

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第4988551号  
(P4988551)

(45) 発行日 平成24年8月1日 (2012.8.1)

(24) 登録日 平成24年5月11日 (2012.5.11)

(51) Int.Cl.

F I

**C O 7 C 401/00 (2006.01)**

C O 7 C 401/00 C S P

**A 6 1 K 31/593 (2006.01)**

A 6 1 K 31/593

**A 6 1 P 19/10 (2006.01)**

A 6 1 P 19/10

**A 6 1 P 17/06 (2006.01)**

A 6 1 P 17/06

**A 6 1 P 35/02 (2006.01)**

A 6 1 P 35/02

請求項の数 16 (全 33 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2007-507308 (P2007-507308)  
 (86) (22) 出願日 平成17年2月4日 (2005.2.4)  
 (65) 公表番号 特表2007-532540 (P2007-532540A)  
 (43) 公表日 平成19年11月15日 (2007.11.15)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US2005/003378  
 (87) 国際公開番号 W02005/102995  
 (87) 国際公開日 平成17年11月3日 (2005.11.3)  
 審査請求日 平成20年2月1日 (2008.2.1)  
 (31) 優先権主張番号 10/821, 828  
 (32) 優先日 平成16年4月9日 (2004.4.9)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 591057706  
 ウィスコンシン・アルムニ・リサーチ・フ  
 ァウンデーション  
 W I S C O N S I N A L U M N I R E  
 S E A R C H F O U N D A T I O N  
 アメリカ合衆国ウィスコンシン州5370  
 7-7365, マジソン, ノース・ウォル  
 ナット・ストリート 614  
 (74) 代理人 100140109  
 弁理士 小野 新次郎  
 (74) 代理人 100075270  
 弁理士 小林 泰  
 (74) 代理人 100080137  
 弁理士 千葉 昭男

最終頁に続く

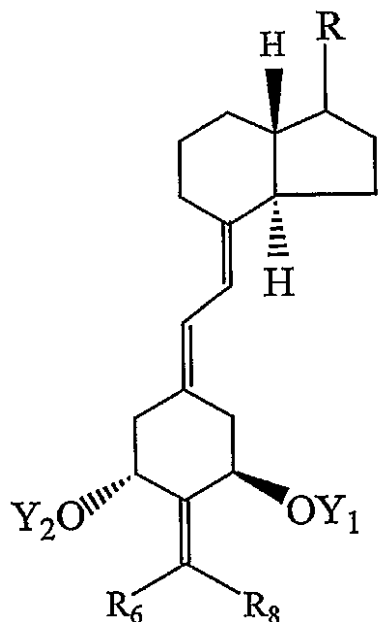
(54) 【発明の名称】 2-アルキリデン18, 19-ジノルービタミンD化合物

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

以下の式

## 【化 1】

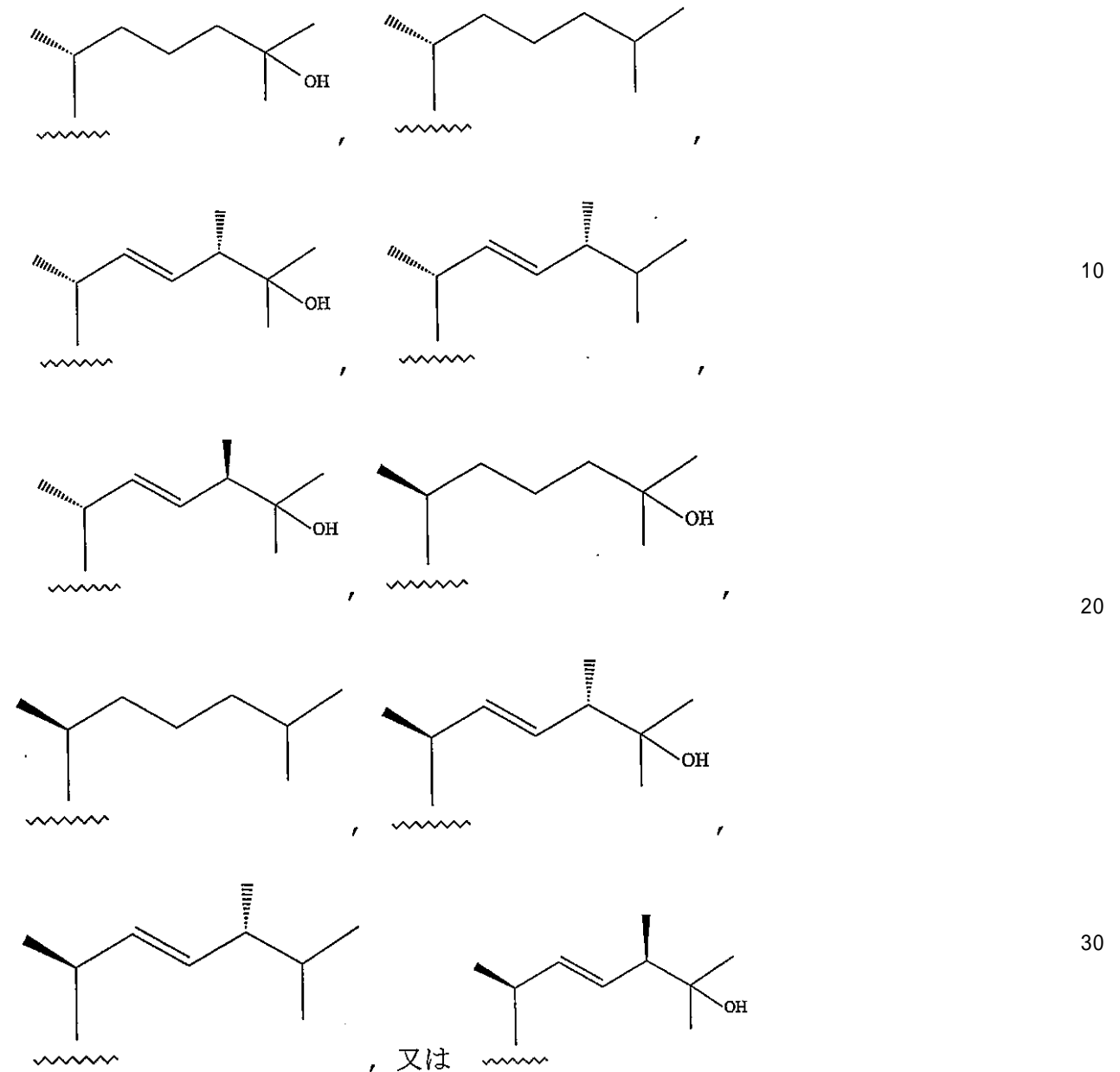


10

[ 式中、 $Y_1$  及び  $Y_2$  は、同一又は異なってもよく、各々、水素及びヒドロキシ基保護基  
 からなる群から選ばれ、 $R_6$  及び  $R_8$  は、同一又は異なってもよく、各々、水素、アルキ  
 ル、ヒドロキシアルキル及びフルオロアルキルからなる群から選ばれるか又は、一緒にな  
 って  $-(CH_2)_x$  基 ( $x$  は 2 ~ 5 の整数である) を表し、ここでアルキルは炭素が 1 ~  
 10 の、直鎖のもしくは分岐したアルキル基であり、 $R$  基は以下の式

20

## 【化 2】



の側鎖である、化合物。

## 【請求項 2】

(20S)-2-メチレン-18,19-ジノル-1, 25-ジヒドロキシビタミン D<sub>3</sub>。

## 【請求項 3】

請求項 1 記載の少なくとも 1 の化合物の有効量を医薬的に許容される賦形剤と共に含有する医薬組成物。 40

## 【請求項 4】

有効量が組成物 1 グラムあたり 0.01 μg ~ 100 μg である、請求項 3 記載の医薬組成物。

## 【請求項 5】

有効量が組成物 1 グラムあたり 0.1 μg ~ 50 μg である、請求項 3 記載の医薬組成物。

## 【請求項 6】

(20S)-2-メチレン-18,19-ジノル-1, 25-ジヒドロキシビタミン D<sub>3</sub> を 0.01 μg ~ 100 μg 含有する、請求項 3 記載の医薬組成物。 50

## 【請求項 7】

(20S) - 2 - メチレン - 18 , 19 - ジノル - 1 , 25 - ジヒドロキシビタミン D<sub>3</sub> を 0 . 1 μg ~ 50 μg 含有する、請求項 3 記載の医薬組成物

## 【請求項 8】

骨量を維持又は高めることが必要である代謝性骨疾患、乾癬、白血病、大腸癌、乳癌、皮膚癌、前立腺癌、自己免疫疾患、炎症性大腸炎からなる群から選択される少なくとも 1 の疾患若しくは状態を治療するため、又は骨強度を高めるための、請求項 1 記載の化合物を有効量含む、医薬組成物。

## 【請求項 9】

代謝性骨疾患が、老人性骨粗しょう症、閉経後骨粗しょう症、ステロイド誘導性骨粗しょう症、低骨代謝回転性骨粗しょう症、骨軟化症及び腎性骨ジストロフィーからなる群から選択される少なくとも 1 の疾患である、請求項 8 記載の医薬組成物。

10

## 【請求項 10】

骨強度が皮質強度であるか、又は骨梁強度である、請求項 8 記載の医薬組成物。

## 【請求項 11】

自己免疫疾患が、多発性硬化症、真性糖尿病及び狼瘡からなる群から選択される少なくとも 1 の疾患である、請求項 8 記載の医薬組成物。

## 【請求項 12】

炎症性大腸炎が、クローン病又は潰瘍性大腸炎である、請求項 8 記載の医薬組成物。

## 【請求項 13】

化合物を経口投与するか、非経口的に投与するか、又は経皮投与する、請求項 8 記載の医薬組成物。

20

## 【請求項 14】

乾癬を治療するための化合物を局所投与する、請求項 8 記載の医薬組成物。

## 【請求項 15】

化合物を 1 日あたり 0 . 01 μg ~ 100 μg の用量で投与する、請求項 8 記載の医薬組成物。

## 【請求項 16】

化合物が (20S) - 2 - メチレン - 18 , 19 - ジノル - 1 , 25 - ジヒドロキシビタミン D<sub>3</sub> である、請求項 8 記載の医薬組成物。

30

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は、ビタミン D 化合物、より具体的には、2 - アルキリデン 18 , 19 - ジノル - ビタミン D 化合物、本化合物の医薬的用途及び本化合物を化学合成するための一般的な方法に関する。

## 【背景技術】

## 【0002】

天然ホルモン、1 , 25 ジヒドロキシビタミン D<sub>3</sub> 及び、エルゴカルシフェロール系、すなわち、1 , 25 ジヒドロキシビタミン D<sub>2</sub> におけるその類似体は、動物及びヒトにおけるカルシウム恒常性の非常に有力な調節物質であることが知られており、細胞分化におけるその活性が確立されてきた (Ostrem et al. , Proc. Natl. Acad. Sci. USA , 84 , 2610 (1987))。これらの代謝産物の多くの構造的な類似体が調製され、試験されているが、それには、1 - ヒドロキシビタミン D<sub>3</sub>、1 - ヒドロキシビタミン D<sub>2</sub>、様々な側鎖が類似した (homologated) ビタミン及びそのフッ素化類似体が含まれる。本化合物のあるものは、細胞分化及びカルシウム調節において興味深い活性の分離を呈する。活性におけるこの相違は、腎性骨ジストロフィー、ビタミン D 抵抗性くる病、骨粗しょう症、乾癬及びある種の悪性腫瘍などの様々な疾患の治療に有用でありうる。

40

## 【0003】

50

ビタミンD類似体の興味深い分類は、いわゆる19-ノル-ビタミンD化合物である。19-ノル-ビタミンD化合物は、ビタミンD系の典型であるA-環外メチレン基(炭素19)の、2つの水素原子による置換を特徴とする。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D<sub>3</sub>)の生物学的試験により、細胞分化を誘導する選択的活性プロファイルが強力であり、かつ、カルシウム動員活性が極めて低いことが明らかになった。すなわち、本化合物は、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潜在的に有効である。上記19-ノル-ビタミンD類似体の合成のための異なる方法が2つ報告されている(Perlman et al., Tetrahedron Lett. 31, 1823 (1990); Perlman et al., Tetrahedron Lett. 32, 7663 (1991)及びDe Lucaら米国特許公報5,086,191号)。

10

#### 【0004】

米国特許公報第4,666,634号には、1,25-ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub>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、骨粗しょう症の潜在的薬剤及び抗がん剤として中外グループで試験されている。Okano et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. 163, 1444 (1989)を参照されたい。他に1,25-ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub>の2-置換(ヒドロキシアルキル、例えばED-120及びフルオロアルキル基)A-環類似体もまた調製され、試験されている(Miyamoto et al., Chem. Pharm. Bull. 41, 1111 (1993); Nishii et al., Osteoporosis Int. Suppl. 1, 190 (1993); Posner et al., J. Org. Chem. 59, 7855 (1994)及びJ. Org. Chem. 60, 4617 (1995))。

20

#### 【0005】

近年、1,25-ジヒドロキシ-19-ノル-ビタミンD<sub>3</sub>の2-置換類似体もまた合成されているが、それはすなわち、2-位をヒドロキシ基又はアルコキシ基で(De Lucaら米国特許公報第5,536,713号)、2-アルキル基で(De Lucaら米国特許公報第5,945,410号)、2-アルキリデン基で(De Lucaら米国特許公報第5,843,928号)置換した化合物であり、それは、興味深い選択的活性プロファイルを示す。これらの研究はすべて、ビタミンD受容体の結合部位は、合成ビタミンD類似体のC-2の異なる置換基に適応できることを示す。

30

#### 【0006】

公知のビタミンD化合物の他の分類には、18,19-ジノル類似体がある。これらの類似体は、全ての典型的なビタミンDであり、水素原子で転移及び置換されており、化合物CD環の構造の炭素13に本来的に結合しているC-18核間メチル置換基(炭素18)及びA環の炭素に本来的に結合しているC-19環外メチレン基(炭素19)を共に有する。本化合物、その医薬的用途及びその合成をさらに完全に記載している米国特許公報第5,756,489号及び第5,721,225号同様、米国特許公報第5,843,927号を参照されたい。

#### 【発明の開示】

40

#### 【発明が解決しようとする課題】

#### 【0007】

医薬的に重要なビタミンD化合物の19-ノル類を探索するための継続的な取り組みにおいて、本発明は、2-アルキリデン18,19-ジノル-ビタミンD類似体、本化合物の多様な医薬的用途及び本化合物の化学的合成のための一般的な方法に関する。特に、本発明は(20S)-2-メチレン-1,25-ジヒドロキシ-18,19-ジノル-ビタミンD<sub>3</sub>、その生物学的活性及び本化合物の多様な医薬的用途に関する。

