

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5931845号
(P5931845)

(45) 発行日 平成28年6月8日(2016.6.8)

(24) 登録日 平成28年5月13日(2016.5.13)

(51) Int.Cl.

F 1

C07C 401/00	(2006.01)	C 07 C 401/00
A61K 31/59	(2006.01)	A 61 K 31/59
A61P 7/06	(2006.01)	A 61 P 7/06
A61P 35/02	(2006.01)	A 61 P 35/02
A61P 35/00	(2006.01)	A 61 P 35/00

C S P

請求項の数 8 (全 59 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2013-501403 (P2013-501403)
 (86) (22) 出願日 平成23年3月22日 (2011.3.22)
 (65) 公表番号 特表2013-522370 (P2013-522370A)
 (43) 公表日 平成25年6月13日 (2013.6.13)
 (86) 國際出願番号 PCT/US2011/029452
 (87) 國際公開番号 WO2011/119622
 (87) 國際公開日 平成23年9月29日 (2011.9.29)
 審査請求日 平成26年3月18日 (2014.3.18)
 (31) 優先権主張番号 61/316,653
 (32) 優先日 平成22年3月23日 (2010.3.23)
 (33) 優先権主張国 米国(US)

前置審査

(73) 特許権者 500517248
 ウイスコンシン アラムニ リサーチ フ
 ァンデーション
 アメリカ合衆国 ウィスコンシン州 53
 707-7365 マディソン ピーオー
 ボックス 7365
 (74) 代理人 100102978
 弁理士 清水 初志
 (74) 代理人 100102118
 弁理士 春名 雅夫
 (74) 代理人 100160923
 弁理士 山口 裕孝
 (74) 代理人 100119507
 弁理士 刑部 俊

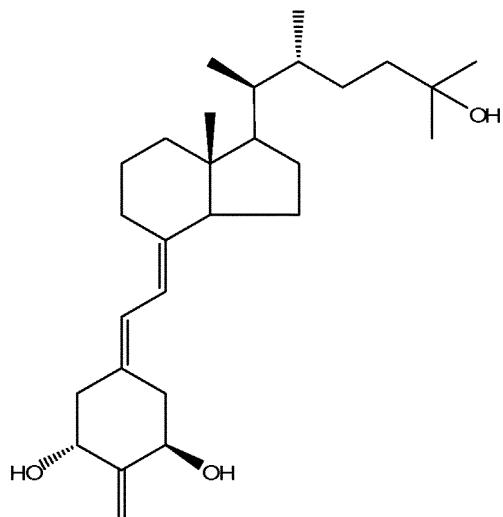
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 2-メチレン-19-ノル-22-メチル-1 α , 25-ジヒドロキシビタミンD3のジアステレオマー

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 IIA を有する化合物：



10

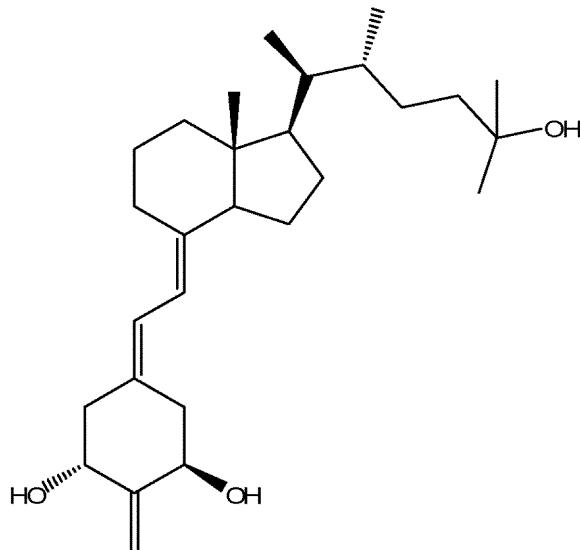
IIA

20

。

【請求項 2】

式 IIE を有する、請求項 1 記載の化合物：



10

IIE

20

。

【請求項 3】

請求項 1 または 2 に記載の化合物の有効量と、薬学的に許容される担体とを含む、医薬組成物。

【請求項 4】

前記有効量が、組成物 1 グラムあたり 0 . 0 1 μg ~ 1 mg の前記化合物である、請求項 3 記載の医薬組成物。

【請求項 5】

前記有効量が、組成物 1 グラムあたり 0 . 1 μg ~ 5 0 0 μg の前記化合物である、請求項 3 記載の医薬組成物。

30

【請求項 6】

請求項 1 または 2 に記載の化合物の有効量を含む、生物学的状態を患う対象を治療するための医薬組成物であって、該生物学的状態が、乾癬；白血病；結腸がん；乳がん；前立腺がん；多発性硬化症；ループス；真性糖尿病；宿主対移植片反応；臓器移植片拒絶反応；関節リウマチ、喘息、もしくは炎症性腸疾患から選択される炎症性疾患；しわ、適切な皮膚の引き締まりの欠如、適切な皮膚水分量の欠如、もしくは不十分な皮脂分泌から選択される皮膚の状態；腎性骨ジストロフィー；または骨粗鬆症から選択される、医薬組成物。

【請求項 7】

前記化合物が対象に経口投与、非経口投与、経皮投与、または局所投与されるように用いられる、請求項 6 記載の医薬組成物。

40

【請求項 8】

前記化合物が、1日につき 0 . 0 1 μg ~ 1 日につき 1 mg の投与量で投与されるように用いられる、請求項 6 記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

関連出願の相互参照

本願は、2010年3月23日出願の米国仮出願第61/316,653号を対象とした優先権を主張し、その開示全体は、あたかも本明細書に完全に記載されているかのよう

50

に、参照によりあらゆる目的のためにその全体が本明細書に組み込まれる。

【0002】

米国政府の権利に関する記述

本発明は、国立衛生研究所によって付与されたG M 0 5 5 5 1 3 の下で米国政府の支援を受けてなされた。政府は、本発明に関して特定の権利を有する。

【0003】

分野

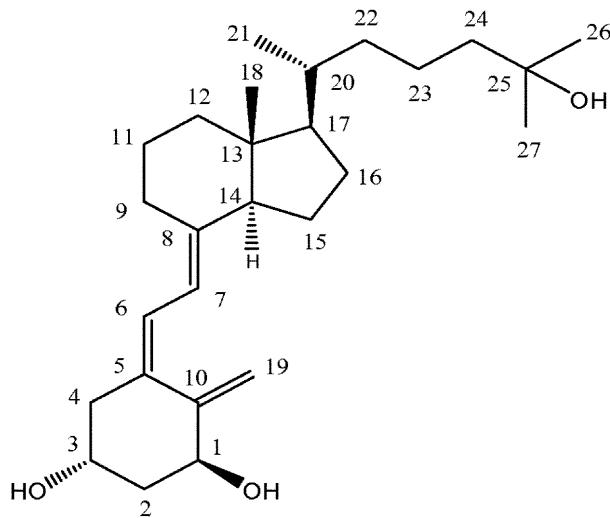
本技術は、ビタミンD化合物に関し、より具体的には、2 - メチレン - 19 - ノル - 22 - メチル - 1₁, 25 - ジヒドロキシビタミンD₃ のジアステレオマーおよびその誘導体、ならびにこの化合物を含む薬学的製剤に関する。本技術はまた、種々の疾患の治療における、および種々の疾患の治療に使用するための薬剤の調製における、これらの化合物の使用に関する。

【背景技術】

【0004】

背景

天然ホルモンである1₁, 25 - ジヒドロキシビタミンD₃ (1₁, 25 - ジヒドロキシコレカルシフェロールおよびカルシトリオールとも称される) ならびにエルゴステロール系のその類似体、すなわち、1₁, 25 - ジヒドロキシビタミンD₂ は、動物およびヒトにおけるカルシウムの恒常性の極めて強力な調節因子であることが知られており、細胞分化におけるそれらの活性もまた証明されている (O st r e m et al . , Proc . Natl . Acad . Sci . U S A , 84 , 2610 (1987) (非特許文献1))。1₁ - ヒドロキシビタミンD₃、1₁ - ヒドロキシビタミンD₂、種々の側鎖同族体化ビタミン、およびフッ素化類似体を含む、これらの代謝物の多くの構造類似体が調製され、試験されている。これらの化合物のうちのいくつかは、細胞分化およびカルシウム調節における活性の興味深い乖離を示す。この活性における差は、腎性骨ジストロフィー、ビタミンD抵抗性くる病、骨粗鬆症、乾癬、およびある特定の悪性腫瘍等、種々の疾患の治療において有用であり得る。1₁, 25 - ジヒドロキシビタミンD₃ の構造およびこの化合物中の炭素原子を示すために使用される番号方式を以下に示す。



1₁, 25 - ジヒドロキシビタミンD₃ = 1₁, 25 - ジヒドロキシコレカルシフェロール = カルシトリオール

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0005】

【非特許文献1】 O st r e m et al . , Proc . Natl . Acad . Sci . U S A , 84 , 2610 (1987)

【発明の概要】

10

20

30

40

50

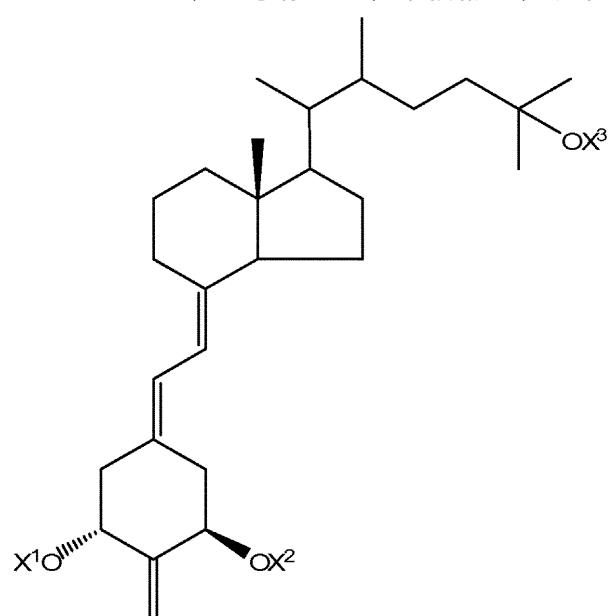
【0006】

概要

本技術は、(20S, 22R)-2-メチレン-19-ノル-22-メチル-1, 25-ジヒドロキシビタミンD₃、(20S, 22S)-2-メチレン-19-ノル-22-メチル-1, 25-ジヒドロキシビタミンD₃、(20R, 22R)-2-メチレン-19-ノル-22-メチル-1, 25-ジヒドロキシビタミンD₃、(20R, 22S)-2-メチレン-19-ノル-22-メチル-1, 25-ジヒドロキシビタミンD₃を例えれば含む2-メチレン-19-ノル-22-メチル-1, 25-ジヒドロキシビタミンD₃のジアステレオマー、および関連化合物、2-メチレン-19-ノル-22-メチル-1, 25-ジヒドロキシビタミンD₃のジアステレオマーを含む薬学的製剤、これらの化合物を使用して種々の病的状態を治療する方法、ならびに種々の病的状態を治療するための薬剤の調製におけるこれらの化合物の使用を提供する。

【0007】

したがって、一態様では、本技術は、以下に示す式Iを有する化合物を提供し、



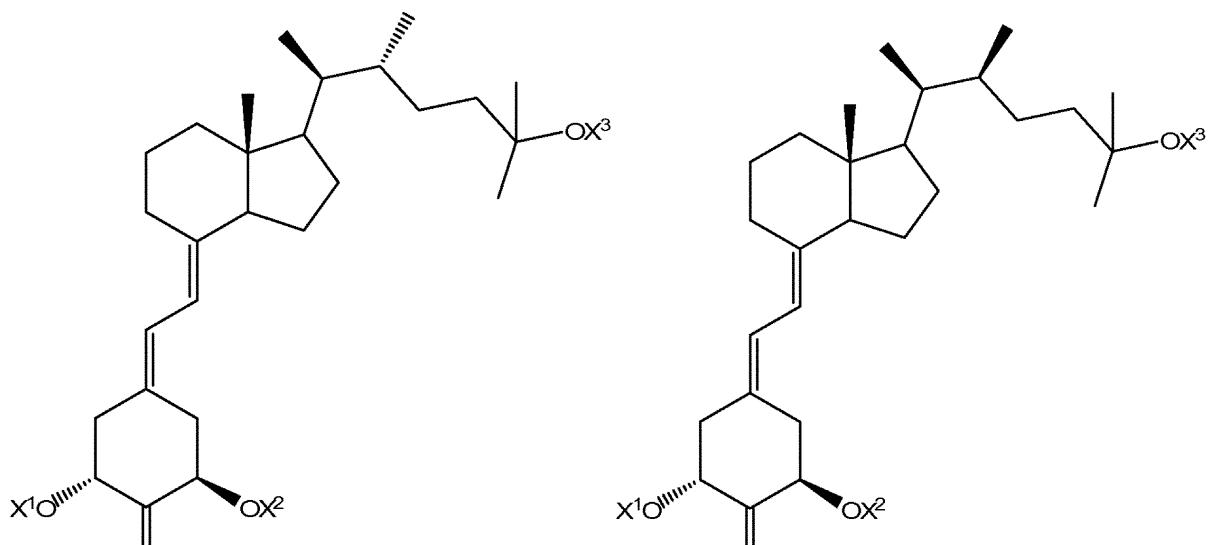
I

式中、X¹、X²、およびX³は、同一であっても、または異なっていてもよく、独立してHまたはヒドロキシ保護基から選択される。いくつかの実施形態では、式IAの化合物中に示されるように、20位の炭素は、S配置を有し、22位の炭素は、R配置を有する。他の実施形態では、化合物IB中に示されるように、20位の炭素は、S配置を有し、22位の炭素は、S配置を有する。他の実施形態では、化合物IC中に示されるように、20位の炭素は、R配置を有し、22位の炭素は、S配置を有する。他の実施形態では、化合物ID中に示されるように、20位の炭素は、R配置を有し、22位の炭素は、R配置を有する。

10

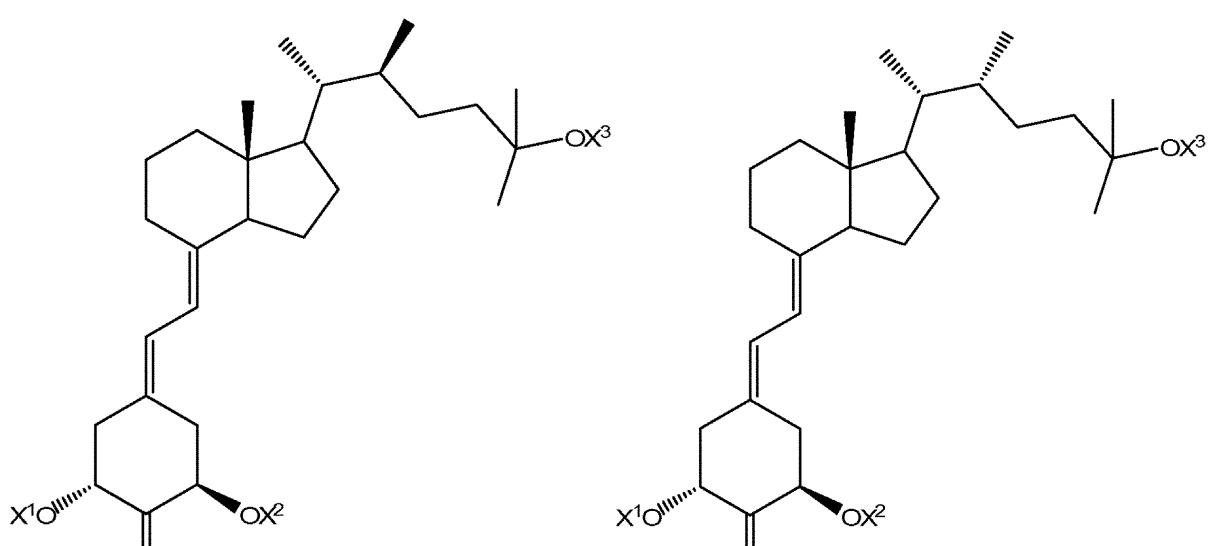
20

30



IA

IB



IC

ID

【 0 0 0 8 】

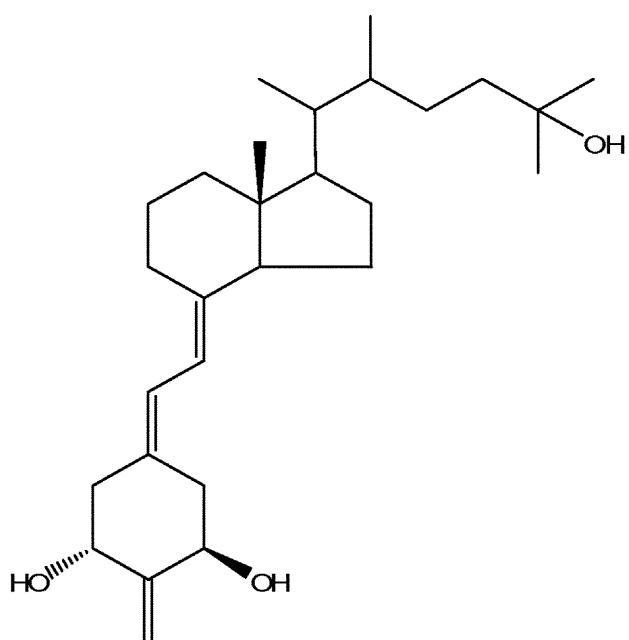
いくつかの実施形態では、 X^1 、 X^2 、および X^3 は、シリル基等のヒドロキシ保護基である。いくつかのそのような実施形態では、 X^1 および X^2 は、両方ともt-ブチルジメチルシリル基であり、 X^3 は、トリエチルシリル基である。他の実施形態では、 X^1 、 X^2 、および X^3 は、化合物が式IIを有するように、Hである。

10

20

30

40

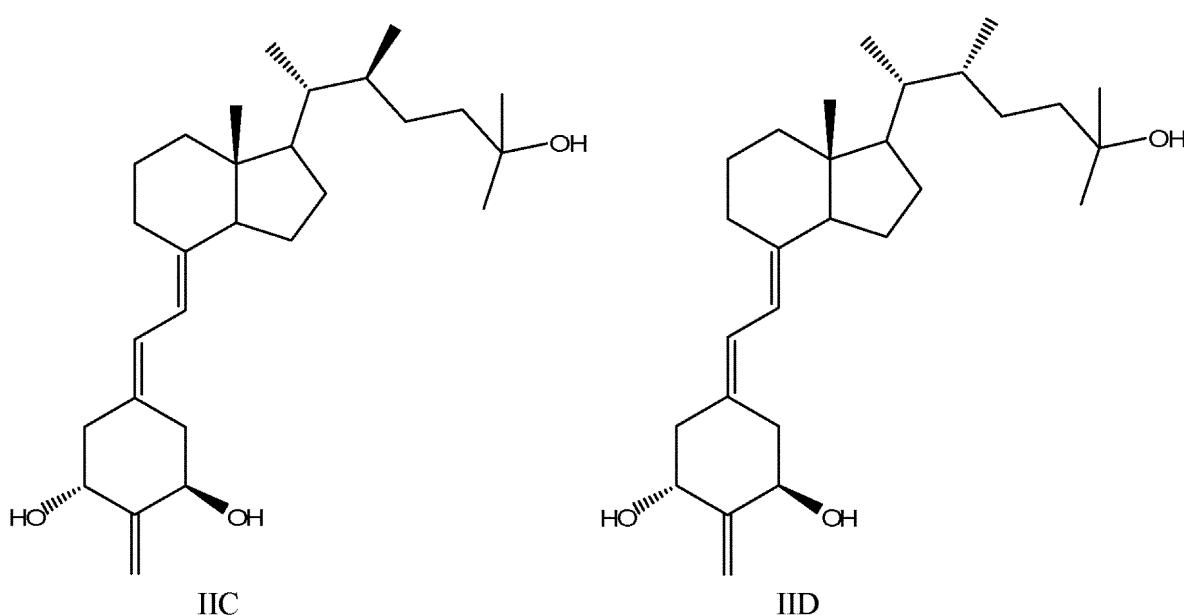
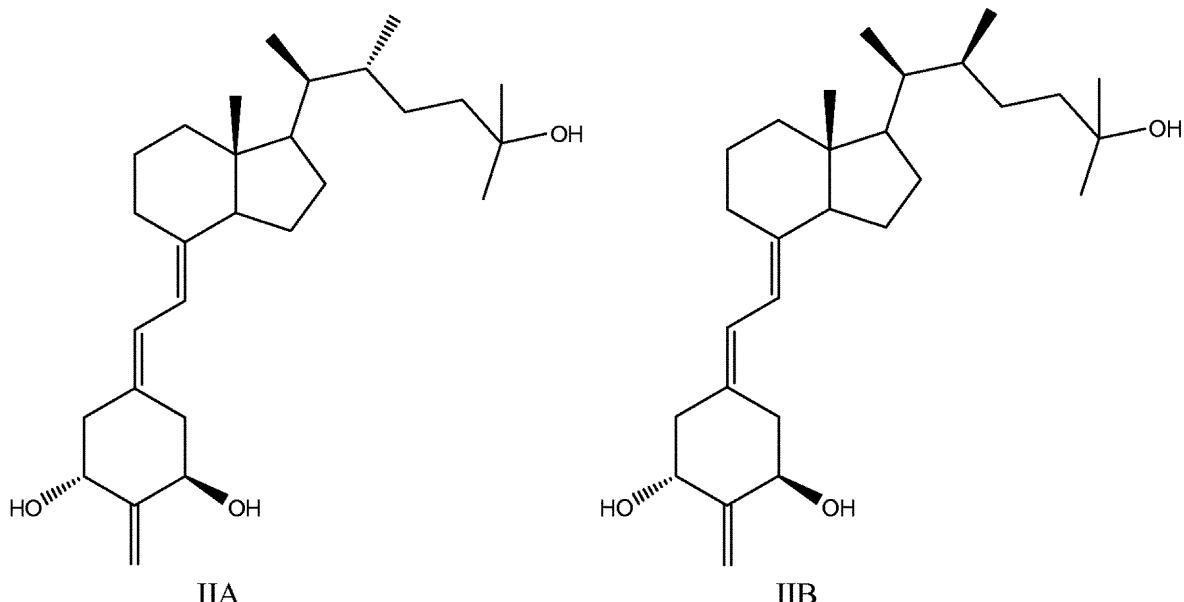


II

【 0 0 0 9 】

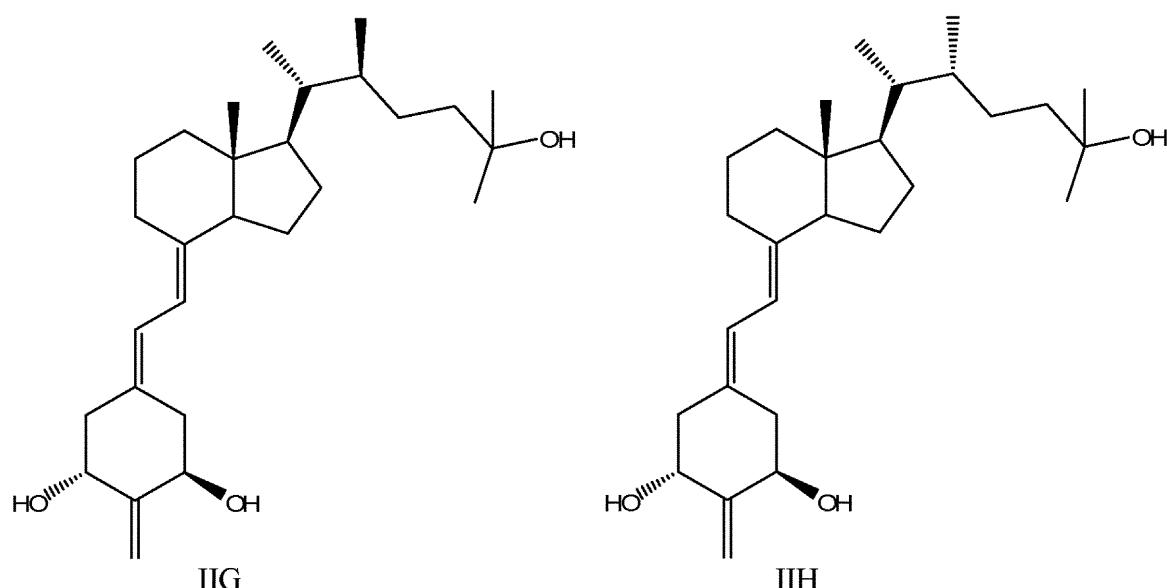
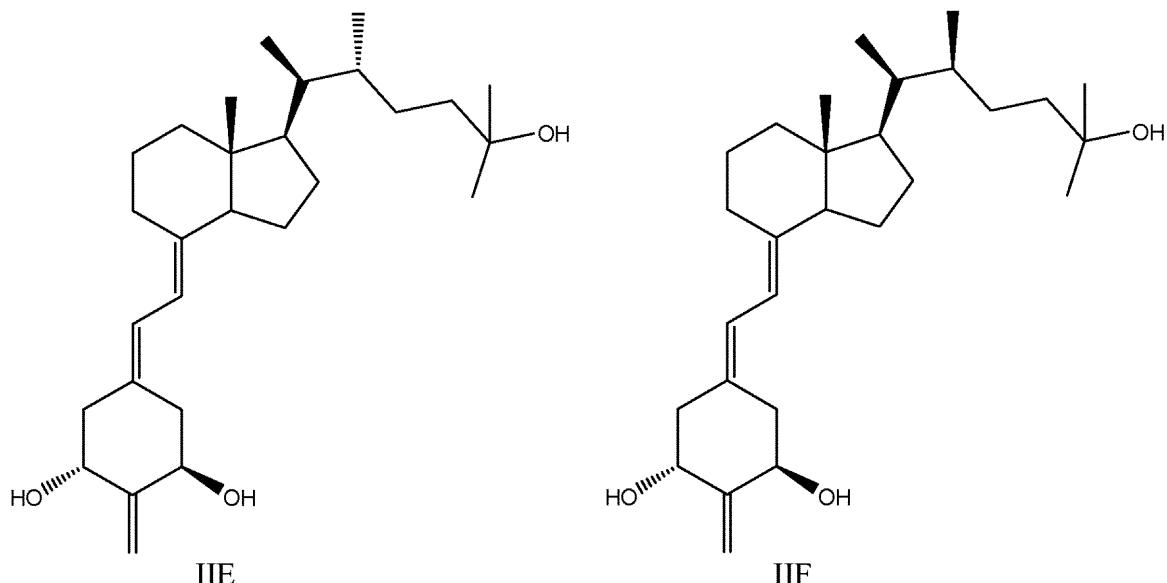
20

いくつかの実施形態では、化合物は、(20S, 22R)-2-メチレン-19-ノル-22-メチル-1, 25-ジヒドロキシビタミンD₃であり、以下に示すような式I IAを有するか、(20S, 22S)-2-メチレン-19-ノル-22-メチル-1, 25-ジヒドロキシビタミンD₃であり、以下に示すような式I IBを有するか、(20R, 22S)-2-メチレン-19-ノル-22-メチル-1, 25-ジヒドロキシビタミンD₃であり、以下に示すような式I ICを有するか、または(20R, 22R)-2-メチレン-19-ノル-22-メチル-1, 25-ジヒドロキシビタミンD₃であり、以下に示すような式I IDを有する。



