고;

R¹, R², R⁵ 및 R⁶은 독립적으로 H, C₁-C₆ 알킬, 할로젠, OR¹², NR¹³R¹⁴, SR¹⁵, SOR¹⁶ 또는 SO₂R¹⁷이며;

R⁴는 H 또는 C₁-C₆ 알킬이고; R⁴는 R³ 및 X와 함께 1 내지 2개의 질소, 산소 또는 황 원자를 함유하는 선택적으로 치환된 5 내지 6원 헤테로사이클을 형성하거나; 또는

R⁴ 및 R⁷은 함께 이중 결합을 형성하고;

R³은 H 또는 C₁-C₆ 알킬이며; R³은 R⁴ 및 X와 함께 1 내지 2개의 질소, 산소 또는 황 원자를 함유하는 선택적으로 치환된 5 내지 6원 헤테로사이클을 형성하거나, 또는 R³은 존재하지 않고;

R⁷은 존재하지 않거나, H, C(O)-C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알킬이거나; 또는 R⁷ 및 R⁴는 함께 이중 결합을 형성하며;

R⁹는 H, C(O)-C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알킬이고; R⁹는 R⁹ 및 Y와 함께 1 내지 2개의 질소, 산소 또는 황 원자를 함유하는 선택적으로 치환된 5 내지 6원 헤테로사이클을 형성하거나, 또는 R⁹는 존재하지 않고;

R⁹는 H 또는 C₁-C₆ 알킬이며; R⁹는 R⁹ 및 Y와 함께 1 내지 2개의 질소, 산소 또는 황 원자를 함유하는 선택적으로 치환된 5 내지 6원 헤테로사이클을 형성하고; R⁹ 및 R¹¹은 함께 이중 결합을 형성하며;

R¹⁰은 존재하지 않거나, H, C(O)-C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알킬이거나; 또는 R¹⁰ 및 R¹¹은 함께 이중 결합을 형성하고;

R¹¹은 H 또는 C₁-C₆ 알킬이거나; 또는 R¹¹ 및 R¹⁹는 함께 이중 결합을 형성하고; R¹¹ 및 R⁹는 함께 이중 결합을 형성하고;

R¹², R¹³, R¹⁴, R¹⁵, R¹⁶ 및 R¹⁷은 독립적으로 H, C(O)-C₁-C₆ 알킬 또는 C₁-C₆ 알킬이며;

상기 점선은 단일 또는 이중 결합의 존재를 나타내되, 단일 결합의 원자가는 수소에 의해 완전하게 된다.

청구항 27

제27항에 있어서, 상기 약제학적 조성물은 소분자, 항체, 단백질 및 효소를 포함하는 부류로부터 선택된 추가적인 치료제를 더 포함하는, 약제학적 조성물.

청구항 28

제28항에 있어서, 상기 추가적인 치료제는 신경보호제, 항염증제, 항아밀로이드제 또는 항-타우(anti-Tau)제인, 약제학적 조성물.

청구항 29

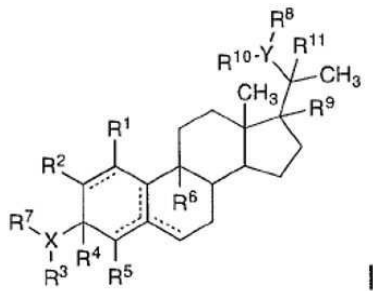
제27항에 있어서, 상기 약제학적 조성물은 정제, 캡슐, 젤캡, 당의정, 분말, 용액, 현탁액, 점안액, 크림, 로션, 젤 및 좌약을 포함하는 목록으로부터 선택된 제형인, 약제학적 조성물.

청구항 30

제30항에 있어서, 상기 제형은 분말, 젤 또는 용액인, 약제학적 조성물.

청구항 31

TBI 치료가 필요한 동물에서 TBI를 치료하거나, 최소화하거나 또는 예방하는 방법으로서, 상기 동물에게 유효량의 하기 화학식 I의 화합물 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 염, 에스터, 프로드러그 또는 공결정을 투여하는 단계를 포함하는, TBI를 치료하거나, 최소화하거나 또는 예방하는 방법,



X는 O, N 또는 S이고;

Y는 O, N 또는 S이거나; 또는, YR⁸R¹⁰은 존재하지 않고;

R¹, R², R⁵ 및 R⁶은 독립적으로 H, C₁-C₆ 알킬, 할로겐, OR¹², NR¹³R¹⁴, SR¹⁵, SOR¹⁶ 또는 SO₂R¹⁷이며;

R⁴는 H 또는 C₁-C₆ 알킬이고; R⁴는 R³ 및 X와 함께 1 내지 2개의 질소, 산소 또는 황 원자를 함유하는 선택적으로 치환된 5 내지 6원 헤테로사이클을 형성하거나; 또는

R⁴ 및 R⁷은 함께 이중 결합을 형성하고;

R³은 H 또는 C₁-C₆ 알킬이며; R³은 R⁴ 및 X와 함께 1 내지 2개의 질소, 산소 또는 황 원자를 함유하는 선택적으로 치환된 5 내지 6원 헤테로사이클을 형성하거나, 또는 R³은 존재하지 않고;

R⁷은 존재하지 않거나, H, C(O)-C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알킬이거나; 또는 R⁷ 및 R⁴는 함께 이중 결합을 형성하며;

R⁸은 H, C(O)-C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알킬이고; R⁸은 R⁹ 및 Y와 함께 1 내지 2개의 질소, 산소 또는 황 원자를 함유하는 선택적으로 치환된 5 내지 6원 헤테로사이클을 형성하거나, 또는 R⁸은 존재하지 않고;

R⁹은 H 또는 C₁-C₆ 알킬이며; R⁹은 R⁸ 및 Y와 함께 1 내지 2개의 질소, 산소 또는 황 원자를 함유하는 선택적으로

치환된 5 내지 6원 헤테로사이클을 형성하고; R⁹ 및 R¹¹은 함께 이중 결합을 형성하고;

R¹⁰은 존재하지 않거나, H, C(O)-C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알킬이거나; 또는 R¹⁰ 및 R¹¹은 함께 이중 결합을 형성하고;

R¹¹은 H 또는 C₁-C₆ 알킬이거나; 또는 R¹¹ 및 R¹⁹는 함께 이중 결합을 형성하고; R¹¹ 및 R⁹는 함께 이중 결합을 형성하고;

R¹², R¹³, R¹⁴, R¹⁵, R¹⁶ 및 R¹⁷은 독립적으로 H, C(O)-C₁-C₆ 알킬 또는 C₁-C₆ 알킬이며; 점선은 단일 또는 이중 결합의 존재를 나타내되, 단일 결합의 원자가는 수소에 의해 완전하게 된다.

청구항 32

제32항에 있어서, 상기 동물은 인간인, 방법.

청구항 33

제32항 또는 제33항에 있어서, 상기 손상 또는 질환은 중증 또는 중등증 TBI인, 방법.

청구항 34

제32항 또는 제33항에 있어서, 상기 손상 또는 질환은 경증의 외상성 뇌손상(mild traumatic brain injury: MTBI)인, 방법.

청구항 35

제32항 또는 제33항에 있어서, 상기 손상 또는 질환은 뇌진탕인, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 신규한 C-20 스테로이드 화합물, 뇌진탕을 포함하는 외상성 뇌손상(traumatic brain injury: TBI)(중증 TBI, 중등증 TBI 및 경증 TBI를 포함함) 치료하고/하거나 최소화하고/하거나 예방하기 위한 조성물 및 이의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 오늘날 미국에서 매년 1백 5십만명의 사람이 외상성 뇌손상(TBI)을 경험하는 것으로 여겨진다. TBI에 의해 영향 받는 사람 중에서, 적어도 약 75%는 중등증 또는 중증의 TBI와 대조적으로 경증의 외상성 뇌손상 또는 MTBI가 지속되는 것으로 생각된다. 이들 손상은 경증으로 나타났지만, MTBI는 장기간 또는 영구적인 손상 및 장애를 야기할 수 있다. MTBI를 지니는 다수의 사람은 일상적인, 매일의 활동으로 복귀하는 데 어려움이 있으며, 몇 주 또는 몇 개월 동안 작업에 복귀하지 못할 수도 있다. 이들 손상의 인간 피해에 추가적으로, MTBI는 미국에서 매년 대략 1백 7십억 달러의 비용이 든다. <http://www.cdc.gov/incipc/pub-res/mtbi/mtbireport.pdf>에서 입수 가능한 문헌[Report to Congress on Mild Traumatic Brain Injury in the United States: Steps to Prevent a Serious Public Health Problem, September 2003] 참조. 또한 문헌 [http://www.cdc.gov/traumaticbraininjury/get_the_facts.html; Faul M, Xu L, Wald MM, Coronado VG. Traumatic brain injury in the United States: emergency department visits, hospitalizations, and deaths. Atlanta (GA): Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Injury Prevention and Control; 2010; Thurman D, Alverson C, Dunn K, Guerrero J, Sniezek J. Traumatic brain injury in the United States: a public health perspective. J Head Trauma Rehabil, 14(6):602-615 (1999); Injury Prevention & Control: Traumatic Brain Injury, Traumatic Brain Injury in the United States: http://www.cdc.gov/traumaticbraininjury/get_the_facts.html 및 <http://www.cdc.gov/TraumaticBrainInjury/index.html>에서 질병 통제 예방 센터(Centers for Disease Control and Prevention)에서 입수 가능한 자료표; National Hospital Discharge Survey (NHDS), 2010; National

Hospital Ambulatory Medical Care Survey (NHAMCS), 2010; National Vital Statistics System (NVSS), 2010; 및 Finkelstein E, Corso P, Miller T 및 동료들. The Incidence and Economic Burden of Injuries in the United States. New York (NY): Oxford University Press; 2006; 및 Coronado, McGuire, Faul, Sugerman, Pearson. The Epidemiology and Prevention of TBI (인쇄 중) 2012] 참조.

- [0003] 미국 군인에서 TBI는 또한 특히 이라크 해방 작전(Operation Iraqi Freedom: OIF) 및 항구적 자유 작전(Operation Enduring Freedom: OEF)의 재향 군인에 대해 결정적으로 중요한 건강 문제이다. 미국 국방부(Department of Defense: DoD)에 의해 배포된 감독 데이터의 방위 및 재향군인 뇌손상 센터(Defense and Veterans Brain Injury Center: DVBIC) 분석에 따르면, 33,149명의 미국 군인이 2011년에만 TBI로 진단되었다. 이 수는 육군, 해군, 해병대, 공군의 군요원(service member: SM) 그리고 미국 주방위군의 현역 및 예비군을 포함하였다. 미국 국방부: http://www.health.mil/Research/TBI_Numbers.aspx 참조. 미국 국가 보훈처(Veterans Affairs: VA)는 2001년 10월 1일에 OEF의 시작으로부터 2011년 12월 31일까지 국가 보훈처 의료 센터로부터 치료를 받은 771,874명의 재향군인 중에서, 총 59,218명의 재향군인이 TBI와 관련된 가능성이 있는 병태에 대해 평가 또는 치료받은 것으로 추정한다. <http://www.publichealth.va.gov/docs/epidemiology/healthcare-utilization-report-fy2012-qtr1.pdf>에서 입수 가능한 문헌[U.S. Dept. of Veterans Affairs, 2012] 참조.
- [0004] TBI는 두부에 부딪히거나, 강타하거나 또는 충격을 주는 것으로부터 초래될 수 있는 뇌에 대한 비퇴행성, 비선천적 상해 또는 관련된 감소 또는 변경된 의식 상태와 함께 인지적, 신체적 및 심리사회적 기능의 영구한 또는 일시적인 손상을 야기할 가능성이 있는 정상적인 뇌기능을 파괴하는 관통성 뇌손상이다. 두부에 대한 모든 강타 또는 충격이 TBI를 야기할 수는 없다. 중증의 TBI는 "경증" 내지 "중증"의 범위일 수 있다. "경증의 TBI"는 정신 상태 또는 의식의 잠시 동안의 변화를 특징으로 하는 반면, "중증의 TBI"는 손상 후 장기간의 무의식 또는 기억 상실을 특징으로 한다. http://www.cdc.gov/traumaticbraininjury/get_the_facts.html 참조. 또한 문헌 [Centers for Disease Control and Prevention (CDC), National Center for Injury Prevention and Control. Report to Congress on mild traumatic brain injury in the United States: steps to prevent a serious public health problem. Atlanta (GA): Centers for Disease Control and Prevention, 2003] 참조.
- [0005] 글라스고 혼수 척도(Glasgow Coma Scale: S)는 손상 48시간 내에 TBI의 중증도를 나타낸다. 따라서, 본 명세서에서 사용되는 바와 같은, 중등증 내지 중증의 뇌 손상은 다음과 같이 정의된다:
- [0006]
 - 중등증 뇌 손상은 20분 내지 6시간의 의식 상실을 초래하는 뇌 손상 및 글라스고 혼수 척도 9 내지 12로 정의된다. <http://www.traumaticbraininjury.com/symptoms-of-tbi/severe-tbi-symptoms/> 참조;
- [0007]
 - 중증의 뇌 손상은 6시간 초과 의식 상실을 초래하는 뇌 손상 및 글라스고 혼수 척도 3 내지 8로 정의된다. <http://www.traumaticbraininjury.com/symptoms-of-tbi/severe-tbi-symptoms/> 참조;
- [0008]
 - 경증의 외상성 뇌손상(mTBI)은 정신 상태의 잠깐의 변화(착란, 지남력 상실 또는 기억 상실) 또는 30분 미만 동안의 의식 상실을 야기하는 두부에 대한 강력한 동작 또는 충격의 결과로서 정의된다. MRI 및 CAT 스캔은 종종 정상이지만, 경증의 TBI를 지니는 사람은 의식이 남아있을 수 있거나 또는 몇 초 또는 몇 분 동안 의식 상실을 경험할 수 있다. 경증의 TBI의 다른 증상은 두통, 착란, 사고의 어려움, 어지러움, 현기증, 흐린 시력 또는 눈 피로, 이명, 입 안의 좋지 않은 맛, 피로 또는 무기력, 좌절, 수면 패턴의 변화, 거동 또는 감정변화, 기억 문제, 집중력, 주의력, 또는 사고를 포함한다. <http://www.traumaticbraininjury.com/symptoms-of-tbi/mild-tbi-symptoms/> 참고.
- [0009] 중등증 또는 중증의 TBI를 지니는 사람은 이들 동일한 증상이 존재할 수 있지만, 또한 악화되거나 또는 없어지지 않는 두통, 반복된 구토 또는 구역, 경련 또는 발작, 수면에서 깨어나는 것의 불능, 눈 동공 중 하나 또는 둘 다의 확장, 불분명한 발음, 쇠약함 또는 사지 무감각, 협응 상실 및 증가된 착란, 안절부절함 또는 초조함이 존재할 수도 있다. <http://www.ninds.nih.gov/disorders/tbi/tbi.htm> 참조.
- [0010] 오늘날, 매년 발생하는 대부분의 TBI는 경증이며, 통상적으로 뇌진탕으로 불린다. http://www.cdc.gov/traumaticbraininjury/get_the_facts.html 참조. 또한 문헌[Control and Prevention (CDC), National Center for Injury Prevention and Control. Report to Congress on mild traumatic brain injury in the United States: steps to prevent a serious public health problem. Atlanta (GA): Centers for Disease Control and Prevention; 2003] 참조. 또한 문헌[Injury Prevention & Control: Traumatic Brain Injury, Traumatic Brain Injury in the United States:

http://www.cdc.gov/traumaticbraininjury/get_the_facts.html에서 이용가능한 질병 통제 예방 센터에서 입수 가능한 자료] 참조. 또한 <http://www.cdc.gov/TraumaticBrainInjury/index.html> 참조. 따라서, 뇌진탕은 현재 가장 통상적인 유형의 외상성 뇌손상인 것으로 여겨진다.

[0011] 뇌진탕은 뇌기능이 일시적으로 상실되는, 두부에 부딪히거나, 강타하거나 또는 충격을 주는 것에 의해 야기되는 외상성 뇌손상(TBI) 유형이다. 뇌진탕은 또한 두부 및 뇌가 덜경거리게 하거나 또는 빠르게 앞뒤로 움직이게 하는 신체에 대한 낙하 또는 강타로부터 생길 수 있다. http://www.cdc.gov/concussion/pdf/Fact_Sheet_ConcussTBI-a.pdf 참조. 또한 http://www.cdc.gov/concussion/pdf/Fact_Sheet_ConcussTBI-a.pdf에서 뇌진탕 및 뇌 손상에 관한 사실을 참조. 뇌진탕은 뇌 기능의 외상으로 유발된 일시적 장애로서 정의되며, 복잡한 병리 생리적 과정을 수반하며, 일반적으로 자기 한정적이며 뇌 손상 스펙트럼의 덜 중증인 마지막인 MTBI의 서브세트이다. 문헌[Harmon KG et al.: American Medical Society for Sports Medicine position statement: concussion in sport. Br J Sports Med. 47(3):184 (Feb., 2013).] 참조.

[0012] 미국에서 경쟁적 스포츠 및 여가활동 동안 1년에 3백 8십만건 만큼 많은 뇌진탕이 발생하는 것으로 추정되며, 뇌진탕 중 50%만큼은 보고되지 않을 수 있다. 문헌[Harmon KG et al.: American Medical Society for Sports Medicine position statement: concussion in sport. Br J Sports Med. 47(3):184 (Feb., 2013)] 참조. 추가로, 뇌진탕은 미국의 풋볼에서 큰 사업이다. NFL의 약 1,700명의 선수, 대학 풋볼에서 활동하는 약 66,000명의 학생 선수, 약 1백 십만명의 고등학교 풋볼 선수 및 팝 워너 풋볼(Pop Warner football)에서 활동하는 대략 250,000명의 청소년이 있다는 사실에 비추어, 뇌진탕과 관련된 위험을 감소시키기 위한 해결책을 찾기 위한 요구가 있다. "...의 끔찍한 결과가 정기적으로 스포츠면에 실린다. 그리고, 진단 도구 및 뇌진탕 치료를 제공하는 회사의 공세는 그들에게 편안한 마음을 팔기 위한 열망일 뿐이다." 문헌[Peter Keating: Concussion test may not be panacea - ImPACT sells tests and training to thousands, but some question program's validity, ESPN The Magazine, August 12, 2012 available at <http://espn.go.com/espn/otl/story/id/8297794/neuropsychological-testing-concussions-not-panacea>.] 참조

[0013] 질병 통제 예방 센터에 따르면, 뇌진탕이 있는 대부분의 사람은 빠르고 완전하게 회복된다. 그러나, 일부 사람에 대해, 증상은 며칠, 몇 주 또는 그 이상으로 지속될 수 있다. 일반적으로, 회수는 노인, 어린이 및 10대들에게서 더 느릴 수 있다. 과거에 뇌진탕이 있었던 사람들은 또한 다른 뇌진탕의 위험에 있으며, 그들이 다른 뇌진탕이 있다면 회복되는데 더 길게 걸린다는 것을 발견할 수 있다. 뇌진탕 증상은 보통 4가지 범주에 속한다:

사고/기억	분명하게 사고하는 것의 어려움	기분 처짐	집중이 어려움	새로운 정보를 기억하는 것의 어려움
신체	두통	구역 또는 구토 (초기)	소음 또는 빛에 대한 민감함	피로를 느낌, 무기력함
	흐릿 또는 모호한 시야	현기증	균형 문제	
감정/기분	이노성	슬픔	더 감정적	신경과민 또는 불안
수면	보통보다 더 많은 수면	보통보다 더 적은 수면	잠드는 것의 어려움	

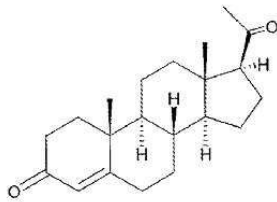
http://www.cdc.gov/concussion/pdf/Fact_Sheet_ConcussTBI-a.pdf 참조

[0014] 용어 경증의 뇌 손상, 경증의 외상성 뇌손상(MTBI), 경증의 두부 손상(MHO), 경증 두부 외상 및 뇌진탕은 상호 교환적으로 사용될 수 있다. 문헌[National Center for Injury Prevention and Control. Report to congress on mild traumatic brain injury in the United States: Steps to prevent a serious public health problem. Atlanta, GA: Centers for Disease Control and Prevention (2003), Petchprapai N, Winkelman C: Mild traumatic brain injury: determinants and subsequent quality of life. A review of the literature. Journal of Neuroscience Nursing, 39 (5):260-72 (2007)] 참조. 또한 http://onf.org/system/attachments/60/original/Guidelines_for_Mild_Traumatic_Brain_Injury_and_Persistent_Symptoms에서 입수 가능한 경증의 외상성 뇌손상 및 지속적 증상에 대한 가이드라인 참조. 용어 "뇌진탕"은 스포츠 문헌에서 "MHI" 또는 "MTBI"와 상호 교환가능하게 여전히 사용되고 있지만, 일반적인 임상 의학 문헌은 이제 대신에 "MTBI"를 사용한다. 문헌[Barth JT, Varney NR, Ruchinskas RA, Francis JP: Mild head injury: The new frontier in sports medicine. In Varney NR, Roberts RJ. The Evaluation and Treatment of Mild Traumatic Brain Injury. Hillsdale, New Jersey: Lawrence Erlbaum Associates. pp. 85-6. (1999)]; 및 <http://en.wikipedia.org/wiki/Concussion> 참조. 그럼

[0015]

에도 불구하고, 상기 용어는 상호 호환적으로 사용되지만, "뇌진탕"은 "MTBI"의 서브세트이다. 문헌[Harmon KG et al.: American Medical Society for Sports Medicine position statement: concussion in sport. Br J Sports Med. 47(3):184 (Feb., 2013)] 참조.

[0016] 프로게스테론은 C-21 스테로이드 호르몬이다. 프로게스테론에 대한 화학 구조는 다음과 같다:

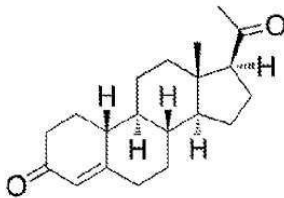


프로게스테론

[0017]

[0018] 프로게스테론은 프로게스토겐이며, 주요한 천연 유래 인간 프로게스토겐 중 하나이다. 프로게스테론은 인간 및 다른 종의 암컷 생리 주기, 임신 및 배발생에 연루된다. 프로게스테론은 포유류의 난소에 의해 자연적으로 생성될 뿐만 아니라 일부 식물 및 효모에 의해 생성될 수 있다.

[0019] 19-노르프로게스테론은 C-20 스테로이드 호르몬이다. 19-노르프로게스테론에 대한 화학 구조는 다음과 같다:



19-노르프로게스테론

[0020]

[0021] 19-노르프로게스테론은 무기질 코르티코이드 특성 및 프로게스테론 수용체에 대한 고친화도를 지니는 강한 프로게스텐인 것으로 여겨진다. 문헌[Paris J, Botella J, Fournau P, Bonnet P, Thevenot R: Extinction of mineralocorticoid effects in 19-norprogesterone derivatives: structure-activity relationships; *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 243 (1): 288-91 (1987); 및 Botella, J. et al: Structure-activity and structure-affinity relationships of 19-nor-progesterone derivatives in rat uterus. *J Endocrinological Investigation.* 13(11):905-910 (1990)] 참조.

[0022] 19-노르프로게스테론은 생물학적으로 적절한 양으로 부신의 조직에서 생성된 19-노르-코르티코스테로이드 패밀리의 구성원이다. 이 부류의 스테로이드 수준은 증가되고 가능하게는 특정 인간 고혈압의 특성 상태에서 발병되는 것으로 알려져 있다. 문헌[Melby JC, Dale SL, Holbrook M, Griffing GT: 19-Nor-corticosteroids in experimental and human hypertension. *Clin Exp Hypertens A*; 4 (9-10):1851-67 (1982)] 참조.

[0023] 프로게스테론 및 그의 유사체의 사용은 급성 상황을 해소하기 위해 그리고 천연 프로게스테론 수준의 장기간 감소를 해소하기 위해 다수의 의학적 적용을 가진다. 프로게스테론의 다른 용도는, 예를 들어, 조산 방지, 무배란 출혈의 방지, 피부 탄력 및 뼈 강도의 증가 그리고 다발성 경화증의 치료를 포함한다.

[0024] 오늘날, 프로게스테론은 외상성 뇌손상(TBI)의 치료에 유용할 수 있는데, 이는 세포학적, 형태적 및 기능적 결과의 실질적이고 지속적인 개선을 초래할 수 있다는 믿음이 있다. 문헌[Schumacher M, Weill-Engerer S, Liere P, et al.: Steroid hormones and neurosteroids in normal and pathological aging of the nervous system. *Prog Neurobiol*; 71:3-29 (2003)] 참조. 예를 들어, 뇌 손상 후 프로게스테론의 투여는 뇌 손상을 제한하고, 신경 조직의 손실을 감소시키며, 기능 회복을 개선시킬 수 있다는 것이 보고되었다. 문헌[Goss CW, Hoffman SW, Stein DG. Behavioral effects and anatomic correlates after brain injury: a progesterone dose-response study. *Pharmacol Biochem Behav.* 76: 231-42 (2003)] 참조. 또한 프로게스테론은 염증 인자(TNF- α 및 IL-13)를 저해시킴으로써 그리고 후속적으로 뇌 부종을 감소시킴으로써 외상성 뇌손상 후의 불량한 결과를 감소시킬 수 있다는 것이 보고되었다. 문헌[Pan, D., et al.: *Biomed Environ Sci.* 20:432-438 (2007); 및 Jiang, C., et al.: *Inflamm Res.* 58:619-624 (2009)]. 또한 추가로, 프로게스테론-치료 래트는 외상성 뇌손상 후 신경학적 중증도 스코어(운동 및 인식 기능에 대한 검사)에 대한 개선을 입증할 수 있는 것으로 보고되었다. 문헌

[Roof, R. L., et al.: *Restor Neurol Neurosci.* 4:425-427 (1992)] 참조.

[0025] 추가로, 프로게스테론은 손상 후 설치류 성별 둘 다에서 부종을 효과적으로 약화시킬 수 있다는 것이 보고되었다(Djebaili, M., et al.: *J Neurotrauma.* 22, 106-118 (2005)). 프로게스테론 또는 그의 유도체 알로프레그나 놀론(ALLO)을 투여하는 것은 또한 손상 후(VanLandingham, J. W., et al.: *Neurosci Lett.* 425:94-98 (2007); Wright, D. W., et al.: *Ann Emerg Med.* 49:391-402, 402 e391-392 (2007)) 세포사 인자(카스파제-3) 및 신경 아교증(GFAP) 존재의 감소를 야기한다, 문헌[Cutler, S. M., et al.: *J Neurotrauma.* 24:1475-1486 (2007)]. 또한, 외상성 뇌손상의 치료를 위한 프로게스테론(프로텍트 III), ClinicalTrials.gov Identifier:NCT00822900 및 <http://acuteCAREResearch.org/studies/current/progesterone-treatment-tbi-protect-iii>; 중증의 외상성 뇌손상을 지니는 환자에서 정맥내 프로게스테론의 효능 및 안전성 연구(시냅스(SyNAPSe)), ClinicalTrials.gov Identifier:NCT01143064; 둔화된 외상성 뇌손상의 프로게스테론 치료, ClinicalTrials.gov Identifier:NCT00048646; 외상성 뇌손상 환자에서 손상 중증도 및 결과를 연구하기 위한 혈액 검사(바이오프로텍트(BioProTECT)), ClinicalTrials.gov Identifier:NCT01730443 참조. 추가로, <http://www.protectiii.com/>; 및 <http://em.emory.edu/protect/>; 및 <http://clinicaltrials.gov/show/NCT00822900>에서 프로텍트(ProTECT) (상표명) III 참조. Clinical Trial at <http://www.sciencedaily.com/releases/2010/02/100219204407.htm>에서 III상 임상 시험된 외상성 뇌손상에 대한 프로게스테론 참조. 또한 추가로, <http://synapse-trial.com/downloads/PREMAOrphan.pdf>에서 BHR 파마(BHR Pharma) 임상시험 외상성 뇌손상 치료는 유럽 의약품 청 약품 기구 고아 의약품 위원회 표기를 수용한다 참조.

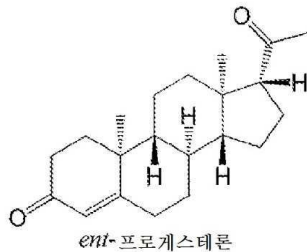
[0026] 더 최근에, "수컷과 암컷 실험 래트 및 마우스 둘 다에 대해 주어진 ...프로게스테론은 혈액-뇌 장벽을 가로질러 수 있고...TBI 후 부종 수준을 감소시키며...; 지질 과산화 및 아이소프로스타노이드를 감소시키는데, 이는 결국 손상 후 허혈 상태에 기여하고...; 세포자멸사 유도성(proapoptotic)을 감소시키고 항세포자멸사 효소... 그리고 전염증 유전자 및 그들의 단백질 산물의 발현을 증가시키는 대사물질을 생성하며...; 부종 해결에 관련된 아쿠아포린의 발현에 영향을 미치고...; 상이한 뇌경색 모델에서, 괴저성 세포사 면적을 상당히 감소시키며, 거동 결과를 개선시키고...; 보통은 사망하는 손상에 대해 위위의 뉴런을 보호하며...; 탈수초 장애를 지니는 어린 그리고 늙은 래트에서 회돌기아교세포-유도 재수초화(remyelination)를 향상시키고...; 그리고 양측 중양 전두 피질 손상 후에 인지적, 감각적 및 공간적 학습 수행의 상당한 결핍을 만들고...프로게스테론은 22가지 상이한 손상 모델에서 유리한 효과를 갖는 것으로 나타났으며; 다수의 광대한 검토는 이들 데이터를 논의한다는 것이 보고되었다...지금까지, 프로게스테론 및 그의 대사산물에 대한 대부분의 연구는 TBI의 치료에 중점을 두었다...이런 연구 계통은 연구자들이 젊은 성체 수컷 및 암컷 래트에서 중양의 전두 피질에 대한 양측 타박상 손상 후에, 프로게스테론에 의한 5일 처리가 비히클 단독을 주사한 대조군에 비해 공간 학습 및 감각 수행을 상당히 개선시켰다는 것을 발견하였을 때에 비롯되었다. 30년 초과 연구에서 TBI의 치료를 위한 첫 번째 성공적인 임상 시험은 최근에 완료되었다. 중등증-대-중증 성인 TBI의 치료에서 프로게스테론에 대한 이 미국 국립신경 질환 뇌졸중 연구소(NINDS)-후원된 2a상 단일-중심 임상 시험은...손상 후 3일 동안 프로게스테론 IV가 주어진 환자에서의 사망률이 실험 관리 표준이 주어졌지만 호르몬은 주어지지 않은 대조군 대상체에서 절반 미만이었다는 것을 발견하였다(13.6% 대 30.4%). 프로게스테론 그룹에서 중등증으로 손상된 환자에 대한 30일 기능적 결과는 위약 그룹에 대한 결과보다 상당히 더 양호하였고[그리고]... 미국 국립 보건원-지정 데이터 안전성 감독 이사회는 이 시험에서 프로게스테론 치료에 기인하는 심각한 부작용이 없다는 것을 발견하였다. 중증의 TBI를 지니는 중국인 시험 159명의 환자로부터의 두 번째 독립적 무작위 이중맹검 연구는 5일 동안 프로게스테론의 근육내 주사 과정이 주어졌다. 연구자들은 손상 후 30일과 6개월에 이환율 및 사망률에 대해 매우 유사한 유리한 결과를 보고하였고, 또한 치료에 의해 야기되는 임의의 심각한 부작용이 없었다..." 문헌[D.G. Stein and I. Sayeed: Is Progesterone Worth Consideration as a Treatment for Brain Injury? *AJR* (194):20-22 (January 2010)] 참조.

