

3β-치환 5-Androstene-17-Carboxamides 합성과 5α-Reductase 저해 활성

조익성 · 마은숙[#]

대구가톨릭대학교 약학대학

(Received August 26, 2010; Revised October 21, 2010; Accepted October 26, 2010)

Synthesis and 5α-Reductase Inhibitory Activity of 3β-Substituted 5-Androstene-17-Carboxamides

Iksung Jo and Eunsook Ma[#]

College of Pharmacy, Catholic University of Daegu, Hayang 712-702, Korea

Abstract — A series of 3β-substituted 5-androstene-17β-carboxamides were synthesized from analogs of 3β-hydroxy-5-androstene-17β-carboxylic acid (**1**) with *tert*-butylamine, *N,N*-diethylamine and 3-aminopyridine and some compounds were epoxidized with *m*CPBA. A rat prostate testosterone 5α-reductase inhibitory activity of synthesized compounds was assessed by radioimmunoassay using [1,2,6,7-³H]-testosterone as substrate. All synthesized compounds showed lower activity than finasteride and the *N*-(3-pyridino)-3β-carboxycarbonyloxy-5-androstene-17β-carboxamide (**12**) showed weak inhibitory activity (IC₅₀: 2.4×10⁻⁷ M).

Keywords □ 5α-reductase inhibitor, prostate cancer, benign prostatic hyperplasia, 3β-substituted 5-androstene-17β-carboxamide

전립선 비대증과 함께 전립선암의 발생 빈도는 최근 수년간 급격히 증가하고 있다. 육류나 낙농제품을 많이 섭취하는 미국과 유럽의 경우 전립선암은 남성의 암으로 인한 사망원인 중 2위를 차지할 만큼 그 빈도가 높은 것으로 알려져 있고, 동아시아인에게는 빈도가 낮은 편이었으나 최근 식생활 패턴의 변화로 인해 우리나라와 일본에서도 전립선암의 빈도가 증가 추세에 있다.¹⁾ 전립선암 및 전립선 비대증의 치료는 최근 각광 받고 있는 방법으로 호르몬요법인 5α-reductase 저해제가 각광을 받고 있다. 전립선 비대 및 전립선암은 과잉량의 dihydrotestosterone(DHT) 생성에 의해 유발되는 것으로 알려져 있으므로 testosterone으로부터 DHT 생성에 관여하는 효소인 5α-reductase의 작용을 저해 함으로서 치료가 가능하다.²⁾

1990년대 초 5α-reductase는 type I과 type II의 두 가지 종류의 isozyme이 존재 한다는 사실이 밝혀졌으며, type I enzyme은 주로 피부, 간, 뇌하수체, 성인의 두피에 주로 분포하며,³⁾ 남성 탈모증(male pattern baldness), 여드름(acne) 치료제로 사용

될 수 있다. Type II enzyme은 주로 전립선이나 external genitalia 등의 genital tissue에서 우세한 isozyme으로써 type II를 저해하는 약물은 남성 호르몬에 의존적인 전립선암 및 전립선 비대증의 치료제로서 사용될 수 있다.⁴⁾ 5α-Reductase 저해제로 개발되어 있는 4-azasteride인 finasteride, SK&F 105657 등은 type II isozyme에 높은 선택성을 가지고 있다고 알려져 있다.^{5,6)} 현재 전립선암 및 전립선 비대 치료를 위한 5α-reductase 저해제로는 유일하게 finasteride(Proscar[®])가 미국 FDA에서 승인을 받았다.⁷⁾ Dutasteride는 type I, II 둘 다에 강력한 저해작용을 갖는 반면 성기능 장애, 발기부전 등의 부작용이 있다⁸⁾(Fig. 1).

Finasteride 이외에 지금까지 약으로 개발된 5α-reductase 저해제는 거의 없으므로 활성을 가지는 유도체 개발이 절실히 요구된다. Steroid를 모핵으로 사용한 유도체 합성으로는 A 또는 B환에 다양하게 이중결합 도입하고,⁹⁾ 17번 위치에 입체적으로 큰 구조를 가진 cycle 화합물들을 도입하거나,¹¹⁻¹³⁾ 20번 또는 17번 위치에 nitrogen을 가진 다양한 heterocycle 유도체를 도입한 화합물들이 보고되고 있다.^{14,15)}

본 실험에서는 finasteride나 dutasteride 등의 골격 구조인 4-azasteride보다 합성이 용이하면서 활성이 좋은 화합물을 찾기 위하여 androstane 골격을 가진 유도체 합성과 5α-reductase 저해

[#]본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 053-850-3621 (팩스) 053-850-3602
(E-mail) masook@cu.ac.kr

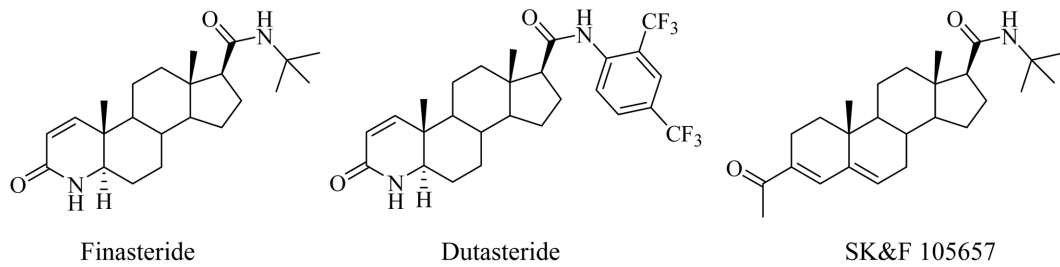


Fig. 1 – Representative 5 α -reductase inhibitor.

활성을 검토하고자 하였다. 그 첫 번째 시도로서 3번 위치에 carbonyl기가 활성에 중요하므로 carbonyl기를 함유한 치환기를 도입과 1번 대신에 4번 또는 5번에 이중결합을 가지도록 하였다. 5 α -Reductase 저해 활성의 증가를 목적으로 17번 위치에 다양한 amine 유도체를 결합시킨 androstane- 또는 androstene-17-carboxamide 유도체의 합성과 활성을 측정하였다.

실험방법

시약 및 기기

모든 무수 반응은 사용하기 전에 별도의 방법으로 정제 및 건조하여 사용하였으며 합성에 필요한 시약은 Aldrich, Fluka 및 Sigma사의 특급 및 일급을 사용하였다. 융점 측정은 Gallenamp Melting Point 측정기를 사용하였고 온도 보정은 하지 않았다. ^1H -, ^{13}C -NMR 및 NOESY spectrum은 Varian AS 400 MHz spectrometer를 사용하였고 용매는 CDCl_3 , CD_3OD 와 $\text{DMSO-}d_6$ 를 사용하였으며 chemical shift는 tetramethylsilan를 내부표준물질로 사용하여 δ (ppm) 단위로 표시하였고 coupling constant (J)값은 Hz로 나타내었다. IR spectrum은 FT-IR JASCO 4100 spectrometer를 사용하여 측정하였고 GC-Mass는 SHIMADZU QP5050 model을 사용하였고 EI법으로 측정하였다. 박층크로마토그래피(TLC)는 silica gel plate(Merck, 60F₂₅₄)를 사용하였고 화합물의 분리 및 정제를 위해 medium performance liquid chromatography(MPLC)는 YAMAZEN MPLC YFLC-AI-580-10V를 사용하였고 column chromatography는 silica gel(Merck 9385, 230-400 mesh)을 이용하였으며 재결정으로도 화합물을 정제 하였다.

