

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2007-523162
(P2007-523162A)

(43) 公表日 平成19年8月16日(2007.8.16)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 31/593 (2006.01)	A 6 1 K 31/593	4 C 0 8 6
A 6 1 P 19/10 (2006.01)	A 6 1 P 19/10	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 26 頁)

<p>(21) 出願番号 特願2006-554085 (P2006-554085)</p> <p>(86) (22) 出願日 平成16年12月17日 (2004.12.17)</p> <p>(85) 翻訳文提出日 平成18年10月13日 (2006.10.13)</p> <p>(86) 国際出願番号 PCT/US2004/042657</p> <p>(87) 国際公開番号 W02005/082456</p> <p>(87) 国際公開日 平成17年9月9日 (2005.9.9)</p> <p>(31) 優先権主張番号 10/782, 337</p> <p>(32) 優先日 平成16年2月19日 (2004.2.19)</p> <p>(33) 優先権主張国 米国 (US)</p>	<p>(71) 出願人 591057706 ウィスコンシン・アルムニ・リサーチ・フ ァウンデーション WISCONSIN ALUMNI RE SEARCH FOUNDATION アメリカ合衆国ウィスコンシン州5370 7-7365, マジソン, ノース・ウォル ナット・ストリート 614</p> <p>(74) 代理人 100089705 弁理士 社本 一夫</p> <p>(74) 代理人 100140109 弁理士 小野 新次郎</p> <p>(74) 代理人 100075270 弁理士 小林 泰</p>
--	--

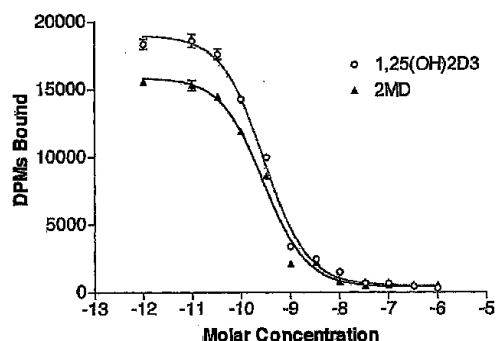
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 2-メチレン-19-ノル-20(S)-1 α , 25-ジヒドロキシビタミンD₃の骨疾患の予防のための使用

(57) 【要約】

本発明は、2-メチレン-19-ノル-20(S)-1,25-ジヒドロキシビタミンD₃の医薬的使用を提供する。本化合物は、骨おける選択的活性を示す高い骨カルシウム動員活性を特徴とする。これにより、骨形成が望まれる疾患、特に骨粗しょう症の治療及び予防のための新規な治療剤がもたらされる。本化合物はまた、骨量が高まることが望まれる正常対象による使用同様、腰や膝置換の骨置換手術と併せた使用を証明する、骨の引っ張り強度及び破砕強度を高める。

【選択図】 図1

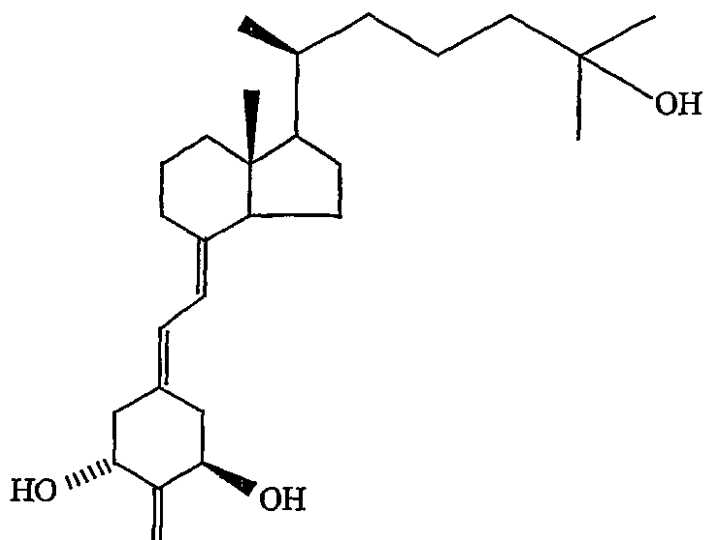


【特許請求の範囲】

【請求項 1】

骨強度を高める必要があることを特徴とする疾患の予防のための方法であって、式：

【化 1】



10

を有する2-メチレン-19-ノル-20(S)-1,25-ジヒドロキシビタミンD₃の有効量を対象に投与することを含む、前記方法。 20

【請求項 2】

骨強度が皮質の強度である、請求項 1 記載の方法。

【請求項 3】

骨強度が骨梁の強度である、請求項 1 記載の方法。

【請求項 4】

2-メチレン-19-ノル-20(S)-1,25-ジヒドロキシビタミンD₃が経口投与される、請求項 1 記載の方法。

【請求項 5】

2-メチレン-19-ノル-20(S)-1,25-ジヒドロキシビタミンD₃が非経口的に投与される、請求項 1 記載の方法。 30

【請求項 6】

2-メチレン-19-ノル-20(S)-1,25-ジヒドロキシビタミンD₃が経皮的に投与される、請求項 1 記載の方法。

【請求項 7】

疾患が低骨代謝回転骨粗しょう症である、請求項 1 記載の方法。

【請求項 8】

疾患がステロイド誘導性骨粗しょう症である、請求項 1 記載の方法。

【請求項 9】

疾患が老人性骨粗しょう症である、請求項 1 記載の方法。 40

【請求項 10】

疾患が閉経後骨粗しょう症である、請求項 1 記載の方法。

【請求項 11】

疾患が骨軟化症である、請求項 1 記載の方法。

【請求項 12】

2-メチレン-19-ノル-20(S)-1,25-ジヒドロキシビタミンD₃を、ヒトに、1日あたり約0.01μgから約100μgの用量で投与する、請求項 1 記載の方法。

【請求項 13】

2-メチレン-19-ノル-20(S)-1,25-ジヒドロキシビタミンD₃を、ヒトに、1日あたり約0.1μgから約10μgの用量で投与する、請求項 1 記載の方法。 50

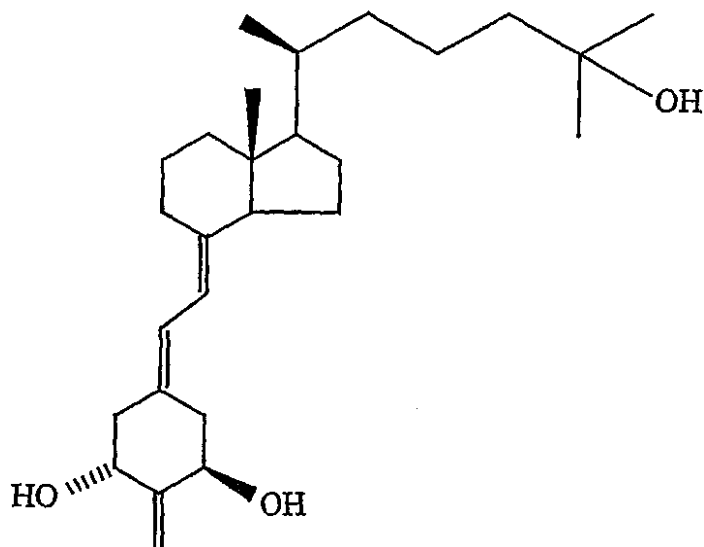
【請求項 1 4】

2 メチレン 19 ノル 20(S) 1 ,25 ジヒドロキシビタミン D₃ を、動物に、1 日あたり約 0.0001 μg から約 700 μg の用量で投与する、請求項 1 記載の方法。

【請求項 1 5】

骨粗しょう症の予防のための方法であって、対象に有効量の式：

【化 2】



10

20

を有する 2 メチレン 19 ノル 20(S) 1 ,25 ジヒドロキシビタミン D₃ を投与することを含む、前記方法。

【請求項 1 6】

2 メチレン 19 ノル 20(S) 1 ,25 ジヒドロキシビタミン D₃ が経口投与される、請求項 1 5 記載の方法。

【請求項 1 7】

2 メチレン 19 ノル 20(S) 1 ,25 ジヒドロキシビタミン D₃ が非経口的に投与される、請求項 1 5 記載の方法。 30

【請求項 1 8】

2 メチレン 19 ノル 20(S) 1 ,25 ジヒドロキシビタミン D₃ が経皮的に投与される、請求項 1 5 記載の方法。

【請求項 1 9】

骨粗しょう症が低骨代謝回転骨粗しょう症である、請求項 1 5 記載の方法。

【請求項 2 0】

骨粗しょう症がステロイド誘導性骨粗しょう症である、請求項 1 5 記載の方法。

【請求項 2 1】

骨粗しょう症が老人性骨粗しょう症である、請求項 1 5 記載の方法。 40

【請求項 2 2】

骨粗しょう症が閉経後骨粗しょう症である、請求項 1 5 記載の方法。

【請求項 2 3】

2 メチレン 19 ノル 20(S) 1 ,25 ジヒドロキシビタミン D₃ を、ヒトに、1 日あたり約 0.01 μg から約 100 μg の用量で投与する、請求項 1 5 記載の方法。

【請求項 2 4】

2 メチレン 19 ノル 20(S) 1 ,25 ジヒドロキシビタミン D₃ を、ヒトに、1 日あたり約 0.1 μg から約 10 μg の用量で投与する、請求項 1 5 記載の方法。

