

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5770261号
(P5770261)

(45) 発行日 平成27年8月26日(2015.8.26)

(24) 登録日 平成27年7月3日(2015.7.3)

(51) Int.Cl.

F 1

C07C 401/00	(2006.01)	C 07C 401/00
A61K 31/593	(2006.01)	A 61K 31/593
A61P 17/06	(2006.01)	A 61P 17/06
A61P 35/00	(2006.01)	A 61P 35/00
A61P 35/02	(2006.01)	A 61P 35/02

請求項の数 20 (全 45 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2013-501398 (P2013-501398)	(73) 特許権者 500517248 イスコンシン アラムニ リサーチ フ アンデーション アメリカ合衆国 ウィスコンシン州 53 707-7365 マディソン ピオ ボックス 7365
(86) (22) 出願日	平成23年3月22日(2011.3.22)	(74) 代理人 100102978 弁理士 清水 初志
(65) 公表番号	特表2013-522369 (P2013-522369A)	(74) 代理人 100102118 弁理士 春名 雅夫
(43) 公表日	平成25年6月13日(2013.6.13)	(74) 代理人 100160923 弁理士 山口 裕孝
(86) 國際出願番号	PCT/US2011/029432	(74) 代理人 100119507 弁理士 刑部 俊
(87) 國際公開番号	W02011/119610	
(87) 國際公開日	平成23年9月29日(2011.9.29)	
審査請求日	平成26年3月19日(2014.3.19)	
(31) 優先権主張番号	61/316,631	
(32) 優先日	平成22年3月23日(2010.3.23)	
(33) 優先権主張国	米国(US)	

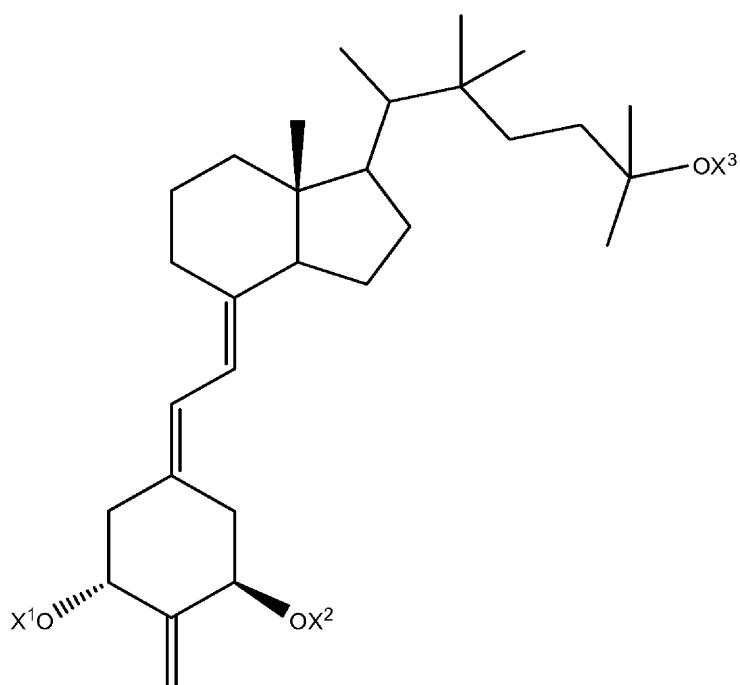
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 (2OS)-2-メチレン-19-ノル-22-ジメチル-1 α , 25-ジヒドロキシビタミン
D3 および (2OR)-2-メチレン-19-ノル-22-ジメチル-1 α , 25-ヒドロキシ

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 I を有する化合物：



10

I

式中、 X^1 、 X^2 、および X^3 は、独立してHおよびヒドロキシ保護基から選択される。

20

【請求項2】

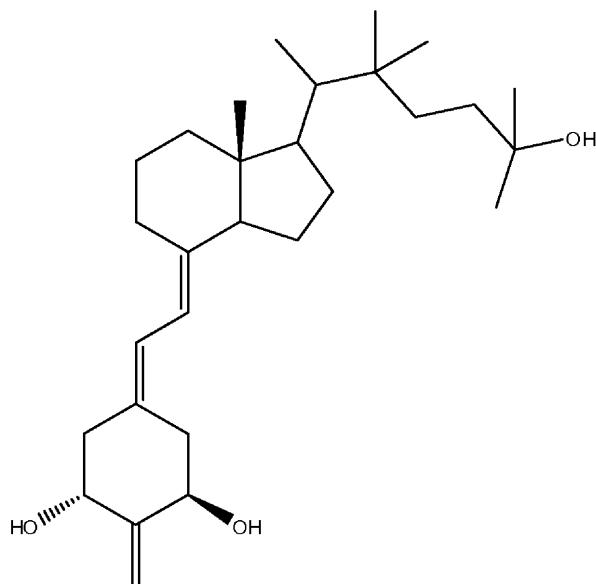
X^1 および X^2 が、両方ともヒドロキシ保護基である、請求項1記載の化合物。

【請求項3】

X^1 および X^2 が、両方とも t -ブチルジメチルシリル基であり、かつ X^3 がトリエチルシリル基である、請求項2記載の化合物。

【請求項4】

式I Iを有する化合物：



30

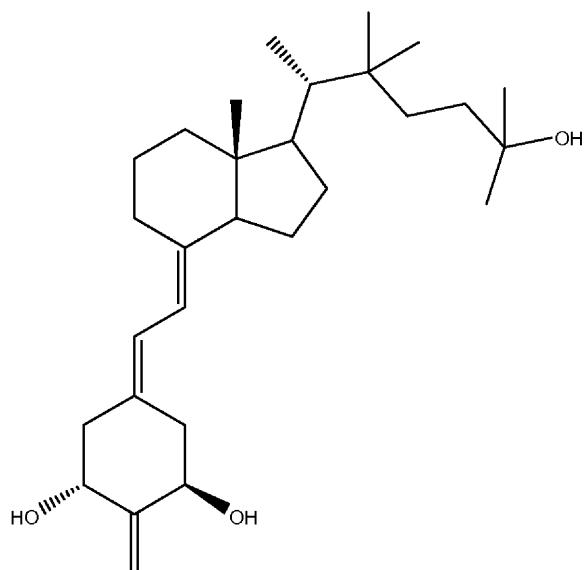
II

。

【請求項5】

式I I Aを有する、請求項4記載の化合物：

40



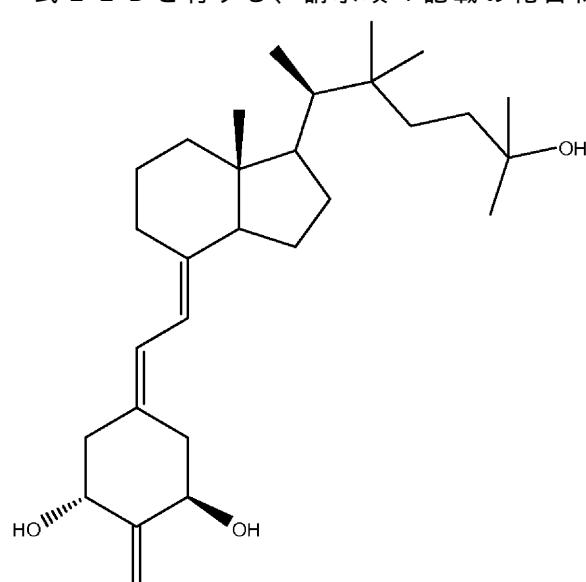
IIA

10

【請求項 6】

式 I I B を有する、請求項 4 記載の化合物：

20



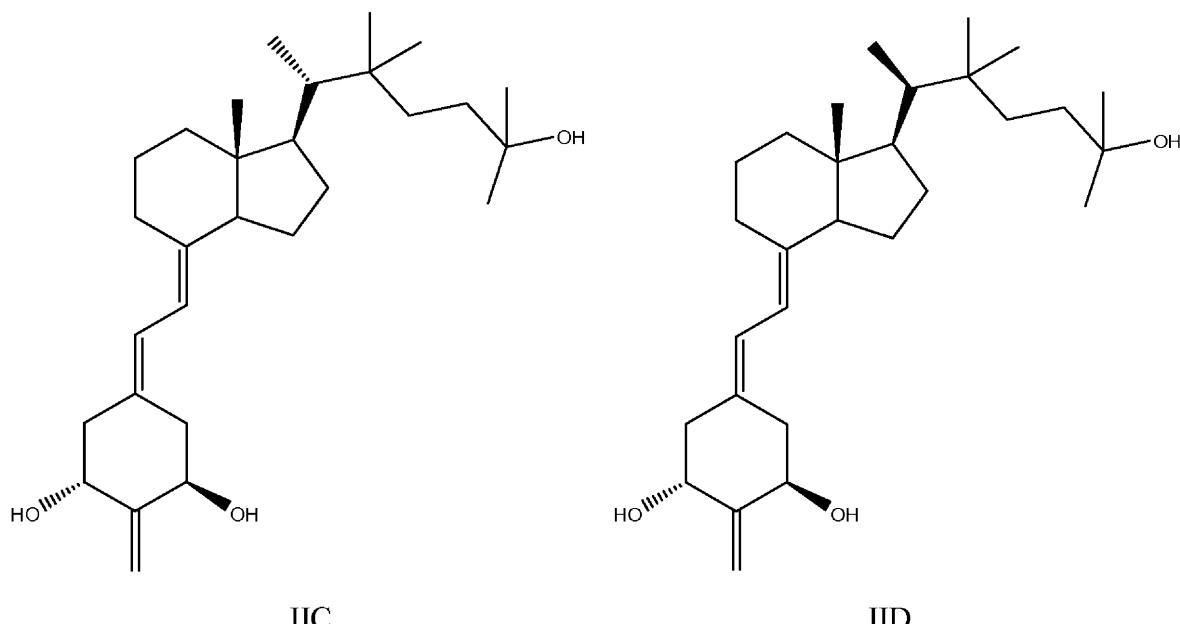
IIIB

30

【請求項 7】

式 I I C または I I D を有する、請求項 4 記載の化合物：

40



○

【請求項 8】

請求項 4 ~ 7 のいずれか一項に記載の化合物の有効量と、薬学的に許容される担体とを含む、医薬組成物。

【請求項 9】

前記有効量が、組成物 1 グラムあたり 0.01 μ g ~ 1 mg の化合物を含む、請求項 8 記載の医薬組成物。

【請求項 10】

前記有効量が、組成物 1 グラムあたり 0.1 μ g ~ 500 μ g の化合物を含む、請求項 8 記載の医薬組成物。

【請求項 11】

請求項4～7のいずれか一項に記載の化合物の有効量を含む、生物学的状態を患う対象を治療するための医薬組成物であって、該生物学的状態が、乾癬；白血病；結腸がん；乳がん；前立腺がん；多発性硬化症；ループス；真性糖尿病；宿主対移植片反応；臓器移植片拒絶反応；関節リウマチ、喘息、もしくは炎症性腸疾患から選択される炎症性疾患；しわ、適切な皮膚の引き締まりの欠如、適切な皮膚水分量の欠如、もしくは不十分な皮脂分泌から選択される皮膚の状態；腎性骨ジストロフィー；または骨粗鬆症から選択される、医薬組成物。

【請求項 1 2】

前記生物学的状態が乾癬である、請求項 1 1 記載の医薬組成物。

【請求項 1 3】

前記生物学的状態が、白血病、結腸がん、乳がん、または前立腺がんから選択される、請求項1記載の医薬組成物。

【請求項 1 4】

前記生物学的状態が、多発性硬化症、ループス、真性糖尿病、宿主対移植片反応、または臓器移植片拒絶反応から選択される、請求項11記載の医薬組成物。

【請求項 15】

前記生物学的状態が、関節リウマチ；喘息；またはセリアック病、潰瘍性大腸炎、およびクローム病から選択される炎症性腸疾患から選択される、請求項11記載の医薬組成物

8

【請求項 16】

前記生物学的状態が、しわ、適切な皮膚の引き締まりの欠如、適切な皮膚水分量の欠如、または不十分な皮脂分泌から選択される、請求項11記載の医薬組成物。

10

20

30

40

50

【請求項 17】

前記化合物が対象に経口投与されるように用いられる、請求項 11 記載の医薬組成物。

【請求項 18】

前記化合物が対象に非経口投与されるように用いられる、請求項 11 記載の医薬組成物。

【請求項 19】

前記化合物が対象に経皮投与または局所投与されるように用いられる、請求項 11 記載の医薬組成物。

【請求項 20】

前記化合物が、1日につき 0.01 μg ~ 1日につき 1mg の投与量で投与されるよう 10 に用いられる、請求項 11 記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】****関連出願の相互参照**

本出願は、2010年3月23日付で提出された米国特許仮出願番号第 61/316,631 号の優先権を主張し、その全開示は参照によって、あらゆる目的に關してその全体が本明細書中に完全に記載されているかのように本明細書中に組み込まれる。

【0002】**分野**

20

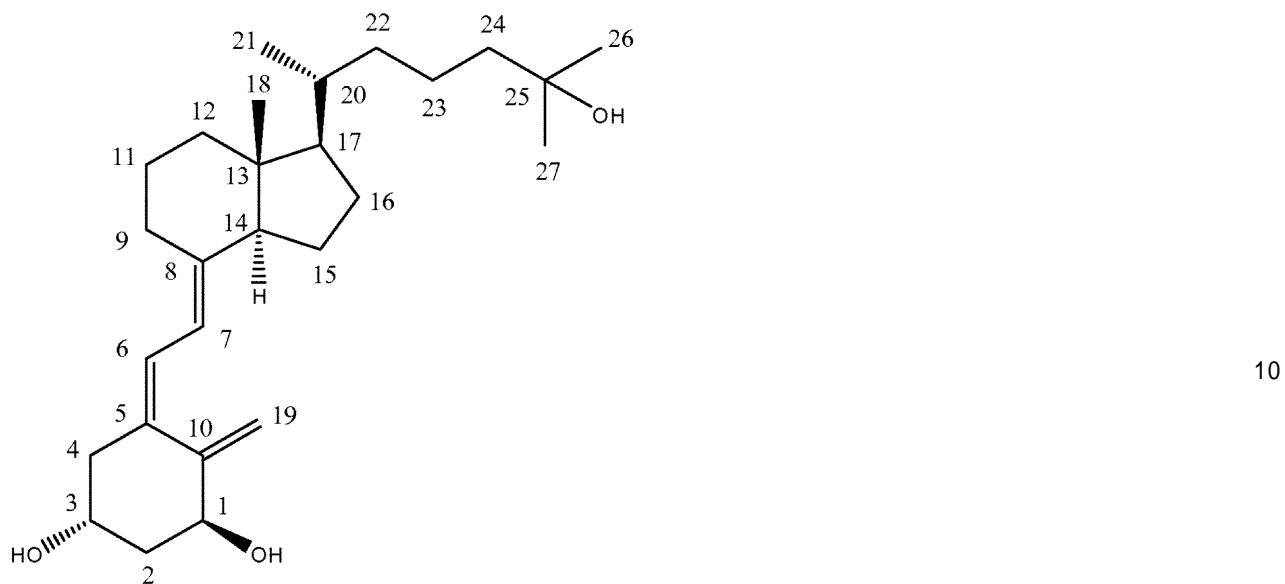
本技術は、ビタミンD 化合物に関し、さらに詳細には、(20S)-2-メチレン-19-ノル-22-ジメチル-1,25-ジヒドロキシビタミンD₃ および(20R)-2-メチレン-19-ノル-22-ジメチル-1,25-ジヒドロキシビタミンD₃ ならびにそれらの誘導体、ならびにこの化合物を含む薬学的製剤に関する。本技術はさらに、種々の疾患の治療における、および種々の疾患の治療に使用するための医薬の調製における、これらの化合物の使用に関する。

【背景技術】**【0003】****背景**

天然のホルモンである 1,25-ジヒドロキシビタミンD₃ (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称する) ならびにそのエルゴステロール系の類似体、すなわち、1,25-ジヒドロキシビタミンD₂ は、動物およびヒトにおけるカルシウム恒常性の非常に強力な調節因子であることが知られ、細胞分化におけるそれらの活性も立証されている。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D₃、1 - ヒドロキシビタミンD₂、種々の側鎖同族体化ビタミン、およびフッ素化類似体をはじめとする、これらの代謝産物の多くの構造的類似体が調製され、試験されている。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調節における活性の興味深い乖離を示す。活性におけるこの差異は、腎性骨ジストロフィー、ビタミンD 抵抗性くる病、骨粗鬆症、乾癬、およびある特定の悪性腫瘍などの種々の疾患の治療において有用であり得る。1,25-ジヒドロキシビタミンD₃ の構造およびこの化合物中の炭素原子を示すために用いられる付番方式を以下に示す。

30

40



1₁, 2₅ - ジヒドロキシビタミン D₃ = 1₁, 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】

20

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

【発明の概要】

【0005】

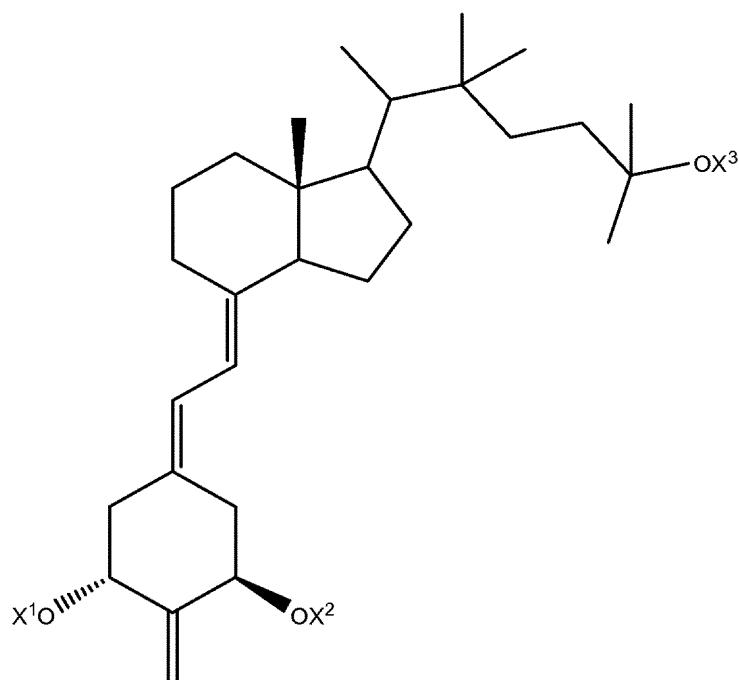
30

概要

本技術は、(20R)-2-メチレン-19-ノル-22-ジメチル-1₁, 2₅ - ジヒドロキシビタミン D₃ および(20S)-2-メチレン-19-ノル-22-ジメチル-1₁, 2₅ - ジヒドロキシビタミン D₃ ならびに関連化合物、(20S)-2-メチレン-19-ノル-22-ジメチル-1₁, 2₅ - ジヒドロキシビタミン D₃ または(20R)-2-メチレン-19-ノル-22-ジメチル-1₁, 2₅ - ジヒドロキシビタミン D₃ を含む薬学的製剤、この化合物を用いた種々の疾患状態の治療法、ならびに種々の疾患状態を治療するための医薬の調製におけるこの化合物の使用を提供する。

【0006】

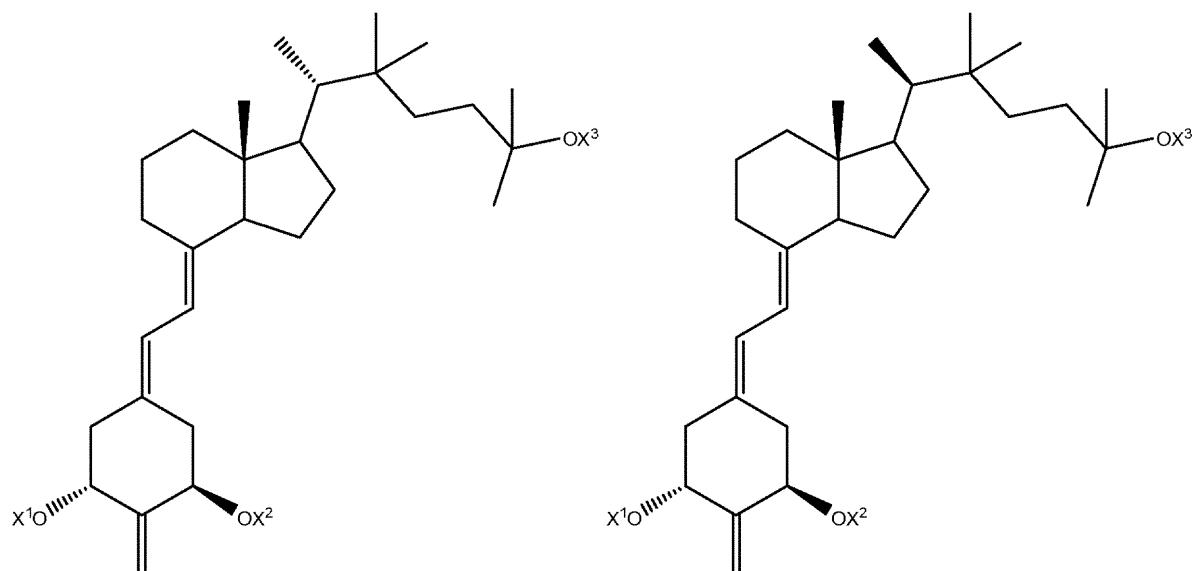
したがって、1つの態様において、本技術は、下記の式Iを有する化合物を提供し、



I

10

式中、 X^1 、 X^2 、および X^3 は、同一であっても、または異なっていてもよく、独立してHまたはヒドロキシ保護基から選択される。いくつかの実施形態において、20位の炭素は、式IAの化合物で示されるようにS配置を有し、他のものでは、式IBの化合物で示されるようにR配置を有する。



