

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5814247号
(P5814247)

(45) 発行日 平成27年11月17日(2015.11.17)

(24) 登録日 平成27年10月2日(2015.10.2)

(51) Int. Cl.

F 1

C 07 C 401/00	(2006.01)	C 07 C 401/00	C S P
A 61 K 31/59	(2006.01)	A 61 K 31/59	
A 61 P 35/00	(2006.01)	A 61 P 35/00	
A 61 P 35/02	(2006.01)	A 61 P 35/02	
C 07 F 7/08	(2006.01)	C 07 F 7/08	A

請求項の数 25 (全 34 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2012-532328 (P2012-532328)
 (86) (22) 出願日 平成22年9月30日 (2010.9.30)
 (65) 公表番号 特表2013-506688 (P2013-506688A)
 (43) 公表日 平成25年2月28日 (2013.2.28)
 (86) 國際出願番号 PCT/US2010/050977
 (87) 國際公開番号 WO2011/041590
 (87) 國際公開日 平成23年4月7日 (2011.4.7)
 審査請求日 平成25年9月26日 (2013.9.26)
 (31) 優先権主張番号 61/248,125
 (32) 優先日 平成21年10月2日 (2009.10.2)
 (33) 優先権主張国 米国(US)

(73) 特許権者 506223510
 ウィスコンシン・アルミニ・リサーチ・ファウンデーション
 WISCONSIN ALUMNI RESEARCH FOUNDATION
 アメリカ合衆国53707-7365、ウィスコンシン州マディソン、バー・オー・ボックス・7365
 (74) 代理人 100114775
 弁理士 高岡 亮一
 (74) 代理人 100121511
 弁理士 小田 直

最終頁に続く

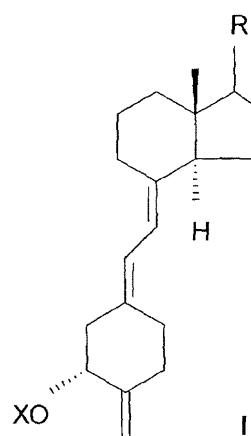
(54) 【発明の名称】 1-デソキシ-2-メチレン-19-ノル-ビタミンD類似体及びそれらの使用

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

式:

【化1】



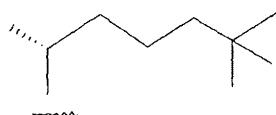
10

を有する化合物(式中、Xは、水素、並びに、アルコキシカルボニル基、アシリル基、アルキルシリル又はアルキルアリールシリル基、及びアルコキシアルキル基から成る群から選択されるヒドロキシ保護基からなる群から選択され、

Rが、

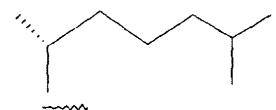
20

【化 2】



又は

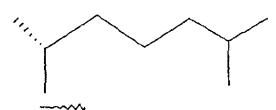
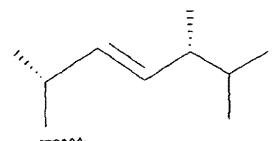
【化 3】



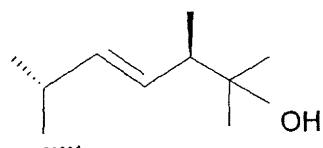
10

又は

【化 4】

又は
【化 5】

20

又は
【化 6】

30

から選択される。)。

【請求項 2】

X が水素である、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 3】

医薬的に許容可能な賦形剤と一緒に、有効量の、請求項 1 に記載の化合物を少なくとも 40
1 つ含有する、医薬組成物。

【請求項 4】

前記有効量が、組成物 1 gあたり 0.01 μ g から 1000 μ g を含む、請求項 3 に記載の医薬組成物。

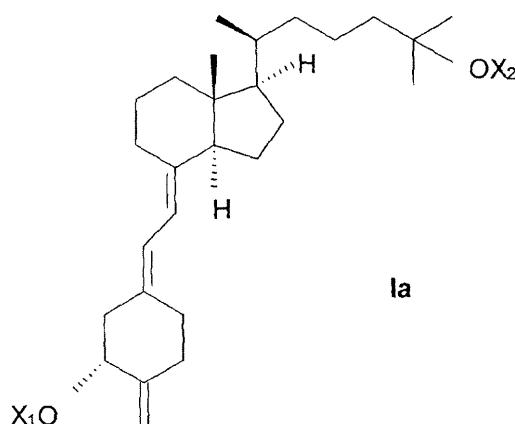
【請求項 5】

前記有効量が、組成物 1 gあたり 0.1 μ g から 500 μ g を含む、請求項 3 に記載の医薬組成物。

【請求項 6】

式：

【化7】



10

を有する化合物（式中、同じでも異なっていてもよい X_1 及び X_2 は、水素又は、アルコキカルボニル基、アシリル基、アルキルシリル若しくはアルキルアリールシリル基、及びアルコキアルキル基から成る群から選択されるヒドロキシ保護基からそれぞれ選択される。）。

【請求項7】

20

X_2 が水素である、請求項6に記載の化合物。

【請求項8】

X_1 が水素である、請求項6に記載の化合物。

【請求項9】

X_1 及び X_2 が両者とも t -ブチルジメチルシリルである、請求項6に記載の化合物。

【請求項10】

医薬的に許容可能な賦形剤と一緒に、有効量の、請求項6に記載の化合物を少なくとも1つ含有する、医薬組成物。

【請求項11】

前記有効量が、組成物1gあたり0.01μgから1000μgを含む、請求項10に記載の医薬組成物。

30

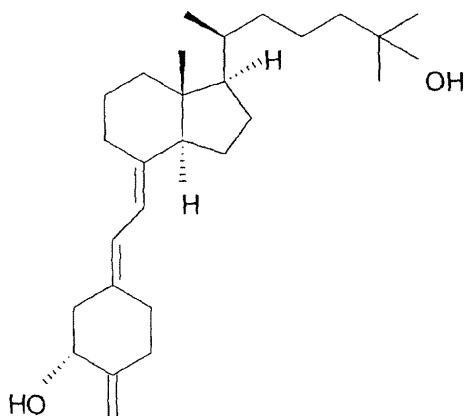
【請求項12】

前記有効量が、組成物1gあたり0.1μgから500μgを含む、請求項10に記載の医薬組成物。

【請求項13】

式：

【化8】



40

を有する、(20S)-25-ヒドロキシ-1-デオキシ-2-メチレン-19-ノル

50

- ビタミン D₃。

【請求項 14】

医薬的に許容可能な賦形剤と一緒に、有効量の(20S)-25-ヒドロキシ-1-デソキシ-2-メチレン-19-ノル-ビタミンD₃を含有する、医薬組成物。

【請求項 15】

前記有効量が、組成物 1 gあたり 0.01 μ gから 1000 μ gを含む、請求項 14に記載の医薬組成物。

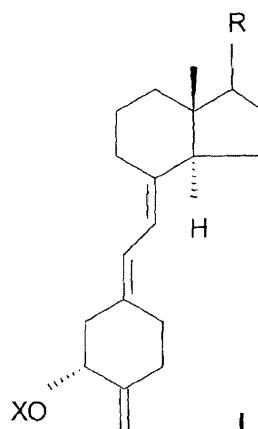
【請求項 16】

前記有効量が、組成物 1 gあたり 0.1 μ g から 500 μ g を含む、請求項 14 に記載の医薬組成物。

【請求項 17】

式：

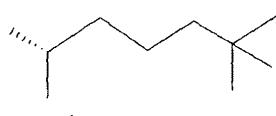
【化 9】



(式中、Xは、水素、並びに、アルコキシカルボニル基、アシル基、アルキルシリル又はアルキルアリールシリル基、及びアルコキアルキル基から成る群から選択されるヒドロキシ保護基からなる群から選択され、

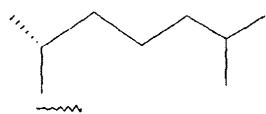
R が、

【化 1 0 】



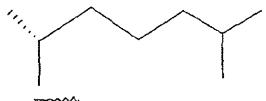
又は

【化 1 1】



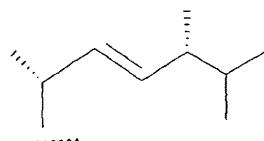
又は

【化 1 2】



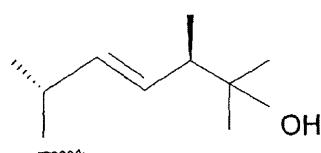
又は

【化13】



又は

【化14】



10

から選択される。)。

を有する、有効量の1-デソキシ-2-メチレン-19-ノル-ビタミンD類似体を、白血病、結腸癌、乳癌、皮膚癌又は前立腺癌からなる群から選択される疾患に罹患している対象に投与することを含む、白血病、結腸癌、乳癌、皮膚癌又は前立腺癌からなる群から選択される疾患を治療するための薬剤。

20

【請求項18】

前記ビタミンD類似体が経口投与するための、請求項17に記載の薬剤。

【請求項19】

前記ビタミンD類似体が非経口投与するための、請求項17に記載の薬剤。

【請求項20】

前記ビタミンD類似体が経皮投与するための、請求項17に記載の薬剤。

【請求項21】

前記化合物が直腸投与するための、請求項17に記載の薬剤。

【請求項22】

前記化合物が経鼻投与するための、請求項17に記載の薬剤。

30

【請求項23】

前記化合物が舌下投与するための、請求項17に記載の薬剤。

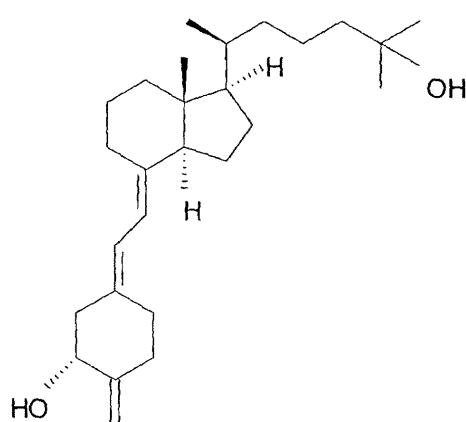
【請求項24】

前記ビタミンD類似体が、0.01 μ g/日から1000g/日の投与量で投与するための、請求項17に記載の薬剤。

【請求項25】

前記化合物が、式：

【化15】



40

50

を有する(20S)-25-ヒドロキシ-1-デソキシ-2-メチレン-19-ノル-ビタミンD₃である、請求項17に記載の薬剤。

【発明の詳細な説明】

【背景技術】

【0001】

本発明は、ビタミンD化合物及びとりわけ1-デソキシ-2-メチレン-19-ノル-ビタミンD類似体及びそれらの医薬的使用及び特に(20S)-25-ヒドロキシ-1-デソキシ-2-メチレン-19-ノルビタミンD₃、その生物学的活性及びその医薬的使用に関する。

【0002】

天然ホルモン、一連のエルゴステロールにおける1,25-ジヒドロキシビタミンD₃及びその類似体、即ち1,25-ジヒドロキシビタミンD₂は、動物及びヒトにおいて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知られており、細胞分化におけるそれらの活性も立証されている(Ostremら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84, 2610 (1987))。1-ヒドロキシビタミンD₃、1-ヒドロキシビタミンD₂、側鎖が一致する様々なビタミン及びフッ素化類似体を含め、これらの代謝産物の多くの構造類似体が調製され、試験されてきた。これらの化合物のうち一部は、興味深いことに、細胞分化及びカルシウム制御における活性を一緒に持たない。この活性の相違は、腎性骨ジストロフィー、ビタミンD-抵抗性くる病、骨粗しよう症、乾癬及びある種の悪性腫瘍などの様々な疾患の治療において有用であり得る。

【0003】

別のクラスのビタミンD類似体、即ちいわゆる19-ノル-ビタミンD化合物は、2個の水素原子による、ビタミンD系の典型であるA環環外メチレン基(炭素19)の置換を特徴とする。このような19-ノル-類似体(例えば1,25-ジヒドロキシ-19-ノル-ビタミンD₃)の生物学的試験から、細胞分化誘導能が高く、カルシウム動員活性が非常に低いという、選択的活性プロファイルが明らかになった。従って、これらの化合物は、悪性腫瘍の治療又は様々な皮膚疾患の治療のための治療剤として有用である可能性がある。このような19-ノル-ビタミンD類似体の2種類の異なる合成法が記載されている(Perlmanら、Tetrahedron Lett. 31, 1823 (1990); Perlmanら、Tetrahedron Lett. 32, 7663 (1991)及びDeLucaら、米国特許第5,086,191号)。

【0004】

米国特許第4,666,634号において、1,25-ジヒドロキシビタミンD₃の2-ヒドロキシ及びアルコキシ(例えばED-71)類似体が記載されており、これは、骨粗しよう症に対する候補薬物として及び抗腫瘍剤として中外グループによって試験されている。Okanoら、Biochem. Biophys. Res. Commun. 163, 1444 (1989)も参照のこと。1,25-ジヒドロキシビタミンD₃の他の(ヒドロキシアルキル基による、例えばED-120、及びフルオロアルキル基による)2-置換A-環類似体も調製され、試験された(Miyamotoら、Chem. Pharm. Bull. 41, 1111 (1993); Nishiら、Osteoporosis Int. Suppl. 1, 190 (1993); Posnerら、J. Org. Chem. 59, 7855 (1994)及びJ. Org. Chem. 60, 4617 (1995))。

【0005】

1,25-ジヒドロキシ-19-ノル-ビタミンD₃の2位-置換類似体、即ち、ヒドロキシ又はアルコキシ基で(DeLucaら、米国特許第5,536,713号)、2-アルキル基で(DeLucaら、米国特許第5,945,410号)及び2-アルキリデン基で(DeLucaら、米国特許第5,843,928号)2位が置換された化合物も合成されており、これらは、興味深く選択的な活性プロファイルを示す。これらの全ての試験から、ビタミンD受容体における結合部位は、合成ビタミンD類似体のC-2にお

