



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2012-0068026
(43) 공개일자 2012년06월26일

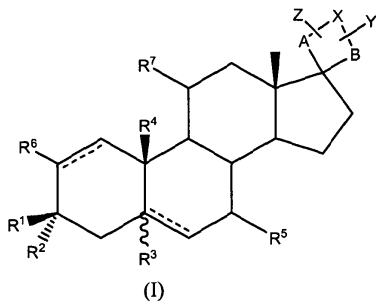
- | | |
|---|--|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
 A61K 31/56 (2006.01) A61K 31/575 (2006.01)
 A61P 11/06 (2006.01) A61P 17/06 (2006.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2012-7009258</p> <p>(22) 출원일자(국제) 2010년09월13일
 심사청구일자 없음</p> <p>(85) 번역문제출일자 2012년04월10일</p> <p>(86) 국제출원번호 PCT/GB2010/001727</p> <p>(87) 국제공개번호 WO 2011/030116
 국제공개일자 2011년03월17일</p> <p>(30) 우선권주장
 0916020.1 2009년09월11일 영국(GB)
 1009342.5 2010년06월03일 영국(GB)</p> | <p>(71) 출원인
 바이오네이처 이.에이. 리미티드
 사이프러스, 니코시아, 2406 에고미, 1 포세이돈</p> <p>(72) 발명자
 파노우트사코포우로우, 바실리키
 그리스, 지알-190 02 아테네, 타이마리안 스트리트 39, 파리아니아
 안젤라코포우로우, 마리아
 그리스, 지알-115 25 아테네, 네오 싸이치코, 프라그코포우로우 스트리트 31-33
 (뒷면에 계속)</p> <p>(74) 대리인
 한양특허법인</p> |
|---|--|

전체 청구항 수 : 총 24 항

(54) 발명의 명칭 **염증 및 자가면역 질환에 대한 스테로이드 화합물의 용도**

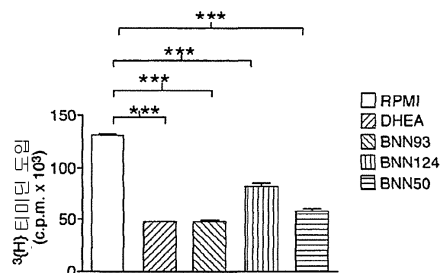
(57) 요약

본 발명은 염증성 병태의 증상을 치료, 예방 또는 경감하기 위한, 스피로스테로이드 유사체를 포함하는 스테로이드 화합물의 용도에 관한 것이다. 상기 스테로이드 화합물은 이에 한정되는 것은 아니지만, 천식, 폐 염증, 망막 염증성 병태, 자가면역 질환, 예컨대 류마티스 관절염, 타입 I 당뇨병, 전신 홍반성 루프스, 궤양성 대장염, 및 염증성 장 질환 및 근질환, 뿐 아니라 다발성 경화증을 포함하는 다양한 염증성 병태를 치료하는데 유용하다. 활성 화합물은 하기 식 I로 표시되고:



여기서 R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , A, B, X, Y 및 Z는 본 발명의 상세한 설명에 정의되어 있다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

칼로게로포우로우, 테오도라

그리스, 지알-145 64 키피씨아, 프로테우스 스트리트 32

그라바니스, 아칠레아스

그리스, 크레트, 지알-713 05 헤라클리온, 앓시파돈 스트리트 7에이

라자리디스, 라코보스

그리스, 지알-16671 아테네, 보우리아그메니, 탈리아스 스트리트 22

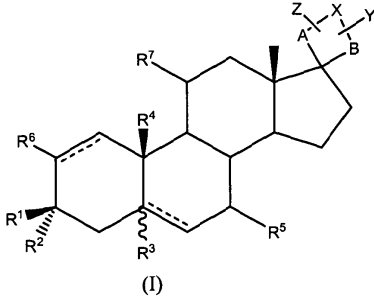
네오피토우, 콘스탄티노스

사이프러스, 2054 니코시아, 스트로볼로스, 아지오스 도로테오스 스트리트 1

특허청구의 범위

청구항 1

식 I의 화합물, 또는 그것의 약리학적으로 허용될 수 있는 에스테르, 염 또는 산 부가 염의 유효량을 환자에게 투여하는 것을 포함하는 염증성 병태의 예방 또는 치료 방법.



여기에서

R¹은 히드록실, 알콕시, 알카노일옥시, 아미노카보닐옥시 또는 알콕시카보닐옥시이고;

R²는 수소, 선택적으로 치환된 알킬, 선택적으로 치환된 알케닐, 선택적으로 치환된 알콕시알킬, 선택적으로 치환된 아미노알킬, 시아노, 선택적으로 치환된 시아노알킬, 선택적으로 치환된 티오시아노알킬, 이소티오시아노, 선택적으로 치환된 아지도알킬, 선택적으로 치환된 알카노일옥시알킬, 선택적으로 치환된 아릴알킬, 선택적으로 치환된 헤테로아릴알킬, 선택적으로 치환된 아릴알케닐, 선택적으로 치환된 헤테로아릴알케닐, 선택적으로 치환된 아릴, 선택적으로 치환된 아릴키닐, 선택적으로 치환된 아릴킬알키닐, 선택적으로 치환된 알카노일옥시알키닐, 선택적으로 치환된 헤테로아릴옥시알키닐, 선택적으로 치환된 옥소알키닐 또는 그것의 케탈, 선택적으로 치환된 시아노알키닐, 선택적으로 치환된 헤테로아릴알키닐, 선택적으로 치환된 히드록시알키닐, 선택적으로 치환된 알콕시알키닐, 선택적으로 치환된 아미노알키닐, 선택적으로 치환된 아실아미노알키닐, 선택적으로 치환된 머캅토알키닐, 선택적으로 치환된 히드록시알키닐 이산(dioic acid) 헤미-에스테르 또는 그것의 염, 또는 선택적으로 치환된 알키닐옥시알키닐이거나;

또는

R¹은 산소이고, R²는 선택적으로 치환될 수 있는 산소화된 고리(oxygenated ring)를 형성하도록 R¹과 결합되는 알킬 또는 알케닐 또는 알키닐기이고,

R³은 수소, 또는 이중결합이 스테로이드 고리계의 C5 및 C6 사이에 존재할 때, R³은 존재하지 않고;

R⁴는 수소 또는 저급 알킬(lower alkyl)이고;

R⁵는 수소, 아미노, 선택적으로 치환된 알킬아미노, 선택적으로 치환된 디알킬아미노, 선택적으로 치환된 알케닐 아미노, 선택적으로 치환된 디알케닐-아미노, 선택적으로 치환된 알키닐아미노, 선택적으로 치환된 디알키닐아미노, 아미도, 티오, 설퍼닐, 설포닐, 설포아미도, 할로젠, 히드록실, 선택적으로 치환된 알콕시, 선택적으로 치환된 알케닐옥시, 선택적으로 치환된 알키닐옥시 알킬, 선택적으로 치환된 알케닐, 선택적으로 치환된 알키닐, 선택적으로 치환된 아릴, 아지도, 선택적으로 치환된 헤테로아릴, 옥심 =N-O-R⁸, 카르복시메틸옥심, 카르복시에틸옥심, 또는 카르복시프로필옥심이고;

R⁶은 수소, 아미노, 티오, 설퍼닐, 설포닐, 설포아미도, 할로젠, 히드록실, 선택적으로 치환된 알콕시, 선택적으로 치환된 알킬, 선택적으로 치환된 알케닐, 또는 선택적으로 치환된 알키닐이고;

R⁷은 수소, 아미노, 선택적으로 치환된 알킬아미노, 선택적으로 치환된 디알킬아미노, 선택적으로 치환된 알케닐 아미노, 선택적으로 치환된 디알케닐아미노, 선택적으로 치환된 알키닐아미노, 선택적으로 치환된 디알

키랄아미노, 아미도, 티오, 설퍼닐, 설폰일, 설폰아미도, 할로젠, 히드록실, 선택적으로 치환된 알콕시, 선택적으로 치환된 알케닐옥시, 선택적으로 치환된 알킬닐옥시 알킬, 선택적으로 치환된 알케닐, 선택적으로 치환된 알킬닐, 선택적으로 치환된 아릴, 아지도, 선택적으로 치환된 헤테로아릴, 옥심 $=N-O-R^8$, 카르복시메틸옥심, 카르복시에틸옥심, 또는 카르복시프로필옥심이고;

X는 산소, 황, 또는 $-NH$, $-S(O)$, $-SO_2$, $-NR^8$, $-NC(O)R^8$, $-N$ -톨루엔-4-설폰닐옥시로부터 선택된 헤테로원자, 메틸렌기($-CH_2-$), 또는 원자가 결합(valency bond)이고;

A는 $-(CH_2)_n-$, C_{2-5} 알케닐렌기, 또는 C_{2-5} 알킬닐렌기이며, 여기에서 n은 정수(integer)로서 0 또는 1 또는 2 또는 3 또는 4 또는 5의 값을 취할 수 있고;

B는 $-(CH_2)_y-$, C_{2-5} 알케닐렌기, 또는 C_{2-5} 알킬닐렌기이며, 여기에서 y는 정수로서 1 또는 2 또는 3 또는 4 또는 5의 값을 취할 수 있고;

Y는 스테로이드 골격의 C17에서 스피로사이클릭 치환기의 임의의 탄소와 결합될 수 있고, 독립적으로 H, 선택적으로 치환된 C_{1-10} 알킬, 선택적으로 치환된 융합된 비사이클릭(bicyclic) 고리계, 선택적으로 치환된 가교된 비사이클릭 고리계, 선택적으로 치환된 가교된 트리사이클릭 고리계, 선택적으로 치환된 C_{2-10} 알케닐, 선택적으로 치환된 C_{2-10} 알킬닐, 선택적으로 치환된 아릴, 선택적으로 치환된 아릴알킬, 선택적으로 치환된 헤테로아릴, 선택적으로 치환된 헤테로아릴알킬, 포르밀, 카르복시, $-NC(O)R^8$, $NC(S)R^8$, $-NR^8R^9$, 선택적으로 치환된 $C(O)-W$, 선택적으로 치환된 $C(O)O-W$, 또는 선택적으로 치환된 $C(S)O-W$ 이고;

Z는 스테로이드 골격의 C17에서 스피로사이클릭 치환기의 임의의 탄소와 결합될 수 있고, 독립적으로 H, 선택적으로 치환된 C_{1-10} 알킬, 선택적으로 치환된 융합된 비사이클릭 고리계, 선택적으로 치환된 가교된 비사이클릭 고리계, 선택적으로 치환된 가교된 트리사이클릭 고리계, 선택적으로 치환된 C_{2-10} 알케닐, 선택적으로 치환된 C_{2-10} 알킬닐, 선택적으로 치환된 아릴, 선택적으로 치환된 아릴알킬, 선택적으로 치환된 헤테로아릴, 선택적으로 치환된 헤테로아릴알킬, 포르밀, 카르복시, $-NC(O)R^8$, $NC(S)R^8$, $-NR^8R^9$, 선택적으로 치환된 $C(O)-W$, 선택적으로 치환된 $C(O)O-W$, 선택적으로 치환된 $C(S)O-W$ 이고;

Y 및 Z는 C17에서 스피로사이클릭 치환기의 동일한 탄소와 결합될 수 있고;

W는 선택적으로 치환된 C_{1-10} 알킬, 선택적으로 치환된 헤테로시클로알킬, 선택적으로 치환된 융합된 비사이클릭 고리계, 선택적으로 치환된 가교된 비사이클릭 고리계, 선택적으로 치환된 가교된 트리사이클릭 고리계, 선택적으로 치환된 C_{2-10} 알케닐, 선택적으로 치환된 헤테로시클로알케닐, 선택적으로 치환된 C_{2-10} 알킬닐, 선택적으로 치환된 헤테로시클로알킬닐, 선택적으로 치환된 아릴, 또는 선택적으로 치환된 헤테로아릴이고;

R^8 및 R^9 는 독립적으로 선택적으로 치환된 C_{1-10} 알킬, 선택적으로 치환된 헤테로시클로알킬, 선택적으로 치환된 융합된 비사이클릭 고리계, 선택적으로 치환된 가교된 비사이클릭 고리계, 선택적으로 치환된 가교된 트리사이클릭 고리계, 선택적으로 치환된 C_{2-10} 알케닐, 선택적으로 치환된 헤테로시클로알케닐, 선택적으로 치환된 C_{2-10} 알킬닐, 선택적으로 치환된 헤테로시클로알킬닐, 선택적으로 치환된 아릴, 또는 선택적으로 치환된 헤테로아릴이며;

점선은 단일 또는 이중 결합이 존재할 수도 있다는 것을 나타낸다.

청구항 2

청구항 1에 있어서, X는 산소 원자인 것인, 염증성 병태의 예방 또는 치료 방법.

청구항 3

청구항 1에 있어서, X는 메틸렌기인 것인, 염증성 병태의 예방 또는 치료 방법.

청구항 4

청구항 1에 있어서, X는 -NH인 것인, 염증성 병태의 예방 또는 치료 방법.

청구항 5

청구항 1 내지 청구항 4 중 어느 한 항에 있어서, 상기 스테로이드 고리계의 C5 및 C6 사이에 이중 결합이 존재하여, R³이 존재하지 않는 것인, 염증성 병태의 예방 또는 치료 방법.

청구항 6

청구항 1 내지 청구항 5 중 어느 한 항에 있어서, R¹ = OH; R² = R⁵ = R⁶ = R⁷ = Y = H 및 R⁴ = Me인 것인, 염증성 병태의 예방 또는 치료 방법.

청구항 7

청구항 1 내지 청구항 4 중 어느 한 항에 있어서, R¹ = OH; R² = R⁵ = R⁶ = R⁷ = Y = H, A = -(CH₂)_n-, B = -(CH₂)_y-이고; 상기 스테로이드 고리계의 C1 및 C2 사이에 어떠한 이중결합도 존재하지 않고; 상기 스테로이드 고리계의 C5 및 C6 사이에 이중 결합이 존재하여, R³이 존재하지 않고; R⁴ = Me; n = 0 및 y = 1인 것인, 염증성 병태의 예방 또는 치료 방법.

청구항 8

청구항 1에 있어서, 상기 식 I의 화합물이, 그것의 약리학적으로 허용될 수 있는 에스테르, 염 또는 산 부가염을 포함하는 이하의

17β-스피로-[5-안드로스텐-17,2'-옥시란]-3β-올;

(20S)-3β,21-디히드록시-17β,20-에폭시-5-프레그넨;

(20S)-3β-히드록시-17β,20-에폭시-20-(2-브로모에틸닐)-5-안드로스텐;

3β,21-디히드록시-17α,20-에폭시-5-프레그넨

에서 선택되는 것인, 염증성 병태의 예방 또는 치료 방법.

청구항 9

청구항 1 내지 청구항 8 중 어느 한 항에 있어서, 상기 병태는 천식, 폐 염증, 망막 염증성 병태로 구성된 군에서 선택되는 것인, 염증성 병태의 예방 또는 치료 방법.

청구항 10

청구항 1 내지 청구항 8 중 어느 한 항에 있어서, 상기 병태는 자가면역 질환인 것인, 염증성 병태의 예방 또는 치료 방법.

청구항 11

청구항 10에 있어서, 상기 자가면역 질환은 류마티스 관절염, 타입 I 당뇨병, 전신 홍반성 루프스, 췌양성 대장염, 염증성 장 질환 또는 근질환(myopathy)인 것인, 염증성 병태의 예방 또는 치료 방법.

청구항 12

청구항 10에 있어서, 상기 자가면역 질환은 중증 근무력증, 재생불량성 빈혈, 자가면역 용혈성 빈혈, 난치성 경피증, 피부염, 후천성 수포창, 그레이브 질환(Grave's disease), 자가면역 간염, 건선, 크론 질환(Crohn's disease)인 것인, 염증성 병태의 예방 또는 치료 방법.