20

30

40

IA

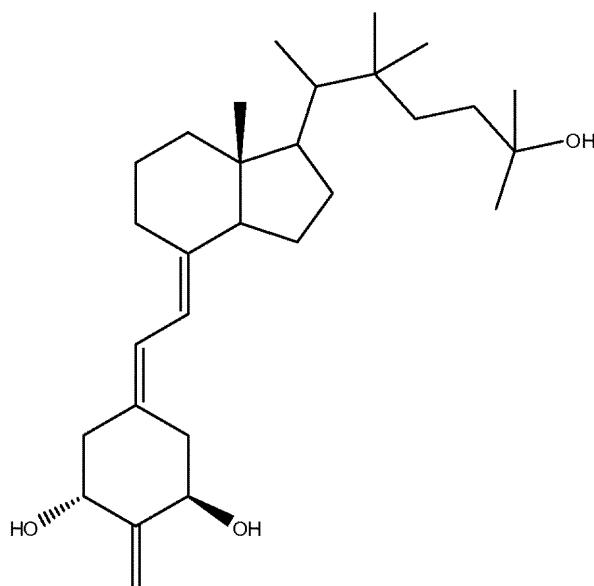
IB

【0007】

式I、IA、またはIBの化合物のいくつかの実施形態において、 X^1 、 X^2 、および X^3 は、両方ともシリル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実施形態において、 X^1 および X^2 は両方ともt-ブチルジメチルシリル基であり、 X^3 はトリエチルシリル基である。

【0008】

いくつかの実施形態において、化合物は式IIを有する。

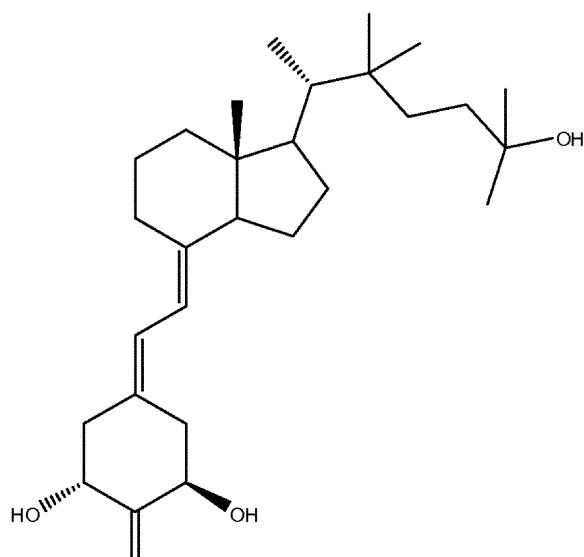


10

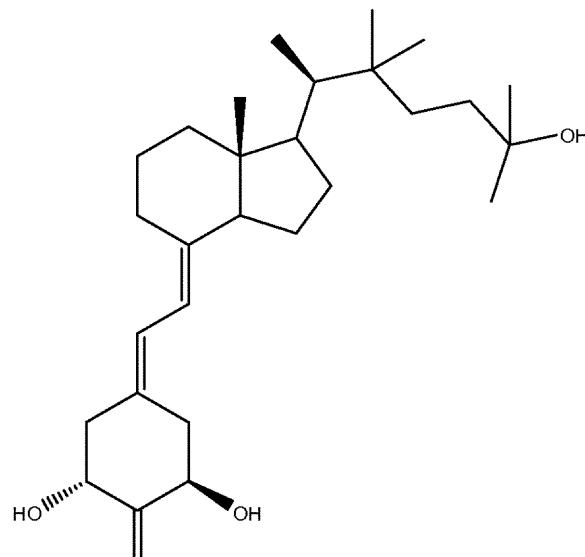
II

【0009】

いくつかの実施形態において、化合物は、以下で示すような式 IIA を有する (20S) - 2 - メチレン - 19 - ノル - 22 - ジメチル - 1₁, 25 - ジヒドロキシビタミン D₃ であるか、または化合物は、以下で示すような式 IIB を有する (20R) - 2 - メチレン - 19 - ノル - 22 - ジメチル - 1₁, 25 - ジヒドロキシビタミン D₃ である。



IIA



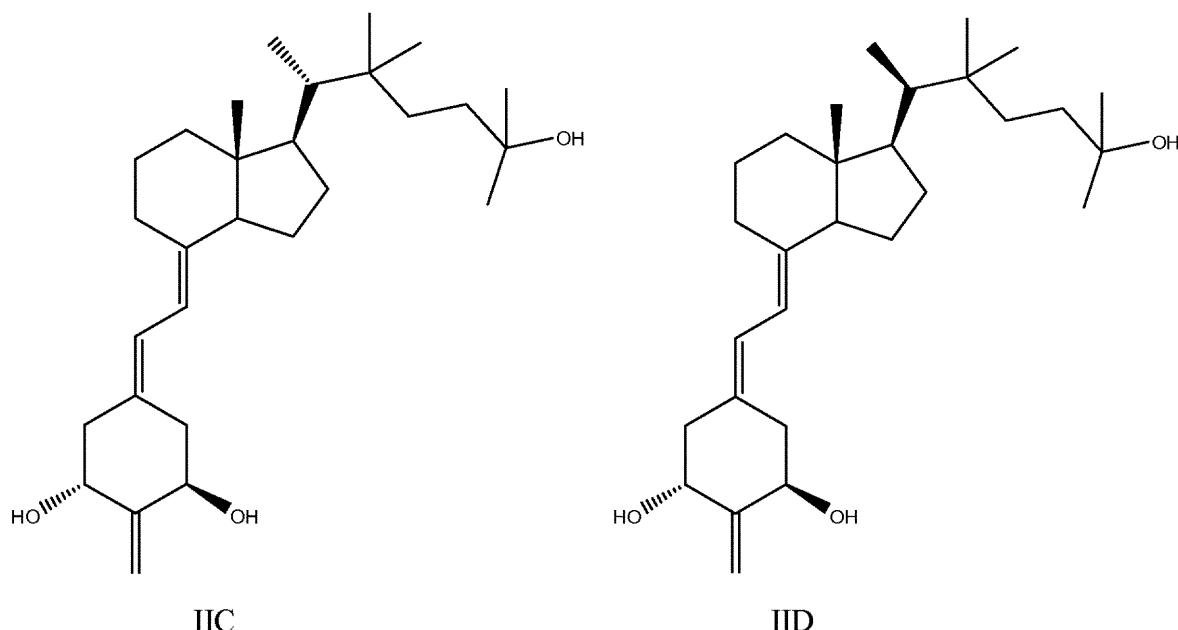
30

IIB

【0010】

いくつかの実施形態において、式 IIA の化合物は、式 IIC の化合物 (MET-1) であり、他の実施形態において、式 IIB の化合物は、式 IID の化合物 (MET-2) であり、下記の構造を有する。

40



[0 0 1 1]

本技術の化合物は、ビタミンD受容体に対する強力な結合、強力な細胞分化および24-ヒドロキシラーゼ活性の誘導、さらに、低いまたは非常に低いカルシウム血活性(chemical activity)をはじめとする、非常に有利な生物活性パターンを示す。したがって、本発明の化合物は、ある生物学的状態を患う対象を治療する方法で用いることができる。この方法は、有効量の本技術の化合物を、対象に投与することを含み、ここで、生物学的状態は、乾癬；白血病；結腸がん；乳がん；前立腺がん；多発性硬化症；ループス；真性糖尿病；宿主対移植片反応；臓器移植片拒絶反応；関節リウマチ、喘息、もしくは炎症性腸疾患から選択される炎症性疾患；しわ、適切な皮膚の引き締まりの欠如、適切な皮膚水分量の欠如、または不十分な皮脂分泌から選択される皮膚の状態から選択される。

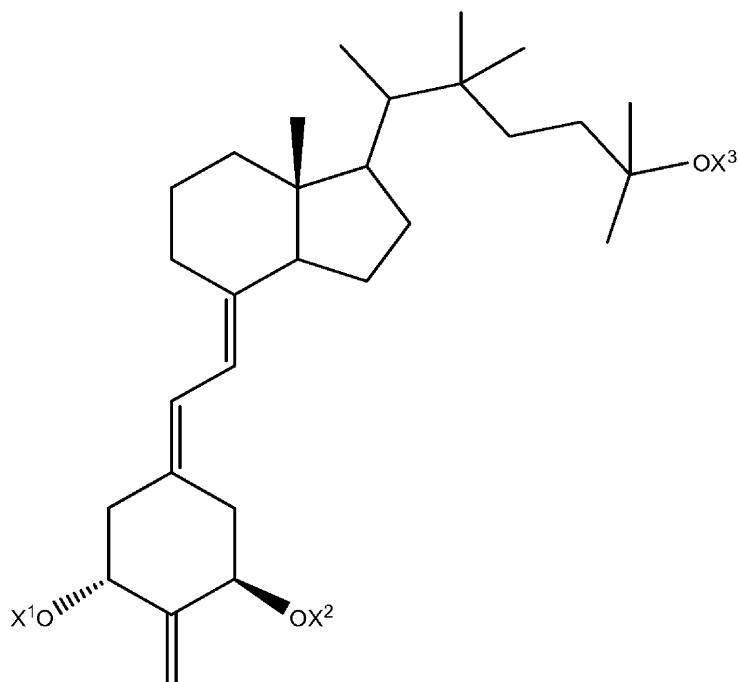
【 0 0 1 2 】

本技術の化合物は、前記疾患および障害を治療するための組成物であって、薬学的に許容される担体を任意で含む該組成物中に、有効量で存在し得る。いくつかの実施形態において、化合物の量は、組成物 1 グラムあたり約 0.01 μg から組成物 1 グラムあたり約 1 mg、好ましくは組成物 1 グラムあたり約 0.1 μg から組成物 1 グラムあたり約 500 μg を含み、1 日につき約 0.01 μg から 1 日につき約 1 mg、好ましくは 1 日につき約 0.1 μg から 1 日につき約 500 μg の投与量で局所、経皮、経口、または非経口投与することができる。

【 0 0 1 3 】

[本発明1001]

式 I を有する化合物：



I

式中、 X^1 、 X^2 、および X^3 は、独立してHおよびヒドロキシ保護基から選択される。

10

[本発明1002]

X^1 および X^2 が、両方ともヒドロキシ保護基である、本発明1001の化合物。

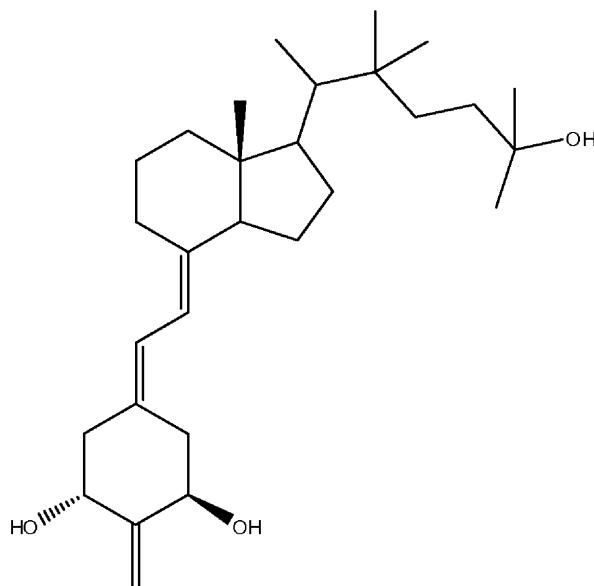
20

[本発明1003]

X^1 および X^2 が、両方とも t -ブチルジメチルシリル基であり、かつ X^3 がトリエチルシリル基である、本発明1002の化合物。

[本発明1004]

式I Iを有する化合物：



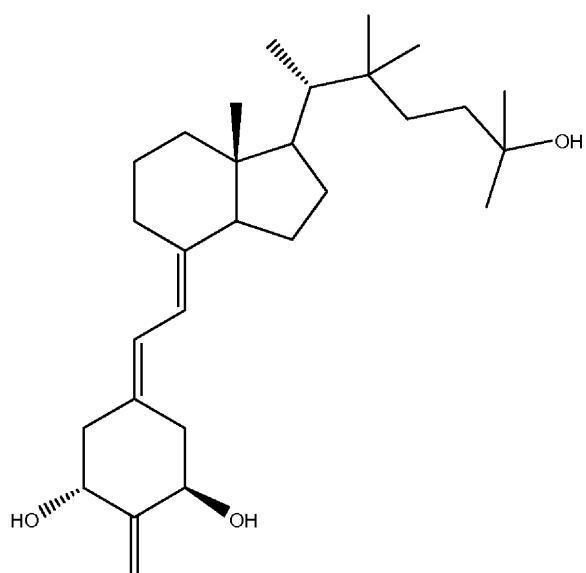
II

30

[本発明1005]

式I I Aを有する、本発明1004の化合物：

40



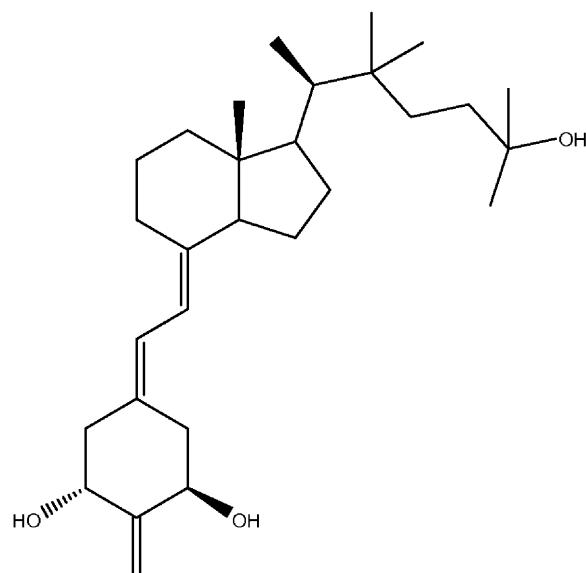
IIA

10

○
[本発明1006]

式IIIBを有する、本発明1004の化合物：

20



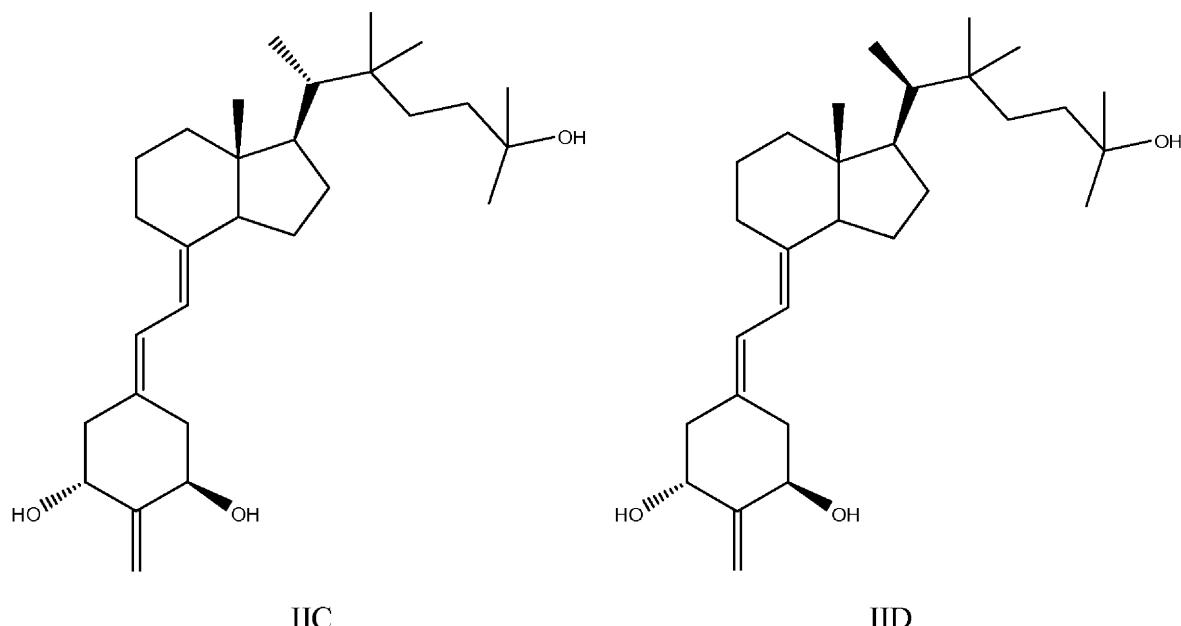
IIIB

30

○
[本発明1007]

式IIICまたはIIDを有する、本発明1004の化合物：

40



[本発明1008]

本発明1004～1007のいずれかの化合物の有効量と、薬学的に許容される担体とを含む、医薬組成物。

[本発明1009]

前記有効量が、組成物1グラムあたり約0.01μg～約1mgの化合物を含む、本発明100～8の医薬組成物。

[本発明1010]

前記有効量が、組成物1グラムあたり約0.1 μ g ~ 約500 μ g の化合物を含む、本発明1008の医薬組成物。

[本発明1011]

本発明1004～1007のいずれかの化合物の有効量を対象に投与することを含む、生物学的状態を患う対象を治療する方法であって、該生物学的状態が、乾癬；白血病；結腸がん；乳がん；前立腺がん；多発性硬化症；ループス；真性糖尿病；宿主対移植片反応；臓器移植片拒絶反応；関節リウマチ、喘息、もしくは炎症性腸疾患から選択される炎症性疾患；しわ、適切な皮膚の引き締まりの欠如、適切な皮膚水分量の欠如、もしくは不十分な皮脂分泌から選択される皮膚の状態；腎性骨ジストロフィー；または骨粗鬆症から選択される、前記方法。

[本発明1012]

前記生物学的状態が乾癬である、本発明1011の方法。

[本発明1013]

前記生物学的状態が、白血病、結腸がん、乳がん、または前立腺がんから選択される、本発明1011の方法。

[本発明1014]

前記生物学的状態が、多発性硬化症、ループス、真性糖尿病、宿主対移植片反応、または臓器移植片拒絶反応から選択される、本発明1011の方法。

[本発明1015]

前記生物学的状態が、関節リウマチ；喘息；またはセリアック病、潰瘍性大腸炎、およびクロhn病から選択される炎症性腸疾患から選択される、本発明1011の方法。

[本発明1016]

前記生物学的状態が、しわ、適切な皮膚の引き締まりの欠如、適切な皮膚水分量の欠如、または不十分な皮脂分泌から選択される、本発明1011の方法。

[本発明1017]

前記化合物が対象に経口投与される、本発明1011の方法。

[本発明1018]

前記化合物が対象に非経口投与される、本発明1011の方法。

[本発明1019]

前記化合物が対象に経皮投与または局所投与される、本発明1011の方法。

[本発明1020]

前記化合物が、1日につき0.01μg～1日につき1mgの投与量で投与される、本発明1011の方法。

本技術のさらなる特徴および効果は、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。

10

【図面の簡単な説明】

【0014】

図1～5は、天然のホルモンである1,25-ジヒドロキシビタミンD₃（図中、「1,25(OH)₂D₃」と称する）と比較した、(20S)-2-メチレン-19-ノル-22-ジメチル-1,25-ジヒドロキシビタミンD₃（図中、「MET-1」と称する）の種々の生物活性を示す。図6～10は、天然のホルモンである1,25(OH)₂D₃と比較した、(20R)-2-メチレン-19-ノル-22-ジメチル-1,25-ジヒドロキシビタミンD₃（図中、「MET-2」と称する）の種々の生物活性を示す。

【図1】MET-1と天然のホルモンである1,25(OH)₂D₃との間での核内ビタミンDホルモン受容体に対する競合的結合のグラフを示す。MET-1は、1,25(OH)₂D₃と同じ親和性で核内ビタミンDホルモン受容体と結合する。

