



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201322986 A1

(43)公開日：中華民國 102 (2013) 年 06 月 16 日

(21)申請案號：101140872

(22)申請日：中華民國 101 (2012) 年 11 月 02 日

(51)Int. Cl.：

A61K31/585 (2006.01)

C07J53/00 (2006.01)

A61P15/00 (2006.01)

(30)優先權：2011/11/04

世界智慧財產權組織

PCT/EP2011/069464

2012/07/23

德國

102012212838.7

(71)申請人：拜耳製藥公司 (德國) BAYER PHARMA AKTIENGESELLSCHAFT (DE)

德國

拜耳知識產權公司 (德國) BAYER INTELLECTUAL PROPERTY GMBH (DE)

德國

(72)發明人：賀伯納 珍 HUBNER, JAN (DE)；鮑爾曼 羅夫 BOHLMANN, ROLF (DE)；葛斯

瓦 伊莎貝拉 GASHAW, ISABELLA (DE)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：7 項 圖式數：2 共 32 頁

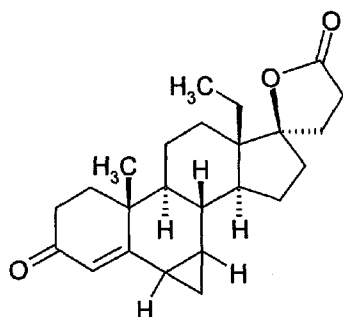
(54)名稱

18-甲基-6,7-亞甲基-3-氧基-17-妊-4-烯-21,17 $\beta$ -羧內酯、包含該化合物之醫療製劑及其於治療子宮內膜異位症之用途

18-METHYL-6,7-METHYLENE-3-OXO-17-PREGN-4-ENE-21,17 $\beta$ -CARBOLACTONES,  
PHARMACEUTICAL PREPARATIONS CONTAINING SAID COMPOUNDS AND USE THEREOF IN  
THE TREATMENT OF ENDOMETRIOSIS

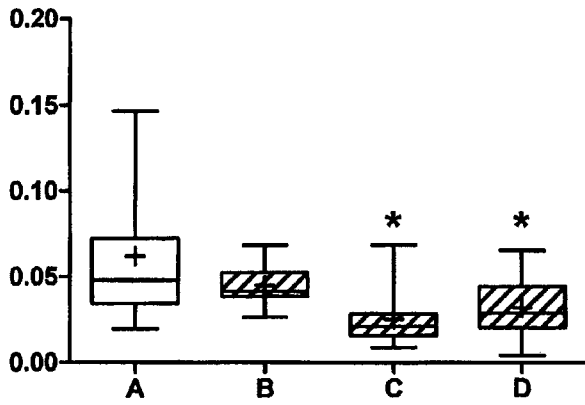
(57)摘要

本發明係關於通式 I 之 18-甲基-6,7-亞甲基-17-妊-4-烯-21,17 $\beta$ -羧內酯



式 I

其中該 6,7-亞甲基可在  $\alpha$ -或  $\beta$  位置；包含式 I 之至少一種異構體之醫療製劑；及其在治療子宮內膜異位症中之用途。



展示在用測試物質 6 治療後，異種移植子宮內膜異位症模型中之病變大小

Y 軸：治療後異種移植子宮內膜異位症模型(將靈長類子宮內膜移植至 SCID 小鼠中)中之病變重量

X 軸：組：A=媒劑，B/C/D =0.3/1.0/3.0 mg/kg 皮下投與之測試物質 6。

\* $p < 0.05$ ，ANOVA，事後(post-hoc)Dunnett



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201322986 A1

(43)公開日：中華民國 102 (2013) 年 06 月 16 日

(21)申請案號：101140872

(22)申請日：中華民國 101 (2012) 年 11 月 02 日

(51)Int. Cl.：

A61K31/585 (2006.01)

C07J53/00 (2006.01)

A61P15/00 (2006.01)

(30)優先權：2011/11/04

世界智慧財產權組織

PCT/EP2011/069464

2012/07/23

德國

102012212838.7

(71)申請人：拜耳製藥公司 (德國) BAYER PHARMA AKTIENGESELLSCHAFT (DE)

德國

拜耳知識產權公司 (德國) BAYER INTELLECTUAL PROPERTY GMBH (DE)

德國

(72)發明人：賀伯納 珍 HUBNER, JAN (DE)；鮑爾曼 羅夫 BOHLMANN, ROLF (DE)；葛斯

瓦 伊莎貝拉 GASHAW, ISABELLA (DE)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：7 項 圖式數：2 共 32 頁

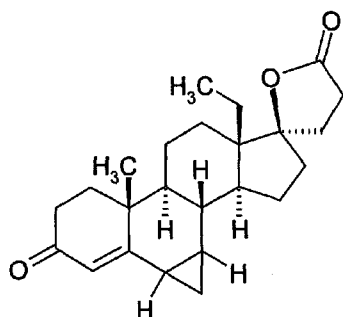
(54)名稱

18-甲基-6,7-亞甲基-3-氧基-17-妊-4-烯-21,17 $\beta$ -羧內酯、包含該化合物之醫療製劑及其於治療子宮內膜異位症之用途

18-METHYL-6,7-METHYLENE-3-OXO-17-PREGN-4-ENE-21,17 $\beta$ -CARBOLACTONES,  
PHARMACEUTICAL PREPARATIONS CONTAINING SAID COMPOUNDS AND USE THEREOF IN  
THE TREATMENT OF ENDOMETRIOSIS

(57)摘要

本發明係關於通式 I 之 18-甲基-6,7-亞甲基-17-妊-4-烯-21,17 $\beta$ -羧內酯



式 I

其中該 6,7-亞甲基可在  $\alpha$ -或  $\beta$  位置；包含式 I 之至少一種異構體之醫療製劑；及其在治療子宮內膜異位症中之用途。

# 發明專利說明書

修正  
補充  
102年2月27日

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號：| 0 1 1 4 0 8 7 2

A61K31/585 (2006.01)

※ 申請日： 101.11.02

※IPC 分類：C07J53/00 (2006.01)

A61P15/00 (2006.01)

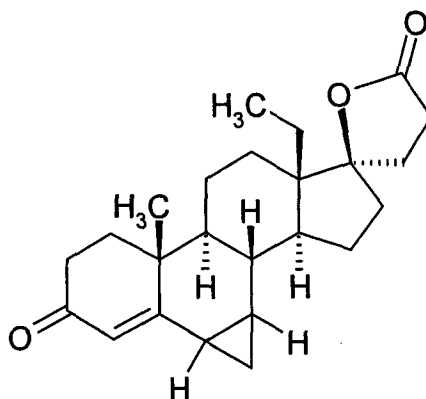
## 一、發明名稱：(中文/英文)

18-甲基-6,7-亞甲基-3-氧基-17-妊-4-烯-21,17 $\beta$ -羧內酯、包含該化合物之醫療製劑及其於治療子宮內膜異位症之用途

18-METHYL-6,7-METHYLENE-3-OXO-17-PREGN-4-ENE-21,17 $\beta$ -CARBOLACTONES, PHARMACEUTICAL PREPARATIONS CONTAINING SAID COMPOUNDS AND USE THEREOF IN THE TREATMENT OF ENDOMETRIOSIS

## 二、中文發明摘要：

本發明係關於通式 I 之 18-甲基-6,7-亞甲基-17-妊-4-烯-21,17 $\beta$ -羧內酯

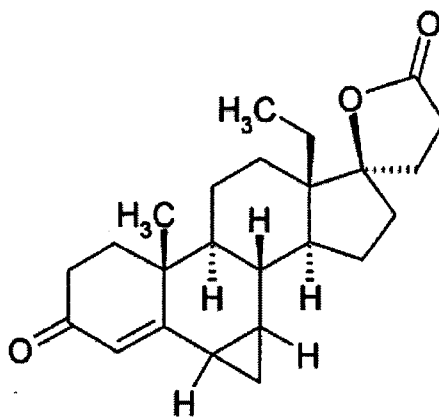


式 I

其中該 6,7-亞甲基可在  $\alpha$ -或  $\beta$  位置；包含式 I 之至少一種異構體之醫療製劑；及其在治療子宮內膜異位症中之用途。

## 三、英文發明摘要：

The present invention relates to 18-methyl-6,7-methylene-17-pregn-4-ene-21,17 $\beta$ -carbolactones of general formula I



Formula I

wherein the 6,7-methylene group can be in  $\alpha$ - or  $\beta$  position, pharmaceutical preparations containing at least one isomer of formula I and use thereof in the treatment of endometriosis.

