

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2007-506765
(P2007-506765A)

(43) 公表日 平成19年3月22日(2007.3.22)

(51) Int.C1.	F 1	テーマコード (参考)
C07C 401/00	(2006.01)	C 07 C 401/00
A 61 K 31/593	(2006.01)	A 61 K 31/593
A 61 P 3/02	(2006.01)	A 61 P 3/02
A 61 P 3/10	(2006.01)	A 61 P 3/10
A 61 P 11/00	(2006.01)	A 61 P 11/00

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 88 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2006-528227 (P2006-528227)	(71) 出願人	505403223 ビオクセル エッセ ピ ア イタリア国 イ-20132 ミラノ 5 8 ヴィーア・オルジェッティーナ
(86) (22) 出願日	平成16年9月24日 (2004.9.24)	(74) 代理人	100102668 弁理士 佐伯 慎生
(85) 翻訳文提出日	平成18年5月23日 (2006.5.23)	(72) 発明者	ミラン アール ウスココヴィク アメリカ合衆国 ニュージャージー州 O 7043 アッパー・モントクレア ハイ ランド・アベニュー 253
(86) 國際出願番号	PCT/US2004/031412	(72) 発明者	ルチアーノ アドリニ イタリア国 イ-20133 ミラノ 8 ヴィーア・リーギ
(87) 國際公開番号	W02005/030222		
(87) 國際公開日	平成17年4月7日 (2005.4.7)		
(31) 優先権主張番号	60/505,735		
(32) 優先日	平成15年9月24日 (2003.9.24)		
(33) 優先権主張国	米国(US)		
(31) 優先権主張番号	0322395.5		
(32) 優先日	平成15年9月24日 (2003.9.24)		
(33) 優先権主張国	英国(GB)		
(31) 優先権主張番号	0404567.0		
(32) 優先日	平成16年3月1日 (2004.3.1)		
(33) 優先権主張国	英国(GB)		

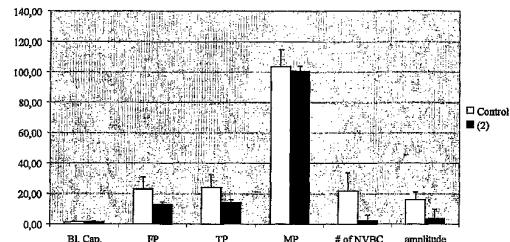
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 1, 3-ジアシル化26, 27-アルキル/ハロアルキルビタミンD₃化合物及びその使用方法

(57) 【要約】

本発明は、炭素(16)が単結合又は二重結合、及び炭素(23)が単結合、二重結合又は三重結合である、メチル又はシクロプロピルで炭素(20)位が置換されている、コレカルシフェロールの(1,3)ジアシル化ビタミンD₃類縁体を提供する。種々のアルキル又はハロアルキル置換基が炭素(25)位に取り込まれている。本発明は、薬学的に許容されるそれらのエステル、塩及びプロドラッグを提供するものであり、更に、ビタミンD₃が関与する症状を治療するために当該化合物を使用する方法、及び当該化合物を含有する医薬組成物も開示している。

【選択図】 図5

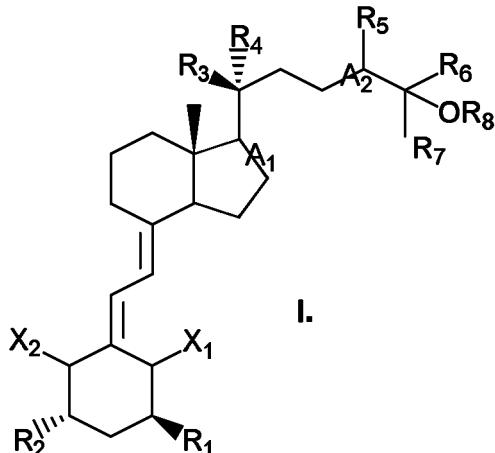


【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 I :

【化 0 0 1】



10

20

30

40

50

(式中、

A₁ は単結合又は二重結合であり；A₂ は単結合、二重結合又は三重結合であり；X₁ 及び X₂ は、各々独立して H₂ 又は = C H₂ であり、但し、X₁ 及び X₂ は両者共に = C H₂ であることはなく；R₁ 及び R₂ は、各々独立して、O C (O) C₁ - C₄ アルキル、O C (O) ヒドロキシアルキル又はO C (O) ハロアルキルであり；R₃、R₄ 及び R₅ は、各々独立して、水素、C₁ - C₄ アルキル、ヒドロキシアルキル又はハロアルキルであり、但し、A₂ が三重結合の場合 R₅ は存在せず、又は R₃ 及び R₄ は C₂ - C₆ シクロアルキルを形成し；R₆ 及び R₇ は、各々独立してアルキル又はハロアルキルであり；そしてR₈ は、H、C (O) C₁ - C₄ アルキル、C (O) ヒドロキシアルキル又はC (O) ハロアルキルであり；但し、A₁ が単結合であり、R₃ が水素であり、そして、R₄ がメチルであるならば、A₂ は二重結合又は三重結合である)で表される、ビタミン D₃ 化合物、及び薬学的に許容されるそれらのエステル、塩及びブロドラッグ。

【請求項 2】

X₁ が H₂ であり、且つ、X₂ が = H C₂ である、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 3】

X₁ 及び X₂ が H₂ である、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 4】

A₁ が単結合である、前記請求項のいずれかに記載の化合物。

【請求項 5】

A₁ が二重結合である、前記請求項のいずれかに記載の化合物。

【請求項 6】

A₂ が単結合である、前記請求項のいずれかに記載の化合物。

【請求項 7】

A₂ が二重結合である、前記請求項のいずれかに記載の化合物。

【請求項 8】

A₂ が三重結合である、前記請求項のいずれかに記載の化合物。

【請求項 9】

R₃ が水素である、前記請求項のいずれかに記載の化合物。

【請求項 10】

R_4 が $C_1 - C_4$ アルキルである、前記請求項のいずれかに記載の化合物。

【請求項 11】

R_3 及び R_4 が、 C_{20} と共に $C_3 - C_6$ シクロアルキルを形成する、前記請求項のいずれかに記載の化合物。

【請求項 12】

R_3 及び R_4 が、 C_{20} と共にシクロプロピルを形成する、前記請求項のいずれかに記載の化合物。

【請求項 13】

R_1 及び R_2 が、各々独立して $OC(O)C_1 - C_4$ アルキルである、前記請求項のいずれかに記載の化合物。 10

【請求項 14】

R_1 及び R_2 が、各々 $OC(O)CH_3$ である、前記請求項のいずれかに記載の化合物。

【請求項 15】

R_6 及び R_7 が、各々独立してアルキル又はハロアルキルである、前記請求項のいずれかに記載の化合物。

【請求項 16】

R_6 及び R_7 が、各々独立してメチル又はトリフルオロメチルである、前記請求項のいずれかに記載の化合物。 20

【請求項 17】

R_6 及び R_7 が、各々メチルである、前記請求項のいずれかに記載の化合物。

【請求項 18】

R_6 及び R_7 が、各々エチルである、前記請求項のいずれかに記載の化合物。

【請求項 19】

R_6 及び R_7 が、各々トリフルオロメチルである、前記請求項のいずれかに記載の化合物。

【請求項 20】

R_6 がメチルであり、且つ、 R_7 がトリフルオロメチルである、請求項 9 に記載の化合物。 30

【請求項 21】

R_8 が、H 又は $C(O)C_1 - C_4$ アルキルである、前記請求項のいずれかに記載の化合物。

【請求項 22】

R_8 が H である、前記請求項のいずれかに記載の化合物。

【請求項 23】

R_8 が $C(O)CH_3$ である、前記請求項のいずれかに記載の化合物。

【請求項 24】

A_2 が二重結合である、請求項 4 に記載の化合物。

【請求項 25】

A_2 が三重結合である、請求項 4 に記載の化合物。

【請求項 26】

R_3 が H であり、且つ、 R_4 が $C_1 - C_4$ アルキルである、請求項 24 ~ 25 のいずれかに記載の化合物。 40

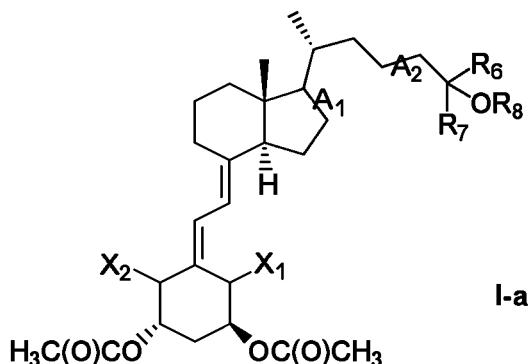
【請求項 27】

R_4 がメチルである、請求項 24 ~ 26 のいずれかに記載の化合物。

【請求項 28】

式 I - a :

【化 0 0 2】



10

20

30

40

50

で表される、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 2 9】

X_1 が $= CH_2$ であり、且つ、 X_2 が H_2 である、請求項 2 8 に記載の化合物。

【請求項 3 0】

X_1 及び X_2 が、各々 H_2 である、請求項 2 8 に記載の化合物。

【請求項 3 1】

A_1 が二重結合である、請求項 2 8 ~ 3 0 のいずれかに記載の化合物。

【請求項 3 2】

A_2 が单結合である、請求項 2 8 ~ 3 1 のいずれかに記載の化合物。

【請求項 3 3】

A_2 が二重結合である、請求項 2 8 ~ 3 1 のいずれかに記載の化合物。

【請求項 3 4】

A_2 が三重結合である、請求項 2 8 ~ 3 1 のいずれかに記載の化合物。

【請求項 3 5】

A_1 が单結合であり、且つ、 A_2 が二重結合である、請求項 2 8 ~ 3 0 のいずれかに記載の化合物。

【請求項 3 6】

A_1 が单結合であり、且つ、 A_2 が三重結合である、請求項 2 8 ~ 3 0 のいずれかに記載の化合物。

【請求項 3 7】

R_8 が、 H 又は $C(O)CH_3$ である、請求項 2 8 ~ 3 6 のいずれかに記載の化合物。

【請求項 3 8】

R_6 及び R_7 が、アルキルである、請求項 2 8 ~ 3 7 のいずれかに記載の化合物。

【請求項 3 9】

R_6 及び R_7 が、メチルである、請求項 2 8 ~ 3 8 のいずれかに記載の化合物。

【請求項 4 0】

R_6 及び R_7 が、エチルである、請求項 2 8 ~ 3 8 のいずれかに記載の化合物。

【請求項 4 1】

R_6 及び R_7 が、ハロアルキルである、請求項 2 8 ~ 3 7 のいずれかに記載の化合物。

【請求項 4 2】

R_6 及び R_7 が、トリフルオロアルキルである、請求項 4 1 に記載の化合物。

【請求項 4 3】

R_6 及び R_7 が、トリフルオロメチルである、請求項 4 1 又は 4 2 に記載の化合物。

【請求項 4 4】

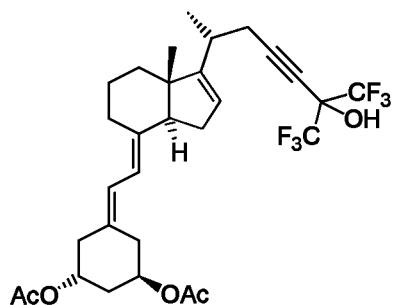
R_6 がトリフルオロメチルであり、且つ、 R_7 がメチルである、請求項 2 8 ~ 3 7 のいずれかに記載の化合物。

【請求項 4 5】

化合物が 1,3-ジ-O-アセチル-1,25-ジヒドロキシ-16-エン-23-イ

ン - 2 6 , 2 7 - ヘキサフルオロ - 1 9 - ノル - コレカルシフェロール :

【化 0 0 3】



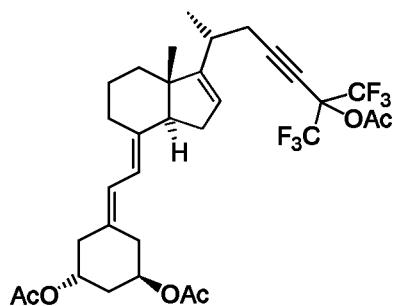
10

である、請求項 2 8 に記載の化合物。

【請求項 4 6】

化合物が 1 , 3 , 2 5 - トリ - O - アセチル - 1 , 2 5 - ジヒドロキシ - 1 6 - エン - 2 3 - イン - 2 6 , 2 7 - ヘキサフルオロ - 1 9 - ノル - コレカルシフェロール :

【化 0 0 4】



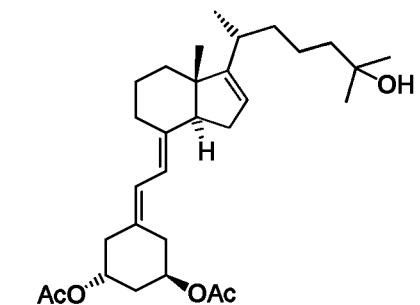
20

である、請求項 2 8 に記載の化合物。

【請求項 4 7】

化合物が 1 , 3 - ジ - O - アセチル - 1 , 2 5 - ジヒドロキシ - 1 6 - エン - 1 9 - ノル - コレカルシフェロール :

【化 0 0 5】



30

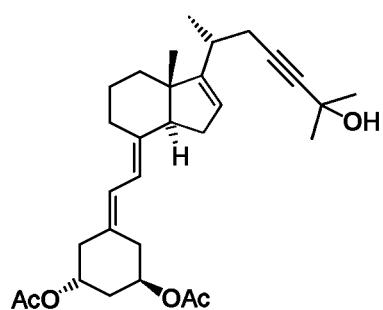
である、請求項 2 8 に記載の化合物。

【請求項 4 8】

化合物が 1 , 3 - ジ - O - アセチル - 1 , 2 5 - ジヒドロキシ - 1 6 - エン - 2 3 - イン - 1 9 - ノル - コレカルシフェロール :

40

【化006】



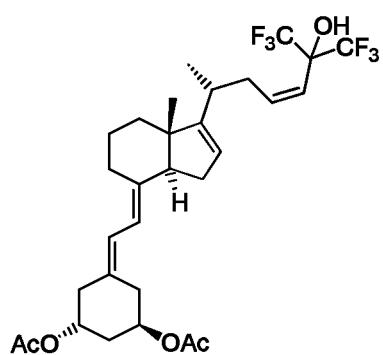
10

である、請求項 28 に記載の化合物。

【請求項 49】

化合物が 1, 3 - ジ - O - アセチル - 1, 25 - ジヒドロキシ - 16, 23Z - ジエン - 26, 27 - ヘキサフルオロ - 19 - ノル - コレカルシフェロール :

【化007】



20

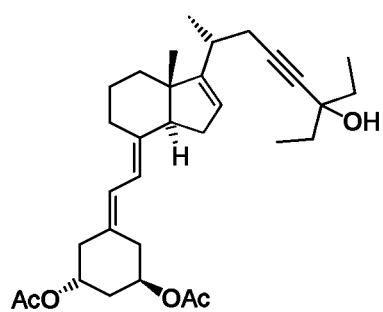
である、請求項 28 に記載の化合物。

【請求項 50】

化合物が 1, 3 - ジ - O - アセチル - 1, 25 - ジヒドロキシ - 16 - エン - 23 - イン - 26, 27 - ビスホモ - 19 - ノル - コレカルシフェロール :

【化008】

30



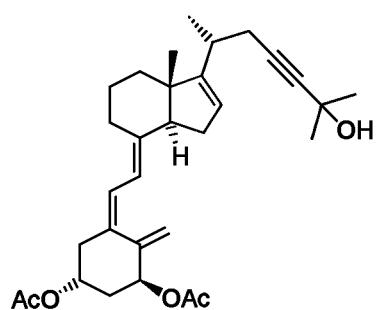
である、請求項 28 に記載の化合物。

40

【請求項 51】

化合物が 1, 3 - ジ - O - アセチル - 1, 25 - ジヒドロキシ - 16 - エン - 23 - イン - コレカルシフェロール :

【化 0 0 9】



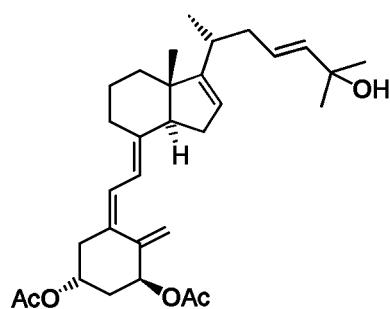
10

である、請求項 28 に記載の化合物。

【請求項 5 2】

化合物が 1, 3 - ジ - O - アセチル - 1, 25 - ジヒドロキシ - 16, 23 E - ジエン - コレカルシフェロール：

【化 0 1 0】



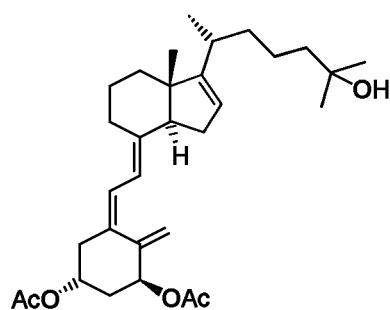
20

である、請求項 28 に記載の化合物。

【請求項 5 3】

化合物が 1, 3 - ジ - O - アセチル - 1, 25 - ジヒドロキシ - 16 - エン - コレカルシフェロール：

【化 0 1 1】



30

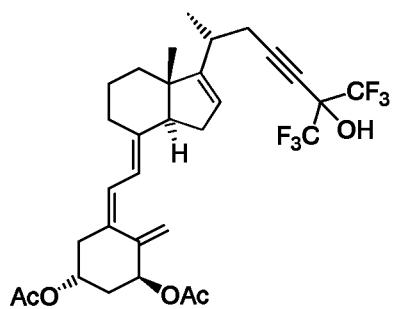
である、請求項 28 に記載の化合物。

【請求項 5 4】

化合物が 1, 3 - ジ - O - アセチル - 1, 25 - ジヒドロキシ - 16 - エン - 23 - イン - 26, 27 - ヘキサフルオロ - コレカルシフェロール：

40

【化 0 1 2 】



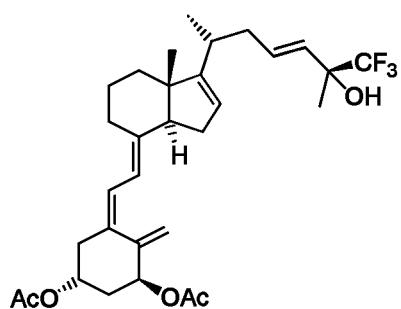
10

である、請求項 2 8 に記載の化合物。

【請求項 5 5】

化合物が 1 , 3 - ジ - O - アセチル - 1 , 2 5 - ジヒドロキシ - 1 6 , 2 3 E - ジエン - 2 5 R - 2 6 - トリフルオロ - コレカルシフェロール :

【化 0 1 3 】



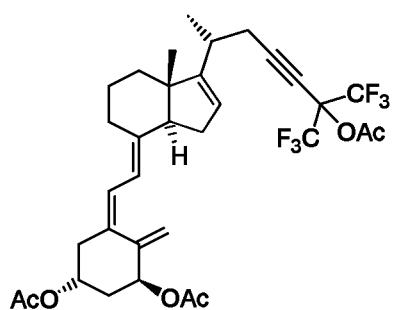
20

である、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 5 6】

化合物が 1 , 3 , 2 5 - トリ - O - アセチル - 1 , 2 5 - ジドロキシ - 1 6 - エン - 2 3 - イン - 2 6 , 2 7 - ヘキサフルオロ - コレカルシフェロール :

【化 0 1 4 】



30

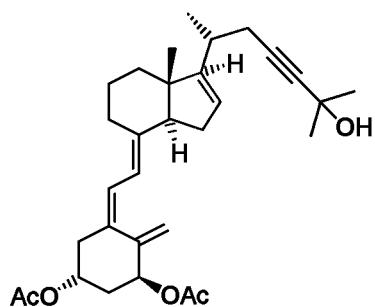
である、請求項 2 に記載の化合物。

【請求項 5 7】

化合物が 1 , 3 - ジ - 0 - アセチル - 1 , 2 5 - ジヒドロキシ - 2 3 - イン - コレカルシフェロール :

40

【化015】



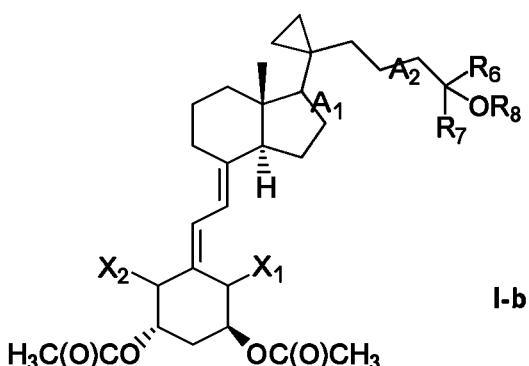
10

である、請求項28に記載の化合物。

【請求項58】

式I-b:

【化016】



20

で表される、請求項1に記載の化合物。

【請求項59】

A₁が単結合である、請求項58に記載の化合物。

【請求項60】

A₁が二重結合である、請求項58に記載の化合物。

30

【請求項61】

A₂が単結合である、請求項58～60のいずれかに記載の化合物。

【請求項62】

A₂が二重結合である、請求項58～60のいずれかに記載の化合物。

【請求項63】

A₂が三重結合である、請求項58～60のいずれかに記載の化合物。

【請求項64】

X₁が=CH₂であり、且つ、X₂がHである、請求項58～63のいずれかに記載の化合物。

【請求項65】

X₁及びX₂が、各々Hである、請求項58～63のいずれかに記載の化合物。

40

【請求項66】

R₈が、H又はC(O)CH₃である、請求項58～65のいずれかに記載の化合物。

【請求項67】

R₈がHである、請求項58～65のいずれかに記載の化合物。

【請求項68】

R₆及びR₇が、アルキルである、請求項58～67のいずれかに記載の化合物。

【請求項69】

R₆及びR₇が、メチルである、請求項58～67のいずれかに記載の化合物。

【請求項70】

50

R₆ 及び R₇ が、ハロアルキルである、請求項 5 8 ~ 6 7 のいずれかに記載の化合物。

【請求項 7 1】

R₆ 及び R₇ が、トリフルオロアルキルである、請求項 5 8 ~ 6 7 のいずれかに記載の化合物。

【請求項 7 2】

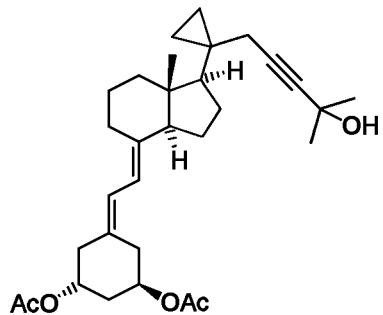
R₆ 及び R₇ が、トリフルオロメチルである、請求項 5 8 ~ 6 7 のいずれかに記載の化合物。

【請求項 7 3】

化合物が 1 , 3 - ジ - O - アセチル - 1 , 25 - ジヒドロキシ - 20 - シクロプロピル - 23 - イン - 19 - ノル - コレカルシフェロール :

10

【化 0 1 7】



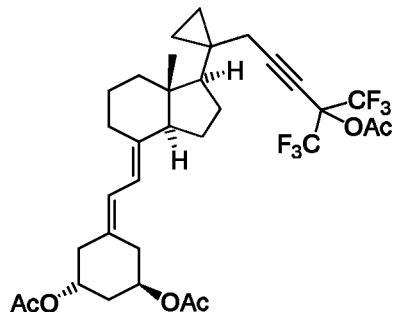
20

である、請求項 5 8 に記載の化合物。

【請求項 7 4】

化合物が 1 , 3 , 25 - トリ - O - アセチル - 1 , 25 - ジヒドロキシ - 20 - シクロプロピル - 23 - イン - 26 , 27 - ヘキサフルオロ - 19 - ノル - コレカルシフェロール :

【化 0 1 8】



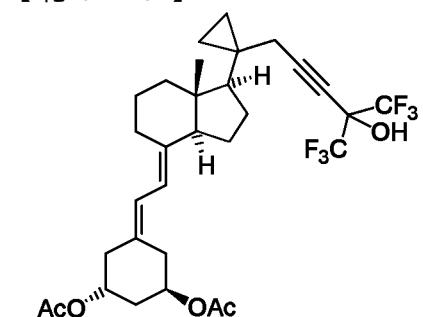
30

である、請求項 5 8 に記載の化合物。

【請求項 7 5】

化合物が 1 , 3 - ジ - O - アセチル - 1 , 25 - ジヒドロキシ - 20 - シクロプロピル - 23 - イン - 26 , 27 - ヘキサフルオロ - 19 - ノル - コレカルシフェロール :

【化 0 1 9】



40

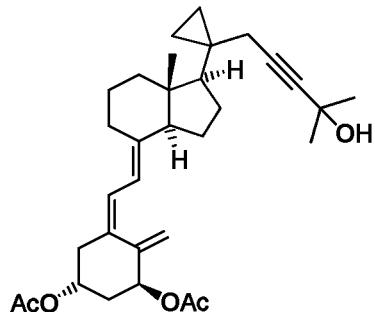
である、請求項 5 8 に記載の化合物。

50

【請求項 7 6】

化合物が 1 , 3 - ジ - O - アセチル - 1 , 25 - ジヒドロキシ - 20 - シクロプロピル - 23 - イン - コレカルシフェロール :

【化 0 2 0】



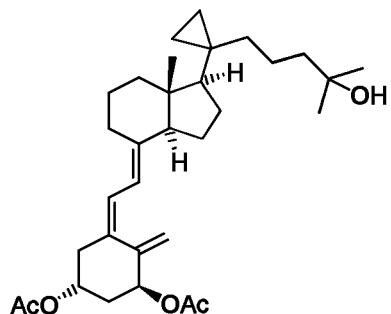
10

である、請求項 5 8 に記載の化合物。

【請求項 7 7】

化合物が 1 , 3 - ジ - O - アセチル - 1 , 25 - ジヒドロキシ - 20 - シクロプロピル - コレカルシフェロール :

【化 0 2 1】



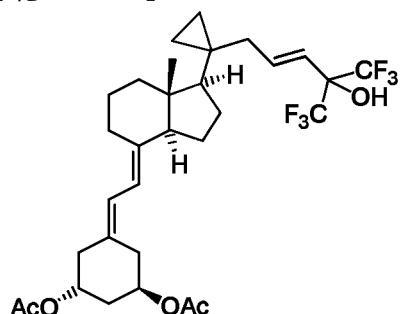
20

である、請求項 5 8 に記載の化合物。

【請求項 7 8】

化合物が 1 , 3 - ジ - O - アセチル - 1 , 25 - ジヒドロキシ - 20 - シクロプロピル - 23 E - イン - 26 , 27 - ヘキサフルオロ - 19 - ノル - コレカルシフェロール : 30

【化 0 2 2】



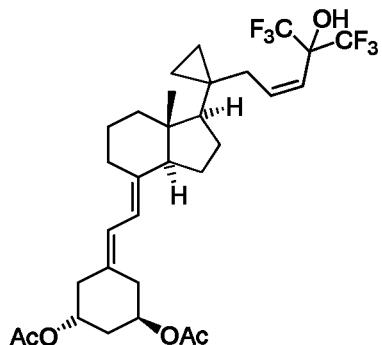
40

である、請求項 5 8 に記載の化合物。

【請求項 7 9】

化合物が 1 , 3 - ジ - O - アセチル - 1 , 25 - ジヒドロキシ - 20 - シクロプロピル - 23 Z - イン - 26 , 27 - ヘキサフルオロ - 19 - ノル - コレカルシフェロール :

【化023】



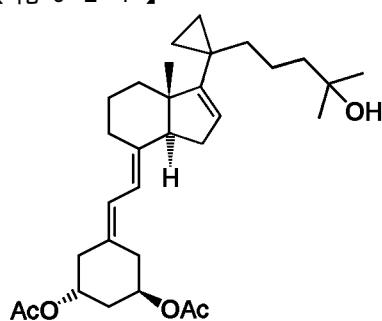
10

である、請求項 5 8 に記載の化合物。

【請求項 8 0】

化合物が 1 , 3 - ジ - O - アセチル - 1 , 25 - ジヒドロキシ - 16 - エン - 20 - シクロプロピル - 19 - ノル - コレカルシフェロール :

【化024】



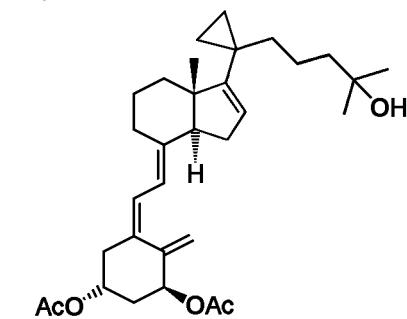
20

である、請求項 5 8 に記載の化合物。

【請求項 8 1】

化合物が 1 , 3 - ジ - O - アセチル - 1 , 25 - ジヒドロキシ - 16 - エン - 20 - シクロプロピル - コレカルシフェロール :

【化025】



30

である、請求項 5 8 に記載の化合物。

【請求項 8 2】

請求項 1 ~ 8 1 のいずれかに記載のビタミン D₃ 化合物の有効量を、ビタミン D₃ 化合物を必要としている患者に投与し、その結果当該患者に於けるビタミン D₃ が関与する症状を治療することを含む、患者のビタミン D₃ が関与する症状を治療する方法。

【請求項 8 3】

当該ビタミン D₃ が関与する症状が I L T 3 関連障害である、請求項 8 2 に記載の方法。

【請求項 8 4】

当該 I L T 3 関連障害が免疫障害である、請求項 8 3 に記載の方法。

【請求項 8 5】

40

50

当該免疫障害が自己免疫障害である、請求項 8 4 に記載の方法。

【請求項 8 6】

当該自己免疫障害が、1型インスリン依存性糖尿病、成人呼吸窮迫症候群、炎症性腸疾患、皮膚炎、髄膜炎、血栓性血小板減少性紫斑病、シェーグレン症候群、脳炎、ブドウ膜炎、ブドウ膜網膜炎、白血球接着不全、関節リウマチ、リウマチ熱、ライター症候群、乾癬性関節炎、進行性全身性硬化症、原発性胆汁性肝硬変、天疱瘡、類天疱瘡、壞死性血管炎、重症筋無力症、多発性硬化症、エリテマトーデス、多発性筋炎、サルコイドーシス、肉芽腫症、血管炎、悪性貧血、CNS炎症性疾患、抗原抗体複合体媒介疾患、自己免疫性溶血性貧血、橋本病、グレーヴス病、習慣性自然流産、レイノー症候群、糸球体腎炎、皮膚筋炎、慢性活動性肝炎、セリアック病、エイズの自己免疫性合併症、萎縮性胃炎、強直性脊椎炎及びアジソン病からなる群から選択される、請求項 8 5 に記載の方法。

10

【請求項 8 7】

当該免疫障害が移植拒絶である、請求項 8 4 に記載の方法。

【請求項 8 8】

当該自己免疫障害が1型インスリン依存性糖尿病である、請求項 8 6 に記載の方法。

【請求項 8 9】

当該ビタミンD₃が関与する症状が、ビタミンD₃応答細胞の異常活性により特徴付けられる障害である、請求項 8 2 に記載の方法。

【請求項 9 0】

当該障害が過剰増殖性皮膚細胞の異常活性を含む、請求項 8 9 に記載の方法。

20

【請求項 9 1】

当該障害が乾癬、基底細胞癌及び角化症から選択される、請求項 9 0 に記載の方法。

【請求項 9 2】

当該障害が内分泌細胞の異常活性を含む、請求項 8 9 に記載の方法。

【請求項 9 3】

当該内分泌細胞が副甲状腺細胞であり、異常活性が副甲状腺ホルモンのプロセシング及び/又は分泌である、請求項 9 2 に記載の方法。

【請求項 9 4】

当該障害が二次性副甲状腺機能亢進症である、請求項 9 3 に記載の方法。

【請求項 9 5】

当該障害が骨細胞の異常活性を含む、請求項 8 9 に記載の方法。

30

【請求項 9 6】

当該障害が、骨粗鬆症、骨異栄養症、老人性骨粗鬆症、骨軟化症、くる病、囊胞性線維性骨炎及び腎性骨形成異常症から選択される、請求項 9 5 に記載の方法。

【請求項 9 7】

当該障害が肝硬変又は慢性腎疾患である、請求項 8 9 に記載の方法。

【請求項 9 8】

当該ビタミンD₃化合物が薬学的に許容される担体と組み合わせて投与される、請求項 8 2 に記載の方法。

【請求項 9 9】

カルシウム及びリン酸代謝の脱制御を改善するために、治療に有効な量の、請求項 1 ~ 8 1 のいずれかに記載の化合物を患者に投与することを含む、カルシウム及びリン酸代謝の脱制御を改善する方法。

40

【請求項 1 0 0】

カルシウム及びリン酸代謝の脱制御が骨粗鬆症の原因となる、請求項 9 9 に記載の方法。

。

【請求項 1 0 1】

細胞を、免疫グロブリン様トランスクリプト3 (ILT3) 細胞表面分子の発現を調節するのに有効な量の、請求項 1 ~ 8 1 のいずれかに記載の化合物と接触させることを含む、細胞に於いて免疫グロブリン様トランスクリプト3 (ILT3) 細胞表面分子の発現を

50

調節する方法。

【請求項 102】

細胞が患者内にある、請求項 102 に記載の方法。

【請求項 103】

ILT3 表面分子の発現を調節するのに有効な量の、請求項 1~81 のいずれかに記載の化合物を患者に投与し、それによって患者の ILT3 関連障害を治療することを含む、患者の ILT3 関連障害を治療する方法。

【請求項 104】

ILT3 関連障害が免疫障害である、請求項 103 に記載の方法。

【請求項 105】

免疫障害が自己免疫障害である、請求項 104 に記載の方法。

【請求項 106】

自己免疫障害が 1 型インスリン依存性糖尿病である、請求項 105 に記載の方法

【請求項 107】

ILT3 表面分子の発現を調節するのに有効な量の、請求項 1~81 のいずれかに記載の化合物を患者に投与し、それにより当該患者に免疫寛容を誘導することを含む、患者に於いて免疫寛容を誘導する方法。

【請求項 108】

免疫寛容が抗原提示細胞に於いて誘導される、請求項 107 に記載の方法。

【請求項 109】

抗原提示細胞が樹状細胞、単球及びマクロファージからなる群から選択される、請求項 108 に記載の方法

【請求項 110】

ILT3 表面分子の発現を調節するのに有効な量の、請求項 1~81 のいずれかに記載の化合物を患者に投与し、それにより当該患者に於ける移植拒絶を阻害することを含む、患者に於ける移植拒絶を阻害する方法。

【請求項 111】

移植が固形臓器移植である、請求項 110 に記載の方法。

【請求項 112】

移植が膵島移植である、請求項 110 に記載の方法。

【請求項 113】

移植が骨髄移植である、請求項 110 に記載の方法。

【請求項 114】

薬学的に許容される処方を用いて当該ビタミン D₃ 化合物を患者に投与する、請求項 9、101、103、107 又は 110 のいずれかに記載の方法。

【請求項 115】

薬学的に許容される処方が、薬学的に許容される処方を患者に投与した後、少なくとも 4 週間、患者に当該ビタミン D₃ 化合物の持続した送達を提供するものである、請求項 114 に記載の方法。

【請求項 116】

抗原提示細胞を、ILT3 表面分子の発現を調節するのに有効な量の請求項 1~81 のいずれかに記載の化合物と接触させ、それにより抗原提示細胞による免疫抑制活性を調節することを含む、抗原提示細胞による免疫抑制活性を調節する方法。

【請求項 117】

患者が哺乳動物である、請求項 99、101、103、107 又は 110 のいずれかに記載の方法。

【請求項 118】

細胞が抗原提示細胞である、請求項 101 又は 116 に記載の方法。

【請求項 119】

抗原提示細胞が樹状細胞、単球及びマクロファージからなる群から選択される、請求項

10

20

30

40

50

118に記載の方法。

【請求項120】

免疫グロブリン様トランスクリプト3(ILT3)表面分子の発現が増加(アップレギュレーション)する、請求項101、103、107又は110のいずれかに記載の方法。

【請求項121】

化合物が経口的に投与される、請求項82、99、101、103、107又は110のいずれかに記載の方法。

【請求項122】

化合物が静脈内に投与される、請求項82、99、101、103、107又は110のいずれかに記載の方法。

【請求項123】

化合物が局所に投与される、請求項82、99、101、103、107又は110のいずれかに記載の方法。

【請求項124】

当該化合物が非経口的に投与される、請求項82、99、101、103、107又は110のいずれかに記載の方法。

【請求項125】

化合物が、0.001μg/kg体重～100μg/kg体重の濃度で投与される、請求項82、99、101、103、107又は110のいずれかに記載の方法。

【請求項126】

化合物が1,3-ジ-O-アセチル-1,25-ジヒドロキシ-16,23Z-ジエン-26,27-ヘキサフルオロ-19-ノル-コレカルシフェロール(2)である、請求項125に記載の方法。

【請求項127】

化合物が1,3-ジ-O-アセチル-1,25-ジヒドロキシ-16-エン-23-イン-26,27-ヘキサフルオロ-19-ノル-コレカルシフェロール(4)である、請求項125に記載の方法。

【請求項128】

化合物が1,3,25-トリ-O-アセチル-1,25-ジヒドロキシ-16-エン-23-イン-26,27-ヘキサフルオロ-19-ノル-コレカルシフェロール(5)である、請求項125に記載の方法。

【請求項129】

障害が高血圧である、請求項89に記載の方法。

【請求項130】

化合物がレニンの発現を抑制し、それにより患者の高血圧を治療する、請求項129に記載の方法。

【請求項131】

障害が良性前立腺肥大である、請求項89に記載の方法。

【請求項132】

障害が腫瘍性疾患である、請求項89に記載の方法。

【請求項133】

腫瘍性疾患が白血病、リンパ腫、メラノーマ、骨肉腫、結腸癌、直腸癌、前立腺癌、膀胱癌、並びに肺、乳房、消化器及び泌尿生殖器系の悪性腫瘍からなる群から選択される、請求項132に記載の方法。