[0027] 2010년 6월경에, BHR 파마는 정맥내 프로게스테론 주입 제형의 유효성을 연구하기 위해 시냅스(SyNAPSe)(등록상표) 연구(중증 외상성 뇌 손상에 프로게스테론의 신경 보호 활성의 연구)를 개시하였다. <http://www.synapse-trial.com>; <http://www.besinscriticalcare.com/progesterone-research/>; 및 <http://em.emory.edu/protect/> 참조. 그럼에도 불구하고, "BHR-100은 TBI의 8시간 내에 투여되어야 하고, 5일에 걸쳐 연속적으로 주입되었다는 것이 보고되었다...시냅스(등록상표) 연구의 독립적 데이터 및 안전성 감시 위원회(DSMB)는 연구 과정에 걸쳐 시험의 안전성 데이터의 6가지 분석을 배포하였고, 매번 시냅스(SyNAPSe)(등록상표)가 그의 의도된 완료를 계속하여야 한다는 결론을 내렸다... DSMB의 400명의 시냅스 환자로부터의 주된 6개월 효능 데이터의 형식적인 잠정적 분석을 2013년 1월에 수행하였고, 무가치하기 때문에 연구를 중단할 이유가 없다는 결론을

내렸다...[그리고] 시냅스(등록상표) 연구는 미국 뇌 손상 협회(ABIC) 및 유럽 뇌 손상 협회(EBIC)에 의해 지지된다." <http://www.besinscriticalcare.conn/progesterone-research/> 참조. 또한, BHR 파마 시냅스(등록상표) 시험 DSMB 데이터 분석은 안전성 문제를 결정하지 못 하며; <http://www.prnewswire.com/news-releases/bhr-pharma-synapse-trial-dsmb-data-analyses-determine-no-safety-issues-study-should-continue-to-conclusion-187277871.html>에서의 결론에 대한 연구를 지속하여야 한다.

[0028] 19-노르프로게스테론 및 그의 유사체는 의학적 용도를 가질 수 있다. 예를 들어, 이 부류의 화합물은 축색 재수 초화를 용이하게 하는 것으로 여겨진다. 문헌[Hussain R, El-Etr M, Gaci O, Rakotomamonjy J, Macklin WB, Kumar N, Sitruk-Ware R, Schumacher M, Ghomari AM: "Progesterone and Nestorone facilitate axon remyelination: a role for progesterone receptors", *Endocrinology*, 152 (10): 3820-31 (2011)] 참조. 추가적으로, 이 경우의 화합물은 잠재적 경구 피임약으로서 연구되었다. 예를 들어, 문헌[Mueck AO, Sitruk-Ware R.: "Norgestrel acetate, a novel progestogen for oral contraception", *Steroids*, 76 (6): 531-9 (2011)] 참조. 추가적인 유용한 활성은 세포자멸사의 저해를 포함할 수 있다. 문헌[Dressing GE, Pang Y, Dong J, Thomas P.: "Progesterone signaling through mPRa in Atlantic croaker granulosa/theca cell cocultures and its involvement in progesterone inhibition of apoptosis", *Endocrinology* 151, (12): 5916-26 (2010)] 참조.

[0029] 프로게스테론은 ent-프로게스테론으로서 비천연 유래 거울상 이성질체 형태로 존재한다:



[0030]

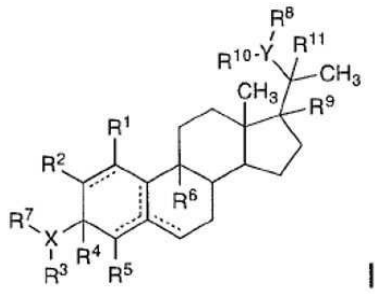
[0031] ent-프로게스테론은 특정 세포사, 뇌 종창, 및 염증을 감소시킴에 있어서 천연 프로게스테론과 동일한 효능을 갖는 것으로 여겨지는 반면, 거울상 이성질체는 특정 조건 하에서 라세미체의 항산화 활성의 3배를 가진다. 유사하게, ent-프로게스테론은 더 소수의 성적 부작용, 예컨대 정자형성의 억제; 테스토스테론의 다이하이드로테스토스테론으로의 전환 저해; 고환, 부고환 및 라이디히 세포 크기의 감소; 및 천연 프로게스테론에 보이는 바와 같은 과응집 위험 없음을 갖는 것으로 여겨진다. 추가로, ent-프로게스테론에 대한 효용은 2012년 10월 5일자로 출원되고 발명의 명칭이 "Nasal Delivery Mechanism for Prophylactic and Post-Acute Use for Progesterone and/or Its Enantiomer for Use in Treatment of Mild Traumatic Brain Injuries"인 미국 특허 출원 제13/645,881호, 2012년 10월 12일자로 출원되고, 발명의 명칭이 "Prophylactic and Post-Acute Use of Progesterone and Its Enantiomer to Better Outcomes Associated with Concussion"인 미국 특허 출원 제 13/645,854호 및 2012년 10월 12일자로 출원되고 발명의 명칭이 "Prophylactic and Post- 15 Acute Use of Progesterone in Conjunction with Its Enantiomer for Use in Treatment of Traumatic Brain Injuries"인 미국 특허 출원 제13/645,925호에 기재되었으며, 이들의 전문 및 각각의 개시내용은 본 명세서에 그들의 전문이 참고로 포함된다. 또한 문헌[VanLandingham et al.: The enantiomer of progesterone acts as a molecular neuroprotectant after traumatic brain injury, *Neuropharmacology*, 51:1078-1085 (2006)] 참조.

[0032] 장기간 프로게스테론 치료와 관련된 부작용에 기인하여, 프로게스테론은 호르몬 대체 요법 및 피임법 외의 적응증에 대한 장기간 만성 투여에 적합하지 않은 것으로 여겨진다. 정맥내 프로게스테론이 중등증 내지 중증의 외상성 뇌손상(TBI)의 치료에 유용할 수 있다는 현재의 믿음에도 불구하고, 군대에 종사하는 집단을 포함하여 미국 집단에서의 MTBI는 공공의 건강 문제이며, 이의 규모 및 영향은 현재의 민간인 및 군대 감시 체계에 의해 과소평가되고 있다. 뇌진탕을 포함하는 MTBI의 완전한 규모를 결정하기 위해, 예방 가능하고 조절 가능한 위험 인자를 확인하기 위해, 민간인 및 군대 생활에서 MTBI를 감소시키기 위한 그리고 이들 손상이 지속되는 것에 대한 건강 및 사회적 결과 및 삶의 질을 개선시키기 위한 전략을 개발하고 시험하기 위해 많은 노력이 필요하다는 것은 의심의 여지가 없다. 따라서, 유효하고/하거나, 요구 시 편리하게 투여될 수 있고/있거나, 조직-특이적이고/이거나 부작용, 예컨대 통상적으로 프로게스테론 또는 생식계와 관련된 것을 유발하지 않는 신규한 MTBI 치료에 대한 필요가 있다.

발명의 내용

[0033] 간략하게, 본 발명은 특정 신규한 C-20 스테로이드 화합물, 즉, ent-19-노르프로게스테론, 처방된 치료 요법에 따라 또는 요구 시 편리하게 투여될 수 있는, 뇌진탕을 포함하는 MTBI(이의 서브셋을 포함)의 치료에서 유효한 것으로 여겨지는 조성물 및 방법의 발견을 통해 경증의 외상성 뇌손상(MTBI) 치료의 현재의 상태와 관련된 다수의 불리한 점 및 단점을 극복하는 것으로 여겨진다. 상당히 현저하게는, 본 발명의 C-20 스테로이드 화합물 및/또는 이의 조성물은 조직-특이적인 것으로 여겨지고/지거나 부작용, 예컨대 프로게스테론 또는 생식계와 관련된 것을 유도하지 않는다. 독특하게는, 본 발명의 C-20 스테로이드 화합물 및/또는 이의 조성물은 임의의 투여 경로에 의해, 특히 국소로, 예를 들어 개인적으로, 흡입으로 및/또는 설하로, 필요시 편리하게 투여되어 MTBI를 효과적으로 및/또는 예방적으로 치료하고 하거나 예방하는 유효량을 전달할 수 있다. 훨씬 더 현저하게는, 본 발명에 의해 상정되는 바와 같은 C-20 스테로이드 화합물 및 이의 조성물은 MTBI를 치료하기 위해 뇌에서 조직-특이적인 것으로 여겨지고/지거나 프로게스테론 또는 생식계와 통상적으로 관련되는 부작용을 유도하지 않는다.

[0034] 일반적으로 말해서, 본 발명의 C-20 스테로이드 화합물은 하기 화학식 I로 나타내는 통상적인 화학적 구조를 가진다:



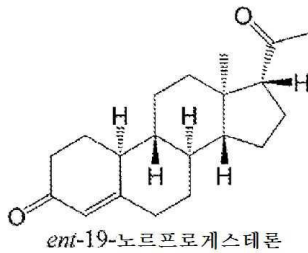
- [0035]
- [0036] 식 중,
- [0037] X는 O, N 또는 S이고;
- [0038] Y는 O, N 또는 S이거나; 또는, YR⁸R¹⁰은 존재하지 않고;
- [0039] R¹, R², R⁵ 및 R⁶은 독립적으로 H, C₁-C₆ 알킬, 할로젠, OR¹², NR¹³R¹⁴, SR¹⁵, SOR¹⁶ 또는 SO₂R¹⁷이며;
- [0040] R⁴는 H 또는 C₁-C₆ 알킬이고; R⁴는 R³ 및 X와 함께 1 내지 2개의 질소, 산소 또는 황 원자를 함유하는 선택적으로 치환된 5 내지 6원 헤테로사이클을 형성하거나; 또는
- [0041] R⁴ 및 R⁷은 함께 이중 결합을 형성하고;
- [0042] R³은 H 또는 C₁-C₆ 알킬이며; R³은 R⁴ 및 X와 함께 1 내지 2개의 질소, 산소 또는 황 원자를 함유하는 선택적으로 치환된 5 내지 6원 헤테로사이클을 형성하거나, 또는 R³은 존재하지 않고;
- [0043] R⁷은 존재하지 않거나, H, C(O)-C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알킬이거나; 또는 R⁷ 및 R⁴는 함께 이중 결합을 형성하며;
- [0044] R⁸은 H, C(O)-C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알킬이고; R⁸은 R⁹ 및 Y와 함께 1 내지 2개의 질소, 산소 또는 황 원자를 함유하는 선택적으로 치환된 5 내지 6원 헤테로사이클을 형성하거나, 또는 R⁸은 존재하지 않고;
- [0045] R⁹은 H 또는 C₁-C₆ 알킬이며; R⁹은 R⁸ 및 Y와 함께 1 내지 2개의 질소, 산소 또는 황 원자를 함유하는 선택적으로 치환된 5 내지 6원 헤테로사이클을 형성하고; R⁹ 및 R¹¹은 함께 이중 결합을 형성하고;
- [0046] R¹⁰은 존재하지 않거나, H, C(O)-C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알킬이거나; 또는 R¹⁰ 및 R¹¹은 함께 이중 결합을 형성하고;
- [0047] R¹¹은 H 또는 C₁-C₆ 알킬이거나; 또는 R¹¹ 및 R⁹은 함께 이중 결합을 형성하고; R¹¹ 및 R⁹은 함께 이중 결합을 형성

성하고;

[0048] R^{12} , R^{13} , R^{14} , R^{15} , R^{16} 및 R^{17} 은 독립적으로 H, C(O)-C₁-C₆ 알킬 또는 C₁-C₆ 알킬이며; 점선은 단일 또는 이중 결합의 존재를 나타내며, 단일 결합의 원자가는 수소에 의해 완전하게 된다.

[0049] 더 구체적으로 말하면, 화학식 I로 표시하는 바와 같은 본 발명의 C-20 스테로이드 화합물은 천연 스테로이드의 입체 화학적 입체 배치를 가진다. 추가로, 화학식 I로 나타내는 바와 같은 본 발명의 C-20 스테로이드 화합물은 라세미체일 수 있다. 또한 추가로, 화학식 I로 도시하는 바와 같은 본 발명의 C-20 스테로이드 화합물은 천연 스테로이드의 입체화학적 입체 배치와 반대인 입체 화학적 입체 배치를 가질 수 있다.

[0050] 본 발명에 의해 상정되는 하나의 바람직한 C-20 스테로이드 화합물은 ent-19-노르프로게스테론이다. ent-19-노르프로게스테론은 분자식이 C₂₀ H₂₈ O₂이고, 몰 질량은 300.435 g/mol이다. ent-19-노르프로게스테론에 대한 화학명은 ent-19-노르프레군-4-엔-3,20-다이온을 포함한다. ent-노르프로게스테론의 화학 구조는 다음과 같다:



[0051]

[0052] 본 발명에 따르면, 화학식 I의 C-20 스테로이드 화합물은 TBI가 경증이면, 중등증 또는 중증이면, TBI를 수반하는 다양한 손상으로부터 초래되는 신경손상과 같은 신경손상을 치료하고/하거나, 최소화하고/하거나 예방하는데 유용한 것으로 여겨진다. 본 발명에 따른 특히 바람직한 치료는 ent-19-프로게스테론을 이용하는, 뇌진탕을 포함하는 MTBI의 치료이다.

[0053] 본 발명에 따르면, 화학식 I의 C-20 스테로이드 화합물은 단일 치료제로서 투여될 수 있다.

[0054] 화학식 I의 C-20 스테로이드 화합물은, 예를 들어 경구, 설하, 정맥내, 복강내, 피하, 근육내, 눈, 귀, 비강내, 국소, 경피 및 직장 투여 경로를 포함하는 투여 경로를 통해 투여될 수 있다는 것이 본 발명에 의해 추가로 상정된다. 본 발명은 추가로 화학식 I의 C-20 화합물이 신규한 조성물 또는 혼합물로 제형화될 수 있고, 예를 들어, 정제, 캡슐, 젤캡, 당의정, 분말, 과립, 액체, 용액, 현탁액, 분산물, 펠렛, 비드, 점안액, 젤, 크림, 연고, 살브, 밤(balm), 로션 또는 좌약의 형태로 투여된다는 것이 추가로 상정된다. 또한 추가로, 본 발명은 화학식 I의 C-20 스테로이드 화합물이 연하, 주사, 주입, 흡입, 경피로 또는 국소로 적용되는, 예컨대 피부, 눈, 귀, 코, 점막 또는 임의의 다른 막에 적용되거나 또는 직장 내로 삽입되는 제형으로서 투여될 수 있다는 것이 생각된다. 그럼에도 불구하고, 본 발명에 의해 상정되는 바와 같은 TBI, 특히 MTBI를 치료하기 위한 바람직한 투여 경로는 비강, 흡입 또는 주사 투여 경로라는 것이 당업자에 의해 이해되어야 한다.

[0055] 본 발명의 상기 요약은 본 발명의 각각의 개시된 실시형태 또는 실행마다 기재하도록 의도되지 않는다는 것이 추가로 이해되어야 한다. 상기 설명은 예시적 실시형태를 추가로 예시한다. 명세서 전체적으로 몇몇 곳에서, 실시예를 통해 가이드가 제공되며, 이 실시예는 다양한 조합으로 사용될 수 있다. 각각의 예에서, 실시예는 단지 대표적인 그룹으로서의 역할을 하며, 배타적인 예로서 해석되어서는 안 된다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0056] 본 발명의 더 완전한 인식 및 이의 다수의 수반되는 이점을 예시하고 제공하는 방법에 의해, 다음의 상세한 설명 및 실시예는 본 발명의 신규한 C-20 스테로이드 화합물, 조성물 및 이의 제조 방법 및 용도에 관해 제공된다.

[0057] 본 발명 및 첨부되는 청구범위의 설명에서 사용되는 바와 같이, 단수의 용어는 상호 호환적으로 사용되고, 복수의 형태도 포함하는 것으로 의도되며, 달리 명확하게 표시되지 않는 한 각각의 의미 내에 속한다. 또한, 본 발명에서 사용되는 바와 같은 "및/또는"은 대안의("또는")로 해석될 때 열거된 항목뿐만 아니라 조합의 결여 중 하나 이상의 임의의 및 모든 가능한 조합을 지칭하고 포함한다.

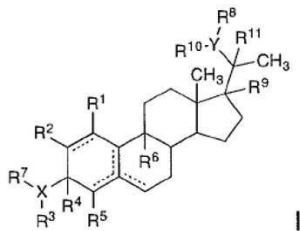
[0058] 본 명세서에 사용되는 바와 같은, "적어도 하나"는 열거된 구성요소 중 "하나 이상"을 의미한다.

- [0059] 용어 "알킬"은 탄소 및 수소 원자만으로 이루어지고, 불포화를 포함하지 않으며, 1 내지 8개의 탄소 원자를 갖고, 단일 결합에 의해 분자의 나머지에 부착되는 직쇄 또는 분지쇄 탄화수소 라디칼, 예컨대 예시적으로, 메틸, 에틸, n-프로필 1-메틸에틸 (아이소프로필), n-부틸, n-펜틸 및 1,1-다이메틸에틸(tert-부틸)을 지칭한다.
- [0060] 용어 "사이클로알킬"은 3 내지 12개의 탄소 원자의 비방향족 일환식 또는 다환식 고리계, 예컨대 사이클로프로필, 사이클로뷰틸, 사이클로펜틸, 사이클로헥실을 의미하며, 다환식 사이클로알킬기의 예는 브릿지된 환식기 또는 스피로이환식기에 브릿지된 퍼하이드로나프틸, 아다만틸 및 노르본일기, 예를 들어, 스피로(4,4)논-2-일을 포함한다.
- [0061] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "이탈기" 또는 "LG"는 해당 기를 수반하는 화학 반응의 과정에서 이탈하는 임의의 기를 지칭하고, 예를 들어, 할로젠, 브로실레이트, 메실레이트, 토실레이트, 트라이플레이트, p-나이트로벤조에이트, 포스포네이트기를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.
- [0062] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "유효량"은 뇌진탕을 포함하는 외상성 뇌손상(중증, 중등증 및/또는 경증의 TBI를 포함)을 치료하고/하거나, 최소화하고/하거나 예방하기 위한 본 발명의 C-20 스테로이드 화합물, 특히 ent-19-노르프로게스테론의 임의의 양 또는 투약량 강도를 의미한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 유효량은 또한 뇌진탕을 포함하는 외상성 뇌손상(중증, 중등증 및/또는 경증의 TBI를 포함)을 치료하고/하거나, 최소화하고/하거나 예방하는 데 효과적인 것으로 미식품 의약국(FDA) 또는 다른 정부 기관 또는 위원회에 의해 고려되는 임의의 양 또는 투약량을 의미한다. 단수의 단어 형태는 복수의 단어 형태를 포함하는 것으로 의도되고, 마찬가지로 적절하다면 본 명세서에서 상호 호환적으로 사용되며, 달리 명확하게 언급되지 않는 한, 각각의 의미 내에 속한다.
- [0063] 달리 언급되는 경우를 제외하고, 모든 용어의 대문자 형태와 대문자가 아닌 형태는 각각의 의미 내에 속한다.
- [0064] 달리 표시되지 않는 한, 명세서 및 청구범위에서 사용되는 성분, 반응 조건 등의 양, 비 및 수치적 특성을 표현하는 모든 숫자는 용어 "약"에 의해 모든 예에서 변형될 수 있는 것으로 상정된다는 것이 이해되어야 한다.
- [0065] 본 명세서의 모든 부분, 백분율, 비 등은 달리 표시되지 않는 한 중량이다.
- [0066] 또한 본 명세서에서 언급되고/되거나 인용되는 임의의 및 모든 항목, 특허, 특허 공개, 연구, 초록, 웹사이트 등은 그들의 전문이 본 명세서에 참고로 포함되는 것으로 이해되어야 한다.
- [0067] 본 명세서에서 사용되는 용어 "TBI", "MTBI" 및 "뇌진탕"은 본 명세서에서 상기 제시된 의미를 갖는 것으로 추가로 이해되어야 한다.
- [0068] 일반적 제조 방법
- [0069] 본 발명의 이 실시형태에서 사용되는 C-20 스테로이드 화합물의 제조에서 이용될 특정 과정은 제조될 것으로 예상되는 특정 화합물에 따른다. 특정 치환체의 선택으로서 이러한 인자는 본 발명의 특정 화합물의 제조에 이어질 경로에서 어떤 역할을 한다. 일부 경우에, 해당 인자는 당업자에 의해 용이하게 인식될 수 있다.
- [0070] 본 발명에 따르면, 본 발명의 C-20 스테로이드 화합물을 합성하기 위한 다음의 일반적 제조 방법은 이하에 제시하는 반응식/경로 및 실시예에서 더욱 상세하게 기재된다.
- [0071] 본 발명의 특정 C-20 스테로이드 화합물의 합성에서 그리고 본 발명의 특정 C-20 스테로이드 화합물의 합성에 수반된 특정 중간체의 합성에서 사용될 수 있는 특정 합성 전환에 따라서, 예를 들어, 문헌(J. March. *Advanced Organic Chemistry*, 4th ed.; John Wiley: New York (1992); R.C. Larock. *Comprehensive Organic Transformations*, 2nd ed.; Wiley-VCH: New York (1999); F.A. Carey; R.J. Sundberg. *Advanced Organic Chemistry*, 2nd ed.; Plenum Press: New York (1984); T.W. Greene; P.G.M. Wuts. *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3rd ed.; John Wiley: New York (1999); L.S. Hegedus. *Transition Metals in the Synthesis of Complex Organic Molecules*, 2nd ed.; University Science Books: Mill Valley, CA (1994); L.A. Paquette, Ed. *The Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*; John Wiley: New York (1994); A.R. Katritzky; O. Meth-Cohn; C.W. Rees, Eds. *Comprehensive Organic Functional Group Transformations*; Pergamon Press: Oxford, UK (1995); G. Wilkinson; F.G. A. Stone; E.W. Abel, Eds. *Comprehensive Organometallic Chemistry*; Pergamon Press: Oxford, UK (1982); B.M. Trost; I. Fleming. *Comprehensive Organic Synthesis*; Pergamon Press: Oxford, UK (1991); A.R. Katritzky; C.W. Rees Eds. *Comprehensive Heterocyclic Chemistry*; Pergamon Press: Oxford, UK (1984); A.R. Katritzky; C.W. Rees; E.F.V. Scriven, Eds. *Comprehensive Heterocyclic Chemistry II*; Pergamon Press: Oxford, UK (1996); and C. Hansch; P.G.

Sammes; J.B. Taylor, Eds. *Comprehensive Medicinal Chemistry*: Pergamon Press: Oxford, UK (1990)]을 참조하며, 이들 각각은 그들의 전문이 본 명세서에 참고로 포함된다.

[0072] 추가로, 합성 방법 및 관련된 주제의 반복적 검토는 문헌[Organic Reactions; John Wiley: New York; Organic Syntheses; John Wiley: New York; Reagents for Organic Synthesis; John Wiley: New York; The Total Synthesis of Natural Products; John Wiley: New York; The Organic Chemistry of Drug Synthesis; John Wiley: New York; Annual Reports in Organic Synthesis; Academic Press: San Diego CA; 및 Methoden der Organischen Chemie (Houben-Weyl); Thieme: Stuttgart, Germany]을 포함한다. 더 나아가, 합성 전환의 데이터 베이스는 화학물질 초록을 포함하며, 이들 각각은 그의 전문이 본 명세서에 참고로 포함되고, CAS OnLine 또는 SciFinder, 유기화학 핸드북(Handbuch der Organischen Chemie (Beilstein))을 이용하여 검색할 수 있고, SpotFire, 및 REACCS를 이용하여 검색할 수 있다.

[0073] 일 실시형태에서, 본 발명은 하기 화학식 I의 화학 구조를 갖는 C-20 스테로이드 화합물 또는 이들의 약제학적으로 허용 가능한 염, 에스터, 프로드러그 또는 공결정을 제공한다:



[0074]

[0075] 식 중, X는 O, N 또는 S이고;

[0076] Y는 O, N 또는 S이거나; 또는, YR⁸R¹⁰은 존재하지 않고;

[0077] R¹, R², R⁵ 및 R⁶은 독립적으로 H, C₁-C₆ 알킬, 할로젠, OR¹², NR¹³R¹⁴, SR¹⁵, SOR¹⁶ 또는 SO₂R¹⁷이며;

[0078] R⁴는 H 또는 C₁-C₆ 알킬; R⁴는 R³ 및 X와 함께 1 내지 2개의 질소, 산소 또는 황 원자를 함유하는 선택적으로 치환된 5 내지 6원 헤테로사이클을 형성하거나; 또는

[0079] R⁴와 R⁷은 함께 이중 결합을 형성하고;

[0080] R³은 H 또는 C₁-C₆ 알킬이고; R³은 R⁴ 및 X와 함께 1 내지 2개의 질소, 산소 또는 황 원자를 함유하는 선택적으로 치환된 5 내지 6원 헤테로사이클을 형성하거나, 또는 R³은 존재하지 않고;

[0081] R⁷은 존재하지 않거나, H, C(O)-C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알킬이거나; 또는 R⁷ 및 R⁴는 함께 이중 결합을 형성하고;

[0082] R⁸은 H, C(O)-C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알킬이며; R⁸은 R⁹ 및 Y와 함께 1 내지 2개의 질소, 산소 또는 황 원자를 함유하는 선택적으로 치환된 5 내지 6원 헤테로사이클을 형성하거나, 또는 R⁸은 존재하지 않고;

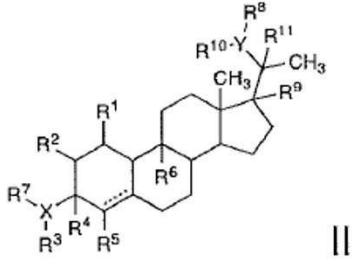
[0083] R⁹은 H 또는 C₁-C₆ 알킬이며; R⁹은 R⁸ 및 Y와 함께 1 내지 2개의 질소, 산소 또는 황 원자를 함유하는 선택적으로 치환된 5 내지 6원 헤테로사이클을 형성하고; R⁹와 R¹¹은 함께 이중 결합을 형성하며;

[0084] R¹⁰은 존재하지 않거나, H, C(O)-C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알킬이거나; 또는 R¹⁰과 R¹¹은 함께 이중 결합을 형성하고;

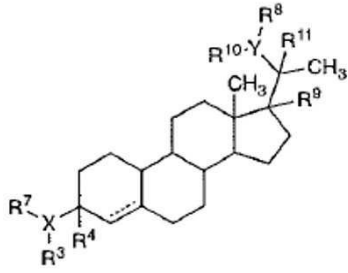
[0085] R¹¹은 H 또는 C₁-C₆ 알킬이거나; 또는 R¹¹ 및 R¹⁰은 함께 이중 결합을 형성하고; R¹¹ 및 R⁹는 함께 이중 결합을 형성하고;

[0086] R¹², R¹³, R¹⁴, R¹⁵, R¹⁶ 및 R¹⁷은 독립적으로 H, C(O)-C₁-C₆ 알킬 또는 C₁-C₆ 알킬이며; 그리고

- [0087] 상기 점선은 단일 또는 이중 결합의 존재를 나타내며, 상기 단일 결합의 원자는 수소에 의해 완전하게 된다.
- [0088] 일부 실시형태에서, 화학식 I의 C-20 스테로이드 화합물은 천연 스테로이드의 입체화학적 입체 배치를 가진다. 다른 실시형태에서, 화학식 I의 C-20 스테로이드 화합물은 라세미체이다. 또 다른 실시형태에서, 화학식 I의 C-20 스테로이드 화합물은 천연 스테로이드의 입체화학적 입체 배치와 반대인 입체화학적 입체 배치를 가진다.
- [0089] 다른 실시형태에서, 본 발명은 하기 화학식 II의 화학 구조를 갖는 C-20 스테로이드 화합물을 제공한다:

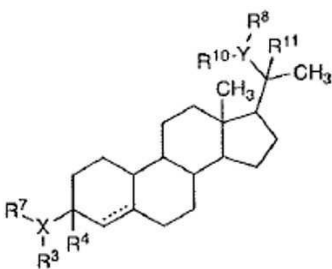


- [0090]
- [0091] 식 중, X는 O, N 또는 S이며;
- [0092] Y는 O, N 또는 S이거나; 또는, YR⁸R¹⁰은 존재하지 않고;
- [0093] R¹, R², R⁵ 및 R⁶은 독립적으로 H, C₁-C₆ 알킬, 할로젠, OR¹², NR¹³R¹⁴, SR¹⁵, SOR¹⁶ 또는 SO₂R¹⁷이며;
- [0094] R⁴는 H 또는 C₁-C₆ 알킬이고; R⁴는 R³ 및 X와 함께 1 내지 2개의 질소, 산소 또는 황 원자를 함유하는 선택적으로 치환된 5 내지 6원 헤테로사이클을 형성하거나; 또는 R⁴와 R⁷은 함께 이중 결합을 형성하고;
- [0095] R³은 H 또는 C₁-C₆ 알킬이고; R³은 R⁴ 및 X와 함께 1 내지 2개의 질소, 산소 또는 황 원자를 함유하는 선택적으로 치환된 5 내지 6원 헤테로사이클을 형성하거나, 또는 R³은 존재하지 않고;
- [0096] R⁷은 존재하지 않거나, H, C(O)-C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알킬이거나; 또는 R⁷과 R⁴는 함께 이중 결합을 형성하고;
- [0097] R⁸은 H, C(O)-C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알킬이며; R⁸은 R⁹ 및 Y와 함께 1 내지 2개의 질소, 산소 또는 황 원자를 함유하는 선택적으로 치환된 5 내지 6원 헤테로사이클을 형성하거나, 또는 R⁸은 C₁-C₆가 존재하지 않고;
- [0098] R⁹은 H 또는 알킬이며; R⁹은 R⁹ 및 Y와 함께 1 내지 2개의 질소, 산소 또는 황 원자를 함유하는 선택적으로 치환된 5 내지 6원 헤테로사이클을 형성하거나; R⁹ 및 R¹¹은 함께 이중 결합을 형성하고;
- [0099] R¹⁰은 존재하지 않거나, H, C(O)-C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알킬이거나; 또는 R¹⁰ 및 R¹¹은 함께 이중 결합을 형성하고;
- [0100] R¹¹은 H 또는 C₁-C₆ 알킬이거나; 또는 R¹¹ 및 R¹⁹은 함께 이중 결합을 형성하고; R¹¹ 및 R⁹은 함께 이중 결합을 형성하고;
- [0101] R¹², R¹³, R¹⁴, R¹⁵, R¹⁶ 및 R¹⁷은 독립적으로 H, C(O)-C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알킬이며; 점선은 단일 또는 이중 결합의 존재를 나타내며, 단일 결합의 원자는 수소에 의해 완전하게 된다.
- [0102] 일부 실시형태에서, 화학식 II의 C-20 스테로이드 화합물은 천연 스테로이드의 입체화학적 입체 배치를 가진다. 다른 실시형태에서, 화학식 II의 C-20 스테로이드 화합물은 라세미체이다. 또 다른 실시형태에서, 화학식 II의 C-20 스테로이드 화합물은 천연 스테로이드의 입체화학적 입체 배치와 반대인 입체화학적 입체 배치를 가진다.
- [0103] 또 다른 실시형태에서, 본 발명은 하기 화학식 III의 화학 구조를 갖는 C-20 스테로이드 화합물을 제공한다:



III

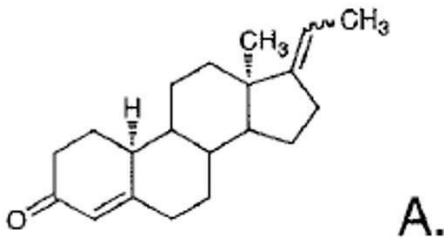
- [0104]
- [0105] 식 중;
- [0106] X는 O, N 또는 S이고;
- [0107] Y는 O, N 또는 S이거나; 또는, YR⁸R¹⁰은 존재하지 않고;
- [0108] R⁴는 H 또는 C₁-C₆ 알킬이며; R⁴는 R³ 및 X와 함께 1 내지 2개의 질소, 산소 또는 황 원자를 함유하는 선택적으로 치환된 5 내지 6원 헤테로사이클을 형성하거나; 또는
- [0109] R⁴와 R⁷은 함께 이중 결합을 형성하고;
- [0110] R³은 H 또는 C₁-C₆ 알킬이며; R³은 R⁴ 및 X와 함께 1 내지 2개의 질소, 산소 또는 황 원자를 함유하는 선택적으로 치환된 5 내지 6원 헤테로사이클을 형성하거나, 또는 R³은 존재하지 않고;
- [0111] R⁷은 존재하지 않거나, H, C(O)-C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알킬이거나; 또는 R⁷ 및 R⁴는 함께 이중 결합을 형성하고;
- [0112] R⁸은 H, C(O)-C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알킬이며; R⁸은 R⁹ 및 Y와 함께 1 내지 2개의 질소, 산소 또는 황 원자를 함유하는 선택적으로 치환된 5 내지 6원 헤테로사이클을 형성하거나, 또는 R⁸은 존재하지 않고;
- [0113] R⁹은 H 또는 C₁-C₆ 알킬이며; R⁹은 R⁸ 및 Y와 함께 1 내지 2개의 질소, 산소 또는 황 원자를 함유하는 선택적으로 치환된 5 내지 6원 헤테로사이클을 형성하거나; R⁹ 및 R¹¹은 함께 이중 결합을 형성하고;
- [0114] R¹⁰은 존재하지 않거나, H, C(O)-C₁-C₆ 알킬, C₁-C₆ 알킬이거나; 또는 R¹⁰ 및 R¹¹ 함께 이중 결합을 형성하고,
- [0115] R¹¹은 H 또는 C₁-C₆ 알킬이거나; 또는 R¹¹ 및 R¹⁰은 함께 이중 결합을 형성하고; R¹¹ 및 R⁹는 함께 이중 결합을 형성하며; 그리고
- [0116] 상기 점선은 단일 또는 이중 결합의 존재를 나타내되, 단일 결합의 원자가는 수소에 의해 완전하게 된다.
- [0117] 일부 실시형태에서, 화학식 III의 C-20 스테로이드 화합물은 천연 스테로이드의 입체화학적 입체 배치를 가진다. 다른 실시형태에서, 화학식 III의 C-20 스테로이드 화합물은 라세미체이다. 또 다른 실시형태에서, 화학식 III의 C-20 스테로이드 화합물은 천연 스테로이드의 입체화학적 입체 배치와 반대인 입체화학적 입체 배치를 가진다.
- [0118] 또 다른 실시형태에서, 본 발명은 하기 화학식 IV의 화학 구조를 갖는 C-20 스테로이드 화합물을 제공한다:



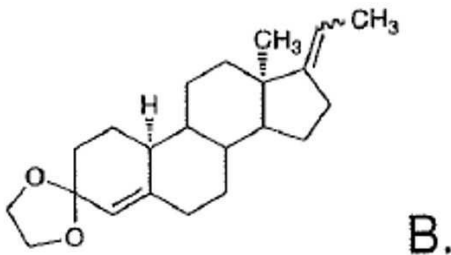
IV

[0119]

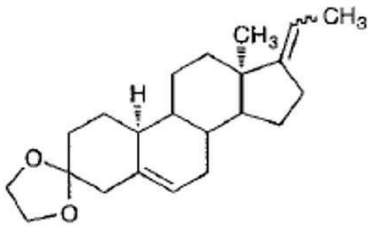
- [0120] 식 중;
- [0121] X는 O, N 또는 S이고;
- [0122] Y는 O, N 또는 S이거나; 또는, YR^8R^{10} 은 존재하지 않고;
- [0123] R^4 는 H 또는 C_1-C_6 알킬이며; R^4 는 R^3 및 X와 함께 1 내지 2개의 질소, 산소 또는 황 원자를 함유하는 선택적으로 치환된 5 내지 6원 헤테로사이클을 형성하거나; 또는
- [0124] R^4 및 R^7 은 함께 이중 결합을 형성하고;
- [0125] R^3 은 H 또는 C_1-C_6 알킬이며; R^3 은 R^4 및 X와 함께 1 내지 2개의 질소, 산소 또는 황 원자를 함유하는 선택적으로 치환된 5 내지 6원 헤테로사이클을 형성하거나, 또는 R^3 은 존재하지 않고;
- [0126] R^7 은 존재하지 않거나, H, $C(O)-C_1-C_6$ 알킬, C_1-C_6 알킬이거나; 또는 R^7 과 R^4 는 함께 이중 결합을 형성하고;
- [0127] R^8 은 존재하지 않거나, H, $C(O)-C_1-C_6$ 알킬, C_1-C_6 알킬이며;
- [0128] R^{10} 은 존재하지 않거나, H, $C(O)-C_1-C_6$ 알킬, C_1-C_6 알킬이거나; 또는 R^{19} 및 R^{11} 은 함께 이중 결합을 형성하고; 그리고
- [0129] R^{11} 은 H 또는 C_1-C_6 알킬이거나; 또는 R^{11} 과 R^{10} 은 함께 이중 결합을 형성하고; R^{11} 및 R^9 는 함께 이중 결합을 형성하고; 그리고
- [0130] 점선은 단일 또는 이중 결합의 존재를 나타내되, 단일 결합의 원자가는 수소에 의해 완전하게 된다.
- [0131] 일부 실시형태에서, 화학식 IV의 C-20 스테로이드 화합물은 천연 스테로이드의 입체화학적 입체 배치를 가진다. 다른 실시형태에서, 화학식 IV의 C-20 스테로이드 화합물은 라세미체이다. 또 다른 실시형태에서, 화학식 IV의 C-20 스테로이드 화합물은 천연 스테로이드의 입체화학적 입체 배치와 반대인 입체화학적 입체 배치를 가진다.
- [0132] 일 실시형태에서, 화학식 I의 C-20 스테로이드 화합물은 하기 화합물 A이다:



- [0133]
- [0134] 다른 실시형태에서, 화학식 I의 C-20 스테로이드 화합물은 하기 화합물 B이다:

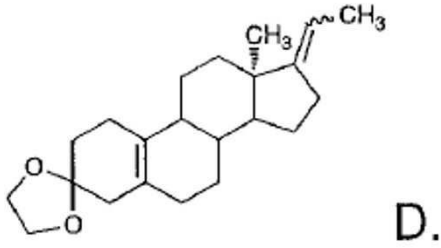


- [0135]
- [0136] 다른 실시형태에서, 화학식 I의 C-20 스테로이드 화합물은 하기 화합물 C이다:



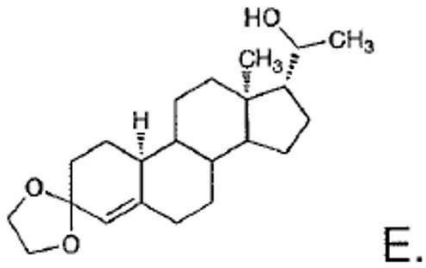
[0137]

[0138] 다른 실시형태에서, 화학식 I의 C-20 스테로이드 화합물은 하기 화합물 D이다:



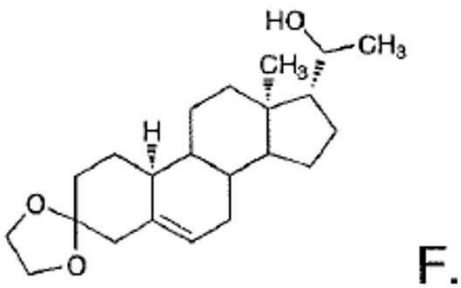
[0139]

[0140] 다른 실시형태에서, 화학식 I의 C-20 스테로이드 화합물은 하기 화합물 E이다:



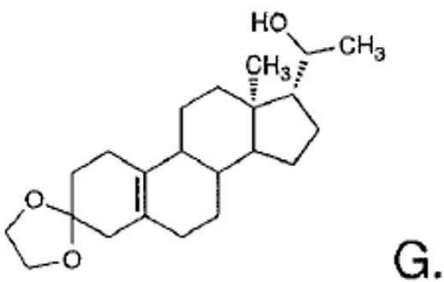
[0141]

[0142] 다른 실시형태에서, 화학식 I의 C-20 스테로이드 화합물은 하기 화합물 F이다:



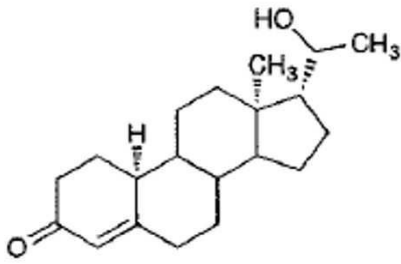
[0143]

[0144] 다른 실시형태에서, 화학식 I의 C-20 스테로이드 화합물은 하기의 화합물이다



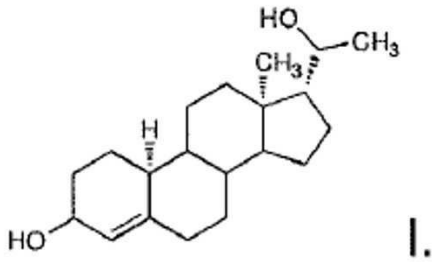
[0145]

[0146] 다른 실시형태에서, 화학식 I의 C-20 스테로이드 화합물은 하기 화합물 H이다:



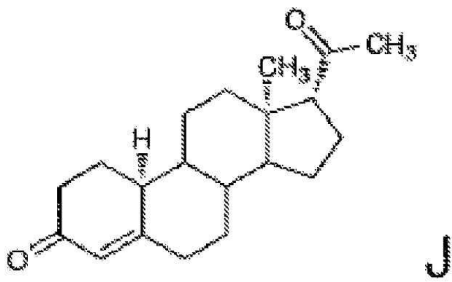
[0147]

[0148] 다른 실시형태에서, 화학식 I의 C-20 스테로이드 화합물은 하기 화합물 I이다:



[0149]

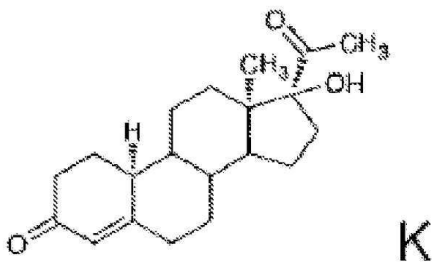
[0150] 다른 실시형태에서, 화학식 I의 C-20 스테로이드 화합물은 하기 화합물 J이다:



(*ent*-19-노르프로게스테론).

[0151]

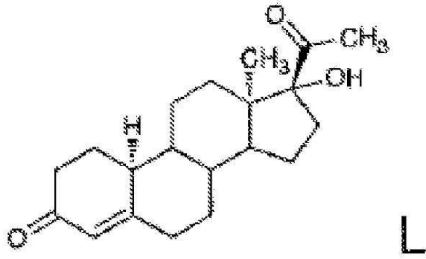
[0152] 다른 실시형태에서, 화학식 I의 C-20 스테로이드 화합물은 하기 화합물 K이다:



(*ent*-17-((S)-하이브록시)-19-노르프로게스테론)

[0153]

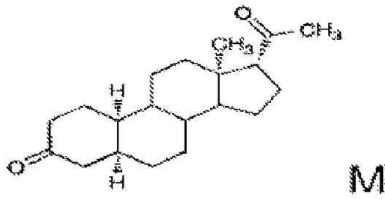
[0154] 다른 실시형태에서, 화학식 I의 C-20 스테로이드 화합물은 하기 화합물 L이다:



(*ent*-17-((*R*)-하이드록시)-19-노르프로게스테론)

[0155]

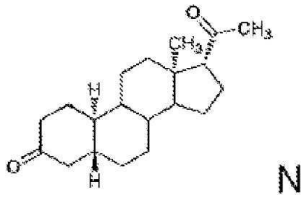
[0156] 다른 실시형태에서, 화학식 I의 C-20 스테로이드 화합물은 하기 화합물 M이다:



(*ent*-5 β -다이하이드로-19-노르프로게스테론)

[0157]

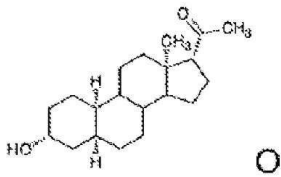
[0158] 다른 실시형태에서, 화학식 I의 C-20 스테로이드 화합물은 하기 화합물 N이다:



(*ent*-5 α -다이하이드로-19-노르프로게스테론)

[0159]

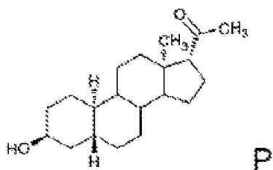
[0160] 다른 실시형태에서, 화학식 I의 C-20 스테로이드 화합물은 하기 화합물 O이다:



(*ent*-19-노르에피프레그나놀론)

[0161]

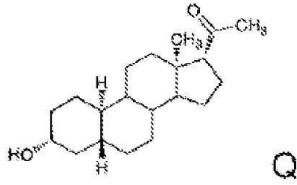
[0162] 다른 실시형태에서, 화학식 I의 C-20 스테로이드 화합물은 하기 화합물 P이다:



(*ent*-19-노르알로프레그나놀론)

[0163]

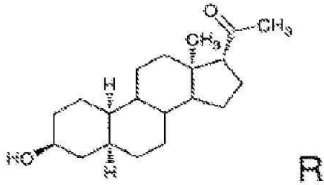
[0164] 다른 실시형태에서, 화학식 I의 C-20 스테로이드 화합물은 하기 화합물 Q이다:



(*ent*-19-노르아이소프레그나놀론)

[0165]

[0166] 다른 실시형태에서, 화학식 I의 C-20 스테로이드 화합물은 하기 화합물 R이다:



(*ent*-19-오르프레그나놀론)

[0167]

[0168] 다른 실시형태에서, 화합물 A 내지 R로 표시하는 화학식 I의 C-20 스테로이드 화합물은 단일 입체 이성질체로서 존재하되, 입체화학이 구체화되지 않는 임의의 중심에서 입체화학은 R 또는 S 중 하나일 수 있다.

[0169] 본 발명에 따르면, 화학식 I 내지 IV의 C-20 스테로이드 화합물은 뇌진탕을 포함하는 TBI가 경증이든, 중등증이든 또는 중증 외상성 뇌손상이든, 외상성 뇌손상(TBI)과 같은 뇌와 관련된 다양한 손상으로부터 초래되는 신경 손상과 같은 신경손상을 치료하고/하거나, 최소화하고/하거나 예방하는 데 유용한 것으로 여겨진다.

[0170] 바람직하게는, 화학식 I 내지 IV의 C-20 스테로이드 화합물은 MTBI를 치료하고/하거나 예방하는 데 유용한 것으로 여겨진다. 다른 실시형태에서, 화학식 I 내지 IV의 C-20 스테로이드 화합물은 뇌진탕을 치료하고/하거나 예방하는 데 유용한 것으로 여겨진다.

[0171] 본 발명에 따르면, 화학식 I 내지 IV의 C-20 스테로이드 화합물, 특히 *ent*-19 노르프로게스테론은 중증의 TBI, 중등증 TBI, 경증의 TBI 및 뇌진탕, 바람직하게는 경증의 TBI, 및 훨씬 더 바람직하게는 뇌진탕을 포함하는 TBI를 치료하고/하거나, 최소화하고/하거나 예방하기 위해 70kg 환자 당 약 0.05mg/kg 내지 16mg/kg, 바람직하게는 약 0.05mg/kg 내지 약 4mg/kg 및 훨씬 더 바람직하게는 약 0.16mg/kg 내지 약 0.65mg/kg 또는 약 1.13mg/kg 내지 약 45.2mg/kg의 투약량 범위로 투여될 수 있다. 더 높은 투약량 범위가 바람직하지만, 그럼에도 불구하고, 중증의 TBI, 중등증 TBI, 경증의 TBI 및 뇌진탕, 바람직하게는 경증의 TBI, 및 훨씬 더 바람직하게는 뇌진탕을 포함하는 TBI를 치료하고/하거나, 최소화하고/하거나 예방하기 위해 본 명세서에 사용되는 임의의 유효량이 본 발명에 의해 상정된다는 것이 이해되어야 한다. 본 발명의 화학식 I 내지 IV의 C-20 스테로이드 화합물은, 예를 들어 경구, 설하, 정맥내, 복강내, 피하, 근육내, 복부내, 눈, 귀, 비강내, 국소, 경피, 피하 및 직장 투여 경로를 포함하는 다수의 투여 경로를 통해 투여될 수 있다는 것이 추가로 상정된다.

[0172] 본 발명은 일부 실시형태에서, C-20 스테로이드 화합물은, 예를 들어, 조성물 또는 혼합물로 제형화될 수 있고, 예를 들어, 정제, 캡슐, 젤캡, 당의정, 분말, 과립, 액체, 용액, 현탁액, 분산물, 펠렛, 비드, 점안액, 젤, 크림, 연고, 살브, 밤, 로션 또는 좌약으로부터 선택된 제형으로 투여된다는 것이 추가로 상정된다. 다른 실시형태에서, 본 발명은 C-20 스테로이드 화합물이 연하, 주사, 주입, 흡입, 경피로 또는 국소로 적용되는, 예컨대 피부, 눈, 귀, 코, 점막 또는 임의의 다른 막에 적용되거나 또는 직장 내로 삽입되는 제형으로서 투여될 수 있다는 것이 생각된다. 그럼에도 불구하고, 본 발명에 의해 상정되는 바와 같은 TBI, 특히 경증의 TBI 및 뇌진탕을 치료하고/하거나 예방하기 위한 바람직한 투여 경로는 비강, 흡입 또는 주사 투여 경로라는 것이 당업자에 의해 이해되어야 한다. 일 실시형태에서, 본 발명은 경구, 설하, 정맥내, 복강내, 눈, 비강내, 경피, 피하 및 직장으로부터 선택된 경로를 통해 투여되는 화학식 I 내지 IV의 C-20 스테로이드 화합물을 제공한다. 다른 실시형태에서, 화학식 I 내지 IV의 C-20 스테로이드 화합물은 경구로 투여된다. 다른 실시형태에서, 화학식 I 내지 IV의 C-20 스테로이드 화합물은 설하로 투여된다. 다른 실시형태에서, 화학식 I 내지 IV의 C-20 스테로이드 화합물은 주사에 의해, 예컨대 정맥내, 근육내, 피하 또는 복강내로 투여된다. 다른 실시형태에서, 화학식 I 내지 IV의 C-20 스테로이드 화합물은 눈에 또는 귀에 투여된다. 다른 실시형태에서, 화학식 I 내지 IV의 C-20 스테로

이드 화합물은 비강내로 투여된다. 다른 실시형태에서, 화학식 I 내지 IV의 C-20 스테로이드 화합물은 경피로 투여된다. 다른 실시형태에서, 화학식 I 내지 IV의 C-20 스테로이드 화합물은 피하로 투여된다. 다른 실시형태에서, 화학식 I 내지 IV의 C-20 스테로이드 화합물은 직장내로 투여된다. 다른 실시형태에서, 화학식 I 내지 IV의 C-20 스테로이드 화합물은 흡입을 포함하여 국소로 투여된다.

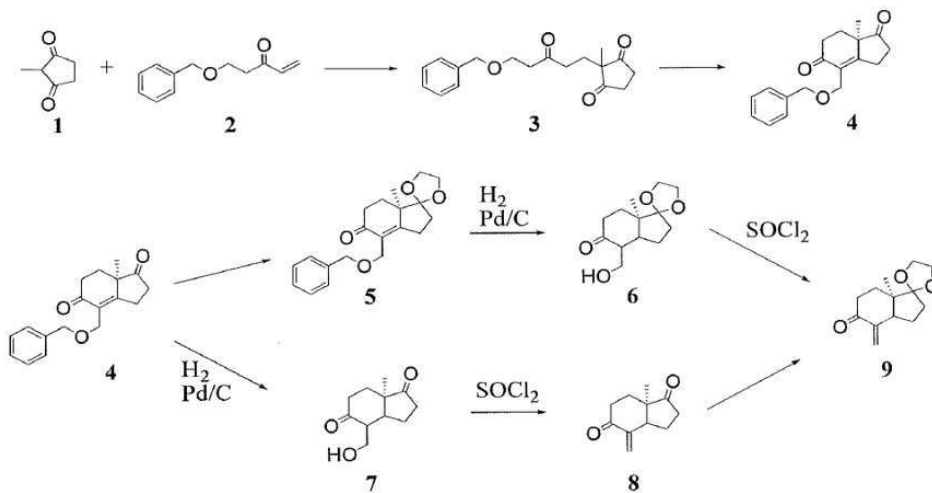
[0173] 일 실시형태에서, 화학식 I 내지 IV의 C-20 스테로이드 화합물은 정제, 캡슐, 젤캡, 당의정, 분말, 용액, 현탁액, 점안액, 크림, 연고, 로션, 겔 또는 좌약으로부터 선택된 제형으로 투여된다. 당업자는 화학식 I 내지 IV의 활성제를 함유하는 제형이 선택적으로 공동 치료제 및 비활성 부형제를 함유할 수 있다는 것을 인식할 것이다. 추가로 당업자는 액체 제형이 용매를 함유하고, 상기 용매는 수성 또는 유기일 수 있다는 것을 인식할 것이다.

[0174] 일 실시형태에서, 화학식 I 내지 IV의 C-20 스테로이드 화합물은 연하, 주사, 주입, 흡입, 경피로 또는 국소로, 예컨대 피부, 눈, 점막 또는 다른 막 및 폐에 적용되거나, 또는 직장 내로 삽입되는 제형으로서 투여된다. 당업자는 일부 제형이 특정 투여 경로에 대해 의도되는 반면, 다른 제형은 다양한 투여 경로에서 사용될 수 있다는 것을 인식할 것이다. 예를 들어, 용액 제형은 주사되거나, 주입되거나, 복강내로 침착되거나, 피하로 침착되거나, 눈에 적용되거나, 코 내로 분사되거나 적용되거나, 또는 분무된 액체 또는 현탁액으로서 흡입될 수 있다. 대안적으로, 정제, 캡슐, 젤캡 및 당의정은 연하되도록 의도된다.

[0175] 추가적으로, 좌약은 직장 내로의 삽입용으로 의도되는 반면, 크림, 연고 및 로션은 국소 적용용으로 의도된다.

[0176] 화학식 I 내지 IV의 C-20 스테로이드 화합물을 제조하기 위한 본 발명의 본 방법은 반응식 1 내지 15에 도시한다. 특정 예에서, 시약 및 용매가 열거된다. 이들 시약 및 용매는 예시적이며, 나타낸 특정 시약 또는 용매로 제한되는 것으로 의도되지 않는다.

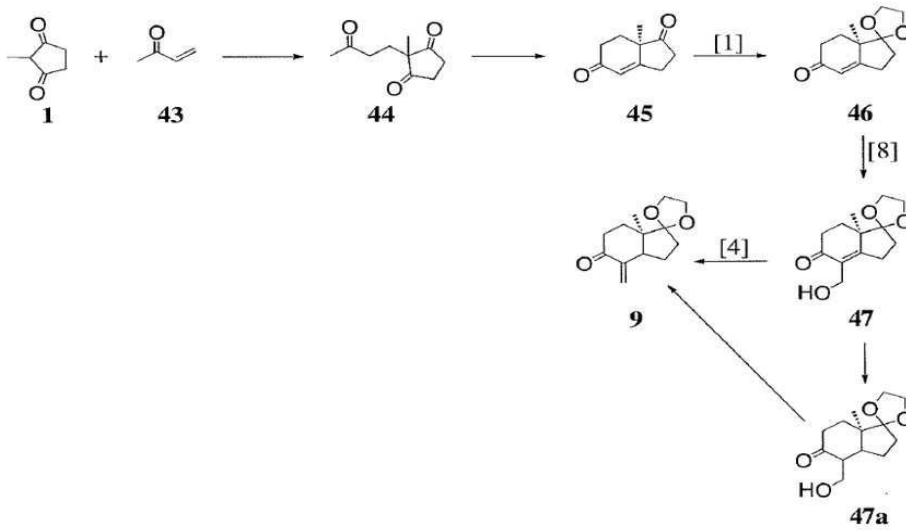
[0177] **반응식 1**



[0178]

[0179] 반응식 1은 두 대안의 과정을 통한 화합물 (9)의 형성을 나타낸다. 반응식 1에서, (1)은 (2)와 반응해서 (3)을 생성한다. 화합물 (2)의 제조는 문헌[Yamauchi, Noriaki; Natsubori, Yoshiaki; Murae, Tatsushi Bulletin of the Chemical Society of Japan (2000), 73(11), 2513-2519)]에 기재되어 있다. (3)은 입체선택적 고리 폐쇄를 실시하여 (4)를 형성한다. 이어서, (4)는 카본일기의 선택적 보호에 의해 (5)를 형성하고(문헌[Bosch, M.P.; Camps, F.; Coll, J.; Guerrero, T.; Tatsuoka, T.; Meinwald, J. J. Org. Chem. 1986, 51, 773]에 기재된 바와 같음) 다음에 고리 이중 결합의 동시 수소화 및 벤질 에터의 절단으로 (6)을 형성하고, 염화티오닐을 이용하는 하이드록실기의 제거하거나; 또는 고리 이중 결합의 동시 수소화 및 벤질 에터의 절단에 의해 (7)을 형성한 다음, 염화티오닐에 의한 하이드록실기의 제거에 의한 (8)의 형성 및 카본일기의 보호(문헌[Bosch, M.P.; Camps, F.; Coll, J.; Guerrero, T.; Tatsuoka, T.; Meinwald, J. J. Org. Chem. 1986, 51, 773]에 기재한 바와 같음)에 의해 (9)로 전환될 수 있다.

[0180] 반응식 2



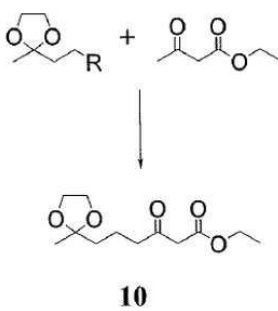
[0181]

[0182] 반응식 2는 (1)과 뷰트-3-엔-2-온(43)의 조합물로부터 반응식 1의 화합물 (9)의 형성에 대한 대안을 나타낸다. (1)과 (43)은 반응하여 (44)를 형성하는데, 이것에 입체선택적 고리 폐쇄 반응이 실시되어 (45)를 형성한다. 이어서, (45)는 선택적으로 보호되어 (46)(Bosch, M.P.; Camps, F.; Coll, J.; Guerrero, T.; Tatsuoka, T.; Meinwald, J. J. Org. Chem. 1986, 51, 773)을 형성하고, 베일리스-힐맨(Baylis-Hillman) 반응이 실시되어 (47)을 형성한다(Satyanarayana reaction (Basavaiah, D.; Rao, A. J.; Satyanarayana, T. Chem. Rev. 2003, 103, 811)). (47)은 루이스 산 촉진된 환원이 실시되어 반응식 1의 화합물 (9)를 생성한다. 대안적으로, (47)은 수소화되어 (47a)를 제공한다. 알코올 및 제거의 후속적 활성화는 반응식 1의 화합물 (9)를 생성한다.

[0183]

[0184] 특정 실시형태에서, (47a)의 (9)로의 전환, 및 유사한 반응은 시약으로서 A1203을 이용할 수 있다. 당업자는 베타-하이드록시케톤의 활성화 및 후속적 제거 반응, 예컨대 반응식 2에 기재한 것은 KOH, 다이아이소프로필에틸아민과 함께 염화메탄설폰일, 다이메틸아미노피리딘과 함께 파라-톨루엔설폰일 클로라이드, DCC, 피리딘 하이드로클로라이드, 알루미늄을 포함하는 다양한 조건 하에서 수행될 수 있다는 것을 인식할 것이다.

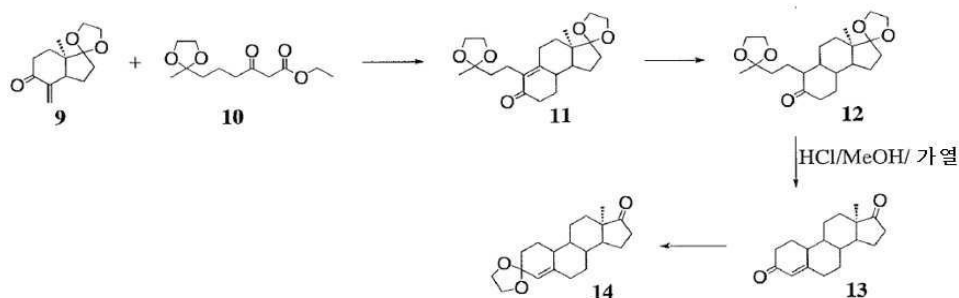
[0185] 반응식 3



[0186]

[0187] 반응식 3은 치환된 2-에틸-2-메틸-1,3-다이옥솔란의 에틸 3-옥소뷰타노에이트와의 반응에 의해 화합물 (10)을 형성하는 1 단계 과정을 나타낸다. 특정 실시형태에서, 그것으로 제한되는 일 없이, 이탈기 R은 -OTs, -OMs, -OTf, -Cl, -Br 또는 -I이다. 또 다른 실시형태에서, 이탈기 R은 -OTs, -Br 또는 -I이다. 또 다른 실시형태에서, 이탈기 R은 -Br이다.

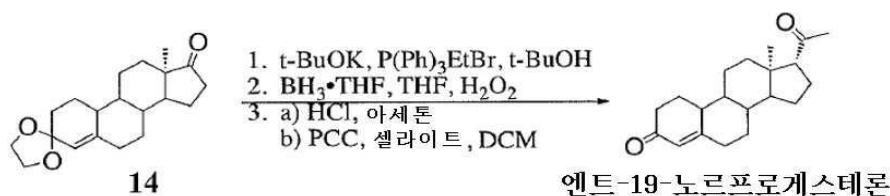
[0188] 반응식 4



[0189]

[0190] 반응식 4는 (9) 및 (10)의 조합물로부터 화합물 (14)의 형성을 나타낸다. 반응식 4에서, (9)와 (10)은 반응되어 (11)을 형성하는데, 이는 수소화되어 (12)를 형성한다. 이어서, (12)는 이중 탈보호되고 나서, 고리화되어 (13)을 형성하고, 이는 선택적으로 재보호되어 (14)를 형성한다(Tsunoda, T.; Suzuki, M.; Noyori, R. Tetrahedron Lett. 1980, 21, 1357).

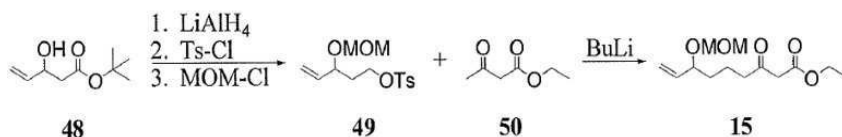
[0191] 반응식 5



[0192]

[0193] 반응식 5는 반응식 4의 화합물 (14)로부터 ent-19-노르프로게스테론의 형성을 나타낸다. 반응식 5에서, (14)는 칼륨 tert-부톡사이드 및 에틸 트리페닐포스포늄 브로마이드와 반응한 다음에, 수소화 및 산화로 ent-프로게스테론을 형성한다. 당업자는 케탈 보호기의 가수분해가 산화 전에 또는 산화 후에 행해질 수 있다는 것을 인식할 것이다. 당업자는 알코올의 케톤으로의 산화에 적합한 다수의 반응 조건 및 시약이 있다는 것과 PCC에 대한 대안은 스윈(Swern), KMnO4, 데스-마틴(Dess-Martin), 템포(TEMPO) 및 IBX를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다는 것을 추가로 인식할 것이다.