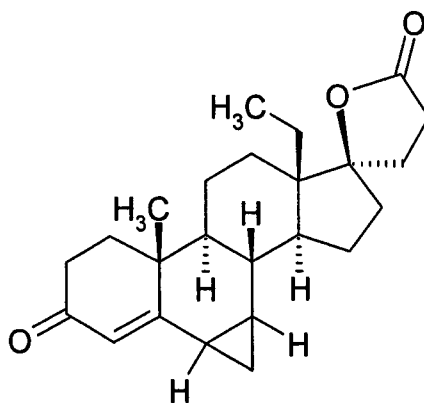
#### 四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第(1)圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

(無元件符號說明)

#### 五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

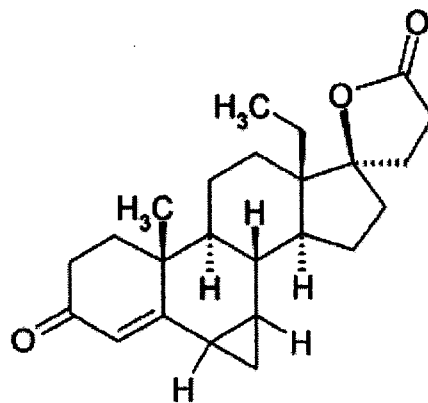


式 I

## 六、發明說明：

### 【發明所屬之技術領域】

本發明係關於本專利申請專利範圍中所描述之目標，即18-甲基-6,7-亞甲基-3-氧基-17-妊-4-烯-21,17 $\beta$ -羧內酯(式I)，其中類固醇骨架之位置6,7中之亞甲基可在 $\alpha$ 或 $\beta$ 位置；包含所述異構體中至少一者之醫療製劑；及其在治療子宮內膜異位症中之用途。



式 I

### 【先前技術】

欲藉由本發明解決之問題係提供用於治療子宮內膜異位症之展現比當前可用療法更佳之作用或副作用型態之新穎化合物。具體而言，藉由本發明化合物應使得可持久或長期治療子宮內膜異位症。

此外，新穎治療方法應避免(例如)在使用促孕素治療子宮內膜異位症時產生之副作用，例如出血紊亂。

業內已廣泛研究且闡述了子宮內膜異位症之臨床狀況，但致病機制仍未完全瞭解。子宮內膜異位症係子宮內膜組織在子宮腔區以外位置之生長。該等所謂的子宮內膜異位

病變發生於子宮肌肉區域中(內在性子宮內膜異位症、子宮內肌腺症)或發生於腹腔中多個位點處(例如發生於子宮直腸窩(Douglas pouch)體壁腹膜上之韌帶處(腹膜子宮內膜異位症)，發生於卵巢上之腸壁處(所謂的子宮內膜瘤)或發生於直腸陰道中(直腸陰道子宮內膜異位症，通常亦係深度浸潤型子宮內膜異位症))，且保留其原始組織性質。

在其所有各種表現中，子宮內膜異位症具有激素依賴性且展現基本發炎性特徵。其影響10-20%之育齡女性。該疾病極少見於停經後女性。子宮內膜異位症之核心症狀係慢性下腹部疼痛、痛經、性感不快、排尿困難、出血病症及不孕。該等症狀大多組合發生。據推測，病變經由所謂的逆行月經經輸卵管進入腹膜空間且然後植入其中。

當前用於治療已診斷子宮內膜異位症之治療方法非常有限。

因此，可藉由在腹腔鏡檢查程序中手術移除子宮內膜異位病變來治療子宮內膜異位症。利用熱量(電灼)或藉由切除(摘除)來手術移除子宮內膜異位病灶。此外，亦可分離所存在任何黏連物，可移除子宮內膜異位囊腫，且若患者希望生孕，則可藉由染色輸卵管灌注法測試輸卵管之開放性。然而，該手術後之復發率極高(25-30%)。子宮切除術(即完全移除子宮)係該等尤其難治的病例中之最後治療選擇。

在尤其嚴重的疾病中，有時僅移除卵巢及輸卵管二者(兩側輸卵管-卵巢切除術，子宮附件器官切除術)即可明顯



緩解症狀。

亦可利用子宮切除術成功治療由子宮肌系中之子宮內膜異位症(子宮內肌腺症)引起之月經疼痛及出血延長或加劇。

然而，該等手術導致不孕及提早停經以及相關問題，因此必須仔細權衡益處與缺點。

除侵入性手術程序外，亦可考慮藥物療法。此藥物療法通常係在大面積受影響時考慮，此可能並非完全可操作，但亦可應用於輕度至中度疾病之情形中。除了利用非類固醇抗炎藥物(NSAID)之單純疼痛療法外，基本上亦可考慮以下四類物質：

- (a)組合口服避孕藥(OC，由雌激素及促孕素組成)
- (b)促孕素
- (c) GnRH類似物(GnRH=促性腺激素釋放激素)以及
- (d) Danazol<sup>®</sup>。

組合口服避孕藥(a)調節月經週期且降低月經強度。此可能解釋其在子宮內膜異位症患者中之功效。然而，假定一方面疼痛症狀之復發率極高，且另一方面新研究表明，多年來該等激素活性物質之使用與深度浸潤型子宮內膜異位症(尤其疼痛型子宮內膜異位症)之比率增加相關。<sup>1</sup>

OC之使用亦闡述於專利文獻中。因此，EP 1257280揭示，微粒化屈螺酮(drospirenone)適於治療子宮內膜異位症。在該專利之段落[0045]中闡述，含有低含量雌激素或

<sup>1</sup> Chapron 等人，Hum Reprod. 2011 年 8 月；26(8):2028-35

甚至無任何雌激素之屈螺酮組合物尤其適於治療子宮內膜異位症。此係藉由屈螺酮之促孕性來解釋。在EP 1257280中闡述屈螺酮之0.5 mg至10 mg之量有效。此文件未揭示任何關於利用屈螺酮治療子宮內膜異位症之持續時間之內容。

在WO 2008/107373 A1中闡述用以製造用於治療子宮內膜異位症之藥品之鹽皮質激素受體拮抗劑。除了使用具有單純抗鹽皮質激素作用之化合物以外，該文獻中亦提出另外亦對黃體酮受體、雌激素受體、糖皮質激素受體及/或雄激素受體發揮作用之化合物。具體而言，揭示於WO 2008/107373 A1中之化合物螺甾內酯及上述屈螺酮亦具有促孕作用。

在WO 2008/107373 A1中作為純MR拮抗劑提及之化合物依普利酮(eplerenone)展現相對較弱之活體外效能(參見表1)。在活體外反式活化分析中IC<sub>50</sub>為依普利酮之至多1/10之MR拮抗劑較佳。