【請求項134】

腫瘍性疾患が膀胱癌である、請求項133に記載の方法。

【請求項135】

障害が神経細胞脱落である、請求項89に記載の方法。

【請求項136】

20

30

40

50

障害がアルツハイマー病、ピック病、パーキンソン病、血管疾患、ハンチントン病及び加齢性記憶障害からなる群から選択される障害である、請求項135に記載の方法。

【請求項137】

障害がビタミンD₃応答平滑筋細胞の異常活性によって特徴付けられる、請求項89に記載の方法。

【請求項138】

障害が高血圧誘発血管リモデリング、血管再狭窄及びアテローム性動脈硬化からなる群から選択される過剰増殖性の血管性疾患である、請求項137に記載の方法。

【請求項139】

障害が動脈性高血圧である、請求項137に記載の方法。

10

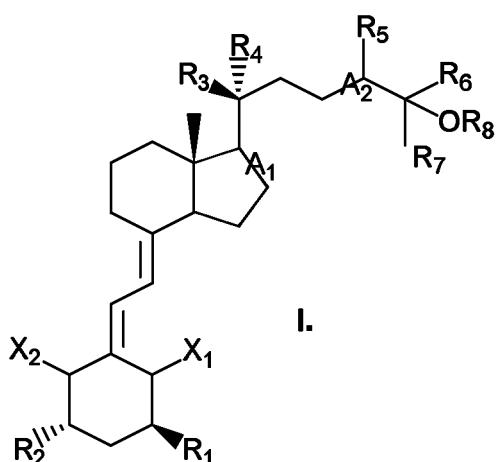
【請求項140】

請求項1~81のいずれかに記載の化合物の有効量を投与し、それによって患者の膀胱機能障害を予防又は治療する、予防又は治療を必要とする患者の膀胱機能障害を予防又は治療する方法。

【請求項141】

式I:

【化026】



20

30

式中、

A₁は単結合又は二重結合であり；

A₂は単結合、二重結合又は三重結合であり；

X₁及びX₂は、各々独立してH₂又は=CH₂であり、但し、X₁及びX₂は両者共に=CH₂であることはなく；

R₁及びR₂は、各々独立して、OC(O)C₁-C₄アルキル、OC(O)ヒドロキシアルキル又はOC(O)ハロアルキルであり；

R₃、R₄及びR₅は、各々独立して、水素、C₁-C₄アルキル、ヒドロキシアルキル又はハロアルキルであり、但し、A₂が三重結合の場合R₅は存在せず、又はR₃及びR₄はC₂-C₆と共にC₃-C₆シクロアルキルを形成し；

R₆及びR₇は、各々独立してアルキル又はハロアルキルであり；そして

R₈は、H、C(O)C₁-C₄アルキル、C(O)ヒドロキシアルキル又はC(O)ハロアルキルである；

の化合物、及び薬学的に許容されるそれらのエステル、塩及びプロドラッグの有効量を投与し、それによって患者の膀胱機能障害を予防し又は治療することにより、予防又は治療を必要とする患者の膀胱機能障害を予防又は治療する方法。

【請求項142】

化合物が薬学的に許容される希釈剤又は担体と共に医薬組成物に処方される、請求項140又は141に記載の方法。

40

【請求項143】

50

化合物がビタミンD受容体アゴニストである、請求項140～142のいずれかに記載の方法。

【請求項144】

膀胱機能障害が膀胱肥大の存在によって特徴付けられる、請求項140～143のいずれかに記載の方法。

【請求項145】

膀胱機能障害が過活動膀胱である、請求項140～144のいずれかに記載の方法。

【請求項146】

患者が雄性である、請求項140～145のいずれかに記載の方法。

【請求項147】

雄性が同時にBPHに罹患している、請求項140～146のいずれかに記載の方法。

【請求項148】

患者が雌性である、請求項140～147のいずれかに記載の方法。

【請求項149】

患者が哺乳動物である、請求項82～147のいずれかに記載の方法。

【請求項150】

患者がヒトである、請求項82～149のいずれかに記載の方法。

【請求項151】

請求項1～81のいずれかに記載の化合物の有効量及び薬学的に許容される希釈剤又は担体を含む、医薬組成物。

【請求項152】

有効量が、ビタミンD₃が関与する症状を治療するのに有効なものである、請求項152に記載の医薬組成物。

【請求項153】

ビタミンD₃が関与する症状がILT3関連障害である、請求項151に記載の医薬組成物。

【請求項154】

ビタミンD₃が関与する症状が、ビタミンD₃応答細胞の異常活性によって特徴付けられる障害である、請求項152に記載の医薬組成物。

【請求項155】

ビタミンD₃が関与する症状が膀胱機能障害である、請求項152に記載の医薬組成物。

【請求項156】

ビタミンD₃が関与する症状の治療に使用する、請求項1～81のいずれかに記載の化合物を含有する医薬組成物及び説明書を含む、ビタミンD₃が関与する症状の治療に使用するための包装された製剤。

【請求項157】

ビタミンD₃が関与する症状がILT3関連障害である、請求項156に記載の包装製剤。

【請求項158】

ビタミンD₃が関与する症状が、ビタミンD₃応答細胞の異常活性によって特徴付けられる障害である、請求項156に記載の包装製剤。

【請求項159】

ビタミンD₃が関与する症状が膀胱機能障害である、請求項156に記載の包装製剤。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

(関連出願)

本出願は、2003年9月24日出願の米国特許仮出願第60/505,735号、2003年9月24日出願の英国特許第0322395.5号、及び2004年3月1日出

10

20

30

40

50

願の英國特許第 0 4 0 4 5 6 7 . 0 号の優先権を主張する。上記の出願をそれぞれ参照して、その全文を本明細書に取り込む。

【背景技術】

【0 0 0 2】

高等動物の生体系におけるビタミンD（コレカルシフェロール）の重要性は、M e l l a n b y (Mellanby, E. (1921) Spec. Rep. Ser. Med. Res. Council (GB) SRS61: 4) によって1920年に発見されて以来、認識されてきた。ビタミンDが、骨格の正常な発達及びカルシウム及びリンのホメオスタシスの維持に必須である「ビタミン」として、公式に分類されるようになったのは、1920～1930年の間であった。

【0 0 0 3】

ビタミンD₃の代謝に関する研究は、血漿代謝物、25-ヒドロキシビタミンD₃ [25(OH)D₃] (Blunt, J. W. ら、(1968) *Biochemistry*, 6: 3317-3322) 及びホルモン活性形、1, 25(OH)₂D₃ (Myrtle, J. F. ら、(1970) *J. Biol. Chem.* 245: 1190-1196; Norman, A. W. ら、(1971) *Science*, 173: 51-54; Lawson, D. E. M. ら、(1971) *Nature*, 230:228-230; Holick, M. F. (1971) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 68: 803-804) の発見と化学的性質の確認とともに始まった。ビタミンDの内分泌系の概念の形成は、注意深く制御される様式での、1, 25(OH)₂D₃の産生における腎臓の重要な役割の正しい認識 (Fraser, D. R. and Kodicek, E. (1970) *Nature*, 288:764-766; Wong, R. G. ら、(1972) *J. Clin. Invest.* 51:1287-1291)、及び腸における1, 25(OH)₂D₃ (V D₃ R) に対する核内受容体の発見 (Haussler, M. R. ら、(1969) *Exp. Cell. Res.* 58: 234-242; Tsai, H. C. and Norman, A. W. (1972) *J. Biol. Chem.* 248: 5967-5975) の両者に依存していた。

【0 0 0 4】

ビタミンDの内分泌系の作用は、

第一に、肝臓 (Bergman, T. and Postlind, H. (1991) *Biochem. J.* 276: 427-432; Oh yama, Y. and Okuda, K. (1991) *J. Biol. Chem.* 266: 8690-8695)、腎臓 (Henry, H. L. and Norman, A. W. (1974) *J. Biol. Chem.* 249: 7529-7535; Gray, R. W. and Ghazarian, J. G. (1989) *Biochem. J.* 259: 561-568) 及びその他の種々の組織に存在するシトクロムP450酵素により、ビタミンD₃が1, 25(OH)₂D₃及び24R, 25(OH)₂D₃のような生物活性代謝物に変換される；

第二に、血漿ビタミンD結合タンパク質 (DBP) の存在により、これら疎水性分子がビタミンD内分泌系の種々の組織成分へ選択的に輸送及び送達される (VanBaelen, H. ら、(1988) *Ann. NY. Acad. Sci.* 538: 60-68; Cooke, N. E. and Haddad, J. G. (1989) *Endocr. Rev.* 10: 294-37; Bikle, D. D. ら、(1986) *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 63: 954-959)；及び

第三に、アゴニスト1, 25(OH)₂D₃と相互に作用する多種多様な標的組織に立体選択的な受容体が存在し、このセコステロイドホルモンに必須の特異的生物応答を生じる (Pike, J. W. (1991) *Annu. Rev. Nutr.* 11: 189-216)；ことに依存するものである。

1, 25(OH)₂D₃ (VDR) に対する核内受容体が、30を越える組織及び癌細胞株に存在することが今までに明らかにされている (Reichel, H. and Norman, A. W. (1989) *Annu. Rev. Med.* 40: 71-78)。

【0 0 0 5】

ビタミンD₃及びそのホルモン活性形は、カルシウム及びリンのホメオスタシスの制御因子としてよく知られている。これらの化合物は、カルシウム及びリンの腸内吸収、骨ミネラルの代謝、及び腎臓におけるカルシウムの保持、の少なくとも一つを促進することが知られている。更に、30を越える組織に特異的なビタミンD受容体の存在が発見されたことにより、カルシウム/骨ホメオスタシスにおける古典的な役割の外に、ビタミンD₃の多能性の制御因子としての役割が同定された。ビタミンD₃を酸化してその活性形にすることができる、例えば25-OHD-1 -ヒドロキシラーゼのような酵素と、骨、角

10

20

30

40

50

化細胞、及び免疫細胞の組織に於ける特異的な受容体とが結合することによって、 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ のパラクリンとしての役割が示唆されてきた。更に、ビタミン D_3 ホルモン及びその活性代謝物は、正常及び悪性の細胞、両者の増殖及び分化を制御できることが見出されている (Reichel, H.ら、(1989) Ann. Rev. Med. 40: 71-78)。

【0006】

ビタミン D_3 及びその代謝物の活性をかんがみ、これらの化合物の類縁体の合成に焦点が充てられてきた。多くのこれらの類縁体は、A環、B環、C/D環、及び、主として側鎖に構造的に修飾を含むものである (Bouillon, R.ら、Endocrine Reviews, 16 (2): 201-204)。今日までに開発されてきたビタミン D_3 類縁体は、側鎖に構造的修飾がなされているものが大多数であるが、A環のジアステレオマーの生物学的側面についての研究について、少数ではあるが報告されている (Norman, A. W. et al. J. Biol. Chem. 268 (27): 20022-20030)。更に、ステロイドの生物学的エステル化の研究がなされており (Hochberg, R. B. (1998) Endocr. Rev. 19 (3): 331-348)、ビタミン D_3 のエステル類は公知となっている (国際公開第W097/11053号公報)。

10

20

30

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

更に、合成類縁体の開発に多大な努力がなされているにもかかわらず、ビタミン D 化合物の適用 / 応用で公知のものを患者に投与した場合でも望ましくない副作用が誘発されるため、ビタミン D 及びその構造類縁体の臨床への応用は限られたものとなっている。

20

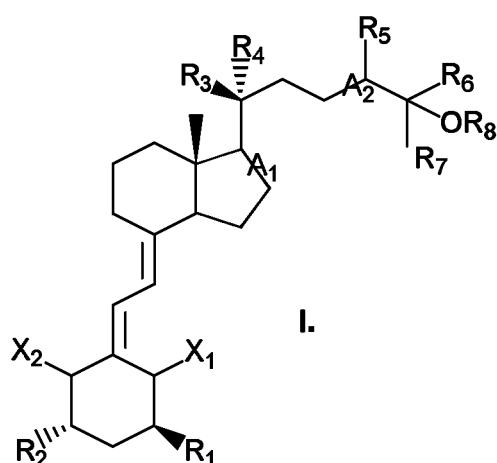
【課題を解決するための手段】

【0008】

一態様において、本発明は、式 I :

【0009】

【化027】



【0010】

式中、

40

A_1 は単結合又は二重結合であり；

A_2 は単結合、二重結合又は三重結合であり；

X_1 及び X_2 は、各々独立して H_2 又は $=\text{CH}_2$ であり、但し、 X_1 及び X_2 は両者共に $=\text{CH}_2$ であることはなく；

R_1 及び R_2 は、各々独立して、 $\text{OC(O)C}_1-\text{C}_4$ アルキル、 OC(O) ヒドロキシアルキル又は OC(O) ハロアルキルであり；

R_3 、 R_4 及び R_5 は、各々独立して、水素、 C_1-C_4 アルキル、ヒドロキシアルキル又はハロアルキルであり、但し、 A_2 が三重結合の場合 R_5 は存在せず、又は R_3 及び R_4 は C_2-C_6 と共に C_3-C_6 シクロアルキルを形成し；

R_6 及び R_7 は、各々独立して、アルキル又はハロアルキルであり；そして

50

R_8 は、H、C(O)C₁ - C₄ アルキル、C(O)ヒドロキシアルキル又はC(O)ハロアルキルであり；

但し、 A_1 が単結合であり、 R_3 が水素であり、そして、 R_4 がメチルであるならば、 A_2 は二重結合又は三重結合である；

で表されるビタミンD₃ 化合物、及び薬学的に許容されるそれらのエステル、塩及びプロドラッグを提供する。

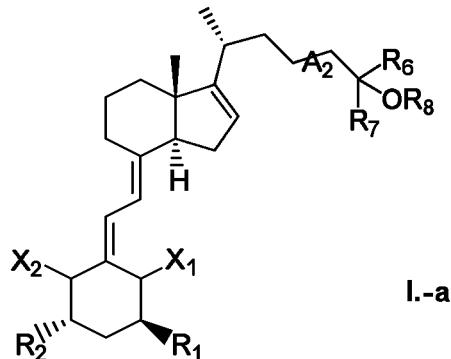
【0011】

好みの態様において、本発明は、式I-a：

【0012】

【化028】

10



20

【0013】

式中（上記の式Iにおいて、 R_3 はH、 R_4 はメチル、 A_1 は二重結合である）、 R_5 はHであり（又は、 A_2 が三重結合の場合は存在せず）；そして A_2 、 X_1 、 X_2 、 R_1 、 R_2 、 R_6 、 R_7 及び R_8 は、既に記載した通りである；で表されるビタミンD₃ 化合物を提供する。

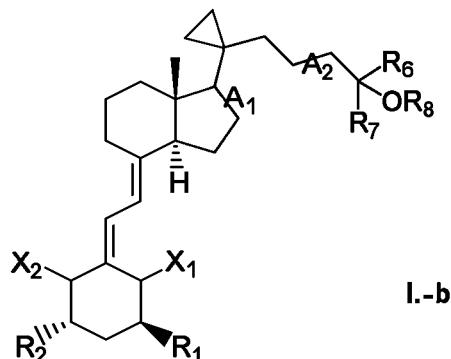
【0014】

別の好みの態様において、本発明は、式I-b：

【0015】

【化029】

30



40

【0016】

式中（上記の式Iにおいて、 R_3 及び R_4 はC-20と共にシクロプロピルを形成する）

、

R_5 はHであり（又は、 A_2 が三重結合の場合は存在せず）；そして

A_1 、 A_2 、 X_1 、 X_2 、 R_1 、 R_2 、 R_6 、 R_7 、及び R_8 は、既に記載した通りである；

で表されるビタミンD₃ 化合物を提供する。

【0017】

なお別の態様において、本発明は、医薬組成物を提供する。当該組成物は、式Iのビタ

50

ミンD₃ 化合物の有効量、及び薬学的に許容される担体を含む。

更なる態様において、本発明は、カルシウム及びリン酸代謝の脱制御を改善する方法を提供する。当該方法は、カルシウム及びリン酸代謝の脱制御を改善するために、式IのビタミンD₃ 化合物の治療有効量を患者に投与することを包含する。

【0018】

別の態様において、本発明は、免疫グロブリン様トランスクリプト3 (ILT3) 細胞表面分子の発現を調節する方法を提供する。本発明の方法は、細胞を、免疫グロブリン様トランスクリプト3 (ILT3) 細胞表面分子の発現を調節するのに有効な量の式IのビタミンD₃ 化合物と接触させることを包含する。

更に別の態様において、本発明は、患者のILT3関連障害を治療する方法を提供する。当該方法は、患者に、ILT3表面分子の発現を調節するのに有効な量の式IのビタミンD₃ 化合物を投与し、それによって患者のILT3関連障害を治療することを包含する。

【0019】

なお別の態様において、本発明は、患者において免疫寛容を誘導する方法を提供する。当該方法は、ILT3表面分子の発現を調節するのに有効な量の式IのビタミンD₃ 化合物を患者に投与し、それにより患者に免疫寛容を誘導することを包含する。

更なる態様において、本発明は、患者において移植拒絶を阻害する方法を提供する。当該方法は、ILT3表面分子の発現を調節するのに有効な量の式IのビタミンD₃ 化合物を患者に投与し、それにより患者において移植拒絶を阻害することを包含する。

【0020】

なお別の態様において、本発明は、ビタミンD₃ 化合物の有効量を投与し、それによって患者の膀胱機能障害を予防又は治療することにより、予防又は治療を必要とする患者の膀胱機能障害を予防又は治療する方法を提供する。

なお別の態様において、本発明は、ビタミンD₃ が関与する症状の治療に使用するための包装製剤を提供する。上記の包装製剤は、ビタミンD₃ が関与する症状の治療における使用説明書が包装された、式IのビタミンD₃ 化合物及び薬学的に許容される担体を含む医薬組成物を包含する。

【0021】

別の態様において、本発明は、ILT3関連障害の治療に使用するための包装された製剤を提供する。当該包装された製剤は、ILT3関連障害の治療における使用説明書が包装された、式IのビタミンD₃ 化合物及び薬学的に許容される担体を含む医薬組成物を包含する。

更に別の態様において、本発明は、抗原提示細胞による免疫抑制活性を調節する方法を提供する。当該方法は、抗原提示細胞を、ILT3表面分子の発現を調節するのに有効な量のビタミンD₃ 化合物と接触させて、抗原提示細胞により免疫抑制活性を調節することを包含する。

【0022】

(発明の詳細な説明)

1. 定義

本発明の更なる説明の前に、本発明の理解をより容易にするために、先ず用語を定義し便宜上ここに記す。

【0023】

用語「投与」又は「投与する」は、ビタミンD₃ 化合物の意図された機能を達成するために患者に当該化合物を導入する経路を包含する。使用可能な投与経路の例としては、注射（皮下、静脈内、非経口的、腹腔内、髄腔内）、経口、吸入、直腸及び経皮を包含する。医薬製剤は、当然のことながら、それぞれの投与経路に適した形態で提供される。例えば、これらの製剤は、錠剤又はカプセルの形態で、或いは注射、吸入、目薬、軟膏、坐薬等によって投与される。投与は注射、注入又は吸入によって；ローション又は軟膏によって局所に；そして坐薬によって直腸に行われる。経口投与が好ましい。注射は、ボーラス

10

20

30

40

50

又は連続注入が可能である。ビタミンD₃化合物は、目的の機能を達成する能力に悪影響を及ぼす可能性のある自然条件から保護するために、投与経路に応じた物質で被覆又は処理してもよい。ビタミンD₃化合物は、単独で、又は上に記載したような別の剤か、薬学的に許容される担体のいずれか、若しくは両者と併せて、投与してもよい。ビタミンD₃化合物は、別の剤の投与前に、別の剤と同時に、又は別の剤の投与後に、投与してもよい。更に、ビタミンD₃化合物は、その活性代謝物、又はインビボでより活性な代謝物に変換されるプロフォームで投与してもよい。

【0024】

用語「アルキル」は、直鎖アルキル基、分岐鎖アルキル基、シクロアルキル（脂環）基、アルキル置換シクロアルキル基及びシクロアルキル置換アルキル基を含む飽和脂肪族基の基を意味する。用語、アルキルは、更に、炭化水素骨格の1つ又はそれ以上の炭素原子に置き換えて、酸素、窒素、硫黄又は燐原子を含有するアルキル基を包含する。好ましい態様において、直鎖アルキル又は分岐鎖アルキルは、30個又はそれ以下の炭素原子を骨格に有する（例えば、直鎖：C₁ - C₃₀、分岐鎖：C₃ - C₃₀）。より好ましくは、26個又はそれ以下の、そして、更により好ましくは20個又はそれ以下の、更にそれ以上好ましくは4個又はそれ以下の炭素原子を有する。同様に、好ましいシクロアルキルは、環構造中に炭素原子を3~10個有し、そして、より好ましくは、環構造中に炭素原子を3、4、5、6又は7個有する。

【0025】

更に、本明細書及び請求範囲を通して用いられるアルキルという用語は、「非置換アルキル」及び「置換アルキル」の両者を含み、その後者は、炭化水素骨格の1つ又はそれ以上の炭素上の水素を置換する置換基を有するアルキル部分を表す。その様な置換基としては、例えば、ハロゲン、ヒドロキシル、アルキルカルボニルオキシ、アリールカルボニルオキシ、アルコキシカルボニルオキシ、アリールオキシカルボニルオキシ、カルボキシレート、アルキルカルボニル、アルコキシカルボニル、アミノカルボニル、アルキルチオカルボニル、アルコキシル、ホスフェート、ホスホナト、ホスフィナト、シアノ、アミノ（アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、アリールアミノ、ジアリールアミノ及びアルキルアリールアミノを含む）、アシルアミノ（アルキルカルボニルアミノ、アリールカルボニルアミノ、カルバモイル及びウレайдを含む）、アミジノ、イミノ、スルフヒドリル、アルキルチオ、アリールチオ、チオカルボキシレート、スルフェート、スルホナト、スルファモイル、スルホンアミド、ニトロ、トリフルオロメチル、シアノ、アジド、ヘテロシクリル、アルキルアリール又は芳香族、若しくはヘテロ芳香族部分が挙げられる。炭化水素鎖上で置換される部分は、もし適切であれば、それ自身が更に置換され得ることは、当業者には公知である。シクロアルキルは、例えば、上記の置換基で更に置換可能である。「アルキルアリール」部分は、アリール（例えば、フェニルメチル（ベンジル））で置換されたアルキルである。又、用語「アルキル」は、長さでは同様であり上記のアルキルへの置換は可能であるが、しかし少なくとも1つの二重結合又は三重結合をそれぞれ含む不飽和の脂肪族基も含む。

【0026】

炭素数が特定されていない限り、本明細書で使われる「低級アルキル」は、上記の通り定義されたアルキル基であり、1~10個の炭素を、より好ましくは、1~6個の炭素を、そして最も好ましくは1~4個の炭素をその骨格構造に有するアルキル基を意味し、その骨格は直鎖又は分岐鎖であってもよい。低級アルキル基の例としては、メチル、エチル、n-プロピル、i-プロピル、tert-ブチル、ヘキシル、ヘプチル、オクチル等が挙げられる。より好ましい態様において、「低級アルキル」という用語は、骨格構造に4又はそれ以下の炭素原子を有する直鎖のアルキル（例えば、C₁ - C₄アルキル）が挙げられる。

【0027】

用語「アルコキシアルキル」、「ポリアミノアルキル」及び「チオアルコキシアルキル」は、炭化水素骨格の1つ又はそれ以上の炭素原子と置換される、例えば、酸素、窒素又

10

20

30

40

50

は硫黄原子を含む上記のアルキル基を意味する。

【0028】

用語「アルケニル」及び「アルキニル」は、長さにおいては同様であり上記のアルキルへの置換は可能であるが、しかし少なくとも1つの二重結合又は三重結合をそれぞれ含む不飽和の脂肪族基を意味する。本発明は、例えば、シアノ及びプロパルギル基を意図するものである。

【0029】

用語「抗原」は、免疫応答を導き出す物質を包含する。寛容が誘導される本発明の抗原は、宿主に対して外来性のものであってもよいし、そうでなくてもよい。例えば、本発明の方法は、「自己抗原」に対する寛容を誘導するのに使用することができる。自己抗原は、自己抗体と反応する身体の正常な構成物である。本発明は、又、「アロ抗原」に対する寛容を誘導することを包含する。アロ抗原とは、例えば血液型物質のように「種」の幾つかのメンバーのみに見出される抗原を表す。同種移植は、同じ種のうちで遺伝子が異なったメンバーへの移植である。同種移植片は、組織適合性抗原に対するTリンパ球の免疫応答に基づいて拒絶される。本発明の方法は、又、「異種抗原」に対する寛容を誘導することも提供する。異種抗原は、異種間の相異の故に免疫反応を起こす物質である。それ故、異種移植とは、一つの種のメンバーから異なった種のメンバーへ移植することである。異種移植片は、通常、組織適合抗原に対する抗体及び細胞傷害性Tリンパ球によって、数日内に拒絶される。

【0030】

用語「抗原提示細胞」又は「APC」は、例えば、ヘルパーT細胞に抗原を提示することができる細胞を包含する。抗原提示細胞は、抗原をヘルパーTリンパ球に提示することによって免疫応答の誘導を補助する、樹状細胞、ランゲルハンス細胞及び単核食細胞のような、Bリンパ球、補助細胞又は非リンパ球性細胞を包含する。本発明の抗原提示細胞は、脊髄起源のものが好ましく、樹状細胞、マクロファージ、単球を包含するがこれらに限定されるものではない。本発明のAPCは、骨髄、血液、胸腺、表皮、肝臓、胎児肝臓、又は脾臓から単離し得る。

【0031】

用語、「抗腫瘍薬」及び「増殖抑制剤」は、本明細書においては同義的に使用され、ビタミンD₃応答性の細胞の増殖を阻害する、例えば、ビタミンD₃に応答性の新生物、特に造血腫瘍の発生又は進展を阻害する、機能的性質を有する薬剤を包含する。

【0032】

本明細書において使われる用語「アリール」は、0～4個のヘテロ原子を含んでもよい、5～6員環の単環芳香族基、例えば、ベンゼン、ピロール、フラン、チオフェン、イミダゾール、ベンゾオキサゾール、ベンゾチアゾール、トリアゾール、テトラゾール、ピラゾール、ピリジン、ピラジン、ピリダジン及びピリミジン等を含むアリール基を意味する。アリール基としては、又、ナフチル、キノリル、インドリル等の多環縮合芳香族基も含まれる。環構造にヘテロ原子を有するその様なアリール基は、「アリールヘテロシクル」「ヘテロアリール」又は「ヘテロ芳香族」と呼ぶこともできる。芳香族環は、1つ又はそれ以上の環位置において、上記の置換基、例えば、ハロゲン、ヒドロキシル、アルコキシ、アルキルカルボニルオキシ、アリールカルボニルオキシ、アルコキシカルボニルオキシ、アリールオキシカルボニルオキシ、カルボキシレート、アルキルカルボニル、アルコキシカルボニル、アミノカルボニル、アルキルチオカルボニル、ホスフェート、ホスホナト、ホスフィナト、シアノ、アミノ(アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、アリールアミノ、ジアリールアミノ及びアルキルアリールアミノを含む)、アシルアミノ(アルキルカルボニルアミノ、アリールカルボニルアミノ、カルバモイル及びウレイドを含む)、アミジノ、イミノ、スルフヒドリル、アルキルチオ、アリールチオ、チオカルボキシレート、スルフェート、スルホナト、スルファモイル、スルホンアミド、ニトロ、トリフルオロメチル、シアノ、アジド、ヘテロシクリル、アルキルアリール又は芳香族若しくはヘテロ芳香族部分で置換できる。アリール基は、芳香族ではない脂環基又はヘテロ環基で縮合又は橋

10

20

30

40

50

かけして、多環（例えば、テトラリン）を形成することができる。

【0033】

用語「自己免疫疾患」又は「自己免疫障害」は、免疫系が宿主自身の組織を攻撃する状態を表す。自己免疫疾患においては、患者の免疫寛容系が、自己抗原を認識することが機能しなくなり、この寛容の喪失の結果として、抗原を発現する組織に關係する免疫系の力をもたらすことになる。自己免疫障害は、限定されないが、1型インスリン依存性糖尿病、成人呼吸窮迫症候群、炎症性腸疾患、皮膚炎、髄膜炎、血栓性血小板減少性紫斑病、シェーグレン症候群、脳炎、ブドウ膜炎、ブドウ膜網膜炎、白血球接着不全、関節リウマチ、リウマチ熱、ライター症候群、乾癬性関節炎、進行性全身性硬化症、原発性胆汁性肝硬変、天疱瘡、類天疱瘡、壞死性血管炎、重症筋無力症、多発性硬化症、エリテマトーデス、多発性筋炎、サルコイドーシス、肉芽腫症、血管炎、悪性貧血、CNS炎症性疾患、抗原抗体複合体媒介疾患、自己免疫性溶血性貧血、橋本病、グレーヴス病、習慣性自然流産、レイノー症候群、糸球体腎炎、皮膚筋炎、慢性活動性肝炎、セリアック病、エイズの自己免疫性合併症、萎縮性胃炎、強直性脊椎炎及びアジソン病を包含する。10

【0034】

用語ビタミンD₃の「生物活性」は、対応する細胞においてビタミンD₃化合物によって導き出される全ての活性を包含する。それはこれら化合物によって導き出されるゲノム又は非ゲノム活性を包含する (Gniadecki, R. and Calverley, M. J. (1998) *Pharmacology & Toxicology* 82: 173-176; Bouillon, R. ら、(1995) *Endocrinology Reviews* 16(2): 206-207; Norman, A. W. ら、(1992) *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 41: 231-240; Baran, D. T. ら、(1991) *J. Bone Miner. Res.* 6: 1269-1275; Caffrey, J. M. and Farach - Carson, M. C. (1989) *J. Biol. Chem.* 264: 20265-20274; Nemere, I. ら、(1984) *Endocrinology*, 115: 1476-1483)。20

【0035】

「膀胱機能障害」とは、排尿筋の過活動に関連した膀胱の状態、例えば、臨床的BPH又は過活動膀胱を意味する。本発明においては、「膀胱機能障害」とは膀胱癌を除いたものである。

【0036】

用語「骨代謝」は、カルシウム及びリン酸の血清濃度に究極的に影響する骨構造の形成又は変性、例えば骨形成、骨吸収等への直接又は間接的効果を包含している。この用語は、同様に骨の形成及び変性をもたらす、骨細胞、例えば破骨細胞及び造骨細胞における本発明の化合物の効果をも包含するものである。30

【0037】

用語「カルシウム及びリン酸のホメオスタシス」は、細胞、組織、器官又は系におけるカルシウム及びリン酸濃度の変動によって引き起こされる、細胞内及び細胞外のカルシウム及びリン酸濃度の微妙なバランスを表している。これらの用語は、本発明の化合物に対する直接又は間接的な応答によってもたらされるカルシウムレベルの変動をも含むものである。

【0038】

用語「癌腫」は、呼吸器系癌、消化器系癌、生殖泌尿器系癌、精巣癌、乳癌、前立腺癌、内分泌系癌、及びメラノーマを包含する上皮組織又は内分泌組織の悪性腫瘍を表すものとして当該技術分野では認識されている。具体的な癌腫としては、子宮頸管、肺、前立腺、膀胱、乳腺、頭頸部、結腸及び卵巣の組織に形成されるものを包含する。この用語は、例えば、癌性組織及び肉腫性組織からなる悪性腫瘍を含む癌肉腫も包含する。「腺癌」は、腺組織由来の癌腫、又は腺組織の腫瘍細胞が認識可能な腺構造を形成している癌腫を表す。40

【0039】

用語「キラル」は、鏡像と重なり合わない性質を有する分子を意味し、一方、用語「アキラル」は、鏡像と重重なり合う分子を意味する。

【0040】

10

20

30

40

50

用語「ジアステレオマー」は、2つ又はそれ以上の不斉中心を有し、且つ、それらの分子が互いに鏡像体とはならない立体異性体を意味する。

【0041】

用語「有効量」は、必要とされる用量及び投与期間において、例えば、ビタミンD₃が関与する症状を治療するに足る、又は細胞に於けるILT3発現を調節に足るといった、望ましい結果を達成するのに効果的な量のことである。ビタミンD₃化合物の有効量は、患者の病態、年齢及び体重のような因子、並びに患者にとって望ましい応答を顕在化させるビタミンD₃化合物の能力に応じて変化する。投与計画は、最適な治療応答を提供できるように調節可能である。有効量は又、ビタミンD₃化合物のいかなる毒性又は有害な影響（例えば、副作用）よりも、治療上で有益な効果の方が上回る量である。

10

【0042】

ビタミンD₃化合物の治療有効量（即ち、有効投与量）は、約0.001~30μg/kg体重、好ましくは約0.01~25μg/kg体重、より好ましくは約0.1~20μg/kg体重、及び更に好ましくは約1~10μg/kg、2~9μg/kg、3~8μg/kg、4~7μg/kg、5~6μg/kg体重の範囲であってもよい。患者を効果的に治療するのに必要な用量には、疾病又は障害の重篤度、既存の治療、患者の健康一般及び/又は年齢、並びにその他の既往症（これらに限定はされないが）を含む特定の因子が影響しているということは、当業者であれば認識しているところである。更に、ビタミンD₃化合物の治療有効量での患者の治療は、単回治療又は、好ましくは一連の治療を包含することができる。治療の一例としては、患者にビタミンD₃化合物を、約0.1~20μg/kg体重の割合で、約1~10週間、好ましくは2~8週間、より好ましくは約3~7週間、更に好ましくは約4、5又は6週間に亘って1週間に1回投与することが挙げられる。治療に使用されるビタミンD₃化合物の有効投与量を、治療別に増減することが可能であることも併せて理解されたい。

20

【0043】

用語「エナンチオマー」は、互いに重ね合わすことのできない鏡像体である化合物の2つの立体異性体を意味する。2つのエナンチオマーの等モル混合物は、「ラセミ混合物」又は「ラセミ体」と呼ばれる。

【0044】

用語、ビタミンD₃の「ゲノム」活性又は効果は、1,25(OH)₂D₃ (VD₃R)に対する核内受容体によって媒介されるそれらの活性、例えば、標的遺伝子の転写活性化、を包含するものである。

30

【0045】

用語「ハロアルキル」は、ハロゲンによるモノ-、ジ-又はポリ-置換の上記の通り定義されたアルキル基を包含するものである（例えば、フルオロメチル及びトリフルオロメチル）。

【0046】

用語「ハロゲン」は、-F、-Cl、-Br又は-Iを意味する。

【0047】

用語「ヒドロキシル」は、-OHを意味する。

40

【0048】

本明細書で使われる用語「ヘテロ原子」は、炭素又は水素以外の何れかの原子を意味する。好ましいヘテロ原子は、窒素、酸素、硫黄及び燐である。

【0049】

用語「ホメオスタシス」は、内部環境における静的又は定常の状態の維持を意味する、当該技術分野では認識されている。

【0050】

用語「ホルモン分泌」は、所定のホルモン、例えば、ビタミンD₃応答細胞の副甲状腺ホルモン(PTH)の分泌(Bouillon, R.ら、(1995) Endocrine Reviews, 16(2): 235-237)に関与する転写及びプロセシングを制御するビタミンD₃化合物の活性を包含する

50

ものと、当該技術分野では認識されている。

【0051】

用語「高カルシウム血症」又は「高カルシウム活性」は、一般に認められた臨床的意味を有するが、即ちそれは、中枢及び末梢神経系の機能低下、筋力低下、便秘、腹痛、食欲不振及び心臓拡張期の心臓の弛緩低下といった副作用により患者の血清カルシウムレベルを上昇させるものである。高カルシウム血症の症候性の徴候は、以下の活性、即ち、腸内カルシウム輸送、骨カルシウム代謝及びオステオカルシン合成の少なくとも1つの促進によって引き起こされる (Bouillon, R.ら、(1995) *Endocrinology Reviews*, 16(2): 200-257において概説されている)。

【0052】

用語「過剰増殖性」及び「腫瘍性（新生物の）」は、同義的に使用され、自律的増殖の受容能力、即ち、急速に増殖しつつある細胞の増殖によって特徴付けられる異常な症状又は疾患を有する細胞を包含する。過剰増殖性及び腫瘍性の病態は、病的なもの、即ち、病態を特徴付ける又は病態を構成するものとして類別することができるか、又は、非病的なもの、即ち、正常からは逸脱しているが、しかし病態には関連していないもの、として類別することができる。この用語は、侵襲性の組織病理学的タイプ又はステージに関係なく、全てのタイプの癌性増殖又は発癌過程、転移組織又は悪性の形質転換細胞、組織又は器官を包含することを意味している。「病的な過剰増殖性」細胞は、悪性腫瘍の増殖によって特徴付けられる病態において起こる。非病的な過剰増殖性の細胞の例としては、創傷の治癒に関連した細胞の増殖が挙げられる。

【0053】

用語「免疫グロブリン様トランスクリプト3」又は「ILT3」は、単球、マクロファージ及び樹状細胞のような抗原提示細胞（APC）によって発現される免疫グロブリンスーパーファミリーの細胞表面分子を表す。ILT3は、免疫グロブリン様トランスクリプト（ILT）ファミリーのメンバーであり、免疫受容体型チロシンを基にした抑制モチーフ（ITIM）と想定されるものを含む、長い細胞質側末端（cytoplasmic tail）を表示している。ILT3は、刺激受容体（stimulatory receptor）に架橋結合して阻害受容体として機能する。ILT3が介在する情報伝達経路の細胞質成分は、架橋結合によりILT3に関連付けられるSH2含有ホスファターゼSHP-1である。ILT3は、又、内在化され、ILT3リガンドは特異的T細胞に効率的に提示される（例えば、Cella, M.ら、(1997) *J. Exp. Med.* 185: 1743を参照）。ビタミンD₃化合物の候補がILT3表面分子の発現を調節するかどうかは、例えば、ILT3表面分子の発現を対照と比較することによって、mRNAの発現を測定することによって、又はタンパク質の発現を測定することによって決定できる。