합성

3 β -Hydroxy-5-androstene-17 β -carboxylic acid (1) – Sodium hydroxide 5.95 g을 물(50 ml)와 1,4-dioxane(45 ml)에 용해시킨 후 -5°C를 유지하면서 bromine(1.6 ml, 31.9 mmol)을 가하였다. 3 β -Hydroxy-5-pregnen-20-one(**pregnenolone**, 3.0 g, 9.46 mmol)을 1,4-dioxane(45 ml)와 물(10 ml)에 용해시킨 용액에, 위의 혼합물을 서서히 가한 후 8°C에서 2시간 교반하였다. TLC test

(ethyl acetate : *n*-hexane=1 : 1)로 반응 종료를 확인한 후 140°C에서 15분간 환류 교반하였다. 반응 혼합물을 80°C로 냉각시킨 후 5 M HCl을 가하여 pH 2로 산성화 하고 생성된 결정을 감압 여과 하면서 소량의 물로 세척하여 흰색의 고체화합물을 얻었다. Yield: 2.8 g(93%), m.p: 268~270°C(270~275°C)¹⁶⁾

3 β -Acetoxy-5-androstene-17 β -carboxylic acid (2) – 3 β -Hydroxy-5-androstene-17 β -carboxylic acid(**1**, 1 g, 3.14 mmol)에 acetic anhydride(20 ml)를 가한 후 교반하면서 phosphoric acid를 화합물 **1**이 완전히 녹을 때까지 소량씩 가하였다. 실온에서 1시간 반응시킨 후 TLC test(ethyl acetate : *n*-hexane=1 : 1)로 반응 종료를 확인하고 다량의 물을 가해 결정을 생성 시키고 감압여과 하면서 소량의 물로 세척하여 흰색의 고체화합물을 얻었다. Yield: 1.03 g(91%), m.p: 237~239°C(235~238°C)¹⁷⁾

5 α ,6 α -Epoxy-3 β -acetoxyandrostane-17 β -carboxylic acid (3) – 3 β -Acetoxy-5-androstene-17 β -carboxylic acid(**2**, 300 mg, 0.83 mmol)을 chloroform(25 ml)에 용해시킨 후 *m*CPBA(359 mg, 2.08 mmol)를 가하고 60°C에서 3시간 교반하였다. TLC test (ethyl acetate : *n*-hexane=1 : 1)로 반응 종료를 확인한 후 소량의 물을 가하고 무수 sodium sulfite를 가하여 *m*CPBA를 제거하고 ethyl acetate로 추출하였다. 이를 무수 MgSO_4 로 건조, 여과하여 얻은 여액을 rotary evaporator로 농축하고 column chromatography(ethyl acetate : *n*-hexane=1 : 3)로 분리 정제하여 흰색의 고체화합물을 얻었다. Yield: 159 mg(51%), m.p: 202~204°C, ^1H -NMR(400 MHz, CDCl_3) δ : 3.87~3.93(1H, m, 3-H), 2.91(1H, d, $J=4.4$ Hz, 6-H), 2.50(1H, t, $J=8.8$ Hz, 17-H), 2.10(3H, s, 3-OCOCH₃), 1.06(3H, s, 19-CH₃), 0.57(3H, s, 18-CH₃), ^{13}C -NMR(100 MHz, CDCl_3) δ : 185.2(20-C=O), 176.2(3-OCOCH₃), 68.9(3-C), 65.9(5-C), 63.6(6-C), 59.3, 57.2, 44.1, 42.7, 40.0, 38.7, 35.1, 32.6, 31.7, 31.3, 30.1, 28.9, 24.5, 22.9, 20.9, 16.1, 13.4, GC-mass(EI) m/z : 332[M-CO₂-1]⁺, 314[M-CO₂-H₂O-1]⁺, IR(KBr) cm^{-1} : 1255(3-O-COCH₃), 1704(20-COOH), 1729(3-OCOCH₃).

***N*-(tert-Butylamino)-3 β -acetoxy-5-androstene-17 β -carboxamide (4)** – 3 β -Acetoxy-5-androstene-17 β -carboxylic acid (**2**, 300 mg, 0.942 mmol)을 benzene(15 ml)에 용해시킨 후

triethylamine 소량과 oxalyl chloride(0.25 mL)를 가하고 60°C에서 1시간 교반하였다. TLC test(ethyl acetate : *n*-hexane=1 : 1)로 반응 종료를 확인한 후 rotary evaporator로 농축시키고 benzene(10 mL×3)으로 세척 후, 증류시켜 제거하고 high vacuum에서 완전히 건조 시켰다. 이를 별도의 정제 없이 benzene(15 mL)를 가하여 용해시킨 후 *tert*-butylamine(0.25 mL, 2.36 mmol)를 가하고 실온에서 2시간 교반하였다. TLC test(ethyl acetate : *n*-hexane=1 : 1)로 반응 종료를 확인한 후 소량의 물을 가하고 ethyl acetate로 추출하였다. 이를 무수 MgSO₄를 가하여 수분을 제거하고 여과한 후, 여액을 rotary evaporator로 농축하고 column chromatography(ethyl acetate : *n*-hexane=1 : 3)로 분리 정제하여 흰색의 고체화합물을 얻었다. Yield: 291 mg(87%), m.p: 216~218 °C, ¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) δ: 5.38(1H, d, *J*=4.8 Hz, 6-H), 5.08(1H, s, NH), 4.59~4.63(1H, m, 3-H), 2.16(1H, t, *J*=8.6 Hz, 17-H), 2.13(3H, s, 3-OCOCH₃), 1.35(9H, s, NH-C(CH₃)₃), 1.07(3H, s, 19-CH₃), 0.75(3H, s, 18-CH₃), ¹³C-NMR(100 MHz, CDCl₃) δ: 172.1(20-C=O), 170.8(3-OCOCH₃), 139.8(5-C), 122.6(6-C), 74.1(C-3), 57.8, 56.6, 51.3, 50.3, 43.7, 38.8, 38.3, 37.2, 36.8, 32.1, 32.0, 29.3, 28.0, 24.7, 23.4, 21.6, 21.2, 19.5, 13.1, GC-mass(EI) *m/z*: 355[M-AcOH]⁺, IR(KBr) cm⁻¹: 1248(3-O-COCH₃), 1667(20-CONH), 1731(3-OCOCH₃), 3422(20-CONH).

