

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6174563号
(P6174563)

(45) 発行日 平成29年8月2日(2017.8.2)

(24) 登録日 平成29年7月14日(2017.7.14)

(51) Int.Cl.	F 1
A 6 1 K 31/565	(2006.01)
A 6 1 K 31/566	(2006.01)
A 6 1 K 31/568	(2006.01)
A 6 1 P 25/00	(2006.01)
A 6 1 P 25/02	(2006.01)
A 6 1 K 31/565	31/565
A 6 1 K 31/566	31/566
A 6 1 K 31/568	31/568
A 6 1 P 25/00	25/00
A 6 1 P 25/02	25/02

請求項の数 14 (全 38 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2014-501213 (P2014-501213)
(86) (22) 出願日	平成24年3月21日 (2012.3.21)
(65) 公表番号	特表2014-508807 (P2014-508807A)
(43) 公表日	平成26年4月10日 (2014.4.10)
(86) 國際出願番号	PCT/US2012/029973
(87) 國際公開番号	W02012/129324
(87) 國際公開日	平成24年9月27日 (2012.9.27)
審査請求日	平成27年3月17日 (2015.3.17)
(31) 優先権主張番号	61/454,873
(32) 優先日	平成23年3月21日 (2011.3.21)
(33) 優先権主張國	米国 (US)

(73) 特許権者 508095348
 エンディース エルエルシー
 E N D E C E, L L C
 アメリカ合衆国, ウィスコンシン州 53
 092, メコン, スイート 105ビー,
 ウエスト グレン オークス レーン 1
 001
 1001 WEST GLEN OAKS
 LANE, Suite 105b,
 Mequon, WI 53092
 (74) 代理人 110000671
 八田国際特許業務法人

最終頁に続く

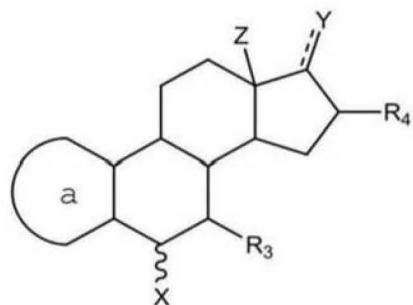
(54) 【発明の名称】神經軸索の再ミエリン化における使用のための6-置換エストラジオール誘導体

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 :

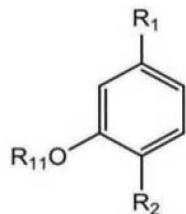
【化 1】



10

式中、「a」環は、以下であり

【化2】



R₁、R₂、R₃及びR₄は、独立してH、C₁-C₆アルキル、ハロ、スルフェート(sulfate)、グルクロニド、-OH、アリール、シクロアルキル、ヘテロアリール、ヘテロシクロアルキル、ホスフェート(phosphate)基、及びホスフィネート(phosphinate)基からなる群から選択され；

R₁₁は、H、C₁-C₆アルキル、グルクロニド、-SO₂NH₂、-COOH、-COO塩、-NH₂、及び-NHCO(CH₂)_nからなる群から選択され；

Xは、-(CH₂)_m-O-CH₃、-(CH₂)_m-O-(CH₂)_nCH₃、-(CH₂)_m-S-CH₃、-(CH₂)_m-S-(CH₂)_nCH₃、-(CH₂)_m-OH、及び-(CH₂)_m-O-NH₂からなる群から選択され；

Yは、-OCO(C₁-C₂₀アルキル)、及び-OHからなる群から選択され；

Zは、H、及びメチルからなる群から選択され；

mは、0-20の整数であり；

nは、0-8の整数であり；

【化3】

---記号

は単結合を表し；並びに

【化4】

~~~~記号

は、立体化学を問わない任意の形式の結合を表す；

並びに、前記化合物それぞれのエナンチオマー、他の立体化学異性体、水和物、溶媒和物、互変異性体、及び薬学的に許容される塩である、

の6-置換エストラジオール誘導体の有効量を含む、神経細胞の軸索の脱髓の防止及び/または再ミエリン化の向上剤。

【請求項2】

Yは、-OHであり；

Zは、メチルであり；

R₁₁は、Hであり；

R₄は、H、ハロ、及びC₁-C₆アルキルからなる群から選択され；

R₁及びR₂は、独立してH、-OH、及びハロからなる群から選択され；

R₃は、H、ハロ、及び-OHからなる群から選択され；

mは、1-12の整数であり；並びに

nは、0-4の整数である、

請求項1に記載の剤。

【請求項3】

Xが、-(CH₂)_m-O-CH₃、-(CH₂)_m-O-(CH₂)_nCH₃、-(CH₂)_m-S-CH₃、及び-(CH₂)_m-S-(CH₂)_nCH₃からなる群から選択される、請求項1または2に記載の剤。

【請求項4】

(6S,8R,9S,13S,14S)-6-(メトキシメチル)-13-メチル-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-デカヒドロ-6H-シクロペンタ[a]フェナントレン-3,17-ジオール；

(6R,8R,9S,13S,14S)-6-(メトキシメチル)-13-メチル-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-デカヒドロ-6H-シクロペンタ

10

20

30

40

50

[a] フェナントレン - 3 , 17 - ジオール ;
 (6 S , 8 R , 9 S , 13 S , 14 S) - 6 - (ヒドロキシメチル) - 13 - メチル - 7
 , 8 , 9 , 11 , 12 , 13 , 14 , 15 , 16 , 17 - デカヒドロ - 6 H - シクロペン
 タ [a] フェナントレン - 3 , 17 - ジオール ;
 (6 R , 8 R , 9 S , 13 S , 14 S) - 6 - (ヒドロキシメチル) - 13 - メチル - 7
 , 8 , 9 , 11 , 12 , 13 , 14 , 15 , 16 , 17 - デカヒドロ - 6 H - シクロペン
 タ [a] フェナントレン - 3 , 17 - ジオール ;
 (6 R , 8 R , 9 S , 13 S , 14 S) - 6 - ((アミノオキシ) メチル) - 13 - メチ
 ル - 7 , 8 , 9 , 11 , 12 , 13 , 14 , 15 , 16 , 17 - デカヒドロ - 6 H - シク
 ロペンタ [a] フェナントレン - 3 , 17 - ジオール ;
 (6 S , 8 R , 9 S , 13 S , 14 S) - 6 - ((アミノオキシ) メチル) - 13 - メチ
 ル - 7 , 8 , 9 , 11 , 12 , 13 , 14 , 15 , 16 , 17 - デカヒドロ - 6 H - シク
 ロペンタ [a] フェナントレン - 3 , 17 - ジオール ;
 (6 R , 8 R , 9 S , 13 S , 14 S) - 6 - メトキシ - 13 - メチル - 7 , 8 , 9 , 1
 1 , 12 , 13 , 14 , 15 , 16 , 17 - デカヒドロ - 6 H - シクロペンタ [a] フェ
 ナントレン - 3 , 17 - ジオール ;
 (6 S , 8 R , 9 S , 13 S , 14 S) - 6 - (2 - メトキシエチル) - 13 - メチル -
 7 , 8 , 9 , 11 , 12 , 13 , 14 , 15 , 16 , 17 - デカヒドロ - 6 H - シクロペ
 ンタ [a] フェナントレン - 3 , 17 - ジオール ;
 (6 R , 8 R , 9 S , 13 S , 14 S) - 6 - (4 - メトキシブチル) - 13 - メチル -
 7 , 8 , 9 , 11 , 12 , 13 , 14 , 15 , 16 , 17 - デカヒドロ - 6 H - シクロペ
 ンタ [a] フェナントレン - 3 , 17 - ジオール ;
 (6 R , 8 R , 9 S , 13 S , 14 S) - 6 - (6 - メトキシヘキシル) - 13 - メチル
 - 7 , 8 , 9 , 11 , 12 , 13 , 14 , 15 , 16 , 17 - デカヒドロ - 6 H - シクロ
 ペンタ [a] フェナントレン - 3 , 17 - ジオール ;
 (6 R , 8 R , 9 S , 13 S , 14 S) - 6 - (6 - メトキシオクチル) - 13 - メチル
 - 7 , 8 , 9 , 11 , 12 , 13 , 14 , 15 , 16 , 17 - デカヒドロ - 6 H - シクロ
 ペンタ [a] フェナントレン - 3 , 17 - ジオール ;
 (6 R , 8 R , 9 S , 13 S , 14 S) - 3 - ヒドロキシ - 6 - (メトキシメチル) - 1
 3 - メチル - 7 , 8 , 9 , 11 , 12 , 13 , 14 , 15 , 16 , 17 - デカヒドロ - 6
 H - シクロペンタ [a] フェナントレン - 17 - イルステアリン酸 ;
 (6 R , 8 R , 9 S , 13 S , 14 S) - 13 - メチル - 6 - (4 - プロポキシブチル)
 - 7 , 8 , 9 , 11 , 12 , 13 , 14 , 15 , 16 , 17 - デカヒドロ - 6 H - シクロ
 ペンタ [a] フェナントレン - 3 , 17 - ジオール ;
 (6 R , 8 R , 9 S , 13 S , 14 S) - 13 - メチル - 6 - (5 - エトキシペンチル)
 - 7 , 8 , 9 , 11 , 12 , 13 , 14 , 15 , 16 , 17 - デカヒドロ - 6 H - シクロ
 ペンタ [a] フェナントレン - 3 , 17 - ジオール ;
 及び
 (6 R , 8 S , 9 S , 14 S , 17 S) - 6 - (メトキシメチル) - 7 , 8 , 9 , 11 ,
 12 , 13 , 14 , 15 , 16 , 17 - デカヒドロ - 6 H - シクロペンタ [a] フェナン
 トレン - 3 , 17 - ジオール
 からなる群から化合物が選択される、請求項 1 に記載の剤。

【請求項 5】

前記化合物が、

(6 R , 8 R , 9 S , 13 S , 14 S) - 6 - (メトキシメチル) - 13 - メチル - 7
 , 8 , 9 , 11 , 12 , 13 , 14 , 15 , 16 , 17 - デカヒドロ - 6 H - シクロペン
 タ [a] フェナントレン - 3 , 17 - ジオール、及び

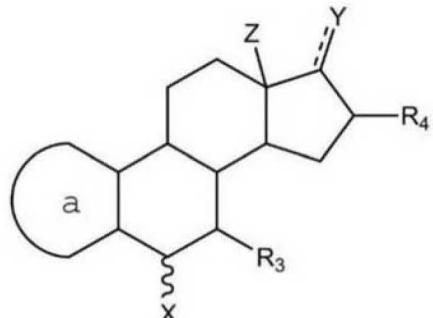
(6 R , 8 R , 9 S , 13 S , 14 S) - 6 - (6 - メトキシヘキシル) - 13 - メチル
 - 7 , 8 , 9 , 11 , 12 , 13 , 14 , 15 , 16 , 17 - デカヒドロ - 6 H - シクロ
 ペンタ [a] フェナントレン - 3 , 17 - ジオール

からなる群から選択される、請求項 4 に記載の剤。

【請求項 6】

下記式 I の化合物：

【化 5】

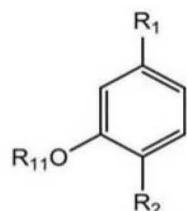


I

10

式中、「a」環は、以下であり

【化 6】



20

R₁、R₂、R₃ 及び R₄ は、独立して H、C₁ - C₆ アルキル、ハロ、スルフェート (sulfate)、グルクロニド、-OH、アリール、シクロアルキル、ヘテロアリール、ヘテロシクロアルキル、ホスフェート (phosphate) 基、及びホスフィネート (phosphinate) 基からなる群から選択され；

R₁₁ は、H、C₁ - C₆ アルキル、グルクロニド、-SO₂NH₂、-COOH、-COO 塩、-NH₂、及び-NHCO(CH₂)_n からなる群から選択され；

X は、-(CH₂)_m-O-CH₃、-(CH₂)_m-O-(CH₂)_nCH₃、-(CH₂)_m-S-CH₃、-(CH₂)_m-S-(CH₂)_nCH₃、-(CH₂)_m-OH、及び-(CH₂)_m-O-NH₂ からなる群から選択され；

30

Y は、-OCO(C₁ - C₂₀ アルキル)、及び-OH からなる群から選択され；

Z は、H、及びメチルからなる群から選択され；

m は、0 - 20 の整数であり；

n は、0 - 8 の整数であり；

【化 7】

——記号

は単結合を表し；並びに

【化 8】

~~~~記号

40

は、立体化学を問わない任意の形式の結合を表す；

並びに、前記化合物それぞれのエナンチオマー、他の立体化学異性体、水和物、溶媒和物、互変異性体、及び薬学的に許容される塩、から選択される 6 - 置換エストラジオール誘導体の有効量を含む、脱髓性疾患の治療剤。

【請求項 7】

Y は、-OH であり；

Z は、メチルであり；

R<sub>11</sub> は、H であり；

R<sub>4</sub> は、H、ハロ、及び C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキルからなる群から選択され；

R<sub>1</sub> 及び R<sub>2</sub> は、独立して H、-OH、及びハロからなる群から選択され；

50

$R_3$  は、H、ハロ、及び-OH からなる群から選択され；  
 $m$  は、1-12 の整数であり；並びに  
 $n$  は、0-4 の整数である、  
 請求項6に記載の治療剤。

## 【請求項8】

Xが、- $(CH_2)_m-O-CH_3$ 、- $(CH_2)_m-O-(CH_2)_nCH_3$ 、 $(CH_2)_m-S-CH_3$ 、及び- $(CH_2)_m-S-(CH_2)_nCH_3$  からなる群から選択される、請求項6または7に記載の治療剤。

## 【請求項9】

(6S, 8R, 9S, 13S, 14S) - 6 - (メトキシメチル) - 13 - メチル - 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - デカヒドロ - 6H - シクロペンタ [a] フェナントレン - 3, 17 - ジオール ; 10  
 $(6R, 8R, 9S, 13S, 14S) - 6 - (メトキシメチル) - 13 - メチル - 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - デカヒドロ - 6H - シクロペンタ [a] フェナントレン - 3, 17 - ジオール$  ;  
 $(6S, 8R, 9S, 13S, 14S) - 6 - (ヒドロキシメチル) - 13 - メチル - 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - デカヒドロ - 6H - シクロペンタ [a] フェナントレン - 3, 17 - ジオール$  ;  
 $(6R, 8R, 9S, 13S, 14S) - 6 - (ヒドロキシメチル) - 13 - メチル - 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - デカヒドロ - 6H - シクロペンタ [a] フェナントレン - 3, 17 - ジオール$  ; 20  
 $(6R, 8R, 9S, 13S, 14S) - 6 - ((アミノオキシ)メチル) - 13 - メチル - 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - デカヒドロ - 6H - シクロペンタ [a] フェナントレン - 3, 17 - ジオール$  ;  
 $(6S, 8R, 9S, 13S, 14S) - 6 - ((アミノオキシ)メチル) - 13 - メチル - 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - デカヒドロ - 6H - シクロペンタ [a] フェナントレン - 3, 17 - ジオール$  ;  
 $(6R, 8R, 9S, 13S, 14S) - 6 - メトキシ - 13 - メチル - 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - デカヒドロ - 6H - シクロペンタ [a] フェナントレン - 3, 17 - ジオール$  ; 30  
 $(6S, 8R, 9S, 13S, 14S) - 6 - (2 - メトキシエチル) - 13 - メチル - 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - デカヒドロ - 6H - シクロペンタ [a] フェナントレン - 3, 17 - ジオール$  ;  
 $(6R, 8R, 9S, 13S, 14S) - 6 - (4 - メトキシブチル) - 13 - メチル - 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - デカヒドロ - 6H - シクロペンタ [a] フェナントレン - 3, 17 - ジオール$  ;  
 $(6R, 8R, 9S, 13S, 14S) - 6 - (6 - メトキシヘキシル) - 13 - メチル - 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - デカヒドロ - 6H - シクロペンタ [a] フェナントレン - 3, 17 - ジオール$  ;  
 $(6R, 8R, 9S, 13S, 14S) - 6 - (6 - メトキシオクチル) - 13 - メチル - 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - デカヒドロ - 6H - シクロペンタ [a] フェナントレン - 3, 17 - ジオール$  ; 40  
 $(6R, 8R, 9S, 13S, 14S) - 3 - ヒドロキシ - 6 - (メトキシメチル) - 13 - メチル - 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - デカヒドロ - 6H - シクロペンタ [a] フェナントレン - 17 - イルステアリン酸$  ;  
 $(6R, 8R, 9S, 13S, 14S) - 13 - メチル - 6 - (4 - プロポキシブチル) - 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - デカヒドロ - 6H - シクロペンタ [a] フェナントレン - 3, 17 - ジオール$  ;  
 $(6R, 8R, 9S, 13S, 14S) - 13 - メチル - 6 - (5 - エトキシペンチル) - 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - デカヒドロ - 6H - シクロ$  50

ペンタ [ a ] フェナントレン - 3 , 17 - ジオール ;

及び

( 6 R , 8 S , 9 S , 14 S , 17 S ) - 6 - ( メトキシメチル ) - 7 , 8 , 9 , 11 , 12 , 13 , 14 , 15 , 16 , 17 - デカヒドロ - 6 H - シクロペンタ [ a ] フェナントレン - 3 , 17 - ジオール