【0054】

「ILT3関連障害」は、ILT3分子に関連した疾患、障害又は状態を包含する。ILT3関連障害は、ILT3活性が異常である、又はILT3活性の調節から利点が生じる非ILT3活性が異常である、障害を包含する。1つの態様において、ILT3関連障害は、免疫障害、例えば、1型インスリン依存性糖尿病、成人呼吸窮迫症候群、炎症性腸疾患、皮膚炎、髄膜炎、血栓性血小板減少性紫斑病、シェーグレン症候群、脳炎、ブドウ膜炎、ブドウ膜網膜炎、白血球接着不全、関節リウマチ、リウマチ熱、ライター症候群、乾癬性関節炎、進行性全身性硬化症、原発性胆汁性肝硬変、天疱瘡、類天疱瘡、壞死性血管炎、重症筋無力症、多発性硬化症、エリテマトーデス、多発性筋炎、サルコイドーシス、肉芽腫症、血管炎、悪性貧血、CNS炎症性疾患、抗原抗体複合体媒介疾患、自己免疫性溶血性貧血、橋本病、グレーヴス病、習慣性自然流産、レイノー症候群、糸球体腎炎、皮膚筋炎、慢性活動性肝炎、セリアック病、エイズの自己免疫性合併症、萎縮性胃炎、強直性脊椎炎及びアジソン病のような自己免疫障害；又はGVHD（移植片対宿主病）のような移植後の拒否反応である。本発明のある態様において、ILT3関連障害は、移植拒絶、移植片対宿主病及び自己免疫障害のような、免疫障害である。

【0055】

10

20

30

40

50

用語「免疫応答」は、T及び/又はB細胞応答、例えば、細胞性及び/又は液性免疫応答、を包含する。クレームされた方法は、一次免疫応答及び二次免疫応答の両者を減少するのに使用することができる。患者の免疫応答は、例えば、抗体産生、免疫細胞増殖、サイトカインの放出、細胞表面マーカーの発現、細胞障害等をアッセイすることによって決定することができる。

【0056】

用語「免疫学的寛容」、「抗原に対する寛容」又は「免疫寛容」は、長期な全身性免疫欠損を誘導しない、抗原に対する非応答性を包含する。従って、本発明によれば、寛容宿主は、寛容抗原以外の抗原に対して反応することができる。寛容とは、もし寛容を誘導させなかつたならば、患者に於いて抗原に対する免疫性の応答が引き起こされることになる、免疫応答の抑制を誘導することである。本発明の1つの態様において、免疫寛容は、抗原提示細胞、例えば、脊髄又はリンパ系、樹状細胞、単球及びマクロファージ由来の抗原提示細胞において誘導される。

【0057】

用語「免疫抑制活性」は、正常な免疫応答を阻害するプロセスを表す。この応答に含まれるのは、T及び/又はBリンパ球のクローンのサイズが減少した場合、又はそれらの反応性、拡大、若しくは分化が抑制された場合である。免疫抑制活性とは、既に進行している免疫応答を阻害若しくは遮断することであってもよく、又は、免疫応答の誘導を防止することであってもよい。活性化T細胞の機能は、免疫細胞応答を抑制することによって、若しくは特異な寛容を誘導することによって、又はその両方によって阻害することができる。T細胞応答の免疫抑制とは、一般的に、T細胞を抑制剤に連続的に曝露させることを要する、活性で抗原非特異的な過程である。T細胞に於いて、非応答性又はアレルギーを誘発する寛容とは、それが一般的に抗原特異的であり、寛容剤への曝露を停止した後も持続する、という点で免疫抑制とは区別される。寛容は、操作上、寛容剤の非存在下で特異抗原に再曝露したときにT細胞応答を示さないことで証明することができる。

【0058】

用語「改善された生物学的性質」は、インビボで有効性を増強する本発明の化合物に固有のいずれかの活性を表す。好ましい態様において、この用語は、毒性の減少、例えば高カルシウム活性の減少、のようなビタミンD₃化合物の定性的又は定量的に改良された治療機能を表す。

【0059】

用語、新生物の「増殖を阻害する」は、その増殖及び転移を遅らせる、妨害する、拘束する又は停止することを包含し、腫瘍増殖全般の除去を必ずしも指すものではない。

【0060】

語句「免疫応答の阻害」は、例えば、IL₂、インターフェロン、GM-CSFの合成及び分泌の減少といったT細胞増殖及び活性の減少を包含するものである (Lemire, J. M. (1992) J. Cell Biochemistry, 49: 26-31; Lemire, J. M. ら、(1994) Endocrinology, 135(6): 2813-2821; Bouillon, R. ら、(1995) Endocrine Review, 16(2): 231-32)。

【0061】

用語「異性体」又は「立体異性体」とは、化学組成は同一であるが、原子又は基の空間的な配置が異なっている化合物のことである。

【0062】

用語「白血病」は、その臨床上の意味を有しているが、即ち、白血球の成熟が細胞発生の初期段階で阻害された腫瘍性疾患のことである。疾患は、骨髄における白血病性芽細胞の数が増加することによって、及び正常な造血性細胞を産生することができない程度が変化することによって特徴付けられる。状態は、急性又は慢性のいずれかである。白血病は、更に、リンパ球性、即ち、正常なリンパ球を有し一般的な性質を有する細胞によって特徴付けられるか、骨髄球性(又は骨髄性)、即ち、正常な顆粒球性細胞のある種の性質を有する細胞によって特徴付けられる、リンパ球のいずれかであるとして、一般的に類別さ

10

20

30

40

50

れる。急性リンパ球性白血病（「ALL」）は、リンパ系組織に発生し、通常先ず、骨髓においてその存在を表す。急性骨髓性白血病（「AML」）は、骨髓造血幹細胞又はそれらの子孫から発生する。用語、急性骨髓性白血病は、白血病のいくつかのサブタイプ：骨髓芽球性白血病、前骨髓球性白血病及び骨髓単球性白血病、に包含される。加えて、赤血球性又は巨核球性白血病を伴う白血病は、同様に骨髓性白血病と考えられる。

【0063】

用語「白血病性癌」は、造血系及び免疫系（血液及びリンパ系）の全ての癌又は新生組織形成を表す。血液、骨髓細胞（骨髓腫）、及びリンパ組織の腫瘍の別の型とともに急性及び慢性白血病は、全ての癌による死亡の約10%、並びに小児及び30歳未満の成人における全ての癌による死亡の約50%の原因となっている。慢性骨髓性白血病（CML）（又は慢性顆粒球性白血病（CGL）としても知られている）は、造血幹細胞の腫瘍性疾患である。用語「白血病」は、当該技術分野で認識されており、白血球並びに血液及び骨髓の前駆体のゆがめられた増殖及び発達によって際だった、血液形成器官の進行性の、悪性疾患を表す。

【0064】

用語「調節する」は、本発明の化合物への曝露に応答して細胞の活性が減少又は増加すること、例えば、治療結果といった望ましい最終的な結果が達成されるような、動物に於ける細胞の少なくとも一つの亜母集団の増殖の阻害及び/又は分化の誘導を表している。好ましい態様において、この語句は病的障害をもたらす過活動状態を包含することを意図している。

【0065】

用語「新生組織形成」の一般的な医学的意味は、正常な増殖の制御、例えば腫瘍細胞増殖に対する反応性の消失として起こる「新しい細胞増殖」を表す。「過形成」は、細胞の増殖が異常に高率であることを表す。しかしながら、本明細書で使用されるように、新生組織形成及び過形成という用語は、その文脈から明らかのように、一般的に、異常な細胞増殖率で増殖している細胞について同義的に使用することができる。新生組織形成及び過形成は、良性、前癌性の又は悪性のいずれかである、「腫瘍」を包含する。

【0066】

用語「非ゲノム」ビタミンD₃活性は、応答細胞においてビタミンD₃化合物によって導き出される細胞活性（例えば、組織間のカルシウム輸送）及び細胞下の活性（例えば、電位依存性のカルシウムチャネルが、膜のカルシウム輸送のために開口すること、細胞内第二メッセンジャーにおける変化）を包含する。これらの活性を検出する電気生理学的及び生化学的技術は当該技術分野に於いて公知である。特によく研究された非ゲノム活性の例としては、腸内のカルシウム動員（カルシウムの非固定化）の急速なホルモン刺激、「トランスカルタキア（transcaltachia）」である（Nemere I.ら、(1984) *Endocrinology*, 115: 1476-1483; Lieberherr, M.ら、(1989) *J. Biol. Chem.* 264: 20403-20406 Wali, R. K.ら、(1992) *Endocrinology*, 131: 1125-1133; Wali R. K. ら、(1992) *Am. J. Physiol.* 262: G945-G953 Wali R. K. ら、(1990) *J. Clin. Invest.* 85: 1296-1303; Bolt, M. J. G.ら、(1993) *Biochem. J.* 292: 271-276）。実験的トランスカルタキアの詳細な説明は、Norman, A. W. (1993) *Endocrinology*, 126(27): 20022-20030; Yoshimoto, Y. and Norman, A. W. (1986) *Endocrinology*, 118: 2300-2304に提供されている。カルシウム活性及び第二メッセンジャー系の変化は、当該技術分野では周知であり、Bouillion, R. ら、(1995) *Endocrinology Review*, 16 (2): 200-257において広範に概説されており、この記載は参照して本明細書に取り込む。

【0067】

本明細書で使われる語句、「非経口投与」及び「非経口的に投与する」は、通常注射による経腸投与及び局所投与以外の投与の様式を意味し、静脈内、筋肉内、動脈内、髄腔内、囊内、眼窩内、心内、皮内、腹腔内、経気管、皮下、表皮下、関節内、被膜下、くも膜下、髄腔内、胸骨内注射及び注入を包含するが、これらに限定されない。

【0068】

10

20

20

30

40

40

50

用語「ポリシクリル」又は「多環基」は、2つ又はそれ以上の炭素が2つの隣接する環に共通である（例えば、その環は「縮合環」である）2つ又はそれ以上の環状基（例えば、シクロアルキル、シクロアルケニル、シクロアルキニル、アリール及び/又はヘテロシクリル）を意味する。非隣接原子を通して結合される環は、「橋かけ」環と呼ばれている。多環の各々の環は、上記の置換基、例えば、ハロゲン、ヒドロキシル、アルキルカルボニルオキシ、アリールカルボニルオキシ、アルコキシカルボニルオキシ、アリールオキシカルボニルオキシ、カルボキシレート、アルキルカルボニル、アルコキシカルボニル、アミノカルボニル、アルキルチオカルボニル、アルコキシル、ホスフェート、ホスホナト、ホスフィナト、シアノ、アミノ（アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、アリールアミノ、ジアリールアミノ及びアルキルアリールアミノを含む）、アシルアミノ（アルキルカルボニルアミノ、アリールカルボニルアミノ、カルバモイル及びウレイドを含む）、アミジノ、イミノ、スルフヒドリル、アルキルチオ、アリールチオ、チオカルボキシレート、スルフェート、スルホナト、スルファモイル、スルホンアミド、ニトロ、トリフルオロメチル、シアノ、アジド、ヘテロシクリル、アルキル、アルキルアリール又は芳香族若しくはヘテロ芳香族部分で置換できる。10

【0069】

用語「プロドラッグ」は、インビボで代謝され得る部分を有する化合物を包含する。一般的に、プロドラッグは、エステラーゼにより、又はその他の機構により、活性薬にインビボで代謝される。プロドラッグ及びそれらの使用の例としては、当業者に周知である（例えば、Berge ら、(1977) "Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci. 66: 1-19を参照）。プロドラッグは、化合物の最終的な単離及び生成の間に、そのまで、又は生成した化合物をその遊離酸型若しくは水酸基を適当なエステル化剤と別に反応することによって製造することができる。水酸基は、カルボン酸で処理することを経てエステルに変換することができる。プロドラッグ部分の例としては、置換及び非置換、分枝又は非分枝の低級アルキルエステル部分（例えば、プロピオン酸エステル）、低級アルケニルエステル、ジ-低級アルキルアミノ低級アルキルエステル（例えば、ジメチルアミノエチルエステル）、アシルオキシ低級アルキルエステル（ピバロイルオキシメチルエステル）、アリールエステル（フェニルエステル）、アリール低級アルキルエステル（例えば、ベンジルエステル）、置換（例えば、メチル、ハロ又はメトキシ置換基による）アリール及びアリール低級アルキルエステル、アミド、低級アルキルアミド、ジ-低級アルキルアミド、及びヒドロキシアミドを包含する。好ましいプロドラッグ部分は、プロピオン酸エステル及びアシルエステルである。他のインビボ機構で活性型に変換されるプロドラッグも、又、包含される。20

【0070】

用語、化合物の「予防的に有効な抗腫瘍性量」は、患者に単回又は多回投与量の投与で、腫瘍性疾患症状の発病を予防又は遅延させるのに有効である本明細書に記載の式（I）又はその他のビタミンD₃化合物の量を表す。30

【0071】

用語「乾癬」は、その医学的意味、即ち、主として皮膚を悪化させ、隆起した、肥厚性の、落屑性の、非瘢痕性の傷害を生じるものである。病変部は、通常、重なり合い光った鱗屑で覆われた、はっきりと区切られた紅斑性丘疹である。鱗屑は、典型的には銀色又はわずかにオパール色である。爪に起こると、しばしば穴があき、爪が分離し、肥厚し、そして脱色をもたらす。乾癬は、ときには、関節炎と合併し、壊滅的な損傷を与える。40

【0072】

用語「毒性の減少」は、インビボで、投与されたときビタミンD₃化合物によって誘発される望まれない副作用を減少させる、例えば、高カルシウム活性の減少を包含するものである。

【0073】

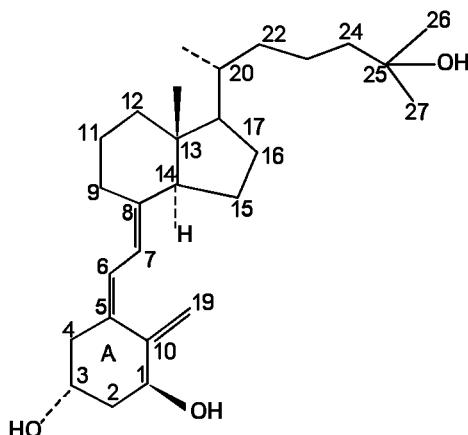
用語「肉腫」は、当該技術分野では認識されており、間葉起源の悪性腫瘍のことである。50

【0074】

用語「セコステロイド」は、当該技術分野では認識されており、ステロイド環のシクロペンタノペルヒドロ-フェナントレン環の1つが切断された化合物を包含する。1, 25(OH)₂D₃及びその類縁体は、ホルモン活性のあるセコステロイドである。ビタミンD₃の場合、B環の9-10位の炭素-炭素結合が切断され、セコ-B-ステロイドが生成する。ビタミンD₃に対する公式的IUPACの名称は、9, 10-セココレスター-5, 7, 10(19)-トリエン-3-オールである。便宜上、1, 25(OH)₂D₃の6-s-トランス配座体は、本明細書に図示した通りであり、標準的なステロイド表記法を用いて全ての炭素原子に番号付けを行った。