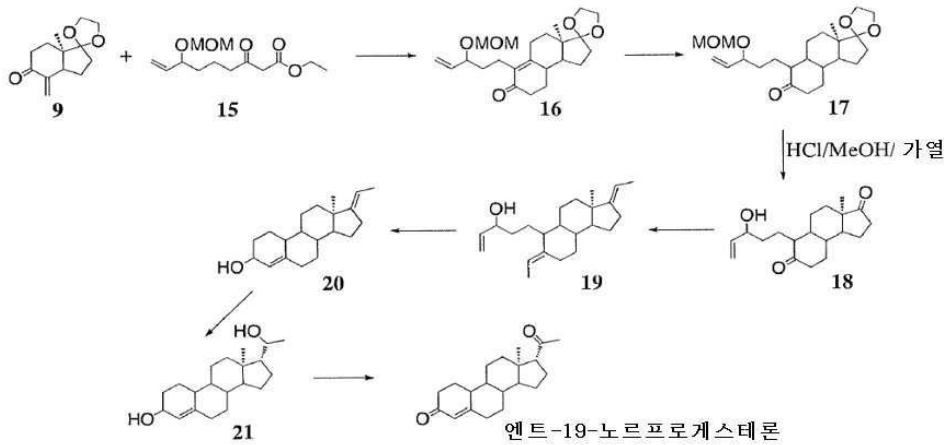
[0194] 반응식 6



[0195]

[0196] 반응식 6은 환원을 통해 tert-부틸 3-하이드록시펜트-4-에노에이트(48)로부터의 화합물(15)의 형성(Batt, Frederic and Fache, Fabienne, European Journal of Organic Chemistry, 2011(30), 6039-6055, S6039/1-S6039/46; 2011), 토실레이트의 형성 및 MOM(메톡시메틸 에터) 보호기에 의한 보호로 (49)를 형성하는 것을 나타낸다. 이어서, (49)는 염기의 존재 하에 에틸 3-옥소부타노에이트(50)와 반응하여 (15)를 형성한다.

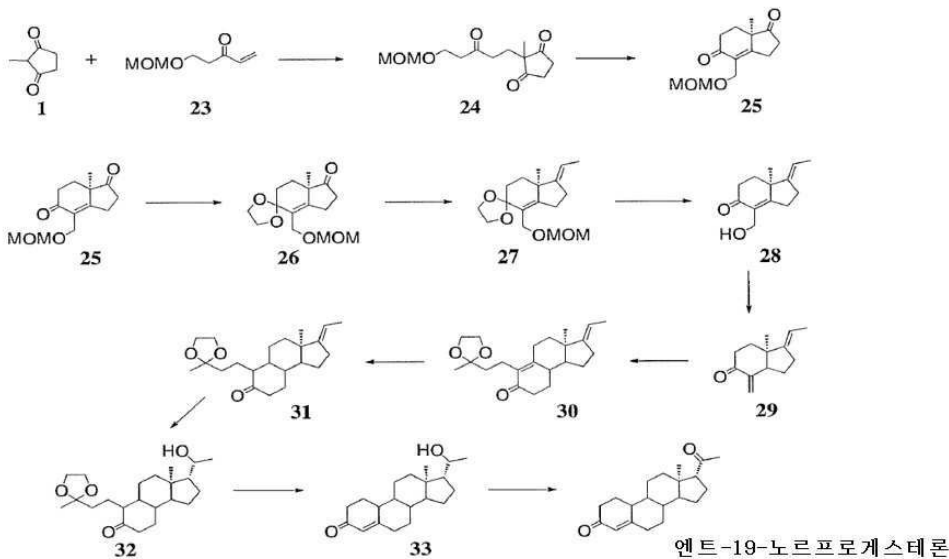
[0197] 반응식 7



[0198]

[0199] 반응식 7은 반응식 1로부터의 (9)와 반응식 6으로부터의 (15)의 조합물로부터 ent-19-노르프로게스테론의 형성을 나타낸다. 반응식 7에서, (9)와 (15)는 로빈슨 고리형성(Robinson annulation)으로 반응하여 (16)을 형성하고, 이것에 버치(Birch) 환원 또는 선택적 수소화 반응이 실시되어 (17)을 형성한다. (17)의 MOM 에터 및 케탈은 동시에 제거되어 (18)을 형성하고, 이어서, 이중 비티히 반응(Wittig reaction)이 실시되어 (19)를 형성한다. 이어서, (19)는 고리 폐쇄 복분해 반응을 겪어서 (20)을 형성하고, 이것에, 수소화 반응을 실시하여 (21)을 형성한다. (21)의 이중 산화는 ent-19-노르프로게스테론의 형성을 초래한다.

[0200] 반응식 8

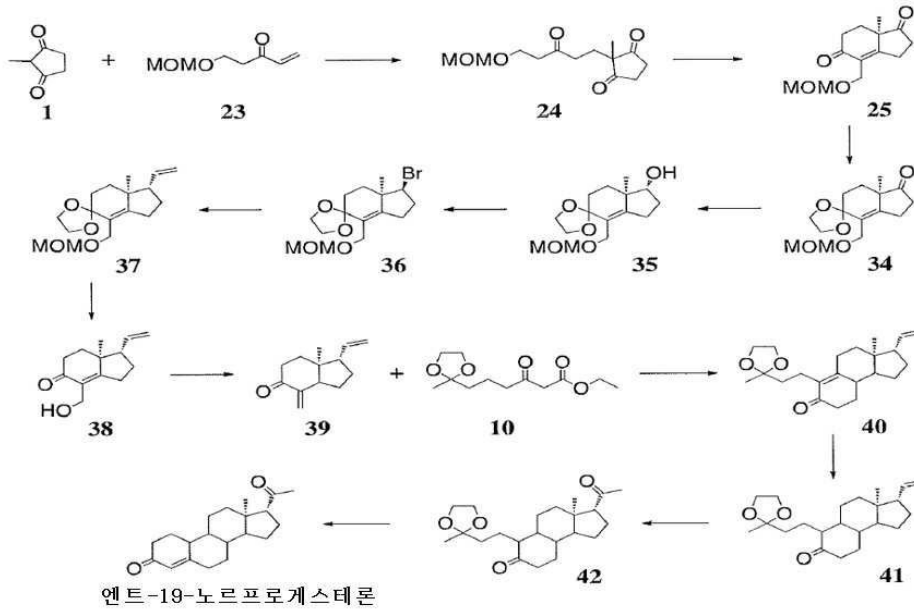


[0201]

[0202] 반응식 8은 반응식 1로부터의 (1)의 메톡시메틸에터 보호 화합물(23)과의 조합물로부터의 ent-19-노르프로게스테론의 형성을 나타낸다. (1)과 (23)은 반응되어 (24)를 형성하고, 이것에 입체선택적 고리화 반응을 실시하여 (25)를 형성한다. 이어서, (25)는 선택적으로 보호되어 (26)을 형성하고(Tsunoda, T.; Suzuki, M.; Noyori, R. Tetrahedron Lett. 1980, 21, 1357), 이것에 에틸 트라이페닐포스포늄 브로마이드를 이용하는 비티히 반응을 실시하여 (27)을 형성한다. (27)의 MOM 에터와 케탈은 동시에 가수분해되어 (28)을 형성하는데, 이어서 이것에 루이스산 촉진된 환원이 실시되어 (29)에서 외향 고리 이중 결합을 형성한다(Das, Biswanath; Banerjee, Joydeep; Chowdhury, Nikhil; Majhi, Anjoy; Holla, Harish, Synlett (2006), (12), 1879-1882). (29)에 반응식 3으로부터의 (10)에 의해 로빈슨 고리 형성이 실시되어 (30)을 형성하고, 이것에 비치 환원 또는 선택적 수소화를 실시하여 (31)을 형성한다. (31)은 수소화 반응을 겪어서 (32)를 형성한다. 직렬 알돌 고리화에 의한 (32)의 케탈의 가수분해로 (33)을 형성한다. (33)의 산화는 ent-19-노르프로게스테론을 초래한다.

[0203] 특정 실시형태에서, 루이스 산 촉진 환원은 수소화 및 베타-제거 2-단계 순서에 의해 대체된다.

[0204] 반응식 9



[0205]

[0206]

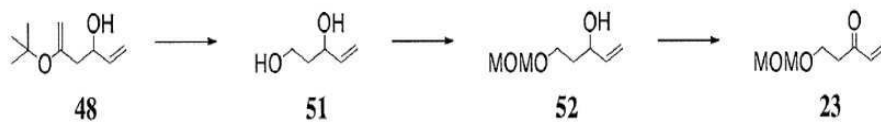
반응식 9는 반응식 8로부터의 ent-19-노르프로게스테론의 형성에 대한 대안을 나타낸다. 도시한 바와 같이, 화합물(25)는 반응식 8에 기재한 바와 같이 제조한다. 계속하면, 화합물 (25)는 선택적으로 보호되어 아세탈 화합물 (34)를 생성하고(Tsunoda, T.; Suzuki, M.; Noyori, R. Tetrahedron Lett. 1980, 21, 1357), 이는 입체선택적으로 환원되어 하이드록실 화합물(35)을 형성한다. (35)는 입체화학의 반전에 의해 브롬화되어 (36)을 형성하고, 이것에 비닐 음이온에 의한 친핵성 치환 및 입체화학의 반전을 실시하여 (37)을 형성한다. (37)의 MOM 에터와 케탈은 동시에 가수분해되어 (38)을 형성하고, 이어서 이것에 루이스 산 촉매 환원이 실시되어 (39)에서 외향 고리 이중 결합을 형성한다(Das, Biswanath; Banerjee, Joydeep; Chowdhury, Nikhil; Majhi, Anjoy; Holla, Harish, Synlett (2006), (12), 1879-1882). (39)는 로빈슨 고리형성을 통해 반응식 3에 형성된 화합물 (10)과 반응되어 (40)을 형성하고, 이것에 버치 환원 또는 선택적 수소화를 실시하여 (41)을 형성한다. (41)은 바커(Wacker) 산화를 겪어서 (42)를 형성한다. (42)의 직렬 케탈 가수분해 및 알돌 고리화는 ent-19-노르프로게스테론을 생성한다.

[0207]

특정 실시형태에서, 루이스 산 촉매 환원은 수소화 및 베타-제거 2-단계 순서로 대체된다.

[0208]

반응식 10

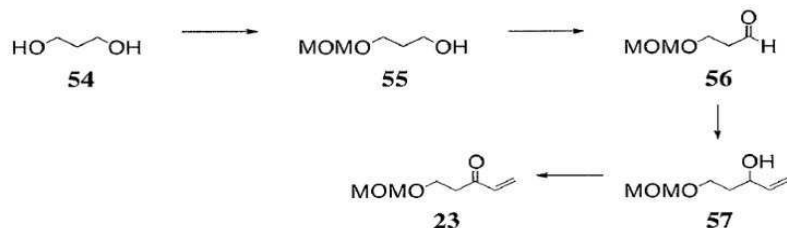


[0209]

[0210]

반응식 10은 반응식 9에 도시하는 화합물 (23)의 제조를 나타낸다. 이 화학은 관련 화합물의 제조를 위한 프로토콜에 적합하다(Batt, F.; Fache, F. Eur. J. Org. Chem. 2011, 6039). 도시한 바와 같이, 화합물 (48)은 화합물 (50)로 환원된다(반응식 6). 이어서, 화합물 (51)의 1차 하이드록실 기(Batt, F.; Fache, F. Eur. J. Org. Chem. 2011, 6039)는 대응하는 메톡시메틸 에터(52)로 선택적으로 전환된다. 이어서, 화합물(52)는 산화되어 화합물 (23)을 형성한다.

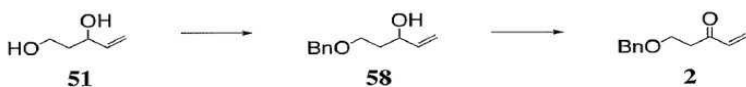
[0211] 반응식 10a



[0212]

[0213] 반응식 10a는 반응식 10에 도시되는 화합물 (23)의 제조에 대한 대안을 나타낸다. 이 화학은 관련 화합물의 제조를 위한 프로토콜에 적합하다(Batt, F.; Fache, F. Eur. J. Org. Chem. 2011, 6039). 도시한 바와 같이, 프로필렌 글리콜은 그의 모노-메톡시메틸 에터 화합물(55)로 전환된다. 이어서, 유리 하이드록실기는 산화되어 화합물 (56)의 알데하이드를 형성한다. 이어서, 알데하이드는 알릴형 알코올 화합물(57)로 전환된다. 이어서, 화합물(57)은 산화되어 화합물(23)을 형성한다.

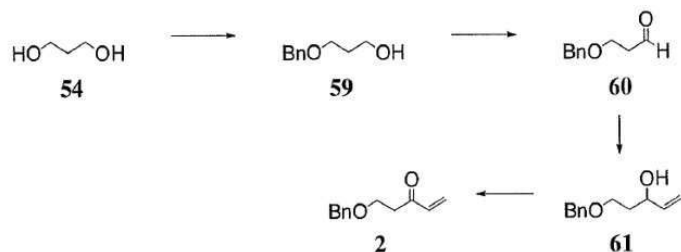
[0214] 반응식 11



[0215]

[0216] 반응식 11은 반응식 1에 도시된 화합물 (2)의 제조를 나타낸다. 이 화학은 관련된 화합물의 제조를 위한 프로토콜에 적합하고(Batt, F.; Fache, F. Eur. J. Org. Chem. 2011, 6039), 문헌[Yamauchi, Noriaki; Natsubori, Yoshiaki; Murae, Tatsushi Bulletin of the Chemical Society of Japan (2000), 73(11), 2513-2519]에 기재된 합성에 대한 대안을 나타낸다. 도시한 바와 같이, 화합물 (51)의 1차 하이드록실 기(Batt, F.; Fache, F. Eur. J. Org. Chem. 2011, 6039)는 대응하는 벤질 에터(58)로 선택적으로 전환된다. 이어서, 화합물(58)은 산화되어 화합물 (2)를 형성한다.

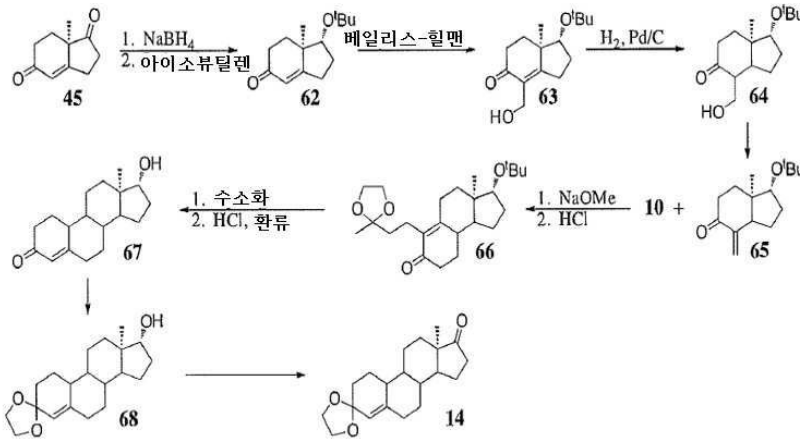
[0217] 반응식 11a



[0218]

[0219] 반응식 11은 반응식 11에 도시된 화합물 (2)의 제조에 대한 대안을 나타낸다. 이 화학은 관련된 화합물의 제조에 대한 프로토콜에 적합하고(Batt, F.; Fache, F. Eur. J. Org. Chem. 2011, 6039), 문헌[Yamauchi, Noriaki; Natsubori, Yoshiaki; Murae, Tatsushi Bulletin of the Chemical Society of Japan (2000), 73(11), 2513-2519]에 기재된 합성에 대한 대안을 나타낸다. 도시한 바와 같이, 프로필렌 글리콜은 그의 모노-벤질 에터 화합물(59)로 전환된다. 이어서, 유리 하이드록실기는 산화되어 화합물(60)의 알데하이드를 형성한다. 이어서, 알데하이드는 알릴형 알코올 화합물(61)로 전환된다. 이어서, 화합물(61)은 산화되어 화합물(2)를 형성한다.

[0220] 반응식 12



[0221]

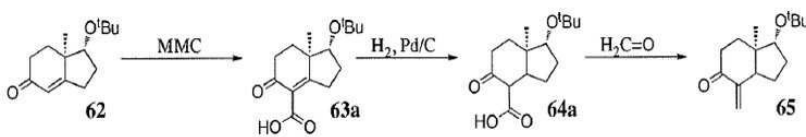
[0222] 반응식 12는 반응식 4에 기재된 바와 같은 화합물(14)의 대안의 합성을 제공한다. 합성은 화합물(62)의 화합물(65)로의 전환 그리고 ent-19-노르테스토스테론(화합물 67)의 다이옥솔란 케탈 화합물(68)로의 전환 순서를 포함한다.

[0223] 구체적으로, (45)는 환원되고 보호되어 (62)를 형성한다. (62)에 베일리스-힐맨(Baylis-Hillman) 반응을 실시하여 (63)을 형성하고, 추가로 환원시켜 (64)를 형성한다. (64)는 환원 반응을 실시하여 (65)에서 이중 결합을 형성한다. (65)는 반응식 3으로부터의 화합물(10)과 반응하여 (66)을 형성하고, 이는 수소화되고 고리화되어 ent-19-노르테스토스테론(67)을 형성한다. 이어서, ent-19-노르테스토스테론(67)은 케탈 보호되고, 환원되어 (14)를 형성한다.

[0224] 특정 실시형태에서, 화합물(63)의 화합물(65)로의 전환은 루이스 산 촉진된 환원을 포함하는 단일 단계로 수행된다.

[0225] 당업자는 베타-하이드록시케톤의 활성화 및 후속적 환원 반응, 예컨대 반응식 12에 기재된 것은 KOH, 다이아이소프로필에틸아민과 함께 염화메탄설포닐, 다이메틸아미노피리딘과 함께 파라-톨루엔설포닐 클로라이드, DCC, 피리디늄 하이드로클로라이드, 알루미늄을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 다양한 조건 하에 수행될 수 있다는 것을 인식할 것이다.

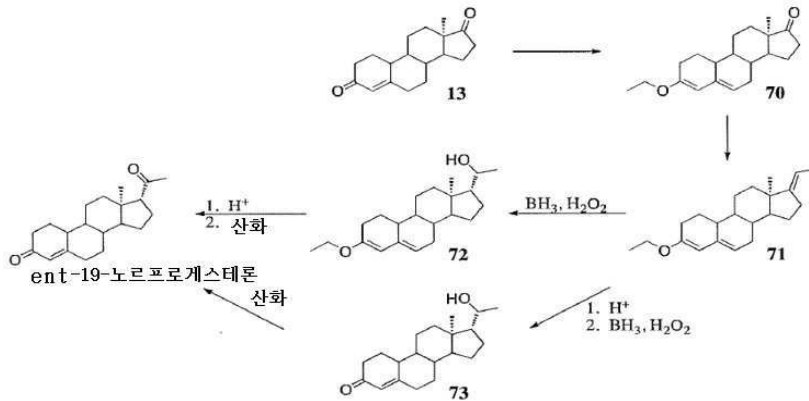
[0226] 반응식 12a



[0227]

[0228] 반응식 12a는 화합물(62)의 화합물(65)로의 대안의 전환을 제공한다. 도시하는 바와 같이, 화합물(62)은 메틸 마그네슘 카보네이트(MMC)로 처리되어 카복실화된 생성물 화합물(63a)을 형성한다. 촉매적 수소화는 화합물(63a)의 올레핀을 환원시켜 화합물(64a)을 형성한다. 폼알데하이드의 존재 하에 최종 탈카복실화는 화합물(65)을 형성한다. 일부 실시형태에서, 화합물(63a)의 화합물(64a)로의 전환 및 화합물(64a)의 화합물(65)로의 전환은 별개이며, 합성 단계들을 분리시킨다. 다른 실시형태에서, 화합물(63a)의 화합물(64a)로의 전환 및 화합물(64a)의 화합물(65)로의 전환은 동시에 진행된다. 당업자는 탄소상 팔라듐, 탄소상 백금, 탄소상 수산화팔라듐, 팔라듐, 백금 및 레이니 니켈을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 이중 결합의 단일 결합으로의 환원에 유용한 다수의 촉매가 있다는 것을 인식할 것이다.

[0229] 반응식 13



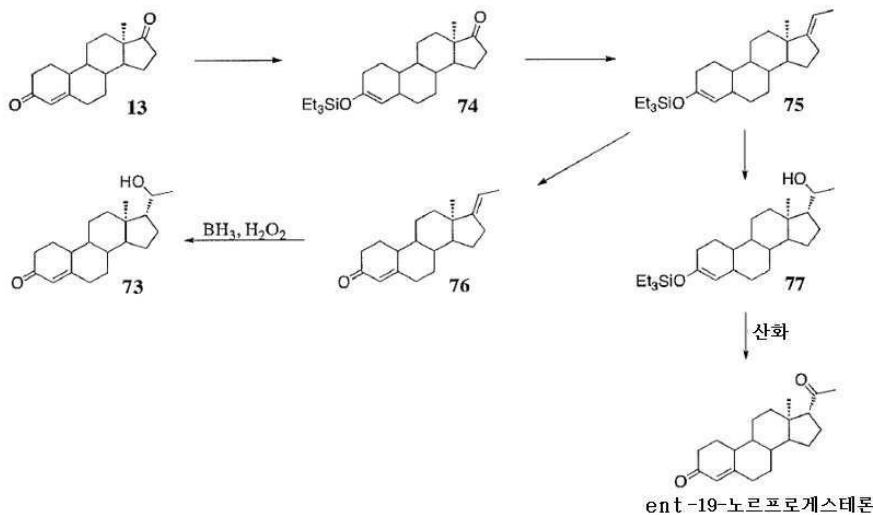
[0230]

[0231]

반응식 13은 화합물(13)(반응식 4)으로부터의 대안의 지속을 나타내며, (13)의 에틸 엔올 에터 화합물(70)로의 전환, 다음에 화합물 (71)을 생성하는 비티히 반응에 의존한다. 이 유형의 반응은 일반적으로 안티모 등의 (Antimo, et al.) 문헌[Steroids 77 (2012) 250-254]에 의해 기재된다. 이 서열은 (71)의 초기 보란 산화 다음에, 엔올 에터 및 산화의 가수분해에 의해 완료되어 (72)를 형성한다. 대안적으로, (71)은 초기에 가수분해 다음에 보란 산화되어 화합물 (73)을 제공한다.

[0232]

반응식 14



[0233]

[0234]

반응식 14는 반응식 13에 대한 대안을 나타내며, 환원적 실릴화를 이용하여 (13)의 엔올을 보호하여 (74)를 형성한다. 이 유형의 보호는 일반적으로 이와오(Iwao) 등의 문헌[Tetrahedron Letters 49 (1972) 5085-5038] 및 호리구치(Horiguchi) 등[Journal of the American Chemical Society 111(16) (1989) 6259-6265]에 일반적으로 기재되어 있다. (75)의 (77)로의 보란 산화 후에, 알코올의 산화 및 엔올의 산화적 탈보호는 ent-19-노르프로게스테론을 생성한다. 이 유형의 탈보호는 일반적으로 요시히코(Yoshihiko) 등의 문헌[Journal of Organic Chemistry 43(5) (1978) 1011-1013]에 의해 기재된다.

[0235]

대안적으로, 실릴 엔올 에터(75)는 초기에 산화적으로 (76)으로 전환되고, 이어서, 보란 산화에 의해 화합물 (73)로 전환된다.

[0236]

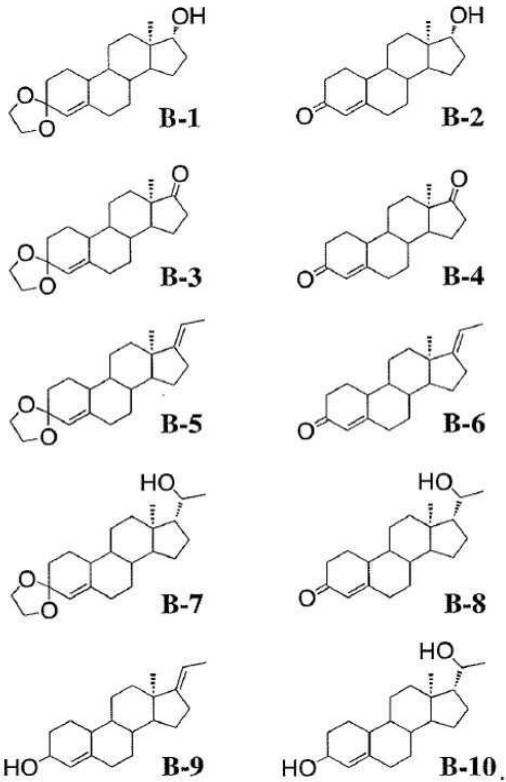
활성 중간체

[0237]

본 발명의 방법에 기재된 특정 방법은 다수의 유용한 중간체를 제조하기 위해 이용될 수 있다. 특정 실시형태에서, 중간체는 ent-프로게스테론의 제조에서의 그들의 유용성과 별도로 그리고 그 외에 활성을 가진다. 구체적으로, 특정 실시형태에서, 활성 중간체 화합물은 외상성 뇌손상의 치료에서 활성을 가진다. 본 발명은, 특정 양상에서, 치료가 필요한 환자에게 치료적 유효량의 활성 중간체 화합물을 투여하는 단계를 포함하는 외상성 뇌손상

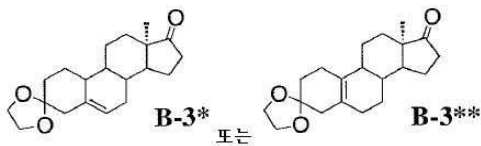
의 치료 방법을 제공한다.

[0238] 이들 활성 중간체 화합물은 하기를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다,



[0239]

[0240] 상기 나타낸 각각의 중간체에서, 이중 결합은 고리계 주위로, 특히 두 번째 고리 내로 이동할 수 있다. 예를 들어, 중간체 B-3은 하기와 같이 표시할 수 있다



[0241]

[0242] **실시예**

[0243] **약어 및 두문자어**

[0244] 당업계와 보통의 기술을 가진 유기 화학자에 의해 사용되는 약어의 종합적인 열거는 문헌[The ACS Style Guide (제3판) 또는 문헌[Guidelines for Authors for the Journal of Organic Chemistry]에 나타낸다. 상기 목록에 포함된 약어 및 당업계의 보통의 숙련된 유기 화학자에 의해 이용되는 모든 약어는 본 명세서에 참고로 포함된다. 본 발명의 목적을 위해, 화학적 구성요소는 문헌[주기율표, CAS 버전, Handbook of Chemistry and Physics, 67th Ed., 1986-87]에 따라 확인되며, 이들 각각은 그의 전문이 본 명세서에 참고로 포함된다.

[0245] 더 구체적으로는, 다음의 약어가 본 명세서 전체적으로 사용될 때, 그들은 다음의 의미를 가진다:

[0246] atm 대기압

[0247] br s 광범위 단일선

[0248] 뷔키(Buchi) 회전 증발기(등록상표) 뷔키 래버테크닉 아게(BUCHI Labortechnik AG)

[0249] C 섭씨

[0250] CDCl₃중수소화된 트리클로로메탄

[0251] 셀라이트 규조토 여과제(등록상표) 셀라이트 코퍼레이션(Celite Corp.)

- [0252] d 이중선
- [0253] dd 이중선의 이중선
- [0254] DIBAL-H 수소화다이아이소뷰틸알루미늄
- [0255] DCM 다이클로로메탄
- [0256] DMI 다이메틸-2-이미다졸리딘온
- [0257] g 그램
- [0258] h 시간, 시간들
- [0259] ¹H NMR 양성자 핵 자기 공명
- [0260] HPLC 고성능 액체 크로마토그래피
- [0261] J결합 상수(NMR 분광학)
- [0262] ℓ 리터
- [0263] LAH 수소화알루미늄리튬
- [0264] LG 이탈기
- [0265] M mol L⁻¹(몰농도)
- [0266] m 다중선
- [0267] MHz 메가헤르츠
- [0268] min 분, 분들
- [0269] mL 밀리리터
- [0270] μM 마이크로몰농도
- [0271] mol 몰
- [0272] MS 질량 스펙트럼, 질량 분석법
- [0273] m/z 질량 대 전하 비
- [0274] N 당량 L⁻¹(노르말)
- [0275] NBS N-브로모 숙신이미드
- [0276] NMO N-메틸몰폴린-N-옥사이드
- [0277] NMR 핵 자기 공명
- [0278] pH 수소 이온 농도의 음의 로그
- [0279] q 사중선
- [0280] RBF 둥근 바닥 플라스크
- [0281] r.t 실온
- [0282] RT 체류 시간(HPLC)
- [0283] rt 실온
- [0284] s 단일선
- [0285] t 삼중선
- [0286] THE 테트라하이드로퓨란

- [0287] TLC 박층 크로마토그래피
- [0288] TsCl 염화토실
- [0289] 다음의 실시예에 보고된 수율%는 가장 낮은 몰량으로 사용된 출발 성분에 기반한다. 공기 및 수분 민감성 액체 및 용액은 주사기 또는 캐놀라를 통해 전달되고, 고무 마개를 통해 반응 용기에 도입된다. 상업적 등급의 시약 및 용매는 추가 정제 없이 사용된다. 용어 "감압 하에서 농축된"은 대략 15 mmHg에서 뷰키 회전 증발기 또는 동등한 장비의 사용을 지칭한다. 모든 온도는 섭씨(°C)에서 보정되지 않은 것으로 보고된다. 박층 크로마토그래피(TLC)는 사전 코팅한 유리 지지 실리카겔 60 A F-254 250 μm 플레이트 상에서 수행된다.
- [0290] 본 발명의 화합물의 구조를 다음의 절차 중 하나 이상을 이용하여 확인한다.
- [0291] **NMR**
- [0292] NMR 스펙트럼을 이하의 절차에 나타낼 때의 각각의 화합물에 대해 획득한다. 얻은 NMR 스펙트럼은 나타낸 구조와 일치되었다. 일상적인 1-차원 NMR 분광학을 300 MHz 브루커(Bruker) 분광계 상에서 수행하였다. 샘플을 중수소화된 용매 중에 용해시켰다. 화학적 이동을 ppm 규모로 기록하고 나서, 1H 스펙트럼에 대해 적절한 용매 신호, 예컨대 DMSO-d6에 대해 2.49ppm, CD3CN에 대해 1.93ppm, CD3OD에 대해 3.30ppm, CD2Cl2에 대해 5.32 ppm 및 CDCl3에 대해 7.26 ppm을 참고로 하였다.
- [0293] **재료**
- [0294] 본 발명의 화학의 실행에서 사용하는 장비는 다음을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다:
- [0295] • 저온 진공 펌프 - 첸추창첵 실험 장비 코포레이션, 엘티디(Zhengzhouchangcheng Experimental Equipment Co., Ltd)(모델 번호 DLSB-10/20)
- [0296] • 회전 증발기 - 상하이첸지에 실험 장비 코포레이션., 엘티디(Shanghaizhenjie Experimental Equipment Co., Ltd)(모델 번호 RE-52CS)
- [0297] • 오일 펌프 - 상하이 진공 펌프 팩토리(Shanghai Vacuum pump factory)(모델 번호 2XZ-4)
- [0298] • 기계적 교반기 - 베이징쉬지유화 실험 장비 코포레이션, 엘티디(모델 번호 DW-3-300)
- [0299] • 진공 건조 오븐 - 베이징리안헤케이 실험 장비 코포레이션, 엘티디(Beijinglianhekeyi Experimental Equipment Co., Ltd)(모델 번호 DZF-6020)
- [0300] • LCMS - 애질런트(Agilent)(모델 번호 1200-6100)
- [0301] • GCMS - 애질런트(모델 번호 7890A-5975C)
- [0302] • GC - 애질런트(모델 번호 7890A)
- [0303] • 카이랄 HPLC - 시마즈(Shimadzu)(모델 번호 LC-20AT)
- [0304] • NMR - 브루커(Bruker)(모델 번호 AVANCEB1300)
- [0305] • 액체 크로마토그래프 - 애질런트(모델 번호 G1322A)
- [0306] • 고온 오일욕 - SMS(모델 번호 00508)
- [0307] • 전자 저울 - LBTEC(모델 번호 XS205DU)
- [0308] 실험적 워크업에서 사용하는 화학물질 및 용매를 달리 언급하지 않는 한, 시그마 알드리치(Sigma Aldrich), 피셔 사이언티픽(Fisher Scientific) 또는 EMD로부터 구입하고, 사용한 용매는 ACS 또는 HPLC 등급 중 하나이며, 두 등급을 상호 호환적으로 사용한다. TLC 분석을 위해, 실리카 60 겔 유리 지지 TLC 플레이트를 사용한다.
- [0309] **실시예 1 - 화합물 3의 제조(반응식 1)**
- [0310] 2-메틸-1,3-펜탄다이온(1g, 1.2 당량)을 무수 아세트나이트릴(40ml) 중에 용해시키고 나서, 5-벤질옥시-펜트-1-

엔-2-온(1.5g, 1.0 당량)을 첨가한 다음, 트라이에틸아민(50mg, 0.05 당량)을 첨가하였다. 반응물을 25 내지 30 °C에서 12시간 동안 교반시키고, 이 후에, 그것을 농축 건조시켰다. 실리카겔 상의 잔사의 정제(에틸 아세테이트/헥산 1/5)는 무색 오일로서 화합물 3(1.8g)을 제공한다. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 1.10 (s, 3H), 1.90 (t, 2H), 2.50 (t, 2H), 2.65 (t, 2H), 2.70-2.90 (m, 4H), 3/0 (t, 2H), 4.50 (s, 2H), 7.25-7.4 (m, 5H). MS (M+ + 1) 303.1.