#### 【課題を解決するための手段】

#### 【0008】

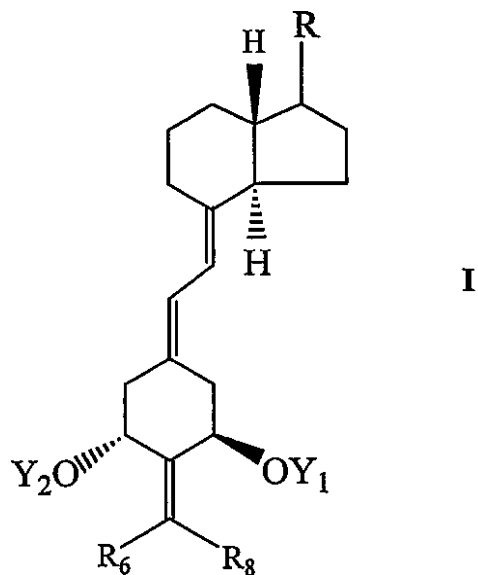
構造的には、この新規な2-アルキリデン18,19-ジノル-ビタミンD類似体は以

50

下に示す式 I を特徴とする：

【 0 0 0 9 】

【 化 1 】



10

20

【 0 0 1 0 】

[ 式中、 $Y_1$  及び  $Y_2$  は、同一又は異なってもよく、各々、水素及びヒドロキシ基保護基からなる群から選ばれ、 $R_6$  及び  $R_8$  は、同一又は異なってもよく、各々、水素、アルキル、ヒドロキシアルキル及びフルオロアルキルからなる群から選ばれるか又は、一緒になって  $(CH_2)_x$  基 ( $x$  は 2 ~ 5 の整数である) を表し、 $R$  基はビタミン D 系化合物として知られるいずれの典型的な側鎖をも表す。

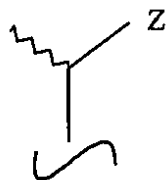
【 0 0 1 1 】

より具体的には、 $R$  は、ヒドロキシ、保護されたヒドロキシ、フルオロ、カルボニル、エステル、エポキシ、アミノ又は他のヘテロ原子基等の 1 又はそれ以上の付加置換基を含有してもよい、直鎖、分岐、環状である、1 ~ 35 の炭素の飽和又は不飽和の炭化水素基を表す。この系の好ましい側鎖は以下の構造で表され、

30

【 0 0 1 2 】

【 化 2 】



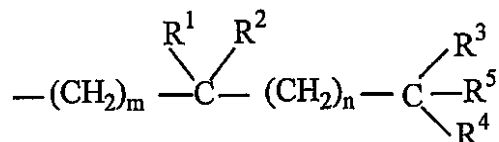
【 0 0 1 3 】

ここで、立体化学的中心 (ステロイド番号 (steroid numbering) の炭素 20 に対応する) は R 又は S 配置であり (すなわち、炭素 20 の天然配置又は 20 - エピ配置である)、 $Z$  は、 $Y$ 、 $-OY$ 、 $-CH_2Y$ 、 $-CCY$  及び  $-CH=CHY$  から選ばれ、ここで、二重結合はシス又はトランス配置でもよく、 $Y$  は、水素、メチル、 $-COR^5$  及び下記の構造の基からなる群から選ばれ、

40

【 0 0 1 4 】

## 【化 3】



## 【 0 0 1 5 】

ここで、 $m$ 及び $n$ はそれぞれ独立に0から5の整数を表わし、 $\text{R}^1$ 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、直鎖若しくは分枝鎖であってよく、場合によってはヒドロキシ若しくは保護されたヒドロキシ置換基を有する $\text{C}_{1-5}$ -アルキルからなる群から選ばれ、 $\text{R}^2$ 、 $\text{R}^3$ 及び $\text{R}^4$ はそれぞれ独立に重水素、重アルキル、水素、フルオロ、トリフルオロメチル及び、直鎖若しくは分枝鎖であってよく、場合によってはヒドロキシ若しくは保護されたヒドロキシ置換基を有する $\text{C}_{1-5}$ -アルキルからなる群から選ばれ、かつ $\text{R}^1$ 及び $\text{R}^2$ は一緒になってオキシ基、アルキリデン基、 $=\text{CR}^2\text{R}^3$ 、又は $(\text{CH}_2)_p$ -基( $p$ は2から5の整数である)を表わし、かつ $\text{R}^3$ 及び $\text{R}^4$ は一緒になってオキシ基、又は $(\text{CH}_2)_q$ -基( $q$ は2から5の整数である)を表わし、 $\text{R}^5$ は水素、ヒドロキシ、保護されたヒドロキシ、又は $\text{C}_{1-5}$ -アルキルを表わし、側鎖中の20、22又は23位のいかなる $\text{CH}$ -基も窒素原子で置換されていてもよく、又は、20、22又は23位の $-\text{CH}(\text{CH}_3)-$ 、 $-(\text{CH}_2)_m$ 、 $-(\text{CH}_2)_n$ 、若しくは $-(\text{CR}^1\text{R}^2)-$ のいかなる基も、各々酸素原子又は硫黄原子で置換されていてもよい。

## 【 0 0 1 6 】

$\text{C}-20$ のメチル置換基の波線は、炭素20が $R$ 又は $S$ 配置、すなわち、天然配置( $20R$ )又は非天然20-エピ配置( $20S$ )でもよいことを示す。

## 【 0 0 1 7 】

天然 $20R$ 配置を有する側鎖の特に重要な例としては、以下の式(a)、(b)、(c)、(d)及び(e)に示す構造、すなわち、25-ヒドロキシビタミン $\text{D}_3$ (a)、ビタミン $\text{D}_3$ (b)、25-ヒドロキシビタミン $\text{D}_2$ (c)、ビタミン $\text{D}_2$ (d)及び25-ヒドロキシビタミン $\text{D}_2$ の $\text{C}-24$ エピマ-(e)があげられる：

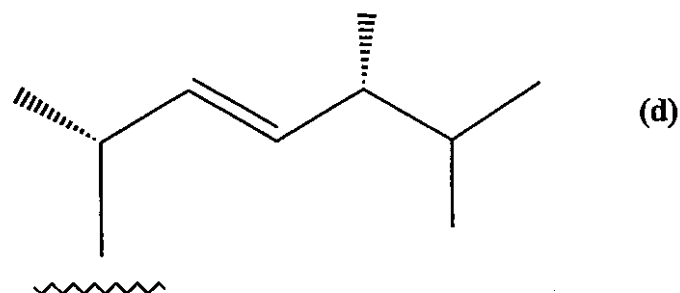
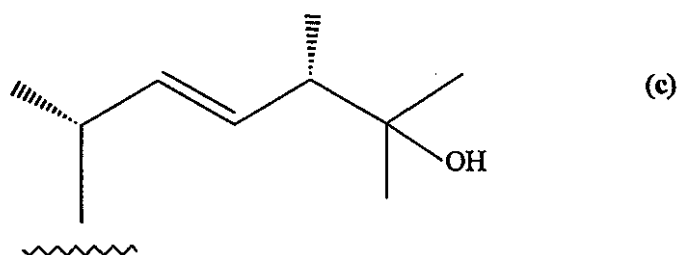
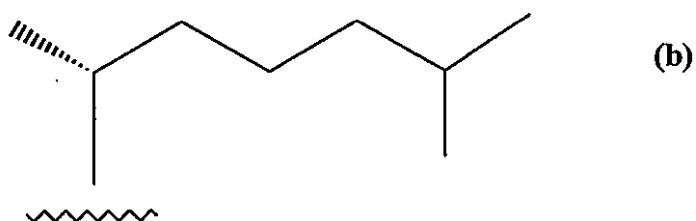
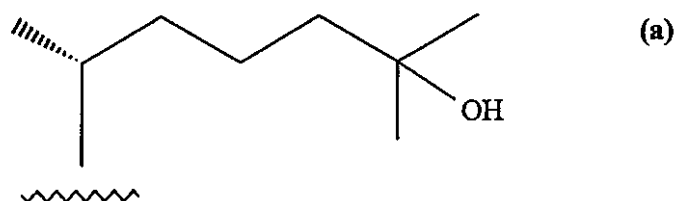
## 【 0 0 1 8 】

10

20

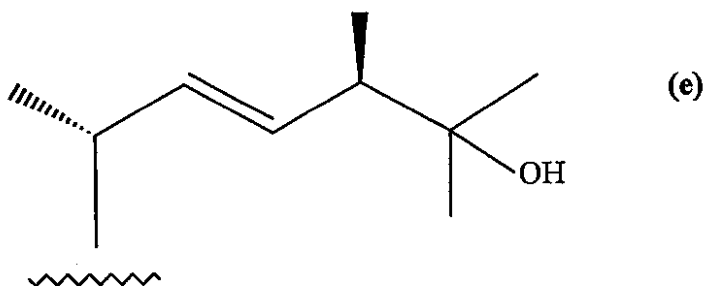
30

## 【化 4】



## 【 0 0 1 9 】

## 【化 5】



## 【 0 0 2 0 】

上記の新規な 2 - アルキリデン 18 , 19 - ジノル - ビタミン D 化合物は、所望の高度に有利な生物学的活性の態様を呈する。本化合物は、1 , 25 ジヒドロキシビタミン D<sub>3</sub> と同様に、腸内カルシウム輸送活性が比較的高いことを特徴とするが、1 , 25 ジヒドロキシビタミン D<sub>3</sub> と比較すると、カルシウムを骨から動員する能力の活性は比較的低い。したがって、本化合物は、カルシウム血症において高度に特異的である。腸内カルシウム輸送及びカルシウム動員活性の減弱におけるその選択的活性により、本化合物を

10

20

30

40

50



、骨量が重大な問題である代謝性骨疾患の治療及び予防のために生体内投与することができる。腸管カルシウム輸送における選択的なカルシウム血症活性のため、本化合物は、骨軟化症及び腎性ジストロフィー同様、骨粗しょう症、特に低骨代謝回転骨粗しょう症、ステロイド誘導性骨粗しょう症、老人性骨粗しょう症又は閉経後骨粗しょう症等の、骨形成が望まれる疾患の治療及び予防のための好ましい治療剤となる。本化合物は経皮、経口、又は非経口的に投与される。本化合物は、医薬組成物中に組成物の約  $0.01 \mu\text{g/gm}$  ~ 約  $100 \mu\text{g/gm}$ 、好ましくは、組成物の約  $0.1 \mu\text{g/gm}$  ~ 約  $50 \mu\text{g/gm}$  の量で存在し、約  $0.01 \mu\text{g/日}$  ~ 約  $100 \mu\text{g/日}$ 、好ましくは、約  $0.1 \mu\text{g/日}$  ~ 約  $50 \mu\text{g/日}$  の用量を投与する。

#### 【0021】

10

本発明の本化合物はまた、特に、免疫系、すなわち、多発性硬化症、真性糖尿病、狼瘡、宿主対移植片反応及び移植拒絶を含む自己免疫疾患の、不均衡を特徴とするヒトの障害の治療及び予防；その他、骨折治癒の改善及び骨移植の改善同様、リウマチ、喘息、及び、クローン病又は潰瘍性大腸炎等の炎症性大腸炎等の炎症性疾患の治療及び予防に適する。本化合物は、骨の破砕強度（骨梁強度）同様破壊強度（皮質強度）を高めることもまた見出された。従って、本化合物は人工股関節置換、膝関節置換等の骨置換処置で用いられる。にきび、脱毛症；乾燥肌（真皮の水分欠如）、過度の皮膚のたるみ（皮膚の硬度の不足）、皮脂分泌物の不足及びしわ等の皮膚症状、並びに高血圧は、本発明の本化合物で治療できる。

#### 【0022】

20

上記化合物はまた、細胞分化活性が高いことを特徴とする。したがって、本化合物はまた、乾癬の治療薬、又は特に、白血病、大腸癌、乳癌、皮膚癌及び前立腺癌に対する抗癌剤を提供する。本化合物は、医薬組成物中に組成物の約  $0.01 \mu\text{g/gm}$  ~ 約  $100 \mu\text{g/gm}$ 、好ましくは、組成物の約  $0.1 \mu\text{g/gm}$  ~ 約  $50 \mu\text{g/gm}$  の量で存在し、経皮、経口、又は非経口的に、約  $0.01 \mu\text{g/日}$  ~ 約  $100 \mu\text{g/日}$ 、好ましくは、約  $0.1 \mu\text{g/日}$  ~ 約  $50 \mu\text{g/日}$  の用量で投与される。

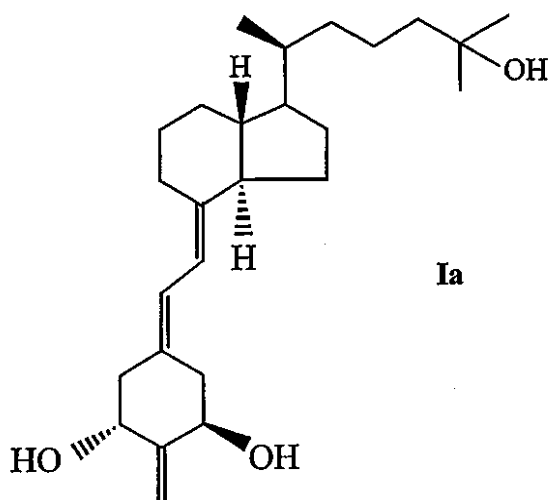
#### 【0023】

特に、2 - メチレン - 18 , 19 - ジノル - ( 20 S ) - 1 , 25 - ジヒドロキシ - ビタミン  $\text{D}_3$  を合成し、その結合、転写、カルシウム血症（腸内カルシウム輸送及び骨カルシウム動員）及び分化の活性を測定した。構造的には、本 18 , 19 - ジノル類似体は以下の一般式 Ia を特徴とする：

30

#### 【0024】

#### 【化6】



40

#### 【0025】

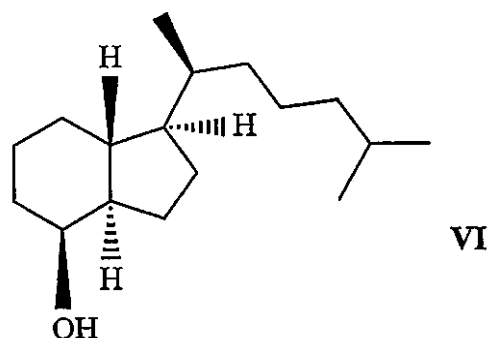
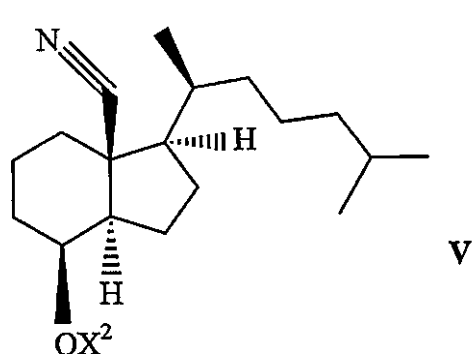
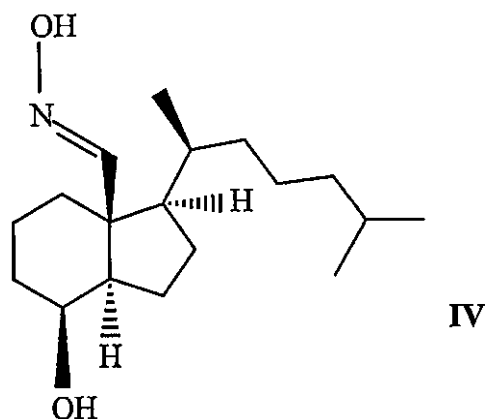
本発明はまた、式 I、特に式 Ia の最終産物の新規合成を提供する。加えて、本発明は