【0075】

【化030】



【0076】

本明細書において提示される式において、A環上の種々の置換基は、以下の表記法の1つによってステロイド骨格に結合するように図示される：

点線：

【化031】

30

又は

【化032】

····||

くさび型斜線は、-配向（即ち、環平面に対して上向き）である置換基を示し；くさび型実線は、-配向（即ち、分子平面に対して下向き）である置換基を示し；又は

波線：

【化033】

~~~

は、環平面に対して上向き又は下向きのどちらでもよい置換基を示す。A環に関するビタミンD分野における立体化学の取り決めは、一般化学分野と反対であり、一般化学分野では、点線は、-配向（即ち、分子平面に対して下向き）であるA環の置換基を示し、くさび型実線は、-配向（即ち、環平面に対して上向き）であるA環の置換基を示す。既に示した様に、ホルモン1, 25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>は、炭素1及び3に2つの不斉中心を有する。それぞれは、立体配位の確立したヒドロキシル基、即ち、1-及び3-ヒドロキシルを含有する。換言すれば、A環の炭素1及び3は、「不斉炭素」又は「炭素中心」と呼ばれている。

## 【0077】

更に、炭素-炭素間二重結合の立体化学の表示も、又、一般化学分野と反対であり、「Z」は、「シス」（同一側）配座を意味し、一方、「E」は、「トランス」（反対側）配座を意味する。それらに關係なく、両者の配位、シス/トランス、及び/又はZ/Eは、

40

50

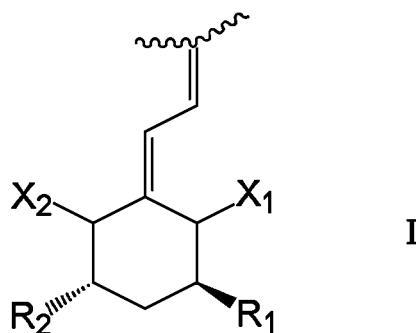
本発明において使用される化合物に対して使用される。

【0078】

又、特許文献を通して、ビタミンD化合物のA環は、以下の構造：のいずれか1つで示される一般式でしばしば図示される：

【0079】

【化034】



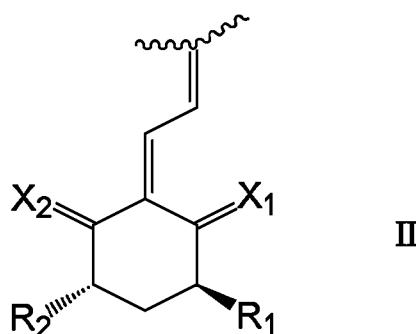
10

【0080】

式中、 $X_1$  及び  $X_2$  は、 $H$  (又は  $H_2$  ) 若しくは  $=CH_2$  として定義され；又は

【0081】

【化035】



20

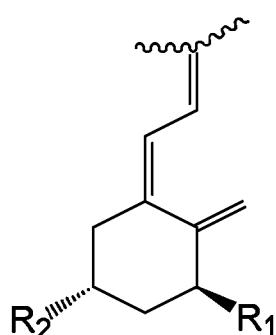
30

【0082】

式中、 $X_1$  及び  $X_2$  は、 $H_2$  又は  $CH_2$  として定義される。いかなる取り決めも無いようと思われるけれども、式 I 又は式 II は、例えば、 $X_1$  が  $=CH_2$  であり、 $X_2$  が  $H_2$  として定義される A 環を示し、以下の構造：

【0083】

【化036】



40

【0084】

50

になることは、当業者には明白である。本発明の目的の為に、式 I が全ての包括的な構造において使用される。

【 0 0 8 5 】

用語「スルフヒドリル」又は「チオール」は、-SHを意味する。

【 0 0 8 6 】

用語「患者」は、ヒト及び非ヒト動物のような、ビタミンD<sub>3</sub>が関与する症状に罹患する、又は本発明のビタミンD<sub>3</sub>化合物を投与することによりその他の利益を得ることができる生物を包含する。好ましいヒト動物は、本明細書に記載するように、ビタミンD<sub>3</sub>が関与する症状に罹患した又は罹患する傾向にあるヒト患者を包含する。本発明の用語「非ヒト動物」は、全ての脊椎動物、例えば、哺乳動物（例えば、マウスのような齶歯類）、及びヒト以外の靈長類、ヒツジ、イヌ、ウシ、ニワトリ、両生類、は虫類等のような非哺乳動物を包含する。

10

【 0 0 8 7 】

本明細書で使用される語句、「全身投与」、「全身に投与する」、「末梢投与」及び「末梢に投与する」は、患者の系に入り、それによって代謝を受けるような、ビタミンD<sub>3</sub>化合物、薬剤又はその他の物質の投与、及び別の類似経路、例えば皮下投与、を意味する。

【 0 0 8 8 】

用語、本発明のビタミンD<sub>3</sub>化合物の「治療的に有効な抗腫瘍量」は、患者に単回又は多回投与量を投与して、腫瘍性ビタミンD<sub>3</sub>応答細胞の増殖を阻害し、又はそのような治療が施されない場合でも予期される以上にそのような腫瘍細胞を有する患者の生存性が延長されるという効果がある薬剤の量を表している。

20

【 0 0 8 9 】

用語「移植拒絶」は、他のヒトドナーからの移植器官（同種移植片）、又は、ヒツジ、ブタ又は非ヒト靈長類のような別の種からの移植器官（異種移植片）に対する免疫反応を意味する。それ故に、本発明の方法は、別のヒトドナーからの移植器官（同種移植片）又は別の種からの移植器官（異種移植片）に対する免疫反応を防止するのに有用である。そのような移植の組織は、限定されないが、心臓、肝臓、腎臓、肺臓、脾臓、胰島、骨髄、脳組織、角膜、骨、腸、皮膚及び造血細胞を包含する。この定義に含まれるものとしては、移植細胞が宿主に対して免疫応答を重ねている状態である「移植片対宿主病」（「GVHD」）である。それ故に、本発明の方法は、例えば、急性白血病、再生不良性貧血、及び酵素又は免疫欠損の治療のために移植された不適合な骨髄又はリンパ組織における移植片対宿主病を防止するために有用である。用語「移植拒絶」は、又、器官の機能を消失することによって特徴付けられる疾患症状を包含する。例えば、腎臓の拒絶は、血中のクレアチニンレベルの上昇によって特徴付けられる。心臓の拒絶は、心内膜心筋生検によって特徴付けられ、脾臓の拒絶は、血中グルコースレベルの上昇によって特徴付けられる。肝臓の拒絶は、血中の肝臓由来のトランスアミナーゼのレベル及びビリルビンレベルによって特徴付けられる。腸の拒絶は、生検によって決定され、肺の拒絶は、血液酸化の測定によって決定される。

30

【 0 0 9 0 】

用語「VDR」は、リガンドの存在なしでビタミンD応答配列（VDR-E）を経由して結合し転写促進することができる（Damm, ら、(1989) *Nature*, 339: 593-97; Sapら、*Nature*, 343: 177-180）、受容体のステロイド/甲状腺スуперファミリーのII型クラスのメンバー（Stunnenberg, H. G. (1993) *Bio Essays*, 15(5): 309-15）を包含することを意図している。

40

【 0 0 9 1 】

用語「VDR-E」は、直接反復配列として配置されている片側からなるDNA配列を表す。II型受容体は、ホモダイマーとしてそれらのそれぞれの結合部位に結合しないが、しかし高親和性結合のためには補助因子、RXR（例えば、RXR、RXR、RXR）を必要とすることが、当該技術分野で公知である（Yuら、(1991) *Cell*, 67:1251-1258）

50

66; Bugge ら、(1992) EMBO J. 11: 1409-1418; Kliener ら、(1992) Nature, 355: 446-449; Leid, ら、(1992) EMBO J. 11: 1419-1435; Zhang, ら、(1992) Nature, 355: 441-446)。

【0092】

用語「ビタミンD<sub>3</sub>が関与する症状」は、本発明の1つ又はそれ以上の化合物の投与によって、予防され、治療され又は別に緩和されることができる状態である。ビタミンD<sub>3</sub>が関与する症状は、ILT3関連障害、ビタミンD<sub>3</sub>応答細胞の異常活性によって特徴付けられる傷害、カルシウム及びリン酸代謝の脱制御によって特徴付けられる傷害、及び本明細書に記載されたその他の傷害又は状態を包含する。

【0093】

用語「ビタミンD<sub>3</sub>応答細胞」は、式Iを有する、又は別に本明細書に記載されたビタミンD<sub>3</sub>化合物に反応することができる、又は過増殖性皮膚細胞、副甲状腺細胞、新生物細胞、免疫細胞、及び骨細胞の異常活性に関与する障害に関連した、いずれかの細胞を包含する。これらの細胞は、細胞増殖の調節、分化生存、及び/又はホルモン分泌のようなその他の細胞活性を究極的にもたらすゲノム、及び/又は、非ゲノム応答を引き起こすことによってビタミンD<sub>3</sub>活性化に応答することができる。好ましい態様において、細胞の究極的応答は、細胞増殖の阻害、及び/又は、分化特異的遺伝子の誘導である。典型的なビタミンD<sub>3</sub>応答細胞は、免疫細胞、骨細胞、神経細胞、内分泌細胞、腫瘍性細胞、上皮細胞、内胚葉細胞、平滑筋細胞、その他を包含する。

【0094】

不斉中心の命名法に関して、用語「d」及び「l」配位は、IUPAC勧告により定義されたものである。用語の使用に関して、ジアステレオマー、ラセミ体、エピマー及びエナンチオマーは、製造物の立体化学を記載する通常の文脈において使用される。

【0095】

2. 本発明のビタミンD<sub>3</sub>化合物

本発明のビタミンD<sub>3</sub>化合物の顕著な特徴は、化合物のA環の1位及び3位におけるアシル化である。1,3-ジアシルビタミンD<sub>3</sub>化合物は、De Lucaらの米国特許第5976784号に記載されている。しかしながら、De Lucaらの米国特許第5976784号において具体的に開示されたいかなる化合物も、添付の特許請求の範囲から除外される。

【0096】

上記式Iのアシル化ビタミンD<sub>3</sub>化合物は、特異的な核の受容体VDRへの結合、5,6-腎摘出ラットにおける増大した副甲状腺ホルモンレベルの抑制、MLR細胞におけるINF-放出の抑制、HL-60白血病細胞分化の刺激、及び固形腫瘍細胞の増殖の阻害の様な、1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>の生物学的活性の全機能を発揮する。インビボにおいて、及び細胞培養液において、1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>は、24R-ヒドロキシラーゼ酵素の影響に起因する代謝の修飾を段階的に受けることはよく知られている。初めに24R-ヒドロキシ代謝物が生成し、それが酸化されて24-ケト中間体になり、次いで23S-ヒドロキシル化及び分裂により、完全に不活性なカルシトロン酸を生成する。

【0097】

本発明の1,3-ジアシル化化合物は、対応する1,3-ジヒドロキシ化合物と比較して、予期し得ない及び/又は優れた性質を有することが見出されている。例えば、1,3-ジ-O-アセチル-1,25-ジヒドロキシ-16,23Z-ジエン-26,27-ヘキサフルオロ-19-ノル-コレカルシフェロール(2)、1,3-ジ-O-アセチル-1,25-ジヒドロキシ-16-エン-23-イン-26,27-ヘキサフルオロ-19-ノル-コレカルシフェロール(4)及び1,3,25-トリ-O-アセチル-1,25-ジヒドロキシ-16-エン-23-イン-26,27-ヘキサフルオロ-19-ノル-コレカルシフェロール(5)は、対応するジヒドロキシ化合物、1,25-ジヒドロキシ-16,23Z-ジエン-26,27-ヘキサフルオロ-19-ノルコレカルシフェロール(1)及び1,25-ジヒドロキシ-16-エン-23-イン-26,27-ヘキサフル

10

20

30

40

50

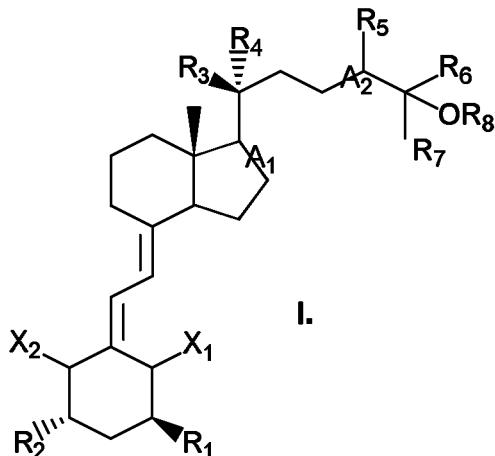
ルオロ-19-ノル-コレカルシフェロール(3)と比較した場合、顯著に高い最大量の耐性の用量及び改善された活性を有する。

## 【0098】

従つて、一つの態様において、本発明は、式I：

## 【0099】

## 【化037】



## 【0100】

式中、

$A_1$  は、単結合又は二重結合であり；

$A_2$  は、一重、二重又は三重結合であり；

$X_1$  及び  $X_2$  は、各々独立して  $H_2$  又は  $=CH_2$  であり、但し、 $X_1$  及び  $X_2$  は両方が  $CH_2$  であるということではなく；

$R_1$  及び  $R_2$  は、各々独立して、 $OC(O)C_1 - C_4$  アルキル、 $OC(O)$  ヒドロキシアルキル又は  $OC(O)$  ハロアルキルであり；

$R_3$ 、 $R_4$  及び  $R_5$  は、各々独立して、水素、 $C_1 - C_4$  アルキル、ヒドロキシアルキル又はハロアルキルであり、但し、 $A_2$  が三重結合の場合  $R_5$  は存在せず、又は  $R_3$  及び  $R_4$  は  $C_{2-6}$  と共に  $C_3 - C_6$  シクロアルキルを形成し；

$R_6$  及び  $R_7$  は、各々独立してアルキル又はハロアルキルであり；そして

$R_8$  は、 $H$ 、 $OC(O)C_1 - C_4$  アルキル、 $OC(O)$  ヒドロキシアルキル又は  $OC(O)$  ハロアルキルであり；

但し、 $A_1$  が単結合であり、 $R_3$  が水素であり、そして、 $R_4$  がメチルであるならば、 $A_2$  が二重結合又は三重結合である。)

で表される、ビタミンD<sub>3</sub>化合物、及び薬学的に許容されるそれらのエステル、塩及びプロドラッグを提供する。

## 【0101】

本発明の一つの態様において、 $X_1$  は  $H_2$  であり、且つ、 $X_2$  は  $=CH_2$  である。別の態様においては、 $X_1$  及び  $X_2$  は  $H_2$  である。別の態様においては、 $A_1$  は単結合である。別の態様においては、 $A_1$  は二重結合である。又、別の態様においては、 $A_1$  は三重結合である。

好みしい態様において、 $R_3$  は水素であり、且つ、 $R_4$  は  $C_1 - C_4$  アルキル、好みくはメチルである。別の好みしい態様において、 $R_3$  及び  $R_4$  は、 $C_{2-6}$  と共に  $C_3 - C_6$  シクロアルキルを形成する。好みしい態様において、 $R_3$  及び  $R_4$  は、 $C_{2-6}$  と共にシクロプロピルを形成する。

## 【0102】

好みしい態様において、 $R_1$  及び  $R_2$  は、各々独立して、 $OC(O)C_1 - C_4$  アルキルであり、好みくは  $OC(O)CH_3$  である。

好みしい態様において、 $R_6$  及び  $R_7$  は、各々独立して、アルキル又はハロシクロアル

10

20

30

40

50

キルであり、好ましくは、メチル、エチル又はトリフルオロメチルである。

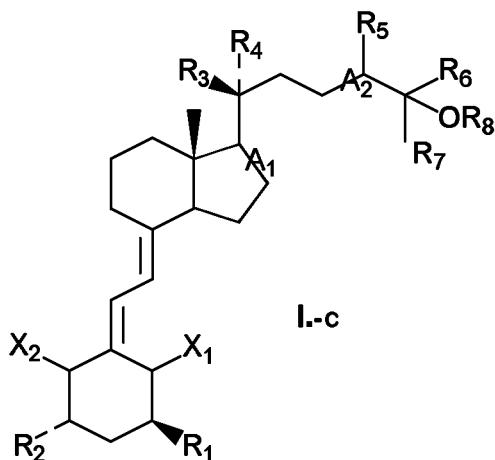
好ましい態様において、R<sub>8</sub>はH又はC(O)C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルキルである。

【0103】

本発明の態様の幾つかは、1,3-アシル化の26,27-ハロアルキルビタミンD<sub>3</sub>化合物を対象としている。その様な化合物は、式I-c:

【0104】

【化038】



10

20

【0105】

(式中、

A<sub>1</sub>は、単結合又は二重結合であり；

A<sub>2</sub>は、単結合、二重結合又は三重結合であり；

X<sub>1</sub>及びX<sub>2</sub>は、各々独立してH<sub>2</sub>又はCH<sub>2</sub>であり、但し、X<sub>1</sub>及びX<sub>2</sub>は両方がCH<sub>2</sub>であるということではなく；

R<sub>1</sub>及びR<sub>2</sub>は、各々独立して、OC(O)C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルキル、OC(O)ヒドロキシアルキル又はOC(O)ハロアルキルであり；

R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>及びR<sub>5</sub>は、各々独立して、水素、C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルキル、ヒドロキシアルキル又はハロアルキルであり、又はR<sub>3</sub>及びR<sub>4</sub>はC<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>と共にC<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>シクロアルキルを形成し；

R<sub>6</sub>及びR<sub>7</sub>は、各々独立してハロアルキルであり；そして

R<sub>8</sub>は、H、OC(O)C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルキル、OC(O)ヒドロキシアルキル又はOC(O)ハロアルキルである。)

で表される化合物、及び薬学的に許容されるそれらのエステル、塩及びプロドラッグである。好ましい態様において、R<sub>6</sub>及びR<sub>7</sub>は、各々独立してトリハロアルキル、特にトリフルオロメチルである。

【0106】

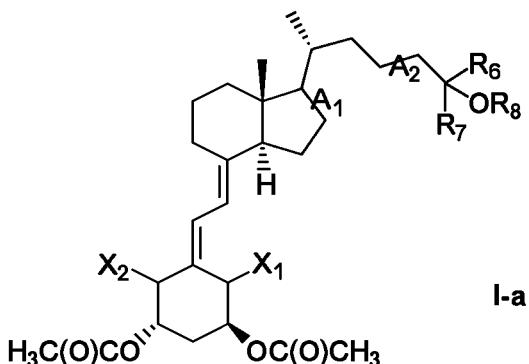
本発明の別の好ましい態様において、R<sub>1</sub>及びR<sub>2</sub>は、OC(O)CH<sub>3</sub>であり、R<sub>3</sub>はHであり、R<sub>4</sub>はメチルであり、そしてR<sub>5</sub>はH(又は、A<sub>2</sub>が三重結合の場合存在しない)であり、式I-aのように示される。

【0107】

30

40

## 【化039】



10

## 【0108】

好みの態様において、 $A_1$  は二重結合であり、 $X_1$  は  $=CH_2$  であり、そして、 $X_2$  は  $H_2$  である。 $A_2$  が三重結合である場合、 $R_8$  は、 $H$  又は  $C(O)CH_3$  であり、そして、 $R_6$  及び  $R_7$  は、アルキル又はハロアルキルであることが好みの態様である。アルキル基がメチルであり、そして、ハロアルキル基がトリフルオロアルキル、好みの態様はトリフルオロメチルであることが好みの態様である。 $A_2$  が二重結合である場合、 $R_8$  は  $H$  又は  $C(O)CH_3$  であり、そして、 $R_6$  及び  $R_7$  はアルキルであり、好みの態様はメチルであることが好みの態様である。 $A_2$  が単結合である場合、 $R_8$  は  $H$  又は  $C(O)CH_3$  であり、そして、 $R_6$  及び  $R_7$  はアルキル、好みの態様はメチルであることが好みの態様である。

20

## 【0109】

好みの態様において、 $A_1$  は二重結合であり、そして、 $X_1$  及び  $X_2$  は各々  $H_2$  である。 $A_2$  が三重結合である場合、 $R_8$  は  $H$  又は  $C(O)CH_3$  であり、 $R_6$  及び  $R_7$  はアルキル又はハロアルキルであることが好みの態様である。アルキル基はメチル又はエチルであり、そして、ハロアルキル基はトリフルオロアルキル、好みの態様はトリフルオロメチルであることが好みの態様である。 $A_2$  が二重結合である場合、 $R_8$  は  $H$  又は  $C(O)CH_3$  であり、そして、 $R_6$  及び  $R_7$  はハロアルキル、好みの態様はトリフルオロアルキル、より好みの態様はトリフルオロメチルであることが好みの態様である。 $A_2$  が単結合である場合、 $R_8$  は  $H$  又は  $C(O)CH_3$  であり、そして、 $R_6$  及び  $R_7$  は、アルキル、好みの態様はメチルであることが好みの態様である。

30

## 【0110】

本発明の式Iの別の態様において、 $R_1$  及び  $R_2$  は、 $OC(O)CH_3$  であり、 $A_1$  は単結合であり、そして、 $A_2$  は、単結合、二重結合又は三重結合である。但し、 $R_3$  が  $H$  であり、そして、 $R_4$  がメチルであるならば、 $A_2$  は二重結合又は三重結合である。好みの態様において、 $R_3$  は  $H$  であり、 $R_4$  はメチルであり、 $R_5$  は存在せず、 $R_8$  は  $H$  又は  $C(O)CH_3$  であり、そして、 $R_6$  及び  $R_7$  はアルキル、好みの態様はメチルである。

## 【0111】

本発明における好みの化合物は、表1に要約されており、そして以下の化合物が含まれる：

40

- 1, 3 - ジ - O - アセチル - 1, 25 - ジヒドロキシ - 16, 23Z - ジエン - 26, 27 - ヘキサフルオロ - 19 - ノル - コレカルシフェロール (2)；
- 1, 3 - ジ - O - アセチル - 1, 25 - ジヒドロキシ - 16 - エン - 23 - イン - 26, 27 - ヘキサフルオロ - 19 - ノル - コレカルシフェロール (4)；
- 1, 3, 25 - トリ - O - アセチル - 1, 25 - ジヒドロキシ - 16 - エン - 23 - イン - 26, 27 - ヘキサフルオロ - 19 - ノル - コレカルシフェロール (5)；
- 1, 3 - ジ - O - アセチル - 1, 25 - ジヒドロキシ - 16 - エン - 23 - イン - コレカルシフェロール (7)；
- 1, 3 - ジ - O - アセチル - 1, 25 - ジヒドロキシ - 16, 23E - ジエン - コレカ

50

ルシフェロール(9)；

1,3-ジ-0-アセチル-1,25-ジヒドロキシ-16-エン-コレカルシフェロール(11)；

1,3,25-トリ-0-アセチル-1,25-ジヒドロキシ-16-エン-23-イン-26,27-ヘキサフルオロ-コレカルシフェロール(13)；

1,3-ジ-0-アセチル-1,25-ジヒドロキシ-16-エン-23-イン-26,27-ヘキサフルオロ-コレカルシフェロール(14)；

1,3-ジ-0-アセチル-1,25-ジヒドロキシ-16,23E-ジエン-25R,26-トリフルオロ-コレカルシフェロール(16)；

1,3-ジ-0-アセチル-1,25-ジヒドロキシ-16-エン-19-ノル-コレカルシフェロール(18)；

1,3-ジ-0-アセチル-1,25-ジヒドロキシ-16-エン-23-イン-19-ノル-コレカルシフェロール(20)；

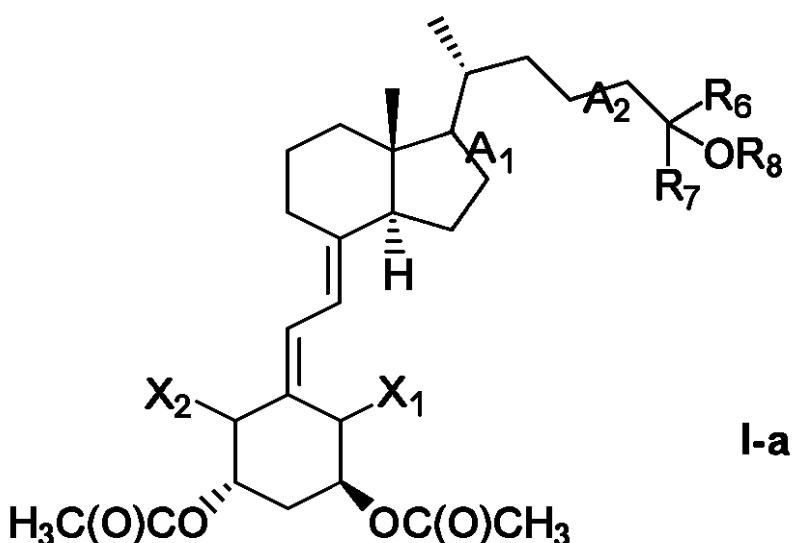
1,3-ジ-0-アセチル-1,25-ジヒドロキシ-16-エン-23-イン-26,27-ビスホモ-19-ノル-コレカルシフェロール(22)；及び

1,3-ジ-0-アセチル-1,25-ジヒドロキシ-23-イン-コレカルシフェロール(41)。

【0112】

【表1】

表1



| 化合物              | X <sub>1</sub>   | X <sub>2</sub> | A <sub>1</sub> | A <sub>2</sub> | R <sub>6</sub>                  | R <sub>7</sub>                  | R <sub>8</sub>      |
|------------------|------------------|----------------|----------------|----------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------|
| (2) <sup>a</sup> | H <sub>2</sub>   | H <sub>2</sub> | ≡              | ≡              | CF <sub>3</sub>                 | CF <sub>3</sub>                 | H                   |
| (4)              | H <sub>2</sub>   | H <sub>2</sub> | ≡              | ≡              | CF <sub>3</sub>                 | CF <sub>3</sub>                 | H                   |
| (5)              | H <sub>2</sub>   | H <sub>2</sub> | ≡              | ≡              | CF <sub>3</sub>                 | CF <sub>3</sub>                 | C(O)CH <sub>3</sub> |
| (7)              | =CH <sub>2</sub> | H <sub>2</sub> | ≡              | ≡              | CH <sub>3</sub>                 | CH <sub>3</sub>                 | H                   |
| (9)              | =CH <sub>2</sub> | H <sub>2</sub> | ≡              | ≡              | CH <sub>3</sub>                 | CH <sub>3</sub>                 | H                   |
| (11)             | =CH <sub>2</sub> | H <sub>2</sub> | ≡              | —              | CH <sub>3</sub>                 | CH <sub>3</sub>                 | H                   |
| (13)             | =CH <sub>2</sub> | H <sub>2</sub> | ≡              | ≡              | CF <sub>3</sub>                 | CF <sub>3</sub>                 | C(O)CH <sub>3</sub> |
| (14)             | =CH <sub>2</sub> | H <sub>2</sub> | ≡              | ≡              | CF <sub>3</sub>                 | CF <sub>3</sub>                 | H                   |
| (16)             | =CH <sub>2</sub> | H <sub>2</sub> | ≡              | ≡              | CF <sub>3</sub>                 | CH <sub>3</sub>                 | H                   |
| (18)             | H <sub>2</sub>   | H <sub>2</sub> | ≡              | —              | CH <sub>3</sub>                 | CH <sub>3</sub>                 | H                   |
| (20)             | H <sub>2</sub>   | H <sub>2</sub> | ≡              | ≡              | CH <sub>3</sub>                 | CH <sub>3</sub>                 | H                   |
| (22)             | H <sub>2</sub>   | H <sub>2</sub> | ≡              | ≡              | CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> | CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> | H                   |
| (41)             | =CH <sub>2</sub> | H <sub>2</sub> | —              | ≡              | CH <sub>3</sub>                 | CH <sub>3</sub>                 | H                   |

<sup>a</sup>Zオレフィン

10

20

30

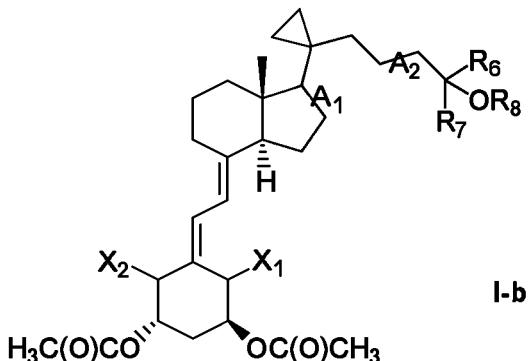
40

【0113】

本発明の別の態様において、式I-b：

【0114】

## 【化 0 4 0】



10

で示す様に、R<sub>1</sub> 及び R<sub>2</sub> は各々 O C ( O ) C H<sub>3</sub> であり、R<sub>3</sub> 及び R<sub>4</sub> は C<sub>2</sub> と共にシクロプロピルを形成し、R<sub>5</sub> は H ( 又は、A<sub>2</sub> が三重結合の場合、存在せず ) である。

## 【0 1 1 5】

好ましい態様において、X<sub>1</sub> は = C H<sub>2</sub> であり、そして、X<sub>2</sub> は H<sub>2</sub> である。A<sub>1</sub> が単結合であり、そして、A<sub>2</sub> が三重結合であるならば、R<sub>8</sub> は H 又は C ( O ) C H<sub>3</sub> であり、そして、R<sub>6</sub> 及び R<sub>7</sub> はアルキルであり、好ましくはメチルであることが好ましい。A<sub>1</sub> が単結合であり、そして、A<sub>2</sub> が単結合であるならば、R<sub>8</sub> は H 又は C ( O ) C H<sub>3</sub> であり、そして、R<sub>6</sub> 及び R<sub>7</sub> はアルキル、好ましくはメチルであることが好ましい。A<sub>1</sub> が二重結合であり、そして、A<sub>2</sub> が単結合であるならば、R<sub>8</sub> は H 又は C ( O ) C H<sub>3</sub> であり、そして、R<sub>6</sub> 及び R<sub>7</sub> はアルキル、好ましくはメチルであることが好ましい。

20

## 【0 1 1 6】

別の好ましい態様において、X<sub>1</sub> 及び X<sub>2</sub> は、各々 H<sub>2</sub> である。A<sub>1</sub> が単結合であり、そして、A<sub>2</sub> が三重結合であるならば、R<sub>8</sub> は H 又は C ( O ) C H<sub>3</sub> であり、そして、R<sub>6</sub> 及び R<sub>7</sub> はアルキル又はハロアルキルであることが好ましい。アルキル基がメチルであり、そして、ハロアルキル基がトリフルオロアルキル、好ましくはトリフルオロメチルであることが好ましい。A<sub>1</sub> が単結合であり、そして、A<sub>2</sub> が二重結合であるならば、R<sub>8</sub> は H 又は C ( O ) C H<sub>3</sub> であり、そして、R<sub>6</sub> 及び R<sub>7</sub> はハロアルキル、好ましくはトリフルオロアルキルであり、より好ましくはトリフルオロメチルであることが好ましい。A<sub>1</sub> が二重結合であり、そして、A<sub>2</sub> が単結合であるならば、R<sub>8</sub> は H 又は C ( O ) C H<sub>3</sub> であり、そして、R<sub>6</sub> 及び R<sub>7</sub> はアルキル、好ましくはメチルであることが好ましい。

30

## 【0 1 1 7】

本発明の好ましい化合物は表 2 に要約され、そして、以下の化合物が包含される：

1 , 3 - ジ - O - アセチル - 1 , 2 5 - ジヒドロキシ - 2 0 - シクロプロピル - 2 3 - イン - 1 9 - ノル - コレカルシフェロール ( 2 4 ) ；

1 , 3 , 2 5 - トリ - O - アセチル - 1 , 2 5 - ジヒドロキシ - 2 0 - シクロプロピル - 2 3 - イン - 2 6 , 2 7 - ヘキサフルオロ - 1 9 - ノル - コレカルシフェロール ( 2 6 ) ；

1 , 3 - ジ - O - アセチル - 1 , 2 5 - ジヒドロキシ - 2 0 - シクロプロピル - 2 3 - イン - 2 6 , 2 7 - ヘキサフルオロ - 1 9 - ノル - コレカルシフェロール ( 2 7 ) ；

1 , 3 - ジ - O - アセチル - 1 , 2 5 - ジヒドロキシ - 2 0 - シクロプロピル - 2 3 - イン - コレカルシフェロール ( 2 9 ) ；

1 , 3 - ジ - O - アセチル - 1 , 2 5 - ジヒドロキシ - 2 0 - シクロプロピル - 2 3 E - エン - 2 6 , 2 7 - ヘキサフルオロ - 1 9 - ノル - コレカルシフェロール ( 3 1 ) ；

1 , 3 - ジ - O - アセチル - 1 , 2 5 - ジヒドロキシ - 2 0 - シクロプロピル - 2 3 Z - エン - 2 6 , 2 7 - ヘキサフルオロ - 1 9 - ノル - コレカルシフェロール ( 3 3 ) ；

1 , 3 - ジ - O - アセチル - 1 , 2 5 - ジヒドロキシ - 2 0 - シクロプロピル - コレカルシフェロール ( 3 5 ) ；

1 , 3 - ジ - O - アセチル - 1 , 2 5 - ジヒドロキシ - 1 6 - エン - 2 0 - シクロプロ

40

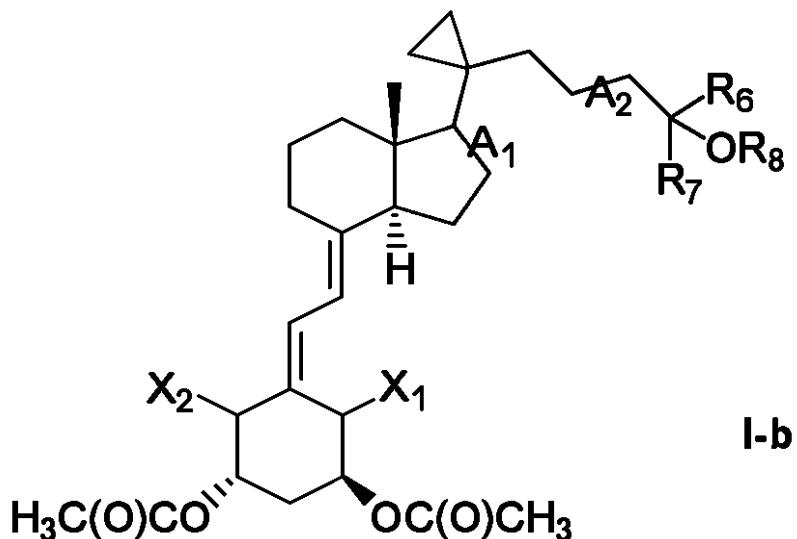
50

ロピル - 19 - ノル - コレカルシフェロール (37) ; 及び  
1,3 - ジ - O - アセチル - 1,25 - ヒドロキシ - 16 - エン - 20 - シクロプロ  
ピル - コレカルシフェロール (39)。

【0118】

【表2】

表2



| 化合物               | X <sub>1</sub>   | X <sub>2</sub> | A <sub>1</sub> | A <sub>2</sub> | R <sub>6</sub>  | R <sub>7</sub>  | R <sub>8</sub>      |
|-------------------|------------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|-----------------|---------------------|
| (24)              | H <sub>2</sub>   | H <sub>2</sub> | —              | ≡              | CH <sub>3</sub> | CH <sub>3</sub> | H                   |
| (27)              | H <sub>2</sub>   | H <sub>2</sub> | —              | ≡              | CF <sub>3</sub> | CF <sub>3</sub> | H                   |
| (26)              | H <sub>2</sub>   | H <sub>2</sub> | —              | ≡              | CF <sub>3</sub> | CF <sub>3</sub> | C(O)CH <sub>3</sub> |
| (29)              | =CH <sub>2</sub> | H <sub>2</sub> | —              | ≡              | CH <sub>3</sub> | CH <sub>3</sub> | H                   |
| (31)              | H <sub>2</sub>   | H <sub>2</sub> | —              | ≡              | CF <sub>3</sub> | CF <sub>3</sub> | H                   |
| (33) <sup>a</sup> | H <sub>2</sub>   | H <sub>2</sub> | —              | ≡              | CF <sub>3</sub> | CF <sub>3</sub> | H                   |
| (35)              | =CH <sub>2</sub> | H <sub>2</sub> | —              | —              | CH <sub>3</sub> | CH <sub>3</sub> | H                   |
| (37)              | H <sub>2</sub>   | H <sub>2</sub> | ≡              | —              | CH <sub>3</sub> | CH <sub>3</sub> | H                   |
| (39)              | =CH <sub>2</sub> | H <sub>2</sub> | ≡              | —              | CH <sub>3</sub> | CH <sub>3</sub> | H                   |

<sup>a</sup>Zオレフィン

【0119】

本発明のある化合物の構造は、不斉炭素原子を含む。それ故、その様な不斉に起因する異性体（例えば、全てのエナンチオマー及びジアステレオマー）は、特に指示の無い限り、本発明の範囲内に含まれる。その様な異性体は、伝統的な分離技術及び／又は立体化学的に制御された合成により、実質的に純粋なものとして得ることができる。

【0120】

天然に存在する又は合成された異性体は幾つかの当該技術公知の方法で分離できる。2つのエナンチオマーのラセミ混合物の分離方法としては、キラル固定相を用いるクロマトグラフィーが挙げられる（例えば、“Chiral Liquid Chromatography”, W. J. Lough, E d. Chapman and Hall, New York (1989)を参照）。エナンチオマーは、又、伝統的な分割

技術により分離することができる。例えば、ジアステレオマー塩の生成及び分別結晶化が、エナンチオマーの分離に用いることができる。カルボン酸のエナンチオマーの分離のために、ブルシン、キニーネ、エフェドリン、ストリキニーネ等のエナンチオマー的に純粋なキラル塩基の添加により、ジアステレオマー塩を生成することができる。或いは又、メントールの様なエナンチオマー的に純粋なキラルアルコールを用いて、ジアステレオマー-エステルを生成し、次いで、ジアステレオマーエステルの分離及び加水分解により、遊離のエナンチオマー的に濃縮されたカルボン酸を生成することができる。アミノ化合物の光学異性体分離のため、カンファースルホン酸、酒石酸、マンデル酸又は乳酸の様なキラルカルボン酸、若しくはスルホン酸の添加により、ジアステレオマー塩を生成することができる。

10

## 【0121】

3. 本発明のビタミンD<sub>3</sub>化合物の使用

別の態様において、本発明は、又、式I又は本明細書に別に記載されているビタミンD<sub>3</sub>化合物の有効量を患者に投与することによって、ビタミンD<sub>3</sub>が関与する症状について患者を治療する方法を提供する。ビタミンD<sub>3</sub>が関与する症状は、ビタミンD<sub>3</sub>応答細胞、例えば、腫瘍性細胞、過増殖性皮膚細胞、副甲状腺細胞、免疫細胞及び骨細胞等の異常活性に関与する障害を包含する。ビタミンD<sub>3</sub>が関与する症状は、又、ILT3関連障害を包含する。ある種の態様において、患者は、哺乳動物、例えば、ヒトのような靈長類である。

20

## 【0122】

ある種の態様において、本発明の方法は、患者に、別の医薬として活性な化合物と併用してビタミンD<sub>3</sub>化合物の治療有効量を投与することを包含する。医薬として活性な化合物の例としては、自己免疫障害を治療することが知られている化合物、例えば、シクロスボリンA、ラパマイシン、デスオキシスパーガリン、FK-506、ステロイド、アザチオプリン、抗T細胞抗体及びT細胞小集団に対するモノクローナル抗体のような免疫抑制剤を包含する。使用し得る別の医薬的に活性な化合物は、Harrison's Principles of Internal Medicine, 13th Edition, T. R. Harrisonら、McGraw-Hill N.Y., NY; 及びPhysicians Desk References, 50th Edition, 1997, Oradell, New Jersey, Medical Economic Co.に見出すことができ、それらの内容の全ては、参照することによって本明細書に明確に取り込むものとする。ビタミンD<sub>3</sub>化合物及び医薬として活性な化合物は、患者に、同じ医薬組成物中で、又は異なった医薬組成物中で(同時に又は別の時に)投与することができる。

30

## 【0123】

A. 過増殖疾患

別の態様において、本発明は、ビタミンD<sub>3</sub>応答細胞の異常活性により特徴付けられる障害について患者を治療する方法を提供する。本方法は、細胞の活性が調節されるように、式I又は本明細書に別に記載されたビタミンD<sub>3</sub>化合物の医薬組成物の有効量を、患者に投与することを含む。

## 【0124】

ある種の態様において、治療される細胞は、過増殖細胞である。以下により詳細に記載するように、本発明のビタミンD<sub>3</sub>化合物は、種々の過形成及び腫瘍性組織の増殖を阻害するのに使用することができる。本発明によると、本発明のビタミンD<sub>3</sub>化合物は、ビタミンD<sub>3</sub>応答細胞、例えば、過増殖皮膚細胞、免疫細胞、並びに、例えば、癌腫、肉腫及び白血病のような、形質転換細胞を有する組織の望ましからぬ増殖によって特徴付けられる、病的及び非病的増殖状態の両者の治療において使用することができる。別の態様において、治療される細胞は、例えば、副甲状腺細胞、免疫細胞のような異常分泌細胞である。

40

## 【0125】

過増殖性状態の治療におけるビタミンD化合物の使用は、それらの高カルシウム効果の故に制限されていた。それ故、本発明のビタミンD<sub>3</sub>化合物は、現行の治療方法のより毒

50

性の少ない代替品を提供することができる。

【0126】

一つの態様において、本発明は、本発明のビタミンD<sub>3</sub>化合物を細胞と接触させることにより、過剰増殖性の皮膚細胞、例えば、角化細胞のような表皮細胞又は上皮細胞の増殖を阻害し、及び／又は、分化を誘導する方法を特色とする。一般的に、本方法は、病的又は非病的過増殖性細胞を、過増殖性細胞の分化を促進する、そのようなビタミンD<sub>3</sub>化合物の有効量と接触させる工程を包含する。本発明の方法は、培養での細胞、例えば、インビトロ又はエクスピボで実施することができ、又は動物患者に存在する細胞、例えば、インビボ治療プロトコールの一部として実施することができる。治療計画は、ヒト又は別のいすれの動物患者においても実施することができる。

10

【0127】

本発明のビタミンD<sub>3</sub>化合物は、過増殖性皮膚障害を治療するのに使用することができる。典型的な障害は、限定されないが、乾癬、基底細胞癌、角質化障害及び角化症を包含する。これらの障害の追加的例示としては、湿疹；ループス関連皮膚傷害；乾癬性関節炎；関節包を内張りする上皮関連細胞の過増殖及び炎症に關与する関節リウマチ；脂漏性皮膚炎及び日光皮膚炎のような皮膚炎；脂漏性角化症、老人性角化症、光線性角化症、光線誘発角化症、及び毛包性角化症のような角化症；尋常性座瘡；ケロイド及びケロイド形成に対する予防；母斑；いぼ、コンジローム又は尖圭コンジローム、及び性病いぼのようなヒトパピローマウイルス(HPV)感染；白板症；扁平苔癬；及び角膜炎を包含する。

20

【0128】

説明に役立つ実例において、本発明のビタミンD<sub>3</sub>化合物は、これら化合物の有効量を治療を必要とする患者に投与することにより、乾癬のような疾患の治療において、角化細胞の増殖を阻害するのに使用することができる。用語「乾癬」は、その医学的意味、即ち、主として皮膚を苦しめ、隆起した、肥厚性の、落屑性の、非瘢痕性の傷害を生じる疾患有することを意図している。傷害は、通常、重なり合い光った鱗屑で覆われた、はっきりと区切られた紅斑性丘疹である。鱗屑は、典型的には銀色又はわずかにオパール色である。爪に起こると、しばしば、穴があき、爪が分離し、肥厚し、そして脱色をもたらす。乾癬は、ときには、関節炎と合併し、大きな損害を与える。角化細胞の過増殖は、角化細胞の表皮性の炎症及び低下した分化とともに乾癬性表皮性肥大の主要な特徴である。多数の機構が、乾癬を特徴付ける角化細胞の過増殖を説明するためにとられてきた。傷害した細胞免疫が、乾癬の病理に関係があるとされている。

30

【0129】

B. 新生組織形成

本発明は、又、細胞を式I又は本明細書の別に記載したビタミンD<sub>3</sub>化合物と接触させることによってビタミンD<sub>3</sub>応答過増殖性細胞の増殖を阻害する、及び／又は形質転換された表現型を反転する方法を特色としている。一般的に、本方法は、病的又は非病的過増殖性細胞を、過増殖性細胞の分化を促進する、そのようなビタミンD<sub>3</sub>化合物の有効量と接触させる工程を包含する。本発明の方法は、培養での細胞、例えば、インビトロ又はエクスピボで実施することができ、又は動物患者に存在する細胞、例えば、インビボ治療プロトコールの部分として実施することができる。治療計画は、ヒト又別の患者でも実施することができる。

40

【0130】

式I又は本明細書に別に記載されたビタミンD<sub>3</sub>化合物は、腫瘍細胞の増殖を阻害するそれらの効果について、インビトロで最初に試験することができる。使用することができる細胞株の例としては、形質転換細胞、例えばヒト前骨髓性白血病細胞株HL-60、及びヒト骨髓性白血病U-937細胞株(Abe, E.ら、(1981) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 78: 4990-4994; Song, L. N. and Cheng, T. (1992) Biochem. Pharmacol. 43: 2292-295; Zhou, J. Y.ら、(1989) Blood, 74: 82-93; U.S.Pat. Nos. 5,401,733, U.S.5,087,619)である。或いは又、本発明のビタミンD<sub>3</sub>化合物の抗腫瘍性効果は、当該技術分野公知の種々の動物モデルを用いてインビボで試験することができ、このことはBouillon,

50

R. ら、(1995) *Endocrine Reviews*, 16(2): 233, (Table E) に要約されており、この文献は、参照することにより本明細書に取り入れられている。例えば、S L マウスは、M I 骨髓性白血病のモデルとしてビタミン D 化合物を試験する技術において通常使用されている (Honma, ら、(1983) *Cell Biol.* 80: 201-204; Kasukabe, T. ら、(1987) *Cancer Res.* 47: 567-572) ; 乳癌での試験は、例えば、ヒト MX I (E R) に対するヌードマウスで実施することができ (Abe, J. ら、(1991) *Endocrinology*, 129: 832-837; 他の癌、例えば結腸癌、メラノーマ骨肉腫、は、例えば、(Eisman, J. A. ら、(1987) *Cancer Res.* 47: 21-25; Kawaura, A. ら、(1990) *Cancer Lett.* 55: 149-152; Belleli, A. (1992) *Carcinogenesis*, 13: 2293-2298; Tsuchiya, H. ら、(1993) *J. Orthopaed. Res.* 11: 122-130) に記載されているようなヌードマウスモデルで特徴付けることができる。  
10

### 【0131】

本主題の方法は、造血細胞由来、例えば骨髓、リンパ球又は赤血球系統、若しくはこれらの前駆細胞の過増殖性 / 腫瘍性細胞の増殖を阻害するのに使用することもできる。例えば、本発明は、限定されないが、急性前骨髓性白血病 (APML)、急性骨髓性白血病 (AML) 及び慢性骨髓性白血病 (CML) を包含する種々の骨髓障害の治療を意図している (Vaickus, L. (1991) *Crit. Rev. in Oncol. / Hematol.* 11: 267-97に総説されている)。本主題の方法によって治療され得るリンパ性悪性疾患としては、限定されないが、B - 系 ALL 及び T - 系 ALL を包含する急性リンパ芽細胞性白血病 (ALL)、慢性リンパ球性白血病 (CLL)、前リンパ球性白血病 (PLL)、ヘアリー細胞白血病 (HL) 及びヴァルデンシュトロームマクログロブリン血症 (WM) が挙げられる。本発明の治療方法により意図されている悪性リンパ腫の更なる形態としては、限定されないが、非ホジキンリンパ腫及びその変種、末梢 T 細胞リンパ腫、成人 T 細胞白血病 / リンパ腫 (ATL)、皮膚 T 細胞性リンパ腫 (CTCL)、大顆粒リンパ性白血病 (LGF) 及びホジキン病が挙げられる。  
20

### 【0132】

ある種の態様において、本発明のビタミン D<sub>3</sub> 化合物は、従来の癌化学療法と共にコンビナトリアルテラピーにおいて使用することができる。白血病及びその他の腫瘍の伝統的な治療計画は、放射線、薬物、又は両者の組合せを包含する。放射線に加えて、通常互いに組み合わせて、以下の薬剤が急性白血病の治療にしばしば使用される：ビンクリスチン、プレドニゾン、メトトレキセート、メルカブトプリン、シクロホスファミド及びシタラビン。慢性白血病においては、例えば、プスルファン、メルファラン、及びクロラムブシルを組み合わせて使用することができる。伝統的な抗ガン薬の全ては高毒性であり、治療を受けているとき患者を大変病的にする傾向がある。積極的な治療は、全ての白血病細胞が破壊されなければ、残った細胞が増殖し再発の原因となる、という前提を基本としている。  
30

### 【0133】

本主題の方法は、冒された肺、乳腺、リンパ、消化管及び生殖泌尿管のような種々の器官系の悪性腫瘍、並びに大部分の結腸癌、腎細胞癌、前立腺癌及び / 又は精巣癌、肺の非小細胞癌、小腸の癌、食道の癌、及び膀胱癌のような悪性腫瘍を包含する腺癌を治療するのに有用でもあり得る。  
40

### 【0134】

形質転換細胞の分化に関与するビタミン D<sub>3</sub> の一般的な理論的概念によると、本発明の方法に従って治療することができる例示的な固形癌は、限定はされないが、以下のような肉腫及び癌腫のビタミン D<sub>3</sub> 応答表現型を包含する：線維肉腫、粘液肉腫、脂肪肉腫、軟骨肉腫、骨原性肉腫、脊索腫、血管肉腫、内皮肉腫、リンパ管肉腫、リンパ管内皮肉腫、滑膜腫、中皮腫、ユーリング腫瘍、平滑筋肉腫、横紋筋肉腫、結腸癌、膵癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、膀胱癌、扁平上皮癌、基底細胞癌、腺癌、汗腺癌、脂腺癌、乳頭状癌、乳頭腺癌、囊胞腺癌、髄様癌、気管支原性肺癌、腎細胞癌、肝臓癌、胆管癌、絨毛癌、精上皮腫、胎生期癌、ウィルムス腫瘍、子宮頸癌、精巣腫瘍、肺癌、小細胞肺癌、膀胱癌、上  