20

【図2】MET-1の濃度の関数としてのHL-60細胞分化比率（%）を1,25(OH)₂D₃のものと比較するグラフである。MET-1は、HL-60細胞の単球への分化を引き起こすのに1,25(OH)₂D₃の約4倍の効力を有する。

【図3】MET-1のインビトロ転写活性を1,25(OH)₂D₃のインビトロ転写活性と比較するグラフである。MET-1は、24-ヒドロキシラーゼ遺伝子の転写の増加において1,25(OH)₂D₃よりも約10倍強力である。

【図4】ラットにおいてMET-1の骨カルシウム動員活性を1,25(OH)₂D₃の骨カルシウム動員活性と比較する棒グラフである。MET-1は、骨カルシウム貯蔵の放出において1,25(OH)₂D₃よりも約20倍効力が低い。

30

【図5】MET-1の腸カルシウム輸送活性を1,25(OH)₂D₃と比較する棒グラフである。MET-1は、ラット腸での活性カルシウム輸送の促進において1,25(OH)₂D₃よりも有効でない。

【図6】MET-2と天然ホルモンである1,25(OH)₂D₃との間での核内ビタミンDホルモン受容体に対する競合的結合のグラフである。MET-2は、1,25(OH)₂D₃と同じ親和性で核内ビタミンDホルモン受容体と結合する。

【図7】MET-2の濃度の関数としてのHL-60細胞分化比率（%）を1,25(OH)₂D₃のものと比較するグラフである。MET-2は、HL-60細胞の単球への分化の誘導において、1,25(OH)₂D₃よりも約3倍の効力を有する。

40

【図8】MET-2のインビトロ転写活性を1,25(OH)₂D₃と比較するグラフである。MET-2は、24-ヒドロキシラーゼ遺伝子の転写の増加において1,25(OH)₂D₃よりも約3倍強力である。

【図9】ラットにおいてMET-2の骨カルシウム動員活性を1,25(OH)₂D₃と比較する棒グラフである。MET-2は、骨カルシウム貯蔵の放出において1,25(OH)₂D₃よりも約16倍効力が低い。

【図10】MET-2の腸カルシウム輸送活性を1,25(OH)₂D₃の腸カルシウム輸送活性と比較する棒グラフである。MET-2は、ラット腸での活性カルシウム輸送の促進において1,25(OH)₂D₃よりも有効でない。

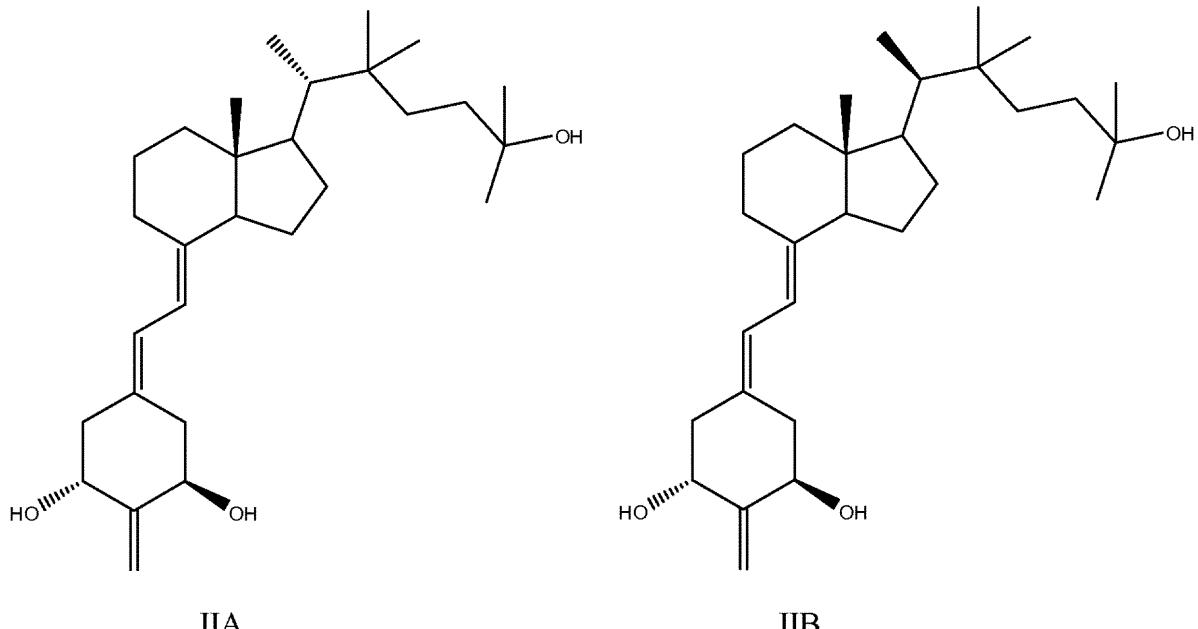
【発明を実施するための形態】

50

【0015】

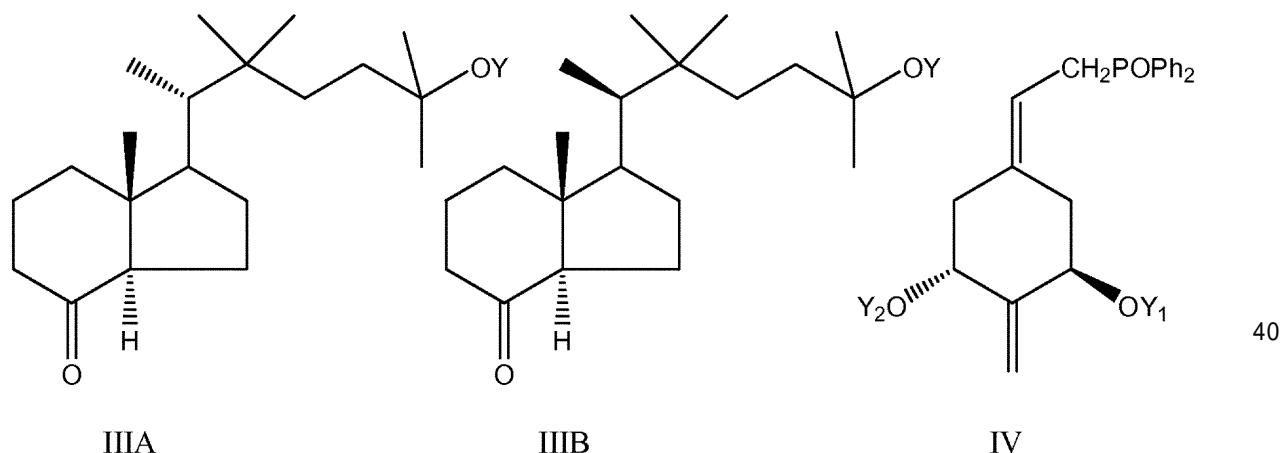
詳細な説明

(20S)-2-メチレン-19-ノル-22-ジメチル-1,25-ジヒドロキシビタミンD₃および(20R)-2-メチレン-19-ノル-22-ジメチル-1,25-ジヒドロキシビタミンD₃を合成し、試験し、本明細書中に記載する種々の生物学的状態の治療において有用であることを見いだした。構造的に、これらの化合物は、以下に示すような式IIAおよびIIBを有する。



【0016】

(20S)-2-メチレン-19-ノル-22-ジメチル-1,25-ジヒドロキシビタミンD₃および(20R)-2-メチレン-19-ノル-22-ジメチル-1,25-ジヒドロキシビタミンD₃の調製は、適切な二環式Windaus-Gruendmann型のケトン(IIIAまたはIIIB)をアリル型ホスフィンオキシドIVと縮合し、続いて脱保護(Y、Y₁およびY₂ヒドロキシ保護基の除去)によって達成することができる。



【0017】

構造IIIAおよびIIIBのヒドラインダノン(Hydraindanone)は、当業者には容易に明かとなるであろう、本明細書中に記載する公知方法を若干変更したものによって調製することができる。ビタミンD類似体の二環式ケトンを合成するために用いられる方法の具体例は、Mincione et al., Synth. Commun. 19, 723, (1989); およびPeterson et al., J. Org. Chem. 51, 1948, (1986)で記載されているものである。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体的なプロセスは、その全体が、本明細

10

20

30

40

50

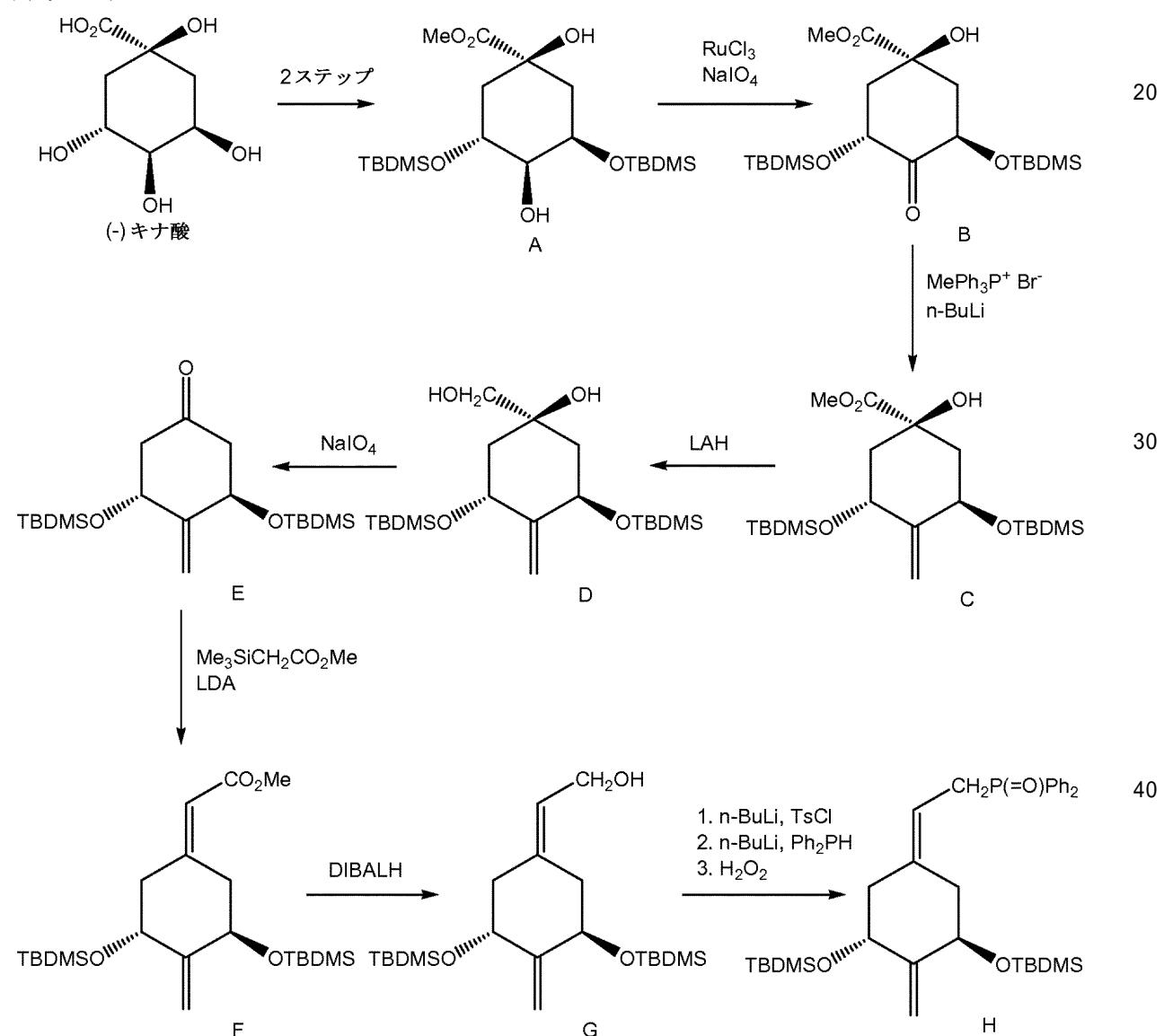
書中に完全に記載されているかのように参照することによって本明細書中に組み込まれる、米国特許第5,843,928号明細書で示され、記載されている。ヒドリナノンIIIAおよびIIIBの調製の詳細は、本明細書中の実施例で見いだされる。

【0018】

ホスフィンオキシドIVにおいて、Y₁およびY₂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)基は、特に有用なヒドロキシ保護基の1例である。前述のプロセスは、多くのビタミンD化合物の調製に効果的に適用されている、コンバージェント合成概念の適用を表す(例えば、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らの米国特許第5,086,191号明細書; DeLucaらの米国特許第5,536,713号明細書; およびDeLucaらの米国特許第5,843,928号明細書(それらはすべて、その全体として参照することによって、あらゆる目的に關して全体的に本明細書中に完全に記載されているかのように、本明細書中に組み入れられる)を参照のこと。

【0019】

スキーム1



【0020】

ホスフィンオキシドIVは、Sicinski et al., J. Med. Chem., 41, 4662 (1998)、DeLucaらの米国特許第5,843,928号明細書; Perlman et al., Tetrahedron Lett. 350

2, 7663 (1991) ; およびDeLucaらの米国特許第5, 086, 191号明細書で記載されている手順に従って調製することができる便利な試薬である。スキーム1は、その全体が本明細書中で完全に記載されているかのように参照することによって本明細書中に組み込まれる、米国特許第5, 843, 928号明細書で概略を記載されている、ホスフィンオキシドIVを合成するための一般的手順を示す。

【0021】

本明細書中で用いられる場合、「ヒドロキシ保護基」という用語は、限定されるものではないが、アルコキシカルボニル、アシリル、アルキルシリルまたはアルキルアリールシリル基（本明細書中で以下、単に「シリル」基と称する）、およびアルコキシアルキル基などのヒドロキシ（-OH）官能基の一時的保護のために通常用いられる任意の基を表す。
アルコキシカルボニル保護基は、アルキル-O-CO-基、例えば、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である。「アシリル」という用語は、1~6個の炭素を有するアルカノイル基（その全ての異性体）、あるいは1~6個の炭素を有する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、または芳香族アシリル基、例えばベンゾイル、またはハロ、ニトロもしくはアルキル置換ベンゾイル基を表す。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、またはテトラヒドロフラニルおよ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-ブチルシリルおよび類似のアルキル化シリルラジカルである。「アリール」という用語は、フェニル基、またはアルキル置換フェニル基、ニトロ置換フェニル基もしくはハロ置換フェニル基を表す。ヒドロキシ官能基に対する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) で見出すことができ、これは文献に記載されている手順を用いて付加または除去することができ、参照することによって、本明細書中に完全に記載されているかのように全ての目的に関して、本明細書中に組み込まれる。

【0022】

「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続的な保護のために通常用いられる前記基のいずれか、例えば前記定義のシリル、アルコキシアルキル、アシリ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。

【0023】

本技術の化合物は、望ましく、非常に有利な生物活性パターンを示す。これらの化合物は、1, 25-ジヒドロキシビタミンD₃と比較して、ビタミンD受容体に対する結合が比較的高く（図1および5を参照のこと）、HL-60分化において高活性であるが、カルシウムを骨から動員する能力が非常に低く（図4および9を参照のこと）、腸カルシウム輸送活性が比較的低い（図5および10を参照のこと）ことを特徴とする。したがって、これらの化合物は、1, 25-ジヒドロキシビタミンD₃が著しいカルシウム血活性を示す投与量において、カルシウム血活性をあったとしてもほとんど有さないと特徴づけることができる。このように、それは、続発性副甲状腺機能亢進症型の腎性骨ジストロフィーの抑制のための療法として有用であり得る。

【0024】

本技術の化合物はさらに、例えば自己免疫疾患、例えば多発性硬化症、ループス、真性糖尿病、宿主対移植片反応、および臓器移植片拒絶反応においてなど、免疫系における不均衡によって特徴づけられるヒト障害の治療および予防について；さらには炎症性疾患、例えば関節リウマチ、喘息、および炎症性腸疾患、例えば、セリアック病、潰瘍性大腸炎およびクローン病の治療についても適している。座瘡、脱毛症および高血圧は、本技術の化合物で治療することができる他の状態である。

10

20

30

40

50

【0025】

前記化合物はまた、 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ と同等または $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ よりも有意に高いかのいずれかの細胞分化活性によって特徴づけられる(図2および7を参考のこと)。したがって、この化合物はさらに、乾癬の治療のため、または特に白血病、結腸がん、乳がんおよび前立腺がんに対する抗がん剤としての治療剤も提供する。加えて、その比較的高い細胞分化活性のために、この化合物は、しわ、適切な皮膚水分量の欠如、すなわち、乾燥肌、適切な皮膚の引き締まりの欠如、すなわちたるんだ皮膚、および不十分な皮脂分泌をはじめとする、種々の皮膚状態を治療するための治療剤を提供する。この化合物の使用は、したがって、結果として皮膚に潤いを与えるだけでなく、皮膚のバリア機能を改善する。

10

【0026】

本技術の化合物を用いて、本技術の化合物を薬学的に許容される担体と組み合わせて含む薬学的製剤または医薬を調製することができる。そのような薬学的製剤および医薬を用いて、本明細書中に記載されるものなどの種々の生物学的障害を治療することができる。そのような障害を治療するための方法は、典型的には、有効量の化合物または化合物を含む適切な量の薬学的製剤もしくは医薬を、生物学的障害を患う対象に投与することを含む。いくつかの実施形態において、対象はほ乳類である。いくつかのそのような実施形態において、ほ乳類は、齧歯類、靈長類、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実施形態において、ほ乳類はラットであるか、またはマウスである。いくつかの実施形態において、対象は靈長類であり、例えばいくつかの実施形態において、ヒトである。

20

【0027】

治療目的で、式I、IA、IB、II、IIA、IIB、IIC、およびIIDによって定義される化合物を、医薬適用のために無害溶媒中溶液として、または好適な溶媒もしくは担体中、エマルション、懸濁液もしくは分散液として、または丸剤、錠剤もしくはカプセルとして、固体担体とともに、当該技術分野で公知の通常の方法に従って製剤化することができる。任意のそのような製剤は、他の薬学的に許容される非毒性賦形剤、例えば、安定剤、抗酸化剤、結合剤、着色剤または乳化もしくは味覚修飾剤を含有してもよい。薬学的に許容される賦形剤および担体は、一般的に当業者に公知であり、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) (その全体はすべての目的について、完全に本明細書中に記載されているかのように参照することによって本明細書中に組み込まれる)で記載されている。

30

【0028】

化合物は、経口、局所、非経口、または経皮投与することができる。化合物は、注射によって、または静脈内注入もしくは好適な無菌溶液によって、または液体もしくは固体投薬の形態で消化管を経由して、または経皮適用に適したクリーム、軟膏、パッチで、または類似の媒質の形態で有利に投与される。いくつかの実施形態において、1日につき約0.001μg～約1mgの化合物の用量が治療目的に適切である。いくつかのそのような実施形態において、適切かつ有効な用量は、1日につき約0.01μg～約1mgの化合物の範囲であり得る。他のそのような実施形態において、適切かつ有効な用量は1日につき約0.1μg～約500μgの化合物の範囲であり得る。そのような用量は、当該技術分野でよく理解されているように、治療される疾患または状態の種類、疾患または状態の重症度、および対象の応答にしたがって調節される。化合物は、単独で、または別の活性ビタミンD化合物とともに、適切に投与することができる。

40

【0029】

本技術で使用される組成物は、活性成分として、有効量の(20S)-2-メチレン-19-ノル-22-ジメチル-1,25-ジヒドロキシビタミンD₃および/または(20R)-2-メチレン-19-ノル-22-ジメチル-1,25-ジヒドロキシビタミンD₃と、好適な担体とを含む。本技術のいくつかの実施形態にしたがって使用される

50

本明細書中の化合物の有効量は、一般的に、本明細書中で記載されるものなどの投与量であり、局所、経皮、経口、鼻、直腸、または非経口投与することができる。

【0030】

式I IA、I IB、I ICおよびI IDの化合物は、有利には、前骨髄球の正常なマクロファージへの分化をもたらすのに十分な量で投与することができる。前述の投与量が好適であり、当該技術分野で十分に理解されているように、投与される量は、疾患の重症度、ならびに対象の状態および応答にしたがって調節されると理解される。

【0031】

化合物は、クリーム、ローション、軟膏、エアゾル、坐剤、局所パッチ、丸剤、カプセル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溶液、エマルション、分散液、もしくは懸濁液としての液体形態で、製剤化することができ、そのような調製物は、さらに、他の薬学的に無害または有益な成分、例えば安定剤、抗酸化剤、乳化剤、着色剤、結合剤もしくは味覚修飾剤を含有してもよい。

