

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6059716号  
(P6059716)

(45) 発行日 平成29年1月11日 (2017. 1. 11)

(24) 登録日 平成28年12月16日 (2016. 12. 16)

(51) Int. Cl.

F I

C O 7 C 401/00 (2006. 01)

C O 7 C 401/00 C S P

A 6 1 K 31/59 (2006. 01)

A 6 1 K 31/59

A 6 1 P 17/06 (2006. 01)

A 6 1 P 17/06

A 6 1 P 35/00 (2006. 01)

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 35/02 (2006. 01)

A 6 1 P 35/02

請求項の数 15 (全 48 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2014-513702 (P2014-513702)  
 (86) (22) 出願日 平成24年5月31日 (2012. 5. 31)  
 (65) 公表番号 特表2014-520101 (P2014-520101A)  
 (43) 公表日 平成26年8月21日 (2014. 8. 21)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US2012/040235  
 (87) 国際公開番号 W02012/166938  
 (87) 国際公開日 平成24年12月6日 (2012. 12. 6)  
 審査請求日 平成27年5月12日 (2015. 5. 12)  
 (31) 優先権主張番号 61/493, 079  
 (32) 優先日 平成23年6月3日 (2011. 6. 3)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 505098661  
 ウィスコンシン アラムニ リサーチ フ  
 ァンダーション  
 アメリカ合衆国 ウィスコンシン州 マデ  
 イソン ウォルナット ストリート 6 1  
 4  
 (74) 代理人 100102978  
 弁理士 清水 初志  
 (74) 代理人 100102118  
 弁理士 春名 雅夫  
 (74) 代理人 100160923  
 弁理士 山口 裕孝  
 (74) 代理人 100119507  
 弁理士 刑部 俊

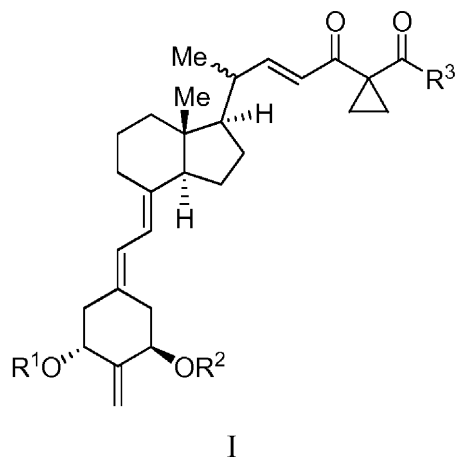
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 (22E) -2-メチレン-2,6,27-シクロ-22-デヒドロ-1 $\alpha$ -ヒドロキシ-19-  
 ノルビタミンD<sub>3</sub>誘導体

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 I の化合物、またはその薬学的に許容される塩：

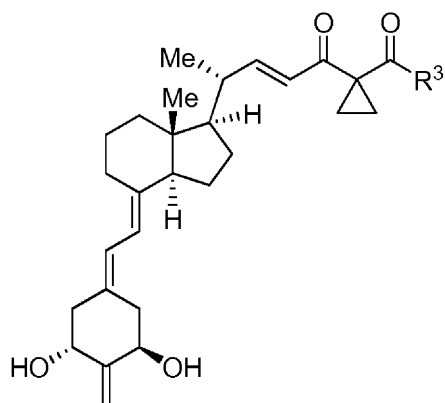


式中、

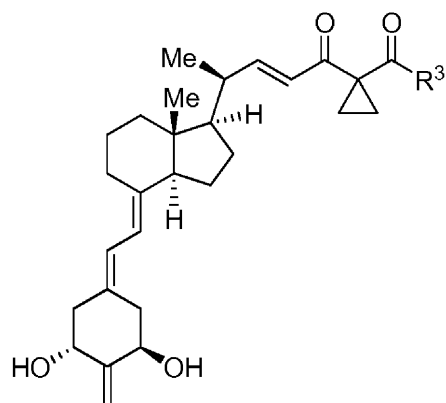
R<sup>1</sup> および R<sup>2</sup> は独立に H およびヒドロキシ保護基から選択され；かつR<sup>3</sup> は 1 から 8 個の炭素原子を有する直鎖または分枝鎖アルキル基である。

【請求項 2】

式 I I A または式 I I B を有する、請求項 1 記載の化合物：



IIA

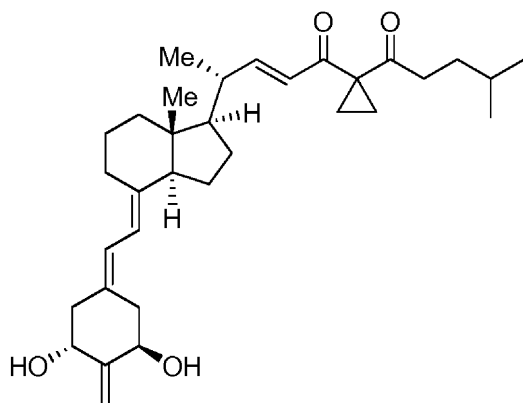


IIB

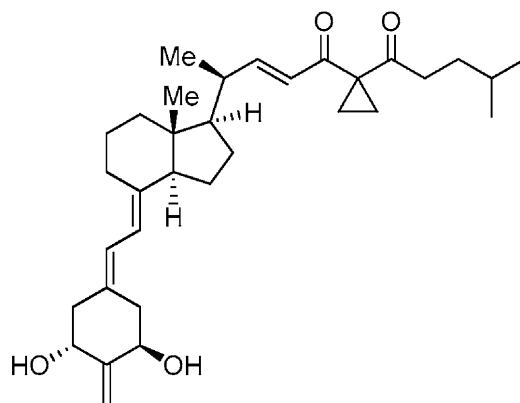
10

【請求項 3】

式 I I I A または I I I B を有する、請求項 1 記載の化合物：



IIIA



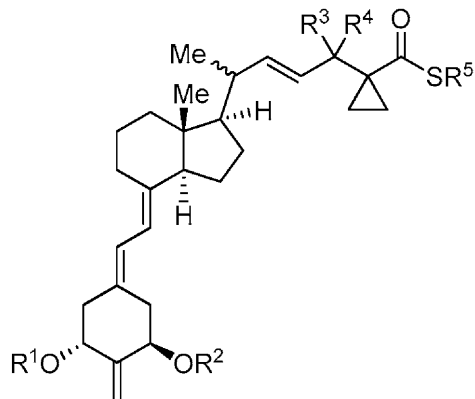
IIIB

20

30

【請求項 4】

式 I V の化合物、またはその薬学的に許容される塩：



IV

40

式中、

$R^1$  および  $R^2$  は独立に H およびヒドロキシ保護基から選択され；

$R^3$  は  $OR^6$  であり、かつ  $R^4$  は H であり、 $R^6$  は H またはヒドロキシ保護基であるか；

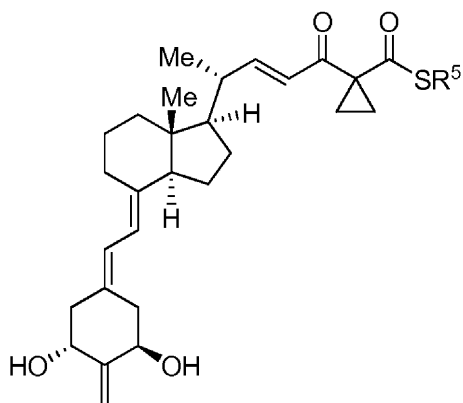
または  $R^3$  および  $R^4$  は一緒になって = O 基を表し；かつ

$R^5$  は 1 から 8 個の炭素原子を有する直鎖または分枝鎖アルキル基である。

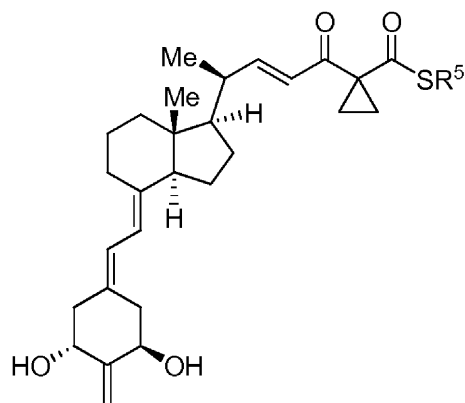
50

## 【請求項 5】

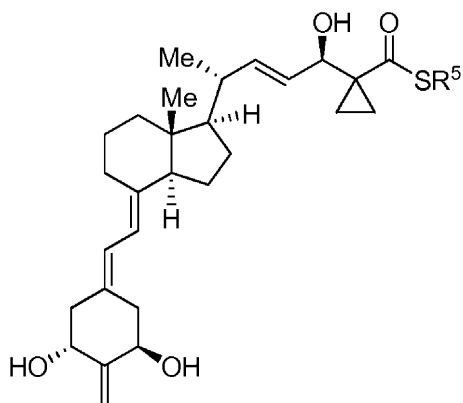
式VA、VB、VIA、VIB、VIC、またはVIDを有する、請求項4記載の化合物：



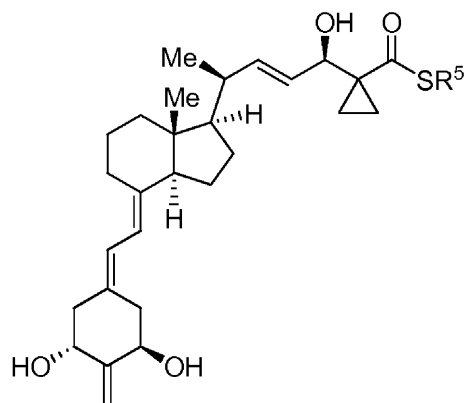
VA



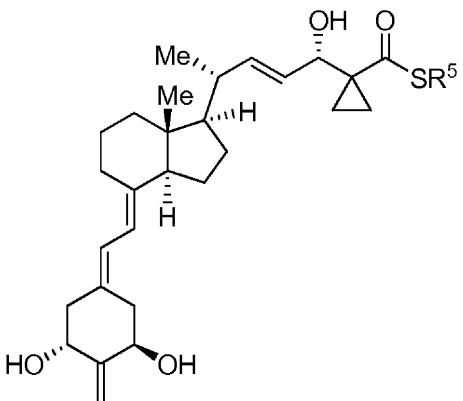
VB



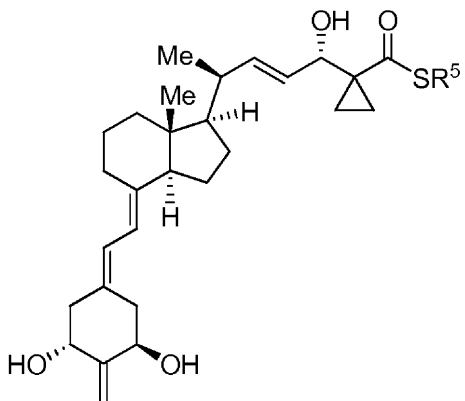
VIA



VIB



VIC



VID

。

## 【請求項 6】

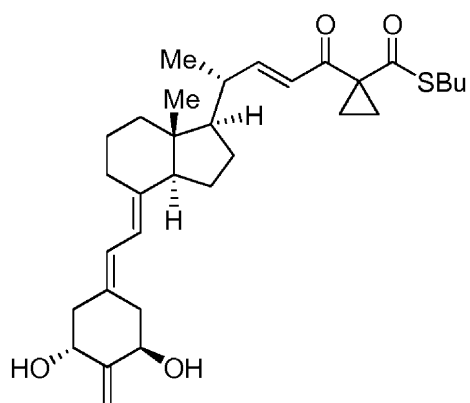
式VIIA、VIIB、VIIIA、VIIIB、VIIC、またはVIIDを有する、請求項4記載の化合物：

10

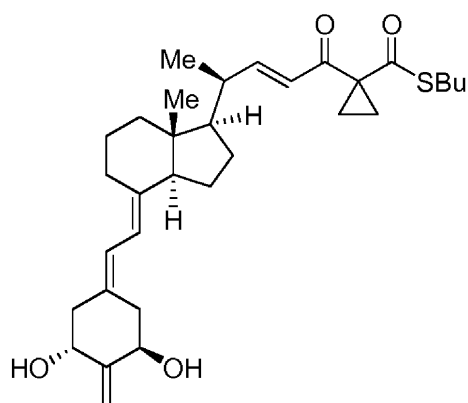
20

30

40

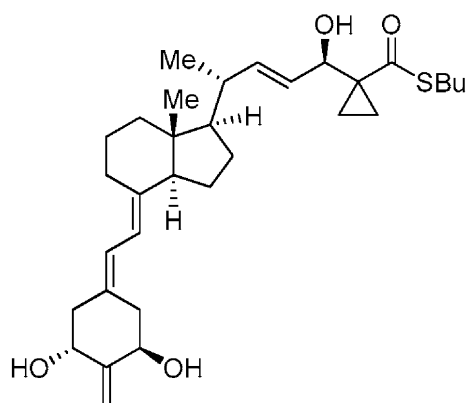


VIIA

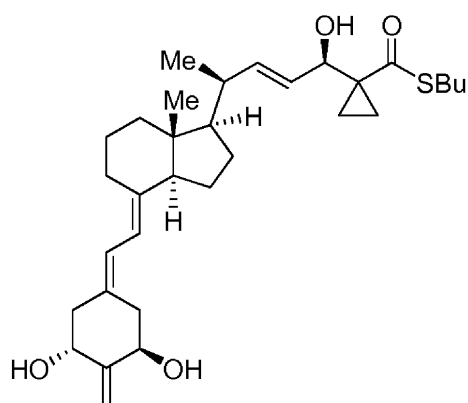


VIIB

10

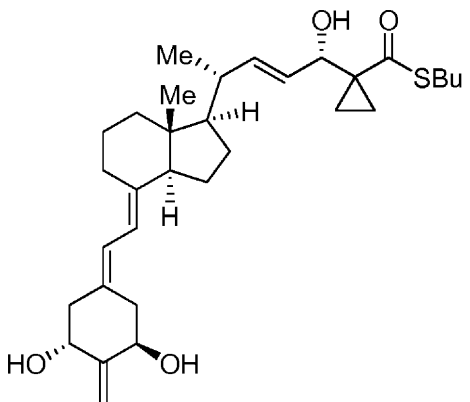


VIIIA

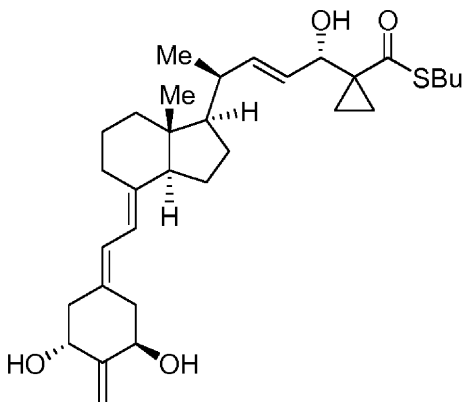


VIIIB

20



VIIIC



VIIID

30

。

## 【請求項 7】

請求項 2 または請求項 5 記載の化合物の有効量および薬学的に許容される担体を含む、  
薬学的組成物。

40

## 【請求項 8】

有効量が、組成物 1 g あたり約 0 . 0 1  $\mu$  g から約 1 m g の化合物である、請求項 7 記載の薬学的組成物。

## 【請求項 9】

乾癬；白血病；結腸癌；乳癌；前立腺癌；多発性硬化症；狼瘡；真性糖尿病；宿主対移植片反応；臓器移植の拒絶；関節リウマチ、喘息、または炎症性腸疾患から選択される炎症疾患；しわ、皮膚の十分な締まりの欠如、十分な皮膚水分補給の不足、または不十分な皮脂分泌から選択される皮膚の状態；腎性骨形成異常；または骨粗鬆症を処置するための、請求項 2 記載の化合物の有効量を含む薬学的組成物。

50

## 【請求項 10】

炎症疾患が、セリアック病、潰瘍性結腸炎、およびクローン病から選択される炎症性腸疾患から選択される、請求項 9 記載の薬学的組成物。

## 【請求項 11】

経口、非経口、直腸、経皮、または局所投与されるように用いられるか、あるいはエアロゾルで送達することによって投与されるように用いられる、請求項 9 記載の薬学的組成物。

## 【請求項 12】

肥満を予防もしくは処置する、脂肪細胞分化を阻害する、SCD-1 遺伝子転写を阻害する、および/または体脂肪を低減するための、請求項 2 記載の化合物の有効量を含む薬学的組成物。

10

## 【請求項 13】

ビタミン D 受容体に拮抗するための、請求項 5 記載の化合物の有効量を含む薬学的組成物。

## 【請求項 14】

高カルシウム血症、副甲状腺機能亢進症、サルコイドーシス、およびビタミン D 中毒からなる群より選択される生物学的状態を処置するための、請求項 5 記載の化合物の有効量を含む薬学的組成物。

## 【請求項 15】

経口、非経口、直腸、経皮、または局所投与されるように用いられるか、あるいはエアロゾルで送達することによって投与されるように用いられる、請求項 13 記載の薬学的組成物。

20

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

関連特許出願の相互参照

本出願は、2011年6月03日提出の米国特許仮出願第61/493,079号に対する優先権を主張し、その全開示は、本明細書において完全に示すがごとく、その全体があらゆる目的のために参照により本明細書に組み入れられる。

## 【0002】

30

分野

本技術は、ビタミンD化合物、特に(22E)-2-メチレン-25-アルカノイル-24-オキソ-26,27-シクロ-22-デヒドロ-1-ヒドロキシ-19-ノルビタミンD<sub>3</sub>、(22E)-25-カルボアルキルスルファニル-2-メチレン-26,27-シクロ-22-デヒドロ-24-オキソ-1-ヒドロキシ-19-ノルビタミンD<sub>3</sub>、(22E)-25-カルボブチルスルファニル-2-メチレン-26,27-シクロ-22-デヒドロ-1,24-ジヒドロキシ-19-ノルビタミンD<sub>3</sub>およびその誘導体、ならびにこれらの化合物を含む薬学的製剤に関する。本技術は、様々な疾患の処置、および様々な疾患を処置する際に用いる医用薬剤の調製における、これらの化合物の使用にも関する。

## 【背景技術】

## 【0003】

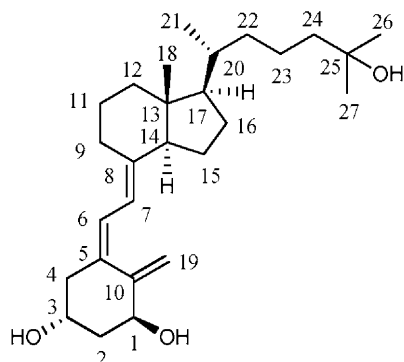
40

背景

天然ホルモン、1,25-ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub> (1,25-ジヒドロキシコレカルシフェロールおよびカルシトリオールとも呼ばれる) およびエルゴステロール系におけるその類縁体、すなわち1,25-ジヒドロキシビタミンD<sub>2</sub>は、動物およびヒトにおけるカルシウムホメオスタシスの非常に強力な制御因子であることが公知であり、細胞分化におけるそれらの活性も確立されている (Ostrem et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84, 2610 (1987) (非特許文献1))。1-ヒドロキシビタミンD<sub>3</sub>、1-ヒドロキシビタミンD<sub>2</sub>、様々な側鎖同族体化ビタミン、およびフッ化類縁体を含む、これらの代謝産物の多くの構造類縁体が調製され、試験された。これらの化合物のいくつかは、細胞分化およびカルシウム制御における活性の興味深い分離を示す。活性におけるこの差は、腎性骨形成異常、ビタ

50

ミンD抵抗性くる病、骨粗鬆症、乾癬、および特定の悪性病変などの様々な疾患の処置において有用でありうる。1,25-ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub>の構造およびこの化合物における炭素原子を示すために用いる番号付けシステムを以下に示す。



10

1 $\alpha$ ,25-ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub> = 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> =  
1 $\alpha$ ,25-ジヒドロキシコレカルシフェロール = カルシトリオール

#### 【先行技術文献】

#### 【非特許文献】

【0004】

【非特許文献1】 Ostrem et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84, 2610 (1987)

20

#### 【発明の概要】

【0005】

#### 概要

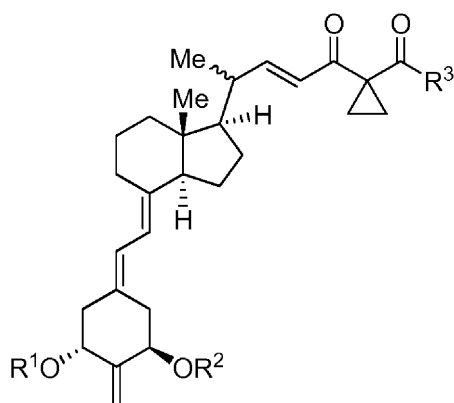
本技術は、(22E)-2-メチレン-25-アルカノイル-24-オキソ-26,27-シクロ-22-デヒドロ-1-ヒドロキシ-19-ノルビタミンD<sub>3</sub>のジアステレオマー、および関連化合物、(22E)-2-メチレン-25-アルカノイル-24-オキソ-26,27-シクロ-22-デヒドロ-1-ヒドロキシ-19-ノルビタミンD<sub>3</sub>のジアステレオマーを含む薬学的製剤、これらの化合物を用いて様々な疾患状態を処置する方法、ならびに様々な疾患状態を処置するための医用薬剤の調製におけるこれらの化合物の使用を提供する。本技術は、(22E)-25-カルボアルキルスルファニル-2-メチレン-26,27-シクロ-22-デヒドロ-24-オキソ-1-ヒドロキシ-19-ノルビタミンD<sub>3</sub>のジアステレオマーならびに(22E)-25-カルボブチルスルファニル-2-メチレン-26,27-シクロ-22-デヒドロ-1,24-ジヒドロキシ-19-ノルビタミンD<sub>3</sub>のジアステレオマー、および関連化合物、(22E)-25-カルボアルキルスルファニル-2-メチレン-26,27-シクロ-22-デヒドロ-24-オキソ-1-ヒドロキシ-19-ノルビタミンD<sub>3</sub>または(22E)-25-カルボブチルスルファニル-2-メチレン-26,27-シクロ-22-デヒドロ-1,24-ジヒドロキシ-19-ノルビタミンD<sub>3</sub>のジアステレオマーを含む薬学的製剤、これらの化合物を用いて様々な疾患状態を処置する方法、ならびに様々な疾患状態を処置するための医用薬剤の調製におけるこれらの化合物の使用も提供する。

30

【0006】

したがって、1つの局面において、本技術は、以下に示す式Iを有する化合物、またはその薬学的に許容される塩：

40

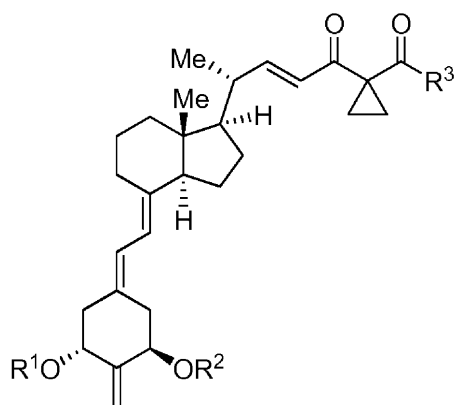


10

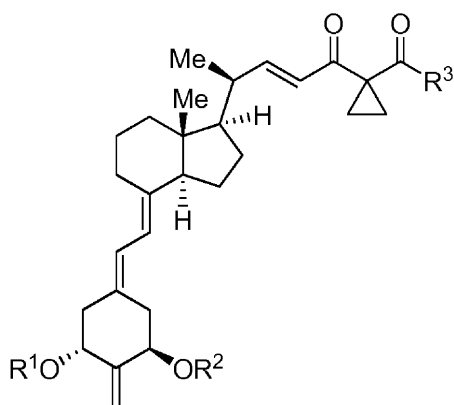
I

を提供し、式中、 $R^1$ および $R^2$ は独立にHおよびヒドロキシ保護基から選択され；かつ $R^3$ は1から8個の炭素原子を有する直鎖または分枝鎖アルキル基である。いくつかの態様において、 $R^3$ はイソペンチルである。他の態様において、 $R^3$ はメチル、エチル、プロピル、*n*-プロピル、イソプロピル、ブチル、*n*-ブチル、*sec*-ブチル、イソブチル、ペンチル、*n*-ペンチル、イソペンチル、2,2-ジメチルプロピル、ヘキシル、*n*-ヘキシル、2-メチル-ペンチル、3-メチルペンチル、2,2-ジメチルブチル、2,3-ジメチルブチルなどである。他の態様において、 $R^1$ および $R^2$ は、シリル保護基などのヒドロキシ保護基である。いくつかのそのような態様において、 $R^1$ および $R^2$ はいずれも*t*-ブチルジメチルシリル基である。いくつかの態様において、20位の炭素は式IAの化合物で示すとおりR配置を有する。他の態様において、20位の炭素は式IBの化合物で示すとおりS配置を有する。