【0010】

いくつかのそのような実施形態では、式 IIA の化合物は、式 IIE の化合物である (AGS-1 としても知られる)。他の実施形態では、式 IIB の化合物は、式 II F の化合物である (AGS-2 としても知られる)。他の実施形態では、式 IIC の化合物は、式 IIG の化合物である (SAG-1 としても知られる)。他の実施形態では、式 IID の化合物は、式 IIH の化合物である (SAG-2 としても知られる)。式 IIE、II F、IIG、および IIH の構造を以下に示す。



【 0 0 1 1 】

本技術の化合物は、ビタミンD受容体に対する強い結合および24-ヒドロキシラーゼ活性の誘導を含む、非常に有利な生物活性パターンを示す。したがって、本化合物は、ある特定の生物学的状態を患う対象を治療する方法で使用され得る。この方法は、本技術の有効量の化合物を対象に投与することを含み、生物学的状態は、乾癬；白血病；結腸がん；乳がん；前立腺がん；多発性硬化症；ループス；真性糖尿病；宿主対移植片反応；臓器移植片拒絶反応；関節リウマチ、喘息、もしくは炎症性腸疾患から選択される炎症性疾患；しわ、適切な皮膚の引き締まりの欠如、適切な皮膚水分量の欠如、もしくは不十分な皮脂分泌から選択される皮膚の状態；腎性骨ジストロフィー；または骨粗鬆症から選択される。

【 0 0 1 2 】

本技術の化合物は、上記の疾病および疾患を治療するための組成物であって、薬学的に許容される担体を任意で含む該組成物中に、有効量で存在し得る。いくつかの実施形態では、化合物の量は、組成物1グラムあたり約0.01 μg ～組成物1グラムあたり約1mgであり、好ましくは、組成物1グラムあたり約0.1 μg ～組成物1グラムあたり約500 μg であり、それらは、1日につき約0.01 μg ～1日につき約1mg、好ましくは、1日につき約0.1 μg ～1日につき約500 μg の投与量で、局所投与、経皮投与、経口投与、または非経口投与され得る。

10

20

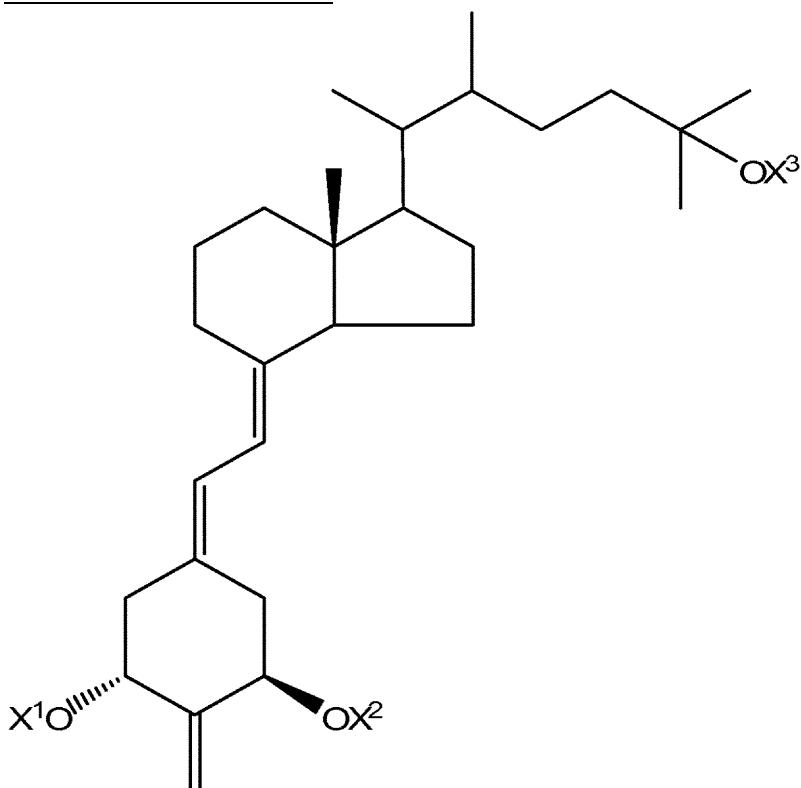
30

40

50

【0013】

[本発明1001]

式Iを有する化合物：式中、 X^1 、 X^2 、および X^3 は、独立してHおよびヒドロキシ保護基から選択される。

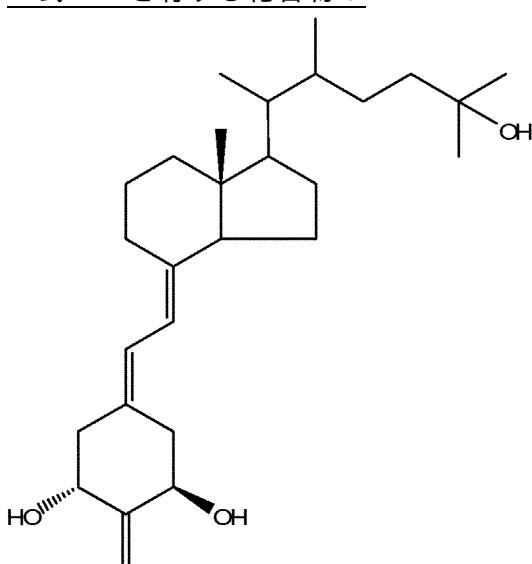
[本発明1002]

 X^1 、 X^2 、および X^3 が、ヒドロキシ保護基である、本発明1001の化合物。

[本発明1003]

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

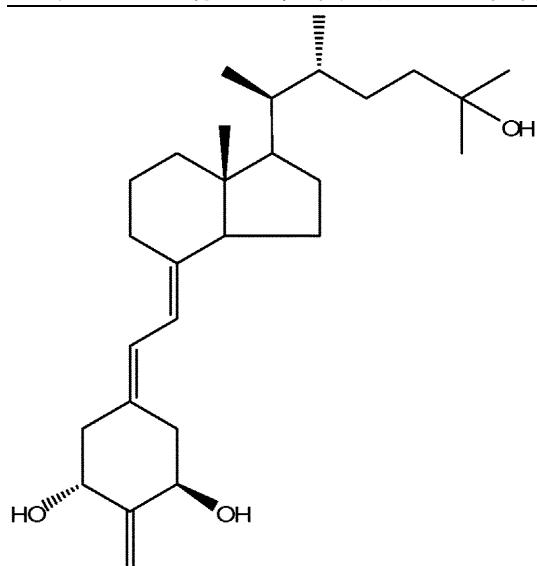
[本発明1004]

式IIを有する化合物：

II

。

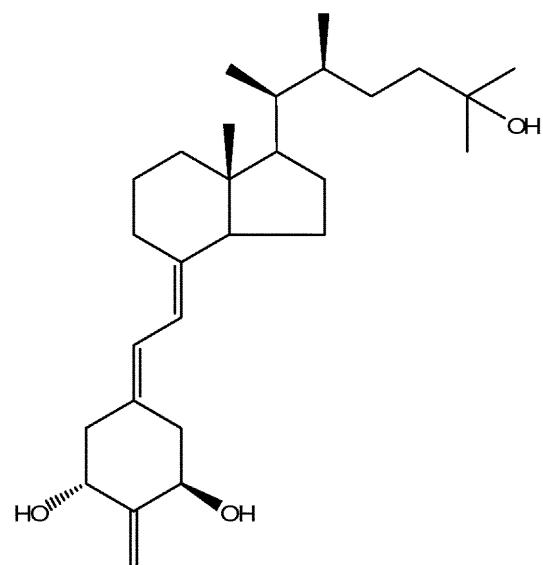
50

[本発明1005]式IIAを有する、本発明1004の化合物：

10

IIA

。

[本発明1006]式IIBを有する、本発明1004の化合物：

20

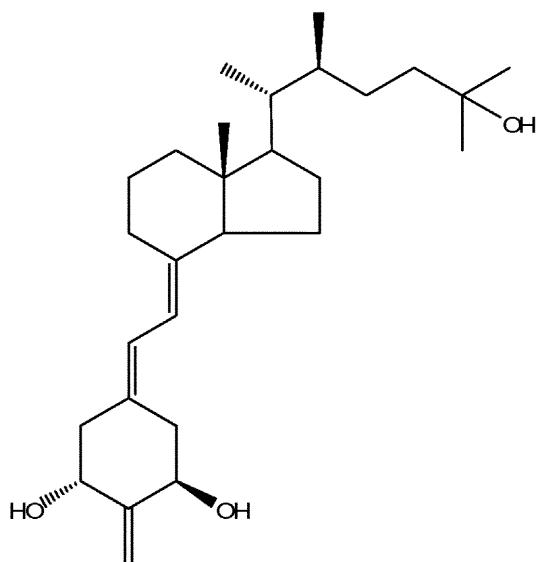
IIB

。

[本発明1007]式IICを有する、本発明1004の化合物：

30

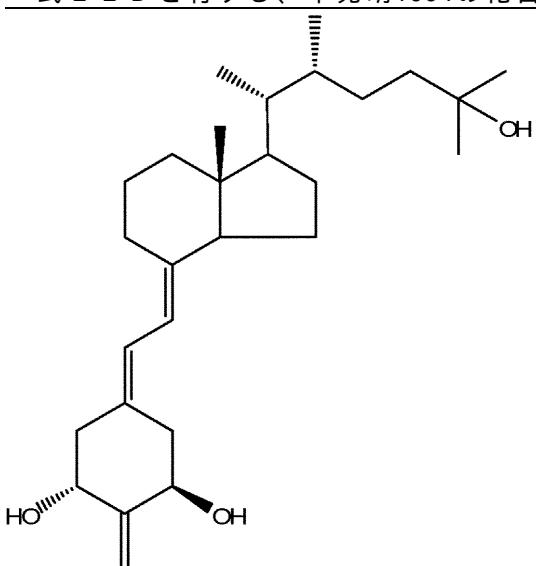
40



IIC

◦
[本発明1008]

式IIDを有する、本発明1004の化合物：



IID

◦
[本発明1009]

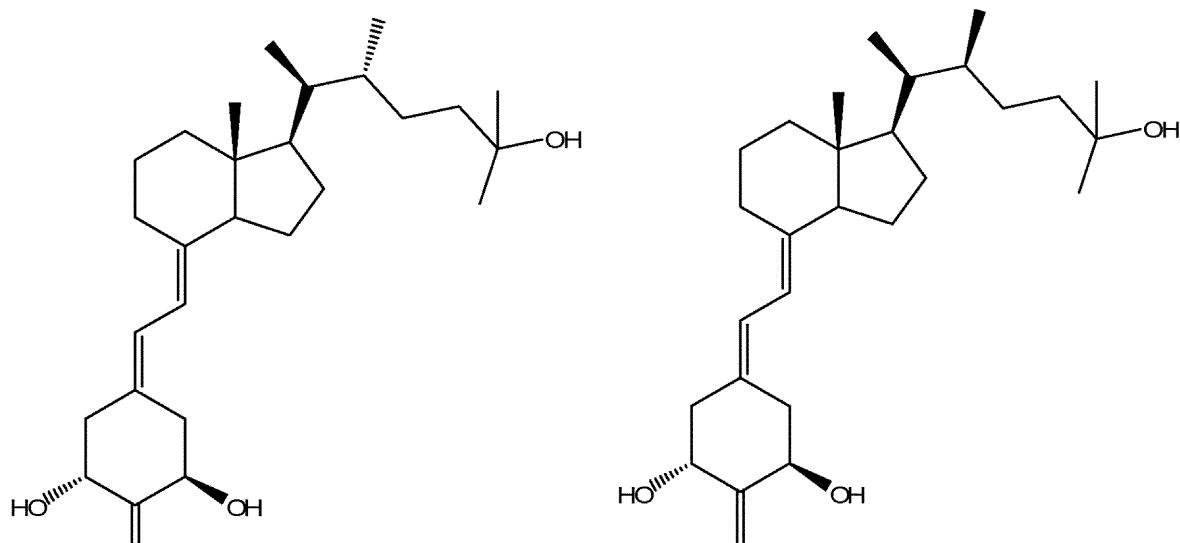
式IIIE、IIIF、IIG、またはIIIHを有する、本発明1004の化合物：

10

20

30

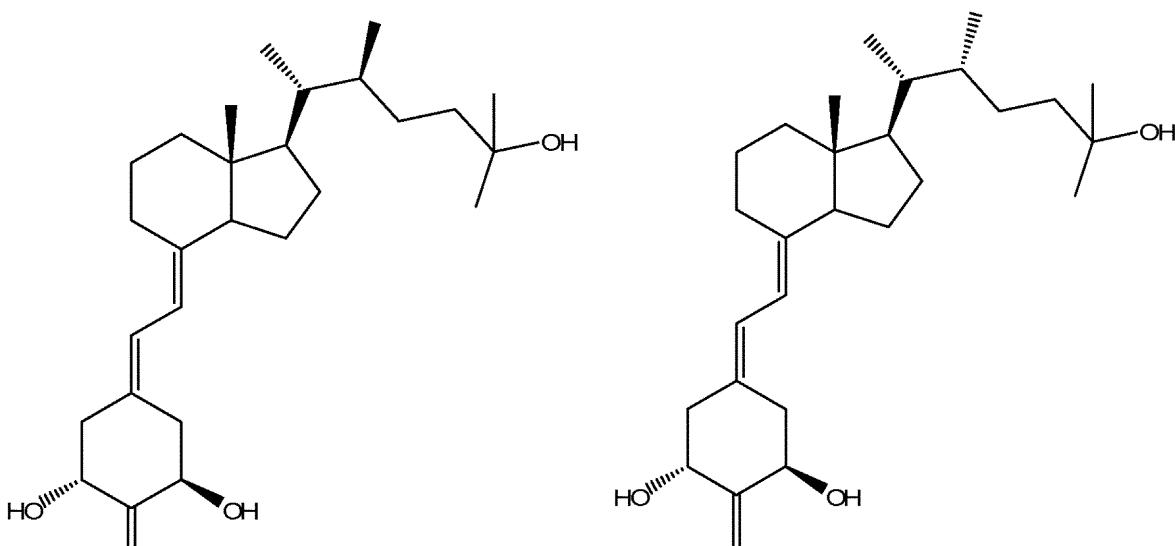
40



IIIE

IIIF

10



IIIG

IIID

20

30

。
[本発明1010]

本発明1004～1009のいずれかの化合物の有効量と、薬学的に許容される担体とを含む、医薬組成物。

[本発明1011]

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

[本発明1012]

前記有効量が、組成物1グラムあたり約0.1μg～約500μgの化合物を含む、本発明1010の医薬組成物。

[本発明1013]

本発明1004～1009のいずれかの化合物の有効量を対象に投与することを含む、生物学的状態を患う対象を治療する方法であって、該生物学的状態が、乾癬；白血病；結腸がん；乳がん；前立腺がん；多発性硬化症；ループス；真性糖尿病；宿主対移植片反応；臓器移植片拒絶反応；関節リウマチ、喘息、もしくは炎症性腸疾患から選択される炎症性疾患；しわ、適切な皮膚の引き締まりの欠如、適切な皮膚水分量の欠如、もしくは不十分な皮脂

40

50

分泌から選択される皮膚の状態；腎性骨ジストロフィー；または骨粗鬆症から選択される、前記方法。

[本発明1014]

前記生物学的状態が乾癬である、本発明1013の方法。

[本発明1015]

前記生物学的状態が、白血病、結腸がん、乳がん、または前立腺がんから選択される、本発明1013の方法。

[本発明1016]

前記生物学的状態が、多発性硬化症、ループス、真性糖尿病、宿主対移植片反応、または臓器移植片拒絶反応から選択される、本発明1013の方法。

10

[本発明1017]

前記生物学的状態が、関節リウマチ；喘息；またはセリック病、潰瘍性大腸炎、およびクローン病から選択される炎症性腸疾患から選択される、本発明1013の方法。

[本発明1018]

前記生物学的状態が、しわ、適切な皮膚の引き締まりの欠如、適切な皮膚水分量の欠如、または不十分な皮脂分泌から選択される、本発明1013の方法。

[本発明1019]

前記化合物が対象に経口投与、非経口投与、経皮投与、または局所投与される、本発明1013の方法。

[本発明1020]

前記化合物が、1日につき $0.01\mu g$ ~ 1日につき $1mg$ の投与量で投与される、本発明1013の方法。

20

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

【図面の簡単な説明】

【0014】

図1~4は、天然ホルモンである $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ （図中では「 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 」と称される）の生物活性と比較した、(20S, 22R)-2-メチレン-19-ノル-22-メチル- $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ （図中では「AGS-1」と称される）の種々の生物活性を示す。図5~8は、天然ホルモンの生物活性と比較した、(20S, 22S)-2-メチレン-19-ノル-22-メチル- $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ （図中では「AGS-2」と称される）の種々の生物活性を示す。図9~12は、天然ホルモンの生物活性と比較した、(20R, 22S)-2-メチレン-19-ノル-22-メチル- $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ （図中では「SAG-1」と称される）の種々の生物活性を示す。図13~16は、天然ホルモンの生物活性と比較した、(20R, 22R)-2-メチレン-19-ノル-22-メチル- $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ （図中では「SAG-2」と称される）の種々の生物活性を示す。

30

【図1】AGS-1と天然ホルモン $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ との間での核内ビタミンDホルモン受容体に対する競合的結合のグラフを示す。AGS-1は、 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ と同一の親和性で、核内ビタミンD受容体に結合する。

40

【図2】AGS-1の濃度の関数としてのHL-60細胞分化比率を $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ のものと比較したグラフである。AGS-1は、HL-60細胞の単球への分化の誘導において天然ホルモンの300倍強力である。

【図3】AGS-1のインビトロ転写活性を $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ のインビトロ転写活性と比較したグラフである。骨細胞において、AGS-1は、24-ヒドロキシラーゼ遺伝子の転写の増加において $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ よりも40倍近く強力である。

【図4A】ラットにおけるAGS-1の骨カルシウム動員活性を $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の骨カルシウム動員活性と比較した棒グラフである。AGS-1は、骨カルシウム貯蔵の放出において天然ホルモンよりも有効であり、かつ約10~50倍強力である。

【図4B】ラットにおけるAGS-1の骨カルシウム動員活性を $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$

50

の骨カルシウム動員活性と比較した棒グラフである。AGS-1は、骨カルシウム貯蔵の放出において天然ホルモンよりも有効であり、かつ約10～50倍強力である。

【図4C】AGS-1の腸カルシウム輸送活性を $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の腸カルシウム輸送活性と比較した棒グラフである。AGS-1は、腸カルシウム輸送の促進において天然ホルモンよりも高い効力を示す。

【図5】AGS-2と天然ホルモン $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ との間での核内ビタミンDホルモン受容体に対する競合的結合のグラフを示す。AGS-2は、 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ よりも低い親和性で、核内ビタミンD受容体に結合する。

【図6】AGS-2の濃度の関数としてのHL-60細胞分化比率を $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ のものと比較したグラフである。AGS-2は、HL-60細胞の単球への分化の誘導において天然ホルモンに比べ効力が約1/10と低い。
10

【図7】ラット骨肉腫細胞におけるAGS-2のインビトロ転写活性を $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ のインビトロ転写活性と比較したグラフである。AGS-2は、24-ヒドロキシラーゼ遺伝子の転写の増加において $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ に比べ効力が約1/10と低い。

【図8】図8Aは、ラットにおけるAGS-2の骨カルシウム動員活性を $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の骨カルシウム動員活性と比較した棒グラフである。AGS-2は、骨カルシウム貯蔵の放出において天然ホルモンに比べ効力が約1/50と低い。図8Bは、AGS-1の腸カルシウム輸送活性を $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の腸カルシウム輸送活性と比較した棒グラフである。腸におけるAGS-2のカルシウム血活性(calcemic activity)は、天然ホルモンと同様であるか、またはより大きい。
20

【図9】SAG-1と天然ホルモン $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ との間での核内ビタミンDホルモン受容体に対する競合的結合のグラフを示す。SAG-1は、 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ と同様であるか、またはわずかに低い親和性で、核内ビタミンD受容体に結合する。

【図10】SAG-1の濃度の関数としてのHL-60細胞分化比率を $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ のものと比較したグラフである。SAG-1は、HL-60細胞の単球への分化の誘導において天然ホルモンよりも3倍以上強力である。

【図11】SAG-1のインビトロ転写活性を $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ のインビトロ転写活性と比較したグラフである。骨細胞において、SAG-1は、24-ヒドロキシラーゼ遺伝子の転写の増加において $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ とほぼ同等の効力を有する。
30

【図12A】ラットにおけるSAG-1の骨カルシウム動員活性を $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の骨カルシウム動員活性と比較した棒グラフである。SAG-1は、骨カルシウム貯蔵の放出において天然ホルモンよりも効力が低い。

【図12B】ラットにおけるSAG-1の骨カルシウム動員活性を $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の骨カルシウム動員活性と比較した棒グラフである。SAG-1は、骨カルシウム貯蔵の放出において天然ホルモンよりも効力が低い。

【図12C】SAG-1の腸カルシウム輸送活性を $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の腸カルシウム輸送活性と比較した棒グラフである。SAG-1は、腸上皮にわたるカルシウム輸送において天然ホルモンと同様の効力を示す。

【図12D】SAG-1の腸カルシウム輸送活性を $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の腸カルシウム輸送活性と比較した棒グラフである。SAG-1は、腸上皮にわたるカルシウム輸送において天然ホルモンと同様の効力を示す。
40

【図13】SAG-2と天然ホルモン $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ との間での核内ビタミンDホルモン受容体に対する競合的結合のグラフを示す。SAG-2は、 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ に比べ約1/4と低い親和性で、核内ビタミンD受容体に結合する。

【図14】SAG-2の濃度の関数としてのHL-60細胞分化比率を $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ のものと比較したグラフである。SAG-2は、HL-60細胞の単球への分化の誘導において天然ホルモンと比べ効力が約1/3と低い。

【図15】ラット骨肉腫細胞におけるSAG-2のインビトロ転写活性を $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ のインビトロ転写活性と比較したグラフである。SAG-2は、24-ヒドロキ
50

シラーゼ遺伝子の転写の増加において $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ と比べ効力が約1/20と低い。

【図16A】ラットにおけるSAG-2の骨カルシウム動員活性を $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の骨カルシウム動員活性と比較した棒グラフである。SAG-2は、骨貯蔵からのカルシウムの動員においてほとんどまたは全く活性を示さない。

【図16B】ラットにおけるSAG-2の骨カルシウム動員活性を $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の骨カルシウム動員活性と比較した棒グラフである。SAG-2は、骨貯蔵からのカルシウムの動員においてほとんどまたは全く活性を示さない。

【図16C】SAG-2の腸カルシウム輸送活性を $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の腸カルシウム輸送活性と比較した棒グラフである。SAG-2は、腸上皮にわたるカルシウム輸送において天然ホルモンよりも低い効力を示す。
10

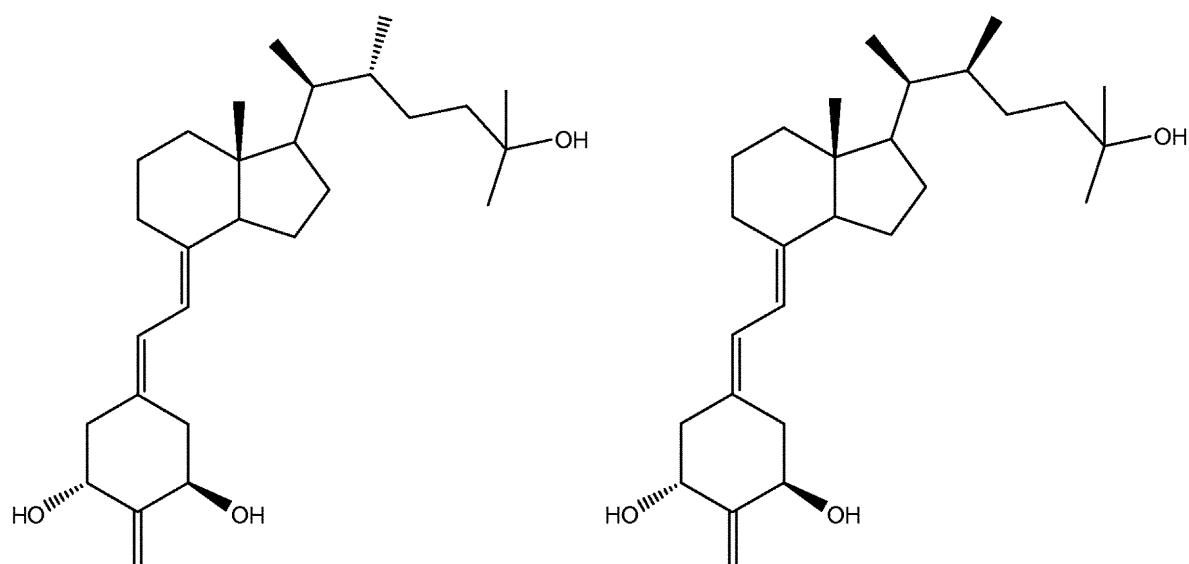
【図16D】SAG-2の腸カルシウム輸送活性を $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の腸カルシウム輸送活性と比較した棒グラフである。SAG-2は、腸上皮にわたるカルシウム輸送において天然ホルモンよりも低い効力を示す。