청구항 13

염증성 병태의 예방 또는 치료에 사용하기 위한, 청구항 1 내지 청구항 8 중 어느 한 항에 기재된 식 I의 화합물, 또는 그것의 약리학적으로 허용될 수 있는 에스테르, 염 또는 산 부가염.

청구항 14

천식, 폐 염증, 또는 망막 염증성 병태의 예방 또는 치료에 사용하기 위한, 청구항 1 내지 청구항 8 중 어느 한 항에 기재된 식 I의 화합물, 또는 그것의 약리학적으로 허용될 수 있는 에스테르, 염 또는 산 부가 염.

청구항 15

자가면역 질환의 예방 또는 치료에 사용하기 위한, 청구항 1 내지 청구항 8 중 어느 한 항에 기재된 식 I의 화합물, 또는 그것의 약리학적으로 허용될 수 있는 에스테르, 염 또는 산 부가 염.

청구항 16

류마티스 관절염, 타입 I 당뇨병, 전신 홍반성 루프스, 궤양성 대장염, 염증성 장 질환 또는 근질환의 예방 또는 치료에 사용하기 위한, 청구항 1 내지 청구항 8 중 어느 한 항에 기재된 식 I의 화합물, 또는 그것의 약리학적으로 허용될 수 있는 에스테르, 염 또는 산 부가 염.

청구항 17

중증 근무력증, 재생불량성 빈혈, 자가면역 용혈성 빈혈, 난치성 경피증, 피부염, 후천성 수포창, 그레이브 질환, 자가면역 간염, 건선 또는 크론 질환의 예방 또는 치료에 사용하기 위한, 청구항 1 내지 청구항 8 중 어느 한 항에 기재된 식 I의 화합물, 또는 그것의 약리학적으로 허용될 수 있는 에스테르, 염 또는 산 부가 염.

청구항 18

염증성 병태의 예방 또는 치료용 약제를 제조하기 위한, 청구항 1 내지 청구항 8 중 어느 한 항에 기재된 식 I의 화합물, 또는 그것의 약리학적으로 허용될 수 있는 에스테르, 염 또는 산 부가 염의 용도.

청구항 19

천식, 폐 염증 또는 망막 염증성 병태의 예방 또는 치료용 약제를 제조하기 위한, 청구항 1 내지 청구항 8 중 어느 한 항에 기재된 식 I의 화합물, 또는 그것의 약리학적으로 허용될 수 있는 에스테르, 염 또는 산 부가 염의 용도.

청구항 20

자가면역 질환의 예방 또는 치료용 약제를 제조하기 위한, 청구항 1 내지 청구항 8 중 어느 한 항에 기재된 식 I의 화합물, 또는 그것의 약리학적으로 허용될 수 있는 에스테르, 염 또는 산 부가 염의 용도.

청구항 21

청구항 20에 있어서, 상기 자가면역 질환은 류마티스 관절염, 타입 I 당뇨병, 전신 홍반성 루프스, 궤양성 대장염, 염증성 장 질환 또는 근질환인 것인 용도.

청구항 22

청구항 20에 있어서, 상기 자가면역 질환은 중증 근무력증, 재생불량성 빈혈, 자가면역 용혈성 빈혈, 난치성 경피증, 피부염, 후천성 수포창, 그레이브 질환, 자가면역 간염, 건선 또는 크론 질환인 것인 용도.

청구항 23

인간 또는 비-인간 동물체의 면역 반응을 조절 또는 억제하기 위한, 청구항 1 내지 청구항 8 중 어느 한 항에 기재된 식 I의 화합물, 또는 그것의 약리학적으로 허용될 수 있는 에스테르, 염 또는 산 부가 염의 용도.

청구항 24

인간 또는 비-인간 동물체에서 T-세포 활성을 조절 또는 억제하기 위한, 청구항 1 내지 청구항 8 중 어느 한 항에 기재된 식 I의 화합물, 또는 그것의 약리학적으로 허용될 수 있는 에스테르, 염 또는 산 부가 염의 용도.

명세서

기술분야

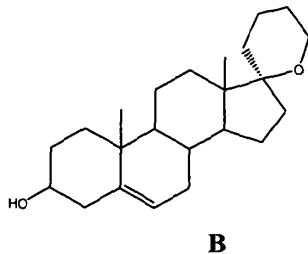
- [0001] 본 발명은 염증성 병태(condition), 예를 들어 천식의 증상을 치료, 예방 또는 경감함에 있어서 스피로스테로이드 유사체를 포함하는 스테로이드 화합물의 용도에 관한 것이다. 면역계에서의 작용 메커니즘은, 스테로이드 화합물이, 이에 한정되는 것은 아니지만, 천식, 폐 염증, 망막 염증성 병태, 자가면역 질환, 예컨대 류마티스 관절염, 다발성 경화증 및 전신 홍반성 루프스, 염증성 장 질환 및 근질환(myopathy)을 포함하는 다양한 염증성 병태를 치료하는데 유용한 것을 나타낸다.

배경기술

- [0002] 염증은 다양한 유해한 자극 및 조건에 의해 유도되는 적응 반응이다. 염증은 감염된 조직 부위에 대한 백혈구 및 혈장 단백질의 동원을 유도한다. 이는 면역계와 관련된 많은 인간 질환의 기저를 이룬다. 염증성 병태의 리스트는 확장을 지속하여 최초에는 염증성이 아니고, 퇴행성인 것으로 생각되었던 통상적인 질환을 포함한다. 염증은 외인성 염증-관련 질환을 일으키는 외인성(감염, 알레르겐, 독소 노출, 약물, 화학물질, 흡연, 공해, 글루텐, 콜레스테롤, 글루코스) 및 내인성(자가-염증 vs 자가면역 염증)으로 분류된다. 자가-염증 질환(FMF, HIDS, TRAPS)은 선천성 면역 질환인 반면, 자가면역 질환(전신 홍반성 루프스, 류마티스 관절염, 다발성 경화증, 중증 근무력증, 재생불량성 빈혈, 자가면역 용혈성 빈혈, 난치성 경피증, 피부염, 후천성 수포창, 그레이브 질환(Grave's disease), 자가면역 간염, 건선, 크론 질환(Crohn's disease), 궤양성 대장염)은 선천성 및 적응성 면역 질환이다.
- [0003] 병원체에 대한 면역은 항원-특이적 T 헬퍼(Th) 림프구 Th1, Th2 및 Th17의 유도를 통해 매개된다. Th1 면역은 세포내 병원체에 대한 보호를 제공하고 과도한 경우 자가면역을 일으킬 수 있다.
- [0004] 미주(aberrant) Th1- 및 Th17-세포 활성화는 자가면역을 일으킬 수 있고, 반면 주위환경 항원에 대한 과도한 Th2-세포 활성화는 알레르기 및 천식을 유도할 수 있다. Th1 세포는 IFN- γ 를 생성하고, M Φ s를 활성화하여 세포내 병원체와 싸우도록 한다. Th2 세포는 사이토카인, 예컨대 IL-4, IL-5 및 IL-13을 생성하고, 이는 비만 세포 및 산호성 백혈구를 자극하고 B 세포에 의한 IgE 생성을 향상시킨다. Th17 세포는 병원체, 예컨대 곰팡이 및 박테리아에 대한 선천성 및 적응성 면역 반응을 조정한다. 상이한 T 세포 서브세트(subset)인, T 조절 세포(Treg)는 과도한 Th1, Th2 또는 Th17 세포에 의한 면역 병리를 제한한다. Th 면역의 활성화 및 분화는 항원 제시 세포, 예컨대 수지상 세포와 Th 세포의 상호작용에 의존하고, 사이토카인은 이러한 프로세스에서 핵심적인 역할을 담당한다.
- [0005] 과도한 Th1, Th2 또는 Th17 면역 반응은 억제(면역억제) 메커니즘에 의해 제한된다. 이들 메커니즘은 TGF- β 와 같은 사이토카인의 국부 분비 및 이펙터 T 세포의 CD80 및 CD86 분자에 대한 억제 T 세포의 CTLA-4와 같은, 세포 표면 분자의 결합을 통한 직접 세포 접촉을 포함한다. 억제는 상이한 조직에서 억제 및 이펙터 T 세포의 적절한 공동국소화(colocalization)를 필요로 하고, 이펙터 세포 기능을 조절하는데 중요한 전사 인자를 야기하는 T 세포 수용체 신호와의 간섭과 관련있을 수 있다. Treg 세포는 중요한 억제 활성을 나타낸다. Treg 세포는 자가-항원에 대한 면역 무반응을 유지하고, 숙주에 대해 해로운 과도한 면역 반응을 억제하는데 필수불가결한 역할을 수행한다. Treg는 T 세포의 기능적으로 성숙한 부차집단으로서 흉선에서 생성되며, 또한 말초에 있는 나이브 T 세포로부터 유도될 수도 있다. 최근의 연구는 Treg 발생 및 기능의 세포 및 분자적 기반을 밝히고 있고, 면역 질환에서 Treg 조절곤란의 연루를 보여준다.
- [0006] 글루코코르티코이드는, 내인성 스테로이드이며, 아마도 가장 강력한 항-염증 약물의 일부이지만; 이들 약물은 많은 바람직하지 않은 부작용을 가질 수 있고(예를 들어, 내장 비만, 고혈당증, 골다공증), 그 사용은 엄격하게 조절되어야 한다.
- [0007] 5-안드로스텐-16 α -플루오로-17-온(HE2500)과 같은, 디하이드로에피안드로스테론 (DHEA)의 합성 유도체, 및 일부 천연 대사산물은 자가면역 및 대사성 질환의 다양한 동물 모델에서 장점을 제공하는 것을 나타냈다. 그러나, DHEA 같이, 이 화합물들의 낮은 효능 및 낮은 경구 생체이용률은 그것들이 인간 신체에서 그 유용성을 한정시켰을 것이라는 점을 시사했다. DHEA의 새로운 17-에티닐 유도체인 HE3286은 마우스들과 콜라겐 유발 관절염 (CIA)의 DBA 마우스 모델에게서 경구 생체이용률을 25%까지 보였으며; HE3286 (50 mg/kg)으로 경구 치료를 받고 발병을 시작한 동물들은 현저히 줄어든 CIA 최고수치와 관절염 일일 중증도 수치를 보여준다. HE 3286은 미토겐 유도 증식, 지연형 과민증 또는 혼합 림프구 반응을 포함한 시험을 받은 기본적인 모델들 중

어떤 것도 면역 억제적인 것으로 밝혀지지 않았다. 대신, CD4+CD25+FOXP3+CD127- 조절 T 세포 (T reg)의 숫자 및 기능상의 증가는 장점과 관련이 있다.

- [0008] 염증성 병태(conditions)를 위한 새로운 치료법 개발의 필요성은 계속 대두 되었다. DHEA 같은 천연 스테로이드는 실험 동물에서 중요한 면역억제제적인 특성을 갖는다. 그러나, 자연적으로 발생하는 스테로이드는 인간 몸속에서 에스트로겐, 안드로겐 또는 호르몬 의존 종양(Front. Neuroendocrinol. 21, 1 (2000))을 포함한 전반적이고 중요한 내분비계 부작용을 유발하는(exert) 프로제스틴(Front. Newroendocrinol. 21, 1 (2000))으로 대사작용되고 그렇게 하여 그들의 진단용도를 한정한다.
- [0009] US 3,365,475 (1968)는 알도스테론 억제제로서 유용한 치료적 특성을 갖는 스테로이드성 17-스피로테트라히드로푸란의 제조에 유용한 17 α -(3'-하이드록시-프로필)-4-안드로스텐-3 β ,17 β -디올의 제조 방법을 게시한다.
- [0010] US 4,026,918 (1977)은 항염증성 활성을 갖는다는 특정 D-호모스테로이드의 제조법을 기재한다. (3 β ,11 α ,17 α)-스피로[안드로스트-5-엔-17,2'-옥시란]-3,11-디올은 화학적 중간체로 게시된다.
- [0011] US 4,054,563 (1977)은 알도스테론 억제제를 제조하는 것을 위한 유용한 중간체가 되는 특정 17-스피로-(2'-옥사시클로펜탄)스테로이드 화합물의 제조를 위한 과정을 게시한다.
- [0012] WO 98/33506은 전립선암 및 양성 전립선 비대증 치료에 유용한, 안드로겐 통합을 억제하기 위한 특정 화합물의 용도를 게시한다. 17 β ,20 β -아지리딘일-프레군-5-엔-3 β -올은 리스트된 상기 비교 화합물 중 하나이다.
- [0013] Journal of Medicinal Chemistry 10(4), 546-551 (1967)에는, 아래 화학식 B의 스테로이드성 고리모양 에테르는 항에스트로겐적 특성을 가지는 스테로이드적 화합물의 제조에서 하나의 중간체로 언급된다.

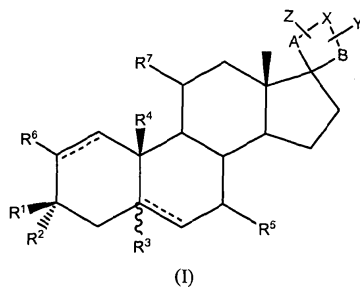


- [0014]
- [0015] WO 2008/155534는 뉴로스테로이드 화합물 및 알츠하이머병과 파킨슨병을 포함한 신경세포사멸 혹은 신경손상에 관련한 신경퇴행성 병태를 치료하는데 있어서 그것의 용도를 게시한다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0016] 첫 번째 측면에서, 본 발명은 염증성 병태의 예방 또는 치료의 방법에 관한 것이며 식 I의 화합물, 또는 약제학적으로 허용가능한 에스테르, 염(salt) 또는 그것의 산부가염의 유효량을 환자에게 투여하는 것을 포함한다:



- [0017]
- [0018] 여기서 R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , A, B, X, Y 및 Z 는 아래 발명의 상세한 설명에 정의된 바와 같다.

- [0019] 상기 염증성 병태는 단지 예시로서, 천식, 폐 염증, 망막 염증성 병태, 자가면역 질환 예컨대 류마티스 관절염, 타입 I 당뇨병, 전신 홍반성 루프스, 중증 근무력증, 재생불량성 빈혈, 자가면역 용혈성 빈혈, 난치성 경피증, 피부염, 후천성 수포창, 그레이브 질환(Grave's disease), 자가면역 간염, 건선, 크론 질환, 궤양성

대장염 및 염증성 장 질환 및 근질환 중 어느 것도 될 수 있다. 다발성 경화증은 본 발명에 따라 치료될 수 있는 또 하나의 병태이다.

[0020] 또 다른 측면에서, 본 발명은 화학식 I의 화합물, 또는 약제학적으로 허용가능한 에스테르, 염 또는 그것의 산부가염의 용도에 관한 것이며, 이는 염증성 병태의 예방 또는 치료의 용도를 위한 것이다. 예를 들어, 상기 병태는 상기 나열된 것들 중 어떤 것도 될 수 있다.

[0021] 또 다른 측면에서, 본 발명은 화학식 I의 화합물, 또는 약제학적으로 허용가능한 에스테르, 염 또는 그것의 산부가염의 용도에 관한 것이며, 이는 염증성 병태를 예방하거나 치료하기 위한 약제의 제조를 위한 것이다. 예를 들어, 상기 병태는 상기 나열된 것들 중 어떤 것도 될 수 있다.

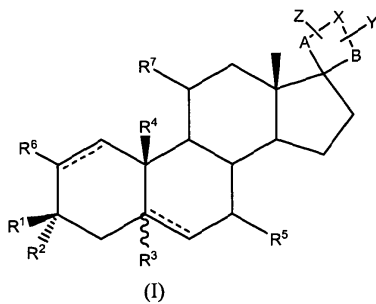
[0022] 또 다른 측면에서, 본 발명은 인간 또는 비인간 동물체의 면역학적 반응을 조절 또는 억제하기 위한, 화학식 I의 화합물, 또는 약제학적으로 허용가능한 에스테르, 염 또는 그것의 산부가염의 용도에 관한 것이다.