20



IA



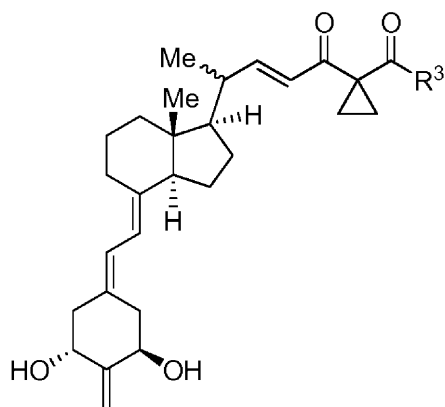
IB

30

【 0 0 0 7 】

他の態様において、 $R^1$ および $R^2$ はHであり、したがって化合物は式IIを有する。

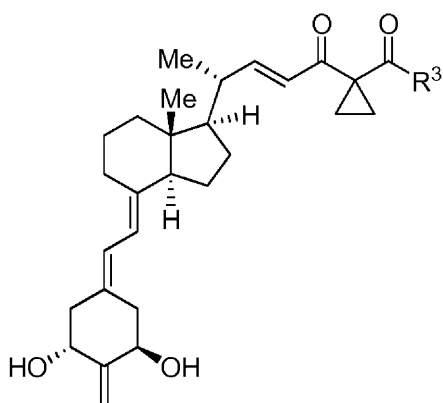
40



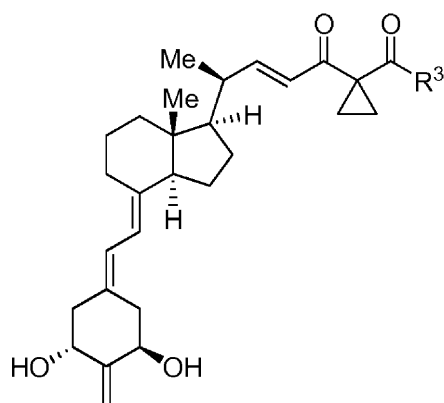
II

10

いくつかのそのような態様において、20位の炭素の配置はRまたはS配置を有し、したがって化合物式IIAまたはIIBを有する。



IIA



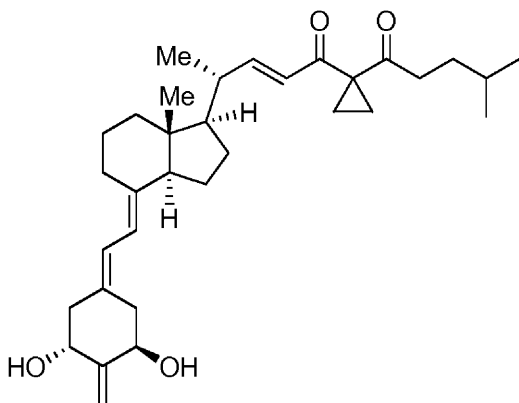
IIB

20

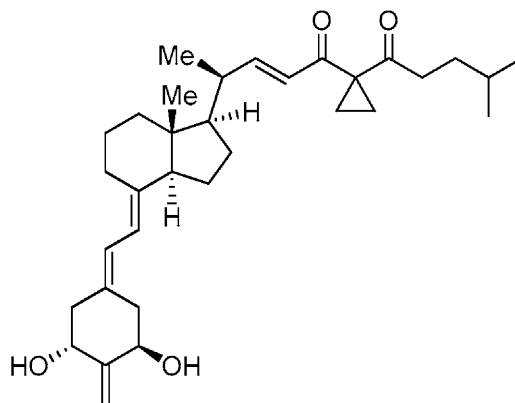
## 【 0 0 0 8 】

いくつかの態様において、化合物は(20R,22E)-2-メチレン-25-(4-メチルペンタノイル)-24-オキソ-26,27-シクロ-22-デヒドロ-1β-ヒドロキシ-19-ノルビタミンD<sub>3</sub> (PP-48としても公知)であり、以下に示す式IIIAを有するか、または(20S,22E)-2-メチレン-25-(4-メチルペンタノイル)-24-オキソ-26,27-シクロ-22-デヒドロ-1β-ヒドロキシ-19-ノルビタミンD<sub>3</sub>であり、以下に示す式IIIBを有する。

30



IIIA



IIIB

40

## 【 0 0 0 9 】

式I、IA、IB、IIA、IIB、IIIA、およびIIIBの化合物は、ビタミンD受容体への結合およ

50



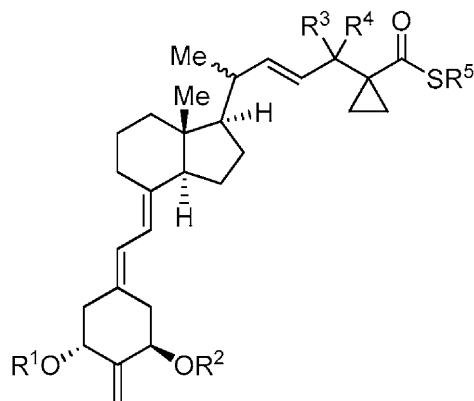
び腸カルシウム輸送に対する選択的作用を含む、非常に有益な生物活性のパターンを示す。したがって、そのような化合物を、特定の生物学的状態を患っている対象を処置する方法において用いてもよい。方法は、化合物の有効量または化合物の有効量を含む薬学的組成物を対象に投与する段階を含み、ここで生物学的状態は乾癬；白血病；結腸癌；乳癌；前立腺癌；多発性硬化症；狼瘡；真性糖尿病；宿主対移植片反応；臓器移植の拒絶；関節リウマチ、喘息、または炎症性腸疾患から選択される炎症疾患；しわ、皮膚の十分な締まりの欠如、十分な皮膚水分補給の不足、または不十分な皮脂分泌から選択される皮膚の状態；腎性骨形成異常；または骨粗鬆症から選択される。

【0010】

式I、IA、IB、IIA、IIB、IIIA、およびIIIBの化合物は、任意に薬学的に許容される担体を含む、前述の疾患および障害を処置するための組成物中に有効な量で存在してもよい。いくつかの態様において、化合物の量は組成物1gあたり約0.01  $\mu$ gから組成物1gあたり約1mg、好ましくは組成物1gあたり約0.1  $\mu$ gから1gあたり約500  $\mu$ gを含み、1日に約0.01  $\mu$ gから1日に約1mg、好ましくは1日に約0.1  $\mu$ gから1日に約500  $\mu$ gの用量で局所、経皮、経口、または非経口投与してもよい。

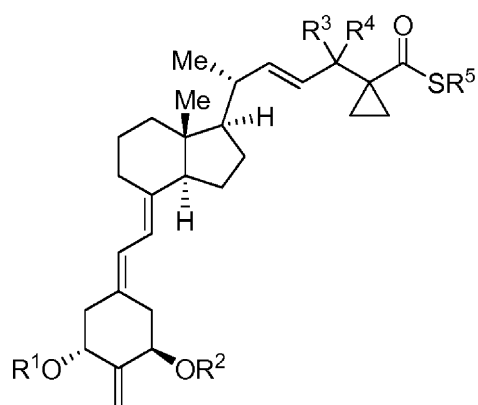
【0011】

他の局面において、本技術は以下に示す式IVの化合物、またはその薬学的に許容される塩：

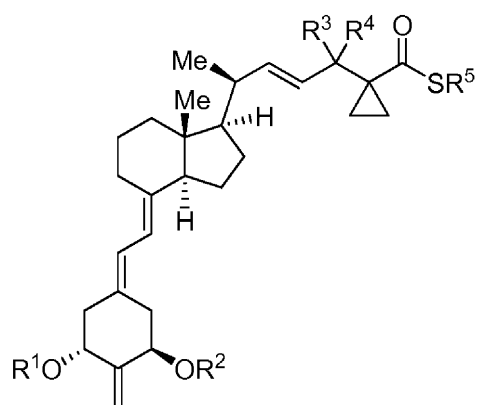


IV

を提供し、式中、 $R^1$ および $R^2$ は独立にHおよびヒドロキシ保護基から選択され； $R^3$ は $OR^6$ であり、かつ $R^4$ はHであり、ここで $R^6$ はHまたはヒドロキシ保護基であるか；または $R^3$ および $R^4$ は一緒になって=O基を表し；かつ $R^5$ は1から8個の炭素原子を有する直鎖または分枝鎖アルキル基である。特定の態様において、 $R^5$ はメチル、エチル、プロピル、n-プロピル、イソプロピル、ブチル、n-ブチル、sec-ブチル、イソブチル、t-ブチル、ペンチル、n-ペンチル、イソペンチル、2,2-ジメチルプロピル、ヘキシル、n-ヘキシル、2-メチル-ペンチル、3-メチルペンチル、2,2-ジメチルブチル、2,3-ジメチルブチルなどである。いくつかの態様において、 $R^3$ は $OR^6$ であり、かつ $R^4$ はHであり、ここで $R^6$ はシリル基、例えば、トリエチルシリル基などのヒドロキシ保護基である。他の態様において、 $R^3$ はヒドロキシ基であり、かつ $R^4$ はHである。他の態様において、 $R^3$ および $R^4$ は一緒になって=O基を表す。いくつかの態様において、 $R^1$ および $R^2$ は、シリル保護基などのヒドロキシ保護基である。いくつかのそのような態様において、 $R^1$ および $R^2$ はいずれもt-ブチルジメチルシリル基である。いくつかの態様において、20位の炭素は式IVAの化合物で示すとおりR配置を有する。他の態様において、20位の炭素は式IVBの化合物で示すとおりS配置を有する。



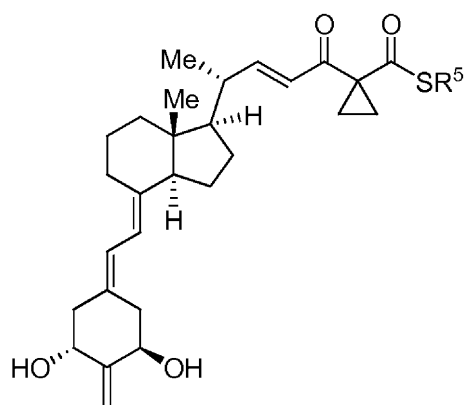
IVA



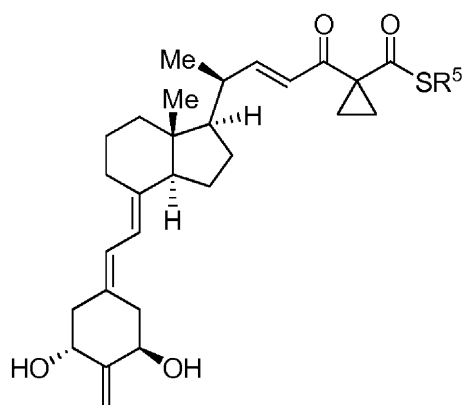
IVB

【 0 0 1 2 】

他の態様において、 $R^1$ および $R^2$ はHであり、 $R^3$ はヒドロキシル基であり、 $R^4$ はHであるか、または $R^1$ および $R^2$ はHであり、かつ $R^3$ および $R^4$ は一緒になって=O基を表し、したがって化合物は式VA、VB、VIA、VIB、VIC、またはVIDを有する。



VA

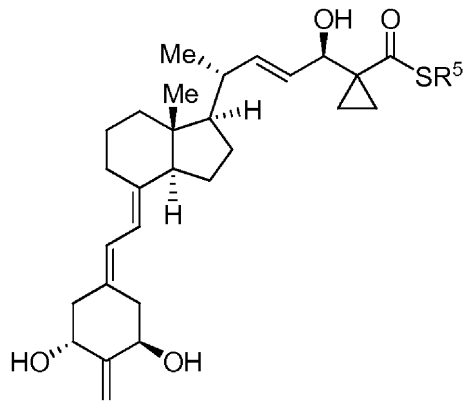


VB

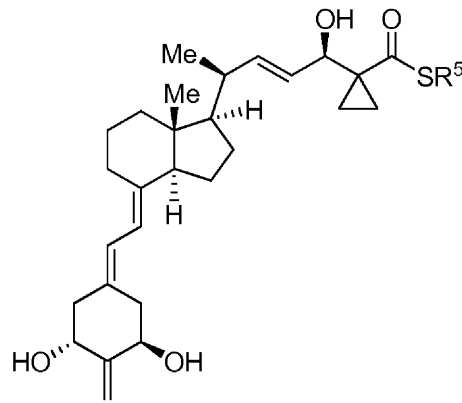
10

20

30

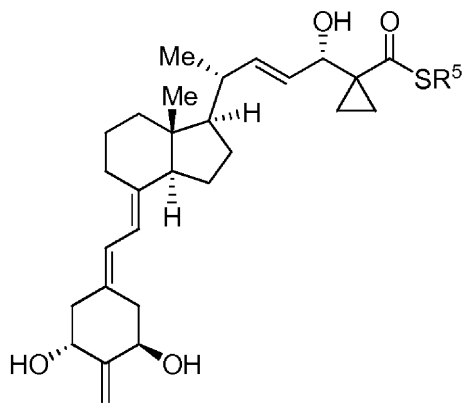


VIA

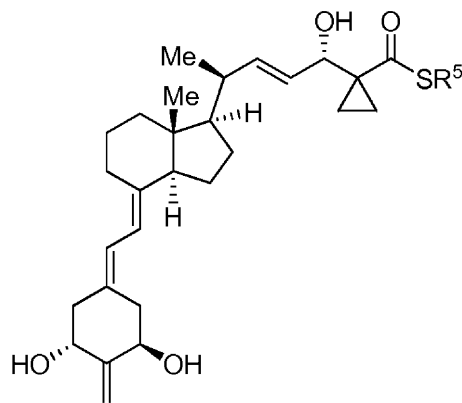


VIB

10



VIC



VID

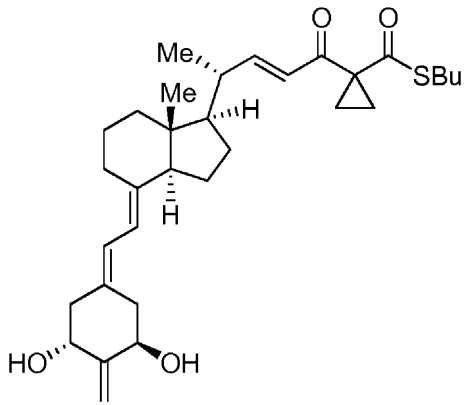
20

## 【 0 0 1 3 】

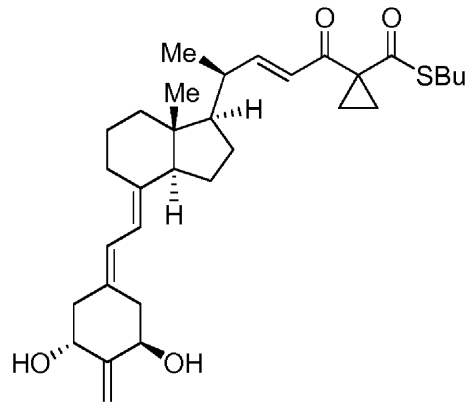
いくつかの態様において、 $R^1$ および $R^2$ はHであり、 $R^3$ および $R^4$ は一緒になって=O基を表し、かつ $R^5$ はブチル基であるか、または $R^1$ および $R^2$ はHであり、 $R^3$ はヒドロキシ基であり、 $R^4$ はHであり、かつ $R^5$ はブチル基であり、したがって化合物は、以下に示す(20R,22E)-25-カルボブチルスルファニル-2-メチレン-26,27-シクロ-22-デヒドロ-24-オキソ-1-ヒドロキシ-19-ノルピタミン $D_3$ であり、式VIIAを有するか、(20S,22E)-25-カルボブチルスルファニル-2-メチレン-26,27-シクロ-22-デヒドロ-24-オキソ-1-ヒドロキシ-19-ノルピタミン $D_3$ であり、式VIIBを有するか、(20R,22E,24R)-25-カルボブチルスルファニル-2-メチレン-26,27-シクロ-22-デヒドロ-1,24-ジヒドロキシ-19-ノルピタミン $D_3$  (AS-51としても公知)であり、式VIIIAを有するか、(20S,22E,24R)-25-カルボブチルスルファニル-2-メチレン-26,27-シクロ-22-デヒドロ-1,24-ジヒドロキシ-19-ノルピタミン $D_3$ であり、式VIIIBを有するか、(20R,22E,24S)-25-カルボブチルスルファニル-2-メチレン-26,27-シクロ-22-デヒドロ-1,24-ジヒドロキシ-19-ノルピタミン $D_3$ であり、式VIIICを有するか、または(20S,22E,24S)-25-カルボブチルスルファニル-2-メチレン-26,27-シクロ-22-デヒドロ-1,24-ジヒドロキシ-19-ノルピタミン $D_3$ であり、式VIIIDを有する。

30

40

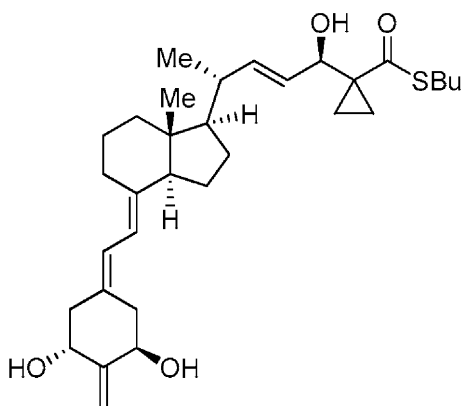


VIIA

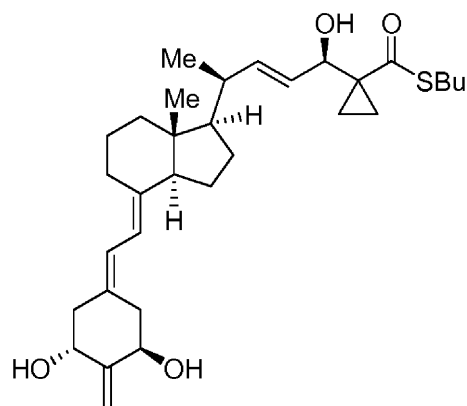


VIIB

10

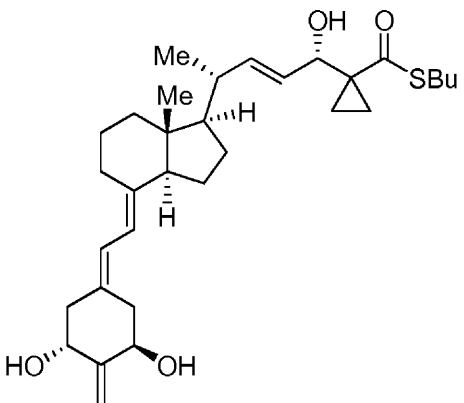


VIIIA

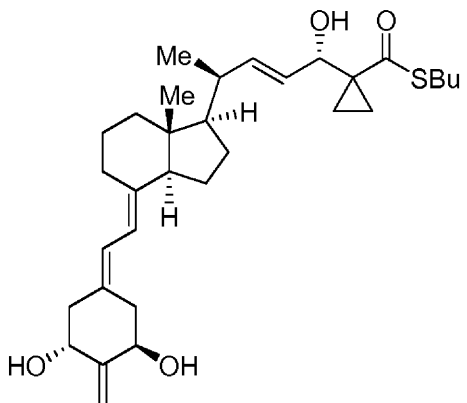


VIIIB

20



VIIIC



VIIID

30

40

## 【 0 0 1 4 】

式IV、IVA、IVB、VA、VB、VIA、VIB、VIC、VID、VIIA、VIIB、VIIIA、VIIIB、VIIIC、およびVIIIDの化合物は、ビタミンD受容体に拮抗することを含む、非常に有益な生物活性のパターンを示す。したがって、そのような化合物を、特定の生物学的状態を患っている対象を処置する方法において用いてもよい。1つの局面において、ビタミンD受容体に拮抗する方法であって、本技術の化合物の有効量またはそのような化合物の有効量を含む薬学的組成物を対象に投与する段階を含み、ここで対象に投与した化合物はビタミンD受容体に拮抗する方法を提供する。他の局面において、高カルシウム血症、副甲状腺機能亢進症

50

、サルコイドーシス、またはビタミンD中毒を処置する方法を提供する。方法は、本技術の化合物の有効量または本技術の化合物の有効量を含む薬学的組成物を、高カルシウム血症、副甲状腺機能亢進症、サルコイドーシス、またはビタミンD中毒を患っている対象に投与する段階を含む。

【 0 0 1 5 】

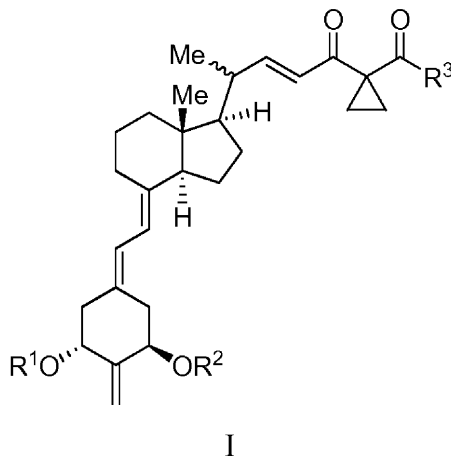
式IV、IVA、IVB、VA、VB、VIA、VIB、VIC、VID、VIIA、VIIB、VIIIA、VIIIB、VIIIC、およびVIIIDの化合物は、任意に薬学的に許容される担体を含む、前述の疾患および障害を処置するための組成物中に有効な量で存在してもよい。いくつかの態様において、化合物の量は組成物1gあたり約0.01  $\mu$ gから組成物1gあたり約1mg、好ましくは組成物1gあたり約0.1  $\mu$ gから1gあたり約500  $\mu$ gを含み、1日に約0.01  $\mu$ gから1日に約1mg、好ましくは1日に約0.1  $\mu$ gから1日に約500  $\mu$ gの用量で局所、経皮、経口、または非経口投与してもよい。

10

【 0 0 1 6 】

[本発明1001]

式Iの化合物、またはその薬学的に許容される塩：



20

式中、

$R^1$ および $R^2$ は独立にHおよびヒドロキシ保護基から選択され；かつ

$R^3$ は1から8個の炭素原子を有する直鎖または分枝鎖アルキル基である。

30

[本発明1002]

$R^1$ および $R^2$ がヒドロキシ保護基である、本発明1001の化合物。

[本発明1003]

$R^1$ および $R^2$ がHである、本発明1001の化合物。

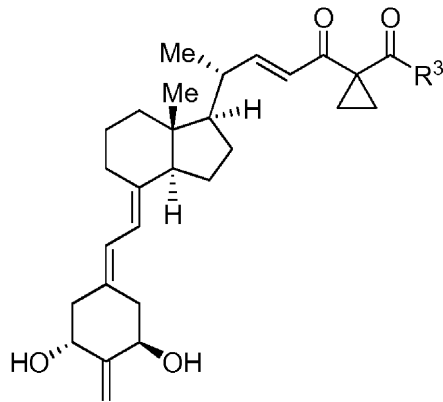
[本発明1004]

$R^3$ がイソペンチルである、本発明1001の化合物。

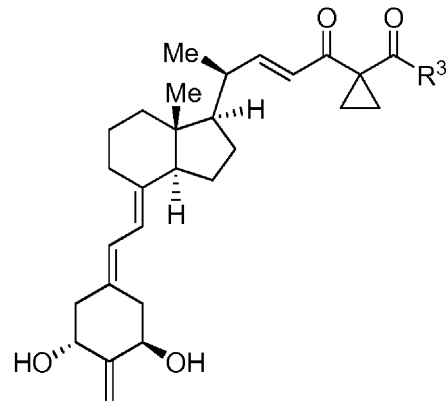
[本発明1005]