【請求項 2 5】

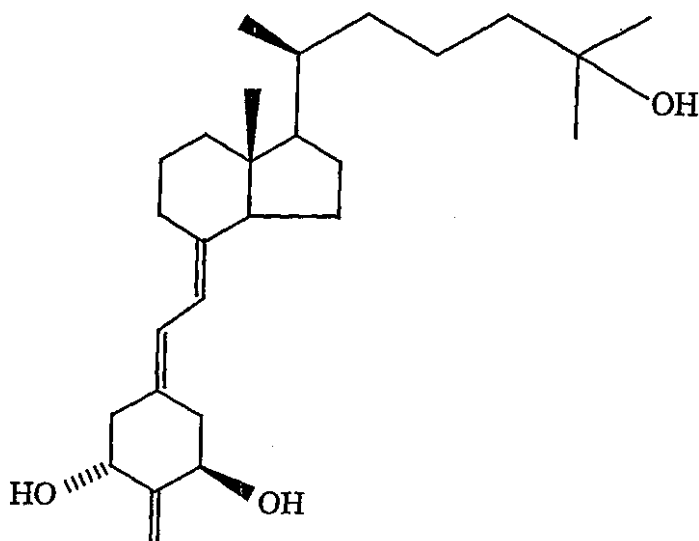
2 メチレン 19 ノル 20(S) 1 ,25 ジヒドロキシビタミン D₃ を、動物に、1 日 50

あたり約0.0001 μg から約700 μg の用量で投与する、請求項 1 5 記載の方法。

【請求項 2 6】

骨強度を高める必要があることを特徴とする疾患の進行を防止するか、またはその発病を遅延させる方法であって、式：

【化 3】



10

20

を有する2-メチレン-19-ノル-20(S)-1,25-ジヒドロキシビタミンD₃の有効量を対象に投与することを含む、前記方法。

【請求項 2 7】

2-メチレン-19-ノル-20(S)-1,25-ジヒドロキシビタミンD₃が経口投与される、請求項 2 6 記載の方法。

【請求項 2 8】

2-メチレン-19-ノル-20(S)-1,25-ジヒドロキシビタミンD₃が非経口的に投与される、請求項 2 6 記載の方法。

【請求項 2 9】

2-メチレン-19-ノル-20(S)-1,25-ジヒドロキシビタミンD₃が経皮的に投与される、請求項 2 6 記載の方法。

30

【請求項 3 0】

2-メチレン-19-ノル-20(S)-1,25-ジヒドロキシビタミンD₃を、ヒトに、1日あたり約0.01 μg から約100 μg の用量で投与する、請求項 2 6 記載の方法。

【請求項 3 1】

2-メチレン-19-ノル-20(S)-1,25-ジヒドロキシビタミンD₃を、ヒトに、1日あたり約0.1 μg から約10 μg の用量で投与する、請求項 2 6 記載の方法。

【請求項 3 2】

2-メチレン-19-ノル-20(S)-1,25-ジヒドロキシビタミンD₃を、動物に、1日あたり約0.0001 μg から約700 μg の用量で投与する、請求項 2 6 記載の方法。

40

【請求項 3 3】

疾患が、骨粗しょう症及び骨軟化症からなる群から選択される、請求項 2 6 記載の方法。

【請求項 3 4】

骨粗しょう症が低骨代謝回転骨粗しょう症である、請求項 3 3 記載の方法。

【請求項 3 5】

骨粗しょう症がステロイド誘導性骨粗しょう症である、請求項 3 3 記載の方法。

【請求項 3 6】

骨粗しょう症が老人性骨粗しょう症である、請求項 3 3 記載の方法。

50

【請求項 37】

骨粗しょう症が閉経後骨粗しょう症である、請求項 33 記載の方法。

【請求項 38】

ウマに有効量の 2-メチレン-19-ノル-20(S)-1,25-ジヒドロキシビタミン D₃ を投与することを含む、ウマの骨折を予防する方法。

【請求項 39】

ウマが競走馬である、請求項 38 記載の方法。

【請求項 40】

有効量が 1 日あたり約 0.01 μg から 1 日あたり約 700 μg を含む、請求項 38 記載の方法

【請求項 41】

有効量の 2-メチレン-19-ノル-20(S)-1,25-ジヒドロキシビタミン D₃ をウシに投与することを含む、ウシの骨折を予防する方法。

【請求項 42】

ウシが泌乳牛である、請求項 41 記載の方法。

【請求項 43】

有効量が 1 日あたり約 0.01 μg から 1 日あたり約 550 μg を含む、請求項 41 記載の方法

【請求項 44】

有効量の 2-メチレン-19-ノル-20(S)-1,25-ジヒドロキシビタミン D₃ をブタに投与することを含む、ブタの骨折を予防する方法。

【請求項 45】

ブタが雌ブタである、請求項 44 記載の方法。

【請求項 46】

有効量が 1 日あたり約 0.005 μg から 1 日あたり約 225 μg を含む、請求項 44 記載の方法

【請求項 47】

有効量の 2-メチレン-19-ノル-20(S)-1,25-ジヒドロキシビタミン D₃ を産卵鶏に投与することを含む、産卵鶏の骨折を予防する方法。

【請求項 48】

産卵鶏が、ニワトリ、七面鳥、アヒル、ガチョウ、キジ、ライチョウ、ダチョウ及びウズラからなる群から選択される、請求項 47 記載の方法。

【請求項 49】

有効量が 1 日あたり約 0.0001 μg から 1 日あたり約 4 μg を含む、請求項 47 記載の方法

【請求項 50】

有効量の 2-メチレン-19-ノル-20(S)-1,25-ジヒドロキシビタミン D₃ を産卵鶏に投与することを含む、産卵鶏の卵殻強度を高める方法。

【請求項 51】

産卵鶏が、ニワトリ、七面鳥、アヒル、ガチョウ、キジ、ライチョウ、ダチョウ及びウズラからなる群から選択される、請求項 50 記載の方法。

【請求項 52】

有効量が 1 日あたり約 0.0001 μg から 1 日あたり約 4 μg を含む、請求項 50 記載の方法

【請求項 53】

有効量の 2-メチレン-19-ノル-20(S)-1,25-ジヒドロキシビタミン D₃ を無月経の女性に投与することを含む、無月経の女性の骨折を予防する方法。

【請求項 54】

無月経の女性が運動選手である、請求項 53 記載の方法。

【請求項 55】

10

20

30

40

50

有効量が1日あたり約0.01 μ gから1日あたり約100 μ gを含む、請求項53記載の方法。

【請求項56】

有効量が1日あたり約0.1 μ gから1日あたり約10 μ gを含む、請求項53記載の方法。

【請求項57】

有効量の2-メチレン-19-ノル-20(S)-1,25-ジヒドロキシビタミンD₃を宇宙飛行士に投与することを含む、宇宙飛行士の骨折を予防する方法。

【請求項58】

宇宙飛行士が女性である、請求項57記載の方法。

【請求項59】

宇宙飛行士が男性である、請求項57記載の方法。

10

【請求項60】

有効量が1日あたり約0.01 μ gから1日あたり約100 μ gを含む、請求項57記載の方法。

【請求項61】

有効量が1日あたり約0.1 μ gから1日あたり約10 μ gを含む、請求項57記載の方法。

【請求項62】

有効量の2-メチレン-19-ノル-20(S)-1,25-ジヒドロキシビタミンD₃を運動選手に投与することを含む、運動選手の骨折を予防する方法。

【請求項63】

運動選手が女性である、請求項62記載の方法。

20

【請求項64】

運動選手が男性である、請求項62記載の方法。

【請求項65】

有効量が1日あたり約0.01 μ gから1日あたり約100 μ gを含む、請求項62記載の方法。

【請求項66】

有効量が1日あたり約0.1 μ gから1日あたり約10 μ gを含む、請求項62記載の方法。

【請求項67】

運動選手が、ランナー、円盤投げ選手、ハンマー投げ選手、重量挙げ選手、サッカー選手、テニス選手、フットボール選手及び野球選手からなる群から選択される、請求項62記載の方法。

30

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、ビタミンD化合物に関し、より具体的には、2-メチレン-19-ノル-20(S)-1,25-ジヒドロキシビタミンD₃の医薬的使用に関する。

【背景技術】

【0002】

天然ホルモン、1,25-ジヒドロキシビタミンD₃及び、エルゴカルシフェロール系、すなわち、1,25-ジヒドロキシビタミンD₂におけるその類似物質は、動物及びヒトにおけるカルシウム恒常性の非常に有力な調節物質であることが知られており、さらに、最近では、細胞分化におけるその活性が確立されてきた(Ostrem et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84, 2610 (1987))。これらの代謝産物の多くの構造的な類似物質が調製され、試験されているが、それには、1-ヒドロキシビタミンD₃、1-ヒドロキシビタミンD₂、様々な側鎖が同調した(homologated)ビタミン及びそのフッ素化類似物質が含まれる。これらの化合物のあるものは、細胞分化及びカルシウム調節において興味深い活性の分離を呈する。活性におけるこの相違は、腎性骨ジストロフィー、ビタミンD抵抗性くる病、骨粗しょう症、乾癬及びある種の悪性腫瘍などの様々な疾患の治療に有用でありうる。

40

50

【0003】

ビタミンD類似物質のもう1つの新しい分類、すなわち、いわゆる19 ノル ビタミンD化合物は、ビタミンD系の典型であるA 環外メチレン基(炭素19)の、2つの水素原子による置換を特徴とする。このような19 ノル 類似物質(例えば、1,25 ジヒドロキシ 19 ノル ビタミンD₃)の生物学的試験により、細胞分化を誘導することにおける、強力な選択的活性プロファイル及び極めて低いカルシウム動員活性が明らかになった。すなわち、これらの化合物は、悪性腫瘍の治療又は様々な皮膚疾患の治療のための治療剤として潜在的に有効である。上記19 ノル ビタミンD類似物質の合成のための2つの異なる方法が報告されている(Perlman et al., Tetrahedron Lett. 31, 1823 (1990); Perlman et al., Tetrahedron Lett. 32, 7663 (1991) 及び DeLucaら 米国特許公報5,086,191号)。

【0004】

米国特許公報第4,666,634号には、1,25 ジヒドロキシビタミンD₃の2 ヒドロキシ及びアルコキシ(例えば、ED-71)類似物質が記載されており、骨粗しょう症の潜在的薬剤及び抗がん剤として中外グループで試験されている。Okano et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. 163,1444 (1989)を参照されたい。他に1,25 ジヒドロキシビタミンD₃の2-置換(ヒドロキシアルキル、例えばED-120及びフルオロアルキル基)A-環類似物質もまた調製され、試験されている(Miyamoto et al., Chem. Pharm. Bull. 41, 1111 (1993); Nishii et al., Osteoporosis Int. Suppl. 1, 190 (1993); Posner et al., J. Org. Chem. 59,7855 (1994) 及び J. Org. Chem. 60, 4617 (1995))。