50

最終産物の合成過程で生成する新規な中間体化合物を提供する。構造的には、本新規中間体は、以下の一般式Ⅳ、Ⅴ、Ⅵ及びⅦを特徴とするが、ここで、 $X^1$ は $-H$ 、又は $-NO$ で、 $X^2$ 及び $X^3$ は $-H$ 又はヒドロキシ保護基である。

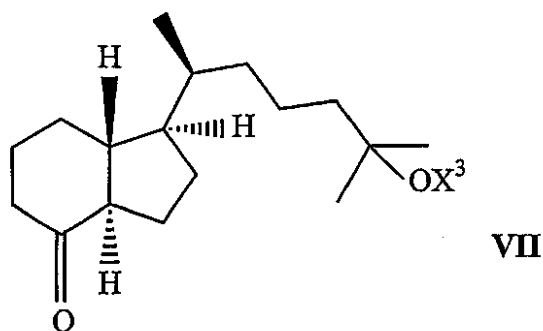
【0026】

【化7】



【0027】

【化8】



【発明を実施するための最良の形態】

【0028】

本明細書及び請求の範囲で用いられる「ヒドロキシ基保護基」という用語は、例えば、アルコキシカルボニル、アシル、アルキルシリル又はアルキルアリルシリル基（以下、「シリル」基と簡略化する）及びアルコキシアルキル基等のヒドロキシ基の一時的な保護に一般的に用いられるいかなる基をも意味する。アルコキシカルボニル保護基は、メトキシカルボニル、エトキシカルボニル、プロポキシカルボニル、イソプロポキシカルボニル、ブトキシカルボニル、イソブトキシカルボニル、*t*-ブトキシカルボニル、ベンジルオキシカルボニル又はアリルオキシカルボニル等のアルキル- $O-CO$ -基である。「アシル」という用語は、炭素が1～6のアルカノイル基、その異性体全て、又はオキサリル、マロニル、スクシニル、グルタリル基若しくはベンゾイル或いは八口、ニトロ又はアルキルで置

50

換されたベンゾイル基等の芳香族アシル基等の炭素が1～6のカルボキシアルカノイル基を意味する。本明細書又は請求の範囲で用いられる「アルキル」との用語は、炭素が1～10の、直鎖の又は分岐したアルキル基とその全ての異性体を意味する。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等の基及びテトラヒドロピラニル等の基である。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-ブチルシリル及びアルキル化シリル基類似体である。「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-で置換されたフェニル基を示す。

#### 【0029】

10

「保護されたヒドロキシ」基は、ヒドロキシの機能を一時的又は永続的に保護するために一般的に用いる上記の任意の基により誘導または保護されるヒドロキシ基であり、例えば、上記した、シリル、アルコキシアルキル、アシル又はアルコキシカルボニル基があげられる。「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、各々、1又はそれ以上のヒドロキシ、重水素又はフルオロ基で置換されたアルキル基を意味する。

#### 【0030】

本明細書中で、「24-ホモ」という用語は側鎖の炭素24位で1つのメチレン基が付加されていることを示し、「24-ジホモ」という用語は側鎖の炭素24位で2つのメチレン基が付加されていることを示すことに留意すべきである。同様に、「トリホモ」という用語は3つのメチレン基が付加されていることを示す。さらに、「26,27-ジメチル」という用語は、例えば、R<sup>3</sup>及びR<sup>4</sup>がエチル基であるように、炭素26及び27位にメチル基が付加されていることを示す。同様に、「26,27-ジエチル」という用語は、例えば、R<sup>3</sup>及びR<sup>4</sup>がプロピル基であるように、炭素26及び27位にエチル基が付加されていることを示す。

20

#### 【0031】

以下の、側鎖が不飽和である及び側鎖が飽和している化合物のリストにおいて、炭素20位に結合したメチル基がエピか又は非天然の配置の場合、「20(S)」「20-エピ」という用語が、以下の指定された化合物に各々含まれる。さらに、側鎖が20,22又は23位のいずれかで置換された酸素原子を含有する場合、各々「20-オキサ」「22-オキサ」又は「23-オキサ」という用語が指定の化合物に加えられる。指定の化合物はまた、所望の場合、ビタミンD<sub>2</sub>系である。

30

#### 【0032】

側鎖が不飽和の場合、構造Iの2-アルキリデン18,19-ジノル-ビタミンD化合物の特定の及び好ましい例は：

- 2-メチレン-18,19-ジノル-1-ヒドロキシ-22-デヒドロビタミンD<sub>3</sub>；
- 2-メチレン-18,19-ジノル-25-ヒドロキシ-22-デヒドロビタミンD<sub>3</sub>；
- 2-メチレン-18,19-ジノル-1,25-ジヒドロキシ-22-デヒドロビタミンD<sub>3</sub>；
- 2-メチレン-18,19-ジノル-24-ホモ-1,25-ジヒドロキシ-22-デヒドロビタミンD<sub>3</sub>；
- 2-メチレン-18,19-ジノル-24-ジホモ-1,25-ジヒドロキシ-22-デヒドロビタミンD<sub>3</sub>；
- 2-メチレン-18,19-ジノル-24-トリホモ-1,25-ジヒドロキシ-22-デヒドロビタミンD<sub>3</sub>；
- 2-メチレン-18,19-ジノル-26,27-ジメチル-24-ホモ-1,25-ジヒドロキシ-22-デヒドロビタミンD<sub>3</sub>；
- 2-メチレン-18,19-ジノル-26,27-ジメチル-24-ジホモ-1,25-ジヒドロキシ-22-デヒドロビタミンD<sub>3</sub>；
- 2-メチレン-18,19-ジノル-26,27-ジメチル-24-トリホモ-1,25

40

50

- ジヒドロキシ - 22 - デヒドロビタミン D<sub>3</sub> ;  
 2 - メチレン - 18 , 19 - ジノル - 26 , 27 - ジエチル - 24 - ホモ - 1 , 25 - ジ  
 ヒドロキシ - 22 - デヒドロビタミン D<sub>3</sub> ;  
 2 - メチレン - 18 , 19 - ジノル - 26 , 27 - ジエチル - 24 - ジホモ - 1 , 25 -  
 ジヒドロキシ - 22 - デヒドロビタミン D<sub>3</sub> ;  
 2 - メチレン - 18 , 19 - ジノル - 26 , 27 - ジエチル - 24 - トリホモ - 1 , 25  
 - ジヒドロキシ - 22 - デヒドロビタミン D<sub>3</sub> ;  
 2 - メチレン - 18 , 19 - ジノル - 26 , 27 - ジプロピル - 24 - ホモ - 1 , 25 -  
 ジヒドロキシ - 22 - デヒドロビタミン D<sub>3</sub> ;  
 2 - メチレン - 18 , 19 - ジノル - 26 , 27 - ジプロピル - 24 - ジホモ - 1 , 25  
 - ジヒドロキシ - 22 - デヒドロビタミン D<sub>3</sub> ; 及び  
 2 - メチレン - 18 , 19 - ジノル - 26 , 27 - ジプロピル - 24 - トリホモ - 1 , 2  
 5 - ジヒドロキシ - 22 - デヒドロビタミン D<sub>3</sub> である。

#### 【0033】

上記不飽和化合物について、側鎖の22及び23炭素原子の間に位置する二重結合は(E)配置でも(Z)配置でもよいことに留意すべきである。つまり、配置に応じて、「22, 23(E)」「22, 23(Z)」という用語が、上記の指定化合物の各々に含まれる。また、22及び23の炭素の間に位置する二重結合を「<sup>2 2</sup>」と示すことは一般的である。従って、例えば、上記の第4番目の化合物はまた、2 - メチレン - 18 , 19 - ジノル - 24 - ホモ - 22 , 23(E)<sup>2 2</sup> - 1 , 25 - (OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub>と記載することができ、ここで二重結合は(E)配置である。同様に、炭素20に結合しているメチル基が非天然配置である場合は、本化合物は2 - メチレン - 18 , 19 - ジノル - 20(S) - 24 - ホモ - 22 , 23(E)<sup>2 2</sup> - 1 , 25 - (OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub>と記載できる。

#### 【0034】

側鎖が飽和の場合の構造Iの2 - アルキリデン18 , 19 - ジノル - ビタミンD化合物の特定の及び好ましい例は：

2 - メチレン - 18 , 19 - ジノル - 1 - ヒドロキシビタミン D<sub>3</sub> ;  
 2 - メチレン - 18 , 19 - ジノル - 25 - ヒドロキシビタミン D<sub>3</sub> ;  
 2 - メチレン - 18 , 19 - ジノル - 1 , 25 - ジヒドロキシビタミン D<sub>3</sub> ;  
 2 - メチレン - 18 , 19 - ジノル - 24 - ホモ - 1 , 25 - ジヒドロキシビタミン D<sub>3</sub> ;  
 2 - メチレン - 18 , 19 - ジノル - 24 - ジホモ - 1 , 25 - ジヒドロキシビタミン D<sub>3</sub> ;  
 2 - メチレン - 18 , 19 - ジノル - 24 - トリホモ - 1 , 25 - ジヒドロキシビタミン D<sub>3</sub> ;  
 2 - メチレン - 18 , 19 - ジノル - 26 , 27 - ジメチル - 24 - ホモ - 1 , 25 - ジ  
 ヒドロキシビタミン D<sub>3</sub> ;  
 2 - メチレン - 18 , 19 - ジノル - 26 , 27 - ジメチル - 24 - ジホモ - 1 , 25 -  
 ジヒドロキシビタミン D<sub>3</sub> ;  
 2 - メチレン - 18 , 19 - ジノル - 26 , 27 - ジメチル - 24 - トリホモ - 1 , 25  
 - ジヒドロキシビタミン D<sub>3</sub> ;  
 2 - メチレン - 18 , 19 - ジノル - 26 , 27 - ジエチル - 24 - ホモ - 1 , 25 - ジ  
 ヒドロキシビタミン D<sub>3</sub> ;  
 2 - メチレン - 18 , 19 - ジノル - 26 , 27 - ジエチル - 24 - ジホモ - 1 , 25 -  
 ジヒドロキシビタミン D<sub>3</sub> ;  
 2 - メチレン - 18 , 19 - ジノル - 26 , 27 - ジエチル - 24 - トリホモ - 1 , 25  
 - ジヒドロキシビタミン D<sub>3</sub> ;  
 2 - メチレン - 18 , 19 - ジノル - 26 , 27 - ジプロピル - 24 - ホモ - 1 , 25 -  
 ジヒドロキシビタミン D<sub>3</sub> ;

2 - メチレン - 18 , 19 - ジノル - 26 , 27 - ジプロピル - 24 - ジホモ - 1 , 25 - ジヒドロキシビタミン D<sub>3</sub> ; 及び

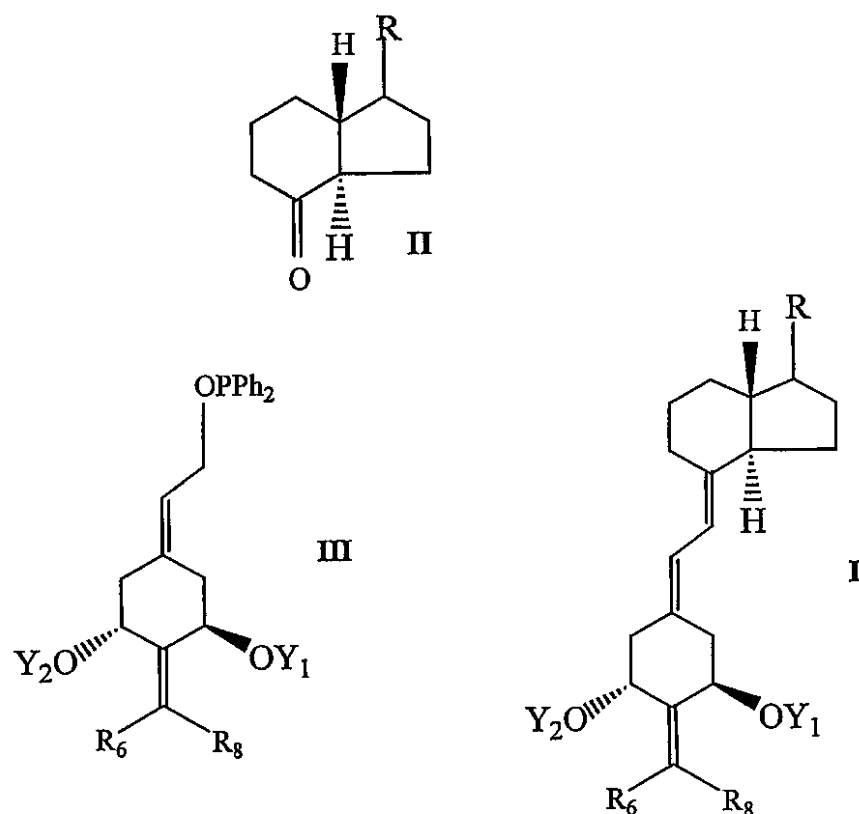
2 - メチレン - 18 , 19 - ジノル - 26 , 27 - ジプロピル - 24 - トリホモ - 1 , 25 - ジヒドロキシビタミン D<sub>3</sub> である。

【 0035 】

構造 I を有する 2 - アルキリデン 18 , 19 - ジノル - ビタミン D 化合物の調製は、18 - ノル - CD 環ケトン ( ( a ) Baggiolini et al , J . Org . Chem . , 1986 , 51 , 3098 - 3108 ; ( b ) Baggiolini et al , J . Am . Chem . Soc . , 1982 , 104 , 2945 - 2948 ; 及び ( c ) Cohen et al , J . Org . Chem . , 1979 , 44 , 3077 - 3080 を参照のこと ) 及びホスフィンオキシドの Wittig - Horner 反応、すなわち、二環式 18 - ノル - CD 環ケトン II を、アリルホスフィンオキシド III で縮合して、対応する 2 - アルキリデン - 18 , 19 - ジノル - ビタミン D 類似体 I とし、最終化合物の C - 1 及び C - 3 を脱保護することに基づく：

