

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200480026848.6

[51] Int. Cl.

*A61K 31/59 (2006.01)*

*A61P 19/10 (2006.01)*

*A61P 3/02 (2006.01)*

*A61K 38/29 (2006.01)*

*A61P 19/00 (2006.01)*

*A61P 35/00 (2006.01)*

[43] 公开日 2006年10月25日

[11] 公开号 CN 1852716A

[51] Int. Cl. (续)

*A61P 3/04 (2006.01)*

*A61P 21/00 (2006.01)*

[22] 申请日 2004.9.6

[21] 申请号 200480026848.6

[30] 优先权

[32] 2003.9.19 [33] US [31] 60/504,503

[86] 国际申请 PCT/IB2004/002902 2004.9.6

[87] 国际公布 WO2005/027915 英 2005.3.31

[85] 进入国家阶段日期 2006.3.17

[71] 申请人 辉瑞产品公司

地址 美国康涅狄格州

[72] 发明人 D·D·汤普森

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商  
标事务所

代理人 刘晓东

权利要求书1页 说明书46页

[54] 发明名称

包括2-亚烷基-19-去甲基-维生素D衍生物和甲状旁腺激素的组合物和方法

[57] 摘要

本发明涉及药物组合物和治疗方法，包括给有此需要的患者施用2-亚烷基-19-去甲基-维生素D衍生物和甲状旁腺激素或其活性片段或变体的组合。具体而言，本发明涉及药物组合物和治疗方法，包括给有此需要的患者施用2-亚甲基-19-去甲基-20(S)-1 $\alpha$ , 25-二羟基维生素D<sub>3</sub>和甲状旁腺激素或其活性片段或变体。

1. 一种药物组合物，其中包含化合物 2-亚甲基-19-去甲基-20(S)-1 $\alpha$ , 25-二羟基维生素 D<sub>3</sub> 和甲状旁腺激素或其活性片段或变体。

2. 权利要求 1 的组合物，其中该甲状旁腺激素为人重组甲状旁腺激素。

3. 权利要求 1 的组合物，其中该甲状旁腺激素为人重组甲状旁腺激素 1-34。

4. 一种治疗患者的老年性骨质疏松、经绝期后骨质疏松、骨折、骨移植物、乳腺癌、前列腺癌、肥胖症、骨质减少、男性骨质疏松、脆弱、肌损伤或肌肉减少的方法，所述方法包括给有此需要的患者施用治疗有效量的 2-亚甲基-19-去甲基-20(S)-1 $\alpha$ , 25-二羟基维生素 D<sub>3</sub> 和甲状旁腺激素或其活性片段或变体。

5. 权利要求 4 的方法，其中该 2-亚甲基-19-去甲基-20(S)-1 $\alpha$ , 25-二羟基维生素 D<sub>3</sub> 和甲状旁腺激素或其活性片段或变体基本上同时给药。

6. 权利要求 4 的方法，其中治疗经绝期后骨质疏松。

7. 权利要求 4 的方法，其中治疗骨折。

## 包括 2-亚烷基-19-去甲基-维生素 D 衍生物和 甲状旁腺激素的组的药物组合物和方法

### 发明领域

本发明涉及药物组合物和治疗方法,包括给有此需要的患者施用 2-亚烷基-19-去甲基-维生素 D 衍生物和甲状旁腺激素或其活性片段或变体的组合。具体而言,本发明涉及药物组合物和治疗方法,包括给有此需要的患者施用 2-亚甲基-19-去甲基-20(S)-1 $\alpha$ ,25-二羟基维生素 D<sub>3</sub>和甲状旁腺激素或其活性片段或变体。

### 发明背景

维生素 D 是一个指一组类固醇分子的通用术语。维生素 D 的活性形式,即称为 1,25-二羟基维生素 D<sub>3</sub>(1,25-二羟基胆钙化醇)的形式,在人体中通过将 7-脱氢胆固醇转化成维生素 D<sub>3</sub>(胆钙化醇)来生物合成。这种转化在皮肤中发生,并需要 UV 照射,通常是来自阳光的 UV 照射。然后维生素 D<sub>3</sub>在肝脏中代谢成 25-羟基维生素 D<sub>3</sub>(25-羟基胆钙化醇),随后进一步在肾中代谢成维生素 D 的活性形式,即 1,25-二羟基维生素 D<sub>3</sub>。然后 1,25-二羟基维生素 D<sub>3</sub>分布于整个身体,在此它与细胞内维生素 D 受体结合。

维生素 D 的活性形式是已知涉及矿物质代谢和骨生长并促进肠吸收钙的激素。

维生素 D 类似物公开在 1998 年 12 月 1 日颁发的美国专利 5,843,928 中。所公开的化合物为 2-亚烷基-19-去甲基-维生素 D 衍生物,其特征是与 1,25-二羟基维生素 D<sub>3</sub>相比,它具有低的肠钙转运活性和高的骨钙转移活性。

本发明提供使用 2-亚烷基-19-去甲基-维生素 D 衍生物,特别是化合物 2-亚甲基-19-去甲基-20(S)-1 $\alpha$ ,25-二羟基维生素 D<sub>3</sub>, (还已

知为 2MD) 和甲状旁腺激素或其活性片段或变体的组合的治疗方法。

### 发明概述

本发明涉及药物组合物和治疗方法, 包括给有此需要的患者施用 2-亚烷基-19-去甲基-维生素 D 衍生物和甲状旁腺激素或其活性片段或变体的组合。具体而言, 本发明涉及药物组合物和治疗方法, 包括给有此需要的患者施用 2-亚甲基-19-去甲基-20(S)-1 $\alpha$ , 25-二羟基维生素 D<sub>3</sub> 和甲状旁腺激素或其活性片段或变体。

### 发明详述

本发明涉及使用 2-亚烷基-19-去甲基-维生素 D 衍生物和甲状旁腺激素或其活性片段或变体的组合的药物组合物和治疗代谢性骨病、老年性骨质疏松、经绝期后骨质疏松、类固醇诱导的骨质疏松、低骨代谢率骨质疏松、骨软化、肾性骨营养不良、牛皮癣、多发性硬化、糖尿病、宿主抗移植物排斥反应、移植排斥反应、类风湿性关节炎、哮喘、骨折、骨移植物 (bone graft)、痤疮、脱发、干皮病、皮肤硬度不足、皮脂分泌不足、皱纹、高血压、白血病、结肠癌、乳腺癌、前列腺癌、肥胖症、骨质减少、男性骨质疏松、性腺机能减退、男性更年期 (andropause)、脆弱 (frailty)、肌损伤、肌肉减少 (sarcopenia)、骨肉瘤、低血钙性手足抽搐、甲状旁腺功能减退、佝偻病、维生素 D 缺乏、厌食、由侵略性运动行为导致的低骨质量以及用于提高青春期巅峰骨量和预防二次髋骨骨折 (second hip fracture) 的方法。