[0023] 또 다른 측면에서, 본 발명은 인간 또는 비인간 동물체의 T-세포 활성(T-cell activity)을 조절 또는 억제하기 위한, 화학식 I의 화합물, 또는 약제학적으로 허용가능한 에스테르, 염 또는 그것의 산부가염의 용도에 관한 것이다.

[0024] 본 발명에 대한 더 나은 이해는 상기 항목에 이어지는 상세한 설명 및, 상기 설명 및 예시가 되는 구체예에 상술되고 예증된 바와 같이, 원하는 특색, 성질, 특징 및 밀접하게 연관된 절차의 단계뿐만 아니라 각 요소들의 관계로부터 얻어질 것이다.

과제의 해결 수단

[0025] 본 발명은 식 I의 화합물의 용도에 관한 것으로,



[0026]

여기에서

[0027]

[0028] R^1 은 히드록실, 알콕시, 알카노일옥시, 아미노카보닐옥시 또는 알콕시카보닐옥시이고;

[0029] R^2 는 수소, 선택적으로 치환된 알킬, 선택적으로 치환된 알케닐, 선택적으로 치환된 알콕시알킬, 선택적으로 치환된 아미노알킬, 시아노, 선택적으로 치환된 시아노알킬, 선택적으로 치환된 티오시아노알킬, 이소티오시아노, 선택적으로 치환된 아지도알킬, 선택적으로 치환된 알카노일옥시알킬, 선택적으로 치환된 아릴알킬, 선택적으로 치환된 헤테로아릴알킬, 선택적으로 치환된 아릴알케닐, 선택적으로 치환된 헤테로아릴알케닐, 선택적으로 치환된 아릴, 선택적으로 치환된 아릴키닐, 선택적으로 치환된 아릴킬알키닐, 선택적으로 치환된 알카노일옥시알키닐, 선택적으로 치환된 헤테로아릴옥시알키닐, 선택적으로 치환된 옥소알키닐 또는 그것의 케탈, 선택적으로 치환된 시아노알키닐, 선택적으로 치환된 헤테로아릴알키닐, 선택적으로 치환된 히드록시알키닐, 선택적으로 치환된 알콕시알키닐, 선택적으로 치환된 아미노알키닐, 선택적으로 치환된 아실아미노알키닐, 선택적으로 치환된 머캡토알키닐, 선택적으로 치환된 히드록시알키닐 이산(dioic acid) 헤미-에스테르 또는 그것의 염, 또는 선택적으로 치환된 알키닐옥시알키닐이고;

[0030] 또는

[0031] R^1 은 산소이고, R^2 는 선택적으로 치환될 수 있는 산소화된 고리(oxygenated ring)를 형성하도록 R^1 과 결합되는 알킬 또는 알케닐 또는 알키닐기이고,

[0032] R^3 은 수소, 또는 이중결합이 스테로이드 고리계의 C5 및 C6 사이에 존재할 때, R^3 은 존재하지 않고;

- [0033] R^4 는 수소 또는 저급 알킬(lower alkyl)이고;
- [0034] R^5 는 수소, 아미노, 선택적으로 치환된 알킬아미노, 선택적으로 치환된 디알킬아미노, 선택적으로 치환된 알케닐 아미노, 선택적으로 치환된 디알케닐-아미노, 선택적으로 치환된 알키닐아미노, 선택적으로 치환된 디알키닐아미노, 아미도, 티오, 설퍼닐, 설포닐, 설포아미도, 할로젠, 히드록실, 선택적으로 치환된 알콕시, 선택적으로 치환된 알케닐옥시, 선택적으로 치환된 알키닐옥시 알킬, 선택적으로 치환된 알케닐, 선택적으로 치환된 알키닐, 선택적으로 치환된 아릴, 아지도, 선택적으로 치환된 헤테로아릴, 옥심 $=N-O-R^8$, 카르복시메틸옥심, 카르복시에틸옥심, 또는 카르복시프로필옥심이고;
- [0035] R^6 은 수소, 아미노, 티오, 설퍼닐, 설포닐, 설포아미도, 할로젠, 히드록실, 선택적으로 치환된 알콕시, 선택적으로 치환된 알킬, 선택적으로 치환된 알케닐, 또는 선택적으로 치환된 알키닐이고;
- [0036] R^7 은 수소, 아미노, 선택적으로 치환된 알킬아미노, 선택적으로 치환된 디알킬아미노, 선택적으로 치환된 알케닐 아미노, 선택적으로 치환된 디알케닐아미노, 선택적으로 치환된 알키닐아미노, 선택적으로 치환된 디알키닐아미노, 아미도, 티오, 설퍼닐, 설포닐, 설포아미도, 할로젠, 히드록실, 선택적으로 치환된 알콕시, 선택적으로 치환된 알케닐옥시, 선택적으로 치환된 알키닐옥시 알킬, 선택적으로 치환된 알케닐, 선택적으로 치환된 알키닐, 선택적으로 치환된 아릴, 아지도, 선택적으로 치환된 헤테로아릴, 옥심 $=N-O-R^8$, 카르복시메틸옥심, 카르복시에틸옥심, 또는 카르복시프로필옥심이고;
- [0037] X는 산소, 황, 또는 $-NH$, $-S(O)$, $-SO_2$, $-NR^8$, $-NC(O)R^8$, $-N$ -톨루엔-4-설포닐옥시로부터 선택된 헤테로원자, 메틸렌기($-CH_2-$), 또는 원자가 결합(valency bond)이고;
- [0038] A는 $-(CH_2)_n-$, C_{2-5} 알케닐렌기, 또는 C_{2-5} 알키닐렌기인데, 여기에서 n은 0 또는 1 또는 2 또는 3 또는 4 또는 5인 정수(integer)이고;
- [0039] B는 $-(CH_2)_y-$, C_{2-5} 알케닐렌기, 또는 C_{2-5} 알키닐렌기인데, 여기에서 y는 1 또는 2 또는 3 또는 4 또는 5인 정수이고;
- [0040] Y는 스테로이드 골격의 C17에서 스피로사이클릭 치환기의 임의의 탄소와 결합될 수 있고, 독립적으로 H, 선택적으로 치환된 C_{1-10} 알킬, 선택적으로 치환된 융합된 비사이클릭(bicyclic) 고리계, 선택적으로 치환된 가교된 비사이클릭 고리계, 선택적으로 치환된 가교된 트리사이클릭 고리계, 선택적으로 치환된 C_{2-10} 알케닐, 선택적으로 치환된 C_{2-10} 알키닐, 선택적으로 치환된 아릴, 선택적으로 치환된 아릴알킬, 선택적으로 치환된 헤테로아릴, 선택적으로 치환된 헤테로아릴알킬, 포르밀, 카르복시, $-NC(O)R^8$, $NC(S)R^8$, $-NR^8R^9$, 선택적으로 치환된 $C(O)-W$, 선택적으로 치환된 $C(O)O-W$, 또는 선택적으로 치환된 $C(S)O-W$ 이고;
- [0041] Z는 스테로이드 골격의 C17에서 스피로사이클릭 치환기의 임의의 탄소와 결합될 수 있고, 독립적으로 H, 선택적으로 치환된 C_{1-10} 알킬, 선택적으로 치환된 융합된 비사이클릭 고리계, 선택적으로 치환된 가교된 비사이클릭 고리계, 선택적으로 치환된 가교된 트리사이클릭 고리계, 선택적으로 치환된 C_{2-10} 알케닐, 선택적으로 치환된 C_{2-10} 알키닐, 선택적으로 치환된 아릴, 선택적으로 치환된 아릴알킬, 선택적으로 치환된 헤테로아릴, 선택적으로 치환된 헤테로아릴알킬, 포르밀, 카르복시, $-NC(O)R^8$, $NC(S)R^8$, $-NR^8R^9$, 선택적으로 치환된 $C(O)-W$, 선택적으로 치환된 $C(O)O-W$, 선택적으로 치환된 $C(S)O-W$ 이고;
- [0042] Y 및 Z는 C17에서 스피로사이클릭 치환기의 동일한 탄소와 결합될 수 있고;
- [0043] W는 선택적으로 치환된 C_{1-10} 알킬, 선택적으로 치환된 헤테로시클로알킬, 선택적으로 치환된 융합된 비사이클릭 고리계, 선택적으로 치환된 가교된 비사이클릭 고리계, 선택적으로 치환된 가교된 트리사이클릭 고리계, 선택적으로 치환된 C_{2-10} 알케닐, 선택적으로 치환된 헤테로시클로알케닐, 선택적으로 치환된 C_{2-10} 알키닐, 선택적으로 치환된 헤테로시클로알키닐, 선택적으로 치환된 아릴, 또는 선택적으로 치환된 헤테로아릴이고;
- [0044] R^8 및 R^9 는 독립적으로 선택적으로 치환된 C_{1-10} 알킬, 선택적으로 치환된 헤테로시클로알킬, 선택적으로 치환

된 융합된 비사이클릭 고리계, 선택적으로 치환된 가교된 비사이클릭 고리계, 선택적으로 치환된 가교된 트리 사이클릭 고리계, 선택적으로 치환된 C₂₋₁₀ 알케닐, 선택적으로 치환된 헤테로시클로알케닐, 선택적으로 치환된 C₂₋₁₀ 알키닐, 선택적으로 치환된 헤테로시클로알키닐, 선택적으로 치환된 아릴, 또는 선택적으로 치환된 헤테로아릴이며;

[0045] 점선은 단일 또는 이중 결합이 존재할 수도 있다는 것을 나타낸다.

[0046] 식 I 의 화합물 및 그것의 약리학적으로 허용될 수 있는 에스테르, 염 또는 산 부가 염은, 특히 면역계와 관련된, 염증성 병태의 증상을 치료, 예방, 또는 개선하기 위해 사용될 수 있다. 치료될 수도 있는 병태는 단지 예시로서, 천식, 폐 염증, 망막 염증성 병태, 자가면역 질환 예컨대 류마티스 관절염, 타입 I 당뇨병, 전신 홍반성 루프스, 중증 근무력증, 재생불량성 빈혈, 자가면역 용혈성 빈혈, 난치성 경피증, 피부염, 후천성 수 포창, 그레이브 질환(Grave's disease), 자가면역 간염, 건선, 크론 질환, 궤양성 대장염 및 염증성 장 질환 및 근질환을 포함한다.

[0047] 식 I 에서 상기 X는 메틸렌기, 산소 원자 또는 -NH인 본 발명의 구현예가 바람직하다. 더 바람직하게는, X가 산소 원자이다.

[0048] 식 I 에서 상기 이중결합은 스테로이드 고리계의 C5 및 C6 사이에 존재해서, R³가 존재하지 않는 본 발명의 구현예가 또한 바람직하다.

[0049] 식 I 에서 상기 R¹=OH이고; R²=R⁵=R⁶=R⁷=Y=H 및 R⁴=Me인 본 발명의 구현예가 또한 바람직하다.

[0050] 식 I 에서 상기 R¹=OH이고; R²=R⁵=R⁶=R⁷=Y=H, A=-(CH₂)_n- 및 B=-(CH₂)_y-이고; 이중결합은 스테로이드 고리계의 C1 및 C2 사이에 존재하지 않고; 이중결합은 스테로이드 고리계의 C5 및 C6 사이에 존재해서, R³가 존재하지 않고; 및 R⁴=Me인 본 발명의 구현예가 더 바람직하다. n=0 및 y=1인 화합물이 더욱더 바람직하다.

[0051] 식 I 의 화합물은 다음으로부터 선택되는데, 그것의 약학적으로 허용될 수 있는 에스테르, 염 및 산 부가 염을 포함하는 본 발명의 구현예가 가장 바람직하다:

[0052] 17β-스피로-[5-안드로스텐-17,2'-옥시란]-3β-올;

[0053] (20S)-3β,21-디히드록시-17β,20-에폭시-5-프레그넨;

[0054] (20S)-3β-히드록시-17β,20-에폭시-20-(2-브로모에틸닐)-5-안드로스텐; 및

[0055] 3β,21-디히드록시-17α,20-에폭시-5-프레그넨.

[0056] 다음 용어들은, 단독으로 또는 조합하여, 다음과 같이 여기에서 정의된다:

[0057] 용어 "**알킬(alkyl)**"은 여기에서 직쇄(straight chain) 또는 측쇄(branched chain) 또는 사이클릭 포화 탄화수 소기(cyclic saturated hydrocarbon group)를 나타낸다. C₁-C₁₆ 알킬기가 바람직하다. 달리 특별히 한정되지 않는다면, 알킬기는 불포화, 임의의 가능한 위치에 치환기로 단일 치환 또는 가능하다면, 다중치환될 수도 있다. 달리 특별히 한정되지 않는다면, 사이클릭 알킬기는 모노사이클릭, 비사이클릭, 트리사이클릭 및 폴리사이클릭 고리, 예를 들면 아다만틸(adamantyl), 노르보르닐(norbornyl), 및 관련된 테르펜(terpenes)을 포함한다.

[0058] 용어 "**헤테로시클로알킬(heterocycloalkyl)**"은 여기에서 하나, 둘, 셋, 또는 넷의 O, N, 또는 S 원자 또는 O, N, 및 S 원자의 조합을 포함하는 사이클릭 탄화수소기를 나타내는데, 예를 들면, 옥시라닐, 옥세타닐, 테트라히드로푸라닐, 테트라히드로-2H-피라닐, 모르포리닐, 아지리디닐, 아제티디닐, 피롤리디닐, 피페리디닐, 테트라히드로티오펜, 테트라히드로-2H-티오피라닐이다. 달리 특별히 한정되지 않는다면, 헤테로시클로알킬기는 비치환되거나, 임의의 가능한 위치에서 치환기로 단일 치환되거나, 또는 가능하다면, 다중 치환이 될 수도 있다.

[0059] 용어 "**할로알킬(haloalkyl)**"은 여기에서 하나 이상의 할로젠으로 치환되는 알킬기를 나타낸다.

[0060] 용어 "**알케닐(alkenyl)**"은, 단독으로 또는 조합하여, 여기에서 적어도 하나의 탄소-탄소 이중결합을 포함하

는 직쇄 또는 측쇄 또는 사이클릭 불포화 탄화수소기를 나타낸다. 달리 특별히 한정되지 않는다면, 알케닐기는 비치환되거나, 임의의 가능한 위치에서 치환기로 단일 치환되거나, 또는 가능하다면 다중 치환될 수도 있다. C₂-C₁₆ 알케닐기가 바람직하다. 알케닐은 알레닐기(allyl group)를 포함하는 것을 의미하는데, 이는 두 개의 연속적인 이중결합을 가지는 것이다.

[0061] 용어 "**헤테로시클로알케닐(heterocycloalkenyl)**"은 여기에서 하나, 둘, 셋, 또는 네 개의 O, N, 또는 S 원자 또는 O, N, S 원자의 조합을 포함하는 적어도 하나의 탄소-탄소 이중결합을 포함하는 사이클릭 불포화 탄화수소기를 나타낸다. 달리 특별히 한정되지 않는다면, 헤테로시클로알케닐기는 비치환되거나, 가능하다면 임의의 가능한 위치에서 치환기로 단일 치환되거나, 또는 다중 치환될 수도 있다.

[0062] 용어 "**알키닐(alkynyl)**"은, 단독으로 또는 조합하여, 여기에서 적어도 하나의 탄소-탄소 삼중 결합을 포함하는 직쇄 또는 측쇄 또는 사이클릭 불포화기를 나타낸다. 달리 특별히 한정되지 않는다면, 알키닐기는 비치환되거나, 임의의 가능한 위치에서 치환기로 단일 치환되거나, 또는 가능하다면 다중 치환될 수도 있다. C₂-C₁₆ 알키닐기가 바람직하다.