【 0036 】

【 化 9 】



【 0037 】

上記構造 I、II 及び III 中、R<sub>6</sub> 及び R<sub>8</sub>、Y<sub>1</sub> 及び Y<sub>2</sub> 並びに R 基は上記で定義した基を示し；Y<sub>1</sub> 及び Y<sub>2</sub> は、好ましくは、t - ブチルジメチルシリル ( TBDMs ) 等のヒドロキシ保護基であり、また、当業界で周知であるように、感受性であるとか、縮合反応を妨げるといった R 中のいかなる官能基も最適に保護されることが理解される。上記で示したプロセスは、収束的合成概念の適用を示しており、それはビタミン D 化合物の調製に効果的に適用されてきた ( 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 ) ; Baggiolini et al . , J . Org . Chem . 51 , 3098 ( 1986 ) ; Sardina et al . , J . Org . Chem . 51 , 1264 ( 1986 ) ; J . Org . Chem . 51 , 1269

( 1 9 8 6 ) ; D e L u c a らの米国特許公報第 5 , 0 8 6 , 1 9 1 号 ; D e L u c a らの米国特許公報第 5 , 5 3 6 , 7 1 3 号 }。

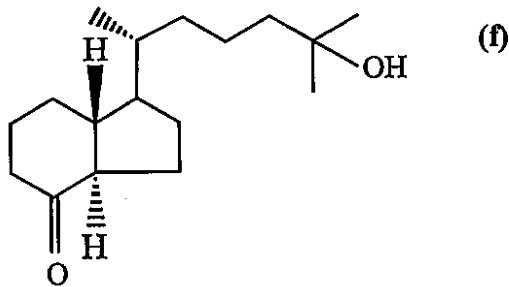
【 0 0 3 8 】

一般構造 I I のヒドリンダノン以下に開示したスキーム I の方法によりビタミン D<sub>2</sub> から出発して調製できる。このような二環式 1 8 - ノル - C D ケトンの特定の重要な例は、上記側鎖 ( a )、( b )、( c )、( d ) 及び ( e ) を有する構造である。すなわち、2 5 - ヒドロキシケトン ( f ) ; ケトン ( g ) ; 2 5 - ヒドロキシケトン ( h ) ; ケトン ( i ) 及び 2 4 - エピケトン ( j ) である。一般構造 I I の他の重要な 1 8 - ノル C D ケトンは、2 0 - メチル基が非天然 2 0 - エピ配置中にある、側鎖 ( f ) ~ ( j ) がある構造、すなわち、ケトン ( k ) ~ ( o ) である。

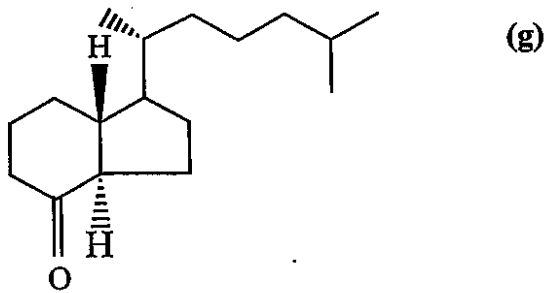
10

【 0 0 3 9 】

【 化 1 0 】



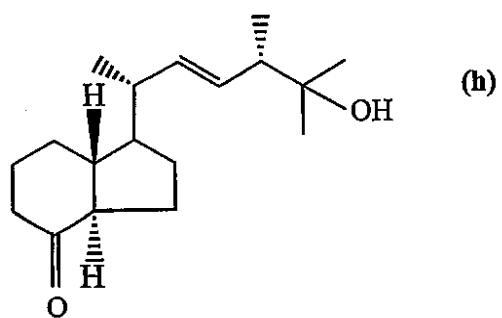
20



【 0 0 4 0 】

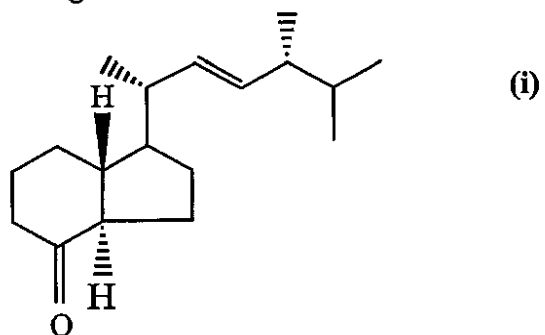
30

【化 1 1】

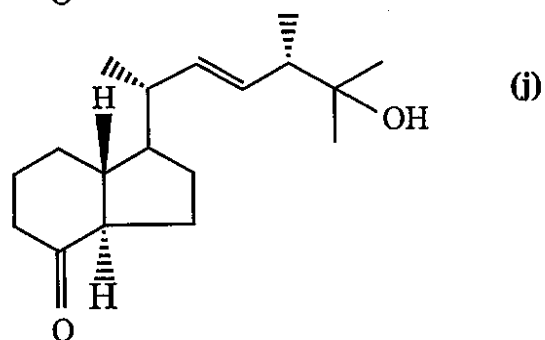


(h)

10

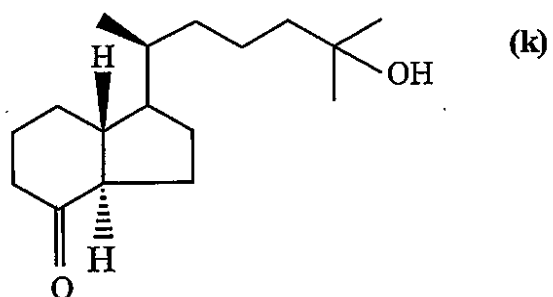


(i)



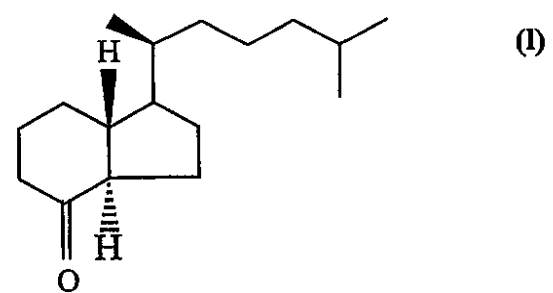
(j)

20



(k)

30

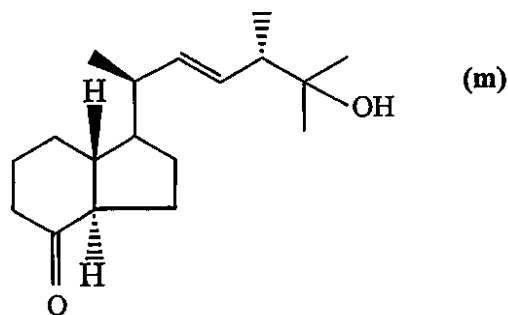


(l)

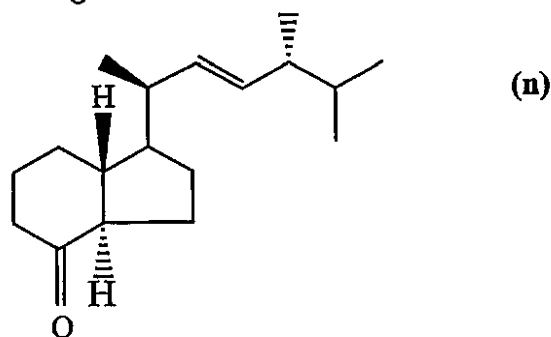
40

【 0 0 4 1 】

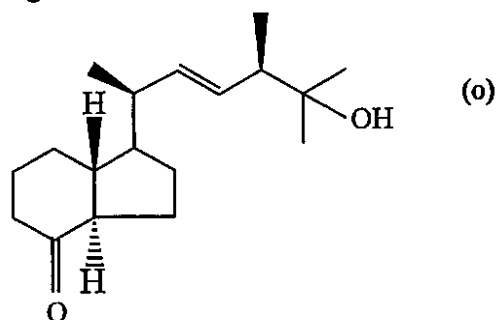
## 【化 1 2】



10



20



## 【0042】

一般構造 I I I の所望のフォスフィンオキシドの調製のために、S i c i n s k i e t a l , J . M e d . C h e m . , 1 9 9 8 , 4 1 , 4 4 6 2 - 4 6 7 4 に記載されて  
 いる、商業的に容易に入手できる ( 1 R , 3 R , 4 S , 5 R ) ( - ) - キナ酸から容易に  
 得られるジオールから出発する合成経路が開発されている。出発物質であるジオールを一般構造 I I I の所望の 2 - アルキリデン - A 環シントン、さらに具体的には、スキーム 1  
 に示した 2 - メチレン A 環シントン 1 5 に変換する全てのプロセスは、その明細書を参照  
 することにより本明細書に具体的に援用する米国特許公報第 6 , 8 4 3 , 9 2 8 号に要約  
 され図示されている。従って、出発物質であるジオールは、ルテニウムテトロキシド ( r u t h e n i u m t e t r o x i d e ) で酸化されて対応するヒドロキシケトンになる  
 。最終化合物は、メチルトリフェニルフォスホリウムプロマイドから調製したイリド及  
 び n - ブチルリチウムで処理することになる。W i t t i g 反応の生産物をリチウムアル  
 ミニウム水素化物で還元して隣接ジオールとするが、これは過ヨウ素酸ナトリウムで切断  
 されて、結果物であるケトン、ペーターソンオレフィン化によりメチル ( トリメチルシ  
 リル ) 酢酸塩で不飽和エステルに変換される。本エステルは、その後、D I B A L H で還  
 元されて、n - ブチルリチウム及び p - トルエンスルフォニル塩化物で i n s i t u  
 シル化されるアリル型アルコールとなり、ジフェニルホスフィンリチウム塩との反応で対  
 応するホスフィンに変換されて、過酸化水素で酸化されて所望の A 環ホスフィンオキシド  
 1 5 になる。保護されたビタミン化合物 1 6 を供与するため、2 つの断片 1 4 及び 1 5 の  
 W i t t i g - H o m e r カップリングの後、フッ化テトラブチルアンモニウム等の公知  
 の態様でヒドロキシ基の脱保護を行い、最終類似体 1 7 を得る。

30

40

## 【0043】

A 環シントン I I I 及び所望の側鎖構造 R を有する適当な 1 8 - ノル - C D 環ケトン I

50



Iを用いて、一般構造Iの多数の2-アルキリデン-18,19-ジノル-ビタミンD化合物を合成することができる。従って、例えば、A環ホスフィンオキシド15をn-ブチルリチウム並びに本明細書で上記に例示したいずれのケトン(f)、(g)、(h)、(i)、(j)、(k)、(l)、(m)、(n)及び(o)(又は、Rで定義される所望の側鎖を有する他のいかなるケトン)を用いたWittig-Homerカップリングを、スキームIで図示したように行い、各々保護されたビタミン化合物を得ることができる。これにより、脱保護の後、所望の側鎖構造Rを有する、所望の2-メチレン-18,19-ジノル-ビタミンD類似体が提供される。

#### 【0044】

構造IIIのフォスフィンオキシドを適当な、構造IIの保護された(20S)-CD環ケトン(ヒドロキシ保護基の加水分解の後、所望の側鎖構造Rを有する所望の(20S)-2-アルキリデン-18,19-ジノル-ビタミンD類似体が得られる)で類似のカップリングを行うことにより、C-20のエピ化を行うことができる。

#### 【0045】

上記のように、他の2-アルキリデン-18,19-ジノル-ビタミンD類似体を本明細書で開示した方法により合成することができる。例えば、CD環ケトン(g)を供与して1-ヒドロキシ-2-メチレン-18,19-ジノル-ビタミンD<sub>3</sub>を得ることができる。

本発明を、以下の例示的な実施例で記載する。これらの実施例で、アラビア数字(例えば、1、2、3等)で同定した特定の生産物は、上記記載及びスキーム1で同定した特定の構造をいう。

#### 【実施例1】

#### 【0046】

縮合による(20S)-2-メチレン-1,25-ジヒドロキシ-18,19-ジノル-ビタミンD<sub>3</sub>(17)の調製(スキーム1)

デス-A, B-23, 24-ジノルコラン-8, 22-ジオール(1)メタノール(400 mL)及びピリジン(5 mL)中でビタミンD<sub>2</sub>(5 g、12.7 mmol)溶液をアルゴンガスでパージしながら-78℃まで冷却した。アルゴン流を止めて青色になるまでオゾン流を流した。溶液を青色が消えるまで酸素でパージし、NaBH<sub>4</sub>(1.2 g、32 mmol)で処理した。20分後、第2回目のNaBH<sub>4</sub>(1.2 g、32 mmol)を加えて反応物を室温まで暖めた。第3回目のNaBH<sub>4</sub>(1.2 g、32 mmol)を加えて、反応混合物を室温で一晩攪拌した。反応を70 mLの水でクエンチし、真空下で濃縮した。残渣をメチレンクロライド(3 x 100 mL)で抽出した。

#### 【0047】

有機層を1 M HCl水溶液(2 x 100 mL)で洗浄し、NaHCO<sub>3</sub>水溶液(100 mL)で飽和し、無水MgSO<sub>4</sub>で乾燥させて、真空下で濃縮した。残渣をフラッシュクロマトグラフィー(25%エチルアセテート/ヘキサン)で精製し、ジオール1の白色結晶1.875 g(8.84 mmol, 収率70%)を得た。[α]<sub>D</sub><sup>20</sup> +56.0(c 0.95, CHCl<sub>3</sub>); mp 110-111℃; <sup>1</sup>H NMR(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 0.96(3H, s), 1.03(3H, d, J = 6.6 Hz), 3.38(1H, dd, J = 10.5 Hz, J = 6.8 Hz), 3.64(1H, dd, J = 10.5 Hz, J = 3.2 Hz), 4.09(1H, d, J = 2.3 Hz); <sup>13</sup>C NMR(100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 13.6, 16.6, 17.4, 22.6, 26.6, 33.5, 38.2, 40.2, 41.3, 52.3, 52.9, 67.8, 69.2; MS(EI) m/z 212(2, M<sup>+</sup>), 194(17), 179(18), 163(10), 135(19), 125(34), 111(100); C<sub>13</sub>H<sub>22</sub>O([M-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>)の精密質量の計算値は194.1671であり、実測値は194.1665であった。

#### 【0048】

デス-A, B-8-(ベンゾイルオキシ)-23, 24-ジノルコラン-22-オー

ル(2)

ジオール1(1.85g, 8.79mmol)をピリミジン(30mL)に溶解してDMAP(45mg, 0.3mmol)を加えた。溶液を0℃まで冷却してベンゾイルクロライド(3mL, 3.6g, 25mmol)を滴下して加えた。反応混合物を5℃で24時間保持した。メチレンクロライド(100mL)を加えて、得られた混合物を5% HCl水溶液(100mL)で洗浄し、CuSO<sub>4</sub>水溶液(2×80mL)で飽和して、NaHCO<sub>3</sub>(80mL)及び水(100mL)で飽和した。抽出物を無水MgSO<sub>4</sub>で乾燥させた。真空内で溶媒を除去して、未精製のジベンゾエートが得られた。