除屈螺酮外[0013]，其他促孕素(b)亦闡述於子宮內膜異位症之治療中。此一方面係基於對卵巢功能之阻抑且另一方面係基於使子宮內膜發生最終導致組織壞死之最後分化(蛻膜化)。

在促孕素作用下，身體「相信」懷孕已開始且此造成激素環境變化。不再排卵且子宮黏膜復舊。一般而言，然後子宮內膜異位症症狀在6週至8週內減退。

已批准Depot-MPA (乙酸甲羥孕酮)及Visanne<sup>®</sup>(地諾孕素

(dienogest))用於子宮內膜異位症治療。在MPA之情形下，由於化合物之抗雌激素作用，故在使用6個月之持續時間之後骨量可能已有所減少。因此，其決不應使用長於2年之時間<sup>2</sup>。此外，在利用促孕素治療期間，常見副作用係出血特徵不規則、突破性出血及乳房壓痛<sup>3</sup>。

通常，除激素週期外，促孕素亦影響出血特徵，其中出血病症為促孕素之常見副作用。此亦適用於對其他激素受體有活性且同時具有促孕活性之物質，例如螺甾內酯。在子宮內膜蛻膜化期間，血管壁由於異常血管生成(新血管形成，此過程在子宮內膜中週期性地發生)，而變脆弱，且發生所謂的突破性出血(與月經出血無關)且其係利用促孕素進行長期治療之特徵<sup>4</sup>。

子宮內膜異位症患者亦通常具有所謂的相對黃體酮抗性<sup>5</sup>。假定在子宮內膜異位病變中可擾亂黃體酮信號傳導，且黃體酮抗性阻斷子宮內膜之完全轉換及脫落。因此可促進病變之持久性及疾病之長期過程。需要作用不依賴於黃體酮信號傳導之治療方法以持久治療疾病。

當前促性腺激素釋放激素類似物(GnRH)(c)代表抵抗子宮內膜異位症所有階段之已批准治療劑之黃金標準。

<sup>2</sup> Physician Information for depo-subQ provera 104; Subcutaneous depot medroxyprogesterone acetate versus leuprolide acetate in the treatment of endometriosis-associated pain; P.G.Crosignani 等人，Human Reproduction 第 21 卷，第 1 號，第 248-256 頁，2006

<sup>3</sup> Brown 等人，Cochrane Database Syst Rev. 2012 年 3 月 14 日;3:CD002122.; McCormack **Drugs**. 2010 第 12 卷; 70(16):2073-88

<sup>4</sup> Lockwood, **Menopause**. 2011 年 4 月;18(4):408-11

<sup>5</sup> Al-Sabbagh 等人，**Mol Cell Endocrinol**. 2012 年 7 月 25 日;358(2):208-15

GnRH類似物完全阻斷腦垂腺。不再發生月經週期。因此，該等物質人為地使女性身體暫時轉變為停經期，且因此子宮內膜異位症組織亦可不再出血。組織變得營養不良。

然而，此治療方法由於副作用型態而亦僅適於短期使用(至多6個月)。因此，GnRH激動劑誘發停經後症狀，例如熱潮紅(80-90%)、睡眠障礙(60-90%)、陰道乾燥症(30%)、頭痛(20-30%)、情緒改變(10%)及骨密度降低以及相關之骨質疏鬆症風險增加。

除上述副作用外，在完成治療後，正常週期在2至3個月內恢復。在超過60%之受影響女性中，之後子宮內膜異位症症狀亦恢復，從而必須考慮重複治療週期。

由於上述缺點，即使GnRH類似物已因具有略佳副作用型態而取代於1970年代確立之Danazol<sup>®</sup>(促孕雄激素)標準療法，但其迄今仍未廣泛應用於子宮內膜異位症治療中。

Danazol<sup>®</sup> (d)係用於治療子宮內膜異位症之第一種「經典」藥劑，且在1970年代之前一直係黃金標準。在長期使用時，Danazol<sup>®</sup>如雄性激素睪固酮一般致使女性男性化。其他副作用係已知之雄激素效應，例如痤瘡、雄性素過多症、多毛症及聲音音高之(不可逆)改變。

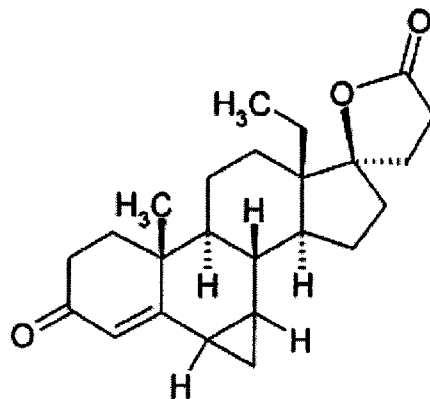
Danazol<sup>®</sup>如GnRH激動劑一般作用於負責產生刺激卵巢之激素之腦垂腺。因此，停止在卵巢中產生雌激素。

因此，急需允許非侵入性治療子宮內膜異位症且無先前技術之缺點之替代製劑。

因此，欲藉由本發明解決的一個問題係提供克服先前技術之缺點、具體而言避免由促孕素所造成副作用(例如出血病症)或由雌激素不足所造成效應(例如骨量損失及抑鬱)之新穎物質，即欲藉由本發明解決的問題係提供非促孕物質。

欲藉由本發明解決的另一問題係提供用於長期治療且具有改良副作用型態之物質。

已發現式I化合物



式I

能解決上述問題且非常適用於子宮內膜異位症之治療。  
6 $\beta$ ,7 $\beta$ -亞甲基異構體尤佳。在2012年11月4日申請之WO 2012/059594 (圖4及圖5)中首次提及兩種異構體，且本申請案主張其優先權。

### 【發明內容】

因此本發明係關於式I化合物、包含式I之至少一種異構體之醫療製劑及其在治療子宮內膜異位症中之用途。

令人驚訝的是，即使結構上極為相似之化合物(如(例如)

Muhn等人<sup>6</sup>或Kuhnz等人<sup>7</sup>所揭示)具有促孕性質(參見實例5表1中之2號及3號),該等化合物(更詳細地闡述於實例5表1之1號(鹽皮質激素及黃體酮受體之活體外反式活化數據,活體內促孕作用)中之6 $\beta$ ,7 $\beta$ 異構體及更詳細地闡述於實例5表1之1A號中之6 $\alpha$ ,7 $\alpha$ 異構體二者)在相關動物模型中未展現任何促孕功效。具體而言,令人驚訝的是,在類固醇主鏈位置18插入額外甲基後未觀察到活體內促孕效能之增加(此為熟習此項技術者所熟知),如在比較實例5表1中之1號及2號對3號及4號條目後可見。