10

20

30

40

50

いて様々な置換基に適応し得ることが示唆される。

【0006】

19 - ノルクラスの薬理学的に重要なビタミンD化合物を探索するための努力を継続する過程で、炭素2(C-2)のメチレン置換基、炭素1(C-1)のヒドロキシル基及び炭素20(C-20)に結合する短縮型側鎖の存在を特徴とする類似体も合成され、試験された。1 - ヒドロキシ-2 - メチレン-19 - ノル - プレグナカルシフェロールは米国特許第6,566,352号に記載されており、一方で1 - ヒドロキシ-2 - メチレン-19 - ノル - ホモプレグナカルシフェロールは米国特許第6,579,861号に記載されており、1 - ヒドロキシ-2 - メチレン-19 - ノル - ビスホモプレグナカルシフェロールは米国特許第6,627,622号に記載されている。これらの3種類の化合物は全て、ビタミンD受容体に対して結合活性が比較的高く、細胞分化活性が比較的高いが、1,25 - ジヒドロキシビタミンD₃と比較した場合、血漿カルシウム上昇活性は、有しているとしても非常に低い。¹⁰ '352、'861及び'622特許で示されるように、それらの生物学的活性により、これらの化合物は様々な医薬的使用に対する優れた候補となる。

【0007】

炭素10(C-10)から炭素2(C-2)へのA環環外メチレン基の転移を特徴とする天然ホルモン1,25 - ジヒドロキシビタミンD₃の類似体(例えば1,25 - ジヒドロキシ-2 - メチレン-19 - ノルビタミンD類似体)が合成され、試験された[Sicinskiら、J. Med. Chem., 41, 4662(1998); Sicinskiら、Steroids 67, 247(2002); 及びDe Lucaら、米国特許第5,843,928号; 同第5,936,133号及び同第6,382,071号)参照]。これらの類似体で行われた分子力学研究から、A環立体構造の変化によりシクロヘキサンジオール環の偏平化が起こり得ることが予測される。分子力学的計算及びNMR研究からも、A環立体構造的平衡が、およそ6:4となることが予測され、赤道部1-OHを有する配座異性体が支持される。19 - ノル - ビタミンD炭素骨格に2 - メチレン基を導入することにより、その1 - 及び3 - A環ヒドロキシルの特徴が変化することがさらに予測された。これらは両者とも、天然ホルモンの分子の1 - ヒドロキシル基と同様にアリル位にある[即ち1,25 - (OH)₂D₃]。1,25 - ジヒドロキシ-2 - メチレン-19 - ノルビタミンD類似体は、顕著な生物学的効果を特徴とすることが分かった。さらに、「非天然」(20S) - 立体構造が存在する場合、このような類似体の生物学的効果が大幅に促進され得る。これらの知見を考慮し、本発明は、炭素10(C-10)から炭素2(C-2)へのA環環外メチレン基の転移を特徴とするビタミンD化合物(例えば2 - メチレン-19 - ノルビタミンD類似体)を標的とする。これらの類似体は、生物学的活性に重要である1 - OHを欠くにもかからず、生物においてこのようなヒドロキシル基を酵素により導入できる可能性がある。²⁰

【発明の概要】

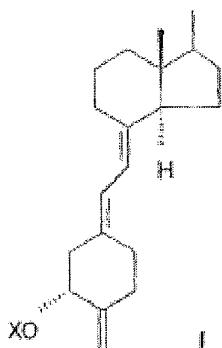
【0008】

本発明は、1 - デソキシ-2 - メチレン-19 - ノル - ビタミンD類似体及びそれらの医薬的使用及びより具体的には(20S) - 25 - ヒドロキシ-1 - デソキシ-2 - メチレン-19 - ノルビタミンD₃、その生物学的活性及び本化合物に対する様々な医薬的使用に関する。³⁰

【0009】

構造的にこれらの1 - デソキシ-2 - メチレン-19 - ノル - ビタミンD類似体は、以下で示される一般式を特徴とする：

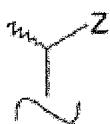
【化1】



10

(式中、Xは、水素及びヒドロキシ-保護基からなる群から選択され、基Rは、ビタミンD型化合物として知られる典型的側鎖の何れかを表す。従って、Rは、アルキル、水素、ヒドロキシアルキル又はフルオロアルキル基であってもよいし、又はRは式：

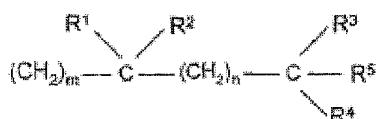
【化2】



20

の側鎖を表してもよく、該式中、上記側鎖構造中のZは、Y、-OY、-CH₂OY、-CY-CY及び-CH=CYから選択され、該側鎖中の二重結合はcis又はtrans幾何学配列を有し得、Yは、水素、メチル、-COR⁵及び構造：

【化3】



30

の基から選択され、該構造中、m及びnは、独立して0から5の整数を表し、R¹は、水素、重水素、ヒドロキシ、保護されたヒドロキシ、フルオロ、トリフルオロメチル及び、直鎖又は分岐鎖であり得、場合によってはヒドロキシ又は保護されたヒドロキシ置換基を有し得るC₁₋₅アルキルから選択され、R⁵、R³及びR⁴はそれぞれ、独立して、重水素、重アルキル(deuteroalkyl)、水素、フルオロ、トリフルオロメチル及び、直鎖又は分岐鎖であり得、場合によってはヒドロキシ又は保護されたヒドロキシ置換基を有し得るC₁₋₅アルキルから選択され、R¹及びR²は、一緒になって、オキソ基又は、一般式C_kH_{2k}- (式中、kは整数である。)を有するアルキリデン基、基=CR²R³又は基-(CH₂)_p- (式中、pは2から5の整数である。)を表し、R³及びR⁴は、一緒になって、オキソ基又は基-(CH₂)_q- (式中、qは2から5の整数である。)を表し、R⁵は、水素、ヒドロキシ、保護されたヒドロキシ又はC₁₋₅アルキルを表し、該側鎖中の20、22又は23位のCH-基の何れも窒素原子により置換され得るか又は20、22及び23位の基-CH(CH₃)-、-(CH₂)_m-、-CR₁R₂-又は-(CH₂)_n-の何れも、それぞれ、酸素又は硫黄原子により置換され得る。)。

【0010】

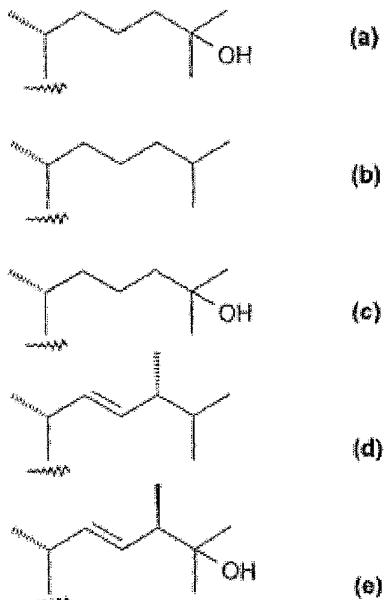
天然20R-立体構造を有する側鎖の重要な具体例は、下記の式(a)、(b)、(c)、(d)及び(e)により表される構造、即ち、25-ヒドロキシビタミンD₃(a)；ビタミンD₃(b)；25-ヒドロキシビタミンD₂(c)；ビタミンD₂(d)；及

40

50

び 25 - ヒドロキシビタミン D₂ の C - 24 エピマー (e) で出現する場合の側鎖である。

【化 4】



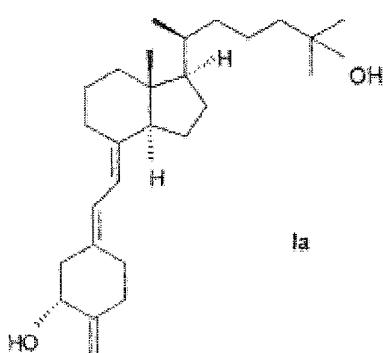
【0011】

炭素 20 に対する波線は、炭素 20 が R 又は S 立体構造の何れかを有し得ることを示す。

【0012】

好ましい類似体は、次の式 I a :

【化 5】



を有する (20S) - 25 - ヒドロキシ - 1 - デソキシ - 2 - メチレン - 19 - ノルビタミン D₃ である。

【0013】

式 I 、特に式 I a の上記化合物は、所望の非常に有利な生物学的活性パターンを示す。これらの化合物は、ビタミン D 受容体に対する比較的高い結合を特徴とし、即ち、それらは、1, 25 - ジヒドロキシビタミン D₃ よりも僅かに低い親和性で結合する。これらが HL - 60 細胞の分化を引き起こす能力は、1, 25(OH)₂D₃ よりもごく僅かに低い。これらはまた、1, 25 - ジヒドロキシビタミン D₃ と比較して、転写活性も比較的低く、骨からカルシウムを動員するそれらの能力及び腸カルシウム輸送を促進するためのそれらの能力において活性が比較的低い。ゆえに、これらの化合物は、血漿カルシウ

40

50

ム上昇活性が比較的低いことを特徴とし得る。

【0014】

上記化合物I及び特にIaは結合親和性が比較的高く、細胞分化活性が比較的高いことを特徴とするが、血漿カルシウム上昇活性が著しく低い。従って、このような化合物は、抗癌剤としての可能性を有し、白血病、結腸癌、乳癌、皮膚癌及び前立腺癌の予防又は治療のための治療薬を提供する。

【0015】

上記疾患を治療又は予防するために、本化合物の1以上が、組成物約0.01μg/gmから約1000μg/gm、好ましくは組成物約0.1μg/gmから約500μg/gmの量で組成物中に存在し得、約0.01μg/日から約1000μg/日、好ましくは約0.1μg/日から約500μg/日の投与量で、局所投与、経皮投与、経口投与、直腸投与、経鼻投与、舌下投与又は非経口投与され得る。

【0016】

図1-5は、ネイティブホルモン1,25-ジヒドロキシビタミンD₃（以後、「1,25(OH)₂D₃」と呼ぶ。）と比較した場合の、(20S)-25-ヒドロキシ-1-デソキシ-2-メチレン-19-ノルビタミンD₃（以後、「1-デソキシ-2MD」と呼ぶ。）の様々な生物学的活性を示す。

【図面の簡単な説明】

【0017】

【図1】図1は、全長組み換えラットビタミンD受容体への結合に対する[³H]-1,25-(OH)₂-D₃との競合に関する、1-デソキシ-2MD及び1,25(OH)₂D₃の相対活性を示すグラフである。

【図2】図2は、1-デソキシ-2MD及び1,25(OH)₂D₃の濃度の関数としての、%HL-60細胞分化を示すグラフである。

【図3】図3は、1-デソキシ-2MDと比較した場合の、インビトロでの1,25(OH)₂D₃の転写活性を示すグラフである。

【図4AB】図4A及び4Bは、1-デソキシ-2MDと比較した場合の、1,25(OH)₂D₃の骨カルシウム動員活性を示す棒グラフである。

【図5AB】図5A及び5Bは、1-デソキシ-2MDと比較した場合の、1,25(OH)₂D₃の腸カルシウム輸送活性を示す棒グラフである。

【発明を実施するための形態】

【0018】

本記載及び特許請求の範囲で使用される場合、「ヒドロキシ-保護基」という用語は、例えばアルコキカルボニル、アシリル、アルキルシリル又はアルキルアリールシリル基（本明細書中で以後、単純に「シリル」基と呼ぶ。）及びアルコキシアルキル基などの、ヒドロキシ官能基の一時的保護のために一般に使用される何らかの基を指す。アルコキカルボニル保護基は、メトキカルボニル、エトキカルボニル、プロポキカルボニル、イソプロポキカルボニル、ブトキカルボニル、イソブトキカルボニル、tert-ブトキカルボニル、ベンジルオキカルボニル又はアリルオキカルボニルなどのアルキル-O-CO-基である。「アシリル」という用語は、その異性体の全ての形態の、1から6個の炭素のアルカノイル基又は1から6個の炭素のカルボキシアルカノイル基、例えばオキサリル、マロニル、スクシニル、グルタリル基など、又は芳香族アシリル基、例えばベンゾイル又はハロ、ニトロもしくはアルキル置換ベンゾイル基など、を指す。「アルキル」という用語は、本記載及び特許請求の範囲で使用される場合、その異性体の全ての形態の、1から10個の炭素の直鎖又は分岐鎖アルキル基を指す。「アルコキシ」とは、酸素が結合する何らかのアルキル基、即ち「アルキル-O-」により表される基を指す。アルコキ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又はテトラヒドロフラニル及びテトラヒドロピラニルなどの基である。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

10

20

30

40

50

チルシリル及び類似するアルキル化シリル基である。「アリール」という用語は、フェニル-又はアルキル-、ニトロ-又はハロ置換フェニル基を指す。

【0019】

「保護されたヒドロキシ」基とは、既に定義されるとおり、例えばシリル、アルコキシアルキル、アシリル又はアルコキシカルボニル基など、ヒドロキシ官能基の一時的もしくは永久的保護のために一般に使用される上記の基の何れかにより誘導体化又は保護されているヒドロキシ基である。「ヒドロキシアルキル」、「重アルキル(deuteroalkyl)」及び「フルオロアルキル」という用語は、1以上のヒドロキシ、重水素又はフルオロ基によりそれぞれ置換されるアルキル基を指す。「アルキリデン」とは、一般式 C_kH_{2k-2} (式中、kは整数である。) を有する基を指す。

10

【0020】

基本構造 I の 2-メチレン-19-ノルビタミン D 類似体の調製は、一般的方法、即ち、アリルホスフィンオキシド II と二環式 Windaus-Grundmann 型ケトンの縮合により遂行することができる：