[0311] **실시예 2 - 화합물 46의 제조(반응식 2)**

[0312] 2-에틸-2-메틸-1,3-다이옥솔란(120ml) 및 화합물 45(20g, 1.0 당량)를 질소 하에 합쳤다. 에틸렌 글리콜(1.2, 0.14 당량)을 첨가한 후에, p-톨루엔설포산(390mg, 0.02 당량)을 첨가하였다. 반응물을 화합물 45의 농도가 HPLC에 의해 측정하여 20% 미만일 때까지 25 내지 30°C에서 96시간 동안 교반시킨다. 에틸 아세테이트(100 ml)를 첨가하고 나서, 얻어진 혼합물을 물(2 x 100ml)로 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조시키고 나서, 여과 후, 농축 건조시켰다. 잔사를 실리카겔 상에서 정제하여(에틸 아세테이트/헥산 1/20) 화합물 46(8g)을 무색 오일로서 수득하였다. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 1.20-1.35 (m, 7H), 1.60-1.70 (m, 1H), 1.90-2.00 (m, 1H), 2.10-2.80 (m, 6H), 3.85-4.05 (m, 4H), 5.85 (s, 1H). MS (M+ + 1) 209.1.

[0313] **실시예 3 - 화합물 47의 제조(반응식 2)**

[0314] 화합물 46(8.0g, 1.0 당량)을 1,4-다이옥산(40 ml)과 물(34ml)의 혼합물에 첨가한다. 이어서, 폼알데하이드(3.1g, 1.0 당량)를 첨가한 다음, 1,4-다이아자바이사이클로[2.2.2]옥탄(DABCO, 8.5g, 1.0 당량)을 첨가하였다. 반응물을 25 내지 30°C에서 120시간 동안 교반시키고, 이후에, 에틸 아세테이트(100ml)를 첨가한다. 혼합물을 물(2 x 100ml)로 세척하고, 무수 황산나트륨으로 건조시키고 나서, 여과 후, 농축 건조시켰다. 실리카겔 상의 정제(헥산 중의 10% 에틸 아세테이트)는 화합물 47(5g)을 무색 오일로서 제공한다. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 1.25 (m), 1.65 (m, 1H), 1.95 (m, 1H), 2.15-2.80 (m), 3.90-4.05 (m), 5.80 (s, 1H).

[0315] **실시예 4 - 화합물 47a의 제조(반응식 2)**

[0316] 화합물 47(2g)을 질소 분위기 하에 무수 테트라하이드로퓨란(THF, 200ml) 중에서 용해시킨다. 10% Pd/C(200mg)를 첨가하고 나서, 반응물을 수소 분위기 하에 둔다. 반응물을 40분에 걸쳐 -10 내지 0°C에서 교반시키고, 이후에, Pd/C를 여과에 의해 제거한다. 여과액을 농축 건조시키고 나서, 잔사를 실리카겔(10% 에틸 아세테이트/헥산) 상에서 정제하여 화합물 47a(1.6g)을 무색 오일로서 제공하였다. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ 0.95-1.15 (m, 1H), 1.55-2.10 (m), 2.50 (t, 2H), 2.40-2.50 (m, 1H), 2.70-2.80 (q, 1H), 3.15-3.30 (m, 1H), 3.65-3.90 (m), 4.35 (dd, 1H). MS (M+ + 1) 241.1.

[0317] **실시예 5 - 화합물 9의 제조(반응식 2)**

[0318] 화합물 47a(300mg, 1.0 당량)를 다이클로로메탄(DCM, 3ml) 중에서 용해시키고 나서, 트라이에틸아민(TEA, 3.0 당량)을 첨가하였다. 혼합물을 질소 하에 -10°C로 냉각시키고 나서, 염화메탄설포닐(1.2 당량)을 적가한다. 교반을 10 내지 20°C에서 4시간 동안 계속하고, 이후에, 톨루엔(3ml)을 첨가한 다음, 1,8-다이아자바이사이클로헥스-7-엔(DBU, 3.0 당량)을 첨가한다. 교반을 25 내지 30°C에서 추가 40시간 동안 계속하고, 이후에, 반응물을 물(2 x 3ml)로 세척하고 나서, 무수 황산나트륨으로 건조시키고, 여과 후, 농축 건조시켰다. 잔사를 실리카겔 상에서 정제하여(에틸 아세테이트/헥산 1/10) 화합물 9(100mg)를 무색 오일로서 제공하였다. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ 1.00 (s, 3H), 1.40-1.60 (m, 2H), 1.70-2.00 (m, 4H), 2.30-2.55 (m, 2H), 2.80 (m, 1H), 3.80-3.95 (m, 4H), 5.20 (s, 1H), 5.70 (s, 1H). MS (M+ + 1) 223.1.

[0319] **실시예 6 - 화합물 10의 제조(반응식 3)**

[0320] 수소화 나트륨(426mg, 1.2 당량)을 질소 하에 두고, 0°C로 냉각시켰다. 테트라하이드로퓨란(THF, 10ml)을 첨가한 다음, 헥사메틸포스포르아마이드(HMPA, 326mg, 0.25 당량)를 첨가하였다. 에틸 아세토아세테이트(1ml, 1.0 당량)를 첨가하고 나서, 혼합물을 0°C에서 10분 동안 교반시킨다. n-부틸리튬(2.5M, 3.6ml, 1.1 당량)을 첨가하고 나서, 혼합물을 0°C에서 추가 10분 동안 교반시킨다. 2-(2-메틸-1,3-다이옥솔란-2-일)에틸브로마이드(1.6g, 1.0 당량)를 첨가하고 나서, 반응물을 0°C에서 30분 동안 교반시킨다. 반응을 수성 옥살산(10%, 20ml)으로 중단시키고 나서, 다이클로로메탄(DCM, 3 x 20ml)으로 세척한다. 유기상을 추가적으로 포화 수성 중탄산나트륨(30ml) 및 염수(30ml)로 세척한다. 유기상을 무수 황산나트륨으로 건조시키고, 여과 후, 농축시킨다. 잔사를 실리카겔 (에틸 아세테이트/헥산 1/30) 상에서 정제하여 화합물 10(600mg)을 황색 오일로서 제공한다. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ 1.25 (t, 3H), 1.30 (s, 3H), 1.60-1.80 (m, 4H), 2.60 (t, 2H), 3.45

(s, 2H), 3.90-4.00 (m, 4H), 4.15-4.25 (q, 2H).

[0321]

실시예 7 - 화합물 11의 제조(반응식 4)

[0322]

화합물 9(500mg, 1.0 당량)을 메탄올(15ml) 중에서 용해시키고 나서, 화합물 10(715mg, 1.3 당량)을 첨가하였다. 메톡사이드나트륨(0.2eq)을 첨가하고 나서, 혼합물을 첨가하고 나서, 혼합물을 30℃에서 16시간 동안 교반시켰다. 수성 수산화나트륨(5 M, 5.0 당량)을 첨가하고 나서, 반응물을 추가 4시간 동안 30℃에서 교반시킨다. 이어서, 메탄올을 회전 증발기를 이용하여 제거한다. 이어서, 물(5ml)을 첨가하고 나서, 혼합물을 톨루엔으로 세척하였다(2 x 3ml). 수성상을 0℃로 냉각시키고 나서, 수성 HCl(6 N)을 이용하여 pH 6으로 산성화시켰다. 혼합물을 에틸 아세테이트로 세척하고 나서, 유기 추출물을 농축 건조시켰다. 잔사를 실리카겔 상에서 정제하여(에틸 아세테이트/헥산 1/10) 화합물 11(150mg)을 무색의 오일로서 제공하였다. MS (M+ + 1) 377.1.

[0323]

실시예 8 - ent-19-노르프로게스테론의 제조(반응식 5)

[0324]

(a)비티히 반응

[0325]

에틸 트라이페닐포스포늄 브로마이드(2.8g, 3당량) 및 칼륨 tert-부톡사이드(1.0g, 3.0당량)를 질소 하에 무수 tert-부탄올(10ml) 중에서 합하였다. 혼합물을 75 내지 80℃로 20분 동안 가열하고 나서, 이후에, 화합물 14(1.0g, 1 당량)를 첨가하였다. 반응물을 75 내지 80℃에서 3시간 동안 교반시키고, 이후에 그것을 20 내지 25℃로 냉각시키고 나서, 염수(20ml)로 중단시킨다. 얻어진 혼합물을 에틸 아세테이트(3 x 20ml)로 세척한다. 합한 유기 추출물을 무수 황산나트륨으로 건조시키고 나서, 여과 후 농축 건조시켰다. 잔사를 실리카겔 상에서 정제하여(10% 에틸 아세테이트/헥산) 목적으로 하는 비티히 생성물을 90% 수율로 제공한다. MS (M+ + 1) 329.3

[0326]

(b)보란 수화

[0327]

부분(a)로부터의 비티히 생성물(1.0g, 1 당량)을 질소 분위기 하에 넣고, 무수 테트라하이드로퓨란(THF, 100ml) 중에서 용해시킨다. 보란-THF 복합체(THF 중의 1M, 3.0ml, 1 당량)를 첨가하고 나서, 반응물을 20 내지 25℃에서 3시간 동안 교반시킨다. 이어서, 반응물을 농축 반응시키고 나서, 수산화나트륨 용액(수 중의 10%, 50ml)를 첨가한 다음, 과산화수소 용액(수 중에서 30%, 0.5ml)을 첨가하였다. 얻어진 혼합물을 20 내지 25℃에서 추가 1시간 동안 교반시키고, 이후에, 물(100ml)을 첨가하였다. 이어서, 혼합물을 다이클로로메탄(2 x 100ml)으로 세척하고 나서, 합한 유기 추출물을 염수(50ml)로 세척하였다. 유기상의 농축으로 조절의 알코올을 수득하고, 이를 정제 없이 다음 단계에서 사용한다.

[0328]

(c)케탈 가수분해

[0329]

단계(b)로부터의 조절의 생성물(2.0g, 1 당량)을 아세톤(20ml) 중에 용해시키고 나서, 염산(수 중에서 30%, 20 ml)을 첨가하였다. 반응물을 20 내지 25℃에서 30분 동안 교반시키고, 이후에, 그것을 농축 건조시켰다. 잔사를 에틸 아세테이트(50ml) 중에 용해시키고 나서, 물(30ml)을 첨가하였다. 5분 동안 격렬하게 교반시킨 후에, 상을 분리시키고, 유기상을 포화 수성 중탄산나트륨(2 x 25ml) 및 염수(25ml)로 세척한다. 이어서, 유기상을 농축 건조시키고 나서, 잔사를 실리카겔 상에서 정제하여(10% 에틸 아세테이트/헥산) 목적으로 하는 엔온을 비티히 생성물로부터의 45% 전체 수율을 제공한다. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ 5.70 (s, 1H), 4.15 (d, 1H), 3.40-3.50 (m, 1H), 2.40-2.45 (m, 1H), 2.10-2.35 (m, 5H), 1.70-1.85 (m, 4H), 1.50-1.60 (m, 2H), 1.40-1.50 (m, 1H), 1.25-1.35 (m, 1H), 1.15-1.25 (m, 2H), 0.90-1.15 (m, 7H), 1.85-1.95 (m, 1H), 0.65 (s, 3H). MS (M+ + 1) 303.2.

[0330]

(d)ent-19-노르프로게스테론에 대한 산화

[0331]

아세트산나트륨(1.20g, 10당량), 피리디늄 클로로크로메이트(PCC, 1.90g, 4당량), 및 단계(c)로부터의 엔온(0.5g, 1 당량)을 질소 하에 다이클로로메탄(50ml)과 합한다. 혼합물을 20 내지 25℃에서 3시간 동안 교반시키고, 이후에, 그것을 여과시킨다. 필터 케이크를 다이클로로메탄으로 세척하고 나서, 합한 여과액을 농축 건조시켰다. 잔사를 실리카겔 상에서 정제하여(30% 에틸 아세테이트/헥산) ent-19-노르프로게스테론을 90% 수율로 제공하였다. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ 5.70 (s, 1H), 2.55-2.60 (t, 1H), 2.40-2.50 (m, 1H), 2.10-2.35 (m, 5H), 2.05 (s, 3H), 1.95-2.05 (m, 1H), 1.70-1.90 (m, 2H), 1.10-1.70 (m, 9H), 0.90-1.10 (m, 1H), 0.75-0.90 (m, 1 H), 0.60 (s, 3H). MS (M+ + 1) 301.1.

[0332]

실시예 9 - 화합물 48의 제조(반응식 6)

[0333]

화합물 48을 배트(Batt) 등에 의해 기재된 바와 같이 제조한다(Eur. J. Org. Chem., 2011, 6039-6055).

[0334] **실시예 10 - 화합물 49의 제조(반응식 6)**

[0335] 화합물 48(100g)을 배트(Eur. J. Org. Chem., 2011, 6039-6055)에 의해 기재한 바와 같은 수소화알루미늄리튬을 이용하여 대응하는 알코올로 환원시킨다. 얻어진 다이올(1g, 1.0 당량)을 질소 하에 다이클로로메탄(DCM, 10 ml) 중에서 용해시킨다. 트라이에틸아민(2.0 당량)을 첨가하고 나서, 얻어진 혼합물을 0℃로 냉각시켰다. 파라-톨루엔설폰일 클로라이드(1.0 당량)를 서서히 첨가하고 나서, 반응물을 0℃에서 30분 동안 교반시킨다. 얻어진 혼합물을 물(10ml)로 세척하고, 이후에, 무수 황산나트륨으로 건조시키고 나서, 여과 후, 농축 건조시켰다. 잔사를 실리카겔 상에서 정제하여(에틸 아세테이트/헥산 1/10) 목적으로 하는 1차 토실레이트(500mg)를 황색 오일로서 제공한다. 얻어진 1차 토실레이트(100mg, 1.0 당량)를 질소 하에 DCM(10ml) 중에서 용해시킨다. 다이아이소프로필에틸 아민(DIEA, 1.2 당량)을 첨가하고 나서, 혼합물을 0℃로 냉각시켰다. 메톡시메틸 클로라이드(1.0 당량)를 적가하고 나서, 반응물을 0 내지 25℃에서 2시간에 걸쳐 교반시키고 나서, 이후에 그것을 물(10ml)로 세척한다. 유기상을 무수 황산나트륨으로 건조시키고 나서, 여과 후, 농축 건조시켰다. 잔사를 실리카겔 상에서 정제하여(에틸 아세테이트/헥산 1/20) 목적으로 하는 화합물 49(60mg)를 황색 오일로서 제공하였다.

[0336] **실시예 11 - 화합물 24의 제조(반응식 9)**

[0337] 2-메틸-1,3-사이클로헥탄다이온(3.0g, 1.2 당량)을 화합물 23(3.1g, 1.0 당량) 및 아세토나이트릴(ACN, 30ml)과 합한다. 트라이에틸아민(TEA, 110mg, 0.05 당량)를 첨가하고 나서, 반응물을 25℃에서 4시간 동안 교반시킨다. 이어서, 다이클로로메탄(DCM, 100ml)을 첨가하고 나서, 혼합물을 수성 염산(2 x 30ml) 및 포화 수성 중탄산나트륨(2 x 30ml)으로 세척한다. 유기상을 무수 황산나트륨으로 건조시키고 나서, 여과 후, 농축 건조시켰다. 잔사를 실리카겔 상에서 정제하여(에틸 아세테이트/헥산 1/30) 화합물 24(2.6 g)를 황색 오일로서 제공한다. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 1.10 (s, 3H), 1.90 (t, 2H), 2.50 (t, 2H), 2.65 (t, 2H), 2.70-2.90 (m, 4H), 3.35 (s, 3H), 3.75 (t, 2H), 4.60 (s, 2H).

[0338] **실시예 12 - 화합물 52의 제조 - 5-메톡시메톡시-펜트-1-엔-3-올(반응식 10)**

[0339] 화합물 48(100g)을 배트 등(Eur. J. Org. Chem., 2011, 6039-6055)에 의해 기재한 바와 같이 수소화알루미늄리튬을 이용하여 대응하는 알코올로 환원시킨다. 환원 다이올(13g, 1 당량)을 사이클로헥산(26ml), 다이클로로메탄(DCM, 13ml) 및 다이아이소프로필 에틸아민(DIEA, 18g, 1.1 당량)의 혼합물에 질소 하에 첨가하였다. 메톡시메틸 클로라이드(1 당량)를 적가하고 나서, 반응물을 20℃에서 12시간 동안 교반시킨다. 이어서, DCM(100ml)을 첨가하고 나서, 혼합물을 수성 염산(2 M, 30ml) 및 포화 수성 중탄산나트륨(2 x 30ml)으로 세척한다. 유기상을 무수 황산나트륨으로 건조시키고 나서, 여과 후, 농축 건조시켰다. 잔사를 실리카겔 상에서 정제하여(10% 에틸 아세테이트/헥산) 1차 MOM 에터(화합물 52, 4 g)를 황색 오일로서 제공한다. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 1.75-1.95 (m, 2H), 3.35 (s, 3H), 3.65-3.80 (m, 2H), 4.30-4.35 (m, 1H), 4.65 (s, 2H), 5.10-5.15 (m, 1H), 5.25-5.30 (m, 1H), 5.85-5.95 (m, 1H).

[0340] **실시예 13 - 화합물 23의 제조 - 5-메톡시메톡시-펜트-1-엔-3-올(반응식 10)**

[0341] 화합물 52(3.5g, 1.0 당량)를 질소 하에 다이메틸 설펝사이드(DMSO, 20ml) 중에서 용해시킨다. 2-로독시벤조산(IBX, 9.8g, 1.5 당량)을 첨가하고 나서, 반응물을 20℃에서 12시간 동안 교반시킨다. DCM(100ml)을 첨가하고 나서, 얻어진 혼합물을 포화 수성 황산나트륨(30ml) 및 포화 수성 중탄산나트륨(30ml)으로 세척한다. 유기상을 무수 황산나트륨으로 건조시키고 나서, 여과 후, 농축 건조시켰다. 잔사를 실리카겔 상에서 정제하여(에틸 아세테이트/헥산 1/30) 목적으로 하는 화합물 23(3.1g)을 황색 오일로서 제공한다. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 2.90 (t, 2H), 3.35 (s, 3H), 3.90 (t, 2H), 4.65 (s, 2H), 5.90 (d, 1H), 6.20-6.45 (m, 2H).

[0342] **실시예 14 - 화합물 55의 제조(반응식 10a) - 3-메톡시메틸 프로판-1-올**

[0343] 사이클로헥산(180ml), 다이클로로메탄(90ml) 및 다이아이소프로필에틸아민(34g, 1.1 당량)을 합하고 나서, 프로판-1,3-다이올(20g, 1.0 당량)을 첨가하였다. 메톡시메틸 클로라이드(20.9g, 0.99 당량)를 적가하여 20℃에서 내부 반응 온도를 유지한다. 반응물을 20℃에서 12시간 동안 교반시키고, 이후에, 다이클로로메탄(100ml)을 첨가하였다. 혼합물을 포화 수성 중탄산나트륨(2 x 30ml)으로 세척하고 나서, 무수 황산나트륨으로 건조시키고, 여과 후, 농축 건조시켰다. 잔사를 실리카겔 상에서 정제하여(에틸 아세테이트/헥산 1/5) 화합물 55(5 g)를 황색 오일로서 제공하였다. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 1.80-1.90 (m, 2H), 3.40 (s, 3H), 3.70 (t, 2H), 3.80 (t, 2H), 4.65 (s, 2H).

[0344] **실시예 15 - 화합물 56의 제조(반응식 10a) - 3-메톡시메틸 프로피온알데하이드**

- [0345] 화합물 55(1g, 1.0 당량)를 다이메틸설폭사이드(10ml) 중에 용해시키고 나서, 2-로독시벤조산(IBX, 3.5g, 1.5 당량)을 첨가하였다. 반응물을 20℃에서 12시간 동안 교반시키고, 이후에, 이를 포화 수성 황산나트륨(20ml)으로 세척하고 나서, 포화 수성 중탄산나트륨(20ml)이다. 유기상을 무수 황산나트륨으로 건조시키고 나서, 여과 후, 농축 건조시켰다. 잔사를 실리카겔 상에서 정제하여(에틸 아세테이트/헥산 1/20) 화합물 56(0.3g, 60% 순도)을 황색 오일로서 제공한다. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 1.80-1.90 (m, 2H), 3.40 (s, 3H), 3.70 (t, 2H), 3.80 (t, 2H), 4.65 (s, 2H).
- [0346] **실시예 16 - 화합물 2의 제조(반응식 11)**
- [0347] 화합물 2를 야마우치(Yamauchi)(Bull. Chem. Soc. Jpn., 2001, 2513-2519)에 의해 보고한다. 화합물 2의 제조를 위한 반응식 11 순서를 배트 등(Eur. J. Org. Chem., 2011, 6039-6055)으로부터 적합화시킨다.
- [0348] **실시예 17 - 화합물 2의 제조(반응식 11a)**
- [0349] 프로필렌 글리콜(500g)을 질소 하에 벤질 브로마이드(100g, 1.0 당량)와 합한다. 수산화나트륨(28g, 1.2 당량)을 첨가하고 나서, 혼합물을 20℃에서 4시간 동안 교반시킨다. 이어서, 에틸 아세테이트(800ml)를 첨가하고 나서, 혼합물을 물(500ml)로 세척한다. 유기상을 무수 황산나트륨으로 건조시키고 나서, 여과 후, 농축 건조시켜 목적으로 하는 조질의 3-벤질옥시프로판올(100g)을 황색 오일로서 제공하였다. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 1.85-1.90 (m, 2H), 3.65 (t, 2H), 3.80 (t, 2H), 4.25 (t, 1H), 4.55 (s, 2H), 7.25-7.40 (m, 5H). 조질의 3-벤질옥시프로판올(100g, 1.0 당량)을 질소 하에 다이메틸 설폭사이드(DMSO, 500ml) 및 테트라하이드로퓨란(THF, 500ml)과 합한다. 2-로독시벤조산(IBX, 253g, 1.5 당량)를 첨가하고 나서, 반응물을 20℃에서 12시간 동안 교반시킨다. 이어서, 에틸 아세테이트(1500ml)를 첨가하고 나서, 혼합물을 포화 수성 황산나트륨(500ml) 및 포화 수성 중탄산나트륨(500ml)으로 세척한다. 유기상을 무수 황산나트륨으로 세척하고 나서, 여과 후, 농축 건조시켰다. 잔사를 실리카겔 상에서 정제하여(에틸 아세테이트/헥산 1/20) 목적으로 하는 3-벤질옥시프로피온알데하이드 (30 g)를 황색 오일로서 제공한다. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 2.70 (m, 2H), 3.80 (t, 2H), 4.55 (s, 2H), 7.25-7.40 (m, 5H), 9.80 (s, 1H). 3-벤질옥시프로피온알데하이드(30g, 1.0 당량)를 THF 중에서 질소 하에 용해시키고 나서, 0℃로 냉각시켰다. 비닐마그네슘 브로마이드(1M, 220ml, 1.2 당량)를 첨가하고 나서, 반응물을 0℃에서 1시간 동안 교반시킨다. 이어서, 포화 수성 염화마그네슘(100ml)을 첨가하고 나서, 혼합물을 다이클로로메탄(DCM, 3 x 100ml)으로 추출한다. 유기 추출물을 무수 황산나트륨으로 건조시키고 나서, 여과 후, 농축 건조시켜 조질의 5-벤질옥시-펜트-1-엔-3-올을 제공한다. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 1.75-1.99 (m, 2H), 3.60-3.75 (m, 2H), 4.30-4.40 (m, 1H), 4.50 (s, 2H), 4.70 (s, 1H), 5.10-5.15 (m, 1H), 5.25-5.30 (m, 1H), 5.80-5.95 (m, 1H), 7.25-7.40 (m, 5H). 이 물질을 DMSO(120ml) 및 THF(120ml) 중에서 질소 하에 용해시키고 나서, IBX(65g, 1.5 당량)를 첨가하였다. 혼합물을 20℃에서 12시간 동안 교반시키고, 이후에, 에틸 아세테이트(500ml)을 첨가하였다. 얻어진 혼합물을 포화 수성 황산나트륨(200ml) 및 포화 수성 중탄산나트륨(200ml)으로 세척한다. 유기상을 무수 황산나트륨으로 건조시키고 나서, 여과 후 농축 건조시켰다. 잔사를 실리카겔 상에서 정제하여(에틸 아세테이트/헥산 1/20) 목적으로 하는 5-벤질옥시-펜트-1-엔-3-올 (12.7 g)를 황색 오일로서 제공한다. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 2.95 (t, 2H), 3.80 (t, 2H), 4.55 (s, 3H), 5.85 (d, 1H), 6.20-6.40 (m, 2H), 7.20-7.40 (m, 5H).
- [0350] **실시예 18 - 화합물 62의 제조(반응식 12)**
- [0351] 화합물 45(300 g)를 다이클로로메탄(2.4 l) 및 에탄올(600ml) 중에 용해시킨다. 혼합물을 -15℃로 냉각시키고 나서, 수소화 붕소 나트륨(20.85g)을 일부분씩 첨가하는 한편, 반응 온도를 -15℃에서 유지시킨다. 화합물 45의 함량이 0.5% 미만일 때까지 반응물을 LCMS에 의해 모니터링한다. 반응물을 아세트산(170ml)을 이용하여 중단시키고 나서, 메탄올(300ml)을 첨가하였다. 얻어진 혼합물을 그의 본래의 용적의 25%로 농축시키고 나서, 추가적인 메탄올(300ml)을 첨가하였다. 그의 본래의 용적의 25%로 농축된 후에, 메탄올(300ml)의 최종 부분을 첨가하고 나서, 혼합물을 농축 건조시켰다. 다이클로로메탄(1.5 l)을 첨가하고 나서 혼합물을 20분 동안 교반시키고, 이후에, 그것을 여과 후, 필터 케이크를 다이클로로메탄(600ml)로 세척하였다. 합한 여과액을 농축 건조시켜 목적으로 하는 조질의 알코올(328g)을 제공하였다. 조질의 물질을 다이클로로메탄(3.28 l) 중에 용해시키고, -50℃로 냉각시킨다. 보톤트라이플루오라이드 에테레이트(83.1ml) 및 인산(36.9ml)을 첨가하고 나서, 혼합물을 -50℃에서 30분 동안 교반시킨다. 이어서, 아이소뷰틸렌(2.3 kg)을 -45℃에서 첨가한다. 혼합물을 -40℃에서 1시간 동안 교반시키고, 이후에, 그것을 실온에서 가온시킨다. 알코올 함량이 10% 미만일 때까지 이 기간 동안 반응물을 LCMS에 의해 모니터링한다. 이어서, 수성 수산화암모늄(13%, 2.3 l)을 격렬하게 교반시키면서 첨가한다. 층을 분리시키고, 수성상을 다이클로로메탄(1.6 l)으로 세척한다. 합한 유기상을 포화 수성 염화암모늄(1.6 l) 및

염수(1.6 l)로 세척한다. 유기상을 무수 황산나트륨으로 건조시키고 나서, 여과 후, 농축 건조시켰다. 잔사를 실리카겔 상에서 정제하여 목적으로 하는 화합물 62(180g, 44.3% 수율)을 제공하여 밝은 황색의 고체를 제공한다. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 5.75 (s, 1H), 3.60 (t, 1H), 2.65-2.75 (m, 1H), 2.45-2.55 (m, 1H), 2.30-2.40 (m, 2H), 1.95-2.05 (m, 2H), 1.65-1.85 (m, 2H), 1.20 (s, 9H), 1.10 (s, 3H).

[0352] **실시예 19 - 화합물 63의 제조(반응식 12)**

[0353] 화합물 62(10g, 1 당량)를 1,4-다이옥산(50ml) 및 물(50ml)과 합한다. 폼알데하이드(수 중에서 37%, 3.7g, 1 당량)를 첨가하고 나서 1,4-디아자바이사이클로[2.2.2]옥탄(DABCO, 5.0g, 1 당량)을 첨가한다. 반응물을 25 내지 30℃에서 40시간 동안 교반시키고 나서, 화합물 63의 함량이 60% 초과가 될 때까지 LCMS에 의해 모니터링 한다. 이어서, 반응물을 아이소프로판올/다이클로로메탄(1/3, 2 x 150ml)으로 추출한다. 합한 유기상을 무수 황산나트륨으로 건조시키고 나서, 여과 후 농축 건조시켰다. 잔사를 실리카겔 상에서 정제하여(25% 에틸 아세테이트/헥산) 화합물 63(3.15g, 27.6% 수율)을 황색 오일로서 제공한다. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ 4.35 (t, 1H), 3.95-4.05 (m, 2H), 3.55-3.65 (m, 1H), 2.60-2.70 (dd, 1H), 2.50-2.60 (m, 1H), 2.45-2.50 (m, 1H), 2.20-2.25 (dd, 1H), 1.85-2.00 (m, 2H), 1.65-1.75 (m, 2H), 1.15 (s, 9H), 1.00 (s, 3H).