からなる群から化合物が選択される、請求項 6 に記載の治療剤。

【請求項 10】

前記化合物が、

( 6 R , 8 R , 9 S , 13 S , 14 S ) - 6 - ( メトキシメチル ) - 13 - メチル - 7 , 8 , 9 , 11 , 12 , 13 , 14 , 15 , 16 , 17 - デカヒドロ - 6 H - シクロペンタ [ a ] フェナントレン - 3 , 17 - ジオール、及び

( 6 R , 8 R , 9 S , 13 S , 14 S ) - 6 - ( 6 - メトキシヘキシル ) - 13 - メチル - 7 , 8 , 9 , 11 , 12 , 13 , 14 , 15 , 16 , 17 - デカヒドロ - 6 H - シクロペンタ [ a ] フェナントレン - 3 , 17 - ジオール

からなる群から選択される、請求項 9 に記載の治療剤。

【請求項 11】

前記疾患が、多発性硬化症、橋中心髄鞘崩壊症、実験的自己免疫性脳脊髄炎、急性散在性脳脊髄炎、横断性脊髄炎、進行性多巣性白質脳症、アルツハイマー病、亜急性硬化性全脳炎、感染後脳脊髄炎、慢性炎症性脱髄性多発神経炎、進行性核上性麻痺、多巣性運動ニューロパシー、ギラン - バレー症候群、進行性多巣性白質脳症、デビック病、バロー同心性硬化症、クラッベ病、副腎白質ジストロフィー ( A L D ) 、ペリツェウス - メルツバッハ - ハー病、カナバン病、中枢低髄鞘化を伴う小児期運動失調、アレキサンダー病、コケイン症候群、ファンデルナップ症候群、ゼルウィガー症候群、及びレフサム病からなる群から選択される、請求項 6 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の治療剤。

【請求項 12】

前記疾患が、多発性硬化症である、請求項 11 に記載の治療剤。

【請求項 13】

前記脱髄性疾患の症状の改善によって再ミエリン化が経過観察される、請求項 6 ~ 12 のいずれか 1 項に記載の治療剤。

【請求項 14】

前記化合物を、抗炎症薬または免疫モジュレーターと組み合わせて投与する、請求項 6 ~ 13 のいずれか 1 項に記載の治療剤。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本出願は、2011年3月21日に出願された仮出願シリアル番号 61 / 454 , 873 号に基づいて優先権の利益を主張し、それは、その全体が本明細書中に参照されることにより組込まれる。

【0002】

発明の分野

本発明は、6 - 置換エストラジオール化合物及びそれらの薬学的に許容される塩またはプロドラッグを使い、軸索を再ミエリン化する方法に関する。この方法は、多発性硬化症などの脱髄疾患の治療に有用である。

【背景技術】

【0003】

発明の背景

ミエリンは、ニューロンの軸索を包み、髓鞘として知られている層を形成する電気的な絶縁材料である。ミエリンの主要な意義は、神経インパルスが神経軸索を下って伝搬する速度を増大させることである。細胞膜にわたって電気抵抗を増加させることにより、電流が軸索から離れるのを防ぐのを、ミエリンは手助けしている。

10

20

30

40

50

## 【0004】

神経脱髓は、神経系におけるミエリンタンパク質の減少によって特徴付けられる状態であり、多発性硬化症などの多くの神経変性自己免疫疾患、実験的自己免疫性脳脊髄炎、慢性炎症性脱髓性多発神経炎、進行性多巣性白質脳症、横断性脊髄炎、ギラン・バレー症候群、橋中心髄鞘崩壊症、アルツハイマー病、進行性核上性麻痺、多巣性運動ニューロパチー、及び副腎白質ジストロフィー（ALD）のような白質ジストロフィー、アレキサンダー病、カナバン病、クラッペ病、異染性白質ジストロフィー（MLD）、ペリツェウスマーレツバッハ病、レフサム病、コケイン症候群、ファンデルナップ症候群、並びにゼルウィガー症候群の原因である。

## 【0005】

10

特に、多発性硬化症は最も一般的な脱髓疾患であり、多くの若い成人に障害を引き起こしている。脱髓及び瘢痕化が原因で、多発性硬化症は、脳と脊髄の神経細胞が互いに交信する能力に影響を与える。このようにして、多発性硬化症を患っている人は、感度の喪失やうずきなどの感覚の変化、筋力低下、協調運動障害、及び麻痺を含む、さまざまな神経症状を示すことがある。この病気は一般的に、再発性ステージと慢性進行性フェーズの二つのステージで発症する。

## 【0006】

多発性硬化症の現在の治療としては、抗炎症及び免疫調節の手法が挙げられる。しかし、どちらも該病気の再発性ステージにおいて部分的な効果があるのみであり、該病気の二次進行性フェーズにおいては、ほとんど乃至全く効果が無い。最近、エストロゲン受容体

20

モジュレーターが、そのような神経変性を遅延させることができることが示されている。Carswell, H. V. O. et al., *AJP - Heart Circ. Physiol.*, 2004, vol. 287, 1501-04; Crawford, D. K. et al., *Brain*, 2010, vol. 133, 2999-3016; Donzelli, A. et al., *J. Pharmacol. Sci.*, 2010, vol. 114, 158-167.

## 【0007】

したがって、脱髓疾患のための効果的な治療に対する要求がある。具体的には、内因性ミエリン化を活性化し、軸索変性を起こさせない化合物がほしい。

## 【発明の概要】

30

## 【0008】

## 発明の分野

上記の観点から、神経細胞を有効量の6-置換エストラジオール誘導体に接触させることを含む、神経細胞の軸索の脱髓を防止し、及び/または再ミエリン化を高める方法を提供することが、本発明の目的である。本発明の一つ以上の態様が、ある目的を達成でき、その上、一つ以上の他の態様が、他のある目的を達成できることを、当業者には理解されるであろう。それぞれの目的は、そのすべての点で、本発明のあらゆる態様に均等に適用されることもある。このようにして、以下目的は、本発明のいずれか一つの形態について選択的に見ることができる。

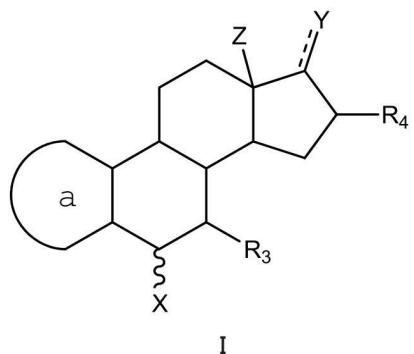
## 【0009】

40

したがって、本発明の一態様では、本明細書で開示される方法において使用される6-置換エストラジオール誘導体は、式Iの化合物：

## 【0010】

## 【化1】



I

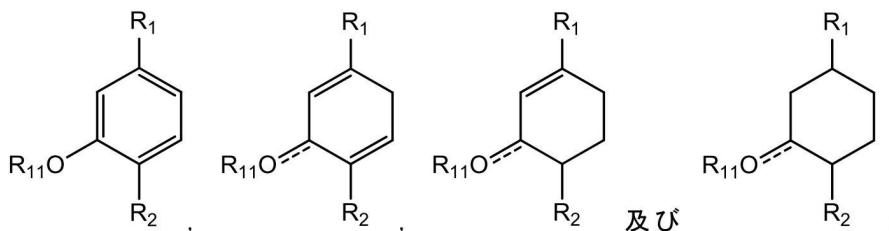
10

## 【0011】

式中、「a」環は、以下からなる群から選択され

## 【0012】

## 【化2】



20

## 【0013】

$R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$  及び  $R_4$  は独立して水素、 $C_1 - C_6$  アルキル、ハロ、スルフェート (sulfate)、グルクロニド、-OH、嵩高い (bulky) 基、アリール、シクロアルキル、ヘテロアリール、ヘテロシクロアルキル、-N( $CH_2$ )<sub>n</sub>、ホスフェート (phosphate) 基、及びホスフィネート (phosphinate) 基である； $R_{11}$  は H、 $C_1 - C_6$  アルキル、ハロゲン、スルフェート、グルクロニド、-SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>、-COOH、-CN、-CH<sub>2</sub>CN-、-NHCN-、-CHO、=CHOCH<sub>3</sub>、-COO 塩、-OSO<sub>2</sub> アルキル、-NH<sub>2</sub>、及び-NHCO( $CH_2$ )<sub>n</sub> からなる群から選択され；X は  $C_1 - C_{12}$  アルキル、 $C_2 - C_{12}$  アルケニル、 $C_2 - C_{12}$  アルキニル、ハロゲン、グルクロニド、-NH<sub>2</sub>、-SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>、-COOH、-CN、-CH<sub>2</sub>CN、-NHCN、-CHO、-COO 塩、-OSO<sub>2</sub> アルキル、-SH、-SCH<sub>3</sub>、-CH[( $CH_2$ )<sub>n</sub>CH<sub>3</sub>]COOCH<sub>3</sub>、-( $CH_2$ )<sub>m</sub>COOCH<sub>3</sub>、-( $CH_2$ )<sub>m</sub>-O-CH<sub>3</sub>、-( $CH_2$ )<sub>m</sub>-O-( $CH_2$ )<sub>n</sub>CH<sub>3</sub>、( $CH_2$ )<sub>m</sub>-S-CH<sub>3</sub>、-( $CH_2$ )<sub>m</sub>-S-( $CH_2$ )<sub>n</sub>CH<sub>3</sub>、-( $CH_2$ )<sub>m</sub>-NH-( $CH_2$ )<sub>n</sub>CH<sub>3</sub>、-C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> アルケニル-S-( $CH_2$ )<sub>n</sub>CH<sub>3</sub>、-C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> アルケニル-O-( $CH_2$ )<sub>n</sub>CH<sub>3</sub>、-C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> アルキニル-S-( $CH_2$ )<sub>n</sub>CH<sub>3</sub>、-C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> アルキニル-N-( $CH_2$ )<sub>n</sub>CH<sub>3</sub>、-( $CH_2$ )<sub>m</sub>-OH、-( $CH_2$ )<sub>m</sub>-NH<sub>2</sub>、-( $CH_2$ )<sub>m</sub>-O-NH<sub>2</sub>、-( $CH_2$ )<sub>m</sub>-S-NH<sub>2</sub>、-NH( $CH_2$ )<sub>m</sub>CH<sub>3</sub>、-NH( $CH_2$ )<sub>m</sub>OCH<sub>3</sub>、-NH( $CH_2$ )<sub>m</sub>CHOH、-COOH、-N( $CH_3$ )<sub>2</sub>、-( $CH_2$ )<sub>m</sub>(NH)CH<sub>2</sub>OH、-NHCOOH、-( $CH_2$ )<sub>m</sub>NHCOOH、-NO<sub>2</sub>、-SCN、-SO<sub>2</sub> アルキル、-B(OH)<sub>2</sub>、-( $CH_2$ )<sub>m</sub>N( $CH_3$ )-SO<sub>2</sub>-NH<sub>3</sub>、-( $CH_2$ )<sub>m</sub>-NH-SO<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>、-NHC(=S)CH<sub>3</sub>、及び-NHNH<sub>2</sub> からなる群から選択され；Y は水素、=O、-OCO( $C_1 - C_{20}$  アルキル)、及び-OH から選択され；及び Z は H またはメチルであり；このとき、m は 0 - 20 の整数であり、n は 0 - 8 の整数であり、