【化6】



20

【0021】

構造 II 及び IIIにおいて、基 X 及び R は、上記で定義される基を表し；X は好ましくはヒドロキシ-保護基であり、縮合反応に感受性があるか又はそれを妨害し得る R 中の何れの官能基も、当技術分野で周知のように適切に保護されることも理解されたい。上記で示されるプロセスは、収束合成の概念の応用に相当し、これは、ビタミン D 化合物の調製に対して有効に適用してきた [例えば、Lythgoe ら、J. Chem. Soc. Perkin Trans. I, 590 (1978) ; Lythgoe, Chem. Soc. Rev. 9, 449 (1983) ; Toh ら、J. Org. Chem. 48, 1414 (1983) ; Baggioolin ら、J. Org. Chem. 51, 3098 (1986) ; Sardina ら、J. Org. Chem. 51, 1264 (1986) ; J. Org. Chem. 51, 1269 (1986) ; De Luca ら、米国特許第 5,086,191 号 ; De Luca ら、米国特許第 5,536,713 号)] 。

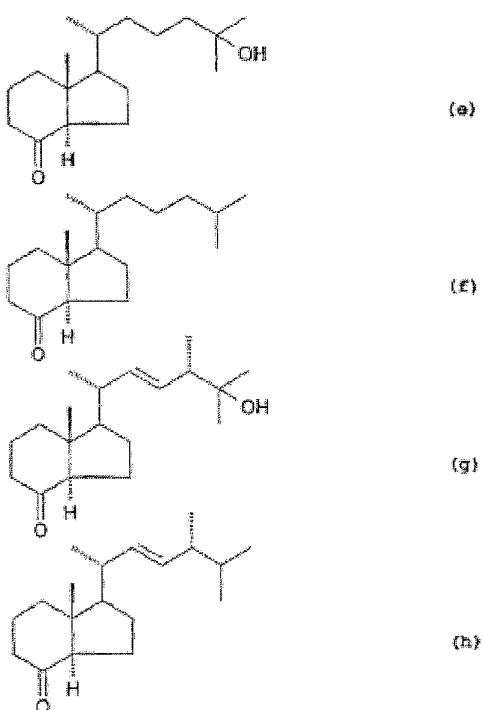
30

【0022】

一般構造 II のヒドリンダノンは既知であるか又は公知の方法によって調製することができる。このような既知の二環式ケトンの重要な具体例は、上述の側鎖 (a)、(b)、(c) 及び (d) を有する構造、即ち、25-ヒドロキシ Grundmann のケトン (e) [Baggioolin ら、J. Org. Chem., 51, 3098 (1986)] ; Grundmann のケトン (f) [Inhoffen ら、Chem. Ber., 90, 664 (1957)] ; 25-ヒドロキシ Windaus ケトン (g) [Baggioolin ら、J. Org. Chem., 51, 3098 (1986)] 及び Windaus ケトン (h) [Windaus ら、Ann., 524, 297 (1936)] である。

40

【化7】



10

20

【0023】

構造 I I I のホスフィンオキシドの調製に関して、代替的な合成経路が確立された。 Hayashiら [J. Org. Chem. 69, 5966 (2004)] が作り上げた方法を用い、触媒量の L - プロリン存在下でのニトロソベンゼンとケトンの反応を含め、スキーム I で示されるように、アキラルの市販のアセタール - ケトン 1 をエナンチオ選択的にヒドロキシル化してヒドロキシケトン 2 を得た。導入された第二のヒドロキシルをシリル化し、メチルトリフェニルホスホニウムプロミド及び *n* - ブチルリチウムから生成されたイリドとのウィッティヒ反応に保護化合物 3 を供した。得られたオレフィン化合物 4 において、ルイス酸 (FeCl₃) との反応にてカルボニル基を脱保護し、形成されたシクロヘキサン 5 をピーターソン反応に供し、*E* - 不飽和エステル 6 及び 7 の混合物を得た。この段階で可能ではあるものの、(カラムクロマトグラフィーによる) 幾何異性体の分離が還元段階後により容易に達成され、*E* - 及び *Z* - アリル型アルコール 8 及び 9 がそれぞれ得られた。次に、*E* - 異性体 8 を 3 段階の手順で、対応するホスフィンオキシド 10 に変換した。ホスフィンオキシド 10 から生成されたリチウムホスフィンオキシカルバニオンと既知の Grumann ケトン 11 とのウィッティヒ - ホーナーカップリング [Sicinskiら、J. Med. Chem., 41, 4662 (1998) 参照] を続いて行い、保護された 19 - ノルビタミン D 化合物が生成され、フッ化テトラブチルアンモニウムでのヒドロキシル脱保護後、所望の (20S) - 2 - メチレン - 25 - ヒドロキシ - 19 - ノル - ビタミン D₃ (12, 1 - デソキシ - 2MD) を得た。本明細書中の実施例 I でこの合成経路を記載し、本明細書中の実施例 I I で、A 環断片合成の代替的方法である、ホスフィンオキシド 27 及びケトン 11 とのそのカップリングを記載する。

【0024】

スキーム I I は、構成要素 27 及び最終的なビタミン 12 が得られる、異なる合成順序を示す。キラル出発化合物として市販の D - (-) - キナ酸 13 を使用し、最初にこれを公知のラクトン 14 に変換した。1, 1' - チオカルボニルジイミダゾールでこの化合物を処理した結果、環状チオカルボネート 15 が形成された [Millisら、Tetrahedron Lett. 29, 281 (1988) 参照]。水素化トリブチルスズ及び AIBN を用いたチオカルボネート 15 の Barton - McCombie 脱酸素反応から、2 種類の異性体生成物：既知の化合物 16 [Gonzales - Bellol ら、J. C

30

40

50

hem. Soc., Perkin Trans. 1, 849 (1999) 参照] 及び所望のジオール 17 が得られた。後者の異性体中の第二のヒドロキシルの酸化によりケトン 18 を得て、これをウィッティヒのメチル化に供した。次に、形成された化合物 19 中のラクトン環を開環させ、第二のヒドロキシルをシリル化した。得られた生成物 20 のメチルエステル部分を還元し、ジオール 21 を過ヨウ素酸酸化に供した。得られたシクロヘキサン 22 と (トリフェニルホスホラニリデン) 酢酸メチルとのウィッティヒ反応から、
 , - 不飽和エステル 23 及び 24 の混合物が得られた。DIBALH によりこれらを還元し、得られたアリル型アルコールをカラムクロマトグラフィーによって分離した。次に、E-異性体 25 を対応するアリルホスフィンオキシド 27 に変換した。フェニルリチウムにより生成したその陰イオンを、Grundmann ケトン 11 とカップリングし、酸性ヒドロキシル脱保護後、最終生成物 19 - ノルビタミン 12 (1 - デソキシ - 2MD) を得た。
 10

【0025】

実施例 I 及び II から明らかであるように、本明細書中で示される方法によって、異なる側鎖を有する他の 19 - ノルビタミン D 類似体を合成することができる。

【0026】

本発明を次の例示的実施例により説明する。これらの実施例において、アラビア数字 (例えば 1、2、3 など) により特定される具体的生成物は、前述の説明において及びスキーム I 及びスキーム II において明記した特定の構造を指す。

実施例

20

【0027】

化学。Thomas - Hoover 毛細管融点装置で融点 (補正なし) を決定した。Perkin - Elmer 241 自動旋光計を用いて、22 にて、クロロホルム中で旋光性を測定した。Perkin - Elmer ラムダ 3B UV - VIS 分光光度計により、エタノール中で紫外線 (UV) 吸収スペクトルを記録した。重クロロホルム中、200, 400 及び 500 MHz で、Varian Unity、Bruker DMX - 400 及び Bruker DMX - 500 スペクトロメーターを用いて、¹H 核磁気共鳴 (NMR) スペクトルをそれぞれ記録した。同じスペクトロメーターを用いて、重クロロホルム中、50、100 及び 125 MHz で、¹³C 核磁気共鳴 (NMR) スペクトルを記録した。化学シフト () は、内部 Me₄Si (0.00) から低磁場側で報告した。Micromass AutoSpec (Beverly, MA) 装置を用いて、電子衝突 (EI) 質量スペクトルを得た。モデル 6000A 溶媒送液システム、モデル U6K Universal 注入装置及びモデル 486 可変吸収検出器を備えた Waters Associates 液体クロマトグラフにおいて、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を行った。アルゴン下で、ナトリウムベンゾフェノンケチルから、THF を新たに蒸留した。
 30

実施例 I

【0028】

ホスフィンオキシド 10 からの (20S) - 2 - メチレン - 25 - ヒドロキシ - 19 - ノル - ビタミン D₃ (12, 1 - デソキシ - 2MD) の調製

40

(a) ケタール - ケトン 1 の - ヒドロキシ化 (スキーム I)。 (R) - 7 - ヒドロキシ - 1, 4 - ジオキサ - スピロ [4.5] デカン - 8 - オン (2)。CHCl₃ (10 mL) 中の 1, 4 - シクロヘキサンジオンモノエチレンケタール (1; 3.00 g, 19.23 mmol) 及び L - プロリン (0.97 g, 8.42 mmol) の搅拌溶液に、CHCl₃ (16 mL) 中のニトロソベンゼン (3.60 g, 33.65 mmol) 溶液をシリングポンプによって 4 で 24 時間にわたりゆっくりと添加した。次に、混合物をさらに 2 時間、室温で搅拌した。反応を塩水で停止させ、有機物質を酢酸エチルで抽出し、乾燥させ (MgSO₄)、真空下で濃縮した。シリカ上でのカラムクロマトグラフィーによる精製 (0.5 - 20% 酢酸エチル / ヘキサン勾配) によって、油状の - ヒドロキシケトン 2 (1.45 g, 44%) を得た。ヘキサン / 2 - プロパノール (99:1) 溶媒

50

系を用いて、この生成物の純度を HPLC により調べた (4.6 mm x 25 cm Chiralcel OD-H カラム、1.5 mL/分) : 鏡像体過剰率 (ee) が 94% よりも高いことが分かった ($R_v = 5.7$ mL; S - 鏡像異性体に対して $R_v = 4.7$ mL)。

2 : []_D + 27° (c 0.65, CDCl₃) ; ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) 1.85 (1H, t, J = 12.4 Hz, 6 -) , 2.05 (2H, m, 10 - H₂) , 2.50 (br m, 6 - 及び 9 -) , 2.70 (1H, dt, J = 6.8, 13.2 Hz, 9 - H) , 3.46 (1H, s, OH) , 4.03 (4H, m, O - CH₂CH₂ - O) , 4.38 (1H, dd, J = 12.4, 6.8 Hz, 7 - H) ; HRMS (ESI) C₈H₁₂O₄Na (M⁺ + Na) に対して計算した精密質量 195.0633、実測値 195.0628。 10

【0029】

(b) - ヒドロキシケトン 2 の保護。 (R) - 7 - [(tert - プチルジフェニルシリル)オキシ] - 1,4 - ジオキサ - スピロ [4.5] デカン - 8 - オン (3)。 tert - プチルジフェニルシリルクロリド (3.55 mL, 3.75 g, 13.65 mmol) を無水 DMF (9 mL) 中の - ヒドロキシケトン 2 (1.60 g, 13.65 mmol) 及びイミダゾール (2.32 g, 33.9 mmol) の溶液に添加した。この混合物を室温で 18 時間攪拌した。反応を塩水で停止させ、ヘキサンで抽出した。合わせた有機相を乾燥させ (MgSO₄)、減圧下で濃縮した。シリカ上でのカラムクロマトグラフィー (1:4% ヘキサン / 酢酸エチル勾配) により、無色油状物質として保護された化合物 3 (3.35 g, 88%) を得た。 20

3 : ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) 1.10 (9H, s, Si - t - Bu) , 1.8 - 2.1 (4H, br m, 6 - 及び 10 - H₂) , 2.35 (2H, m, 9 - H₂) , 3.62 (1H, m, - O - CH₂CH₂ - O - の 1 つ) , 3.82 (3H, m, - O - CH₂CH₂ - O - のうち 3 つ) , 4.40 (1H, dd, J = 11.8, 7.6 Hz, 7 - H) , 7.38 (6H, m, Ar - H) , 7.67 (4H, m, Ar - H) ; ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) 19.4, 27.1, 34.7, 35.9, 43.8, 64.5, 64.7, 73.8, 107.6, 127.8, 129.9, 133.3, 134.1, 136.0, 207.7 ; HRMS (ESI) C₂₄H₃₀O₄SiNa (M⁺ + Na) に対して計算した精密質量 433.1811、実測値 433.1800。 30

【0030】

(c) ケトン 3 のウィッティヒ反応。 (R) - 7 - [(tert - プチルジフェニルシリル)オキシ] - 8 - メチレン - 1,4 - ジオキサ - スピロ [4.5] デカン (4) の無水 THF (20 mL) 中のメチルトリフェニルホスホニウムプロミド (2.5 g, 6.99 mmol) に n - BuLi (ヘキサン中 1.6 M; 8.8 mL, 14.08 mmol) を滴下添加した。15 分後、さらなるホスホニウム塩 (2.5 g, 6.99 mmol) を添加し、0 で 10 分間及び室温で 20 分間、溶液を攪拌した。次に、橙色 - 赤色混合物を - 78 に冷却し、無水 THF (7 mL) 中のケトン 3 (2.85 g, 6.93 mmol) の予め冷却した (- 78) 溶液に吸い取らせた。反応混合物を - 78 で 4 時間、次いで室温で 1 時間攪拌した。混合物を塩水に注ぎ、ヘキサンで抽出した。有機抽出物を乾燥させ (MgSO₄)、蒸発させて橙色の油状の残渣を得て、これをシリカ上でフラッシュクロマトグラフィーにより精製した。ヘキサン / 酢酸エチル (97:3) での溶出によって、無色油状物質として純粋な 4 - メチレン化合物 4 (2.62 g, 93%) を得た。 40

4 : ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) 1.01 (9H, s, Si - t - Bu) , 1.43 (2H, m, 10 - H₂) , 1.62 (2H, m, 6 - H₂) , 2.19 (2H, m, 9 - H₂) , 3.36 (1H, m, O - CH₂CH₂ - O の 1 つ) , 3.73 (3H, m, O - CH₂CH₂ - O のうち 3 つ) , 4.30 (1H, dd, J = 11.0, 5.0 Hz, 7 - H) , 4.88 及び 5.31 (1H 及び 1H, 各 br s, = C 50