【0005】

近年、1,25 ジヒドロキシ 19 ノル ビタミンD₃の2 置換類似物質もまた合成されたが、それはすなわち、2 位をヒドロキシ基又はアルコキシ基で置換した化合物であり(DeLucaら 米国特許公報第5,536,713号)、それは、興味深い選択的活性プロファイルを示す。これらの研究はすべて、ビタミンD受容体の結合部位は、合成ビタミンD類似物質のC-2の異なる置換基に適応できることを示す。

【0006】

薬理的に重要なビタミンD化合物の19 ノル類の探索の継続的な取り組みにおいて、炭素2(C-2)位のメチレン置換基の存在を特徴とする類似物質が合成され、試験された。特に興味深いのは、炭素20(C-20)のメチル基の非天然立体配置を特徴とする類似物質、すなわち、2-メチレン-19-ノル-20(S)-1,25 ジヒドロキシビタミンD₃である。このビタミンD類似物質はDeLucaらの米国特許公報第5,843,928号に開示があり、そこから、骨量を維持し又は増加させることが望まれる代謝性骨疾患を治療するためのその使用が教唆される。

【0007】

一般的に認められているように、人骨は、恒常的及び動的な、骨吸収及び骨形成を含む再生プロセスを受ける。骨吸収は骨基質の崩壊に基づき、破骨細胞として知られる特定細胞の調節を受ける。骨形成は、吸収された骨を破骨細胞に置換するように機能する骨芽細胞として知られる、骨を形成する細胞により行われる。

【0008】

幼少期から青年期を経て(すなわち、約20歳まで)、骨の形成及び再形成は、骨格の成長が他の臓器の成長に適合するように加速度的になるように調節される。骨格は青年期(約20歳から約30歳まで)を通じて緩やかな速度で蓄積が続く。健全な成熟した成人(約30~50歳の間(及び女性では妊娠していない場合))における骨再形成プロセスは、典型的には骨形成と骨吸収が平衡状態にあることになる。その後、通常に加齢の結果として、骨再形成プロセスにおける不均衡が進み、結果として骨量の低下をきたす。もし、そのような不均衡が過度に続けば、骨量及びひいては骨強度は低下し、骨折の可能性が高まることになる。

【0009】

代謝性骨疾患の多くは、前記再形成プロセスの不均衡に基づき、それはすなわち、破骨

細胞による骨吸収活性の加速よるものかまたは、骨芽細胞による骨形成活性の低下による、骨吸収及び骨形成の不均衡である。いずれの場合も、結果として骨量の低下及びその後骨強度の低下がおり、最終的には骨障害又は骨疾患に進行する。最も一般的な代謝性骨疾患は骨粗しょう症である。骨粗しょう症は、骨量が低下し、骨の脆弱度が高いことを特徴とし、その結果、骨折の危険が高まる。これは、進行中の骨再形成プロセスにおける不均衡に起因し、再形成プロセスの極めて複雑な性質のため阻止したり後退させたりするのは容易ではない。

【0010】

骨粗しょう症は、おびただしい数の原因の結果として進行しうる。一般的に、様々な薬剤治療により誘導される後天性骨粗しょう症（例えば、抗炎症性糖質コルチコイド薬剤の治療によるステロイド誘導性骨粗しょう症）に加えて、ホルモン欠乏（例えば、一般的に閉経後骨粗しょう症といわれるエストロゲン欠乏症）及び老齢（例えば、老人性骨粗しょう症）に誘導される骨粗しょう症を含むものに分類され、それは低骨代謝回転性骨粗しょう症といわれる。

10

【0011】

従来骨粗しょう症治療には、例えば、エストロゲン、エストロゲン/プロゲステロン（ホルモン置換療法といわれる）、カルシトニン、ビタミンD類似物質、ビスホスホネート、パラチロイドホルモン及びフッ化ナトリウムの投与があげられる。骨粗しょう症は多面的で複雑な性質のため、上記治療には各々限度がある。加えて、上記治療のうちあるものには、その使用を制限する、重大で望ましくない副作用がある。

20

【0012】

骨粗しょう症、及び、骨の強度を高める必要があることを特徴とする他の疾患は、ヒトの年齢、特に中年以後で頻度が高まることに従って生じる。これらのタイプの疾患は、老人で発症する最も重要な内科的疾患のうちのいくつかであり、骨折の発生率が高く、コストが高いことから、その予防は、社会が直面する主要な未解決の公衆衛生問題のひとつである。骨量の低下は何年、場合によっては何十年にもわたって進行するので、骨折が起こる前に、骨粗しょう症のような代謝性骨疾患の進行を予防することを目的とした、いかなる薬剤治療プログラムも一生のうちの、後期よりはむしろ早めに開始するべきである。

【発明の開示】**【発明が解決しようとする課題】**

30

【0013】

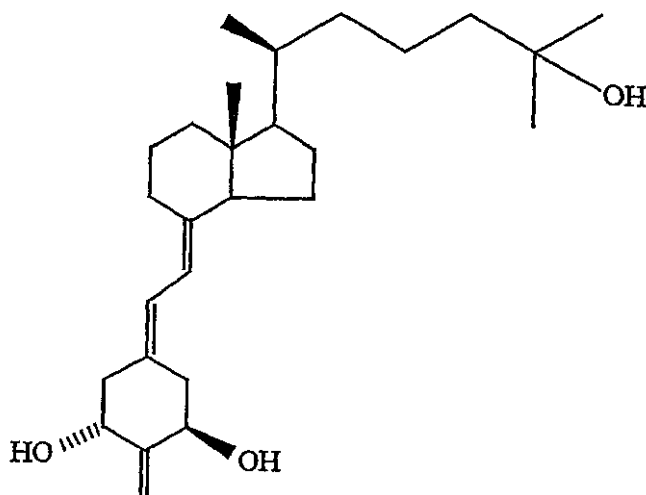
本発明は、2-メチレン-19-ノル-20(S)-1,25-ジヒドロキシビタミンD₃（以下、また2MDともいう）、その生物学的活性、及び本化合物の様々な医薬的使用に関する。

【0014】

構造的には、本19-ノル類似物質は以下に示すような一般式Iを特徴とする。

【0015】

【化1】



10

【0016】

C-20のメチル置換基への安定したくさび形の実線は、炭素20がS配置をとることを示す。

【0017】

上記化合物(2MD)は、所望かつ、高度に有利な生物学的活性形態を示す。2MDは、1,25-ジヒドロキシビタミンD₃と同様に、腸内カルシウム輸送活性を特徴とするが、1,25-ジヒドロキシビタミンD₃と比較すると、カルシウムを骨から動員する能力において、非常に高い活性を示す。後者の知見は、2MDは、直接骨芽細胞培養試験で確認される骨芽細胞(骨形成細胞)で選択的活性(preferential activity)を示すことが示唆される(Shevde et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99, 13487 (2002))。それゆえ、2MDはその活性において高度に特異的である。骨からカルシウムを動員する2MDの選択的活性により、骨量低下が大きな問題である代謝性骨疾患の治療及び予防のための、2MDの生体内投与が可能となる。骨における選択的活性のため、2MDは、骨軟化症同様、骨粗しょう症、特に低骨代謝回転骨粗しょう症、ステロイド誘導性骨粗しょう症、老人性骨粗しょう症又は閉経後骨粗しょう症等の、骨形成が望まれる疾患の治療及び予防のための好ましい治療剤となるであろう。上記疾患の治療及び予防のための2MDの投与は、経皮的、経口的又は非経口的でありうる。2MDは、本組成物の約0.01 µg/gmから約50 µg/gmの量で組成物中に存在してもよく、ヒトに約0.01 µg/日から約100 µg/日、好ましくは、約0.1 µg/日から約10 µg/日の用量で投与することができる。

20

30

【0018】

本発明の本化合物(2MD)はまた、骨折治癒の改善及び骨移植の改善同様、例えば、多発性硬化症、真性糖尿病、宿主対移植片反応及び移植拒絶を含む自己免疫疾患などの免疫系の不均衡を特徴とするヒトの疾患の治療及び予防；さらに、リウマチ性関節炎等の炎症性疾患の治療及び予防に特に適する。にきび、脱毛症、乾燥肌(真皮の水分欠如)、過度の皮膚のたるみ(皮膚の硬度の不足)、皮脂分泌物の不足及びしわ等の皮膚症状、並びに高血圧は、本発明の化合物(2MD)で治療しうるその他の症状である。

40

【0019】

2MDはまた、高度な細胞分化活性を特徴とする。すなわち、2MDはまた、乾癬の治療のため、又は、特に、神経芽細胞腫、網膜芽細胞腫、黒色腫、白血病、大腸がん、乳がん及び前立腺がんの抗がん剤としての治療剤を提供する。本化合物は乾癬及び/又は上記がんの治療のための組成物中に、本組成物の約0.01 µg/gmから約50 µg/gmの量で存在することができ、ヒトに約0.01 µg/日から約100 µg/日、好ましくは、約0.1 µg/日から約10 µg/日の用量で、局所的、経皮的、経口的および非経口的に投与することができる。

【課題を解決するための手段】

50

【0020】

2MDは、骨の破砕強度（骨梁強度）同様引っ張り強度（皮質強度）も高めることもまた見出された。この知見に基づき、本発明の一態様は、対象に有効量の2MDを投与することを含む、骨の強度を高める方法である。すなわち、2MDはまた、人口股関節置換手術、膝関節置換手術等の骨置換処置と併せて用いられうる。2MDはまた、適当な担体への注入により骨に直接適用してもよい。加えて、2MDは、ランナー（短距離ランナー同様、クロスカントリー及びマラソンランナー等の長距離ランナー）、重量挙げ選手、円盤及びハンマー投げ選手、サッカー選手、テニス選手、フットボール選手、野球選手及び他の運動選手等の屈強な骨格が求められる運動選手に用いることができる。このような運動選手は、骨量を構築して骨強度を高め、その結果、彼らが選択した運動を行ったことにより生じうる骨折の危険を防ぐか、及び/又は最小限に抑えるために、2MDを投与することができる。好ましくは、運動選手も骨置換処置がされた人々もともに、代謝性骨疾患に罹患しておらず、診断されたことがない個体である。