50

皮性癌、神経膠腫、星状細胞腫、髓芽細胞腫、頭蓋咽頭腫、上衣細胞腫、松果体腫、血管芽細胞腫、聴神経腫、乏突起膠腫、髓膜腫、メラノーマ、神経芽細胞腫、及び網膜芽細胞腫。

【0135】

本発明のビタミンD<sub>3</sub>化合物の治療的に有効な抗腫瘍量又は予防的に有効な抗腫瘍量の決定は、公知の技術の使用により、及び類似の状況下で得られる結果を観察することによって、当業者として、医師又は獣医師（「主治医」）によって容易に行うことができる。投与量は、主治医の判定における患者の要件、治療されている状態の重症度及び採用されている特定の化合物によって変化するであろう。治療的に有効な抗腫瘍量又は投与量、及び予防的に有効な抗腫瘍量又は投与量の決定において、限定はされないが、以下を包含する多くの要因が主治医によって考慮される：関与する特定の過形成／腫瘍性細胞；特定の薬剤の薬力学的性質並びにその投与様式及び経路；治療の望ましい時間的経過；哺乳動物の種；その大きさ、年齢及び一般的健康；関与する特定の疾患；疾患の程度又は関与、若しくは重症度；個々の患者の反応；投与される特定の化合物；投与様式；投与される製剤の生物学的同等性；選択される投与計画；併用療法の種類（即ち、本発明のビタミンD<sub>3</sub>化合物と別の同時投与療法剤の相互作用）；及びその他の関係のある状況。米国特許第5,472,916号は、例えば、個々の患者における抗腫瘍治療の効果を予測する方法が記載され、当該発明の治療プロトコールに関連して使用することのできる、ある種の方法が例示されている。

【0136】

治療は、化合物の至適投与量未満である、より少ない投与量で開始することができる。その後、投与量は、状況下で至適効果に達するまで少ない増分によって増加すべきである。便宜上、総一日投与量は、所望により、分割され、一日の間に分割して投与してもよい。本発明のビタミンD<sub>3</sub>化合物の治療的に有効な抗腫瘍量及び予防的に有効な抗腫瘍量は、1日につき、体重kg当たり約0.1mg (mg/kg/day) ~ 約100mg/kg/日に変化することが期待される。

【0137】

動物、例えば、イヌ、齧歯類、における腫瘍の予防又は治療に有効であることが決定される化合物は、ヒトの腫瘍の治療でも有用であろう。ヒトの腫瘍を治療する当業者は、動物実験において得られたデータに基づいて、ヒトに対する化合物の投与量及び投与経路を知っているであろう。一般的に、ヒトにおける投与量及び投与経路は、動物におけるそれに類似していることが予測される。

【0138】

過形成／腫瘍性疾患状態を予防的に治療する必要がある患者の同定は、当業者の能力及び知識内でよく知られている。本主題の方法により治療することができる腫瘍性疾患を発生する危険性がある患者の同定方法は、本主題の患者において、特定の病態の発生の家族歴、及びその病態の発生に関連する危険因子の存在のように、医術において理解されている。当業者である臨床家は、例えば、臨床検査、身体検査及び病歴／家族歴を使って、そのような候補患者を容易に同定することができる。

【0139】

C. 免疫活性

健康な個人は、物理的バリアー、血液及び組織中の食細胞、リンパ球として知られる免疫細胞の類、及び種々の血液由来の分子を包含する、多くの異なった機構を用いて外部の侵入者に対して、自身を防御している。これらの機構の全ては、潜在的な敵意ある環境から個人を防御するのに貢献している。自然又は先天性免疫として知られている、これらの防御機構のいくつかは、感染性微生物又は他の外部巨大分子に曝される前に個人内に存在しており、そのような曝露によって増強されないし、殆んどの外部物質の間を差別しない。後天性又は特異的免疫として知られる他の防御機構は、外部物質の曝露によって誘発又は刺激され、そして特定の巨大分子に継続的に曝される毎に規模及び防御能力を増加する。特異的免疫応答を誘発する物質は、抗原として知られている（例えば、Abbas, A. et

10

20

30

40

50

al. *Cellular and Molecular Immunology*, W. B. Saunders Company, Philadelphia, 1991; Silverstein, A. M., *A History of Immunology*, San Diego, Academic Press, 1989; Unanue, A. ら、 *Textbook of Immunology*, 2nd Ed. Williams and Wilkins, Baltimore, 1984を参照)。

#### 【0140】

免疫系の最も顕著な性質の一つは、異種抗原と自己抗原の間を区別する能力である。それ故、各個人のリンパ球は多くの異種抗原を認識し、応答することができるが、しかし個人に存在する潜在的な抗原物質に対しては通常非応答的である。この免疫学的非応答性は、免疫寛容と称されている(例えば、Burt, R. K. et al. (2002) *Blood*, 99: 768; Coutinho, A. ら、(2001) *Immunol. Rev.* 182:89; Schwartz, R. H. (1990) *Science*, 248: 1349; Miller, J. F. ら、(1989) *Immunology Today*, 10: 53を参照)。

#### 【0141】

自己免疫寛容は、各個人のリンパ球によって学習されるべき後天的過程である。それは、抗原提示細胞( A P C )によって提示される抗原との遭遇が、正の選択及び負の選択として知られる過程においてリンパ球の死又は不活化をもたらすときにリンパ球は発達の段階を経験するので、部分的に起こるものである(Debatin, K. M. (2001) *Ann. Hematol.* 80, Suppl 3: B29; Abbas, A. (1991)、上掲、を参照)。それ故、潜在的な自己認識リンパ球は、機能免疫のこの段階で自己抗原と接触し、自己抗原に応答することができるかもしれない段階に発達するのを防御されるのである。自己免疫は、特定の抗原に対する寛容が失われ、引き続いて抗原を発現する宿主の組織での宿主の免疫系による攻撃がなされる結果、自己免疫寛容の誘導又は保持における異常が起こるときに生じる(例えば、Boyton, R. J. ら、(2002) *Clin. Exp. Immunol.* 127: 4; Hagiwara, E. (2001) *Ryumachi*, 41: 888; Burt, R. K. ら、(2992) *Blood*, 99: 768を参照)。

#### 【0142】

自己と異種抗原の間を区別する免疫系の能力は、組織移植において臨界的役割も演じている。移植の成功は、異物として移植片を認識するのを宿主レシピエントの免疫系が防ぎ、そして、ある場合には、異物として宿主の組織を認識することから移植片を守ることに依存している。例えば、宿主が骨髄移植を受けるとき、移植された骨髄は、新しい宿主を異物として認識するであろう、その結果、移植片対宿主病( G V H D )が起こる。従って、宿主の生存は、移植免疫反応による宿主骨髄の拒絶と宿主の拒絶の療法を防止することにかかっている(例えば、Waldmann, H. ら、(2001) *Int. Arch. Allergy Immunol.* 126: 11を参照)。

#### 【0143】

現在、自己免疫疾患及び移植拒絶をもたらす有害な免疫反応は、ステロイド、アザチオプリン、抗T細胞抗体、及びより最近ではT細胞亜集団に対するモノクローナル抗体のような薬剤を使用して予防又は治療されている。シクロスボリンA( C s A )、ラパマイシン、デスオキシスパーガリン及びFK-506のような免疫抑制剤も広く使用されている。

#### 【0144】

ステロイド及びリンパ球に対する抗体のような非特異的免疫抑制剤は、日和見感染や腫瘍の発生に対し増大する危険に宿主をおく。更に、多くの免疫抑制薬は、宿主の骨脱ミネラル化をもたらす(例えば、Chhajed, P. N. et al. (2002) *Indian J. Chest Dis. Allied*, 44: 31; Wijdicks, E. F. (2001) *Liver Transpl.* 7: 937; Karamehic, J. et al. (2001) *Med. Arh.* 55: 243; Beschorner, W. E. の米国特許第5,597,563号、及びDeLuc, H. F. et al. の米国特許第6,071,897号を参照)。免疫抑制様式の存在に関連する主要な欠陥の故に、免疫障害を治療する新しいアプローチ、例えば宿主における免疫寛容の誘導についての需要がある。

#### 【0145】

それ故、別の態様において、本発明は、細胞を式I又は本明細書に別に記載されたビタミンD<sub>3</sub>化合物と接触させることによって、免疫細胞の活性を調節する方法を提供する。

## 【0146】

一つの態様において、本発明は、病的又は非病的免疫細胞を、本発明のビタミンD<sub>3</sub>化合物の有効量と接触させ、それによって治療がないときの細胞に関連する免疫応答を阻害することによる、免疫細胞の免疫活性を抑制する方法を提供する。本発明の方法は、培養での細胞で、例えばインビトロ又はエクスピボで実施することができ、又は動物患者に存在する細胞で、例えばインビボ治療プロトコールの一部分として、実施することができる。インビボ治療は、ヒト又は他の動物患者で実施することができる。

## 【0147】

本発明のビタミンD<sub>3</sub>化合物は、Reichel, H. ら、(1987) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 84: 3385-3389; Lemire, J. M. ら、(1985) J. Immunol. 34: 2032-2035に記載されているように、T細胞増殖及び分泌活性に対する阻害効果についてインビトロで最初に試験することができる。或いは又、免疫抑制効果は、当業者に知られ、Bouillon, R. ら、Endocrine Reviews, 16 (2): 232 (表6及び7)に要約されている種々の動物モデルを用いて、インビボで試験することができる。例えば、自己免疫障害、例えば狼瘡、甲状腺炎、脳炎、糖尿病及び腎炎に対する動物モデルは、(とりわけ、Lemire, J. M. (1992) J. Cell Biochem. 49: 26-31; Koizumi, T. ら、(1985) Int. Arch. Allergy Appl. Immunol. 77: 396-04; Abe, J. ら、(1990) Calcium Regulation and Bone Metabolism (カルシウム制御及び骨代謝), 146-151; Fournier, C. ら、(1990) Clin. Immunol. Immunopathol. 54: 53-63; Lemire, J. M. and Archer, D.C. (1991) J. Clin. Invst. 87: 1103-1107; Lemire, J. M. ら、(1994) Endocrinology, 135 (6): 2828-2821; Inaba, M. ら、(1992) Metabolism, 41: 631-635; Mathieu, C. ら、(1992) Diabetes, 41: 1491-1495; Mathieu, C. ら、(1994) Diabetologia, 37: 552-558; Lillevang, S. T. ら、(1992) Clin. Exp. Immunol. 88: 301-306)に記載されている。臓器移植、例えば、皮膚移植、心臓移植、臍臓移植中の特徴的な免疫抑制活性についてのモデルは、Jordan, S. C. ら、(1988) v Herrath, D. (eds) Molecular, Cellular and Clinical Endocrinology (分子、細胞及び臨床内分泌学) 346-347; Veyron, P. ら、(1993) Transplant Immunol. 1: 72-76; Jordan, S. C. (1988) v Herrath, D. (eds) Molecular, Cellular and Clinical Endocrinology (分子、細胞及び臨床内分泌学) 334-335; Lemire, J. M. / ら、(1992) Transplantation, 54: 762-763; Mathieu, C. ら、(1994) Transplant Proc. 26: 3128-3129に記載されている。

## 【0148】

インビトロで免疫応答の効果的な抑制剤としてのある種の試験化合物を同定した後、これらの化合物は、治療プロトコールの一部としてインビボで使用することができる。従つて、本発明の別の態様は、移植拒絶、自己免疫障害及び炎症のような免疫反応を阻害するために、本発明のビタミンD<sub>3</sub>化合物の医薬製剤を患者に投与することを含む、免疫応答を抑制する方法を提供する。

## 【0149】

一つの態様において、本発明は、本発明のビタミンD<sub>3</sub>化合物の有効量を患者に投与することによって、ビタミンD<sub>3</sub>が関与する症状がILT3関連障害であるビタミンD<sub>3</sub>が関与する症状について、患者を治療する方法を提供する。一つの態様においては、ILT3関連状態は免疫障害である。ある種の態様においては、免疫障害は自己免疫障害である。特別な態様においては、免疫障害は1型糖尿病である。別の態様においては、免疫障害は移植拒絶である。

## 【0150】

例えば、本発明の主題のビタミンD<sub>3</sub>化合物は、T細胞応答を下方調節することが望ましい臨床状態における応答を阻害するのに使用することができる。例えば、移植片対宿主病において、移植の症例、自己免疫疾患(例えば、糖尿病、関節炎(関節リウマチ、若年性関節リウマチ、変形性関節症、乾癬性関節炎を含む)、多発性硬化症、脳脊髄炎、糖尿病、重症筋無力症、全身性エリテマトーデス、自己免疫性甲状腺炎、皮膚炎(アトピー性皮膚炎及び湿疹様皮膚炎を含む)、乾癬、シェーグレン症候群に続発する乾性角

結膜炎を包含するシェーグレン症候群、円形脱毛症、節足動物咬傷反応に起因するアレルギー反応、クローン病、アフタ性潰瘍、虹彩炎、結膜炎、角結膜炎、潰瘍性大腸炎、喘息、アレルギー性喘息、皮膚エリテマトーデス、強皮症、瞼炎、直腸炎、薬疹、ハンセン病リバーサル反応、癲性結節性紅斑、自己免疫性ブドウ膜炎、アレルギー性脳脊髄炎、急性壊死性出血性脳症、突発性両側性進行性感音難聴、再生不良性貧血、真正赤血球性貧血、突発性血小板減少症、多発性軟骨炎、ヴェグナー肉芽腫症、慢性活動性肝炎、スティーヴンス-ジョンソン症候群、突発性スブルー、扁平苔癬、クローン病、グレーブス眼病、サルコイドーシス、原発性胆汁性肝硬変、後部ブドウ膜炎、及び間質性肺線維症を包含する)。免疫活性の下方調節は、又、アトピー性アレルギーのような、アレルギーの場合においても望ましい。

10

## 【0151】

本発明の別の態様は、細胞の免疫グロブリン様トランスクリプト3 (ILT3) 表面分子の発現を調節する方法を提供する。本方法は、細胞を式Iの化合物と、細胞の免疫グロブリン様トランスクリプト3 (ILT3) 表面分子の発現を調節するに有効な量において、接觸することを包含する。別の態様において、調節は、発現のアップレギュレーションである。別の態様において、調節は発現のダウンレギュレーションである。

## 【0152】

本発明の関連する態様では、患者において、ILT3関連障害を治療する方法を提供する。本方法は、ILT3表面分子の発現を調節するに有効な量の式Iの化合物を患者に投与し、それによって患者のILT3関連障害を治療することを包含する。

20

## 【0153】

ある種の態様において、本発明は、例えば、自己免疫障害、及び移植片対宿主病のような移植拒絶のような免疫障害を治療する方法、並びに組成物を提供する。本発明のこれらの態様は、本発明のビタミンD<sub>3</sub>化合物は、細胞、例えば、抗原提示細胞、で免疫グロブリン様トランスクリプト3 (ILT3) の発現を調節することができるという発見に基づいている。

## 【0154】

従って、本発明の別の態様は、患者における移植拒絶を阻害する方法を提供する。本方法は、ILT3表面分子の発現を調節するに有効な量で式Iの化合物を患者に投与し、それによって患者の移植拒絶を阻害することを包含している。一つの態様においては、移植は臓器移植である。別の態様においては、移植は臍島移植である。更に別の態様においては、移植は骨髄移植である。

30

## 【0155】

前記したように、治療的に有効な免疫抑制量の決定は、公知の技術の使用により、及び類似の状況下で得られる結果を観察することによって、当業者としての主治医によって容易に行うことができる。動物、例えば、イヌ、齧歯類、で有効であると決められた化合物は、それに従って、当業者によってヒトに外挿することができるであろう。動物で使われる始めの投与量/計画は、事前の試験に基づいて推定することができる。例えば、齧歯類の自己免疫障害を治療するための本発明のビタミンD<sub>3</sub>化合物の投与量は、最初に、経口投与又は注射により0.1g/kg/日～1g/kg/日の範囲と推定することができる。

40

## 【0156】

当業者は、ヒトにおける投与量及び投与経路は動物のそれと類似していると期待されることを、動物での研究で得られたデータに基づいて知るであろう。ヒトにおいて使用される例示的な投与範囲は、成人について、0.25～10μg/日、好ましくは0.5～5μg/日である(米国特許第4,341,774号)。

## 【0157】

D. カルシウム及びリン酸ホメオスタシス

本発明は、又、カルシウムの脱制御により特徴付けられる障害を患者において治療する方法に関する。この方法は、病的又は非病的ビタミンD<sub>3</sub>応答細胞を、本発明のビタミン

50

D<sub>3</sub> 化合物の有効量と接触させ、それにより、カルシウム及びリン酸ホメオスタシスを直接的又は間接的に調節することを含む。インビポ又はインビトロでカルシウムの変動を検出する技術は、当該技術分野公知である。

【0158】

例示的な Ca<sup>2+</sup> ホメオスタシス関連アッセイは、腸の<sup>4</sup><sup>5</sup> Ca<sup>2+</sup> 吸収が、1) インビポ (Hibberd, K. A. and Norman, A. W. (1969) Biochem. Pharmacol. 18: 2347-2355; Hurwitz, S. ら、(1967) J. Nutr. 91: 319-23 Bickle, D. D. ら、(1984) Endocrinology, 114: 260-267)、又は2) 反転十二指腸囊法によるインビトロ (Schachter, D. ら、(1961) Am. J. Physiol. 200: 1263-1271)、又は3) ニワトリのカルビンディン D<sub>2-8</sub><sub>k</sub> 又はラットのカルビンディン D<sub>9-k</sub> のゲノム誘導 (Thomasset, M. ら、(1981) FEBS Lett. 127: 13-16; Brehier, A. and Thomasset, M. (1990) Endocrinology, 127: 580-587) のいずれかで決定されるという、腸に焦点を合わせたアッセイを包含する。骨指向性のアッセイは、以下を包含する。1) (Ca<sup>2+</sup> ゼロの栄養を食した動物において) インビポで骨から (Hibberd, K. A. and Norman, A. W. (1969) Biochem. Pharmacol. 18: 2347-2355; Hurwitz, S. ら、(1967) J. Nutr. 91: 319-323)、又はインビトロで骨移植片からの Ca<sup>2+</sup> の放出を経て決定される骨吸収の評価 (Bouillon, R. ら、(1992) J. Biol. Chem. 267: 3144-3151)、2) 血清オステオカルシンレベルの測定 (オステオカルシンは、その合成が大部分は骨マトリックス中に取り込まれた後に、部分的に循環中 (又は組織培養培地中) に放出され、それで骨形成又は骨回転の良好な場である骨芽細胞特異的タンパク質である) (Bouillon, R. ら、(1992) Clin. Chem. 38: 2055-2060)、又は3) 骨灰含量 (Norman, A. W. and Wong, R. G. (1972) J. Nutr. 102: 1709-1718)。腎臓指向性アッセイは、一つだけ採用されている。このアッセイでは、尿 Ca<sup>2+</sup> 排出が決定される (Hartenbower, D. L. et al. (1977) Walter de Gruyter, Berlin pp 587-589)；このアッセイは、血清 Ca<sup>2+</sup> レベルの上昇に依存しており、腎の効果以上に骨 Ca<sup>2+</sup> 変動活性を反映しているであろう。最後に、本発明の化合物の投与の結果を検出するために使用することのできる、「軟部組織石灰化」アッセイがある。このアッセイにおいては、ラットに、<sup>4</sup><sup>5</sup> Ca<sup>2+</sup> の腹腔投与量、次いで本発明の化合物の7日間に相当する高投与量が投与される；重篤な高カルシウム血症が発症すると、軟部組織石灰化は<sup>4</sup><sup>5</sup> Ca<sup>2+</sup> レベルの決定によって評価することができる。これら全てのアッセイにおいて、本発明のビタミン D<sub>3</sub> 化合物は、ビタミン D が充足している動物又は欠損動物に、アッセイの収量点が定量化される前に適切な時間間隔で、単回投与又は長期的に (アッセイプロトコールに従って) 投与される。

【0159】

ある種の態様において、本発明のビタミン D<sub>3</sub> 化合物は、骨代謝を調節するのに使用することができる。用語「骨代謝」は、カルシウム及びリン酸の血清中の濃度に究極的に影響するであろう、骨構造の形成又は変性、例えば骨形成、骨吸収等、への直接又は間接的な効果を包含することを意図している。この用語は、次に骨形成及び変性をもたらすであろう骨細胞、例えば破骨細胞及び骨芽細胞、におけるビタミン D<sub>3</sub> 化合物の効果を包含することも意図している。例えば、ビタミン D<sub>3</sub> 化合物は、ゲノム及び非ゲノム経路を通して骨形生細胞、骨芽細胞に効果を発揮することが知られている (Walters, M. R. ら、(1982) J. Biol. Chem. 257: 7481-7484; Jurutka, P. W. ら、(1993) Biochemistry, 32: 8184-8192; Mellon, W. S. and DeLuca, H. F. (1980) J. Biol. Chem. 255: 4081-4086)。同様に、ビタミン D<sub>3</sub> 化合物は、単球の分化の刺激及び单核食細胞の破骨細胞への刺激のような、骨吸収性破骨細胞の異なった活性を支持していることは当該技術分野公知である。(Abe, J. ら、(1988) J. Bone Miner. Res. 3: 635-645; Takahashi, N. ら、(1988) Endocrinology, 123: 1504-1510; Udagawa, N. ら、(1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87: 7260-7264)。従って、骨細胞の産生を調節する本発明のビタミン D<sub>3</sub> 化合物は、骨形成及び変性に影響を与えることができる。

【0160】

本発明は、病的又は非病的骨細胞と本発明のビタミン D<sub>3</sub> 化合物の有効量を接触させ、

10

20

30

40

50

それによって骨形成及び変性を調節することによる骨細胞代謝を調節する方法を提供する。本方法は、培養細胞、例えばインビトロ又はエクスピボで実施することができ、又は動物患者に存在する細胞、例えばインビボの細胞で実施することができる。使用することのできる例示的な培養系は、とりわけ、骨芽細胞株、例えばROS17/2.8細胞株、単球、骨髓培養系 (Suda, T. ら、(1990) *Med. Res. Rev.* 7: 333-366; Suda, T. ら、(1992) *J. Cell. Biochem.* 49: 53-58) を包含する。選択した化合物は、更に、インビボ、例えば、大理石骨病の動物モデル及びヒトの疾患において試験することができる (Shapiro, F. (1993) *Clin. Orthop.* 294: 34-44)。

#### 【0161】

好みの態様において、本発明のビタミンD<sub>3</sub>化合物の医薬製剤を患者に投与し、それによって非治療患者に相当する状態を緩和することを含む骨粗鬆症を治療する方法が提供される。

#### 【0162】

本発明のビタミンD<sub>3</sub>化合物は、正常動物及びエストロゲン欠損動物の両者における骨量及び骨形成率における変化を評価するために、卵巣摘出動物、例えばイヌ、齧歯類において、試験することができる。臨床治験は、臨床家の参加により、骨粗鬆症を予防及び治療する本発明のビタミンD<sub>3</sub>化合物の治療有効量を決定するために、ヒトにおいて実行することができる。

#### 【0163】

別の態様において、本発明のビタミンD<sub>3</sub>化合物の治療応用は、代謝性カルシウム及びリン酸欠乏により特徴付けられる別の疾患の治療を包含する。そのような疾患の例示は、以下の通りである：骨粗鬆症、骨異常症、骨軟化症、くる病、囊胞性線維性骨炎、腎性骨形成異常症、骨硬化症、抗痘攀薬治療、骨減少症、骨纖維形成不全症、二次性副甲状腺機能亢進症、副甲状腺機能低下症、副甲状腺機能亢進症、肝硬変、閉塞性黄疸、薬物誘導代謝、髄様癌、慢性腎疾患、低リン酸血症性VDRR、ビタミンD依存性くる病、サルコイドーシス、グルココルチコイド拮抗薬、吸収不良症候群、脂肪便症、熱帯性スブルー、特発性高カルシウム血症及び授乳熱。

#### 【0164】

##### E. ホルモン分泌

更に別の態様において、本発明は、ビタミンD<sub>3</sub>応答細胞、例えば内分泌細胞、のホルモン分泌を調節する方法を提供する。ホルモン分泌は、所定のホルモン、例えば、ビタミンD<sub>3</sub>応答細胞における、副甲状腺ホルモン (PTH) カルシトニン、インスリン、プロラクチン (PRL) 及びTRHの分泌に関与する、転写及びプロセシングを制御する本発明のビタミンD<sub>3</sub>化合物のゲノム活性及び非ゲノム活性の両者を包含する (Bouillon, R. ら、(1995) *Endocrine Reviews*, 16 (2): 235-237)。

#### 【0165】

本方法は、培養中の細胞について、例えばインビトロ又はエクスピボで、又は動物対照に存在する細胞について、例えばインビボで、実施することができる。本発明のビタミンD<sub>3</sub>化合物は、副甲状腺細胞の初期培養を用いてインビトロで最初に試験することができる。使用することのできるその他の系としては、ラット下垂体部腫瘍細胞、例えば、GHI4C1細胞株 (Wark, J. D. and Tashjian, Jr. A. H. (1982) *Endocrinology*, 111: 1855-1757; Wark, J. D. and Tashjian, Jr. A. H. (1983) *J. Biol. Chem.* 258: 2118-2121; Wark, J. D. and Gurtler, V. (1986) *Biochem. J.* 233: 513-518) におけるプロラクチン分泌及びGHI4C1細胞におけるTRH分泌によって試験することを包含する。或いは又、本発明のビタミンD<sub>3</sub>化合物の効果は、Nko, M. ら、(1982) *Miner Electrolyte Metab.* 5: 67-75; Oberg, F. ら、(1993) *J. Immunol.* 150: 3487-3495; Bar-Shavit, Z. ら、(1986) *Endocrinology*, 118: 679-686; Testa, U. ら、(1993) *J. Immunol.* 150: 2418-2430; Nakamaki, T. ら、(1992) *Anticancer Res.* 12: 1331-1337; Weinberg, J. Band Larrick, J. W. (1987) *Blood*, 70: 994-1002; Chambaut-Guerin, A. M. and Thomopoulos, P. (1991) *Eur. Cytokine New.* 2: 355; Yoshida, M. ら、(1992) *Anticancer Res.* 150: 50

2: 1917-1952; Monparler, R. L.ら、(1993) Leukemia, 7: 17-20; Eisman, J. A. (1994) Kanis J. A. (Eds) Bone and Mineral Research, 2: 45-76; Veyron, P.ら、(1993) Transplant Immunol. 1: 72-76; Veyron, P.ら、(1993) Transplant Immunol. 1: 72-76; Gross, M.ら、(1986) J. Bone Miner. Res. 1: 457-467; Costa, E. M.ら、(1985) Endocrinology, 117: 2203-2210; Koga, M.ら、(1988) Cancer Res. 48: 2734-2739; Franc eschi, R. T.ら、(1994) J. Cell Physiol. 123: 401-409; Cross, H. S.ら、(1993) Nau nyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol. 347: 105-110; Zhao, X. and Feldman, D. (1993) Endocrinology, 132: 1808-1814; Skowronski, R. J.ら、(1993) Endocrinology, 132: 1952-1960; Henry, H. L. and Norman, A. W. (1975) Biochem. Biophys. Res. Commun. 62: 781-788; Wecksler, W. R.ら、(1980) Arch. Biochem. Biophys. 201: 95-103; Brumbaugh, P. F.ら (1975) Am. J. Physiol. 238: 384-388; Oldham, S. B. ら、(1979) Endocrinology, 104: 248-254; Chertow, B. S.ら、(1975) J. Clin. Invest. 56: 668-678; Canterbury, J. M.ら、(1978) J. Clin. Invest. 61: 1375-1383; Quesad, J. M.ら、(1992) J. Clin. Endocrinol. Metab. 75: 94-501に記載されたような動物モデルを使用してインビボで特徴付けることができる。10

#### 【0166】

ある種の態様において、本発明のビタミンD<sub>3</sub>化合物は、副甲状腺ホルモン(PTH)プロセシング、例えば転写、翻訳プロセシング、及び/又は、治療プロトコールの一部として副甲状腺細胞の分泌を阻害するのに使用することができる。これらの化合物を使用した治療方法は、PTH活性の直接又は間接効果、例えば一次又は二次応答、を含む全ての疾患に容易に応用することができる。20

#### 【0167】

従って、本発明のビタミンD<sub>3</sub>化合物の治療的応用は、慢性腎不全の二次性副甲状腺機能亢進症(Slatopolsky, E.ら、(1990) Kidney Int. 38: S41-S47; Brown, A. J.ら、(1989) J. Clin. Invest. 84: 728-732)のような疾患を治療することを包含する。治療的に影響する量及び投与計画の決定は、技術に記載されたデータを使用して、当業者により実行することができる。

#### 【0168】

##### F. 神経細胞脱落に対する防御

更に別の態様において、本発明は、ビタミンD<sub>3</sub>応答細胞、例えば神経細胞、を本発明のビタミンD<sub>3</sub>化合物と接触させることにより神経脱落を防止し又は遅延させる、神経細胞脱落に対する防御方法を提供する。用語「に対する防御」は、神経細胞の劣化、機能的障害、若しくは死亡の防御、遅延、及び/又は、停止を包含するものである。30

#### 【0169】

神経細胞脱落は、正常な機能に障害が起きた神経細胞の如何なる症状の結果として起こる。神経細胞の劣化は、神経細胞脱落を導くような神経細胞の機能に障害が起る如何なる症状の結果として起こる。神経細胞の機能は、例えば、神経細胞の生化学、生理、又は解剖が変化することによって障害が起こり得る。神経細胞の劣化は、正常な神経細胞機能に害を及ぼす膜、樹状突起、又はシナプスの変化を包含するものである。神経細胞の劣化、機能的障害、及び/又は、死亡の原因は未知である。或いは、それは対照の神経系に起こる年齢及び/又は疾患に関連した変化の結果として起こる場合もある。40

#### 【0170】

神経細胞の脱落が本明細書において「年齢に関連した」として記載される場合、年齢に関連する対照の公知及び未知の身体的变化に起因する神経細胞の脱落が含まれる。神経細胞の脱落が本明細書において「疾患に関連した」として記載される場合、疾患に関連する対照の公知及び未知の身体的变化に起因する神経細胞の脱落が含まれる。しかしながら、これらの用語は、相互に排他的なものではなく、事実、神経細胞の脱落に帰着する多くの状態は、年齢及び疾患の両者に関連するものであることは理解されるべきである。

#### 【0171】

神経細胞の脱落及び神経細胞の形態の変化に関連する、例示的な年齢に関連した疾患は50

、例えば、アルツハイマー病、ピック病、パーキンソン病、血管疾患、ハンチントン病及び加齢性記憶障害を包含する。アルツハイマー病の患者においては、神経細胞の脱落は、海馬、前頭、頭頂及び前側頭皮質、小脳扁桃、並びに嗅覚系に最も目立っている。海馬の最も顕著に冒された領域は、CA1領域、鉤状回、及び内嗅皮質を包含する。海馬は、記憶における重要な役割を演じていることがよく知られているので、記憶喪失は、最も早い、最も代表的な認知変化が考慮される。ピック病は、ときには線条体における神経細胞の死に伴う前頭葉及び前側頭葉の新皮質における重篤な神経細胞変性によって特徴付けられる。パーキンソン病は、黒質及び青斑における神経細胞の脱落によって同定することができる。ハンチントン病は、線条体内及び皮質のコリン作動性ニューロン及びGABA作動性ニューロンの変性によって特徴付けられる。パーキンソン病及びハンチントン病は、通常、運動障害に関連しているが、しばしば認知障害（記憶喪失）も示す。

10

## 【0172】

加齢性記憶障害（AAMI）は、人生の晩年に健康な、老人における記憶喪失によって特徴付けられる別の加齢性障害である。Crook, T.ら(1986) *Devel. Neuropsych.* 2(4): 261-176。現在、AAMIの神経系の基本は、正確には定義されていない。しかしながら、加齢に伴う神経細胞死は、皮質、海馬、小脳扁桃、大脳基底核、コリン作動性脳基底部、青斑、縫線核及び小脳を包含する、記憶にかかる脳領域で、多くの種に生じることが報告されている。Crook, T.ら、(1986) *Devel. Neuropsych.* 2(4): 261-276。

20

## 【0173】

本発明のビタミンD<sub>3</sub>化合物は、ゲノム又は非ゲノム機構によって神経細胞の消失に対して防御することができる。核内ビタミンD<sub>3</sub>受容体は、末梢に存在することは周知であるが、しかし脳、特に海馬及び新皮質に見出されている。非ゲノム機構も、神経細胞内及び/又は末梢のカルシウム及びリン酸レベルを制御することによって神経細胞脱落を防止し又は遅延させるものである。更に、本発明のビタミンD<sub>3</sub>化合物は、間接的に作用することによって、例えば、血清PTHレベルを調節することによって、神経細胞脱落に対して防御するものである。例えば、アルツハイマー病において血清PTHレベルと認知低下の間に、正の相関が明らかにされた。

20

## 【0174】

本方法は、培養中の細胞、例えば、インビトロ又はエクスピボで実施することができ、又は動物患者に存在する細胞、例えば、インビボで実施することができる。本発明のビタミンD<sub>3</sub>化合物は、胎仔の齧歯類仔（例えば、米国特許第5,179,109号-胎仔ラット組織培養を参照）、又は別の哺乳動物（例えば、米国特許第5,089,517号-胎仔マウス組織培養）又は非哺乳動物の動物モデルからの神経細胞を使用して、インビトロで最初に試験することができる。これらの培養系は、とりわけ、虚血、脳卒中、外傷、神経破壊、アルツハイマー病、ピック病及びパーキンソン病の動物又は組織培養モデルにおける末梢及び中枢神経系神経細胞の防御を特徴付けるのに使用してきた。新皮質神経細胞の破壊の防止を研究するインビトロ系の例としては、カイニン酸、NMDA及び-アミノ-3-ヒドロキシ-5-メチル-4-イソキサゾールプロピオン酸（AMPA）のような、種々のグルタミン酸アゴニストに前もって曝露した胎仔マウス神経細胞及びグリア細胞のインビトロ培養を使用することを包含する。米国特許第5,089,517号を参照。又、米国特許第5,170,109号（神経防護作用化合物で処理する前にグルタミン酸でラット皮質/海馬神経細胞培養の処理）；米国特許第5,163,196号及び5,196,421号（神経防護作用興奮性アミノ酸受容体は、ラットにおけるグリシン、カイニン酸、AMPA受容体結合を阻害する）を参照。

30

## 【0175】

或いは又、本発明のビタミンD<sub>3</sub>化合物の効果は、動物モデルを使用してインビボで特徴付けることができる。これらのモデル系における神経細胞劣化は、しばしば実験的外傷又は介入によって誘発される（例えば、トキシン、神経破壊、酸素供給の中止の適用）。

40

## 【0176】

G. 平滑筋細胞

50

更に別の態様において、本発明は、ビタミンD<sub>3</sub>応答平滑筋細胞を本発明のビタミンD<sub>3</sub>化合物に接触させ、細胞の活性を活性化する、又は好ましくは、阻害することによって血管平滑筋細胞の活性を調節する方法を提供する。用語「平滑筋細胞の活性」は、増殖、遊走、接着及び/又は代謝のような、平滑筋細胞のいかなる活性も包含するものである。

#### 【0177】

ある種の態様において、本発明のビタミンD<sub>3</sub>化合物は、ビタミンD<sub>3</sub>応答平滑筋細胞の異常活性に関連した疾患及び状態を治療するために使用することができる。例えば、本発明は、高血圧誘発血管改造、血管再狭窄及びアテローム性動脈硬化のような、抗増殖性血管疾患の治療に使用することができる。別の態様において、本発明の化合物は、ビタミンD<sub>3</sub>応答平滑筋細胞の異常代謝、例えば動脈性高血圧によって特徴付けられる障害を治療するのに使用することができる。

#### 【0178】

本方法は、培養での細胞、例えば、インビトロ又はエクスピボで実施することができ、又は動物患者に存在する細胞、例えば、インビボで実施することができる。本発明のビタミンD<sub>3</sub>化合物は、Catellot, et al. (1982), J. Biol. Chem. 257(19): 11256に記載されている、インビトロで最初に試験することができる。

#### 【0179】

##### 4. レニン発現の抑制

本発明の化合物は、レニン発現の抑制によって血圧を制御し、高血圧薬として有益に使用される。レニンアンギオテンシン調節カスケードは、血圧、血中電解質及び血液容量の調節において顕著な役割を演じている (Y. C. Li, Abstract, DeLuca Symposium on Vitamin D<sub>3</sub>, Tauc, New Mexico, June 15-June 19, 2002, p.18)。それ故、本発明は、ビタミンD<sub>3</sub>が関与する症状がレニンを発現する細胞の異常活性によって特徴付けられる障害である、ビタミンD<sub>3</sub>が関与する症状について、患者を治療する方法を提供する。本方法は、細胞によるレニン発現が抑制され、患者がそれによって高血圧について治療されるような、式Iの化合物の有効量を患者に投与することを包含する。

#### 【0180】

##### 5. 膀胱機能不全

膀胱壁の進行性除神経及び肥大を包含する形態的膀胱変化は、異なった膀胱機能障害の患者によくある組織所見であり、例えば、臨床的に良性な前立腺肥大 (BPH) 及び脊髄損傷に関連した膀胱機能障害のような、過活動性膀胱の原因となる。

#### 【0181】

これらの状態に観察される膀胱の緊張及び/又は負担の増加は、例えば、平滑筋細胞の細胞骨格タンパク質及び収縮性タンパク質における、ミトコンドリア機能における、及び種々の酵素活性における、細胞及び分子の変化に関連するものとして示されている。膀胱壁の肥大も、又、その細胞外マトリックス及び非平滑筋成分における変化を包含している。

#### 【0182】

膀胱におけるこれらの変化は、貯留(刺激)症状、特に頻回の、切迫した、急迫性尿失禁及び夜間多尿症に関連している。これらの症状は、患者の社会的、心理的、家庭の、職業上の、身体的及び性的な生活に影響を与え、彼らの生活の質に深刻な負の影響を与えることになる。

#### 【0183】

現時点では、これらの症状の理想的な治療は見出されていない。得られる各々の治療法の選択肢(例えば、抗ムスカリン様作用薬又は-ブロッカー)は、症状の管理のみに基づいており、状態の病態を治療するものではないという、作用機作に関連した不利を伴っている。事実、入手できるいくつかの薬剤の臨床的有用性は、多くの顕著な副作用のせいで、貧弱な効果と全般的な患者の受容に欠けることによって、制限されていた。

#### 【0184】

結果として、基礎にある病因、膀胱平滑筋細胞の異常増殖及び結果として起こる機能不

10

20

30

40

50

全を標的とすることによる、改善された臨床効果を提供する新しい治療が求められている。

【0185】

本明細書に記載するように、ビタミンD類縁体が、膀胱の過活動及び臨床的BPHのような、膀胱肥大に伴う障害における膀胱機能不全を治療及び防止することができることが、驚くべきことに、今や見出されたのである。排尿筋過活動又は排尿筋不安定としても知られる、過活動膀胱は、不随意の膀胱痙攣を伴っている。過活動排尿筋は、過活動膀胱の原因となり得る。過活動膀胱の基礎的原因は、神経系疾患（例えば、多発性硬化症、パーキンソン病、脳卒中、脊髄損傷）、腹部外傷、骨盤外傷、又は手術に起因する神経損傷、脳卒中、多発性硬化症、感染、膀胱癌、薬物性副作用又は前立腺肥大（BPH）であり得るが、多くの場合、原因は、突発性、即ち、原因不明である。

10

【0186】

更に、そのようなビタミンD関連化合物は、BPHに伴う、刺激性排尿症状の治療への応用を有している。BPHは、膀胱排尿障害（BOO）をもたらす腺の拡大及びこれに続発する症状ばかりでなく、膀胱壁の肥大及び進行性除神経を包含する形態的な膀胱の変化にも関連している。これらの変化は、膀胱平滑筋細胞内の機能的要因の増加及び協調の破壊をもたらす。

【0187】

6. 医薬組成物

本発明は、又、式Iの、又は本明細書に別に記載されたビタミンD<sub>3</sub>化合物の有効量及び薬学的に許容される担体を含む、医薬組成物を提供する。更なる態様において、有効量は、前記したように、ビタミンD<sub>3</sub>が関与する症状を治療するのに有効なものである。

20

【0188】

一つの態様において、ビタミンD<sub>3</sub>化合物は、例えば、薬学的に許容される処方が患者に投与された、少なくとも12時間後、24時間後、36時間後、48時間後、1週間後、2週間後、3週間又は4週間後に、ビタミンD<sub>3</sub>化合物の持続した送達を患者に提供する薬学的に許容される処方を使用して患者に投与される。

【0189】

ある種の態様においては、これらの医薬組成物は、患者に対して局所又は経口投与するに適している。別の態様においては、以下に詳細に記載するように、本発明の医薬組成物は、以下に適したものを作成する固形形態又は液体形態での投与用に特別に処方することができる：（1）経口投与、例えば、水薬（水性もしくは非水性溶液又は懸濁液）錠剤、大型丸剤、粉剤、顆粒剤、糊剤；（2）非経口投与、例えば、滅菌用液又は懸濁液として、例えば、皮下、筋肉内又は静脈内注射による；（3）局所適用、例えば、皮膚に適用されるクリーム、軟膏又はスプレーとして；（4）腔内又は直腸内、例えば、ペッサリー、クリーム又は泡沫として；又は（5）エーロゾル、例えば、化合物を含有する水性エアロゾル、リボソーム製剤又は固体粒子として。

30

【0190】

「薬学的に許容される」という表現は、本発明のビタミンD<sub>3</sub>化合物、そのような化合物を含有する組成物、及び／又は、理にかなった医学的判定の範囲内であって、過度の毒性、刺激性、アレルギー反応、又はその他の問題又は面倒な事態がなく、妥当な便益／リスク比で釣り合っている、ヒト及び動物の組織と接触して使用するのに適している、剤型を表す。

40

【0191】

「薬学的に許容される担体」という表現は、目的の化学物質を一器官、又は身体の一部から別の器官、又は身体の一部に運ぶこと又は輸送することに関与する、液体又は固体の充填剤、希釈剤、賦形剤、液体材料又は封入材料のような、薬学的に許容される材料、組成物又はビヒクル、を包含する。各々の担体は、処方の別の成分と適合し、患者に有害でないという意味で「許容される」ものでなければならない。薬学的に許容される担体として使うことのできる材料のいくつかの例としては、以下を包含する：（1）乳糖、グルコ

50

ース及びショ糖のような糖類；(2)トウモロコシデンプン及びパレイショデンプンのようなデンプン；(3)カルボキシメチルセルロースナトリウム、エチルセルロース及び酢酸セルロースのようなセルロース、並びにそれらの誘導体；(4)粉末トラガカント；(5)麦芽；(6)ゼラチン；(7)タルク；(8)カカオバター及び坐剤ワックスのような、賦形剤；(9)ラッカセイ油、綿実油、紅花油、ゴマ油、オリーブ油、トウモロコシ油及び大豆油のような油；(10)プロピレングリコールのようなグリコール類；(11)グリセリン、ソルビトール、マンニトール及びポリエチレングリコールのような、ポリオール；(12)オレイン酸エチル及びラウリン酸エチルのような、エステル；(13)寒天；(14)水酸化マグネシウム及び水酸化アルミニウムのような緩衝剤；(15)アルギン酸；(16)発熱物質のない水；(17)等張生理食塩水；(18)リンゲル液；(19)エチルアルコール；(20)リン酸緩衝液；及び(21)医薬処方に採用されているその他の非毒性適合物質。

10

## 【0192】

ラウリル硫酸ナトリウム及びステアリン酸マグネシウムのような、湿潤剤、乳化剤及び滑沢剤、並びに着色料、解除剤、コーティング剤、甘味料、着香料及び香料、保存料及び抗酸化剤も組成物中に含有することができる。

## 【0193】

薬学的に許容される抗酸化剤の例としては以下を包含する：(1)アスコルビン酸、シスチン塩酸塩、重硫酸ナトリウム、メタ重亜硫酸ナトリウム、亜硫酸ナトリウムのような、水溶性抗酸化剤；(2)アスコルビン酸パルミテート、ブチル化ヒドロキシアニソール(BHA)、ブチル化ヒドロキシトルエン(BHT)、レシチン、没食子酸プロピル、-トコフェロール等のような油溶性抗酸化剤；及び(3)クエン酸、エチレンジアミン4酢酸(EDTA)、ソルビトール、酒石酸、リン酸等のような金属キレート剤。

20

## 【0194】

ビタミンD<sub>3</sub>化合物を含有する組成物は、経口、経鼻、局所(口腔及び舌下を包含する)、直腸、経膣、エーロゾル及び/又は非経口投与に適したものを包含する。組成物は、単位剤型で提示されるのが都合よく、薬剤学の技術において周知のいずれかの方法によって製造することができる。単一剤型を製造するために、担体材料と組み合わせることができる有効成分の量は、治療される宿主、特定の投与様式に依存して変化するであろう。単一剤型を製造するために、担体材料と組み合わせることができる有効成分の量は、一般的に治療効果をもたらす化合物の量である。一般的に、100パーセント中、有効成分が約1パーセント～約99パーセント、好ましくは約5パーセント～約70パーセント、最も好ましくは約10パーセント～約30パーセントの範囲の量である。

30

## 【0195】

これらの組成物を製造する方法は、ビタミンD<sub>3</sub>化合物と担体に、任意に1つ又はそれ以上の副成分を組み合わせる工程を包含していてもよい。一般的に、処方は、ビタミンD<sub>3</sub>化合物と液状の担体又は微粉化した固形担体、若しくは両者を均一に、そして密接に結びつけ、必要により、製品に成形することによって製造される。

## 【0196】

経口投与に適した本発明の組成物は、カプセル剤、カシェ剤、丸剤、錠剤、トローチ剤(着香した基材、通常ショ糖及びアラビアゴム又はトラガカントを用いる)、粉剤、顆粒剤、又は水性若しくは非水性液の溶液若しくは懸濁液として、又は水中油型若しくは油中水型乳濁液として、又はエリキシル若しくはシロップとして、又はパステル剤(ゼラチン及びグリセリン、又はショ糖及びアラビアゴムのような、不活性基材を使用する)及び/又は洗口剤その他として、の形態であり、各々は有効成分として一定量のビタミンD<sub>3</sub>化合物を含有している。化合物は、又、ボーラス、舐剤又はペーストとして投与することもできる。

40

## 【0197】

経口投与用の本発明の固形剤(カプセル剤、錠剤、丸剤、糖衣錠剤、粉剤、顆粒剤、その他)において、有効成分は、クエン酸ナトリウム又は第二リン酸カルシウムのような、

50

1つ又はそれ以上の薬学的に許容される担体、及び／又は、以下のものと混合される：（1）デンプン、乳糖、ショ糖、グルコース、マンニトール、及び／又はケイ酸のような充填剤又は增量剤；（2）例えば、カルボキシメチルセルロース、アルギン酸塩、ゼラチン、ポリビニルピロリドン、ショ糖及び／又はアラビアゴムのような結合剤；（3）グリセリンのような保湿剤；（4）寒天、炭酸カルシウム、パレイショデンプン又はタピオカデンプン、アルギン酸、ある種のケイ酸塩及び炭酸ナトリウムのような崩壊剤；（5）パラフィンのような緩染剤；（6）第4級アンモニウム化合物のような吸収促進剤；（7）例えば、アセチルアルコール及びグリセリンモノステアラートのような湿潤剤；（8）カオリン及びベントナイトクレーのような吸収剤；（9）タルク、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム、固体ポリエチレングリコール、ラウリル硫酸ナトリウム及びこれらの混合物のような滑沢剤；及び（10）着色剤。カプセル剤、錠剤及び丸剤の場合、医薬組成物は、緩衝剤も含み得る。類似の型の固体組成物は、又、ラクトース又は乳糖、及び高分子量ポリエチレングリコールその他のような賦形剤を使用する軟質及び硬質充填ゼラチンカプセル剤に、充填剤として採用することもできるであろう。

10

20

30

40

50

## 【0198】

錠剤は、所望により1つ又はそれ以上の副成分とともに、圧縮又は成形によって製造できる。圧縮された錠剤は、結合剤（例えば、ゼラチン又はヒドロキシプロピルメチルセルロース）、滑沢剤、不活性な希釈剤、保存料、崩壊剤（例えば、デンプングリコール酸ナトリウム又は架橋カルボキシメチルセルロースナトリウム）、界面活性剤又は分散剤を用いて製造することができる。成形した錠剤は、好適な機械で、不活性な液状希釈剤で加湿した粉末有効成分の混合物を成形することによって製造できる。