【0032】

本技術の製剤は、活性成分を、その薬学的に許容される担体、および任意で他の治療成分とともに含む。担体は、製剤の他の成分と適合性であり、そのレシピエント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。

【0033】

経口投与に適した本技術の製剤は、それぞれがあらかじめ決められた量の活性成分を含有するカプセル、サシェ、錠剤もしくはロゼンジとしての個別単位の形態で；粉末もしくは顆粒の形態で；水性液体もしくは非水性液体中の溶液もしくは懸濁液の形態で；または水中油型エマルションもしくは油中水型エマルションの形態であり得る。

【0034】

直腸投与用製剤は、活性成分とカカオ脂などの担体とを組み入れた坐剤の形態、または浣腸の形態であり得る。

【0035】

非経口投与に適した製剤は、好ましくは、レシピエント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含む。

【0036】

局所投与に適した製剤は、液体または半液体調製物、例えば、リニメント剤、ローション、アプリカント (applicant)、水中油型もしくは油中水型エマルション、例えばクリーム、軟膏もしくはペースト；または溶液もしくは懸濁液、例えば滴剤；またはスプレーとしてのものが挙げられる。

【0037】

鼻投与に関して、スプレー缶、ネブライザーまたはアトマイザーで投与される、粉末、自動推進式もしくはスプレー式製剤の吸入を使用することができる。製剤は、投与される場合、好ましくは10～100ミクロンの範囲の粒径を有する。

【0038】

製剤は、好都合には、投与単位形態で提供することができ、調剤分野で周知の方法のいずれかによって調製することができる。「投与単位」という用語は、患者に対して活性成分をそのまで、または固体もしくは液体の医薬希釈剤または担体との混合物としてのいずれかで含む物理的および化学的に安定な単位用量として投与することができる单一の、すなわち1回量を意味する。

【0039】

本明細書中で言及されるすべての参考文献は、その全体を参照することによって、本明細書中で完全に記載されているかのようにすべての目的に関して、特に本明細書中に組み込まれる。

【実施例】

【0040】

実施例1：(205)-2-メチレン-19-ノル-22-ジメチル-1,25-ジヒ

10

20

30

40

50

ドロキシビタミンD₃の合成

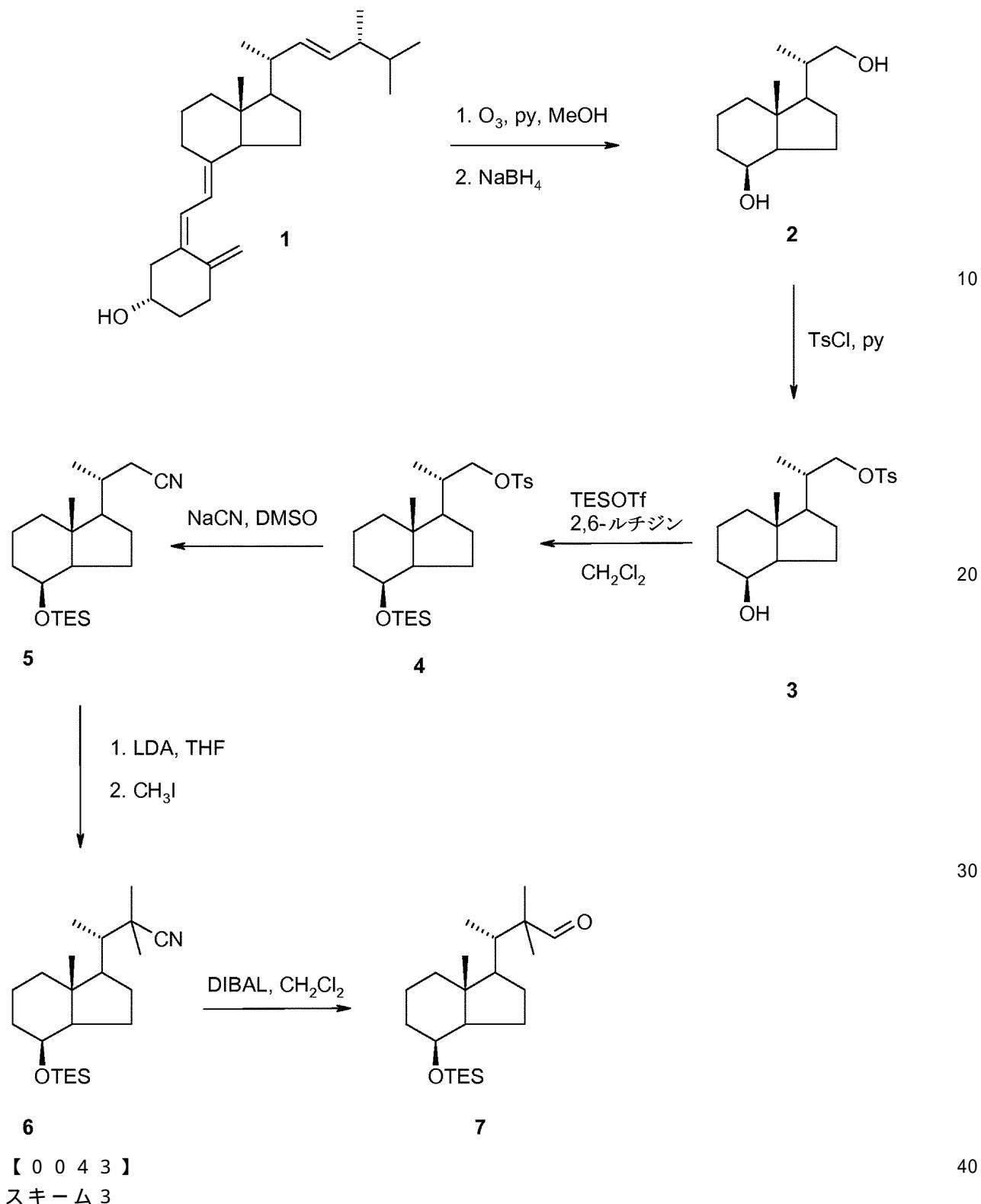
(20S)-2-メチレン-19-ノル-22-ジメチル-1,25-ジヒドロキシビタミンD₃を含む本技術の化合物を、スキーム1～3で示す方法を用いて調製した。スキーム2に示すように、化合物2は、Sicinski et al. (J. Med. Chem. 41, 4662-4672, 1998)によって記載されているようにビタミンD₂（化合物1）をオゾン分解し、続いてホウ化水素で還元することによって得られる。ジアルコール2をピリジン中塩化トシリルで処理して、トシレート化合物3を得る。ジクロロメタン中トリエチルシリルトリフレート（T E S O T f）および2,6-ルチジンで処理することによって化合物3を保護して、化合物4を得る。化合物4のトシレートをジメチルスルホキシド（D M S O）中シアニドで置換して、シアノ化合物5を得た。化合物5をリチウムジイソプロピルアミド（L D A）とテトラヒドロフラン（T H F）中で反応させ、ヨウ化メチルでアルキル化して、化合物6を得、これを続いてジクロロメタン中水素化ジイソブチルアルミニウム（D I B A L）で還元して、アルデヒド7を得た。
10

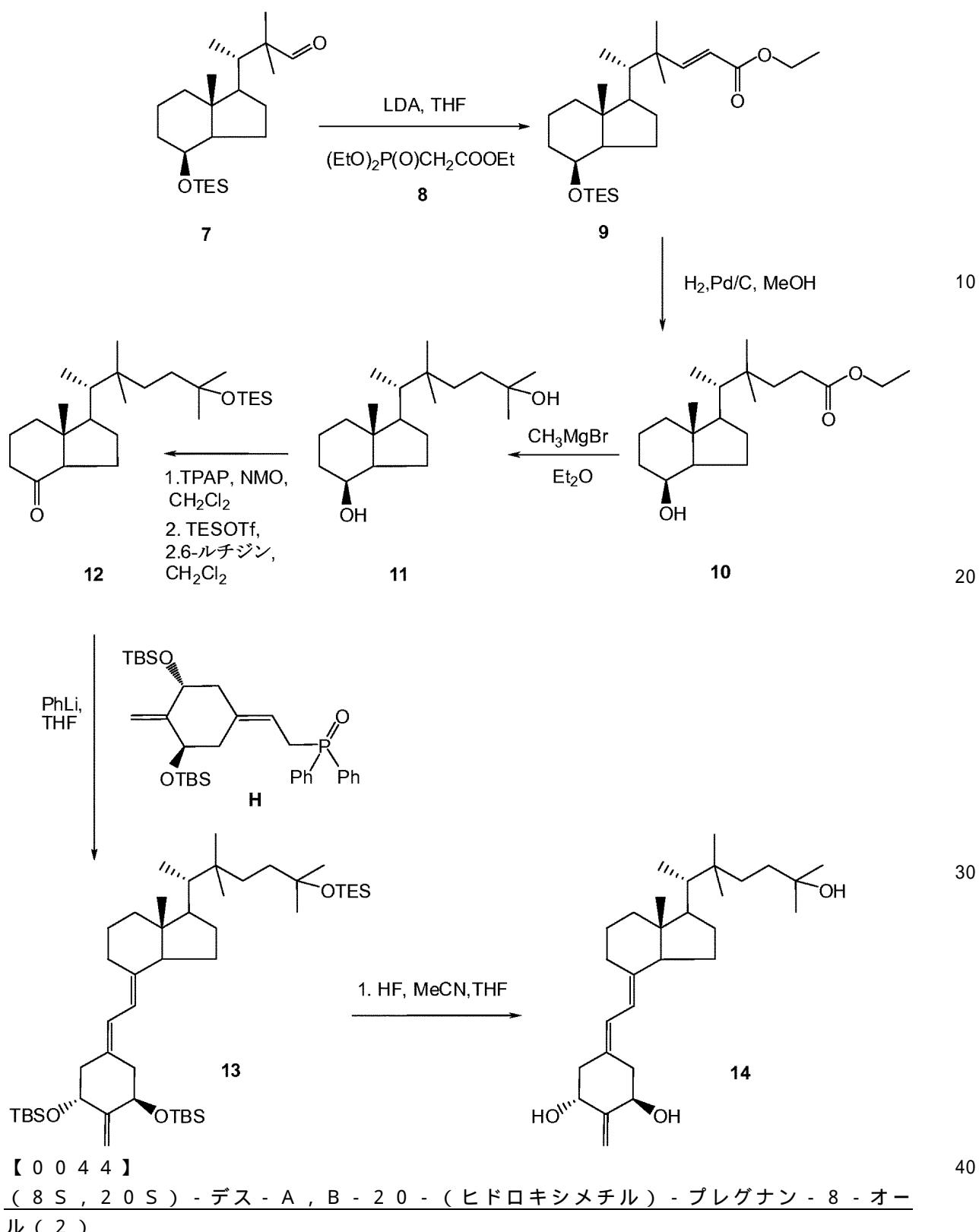
【0041】

スキーム3は、化合物7の式I I Aの表題化合物（化合物14）への変換を示す。まず、アルデヒド7をトリエチルホスホノアセテート8とL D Aの存在下で反応させて、アルケン9を得る。化合物9をメタノール中P d / C上で水素化して、化合物10を得、後者の化合物をメチルグリニヤール試薬と反応させて、第3アルコール11を得た。テトラブロピルパールテネートでN-メチルモルホリンN-オキシドの存在下で酸化し、続いて残存するアルコールをT E S O T fで、先と同じ条件下で保護することによって、ケトン12を得た。化合物12をA-環ホスホニウム塩（スキーム1から得られる化合物H）と、フェニルリチウムを用いてカップリングさせて、シリル保護されたビタミン誘導体である化合物13（式IおよびI Aの化合物）を得た。すべてのシリル保護基の除去をアセトニトリル（A C N）中H Fで実施して、化合物14（式IおよびI I Aの化合物）を得た。この生成物は後述するように完全に特性を決定した。
20

【0042】

スキーム2





ビタミンD₂ 1 (5 g、12.6ミリモル) およびビリジン (5 mL、4.89 g、6.2ミリモル) のメタノール (400 mL) 中溶液に -78 でオゾンを通した。反応混合物が藍色なったら、酸素で15分間フラッシュして、残存するオゾンを除去し、次いで NaBH_4 (1.5 g、4.0ミリモル) で処理した。15分後、2回目の NaBH_4 (1.5 g、4.0ミリモル) を添加し、混合物を室温まで温めた。3回目の NaBH_4 (1.5 g、4.0ミリモル) を添加し、反応混合物を18時間攪拌した。反応を水でクエンチし、減圧下で濃縮し、ジクロロメタンで抽出した。合した有機相を1Mの HCl 水溶液、飽和 NaHCO_3 水溶液で洗浄し、乾燥し (Na_2SO_4)、そして濃縮した。残留物をシ

リカゲル上カラムクロマトグラフィー(30%、次いで50%酢酸エチル/ヘキサン)によって精製して、ジオール2(2.61g、49%)を無色結晶として得た。

融点107(酢酸エチル/ヘキサンから); [η]_D +32.9(c 1.0, CHCl₃);

¹H NMR(500 MHz,

CDCl₃) δ 4.07(1H, d, J = 2.5 Hz), 3.62(1H, dd, J = 10.5, 3.2 Hz), 3.37(1H, dd, J = 10.5, 6.8 Hz), 1.98(1H, m), 1.80(3H, m), 1.02(3H, d, J = 6.6 Hz), 0.94(3H, s); ¹³C NMR(125 MHz, CDCl₃) δ 69.21, 67.81, 52.91, 52.34, 41.84, 40.20, 38.22, 33.55, 26.64, 22.55, 17.38, 16.60, 13.56; MS (EI) *m/z* 212(1, M⁺), 194(28, M⁺ - H₂O), 179(29), 163(22), 147(15), 135(42), 125(48), 111(100), 97(51);

C₁₃H₂₂O(M⁺ - H₂O)について計算された精密質量: 194.1671、実測値: 194.1673。

【0045】

(8S, 20S)-デス- A, B - 20 - [(p-トルエンスルホニル)オキシ]メチル-ブレグナン-8-オール(3)

塩化トリル(0.9g、4.73ミリモル)のピリジン(2mL)中予冷(-20)溶液をジオール2(0.52g、2.45ミリモル)の無水ピリジン(5mL)中混合物に-20で添加した。反応混合物を3時間-20で攪拌し、次いでこれを0まで温め、18時間攪拌した。混合物を飽和CuSO₄水溶液中に入れ、ジクロロメタンで抽出した。合わせた有機相を飽和CuSO₄水溶液で洗浄し、乾燥し(Na₂SO₄)、そして濃縮した。残留物をシリカゲル上カラムクロマトグラフィー(20%酢酸エチル/ヘキサン)によって精製して、トシレート3(0.86g、96%収率)を無色結晶として得た。

融点95(酢酸エチル/ヘキサンから); [η]_D +17.4(c 1.0, CHCl₃);

¹H NMR(400 MHz,

CDCl₃) δ 7.77(2H, d, J = 8.2 Hz), 7.34(2H, d, J = 8.2 Hz), 4.06(1H, s), 3.94(1H, dd, J = 9.2, 3.1 Hz), 3.80(1H, dd, J = 9.2, 6.2 Hz), 2.44(3H, s), 1.90(1H, m), 1.78(2H, m), 0.95(3H, d, J = 6.6 Hz), 0.88(3H, s); ¹³C NMR(100 MHz, CDCl₃) δ 144.59, 133.01, 129.73, 127.86, 75.56, 68.98, 52.18, 41.81, 40.00, 35.66, 33.50, 26.36, 22.40, 21.60, 17.29, 16.69, 13.43; MS (EI) *m/z* 367(6, M⁺), 348(5, M⁺ - H₂O), 307(2), 194(18), 179(23), 150(17), 135(16), 125(34), 111(100), 91(50); MS (ESI) *m/z* 389(100, [M+Na]⁺), 755(90, [2M+Na]⁺), 1121(60, [3M+Na]⁺);

C₂₀H₃₀O₄SNa[M+Na]⁺について計算された厳密質量(ESI): 389.1763、実測値: 389.1758。

【0046】

(8S, 20S)-デス- A, B - 8 - [(トリエチルシリル)オキシ] - 20 - [(p-トルエンスルホニル)オキシ]メチル-ブレグナン(4)

トリエチルシリルトリフルオロメタンスルホネート(0.6mL、0.70g、2.65ミリモル)をトシレート3(0.65g; 1.78ミリモル)および2,6-ルチジン(0.3mL、0.28g、2.58ミリモル)のジクロロメタン(6mL)中溶液に0で添加した。反応混合物を15分間攪拌し、これをジクロロメタンで希釈した。有機相を水で洗浄し、乾燥し(Na₂SO₄)、そして濃縮した。残留物をシリカゲル上カラム

10

20

30

40

50

クロマトグラフィー(20%酢酸エチル/ヘキサン)によって精製して、生成物4(0.84g、99%収率)を淡黄色油状物として得た。

[]_D + 20.6 (c 1.0, CHCl₃) ;

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.78 (2H, d, J = 8.2 Hz), 7.34 (2H, d, J = 8.2 Hz), 4.01 (1H, d, J = 2.0 Hz), 3.96 (1H, dd, J = 9.2, 3.0 Hz), 3.79 (1H, dd, J = 9.2, 6.5 Hz), 2.45 (3H, s), 1.87 (1H, m), 0.94 (3H, d, J = 5.9 Hz), 0.93 (9H, t, J = 7.9 Hz), 0.86 (3H, s), 0.54 (6H, q, J = 7.9 Hz); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 144.55 (0), 133.10 (0), 129.73 (1), 127.91 (1), 75.76 (2), 69.11 (1), 52.70 (1), 52.36 (1), 42.12 (0), 40.39 (2), 35.72 (1), 34.47 (2), 26.52 (2), 22.88 (2), 21.63 (3), 17.56 (2), 16.76 (3), 13.46 (3), 6.91 (3), 4.89 (2); MS (EI) *m/z* no M⁺, 319 (46), 291 (9), 265 (9), 246 (5), 217 (100), 189 (81), 161 (69), 133 (54), 103 (38), 94 (39); MS (ESI) *m/z* 503 (100, [M+Na]⁺), 983 (40, [2M+Na]⁺), 1463 (71, [3M+Na]⁺);

C₂₆H₄₄O₄SSiNa [M+Na]⁺について計算された厳密質量 (ESI) : 503.2627、実測値: 503.2629。

【0047】

(8S,20R)-デス-ア, B-8-[(トリエチルシリル)オキシ] -20-(シアノメチル)-ブレグナン(5)

シアノ化ナトリウム(2g、41ミリモル)をトシレート4(0.84g、1.75ミリモル)の無水DMSO(8mL)中溶液に添加した。結果として得られた混合物を90で3時間攪拌し、次いで冷却し、水で希釈し、酢酸エチルで抽出した。合わせた有機相を乾燥し(Na₂SO₄)、そして濃縮した。残留物をシリカゲル上カラムクロマトグラフィー(10%酢酸エチル/ヘキサン)によって精製して、シアニド5(0.57g、97%収率)を無色油状物として得た。

[]_D + 16.6 (c 1.0, CHCl₃) ;

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.04 (1H, d, J = 2.1 Hz), 2.34 (1H, dd, J = 16.6, 3.7 Hz), 2.23 (1H, dd, J = 16.6, 7.0 Hz), 1.92 (1H, m), 1.13 (3H, d, J = 6.6 Hz), 0.942 (9H, t, J = 7.9 Hz), 0.921 (3H, s), 0.55 (6H, q, J = 7.9 Hz); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 119.09 (0), 69.12 (1), 55.34 (1), 52.86 (1), 42.18 (0), 40.35 (2), 34.40 (2), 33.09 (1), 27.19 (2), 24.69 (2), 22.82 (2), 19.23 (3), 17.53 (2), 13.63 (3), 6.91 (3), 4.89 (2); MS (EI) *m/z* 335 (10), 320 (3), 306 (100), 292 (28), 225 (7), 202 (20), 188 (10), 161 (17), 135 (14), 103 (55);

C₂₀H₃₇ONSi (M⁺)について計算された厳密質量: 335.2644、実測値: 335.2656。

【0048】

(8S,20S)-デス-ア, B-8-[(トリエチルシリル)オキシ] -20-(1'-メチル-1'-シアノ-エチル)-ブレグナン(6)

n-ブチルリチウム(ヘキサン中1.6M、3.4mL、5.4ミリモル)をジイソブロピルアミン(0.76mL、0.544g、5.4ミリモル)のTHF(1mL)中溶液に0で添加した。結果として得られた混合物を0で30分間攪拌し、次いでこれを-78まで冷却し、シアニド5(0.45g、1.34ミリモル)のTHF(2mL)中溶液を添加した。混合物を-78で30分間攪拌し、次いでヨードメタン(0.9mL、2.04g、14.4ミリモル)を添加した。反応混合物を-78で1時間、次いで室温で1時間攪拌した。これを飽和NH₄Cl水溶液でクエンチし、酢酸エチルで抽出