在一个优选的实施方案中, 本发明涉及使用 2-亚甲基-19-去甲基-20(S)-1 $\alpha$ , 25-二羟基维生素 D<sub>3</sub> 和甲状旁腺激素或其活性片段或变体治疗代谢性骨病、老年性骨质疏松、经绝期后骨质疏松、类固醇诱导的骨质疏松、低骨代谢率骨质疏松、骨软化、肾性骨营养不良、牛皮癣、多发性硬化、糖尿病、宿主抗移植物排斥反应、移植排斥反应、类风湿性关节炎、哮喘、骨折、骨移植物、痤疮、脱发、

干皮病、皮肤硬度不足、皮脂分泌不足、皱纹、高血压、白血病、结肠癌、乳腺癌、前列腺癌、肥胖症、骨质减少、男性骨质疏松、性腺机能减退、男性更年期、脆弱、肌损伤、肌肉减少、骨肉瘤、低血钙性抽搐、甲状旁腺功能减退、佝偻病、维生素 D 缺乏、厌食、由侵略性运动行为导致的低骨质量以及用于提高青春期巅峰骨量和预防二次髌骨骨折的方法。

在一个优选的实施方案中,使用该组合的治疗方法针对的是老年性骨质疏松、经绝期后骨质疏松、骨折、骨移植物、乳腺癌、前列腺癌、肥胖症、骨质减少、男性骨质疏松、脆弱、肌损伤和肌肉减少。

骨质减少是骨变细,但比骨质疏松所见程度小,是真正骨质疏松之前的阶段。世界卫生组织已开发出了基于骨质密度(BMD)的诊断性分类以指示人是否具有正常的骨、患有骨质减少或患有骨质疏松。正常的骨密度在年青成人平均骨密度的一个标准偏差(+1 或-1)内。

骨质减少(低骨质量)定义为在年青成人平均值以下 1-2.5 个标准偏差(-1 至-2.5)的骨密度,而骨质疏松定义为低于年青成人平均值以下 2.5 个标准偏差或更大(>-2.5)的骨密度。

性腺机能减退一般定义为生殖腺功能不足,表现为配子发生和/或性激素分泌不足,可能导致青春期延迟和/或生殖不足。存在三大类性腺机能减退: 1)原发性性腺机能减退; 2)继发性性腺机能减退和 3)抵抗性性腺机能减退。在原发性性腺机能减退中,对间质细胞的损伤减少了雄激素产生。在继发性性腺机能减退中,下丘脑或垂体的病症减少了促性腺激素分泌,而在抵抗性性腺机能减退中,对雄激素的机体反应不足。

佝偻病是涉及骨的软化和弱化的儿童期病症,主要由维生素 D、钙和/或磷酸盐缺乏导致的。

厌食是具有以下特征的疾病:相对于年龄和高度而言不能使体重保持在或高于最低程度的正常重量(例如导致体重保持低于预期值的 85%的体重损失;或者在生长期间不能发生预期的体重增加,导致

体重低于预期值的 85%); 强烈惧怕体重增加或变胖, 即使体重不足也如此; 以及干扰体重或体形, 体重或体形对自我评价的过度影响, 或者否认当前低体重的严重性。本发明的化合物和组合可以用于治疗厌食, 并可以用于治疗与厌食有关的骨损失。

可以用本发明的化合物和组合治疗的另一种症状是与侵略性运动行为有关的骨损失, 特别是妇女的骨损失。锻炼、运动或体育活动中的侵略性参与可以导致骨损失, 通常在妇女身上伴有 amenorrhea。同样表现出侵略性运动行为的男性也表现出骨损失。

男性更年期(也称为男性绝经期或 viropause)在男性中天然存在, 通常在 40 至 45 岁之间发生。

男性更年期是激素睾酮水平降低。当睾酮水平降低以及男性进入更年期时, 可以观察到多种变化或症状, 包括能量和力量减小、身体脂肪增加、骨质疏松、抑郁、心智敏锐性减小、不能保持肌肉、心血管疾病、动脉粥样硬化、性欲降低、性欲高潮的强度降低、勃起功能障碍、烦躁增加以及关节疼痛和僵直, 特别是手和脚。此外, 经历或已经历过男性更年期的男性可能患男性乳房发育症、血脂异常, 包括高胆固醇血症、血管活性降低、性腺机能减退和良性前列腺增生。

脆弱的特征是渐进性和非缓和性骨骼肌质量损失, 导致跌倒损伤的高度风险、疾病康复困难、住院治疗的延长和日常生活需要帮助的长期残疾。肌肉质量、体力和体能的降低通常导致生活质量降低、独立性丧失和死亡。脆弱一般与年老有关, 但也在由其它因素, 例如疾病诱导的恶病质、固定或药物诱导的肌肉减少导致的力量损失和强度减小时发生。用于表示脆弱的另一个术语是肌肉减少, 它是关于骨骼肌质量或性质损失的通用术语。对骨骼肌的整体性质有贡献的性的例子包括收缩性、纤维尺寸和类型、疲劳性、激素反应性、葡萄糖摄入/代谢和毛细血管密度。甚至在肌肉质量损失不存在的情况下, 肌肉性质的损失可能导致体力损失和体能削弱。

本文所用的术语“肌损伤”是对任何肌肉组织的损害。肌损伤可

以是因事故、运动损伤、内分泌异常、疾病、创作或外科手术造成的对肌肉组织的物理创伤导致的。本发明的方法可用于通过促进肌损伤修复来治疗肌损伤。

成年妇女的骨质疏松是由成年过程中在青春期所获得的巅峰骨质的量、这种巅峰骨量的绝经前保持和绝经后骨质量损失的速率所决定的。巅峰骨量的决定因素包括遗传、营养、重量载荷(锻炼)和环境因素。因此期望提高青春期巅峰骨量以使骨骼质量最大化,从而防止生命后期骨质疏松的发展。同样,提高男性青春期巅峰骨量也是期望的。

髌骨骨折对医疗资源和患者的发病率和死亡率有重要的影响。很少有被确认髌骨骨折的患者被考虑施行目标在于减少进一步骨折风险的预防性措施。目前,10-13%的患者随后发生另一髌骨骨折,更少的患者能够在二次骨折后能够象第一次一样保持他们独立行走的能力(分别为53和91%, $P < 0.0005$ )。Pearse E. O.等人, *Injury*, 2003, 34(7), 518-521。在二次髌骨骨折之后,患者的活动水平决定了他们的未来社会独立性。年老患者和有多次跌倒历史的患者,他们的骨折之间间隔时间更短。二次髌骨骨折对患者的活动性和社会独立性有显著的进一步影响。因此期望拥有一种新的预防二次髌骨骨折的方法。