【発明を実施するための形態】

【0015】

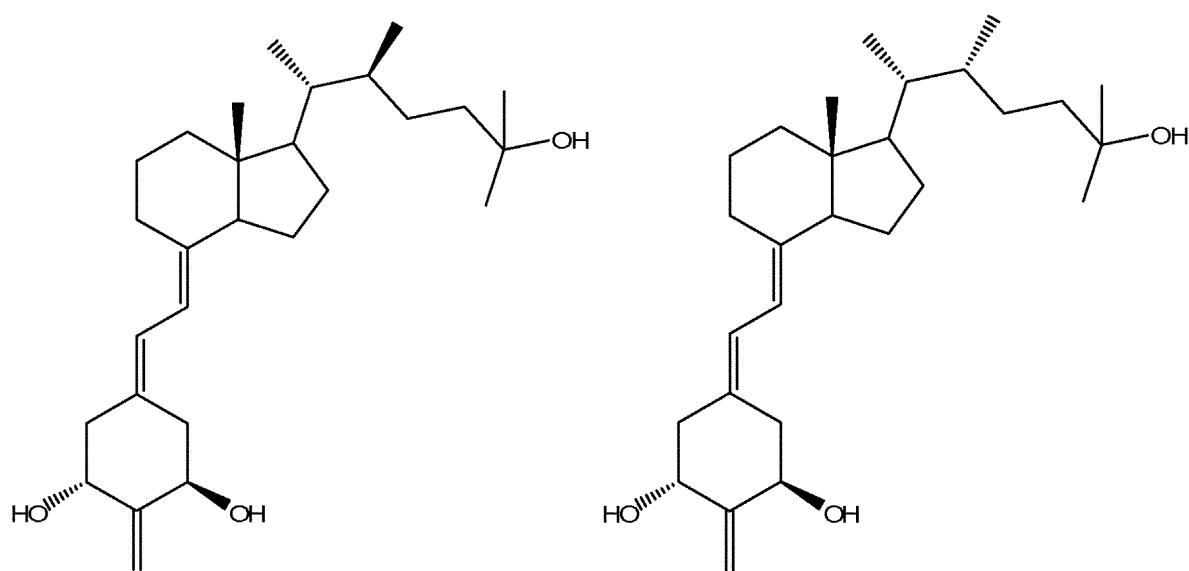
詳細な説明

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



IIA

IIB

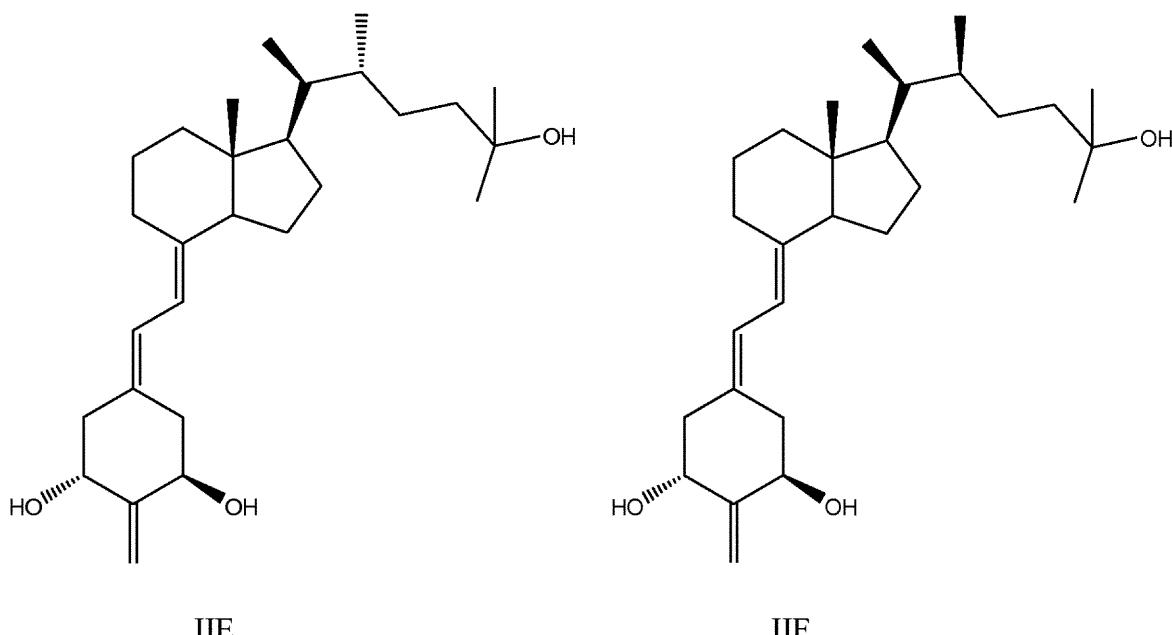


IIC

IID

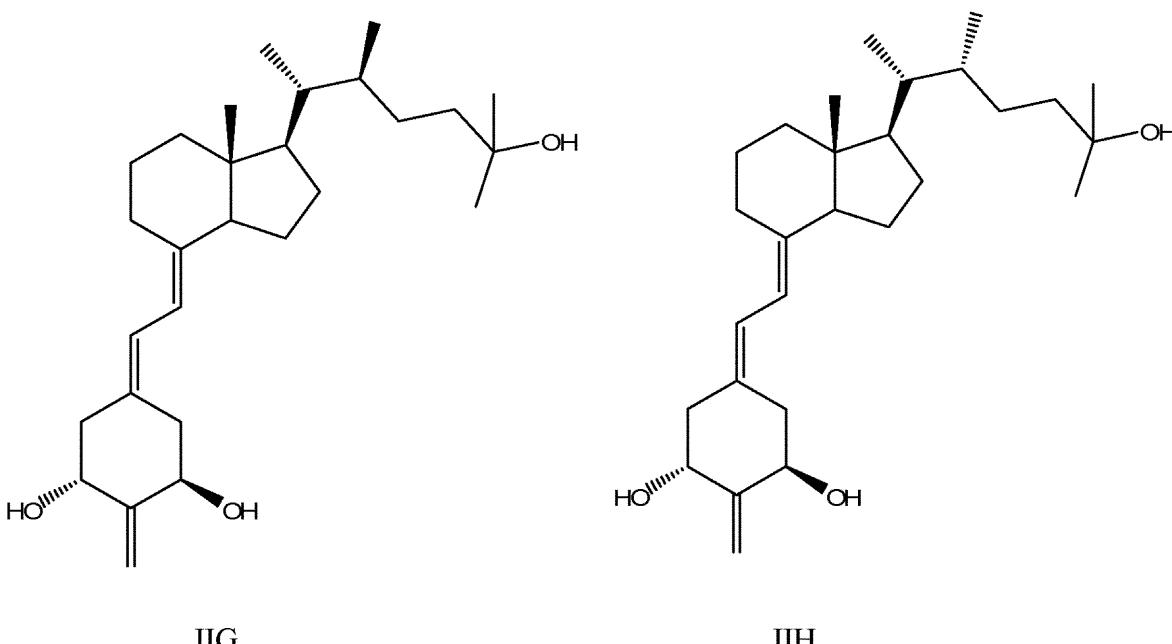
【 0 0 1 6 】

いくつかのそのような実施形態では、式 IIA の化合物は、式 IIE の化合物であり、他の実施形態では、式 IIB の化合物は、式 IID の化合物であり、それらは以下に示す構造を有する。



【0017】

他のそのような実施形態では、式 I I C の化合物は、式 I I G の化合物であり、他の実施形態では、式 I I D の化合物は、式 I I H の化合物であり、それらは、以下に示す構造を有する。



【0018】

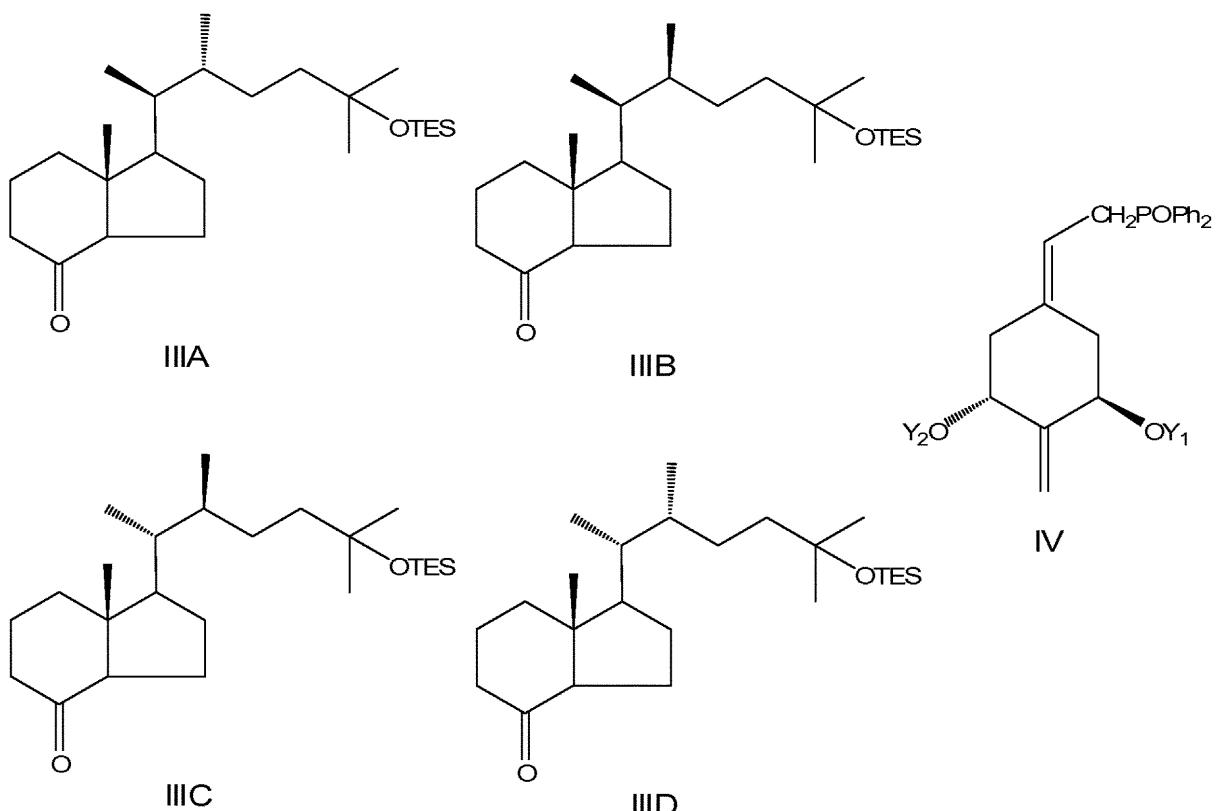
(20S, 22R)-2-メチレン-19-ノル-22-メチル-1, 25-ジヒドロキシビタミンD₃、(20S, 22S)-2-メチレン-19-ノル-22-メチル-1, 25-ジヒドロキシビタミンD₃、(20R, 22S)-2-メチレン-19-ノル-22-メチル-1, 25-ジヒドロキシビタミンD₃、および(20R, 22R)-2-メチレン-19-ノル-22-メチル-1, 25-ジヒドロキシビタミンD₃の調製は、適切な二環式Windaus-Grundmann型ケトン(I I I A、I I I B、I I I C、またはI I I D)をアリル型ホスフィンオキシドIVと縮合し、続いて脱保護(Y₁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

10

20

30

40



【0019】

当業者には容易に明らかになり、かつ本明細書に記載する、若干の修正を加えた既知の方法によって、IIIA、IIIB、IIIC、またはIIDのヒドリンダノンを調製することができる。ビタミンD類似体を合成するために使用されるいくつかの重要な二環式ケトンの具体的な例が、Mincione et al., Synth. Commun. 19, 723, (1989) および Peterson et al., J. Org. Chem. 51, 1948, (1986) に記載されている。2-アルキリデン-19-ノル-ビタミンD化合物を合成するための全過程は、米国特許第5,843,928号の中で図示および記載され、それは、あたかも本明細書に完全に記載されているかのように、参考によりあらゆる目的のためにその全体が本明細書に組み込まれる。ヒドリンダノンIIIA、IIIB、IIIC、およびIIDの調製の詳細は、本明細書の実施例で示されている。

【0020】

ホスフィンオキシドIV中、Y₁ および Y₂ は、シリル保護基等のヒドロキシ保護基である。t-ブチルジメチルシリル(TBDMS)基は、特に有用なヒドロキシ保護基の一例である。上記の過程は、コンバージェント合成概念の適用を表し、それは、多くのビタミンD化合物の調製に有效地に適用されてきた(Lythgoe et al., J. Chem. Soc. Perkin Trans. I, 590 (1978)、Lythgoe, Chem. Soc. Rev. 9, 449 (1983)、Toh et al., J. Org. Chem. 48, 1414 (1983)、Baggiolini et al., J. Org. Chem. 51, 3098 (1986)、Sardina et al., J. Org. Chem. 51, 1264 (1986)、De Lucaら、米国特許第5,086,191号、De Lucaら、米国特許第5,536,713号、およびDe Lucaら、米国特許第5,843,928号を参照されたい。それらの全ては、あたかも本明細書に完全に記載されているかのように、参考によりあらゆる目的のためにそれらの全体が本明細書に組み込まれる)。

【0021】

ホスフィンオキシドIVは、Sicinski et al., J. Med. Chem. 41, 4662 (1998)、De Lucaら、米国特許第5,843,928号、

10

20

30

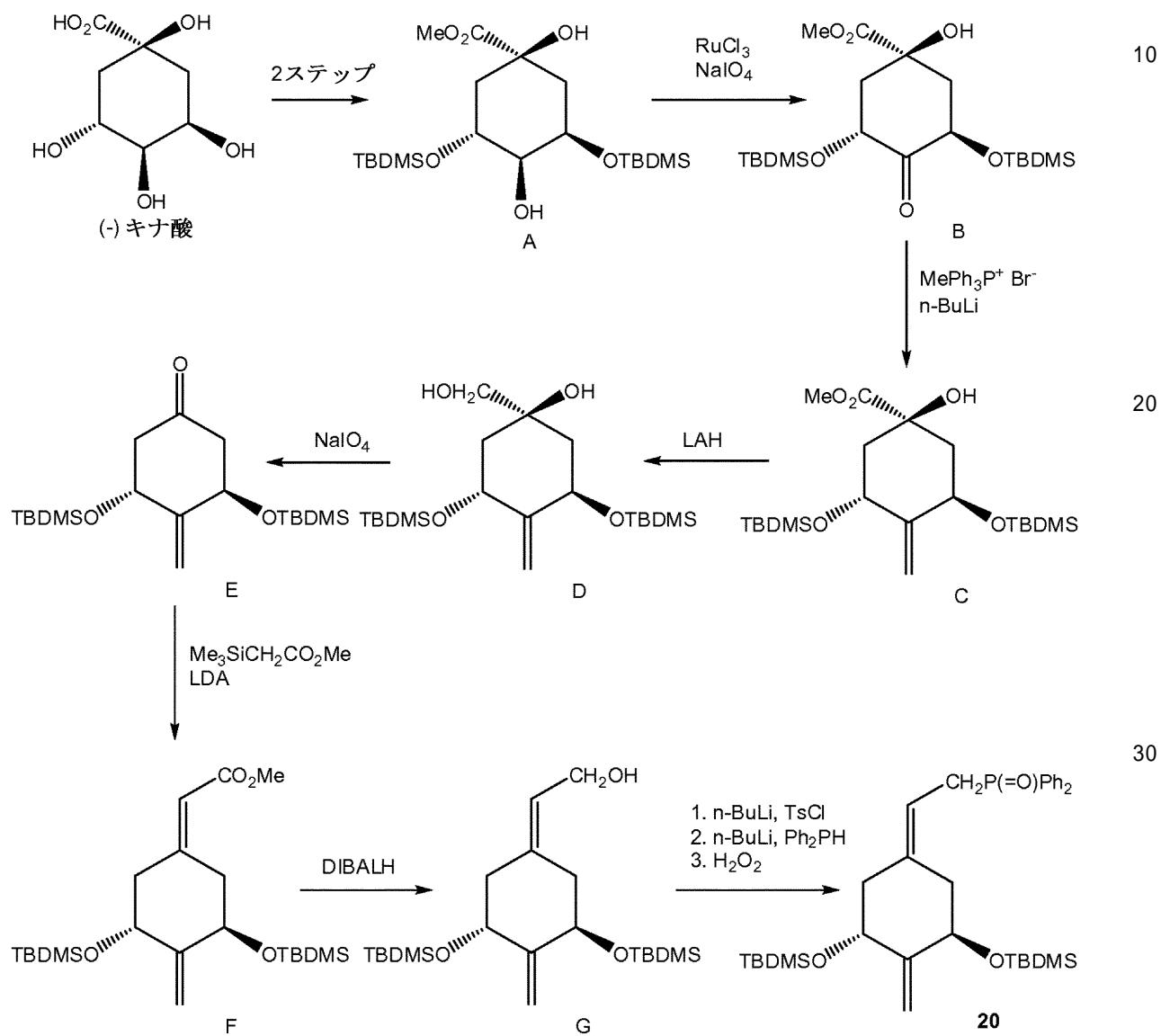
40

50

Perlman et al., Tetrahedron Lett. 32, 7663 (1991)、およびDeLucaら、米国特許第5,086,191号によって記載される手順に従って調製されてもよい、便利な試薬である。スキーム1は、米国特許第5,843,928号に概説されるようなホスフィンオキシドIVを合成するための基本手順を示し、それは、あたかも本明細書に完全に記載されているかのように、参照によりあらゆる目的のためにその全体が本明細書に組み込まれる。

【 0 0 2 2 】

スキーム1



【 0 0 2 3 】

本明細書で使用するように、「ヒドロキシ保護基」という用語は、限定されないが、アルコキシカルボニル、アシル、アルキルシリル、またはアルキルアリールシリル基（以下、単に「シリル」基と称される）、およびアルコキシアルキル基等のヒドロキシ（-OH）官能基の一時的な保護に一般的に使用される任意の基を示す。アルコキシカルボニル保護基は、メトキシカルボニル、エトキシカルボニル、プロポキシカルボニル、イソプロポキシカルボニル、ブトキシカルボニル、イソブトキシカルボニル、tert-ブトキシカルボニル、ベンジルオキシカルボニル、またはアリルオキシカルボニル等のアルキル-O-基である。「アシル」という用語は、1~6個の炭素のアルカノイル基（その全ての異性体）、または1~6個の炭素のカルボキシアルカノイル基、例えば、オキサリル、マロニル、スクシニル、グルタリル基、または芳香族アシル基、例えば、ベンゾイル、またはハロ、ニトロ、もしくはアルキル置換ベンゾイル基を示す。アルコキシアルキル保

護基は、メトキシメチル、エトキシメチル、メトキシエトキシメチル、またはテトラヒドロフラニルおよびテトラヒドロピラニル等の基である。好ましいシリル保護基は、トリメチルシリル、トリエチルシリル、*t*-ブチルジメチルシリル、ジブチルメチルシリル、ジフェニルメチルシリル、フェニルジメチルシリル、ジフェニル-*t*-ブチルシリル、および類似アルキル化シリルラジカルである。「アリール」という用語は、フェニル基、またはアルキル置換フェニル基、ニトロ置換フェニル基、もしくはハロ置換フェニル基を示す。ヒドロキシ官能基に対する保護基の広範なリストは、Protective Groups in Organic Synthesis, Greene, T. W.; Wuts, P. G. M., John Wiley & Sons, New York, NY, (3rd Edition, 1999)に見られ、それはその中に記載する手順を使用して追加または除外することができ、あたかも本明細書に完全に記載されているかのように、参考によりあらゆる目的のためにその全体が本明細書に組み込まれる。

【0024】

「保護ヒドロキシ」基は、ヒドロキシ官能基の一時的または永続的な保護に一般的に使用される上記の基のうちのいずれか、例えば、すでに定義されたように、シリル、アルコキシアルキル、アシル、またはアルコキシカルボニル基によって、誘導体化または保護されたヒドロキシ基である。

【0025】

本技術の化合物は、有意な生物活性を示す。AGS-1、AGS-2、SAG-1、およびSAG-2の全ては、ビタミンD受容体に結合する。さらに、AGS-1、AGS-2の両方およびSAG-1は、比較的高い細胞分化活性を示し、AGS-1およびAGS-2は、比較的高い24-ヒドロキシラーゼ転写活性を示す。SAG-IIの24-ヒドロキシラーゼ転写活性は、天然ホルモン1,25(OH)₂D₃と比較して予想外に低かった(図15)。4つの化合物のカルシウム血活性プロファイルは異なる。AGS-1は、1,25(OH)₂D₃よりも有意に高い骨カルシウム動員活性および腸カルシウム輸送活性を示す(図4A~4Cを参照されたい)。対照的に、AGS-2は、極めて高い濃度でない限り、骨カルシウムを動員する能力は本質的に示さないが、1,25(OH)₂D₃と比較して同等の、またはわずかに高い腸カルシウム輸送を示す(図8Aおよび8Bを参照されたい)。同様に、AGS-2、SAG-1は、極めて高い用量でない限り、骨カルシウムを動員する能力はほとんどまたは全く示さない(図12Aおよび12Bを参照されたい)。しかしながら、腸カルシウム輸送の場合、SAG-1は、より低い濃度では、1,25(OH)₂D₃と比較して同等の、またはより低い効力を示すが、高濃度では、1,25(OH)₂D₃と比較してより高い効力を示す(図12Cおよび12Dを参照されたい)。SAG-2は、極めて高い濃度でさえ、骨カルシウムを動員する能力はほとんどまたは全く示さない(図16Aおよび16Bを参照されたい)。腸カルシウム輸送の場合、SAG-2は、極めて高い濃度でない限り、輸送を増加させる能力をほとんど示さない。

【0026】

それらの生物活性を考慮して、本技術の化合物は、例えば、多発性硬化症、ループス、真性糖尿病、宿主対移植片反応、および臓器移植片拒絶反応を含む、自己免疫疾患における免疫系の不均衡を特徴とするヒトの疾患の治療および予防、加えて、関節リウマチ、喘息、ならびにセリアック病、潰瘍性大腸炎、およびクローン病等の炎症性腸疾患等の炎症性疾患の治療に使用されてもよい。座瘡、脱毛症、および高血圧は、本技術の化合物で治療され得る他の状態である。

【0027】

比較的高い細胞分化活性を考慮して、本化合物はまた、乾癬の治療において、または特に白血病、結腸がん、乳がん、および前立腺がんに対する抗がん剤として使用され得る。加えて、それらの比較的高い細胞分化活性によって、これらの化合物は、しわ、適切な皮膚水分量の欠如、すなわち、乾燥肌、適切な皮膚の引き締まりの欠如、すなわち、たるんだ肌、および不十分な皮脂分泌を含む、種々の皮膚状態の治療のための治療薬を提供する

10

20

30

40

50

。したがって、これらの化合物の使用は、皮膚の保湿をもたらすだけではなく、皮膚のバリア機能を改善する。

【0028】

その極めて高い細胞分化活性および骨カルシウム動員活性を考慮すると、AGS-1は、乾癬、骨粗鬆症、くる病、および腎性骨ジストロフィー等の疾病的治療に特に適している。それらの細胞分化活性および腸活性を考慮すると、AGS-2およびSAG-1は、セリアック病およびクローン病を含む、IBD等の腸疾患の治療に特に適している。SAG-1およびSAG-2の場合、これらの化合物は、概して、カルシウム血活性を減少させるか、全く示さない。したがって、SAG-1およびSAG-2は、カルシウムの上昇が望ましくない場合の疾病的治療に特に有用である。

10

【0029】

本技術の化合物を用いて、本技術の化合物を薬学的に許容される担体と組み合わせて含む薬学的製剤または薬剤を調製することができる。そのような薬学的製剤および薬剤は、本明細書に記載するような種々の生物学的疾患を治療するために使用され得る。そのような疾患を治療するための方法は、典型的には、有効量の化合物、または化合物を含む適量の薬学的製剤または薬剤を、生物学的疾患を患う対象に投与することを含む。いくつかの実施形態では、対象は、哺乳動物である。いくつかのそのような実施形態では、哺乳動物は、齧歯動物、靈長類、ウシ、ウマ、イヌ、ネコ、クマ、ブタ、ウサギ、またはモルモットから選択される。いくつかのそのような実施形態では、哺乳動物は、ラットまたはマウスである。いくつかの実施形態では、対象は靈長類であり、例えばいくつかの実施形態ではヒトである。

20

【0030】

治療目的で、式I、II、IIA、IIB、IIC、IID、IIE、IIF、IIG、およびIIHによって定義される化合物は、当該技術分野で既知の従来の方法に従って、固体担体と一緒に、無害の溶媒中の溶液として、または好適な溶媒もしくは担体中のエマルション、懸濁液、もしくは分散液として、または丸剤、錠剤、またはカプセルとして、薬学的用途のために製剤化され得る。任意のそのような製剤はまた、安定剤、酸化防止剤、結合剤、着色剤、または乳化もしくは味覚修飾剤等、他の薬学的に許容される非毒性賦形剤を含有してもよい。薬学的に許容される賦形剤および担体は、概して、当業者に既知であり、したがって、本技術に含まれる。そのような賦形剤および担体は、例えば、"Remington's Pharmaceutical Sciences," Mack

30

Pub. Co., New Jersey (1991)に記載され、それは、あたかも本明細書に完全に記載されているかのように、参照によりあらゆる目的のためにその全体が本明細書に組み込まれる。

【0031】

本化合物は、経口投与されても、局所投与されても、非経口投与されても、または経皮投与されてもよい。本化合物は、注射によって、または静脈内注入もしくは好適な滅菌溶液によって、または消化管を介した液体もしくは固体投薬の形態で、または経皮投与に好適なクリーム、軟膏、パッチ、もしくは同様の媒質の形態で、有利に投与される。いくつかの実施形態では、1日につき0.001μg～約1mgの用量の化合物が、治療目的に適している。いくつかのそのような実施形態では、適切かつ有効な用量は、1日につき0.01μg～1mgの化合物に及んでもよい。他のそのような実施形態では、適切かつ有効な用量は、1日につき0.1μg～500μgの化合物に及んでもよい。そのような用量は、当該技術分野で十分理解されるように、治療される疾病または状態の種類、疾病または状態の重症度、および対象の反応に従って調節される。本化合物は、単独で、または別の活性ビタミンD化合物と一緒に適切に投与され得る。

40

【0032】

本技術で使用するための組成物は、活性成分として、有効量の化合物I、II、IIA、IIB、IIC、IID、IIE、IIF、IIG、またはIIHと、好適な担体とを含む。本技術のいくつかの実施形態に従って使用するための化合物の有効量は、概して、

50

本明細書に記載するような投与量であり、局所投与、経皮投与、経口投与、経鼻投与、経直腸投与、または非経口投与され得る。

【0033】

式I、II、IIA、IIB、IIC、IID、IIE、IIF、IIG、およびIHの化合物は、前骨髄球の正常なマクロファージへの分化をもたらすのに十分な量で有利に投与され得る。上記のような投与量が好適であり、投与される量は、当該技術分野で十分理解されているように、疾病の重症度、ならびに対象の状態および反応に従って調節されるものであると理解される。

【0034】

化合物は、クリーム、ローション、軟膏、エアロゾル、坐薬、局所パッチ、丸剤、カプセル、もしくは錠剤として、または薬学的に無害で許容できる溶媒もしくは油中の溶液、エマルション、分散液、もしくは懸濁液としての液体形態で、製剤化されてもよく、そのような調製物は、加えて、安定剤、酸化防止剤、乳化剤、着色剤、結合剤、または味覚修飾剤等、他の薬学的に無害または有益な成分を含有してもよい。10

【0035】

本技術の製剤は、活性成分を、薬学的に許容される担体、および任意で他の治療成分とともに含む。担体は、製剤の他の成分と適合性であり、そのレシピエントに対して有害ではないという意味で、「許容され」なければならない。

【0036】

経口投与に好適な本技術の製剤は、それぞれが所定量の活性成分を含有するカプセル、サシェ、錠剤、もしくはロゼンジとしての個別単位の形態で、粉末もしくは顆粒の形態で、水性液体もしくは非水性液体中の溶液もしくは懸濁液の形態で、または水中油型エマルションもしくは油中水型エマルションの形態であり得る。20

【0037】

直腸投与のための製剤は、活性成分とココア脂等の担体とを組み込んだ坐薬の形態、またはかん腸の形態であってもよい。

【0038】

非経口投与に好適な製剤は、好ましくは、レシピエントの血液と等張である活性成分の滅菌油性または水性の調製物を便宜的に含む。

【0039】

局所投与に好適な製剤は、液体もしくは半液体調製物、例えば、リニメント剤、ローション、アプリカント(applicant)、水中油型もしくは油中水型エマルション、例えばクリーム、軟膏、もしくはペースト；または滴剤等の溶液もしくは懸濁液；またはスプレーとしてのものを含む。

【0040】

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

【0041】

製剤は、投与単位形態で簡便に示されてもよく、調剤分野でよく知られている方法のうちのいずれかによって調製されてもよい。「投与単位」という用語は、活性成分そのまま、または活性成分と固体もしくは液体の薬学的希釈剤もしくは担体との混合物のいずれかを含む、物理的および化学的に安定した単位用量として、患者に投与されることが可能である、单一の、すなわち、1回量を意味する。40