【0049】

未精製のジベンゾエート(5.05g)を室温で、無水エタノール(30mL)中でKOH水溶液(87%, 1.5g, 23.3mmol)に加えた。得られた反応混合物を室温で3時間20分間攪拌した。反応混合物を氷でクエンチして5% HCl水溶液で中和した。反応混合物をメチレンクロライド(3×60mL)で抽出した。有機層を合わせて飽和NaHCO<sub>3</sub>(50mL)で洗浄して、無水MgSO<sub>4</sub>で乾燥させた。乾燥物質を取り出して、溶媒を真空下で蒸発させた。カラムクロマトグラフィー(25%エチルアセート/ヘキサン)により純粋生成物が得られ、2.58g(8.16mmol, ジオール1からの収率93%)モノベンゾエート2が得られた。[α]<sub>D</sub><sup>20</sup> +65.2(c 1.15, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) 3.39(1H, dd, J=10.4Hz, J=6.8Hz), 3.65(1H, dd, J=10.5Hz, J=3.2Hz), 5.42(1H, br d, J=22.2Hz), 7.45(2H, m), 7.56(1H, m), 8.05(2H, m); <sup>13</sup>C NMR(100MHz, CDCl<sub>3</sub>) 13.6, 16.6, 18.0, 22.7, 26.6, 30.5, 38.4, 39.8, 41.9, 51.4, 52.7, 67.7, 72.1, 128.3, 129.5, 130.8, 166.5; MS(EI) m/z 211(4), 194(52), 179(11), 135(41), 108(23), 105(100); C<sub>20</sub>H<sub>28</sub>O<sub>3</sub>Na([M+Na]<sup>+</sup>)の精密質量(ESI)の計算値は339.1936であり、実測値は339.1941であった。

【0050】

デス-A, B-8 - (ベンゾイルオキシ) - 23, 24 - ジノルコラン - 22 - アル(3)

三酸化硫黄ピリジン複合体(7.02g, 44.1mmol)を0℃で、無水メチレンクロライド(30mL)及びDMSO(8mL)中でアルコール2(2.32g, 7.34mmol)及びトリエチルアミン(5.15mL, 3.71g, 36.7mmol)の溶液に加えた。反応混合混合物を20分間0℃アルゴン下で攪拌した後、真空下で濃縮した。残渣をカラムクロマトグラフィー(5%エチルアセート/ヘキサン)により精製して、2.05g(6.53mmol, 収率90%)のアルデヒド3が得られた。[α]<sub>D</sub><sup>20</sup> +67.4(c 0.95, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) 1.10(3H, s), 1.15(3H, d, J=6.8Hz), 5.44(1H, br d, J=2.2Hz), 7.45(2H, m), 7.56(1H, m), 8.05(2H, m), 9.60(1H, d, J=3.2Hz); <sup>13</sup>C NMR(100MHz, CDCl<sub>3</sub>) 13.6, 14.1, 18.1, 23.1, 26.2, 30.7, 39.8, 42.6, 49.2, 51.2, 51.5, 128.6, 129.7, 130.9, 133.0, 205.0; MS(EI) m/z 285(3), 216(3), 208(9), 180(17), 162(47), 147(21), 135(46), 122(16), 105(100), 95(22), 77(49) C<sub>19</sub>H<sub>25</sub>O<sub>2</sub>([M-CHO]<sup>+</sup>)の精密質量(ESI)の計算値は285.1855であり、実測値は285.1848であった。

【0051】

(20R) - デス-A, B-8 - (ベンゾイルオキシ) - 23, 24 - ジノルコラン - 22 - オール(4)

アルデヒド3 (2.05 g, 6.53 mmol) の溶液にメチレンジクロライド (25 mL) 中で、40%のn-Bu<sub>4</sub>NOH (8.4 mL, 12.9 mmol) の水溶液を加えた。得られた反応混合物を一晩激しく攪拌した。その後、メチレンジクロライド (30 mL) を加え、混合物を水 (20 mL) で洗浄し、無水MgSO<sub>4</sub> で乾燥させて減圧下で濃縮した。残渣をカラムクロマトグラフィー (5%エチルアセレート/ヘキサン) で精製して、1.50 g (4.78 mmol) の2つのジアステレオ異性アルデヒドの混合物が得られた。

#### 【0052】

アルデヒドの混合物をエタノール (15 mL) で溶解して、NaBH<sub>4</sub> (350 mg, 9.2 mmol) を加えた。得られた混合物を30分間攪拌した。この反応混合物を飽和NH<sub>4</sub>Cl水溶液 (30 mL) でクエンチした。混合物を、メチレンジクロライド (3 x 40 mL) で抽出し、有機層を合わせて水 (30 mL) で洗浄して、無水MgSO<sub>4</sub> で乾燥させて減圧下で濃縮した。残渣をカラムクロマトグラフィー (5%エチルアセレート/ヘキサン) で精製して、870 mg (2.75 mmol, 収率42%) の4及び437 mg (1.38 mmol, 収率21%) の2が得られた。[α]<sub>D</sub><sup>20</sup> +50.0 (c 1.10, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 0.97 (3H, d, J = 6.7 Hz), 1.07 (3H, s), 3.48 (1H, dd, J = 10.5 Hz, J = 7.1 Hz), 3.76 (1H, dd, J = 10.6 Hz, J = 3.5 Hz), 5.42 (1H, s), 7.45 (2H, m), 7.55 (1H, m), 8.05 (2H, m); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 13.9, 16.5, 18.0, 22.5, 26.4, 30.5, 37.5, 39.3, 41.7, 51.5, 52.7, 66.9, 72.0, 128.3, 129.5, 130.8, 166.5; MS (EI) m/z 316 (16, M<sup>+</sup>), 301 (5), 285 (9), 242 (11), 194 (60), 147 (71), 105 (100); C<sub>20</sub>H<sub>28</sub>O<sub>3</sub>Na ([M+Na]<sup>+</sup>) の精密質量 (ESI) の計算値は339.1936であり、実測値は339.1948であった。

#### 【0053】

(20R) - デス - A, B - 8 - (ベンゾイルオキシ) - 23, 24 - ジノル - 22 - (トシルオキシ) - コラン (5)

無水メチレンジクロライド (20 mL) トシルクロライド (710 mg, 3.73 mmol) 中で、アルコール4 (870 mg, 2.75 mmol)、トリエチルアミン (1.5 mL, 10.8 mmol) 及びDMAP (20 mg) の混合物を0 で加えた。反応混合物を室温で16時間保持した。その後、メチレンジクロライド (100 mL) を加えて、混合物を飽和NaHCO<sub>3</sub> 水溶液 (2 x 50 mL) で洗浄して、無水MgSO<sub>4</sub> で乾燥させて減圧下で濃縮した。

#### 【0054】

残渣をカラムクロマトグラフィー (5%エチルアセレート/ヘキサン) で精製して、1162 mg (2.47 mmol, 収率90%) の5が得られた。[α]<sub>D</sub><sup>20</sup> +14.2 (c 0.95, CHCl<sub>3</sub>); mp. 100 - 102; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 0.90 (3H, d, J = 6.6 Hz), 0.98 (3H, s), 2.46 (3H, s), 3.83 (1H, dd, J = 9.2 Hz, J = 7.2 Hz), 4.15 (1H, dd, J = 9.3 Hz, J = 3.3 Hz), 7.35 (2H, d, J = 8.1 Hz), 7.44 (2H, m), 7.55 (1H, m), 7.80 (2H, d, J = 8.1 Hz), 8.02 (2H, m); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 13.9, 16.6, 17.9, 21.6, 22.3, 26.3, 30.4, 34.8, 39.1, 41.6, 71.8, 74.0, 127.9, 128.4, 129.5, 129.7, 130.7, 132.8, 133.1, 144.6, 166.7; MS (EI) m/z 365 (12), 348 (61), 193 (9), 176 (32), 161 (13), 134 (19), 105 (100), 91 (17), 77 (20); C<sub>27</sub>H<sub>34</sub>O<sub>5</sub>SNa ([M+Na]<sup>+</sup>) の精密質量 (ESI) の計算値は493.2025であり、実測値は

493.2032であった。

【0055】

(20S) - デス - A , B - コレスタン - 8 - オール (7)  
 マグネシウム削りくず (4.41 g, 184 mmol) をマグネチックスターラーを用いてアルゴン下で一晩攪拌した。その後、無水THF (50 mL) 及び1 - クロロ - 3 - メチルブタン (11 mL, 90.8 mmol) を加えた。混合物を6時間還流した。得られたグリニャール試薬6の溶液を、カニューレを通して、78 で無水THF (15 mL) 中で、攪拌した5の水溶液に加えた後、テトラクロロ銅酸化物ジリチウム (620 mg, 2.73 mmol) を無水THF (27 mL) 中で加えた。冷却槽を外して反応混合物を一晩攪拌した。反応混合物を攪拌した氷 (15 mL) 及び飽和NH<sub>4</sub>Cl水溶液 (40 mL) の混合物に注いだ。その後、反応物をエチルアセテート (3 × 100 mL) で抽出して、水で洗浄し、無水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>で乾燥させた。残渣をカラムクロマトグラフィー (5% ~ 25% エチルアセテート / ヘキサン) で精製して、389 mg (1.46 mmol, 収率58%) の7が得られた。[  $\alpha$  ]<sub>D</sub> + 9.6 (c 1.15, CHCl<sub>3</sub>) ; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 0.82 (3H, d, J = 6.6 Hz), 0.87 (6H, d, J = 6.6 Hz), 0.93 (3H, s), 4.07 (1H, s); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 13.8, 17.5, 18.5, 22.4, 22.5, 22.6, 22.7, 24.0, 27.1, 28.0, 29.7, 33.6, 34.8, 35.5, 39.4, 40.3, 41.9, 52.7, 56.3, 69.5; MS (EI) m/z 266 (45, M<sup>+</sup>), 251 (19), 233 (8), 177 (9), 163 (11), 152 (20), 135 (30), 125 (37), 111 (100); C<sub>18</sub>H<sub>34</sub>Oの精密質量の計算値は266.26310であり、実測値は266.2623であった。

【0056】

(20S) - デス - A , B - コレスタン - 8 - イルニトライト (8)  
 7の溶液 (185 mg, 0.69 mmol) をクロロホルム (5 mL) 中でt - ブチルニトライト (1 mL) で1時間暗部で処理した。その後、光から混合物を保護しながら、ベンゼン (10 mL) を加えて、溶媒を減圧下で除いた。<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 0.76 (3H, s), 0.81 (3H, d, J = 6.5 Hz), 0.87 (6H, d, J = 6.6 Hz), 5.78 (1H, s); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 13.1, 17.9, 18.5, 22.2, 22.6, 22.7, 23.9, 27.1, 28.0, 31.5, 34.9, 35.3, 39.3, 39.7, 41.9, 51.9, 56.0.

(18E) - (20S) - 18 - (ヒドロキシイミノ) - デス - A , B - コレスタン - 8 - オール (9)  
 未精製のニトライトを無水ベンゼン (150 mL) で溶解して、水冷式浸水穴を有するパイレックス (登録商標) 管及びパイレックス (登録商標) フィルターを備えたハノビア (Hanovia) 高圧水銀アーク灯からなる装置で照射した。アルゴンを溶液に緩慢に流して温度を約10 に保持した。反応過程をTLCでモニターした。30分後に、反応を完了させた。ベンゼンを減圧下で除去して、残渣を2 - プロパノール (5 mL) に溶解して2時間還流し、冷却して、一晩保持して、ニトロソ化合物のオキシムへの異性化を完了した。溶媒を蒸発させて、残渣をWatersシリカゲルSep - Packカートリッジ (25% エチルアセテート / ヘキサン) で精製して、102 mg (0.35 mmol, 7からの収率51%) のオキシム9を得た。[  $\alpha$  ]<sub>D</sub> + 8.2 (c 0.80, CHCl<sub>3</sub>) ; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 0.84 (3H, d, J = 6.3 Hz), 0.87 (6H, d, J = 6.6 Hz), 2.20 (1H, br d, J = 13.1 Hz), 4.04 (1H, br d, J = 2.6 Hz), 7.33 (1H, s), 10.8 (1H, br s); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 17.5, 18.6, 21.8, 22.6, 22.7, 24.1, 27.2, 28.0, 34.3, 35.0, 35.6, 39.3, 49.5, 52.6, 56.7, 67.6, 152.2; MS

(EI)  $m/z$  295 (2,  $M^+$ ), 278 (28), 260 (20), 245 (8), 206 (19), 183 (38), 165 (13), 148 (15), 121 (100);  $C_{18}H_{33}NO_2Na$  ( $[M^+Na]^+$ ) の精密質量の計算値は 318.2409 であり、実測値は 318.2412 であった。

【0057】

(20S) - 8 - (アセトキシ) - デス - A, B - コレスタン - 18 - ニトリル (10)

9 の水溶液 (100 mg, 0.34 mmol) を無水酢酸 (5 mL) 中で 1.5 時間還流した。反応混合物を冷却して慎重に氷中に注ぎベンゼン (3 × 40 mL) で抽出した。有機層を合わせて  $NaHCO_3$  水溶液 (2 × 40 mL)、水 (30 mL) で飽和し、無水  $Na_2SO_4$  で乾燥させて蒸発させた。残渣を Waters シリカゲル Sep - Pack カートリッジ (5% エチルアセレート / ヘキサン) で精製して、91 mg (0.28 mmol, 収率 84%) の 9 を得た。[ $\alpha_D$ ] - 26.4 (c 0.75,  $CHCl_3$ ); IR ( $CHCl_3$ ) 2228, 1741, 1241;  $^1H$  NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ ) 0.87 (6H, d,  $J = 6.6$  Hz), 0.91 (3H, d,  $J = 6.6$  Hz), 2.15 (3H, s), 2.46 (1H, br d,  $J = 3.2$  Hz), 5.20 (1H, s);  $^{13}C$  NMR (125 MHz,  $CDCl_3$ ) 17.9, 18.8, 22.6, 22.7, 23.3, 23.8, 27.1, 28.0, 29.9, 35.6, 36.2, 36.3, 39.1, 45.6, 51.9, 54.1, 68.7, 121.2, 171.0; MS (EI)  $m/z$  319 (18,  $M^+$ ), 304 (10), 290 (3), 277 (84), 259 (100), 244 (54), 234 (27), 216 (40), 202 (33), 188 (60), 174 (47), 147 (39), 134 (34), 121 (95);  $C_{20}H_{33}NO_2Na$  ( $[M+Na]^+$ ) の精密質量 (ESI) の計算値は 342.2409 であり、実測値は 342.2413 であった。