骨肉瘤是一种相对常见的、高度恶性的原发性骨肿瘤,具有转移至肺的趋势。骨肉瘤在10-20岁的人中最常见,但它可能发生在任何年龄。所有骨肉瘤中大约有一半位于膝盖区域,但它可以在任何骨中。疼痛和质量是骨肉瘤的常见症状。典型的骨肉瘤治疗是化学治疗与手术联合。用试剂如氨甲蝶呤、阿霉素、顺铂或卡铂进行的外科手术前或外科手术后化学治疗可以用于治疗骨肉瘤。

甲状旁腺功能减退有低钙血趋势,通常伴有由激素缺乏导致的慢性手足抽搐,其特征在于低血清钙和高血清磷水平。甲状旁腺功能减退通常是在甲状腺切除术期间意外除去或损害许多甲状旁腺之后发生的。短暂性甲状旁腺功能减退常见于几乎全部的甲状腺切除术之后,并且以熟练操作的甲状腺切除术的3%以下水平永久地存在。

低血钙性抽搐是一种由低钙血导致的手足抽搐的形式。低钙血的特征是在存在正常血浆蛋白浓度时总血浆钙浓度降低到 8.8 mg/dL(毫克/分升)以下。手足抽搐可以有明显的自发性症状或潜伏性症状。手足抽搐明显时的特征是感官症状,例如嘴唇、舌头、手指和脚的感觉异常;手足痉挛,可能是延时的和疼痛的;全身性肌肉疼痛和面部肌肉组织痉挛。潜伏性手足抽搐需要引发它的刺激性试验,并一般在较不严重的低血浆钙浓度,例如 7-8 mg/dL 下发生。低血钙性抽搐也在动物的兽医实践中观察到。例如,马的低血钙性抽搐是一种与血清离子化钙急性损耗有关,且有时与镁和磷酸盐的血清浓度的改变有关的罕见症状。它在长期身体动作或移动(移动性手足抽搐)之后发生和在哺乳的母马(哺乳期手足抽搐)中存在。症状是可变的,并与神经肌肉高度易激性有关。

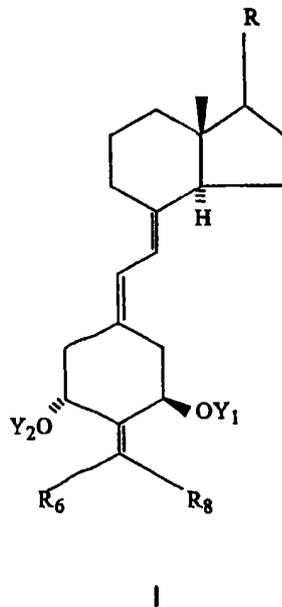
本发明还涉及用于治疗代谢性骨病、老年性骨质疏松、经绝期后骨质疏松、类固醇诱导的骨质疏松、低骨代谢率骨质疏松、骨软化、肾性骨营养不良、牛皮癣、多发性硬化、糖尿病、宿主抗移植排斥反应、移植排斥反应、类风湿性关节炎、哮喘、骨折、骨移植、痤疮、脱发、干皮病、皮肤硬度不足、皮脂分泌不足、皱纹、高血压、白血病、结肠癌、乳腺癌、前列腺癌、肥胖症、骨质减少、男性骨质疏松、性腺机能减退、男性更年期、脆弱、肌损伤、肌肉减少、骨肉瘤、低血钙性抽搐、甲状旁腺功能减退、佝偻病、维生素 D 缺乏、厌食、由侵略性运动行为导致的低骨质量以及用于提高青春期巅峰骨量和预防二次髌骨骨折的药物组合物,其中包含 2-亚烷基-19-去甲基-维生素 D 衍生物,例如式 I 的化合物,以及甲状旁腺激素或其活性片段或变体和载体、溶剂、稀释剂等。

在一个实施方案中,本发明的组合包含治疗有效量的第一化合物,该第一化合物是 2-亚烷基-19-去甲基-维生素 D 衍生物,例如式 I 的化合物;和治疗有效量的第二化合物,该第二化合物是甲状旁腺激素或其活性片段或变体。

一个特别优选的组合是 2-亚甲基-19-去甲基-20(S)-1 $\alpha$ ,25-二

羟基维生素 D<sub>3</sub> 和甲状旁腺激素或其活性片段或变体的组合。

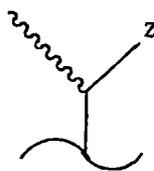
可以用于本发明的 2-亚烷基-19-去甲基-维生素 D 衍生物公开在美国专利 5,843,928 中, 该衍生物由以下所示的通式 I 表征:



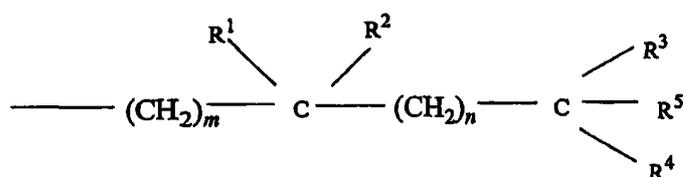
其中 Y<sub>1</sub> 和 Y<sub>2</sub> 可以相同或不同, 它们各自选自氢和羟基保护基, R<sub>6</sub> 和 R<sub>8</sub> 可以相同或不同, 它们各自选自氢、烷基、羟基烷基和氟烷基, 或者一起代表基团 -(CH<sub>2</sub>)<sub>x</sub>- 其中 X 为 2-5 的整数, 且其中基团 R 代表针对维生素 D 型化合物已知的典型侧链中任何一种。

更为具体而言, R 可以代表 1-35 个碳的饱和或不饱和烃基, 其可以是直链、支链或环式, 并可以包含一个或多个额外的取代基, 例如羟基-或受保护的羟基、氟、羰基、酯、环氧基 (epoxy)、氨基或其它杂原子基团。

优选的这种类型的侧链由以下的结构表示:



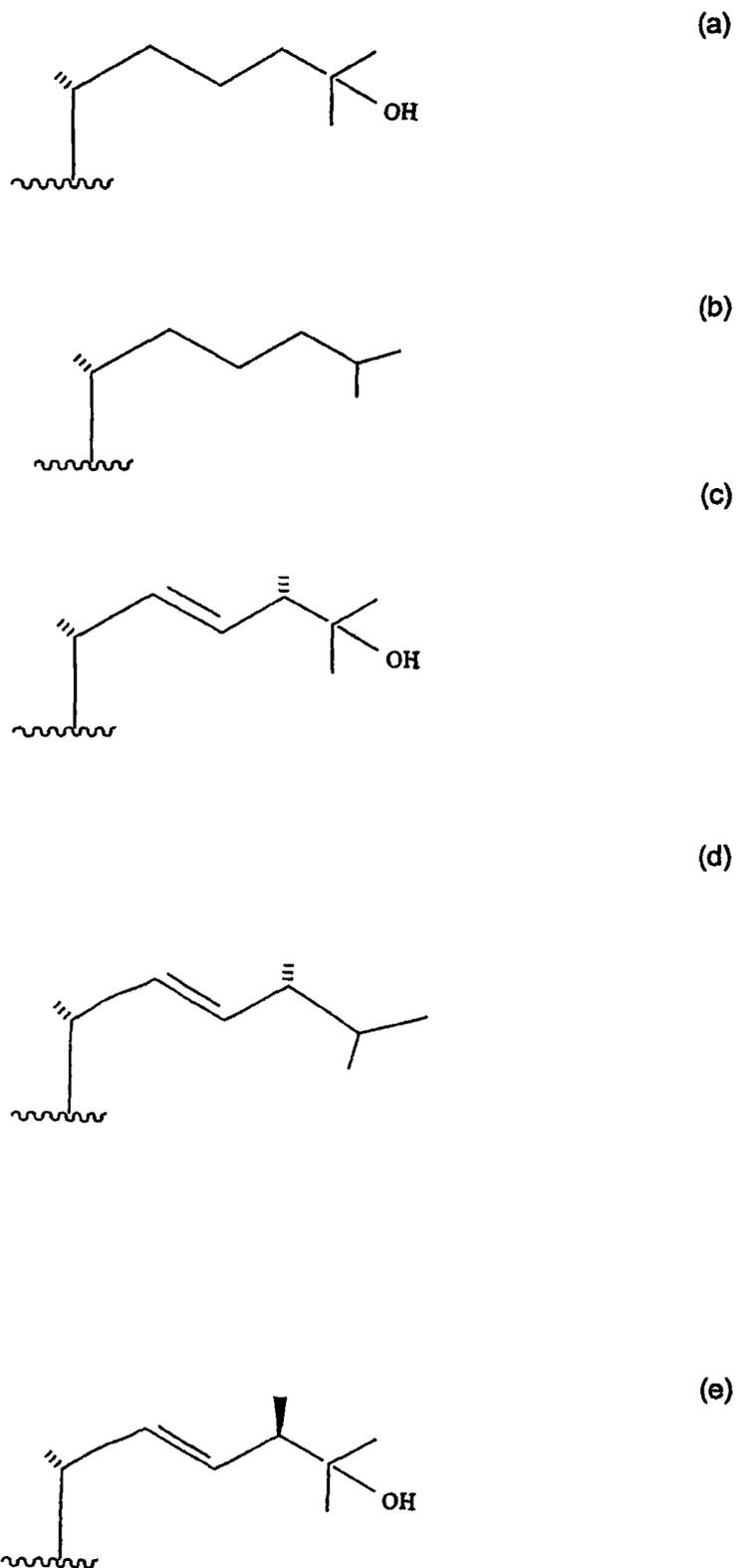
其中的立体化学中心(对应于类固醇编号中的 C-20)可以具有 R 或 S 构型(即关于碳 20 的天然构型或 20-表构型),且其中 Z 选自 Y、-OY、-CH<sub>2</sub>OY、-C≡CY 和 -CH=CHY, 其中的双键可以具有顺式或反式几何构型, 且其中 Y 选自氢、甲基、COR<sup>5</sup> 和以下结构的基团:



其中 m 和 n 独立地代表 0-5 的整数, 其中 R<sup>1</sup> 选自氢、氘、羟基、受保护的羟基、氟、三氟甲基和 C<sub>1-5</sub>-烷基, 它可以是直链或支链, 并且可选地具有羟基或受保护的羟基取代基, 且其中 R<sup>2</sup>、R<sup>3</sup> 和 R<sup>4</sup> 中的每一个独立地选自氘、含氘的烷基 (deuteroalkyl)、氢、氟、三氟甲基和 C<sub>1-5</sub> 烷基, 它们可以是直链或支链, 并可选地具有羟基或受保护的羟基取代基, 且其中 R<sup>1</sup> 和 R<sup>2</sup> 一起代表氧基团或亚烷基基团、=CR<sup>2</sup>R<sup>3</sup> 或基团 -(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-, 其中 p 为 2-5 的整数, 且其中 R<sup>3</sup> 和 R<sup>4</sup> 一起代表氧基团或基团 -(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>-, 其中 q 为 2-5 的整数, 且其中 R<sup>5</sup> 代表氢、羟基、受保护的羟基或 C<sub>1-5</sub> 烷基, 且其中在侧链的第 20、22 或 23 位的任何 CH-基团可以被氮原子取代, 或者其中第 20、22 和 23 位的基团 -CH(CH<sub>3</sub>)-、-CH(R<sup>3</sup>)-或 -CH(R<sup>2</sup>)-中的任何基团分别可以被氧或硫原子取代。

C-20 处的甲基取代基上的波浪线表示碳 20 可以是 R 或 S 构型。

具有天然 20R-构型的侧链的特别重要的实例是由以下式 (a)、(b)、(c)、(d) 和 (e) 代表的结构, 即 25-羟基维生素 D<sub>3</sub> (a); 维生素 D<sub>3</sub> (b); 25-羟基维生素 D<sub>2</sub> (c); 维生素 D<sub>2</sub> (d); 和 25-羟基维生素 D<sub>2</sub> 的 C-24 差向异构体 (e) 中存在的侧链;



本文所用的术语“羟基保护基”表示任何常用于临时性保护羟基官能团的基团，例如烷氧基羰基，酰基，烷基甲硅烷基或烷基芳基

甲硅烷基基团(下文简称为“甲硅烷基”基团)和烷氧基烷基基团。烷氧基羰基保护基为烷基-O-CO-基团,例如甲氧基羰基、乙氧基羰基、丙氧基羰基、异丙氧基羰基、丁氧基羰基、异丁氧基羰基、叔丁氧基羰基、苄氧基羰基或烯丙氧基羰基。术语“酰基”表示 1-6 个碳的所有异构形式的烷酰基,或者 1-6 个碳的羧基烷酰基,例如草酰基、丙二酰基、琥珀酰基或戊二酰基,或者芳香酰基,例如苯甲酰基,或者卤素、硝基或烷基取代的苯甲酰基。用于说明书和权利要求书的词“烷基”指所有异构体形式的 1-10 个碳的直链或支链烷基。

烷氧基烷基保护基是诸如以下的基团:甲氧基甲基、乙氧基甲基、甲氧基乙氧基甲基或四氢呋喃基和四氢吡喃基。优选的甲硅烷基保护基为三甲基甲硅烷基、三乙基甲硅烷基、叔丁基二甲基甲硅烷基、二丁基甲基甲硅烷基、二苯基甲基甲硅烷基、苯基二甲基甲硅烷基、二苯基叔丁基甲硅烷基和类似的烷基化甲硅烷基。术语“芳基”指苯基-或者任何烷基-、硝基-或卤素取代的苯基。

“受保护的羟基”是用常用于临时性或永久性保护羟基官能团的任何上述基团,例如如前面定义的甲硅烷基、烷氧基烷基、酰基或烷氧基羰基衍生或保护的羟基。术语“羟基烷基”、“含氘的烷基”和“氟烷基”指任何分别被一个或多个羟基、氘或氟基团取代的烷基。