***N,N*-(Diethylamino)-3β-acetoxy-5-androstene-17β-carboxamide (5)** – 3β-Hydroxy-5-androstene-17β-carboxylic acid (2, 300 mg, 0.942 mmol)을 benzene(15 mL)에 용해시킨 후 triethylamine 소량 가하고 oxalyl chloride(0.25 mL)를 가하고 60°C에서 1시간 교반하였다. TLC test(ethyl acetate : *n*-hexane=1 : 1)로 반응 종료를 확인한 후 rotary evaporator로 농축시키고 benzene(10 mL×3)으로 세척 후, 증류시켜 제거하고 high vacuum에서 완전히 건조 시켰다. 이를 별도의 정제 없이 benzene(15 mL)를 가하여 용해시킨 후 diethylamine(0.25 mL, 2.36 mmol)를 가하고 실온에서 2시간 교반하였다. TLC test(ethyl acetate : *n*-hexane=1 : 1)로 반응 종료를 확인한 후 소량의 물을 가하고 ethyl acetate로 추출하였다. 이를 무수 MgSO₄로 건조, 여과하여 얻은 여액을 rotary evaporator로 농축하고 column chromatography(ethyl acetate : *n*-hexane=1 : 3)로 분리 정제하여 흰색의 결정을 얻었다. Yield: 282 mg(82%), m.p: 155~156°C, ¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) δ: 5.38(1H, d, *J*=5.2 Hz, 6-H), 4.59~4.62(1H, m, 3-H), 3.77(1H, hext, 20-CH₃CH₂H_bNCH₂H_bCH₃), 3.68(1H, hext, 20-CH₃CH₂H_bNCH₂H_bCH₃), 3.12(1H, hext, 20-CH₃CH₂H_bNCH₂H_bCH₃), 3.00(1H, hext, 20-CH₃CH₂H_bNCH₂H_bCH₃), 2.03(3H, s, 3-OCOCH₃), 1.09~1.14(6H, m, 20-CH₃CH₂NCH₂CH₃), 1.03(3H, s, 19-CH₃), 0.76(3H, s, 18-CH₃), ¹³C-NMR(100 MHz, CDCl₃) δ: 172.4

(20-C=O), 170.6(3-OCOCH₃), 139.7(5-C), 122.5(6-C), 73.9(3-C), 56.7, 51.1, 50.1, 45.0, 39.0, 38.1, 37.1, 36.7, 32.0, 31.9, 27.8, 25.9, 24.8, 21.4, 21.0, 19.3, 14.7, 13.8, 13.5, GC-mass(EI) *m/z*: 415[M]⁺, 400[M-CH₃]⁺, 355[M-AcOH]⁺, IR(KBr) cm⁻¹: 1242(3-O-COCH₃), 1624(20-CONH), 1726(3-OCOCH₃).

***N*-(*tert*-Butylamino)-3β-(2-*tert*-butylamino-1,2-dioxoethoxy)-5-androstene-17β-carboxamide (6)** – 3β-Hydroxy-5-androstene-17β-carboxylic acid(1, 1.0 g, 3.14 mmol)을 benzene(50 mL)과 methanol(10 mL)에 용해시킨 후 triethylamine 소량과 oxalyl chloride(0.50 mL)를 가하고 60°C에서 1시간 교반하였다. TLC test(ethyl acetate : *n*-hexane=1 : 1)로 출발물질이 사라짐을 확인한 후 rotary evaporator로 농축시키고 benzene(20 mL×3)으로 세척하였다. 이를 별도의 정제 없이 benzene(50 mL)에 용해시킨 후 *tert*-butylamine(0.25 mL, 7.85 mmol)를 가하고 60°C에서 2시간 반응시켰다. TLC test(ethyl acetate : *n*-hexane=1 : 1)로 반응 종료를 확인한 후 소량의 물을 가하고 ethyl acetate로 추출하였다. 이를 무수 MgSO₄로 건조, 여과한 후 여액을 rotary evaporator로 농축하고 column chromatography(ethyl acetate : *n*-hexane=1 : 3)로 분리 정제하여 목적화합물(6)과 흰색의 결정 2종(7과 8)을 얻었다.

6: Yield: 850.1 mg(54%), m.p: 195~198°C, ¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) δ: 6.98(1H, s, NH), 5.40(1H, d, *J*=4.4 Hz, 6-H), 5.11(1H, s, NH), 4.69~4.74(1H, m, H-3), 1.40(9H, s, 20-HNC(CH₃)₃), 1.35(9H, s, 3-HNC(CH₃)₃), 1.03(3H, s, 19-CH₃), 0.70(3H, s, 18-CH₃), ¹³C-NMR(100 MHz, CDCl₃) δ: 172.0(20-C=O), 161.0(3-O-CO-CO-N-), 155.9(3-O-CO-CO-N-), 139.3(5-C), 123.1(6-C), 57.8, 56.6, 52.0, 51.2, 50.2, 43.7, 38.7, 36.8, 32.0, 29.3, 28.4, 27.5, 24.7, 23.4, 21.2, 19.4, 13.1, GC-mass(EI) *m/z*: 373[M-(CO-CO-NHC(CH₃)₃+H)]⁺, IR(KBr) cm⁻¹: 1246(3-O-CO-CO-N-), 1507(20-CONH), 1666(3-O-CO-CO-N-), 1697(20-CONH), 1707(3-O-CO-CO-N-).

***N*-(*tert*-Butylamino)-3β-(2-methoxy-1,2-dioxoethoxy)-5-androstene-17β-carboxamide (7)** – Yield: 331.9 mg(23%), m.p: 219~222°C, ¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) δ: 6.99(1H, s, NH), 5.40(1H, d, *J*=2.8 Hz, 6-H), 4.69~4.73(1H, m, 3-H), 3.67(3H, s, OCH₃), 1.40(9H, s, 20-HNC(CH₃)₃), 1.00(3H, s, 19-CH₃), 0.68(3H, s, 18-CH₃), ¹³C-NMR(100 MHz, CDCl₃) δ: 174.5(20-C=O), 160.8(3-O-CO-CO-OCH₃), 155.7(3-O-CO-CO-OCH₃), 139.3(5-C), 122.8(6-C), 56.1, 55.2, 51.8, 49.9, 43.9, 38.1, 37.6, 36.9, 36.6, 31.9, 31.8, 28.2, 27.3, 24.6, 23.6, 20.9, 19.3, 13.3, GC-mass(EI) *m/z*: 373[M-(CO-CO-OCH₃+1)]⁺, IR(KBr) cm⁻¹: 1196(-O-CO-CO-OCH₃), 1672(3-O-CO-CO-OCH₃), 1690(20-CONH), 1722(3-O-CO-CO-OCH₃).

***N*-(*tert*-Butylamino)-3 β -carboxycarbonyloxy-5-androstene-17 β -carboxamide (8)** – Yield: 210 mg(15%), m.p: 181~183°C, ¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) δ : 7.01(1H, s, NH), 5.40(1H, d, J =2.8 Hz, 6-H), 4.70~4.73(1H, m, 3-H), 1.40(9H, s, 20-HNC(CH₃)₃), 1.01(3H, s, 19-CH₃), 0.69(3H, s, 18-CH₃), ¹³C-NMR(100 MHz, CDCl₃) δ : 180.0(20-C=O), 161.0(3-O-CO-CO-OH), 156.0(3-O-CO-CO-OH), 139.5(5-C), 123.0(6-C), 56.4, 55.3, 52.1, 50.1, 44.3, 38.1, 37.8, 37.1, 36.8, 32.1, 32.0, 28.4, 27.5, 24.7, 22.6, 21.0, 19.5, 13.3, GC-mass(EI) m/z : 355 [M-(O-CO-CO-OH+1)]⁺, IR(KBr) cm⁻¹: 1200(3-O-CO-CO-OH), 1246(3-O-CO-CO-OH), 1508(20-CONH), 1667(3-O-CO-CO-OH), 1697(20-CO-NH), 1704(3-O-CO-CO-OH).