【0058】

(20S) - デス - A, B - コレスタン - 18 - ニトリル - 8 - オール (11) 10 (90 mg, 0.28 mmol) をメタノール (3 mL) に溶解して、2 時間メタノール (3 mL) 中で 5% の MeONa 溶液で処理した。反応混合物を飽和  $NH_4Cl$  (5 mL) 水溶液及び水 (10 mL) で飽和し、メチレンジクロライド (5 × 40 mL) で抽出し、無水  $Na_2SO_4$  で乾燥させて蒸発させた。残渣を Waters シリカゲル Sep - Pack カートリッジ (20% エチルアセレート / ヘキサン) で精製して、73 mg (0.26 mmol, 収率 94%) の 10 を得た。[ $\alpha_D$ ] - 6.1 (c 0.75,  $CHCl_3$ ); IR ( $CHCl_3$ ) 3486, 2228;  $^1H$  NMR (500 MHz,  $CDCl_3$ ) 0.87 (6H, d,  $J = 6.6$  Hz), 0.92 (3H, d,  $J = 6.7$  Hz), 2.43 (1H, br d,  $J = 3.1$  Hz), 4.10 (1H, s);  $^{13}C$  NMR (125 MHz,  $CDCl_3$ ) 17.9, 22.6, 22.7, 22.9, 23.9, 27.1, 28.0, 32.8, 35.7, 36.2, 36.3, 44.7, 53.4, 54.2, 122.5; MS (EI)  $m/z$  277 (28,  $M^+$ ), 262 (34), 259 (18), 248 (16), 244 (24), 220 (30), 216 (18), 206 (100);  $C_{18}H_{31}NO$  の精密質量の計算値は 277.2496 であり、実測値は 277.2395 であった。

【0059】

(20S) - デス - A, B - 18 - ノルコレスタン - 8 - オール (12) HMPA (280  $\mu$ l, 1.62 mmol) 及びジエチルエーテル (700  $\mu$ l) 中でカリウム (110 mg, 2.82 mmol) の攪拌混合物に対して、11 の溶液 (70 mg, 0.25 mmol) を、t - ブチルアルコール (65  $\mu$ l) 及びジエチルエーテル (250  $\mu$ l) 中に、0 アルゴン下で滴下して加えた。混合物を室温まで加熱して 5 時間攪拌した。残ったカリウムを除去して、2 - プロパノール数滴とベンゼン (20 mL) を加えた。有機層を水 (10 mL) で洗浄して、無水  $Na_2SO_4$  で乾燥させて減圧下で濃縮した。残渣を Waters シリカゲル Sep - Pack カートリッジ (10% エチルアセ

10

20

30

40

50

テート/ヘキサン)で精製して、54 mg (0.21 mmol, 収率85%)の12を得た。 $[\alpha]_D^{25} + 32.6$  (c 0.90, CHCl<sub>3</sub>);  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 0.78 (3H, d, J = 6.8 Hz), 0.87 (6H, d, J = 6.6 Hz), 4.06 (1H, s);  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 14.7, 20.2, 22.7, 22.9, 24.7, 25.3, 28.0, 30.8, 33.1, 33.5, 36.3, 39.3, 39.7, 48.6, 50.3, 67.9; MS (EI) m/z 252 (6, M<sup>+</sup>), 234 (21), 219 (23), 209 (26), 191 (8), 179 (4), 167 (13), 149 (89), 139 (47), 122 (90), 107 (35), 95 (80), 79 (87), 67 (88), 58 (100); C<sub>17</sub>H<sub>32</sub>Oの精密質量の計算値は252.2453であり実測値は、252.2448であった。

10

## 【0060】

(20S) - デス - A, B - 25 - ヒドロキシ - 18 - ノルコレスタン - 8 - オン (13)  
水 (1 mL) 中で RuCl<sub>3</sub> × H<sub>2</sub>O (10 mg, 0.05 mmol) 及び NaIO<sub>4</sub> (227 mg, 1.06 mmol) の攪拌溶液に対して、テトラクロロメタン (0.75 mL) 及びアセトニトリル (0.75 mL) 中で12の溶液 (74 mg, 0.29 mmol) を加えた。反応混合物を3日間激しく攪拌した。その後、2-プロパノール数滴と水 (10 mL) を加えた。反応生成物を、メチレンジクロライド (3 × 20 mL) で抽出した。有機層を無水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で乾燥させて減圧下で濃縮した。残渣を Waters シリカゲル Sep - Pack カートリッジ (10 ~ 30% エチルアセレート/ヘキサン) で精製して、13 mg (0.05 mmol, 収率17%) の13を得た。 $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 0.78 (3H, d, J = 6.7 Hz), 1.22 (6H, s), 2.01 (1H, brd, J = 12.3 Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 14.3, 21.3, 22.2, 22.6, 27.8, 29.3, 29.7, 33.0, 36.5, 41.6, 44.1, 49.6, 51.0, 58.0, 71.0, 212.0; MS (EI) m/z 264 (3), 248 (57), 233 (19), 215 (4), 208 (15), 163 (29), 137 (100); C<sub>17</sub>H<sub>30</sub>O<sub>2</sub>Na ([M + Na]<sup>+</sup>) の精密質量 (ESI) の計算値は289.2144であり、実測値は289.2136であった。

20

30

## 【0061】

(20S) - 25 - [(トリエチルシリル)オキシ] - デス - A, B - 18 - ノルコレスタン - 8 - オン (14)  
無水メチレンジクロライド (250 μl) 中の13 (12 mg, 45 μmol) 及び2,6-ルチジン (13 μl, 100 μmol) に対して、-50 °C アルゴン下でトリエチルシリルトリフルオロメタンスルフォネートを滴下して加えた。20分後、湿メチレンジクロライド数滴と水 (7 mL) を加えた。反応混合物をメチレンジクロライド (3 × 7 mL) で抽出した。有機層を無水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で乾燥させて減圧下で濃縮した。残渣を Waters シリカゲル Sep - Pack カートリッジ (3% エチルアセレート/ヘキサン) 及び HPLC (5% エチルアセレート/ヘキサン、4 mL/分、Zorbax - silica 10 × 250 mm) で精製して、13 mg (34 μmol, 収率76%) の14を得た。 $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 0.56 (6H, q, J = 7.9 Hz), 0.77 (3H, d, J = 6.8 Hz), 0.94 (9H, t, J = 7.9 Hz), 1.19 (6H, s);  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 6.8, 7.1, 14.3, 21.4, 22.2, 22.7, 27.8, 29.7, 29.8, 29.9, 32.9, 36.4, 41.6, 45.2, 49.6, 51.1, 58.0, 73.4, 212.1; MS (EI) m/z 365 (8), 351 (100), 322 (6), 239 (2), 231 (25), 220 (4), 205 (15), 189 (4), 173 (92); C<sub>23</sub>H<sub>44</sub>O<sub>2</sub>SiNa ([M + Na]<sup>+</sup>) の精密質量 (ESI) の計算値は403.3008であり、実測値は403.2995であった。

40

50

## 【0062】

(20S) - 2 - メチレン - 1 , 25 - ジヒドロキシ - 18 , 19 - ジノルピタミン D<sub>3</sub> (17)

無水THF (600 μl) 中のフォスフィンオキシド15 (46 mg, 79 μmol) の攪拌溶液に対して、THF (63 μl, 95 μmol) 中で1.5 M フェニルリチウム溶液を - 20 アルゴン下で加えた。混合物を20分間攪拌し、- 78 まで冷却した。

予備冷却した14の溶液 (13 mg, 34 μmol) を無水THF (300 μl) 中で、カニユールを通して加え、反応混合物を3時間 - 78 で攪拌した。その後、反応混合物を4 で一晩攪拌した。その後、エチルアセテートを加えて、有機層をブラインで洗浄し、無水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>で乾燥させて減圧下で濃縮した。残渣をWatersシリカゲルSep - Packカートリッジ (ヘキサン ~ 2% エチルアセテート / ヘキサン、Zorbax - silica 10 x 250 mm) で精製して、その後HPLC (0.05% 2 - プロパノール / ヘキサン、4 mL / 分、Zorbax - silica 10 x 250 mm) を行い、13.5 mg (18 μmol, 収率53%) の保護されたビタミンD<sub>3</sub>である16を得た。UV (ヘキサン)  $\lambda_{max} = 242, 251, 261 \text{ nm}$ ; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 0.06 (3H, s), 0.11 (3H, s), 0.17 (3H, s), 0.19 (3H, s), 0.56 (6H, q, J = 8.0 Hz), 0.76 (3H, d, J = 6.7 Hz), 0.94 (9H, t, J = 8.0 Hz), 2.18 (1H, dd, J = 12.5 Hz, J = 8.1 Hz), 2.86 (1H, brd, J = 13.8 Hz), 4.42 (2H, m), 4.93 (1H, s), 4.96 (1H, s), 5.92 (1H, d, J = 11.1 Hz), 6.19 (1H, d, J = 11.1 Hz); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) - 5.1, - 4.9, - 4.9, - 4.8, 6.8, 7.1, 18.2, 18.2, 22.3, 23.1, 25.8, 25.8, 27.8, 29.0, 29.7, 29.8, 29.9, 31.3, 33.6, 36.5, 38.7, 45.3, 47.5, 49.0, 50.2, 52.3, 71.9, 72.3, 73.4, 106.3, 113.7, 122.4, 132.9, 143.8, 152.9; MS (EI) m/z 687 (6), 628 (2), 612 (100), 583 (6), 555 (4), 480 (29), 366 (44); C<sub>40</sub>H<sub>75</sub>O<sub>3</sub>Si<sub>3</sub> ([M - t - Bu]<sup>+</sup>) の精密質量の計算値は687.5024であり、実測値は687.5028であった。

## 【0063】

16 (13 mg, 17 μmol) を無水THF (5 mL) に溶解した。その後、THF 中の1 M フッ化物テトラブチルアンモニウムの溶液 (260 μl, 260 μmol) を滴下して加えた後、活性化モレキュラーシーブ4A (200 mg) を加えた。反応混合物をアルゴン下で2時間攪拌した。その後、溶媒を減圧下で除去して、残渣をWatersシリカゲルSep - Packカートリッジ (40 ~ 50% エチルアセテート / ヘキサン) で精製した。未精製の17をその後HPLC (20% 2 - プロパノール / ヘキサン、4 mL / 分、Zorbax - silica 10 x 250 mm) で精製して、3.8 mg (9.5 μmol, 収率56%) の17をR<sub>t</sub> = 5.58分で得た。; UV (EtOH)  $\lambda_{max} = 242, 250, 260 \text{ nm}$ ; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 0.77 (3H, d, J = 6.6 Hz), 1.21 (6H, s), 2.58 (1H, dd, J = 13.2 Hz, J = 3.9 Hz), 2.81 (1H, dd, J = 13.3 Hz, J = 4.4 Hz), 2.87 (1H, brd, J = 13.9 Hz), 4.48 (2H, m), 5.10 (1H, s), 5.11 (1H, s), 5.97 (1H, d, J = 11.3 Hz), 6.35 (1H, d, J = 11.3 Hz); MS (EI) m/z 402 (39, M<sup>+</sup>), 384 (41), 366 (14), 351 (11), 299 (58), 231 (36), 142 (58), 69 (100); C<sub>26</sub>H<sub>42</sub>O<sub>3</sub> の精密質量の計算値は402.3134であり実測値は402.3121であった。

## 【0064】

治療の目的で、式Iを特徴とする本発明の新規化合物は、当業界で慣用されている方法により、無毒性溶媒中の溶液として、若しくは、適当な溶媒あるいは担体中の乳液、懸濁

液あるいは分散液として、又は、固形の担体と共にピル、タブレット、あるいはカプセルとして、医薬的用途を目的として処方することができる。いかなる処方もまた、安定剤、抗酸化剤、結合剤、着色剤又は乳化の若しくは味覚修飾の薬剤等の医薬的に許容され、かつ無毒性の賦形剤を包含してもよい。

【0065】

本化合物は、経口的、局所的、非経口的又は経皮的に投与できる。本化合物は、注射により、又は静脈内注入若しくは適当な滅菌溶液により、又は消化管経由で液体若しくは固体薬剤により、又はクリーム、軟膏、パッチ、若しくは経皮的適用に適する類似のベヒクルにより、有利に投与される。用量は、本化合物の1日あたり $0.01\mu\text{g} \sim 100\mu\text{g}$ 、好ましくは、約 $0.1\mu\text{g}/\text{日} \sim 50\mu\text{g}/\text{日}$ は、治療目的に適しており、前記用量は、当業界でよく理解されているように治療する疾患の重症度及び対象の反応に応じて調製される。新規化合物は作用の特異性を呈するため、各々は、単独で又は、1 - ヒドロキシビタミン $\text{D}_2$ 若しくは $\text{D}_3$ 、又は1, 25 - ジヒドロキシビタミン $\text{D}_3$ 等の他の活性ビタミン $\text{D}$ 化合物の段階的な用量と共に適当に投与し、その場合、異なる程度の骨ミネラル動員及びカルシウム輸送刺激が有利に見られる。

10

【0066】

上記した乾癬及び他の悪性腫瘍の治療において用いる組成物には、有効量の、活性成分として上記式Iを特徴とする1又はそれ以上の2 - アルキリデン18, 19 - ジノルビタミン $\text{D}$ 化合物及び適当な担体が含まれる。本発明で用いられる本化合物の有効量は、組成物 $\text{g m}$ あたり約 $0.01\mu\text{g}$ から約 $100\mu\text{g}$ で、好ましくは、組成物のうち約 $0.1\mu\text{g}/\text{g m}$ から約 $50\mu\text{g}/\text{g m}$ であり、約 $0.01\mu\text{g}/\text{日}$ から約 $100\mu\text{g}/\text{日}$ 、好ましくは、約 $0.1\mu\text{g}/\text{日} \sim 50\mu\text{g}/\text{日}$ の用量で、局所的、経皮的、経口的、又は非経口的に投与できる。

20

【0067】

本化合物は、クリーム、ローション、軟膏、局所パッチ、ピル、カプセル若しくはタブレット、又は、医薬的に無毒かつ許容される溶媒若しくは油中の溶液、乳液、分散液、懸濁液等の液体剤型として処方され、そのような製剤には、安定剤、抗酸化剤、乳化剤、着色剤、結合剤、若しくは、味覚修飾剤等の他の医薬的に無毒性で有益な成分を添加して含有できる。

【0068】

30

本化合物は、正常のマクロファージに対する前骨髄球の分化をもたらすのに十分な量を有利に投与できる。上記の用量は最適であり、所定量は、当業界でよく理解されているように、疾患の重症度、対象の体調及び反応により調製される。

【0069】

本発明の処方には、医薬的に許容可能な担体と共に活性成分が含まれ、それゆえ、かつ、場合によっては、他の治療的成分が含まれる。本担体は、本処方の他の成分と競合するという意味では「許容される」べきものであり、受容者それ自体に有害であってはならない。

【0070】

経口投与に適する本発明の処方は、カプセル、サシェ、タブレット又はトローチ剤等の不連続な単位であり、各々は所定量の活性成分を含み、粉末、若しくは顆粒の剤型で、水性液体若しくは非水性液体中の液体若しくは懸濁液の剤型で、又は油中水乳液若しくは水中油乳液の剤型である。

40

【0071】

直腸投与処方、活性成分とココアバター等の担体を組み入れた坐薬の剤型又は浣腸剤の剤型である。

【0072】

非経口投与に適する処方は好都合には、好ましくは受容者の血液と等浸透圧である、活性成分の滅菌した、油性の又は水性の調製物を含む。

【0073】

50



局所投与に適する処方には、塗布薬、ローション、アプリアント；クリーム、軟膏、若しくはペースト等の油中水乳液若しくは水中油乳液、又はドロップ等の液体若しくは分散液；又はスプレー等の液体又は半液体の調製物があげられる。