在说明书中应该指出,术语“24-高”指在侧链的碳 24 位处加入了一个亚甲基,而术语“24-二高”指在此处加入了二个甲基。同样,术语“三高”指加入了三个亚甲基基团。而且,术语“26,27-二甲基”指在碳 26 和 27 位处加入了甲基,以致于例如  $R^3$  和  $R^4$  为乙基。同样,术语“26,27-二乙基”指在 26 和 27 位处加入了乙基,以致于  $R^3$  和  $R^4$  为丙基。

在以下化合物的清单中,连接在碳 2 位处的特定的亚烷基取代基应该加到该命名中。例如,如果该亚烷基取代基是亚甲基,则在该命名的化合物应该有“2-亚甲基”。如果该亚烷基取代基为亚乙基,

则在每一个命名的化合物之前应有术语“2-亚乙基”，等等。此外，如果连接在碳20位处的甲基处于其表或不饱和构型，则术语“20(S)”或“20-表”应该包括在每一个以下命名的化合物中。如果需要的话，该命名的化合物还应该是维生素D型的。

侧链不饱和时结构 I 的 2-亚烷基-化合物的具体和优选的实例为：

19-去甲基-24-高-1, 25-二羟基-22-脱氢维生素 D<sub>3</sub>;

19-去甲基-24-二高-1, 25-二羟基-22-脱氢维生素 D<sub>3</sub>;

19-去甲基-24-三高-1, 25-二羟基-22-脱氢维生素 D<sub>3</sub>;

19-去甲基-26, 27-二甲基-24-高-1, 25-二羟基-22-脱氢维生素 D<sub>3</sub>;

19-去甲基-26, 27-二甲基-24-二高-1, 25-二羟基-22-脱氢维生素 D<sub>3</sub>;

19-去甲基-26, 27-二甲基-24-三高-1, 25-二羟基-22-脱氢维生素 D<sub>3</sub>;

19-去甲基-26, 27-二乙基-24-高-1, 25-二羟基-22-脱氢维生素 D<sub>3</sub>;

19-去甲基-26, 27-二乙基-24-二高-1, 25-二羟基-22-脱氢维生素 D<sub>3</sub>;

19-去甲基-26, 27-二乙基-24-三高-1, 25-二羟基-22-脱氢维生素 D<sub>3</sub>;

19-去甲基-26, 27-二丙基-24-高-1, 25-二羟基-22-脱氢维生素 D<sub>3</sub>;

19-去甲基-26, 27-二丙基-24-二高-1, 25-二羟基-22-脱氢维生素 D<sub>3</sub>; 和

19-去甲基-26, 27-二丙基-24-三高-1, 25-二羟基-22-脱氢维生素 D<sub>3</sub>。

侧链饱和时结构 I 的 2-亚烷基-化合物的具体和优选的实例为：

19-去甲基-24-高-1, 25-二羟基维生素 D<sub>3</sub>;

- 19-去甲基-24-二高-1, 25-二羟基维生素 D<sub>3</sub>;
- 19-去甲基-24-三高-1, 25-二羟基维生素 D<sub>3</sub>;
- 19-去甲基-26, 26-二甲基-24-高-1, 25-二羟基维生素 D<sub>3</sub>;
- 19-去甲基-26, 27-二甲基-24-二高-1, 25-二羟基维生素 D<sub>3</sub>;
- 19-去甲基-26, 27-二甲基-24-三高-1, 25-二羟基维生素 D<sub>3</sub>;
- 19-去甲基-26, 27-二乙基-24-高-1, 25-二羟基维生素 D<sub>3</sub>;
- 19-去甲基-26, 27-二乙基-24-二高-1, 25-二羟基维生素 D<sub>3</sub>;
- 19-去甲基-26, 27-二乙基-24-三高-1, 25-二羟基维生素 D<sub>3</sub>;
- 19-去甲基-26, 27-二丙基-24-高-1, 25-二羟基维生素 D<sub>3</sub>;
- 19-去甲基-26, 27-二丙基-24-二高-1, 25-二羟基维生素 D<sub>3</sub>; 和
- 19-去甲基-26, 27-二丙基-24-三高-1, 25-二羟基维生素 D<sub>3</sub>。

在本发明的某些方面, 任何甲状旁腺激素(PTH)可以用作第二化合物。术语甲状旁腺激素指甲状旁腺激素、它的片段或代谢物及其结构类似物, 它们可以刺激骨形成并增加骨质量。还包括甲状旁腺激素相关的肽和活性片段以及甲状旁腺相关肽的类似物(参见PCT公开 WO 94/01460)。例举性的甲状旁腺激素公开在以下参考资料中。

"Human Parathyroid Peptide Treatment of Vertebral Osteoporosis", *Osteoporosis Int.*, 3, (Supp 1): 199-203.

"PTH 1-34 Treatment of Osteoporosis with Added Hormone Replacement Therapy: Biochemical, Kinetic and Histological Responses"*Osteoporosis Int.* 1: 162- 170.

优选的甲状旁腺激素为重组人甲状旁腺激素。另一种优选的甲状旁腺激素为重组人甲状旁腺激素 1-34。重组人甲状旁腺激素 1-34 作为 Forte<sup>®</sup> 销售。重组人甲状旁腺激素 1-34 也称为立特帕肽, 它具有与 84 个氨基酸的人甲状旁腺激素中 34 个 N-末端氨基酸(生物活性区域)相同的序列。另一种可以用于本发明的甲状旁腺激素的形式为甲状旁腺激素 1-34 乙酸盐(乙酸立特帕肽)。

甲状旁腺激素或其活性片段或变体可以用重组技术获得, 或者可以使用本领域技术人员已知的常规的肽合成技术合成。

甲状旁腺激素对本领域技术人员来说是众所周知的。为用于本文所述的发明，在某些实施方案中甲状旁腺激素可以是天然存在的甲状旁腺激素的变体或片段。例如，变体可以通过发生保守氨基酸变化并在本技术中已知的功能试验中测试所得的变体来产生。保守氨基酸取代指具有类似侧链的残基的互换性。例如，一组具有脂肪侧链的氨基酸是甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸；一组具有脂肪族羟基侧链的氨基酸是丝氨酸和苏氨酸；一组具有含酰胺的侧链的氨基酸是天冬酰胺和谷氨酰胺；一组具有芳香侧链的氨基酸是苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸；一组具有碱性侧链的氨基酸是赖氨酸、精氨酸，和组氨酸；而一组具有含硫侧链的氨基酸是半胱氨酸和甲硫氨酸。优选的保守氨基酸取代基是：缬氨酸-亮氨酸-异亮氨酸、苯丙氨酸-酪氨酸、赖氨酸-精氨酸、丙氨酸-缬氨酸，和天冬酰胺-谷氨酰胺。