5 α ,6 α -Epoxy-*N*-(*tert*-butylamino)-3 β -(2-*tert*-butylamino)-1,2-dioxoethoxy)androstane-17 β -carboxamide (9) – *N*-(*tert*-Butylamino)-3 β -(2-*tert*-butylamino)-1,2-dioxoethoxy)-5-androstene-17 β -carboxamide(9, 150 mg, 0.30 mmol)을 chloroform (5 ml)에 용해시킨 후 *m*CPBA(92 mg, 0.53 mmol)를 가하고 60°C에서 2시간 교반하였다. TLC test(ethyl acetate : *n*-hexane = 1 : 1)로 반응 종료를 확인한 후 소량의 물을 가하고 무수 sodium sulfite를 가하여 과잉량의 *m*CPBA를 제거 하고 ethyl acetate로 추출하였다. 이를 무수 MgSO₄로 건조, 여과 시킨 후 여액을 농축하여 얻은 유상물질을 column chromatography(ethyl acetate : *n*-hexane = 1 : 3)로 분리 정제하여 흰색의 고체화합물을 얻었다. Yield: 89 mg(58%), m.p: 227~228°C, ¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) δ : 6.98(1H, s, NH), 5.02~5.10(1H, m, 3-H), 5.05(1H, s, NH), 2.92(1H, d, J =4.4 Hz, 6-H), 1.39(9H, s, 20-HNC(CH₃)₃), 1.34(9H, s, 3-HNC(CH₃)₃), 1.02(3H, s, 19-CH₃), 0.63(3H, s, 18-CH₃), ¹³C-NMR(100 MHz, CDCl₃) δ : 172.0(20-C=O), 160.9(3-O-CO-CO-N-), 155.9(3-O-CO-CO-N-), 65.4(3-C), 59.4(5-C), 57.5, 56.7, 52.1, 51.3, 43.7, 42.8, 38.4, 35.9, 35.2, 32.3, 30.0, 29.2, 29.0, 28.8, 28.4, 26.9, 24.4, 23.3, 20.8, 16.0, 13.2, GC-mass(EI) m/z : 516[M]⁺, 371[M-(HN-C(CH₃)₃×2)]⁺, IR (KBr) cm⁻¹: 1243(3-O-CO-CO-N-), 1517(20-CONH), 1666(3-O-CO-CO-N-), 1697(20-CO-NH), 1704(3-O-CO-CO-N-).

***N,N*-(Diethylamino)-3 β -(2-diethylamino)-1,2-dioxoethoxy)-5-androstene-17 β -carboxamide (10)** – 3 β -Hydroxy-5-androstene-17 β -carboxylic acid(1, 400 mg, 1.26 mmol)을 benzene(15 ml)과 methanol(3 ml)에 용해시킨 후 triethylamine 소량과 oxalyl chloride(0.35 ml)를 가하고 60°C에서 1시간 교반하였다. TLC test(ethyl acetate : *n*-hexane = 1 : 1)로 반응 종료를 확인한 후 rotary evaporator로 농축시키고 benzene(10 ml×3)을 가하고 반복하여 증류시켜 미반응의 oxalyl chloride를 제거 하고 high vacuum에서 완전히 건조시켰다. 이를 별도의 정제 없이 benzene(15 ml)를 가하여 용해한 후 diethylamine(0.39 ml,

3.77 mmol)를 가하고 실온에서 2시간 교반하였다. TLC test (ethyl acetate : *n*-hexane = 1 : 1)로 반응 종료를 확인한 후 소량의 물을 가하고 ethyl acetate로 추출하였다. 이를 무수 MgSO₄를 가하여 수분을 제거하고 여과한 후, 여액을 rotary evaporator로 농축하고 column chromatography(ethyl acetate : *n*-hexane = 1 : 1)로 분리 정제하여 흰색의 고체화합물을 얻었다. Yield: 459 mg(73%), m.p: 161~163°C, ¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) δ : 5.42(1H, d, J =4.9 Hz, 6-H), 4.77~4.85(1H, m, 3-H), 3.78(1H, hex, 20-CH₃CH_aH_bNCH_aH_bCH₃), 3.68(1H, hex, 20-CH₃CH_aH_bNCH_aH_bCH₃), 3.42(2H, q, J_1 =7.2, J_2 =7.2 Hz, 3-CH₃CH_cH_dNCH_cH_dCH₃), 3.29(2H, q, J_1 =6.8, J_2 =7.6 Hz, 3-CH₃CH_cH_dNCH_cH_dCH₃), 3.12(1H, hex, 20-CH₃CH_aH_bNCH_aH_bCH₃), 3.00(1H, hex, 20-CH₃CH_aH_bNCH_aH_bCH₃), 2.63(1H, t, J =8.8 Hz, 17-H), 1.09~1.25(12H, m, 3,20-CH₃CH₂NCH₂CH₃), 1.03(3H, s, 19-CH₃), 0.77(3H, s, 18-CH₃), ¹³C-NMR(100 MHz, CDCl₃) δ : 172.6(20-C=O), 163.1(3-O-CO-CO-N-), 161.8(3-O-CO-CO-N-), 139.2(5-C), 123.3(6-C), 76.1(3-C), 56.9, 51.3, 50.3, 45.2, 42.7, 39.2, 39.1, 37.9, 37.2, 36.9, 32.2, 27.7, 26.1, 25.0, 21.2, 19.5, 14.9, 14.4, 14.0, 13.8, 12.8, GC-mass(EI) m/z : 355[M-(N(C₂H₅)₂×2)-1]⁺, IR(KBr) cm⁻¹: 1215(3-O-CO-CO-N-), 1630(3-O-CO-CO-N-), 1651(20-CONH), 1739(3-O-CO-CO-N-).