30

## 【0014】

## 【化3】

---記号

## 【0015】

40

50

は 3 及び / または 17 位でケト基を形成することができる、単結合または二重結合のいずれかを表し；並びに

【0016】

【化4】

~~~~記号

【0017】

は立体化学を問わない任意の形式の結合を表す；並びに、前記それぞれのエナンチオマー、他の立体化学異性体、水和物、溶媒和物、互変異性体、並びに前記化合物の薬学的に許容される塩である。

【0018】

本発明の別の態様においては、前記方法は、特に、エストロゲン受容体 (E R -) 及びエストロゲン受容体 (E R -) の一方または両方に結合する化合物を提供する。このような方法は、プリカーサー (precursor) 細胞またはプロジエニター (progenitor) 細胞がミエリンを形成する細胞へ分化するための主要シグナル経路に関する遺伝子をコードする RNA への遺伝子転写を、開始し、高め、または増やすことができる。

【0019】

本発明の他の目的、特徴、利点及び長所は、この概要及び以後のいくつかの実施形態についての説明から明らかであろうし、様々なステロイド化合物及び関連の治療方法についての知識を有する当業者にとっては容易に明らかとなるであろう。このような目的、特徴、利点及び長所は、添付の実施例、データ、図面、または本明細書に組み込まれる文献の考慮と共に検討すれば、上述から明らかであろう。

【図面の簡単な説明】

【0020】

図の簡単な説明

【図1】図1は、様々な6-置換エストラジオール誘導体で処置してから96時間後の、マウス培養系における分化したオリゴデンドロサイトプリカーサー細胞 (OPCs) の総数を示す。

【図2A】図2は、10 μMの化合物21にて処置してから96時間後の、マウス培養系におけるオリゴデンドロサイトの成熟を示す；a)陰性対照 (DMSO) にて処置；b)陽性対照 (MEKi) にて処置；c)化合物21にて処置。

【図2B】図2は、10 μMの化合物21にて処置してから96時間後の、マウス培養系におけるオリゴデンドロサイトの成熟を示す；a)陰性対照 (DMSO) にて処置；b)陽性対照 (MEKi) にて処置；c)化合物21にて処置。

【図2C】図2は、10 μMの化合物21にて処置してから96時間後の、マウス培養系におけるオリゴデンドロサイトの成熟を示す；a)陰性対照 (DMSO) にて処置；b)陽性対照 (MEKi) にて処置；c)化合物21にて処置。

【図3】図3は、様々な6-置換エストラジオール誘導体がOPCsを成熟オリゴデンドロサイトに分化する能力と、対照薬T3、CNTF及びMEKiがOPCsを成熟オリゴデンドロサイトに分化する能力との比較を示す。

【図4】図4は、化合物8で処置後の、オリゴデンドロサイトの代表的なプロセス伸長を示す。

【発明を実施するための形態】

【0021】

発明の詳細な説明

別途に定義しない限り、本明細書で使われる全ての技術的及び科学的用語は、この発明が属する分野の当業者に一般的に理解されているのと同じ意味であり、後述の意味を持つものと理解される。本明細書で参照されるすべての刊行物及び特許は、その全体が参照されて組込まれる。特に断らない限り、特定の化合物への参照は、ラセミ及びこれらの他の混合物を含む、その全ての異性体を含む。特に断らない限り、特定の化合物への参照は、

10

20

30

40

50

また、イオン性の、塩、溶媒和物（例えば、水和物）、保護された形態、プロドラッグ、及び、例えば本明細書で説明したような、これらの他の立体異性体を含む。

【0022】

活性化合物に対応する塩、例えば薬学的に許容される塩を調製し、精製し、及び／または取り扱うことが便利または望ましいこともある。薬学的に許容される塩の例としては、Berge et al., 1977, 'Pharmaceutically Acceptable Salts,' J. Pharm. Sci., Vol. 66, pp. 1-19に詳しく述べられており、本明細書においても詳述される。

【0023】

本明細書において、病気を処置する文脈中で使用される用語「処置」または「治療」は、一般的に哺乳類被験体、ヒトまたは非ヒト動物（例えば、獣医への応用）のいずれか、の処置または治療に関し、例えば病気の進行が阻害されるなど何らかの望ましい治療効果が達成され、さらに、進行速度の低下、進行速度の停止、病気の改善、及び／または病気の治癒を含む。予防策としての処置もまた含まれる。処置は併用処置及び治療を含み、この場合は、例えば、順次または同時に、二つ以上の処置または治療が組み合わされる。処置及び治療の例は、特に制限されるものではないが、化学療法（例えば医薬品、抗体（例えば、免疫療法のようなもの）を含む、活性薬剤の投与）、抗炎症、プロドラッグ（例えば、3または17位のような適切な位置にリン酸誘導体及びホスフィネートを含む保護基を採用すること、光力学治療に使用される他の化合物、GDEPT、ADEPTなど）、手術、放射線治療、及び遺伝子治療が挙げられる。好ましい併用処置としては、例えば抗炎症治療または免疫調整治療のような筋肉硬化症に対する既存の治療と、本発明の方法を組み合わせることが挙げられる。

【0024】

本明細書で使用される「立体化学異性体」という用語は、空間における原子の配向の仕方のみがお互いに異なる異性体を指す。本発明において特に重要な二つの立体異性体は、二つの異性体がお互いに鏡像体であるか否かによって決まる、エナンチオマー及びジアステレオマーである。好ましい実施形態では、特許請求の範囲に記載の式は、単離された、光学分割された、及び「実質的に他の異性体を含まない」化合物からなる。

【0025】

本明細書で使用される「治療的な有効量」という用語は、活性化合物、または活性化合物を含むマテリアル、組成物若しくは剤形の量に関し、これは合理的な利益／リスク比に見合う、なんらかの望ましい治療効果を生じさせるのに有効である。「有効量」という用語は、検出可能な効果を引き起こすことができる量を、一般的には意味する。

【0026】

「患者」または「被験体」という用語は哺乳類を含む動物を指し、好ましくはヒトである。

【0027】

「組織」という用語は、特定の機能を発揮することができる特殊化した細胞を一般的に指す。「組織」という用語は、個々の細胞または複数の若しくは凝集した細胞を指すこともあり、例えば、膜、血液や臓器である。「組織」という用語はまた、異常細胞または複数の異常細胞を含む。典型的な組織として乳房組織が挙げられ、乳腺細胞、内皮及び上皮を含む膜組織、ラミナ、間質組織を含む結合組織、並びに腫瘍を含む。

【0028】

本発明において、「アルキル」とは、1-20、及び好ましくは1-12の炭素原子を有する直鎖または分枝鎖のアルキル基を意味する。例としては、特に制限されるものではないが、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、n-ブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、ペンチル、2-ペンチル、イソペンチル、ネオペンチル、ヘキシル、2-ヘキシル、3-ヘキシル、及び3-メチルペンチルが挙げられる。各アルキル基は、任意に、例えば、ハロ、シクロアルキル、アリール、アルケニル、またはアルコキシ基などの1個、2個、または3個の置換基で置換されてもよい。

10

20

30

40

50

【0029】

「アリール」は、単環（例えば、フェニル）、多環（例えばビフェニル）、または少なくとも一つが芳香族である複数の縮合環（例えば、1, 2, 3, 4-テトラヒドロナフチル）を有する、芳香族炭素環基を意味する。アリール基はまた、任意に、例えばハロ、アルキル、アルケニル、シクロアルキル、またはアルコキシなどによってモノ-、ジ-、又はトリ置換されることもある。

【0030】

「ヘテロアリール」は、窒素、酸素または硫黄から選択されるヘテロ原子を少なくとも1個、最大で4個まで含む、5-、6-、または7-員環の、1または複数の縮合芳香族環系を意味する。例としては、特に制限されるものではないが、フラニル、チエニル、ピリジニル、ピリミジニル、ベンズイミダゾリル及びベンゾオキサゾリルが挙げられる。ヘテロアリール基はまた、任意に、例えばハロ、アルキル、アルケニル、シクロアルキル、またはアルコキシなどによってモノ-、ジ-、又はトリ置換されることもある。

10

【0031】

「シクロアルキル」は、単環（例えば、シクロヘキシル）、多環（例えば、ビシクロヘキシル）、複数の縮合環（例えば）を有する、炭素環式基を意味する。シクロアルキル基は、任意に、1から4個のヘテロ原子を含むことがある。加えて、シクロアルキル基は、一つ以上の二重結合を有していてもよい。シクロアルキル基はまた、任意に、例えばハロ、アルキル、アルケニル、アリール、またはアルコキシなどによってモノ-、ジ-、又はトリ置換されることもある。

20

【0032】

「アルコキシ」は、アルキル部分を有するオキシ含有基を意味する。例としては、特に制限されるものではないが、メトキシ、エトキシ、プロポキシ、ブトキシ及びtert-ブトキシが挙げられる。アルコキシ基はまた、例えば、ハロ、アリール、シクロアルキルまたはアルコキシなどによって任意にモノ-、ジ-、又はトリ置換されることもある。

【0033】

「アルケニル」とは、2-20、及び好ましくは2-6の炭素原子、並びに一つから三つの二重結合を有する直鎖または分枝鎖の炭化水素基を意味し、例えばエテニル、プロペニル、1-ブト-3-エニル、1-ペント-3-エニル、1-ヘキス-5-エニルが挙げられる。アルケニル基はまた、例えば、ハロ、アリール、シクロアルキル、またはアルコキシなどによって任意にモノ-、ジ-、又はトリ置換されることもある。

30

【0034】

「ハロ」または「ハロゲン」は、フッ素、塩素、臭素、またはヨウ素のハロゲン基である。

【0035】

「グルクロニド」は、グルクロン酸のグルコシド基を意味する。

【0036】

「スルフェート（sulfate）」という用語は、一般式-OS(O)₂-OR'、式中、R'は水素、金属、またはアルキル基、を満たす基を指す。

40

【0037】

「ホスフェート（phosphate）」という用語は、一般式-O₃P(O)(OR')₂、式中、各R'は独立して水素、金属、またはアルキル基、を満たす基を指す。

【0038】

「ホスフィネート（phosphinate）」という用語は、一般式-O₃P(O)(R')₂、式中、各R'は独立して水素、金属、またはアルキル基、を満たす基を指す。

【0039】

「嵩高い（bulky）基」は、それが結合している空間について立体障害を生じさせる置換基、例えばt-ブチル基、を指す。

【0040】

本明細書で使用される「アミノアルキル」という用語は、アミノ基がそこに付いたアル

50

キル基、例えば、 $\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-$ 、 $\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 Me_2NCH_2- などを指し、このときは、接続点がアルキル鎖の炭素となる；本明細書で使用される「アルキルアミノ」という用語は、窒素原子に接続したアルキル基を持つアミノ基、例えば、 $\text{CH}_3\text{NH}-$ 、 $\text{EtNH}-$ 、 $\text{iPr}-\text{NH}-$ などを指し、このときは、接続点がアミノ基の窒素原子を経由する。連結した基が用いられる全ての他の用語は、類似の規則に従う。

【0041】

本発明のある実施形態では、式Iの6-置換エストラジオール誘導体の有効量に神経細胞を接触させることを含む、神経細胞の軸索の脱髓を防止し、及び／または再ミエリン化を高める／刺激する方法が開示される。好ましくは、内因性ミエリン化（髓鞘の生産）を刺激し、軸索変性を起こさせない化合物が用いられる。非限定的な例においては、例えば10 シュワン細胞プリカーサーまたはオリゴデンドロサイトプロジェニター細胞（OPCs）のようなプリカーサー細胞から、例えばそれぞれシュワン細胞またはオリゴデンドロサイトのようなグリア細胞への分化によって、ミエリン化は刺激される。

【0042】

脱髓に応答して、プリカーサー／プロジェニター細胞は本質的な静止状態から再生性表現型への転換を経なければならない。この活性化は再ミエリン化プロセスの最初のステップであり、いくつかの遺伝子、例えば発達中のオリゴデンドロサイトの産出と関係したものがその多くであるが、のアップレギュレーションの主要なステップを含む。オリゴデンドロサイトの分化についての主要シグナル伝達経路において特異的に発現する遺伝子（ $p < 0.0001$ ）の非限定的ないくつかの例は、デルタ／ノッチ様 EFG リピート（DN ER）、オリゴデンドロサイト系譜転写因子2（OLIG2）、ミエリン塩基性タンパク質（MBP）、ミエリンオリゴデンドロサイト糖タンパク質（MOG）、インターロイキン23受容体（IL23R）、膜貫通タンパク質108（TREM108）、コネキシン（AF251047）、インターロイキン20受容体アルファ（IL20RA）、インターロイキン28A（IL28A）、ホメオボックスタンパク質（NKX2.2）、ミエリン転写因子1様タンパク質（MYT1）、及びY染色体性決定領域-ボックス2（SOX2）のようなものが挙げられる。分化のフェーズは、3つの異なるステップを包含する：再ミエリン化される軸索との接触を確立し、ミエリン遺伝子を発現してミエリン膜を生成し、最後に包み込んで鞘を形成するように膜を圧縮する。式Iの6-置換エストラジオール誘導体が、OPCsの増殖及び分化に関わるシグナル伝達経路のこれらの遺伝子をアップレギュレートし、再ミエリン化が起こる。このようにして、脱髓を防止し、及び／または再ミエリン化を高め／刺激する式Iの化合物は、病気の治療に使用することができる。このような方法はまた、再ミエリン化を経過観察することもある。

【0043】

従って、式Iの化合物によって治療されうる脱髓性疾患は、特に制限されるものではないが、例えば、多発性硬化症（例えば、再発性／寛解型多発性硬化症、二次進行型多発性硬化症、再発進行型多発性硬化症、一次進行型多発性硬化症、及び急性劇症型多発性硬化症）、橋中心髓鞘崩壊症、実験的自己免疫性脳脊髓炎、急性散在性脳脊髓炎、横断性脊髓炎、進行性多巣性白質脳症、アルツハイマー病、亜急性硬化性全脳炎、感染後脳脊髓炎、慢性炎症性脱髓性多発神経炎、進行性核上性麻痺、多巣性運動ニューロパシー、ギラン-バレー症候群、進行性多巣性白質脳症、デビック病、バロー同心性硬化症、及び異染性白質ジストロフィーのような白質ジストロフィー、クラッペ病、副腎白質ジストロフィー（ALD）、ペリツェウス-メルツバッハ病、カナバン病、中枢低髓鞘化を伴う小児期運動失調、アレキサンダー病、コケイン症候群、ファンデルナップ症候群、ゼルウィガー症候群、並びにレフサム病が挙げられる。脱髓性疾患有するヒト患者は、一つ以上の脱髓性疾患の症状、特に制限されるものではないが、視覚障害、しびれ、四肢の衰弱、振戦または痙攣、高熱不耐性、言語障害、失禁、めまい、または固有受容覚障害（例えば、バランス、協調、手足の位置感覚）などを持つ。脱髓性疾患の家族歴（例えば、脱髓性疾患の遺伝的素因）がある、または上述の脱髓性障害の軽度若しくは稀な症状を呈するヒト（例えば、ヒト患者）は、本方法が目的とする、脱髓性疾患（例えば、多発性硬化症）を発症