本领域技术人员将认识到，甲状旁腺激素的变体或片段可以用常规技术产生，例如通过诱变形成，包括创建离散的点突变或者通过截短。例如，突变可以产生保持了衍生它的多肽生长因子的基本上相同或者仅仅其一部分的生物活性的变体。

甲状旁腺激素变体还可以通过与其它化学部分，例如糖基、脂、磷酸酯、乙酰基等形成共价或聚集缀合物而被化学修饰。共价衍生物可以通过将该化学部分连接到蛋白质的氨基酸侧链的官能团上或者多肽的 N-末端或 C-末端来制备。

短语“保守氨基酸取代”指一个氨基酸被不同的具有某些共同性质的氨基酸取代。一种定义各个氨基酸之间的共同性质的有效方法是分析同源生物体的相应蛋白质之间氨基酸变化的标准化频率 (Schulz, G. E. 和 R. H. Schirmer, Principles of Protein Structure, Springer-Verlag)。根据这些分析可以确定氨基酸分组，其中一组内的氨基酸偏爱彼此互换，因此彼此在对整个蛋白质结构的影响方面最相象 (Schulz, G. E. 和 R. H. Schirmer, Principles of Protein Structure, Springer-Verlag)。以这种方式确定的氨基酸

分组的实例包括：(i)带电组，由 Glu 和 Asp、Lys、Arg 和 His 组成；(ii)带正电组，由 Lys、Arg 和 His 组成；(iii)带负电组，由 Glu 和 Asp 组成；(iv)芳香组，由 Phe、Tyr 和 Trp 组成；(v)氮环组，由 His 和 Trp 组成；(vi)大的脂族非极性组，由 Val、Leu 和 Ile 组成；(vii)轻微极性组，由 Met 和 Cys 组成；(viii)小残基组，由 Ser、Thr、Asp、Asn、Gly、Ala、Glu、Gln 和 Pro 组成；(ix)脂族组，由 Val、Leu、Ile、Met 和 Cys 组成；和(x)小羟基组，由 Ser 和 Thr 组成。

“保守取代”意指在蛋白质性分子中预期对其活性或表达影响很小或没有影响的氨基酸的取代、加入或缺失。例如，用一个疏水氨基酸取代蛋白质性分子跨膜区中的另一氨基酸很少会对其活性有任何显著的影响。其它保守取代对本领域技术人员来说是熟知的。

本发明还涉及用于治疗代谢性骨病、老年性骨质疏松、经绝期后骨质疏松、类固醇诱导的骨质疏松、低骨代谢率骨质疏松、骨软化、肾性骨营养不良、牛皮癣、多发性硬化、糖尿病、宿主抗移植排斥反应、移植排斥反应、类风湿性关节炎、哮喘、骨折、骨移植、痤疮、脱发、干皮病、皮肤硬度不足、皮脂分泌不足、皱纹、高血压、白血病、结肠癌、乳腺癌、前列腺癌、肥胖症、骨质减少、男性骨质疏松、性腺机能减退、男性更年期、脆弱、肌损伤、肌肉减少、骨肉瘤、低血钙性抽搐、甲状旁腺功能减退、佝偻病、维生素 D 缺乏、厌食、由侵略性运动行为导致的低骨质量以及用于提高青春期巅峰骨量和预防二次髌骨骨折的药物组合物，包括给有需要的患者施用 2-亚烷基-19-去甲基-维生素 D 衍生物（例如式 I 的化合物）和甲状旁腺激素或其活性片段或变体和载体、溶剂、稀释剂等的组合。

要指出的是，在本文讨论化合物时，预计该化合物可以作为药学上可接受的盐、前药或前药的盐施用于患者。所有这些变化形式均意图包括在本发明内。

术语“有（此）需要的患者”包括患有或有风险患上以下疾病的

人和其它动物：代谢性骨病、老年性骨质疏松、经绝期后骨质疏松、类固醇诱导的骨质疏松、低骨代谢率骨质疏松、骨软化、肾性骨营养不良、牛皮癣、多发性硬化、糖尿病、宿主抗移植物排斥反应、移植排斥反应、类风湿性关节炎、哮喘、骨折、骨移植物、痤疮、脱发、干皮病、皮肤硬度不足、皮脂分泌不足、皱纹、高血压、白血病、结肠癌、乳腺癌、前列腺癌、肥胖、骨质减少、男性骨质疏松、性腺机能减退、男性更年期、脆弱、肌损伤、肌肉减少、骨肉瘤、低血钙性抽搐、甲状旁腺功能减退、佝偻病、维生素 D 缺乏、厌食和由侵略性运动行为导致的低骨质量以及提高青春期巅峰骨量和预防二次髌骨骨折。

本文所用的术语“进行治疗”、“治疗”或“治疗方法”包括预防性(例如预防疾病的)、缓解性和治愈性治疗。

“药学上可接受的”意指载体、稀释剂、赋形剂和/或盐或前药必须与制剂中的其它成分相容，并且对患者无害。

术语“前药”意指在体内转化得到本发明化合物的化合物。转化可以通过不同的机理发生，例如通过在血液中水解。前药应用的讨论由 T. Higuchi and W. Stella, "Pro-drugs as Novel Delivery Systems," Vol. 14 of the A. C. S. Symposium Series, and in *Bioreversible Carriers in Drug Design*, ed. Edward B. Roche, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987 提供。

例如，当本发明的化合物包含羧酸官能团时，前药可以包含通过用诸如以下的基团取代酸基团中的氢原子而形成的酯： $(C_1-C_8)$ 烷基， $(C_2-C_{12})$ 烷酰氧基甲基、具有 4-9 个碳原子的 1-(烷酰氧基)乙基、具有 5-10 个碳原子的 1-甲基-1-(烷酰氧基)-乙基、具有 3-6 个碳原子的烷氧基羰氧基甲基、具有 4-7 个碳原子的 1-(烷氧基羰氧基)乙基、具有 5-8 个碳原子的 1-甲基-1-(烷氧基羰氧基)乙基、具有 3-9 个碳原子的 N-(烷氧基羰基)氨基甲基、具有 4-10 个碳原子的 1-(N-(烷氧基羰基)氨基)乙基、3-酞菁基 (phthalidyl)、4-巴豆酸内酯基，

$\gamma$ -丁内酯-4-基, 二-N, N-(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)烷基氨基(C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub>)烷基(例如 $\beta$ -二甲基氨基乙基)、氨基甲酰基-(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)烷基、N, N-二(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)烷基氨基甲酰基-(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>)烷基和哌啶子基-, 吡咯烷基-或吗啉基(C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub>)烷基。