## 【0199】

錠剤、及び、糖衣錠、カプセル剤、丸剤並びに顆粒剤のような、本発明の医薬組成物の別の固体剤型は、医薬処方技術において周知の腸溶コーティング及び別のコーティングのような、コーティング及び被殻を用いて、所望により、入手でき又は製造することができる。それらは、例えば、望ましい放出特性を出すために比率を変えてヒドロキシプロピルメチルセルロース、別のポリマーマトリックス、リポソーム及び／又はミクロスフェアを用いて、中の有効成分をゆっくりと又は制御しつつ放出するように製剤化することもできる。それらは、例えば、細菌保留フィルターを通して濾過することにより、又は、滅菌水若しくは使用直前にある種の別の滅菌した注射可能な媒体に溶解することができる、滅菌固体組成物の形態で滅菌剤を取り込むことによって、滅菌することができる。これらの組成物は、又、所望により不透明化剤を含有していてもよいし、それらが有効成分のみを、又は優先的に、消化管の所定の部分で、必要により、遅延状態で、放出する組成物であってもよい。使用することのできる包埋組成物の例としては、重合物質及びワックスを包含する。有効成分は、又、適切であるならば、1つ又はそれ以上の上記の賦形剤と共に、マイクロカプセル化形態であることもできる。

## 【0200】

ビタミンD<sub>3</sub>化合物の経口投与用の液体剤型は、薬学的に許容される乳剤、マイクロエマルジョン、溶液、懸濁液、シロップ及びエリキシルを包含する。有効成分に加えて、液体剤型は、例えば、水又はその他の溶媒のような、当業者で普通に使用される不活性の希釈剤、エチルアルコール、イソプロピルアルコール、炭酸エチル、酢酸エチル、ベンジルアルコール、安息香酸ベンジル、プロピレングリコール、1,3-ブチレングリコール、油（特に、綿実油、ラッカセイ油、トウモロコシ油、胚芽油、オリーブ油、ヒマシ油及びゴマ油）、グリセリン、テトラヒドロフリルアルコール、ポリエチレングリコール及びソルビタン脂肪酸エステル、及びこれらの混合物のような、可溶化剤及び乳化剤を含有してもよい。

## 【0201】

不活性の希釈剤に加えて、経口用組成物は、保湿剤、乳化剤及び懸濁剤、甘味剤、芳香剤、着色料、香料及び保存料のような、佐剤を含有することもできる。

## 【0202】

活性ビタミンD<sub>3</sub>化合物に加えて、懸濁液は、例えば、エトキシ化イソステアリルアルコール、ポリオキシエチレンソルビトール及びソルビタンエステルのような懸濁化剤、微結晶性セルロース、メタ水酸化アルミニウム、ベントナイト、寒天及びトラガカント、及びこれらの混合物を含有していてもよい。

## 【0203】

直腸又は腔投与用の本発明の医薬組成物は、1つ又はそれ以上のビタミンD<sub>3</sub>化合物を、例えば、カカオバター、ポリエチレングリコール、坐薬ワックス又はサリチル酸塩を含む1つ又はそれ以上的好適な非刺激性賦形剤又は担体を混合することによって製造することができ、そして室温では固体であるが、体温では液体であり、それ故に、直腸又は腔では溶融して有効成分を放出する、坐剤として提示することができる。

10

## 【0204】

腔投与用に好適な本発明の組成物は、又、適切であると当業者において知られているような担体を含有しているペッサリー、タンポン、クリーム、ゲル、ペースト、フォーム又はスプレー製剤を包含する。

## 【0205】

ビタミンD<sub>3</sub>化合物の局所又は経皮投与用の剤型は、粉末、スプレー、軟膏、ペースト、クリーム、ローション、ゲル、溶液、パッチ及び吸入剤を包含する。活性ビタミンD<sub>3</sub>化合物は、滅菌条件下で、薬学的に許容される担体、及び必要により、保存料、緩衝剤又は推進剤と混合することもできる。

20

## 【0206】

軟膏、ペースト、クリーム及びゲルは、本発明のビタミンD<sub>3</sub>化合物に加えて、動物及び植物脂肪、油、ワックス、パラフィン、デンプン、トラガカント、セルロース誘導体、ポリエチレングリコール、シリコーン、ベントナイト、ケイ酸、タルク及び酸化亜鉛、又はこれらの混合物のような、賦形剤を含有し得る。

## 【0207】

粉剤及びスプレー剤は、ビタミンD<sub>3</sub>化合物に加えて、乳糖、タルク、ケイ酸、水酸化アルミニウム、ケイ酸カルシウム及びポリアミド粉末、又はこれらの混合物のような賦形剤を含有することができる。スプレーは、クロロフルオロハイドロカーボン及びブタン若しくはプロパンのような揮発性不飽和炭化水素のような通常の推進剤を付加的に含有することができる。

30

## 【0208】

ビタミンD<sub>3</sub>化合物は、もう一つの方法として、エーロゾルにより投与することができる。これは、化合物を含有する水性エーロゾル、リポソーム製剤又は固体粒子を製造することによって達成される。非水性（例えば、フルオロカーボン推進剤）懸濁液を使用することができる。超音波噴霧器は、化合物の分解をもたらすことになり得る剪断に薬剤を曝すのを最小化するので、好ましい。

## 【0209】

通常、水性エーロゾルは、薬剤の水溶液又は懸濁液を通常の薬学的に許容される担体及び安定剤と共に製剤化することによって造られる。担体及び安定剤は、特定の化合物の必要条件と共に変化するが、典型的には、非イオン性界面活性剤（Tween、ブルロニックス、又はポリエチレングリコール）、欠指アルブミンのような無害のタンパク質、ソルビタンエステル、オレイン酸、レシチン、グリシンのようなアミノ酸、バッファー、塩、糖又は糖アルコールを包含する。

40

## 【0210】

経皮パッチは、身体にビタミンD<sub>3</sub>化合物の制御された送達を行うという付加的な利点を有している。そのような剤型は、薬剤を適切な媒体中に溶解又は分散することによって造ることができる。吸収促進剤も、皮膚を通過して有効成分の流れを増加するのに使用することができる。そのような流れの速度は、律速膜を用いるか、又はポリマーマトリックス又はゲル中に有効成分を分散することによって制御することができる。

## 【0211】

50

点眼処方、眼軟膏、粉剤、溶液等も本発明の範囲内にあるものとして意図されている。

【0212】

非経口投与用に適した本発明の医薬組成物は、1つ又はそれ以上のビタミンD<sub>3</sub>化合物と、これと組み合わされた1つ又はそれ以上の薬学的に許容される滅菌した等張の水溶液又は非水溶液、分散液、懸濁液又は乳濁液、又は使用直前に滅菌注射溶液又は分散液に再構築できる滅菌した粉剤を含み、これに、抗酸化剤、緩衝剤、静菌剤、処方を所定の被投与者の血液と等張にするための溶質、又は懸濁剤か増粘剤を含む。

【0213】

本発明の医薬組成物に採用することのできる好適な水性及び非水性担体の例としては、水、エタノール、（グリセリン、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール等のようないわゆる）ポリオール、及びこれらの好適な混合物、オリーブ油のような植物油、及びオレイン酸エチルのような注射し得る有機エステルを包含する。適切な流動性は、例えば、レシチンのようなコーティング材料の使用によって、分散液の場合には必要な粒径を維持することによって、及び界面活性剤を使用することによって、維持することができる。

10

【0214】

これらの組成物は、又、保存料、湿潤剤、乳化剤及び分散剤のような佐剤を含有してもよい。微生物の作用を防止するには、種々の抗菌剤及び抗真菌剤、例えばパラベン、クロロブタノール、フェノールソルビン酸等を、組成物に包含することによって確実にすることができる。更に、注射可能な医薬形態の持続的吸収は、モノステアリン酸アルミニウム及びゼラチンのような吸収を遅延させる薬剤を包含することによってもたらすことができる。

20

【0215】

ある場合において、薬物の効果を持続するために、皮下注射又は筋肉内注射から薬物の吸収を遅くすることが望ましい。これは、水溶性が劣る結晶性又は非晶性物質の液体懸濁液の使用によって達成することができる。従って、薬物の吸収速度は溶解速度に依存し、溶解速度は、今度は結晶の大きさ及び結晶型に依存するものである。代わりに、非経口的に投与された薬物形態の遅延吸収は、薬物を油性媒体中に溶解又は懸濁することによって達成される。

30

【0216】

注射可能な持続性薬剤形態は、ポリ乳酸-ポリグリコール酸のような生分解性ポリマー中に、ビタミンD<sub>3</sub>化合物のマイクロカプセル化マトリックスを形成して製造する。薬物のポリマーに対する比率、及び用いられた特定のポリマーの性質によって、薬物放出の速度を制御することができる。別の生分解性ポリマーの例としては、ポリ（オルトエステル）及びポリ（アンヒドリド）を包含する。持続性薬剤の注射可能な処方は、薬物を、身体組織に適合可能なリポソーム又はマイクロエマルジョンに取り込むことによって製造される。

30

【0217】

このビタミンD<sub>3</sub>化合物が医薬として投与する場合、例えば、0.1～99.5%（より好ましくは、0.5～90%）の有効成分を含有する医薬組成物として、それ自体と薬学的に許容される担体と組合せてヒト及び動物に投与することが可能である。

40

【0218】

投与経路の如何にかかわらず、好適な水和物として使用可能な本発明のビタミンD<sub>3</sub>化合物及び/又は医薬組成物は、当業者に公知の通常の方法により、薬学的に許容される剤型に処方される。

【0219】

本発明の医薬組成物の有効成分の、実際の投与量レベル及び投与の時間的経過は、特定の患者に対する望ましい治療反応を達成するために効果的である有効成分の量、組成物、及び患者に対して毒性がない投与形態となるように変更できる。例示的な用量の範囲は、1日当たり、0.1～10mgである。

【0220】

50

本発明のためビタミンD<sub>3</sub>化合物の好ましい投与量は、患者が耐えることができ、重篤な高カルシウム血症を発症しない、最大量である。好ましくは、本発明のビタミンD<sub>3</sub>化合物は、体重1kg当たり約0.001μg～約100μg、約0.001～約10μg/kg、又は約0.001μg～約100μg/kg体重の濃度で投与される。上に列挙した値に含まれる範囲は、本発明の一部として含まれるものである。

### 【0221】

#### 発明の例示

本発明は、以下の実施例で更に説明するが、これらは何ら本発明を限定するものではないものと理解されたい。

### 【0222】

#### 本発明化合物の合成

##### 実験

ビタミンD<sub>3</sub>類縁体を包含するすべての操作は、琥珀色のガラス器内で、窒素雰囲気下で行った。テトラヒドロフランは、使用する直前にナトリウムベンゾフェノンケチルから蒸留し、次いで、溶液を硫酸ナトリウムで乾燥した。融点は、Thomas-Hooverキャピラリー装置で測定し、校正は行っていない。旋光度は25°で測定した。<sup>1</sup>HNMRスペクトルは、特に指示のない限り、CDCl<sub>3</sub>中、400MHzで記録した。TLCは、シリカゲルプレート(Merck PF-254)上で、短波長UV光下で、又は10%ホスホモリブデン酸メタノール溶液をプレートへ噴霧した後加熱して可視化することにより行った。フラッシュ・クロマトグラフィーは、40～65μmメッシュのシリカゲル上で行った。分取型HPLCは、5×50cmのカラムで、15～30μmメッシュのシリカゲル上で、流速100ml/minで実施した。結果を、実施例1～10及び19(C<sub>20</sub>-未変性)は表1に、そして、実施例11～18(C<sub>20</sub>-シクロ

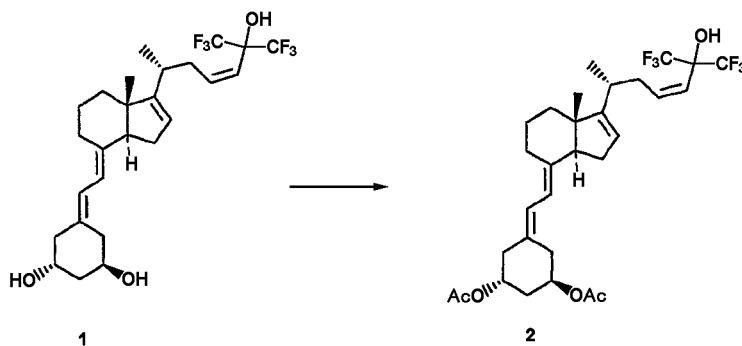
10

20

30

40

50



### 【0223】

1,3-ジ-O-アセチル-1,25-ジヒドロキシ-16,23Z-ジエン-26,27-ヘキサフルオロ-19-ノル-コレカルシフェロール(2)の合成

### 【0224】

### 【化041】

出発物質の1,25-ジヒドロキシ-16,23Z-ジエン-26,27-ヘキサフルオロ-19-ノル-コレカルシフェロール(1)は、Doranらの米国特許第5428029号に記載したようにして製造することができる。1,25-ジヒドロキシ-16,23Z-ジエン-26,27-ヘキサフルオロ-19-ノル-コレカルシフェロール(1)(3mg)をピリジン(0.8ml)に溶解し、氷浴温度に冷却し、無水酢酸(0.2ml)を加えて、その温度で16時間保持した。次いで、反応混合物を水(1ml)で希釈し、氷浴で10分間攪拌し、水(5ml)及び酢酸エチル(20ml)間で分配した。有機層を水(3×5ml)、炭酸水素ナトリウム飽和溶液(1×5ml)、ブライン(1×3ml)で洗浄し、次いで、硫酸ナトリウムで乾燥して、(溶媒を)蒸発させた。油状の残

留物を酢酸エチル / ヘキサン = 1 / 6 に取り込み、酢酸エチル / ヘキサン = 1 / 6, 1 / 4 及び 1 / 2 の段階的な勾配溶媒を用いたフラッシュ・クロマトグラフィーで分別した。カラム・クロマトグラフィーは TLC (酢酸エチル / ヘキサン = 1 / 4, ホスホモリブデン酸噴霧でのスポット可視化) で観察した。適切なフラクションを集め、蒸発させ、残留物をギ酸メチルに取り込み、濾過し、次いで、再度蒸発させ、標題化合物 (2) (23.8 mg) を無色のシロップとして得た。

400MHz  $^1$ H NMR : 0.66 (3H, s), 0.90 (1H, m), 1.06 (3H, d,  $J$ =7.2 Hz), 1.51 (1H, m), 1.72-1.82 (3H, m), 1.9-2.1 (3H, m), 1.99 (3H, s), 2.04 (3H, s), 2.2-2.3 (3 m), 2.44-2.64 (6H, m), 2.78 (1H, m), 3.01 (1H, s), 5.10 (2H, m), 5.38 (1H, m), 5.43 (1H, d,  $J$ =12 Hz), 5.85 (1H, d,  $J$ =11.5 Hz), 5.97 (1H, dt,  $J$ =12 及び 7.3 Hz), 6.25 (1H, d,  $J$ =11.5 Hz)。 10

### 【実施例 2】

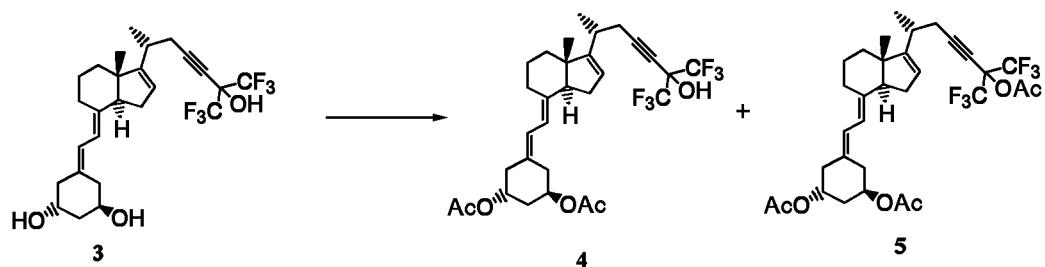
#### 【0226】

1, 3 - ジ - O - アセチル - 1, 25 - ジヒドロキシ - 16 - エン - 23 - イン - 26, 27 - ヘキサフルオロ - 19 - ノル - コレカルシフェロール (4) 及び 1, 3, 25 - トリ - O - アセチル - 1, 25 - ジヒドロキシ - 16 - エン - 23 - イン - 26, 27 - ヘキサフルオロ - 19 - ノル - コレカルシフェロール (5) の合成

#### 【0227】

#### 【化042】

20



#### 【0228】

出発物質の 1, 25 - ジヒドロキシ - 16 - エン - 23 - イン - 26, 27 - ヘキサフルオロ - 19 - ノル - コレカルシフェロール (3) は、Baggiolini ら、の米国特許第 451574 号及び第 5612328 号に記載のようにして製造することができる。1, 25 - ジヒドロキシ - 16 - エン - 23 - イン - 26, 27 - ヘキサフルオロ - 19 - ノル - コレカルシフェロール (3) (314 mg, 0.619 mmol) をピリジン (1.5 ml) に溶解し、氷浴温度に冷却し、無水酢酸 (0.4 ml) を加えた。反応混合物を室温で 7 時間保持し、次いで、23 時間冷蔵庫で保持した。水 (10 ml) で希釈し、酢酸エチル (30 ml) で抽出した。有機抽出物を、水、ブラインで洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥し、蒸発させた。残留物を、10 x 140 mm のカラムを用い、移動相として、酢酸エチル / ヘキサン = 1 / 6 及び 1 / 4 を用いて、フラッシュ・クロマトグラフィーで分別し、1, 3 - ジ - O - アセチル - 1, 25 - ジヒドロキシ - 16 - エン - 23 - イン - 26, 27 - ヘキサフルオロ - 19 - ノル - コレカルシフェロール (4) (126 mg) 及び 1, 3, 25 - トリ - O - アセチル - 1, 25 - ジヒドロキシ - 16 - エン - 23 - イン - 26, 27 - ヘキサフルオロ - 19 - ノル - コレカルシフェロール (5) (24.8 mg) を得た。 30 40

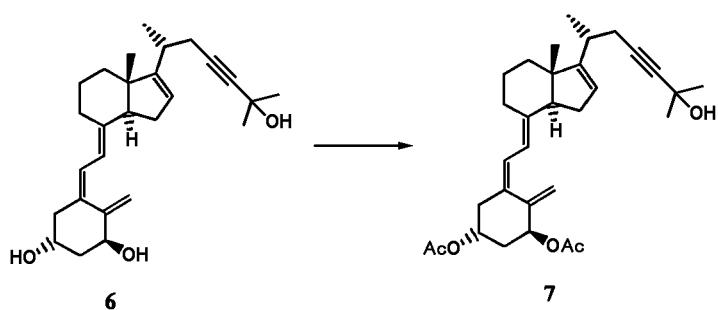
### 【実施例 3】

#### 【0229】

1, 3 - ジ - O - アセチル - 1, 25 - ジヒドロキシ - 16 - エン - 23 - イン - コレカルシフェロール (7) の合成

#### 【0230】

## 【化043】



10

## 【0231】

10 mL の丸底フラスコに、1,25-ジヒドロキシ-16-エン-23-イン-コレカルシフェロール (6) (40 mg) を投入した。この物質をピリジン (1 mL) に溶解した。この溶液を氷浴で冷却し、次いで、無水酢酸 (0.3 mL) を加えた。溶液を30分間攪拌し、次いで一晩冷蔵冷却した。その後、水で希釈し、水 (10 mL) 及び酢酸エチル (40 mL) を加えて、分液漏斗に移した。有機層を水 (4 × 20 mL)、ブライン (10 mL) で洗浄し、硫酸ナトリウムのプラグを通過させた後蒸発させた。淡褐色の油状残留物を酢酸エチル / ヘキサン = 1 / 9 に取り込み、次いで、10 × 130 mm のカラムを用いたフラッシュ・クロマトグラフィーを行い、移動相として、酢酸エチル / ヘキサン = 1 / 9 を用いてフラクション 1 ~ 5 を；酢酸エチル / ヘキサン = 1 / 6 を用いてフラクション 6 ~ 13 を；そして酢酸エチル / ヘキサン = 1 / 4 を用いてフラクション 14 ~ 20 (18 mL フラクション) を分別した。フラクション 14 ~ 19 には、 $R_f = 0.15$  (TLC : 1 / 4) の主帯域が含まれていた。これらのフラクションを集め、蒸発させ、無色の油状物質 (0.044 g) を得た。この物質をギ酸メチルに取り込み、濾過し、蒸発させ、標題化合物 (7) (0.0414 g) を無色で粘着性のある泡状体として得た。

20

## 【実施例4】

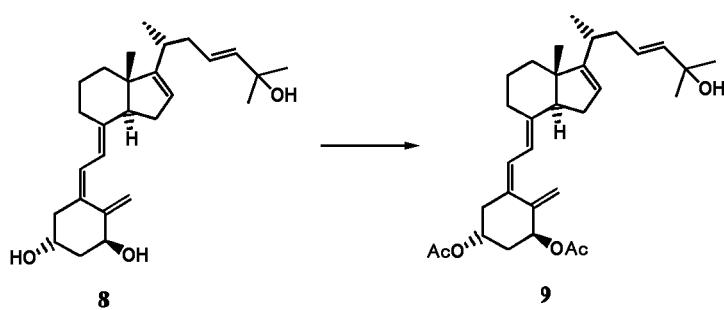
## 【0232】

1,3-ジ-O-アセチル-1,25-ジヒドロキシ-16,23E-ジエン-コレカルシフェロール (9) の合成

30

## 【0233】

## 【化044】



40

## 【0234】

1,25-ジヒドロキシ-16,23E-ジエン-コレカルシフェロール (8) (0.0468 g) をピリジン (1.5 mL) に溶解した。この溶液を氷浴で冷却し、次いで一晩冷蔵冷却した。その後、氷浴に浸しながら水 (10 mL) で希釈し、10分間攪拌し、水 (10 mL) 及び酢酸エチル (40 mL) を加えて分液漏斗に移した。有機層を水 (4 × 20 mL)、ブライン (10 mL) で洗浄し、硫酸ナトリウムのプラグを通過させ、そして蒸発させた。淡褐色の油状残留物を酢酸エチル / ヘキサン = 1 / 9 に取り込み、次いで、10 × 130 mm のカラムを用いたフラッシュ・クロマトグラフィーを行い、移動相

50

として、酢酸エチル / ヘキサン = 1 / 9 を用いてフラクション 1 ~ 3 ( 20 mL フラクション ) を ; �酢酸エチル / ヘキサン = 1 / 6 を用いてフラクション 6 ~ 8 を ; そして酢酸エチル / ヘキサン = 1 / 4 を用いてフラクション 9 ~ 17 ( 各々 18 mL ) を分別した。フラクション 11 ~ 14 には、 $R_f = 0.09$  ( TLC : 1 / 4 ) の主帯域が含まれていた。これらのフラクションを集め、蒸発させ、無色の油状物質 ( 0.0153 g ) を得た。この物質をギ酸メチルに取り込み、濾過し、蒸発させ、標題化合物 ( 9 ) ( 0.014 g ) を得た。

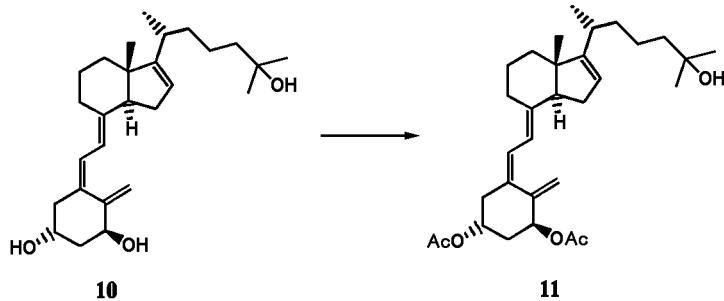
## 【実施例 5】

## 【0235】

1, 3 - ジ - O - アセチル - 1, 25 - ジヒドロキシ - 16 - エン - コレカルシフェロール ( 11 ) の合成 10

## 【0236】

## 【化045】



20

## 【0237】

1, 25 - ジヒドロキシ - 16 - エン - コレカルシフェロール ( 10 ) ( 0.0774 g ) をピリジン ( 1.5 mL ) に溶解した。この溶液を氷浴で冷却し、次いで、無水酢酸 ( 0.3 mL ) を加えた。この溶液を攪拌し、一晩冷蔵冷却した。次いで、水 ( 1 mL ) で希釈し、1時間氷浴中で攪拌し、酢酸エチル ( 30 mL ) 及び水 ( 15 mL ) で希釈した。有機層を水 ( 4 × 15 mL ) 、ブライン ( 1 × 5 mL ) で洗浄し、次いで乾燥 ( 硫酸ナトリウム ) し、そして蒸発させた。淡褐色の油状残留物を酢酸エチル / ヘキサン = 1 / 9 に取り込み、10 × 130 mm のカラムを用いたフラッシュ・クロマトグラフィーを行い、移動相として、酢酸エチル / ヘキサン = 1 / 9 を用いてフラクション 1 ( 20 mL フラクション ) を ; 酢酸エチル / ヘキサン = 1 / 6 を用いてフラクション 2 ~ 7 を ; そして酢酸エチル / ヘキサン = 1 / 4 を用いてフラクション 8 ~ 13 を分別した。フラクション 9 ~ 11 には、 $R_f = 0.09$  ( TLC : 酢酸エチル / ヘキサン = 1 / 4 ) の主帯域が含まれていた。これらのフラクションを集め、蒸発させ、無色の油 ( 0.0354 g ) を得た。この物質をギ酸メチルに取り込み、濾過し、溶液を蒸発させ、標題化合物 ( 11 ) ( 0.027 g ) を得た。 30

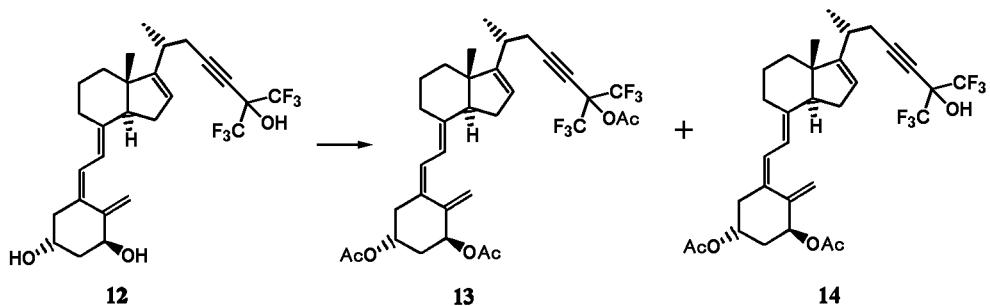
## 【実施例 6】

## 【0238】

1, 3, 25 - トリ - O - アセチル - 1, 25 - ジヒドロキシ - 16 - エン - 23 - イン - 26, 27 - ヘキサフルオロ - コレカルシフェロール ( 13 ) 及び 1, 3 - ジ - O - アセチル - 1, 25 - ジヒドロキシ - 16 - エン - 23 - イン - 26, 27 - ヘキサフルオロ - コレカルシフェロール ( 14 ) の合成 40

## 【0239】

【化 0 4 6 】



10

〔 0 2 4 0 〕

1,25-ジヒドロキシ-16-エン-23-イン-26,27-ヘキサフルオロ-コレカルシフェロール(12)(0.0291g)をピリジン(1.5mL)に溶解した。この溶液を氷浴で冷却し、次いで、無水酢酸(0.25mL)を加えた。この溶液を20分間攪拌し、冷凍庫に一晩保存した。冷溶液を水(15mL)で希釈し、10分間攪拌し、次いで、酢酸エチル(30mL)で希釈した。有機層を水(4×15mL)、ブライン(1×5mL)で洗浄し、次いで(硫酸ナトリウムで)乾燥し、蒸発させた。淡褐色の油状残留物を、酢酸エチル/ヘキサン=1/6に取り込み、次いで、10×110mmのカラムを用いたフラッシュ・クロマトグラフィーを行い、移動相として、酢酸エチル/ヘキサン=1/6を用いて分別した。フラクション2~3から、72.3461-72.3285=0.0176gを得た。フラクション6~7の蒸発により、0.0055gを得た。フラクション2~3の残留物をギ酸メチルに取り込み、濾過し、蒸発させ、表題のトリアセテート(13)(0.0107g)を得た。フラクション6~7の残留物をギ酸メチルに取り込み、濾過し、蒸発させ、ジアセテート(14)(0.0049g)を得た。

20

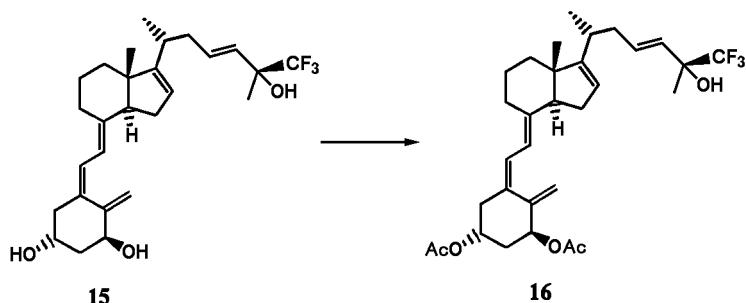
### 【实施例7】

[ 0 2 4 1 ]

# 1,3-ジ-0-アセチル-1,25-ジヒドロキシ-16,23E-ジエン-25R,26-トリフルオロ-コレカルシフェロール(16)の合成

[ 0 2 4 2 ]

【化 0 4 7 】



30

[ 0 2 4 3 ]

1,25-ジヒドロキシ-16,23E-ジエン-25R,26-トリフルオロ-コレカルシフェロール(15)(1.5mL)をピリジン(1.5mL)中に溶解し、この溶液を氷浴の温度で冷却し、次いで、無水酢酸(0.4mL)を加えた。反応混合物を冷蔵冷却した。2日後、混合物を水(1mL)で希釈し、氷浴中で10分間攪拌し、次いで、水(10mL)及び酢酸エチル(30mL)間で分配した。有機層を水(4×15mL)、ブライン(1×5mL)で洗浄し、次いで乾燥(硫酸ナトリウム)し、蒸発させた。淡褐色の油状残留物を、酢酸エチル/ヘキサン=1/6に取り込み、次いで、10×130mmのカラムを用いたフラッシュ・クロマトグラフィーを行い、移動相として、酢酸エチル/ヘキサン=1/6を用いて分別した。フラクション4~6は、主帯域を含んでいた(50)

50

TLC 参照)。このフラクションを蒸発させ、0.0726 g の残留物を得た。この残留物をギ酸メチルに取り込み、濾過し、蒸発させ、標題の化合物(16)(0.0649 g)を無色の泡状体として得た。

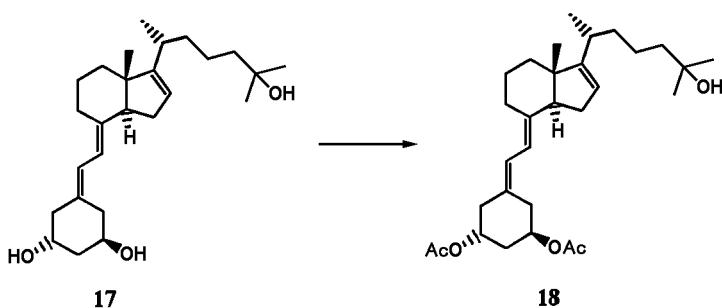
【実施例8】

【0244】

1,3-ジ-O-アセチル-1,25-ジヒドロキシ-16-エン-19-ノル-コレカルシフェロール(18)の合成

【0245】

【化048】



10

【0246】

1,25-ジヒドロキシ-16-エン-19-ノル-コレカルシフェロール(17)(0.0535 g)をピリジン(1.5 mL)に溶解し、この溶液を氷浴温度で冷却し、次いで、無水酢酸(0.3 mL)を加えた。この混合物を、一晩冷蔵冷却した。溶液を水(1 mL)で希釈し、10分間氷浴中で攪拌し、次いで、水(10 mL)及び酢酸エチル(30 mL)間で分配した。有機層を水(4 × 15 mL)、ブライン(1 × 5 mL)で洗浄し、次いで、乾燥(硫酸ナトリウム)し、そして蒸発させた。殆んど無色の油状残留物を、酢酸エチル/ヘキサン = 1/6 に取り込み、これを移動相としてフラクション1~6を得た。次いで、酢酸エチル/ヘキサン = 1/4 を用いた。フラクション9~19(TLC: 酢酸エチル/ヘキサン = 1/4、 $R_f = 0.09$ 、下記参照)を集め、蒸発させ、残留物(0.0306 g)を得た。この物質をギ酸メチルに取り込み、濾過し、溶液を蒸発させた。標題化合物(18)(0.0376 g)を得た。

20

30

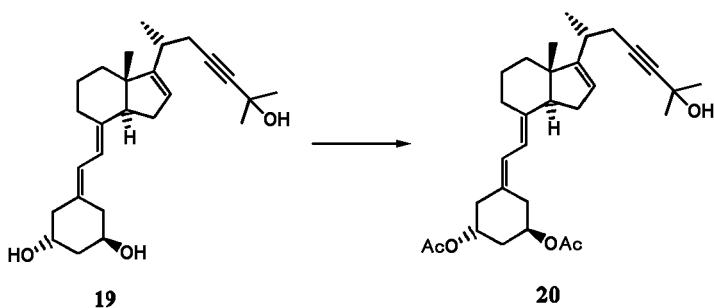
【実施例9】

【0247】

1,3-ジ-O-アセチル-1,25-ジヒドロキシ-16-エン-23-イン-19-ノル-コレカルシフェロール(20)の合成

【0248】

【化049】



40

【0249】

1,25-ジヒドロキシ-16-エン-23-イン-19-ノル-コレカルシフェロール(19)(50 mg)をピリジン(0.8 mL)に溶解し、この溶液を氷浴の温度に冷却し、次いで、無水酢酸(0.2 mL)を加えた。この混合物を3日間冷却し、水(1 m

50

L) で希釈し、10分間氷浴中で攪拌し、次いで、水(5mL)及び酢酸エチル(20mL)間で分配した。有機層を水(4×15mL)、ブライン(1×3mL)で洗浄し、次いで乾燥(硫酸ナトリウム)し、そして蒸発させた。殆んど無色の油状残留物を、酢酸エチル/ヘキサン=1/6に取り込み、次いで、15×120mmのカラムを用いて、フラッシュ・クロマトグラフィーで分別し、移動相として酢酸エチル/ヘキサン=1/6を用いてフラクション1~6を；酢酸エチル/ヘキサン=1/4でフラクション9~12を；酢酸エチル/ヘキサン=1/3でフラクション13~15を；1/2で残りのフラクションを得た。フラクション11~16(TLC:酢酸エチル/ヘキサン=1/4, R<sub>f</sub>=0.09、下記参照)を集めて、蒸発させ、76.1487-76.1260=0.0227gを得た。これをギ酸メチルに取り込み、濾過し、次いで、蒸発させた。標題の化合物(20)(0.0186g)を得た。 10

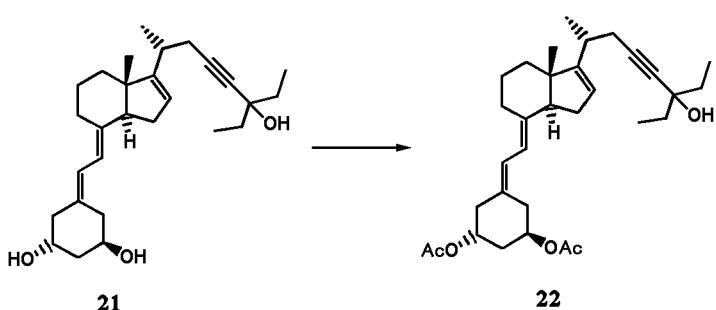
## 【実施例10】

## 【0250】

1,3-ジ-O-アセチル-1,25-ジヒドロキシ-16-エン-23-イン-26,27-ビスホモ-19-ノル-コレカルシフェロール(22)の合成

## 【0251】

## 【化050】



20

## 【0252】

1,25-ジヒドロキシ-16-エン-23-イン-26,27-ビスホモ-19-ノル-コレカルシフェロール(21)(0.0726g)をピリジン(0.8mL)中に溶解し、この溶液を氷浴の温度に冷却し、次いで、無水酢酸(0.2mL)を加えた。この溶液を、氷浴中で攪拌し、次いで、一晩冷蔵冷却した。溶液を水(1mL)で希釈し、10分間氷浴中で攪拌し、次いで、水(10mL)及び酢酸エチル(25mL)間で分配した。有機層を水(3×10mL)、炭酸水素ナトリウム飽和水溶液(1×5mL)、ブライン(1×3mL)で洗浄し、次いで乾燥し、そして蒸発させた。33.5512-33.4654=0.0858gの黄褐色の油状残留物を15×120mmのカラムを用いたフラッシュ・クロマトグラフィーを行い、移動相として、酢酸エチル/ヘキサン=1/6を用いて分別した。フラクション7~11(各20mL)を集め(TLC:酢酸エチル/ヘキサン=1/4, R<sub>f</sub>=0.14)、蒸発させ、67.2834-67.2654=0.018g得た。この残留物をギ酸メチルに取り込み、濾過し、蒸発させた。標題の化合物(22)(0.0211g)を得た。 30 40

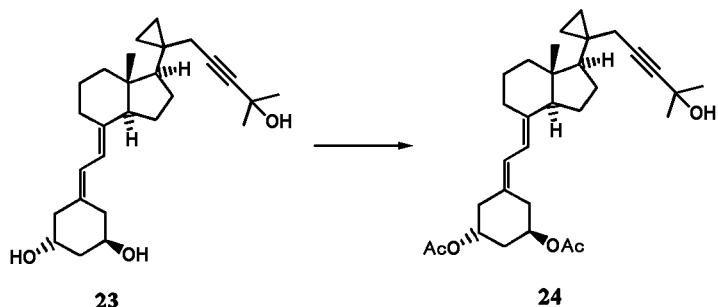
## 【実施例11】

## 【0253】

1,3-ジ-O-アセチル-1,25-ジヒドロキシ-20-シクロプロピル-23-イン-19-ノル-コレカルシフェロール(24)の合成

## 【0254】

【化 0 5 1 】



10

〔 0 2 5 5 〕

1,25-ジヒドロキシ-20-シクロプロピル-23-イン-19-ノル-コレカルシフェロール(23)(0.282g)をピリジン(0.8mL)に溶解し、この溶液を氷浴の温度に冷却し、次いで、無水酢酸(0.2mL)を加えた。混合物を一晩冷蔵冷却した。次いで、水(1mL)で希釈し、10分間氷浴中で攪拌し、次いで、水(5mL)及び酢酸エチル(20mL)間で分配した。有機層を水(3×5mL)、炭酸水素ナトリウム飽和水溶液(1×5mL)、ブライン(1×3mL)で洗浄し、次いで乾燥(硫酸ナトリウム)し、そして蒸発させた。油状残留物を、酢酸エチル/ヘキサン=1/6に取り込み、次いで、15×110mmのカラムを用いたフラッシュ・クロマトグラフィーを行い、移動相として、酢酸エチル/ヘキサン=1/6を用いてフラクション1~4を；酢酸エチル/ヘキサン=1/4を用いてフラクション5~12を；そして酢酸エチル/ヘキサン=1/3を用いてフラクション13~15を分別した。フラクション7~12を集め(TLC:酢酸エチル/ヘキサン=1/4,  $R_f = 0.13$ )、蒸発させ、ギ酸メチルに取り込んだ残留物を、濾過し、蒸発させ、標題の化合物(24)(0.023g)を得た。

20

### 【塞施例 1 2】

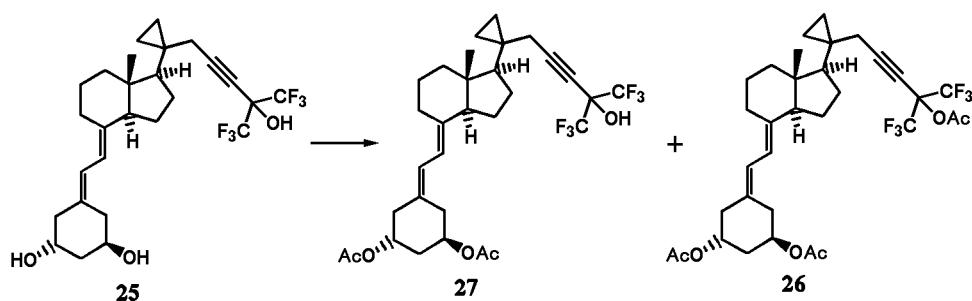
[ 0 2 5 6 ]

1, 3, 25-トリ-0-アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-20-シクロプロピル-23-イン-26, 27-ヘキサフルオロ-19-ノル-コレカルシフェロール(26)及び1, 3-ジ-0-アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-20-シクロプロピル-23-イン-26, 27-ヘキサフルオロ-19-ノル-コレカルシフェロール(27)の合成

30

[ 0 2 5 7 ]

【化 0 5 2 】



40

【 0 2 5 8 】

1,25-ジヒドロキシ-20-シクロプロピル-23-イン-26,27-ヘキサフルオロ-19-ノル-コレカルシフェロール(25)(0.1503g)をピリジン(0.8mL)に溶解し、この溶液を氷浴の温度に冷却し、次いで、無水酢酸(0.2mL)を加えた。混合物を一晩冷蔵冷却し、次いで、水(1mL)で希釈し、10分間氷浴中で攪拌し、次いで、水(5mL)及び酢酸エチル(20mL)間で分配した。有機層を水(

50

3 × 5 mL)、炭酸水素ナトリウム飽和水溶液(1 × 5 mL)、ブライン(1 × 3 mL)で洗浄し、次いで乾燥(硫酸ナトリウム)し、そして蒸発させた。油状残留物を、酢酸エチル/ヘキサン = 1/6 に取り込み、15 × 150 mm のカラムを用いたフラッシュ・クロマトグラフィーを行い、移動相として酢酸エチル/ヘキサン = 1/6 を用いてフラクション 1 ~ 5 を；酢酸エチル/ヘキサン = 1/4 を用いて残りのフラクションを分別した。フラクション 3 ~ 4 及び 6 ~ 7 を集め、蒸発させ、ギ酸メチルに取り込んだ残留物を、濾過し、蒸発させ、標題のトリアセテート(26)(0.0476 g)及び表題のジアセテート(27)(0.04670 g)を得た。

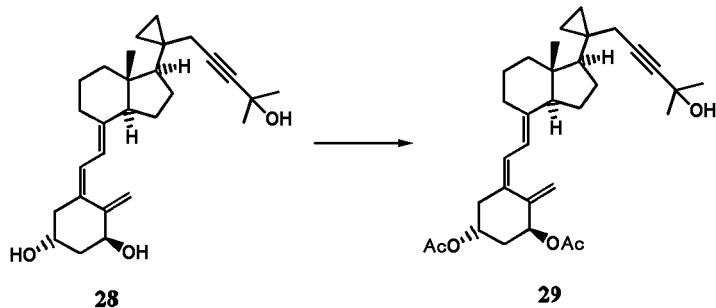
## 【実施例 13】

## 【0259】

1,3-ジ-O-アセチル-1,25-ジヒドロキシ-20-シクロプロピル-23-イン-コレカルシフェロール(29)の合成

## 【0260】

## 【化053】



## 【0261】

1,25-ジヒドロキシ-20-シクロプロピル-23-イン-コレカルシフェロール(28)(0.0369 g)をピリジン(0.8 mL)に溶解し、氷浴の温度に冷却し、次いで、無水酢酸(0.2 mL)を加え、そして、この混合物を一晩冷蔵冷却した。次いで、水(1 mL)で希釈し、10分間氷浴中で攪拌し、水(5 mL)及び酢酸エチル(20 mL)間で分配した。有機層を水(3 × 5 mL)、炭酸水素ナトリウム飽和水溶液(1 × 5 mL)、ブライン(1 × 3 mL)で洗浄し、次いで乾燥(硫酸ナトリウム)し、そして蒸発させた。油状残留物を、酢酸エチル/ヘキサン = 1/6 に取り込み、次いで、13 × 110 mm のカラムを用いたフラッシュ・クロマトグラフィーを行い、移動相として酢酸エチル/ヘキサン = 1/6 を用いてフラクション 1 ~ 7 を；酢酸エチル/ヘキサン = 1/4 を用いて残りのフラクションを分別した。フラクション 9 ~ 11 (TLC: 酢酸エチル/ヘキサン = 1/4) を集め、蒸発させ、ギ酸メチルに取り込んだ残留物を、濾過し、蒸発させ、標題の化合物(29)(0.0099 g)を得た。

## 【実施例 14】

## 【0262】

1,3-ジ-O-アセチル-1,25-ジヒドロキシ-20-シクロプロピル-23E-エン-26,27-ヘキサフルオロ-19-ノル-コレカルシフェロール(31)の合成

## 【0263】

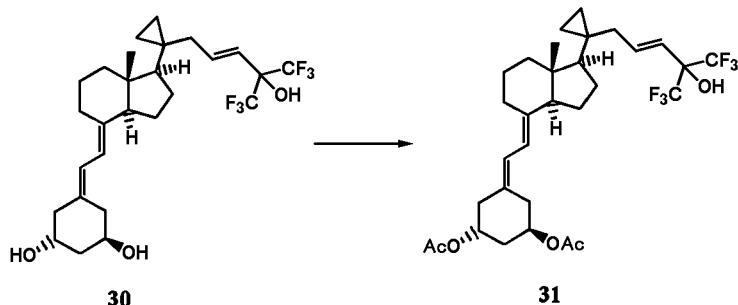
10

20

30

40

【化 0 5 4 】



10

[ 0 2 6 4 ]

1,25-ジヒドロキシ-20-シクロプロピル-23E-エン-26,27-ヘキサフルオロ-19-ノル-コレカルシフェロール(30)(0.0328g)をピリジン(0.8mL)に溶解し、氷浴の温度に冷却し、次いで、無水酢酸(0.2mL)を加えた。溶液を一晩冷蔵冷却した。次いで、溶液を水(1mL)で希釈し、10分間氷浴中で攪拌し、次いで、水(5mL)及び酢酸エチル(20mL)間で分配した(水層抽出物から、ホスホモリブデン酸で検出可能な物質は得られなかった)。有機層を水(3×5mL)、炭酸水素ナトリウム飽和水溶液(1×5mL)、ブライン(1×3mL)で洗浄し、乾燥(硫酸ナトリム)し、そして蒸発させた。残留物は $R_f = 0.25$ の1スポットを示した。油状の残留物を酢酸エチル/ヘキサン=1/6に取り込み、次いで13.5×110mmのカラムを用いたフラッシュ・クロマトグラフィーを行い、移動相として酢酸エチル/ヘキサン=1/6を用いてフラクション1~10を分別した。フラクション4~9を集め、蒸発させ、ギ酸メチルに取り込んだ残留物を、濾過し、蒸発させ、表(標)題の化合物(31)(0.0316g)を得た。

20

### 【案例 15】

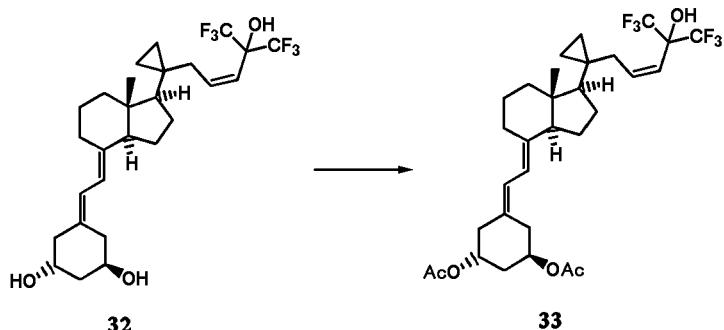
[ 0 2 6 5 ]

1,3-ジ-0-アセチル-1,25-ジヒドロキシ-20-シクロプロピル-23Z-エン-26,27-ヘキサフルオロ-19-ノル-コレカルシフェロール(33)の合成

30

【 0 2 6 6 】

【化 0 5 5 】



40

[ 0 2 6 7 ]

25 - ジヒドロキシ - 20 - シクロプロピル - 23Z - エン - 26, 27 - ヘキサフルオロ - 19 - ノル - コレカルシフェロール (32) (0.0429g) をピリジン (0.8mL) に溶解し、この溶液を氷浴の温度に冷却し、次いで、無水酢酸 (0.2mL) を加えた。溶液を一晩冷蔵冷却した。次いで、溶液を水 (1mL) で希釈し、10分間氷浴中で攪拌し、次いで水 (7mL) 及び酢酸エチル (25mL) 間で分配した。有機層を水 (3 × 5mL)、炭酸水素ナトリウム飽和水溶液 (1 × 5mL)、ブライン (1 × 3mL) で洗浄し、(硫酸ナトリウムで) 乾燥し、蒸発させた。TLC (酢酸エチル / ヘキサン = 1 / 4) は、おおむね 1 スポットを示した。15 × 120mm のカラムを用いたフラッ

50

シュ・クロマトグラフィーを行い、酢酸エチル／ヘキサン = 1 / 6 を移動相として用いて分別した。フラクション 3 ~ 6 (各 20 mL) を集め、次いで蒸発させた。残留物をギ酸メチルに取り込み、濾過し、蒸発させ、標題の化合物 (33) (0.0411 g) を得た。

## 【実施例 16】

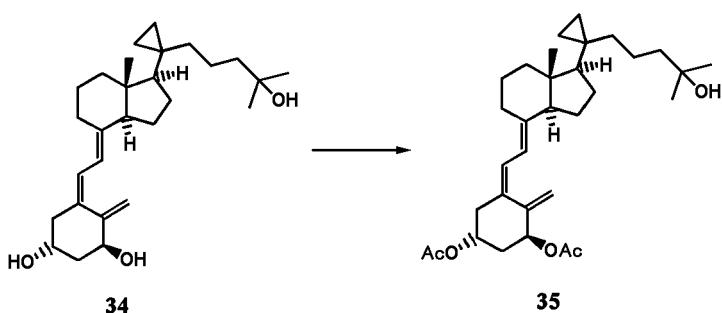
## 【0268】

1,3-ジ-O-アセチル-1,25-ジヒドロキシ-20-シクロプロピル-コレカルシフェロール (35) の合成

## 【0269】

## 【化056】

10



20

## 【0270】

1,25-ジヒドロキシ-20-シクロプロピル-コレカルシフェロール (34) (0.0797 g) をピリジン (0.8 mL) に溶解し、氷浴の温度に冷却し、次いで、無水酢酸 (0.2 mL) を加えた。溶液を一晩冷蔵冷却した。次いで、溶液を水 (1 mL) で希釈し、10分間氷浴中で攪拌し、次いで、水 (10 mL) 及び酢酸エチル (25 mL) 間で分配した。有機層を水 (3 × 10 mL)、炭酸水素ナトリウム飽和水溶液 (1 × 5 mL)、ブライン (1 × 3 mL) で洗浄し、乾燥し、蒸発させ、黄褐色の油状残留物 (0.1061 g) を得た。15 × 120 mm のカラムを用いたフラッシュ・クロマトグラフィーを行い、酢酸エチル／ヘキサン = 1 / 6 を移動相として用いて分別した。フラクション 9 ~ 16 (各 20 mL) を集め (TLC: 酢酸エチル／ヘキサン = 1 / 4,  $R_f = 0.1$  30 3)、次いで蒸発させた。残留物をギ酸メチルに取り込み、濾過し、蒸発させ、標題の化合物 (35) (0.0581 g) を得た。

## 【実施例 17】

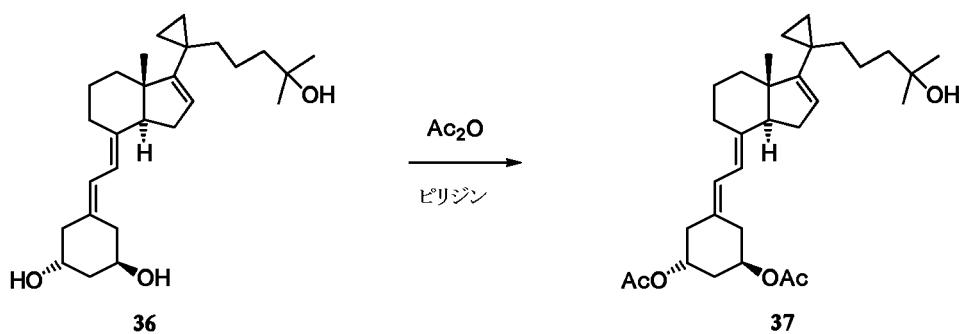
## 【0271】

1,3-ジ-O-アセチル-1,25-ジヒドロキシ-16-エン-20-シクロプロピル-19-ノル-コレカルシフェロール (37) の合成

## 【0272】

## 【化057】

30



40

## 【0273】

ピリジン (3 mL) 中 1,25-ジヒドロキシ-16-エン-20-シクロプロピル

50

- 19 - ノル - コレカルシフェロール (36) (94 mg, 0.23 mmol) の溶液に 0 度無水酢酸 (0.5 mL, 5.3 mmol) を加えた。混合物を 1 時間攪拌し、15 時間冷蔵冷却した。次いで更に 8 時間攪拌した。水 (10 mL) を加えて 15 分間攪拌した後、反応混合物を酢酸エチル / ヘキサン = 1 / 1 (25 mL) で抽出し、水 (4 × 25 mL) 及びブライン (20 mL) で洗浄し、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で乾燥した。溶媒を蒸発させた後、残渣 (120 mg) を FC (15 g : 30% AcOEt / ヘキサン) で精製し、標題の化合物 (37) (91 mg, 0.18 mmol, 80%) を得た。

[ ]<sup>30</sup><sub>D</sub> = +14.4 c 0.34, EtOH.

UV<sub>max</sub> (EtOH): 242 nm (34349), 250 nm (40458), 260 nm (27545);

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>): 6.25 (1H, d, J=11.1 Hz), 5.83 (1H, d, J=11.3 Hz), 5.35 (1H, m), 5.09 (2H, m), 2.82-1.98 (7H, m), 2.03 (3H, s), 1.98 (3H, s), 2.00-1.12 (15H, m), 1.18 (6H, s), 0.77 (3H, s), 0.80-0.36 (4H, m); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>): 170.7 10 3 (0), 170.65 (0), 157.27 (0), 142.55 (0), 130.01 (0), 125.06(1), 123.84(1), 115.71(1), 71.32 (0), 70.24(1), 69.99(1), 59.68(1), 50.40 (0), 44.08 (2), 41.40 (2), 38.37 (2), 35.96 (2), 35.80 (2), 32.93 (2), 29.48 (3), 29.31 (2), 28.71 (2), 23.71 (2), 22.50 (2), 21.56 (3), 21.51 (0), 21.44 (3), 18.01 (3), 12.93 (2), 10.53 (2);

MS HRES: C<sub>31</sub>H<sub>46</sub>O<sub>5</sub> に対する計算値: M+Na 521.3237, 実測値: M+Na 521.3233。

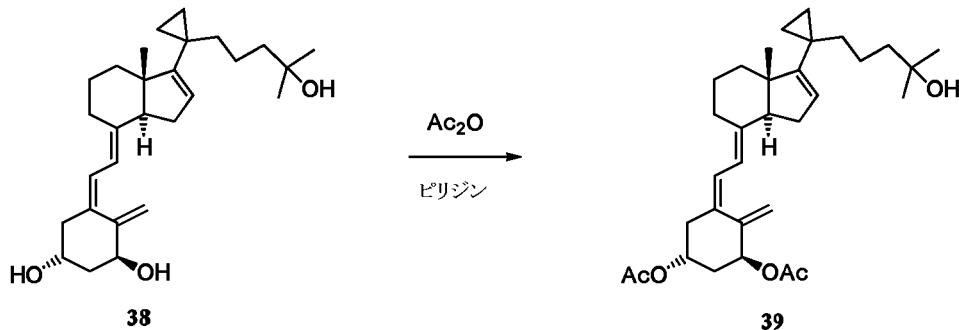
### 【実施例 18】

#### 【0274】

1, 3 - ジ - O - アセチル - 1, 25 - ヒドロキシ - 16 - エン - 20 - シクロプロピル - コレカルシフェロール (39) の合成

#### 【0275】

#### 【化058】



#### 【0276】

ピリジン (3 mL) 中の 1, 25 - ジヒドロキシ - 16 - エン - 20 - シクロプロピル - コレカルシフェロール (38) (100 mg, 0.23 mmol) に、0 度無水酢酸 (0.5 mL, 5.3 mmol) を加えた。混合物を 2 時間攪拌し、次いで 15 時間冷却した。水 (10 mL) を加え、15 分間攪拌の後、反応混合物を AcOEt / ヘキサン = 1 / 1 (25 mL) で抽出し、水 (4 × 25 mL)、ブライン (20 mL) で洗浄し、次いで、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で乾燥した。溶媒を蒸発させた後、残渣を FC (15 g : 30% AcOEt / ヘキサン) で精製し、標題の化合物 (39) (92 mg, 0.18 mmol, 78%) を得た。

[ ]<sup>30</sup><sub>D</sub> = -14.9 c 0.37, EtOH.

UV<sub>max</sub> (EtOH): 208 nm (15949), 265 nm (15745);

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>): 6.34 (1H, d, J=11.3 Hz), 5.99 (1H, d, J=11.3 Hz), 5.47 (1H, m), 5.33 (1H, m), 5.31 (1H, s), 5.18 (1H, m), 5.04 (1H, s), 2.78 (1H, m), 2.64 (1H, m), 2.40-1.10 (18H, m), 2.05 (3H, s), 2.01 (3H, s), 1.18 (6H, s), 0.76 (3H, s), 0.66-0.24 (4H, m); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>): 170.76 (0), 170.22 (0), 157.18 (0), 143.02 (0), 142.40 (0), 131.94(0), 125.31(1), 125.10(1), 171.40 (1), 115.22(2), 50

72.97(1), 71.32(0), 69.65 (1), 59.71 (1), 50.57 (0), 44.07 (2), 41.73 (2), 38.36 (2), 37.10 (2), 35.80 (2), 29.45 (3), 29.35 (2), 29.25 (3), 28.92 (2), 23.80 (2), 22.48 (2), 21.55 (3), 21.50 (3), 21.35 (0), 17.90 (3), 12.92 (2), 10.54(2);  
MS HRES; C<sub>32</sub>H<sub>46</sub>O<sub>5</sub> に対する計算値: M+Na 533.3237. 実測値: M+Na 533.3236.

## 【実施例 19】

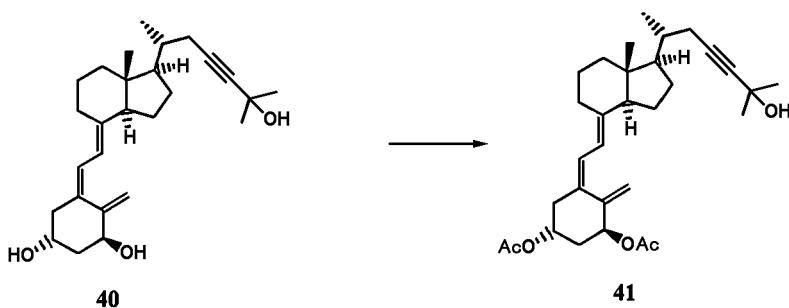
## 【0277】

1, 3 - ジ - O - アセチル - 1, 25 - ジヒドロキシ - 23 - イン - コレカルシフェロール (41) の合成

## 【0278】

## 【化059】

10



20

## 【0279】

化合物 40 (0.2007 g, 0.486 mmol) をピリジン (2 mL) 中に溶解した。この溶液を氷浴で冷却し、無水酢酸 (0.6 mL) を加えた。溶液を氷浴中で 45 時間保持し、次いで、水 (10 mL) で希釈し、10 分間攪拌し、水 (10 mL) 及び酢酸エチル (40 mL) で平衡を保った。有機相を水 (4 × 20 mL)、ブライン (10 mL) で洗浄し、乾燥 (硫酸ナトリウム) し、蒸発させた。華燭の油状残留物を、酢酸エチル / ヘキサン = 1 / 19、1 / 9 及び 1 / 4 の段階的勾配溶媒を用いたフラッシュ・クロマトグラフィーで分別した。R<sub>f</sub> = 0.16 の主帶域分 (TLC: アセテート / ヘキサン = 1 / 4) を蒸発させ、1, 3 - ジ - O - アセチル - 1, 25 - ジヒドロキシ - 23 - イン - コレカルシフェロール (41) (0.0939 g) を得た。

30

## 【0280】

## 生物学的検定法及びデータ

以下の実施例に記載したように、カルシリオール及びビタミン D<sub>3</sub> 類縁体が膀胱細胞の増殖及び機能に対して効果を有することができるという、本発明者の発見が、ヒト間質膀胱細胞を培養することによるインビトロ モデルで証明され、そして前臨床のインビボの認証モデルで確認されている。

## 【実施例 20】

## 【0281】

## 最大耐量 (MTD) の決定

本発明のビタミン D<sub>3</sub> 化合物の最大耐量を、C57BL/6マウス、8週令、雌性 (3 マウス / 群) に、種々の濃度のビタミン D<sub>3</sub> 類縁体を 4 日間、1 日当たり (0.1 mL / マウス) 経口投与して決定した。類縁体は、1 日当たり、0.1 mL / マウス、p.o. で与えた場合、最終濃度が 0.01、0.03、0.1、0.3、1、3、10、30、100 及び 300 μg / kg になるように、ミグリオールで製剤化した。血清カルシウム アッセイ用に、血液を、試験の最終日、即ち第 5 日目に尾出血により採血した。血清カルシウムレベルを比色分析法を用いて決定した (Sigma Diagnostics、手順番号 597)。高カルシウム血症を誘発しないで耐えられる類縁体の最大投与量 (血清カルシウム > 10.7 mg / dL) を、最大耐量 (MTD) とした。表 3 は、種々のビタミン D<sub>3</sub> 化合物に対する相対 MTD を示す。明らかに、化合物 (2) は、化合物 (1) よりも 30 倍高い MTD を有している。同様に、化合物 (4) 及び (5) は、それらの親化合物 (3) よりも

40

50

相当大きいM T Dを有している。

【実施例 2 1】

【0 2 8 2】

免疫学的検定法

未成熟樹状細胞 ( D C ) を Romani, N. ら、 ( Romani, N. ら、 (1996) J. Immunol. Meth. 196: 137 ) に記載されたようにして調製した。混合白血球反応 ( M L R ) で同種 T 細胞活性化による I F N - 生産を、 Penna, G. ら、 J. Immunol. 164: 2405-2411 (2000) に記載されたようにして決定した。

【0 2 8 3】

簡潔にいえば、末梢血単核球 ( P B M C ) を、 F i c o l l グラジェントによって、バ 10 フィコート ( 軟層 ) から分離し、異なった 2 ドナーからの同じ数 (  $3 \times 10^5$  ) の同種の P B M C を 9 6 ウエル平底プレートで共培養した。ビタミン D<sub>3</sub> 化合物を、各々の培養に加えた。5 日後、 M L R アッセイの I F N - 生産を E L I S A によって測定し、結果を I F N - 生産の 5 0 % 阻害 ( I C<sub>50</sub> ) を誘発するに要する試験化合物の量 ( n M ) として表した。結果を表 3 に要約する。

【0 2 8 4】

【表3】

表3

| 化合物                                                                                 | MTD (mice)<br>μg/kg | INF-γ<br>IC <sub>50</sub> pM |
|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|------------------------------|
| 1, 25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub>                                               | 1                   | 22                           |
| 1, 25-ジヒドロキシ-16, 23Z-ジエン-26, 27-ヘキサフルオロ-19-ノルコレカルシフェロール(1)                          | 0.03                | 0.3                          |
| 1, 3-ジ-O-アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-16, 23Z-ジエン-26, 27-ヘキサフルオロ-19-ノルコレカルシフェロール(2)            | 0.1                 | 722.0                        |
| 1, 25-ジヒドロキシ-16-エン-23-イン-26, 27-ヘキサフルオロ-19-ノルコレカルシフェロール(3)                          | 0.3                 | 1.5                          |