上述化合物(且具體而言為6 $\beta$ ,7 $\beta$ 異構體)展示優於迄今可用治療之作用及副作用型態,且因此係抵抗子宮內膜異位症之更佳治療劑。

此外,與已知鹽皮質激素受體拮抗劑(依普利酮、螺甾內酯、屈螺酮)相比,本發明化合物之特徵在於更高效能且無促孕作用。

將在活體外反式活化分析中IC<sub>50</sub>為依普利酮之1/10之化合物定義為在本發明意義上有效鹽皮質激素受體拮抗劑。

無顯著促孕活性之鹽皮質激素受體拮抗劑係在活體外黃體酮受體反式活化分析及/或在活體內分析(用於懷孕維持之促孕素敏感分析)中不展現任何作用之物質。

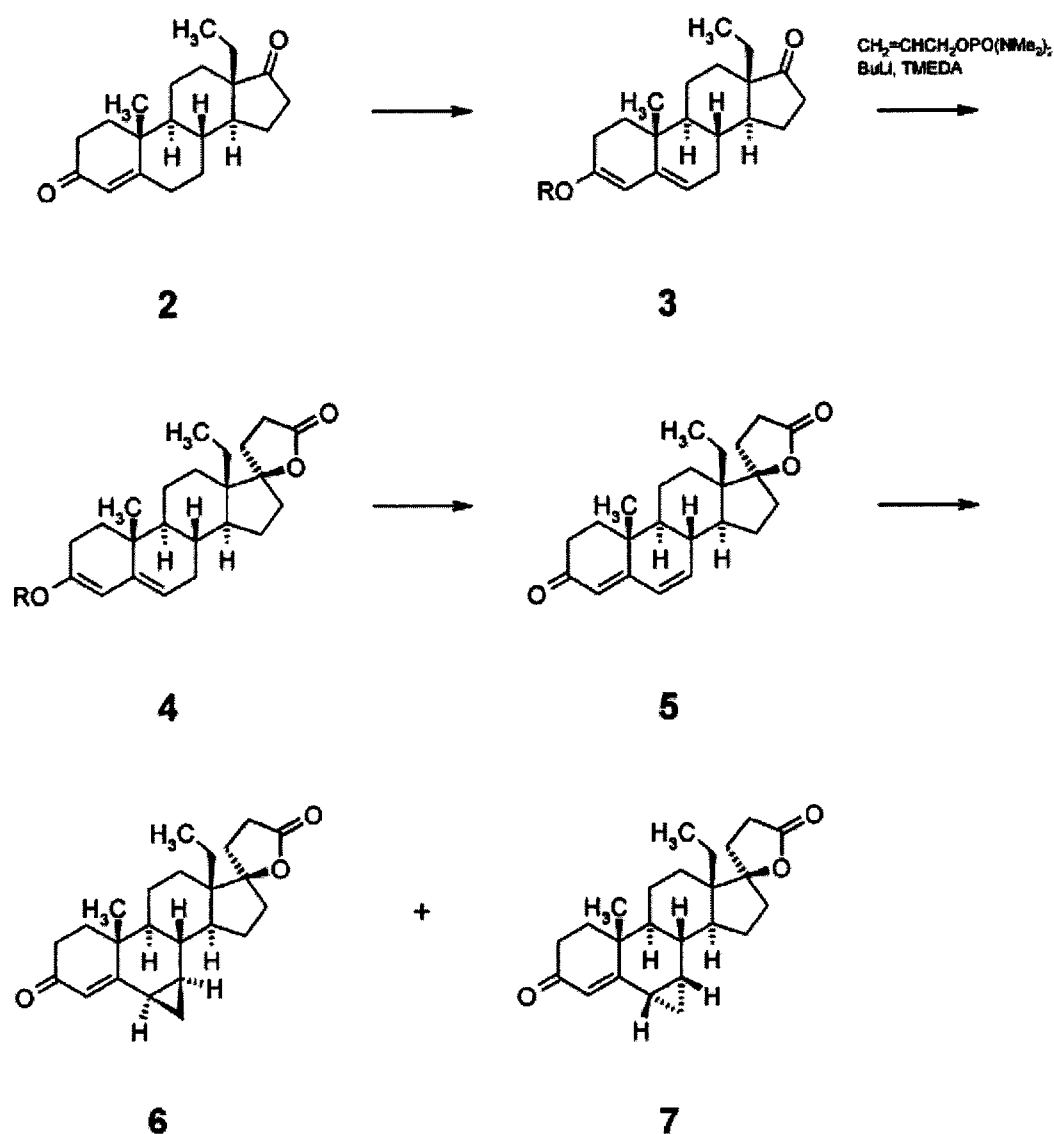
### 【實施方式】

本發明之可用化合物係如下所述來產生。根據反應圖1

<sup>6</sup> Muhn 等人, Contraception 1994, 51:99-110

<sup>7</sup> Kuhnz 等人, Contraception 1995, 51(2):131-139

之新穎 18-甲基-6,7-亞甲基-3-氧基-17-妊-4-烯-21,17 $\beta$ -羧內酯之合成途徑開始於(例如) Endion<sup>8</sup> 2。



反應圖 1

二烯醇醚 3 係藉由用已知方法使 Endion 2 異構醚化來產生，例如，對於 R = -甲基之二烯醇醚 3，用 2,2-二甲氧基丙烷及對甲苯-磺酸吡啶鎘進行異構醚化，且螺甾內酯 4 係藉由(例如) Sturtz 方法<sup>9</sup>或另一選擇為藉由已知方法<sup>10</sup>來產

<sup>8</sup> Kerb, *Ger. Offen.* (1970), DE 1921396, CAS [31320-40-8]

<sup>9</sup> Sturtz *Synthesis* 1980, 289

<sup>10</sup> Bittler *Angew. i.e.* 21 1982, 696; Laurent *J. Steroid Biochem.* 19 1983, 771

生。經由溴化3,5-二烯醇醚4且隨後裂解溴化氫來引入6,7-雙鍵<sup>11</sup>。

二烯醇-醚溴化可以(例如)類似於J.A. Zderic等人<sup>12</sup>之規範之方式來實施。藉由將6-溴化合物在50°C至120°C溫度下與鹼性試劑(例如溴化鋰或碳酸鋰)一起在非質子性溶劑(例如二甲基甲醯胺)中加熱或藉由在諸如柯林鹼(collidine)或二甲吡啶等溶劑中加熱6-溴化合物來分裂溴化氫，從而得到化合物5<sup>13</sup>。然後藉由已知方法用(例如)二甲基·亞甲基氧硫鎗將6,7-雙鍵環丙烷化[例如，參見DE-A 11 83 500、DE-A 29 22 500、EP-A 0 019 690、US-A 4,291,029；E. J. Corey及M. Chaykovsky, J. Am. Chem. Soc. 84, 867 (1962)]而將此化合物5轉化成本發明式I化合物，即式6及7之立體異構體。可藉由(例如)層析將6,7- $\alpha$ -立體異構體與 $\beta$ -立體異構體之混合物分離成個別異構體。

可將活性物質與常用賦形劑混合。藉由本身為熟習此項技術者已知之方式調配鹽皮質激素受體拮抗劑。

治療上有效劑量取決於體重、施用途徑、個體反應、製劑類型及進行施用時之時間點或時間間隔。70 kg體重女性之典型劑量範圍係介於1 mg/天與100 mg/天之間，較佳介於5 mg/天與20 mg/天之間。10 mg/天之劑量尤佳。

本發明進一步係關於包含至少一種本發明化合物及視情況至少一或多種其他活性物質之藥品以及其用於治療子宮

<sup>11</sup> J. Fried, J.A. Edwards, *Organic Reactions in Steroid Chemistry*, von Nostrand Reinhold Company 1972, S. 265-374

<sup>12</sup> J.A. Zderic, Humberto Carpio, A. Bowers and Carl Djerassi in *Steroids* 1, 233 (1963)

<sup>13</sup> Strike in FR 1529949 (1968), CAS[23675-27-6]