【0074】

喘息治療として、粉末、自己プロペラ式 (self-propelling) 又はスプレー処方の吸入、スプレー缶での分散、噴霧器又はアトマイザーを用いることができる。本処方、分散する場合、好ましくは、 $10 \sim 100 \mu$  の範囲の粒子サイズである。

【0075】

本処方、用量単位剤型中に好都合に存在し、製薬業界で慣用されているいかなる方法によっても調製できる。「用量単位」という用語は、単位を意味し、すなわち、患者に、そのような活性成分か、又はそのような活性成分と固体若しくは液体の医薬的希釈剤若しくは担体との混合物を含む、生理的及び化学的に安定な単位用量として投与しうる単一用量を意味する。

【0076】

2 - アルキリデン - 18, 19 - ジノル持続放出化合物  
生体内で所望かつ高度に有利な生物学的活性パターンを呈する修飾したビタミンD化合物、すなわち、より緩慢に開始し、より活性の持続期間が長い化合物もまた本明細書で用いることができる。

【0077】

構造的には、これらの所望の生物学的特性を有する修飾ビタミンD化合物の主要な性質は、それらが2 - アルキリデン - 18, 19 - ジノル - ビタミンD類似体であり、炭素25のヒドロキシ基に加水分解性基が結合しており、場合によっては、分子中に他のヒドロキシ基が存在していてもよい。結合した基の様々な構造的な要因、例えば、系、大きさ、構造的複雑性に応じて、これらの誘導体は活性な2 - アルキリデン - 18, 19 - ジノル - ビタミンD類似体を生体内で異なる比率で加水分解し、すなわち、体内で生物学的に活性なビタミンD化合物の「持続性放出」をもたらす。

【0078】

このような化合物の生体内活性プロファイルである「持続的放出」は、もちろん、誘導物質の混合物を用いて、又は1又はそれ以上のビタミンD誘導物質及び非誘導性ビタミンD化合物からなる混合物を用いて、さらに調節することができる。

【0079】

上記で同定したビタミン誘導物質の重要な構造的特性は、分子中の炭素25のヒドロキシ基に結合する加水分解基の存在であることを強調することは重要である。その位置での加水分解基の存在により、得られた誘導物質は、上記した所望の「持続性放出」生物学的活性プロファイルを獲得する。本分子で生じる他のヒドロキシ官能基（例えば、炭素1又は3でのヒドロキシ官能基）は、遊離ヒドロキシ基として、又は1又はそれ以上のヒドロキシ基はまた加水分解可能な基に誘導体化される。

【0080】

上記誘導物質中に存在する「加水分解基」は、好ましくは、アシル基であり、すなわち、 $Q^1CO$  - 系の基であり、ここで、 $Q^1$  は水素、炭素数が1～18で、直鎖、環状、分岐状、飽和又は不飽和化してもよい炭化水素基を表す。従って、例えば、炭化水素基は、直鎖若しくは分岐のアルキル基、又は、1又はそれ以上の二重結合がある直鎖若しくは分岐のアルケノイル基か、又は、場合によっては、置換したシクロアルキル若しくはシクロアルケニル基、又は置換した若しくは非置換のフェニル、ベンジル、又はナフチル等の芳香族基である。特に、好ましいアシル基はアルカノイル又はアルケノイル基であり、いくつかの典型的な例としては、フォルミル、アセチル、プロパノイル、ヘキサノイル、イソブチリル、2 - プテノイル、パルミトイル、若しくは、オレオイルがあげられる。加水分解可能な基の他の適当な系としては、ヒドロカルビルオキシカルボニル (hydrocarbonyl) 基、すなわち、 $Q^2-O-CO$  - の系の基であり、ここで、 $Q^2$  は上記したように $C_1$  から $C_{18}$  の炭化水素基である。そのような炭化水素基

10

20

30

40

50



ノナノエートであり、ここで、 $Y_1 = Y_2 = Y_3$  で  $CH_3(CH_2)_7CO$  であり；  
2 - メチレン - 18 , 19 - ジノル - 1 , 25 (OH)<sub>2</sub> - D<sub>3</sub> - 25 - アセートであり、ここで、 $Y_1 = Y_2$  で H であり、 $Y_3$  は  $CH_3CO$  である。

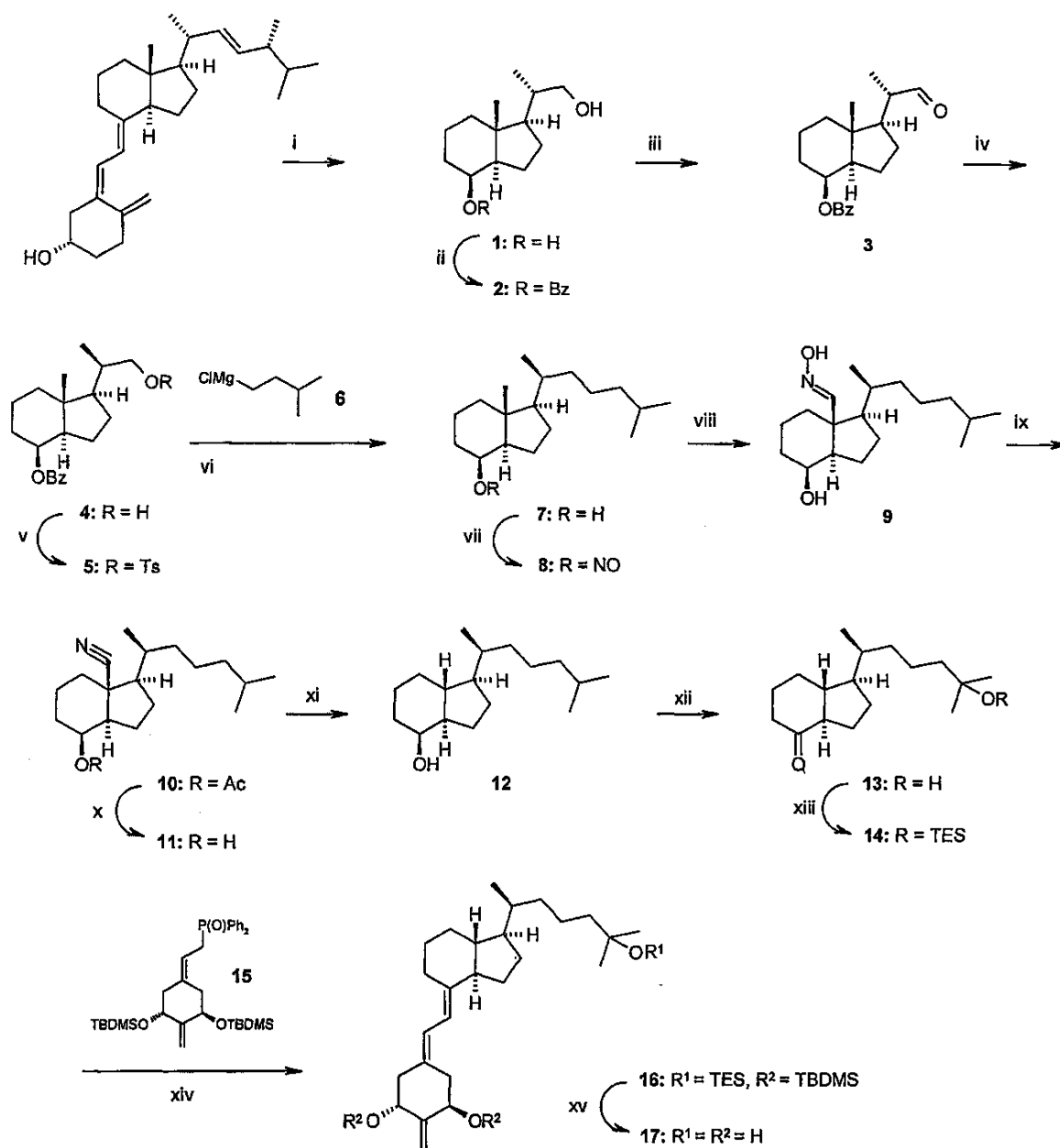
【 0 0 8 8 】

これらの化合物は公知の方法で調製できる。例えば、米国特許公報第 5 , 8 4 3 , 9 2 7 号を参照されたい。

スキーム 1

【 0 0 8 9 】

【 化 1 4 】



(i)  $O_3$ , MeOH, py;  $NaBH_4$ , 70%. (ii)  $BzCl$ , DMAP, py;  $KOH/EtOH$ , 93%. (iii)  $SO_3/py$ , DMSO,  $Et_3N$ ,  $CH_2Cl_2$ , 90%.  
(iv) 40% aq.  $n-Bu_4NOH$ ,  $CH_2Cl_2$ ;  $NaBH_4$ , EtOH, 42%. (v)  $TsCl$ ,  $Et_3N$ , DMAP,  $CH_2Cl_2$ , 90%. (vi) **6**,  $Li_2CuCl_4$ , THF, 58%. (vii)  $t-BuONO$ ,  $CHCl_3$ . (viii)  $hv$ ,  $C_6H_6$ ;  $i-PrOH$ , 51% (from **7**). (ix)  $Ac_2O$ , 94%. (x)  $MeONa/MeOH$ , 91%. (xi)  $K$ , HMPA,  $t-BuOH$ , 78%. (xii)  $RuCl_3 \cdot H_2O$ ,  $NaIO_4$ ,  $CCl_4$ ,  $CH_3CN$ ,  $H_2O$ , 17%. (xiii)  $TESOTf$ , 2,6-lutidine,  $CH_2Cl_2$ , 83%.  
(xiv) **15**,  $PhLi$ , THF, 53%. (xv) TBAF, molecular sieves 4A, THF, 56%.

【 0 0 9 0 】

2 - アルキリデン - 18 , 19 - ジノル - ビタミン D 化合物の生物学的活性

10

20

30

40

50

## 図1 - 競合的VDR結合

ブタ腸管受容体に対する類似体の競合的結合を、Dameら (Biochemistry 25, 4523-4534, 1986) の方法で行った。

## 【0091】

## 試験材料

## タンパク質源

全長組換えラット受容体をE. coli BL21 (DE3) Codon Plus RIL細胞で発現させて、2つの異なるカラムクロマトグラフィー系を用いて精製した。最初の系は本タンパク質のC末端ヒスチンタグを用いるニッケル親和性樹脂である。本樹脂から溶出した本タンパク質をさらに、イオン交換クロマトグラフィー (S-Sepharose Fast Flow) で精製した。精製タンパク質のアリコート液体窒素中で迅速に冷凍して、使用時まで-80℃で保存した。使用には、本タンパク質を0.1% Chaps界面活性剤を添加したTEDK50 (50 mM Tris, 1.5 mM EDTA, pH 7.4, 5 mM DTT, 150 mM KCl) で希釈して、添加した放射性標識リガンドのうち20%以上が前記受容体と結合しないようにした。

## 【0092】

## 試験薬剤

非標識リガンドをエタノールに溶解して、紫外分光光度計を用いてその濃度を測定した。一連の希釈物を調製して、様々な非標識リガンドを、アッセイ混合物に存在する最終エタノール濃度 (< 10%) を変えずに前記タンパク質に加えた。放射性標識リガンド ( $^3\text{H}$ -1, 25 (OH) $_2$ D $_3$ ) を最終濃度1 nMとなるようにエタノールに加えた。

## 【0093】

## アッセイ条件

放射性標識の及び非標識のリガンドを希釈した100 µlのタンパク質溶液に加えて混合し、結合平衡が起こるまで一晩インキュベートした。

## 【0094】

翌日、100 µlのヒドロキシルアパタイトスラリー (50%) を各チューブに加え、30分間10分間隔で混合した。ヒドロキシルアパタイトを遠心分離によりペレット化した後、0.5% Triton X-100含有Tris-EDTA緩衝液 (50 mM Tris, 1.5 mM EDTA, pH 7.4) で3回洗浄した。最終洗浄後、ペレットを、Biosafe IIのシンチレーションカクテル入りのシンチレーション管に移して混合して、シンチレーションカウンターに設置した。総結合を、放射性標識リガンドのみが入っているチューブから測定した。競合の比率を、総dpm結合数からヒドロキシルアパタイトペレット中に残存するdpm数を減じて、総dpm結合数で割り、100をかけることにより算出した。

## 【0095】

## 図2 HL-60細胞分化

HL-60の前骨髄球の単球への分化をOstremら (J. Biol. Chem. 262, 14164-14171, 1987) が報告したように測定した。

## 【0096】

## 試験材料

## 試験薬剤

試験薬剤をエタノールに溶解して、紫外分光光度計 (2 MD: モル吸光係数 = 42,000 及び  $I_{\text{max}} = 252 \text{ nm}$ ; 1, 25 (OH) $_2$ D $_3$ : モル吸光 = 18,200 及び  $I_{\text{max}} = 265 \text{ nm}$ ) を用いてその濃度を測定した。一連の希釈物を調製して、様々な薬剤濃度を細胞培養液中に存在するエタノールの最終濃度 (< 0.2%) を変えずに試験した。

## 【0097】

## 細胞

ヒト前骨髄球性白血病 (HL60) 細胞を10% ウシ胎仔血清含有RPMI-1640で

増殖させた。細胞を5%CO<sub>2</sub>存在下37℃でインキュベートした。

【0098】

アッセイ条件

HL60細胞を $1.2 \times 10^5$ 細胞/mlで播種した。播種18時間後細胞にエタノール中で薬剤を投与した。投与後4日目に、細胞を収集して、ニトロブルーテトラゾリウム還元アッセイ(Collins et al., 1979; J. Exp. Med. 149: 969-974, Appendix A)を行った。合計200個の細胞をカウントし、細胞内に黒青フォルマザン(formazan)堆積物を含有する数を記録することにより分化細胞の比率を測定した。単球細胞への分化の確認は、食作用活性を測定することにより決定した(データは示さず)。全ての薬剤濃度は、2重に試験した。

10

【0099】

図3 輸送活性

輸送活性を、ルシフェラーゼレポーター遺伝子上流にある24-水酸化酵素(240Hase)遺伝子プロモーターを用いて安定して形質転換できるROS17/2.8(骨)細胞で測定した(Arbour et al., 1998)。細胞に様々な用量を与えた。投与16時間後に細胞を収集して、ルシフェラーゼ活性を照度計で測定した。