类似地, 当本发明的化合物包含醇官能团时, 可以通过用诸如以下的基团取代醇基上的氢原子来形成前药: (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷酰氧基甲基、1-((C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷酰氧基)乙基、1-甲基-1-((C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷酰氧基)乙基、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷氧基羰氧基甲基、N-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷氧基羰基氨基甲基、琥珀酰基、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷酰基、 $\alpha$ -氨基(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷酰基、芳基酰基和 $\alpha$ -氨基酰基或 $\alpha$ -氨基酰基- $\alpha$ -氨基酰基, 其中各个 $\alpha$ -氨基酰基独立地选自天然存在的 L-氨基酸、P(O)(OH)<sub>2</sub>、-P(O)(O(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷基)<sub>2</sub>或糖基(除去糖类的半缩醛形式上的羟基得到的基团)。

当本发明的化合物包含胺官能团时, 可以通过用诸如以下的基团取代胺基团上的氢原子来形成前药: R<sup>x</sup>-羰基, R<sup>x</sup>O-羰基, NR<sup>x</sup>R<sup>x1</sup>-羰基, 其中 R<sup>x</sup>和 R<sup>x1</sup>各自独立地为(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>)烷基、(C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>)环烷基、苄基, 或者 R<sup>x</sup>-羰基为天然 $\alpha$ -氨基酰基或天然 $\alpha$ -氨基酰基-天然 $\alpha$ -氨基酰基, -C(OH)C(O)OY<sup>x</sup>, 其中 Y<sup>x</sup>为 H、(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷基或苄基)、-C(OY<sup>x0</sup>)Y<sup>x1</sup>, 其中 Y<sup>x0</sup>为(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷基, 而 Y<sup>x1</sup>为(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷基、羧基(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷基、氨基(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)烷基或--N-或二-N, N-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷基氨基烷基、-C(Y<sup>x2</sup>)Y<sup>x3</sup>, 其中 Y<sup>x2</sup>为 H 或甲基, 而 Y<sup>x3</sup>为--N-或二-N, N-(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)烷基氨基、吗啉基、哌啶-1-基或吡咯烷-1-基。

表达“药学上可接受的盐”指含有阴离子的无毒阴离子盐, 例如(但不限于)氯化物、溴化物、碘化物、硫酸盐、硫酸氢盐、磷酸盐、乙酸盐、马来酸盐、富马酸盐、草酸盐、乳酸盐、酒石酸盐、柠檬酸盐、葡萄糖酸盐、甲磺酸盐和 4-甲苯-磺酸盐。该表达还指无毒阳离子盐, 例如(但不限于)钠、钾、钙、镁、铵或质子化的苄星(N, N'-二苄基乙二胺)、胆碱、乙醇胺、二乙醇胺、乙二胺、葡甲胺(N-甲基-葡糖胺)、苯明(N-苄基苯乙胺)、哌嗪或氨基丁三醇(2-氨基-2-羟基甲基-1, 3-丙二醇)。

可以认识到, 本发明的化合物可以放射标记形式存在, 即该化合

物可以包含原子质量或质量数不同于天然常见的原子质量或质量数的一个或多个原子。氢、碳、磷、氟和氯的放射性同位素分别包括 $^3\text{H}$ 、 $^{14}\text{C}$ 、 $^{32}\text{P}$ 、 $^{35}\text{S}$ 、 $^{18}\text{F}$ 和 $^{36}\text{Cl}$ 。含有这些放射性同位素和/或其它原子的其它放射性同位素的本发明化合物在本发明的范围内。氚化(即 $^3\text{H}$ )和碳-14(即 $^{14}\text{C}$ )放射性同位素由于容易制备和检测而特别优选。放射标记的本发明化合物一般可以通过本领域技术人员熟知的方法制备。这些放射标记的化合物可以方便地通过实施本文公开的方法进行制备,只是用容易获得的放射标记试剂代替非放射标记的试剂即可。

本领域技术人员将认识到,本发明的某些化合物具有至少一个不对称碳原子,因此是对映异构体或非对映异构体。非对映异构体混合物可以根据它们的物理化学差异而由目前已知的方法(例如色谱法和/或分级结晶法)分离成为它们单独的非对映异构体。对映异构体可以通过以下方法分离:通过与适宜的旋光化合物(例如醇)反应而将对映异构体混合物转化成非对映异构体混合物,分离该非对映异构体并将各非对映异构体转化(例如水解,包括化学水解方法和微生物脂肪酶水解方法,例如酶催化的水解)成对应的纯对映异构体。所有这些异构体,包括非对映异构体、对映异构体及其混合物都被视为本发明的部分。而且,本发明的某些化合物是阻转异构体(例如取代的联芳),并被认为是本发明的部分。

此外,当本发明的化合物,包括式 I 的化合物或者甲状旁腺激素或其活性片段或变体,形成水合物或溶剂化物时,它们也在本发明的范围内。

本发明化合物的给药可以通过全身性地和/或局部地递送本发明化合物的任何方法进行。这些方法包括口服、肠胃外和十二指肠内途径等。一般地,本发明的化合物经口服给药,但可以使用肠胃外给药(例如静脉内、肌内、透皮、皮下、直肠或髓内),例如当口服给药对于靶目标并不合适或者患者不能摄取药物时。

本发明的化合物还可以在适宜的载体或稀释剂中局部应用于患

者内或患者上的部位。

本发明的 2MD 和其它 2-亚烷基-19-去甲基-维生素 D 衍生物可以大约 0.01 $\mu$ g/天至大约 10 $\mu$ g/天的剂量施用于人患者。优选的剂量范围为大约 0.05 $\mu$ g/天至大约 1  $\mu$ g/天，而更优选的剂量范围为大约 0.1 $\mu$ g/天至大约 0.4  $\mu$ g/天。

甲状旁腺激素或者其活性片段或变体的有效剂量的范围为大约 0.00001 mg/kg/天至 1 mg/kg/天，优选 0.0001-0.5 mg/kg/天。特立帕肽的优选剂量为 20  $\mu$ g/天。

给药量和给药时机当然取决于受治疗的受试者、病痛的严重性、给药方式和处方医师的判断。因此，由于患者间的差异，本文给出的剂量是指导性原则，医师可以定制实现其认为对该患者合适的治疗的药物剂量。在考虑期望治疗的程度时，医师必须平衡多种因素，例如患者的年龄、已有疾病的存在情况以及其它疾病的存在情况。剂量可以一天一次给予或一天多次给予，并可以持续释放或控制释放制剂给药。还可以用即时释放和控释和/或持续释放制剂的组合来施用化合物。

2MD 或其它 2-亚烷基-19-去甲基-维生素 D 衍生物和甲状旁腺激素或其活性片段或变体或者它们的组合的给药可以根据任何连续或间歇的给药方案进行。一天一次、一天多次、一周一次、一周多次、两周一次、两周多次、一个月一次、一个月多次、两个月一次、三个月一次、六个月一次和一年一次的给药是用于 2MD 或另一种 2-亚烷基-19-去甲基-维生素 D 衍生物和甲状旁腺激素或其活性片段或变体或者它们的组合的剂量方案的非限制性实例。

本发明的化合物通常以药物组合物的形式给药，该药物组合物包含至少一种本发明的化合物和药学上可接受的载体或稀释剂。因此，本发明的化合物可以任何常规的口服、肠胃外、直肠或透皮剂型给药。