H_2), 7.35 (6H, m, Ar-H), 7.70 (4H, m, Ar-H); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) 14.5, 19.5, 22.9, 30.0, 31.8, 36.3, 44.5, 64.1, 64.3, 71.2, 106.6, 109.2, 127.7, 129.8, 134.1, 134.8, 135.9, 136.2, 149.3; HRMS (ESI) $\text{C}_{25}\text{H}_{32}\text{O}_3\text{SiNa}$ ($\text{M}^+ + \text{Na}$) に対して計算した精密質量 431.2019、実測値 431.2028。

【0031】

(d) ケタール4のカルボニル基の脱保護。(R)-3-[$(\text{tert-}\text{butyl})\text{diphenylsilyl}$]オキシ]-4-メチレン-シクロヘキサン(5)。室温の塩化メチレン(11 mL)中のケタール4(160 mg, 0.392 mmol)の溶液に、 $\text{FeCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$ (547 mg, 2.02 mmol)を添加した。得られた暗黄色懸濁液を50分間攪拌し、水の添加によって不活性化した。水層を塩化メチレンで抽出し、合わせた有機層を乾燥させ(MgSO_4)、減圧下で濃縮した。ヘキサン/酢酸エチル(95:5)を用いた、得られた黄色残渣のシリカ上でのカラムクロマトグラフィーによって、無色油状物質としてケトン5(141 mg, 99%)を得た。

5: ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): 1.05 (9H, s, Si-t-Bu), 2.32-2.52 (5H, br m, 2'-, 5-H₂ 及び 6-H₂), 2.83 (1H, m, 2'-H), 4.47 (1H, br t, $J \sim 6\text{ Hz}$, 3'-H), 4.90 (2H, s, =CH₂), 7.40 (6H, m, Ar-H), 7.65 (4H, m, Ar-H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) 19.6, 27.1, 32.8, 36.9, 44.8, 72.8, 107.1, 108.2, 128.0, 129.8, 133.0, 133.3, 135.1, 207.7; HRMS (ESI) $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_2\text{SiNa}$ ($\text{M}^+ + \text{Na}$) に対して計算した精密質量 387.1757、実測値 387.1746。

【0032】

(e) ケトン5のピーターソン反応。[(R)-3'-[$(\text{tert-}\text{butyl})\text{diphenylsilyl}$]オキシ]-4'-メチレン-シクロヘキシリデン]酢酸メチルエステル(6及び7の混合物)。攪拌しながら、無水THF(260 μL)中のジイソプロピルアミン(48.5 μL 、376 μmol)の溶液に、-78°、アルゴン下で、n-BuLi(ヘキサン中 2.5 M; 148 μL 、376 μmol)を添加し、次にメチル(トリメチルシリル)アセテート(60 μL 、367 μmol)を添加した。15分後、無水THF(300 μL + 80 μL)中のケト化合物5(63 mg, 172.8 μmol)を滴下添加した。この溶液を-78°で2時間攪拌し、飽和 NH_4Cl で反応を停止させ、塩水に注ぎ、酢酸エチルで抽出した。合わせた有機抽出物を乾燥させ(MgSO_4)、蒸発させた。残渣をヘキサン中で溶解し、シリカSep-Pak カートリッジに添加した。ヘキサン/酢酸エチル(98:2)での溶出によって、無色油状物質として不飽和エステル6及び7(65 mg, 90%)を得た。

6及び7(異性体の混合物): ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3 ; 選択シグナル) 1.15 及び 1.17 (5H 及び 4H, 各 s, 2 \times Si-t-Bu), 2.1-3.3 (6H, br m, 2'-, 5'- 及び 6'-H₂), 3.69 及び 3.73 (1.67 H 及び 1.33 H, 各 s, 2 \times COOCH₃), 4.29 (1H, m, 3'-H), 4.82, 4.90, 4.93, 5.12 (0.56 H, 0.56 H, 0.44 H 及び 0.44 H, 各 br s, =CH₂), 5.48 及び 5.83 (0.44 H 及び 0.56 H, 各 br s, CH-COOCH₃), 7.45 (6H, m, Ar-H), 7.75 (4H, m, Ar-H); HRMS (ESI) $\text{C}_{26}\text{H}_{32}\text{O}_3\text{SiNa}$ ($\text{M}^+ + \text{Na}$) に対して計算した精密質量 443.2019、実測値 443.2035。

【0033】

(f) エステル6及び7の還元。(E)-及び(Z)-2-[$(\text{tert-}\text{butyl})\text{diphenylsilyl}$]オキシ]-4'-メチレン-シクロヘキシリデン]エタノール(8及び9)。アルゴン下、-78°で、トルエン:塩化メチレン(2:1; 8 m

L) 中のアリルエステル6及び7(165mg、0.392mmol)の搅拌溶液に、水素化ジイソブチルアルミニウム(トルエン中1.5M; 1.9mL、2.85mmol)をゆっくりと添加した。-78で1時間及び-40で30分間、搅拌を継続した。酒石酸カリウムナトリウム(2N、4mL)、HCl水溶液(2N、4mL)及びH₂O(14mL)をゆっくりと添加することによってこの混合物を不活性化し、酢酸エチルで抽出した。合わせた有機層を塩水で洗浄し、乾燥させ(MgSO₄)、蒸発させた。ヘキサン/酢酸エチル(9:1)を用いて残渣をシリカSep-Pakカートリッジに通過させた。ヘキサン/酢酸エチル(8:2)溶媒系を用いて、アリル型アルコールの得られた混合物をHPLC(9.4mm x 25cm Zorbax-Silカラム、4mL/分)により分離し: Z-異性体9(82mg、53%)をR_v=35mLで回収し、E-異性体8(60mg、39%)をR_v=41mLで回収した。
10

8(少ないE-異性体): ¹H NMR(500MHz, CDCl₃) 1.08(9H, s, Si-t-Bu), 1.96(1H, ~dt, J=5, 12.5Hz, 6'-), 2.07(1H, dd, J=12.5, 8.5Hz, 2'-), 2.08(1H, m, 5'-H), 2.13(1H, dd, J=12.5, 4.5Hz, 2'-H), 2.31(1H, dt, J=12.5, 4.5Hz, 6'-H), 2.48(1H, dt, J=12.5, 5.5Hz, 5'-), 4.09(2H, d, J=7.0Hz, -CH₂OH), 4.14(1H, dd, J=8.5, 4.5Hz, 3'-H), 4.82及び5.10(1H及び1H, 各br s, =CH₂), 5.16(1H, t, J=7.5Hz, 2'-H), 7.39(6H, m, Ar-H), 7.65(4H, m, Ar-H); ¹³C NMR(125MHz, CDCl₃) 19.3, 27.0, 29.3, 32.7, 46.6, 58.7, 74.0, 107.2, 123.6, 127.5, 129.6, 133.8, 134.5, 135.8, 139.7, 149.6; HRMS(ESI) C₂₅H₃₂O₂SiNa(M⁺+Na)に対して計算した精密質量415.2070、実測値415.2059。
20

9(主要なZ-異性体): ¹H NMR(500MHz, CDCl₃) 1.09(9H, s, Si-t-Bu), 1.99(2H, m, 2'-及び5'-H), 2.11(2H, m, 6'-及び6'-H), 2.25(1H, dd, J=13.0, 4.5Hz, 2'-H), 2.48(1H, dt, J=12.5, 5.5Hz, 5'-), 3.62(1H, dd, J=10.0, 7.2Hz, -CH₂OHのうち1つ), 3.71(1H, dd, J=10.0, 7.0Hz, -CH₂OHのうち1つ), 4.09(1H, dd, J=9.0, 4.5Hz, 3'-H), 4.82及び5.10(1H及び1H, 各br s, =CH₂), 5.37(1H, t, J=7.0Hz, 2'-H), 7.39(6H, m, Ar-H), 7.65(4H, m, Ar-H); ¹³C NMR(125MHz, CDCl₃) 19.3, 27.0, 33.4, 37.3, 38.8, 58.3, 73.7, 107.1, 123.6, 127.6, 129.7, 133.7, 134.5, 135.8, 139.4, 149.6; HRMS(ESI) C₂₅H₃₂O₂SiNa(M⁺+Na)に対して計算した精密質量415.2070、実測値415.2067。
30

【0034】
40

(g) ホスフィンオキシド10の調製。[2-[Z)-(R)-3'-[tert-ブチルジフェニルシリル)オキシ]-4'-メチレン-シクロヘキシリデン]エチル]ジフェニルホスフィンオキシド(10)。無水THF(1.2mL)中のアリル型アルコール8(49mg、125μmol)の溶液に、アルゴン下、0で、n-BuLi(ヘキサン中2.5M; 50μL、125μmol)を添加した。次に、無水THF(230μL)中の新たに再結晶化した塩化トシリル(24mg、125μmol)の溶液をアリル型アルコール-n-BuLi溶液に添加した。この混合物を0で5分間搅拌し、0で放置した。アルゴンで空気を置換した別の乾燥したフラスコ中で、搅拌しながら、0で無水THF(360μL)中のPh₂PH(44.2μL、254μmol)の溶液にn-BuLi(ヘキサン中2.5M; 1mL、0.25mmol)を添加した。橙色が持続50

するようになるまで、赤色溶液をアルゴン圧下でトシレート溶液に吸い取らせた（溶液のおよそ半分を添加した。）。得られた混合物をさらに30分間、0で攪拌し、H₂O（14 μL）を添加することによって不活性化した。溶媒を減圧下で蒸発させて、残渣を塩化メチレン（1.2mL）中で再溶解し、0で1時間、10%H₂O₂（0.9mL）とともに攪拌した。有機層を分離し、冷亜硫酸ナトリウム水溶液及び水で洗浄し、乾燥させ（MgSO₄）、蒸発させた。残渣をシリカ上でのフラッシュクロマトグラフィーに供した。ヘキサン/酢酸エチル（6:4）での溶出によって、ホスフィンオキシド10（64mg、79%）を得た。

10 : ¹H NMR (200MHz, CDCl₃) 1.08 (9H, s, Si-t-Bu), 1.35-2.45 (6H, br m, 2'-, 5'-及び6'-H₂), 2.52 (2H, br m, =CH-CH₂), 3.88 (1H, dd, J=10.0, 5.0Hz, 3'-H), 4.80及び5.17 (1H及び1H, 各br s, =CH₂), 5.14 (1H, m, 2'-H), 7.2-7.5 (16H, br m, Ar-H), 7.57 (2H, dd, J=8.0, 1.5Hz, Ar-H), 7.68 (2H, dd, J=8.0, 1.5Hz, Ar-H); HRMS (ESI) C₃₇H₄₁O₂PSiNa (M⁺+Na) に対して計算した精密質量 599.2512、実測値 599.2534。

【0035】

(h) ホスフィンオキシド10及びGrundmannケトン11のウィッティヒ-ホナー反応。（20S）-25-ヒドロキシ-2-メチレン-19-ノルビタミンD₃（12）。攪拌しながら、0の無水THF（230 μL）中のホスフィンオキシド10（19mg、29.4 μmol）の溶液に、アルゴン下でn-BuLi（ヘキサン中2.5M；12 μL、29.7 μmol）をゆっくりと添加した。溶液が赤色に変化した。混合物を-78に冷却し、無水THF（60 μL+40 μL）中の保護されたヒドロキシケトン11（3mg、7.62 μmol）の予め冷却した（-78）溶液をゆっくりと添加した。アルゴン下、-78で1時間及び0で19時間、混合物を攪拌した。酢酸エチルを添加し、有機層を塩水で洗浄し、乾燥させ（MgSO₄）、蒸発させた。残渣をヘキサン中で溶解し、シリカSep-Packカートリッジに添加し、ヘキサン/ジエチルエーテル（98:2）で洗浄し、19-ノルビタミン誘導体12（4mg、70%）をシリル化した。

【0036】

生成物をTHF（350 μL）中で溶解し、アルゴン下、室温で、フッ化テトラブチルアンモニウム（THF中1.0M；318 μL、318 μmol）を添加した。攪拌を18時間継続し、塩水を添加し、混合物を酢酸エチルで抽出した。有機抽出物を乾燥させ（MgSO₄）、蒸発させた。ヘキサン/2-プロパノールアセテート（95:5）溶媒系を使用したHPLC（9.4mm×25cm Zorbax-Silカラム、4mL/分）によって残渣を精製し、R_v=19mLで19-ノルビタミン12（1.8mg、85%）を回収した。メタノール/水（85:15）溶媒系を用いたHPLC（9.4mm×25cm Zorbax Eclipse XDB-C18カラム、4mL/分）後、このビタミンの分析用試料を得た（R_v=44mL）。

12 : UV (EtOH) max 244, 252, 261 nm; ¹H NMR (500MHz, CDCl₃) 0.558 (3H, s, 18-H₃), 0.857 (3H, d, J=6.5Hz, 21-H₃), 1.217 (6H, s, 26-及び27-H₃), 1.95-2.05 (2H, m), 2.14 (1H, m), 2.23-2.35 (2H, m), 2.37-2.47 (2H, m), 2.59 (1H, dd, J=13.0, 4.1Hz, 4'-H), 2.82 (1H, br dd, J~13, 4.5Hz, 9'-H), 4.19 (1H, narr m, w/2=14Hz, 3'-H), 4.83及び4.96 (1H及び1H, 各br s, =CH₂), 5.84及び6.21 (1H及び1H, 各d, J=11.3Hz, 7'-及び6'-H); ¹³C NMR (100MHz, CDCl₃) 12.3, 18.6, 20.9, 22.1, 23.5, 27.3, 28.8, 29.1, 29.3, 32.2, 35.4, 36.0, 40.4, 44.3, 45.7, 46.7, 50