10

20

30

40

50

した。合わせた有機相を塩水で洗浄し、乾燥し (Na_2SO_4)、そして濃縮した。残留物をシリカゲル上カラムクロマトグラフィー (10%、次いで 20% 酢酸エチル / ヘキサン) によって精製して、生成物 6 (0.49 g、100% 収率) を得た。

$[\quad]_D + 34.5$ (c 1.0, CHCl_3);

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.04 (1H, d, $J = 2.5$ Hz), 1.37 (3H, s), 1.28 (3H, s), 0.99 (3H, d, $J = 6.9$ Hz), 0.97 (3H, s), 0.95 (9H, t, $J = 7.9$ Hz), 0.55 (6H, q, $J = 7.9$ Hz); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 127.28 (0), 69.26 (1), 54.06 (1), 52.33 (1), 43.55 (0), 42.77 (1), 41.17 (2), 35.67 (0), 34.48 (2), 27.97 (2), 27.43 (3), 23.45 (2), 22.70 (3), 17.69 (2), 14.60 (3), 13.17 (3), 6.92 (3), 4.91 (2); MS (EI) m/z 363 (28, M^+), 349 (14), 334 (100), 321 (65), 306 (27), 261 (11), 225 (27), 183 (14), 163 (36), 135 (47), 103 (99), 75 (58);

$\text{C}_{22}\text{H}_{41}\text{ONSi} (\text{M}^+)$ について計算された厳密質量: 363.2957、実測値: 363.2957。

【0049】

(8S, 20S) - デス - A, B - 8 - [(トリエチルシリル)オキシ] - 20 - (1' - メチル - 1' - ホルミル - エチル) - プレグナン (7)

水素化ジイソブチルアルミニウム (ジクロロメタン中 1.0 M、2.5 mL、2.5 ミリモル) を化合物 6 (0.49 g、1.35 ミリモル) のジクロロメタン (3 mL) 中溶液に -10 で添加した。混合物を -10 で 1 時間攪拌し、次いでこれを飽和酒石酸カリウムナトリウム水溶液 (5 mL) でクエンチした。水相をジクロロメタンで抽出した。合わせた有機層をブラインで洗浄し、乾燥し (Na_2SO_4)、そして濃縮した。残留物をシリカゲル上カラムクロマトグラフィー (10%、次いで 20% 酢酸エチル / ヘキサン) によって精製して、アルデヒド 7 (0.47 g、95% 収率) を無色結晶として得た。融点: 71 ~ 72 (EtOAc); $[\quad]_D + 12.8$ (c 1.0, CHCl_3);

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ

9.48 (1H, s), 4.00 (1H, d, $J = 2.2$ Hz), 2.00 (1H, m), 0.95 (6H, s), 0.94 (9H, t, $J = 7.8$ Hz), 0.94 (3H, d, $J = 6.9$ Hz), 0.93 (3H, s), 0.54 (6H, q, $J = 7.8$ Hz); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 207.03 (1), 69.30 (1), 54.46 (1), 52.65 (1), 50.05 (0), 43.02 (0), 41.22 (2), 40.21 (1), 34.57 (2), 28.73 (2), 23.34 (2), 22.74 (3), 17.72 (2), 15.20 (3), 13.61 (3), 13.22 (3), 6.92 (3), 4.92 (2); MS (EI) m/z 366 (3, M^+), 337 (10), 323 (4), 295 (10), 281 (5), 253 (6), 239 (8), 225 (38), 203 (6), 186 (22), 163 (100), 135 (56), 103 (87), 75 (63);

$\text{C}_{22}\text{H}_{42}\text{O}_2\text{SiNa} [\text{M} + \text{Na}]^+$ についての計算された厳密質量 (ESI): 389.2852、実測値: 389.2855。

【0050】

(8S, 20S) - デス - A, B - 8 - [(トリエチルシリル)オキシ] - 20 - (1' - ジメチル - 3' - エチルオキシカルボニル - 2' - プロペニル) - プレグナン (9)

n-ブチルリチウム (ヘキサン中 1.6 M、1.1 mL、1.76 ミリモル) をジイソブチルアミン (0.24 mL、0.172 g、1.70 ミリモル) の無水 THF (1 mL) 中溶液に 0 で添加した。30 分後、混合物を -10 まで冷却し、トリエチルホスホノアセテート 8 (0.38 mL、0.426 g、1.9 ミリモル) を添加した。反応混合物を -10 で 30 分間攪拌し、次いでアルデヒド 7 (31.4 mg、0.086 ミリモル) の無水 THF (1 mL + 0.5 mL) 中溶液を、カニューレを通して添加した。混合物をアルゴン下、-10 で 1 時間攪拌し、次いでこれを 37 まで 2.5 時間加熱し、後に室温で一晩攪拌した。ジクロロメタンを添加し、有機相を水で洗浄し、乾燥し (Na_2SO_4)、そして濃縮した。混合物をシリカゲル上カラムクロマトグラフィー (10%、次いで 20% 酢酸エチル / ヘキサン) によって精製して、生成物 9 (0.49 g、100% 収率) を得た。

a_2SO_4 ）、そして濃縮した。生成物を S e p - P a k カートリッジ (5 g) 上で精製した。カートリッジをヘキサン / 酢酸エチル (2 %) で洗浄して、9 (34.1 mg, 91 % 収率) を無色油状物として得た。

[η]_D - 4.6 (c 1.0, CHCl₃);

¹H NMR

(400 MHz, CDCl₃) δ 7.07 (1H, d, J = 16.0 Hz), 5.64 (1H, d, J = 16.0 Hz), 4.19 (2H, q, J = 7.1 Hz), 4.00 (1H, d, J = 2.1 Hz), 2.00 (1H, m), 1.30 (3H, t, J = 7.1 Hz), 1.00 (3H, s), 0.98 (3H, s), 0.94 (9H, t, J = 7.9 Hz), 0.93 (3H, s), 0.93 (3H, d, J = 8.0 Hz), 0.54 (6H, q, J = 7.9 Hz); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 167.52 (0), 162.38 (1), 115.17 (1), 69.44 (1), 60.04 (2), 54.44 (1), 52.45 (1), 45.28 (1), 43.45 (0), 41.30 (2), 40.91 (0), 34.59 (2), 29.75 (2), 27.44 (3), 23.79 (2), 21.34 (3), 17.74 (2), 15.03 (3), 14.29 (3), 13.01 (3), 6.92 (3), 4.92 (2); MS (EI) *m/z* 437 (4, MH^+), 421 (4), 407 (43), 366 (5), 337 (5), 295 (42), 281 (13), 256 (42), 225 (18), 191 (27), 163 (100); MS (ESI) *m/z* 459 (81, [M+Na]⁺), 895 (75, [2M+Na]⁺), 1331 (94, [3M+Na]⁺),

$\text{C}_{26}\text{H}_{48}\text{O}_3\text{SiNa}[\text{M}+\text{Na}]^+$ について計算された厳密質量 (E S I) : 459.3270、実測値: 459.3254。

【0051】

(8S,20S)-デス- A, B-20-(1'-ジメチル-3'-エチルオキシカルボニル-プロピル)-ブレグナン-8-オール(10)

エステル 9 (34.1 mg, 0.078 ミリモル) のメタノール (5 mL) 中溶液を、粉末木炭 (10 mg) 上 10 % パラジウムの存在下で室温にて 20 時間水素化した。W a t e r s シリカ S e p - P a k カートリッジ (2 g) を通して反応混合物をろ過し、これをメタノールでさらに洗浄した。溶媒を除去した後、エステル 10 (24.0 mg, 95 %) を無色油状物として得た。

[η]_D + 7.1 (c 1.0, CHCl₃);

¹H NMR

(500 MHz, CDCl₃) δ 4.12 (2H, q, J = 7.1 Hz), 4.07 (1H, d, J = 2.1 Hz), 2.25 (2H, m), 2.10 (1H, m), 1.26 (3H, t, J = 7.1 Hz), 0.99 (3H, s), 0.92 (3H, d, J = 7.1 Hz), 0.91 (3H, s), 0.86 (3H, s); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 174.60 (0), 69.47 (1), 60.23 (2), 53.30 (1), 51.90 (1), 43.53 (0), 43.14 (1), 40.90 (2), 36.34 (0), 36.25 (2), 33.57 (2), 29.94 (2), 29.44 (2), 27.49 (3), 26.21 (3), 23.36 (2), 17.48 (2), 14.89 (3), 14.22 (3), 13.08 (3); MS (EI) *m/z* 325 (3, MH^+), 306 (5), 278 (8), 261 (7), 224 (7), 181 (15), 163 (56), 143 (100), 111 (76), 97 (62); MS (ESI) *m/z* 347 (85, [M+Na]⁺), 671 (9, [2M+Na]⁺),

$\text{n a C}_{20}\text{H}_{36}\text{O}_3\text{Na}[\text{M}+\text{Na}]^+$ について計算された厳密質量: 347.2562、実測値: 347.2556。

【0052】

(8S,20S)-デス- A, B-22-ジメチル-コレスタン-8,25-ジオール(11)

メチルマグネシウムプロミド (ジエチルエーテル中 3.0 M 溶液、65 μ L、0.195 ミリモル) をエステル 10 (24 mg, 0.074 ミリモル) の無水ジエチルエーテル (1.8 mL) 中溶液に 0 で添加した。反応混合物を 0 で 2 時間、次いで室温で 1.8

時間攪拌した。これを飽和 NH_4Cl 水溶液でクエンチし、酢酸エチルで抽出し、乾燥し (Na_2SO_4)、そして濃縮した。残留物を Waters シリカ Sep-Pak カートリッジ (5 g) にかけた。酢酸エチル / ヘキサン (1 : 1) で溶出して、ジオール 11 (19.2 mg、84%)を得た。

[]_D + 4.8 (c 1.0, CHCl_3) ;

¹H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.07 (1H, d, J = 2.1 Hz), 2.10

(1H, m), 1.21 (6H, s), 0.99 (3H, s), 0.91 (3H, s), 0.90 (3H, d, J = 8.2 Hz), 0.84 (3H, s); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 71.19 (0), 69.51 (1), 53.43 (1), 51.91 (1), 43.51 (0), 42.65 (1), 40.91 (2), 37.59 (2), 36.29 (2), 36.24 (0), 33.55 (2), 29.89 (2), 29.23 (3), 29.17 (3), 28.04 (3), 26.29 (3), 23.38 (2), 17.49 (2), 14.87 (3), 13.10 (3); MS (EI) m/z M⁺ なし, 292 (5), 259 (2), 223 (3), 205 (7), 181 (8), 163 (28), 129 (25), 111 (100), 95 (23); MS (ESI) m/z 333 (95, $[\text{M}+\text{Na}]^+$), 643 (11, $[\text{M}+\text{Na}]^+$),

$\text{n a C}_{20}\text{H}_{38}\text{O}_2\text{Na} [\text{M}+\text{Na}]^+$ について計算された厳密質量 (ESI) : 333.2770、実測値: 333.2774。

【0053】

(20S) - デス - A, B - 22 - ジメチル - 25 - [(トリエチルシリル)オキシ] - コレスタン - 8 - オン (12)

分子篩 A 4 (100 mg) を 4 - メチルモルホリンオキシド (150 mg、1.28 ミリモル) のジクロロメタン (600 μL) 中溶液に添加した。混合物を室温で 15 分間攪拌し、テトラプロピルアンモニウムパールテネット (8 mg、22.8 マイクロモル) を添加し、続いてジオール 11 (19 mg、0.061 ミリモル) のジクロロメタン (400 + 200 μL) 中溶液を添加した。結果として得られた懸濁液を室温で 1 時間攪拌した。反応混合物を、Waters シリカ Sep-Pak カートリッジ (2 g) に通してろ過し、これを酢酸エチルでさらに洗浄した。溶媒を除去した後、ケトン (19 mg) を無色油状物として得た。

【0054】

トリエチルシリルトリフルオロメタンスルホネート (20 μL 、23 mg、0.088 ミリモル) をケトン (19 mg、0.062 ミリモル) および 2,6 - ルチジン (60 μL 、55 mg、0.515 ミリモル) のジクロロメタン (1.2 mL) 中溶液に -40 で滴加した。反応混合物を -40 で 15 分間攪拌し、次いでこれをジクロロメタンで希釈し、水で洗浄した。有機層を乾燥し (Na_2SO_4)、そして濃縮した。残留物を Waters シリカ Sep-Pak カートリッジ (5 g) に供した。ヘキサン / 酢酸エチル (1%、次いで 2%) で溶出して、保護されたケトン 12 (20.2 mg、78% 収率)を得た。

[]_D - 19.2 (c 1.0, CHCl_3) ;

¹H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 2.33 (1H, d, J = 11.5, 7.5 Hz), 2.24

(3H, m), 1.19 (6H, s), 0.95 (9H, t, J = 7.9 Hz), 0.95 (3H, d, J = 6.9 Hz), 0.89 (3H, s), 0.84 (3H, s), 0.71 (3H, s), 0.56 (6H, q, J = 7.9 Hz); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 212.46 (0), 73.40 (0), 61.73 (1), 53.18 (1), 51.09 (0), 43.36 (1), 41.08 (2), 39.48 (2), 38.77 (2), 36.15 (0), 35.76 (2), 30.76 (2), 29.87 (3), 27.70 (3), 26.24 (3), 23.94 (2), 19.96 (2), 14.72 (3), 12.87 (3), 7.14 (3), 6.81 (2); MS (EI) m/z M⁺ なし, 407 (10), 393 (28), 364 (11), 294 (12), 273 (10), 173 (48), 163 (28), 111 (100); MS (ESI) m/z 445 (8, $[\text{M}+\text{Na}]^+$),

$\text{C}_{26}\text{H}_{50}\text{O}_2\text{SiNa} [\text{M}+\text{Na}]^+$ について計算された厳密質量 (ESI) : 445.3478、実測値: 445.3486。

10

20

30

40

50

【0055】

(205) - 2 - メチレン - 19 - ノル - 22 - ジメチル - 1 , 25 - ジヒドロキシビタミン D₃ (14)

フェニルリチウム (ジ - n - ブチルエーテル中 1.83M、0.1mL、0.183ミリモル) をホスフィンオキシドH (110mg、0.189ミリモル) の無水THF (1mL) 中攪拌溶液に -30 で添加した。30分後、混合物を -78 まで冷却し、ケトン12 (20mg、47.4マイクロモル) の無水THF (200+100μL) 中予冷溶液に添加した。反応混合物をアルゴン下、-78 で4時間、次いで +4 で19時間攪拌した。酢酸エチルを添加し、有機相をブラインで洗浄し、乾燥し (Na₂SO₄)、そして濃縮した。残留物を WatersシリカSep-Pakカートリッジ (5g) に供した。カートリッジをヘキサンおよび酢酸エチル/ヘキサン (1:99) で洗浄して、粗生成物を得た。ビタミンを順相HPLC [9.4×250mm Zorbax Silicaカラム、4mL/分、ヘキサン/2-プロパノール (0.1%) 溶媒系、Rt = 3.4分] によってさらに精製して、純粋な保護された化合物 (13) (33.83mg、91%収率)を得た。

UV (ヘキサン中) max 263.5, 253.5, 245.5 nm;

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 6.22 (1H, d, J =

11.1 Hz, 6-H), 5.85 (1H, d, J = 11.1 Hz, 7-H), 4.97 (1H, s, =CH₂), 4.92 (1H, s, =CH₂), 4.43 (2H, m, 1β-H および 3α-H), 2.81 (1H, dm, J = 12.6 Hz), 2.52 (1H, dd, J = 13.3, 5.9 Hz, 10α-H), 2.47 (1H, dd, J = 12.6, 4.5 Hz, 4α-H), 2.34 (1H, dd, J = 13.3, 2.8 Hz, 10β-H), 2.18 (1H, dd, J = 12.6, 8.3 Hz, 4β-H), 2.09 (1H, m), 1.97 (2H, m), 1.19 (6H, bs, 26-H₃, 27-H₃), 0.95 (9H, t, J = 7.9 Hz), 0.93 (3H, d, J = 6.8 Hz, 21-H₃), 0.897 (9H, s, t-BuSi), 0.868 (9H, s, t-BuSi), 0.889 および 0.833 (各 3H, 各 s, 28-H₃, 30-H₃), 0.62 (3H, s, 18-H₃), 0.57 (6H, q, J = 7.9 Hz), 0.080 (3H, s, SiMe), 0.068 (3H, s, SiMe), 0.049 (3H, s, SiMe), 0.027 (3H, s, SiMe); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 152.98 (0, C-2), 141.40 (0, C-8), 132.77 (0, C-5), 122.46 (1, C-6), 116.43 (1, C-7), 106.25 (2, =CH₂), 73.52 (0, C-25), 72.53 および 71.64 (各 1, C-1, C-3), 56.02 (1), 52.84 (1), 47.60 (2), 46.96 (0, C-13), 44.18 (1), 41.14 (2), 38.84 (2), 38.57 (2), 36.23 (0, C-22), 35.85 (2), 31.28 (2), 29.91 および 29.86 (各 3, C-26, C-27), 28.84 (2), 27.75 (3), 26.22 (3), 25.84 (3), 25.78 (3), 23.53 (2), 23.17 (2), 18.25 (0), 18.17 (0), 14.70 (3), 12.53 (3), 7.15 (3), 6.84 (2), -4.86 (3), -5.10 (3); MS (ESI) m/z 809 (2, [M+Na]⁺),

C₄₇H₉₀O₃Si₃Na [M+Na]⁺について計算された厳密質量: (ESI) 809.6096、実測値: 809.6086。

【0056】

保護された化合物 13 (33.82mg、43.0モル) を THF (4mL) およびアセトニトリル (3mL) 中に溶解させた。アセトニトリル中 48% HF 水溶液 (1:9比、4mL) を 0 で添加し、結果として得られた混合物を室温で 3 時間攪拌した。飽和NaHCO₃水溶液を添加し、反応混合物をジクロロメタンで抽出した。合わせた有機相を乾燥し (Na₂SO₄)、減圧下で濃縮した。残留物を 2mL のヘキサン / 酢酸エチル (7:3) で希釈し、WatersシリカSep-Pakカートリッジ (5g) に供した。ヘキサン / 酢酸エチル (7:3、次いで 1:1) で溶出して、粗生成物 14 を得た。ビタミン (14) を、順相HPLC [9.4×250mm Zorbax Silicaカラム、4mL/分、ヘキサン/2-プロパノール (85:15) 溶媒系、Rt = 7.8 分] および逆相HPLC [9.4×250mm Zorbax RX-C18カラム、3mL/分、メタノール / 水 (85:15) 溶媒系、Rt = 15.7 分] によってさらに精製し

10

20

30

40

50

て、純粋な化合物 14 (14.336 mg、75% 収率)を得た。

UV (EtOH 中) _{max} 261.5, 252.0, 244.5 nm;

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 6.35 (1H, d, J =

11.2 Hz, 6-H), 5.89 (1H, d, J = 11.2 Hz, 7-H), 5.10 (1H, s, =CH₂), 5.08 (1H, s, =CH₂), 4.48 (2H, m, 1β-H および 3α-H), 2.84 (1H, dd, J = 13.0, 4.3 Hz, 10β-H), 2.80 (1H, dd, J = 13.3, 4.1 Hz, 9β-H), 2.56 (1H, dd, J = 13.4, 3.3 Hz, 4α-H), 2.32 (1H, dd, J = 13.4, 6.1 Hz, 4β-H), 2.28 (1H, dd, J = 13.0 Hz, 8.4 Hz, 10α-H), 2.08 (1H, m), 1.21 (6H, s, 26-H₃, 27-H₃), 0.92 (3H, d, J = 7.0 Hz, 21-H₃), 0.91 および 0.84 (各 3H, 各 s, 28-H₃, 30-H₃), 0.62 (3H, 18-H₃); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 151.97 (0, C-2), 143.44 (0, C-8), 130.52 (0, C-5), 124.23 (1, C-6), 115.65 (1, C-7), 107.71 (2, =CH₂), 71.79 および 70.63 (各 1, C-1, C-3), 71.23 (0, C-25), 56.01 (1), 52.77 (1), 47.07 (0, C-13), 45.77 (2), 43.90 (1), 40.98 (2), 38.15 (2), 37.64 (2), 36.28 (0, C-22), 36.00 (2), 31.20 (2), 29.23 および 29.20 (各 3, C-26, C-27), 29.02 (2), 27.77 (3), 25.97 (3), 23.55 (2), 23.22 (2), 14.71 (3), 12.59 (3); MS (EI) *m/z* 444 (30, M⁺), 426 (7, M⁺ - H₂O), 411 (2), 341 (4), 315 (20), 297 (10), 269 (12), 247 (20), 223 (4), 192 (4), 175 (6), 161 (14), 135 (40), 111 (56), 91 (100), 69 (24); MS (ESI) *m/z* 467 (49, [M+Na]⁺), 911 (11, [2M+Na]⁺), 10