| 1, 3-ジ-O-アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-16-エン-23-イン-26, 27-ヘキサフルオロ-19-ノルコレカルシフェロール(4)            | 10                  | 525.0                        |
| 1, 3, 25-トリ-O-アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-16-エン-23-イン-26, 27-ヘキサフルオロ-19-ノルコレカルシフェロール(5)       | 3                   | 499.0                        |
| 1, 3-ジ-O-アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-16-エン-23-インコレカルシフェロール(7)                                 | 10                  | 51.0                         |
| 1, 3-ジ-O-アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-16, 23E-ジエンコレカルシフェロール(9)                                 | 3                   | 13.0                         |
| 1, 3-ジ-O-アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-16-エンコレカルシフェロール(11)                                      | 1                   | 36.0                         |
| 1, 3, 25-トリ-O-アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-16-エン-23-イン-26, 27-ヘキサフルオロコレカルシフェロール(13)            | 3                   | 40.1                         |
| 1, 3-ジ-O-アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-16-エン-23-イン-26, 27-ヘキサフルオロコレカルシフェロール(14)                 | 10                  | 27.3                         |
| 1, 3-ジ-O-アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-16, 23E-ジエン-25R, 26-トリフルオロコレカルシフェロール(16)                 | 0.3                 | 51.3                         |
| 1, 3-ジ-O-アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-16-エン-19-ノルコレカルシフェロール(18)                                | 3                   | 3.0                          |
| 1, 3-ジ-O-アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-16-エン-23-イン-19-ノルコレカルシフェロール(20)                          | 30                  | 25.0                         |
| 1, 3-ジ-O-アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-16-エン-23-イン-26, 27-ビスホモ-19-ノルコレカルシフェロール(22)              | 100                 | 25.3                         |
| 1, 3-ジ-O-アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-20-シクロプロピル-23-イン-19-ノルコレカルシフェロール(24)                     | 100                 | 802.0                        |
| 1, 3, 25-トリ-O-アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-20-シクロプロピル-23-イン-26, 27-ヘキサフルオロ-19-ノルコレカルシフェロール(26) | 10                  | 922.0                        |
| 1, 3-ジ-O-アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-20-シクロプロピル-23-イン-26, 27-ヘキサフルオロ-19-ノルコレカルシフェロール(27)      | 10                  | 78.0                         |
| 1, 3-ジ-O-アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-20-シクロプロピル-23-インコレカルシフェロール(29)                           | 30                  | 7.8                          |
| 1, 3-ジ-O-アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-20-シクロプロピル-23E-エン-26, 27-ヘキサフルオロ-19-ノルコレカルシフェロール(31)     | 0.3                 | 0.8                          |
| 1, 3-ジ-O-アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-20-シクロプロピル-23Z-エン-26, 27-ヘキサフルオロ-19-ノルコレカルシフェロール(33)     | 10                  | 99.0                         |
| 1, 3-ジ-O-アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-20-シクロプロピルコレカルシフェロール(35)                                 | 30                  | 2.7                          |
| 1, 3-ジ-O-アセチル-1 <sub>α</sub> , 25-ジヒドロキシ-16-エン-20-シクロプロピル-19-ノルコレカルシフェロール(37)       | 10                  | 68.0                         |
| 1, 3-ジ-O-アセチル-1 <sub>α</sub> , 25-ヒドロキシ-16-エン-20-シクロプロピルコレカルシフェロール(39)              | 3                   | 45.0                         |
| 1, 3-ジ-O-アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-23-インコレカルシフェロール(41)                                      | 1                   | 80.0                         |

【実施例22】

10

20

30

40

50

## 【0285】

## 膀胱癌細胞株を用いた増殖検定

膀胱癌細胞株（T24、RT112、HT1376及びRT4は、ヒト膀胱癌細胞株である；NHEKは、正常ヒト角化細胞である）をEuropean Collection of Cell Culture (Salisbury, UK) から得た。1ウエル当たり $3 \times 10^3$ の細胞を、平底96ウエルプレートの各100μlのDMEM培地（Fetal Clone I: 5%、ゲンタマイシン: 50μg/L、ピルビン酸ナトリウム: 1mM、及び非必須アミノ酸: 1%を含有）に播種した。24時間、37、5%CO<sub>2</sub>で、細胞がプレートに接着するよう培養した後に、VDRリガンド（表4に示したように、化合物（2）、（4）、（5）及び別のビタミンD<sub>3</sub>類縁体）を、上記の完全培地100μl中に100μM～0.3μMの範囲の濃度で加えた。更に72時間培養した後、細胞増殖を蛍光ベースの増殖アッセイキット（CyQuant Cell Proliferation Assay Kit, Molecular Probes, Eugene, OR, USA）を用いて測定した。IC<sub>50</sub>を、滴定データの回帰曲線から計算した。結果を表4に示す。

## 【0286】

【表4】

表4

| 化合物                                                                                          | ECV<br>( $\mu$ M) | RT112<br>( $\mu$ M) | HT1376<br>( $\mu$ M) | RT4<br>( $\mu$ M) | NHEK<br>( $\mu$ M) |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|---------------------|----------------------|-------------------|--------------------|
| 1, 25-ジヒドロキシコレカルシフェロール                                                                       | 54.6              | 19                  | 50                   | 45                | 4.9                |
| 1, 25-ジヒドロキシ-16, 23Z-ジエン-26, 27-ヘキサフルオロ-19-ノルコレカルシフェロール(1)                                   | 58.7              | 24                  | 56                   | 20                | 4.4                |
| 1, 3-ジ- $\alpha$ -アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-16, 23Z-ジエン-26, 27-ヘキサフルオロ-19-ノルコレカルシフェロール(2)            | 55                | 1                   | 100                  | 20                | 9.8                |
| 1, 3-ジ- $\alpha$ -アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-16-エン-23-イン-26, 27-ヘキサフルオロ-19-ノルコレカルシフェロール(4)            | 29                | 15                  | >100                 | 9                 | 0.8                |
| 1, 3, 25-トリ- $\alpha$ -アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-16-エン-23-イン-26, 27-ヘキサフルオロ-19-ノルコレカルシフェロール(5)       | 32                | 13                  | >100                 | 7                 | 25.6               |
| 1, 3-ジ- $\alpha$ -アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-16-エン-23-イン-コレカルシフェロール(7)                                | 27.7              | 3                   | >100                 | 80                | 4.8                |
| 1, 3-ジ- $\alpha$ -アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-16, 23E-ジエン-コレカルシフェロール(9)                                | 58.7              | 14                  | >100                 | 82                | 5.1                |
| 1, 3-ジ- $\alpha$ -アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-16-エン-コレカルシフェロール(11)                                     | 59.9              | 18                  | >100                 | 75                | 5                  |
| 1, 3, 25-トリ- $\alpha$ -アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-16-エン-23-イン-26, 27-ヘキサフルオロ-コレカルシフェロール(13)           | >100              | 17                  | ?                    | 95                | 19.5               |
| 1, 3-ジ- $\alpha$ -アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-16-エン-23-イン-26, 27-ヘキサフルオロ-コレカルシフェロール(14)                | >100              | 26                  | >100                 | 19                | 0.98               |
| 1, 3-ジ- $\alpha$ -アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-16, 23E-ジエン-25R, 26-トリフルオロ-コレカルシフェロール(16)                | 76.6              | 2                   | >100                 | 16                | 3.1                |
| 1, 3-ジ- $\alpha$ -アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-16-エン-19-ノルコレカルシフェロール(18)                                | 27.9              | 1                   | 96                   | 8                 | 5.8                |
| 1, 3-ジ- $\alpha$ -アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-16-エン-23-イン-19-ノルコレカルシフェロール(20)                          | 26.7              | 1                   | >100                 | 9                 | 6.7                |
| 1, 3-ジ- $\alpha$ -アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-16-エン-23-イン-26, 27-ビスホモ-19-ノルコレカルシフェロール(22)              | 81.7              | 7                   | >100                 | 9                 | 4.7                |
| 1, 3-ジ- $\alpha$ -アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-20-シクロプロピル-23-イン-19-ノルコレカルシフェロール(24)                     | 21.5              | 18                  | >100                 | 7                 | 6.8                |
| 1, 3, 25-トリ- $\alpha$ -アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-20-シクロプロピル-23-イン-26, 27-ヘキサフルオロ-19-ノルコレカルシフェロール(26) | 63.5              | 15                  | >100                 | 5                 | 32.8               |
| 1, 3-ジ- $\alpha$ -アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-20-シクロプロピル-23-イン-26, 27-ヘキサフルオロ-19-ノルコレカルシフェロール(27)      | 25.5              | 2/13                | 43                   | 4/1,8             | 2.6                |
| 1, 3-ジ- $\alpha$ -アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-20-シクロプロピル-23-イン-コレカルシフェロール(29)                          | 49.6              | 8                   | 80                   | 13                | 5.9                |
| 1, 3-ジ- $\alpha$ -アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-20-シクロプロピル-23E-エン-26, 27-ヘキサフルオロ-19-ノルコレカルシフェロール(31)     | 24.3              | 7                   | 68                   | 9                 | 0.9                |
| 1, 3-ジ- $\alpha$ -アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-20-シクロプロピル-23Z-エン-26, 27-ヘキサフルオロ-19-ノルコレカルシフェロール(33)     | >100              | 16                  | >100                 | 18                | 0.9                |

10

20

30

40

|                                                                                     |      |      |      |     |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------|------|------|------|-----|-----|
| 1, 3-ジ- $\alpha$ -アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-20-シクロプロピル-コレカルシフェロール(35)                       | 52.1 | 9    | 67   | 10  | 4.7 |
| 1, 3-ジ- $\alpha$ -アセチル-1 $\alpha$ , 25-ジヒドロキシ-16-エン-20-シクロプロピル-19-ノル-コレカルシフェロール(37) |      | 17.4 |      | 3   |     |
| 1, 3-ジ- $\alpha$ -アセチル-1 $\alpha$ , 25-ヒドロキシ-16-エン-20-シクロプロピル-コレカルシフェロール(39)        |      | 21.5 |      | 2.8 |     |
| 1, 3-ジ- $\alpha$ -アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-23-イン-コレカルシフェロール(41)                            | 40   | 8    | >100 | 85  | 4.2 |

10

## 【実施例 2 3】

## 【0 2 8 7】

V D R リガンド投与により発症した 1 型糖尿病の阻害

実験に使用する非肥満 ( N O D ) / L t マウスは、 Charles River Laboratories (Calc o, Italy) から購入した。全てのマウスは、特定病原体未感染 ( S P F ) の条件下で保持された。尾静脈血のグルコースレベルを EURFlash ( Lifescan, Issy les Moulineaux, France) を使用して定量した。糖尿病の診断は、2 回のグルコース連続測定の後、 2 0 0 m g / d 1 よりも高値とした。

## 【0 2 8 8】

1 , 3 - D i - O - アセチル - 1 , 2 5 - ジヒドロキシ - 1 8 , 2 3 Z - ジエン - 2 6 , 2 7 - ヘキサフルオロ - 1 9 - ノル - コレカルシフェロール ( 2 ) をエタノールに溶解し ( 1 m g / m l ) 、次いでミグリオール 8 1 2 で希釈した。 N O D / L t マウス、雌性、に、経口で、媒体 ( ミグリオール 8 1 2 ) のみ、又は ( 2 ) を含有する媒体 ( 0 . 1 m g / k g 体重又は 0 . 2 m g / k g 体重を経口で ) を、 5 回 / 週、 8 ~ 1 6 週令まで投与し、血糖レベルを 2 7 週令までモニターした。疾患の発症率は、対照に比べ、化合物 ( 2 ) で治療したマウスでは有意に低く、高投与量 ( 0 . 2 m g / k g ) は、図 1 及び表 5 に示すように、最も効果的であった。媒体で治療した対照の約 7 0 % は、化合物 ( 2 ) で 8 ~ 1 6 週令まで治療したマウスの 3 0 % のみ ( 0 . 1 m g / k g の投与量 ) 及び 4 0 % のみ ( 0 . 2 m g / k g の投与量 ) と比較して、 2 7 週令までに糖尿病になった。図 2 及び表 6 に示すように、化合物 ( 2 ) は、 0 . 1 m g / k g 又は 0 . 2 m g / k g の投与量を与えた場合、体重に影響しなかった、このことは、明らかな毒性効果がないことを示唆している。

## 【0 2 8 9】

20

30

【表5】

表5. 化合物(2)に対する1型糖尿病発症率(%)

| 週  | ミグリオール | Cmpd(2)0.1 $\mu$ g/kg p. o. | Cmpd(2)0.2 $\mu$ g/kg p. o. |
|----|--------|-----------------------------|-----------------------------|
| 8  | 3      | 2                           | 1                           |
| 12 | 3      | 2                           | 1                           |
| 13 | 3      | 2                           | 1                           |
| 14 | 3      | 2                           | 1                           |
| 15 | 20     | 2                           | 1                           |
| 16 | 20     | 2                           | 1                           |
| 17 | 20     | 10                          | 1                           |
| 18 | 20     | 10                          | 1                           |
| 19 | 20     | 10                          | 1                           |
| 20 | 40     | 10                          | 10                          |
| 21 | 60     | 20                          | 10                          |
| 22 | 60     | 30                          | 10                          |
| 23 | 60     | 30                          | 20                          |
| 24 | 60     | 40                          | 20                          |
| 25 | 60     | 40                          | 20                          |
| 26 | 60     | 40                          | 30                          |
| 27 | 70     | 40                          | 30                          |

【0290】

10

20

【表6】

表6. 化合物(2)の2投与量におけるNODマウス体重(g)

| 週  | ミグリオール | Cmpd(2) 0. 1 $\mu$ g/kg p. o. | Cmpd(2) 0. 2 $\mu$ g/kg p. o. |
|----|--------|-------------------------------|-------------------------------|
| 8  | 21.49  | 22.07                         | 21.25                         |
| 9  | 21.92  | 22.98                         | 21.75                         |
| 10 | 22.23  | 22.77                         | 22.06                         |
| 11 | 23.3   | 23.4                          | 22.99                         |
| 12 | 24.24  | 24.01                         | 24.21                         |
| 13 | 24     | 23.69                         | 24.4                          |
| 14 | 24.35  | 24.1                          | 24.34                         |
| 15 | 25.17  | 24.6                          | 24.53                         |
| 16 | 24.82  | 25                            | 25.01                         |
| 17 | 25.07  | 24.6                          | 24.33                         |
| 18 | 24.54  | 25.1                          | 24.89                         |
| 19 | 24.57  | 25.6                          | 25.29                         |
| 20 | 24.66  | 25.2                          | 24.9                          |
| 21 | 26.2   | 25.6                          | 25.41                         |
| 22 | 25.44  | 25.8                          | 26.36                         |
| 23 | 26.39  | 25.5                          | 25.8                          |
| 24 | 25.36  | 26.8                          | 25.63                         |
| 25 | 25.97  | 26.4                          | 26.12                         |
| 26 | 26.64  | 26.7                          | 27.15                         |
| 27 | 26.2   | 26.5                          | 26.56                         |

10

20

30

40

【実施例24】

【0291】

膀胱細胞の増殖及び機能に対するカルシトリオール及びビタミンD<sub>3</sub>類縁体の活性

カルシトリオール及びビタミンD<sub>3</sub>類縁体は、膀胱細胞の増殖及び機能に対して効果を有することができるという、本発明者らの発見は、ヒト膀胱間質細胞を培養することによってインビトロモデルで証明された。本発明者らは、文献で既に報告したように、これらの細胞に対して、ビタミンD受容体(VDR)の存在を確認した(図3を参照)。

【0292】

これらのモデルにおいて、カルシトリオール(ビタミンD<sub>3</sub>の活性化型)及びその他のビタミンD<sub>3</sub>類縁体は、膀胱細胞の基本的(図4)増殖を阻害する効果があることが示された。この活性はこれまで報告されたことがなく、(基底細胞に対して)カルシトリオール(1,25-ジヒドロキシコレカルシフェロール)ではIC<sub>50</sub> 9.8 ± 7 × 10<sup>-5</sup>であって、用量依存性である。

【0293】

同様な調査が多くの別のビタミンD化合物に対して行われ、その結果(-Log IC<sub>50</sub>で表される)は、以下の表に示されている。表中のデータは、テストステロンでは促進されず、又は(一例においては)促進される、基底ヒト膀胱細胞に対する化合物の阻害効果を現す。ラットでの最大耐量(MTD)も、各化合物について列挙されている(表7)。

【0294】

【表7】

表7

| 化合物                                                                                  | -Log IC <sub>50</sub> | MTD<br>(μg/kg) |
|--------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|----------------|
| 1, 3-ジ-オ-アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-16, 23Z-ジエン-26, 27-ヘキサフルオロ-19-ノル-コレカルシフェロール(2)            | 7.4±0.57              | 0.1            |
| 1, 3-ジ-オ-アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-16-エン-23-イン-コレカルシフェロール(7)*                                | 10.3±0.26             | 10             |
| 1, 3-ジ-オ-アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-16, 23E-ジエン-コレカルシフェロール(9)*                                | 11.38±0.39            | 3              |
| 1, 3-ジ-オ-アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-16-エン-コレカルシフェロール(11)*                                     | 9.65±0.36             | 1              |
| 1, 3-ジ-オ-アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-16-エン-23-イン-26, 27-ヘキサフルオロ-コレカルシフェロール(14)*                | 8.7±0.27              | 10             |
| 1, 3-ジ-オ-アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-16-エン-19-ノル-コレカルシフェロール(18)*                               | 9.2±0.5               | 3              |
| 1, 3-ジ-オ-アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-16-エン-23-イン-19-ノル-コレカルシフェロール(20)                          | 3.73±2.3              | 30             |
| 1, 3, 25-トリ-オ-アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-20-シクロプロピル-23-イン-26, 27-ヘキサフルオロ-19-ノル-コレカルシフェロール(26) | 7.4±0.77              | 10             |
| 1, 3-ジ-オ-アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-20-シクロプロピル-23-イン-26, 27-ヘキサフルオロ-19-ノル-コレカルシフェロール(27)*     | 8.92±0.29             | 10             |
| 1, 3-ジ-オ-アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-20-シクロプロピル-23-イン-コレカルシフェロール(29)                           | >2                    | 30             |
| 1, 3-ジ-オ-アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-20-シクロプロピル-23E-エン-26, 27-ヘキサフルオロ-19-ノル-コレカルシフェロール(31)*    | 8.8±0.4               | 0.3            |
| 1, 3-ジ-オ-アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-20-シクロプロピル-23Z-エン-26, 27-ヘキサフルオロ-19-ノル-コレカルシフェロール(33)     | 6.7±0.36              | 10             |
| 1, 3-ジ-オ-アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-20-シクロプロピル-コレカルシフェロール(35)                                 | 6.4±1                 | 30             |
| 1, 3-ジ-オ-アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-23-イン-コレカルシフェロール(41)                                      | >2                    | 1              |

表中アステリスク (\*) をつけた化合物は、本発明に関連して特に興味のあるものである  
(これらは、非刺激細胞に対する最高の-Log IC<sub>50</sub>値を有する)。

## 【実施例25】

## 【0295】

インビボモデル(シクロホスファミド(CYP)が誘発する慢性のICに罹患しているラット)の膀胱機能に於けるビタミンD<sub>3</sub>類縁体の効果を評価する

CYPの腹腔内投与により誘発される薬剤誘発性膀胱炎のラットモデルは広く普及しており、CYPは多くの悪性腫瘍の治療として臨床的に使用されている。その代謝物の一つであるアクロレインは、高濃度で尿中に排泄され、頻尿、切迫尿及び骨盤痛の症状を伴った出血性膀胱炎の原因となる。その炎症過程は、膀胱の巨視的な組織学的变化、炎症細胞浸潤(肥満細胞、マクロファージ、PMN)の数と分布の増加、シクロオキシゲナーゼ-2発現及びプロスタグランジン産生、増殖因子及びサイトカイン産生によって特徴付けられている。薬剤誘発性膀胱炎のラットモデルは、間質性膀胱炎、慢性、疼痛性膀胱症候群に類似し、過去には治療剤の試験に使用されていた。

## 【0296】

CYP誘発性膀胱炎のラットにおいて、1, 25-ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub>類縁体の効果を試験するのに、このモデルが使用された。意識的に自由に動いているCYP誘発性膀胱炎のラットの膀胱内圧パラメーターに対する治療効果をモニターした。以下の膀胱内圧パラメーターを各動物について記録した：膀胱容積、充填圧(膀胱充填の初期圧力)、

10

20

30

40

50

圧力の閾値（排尿直前の膀胱圧）、排尿圧（排尿中の最大膀胱圧）、非排尿膀胱収縮の有無（排尿なしで少なくとも 10 cm 水柱の膀胱圧の増加）、及び非排尿膀胱収縮の振幅。

【 0 2 9 7 】

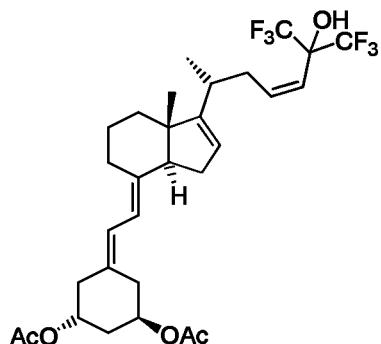
動物：体重125～175gのウイスター ラットを使用した。2つのグループの動物に、膀胱腔内圧記録用に膀胱内にチューブを埋め込んだ。回復後、全ての動物にCYPの腹腔内注射を3回行い、次いで治療群と偽治療の対照群とに分けた。

( 0 2 9 8 )

治療群：1, 25-ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub>類縁体、1, 3-ジ-O-アセチル-1, 25-ジヒドロキシ-16, 23Z-ジエン-26, 27-ヘキサフルオロ-19-ノル-コレカルシフェロール(2)をラットに経口投与することにより、14日間治療した(1日投与量、0.1 μg/kg)。

( 0 2 9 9 )

【化 0 6 0 】



2

[ 0 3 0 0 ]

対照群：治療群に投与したのと同じ用量の賦形剤（ミグリオール）を経口投与して、ラットを治療した。

【 0 3 0 1 】

薬剤又は賦形剤を最終的に投与してから24時間後に、目覚めて、自由に運動している動物の膀胱内圧測定を行った。 30

【 0 3 0 2 】

### (方法)

## 膀胱内へのポリエチレンチューブの埋め込み

下正中腺腹部切開を全身吸入麻酔（イソフルリンとO<sub>2</sub>）下で実施し、末端を熱で口を広げたポリエチレンチューブ（PE-50, Clay Adams, Parsippany, NJ）を膀胱の半球体部に挿入し、6-0プロリーンで巾着縫合して場所を固定した。チューブの遠位端を熱シールし、皮下を貫通させて、動物の足が届かない、首の背面から外に出した。腹部及び首の切開は、4-0ナイロン縫合で閉鎖した。

( 0 3 0 3 )

## シクロホスファミドの腹腔内投与

回復後（5日）、動物患者は、CYP（Sigma Chemical, St. Louis, MO: 各75mg/kg、腹腔内）3回の腹腔内注射を、9日間の期間にわたって受けた。最初のCYP注射に続く第10日に、偽装対照群の動物は、賦形剤のみを注射し、実験群は、1,25-ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub>類縁体、1,3-ジ-O-アセチル-1,25-ジヒドロキシ-16,23Z-ジエン-26,27-ヘキサフルオロ-19-ノル-コレカルシフェロール（チューブを用いて送達）で治療した。治療開始に続く2週間、動物は、膀胱の機能を評価するために、意識下での膀胱内圧測定を受けた。

【 0 3 0 4 】

### 膀胱内圧測定図：

10

20

30

40

50

動物をケージ内で抑制のない状態におき、カテーテルを、T-チューブransデューサー (Grass (登録商標)、ModelPT300, WestWarwick, RI) 及びマイクロインジェクションポンプ (Harvard Apparatus, 22, South Natick, MA) を経由して連結した。0.9% 生理食塩水を室温にて、10ml/時間の速度で、膀胱に注入した。膀胱内圧を、Neurod ata Acquisition System (Grass (登録商標) Model15, Astro-Med, Inc, WestWarwick, RI) を使用して連続的に記録した。少なくとも3回の再現し得る排尿サイクルを、初期定期間の25~30分後に記録した。

## 【0305】

実験の時系列

10

| 処置                         | 日数    |
|----------------------------|-------|
| 順化期間                       | 1~5   |
| チューブ埋め込み+回復期間              | 6~10  |
| CYP治療 (75mg/kg, i.p. 3日毎に) | 11~17 |
| 治療 (偽装又は有効物質)              | 18~31 |
| 膀胱内圧測定法評価                  | 32    |

結果

データ解析は、表8及び9並びに図5に要約する。

20

## 【0306】

## 【表8】

表8 対照群の膀胱内圧法パラメーター

| ラット  | B1. Cap | FP | TP | MP  | NVBCの# | NVBCの振幅 |
|------|---------|----|----|-----|--------|---------|
| RB8  | 1,2     | 15 | 15 | 100 | 22     | 15      |
|      | 1,2     | 13 | 18 | 100 | 14     | 14      |
|      | 1,1     | 16 | 15 | 82  | 12     | 11      |
| RB10 | 0,7     | 30 | 40 | 110 | 26     | 25      |
|      | 0,9     | 32 | 26 | 94  | 32     | 28      |
|      | 0,6     | 26 | 26 | 108 | 35     | 16      |
| RB12 | 1,7     | 35 | 40 | 115 | 40     | 17      |
|      | 1,7     | 25 | 30 | 125 | 35     | 14      |
|      | 1,9     | 30 | 25 | 118 | 22     | 17      |
| RB14 | 1,3     | 16 | 16 | 104 | 10     | 10      |
|      | 1,2     | 17 | 17 | 95  | 4      | 8       |
|      | 1,1     | 19 | 21 | 92  | 9      | 18      |

30

B1. Cap=膀胱容積 (ml)、FP=充填圧 (cmH<sub>2</sub>O)、

TP=圧閾値 (cmH<sub>2</sub>O)、MP=排尿圧 (cmH<sub>2</sub>O)、

NVBCの#=非排尿膀胱収縮の数、

NVBCの振幅=非排尿膀胱収縮の振幅

40

## 【0307】

【表9】

表9 治療群の膀胱内圧法パラメーター

| ラット  | B1. Cap | FP | TP | MP  | NVBCの# | NVBCの振幅 |
|------|---------|----|----|-----|--------|---------|
| RB7  | 0,7     | 13 | 14 | 98  | 0      | 0       |
|      | 0,7     | 14 | 14 | 97  | 0      | 0       |
|      | 0,8     | 13 | 14 | 101 | 0      | 0       |
| RB13 | 1,4     | 14 | 15 | 104 | 8      | 11      |
|      | 1,9     | 15 | 16 | 105 | 4      | 10      |
|      | 1,3     | 14 | 17 | 97  | 8      | 11      |
| RB15 | 2,5     | 12 | 14 | 90  | 0      | 0       |
|      | 1,3     | 11 | 12 | 100 | 0      | 0       |
|      | 1,5     | 10 | 11 | 108 | 0      | 0       |

【0308】

変化は、膀胱内圧測定パラメーターで記載した。薬物で治療された動物に於いて、非排尿膀胱収縮の数及び振幅の両方で、劇的な減少が観察された。充填圧及び閾値圧において、顕著ではないが、統計的に有意な減少も記録された。治療により、膀胱容積の変化はもたらされなかった。

【0309】

刺激性頻回疼痛尿症候群に伴う膀胱壁の頻回収縮により、慢性膀胱炎と関連する膀胱過活動が顕著に示された。非排尿膀胱収縮が、頻度及び振幅の両方に於いて減少したということは、間質性膀胱炎の患者の膀胱機能に於ける効果と同様のものであるならば、ビタミンD<sub>3</sub>類縁体での治療（例えば、経口治療）は、これらの消耗性症状を緩和するのに有望であることを示唆している。間質性膀胱炎に伴って膀胱腔内圧が増加すれば上部尿道を危険な状態にさらすことになるので、充填圧及び閾値圧の減少は臨床的にも有意義である。

【0310】

当該実施例は、ビタミンD<sub>3</sub>類縁体、1,3-ジ-0-アセチル-1,25-ジヒドロキシ-16,23Z-ジエン-26,27-ヘキサフルオロ-19-ノル-コレカルシフェロール(2)、が膀胱機能不全を治療する能力を有することの更なる実証を提供する。

【0311】

略語

|     |             |
|-----|-------------|
| T   | テストステロン     |
| DHT | ジヒドロテストステロン |
| GF  | 増殖因子        |
| BPH | 良性前立腺肥大     |
| BOO | 膀胱排尿開口部閉塞   |
| AR  | アンドロゲン受容体   |
| PSA | 前立腺特異抗原     |
| VDR | ビタミンD受容体    |
| hBC | ヒト膀胱細胞      |
| KGF | 角化細胞増殖因子    |

【実施例26】

【0312】

BPH細胞に対するインビトロでの効果

10

20

30

40

50

## 材料と方法

## 材料

最小必須培地 (MEM)、D MEM - F 12 の 1 : 1 混合物、Ham's F 12 培地、リン酸バッファー生理食塩水 (PBS)、ウシ血清アルブミン (BSA) フラクション V、グルタミン、ジェネチシン (geneticine)、IV 型コラゲナーゼ、カルシトリオール、テストステロン (T)、ジヒドロテストステロン (DHT)、酢酸シプロテロン、及びカルシウム血症の測定用キットは、Sigma (St. Louis, MO) から購入した。細胞培養用プラスチック容器は Falcon (Oxnard, CA) から購入した。増殖培地調製用の使い捨てのろ過ユニットは、PBI International (Milan, Italy) から購入した。

10

## 【0313】

## BPH 細胞

Crescioli, C. らの Journal of Clinical and Endocrinology Metabolism (2000) 85, p2576-2583 に記載されているようにして調製、維持、使用したヒト BPH 細胞は、インフォームドコンセントの後に地域倫理委員会の承認を得て、BPH に対し恥骨上腺腫摘出術を受けた 5 人の患者由来の前立腺組織から得た。患者は、手術前の 3 カ月間は、いかなる薬理学的治療も受けなかつた。

## 【0314】

## BPH 細胞増殖アッセイ

細胞増殖アッセイのために、 $4 \times 10^4$  個の BPH 細胞を、増殖培地中で 12 ウエルのプレートに播種し、0.1% の BSA を含有する、無フェノールレッド、無血清培地中で 24 時間、飢餓状態で処理し、次いで 48 時間、特異な刺激を与えて処理した。0.1% の BSA を含有する、無フェノールレッド及び無血清培地中の細胞を対照として使用した。その後、既に報告されているようにして (Crescioli, C. らの Journal of Clinical and Endocrinology Metabolism (2000) 85, p2576-2583 を参照)、細胞をトリプシン処理し、各実験ポイントを血球計数器の計数から算出し、各ウエルにつき、少なくとも 6 つの異なった領域を平均化した。