5 α ,6 α -Epoxy-*N,N*-(diethylamino)-3 β -(2-diethylamino)-1,2-dioxoethoxy)androstene-17 β -carboxamide (11) – *N,N*-(Diethylamino)-3 β -(2-diethylamino)-1,2-dioxoethoxy)-5-androstene-17 β -carboxamide(10, 300 mg, 0.60 mmol)을 chloroform (10 ml)에 용해시킨 후 *m*CPBA(186.38 mg, 1.08 mmol)를 가하고 60°C에서 2시간 교반하였다. TLC test(ethyl acetate : *n*-hexane = 1 : 1)로 반응 종료를 확인한 후 소량의 물을 가하고 무수 sodium sulfite를 소량 가해서 *m*CPBA를 제거 하고 ethyl acetate로 추출하였다. 이를 무수 MgSO₄로 건조, 여과한 후 여액을 rotary evaporator로 농축하고 column chromatography (ethyl acetate : *n*-hexane = 1 : 3)로 분리 정제하여 흰색의 고체화합물을 얻었다. Yield: 214 mg(69%), m.p: 184~187°C, ¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) δ : 5.11~5.18(1H, m, H-3), 3.75(1H, hex, 20-CH₃CH_aH_bNCH_aH_bCH₃), 3.64(1H, hex, 20-CH₃CH_aH_bNCH_aH_bCH₃), 3.41(2H, q, J_1 =7.2 Hz, J_2 =6.8 Hz, 3-CH₃CH_cH_dNCH_cH_dCH₃), 3.29(2H, q, J_1 =7.2 Hz, J_2 =8.8 Hz, 3-CH₃CH_cH_dNCH_cH_dCH₃), 3.10(1H, hex, 20-CH₃CH_aH_bNCH_aH_bCH₃), 2.99(1H, hex, 20-CH₃CH_aH_bNCH_aH_bCH₃), 2.94(1H, d, J =4.4 Hz, 6-H), 2.58(1H, t, J =8.8 Hz, 17-H), 1.10~1.29(12H, m, 3,20-CH₃CH₂NCH₂CH₃), 1.09(3H, s, 19-CH₃), 0.70(3H, s, 18-CH₃), ¹³C-NMR(100 MHz, CDCl₃) δ : 172.4(20-C=O), 162.7(3-O-CO-CO-N-), 161.7(3-O-CO-CO-N-), 74.2(3-C), 65.3, 59.4(5-C), 57.0(6-C), 51.0, 45.1, 42.7, 39.2,

38.8, 36.0, 35.3, 32.4, 30.2, 28.9, 27.1, 25.9, 24.8, 20.8, 16.0, 14.9, 14.4, 14.0, 13.7, 12.7, GC-mass(EI) m/z : 516[M]⁺, 372 [M-(C₂H₅)₂×2]⁺, IR(KBr) cm⁻¹: 1214(3-O-CO-CO-N-), 1631(3-O-CO-CO-N-), 1649(20-C=O), 1739(3-O-CO-CO-N-).

N-(3-Pyridino)-3β-(2-hydroxy-1,2-dioxoethoxy)-5-androstene-17β-carboxamide (12) – 3β-Hydroxy-5-androstene-17β-carboxylic acid(**1**, 318 mg, 1.00 mmol)을 benzene(15 ml)에 용해한 후 triethylamine 소량을 가하고 oxalyl chloride(0.20 ml)를 가하고 60°C에서 1시간 교반하였다. TLC test(ethyl acetate : *n*-hexane=1 : 1)로 반응 종료를 확인한 후 rotary evaporator로 농축시키고 benzene(10 ml×3)으로 세척 후, 증류시켜 제거하고 high vacuum에서 완전히 건조 시킨다. 이를 별도의 정제 없이 benzene(15 ml)에 용해시킨 후 3-aminopyridine(113 mg, 1.20 mmol)의 benzene(2 ml) 용액을 가하고 실온에서 2시간 반응시켰다. TLC test(ethyl acetate : *n*-hexane=1 : 1)로 반응 종료를 확인한 후 소량의 물을 가하고 ethyl acetate로 추출하였다. 이를 무수 MgSO₄로 건조, 여과한 여액을 rotary evaporator로 농축하고 column chromatography(ethyl acetate : *n*-hexane=1 : 3)로 분리 정제하여 흰색의 결정을 얻었다. Yield: 279 mg(60%), m.p: 330~333°C, ¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) δ: 8.98(1H, s, OH), 8.74(1H, s, pyridine 2-H), 8.46(1H, d, *J*=2.8 Hz, pyridine 6-H), 8.28(1H, d, *J*=8.4 Hz, pyridine 3-H), 7.27~7.37(1H, m, pyridine 5-H), 5.40(1H, d, *J*=5.2 Hz, 5-H), 4.81~4.93(1H, m, 3-H), 4.00(1H, s, NH), 1.07(3H, s, 19-CH₃), 0.76(3H, s, 18-CH₃), ¹³C-NMR(100 MHz, CDCl₃) δ: 178.3(20-C=O), 160.1(3-OCOCOOH), 154.8(3-OCOCOOH), 146.5(5-C), 141.1~123.4(pyridine) 127.4(6-C), 56.4, 50.1, 44.2, 38.2, 37.8, 37.5, 36.9, 36.8, 32.2, 32.0, 27.6, 24.8, 23.7, 21.1, 19.6, 19.5, 13.4, GC-mass(EI) m/z : 466[M]⁺, IR(KBr) cm⁻¹: 1033(3-O-CO-CO-OH),

1056(3-O-CO-CO-OH), 1508(20-C=O), 1658(3-O-CO-CO-OH), 1723(20-C=O), 1764(3-O-CO-CO-OH).

5α-Reductase 저해활성

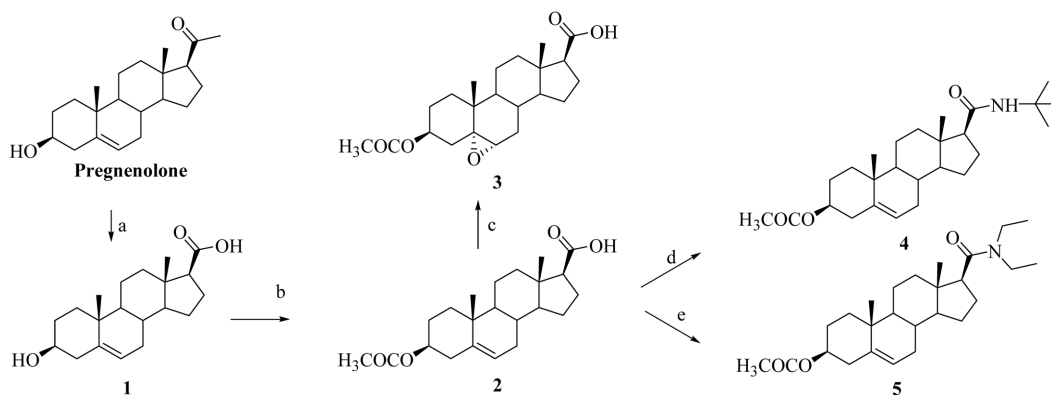
Sprague-Dawley계 웅성 rat의 복부 전립선을 homogenize시킨 현탁액을 만들고 이미 보고된 방법¹⁸⁾에 준하여 5α-reductase 저해 활성을 측정하였으며 화합물의 농도는 1×10⁻⁹, 1×10⁻⁷ 과 1×10⁻⁵ M을 사용하였다.

실험결과 및 고찰

합성

5α-Reductase 저해제 개발을 위하여 azasteride 계열의 화합물이 아닌 androstane 골격은 그대로 유지하면서 3번과 17번 위치에 치환기를 도입하고자 하였다. 3-Acetoxy-5-androstene-17-carboxamide 유도체 합성에 대한 전체 과정을 Scheme 1에 나타내었다. 3-Hydroxy-5-pregnen-20-one(pregnenolone)을 사용하여 methylketone을 탄소 수가 하나 감소된 carboxylic acid를 합성하고 이를 출발물질로 사용하였다. NaOH와 bromine을 이용한 haloform 반응을 통하여 3β-hydroxy-5-androstene-17β-carboxylic acid(**1**)을 합성하였다. ¹H-NMR spectrum에서 2.11 ppm에서 보이던 21번 methyl 수소 peak가 사라진 것과 ¹³C-NMR spectrum에서 175.4 ppm에서 carboxylic acid의 carbonyl 탄소 peak와 142.0, 121.1 ppm에서 각각 5-C와 6-C의 이중결합 탄소를 확인하였다.