式IIAまたは式IIBを有する、本発明1001の化合物：

40



IIA



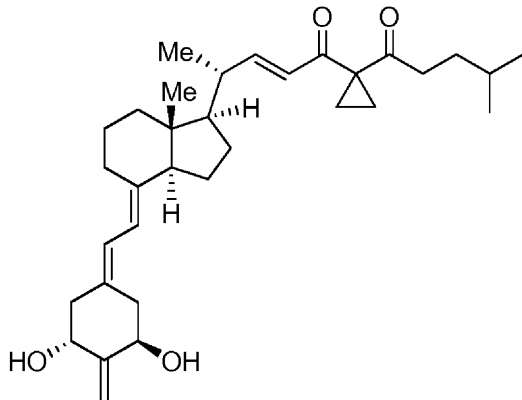
IIB

10

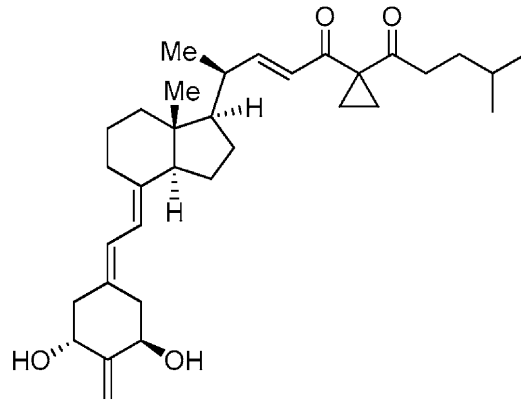
°

[本発明1006]

式IIIAまたはIIBを有する、本発明1001の化合物：



IIIA



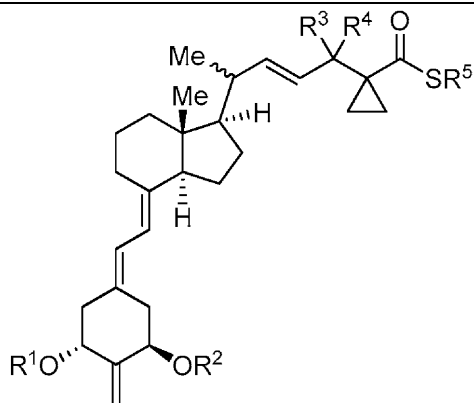
IIIB

20

°

[本発明1007]

式IVの化合物、またはその薬学的に許容される塩：



IV

30

40

式中、

R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>は独立にHおよびヒドロキシ保護基から選択され；R<sup>3</sup>はOR<sup>6</sup>であり、かつR<sup>4</sup>はHであり、R<sup>6</sup>はHまたはヒドロキシ保護基であるか；またはR<sup>3</sup>およびR<sup>4</sup>は一緒になって=O基を表し；かつR<sup>5</sup>は1から8個の炭素原子を有する直鎖または分枝鎖アルキル基である。

[本発明1008]

50

R<sup>3</sup>およびR<sup>4</sup>が一緒になって=O基を表す、本発明1007の化合物。

[本発明1009]

R<sup>3</sup>がOR<sup>6</sup>であり、かつR<sup>4</sup>がHである、本発明1007の化合物。

[本発明1010]

R<sup>6</sup>がHである、本発明1009の化合物。

[本発明1011]

R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>がヒドロキシ保護基である、本発明1007の化合物。

[本発明1012]

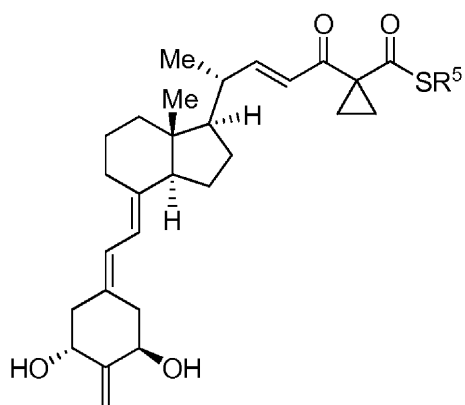
R<sup>1</sup>およびR<sup>2</sup>がHである、本発明1007の化合物。

[本発明1013]

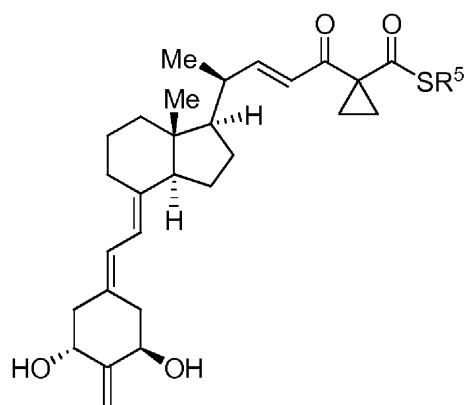
R<sup>5</sup>がn-ブチルである、本発明1007の化合物。

[本発明1014]

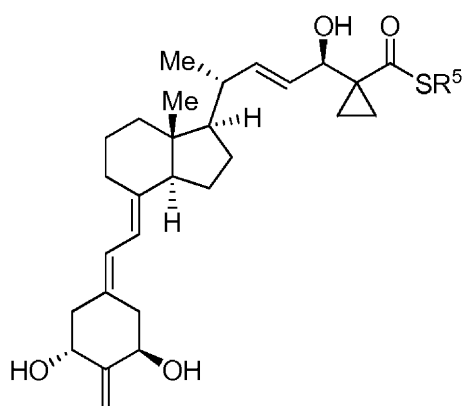
式VA、VB、VIA、VIB、VIC、またはVIDを有する、本発明1007の化合物：



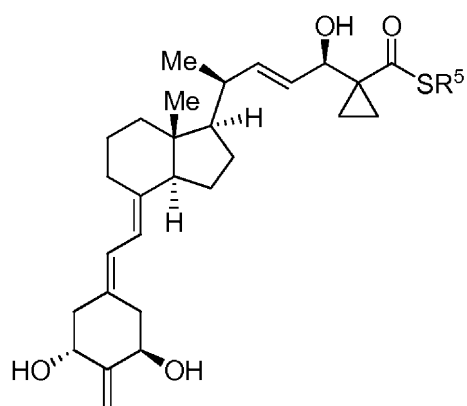
VA



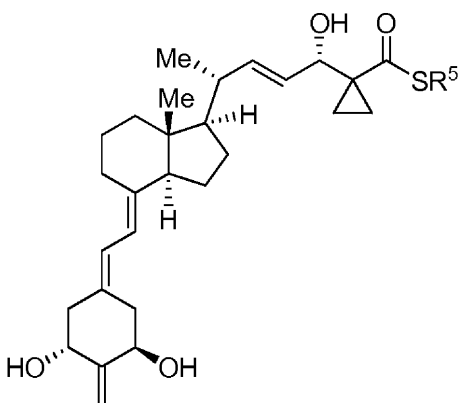
VB



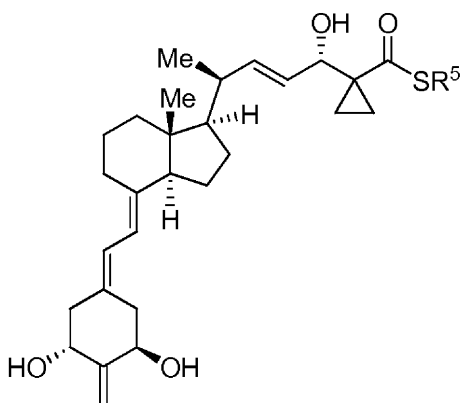
VIA



VIB



VIC



VID

[本発明1015]

式VIIA、VIIB、VIIIA、VIIIB、VIIIC、またはVIIDを有する、本発明1007の化合物：

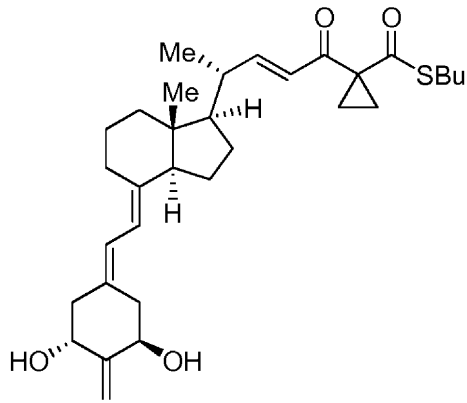
10

20

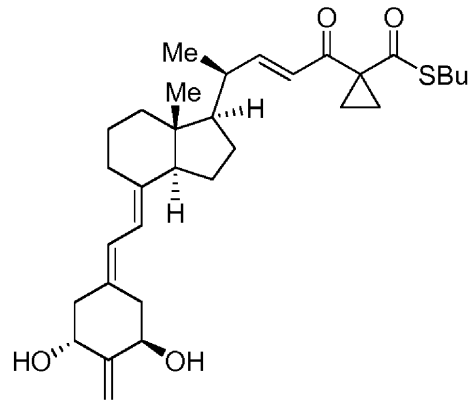
30

40



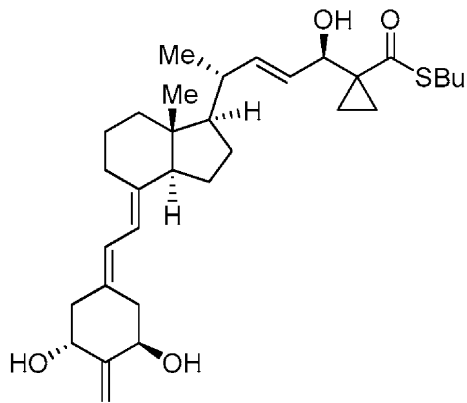


VIIA

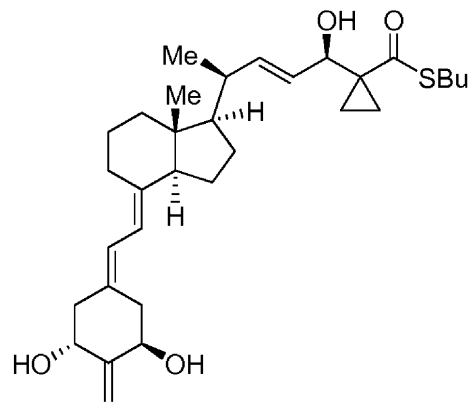


VIIB

10

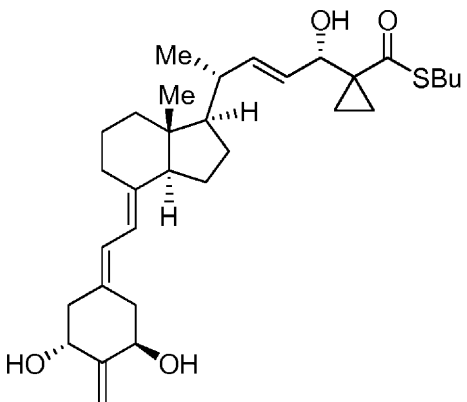


VIIIA

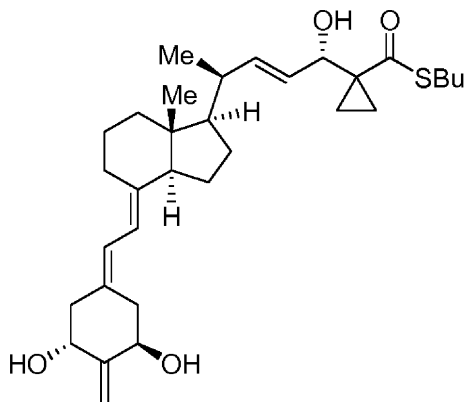


VIIB

20



VIIIC



VIID

30

°

[本発明1016]

本発明1005の化合物の有効量および薬学的に許容される担体を含む、薬学的組成物。

40

[本発明1017]

有効量が、組成物1gあたり約0.01  $\mu$ gから約1mgの化合物を含む、本発明1016の薬学的組成物。

[本発明1018]

有効量が、組成物1gあたり約0.1  $\mu$ gから約500  $\mu$ gの化合物を含む、本発明1016の薬学的組成物。

[本発明1019]

生物学的状態を予防または処置する方法であって、本発明1005の化合物の有効量または本発明1005の化合物の有効量を含む薬学的組成物を、乾癬；白血病；結腸癌；乳癌；前立腺癌；多発性硬化症；狼瘡；真性糖尿病；宿主対移植片反応；臓器移植の拒絶；関節リウ

50

マチ、喘息、または炎症性腸疾患から選択される炎症疾患；しわ、皮膚の十分な締まりの欠如、十分な皮膚水分補給の不足、または不十分な皮脂分泌から選択される皮膚の状態；腎性骨形成異常；または骨粗鬆症から選択される生物学的状態を患っている対象に投与する段階を含む、方法。

[本発明1020]

生物学的状態が、セリアック病、潰瘍性結腸炎、およびクローン病から選択される炎症性腸疾患から選択される、本発明1019の方法。

[本発明1021]

前記化合物または組成物を経口、非経口、直腸、経皮、または局所投与する、本発明1019の方法。

[本発明1022]

前記化合物または組成物を、エアロゾルで化合物または薬学的組成物を送達することによって投与する、本発明1019の方法。

[本発明1023]

肥満を予防もしくは処置する、脂肪細胞分化を阻害する、SCD-1遺伝子転写を阻害する、および/または体脂肪を低減する方法であって、本発明1005の化合物の有効量または本発明1005の化合物の有効量を含む薬学的組成物を、それを必要としている対象に投与する段階を含む、方法。

[本発明1024]

本発明1014の化合物の有効量および薬学的に許容される担体を含む、薬学的組成物。

[本発明1025]

有効量が組成物1gあたり約0.01  $\mu$ gから約1mgの化合物を含む、本発明1023の薬学的組成物。

[本発明1026]

有効量が組成物1gあたり約0.1  $\mu$ gから約500  $\mu$ gの化合物を含む、本発明1023の薬学的組成物。

[本発明1027]

ビタミンD受容体に拮抗する方法であって、本発明1014の化合物の有効量または本発明1014の化合物の有効量を含む薬学的組成物を対象に投与する段階を含み、対象に投与した化合物がビタミンD受容体に拮抗する、方法。

[本発明1028]

生物学的状態を予防または処置する方法であって、本発明1014の化合物の有効量または本発明1014の化合物の有効量を含む薬学的組成物を、高カルシウム血症、副甲状腺機能亢進症、サルコイドーシス、およびビタミンD中毒からなる群より選択される生物学的状態を患っている対象に投与する段階を含む、方法。

[本発明1029]

前記化合物または組成物を経口、非経口、直腸、経皮、または局所投与する、本発明1027の方法。

[本発明1030]

前記化合物または組成物を、エアロゾルで化合物または薬学的組成物を送達することによって投与する、本発明1027の方法。

本技術のさらなる特徴および利点は、以下の詳細な説明および図面から明らかになるであろう。

【図面の簡単な説明】

【0017】

図1～5は、(20R,22E)-2-メチレン-25-(4-メチルペンタノイル)-24-オキソ-26,27-シクロ-22-デヒドロ-1-ヒドロキシ-19-ノルビタミンD<sub>3</sub>（図面では「PP-48」と記載）の様々な生物活性を、天然ホルモン、1,25-ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub>（図面では「1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>」）と記載）の活性と比較して示す。図6～10は、(20R,22E,24R)-25-カルボブチルスルファ

10

20

30

40

50

ニル-2-メチレン-26,27-シクロ-22-デヒドロ-1,24-ジヒドロキシ-19-ノルビタミンD<sub>3</sub> (図面では「AS-51」と記載)の様々な生物活性を、天然ホルモンの活性と比較して示す。

【図1】PP-48と天然ホルモン、1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>との間の、核内ビタミンDホルモン受容体への競合的結合のグラフを示す。PP-48は核内ビタミンD受容体に、天然ホルモンよりも低い親和性で結合する。

【図2】PP-48の濃度の関数としてのHL-60細胞分化の割合(%)を、1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>のものと比較するグラフである。PP-48の効力は、HL-60細胞の単球への分化を引き起こす上で、天然ホルモンの約10分の1である。

【図3】PP-48のインビトロ転写活性を、1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>の活性と比較するグラフである。骨細胞において、PP-48の効力は、24-ヒドロキシラーゼ遺伝子の転写を増大させる上で、天然ホルモンの約10分の1であり、拮抗活性は示さない。

【図4】ラットにおけるPP-48の骨カルシウム動員活性を、1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>の活性と比較する棒グラフである。PP-48は、試験した用量では、貯蔵骨カルシウムの放出において基本的に不活性である。

【図5】ラットにおけるPP-48の腸カルシウム輸送活性を、1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>の活性と比較する棒グラフである。PP-48は、腸カルシウム輸送を促進する上で、天然ホルモンとほぼ同等の効力を示す。

【図6】AS-51と1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>との間の核内ビタミンDホルモン受容体への競合的結合のグラフを示す。AS-51は核内ビタミンD受容体への結合に対し、天然ホルモンとほぼ同等の親和性で競合する。

【図7】AS-51の濃度の関数としてのHL-60細胞分化の割合(%)を、1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>のものと比較するグラフである。AS-51は細胞分化を有効に促進しないが、HL-60細胞の単球への分化を引き起こす上で、天然ホルモンの強力な阻害剤である。

【図8】AS-51のインビトロ転写活性を1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>の活性と比較するグラフである。骨細胞において、AS-51の効力は、24-ヒドロキシラーゼ遺伝子の転写を増大させる上で、天然ホルモンの約60分の1である。AS-51は天然ホルモンによって刺激された遺伝子トランス活性化を阻害する。

【図9】ラットにおけるAS-51の骨カルシウム動員活性を、1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>の活性と比較する棒グラフである。AS-51は、試験した用量では、貯蔵骨カルシウムの放出において基本的に不活性である。

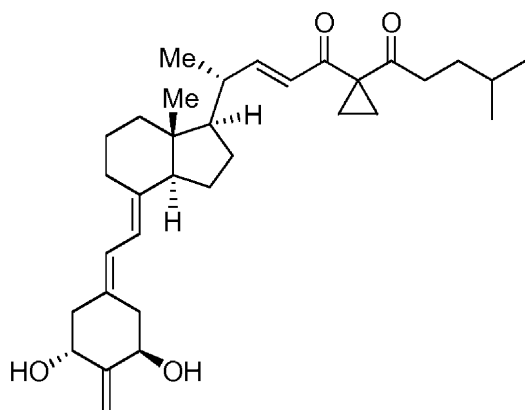
【図10】ラットにおけるAS-51の腸カルシウム輸送活性を、1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>の活性と比較する棒グラフである。AS-51は、腸カルシウム輸送を促進する上で、低用量では天然ホルモンよりも低い効力を示す。

【発明を実施するための形態】

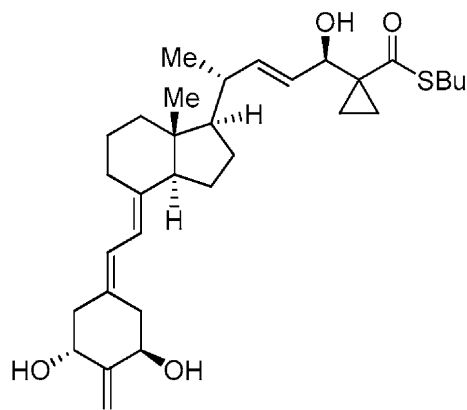
【0018】

詳細な説明

(20R,22E)-2-メチレン-25-(4-メチルペンタノイル)-24-オキソ-26,27-シクロ-22-デヒドロ-1-ヒドロキシ-19-ノルビタミンD<sub>3</sub>および(20R,22E,24R)-25-カルボブチルスルファニル-2-メチレン-26,27-シクロ-22-デヒドロ-1,24-ジヒドロキシ-19-ノルビタミンD<sub>3</sub>を合成し、試験し、本明細書に記載の様々な生物学的状態を処置する上で有用であることが判明した。構造的には、これらの化合物は以下に示す式IIIAおよびVIIIAを有する。



IIIA



VIIIA

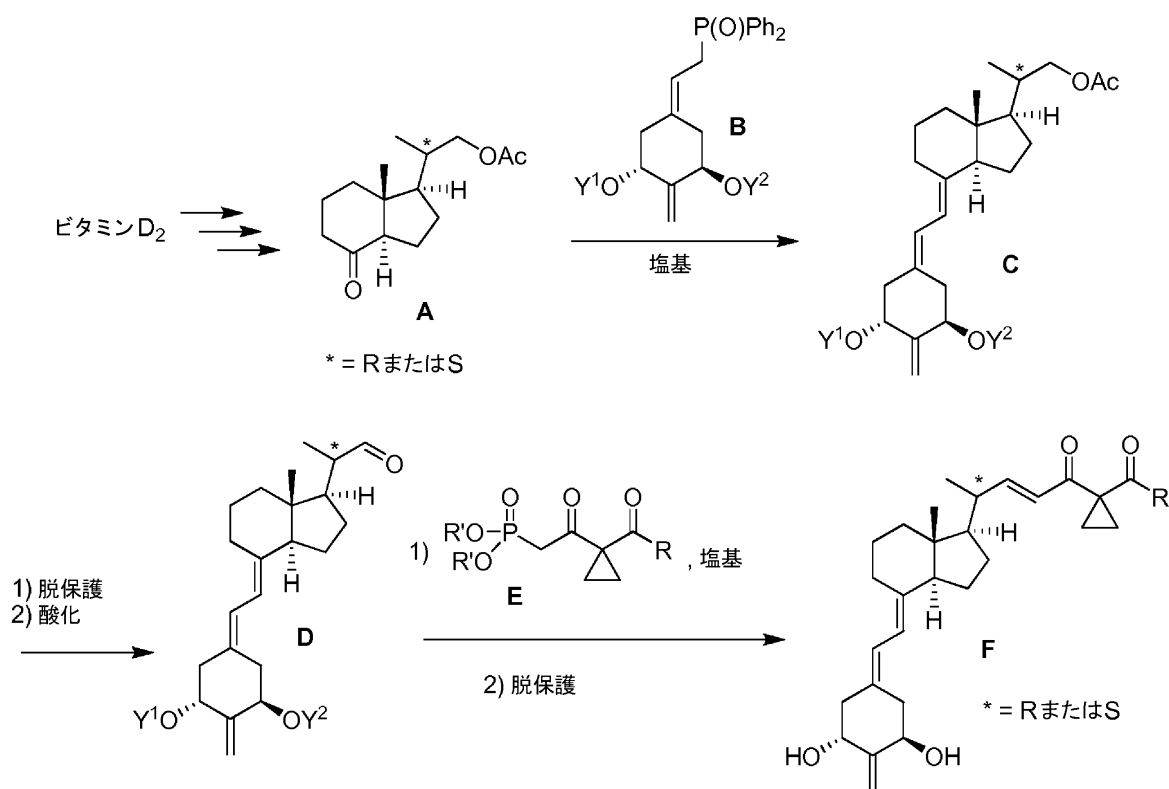
10

## 【 0 0 1 9 】

(22E)-2-メチレン-25-アルカノイル-24-オキソ-26,27-シクロ-22-デヒドロ-1 $\beta$ -ヒドロキシ-19-ノルビタミンD<sub>3</sub>誘導体(F)の調製は、一般にはビタミンD<sub>2</sub>から誘導される前駆体を用いて達成することができる(スキーム1)。特に、適切な二環式ウィンドウス-グラドマン型ケトンAをアリルホスフィンオキシド試薬Bと縮合することにより、2-メチレン-19-ノルビタミンD中核を有する三重保護化合物Cを得る。酢酸エステル保護アルコールの脱保護と、続く酸化により、アルデヒドDを得る。シクロプロパン含有側鎖を、試薬Eによるウィッティヒ-ホーナーオレフィン化を介して導入する。続く脱保護(すなわち、Y<sup>1</sup>およびY<sup>2</sup>基の除去)により、(22E)-2-メチレン-25-アルカノイル-24-オキソ-26,27-シクロ-22-デヒドロ-1 $\beta$ -ヒドロキシ-19-ノルビタミンD<sub>3</sub>(F)を得る。

20

## スキーム1



30

40

## 【 0 0 2 0 】

二環式ケトンAの20R-および20S-ジアステレオマーは、例えば、それぞれ本明細書において完全に示すがごとく、その全体があらゆる目的のために参照により本明細書に組み入