10

【0021】

他の態様としては、本発明は、有効量の2MDを対象に投与することを含む、骨強度を高めることが必要なことを特徴とする疾患又は障害の予防のための方法を提供する。すなわち、2MDは、通常骨量及び骨強度（骨塩量（MBC）及び/又は骨ミネラル濃度（MBD）のベースラインを測定し比較することにより）である個体の骨量を構築して骨強度を高めて、骨折を起こさず、様々な疾患又は障害により起こる、その後の骨量の低下に耐えうるために用いられうる。個体は、その生涯（例えば、幼少時、若年成人期及び老年期）又はそれらのいかなる一時期を通じて、骨量及び骨強度を高めるために2MDを投与されることもありうる。好ましくは、上記個体は、投与時には、代謝性骨疾患に罹患しておらず、診断されたことがない個体である。従って、ホルモン欠乏（例えば、女性の閉経後骨粗しょう症といわれるエストロゲン欠乏症）、又は老齢（男性及び女性の老人性骨粗しょう症）又は薬剤治療（例えば、抗炎症性糖質コルチコイド薬剤の治療によるステロイド誘導性骨粗しょう症）又は低骨代謝回転骨粗しょう症に誘導される骨粗しょう症を発病したときに、骨量を構築した個体は、これらにより引き起こされる骨量低下に耐えうる。骨粗しょう症に加えて、2MDを予防方法として用いる他の状況には、たいていは女性の運動選手である無月経女性、屈強な骨格が求められる運動選手及び労働者、ウマ、特に競走馬、（約0.01 μg /日から約700 μg /日の用量）及び無重力状態の宇宙飛行士があげられる。農業においては、産卵鶏（約0.0001 μg /日から約4 μg /日の用量）、ウシ、特に泌乳牛（約0.01 μg /日から約550 μg /日の用量）及びブタ、特に短期の分娩に用いられる雌ブタ（約0.005 μg /日から約225 μg /日の用量）にもまた適用することができる。老人は、早期の薬物介入又は骨折防止のための予防計画により恩恵をこうむりうる。しかしながら、好ましくは、本発明は、骨量を高めるために有効量の2MDを更年期に先だって対象に投与することを含む、骨粗しょう症、特に、閉経後骨粗しょう症の予防のための方法に関する。

20

30

【発明を実施するための最良の形態】

【0022】

2-メチレン-19-ノル-20(S)-1,25-ジヒドロキシビタミンD₃（以下、2MDという）を合成し試験した。構造的には、本19-ノル類似物質は本明細書で前記した一般式Iを特徴とする。

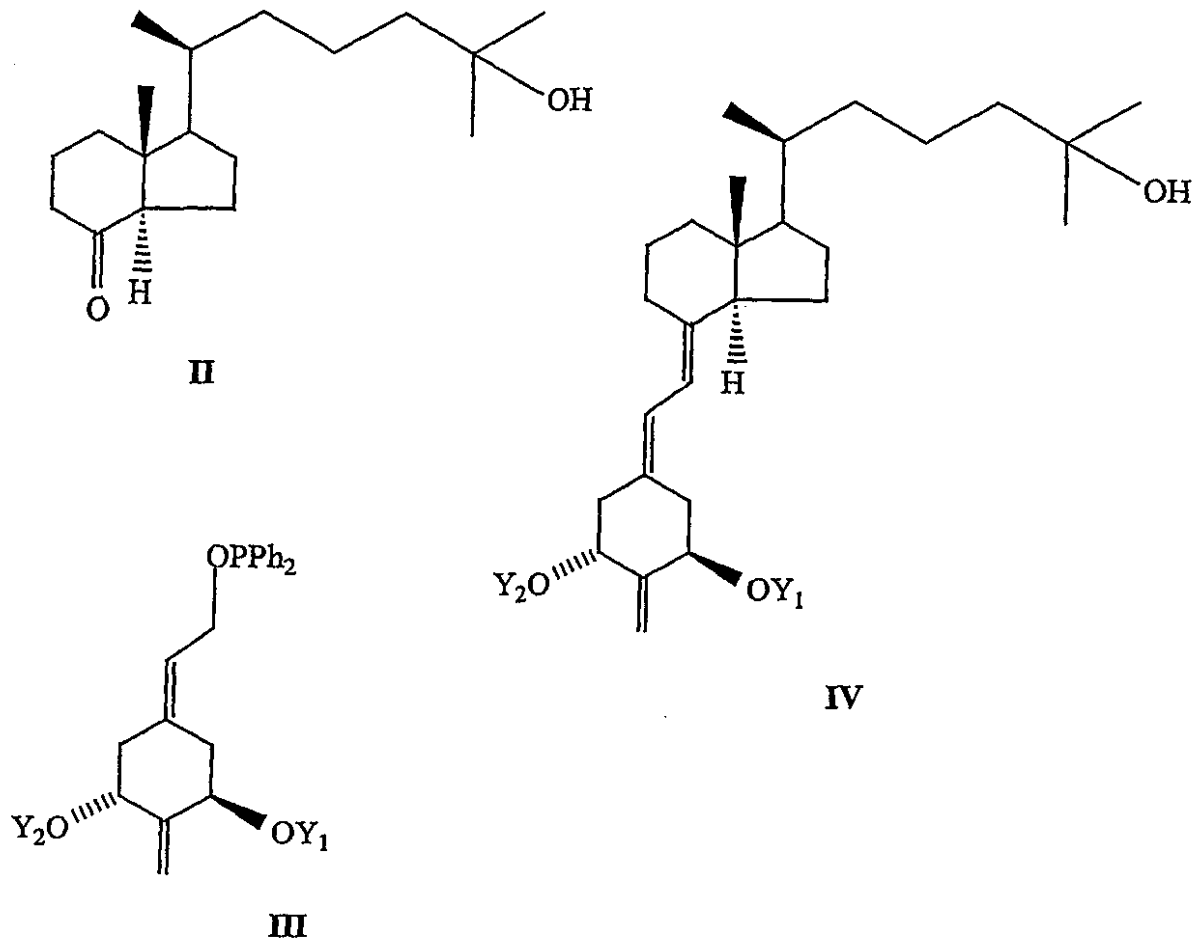
40

【0023】

基本構造Iを有する2-メチレン-19-ノル-20(S)-1,25-ジヒドロキシビタミンD₃の調製は、通常一般的な方法、すなわち、二環式ウィンドウス-グランドマン（Windus-Grundmann）系ケトン11をアリルホスフィンオキシドIIIで縮合して、対応する2-メチレン-19-ノル-ビタミンD類似物質IVとし、最終化合物のC-1及びC-3で脱保護することにより行いうる：

【0024】

【化2】



10

20

【0025】

上記構造II、III及びIVのうち、Y₁及びY₂基は水酸基の保護基であり、当業界で周知のように、感受性がありうるか又は、縮合反応を妨げるようないかなる官能基も適切に保護されることもまた理解されている。上記のプロセスは、ビタミンD化合物の調製に効果的に適用されてきた、収束的合成の概念を適用したことを表すものである（例えば、Lythgoe et al., J. Chem. Soc. Perkin Trans. I, 590 (1978); Lythgoe, Chem. Soc. Rev. 9, 449 (1983); Toh et al., J. Org. Chem. 48, 1414 (1983); Baggiolini et al., J. Org. Chem. 51, 3098 (1986); Sardina et al., J. Org. Chem. 51, 1264 (1986); J. Org. Chem. 51, 1269 (1986); DeLucaらの米国特許公報第5,086,191号; DeLucaらの米国特許公報第5,536,713号）。

30

【0026】

一般構造IIのヒドリダノン¹は公知であるか、または、公知の方法により調製することができる。

40

【0027】

所望の一般構造IIIのホスフィンオキシドの調製のために、Perlman et al., Tetrahedron Lett. 32,7663 (1991)及びDeLucaらの米国特許公報第5,086,191号に記載された、商業的に容易に入手できる(1R,3R,4S,5R)-(-)-キナ酸であるメチルキニケート (quinicate) 誘導体から出発する新規の合成経路が開発されている。

【0028】

化合物Iの全合成プロセスが、「2-アルキリデン-19-ノル-ビタミンD化合物」と題する1998年12月1日に発行された米国特許公報第5,843,928号（その明細書を参照することにより本書に具体的に援用する）により完全に図示され、かつ、記載されている。

【実施例】

50

【0029】

2 メチレン 20(S) 19 ノル 1,25 (OH)₂ D₃ の生物活性 (図 1 - 8)

19 ノル 1,25 (OH)₂ D₃ の 20(S) 異性体の 2 位へのメチレン基の導入は、ブタ腸内ビタミン D 受容体への結合にわずかに影響を及ぼすか、又は全く影響しない。本化合物は、標準の 1,25 (OH)₂ D₃ と比較して、完全長組換えラット受容体と同様に良好に結合した (図 1)。ブタ腸内の天然受容体を試験した場合にも同様の結果が見られた。これらの結果より、本化合物は、生物学的活性が同等であることが予想されると思われる。しかしながら、意外にも、2メチレン及び20(S)の置換により、骨における一次作用を有する高度に選択的な類似物質が産生された。

【0030】

図 2 は、ビタミン D 欠乏ラットに 7 日間継続して強制経口により投薬後、反転腸管法を用いてアッセイを行った場合に、腸内のカルシウム輸送を刺激することにおいて、2MD が天然ホルモンである 1,25 ジヒドロキシビタミン D₃ (1,25 (OH)₂ D₃) と同様の活性を有することを示す。値は、平均 ± 標準誤差を表す。