10

20

30

40

50

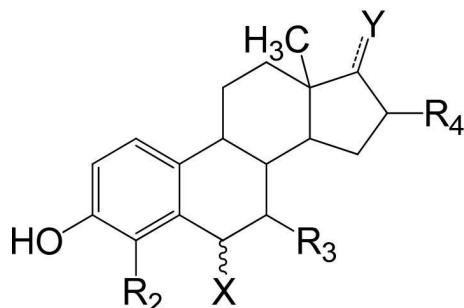
するリスクがあると考えられる。ヒトは、例えば脱髓性疾患の症状の一つ以上の改善（再ミエリン化の増進）、例えば本明細書に記載された脱髓性疾患の何かの症状のような、結果について経過観察され得る。

【0044】

本発明の一実施形態では、前記方法の化合物は、下記式（Ia）に示される一般構造を有する：

【0045】

【化5】



【0046】

式中、R₂、R₃、R₄、X及びYは上記で式（I）についてしたように定義される。より好ましくは、Yは=O、及び-OHから選択され；R₄は水素、ハロ、及びC₁-C₆アルキルから選択され；R₂は水素、-OH、及びハロから選択され；R₃は水素、ハロ、及び-OHから選択され；並びに、XはC₁-C₁₂アルキル、C₂-C₁₂アルケニル、-(CH₂)_mCOOCH₃、-(CH₂)_m-O-CH₃、-(CH₂)_m-O-(CH₂)_nCH₃、(CH₂)_m-S-CH₃、-(CH₂)_m-S-(CH₂)_nCH₃、-(CH₂)_m-N-(CH₂)_nCH₃、-C₂-C₈アルケニル-O-(CH₂)_nCH₃、-C₂-C₈アルケニル-S-(CH₂)_nCH₃、-C₂-C₈アルケニル-N-(CH₂)_nCH₃、-C₂-C₈アルキニル-O-(CH₂)_nCH₃、-C₂-C₈アルキニル-S-(CH₂)_nCH₃、-C₂-C₈アルキニル-N-(CH₂)_nCH₃、-(CH₂)_m-OH、-(CH₂)_m-O-NH₂、-(CH₂)_m-S-NH₂、-NH(CH₂)_mCH₃、-NH(CH₂)_mOCH₃、-NH(CH₂)_mCHOH-COOH、-(CH₂)_m(NH)CH₂OH、-(CH₂)_mNHCOOH、-(CH₂)_mN(CH₃)-SO₂-NH₃、及び-(CH₂)_m-NH-SO₂-NH₂から選択され；mは1-20の整数であり；nは0-8の整数であり；並びに、

【0047】

【化6】

---記号

【0048】

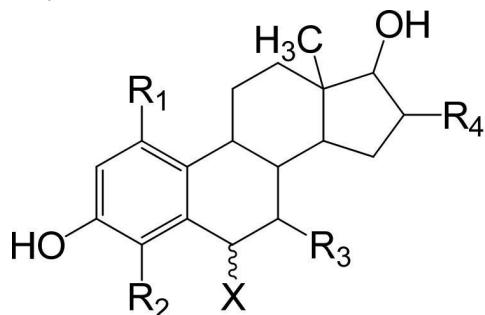
は単結合または二重結合のいずれかを表す。さらにより好ましくは、Yは(S)-OHであり；R₄は水素、またはアルキルから選択され；R₂は水素であり；R₃は水素であり；並びに、XはC₁-C₁₂アルキル、C₂-C₁₂アルケニル、-(CH₂)_m-O-(CH₂)_nCH₃、-(CH₂)_m-S-CH₃、及び-(CH₂)_m-N-(CH₂)_nCH₃から選択され；mは1-12の整数であり；nは0-4の整数であり；並びに、C-13メチルは(S)型立体配置である。

【0049】

本発明のさらに別の態様は、式（Ib）の化合物を使用する方法に向けられる：

【0050】

【化7】



【0051】

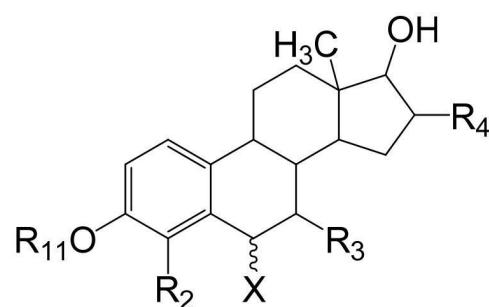
式中、R₁、R₂、R₃、R₄、及びXは上記で式(I)についてしたように定義される。より好ましくは、R₁は水素、-OH、及びハロから選択され；R₄は水素、ハロ、及びC₁-C₆アルキルから選択され；R₂は水素、及びハロから選択され；R₃は水素、ハロ、及び-OHから選択され；並びに、XはC₁-C₁₂アルキル、C₂-C₁₂アルケニル、-(CH₂)_mCOOCH₃、-(CH₂)_m-O-CH₃、-(CH₂)_m-O-(CH₂)_nCH₃、(CH₂)_m-S-CH₃、-(CH₂)_m-S-(CH₂)_nCH₃、-(CH₂)_m-N-(CH₂)_nCH₃、-C₂-C₈アルケニル-O-(CH₂)_nCH₃、-C₂-C₈アルケニル-S-(CH₂)_nCH₃、-C₂-C₈アルケニル-O-(CH₂)_nCH₃、-C₂-C₈アルケニル-S-(CH₂)_nCH₃、-C₂-C₈アルケニル-N-(CH₂)_nCH₃、-(CH₂)_m-OH、-(CH₂)_m-O-NH₂、-(CH₂)_m-S-NH₂、-NH(CH₂)_mCH₃、NH(CH₂)_mOCH₃、-NH(CH₂)_mCHOH-COOH、-(CH₂)_m(NH)CH₂OH、-(CH₂)_mNHCOOH、-(CH₂)_mN(CH₃)-SO₂-NH₃、及び-(CH₂)_m-NH-SO₂-NH₂から選択され；mは1-20の整数であり；並びに、nは0-8の整数である。さらにより好ましくは、R₁は水素であり；R₄は水素、またはアルキルから選択され；R₂は水素であり；R₃は水素であり；並びに、XはC₁-C₁₂アルキル、C₂-C₁₂アルケニル、-(CH₂)_m-O-CH₃、-(CH₂)_m-O-(CH₂)_nCH₃、(CH₂)_m-S-CH₃、及び-(CH₂)_m-S-(CH₂)_nCH₃から選択され；mは1-12の整数であり；nは0-4の整数であり；並びに、C-13メチル及びC-17ヒドロキシルの両方が(S)型立体配置である。

【0052】

本発明のさらに別の態様は、式(Ic)の化合物を使用する方法に向けられる：

【0053】

【化8】



【0054】

式中、R₁₁、R₂、R₃、R₄、及びXは上記で式(I)についてしたように定義される。さらにより好ましくは、R₁₁は水素、またはC₁-C₆アルキルであり；R₄は水素、ハロ、及びC₁-C₆アルキルから選択され；R₂は水素、及びハロから選択され；R₃は水素、ハロ、及び-OHから選択され；並びに、XはC₁-C₁₂アルキル、C₂-C₁₂アルケニル、-(CH₂)_m-O-CH₃、-(CH₂)_m-O-(CH₂)_nCH₃、(CH₂)_m-S-CH₃、及び-(CH₂)_m-S-(CH₂)_nCH₃から選択され；mは1-12の整数であり；nは0-4の整数であり；並びに、C-13メチル及びC-17ヒドロキシルの両方が(S)型立体配置である。

10

20

30

40

50

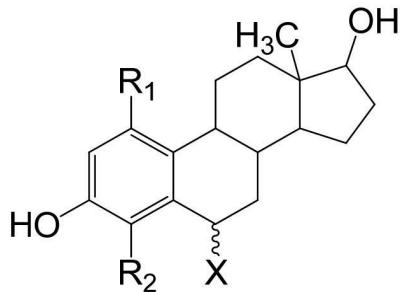
- C_{1-2} アルケニル、- $(CH_2)_mCOOCH_3$ 、- $(CH_2)_m-O-CH_3$ 、- $(CH_2)_m-O-(CH_2)_nCH_3$ 、 $(CH_2)_m-S-CH_3$ 、- $(CH_2)_m-S-(CH_2)_nCH_3$ 、- $(CH_2)_m-N-(CH_2)_nCH_3$ 、- C_2-C_8 アルケニル- $O-(CH_2)_nCH_3$ 、- C_2-C_8 アルケニル- $N-(CH_2)_nCH_3$ 、- C_2-C_8 アルケニル- $S-(CH_2)_nCH_3$ 、- C_2-C_8 アルキニル- $O-(CH_2)_nCH_3$ 、- C_2-C_8 アルキニル- $S-(CH_2)_nCH_3$ 、- C_2-C_8 アルキニル- $N-(CH_2)_nCH_3$ 、- $(CH_2)_m-OH$ 、- $(CH_2)_m-O-NH_2$ 、- $(CH_2)_m-S-NH_2$ 、- $NH(CH_2)_mCH_3$ 、 $NH(CH_2)_mOCH_3$ 、- $NH(CH_2)_mCHOH-COOH$ 、- $(CH_2)_m(NH)CH_2OH$ 、- $(CH_2)_mNHCOOH$ 、- $(CH_2)_mN(CH_3)-SO_2-NH_3$ 、及び- $(CH_2)_m-NH-SO_2-NH_2$ から選択され； m は 1 - 20 の整数であり；並びに、 n は 0 - 8 の整数である。さらにより好ましくは、 R_{1-1} は水素であり； R_4 は水素、またはアルキルから選択され； R_2 は水素であり； R_3 は水素であり；並びに、 X は C_1-C_{1-2} アルキル、 C_2-C_{1-2} アルケニル、- $(CH_2)_m-O-CH_3$ 、- $(CH_2)_m-O-(CH_2)_nCH_3$ 、及び- $(CH_2)_m-S-(CH_2)_nCH_3$ から選択され； m は 1 - 12 の整数であり； n は 0 - 4 の整数であり；並びに、 $C-13$ メチル及び $C-17$ ヒドロキシルの両方が (S) 型立体配置である。 10

【0055】

本発明のさらに別の態様は、式 (Id) の化合物を使用する方法に向けられる：

【0056】

【化9】



【0057】

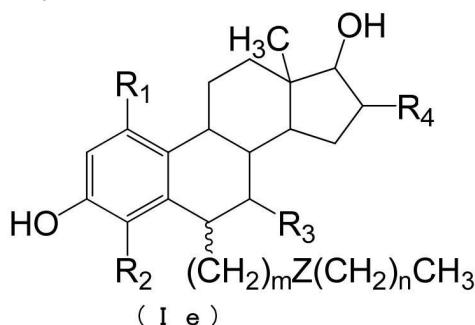
式中、 R_1 、 R_2 、及び X は上記で式 (I) についてしたように定義される。より好ましくは、 R_1 は水素、- OH 、及びハロから選択され； R_2 は水素、及びハロから選択され；並びに、 X は C_1-C_{1-2} アルキル、 C_2-C_{1-2} アルケニル、- $(CH_2)_mCOOCH_3$ 、- $(CH_2)_m-O-CH_3$ 、- $(CH_2)_m-O-(CH_2)_nCH_3$ 、 $(CH_2)_m-S-CH_3$ 、- $(CH_2)_m-S-(CH_2)_nCH_3$ 、- $(CH_2)_m-N-(CH_2)_nCH_3$ 、- C_2-C_8 アルケニル- $O-(CH_2)_nCH_3$ 、- C_2-C_8 アルケニル- $N-(CH_2)_nCH_3$ 、- C_2-C_8 アルキニル- $O-(CH_2)_nCH_3$ 、- C_2-C_8 アルキニル- $S-(CH_2)_nCH_3$ 、- C_2-C_8 アルキニル- $N-(CH_2)_nCH_3$ 、- $(CH_2)_m-OH$ 、- $(CH_2)_m-O-NH_2$ 、- $(CH_2)_m-S-NH_2$ 、- $NH(CH_2)_mOCH_3$ 、 $NH(CH_2)_mCHOH-COOH$ 、- $(CH_2)_m(NH)CH_2OH$ 、- $(CH_2)_mNHCOOH$ 、- $(CH_2)_mN(CH_3)-SO_2-NH_3$ 、及び- $(CH_2)_m-NH-SO_2-NH_2$ から選択され； X は C_1-C_{1-2} アルキル、 C_2-C_{1-2} アルケニル、- $(CH_2)_m-O-CH_3$ 、- $(CH_2)_m-O-(CH_2)_nCH_3$ 、 $(CH_2)_m-S-CH_3$ 、及び- $(CH_2)_m-S-(CH_2)_nCH_3$ から選択され； m は 1 - 20 の整数であり； n は 0 - 8 の整数である。さらにより好ましくは、 R_1 及び R_2 は水素であり； m は 1 - 12 の整数であり； n は 0 - 4 の整数であり；並びに、 $C-13$ メチル及び $C-17$ ヒドロキシルの両方が (S) 型立体配置である。 40

【0058】

本発明のさらに別の態様は、式(Ie)の化合物を使用する方法に向けられる：

【0059】

【化10】



【0060】

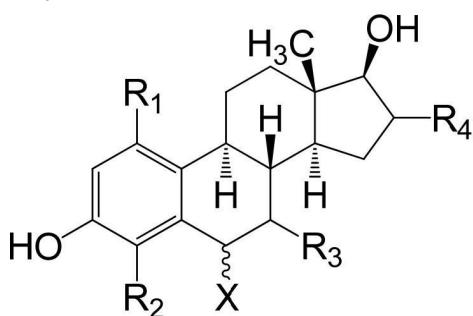
式中、m、n、R₁、R₂、R₃、及びR₄は上記で式(I)についてしたように定義され、Zは-O-、-S-、及び-NH-から選択される。より好ましくは、mは1-12であり；nは0-4であり；R₁は水素、-OH、及びハロから選択され；R₄は水素、ハロ、及びC₁-C₆アルキルから選択され；R₂は水素、及びハロから選択され；R₃は水素、ハロ、及び-OHから選択され；Zは-O-、及び-S-から選択され；並びに、C-13メチル及びC-17ヒドロキシルの両方が(S)型立体配置である。

【0061】

本発明のさらに別の態様は、式(If)の化合物を使用する方法に向けられる：

【0062】

【化11】



【0063】

式中、R₁、R₂、R₃、R₄、及びXは上記で式(I)についてしたように定義される。より好ましくは、R₁は水素、-OH、及びハロから選択され；R₄は水素、ハロ、及びC₁-C₆アルキルから選択され；R₂は水素、及びハロから選択され；R₃は水素、ハロ、及び-OHから選択され；並びに、XはC₁-C₁₂アルキル、C₂-C₁₂アルケニル、-(CH₂)_mCOOCH₃、-(CH₂)_m-O-CH₃、-(CH₂)_m-O-(CH₂)_nCH₃、(CH₂)_m-S-CH₃、-(CH₂)_m-S-(CH₂)_nCH₃、-(CH₂)_m-N-(CH₂)_nCH₃、-C₂-C₈アルケニル-O-(CH₂)_nCH₃、-C₂-C₈アルケニル-S-(CH₂)_nCH₃、-C₂-C₈アルケニル-N-(CH₂)_nCH₃、-C₂-C₈アルケニル-O-(CH₂)_nCH₃、-C₂-C₈アルケニル-N-(CH₂)_nCH₃、-(CH₂)_m-OH、-(CH₂)_m-O-NH₂、-(CH₂)_m-S-NH₂、-NH(CH₂)_mCH₃、NH(CH₂)_mOCH₃、-NH(CH₂)_mCHOH-COOH、-(CH₂)_m(NH)CH₂OH、-(CH₂)_mNHCOOH、-(CH₂)_mN(CH₃)-SO₂-NH₃、及び-(CH₂)_m-NH-SO₂-NH₂から選択され；XはC₁-C₁₂アルキル、C₂-C₁₂アルケニル、-(CH₂)_m-O-CH₃、-(CH₂)_m-O-(CH₂)_nCH₃、(CH₂)_m-S

30 40 50

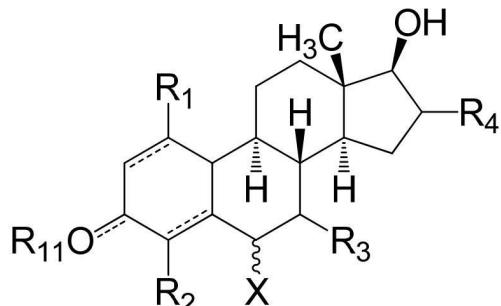
- CH_3 、及び - $(\text{CH}_2)_m - \text{S} - (\text{CH}_2)_n \text{CH}_3$ から選択され ; m は 1 - 20 の整数であり ; 並びに、 n は 0 - 8 の整数である。さらにより好ましくは、 R_1 、 R_2 、 R_3 、及び R_4 は水素であり ; m は 1 - 12 の整数であり ; 並びに、 n は 0 - 4 の整数である。

【0064】

本発明のさらに別の態様は、式 (Ig) の化合物を使用する方法に向けられる :

【0065】

【化12】



【0066】