50

れられる、米国特許第7,915,242号および第7,713,953号に記載の公知の方法、または当業者であれば容易に明らかになり、かつ本明細書に記載の、公知の方法のわずかな改変のいずれかによって容易に調製することができる。二環式ケトンAの20R-ジアステレオマーを調製するための詳細を、本明細書の実施例に示す。ビタミンD類縁体を合成するために用いる、いくつかの重要な二環式ケトンの具体例は、Mincione et al., *Synth. Commun.* 19, 723, (1989); および Peterson et al., *J. Org. Chem.* 51, 1948, (1986)に記載のものである。2-アルキリデン-19-ノルビタミンD化合物を合成するための全工程は、米国特許第5,843,928号に例示および記載されており、これは本明細書において完全に示すがごとく、その全体があらゆる目的のために参照により本明細書に組み入れられる。

【0021】

ホスフィンオキシドBにおいて、Y<sup>1</sup>およびY<sup>2</sup>はシリル保護基などのヒドロキシ保護基である。t-ブチルジメチルシリル (TBDMSまたはTBS) 基は、特に有用なヒドロキシ保護基の例である。前述の工程は、収束的合成概念の適用であり、多くのビタミンD化合物の調製に有効に適用されている (Lythgoe et al., *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 590 (1978); Lythgoe, *Chem. Soc. Rev.* 9, 449 (1983); Toh et al., *J. Org. Chem.* 48, 1414 (1983); Baggolini et al., *J. Org. Chem.* 51, 3098 (1986); Sardina et al., *J. Org. Chem.* 51, 1264 (1986); *J. Org. Chem.* 51, 1269 (1986); DeLuca et al., 米国特許第5,086,191号; DeLuca et al., 米国特許第5,536,713号; および DeLuca et al., 米国特許第5,843,928号を参照されたく、これらはすべて、本明細書において完全に示すがごとく、その全体があらゆる目的のために参照により本明細書に組み入れられる)。

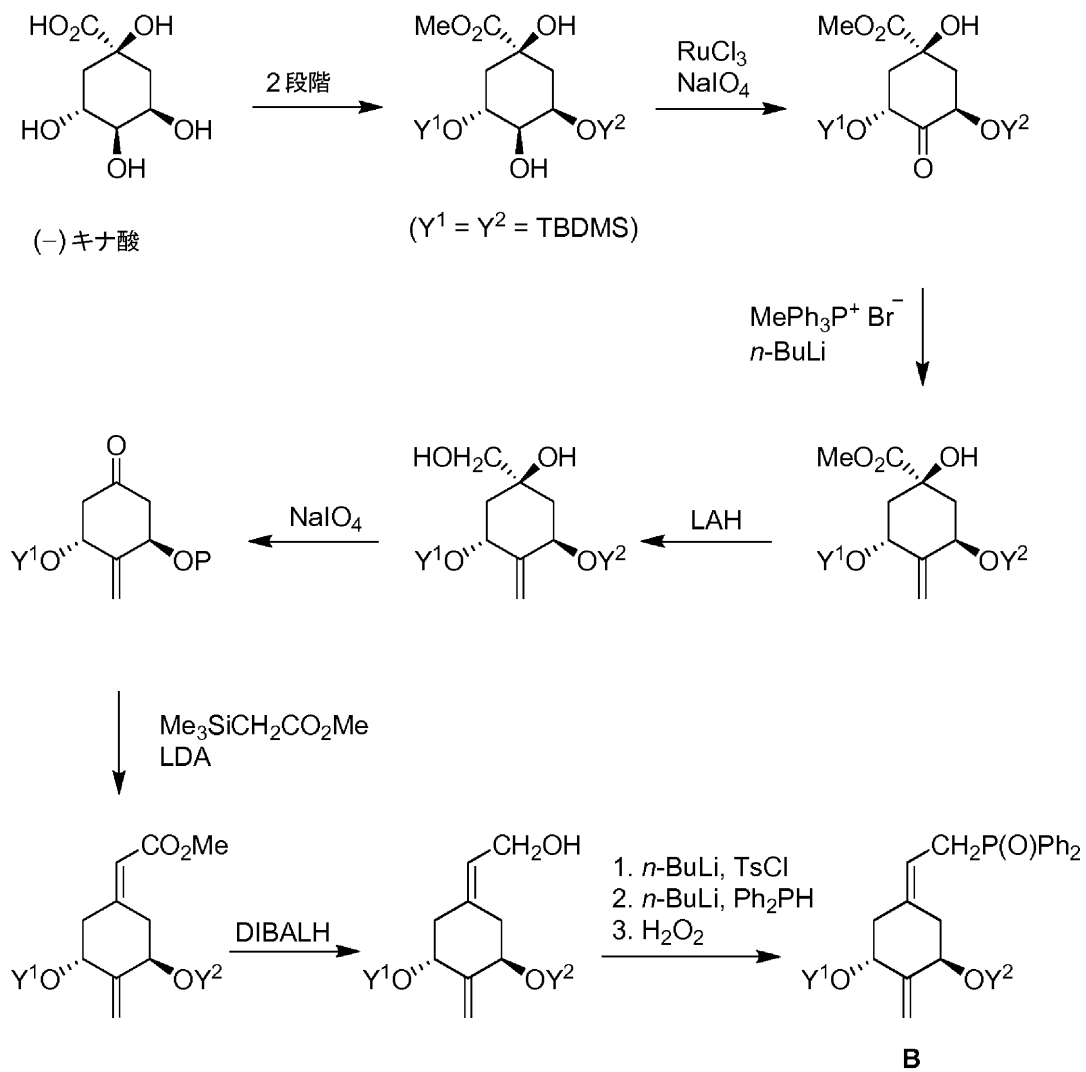
【0022】

ホスフィンオキシドBは便利な試薬で、Sicinski et al., *J. Med. Chem.*, 41, 4662 (1998)、DeLuca et al., 米国特許第5,843,928号; Perlman et al., *Tetrahedron Lett.* 32, 7663 (1991); および DeLuca et al., 米国特許第5,086,191号に記載の手順に従って調製してもよい。スキーム2は、本明細書において完全に示すがごとく、その全体があらゆる目的のために参照により本明細書に組み入れられる、米国特許第5,843,928号に概略が示されている、ホスフィンオキシドB (Y<sup>1</sup>およびY<sup>2</sup>はTBDMS基である) を合成するための一般的手順を示す。

10

20

## スキーム2



10

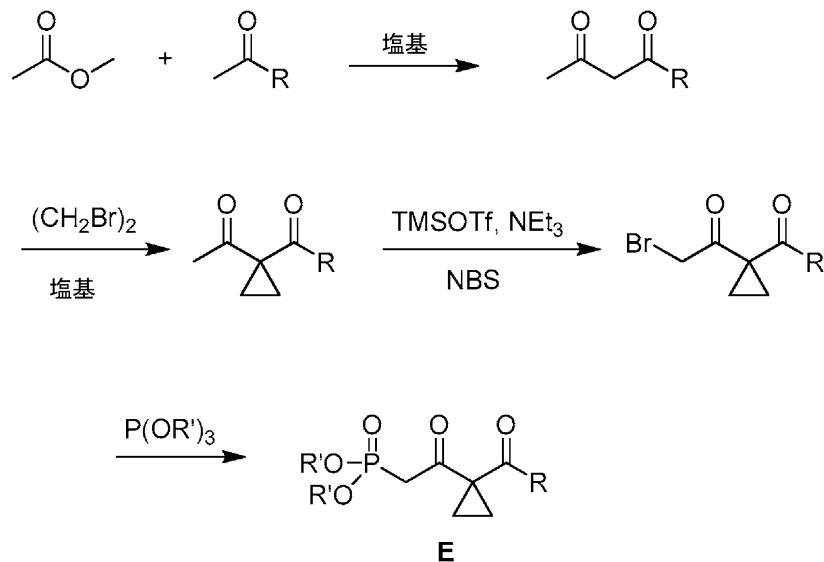
20

30

## 【 0 0 2 3 】

スキーム1からのウィッティヒ-ホーナー試薬Eは、当業者であれば容易に明らかになり、かつ本明細書に記載の、公知の方法のわずかな改変によって調製してもよい。スキーム3を参照して、酢酸メチルのメチルケトンとのクライゼン型縮合により1,3-ジケトンを得、これを塩基存在下でのジプロモエタンとの反応後に、1,1-二置換シクロプロパンを得る。メチルケトンの臭素化と、その後のトリアルキルホスファイトによるアルブーゾフ転位により、ホスホネート試薬Eを得る。クライゼン縮合反応において様々なメチルケトンを用いることにより、多様なホスホネート試薬をモジュラー様式で調製してもよい。

## スキーム3



10

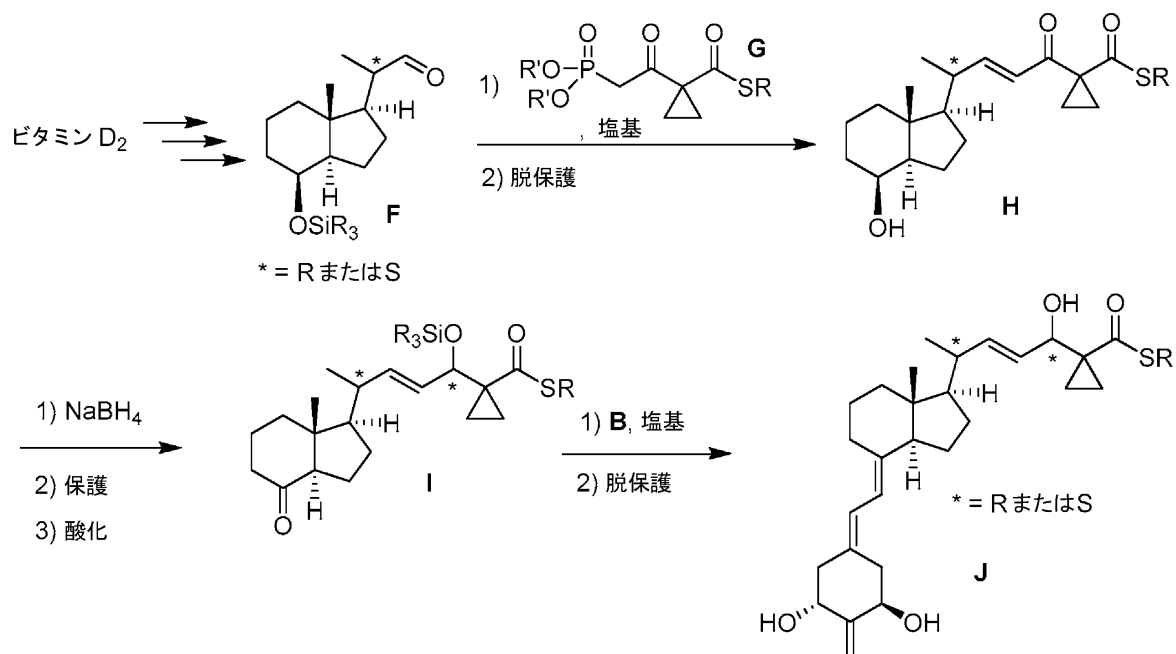
## 【 0 0 2 4 】

(22E)-25-カルボアルキルスルファニル-2-メチレン-26,27-シクロ-22-デヒドロ-1,24-ジヒドロキシ-19-ノルビタミンD<sub>3</sub>誘導体の調製は、一般にはビタミンD<sub>2</sub>から誘導される前駆体を用いて達成することができる(スキーム4)。特に、保護アルデヒドFのホスホネート試薬Gとの反応と、その後の脱保護により、化合物Hを得る。二環式アルデヒドFは、例えば、それぞれ本明細書において完全に示すがごとく、その全体があらゆる目的のために参照により本明細書に組み入れられる、米国特許第7,915,242号および第7,713,953号に記載の公知の方法、または当業者であれば容易に明らかになり、かつ本明細書に記載の、公知の方法のわずかな改変によって、ジアステレオマーとして純粋な形で容易に調製することができる。Hのエノンの水素化ホウ素による還元と、その後のアリルアルコールの選択的保護および環ヒドロキシル基のさらなる酸化により、グラントマン型ケトンIを得る。用いる還元試薬条件に応じて、Hのエノンの還元は異なるレベルのジアステレオ制御で起こりえ、したがって24Rおよび24Sエピマー(容易に分離可能)の両方を得ることができる。IのホスフィンオキシドBとの反応と、続く包括的脱保護により、(22E)-25-カルボアルキルスルファニル-2-メチレン-26,27-シクロ-22-デヒドロ-1,24-ジヒドロキシ-19-ノルビタミンD<sub>3</sub>誘導体Jを得る。

20

30

## スキーム 4

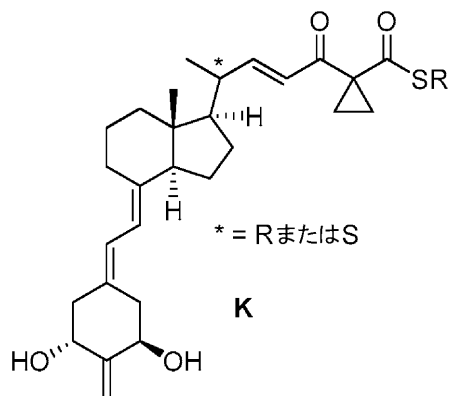


10

20

## 【 0 0 2 5 】

(22E)-25-カルボアルキルスルファニル-2-メチレン-24-オキソ-26,27-シクロ-22-デヒドロ-1-ヒドロキシ-19-ノルビタミンD<sub>3</sub>誘導体K:



30

の調製は下記を含むが、それらに限定されるわけではない、いくつかの戦略によって達成してもよい：(i) 化合物Hのシクロヘキサノンへの直接酸化と、その後の塩基存在下でのホスフィンオキシドBとの反応、および続く脱保護、または(ii) 米国特許第7,915,242号に同様に示される、ホスホネートGのスキームIからのアルデヒドDとの反応と、その後の脱保護。

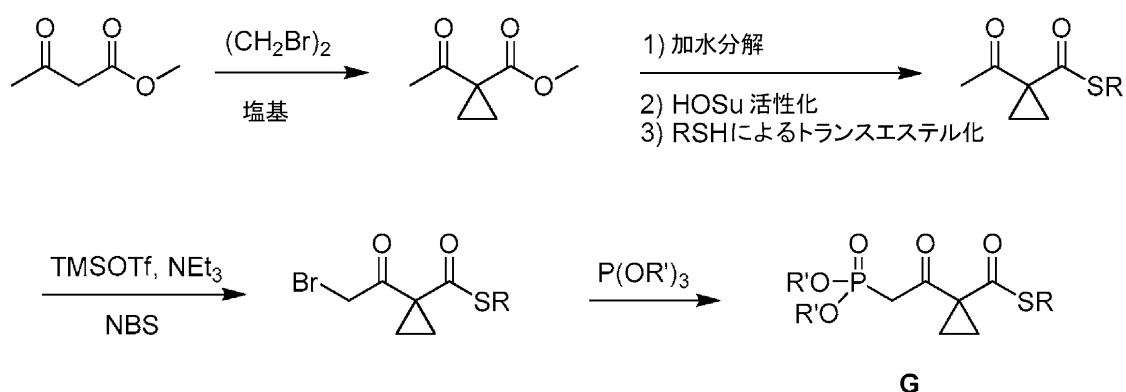
## 【 0 0 2 6 】

40

ホスホネート試薬Gは、当業者であれば容易に明らかになり、かつ本明細書に記載の、公知の方法のわずかな改変によって調製してもよい。スキーム5に示すとおり、アセト酢酸メチルの塩基存在下でのジプロモエタンとの反応により、1-アセチルシクロプロパンカルボン酸メチルを得る。エステル基の加水分解、カルボン酸のN-ヒドロキシスクシンイミドエステルとしての活性化、および続くアルカンチオールでの置換により、1-アセチルシクロプロパンカルボチオ酸S-アルキルを得る。メチルケトンの -ブロム化と、その後のトリアルキルホスファイトによるアルブーゾフ転位により、ホスホネート試薬Gを得る。トランスエステル化反応において様々なアルカンチオールを用いることにより、多様な試薬をモジュラー様式で調製してもよい。



## スキーム 5



10

## 【 0 0 2 7 】

本明細書において用いられる「ヒドロキシ保護基」なる用語は、アルコキシカルボニル、アシル、アルキルシリルまたはアルキルアリールシリル基（以下、単に「シリル」基と呼ぶ）、およびアルコシアルキル基などであるが、それらに限定されるわけではない、ヒドロキシ（-OH）官能基の一時的保護のために一般に用いられる任意の基を意味する。アルコキシカルボニル保護基は、メトキシカルボニル、エトキシカルボニル、プロポキシカルボニル、イソプロポキシカルボニル、ブトキシカルボニル、イソブトキシカルボニル、tert-ブトキシカルボニル、ベンジルオキシカルボニルまたはアリルオキシカルボニルなどの、アルキル-O-CO-基である。「アシル」なる用語は、その異性体すべて、炭素1~6個のアルカノイル基、またはオキサリル、マロニル、スクシニル、グルタリル基などの、炭素1~6個のカルボキシアルカノイル基、あるいはベンゾイル、またはハロ、ニトロもしくはアルキル置換ベンゾイル基などの芳香族アシル基を意味する。アルコシアルキル保護基は、メトキシメチル、エトキシメチル、メトキシエトキシメチル、またはテトラヒドロフランおよびテトラヒドロピランなどの基である。好ましいシリル保護基は、トリメチルシリル、トリエチルシリル、t-ブチルジメチルシリル、ジブチルメチルシリル、ジフェニルメチルシリル、フェニルジメチルシリル、ジフェニル-t-ブチルシリルおよび類似のアルキル化シリル基である。「アリール」なる用語は、フェニル-、またはアルキル-、ニトロ-もしくはハロ-置換フェニル基を意味する。ヒドロキシ官能基の保護基の広範なリストは、Protective Groups in Organic Synthesis, Greene, T.W.; Wuts, P. G. M., John Wiley & Sons, New York, NY, (3rd Edition, 1999)において見いだされ、これらはその中に示される手順を用いて付加または除去することができ、その内容は本明細書において完全に示すがごとく、その全体があらゆる目的のために参照により本明細書に組み入れられる。

20

30

## 【 0 0 2 8 】

「保護ヒドロキシ」基は、ヒドロキシ官能基の一時的または永久保護のために一般に用いられる任意の前述の基、例えば、前に規定したシリル、アルコシアルキル、アシルまたはアルコキシカルボニル基によって誘導体化または保護されたヒドロキシ基である。

40

## 【 0 0 2 9 】

本技術の化合物は、著しい生物活性を示す。PP-48およびAS-51はいずれもビタミンD受容体に結合する（図1および図6）。PP-48は、細胞培養においてHL-60分化を引き起こす上で活性であり、24-ヒドロキシラーゼ転写において活性を示すが、天然ホルモンからは低減している（図2および図3）。これに対し、AS-51は細胞分化を有効に促進しないが、HL-60細胞の単球への分化を引き起こす上で、天然ホルモンの強力な阻害剤である。24-ヒドロキシラーゼ活性の場合、AS-51の効力は、遺伝子トランス活性化を引き起こす上で、天然ホルモンの約60分の1であり、さらに天然ホルモンによって刺激された遺伝子トランス活性化を阻害する。インビボ試験により、PP-48またはAS-51のいずれも、骨からカルシウムを動員するいかなる検出可能な能力も示さないことが判明した（図4および図9）。イン

50

ピボでPP-48およびAS-51はいずれも非常に高い用量（例えば、2340～2600pmol）で腸カルシウム輸送活性を増大させたが、中等度の用量ではPP-48だけがそのような輸送を有意に増大させた（図5および図10参照）。

#### 【0030】

PP-48の生物活性を考慮して、本技術の式II、IIA、IIB、IIIA、およびIIIBの化合物を、免疫系の不均衡によって特徴付けられるヒト障害、例えば、多発性硬化症、狼瘡、真性糖尿病、宿主対移植片反応、および臓器移植の拒絶を含む自己免疫疾患の処置および予防のために；加えて、関節リウマチ、喘息、ならびにセリアック病、潰瘍性結腸炎およびクローン病などの炎症性腸疾患などの炎症疾患の処置のために用いてもよい。さらに、慢性腎不全を患っている患者では、血清カルシウムが正常値を超えて上昇するのは、心臓、大動脈および他の生命維持に必要な臓器の石灰化の恐れがあって望ましくないため、副甲状腺増殖およびブレプロ副甲状腺遺伝子の転写を抑制する一方で、これらの患者の続発性副甲状腺機能亢進症の処置においてPP-48ならびに式II、式IIA、および式IIBの化合物は有用であろう。

10

#### 【0031】

PP-48の比較的高い細胞分化活性を考慮して、式II、IIA、IIB、IIIA、およびIIIBの化合物を乾癬の処置において、または特に白血病、結腸癌、乳癌および前立腺癌に対する抗癌剤として用いてもよい。加えて、それらの比較的高い細胞分化活性により、これらの化合物は、しわ、十分な皮膚水分補給の不足、すなわち、乾燥皮膚、皮膚の十分な締まりの欠如、すなわち、たるんだ皮膚、および不十分な皮脂分泌を含む、様々な皮膚の状態の処置のための治療薬を提供する。したがって、これらの化合物の使用は、皮膚に潤いを与える結果となるだけでなく、皮膚のバリア機能も改善する。

20

#### 【0032】

他の態様において、肥満を予防もしくは処置する、脂肪細胞分化を阻害する、SCD-1遺伝子転写を阻害する、および/または体脂肪を低減する方法が提供される。方法は、例えば、式II、IIA、IIB、IIIA、もしくはIIIBの化合物の有効量、またはそのような化合物の有効量を含む薬学的組成物をそれを必要としている対象に投与する段階を含む。

#### 【0033】

AS-51のビタミンD受容体のアンタゴニストとしての生物活性を考慮して、本技術の式IV、IVA、VA、VB、VIA、VIB、VIC、VID、VIIA、VIIB、VIIIA、VIIBB、VIIIC、およびVIIDの化合物を、過剰の $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の存在によって特徴付けられる障害の処置および予防のために用いてもよい。これに関して、そのような化合物は高カルシウム血症、副甲状腺機能亢進症、サルコイドーシス、またはビタミンD中毒を処置する上で有用でありうる。そのような化合物は、喘息または皮膚炎などの状態を処置するために用いてもよい。

30

#### 【0034】

本技術の任意の化合物を用いて、本技術の化合物を薬学的に許容される担体との組み合わせで含む、薬学的製剤または医用薬剤を調製してもよい。そのような薬学的製剤および医用薬剤は、本明細書に記載のものなどの様々な生物学的障害を処置するために用いうる。そのような障害を処置する方法は、典型的には化合物の有効量または化合物を含む薬学的製剤もしくは医用薬剤の適切な量を、生物学的障害を患っている対象に投与する段階を含む。対象は、本発明の化合物から利益を得ると考えられる任意の動物でありうる。いくつかの態様において、対象は哺乳動物または鳥である。いくつかの態様において、哺乳動物は齧歯類、霊長類、ウシ、ウマ、イヌ、ネコ、クマ、ブタ、ウサギ、またはモルモットから選択される。いくつかのそのような態様において、哺乳動物はラットまたはマウスである。いくつかの態様において、対象はヒトなどの霊長類である。

40

#### 【0035】

処置の目的のために、本発明の任意の化合物を、当技術分野において公知の通常の方法に従い、無害な溶媒中の溶液として、または適切な溶媒もしくは担体中の乳濁液、懸濁液もしくは分散液として、または固体担体と共に丸剤、錠剤もしくはカプセル剤として、薬学的適用のために製剤してもよい。任意のそのような製剤は、安定化剤、抗酸化剤、結合

50

剤、着色剤または乳化もしくは食味改変剤などの、他の薬学的に許容され、非毒性の賦形剤を含んでいてもよい。薬学的に許容される賦形剤および担体は一般に当業者には公知であり、したがって本技術に含まれる。そのような賦形剤および担体は、例えば、'Remingtons Pharmaceutical Sciences,' Mack Pub. Co., New Jersey (1991)に記載されており、これは本明細書において完全に示すがごとく、その全体があらゆる目的のために参照により本明細書に組み入れられる。