【0042】

本明細書に挙げる全ての参考文献は、あたかも本明細書に完全に記載されているかのように、参照によりあらゆる目的のためにそれらの全体が本明細書に具体的に組み込まれる。

【0043】

本技術は、以下の実施例によってさらに例示されるが、いかなる方法によっても制限す50

るものと解釈されるべきではない。

【実施例】

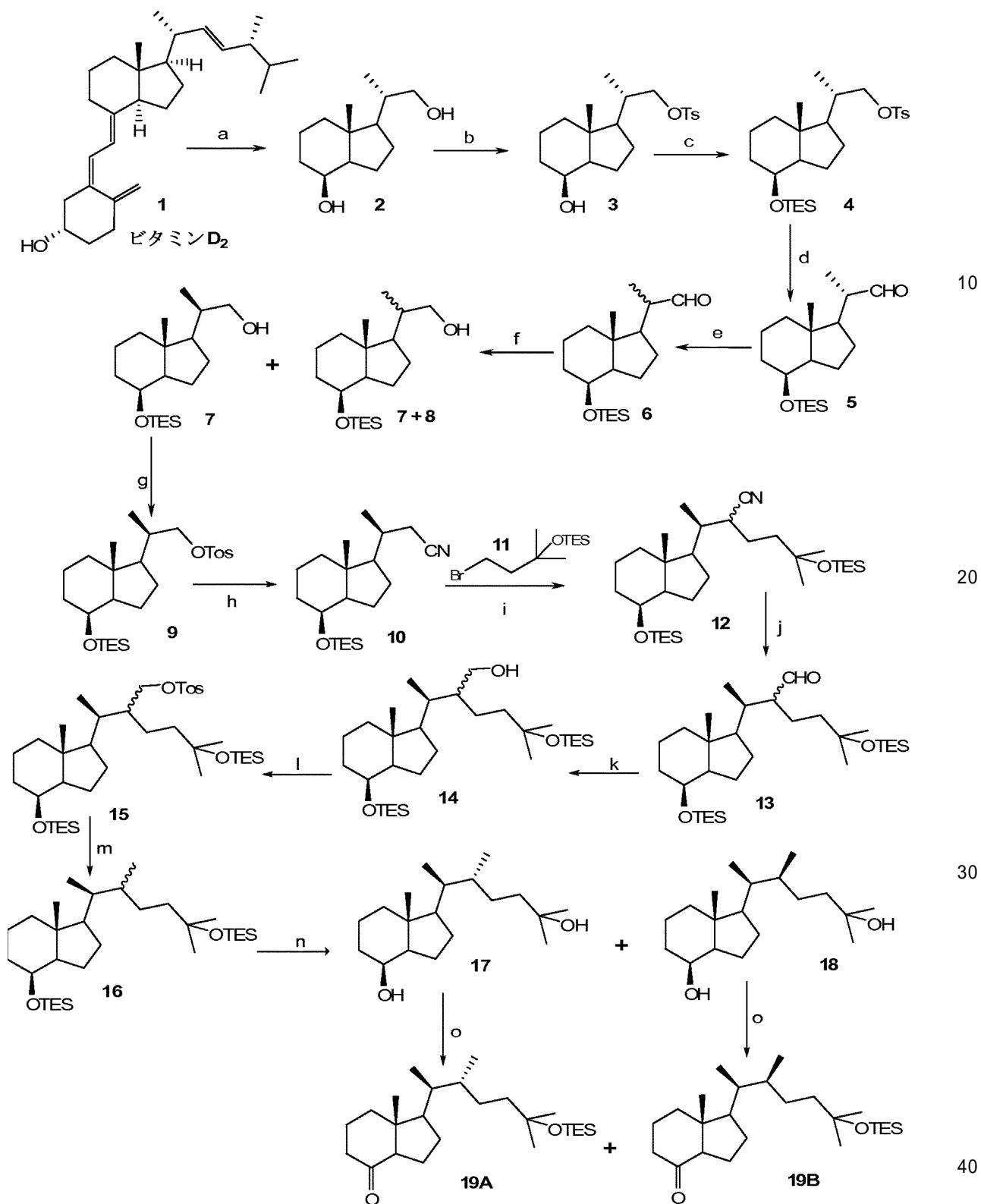
【0044】

実施例 1 A : (2 0 S , 2 2 S) - 2 - メチレン - 1 9 - ノル - 2 2 - メチル - 1 , 2
5 - ジヒドロキシビタミン D₃ および (2 0 S , 2 2 R) - 2 - メチレン - 1 9 - ノル -
2 2 - メチル - 1 , 2 5 - ジヒドロキシビタミン D₃ の合成

スキーム 2 および 3 に示す方法を使用して、式 I 、式 I I 、式 I I A 、および式 I I B の化合物を調製した。スキーム 2 に示すように、S i c i n s k i e t a l . (J . M e d . C h e m . 4 1 , 4 6 6 2 - 4 6 7 2 , 1 9 9 8) によって記載されるようなビタミン D₂ のオゾン分解 (1) 、続いて、ホウ化水素による還元によって化合物 2 を得た。ピリジン中の塩化トシリルによるジアルコール 2 の処理によって、トシリル保護化合物 3 を得た。ジクロロメタン中のトリフルオロメタンスルホン酸トリエチルシリルおよび 2 , 6 - ルチジンと化合物 3 を反応させ、化合物 4 を得た。D M S O 中の重炭酸ナトリウムで化合物 4 を処理し、トシリル保護アルコール基を酸化してアルデヒド化合物 5 にした。水酸化テトラブチルアンモニウムでの処理によって、化合物 5 を 2 0 位でラセミ化し、得られた化合物 6 を水素化ホウ素ナトリウムで還元し、異性体 7 および 8 の混合物と共に純粹異性体 7 を得た。次いで、単離された異性体 7 をピリジン中の塩化トシリルで保護し、トシリル保護アルコール 9 を D M S O 中のシアノ化ナトリウムと反応させることによって、トシリル保護アルコール 9 をシアノ化合物 1 0 に変換した。次いで、シアノ化合物 1 0 を、n - プチルリチウムおよびジイソプロピルアミンの混合物の存在下で、4 - プロモ - 2 - メチル - 1 - トリエチルシリルオキシブタンで処理し (1 1) 、化合物 1 2 を得た。化合物 1 2 のシアノ基をジクロロメタン中の水素化ジイソブチルアルミニウムで処理することによって、化合物 1 2 のシアノ基を対応アルデヒド 1 3 に変換した。次いで、メタノール中の水素化ホウ素ナトリウムを使用して、アルデヒド 1 3 をアルコール 1 4 に還元した。次いで、化合物 1 4 の遊離ヒドロキシル基をピリジン中の塩化トシリルと反応させ、還元剤として水素化アルミニウムリチウムを使用して、得られたトシリル保護化合物 1 5 を対応アルカン 1 6 に還元した。次いで、T H F 中のフッ化テトラブチルアンモニウムを使用して、トリエチルシリル保護ジヒドロキシ化合物 1 6 を脱保護し、そのようにして得られたジオールのラセミ混合物を酢酸エチルからの結晶化によって分離し、2 つの別々の異性体である、2 2 R ジオール 1 7 および 2 2 S ジオール 1 8 を得た。次いで、4 - メチルモルホリンオキシドの存在下で、過ルテニウム酸テトラブチルアンモニウムを使用して、ジオール 1 7 および 1 8 のそれぞれを別々に酸化させ、それぞれのケトンを生成した。ジクロロメタン中のトリフルオロメタンスルホン酸トリエチルシリルおよび 2 , 6 - ルチジンで、各ケトンをさらに独立して処理し、トリエチルシリル保護ケトン 2 2 R 化合物 1 9 A または 2 2 S 化合物 1 9 B を得た。