[0354] **실시예 20 - 화합물 63a의 제조(반응식 12a)**

[0355] 질소 분위기 하에, 화합물 62(50 그램)를 메틸 마그네슘 카보네이트(MMC, 다이클로로메탄 중의 2M, 400ml)와 합한다. 반응을 통해 질소 버블링하면서 혼합물을 30분에 걸쳐 115℃로 가열한다. 화합물 63a의 함량이 60% 초과였을 때까지 HPLC에 의해 모니터링하면서 반응물을 1시간 동안 115℃에서 교반시킨다. 이어서, 반응물을 10℃로 냉각시키고, 빠르게 교반시키면서 진한 염산(220ml)과 얼음(700 g)의 혼합물에 적가한다. 층을 분리시키고 나서, 수층(pH = 3)을 메틸 tert-부틸 에터(MTBE, 500ml 다음에 250ml)로 세척한다. 물(250ml)을 합한 유기층에 첨가하고 나서, 10% 수성 탄산나트륨 용액의 첨가로 pH를 10까지 조절한다. 층을 분리시키고 나서, 유기상을 물(250ml)로 세척한다. 10% 수성 염산 용액의 첨가로 합한 수성 추출물의 pH를 3으로 조절한다. 기체 발생이 중단 될 때까지 얻어진 혼합물 실온에서 30분 동안 교반시킨다. 얻어진 고체를 여과에 의해 수집하고 나서, 물(50 ml)로 세척한다. 고체를 수집하고 나서, 석유 에터(150ml) 중에서 3시간 동안 슬러리화한다. 고체를 여과에 의해 수집하고 나서, 석유 에터(50ml)에 의해 세척한다. 얻어진 고체를 진공 오븐에서 30℃에서 5시간 동안 건조시켜 화합물 63a(30.2g, 50.4% 수율) 밝은 황색 고체로서 수득한다. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 12.6-13.6 (br, 1H), 3.65-3.70 (dd, 1H), 3.10-3.40 (m, 2H), 2.60-2.85 (m, 2H), 2.00-2.15 (m, 2H), 1.75-1.95 (m, 2H), 1.20 (s, 12H).

[0356] **실시예 21 - 화합물 65의 제조(반응식 12a)**

[0357] 화합물 63a(10 g)를 질소 분위기 하에 무수 테트라하이드로퓨란(100ml) 중에 용해시킨다. 무수 10% 탄소 상 팔라듐(1g)을 첨가하고 나서 혼합물을 5 내지 10℃로 냉각시킨다. 냉각 혼합물을 순차적인 진공에 의해 3회 탈기시키고 나서, 질소로 재충전한다. 세 번째 비우기 후에, 반응 용기를 수소로 채운다. 혼합물을 수소 분위기 하에 5 내지 10℃에서 1시간 동안 교반시키고 나서, 반응이 완료될 때까지 LCMS에 의해 모니터링한다. 수소화의 완료 시, 수성 폼알데하이드 용액(37%, 20ml)을 첨가하고 나서 피페리딘(0.3g, 0.10 당량)을 첨가하였다. 혼합물을 5 내지 10℃에서 추가 1시간 동안 교반시키고 나서, 반응이 완료될 때까지 LCMS에 의해 모니터링한다. 반응의 완료 시, 염수(25ml) 및 얼음(25g)을 첨가하고 나서, 15분 동안 교반을 지속한다. 층을 분리시키고 나서, 유기상을 포화 수성 중탄산나트륨(50ml) 및 염수(50ml)로 세척한다. 유기상을 무수 황산나트륨으로 건조시키고 나서, 여과 후 농축 건조시켰다. 잔사를 메탄올(5ml) 중에서 0℃에서 10분 동안 슬러리화한다. 여과 시, 화합물 65(5g, 56.3% 수율)를 백색 고체로서 단리시킨다. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 6.95 (s, 1H), 5.00 (s, 1H), 3.55-3.65 (dd, 1H), 2.45-2.60 (m, 2H), 2.35-2.45 (m, 1H), 2.05-2.15 (m, 1H), 1.95-2.05 (m, 1H), 1.55-1.80 (m, 4H), 1.15 (s, 9H), 0.80 (s, 3H).

[0358] **실시예 22 - 화합물 66의 제조(반응식 12)**

[0359] 화합물 10(17.7g, 1.2당량)을 메탄올(75ml) 중에 용해시키고 나서, 메톡시화나트륨 용액(메탄올 중의 30%, 1.5g, 0.2당량)을 첨가하였다. 혼합물을 5 내지 10℃로 질소 하에 냉각시킨다. 화합물 65(10g, 1 당량)를 메탄올(25ml) 중에 용해시키고 나서, 얻어진 용액을 화합물 10 용액에 2시간에 걸쳐 적가하는 한편, 반응 온도를 0 내지 5℃로 유지한다. 반응물을 20 내지 25℃에서 밤새 교반시키고, 이후에, 수산화나트륨(수 중에서 5M, 20 ml)을 첨가하였다. 반응물을 추가 2시간 동안 교반시키고, 이후에, 메탄올을 진공 하에 제거한다. 물(100ml) 및 톨루엔(20ml)을 첨가하고 나서, 혼합물을 15분 동안 교반시킨다. 층을 분리시키고 나서, 수성상의 pH를 아세트

산을 이용하여 3으로 조절한다. 이어서, 수성 혼합물을 에틸 아세테이트(100ml 및 50ml)로 세척한다. 합한 유기 추출물을 농축 건조시키고 나서, 잔사를 80℃로 진공 하에 3시간 동안 가열하여 탈카복실화를 완료한다. 얻어진 잔사를 실리카겔 상에서 정제하여(5% 에틸 아세테이트/헥산) 목적으로 하는 화합물 66(10g, 60% 수율) 밝은 황색 고체로서 제공한다. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ 3.8-3.9 (m, 4H), 3.45 (t, 1H), 2.65-2.75 (m, 1H), 2.20-2.50 (m, 6H), 1.85-1.95 (m, 2H), 1.75-1.80 (m, 1H), 1.10-1.65 (m, 8H), 1.25 (s, 3H), 1.10 (s, 9H), 0.80 (s, 3H).

[0360] **실시예 23 - 화합물 67의 제조(ent-19-노르테스토스테론, 반응식 12)**

[0361] 화합물 66(10g, 1 당량)을 에탄올(100ml) 중에 용해시키고 나서, 트라이에틸아민(10ml)을 첨가하였다. 무수 10% 탄소 상 팔라듐(1.0g)을 첨가하였다. 혼합물을 진공 하에 탈기시키고 나서, 질소 분위기로 채웠다. 탈기 및 질소로 충전의 이런 과정을 총 3회 반복한다. 세번째 탈기 후에, 반응물을 수소로 충전한다. 반응물을 30℃로 6시간 동안 가열한다. 이어서, 염산(수 중에서 6 M, 40ml)을 첨가하고 나서, 반응물을 추가 2시간 동안 환류로 가열한다. 반응물을 20 내지 25℃로 냉각시키고 나서, 여과시켰다. 여과액을 수집하고 나서, 에탄올을 진공 하에 제거한다. 얻어진 수성 혼합물을 다이클로로메탄(3 x 100ml)으로 세척한다. 합한 세척액을 농축 건조시키고 나서, 잔사를 실리카겔 상에서 정제하여(25% 에틸 아세테이트/헥산) 목적으로 하는 화합물 67(4.70g, 66.8% 수율)을 밝은 황색 고체로서 제공한다. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 5.85 (s, 1H), 3.65-3.70 (t, 1H), 2.35-2.50 (m, 2H), 2.20-2.35 (m, 3H), 2.05-2.15 (m, 2H), 1.80-1.90 (m, 3H), 1.40-1.70 (m, 4H), 1.20-1.40 (m, 3H), 0.95-1.20 (m, 3H), 0.80-0.90 (m, 1 H), 0.80 (s, 3H). MS (M+ + 1) 275.1.

[0362] **실시예 24 - 화합물 68의 제조(반응식 12)**

[0363] 67(100g, 1 당량)을 딘-스타크(Dean-Stark) 트랩 어셈블리를 구비한 5ℓ 플라스크에서 에틸렌 글리콜(312.2g, 13.8 당량, p-톨루엔설폰산(1.25g, 0.02 당량) 및 톨루엔(3ℓ)과 합한다. 혼합물을 질소 분위기 하에 환류로 가열한다. 환류를 3시간 동안 유지하고 나서, 모든 출발물질이 소모될 때까지 반응을 이 기간 동안 매시간마다 TLC(50% 에틸 아세테이트/석유 에터)에 의해 모니터링한다. 이어서, 반응물을 20 내지 25℃로 냉각시키고 나서, 포화 수성 중탄산나트륨(1.5ℓ)에 붓는다. 층을 분리시키고 나서, 수성상을 다이클로로메탄(2 x 1ℓ)으로 세척한다. 합한 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조시키고 나서, 여과 후 농축 건조시켰다. 조질의 생성물을 실리카겔 상에서 정제하여(0.5% 트라이에틸아민을 이용하여 석유 에터/에틸 아세테이트 100:1 내지 20:1) 화합물 68(96.5g, 83.2% 수율)을 올레핀 위치에 관한 이성질체의 혼합물로서 제공한다. ¹H NMR (300 MHz, DMSO): δ 5.75 (s, 0.2H), 5.20-5.45 (m, 0.3H), 4.40-4.50 (m, 1H), 3.80-3.90 (m, 4H), 3.40-3.50 (m, 1H), 2.00-2.25 (m, 2H), 1.75-2.00 (m, 5H), 1.45-1.75 (m, 6H), 1.30-1.40 (m, 1H), 1.00-1.30 (m, 6H), 0.65 (s, 3H).

[0364] **실시예 25 - 화합물 14의 제조(반응식 12)**

[0365] 화합물 68(96.5g, 1 당량)을 질소 분위기 하에 아세트나이트릴(386ml)과 합한다. 2-로독시벤조산(IBX, 170g, 2 당량)을 첨가하고 나서, 반응물을 50 내지 55℃로 3시간 동안 가열한다. 이 시간 동안, 출발물질이 소모될 때까지 매시간마다 TLC(50% 에틸 아세테이트/석유 에터)에 의해 모니터링한다. 이어서, 반응물을 20 내지 25℃로 냉각시키고 나서, 얻어진 고체를 여과에 의해 제거한다. 필터 케이크를 아세트나이트릴(2 x 193ml)로 세척하고 나서, 합한 여과액을 농축시켜 조질의 생성물을 제공한다. 조질의 생성물을 실리카겔 상에서 정제하여(0.5% 트라이에틸아민을 이용하여 석유 에터/에틸 아세테이트 100:1 내지 20:1) 화합물 14(86.5g, 87.1% 수율)를 올레핀 위치에 관한 이성질체의 혼합물로서 제공한다. ¹H NMR (300 MHz, DMSO): δ 5.75 (s, 0.2H), 5.25-5.40 (m, 0.3H), 3.80-3.90 (m, 4H), 2.35-2A5 (m, 1H), 1.80-2.30 (m, 8H), 1.45-1.80 (m, 6H), 1.10-1.45 (m, 5H), 0.80 (s, 3H).

[0366] **실시예 26 - PRV-002의 복강내 투여는 외상성 뇌손상의 래트 모델에서 운동 및 인지 결함을 약화시킨다**

[0367] 이 연구 목표는 외상성 뇌손상 후에 프로게스테론의 거울상 이성질체의 유사체인 PRV-002로 치료한 래트의 운동 및 인지 기능을 평가하는 것이다. 대략 6주령의 수컷, 스프래그-돌리 래트는 외상성 뇌손상을 유도하기 위해 정중선 피질 충격을 받았다. 래트는 손상 후 15분, 6시간 및 24시간에 비히클 용액(45% 사이클로헥스트린), PRV-002 4mg/kg 또는 PRV-002 16mg/kg의 복강내 주사를 받았다. 충격 또는 처리를 받지 않은 모의 그룹을 대조군으로서 사용한다. 손상 후 24시간 및 48시간에 신경스코어로서 알려진 운동 기능을 신경겨동 배터리를 이용하여 평가한다. 인지 기능을 손상 후 48시간에 모리스 수중 미로(MWM) - 기억 스코어를 이용하여 평가한다. 모리스 수중 미로의 벽에 근접하여 수영하는 데 소모한 시간(주축성)을 사용하여 공간 획득 결여 및 잠재적인 TBI-유도

불안을 평가한다.

[0368] 손상 후 비히클-치료 래트에서 상당한 운동 및 인지 결함을 관찰한다. PRV-002 4mg/kg 또는 PRV-002 16mg/kg 중 하나로 치료한 손상 래트는 손상 후 48시간에 신경스코어 - 운동 성능의 상당한 개선을 나타낸다. 인지 결함은 MWM-기억 스코어에 의해 측정하며, 주축성에서 소모한 시간은 또한 PRV-002 4mg/kg 또는 PRV-002 16mg/kg 중 하나로 치료한 래트에서 개선된다. 이들 발견은 뇌진탕 및 외상성 뇌손상의 처리 동안 PRV-002의 잠재적인 임상적 용도를 위한 증거를 제공한다.

[0369] **방법**

[0370] 동물

[0371] 손상 시 6주령이며 체중이 225 내지 275g인 수컷 스프래그-돌리 래트(매사추세츠주 윌밍턴에 소재한 찰스 리버)를 사용한다. 래트를 표준 플렉시글라스(Plexiglas) 우리에 수용하고 나서, 0700의 광을 이용하여 12-12 광 주기로 유지하였다. 먹이와 물은 자유롭게 이용 가능하다.

[0372] 손상

[0373] 수술 전에, 래트를 5% 아이소플루오란의 초기 유도에 의한 흡입을 통해 마취시킨다. 래트의 두피를 면도하고 나서, 70% 아이소프로판올 용액 및 10% 베타딘 용액을 이용하여 세정하였다. 수술 동안, 500 내지 1000ml/분의 속도로 산소와 함께 2.5% 아이소플루오란에서 마취를 유지한다. 래트의 머리를 뇌정위 고정장치에 고정시키고 나서, 내측 절단을 이루고, 두피를 집게를 이용하여 전두골 위로 뒤로 넘긴다. 두개골의 6mm 원형 조각을 제거 가능한 6mm 원형 드릴 비트를 이용하는 마이크로모터 드릴로 제거한다. 내측 전두 피질(medial frontal cortex: MFC) 위의 뼈를 미세한, 곡선형 팁의 포셉을 이용하여 제거하여, 경막을 무손상으로 남긴다. 3mm 금속 충격기를 지니는 전기-제어 손상 장치를 사용하여 외상성 뇌손상을 생성한다. 경막 위에 피스톤을 넣는다. 피스톤으로부터 신호 변환기까지의 전기 신호로 배치를 수정한다. 이어서, 피스톤을 사용하여 3mm 깊이에서 타박상을 생성한다. 이 절차는 외상성 뇌손상에 대한 작업을 수행하는 연구자들에 의해 광범위하게 사용되며, 가장 일관되고 재현 가능한 손상 형태 중 하나를 나타낸다. 손상 후에, 조직을 4-0 단일섬유 봉합선을 이용하여 봉합한다. 수술 후 래트를 따뜻한 회복 우리에 넣고, 회복 후 그들의 홈 우리로 복귀시킨다.

[0374] 치료

[0375] 래트를 4개의 처리군 중 하나에 무작위로 배치한다: 1) 모의 손상 그룹(모의), 2) 비히클-치료 손상 그룹(비히클), 3) PRV-002 4mg/kg-처리 손상 그룹(PRV-002 4mg/kg), 또는 4) PRV-002 16mg/kg-처리 손상 그룹. 래트는 손상 후 15분, 6시간 및 24시간에 비히클 용액(멸균수 중의 45% 사이클로텍스트린) 또는 PRV-002 용액(PRV-002 분말을 45% 사이클로텍스트린 용액에 용해시킴)의 복강내 주사를 받는다.

[0376] 신경스코어

[0377] 신경스코어로서 알려진 신경거동 배터리를 이용하는 운동기능 검사를 손상 후 24시간 및 48시간에 수행한다. 래트를 일련의 4회의 신경거동 시험에 노출시키고 나서, 비정상적 비틀림 거동에 대해 관찰한다. 래트는 앞다리 늘리기 작업 및 앞다리 발 놓기에서 왼쪽과 오른쪽 앞다리 둘 다, 뒷다리 굽히기에서 왼쪽과 오른쪽 사지, 및 측면 돌진 검사에 대한 좌측 및 우측에 대해 +4 비손상으로부터 (-) 비기능성의 스코어를 받는다. 비틀림이 관찰되지 않는다면, 래트는 정상 +1로서 스코어링되고, 비틀림이 존재한다면, 래트는 비정상(-)으로서 스코어링한다. 총 가능한 스코어는 33이다. 시험 기준은 다음과 같다:

[0378] **앞다리 늘리기**

[0379] 래트를 그의 꼬리로 매달고, 바닥을 향한 앞다리 늘리기를 결정한다.

[0380] 좌측과 우측 앞다리 둘 다에 대해 별도로 스코어링한다.

[0381] o +4 정상: 래트는 앞다리를 둘 다 완전하게 그리고 바닥을 향해 동일하게 뻗는다.

[0382] o +3 약간 손상: 약간의 앞다리 구부림이 있다

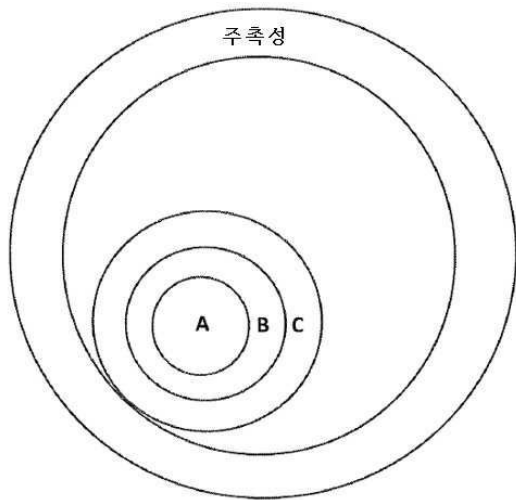
[0383] o +2 중등증의 손상: 보통의 앞다리 구부림이 있다

[0384] o +1 중증의 손상: 심한 앞다리 구부림이 있다

[0385] o - 비기능성: 앞다리는 신체에 가깝게 집어 넣는다.

- [0386] **측면 돌진**
- [0387] 자유 보행 동안, 래트를 좌측과 우측으로 부드럽게 밀고, 측면 돌진에 대한 저항성 감소를 결정한다. 래트의 좌측과 우측 둘 다에 대해 스코어링한다.
- [0388] o +4 정상: 래트는 각 측면에 대해 밀었을 때 동일하게 저항한다.
- [0389] o +3 약간 손상: 래트는 보통의 저항을 유지한다
- [0390] o +2 중등증의 손상: 래트는 약간의 저항을 유지한다
- [0391] o +1 중증의 손상: 래트는 밀었을 때 저항하지 않는다
- [0392] o - 비기능성: 래트는 밀었을 때 저항하지 않으며, 그의 측면으로 넘어진다
- [0393] **앞발 놓기**
- [0394] 래트를 그의 꼬리로 매달고, 약간의 요동 움직임이 있는 래트가 오른쪽 발과 왼쪽 발로 물체를 움켜잡는 능력을 관찰한다. 왼쪽과 오른쪽 앞다리 둘 다에 대해 별도로 스코어링한다.
- [0395] o +4 정상: 래트는 발을 둘 다 이용하여 물체를 강하게 움켜잡을 수 있음
- [0396] o +3 약간 손상: 래트는 앞발을 잘못 두고 물체를 약하게 움켜잡는다
- [0397] o +2 중등증의 손상: 래트는 물체의 움켜잡이 약하고 유지할 수 없다
- [0398] o +1 중증의 손상: 래트는 물체를 움켜잡을 수 없다
- [0399] o - 비기능성: 래트는 물체를 움켜잡을 시도를 나타내지 않는다
- [0400] **뒷발 굽히기**
- [0401] 래트를 그의 꼬리로 잡고, 지면 위로 뒷발을 들어올린다. 오른쪽과 왼쪽 다리 둘 다에 대해 뒷발 구부림을 결정한다.
- [0402] o +4 정상: 래트는 뒷발의 정상 늘리기가 있지만, 교차 또는 벌림은 없다
- [0403] o +3 약간 손상: 뒷발은 정상 늘리기로부터 약간의 벗어남, 뒷발의 약간의 움켜잡음 또는 벌림이 있다
- [0404] o +2 중등증의 손상: 뒷발의 보통의 교차 또는 벌림
- [0405] o +1 중증의 손상: 뒷발의 심한 교차 또는 벌림과 함께 정상 늘리기로부터 심하게 벗어난다
- [0406] o - 비기능성: 정상 늘리기 또는 기능 없이 뒷발을 교차 또는 벌림
- [0407] **비틀림**
- [0408] 래트를 매달 때, 비틀림이 있는지의 여부를 관찰함
- [0409] o +1 정상: 비틀림 없음
- [0410] o - 비정상: 비틀림

[0411] 모리스 수중 미로 - 기억 스코어



[0412]

[0413] 손상 전에, 래트를 원형 풀의 물에서 위치 A에 잠긴 숨겨진 탈출 플랫폼을 찾도록 훈련한다. 손상 48시간 후에, 플랫폼을 풀로부터 제거하고 나서, 래트에게 풀 안에서 2회의 60초 시행을 제공한다. 비손상 모의(정상) 동물은 플랫폼 위치를 기억할 것이고, 구역 A를 통해 그리고 주위에서 수영하는 데 그들의 대부분의 시간을 소모하였다. TBI에 의해 기억이 손상된 뇌-손상 동물은 전형적으로 풀 주위에서 무작위로 수영하며, 숨겨진 플랫폼의 위치를 기억하지 못한다. 탈출 플랫폼 영역(각각 구역 A, B 및 C)으로부터 뿔어져 나오는 동심 고리에서 소모한 시간의 양을 측정하고 나서, 기억 스코어를 계산하기 위해 사용한다. 모리스 수중 미로 기억 스코어를 다음의 식을 이용하여 계산한다: (구역 A x 20)+(구역 B x 5)+(구역 C) = 기억 스코어, 여기서, 구역 A, B 및 C 는 이전에 탈출 플랫폼을 보유한 면적을 포함하고, 둘러싸는 크기가 증가하는 환이다.

[0414] 모리스 수중 미로 - 주축성

[0415] 주축성은 래트가 "벽을 꺾어거나" 또는 탱크 가장자리 주위에서 수영하는 데 소모한 시간 양의 측정이다. 주축성 영역에서 이동하는 데 소모한 시간을 측정하고 나서, 손상 동물에서 높은 불안 및 공간 획득 결함을 나타낸다.

[0416] 통계학적 분석

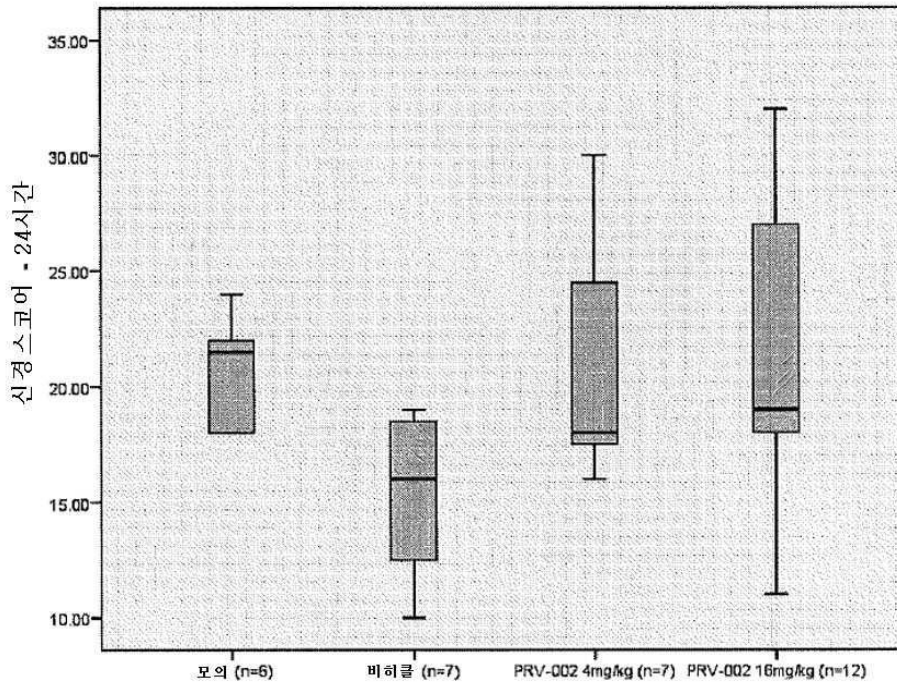
[0417] 일원 분산 분석(ANOVA)을 사용하여 MWM 기억 스코어 및 MWM 주축성의 그룹 차이를 평가한다. 타당성을 위해, 피셔 보호 최소 유의도 차이(Fisher's Protected Least Significant Difference: PLSD) 검정을 이용하여 쌍별 비교의 사후 검정을 수행한다.

[0418] 신경스코어 데이터를 크루스칼-윌리스(Kruskall-Wallis) 검정을 이용하여 분석해서 그룹 차이를 평가한다. 타당성을 위해, 맨 휘트니 U 검정을 이용하여 수행한다.

[0419] 결과

[0420] 신경스코어

[0421] 손상 후 24시간 및 48시간에 중앙값 신경스코어에 대한 그룹 차이를 평가하기 위해 크루스칼-윌리스 검정을 수행한다. 이들 검정은 24시간에 유의한 차이를 나타내지 못하였지만[$\chi^2(3, n = 32) = 4.218, p = 0.239$](도 1), 손상 48시간 후에 유의한 그룹 차이를 나타낸다[$\chi^2(3, n=32) = 16.066, p = 0.001$](도 2). 24시간(표 1) 및 48시간(표 2) 시점에 맨 휘트니 U 검정을 이용하여 쌍별 비교를 수행한다. PRV-002 4mg/kg 또는 PRV-002 16 mg/kg 중 하나로 치료한 래트는 손상 후 48시간에 비히클-치료 래트에 비해 유의하게 더 양호한 운동 수행을 가진다.



도 1. 손상 후 24시간에 신경스코어에 의해 측정하여 운동 기능에서 유의한 차이가 없음이 관찰됨

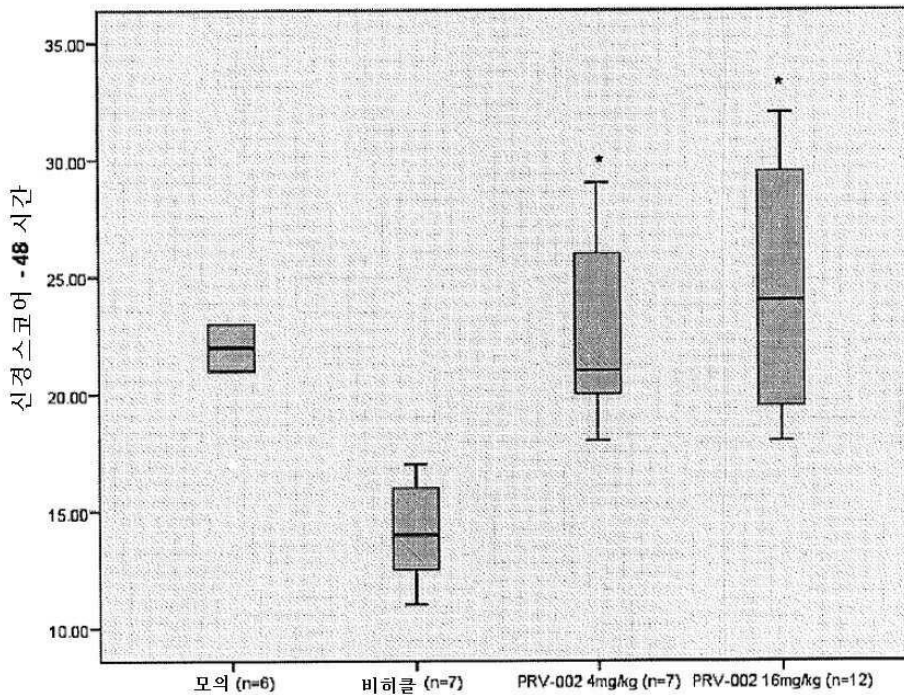
[0422]

표 1

신경스코어 쌍별 비교 - 손상 후 24시간

	비히클	PRV-002 4mg/kg	PRV-002 16mg/kg
모의	U = 1.0, p = 0.084	U = 19.0, p = 0.772	U = 34.0, p = 0.848
비히클		U = 14.0, p = 0.177	U = 22.0, p = 0.087
PRV-002 4mg/kg			U = 33.0, p = 0.439

[0423]



도 2. PRV-002 4mg/kg 또는 PRV-002 16mg/kg 중 하나로 치료한 래트는 손상 후 48시간에 비히클 치료 래트에 비해 유의하게 더 양호한 운동 기능을 가진다. *는 비히클 치료된 손상 래트와의 유의한 차이를 나타낸다, $p < 0.05$.

[0424]

표 2

신경스코어 쌍별 비교 - 손상 후 48시간

	비히클	PRV-002 4mg/kg	PRV-002 16mg/kg
모의	U = 1.0, p = 0.004*	U = 19.5, p = 0.829	U = 28.0, p = 0.452
비히클		U = 0.0, p = 0.002*	U = 0.0, p = 0.001*
PRV-002 4mg/kg			U = 35.5, p = 0.580

*는 유의한 차이를 나타냄, $p < 0.05$

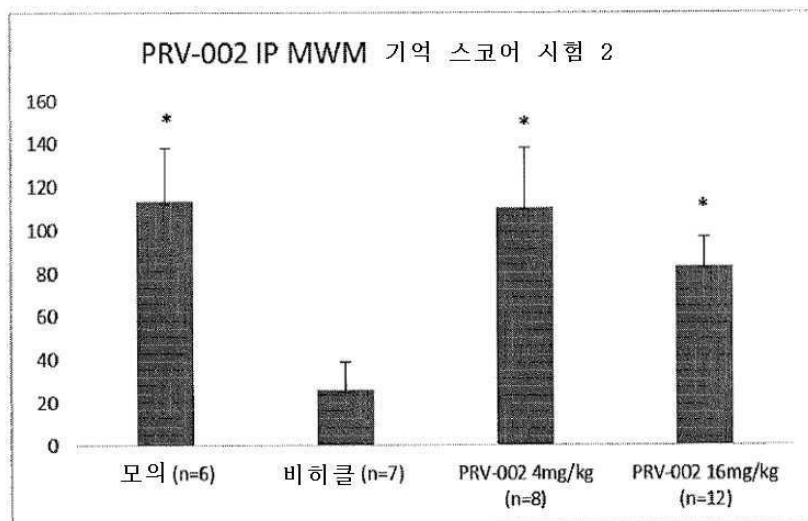
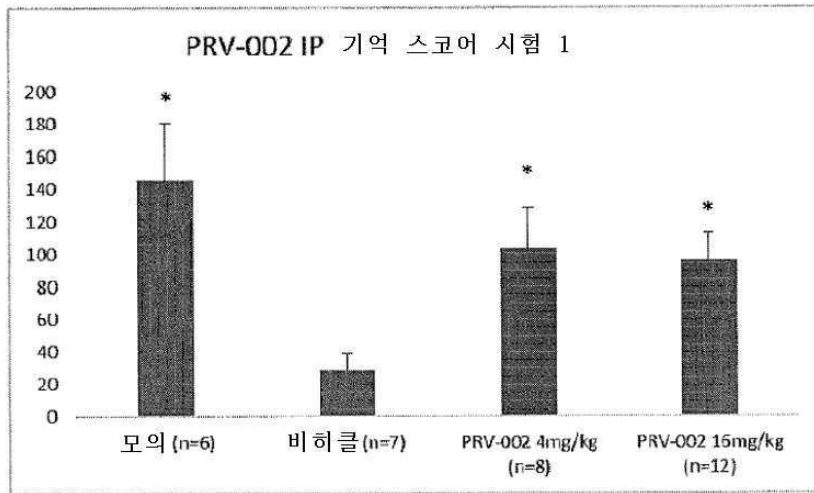
[0425]

모리스 수중 미로 - 기억 스코어

[0426]

[0427]

일원 분산 분석(ANOVA)을 사용하여 MWM 기억 스코어의 그룹 차이를 평가한다. 쌍별 비교의 사후 분석을 피쳐 보호 최소 유의 차이(PLSD) 검정을 이용하여 수행한다. 분석은 MWM 작업의 시험 1[F (3, 32) = 3.863, p 0.019] 과 시험 2[F (3, 32) = 3.580, p = 0.026] 둘 다 동안에 기억 스코어의 유의한 그룹 차이를 나타낸다. 사후 분석은 비히클-치료 손상 래트가 MWM 작업의 시험 둘 다 동안에 모의, PRV-002 4mg/kg- 및 PRV-002 16mg/kg-치료 래트보다 유의하게 나쁜 인지 기능을 가진다는 것을 나타낸다(도 3).