[0063] 용어 "**아릴(aryl)**"은 단독으로 또는 조합하여, 여기에서 비치환되거나, 임의의 가능한 위치에서 치환기로 단일 치환되거나, 또는 가능하다면 다중 치환될 수도 있는 비아릴기, 카르보사이클릭 아릴기, 및 컨쥬게이트된 π 전자들을 가진 적어도 하나의 고리를 포함하는 방향족기를 나타낸다. C₂-C₁₀ 아릴기가 바람직하다. 전형적인 아릴기는 페닐, 나프틸(naphthyl), 페난트릴(phenanthryl), 안트라실(anthracyl), 인데닐(indenyl), 아즈레닐(azulenyl), 비페닐(biphenyl), 비페닐레닐(biphenylenyl), 및 플루오레닐(fluorenyl)기를 포함한다.

[0064] 용어 "**비아릴(biaryl)**"은 다른 아릴기에 의하여 치환된 아릴기를 표시한다.

[0065] 용어 "**카르보사이클릭 아릴(carbocyclic aryl)**"은 방향족 고리 상의 고리 원자가 탄소 원자인 기(groups)를 지칭한다.

[0066] 용어 "**티오(thio)**"는 여기에서 -SR¹⁰을 나타내는데, R¹⁰은 수소, 알킬, 알케닐, 알키닐, 아릴(ary), 아릴알킬, 또는 헤테로아릴인데, 이 모두는 선택적으로 치환될 수도 있다.

[0067] 용어 "**설파닐(sulfinyl)**"은 여기에서 -SOR¹⁰을 나타내는데, R¹⁰은 수소, 알킬, 알케닐, 알키닐, 아릴, 아릴알킬, 또는 헤테로아릴인데, 이 모두는 선택적으로 치환될 수도 있다.

[0068] 용어 "**설포닐(sulfonyl)**"은 여기에서 -SO₂R¹⁰을 나타내는데, R¹⁰은 수소, 알킬, 알케닐, 알키닐, 아릴, 아릴알킬, 또는 헤테로아릴인데, 이 모두는 선택적으로 치환될 수도 있다.

[0069] 용어 "**설포나미도(sulfonamido)**"는 여기에서 -SO₂NR¹⁰R¹¹을 나타내는데, 여기에서 R¹⁰ 및 R¹¹은 독립적으로 수소, 알킬, 알케닐, 알키닐, 아릴, 아릴알킬, 또는 헤테로아릴인데, 이 모두는 선택적으로 치환될 수도 있다.

[0070] 용어 "**선택적으로 치환된(optionally substituted)**" 또는 "**치환된(substituted)**"은 임의의 가능한 위치에서 하기 기재된 치환기에 의하여 치환되는 기를 지칭한다. 본 발명에서 유용한 상기 잔기들(moieties)을 위한 치환기는 본 발명 화합물의 생물학적 활성을 상당히 감소시키지 않는 그러한 기이다. 본 발명 화합물의 생물학적 활성을 상당히 감소시키지 않는 치환기는 예를 들면 저급 알킬(아사이클릭 및 사이클릭), 아릴(카르보사이클릭 아릴 및 헤테로아릴), 알케닐, 알키닐, 알콕시, 할로, 할로알킬, 아미노, 알킬아미노, 디알킬아미노, 머캡토, 알킬티오, 알킬설파닐, 알킬설포닐, 니트로, 알카노일, 알카노일옥시, 알카노일옥시알카노일, 알콕시카르복시, 카르보알콕시, 카르복아미도, 포르밀, 카르복시, 히드록시, 시아노, 아지도, 이소시아노, 이소티오시아노, 옥심, 케토 및 그것의 사이클릭 케탈, 알카노일아미도, 헤테로아릴옥시, O-아로일, O알킬OH, O알케닐OH, O알키닐OH, O알킬NX₁X₂, O알케닐NX₁X₂, O알키닐NX₁X₂, NH-아실, NH-아로일, CF₃, COOX₃, SO₃H, PO₃X₁X₂, OPO₃X₁X₂, SO₂NX₁X₂, CONX₁X₂, 여기에서, X₁ 및 X₂는 각각 독립적으로 H 또는 알킬 또는 알케닐 또는 알키닐을 나타내거나, X₁ 및 X₂는 함께 약 4 내지 약 7 고리 원자를 가지는 헤테로사이클릭 고리의 부분을 포함하고, 선택적으로 O, N, 또는 S로부터 선택된 하나의 추가적인 헤테로원자를 포함하거나, X₁ 및 X₂는 함께 약 5 내지 6 고리 원자를 가지는 이미도 고리의 부분을 포함하고, X₃는 H, 알킬, 알케닐, 알키닐, 히드록시-저급 알킬 또는 알킬-NX₁X₂를 나타낸다.

- [0071] 용어 "저급(lower)"은 한 개에서 여섯 개의 탄소 원자를 포함하는 유기 라디칼 또는 화합물과 관련하여 여기에서 지칭되어 진다. 그러한 기는 직쇄, 측쇄, 또는 사이클릭일 수도 있다.
- [0072] 용어 "헤테로아릴(heteroaryl)"은 한 개, 두 개, 세 개 또는 네 개의 O, N, 또는 S 전자를 포함하고 한 개의 이상의 고리에서 옮겨지는 6, 10, 14 π 전자들을 가지는 5-14 원 사이클릭 불포화 라디칼을 포함하는 탄소를 지칭하는데, 예를 들어 티에닐(thienyl), 벤조[b]티에닐(benzo[b]thienyl), 나프타[2,3-b]티에닐(naphtha[2,3-b]thienyl), 티안트레닐(thianthrenyl), 퓨릴(furyl), 피라닐(pyranyl), 이소벤조퓨라닐(isobenzofuranyl), 크로메닐(chromenyl), 산테닐(xanthenyl), 페노산티닐(phenoxanthinyl), 2H-피롤일(2H-pyrrolyl), 이미다졸일(imidazolyl), 피라졸일(pyrazolyl), 피리딜(pyridyl), 피리미디닐(pyrimidinyl), 피리다지닐(pyridazinyl), 인돌이지닐(indoliziny), 이소인돌일(isoindolyl), 3H-인돌일(3H-indolyl), 인도일(indoyl), 인다졸일(indazolyl), 퓨리닐(puriny), 4H-퀴놀이지닐(4H-quinoliziny), 이소퀴놀일(isoquinolyl), 퀴놀일(quinolyl), 프타지닐(phthaziny), 나프티리디닐(napththyridiny), 퀴나졸이닐(quinazoliny), 시놀이닐(cinnoliny), 프테르디닐(pteridiny), 5aH-카르바조일(5aH-carbazoyl), 카르보조일(carbozoyl), 베타-카르볼이닐(beta-carboliny), 페난트리디닐(phenanthridiny), 아크린디닐(acrindiny), 옥사졸일(oxazolyl), 피리미디닐(pyrimidinyl), 벤지미다졸일(benzimidazolyl), 트리아졸일(triazolyl)인데, 각각은 상기에서 검토된 것처럼 선택적으로 치환될 수도 있다.
- [0073] 본원 발명은 또한 식 I의 화합물의 약학적으로 허용될 수 있는 에스테르 및 염을 포함하는데, 산 부가 염을 포함한다.
- [0074] 당업자는 입체중심(stereocentres)이 식 I의 화합물에 존재한다고 인지할 것이다. 따라서, 본원 발명은 혼합물 또는 순수 부분입체이성질체(pure diastereomers)로서 식 I의 모든 가능한 입체이성질체(stereoisomers) 및 기하 이성질체(geometric isomers)를 포함한다. 식 I의 화합물이 단일 부분입체이성질체로서 바람직할 때, 그것은 이성질체적으로 순수한 출발 물질 또는 임의의 편리한 중간체로부터 입체특이적 합성 또는 최종 생산물의 분해에 의하여 얻어질 수도 있다.
- [0075] 본원 발명(화합물, 약리학 조성물, 방법, 용도 등)의 범위 안에 여기에서 정의된 식 I의 화합물 및 약학적으로 허용될 수 있는 염 또는 산 부가 염의 결정형(예를 들어, 다형체(polymorphs)), 거울상 이성질체형, 및 토 토머가 포함된다.
- [0076] 식 I의 일부 특정 화합물은 하기와 같다 :
- [0077] 1) 17 β -스피로-[5-안드로스텐-17,2'-옥시란]-3 β -올 ("BNN-50")
- [0078] 2) (20S)-3 β ,21-디히드록시-17 β ,20-에폭시-5-프레그넨("BNN-124")
- [0079] 3) (20S)-3 β -히드록시-17 β ,20-에폭시-20-(2-브로모에티닐)-5-안드로스텐;
- [0080] 4) 3 β ,21-디히드록시-17 α ,20-에폭시-5-프레그넨("BNN-93").
- [0081] 식 I의 화합물은 당업자에게 잘 알려진 통상의 합성 반응을 사용하여 상업적으로 이용가능한 스테로이드 화합물로부터 제조될 수도 있다. X가 산소 원자인 본 발명의 바람직한 구현예는, 이에 한정되는 것은 아니지만, 산화, 비티히(Wittig) 반응, 환원, 수소화반응, 옥심 형성, 할로젠화, 탄소-탄소 커플링(coupling) 반응 및 C3에서 보호기의 제거를 포함하는 적절한 순서로 일련의 합성 단계를 채택하여 중요한 중간체 (20S)-3 β -(t-부틸디페닐실릴옥시)-21-히드록시-17 β ,20-에폭시-5-프레그넨으로부터 제조될 수 있다. t-부틸디페닐실릴 옥시가 아닌 적합한 히드록실 보호기가 사용될 수 있다. WO 2008/155534는 다수의 제조 방법을 기재하고 있고, 그 실시예는 BNN-50, BNN-93, BNN-124, (20S)-3 β -히드록시-17 β ,20-에폭시-20-(2-브로모에티닐)-5-안드로스텐, 3 β ,22-디히드록시-17 β ,21-옥세타닐-5-프레그넨 및 17 β -스피로-[3 β -히드록시-5-안드로스텐-17,2'-옥시란-7-일리텐아미노옥시]-아세트산에 대한 상세한 제조 방법을 포함한다.
- [0082] 본원 발명에 따라 제형(formulation)은 표시된 병태의 치료를 위하여 표준 방식으로 투여될 수도 있는데, 이는 경구적(oral), 비경구적(parenteral), 설하(sublingual), 경피적(transdermal), 곧창자 좌약식(rectal), 또는 흡입(inhalation)을 통하거나 볼(buccal)을 통한 투여를 포함하나 이에 한정되지 않는다. 추가적으로, 조성물은 주사 또는 계속적 주입에 의한 비경구적 투여용으로 제형화될 수도 있다. 본 발명에 따른 상기 조성물은 서방형(slow release form)으로서 또는 저장소 제제(depot preparation)로서 제형화될 수도 있다. 투

여 경로는 그것의 항염증 효과를 발휘하기 위하여 그것에 대한 원하는 부위(site)에 활성 화합물(active compound)을 효과적으로 운반하는 임의의 경로가 될 수도 있다. 당업자는 투여받는 사람을 해하지 않으면서 전술한 기재를 임의의 다른 투여 방법으로 확대할 수도 있다.

[0083] 여기에서 사용되는 용어 "치료하다(treat)" 또는 "치료(treatment)"는 예방을 포함한다.

[0084] 본 발명에 사용하기 위한 약학적 조성물은 대상, 동물, 또는 사람에서 원하는 약역학적 활성(pharmacodynamic activity)을 생기게 하기에 충분한 비독성 양으로 허용되는 절차에 따른 비독성 약학적 운반체를 가지고, 본 발명의 활성 화합물 또는 그러한 화합물의 혼합물을 도입시킴에 의하여 통상적인 용량(dosage) 단위 형태로 제조된다. 바람직하게는, 상기 조성물은 활성은 있으나, 바람직한 특정 생물학적 활성 및 환자의 병태에 의존하는 미독성 양으로 활성 성분을 함유한다.

[0085] 사용되는 약학적 운반체는 예를 들어, 고체 또는 액체가 될 수도 있다. 대표적인 고체 운반체는 락토스, 테라알바(terra alba), 수크로스, 활석(talc), 젤라틴(gelatin), 아가(agar), 펙틴(pectin), 아카시아(acacia), 스테아린산 마그네슘(magnesium stearate), 스테아린산(stearic acid), 미세결정질 셀룰로오스(microcrystalline cellulose), 폴리머 히드로겔 등이다. 전형적인 액체 운반체는 프로필렌 글리콜, 베타-시클로덱스트린의 수용액, 시럽, 땅콩 오일 및 올리브 오일 및 이 같은 에멀전이다. 유사하게, 운반체 또는 희석제는 왁스와 함께 또는 단독으로 글리세롤 모노스테아레이트 또는 글리세롤 디스테아레이트, 마이크로캡슐, 마이크로스피어, 리포솜 및/또는 히드로겔 같은 당업계에 잘 알려진 임의의 시간지연 물질을 포함할 수도 있다.

[0086] 고체 운반체의 경우, 제제(preparation)는 플레인 밀정되거나(plain milled), 미세화되거나(micronized) 또는 나노크기로 되거나(nanosized), 오일로 되거나, 정제로 되거나(tableted), 미세화된 파우더 또는 펠렛형으로 경질 젤라틴(hard gelatin) 또는 장용성 캡슐(enteric-coated capsule)에 위치하거나 트로키(troche), 로젠지(lozenge), 또는 좌약(suppository)의 형태일 수 있다. 액체 운반체의 경우, 제제는 약리학적으로 허용될 수 있는 방부제 등과 혼합된 수성 또는 비수성 액체 현탁(suspension)이거나 또는 앰플 같은 액체 형태로 될 수 있다. 낮은 용량이 요구될 때, 비강 분무(nasal spray), 설하 투여 및 지속적 방출형 스킨 패치(timed released skin patches)가 또한 적합한 국소(topical) 투여용 약학적 형태이다.

도면의 간단한 설명

[0087] 도 1은 실험적 연구에 있어서, 자극된 배양 마우스 림프절 세포(stimulated cultured mice lymph cells)에 대한 몇몇 스테로이드 화합물의 효과를 보여주는 막대 그래프이다.

도 2는 특정 언프라임된 정제된 배양된 마우스 $CD4^{+}$ T 세포에 대한 몇몇 스테로이드 화합물의 효과(도 2a), 및 IL-2 및 IFN- γ 의 확산 및 분비에 대한 이들의 효과(각각 도 2b 및 2c)를 보여주는 막대 그래프 형식의 실험적 연구의 결과를 포함한다.

도 3은 실험적 연구에 있어서, 자극된 배양된 마우스 정제된 $CD4^{+}$ T세포에 대한 몇몇 스테로이드 조성물의 효과를 보여주는 막대 그래프이다.

도 4는 실험적 연구에 있어서, 유세포분석(flow-cytometric analysis) 이후 배양에서 $CD4^{+}$ 7AAD-세포의 수에 대한 몇몇 스테로이드 화합물의 효과를 보여주는 막대 그래프이다.

도 5는 MOG 펩티드 유도된 실험적 자가면역 내척수염(MOG peptide-induced experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE))을 막기 위한 몇몇 스테로이드 화합물의 능력을 조사하는 것을 위한 실험적 프로토콜을 위한 타임라인(timeline)을 도식적으로 보여준다.

도 6은 도 5의 상기 프로토콜에 따른 실험적 연구에 있어서, 마우스의 평균 임상 EAE 점수(mean clinical EAE score)에 대한 몇몇 스테로이드 화합물의 시간에 따른 효과를 보여주는 그래프이다.

도 7은 EAE 병의 발생(도 7a), 평균 최대 임상 점수(도 7b) 및 질병의 발병일(도 7c)에 관하여, 마우스에 대한 몇몇 스테로이드 화합물의 효과를 보여주는 막대 그래프의 형식으로, 도 5에 나온 상기 프로토콜에 따른 실험적 연구의 결과를 포함한다.