【0045】

スキーム 2



~~~は、RまたはS配置のいずれかにおける炭素を示す。

a ) 1 . O<sub>3</sub>、ピリジン、MeOH ; 2 . NaBH<sub>4</sub> ( 2 、 49 % )

b ) TsCl、ピリジン ( 3 、 96 % )

c ) TESOTf、2,6-ルチジン、DCM ( 4 、 99 % )

d ) NaHCO<sub>3</sub>、DMSO、EtOAc ( 5 、 76 % )

e ) 1 . TBAOH、H<sub>2</sub>O、DCM ( 6 、 71 % )

f ) NaBH<sub>4</sub>、THF、EtOH ( 7 、 47 % ) ( 8 、 40 % )

g ) TosCl、ピリジン ( 9 、 89 % )

h ) NaCN、DMSO ( 10 、 85 % )

- i ) 1 . n - BuLi、DIPA、THF ; 2 . 11 ( 12 、 79 % )
- j ) DIBAL、トルエン、DCM ( 13 、 76 % )
- k ) NaBH<sub>4</sub>、MeOH ( 14 、 70 % )
- l ) ToscI、ピリジン ( 15 、 83 % )
- m ) LiAlH<sub>4</sub>、DEE ( 16 、 75 % )
- n ) 1 . TBAF、THF ( 17 および 18 、 99 % ) ; 2 . EtOAc からの結晶化
- o ) 1 . 分子篩 4 、 4 - MMO、TPAP、DCM ; 2 . TESOTf、2 , 6 - ルチジン、DCM ( 19A 、 68 % ) ( 19B 、 73 % )

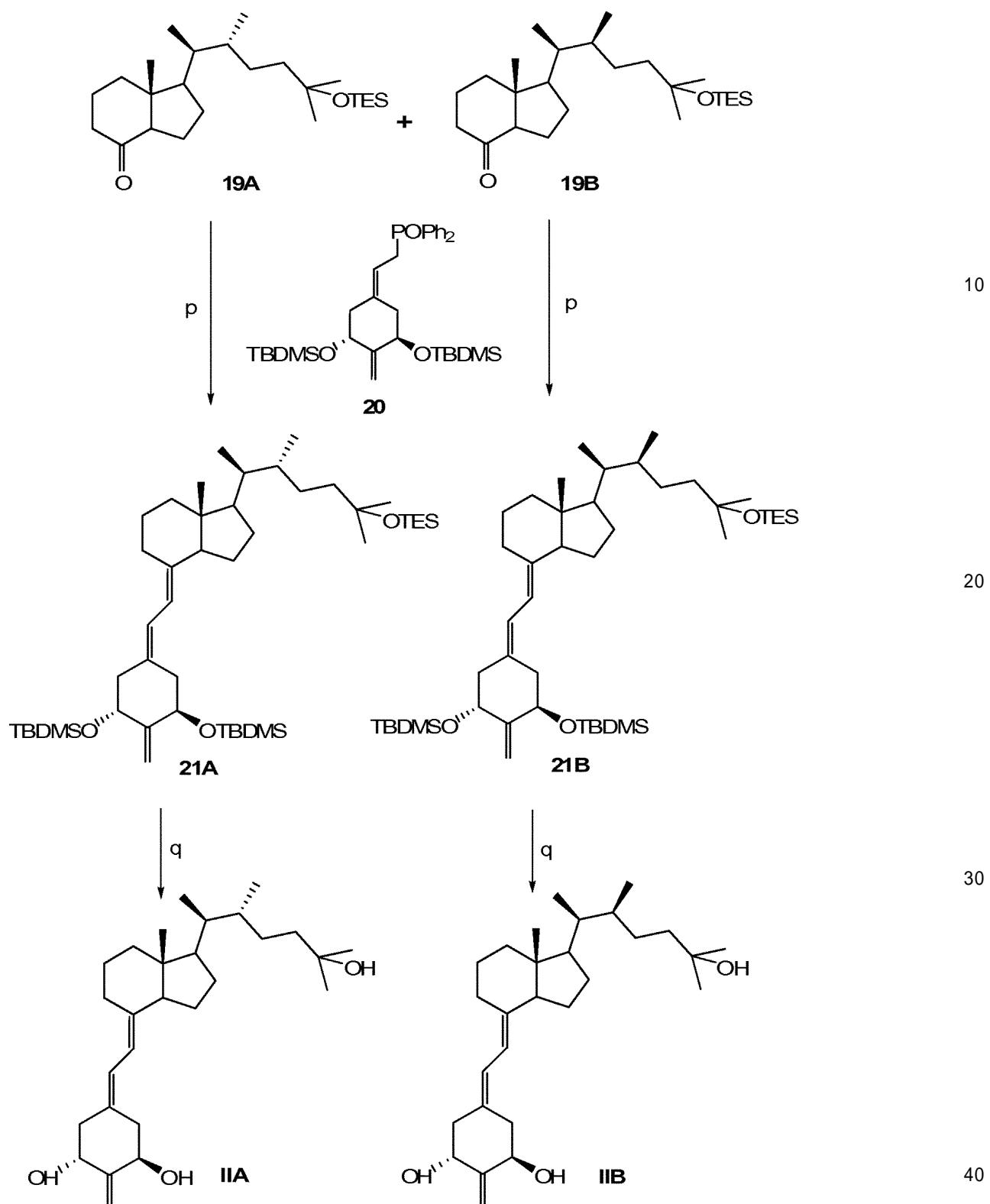
【 0046 】

スキーム 3 は、化合物 19A または 19B の表題化合物 II A または II B への変換を図示する。スキーム 3 に示すように、フェニルリチウムの存在下で、ホスフィンオキシド ( 化合物 20 ) と、保護された Grundmann ケトン ( 化合物 19A または 19B ) の Wittig - Horner 縮合を実施した。スキーム 1 に示すように、かつ上記のように、A 環ホスフィンオキシド化合物 20 を合成した。最後に、フッ化水素酸の存在下で、化合物 21A または 21B 中のヒドロキシ基の脱保護によって、標的化合物 ( 化合物 II A または II B ) を生成した。

10

【 0047 】

スキーム 3



p ) Ph Li、THF、20 ( 21A、90% ) ( 21B、87% )

q ) HF、MeCN、THF ( IIA、77% ) ( IIIB、50% )

【0048】

( 8S , 20S ) - デス - A , B - 20 - ( ヒドロキシメチル ) - プレグナン - 8 - オール ( 2 )

- 78 度、メタノール ( 400 mL ) 中のビタミン D<sub>2</sub> 1 ( 5 g、12.6 mmol ) およびピリジン ( 5 mL、4.89 g、62 mmol ) の溶液にオゾンを通過させた。反応混合物が藍色に変わった時、15分間酸素で洗い流し残留オゾンを除去し、次いで、NaBH<sub>4</sub> ( 1.5 g、40 mmol ) で処理した。15分後、NaBH<sub>4</sub> ( 1.5 g 50

、4.0 mmol) の第2の部分を添加し、混合物を室温まで温めた。NaBH<sub>4</sub> (1.5 g、4.0 mmol) の第3の部分を添加し、反応混合物を18時間攪拌した。反応を水でクエンチし、減圧下で濃縮し、ジクロロメタンで抽出した。混合有機相を1Mの水性HC1で洗浄し、水性NaHCO<sub>3</sub>で飽和し、乾燥させ(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)、濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィによって精製し(30%、次いで、50%酢酸エチル/ヘキサン)、無色結晶としてジオール2 (2.61 g、49%)を得た。

融点107 (酢酸エチル/ヘキサンから) ; [ ]<sub>D</sub> +32.9 (c 1.0, CHCl<sub>3</sub>) ;

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

δ 4.07 (1H, d, J = 2.5 Hz), 3.62 (1H, dd, J = 10.5, 3.2 Hz), 3.37 (1H, dd, J = 10.5, 6.8 Hz), 1.98 (1H, m), 1.80 (3H, m), 1.02 (3H, d, J = 6.6 Hz), 0.94 (3H, s); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 69.21, 67.81, 52.91, 52.34, 41.84, 40.20, 38.22, 33.55, 26.64, 22.55, 17.38, 16.60, 13.56; MS (EI) m/z 212 (1, M<sup>+</sup>), 194 (28, M<sup>+</sup>-H<sub>2</sub>O), 179 (29), 163 (22), 147 (15), 135 (42), 125 (48), 111 (100), 97 (51);

C<sub>13</sub>H<sub>22</sub>O (M<sup>+</sup>-H<sub>2</sub>O) に対して計算された精密質量：194.1671、実測値：194.1673。

#### 【0049】

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

ピリジン (2 mL) 中の塩化トシリル (0.9 g、4.73 mmol) の予冷した(-20)溶液を-20で、乾燥ピリジン (5 mL) 中のジオール2 (0.52 g、2.45 mmol) の混合物に添加した。反応混合物を-20で3時間攪拌し、次いで、0まで温め、18時間攪拌した。混合物を飽和CuSO<sub>4</sub>水溶液に注入し、ジクロロメタンで抽出した。混合有機相を飽和CuSO<sub>4</sub>水溶液で洗浄し、乾燥させ(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)、濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィ(20%酢酸エチル/ヘキサン)によって精製し、無色結晶としてトシラート3 (0.86 g、96%の収率)を得た。

融点95 (酢酸エチル/ヘキサンから) ; [ ]<sub>D</sub> +17.4 (c 1.0, CHCl<sub>3</sub>) ;

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

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

C<sub>20</sub>H<sub>30</sub>O<sub>4</sub>SNa [M+Na]<sup>+</sup> に対して計算された精密質量：389.1763、実測値：389.1758。

#### 【0050】

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

0で、ジクロロメタン (6 mL) 中のトシラート3 (0.65 g、1.78 mmol) および2,6-ルチジン (0.3 mL、0.28 g、2.58 mmol) の溶液に、トリフルオロメタンスルホン酸トリエチルシリル (0.6 mL、0.70 g、2.65 mmol) を添加した。反応混合物を15分間攪拌し、ジクロロメタンで希釈した。有機相を水で洗浄し、乾燥させ(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)、濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグ

10

20

30

40

50

ラフィ (20%酢酸エチル/ヘキサン) によって精製し、淡黄色油として生成物4 (0.84 g、99%の収率)を得た。

[ ]<sub>D</sub> + 20.6 (c 1.0, CHCl<sub>3</sub>) ;

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.78 (2H, d, J = 8.2 Hz), 7.34 (2H, d, J = 8.2 Hz), 4.01 (1H, d, J = 2.0 Hz), 3.96 (1H, dd, J = 9.2, 3.0 Hz), 3.79 (1H, dd, J = 9.2, 6.5 Hz), 2.45 (3H, s), 1.87 (1H, m), 0.94 (3H, d, J = 5.9 Hz), 0.93 (9H, t, J = 7.9 Hz), 0.86 (3H, s), 0.54 (6H, q, J = 7.9 Hz); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 144.55 (0), 133.10 (0), 129.73 (1), 127.91 (1), 75.76 (2), 69.11 (1), 52.70 (1), 52.36 (1), 42.12 (0), 40.39 (2), 35.72 (1), 34.47 (2), 26.52 (2), 22.88 (2), 21.63 (3), 17.56 (2), 16.76 (3), 13.46 (3), 6.91 (3), 4.89 (2); MS (EI) *m/z* M<sup>+</sup>なし, 319 (46), 291 (9), 265 (9), 246 (5), 217 (100), 189 (81), 161 (69), 133 (54), 103 (38), 94 (39); MS (ESI) *m/z* 503 (100, [M+Na]<sup>+</sup>), 983 (40, [2M+Na]<sup>+</sup>), 1463 (71, [3M+Na]<sup>+</sup>);

C<sub>26</sub>H<sub>44</sub>O<sub>4</sub>SSiNa [M+Na]<sup>+</sup>に対して計算された精密質量 : 503.2627、実測値 : 503.2629。

### 【0051】

(8S,20S)-デス-Α,Β-8-[トリエチルシリル]オキシ]-20-(ホルミル)-ブレグナン(5)

DMSO (15 mL) 中のトシラート4 (2.31 g、4.81 mmol) の溶液に、重炭酸ナトリウム (5 g、59.5 mmol) を添加した。反応混合物を、120で、1時間15分攪拌し、酢酸エチルで希釈した。有機相を塩水で洗浄し、乾燥させ(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)、濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィ (5%酢酸エチル/ヘキサン) によって精製し、無色油として生成物5 (1.19 g、76%の収率)を得た。

[ ]<sub>D</sub> + 41.4 (c 1.0, CHCl<sub>3</sub>) ;

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

C<sub>17</sub>H<sub>31</sub>O<sub>2</sub>Si [M-Et]<sup>+</sup>に対して計算された精密質量 : 295.2093、実測値 : 295.2103。

### 【0052】

(8S,20R)-デス-Α,Β-8-[トリエチルシリル]オキシ]-20-(ヒドロキシメチル)-ブレグナン(7)

ジクロロメタン (20 mL) 中のアルデヒド5 (0.97 g、2.99 mmol) の溶液に、水酸化テトラブチルアンモニウム (水中40重量%の溶液、4 mL、3.98 g、0.015 mol) を添加した。反応混合物を室温で18時間攪拌し、ジクロロメタンで希釈した。有機相を水で洗浄し、乾燥させ(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)、濃縮した。生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィによって精製し(3%、次いで、5%酢酸エチル/ヘキサン)、異性体6の混合物 (0.69 g、71%の収率)を得た。THF (10 mL) およびエタノール (10 mL) 中のアルデヒド6 (0.69 g、2.13 mmol) の溶液に、水素化ホウ素ナトリウム (0.2 g、5.29 mmol) を添加した。反応混合物を45分間攪拌し、飽和NH<sub>4</sub>Clでクエンチし、酢酸エチルで抽出し、乾燥させた(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィによって精製し(4%、次いで、20%酢酸エチル/ヘキサン)、純粋異性体7 (0.326 g、47%の収率)、ならびに異

20

30

30

40

50

性体 7 および 8 の両方の混合物 (0.277 g、40% の収率) を得た。

[ ]<sub>D</sub> + 33.6 (c 1.0, C H C l<sub>3</sub>) ;

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 4.03 (1H, d, J = 2.5 Hz), 3.72 (1H, dd, J = 10.7, 3.6 Hz), 3.44 (1H, dd, J = 10.7, 7.0 Hz), 0.95 (9H, t, J = 7.9 Hz), 0.94 (3H, d, J = 6.6 Hz), 0.93 (3H, s), 0.55 (6H, q, J = 7.9 Hz); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 69.25 (1), 66.84 (2), 53.01 (1), 41.91 (0), 40.20 (2), 37.49 (1), 34.58 (2), 26.73 (2), 22.81 (2), 17.67 (2), 16.58 (3), 13.88 (3), 6.93 (3), 4.91 (2); MS (EI) m/z 326 (7, M<sup>+</sup>), 311 (3, M<sup>+</sup>-CH<sub>3</sub>), 297 (100, M<sup>+</sup>-Et), 283 (41), 265 (8), 225 (23), 193 (41), 177 (41), 135 (57), 103 (99); MS (ESI) m/z 327 (100, [M+H]<sup>+</sup>); C<sub>17</sub>H<sub>33</sub>O<sub>2</sub>Si [M-Et]<sup>+</sup> に対して計算された精密質量 : 297.2250、実測値 : 297.2244。  
10

#### 【0053】

(8S, 20R)-デス- A, B - 8 - [(トリエチルシリル)オキシ] - 20 - [(p-トルエンスルホニル)オキシ]メチル-ブレグナン (9)

ピリジン (3 mL) 中の塩化トシリル (0.38 g、2 mmol) の溶液を、-20 で、ピリジン (5 mL) 中のアルコール 7 (0.326 g、1 mmol) の溶液に、カニューレを介して移した。反応混合物を -20 で 1 時間、次いで、+4 で一晩攪拌した。それを塩化メチレンで希釈し、CuSO<sub>4</sub> の飽和水溶液で洗浄し、乾燥させた (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィによって精製し (5%、次いで、10 % および 20% 酢酸エチル / ヘキサン)、無色油としてトシラート 9 (427 mg、89% の収率) を得た。  
20

[ ]<sub>D</sub> + 8.8 (c 1.0, C H C l<sub>3</sub>) ;

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.78 (1H, d, J = 8.2 Hz), 7.34 (1H, d, J = 8.2 Hz), 4.11 (1H, dd, J = 9.3, 3.4 Hz), 4.00 (1H, d, J = 2.0 Hz), 3.77 (1H, dd, J = 9.3, 7.4 Hz), 2.45 (3H, s), 0.93 (9H, t, J = 7.9 Hz), 0.87 (3H, d, J = 6.7 Hz), 0.81 (3H, s), 0.53 (6H, q, J = 7.9 Hz); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 144.53 (0), 133.18 (0), 129.70 (1), 127.93 (1), 74.30 (2), 69.09 (1), 52.74 (1), 52.60 (1), 41.77 (0), 39.95 (2), 34.66 (1), 34.40 (2), 26.61 (2), 22.64 (2), 21.62 (3), 17.54 (2), 16.65 (3), 13.82 (3), 6.91 (3), 4.89 (2); MS (EI) m/z 480 (18, M<sup>+</sup>), 465 (2), 437 (14), 348 (2, M<sup>+</sup>-Et<sub>3</sub>SiOH), 309 (1, M<sup>+</sup>-CH<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>SO<sub>3</sub>), 257 (91), 225 (23), 177 (100), 135 (19), 121 (24); MS (ESI) m/z 503 (7, [M+Na]<sup>+</sup>), 983 (4, [2M+Na]<sup>+</sup>), 1463 (10, [3M+Na]<sup>+</sup>); C<sub>26</sub>H<sub>44</sub>O<sub>4</sub>SSiNa [M+Na]<sup>+</sup> に対して計算された精密質量 : 503.2627、実測値 : 503.2639。  
30

#### 【0054】

(8S, 20S)-デス- A, B - 8 - [(トリエチルシリル)オキシ] - 20 - (シアノメチル) - ブレグナン (10)

DMSO (5 mL) 中のトシラート 9 (0.412 g、0.858 mmol) の溶液に、シアノ化ナトリウム (0.9 g、18.4 mmol) を添加した。得られた混合物を 90 で 2 時間攪拌し、次いで、冷却し、水で希釈し、酢酸エチルで抽出した。混合有機相を乾燥させ (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)、濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィによって精製し (10% 酢酸エチル / ヘキサン)、無色油としてシアノ化物 10 (0.242 g、85% の収率) を得た。  
40

[ ]<sub>D</sub> + 17.3 (c 1.0, C H C l<sub>3</sub>) ;

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

10

C<sub>18</sub>H<sub>32</sub>NO<sub>2</sub>Si [M - Et]<sup>+</sup>に対して計算された精密質量：306.2253、実測値：306.2253。

## 【0055】

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

0で、THF中 (4 mL) のジイソプロピルアミン (0.26 mL, 0.186 g, 1.84 mmol) の溶液に、n-ブチルリチウム (1.6 Mのヘキサン溶液で 1.2 mL相当、0.123 g, 1.92 mmol) を添加した。得られた混合物を 0で 30 分間攪拌し、次いで、-78まで冷却し、THF (3 mL) 中のシアノ化物 10 (0.239 g, 0.713 mmol) の溶液を添加した。混合物を -78で 30 分間攪拌し、臭化物 11 (0.41 g, 1.46 mmol) の溶液を添加した。反応混合物を -78で 1 時間、次いで、0で 1 時間攪拌した。それを飽和 NH<sub>4</sub>Cl 水溶液でクエンチし、酢酸エチルで抽出した。混合有機相を塩水で洗浄し、乾燥させ (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)、濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィによって精製し (1%、次いで、10% 酢酸エチル / ヘキサン)、シアノ化物の混合物 12 (0.298 g, 79% の収率)を得た。

20

主要異性体：

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 4.04 (1H, s), 2.80 (1H, m), 1.22 (3H, s), 1.21 (3H, s), 0.97 (3H, d, J = 7.0 Hz), 0.94 (18H, t, J = 7.9 Hz), 0.90 (3H, s), 0.57 (6H, q, J = 7.9 Hz), 0.55 (6H, q, J = 7.9 Hz); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 121.43 (0), 72.66 (0), 69.19 (1), 54.29 (1), 52.81 (1), 42.96 (2), 41.94 (0), 40.42 (2), 36.58 (1), 36.48 (1), 34.34 (2), 30.16 (3), 29.57 (3), 27.21 (2), 25.86 (2), 22.68 (2), 17.59 (2), 14.37 (3), 13.78 (3), 7.08 (3), 6.92 (3), 6.70 (2), 4.90 (2); MS (EI) *m/z* M<sup>+</sup>なし, 491 (3), 476 (100), 345 (6), 280 (16), 246 (5), 216 (3), 189 (8), 155 (7), 132 (22), 91 (24);

30

C<sub>29</sub>H<sub>56</sub>NO<sub>2</sub>Si<sub>2</sub> [M - Et]<sup>+</sup>に対して計算された精密質量：506.3850、実測値：506.3848。

## 【0056】

(8S, 20S, 22) - デス - A, B - 8 - [(トリエチルシリル)オキシ] - 22 - ホルミル - 25 - [(トリエチルシリル)オキシ] - コレスタン (13)

-10で、ジクロロメタン (4 mL) 中のシアノ化物 12 (0.3 g, 0.56 mmol) の溶液に、水素化ジイソブチルアルミニウム (トルエン中 1.5 M、0.56 mL、0.119 g, 0.84 mmol) を添加した。反応混合物を -10で 1 時間攪拌し、次いで、飽和酒石酸カリウムナトリウム水溶液 (5 mL) でクエンチした。水相をジクロロメタンで抽出した。混合有機層を塩水で洗浄し、乾燥させ (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)、濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィによって精製し (3% 酢酸エチル / ヘキサン)、アルデヒドの混合物 13 (0.228 g, 76% の収率)を得た。

40

主要異性体：

50

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 9.78 (1H, d, J = 2.4 Hz), 4.04 (1H, d, J = 1.8 Hz), 2.52 (1H, m), 1.21 (3H, s), 1.20 (3H, s), 0.95 (9H, t, J = 7.9 Hz)によって覆われた 0.95 (3H, d, J = 8.0 Hz), 0.94 (9H, t, J = 7.9 Hz), 0.92 (3H, s), 0.56 (6H, q, J = 7.9 Hz), 0.55 (6H, q, J = 7.9 Hz); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 206.75 (1), 73.08 (0), 69.23 (1), 54.52 (1), 53.87 (1), 52.86 (1), 42.95 (2), 42.53 (0), 40.63 (2), 36.04 (1), 34.53 (2), 30.07 (3), 29.56 (3), 27.02 (2), 22.79 (2), 22.08 (2), 17.67 (2), 14.40 (3), 14.07 (3), 7.11 (3), 6.94 (3), 6.75 (2), 4.92 (2); MS (ESI) *m/z* 539 (100, [M+H]<sup>+</sup>), 561 (70, [M+Na]<sup>+</sup>), 1099 (57, [2M+Na]<sup>+</sup>);

10

C<sub>31</sub>H<sub>62</sub>O<sub>3</sub>Si<sub>2</sub>H [M + H]<sup>+</sup>に対して計算された精密質量：539.4316  
、実測値：539.4312。

## 【0057】

(8S, 20S, 22) - デス - A, B - 8 - [(トリエチルシリル)オキシ] - 22 - (ヒドロキシメチル) - 25 - [(トリエチルシリル)オキシ] - コレスタン (14)

0で、メタノール (4 mL) 中のアルデヒド 13 (0.23 g, 0.427 mmol) の溶液に、水素化ホウ素ナトリウム (0.2 g, 5.29 mmol) を添加した。反応混合物を室温まで温め、2時間攪拌し、次いで、水でクエンチし、酢酸エチルで抽出した。混合有機層を塩水で洗浄し、乾燥させ (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)、濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィによって精製し (3%、次いで、10% 酢酸エチル / ヘキサン)、無色油としてアルコールの混合物 14 (0.16 g, 70% の収率) を得た。

20

主要異性体：

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 4.03 (1H, d, J = 2.2 Hz), 3.75 (1H, dd, J = 10.5, 3.9 Hz), 3.41 (1H, dd, J = 10.5, 8.5 Hz), 1.96 (1H, m), 1.210 (3H, s), 1.206 (3H, s), 0.95 (18H, t, J = 7.9 Hz), 0.92 (3H, s), 0.73 (3H, d, J = 7.0 Hz), 0.57 (6H, q, J = 7.9 Hz), 0.55 (6H, q, J = 7.9 Hz); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 73.54 (0), 69.35 (1), 63.76 (2), 53.51 (1), 53.11 (1), 43.39 (1), 43.03 (2), 42.41 (0), 40.38 (2), 35.32 (1), 34.68 (2), 29.89 (3), 29.79 (3), 27.43 (2), 24.41 (2), 22.93 (2), 17.70 (2), 13.60 (3, C-18 および C-21), 7.12 (3), 6.94 (3), 6.77 (2), 4.94 (2);

30

微量異性体 (可視シグナル) :

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 3.61 (1H, dd, J = 10.9, 4.6 Hz), 3.47 (1H, dd, J = 10.9, 8.8 Hz); MS (ESI) *m/z* 541 (29, [M+H]<sup>+</sup>), 563 (100, [M+Na]<sup>+</sup>), 1103 (14, [2M+Na]<sup>+</sup>);

C<sub>31</sub>H<sub>64</sub>O<sub>3</sub>Si<sub>2</sub>Na [M + Na]<sup>+</sup>に対して計算された精密質量：563.4292  
、実測値：563.4313。

## 【0058】

(8S, 20S, 22) - デス - A, B - 8 - [(トリエチルシリル)オキシ] - 22 - [(p - トルエンスルホニル)オキシ]メチル - 25 - [(トリエチルシリル)オキシ] - コレスタン (15)

40

- 20で、乾燥ピリジン (3 mL) 中のアルコール 14 (0.16 g, 0.3 mmol) の混合物に、ピリジン (1 mL) 中の塩化トシリル (0.3 g, 1.57 mmol) の溶液を添加した。反応混合物を - 20で 1 時間、および + 4で 18 時間攪拌した。次いで、それを飽和 CuSO<sub>4</sub> 水溶液でクエンチし、ジクロロメタンで抽出した。混合有機相を乾燥させ (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)、濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィによって精製し (3%、次いで、5% 酢酸エチル / ヘキサン)、トシラートの混合物 15 (0.17 g, 83% の収率) を得た。

主要異性体：

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.79 (2H, d, J = 8.2 Hz), 7.34 (2H, d, J = 8.1 Hz), 4.06 (1H, dd, J = 9.0, 3.8 Hz), 3.99 (1H, d, J = 2.0 Hz), 3.80 (1H, t, J = 9.0 Hz), 2.44 (3H, s), 1.16 (3H, s), 1.14 (3H, s), 0.93 (9H, t, J = 7.8 Hz), 0.92 (9H, t, J = 7.8 Hz), 0.85 (3H, s), 0.66 (3H, d, J = 7.0 Hz), 0.54 (12H, q, J = 7.8 Hz); MS (ESI) m/z 717 (15, [M+Na]<sup>+</sup>);

C<sub>38</sub>H<sub>70</sub>O<sub>5</sub>SSi<sub>2</sub>Na [M+Na]<sup>+</sup>に対して計算された精密質量：717.4380、実測値：717.4363。

### 【0059】

#### (8S, 20S, 22 ) - デス - A , B - 8 - [ (トリエチルシリル) オキシ ] - 22 - メチル - 25 - [ (トリエチルシリル) オキシ ] - コlestan (16)

0で、乾燥ジエチルエーテル(5mL)中のトシラート15(0.17g, 0.24mmol)の溶液に、LiAlH<sub>4</sub>(0.2g, 5.26mmol)を添加した。反応混合物を+4で20時間攪拌した。過剰なLiAlH<sub>4</sub>を水で分解した。反応混合物をジエチルエーテルで希釈し、次いで、セライトに通して濾過した。濾液を酢酸エチルで抽出し、乾燥させ(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)、濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィによって精製し(3%、次いで、5%酢酸エチル/ヘキサン)、生成物の混合物16(96mg、75%の収率)を得た。

主要異性体：

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 4.03 (1H, d, J = 1.7 Hz), 1.93 (1H, m), 1.18 (6H, s), 0.95 (18H, t, J = 7.9 Hz), 0.90 (3H, s), 0.73 (3H, d, J = 6.7 Hz), 0.67 (3H, d, J = 6.8 Hz), 0.56 (6H, q, J = 7.9 Hz), 0.55 (6H, q, J = 7.8 Hz); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 73.48 (0), 69.47 (1), 53.62 (1), 53.23 (1), 43.29 (2), 42.25 (0), 40.39 (2), 38.10 (1), 34.74 (1および2), 30.31 (2), 29.89 (3, C-26およびC-27), 27.57 (2), 22.91 (2), 17.78 (2), 13.93 (3), 13.50 (3), 12.14 (3), 7.13 (3), 6.95 (3), 6.82 (2), 4.95 (2); MS (EI) m/z M<sup>+</sup>なし, 506 (0.9, M<sup>+</sup>-H<sub>2</sub>O), 495 (46, M<sup>+</sup>-Et), 481 (6), 391 (7), 363 (43), 349 (2), 307 (2), 259 (20), 245 (7), 225 (14), 173 (91), 135 (41), 103 (100);

C<sub>29</sub>H<sub>59</sub>O<sub>2</sub>Si<sub>2</sub> [M-Et]<sup>+</sup>に対して計算された精密質量：495.4054、実測値：495.4058。

### 【0060】

#### (8S, 20S, 22R) - デス - A , B - 22 - メチル - コlestan - 8 , 25 - ジオール (17) および (8S, 20S, 22S) - デス - A , B - 22 - メチル - コlestan - 8 , 25 - ジオール (18)

0で、THF(3mL)中の化合物16(96.4mg, 0.184mmol)の溶液に、フッ化テトラブチルアンモニウム(THF中1.0M、1mL、1mmol)を添加した。反応混合物を+4で20時間攪拌し、次いで、水で希釈し、酢酸エチルで抽出した。混合有機抽出液を乾燥させ(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)、濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィによって精製し(30%酢酸エチル/ヘキサン)、それぞれ、2:1の比率でジオール17および18の混合物(55mg、99%の収率)を得た(<sup>1</sup>H NMRに基づく)。異性体を酢酸エチルからの結晶化によって分離し、X線分析によって絶対配置を決定した。2回の結晶化後に異性体17の純粋結晶(38.9mg)を得、ジオール17の22R絶対配置を決定した。第2の結晶化後に、濾液から少量の異性体22Rを含有するジオール18(22S)(16.4mg)を得た。

17：融点133～134(EtOAc)；[ ]<sub>D</sub>+32.5(c 1.0, CHCl<sub>3</sub>)；

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 4.07

(1H, d, J = 1.9 Hz), 1.95 (1H, m), 1.21 (6H, s), 0.93 (3H, s), 0.76 (3H, d, J = 6.8 Hz), 0.69 (3H, d, J = 6.8 Hz); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 71.08 (0), 69.41 (1), 53.42 (1), 52.70 (1), 42.13 (2), 41.95 (0), 39.97 (2), 38.04 (1), 34.65 (1), 33.59 (2), 30.27 (2), 29.30 (3), 29.15 (3), 27.42 (2), 22.36 (2), 17.49 (2), 13.80 (3), 13.52 (3), 12.06 (3); MS (EI) *m/z* M<sup>+</sup> なし, 278 (46, M<sup>+</sup> - H<sub>2</sub>O), 260 (32, M<sup>+</sup> - 2H<sub>2</sub>O), 245 (16), 217 (9), 179 (20), 163 (47), 151 (48), 145 (63), 125 (69), 111 (100); MS (ESI) *m/z* 319 (18, [M+Na]<sup>+</sup>);

10

C<sub>19</sub>H<sub>36</sub>O<sub>2</sub>Na [M+Na]<sup>+</sup> に対して計算された精密質量: 319.2613、実測値: 319.2623。

18:

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 4.08 (1H, s), 1.93 (1H, m), 1.21 (6H, s), 0.92 (3H, s), 0.86 (3H, d, J = 6.8 Hz), 0.74 (3H, d, J = 6.8 Hz); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 71.28 (0), 69.40 (1), 53.03 (1), 52.56 (1), 42.34 (2), 41.91 (0), 40.49 (1), 39.83 (2), 34.99 (1), 33.54 (2), 29.21 (3), 29.12 (3), 27.05 (2), 24.62 (2), 22.46 (2), 18.35 (3), 17.49 (2), 13.60 (3), 13.07 (3); MS (EI) *m/z* 296 (15, M<sup>+</sup>), 278 (33, M<sup>+</sup> - H<sub>2</sub>O), 260 (15, M<sup>+</sup> - 2H<sub>2</sub>O), 246 (100), 210 (6), 196 (18), 181 (36), 163 (29), 125 (28), 111 (65);

20

C<sub>19</sub>H<sub>36</sub>O<sub>2</sub>Na [M+Na]<sup>+</sup> に対して計算された精密質量: 319.2613、実測値: 319.2605。

#### 【0061】

(20S, 22R)-デス- A, B-22-メチル-25-[ (トリエチルシリル)オキシ] -コレスタン-8-オン (19A)

ジクロロメタン (0.5 mL) 中の 4 - メチルモルホリンオキシド (36 mg, 0.307 mmol) の溶液に、分子篩 4 (60 mg) を添加した。混合物室温で 15 分間攪拌し、過ルテニウム酸テトラプロピルアンモニウム (3 mg, 8.54 μmol)、続いて、ジクロロメタン (400 + 300 μL) 中のジオール 17 (15 mg, 0.051 mmol) の溶液を添加した。得られた懸濁液を室温で 1 時間攪拌した。反応混合物を Waterless シリカ Sep-Pak カートリッジ (2 g) に通して濾過し、それをさらに酢酸エチルで洗浄した。溶媒の除去後、無色油としてケトン (15 mg) を得た。

30

#### 【0062】

-40 で、ジクロロメタン (2 mL) 中のケトン (15 mg, 0.051 mmol) および 2,6 - ルチジン (110 μL, 0.101 g, 0.94 mmol) の溶液に、トリフルオロメタンスルホン酸トリエチルシリル (60 μL, 70 mg, 0.265 mmol) を滴下添加した。反応混合物を -40 で 15 分間攪拌し、次いで、ジクロロメタンで希釈し、水で洗浄した。有機層を乾燥させ (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)、濃縮した。残渣を Waterless シリカ Sep-Pak カートリッジ (5 g) に通した。ヘキサン / 酢酸エチル (0.5 %、次いで、1 %) での溶出によって、保護されたケトン 19A (14 mg, 68 % の収率) を得た。

40

#### 【0063】

(20S, 22S)-デス- A, B-22-メチル-25-[ (トリエチルシリル)オキシ] -コレスタン-8-オン (19B)

ジクロロメタン (0.5 mL) 中の 4 - メチルモルホリンオキシド (51 mg, 0.435 mmol) の溶液に、分子篩 4 (60 mg) を添加した。混合物を室温で 15 分間攪拌し、過ルテニウム酸テトラプロピルアンモニウム (7 mg, 0.02 mmol)、続いて、ジクロロメタン (400 + 300 μL) 中のジオール 18 (14.3 mg, 0.048 mmol) の溶液を添加した。得られた懸濁液を室温で 1 時間攪拌した。反応混合物

50

をW a t e r sシリカS e p - P a kカートリッジ(2g)に通して濾過し、それをさらに酢酸エチルで洗浄した。溶媒の除去後、無色油としてケトン(15mg)を得た。

【0064】

-40度、ジクロロメタン(2mL)中のケトン(15mg、0.051mmol)および2,6-ルチジン(80μL、74mg、0.69mmol)の溶液に、トリフルオロメタンスルホン酸トリエチルシリル(40μL、46mg、0.176mmol)を滴下添加した。反応混合物を-40度で15分間攪拌し、次いで、ジクロロメタンで希釈し、水で洗浄した。有機層を乾燥させ(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)、濃縮した。残渣をW a t e r sシリカS e p - P a kカートリッジ(5g)に通した。ヘキサン/酢酸エチル(1%)での溶出によって、保護されたケトン19B(14.4mg、73%の収率)を得た。 10

<sup>1</sup>H NMR(500MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 2.45(1H, dd, J = 11.5, 7.2 Hz), 1.207(3H, s), 1.205(3H, s), 0.96(9H, t, J = 8.0 Hz), 0.85(3H, d, J = 6.8 Hz), 0.76(3H, d, J = 6.9 Hz), 0.62(3H, s), 0.58(6H, q, J = 8.0 Hz); <sup>13</sup>C NMR(125MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 212.11(0), 73.46(0), 61.90(1), 53.21(1), 50.04(0), 43.50(2), 41.00(2), 40.66(1), 38.44(2), 35.50(1), 30.09(3), 29.62(3), 27.17(2), 24.81(2), 24.03(2), 19.01(2), 18.29(3), 13.19(3), 12.49(3), 7.14(3), 6.81(2); MS(EI) m/z M<sup>+</sup>なし, 393(9, M<sup>+</sup>-CH<sub>3</sub>), 379(34, M<sup>+</sup>-Et), 350(17), 335(2), 293(2), 259(34), 239(6), 225(3), 206(7), 191(38), 173(100), 149(16), 135(80), 103(80), 75(67); MS(ESI) m/z 431(34, [M+Na]<sup>+</sup>), 839(100, [2M+Na]<sup>+</sup>), 1248(28, [3M+H+Na]<sup>+</sup>); 20

C<sub>25</sub>H<sub>48</sub>O<sub>2</sub>SiNa[M+Na]<sup>+</sup>に対して計算された精密質量: 431.332  
1、実測値: 431.3316。

【0065】

(20S, 22R)-2-メチレン-19-ノル-22-メチル-1, 25-ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub>(IIA)

-30度、無水THF(400μL)中のホスフィンオキシド20(50mg、86μmol)の攪拌溶液に、フェニルリチウム(ジ-n-ブチルエーテル中1.8M、45μL、6.8mg、0.081mmol)を添加した。30分後、混合物を-78度まで冷却し、無水THF(300+200μL)中のケトン19A(14mg、34μmol)の予冷した溶液を添加した。反応混合物をアルゴン下で、-78度で4時間、次いで、+4度で19時間攪拌した。酢酸エチルを添加し、有機相を塩水で洗浄し、乾燥させ(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)、濃縮した。残渣をW a t e r sシリカS e p - P a kカートリッジ(5g)に通した。カートリッジをヘキサンおよび酢酸エチル/ヘキサン(1:99)で洗浄し、保護されたビタミン21A(23.89mg、90%の収率)を得た。 30

UV(ヘキサン中) max 263.0, 253.0, 245.0nm;

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 6.22 (1H, d, J = 11.1 Hz, 6-H), 5.84 (1H, d, J = 11.1 Hz, 7-H), 4.97 (1H, s, =CH<sub>2</sub>), 4.92 (1H, s, =CH<sub>2</sub>), 4.43 (2H, m, 1β-H および 3α-H), 2.83 (1H, dm, J = 12.4 Hz), 2.52 (1H, dd, J = 13.3, 5.8 Hz, 10α-H), 2.46 (1H, dd, J = 12.5, 4.3 Hz, 4α-H), 2.33 (1H, dd, J = 13.3, 2.9 Hz, 10β-H), 2.18 (1H, dd, J = 12.5, 8.3 Hz, 4β-H), 2.00 (2H, m), 1.187 および 1.180 (各 3H, 各 s, 26-H<sub>3</sub>, 27-H<sub>3</sub>), 0.94 (9H, t, J = 7.9 Hz), 0.896 (9H, s, t-BuSi), 0.865 (9H, s, t-BuSi), 0.762 (3H, d, J = 6.7 Hz, 28-H<sub>3</sub>), 0.706 (3H, d, J = 5.8 Hz, 21-H<sub>3</sub>), 0.561 (6H, q, J = 7.9 Hz), 0.535 (3H, s, 18-H<sub>3</sub>), 0.080 (3H, s, SiMe), 0.067 (3H, s, SiMe), 0.049 (3H, s, SiMe), 0.026 (3H, s, SiMe); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 152.98 (0, C-2), 141.24 (0, C-8), 132.72 (0, C-5), 122.42 (1, C-6), 116.13 (1, C-7), 106.25 (2, =CH<sub>2</sub>), 73.50 (0, C-25), 72.53 および 71.63 (各 1, C-1, C-3), 56.35 (1), 53.54 (1), 47.61 (2), 45.73 (0, C-13), 43.33 (2), 40.28 (2), 39.03 (1), 38.56 (2), 35.03 (1), 30.37 (2), 29.89 および 29.85 (各 3, C-26, C-27), 28.78 (2), 27.88 (2), 25.84 (3), 25.77 (3), 23.44 (2), 22.10 (2), 18.25 (0), 18.16 (0), 13.93 (3), 12.24 (3), 11.96 (3), 7.13 (3), 6.82 (2), -4.87 (3), -5.10 (3); MS (ESI) m/z 795 (20, [M+Na<sup>+</sup>]);

C<sub>46</sub>H<sub>88</sub>O<sub>3</sub>Si<sub>3</sub>Na [M + Na]<sup>+</sup> に対して計算された精密質量 (E S I) : 795.5939、実測値: 795.5946。 10

### 【0066】

保護されたビタミン 21A (23.89 mg、30.9 μmol) を THF (4 mL) およびアセトニトリル (3 mL) 中に溶解した。0 で、アセトニトリル中の水性 48% HF の溶液 (1:9 の比率、4 mL) を添加し、得られた混合物を室温で 2 時間攪拌した。飽和 NaHCO<sub>3</sub> 水溶液を添加し、反応混合物をジクロロメタンで抽出した。混合有機相を乾燥させ (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)、減圧下で濃縮した。残渣を 2 mL のヘキサン / 酢酸エチル (7:3) で希釈し、Water's シリカ Sep-Pak カートリッジ (5 g) に通した。ヘキサン / 酢酸エチル (7:3、次いで、1:1) での溶出によって、粗生成物 II A を得た。ビタミン II A を、順相 HPLC [9.4 × 250 mm Zorbax シリカカラム、4 mL / 分、ヘキサン / 2-プロパノール (85:15) 溶媒系、R<sub>t</sub> = 7.9 分] および逆相 HPLC [9.4 × 250 mm Zorbax RX-C18 カラム、3 mL / 分、メタノール / 水 (85:15) 溶媒系、R<sub>t</sub> = 14.7 分] によってさらに精製し、純粋化合物 II A (10.285 mg、77% の収率) を得た。 20

融点 117 (Et<sub>2</sub>O); UV (EtOH 中) <sub>max</sub> 261.5, 252.0, 244.5 nm;

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ

6.35 (1H, d, J = 11.2 Hz, 6-H), 5.89 (1H, d, J = 11.2 Hz, 7-H), 5.11 (1H, s, =CH<sub>2</sub>), 5.08 (1H, s, =CH<sub>2</sub>), 4.46 (2H, m, 1β-H および 3α-H), 2.85 (1H, dd, J = 13.8, 4.4 Hz, 4α-H), 2.82 (1H, m), 2.56 (1H, dd, J = 13.3, 3.5 Hz, 10β-H), 2.33 (1H, dd, J = 13.3, 6.0 Hz, 10α-H), 2.29 (1H, dd, J = 13.8, 8.4 Hz, 4β-H), 1.21 (6H, s, 26-H<sub>3</sub>, 27-H<sub>3</sub>), 0.78 (3H, d, J = 6.7 Hz, 28-H<sub>3</sub>), 0.71 (3H, d, J = 5.7 Hz, 21-H<sub>3</sub>), 0.54 (3H, s, 18-H<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 151.98 (0, C-2), 143.25 (0, C-8), 130.52 (0, C-5), 124.14 (1, C-6), 115.36 (1, C-7), 107.69 (2, =CH<sub>2</sub>), 71.76 (1), 71.14 (0), 70.58 (1), 56.34 (1), 53.48 (1), 45.80 (0), 45.74 (2), 42.11 (2), 40.08 (2), 38.81 (1), 38.12 (2), 34.96 (1), 30.24 (2), 29.26 (3), 29.12 (3), 28.93 (2), 27.78 (2), 23.44 (2), 22.11 (2), 13.88 (3), 12.14 (3), 12.04 (3); MS (EI) m/z M<sup>+</sup>なし, 401 (100, M<sup>+</sup> - Et), 383 (52, M<sup>+</sup> - Et - H<sub>2</sub>O), 351 (15), 314 (14), 289 (39), 272 (27), 236 (38), 202 (10), 173 (19), 144 (42), 120 (95), 94 (59); MS (ESI) m/z 453 (100, [M+Na]<sup>+</sup>), 883 (25, [2M+Na]<sup>+</sup>), 1314 (5, [3M+H+Na]<sup>+</sup>);

C<sub>28</sub>H<sub>46</sub>O<sub>3</sub>Na [M+Na]<sup>+</sup>に対して計算された精密質量: 453.3345、実測値: 453.3329。

【0067】

(20S, 22S)-2-メチレン-19-ノル-22-メチル-1, 25-ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub>(IIB)

-30で、無水THF (400 μL) 中のホスフィンオキシド 20 (55 mg, 86 μmol) の攪拌溶液に、フェニルリチウム (ジ-n-ブチルエーテル中 1.83 M, 50 μL, 7.7 mg, 0.091 mmol) を添加した。30分後、混合物を -78まで冷却し、無水THF (300 + 200 μL) 中のケトン 19B (14.4 mg, 35 μmol) の予冷した溶液を添加した。反応混合物をアルゴン下で、-78で4時間、次いで、+4で19時間攪拌した。酢酸エチルを添加し、有機相を塩水で洗浄し、乾燥させ (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)、濃縮した。残渣を WatersシリカSep-Pak カートリッジ (5 g) に通した。カートリッジをヘキサンおよび酢酸エチル/ヘキサン (2:98) で洗浄し、保護されたビタミン 21B (23.618 mg, 87%の収率)を得た。

UV (ヘキサン中) <sub>m a x</sub> 263.0, 253.5, 245.5 nm;

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 6.22 (1H, d, J =

11.2 Hz, 6-H), 5.84 (1H, d, J = 11.2 Hz, 7-H), 4.97 (1H, s, =CH<sub>2</sub>), 4.92 (1H, s, =CH<sub>2</sub>), 4.43 (2H, m, 1β-H および 3α-H), 2.83 (1H, dm, J = 12.5 Hz), 2.52 (1H, dd, J = 13.2, 6.1 Hz, 10α-H), 2.46 (1H, dd, J = 12.7, 4.1 Hz, 4α-H), 2.33 (1H, dd, J = 13.2, 2.9 Hz, 10β-H), 2.18 (1H, dd, J = 12.7, 8.4 Hz, 4β-H), 2.00 (1H, m), 1.19 (6H, s, 26-H<sub>3</sub>, 27-H<sub>3</sub>), 0.95 (9H, t, J = 7.9 Hz), 0.897 (9H, s, t-BuSi), 0.865 (9H, s, t-BuSi), 0.84 (3H, d, J = 6.8 Hz), 0.75 (3H, d, J = 6.8 Hz), 0.57 (6H, q, J = 7.9 Hz), 0.53 (3H, s, 18-H<sub>3</sub>), 0.080 (3H, s, SiMe), 0.067 (3H, s, SiMe), 0.049 (3H, s, SiMe), 0.026 (3H, s, SiMe); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 152.98 (0, C-2), 141.24 (0, C-8), 132.71 (0, C-5), 122.43 (1, C-6), 116.08 (1, C-7), 106.25 (2, =CH<sub>2</sub>), 73.57 (0, C-25), 72.53 および 71.63 (各 1, C-1, C-3), 56.21 (1), 53.17 (1), 47.61 (2), 45.74 (0, C-13), 43.50 (2), 41.31 (1), 40.09 (2), 38.55 (2), 35.34 (1), 29.96 (3) および 29.73 (各 3, C-26 および C-27), 28.80 (2), 27.45 (2), 25.84 (3), 25.78 (3), 24.82 (2), 23.44 (2), 22.17 (2), 18.43 (3), 18.25 (0), 18.16 (0), 13.17 (3), 12.10 (3), 7.15 (3), 6.82 (2), -4.87 (3), -5.10 (3)

10

20

30

40

50

## 【0068】

保護されたビタミン21B(23.518mg、30.5μmol)をTHF(4mL)およびアセトニトリル(3mL)中に溶解した。0で、アセトニトリル中の水性48%HFの溶液(1:9の比率、4mL)を添加し、得られた混合物を室温で2時間攪拌した。飽和NaHCO<sub>3</sub>水溶液を添加し、反応混合物をジクロロメタンで抽出した。混合有機相を乾燥させ(Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)、減圧下で濃縮した。残渣を2mLのヘキサン/酢酸エチル(7:3)で希釈し、Water'sシリカSep-Pakカートリッジ(5g)に通した。ヘキサン/酢酸エチル(7:3、次いで、1:1)での溶出によって、粗生成物IIBを得た。ビタミンIIBを、順相HPLC[9.4×250mm Zorbaxシリカカラム、4mL/分、ヘキサン/2-プロパノール(85:15)溶媒系、R<sub>t</sub>=7.3分]および逆相HPLC[9.4×250mm Zorbax RX-C18カラム、3mL/分、メタノール/水(85:15)溶媒系、R<sub>t</sub>=11.7分]によってさらに精製し、ビタミンIIB(6.56mg、50%の収率)およびその(22R)エピマー(2.92mg、22%の収率)を得た。UV(EtOH中)<sub>max</sub> 261.5, 252.5, 245.0nm;

<sup>1</sup>H NMR(500

MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 6.35 (1H, d, J = 11.2 Hz, 6-H), 5.89 (1H, d, J = 11.2 Hz, 7-H), 5.11 (1H, s, =CH<sub>2</sub>), 5.09 (1H, s, =CH<sub>2</sub>), 4.46 (2H, m, 1β-Hおよび3α-H), 2.85 (1H, dd, J = 13.0, 4.4 Hz, 4α-H), 2.82 (1H, dm, J = 13.7 Hz), 2.57 (1H, dd, J = 13.4, 3.8 Hz, 10β-H), 2.33 (1H, dd, J = 13.4, 6.2 Hz, 10α-H), 2.29 (1H, dd, J = 13.0, 8.4 Hz, 4β-H), 2.03 (1H, m), 1.91 (dm, J = 12.1 Hz), 1.22 (6H, s, 26-H<sub>3</sub>, 27-H<sub>3</sub>), 0.86 (3H, d, J = 6.8 Hz), 0.76 (3H, d, J = 6.8 Hz), 0.54 (3H, s, 18-H<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 151.96 (0, C-2), 143.31 (0, C-8), 130.46 (0, C-5), 124.22 (1, C-6), 115.32 (1, C-7), 107.71 (2, =CH<sub>2</sub>), 71.79 および 70.66 (各1, C-1, C-3), 71.25 (0, C-25), 56.21 (1), 53.06 (1), 45.86 (0, C-13), 45.78 (2), 42.36 (2), 41.15 (1), 39.93 (2), 38.14 (2), 35.40 (1), 29.19 (3, C-26 および C-27), 28.95 (2), 27.37 (2), 24.80 (2), 23.47 (2), 22.23 (2), 18.32 (3), 13.20 (3), 12.14 (3); MS (EI) *m/z* 430 (9, M<sup>+</sup>), 412 (3, M<sup>+</sup>-H<sub>2</sub>O), 328 (7), 313 (8), 297 (5), 251 (5), 227 (3), 211 (5), 194 (48), 161 (12), 135 (51), 105 (100);

C<sub>28</sub>H<sub>46</sub>O<sub>3</sub>[M]<sup>+</sup>に対して計算された精密質量: 430.3447、実測値: 430.3447。

## 【0069】

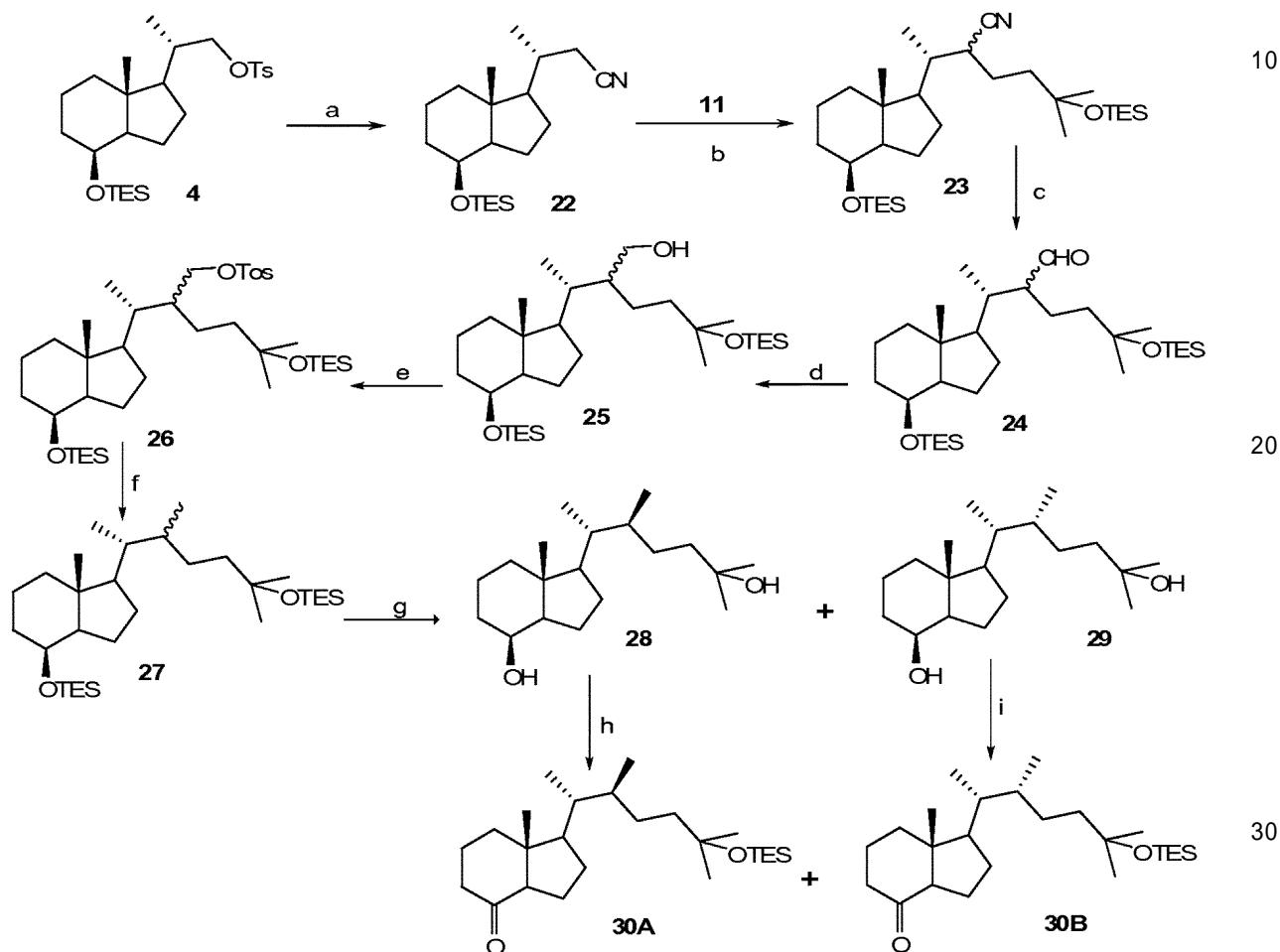
実施例1B: (20R, 22S)-2-メチレン-19-ノル-22-メチル-1,2-5-ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub>および(20R, 22R)-2-メチレン-19-ノル-22-メチル-1,2-5-ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub>の合成

スキーム4および5に示す方法を使用して、式I、式II、式III、および式IIDの化合物を調製した。スキーム4に示すように、化合物4をDMSO中のシアノ化ナトリウムと反応させ、シアノ化物22を得た。次いで、シアノ化合物22を、n-ブチルリチウムおよびジイソプロピルアミンの混合物の存在下で、4-ブロモ-2-メチル-1-トリエチルシリルオキシブタン(11)で処理し、化合物23を得た。化合物23のシアノ基を、ジクロロメタン中の水素化ジイソブチルアルミニウムで処理することによって、対応アルデヒド24に変換した。次いで、メタノール中の水素化ホウ素ナトリウムを使用して、アルデヒド24をアルコール25に還元した。次いで、化合物25の遊離ヒドロキル基をピリジン中の塩化トシリルと反応させ、還元剤として水素化アルミニウムリチウムを使用して、得られたトシリル保護化合物26を対応アルカン27に還元した。次いで、THF中のフッ化テトラブチルアンモニウムを使用して、トリエチルシリル保護ジヒドロキシ化合物27を脱保護し、そのようにして得られたジオールのラセミ混合物を、酢酸エチル

からの結晶化によって分離し、2つの別々の異性体である、22Sジオール28および22Rジオール29を得た。次いで、ジオール28および29のそれぞれを別々に酸化させ(TPAP/4-MMOまたはPDC/PPTS)、それぞれ、ケトンを生成した。各ケトンを独立して、ジクロロメタン中のトリフルオロメタンスルホン酸トリエチルシリルおよび2,6-ルチジンでさらに処理し、トリエチルシリル保護ケトン22S化合物30Aまたは22R化合物30Bを得た。

## 【0070】

## スキーム4