도 3.
PRV-002 4mg/kg 또는 PRV-002 16mg/kg 중 하나에 의한 치료는 손상 후 48시간에 모리스 수중 미로 시험 1(상부) 및 시험 2(하부) 동안 TBI-관련 인지 결함을 약화시켰다.
*는 비히클-처리된, 손상 래트와의 유의한 차이를 나타낸다, $p < 0.05$.

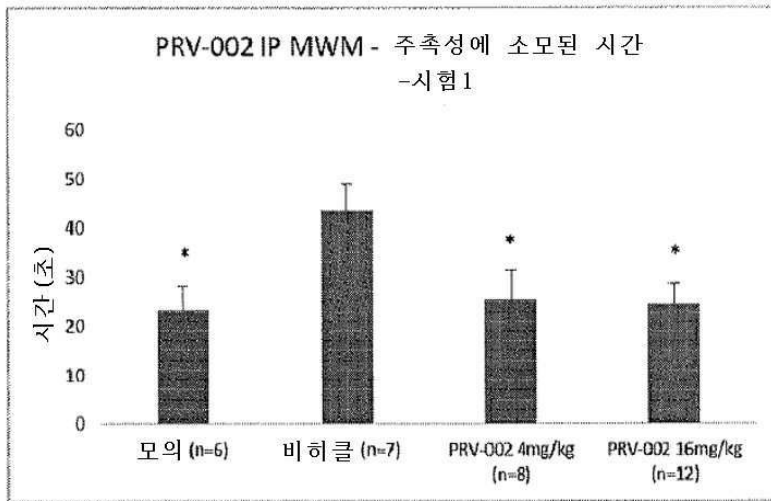
[0428]

[0429]

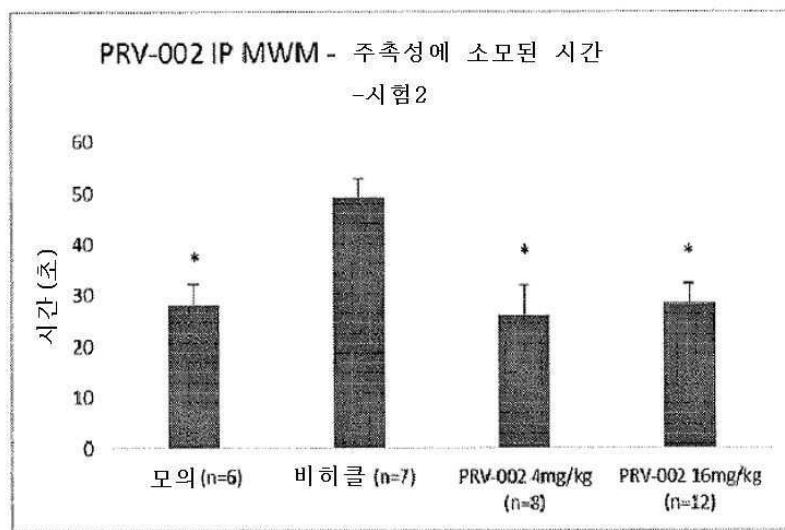
[0430]

모리스 수중 미로 - 주축성에 소모한 시간

일원분산분석(ANOVA)을 사용하여 MWM 작업 동안 주축성에서 소모한 시간의 그룹 차이를 평가한다. 쌍별 비교의 사후 분석을 피쳐 보호 최소 유의 차이(PLSD) 검정을 이용하여 수행한다. 분석은 MWM 작업의 시험 1[F (3, 32) = 3.329, $p = 0.033$]과 시험 2[F (3, 32) = 4.7665, $p = 0.008$] 둘 다 동안에 주축성에서 시험한 시간의 유의한 그룹 차이를 나타낸다. 사후 분석은 비히클-치료 손상 래트가 MWM 작업 시험 둘 다 동안 모의, PRV-002 4mg/kg- 및 PRV-002 16mg/kg-치료 래트보다 주축성에서 유의하게 더 많은 시간을 소모한다는 것을 나타낸다(도 4).



[0431]



도 4. 비히클-치료 래트는 손상 후 48시간에 모리스 수중 미로의 시험 1(상부) 및 시험 2(하부) 동안, 모의, PRV-002 4mg/kg-처리 또는 PRV-002 16mg/kg-치료 래트 동안에 비해 주축성에서 유의하게 더 많은 시간을 소모하였다.

[0432]

[0433]

논의

[0434]

신경스코어, MWM-기억 스코어 및 주축성에서의 MWM-소모 시간은 모두 실험적 외상성 뇌손상 후에 비히클-치료 래트에서 유의한 운동 및 인지 결함을 나타낸다. 손상 후 24시간에 신경스코어에서 유의한 그룹 차이가 보이지 않지만, 48시간까지 PRV-002 4mg/kg 또는 PRV-002 16mg/kg으로 치료한 래트는 TBI-유도 운동 기능 결함의 유의한 약화를 나타낸다. PRV-002 4mg/kg 또는 PRV-002 16mg/kg으로 치료한 래트는 손상 후 48시간에 MWM-기억 스코어에 의해 측정된 바와 같이 TBI-유도 인지 결함의 개선을 나타낸다. PRV-002 4mg/kg 또는 PRV-002 16mg/kg 중 하나로 치료한 래트는 비히클-치료 손상 래트에 비해 수중 미로 실험 동안 주축성 영역에서 더 적은 시간을 소모하는데, 이는 공간 획득 결함의 감소를 나타낸다. 주축성에서 소모한 감소된 시간은 또한 PRV-002 4mg/kg 또는 PRV-002 16mg/kg에 의한 처리가 TBI 후에 불안 제거 효과를 유도한다는 것을 나타낼 수 있다.

[0435]

이 연구 결과는 래트에서 TBI의 피질 충격 모델에서 TBI-유도 운동 및 인지 결함에 대응함에 있어서 PRV-002의 효능을 나타낸다. TBI의 세포 배양 모델에서 신경퇴행 및 사망을 약화시킴에 있어서 PRV-002의 역할을 연구하는 이전의 작업과 결부된 이들 발견들은 인간에서 뇌진탕 및 TBI의 치료를 위한 이 화합물의 용도에 대한 증거를 제공한다. 실험적 뇌 손상 후에 비히클 용액 또는 PRV-002로 치료한 래트의 뇌에서 단백질 발현의 변화를 조사하는 연구는 이 화합물이 신경보호 효과를 발휘함으로써 메커니즘을 설명하도록 도울 것이다.

[0436]

실시예 27 - PRV-002의 비강내 투여는 외상성 뇌손상의 래트 모델에서 운동 및 인지 결함을 약화시킨다

[0437]

이 연구의 목표는 외상성 뇌손상 후 프로게스테론의 거울상 이성질체의 유사체인 PRV-002에 의한 비강내 투여를

통해 치료한 래트의 운동 및 인지 기능을 평가하는 것이다. 치료 연구의 개시 전에, 에반스 블루(Evans Blue) 염료로 표지한 PRV002를 이용하여 해부학적 평가를 수행하여 미니어처 분무기 대 수동 피펫을 통한 비강내 투여를 이용하여 화합물의 최적의 비강내/대뇌내 침투를 결정한다. 사후검토 평가는 최대 비강 점막 침투에 대해 피펫 기법 이상으로 미니어처 분무기의 분명한 이점을 결정하였다.

[0438] 대략 6주령의 수컷, 스프래그 돌리 래트는 외상성 뇌손상을 유도하기 위해 정중선 피질 충격을 받았다. 래트는 손상 후 15분, 6시간 및 24시간에 비히클 용액(45% 사이클로텍스트린), PRV-002 0.05mg/kg (n=4), PRV-002 0.01mg/kg(n=11), PRV002 1mg/kg(n=4) 또는 PRV002 4mg/kg(n=3) 중 하나의 미니어처 분무기를 통해 비강내 투여를 받았다. 충격을 겪지 않은 또는 치료를 받지 않은 모의 그룹을 대조군으로서 사용하였다. 신경거동 배터리를 이용하여 손상 후 24시간 및 48시간에 신경스코어로서 알려진 운동 기능을 평가하였다. 손상 후 48시간에 모리스 수중 미로 (MWM) - 기억 스코어를 이용하여 인지 기능을 평가한다. 모리스 수중 미로의 벽에 근접하여 수영하는데 소모한 시간(주축성)을 사용하여 공간 획득 결함 및 잠재적 TBI-유도 불안을 평가한다.

[0439] 손상 후 비히클-치료, 뇌 손상 래트에서 유의한 운동 및 인지 결함을 관찰한다. 4mg/kg PRV002를 이용하여 IN으로 치료한 뇌-손상 래트는 손상/치료 후 48시간에 시험한 인지기능(외상 후 기억)의 유의한 개선을 나타낸다. 주축성에서 소모한 시간은 또한 IN PRV002(4mg/kg)를 받은 뇌-손상 동물에서 유의하게 감소된다. 손상 후 24시간에 외상후 운동 결함은 PRV002(0.1mg/kg) 또는 PRV002(4mg/kg) 중 하나로 처리한 동물에서 유의하게 개선된다. 손상 후 48시간까지, 뇌 손상 비히클-치료 동물에 비교할 때 뇌-손상 동물을 PRV002(0.05mg/kg), PRV002(0.1mg/kg) 또는 PRV002(4mg/kg)로 처리한다. 이들 발견은 뇌진탕 및 외상성 뇌손상의 치료를 위한 PRV-002의 잠재적 임상 용도를 위한 증거를 제공한다.

[0440] **방법**

[0441] 동물

[0442] 손상 시 6주령이며 체중이 225 내지 275g인 수컷 스프래그-돌리 래트(매사추세츠주 윌밍턴에 소재한 찰스 리버)를 사용한다. 래트를 표준 플렉시글라스 우리에 수용하고 나서, 0700의 광을 이용하여 12-12 광주기로 유지하였다. 먹이와 물은 자유롭게 이용 가능하다.

[0443] 외상성 뇌손상 모델

[0444] 수술 전에, 래트를 5% 아이소플루오란의 초기 유도에 의한 흡입을 통해 마취시킨다. 래트의 두피를 면도하고 나서, 70% 아이소프로판올 용액 및 10% 베타딘 용액을 이용하여 세정하였다. 수술 동안, 500 내지 1000ml/분의 속도로 산소와 함께 2.5% 아이소플루오란에서 마취를 유지한다. 래트의 머리를 뇌정위 고정장치에 고정시키고 나서, 내측 절단을 이루고, 두피를 집계를 이용하여 전두골 위로 뒤로 넘긴다. 두개골의 6mm 원형 조각을 제거 가능한 6mm 원형 드릴 비트를 이용하는 마이크로모터 드릴로 제거한다. 내측 전두 피질(medial frontal cortex: MFC) 위의 뼈를 미세한, 곡선형 팁의 포셉을 이용하여 제거하여, 경막을 무손상으로 남긴다. 3mm 금속 충격기를 지니는 전기-제어 손상 장치를 사용하여 외상성 뇌손상을 생성한다. 경막 위에 피스톤을 넣는다. 피스톤으로부터 신호 변환기까지의 전기 신호로 배치를 수정한다. 이어서, 피스톤을 사용하여 3mm 깊이에서 타박상을 생성한다. 이 절차는 외상성 뇌손상에 대한 작업을 수행하는 연구자들에 의해 광범위하게 사용되며, 가장 일관되고 재현 가능한 손상 형태 중 하나를 나타낸다. 손상 후에, 조직을 4-0 단일섬유 봉합선을 이용하여 봉합한다. 수술 후 래트를 따뜻한 회복 우리에 넣고, 회복 후 그들의 홈 우리로 복귀시킨다.

[0445] 치료

[0446] 래트를 4개의 처리군 중 하나에 무작위로 배치한다: 1) 모의 손상 그룹(모의- TBI 없이 마취 및 수술 절단), 2) 뇌-손상, 비히클-치료 손상 그룹(비히클), 또는 TBI, 이어서, PRV002(0.05mg/kg, n=4), PRV002(0.1mg/kg, n=11), PRV002(1mg/kg, n=4), 또는 PRV002(4mg/kg, n=3)의 비강내(IN) 투여. 실험 대상체는 마이크로 분무기를 이용하여 손상 후 15분, 6시간 및 24시간에 비히클 용액(멸균수 중의 45% 사이클로텍스트린) 또는 PRV-002 용액(45% 사이클로텍스트린 용액 내로 용해된 PRV-002 분말)을 받는다.

[0447] 신경스코어

[0448] 손상 후 24시간 및 48시간에 신경스코어로서 알려진 운동 기능의 시험을 신경거동 배터리를 이용하여 수행한다. 래트를 일련의 4회의 신경거동 시험에 노출시키고 나서, 비정상적 비틀림 거동에 대해 관찰한다. 래트는 앞다리 늘리기 작업 및 앞다리 발 놓기에서 왼쪽과 오른쪽 앞다리 둘 다, 뒷다리 굽히기에서 왼쪽과 오른쪽 사지, 및 측면 돌진 검사에 대한 좌측 및 우측에 대해 +4 비손상으로부터 (-) 비기능성의 스코어를 받는다. 비틀림이 관

찰되지 않는다면, 래트는 정상 +1로서 스코어링되고, 비틀림이 존재한다면, 래트는 비정상 (-)으로서 스코어링한다. 총 가능한 스코어는 33이다. 시험 기준은 다음과 같다:

[0449] **앞다리 늘리기**

[0450] 래트를 그의 꼬리로 매달고, 바닥을 향한 앞다리 늘리기를 결정한다. 좌측과 우측 앞다리 둘 다에 대해 별도로 스코어링한다.

[0451] o +4 정상: 래트는 앞다리를 둘 다 완전하게 그리고 바닥을 향해 동일하게 뻗는다.

[0452] o +3 약간 손상: 약간의 앞다리 구부림이 있다

[0453] o +2 중등증의 손상: 보통의 앞다리 구부림이 있다

[0454] o +1 중증의 손상: 심한 앞다리 구부림이 있다

[0455] o - 비기능성: 앞다리는 신체에 가깝게 집어 넣는다.

[0456] **측면 돌진**

[0457] 자유 보행 동안, 래트를 좌측과 우측으로 부드럽게 밀고, 측면 돌진에 대한 저항성 감소를 결정한다. 래트의 좌측과 우측 둘 다에 대해 스코어링한다.

[0458] o +4 정상: 래트는 각 측면에 대해 밀었을 때 동일하게 저항한다

[0459] o +3 약간 손상: 래트는 보통의 저항을 유지한다

[0460] o +2 중등증의 손상: 래트는 약간의 저항을 유지한다

[0461] o +1 중증의 손상: 래트는 밀었을 때 저항하지 않는다

[0462] o - 비기능성: 래트는 밀었을 때 저항하지 않으며, 그의 측면으로 넘어진다

[0463] **앞발 놓기**

[0464] 래트를 그의 꼬리로 매달고, 약간의 요동 움직임이 있는 래트가 오른쪽 발과 왼쪽 발로 물체를 움켜잡는 능력을 관찰한다. 왼쪽과 오른쪽 앞다리 둘 다에 대해 별도로 스코어링한다.

[0465] o 0 +4 정상: 래트는 발을 둘 다 이용하여 물체를 강하게 움켜잡을 수 있음

[0466] o 0 +3 약간 손상: 래트는 앞발을 잘못 두고 물체를 약하게 움켜잡는다

[0467] o 0 +2 중등증의 손상: 래트는 물체의 움켜잡이 약하고 유지할 수 없다

[0468] o 0 +1 중증의 손상: 래트는 물체를 움켜잡을 수 없다

[0469] o - 비기능성: 래트는 물체를 움켜잡을 시도를 나타내지 않는다

[0470] **뒷발 굽히기**

[0471] 래트를 그의 꼬리로 잡고, 지면 위로 뒷발을 들어올린다. 오른쪽과 왼쪽 다리 둘 다에 대해 뒷발 구부림을 결정한다.

[0472] o 0+4 정상: 래트는 뒷발의 정상 늘리기가 있지만, 교차 또는 벌림은 없다

[0473] o 0+3 약간 손상: 뒷발은 정상 늘리기로부터 약간의 벗어남, 뒷발의 약간의 움켜잡음 또는 벌림이 있다

[0474] o 0+2 중등증의 손상: 뒷발의 보통의 교차 또는 벌림

[0475] o 0+1 중증의 손상: 뒷발의 심한 교차 또는 벌림과 함께 정상 늘리기로부터 심하게 벗어난다

[0476] o - 비기능성: 정상 늘리기 또는 기능 없이 뒷발을 교차 또는 벌림

[0477] **비틀림**

[0478] 래트를 매달 때, 비틀림이 있는지의 여부를 관찰함

[0479] o +1 정상: 비틀림 없음

[0480] o - 비정상: 비틀림

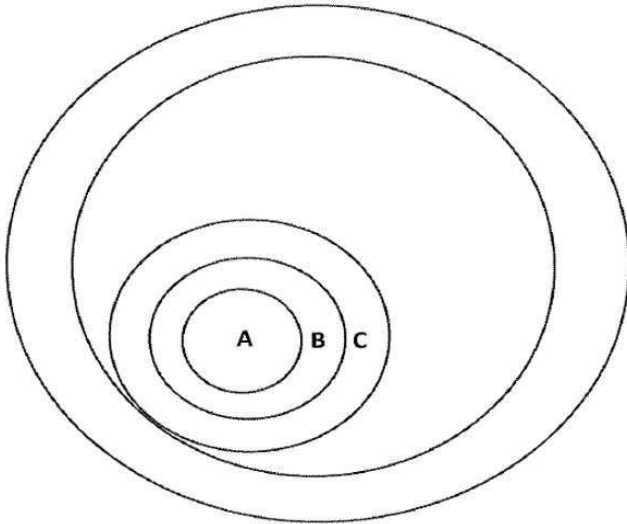
[0481] 인지: 모리스 수중 미로 - 기억 스코어

o+1 정상: 비틀림 없음

o- 비정상: 비틀림

인지: 모리스 수중 미로 - 기억 스코어

주축성



[0482]

[0483] 손상 전에, 래트를 원형 풀의 물에서 위치 A에 잠긴 숨겨진 탈출 플랫폼을 찾도록 훈련한다. 손상 48시간 후에, 플랫폼을 풀로부터 제거하고 나서, 래트에게 풀 안에서 2회의 60초 시행을 제공한다. 비손상 모의(정상) 동물은 플랫폼 위치를 기억할 것이고, 구역 A를 통해 그리고 주위에서 수영하는 데 그들의 대부분의 시간을 소모하였다. TBI에 의해 기억이 손상된 뇌-손상 동물은 전형적으로 풀 주위에서 무작위로 수영하며, 숨겨진 플랫폼의 위치를 기억하지 못한다. 탈출 플랫폼 영역(각각 구역 A, B 및 C)으로부터 뿔어져 나오는 동심 고리에서 소모한 시간의 양을 측정하고 나서, 기억 스코어를 계산하기 위해 사용한다. 모리스 수중 미로 기억 스코어를 다음의 식을 이용하여 계산한다:

[0484] $(\text{구역 A} \times 20) + (\text{구역 B} \times + \text{구역 C}) = \text{-기억 스코어}$, 여기서, 구역 A, B 및 C는 이전에 탈출 플랫폼을 보유한 면적을 포함하고, 둘러싸는 크기가 증가하는 환이다.

[0485] 모리스 수중 미로 - 주축성

[0486] 주축성은 래트가 "벽을 껴안거나" 또는 탱크 가장자리 주위에서 수영하는 데 소모한 시간 양의 측정이다. 주축성 영역에서 이동하는 데 소모한 시간을 측정하고 나서, 손상 동물에서 높은 불안 및 공간 획득 결함을 나타낸다.

[0487] 통계학적 분석

[0488] 일원 분산 분석(ANOVA)을 사용하여 MWM 기억 스코어 및 MWM 주축성의 그룹 차이를 평가한다. 타당성을 위해, 피셔 보호 최소 유의도 차이(Fisher's Protected Least Significant Difference: PLSD) 검정을 이용하여 쌍별 비교의 사후 검정을 수행한다.

[0489] 신경스코어 데이터를 크루스칼-윌리스(Kruskall-Wallis) 검정을 이용하여 분석해서 그룹 차이를 평가한다. 타당성을 위해, 맨 휘트니 U 검정을 이용하여 수행한다.

[0490] 결과

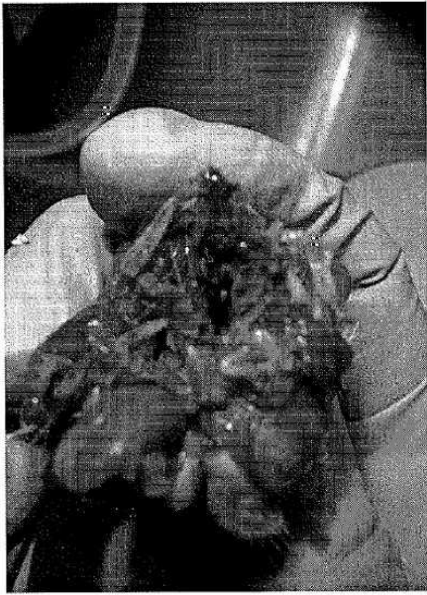


[0491]

[0492] IN 투여를 위해 피켓을 이용하여 비강 점막에서 관찰 가능한 에반스 블루 염료는 없음



[0493]



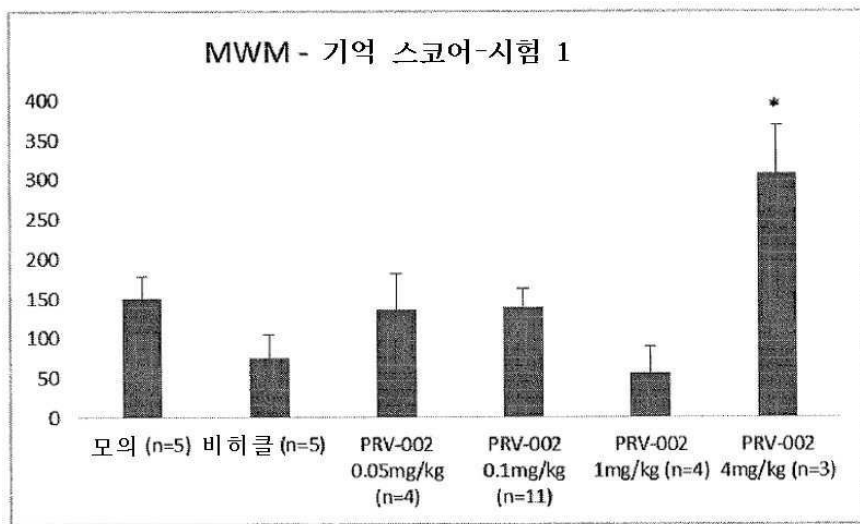
[0494]

[0495] 마이크로 분무기를 이용하여 관찰한 우수한 비강내 침투

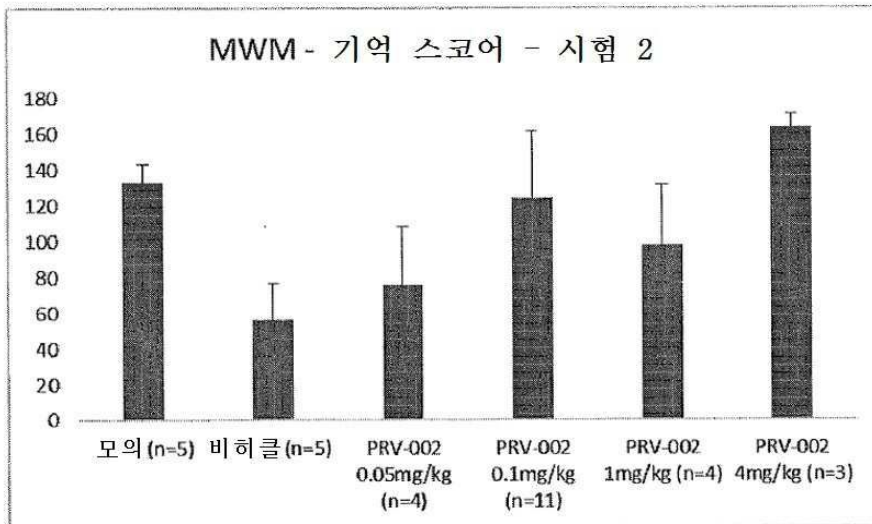
[0496] 인지

[0497] 모리스 수중 미로 - 기억 스코어

[0498] 일원 분산 분석(ANOVA)을 사용하여 MWM 기억 스코어의 그룹 차이를 평가한다. 쌍별 비교의 사후 분석을 피쳐 보호 최소 유의 차이(PLSD) 검정을 이용하여 수행한다. 분석은 MWM 작업의 시험 1[F (5, 31) = 4.433, p = 0.005](도 1, 상부) 동안 기억 스코어의 유의한 그룹 차이를 나타내지만, 시험 2[F (5, 31) = 0.928, p = 0.479](도 1, 하부) 동안은 차이를 나타내지 않는다. 사후 분석은 모든 그룹이 시험 1 동안 PRV-002 4mg/kg-치료 래트보다 유의하게 더 낮은 기억 스코어를 가진다는 것을 나타낸다.



[0499]



도 1. PRV-002 4mg/kg으로 치료된 손상 래트는 모리스 수중 미로 작업의 시험 1 동안 모든 다른 그룹에 비해 유의하게 더 양호한 인지 성능을 가진다(상부). 인지 성능의 유의한 그룹 차이는 모리스 수중 미로 작업의 시험 2 동안 관찰되지 않는다(하부). *는 비히클-치료된, 손상 래트와의 유의한 차이를 나타낸다, $p < 0.05$.

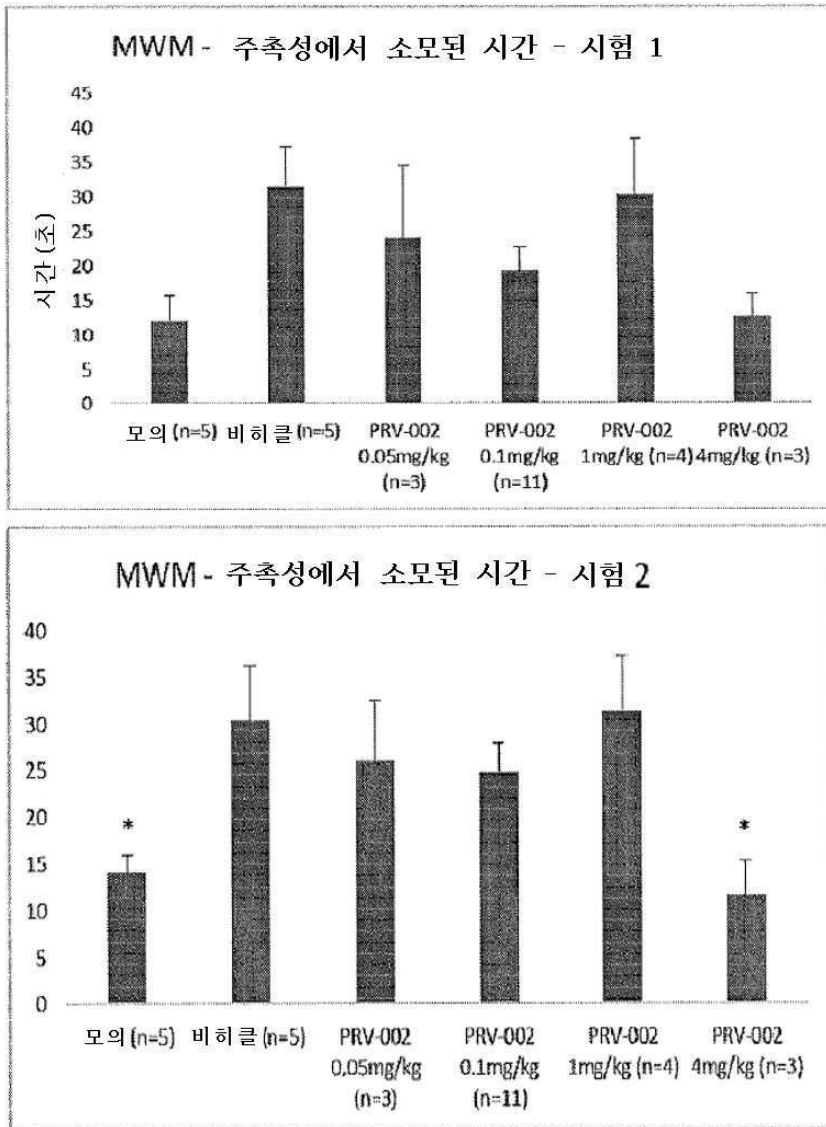
[0500]

[0501]

모리스 수중 미로 - 주축성에 소모한 시간

[0502]

일원분산분석(ANOVA)을 사용하여 MWM 작업 동안 주축성에서 소모한 시간의 그룹 차이를 평가한다. 쌍별 비교의 사후 분석을 피쳐 보호 최소 유의 차이(PLSD) 검정을 이용하여 수행한다. 분석은 MWM 작업의 시험 1[F (5, 31) = 1.857, $p = 0.137$](도 2, 상부) 및 시험 2[F (5, 31) = 3.103, $p = 0.025$](도 2, 하부) 둘 다 동안에 주축성에서 시험한 시간의 유의한 그룹 차이를 나타낸다. 사후 분석은 모의 및 PRV-002 4mg/kg-치료 래트가 비히클-치료 래트에 비해 유의하게 더 적은 시간을 소모하였다는 것을 나타낸다.



도 2

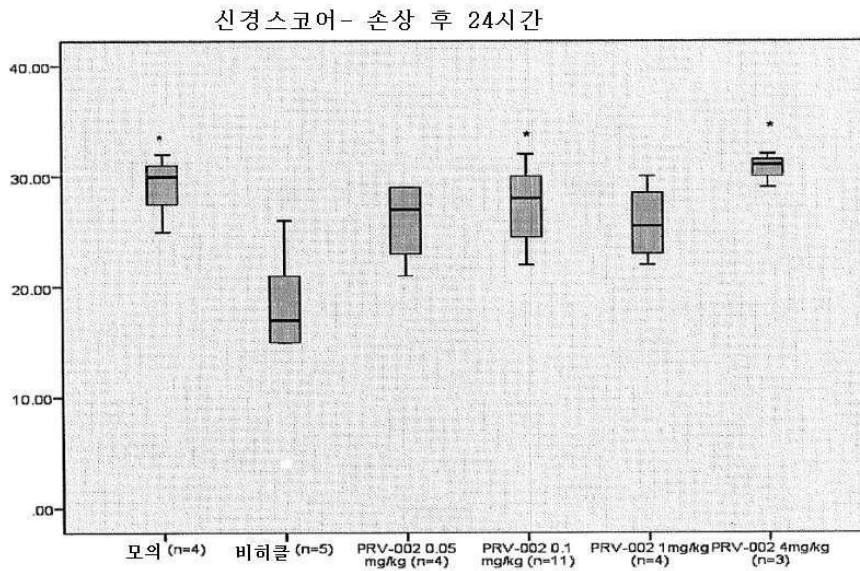
모리스 수중 미로 작업 시험 1 동안 주축성에서 소모한 시간에 유의한 그룹 차이는 관찰되지 않는다(상부). 비손상(모의) 및 PRV-002 5mg/kg-치료 래트는 모리스 수중 미로 작업 시험 2 동안 비히클-치료 손상 래트에 비해 주축성에서 유의하게 더 적은 시간을 소모한다(하부). 추가적으로, PRV-002 0.05mg/kg으로 치료한 래트는 시험 2 동안의 모의 래트에 비해 주축성에서 유의하게 더 많은 시간을 소모하였다. *는 비히클-치료, 손상 래트와의 유의한 차이를 나타낸다, $p < 0.05$.