3번 위치에 OH기에 carbonyl 기를 가진 치환기를 도입하여 5α-reductase 저해제로서의 활성을 검토하고자 **1**을 무수초산으로 아세틸화하여 3β-acetoxy-5-androstene-17-carboxylic acid(**2**)를 합성하였다. ¹H-NMR spectrum에서 2.03 ppm에서 3번 아



Reagents and conditions; a: i) NaOH, Br₂, Dioxane, 8°C, 2 h, ii) Reflux, 15 min, iii) 5 M HCl, b: (CH₃CO)₂O, H₃PO₄, RT, 1 h, c: *m*CPBA, CHCl₃, 60°C, 3 h, d: i) (COCl)₂, Benzene, 60°C, 1 h, ii) NH₂C(CH₃)₃, Benzene, Methanol, RT, 2 h, e: i) (COCl)₂, Benzene, Methanol, 60°C, 1 h, ii) NH(C₂H₅)₂, Benzene, RT, 2 h.

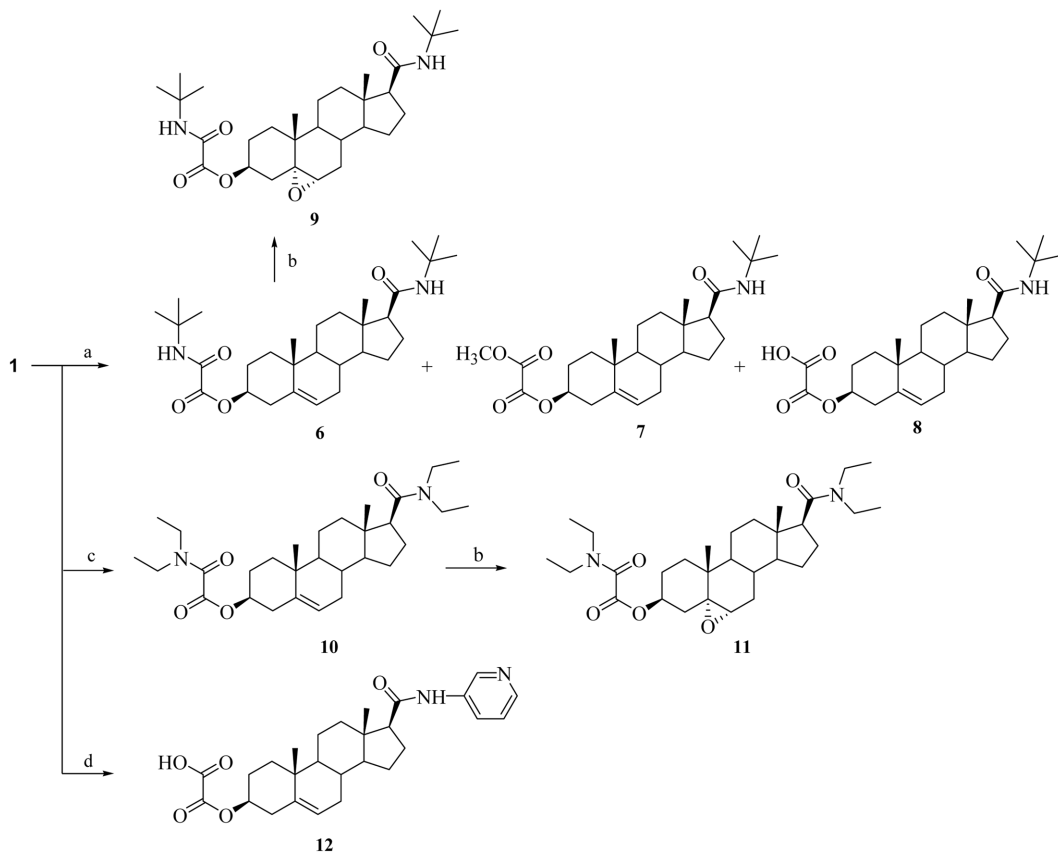
Scheme 1 – Synthetic methods of 3β-substituted-5-androstene-17β-carboxamide derivatives.

세틸기의 methyl 수소와, ^{13}C -NMR spectrum에서 179.5(17-C=O), 170.6(3-C=O) ppm에서 carbonyl 탄소 peak 두개를 확인 하였다. 화합물 **2**를 *m*CPBA와 반응시켜 5 α ,6 α -epoxy-3 β -acetoxyandrostane-17 β -carboxylic acid(**3**)를 합성 하였다. ^1H -NMR spectrum에서 이중결합의 수소 peak가 사라지고 2.91 ppm에서 에폭시화 된 6번 수소 peak와 ^{13}C -NMR spectrum의 142.0, 121.1 ppm에서의 이중결합 탄소 peak가 사라지고 65.9, 63.6 ppm에서 에폭시화 된 5와 6번 탄소 peak를 확인하였다. 5,6-Epoxy 고리에 대한 입체화확은 1D-NOESY spectrum으로 부터 6번의 수소 peak와 19번의 methyl 수소 peak간에 correlation peak가 관찰되는 것으로 α -configuration임을 결정하였다.

화합물 **2**의 17번 carboxylic acid를 oxalyl chloride로 반응시켜 acyl chloride를 얻은 후, *tert*-butylamine와 diethylamine을 각각 가하여 *N*-(*tert*-butylamino)-3 β -acetoxy-5-androstene-17-carboxamide(**4**)와 *N,N*-(diethylamino)-3 β -acetoxy-5-androstene-17-carboxamide(**5**)를 합성하였다. **4**의 구조확인 은 ^1H -NMR spectrum에서 1.35 ppm에서 *tert*-butyl기의 수소 9개 peak와 ^{13}C -NMR spectrum에서 30.1 ppm에서 *tert*-butyl기의 탄소로 부터 확

인 하였다. **5**의 구조는 ^1H -NMR spectrum에서 3.00~3.77 ppm에서 diethyl기의 CH_2 peak 두 개, 1.09~1.14 ppm에서 CH_3 peak 두 개를 확인 하였고, ^{13}C -NMR spectrum에서 45.0 ppm과 13.8 ppm에서 각각 CH_2 와 CH_3 peak로 부터 diethylamine이 치환이 되었음을 확인하였다.