內膜異位症之用途。作為適宜組合活性物質，例如且較佳可提及：選擇性雌激素受體調節劑(SERM)、雌激素受體(ER)拮抗劑、芳香酶抑制劑、 $17\beta$ -HSD1抑制劑、類固醇硫酸酯酶(STS)抑制劑、適宜GnRH激動劑(尤其超激動劑)及拮抗劑、吻素(kisspeptin)受體(KISSR)拮抗劑、選擇性雄激素受體調節劑(SARM)、 $5\alpha$ -還原酶抑制劑、選擇性黃體酮受體調節劑(SPRM)、促孕素、抗促孕素、口服避孕藥、促有絲分裂原活化蛋白(MAP)激酶抑制劑及MAP激酶激酶(Mkk3/6、Mek1/2、Erk1/2)抑制劑、蛋白激酶B(PKB $\alpha/\beta/\gamma$ ；Akt1/2/3)抑制劑、磷酸肌醇-3-激酶(PI3K)抑制劑、細胞週期蛋白依賴性激酶(CDK1/2)抑制劑、低氧誘發性信號傳導途徑抑制劑(HIF1 $\alpha$ 抑制劑，脯胺酸羧化酶活化劑)、組蛋白去乙酰基酶(HDAC)抑制劑、前列腺素F受體(FP)(PTGFR)拮抗劑或非類固醇抗炎藥物(NSAID)。

本發明化合物可具有全身及/或局部作用。出於此目的，其可以適宜途徑施加，例如經口、非經腸、經肺、經鼻、舌下、經舌、經頰、經直腸、經真皮、經皮、經結膜、局部或以植入物形式。

對於該等施用途徑而言，可將欲根據本發明使用之化合物轉換為適宜的施用形式。

若除了本發明式I化合物外亦存在其他活性物質，則該等物質可以常見施用形式來調配或亦可視情況以組合藥劑形式投與。

包含呈結晶形式及/或非晶化形式及/或溶解形式之本發

明化合物之劑型適於經口施用，例如錠劑(未經包衣或包衣錠劑，例如具有腸溶包衣或緩慢溶解或不可溶包衣，其控制欲根據本發明使用之化合物之釋放)、在口腔中快速崩解之錠劑或膜/薄片、膜/凍乾物、膠囊(例如硬或軟明膠膠囊)、糖包衣丸劑、顆粒、圓粒、粉末、乳液、懸浮液、氣溶膠或溶液，其根據先前技術起作用且迅速及/或改良釋放與根據本發明使用之化合物。

實施非經腸施用可避開吸收步驟(例如靜脈內、動脈內、心內、脊柱內或腰髓內施用)或包括吸收(例如肌內、皮下、皮內、透皮或腹膜腔內施用)。呈溶液、懸浮液、乳液、凍乾物或無菌粉末形式之注射及輸注用製劑尤其適宜作為非經腸施用之劑型。

例如，用於吸入之醫療形式(尤其粉末吸入劑、霧化劑)、滴鼻劑、溶液或噴霧劑、用於經舌、經舌下或經頰施用之錠劑、膜/薄片或膠囊、栓劑、陰道膠囊、水性懸浮液(洗劑、振盪合劑(shaking mixture))、親脂性懸浮液、軟膏、乳霜、經皮治療系統(例如貼片)、乳、膏糊、泡沫、撒粉劑或植入物適於其他施用途徑。

經口或非經腸施用、尤其經口及靜脈內施用較佳。

可將欲根據本發明使用之化合物轉換為上述劑型。此可以本身已知之方式藉由與惰性、非毒性、醫療上適宜的賦形劑混合來達成。該等賦形劑尤其包括載劑(例如微晶纖維素、乳糖、甘露醇)、溶劑(例如液體聚乙二醇)、乳化劑及分散劑或潤濕劑(例如十二烷基硫酸鈉、聚氧山梨醇酐

油酸酯)、黏合劑(例如聚乙烯吡咯啉酮)、合成及天然聚合物(例如白蛋白)、穩定劑(例如抗氧化劑,例如抗壞血酸)、著色劑(例如無機顏料,例如氧化鐵)及矯味劑及/或矯臭劑。

然而,可視情況、即端視體重、施用途徑、對活性物質之個體反應、製劑類型及進行施用時之時間點或間隔而定,需要偏離所述量。因此,在一些情形下,可能使用少於上述最低量之量即已足夠,而在其他情形下,可能必需超出所述上限。對於較大量投與而言,可適當地將該等量分配在全天中之若干個別劑量中。

如在子宮內膜異位症動物模型(小鼠實例4)中所發現,當以所述劑量範圍使用本發明化合物時,可在活體內觀察到子宮內膜病變之大小縮小。

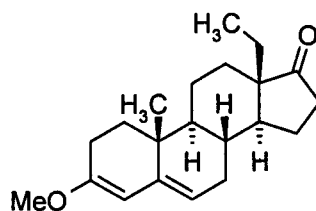
令人驚訝的是,儘管對MR具有高活體外效能,但本發明化合物並未展現任何促孕效應(參見表1,實例5)。

### 實例

藉助以下實例解釋本發明,但該等實例不以任一方式進行限制。

**實例1 18-甲基-3-氧基-17-孕甾-4,6-二烯-21,17 $\beta$ -羧內酯**

**a) 3-甲氧基-18-甲基-雄甾-3,5-二烯-17-酮**

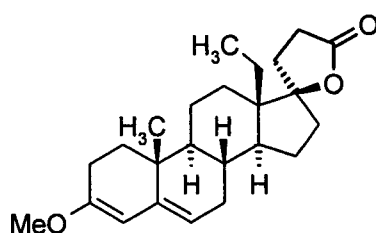


向 27 g 18-甲基-雄甾-4,6-二烯-3,17-二酮(Kerb, Ger.

Offen. (1970), DE 1921396, CAS [31320-40-8])存於540 ml 2,2-二甲氧基丙烷中之溶液中添加3.9 g 甲苯磺酸吡啶鎊。然後在100°C浴溫下將其攪拌8 h。在冷卻至室溫之後，添加5.3 ml吡啶并在真空下將其蒸發至乾燥。用80 ml甲醇使殘餘物沈澱並用抽吸過濾。獲得24.8 g呈無色固體之3-甲氧基-18-甲基-雄甾-3,5-二烯-17-酮。

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$ =5.29-5.22 (m, 1H), 5.14 (s, 1H), 3.58 (s, 3H), 2.43 (dd, 1H), 2.36-2.20 (m, 2H), 2.16-2.03 (m, 3H), 1.99-1.57 (m, 8H), 1.49-1.04 (m, 7H), 1.00 (s, 3H), 0.80 (t, 3H) [ppm]。

**b) 3-甲氧基-18-甲基-17-孕甾-3,5-二烯-21,17 $\beta$ -羧內酯**

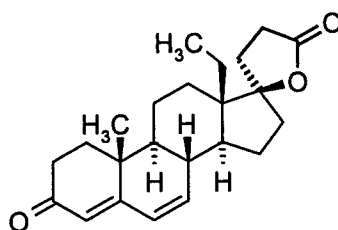


在-55°C下將溶解於59 ml四氫呋喃中之36.5 g 烯丙基-四甲基磷二醯胺逐滴添加至226 ml 1.6 M丁基鋰溶液(存於己烷中)中。在-55°C下攪拌1 h之後，將其加熱至-20°C，添加46 ml N,N,N,N-四甲基乙二胺並使其升溫至室溫。添加18.9 g 3-甲氧基-18-甲基-雄甾-3,5-二烯-17-酮存於213 ml 四氫呋喃中之溶液並在80°C下將其再攪拌5小時。然後添加飽和氯化銨水溶液並將其傾倒至水中，用乙酸乙酯萃取三次，用水及氯化鈉溶液洗滌直至呈中性為止，經硫酸鈉乾燥，並在40°C下於真空下蒸發。獲得22.3 g 3-甲氧基-