[0503]

[0504] **운동 기능**

[0505] 신경스코어

[0506] 손상 후 24시간 및 48시간에 중앙값 신경스코어에 대한 그룹 차이를 평가하기 위해 크루스칼-윌리스 검정을 수행한다. 이들 검정은 24시간에 $[X^2(3, n = 32) = 13.529, p = 0.019]$ (도 3) 그리고 손상 후 48시간에 $[X^2(3, n=32) = 18.153, p = 0.003]$ (도 4) 유의한 차이를 나타낸다. 24시간(표 1) 및 48시간(표 2) 시점에 맨 휘트니 U 검정을 이용하여 쌍별 비교를 수행한다. PRV-002 0.1mg/kg 또는 PRV-002 4mg/kg 중 하나로 치료한 래트는 손상 후 24시간에 비히클-치료 래트에 비해 유의하게 개선된 운동 기능을 가진다. 모든 PRV-002 처리군은 손상 후 24시간에 모의 래트와 유의하게 다르지 않은 운동 성능 스코어를 가진다(표 1). 모의 래트 및 PRV-002 0.05mg/kg, PRV-002 0.1mg/kg 또는 PRV-002 4mg/kg 중 하나로 치료한 래트는 손상 후 48시간에 비히클-치료 래트에 비해 유의하게 더 양호한 운동 기능을 가진다. PRV-002 0.05mg/kg- 및 PRV-002 1mg/kg-치료 래트는 손상 후 48시간에 모의 래트에 비해 유의하게 더 나쁜 성능을 가진다(표 2).



도 3.

PRV-002 0.1mg/kg 또는 PRV-002 4mg/kg으로 치료한 래트는 손상 후 24시간에 비히클 치료 래트에 비해 유의하게 개선된 운동 기능을 가진다. 모든 PRV-002 처리군은 모의 래트와 유의하게 다르지 않은 운동 성능 스코어를 가졌다.

*는 비히클-치료, 손상 래트와의 유의한 차이를 나타낸다, $p < 0.05$.

[0507]

[0508]

(표 1)

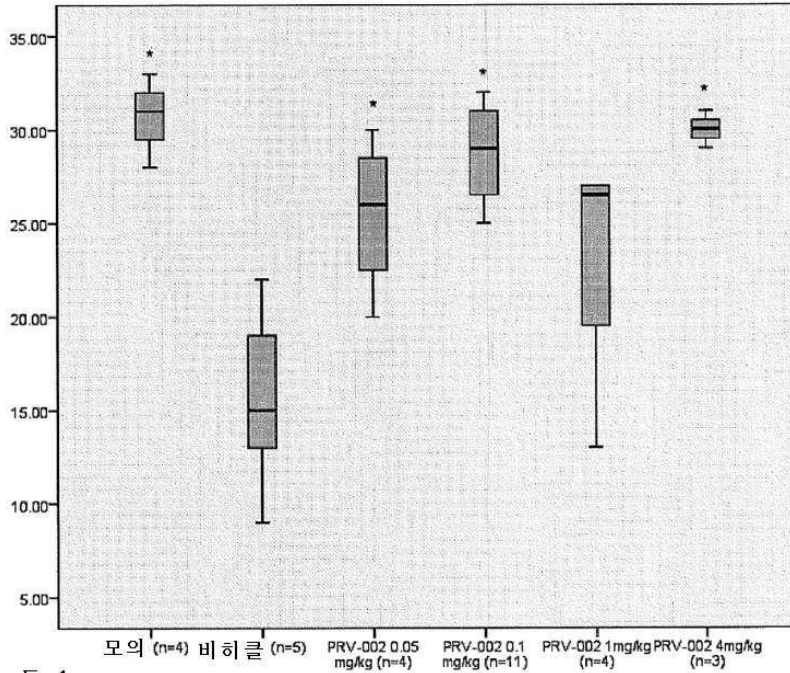
신경스코어 - 손상 후 24시간

	비히클	PRV-002 0.05mg/kg	PRV-002 0.1mg/kg	PRV-002 1mg/kg	PRV-002 4mg/kg
모의	U = 1.0, p = 0.027*	U = 2.5, p = 0.106	U = 15.0, p = 0.356	U = 3.0, p = 0.139	U = 4.5, p = 0.629
비히클		U = 2.5, p = 0.064	U = 3.5 p = 0.006*	U = 2.0, p = 0.050	U = 0.0, p = 0.025*
PRV-002 0.05mg/kg			U = 18.0, p = 0.598	U = 8.0, p = 1.0	U = 1.0, p = 0.067
PRV-002 0.1mg/kg				U = 16.0, p = 0.430	U = 7.0, p = 0.134
PRV-002 1mg/kg					U = 1.0, p = 0.077

* 는 유의한 차이를 나타낸다, $p < 0.05$

[0509]

신경스코어 - 손상 후 48시간



도 4.

PRV-002 0.05mg/kg, PRV-002 0.1mg/kg 또는 PRV-002 4mg/kg는 손상 후 48시간에 비히클-치료한 래트에 비해 유의하게 더 양호한 운동 기능을 가진다. PRV-002 0.05mg/kg- 및 PRV-002 1mg/kg- 치료 래트는 손상 후 48시간에 모의 래트에 비해 유의하게 더 나쁜 수행을 가진다.

*는 비히클-치료 래트와의 유의한 차이를 나타낸다, $p < 0.05$.

[0510]

[0511]

(표 2)

신경스코어 - 손상 후 48시간

	비히클	PRV-002 0.05mg/kg	PRV-002 0.1mg/kg	PRV-002 1mg/kg	PRV-002 4mg/kg
모의	U = 0.0, p = 0.014*	U = 1.0, p = 0.042*	U = 12.5, p = 0.209	U = 0.0, p = 0.019*	U = 4.0, p = 0.463
비히클		U = 1.0, p = 0.027*	U = 0.0, p = 0.002*	U = 3.5, p = 0.108	U = 0.0, p = 0.025*
PRV-002 0.05mg/kg			U = 11.0, p = 0.149	U = 7.0, p = 0.767	U = 1.5, p = 0.108
PRV-002 0.1mg/kg				U = 9.0, p = 0.086	U = 12.0, p = 0.479
PRV-002 1mg/kg					U = 0.0, p = 0.032*

*는 유의한 차이를 나타낸다, $p < 0.05$

[0512]

[0513]

논의

[0514]

신경스코어, MWM-기억 스코어 및 주축성에서의 MWM-소모 시간은 모두 실험적 외상성 뇌손상 후에 비히클-치료 래트에서 유의한 운동 및 인지 결함을 나타낸다. 4mg/kg PRV002에 의해 IN으로 치료한 뇌-손상 래트는 손상/치료 후 48시간에 시험한 인지기능(외상 후 기억)의 유의한 개선을 나타낸다. 주축성에서 소모한 시간은 또한 IN PRV002(4mg/kg)를 받은 뇌-손상 동물에서 유의하게 감소된다. 주축성에서 소모한 시간의 감소는 또한 PRV-002에 의한 IN 치료가 TBI 후 불안 제거 효과를 유도할 수 있다는 것을 나타낼 수 있다.

[0515]

손상 후 24시간에 외상 후 운동 결함은 PRV002(0.1mg/kg) 또는 PRV002(4mg/kg) 중 하나로 치료한 동물에서 유의

하게 개선된다. 손상 후 48시간까지 PRV002(0.05mg/kg), PRV002(0.1mg/kg) 또는 PRV002(4mg/kg)로 치료한 뇌-손상 동물은 뇌-손상, 비히클 처리 동물에 비교할 때 유의하게 개선된 운동 기능을 나타낸다. 이 연구 결과는 래트에서 TBI의 피질 충격 모델에서 TBI-유도 운동 및 인지 결함에 대응함에 있어서 PRV-002의 효능을 나타낸다.

[0516] TBI의 세포 배양 모델에서 신경퇴행 및 사망을 약화시킴에 있어서 PRV002의 전신(복강내) 투여 후 인지 및 운동 기능의 개선을 나타내는 이전의 작업 및 PRV-002의 역할을 조사하는 연구와 결부된 이들 관찰은 인간에서 뇌진탕 및 TBI의 치료를 위한 이 화합물의 용도에 대한 증거를 제공한다. MRI 연구와 결부된, 실험적 뇌 손상 후에 비히클 용액 또는 PRV-002로 치료한 래트의 뇌에서 단백질 발현의 변화를 조사하는 연구는 이 화합물이 TBI 후 손상된 뇌에서 신경보호 효과를 발휘함으로써 메커니즘을 설명하도록 도울 것이다.

[0517] **실시예 28**

[0518] 실시예 26 및 27에 따라 사용한 ent-19-노르프로게스테론 (PRV-002) 용액의 예.

시약	첨가된 양	최대 시간, 분	얻어진 용액	가용화 후 총 용적	최종 계산 농도
용액 1					
2-하이드록시프로필-β-사이클로텍스트린 (H107-시그마-알드리지)	2.5 g			~ 7 ml	35.8%
물	5 ml	10	맑음		
PRV-002 제형					
용액 1	1 ml				35.8%
+ PRV-002 엔트-19-노르프로게스테론	30 mg	60	혼탁	~ 1 ml	
+ 용액 1	0.1 ml	120	혼탁	~ 1.1 ml	
+ 용액 1	0.1 ml	O/N	혼탁 내지 맑음	~ 1.2 ml	
+ 용액 1	0.1 ml	120	약간 혼탁하면서 대체로 맑음*	~ 1.3 ml	23 mg/ml

* 실온에서 O/N 후에 침전은 관찰되지 않음.

[0519] 2-하이드록시프로필-β-사이클로텍스트린의 35.8%에서 PRV-002의 겉보기 용해도는 23mg/ml이다

[0520] 2-하이드록시프로필-β-사이클로텍스트린의 35.8%에서 PRV-002의 겉보기 용해도는 약 23 mg/ml 이다.

[0521] PRV-002 용액을 약 30mg의 PRV-001 화합물을 약 1ml의 35.8% 2-하이드록시프로필-p-사이클로텍스트린에 첨가함으로써 제조한다. 약 60분 동안 혼합한 후에 용액은 혼탁하게 된다. 이어서, 약 0.1ml의 약 35.8% 2-하이드록시프로필-p-사이클로텍스트린을 약 1ml의 PRV-002-사이클로텍스트린 혼합물에 첨가한다. 용액은 약 120분 동안 혼합한 후에 혼탁하게 된다. 추가 0.1ml의 약 35.8% 2-하이드록시프로필-p-사이클로텍스트린을 약 1.1ml의 PRV-002-사이클로텍스트린 혼합물에 첨가하고 나서, 밤새(O/N) 혼합하면서 둔다. 다음 날 얻어진 용액은 현저하게 더 맑아지지만, 여전히 혼탁하다. 약 0.1ml 초과와 약 35.8% 2-하이드록시프로필-p-사이클로텍스트린을 약 1.2 ml의 PRV-002-사이클로텍스트린 혼합물에 첨가한다. 약 35.8% 2-하이드록시프로필-p-사이클로텍스트린의 다른 약 0.3ml(0.1+0.1+0.1) 분취액의 첨가는 PRV-002 용액의 맑음을 단지 약간 개선시킨다. PRV-002는 약 23mg/ml에서 용액이고, 약간의 혼탁함은 일부 유형의 인공물인 것으로 여겨진다.

[0522] **참고문헌**

[0523] 1. 2005년 8월 25일자로 공개되고, 발명의 명칭이 "Methods for the Treatment of a Traumatic Central Nervous System Injury"인 스테인(Stein) 등의 미국 특허 공개 제2005/0187188호

[0524] 2. 2007년 4월 5일자로 공개되고, 발명의 명칭이 "Methods for the Treatment of a Traumatic Central Nervous System Injury"인 호프만(Hoffman) 등의 미국 특허 공개 제2007/0078117호

[0525] 3. 2008년 12월 25일자로 공개되고, 발명의 명칭이 "Methods for the Treatment of a Traumatic Central Nervous System Injury"인 호프만 등의 미국 특허 공개 제2008/0318914호

[0526] 4. 2009년 9월 3일자로 공개되고, 발명의 명칭이 "Methods for the Treatment of a Traumatic Central Nervous System Injury via a Tapered Administration Protocol"인 스테인 등의 미국 특허 공개 제2009/0221544호

[0527] 5. 2009년 12월 31일자로 공개되고, 발명의 명칭이 "Methods for the Treatment of a Traumatic Central Nervous System Injury"인 호프만 등의 미국 특허 공개 제2009/0325920호

- [0528] 6. 2011년 12월 15일자로 공개되고, 발명의 명칭이 "Methods of Neuroprotection using Neuroprotective Steroids and a Vitamin D"인 스테인 등의 미국 특허 공개 제2011/0306579호
7. R. J. Auchus et al. "The Enantiomer of Progesterone (ent-progesterone) is a Competitive Inhibitor of Human Cytochromes P450c17 and P450c21," Archives of Biochemistry and Biophysics, 409:134-144 (2003)
8. S. D. Rychnovsky et al. "Synthesis of ent-Cholesterol, the Unnatural Enantiomer," J. Org. Chem. 57:2732-2736 (1992)
9. S. Talengaonkar et al. "Intranasal Delivery: An Approach to Bypass the Blood Brain Barrier," Indian J. Pharmacol, 36(3):140-147 (2004)
10. H. Nemoto et al. "First Enantioselective Total Synthesis of (+)-Cortisone," J. Org. Chem. 55: 5625-5631 (1990)
11. W. S. Johnson et al. "Synthesis of dl-Progesterone," Journal of the American Chemical Society, V93(17):4332-4334 (1971)
12. M. Weimar et al. "Enantioselective Synthesis of (+)-Estrone Exploiting a Hydrogen Bond-Promoted Diels-Alder Reaction," J. Org. Chem, 75:2718-2721 (2010)
13. Herrmann et al. "Formal Total Synthesis of (±)-Estrone and Zirconocene-Promoted Cyclization of 2-Fluoro-1-7-octadienes and Ru-Catalyzed Ring Closing Metathesis," J. Org. Chem, 73:6202-6206 (2008)
14. Q. Hu et al. "Simple, Catalytic Enantioselective Synthesis of Estrone and Desogestrel," J. Am Chem Soc, 126:5984-5986 (2004)
15. Y. Horiguchi et al. "Total Synthesis of (±)-Cortisone. Double Hydroxylation Reaction for the Construction of Corticoid Side Chain," J. Org. Chem., 51: 4323-4325 (1986)
16. US Patent Application No. 13/645,854, invented by VanLandingham et al. and entitled "Prophylactic and Post-Acute Use of Progesterone to Better Outcomes Associates with Concussion"
- [0529]
- [0530] 17. 반란딩함(VanLandingham) 등에 의해 발명되고, 발명의 명칭이 "Nasal Delivery Mechanism for Prophylactic and Post-Acute Use for Progesterone and/or Its Enantiomer for Use in Treatment of Mild Traumatic Brain Injuries"인 미국 특허 출원 제13/645,881호,
- [0531] 18. 반란딩함 등에 의해 발명되고, 발명의 명칭이 "Prophylactic and Post-Acute Use of Progesterone in Conjunction with its Enantiomer for Use in Treatment of Mild Traumatic Brain Injuries"인 미국 특허 출원 제13/645,925호,
- [0532] 19. 반란딩함 등에 의해 발명되고, 발명의 명칭이 "Prophylactic and Post-Acute Use of Progesterone to Better Outcomes Associated with Concussion"인 국제 특허 출원 PCT/US2012/59030
- [0533] 20. 반란딩함 등에 의해 발명되고, 발명의 명칭이 "Nasal Delivery Mechanism for Prophylactic and Post-Acute Use for Progesterone and/or Its Enantiomer for Use in Treatment of Mild Traumatic Brain Injuries" 국제 특허 출원 PCT/US2012/59087
- [0534] 21. 반란딩함 등에 의해 발명되고, 발명의 명칭이 "Prophylactic and Post-Acute Use of Progesterone in

Conjunction with its Enantiomer for Use in Treatment of Mild Traumatic Brain Injuries"인 국제 특허 출원 PCT/US2012/59083

22. Bosch, M.P.; Camps, F.; Coll, J.; Guerrero, T.; Tatsuoka, T.; Meinwald, J. *J. Org. Chem.*, 51:773 (1986)
23. Tsunoda, T.; Suzuki, M.; Noyori, R. *Tetrahedron Lett.*, 21:1357 (1980)
24. Yamauchi, Noriaki; Natsubori, Yoshiaki; Murae, Tatsushi *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 73(11):2513-2519 (2000)
25. Das, Biswanath; Banerjee, Joydeep; Chowdhury, Nikhil; Majhi, Anjoy; Holla, Harish, *Synlett*, 12:1879-1882 (2006).
26. Liu, Hsing-Jang; Ly, Tai Wei; Tai, Chia-Liang; Wu, Jen-Dar; Liang, Jinn-Kwei; Guo, Jiunn-Cheh; Tseng, Nai-Wen; Shia, Kak-Shan. *Tetrahedron*, 59(8):1209-1226 (2003).

[0535]

27. Tai, Chia-Liang; Ly, Tai Wei; Wu, Jen-Dar; Shia, Kak-Shan; Liu, Hsing-Jang. *Synlett*, (2), 214-217 (2001).
28. Jiro Tsuji, Hideo Nagashima, and Hisao Nemoto, "General Synthetic Method for the preparation of Methyl Ketones from Terminal Olefins: 2-Decanone", *Org. Synth.; Coll. Vol. 7*: 137 (1990).
29. Basavaiah, D.; Rao, A. J.; Satyanarayana, T. *Chem. Rev.*, 103:811 (2003)
30. Batt, Frederic and Fache, Fabienne, *European Journal of Organic Chemistry*, (30), 6039-6055, S6039/1-S6039/46 (2011)
31. Song, J. and Hollingsworth, R. I., *Tetrahedron: Asymmetry*, 12(3):387-391 (2001)
32. Djebaili, M., et al.: The neurosteroids progesterone and allopregnanolone reduce cell death, gliosis, and functional deficits after traumatic brain injury in rats. *J Neurotrauma*, 22:106-118 (2005)
33. Stein, D.G., Brain damage, sex hormones and recovery: a new role for progesterone and estrogen? *Trends Neurosci*, 24(7):386-91 (2001).
34. Stein, D.G., Sex differences in brain damage and recovery of function: experimental and clinical findings. *Prog Brain Res*, 161:339-51 (2007).
35. Pettus, E.H., D.W. Wright, D.G. Stein, and S.W. Hoffman, Progesterone treatment inhibits the inflammatory agents that accompany traumatic brain injury. *Brain Res*, 1049(1):112-9 (2005).
36. Shear, D.A., R. Galani, S.W. Hoffman, and D.G. Stein, Progesterone protects against necrotic damage and behavioral abnormalities caused by traumatic brain injury. *Exp Neurol*, 178(1):59-67 (2002).
37. Guo, Q., Baronne, L., Hoffman, S.W., Guennoun, R., Stein, D.G., Progesterone's Effects on Aquaporin-4 Expression after Traumatic Brain Injury In Male Rats. *J Neurotrauma*, 21:1303 (2004).

[0536]

38. McCullough, L.D. and P.D. Hurn, Estrogen and ischemic neuroprotection: an integrated view. *Trends Endocrinol Metab*, 14(5):228-35 (2003).
39. Stein, D.G. and S.W. Hoffman, Concepts of CNS plasticity in the context of brain damage and repair. *J Head Trauma Rehabil*, 18(4):317-41 (2003).
40. Stein, D.G. and S.W. Hoffman, Estrogen and progesterone as neuroprotective agents in the treatment of acute brain injuries. *Pediatr Rehabil*, 6(1):13-22 (2003).
41. Schumacher, M., S. Weill-Engerer, P. Liere, F. Robert, R.J. Franklin, L.M. Garcia-Segura, J.J. Lambert, W. Mayo, R.C. Melcangi, A. Parducz, U. Suter, C. Carelli, E.E. Baulieu, and Y. Akwa, Steroid hormones and neurosteroids in normal and pathological aging of the nervous system. *Prog Neurobiol*, 71(1):3-29 (2003).
42. Roof, R.I., R. Duvdevani, J.W. Heyburn, and D.G. Stein, Progesterone rapidly decreases brain edema: treatment delayed up to 24 hours is still effective. *Exp Neurol*, 138(2):246-51 (1996).
43. Roof, R.L., Stein, D. G., Progesterone treatment attenuates brain edema following contusion injury in male and female rats. *Restor. Neurol. Neurosc*, 4:425-427 (1992).
44. Roof, R.I., Fritts, M.E., Progesterone metabolites may mediate its neuroprotective effects after traumatic brain injury. *Neurotrauma*, 14:760 (1997).
45. Djebaili, M., S.W. Hoffman, and D.G. Stein, Allopregnanolone and progesterone decrease cell death and cognitive deficits after a contusion of the rat pre-frontal cortex. *Neuroscience*, 123(2):349-59 (2004).
46. VanLandingham, J.W., M. Cekic, S. Cutler, S.W. Hoffman, and D.G. Stein, Neurosteroids reduce inflammation after TBI through CD55 induction. *Neurosci Lett*, 425(2):94-8 (2007).
47. Guo, Q., I. Sayeed, L.M. Baronne, S.W. Hoffman, R. Guennoun, and D.G. Stein, Progesterone administration modulates AQP4 expression and edema after traumatic brain injury in male rats. *Exp Neurol*, 198(2):469-78 (2006).

[0537]

48. Jiang, N., M. Chopp, D. Stein, and H. Feit, Progesterone is neuroprotective after transient middle cerebral artery occlusion in male rats. *Brain Res*, 735(1):101-7 (1996).
49. Roof, R.L., Duvdevani R Heyburn JW, Stein DG. Progesterone reduces BBB damage following bilateral, medial frontal contusion. in Twenty-first Annual Meeting of the Society for Neuroscience. Miami Beach FL. (1994)
50. Roof, R.L., R. Duvdevani, L. Braswell, and D.G. Stein, Progesterone facilitates cognitive recovery and reduces secondary neuronal loss caused by cortical contusion injury in male rats. *Exp Neurol*, 129(1):64-9 (1994).
51. Ghomari, A.M., C. Ibanez, M. EI-Etr, P. Leclerc, B. Eychenne, B.W. O'Malley, E.E. Baulieu, and M. Schumacher, Progesterone and its metabolites increase myelin basic protein expression in organotypic slice cultures of rat cerebellum. *J Neurochem*, 86(4):848-59 (2003).
52. Ibanez, C., S.A. Shields, M. EI-Etr, E. Leonelli, V. Magnaghi, W.W. Li, F.J. Sim, E.E. Baulieu, R.C. Melcangi, M. Schumacher, and R.J. Franklin, Steroids and the reversal of age-associated changes in myelination and remyelination. *Prog Neurobiol*, 71(1):49-56 (2003).
53. Gibson, C.L., L.J. Gray, P.M. Bath, and S.P. Murphy, Progesterone for the treatment of experimental brain injury; a systematic review. *Brain*, 131(Pt 2):318-28 (2008).
54. Sayeed, I. and D.G. Stein, Progesterone as a Neuroprotective Factor in Traumatic and Ischemic Brain Injury, in *Neurotherapy*, J. Verhaagen, et al., Editors., Elsevier: New York. in press (2009)
55. Stein, D.G. and P.D. Hurn, Effects of Sex Steroids on Damaged Neural Systems, in *Hormones, Brain and Behavior*, D.W. Pfaff, et al., Editors., Elsevier: Oxford. p. 2223-2258 (2009).
56. Wright, D.W., A.L. Kellermann, V.S. Hertzberg, P.L. Clark, M. Frankel, F.C. Goldstein, J.P. Salomone, L.L. Dent, O.A. Harris, D.S. Ander, D.W. Lowery, M.M. Patel, D.D. Denson, A.B. Gordon, M.M. Wald, S. Gupta, S.W. Hoffman, and D.G. Stein, ProTECT: A Randomized Clinical Trial of Progesterone for Acute Traumatic Brain Injury. *Ann Emerg Med*, 49 (4):391-402 (2007)

[0538]

57. Xiao, G., J. Wei, W. Yan, W. Wang, and Z. Lu, Improved outcomes from the administration of progesterone for patients with acute severe traumatic brain injury: a randomized controlled trial. *Crit Care*, 12(2):R61 (2008).
58. Sayeed, I., Q. Guo, S.W. Hoffman, and D.G. Stein, Allopregnanolone, a progesterone metabolite, is more effective than progesterone in reducing cortical infarct volume after transient middle cerebral artery occlusion. *Ann Emerg Med*, 47(4):381-9 (2006).
59. Sayeed, I., B. Wali, and D.G. Stein, Progesterone inhibits ischemic brain injury in a rat model of permanent middle cerebral artery occlusion. *Restor Neurol Neurosci*, 25(2):151-9 (2007).
60. Gonzalez-Vidal, M.D., M. Cervera-Gaviria, R. Ruelas, A. Escobar, G. Morali, and M. Cervantes, Progesterone: protective effects on the cat hippocampal neuronal damage due to acute global cerebral ischemia. *Arch Med Res*, 29(2):117-24 (1998).
61. Cervantes, M., M.D. Gonzalez-Vidal, R. Ruelas, A. Escobar, and G. Morali, Neuroprotective effects of progesterone on damage elicited by acute global cerebral ischemia in neurons of the caudate nucleus. *Arch Med Res*, 33(1):6-14 (2002).
62. Chen, J., M. Chopp, and Y. Li, Neuroprotective effects of progesterone after transient middle cerebral artery occlusion in rat. *J Neurol Sci*, 171(1):24-30 (1999).
63. Baulieu, E.E., P. Robel, and M. Schumacher, eds. *Neurosteroids A new regulatory function in the Nervous System.*, Humana Press Inc.: Totawa, New Jersey. 396 (1999).
64. Jung-Testas, I. and E.E. Baulieu, Steroid hormone receptors and steroid action in rat glial cells of the central and peripheral nervous system. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 65(1-6):243-51 (1998).
65. Leonelli, E., R. Bianchi, G. Cavaletti, D. Caruso, D. Crippa, L.M. Garcia-Segura, G. Lauria, V. Magnaghi, I. Roglio, and R.C. Melcangi, Progesterone and its derivatives are neuroprotective agents in experimental diabetic neuropathy: A multimodal analysis. *Neuroscience*, 144(4):1293-304 (2007).

[0539]

66. Garay, L., M.C. Deniselle, A. Lima, P. Roig, and A.F. De Nicola, Effects of progesterone in the spinal cord of a mouse model of multiple sclerosis. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 107(3-5):228-37 (2007).

[0540]

[0541]

67. Kuebler, J.F., D. Jarrar, K.I. Bland, L. Rue, 3rd, P. Wang, and I.H. Chaudry, Progesterone administration after trauma and hemorrhagic shock improves cardiovascular responses. *Crit Care Med*, 31(6):1786-93 (2003).

[0542]

68. Milner, B., P.S. Goldman, G.E. Schneider, and G.S. Lynch, Developmental processes in neural plasticity. *Neurosci Res Program Bull*, 12(2):212-233 (1974).

[0543]

69. Schumacher, M., R. Guennoun, D.G. Stein, and A.F. De Nicola, Progesterone: therapeutic opportunities for neuroprotection and myelin repair. *Pharmacol Ther*, 116(1):77-106 (2007).

[0544]

70. http://www.cdc.gov/traumaticbraininjury/pdf/Prisoner_TBI_Prof-a.pdf에서 Traumatic Brain Injury in

Prisons and Jails: An Unrecognized Problem

- [0545] 71. http://www.cdc.gov/traumaticbraininjury/pdf/BlueBook_factsheet-a.pdf에서 Get the Stats on Traumatic Brain Injury in the United States
- [0546] 72. http://www.cdc.gov/traumaticbraininjury/pdf/NictimizationTBI_Facr/020Sheet4Pros-a.pdf에서 Victimization of Persons with Traumatic Brain Injury or Other Disabilities: A Fact Sheet for Professionals
- [0547] 73. http://www.cdc.gov/traumaticbraininjury/pdf/NictimizationPerson_Facr/020Sheet4FrdsFa1-a.pdf에서 Victimization of Persons with Traumatic Brain Injury or Other Disabilities: A Fact Sheet for Friends and Families
- [0548] 74. http://www.cdc.gov/traumaticbraininjury/pdf/Report_to_Congress_on_Traumatic_Brain_Injury_2013-a.pdf에서 Report to Congress on Traumatic Brain Injury in the United States: Understanding the Public Health Problem among Current and Former Military Personnel (June 2013)
- [0549] 75. Schatz P, Moser RS.: Current issues in pediatric sports concussion. Clin Neuropsychol; 25:1042-57 (2011).
- [0550] 76. Zhao L, Han W, Steiner C.: Sports related concussions, Statistical brief no. 114. Rockville, MD (2008):
- [0551] 77. <http://www.hcup-us.ahrq.gov/reports/statbriefs/sb114.jsp>External Web Site Icon. (2011)에서 입수 가능한 Agency for Healthcare Research and Quality, Healthcare Cost and Utilization Project, 2011년 10월 5일자로 액세스.
- [0552] 78. CDC. Nonfatal traumatic brain injuries from sports and recreation activities--United States, 2001-2005. MMWR; 56:733-7 (2007).
- [0553] 79. McCrory P, Meeuwisse W, Johnston K, et al.: Consensus statement on concussion in sport---the 3rd International Conference on Concussion in Sport, held in Zurich, November 2008. J Clin Neurosci;16:755-63 (2009). Schroeder T, Ault K.: eds. The NEISS sample (design and implementation): 1997 to present. Bethesda, MD: US Consumer Product Safety Commission; <http://www.cpsc.gov/neiss/2001d011-6b6.pdf> Adobe PDF fileExternal Web Site Icon (2001)에서 입수 가능. 2011년 10월 1일자로 액세스.
- [0554] 80. Proctor MR, Cantu RC.: Head and neck injuries in young athletes. Clin Sports Med; 19:693-715 (2000)
- [0555] 81. CDC. Concussion in sports: what can I do to prevent concussions? Atlanta, GA: US Department of Health and Human Services, CDC (2011). <http://www.cdc.gov/concussion/sports/prevention.html>에서 입수 가능. 2011년 10월 3일자로 액세스. 93
- [0556] 82. Buzzini SR, Guskiewicz KM.: Sport-related concussion in the young athlete. Curr Opin Pediatr;18:376-82 (2006).
- [0557] 83. Langlois JA, Rutland-Brown W, Wald MM: The epidemiology and impact of traumatic brain injury. J Head Trauma Rehabil; 21:375-8 (2006).
- [0558] **참고에 의한 편입**
- [0559] 본 명세서에 인용된 모든 특허, 공개된 특허 출원 및 기타 인용문헌의 전체 내용은 참고로 그들의 전문이 본 명세서에 명확하게 편입된다.
- [0560] **균등론**
- [0561] 당업자는 단지 일상적인 실험, 수많은 동등물을 이용하여 본 명세서에 기재한 특정 절차에 대해 인식하거나 또는 확인할 수 있다. 이러한 동등물은 본 발명의 범주 내인 것으로 고려되며, 다음의 청구범위에 의해 포함된다.