

(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2009-533483

(P2009-533483A)

(43) 公表日 平成21年9月17日 (2009.9.17)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>C 07 C 401/00 (2006.01)</b>	C O 7 C 401/00 C S P	4 C O 8 6
<b>A 6 1 K 31/593 (2006.01)</b>	A 6 1 K 31/593	4 H O O 6
<b>A 6 1 P 3/02 (2006.01)</b>	A 6 1 P 3/02 1 O 2	
<b>A 6 1 P 19/08 (2006.01)</b>	A 6 1 P 19/08	
<b>A 6 1 P 17/06 (2006.01)</b>	A 6 1 P 17/06	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 38 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2009-508549 (P2009-508549)  
 (86) (22) 出願日 平成19年4月6日 (2007.4.6)  
 (85) 翻訳文提出日 平成20年11月11日 (2008.11.11)  
 (86) 国際出願番号 PCT/IB2007/003971  
 (87) 国際公開番号 W02008/125901  
 (87) 国際公開日 平成20年10月23日 (2008.10.23)  
 (31) 優先権主張番号 60/744, 385  
 (32) 優先日 平成18年4月6日 (2006.4.6)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

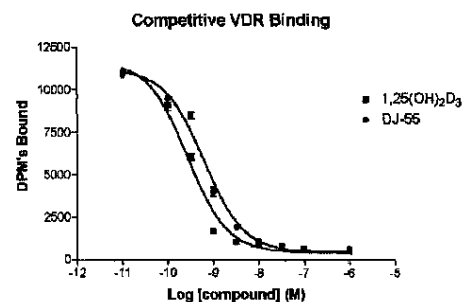
(71) 出願人 505098661  
 ウィスコンシン アラムニ リサーチ フ  
 ァンデーション  
 アメリカ合衆国 ウィスコンシン州 マデ  
 イソン ウォルナット ストリート 6 1  
 4  
 (74) 代理人 100102978  
 弁理士 清水 初志  
 (74) 代理人 100119507  
 弁理士 刑部 俊  
 (74) 代理人 100128048  
 弁理士 新見 浩一  
 (74) 代理人 100129506  
 弁理士 小林 智彦

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 2-メチレン-1 $\alpha$ , 25-ジヒドロキシ-18, 19, 21-トリノルビタミンD3およびその使用

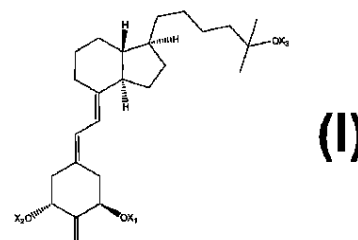
## (57) 【要約】

式Iの化合物が提供され、式中、X<sub>1</sub>、X<sub>2</sub>、およびX<sub>3</sub>はHまたはヒドロキシ保護基から独立に選択される。そのような化合物は薬学的組成物の調製において用いられ、様々な生物学的状態の治療において有用である。



K<sub>i</sub>: 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> = 5 × 10<sup>-11</sup> M  
 DJ-55 = 1 × 10<sup>-10</sup> M

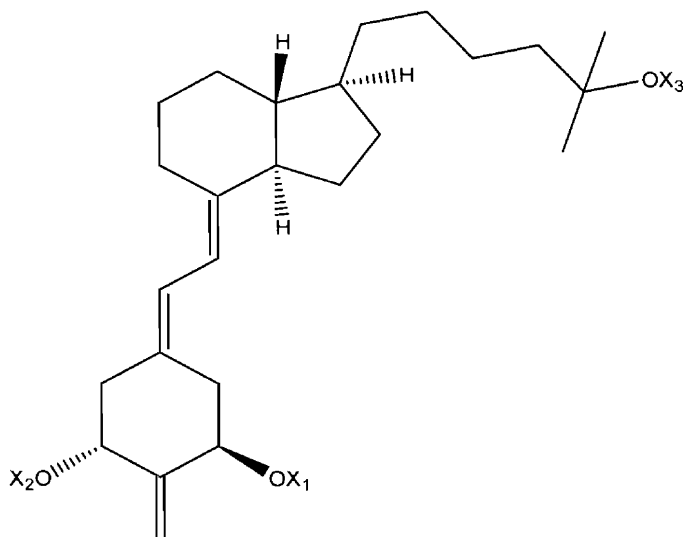
Fig. 1



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

式Iを有する化合物：



10

I

式中、 $X_1$ 、 $X_2$ 、および $X_3$ はHおよびヒドロキシ保護基より独立に選択される。

20

## 【請求項 2】

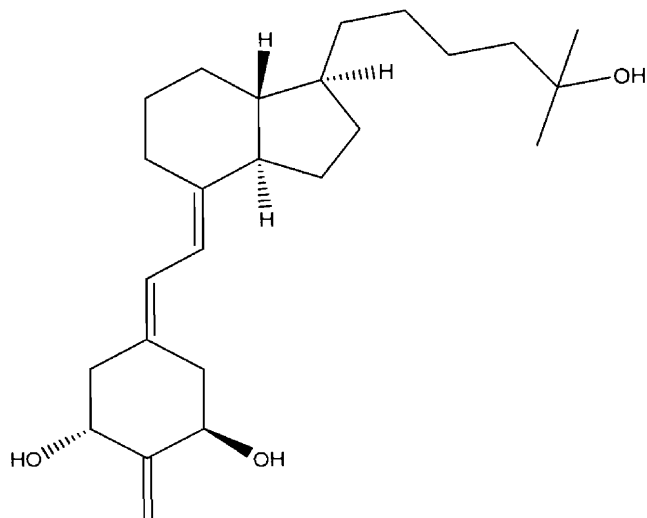
$X_1$ 、 $X_2$ 、および $X_3$ がヒドロキシ保護基である、請求項1記載の化合物。

## 【請求項 3】

$X_1$ 、 $X_2$ 、および $X_3$ がトリエチルシリル基またはt-ブチルジメチルシリル基である、請求項2記載の化合物。

## 【請求項 4】

$X_1$ 、 $X_2$ 、および $X_3$ がHであり、化合物が式II



30

II

を有する、請求項1記載の化合物。

40

## 【請求項 5】

請求項1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、薬学的組成物。

## 【請求項 6】

有効量が、組成物1グラムあたり約0.01  $\mu\text{g}$  ~ 約1mgの化合物を含む、請求項5記載の薬学的組成物。

## 【請求項 7】

有効量が、組成物1グラムあたり約0.1  $\mu\text{g}$  ~ 約500  $\mu\text{g}$ の化合物を含む、請求項5記載の薬学的組成物。

50

## 【請求項 8】

生物学的状態を患う被験体に請求項1記載の化合物の有効量を投与する段階を含む、該被験体を治療する方法であって、該生物学的状態が、代謝性骨疾患；乾癬；白血病；大腸癌；乳癌；前立腺癌；皮膚癌；肺癌；多発性硬化症；狼瘡；真性糖尿病；宿主対移植片反応；臓器移植の拒絶反応；関節リウマチ、喘息、もしくは炎症性腸疾患より選択される炎症性疾患；しわ、十分な皮膚弾力（skin firmness）の欠如、十分な皮膚水分（dermal hydration）の欠如、もしくは不十分な皮脂分泌より選択される皮膚状態；骨減少症；腎性骨形成異常；または骨粗しょう症より選択される、方法。

## 【請求項 9】

生物学的状態が、腎性骨形成異常、ビタミンD抵抗性くる病、骨粗しょう症、または乾癬性関節炎である、請求項8記載の方法。

10

## 【請求項 10】

生物学的状態が、白血病、大腸癌、乳癌、皮膚癌、肺癌、または前立腺癌より選択される、請求項8記載の方法。

## 【請求項 11】

生物学的状態が、多発性硬化症、狼瘡、真性糖尿病、宿主対移植片反応、または臓器移植の拒絶反応より選択される、請求項8記載の方法。

## 【請求項 12】

生物学的状態が、関節リウマチ、喘息、または、セリアック病、潰瘍性大腸炎、およびクローン病より選択される炎症性腸疾患より選択される、請求項8記載の方法。

20

## 【請求項 13】

生物学的状態が、しわ、十分な皮膚弾力の欠如、十分な皮膚水分の欠如、または不十分な皮脂分泌より選択される、請求項8記載の方法。

## 【請求項 14】

化合物が、経口的に、非経口的に、経鼻的に、直腸に、舌下に、経皮的に、または局所的に被験体に投与される、請求項8記載の方法。

## 【請求項 15】

化合物が腹腔内投与される、請求項8記載の方法。

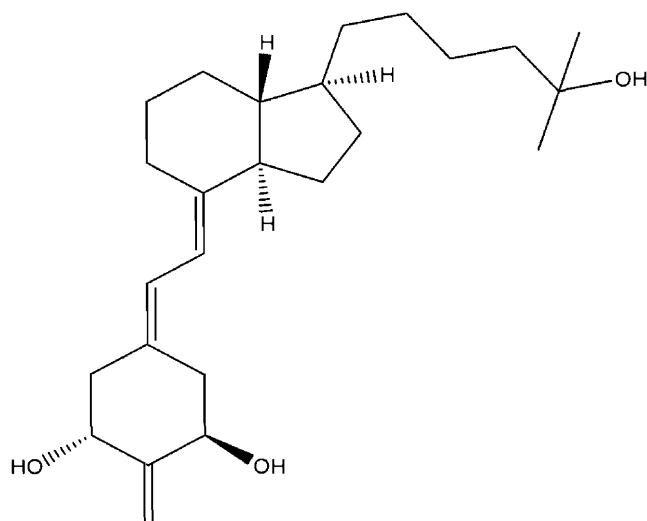
## 【請求項 16】

化合物が、0.01  $\mu\text{g}/\text{日}$  ~ 1mg/日の投与量で投与される、請求項8記載の方法。

30

## 【請求項 17】

式II



40

II

を有する化合物。

## 【請求項 18】

50

請求項17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、薬学的組成物。

【請求項 19】

有効量が、組成物1グラムあたり約0.01  $\mu\text{g}$  ~ 約1mgの化合物を含む、請求項18記載の薬学的組成物。

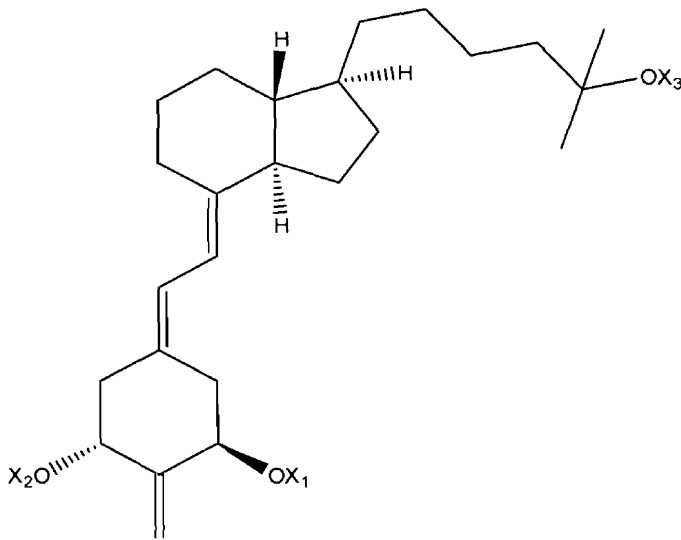
【請求項 20】

有効量が、組成物1グラムあたり約0.1  $\mu\text{g}$  ~ 約500  $\mu\text{g}$ の化合物を含む、請求項18記載の薬学的組成物。

【請求項 21】

それを必要とする動物に下記式を有する化合物の有効量を投与する段階を含む、動物の肥満を治療もしくは予防する、脂肪細胞分化を阻害する、SCD-1遺伝子転写を阻害する、および/または動物における体脂肪を減少させる、方法：

10



20

I

式中、 $X_1$ 、 $X_2$ 、および $X_3$ はHおよびヒドロキシ保護基より独立に選択される。

【請求項 22】

化合物が、経口的に、非経口的に、経鼻的に、直腸に、舌下に、経皮的に、または局所的に動物に投与される、請求項21記載の方法。

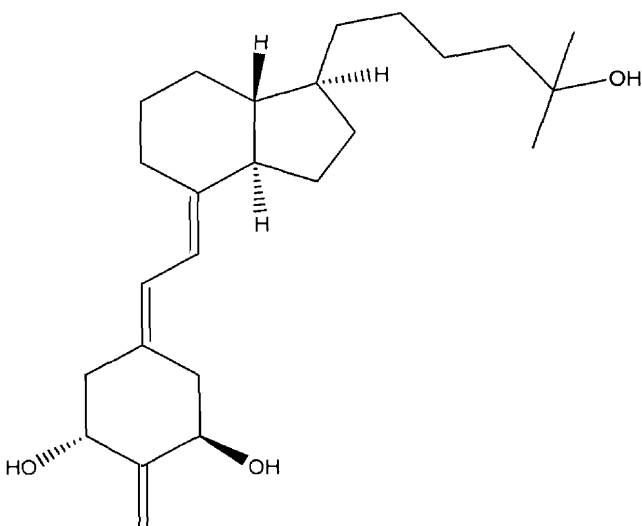
30

【請求項 23】

化合物が、0.01  $\mu\text{g}/\text{日}$  ~ 1mg/日の投与量で投与される、請求項21記載の方法。

【請求項 24】

化合物が、下記式



40

II

50

を有する2-メチレン-1 $\beta$ ,25-ジヒドロキシ-18,19,21-トリノルピタミンD<sub>3</sub>である、請求項21記載の方法。

【請求項25】

動物がヒトである、請求項21記載の方法。

【請求項26】

動物が家畜である、請求項21記載の方法。

【請求項27】

動物が農業動物である、請求項21記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

10

【0001】

発明の分野

本発明はビタミンD化合物に関し、より詳細には2-メチレン-1 $\beta$ ,25-ジヒドロキシ-18,19,21-トリノルピタミンD<sub>3</sub> (DJ-55) およびこの化合物を含む薬学的製剤に関する。また本発明は、様々な疾患を治療する際に用いるための薬剤の調製における2-メチレン-1 $\beta$ -ヒドロキシ-18,19,21-トリノルピタミンD<sub>3</sub>またはその塩の使用にも関する。

【背景技術】

【0002】

発明の背景

天然ホルモンである1 $\alpha$ ,25-ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub> (1 $\alpha$ ,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呼ばれる) およびエルゴステロール系のその類縁体、すなわち1 $\alpha$ ,25-ジヒドロキシビタミンD<sub>2</sub>は動物およびヒトにおけるカルシウム恒常性の非常に強力な調節物質であることが公知であり、細胞分化におけるそれらの活性も確立されている (Ostrem et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84, 2610 (1987))。1 $\beta$ -ヒドロキシビタミンD<sub>3</sub>、1 $\beta$ -ヒドロキシビタミンD<sub>2</sub>、様々な側鎖同族体化ビタミン、およびフッ化類縁体を含む、これらの代謝産物の多くの構造類縁体が調製され、試験されている。これらの化合物のいくつかは細胞分化とカルシウム調節とにおける活性の興味深い分離を示す。活性におけるこの相違は、腎性骨形成異常、ビタミンD抵抗性くる病、骨粗しょう症、乾癬、および特定の悪性病変などの、当技術分野において確立されている様々な疾患の治療において有用である (例えば、Zemplar、Calcipotriol、MC-903、Dovonex、22-オキサ-1 $\alpha$ ,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>参照)。

20

30

Slatopolsky, E., Finch, J., Ritter, C., Denda, M., Morrissey, J.,  
 Brown, A. & DeLuca, H. (1995) Am. J. Kidney Dis. 26, 852-860; Kubodera, N., Sato,  
 K. & Nishii, Y. (1997) in Vitamin D, eds. Feldman, D., Glorieux, F.H. & Pike, J.W.  
 (Academic, New York), Vol. 63, pp. 1071-1086; Calverley, M.J. (1987) Tetrahedron  
 Lett. 43, 4609-4619; Uskokovic, M.R., Studzinski, G.P. & Reddy, S.G. (1997) in  
 Vitamin D, eds. Feldman, D., Glorieux, F.H. & Pike, J.W. (Academic, New York),  
 Vol. 62, pp. 1045-1070; Kensler, T.W., Dolan, P.M., Gange, S.J., Lee, J.-K., Wang,  
 Q. & Posner, G.H. (2000) Carcinogenesis 21, 1341-1345; Binderup, L., Binderup, E.  
 & Godfredsen, W.O. (1997) in Vitamin D, eds. Feldman, D., Glorieux, F.H. & Pike,  
 J.W. (Academic, New York), Vol. 61, pp. 1027-1043; Jones, G. (1997) in Vitamin D,  
 eds. Feldman, D., Glorieux, F.H. & Pike, J.W. (Academic, New York), Vol. 58, pp.  
 973-994; Brown, A.J. & Slatopolsky, E. (1997) in Vitamin D, eds. Feldman, D.,  
 Glorieux, F.H. & Pike, J.W. (Academic, New York), Vol. 59, pp. 995-1009; Shankar,  
 V.N., Propp, A.E., Schroeder, N.S., Surber, B.W., Makin, H.L.J. & Jones, G. (2001)  
 Arch. Biochem. Biophys. 387, 297-306