式中、 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_{11} 、及び X は上記で式 (I) についてしたように定義される。より好ましくは、 R_1 は水素、-OH、及びハロから選択され ; R_4 は水素、ハロ、及び $\text{C}_1 - \text{C}_{12}$ アルキルから選択され ; R_2 は水素、及びハロから選択され ; R_3 は水素、ハロ、及び -OH から選択され ; X は $\text{C}_1 - \text{C}_{12}$ アルキル、 $\text{C}_2 - \text{C}_{12}$ アルケニル、- $(\text{CH}_2)_m \text{COOCH}_3$ 、- $(\text{CH}_2)_m - \text{O} - \text{CH}_3$ 、- $(\text{CH}_2)_m - \text{O} - (\text{CH}_2)_n \text{CH}_3$ 、 $(\text{CH}_2)_m - \text{S} - \text{CH}_3$ 、- $(\text{CH}_2)_m - \text{S} - (\text{CH}_2)_n \text{CH}_3$ 、- $(\text{CH}_2)_m - \text{N} - (\text{CH}_2)_n \text{CH}_3$ 、- $\text{C}_2 - \text{C}_8$ アルケニル - O - $(\text{CH}_2)_n \text{CH}_3$ 、- $\text{C}_2 - \text{C}_8$ アルケニル - S - $(\text{CH}_2)_n \text{CH}_3$ 、- $\text{C}_2 - \text{C}_8$ アルケニル - O - $(\text{CH}_2)_n \text{CH}_3$ 、- $\text{C}_2 - \text{C}_8$ アルケニル - S - $(\text{CH}_2)_n \text{CH}_3$ 、- $\text{C}_2 - \text{C}_8$ アルケニル - O - $(\text{CH}_2)_n \text{CH}_3$ 、- $\text{C}_2 - \text{C}_8$ アルケニル - N - $(\text{CH}_2)_n \text{CH}_3$ 、- $(\text{CH}_2)_m - \text{OH}$ 、- $(\text{CH}_2)_m - \text{O} - \text{NH}_2$ 、- $(\text{CH}_2)_m - \text{S} - \text{NH}_2$ 、- $\text{NH}(\text{CH}_2)_m \text{CH}_3$ 、 $\text{NH}(\text{CH}_2)_m \text{OCH}_3$ 、- $\text{NH}(\text{CH}_2)_m \text{CHOH} - \text{COOH}$ 、- $(\text{CH}_2)_m (\text{NH}) \text{CH}_2 \text{OH}$ 、- $(\text{CH}_2)_m \text{NHCOOH}$ 、- $(\text{CH}_2)_m \text{N}(\text{CH}_3) - \text{SO}_2 - \text{NH}_3$ 、及び - $(\text{CH}_2)_m - \text{NH} - \text{SO}_2 - \text{NH}_2$ から選択され ; X は $\text{C}_1 - \text{C}_{12}$ アルキル、 $\text{C}_2 - \text{C}_{12}$ アルケニル、- $(\text{CH}_2)_m - \text{O} - \text{CH}_3$ 、- $(\text{CH}_2)_m - \text{O} - (\text{CH}_2)_n \text{CH}_3$ 、 $(\text{CH}_2)_m - \text{S} - \text{CH}_3$ 、及び - $(\text{CH}_2)_m - \text{S} - (\text{CH}_2)_n \text{CH}_3$ から選択され ; m は 1 - 20 の整数であり ;

【0067】

【化13】

---OR_{11}

【0068】

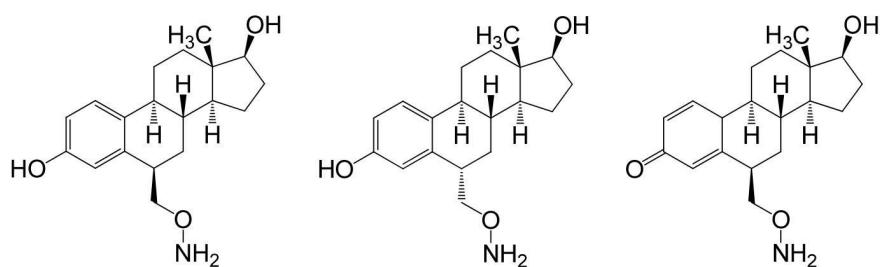
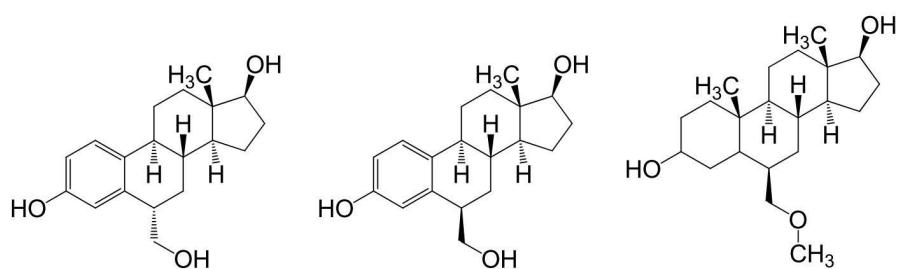
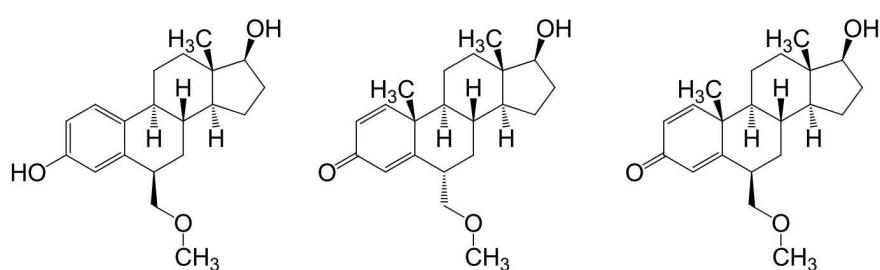
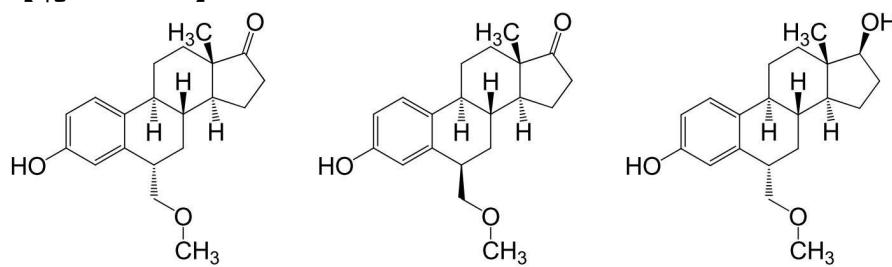
は = O、または -OH のいずれかであり ; 並びに、 n は 0 - 8 の整数である。さらにより好ましくは、 R_1 、 R_2 、 R_3 、及び R_4 は水素であり ; m は 1 - 12 の整数であり ; n は 0 - 4 の整数である。

【0069】

式 (I) 及び (Ia) - (Ig) の化合物の具体例を以下に示す :

【0070】

【化14-1】



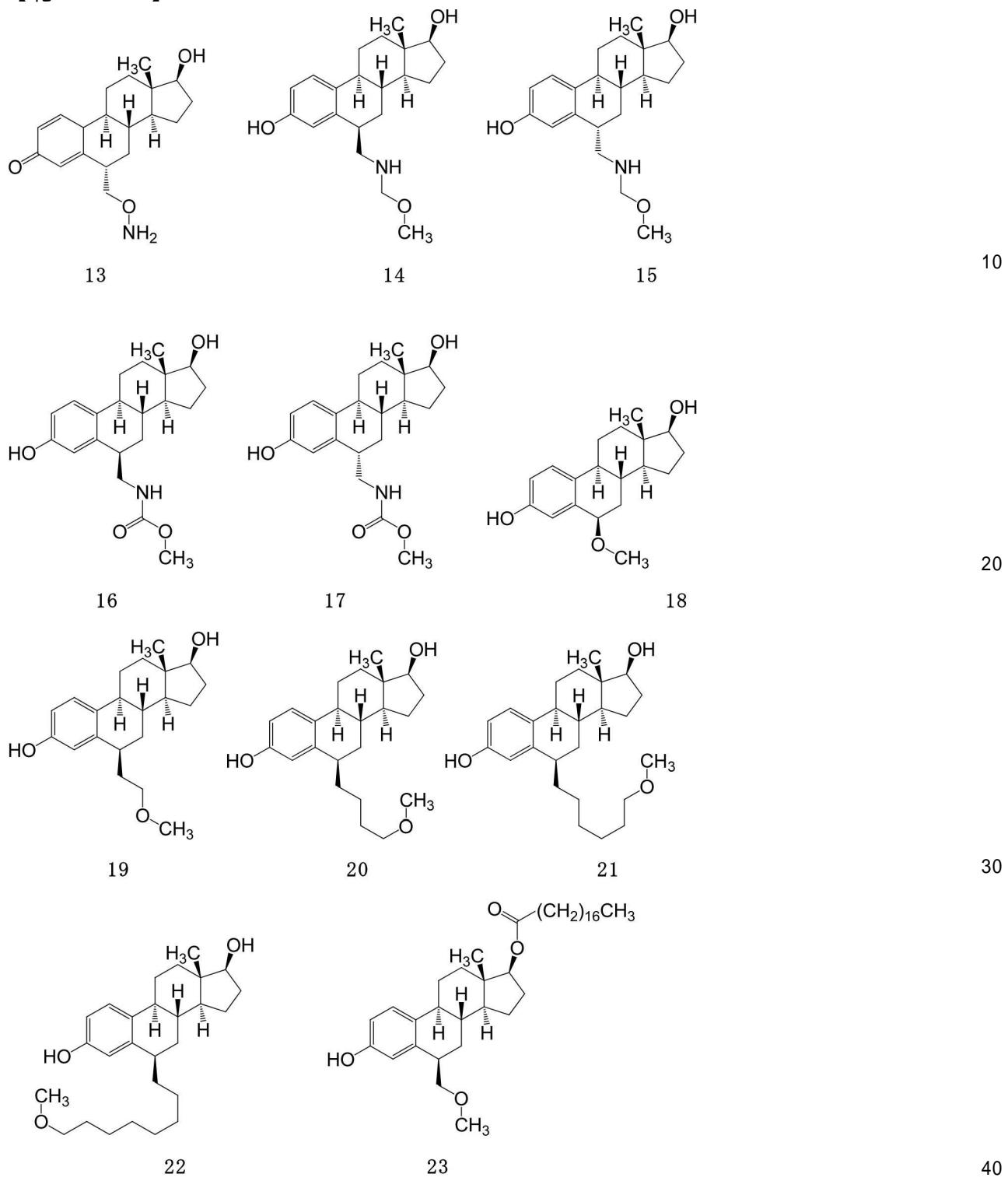
【0071】

10

20

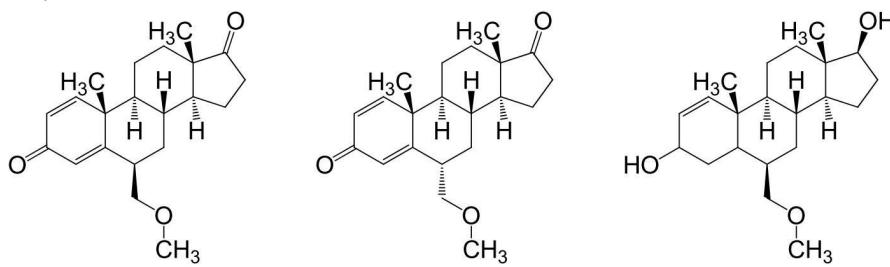
30

【化 1 4 - 2】



【 0 0 7 2 】

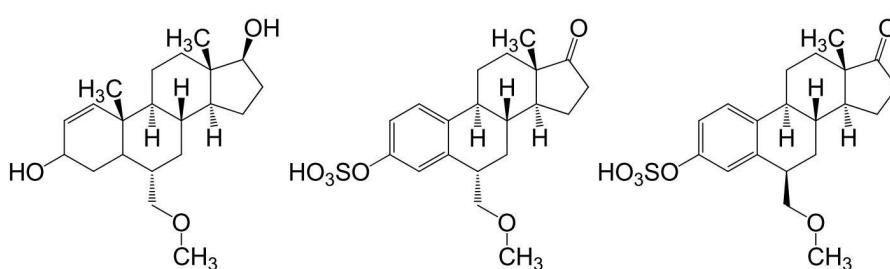
【化14-3】



24

25

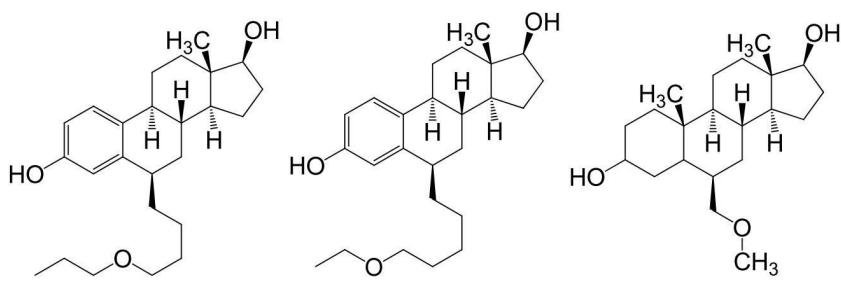
26



27

28

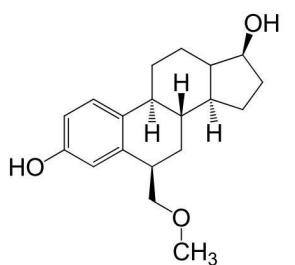
29



30

31

32



33

【0073】

本発明の実施形態化合物は、医薬組成物に使用することができる。そのような組成物は、上述したもの、以下に説明され、またはそうでなかったら本明細書から推測されるものから選ばれる一つ以上の化合物、及びこれらの組み合わせを含むことができる。いくつかの実施形態では、そのような組成物は、薬学的に許容されるキャリア成分を含むことができる。限定されないが、そのような組成物は、化合物のラセミ混合物を含むことができる。いくつかの実施形態では、そのような化合物は、S及びRのエナンチオマーとして、好みしくはもう一方の異性体が実質的に無い単離された及び精製された形態で存在することができる。

【0074】

本発明の化合物は、不斉中心を有していることがあり、ラセミ化合物、ラセミ混合物として、または、(6S, 8R, 9S, 13S, 14S)-3-ヒドロキシ-6-(メトキシメチル)-13-メチル-7, 8, 9, 11, 12, 13, 15, 16-オクタヒドロ-6H-シクロヘpta[α]フェナントレン-17(14H)-オン(化合物1); (6

10

20

30

40

50

R, 8R, 9S, 13S, 14S) - 3 - ヒドロキシ - 6 - (メトキシメチル) - 13 - メチル - 7, 8, 9, 11, 12, 13, 15, 16 - オクタヒドロ - 6H - シクロペンタ [a] フェナントレン - 17 (14H) - オン (化合物2); (6S, 8R, 9S, 13S, 14S) - 6 - (メトキシメチル) - 13 - メチル - 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - デカヒドロ - 6H - シクロペンタ [a] フェナントレン - 3, 17 - ジオール (化合物3); (6R, 8R, 9S, 13S, 14S) - 6 - (メトキシメチル) - 13 - メチル - 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - デカヒドロ - 6H - シクロペンタ [a] フェナントレン - 3, 17 - ジオール (化合物4); (6S, 8R, 9S, 10R, 13S, 14S) - 17 - ヒドロキシ - 6 - (メトキシメチル) - 10, 13 - ジメチル - 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - ドデカヒドロ - 3H - シクロペンタ [a] フェナントレン - 3 - オン (化合物5); (6R, 8R, 9S, 10R, 13S, 14S) - 17 - ヒドロキシ - 6 - (メトキシメチル) - 10, 13 - ジメチル - 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - ドデカヒドロ - 3H - シクロペンタ [a] フェナントレン - 3 - オン (化合物6); (6S, 8R, 9S, 13S, 14S) - 6 - (ヒドロキシメチル) - 13 - メチル - 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - デカヒドロ - 6H - シクロペンタ [a] フェナントレン - 3, 17 - ジオール (化合物7); (6R, 8R, 9S, 13S, 14S) - 6 - (ヒドロキシメチル) - 13 - メチル - 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - デカヒドロ - 6H - シクロペンタ [a] フェナントレン - 3, 17 - ジオール (化合物8); (6R, 8R, 9S, 10R, 13S, 14S) - 6 - (メトキシメチル) - 10, 13 - ジメチルヘキサデカヒドロ - 1H - シクロペンタ [a] フェナントレン - 3, 17 - ジオール (化合物9); (6R, 8R, 9S, 13S, 14S) - 6 - ((アミノオキシ)メチル) - 13 - メチル - 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - デカヒドロ - 6H - シクロペンタ [a] フェナントレン - 3, 17 - ジオール (化合物10); (6S, 8R, 9S, 13S, 14S) - 6 - ((アミノオキシ)メチル) - 13 - メチル - 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - デカヒドロ - 6H - シクロペンタ [a] フェナントレン - 3, 17 - ジオール (化合物11); (6R, 8R, 9S, 13S, 14S) - 6 - ((アミノオキシ)メチル) - 17 - ヒドロキシ - 13 - メチル - 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - ドデカヒドロ - 3H - シクロペンタ [a] フェナントレン - 3 - オン (化合物12); (6S, 8R, 9S, 13S, 14S) - 6 - ((アミノオキシ)メチル) - 17 - ヒドロキシ - 13 - メチル - 6, 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - ドデカヒドロ - 3H - シクロペンタ [a] フェナントレン - 3, 17 - ジオール (化合物13); (6R, 8R, 9S, 13S, 14S) - 6 - (((メトキシメチル)アミノ)メチル) - 13 - メチル - 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - デカヒドロ - 6H - シクロペンタ [a] フェナントレン - 3, 17 - ジオール (化合物14); (6S, 8R, 9S, 13S, 14S) - 6 - (((メトキシメチル)アミノ)メチル) - 13 - メチル - 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - デカヒドロ - 6H - シクロペンタ [a] フェナントレン - 3, 17 - ジオール (化合物15); 1 - (((((6R, 8R, 9S, 13S, 14S) - 3, 17 - ジヒドロキシ - 13 - メチル - 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - デカヒドロ - 6H - シクロペンタ [a] フェナントレン - 6 - イル)メチル)アミノ)プロパン - 2 - オン (化合物16); 1 - (((((6S, 8R, 9S, 13S, 14S) - 3, 17 - ジヒドロキシ - 13 - メチル - 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - デカヒドロ - 6H - シクロペンタ [a] フェナントレン - 6 - イル)メチル)アミノ)プロパン - 2 - オン (化合物17); (6R, 8R, 9S, 13S, 14S) - 6 - メトキシ - 13 - メチル - 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - デカヒドロ - 6H - シクロペンタ [a] フェナントレン - 3, 17 - ジオール (化合物18); (6S, 8R, 9S, 13S, 14S) - 6 - (2 - メトキシethyl) - 13 - メチル - 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15

10

20

30

40

50

, 16, 17 - デカヒドロ - 6H - シクロ펜타 [a] フェナントレン - 3, 17 - ジオール (化合物 19) ; (6R, 8R, 9S, 13S, 14S) - 6 - (4 - メトキシブチル) - 13 - メチル - 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - デカヒドロ - 6H - シクロ펜타 [a] フェナントレン - 3, 17 - ジオール (化合物 20) ; (6R, 8R, 9S, 13S, 14S) - 6 - (6 - メトキシヘキシル) - 13 - メチル - 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - デカヒドロ - 6H - シクロ펜타 [a] フェナントレン - 3, 17 - ジオール (化合物 21) ; (6R, 8R, 9S, 13S, 14S) - 6 - (6 - メトキシオクチル) - 13 - メチル - 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - デカヒドロ - 6H - シクロ펜타 [a] フェナントレン - 3, 17 - ジオール (化合物 22) ; (6R, 8R, 9S, 13S, 14S) - 3 - ヒドロキシ - 6 - (メトキシメチル) - 13 - メチル - 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - デカヒドロ - 6H - シクロ펜타 [a] フェナントレン - 17 - イルステアリン酸 (化合物 23) ; (6R, 8R, 9S, 10R, 13S, 14S) - 6 - (メトキシメチル) - 10, 13 - ジメチル - 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - デカヒドロ - 3H - シクロ펜타 [a] フェナントレン - 3, 17 (6H) - ジオン (化合物 24) ; (6S, 8R, 9S, 10R, 13S, 14S) - 6 - (メトキシメチル) - 10, 13 - ジメチル - 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16 - デカヒドロ - 3H - シクロ펜타 [a] フェナントレン - 3, 17 (6H) - ジオン (化合物 25) ; (6R, 8R, 9S, 10R, 13S, 14S) - 6 - (メトキシメチル) - 10, 13 - ジメチル - 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - テトラデカヒドロ - 3H - シクロ펜타 [a] フェナントレン - 3, 17 - ジオール (化合物 26) ; (6S, 8R, 9S, 10R, 13S, 14S) - 6 - (メトキシメチル) - 10, 13 - ジメチル - 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - テトラデカヒドロ - 3H - シクロ펜타 [a] フェナントレン - 3, 17 - ジオール (化合物 27) ; (6S, 8R, 9S, 13S, 14S) - 6 - (メトキシメチル) - 13 - メチル - 17 - オキソ - 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - デカヒドロ - 6H - シクロ펜타 [a] フェナントレン - 3 - イル水素スルフェート (化合物 28) ; (6R, 8R, 9S, 13S, 14S) - 6 - (メトキシメチル) - 13 - メチル - 17 - オキソ - 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - デカヒドロ - 6H - シクロ펜타 [a] フェナントレン - 3 - イル水素スルフェート (化合物 29) ; (6R, 8R, 9S, 13S, 14S) - 13 - メチル - 6 - (4 - プロポキシブチル) - 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - デカヒドロ - 6H - シクロ펜타 [a] フェナントレン - 3, 17 - ジオール (化合物 30) ; (6R, 8R, 9S, 13S, 14S) - 13 - メチル - 6 - (5 - エトキシペンチル) - 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - デカヒドロ - 6H - シクロ펜타 [a] フェナントレン - 3, 17 - ジオール (化合物 31) ; (6R, 8R, 9S, 10R, 13S, 14S) - 6 - (メトキシメチル) - 10, 13 - ジメチルヘキサデカヒドロ - 1H - シクロ펜타 [a] フェナントレン - 3, 17 - ジオール (化合物 32) ; 及び (6R, 8S, 9S, 14S, 17S) - 6 - (メトキシメチル) - 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - デカヒドロ - 6H - シクロ펜타 [a] フェナントレン - 3, 17 - ジオール (化合物 33) (ChemDraw Ultra, Version 11.0 (3) または 12.0 によって名づけた) のように単一の精製されたジアステレオマー若しくはエナンチオマーとして生じる。

【0075】

本発明の方法の前記化合物は、U.S.S.N. 12/627,874 (参照によって本明細書に組込まれる) に記載されるように調製され、エストラジオールの 6 - ヒドロキシメチル、6 - アルコキシアルキル、6 - アルキルチオアルキル、6 - アミノメトキシ、6 - メチルアミノメトキシ、または 6 - メトキシアミン誘導体を調製する方法に関する。エストラジオール誘導体を調製する反応スキームを以下、スキーム 1 - 3 に示す。このよ

10

20

30

40

50

うな方法は、エストラジオールの *t* - ブチルジメチルシリル誘導体を L I D A K O R / T H F / ホルムアルデヒドと反応させて 6 - ヒドロキシル化した化合物を得て、続けて以下のようなステップを経ることを含む：(i) 加水分解してエストラジオールの 6 - ヒドロキシメチル誘導体を得る；及び / または (i i) ジメチルスルフェートと処理し、続けて加水分解してエストラジオールの 6 - メチルオキシメチル誘導体を得る。化合物 1 は、化合物 3 を C - 17 ヒドロキシル位にてさらに酸化することによって得ることができる。化合物 3 3 及び他のジメチル化合物は、U. S. S. N. 13 / 232, 798 (参照によって本明細書に組込まれる) に従って調製することができる。

【 0 0 7 6 】

代わりのアプローチとして、本発明に係る化合物は、このようなステップを含む方法によって調製することができる：(i) エストラジオール化合物を保護する、(i i) 保護されたエストラジオール化合物を、L I D A K O R / ブチルリチウム / ジイソプロピルアミン / *t* e r t - アミラートカリウムによりベンジルの 6 - 位をアシル化する、(i i i) 水素化アルミニウムリチウムによって 6 位アルデヒドを還元する、(i v) 前記エストラジオール化合物の保護部位を脱保護する。エストラジオール誘導体を調製する反応スキームを、以下のスキーム 2 に示す。

10

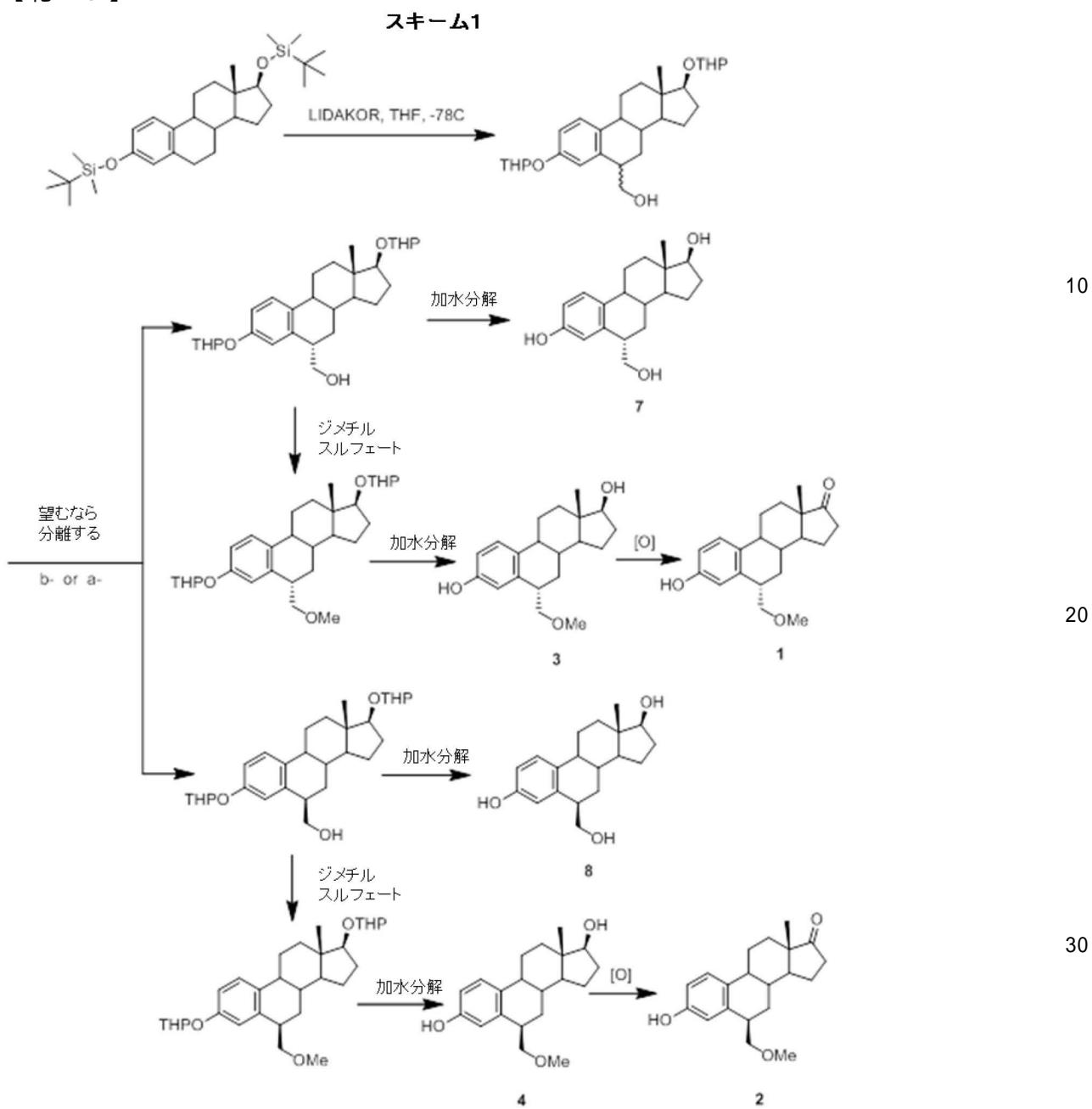
【 0 0 7 7 】

本発明に係る化合物は、以下のスキームに表わされるような方法に従うことによって合成できる。

【 0 0 7 8 】

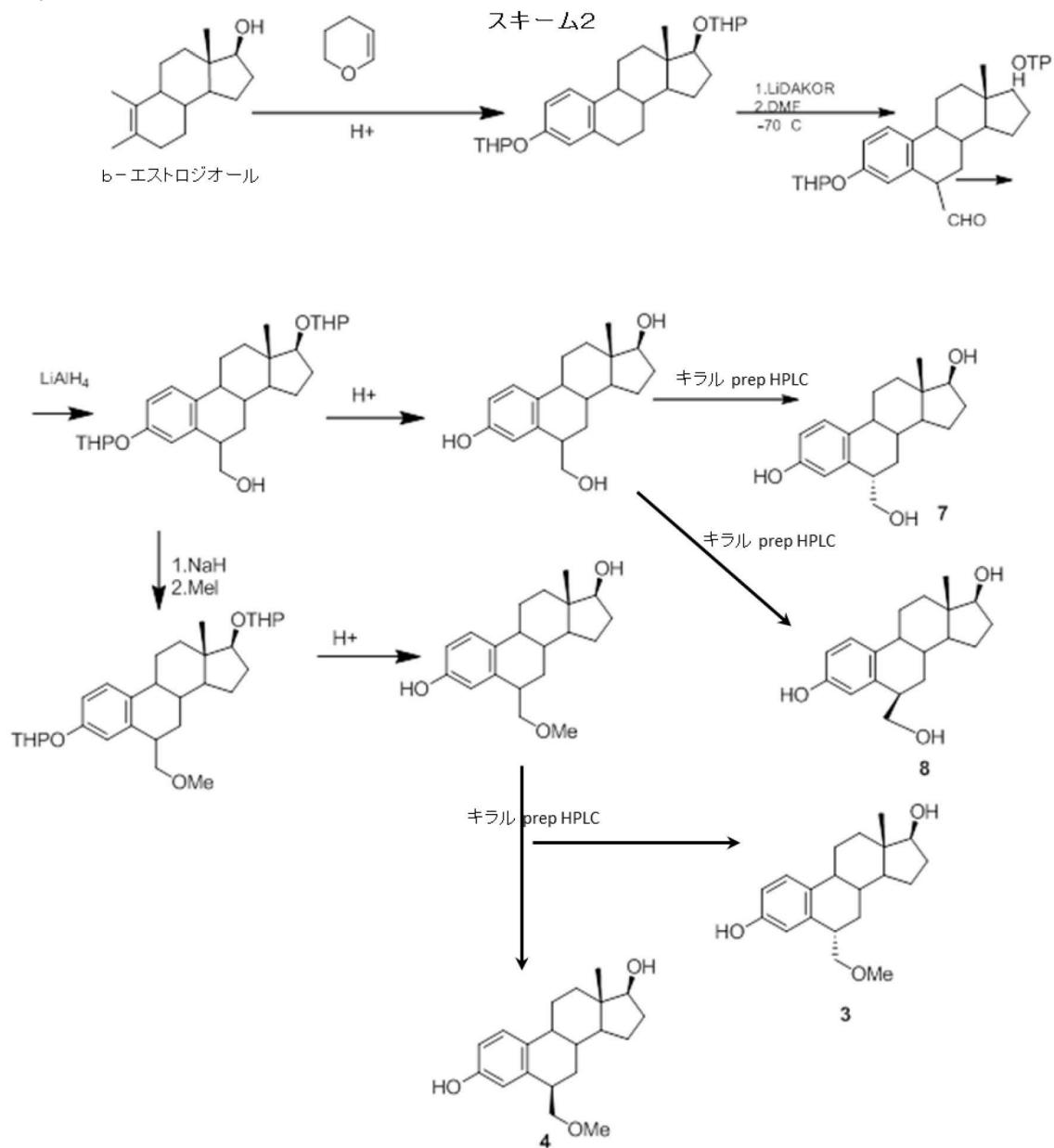
20

【化15】



【0079】

【化16】



【0080】

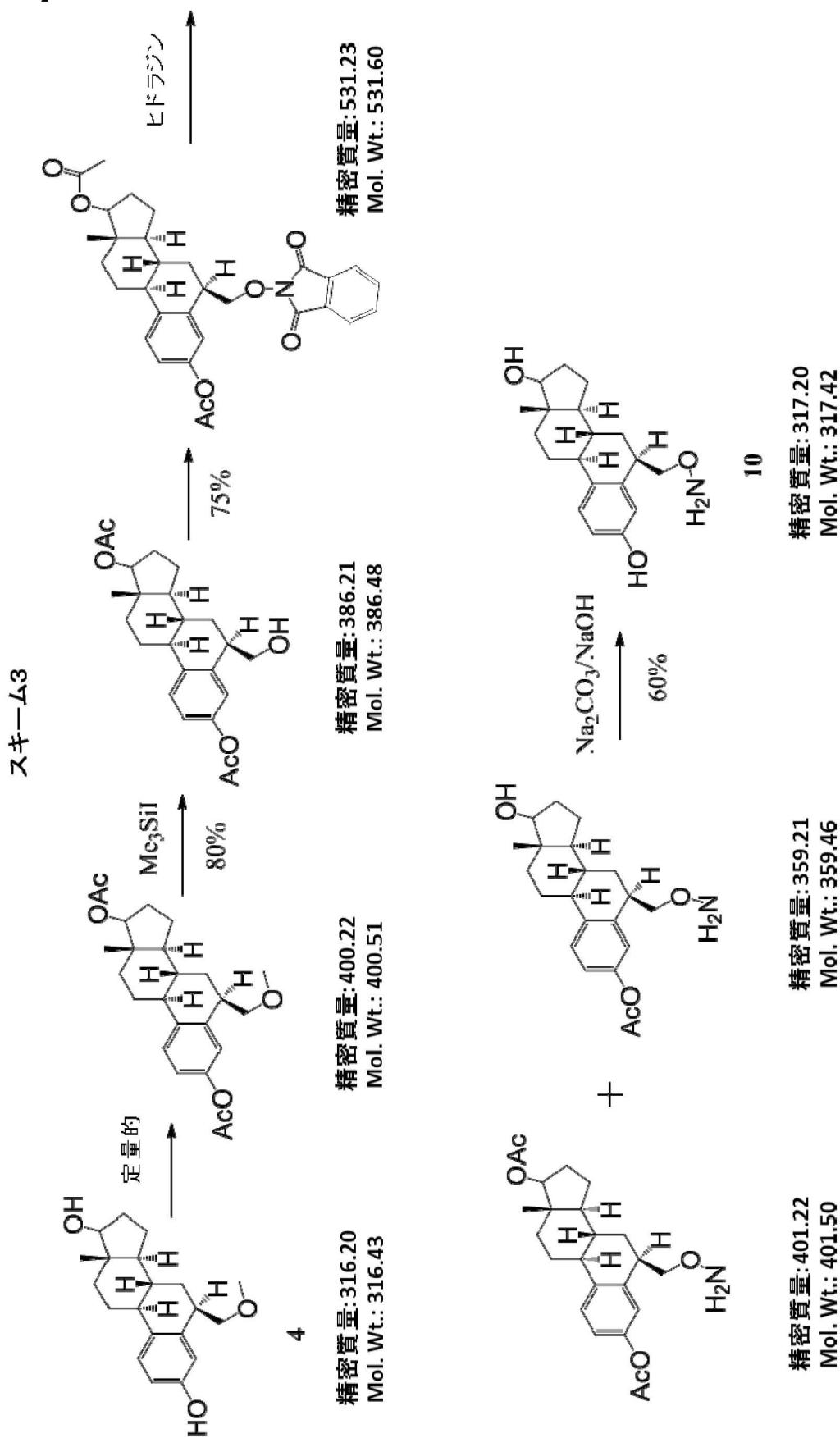
様々なアルキルオキシアルキル誘導体が、この発明に従えば、アルキル化試薬の選択を含む。そのような誘導体は、この発明を承知している当業者によって理解されるであろうし、本明細書に記載された種類の合成手順を通して入手可能である。従って、限定するもので無いが、様々なC₁からC₆アルキル及び置換アルキル試薬が、対応するアルキルオキシアルキル誘導体を調製するために、本明細書に記載のように用いることができる。

【0081】

本発明の別の態様では、エストラジオールの6-アミノ誘導体を作る方法は、下記の反応スキームに開示される。従って、スキーム1-2に記載の6-メトキシル化エストラジオールが用いられ、そのそれぞれのアミノ誘導体へ変換される。

【0082】

【化 1 7】



【 0 0 8 3 】

脱髓を防止し、及び／または再ミエリン化を高める方法及び化合物が提供される。本発明のある態様では、細胞内においてミエリン塩基性タンパク質遺伝子及び／またはミエリンオリゴデンドロサイト糖タンパク質遺伝子をコードするRNAの遺伝子転写を開始し、

高め、または増進する方法が提供され、式 (I) 及び (Ia) から (If) までから選択される 6 - 置換エストラジオール誘導体の有効量と細胞を接触させることを含む。そのような遺伝子転写を開始し、高め、または増進することは、これらの遺伝子のうち一つ以上で起こる。

【0084】

本明細書に記載したように、本発明の化合物の塩は、非毒性の「薬学的に許容される塩」を指す。他の塩は、しかしながら、本発明に関する化合物またはこれらの薬学的に許容される塩の調製に有用であり得る。本発明の化合物が塩基性基を含む場合、「薬学的に許容される塩」という用語に含まれる塩は、適切な有機または無機の酸と遊離塩基とを反応させることで一般的に調製された、非毒性の塩を指す。代表的な塩は、当該技術分野で知られたこのような塩はどれも含む。本発明の化合物が酸性部分を有する場合、これらの適切な薬学的に許容される塩は、アルカリ金属塩、例えば、ナトリウムまたはカリウム塩、アルカリ土類金属塩、例えば、カルシウムまたはマグネシウム塩、；及び適切な有機リガンドによって形成される塩、例えば、第四級アンモニウム塩、を含むこともある。

10

【0085】

本明細書に記載したように、本発明の化合物は、他の薬剤または哺乳類被験体の養生処置を高める他の薬剤と組み合わせて使用することができる。例えば、本方法の化合物は、他のエストロゲン受容体 モジュレーターと組み合わせて使用することができる。このような組み合わせの個々の成分は、患者またはこのような治療が必要なこの患者の部位に、治療経過中の異なる時点で別々に、または分割された若しくは単一の組み合わせ形式で同時に投与されることがある。本発明はそれゆえ、同時または交互処置のこのような全ての療養を包含するものと理解されるべきであり、用語「投与」はそれに応じて解釈される。本発明の化合物と、対象とされた脱髓疾患を治療するのに有用な他の薬剤とを組み合わせる範囲は、原則的にエストロゲン機能に関連する疾患を治療するために有用などのような薬学的組成物とのどのような組み合わせも含む、ということが理解されるであろう。

20

【実施例】

【0086】

以下の非限定的な例及びデータは、本発明の化合物、組成物及び／または方法に関する様々な態様及び特徴を示し、本明細書に記載の手順を通じて入手可能な 6 - 置換エストラジオール誘導体の合成を含む。先行技術と比較して、驚くべき、予測不可能で、及びそれに反する結果及びデータを、本発明の化合物及び方法は提供する。本発明の有用性は、いくつかの化合物、これらの部分、及び／または置換基の調製及び使用を通じて示されるが、本発明の範囲に相応の様々な他の化合物、部分、及び／または置換基によっても同等の結果を得ることができることが、当業者に理解されるであろう。

30

【0087】

上述したように、本方法の化合物は、U.S.S.N.12/627,874、及びU.S.S.N.13/232,798に開示された手順に従って調製される。上述の合成スキーム及びU.S.S.N.12/627,874にあるものを詳しく実証するため、化合物 21 の調製が実施例 1 で提供される。

40

【0088】

実施例 1

化合物 21 の調製方法

a) (8R, 9S, 13S, 14S, 17S)-3, 17-ビス(メトキシメトキシ)-13-メチル-7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17-デカヒドロ-6H-シクロペンタ[a]フェナントレン - クロロメチルメチルエーテル(7.0mL, 92.0mmol)を、100mLのTHF中の - エストラジオール(5g, 18.4mmol)及びジイソプロピルエチルアミン(16.0mL 92mmol)の溶液へ加える。反応混合物が還流するように加熱し、18時間攪拌する。THFを真空中で除去し、黄色／褐色のオイルを水及びCH₂Cl₂に分配する。有機層を分離し、塩

50

水で洗浄し、乾燥し (Na_2SO_4)、濾過し、真空下で蒸発させ、金色のオイルを得る。シリカゲルカラムクロマトグラフィー (10% EtOAc / Hex) による精製によって、粘性のある透明なオイル (5.7 g, 86%) として表題化合物が得られる。

【0089】

b) (8R, 9S, 13S, 14S, 17S) - 3, 17 - ビス (メトキシメトキシ) - 13 - メチル - 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - デカヒドロ - 6H - シクロペンタ [a] フェナントレン - 6 - オール - アルゴン下で - 78 に冷却された 80 ml の無水 THF 中のカリウム tert - プトキシド (8.87 g, 79.0 mmol) 及びジイソプロピルアミン (11.2 ml, 79.0 mmol) の溶液へ、n - ブチルリチウム (49.4 ml, 79.0 mmol, ヘキサン中 1.6 M) を滴下して加える。反応混合物を、-78 で 30 - 45 分間攪拌する。45 ml の THF 中の a) からの化合物 (5.7 g, 15.8 mmol) の溶液を、その後、滴下して加え、反応混合物を -78 で 3 時間攪拌する。a) からの化合物を添加している間に、反応は深い赤色へと変わる。ホウ酸トリメチル (10.6 ml, 94.8 mmol) をその後、ゆっくり加え、混合物を 0 まで温め、2 時間攪拌する。過酸化水素 (30% 水溶液を 24 ml) をその後に加え、反応混合物を室温まで温め、さらに 1 時間攪拌する。反応を 0 まで冷却し直し、10% $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 水溶液 (70 ml) で注意深く抑える。結果として生じる混合物を、EtOAc (2 x) で抽出し、混合有機抽出物を乾燥し (Na_2SO_4)、濾過し、真空下で蒸発させ、金色 / 褐色のオイルを得る。シリカゲルカラムクロマトグラフィー (25% EtOAc / Hex) による精製によって、白い固体 (3.5 g, 59%) として表題化合物が得られる。 10

【0090】

c) (8R, 9S, 13S, 14S, 17S) - 3, 17 - ビス (メトキシメトキシ) - 13 - メチル - 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - デカヒドロ - 6H - シクロペンタ [a] フェナントレン - 6 - オン - デス - マーチンペルヨージナン (9.46 g, 22.3 mmol) を、300 ml の CH_2Cl_2 中の b) からの化合物 (7.0 g, 18.6 mmol) の溶液へ少しづつ (portionwise) 加える。結果として生じる反応混合物を室温で 3 時間攪拌する。混合物を水へ注ぎ、層を分離する。水層を CH_2Cl_2 で抽出し、混合有機抽出物を塩水で洗浄し、乾燥し (Na_2SO_4)、濾過し、真空下で蒸発させ、べたつく褐色の固体を得る。シリカゲルカラムクロマトグラフィー (15% EtOAc / Hex) による精製によって、淡黄色の粘性のあるオイル (6.0 g, 86%) として表題化合物が得られる。 30

【0091】

d) エチル 2 - (((8R, 9S, 13S, 14S, 17S) - 3, 17 - ビス (メトキシメトキシ) - 13 - メチル - 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - デカヒドロ - 6H - シクロペンタ [a] フェナントレン - 6 - イリデン) アセテート - ホスホノ酢酸トリエチル (4.1 ml, 20.8 mmol) を、室温で 25 ml の THF 中の水素化ナトリウム (832 mg, 20.8 mmol) の混合物へ加える。約 10 分後、10 ml の THF 中の c) からの化合物 (3.9 g, 10.4 mmol) の溶液を、滴下して加える。結果として生じる反応混合物が還流するように、シールしたチューブ内で 72 時間加熱する。混合物を真空下で濃縮し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (5% EtOAc / Hex から 40% EtOAc / Hex へのグラジエント) により精製すると、透明な粘性のオイル (3.4 g, 74%) として表題の化合物を与える。 40