~~~は、RまたはS配置のいずれかにおける炭素を示す。

a) NaCN, DMSO (22, 97%)

b) 1. n-BuLi, DIPEA, THF; 2. 11 (23, 93%)

c) DIBAL, トルエン、DCM (24, 79%)

d) NaBH₄, MeOH (25, 71%)

e) ToscCl, ピリジン (26, 92%)

f) LiAlH₄, DEE (27, 80%)

g) 1. TBAB, THF (28および29, 99%); 2. EtOAcからの結晶化

h) 1. PDC, PPTS, DCM; 2. TESOTf, 2,6-ルチジン、DCM (30A, 53%)

i) 1. 分子篩4、4-MMO、TPAP、DCM; 2. TESOTf, 2,6-ルチジン、DCM (30B, 95%)

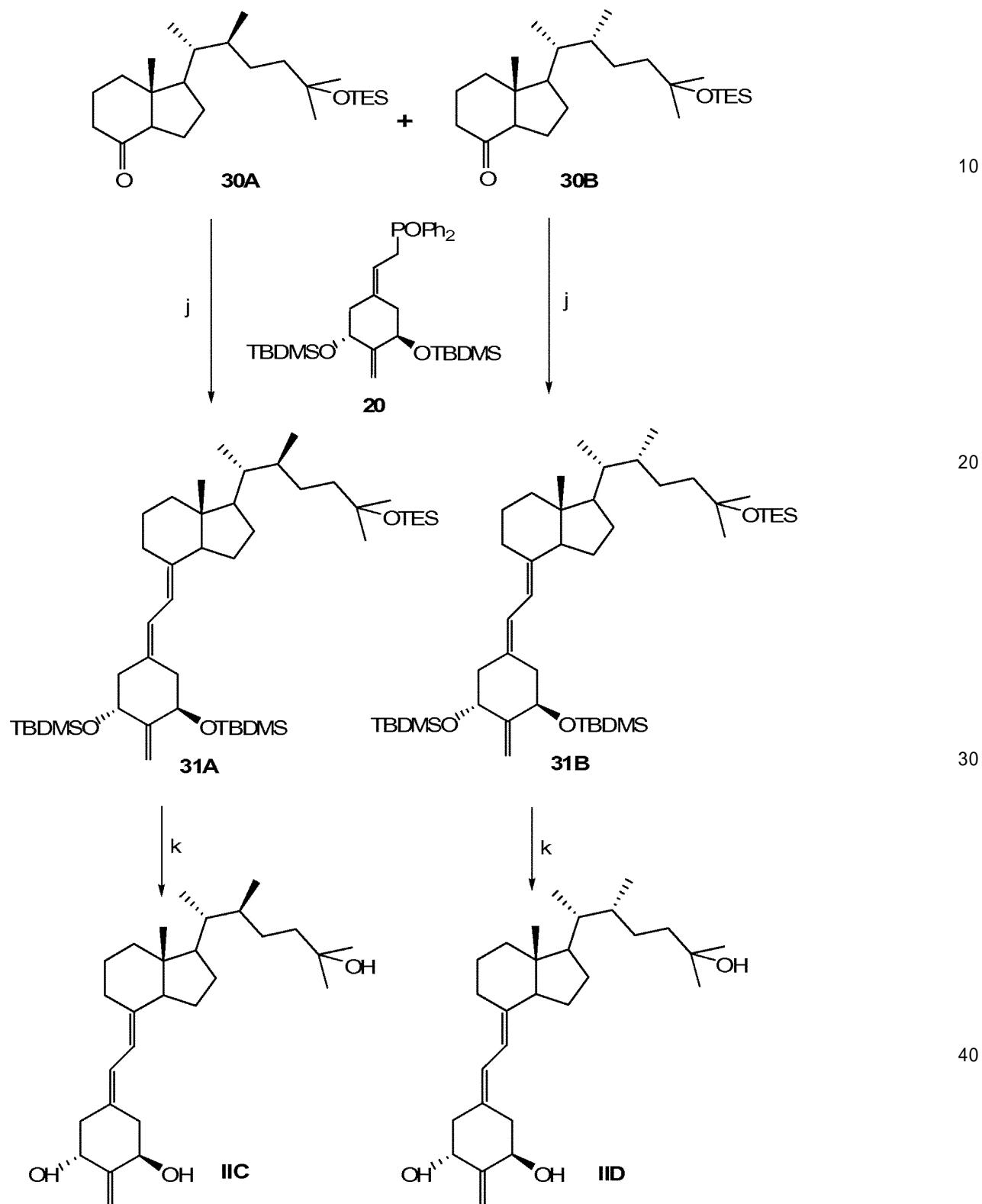
【0071】

スキーム5は、化合物30Aまたは30Bの化合物IIICまたはIIDへの変換を図示する。スキーム5に示すように、フェニルリチウムの存在下で、ホスフィンオキシド(化合物20)と、保護されたGrundmannケトン(化合物30Aまたは30B)のWittig-Horner縮合を実施した。最後に、フッ化水素酸の存在下で、化合物3

1 A または 31 B 中のヒドロキシ基の脱保護によって、標的化合物（化合物 II C または II D）を生成した。

【0072】

スキーム 5



j) PhLi、THF、20 (31A、90 %) (31B、91 %)

k) HF、MeCN、THF (II C、79 %) (II D、78 %)

【0073】

(8S , 20S) - デス - A , B - 8 - [(トリエチルシリル) オキシ] - 20 - (シアノメチル) - プレグナン (22)

乾燥 D M S O (8 m L) 中のトシラート 4 (0 . 8 4 g、 1 . 7 5 m m o l) の溶液に、シアノ化ナトリウム (2 g、 4 1 m m o l) を添加した。得られた混合物を 9 0 ° で 3 時間攪拌し、次いで、冷却し、水で希釈し、酢酸エチルで抽出した。混合有機相を乾燥させ (N a 2 S O 4) 、濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィによって精製し (1 0 % 酢酸エチル / ヘキサン) 、無色油としてシアノ化物 2 2 (0 . 5 7 g、 9 7 % の収率) を得た。

[] D + 1 6 . 6 ° (c 1 . 0 , C H C l 3) ;

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.04 (1H, d, J = 2.1 Hz), 2.34 (1H, dd,

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

C₂₀H₃₇ONSi (M⁺) に対して計算された精密質量 : 335.2644、実測値 : 335.2656。

【 0 0 7 4 】

(8 S , 2 0 R , 2 2) - デス - A , B - 8 - [(ト リ エ チ ル シ リ ル) オ キ シ] - 2 2
- シアノ - 2 5 - [(ト リ エ チ ル シ リ ル) オ キ シ] - コ レ ス タ ネ (2 3)

0 ° で、 T H F (4 m L) 中のジイソプロピルアミン (0 . 6 m L, 0 . 4 3 g、 4 . 2 5 m m o l) の溶液に、 n - ブチルリチウム (ヘキサン中 1 . 6 M, 2 . 7 m L, 0 . 2 8 g、 4 . 3 2 m m o l) を添加した。得られた混合物を 0 ° で 3 0 分間攪拌し、次いで、 - 7 8 ° まで冷却し、 T H F (5 m L) 中のシアノ化物 2 2 (0 . 5 7 g、 1 . 7 0 m m o l) の溶液を添加した。混合物を - 7 8 ° で 3 0 分間攪拌し、臭化物 1 1 (0 . 9 6 g、 3 . 4 2 m m o l) の溶液を添加した。反応混合物を - 7 8 ° で 1 時間、次いで、 0 ° で 1 時間攪拌した。それを飽和 N H₄ C l 水溶液でクエンチし、酢酸エチルで抽出した。混合有機相を塩水で洗浄し、乾燥させ (N a 2 S O 4) 、濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィによって精製し (1 . 5 %、 3 %、 および 1 0 % 酢酸エチル / ヘキサン) 、シアノ化物の混合物 2 3 (0 . 8 5 g、 9 3 % の収率) を得た。

主要異性体 :

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.03 (1H, s), 2.56 (1H, m), 1.22 (3H, s), 1.21 (3H, s), 1.04 (3H, d, J = 6.6 Hz), 0.944 (18H, t, J = 7.8 Hz), 0.923 (3H, s), 0.57 (6H, q, J = 7.8 Hz), 0.55 (6H, q, J = 7.8 Hz);

微量異性体 (可視シグナル) :

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1.08 (3H,

d, J = 6.8 Hz); MS (EI) m/z 492 (36), 478 (6), 390 (11), 374 (96), 351 (53), 322 (11), 271 (18), 225 (13), 201 (23), 185 (25), 173 (75), 131 (51), 103 (100); MS (ESI) m/z 558 (30, [M+Na]⁺), 1093 (20, [2M+Na]⁺);

C₃₁H₆₁NO₂Si₂Na [M + N a]⁺ に対して計算された精密質量 : 558.4139、実測値 : 558.4141。

【 0 0 7 5 】

(8 S , 2 0 R , 2 2) - デス - A , B - 8 - [(ト リ エ チ ル シ リ ル) オ キ シ] - 2 2

- ホルミル - 2 5 - [(ト リ エ チ ル シ リ ル) オ キ シ] - コ レ ス タ ネ (2 4)

- 1 0 ° で、ジクロロメタン (1 0 m L) 中のシアノ化物 2 3 (0 . 8 1 g、 1 . 5 1 m m o l) の溶液に、水素化ジイソブチルアルミニウム (トルエン中 1 . 5 M, 1 . 4 m

20

30

40

50

L、0.3 g、2.1 mmol)を添加した。反応混合物を-10で1時間攪拌し、次いで、飽和酒石酸カリウムナトリウム水溶液(5mL)でクエンチした。水相をジクロロメタンで抽出した。混合有機層を塩水で洗浄し、乾燥させ(Na₂SO₄)、濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィによって精製し(3%酢酸エチル/ヘキサン)、アルデヒドの混合物24(0.64g、79%の収率)を得た。

主要異性体：

¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ 9.72 (1H, d, J = 3.2 Hz), 4.03 (1H, br s), 1.20 (6H, s), 1.02 (3H, d, J = 7.0 Hz), 0.944 (9H, t, J = 7.8 Hz), 0.939 (9H, t, J = 7.8 Hz), 0.920 (3H, s), 0.563 (6H, q, J = 7.8 Hz), 0.554 (6H, q, J = 7.8 Hz);

微量異性体(可視シグナル)：

¹H NMR

(400 MHz, CDCl₃) δ 9.63 (1H, s); MS (EI) m/z 453 (1), 377 (5), 353 (8), 321 (18), 295 (8), 257 (20), 201 (53), 173 (88), 163 (43), 135 (26), 115 (59), 103 (100); MS (ESI) m/z 561 (80, [M+Na]⁺), 1099 (40, [2M+Na]⁺);

C₃H₆O₃Si₂Na [M+Na]⁺に対して計算された精密質量：561.4135、実測値：561.4139。

【0076】

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

0で、メタノール(10mL)中のアルデヒド24(0.64g、1.19mmol)の溶液に、水素化ホウ素ナトリウム(0.44g、11.63mmol)を添加した。反応混合物を室温まで温め、2時間攪拌し、次いで、水でクエンチし、酢酸エチルで抽出した。混合有機層を塩水で洗浄し、乾燥させ(Na₂SO₄)、濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィによって精製し(3%、10%酢酸エチル/ヘキサン)、無色油としてアルコールの混合物25(0.46g、71%の収率)を得た。

主要異性体：

¹H NMR(500 MHz, CDCl₃) δ 4.03 (1H, br s), 3.71 (1H, dd, J = 10.7, 4.2 Hz), 3.39 (1H, dd, J = 10.7, 8.0 Hz), 1.205 (6H, s), 0.946 (18H, t, J = 7.9 Hz), 0.909 (3H, s), 0.798 (3H, d, J = 7.1 Hz), 0.568 (6H, q, J = 7.9 Hz), 0.551 (6H, q, J = 7.9 Hz);

微量異性体(可視シグナル)：

¹H NMR(500 MHz, CDCl₃) δ 3.61 (1H, dd, J = 10.8, 4.8 Hz), 3.46 (1H, dd, J = 10.8, 9.2 Hz), 0.784 (1H, d, J = 7.3 Hz); MS (EI) m/z 453 (1), 425 (2), 391 (40), 340 (5), 311 (57), 297 (27), 259 (35), 225 (37), 207 (24), 191 (40), 173 (72), 163 (46), 135 (100); MS (ESI) m/z 563 (100, [M+Na]⁺), 1103 (50, [2M+Na]⁺);

C₃H₆O₃Si₂Na [M+Na]⁺に対して計算された精密質量：563.4292、実測値：563.4298。

【0077】

(8S,20R,22)-デス-A,B-8-[トリエチルシリル)オキシ]-22-メチル-25-[トリエチルシリル)オキシ]-コレスタン(27)

-20で、乾燥ピリジン(4mL)中のアルコール25(0.46g、0.85mmol)の混合物に、ピリジン(2mL)中の塩化トシリル(0.66g、3.46mmol)の溶液を添加した。反応混合物を-20で1時間、および+4で18時間攪拌した。次いで、それを飽和水性CuSO₄溶液に注入し、ジクロロメタンで抽出した。混合有機相を乾燥させ(Na₂SO₄)、濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィ

10

20

30

40

50

によって精製し(3%酢酸エチル/ヘキサン)、トシラートの混合物26(0.54g、92%の収率)を得た。0で、乾燥ジエチルエーテル(10mL)中のトシラート26(0.53g、0.76mmol)の溶液に、LiAlH₄(0.4g、10.53mmol)を添加した。反応混合物を+4で20時間攪拌した。過剰なLiAlH₄を水で分解した。反応混合物をジエチルエーテルで希釈し、次いで、セライトに通して濾過した。濾液を酢酸エチルで抽出し、乾燥させ(Na₂SO₄)、濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィによって精製し(3%酢酸エチル/ヘキサン)、生成物の混合物27(0.32g、80%の収率)を得た。

主要異性体：

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.03 (1H, br s), 1.94 (1H, m), 1.182 (6H, s), 0.952 (18H, t, J = 7.9 Hz), 0.917 (3H, s), 0.733 (3H, d, J = 6.6 Hz), 0.690 (3H, d, J = 6.7 Hz), 0.565 (6H, q, J = 7.9 Hz), 0.556 (6H, q, J = 7.9 Hz);

微量異性体(可視シグナル)：

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.902 (3H, s), 0.843 (3H, d, J = 6.8 Hz), 0.764 (3H, d, J = 6.5 Hz); MS (EI) *m/z* 496 (62), 481 (6), 391 (11), 363 (60), 259 (28), 246 (42), 225 (25), 173 (90), 135 (66), 103 (100); MS (ESI) *m/z* 547 (5, [M+Na]⁺);

C₃₁H₆₄O₂Si₂Na [M+Na]⁺に対して計算された精密質量：547.43
43、実測値：547.4355。

【0078】

(8S, 20R, 22S)-デス-A, B-22-メチル-コレスタン-8, 25-ジオール(28)および(8S, 20R, 22R)-デス-A, B-22-メチル-コレスタン-8, 25-ジオール(29)

0で、THF(3mL)中の化合物27(0.31g、0.59mmol)の溶液に、フッ化テトラブチルアンモニウム(THF中1.0M、3.4mL、3.4mmol)を添加した。反応混合物を+4で20時間攪拌し、次いで、水で希釈し、酢酸エチルで抽出した。混合有機抽出液を乾燥させ(Na₂SO₄)、濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィによって精製し(10%、50%酢酸エチル/ヘキサン)、それぞれ、2:1の比率で、ジオール28および29の混合物(0.17g、99%の収率)を得た(¹H NMRに基づく)。異性体を酢酸エチルからの結晶化によって分離し、X線分析によって絶対配置を決定した。第1の結晶化後に異性体28の純粋結晶(96mg)を得、ジオール28の22S絶対配置を決定した。第1の結晶化後に、濾液から他の異性体29の純粋結晶(44.6mg)を得、ジオール29の22R絶対配置を決定した。第2の結晶化後に、濾液からジオール28の純粋結晶(16mg)の第2のバッチを得た。28: []_D + 15.4° (c 1.0, CHCl₃)；融点147~148 (EtOAc)；

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 4.07 (1H, s), 1.98 (1H, dm, J = 12.8 Hz), 1.209 (6H, s), 0.934 (3H, s), 0.750 (3H, d, J = 6.7 Hz), 0.711 (3H, d, J = 6.8 Hz); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 71.13 (0), 69.42 (1), 54.26 (1), 52.63 (1), 42.18 (2), 41.78 (0), 40.50 (2), 38.14 (1), 34.84 (1), 33.59 (2), 30.26 (2), 29.28 (3), 29.19 (3), 26.72 (2), 22.42 (2), 17.45 (2), 13.47 (3), 13.08 (3), 12.19 (3); MS (EI) *m/z* M⁺なし, 277 (45), 259 (36), 244 (23), 216 (16), 189 (19), 178 (35), 162 (72), 151 (33), 134 (100), 135 (33), 111 (72); MS (ESI) *m/z* 319 (60, [M+Na]⁺), 615 (100, [2M+Na]⁺), 911 (15, [3M+Na]⁺);

10

20

30

40

50

C₁₉H₃₆O₂Na (MNa⁺) に対して計算された精密質量：319.2613、実測値：319.2621。

29: []_D + 34.0° (c 1.0, CHCl₃) ; 融点 108~110 (EtOAc) ;

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 4.06

(1H, s), 1.97 (1H, dm, J = 12.9 Hz), 1.209 (3H, s), 1.199 (3H, s), 0.922 (3H, s), 0.866 (3H, d, J = 6.8 Hz), 0.779 (3H, d, J = 6.6 Hz); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 71.17 (0), 69.39 (1), 54.25 (1), 52.57 (1), 42.78 (2), 41.78 (0), 40.89 (1), 40.46 (2), 35.03 (1), 33.60 (2), 29.55 (3), 29.00 (3), 26.82 (2), 23.70 (2), 22.45 (2), 18.89 (3), 17.45 (2), 13.45 (3), 12.87 (3); MS (EI) m/z M⁺なし, 278 (53), 260 (22), 245 (17), 217 (7), 191 (12), 179 (13), 163 (52), 151 (31), 135 (48), 111 (100); MS (ESI) m/z 319 (45, [M+Na]⁺), 615 (55, [2M+Na]⁺), 911 (10, [3M+Na]⁺);

C₁₉H₃₆O₂Na (MNa⁺) に対して計算された精密質量：319.2613、実測値：319.2619。

【0079】

(20R, 22S)-デス-ア, B-22-メチル-25-[(トリエチルシリル) オキシ] -コレスタン-8-オン (30A)

乾燥ジクロロメタン (5 mL) 中のジオール 28 (24.9 mg, 84 μmol) の溶液に、重クロム酸ピリジニウム (0.18 g, 0.48 mmol) およびピリジニウム p-トルエンスルホネート (24 mg, 95 μmol) を一度に添加した。反応混合物を室温で 1 時間 15 分攪拌し、次いで、水でクエンチし、ジクロロメタンで抽出した。混合有機層を乾燥させ (Na₂SO₄)、濃縮した。残渣を Waters シリカ Sep-Pak カートリッジ (2 g) に通した。ジクロロメタンでの溶出によって、ケトン (23.6 mg)を得た。-40 で、乾燥ジクロロメタン (2 mL) 中のケトン (23.6 mg) および 2,6-ルチジン (30 μL, 27.6 mg, 0.26 mmol) の溶液に、トリフルオロメタンスルホン酸トリエチルシリル (25 μL, 29.2 mg, 0.11 mmol) を滴下添加した。反応混合物を -40 で 15 分間攪拌し、次いで、ジクロロメタンで希釈し、水で洗浄した。有機層を乾燥させ (Na₂SO₄)、濃縮した。残渣を Waters シリカ Sep-Pak カートリッジ (10 g) に通した。酢酸エチル / ヘキサン (2:98、次いで、5:95) での溶出によって、保護されたケトン 30A (18.2 mg、2ステップにおいて 53% の収率)を得た。

[]_D - 7.8° (c 1.0, CHCl₃);

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 2.46 (1H, dd, J = 11.4, 7.5 Hz), 1.176

(6H, s), 0.935 (9H, t, J = 7.9 Hz), 0.797 (3H, d, J = 6.6 Hz), 0.719 (3H, d, J = 6.7 Hz), 0.643 (3H, s), 0.553 (6H, q, J = 7.9 Hz); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 212.20 (0), 73.38 (0), 62.01 (1), 54.47 (1), 49.90 (0), 43.25 (2), 40.98 (2), 39.09 (2), 38.43 (1), 35.00 (1), 30.19 (2), 29.86 (3), 29.82 (3), 27.17 (2), 24.09 (2), 18.96 (2), 13.14 (3), 12.44 (3), 12.37 (3), 7.10 (3), 6.77 (2); MS (EI) m/z M⁺なし, 393 (13), 379 (38), 350 (35), 259 (43), 203 (17), 173 (100), 163 (64), 135 (84), 103 (99); MS (ESI) m/z 431 (2, [M+Na]⁺), 839 (20, [2M+Na]⁺), 1248 (60, [3M+H+Na]⁺);

C₂₅H₄₈O₂SiNa (MNa⁺) に対して計算された精密質量：431.3321、実測値：431.3318。

【0080】

(20R, 22R)-デス-ア, B-22-メチル-25-[(トリエチルシリル) オキシ] -コレスタン-8-オン (30B)

ジクロロメタン (0.25 mL) 中の 4-メチルモルホリンオキシド (33 mg, 0.