10

20

これらすべての引用文献はあらゆる目的のために参照により本明細書に組み入れられる。

#### 【 0 0 0 3 】

前述のとおり、腎性骨形成異常は、腎臓が血中のカルシウムおよびリンの適切なレベルを維持できない場合に起こる骨疾患である。腎性骨形成異常は腎臓病を有する患者においては一般的な問題であり、透析患者の90パーセントが罹患している。

#### 【 0 0 0 4 】

腎性骨形成異常は、骨がまだ成長中であるため小児において最も重篤である。この状態は骨の成長を遅らせ、変形を引き起こす。そのような変形の一つは、下肢が互いに向かって内側に、または互いから離れて外側に屈曲する場合に起こり；この変形は「腎性くる病」と呼ばれる。もう一つの重要な結果は低身長である。症状は腎疾患を有する成長中の小児において、透析を開始する前でも認められる。

30

#### 【 0 0 0 5 】

腎性骨形成異常に起因する骨変化は、腎臓病を有する成人では症状が現れる何年も前に始まることもある。腎性骨形成異常の症状は成人では通常、透析を数年間続けるまで見られない。高齢患者および閉経後の女性は、腎臓病がなくともただでさえ骨粗しょう症を生じやすいため、この疾患のリスクが高い。治療せずに放置すると、骨は徐々に細く弱くなり、腎性骨形成異常を有する個人は骨および関節痛を経験し、かつ骨折のリスクが高くなる。

40

#### 【 0 0 0 6 】

健常な成人では、骨組織は絶えず再造形および再構築されている。腎臓は血中のカルシウムおよびリンのレベルのバランスを保つので、健常な骨の量および構造を維持する上で重要な役割を果たしている。血中のカルシウムレベルが下がりすぎると、副甲状腺は副甲状腺ホルモン（PTH）を放出する。このホルモンは骨からカルシウムを溶出させ、血中カルシウムレベルを高める。血中のPTHが多すぎるとカルシウムおよびリンの恒常性に混乱をきたす。これは次いで骨から多くのカルシウムを溶出しすぎて、経時的な一定のカルシウム溶出により骨が軟弱化する。

#### 【 0 0 0 7 】

続発性副甲状腺機能亢進症は、不十分なレベルの活性ビタミンDホルモンに関連したPTH

50

上昇を特徴とする。典型的に、ビタミンDは、ビタミンD受容体（VDR）に結合して活性化するために、肝臓および腎臓における2回の連続したヒドロキシル化を必要とする。内因性VDR活性化物質であるカルシトリオール $[1,25(\text{OH})_2\text{D}_3]$ は、副甲状腺、腸、腎臓、および骨に存在するVDRに結合して副甲状腺機能とカルシウムおよびリンの恒常性を維持し、かつ、前立腺、内皮、および免疫細胞を含む多くの他の組織で見いだされるVDRに結合するホルモンである。リンも骨におけるカルシウムレベルの調節を助ける。健常な腎臓は血中から過剰なリンを除去する。腎臓が正常にはたらくのをやめると、血中のリンレベルが高くなりすぎることがあり、これは血中のカルシウムレベル低下につながり、その結果骨からのカルシウム損失を引き起こす。

【0008】

健常な腎臓はカルシトリオールを産生して、体内で食事カルシウムが血液および骨へと吸収されるのを助ける。カルシトリオールレベルが下がりすぎると、PTHレベルが上がり、カルシウムが骨から溶出される。カルシトリオールとPTHは一緒にはたらい、カルシウムバランスを正常に保ち、骨を健常に保つ。腎機能不全患者では、腎臓はカルシトリオールの産生を停止し、食事カルシウムは吸収されず、カルシウムが骨から溶出される。

【0009】

PTHレベルを制御することで、カルシウムの骨からの溶出が離脱する。通常、過度に活性な副甲状腺は食事の変更、透析治療、または投薬により制御可能である。2004年に食品医薬品局（FDA）により承認された塩酸シナカルセット（Sensipar）という薬物は、PTH放出を制御するカルシウム受容体に結合することによりPTHレベルを低下させる。PTHレベルを制御することができなければ、副甲状腺を外科的に摘出する必要性が生じることもある。この状態の他の治療には、丸剤としてまたは注射可能な形態での合成カルシトリオールの摂取が含まれる。

【0010】

腎性骨形成異常は食事の変更で治療することもできる。食事によるリンの摂取の低減は骨疾患を予防する上で最も重要な段階の一つである。しばしば、炭酸カルシウム（Tums）、酢酸カルシウム（PhosLo）、塩酸セベラマー（Renagel）、または炭酸ランタン（Fosrenol）などの薬物が食事および間食と共に処方されて腸内でリンと結合し、リンの血中への吸収を低減する。

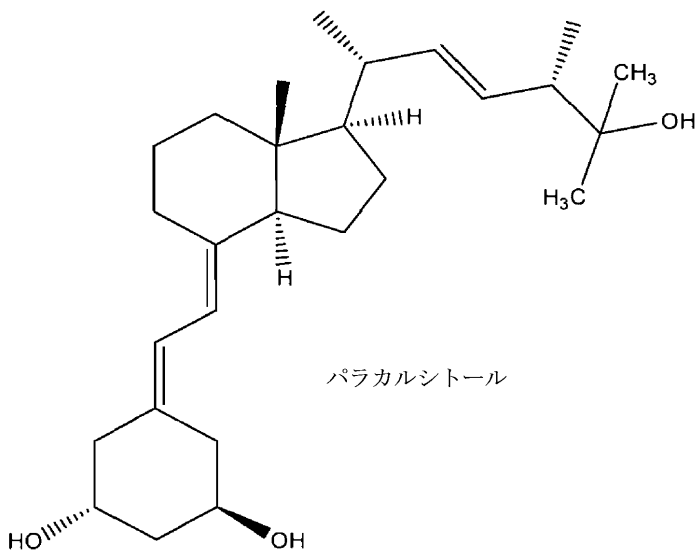
【0011】

腎性骨形成異常に対する他の治療の選択肢には、Zemplar（パラカルシトール注射剤、USP）の活性成分であるパラカルシトールが含まれるが、これは側鎖およびA（19-ノル）環が修飾されたカルシトリオールの合成の生物活性ビタミンD類縁体である。パラカルシトールの作用はVDRへの結合によって仲介され、これによりビタミンD反応経路の選択的活性化を引き起こすことが、前臨床およびインビトロ試験により明らかにされている。カルシトリオールおよびパラカルシトールはPTH合成および分泌を阻害することにより副甲状腺ホルモンレベルを低下させることが明らかにされている。

10

20

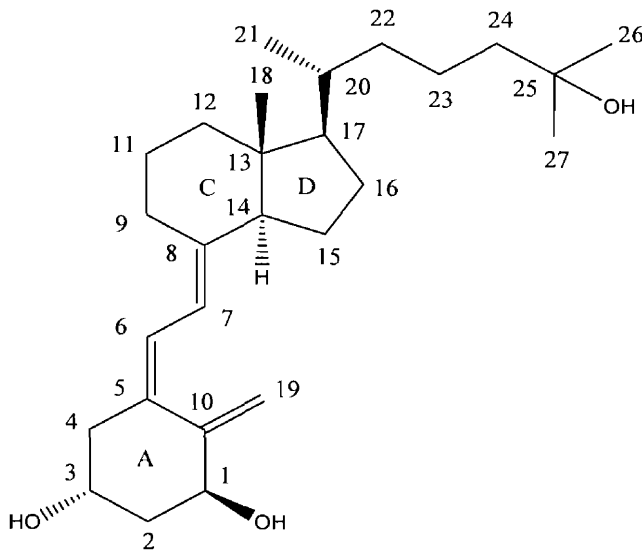
30



10

## 【 0 0 1 2 】

1,25-ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub>の構造およびこの化合物中の炭素原子を示すために用いる番号付けシステムを以下に示す。



20

30

1 $\alpha$ ,25-ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub>=1 $\alpha$ ,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

## 【 0 0 1 3 】

典型的に、19-ノル-ビタミンD化合物などのビタミンD類縁体のクラスは、ビタミンD系に典型的なA環の環外メチレン基からの19位炭素の不在を特徴とする。そのような19-ノル-類縁体（例えば、1,25-ジヒドロキシ-19-ノル-ビタミンD<sub>3</sub>）の生物学的試験により、細胞分化の誘導における高い効力と非常に低いカルシウム動員活性とを伴う選択的活性プロファイルが明らかとなった。したがって、これらの化合物は悪性病変の治療、または様々な皮膚障害の治療用の治療薬として有用である可能性がある。そのような19-ノル-ビタミンD類縁体合成の2つの異なる方法が記載されている（Perlman et al., Tetrahedron Lett. 31, 1823 (1990); Perlman et al., Tetrahedron Lett. 32, 7663 (1991)、およびDe Luca et al., 米国特許第5,086,191号）。

40

## 【 0 0 1 4 】

2007年1月30日提出の米国特許出願第11/669,029号および第11/669,053号において、腎性骨形成異常の治療のための可能性のある薬物として、(20R,25S)-2-メチレン-19,26-ジノル-1,25-ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub>（NEL）および(20S,25S)-2-メチレン-19,26-ジノル-1,25-ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub>（RAK）がDeLucaらによって記載され、試験された。米国特許第4,666,634号において、骨粗しょう症のために可能性のある薬物として、および

50



抗腫瘍剤として1,25-ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub>の2-ヒドロキシおよびアルコキシ（例えば、ED-71）類縁体がChugaiグループによって記載され、試験された。Okano et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. 163, 1444 (1989)も参照されたい。1,25-ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub>のその他の2-置換（ヒドロキシアルキル、例えば、ED-120、およびフルオロアルキル基による）A環類縁体も調製され、試験されている（Miyamoto et al., Chem. Pharm. Bull. 41, 1111 (1993) ; Nishii et al., Osteoporosis Int. Suppl. 1, 190 (1993) ; Posner et al., J. Org. Chem. 59, 7855 (1994)、およびJ. Org. Chem. 60, 4617 (1995)）。

#### 【0015】

1,25-ジヒドロキシ-19-ノル-ビタミンD<sub>3</sub>の様々な2-置換類縁体、すなわち、2位でヒドロキシ基またはアルコキシ基（DeLuca et al., 米国特許第5,536,713号）、2-アルキル基（DeLuca et al., 米国特許第5,945,410号）、および2-アルキリデン基（DeLuca et al., 米国特許第5,843,928号）により置換された化合物も合成されており、これらは興味深い選択的活性プロファイルを示す。これらの試験はすべて、ビタミンD受容体中の結合部位が合成ビタミンD類縁体中のC-2における異なる置換基に適応しうることを示している。

10

#### 【0016】

19-ノルクラスの薬理学的に重要なビタミンD化合物を探索するための継続的努力において、2位炭素（C-2）におけるメチレン置換基、1位炭素（C-1）におけるヒドロキシル基、および20位炭素（C-20）に結合した短い側鎖の存在を特徴とする類縁体も合成され、試験されている。1-ヒドロキシ-2-メチレン-19-ノル-プレグナカルシフェロールが米国特許第6,566,352号に記載されている一方、1-ヒドロキシ-2-メチレン-19-ノル-(20S)-ホモプレグナカルシフェロールが米国特許第6,579,861号に、1-ヒドロキシ-2-メチレン-19-ノル-ビスホモプレグナカルシフェロールが米国特許第6,627,622号に記載されている。これら3つの化合物は全て、1,25-ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub>に比べてビタミンD受容体に対する比較的高い結合活性および比較的高い細胞分化活性を有するが、血中カルシウム上昇（calcemic）活性はあるとしても非常に低い。その生物活性により、352号、861号、および622号特許に示すとおり、これらの化合物は様々な薬学的使用に対する優秀な候補となっている。他の19-ノル化合物は、米国特許出願第10/996,642号および第10/997,698号に開示されている。これらすべての特許および特許出願はあらゆる目的のために参照により本明細書に組み入れられる。

20

30

#### 【0017】

前述の化合物および製剤を含む現在利用可能な治療は、程度の違いはあっても様々な制限を有するため、血中カルシウム上昇作用を低下させ続ける一方でPTHを抑制する能力を保持している新しい化合物および薬学的製剤が望ましい。

#### 【発明の開示】

#### 【0018】

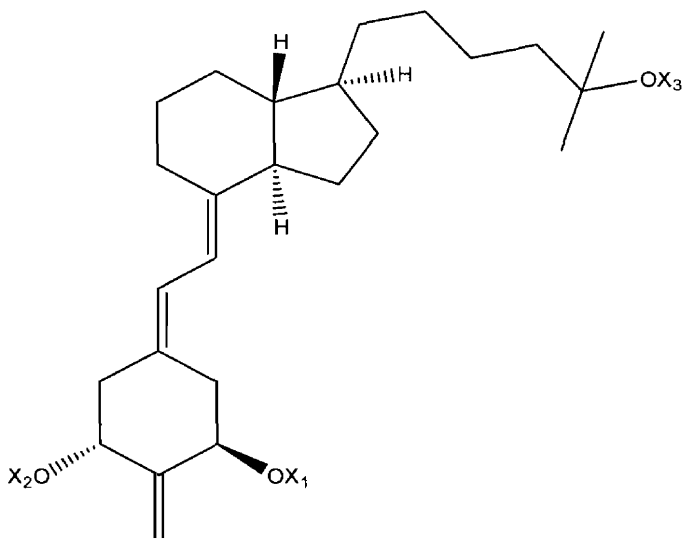
##### 発明の概要

本発明は概して、2-メチレン-1,25-ジヒドロキシ-18,19,21-トリノルビタミンD<sub>3</sub>（DJ-55）および関連化合物、DJ-55を含む薬学的製剤、ならびに様々な疾患状態の治療において用いるための薬剤の調製における本化合物の使用を提供する。

40

#### 【0019】

したがって、一局面において、本発明は以下に示す式Iを有する化合物を提供する：

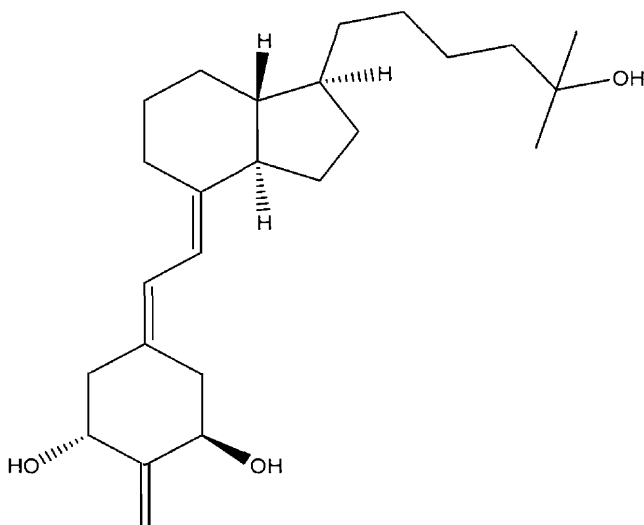


I

式中、 $X_1$ 、 $X_2$ 、および $X_3$ は同じまたは異なり、Hまたはヒドロキシ保護基から独立に選択される。一部の態様において、 $X_1$ 、 $X_2$ 、および $X_3$ はシリルエーテル基、アルキルエーテル基、アルコキシアルキルエーテル基、アセタール基、およびエステル基などのヒドロキシ保護基である。一部のそのような態様において、 $X_1$ 、 $X_2$ 、および $X_3$ は、t-ブチルジメチルシリルエーテル基 (TBDMS)、トリメチルシリルエーテル基 (TMS)、トリエチルシリルエーテル基 (TES)、トリスプロピルシリルエーテル基 (TIPS)、t-ブチルジフェニルシリルエーテル基 (TBDPS)、テトラヒドロピラン基 (THP)、メトキシエトキシメチル基 (MEM)、メトキシメチル基 (MOM)、ベンジルエーテル基、t-ブチルエーテル基、N-フタルイミドアセタール基 (Nphth)、イソプロピリデン、トリメトキシブタン、2,4-ジメチルペンタン-3-イルオキシカルボニル基 (Doc) である。様々な他のヒドロキシ保護基は当業者には公知であり、例えば、あらゆる目的のために参照により本明細書に組み入れられる Jarowicki et al, J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1, 1998, 4005-4037を参照されたい。

## 【0020】

他の態様において、化合物が以下に示す式IIを有する2-メチレン-1,25-ジヒドロキシ-18,19,21-トリノルピタミンD3 (DJ-55) であるように、 $X_1$ 、 $X_2$ 、および $X_3$ はHである。



II

## 【0021】

本発明の別の態様は、式IまたはIIの化合物の有効量と薬学的に許容される担体とを含む、薬学的組成物を提供する。この薬学的組成物において、有効量は、本化合物を組成物1グラムあたり約0.01  $\mu$ g ~ 約1mg含む。より好ましくは、有効量は、本化合物を組成物1g