도 8은 도 5에 나온 상기 프로토콜에 따른 실험적 연구에 있어서, 마우스의 척수(spinal cord)의 염증에 대한 몇몇 스테로이드 화합물의 효과를 보여주는 염색된 섹션(stained section)을 포함한다.

도 9는 MOG₃₅₋₅₅ 펩티드에 대한 세포 확산(도 9a), IFN- γ 과 IL-10의 생산된 양 (도 9b 및 9c), 사이토카인 IL-17의 분비 (도 9d) 및 IFN- γ /IL-17 비율 (도 9e)에 관하여, EAE를 진행하도록 유도된 특정 마우스의 림프절 세포에 대한 몇몇 스테로이드 화합물의 효과를 보여주는 막대 그래프의 형태의 실험적 연구의 결과를 포함한다.

도 10은 실험적 자가면역 내척수염(EAE)의 발병 이후 몇몇 스테로이드 화합물의 방어적인 효과를 조사하는 것을 위한 실험적 프로토콜을 위한 타임라인을 도식적으로 보여준다.

도 11은 도 10에 나온 상기 프로토콜에 따른 실험적 연구에 있어서, 마우스의 평균 임상 EAE 점수에 대한 몇몇 스테로이드 화합물의 시간에 따른 효과를 보여주는 그래프이다.

도 12는 도 10에 나온 상기 프로토콜에 따른 실험적 연구에서, 평균 최대 임상 점수에 관하여, 마우스에 대한 몇몇 스테로이드 화합물의 효과를 보여주는 막대 그래프이다.

도 13은 IL-10의 생산된 양 (도 13a) 및 IFN- γ (도 13b) 과 사이토카인 IL-17 (도 13c)의 분비에 관하여, EAE를 진행하도록 유도된 특정 마우스의 림프절 세포에 대한 몇몇 스테로이드 화합물의 효과를 보여주는 막대 그래프의 형태의 실험적 연구의 결과를 포함한다.

도 14는 기관지 폐포 세척(bronchoalveolar lavage)(도 14a), 폐 백혈구 침윤(lung leukocytic infiltration)(도 14b) 및 OVA-특정형 T 세포 증식(OVA-specific T cell proliferation)(도 14c)에서의 각기 다른 타입의 백혈구(leukocytes)의 수에 대한 몇몇 스테로이드 화합물의 효과를 보여주는 막대 그래프 형식으로, 특정 마우스에 대한 실험적 연구 결과를 포함한다.

도 15는 수립된 MOG 펩티드 유도된 실험적 자가면역 내척수염(EAE)을 억제하기 위한, 몇몇 스테로이드 화합물의 능력을 조사하는 것을 위한 실험적 프로토콜을 위한 타임라인을 도식적으로 보여준다.

도 16은 도 15에 나온 상기 프로토콜에 따른 실험적 연구에 있어서, 마우스의 평균 임상 EAE 점수에 대한 몇몇 스테로이드 화합물의 시간에 따른 효과를 보여주는 그래프이다.

도 17은 도 15에 나오는 상기 프로토콜에 따른 실험적 연구에서, 평균 최대 임상 점수 관하여, 마우스에 대한 몇몇 스테로이드 화합물의 효과를 보여주는 막대 그래프이다.

도 18은 도 15에 나오는 상기 프로토콜에 따른 실험적 연구에 있어서, 마우스 척수의 염증에 대한 특정 스테로이드 화합물의 반응을 보여주는 염색된 섹션을 포함한다.

도 19는 MOG₃₅₋₅₅ 펩티드에 대한 세포 확산(도 19a), IFN- γ 과 IL-17의 생산된 양 (도 19b 및 19c) 및 사이토카인 IL-10의 분비 (도 19d)에 관하여, EAE를 진행하도록 유도된 특정 마우스의 림프절 세포에 대한 몇몇 스테로이드 화합물의 효과를 보여주는 막대 그래프의 형태의 실험적 연구의 결과를 포함한다.

도 20은 실험적 연구에 있어서, 유세포분석(flow-cytometric analysis) 이후 배양에 있어서 CD3⁺CD4⁺IL10⁺ T 세포의 수에 대한 몇몇 스테로이드 화합물의 효과를 보여주는 막대 그래프이다.

도 21은 실험적 연구에 있어서, 마우스의 평균 임상 EAE 점수(mean clinical EAE score)에 대한 몇몇 스테로이드 화합물의 시간에 따른 효과를 보여주는 그래프이다.

도 22는 실험적 연구에 있어서, 평균 최대 임상 점수에 관하여, 마우스에 대한 특정 스테로이드 화합물의 효과를 보여주는 막대 그래프이다.

도 23은 MOG₃₅₋₅₅ 펩티드에 대한 세포 확산(도 23a) 및 IFN- γ 과 IL-17의 생산된 양 (도 23b 및 23c)에 관하여, EAE를 진행시키도록 유도된 특정 마우스의 림프절 세포에 대한 특정 스테로이드 화합물의 효과를 보여주는 막대 그래프의 형태의 실험적 연구의 결과를 포함한다.

도 24는 실험적 연구에 있어서, 마우스의 평균 임상 EAE 점수에 대한 특정 스테로이드 화합물의 시간에 따른 효과를 보여주는 그래프이다.

도 25는 실험적 연구에 있어서, 평균 최대 임상 점수에 관하여, 마우스에 대한 특정 스테로이드 화합물의 효과를 보여주는 막대 그래프이다.

도 26은 MOG₃₅₋₅₅ 펩티드에 대한 세포 확산(도 26a) 및 IFN- γ 과 IL-17의 생산된 양 (도 26b 및 26c)에 관하여, EAE를 진행하도록 유도된 특정 마우스의 림프절 세포에 대한 몇몇 스테로이드 화합물의 효과를 보여

주는 막대 그래프의 형태의 실험적 연구의 결과를 포함한다.

도 27은 실험적 연구에 있어서, 유세포분석 이후 배양에 있어서 $CD11c^{+}$ 세포 (도 27a), $CD3^{+}CD4^{+}IL17^{+}$ T 세포 (도 27b) 및 $CD4^{+}Foxp3^{+}$ T 세포의 수에 대한 특정 스테로이드 화합물의 효과를 보여주는 막대 그래프 형태의 실험적 연구 결과를 포함한다.

도 28은 실험적 연구에 있어서, 마우스의 평균 임상 EAE 점수에 대한 특정 스테로이드 화합물의 시간에 따른 효과를 보여주는 그래프이다.

도 29는 실험적 연구에 있어서, 평균 최대 임상 점수에 대하여, 마우스의 특정 스테로이드 화합물의 효과를 보여주는 막대그래프이다.

도 30은 MOG₃₅₋₅₅ 펩티드에 대한 세포 확산에 관하여, EAE를 진행하도록 유도된 특정 마우스의 림프절 세포에 대한 특정 스테로이드 화합물의 효과를 보여주는 막대 그래프이다.

도 31은 실험적 연구에 있어서, 마우스의 평균 임상 EAE 점수에 대한 특정 스테로이드 화합물의 시간에 따른 효과를 보여주는 그래프이다.

도 32는 실험적 연구에 있어서, 평균 최대 임상 점수에 관하여, 마우스에 대한 특정 스테로이드 화합물의 효과를 보여주는 막대 그래프이다.

도 33은 MOG₃₅₋₅₅ 펩티드에 대한 세포 확산(도 33a) 및 IFN- γ 과 IL-17의 생산된 양 (도 33b 및 33c)에 관하여, EAE를 진행하도록 유도된 특정 마우스의 림프절 세포에 대한 특정 스테로이드 화합물의 효과를 보여주는 막대 그래프의 형태의 실험적 연구의 결과를 포함한다.

도 34는 실험적 연구에 있어서, 마우스의 평균 임상 EAE 점수에 대한 특정 스테로이드 화합물의 시간에 따른 효과를 보여주는 그래프이다.

도 35는 실험적 연구에 있어서, 평균 최대 임상 점수에 관하여, 마우스에 대한 특정 스테로이드 화합물의 효과를 보여주는 막대 그래프이다.

도 36은 실험적 연구에 있어서, 유세포분석 이후 배양에 있어서 $CD4^{+}IL-17^{+}$ 세포의 수에 대한 몇몇 스테로이드 화합물의 효과를 보여주는 막대 그래프이다.

도 37은 실험적 연구에 있어서, 유세포분석 이후 배양에 있어서 $CD4^{+}IL-10^{+}$ 세포의 수에 대한 몇몇 스테로이드 화합물의 효과를 보여주는 막대 그래프이다.

도 38은 실험적 연구에 있어서, 유세포분석에 의해 얻어지고 배양에 있어서 $CD25$ 및 $Foxp3^{+}$ 세포의 수에 대한 몇몇 스테로이드 화합물의 효과를 보여주는, 산출량 다이어그램을 포함한다.

도 39는 실험적 연구에 있어서, 배양된 나이브 $CD4^{+}$ 세포에 대한 특정 스테로이드 화합물의 효과를 보여주는 막대그래프이다.

도 40은 스테로이드 화합물로 처리되고 OVA/CFA(완전프로인트 항원보강제)로 면역력을 갖게 된 EAE를 최초로 진행하도록 유도된 특정 마우스의 림프절 세포에 대한 특정 스테로이드 화합물의 효과를 보여주는 막대그래프이다.

상기 도면에 대한 더욱 상세한 설명은 하기 실시예 1 내지 8에 기재된다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

실험 섹션

하기 실시예는 본 발명의 더 나은 이해를 위해 제공되지만, 어떤 방식으로든 본 발명의 범위를 제한하는 것으로 해석되어서는 안된다.

하기 실시예에서, 디하이드로에피안드로스테론(DHEA) 및 그와 관련된 스테로이드 화합물 BNN-50, BNN-93 및 BNN-124 (앞서 정의됨)는, 실험적 자가면역 뇌척수염 및 알레르기성 기도 염증 도중, 생체 외 T 세포 반응 뿐만 아니라, 생체 내 면역-매개 질환 및 반응을 억제한다.

[0091] 실시예 1

[0092] 생체 외 T 세포 반응의 억제에서 합성 스피로스테로이드의 활성

[0093] DHEA 또는 그 스피로 화합물 BNN-50, BNN-93 및 BNN-124 또는 대조군 RPMI의 존재 중에서 항원에 노출되지 않은 DO11.10 TCR Tg 마우스(이는 OVA 펩티드 323-339에 반응함)에서 림프절(LN) 세포를 배양하였다. DHEA 및 그 스피로-유사체로의 처리는 항원에 반응하는 T 세포의 유의하게 감소된 증식을 초래하였다(도 1).

[0094] DHEA 및 그 유사체가 $CD4^+$ T 세포에 직접 면역억제 효과를 발휘하는지 여부를 테스트하기 위하여, OVA 펩티드 323-339 및 미토마이신 C-처리된 비장세포를 갖는, 항원에 노출되지 않은 DO11.10 TCR Tg 마우스에서 정제된 $CD4^+$ T 세포를 배양하였다. 다시, DHEA 및 그 스피로 화합물로의 처리는 유의하게 감소된 증식 및 IL-2 및 IFN- γ 의 분비를 초래하였다(도 2). 정제된 $CD4^+$ T 세포가 α -CD3/ α -CD28 (비 항원-특이적)을 갖는, 항원에 노출되지 않은 BALB/c 마우스로 자극될 때, DHEA 및 그 스피로 화합물의 동일한 억제 효과가 관찰되었다(도 3). 유동 세포 분석 후 모든 배양에서 유사한 수의 $CD4^+$ 7AAD $^-$ 세포에 의해 명확한 바와 같이 $CD4^+$ T 세포의 감소된 증식 반응은 증가된 세포의 사멸에 기인한 것은 아니었다(도 4).

[0095] 종합적으로, DHEA 및 그 스피로 화합물 BNN-93, BNN-124, BNN-50은 일반적으로 T 세포 반응에 면역억제 효과를 갖는 것으로 나타났다.

[0096] 실시예 2

[0097] MOG 펩티드-유도된 실험적 자가면역 뇌척수염(EAE)에 대한 보호를 위한 합성 스피로스테로이드의 능력

[0098] 생체 내 DHEA 및 그 스피로 화합물의 면역억제 효과를 평가하기 위하여, 검사를 수행하여 DHEA 및 그 스피로-유사체가 실험적 자가면역 뇌척수염 (EAE)에 대해 보호성인지 여부를 확립하였다. EAE는 중추 신경계(CNS)의 자가면역 병태이고, 파괴적인 자가반응 T 림프구 및 후속하는 탈수초 및 축삭과 신경 변성에 의한 중추 신경계의 침윤에 기인한다.

[0099] 병원성 미엘린 희소돌기아교세포 당단백(MOG) 펩티드(아미노산 35-55)에 대해 면역화하는 것에 의해 C57BL/6 마우스에서 급성 EAE를 유도하였다. BNN-93, BNN-124, BNN-50 또는 DHEA (2mg/마우스) 또는 PBS(대조군)를 EAE 유도일로부터, 마우스를 안락사시킨 26일이 되는 날까지, 매일 복강내로 투여하였다(도 5). 임상 증상(마비)에 대해 블라인드 방식으로 마우스를 매일 모니터링하였다. 조직학적 평가(뇌 및 척수 섹션에서 H&E로 염색) 및 사이토카인 방출 및 T 세포 반응의 측정을 위한 생체 외 배양을 수행하기 위하여 조직(뇌, 척수, DLN)을 수집하였다. DHEA 및 그 스피로 화합물의 투여는 감소된 정도의 마비를 초래하였다. 무엇보다도, 임상 과정의 향상 및 평균 최대 점수의 감소가 있었다(도 6 및 7). 감소된 임상 점수는 대조군과 비교하여, 지연된 개시 및 낮은 발생 정도와 관련이 있다. DHEA 및 그 스피로 화합물의 보호 효과는 또한 척수에서의 염증의 감소와 관련이 있다(도 8).

[0100] 무엇보다도, 스피로 화합물 및 DHEA는 MOG 펩티드-유도된 EAE에 대한 보호를 제공하였고, 임상 점수 및 발생 정도의 감소, 질환 개시의 지연 및 CNS에서의 염증 감소에 기여하였다.

[0101] 또한 EAE가 진행되도록 유도된 마우스로부터의 MOG₃₅₋₅₅ 펩티드에 대한 림프 세포(T 세포)의 증식 반응 및 사이토카인 방출을 테스트하였다.

[0102] DHEA 및 그 스피로 화합물로 처리된 마우스로부터의 림프절 세포를 배출하는 것은 MOG₃₅₋₅₅ 펩티드에 대한 유의하게 감소된 증식을 보였고(도 9a) 실질적으로 증가된 양의 IFN- γ 및 IL-10을 생성하였고(도 9b 및 9c), 이는 몇몇 최근 연구에 의해 나타난 바와 같이 조절 특성을 갖는 것으로 생각되었다. 또한, 염증성 사이토카인 IL-17의 분비는 증가되었지만(도 9d), 그 절대적 증가는 IFN- γ 증가에 비해 극도로 낮았다. 사실 DHEA 및 그 스피로 화합물은 IFN- γ / IL-17 비율을 크게 증가시켰고(도 9e), 그러한 발견은 EAE에 대한 보호 효과와 부합한다. 따라서, DHEA 및 그 스피로 화합물은 저 병원성 Th1 반응으로 고 병원성 Th17 반응의 밸런스를 시프트하는 것에 의해 EAE를 억제할 수 있다.

[0103] 무엇보다도, 이들 결과는 DHEA 및 그 스피로-유사체로의 처리가 유의하게 억제된 병원성 면역 반응을 초래한 것을 나타냈다.