#### 【0036】

化合物は、経口、鼻、直腸、局所、非経口、または経皮投与してもよい。化合物は、注射もしくは静脈内注入により、または適切な無菌溶液、または消化管を介して液体もしくは固体剤形で、またはクリーム、軟膏、パッチ、もしくは経皮適用に適した類似の媒体の剤形で、都合よく投与する。いくつかの態様において、1日あたり化合物0.001  $\mu\text{g}$  ~ 約1mgの用量が処置の目的のために適切である。いくつかのそのような態様において、適切かつ有効な用量は1日あたり化合物0.01  $\mu\text{g}$  ~ 1mgの範囲でありうる。他のそのような態様において、適切かつ有効な用量は1日あたり化合物0.1  $\mu\text{g}$  ~ 500  $\mu\text{g}$ の範囲でありうる。そのような用量は、当技術分野において十分に理解されたとおり、処置する疾患または状態の種類、疾患または状態の重症度、および対象の反応に応じて調節することになる。化合物は単独で、または別の活性ビタミンD化合物と共に、適切に投与してもよい。

#### 【0037】

いくつかの態様において、本技術の組成物は、活性成分として式I、IA、IB、II、IIA、IIB、IIIA、IIIB、IV、IVA、IVB、VA、VB、VIA、VIB、VIC、VID、VIIA、VIIB、IIIA、VIIB、IIIC、またはIIIDの化合物の有効量、および適切な担体を含む。本技術のいくつかの態様に従って用いるための化合物の有効量は、一般には本明細書に記載のものなどの用量であり、経口、局所、経皮、鼻、直腸、または非経口投与してもよい。

#### 【0038】

前述の用量は適切であるが、当技術分野において十分に理解されたとおり、投与する量は疾患の重症度、ならびに対象の状態および反応に応じて調節すべきであることが理解される。

#### 【0039】

化合物は、クリーム、ローション、軟膏、エアロゾル、坐剤、局所パッチ、丸剤、カプセル剤もしくは錠剤として、または薬学的に無害かつ許容される溶媒もしくは油中の液剤、乳剤、分散剤、もしくは懸濁剤などの液体の剤形で製剤してもよく、そのような調製物は、さらに、安定化剤、抗酸化剤、乳化剤、着色剤、結合剤または食味改変剤などの、他の薬学的に無害または有益な成分を含有してもよい。

#### 【0040】

本技術の製剤は、活性成分を、薬学的に許容される担体、および任意に他の治療成分と共に含む。担体は、製剤の他の成分と適合性であり、その受容者に対して有害でないという意味で、「許容され」なければならない。

#### 【0041】

経口投与に適した本技術の製剤は、それぞれあらかじめ決められた量の活性成分を含む、カプセル剤、サシェ剤、錠剤もしくはロゼンジ剤などの分離した単位の剤形；散剤もしくは顆粒剤の剤形；水性液体もしくは非水性液体中の液剤もしくは懸濁剤の剤形；または水中油乳剤もしくは油中水乳剤の剤形であってもよい。

#### 【0042】

直腸投与用の製剤は、活性成分およびカカオ脂などの担体を組み込んでいる坐剤の剤形、または浣腸剤の剤形であってもよい。

#### 【0043】

非経口投与に適した製剤は、好ましくは受容者の血液と等張性である、活性成分の無菌油性または水性調製物を都合よく含む。

#### 【0044】

局所投与に適した製剤は、リニメント、ローション、塗布剤や、クリーム、軟膏もしくは

10

20

30

40

50

はペーストなどの水中油もしくは油中水乳剤などの液体もしくは半液体調製物；または滴剤などの液剤もしくは懸濁剤；または噴霧剤を含む。

【0045】

鼻投与のために、噴射缶、ネブライザーまたはアトマイザーにより投与する、散剤、自己噴射または噴霧製剤の吸入を用いることができる。製剤は、投与する場合、好ましくは10～100 μmの範囲の粒径を有する。

【0046】

製剤は、用量単位剤形で都合よく提供してもよく、薬学の分野において周知の任意の方法によって調製してもよい。「用量単位」なる用語は、活性成分をそれ自体、または活性成分と固体もしくは液体の薬学的希釈剤もしくは担体との混合物のいずれかを含む、物理的および化学的に安定な単位用量として患者に投与することができる、単位の、すなわち1回用量を意味する。

10

【0047】

本明細書において引用するすべての参考文献は、本明細書において完全に示すがごとく、その全体があらゆる目的のために参照により特に本明細書に組み入れられる。

【0048】

本技術を以下の実施例によってさらに例示するが、これらはいかなる様式でも限定的と解釈されるべきではない。

【実施例】

【0049】

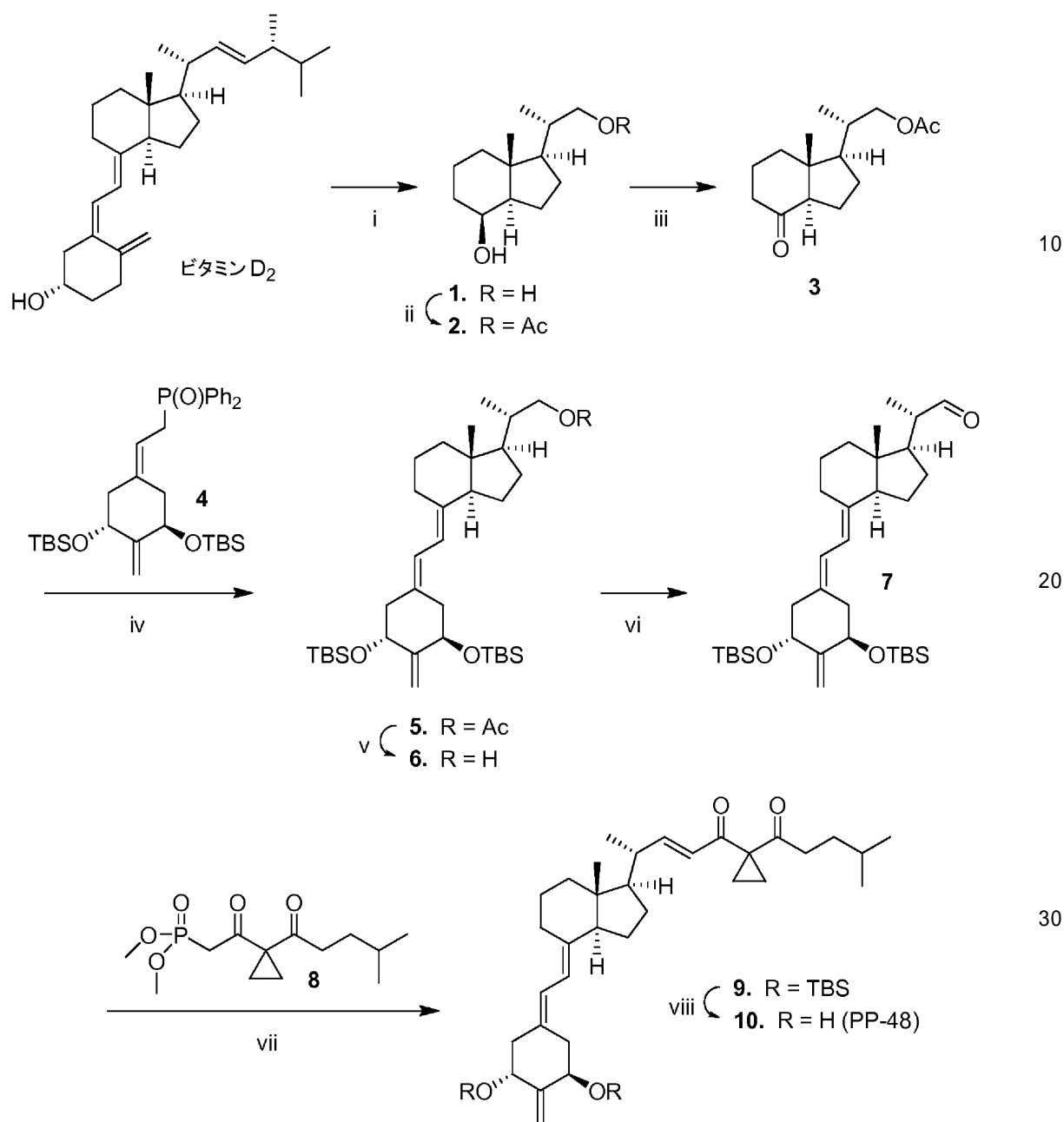
20

実施例1：(20R,22E)-2-メチレン-25-(4-メチルペンタノイル)-24-オキソ-26,27-シクロ-22-デヒドロ-1-ヒドロキシ-19-ノルビタミンD<sub>3</sub>の合成

式I、式IA、式II、式IIA、式III、および式IIIAの化合物を、スキーム6に示す方法を用いて調製した。式IB、式IIB、および式IIIBの化合物は、1の20Rジアステレオマーを用い、類似の手順を用いて調製しうる。スキーム6に示すとおり、化合物1をSicinski et al. (J. Med. Chem. 41, 4662-4672, 1998) によって記載されるビタミンD<sub>2</sub>のオゾン分解と、その後の水素化ホウ素での還元により得た。ジアルコール1のDMAPおよびトリエチルアミン存在下、無水酢酸での処理により、酢酸エステル2を得た。化合物2をPDCで酸化してケトン3を得た。ケトン3のフェニルリチウム存在下、ホスフィンオキシド4とのウィッティヒ-ホーナー縮合により、酢酸エステル保護した5を得た。環Aホスフィンオキシド化合物4をスキーム2に示し、前述したとおりに合成した。化合物5のメタノリシスによりアルコール6を得、これをスワーン型条件下で酸化して、アルデヒド7を得た。ホスホネート試薬8によりオレフィン化して保護エノン9を得た。シリルエーテルのCSAでの脱保護により、化合物10 (PP-48) を得た。

30

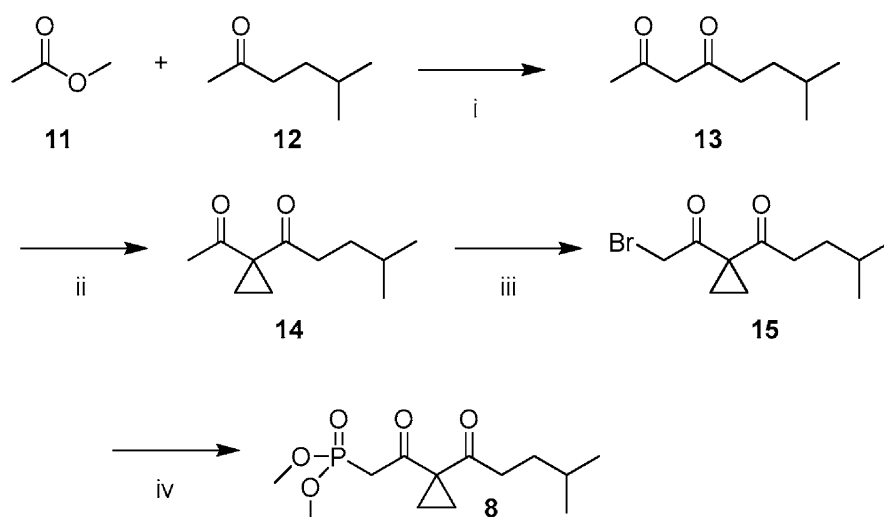
## スキーム 6



## 【 0 0 5 0 】

ホスホネート試薬8をスキーム7に示すとおりに調製した。酢酸メチル(11)の5-メチルヘキサン-2-オン(12)との、エーテル中水素化ナトリウム存在下での反応により、7-メチルオクタン-2,4-ジオン(13)を得た。ジオン13を塩基存在下、ジブロモエタンで処理して、シクロプロパン14を得た。シクロプロパン14のブロム化により、-ブロモ化合物15を得た。トリメチルホスファイトによるアルブーゾフ転位により、ホスホネート試薬8を得た。

## スキーム 7



(i) **11**, **12**, NaH, Et<sub>2</sub>O, 71%; (ii) (CH<sub>2</sub>Br)<sub>2</sub>, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, TBAB, MeCN, 41%; (iii) TMSOTf, Et<sub>3</sub>N, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, NBS, 28%; (iv) P(OMe)<sub>3</sub>, PhMe, 68%.

【 0 0 5 1 】

(20S)-デス-A,B-23,24-ジノルコラン-8, 22-ジオール (1)

メタノール (400ml) およびピリジン (5ml) 中のビタミンD<sub>2</sub> (5.00g ; 12.7mmol) の溶液を、アルゴンでパージしながら -78 ° に冷却した。アルゴン気流を停止し、オゾンの気流を、青色が現れるまで通気した。溶液を酸素で青色が消失するまでパージし、水素化ホウ素ナトリウム (1.20g ; 31.7mmol) で処理した。20分後、水素化ナトリウムの第二の部分 (1.20g ; 31.7mmol) を加え、反応混合物を室温まで加温した。水素化ナトリウムの第三の部分 (1.20g ; 31.7mmol) を加え、反応混合物を室温で終夜撹拌した。水 (70ml) で反応停止し、減圧下で濃縮した。残渣を塩化メチレン (3 × 100ml) で抽出した。有機相を HCl の 1M 水溶液 (2 × 100ml)、NaHCO<sub>3</sub> の飽和水溶液 (100ml) で洗浄し、無水MgSO<sub>4</sub> で乾燥し、減圧下で濃縮した。残渣をフラッシュクロマトグラフィ (25% 酢酸エチル/ヘキサン) で精製して、2.05g (9.69mmol ; 収率76%) のジオール1を白色結晶で得た。

[α]<sub>D</sub> = +56.0 (c 0.95, CHCl<sub>3</sub>); mp 110-111 °C; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 0.96

(3H, s), 1.03 (3H, d, *J* = 6.6 Hz), 3.38 (1H, dd, *J* = 10.5 Hz, *J* = 6.8 Hz), 3.64 (1H, dd, *J* = 10.5 Hz, *J* = 3.2 Hz), 4.09 (1H, d, *J* = 2.3 Hz); <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 13.6, 16.6, 17.4, 22.6, 26.6, 33.5, 38.2, 40.2, 41.3, 52.3, 52.9, 67.8, 69.2; MS (EI) *m/z* 212 (M<sup>+</sup>, 2), 194 (17), 179 (18), 163 (10), 135 (19), 125 (34), 111 (100); exact mass calculated for C<sub>13</sub>H<sub>22</sub>O ([M - H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>)

194.1671, found 194.1665

【 0 0 5 2 】

(20S)-デス-A,B-22-(アセトキシ)-23,24-ジノルコラン-8 -オール (2)

塩化メチレン (5ml) 中の1 (54mg ; 0.26mmol) およびトリエチルアミン (50 μl ; 36mg ; 0.36mmol) の撹拌溶液に、無水酢酸を -5 ° で滴加した。反応混合物を4 ° で終夜維持した。次いで、塩化メチレン (30ml) を加え、混合物を水 (7ml) で洗浄した。有機相を無水MgSO<sub>4</sub> で乾燥し、減圧下で濃縮して、65mg (0.25mmol ; 収率98%) の2を得た。

$[\alpha]_D = +33.7$  (c 0.90,  $\text{CHCl}_3$ ); mp 78-80 °C;  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.96 (3H, s), 1.00 (3H, d,  $J = 6.6$  Hz), 2.05 (3H, s), 3.77 (1H, dd,  $J = 10.6$  Hz,  $J = 7.7$  Hz), 4.06 (1H, dd,  $J = 10.6$  Hz,  $J = 3.3$  Hz), 4.11 (1H, br s);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  13.5, 17.0, 17.4, 21.0, 22.5, 26.6, 33.5, 35.3, 40.2, 41.9, 52.3, 53.2, 69.1, 69.4, 171.4; MS (EI)  $m/z$  254 ( $\text{M}^+$ , 2), 236 (5), 205 (2), 194 (12), 176 (22), 161 (14), 135 (16), 125 (34), 111 (100); exact mass (ESI) calculated for  $\text{C}_{15}\text{H}_{23}\text{O}_3\text{Na}$  ( $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ) 277.1780, found 277.1791

【 0 0 5 3 】

(20S)-デス-A,B-22-(アセトキシ)-23,24-ジノルコラン-8-オン (3)

10

塩化メチレン (12ml) 中の2 (64mg ; 0.25mmol) およびp-トルエンスルホン酸ピリジニウム (10mg ; 0.04mmol) の攪拌溶液に、ニクロム酸ピリジニウム (244mg ; 0.65mmol) を0 で加えた。次いで、冷却浴を取り除き、反応混合物を2.5時間攪拌した。その後、溶媒を減圧下で除去し、残渣をシリカゲルSep-Packカートリッジ (15 ~ 25% 酢酸エチル/ヘキサン) で精製して、55mg (0.22mmol ; 収率87%) の3を得た。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.66 (3H, s), 1.06 (3H, d,  $J = 6.6$  Hz), 2.47 (1H, dd,  $J = 11.5$  Hz,  $J = 7.6$  Hz), 3.82 (1H, dd,  $J = 10.7$  Hz,  $J = 7.2$  Hz), 4.08 (1H, dd,  $J = 10.7$  Hz,  $J = 3.3$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  12.5, 17.2, 19.2, 21.0, 24.0, 27.0, 35.5, 38.8, 40.9, 49.9, 53.3, 61.6, 69.1, 171.3, 211.6; MS (EI)  $m/z$  252 ( $\text{M}^+$ , 18) 237 (18), 220 (24), 205 (64) 192 (80), 124 (100); exact mass (ESI) calculated for  $\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{O}_3\text{Na}$  ( $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ) 275.1623, found 275.1631

20

【 0 0 5 4 】

(20S)-22-アセトキシ-1 -[(tert-ブチルジメチルシリル)オキシ]-2-メチレン-19-ノルホモプレグナカルシフェロールtert-ブチルジメチルシリルエーテル (5)

テトラヒドロフラン (700  $\mu\text{l}$ ) 中の4 (55mg ; 94  $\mu\text{mol}$ ) の攪拌溶液に、シクロヘキサン/エーテル (7/3) 中のフェニルリチウムの1.7M溶液数滴を-25 で濃橙色が持続するまで加えた。次いで、フェニルリチウム溶液の化学量論量 (50  $\mu\text{l}$  ; 85  $\mu\text{mol}$ ) を加えた。20分後、混合物を-78 まで冷却し、テトラヒドロフラン (300  $\mu\text{l}$ ) 中の3 (23mg ; 91  $\mu\text{mol}$ ) の溶液をカニューレで移した。2時間後、冷却浴を取り除き、反応混合物を4 でさらに2時間攪拌した。次いで、 $\text{NH}_4\text{Cl}$ の飽和水溶液 (1ml) 、食塩水 (1ml) および水 (1ml) を加え、混合物をヘキサン (3 x 7ml) で抽出した。有機相を無水 $\text{MgSO}_4$ で乾燥し、減圧下で濃縮した。残渣をシリカゲルSep-Packカートリッジ (0 ~ 3% 酢酸エチル/ヘキサン) で精製して、25mg (40  $\mu\text{mol}$  ; 収率44%) の5を得た。

30

$^1\text{H}$  NMR

(400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.02 (3H, s), 0.05 (3H, s), 0.06 (3H, s), 0.08 (3H, s), 0.57 (3H, s), 0.86 (9H, s), 0.89 (9H, s), 1.03 (3H, d,  $J = 6.6$  Hz), 2.06 (3H, s), 2.18 (1H, dd,  $J = 12.6$  Hz,  $J = 8.3$  Hz), 2.32 (1H, m), 2.46 (1H, dd,  $J = 12.8$  Hz,  $J = 4.5$  Hz), 2.52 (1H, dd,  $J = 13.3$  Hz,  $J = 5.9$  Hz), 2.83 (1H, m), 3.79 (1H, dd,  $J = 10.6$  Hz,  $J = 7.5$  Hz), 4.10 (1H, dd,  $J = 10.6$  Hz,  $J = 3.2$  Hz), 4.43 (2H, m), 4.92 (1H, s), 4.97 (1H, s), 5.84 (1H, d,  $J = 11.1$  Hz), 6.21 (1H, d,  $J = 11.1$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  -5.12, -4.87, 12.1, 17.3, 18.2, 21.0, 22.3, 23.3, 2 x 25.8, 27.2, 28.7, 36.2, 38.5, 40.4, 45.7, 47.6, 53.1, 55.9, 69.5, 71.6, 72.5, 106.3, 116.3, 122.3, 133.0, 140.7, 152.9, 171.4; MS (EI)  $m/z$  484 (100), 366 (25), 230 (44); exact mass calculated for  $\text{C}_{36}\text{H}_{64}\text{O}_4\text{Si}_2$  ( $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ) 639.4241, found 639.4266

40

【 0 0 5 5 】

(20S)-1 -[(tert-ブチルジメチルシリル)オキシ]-22-ヒドロキシ-2-メチレン-19-ノルホ

50

モブレグナカルシフェロールtert-ブチルジメチルシリルエーテル(6)

メタノール(1ml)中の5(24mg、39 μmol)の攪拌溶液に、メタノール中10%ナトリウムメトキシド(150 μl)を0 で滴加した。冷却浴を取り除き、反応混合物を30分間攪拌した。ジエチルエーテル(20ml)を加え、混合物をNH<sub>4</sub>Clの飽和水溶液(3ml)および水(3ml)で洗浄した。有機相を無水MgSO<sub>4</sub>で乾燥し、減圧下で濃縮した。残渣をシリカゲルSep-Packカートリッジ(10%酢酸エチル/ヘキサン)で精製して、22mg(38 μmol; 収率98%)の6を得た。

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 0.02 (3H, s), 0.05 (3H, s), 0.06 (3H, s), 0.08 (3H, s), 0.57 (3H, s), 0.86 (9H, s), 0.89 (9H, s), 1.07 (3H, d, *J* = 6.6 Hz), 2.01 (2H, m), 2.18 (1H, dd, *J* = 12.3 Hz, *J* = 8.9 Hz), 2.30 (1H, m), 2.48 (1H, dd, *J* = 12.6 Hz, *J* = 4.3 Hz), 2.56 (1H, dd, *J* = 13.1 Hz, *J* = 5.6 Hz), 2.84 (1H, m), 3.41 (1H, m), 3.68 (1H, m), 4.42 (2H, m), 4.93 (1H, s), 4.98 (1H, s), 5.85 (1H, d, *J* = 11.2 Hz), 6.25 (1H, d, *J* = 11.2 Hz); <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ -5.1, -4.9, 12.1, 16.9, 22.3, 23.4, 2 x 25.8, 27.2, 28.7, 38.6, 39.1, 40.4, 45.7, 47.6, 52.8, 56.0, 68.0, 71.6, 72.5, 106.3, 116.2, 122.3, 140.9, 152.9. MS (EI) *m/z* 442 (100), 366 (28)

10

## 【0056】

(20S)-1-[(tert-ブチルジメチルシリル)オキシ]-2-メチレン-22-オキソ-19-ノルホモブレグナカルシフェロールtert-ブチルジメチルシリルエーテル(7)

20

塩化メチレン(400 μl)中の塩化オキサリル(12 μl; 18mg; 140 μmol)の攪拌溶液に、塩化メチレン(300 μl)中のジメチルスルホキシド(40 μl; 44mg; 560 μmol)のあらかじめ冷却した溶液を-78 でカニューレにより滴加した。30分後、塩化メチレン(200 μl)中の6(22mg; 38 μmol)の溶液をカニューレにより加えた。反応混合物を15分間攪拌し、トリエチルアミン(42 μl; 30mg; 300 μmol)を加えた。次の15分後、冷却浴を取り除き、反応混合物を室温まで加温した。次いで、塩化メチレン(15ml)を加え、混合物を水(3ml)で洗浄した。有機相を無水MgSO<sub>4</sub>で乾燥し、減圧下で濃縮した。残渣をシリカゲルSep-Packカートリッジ(1~2%酢酸エチル/ヘキサン)で精製して、17mg(30 μmol; 収率78%)の7を得た。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 0.02 (3H, s), 0.05 (3H, s), 0.06 (3H, s), 0.08 (3H, s), 0.59 (3H, s), 0.86 (9H, s), 0.90 (9H, s), 1.14 (3H, d, *J* = 6.8 Hz), 2.18 (1H, dd, *J* = 12.5 Hz, *J* = 8.4 Hz), 2.85 (1H, m), 4.43 (2H, m), 4.92 (1H, s), 4.97 (1H, s), 5.86 (1H, d, *J* = 11.2 Hz), 6.21 (1H, d, *J* = 11.2 Hz), 9.59 (1H, d, *J* = 3.3 Hz); <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ -4.8, -4.5, 13.6, 22.5, 23.3, 2 x 25.8, 26.5, 38.6, 40.3, 47.6, 49.8, 51.4, 55.5, 71.6, 72.5, 106.4, 116.6, 122.2, 133.4, 140.1, 152.9, 205.0