【0100】

図3中の「RLU」は相対ルシフェラーゼ単位である。

【0101】

図4 - 腸管カルシウム輸送

20

離乳雄Sprague-DawleyラットをHarlanから購入した。受領後、動物を個々の尾にマーキングして識別し、カルシウムを減らした(0.02%)食餌に切り替える前1週間はカルシウム含有(0.47%)食餌を与えた(Suda et al., Purified Rodent Diet - Diet 11; Appendix A)。水並びに0.47%又は0.02%のカルシウム及び0.3%リンを含有する精製げっ歯類食(Diet 11; Appendix A)を適宜与えた。試験中、動物に最初の1週間は0.47%カルシウム含有精製食餌を与え、その後の3週間は0.02%カルシウム含有食餌を与えた。ラットに0.47%カルシウム含有精製食餌を与えた後、残りの試験期間は0.02%カルシウム含有食餌に切り替えた。0.02%カルシウム含有食餌に戻した後の2週間目に、薬剤投与を開始した。全ての薬剤を100マイクロリットルのプロピレングリコールで腹腔内投与した。続けて4つの薬剤を約24時間の間隔をあけて投与した。最終投与から24時間後に、各実験動物の尾動脈から血液を採取した。血液を室温で凝集した後、15分間3000×gで遠心分離した。血清をポリプロピレン管に移して、-20℃で保存した。0.1%塩化ランサム(lanthum)に血清を希釈し、原子吸光度計(Perkin Elmer Model 3110, Shelton, CT)で吸光度を測定してカルシウムレベルを決定した。最終投与から24時間後に反転腸管法を用いて生体外で腸管カルシウム輸送を評価した。

30

【0102】

図5及び6 - 骨カルシウム動員

離乳雄Sprague-DawleyラットをHarlanから購入した。受領後、動物を個々の尾にマーキングして識別し、カルシウムを減らした(0.02%)食餌に切り替える前1週間はカルシウム含有(0.47%)食餌を与えた(Suda et al., Purified Rodent Diet - Diet 11; Appendix A)。水並びに0.47%又は0.02%のカルシウム及び0.3%リンを含有する精製げっ歯類食(Diet 11; Appendix A)を適宜与えた。試験中、動物に最初の1週間は0.47%カルシウム含有精製食餌を与え、その後の3週間は0.02%カルシウム含有食餌を与えた。ラットに0.47%カルシウム含有精製食餌を与えた後、残りの試験期間は0.02%カルシウム含有食餌に切り替えた。0.02%カルシウム含有食餌に戻してから2週間、動物が尾出血(tail-bleed)(基準血清カルシウム)した後、薬剤投与を開始した。全ての薬剤は100マイクロリットルのプロピレングリコールで腹腔内

40

50

投与した。薬剤を連続して4回、概ね24時間ごとに投与した。最終投与24時間後、血液を各々の実験動物の尾動脈から採取した。血液は、室温で凝集させた後、 $3000 \times g$ で15分間遠心した。血清をポリプロピレンチューブに移して $-20^{\circ}\text{C}$ で保存した。 $0.1\%$ 塩化ランサム (lanthum) に血清を希釈し、原子吸光度計 (Perkin Elmer Model 3110, Shelton, CT) で吸光度を測定してカルシウムレベルを決定した。

#### 【0103】

生物学的データの解析

図1は、(20S)-2-メチレン-18,19-ジノル-1,25-ジヒドロキシビタミン $\text{D}_3$  (「DP035」という場合もある)、(20S)-2-メチレン-19-ノル-1,25-ジヒドロキシビタミン $\text{D}_3$  (「2MD」という場合もある)と1,25-ジヒドロキシビタミン $\text{D}_3$  (「C001」という場合もある)の1,25-ジヒドロキシビタミン $\text{D}$ のブタ腸内核受容体への結合における相対活性を示す。図1では、(20S)-2-メチレン-18,19-ジノル-1,25-ジヒドロキシビタミン $\text{D}_3$ がブタ腸内細胞核由来の1,25-ヒドロキシビタミン $\text{D}_3$ 受容体との結合において極めて活性であることが示される。

10

#### 【0104】

本発明の2-アルキリデン-18,19-ジノル化合物は、悪性腫瘍の分化を促進する効能が高く、腸内カルシウム輸送活性が比較的高く、骨からのカルシウム動員が比較的低いという生物学的活性の様相を呈するこれは、図2~6に概説されている、(20S)-2-メチレン-18,19-ジノル-1,25-ジヒドロキシ-ビタミン $\text{D}_3$ で得られた生物学的アッセイの結果により示される。図2は、公知の代謝産物である1,25-ジヒドロキシビタミン $\text{D}_3$  (C001)及びその類似体である2MDと、本願発明である(20S)-2-メチレン-18,19-ジノル-1,25-ジヒドロキシビタミン $\text{D}_3$  (DP035)の培養中のヒト白血病細胞 (HL-60細胞)の単球への分化を誘導する活性を比較したものを示す。

20

分化活性は標準アッセイで評価し、NBT還元 (ニトロブルーテトラゾリウム還元)と略す。アッセイは、例えば、De Lucaら米国特許番号4,717,721号及びOstrem et al, J. Biol. Chem. 262, 14164, 1987による公知の手段で行った。アッセイでは、試験化合物の分化活性は、試験化合物の所定の濃度に応じて正常細胞に分化したHL-60細胞の比率で表した。

30

#### 【0105】

図2に要約した結果は、明らかに、類似体である(20S)-2-メチレン-1,25-ジヒドロキシ-18,19-ジノル-ビタミン $\text{D}_3$  (DP035)が、1,25-ジヒドロキシビタミン $\text{D}_3$  (C001)よりも白血病細胞の分化を誘導する効能が高いことを示す。従って、NBTアッセイでは、細胞の90%近くが、 $1 \times 10^{-7} \text{ M}$ の濃度の1,25-ジヒドロキシビタミン $\text{D}_3$  (C001)により分化するように誘導され、同程度の分化は、 $1 \times 10^{-7} \text{ M}$ の濃度の(20S)-2-メチレン-18,19-ジノル-1,25-ジヒドロキシビタミン $\text{D}_3$  (DP035)で達成される。

40

#### 【0106】

図3は、骨細胞において、(20S)-2-メチレン-18,19-ジノル-1,25-ジヒドロキシビタミン $\text{D}_3$  (DP035)が、1,25-ジヒドロキシビタミン $\text{D}_3$ よりも転写活性が高いことを示す。これは細胞分化及び細胞増殖をおこす直接的な細胞活性であることから、この結果は、図2の細胞分化活性と共に、DP035は乾癬に非常に有効であることを示唆するものである。本データはまた、DP035は、特に、白血病、大腸がん、乳癌、皮膚癌及び前立腺に対する抗癌剤としての顕著な活性を有することを示す。

#### 【0107】

図4~6は、公知の活性代謝産物である、1,25-ジヒドロキシビタミン $\text{D}_3$  (C001)と、19-ノル-類似体である2MD、及び本願発明である(20S)-2-メ

50

チレン - 18 , 19 - ジノル - 1 , 25 - ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub> (DP035) のカルシウム血症活性を比較したものを示す。図4は、腸内カルシウム輸送活性について、(20S) - 2 - メチレン - 18 , 19 - ジノル - 1 , 25 - ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub> (DP035) は1 , 25 - ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub> (C001) と同様の活性があることを示す。また、図5及び6は、(20S) - 2 - メチレン - 18 , 19 - ジノル - 1 , 25 - ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub> (DP035) は骨からのカルシウムを動員する能力があるにもかかわらず、これに関しては、1 , 25 - ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub> (C001) と同様の活性でないことが明らかである。従って、要するに、(20S) - 2 - メチレン - 18 , 19 - ジノル - 1 , 25 - ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub> (DP035) は、悪性腫瘍細胞の分化を誘導する高い効能、比較的高い腸内カルシウム輸送活性及び比較的低い骨カルシウム動員活性を組合せた選択的活性プロファイルを示す。

10

【図面の簡単な説明】

【0108】

【図1】図1は、本明細書に記載し、クレームで特定した(20S) - 2 - メチレン - 18 , 19 - ジノル - 1 , 25 - ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub> (DP035) と1 , 25 - ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub> (C001) の1 , 25 - ジヒドロキシビタミンDのブタ腸内核受容体への結合における相対活性を示すグラフである。

【図2】図2は、1 , 25 - ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub> (C001) 、(20S) - 2 - メチレン - 19 - ノル - 1 , 25 - ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub> (2MD) 及び(20S) - 2 - メチレン - 18 , 19 - ジノル - 1 , 25 - ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub> (DP035) の濃度に応じたHL-60細胞分化率を示すグラフである。

20

【図3】図3は、1 , 25 - ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub> (C001) 、(20S) - 2 - メチレン - 19 - ノル - 1 , 25 - ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub> (2MD) 及び(20S) - 2 - メチレン - 18 , 19 - ジノル - 1 , 25 - ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub> (DP035) の濃度に応じた転写活性を示すグラフである。

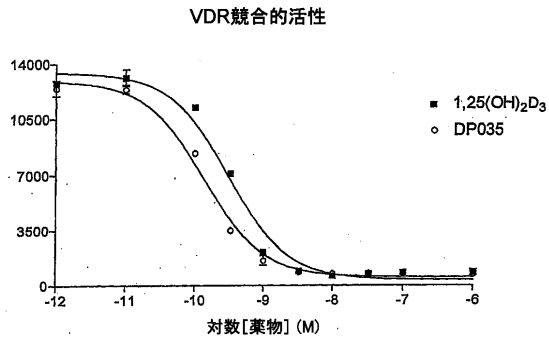
【図4】図4は、コントロール(ビヒクル)及び1 , 25 - ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub> (C001) と比較した、様々な用量の(20S) - 2 - メチレン - 18 , 19 - ジノル - 1 , 25 - ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub> (DP035) の腸内カルシウム輸送活性を示す棒グラフである。

【図5】図5は、コントロール(ビヒクル)及び1 , 25 - ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub> (C001) と比較した、様々な用量の(20S) - 2 - メチレン - 18 , 19 - ジノル - 1 , 25 - ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub> (DP035) の骨カルシウム動員活性を示す棒グラフである。

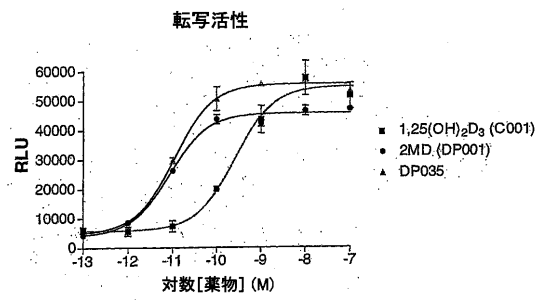
30

【図6】図6は、様々な用量で、1 , 25 - ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub> (C001) と比較した、(20S) - 2 - メチレン - 18 , 19 - ジノル - 1 , 25 - ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub> (DP035) の骨カルシウム動員活性を示す棒グラフである。

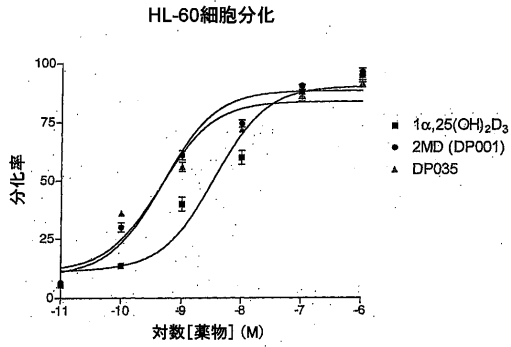
【図 1】



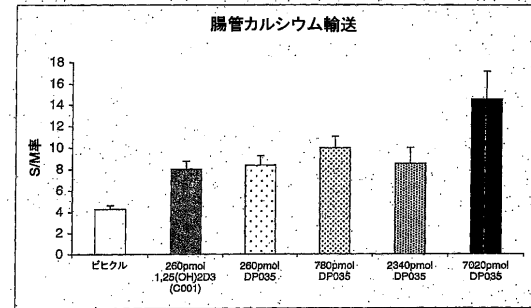
【図 3】



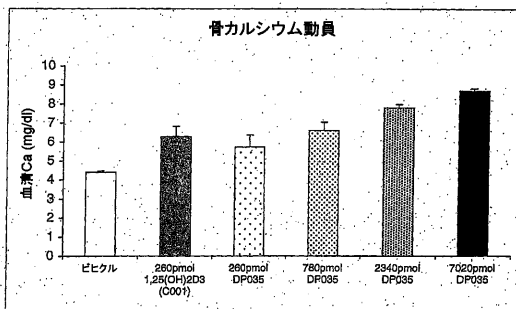
【図 2】



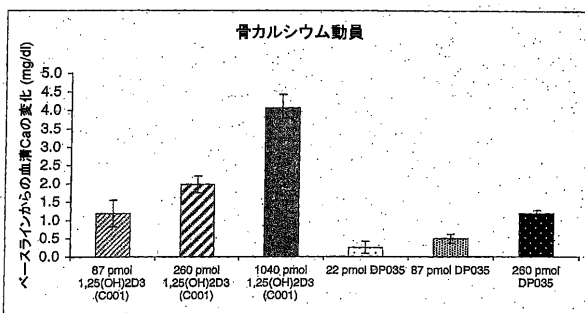
【図 4】



【図 5】



【図 6】





## フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I
A 6 1 P 35/00	(2006.01)	A 6 1 P 35/00
A 6 1 P 37/02	(2006.01)	A 6 1 P 37/02
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 17/00	(2006.01)	A 6 1 P 17/00
A 6 1 P 1/04	(2006.01)	A 6 1 P 1/04

(74)代理人 100096013

弁理士 富田 博行

(74)代理人 100091638

弁理士 江尻 ひろ子

(72)発明者 デルーカ, ヘクター・エフ

アメリカ合衆国ウィスコンシン州 5 3 5 3 1, ディーアフィールド, ハイウェイ・ビービー 1 8 0 9

(72)発明者 バーリック, ラファル

アメリカ合衆国ウィスコンシン州 5 3 7 0 5, マディソン, イーグル・ハイツ 7 0 8, アpartment エイチ

(72)発明者 グルズィワクス, パウエル・ケイ

アメリカ合衆国ウィスコンシン州 5 3 7 0 3, マディソン, サウス・パセット・ストリート 2 1 8, アpartment 1 0 4

(72)発明者 ブラム, ロリ・エイ

アメリカ合衆国ウィスコンシン州 5 3 5 0 3, アリーナ, ハイウェイ・エイチ 6 1 3 9

(72)発明者 シシンスキ, ラファル・アール

ポーランド国 ピーエル - 0 4 - 0 3 0 ワルシャワ, ウル・ワズズイントナ 3 3 エム

審査官 前田 恵彦

(56)参考文献 特表平 1 0 - 5 0 9 7 1 5 ( J P , A )

特表平 1 0 - 5 0 9 7 1 6 ( J P , A )

特表 2 0 0 7 - 5 1 2 3 7 6 ( J P , A )

特表 2 0 0 7 - 5 1 2 3 7 1 ( J P , A )

特表平 0 9 - 5 0 0 1 1 7 ( J P , A )

Synlett, 1 9 9 7 年, (10), p.1167-1170

Journal of Medicinal Chemistry, 1 9 9 6 年, 39(22), p.4497-4506

(58)調査した分野(Int.Cl., D B 名)

C07C 401/00

A61K 31/00

CA/REGISTRY(STN)