[0104] 실험적 자가면역 뇌척수염(EAE)의 개시 후 DHEA 및 그 스피로-유사체가 보호성인지 여부에 대해 테스트를 또

한 수행하였다. 이들 테스트를 위해, 전술한 바와 같이, C57BL/6 마우스에서 급성 EAE를 유도하였다. BNN-93, BNN-124, BNN-50 또는 DHEA (2mg/마우스) 또는 PBS를 EAE 개시일로부터, 마우스를 안락사시킨 26일이 되는 날까지, 매일 복강내로 투여하였다(도 10). 임상 증상(마비)에 대해 블라인드 방식으로 마우스를 매일 모니터링하였다. 조직학적 평가(뇌 및 척수 섹션에서 H&E로 염색) 및 사이토카인 방출 및 T 세포 반응의 측정을 위한 생체 외 배양을 수행하기 위하여 조직(뇌, 척수, DLN)을 수집하였다. DHEA 및 그 스피로 화합물의 투여는 감소된 정도의 마비를 초래하였다. 무엇보다도, 임상 과정의 향상/역전 및 평균 최대 점수의 감소가 있었다(도 11 및 12).

[0105] 또한 EAE가 진행되도록 유도된 마우스로부터 MOG₃₅₋₅₅ 펩티드에 대한 림프 세포(T 세포)의 사이토카인 방출을 테스트하였다. DHEA 및 그 스피로 화합물로 처리된 마우스로부터의 림프절 세포를 배출하는 것은 크게 증가된 양의 IL-10을 생성하였다(도 13a). 또한, IFN- γ 및 염증성 사이토카인 IL-17의 분비는 실질적으로 감소하였다(도 13b 및 13c). 따라서, DHEA 및 그 스피로-화합물은 EAE 개시 후 주로 IL-10의 생성을 특징으로 하는 T 조절 세포 반응으로 고 병원성 Th17 반응의 밸런스를 시프트하는 것에 의해 보호할 수 있다.

[0106] 실시예 3

[0107] 알레르기성 기도 염증으로부터의 보호 및 TH-2 면역 반응의 억제에서 합성 스피로스테로이드의 활성

[0108] 알레르기성 천식의 수립된 마우스 모델을 사용하여, Th2-매개된 면역 반응 및 후속의 질환 발생 도중, DHEA 및 그 스피로 화합물의 생체 내 효과를 조사하였다. 0일 및 12일에 복강내로 0.2ml 명반으로 0.01mg 닭 난백 알부민(OVA)으로 BALB/c 마우스가 감작되었고, 18-20일에 에어로졸화된 OVA (20분 동안 5%)에 노출되었다. 0, 1, 2, 12, 13, 14, 18, 19 및 20일에 2mg/마우스의 DHEA 또는 그 스피로 화합물(BNN-93 또는 BNN-124 또는 BNN-50) 또는 PBS를 마우스에 투여하였다.

[0109] DHEA 또는 그 스피로 화합물로 처리된 마우스는, PBS-처리된 마우스에 비해, 기관지폐포세척요법(BAL)의 림프 단핵구 세포 및 산호성 백혈구의 유의하게 감소된 수를 가졌다(도 14a). DHEA 및 그 스피로 화합물로 처리된 마우스에서 폐 백혈구 침윤은 또한 크게 감소하였다(도 14b). 또한, 림프절 배출로부터의 면역 반응을 조사할 때, DHEA 또는 그 스피로 화합물로의 처리는 유의하게 감소된 OVA-특이적 T 세포 증식을 초래한 것을 나타냈다(도 14c). 또한, OVA-특이적 IgE, IgG1 및 IgG2a의 수준은 DHEA 및 그 스피로 화합물로 처리된 마우스에서 유의하게 감소되었다. 추가로, DHEA 및 그 스피로 화합물로 처리된 마우스는 실질적으로 증가된 수의 CD3⁺CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ T 세포 (T 조절 세포) 및 억제성 CD11c⁺PDCA-1⁺ 혈장세포 수지상 세포(pDC)를 가졌다.

[0110] 무엇보다도, 이들 결과는 DHEA 및 그 스피로 화합물이 제어 면역 세포 서브셋의 유도를 수반하는 알레르기성 기도 염증, Th2 반응 및 B 세포 반응을 억제한다는 증거를 제공한다.

[0111] 실시예 4

[0112] 수립된 MOG 펩티드-유도된 EAE의 억제에서 합성 스피로스테로이드의 활성

[0113] DHEA 및 그 스피로 유사체가 마우스 개체군에서 이미 수립된 EAE를 억제하는데 효과적인지 여부를 수립하기 위하여 검사를 수행하였다.

[0114] 병원성 미엘린 희소돌기아교세포 당단백(MOG) 펩티드(아미노산 35-55)에 대해 동물을 면역화하는 것에 의해 C57BL/6 마우스에서 급성 EAE를 유도하였다. 약 12일에서 질환 증상이 확실해질 때까지(점수 1-2) 마우스를 비처리된 대로 두었다. 마우스를 안락사시킨 26-28일이 되는 날까지, EAE 유도 후 13일부터, BNN-93, BNN-124, BNN-50 또는 DHEA (2mg/마우스) 또는 PBS(대조군)를 매일 복강내로 투여하였다(도 15). 임상 증상(마비)에 대해 블라인드 방식으로 마우스를 매일 모니터링하였다. 조직학적 평가(뇌 및 척수 섹션에서 H&E로 염색) 및 사이토카인 방출 및 T 세포 반응의 측정을 위한 생체 외 배양을 수행하기 위하여 조직(뇌, 척수, DLN)을 수집하였다.

[0115] 질병 개시 후 출발한 DHEA 및 그 스피로 화합물의 투여는 유의하게 감소된 마비의 정도를 초래하였다. 무엇보다도, 임상 과정의 유의한 향상 및 평균 최대 점수의 감소가 있었다(도 16 및 17). DHEA 및 그 스피로 화합물의 보호 효과는 또한 척수에서의 염증 감소와 관련이 있다(도 18).

- [0116] 무엇보다도, 그 스피로 화합물 및 DHEA는 진행중인 MOG 펩티드-유도된 EAE를 억제하고, 임상 점수의 감소 및 CNS에서 염증의 감소에 기여한다.
- [0117] 또한 EAE가 진행되도록 유도된 마우스로부터 MOG₃₅₋₅₅ 펩티드에 대한 림프 세포(T 세포)의 사이토카인 분비 및 증식 반응을 테스트하였다. DHEA 및 그 스피로 화합물로 처리된 마우스로부터의 배출 림프절 세포는 MOG₃₅₋₅₅ 펩티드에 대한 유의하게 감소된 증식을 보였고(도 19a), 실질적으로 감소된 양의 IFN- γ 및 IL-17을 생성하였으며(도 19b 및 19c), 이는 염증성 특성을 갖는 것으로 생각된다. 이는 뇌 및 배출 림프절에서 Th17 및 Th1 세포의 수의 유의한 감소와 동반되었다. 또한, 면역조절 사이토카인 IL-10의 분비가 증가되었다(도 19d). 또한, DHEA 및 그 스피로 화합물은 IL-10⁺ Treg 세포를 유의하게 증가시켰고, 이러한 발견은 EAE에 대한 보호 효과와 부합하였다(도 20). 따라서, DHEA 및 그 스피로 화합물은 Treg 세포를 증가시키면서 병원성 Th1 및 Th17 면역 반응을 감소시키는 것에 의해 진행중인 EAE를 억제할 수 있다. 질환 피크에서(17일) 마우스가 안락사되었을 때 유사한 결과가 얻어졌다(도 21, 22 및 23a,b,c).
- [0118] 무엇보다도, 이들 결과는 DHEA 및 그 스피로-유사체로 진행중인 EAE를 갖는 마우스를 처리하는 것이 병원성 면역 반응 및 증상을 유의하게 억제한 것을 나타낸다.
- [0119] 실시예 5
- [0120] **전달된 면역 세포에서 질환의 억제에서 합성 스피로스테로이드의 활성**
- [0121] DHEA 및 스피로 유사체에 의해 EAE가 억제된 면역 세포가 한 마우스 개체군으로부터 다른 개체군으로 양자로 (adoptively) 전달되었을 때, EAE에 대해 여전히 활성을 갖는지 여부를 조사하기 위하여 검사를 수행하였다.
- [0122] 질환 개시(12-17일) 바로 후에, DHEA 또는 BNN-93으로 처리된 EAE를 갖는 마우스로부터 얻어진 배출 림프절(DLN) 세포를, 진행중인 EAE(약 12일)를 갖는 수령자에게 양자로 전달시켰다. 이들 DLN 세포는 EAE 발생에 대한 억제를 제공하는 것으로 밝혀졌고, PBS-처리된 도너로부터의 DLN 세포가 양자로 전달된 EAE를 갖는 마우스에 비해, 신속한 회복 및 평균 최대 질환 점수의 유의한 감소를 초래하였다(도 24 및 25). 도너 DLN 세포는 17일 췌에 얻어졌고, 이는 대조군 마우스에 대해 질환의 피크이다. 이러한 보호는 마우스가 안락사된 28-30일까지 관찰되었다. EAE를 갖는 DHEA- 또는 BNN-93-처리된 도너로부터의 DLN 세포가 양자로 전달된 마우스로부터 얻어진 DLN 세포는 MOG₃₅₋₅₅에 대한 유의하게 감소된 생체 외 증식을 나타냈고, 감소된 수준의 상청액 IFN- γ 및 IL-17을 생성하였다(도 26a,b,c). 또한, 고 염증성 IL-17 분비 T 세포의, 뿐 아니라 Th 반응의 활성화 및 분화에 핵심적인 역할을 하는 CD11c⁺ 수지상 세포의 보충은 배출 림프절에서 실질적으로 감소되었고, 반면 CD4⁺ Foxp3⁺ 조절 T 세포의 보충은 증가되었다(도 27a,b,c).
- [0123] 상기 결과는 DHEA 및 그 스피로 화합물로 처리된 마우스가, 수령자에 전달되자마자 진행중인 질환을 하향-조절할 수 있는 면역 조절 능력을 "보유하는(carry)" 면역 세포를 발전시키는 것을 입증한다.
- [0124] DHEA, BNN-93 또는 PBS로 처리된 EAE-유도된 마우스로부터의 CD4⁺ T 세포(T 헬퍼 림프구)가 질환 억제를 전달할 수 있는지 여부를 측정하기 위하여 검사를 또한 수행하였다. 진행중인 EAE(약 29일)를 갖는 수령자에게 DHEA 또는 BNN-93으로 처리된 EAE-유도된 마우스로부터 얻어진 양자로 전달된 CD4⁺ T 세포는 평균 최대 EAE 점수의 유의한 감소를 제공하였다(도 28 및 29). 대조적으로, PBS-처리된 EAE 마우스로부터의 CD4⁺ T 세포의 양자 전달은 질환을 감소시킬 수 없었다. 따라서, DHEA 또는 BNN-93으로 처리된 EAE 도너로부터의 DLN 세포가 양자로 전달된 마우스로부터 얻어진 DLN 세포 및 비장세포는 생체 외에서 MOG₃₅₋₅₅에 대해 유의하게 감소된 증식을 나타냈다(도 30).
- [0125] 이들 결과는 EAE 도중 DHEA 및 그 스피로 화합물로의 처리가 진행중인 EAE를 단독으로 억제할 수 있는 CD4⁺ T 세포의 발생을 초래하는 것을 입증한다.
- [0126] T 및 B 세포를 갖지 않는 수령자 마우스(C57BL/6 Rag-/-) 내로 DHEA 또는 BNN-93 처리된, EAE-유도된 마우스로부터의 CD4⁺ T 세포의 양자 전달은 백일해 독소 주사 후 매우 낮은 EAE 점수를 유도하여 어떠한 질병도 갖지 않았다(BNN-93)(도 31 및 32). 대조적으로 PBS-처리된 EAE-유도된 마우스로부터 얻어진 CD4⁺ T 세포의 양자

전달은 C57BL/6 Rag-/- 수령자에서 질환 발생을 초래하였다. DHEA- 또는 BNN-93- 처리된 EAE 도너로부터의 CD4⁺ T 세포와 함께 양자로 전달된 수령자 마우스로부터 얻어진 DLN 세포는 MOG₃₅₋₅₅에 대해 실질적으로 감소된 생체 외 증식을 나타냈고, IFN- γ 및 IL-17의 생성의 감소를 나타냈다(도 33a,b,c). 이들 결과는 처리된 마우스로부터의 CD4⁺ T 세포가 유의하게 덜 병원성인 것을 나타낸다.

[0127] 실시예 6

[0128] 치료 중지 후 질환의 억제에서 합성 스피로스테로이드의 활성

[0129] DHEA 및 스피로 유사체에 의해 EAE가 억제된 면역 세포가 치료의 중지 후에도 마우스 개체군에서 유지되는지 여부를 조사하기 위하여 실험을 행하였다.

[0130] C57BL/6 마우스들을 전술한 바와 동일한 방식으로 EAE 유도를 행하고, 이어서 15일의 기간 동안 질환 개시(약 13일) 직후에 이들을 DHEA, BNN-93 또는 PBS로 처리하고, 이어서 이 처리를 종결하였다. 그 후 추가 45일 동안 EAE의 임상 징후에 대해 마우스를 매일 지속적으로 모니터링하였다. 높은 점수의 질환 과정을 지속적으로 나타낸 대조군 마우스에 비해, 단지 15일 동안 DHEA 또는 BNN 93으로 사전 처리된 마우스는 어떠한 악화도 없이, EAE 발생으로부터 보호되었고 이들의 질환 점수는 변하지 않고 남아있었다(도 34 및 35).

[0131] 실시예 7

[0132] Th17 세포 분화 및 Foxp3⁺ Treg 세포 생성에서 합성 스피로스테로이드의 효과

[0133] Th17 세포 분극 조건(rTGF- β 1 및 rIL-6과 함께) 하에서 나이브 CD4⁺ T 세포를 시험관 내 배양하고, 4일 동안 DHEA, BNN-93, BNN-124, BNN-50 또는 RPMI(대조군 배양 배지)로 처리하였다. DHEA 및 그 스피로-유사체로의 처리는 CD4⁺ IL 17- 분비 T 세포 수의 증가를 초래하였고(도 36), Th17 분화 세포 중에서, CD4⁺ IL-10- 분비 T 세포 수의 유의한 증가를 초래하였으며, 이들은 중요한 면역조절 특성을 갖는 것으로 생각된다(도 37).

[0134] 추가적으로, Treg 세포 생성 조건(rTGF- β 1 및 rIL-2와 함께) 하에서 나이브 CD4⁺ T 세포를 시험관 내 배양하고, 5일 동안 DHEA 또는 BNN-93, BNN-124, BNN-50 또는 RPMI로 처리하였다. rTGF- β 1와 함께 또는 없이, DHEA 및 그 스피로-유사체로의 처리는 Foxp3⁺ Treg 세포 수의 유의한 증가 및 증가된 증식을 초래하였다(도 38 및 39).

[0135] 이들 결과는 DHEA 및 그 스피로 화합물이 면역억제 능력을 갖는 CD4⁺ T 세포서브셋의 분화 및 생성에 영향을 미치는 것을 입증한다.

[0136] 실시예 8

[0137] (MOG 이외의) 다른 항원에 대한 반응을 정의하는 실험

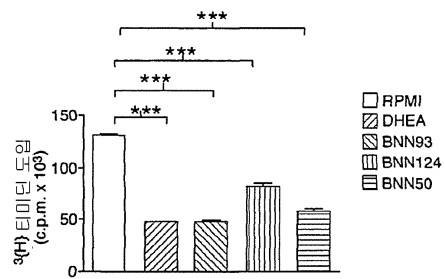
[0138] EAE 발생과 관련된 상이한 항원에 대한, DHEA 및 스피로-유사체에 의해 EAE가 억제된 면역 세포의 반응을 조사하기 위하여 실험을 행하였다.

[0139] C57BL/6 마우스에 EAE가 발생하도록 유도하고, 질환 개시 바로 직후에 시작하여, 15일 동안 DHEA, BNN93 또는 RPMI (대조군)로 처리하였다. 치료를 중지하고, 이어서 마우스에게 OVA/CFA (완전 프로인트 항원보강제)를 주사하였다. EAE의 임상 징후에 대해 매일 마우스를 모니터링하였으며, 대조군 마우스에 비해, DHEA 또는 BNN93로 처리된 마우스는 EAE로부터 완벽히 보호되었으며, 어떠한 악화도 없이 안정적인 표현형을 가졌다.