C₂₉H₄₈O₃Na [M+Na]⁺について計算された厳密質量 (ESI) : 467.3501、実測値: 467.3507。

【0057】

実施例 2: (20R)-2-メチレン-19-ノル-22-ジメチル-1,25-ジヒドロキシビタミンD₃の合成

(20R)-2-メチレン-19-ノル-22-ジメチル-1,25-ジヒドロキシビタミンD₃を含む本技術の化合物を、スキーム4~6で示す方法を用いて調製した。スキーム4で示すように、化合物4を、スキーム2で図示し、実施例1で記載した同じステップによって得た。DMSO中重炭酸ナトリウムでのトシレート4のKornb1um酸化によって、アルデヒド15を得た。化合物15を水酸化テトラブチルアンモニウムでの処理によって20位でエピマー化して、化合物16を得、ホウ水素化ナトリウムで還元して、ジアステレオマーの混合物を得、これから20R立体化学を有する化合物17を単離した。

【0058】

スキーム5で示されるように、化合物17をスキーム2および3に示したものと類似した一連の合成ステップに付して、化合物11の20Rジアステレオマーである化合物25を得た。同様に、スキーム6で示すように、化合物25を、スキーム3の化合物11と同じ一連の酸化、保護、トリエチルホスホノアセテート縮合および脱保護ステップに付して、化合物28、(20R)-2-メチレン-19-ノル-22-ジメチル-1,25-ジヒドロキシビタミンD₃を得た。この生成物は後述のように完全に特性を決定した。

【0059】

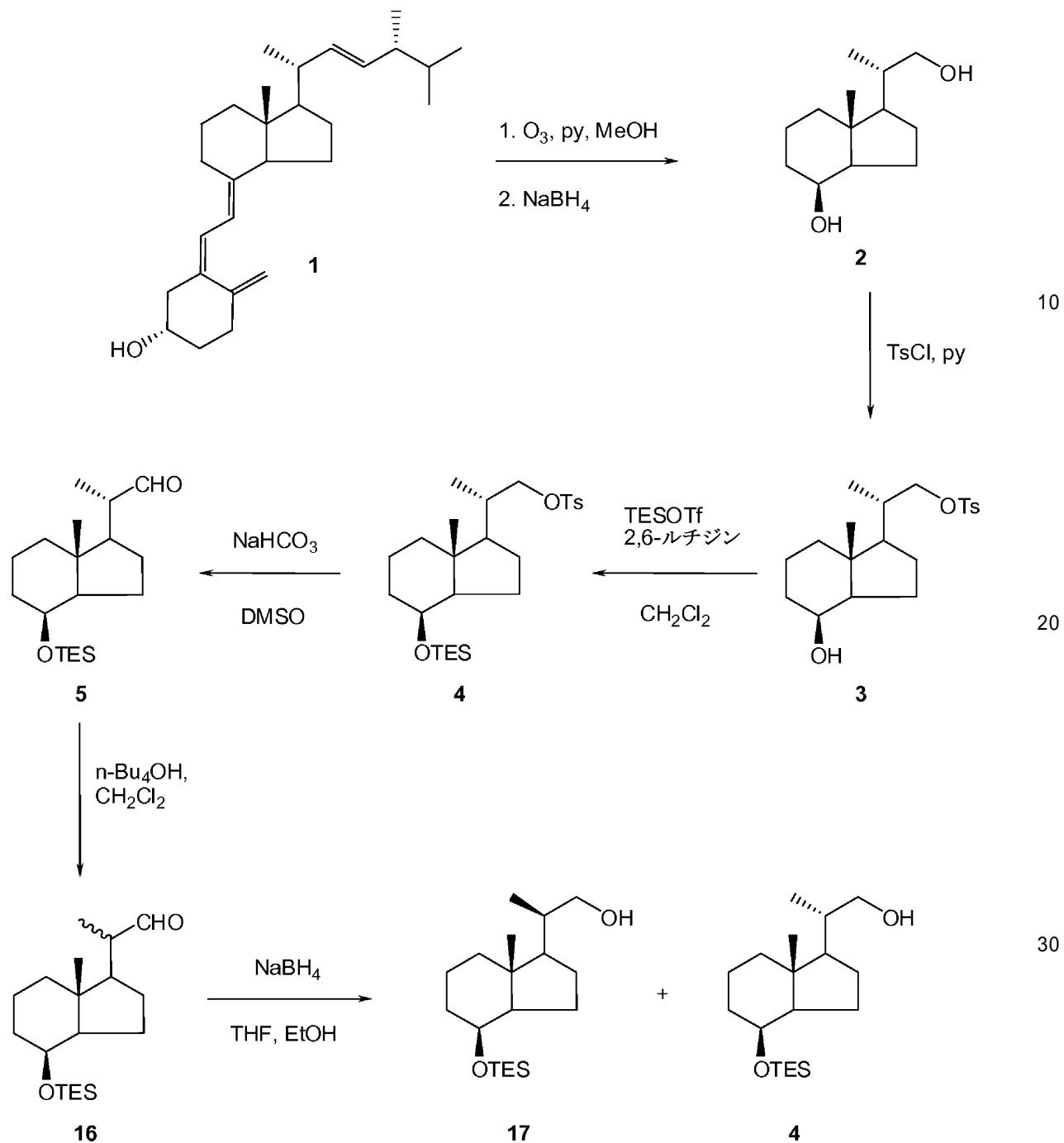
スキーム4

10

20

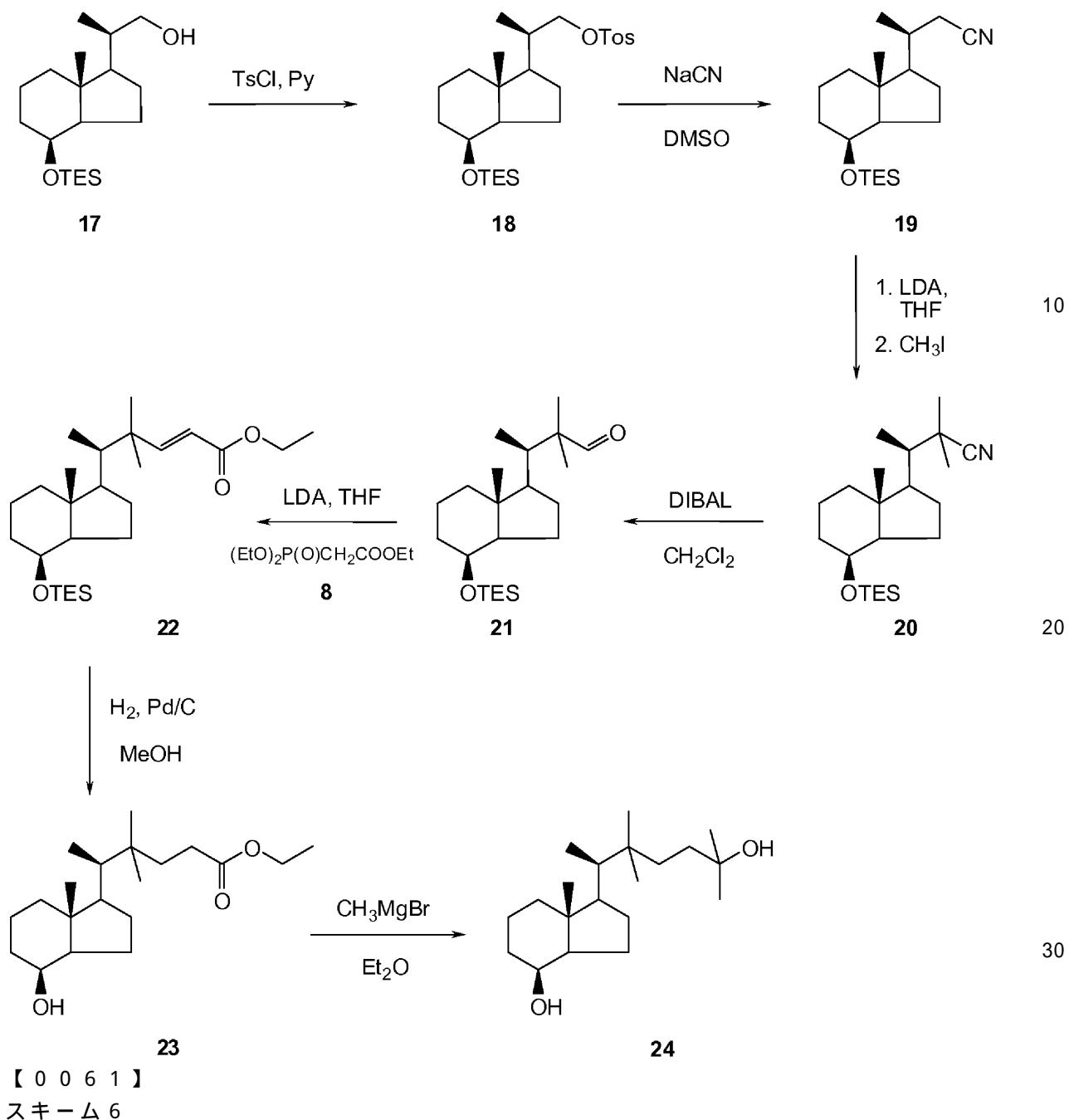
30

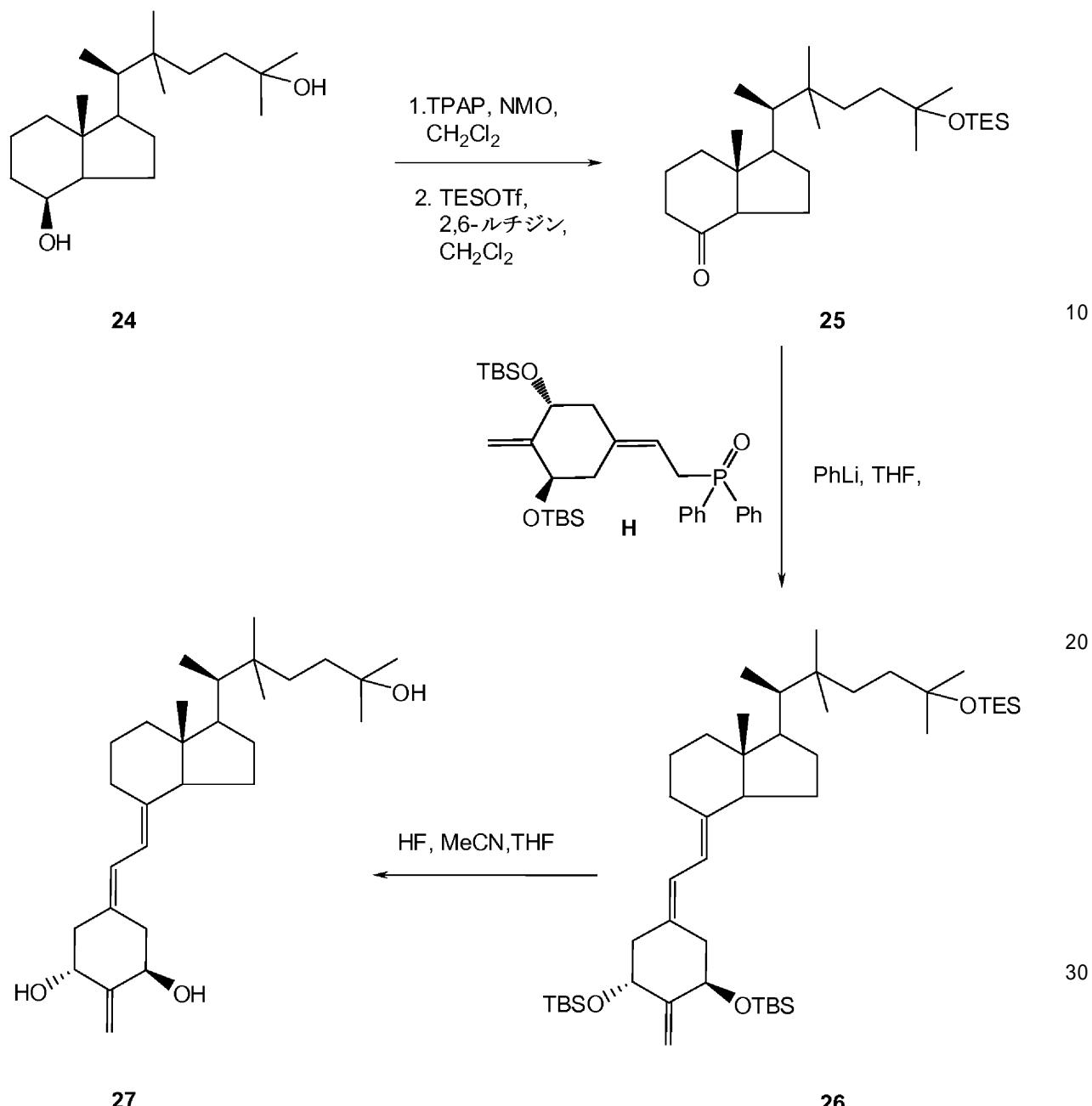
40



【 0 0 6 0 】

スキーム 5





【0062】
(8S,20S)-デス-A,B-8-[（トリエチルシリル）オキシ]-20-（ホルミル）-ブレグナン（15）

重炭酸ナトリウム（5 g、59.5ミリモル）をトシレート4（2.31 g、4.81ミリモル）のDMSO（15 mL）中溶液に添加した。反応混合物を120で1時間15分攪拌し、これを酢酸エチルで希釈した。有機相をブラインで洗浄し、乾燥し（Na₂SO₄）、そして濃縮した。残留物をシリカゲル上カラムクロマトグラフィー（5%酢酸エチル/ヘキサン）によって精製して、生成物5（1.19 g、76%収率）を無色油状物として得た。

[]_D + 41.4 (c 1.0, CHCl₃);

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.58 (1H, d, J = 3.2 Hz), 4.06 (1H, d, J = 2.4 Hz), 2.36 (1H, m), 1.09 (3H, d, J = 6.8, 3.0 Hz), 0.96 (3H, s), 0.94 (9H, t, J = 7.9 Hz), 0.56 (6H, q, J = 7.9 Hz); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 205.40 (1), 69.01 (1), 52.38 (1), 51.69 (1), 49.17 (1), 42.64 (0), 40.49 (2), 34.54 (2), 26.20 (2), 23.28 (2), 17.58 (2), 13.89 (3), 13.32 (3), 6.92 (3), 4.90 (2); MS (EI) *m/z* 324 (5, M⁺), 295 (100, M⁺ - EtOH), 281 (30), 246 (12), 191 (36), 175 (99), 135 (54), 103 (76); MS (ESI) *m/z* 671 (100, [2M+Na]⁺), 995 (49, [3M+Na]⁺);

10

C₁₇H₃₁O₂Si [M - Et]⁺についての計算された厳密質量: 295.2093
、実測値: 295.2103。

【0063】

(8S, 20R) - デス - A, B - 8 - [(トリエチルシリル) オキシ] - 20 - (ヒドロキシメチル) - プレグナン (17)

水酸化テトラブチルアンモニウム (水中 4.0 重量% 溶液、4 mL、3.98 g、0.015 モル) をアルデヒド 5 (0.97 g、2.99 ミリモル) のジクロロメタン (2.0 mL) 中溶液に添加した。反応混合物を 1.8 時間室温で攪拌し、これをジクロロメタンで希釈した。有機相を水で洗浄し、乾燥し (Na₂SO₄)、そして濃縮した。生成物をシリカゲル上カラムクロマトグラフィー (3%、次いで 5% 酢酸エチル / ヘキサン) によって精製して、異性体 16 の混合物を得た (0.69 g、71% 収率)。ホウ水素化ナトリウム (0.2 g、5.29 ミリモル) をアルデヒド 16 (0.69 g、2.13 ミリモル) の THF (1.0 mL) およびエタノール (1.0 mL) 中溶液に添加した。反応混合物を 4.5 分間攪拌し、飽和 NH₄Cl でケンチし、酢酸エチルで抽出し、乾燥した (Na₂SO₄)。残留物をシリカゲル上カラムクロマトグラフィー (4%、次いで 2.0% 酢酸エチル / ヘキサン) によって精製して、純粋な異性体 17 (0.326 g、47% 収率) ならびに両異性体 17 および 4 の混合物 (0.277 g、40% 収率) を得た。

[]_D + 33.6 (c 1.0, CHCl₃);

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 4.03 (1H, d, J = 2.5 Hz), 3.72 (1H, dd, J = 10.7, 3.6 Hz), 3.44 (1H, dd, J = 10.7, 7.0 Hz), 0.95 (9H, t, J = 7.9 Hz), 0.94 (3H, d, J = 6.6 Hz), 0.93 (3H, s), 0.55 (6H, q, J = 7.9 Hz); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 69.25 (1), 66.84 (2), 53.01 (1), 41.91 (0), 40.20 (2), 37.49 (1), 34.58 (2), 26.73 (2), 22.81 (2), 17.67 (2), 16.58 (3), 13.88 (3), 6.93 (3), 4.91 (2); MS (EI) *m/z* 326 (7, M⁺), 311 (3, M⁺-CH₃), 297 (100, M⁺-Et), 283 (41), 265 (8), 225 (23), 193 (41), 177 (41), 135 (57), 103 (99); MS (ESI) *m/z* 327 (100, [M+H]⁺);

C₁₇H₃₃O₂Si [M - Et]⁺について計算された厳密質量: 297.2250、実測値: 297.2244。

30

【0064】

(8S, 20R) - デス - A, B - 8 - [(トリエチルシリル) オキシ] - 20 - [(p - トルエンスルホニル) オキシ] メチル - プレグナン (18)

塩化トシリル (0.38 g、2 ミリモル) のピリジン (3 mL) 中溶液を、カニューレを介してアルコール 17 (0.326 g、1 ミリモル) のピリジン (5 mL) 中溶液に -2.0 で移した。反応混合物を -2.0 で 1 時間、次いで +4 で一晩攪拌した。これを塩化メチレンで希釈し、Na₂SO₄ の飽和水溶液で洗浄し、乾燥した (Na₂SO₄)。残留物をシリカゲル上カラムクロマトグラフィー (5%、次いで 10% および 20% 酢酸エチル / ヘキサン) によって精製して、トシレート 18 (4.27 mg、89% 収率) を無色油状物として得た。

40

50

[]_D + 8.8 (c 1.0, CHCl₃);

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.78 (1H, d, J = 8.2 Hz), 7.34 (1H, d, J = 8.2 Hz), 4.11 (1H, dd, J = 9.3, 3.4 Hz), 4.00 (1H, d, J = 2.0 Hz), 3.77 (1H, dd, J = 9.3, 7.4 Hz), 2.45 (3H, s), 0.93 (9H, t, J = 7.9 Hz), 0.87 (3H, d, J = 6.7 Hz), 0.81 (3H, s), 0.53 (6H, q, J = 7.9 Hz); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 144.53 (0), 133.18 (0), 129.70 (1), 127.93 (1), 74.30 (2), 69.09 (1), 52.74 (1), 52.60 (1), 41.77 (0), 39.95 (2), 34.66 (1), 34.40 (2), 26.61 (2), 22.64 (2), 21.62 (3), 17.54 (2), 16.65 (3), 13.82 (3), 6.91 (3), 4.89 (2); MS (EI) *m/z* 480 (18, M⁺), 465 (2), 437 (14), 348 (2, M⁺- Et₃SiOH), 309 (1, M⁺- CH₃C₆H₄SO₃), 257 (91), 225 (23), 177 (100), 135 (19), 121 (24); MS (ESI) *m/z* 503 (7, [M+Na]⁺), 983 (4, [2M+Na]⁺), 1463 (10, [3M+Na]⁺);

C₂₆H₄₄O₄SSiNa [M+Na]⁺について計算された厳密質量: 503.2627、実測値: 503.2639。

【0065】

(8S, 20S)-デス- A, B-8-[(トリエチルシリル)オキシ]-20-(シアノメチル)-ブレグナン (19)

シアノ化ナトリウム (0.9 g、18.4ミリモル) をトシレート 18 (0.412 g、0.858ミリモル) の DMSO (5 mL) 中溶液に添加した。結果として得られた混合物を 90 度で 2 時間攪拌し、次いで冷却し、水で希釈し、酢酸エチルで抽出した。合わせた有機相を乾燥し (Na₂SO₄)、そして濃縮した。残留物をシリカゲル上カラムクロマトグラフィー (10% 酢酸エチル / ヘキサン) によって精製して、シアニド 19 (0.242 g、85% 収率) を無色油状物として得た。