10

20

30

40

50

28.2 mmol) 溶液に、分子篩4 (60 mg) を添加した。混合物を室温で15分間攪拌し、過ルテニウム酸テトラプロピルアンモニウム (2 mg, 5.7 μmol)、続いて、ジクロロメタン (300 + 250 μL) 中のジオール29 (16 mg, 54 μmol) の溶液を添加した。得られた懸濁液を室温で1時間攪拌した。反応混合物を Waters シリカ Sep-Pak カートリッジ (2 g) に通して濾過し、それを酢酸エチルでさらに洗浄した。溶媒の除去後、無色油としてケトン (14.4 mg, 89% の収率)を得た。

【0081】

-40 で、ジクロロメタン (2 mL) 中のケトン (14.4 mg, 49 μmol) および 2,6-ルチジン (20 μL, 18 mg, 0.17 mmol) の溶液に、トリフルオロメタンスルホン酸トリエチルシリル (20 μL, 23 mg, 88 μmol) を滴下添加した。反応混合物を -40 で15分間攪拌し、次いで、ジクロロメタンで希釈し、水で洗浄した。有機層を乾燥させ (Na₂SO₄)、濃縮した。残渣を Waters シリカ Sep-Pak カートリッジ (5 g) に通した。酢酸エチル/ヘキサン (1:99、次いで、2:98) での溶出によって、保護されたケトン 30B (19 mg, 95% の収率)を得た。

[]_D + 3.4 (c 1.0, CHCl₃) ;

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 2.45 (1H, dd, J = 11.4, 7.6 Hz), 1.207

(3H, s), 1.183 (3H, s), 0.955 (9H, t, J = 7.9 Hz), 0.865 (3H, d, J = 6.8 Hz), 0.835 (3H, d, J = 6.8 Hz), 0.636 (3H, s), 0.569 (6H, q, J = 7.9 Hz); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 212.19 (0), 73.49 (0), 62.01 (1), 54.55 (1), 49.87 (0), 43.90 (2), 41.28 (1), 40.99 (2), 39.12 (2), 35.31 (1), 30.42 (3), 29.46 (3), 27.28 (2), 24.10 (2), 23.61 (2), 18.96 (3 および 2), 13.06 (3), 12.37 (3), 7.14 (3), 6.83 (2); MS (EI) m/z M⁺なし, 393 (12), 379 (68), 350 (30), 259 (14), 203 (8), 173 (100), 163 (36), 135 (45), 103 (73);

C₂₃H₄₃O₂Si [M-Et]⁺に対して計算された精密質量: 379.3032、実測値: 379.3032。

【0082】

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

-30 で、無水 THF (500 μL) 中のホスフィンオキシド 20 (51 mg, 88 μmol) の攪拌溶液に、フェニルリチウム (ジ-n-ブチルエーテル中 1.8 M、50 μL, 7.56 mg, 90 μmol) を添加した。30分後、混合物を -78 まで冷却し、無水 THF (300 + 200 μL) 中のケトン 30A (17.9 mg, 44 μmol) の予冷した溶液を添加した。反応混合物をアルゴン下で、-78 で4時間、次いで、+4 で19時間攪拌した。酢酸エチルを添加し、有機相を塩水で洗浄し、乾燥させ (Na₂SO₄)、濃縮した。残渣を Waters シリカ Sep-Pak カートリッジ (5 g) に通した。カートリッジをヘキサンおよび酢酸エチル/ヘキサン (1:99) で洗浄し、保護されたビタミン 31A (30.66 mg, 90% の収率)を得た。

UV (ヘキサン中) max 262.5, 253.0, 245.0 nm;

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 6.22 (1H, d, J = 11.1 Hz, 6-H), 5.84 (1H, d, J = 11.1 Hz, 7-H), 4.97 (1H, s, =CH₂), 4.92 (1H, s, =CH₂), 4.43 (2H, m, 1β-H および 3α-H), 2.83 (1H, dm, J = 12.3 Hz), 2.53 (1H, dd, J = 13.3, 5.9 Hz, 10α-H), 2.47 (1H, dd, J = 13.0, 4.5 Hz, 4α-H), 2.33 (1H, dd, J = 13.3, 2.7 Hz, 10β-H), 2.18 (1H, dd, J = 13.0, 8.4 Hz, 4β-H), 1.188 (6H, s, 26-H₃, 27-H₃), 0.949 (9H, t, J = 7.9 Hz), 0.900 (9H, s, t-BuSi), 0.875 (3H, d, J = 7.6 Hz, 21-H₃), 0.868 (9H, s, t-BuSi), 0.722 (3H, d, J = 6.7 Hz), 0.567 (6H, q, J = 7.9 Hz), 0.559 (3H, s, 18-H₃), 0.083 (3H, s, SiMe), 0.069 (3H, s, SiMe), 0.052 (3H, s, SiMe), 0.029 (3H, s, SiMe); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ 152.98 (0, C-2), 141.33 (0, C-8), 132.69 (0, C-5), 122.43 (1, C-6), 116.05 (1, C-7), 106.24 (2, =CH₂), 73.52 (0, C-25), 72.55 および 71.60 (各 1, C-1, C-3); 56.32 (1), 54.23 (1), 47.61 (2), 45.65 (0, C-13), 43.35 (2), 40.74 (2), 39.07 (1), 38.53 (2), 35.01 (1), 30.37 (2), 29.90 および 29.80 (各 3, C-26, C-27), 28.80 (2), 27.33 (2), 25.84 (3), 25.77 (3), 23.49 (2), 22.13 (2), 18.26 (0), 18.16 (0), 13.19 および 12.53 および 11.96 (各 3, C-21, C-28, C-18), 7.13 (3), 6.81 (2), -4.87 (3), -5.10 (3); MS (ESI) m/z 795 (100, [M+Na⁺]);

C₄₆H₈₈O₃Si₃Na [M+Na]⁺ に対して計算された精密質量 (E S I) : 7
95.5939、実測値: 795.5910。

【0083】

保護されたビタミン 31A (30.66 mg、39.7 μmol) を THF (4 mL) およびアセトニトリル (3 mL) 中に溶解した。0°で、アセトニトリル中の水性 4.8% HF の溶液 (1:9 の比率、4 mL) を添加し、得られた混合物を室温で 3.5 時間攪拌した。飽和 NaHCO₃ 水溶液を添加し、反応混合物をジクロロメタンで抽出した。混合有機相を乾燥させ (Na₂SO₄)、減圧下で濃縮した。残渣を 2 mL のヘキサン / 酢酸エチル (7:3) で希釈し、Waters シリカ Sep-Pak カートリッジ (5 g) に通した。ヘキサン / 酢酸エチル (7:3、次いで、1:1) での溶出によって、粗生成物 IICを得た。ビタミン IIC を順相 HPLC [9.4 × 250 mm Zorbax シリカカラム、4 mL / 分、ヘキサン / 2-プロパノール (85:15) 溶媒系、R_t = 8.5 分] および逆相 HPLC [9.4 × 250 mm Zorbax RX-C18 カラム、3 mL / 分、メタノール / 水 (85:15) 溶媒系、R_t = 15.2 分] によってさらに精製し、純粋化合物 IIC (13.52 mg、79% の収率)を得た。

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

10

20

30

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 6.35 (1H, d, J = 11.3 Hz, 6-H), 5.88 (1H, d, J = 11.3 Hz, 7-H), 5.10 (1H, s, =CH₂), 5.08 (1H, s, =CH₂), 4.46 (2H, m, 1β-Hおよび3α-H), 2.85 (1H, dd, J = 13.1, 4.5 Hz, 10β-H), 2.82 (1H, dm, J = 15.9 Hz, 9β-H), 2.57 (1H, dd, J = 13.4, 3.6 Hz, 4α-H), 2.33 (1H, dd, J = 13.4, 6.1 Hz, 4β-H), 2.28 (1H, dd, J = 13.1, 8.4 Hz, 10α-H), 2.00 (2H, m), 1.210 (6H, s, 26-H₃, 27-H₃), 0.78 (3H, d, J = 5.8 Hz, 21-H₃), 0.73 (3H, d, J = 6.8 Hz, 28-H₃), 0.554 (3H, s, 18-H₃); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 151.97 (0, C-2), 143.43 (0, C-8), 130.41 (0, C-5), 124.23 (1, C-6), 115.27 (1, C-7), 107.70 (2, =CH₂), 71.15 (0, C-25), 71.81および70.63 (各1, C-1, C-3); 56.34 (1), 54.19 (1), 45.75 (0, C-13), 45.75 (2), 42.17 (2), 40.58 (2), 39.04 (1), 38.16 (2), 35.01 (1), 30.28 (2), 29.26 (3), 29.20 (3), 28.99 (2), 27.25 (2), 23.52 (2), 22.17 (2), 13.07および12.49および12.02 (各3, C-21, C-28, C-18); MS (EI) m/z 430 (62, M⁺), 412 (26, M⁺ - H₂O), 394 (13, M⁺ - 2H₂O), 379 (24, M⁺ - CH₃ - 2H₂O), 351 (20), 315 (27), 293 (34), 259 (43), 173 (94), 149 (72), 135 (100); MS (ESI) m/z 453 (95, [M+Na]⁺), 883 (50, [2M+Na]⁺), 1314 (10, [3M+H+Na]⁺);

C₂₈H₄₆O₃Na [M + Na]⁺に対して計算された精密質量：453.3345、
実測値：453.3358。

【0084】

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

-30で、無水THF (500 μL) 中のホスフィンオキシド 20 (54 mg, 93 μmol) の攪拌溶液に、フェニルリチウム (ジ-n-ブチルエーテル中 1.8 M, 60 μL, 9.08 mg, 108 μmol) を添加した。30分後、混合物を -78まで冷却し、無水THF (300 + 200 μL) 中のケトン 30B (19 mg, 47 μmol) の予冷した溶液を添加した。反応混合物をアルゴン下で、-78で4時間、次いで、+4で19時間攪拌した。酢酸エチルを添加し、有機相を塩水で洗浄し、乾燥させ (Na₂SO₄)、濃縮した。残渣を WatersシリカSep-Pak カートリッジ (5 g) に通した。カートリッジをヘキサンおよび酢酸エチル/ヘキサン (1:99) で洗浄し、保護されたビタミン 31B (32.64 mg, 91%の収率)を得た。

UV (ヘキサン中) _{m a x} 262.5, 253.0, 245.0 nm;

10

20

30

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 6.22 (1H, d, J = 11.2 Hz, 6-H), 5.84 (1H, d, J = 11.2 Hz, 7-H), 4.97 (1H, s, =CH₂), 4.92 (1H, s, =CH₂), 4.43 (2H, m, 1β-H および 3α-H), 2.82 (1H, dm, J = 12.4 Hz), 2.53 (1H, dd, J = 13.3, 5.9 Hz, 10α-H), 2.47 (1H, dd, J = 12.8, 4.5 Hz, 4α-H), 2.32 (1H, dd, J = 13.3, 2.9 Hz, 10β-H), 2.18 (1H, dd, J = 12.8, 8.4 Hz, 4β-H), 1.204 および 1.182 (各 3H, 各 s, 26-H₃, 27-H₃), 0.955 (9H, t, J = 7.9 Hz), 0.898 (9H, s, t-BuSi), 0.863 (9H, s, t-BuSi), 0.858 (3H, d, J = 5.4 Hz, 21-H₃), 0.808 (3H, d, J = 6.8 Hz), 0.569 (6H, q, J = 7.9 Hz), 0.542 (3H, s, 18-H₃), 0.081 (3H, s, SiMe), 0.065 (3H, s, SiMe), 0.050 (3H, s, SiMe), 0.024 (3H, s, SiMe); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 152.99 (0, C-2), 141.36 (0, C-8), 132.71 (0, C-5), 122.43 (1, C-6), 116.05 (1, C-7), 106.25 (2, =CH₂), 73.58 (0, C-25), 72.56 および 71.60 (各 1, C-1, C-3), 56.31 (1), 54.28 (1), 47.62 (2), 45.62 (0, C-13), 44.01 (2), 41.94 (1), 40.73 (2), 38.53 (2), 35.41 (1), 30.40 および 29.50 (各 3, C-26, C-27), 28.81 (2), 27.46 (2), 25.84 (3), 25.78 (3), 23.70 (2), 23.49 (2), 22.13 (2), 19.01 (3), 18.26 (0), 18.16 (0), 13.11 (3), 11.97 (3), 7.16 (3), 6.86 (2), -4.86 (3), -4.91 (3), -5.11 (3); MS (ESI) m/z 795 (50, [M+Na⁺]); C₄₆H₈₈O₃Si₃Na [M+Na]⁺ に対して計算された精密質量 (ESI) : 795.5939、実測値: 795.5916。 10

【0085】

保護されたビタミン 31B (32.64 mg、4.2 μmol) を THF (4 mL) およびアセトニトリル (3 mL) 中に溶解した。0 度で、アセトニトリル中の水性 48% HF の溶液 (1:9 の比率、4 mL) を添加し、得られた混合物を室温で 2 時間攪拌した。飽和 NaHCO₃ 水溶液を添加し、反応混合物をジクロロメタンで抽出した。混合有機相を乾燥させ (Na₂SO₄)、減圧下で濃縮した。残渣を 2 mL のヘキサン / 酢酸エチル (7:3) で希釈し、Waters シリカ Sep-Pak カートリッジ (5 g) に通した。ヘキサン / 酢酸エチル (7:3、次いで、1:1) での溶出によって、粗生成物 IIDを得た。ビタミン IID を、順相 HPLC [9.4 × 250 mm Zorbax シリカカラム、5 mL / 分、ヘキサン / 2-プロパノール (85:15) 溶媒系、R_t = 6.5 分] および逆相 HPLC [9.4 × 250 mm Zorbax RX-C18 カラム、3 mL / 分、メタノール / 水 (85:15) 溶媒系、R_t = 13.2 分] によってさらに精製し、純粋化合物 IID (15.28 mg、78% の収率) を得た。ヘキサン / 2-プロパノールからの結晶化後に、類似体 IID の純粋結晶を得、X 線分析によって特性を決定した。 20

融点 159 (ヘキサン / 2-プロパノール) ; UV (EtOH 中) _{m a x} 261.5, 252.5, 244.5 nm;

¹H NMR (500

MHz, CDCl₃) δ 6.35 (1H, d, J = 11.3 Hz, 6-H), 5.89 (1H, d, J = 11.3 Hz, 7-H), 5.11 (1H, s, =CH₂), 5.08 (1H, s, =CH₂), 4.46 (2H, m, 1β-H および 3α-H), 2.85 (1H, dd, J = 13.2, 4.5 Hz, 10β-H), 2.83 (1H, dm, J = 13.6 Hz, 9β-H), 2.57 (1H, dd, J = 13.4, 3.8 Hz, 4α-H), 2.33 (1H, dd, J = 13.4, 6.1 Hz, 4β-H), 2.29 (1H, dd, J = 13.2, 8.4 Hz, 10α-H), 1.227 および 1.219 (各3H, 各s, 26-H₃, 27-H₃), 0.882 (3H, d, J = 6.8 Hz, 21-H₃), 0.818 (3H, d, J = 6.8 Hz, 28-H₃), 0.549 (3H, s, 18-H₃); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 151.97 (0, C-2), 143.39 (0, C-8), 130.44 (0, C-5), 124.19 (1, C-6), 115.25 (1, C-7), 107.69 (2, =CH₂), 71.23 (0, C-25), 71.78 および 70.59 (各1, C-1, C-3), 56.25 (1), 54.15 (1), 45.74 (2), 45.74 (0), 42.76 (2), 41.79 (1), 40.50 (2), 38.12 (2), 35.15 (1), 29.53 (3), 29.01 (3), 29.01 (2), 27.35 (2), 23.66 (2), 23.52 (2), 22.19 (2), 18.93 (3), 13.13 (3), 12.02 (3); MS (EI) m/z 430 (100, M⁺), 412 (24, M⁺ - H₂O), 394 (10, M⁺ - 2H₂O), 379 (10, M⁺ - CH₃ - 2H₂O), 343 (9), 315 (41), 297 (26), 262 (53), 183 (21), 161 (30), 135 (50);

C₂₈H₄₆O₃ [M + Na]⁺ に対して計算された精密質量 (ESI) : 453.33
45、実測値: 453.3344。

【0086】

実施例2：生物活性ビタミンD受容体結合

試験材料

タンパク質源

大腸菌BL21 (DE3) Codon Plus RIL細胞内で、完全長組換えラット受容体を発現させ、2つの異なるカラムクロマトグラフィシステムを使用して均一になるまで精製した。第1のシステムは、このタンパク質上のC末端ヒスチジンタグを利用する、ニッケル親和性樹脂であった。この樹脂から溶出されたタンパク質を、イオン交換クロマトグラフィ (S-Sephadex Fast Flow) を使用してさらに精製した。精製されたタンパク質のアリコートを、液体窒素中で急速冷凍し、使用するまで -80°で保管した。結合アッセイで使用するために、このタンパク質を、0.1%Chaps界面活性剤を含む、TEDK₅₀ (50 mMトリス、1.5 mM EDTA、pH 7.4、5 mM DTT、150 mM KC1) で希釈した。受容体タンパク質およびリガンド濃度を、添加した放射性標識リガンドの受容体への結合が20%以下となるように最適化した。

【0087】

試験薬物

非標識リガンドをエタノール中に溶解し、UV分光光度法を用いて濃度を決定した (1,25(OH)₂D₃: モル吸光係数 = 18,200 および _{m a x} = 265 nm; 類似体: モル吸光係数 = 42,000 および _{m a x} = 252 nm)。最終濃度が1 nMになるように、放射性標識 (³H-1,25(OH)₂D₃、約159 Ci/mmole) をエタノール中に添加した。

【0088】

アッセイ条件

放射性標識および非標識リガンドを、希釈した100 μLのタンパク質に最終エタノール濃度 10%で添加し、混合し、結合平衡に到達するよう、氷上で一晩インキュベートした。翌日、各チューブに、100 μLのヒドロキシルアパタイトスラリー (50%) を添加し、10分間隔で30分間混合した。ヒドロキシルアパタイトを、遠心分離法によって収集し、次いで、0.5% Triton X-100を含有するトリス-EDTA緩衝液 (50 mMトリス、1.5 mM EDTA、pH 7.4) で3回洗浄した。最終洗浄後

10

20

30

40

50

、ペレットを、4 mLのBiosafe IIシンチレーションカクテルを含有するシンチレーションバイアルに移し、混合し、シンチレーションカウンターに配置した。放射性標識リガンドのみを含有するチューブから、全結合量を決定した。

【0089】

H L - 6 0 の分化

試験材料

研究薬物

研究薬物は、エタノールに溶解し、UV分光光度法を用いて濃度を決定した。細胞培養物中に存在するエタノールの最終濃度(0.2%)を変化させることなく、一連の薬物濃度を試験することができるよう、連続希釈物を調製した。

10

【0090】

細胞

ヒト前骨髄球性白血病(HL60)細胞を、10%ウシ胎仔血清を含有するRPMI-1640培地において増殖した。これらの細胞を、5%CO₂の存在下で、37でインキュベートした。

【0091】

アッセイ条件

HL60細胞を、 1.2×10^5 個細胞/mLで播種した。播種の18時間後、2つ組の細胞を薬物で処理した。4日後、これらの細胞を回収し、ニトロブルーテトラゾリウム還元アッセイを実施した(Collins et al., 1979; J. Exp. Med. 149: 969-974)。合計200個の細胞をカウントし、細胞内黒~青色ホルマザン沈着物を含有した数を記録することによって、分化した細胞の比率を決定した。単球細胞への分化の検証は、食作用活性を測定することによって決定した(データは示さず)。

20

【0092】

インビトロ転写アッセイ

ルシフェラーゼレポータ遺伝子の上流の24-ヒドロキシラーゼ(24OHase)遺伝子プロモータを安定的に形質移入されたROS 17/2.8(骨)細胞において、転写活性を測定した(Arbour et al., 1998)。細胞に、様々な用量を投与した。投与の16時間後、細胞を回収し、照度計を用いてルシフェラーゼ活性を測定した。RLU=相対ルシフェラーゼ単位。

30

【0093】

腸カルシウム輸送および骨カルシウム動員

雄の離乳Sprague-Dawleyラットを、Diet 11(0.47%Ca)飼料+AEK油で1週間、続いて、Diet 11(0.02%Ca)+AEK油で3週間飼育した。次いで、これらのラットを、0.47%Caを含有する飼料で1週間、続いて、0.02%Caを含有する飼料で2週間の飼育に切り替えた。投薬は、0.02%カルシウム飼料の最終週中に開始した。ほぼ24時間毎に、4回連続して腹腔内用量を与えた。最終投与の24時間後、切断された頸部から血液を採取し、骨カルシウム動員の測定値として血清カルシウム濃度を決定した。小腸の反転腸管法を用いる腸カルシウム輸送分析のために、腸の最初の10cmも採取した。

40

【0094】

生物活性結果

(20S, 22R)-2-メチレン-19-ノル-22-メチル-1, 25-ジヒドロキシビタミンD₃(AGS-1)は、図1に示すように、組換えビタミンD受容体への結合において、1, 25-(OH)₂D₃とほぼ同等の有効性を示す。しかしながら、それは、培地中のHL-60細胞の分化の誘導において、1, 25-(OH)₂D₃よりも実質的に強力である(約300倍)(図2)。同様に、それは、24-ヒドロキシラーゼ遺伝子の転写の増加において、1, 25-(OH)₂D₃よりも40倍近い活性を示す(図3)。インビトロ試験は、本化合物が骨カルシウム動員(図4Aおよび4B)および腸力

50

ルシウム輸送(図4C)の両方の促進において、 $1,25-(OH)_2D_3$ よりも強力であることを立証した。AGS-1は、細胞分化の誘導において、天然ホルモンよりも劇的に強力であり、天然ホルモンよりも大きいレベルまで骨カルシウム動員を刺激する独特の能力を有するため、種々の骨疾患のための有用な療法として役立つ可能性がある。

【0095】

一方で、(20S, 22S)-2-メチレン-19-ノル-22-メチル-1, 25-ジヒドロキシビタミンD₃(AGS-2)は、図5に示すように、組換えビタミンD受容体への結合において、 $1,25-(OH)_2D_3$ に対してより低い親和性を示した。それにもかかわらず、それは、有意な細胞分化および転写活性を有する。それは、培地中のHL-60細胞の分化の誘導において、 $1,25-(OH)_2D_3$ の活性の約1/10と低いだけである(図6)。同様に、それは、24-ヒドロキシラーゼ遺伝子の転写の増加において、 $1,25-(OH)_2D_3$ よりも約10倍活性が低い(図7)。インビボ試験は、AGS-2が、 $1,25-(OH)_2D_3$ と比較して、骨からカルシウムを動員する能力がはるかに低いことを立証した(図8A)。しかしながら、その腸カルシウム輸送活性は、 $1,25-(OH)_2D_3$ と同様であるか、またはより大きい(図8B)。その細胞分化活性に伴うAGS-2の腸特異的性質により、AGS-2は、クローン病またはセリック病等の腸疾患における療法の候補になる。さらに、これらの化合物により、慢性腎不全を患う患者の続発性副甲状腺機能亢進症の治療における有用性が見出されるはずであり、なぜなら、副甲状腺増殖およびプレプロ副甲状腺遺伝子の転写を抑制する一方で、心臓、大動脈、および他の重要臓器の石灰化の恐れがあるため、これらの患者における正常よりも高い血清カルシウムの上昇は望ましくないためである。同様に、これらの化合物はまた、乳がん、結腸直腸がん、および前立腺がん等の悪性腫瘍の治療において、または多発性硬化症、ループス、関節リウマチ、1型糖尿病、および炎症性腸疾患等の自己免疫疾患の治療において有用であるはずである。これらはまた、移植片拒絶反応の予防においても有用であるはずである。