3번 위치에 carbonyl기 두 개를 가진 유도체 합성과정을 Scheme 2에 나타내었다. **1**의 17번 위치의 carboxylic acid를 acyl chloride로 얻고 *tert*-butylamine과 반응시킨 결과 목적하는 화합물 *N*-(*tert*-butylamino)-3-(2-*tert*-butylamino-1,2-dioxoethoxy)-5-androstene-17 β -carboxamide(**6**)과 부산물로서 *N*-(*tert*-butylamino)-3 β -(2-methoxy-1,2-dioxoethoxy)-5-androstene-17 β -carboxamide(**7**), *N*-(*tert*-butylamino)-3 β -carboxycarbonyloxy-5-androstene-17 β -carboxamide(**8**)를 각각 54%, 23% 및 15%의 득률로 얻었다. **6**의 ^1H -NMR spectrum에서 6.98와 5.11 ppm에서 두 개의 NH peak와 1.40, 1.35 ppm에서 두 개의 *tert*-butyl기 수소 peak를 확인하였다. ^{13}C -NMR spectrum에서 172.0, 161.0, 155.9 ppm에서 3개의 carbonyl 탄소 peak를 확인하였고, 139.3 (5-C), 123.1(6-C) ppm에서 두 개의 이중결합 탄소 peak를 확인



Reagents and conditions; a: i) $(\text{COCl})_2$, Benzene, Methanol, 60°C , 1 h, ii) $\text{NH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$, Benzene, RT, 2 h, b: *m*CPBA, CHCl_3 , 60°C , 3 h, c: i) $(\text{COCl})_2$, Benzene, Methanol, 60°C , 1 h, ii) $\text{NH}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$, Benzene, RT, 2 h, d: i) $(\text{COCl})_2$, Benzene, 60°C , 1 h, ii) 3-Aminopyridine, Benzene, RT, 2 h.

Scheme 2 – Synthetic methods of 3 β -substituted-5-androstene-17 β -carboxamide derivatives.

하였다. 화합물 **7**은 3번 위치의 OH기에 oxalyl chloride가 반응하여 -OCOCOCI 생성되고 여기에 용매로 가한 methanol이 반응하여 ester인 -OCOCOCH₃이 합성된 것으로 생각된다. ¹H-NMR spectrum의 6.99 ppm에서 NH peak와 1.40 ppm에서 *tert*-butyl기 수소 peak와 3.67 ppm에서 methoxy기 수소 peak로부터 **7**의 구조를 확인하였다. ¹³C-NMR spectrum에서 174.5, 160.8, 155.7 ppm에서 3개의 카르보닐기의 탄소 peak를 확인하였고, 139.3(5-C)와 122.8(6-C) ppm에서 두 개의 이중결합 탄소 peak를 확인하였다.

3번 위치에 carboxyl기를 가진 **8**의 ¹H-NMR spectrum의 7.01 ppm에서 NH peak, 1.40 ppm에서 *tert*-butyl기 수소 peak가 확인되었다. ¹³C-NMR spectrum에서 180.0, 161.0과 156.0 ppm에서 3개의 carbonyl 탄소 peak를 확인하였고, 139.5(5-C), 123.0(6-C) ppm에서 두 개의 이중결합 탄소 peak를 확인하였다. **8**을 *m*CPBA로 epoxy화 시킨 결과 5 α ,6 α -epoxy-*N*-(*tert*-butylamino)-3 β -(2-*tert*-butylamino-1,2-dioxoethoxy)androstane-17 β -arboxamide(**9**)이 합성되었다. ¹H-NMR spectrum에서 이중결합 수소 peak가 사라지고 2.92 ppm에서 에폭시화 된 6번 수소 peak가 나타났음을 확인 할 수 있다. ¹³C-NMR spectrum에서 139.3, 123.1 ppm에서 이중결합 탄소의 peak는 사라지고 59.4와 57.5 ppm에서 에폭시화 된 5, 6번 탄소 peak를 확인할 수 있었다.

3번의 hydroxyl기가 protection 되지 않은 화합물 **1**를 oxalyl chloride를 이용하여 acyl chloride 합성 후 diethylamine과 반응시킨 결과 3번과 17번에 모두 amide 결합을 가진 *N,N*-(diethylamino)-3 β -(2-diethylamino-1,2-dioxoethoxy)-5-androstene-17 β -carboxamide(**10**)가 합성되었다. Diethylamine을 사용한 경우는 triethylamine을 사용한 경우와 다르게 부산물이 얻어지지 않았다. **10**의 구조는 ¹H-NMR spectrum에서 3.00~3.78 ppm 부근에서 CH₂ peak 네 개, 1.09~1.25 ppm에서 CH₃ peak 네 개를 확인 하였고, ¹³C-NMR spectrum에서 163.1과 161.8 ppm에서 carbonyl 탄소 peak 두 개로 부터 diethylamine이 양쪽에 amide 결합이 있음 확인하였다. **10**을 *m*CPBA와 반응시킨 결과 5 α ,6 α -epoxy-*N,N*-(diethylamino)-3 β -(2-diethylamino-1,2-dioxoethoxy)androstene-17 β -carboxamide(**11**)가 합성 되었다. ¹H-NMR spectrum에서 이중결합의 수소 peak가 사라지고 2.94

ppm에서 에폭시화 된 6번 수소 peak를 확인 할 수 있었으며 ¹³C-NMR spectrum에서 139.2와 123.3 ppm 사이의 field에서 이중결합 탄소의 peak대신 59.4와 57.0 ppm에서 에폭시화 된 5, 6번 탄소의 peak를 확인할 수 있었다.

화합물 **12**는 17번에 pyridine 고리를 도입하기 위하여 3-aminopyridine을 이용하여 위에서와 같은 방법으로 합성하여 *N*-(3-pyridino)-3 β -carboxycarbonyloxy-5-androstene-17 β -carboxamide 를 얻었다. 화합물의 구조는 ¹H-NMR spectrum에서 8.74, 8.46, 8.28과 7.27~7.37에서 4개의 pyridine고리의 4개의 수소와 141.1~123.4에서 5개의 pyridine 고리의 탄소로부터 합성을 확인하였다.

5 α -Reductase inhibitory activity

5-Androstene의 3번에는 carbonyl기를 포함한 치환기와 17번에 carboxamide 결합을 가진 화합물과 이들의 epoxy 유도체를 합성하고 12종의 화합물에 대하여 5 α -reductase 저해 활성을 측정하였으며 그 결과를 Table I에 제시하였다.

3번 위치에 bulky group을 치환시킨 모든 화합물에서 finasteride 보다 좋은 결과를 나타내지 못하였다. 17 위치가 carboxylic acid 일 경우 화합물 **1**의 3위치 OH기를 acetyl기로 치환시킨 화합물 **2**(23.0%)가 오히려 화합물 **1**(47.0%)보다 저해활성이 감소하였다. 화합물 **2**의 17번 carboxylic acid를 *tert*-butylamine과 *N,N*-diethylamine으로 각각 반응시켜 carboxamide 유도체 **4**(27.6%)와 **5**(45.3%)를 합성하였으며 **5**의 활성 증가는 diethylamine 이 *tert*-butyl보다 저해 활성에 유리하게 작용하는 것으로 생각되었다. 3번 위치에 acetyloxy보다 carbonyl기가 하나 더 증가된 유도체인 **6**, **7**과 **8**은 3위에 *tert*-butylcarbonyl, methoxycarbonyl 그리고 carboxyl기가 치환된 화합물로서 28.0%, 38.9% 그리고 43.2%의 저해 활성을 각각 나타냈으며 이는 COOH기의 치환기가 작을수록 활성이 증가됨을 보였다. 3번 위치에 동일한 치환기를 가진 **12**(68.5%)도 같은 결과를 나타냈으며, 17위 carboxylic acid에 pyridine 고리가 결합한 **12**의 활성이 좀 더 증가된 것으로 미루어 *tert*-butyl 보다는 pyridine 같은 방향족 화합물이 활성 증가에 유효한 것으로 생각되었다.