6.1, 56.3, 71.1, 73.0, 107.2, 115.6, 121.4, 134.3, 142.3, 150.3; HRMS (ESI) C₂₇H₄₄O₂Na に対して計算した精密質量 (M⁺ + Na) 423.3239、実測値 423.3253。

実施例 II

【0037】

ホスフィンオキシド 27 からの (20S)-2-メチレン-25-ヒドロキシ-19-ノル-ビタミンD₃ (12, 1-デソキシ-2MD) の調製。

(a) キナ酸 13 (スキーム II) のラクトン化。 (1S, 3R, 4R, 5R)-1, 3, 4-トリヒドロキシ-6-オキサ-ビシクロ [3.2.1] オクタン-7-オン (14)。無水トルエン (200 mL) 及び無水DMF (75 mL) 中の D-(-)-キナ酸 (20.0 g, 104 mmol) 及び p-トルエンスルホン酸 (2.2 g, 11.6 mmol) の溶液をディーンスタークトラップ下で 34 時間還流させた。反応混合物を 23 に冷却し、減圧下で濃縮して、濃黄色油状物質を得た。これを塩化メチレン (100 mL) で希釈し、ヘキサン (200 mL) を添加し、得られた混合物を 23 で 12 時間、放置した。沈殿生成物を真空ろ過によって回収し、これをさらに真空下で乾燥させて、白色粉末としてラクトン 14 (13.0 g, 72%) を得た (mp 184-188, 1i t. mp 184-185)。

14: ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) 1.87 (1H, br t, J ~ 11 Hz, 2 - H), 2.02 (1H, ddd, J = 11.7, 6.5, 2.9 Hz, 2 -), 2.22 (1H, ddd, J = 11.4, 6.0, 2.9 Hz, 8 - H), 2.47 (1H, d, J = 11.4 Hz, 8 - H), 3.70 (1H, ddd, J = 11.4, 6.5, 4.4 Hz, 3 -), 3.98 (1H, br t, J ~ 5 Hz, 4 -), 4.70 (1H, br t, J ~ 5 Hz, 5 - H); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) 37.8, 40.0, 66.8, 67.3, 73.1, 77.8, 179.5; HRMS (ESI) C₂₇H₄₀O₅Na (M⁺ + Na) に対して計算した精密質量 197.0426、実測値 197.0420。

【0038】

(b) ラクトン 14 のヒドロキシ基保護。 (1R, 2S, 6R, 8R)-8-ヒドロキシ-4-チオキソ-3, 5, 10-トリオキサ-トリシクロ [6.2.1.0^{2,6}] ウンデカン-9-オン (15)。1, 1'-チオカルボニルジイミダゾール (1.3 g, 6.86 mmol) を無水アセトニトリル (70 mL) 中のラクトン 14 (1.08 g, 6.24 mmol) の懸濁液に添加した。混合物を室温で 6 時間、激しく攪拌し、次に溶媒を減圧下で蒸発させた。シリカ上でのカラムクロマトグラフィー (3%メタノール/塩化メチレン) によって残渣を精製し、無色結晶として三環系化合物 15 (0.84 g, 63%) を得た (mp 219-222)。

15: []_D - 9.7° [c 1.06, (CH₃)₂CO]; ¹H NMR [400 MHz, (CD₃)₂CO] 2.24 (2H, m), 2.62 (1H, m), 2.68 (1H, ddd, J = 15.2, 8.0, 2.5 Hz, 7 - H), 5.03 (1H, d, J = 5.9, 2.7 Hz, 1 - H), 5.26 (1H, m, 2 -), 5.56 (1H, dt, J = 3.1, 8.0 Hz, 6 -); ¹³C NMR [100 MHz, (CD₃)₂CO] 35.5, 37.8, 70.7, 73.3, 77.7, 79.4, 176.8, 191.3; MS (EI) m/z (相対強度) 216 (M⁺, 60), 211 (15), 204 (12), 196 (42), 181 (100); C₈H₈O₅S に対して計算した精密質量 216.0092、実測値 216.0089。

【0039】

(c) 水素化 n-トリブチルすずでの化合物 15 の還元。 (1S, 3S, 5S)-1, 3-ジヒドロキシ-6-オキサ-ビシクロ [3.2.1] オクタン-7-オン (16) 及び (1S, 4R, 5R)-1, 4-ジヒドロキシ-6-オキサ-ビシクロ [3.2.1] オクタン-7-オン (17)。無水ベンゼン / THF (3/1, 230 mL) 中の化合物 15 (3.18 g, 14.7 mmol) 及び 2, 2'-アゾビスイソブチロニトリル (0

.36 g、2.20 mmol)の還流溶液に、水素化n-トリプチルすず(7.88 mL; 8.55 g、29.40 mmol)をシリングポンプによって75分以内に添加した。この混合物をさらに3時間還流下で加熱し、次いで12時間放置した。溶媒を減圧下で蒸発させ、シリカ上のカラムクロマトグラフィー(15 40%アセトン/塩化メチレン勾配)により残渣を精製し、無色結晶としてジオール17(1.94 g、83%)を得た(mp 212-214)、無色結晶として異性化合物16(0.11 g、5%)を得た(mp 148-152)。

16 : []_D - 60.3° (c 0.84, CH₃OH), lit []_D - 59.0° (c 0.80, CH₃OH); ¹H NMR [400 MHz, (CD₃)₂CO] 1.48 (1H, dd, J = 13.4, 10.0 Hz, 4 - H), 1.74 (1H, t, J ~ 11 Hz, 2 - H), 2.02 (1H, d, J = 11.1 Hz, 8 - H), 2.23 (1H, m), 2.34 (1H, m), 2.42 (1H, m), 3.88 (1H, m, 3 -), 4.78 (1H, t, J ~ 5 Hz, 5 - H); ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) 1.44 (1H, dd, J = 13.4, 10.1 Hz, 4 - H), 1.75 (1H, t, J ~ 11 Hz, 2 - H), 1.97 (1H, d, J = 11.2 Hz, 8 - H), 2.23 (1H, m), 2.36 - 2.43 (2H, m), 3.87 (1H, m, 3 -), 4.81 (1H, t, J ~ 5 Hz, 5 - H); ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD) 37.3, 44.3, 44.4, 65.3, 74.1, 75.9, 179.7; HRMS (ESI) C₇H₁₀O₄Na (M⁺ + Na) に對して計算した精密質量 181.0477、実測値 181.0482。 20

17 : []_D - 59.7° [c 1.15, (CH₃)₂CO]; ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) 1.70 (1H, m), 1.78 (1H, m), 1.86 (1H, m), 1.97 (1H, m), 2.26 (1H, ddd, J = 11.3, 6.1, 2.7 Hz, 8 -), 2.45 (1H, d, J = 11.3 Hz, 8 - H), 3.97 (1H, br t, J ~ 4 Hz, 4 -), 4.60 (1H, br t, J ~ 5 Hz, 5 - H); ¹H NMR [400 MHz, (CD₃)₂CO] 1.66 - 1.77 (2H, m), 1.84 (1H, m), 1.96 (1H, m), 2.24 (1H, ddd, J = 11.2, 6.2, 2.8 Hz, 8 -), 2.46 (1H, d, J = 11.2 Hz, 8 - H), 4.00 (1H, m, 4 -), 4.58 (1H, br t, J ~ 5 Hz, 5 - H); ¹³C NMR [100 MHz, (CD₃)₂CO] 28.1, 30.2, 38.2, 64.4, 74.7, 77.6, 178.3; HRMS (ESI) C₇H₁₀O₄Na (M + Na) に對して計算した精密質量 181.0477、実測値 181.0471。 30

【0040】

(d) ジオール17の酸化。(1S, 5R)-1-ヒドロキシ-6-オキサ-ビシクロ[3.2.1]オクタン-4,7-ジオン(18)。アルコール17(2.67 g、16.88 mmol)、過乾燥の活性化4分子ふるい(2.7 g)、重クロム酸ピリジニウム(12.90 g、34.28 mmol)及び無水アセトニトリル(250 mL)の混合物を室温で5時間、激しく攪拌した。次に、反応混合物をCelliteのパッドに通してろ過し(300 mLの酢酸エチルで洗浄)、溶媒を減圧下で除去した。残渣のシリカ上のカラムクロマトグラフィー(15 40%アセトン/塩化メチレン勾配)によって、無色結晶としてケトン18(2.17 g、82%)を得た(mp 144-145)。 40

18 : []_D - 225° [c 1.16, (CH₃)₂CO]; ¹H NMR (500 MHz, CD₃CN) 2.11 (2H, m, 2 - H₂), 2.35 (1H, d, J = 12.5 Hz, 8 - H), 2.46 (1H, br dd, J = 16.7, ~ 6 Hz, 3 - H), 2.70 (1H, dt, J = 16.7, ~ 10 Hz, 3 -), 2.78 (1H, ddd, J = 12.5, 6.8, 2.8 Hz, 8 -), 4.51 (1H, d, J = 6.8 Hz, 5 - H); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃CN) 32.8, 34.0, 42.6, 74.4, 80.5, 178.0, 204.7; MS (EI) m/z 156 (M⁺, 55), 138 (100), 100 (42), 70 (43); HRM 50

S (E I) C₇H₈O₄ に対して計算した精密質量 156.0423、実測値 156.0417。

【0041】

(e) ケトン 18 のウィッティヒ反応。 (1S, 5R) - 1 - ヒドロキシ - 4 - メチレン - 6 - オキサ - ビシクロ [3.2.1] オクタン - 7 - オン (19)。0 の無水 THF (35 mL) 中のメチルトリフェニルホスホニウムプロミド (1.78 g, 4.99 mmol) に、 THF 中のカリウム tert - ブトキシドの溶液 (1.0 M; 4.74 mL, 4.74 mmol) を滴下添加した。混合物を室温まで温め、さらに 10 分間攪拌した。カニューレを介して THF (10 mL) 中のケトラクトン 18 (0.38 g, 2.43 mmol) を添加し、室温で次の 2 時間、攪拌を継続した。次いで溶媒を減圧下で除去し、残渣を酢酸エチル (20 mL) と塩水 (40 mL) との間で分配した。層を分離し、水層を酢酸エチルで抽出した (5 × 20 mL)。有機抽出物を合わせ、乾燥させ (MgSO₄)、ろ過し、減圧下で濃縮した。シリカ上でのカラムクロマトグラフィーにより残渣を精製し (30% 酢酸エチル / ヘキサン)、半固体の化合物 19 (0.30 g, 80%) を得た。

19 : []_D - 129° (c 1.15, CDCl₃) ; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) 1.96 (2H, m), 2.05 (1H, d, J = 11.3 Hz, 8 - H), 2.48 (2H, m), 2.70 (1H, ddd, J = 11.3, 6.3, 2.7 Hz, 8 -), 4.93 (1H, br s, =CH₂ の 1 つ), 4.98 (1H, d, J = 6.3 Hz, 5 - H), 5.01 (1H, d, J = 1.4 Hz, =CH₂ の 1 つ); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) 26.3, 33.8, 44.1, 74.4, 80.2, 112.1, 141.4, 178.7; HRMS (ESI) C₈H₁₀O₃Na (M⁺ + Na) に対して計算した精密質量 177.0528、実測値 177.0525。

【0042】

(f) ラクトン 19 のメタノリシス及びヒドロキシル保護。 [(1S, 3R) - 3 - [(tert - ブチルジメチルシリル) オキシ] - 1 - ヒドロキシ - 4 - メチレン] シクロヘキサンカルボン酸メチルエステル (20)。活性化した過乾燥 4 分子ふるい (0.22 g) の存在下で、無水メタノール (30 mL) でラクトン 19 (0.88 g, 5.71 mmol) を処理した。反応混合物を室温で 48 時間攪拌した。次に、分子ふるいをろ過して取り除き、溶媒を減圧下で蒸発させた。無水塩化メチレン (30 mL) 及び 2,6 - ルチジン (1.26 mL; 1.16 g, 10.84 mmol) 中で粗製メチルエステルを溶解し、-40 に冷却し、tert - ブチルジメチルシリルトリフルオロメタンスルホネート (1.97 mL; 2.26 g, 8.56 mmol) を滴下添加した。反応混合物を -40 で 50 分間攪拌した。湿潤塩化メチレン (10 mL) をゆっくりと添加し、冷却槽を除去し、反応混合物をゆっくりと室温に温めた。次にこれを Celite のパッドに通してろ過し (30 mL の塩化メチレンで洗浄)、飽和 CuSO₄ 水溶液 (2 × 15 mL) 及び塩水 (15 mL) で洗浄した。有機層を合わせ、乾燥させ (MgSO₄)、ろ過し、減圧下で濃縮した。シリカ上でのカラムクロマトグラフィーにより (10% 酢酸エチル / ヘキサン) 粗製生成物を精製し、無色油状物質としてエステル 20 (1.37 g, 80%) を得た。

20 : []_D - 0.2° (c 1.05, CDCl₃) ; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) 0.07 及び 0.08 (3H 及び 3H, 各 s, 2 × SiCH₃), 0.90 (9H, s, Si - t - Bu), 1.70 (1H, m), 1.81 (2H, m), 1.97 (1H, m), 2.33 (1H, ddd, J = 13.5, 4.3, 2.4 Hz, 5 -), 2.46 (1H, dt, J = 13.5, 4.3 Hz, 5 - H), 3.77 (3H, s, COOCH₃), 4.42 (1H, dd, J = 11.1, 5.0 Hz, 3 - H), 4.80 及び 5.03 (1H 及び 1H, 各 s, =CH₂); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) - 5.05, - 5.01, 18.3, 25.8, 29.3, 36.0, 45.3, 53.0, 69.0, 75.1, 105.7, 149.6, 176.50