10

20

30

40

50

ラムあたり約0.1  $\mu\text{g}$  ~ 約500  $\mu\text{g}$ 含む。

【0022】

特定の態様において、本発明は、式IまたはIIの化合物の有効量を被験体に投与する段階を含む、生物学的状態を患う被験体を治療する方法を提供するが、ここで生物学的状態は、骨軟化症およびビタミンD抵抗性くる病などの代謝性骨疾患；乾癬；白血病；大腸癌；乳癌；前立腺癌；皮膚癌；肺癌；多発性硬化症；狼瘡；真性糖尿病；宿主対移植片反応；臓器移植の拒絶反応；関節リウマチ、喘息、もしくは、セリアック病、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炎症性疾患；しわ、十分な皮膚弾力の欠如、十分な皮膚水分の欠如、もしくは不十分な皮脂分泌から選択される皮膚状態；腎性骨形成異常；骨減少症；または骨粗しょう症、特に、老年性骨粗しょう症、閉経後骨粗しょう症、ステロイド誘発性骨粗しょう症、および骨低代謝回転型骨粗しょう症（low bone turnover osteoporosis）から選択される。例示的な態様において、生物学的状態は、腎性骨形成異常、ビタミンD抵抗性くる病、骨粗しょう症、または乾癬性関節炎である。別の例示的な態様において、生物学的状態は、白血病、大腸癌、乳癌、皮膚癌、肺癌、または前立腺癌から選択される。さらに別の例示的な態様において、生物学的状態は、多発性硬化症、狼瘡、真性糖尿病、宿主対移植片反応、または臓器移植の拒絶反応から選択される。さらに他の例示的な態様において、生物学的状態は、関節リウマチ、喘息、または、セリアック病、潰瘍性大腸炎、およびクローン病から選択される炎症性腸疾患から選択される。さらに他の例示的な態様において、生物学的状態は、しわ、十分な皮膚弾力の欠如、十分な皮膚水分の欠如、または不十分な皮脂分泌から選択される。

10

20

【0023】

同様に好ましくは、本態様において、本化合物の有効量を被験体に経口的に、非経口的に、経皮的に、経鼻的に、直腸に、舌下に、または局所的に投与する。さらにより好ましくは、本化合物の有効量を腹腔内投与する。本態様において、本化合物は0.01  $\mu\text{g}/\text{日}$  ~ 1mg/日の投与量で投与される。

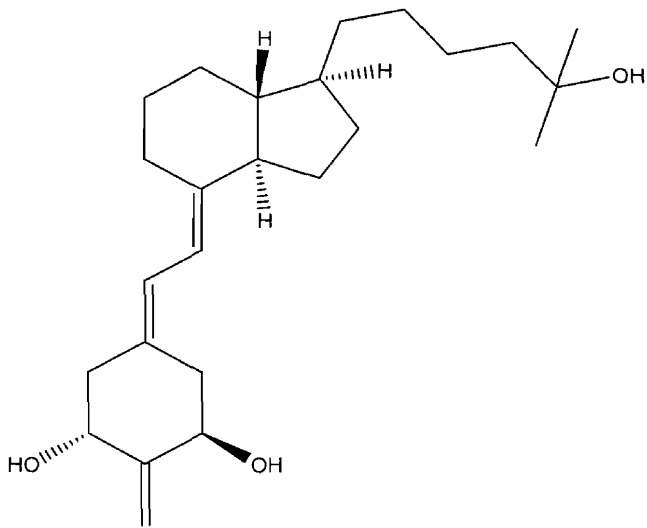
【0024】

本発明の別の局面は、骨軟化症およびビタミンD抵抗性くる病などの代謝性骨疾患；乾癬；白血病；大腸癌；乳癌；前立腺癌；皮膚癌；肺癌；多発性硬化症；狼瘡；真性糖尿病；宿主対移植片反応；臓器移植の拒絶反応；関節リウマチ、喘息、もしくは、セリアック病、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炎症性疾患；しわ、十分な皮膚弾力の欠如、十分な皮膚水分の欠如、もしくは不十分な皮脂分泌から選択される皮膚状態；腎性骨形成異常；骨減少症；または骨粗しょう症、特に、老年性骨粗しょう症、閉経後骨粗しょう症、ステロイド誘発性骨粗しょう症、および骨低代謝回転型骨粗しょう症から選択される生物学的状態の治療用薬剤の調製における、式Iの化合物の使用を提供する。

30

【0025】

本発明のさらに別の好ましい態様は、式IIを有する化合物を提供する。



II

10

## 【 0 0 2 6 】

本発明はまた、式IIの化合物の有効量と薬学的に許容される担体とを有する薬学的組成物も教示する。

20

## 【 0 0 2 7 】

本発明の別の局面は、骨軟化症およびビタミンD抵抗性くる病などの代謝性骨疾患；乾癬；白血病；大腸癌；乳癌；前立腺癌；皮膚癌；肺癌；多発性硬化症；狼瘡；真性糖尿病；宿主対移植片反応；臓器移植の拒絶反応；関節リウマチ、喘息、もしくは、セリアック病、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炎症性疾患；しわ、十分な皮膚弾力の欠如、十分な皮膚水分の欠如、もしくはは不十分な皮脂分泌から選択される皮膚状態；腎性骨形成異常；骨減少症；または骨粗しょう症、特に、老年性骨粗しょう症、閉経後骨粗しょう症、ステロイド誘発性骨粗しょう症、および骨低代謝回転型骨粗しょう症から選択される生物学的状態の治療用薬剤の調製における、式IIの化合物の使用を提供する。

30

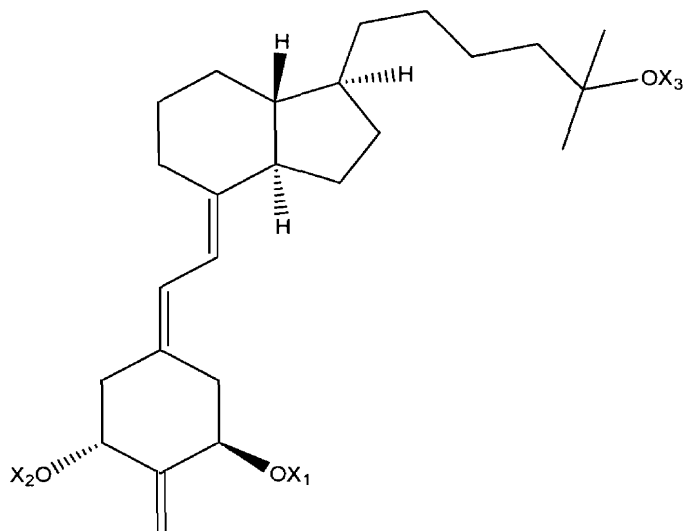
## 【 0 0 2 8 】

本発明のさらなる目的、特徴、および利点は以下の詳細な説明、添付の図面、および添付の特許請求の範囲から明らかになるであろう。

## 【 0 0 2 9 】

発明の詳細な説明

本発明は概して、以下に示す式Iを有する化合物を提供する：



I

40

50

式中、 $X_1$ 、 $X_2$ 、および $X_3$ は同じまたは異なり、Hまたはヒドロキシ保護基から独立に選択される。一部の態様において、 $X_1$ 、 $X_2$ 、および $X_3$ は、シリルエーテル基、アルキルエーテル基、アルコキシアルキルエーテル基、アセタール基、およびエステル基などのヒドロキシ保護基である。一部のそのような態様において、 $X_1$ 、 $X_2$ 、および $X_3$ はt-ブチルジメチルシリルエーテル基 (TBDMS)、トリメチルシリルエーテル基 (TMS)、トリエチルシリルエーテル基 (TES)、トリイソプロピルシリルエーテル基 (TIPS)、t-ブチルジフェニルシリルエーテル基 (TBDPS)、テトラヒドロピラン基 (THP)、メトキシエトキシメチル基 (MEM)、メトキシメチル基 (MOM)、ベンジルエーテル基、t-ブチルエーテル基、N-フタルイミドアセタール基 (Nphth)、イソプロピリデン、トリメトキシブタン、2,4-ジメチルペンタン-3-イルオキシカルボニル基 (Doc) である。上述のように、様々な他のヒドロキシ保護基が当業者には公知であり、例えば、あらゆる目的のために参照により本明細書に組み入れられるJarowicki et al, J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1, 1998, 4005-4037を参照されたい。

10

#### 【0030】

同じく本明細書において用いられる「ヒドロキシ保護基」という用語は、アルコキシカルボニル基、アシル基、アルキルシリル基またはアルキルアリアルシリル基 (以下、単に「シリル」基と称する)、およびアルコキシアルキル基などであるがそれらに限定されるわけではない、ヒドロキシ (-OH) 官能基の一時的保護のために一般に用いられる任意の基を意味する。アルコキシカルボニル保護基は、メトキシカルボニル、エトキシカルボニル、プロポキシカルボニル、イソプロポキシカルボニル、ブトキシカルボニル、イソブトキシカルボニル、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などのアルキル-O-CO-基である。「アシル」という用語は、炭素数1~6のアルカノイル基のすべての異性体、または、オキサリル基、マロニル基、スクシニル基、グルタリル基などの炭素数1~6のカルボキシアルカノイル基、あるいはベンゾイル基、またはハロ置換、ニトロ置換もしくはアルキル置換ベンゾイル基などの芳香族アシル基を意味する。アルコキシアルキル保護基は、メトキシメチル、エトキシメチル、メトキシエトキシメチル、またはテトラヒドロフラニル、およびテトラヒドロピラニルなどの基である。好ましいシリル保護基はトリメチルシリル、トリエチルシリル、t-ブチルジメチルシリル、ジブチルメチルシリル、ジフェニルメチルシリル、フェニルジメチルシリル、ジフェニル-t-ブチルシリル、および類似のアルキル化シリルラジカルである。「アリアル」という用語は、フェニル、またはアルキル置換、ニトロ置換もしくはハロ置換フェニルを規定する。ヒドロキシ官能性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)に記載されており、これらはその中に示される手順を用いて付加または除去することができ、この内容は本明細書において完全に示されたのと同じようにその全文があらゆる目的のために参照により本明細書に組み入れられる。

20

30

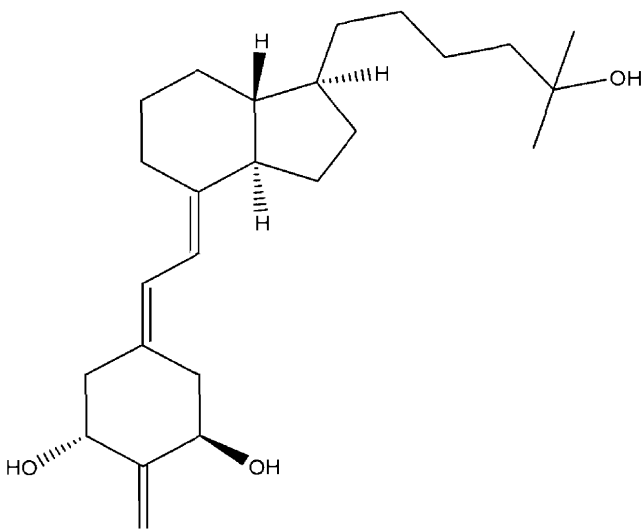
#### 【0031】

「保護ヒドロキシ」基とは、ヒドロキシ官能基の一時的または永久的保護のために一般的に用いられる任意の前述の基、例えば、前記で定義したシリル基、アルコキシアルキル基、アシル基、またはアルコキシカルボニル基で誘導体化または保護されたヒドロキシ基である。

40

#### 【0032】

他の態様において、化合物が以下に示す式IIを有する2-メチレン-1,25-ジヒドロキシ-18,19,21-トリノルピタミンD3 (DJ-55) であるように、 $X_1$ 、 $X_2$ 、および $X_3$ はHである。



II

10

## 【 0 0 3 3 】

式IIの化合物（DJ-55）は、望ましくかつ非常に有利なパターンの生物活性を示す。この化合物は、天然のホルモンと比較して、ビタミンD受容体への比較的強い結合、Ros17/2.8（骨）細胞中で安定にトランスフェクションされたレポーター遺伝子の転写の刺激におけるおよびHL-60細胞の分化の誘導における比較的高い活性を特徴とする。さらにこれは、1,25-ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub>と比較して同程度の腸管カルシウム輸送活性および骨カルシウム動員を有する。したがって本化合物は、骨減少症、代謝性骨疾患の治療において有用であることを特徴とし、または、続発性副甲状腺機能亢進症もしくは腎性骨形成異常の抑制のための治療薬として特徴付けられる。

20

## 【 0 0 3 4 】

本発明の化合物はまた、免疫系の不均衡を特徴とするヒト障害、例えば、多発性硬化症、狼瘡、真性糖尿病、宿主対移植片反応、および臓器移植の拒絶反応を含む自己免疫疾患の治療および予防のため；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、およびクローン病などの炎症性腸疾患などの炎症性疾患の治療のために特に適している。ざ瘡、脱毛、および高血圧は、本発明の化合物で治療される他の状態である。

30

## 【 0 0 3 5 】

前述の化合物は、比較的高い細胞分化活性も特徴とする。したがってこの化合物は、乾癬の治療のための、または特に白血病、大腸癌、乳癌、皮膚癌、肺癌、および前立腺癌に対する抗癌剤としての治療剤も提供する。加えて、その比較的高い細胞分化活性ゆえに、この化合物は、しわ、十分な皮膚水分の欠如、すなわち乾燥皮膚、十分な皮膚弾力の欠如、すなわちたるんだ皮膚、および不十分な皮脂分泌を含む様々な皮膚状態の治療のための治療剤を提供する。したがってこの化合物の使用は皮膚の加湿を引き起こすのみならず、皮膚のバリア機能も改善する。

40

## 【 0 0 3 6 】

本発明の化合物を用いて、本発明の化合物と薬学的に許容される担体との組み合わせを含む薬学的製剤または薬剤を調製する。そのような薬学的製剤および薬剤は、本明細書に記載のものなどの様々な生物学的障害を治療するために用いられる。そのような障害の治療法は典型的に、本化合物の有効量または本化合物を含む薬学的製剤もしくは薬剤の適切な量を、生物学的障害を患う被験体に投与する段階を含む。一部の態様において、被験体は哺乳動物である。一部のそのような態様において、哺乳動物は齧歯類、霊長類、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。一部のそのような態様において、哺乳動物はラットまたはマウスである。一部の態様において、被験体は、（一部の態様においては）ヒトなどの霊長類である。

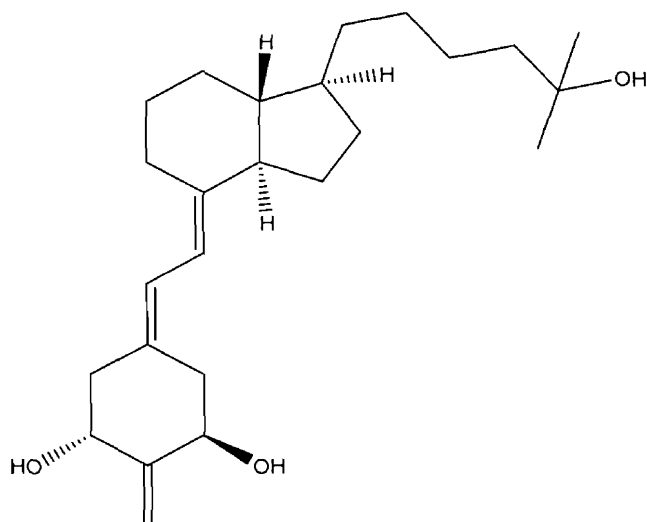
50

## 【 0 0 3 7 】

前述の疾患および障害を治療するための組成物中に存在する本化合物は、組成物1gあたり約0.01  $\mu\text{g}$  ~ 約1mg、好ましくは組成物1gあたり約0.1  $\mu\text{g}$  ~ 約500  $\mu\text{g}$ の量であり、局所的、経皮的、経口的、または非経口的に約0.01  $\mu\text{g}/\text{日}$  ~ 約1mg/日、好ましくは約0.1  $\mu\text{g}/\text{日}$  ~ 約500  $\mu\text{g}/\text{日}$ の量で投与される。

【0038】

一態様において本発明は、以下に示す化合物IIを提供する。



II

10

20

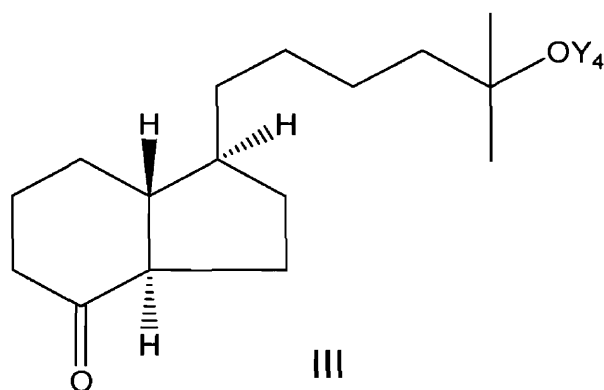
【0039】

好ましい態様において、2-メチレン-1,25-ジヒドロキシ-18,19,21-トリノルビタミンD3 (DJ-55) を合成して試験したが、これは本明細書に記載の様々な生物学的状態の治療において有用である。