18-甲基-17-孕甾-3,5-二烯-21,17 $\beta$ -羧內酯。

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, 氯仿-d):  $\delta$ =5.26-5.20 (m, 1H), 5.13 (s, 1H), 3.58 (s, 3H), 2.54-2.25 (m, 5H), 2.19 (dt, 1H), 2.10 (dd, 1H), 1.97-1.77 (m, 5H), 1.73-1.51 (m, 6H), 1.42 (qd, 1H), 1.34-1.12 (m, 4H), 0.98 (s, 3H), 0.97 (t, 3H) [ppm]。

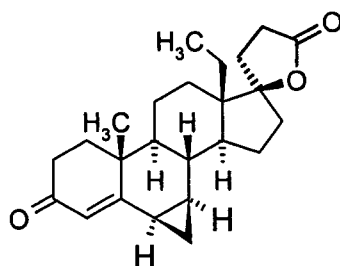
c) 18-甲基-3-氧基-17-孕甾-4,6-二烯-21,17 $\beta$ -羧內酯



在 0°C 下向 22 g 3-甲氧基-18-甲基-17-孕甾-3,5-二烯-21,17 $\beta$ -羧內酯存於 220 ml 二甲基甲醯胺中之懸浮液中依次逐份添加 22 ml 10% 乙酸鈉溶液及 8.84 g 1,3-二溴-5,5-二甲基乙內醯胺，在 0°C (冰浴) 下將其攪拌 0.5 h，添加 8.25 g 溴化鋰及 7.24 g 碳酸鋰，並在 80°C 浴溫下將其攪拌 5 小時。然後，將其在攪拌下添加至冰水/食鹽中，過濾沈澱物，用水洗滌，並在矽膠上用己烷/乙酸乙酯層析。獲得 10.7 g 18-甲基-3-氧基-17-孕甾-4,6-二烯-21,17 $\beta$ -羧內酯。

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, 氯仿-d):  $\delta$ =6.17-6.12 (m, 1H), 6.12-6.07 (m, 1H), 5.69 (s, 1H), 2.66-2.32 (m, 7H), 2.07-1.79 (m, 5H), 1.78-1.50 (m, 6H), 1.46-1.36 (m, 1H), 1.32-1.17 (m, 3H), 1.13 (s, 3H), 1.01 (t, 3H) [ppm]。

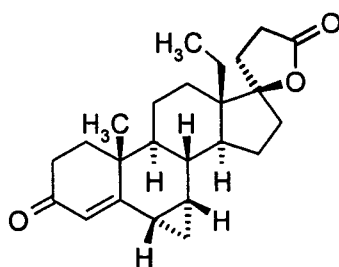
實例 2 18-甲基-6 $\beta$ ,7 $\beta$ -亞甲基-3-氧基-17-妊-4-烯-21,17 $\beta$ -羧內酯 (6)



在室溫及氬下將 50 g 三甲基碘化亞砷存於 750 ml 二甲基亞砷中之懸浮液與 9.73 g 氫化鈉 (55% 存於油中) 一起溶解 2 小時，添加 24.7 g 18-甲基-3-氧基-17-孕甾-4,6-二烯-21,17β-羧內酯 (如實例 1 中所述製備) 並在室溫下將其再攪拌 24 小時。然後，將其在攪拌下添加至 15 l 冰水/食鹽中，過濾沈澱物，用水洗滌，並在 60°C 下於真空下乾燥。獲得 22.4 g 粗製產物。根據使用己烷/乙酸乙酯之矽膠層析作為流份 II，獲得 7.5 g 18-甲基-6β,7β-亞甲基-3-氧基-17-妊-4-烯-21,17β-羧內酯。210-211°C,  $[\alpha]_D = 151.9^\circ \pm 0.05^\circ$  (氯仿,  $c = 10 \text{ mg/ml}$ )。

$^1\text{H-NMR}$  (600 MHz, 氯仿-d):  $\delta = 6.02$  (s, 1H), 2.62-2.44 (m, 3H), 2.43-2.36 (m, 3H), 1.98-1.81 (m, 6H), 1.75-1.65 (m, 2H), 1.65-1.42 (m, 8H), 1.28-1.11 (m, 4H), 1.09 (s, 3H), 1.08-1.01 (m, 2H), 0.96 (t, 3H), 0.80 (q, 1H) [ppm]。

**實例 3** 18-甲基-6α,7α-亞甲基-3-氧基-17-妊-4-烯-21,17β-羧內酯 (7)



根據實例2中之方法，在層析為流份I之後，獲得2.9 g固體狀18-甲基-6 $\alpha$ ,7 $\alpha$ -亞甲基-3-氧基-17-妊-4-烯-21,17 $\beta$ -羧內酯，其熔點為230-231°C， $[\alpha]_D=102.6^\circ \pm 0.11^\circ$ (氯仿，c=10 mg/ml)。

$^1\text{H-NMR}$  (600 MHz, 氯仿-d):  $\delta=5.95$  (s, 1H), 2.58-2.44 (m, 3H), 2.43-2.34 (m, 3H), 2.21-2.15 (m, 2H), 1.98-1.86 (m, 5H), 1.81-1.74 (m, 2H), 1.65-1.48 (m, 6H), 1.34-1.26 (m, 2H), 1.17-1.07 (m, 2H), 1.14 (s, 3H), 0.98 (t, 3H), 0.89-0.84 (m, 1H), 0.77-0.71 (m, 1H), 0.47 (q, 1H) [ppm]。

#### 實例4 活體內子宮內膜異位症模型

具有靈長類子宮內膜之異種移植子宮內膜異位症模型：

為研究本發明化合物對子宮內膜異位病變之生長之效應，在免疫缺陷型SCID小鼠中使用異種移植子宮內膜異位症模型，在該等SCID小鼠中植入來自恒河獼猴之子宮內膜。

給予切除卵巢的SCID小鼠雌二醇及黃體酮膠囊作為激素替代品，以為靈長類子宮內膜創造最佳激素環境。用雌二醇及黃體酮將供體猴處理7天。然後刮下動物子宮內膜並切成2×2×4 mm碎片。藉由剖腹術將子宮內膜移植入小鼠腹腔或經皮下植入。用雌二醇及黃體酮處理使病變生長14天，隨後用雌二醇處理14天(對應於一個月經週期)。處理始於每日用0.3 mg/kg、1.0 mg/kg及3.0 mg/kg之劑量皮下投與本發明化合物並持續28天時段，且繼續補充雌二醇。在處理時間之後，動物經受最終剖腹術並測定每隻動物的

病變重量。使用10 mg/kg劑量之螺甾內酯作為陽性對照(媒劑：苯甲酸苄酯/蓖麻油)。與媒劑(A)或最低劑量組(B=0.3 mg/kg)相比，本發明化合物6在1.0 mg/kg/d及3.0 mg/kg/d下展示對病變生長之顯著效應。量測結果展示於圖 1/2 中。

#### 同源小鼠子宮內膜異位症模型：

小鼠中同源誘發之子宮內膜異位症係測試物質治療子宮內膜異位症之功效之常用動物模型。以實驗方式藉由將來自同品系供體小鼠之鼠類子宮碎片移植入受體小鼠腹腔來誘發子宮內膜異位症。使用 balb/c 品系之雌性動物。藉由陰道抹片來測定小鼠週期。僅使用動情期供體動物。殺死供體動物，並移除子宮角且然後將其縱向切開。使用沖孔器自子宮沖得2 mm活檢樣品，且然後將其縫合至受體動物中。使受體動物麻醉並實施剖腹術。在手術期間，將6個來自供體小鼠之子宮沖孔試樣縫合至受體小鼠之體壁腹膜上。在此手術後一天，開始用測試物質進行4週之治療(媒劑：Tween80/Captex 200P)。在28天後，在最終剖腹術中剖開動物並測定病變大小。拍照記錄擴大之病變，並使用AxioVision軟體量測面積。每個治療組使用14隻動物。