. 6 ; HRMS (ESI) C₁₅H₂₈O₄SiNa (M⁺ + Na) に対して計算した精密質量 323.1655、実測値 323.1643。

【0043】

(g) エステル 20 の還元。[(1S', 3R')-3'-[(tert-ブチルジメチルシリル)オキシ]-1'-ヒドロキシ-4'-メチレン-シクロヘキシリル]メタノール (21)。水素化ジイソブチルアルミニウム (塩化メチレン中 1.0 M; 3.83 mL、3.83 mmol) を、-70 の塩化メチレン (18 mL) 中のメチルエステル 20 (0.23 g、0.76 mmol) の攪拌溶液にゆっくりと添加した。-70 で 1 時間及び -30 で 2 時間攪拌を継続した。酒石酸カリウムナトリウム (2 N, 4 mL) をゆっくりと添加することによって混合物を不活性化し、塩化メチレン (200 mL) で希釈し、塩水 (3 × 30 mL) 及び水 (2 × 30 mL) で洗浄した。有機層を乾燥させ (MgSO₄)、ろ過し、減圧下で濃縮した。残渣をシリカ Sep-Pak カートリッジ (10 30 % 酢酸エチル / ヘキサン勾配) に通過させ、無色結晶としてジオール 21 (0.20 g、94 %) を得た (mp 89-90)。

21: []_D + 1.3° (c 1.04, CHCl₃) ; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) 0.07 及び 0.08 (3H 及び 3H, 各 s, 2 × SiCH₃) , 0.91 (9H, s, Si-t-Bu) , 1.40 (2H, m) , 1.70 (1H, m) , 1.96 (1H, m) , 2.33 (2H, m) , 3.48 (2H, s, -CH₂OH) , 4.40 (1H, dd, J = 10.2, 5.0 Hz, 3' - H) , 4.78 及び 4.97 (1H 及び 1H, 各 s, =CH₂) ; ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) -5.0, -4.9, 18.3, 25.8, 28.9, 35.1, 44.7, 69.7, 70.7, 73.4, 105.9, 150.4 ; HRMS (ESI) C₁₅H₂₈O₃Si (M⁺ + H) に対して計算した精密質量 273.1886、実測値 273.1885。

【0044】

(h) ジオール 21 の過ヨウ素酸酸化。(R)-3-[(tert-ブチルジメチルシリル)オキシ]-4-メチレン-シクロヘキサン (22)。メタノール / 水 (5/1、53 mL) 中のジオール 21 (0.76 g、2.81 mmol) の攪拌溶液に、0 で過ヨウ素酸ナトリウム (1.80 g、8.43 mmol) を添加した。0 で 1 時間攪拌を継続し、反応混合物を酢酸エチル (140 mL) で希釈し、塩水 (3 × 20 mL) 及び水 (20 mL) で抽出した。合わせた水層を酢酸エチルで抽出した (3 × 20 mL)。有機層を合わせ、乾燥させ (MgSO₄)、次いでろ過し、減圧下で濃縮した。シリカ Sep-Pak カートリッジ (5 % 酢酸エチル / ヘキサン) 上で残渣を精製し、無色油状物質としてケトン 22 (0.64 g、95 %) を得た。

22: []_D - 43° (c 1.25, CHCl₃) ; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) 0.03 及び 0.05 (3H 及び 3H, 各 s, 2 × SiCH₃) , 0.86 (9H, s, Si-t-Bu) , 2.28-2.45 (3H, m) , 2.48 (1H, dd, J = 14.1, 4.2 Hz, 2' - H) , 2.71 (1H, m) , 4.42 (1H, m, 3' -) , 4.94 及び 5.08 (1H 及び 1H, 各 s, =CH₂) ; ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) -5.1, -5.0, 18.1, 25.6, 28.7, 41.5, 51.5, 72.7, 109.8, 147.0, 208.9 ; HRMS (ESI) C₁₃H₂₄O₂SiNa (M⁺ + Na) に対して計算した精密質量 263.1443、実測値 263.1438。

【0045】

(i) ケトン 22 のウィッティヒ反応。[(R)-3'-[(tert-ブチルジメチルシリル)オキシ]-4'-メチレン-シクロヘキシリデン]酢酸メチルエステル (23 及び 24 の混合物)。無水ベンゼン (20 mL) 中のケトン 22 (0.65 g、2.38 mmol) の溶液に、メチル (トリフェニルホスホラニリデン) アセテート (1.59 g、4.77 mmol) を添加した。反応混合物を還流下で 15 時間加熱し、次いで減圧下で濃縮し、シリカ Sep-Pak カートリッジ (3 5 % 酢酸エチル / ヘキサン) 上で残

10

20

30

40

50

渣を精製し、不飽和エステル 23 及び 24 の混合物を得た（比率およそ 2 : 3 ; 0.63 g、89%）。

23 及び 24（異性体の混合物）：¹H NMR (400 MHz, CDCl₃; 選択シグナル) 0.05 及び 0.07 及び 0.11 (1.2H, 3H 及び 1.8H, 各 s, 2 x SiCH₃), 0.90 (9H, s, Si-t-Bu), 3.29 (0.4H, m, 6 ' - H), 3.51 (0.6H, dd, J = 13.0, 4.4 Hz, 2 ' - H), 4.12 (1H, m, 3 ' - H), 4.80, 4.82, 5.01 及び 5.03 (0.6H, 0.4H, 0.4H 及び 0.6H, 各 s, =CH₂), 5.68 及び 5.73 (0.4H 及び 0.6H, s, 2 - H); HRMS (ESI) C₁₆H₂₈O₃SiNa (M⁺ + Na) に対して計算した精密質量 319.1705、実測値 319.1710。 10

【0046】

(j) エステル 23 及び 24 の還元。（E）- 及び（Z）- 2 - [（R）- 3 ' - [（tert-ブチルジメチルシリル）オキシ] - 4 ' - メチレン - シクロヘキシリデン] エタノール（25 及び 26）。

水素化ジイソブチルアルミニウム（塩化メチレン中 1.0M；9.89 mL、9.89 mmol）を、-70 の塩化メチレン（40 mL）中のエステル 23 及び 24 の混合物（0.73 g、2.47 mmol）の攪拌溶液にゆっくりと添加した。-70 で 2 時間及び -40 で 1 時間攪拌を継続した。酒石酸カリウムナトリウム（2N, 6 mL）をゆっくりと添加することによって混合物を不活性化し、塩化メチレン（250 mL）で希釈し、塩水（3 × 30 mL）及び水（2 × 30 mL）で洗浄した。有機層を乾燥させ（MgSO₄）、ろ過し、減圧下で濃縮した。シリカ上でのカラムクロマトグラフィーにより（10% 20% 酢酸エチル / ヘキサン勾配）残渣を精製し、無色油状物質としてアリル型アルコール 25（0.25 g、39%）及び油状の異性化合物 26（0.37 g、58%）を得た。 20

25（少ない E - 異性体）：[]_D + 5.8° (c 0.98, CDCl₃) ; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) 0.06 及び 0.07 (3H 及び 3H, 各 s, 2 x SiCH₃), 0.91 (9H, s, Si-t-Bu), 1.97 (2H, m), 2.14 (1H, br t, J ~ 11 Hz, 2 ' -), 2.47 (3H, m), 4.05 (1H, dd, J = 9.8, 4.9 Hz, 3 ' - H), 4.17 (2H, m, -CH₂O), 4.78 及び 5.01 (1H 及び 1H, 各 s, =CH₂), 5.46 (1H, t, J = 7.0 Hz, 2 - H); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) -5.0, -4.9, 18.3, 25.8, 29.2, 32.9, 47.3, 58.7, 73.2, 106.5, 123.4, 140.2, 150.0; HRMS (ESI) C₁₅H₂₈O₂SiNa (M⁺ + Na) に対して計算した精密質量 291.1756、実測値 291.1756。 30

26（主要な Z - 異性体）：[]_D - 26° (c 1.09, CDCl₃) ; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) 0.06 及び 0.08 (3H 及び 3H, 各 s, 2 x SiCH₃), 0.90 (9H, s, Si-t-Bu), 2.09 (1H, dt, J = 12.7, 6.6 Hz, 5 ' -), 2.17 (2H, m, 5 ' - 及び 6 ' -), 2.27 (1H, dd, J = 12.9, 7.9 Hz, 2 ' -), 2.43 (1H, dt, J = 12.7, 5.8 Hz, 6 ' - H), 2.50 (1H, dd, J = 12.9, 4.2 Hz, 2 ' - H), 4.09 (1H, m, -CH₂OH の 1 つ), 4.13 (1H, dd, J = 7.9, 4.2 Hz, 3 ' - H), 4.18 (1H, dd, J = 11.9, 7.2 Hz, -CH₂OH の 1 つ), 4.78 及び 4.96 (1H 及び 1H, 各 s, =CH₂), 5.60 (1H, t, J = 7.2 Hz, 2 - H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) -4.94, -4.9, 18.3, 25.8, 33.1, 37.4, 39.0, 58.3, 73.3, 107.6, 123.7, 140.4, 149.9; HRMS (ESI) C₁₅H₂₈O₂SiNa (M⁺ + Na) に対して計算した精密質量 291.1756、実測値 291.1769。 40

【0047】

(k) ホスフィンオキシド 27 の調製。[(E)-[(3'R)-[(tert-ブチルジメチルシリル)オキシ]-4'-メチレンシクロヘキシリデン]エチル]ジフェニルホスフィンオキシド(27)。無水THF(5mL)中のアリル型アルコール 25(190.0mg、708μmol)に、アルゴン下、0でn-BuLi(ヘキサン中1.6M; 450μL、125μmol)を添加した。次に、無水THF(1.5mL)中の新たに再結晶化した塩化トシリ(141.5mg、743μmol)の溶液をアリル型アルコール-n-BuLi溶液に添加した。混合物を0で5分間攪拌し、0で放置した。アルゴンで空気が置換されている別の乾燥したフラスコ中で、攪拌しながら、n-BuLi(ヘキサン中1.6M; 942μL, 1.51mmol)を、0の無水THF(2mL)中のジフェニルホスフィン(250μL, 1.44mmol)に添加した。橙色が持続するまで、赤色の溶液をアルゴン圧力下でトシレート溶液に吸い取らせた。得られた混合物を0でさらに30分間攪拌し、H₂O(0.8mL)を添加することによって不活性化した。溶媒を減圧下で蒸発させて、残渣を塩化メチレン(6.5mL)中で再溶解し、10%H₂O₂(3.8mL)とともに0で1時間攪拌した。有機層を分離し、冷亜硫酸ナトリウム水溶液(1.5mL)及び水(1.5mL)で洗浄し、乾燥させ(MgSO₄)、ろ過し、減圧下で蒸発させた。残渣をシリカSep-Pakカートリッジ(5%酢酸エチル/ヘキサン)で精製し、半結晶性ホスフィンオキシド 27(220mg、69%)を得た。

27: []_D + 7.9°(c 1.07, CDCl₃) ; ¹H NMR(500MHz, CDCl₃) 0.03(6H, s, 2×SiCH₃), 0.88(9H, s, Si-tert-Bu), 1.60(2H, m), 2.04(1H, m, 2'-H), 2.25(2H, m), 2.39(1H, dd, J = 12.6, 4.8Hz, 2'-H), 3.12(2H, m, =CH-CH₂), 3.85(1H, dd, J = 9.8, 4.8Hz, 3'-H), 4.70及び4.95(1H及び1H, 各s, =CH₂), 5.30(1H, ~t, J = 7Hz, 2-H), 7.25-7.5(6H, m, Ar-H), 7.74(4H, m, Ar-H); ¹³C NMR(125MHz, CDCl₃) -5.0, 18.3, 25.8, 29.2, 30.1, 30.7, 32.4, 47.4, 73.1, 106.2, 112.2, 112.3, 128.4, 128.5, 128.51, 128.55, 131.0, 131.1, 131.2, 131.8, 141.2, 141.3, 149.9; HRMS(ESI) C₂₇H₃₇O₂PSiNa(M⁺+Na)に対して計算した精密質量 475.2198、実測値 475.2208。

【0048】

(1) ホスフィンオキシド 27 及び Grundmann ケトン 11 のウイッティヒ-ホーナー反応。(20S)-25-ヒドロキシ-2-メチレン-19-ノルビタミン D₃(12)。無水THF(800μL)中の 27(49mg、108μmol)の攪拌溶液に、この溶液が濃橙色になるまで、2滴のフェニルリチウム溶液(ジ-n-ブチルエーテル中1.8M)を20で添加した。次に、54μL(97μmol)のフェニルリチウム溶液を滴下添加した。20分後、反応混合物を-78に冷却し、カニューレを介して、無水THF(400μL+100μL)中の予め冷却した(-78)ケトン 11 の溶液(28mg、71μmol)を添加した。混合物を-78で2時間及び0で4時間攪拌した。酢酸エチル(30mL)を添加し、有機相を塩水(7mL)で洗浄し、乾燥させ(MgSO₄)、ろ過し、減圧下で濃縮した。シリカSep-Pakカートリッジ(0.2%酢酸エチル/ヘキサン)上で残渣を精製し、保護された 19-ノルビタミン D 誘導体を得た。