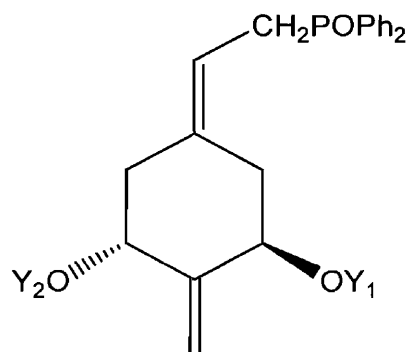
【0040】

2-メチレン-1,25-ジヒドロキシ-18,19,21-トリノルビタミンD3 (DJ-55) の調製は、適切な二環式ウィンドウス-グルンドマン型ケトン(III)をアリルホスフィンオキシドIVと縮合し、続いて脱保護 ( $Y_1$  および  $Y_2$  基の除去) することによって達成することができる。本発明の他の化合物を同様に合成する。

30



III



IV

40

【0041】

ケトンIIIにおいて、およびホスフィンオキシドIVにおいて、 $Y_1$ 、 $Y_2$ 、および $Y_4$ は、シリルエーテル基、アルキルエーテル基、アルコキシアルキルエーテル基、アセタール基、およびエステル基などのヒドロキシ保護基であることが好ましい。一部のそのような態様において、 $Y_1$ 、 $Y_2$ 、および $Y_4$ は、t-ブチルジメチルシリルエーテル基 (TBDMS)、トリメチルシリルエーテル基 (TMS)、トリエチルシリルエーテル基 (TES)、トリイソプロピルシリルエーテル基 (TIPS)、t-ブチルジフェニルシリルエーテル基 (TBDPS)、テトラヒドロピラン基 (THP)、メトキシエトキシメチル基 (MEM)、メトキシメチル基 (MOM)、

50

ベンジルエーテル基、*t*-ブチルエーテル基、*N*-フタルイミドアセタール基 (Nphth)、イソプロピリデン、トリメトキシブタン、2,4-ジメチルペンタン-3-イルオキシカルボニル基 (Doc)である。上述のように、多様なその他のヒドロキシ保護基が当業者に公知であり、例えば、その全目的について本明細書に参照により組み入れられるJarowicki et al., J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1, 1998, 4005-4037を参照されたい。

#### 【0042】

同じく本明細書に記載される「ヒドロキシ保護基」という用語は、ヒドロキシ (-OH) 官能基の一時的な保護のために一般に使用される任意の基、例えば、これらに限定されるわけではないがアルコキシカルボニル基、アシル基、アルキルシリル基またはアルキルアリールシリル基 (以下、本明細書においては単に「シリル」基と称する)、およびアルコキシアルキル基などを意味する。アルコキシカルボニル保護基は、メトキシカルボニル、エトキシカルボニル、プロポキシカルボニル、イソプロポキシカルボニル、ブトキシカルボニル、イソブトキシカルボニル、*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などのアルキル-O-CO-基である。「アシル」という用語は、炭素数1~6のアルカノイル基の全異性体、または、オキサリル基、マロニル基、スクシニル基、グルタリル基などの炭素数1~6のカルボキシアルカノイル基、または、ベンゾイル基、あるいはハロ置換、ニトロ置換、もしくはアルキル置換ベンゾイル基などの芳香族アシル基を意味する。アルコキシアルキル保護基は、メトキシメチル、エトキシメチル、メトキシエトキシメチル、またはテトラヒドロフラニルおよびテトラヒドロピラニルなどの集まりである。好ましいシリル保護基は、トリメチルシリル、トリエチルシリル、*t*-ブチルジメチルシリル、ジブチルメチルシリル、ジフェニルメチルシリル、フェニルジメチルシリル、ジフェニル-*t*-ブチルシリル、および類似のアルキル化シリルラジカルである。「アリール」という用語は、フェニル基、またはアルキル置換、ニトロ置換、もしくはハロ置換フェニル基を意味する。ヒドロキシ官能性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)において見出されるが、これは、該文書に記載の手順を用いて付加または除去することができ、かつこれは、それが本明細書に完全に記載されたのと同じように、その全文が全目的に関して参照によって本明細書に組み入れられる。

10

20

30

#### 【0043】

好ましい態様において、トリエチルシリル基 (TES) および*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例である。

#### 【0044】

上述のケトンIIIとホスフィンオキシドIVの間の反応は収束的合成概念の適用を意味し、これは多くのビタミンD化合物の調製に対して有効に適用されている (Lythgoe et al., J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1, 590 (1978); Lythgoe, Chem. Soc. Rev. 9, 449 (1983); Toh et al., J. Org. Chem. 48, 1414 (1983); Baggiolini et al., J. Org. Chem. 51, 3098 (1986); Sardina et al., J. Org. Chem. 51, 1264 (1986); J. Org. Chem. 51, 1269 (1986); DeLuca et al., 米国特許第5,086,191号; DeLuca et al., 米国特許第5,536,713号; およびDeLuca et al., 米国特許第5,843,928号を参照されたく、これらはすべて、本明細書において完全に示されたのと同じようにその全文があらゆる目的のために参照により本明細書に組み入れられる)。

40

#### 【0045】

ホスフィンオキシドIVは、大量の19-ノルビタミンD化合物を調製するために用いることができる便利な試薬であり、Sicinski et al., J. Med. Chem., 41, 4662 (1998)、DeLuca et al., 米国特許第5,843,928号; Perlman et al., Tetrahedron Lett. 32, 7663 (1991); およびDeLuca et al., 米国特許第5,086,191号に記載の手順に従って調製される。スキームIは、米国特許第5,843,928号 (本明細書において完全に示されたのと同じようにその全文が参照により本明細書に組み入れられる) で概説されている、ホスフィンオキシドIVを合成するための一般法を示している。当業者に明らかであるような、スキームIに示

50

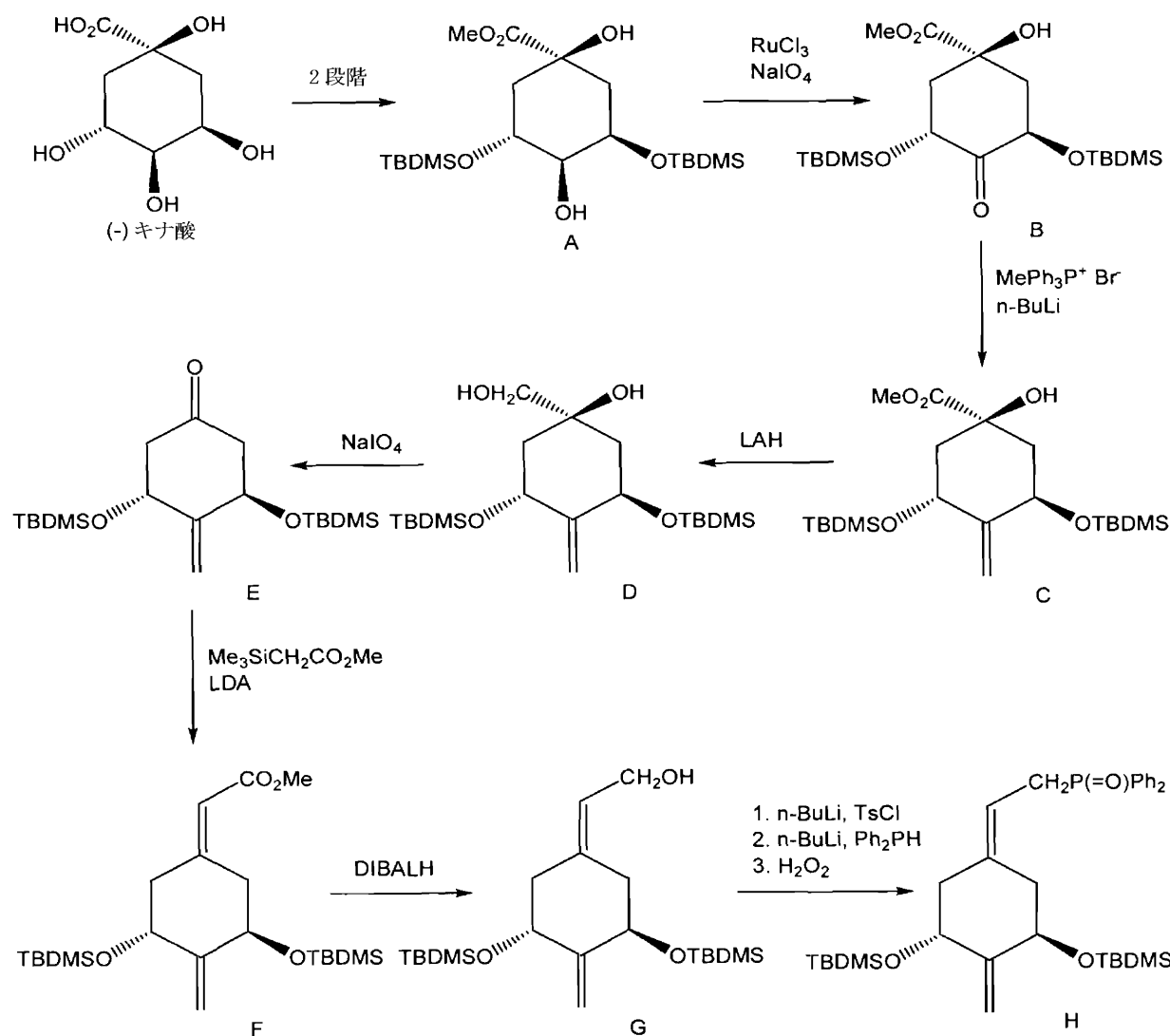


す方法の変法を用いて大量のビタミンD類縁体を製造する。例えば、ケトンBをアルケンCに変換するために用いる $\text{MePh}_3\text{P}^+\text{Br}^-$ の代わりに様々なホスホニウム化合物を用いる。そのような化合物の例には、 $\text{EtPh}_3\text{P}^+\text{Br}^-$ 、 $\text{PrPh}_3\text{P}^+\text{Br}^-$ 、ならびに、トリフェニルホスフィンとハロゲン化アルキル、ハロゲン化アルケニル、ハロゲン化保護ヒドロキシアルキル、およびハロゲン化保護ヒドロキシアルケニルとの反応によって一般に調製される化合物が含まれる。次いで、この手順を用いて調製したアルケンにより、スキームIにおいてホスフィンオキシドHを調製するために用いるのと類似の様式でホスフィンオキシドを調製する。または、スキームIの化合物Cに類似のアルケン(Ph<sub>3</sub>P)<sub>3</sub>RhClおよびH<sub>2</sub>で還元して、他のビタミンD類縁体を得る。米国特許第5,945,410号およびSicinski, R. R. et al., J. Med. Chem., 41, 4662-4674 (1998)を参照されたく、これらはいずれもその全体があらゆる目的のために参照により本明細書に組み入れられる。したがって、スキームIに示すホスフィンオキシドを形成するための手順を用いて、本発明の化合物に加えて様々なビタミンD類縁体を調製する。

10

## 【0046】

## スキームI



20

30

40

## 【0047】

構造IIIのヒドラインダノン、当業者には容易に明らかであり本明細書に記載される、公知の方法または改変法により調製することができる。ビタミンD類縁体を合成するために用いるいくつかの重要な二環式ケトンの具体例は、Mincione et al., Synth. Commun. 19, 723, (1989); およびPeterson et al., J. Org. Chem. 51, 1948, (1986)に記載のものである。

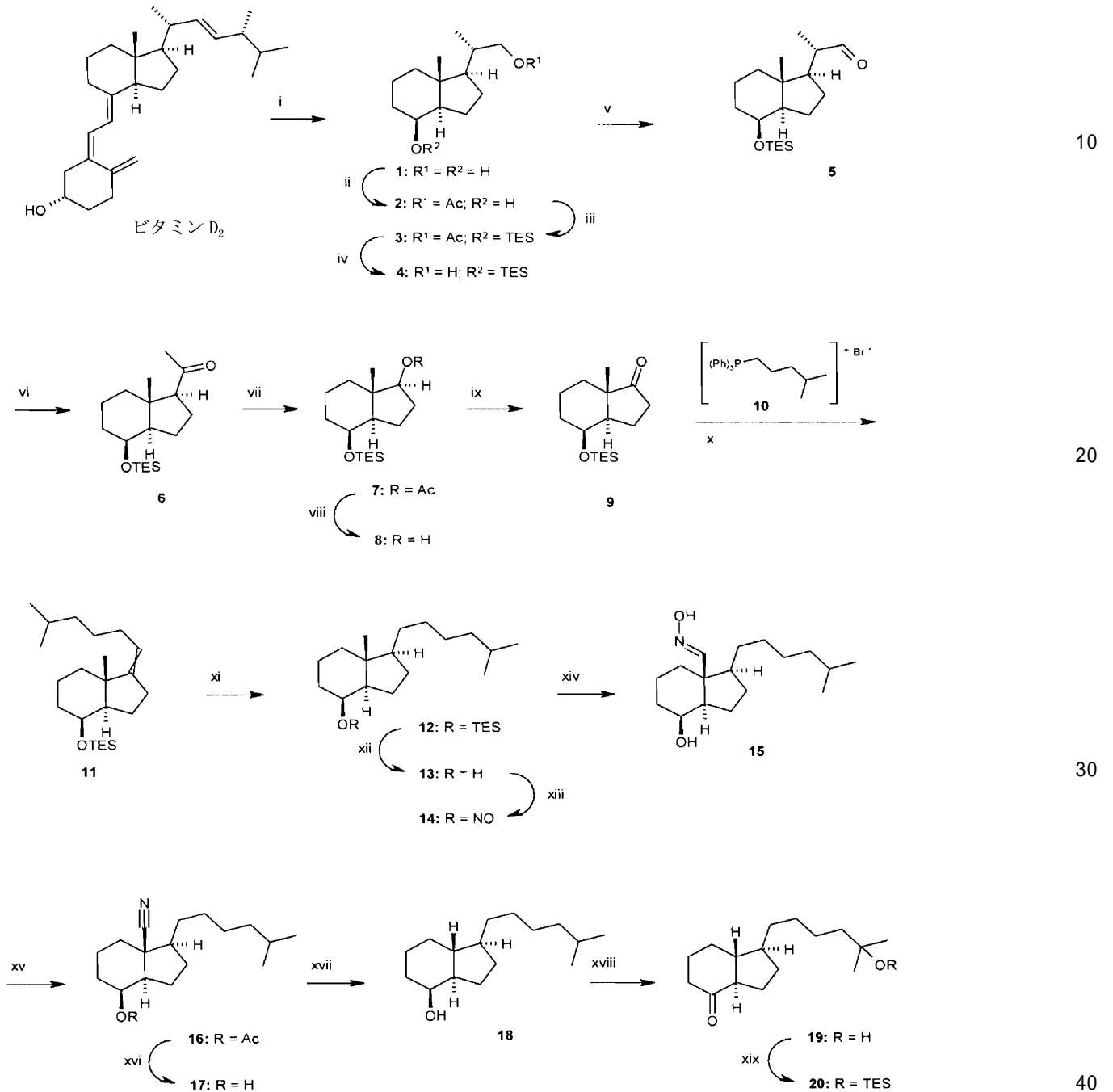
50

【 0 0 4 8 】

一つの好ましい態様において、ケトンIII (20) および式IIの化合物 (DJ-55) (23) を以下に示すスキームIIおよびIIIにより調製した。

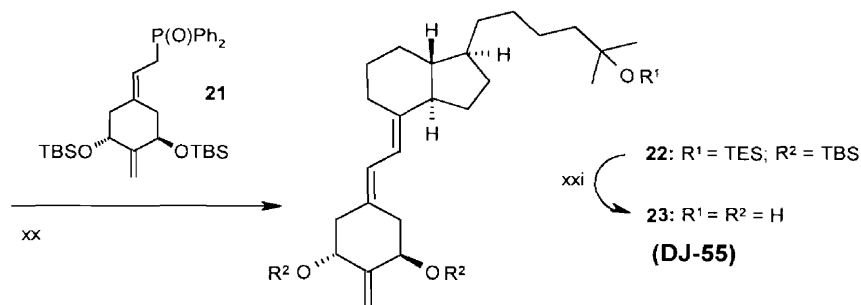
【 0 0 4 9 】

スキームII



【 0 0 5 0 】

スキームIII



10

(i) O<sub>3</sub>, MeOH, py; NaBH<sub>4</sub>, 76%. (ii) Ac<sub>2</sub>O, Et<sub>3</sub>N, DMAP, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 97%. (iii) TESOTf, 2, 6-ルチジン, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. (iv) MeONa/MeOH, 2 の 97%. (v) SO<sub>3</sub>/py, DMSO, Et<sub>3</sub>N, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 78%. (vi) O<sub>2</sub>, *t*-BuOK, *t*-BuOH, 67%. (vii) *m*-CPBA, シクロヘキサン, 58%. (viii) MeONa/MeOH, MeOH, 90%. (ix) PDC, PPTS, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 85%. (x) 10, *t*-BuOK, THF, 63%. (xi) 5% Pd/C, EtOAc, 93%. (xii) CSA, *n*-BuOH, 98%. (xiii) *t*-BuONO, CHCl<sub>3</sub>. (xiv) hv, C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>; *i*-PrOH, 13 の 40%. (xv) Ac<sub>2</sub>O, 92%. (xvi) MeONa, MeOH, 89%. (xvii) K, HMPA, *t*-BuOH, Et<sub>2</sub>O, 80%. (xviii) RuCl<sub>3</sub> × H<sub>2</sub>O, NaIO<sub>4</sub>, CCl<sub>4</sub>, MeCN, H<sub>2</sub>O, 31%. (xix) TESOTf, 2, 6-ルチジン, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 58%. (xx) 21, PhLi, THF, 72%. (xxi) CSA, *n*-BuOH, 77%.