【0092】

e) 2 - ((8R, 9S, 13S, 14S, 17S) - 3, 17 - ビス (メトキシメトキシ) - 13 - メチル - 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 - デカヒドロ - 6H - シクロペンタ [a] フェナントレン - 6 - イリデン) エタノール - 65 ml の THF 中の d) からの化合物 (3.1 g, 6.97 mmol) の溶液を、水素化アルミニウムリチウム (5.2 ml, 10.46 mmol, THF 中 2 M) を滴下して 0 で処理する。冷却バスを取り除き、反応混合物を室温で 15 分間攪拌する。反応を 50

0まで冷却し直し、1.3mlの水を注意深く加え、続けて2.6mlの2N NaOHで、次に1.3mlの水で抑える。白い固体分が形成するまで、混合物を激しく攪拌する。混合物を濾過し、濾過物を真空下で濃縮すると、透明なオイル(2.8g、99%)として表題の化合物を与える。

【0093】

f) 2-((6S,8R,9S,13S,14S,17S)-3,17-ビス(メトキシメトキシ)-13-メチル-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-デカヒドロ-6H-シクロペンタ[a]フェナントレン-6-イル)アセトアルデヒド-1000mlの酢酸エチル中のe)からの化合物(3.09g、7.68mmol)と10%Pd/C(500mg)との混合物を40psiのH₂(g)下において5時間室温で攪拌する。混合物はセライトを通じて濾過し、前記セライトを酢酸エチルで十分に洗浄する。濾過物を真空下で濃縮すると、淡黄色のオイル(3.1g)を与える。前記オイルを100mlのジクロロメタンに溶解させ、デス-マーチンペルヨージナン(3.9g、9.22mmol)を少しずつ加える。結果として生じる反応混合物を室温で30分間攪拌する。混合物を水へ注ぎ、CH₂Cl₂で抽出する。混合有機抽出物を塩水で洗浄し、乾燥し(Na₂SO₄)、濾過し、真空下で蒸発させ、褐色の固体物を得る。シリカゲルカラムクロマトグラフィー(15%EtOAc/Hex)による精製によって、透明なオイル(2.0g、65%)として表題化合物が得られる。

【0094】

g) 4-((6R,8R,9S,13S,14S,17S)-3,17-ビス(メトキシメトキシ)-13-メチル-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-デカヒドロ-6H-シクロペンタ[a]フェナントレン-6-イル)ブト-2-エン-1-オール-リチウムビス(トリメチルシリル)アミド(18.4ml、18.4mmol、THF中1.0M)を、0で60mlのTHF中の(2-ヒドロキシエチル)トリフェニルホスホニウムプロミド(3.37g、8.70mmol)の懸濁物へ滴下して加える。1時間後、金褐色溶液を、10mlのTHF中のf)からの化合物(1.4g、3.48mmol)の溶液で滴下して処理する。結果として生じる反応混合物を0で40分間攪拌し、その後、飽和NH₄Cl水溶液で抑える。結果として生じる混合物を、EtOAc(2x)で抽出し、混合有機抽出物を乾燥し(Na₂SO₄)、濾過し、蒸発させて褐色のオイルを得る。シリカゲルカラムクロマトグラフィー(20%EtOAc/Hexから75%EtOAc/Hexへのグラジエント)による精製によって、黄色の粘性のオイル(680mg、45%)として表題の化合物が得られる。

【0095】

h) 4-((6R,8R,9S,13S,14S,17S)-3,17-ビス(メトキシメトキシ)-13-メチル-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-デカヒドロ-6H-シクロペンタ[a]フェナントレン-6-イル)ブト-2-エナール-デス-マーチンペルヨージナン(437mg、1.03mmol)を、室温でCH₂Cl₂中のg)からの化合物(370mg、0.86mmol)の溶液へ加える。結果とし生じる反応混合物を10分間攪拌し、次に、水へ注ぐ。層を分離し、水層をCH₂Cl₂(2x)で抽出する。混合有機抽出物を塩水で洗浄し、乾燥し(Na₂SO₄)、濾過し、真空下で蒸発させ、褐色のオイルを得る。シリカゲルカラムクロマトグラフィー(5%EtOAc/CH₂Cl₂から10%EtOAc/CH₂Cl₂へのグラジエント)による精製によって、淡黄色の粘性のオイル(358mg、86%)として表題の化合物が得られる。

【0096】

i) 6-((6R,8R,9S,13S,14S,17S)-3,17-ビス(メトキシメトキシ)-13-メチル-7,8,9,11,12,13,14,15,16,17-デカヒドロ-6H-シクロペンタ[a]フェナントレン-6-イル)ヘキサ-2,4-ジエン-1-オール-リチウムビス(トリメチルシリル)アミド(4.3ml、4.29mmol、THF中1.0M)を、0で14mlのTHF中の(2-ヒドロキ

10

20

30

40

50

シエチル)トリフェニルホスホニウムプロミド(786mg、2.03mmol)の懸濁物へ滴下して加える。30分後、金褐色の溶液を、2mlのTHF中のh)からの化合物(345mg、0.81mmol)の溶液で滴下して処理する。結果として生じる反応混合物を0で20分間攪拌し、飽和NH₄Cl水溶液で抑える。結果として生じる混合物をEtOAc(2x)で抽出し、混合有機抽出物を乾燥し(Na₂SO₄)、濾過し、蒸発させて褐色のオイルを得る。シリカゲルカラムクロマトグラフィー(5%EtOAc/CH₂Cl₂から40%EtOAc/CH₂Cl₂へのグラジエント)による精製によって、黄色の粘性のオイル(140mg、38%)として表題の化合物が得られる。

【0097】

j)(6R, 8R, 9S, 13S, 14S, 17S)-6-(6-メトキシヘキサ-2, 4-ジエン-1-イル)-3, 17-ビス(メトキシメトキシ)-13-メチル-7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17-デカヒドロ-6H-シクロ펜타[a]フェナントレン-i)の化合物(135mg、0.3mmol)の溶液を0まで冷却し、水素化ナトリウム(120mg、3.0mmol)を少しづつ加える。5-10分後、ヨードメタン(0.19ml、3.0mmol)を滴下して加え、結果として生じる反応混合物を室温まで温め、4時間攪拌する。EtOAcを加え、水で反応を注意深く抑える。層を分離し、有機層を乾燥し(Na₂SO₄)、濾過し、蒸発させて褐色のオイル状残留物を得る。シリカゲルカラムクロマトグラフィー(5%EtOAc/Hexから20%EtOAc/Hexへのグラジエント)による精製によって、透明のオイル(92mg、65%)として表題の化合物が得られる。

【0098】

k)(6R, 8R, 9S, 13S, 14S, 17S)-6-(6-メトキシヘキシリ)-3, 17-ビス(メトキシメトキシ)-13-メチル-7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17-デカヒドロ-6H-シクロ펜타[a]フェナントレン-5-10mlの酢酸エチル中のj)の化合物(90mg、0.19mmol)と10%Pd/C(100mg)との混合物を、H₂(g)のバルーン下において16時間室温で攪拌する。混合物はセライトを通じて濾過し、前記セライトを酢酸エチルで十分に洗浄する。濾過物を真空下で濃縮すると、透明なオイル(90mg、99%)として表題の化合物を与える。

【0099】

l)(6R, 8R, 9S, 13S, 14S)-6-(6-メトキシヘキシリ)-13-メチル-7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17-デカヒドロ-6H-シクロ펜타[a]フェナントレン-3, 17-ジオール(化合物21)-それ1.5mlの6NHC1及びTHF中のk)からの化合物(90mg、0.19mmol)の溶液を5時間室温で攪拌する。反応混合物を水で希釈し、EtOAc(2x)で抽出する。混合有機抽出物を乾燥し(Na₂SO₄)、濾過し、蒸発させ、透明なオイル状の残留物を得る。シリカゲルカラムクロマトグラフィー(CH₂Cl₂から30%EtOAc/CH₂Cl₂へのグラジエント)による精製によって、白い固形の泡状物(38mg、52%)として化合物21が得られた。

【0100】

実施例2

化合物3及び4の調製方法

スキーム2に概説したように、エストラジオール誘導体化合物3及び4は、以下のような手順で合成される。保護されたエストラジオール化合物は、トルエンスルホン酸またはカンファースルホン酸を触媒として用い、THF中のジヒドロピランと-エストラジオールとの反応によって調製される。当業者が理解できる通り、この反応は平衡反応であり、そのような条件下では完全には進まない。従って、両方のモノ保護エストラジオールが、反応混合物に見出される。このような粗反応混合物は、アセトニトリルとの粉碎ステップを経て、約70%の収率で望ましいビス-THPエストラジオールを結晶化させる。

【0101】

10

20

30

40

50

スキーム 2 に示すように、LiDAKOR：ブチルリチウム、ジイソプロピルアミン、及びtert-アミラートカリウムと呼ばれる強塩基の混合物によってベンジル 6-位のアシル化を経て、重要な中間体が得られる。-70 のような条件下で、当業者は、ベンジル位のプロトン引き抜きを理解することができる。中間体は、その後、カラムクロマトグラフィーにより精製されて約 50 % の収率でシロップとなり、まだ少量の不純物とカラム溶媒を含む。過剰の水素化アルミニウムリチウムによってアルデヒドを還元すると、ラセミのヒドロキシメチルエストラジオール化合物を高収率で得られる。

【0102】

化合物 3 及び 4 を調製する目的で、メトキシメチル化合物が、水素化ナトリウム及びヨウ化メチルによってヒドロキシメチルエストラジオール化合物をメチル化することで調製される。メトキシメチル化合物は、カラムクロマトグラフィーにより精製され、ガラス状の泡状物を与える。保護基を脱保護すると、ラセミの 6-メトキシメチルエストラジオール化合物を与える。エナンチオマーの分離が、キラル分取 HPLC を用いて行われ、化合物 3 及び 4 を与える。化合物 4 については、> 95 : 5 R : S のキラル純度を実現する。化合物 3 については、86 : 14 S : R のキラル純度を実現する。それは、4- 及び 6- プロトンが診断される、6- 位の絶対立体化学を決定するために NMR を採用する当業者のレベルの十分に範囲内である。

【0103】

実施例 3

肺、臍臓、及び卵巣腫瘍細胞株における化合物の発現プロファイリング

研究は、三つのヒト腫瘍細胞株：A549、Panc-1、及びSK-OV-3、を含む。株は、それぞれ 2 つのフラスコ内でおおよそ 40 % コンフルエントまで培養して成長させる。フラスコの一つは、様々な濃度、すなわち 10 μM、20 μM、50 μM、100 μM、または 200 μM で培地に化合物を添加することによって処置される。もう一方の、模擬処置のフラスコは、薬を可溶化させ運搬するために使用されるビヒクルだけによって処置される。処置済み及び未処置のサンプルのペアから抽出した RNA は、Agilent Whole Human Genome Microarrays (G4112F) のマイクロアレイ分析に供される。各分析は、アレイ上の 41,000 の特異的 mRNA ディテクターの各々について、メッセンジャー RNA の存在量の違いを報告する。各細胞株についての未処置に対する処置済みのサンプルのこの直接比較が、薬処置に起因する mRNA 存在量の変動の非常に敏感な検出を提供する。各細胞株の比較は自動正規化されるため、高い信頼性を持ってサンプル間で結果が比較できる。

【0104】

細胞調製

三つのヒト腫瘍細胞株、A549、Panc-1、及びSK-OV-3 を、それぞれ 2 つのフラスコ内でおおよそ 40 % コンフルエントまで培養して成長させる。フラスコの一つは、10 μM、50 μM、または 100 μM の濃度で培地に化合物を添加することによって処置される。もう一方の、模擬処置のフラスコは、薬を可溶化させ運搬するために使用されるビヒクルだけによって処置される。全てのフラスコを、さらに 24 時間培養し、次に、こすり取って遊離させ、氷冷 PBS 中で洗浄し、次に、遠心分離によって回収する。採取した細胞は、すぐに冷凍し、-80 またはより低温で保管する。

【0105】

RNA 精製

Trizol ベースの細胞溶解を使い、冷凍組織サンプルからトータル RNA を調製し、続けて 65 熱フェノール抽出、RNasey クロマトグラフィー精製する。精製 RNA サンプルを、分光光度法で分析する。RNA 濃度は、260 nm (A260) の吸光度を測定することで求める。pH 11 のとき、260 nm で 1 ユニットの吸光度であれば、m1 当り 35 μg の RNA に相当する。

【0106】

10

20

30

40

50

R N A 品質評価 - A 2 6 0 / A 2 8 0 吸光度比

2 6 0 n m 及び 2 8 0 n m での測定値の比 (A 2 6 0 / A 2 8 0) は、タンパク質のように U V を吸収する夾雜物に対する、 R N A の純度の推定を与える。 R N A は、約 2 . 1 の理論上の A 2 6 0 / A 2 8 0 比 (1 0 m M T r i s - C l 、 p H 7 . 5) を有する。 1 . 8 またはそれより大きい A 2 6 0 / A 2 8 0 比を有する抽出後 R N A は、このアッセイにおいて優れた結果を提供する。

【 0 1 0 7 】

R N A 品質評価 - キャピラリー電気泳動

キャピラリー電気泳動 (A g i l e n t B i o A n a l y z e r) を使って、無傷の 2 8 S 及び 1 8 S リボソーム R N A の比を求めてことで、前記 R N A は相対的な完全性が評価される。完全に無傷の R N A は、2 . 2 の 2 8 S / 1 8 S 比を有する。アレイ分析に受け入れられる R N A は全て、1 を超える比を有し、 2 8 S / 1 8 S 比の異なるサンプル間で内部での再現性を総括することで決定される、信頼性のある再現可能なマイクロアレイ結果についての最小の 2 8 S / 1 8 S 比である。