30

## 【0057】

(20R,22E)-2-メチレン-25-(4-メチルペンタノイル)-24-オキソ-26,27-シクロ-22-デヒドロ-1-ヒドロキシ-19-ノルビタミンD<sub>3</sub>(10、PP-48)

40

テトラヒドロフラン(150 μl)中の8(10mg; 34 μmol)の攪拌溶液に、テトラヒドロフラン中のリチウムヘキサメチルジシラジドの1M溶液(30 μl; 30 μmol)を滴加した。1時間後、テトラヒドロフラン(100 μl)中の7(3mg; 5 μmol)の溶液をカニューレにより加え、反応混合物を2日間攪拌した。次いで、ジエチルエーテル(10ml)を加え、混合物をNH<sub>4</sub>Clの飽和水溶液(1ml)および水(1ml)で洗浄した。有機相を無水MgSO<sub>4</sub>で乾燥し、減圧下で濃縮した。残渣をシリカゲルSep-Packカートリッジ(1~3%酢酸エチル/ヘキサン)で精製して、4mgの粗製9を得た。

## 【0058】

エタノール(400 μl)中の9(4mg; 16 μmol)の攪拌溶液に、(1S)-(+)-10-カンファースルホン酸(3mg; 13 μmol)を加えた。30時間後、酢酸エチル(10ml)、NaHCO<sub>3</sub>の飽和水

50



溶液 (1ml) および水 (1ml) を加えた。混合物を酢酸エチル (3 × 10ml) で抽出した。有機相を無水MgSO<sub>4</sub>で乾燥し、減圧下で濃縮した。残渣をシリカゲルSep-Pack (10 ~ 40% 酢酸エチル/ヘキサン) およびHPLC (10% 2-プロパノール/ヘキサン; 4ml/分; Zorbax Rx-Si I 9.4mm × 25cm; R<sub>t</sub> = 7.69分) で精製して、1.25mg (2.5 μmol; 7からの収率47%) の10 (PP-48) を得た。

UV (EtOH) λ<sub>max</sub> = 244, 251.5 nm; ε<sub>max</sub> = 47000; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 0.58 (3H, s), 0.87 (6H, d, *J* = 6.2 Hz), 1.10 (3H, d, *J* = 6.6 Hz), 1.97-2.05 (2H, m), 2.27-2.35 (3H, m), 2.55-2.59 (3H, m), 2.81-2.86 (2H, m), 4.44-4.49 (2H, m), 5.10 (1H, s), 5.11 (1H, s), 5.92 (1H, d, *J* = 11.2 Hz), 6.14 (1H, d, *J* = 15.7 Hz), 6.35 (1H, d, *J* = 11.2 Hz), 6.78 (1H, dd, *J* = 15.7 Hz, *J* = 9.0 Hz); MS (EI) *m/z* 429 (14), 355 (15), 178 (39), 149 (81), 70 (100); exact mass (ESI) calculated for C<sub>33</sub>H<sub>48</sub>O<sub>4</sub>Na ([M + Na]<sup>+</sup>) 531.3450, found 531.3447

【 0 0 5 9 】

#### 7-メチル-2,4-オクタンジオン (13)

ジエチルエーテル (200ml) 中の酢酸メチル11 (27.8ml; 25.9g; 350mmol) の攪拌溶液に、水素化ナトリウム (60重量%; 4.8g; 200mmol) を加え、得られたスラリーを還流させた。次いで、ジエチルエーテル (150ml) 中の5-メチル-2-ヘキサノン12 (24.6ml; 20.0g; 175mmol) の溶液を3時間かけて滴加した。還流をその後5時間維持した。次いで、碎氷を含むHClの10%水溶液 (約100ml) を注意深く加え、有機相を分離した。水相をジエチルエーテル (150ml) で抽出し、合わせた有機相をNaHCO<sub>3</sub>の飽和水溶液 (50ml) で洗浄し、無水MgSO<sub>4</sub>で乾燥し、減圧下で濃縮した。残渣を減圧蒸留により精製して、19.5g (125mmol; 収率71%) の13を得た。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 0.88-0.92 (6H, m), 1.49 (2H, m), 1.57 (1H, m), 2.05 (2.6H, s), 2.13 (0.1H, s), 2.18 (0.2H, s), 2.24-2.29 (2H, m), 2.51 (0.3H, t, *J* = 7.5 Hz), 3.58 (0.3H, s), 5.50 (0.6H, s); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 22.3, 24.9, 27.5, 27.7, 30.9, 32.1, 34.6, 36.3, 44.7, 57.9, 99.7, 191.3, 194.7; exact mass (ESI) calculated for C<sub>9</sub>H<sub>16</sub>O<sub>2</sub>Na ([M + Na]<sup>+</sup>) 179.1048, found 179.1040

【 0 0 6 0 】

#### 1-アセチル-1-(4-メチルペンタノイル)シクロプロパン (14)

1,2-ジプロモエタン (16.2ml; 35.3g; 188mmol)、K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (34.5g; 250mmol)、臭化テトラ-*n*-ブチルアンモニウム (4.03; 12.5mmol) およびアセトニトリル (90ml) の激しく攪拌中の混合物に、13 (19.5g; 125mmol) を加えた。反応混合物を4日間攪拌した。次いで、固体をろ去し、ろ液を減圧下で濃縮した。残渣を減圧蒸留により精製して、8.85g (51.4mmol; 収率41%) の14を得た。

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 0.89 (6H, d, *J* = 6.2 Hz), 1.43 (4H, s), 1.45-1.56 (3H, m), 2.22 (3H, s), 2.51 (2H, t, *J* = 7.6 Hz); <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 16.9, 22.3, 27.6, 27.7, 32.9, 38.0, 43.0, 204.1, 206.4; MS (EI) *m/z* 182 (M<sup>+</sup>, 24), 167 (44), 73 (100); exact mass calculated for C<sub>11</sub>H<sub>18</sub>O<sub>2</sub> 182.1307, found 182.1316

【 0 0 6 1 】

#### 1-プロモアセチル-1-(4-メチルペンタノイル)シクロプロパン (15)

塩化メチレン (250ml) 中の14 (4.15g; 22.8mmol) およびトリエチルアミン (6.70ml; 4.87g; 48.2mmol) の攪拌溶液に、トリフルオロメタンスルホン酸トリメチルシリル (4.65ml; 5.35g; 24.1mmol) を0 で滴加した。30分後、*N*-プロモスクシンイミド (4.72g; 26.5mmol) を加え、冷却浴を取り除いた。次いで、塩化メチレン (500ml) を加え、混合物を水 (2 × 100ml) で洗浄した。有機相を無水MgSO<sub>4</sub>で乾燥し、減圧下で濃縮した。残渣をカラムクロマトグラフィ (2 ~ 10% 酢酸エチル/ヘキサン) で精製して、1.65g (6.32mmol

; 収率28%) の15を得た。

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.90 (6H, d,  $J = 6.4$  Hz), 1.50 (2H, m), 1.56 (2H, m), 1.63 (2H, m), 2.30 (2H, t,  $J = 7.45$  Hz), 4.31 (2H, s);  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  18.8, 22.3, 27.6, 32.7, 34.1, 35.3, 40.8, 198.5, 206.1; MS (EI)  $m/z$  263 ( $[\text{M} + \text{H}]^+$ , 11), 261 ( $[\text{M} + \text{H}]^+$ , 12), 206 (52), 204 (51), 191 (59), 111 (96), 81 (100); exact mass (ESI) calculated for  $\text{C}_{11}\text{H}_{17}\text{O}_2\text{BrNa}$  ( $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ) 283.0310, found 283.0299

# 【 0 0 6 2 】

## 1-[2-(ジメトキシホスホリル)アセチル]-1-(4-メチルペンタノイル)シクロプロパン (8)

トルエン (30ml) 中の15 (1.65g; 6.32mmol) およびトリメチルホスファイト (970  $\mu\text{l}$ ; 1020mg; 8.22mmol) の溶液を終夜還流させた。次いで、溶媒を留去し、残渣をカラムクロマトグラフィ (5~20% イソプロパノール/ヘキサン) で精製して、1.24g (4.28mmol; 収率68%) の8を得た。

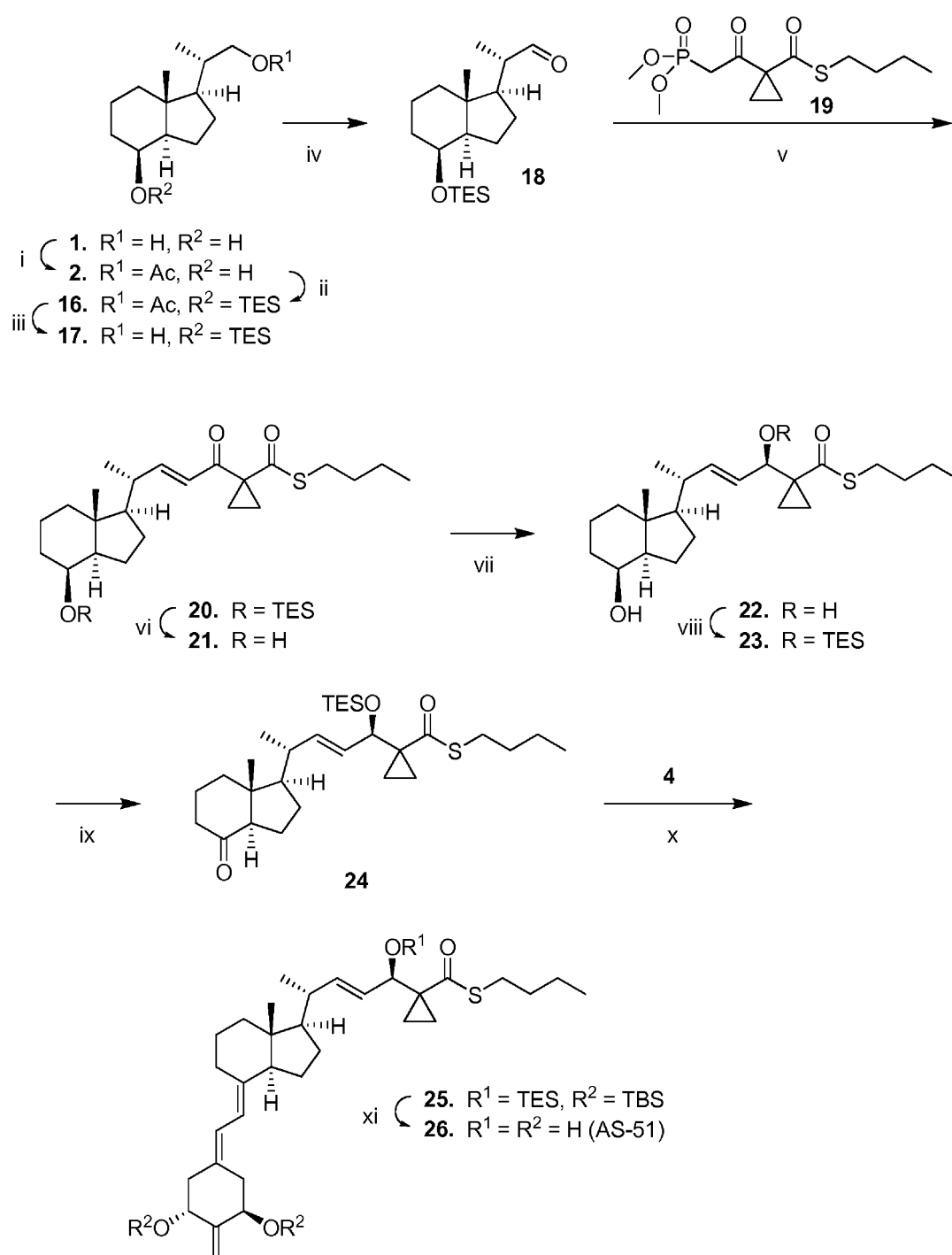
$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.89 (6H, t,  $J = 6.4$  Hz), 1.46-1.55 (5H, m), 1.63 (2H, m), 2.34 (2H, t,  $J = 7.5$  Hz), 3.46 (2H, d,  $J_{\text{H-P}} = 22.2$  Hz), 3.77 (6H, d,  $J_{\text{H-P}} = 11.2$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  18.7, 23.1, 28.3, 33.4, 36.7, 39.7 (d,  $J_{\text{C-P}} = 129.5$  Hz), 43.1, 53.6 (d,  $J_{\text{C-P}} = 4.8$  Hz), 198.6 (d,  $J_{\text{C-P}} = 6.3$  Hz), 207.1; MS (EI)  $m/z$  291 ( $[\text{M} + \text{H}]^+$ , 48), 275 (35), 247 (80), 192 (87), 124 (100); exact mass (ESI) calculated for  $\text{C}_{13}\text{H}_{23}\text{O}_5\text{PNa}$  ( $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ) 313.1181, found 313.1171

# 【 0 0 6 3 】

## 実施例2: (20R,22E,24R)-25-カルボブチルスルファニル-2-メチレン-26,27-シクロ-22-デヒドロ-1,24-ジヒドロキシ-19-ノルビタミンD<sub>3</sub>の合成

式IV、式IVA、式VIA、および式VIIIAの化合物を、スキーム8に示す方法を用いて調製した。スキーム8に示すとおり、ジアルコール1をDMAPおよびトリエチルアミン存在下、無水酢酸で処理して、酢酸エステル2を得た。残っているヒドロキシル基を塩化メチレン中、トリエチルシリルトリフレートで保護して、化合物16を得た。メタノール中、ナトリウムメトキシドでの選択的脱保護により、一級アルコール17を得た。アルコール17の酸化により、アルデヒド18を得た。アルデヒド18をホスホネート試薬19でオレフィン化して、エノン20を得た。シリルエーテルの脱保護によりアルコール21を得た。エタノール性THF中、塩化セリウム (III) 存在下、水素化ホウ素ナトリウムでのルーシェ還元により、アリルアルコール22を得た (22の24Sジアステレオマーと共に得、これはカラムクロマトグラフィによって分離した)。アリルアルコール22をトリエチルシリルエーテルとして保護した (化合物23)。ニクロム酸ピリジニウムでの酸化により、グランドマン型ケトン24を得た。ケトン24のフェニルリチウム存在下、ホスフィンオキシド4とのウィッティヒ-ホーナー縮合により、トリス(シリルエーテル)25を得た。THF中、水性ギ酸での包括的脱保護により、化合物26 (AS-51) を得た。

## スキーム 8



(i)  $Ac_2O$ ,  $Et_3N$ , DMAP,  $CH_2Cl_2$ , 97%; (ii)  $TESOTf$ , 2,6-ルチジン,  $CH_2Cl_2$ ; (iii)  $NaOMe$ ,  $MeOH$ , 97% **2** から; (iv)  $SO_3/py$ ,  $Et_3N$ ,  $DMSO$ ,  $CH_2Cl_2$ , 78%; (v) **19**,  $LiHMDS$ ,  $THF$ , 71%; (vi)  $CSA$ ,  $EtOH$ , 92%; (vii)  $NaBH_4$ ,  $CeCl_3 \cdot 7H_2O$ ,  $THF/EtOH$ , 22%; (viii)  $TESCl$ ,  $Et_3N$ ,  $CH_2Cl_2$ , 51%; (ix)  $PDC$ ,  $PPTS$ ,  $CH_2Cl_2$ , 88%; (x) **4**,  $PhLi$ ,  $THF$ , 93%; (xi)  $HCO_2H/THF/H_2O$ , 35%.

## 【 0 0 6 4 】

スキーム8に記載する合成の過程において、**22**の調製中に**22**の24*S*ジアステレオマーも調製されたことは注目に値する。したがって、**22**の24*S*ジアステレオマーを**22**と同じ合成順序にかけて、**26**のジアステレオマー、すなわち、(20*R*, 22*E*, 24*S*)-25-カルボブチルスルファニル-2-メチレン-26,27-シクロ-22-デヒドロ-1, 24-ジヒドロキシ-19-ノルビタミンD<sub>3</sub>の入手法を提供してもよい。**26**の他のジアステレオマー（例えば、(20*S*, 22*E*, 24*S*)-および

10

20

30

40

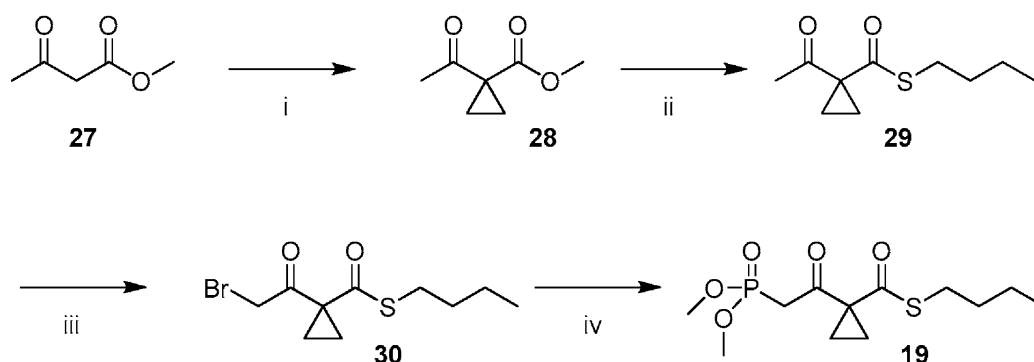
50

(20S,22E,24R)-ジアステレオマー)を18の20Rジアステレオマーから同様の様式で調製してもよい。

【0065】

ホスホネート試薬19をスキーム5に示すとおりに調製した。アセト酢酸メチル(27)のジブロモエタンとの、塩基存在下での反応により、シクロプロピルカルボン酸メチル28を得た。エステルの水酸化リチウムでの塩基加水分解と、その後のN-ヒドロキシスクシンイミドでのエステル活性化により活性エステルを得、これをn-ブタンチオールとさらに反応させて、チオエステル29を得た。シクロプロパン29のブロム化により、-ブロモ化合物30を得た。ハロゲン化物のトリメチルホスファイトでのアルブーゾフ転位により、ホスホネート試薬19を得た。

スキーム9



(i)  $(\text{CH}_2\text{Br})_2$ ,  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , TBAB, MeCN, 67%; (ii)  $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$ , MeOH;  $\text{Et}_2\text{O}$  中 1M HCl; N-ヒドロキシスクシンイミド, DCC, DMAP,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; *n*-BuSH,  $\text{Et}_3\text{N}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , 20%; (iii) TESOTf,  $\text{Et}_3\text{N}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , NBS, 60%; (iv)  $\text{P}(\text{OMe})_3$ , PhMe, 41%.

【0066】

(20S)-デス-A,B-22-(アセトキシ)-23,24-ジノルコラン-8-オール(2)

トリエチルアミン(3.00ml; 1.67g; 21.6mmol)および塩化メチレン(300ml)中の1(3.50g; 16.5mmol)およびDMAP(100mg)の攪拌溶液に、無水酢酸(1.54ml; 2.18g; 16.5mmol)を0で滴加した。反応混合物を4で終夜維持した。溶媒を減圧下で除去し、残渣を塩化メチレン(200ml)に再度溶解し、HClの10%水溶液(50ml)、 $\text{NaHCO}_3$ の飽和水溶液(50ml)および水(50ml)で洗浄した。有機相を無水 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ で乾燥し、減圧下で濃縮して、4.06g(16.0mmol; 収率97%)の2を白色結晶で得た。

$[\alpha]_D^{25} = +33.7$  (c 0.90,  $\text{CHCl}_3$ ); mp 78-80 °C;  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,

$\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.96 (3H, s), 1.00 (3H, d,  $J = 6.6$  Hz), 2.05 (3H, s), 3.77 (1H, dd,  $J = 10.6$  Hz,  $J = 7.7$  Hz), 4.06 (1H, dd,  $J = 10.6$  Hz,  $J = 3.3$  Hz), 4.11 (1H, br s);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  13.5, 17.0, 17.4, 21.0, 22.5, 26.6, 33.5, 35.3, 40.2, 41.9, 52.3, 53.2, 69.1, 69.4, 171.4; MS (EI)  $m/z$  254 ( $\text{M}^+$ , 2), 236 (5), 205 (2), 194 (12), 176 (22), 161 (14), 135 (16), 125 (34), 111 (100); exact mass (ESI) calculated for  $\text{C}_{15}\text{H}_{23}\text{O}_3\text{Na}$  ( $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ) 277.1780, found 277.1791

【0067】

(20S)-デス-A,B-22-(アセトキシ)-8-[(トリエチルシリル)オキシ]-23,24-ジノルコラン(16)

塩化メチレン(40ml)および2,6-ルチジン(2.67ml; 2.46g; 23.0mmol)中の2(4.00g; 16.6mmol)の攪拌溶液に、トリフルオロメタンスルホン酸トリエチルシリル(4.52ml; 5.28g; 20.0mmol)をアルゴン雰囲気下、-50で滴加した。30分後、湿塩化メチレン(5ml)および水(80ml)を加えた。反応混合物を塩化メチレン(3×120ml)で抽出し、有機

相をCuSO<sub>4</sub>の飽和水溶液（50ml）で洗浄し、無水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>で乾燥し、減圧下で濃縮して、粗製16を油状物で得た。

[α]<sub>D</sub> = +42.2 (c 1.25, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 0.55 (6H, q, *J* = 7.9 Hz), 0.93 (3H, s), 0.95 (9H, t, *J* = 8.0 Hz), 0.98 (3H, d, *J* = 6.6 Hz), 2.05 (3H, s), 3.77 (1H, dd, *J* = 10.6 Hz, *J* = 7.5 Hz), 4.04-4.07 (2H, m); <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 4.9, 6.9, 13.5, 17.1, 17.6, 21.0, 23.0, 26.8, 34.6, 35.4, 40.6, 42.2, 52.8, 53.4, 69.2, 69.6, 171.4; MS (EI) *m/z* 368 (M<sup>+</sup>, 4), 339 (30), 325 (15), 177 (89), 145 (100); exact mass calculated for C<sub>21</sub>H<sub>40</sub>O<sub>3</sub>Si 368.2747, found 368.2748

【 0 0 6 8 】

(20S)-デス-A,B-8 -[(トリエチルシリル)オキシ]-23,24-ジノルコラン-22-オール (17)  
メタノール（100ml）中の粗製16の攪拌溶液に、メタノール中10%ナトリウムメトキシド溶液（20ml）を滴下した。2時間後、NH<sub>4</sub>Cl飽和水溶液（20ml）および水（60ml）を加え、混合物を塩化メチレン（5×100ml）で抽出した。有機相を無水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>で乾燥し、減圧下で濃縮し、残渣をシリカゲルカラム（10～20%酢酸エチル/ヘキサン）で精製して、5.25g（16.1mmol；2からの収率97%）の17を得た。

[α]<sub>D</sub> = +40.3 (c 1.00,

CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR δ 0.55 (6H, q, *J* = 7.9 Hz), 0.93-0.97 (12H, m), 1.02 (3H, d, *J* = 6.6 Hz), 3.37 (1H, dd, *J* = 10.4 Hz, *J* = 6.8 Hz), 3.63 (1H, dd, *J* = 10 Hz, *J* = 3.0 Hz), 4.04 (1H, d, *J* = 1.8 Hz); <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 4.9, 6.9, 13.6, 16.6, 17.6, 23.0, 26.8, 34.6, 38.3, 40.6, 42.1, 52.8, 53.1, 68.0, 69.3; MS (EI) *m/z* 326 (M<sup>+</sup>, 10), 311 (2), 297 (93), 283 (36), 225 (16), 193 (21), 177 (100); exact mass calculated for C<sub>19</sub>H<sub>38</sub>O<sub>2</sub>Si 326.2641, found 326.2639