## 【0315】

実験は、カルシトリオール又はビタミン D 類縁体の濃度を ( $10^{-18} \sim 10^{-7}$  M に) 増加させて使用し、一定濃度の T (10 nM)、KGF 又は Dexam (1-3) IGF-I (10 ng/ml) の存在又は非存在下で行った。増殖アッセイも、ビタミン D 類縁体 (1 nM、10 nM)、又は抗アンドロゲンであるフィナステリド (F、1 nM) 及び酢酸シプロテロン (Cyp、100 nM) の存在又は非存在下で、一定量のアンドロゲン (10 nM) を使用して実施した。増殖アッセイは、又、ビタミン D 類縁体 (10 nM) の存在又は非存在下で、一定濃度の T (10 nM) 又は GFS (10 ng/ml) を使用して実施した。

## 【0316】

同じ実験において各実験ポイントを 3 回又は 4 回繰り返し、3 回実験を行った。結果は、最大の T 又は GFS 誘発刺激を越えた変動率 (%) (平均  $\pm$  SEM) として示した。

30

## 【0317】

## 結果

BPH 細胞の増殖は、テストステロン (T) によって有意に増加した。細胞の増殖をテストステロン (T) で 48 時間刺激すると、ビタミン D 類縁体の阻害効果はさらに顕著であった (表 10)。

## 【0318】

40

## 【表10】

表10、 $-\log IC_{50}$ として表されたビタミンD類縁体によるテストステロン誘発ヒトBPH細胞増殖の阻害、マウスにおける、各化合物の最大耐量 (MTD) (即ち、最高の非高カルシウム血症投与量) を示す。

| 化合物      | $-\log IC_{50}$ | CD 1マウスにおけるMTD<br>$\mu g / kg$ |
|----------|-----------------|--------------------------------|
| カルシトリオール | 7.07 +/- 1.7    | 1                              |
| (7)      | 4.37 +/- 0.52   | 10                             |
| (9)      | 8.04 +/- 1.14   | 3                              |
| (11)     | 9.12 +/- 0.38   | 1                              |
| (14)     | 3.3 +/- 0.61    | 10                             |
| (18)     | 10.65 +/- 0.63  | 3                              |
| (20)     | 12.7 +/- 0.47   | 30                             |
| (26)     | >1              | 10                             |
| (27)     | 9.1 +/- 0.52    | 10                             |
| (29)     | 8.5 +/- 0.89    | 30                             |
| (35)     | 2.9 +/- 1.6     | 30                             |
| (41)     | 9.14 +/- 0.56   | 1                              |

10

20

20

## 【実施例27】

## 【0319】

軟ゼラチンカプセル処方I

| 項目                     | 成分                    | mg / カプセル |
|------------------------|-----------------------|-----------|
| 1. 実施例1の化合物(2)         | 1 0 . 0 0 1 ~ 0 . 0 2 | 30        |
| 2. プチル化ヒドロキシトルエン(BHT)  | 0 . 0 1 6             |           |
| 3. プチル化ヒドロキシアニソール(BHA) | 0 . 0 1 6             |           |
| 4. ミグリオール812 適量        | 1 6 0 . 0             |           |

## 【0320】

製造手順:

1. BTH及びBHAをミグリオール812に懸濁し、約50℃に加温し溶解するまで攪拌する。
2. 1,3-ジ-0-アセチル-1,25-ジヒドロキシ-16,23Z-ジエン-26,27-ヘキサフルオロ-19-ノル-コレカルシフェロールを、50℃で、ステップ1からの溶液中に溶解する。

3. ステップ2からの溶液を、室温に冷却する。

4. ステップ3からの溶液を、軟ゼラチンカプセルに充填する。

注: 全ての製造ステップは、窒素雰囲気下で実施し、光から防御する。

## 【実施例28】

## 【0321】

軟ゼラチンカプセル処方II

| 項目             | 成分                    | mg / カプセル |
|----------------|-----------------------|-----------|
| 1. 実施例1の化合物(2) | 1 0 . 0 0 1 ~ 0 . 0 2 |           |
| 2. ジ- -トコフェロール | 0 . 0 1 6             |           |

40

50

3. ミグリオール 812 適量 160.0

【0322】

製造手順：

1. ジ - - トコフェロールをミグリオール 812 に懸濁し、約 50 に加温し溶解するまで攪拌する。

2. 1, 3 - ジ - O - アセチル - 1, 25 - ジヒドロキシ - 16, 23Z - ジエン - 26, 27 - ヘキサフルオロ - 19 - ノル - コレカルシフェロールを、50 で、ステップ 1 からの溶液中に溶解する。

3. ステップ 2 からの溶液を、室温に冷却する。

4. ステップ 3 からの溶液を、軟ゼラチンカプセルに充填する。

10

【0323】

参照による取り込み

本出願で引用した文献（参考文献、発行された特許、公開された特許出願及び同時継続中の特許出願を包含する）を参照して、その全文を明確に本明細書に取り込むものである。

【0324】

均等物

本明細書に記載された本発明の具体的な態様の多くの均等物は、当業者には認識されているところであり、通常の実験により確認できるものである。そのような均等物は、以下の特許請求の範囲に含まれるものと意図されている。

20

【図面の簡単な説明】

【0325】

前記実施例（限定するものではない）及び以下の図面により本発明を更に説明するものである。

【図 1】図 1 は、化合物（2）に対する 1 型糖尿病の発生率（%）を示す。

【図 2】図 2 は、化合物（2）の 2 通りの用量に於ける NOD マウスの体重（g）を示す。

【図 3】図 3 は、膀胱細胞にビタミン D 受容体（VDRs）が存在することを示す。

【図 4】図 4 は、カルシトリオール（ビタミン D<sub>3</sub> の活性型）が膀胱細胞の基礎増殖を阻害するのに有効であることを示す。

30

【図 5】図 5 は、インビボモデル（シクロホスファミド（CYP）が誘発する慢性の IC に罹患しているラット）の膀胱機能に於けるビタミン D<sub>3</sub> 類縁体の効果の評価を示す。

【図1】

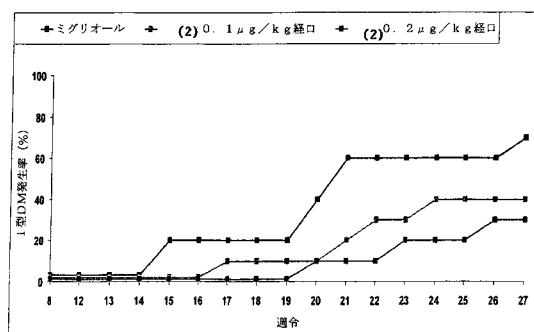


図1

【図2】

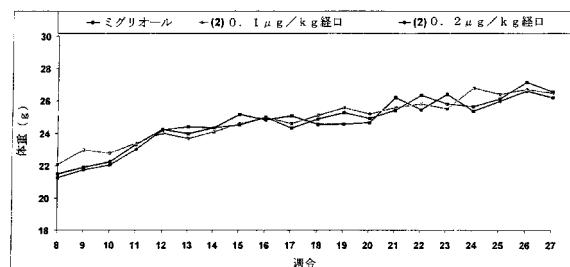


図2

【図3】

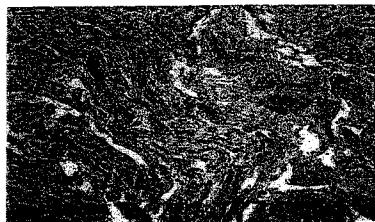


図3

【図4】

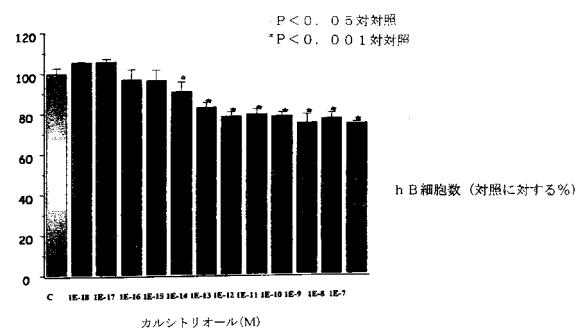


図4

【図5】

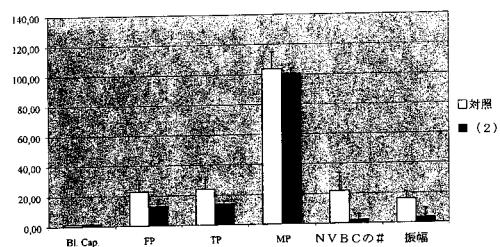


図5

## 【国際調査報告】

| INTERNATIONAL SEARCH REPORT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                | International application No.<br>PCT/US04/31412                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |            |                                                                                    |                       |   |                                                             |       |   |                                                                                                                                                                          |       |   |                                                                                                                                                                                                |       |   |                                                                                                                                             |       |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|---|-------------------------------------------------------------|-------|---|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|---|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|---|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| <b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b><br>IPC(7) : A61K 31/59; C07C 401/00<br>US CL : 514/167; 552/653<br>According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                                                                                                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |            |                                                                                    |                       |   |                                                             |       |   |                                                                                                                                                                          |       |   |                                                                                                                                                                                                |       |   |                                                                                                                                             |       |
| <b>B. FIELDS SEARCHED</b><br>Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)<br>U.S. : 514/167; 552/653                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |            |                                                                                    |                       |   |                                                             |       |   |                                                                                                                                                                          |       |   |                                                                                                                                                                                                |       |   |                                                                                                                                             |       |
| Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                                                                                                                                                                                                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |            |                                                                                    |                       |   |                                                             |       |   |                                                                                                                                                                          |       |   |                                                                                                                                                                                                |       |   |                                                                                                                                             |       |
| Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)<br>USPATFULL, USPREPUB, INTERNET VIA A9.com                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                                                                                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |            |                                                                                    |                       |   |                                                             |       |   |                                                                                                                                                                          |       |   |                                                                                                                                                                                                |       |   |                                                                                                                                             |       |
| <b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: left; padding: 2px;">Category *</th> <th style="text-align: left; padding: 2px;">Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th> <th style="text-align: left; padding: 2px;">Relevant to claim No.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="padding: 2px;">A</td> <td style="padding: 2px;">US 5,665,387 (MATHIEU et al) 09 September 1997 (09.09.1997)</td> <td style="padding: 2px;">1-159</td> </tr> <tr> <td style="padding: 2px;">X</td> <td style="padding: 2px;">WO 02/094247 A2 (ADORINI et al) 10 May 2002 (10.05.2002), see the entire document, especially lines 4-25 on page 3, lines 6-17 on page 4, examples, figures, and claims.</td> <td style="padding: 2px;">1-159</td> </tr> <tr> <td style="padding: 2px;">X</td> <td style="padding: 2px;">US 6,492,353 B1 (MANCHAND et al) 10 December 2002 (10.12.2002), see the entire document, especially Formula I in col. 3, lines 55-62 in col. 14, lines 14-63 in col. 15, examples, and claims.</td> <td style="padding: 2px;">1-159</td> </tr> <tr> <td style="padding: 2px;">A</td> <td style="padding: 2px;">MATHIEU et al. Prevention of autoimmune diabetes in NOD mice by 1,25 dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>. Diabetologia (1994) 37 pages 552-558</td> <td style="padding: 2px;">1-159</td> </tr> </tbody> </table> |                                                                                                                                                                                                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. | A | US 5,665,387 (MATHIEU et al) 09 September 1997 (09.09.1997) | 1-159 | X | WO 02/094247 A2 (ADORINI et al) 10 May 2002 (10.05.2002), see the entire document, especially lines 4-25 on page 3, lines 6-17 on page 4, examples, figures, and claims. | 1-159 | X | US 6,492,353 B1 (MANCHAND et al) 10 December 2002 (10.12.2002), see the entire document, especially Formula I in col. 3, lines 55-62 in col. 14, lines 14-63 in col. 15, examples, and claims. | 1-159 | A | MATHIEU et al. Prevention of autoimmune diabetes in NOD mice by 1,25 dihydroxyvitamin D <sub>3</sub> . Diabetologia (1994) 37 pages 552-558 | 1-159 |
| Category *                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                             | Relevant to claim No.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |            |                                                                                    |                       |   |                                                             |       |   |                                                                                                                                                                          |       |   |                                                                                                                                                                                                |       |   |                                                                                                                                             |       |
| A                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | US 5,665,387 (MATHIEU et al) 09 September 1997 (09.09.1997)                                                                                                                                    | 1-159                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |            |                                                                                    |                       |   |                                                             |       |   |                                                                                                                                                                          |       |   |                                                                                                                                                                                                |       |   |                                                                                                                                             |       |
| X                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | WO 02/094247 A2 (ADORINI et al) 10 May 2002 (10.05.2002), see the entire document, especially lines 4-25 on page 3, lines 6-17 on page 4, examples, figures, and claims.                       | 1-159                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |            |                                                                                    |                       |   |                                                             |       |   |                                                                                                                                                                          |       |   |                                                                                                                                                                                                |       |   |                                                                                                                                             |       |
| X                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | US 6,492,353 B1 (MANCHAND et al) 10 December 2002 (10.12.2002), see the entire document, especially Formula I in col. 3, lines 55-62 in col. 14, lines 14-63 in col. 15, examples, and claims. | 1-159                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |            |                                                                                    |                       |   |                                                             |       |   |                                                                                                                                                                          |       |   |                                                                                                                                                                                                |       |   |                                                                                                                                             |       |
| A                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | MATHIEU et al. Prevention of autoimmune diabetes in NOD mice by 1,25 dihydroxyvitamin D <sub>3</sub> . Diabetologia (1994) 37 pages 552-558                                                    | 1-159                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |            |                                                                                    |                       |   |                                                             |       |   |                                                                                                                                                                          |       |   |                                                                                                                                                                                                |       |   |                                                                                                                                             |       |
| <input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                                                                | <input type="checkbox"/> See patent family annex.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |            |                                                                                    |                       |   |                                                             |       |   |                                                                                                                                                                          |       |   |                                                                                                                                                                                                |       |   |                                                                                                                                             |       |
| * Special categories of cited documents:<br>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance<br>"E" earlier application or patent published on or after the international filing date<br>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)<br>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means<br>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                | "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention<br>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone<br>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art<br>"&" document member of the same patent family |            |                                                                                    |                       |   |                                                             |       |   |                                                                                                                                                                          |       |   |                                                                                                                                                                                                |       |   |                                                                                                                                             |       |
| Date of the actual completion of the international search<br>10 December 2004 (10.12.2004)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                | Date of mailing of the international search report<br><b>18 JAN 2005</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |            |                                                                                    |                       |   |                                                             |       |   |                                                                                                                                                                          |       |   |                                                                                                                                                                                                |       |   |                                                                                                                                             |       |
| Name and mailing address of the ISA/US<br>Mail Stop PCT, Attn: ISA/US<br>Commissioner for Patents<br>P.O. Box 1450<br>Alexandria, Virginia 22313-1450<br>Facsimile No. (703) 305-3230                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                | Authorized officer<br>Sabiha Qazi<br>Telephone No. (703) 308-1235                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |            |                                                                                    |                       |   |                                                             |       |   |                                                                                                                                                                          |       |   |                                                                                                                                                                                                |       |   |                                                                                                                                             |       |

## フロントページの続き

| (51)Int.Cl.                    | F I           | テーマコード(参考) |
|--------------------------------|---------------|------------|
| <b>A 6 1 P 3/04 (2006.01)</b>  | A 6 1 P 3/04  |            |
| <b>A 6 1 P 17/00 (2006.01)</b> | A 6 1 P 17/00 |            |
| <b>A 6 1 P 27/02 (2006.01)</b> | A 6 1 P 27/02 |            |
| <b>A 6 1 P 29/00 (2006.01)</b> | A 6 1 P 29/00 | 1 0 1      |
| <b>A 6 1 P 17/02 (2006.01)</b> | A 6 1 P 17/02 |            |
| <b>A 6 1 P 21/04 (2006.01)</b> | A 6 1 P 21/04 |            |
| <b>A 6 1 P 9/00 (2006.01)</b>  | A 6 1 P 9/00  |            |
| <b>A 6 1 P 7/06 (2006.01)</b>  | A 6 1 P 7/06  |            |
| <b>A 6 1 P 13/12 (2006.01)</b> | A 6 1 P 13/12 |            |
| <b>A 6 1 P 37/06 (2006.01)</b> | A 6 1 P 37/06 |            |
| <b>A 6 1 P 17/06 (2006.01)</b> | A 6 1 P 17/06 |            |
| <b>A 6 1 P 5/02 (2006.01)</b>  | A 6 1 P 5/02  |            |
| <b>A 6 1 P 19/08 (2006.01)</b> | A 6 1 P 19/08 |            |
| <b>A 6 1 P 19/10 (2006.01)</b> | A 6 1 P 19/10 |            |
| <b>A 6 1 P 1/16 (2006.01)</b>  | A 6 1 P 1/16  |            |
| <b>A 6 1 P 9/12 (2006.01)</b>  | A 6 1 P 9/12  |            |
| <b>A 6 1 P 13/08 (2006.01)</b> | A 6 1 P 13/08 |            |
| <b>A 6 1 P 35/00 (2006.01)</b> | A 6 1 P 35/00 |            |
| <b>A 6 1 P 35/02 (2006.01)</b> | A 6 1 P 35/02 |            |
| <b>A 6 1 P 25/16 (2006.01)</b> | A 6 1 P 25/16 |            |
| <b>A 6 1 P 25/14 (2006.01)</b> | A 6 1 P 25/14 |            |
| <b>A 6 1 P 25/00 (2006.01)</b> | A 6 1 P 25/00 |            |
| <b>A 6 1 P 9/10 (2006.01)</b>  | A 6 1 P 9/10  | 1 0 1      |
| <b>A 6 1 P 43/00 (2006.01)</b> | A 6 1 P 43/00 | 1 1 1      |

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LS,MW,MZ,NA,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HU,IE,IT,LU,MC,NL,PL,PT,RO,SE,SI,SK,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,M,A,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NA,NI,NO,NZ,OM,PG,PH,PL,PT,RO,RU,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SY,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,YU,ZA,ZM,ZW

(72)発明者 ジョゼッペ ペンナ

イタリア国 ミラノ イ-20095 クザーノ 23 ヴィーア・チェルヴィーノ

(72)発明者 エンリコ コッリ

イタリア国 ミラノ イ-20043 アルコレ 9 ピアツツア・ペルティーニ

(72)発明者 ヒューバート メイヤー

アメリカ合衆国 ニュージャージー州 07476 ウエイン バルサム・ロード 30

F ターム(参考) 4C086 AA01 AA02 DA16 MA01 MA04 NA14 ZA02 ZA42 ZA45 ZA59

ZA68 ZA75 ZA81 ZA89 ZA96 ZA97 ZB08 ZB26 ZB27 ZC06

ZC23 ZC35 ZC42

4H006 AA01 AB27 UA14 UA41 UA42