【 0 0 5 1 】

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プロセスは米国特許第5,843,928号、米国特許第6,627,622号、米国特許第6,579,861号、米国特許第5,086,191号、米国特許第5,585,369号、および米国特許第6,537,981号に例示および記載されており、これらの内容は本明細書において完全に示されたのと同じようにその全文があらゆる目的のために参照により本明細書に組み入れられる。

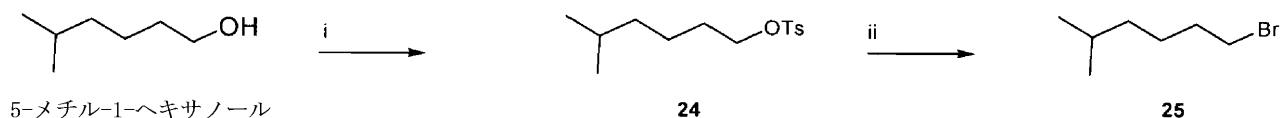
20

【 0 0 5 2 】

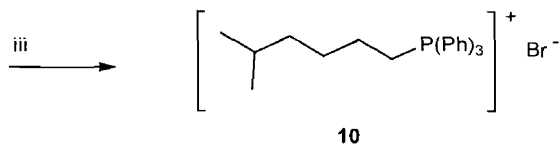
式IおよびIIの化合物は、スキームI、II、およびIIIに示す方法を用いて調製することができる。式IIの化合物については、下記のスキームIVに示すとおり、公知の方法を用いて出発原料である化合物10を調製した。Andrzej R. Daniewski and Wen Liu, J. Org. Chem. 66, 626-628 (2001)も参照されたく、これは本明細書において完全に示されたのと同じようにその全文があらゆる目的のために参照により本明細書に組み入れられる。

【 0 0 5 3 】

スキームIV



30



40

(i) TsCl, Et<sub>3</sub>N, DMAP, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 96%. (ii) LiBr, DMF, 55%. (iii) Ph<sub>3</sub>P, PhMe, 81%.

【 0 0 5 4 】

下記の実施例は、本発明において提供される化合物の合成および生物活性を例示する。これらの実施例は例示目的のものにすぎず、本発明の範囲を限定するとみなされるべきではない。

【 0 0 5 5 】

実施例I：DJ-55合成

デス-A,B-23,24-ジノルコラン-8, 22-ジオール(1)

メタノール(400mL)とピリジン(5mL)中のビタミンD<sub>2</sub>(5g、12.7mmol)の溶液をアル

50

ゴンでパージしながら -78 に冷却した。アルゴン気流を停止し、青色が現れるまでオゾンの気流を通気した。青色が消えるまで溶液を酸素でパージし、 $\text{NaBH}_4$  (1.2g、32mmol) で処理した。20分後、次の $\text{NaBH}_4$  (1.2g、32mmol) を加え、反応混合物を室温まで温めた。次の $\text{NaBH}_4$  (1.2g、32mmol) を加え、反応混合物を室温で一晩撹拌した。水 (70mL) で反応停止し、真空下で濃縮した。残渣を塩化メチレン ( $3 \times 100 \text{ mL}$ ) で抽出した。有機相を 1M HCl 水溶液 ( $2 \times 100 \text{ mL}$ )、飽和 $\text{NaHCO}_3$  水溶液 (100mL) で洗浄し、無水 $\text{MgSO}_4$  で乾燥させ、真空下で濃縮した。残渣をフラッシュクロマトグラフィー (25% 酢酸エチル/ヘキサン) で精製し、白色結晶として 2.05g (9.69mmol; 収率 76%) のジオール 1 を得た。

$[\alpha]_D = +56.0$  (c 0.95,  $\text{CHCl}_3$ ); m.p. 110 - 111°C;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )

$\delta$  0.96 (3H, s), 1.03 (3H, d,  $J = 6.6 \text{ Hz}$ ), 3.38 (1H, dd,  $J = 10.5 \text{ Hz}$ ,  $J = 6.8 \text{ Hz}$ ), 3.64

(1H, dd,  $J = 10.5 \text{ Hz}$ ,  $J = 3.2 \text{ Hz}$ ), 4.09 (1H, d,  $J = 2.3 \text{ Hz}$ );  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,

$\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  13.6, 16.6, 17.4, 22.6, 26.6, 33.5, 38.2, 40.2, 41.3, 52.3, 52.9, 67.8, 69.2; MS

(EI)  $m/z$  212 ( $\text{M}^+$ , 2), 194 (17), 179 (18), 163 (10), 135 (19), 125 (34), 111 (100);

exact mass calculated for  $\text{C}_{13}\text{H}_{22}\text{O}$  ( $[\text{M} - \text{H}_2\text{O}]^+$ ) 194.1671, found 194.1665

#### 【 0 0 5 6 】

デス-A,B-22-(アセトキシ)-23,24-ジノルコラン-8 -オール (2)

トリエチルアミン (3.00mL、1.67g、21.6mmol) と塩化メチレン (300mL) 中の 1 (3.50g、16.5mmol) と DMAP (100mg) の撹拌溶液に、無水酢酸 (1.54mL、2.18g、16.5mmol) を 0

で滴下した。反応混合物を 4 で一晩維持した。溶媒を減圧下で除去し、残渣を塩化メチレン (200mL) に再度溶解し、10% HCl 水溶液 (50mL)、飽和 $\text{NaHCO}_3$  水溶液 (50mL)、および水 (50mL) で洗浄した。有機相を無水 $\text{Na}_2\text{SO}_4$  で乾燥させ、減圧下で濃縮して、白色結晶として 4.06g (16.0mmol; 収率 97%) の 2 を得た。

$[\alpha]_D = +33.7$  (c 0.90),  $\text{CHCl}_3$ ); m.p. 78 ÷ 80 °C;  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.96

(3H, s), 1.00 (3H, d,  $J = 6.6 \text{ Hz}$ ), 2.05 (3H, s), 3.77 (1H, dd,  $J = 10.6 \text{ Hz}$ ,  $J = 7.7 \text{ Hz}$ ),

4.06 (1H, dd,  $J = 10.6 \text{ Hz}$ ,  $J = 3.3 \text{ Hz}$ ), 4.11 (1H, br s);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$

13.5, 17.0, 17.4, 21.0, 22.5, 26.6, 33.5, 35.3, 40.2, 41.9, 52.3, 53.2, 69.1, 69.4, 171.4;

MS (EI)  $m/z$  254 ( $\text{M}^+$ , 2), 236 (5), 205 (2), 194 (12), 176 (22), 161 (14), 135 (16), 125

(34), 111 (100); exact mass (ESI) calculated for  $\text{C}_{15}\text{H}_{23}\text{O}_3\text{Na}$  ( $[\text{M} + \text{Na}]^+$ ) 277.1780,

found 277.1791

#### 【 0 0 5 7 】

デス-A,B-22-(アセトキシ)-8 -[(トリエチルシリル)オキシ]-23,24-ジノルコラン (3)

塩化メチレン (40mL) と 2,6-ルチジン (2.67mL、2.46g、23.0mmol) 中の 2 (4.00g、16.6mmol) の撹拌溶液に、トリフルオロメタンスルホン酸トリエチルシリル (4.52mL、5.28g、20.0mmol) をアルゴン雰囲気下、-50 で滴下した。30分後、湿塩化メチレン (5mL) および水 (80mL) を加えた。反応混合物を塩化メチレン ( $3 \times 120 \text{ mL}$ ) で抽出し、有機相を飽和 $\text{CuSO}_4$  水溶液 (50mL) で洗浄し、無水 $\text{Na}_2\text{SO}_4$  で乾燥させ、減圧下で濃縮して、油状物として粗製 3 を得た。

$[\alpha]_D = +42.2$  (c 1.25,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.55 (6H, q,  $J = 7.9$  Hz), 0.93 (3H, s), 0.95 (9H, t,  $J = 8.0$  Hz), 0.98 (3H, d,  $J = 6.6$  Hz), 2.05 (3H, s), 3.77 (1H, dd,  $J = 10.6$  Hz,  $J = 7.5$  Hz), 4.04-4.07 (2H, m);  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  4.9, 6.9, 13.5, 17.1, 17.6, 21.0, 23.0, 26.8, 34.6, 35.4, 40.6, 42.2, 52.8, 53.4, 69.2, 69.6, 171.4; MS (EI)  $m/z$  368 ( $M^+$ , 4), 339 (30), 325 (15), 177 (89), 145 (100); exact mass calculated for  $\text{C}_{21}\text{H}_{40}\text{O}_3\text{Si}$  368.2747, found 368.2748

# 【 0 0 5 8 】

10

デス-A,B-8 -[(トリエチルシリル)オキシ]-23,24-ジノルコラン-22-オール(4)

粗製3のメタノール(100mL)攪拌溶液に、10%ナトリウムメトキシドのメタノール溶液(20mL)を滴下した。2時間後、飽和 $\text{NH}_4\text{Cl}$ 水溶液(20mL)および水(60mL)を加え、混合物を $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (5×100mL)で抽出した。有機相を無水 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ で乾燥させ、減圧下で濃縮し、残渣をシリカゲルカラム(10~20%酢酸エチル/ヘキサン)で精製して、5.25g(16.1mmol; 2からの収率97%)の4を得た。

$[\alpha]_D = +40.3$  (c 1.00,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.55 (6H, q,  $J = 7.9$  Hz), 0.93-0.97 (12H, m), 1.02 (3H, d,  $J = 6.6$  Hz), 3.37 (1H, dd,  $J = 10.4$  Hz,  $J = 6.8$  Hz), 3.63 (1H, dd,  $J = 10$  Hz,  $J = 3.0$  Hz), 4.04 (1H, d,  $J = 1.8$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  4.9, 6.9, 13.6, 16.6, 17.6, 23.0, 26.8, 34.6, 38.3, 40.6, 42.1, 52.8, 53.1, 68.0, 69.3; MS (EI)  $m/z$  326 ( $M^+$ , 10), 311 (2), 297 (93), 283 (36), 225 (16), 193 (21), 177 (100); exact mass calculated for  $\text{C}_{19}\text{H}_{38}\text{O}_2\text{Si}$  326.2641, found 326.2639

20

# 【 0 0 5 9 】

デス-A,B-8 -[(トリエチルシリル)オキシ]-23,24-ジノルコラン-22-オール(5)

三酸化硫黄ピリジン複合体(7.42g、46.5mmol)を、トリエチルアミン(5.46mL、3.94g、39.0mmol)と無水DMSO(8.0mL)と無水 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (40mL)中の4(2.32g、7.02mmol)の攪拌溶液にアルゴン雰囲気下、0℃で加えた。20分後、塩化メチレン(150mL)を加え、反応混合物を飽和 $\text{CuSO}_4$ 水溶液(40mL)および水(40mL)で洗浄した。有機相を無水 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ で乾燥させ、減圧下で濃縮し、残渣をシリカゲル(0.5~2%酢酸エチル/ヘキサン)で精製して、1.80mg(5.56mmol; 収率78%)の5を得た。

30

$[\alpha]_D = +42.6$  (c 1.15,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.57 (6H, q,  $J = 7.9$  Hz), 0.94-0.98 (12H, m), 1.10 (3H, d,  $J = 6.8$  Hz), 2.35 (1H, m), 4.07 (1H, d,  $J = 2.5$  Hz), 9.58 (1H, d,  $J = 3.2$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  5.0, 6.9, 13.4, 13.9, 17.6, 23.3, 26.2, 34.6, 40.6, 42.7, 49.1, 51.8, 52.5, 53.2, 69.1, 205.3; MS (EI)  $m/z$  324 ( $M^+$ , 4), 311 (12), 295 (100); exact mass calculated for  $\text{C}_{17}\text{H}_{31}\text{O}_2\text{Si}$  ([ $M - \text{C}_2\text{H}_5$ ] $^+$ ) 295.2093, found 295.2086

40

# 【 0 0 6 0 】

デス-A,B-8 -[(トリエチルシリル)オキシ]-プレグナン-20-オン(6)

カリウムtert-ブタノレート(3.7g、33mmol)のtert-ブタノール(90mL)溶液に酸素を15分間通気した。次いで、酸素パージしながら5のtert-ブタノール(45mL)溶液を滴下した。飽和 $\text{NH}_4\text{Cl}$ 水溶液(80mL)および水(50mL)を加え、反応生成物を $\text{Et}_2\text{O}$ (5×150mL)で抽出した。有機相を無水 $\text{MgSO}_4$ で乾燥させ、減圧下で濃縮し、残渣をカラムクロマトグラフィー(3~6%酢酸エチル/ヘキサン)で精製して、1.14g(3.68mmol; 収率67%)の6を得た。

50

$[\alpha]_D = +107.1$  (c 0.80,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.55 (6H, q,  $J = 7.9$  Hz), 0.85 (3H, s), 0.94 (9H, t,  $J = 7.9$  Hz), 2.09 (3H, s), 2.47 (1H, t,  $J = 9.0$  Hz), 4.07 (1H, d,  $J = 2.3$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  4.9, 6.9, 15.3, 17.6, 21.8, 23.1, 31.5, 34.4, 39.9, 43.7, 53.3, 64.5, 68.9, 209.5; MS (EI)  $m/z$  310 ( $\text{M}^+$ , 50), 281 (84), 211 (73), 173 (94), 87 (100); exact mass calculated for  $\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}_2\text{Si}$  310.2328, found 310.2332

# 【 0 0 6 1 】

10

デス-A,B-8 -[(トリエチルシリル)オキシ]-テストステロンアセテート (7)

6のシクロヘキサン (50mL) 攪拌溶液にメタクロロ過安息香酸 (最大77%、1.5g) を0で加えた。次いで、反応混合物を室温まで加温し、5日間攪拌した。1日、2日、および4日後にそれぞれ次のメタクロロ過安息香酸 (1.0g、0.8g、および0.6g) を追加した。懸濁液をろ過し、ろ液を飽和 $\text{NaHCO}_3$ 水溶液 (20mL) で洗浄した。有機相を無水 $\text{MgSO}_4$ で乾燥させ、減圧下で濃縮し、残渣をカラムクロマトグラフィー (1~3% 酢酸エチル/ヘキサン) で精製して、0.89g (2.73mmol; 収率58%) の7を得た。

$[\alpha]_D = +18.7$  (c 0.9,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.56 (6H, q,  $J = 7.9$  Hz), 0.95 (9H, t,  $J = 7.9$  Hz), 1.11 (3H, s), 2.03 (3H, s), 4.05 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  4.9, 6.9, 13.6, 17.2, 21.2, 22.2, 26.7, 34.5, 37.8, 42.0, 47.8, 69.0, 82.9, 171.3; MS (EI)  $m/z$  326 ( $\text{M}^+$ , 3), 297 (18), 283 (8), 145 (70), 135 (100); exact mass calculated for  $\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{O}_3\text{Si}$  326.2277, found 326.2269

20

# 【 0 0 6 2 】

デス-A,B-8 -[(トリエチルシリル)オキシ]-テストステロン (8)

7 (972mg、2.98mmol) をメタノール (25mL) に溶解し、10%ナトリウムメトキシドのメタノール溶液 (5mL) で2.5時間処理した。飽和 $\text{NH}_4\text{Cl}$ 水溶液 (10mL) および水 (15mL) を加え、生成物を二塩化メチレン (5 x 75mL) で抽出した。有機相を無水 $\text{MgSO}_4$ で乾燥させ、減圧下で濃縮し、残渣をカラムクロマトグラフィー (5~15% 酢酸エチル/ヘキサン) で精製して、764mg (2.69mmol; 収率90%) の8を得た。