[]_D + 17.3 (c 1.0, CHCl₃);

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.04 (1H, d, J = 2.2 Hz), 2.44 (1H, dd, J = 16.7, 4.0 Hz), 2.38 (1H, dd, J = 16.7, 6.6 Hz), 1.06 (3H, d, J = 6.7 Hz), 0.94 (9H, t, J = 7.9 Hz), 0.91 (3H, s), 0.55 (6H, q, J = 7.9 Hz); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 118.90 (0), 69.07 (1), 54.96 (1), 52.74 (1), 41.91 (0), 40.23 (2), 34.29 (2), 31.79 (1), 27.01 (2), 24.00 (2), 22.68 (2), 19.58 (3), 17.53 (2), 13.81 (3), 6.90 (3), 4.88 (2); MS (EI) *m/z* 335 (3, M⁺), 320 (1, M⁺- Me) 306 (76, M⁺- Et), 292 (15), 271 (2), 225 (3), 202 (30), 161 (13), 103 (100), 75 (38); MS (ESI) *m/z* 336 (7, [M+H]⁺), 358 (4, [M+Na]⁺), 693 (100, [2M+Na]⁺), 1028 (40, [3M+Na]⁺);

C₁₈H₃₂NOSi [M-Et]⁺について計算された厳密質量: 306.2253、実測値: 306.2253。

【0066】

(8S, 20R)-デス- A, B-8-[(トリエチルシリル)オキシ]-20-(1'-メチル-1'-シアノ-エチル)-ブレグナン (20)

n-ブチルリチウム (ヘキサン中 1.6 M、2.4 mL、3.8 ミリモル) をジイソブロピルアミン (0.54 mL、0.384 g、3.8 ミリモル) の THF (2 mL) 中溶液に 0 度で添加した。結果として得られた混合物を 0 度で 30 分間攪拌し、次いでこれを -78 度まで冷却し、化合物 19 (0.326 g、0.973 ミリモル) の THF (2 mL) 中溶液を添加した。混合物を -78 度で 30 分間攪拌し、次いでヨードメタン (1.2 mL、2.73 g、19.2 ミリモル) を添加した。反応混合物を -78 度で 1 時間、次いで室温で 1 時間攪拌した。これを飽和水性 NH₄Cl 溶液でクエンチし、酢酸エチル

10

20

30

40

50

で抽出した。合わせた有機相を塩水で洗浄し、乾燥し (Na_2SO_4)、そして濃縮した。残留物をシリカゲル上カラムクロマトグラフィー (5%、次いで 10% 酢酸エチル / ヘキサン) によって精製して、生成物 20 (0.197 g、56% 収率) を得た。

[]_D + 30.9 (c 1.0, CHCl_3);

¹H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 4.06 (1H, d, J = 2.2 Hz), 1.30 (3H, s), 1.26 (3H, s), 0.97 (3H, d, J = 7.1 Hz), 0.95 (9H, t, J = 7.9 Hz), 0.84 (3H, s), 0.55 (6H, q, J = 7.9 Hz); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 126.16 (0), 68.91 (1), 52.01 (1), 50.84 (1), 42.88 (0), 37.84 (1), 37.77 (2), 34.88 (2), 24.97 (3), 23.88 (3), 23.17 (2), 21.81 (2), 17.36 (2), 14.54 (3), 13.03 (3), 6.92 (3), 4.90 (2); MS (EI) m/z 363 (13, M^+), 334 (72, $\text{M}^+ \text{-Et}$), 320 (12), 295 (4), 261 (4), 249 (15), 234 (29), 191 (100), 163 (72), 111 (81), 93 (28), 81 (39), 57 (49); MS (EI) m/z 363 (12, M^+), 334 (71), 320 (12), 295 (4), 234 (28), 191 (100), 163 (71), 135 (42), 111 (80); MS (ESI) m/z 364 (11, $[\text{M}+\text{H}]^+$), 749 (62, $[\text{2M}+\text{Na}]^+$), 1113 (100, $[\text{3M}+\text{Na}+\text{H}]^{2+}$);

$\text{C}_{22}\text{H}_{42}\text{ONSi}[\text{M}+\text{H}]^+$ について計算された厳密質量: 364.3031、実測値: 364.3044。

【0067】

(8S, 20R) - デス - A, B - 8 - [(トリエチルシリル) オキシ] - 20 - (1' - メチル - 1' - ホルミル - エチル) - プレグナン (21)

水素化ジイソブチルアルミニウム (ジクロロメタン中 1.0 M、3.1 mL、3.1 ミリモル) を化合物 20 (0.197 g、0.543 ミリモル) のジクロロメタン (4 mL) 中溶液に -10 で添加した。混合物を -10 で 1 時間攪拌し、次いでこれを飽和水性酒石酸カリウムナトリウム溶液 (5 mL) でクエンチした。水相をジクロロメタンで抽出した。合わせた有機層をブラインで洗浄し、乾燥し (Na_2SO_4)、そして濃縮した。残留物を Sep-Pak カートリッジ (5 g) 上で精製した。カートリッジをヘキサン / 酢酸エチル (9:1) で洗浄して、アルデヒド 21 を無色油状物 (0.15 g、75% 収率) として得た。

[]_D + 35.0 (c 1.0, CHCl_3).

¹H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9.40 (1H, s), 4.04 (1H, d, J = 2.2 Hz), 0.95 (6H, s), 0.94 (9H, t, J = 7.8 Hz), 0.85 (3H, d, J = 7.00 Hz), 0.85 (3H, s), 0.55 (6H, q, J = 7.8 Hz); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 207.49 (1), 68.91 (1), 51.96 (1), 50.79 (1), 50.68 (0), 42.89 (0), 38.34 (2), 34.88 (2), 33.78 (1), 23.18 (2), 22.13 (2), 19.41 (3), 18.09 (3), 17.40 (2), 14.48 (3), 12.29 (3), 6.92 (3), 4.90 (2); MS (EI) m/z 366 (1, M^+), 337 (31, $\text{M}^+ \text{-Et}$), 307 (37), 295 (12), 251 (13), 225 (30), 203 (22), 186 (9), 171 (14), 163 (74), 135 (43), 103 (100); MS (ESI) m/z 389 (29, $[\text{M}+\text{Na}]^+$), 755 (73, $[\text{2M}+\text{Na}]^+$), 1121 (15, $[\text{3M}+\text{Na}]^+$);

$\text{C}_{22}\text{H}_{42}\text{O}_2\text{SiNa}[\text{M}+\text{Na}]^+$ について計算された厳密質量 (ESI): 389.2847、実測値: 389.2838。

【0068】

(8S, 20R) - デス - A, B - 8 - [(トリエチルシリル) オキシ] - 20 - (1' - ジメチル - 3' - エチルオキシカルボニル - 2' - プロペニル) - プレグナン (22)

n-ブチルリチウム (ヘキサン中 1.6 M、5.2 mL、8.3 ミリモル) をジイソブロピルアミン (1.2 mL、0.840 g、8.3 ミリモル) の無水 THF (2 mL) 中溶液に 0 で添加した。30 分後、混合物を -10 まで冷却し、トリエチルホスホノアセテート 8 (1.9 mL、2.13 g、9.5 ミリモル) を添加した。反応混合物を -10 で 30 分間攪拌し、アルデヒド 21 (0.15 g、0.41 ミリモル) の無水 THF

10

20

30

40

50

(5 mL + 3 mL) 中溶液を、カニューレを通して添加した。混合物をアルゴン下、-10で1時間攪拌し、次いでこれを+37まで3時間加熱し、後にこれを室温で18時間攪拌した。ジクロロメタンを添加し、有機相を水で洗浄し、乾燥し(Na₂SO₄)、そして濃縮した。生成物をSep-Pakカートリッジ(5g)上で精製した。カートリッジをヘキサン/酢酸エチル(2%、次いで3%および5%)で洗浄して、生成物22(99mg、55%収率)を無色油状物として得た。

[]_D +18.1 (c 1.0, CHCl₃);

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 6.92 (1H, d, J = 15.9 Hz), 5.69 (1H, d, J = 15.9 Hz), 4.19 (2H, m), 4.03 (1H, d, J = 2.0 Hz), 1.29 (3H, t, J = 7.1 Hz), 0.98 (3H, s), 0.96 (3H, s), 0.94 (9H, t, J = 7.9 Hz), 0.81 (3H, d, J = 7.0 Hz), 0.80 (3H, s), 0.54 (6H, q, J = 7.9 Hz); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 167.19 (0), 159.65 (1), 117.69 (1), 69.04 (1), 60.07 (2), 52.08 (1), 50.18 (1), 42.83 (0), 41.16 (0), 38.53 (1), 38.19 (2), 35.00 (2), 24.64 (3), 23.30 (3), 22.14 (2), 17.49 (2), 14.50 (3), 14.29 (3), 13.02 (3), 6.94 (3), 4.93 (2); MS (EI) *m/z* 436 (0.3, M⁺), 407 (3, M⁺-Et), 334 (2), 286 (10), 257 (18), 229 (100), 206 (16), 191 (99), 163 (26), 142 (16); MS (ESI) *m/z* 459 (99, [M+Na]⁺), 896 (100, [2M+Na+H]²⁺), 1332 (47, [3M+Na+H]²⁺),

C₂₆H₄₈O₃SiNa [M+Na]⁺について計算された厳密質量 (ESI): 459.3265、実測値: 459.3259。

【0069】

(8S,20R)-デス-Α,Β-20-(1'-ジメチル-3'-エチルオキシカルボニル-プロピル)-ブレグナン-8-オール(23)
エステル22(99mg、0.23ミリモル)のメタノール(5mL)中溶液を、粉末木炭(10mg)上10%パラジウムの存在下で室温にて20時間水素化した。WatersシリカSep-Pakカートリッジ(2g)を通して反応混合物をろ過し、これをメタノールでさらに洗浄した。溶媒を除去した後、エステル23(50.4mg、68%)を無色油状物として得た。

[]_D +15.3 (c 1.0, CHCl₃).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.12 (2H, q, J = 7.1 Hz), 4.09 (1H, s), 2.25 (3H, m), 1.26 (3H, t, J = 7.1 Hz), 0.85 (3H, s), 0.80 (3H, s), 0.79 (3H, d, J = 7.6 Hz), 0.78 (3H, s); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 174.60 (0), 69.07 (1), 60.21 (2), 51.69 (1), 49.40 (1), 42.60 (0), 37.93 (2), 37.07 (1), 36.04 (0), 34.57 (2), 33.92 (2), 29.54 (2), 24.82 (3), 24.56 (3), 22.90 (2), 22.26 (2), 17.26 (2), 14.49 (3), 14.20 (3), 12.62 (3); MS (EI) *m/z* 324 (3, M⁺), 278 (7), 261 (8), 224 (7), 210 (5), 181 (15), 163 (70), 143 (100), 129 (33), 111 (72), 97 (44), 69 (48); MS (ESI) *m/z* 342 (100, [M+NH₄]⁺), 671 (11, [2M+Na]⁺),

C₂₀H₃₇O₃ [M+H]⁺について計算された厳密質量: 325.2738、実測値: 325.2727。

【0070】

(8S,20R)-デス-Α,Β-22-ジメチル-コレスタン-8,25-ジオール(24)

メチルマグネシウムプロミド(ジエチルエーテル中3.0M溶液、130μL、0.39ミリモル)をエステル23(50mg、0.154ミリモル)の無水ジエチルエーテル(3mL)中溶液に0で添加した。反応混合物を0で2時間、次いで室温で18時間攪拌した。これを飽和NH₄Cl水溶液でクエンチし、酢酸エチルで抽出し、乾燥し(Na₂SO₄)、そして濃縮した。残留物をWatersシリカSep-Pakカートリッジを用いて洗浄した。

ジ (5 g) に供した。酢酸エチル / ヘキサン (1 : 1) で溶出して、ジオール 24 (4.8 mg、100%) を無色結晶として得た。

融点: 122 ~ 124 (酢酸エチル / ヘキサンから); $[\eta]_D + 21.2$ (c 0.988, $CHCl_3$)。

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 4.10 (1H, d, J = 1.8 Hz), 1.21 (6H, s), 0.85 (3H, s), 0.81 (3H, s), 0.78 (3H, d, J = 7.3 Hz), 0.76 (3H, s); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 71.15 (0), 69.13 (1), 51.71 (1), 49.44 (1), 42.62 (0), 38.06 (2), 37.73 (2), 36.96 (1), 35.90 (0), 34.17 (2), 33.92 (2), 29.24 (3), 29.15 (3), 25.38 (3), 24.81 (3), 22.94 (2), 22.36 (2), 17.27 (2), 14.50 (3), 12.62 (3); MS (EI) m/z 292 (5, $M^+ - H_2O$), 223 (3), 205 (9), 163 (43), 149 (9), 135 (21), 129 (41), 111 (100), 95 (25), 81 (20); MS (ESI) m/z 310 (84, $[M]^+$), 328 (88, $[M + NH_4]^+$), 643 (24, $[2M + Na]^+$),

$n_{aC} C_{20}H_{38}O_2Na [M + Na]^+$ について計算された厳密質量 (ESI) : 333.2765、実測値: 333.2764。

【0071】

(20R) - デス - A, B - 22 - ジメチル - 25 - [(トリエチルシリル) オキシ] - コレスタン - 8 - オン (25)

分子篩 A4 (100 mg) を 4 - メチルモルホリンオキシド (90 mg、0.77 ミリモル) のジクロロメタン (400 μL) 中溶液に添加した。混合物を室温で 15 分間攪拌し、テトラブロピルアンモニウムパールテネート (9.7 mg、27.6 マイクロモル) を添加し、続いてジオール 24 (29.4 mg、0.095 ミリモル) のジクロロメタン (300 + 100 μL) 中溶液を添加した。結果として得られた懸濁液を室温で 1 時間攪拌した。Waters シリカ Sep-Pak カートリッジ (2 g) を通して反応混合物をろ過し、これを酢酸エチルでさらに洗浄した。溶媒を除去した後、ケトン (29.5 mg) を無色油状物として得た。

【0072】

トリエチルシリルトリフルオロメタンスルホネート (30 μL 、35.1 mg、0.133 ミリモル) をケトン (29.2 mg、0.095 ミリモル) および 2,6 - ルチジン (40 μL 、37 mg、0.343 ミリモル) のジクロロメタン (1.6 mL) 中溶液に - 50 で滴加した。反応混合物を - 40 で 15 分間攪拌し、次いでこれをジクロロメタンで希釈し、水で洗浄した。有機層を乾燥し (Na_2SO_4)、そして濃縮した。残留物を Waters シリカ Sep-Pak カートリッジ (5 g) にかけた。ヘキサン / 酢酸エチル (1%、次いで 2%) で溶出して、保護されたケトン 25 (34.4 mg、86% 収率) を得た。

$[\eta]_D - 8.8$ (c 1.0, $CHCl_3$)。

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 2.44 (1H, dd, J = 11.5, 7.5 Hz), 1.20 (6H, s), 0.95 (9H, t, J = 7.9 Hz), 0.82 (3H, s), 0.79 (3H, d, J = 7.5 Hz), 0.78 (3H, s), 0.58 (3H, s), 0.57 (6H, q, J = 7.9 Hz); ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ 212.18 (0), 73.42 (0), 60.66 (1), 51.10 (0), 49.73 (1), 41.01 (2), 38.88 (2), 38.26 (1), 36.76 (2), 35.95 (0), 33.93 (2), 29.89 (3), 25.17 (3), 24.91 (3), 23.66 (2), 22.68 (2), 19.47 (2), 12.99 (3), 12.33 (3), 7.14 (3), 6.82 (2); MS (EI) m/z M^+ なし, 407 (33), 393 (68), 364 (54), 323 (11), 293 (25), 253 (42), 173 (82), 163 (70), 111 (78), 107 (100); MS (ESI) m/z 423 (27, $[M + H]^+$), 445 (47, $[M + Na]^+$), 867 (26, $[2M + Na]^+$), 1290 (8, $[3M + Na + H]^{2+}$),

$C_{26}H_{51}O_2Si [M + H]^+$ について計算された厳密質量 (ESI) : 423.3

10

20

30

40

50

653、実測値：423.3649。

【0073】

(20R)-2-メチレン-19-ノル-22-ジメチル-1,25-ジヒドロキシビタミンD₃(27)

フェニルリチウム(ジ-n-ブチルエーテル中1.70M、105μL、0.178ミリモル)をホスフィンオキシドH(73.6mg、0.126ミリモル)の無水THF(500μL)中攪拌溶液に-30で添加した。30分後、混合物を-78まで冷却し、ケトン25(35mg、82.9マイクロモル)の無水THF(400+300μL)中予冷(-78)溶液を添加した。反応混合物をアルゴン下、-78で4時間、次いで+4で19時間攪拌した。酢酸エチルを添加し、有機相をブラインで洗浄し、乾燥し(Na₂SO₄)、そして濃縮した。残留物をWatersシリカSep-Pakカートリッジ(5g)に供した。カートリッジをヘキサンおよび酢酸エチル/ヘキサン(1:9)で洗浄して、粗生成物を得た。ビタミンを順相HPLC[9.4×250mm Zorbax Silicaカラム、4mL/分、ヘキサン/2-プロパノール(0.1%)溶媒系、Rt=3.2分]によってさらに精製して、純粋な保護された化合物26(51.09mg、78%収率)を得た。

UV(ヘキサン中) max 262.5, 252.5, 244.5 nm;

¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ 6.22 (1H, d, J =

11.1 Hz, 6-H), 5.84 (1H, d, J = 11.1 Hz, 7-H), 4.97 (1H, s, =CH₂), 4.92 (1H, s, =CH₂), 4.42 (2H, m, 1β-Hおよび3α-H), 2.85 (1H, dd, J = 12.8, 3.6 Hz, 9β-H), 2.52 (1H, dd, J = 13.2, 6.0 Hz, 10α-H), 2.46 (1H, dd, J = 12.6, 4.3 Hz, 4α-H), 2.34 (1H, dd, J = 13.2, 2.7 Hz, 10β-H), 2.18 (1H, dd, J = 12.6, 8.4 Hz, 4β-H), 1.96 (1H, m), 1.19 (6H, s, 26-H₃, 27-H₃), 0.95 (9H, t, J = 7.9 Hz), 0.897 (9H, s, t-BuSi), 0.866 (9H, s, t-BuSi), 0.80 および 0.77 (各 3H, 各 s, 28-H₃, 30-H₃), 0.79 (3H, d, J = 8.2 Hz, 21-H₃), 0.57 (6H, q, J = 7.9 Hz), 0.46 (3H, s, 18-H₃), 0.080 (3H, s, SiMe), 0.069 (3H, s, SiMe), 0.049 (3H, s, SiMe), 0.029 (3H, s, SiMe); ¹³C NMR(100 MHz, CDCl₃) δ 152.98 (0, C-2), 141.35 (0, C-8), 132.64 (0, C-5), 122.44 (1, C-6), 115.77 (1, C-7), 106.24 (2, =CH₂), 73.51 (0, C-25), 72.50 および 71.64 (各 1, C-1, C-3), 55.06 (1), 49.61 (1), 47.59 (2), 46.71 (0, C-13), 38.92 (2), 38.55 (2), 38.29 (2), 38.09 (1), 35.96 (0, C-22), 34.08 (2), 29.93 および 29.88 (各 3, C-26, C-27), 28.93 (2), 25.84 (3), 25.77 (3), 25.25 (3), 25.02 (3), 23.05 (2), 22.68 (2), 22.63 (2), 18.26 (0), 18.17 (0), 12.81 (3), 12.44 (3), 7.16 (3), 6.84 (2), -4.86 (3), -4.91 (3), -5.08 (3); MS (ESI) m/z 809 (40, [M+Na]⁺),

C₄₇H₉₀O₃Si₃Na[M+Na]⁺について計算された厳密質量(ESI)：809.6091、実測値：809.6101。

【0074】

保護された化合物26(50.94mg、64.8マイクロモル)をTHF(5mL)およびアセトニトリル(3mL)中に溶解させた。アセトニトリル中48%HF水溶液(1:9比、4mL)を0で添加し、結果として得られた混合物を室温で2時間攪拌した。飽和NaHCO₃水溶液を添加し、反応混合物をジクロロメタンで抽出した。合わせた有機相を乾燥し(Na₂SO₄)、減圧下で濃縮した。残留物を2mLのヘキサン/酢酸エチル(7:3)で希釈し、WatersシリカSep-Pakカートリッジ(5g)に供した。ヘキサン/酢酸エチル(7:3、次いで1:1)で溶出して、粗生成物20を得た。ビタミン20を順相HPLC[9.4×250mm Zorbax Silicaカラム、4mL/分、ヘキサン/2-プロパノール(85:15)溶媒系、Rt=7.4分]および逆相HPLC[9.4×250mm Zorbax RX-C18カラム、3m