【0031】

図 3 は、骨における、すなわち、骨カルシウム動員が 1,25 (OH)₂ D₃ よりも 2MD が 100 倍有効であることを明確に示す。図 2 に記載したラットの最終投与 24 時間後に、血清カルシウムを測定した。値は、平均 ± 標準誤差を示す。

【0032】

図 4 は、天然ホルモンに比較して、2MD が、血清カルシウム濃度を上昇させることなく、卵巣切除したラットにおける骨量の構築に非常に有効であることを示す (表 1)。これは、今までのところ、ビタミン D 化合物のかつてない新規な知見である。

【0033】

図 5 は、HL-60 の細胞分化において、2MD は 1,25 (OH)₂ D₃ よりも 10-50 倍以上強力であり、乾癬及び癌、特に、白血病、神経芽細胞腫、網膜芽細胞腫、黒色腫、大腸癌、乳癌及び前立腺癌の治療の優れた候補物質であることを示す。

【0034】

表 1 及び図 6 A は、1,25 (OH)₂ D₃ を高用量 (250 又は 500 pmol) で週 3 回投与した場合と比較して、2MD を 32 pmol、週 2 回投与した場合は、卵巣切除した老齢雌ラットの骨量をもつて有効であることを示す。注記：2MD はまた、大腿中の灰分 % を高める。図中の値は平均 ± 標準誤差である。

【0035】

表 2 及び図 6 B は、2MD が、表 1 に示した動物の大腿中の引っ張り強度 (皮質強度) 及び脊椎の破砕強度 (骨梁強度) を高めることを示す。図中の値は平均 ± 標準誤差である。

【0036】

図 7 - 9 はラットの 6 週間の毒素試験を示し、2MD が 35 pmol/日まで安全らしいことを示す。図 10 は、アカゲザルに 29 µg (1.73 µg/kg) を単回経口投与しても、血清カルシウム濃度はさほど上昇せず、霊長類でもさらに安全であることが示唆される。

【0037】

図 11、12 A 及び 12 B は、1.8 pmol/日 で投与した 2MD は、正常成熟雌ラットの骨密度を高めることに極めて有効であることを示す。2MD は海面 (骨梁) 骨を増加させるだけでなく、同様に皮質 (軸) 骨の密度も高める。図 13 A 及び 13 B は、皮質及び海面骨の著しい増加は、動物の体重及び血清カルシウムレベルで副作用をおこさず達成されることを示す。すなわち、本研究は、2MD は、卵巣切除動物だけでなく正常動物においても、骨密度を高めるのに有効な用量で、安全に用いられうることを示す。

【0038】

ブタ腸内受容体に対する類似物質の競合的結合を、Dame らによって報告された方法で行った (Biochemistry 25, 4523-4534, 1986)。

【0039】

HL-60 骨髓球細胞の単球への細胞分化を Ostrem らにより報告されたように測定した (J.

10

20

30

40

50

Biol. Chem. 262,14164-14171, 1987)。

【0040】

腸内カルシウム輸送及び骨動員の研究を、Sicinskiら(J. Med. Chem. 41, 4662-4674, 1998)及びSudaら(J. Nutr. 100,1049-1052, 1970)により報告されたように行った。

【0041】

生物学的活性データの解釈(図1-13)

無カルシウム摂食のラットの血清カルシウムを高める生体内試験により、2MDの骨芽細胞的な又は骨の活性に対する洞察がもたらされる。この用量反応曲線は、2MDが $1,25\text{ (OH)}_2\text{ D}_3$ よりも、骨芽細胞の刺激による血漿中のカルシウム上昇が少なくとも80-100倍強力であることを示す(図3)。同時に、腸管カルシウム輸送における2MDの活性は、 $1,25\text{ (OH)}_2\text{ D}_3$ とおおよそ同等である(図2)。それゆえ、これらのデータは、2MDが骨において選択的活性を有することを示す。

【0042】

ビタミンD受容体に対する結合に関して、2MDは、 $1,25\text{ (OH)}_2\text{ D}_3$ とおおよそ同等の活性を有する(図1)。しかしながら、 $1,25\text{ (OH)}_2\text{ D}_3$ よりも、前骨髄球であるHL-60の単球への分化については、10-50倍活性が高い(図5)。この結果は、2MDが、分化を誘発し、及び成長を抑制する直接的な細胞活性を有するため、乾癬に非常に有効でありうることを示唆する。それはまた、特に白血病、神経芽細胞腫、網膜芽細胞腫、黒色腫、大腸癌、乳癌及び前立腺癌に対する抗癌剤として著しい活性を有することになることを示す。

【0043】

しかしながら、最も重要な結果は、2MDが、図4及び6並びに表1及び2に示すような、卵巣切除した、老齢の雌飼育ラットの骨量の修復に極めて有効であるのみならず、擬似手術したコントロールの上記骨量を増加させたことである。これは、2MDが、骨又は骨形成の向上において同化作用を有する可能性が非常に高いことを示す。重要なことに、2MDにより骨量が増加すると骨強度が著しく向上する。このように、脊髄の破砕に対して強度が向上したことは骨梁(海綿)骨強度を示すため、この、大腿における骨折に対して強度が向上したことは皮質の強度を示す(表2並びに図6A及び6B)。興味深いことに、灰分の比率は意外にも、さらに2MDにより上昇した。極めて重要なことは、本研究に用いられた用量レベルでは、骨量の著しい上昇を示す動物の血清カルシウムは変化しなかったことである。このことは、骨塩量を増加させるために2MDを用いることと、血清カルシウムを上昇させることにおける2MDの作用の間に安全性の枠が存在することを議論する。

【0044】

2つの異なる場合について行った予備安全性試験では、高カルシウム食摂取雌ラットは、 35 pmol/日 の2MDでは、血清カルシウムは上昇せず、体重は減少せず、又は腎臓の石化は生じずに許容することを示した(図7-9参照)。さらに、アカゲザルでの予備試験では、本化合物の $29\text{ }\mu\text{g}$ と同程度の用量を8kgのアカゲザルに単回投与として供与した場合、血清カルシウム濃度をそれほど上昇しなかったため、霊長類は極めて良好に2MDを許容することを示す(図10)。これらの及び他の試験は、霊長類は、薬効及びヒトにおける高カルシウム症の危険との間の非常に広い解決口を与えうる2MDを、極めて良好に許容するであろうことを示す。

【0045】

これらの結果は、2MDが抗骨粗しょう症療法(予防及び治療)のための優れた候補物質であること、及び、自己免疫疾患、癌、及び乾癬等の他の多くの症状で有効でありうることを示す。図11-13に記載された本研究は、2MDはまた、正常雌ラットでの骨量をも高めることを示す(正常個体の骨量構築の項目を参照のこと。)

【0046】

10

20

30

40

【表 1】

表 1
1,25-(OH)₂D₃及び2MDによる卵巣切除ラットの処置

群	処置	処置時間 (週)	BMD (g/cm ²)	BMC (g)	体重 (g)	BMC/体重 (mg/g)	血清CA (mg/dl)	大腿灰分 (%)	大腿灰分 (mg)
OVXコントロール	油ビヒクル/5X/週	8	0.294±0.004	8.64±3.30	414±15	21.4±1.20	---	---	---
		17	0.296±0.003	9.34±0.50	422±19	22.3±1.69	---	---	---
		30	0.296±0.003	9.41±0.45	404±24	23.4±1.60	11.1±0.17	59.2±0.82	386±21.6
擬似手術	油ビヒクル/5X/週	8	0.302±0.003	9.34±0.38	356±14	26.3±0.76	---	---	---
		17	0.300±0.002	9.14±0.54	351±15	26.4±0.82	---	---	---
		30	0.297±0.004	9.20±0.53	340±13	26.7±1.20	11.8±0.20	81.5±1.20	400±18.0
1,25(OH) ₂ D ₃	250 pmol/d/5X/週	8	0.297±0.001	8.90±0.40	399±9.3	22.4±0.48	---	---	---
		17	0.308±0.008	9.6±0.39	394±11	24.5±0.87	---	---	---
		30	0.310±0.007	10.1±0.30	392±16	26.1±0.97	11.4±0.21	60.8±1.1	417±23
1,25(OH) ₂ D ₃	500 pmol/d/5X/週 3X/週 3X/週	8	0.312±0.005	10.2±0.40	397±14.2	26.3±0.57	---	---	---
		17	0.331±0.008	11.5±0.25	421±12.8	27.6±0.68	---	---	---
		30	0.328±0.003	11.8±0.23	432±23.0	28.0±0.69	11.9±0.20	61.4±1.3	478±7.5
2MD	32 pmol/d/2X/週	8	0.295±0.009	8.4±0.13	375±8.2	22.4±0.64	---	---	---
		17	0.313±0.011	9.7±0.19	373±11.0	26.2±0.92	---	---	---
		30	0.331±0.006	11.6±0.40	346±11.0	33.4±1.60	10.8±0.22	65.6±1.7	462±21.4
2MD	65 pmol/d/1X/週	8	0.293±0.004	8.5±0.23	408±10.5	22.2±0.53	---	---	---
		17	0.312±0.005	9.6±0.24	402±11.3	24.0±0.80	---	---	---
		30	0.310±0.009	10.2±0.33	393±15.0	26.0±1.10	10.7±0.46	62.5±0.57	443±11.6

動物は擬似手術コントロールを除き、全て卵巣切除した。値は平均±SEMで示した。

【表 2】

表 2

機械的応力に対する大腿及び脊椎の強度

群	処置	強度値大腿	強度値脊椎
OVXコントロール	油ビヒクル/5X/週	109.31±19.60	14.26±3.58
擬似手術	油ビヒクル/5X/週	121.36±12.5	13.67±1.79
1,25(OH) ₂ D ₃	250 pmol/d/5X/週	118.21±19.85	19.24±5.66
1,25(OH) ₂ D ₃	500 pmol/d/3-5X/週	116.47±16.20	17.14±0.52
2MD	32 pmol/d/2X/週	134.84±14.12	23.93±6.59
2MD	65 pmol/d/1X/週	133.71±14.06	17.07±5.73