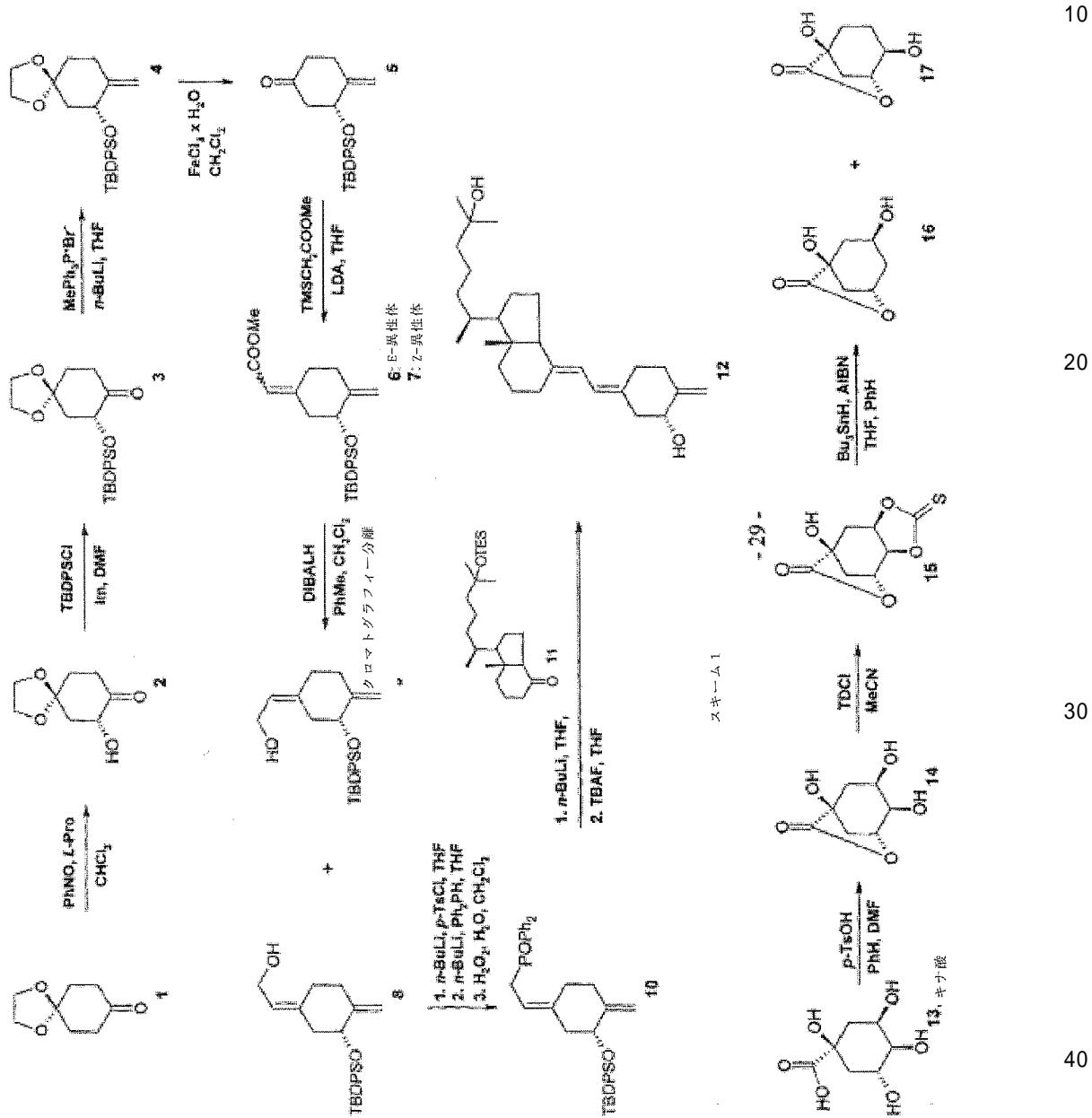
【0049】

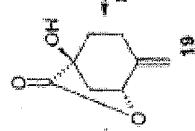
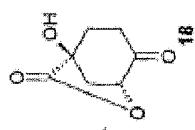
メタノール(2mL)中の得られた油状化合物(11mg、17μmol)の攪拌溶液に、(1S)-(+)-10-カンファースルホン酸(7mg、30μmol)を0で添加した。次いで、冷却槽を除去し、反応混合物を室温で一晩攪拌した。数滴の重炭酸ナトリウム飽和水溶液及び水(3mL)を添加し、混合物を酢酸エチルで抽出した(5×7mL)。合わせた有機相を乾燥させ(MgSO₄)、減圧下で濃縮し、シリカSep-P

a k カートリッジ (10% 酢酸エチル / ヘキサン) 上でならびに 7% ヘキサン / 2-ブロパノール溶媒系を用いた HPLC (9.4 mm x 25 cm Zorbax Rx-Sil カラム、4 mL/分) によって残渣を精製した ($R_v = 21$ mL)。メタノール / 水 (85:15) 溶媒系 ($R_v = 44$ mL) を用いた HPLC (9.4 mm x 25 cm Zorbax Eclipse XDB-C18 カラム、4 mL/分) によって、さらなる精製を遂行した。分析上純粋な 19-ノルビタミン D₃ 類似体 12 (6.9 mg、11より 14% 収率) を得たが、これは、実施例 I に記載の化合物と全ての点で同一であった。

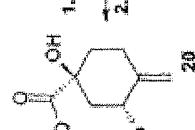
スキーム I 及びスキーム II を次に示す。

【化 8】

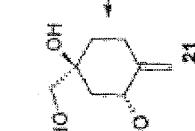




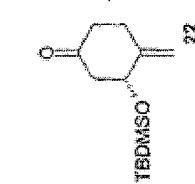
10

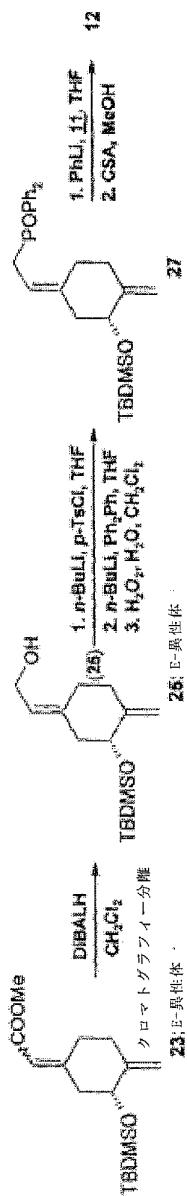


20



30





【 0 0 5 0 】

(20S)-25-ヒドロキシ-1-デソキシ-2-メチレン-19-ノルビタミンD₃の生物学的活性

2 - 位へのメチレン基の導入、炭素 1 0 のメチレン置換基の除去及びそのエピ又は S 配置に炭素 2 0 のメチル基を配向させることは、1 , 2 5 - ジヒドロキシビタミン D₃ と比較して、全長組み換えラットビタミン D 受容体への結合に殆ど又は全く影響しなかった。化合物 1 - デソキシ - 2 M D の受容体への結合は、標準的な 1 , 2 5 - (O H)₂ D₃ と比較した場合、親和性がごく僅かに低かった(図 1)。これらの結果から、化合物 1 - デソキシ - 2 M D が同等の生物学的活性を有することが予想され得る。しかし、驚くべきことに、化合物 1 - デソキシ - 2 M D は、特有の生物学的活性を有する非常に選択性的な類似体である。

【 0 0 5 1 】

図 5 A 及び 5 B は、腸カルシウム輸送の刺激において、天然ホルモンである 1,25-ジヒドロキシビタミン D₃ (1,25(OH)₂D₃) の活性と比較した場合、1-デソキシ-2MD の活性が比較的低いことを示す。1-デソキシ-2MD は、消化器官全体の能動的カルシウム輸送の促進において、1,25(OH)₂D₃ よりも約 20 倍弱い。

〔 0 0 5 2 〕

10

20

30

40

図4A及び4Bは、1,25(OH)₂D₃と比較した場合、1-デソキシ-2MDの骨カルシウム動員活性が比較的低いことを示す。1-デソキシ-2MDは、骨カルシウム貯蔵物の放出において、ネイティブのホルモンよりも作用が弱く、ラット1匹あたり7020pmolを投与するまでは活性が殆ど又は全く観察されず、一方、ネイティブホルモンを投与する場合は780pmolで血清カルシウムの顕著な上昇が見られる。

【0053】

このようにして、図4-5から、1-デソキシ-2MDは、血漿カルシウム上昇活性が比較的低いことを特徴とし得ることが示される。

【0054】

図2は、HL-60細胞分化において、1-デソキシ-2MDが1,25(OH)₂D₃とほぼ同じ強さの作用を有することを示し、このため、1-デソキシ-2MDは、癌治療に対する、特に白血病、結腸癌、乳癌、皮膚癌及び前立腺癌の予防又は治療に対する優れた候補となる。

【0055】

図3は、骨細胞において、化合物1-デソキシ-2MDの転写活性が、1,25-ジヒドロキシビタミンD₃よりも低いことを示す。骨細胞において、1-デソキシ-2MDは、24-ヒドロキシラーゼ遺伝子の転写上昇に関して、1,25(OH)₂D₃よりも約20倍作用が弱い。この結果から、図2の細胞分化活性と併せて、1-デソキシ-2MDは、細胞分化、遺伝子転写の惹起及び細胞増殖の抑制において、直接的な細胞活性を有するので、上述の癌の治療において非常に有効であることが示唆される。

【0056】

実験方法

本発明の化合物を調製し、次の方法を用いて試験した。

【0057】

ビタミンD受容体結合

試験材料

タンパク質の供給源

全長組み換えラット受容体をE.コリ(大腸菌)BL21(DE3)Codon Plus RIL細胞で発現させ、2種類の異なるカラムクロマトグラフィーシステムを使用して均一になるように精製した。第一のシステムは、このタンパク質上のC末端ヒスチジンタグを使用するニッケルアフィニティ樹脂であった。イオン交換クロマトグラフィー(S-Sephadose Fast Flow)を用いて、この樹脂から溶出されたタンパク質をさらに精製した。精製タンパク質の分注液を液体窒素中で急速凍結し、使用するまで-80°Cで保存した。結合アッセイで使用する場合、0.1%Chaps界面活性剤入りのTEDK₅₀(50mM Tris、1.5mM EDTA、pH7.4、5mM DTT、150mM KCl)中でタンパク質を希釈した。添加した放射性標識リガンドのうち受容体に結合するものが20%を超えないように、受容体タンパク質及びリガンド濃度を最適化した。

【0058】

試験薬物

未標識リガンドをエタノール中で溶解し、UV分光光度法を用いて濃度を決定した(1,25(OH)₂D₃:モル吸光係数=18,200及び_{m a x}=265nm)。最終濃度1nMとなるようにエタノール中の放射性標識リガンド(³H-1,25(OH)₂D₃、~159Ci/mmol)を添加した。

【0059】

アッセイ条件

100mcIの希釈タンパク質に放射性標識及び未標識リガンドを添加し、10%の最終エタノール濃度とし、混合し、氷上で一晩インキュベートし、結合平衡状態に到達させた。翌日、100mcIのヒドロキシルアパタイトスラリー(50%)を各試験管に添加し、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により回収し、次

10

20

30

40

50

いで 0.5% Triton X-100 を含有する Tris-EDTA 緩衝液 (50 mM Tris, 1.5 mM EDTA, pH 7.4) で 3 回洗浄した。最終的な洗浄後、4 mL の Biosafe II シンチレーションカクテルを含有するシンチレーションバイアルにペレットを移し、混合し、シンチレーションカウンターに載せた。放射性標識リガンドのみを含有する試験管から、総結合を調べた。

【0060】

HL-60 分化

試験材料

試験薬物

試験薬物をエタノール中で溶解し、UV 分光光度法を用いて濃度を確認した。細胞培養中に存在する最終エタノール濃度 (0.2%) を変化させることなく薬物濃度の範囲を試験することができるように、連続希釈液を調製した。

10

【0061】

細胞

10%ウシ胎仔血清を含有する RPMI-1640 培地中でヒト前骨髄球性白血病 (HL60) 細胞を増殖させた。5%CO₂ の存在下、37°で細胞をインキュベートした。

【0062】

アッセイ条件

1.2 × 10⁵ 個 (細胞) / ml になるように HL60 細胞を播種した。播種から 18 時間後、2 つ組で細胞を薬物処理した。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行った (Collinsら、1979; J. Exp. Med. 149: 969-974)。全部で 200 個の細胞を数え、細胞内に黒-青色のホルマザン沈着を含有した数を記録することによって、分化した細胞の % を調べた。単球系細胞への分化の検証は、食作用性の活性を測定することにより行った (データは示さない。)。

20

【0063】

インビトロ転写アッセイ

ルシフェラーゼレポーター遺伝子の 24-ヒドロキシラーゼ (24 Ohase) 遺伝子プロモーター上流を安定的に形質移入した ROS17/2.8 (骨) 細胞 (Arbourら、1998) において、転写活性を測定した。細胞に一連の用量を与えた。投与から 16 時間後、細胞を回収し、ルミノメーターを用いてルシフェラーゼ活性を測定した。RLU = 相対的ルシフェラーゼ単位。

30

【0064】

腸カルシウム輸送及び骨カルシウム動員

雄、離乳 Sprague-Dawley ラットに、1 週間、Diet 11 (Suda ら、J. Nutr. 100: 1049, 1970) (0.47% Ca) + ビタミン A E K を与え、続いて Diet 11 (0.02% Ca) + ビタミン A E K を 3 週間与えた。次に、これらのラットの餌を 1 週間、0.47% Ca を含有する同じ餌に切り替え、続いて 2 週間、0.02% Ca を含有する同じ餌を与えた。0.02% カルシウム餌の最終週の間に薬物投与を開始した。およそ 24 時間の間隔をあけて、4 回の連続 i.p. 投与を行った。

40

【0065】

最終投与から 24 時間後、切斷した頸部から血液を回収し、骨カルシウム動員の目安として原子吸光分析法によって血清カルシウム濃度を測定した。反転腸管法 (everted gut sac method) を用いた腸カルシウム輸送分析のために、腸の最初の 10 cm も回収した。

【0066】

データの解釈

VDR 結合、HL60 細胞分化及び転写活性。全長組み換えラットビタミン D 受容体への結合に対する [³H]-1,25(OH)₂D₃ との競合能において、1-デソキシ-2MD (K_i = 1 × 10⁻¹⁰ M) の活性は、天然ホルモン 1,25-ジヒドロキ

50

シビタミン D₃ ($K_i = 5 \times 10^{-11} M$) よりも僅かに低い(図1)。1-デソキシ-2MD はまた、1,25-ジヒドロキシビタミン D₃ ($EC_{50} = 4 \times 10^{-9} M$) と比較して、その HL60 分化促進能(効率又は有効性)も少し低い($EC_{50} = 1 \times 10^{-8} M$)(図2参照)。また、化合物 1-デソキシ-2MD ($EC_{50} = 4 \times 10^{-9} M$) の骨細胞における転写活性は、1,25-ジヒドロキシビタミン D₃ ($EC_{50} = 2 \times 10^{-10} M$) よりも約 20 倍低い(図3参照)。これらのデータからまた、1-デソキシ-2MD は、細胞分化の惹起及び細胞増殖の抑制において、直接的な細胞に対する活性を有するので、特に白血病、結腸癌、乳癌、皮膚癌及び前立腺癌の予防又は治療において、抗癌剤として顕著な活性を有するであろうことが示される。