L / 分、メタノール / 水 (85 : 15) 溶媒系、R t = 13.3 分] によってさらに精製して、純粋な化合物 27 (22.71 mg、79% 収率) を得た。

融点：154 (2-プロパノール / ヘキサンから)；UV (EtOH 中) _{max} 261.0, 252.0, 244.0 nm；

¹H NMR

(500 MHz, CDCl₃) δ 6.35 (1H, d, J = 11.2 Hz, 6-H), 5.88 (1H, d, J = 11.2 Hz, 7-H), 5.11 (1H, s, =CH₂), 5.08 (1H, s, =CH₂), 4.48 (2H, m, 1β-H および 3α-H), 2.86 (1H, dd, J = 13.0, 4.7 Hz, 10β-H), 2.84 (1H, m, 9β-H), 2.56 (1H, dd, J = 13.3, 3.5 Hz, 4α-H), 2.33 (1H, dd, J = 13.3, 6.0 Hz, 4β-H), 2.28 (1H, dd, J = 13.0 Hz, 8.4 Hz, 10α-H), 1.96 (2H, m), 1.88 (1H, m), 1.21 (6H, s, 26-H₃, 27-H₃), 0.83 および 0.78 (各 3H, 各 s, 28-H₃, 30-H₃), 0.79 (3H, d, J = 7.4 Hz, 21-H₃), 0.48 (3H, 18-H₃)；¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 151.98 (0, C-2), 143.27 (0, C-8), 130.51 (0, C-5), 124.09 (1, C-6), 115.02 (1, C-7), 107.66 (2, =CH₂), 71.74 および 70.51 (各 1, C-1, C-3), 71.23 (0, C-25), 55.05 (1), 49.52 (1), 46.81 (0, C-13), 45.70 (2), 38.10 (2 × 2), 37.73 (1 および 2), 35.95 (0, C-22), 34.17 (2), 29.20 (3), 29.13 (3), 29.06 (2), 25.35 (3), 24.83 (3), 23.05 (2), 22.65 (2 × 2), 12.82 (3), 12.41 (3)；MS (EI) *m/z* 444 (6, M⁺), 426 (3, M⁺ - H₂O), 393 (2), 341 (2), 313 (6), 269 (5), 251 (6), 199 (6), 191 (15), 161 (10), 145 (19), 111 (43), 107 (100), 89 (80), 79 (78), 75 (43)；MS (ESI) *m/z* 467 (100, [M+Na]⁺), 911 (55, [2M+Na]⁺), 1355 (15, [3M+Na]⁺)，

C₂₉H₄₈O₃Na [M+Na]⁺について計算された厳密質量 (ESI) : 467.3496、実測値: 467.3483。

【0075】

実施例 3：生物活性

ビタミンD受容体結合

試験材料

タンパク質源

完全長組換えラット受容体を大腸菌 (E. coli) BL21 (DE3) Codon Plus RIL 細胞で発現させ、2つの異なるカラムクロマトグラフィーシステムを用いて精製して、均一にした。第1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利用するニッケルアフィニティー樹脂であった。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ー (S-Sepharose Fast Flow) を用いてさらに精製した。精製されたタンパク質のアリコートを液体窒素中で急速冷凍し、そして使用するまで -80°で保存した。結合アッセイで使用するために、タンパク質を、0.1% Chaps 界面活性剤を含むTEDK₅₀ (50 mMのTris, 1.5 mMのEDTA、pH 7.4、5 mMのDTT、150 mMの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、添加した放射標識リガンドの受容体への結合が 20% 以下となるように最適化した。

【0076】

試験薬物

標識されていないリガンドをエタノール中に溶解させ、濃度を、UV 分光光度分析を用いて測定した (1,25(OH)₂D₃ : モル吸光係数 = 18,200 および _{max} = 265 nm；類似体 : モル吸光係数 = 42,000 および _{max} = 252 nm)。放射標識リガンド (³H-1,25(OH)₂D₃、約 159 Ci / ミリモル) をエタノール中に 1 nM の最終濃度で添加した。

【0077】

10

20

30

40

50

アッセイ条件

放射標識リガンドおよび標識されていないリガンドを $100 \mu\text{L}$ の希釈されたタンパク質に 10 % 以下の最終エタノール濃度で添加し、混合し、一晩氷上でインキュベートして、結合平衡に達成させた。翌日、 $100 \mu\text{L}$ のヒドロキシルアパタイトスラリー (50 %) を各管に添加し、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分離によって集め、次いで 0.5 % Triton X-100 を含有する Tris-EDTA 緩衝液 (50 mM の Tris、1.5 mM の EDTA、pH 7.4) で 3 回洗浄した。最後の洗浄後、ペレットを、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移し、混合し、シンチレーションカウンターに入れた。全結合量を、放射標識リガンドのみを含有する管から測定した。

10

【0078】

HL-60 の分化

試験材料

研究薬物

研究薬物をエタノール中に溶解させ、UV 分光光度分析を用いて濃度を測定した。細胞培養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できるように、連続希釈を調製した。

【0079】

細胞

ヒト前骨髄球性白血病 (HL-60) 細胞を、10 % ウシ胎仔血清を含有する RPMI-1640 培地中で増殖させた。細胞を 37 、5 % CO₂ の存在下でインキュベートした。

20

【0080】

アッセイ条件

HL-60 細胞を 1.2×10^5 細胞 / mL で蒔いた。ブレーティングの 18 時間後、細胞を 2 連で、薬物で処理した。4 日後、細胞を収集し、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., J. Exp. Med. (1979) 149:969-974)。合計 200 細胞を計数し、細胞内暗藍色ホルマザン堆積物を含有していた数を記録することによって、分化した細胞の比率を決定した。単球への分化の検証は、食細胞活性を測定することによって決定した (データは不掲載)。

30

【0081】

インビトロ転写アッセイ

転写活性は、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 (24 Ohase) 遺伝子プロモーターを安定にトランسفェクトされた ROS17/2.8 (骨) 細胞で測定した (Arbour et al., Analytical Biochem. (1998) 255(1):148-154)。細胞に様々な用量を投与した。投与の 16 時間後に細胞を収集し、照度計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。

【0082】

腸カルシウム輸送および骨カルシウム動員

オスの離乳 Sprague-Dawley ラットを Diet 11 (0.47 % Ca) 食餌 + AEK 油で 1 週間飼育し、続いて Diet 11 (0.02 % Ca) + AEK 油で 3 週間飼育した。ラットは次いで 0.47 % Ca を含有する食餌で 1 週間、続いて 0.02 % Ca を含む食餌で 2 週間の飼育に切り替えた。投薬は、0.02 % カルシウム食餌の最終週中に開始した。4 回の連続した腹腔内用量を約 24 時間あけて与えた。最終投与の 24 時間後、切断された頸部から血液を集め、そして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測定した。腸の最初の 10 cm も反転腸管法を用いて腸カルシウム輸送分析のために集めた。

40

【0083】

生物活性結果

(20S)-2-メチレン-19-ノル-22-ジメチル-1,25-ジヒドロキシ

50

ビタミンD₃ (MET-1) は、図1に示すように組換え型ビタミンD受容体に対する結合において1,25-(OH)₂D₃とほぼ等しく有効である（それぞれ4×10⁻¹¹ Mおよび5×10⁻¹¹ MのK_i）。しかし、MET-1は、図2に示すように、培養中、HL-60細胞の分化の誘導で、1,25-(OH)₂D₃よりも4倍強力である（それぞれ7×10⁻¹⁰ Mおよび3×10⁻⁹ M）。MET-1は、図3において示すように1,25-(OH)₂Dよりも骨細胞における24-OHase遺伝子発現の刺激で10倍強力である（それぞれ3×10⁻¹¹ Mおよび2×10⁻¹⁰ M）。対照的に、インビオ試験は、MET-1が、骨カルシウム動員に対して1,25-(OH)₂D₃よりも20倍活性が低く（図4）、そして腸カルシウム輸送を引き起こすのに1,25-(OH)₂D₃よりも著しく活性が低い（図5）ことを示した。

10

【0084】

(20R)-2-メチレン-19-ノル-22-ジメチル-1,25-ジヒドロキシビタミンD₃ (MET-2) は、図6に示すように、組換えビタミンD受容体に対する結合において、1,25-(OH)₂D₃と同等に有効である（どちらも5×10⁻¹¹ MのK_iを示す）。MET-2は、図7で示すように、培養中でのHL-60細胞の分化の誘導で、1,25-(OH)₂D₃よりも3倍強力である（それぞれ7×10⁻¹⁰ Mおよび3×10⁻⁹ M）。しかし、MET-2は、図8で示すように、1,25-(OH)₂Dよりも骨細胞における24-OHase遺伝子発現の刺激において約3倍効力が低い（それぞれ3×10⁻¹¹ Mおよび2×10⁻¹⁰ M）。インビオ試験は、MET-2が骨カルシウム動員に関して、1,25-(OH)₂D₃よりも16倍活性が低く（図4）、腸カルシウム輸送を引き起こす際に1,25-(OH)₂D₃よりも著しく活性が低いことを示した（図5）。

20

【0085】

比較例：表1は、本開示から得られる化合物（MET-1およびMET-2）と比較した2-メチレン-19-ノル-1,25-ジヒドロキシビタミンD₃およびその20R異性体の生物学的データを示す。前者の化合物は、2つの水素ではなく、21位の炭素に結合した2つのメチル基を有する点で後者と異なる。ビタミンD受容体の結合およびHL-50分化は一般的に各化合物について一桁以内であるが、本発明の化合物は、カルシウム血活性に対して驚くべき予想外の効果を示す。2MD化合物は、20R異性体の4.5 mg/dLから20S異性体の9.3 mg/dLまでの非常に強力な正味の骨カルシウム動員活性を示すが、本発明のMET化合物は実質的にカルシウム血活性を示さない。一方、2MD化合物はビヒクルよりも低い腸カルシウム血活性を示すが、本発明の化合物は、小さいが有意な漿膜対粘膜カルシウム比、すなわちMET-2およびMET-1についてそれぞれ1.2~2.3を示す。

30

【0086】

これらの特性は、どちらの化合物も、血清カルシウムの上昇が望ましくない疾患の治療において非常に有用であることを示す。したがって、これらの化合物は、慢性腎不全を患有患者の続発性副甲状腺機能亢進症の治療において有用であるはずである。なぜなら、心臓、大動脈および他の生命の維持に重要な器官の石灰化の恐れから、これらの患者において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しつつ正常値よりも高く血清カルシウムを上昇させることは望ましくないからである。同様に、これらの化合物は、乳がん、結腸直腸がんおよび前立腺がんなどの悪性腫瘍の治療において、または多発性硬化症、ループス、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治療において有用である。これらはまた、移植片拒絶反応の予防においても有用である。

40

【0087】

【表1】

実施例*	出所	側鎖 VDR 結合 (K _i , nM)	競合的 VDR 結合 (EC ₅₀ , nM)	HL-60 分化 (EC ₅₀ , nM)	24-OHase 転写 (EC ₅₀ , nM)	正味の骨 Ca ²⁺ 動員 (mg/dL) ¹	正味の腸 Ca ²⁺ 輸送 (S/M) ²
MET-1	本発明		0.04	0.7	0.03	0.4	2.3
MET-2	本発明		0.05	1	0.6	0.2	1.2
2MD ³ (20R)	米国特許 第5,843,928号		0.12	4.2	-	4.5 ⁴	-0.6 ⁴
2MD ³ (20S)	米国特許 第5,843,928号		0.10	0.15	-	9.3 ⁴	-0.9 ⁴

* 全ての化合物は 2 - メチレン - 19 - ノル化合物である。

¹ 指定されている場合を除き、780 pM の投与量。

² S / M = 漿膜 Ca²⁺ / 粘膜 Ca²⁺ ; 指定されている場合を除き、780 pM の投与

量。

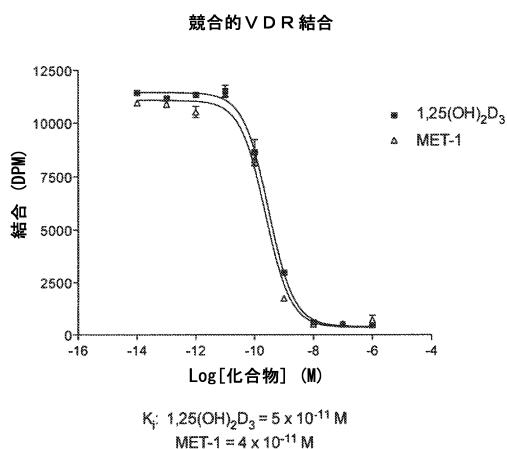
³ 米国特許第5,843,928号明細書およびJ. Med. Chem. 1998, 41, 4662からのデータ。

⁴ 260 pMの投与量。

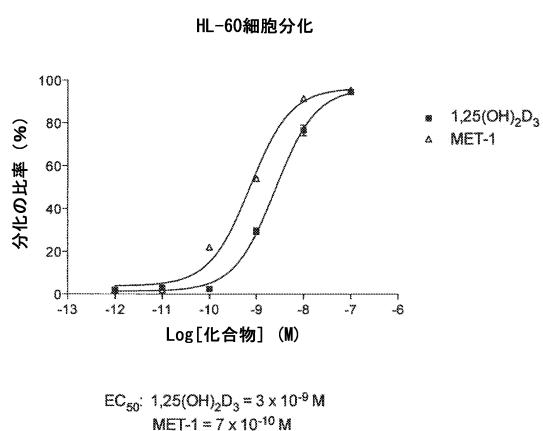
【0088】

本技術は、説明のために本明細書中に記載された実施形態に限定されず、以下の特許請求の範囲内に含まれるようなそれらの形態をすべて包含すると理解される。

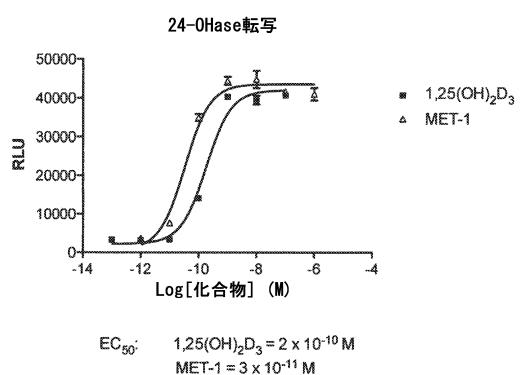
【図1】



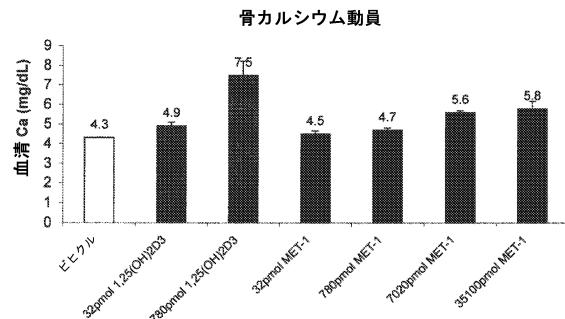
【図2】



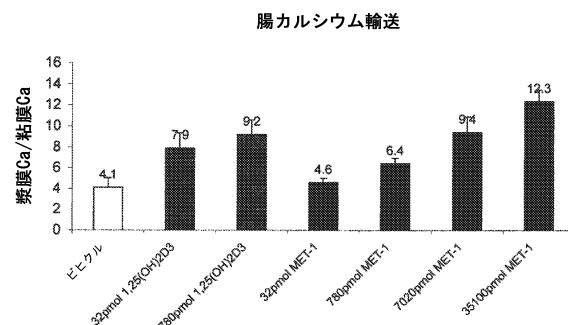
【図3】



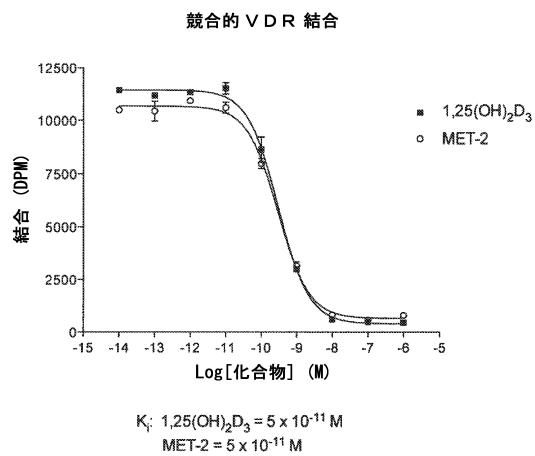
【図4】



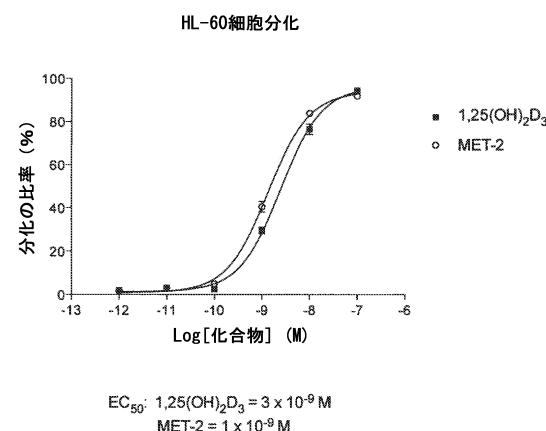
【図5】



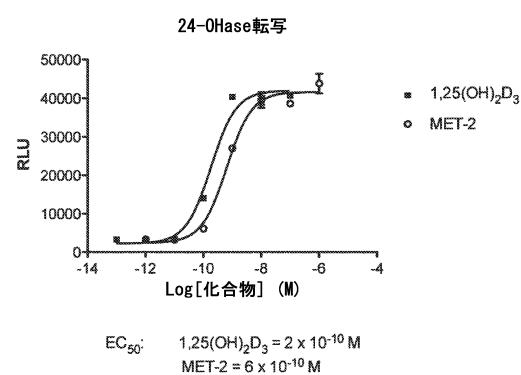
【図6】



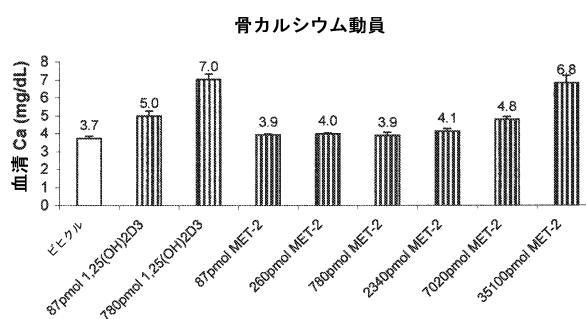
【図7】



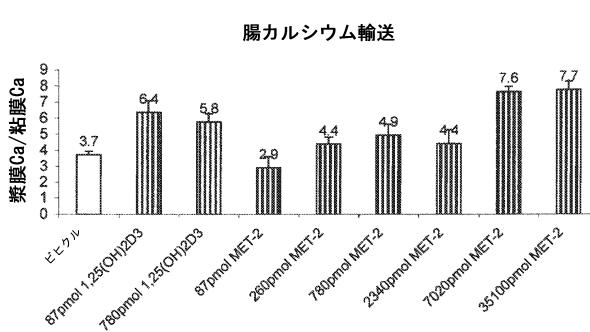
【図8】



【図9】



【図10】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	
A 6 1 P	13/12	(2006.01)	A 6 1 P 13/12
A 6 1 P	25/00	(2006.01)	A 6 1 P 25/00
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	29/00	(2006.01)	A 6 1 P 29/00 101
A 6 1 P	19/02	(2006.01)	A 6 1 P 19/02
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	17/08	(2006.01)	A 6 1 P 17/08
A 6 1 P	19/10	(2006.01)	A 6 1 P 19/10
C 0 7 F	7/18	(2006.01)	C 0 7 F 7/18 A

(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 エフ .

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 1809

(72)発明者 フローレス アグニエスツカ

アメリカ合衆国 ウィスコンシン州 マディソン フリッチ ロード 2014

(72)発明者 グジィヴァチュ パウエル

アメリカ合衆国 ウィスコンシン州 マディソン オルダー ロード 5305

(72)発明者 プラム ローリ エイ .

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 6139

(72)発明者 クラーゲット - 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 1809

審査官 松澤 優子

(56)参考文献 国際公開第2009/067578 (WO, A2)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C 0 7 C

A 6 1 K

A 6 1 P

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

(54)【発明の名称】(20S)-2-メチレン-19-ノル-22-ジメチル-1,25-ジヒドロキシビタミンD3および(20R)-2-メチレン-19-ノル-22-ジメチル-1,25-ヒドロキシビタミンD3