10

【0048】

正常個体の骨量構築

目標：BMDを高めることにより、若齢成熟雌ラットが同化剤である2MDに反応するか否かを測定する。

実験計画：

動物

7月齢の未経産雌Sprague-Dawleyラット（Harlan Sprague-Dawley, Madison, WI）は、全て7月齢時に擬似手術した。

【0049】

摂食

施設に到着したときから、ラットに、実験室で調製し（Suda et al, 1970, J. Nutr., 100: 1049-1052）、0.47%カルシウム、0.3%リン及び1.6IUビタミンD₃/gを含有する、精製げっ歯類食（「Diet11」）を供与した。一定の体重を維持するために（週ごとにモニターする）、ラットに計150g食/週、すなわち、21.5g/日/ラットを供した。

【0050】

【表 3】

化合物

化合物	入手先	ロット
ビヒクル (Neobee M-5 Oil)	Spectrum, New Brunswick, NJ	SN0332
2MD	Tetrionics, Madison, WI	010745111

40

【0051】

【表 4】

投与計画

群	投与	動物番号
擬似 + ビヒクル	ビヒクル	10
擬似 + 2MD	2.5 ng/kg/d	9

【0052】

ラットには術後5-6週間目から毎日投与した。Neobee oil (ビヒクル) 又は2MDを100 μ L中に舌の裏に送達させた。投与溶液濃度は平均体重に基づき月ごとに調整した。

【0053】

血清カルシウム分析

投与前及び投与後1、2、4、6、10、11、18及び25週間目に、エーテル麻酔したラットの尾動脈から血液を直近投与24時間後に採取した。血清を0.1% lanthum chlorideに希釈してカルシウム濃度を原子吸収分析で測定した。示した値は、全ラットの平均であり、標準誤差を含む。

【0054】

骨ミネラル濃度 (BMD) 測定

全身BMD及び四肢 (右末梢部及び大腿近位部) BMDを二重エネルギーX線吸収測定 (Lunar DPX -Madison, WI ; Small Animal Software-version 1.0e) で、0、8、16及び24週間目に測定した。四肢BMDは、記載されているように (Haffa et al, 2000, J. Bone Min. Res. 15: 872) 行った。示した値は全ラットの平均であり、標準誤差を含む。

【0055】

結果

全身BMDは、上記2MDを経口的に供した成熟雌ラットで、上記ビヒクルコントロール動物よりも増加した (図11)。この増加は、8週間後に観察され24週間にわたって継続した。海綿骨BMDの増加は最も顕著で、2MDを供与したラットで24週間後に14%の増加が観察された (図12A)。皮質骨BMDはまた、全身で観察されたものと同様の態様で増加した (図12B)。これらの2MDの好ましい効果は、体重の変化 (図13A) も血清カルシウムの変化 (図13B) もなく生じた。

【0056】

結論

2MDは無傷の正常雌ラットの骨量増加に明らかに効果がある。「正常」とは、代謝性骨疾患又はその他の骨量の長期的な減少に起因する疾患/障害に罹患していないか又は診断されたことがない対象を意味する。さらに、2MDは海綿 (14%) 及び皮質 (6%) の骨を増加させる。以前に、2MDは骨において同化的に作用することが示されていたため、2MDは健康な小児、青年、若年成人及び/又は老人の骨量の増加に用いられうることが信じられる。これは、加齢及び閉経の骨量低下を免れる骨格になるであろう。その意味では、2MDは、代謝性骨疾患、特に骨粗しょう症の骨量低下に起因する骨折の予防または再発防止として用いられうる。骨粗しょう症に加えて、2MDを予防方法として用いうる状況には無月経の女性の治療があげられる。さらに、2MDは骨量が多いことが望まれる運動選手等の正常な対象に用いられうる。2MDがウマ、特に競走馬、及び、無重力状態での長期道程の準備をしている宇宙飛行士の骨量を高めるために用いられうることが想定される。また、農業において、産卵鶏の、卵殻強度を強めること同様骨折を予防及び/又は減少させること、ウシ、特に泌乳牛の骨折を予防及び/又は減少させること、並びにブタ、特に迅速分娩に用いられる雌ブタの骨折を予防及び/又は減少させることのために適用することができる。典型的な市販の重要な産卵鶏としては、ニワトリ、七面鳥、アヒル、ガチョウ、キジ、ライチョウ、ダチョウ及びウズラがあげられる。

10

20

30

40

50

【0057】

治療目的としては、式Iで定義する本発明の化合物(2MD)は、当業界で慣用の方法に準じた、無刺激溶剤中の溶液として、又は適当な溶剤又は担体中の乳剤、懸濁液又は分散液として、又は錠剤、タブレット若しくはカプセルとして、固形の担体と共に、医薬的用途として処方することができる。そのようないかなる製剤もまた、他の医薬的に許容できる、安定剤、抗酸化剤、結合剤、着色剤、若しくは乳化剤等の非毒性の賦形剤又は味覚修飾剤を含有してもよい。

【0058】

化合物2MDは、経口で、局所的に、非経口で又は経皮的に投与してもよい。化合物2MDは、注射若しくは静脈内注入により、又は適当な滅菌溶液若しくは消化管経路投与の液状若しくは固形の製剤で、又はクリーム、軟膏、パッチ、若しくは経皮適用に適する同様のビヒクルの製剤として有利に投与する。1日あたり約0.01 μ gから1日あたり約100 μ g、好ましくは、1日あたり約0.1 μ gから1日あたり約10 μ gの化合物2MDの用量は、ヒトの治療目的に適し、そのような予防又は治療されるべき疾患、その重症度及び対象の反応に従って調整した用量は当業界でよく理解される。1日あたり約0.0001 μ gから1日あたり約700 μ gの化合物2MDの用量は動物の治療に適する。本化合物は、作用の特異性を呈するため、細胞分化、骨ミネラル動員及び/又はカルシウム輸送刺激が有利に見られる状況で、各々単独で又は他の活性ビタミンD化合物、例えば、1-ヒドロキシビタミンD₂若しくはD₃又は1,25-ジヒドロキシビタミンD₃の段階投与(graded doses)とともに適当に投与することができる。

10

20

【0059】

骨量の維持又は増加を目的とするヒト又は動物の上記の治療及び/若しくは予防、又は上記の乾癬及び他の悪性腫瘍等への適用における使用のための組成物は、活性成分として上記式Iで定義した、有効量の2-メチレン-20(S)-19-ノル-ビタミンD及び適当な担体を含む。本発明の使用のための本化合物の有効量は、組成物1gあたり約0.01 μ gから約50 μ gであり、ヒトで1日あたり約0.01 μ gから約100 μ g、及び好ましくは、ヒトで1日あたり約0.1 μ gから約10 μ gの用量で局所的、経皮的、経口又は非経口に投与することができる。動物では、本発明の使用のための本化合物の有効量は、組成物1gあたり約0.01 μ gから約50 μ gであり、1日あたり約0.0001 μ gから約700 μ gの用量で局所的、経皮的、経口又は非経口に投与することができる。

30

【0060】

化合物2MDは、クリーム、ローション、軟膏、局所パッチ、錠剤、カプセル若しくはタブレット又は医薬的に非毒性で許容できる溶剤又は油中の溶液、乳液、分散液又は懸濁液として処方され、本調製物は安定剤、抗酸化剤、乳化剤、着色剤、結合剤又は味覚修飾剤等の医薬的に非毒性で有益な他の成分を含有することができる。

【0061】

化合物2MD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、及び/又は骨量低下を予防し、骨量を維持し、骨量を高めるための必要量で有利に投与することができる。上記の用量は適当であり、与えられた用量を、当業界でよく理解された、疾患の重症度、症状及び対象への反応に従い調製することが理解される。

40

【0062】

そのため、本発明の製剤は、医薬的に許容できる担体及び場合により他の治療成分とともに活性成分を含む。本担体は、本製剤の他の成分と適合するという意味で「許容できる」べきであり、その受容者に有害であってはならない。

【0063】

経口投与に適する本発明の製剤はカプセル、サシェ、タブレット若しくはトローチ剤等の個々の単位の形態で、各々が所定の活性分量を含有し；粉末若しくは顆粒状で；液体、若しくは水性液体か非水性液体中の懸濁液状で；又は油中水乳剤若しくは水中油乳剤であってもよい。

【0064】

50

直腸投与のための製剤は、活性成分とココアバター等の担体を組み合わせた坐薬製剤又はかん腸剤の製剤でもよい。

【0065】

非経口投与に適する製剤は、好ましくは受容者の血液と等浸透圧である活性成分の滅菌した油性又は水性の調製物を慣用的に含む。

【0066】

注射に適する製剤は、油性若しくは水性の調製物又は活性成分の懸濁液若しくは共役物を含む。

【0067】

局所投与に適する製剤は、糊膏、ローション、アPLICANT (applicants) ; クリーム、軟膏若しくはペースト等の油中水の若しくは水中油の乳剤 ; 又はドロップ等の液体若しくは懸濁物 ; 又はスプレー等の水性又は準水性の調製物を含む。 10

【0068】

本製剤は、慣用的に用量単位製剤で存在してもよく、製薬業界で周知のいかなる方法で製造してもよい。「用量単位」との語は、単一物、すなわち、本活性成分それ自体又は固形の若しくは水性の医薬希釈物との混合物又は担体を含む物理的及び化学的に安定な単一用量として患者に投与できる単一用量を意味する。

【図面の簡単な説明】

【0069】

【図1】図1は、 $[^3\text{H}]-1,25-(\text{OH})_2\text{-D}_3$ の核ビタミンD受容体への結合に競合する、2-メチレン-19-ノル-20(S)-1,25-ジヒドロキシビタミンD₃ (2MD) 及び1,25-ジヒドロキシビタミンD₃ の相対活性を示すグラフである。 20