【 0 0 6 9 】

(20S)-デス-A,B-8 -[(トリエチルシリル)オキシ]-23,24-ジノルコラン-22-オール (18)

三酸化硫黄ピリジン複合体（3.71g；23.3mmol）を、トリエチルアミン（2.73ml、1.97g、19.5mmol）、無水ジメチルスルホキシド（4.00ml）および無水塩化メチレン（20ml）中の17（1.16g、3.56mmol）の攪拌溶液にアルゴン雰囲気下、0 で加えた。20分後、塩化メチレン（80ml）を加え、反応混合物をCuSO<sub>4</sub>の飽和水溶液（20ml）および水（20ml）で洗浄した。有機相を無水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>で乾燥し、減圧下で濃縮し、残渣をシリカゲル（0.5～2%酢酸エチル/ヘキサン）で精製して、900mg（2.78mmol；収率78%）の18を得た。

[α]<sub>D</sub> = +42.6 (c

1.15, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 0.57 (6H, q, *J* = 7.9 Hz), 0.94-0.98 (12H, m), 1.10 (3H, d, *J* = 6.8 Hz), 2.35 (1H, m), 4.07 (1H, d, *J* = 2.5 Hz), 9.58 (1H, d, *J* = 3.2 Hz); <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 5.0, 6.9, 13.4, 13.9, 17.6, 23.3, 26.2, 34.6, 40.6, 42.7, 49.1, 51.8, 52.5, 53.2, 69.1, 205.3; MS (EI) *m/z* 324 (M<sup>+</sup>, 4), 311 (12), 295 (100); exact mass calculated for C<sub>17</sub>H<sub>31</sub>O<sub>2</sub>Si ([M - C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sup>+</sup>] 295.2093, found 295.2086

【 0 0 7 0 】

(20R,22E)-デス-A,B-25-カルボブチルスルファニル-24-オキソ-8 -[(トリエチルシリル)オキシ]-26,27-シクロ-22-デヒドロコレスタン (20)

無水テトラヒドロフラン（5ml）中の19（670mg；2.17mmol）の攪拌溶液に、テトラヒドロフラン中リチウムヘキサメチルジシラジドの1M溶液（2.00ml；2.00mmol）を滴加した。1時間後、無水テトラヒドロフラン（3ml）中の5（450mg；1.39mmol）の溶液をカニューレにより加えた。反応混合物を2日間攪拌した。NH<sub>4</sub>Clの飽和水溶液（5ml）、食塩水（5ml）および水（10ml）を0 で加えた。得られた混合物を塩化メチレン（3×50ml）で抽出した

10

20

30

40

50

。有機相を無水MgSO<sub>4</sub>で乾燥し、減圧下で濃縮し、残渣をカラムクロマトグラフィ（0～5 % 酢酸エチル/ヘキサン）で精製して、501mg（0.99mmol；収率71 %）の20および350mg（1.14mmol）の未反応の19を得た。

$[\alpha]_D = +32.8$  (c 1.05, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz,

CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  0.55 (6H, q,  $J = 7.9$  Hz), 0.90-0.96 (15H, m), 1.06 (3H, d,  $J = 6.5$  Hz), 1.93 (1H, m), 2.27 (1H, m), 2.92 (2H, m), 4.03 (1H, d,  $J = 1.7$  Hz), 6.27 (1H, d,  $J = 15.5$  Hz), 6.78 (1H, dd,  $J = 15.5$  Hz,  $J = 9.0$  Hz); <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  4.9, 6.9, 13.6, 13.8, 17.6, 17.7, 17.8, 18.9, 21.9, 23.0, 27.3, 29.1, 31.4, 34.6, 39.6, 40.6, 42.5, 43.1, 52.9, 55.6, 65.2, 69.2, 125.4, 154.3, 194.1, 197.2; MS (EI)  $m/z$  468 (2), 446 (8), 354 (13), 293 (28), 246 (30), 167 (97), 105 (100); exact mass (ESI) calculated for C<sub>29</sub>H<sub>50</sub>O<sub>3</sub>SSiNa ([M + Na]<sup>+</sup>) 529.3148, found 529.3139

10

#### 【 0 0 7 1 】

(20R,22E)-デス-A,B-25-カルボブチルスルファニル-24-オキソ-26,27-シクロ-22-デヒドロコレスタン-8 -オール (21)

無水エタノール（25ml）中の20（500mg；0.99mmol）の攪拌溶液に、(1S)-(+)-10-カンファースルホン酸（250mg；1.08mmol）を0 で加え、反応混合物を終夜攪拌した。NaHCO<sub>3</sub>の飽和水溶液（10ml）および水（10ml）を加え、混合物を塩化メチレン（4×40ml）で抽出した。有機相を無水MgSO<sub>4</sub>で乾燥し、減圧下で濃縮し、残渣をWatersシリカゲルSep-Pac kカートリッジ（5～20 % 酢酸エチル/ヘキサン）で精製して、360mg（0.92mmol；収率92 %）の21を得た。

20

$[\alpha]_D = +42.2$  (c 0.85, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  0.92 (3H, t,  $J = 7.3$  Hz), 0.97 (3H, s), 1.07 (3H, d,  $J = 6.6$  Hz), 1.78-1.84 (2H, m), 1.98 (1H, m), 2.28 (1H, m), 2.92 (2H, m), 4.09 (1H, s), 6.30 (1H, d,  $J = 15.5$  Hz), 6.77 (1H, dd,  $J = 15.5$  Hz,  $J = 9.1$  Hz); <sup>13</sup>C NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  13.6, 13.7, 17.4, 17.9, 18.9, 21.9, 22.5, 27.2, 29.0, 31.3, 33.5, 39.7, 40.2, 42.2, 43.0, 52.3, 55.3, 69.1, 125.4, 154.0, 194.2, 197.3; MS (EI)  $m/z$  392 (M<sup>+</sup>, 72), 364 (3), 335 (19), 303 (50), 285 (46), 235 (54), 189 (100); exact mass calculated for C<sub>23</sub>H<sub>36</sub>O<sub>3</sub>S 392.2385, found 392.2394

30

#### 【 0 0 7 2 】

(20R,22E,24R)-デス-A,B-25-カルボブチルスルファニル-26,27-シクロ-22-デヒドロコレスタン-8 ,24-ジオール (22)

テトラヒドロフラン（3ml）および無水エタノール（9ml）中の21（345mg；0.88mmol）の攪拌溶液に、CeCl<sub>3</sub>・7H<sub>2</sub>O（660mg；1.77mmol）およびNaBH<sub>4</sub>（102mg；2.68mmol）を0 で加えた。20分後、NH<sub>4</sub>Clの飽和水溶液（5ml）および水（5ml）を加え、混合物を酢酸エチル（3×40ml）で抽出した。有機相を無水MgSO<sub>4</sub>で乾燥し、減圧下で濃縮し、残渣をカラムクロマトグラフィ（2～40 % 酢酸エチル/ヘキサン）で精製して、75mg（0.19mmol；収率22 %）の22、152mg（0.39mmol；収率44 %）の(20R,22E,24S)-デス-A,B-25-カルボブチルスルファニル-26,27-シクロ-22-デヒドロコレスタン-8 ,24-ジオールおよび12mg（0.03mmol；収率3 %）のジアステレオマーの混合物を得た。

40

$[\alpha]_D = +59.5$  (c 0.85,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.91 (3H, t,  $J = 7.3$  Hz), 0.94 (3H, s), 1.01 (3H, d,  $J = 6.6$  Hz), 1.78-1.84 (2H, m), 1.97 (1H, m), 2.06 (1H, m), 2.85 (2H, t,  $J = 7.3$  Hz), 2.94 (1H, d,  $J = 6.3$  Hz), 4.07 (1H, br d,  $J = 1.7$  Hz), 4.19 (1H, m), 5.35 (1H, dd,  $J = 15.4$  Hz,  $J = 6.7$  Hz), 5.52 (1H, dd,  $J = 15.4$  Hz,  $J = 8.7$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  12.7, 13.6, 13.7, 15.6, 17.4, 20.1, 22.1, 22.5, 27.7, 28.3, 31.5, 33.6, 37.9, 39.5, 40.3, 41.8, 52.6, 56.0, 69.3, 125.9, 140.2, 202.6; MS (EI)  $m/z$  394 ( $\text{M}^+$ , 19), 376 (40), 337 (66), 287 (68), 213 (100); exact mass (ESI) calculated for  $\text{C}_{23}\text{H}_{38}\text{O}_3\text{SNa}$  ( $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ) 417.2439, found 417.2431

10

【 0 0 7 3 】

(20R, 22E, 24R) - デス -A, B-25- カルボブチルスルファニル-24-[(トリエチルシリル)オキシ]-26, 27-シクロ-22-デヒドロコレスタン-8 -オール (23)

無水塩化メチレン (2ml) 中の22 (41mg; 100  $\mu\text{mol}$ ) およびトリエチルアミン (49  $\mu\text{l}$ ; 35mg; 350  $\mu\text{mol}$ ) の攪拌溶液に、クロロトリエチルシラン (30  $\mu\text{l}$ ; 27mg; 180  $\mu\text{mol}$ ) を0 で滴加した。反応混合物を室温で終夜攪拌し、WatersシリカゲルSep-Packカートリッジ (5 ~ 15% 酢酸エチル/ヘキサン) で精製して、26mg (51  $\mu\text{mol}$ ; 収率51%) の23および22mg (35  $\mu\text{mol}$ ; 収率35%) の(22E) - デス -A, B-25- カルボブトキシ-8 , 24-ジ[(トリエチルシリル)オキシ]-26, 27-シクロ-22-デヒドロコレスタンを得た。

20

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$

0.58 (6H, q,  $J = 7.9$  Hz), 0.88-0.95 (15H, m), 0.99 (3H, d,  $J = 6.7$  Hz), 1.79-1.83 (1H, m), 1.95-2.05 (2H, m), 2.81 (2H, t,  $J = 7.4$  Hz), 4.07 (1H, s), 5.21 (1H, dd,  $J = 15.3$  Hz,  $J = 7.4$  Hz), 5.44 (1H, dd,  $J = 15.3$  Hz,  $J = 8.9$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  5.0, 6.9, 10.9, 13.0, 13.6, 13.7, 17.4, 22.0, 22.5, 27.5, 28.2, 31.6, 33.5, 38.7, 39.6, 40.3, 41.8, 52.6, 56.0, 69.3, 70.8, 127.9, 138.9, 200.3. MS (EI)  $m/z$  479 (76), 451 (12), 327 (36), 237 (37), 149 (55), 135 (93), 71 (100); exact mass (ESI) calculated for  $\text{C}_{29}\text{H}_{52}\text{O}_3\text{SSiNa}$  ( $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ) 531.3304, found 531.3302

30

【 0 0 7 4 】

(20R, 22E, 24R) - デス -A, B-25- カルボブチルスルファニル-24-[(トリエチルシリル)オキシ]-26, 27-シクロ-22-デヒドロコレスタン-8-オン (24)

塩化メチレン (2.5ml) 中の23 (25mg; 49  $\mu\text{mol}$ ) およびp-トルエンスルホン酸ピリジニウム (結晶3個) の攪拌溶液に、ニクロム酸ピリジニウム (46mg; 122  $\mu\text{mol}$ ) を0 で加えた。次いで、冷却浴を取り除き、反応混合物を3時間攪拌した。次いで、溶媒を減圧下で除去し、残渣をWatersシリカゲルSep-Packカートリッジ (5 ~ 10% 酢酸エチル/ヘキサン) で精製して、22mg (43  $\mu\text{mol}$ ; 収率88%) の24を得た。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.57 (6H, q,  $J = 7.9$  Hz), 0.64 (3H, s), 0.88-0.95 (12H, m), 1.05 (3H, d,  $J = 6.6$  Hz), 2.44 (1H, dd,  $J = 10.8$  Hz,  $J = 7.7$  Hz), 2.80 (2H, t,  $J = 7.3$ ), 4.79 (1H, d,  $J = 7.4$  Hz), 5.25 (1H, dd,  $J = 15.3$  Hz,  $J = 7.4$  Hz), 5.47 (1H, dd,  $J = 15.3$  Hz,  $J = 8.9$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  5.0, 6.8, 10.1, 12.7, 13.2, 13.6, 19.1, 20.2, 22.0, 24.0, 27.6, 28.2, 31.6, 38.6, 38.8, 39.6, 40.9, 49.8, 56.1, 62.0, 70.6, 128.7, 138.0, 200.5, 211.9; MS (EI)  $m/z$  477 (100), 449 (23), 417 (14), 387 (13), 327 (39), 237 (48); exact mass calculated for  $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}_3\text{SSiNa}$  ( $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ) 529.3148, found 529.3135

40

【 0 0 7 5 】

(20R, 22E, 24R) -1 [(tert-ブチルジメチルシリル)オキシ]-25-カルボブチルスルファニル

50

-2-メチレン-24-[(トリエチルシリル)オキシ]-26,27-シクロ-22-デヒドロ-19-ノルビタミ  
ンD<sub>3</sub>tert-ブチルジメチルシリルエーテル (25)

無水テトラヒドロフラン (1ml) 中の4 (37mg; 64  $\mu$ mol) の攪拌溶液に、ジ-n-ブチルエーテル中の1.7Mフェニルリチウム溶液1滴を-25 で濃橙色が持続するまで加えた。次いで、フェニルリチウム溶液の化学量論量 (34  $\mu$ l; 58  $\mu$ mol) を加えた。20分後、混合物を-78 まで冷却し、無水テトラヒドロフラン (400  $\mu$ l) 中の24 (22mg; 43  $\mu$ mol) の溶液をカニューレで移した。3時間後、冷却浴を取り除き、反応混合物を4 で終夜攪拌した。次いで、酢酸エチル (15ml) を加え、混合物を食塩水 (3ml) で洗浄した。有機相を無水MgSO<sub>4</sub>で乾燥し、減圧下で濃縮した。残渣をWatersシリカゲルSep-Packカートリッジ (0~5%酢酸エチル/ヘキサン) で精製して、35mg (40  $\mu$ mol; 収率93%) の25を得た。UV (ヘキサン)

)  $\lambda_{\max}$  = 245, 253, 263 nm.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  0.02

(3H, s), 0.05 (3H, s), 0.06 (3H, s), 0.08 (3H, s), 0.54-0.61 (9H, m), 0.86-0.95 (21H, m), 1.02 (3H, d,  $J$  = 6.6 Hz), 1.96-2.07 (3H, m), 2.18 (1H, dd,  $J$  = 12.4 Hz,  $J$  = 8.4 Hz), 2.33 (1H, dd,  $J$  = 13.1 Hz,  $J$  = 2.7 Hz), 2.44-2.52 (2H, m), 2.82 (3H, m), 4.42 (2H, m), 4.80 (1H, d,  $J$  = 7.4 Hz), 4.92 (1H, s), 4.97 (1H, s), 5.22 (1H, dd,  $J$  = 15.3 Hz,  $J$  = 7.4 Hz), 5.47 (1H, dd,  $J$  = 15.3 Hz,  $J$  = 8.9 Hz), 5.82 (1H, d,  $J$  = 11.1 Hz), 6.21 (1H, d,  $J$  = 11.1 Hz); <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  -5.1, -4.9, 5.0, 6.9, 12.2, 13.0, 13.6, 14.1, 2 x 18.2, 20.2, 22.0, 22.2, 23.4, 2 x 25.8, 27.9, 28.3, 28.7, 31.6, 38.5, 38.7, 40.3, 40.5, 45.6, 47.6, 55.9, 56.3, 70.9, 71.6, 72.5, 106.2, 116.1, 122.4, 128.0, 132.8, 139.0, 141.0, 152.9, 200.3; MS (EI)  $m/z$  497 (15), 368 (13), 366 (13), 340 (14), 299 (70), 167 (79), 73 (100); exact mass (ESI) calculated for C<sub>50</sub>H<sub>90</sub>O<sub>4</sub>SSi<sub>3</sub>Na ([M + Na]<sup>+</sup>) 893.5765, found 893.5784

【 0 0 7 6 】

(20R,22E,24R)-25-カルボブチルスルファニル-2-メチレン-26,27-シクロ-22-デヒドロ-1  
,24-ジヒドロキシ-19-ノルビタミンD<sub>3</sub> (26, AS-51)

化合物25をギ酸、テトラヒドロフランおよび水の混合物 (500  $\mu$ l; 6/3/1) に0 で溶解した。冷却浴を取り除き、混合物を20時間攪拌した。NaHCO<sub>3</sub>の飽和水溶液 (1.5ml) を0 で注意深く加え、混合物を酢酸エチル (5 x 10ml) で抽出した。有機相を無水MgSO<sub>4</sub>で乾燥し、減圧下で濃縮した。残渣をWatersシリカゲルSep-Packカートリッジ (10~50%酢酸エチル/ヘキサン) およびHPLC (5%2-プロパノール/ヘキサン; Zorbax Rx-Sil、9.4mm x 25cm、5  $\mu$ mカラム; 4ml/分; R<sub>t</sub> = 22.0分) で精製して、830  $\mu$ g (1.6  $\mu$ mol; 収率35%) の26 (AS-51) を得た。

UV (EtOH)  $\lambda_{\max}$  = 244, 252, 261 nm; <sup>1</sup>H

NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  0.56 (3H, s), 0.92 (3H, t,  $J$  = 7.3 Hz), 1.04 (3H, d,  $J$  = 6.6 Hz), 1.96-2.03 (2H, m), 2.08 (1H, m), 2.26-2.35 (2H, m), 2.57 (1H, dd,  $J$  = 13.4 Hz,  $J$  = 4.3 Hz), 2.81-2.87 (4H, m), 2.96 (1H, d,  $J$  = 6.4 Hz), 4.18 (1H, m), 4.45-4.51 (2H, m), 5.09 (1H, s), 5.11 (1H, s), 5.37 (1H, dd,  $J$  = 15.3 Hz,  $J$  = 6.7 Hz), 5.54 (1H, dd,  $J$  = 15.3 Hz,  $J$  = 8.7 Hz), 5.88 (1H, d,  $J$  = 11.1 Hz), 6.36 (1H, d,  $J$  = 11.1 Hz); MS (EI)  $m/z$  497 (2), 453 (2), 425 (4), 394 (4), 285 (21), 269 (28), 251 (37), 147 (47), 135 (100); exact mass (ESI) calculated for C<sub>32</sub>H<sub>48</sub>O<sub>4</sub>SNa ([M + Na]<sup>+</sup>) 551.3171, found 551.3157

【 0 0 7 7 】

1-アセチルシクロプロパンカルボン酸メチルエステル (28)

アセトニトリル (100ml) 中の無水K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (40.0g; 290mmol) の激しく攪拌中の溶液に、



臭化テトラ-*n*-ブチルアンモニウム (3.20g ; 10.0mmol)、1,2-ジブromoエタン (13.0ml ; 28.4g ; 150mmol) およびアセト酢酸メチル27 (10.8ml ; 11.6g ; 100mmol) を加えた。反応混合物を4日間撹拌した。固体をろ去し、ろ液を減圧下で濃縮した。残渣を減圧蒸留により精製して、9.55g (67.0mmol ; 収率67%) の28を得た。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.48 (4H,

s), 2.47 (3H, s), 3.75 (3H, s);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  19.3, 29.8, 34.9, 171.5, 203.0; MS (EI)  $m/z$  143 ( $[\text{M} + \text{H}]^+$ , 100), 142 ( $\text{M}^+$ , 70), 127 (81), 111 (87); exact mass calculated for  $\text{C}_7\text{H}_{11}\text{O}_3$  ( $[\text{M} + \text{H}]^+$ ) 143.0708, found 143.0705

10

#### 【 0 0 7 8 】

##### 1-アセチルシクロプロパンチオカルボン酸S-*n*-ブチルエステル (29)

メタノール (40ml) 中の28 (6.80g ; 47.9mmol) の撹拌溶液に、 $\text{LiOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$  (1.05g ; 25.0mmol) を加えた。3日後、ジエチルエーテル中1M HCl溶液 (25.0ml ; 25.0mmol) を0 で滴加した。溶媒を減圧下で除去し、残留水分を無水トルエン (3 × 30ml) と共に蒸発させることにより除去した。残渣を無水塩化メチレン (140ml) に溶解し、N-ヒドロキシスクシンイミド (5.52g ; 48.0mmol)、4-ジメチルアミノピリジン (293mg ; 2.40mmol) およびN, N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド (12.4g ; 60.0mmol) で6時間処理した。次いで、トリエチルアミン (1.35ml ; 0.97g ; 9.60mmol) および1-ブタンチオール (25.6ml ; 21.6g ; 240mmol) を加えた。2日後、揮発性物質を減圧下で除去し、残渣をカラムクロマトグラフィ (2 ~ 8% 酢酸エチル/ヘキサン) で精製して、1.95g (9.75mmol ; 収率20%) の29を得た。

20

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,

$\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.93 (3H, t,  $J = 7.3$  Hz), 1.40 (2H, m), 1.51 (4H, m), 1.56 (2H, m), 2.37 (3H, s), 2.91

(2H, t,  $J = 7.4$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  13.5, 18.8, 21.9, 28.9, 29.0, 31.3, 43.8, 197.0,

202.5; MS (EI)  $m/z$  201 ( $[\text{M} + \text{H}]^+$ , 15), 200 ( $\text{M}^+$ , 5), 173 (17), 145 (30), 116 (54), 111 (100);

exact mass (ESI) calculated for  $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}_2\text{SNa}$  ( $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ) 223.0769, found 223.0764

#### 【 0 0 7 9 】

30

##### 1-(2-ブロモアセチル)シクロプロパンチオカルボン酸S-*n*-ブチルエステル (30)

無水塩化メチレン (80ml) 中の29 (1.90g ; 9.50mmol) およびトリエチルアミン (2.67ml ; 1.92g ; 19.0mmol) の撹拌溶液に、トリフルオロメタンスルホン酸トリエチルシリル (2.15ml ; 2.51g ; 9.50mmol) を0 で滴加した。30分後、無水塩化メチレン中のN-ブロモスクシンイミド (1.85g ; 10.4mmol) の溶液をカニューレにより加え、冷却浴を取り除いた。次の30分後、溶媒を減圧下で除去し、残渣をカラムクロマトグラフィ (2 ~ 10% 酢酸エチル/ヘキサン) で精製して、1.58g (5.66mmol ; 収率60%) の30を得た。

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.95

(3H, t,  $J = 7.4$  Hz), 1.42 (2H, m), 1.60 (2H, m), 1.70 (4H, m), 2.94 (2H, t,  $J = 7.4$  Hz), 4.43 (2H,

s);  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  13.5, 21.1, 21.9, 28.9, 31.2, 34.4, 76.7, 196.9, 197.4; exact

mass (ESI) calculated for  $\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{BrO}_2\text{SNa}$  ( $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ) 300.9874, found 300.9879

40

#### 【 0 0 8 0 】

##### 1-[2-(ジメトキシホスホリル)アセチル]シクロプロパンチオカルボン酸S-*n*-ブチルエステル (19)

トルエン (20ml) 中の30 (1.55g ; 5.56mmol) およびトリメチルホスファイト (0.85ml ; 0.90g ; 7.23mmol) の溶液を終夜還流させた。次いで、溶媒を留去し、残渣をカラムクロマトグラフィ (4 ~ 10% 2-プロパノール/ヘキサン) で精製して、693mg (2.25mmol ; 収率41%) の19を得た。

50

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.93 (3H, t,  $J = 7.3$  Hz), 1.39 (2H, m), 1.57 (2H, m), 1.60-1.63 (2H, m), 1.68-1.71 (2H, m), 2.91 (2H, t,  $J = 7.4$  Hz), 3.61 (2H, d,  $J_{H-P} = 22.0$  Hz), 3.77 (6H, d,  $J_{H-P} = 11.2$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  13.5, 20.5, 21.9, 39.5 (d,  $J_{C-P} = 131$  Hz), 44.0, 52.9 (d,  $J_{C-P} = 6.8$  Hz), 196.4 (d,  $J_{C-P} = 6.0$  Hz), 197.7; MS (EI)  $m/z$  308 ( $\text{M}^+$ , 15), 290 (21), 251 (38), 221 (86), 219 (100); exact mass (ESI) calculated for  $\text{C}_{12}\text{H}_{21}\text{O}_5\text{PSNa}$  ( $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ) 331.0745, found 331.0753