30

$[\alpha]_D = +39.6$  (c 0.95,  $\text{CHCl}_3$ ); m.p. 95 °C;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.56 (6H, q,  $J = 7.9$  Hz), 0.95 (9H, t,  $J = 7.9$  Hz), 0.96 (3H, s), 3.56 (1H, m), 4.02 (1H, d,  $J = 2.4$  Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  5.0, 6.9, 12.4, 17.3, 22.2, 29.9, 34.6, 37.5, 42.2, 48.1, 69.1, 82.2; MS (EI)  $m/z$  284 ( $\text{M}^+$ , 9), 255 (100), 237 (40), 135 (42), 103 (66); exact mass calculated for  $\text{C}_{14}\text{H}_{27}\text{O}_2\text{Si}$  ( $[\text{M} - \text{C}_2\text{H}_5]^+$ ) 255.1780, found 255.1770

40

# 【 0 0 6 3 】

デス-A,B-8 -[(トリエチルシリル)オキシ]-アンドロスタン-17-オン (9)

8 (760mg、2.68mmol) とPPTS (30mg、0.12mmol) の二塩化メチレン (90mL) 攪拌溶液に、PDC (2.25g、5.98mmol) を0で加えた。冷却浴を取り外し、反応混合物を9時間攪拌した。次いで、溶媒を減圧下で除去し、残渣をカラムクロマトグラフィー (5~10% 酢酸エチル/ヘキサン) で精製して、642mg (2.28mmol; 収率85%) の9を得た。

$[\alpha]_D = +82.9$  (c 0.90,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.60 (6H, q, J = 7.9 Hz), 0.97 (9H, t, J = 7.9 Hz), 1.11 (3H, s), 2.43-2.47 (1H, m), 4.19 (1H, m);  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  4.9, 6.9, 16.3, 17.0, 21.3, 32.3, 34.5, 35.3, 47.5, 48.8, 69.9, 221.2; MS (EI) m/z 282 ( $\text{M}^+$ , 10), 252 (100), 133 (17), 103 (39); exact mass calculated for  $\text{C}_{16}\text{H}_{30}\text{O}_2\text{Si}$  282.2015, found 282.2013

# 【 0 0 6 4 】

(17Z)-デス-A,B-8 -[(トリエチルシリル)オキシ]-21-ノルコレスト-17-エン (11)

THF (13.5mL) 中の10 (4.10g、9.35mmol) の撹拌懸濁液に、1Mカリウム tert-ブトキシドのTHF溶液 (8.90mL、8.90mmol) を-10 で滴下した。懸濁液を撹拌し、30分かけて0まで加温した。次いで、9 (716mg、2.53mmol) のTHF (3.0mL) 溶液をカニューレを介して加え、得られた混合物を45 で4日間撹拌した。次いで、飽和 $\text{NH}_4\text{Cl}$ 水溶液 (20mL) および水 (30mL) を加え、混合物をジエチルエーテル (3 × 100mL) で抽出した。有機相を無水 $\text{MgSO}_4$ で乾燥させ、減圧下で濃縮し、残渣をカラムクロマトグラフィー (ヘキサン-5%酢酸エチル/ヘキサン) で精製して、572mg (1.60mmol; 収率63%) の11 (Z/E比5:1) を得た。

$[\alpha]_D = +4.1$  (c 0.95,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H}$  NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.56 (6H, q, J = 7.9 Hz), 0.86 (6H, d, J = 6.7 Hz), 0.95 (9H, t, J = 7.9 Hz), 1.10 (3H, s), 4.11 (1H, s), 4.94 (0.83H, t, J = 7.3 Hz), 5.36 (0.17H, t, J = 4.7 Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  5.0, 7.0, 18.0, 19.9, 22.6, 22.7, 23.8, 27.5, 27.6, 27.7, 28.0, 28.7, 30.6, 34.6, 38.3, 38.7, 38.9, 44.2, 52.8, 69.7, 119.3, 130.0, 149.9; MS (EI) m/z 364 ( $\text{M}^+$ , 6), 335, (23), 321 (10), 279 (37), 232 (54), 205 (43), 171 (51), 147 (100); exact mass calculated for  $\text{C}_{23}\text{H}_{44}\text{OSi}$  364.3161, found 364.3175

# 【 0 0 6 5 】

デス-A,B-8 -[(トリエチルシリル)オキシ]-21-ノルコレスタン (12)

酢酸エチル (20mL) 中の11 (552mg、1.52mmol) と5%Pd/C (160mg) の撹拌混合物を、水素で一晩処理した。触媒をろ去し、ろ液を減圧下で濃縮した。残渣をシリカゲルSep-Packカートリッジ (ヘキサン) で精製して、515mg (1.41mmol; 収率93%) の12を得た。

$[\alpha]_D = +41.8$  (c 1.15,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.55 (6H, q, J = 7.9 Hz), 0.81 (3H, s), 0.86 (6H, d, J = 6.6 Hz), 0.95 (9H, t, J = 7.9 Hz), 4.05 (1H, m);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  5.0, 7.0, 14.1, 17.6, 22.7, 22.7, 23.4, 27.8, 28.0, 29.1, 30.0, 35.0, 38.9, 39.1, 41.5, 51.7, 52.8, 69.2; MS (EI) m/z 337 (100), 323 (59), 271 (67), 233 (77); exact mass calculated for  $\text{C}_{21}\text{H}_{41}\text{OSi}$  ( $[\text{M} - \text{C}_2\text{H}_5]^+$ ) 337.2927, found 337.2911

# 【 0 0 6 6 】

デス-A,B-21-ノルコレスタン-8 -オール (13)

12 (485mg、1.33mmol) のn-ブタノール (25mL) 撹拌溶液に、(1S)-(+)-10-カンファースルホン酸 (330mg、1.42mmol)。1日後、溶媒を減圧下で除去し、残渣をカラムクロマトグラフィー (5~15%酢酸エチル/ヘキサン) で精製して、328mg (1.30mmol; 収率98%) の13を得た。

$[\alpha]_D = +34.1$  (c 1.25,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.84 (3H, s), 0.86 (6H, d,  $J = 6.6$  Hz), 4.10 (1H, br s);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  14.0, 17.4, 22.7, 22.7, 22.9, 27.6, 28.0, 28.0, 29.0, 29.9, 33.9, 38.5, 39.1, 41.3, 51.5, 52.3, 69.3; MS (EI)  $m/z$  252 ( $\text{M}^+$ , 43), 237 (44), 219 (22), 209 (19), 125 (49), 111 (100); exact mass calculated for  $\text{C}_{17}\text{H}_{32}\text{O}$  252.2453, found 252.2446

## 【 0 0 6 7 】

デス-A,B-21- ノルコレスタン-8 -イルニトライト (14)

10

13 (275mg, 1.09mmol) のクロロホルム (5mL) 攪拌溶液に、亜硝酸 *tert*-ブチル (1.5mL) を暗黒下で滴下した。1時間後、ベンゼンを加え、減圧下で溶媒を除去した。

## 【 0 0 6 8 】

(18E)-18-(ヒドロキシミノ)-デス-A,B-21- ノルコレスタン-8 -オール (15)

粗製14を無水ベンゼン (150mL) に溶解し、水冷式浸漬ウェルを有するPyrex容器とPyrexフィルタを備えたHanovia高圧水銀アークランプとからなる装置内で照射した。溶液に低速のアルゴン気流を通気し、温度を約10 で維持した。反応の進行はTLCによってモニターした。30分後、反応が完了した。減圧下でベンゼンを除去し、ニトロソ化合物からオキシムへの異性化を達成するために、残渣を2-プロパノール (5mL) に溶解して一晩維持した。溶媒を蒸発させ、残渣をWatersシリカゲルSep-Packカートリッジ (15~25% 酢酸エチル/ヘキサン) にて精製し、122mg (0.43mmol、13から開始して収率40%) の15を得た。

20

$[\alpha]_D = +35.5$  (c 0.90,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H}$

NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.86 (6H, d,  $J = 6.6$  Hz), 4.06 (1H, m), 6.81 (1H, br s), 7.23 (1H, s), 10.91 (1H, s);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  17.3, 22.0, 22.6, 22.6, 27.7, 27.9, 28.1, 29.1, 34.4, 34.6, 38.9, 49.1, 51.8, 52.0, 67.4, 152.4; MS (EI)  $m/z$  281 ( $\text{M}^+$ , 11), 264 (72), 246 (57), 205 (49), 183 (100); exact mass calculated for  $\text{C}_{17}\text{H}_{30}\text{NO}$  ( $[\text{M} - \text{OH}]^+$ ) 264.2327, found 264.2326

30

## 【 0 0 6 9 】

8 -(アセトキシ)-デス-A,B-21- ノルコレスタン-18-ニトリル (16)

15 (120mg, 0.43mmol) の無水酢酸 (7mL) 溶液を、1.5時間還流させた。反応混合物を冷却し、氷中に注意深く注ぎ、ベンゼン (3 x 40mL) で抽出した。混合した有機相を飽和  $\text{NaHCO}_3$  水溶液 (2 x 30mL) および水 (15mL) で洗浄し、無水  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  で乾燥させ、蒸発させた。残渣をWatersシリカゲルSep-Packカートリッジ (3~5% 酢酸エチル/ヘキサン) にて精製し、121mg (0.40mmol、収率92%) の16を得た。

$[\alpha]_D +5.2$  (c 1.30,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.86 (6H, d,  $J = 6.6$  Hz), 2.13 (3H, s), 2.25 – 2.28 (1H, m), 5.21 (1H, s);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  18.5, 20.9, 22.6, 23.3, 27.2, 27.6, 27.9, 28.2, 30.1, 30.8, 34.0, 38.9, 46.5, 49.1, 51.2, 68.4, 121.4, 170.9; 20.9, 22.3, 23.4, 27.4, 29.8, 32.1, 36.2, 45.7, 51.9, 56.2, 68.6, 121.1, 170.9; MS (EI)  $m/z$  305 ( $\text{M}^+$ , 7), 288 (3), 263 (83), 245 (44), 220 (79), 205 (100); exact mass (ESI) calculated for  $\text{C}_{19}\text{H}_{31}\text{NO}_2\text{Na}$  328.2252, found 328.2249

40

## 【 0 0 7 0 】

デス-A,B-21- ノルコレスタン-18-ニトリル-8 -オール (17)

16 (120mg, 0.39mmol) をメタノール (3mL) 中に溶解させ、10% MeONaのメタノール (3 mL) 溶液で2時間処理した。該溶媒を減圧下で除去した後、残渣を水 (10mL) および飽和N

50



H<sub>4</sub>Cl水溶液 (8mL) で処理し、二塩化メチレン (3 × 25mL) を用いて抽出した。有機相を無水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>で乾燥させ、蒸発させた。残渣をWatersシリカゲルSep-Packカートリッジ (15 ~ 25 % 酢酸エチル/ヘキサン) にて精製し、91mg (0.35mmol、収率89%) の17を得た。

$[\alpha]_D = +23.0$  (c 1.10, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR

(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 0.86 (6H, d, J = 6.6 Hz), 2.24 (1H, d, J = 13.0 Hz), 4.12 (1H, m);

<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 17.8, 22.6, 22.9, 27.3, 27.6, 27.9, 28.3, 30.7, 33.0,

34.2, 38.9, 45.7, 49.0, 52.6, 67.2, 122.5; MS (EI) m/z 263 (M<sup>+</sup>, 64), 246 (39), 236

(77), 220 (92), 206 (84), 193 (95), 134 (100); exact mass calculated for C<sub>17</sub>H<sub>29</sub>NO

263.2249, found 263.2256

10

# 【 0 0 7 1 】

デス-A,B-18,21-ジノルコレスタン-8 -オール (18)

0、アルゴン雰囲気下で、HMPA (350 μL, 361mg, 2.01mmol) とジエチルエーテル (800 μL) 中のカリウム (90mg, 2.31mmol) の攪拌混合物に、tert-ブチルアルコール (80 μL) とジエチルエーテル (300 μL) 中の17 (90mg, 0.34mmol) の溶液を滴下した。混合物を室温まで温め、一晚攪拌した。残存するカリウムを除去し、2-プロパノール数滴およびベンゼン (20mL) を添加した。有機相を水 (5mL) で洗浄し、無水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>で乾燥させ、減圧下で濃縮した。残渣をWatersシリカゲルSep-Packカートリッジ (5 ~ 15 % 酢酸エチル/ヘキサン) にて精製し、65mg (0.27mmol、収率80%) の18を得た。

20

$[\alpha]_D = +66.8$  (c 1.00, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (400

MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 0.86 (6H, d, J = 6.6 Hz), 4.04 (1H, s); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ

20.2, 22.6, 22.6, 24.4, 27.7, 27.9, 28.6, 29.2, 30.6, 33.5, 34.4, 39.0, 43.6, 44.6, 50.3,

67.8; MS (EI) m/z 238 (M<sup>+</sup>, 50), 220 (76), 205 (41), 195 (79), 135 (82), 122 (86), 93

(100); exact mass calculated for C<sub>16</sub>H<sub>30</sub>O 238.2297, found 238.2323

30

# 【 0 0 7 2 】

デス-A,B-25-ヒドロキシ-18,21-ジノルコレスタン-8-オン (19)

激しく攪拌したRuCl<sub>3</sub> × H<sub>2</sub>O (10mg; 0.05mmol) とNaIO<sub>4</sub> (227mg; 1.06mmol) の水溶液 (1mL) に、18 (63mg; 0.26mmol) のアセトニトリル/四塩化炭素 (1/1; 1.5mL) 溶液を加えた。8時間後、次のRuCl<sub>3</sub> × H<sub>2</sub>O (14mg; 0.07mmol) を添加し、反応混合物を2日間攪拌した。次にイソプロパノール数滴および水 (5mL) を添加し、混合物をジエチルエーテル (3 × 15mL) で抽出した。有機相を無水MgSO<sub>4</sub>で乾燥させ、減圧下で濃縮し、残渣をシリカゲルSep-Packカートリッジ (5 ~ 30 % 酢酸エチル/ヘキサン) で精製して20mg (0.08mmol; 収率31%) の19を得た。

$[\alpha]_D = +9.0$  (c 0.95, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.21 (6H, s);

40

<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 21.1, 24.9, 27.7, 28.7, 29.1, 29.2, 29.6, 34.1, 41.5,

43.9, 45.7, 54.8, 56.8, 58.1, 211.79; MS (EI) m/z 252 (M<sup>+</sup>, 47), 234 (68), 219 (63),

194 (75), 67 (100); exact mass calculated for C<sub>16</sub>H<sub>30</sub>O<sub>2</sub> 252.2089, found 252.2080

# 【 0 0 7 3 】

デス-A,B-25-[(トリエチルシリル)オキシ]-18,21-ジノルコレスタン-8-オン (20)

19 (18mg; 71 μmol) と2,6-ルチジン (20 μL; 18mg; 152 μmol) の二塩化メチレン (500 μL) 攪拌溶液に、トリエチルシリルトリフルオロメタンスルホネート (32 μL; 37mg; 140 μmol) を-50 で滴下した。25分後、湿性 (wet) 二塩化メチレン数滴および水 (5mL) を添加し、混合物を二塩化メチレン (3 × 15mL) で抽出した。混合した有機相を飽和CuSO<sub>4</sub>

50

水溶液 (5mL) で洗浄し、無水MgSO<sub>4</sub>で乾燥させ、減圧下で濃縮した。残渣をシリカゲルSep-Packカートリッジ (2~5% 酢酸エチル/ヘキサン) にて精製し、15mg (41 μmol ; 収率58%) の20を得た。

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 0.56 (6H, q, J = 7.9 Hz), 0.94 (9H, t, J = 7.9 Hz), 1.18 (6H, s); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 6.8, 7.1, 21.4, 24.7, 27.8, 28.7, 29.1, 29.6, 29.9, 34.2, 41.5, 45.1, 45.8, 54.8, 58.1, 73.4, 211.7; MS (EI) m/z 366 (M<sup>+</sup>, 1), 351 (33), 337 (76), 308 (13), 217 (64), 173 (100); exact mass (ESI) calculated for C<sub>22</sub>H<sub>42</sub>O<sub>2</sub>SiNa 389.2852, found 389.2840

10

# 【 0 0 7 4 】

2-メチレン-1,25-ジヒドロキシ-18,19,21-トリノルピタミンD<sub>3</sub> (DJ-55) (23)

21 (33mg ; 57 μmol) のTHF攪拌溶液 (800 μL) に、1.8M PhLiのジ-n-ブチルエーテル溶液を、溶液が深橙色 (deep orange) になるまで-20 °Cで2滴加えた。次に、該PhLi溶液を30 μL (54 μmol) 滴下した。20分後、反応混合物を-78 °Cまで冷却し、カニューレを介して20 (14mg ; 38 μmol) のTHF溶液 (300 μL) を添加した。2時間後にヘキサン (25mL) を添加し、有機相をブライン (5mL) で洗浄して、無水MgSO<sub>4</sub>で乾燥させ、減圧下で濃縮した。残渣をシリカゲルSep-Packカートリッジ (ヘキサン-2% 酢酸エチル/ヘキサン) にて精製し、20mg (27 μmol ; 収率72%) の22を得た。