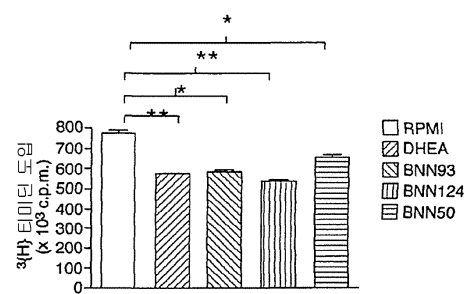
[0140] OVA/CFA 면역화 후, DHEA 또는 BNN93으로 처리된 마우스는 생체 외에서 OVA에 대해 실질적으로 증가된 T 세포 반응을 나타냈고(³H-티미딘 도입으로 도시됨)(도 40), 뿐만 아니라 IFN- γ 의 생성 증가를 나타냈다. 결과는 뉴로스테로이드가 EAE에 대해 억제성이지만, EAE 발생과 관련된 것들 이외의 항원에 대한 면역 세포의 반응을 방지하는 것은 아님을 나타낸다. 그 대신, 마우스가 노출되는 새로운 항원에 대한 반응은 향상된다.

도면

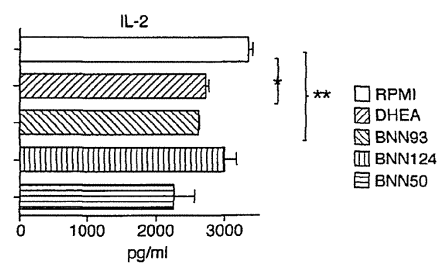
도면1



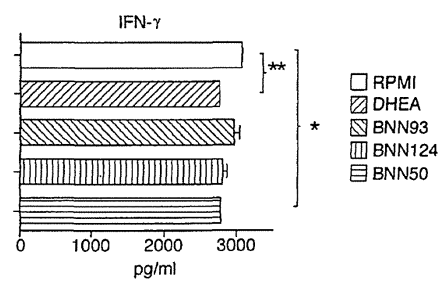
도면2a



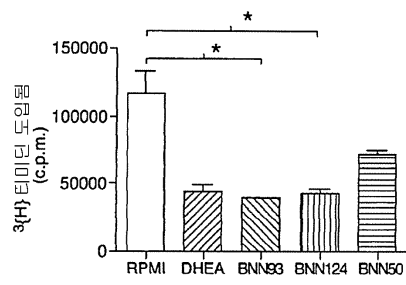
도면2b



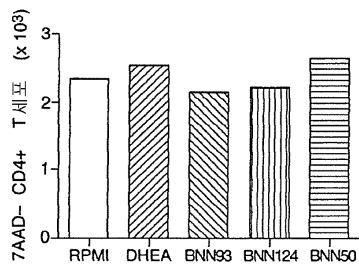
도면2c



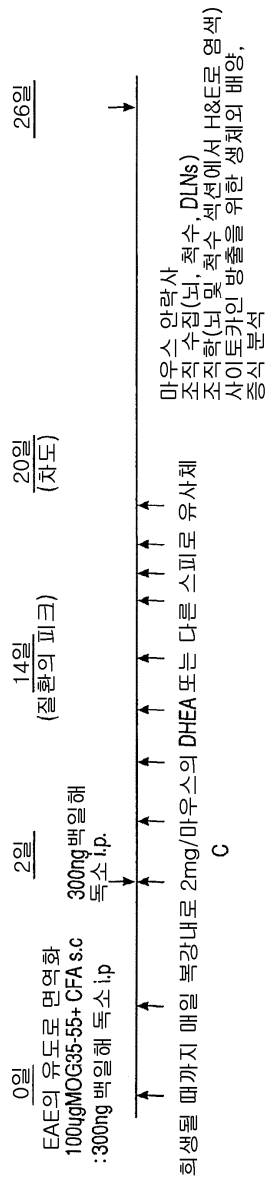
도면3



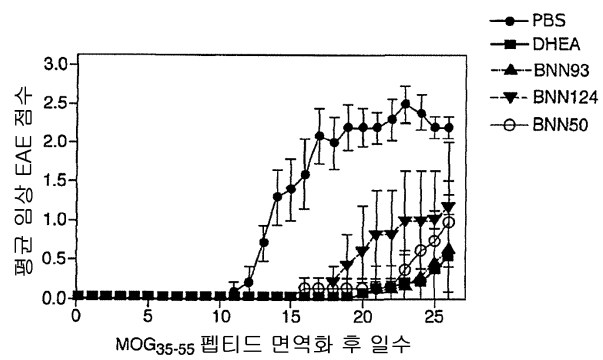
도면4



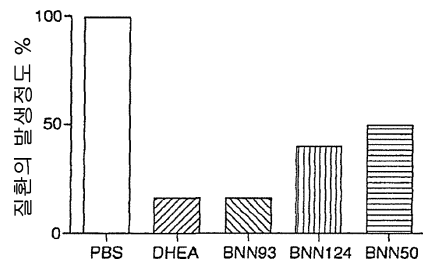
도면5



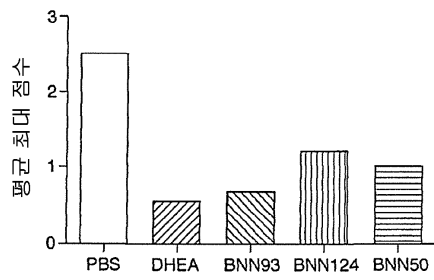
도면6



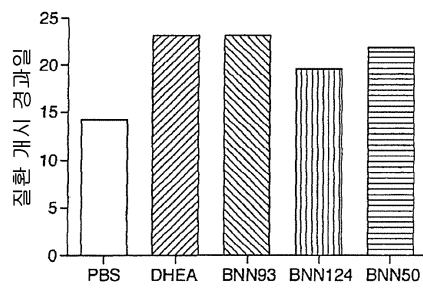
도면7a



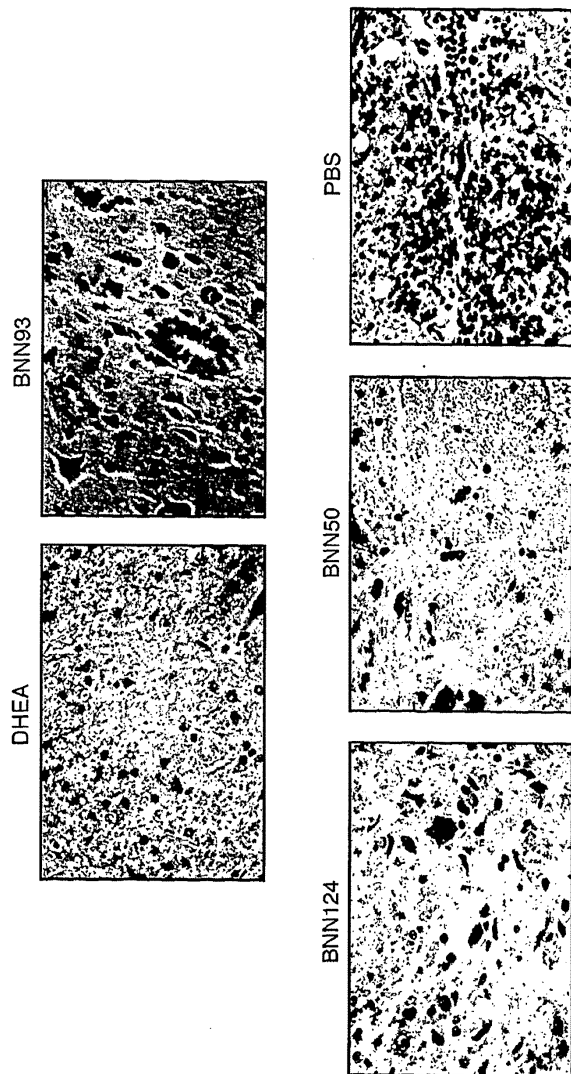
도면7b



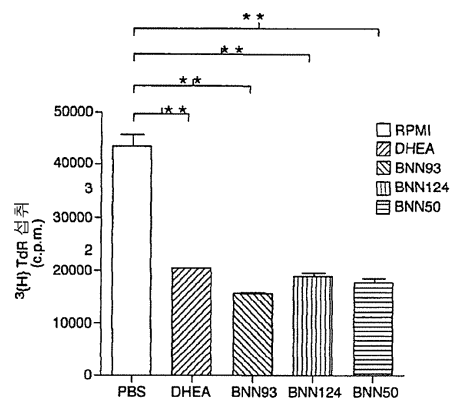
도면7c



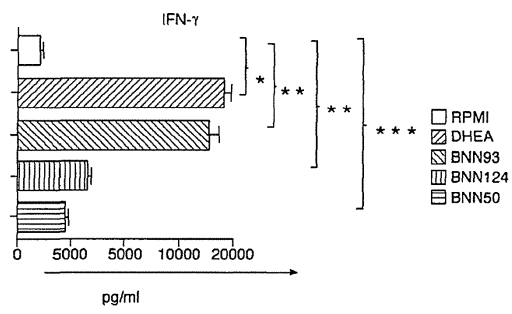
도면8



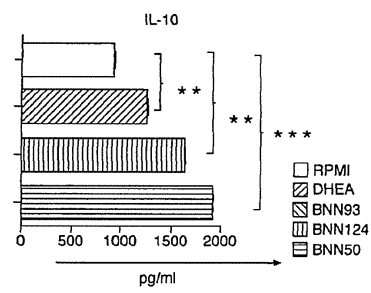
도면9a



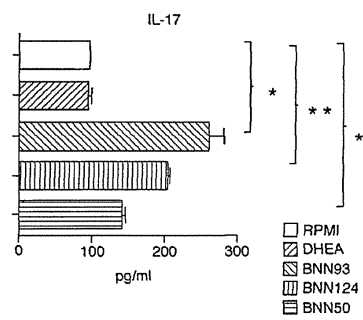
도면9b



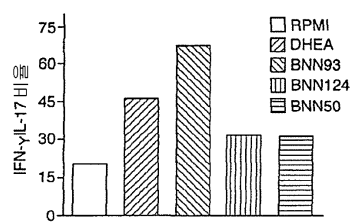
도면9c



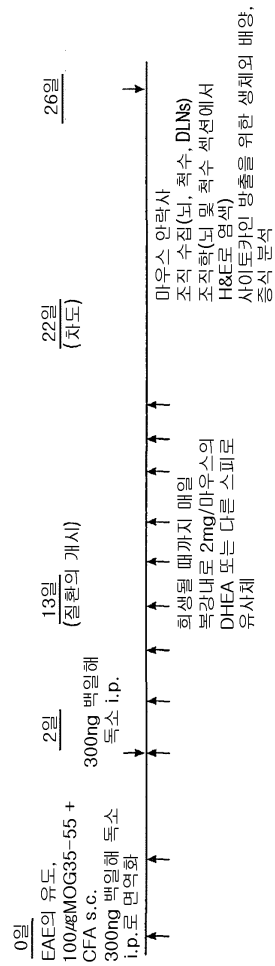
도면9d



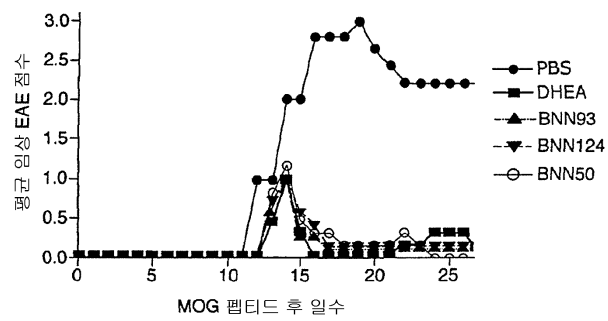
도면9e



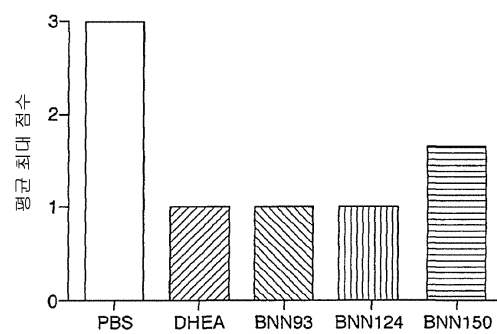
도면10



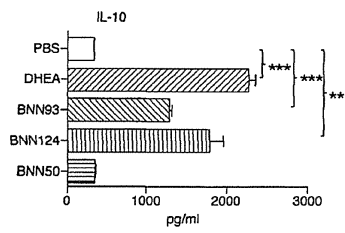
도면11



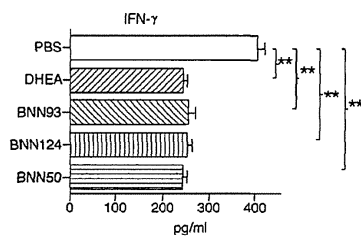
도면12



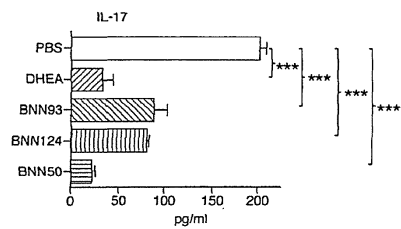
도면13a



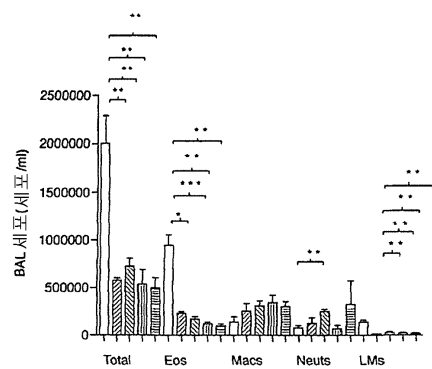
도면13b



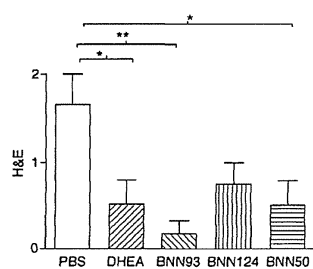
도면13c



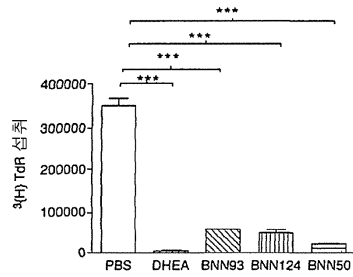
도면14a



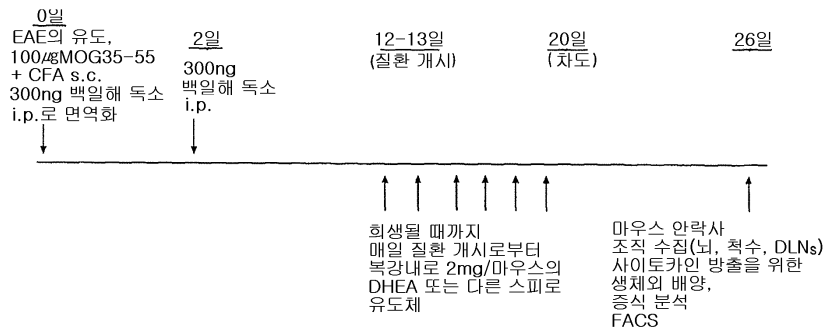
도면14b



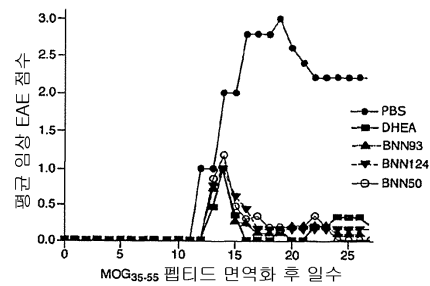
도면14c



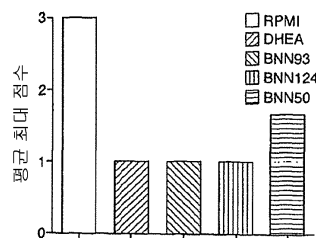
도면15