【図2】図2は、1,25-ジヒドロキシビタミンD₃ (1,25-(OH)₂D₃) と比較した、2-メチレン-19-ノル-20(S)-1,25-ジヒドロキシビタミンD₃ (2MD) の腸内カルシウム輸送活性を示すグラフである。

【図3】図3は、1,25-ジヒドロキシビタミンD₃ (1,25-(OH)₂D₃) と比較した、2-メチレン-19-ノル-20(S)-1,25-ジヒドロキシビタミンD₃ (2MD) の骨のカルシウム動員活性を示すグラフである。

【図4】図4は、1,25-ジヒドロキシビタミンD₃ (1,25-(OH)₂D₃) と比較した、2-メチレン-19-ノル-20(S)-1,25-ジヒドロキシビタミンD₃ (2MD) で処置したことによる卵巣切除老齢雌ラットの骨ミネラル濃度の変化を示すグラフである。 30

【図5】図5は、2-メチレン-19-ノル-20(S)-1,25-ジヒドロキシビタミンD₃ (2MD) 及び1,25-ジヒドロキシビタミンD₃ (1,25-(OH)₂D₃) の濃度に応じたHL-60細胞分化率を示すグラフである。

【図6A】図6Aは、1,25-ジヒドロキシビタミンD₃ (1,25-(OH)₂D₃) と比較した、2-メチレン-19-ノル-20(S)-1,25-ジヒドロキシビタミンD₃ (2MD) で処置したことによる卵巣切除老齢雌ラットの骨の修復及び構築を示すグラフである。

【図6B】図6Bは、1,25-ジヒドロキシビタミンD₃ (1,25-(OH)₂D₃) と比較した、2-メチレン-19-ノル-20(S)-1,25-ジヒドロキシビタミンD₃ (2MD) で処置したことによる卵巣切除老齢雌ラットの骨強度の増加を示す棒グラフである。 40

【図7】図7は、1,25-ジヒドロキシビタミンD₃ (1,25-(OH)₂D₃) と比較した、2-メチレン-19-ノル-20(S)-1,25-ジヒドロキシビタミンD₃ (2MD) を様々な日用量で処置した雌ラットの6週間後の血清カルシウムレベルを示す棒グラフである。

【図8】図8は、1,25-ジヒドロキシビタミンD₃ (1,25-(OH)₂D₃) と比較した、2-メチレン-19-ノル-20(S)-1,25-ジヒドロキシビタミンD₃ (2MD) の様々な用量での雌ラットの成長を示すグラフである。

【図9】図9は、1,25-ジヒドロキシビタミンD₃ (1,25-(OH)₂D₃) と比較した、2-メチレン-19-ノル-20(S)-1,25-ジヒドロキシビタミンD₃ (2MD) を様々な日用量で処置した雌ラットの6週間後の腎臓灰分を示すグラフである。

【図10】図10は、各種濃度の2-メチレン-19-ノル-20(S)-1,25-ジヒドロキシ 50

ビタミンD₃ (2MD)の単回経口ボラスを供与したアカゲザルの投与後24時間目の血中カルシウムレベルを示す線グラフである。

【図11】図11は、コントロールと比較した、2メチレン19ノル20(S)1,25ジヒドロキシビタミンD₃ (2MD、2.5ng/kg/日)で処置したことによる成熟雌ラットの経時的な全身骨ミネラル濃度(BMD)の増加を示す棒グラフであって、BMD率の変化を示す線グラフと組み合わせたものである。

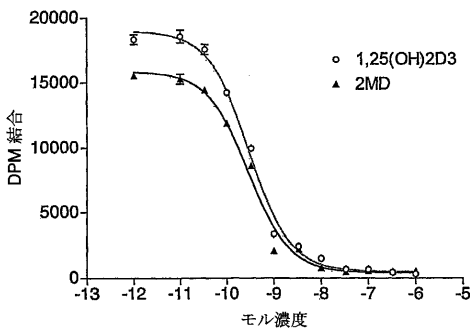
【図12A】図12Aは、図11のデータを得るために用いた成熟雌ラットの海綿骨の経時的な骨ミネラル濃度(BMD)の増加を示すグラフである。

【図12B】図12Bは、図11のデータを得るために用いた成熟雌ラットの皮質骨の経時的な骨ミネラル濃度(BMD)の増加を示すグラフである。

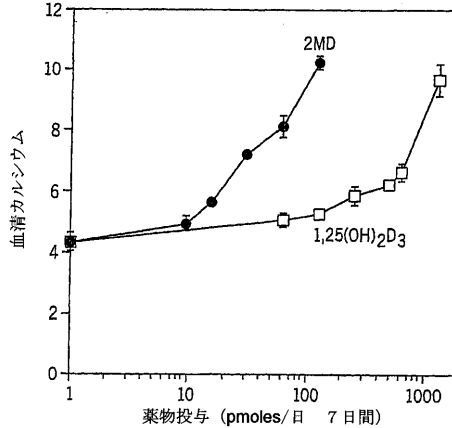
【図13A】図13Aは、図11及び図12A及び12Bのデータを得るために用いた成熟雌ラットの経時的な体重を示すグラフである。