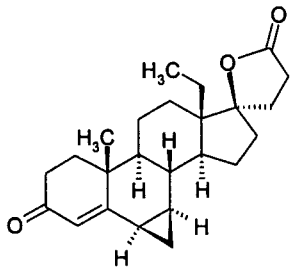
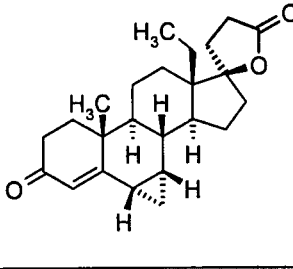
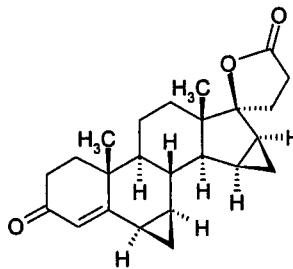
在此情形下，在3個不同劑量方案中測試測試物質6，且與用媒劑治療之動物(組A)相比來評價病變大小。測試以下劑量：3 mg/kg/天、10 mg/kg/天及30 mg/kg/天(組B、C、D)。圖 2/2展示每只動物之平均病變大小(mm<sup>2</sup>)(y軸)。

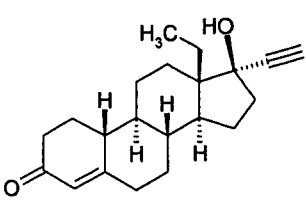
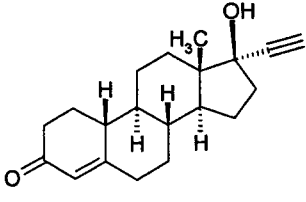
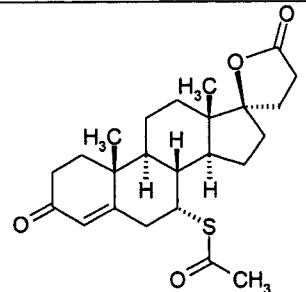
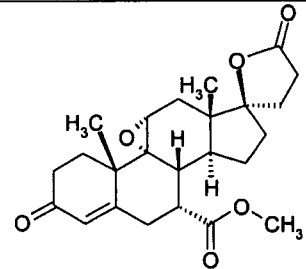
#### 實例5 對MR及PR之活體外/活體內作用



表1展示關於物質促孕性之活體內數據。活體內促孕性可藉由兩個不同分析來測定，一者係藉由大鼠中之懷孕維持測試來測定，另一者係藉由兔中之McPhail測試(子宮內膜轉換)來測定。展示本發明化合物6及7之可用數據(表1中之1號及1A號)，且展示螺甾內酯之數據以供比較。為確保分析之間之可比性，展示促孕素屈螺酮及左炔諾孕酮(levonorgestrel)，其數據得自兩種分析。另外，展示降雄甾炔酮(norethisterone)以與左炔諾孕酮一起闡釋18-甲基對促孕效能之效應。

表1：

| 編號         | 化合物結構                                                                               | 化合物名稱                                    | IC <sub>50</sub> (MR) | ED <sub>50</sub> (PR) | 活體內PR                                                                                               |
|------------|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1號         |  | 18-甲基-6β,7β-亞甲基-3-氧基-17-妊-4-烯-21,17β-羧內酯 | 0.71 nM               | 1.2 nM (50% 功效)       | 無效應<br>(所測試最高劑量：30 mg/kg/d，皮下，大鼠中之懷孕維持)                                                             |
| 1A號        |  | 18-甲基-6α、7α-亞甲基-3-氧基-17-妊-4-烯-21,17β-羧內酯 | 5.6 nM                | 100 nM (38.6% 功效)     | 無效應<br>(所測試最高劑量：30 mg/kg/d，皮下，大鼠中之懷孕維持)                                                             |
| 2號-6號=比較實例 |                                                                                     |                                          |                       |                       |                                                                                                     |
| 2號         |  | 屈螺酮(DRSP)                                | 1.48 nM               | 3.6 nM (83% 功效)       | 懷孕維持：12 mg/kg 皮下(80%) <sup>6</sup><br><br>兔中之McPhail測試：ED <sub>min</sub> ，約0.2 mg/kg/d <sup>6</sup> |

|    |                                                                                     |                |         |                         |                                                                                                    |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------|---------|-------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 3號 |    | 左炔諾孕酮<br>(LNG) | 337 nM  | 1.6 nM<br>(108%<br>功效)  | 懷孕維持：1.2<br>mg/kg皮下(80%) <sup>7</sup><br><br>兔中之McPhail測<br>試：EDmin，約<br>0.02 mg/kg/d <sup>6</sup> |
| 4號 |    | 降雄甾炔酮          | 未研究     | 4.1 nM<br>(87.9%<br>功效) | 兔中之McPhail測<br>試：EDmin，約0.3<br>mg/kg/d <sup>14</sup>                                               |
| 5號 |   | 螺甾內酯           | 10.5 nM | 666 nM<br>(43%<br>功效)   | 兔中之McPhail測<br>試：EDmin，約15<br>mg/kg/d皮下 <sup>6</sup>                                               |
| 6號 |  | 依普利酮           | 1.10 μM | > 1 μM                  | 未研究                                                                                                |

<sup>6</sup> Muhn等人，Contraception 1994, 51: 99-110

<sup>7</sup> Kuhnz等人，Contraception 1995, 51(2): 131-139

<sup>14</sup> Phillips等人，Contraception 1987, 36(2): 181-192

如下所述來測定活體外反式活化數據(IC<sub>50</sub>值)及活體內促孕活性。

#### 1. 用於相對於其他類固醇激素受體測定抑制性MR活性及MR選擇性之細胞活體外測試

使用重組細胞系來識別人類鹽皮質激素受體(MR)之拮抗劑且量化本文所述化合物之功效。細胞最初來源於倉鼠卵巢上皮細胞(中國倉鼠卵巢，CHO K1, ATCC：美國模式培

養物保藏所(American Type Culture Collection), VA 20108, USA)。

在此CHO K1細胞系中，使用已確立嵌合系統，其中將人類類固醇激素受體之配體結合結構域融合至酵母轉錄因子GAL4之DNA結合結構域上。將所得GAL4類固醇激素受體嵌合體與報告基因構築體一起共轉染至CHO細胞中並使其穩定表現。

#### 選殖：

為產生GAL4類固醇激素受體嵌合體，將來自載體pFC2-dbd (來自Stratagene公司)之GAL4-DNA結合結構域(胺基酸1-147)與鹽皮質激素受體(MR，胺基酸734-985)及黃體酮受體(PR，胺基酸680-933)之經PCR擴增之配體結合結構域一起選殖至載體pIRES2 (來自Clontech公司)中。在胸苷激酶啟動子上游包含5拷貝之GAL4結合位點之報告基因構築體在藉由各別特異性激動劑醛固酮(MR)及黃體酮(PR)活化並結合GAL4類固醇激素受體嵌合體之後使得表現螢火蟲螢光素酶(北美螢火蟲(*Photinus pyralis*))。

#### 測試程序：

在測試前一天，將MR及PR細胞平鋪於96孔(或384孔或1536孔)微量滴定板中之培養基(Optimem，2.5% FCS，2 mM麩醯胺酸，10 mM HEPES)中並保存於細胞培育箱(96%空氣濕度，5% v/v CO<sub>2</sub>，37°C)中。在測試當天，在上述培養基中吸收測試物質並將其添加至細胞中。在添加測試物質之後約10分鐘至30分鐘時，添加類固醇激素受體之各別