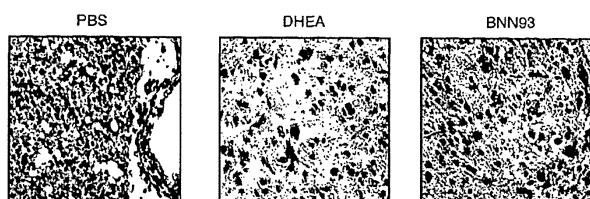
도면16



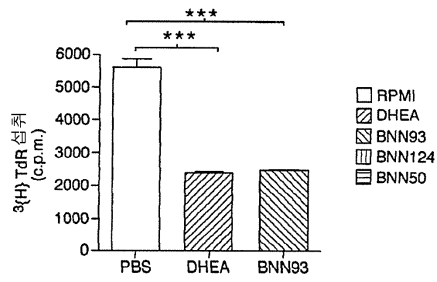
도면17



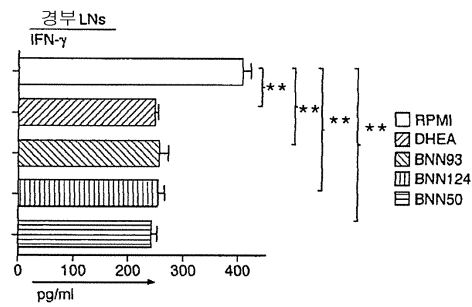
도면18



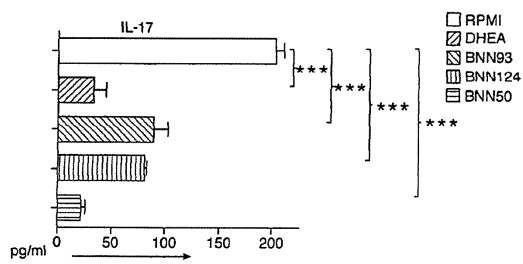
도면19a



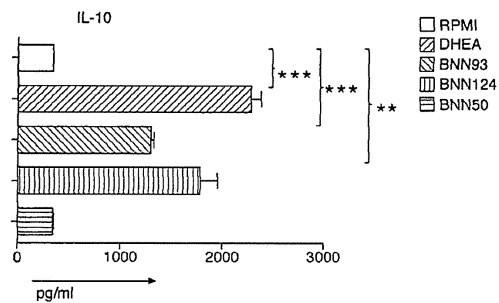
도면19b



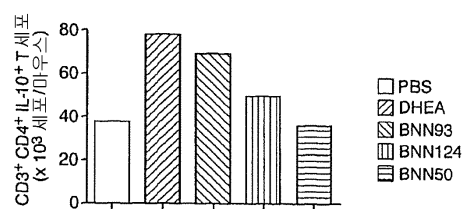
도면19c



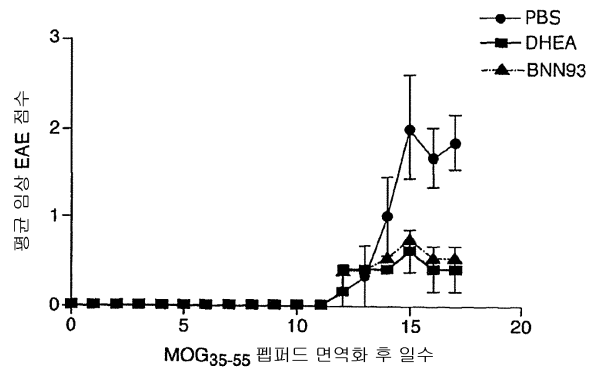
도면19d



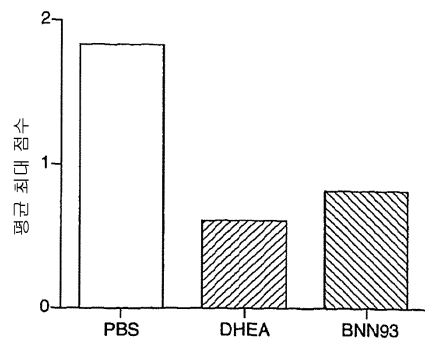
도면20



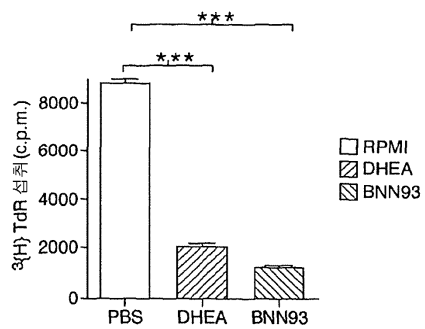
도면21



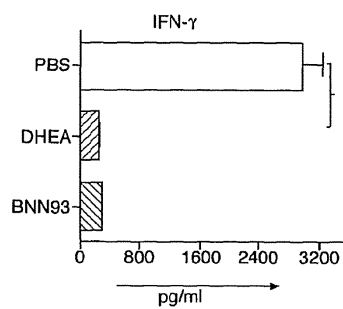
도면22



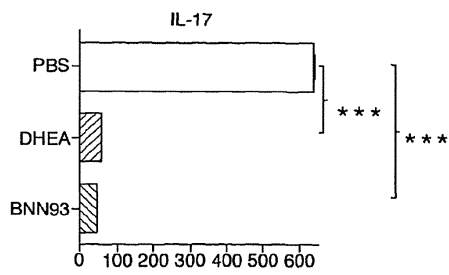
도면23a



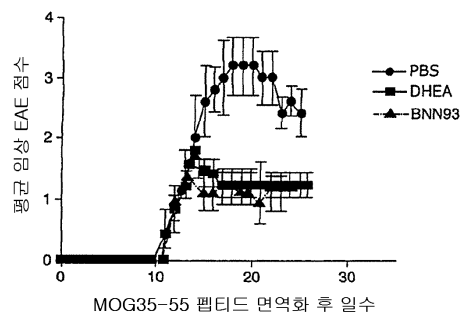
도면23b



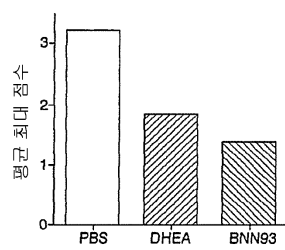
도면23c



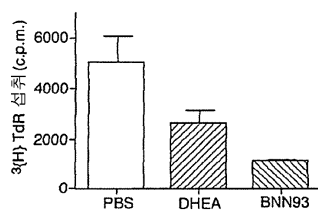
도면24



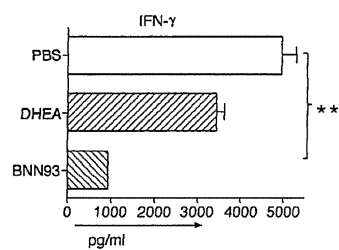
도면25



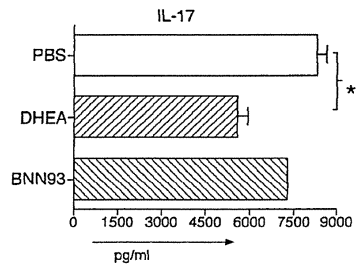
도면26a



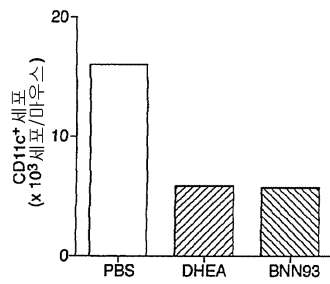
도면26b



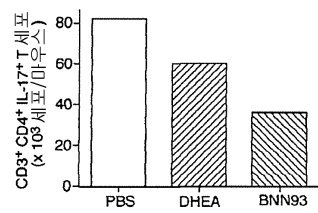
도면26c



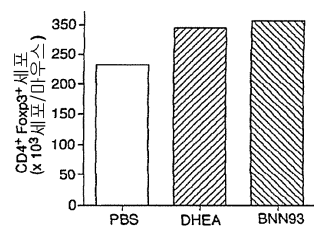
도면27a



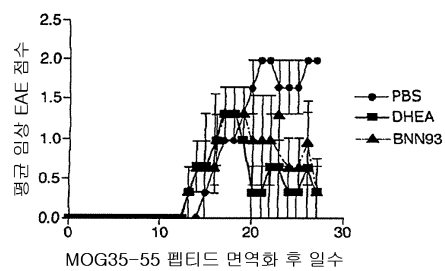
도면27b



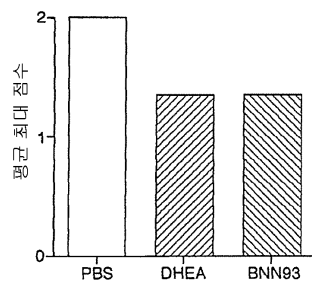
도면27c



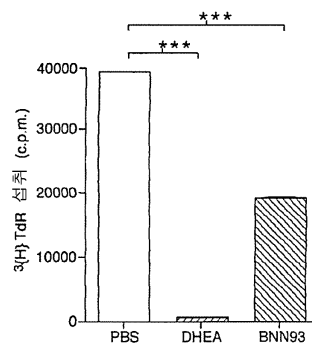
도면28



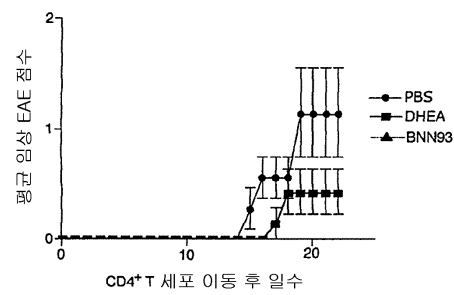
도면29



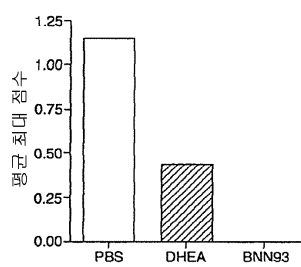
도면30



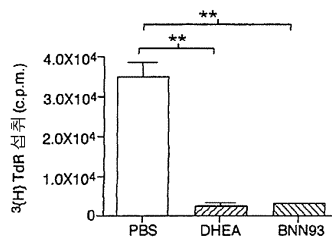
도면31



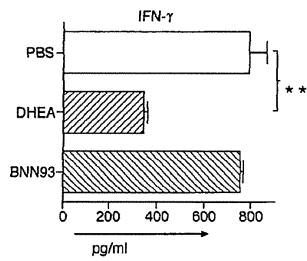
도면32



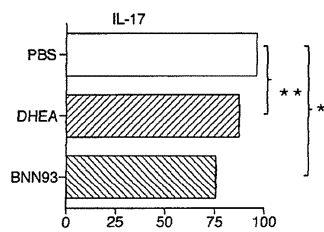
도면33a



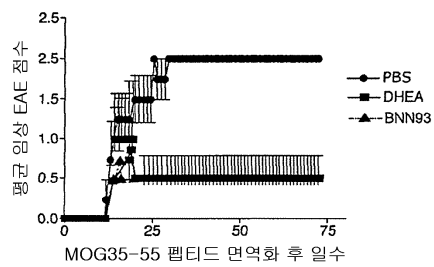
도면33b



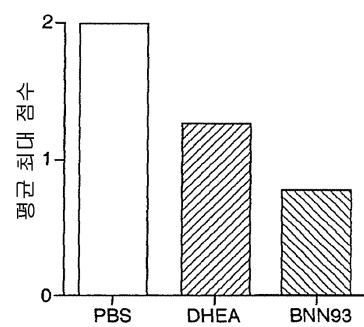
도면33c



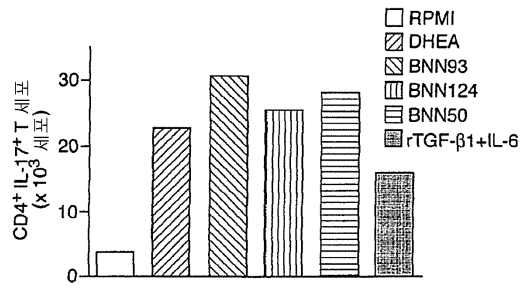
도면34



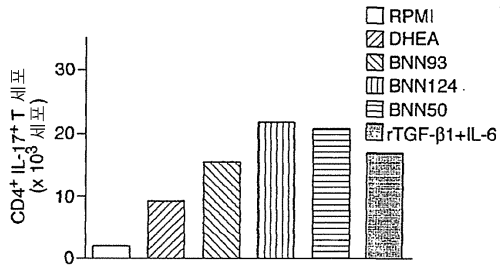
도면35



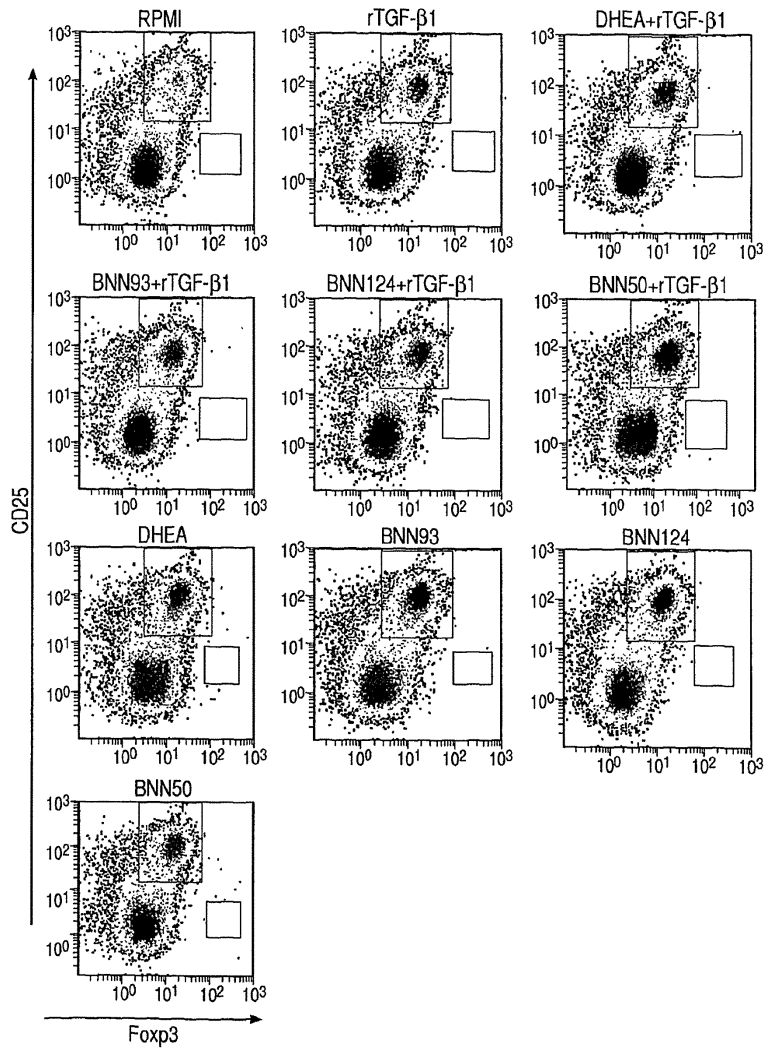
도면36



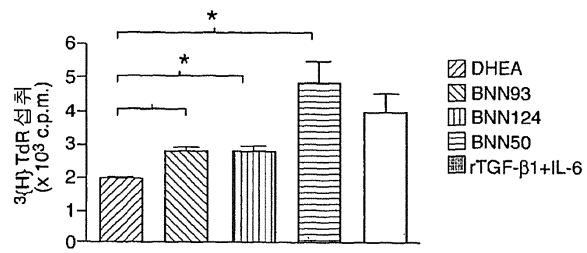
도면37



도면38



도면39



도면40