【 0 0 8 1 】

### 実施例3：生物活性

10

#### ビタミンD受容体結合

##### 試験材料

##### タンパク質原料

全長組換えラット受容体が大腸菌 (*E. coli*) BL21(DE3) Codon Plus RIL細胞中で発現させ、2つの異なるカラムクロマトグラフィ系を用いて均一になるまで精製した。第一の系は、このタンパク質上のC末端ヒスチンタグを利用するニッケル親和性樹脂であった。この樹脂から溶出されたタンパク質をイオン交換クロマトグラフィ (S-Sepharose Fast Flow) を用いてさらに精製した。精製タンパク質の一定量を液体窒素中で急速凍結し、使用するまで  $-80^\circ\text{C}$  で保存した。結合アッセイで用いるために、タンパク質を0.1%Chaps界面活性剤を含むTEDK<sub>50</sub> (50mMトリス、1.5mM EDTA、pH7.4、5mM DTT、150mM KCl) 中で希釈した。受容体タンパク質およびリガンド濃度を、加えた放射性標識リガンドの20%以下が受容体に結合するように最適化した。

20

【 0 0 8 2 】

##### 試験薬物

非標識リガンドをエタノールに溶解し、UV分光法を用いて濃度を求めた ( $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  : モル吸光係数 = 18,200および  $\lambda_{\text{max}} = 265\text{nm}$ ; 類縁体 : モル吸光係数 = 42,000および  $\lambda_{\text{max}} = 252\text{nm}$ )。放射性標識リガンド ( $^3\text{H}$ - $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 、約159 Ci/mmol) をエタノールに最終濃度1nMで加えた。

【 0 0 8 3 】

##### アッセイ条件

30

放射性標識および非標識リガンドを希釈したタンパク質100mclに最終エタノール濃度10%で加え、混合し、結合平衡に達するまで氷上で終夜インキュベートした。翌日、100mclのヒドロキシルアパタイトスラリー (50%) を各チューブに加え、10分間隔で30分間混合した。ヒドロキシルアパタイトを遠心分離により回収し、次いで0.5%Titron X-100を含むトリス-EDTA緩衝液 (50mMトリス、1.5mM EDTA、pH7.4) で3回洗浄した。最終洗浄の後、ペレットを4mlのBiosafe IIシンチレーションカクテルを含むシンチレーションバイアルに移し、混合し、シンチレーション計数器に入れた。全結合を、放射性標識リガンドだけを含むチューブから求めた。

【 0 0 8 4 】

##### HL-60分化

40

##### 試験材料

##### 試験薬物

試験薬物をエタノールに溶解し、UV分光法を用いて濃度を求めた。連続希釈液を、細胞培養物中に存在するエタノールの最終濃度 (0.2%) を変えることなく、一連の薬物濃度を試験しうるように調製した。

【 0 0 8 5 】

##### 細胞

ヒト前骨髄球性白血病 (HL60) 細胞を、10%ウシ胎仔血清を含むRPMI-1640培地中で増殖させた。細胞を5%CO<sub>2</sub>存在下、 $37^\circ\text{C}$  でインキュベートした。

【 0 0 8 6 】

50

## アッセイ条件

HL60細胞を $1.2 \times 10^5$ 細胞/mlで播種した。播種の18時間後、二つ組の細胞を薬物で処理した。4日後、細胞を回収し、ニトロブルーテトラゾリウム還元アッセイを実施した (Collins et al., 1979; J. Exp. Med. 149:969-974)。分化した細胞の割合(%)は、合計200細胞を計数し、細胞内黒-青ホルマザン沈着物を含む数を記録することにより求めた。単球細胞への分化の検証を、食細胞活性を測定することにより評価した(データは示していない)。

【0087】

拮抗作用を、 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ および推定アンタゴニストの組み合わせを同じウェルに加え、最終エタノール濃度を同じに維持することにより、試験した。

【0088】

## インビトロ転写アッセイ

転写活性を、ルシフェラーゼレポーター遺伝子の上流の24-ヒドロキシラーゼ(24OHアーゼ)遺伝子プロモーターを安定に形質移入した、ROS 17/2.8(骨)細胞において測定した (Arbour et al., 1998)。細胞に一連の用量を投与した。投与の16時間後、細胞を回収し、ルシフェラーゼ活性をルミノメーターを用いて測定した。RLU = 相対ルシフェラーゼ単位。

【0089】

## 腸カルシウム輸送および骨カルシウム動員

雄Sprague-Dawleyラット離乳仔をDiet 11 (0.47%Ca) 飼料 + AEKオイルで1週間と、その後Diet 11 (0.02%Ca) + AEKオイルで3週間飼育した。次いで、ラットを0.47%Caを含む飼料に切り換えて1週間と、その後0.02%Caを含む飼料で2週間飼育した。用量投与を0.02%カルシウム飼料での最終週の間に開始した。4回の連続腹腔内用量を、約24時間離して投与した。最終投与の24時間後、切断した頸部から血液を採取し、血清カルシウムの濃度を骨カルシウム動員の尺度として求めた。腸の最初の10cmも、反転腸管法を用い、腸カルシウム輸送分析のために採取した。

【0090】

拮抗作用を、 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ および推定アンタゴニストの組み合わせを動物に同時に投与することにより試験した。

【0091】

## 生物活性結果

(20R,22E)-2-メチレン-25-(4-メチルペンタノイル)-24-オキソ-26,27-シクロ-22-デヒドロ-1-ヒドロキシ-19-ノルビタミン $\text{D}_3$  (PP-48) は、図1に示すとおり、組換えビタミン $\text{D}$ 受容体への結合において、 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ に比べて低い親和性を示す。これは、培養中のHL-60細胞の分化を引き起こす上で、 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の約10分の1の活性しかない(図2)。同様にこれは、24-ヒドロキシラーゼ遺伝子の転写を増大させる上で、 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の約10分の1の活性しかない(図3)。インビボ試験により、PP-48は、高用量でも、骨からカルシウムを動員する能力を基本的に示さないことが判明した(図4)。しかし、その腸輸送活性は、天然ホルモン、 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の活性とほぼ同等である(図5)。PP-48はその腸特異的特性およびその細胞分化活性により、クローン病またはセリアック病などの、腸に基づく疾患の治療法の候補となる。さらに、慢性腎不全を患っている患者では、血清カルシウムが正常値を超えて上昇するのは、心臓、大動脈および他の生命維持に必要な臓器の石灰化の恐れがあって望ましくないため、副甲状腺増殖およびプレプロ副甲状腺遺伝子の転写を抑制する一方で、これらの患者の続発性副甲状腺機能亢進症の処置においてPP-48は有用であろう。同様に、PP-48は、乳癌、結腸直腸癌および前立腺癌などの悪性病変の処置において、または多発性硬化症、狼瘡、関節リウマチ、1型糖尿病、および炎症性腸疾患などの自己免疫疾患の処置においても有用であろう。PP-48は、移植拒絶、乾癬、白血病、宿主対移植片拒絶、喘息、腎性骨形成異常、または骨粗鬆症を予防する上でも有用であろう。PP-48は、しわ、皮膚の十分な締まりの欠如、十分な皮膚水分補給の不足、または不十分な皮脂分泌などの皮膚の状態を処置する上でも有用であろう。

## 【 0 0 9 2 】

(20R,22E,24R)-25-カルボブチルスルファニル-2-メチレン-26,27-シクロ-22-デヒドロ-1,24-ジヒドロキシ-19-ノルビタミンD<sub>3</sub> (AS-51) は核内ビタミンD受容体への結合に対し、天然ホルモンと同じ効力で競合する(図6)。HL-60分化アッセイにおいて、AS-51は、HL-60細胞の単球への分化を引き起こす上で、天然ホルモンの強力な阻害剤であることが判明した(図7)。24-ヒドロキシラーゼ転写アッセイにおいて、AS-51の効力は、24-ヒドロキシラーゼ遺伝子トランス活性化を引き起こす上で、1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>の60分の1であった(図8)。特に、AS-51は天然ホルモンによって刺激された遺伝子トランス活性化を阻害することができる。AS-51のインビボ試験により、この誘導体は貯蔵骨カルシウムの放出において基本的に不活性であり(図9)、非常に高い用量で、腸カルシウム輸送の刺激において1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>よりも幾分活性が低いことが判明した。天然ホルモンとの組み合わせで試験した場合、全身投与を用いて試験した用量レベルでは、拮抗作用は観察されなかった。したがって、AS-51は、約 $10^{-8}$ ~ $10^{-7}$ Mの濃度で細胞分化および遺伝子トランス活性化の阻害を示すため、かなり強力なアンタゴニストである。インビボ試験により、AS-51は全身投与するとアンタゴニストとして作用しない可能性が示されているが、インビトロ活性はAS-51が局所投与され、阻害様式で作用しうること示唆している。そのようなアンタゴニストのインビボでの使用は、サルコイドーシスなどの過剰の1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>産生がある疾患の処置において、またはビタミンD中毒の解毒剤として、有用であろう。AS-51は高カルシウム血症の処置においても有用であろう。

## 【 0 0 9 3 】

他の化合物との比較

表1は、本開示からの化合物(PP-48およびAS-51)の生物学的データを、他の(22E)-2-メチレン-26,27-シクロ-22-デヒドロ-1-ヒドロキシ-19-ノルビタミンD<sub>3</sub>類縁体:(22E)-(24R)-24-ブトキシ-25-カルボブトキシ-2-メチレン-26,27-シクロ-22-デヒドロ-1-ヒドロキシ-19-ノルビタミンD<sub>3</sub>(表1において「CN-67」と記載)および(22E)-(24R)-25-カルボブトキシ-2-メチレン-26,27-シクロ-22-デヒドロ-1,24-ジヒドロキシ-19-ノルビタミンD<sub>3</sub>(表1において「OU-72」と記載)と比較して示す。本発明の化合物、PP-48およびAS-51は、いくつかの観点で、公知の化合物と比べて意外で予期せぬ生物活性を示す。例えば、それぞれHL-60分化および24-ヒドロキシラーゼ転写アッセイにおいて拮抗活性を示す、CN-67およびOU-72の両方に対し、PP-48は、構造が類似であるにもかかわらず、アゴニストとしての挙動を示す。PP-48はVDR結合においてCN-67よりも10倍以上活性が高い(すなわち、0.17/0.015=11)。AS-51は、HL-60分化および24-ヒドロキシラーゼ転写アッセイにおいて、CN-67およびOU-72のように、拮抗活性を示す。しかし、これらの細胞系アッセイにおけるAS-51の活性の特徴は、CN-67およびOU-72のものとは基本的に反対である。特に、AS-51の効力は、HL-60細胞ではCN-67(すなわち、0.002/0.06=0.03)またはOU-72(すなわち、0.002/0.3=0.007)のいずれのものよりも顕著に低い、24-ヒドロキシラーゼ転写アッセイにおける骨細胞ではCN-67(すなわち、0.02/0.007=3)またはOU-72(すなわち、0.02/0.01=2)のいずれの効力よりも顕著に高い。したがって、AS-51と他の(22E)-2-メチレン-26,27-シクロ-22-デヒドロ-1-ヒドロキシ-19-ノルビタミンD<sub>3</sub>類縁体CN-67およびOU-72との間には細胞特異的な差が存在する。最後に、AS-51はVDR結合においてCN-67よりも70倍近く活性が高い(すなわち、1.0/0.015=67)。

## 【 0 0 9 4 】

(表1)

作業実施例 <sup>1</sup>	記載場所	側鎖	競合的 VDR 結合 <sup>2</sup> (相対活性) <sup>3</sup>	HL-60 分化 <sup>4</sup> (相対活性) <sup>3</sup>	24OHアーゼ 転写 <sup>4</sup> (相対活性) <sup>3</sup>
PP-48	本発明		0.6 (0.17)	30 (0.1)	2 (0.1)
AS-51	本発明		0.1 (1.0)	>1000 (0.002) 拮抗 <sup>5</sup>	6 (0.02) 拮抗 <sup>5</sup>
CN-67	US 7,915,242		1.5 (0.015)	3 (0.06) 拮抗 <sup>5</sup>	5 (0.007) 拮抗 <sup>5</sup>
OU-72	US 7,915,242		0.023 (1.0)	5 (0.3) 拮抗 <sup>5</sup>	3 (0.01) 拮抗 <sup>5</sup>

<sup>1</sup>化合物はすべて2-メチレン19-ノル化合物である。<sup>2</sup>K<sub>i</sub> (nM)。<sup>3</sup>同じアッセイで測定した天然ホルモン、1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>に対して。相対活性 = (天然ホルモンで観察された値) / (作業実施例で観察された値)。1よりも小さい値は、作業実施例の活性が天然ホルモンよりも低いことを示す。<sup>4</sup>EC<sub>50</sub> (nM)。<sup>5</sup>1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>と共に投与した場合。

【 0 0 9 5 】

本技術は例示のために本明細書に示す態様に限定されることはないが、添付の特許請求の範囲の範囲内に入るそのすべてのそのような形態を含むことが理解される。

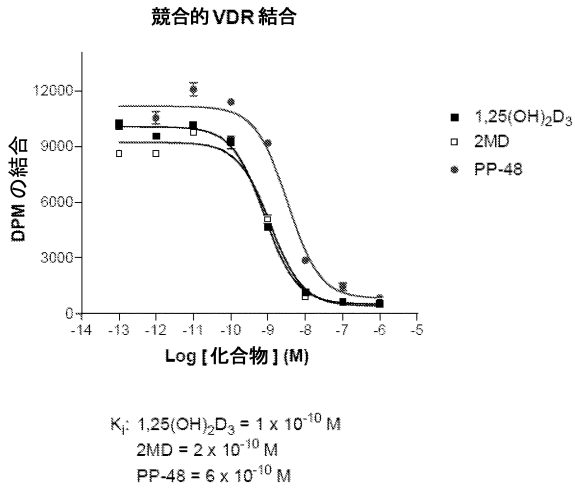
10

20

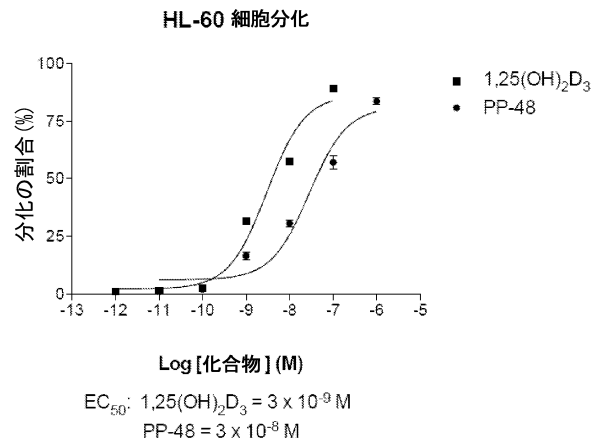
30

40

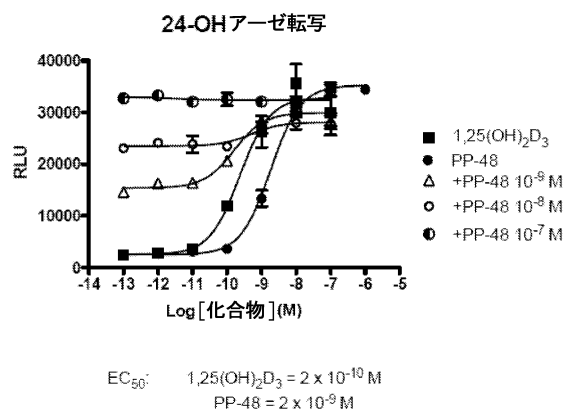
【図 1】



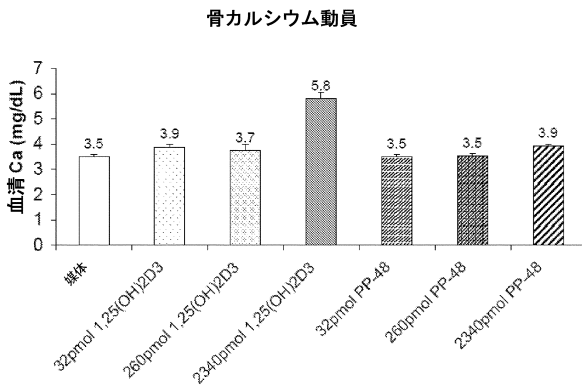
【図 2】



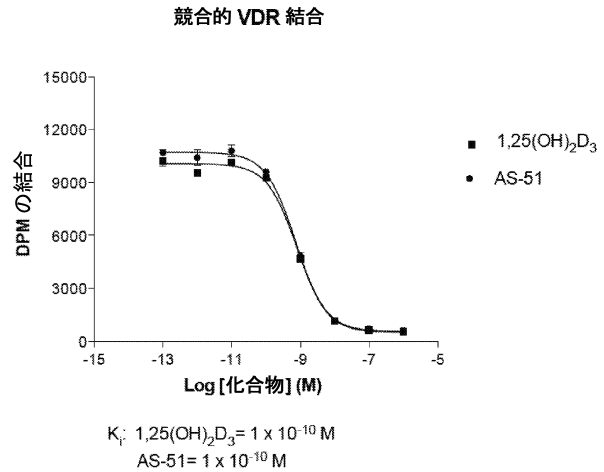
【図 3】



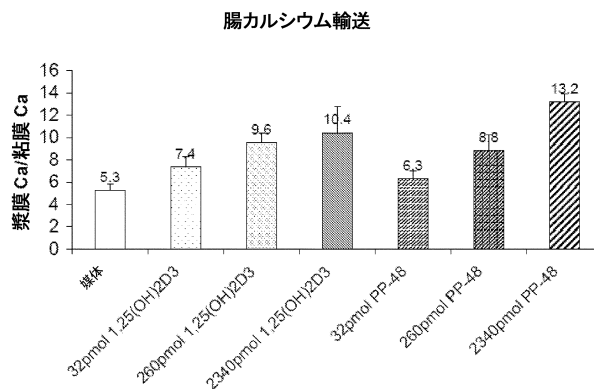
【図 4】



【図 6】

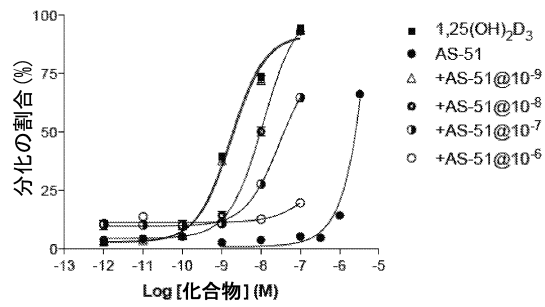


【図 5】



【図 7】

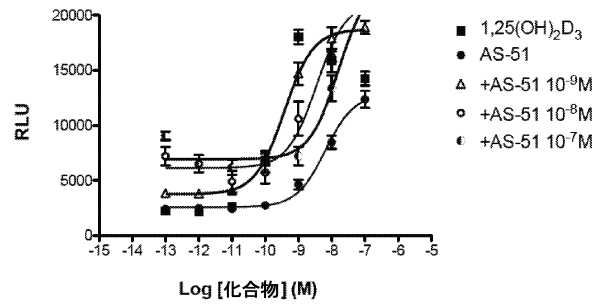
## HL-60 細胞分化



$EC_{50}$ :  $1,25(OH)_2D_3 = 2 \times 10^{-9} M$   
 $AS-51 = >10^{-6} M$   
 $1,25(OH)_2D_3 + AS-51 @ 10^{-9} M = 2 \times 10^{-9} M$   
 $1,25(OH)_2D_3 + AS-51 @ 10^{-8} M = 1 \times 10^{-8} M$   
 $1,25(OH)_2D_3 + AS-51 @ 10^{-7} M = >10^{-8} M$   
 $1,25(OH)_2D_3 + AS-51 @ 10^{-6} M = >10^{-7} M$

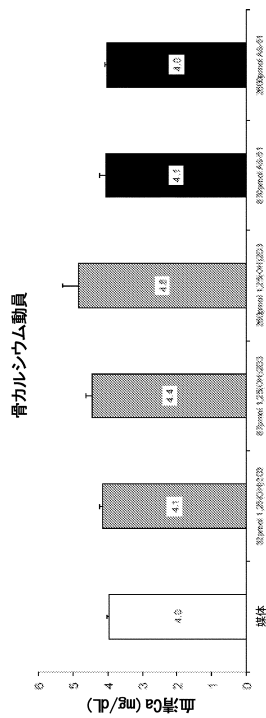
【図 8】

## 24-OHアーゼ転写

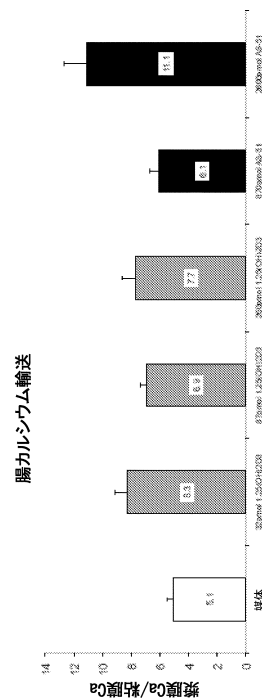


$EC_{50}$ :  $1,25(OH)_2D_3 = 1 \times 10^{-10} M$   
 $AS-51 = 6 \times 10^{-9} M$   
 $1,25(OH)_2D_3 + AS-51 @ 10^{-9} M = 4 \times 10^{-10} M$   
 $1,25(OH)_2D_3 + AS-51 @ 10^{-8} M = 4 \times 10^{-9} M$   
 $1,25(OH)_2D_3 + AS-51 @ 10^{-7} M = 2 \times 10^{-8} M$

【図 9】



【図 10】



## フロントページの続き

(51)Int.Cl.			F I		
A 6 1 P	25/00	(2006.01)	A 6 1 P	25/00	
A 6 1 P	17/02	(2006.01)	A 6 1 P	17/02	
A 6 1 P	3/10	(2006.01)	A 6 1 P	3/10	
A 6 1 P	37/06	(2006.01)	A 6 1 P	37/06	
A 6 1 P	19/02	(2006.01)	A 6 1 P	19/02	
A 6 1 P	29/00	(2006.01)	A 6 1 P	29/00	1 0 1
A 6 1 P	11/06	(2006.01)	A 6 1 P	11/06	
A 6 1 P	1/04	(2006.01)	A 6 1 P	1/04	
A 6 1 P	17/16	(2006.01)	A 6 1 P	17/16	
A 6 1 P	13/12	(2006.01)	A 6 1 P	13/12	
A 6 1 P	19/10	(2006.01)	A 6 1 P	19/10	
A 6 1 P	43/00	(2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 1 1

(74)代理人 100142929  
弁理士 井上 隆一

(74)代理人 100148699  
弁理士 佐藤 利光

(74)代理人 100128048  
弁理士 新見 浩一

(74)代理人 100129506  
弁理士 小林 智彦

(74)代理人 100114340  
弁理士 大関 雅人

(74)代理人 100114889  
弁理士 五十嵐 義弘

(74)代理人 100121072  
弁理士 川本 和弥

(72)発明者 デルカ ヘクター  
アメリカ合衆国 ウィスコンシン州 ディアフィールド ハイウェイ ビービー 1 8 0 9

(72)発明者 バリスキ ラファル  
アメリカ合衆国 ウィスコンシン州 マディソン ハーバー ハウス ドライブ 8 0 9 # 4

(72)発明者 プラム ローリ  
アメリカ合衆国 ウィスコンシン州 アリーナ ハイウェイ エイチ 6 1 3 9

(72)発明者 クラゲット - デイム マーガレット  
アメリカ合衆国 ウィスコンシン州 ディアフィールド ハイウェイ ビービー 1 8 0 9

審査官 黒川 美陶

(56)参考文献 米国特許出願公開第 2 0 0 5 / 0 1 8 2 0 3 3 ( U S , A 1 )

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

C 0 7 C

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