20

[α]<sub>D</sub> = +4.5 (c 1.00, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 0.03 (3H, s), 0.04 (3H, s), 0.07 (3H, s), 0.08 (3H, s), 0.56 (6H, q, J = 7.9 Hz), 0.87 (9H, s), 0.90 (9H, s), 0.94 (9H, q, J = 7.9 Hz), 1.18 (6H, s), 2.18 (1H, dd, J = 12.5 Hz, J = 7.9 Hz), 2.42 (3H, m), 2.86 (1H, d, J = 13.6 Hz), 4.42 (2H, m), 4.93 (1H, s), 4.96 (1H, s), 5.92 (1H, d, J = 11.1 Hz), 6.19 (1H, d, J = 11.1 Hz); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ -5.1, -4.9, -4.9, 6.8, 7.1, 18.2, 24.8, 25.3, 25.8, 25.8, 27.7, 28.9, 29.1, 29.9, 31.0, 34.9, 38.7, 45.1, 45.2, 47.5, 52.3, 53.9, 71.9, 72.3, 73.4, 106.3, 113.8, 122.5, 132.9, 143.6, 153.0; MS (EI) m/z 468 (50), 366 (61), 337 (35), 219 (54), 173 (64), 73 (100); exact mass (ESI) calculated for C<sub>43</sub>H<sub>82</sub>O<sub>3</sub>Si<sub>3</sub>Na 753.5470, found 753.5450

30

# 【 0 0 7 5 】

22 (18mg ; 25 μmol) のn-ブタノール (2mL) 攪拌溶液に、0 °Cで(1S)-(+)-10-カンファースルホン酸 (14mg ; 60 μmol) を加えた。その後、冷却浴を除去して、反応混合物を3日間攪拌した。飽和NaHCO<sub>3</sub>水溶液数滴および水 (3mL) を添加し、混合物を酢酸エチル (5 × 7mL) で抽出した。混合した有機相を無水MgSO<sub>4</sub>で乾燥させ、減圧下で濃縮し、残渣をシリカゲルSep-Packカートリッジ (30~55% 酢酸エチル/ヘキサン) にて精製して10mgの粗製23を得た。粗製ビタミンをHPLC (アセトニトリル/水/メタノール 7/18/75 ; 9.4mm × 25cm、5 μm、Zorbax Eclipse XDB-C18カラム ; 4mL/min ; R<sub>t</sub> = 10.35min) で精製し、7.5mg (19 μmol ; 収率77%) の23を得た。

40

UV (EtOH)  $\lambda_{\max}$  = 243, 251,

260 nm;  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.09 (6H, s), 2.30 - 2.36 (2H, m), 2.58 (1H, dd,  $J$  = 13.2 Hz,  $J$  = 3.8 Hz), 2.81 (1H, dd,  $J$  = 13.2 Hz,  $J$  = 4.4 Hz), 2.86 (1H, d,  $J$  = 13.8 Hz), 4.48 (2H, m), 5.09 (1H, s), 5.11 (1H, s), 5.97 (1H, d,  $J$  = 11.2 Hz), 6.35 (1H, d,  $J$  = 11.2 Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  24.7, 25.3, 27.7, 28.8, 29.0, 29.2, 30.9, 34.7, 38.0, 44.0, 45.0, 45.9, 52.2, 53.8, 70.8, 71.1, 71.7, 107.7, 113.0, 124.2, 130.7, 145.8, 152.0; MS (EI)  $m/z$  388 ( $\text{M}^+$ , 61), 370 (42), 352 (20), 337 (20), 285 (100);  
exact mass calculated for  $\text{C}_{25}\text{H}_{40}\text{O}_3$  388.2977, found 388.2962

10

# 【 0 0 7 6 】

トルエン-4-スルホン酸5-メチル-ヘキシルエステル (24)

5-メチル-1-ヘキサノール (3.65mL、3.00g、25.7mmol) とトリエチルアミン (5.00mL、3.64g、36.0mmol) とDMAP (200mg、1.64mmol) の二塩化メチレン (120mL) 攪拌溶液に、塩化トシル (5.72g、30.0mmol) を0 で加えた。次いで、冷却浴を取り外し、混合物を一晩放置した。飽和 $\text{NH}_4\text{Cl}$ 水溶液 (30mL) および水 (30mL) を加え、混合物を二塩化メチレン (3×150mL) で抽出した。混合した有機相を無水 $\text{MgSO}_4$ で乾燥させ、減圧下で濃縮した。残渣をカラムクロマトグラフィー (5~10% 酢酸エチル/ヘキサン) で精製して、6.66g (24.7mmol ; 収率96%) の27を得た。

20

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.83 (6H, d,  $J$  = 6.6 Hz), 1.09 (2H, m), 1.28 (2H, m), 1.47 (1H, m), 1.62 (2H, m), 2.45 (3H, s), 4.02 (2H, t,  $J$  = 6.5 Hz), 7.34 (2H, d,  $J$  = 8.1 Hz), 7.79 (2H, d,  $J$  = 8.1 Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  21.6, 22.5, 23.2, 27.8, 29.1, 38.2, 70.2, 127.9, 129.8, 133.2, 144.6; MS (EI)  $m/z$  255 (2), 226 (2), 205 (3), 190 (5), 173 (67), 155 (57), 98 (59), 91 (100);  
exact mass calculated for  $\text{C}_{13}\text{H}_{19}\text{O}_3\text{S}$  ( $[\text{M} - \text{CH}_3]^+$ ) 255.1055, found 255.1062

30

# 【 0 0 7 7 】

1-ブロモ-5-メチル-ヘキサン (25)

$\text{LiBr}$  (6.26g、72.0mmol) のDMF (40mL) 攪拌溶液に、24 (6.60g、24.4mmol) のDMF (6mL) 溶液を加えた。得られた混合物を45 で3時間攪拌した。次いで、水 (100mL) を加え、反応生成物をジエチルエーテル (5×250mL) で抽出した。溶媒を除去して、2.40g (13.4mmol ; 55%) の25を得た。

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.88 (6H, d,  $J$  = 6.6 Hz), 1.19 (2H, m), 1.42 (2H, m), 1.54 (1H, m), 1.83 (2H, m), 3.41 (2H, t,  $J$  = 6.9 Hz);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  22.5, 26.0, 27.8, 33.1, 34.1, 38.0; MS (EI)  $m/z$  179 ( $\text{M}^+$ , 80), 163 (14), 155 (9), 137 (100); exact mass calculated for  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{Br}$  ( $[\text{M} - \text{CH}_3]^+$ ) 163.0122, found 163.0121

40

# 【 0 0 7 8 】

(5-メチルヘキシル)トリフェニルホスホニウムブロミド (10)

25 (2.30g、12.8mmol) とトリフェニルホスフィン (3.70g、14.1mmol) の溶液をトルエン (12mL) 中で20時間還流した。次いで、溶媒を除去し、得られた結晶をトルエン (3mL) およびジエチルエーテル (3mL) で洗浄して、4.57g (10.4mmol ; 収率81%) の10を得た。融点227~228 。

50

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{CN}$ )  $\delta$  0.82 (6H, d,  $J = 6.6$  Hz), 1.16 (2H, m), 1.42 - 1.52 (3H, m), 1.59 (2H, m), 3.30 (2H, m), 7.72 (12H, m), 7.85 (3H, m);  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{CN}$ )  $\delta$  22.7, 23.2, 28.4, 28.8, 28.9, 38.6, 131.2, 131.3, 134.7, 134.7, 136.0

【 0 0 7 9 】

実施例II：生物活性

(A) ビタミンD受容体結合

試験材料

10

タンパク質供給源

全長組換えラット受容体が大腸菌 (*E. coli*) BL21(DE3) Codon Plus RIL細胞中で発現させ、2つの異なるカラムクロマトグラフィー系を用いて均質に精製した。第一の系は、このタンパク質のC末端ヒスチジンタグを用いるニッケルアフィニティ樹脂であった。この樹脂から溶出したタンパク質を、イオン交換クロマトグラフィー (S-Sepharose Fast Flow) を用いてさらに精製した。精製したタンパク質のアリコート液体窒素中で急速凍結し、使用時まで  $-80^\circ\text{C}$  で保存した。結合アッセイで用いるために、タンパク質を、0.1% Chaps界面活性剤を含むTEDK<sub>50</sub> (50mM トリス、1.5mM EDTA、pH7.4、5mM DTT、150mM KCl) で希釈した。受容体タンパク質およびリガンド濃度を、加えた放射性標識リガンドの20%以下が受容体に結合するように最適化した。

20

【 0 0 8 0 】

試験薬

非標識リガンドをエタノールに溶解し、UV分光光度法を用いて濃度を定量した ( $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  : モル吸光係数 = 18,200および  $\lambda_{\text{max}} = 265\text{nm}$ ; 類縁体 : モル吸光係数 = 42,000および  $\lambda_{\text{max}} = 252\text{nm}$ )。放射性標識リガンド ( $^3\text{H}$ - $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 、約159Ci/mmol) は、最終濃度1nMでエタノール中に加えた。

【 0 0 8 1 】

アッセイ条件

放射性標識および非標識リガンドを希釈タンパク質100mclに最終エタノール濃度 10%で加え、混合し、氷上で一晩インキュベーションして結合平衡に到達させた。翌日、ヒドロキシルアパタイトスラリー (50%) (100mcl) を各チューブに加え、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沈により回収し、次いで0.5% Triton X-100を含むトリス-EDTA緩衝液 (50mM トリス、1.5mM EDTA、pH7.4) で3回洗浄した。最終洗浄後、ペレットを、Biosafe IIシンチレーションカクテル4mLを含むシンチレーションバイアルに移し、混合し、シンチレーション計数器に置いた。全結合を、放射性標識リガンドのみを含むチューブから定量した。

30

【 0 0 8 2 】

(B) HL-60分化

試験材料

試験薬

40

試験薬をエタノールに溶解し、UV分光光度法を用いて濃度を定量した。細胞培養液中に存在するエタノールの最終濃度 (0.2%) を変えることなく一定範囲の薬物濃度を試験できるように、連続希釈液を調製した。

【 0 0 8 3 】

細胞

ヒト前骨髄球性白血病 (HL60) 細胞を、10% ウシ胎仔血清を含むRPMI-1640培地中で増殖させた。細胞を5%  $\text{CO}_2$  存在下、 $37^\circ\text{C}$  でインキュベートした。

【 0 0 8 4 】

アッセイ条件

HL60細胞を  $1.2 \times 10^5$  細胞/ml で播種した。播種の18時間後、細胞を二つ組で、薬物によ

50

り処理した。4日後、細胞を回収し、ニトロブルーテトラゾリウム還元アッセイを実施した (Collins et al., 1979; J. Exp. Med. 149:969-974)。細胞計200個を計数し、細胞内に黒-青のホルマザン沈着物を含む数を記録することによって、分化した細胞のパーセンテージを決定した。単核細胞への分化の実証は、食細胞活性を測定することにより行った (データは示していない)。

【0085】

#### (C) インビトロ転写アッセイ

転写活性を、ルシフェラーゼレポーター遺伝子の上流の24-ヒドロキシラーゼ (24ohase) 遺伝子プロモーターが安定にトランスフェクションされたROS 17/2.8 (骨) 細胞で測定した (Arbour et al., 1998)。細胞に一定範囲の用量を投与した。投与の16時間後、細胞を回収し、光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。

10

【0086】

#### (D) 腸管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で1週間、続いてDiet 11 (0.02%Ca) + AEKで3週間飼育した。次いでラットを、0.47%Caを含む飼料で1週間、続いて0.02%Caを含む飼料で2週間へと切り換えた。用量投与を0.02%カルシウム飼料の最終週の間に開始した。4回の連続したip投与を約24時間おきに行った。最後の投与から24時間後、切断頸部から採血し、血清カルシウム濃度を骨カルシウム動員の尺度として定量した。反転腸管法 (everted gut sac method) を用いた腸管カルシウム輸送アッセイのために腸の起始部10cmも採取した。

20

【0087】

用量調製

対照材料

#### A. 陰性対照材料

陰性対照材料を、エタノール (<5%) およびプロピレングリコールを容積 (volumetrically) 測定し、混合し、次いで2~8 で保存することによって調製する。

【0088】

#### B. 陽性対照材料

1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>を、UV分光光度法 (吸光係数 = 18,200 ;  $\lambda_{max}$  = 265nm) を用いてエタノール保存溶液の濃度を定量することによって調製する。最終溶液中のエタノールが5%未満となるように、1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>の必要量を容積測定してプロピレングリコールに加える。溶液を混合し、次いで2~8 で保存する。

30

【0089】

試験材料

類縁体を、まずUV分光光度法 (吸光係数 = 42,000 ;  $\lambda_{max}$  = 252nm) を用いてエタノール保存溶液の濃度を定量することによって調製する。次いで、最終溶液中のエタノールが5%未満となるように、類縁体溶液を容積測定してプロピレングリコールに加える。溶液を混合し、2~8 で保存する。

40

【0090】

#### 血清カルシウムアッセイ

最終投与の24時間後、各実験動物の尾動脈から約1mLを採血する。血液を室温で凝固させ、次いで3000 × gで15分間遠心分離する。血清をポリプロピレンチューブに移し、-20で凍結保存する。血清を0.1%塩化ランタン中で希釈し、原子吸光光度計 (Perkin Elmer Model 3110, Shelton, CT) で吸光度を測定することにより、カルシウムレベルを測定する。

【0091】

2-メチレン-1,25-ジヒドロキシ-18,19,21-トリノルビタミンD<sub>3</sub> (DJ-55) は組換えビタミンD受容体に結合し、この点に関して1,25-ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub>に匹敵する (図1参照)。加えてこれは、Ros17/2.8 (骨) 細胞に安定にトランスフェクションされたレポ

50

ーター遺伝子の転写刺激においてより高い活性を有する（図5参照）。これは、HL-60細胞の分化誘導においては1,25-ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub>よりも明らかに高い活性を有する（図4参照）。これは、1,25-ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub>の活性とほぼ同程度の骨カルシウム動員活性および腸管カルシウム輸送活性を有する（図2および3参照）。したがって、DJ-55は健常ラットでの副甲状腺ホルモンレベルの抑制において顕著な活性を有すると予想される。

【0092】

同様に、式IまたはIIに示す本発明の他の類似の化合物は、ビタミンD受容体に結合すること、Ros 17/2.8（骨）細胞に安定にトランスフェクションされたレポーター遺伝子の転写を刺激すること、HL-60細胞の分化を誘導すること、腸管カルシウム輸送または骨カルシウム動員のいずれかによって定量した場合に1,25-ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub>と比べて顕著な血中カルシウム上昇活性を有することが、予想される。

10

【0093】

したがって、この化合物DJ-55および本発明に記載の他の化合物は、多発性硬化症、I型糖尿病、関節リウマチ、狼瘡、および他の類似の変性疾患などの自己免疫疾患の治療においてその用途が見出される。またこれは、結腸直腸癌、乳癌、皮膚癌、肺癌、および前立腺癌などの悪性増殖の治療においても顕著な活性を有する。これらの活性全ては、血清カルシウム濃度の上昇がみられない状態で明白となるであろう（図2および3を参照されたい）。この化合物は、血液透析または腹膜透析を受けている患者などの腎機能を失った患者において見られる続発性副甲状腺機能亢進症の治療においても有用である。これはまた、骨減少症、ならびに、骨軟化症、ビタミンD抵抗性くる病、および骨粗しょう症、特に老年性骨粗しょう症、閉経後骨粗しょう症、ステロイド誘発性骨粗しょう症、および骨低代謝回転型骨粗しょう症などの代謝性骨疾患の治療においても有用である。

20

【0094】

一態様において、式Iの化合物を薬学的組成物において用いる。例えば、薬学的組成物1 mlは、本化合物5 μg、30%（v/v）プロピレングリコールおよび20%（v/v）アルコールを含む。

【0095】

本発明の化合物は、動物被験体における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/または体脂肪の減少においても有用である。したがって、一部の態様において、動物被験体における肥満を予防もしくは治療し、脂肪細胞分化を阻害し、SCD-1遺伝子転写を阻害し、かつ/または体脂肪を減少させる方法は、本化合物または本化合物を含む薬学的組成物の有効量を動物被験体に投与する段階を含む。本化合物または本薬学的組成物の被験体への投与は、動物被験体における脂肪細胞分化を阻害し、遺伝子転写を阻害し、かつ/または体脂肪を減少させる。

30

【0096】

治療目的に関して、式Iおよび式IIで規定される化合物を、当技術分野において公知の通常の方法に従い、無害な溶媒中の液剤として、または、適切な溶媒もしくは担体中の乳剤、懸濁剤もしくは分散剤として、または、固体担体と共に丸剤、錠剤またはカプセル剤として、薬学的適用のために製剤化する。任意のそのような製剤は、安定化剤、抗酸化剤、結合剤、着色剤、または乳化もしくは食味改変剤などの、他の薬学的に許容されかつ非毒性の賦形剤を含んでいてもよい。薬学的に許容される賦形剤および担体は一般に当業者には公知で、したがって本発明に含まれる。そのような賦形剤および担体は、例えば、"Remingtons Pharmaceutical Sciences" Mack Pub. Co., New Jersey (1991)に記載されており、この内容は本明細書において完全に示されたのと同じようにその全文があらゆる目的のために参照により本明細書に組み入れられる。