3위와 17 위치에 동일하게 *tert*-butyl기 또는 *N,N*-diethylcar-

Table I – 5 α -Reductase inhibitory activity of 3 β -substituted 5-androstene-17 β -carboxamide derivatives

Compounds	% Inhibition*	IC ₅₀ (M)	Compounds	% Inhibition*	IC ₅₀ (M)
1	47.0%	>1×10 ⁻⁵	8	52.8%	6.2×10 ⁻⁶
2	23.0%	>1×10 ⁻⁵	9	46.9%	>1×10 ⁻⁵
3	33.6%	>1×10 ⁻⁵	10	38.0%	>1×10 ⁻⁵
4	27.6%	>1×10 ⁻⁵	11	23.0%	>1×10 ⁻⁵
5	45.3%	>1×10 ⁻⁵	12	68.5%	2.4×10 ⁻⁷
6	38.9%	>1×10 ⁻⁵	F**	100.1%	1.2×10 ⁻⁹
7	43.2%	>1×10 ⁻⁵			

*화합물의 농도: 1×10⁻⁵M에서의 % inhibition, **F: Finasteride.

boxamide 결합을 가진 화합물 **6**과 **10**(38.0%)은 좀 더 bulky group 인 *tert*-butyl기를 갖는 화합물 **6**이 낮은 저해 활성을 나타내는 것을 알 수 있었다. 5, 6 위치에 epoxy 고리를 가진 화합물 **3**, **9** 및 **11**은 **3**(33.6%)과 **9**(46.9%)는 해당 출발물질(**2**와 **7**)보다 활성이 증가하였으나 **11**(23.0%)은 출발물질 **10** 보다 감소하였다.

결 론

전립선암 및 전립선 비대증 치료제 개발을 위해 5 α -reductase inhibitor로 작용할 수 있는 3 β -substituted-5-androstene-17 β -carboxamide와 epoxy 유도체 12종을 합성하고 rat의 복부전립선을 사용하여 radioimmunoassay 에 의해 활성을 측정하였다. 5-Androstene 골격의 3위치에 bulky한 group을 치환시킨 모든 화합물이 finasteride보다 낮은 저해 활성을 나타냈으며, *N*-(3-pyridino)-3 β -carboxycarbonyloxy-5-androstene-17 β -carboxamide(**12**, IC₅₀: 2.4 \times 10⁻⁷, 68.5%)가 가장 좋은 활성을 보였다.

참고문헌

- Ekman, P. : BPH epidemiology and risk factors. *Prostate* **2**, 23 (1989).
- Geller, J., Albert, J., Lopez, D., Geller, S. and Niwayama, G. : Comparison of androgen metabolites in benign prostatic hypertrophy (BPH) and normal prostate. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **43**, 486 (1976).
- Labrie, F., Belanger, A., Simard, J., Labrie, C. and Dupont, A. : A combination therapy for prostate cancer. *Cancer* **71**, 1059 (1993).
- Andersson, S. and Russell, D. W. : Structural and biochemical properties of cloned expressed human and rat steroid 5 α -reductase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **87**, 3640 (1990).
- Andersson, S., Berman, D. M., Jenkins, E. P. and Russell, D. W. : Deletion of steroid 2 gene in male pseudohermaphroditism. *Nature* **354**, 159 (1991).
- Jones, C. D., Audia, J. E., Lawhorn, D. E., McQuaid, L. A., Neubauer, B. L., Pike, A. J., Pennington, P. A., Stamm, N. B., Toomey, R. E. and Hirsch, K. S. : Nonsteroidal inhibitors of human type I steroid 5 α -reductase. *J. Med. Chem.* **36**, 421 (1993).
- McConnell, J. D., Wilson, J. D. and George, F. W. : Finasteride, and inhibitor of 5 α -reductase, suppresses prostatic dihydrotestosterone in men with benign prostatic hyperplasia. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **74**(3), 505 (1992).
- Lazier, C. B., Thomas, L. N., Douglas, R. C., Vessey, J. P. and Rittmaster, R. S. : Dutasteride, the dual 5 α -reductase inhibitor, inhibits androgen action and promotes cell death in the LNCaP prostate cancer cell line. *Prostate* **58**, 130 (2004).
- Guarna, A., Belle, C., Machetti, F., Occhiato, E. G., Payne, H. P., Cassiani, A., Danza, G., Bellis, A., Dini, S., Marrucci, A. and Serio, M. : 19-Nor-10-azasterides: A novel class of inhibitors for human steroid 5 α -reductase 1 and 2. *J. Med. Chem.* **40**, 1112 (1997).
- Bratoeff, E., Ramirez, E., Flores, E., Valencia, N., Sanchez, M., Heuze, I. and Cabeza, M. : Molecular interactions of new pregnenedione derivatives. *Chem. Pharm. Bull.* **51**(10), 1132 (2003).
- Ramirez, E., Cabeza, M., Bratoeff, E., Heuze, I., Perez, V., Valdez, D., Ochoa, M., Teran, N., Jimenez, G. and Ramirez, T. : Synthesis and pharmacological evaluation of new progesterone esters as 5 α -reductase inhibitors. *Chem. Pharm. Bull.* **53**(12), 1515 (2005).
- Cabeza, M., Bratoeff, E., Flores, E., Ramirez, E., Calleros, J., Montes, D., Quiroz, A. and Heuze, I. : 5 α -Reductase inhibitory and antiandrogenic activities of novel steroids in hamster seminal vesicles. *Chem. Pharm. Bull.* **50**(11), 1447 (2002).
- Cabeza, M., Heuze, I., Bratoeff, E., Murillo, E., Ramirez, E. and Lira, A. : New progesterone esters as 5 α -reductase inhibitors. *Chem. Pharm. Bull.* **49**(9), 1081 (2001).
- Li, J. S., Li, Y., Son, C. and Brodie, A. M. H. : Synthesis and evaluation of pregnane derivatives as inhibitors of human testicular 17 α -hydroxylase/C_{17,20}-lyase. *J. Med. Chem.* **39**, 4335 (1996).
- Nnane, I. P., Kato, K., Liu, Y., Lu, Q., Wang, X., Ling, Y. and Brodie, A. : Effects of some novel inhibitors of C_{17,20}-lyase and 5 α -reductase *in vitro* and *in vivo* and their potential role in the treatment of prostate cancer. *Cancer Res.* **38**, 3826 (1998).
- Carroll King, L. : Preparation of 21-pyridinium-3 β -hydroxy-5-pregnene-20-one halides and 3 β -hydroxy-5-androstene-17-carboxylic acid. *J. Am. Chem. Soc.* **66**(9), 1612 (1944).
- Staunton, J. and Eisenbraun, E. J. : 3 β -Acetoxyetienic acid. *Org. Syn.* **5**, 8 (1973).
- Kim, Y.-U., Yu Ki, C.-H., Son, H. K., Song, H. K., Han J., Lee, S. S. and Lee, S. K. : Testosterone 5 α -reductase inhibitors, menaquinone 7 produced by a *Bacillus* and Phenazine methosulfate. *Biol. Pharm. Bull.* **22**(12), 1396 (1999).