特異性激動劑。在再培育5小時至6小時時間之後，藉助視訊攝像機量測螢光素酶活性。所量測隨物質濃度變化之相對光單位產生S形刺激曲線。使用電腦程式GraphPad PRISM (3.02版)計算IC<sub>50</sub>值。

## 2. 用於活體內促孕活性之測試：大鼠中之懷孕維持

懷孕維持測試係極靈敏地研究子宮內膜對促孕素之反應之模型。懷孕僅係在有效促孕素存在下繼續。切除懷孕大鼠之卵巢並用測試物質或陽性對照處理7天時段。在處理結束時，測定活胎及死胎數目作為測試物質之促孕性(即懷孕維持作用)之量度。

## 3. 用於活體內促孕活性之測試：兔中之McPhail分析

切除雌性兔之卵巢。在卵巢切除術後7天時，給予動物雌二醇並持續6天。用測試物質將動物處理5天，且然後移除子宮並作組織學準備。評價子宮內膜之分泌轉換作為促孕作用之量度(臨限劑量，在該劑量下開始分泌轉換)。

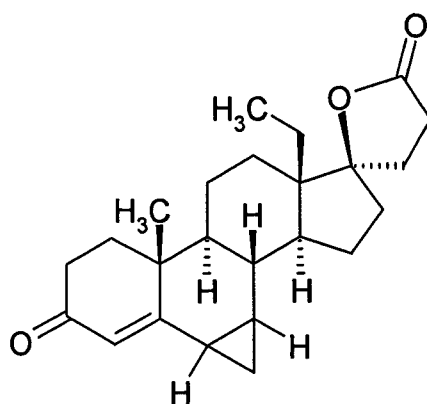
### 【圖式簡單說明】

圖1展示在用測試物質6治療後，異種移植子宮內膜異位症模型中之病變大小。

圖2展示在用測試物質6治療後，子宮內膜異位症之同源小鼠模型中之病變大小。

## 七、申請專利範圍：

1. 一種式 I 之 18-甲基-6,7-亞甲基-3-氧基-17-妊-4-烯-21,17 $\beta$ -羧內酯，其中該 6,7-亞甲基可在  $\alpha$  或  $\beta$  位置



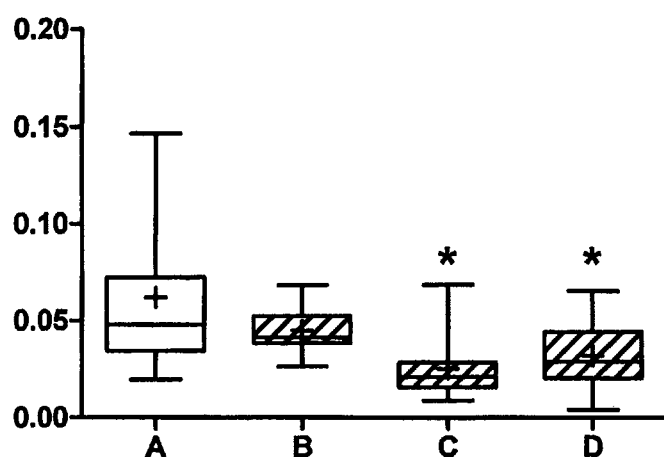
式 I。

2. 如請求項 1 之化合物，其亦即 18-甲基-6 $\beta$ ,7 $\beta$ -亞甲基-3-氧基-17-妊-4-烯-21,17 $\beta$ -羧內酯。
3. 一種 18-甲基-6,7-亞甲基-3-氧基-17-妊-4-烯-21,17 $\beta$ -羧內酯，其用於治療子宮內膜異位症。
4. 一種 18-甲基-6 $\beta$ ,7 $\beta$ -亞甲基-3-氧基-17-妊-4-烯-21,17 $\beta$ -羧內酯，其用於治療子宮內膜異位症。
5. 一種醫療製劑，其包含至少一種如請求項 1 或 2 之化合物及至少一種醫療上無害的載劑。
6. 如請求項 5 之醫療製劑，其包含於醫療上無害載劑中之至少一種如請求項 1 或 2 之化合物及至少一種選自以下群之其他活性醫療成份：選擇性雌激素受體調節劑 (SERM)、雌激素受體 (ER) 拮抗劑、芳香酶抑制劑、17 $\beta$ -HSD1 抑制劑、類固醇硫酸酯酶 (STS) 抑制劑、GnRH 激動劑及拮抗劑、吻素 (kisspeptin) 受體 (KISSR) 拮抗劑、選

擇性雄激素受體調節劑(SARM)、5 $\alpha$ -還原酶抑制劑、選擇性黃體酮受體調節劑(SPRM)、促孕素、抗促孕素、口服避孕藥、促有絲分裂原活化蛋白(MAP)激酶抑制劑及MAP激酶激酶(Mkk3/6、Mek1/2、Erk1/2)抑制劑、蛋白激酶B (PKB $\alpha/\beta/\gamma$ ；Akt1/2/3)抑制劑、磷酸肌醇-3-激酶(PI3K)抑制劑、細胞週期蛋白依賴性激酶(CDK1/2)抑制劑、低氧誘發性信號傳導途徑抑制劑(HIF1 $\alpha$ 抑制劑、脯氨酸羧化酶活化劑)、組蛋白去乙酰基酶(HDAC)抑制劑、前列腺素F受體(FP)(PTGFR)拮抗劑或非類固醇抗炎藥物(NSAID)。

7. 如請求項6之醫療製劑，其包含如請求項1或2之化合物及至少一種選自以下群之其他活性醫療成份：ER拮抗劑、芳香酶抑制劑、激酶抑制劑或NSAID。

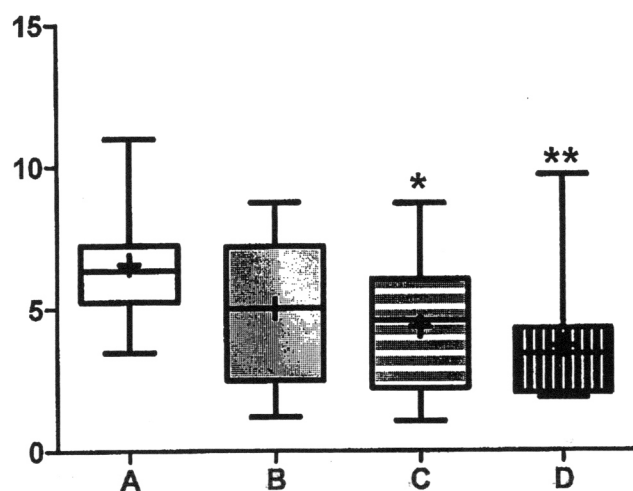
## 八、圖式：



展示在用測試物質 6 治療後，異種移植子宮內膜異位症模型中之病變大小  
Y 軸：治療後異種移植子宮內膜異位症模型(將靈長類子宮內膜移植至 SCID 小鼠中)中之病變重量

X 軸：組：A=媒劑，B/C/D =0.3/1.0/3.0 mg/kg 皮下投與之測試物質 6。  
\* $p < 0.05$ ，ANOVA，事後(post-hoc)Dunnett

圖 1



展示在用測試物質 6 治療後，子宮內膜異位症之同源小鼠模型中之病變大小

Y 軸：每隻動物之平均病變大小[mm<sup>2</sup>]

X 軸：組：A=媒劑，B/C/D =3/10/30 mg/kg/天之測試物質 6。

\*p<0.05；\*\*p<0.01，ANOVA，事後 Dunnett

圖2