40

【0097】

本化合物は経口的に、局所的に、非経口的に、経鼻的に、直腸に、舌下に、または経皮的に投与される。本化合物は、注射により、または静脈内注入もしくは適切な滅菌溶液により、または消化管を介して液体もしくは固体剤形で、または経皮適用に適したクリーム

50

、軟膏、パッチ、もしくは類似の媒体の形態で好都合に投与される。一部の態様において、本化合物の1日あたり0.001  $\mu\text{g}$  ~ 約1mgの用量が治療目的に適している。一部のそのような態様において、適切かつ有効な用量は本化合物の1日あたり0.01  $\mu\text{g}$  ~ 1mgの範囲でありうる。他のそのような態様において、適切かつ有効な用量は、本化合物の1日あたり0.1  $\mu\text{g}$  ~ 500  $\mu\text{g}$ の範囲でありうる。そのような用量は、当技術分野において十分に理解されているとおり、治療対象の疾患または状態のタイプ、疾患または状態の重症度、および被験体の反応に応じて調整されるであろう。本化合物は単独で、または別の活性ビタミンD化合物と共に適切に投与する。

【0098】

一態様において、薬学的組成物において式IIの化合物を用いる。例えば、薬学的組成物1mlは本化合物5  $\mu\text{g}$ 、30% (v/v) プロピレングリコール、および20% (v/v) アルコールを含みうる。

【0099】

本発明において用いるための組成物は、活性成分として有効量の2-メチレン-1,25-ジヒドロキシ-18,19,21-トリノルビタミンD3 (DJ-55)、ならびに適切な担体を含む。本発明の一部の態様に従って用いるための本化合物の有効量は一般に、本明細書に記載のものなどの投与量であり、局所的に、経皮的に、経口的に、経鼻的に、直腸に、舌下に、または非経口的に投与される。一態様において、投与量を腹腔内投与する。

【0100】

式IまたはIIの化合物を、前骨髄球を正常なマクロファージへと分化させるのに十分な量で好都合に投与する。前述の投与量が適切であるが、当技術分野において十分に理解されているとおり、投与量は疾患および状態の重症度ならびに被験体の反応に応じて調整されるべきであることが理解されよう。

【0101】

本化合物は、クリーム、ローション、軟膏、エアロゾル、坐剤、局所パッチ、丸剤、カプセル剤もしくは錠剤として、または、薬学的に無害かつ許容される溶媒もしくは油中の液剤、乳剤、分散剤、もしくは懸濁剤としての液体剤形で製剤化され、そのような製剤はさらに、安定化剤、抗酸化剤、乳化剤、着色剤、結合剤、または食味改変剤などの、他の薬学的に無害または有益な成分を含んでいてもよい。

【0102】

本発明の製剤は、活性成分と、そのための薬学的に許容される担体および任意で他の治療成分とを含む。担体は、製剤の他の成分と適合可能でありかつその受容者に対して有害でないとの意味で「許容され」なければならない。

【0103】

経口投与に適した本発明の製剤は、それぞれあらかじめ決められた量の活性成分を含むカプセル剤、サシェ剤、錠剤もしくはロゼンジなどの独立単位の形態であるか；散剤もしくは顆粒剤の形態であるか；水性の液体もしくは非水性の液体中の液剤もしくは懸濁剤の形態であるか；または、水中油乳剤もしくは油中水乳剤の形態である。

【0104】

直腸投与用の製剤は、活性成分およびカカオバターなどの担体が組み込まれている坐剤の形態、または浣腸剤の形態である。

【0105】

非経口投与に適した製剤は、好ましくは受容者の血液と等張である、活性成分の油性または水性滅菌調製物を好都合に含む。

【0106】

局所投与に適した製剤は、リニメント、ローション、塗布剤、クリーム、軟膏もしくはペーストなどの水中油もしくは油中水乳剤；または滴剤などの液剤もしくは懸濁剤などの；あるいは噴霧剤としての、液体または半液体調製物を含む。

【0107】

経鼻投与のためには、スプレー缶、ネブライザー、またはアトマイザーによって投与さ

10

20

30

40

50

れる自己噴射散剤もしくは噴霧製剤の吸入を用いることができる。投与の際、製剤は、10～100ミクロンの範囲の粒径を有することが好ましい。

【0108】

製剤は投与量単位形態で好都合に提供することができ、薬学分野で周知の任意の方法によって調製される。「投与量単位」という用語は、一単位、すなわち、活性成分自体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な単位用量として患者に投与可能な一用量を意味する。

【0109】

本明細書において引用するすべての参考文献は、本明細書において完全に示されたのと同じようにその全文があらゆる目的のために参照により具体的に組み入れられる。

10

【0110】

本発明は、例示のために本明細書において示された態様に限定されることはないが、添付の特許請求の範囲内に示すものなどの、そのすべての形態を含むことが理解される。

【図面の簡単な説明】

【0111】

図1～5は、天然ホルモンである1,25-ジヒドロキシビタミンD<sub>3</sub>（図中では「1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>」と称する）の生物活性と比較した、2-メチレン-1-ヒドロキシ-18,19,21-トリノルビタミンD<sub>3</sub>（図中では「DJ-55」と称する）の様々な生物活性を示す。

【図1】 [<sup>3</sup>H]-1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub>による全長組換えラットビタミンD受容体への結合に競合するDJ-55および1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>の相対活性を比較するグラフである。

20

【図2】 DJ-55の骨カルシウム動員活性を1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>の活性と比較する棒グラフである。

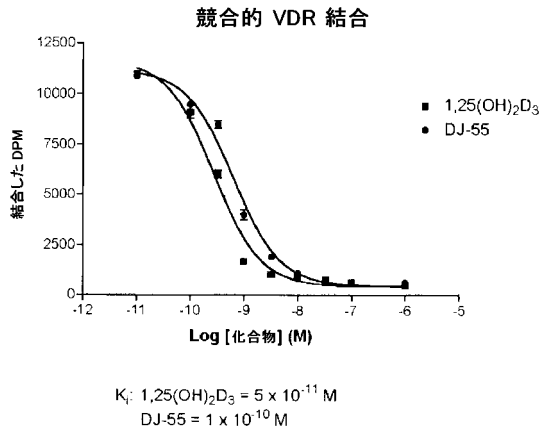
【図3】 DJ-55の腸管カルシウム輸送活性を1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>の活性と比較する棒グラフである。

【図4】 DJ-55の濃度の関数としてのHL-60細胞分化パーセントを1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>と比較するグラフである。

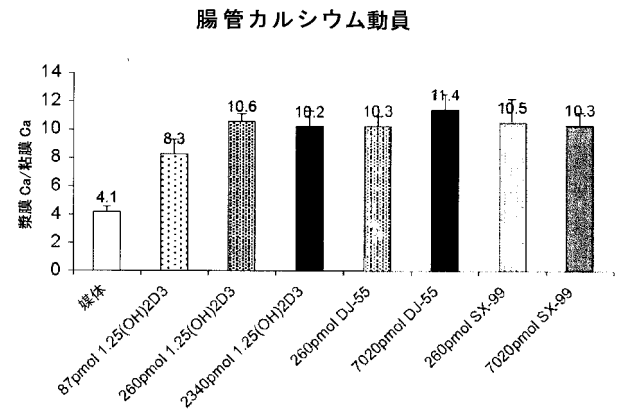
【図5】 DJ-55のインビトロ転写活性を1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>の活性と比較するグラフである。



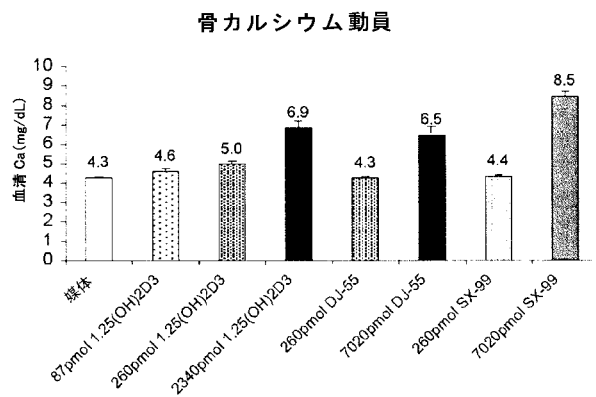
【 図 1 】



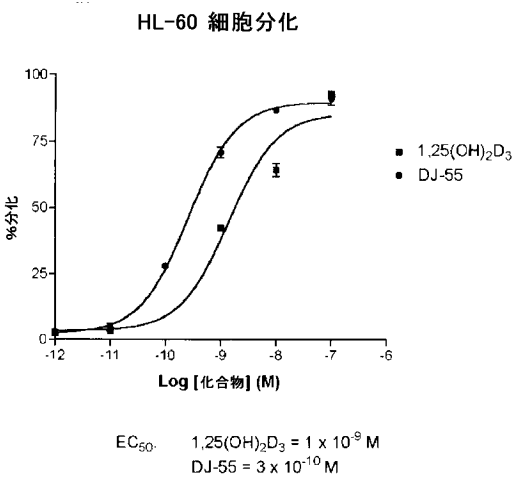
【 図 3 】



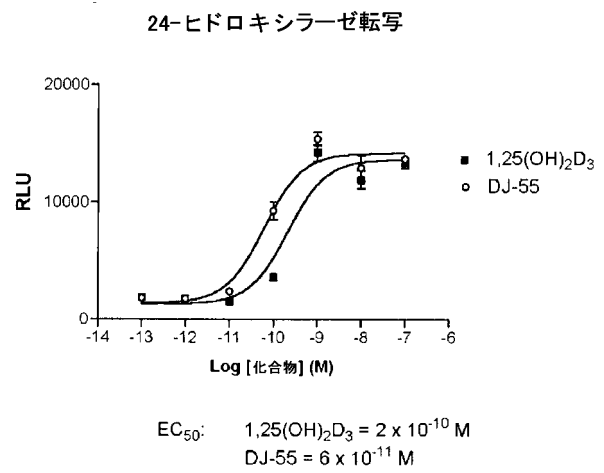
【 図 2 】



【 図 4 】



【 図 5 】



## 【国際調査報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/IB2007/003971

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> INV. C07C401/00 A61K31/59 A61P19/08 A61P19/10 A61P3/04 A61P37/00		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07C A61K A61P		
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 practical, search terms used) EPO-Internal, CHEM ABS Data, BEILSTEIN Data, WPI Data		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2005/082456 A (WISCONSIN ALUMNI RES FOUND [US]; DELUCA HECTOR F [US]; PLUM LORI A [US] 9 September 2005 (2005-09-09) claims 1,15,26	1-27
A	WO 03/075932 A (WISCONSIN ALUMNI RES FOUND [US]) 18 September 2003 (2003-09-18) figures 1a-6	1-27
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document but published on or after the international filing date *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) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *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 *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 *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 *Z* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 8 October 2008		Date of mailing of the international search report 21/10/2008
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel: (+31-70) 340-2040 Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Götz, Gerhard

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/IB2007/003971

**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
  
Although claims 8-16, 21-27 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)**

This international Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers allsearchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

**Remark on Protest**

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/IB2007/003971

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2005082456 A	09-09-2005	AU 2004316404 A1	09-09-2005
		CA 2556931 A1	09-09-2005
		EP 1722856 A1	22-11-2006
		JP 2007523162 T	16-08-2007
		US 2005187201 A1	25-08-2005
WO 03075932 A	18-09-2003	AT 341330 T	15-10-2006
		AU 2002360534 A1	22-09-2003
		BR 0215579 A	21-12-2004
		CA 2474771 A1	18-09-2003
		CN 1620299 A	25-05-2005
		DE 60215225 T2	23-08-2007
		EP 1482951 A1	08-12-2004
		ES 2274116 T3	16-05-2007
		HK 1077508 A1	25-05-2007
		JP 2005523906 T	11-08-2005
		MX PA04007618 A	19-04-2005
		NZ 534445 A	31-03-2006
		US 6566352 B1	20-05-2003

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 35/02 (2006.01)	A 6 1 P 35/02	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 25/00 (2006.01)	A 6 1 P 25/00	
A 6 1 P 17/02 (2006.01)	A 6 1 P 17/02	
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	1 0 1
A 6 1 P 11/06 (2006.01)	A 6 1 P 11/06	
A 6 1 P 1/04 (2006.01)	A 6 1 P 1/04	
A 6 1 P 17/16 (2006.01)	A 6 1 P 29/00	
A 6 1 P 17/08 (2006.01)	A 6 1 P 17/16	
A 6 1 P 19/10 (2006.01)	A 6 1 P 17/08	
A 6 1 P 3/04 (2006.01)	A 6 1 P 19/10	
A 6 1 P 3/06 (2006.01)	A 6 1 P 3/04	
A 6 1 P 3/00 (2006.01)	A 6 1 P 3/06	
	A 6 1 P 3/00	1 7 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,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MT,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,BH,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,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KM,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PG,PH,PL,PT,RO,RS,RU,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,SV,SY,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,ZA,ZM,ZW

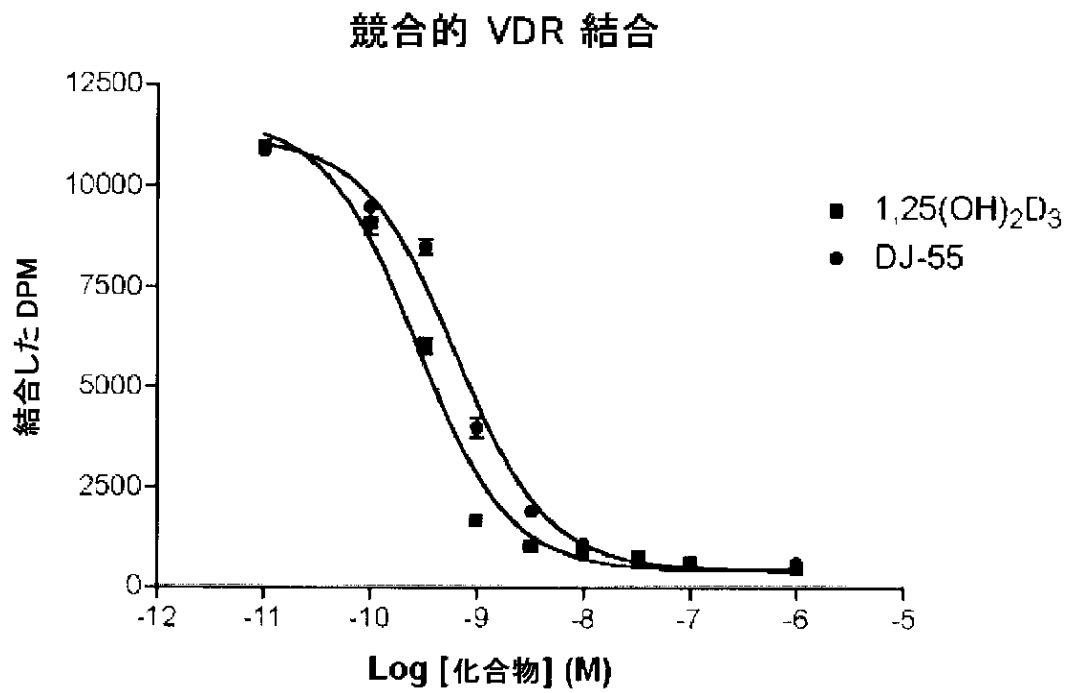
(特許庁注: 以下のものは登録商標)

1 . P Y R E X

- (74)代理人 100130845  
弁理士 渡邊 伸一
- (74)代理人 100142929  
弁理士 井上 隆一
- (74)代理人 100114340  
弁理士 大関 雅人
- (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 1 8 0 9
- (72)発明者 ブラム ローリ エー .  
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 6 1 3 9
- (72)発明者 クラゲット - デーム 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 1 8 0 9
- (72)発明者 バリッキ ラファル  
アメリカ合衆国 ウィスコンシン州 マディソン イーグル ハイウェイ 7 0 8 アpartment  
エイチ

F ターム(参考) 4C086 AA01 AA02 AA03 DA16 MA01 MA04 MA52 MA55 MA57 MA59  
MA60 MA63 NA14 ZA01 ZA62 ZA70 ZA89 ZA96 ZA97 ZB08  
ZB11 ZB15 ZB26 ZB27 ZC23 ZC61  
4H006 AA01 AB27 UA13 UA42

【要約の続き】



$$K_i: 1,25(\text{OH})_2\text{D}_3 = 5 \times 10^{-11} \text{ M}$$

$$\text{DJ-55} = 1 \times 10^{-10} \text{ M}$$

図1