【 0 1 0 8 】

プローブ生産、及びチップハイブリダイゼーション

全ての R N A は、アジレント低インプット標識化 (A g i l e n t L o w I n p u t L a b e l i n g) 反応への投入量として、1 マイクログラムの R N A を使って標識する。

【 0 1 0 9 】

試験 R N A は C y 5 (6 5 0 n m エミッタ) で標識し、参照 R N A は C y 3 (5 5 0 n m エミッタ) ヌクレオチドで標識化する。標識化、ハイブリダイゼーション、及び後続の洗浄は、アジレント H 1 A v 2 ヒト発現チップ上で行われる。結果として生じるハイブリダイズ後チップは、アジレントマイクロアレイスキャナーでスキャンされ、各ディテクタースポットについての強度情報が、アジレントフィーチャ抽出ソフトウェア (A g i l e n t f e a t u r e e x t r a c t i o n s o f t w a r e) を使ってスキャン画像から抽出される。

【 0 1 1 0 】

ハイブリダイゼーションの品質の最有效試験は、これらのチップ上にプリントされた遺伝子のデュプリケート (d u p l i c a t e s) の多数から報告された比での分散レベルである。遺伝子プローブのセットは、アレイに渡って無作為の位置にそれぞれ 1 0 回プリントされる。全てのセットに渡る \log_2 比の標準偏差の中央値が、アレイ全体に渡る総合的な標準偏差の推定値として使用される。

【 0 1 1 1 】

データと解析

全ての三つのハイブリダイゼーションについての主要なデータは、特定の転写パターンを示す遺伝子を同定することができる検索の容易な定式化を可能にするために、ファイルメーカー・プロ (F i l e M a k e r P r o) リレーショナルデータベースに集められる。報告されたデータは、赤 (処置済み) と緑 (未処置の) バックグラウンドを差し引いたシグナルである。これは、最も修正が少ない形式のデータである。バックグラウンド「表面」は、ヒト D N A に相補的でない多数のプローブに基づいて、スライド全体に渡って推定される。これらは、アレイ表面への標識 c R N A の非特異的結合と、固定化 D N A オリゴマーへの標識 c R N A の非特異的結合との、両方の推定値としての役割を果たす。この情報を用いて、各プローブの周囲の局所ノイズが推定され、これは、アレイ上のそれぞれの特異的プローブフィーチャーについてオリゴヌクレオチドが堆積した領域で検出されるシグナルから減算される (g B G S u b S i g n a l 、 r B G S u b S i g n a l) 。処置済み細胞の R N A 、及び未処置細胞の R N A からのシグナル比は、直接の比、及び \log_2 比 (レシオ (R a t i o) 、 L o g 2 レシオ (L o g 2 R a t i o)) の両方で報告される。レシオは、各チャネルにおける強度を正規化する反復プロセスによって求められるので、ほとんど同じ転写レベルを有する多数の遺伝子の強度の類似性を最大化するスカ

10

20

30

40

50

ラーが見出され、それゆえ 1 に非常に近い比となる。

【 0 1 1 2 】

正規化後データについて比が計算された後、様々な対照及びデュプリケートサンプルが、どれぐらい再現可能な結果であるのか、並びにシグナル強度及びノイズに依存してこの再現性がどれぐらい変化するのか、についてのモデルを構築するために解析される。これらのパラメータにより、仮に同じ強度分布を生じる単一プロセスから無作為に赤と緑の強度が導き出された場合に、それぞれの比が生じるであろう尤度の推定値が生成される。この確率は各サンプルについて報告され、処置済み及び未処置シグナル強度間の差 (P V a l L o g R a t i o) を比が示す確率の尺度である。この確率は、変動が有る及び変動が無い遺伝子へと結果の閾値を定めるために用いられる。データベースでは、p 0 . 0 0 10 の閾値が、処置済み及び未処置のサンプル間のm R N A 存在量が有意に変動したことについての切り分け点 (S i g 0 . 0 0 1) として用いられる。この閾値は、各アッセイにおいて調べられる~ 4 0 , 0 0 0 比が与えられたときに、予想される偽陽性の数を合理的なレベルまで低下させる。未処置サンプルと比較したときに有意な変動を示す領域及び変動の方向は、三つの部分からなるカテゴリー； 1 , 未処置と比較してアップレギュレートされた、 0 , 未処置と比較して変動無し、及び - 1 , 未処置と比較してダウンレギュレートされた (T r i) 、へとアッセイの結果をまとめる。この表現を使用して、ある単一または複数の実験セットにおいて変動した遺伝子を特定する検索を、誰でも簡単に構築する。

【 0 1 1 3 】 20

以下の表 1 に見られる遺伝子発現データは、化合物 4 及び化合物 2 1 がアップレギュレートする、O P C s の増殖及び分化、合成最終的には神経軸索での髓鞘の合成に関与するシグナル伝達経路の遺伝子を示す。表 1 に示す遺伝子発現値は、l o g ₂ 値及び三つのヒト腫瘍細胞株 (S K O V - 3 、 A 5 4 9 及び P a n c - 1) から得られたデータの平均である。遺伝子発現の有意な変化は、p 0 . 0 0 0 1 である。遺伝子 I D (G e n e I D) は、E n t r e z 遺伝子データベースのために国立バイオテクノロジー情報センター (N C B I) で開発された規格に準拠する。

【 0 1 1 4 】

【表1】

| 遺伝子 | シンボル | Entrez
遺伝子
データ
ベースID | 化合物
4
(50μM) | 化合物
4
(100μM) | 化合物
21
(10μM) | 化合物
21
(50μM) |
|---|----------|-------------------------------|--------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| デルタ／ノッチ
様EFG
リピート | DNER | 92737 | 5.16 | 5.51 | 6.20 | 4.79 |
| オリゴ дендро
サイト系譜
転写因子2 | OLIG2 | 10215 | 4.98 | 4.59 | 6.16 | 5.32 |
| ミエリン塩基性
タンパク質
(バリアント7) | MBP | 4155 | 4.72 | 4.80 | 6.07 | 5.04 |
| ミエリンオリゴ
デンдроサイト
糖タンパク質
(バリアント
アルファ4) | MOG | 4340 | 3.99 | 4.28 | 5.23 | 5.55 |
| インター
ロイキン23
受容体 | IL23R | 149233 | 3.62 | 4.86 | 5.31 | 5.46 |
| 膜貫通
タンパク質
108 | TMEM108 | 66000 | 3.59 | 3.62 | 3.92 | 3.96 |
| コネキシン | AF251047 | 100128922 | 3.38 | 3.56 | 2.74 | 3.08 |
| インター
ロイキン20
受容体アルファ | IL20RA | 53832 | 3.17 | 3.38 | 4.42 | 4.39 |
| インター
ロイキン28A | IL28A | 282616 | 1.35 | 1.96 | 1.44 | 2.59 |

【0115】

実施例4

オリゴ дендроサイト分化アッセイ

O P C 培養系は、参考によって本明細書に組込まれる、Pedraza, C. E. et al., Glia 56 (12), 1339-52 (2008) に記載されているように調製される。E14.5 C57BL/6J (PLP-EGFPを発現する)マウス (Mallion, B. S. et al., J. Neurosci 22 (3), 876-85 (2002)) から脳を取り出し、洗浄し、皮質半球を単離する。組織は、その後、粉碎し、フラスコあたり一つの脳 (二つの皮質半球) の密度で $T - 25 \text{ cm}^2$ フラスコに播種される。ニューロスフェアは3日に一度継代する。継代2代目からの細胞を、一次スクリーニングのための二つの96ウェルプレートを調製するために使用される。O P C 培地中で初期の48時間インキュベーション後、ビヒクル対照DMSO、並びに $10 \mu\text{M}$ の毛様体神経栄養因子 (CNTF) 及び $1 \mu\text{M}$ の細胞外シグナル制御 (ERK) キナーゼインヒビター (MEK1) を含む陽性対照化合物と並んで、 $10 \mu\text{M}$ の17-エストラジオール、化合物4、及び化合物21にてO P Csを処置する。細胞は合計4日間処置し、新鮮な化合物を含む培地へと48時間に一度交換する。4日間の処置後、細胞を4%パラホルムアルデヒドで固定し、核を可視化するためにヘキスト33342で染色する。アストロサイトを特定するため、細胞を抗G F A P (G F A P = グリア線維性酸性タンパク質) 抗体でも染色する。細胞を3%正常ヤギ血清でブロッキングし、続いて抗ウサギG F A P 抗体 (1:500) で一晩インキュベーションする。細胞を、1:1000濃度のヤギ抗ウサギG F A P 抗体 (1:500) で一晩インキュベーションする。

10

20

30

40

50

サギアレクサ 647 蛍光色素二次抗体で標識する。画像は、セロミクスアレイスキャン (Cellomics Arrayscan) VT I によって取得する。ウェル当たり、10倍の倍率で 20 の領域を取得し、EGFP (強化緑色 *g* *l* *u* *o* *r* *e* *s* *c* *e* *n* *t* タンパク質 ; 成熟したオリゴデンドロサイト)、及び GFAp (アストロサイト) を発現している細胞を、ニューロンのプロファイリングアルゴリズムによって評価する。

【0116】

オリゴデンドロサイト成熟の程度は、プロセス形成の程度 (図 1 - 4 ; 図 1 及び 3 の凡例は下の表 2 に示される) と共に、PLP - EGFP レポーターシグナルのレベルによって評価される。プロテオリビドタンパク質 (PLP) は、成熟オリゴデンドロサイトで発現することが知られており、髓鞘の成分であることから、バイオマーカーとして用いられる。図 1 及び 3 に示すように、化合物 4 及び 21 は両者とも、効果のある 6 - 置換アナログであり、化合物 21 は DMSO と比較してオリゴデンドロサイトを分化させる活性が 3 倍以上、陽性対照 CNTF (Stankoff, B. et al., J. Neurosci. 22 (21), 9221 - 27 (2002))、及び MEK1 Younes - Rapozo, V. et al., Int. J. Dev. Neurosci., 27 (8), 757 - 68 (2009) よりもそれぞれ 1.5 - 2.0 倍の活性を有する。DMSO 及び CNTF を含めて試験した他の全ての化合物と比較して、プロセス形成の程度も、化合物 21 において最も優れている (図 2 及び 4)。

【0117】

【表 2】

表 2 一 図 1 及び 3 の凡例

| 図 1 及び 3 での文字 | 化合物# |
|---------------|----------|
| A | 24 |
| B, 0 | 4 |
| C | 8 |
| D | エストラジオール |
| E, M | 21 |
| F | 32 |
| G | 23 |
| H | エストリオール |
| I | 10 |
| J | 18 |
| K | 20 |
| L | エキセメスタン |
| N | 33 |

【0118】

特許を含めた全ての文献及び参照の開示は、参照によって本明細書に組込まれる。本発明、並びにこれを製造し及び使用する、手段及びプロセスは、今や、適切などの当業者もが同じものを作り及び使用することができるよう、このように十分な、明確な、簡明な、且つ正確な用語で開示される。本明細書で言及される全ての参照は、参照によって本明細書に組込まれる。上記の説明は本発明の好ましい実施形態を開示しており、その変更は、本発明の精神または範囲から逸脱することなくその中にされ得ると理解されるべきである。

10

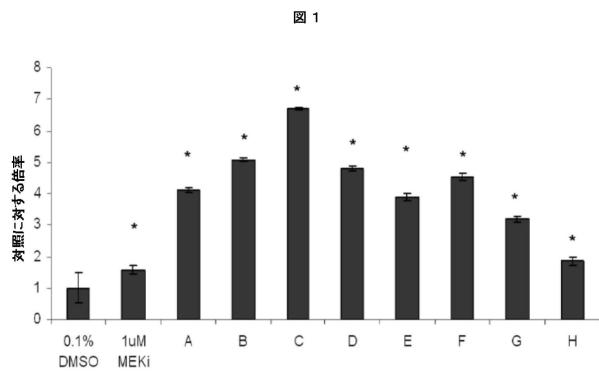
20

30

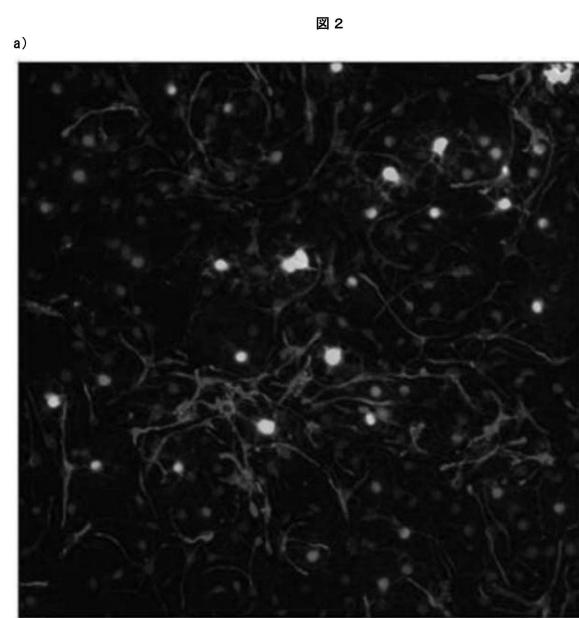
40

50

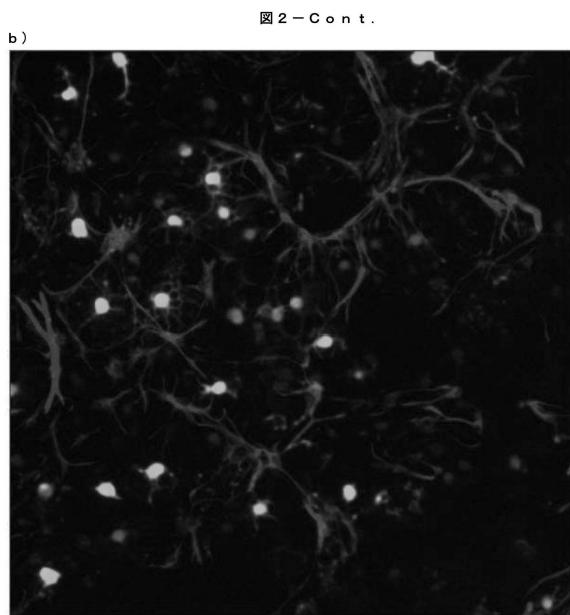
【図1】



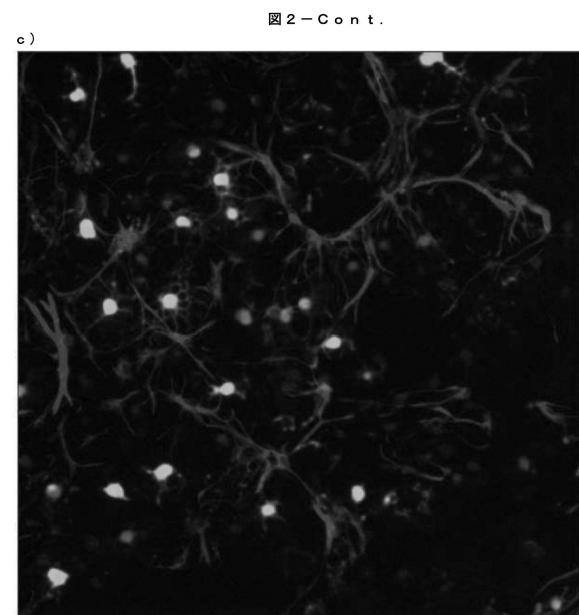
【図2 A】



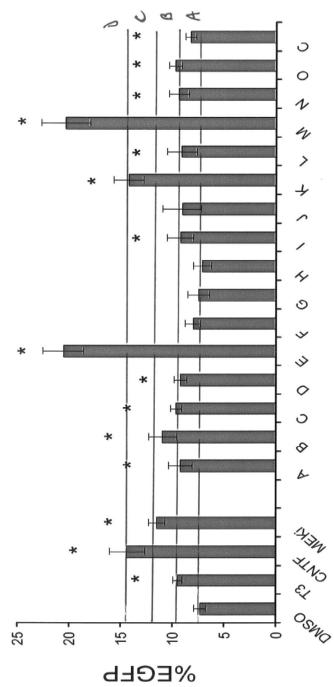
【図2 B】



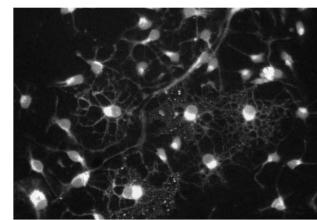
【図2 C】



〔 四 3 〕



【 図 4 】



フロントページの続き

| (51)Int.Cl. | | F I | |
|-------------|-------|-----------|---------------|
| A 6 1 P | 25/14 | (2006.01) | A 6 1 P 25/14 |
| A 6 1 P | 25/28 | (2006.01) | A 6 1 P 25/28 |
| A 6 1 K | 45/00 | (2006.01) | A 6 1 K 45/00 |
| A 6 1 P | 29/00 | (2006.01) | A 6 1 P 29/00 |
| A 6 1 P | 37/02 | (2006.01) | A 6 1 P 37/02 |

(72)発明者 イエーガー, ジェームス ジー.

アメリカ合衆国, 53012 ウィスコンシン, セダーバーグ, セダー ポイント アヴェニュー
ダブリュー71 エヌ391

(72)発明者 ナイ, スティーブ

アメリカ合衆国, 53092 ウィスコンシン, メコン, ノース リヴァーヴュー コート 10
404

審査官 砂原 一公

(56)参考文献 特表2010-511625 (JP, A)

特表2009-510125 (JP, A)

国際公開第2009/149176 (WO, A1)

特開平01-093529 (JP, A)

Current Opinion in Pharmacology, 2008年, Volume 8, Issue 6, Pages 740-746

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A 6 1 K 31/56

C A p l u s / R E G I S T R Y (S T N)