【0067】

10

ビタミン D - 欠乏動物における骨からのカルシウム動員及び腸カルシウム吸収。低カルシウム餌(0.02%)のビタミン D - 欠乏ラットを用いて、腸及び骨における 1-デソキシ-2MD 及び 1,25(OH)₂D₃ の活性を試験した。予想されるように、ネイティップのホルモン(1,25(OH)₂D₃)は、試験した投与量で血清カルシウムレベルを上昇させた(図4A 及び 4B)。図4A 及び 4B はまた、骨からのカルシウム動員において、1-デソキシ-2MD の活性が、1,25(OH)₂D₃ よりも顕著に低いことも示す。4連続日にわたる 780 pmol / 日の 1-デソキシ-2MD の投与の結果、骨カルシウムの動員は僅かであるか又は全くなかった。1-デソキシ-2MD は、骨カルシウム貯蔵物の放出において、ネイティップホルモンよりも作用が弱く、ラット 1 匹あたり 70 20 pmol を投与するまでは活性が殆ど又は全く見られず、一方、ネイティップホルモンを投与する場合は、780 pmol で顕著な血清カルシウムの上昇が見られる。

【0068】

20

反転腸管法(everted gut sac method)を用いて、動物の同じ群において、腸カルシウム輸送を評価した(図5A 及び 5B)。これらの結果から、推奨される低投与量で投与される場合、1,25(OH)₂D₃ と比較して、化合物 1-デソキシ-2MD は、腸カルシウム輸送活性の促進において、約 20 倍作用が弱いことが示される。従って、1-デソキシ-2MD は試験した用量で腸カルシウム輸送活性が低いと結論付けることができる。

【0069】

30

これらの結果から、1-デソキシ-2MD が、本明細書中に記載のように多くのヒトの治療法に対する優れた候補であることがさらに示される。1-デソキシ-2MD は、(1)顕著な、VDR 結合、転写活性及び細胞分化活性を有し；(2) 1,25(OH)₂D₃ とは異なり、高カルシウム血症の易罹病性のリスクが低く、(3) 容易に合成されるので、癌を治療するための優れた候補である。

【0070】

40

予防及び/又は治療のために、当技術分野で公知の従来の方法に従い、式I及びIaにより定義される本発明の化合物を、医薬的応用のために、無害な溶媒中の溶液として、又は適切な溶媒もしくは担体中の乳液、懸濁液又は分散液として、又は固体担体とともに、丸剤、錠剤もしくはカプセル剤として、処方することができる。何らかのこのような製剤には、安定化剤、抗酸化剤、結合剤、着色料又は乳化もしくは味覚修飾剤などの、他の医薬的に許容可能な及び無毒性の賦形剤も含有され得る。

【0071】

式Iの化合物及び特に式Iaの1-デソキシ-2MDは、経口投与、局所投与、非経口投与、直腸投与、鼻腔投与、舌下投与又は経皮投与することができる。本化合物は、有利に、注射によって又は静脈内点滴もしくは適切な滅菌溶液によって、又は消化管を介して液体もしくは固体投与の形態で又はクリーム剤、軟膏剤、パッチ剤もしくは経皮投与に適切な同様のビヒクルの形態で、投与される。予防及び/又は治療のためには、0.01 μg から 1000 μg / 日の用量の化合物I、特に 1-デソキシ-2MD、好ましくは約 0.1 μg から約 500 μg / 日が適切であり、このような用量は、当技術分野でよく理解されているように、治療しようとする疾患、その重症度及び対象の反応に従い調整される

50

。本化合物は、作用の特異性を示すので、様々な程度の骨塩動員及びカルシウム輸送刺激が好都合であることが認められている状況において、それぞれが、単独で又は段階的用量の別の活性ビタミンD化合物 - - 例えば1 - ヒドロキシビタミンD₂又はD₃又は1, 25 - ジヒドロキシビタミンD₃ - - とともに適切に投与され得る。

【0072】

上述の治療での使用のための組成物は、活性成分としての有効量の化合物I、特に上記式I及びIaにより定義されるような1 - デソキシ - 2MDと、適切な担体と、を含む。本発明に従う使用のためのこのような化合物の有効量は、組成物約0.01μgから約1000μg/gm、好ましくは組成物約0.1gから約500μg/gmであり、約0.01μg/日から約1000μg/日、及び好ましくは約0.1μg/日から約500μg/日の投与量で、局所投与、経皮投与、経口投与、直腸投与、鼻腔投与、舌下投与又は非経口投与することができる。

【0073】

化合物I、特に1 - デソキシ - 2MDは、クリーム剤、ローション剤、軟膏剤、局所パッチ剤、丸剤、カプセル剤もしくは錠剤、坐薬、エアロゾルとして又は、医薬的に無害であり許容可能な溶媒もしくは油中の溶液、乳液、分散液もしくは懸濁液として液体形態で処方され得、このような製剤には、さらに他の医薬的に無害であるか又は利益がある成分、例えば、安定化剤、抗酸化剤、乳化剤、着色料、結合剤又は味覚修飾剤などが含有され得る。

【0074】

化合物I、特に1 - デソキシ - 2MDは、有利に、正常なマクロファージへの前骨髄球細胞の分化を達成するのに十分な量で投与され得る。上述のとおりの投与量が適切であり、与えられた量は、当技術分野でよく理解されているように、疾患の重症度、対象の状態及び反応に従い調整すべきであることが理解されよう。

【0075】

本発明の製剤は、医薬的に許容可能な担体とともに活性成分を含み、従って及び場合によつてはその他の治療用成分を含む。担体は、製剤のその他の成分と適合性があり、その製剤の受容者にとって有害ではないという意味で、「許容可能」でなければならぬ。

【0076】

経口投与に適切な本発明の製剤は、所定量の活性成分をそれぞれ含有する、カプセル剤、サシェ剤、錠剤又はトローチ剤のような個別単位の形態、粉剤又は顆粒剤の形態、水溶液もしくは非水性液体中の溶液もしくは懸濁液の形態又は水中油乳液もしくは油中水乳液の形態であり得る。

【0077】

直腸投与用の製剤は、活性成分及びカカオバターなどの担体を組み込む坐薬の形態又は浣腸の形態であり得る。

【0078】

非経口投与に適切な製剤は、従来、好ましくは受容者の血液と等張である活性成分の滅菌油状又は水性調製物を含む。

【0079】

局所投与に適切な製剤としては、液体又は半液体調製物、例えば、塗布薬、ローション剤、外用薬、水中油又は油中水乳液、例えばクリーム剤、軟膏剤もしくはペースト剤；又は溶液もしくは懸濁液、例えば滴剤；又はスプレー剤が挙げられる。

【0080】

鼻腔投与の場合、スプレー缶、ネプライザーやアトマイザーで投与される、粉剤の吸入、セルフプロペリング(self - propelling)又はスプレー製剤を使用することができる。投与する場合、これらの製剤は、好ましくは、10から100μの範囲の粒径を有する。

【0081】

本製剤は、都合よく、投与単位形態であり得、医薬の技術分野で周知の何れかの方法に

10

20

30

40

50

よって調製され得る。「投与単位」という用語は、活性成分そのもの又は活性成分と固体もしくは液体の医薬用希釈剤もしくは担体との混合物の何れかを含む、物理学的及び化学的に安定な単回投与量で患者に投与することができる、単位、即ち単回投与量を意味する。

【図1】

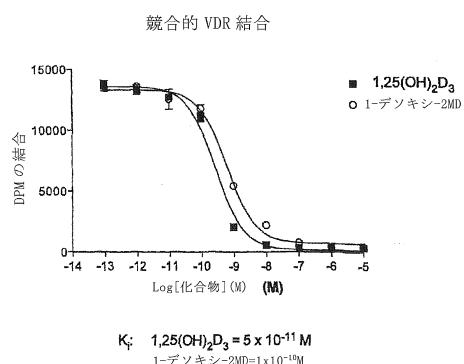


図 1

【図2】

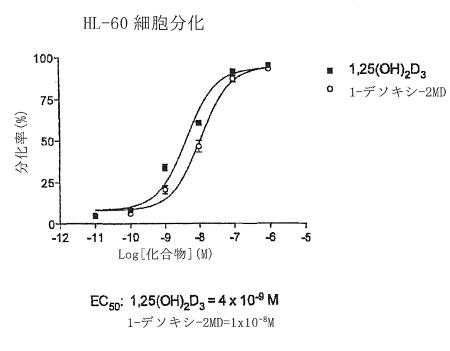


図 2

【図3】

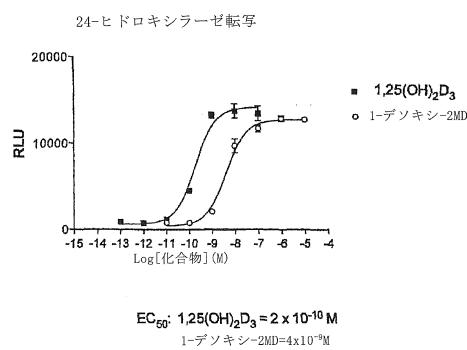


図3

【図4 A】

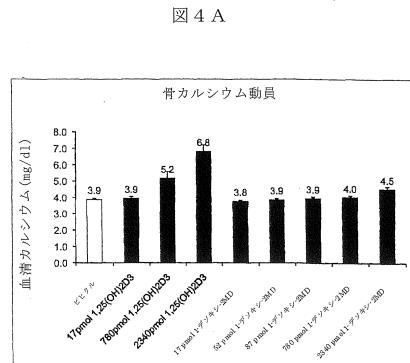


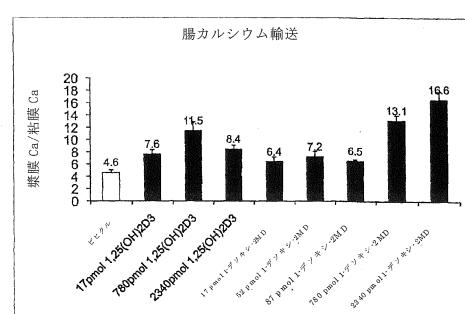
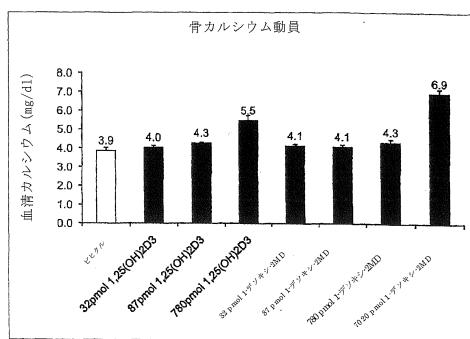
図4 A

【図4 B】

図4 B

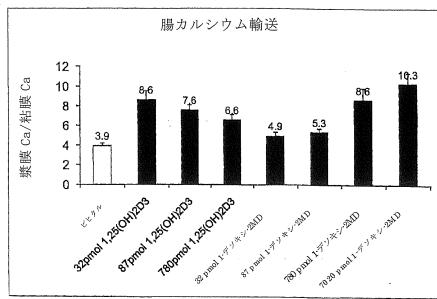
【図5 A】

図5 A



【図 5 B】

図 5 B



フロントページの続き

(51) Int.CI. F I
 C 0 7 F 9/53 (2006.01) C 0 7 F 9/53

- (72) 発明者 デルカ , ヘクター , エフ .
 アメリカ合衆国 , ウィスコシン州 53531 , ディアフィールド , 1809 ハイウェイ ビー
 ビー
- (72) 発明者 シビルスカ , イザベラ
 ポーランド国 , ピーエル - 00 - 240 ワルシャワ , エーエル . ソリダムスキ 64 / 103
- (72) 発明者 バリッカ , カタルジーナ , エム .
 アメリカ合衆国 , ウィスコシン州 53719 , マディソン , 809 ハーバー ハウス ドライ
 ブ # 4
- (72) 発明者 シシンスキー , ラファル , アール .
 ポーランド国 , ピーエル - 04 - 030 ワルシャワ , ユーエル . ワズィングトナ 33エム .
 150
- (72) 発明者 ブロンスカ - オシパ , カタルジーナ
 ポーランド国 , ピーエル - 04 - 175 ワルシャワ , オストロブラムスカ 83 / 1210シー
- (72) 発明者 バリッキ , ラファル
 アメリカ合衆国 , ウィスコシン州 53705 , マディソン , アパートメント , 708 イーグル
 ハイツ
- (72) 発明者 プラム , ロリ , エー .
 アメリカ合衆国 , ウィスコシン州 53503 , アリーナ , 6139 ハイウェイ エイチ
- (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 , ウィスコシン州 53531 , ディアフィールド , 1809 ハイウェイ ビー
 ビー

審査官 緒形 友美

- (56) 参考文献 特表2001 - 504135 (JP, A)
 特表2006 - 500388 (JP, A)
 特開2001 - 329066 (JP, A)
 URUSHINO N , KINETIC STUDIES OF 25-HYDROXY-19-NOR-VITAMIN D3 AND 1 ,25-DIHYDROXY-19-NO
 R-VITAMIN 以下備考 , DRUG METABOLISM AND DISPOSITION , 米国 , 2007年 9月 , V35 N9 , P
 1482-1488 , D3 HYDROXYLATION BY CYP27B1 AND CYP24A1

(58) 調査した分野(Int.CI. , DB名)

C 0 7 C 401 / 00
 A 6 1 K 31 / 59
 A 6 1 P 35 / 00
 A 6 1 P 35 / 02
 C 0 7 F 7 / 00
 C A p l u s / R E G I S T R Y (S T N)