【図13B】図13Bは、図11及び図12A及び12Bのデータを得るために用いた成熟雌ラットの経時的な血清カルシウムレベルを示すグラフである。

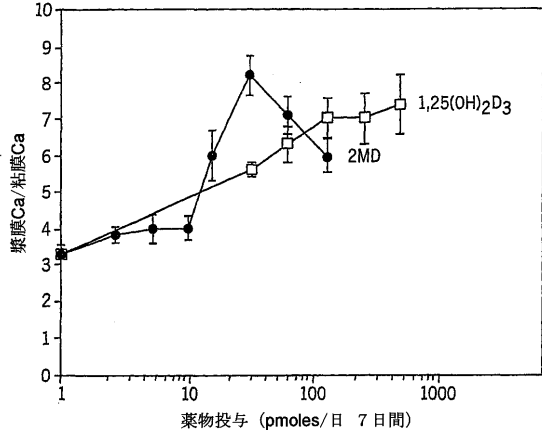
【図1】



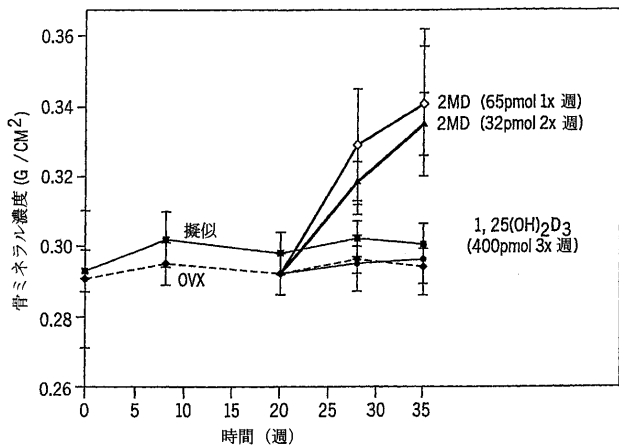
【図3】



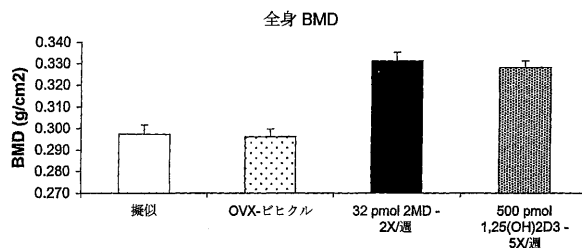
【図2】



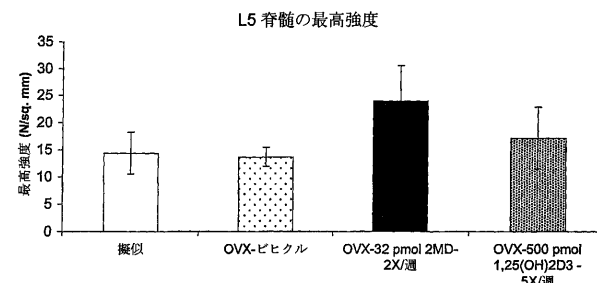
【 図 4 】



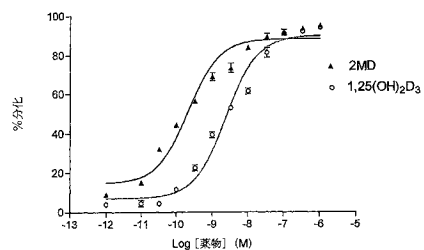
【 図 6 A 】



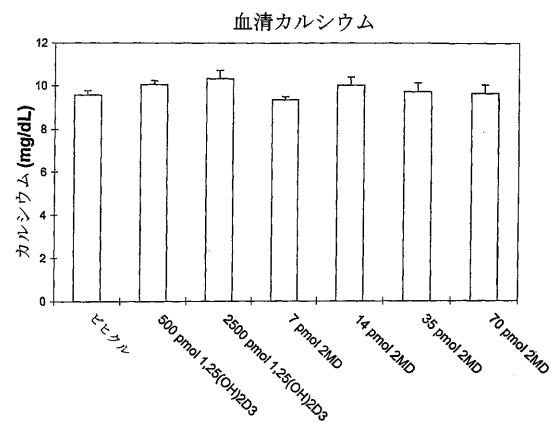
【 図 6 B 】



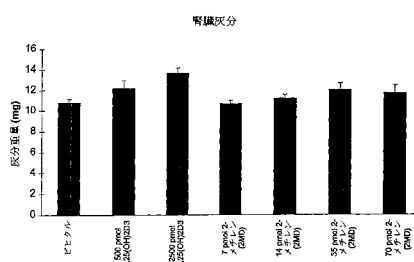
【 図 5 】



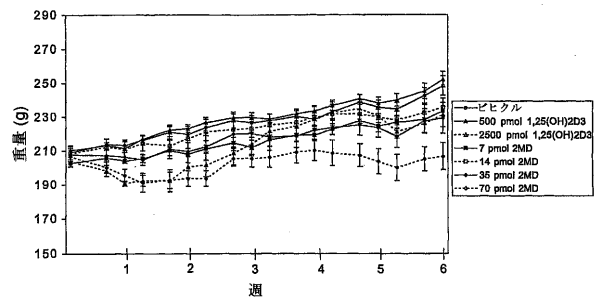
【 図 7 】



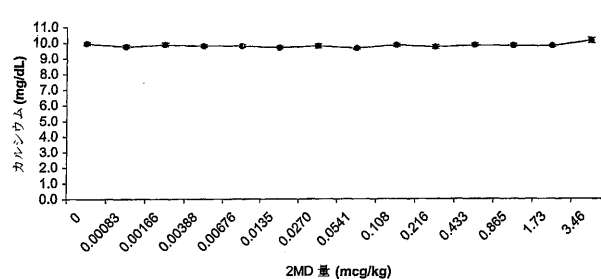
【 図 9 】



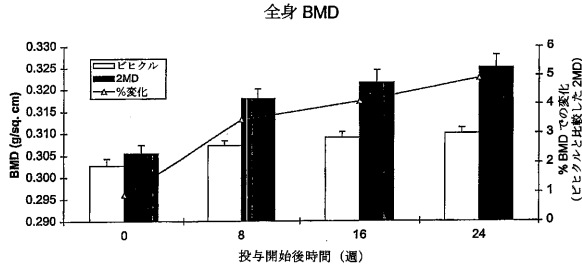
【 図 8 】



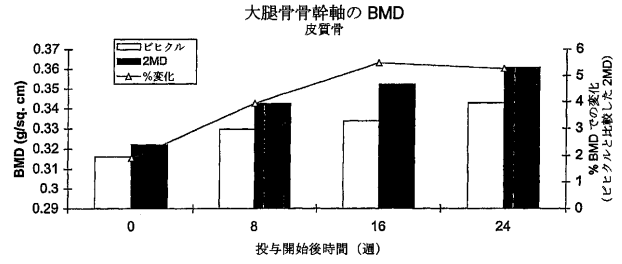
【 図 10 】



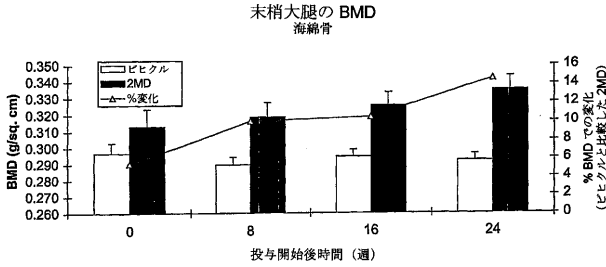
【 図 1 1 】



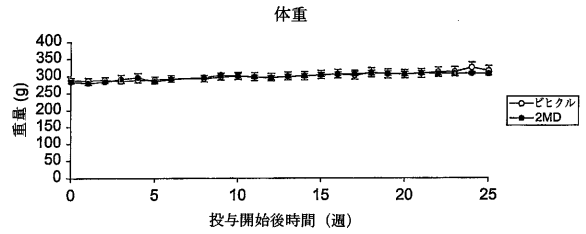
【 図 1 2 B 】



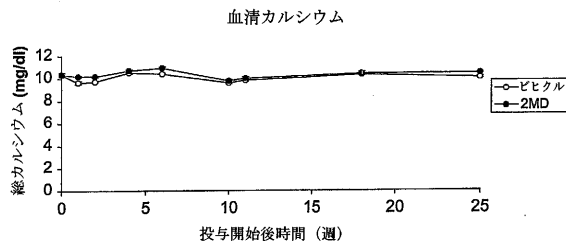
【 図 1 2 A 】



【 図 1 3 A 】



【 図 1 3 B 】



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/US2004/042657

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 A61P19/10 A61K31/593		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 A61K		
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, PAJ, MEDLINE, EMBASE, SCISEARCH		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 02/05823 A (WISCONSIN ALUMNI RESEARCH FOUNDATION) 24 January 2002 (2002-01-24) claims; figure 6b; tables 1,2	1-14, 26-37
Y	-----	1-37
X	US 5 843 928 A (DELUCA ET AL) 1 December 1998 (1998-12-01) claims; figure 1	1-14, 26-37
Y	-----	1-37
X	US 2002/151528 A1 (DELUCA HECTOR F ET AL) 17 October 2002 (2002-10-17) page 3, right-hand column, lines 9-20; claims; tables 1,2	1-14, 26-37
A	US 6 316 642 B1 (DELUCA ET AL) 13 November 2001 (2001-11-13) the whole document	1-67
	-/--	
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in an 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 25 April 2005		Date of mailing of the international search report 04/05/2005
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel: (+31-70) 340-2040, Tx: 31 651 epo.nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Venturini, F

3

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2004)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

PCT/US2004/042657

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>YAMAMOTO, H. ET AL.: "2-Methylene-19-nor-(20S)-1,25-dihydroxyvitamin D₃ potently stimulates gene-specific DNA binding of the Vitamin D receptor in osteoblasts" JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 278, no. 34, 22 August 2003 (2003-08-22), XP002325055 the whole document</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-67

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

PCT/US2004/042657

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0205823	A	24-01-2002	AU 7888801 A	30-01-2002
			BR 0112454 A	29-07-2003
			CA 2416194 A1	24-01-2002
			CN 1455672 A	12-11-2003
			EP 1301189 A2	16-04-2003
			JP 2004505022 T	19-02-2004
			MX PA03000406 A	06-06-2003
			WO 0205823 A2	24-01-2002
			US 2004068129 A1	08-04-2004
			US 5843928	A
AU 714253 B2	23-12-1999			
AU 6280198 A	12-10-1998			
CA 2283829 A1	24-09-1998			
DE 69807852 D1	17-10-2002			
DK 970047 T3	11-11-2002			
EP 0970047 A1	12-01-2000			
ES 2179451 T3	16-01-2003			
JP 2001504135 T	27-03-2001			
NO 994398 A	10-09-1999			
NZ 337503 A	29-09-2000			
PT 970047 T	31-01-2003			
US 2002087015 A1	04-07-2002			
WO 9841501 A1	24-09-1998			
US 5936133 A	10-08-1999			
US 2003181427 A1	25-09-2003			
US 6392071 B1	21-05-2002			
US 2004167104 A1	26-08-2004			
US 2002151528	A1	17-10-2002	JP 2002283003 A	02-10-2002
			US 6306844 B1	23-10-2001
			US 6127559 A	03-10-2000
			US 5945410 A	31-08-1999
			US 2004072804 A1	15-04-2004
			BR 0200894 A	05-11-2002
			CN 1387967 A	01-01-2003
			EP 1243363 A2	25-09-2002
			US 2002153120 A1	24-10-2002
			AU 7330301 A	30-01-2002
			BR 0112453 A	19-08-2003
			CA 2416187 A1	24-01-2002
			CN 1501803 A	02-06-2004
			EP 1305030 A1	02-05-2003
			JP 2004509853 T	02-04-2004
			MX PA03000405 A	06-06-2003
			WO 0205824 A1	24-01-2002
			US 2003073857 A1	17-04-2003
			US 6277837 B1	21-08-2001
			US 6316642 B1	13-11-2001
			US 2004082802 A1	29-04-2004
			US 2002123638 A1	05-09-2002
			AT 253046 T	15-11-2003
			AU 714390 B2	23-12-1999
			AU 6280098 A	12-10-1998
			BR 9808010 A	08-03-2000
			CA 2272745 A1	24-09-1998
DE 69819312 D1	04-12-2003			
DE 69819312 T2	29-07-2004			

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

PCT/US2004/042657

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2002151528 A1		DK 971888 T3	08-03-2004
		EP 0971888 A1	19-01-2000
		ES 2206893 T3	16-05-2004
		JP 2000513010 T	03-10-2000
		NO 994489 A	16-09-1999
		NZ 337262 A	29-09-2000
		PT 971888 T	31-03-2004
		WO 9841500 A1	24-09-1998
		US 6316642 B1	13-11-2001
US 6127559 A	03-10-2000		
US 5945410 A	31-08-1999		
AU 4787301 A	15-10-2001		
CA 2403232 A1	11-10-2001		
EP 1268415 A1	02-01-2003		
JP 2004500414 T	08-01-2004		
MX PA02009325 A	12-02-2003		
WO 0174765 A1	11-10-2001		
US 2003073857 A1	17-04-2003		
US 2004082802 A1	29-04-2004		
US 2002123638 A1	05-09-2002		
US 2002151528 A1	17-10-2002		
US 6306844 B1	23-10-2001		
AT 253046 T	15-11-2003		
AU 714390 B2	23-12-1999		
AU 6280098 A	12-10-1998		
BR 9808010 A	08-03-2000		
CA 2272745 A1	24-09-1998		
DE 69819312 D1	04-12-2003		
DE 69819312 T2	29-07-2004		
DK 971888 T3	08-03-2004		
EP 0971888 A1	19-01-2000		
ES 2206893 T3	16-05-2004		
JP 2000513010 T	03-10-2000		
NO 994489 A	16-09-1999		
NZ 337262 A	29-09-2000		
PT 971888 T	31-03-2004		
WO 9841500 A1	24-09-1998		

フロントページの続き

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

(74)代理人 100080137

弁理士 千葉 昭男

(74)代理人 100096013

弁理士 富田 博行

(74)代理人 100107386

弁理士 泉谷 玲子

(72)発明者 デルーカ, ヘクター・エフ

アメリカ合衆国ウィスコンシン州53531, ディーアフィールド, ハイウェイ・ビービー 1809

(72)発明者 プラム, ロリ・エイ

アメリカ合衆国ウィスコンシン州53503, アリーナ, ハイウェイ・エイチ 6139

(72)発明者 クラジェット - ダーム, マーガレット

アメリカ合衆国ウィスコンシン州53531, ディーアフィールド, ハイウェイ・ビービー 1809

Fターム(参考) 4C086 AA01 AA02 DA15 HA24 MA01 NA14 ZA97