【0096】

(20R, 22S)-2-メチレン-19-ノル-22-メチル-1, 25-ジヒドロキシビタミンD₃(SAG-1)は、図9に示すように、組換えビタミンD受容体への結合において、 $1,25-(OH)_2D_3$ と同様であるか、またはわずかに低い有効性を示す。しかしながら、それは、培地中のHL-60細胞の分化の誘導において、 $1,25-(OH)_2D_3$ よりも強力である(>3倍)(図10)。それは、24-ヒドロキシラーゼ遺伝子の転写の増加において、 $1,25-(OH)_2D_3$ と同様であり(図11)、SAG-1との多少の細胞特異的な差が存在し得ることを示唆する。インビボ試験は、本化合物が、骨カルシウム動員の促進において、 $1,25-(OH)_2D_3$ よりも効力が低く(図12Aおよび12B)、腸カルシウム輸送において、 $1,25-(OH)_2D_3$ と同様の効力を示す(図12Cおよび12D)ことを立証した。したがって、SAG-1は、それが細胞特異的活性を有することを示す生物活性プロファイルを有し、インビボは、それが、天然ホルモンと比較してより大きい治療指数を有する可能性があることを示す。SAG-1は、腎機能障害を有する患者における続発性副甲状腺機能亢進症、乾癬および座瘡等の皮膚疾患、種々の種類のがん、骨疾患、ならびに考えられるいくつかの自己免疫疾患等、多くの疾患の潜在的な治療および予防に対して望ましい類似体である可能性がある。

【0097】

(20R, 22R)-2-メチレン-19-ノル-22-メチル-1, 25-ジヒドロキシビタミンD₃(SAG-2)は、図13に示すように、組換えビタミンD受容体への結合において、 $1,25-(OH)_2D_3$ よりも低い有効性を示す。それは、また、培地中のHL-60細胞の分化の誘導において、 $1,25-(OH)_2D_3$ よりも低い効力を示す(約1/3)(図14)。それは、24-ヒドロキシラーゼ遺伝子の転写の誘導において、 $1,25-(OH)_2D_3$ の効力の約1/20と低い(図15)。インビボ試験は、本化合物が、骨カルシウム動員の促進(図16Aおよび16B)および腸カルシウム

輸送(図16Cおよび16D)の両方の効果に関して、1,25-(OH)₂D₃よりも著しく低いことを立証した。したがって、SAG-2は、天然ホルモンと比較して全体的に低い効力を有するが、より大きい治療指数を有する可能性があることを示す、生物活性プロファイルを持つ。SAG-2は、腎機能障害を有する患者における続発性副甲状腺機能亢進症、乾癬および座瘡等の皮膚疾患、種々の種類のがん、骨疾患、ならびに考えられるいくつかの自己免疫疾患等、多くの疾患の潜在的な治療および予防に対して望ましい類似体である可能性がある。

【0098】

比較例：表1は、2-メチレン-19-ノル-1,25-ジヒドロキシビタミンD₃およびその20R異性体と比較した、本開示の化合物(AGS-1、AGS-2、SAG-1、およびSAG-2)に対する生物学的データを示す。前者の化合物は、それらが21位の炭素に付着するメチル基を有するという点で後者とは異なる。本AGSおよびSAG化合物は、2MD化合物と比較して、驚くべき、かつ予想外の生物活性を示す。2MD化合物は、極めて強力な正味の骨カルシウム動員活性を示す(20R異性体における4.5mg/dL～20S異性体における9.3mg/dLに及ぶ)。全く対照的に、AGS-2、SAG-1、およびSAG-2は全て、骨における正味のカルシウム血活性を示さない。AGS-1が正味の骨カルシウム動員に関して活性を示す一方で、本化合物は、また、ビヒクルよりも低い腸カルシウム血活性を示す2MD化合物とは異なり(漿膜対粘膜の比率：-0.6(20R異性体)および-0.9(20S異性体))、正味の腸カルシウム輸送に対する有意な活性も示す(漿膜対粘膜の比率：4.3)。同様に、AGS-2は、2MD化合物と対照的に、有意な正味の腸カルシウム輸送を示す。したがって、AGS-2は、2MD化合物とは逆のカルシウム血活性プロファイルを示す。AGS-1は、HL-60アッセイ結果において、2MD化合物とはさらに区別される。具体的に、2MD化合物が、HL-60分化において、天然ホルモンよりも約1～27倍の活性がある一方で、AGS-1は、天然ホルモンよりも約300倍の活性がある。したがって、AGS-1は、2MDの20S異性体よりも少なくとも10倍の活性であり(すなわち、300/27=11)、2MDの20R異性体よりも300倍超の活性がある(すなわち、300/0.95=320)。

【0099】

本技術の化合物はまた、肥満の予防もしくは治療、脂肪細胞分化の阻害、SCD-1遺伝子転写の阻害、および/または動物対象における体脂肪の低減にも有用である。したがって、いくつかの実施形態では、肥満の予防もしくは治療、脂肪細胞分化の阻害、SCD-1遺伝子転写の阻害、および/または動物対象における体脂肪の低減に関する方法には、有効量の本化合物、または本化合物を含む医薬組成物を動物対象に投与することが含まれる。対象への本化合物または医薬組成物の投与は、脂肪細胞分化を阻害し、遺伝子転写を阻害し、および/または動物対象における体脂肪を低減する。

【表 1】

| 実施例 ¹ | 出所 | 側鎖 | 競合的
VDR ²
結合 ² | HL-60
分化 ³
(相対活性 ⁴) | 24OHase ³
転写 ³
(相対活性 ⁴) | 正味の骨
Ca ²⁺
動員 ⁵ | 正味の腸
Ca ²⁺
輸送 ⁶ |
|---------------------------|---------------------|----|--|--|---|---|---|
| AGS-1 | 本発明 | | 0.07 | 0.01
(300) | 0.008
(38) | 5.3 | 9.9 |
| AGS-2 | 本発明 | | 8 | 20
(0.15) | 3
(0.1) | 0 | 4.3 |
| SAG-1 | 本発明 | | 0.09 | 0.6
(3.3) | 0.3
(10) | 0.3 ⁷ | 1.3 ⁷ |
| SAG-2 | 本発明 | | 0.2 | 9
(0.3) | 6
(0.05) | -0.1 ⁷ | 0.4 ⁷ |
| 2MD ⁸
(20R) | 米国特許
第5,843,928号 | | 0.12 | 4.2
(0.95) | — | 4.5 ⁷ | -0.6 ⁷ |
| 2MD ⁸
(20S) | 米国特許
第5,843,928号 | | 0.10 | 0.15
(27) | — | 9.3 ⁷ | -0.9 ⁷ |

¹ 全ての化合物は、2 - メチレン 19 - ノル化合物である。² K_i、nM。

³ EC₅₀、nM。

⁴ 同一アッセイにおいて測定された、天然ホルモンの $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ に対する活性。相対活性 = (天然ホルモンの測定値) / (実施例の測定値)。1よりも大きい比率は、実施例が天然ホルモンよりも活性であることを示す。

⁵ 指定されている場合を除き、780 pMの投与量(mg/dL)。

⁶ 指定されている場合を除き、780 pMの投与量における漿膜Ca²⁺対粘膜Ca²⁺の比率(S/M)。

⁷ 260 pMの投与量。

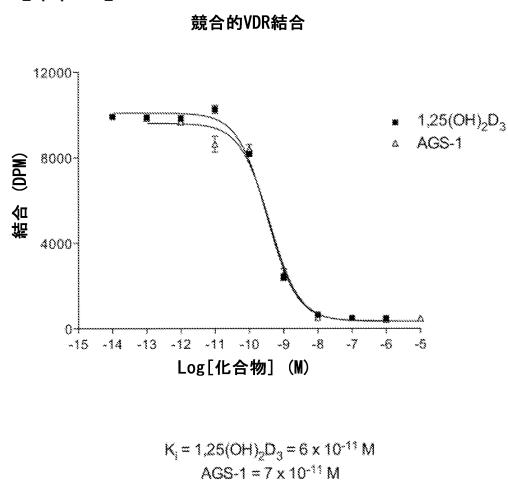
⁸ 米国特許第5,843,928号およびJ. Med. Chem. 1998, 41, 4662からのデータ。

10

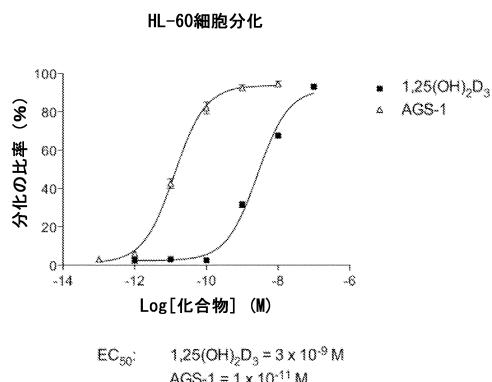
【0100】

本技術は、例示のために本明細書に記載する実施形態に限定されず、以下の特許請求の範囲内に入る、それらの全てのかかる形態を包含することを理解されたい。

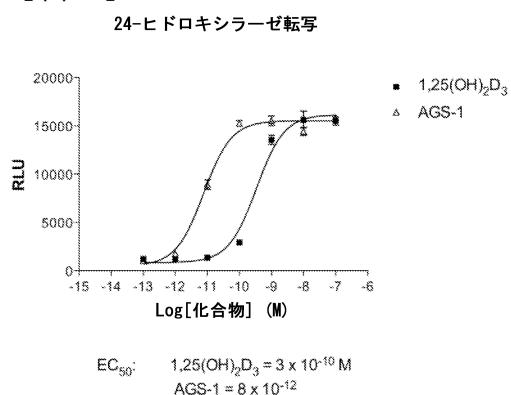
【図1】



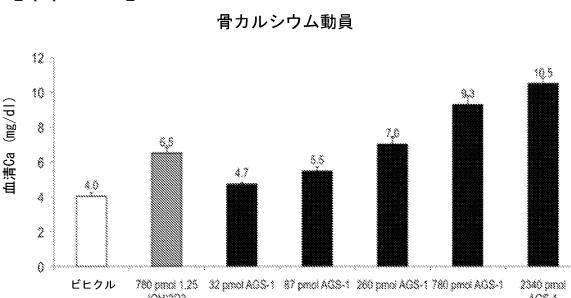
【図2】



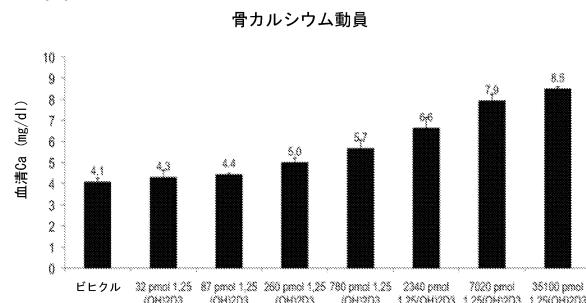
【図3】



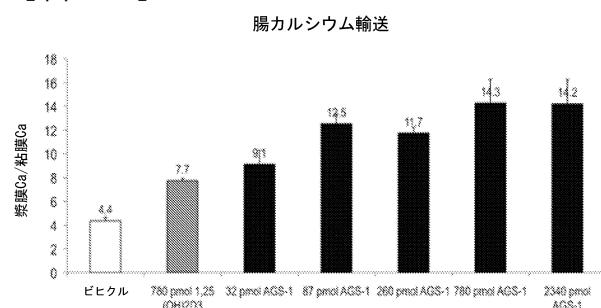
【図4 A】



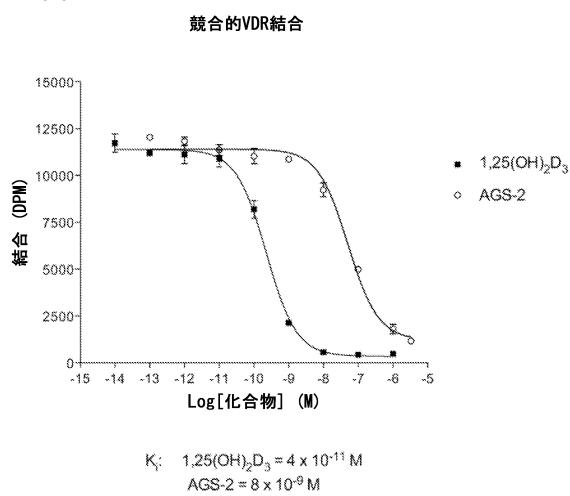
【図4B】



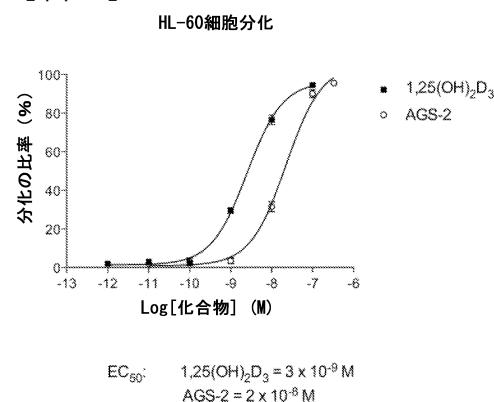
【図4C】



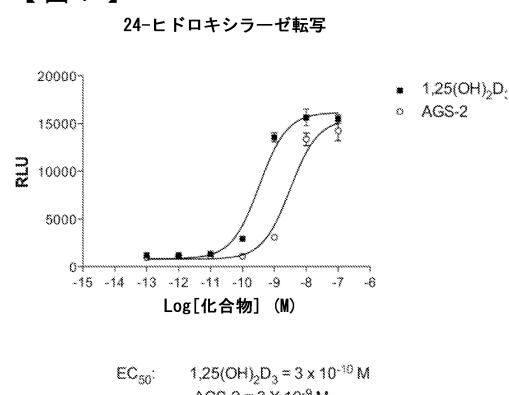
【図5】



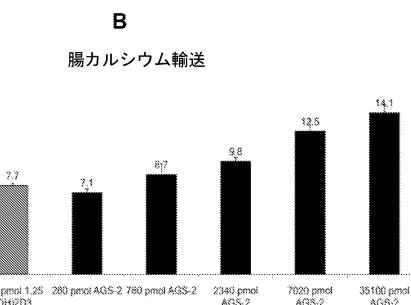
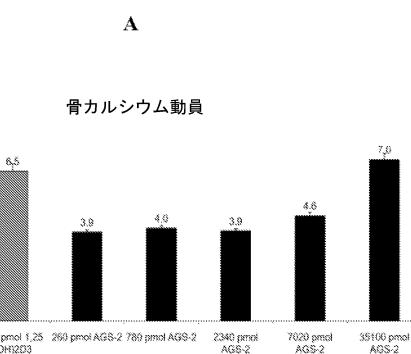
【図6】



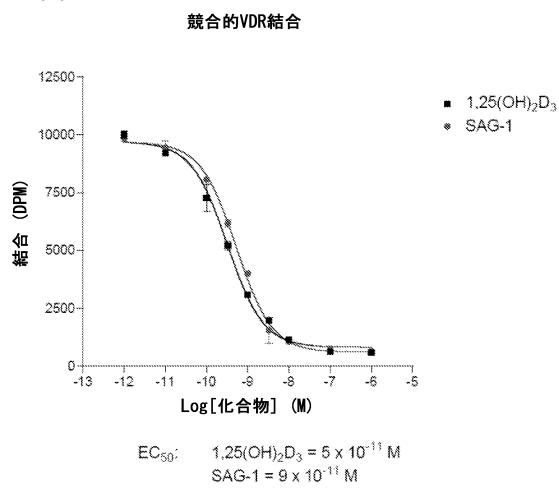
【図7】



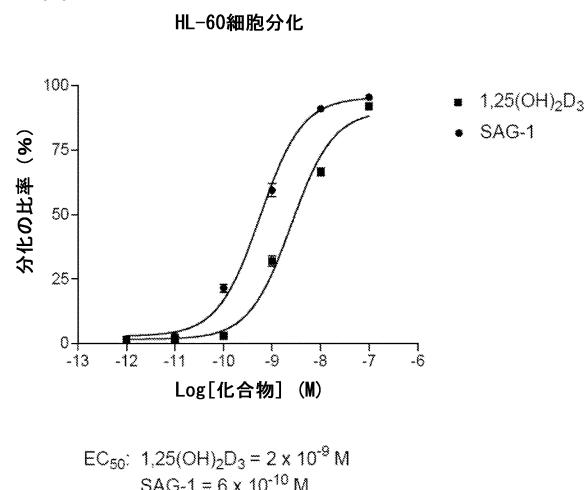
【図8】



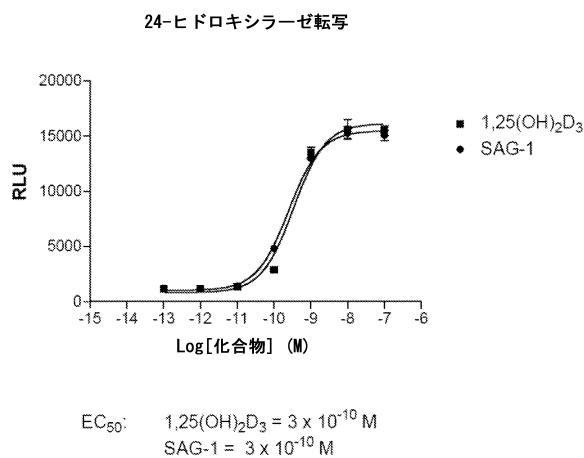
【図9】



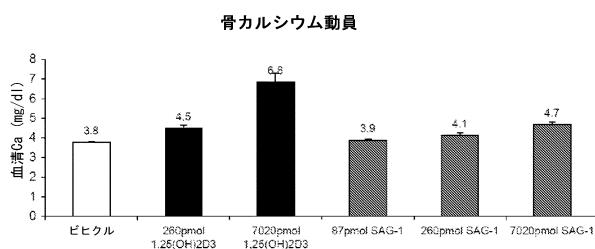
【図10】



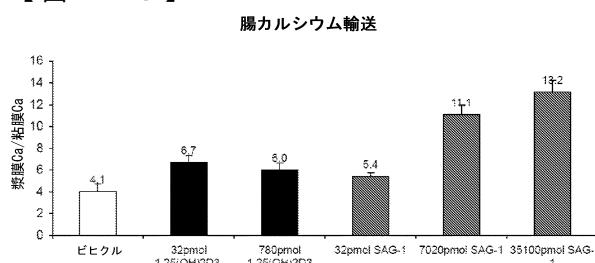
【図11】



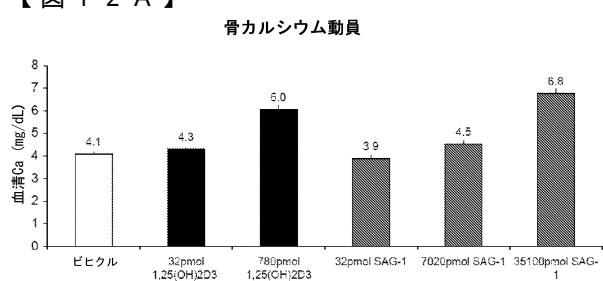
【図12B】



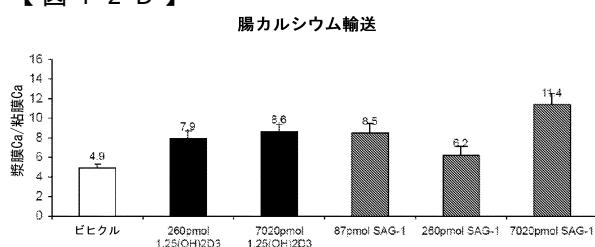
【図12C】



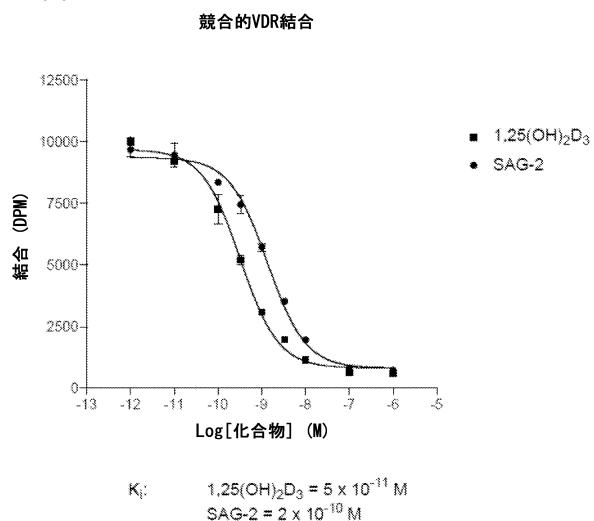
【図12A】



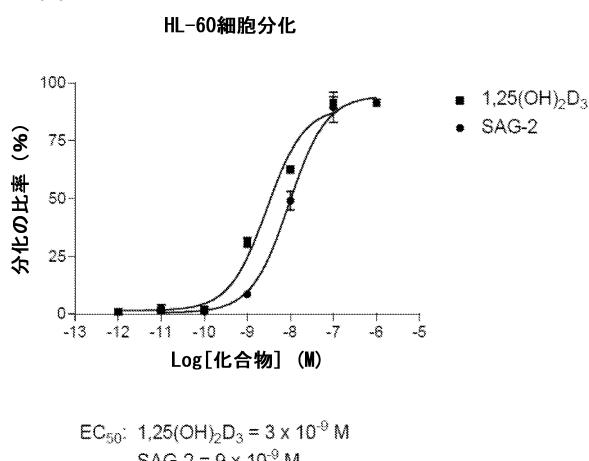
【図12D】



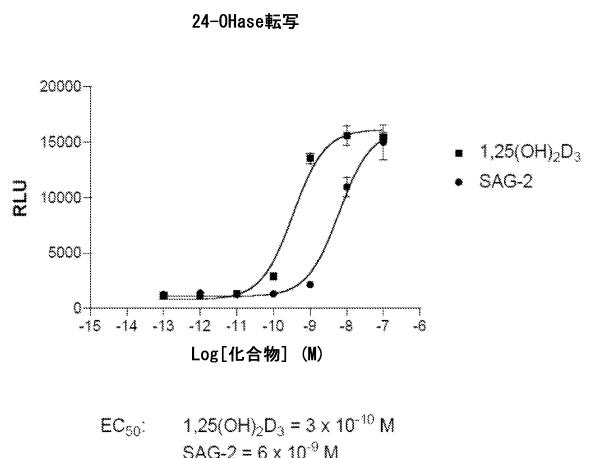
【図13】



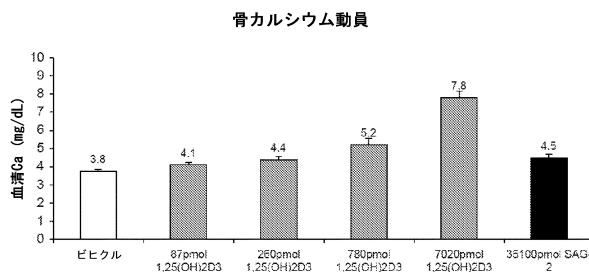
【図14】



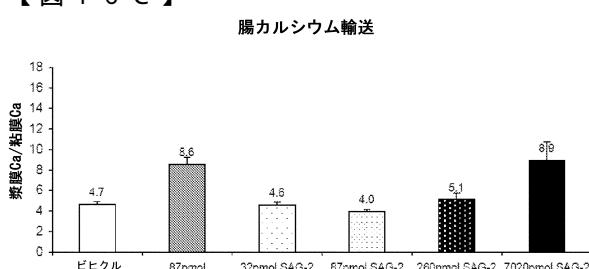
【図15】



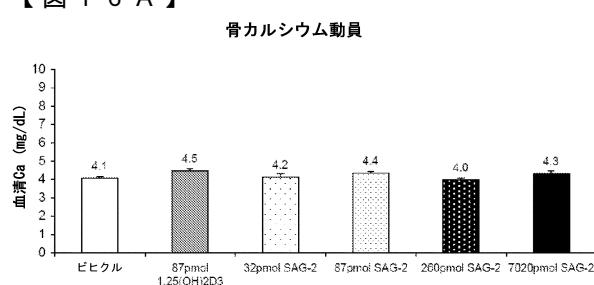
【図16B】



【図16C】

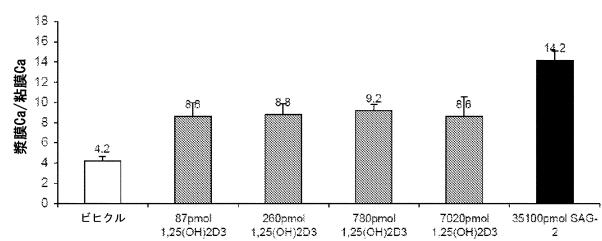


【図16A】



【図 1 6 D】

腸カルシウム輸送



フロントページの続き

| (51)Int.Cl. | F I |
|-------------------------|-------------------|
| A 6 1 P 25/00 (2006.01) | A 6 1 P 25/00 |
| A 6 1 P 3/10 (2006.01) | A 6 1 P 3/10 |
| A 6 1 P 37/06 (2006.01) | A 6 1 P 37/06 |
| A 6 1 P 19/02 (2006.01) | A 6 1 P 19/02 |
| A 6 1 P 29/00 (2006.01) | A 6 1 P 29/00 101 |
| A 6 1 P 11/06 (2006.01) | A 6 1 P 11/06 |
| A 6 1 P 1/04 (2006.01) | A 6 1 P 1/04 |
| A 6 1 P 17/00 (2006.01) | A 6 1 P 17/00 |
| A 6 1 P 17/16 (2006.01) | A 6 1 P 17/16 |
| A 6 1 P 19/00 (2006.01) | A 6 1 P 19/00 |
| A 6 1 P 19/10 (2006.01) | A 6 1 P 19/10 |

(74)代理人 100142929

弁理士 井上 隆一

(74)代理人 100148699

弁理士 佐藤 利光

(74)代理人 100128048

弁理士 新見 浩一

(74)代理人 100129506

弁理士 小林 智彦

(74)代理人 100114340

弁理士 大関 雅人

(74)代理人 100114889

弁理士 五十嵐 義弘

(74)代理人 100121072

弁理士 川本 和弥

(72)発明者 デルカ ヘクター エフ .

アメリカ合衆国 ウィスコンシン州 ディアフィールド ハイウェイ ビービー 1809

(72)発明者 フローレス アグニエツカ

アメリカ合衆国 ウィスコンシン州 マディソン フリッチ ロード 2014

(72)発明者 グジィヴァチュ パウエル

アメリカ合衆国 ウィスコンシン州 マディソン オルダー ロード 5305

(72)発明者 プラム ローリ エイ .

アメリカ合衆国 ウィスコンシン州 アリーナ ハイウェイ エイチ 6139

(72)発明者 クラーゲット - デイム マーガレット

アメリカ合衆国 ウィスコンシン州 ディアフィールド ハイウェイ ビービー 1809

(72)発明者 トーデン ジェイムス ピー .

アメリカ合衆国 ウィスコンシン州 マディソン アスペン ロード 2109

(72)発明者 ホールデン ヘイゼル エム .

アメリカ合衆国 ウィスコンシン州 フィッチバーグ テインパーランド サークル 5826

審査官 石井 徹

(56)参考文献 国際公開第2009/067578 (WO , A1)

特開平06-025155 (JP , A)

特開平09-100232 (JP , A)

米国特許出願公開第2005/0080059 (US , A1)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C 0 7 D

A 6 1 K

A 6 1 P

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