对于口服给药，药物组合物可以是溶液、悬浮液、片剂、丸剂、胶囊、粉末等形式。含有多种赋形剂，例如柠檬酸钠、碳酸钙和磷

酸钙的片剂与多种崩解剂，例如淀粉，优选马铃薯淀粉或木薯淀粉以及某些复合硅酸盐一起使用，并与粘合剂，例如聚乙烯吡咯烷酮、蔗糖、明胶和阿拉伯胶一起使用。

此外，润滑剂，例如硬脂酸镁、月桂基硫酸钠和滑石通常对于制片目的是非常有用的。类似类型的固体组合物也可用作软和硬填充明胶胶囊中的填料；在这方面优选的材料还包括乳糖(lactose 或 milk sugar)以及高分子量聚乙二醇。当期望将水性悬液和/或酞剂用于口服时，可以将本发明的化合物与多种增甜剂、调味剂、着色剂、乳化剂和/或悬浮剂以及稀释剂如水、乙醇、丙二醇、甘油和它们的多种类似组合相合并。2MD 和其它 2-亚烷基-19-去甲基-维生素 D 衍生物的一种可接受制剂的实例是含有 neobe oil 的软明胶胶囊，其中 2MD 或其它 2-亚烷基-19-去甲基-维生素 D 衍生物已被溶解。其它适宜的制剂对本领域技术人员来说是显而易见的。

为肠胃外给药目的，可以使用在芝麻油或花生油或水性聚丙二醇中的溶液以及对应的水溶性盐的无菌水溶液。如果需要的话，这些无菌水溶液可以适宜地缓冲，并首先用充足的盐水或葡萄糖使液体稀释剂等渗。这些水溶液特别适于静脉内、肌内、皮下和腹膜内注射目的。在这方面，所用的无菌水性介质都是可以通过本领域技术人员熟知的标准技术获得的。

为透皮(例如局部)给药目的，制备稀的无菌水性或部分水性溶液(通常大约 0.1%-5%浓度)，或者类似于以上肠胃外溶液的溶液。

用一定量的活性成分制备多种药物组合物的方法对本领域技术人员来说是已知的，或者根据本说明书是显而易见的。例如，制备药物组合物的方法参见 Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, Pa. , 19th Edition(1995)。

本发明的另一方面是一种包含以下的试剂盒：

- a. 在第一单元剂型中的一定量的 2-亚烷基-19-去甲基-维生素 D 衍生物，例如式 I 的化合物，和药学上可接受的载体或稀释剂；
- b. 在第二单元剂型中的一定量的甲状旁腺激素或其活性片段或

变体和药学上可接受的载体或稀释剂；和

c. 容器。

该试剂盒包含两种单独的药物组合物：2-亚烷基-19-去甲基-维生素 D 衍生物，例如式 I 的化合物，以及上述的第二化合物。该试剂盒包含用于装单独的组合物的容器装置，例如分开的瓶子或分开的箔包装，但是单独的组合物也可以包含在单个不分隔开的容器中。

一般地，试剂盒包含关于各单独组分给药的指示。当单独的组分优选以不同的剂型给药（例如口服和肠胃外给药），以不同的剂量间隔给药，或者处方医师期望对组合中的各组分进行滴定时，这种试剂盒形式是优选的。

这种试剂盒的一个实例是所谓的泡罩包装。泡罩包装在包装工业中是熟知的，并广泛用于包装药物单元剂型（片剂、胶囊等）。泡罩包装一般由其上覆盖一优选透明的塑料材料箔的较硬材料片组成。在包装过程中，在塑料箔上形成凹口。该凹口具有待包装的片剂或胶囊的尺寸和形状。接着，将该片剂或胶囊置于该凹口内，并用较硬的材料片密封在塑料箔上与凹口形成的方向相反的一面。结果将片剂或胶囊密封在塑料箔和片之间的凹口中。优选片的强度可以使得通过对凹口人工施压、由此在该片上在该凹口位置处形成开口、从而将片剂或胶囊从泡罩包装中移出。然后通过该开口取出片剂或胶囊。

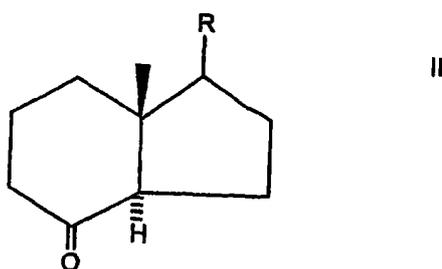
可能期望在试剂盒上提供记忆辅助物，例如与片剂或胶囊相邻的数字形式，其中该数字与该特定剂型应该摄取的方案的天数对应。记忆辅助物的另一个实例是打印在卡片上的日历，例如如下形式：“第一周，星期一，星期二，... 等，第二周，星期一，星期二...”等。其它记忆辅助物的变化形式是非常显而易见的。“日剂量”可以是待在某给定日摄入的单一片剂或胶囊或者多个片剂或胶囊。而且，式 I 化合物、其前药或者该化合物或制药的药学上可接受的盐的日剂量可以由一个片剂或胶囊组成，而第二化合物的日剂量可以由多个片剂或胶囊组成，反之亦然。该记忆辅助物应该反应这一点。

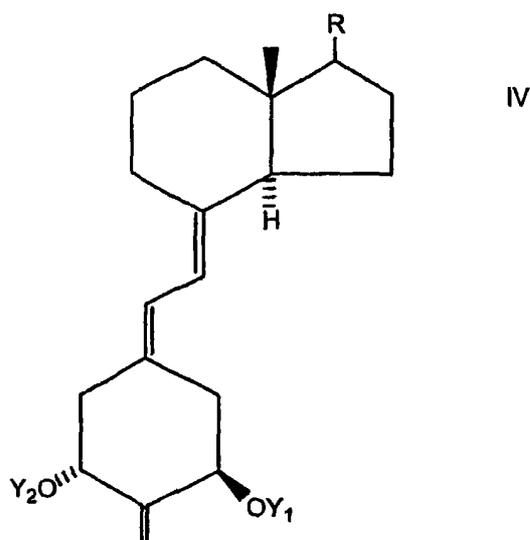
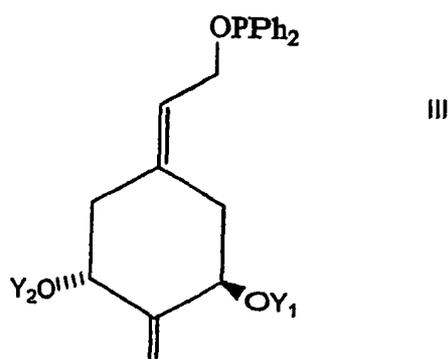
在本发明的另一个特定的实施方案中,提供设计用于在某一时间按它们预期应用的次序分配日剂量的分配器。优选该分配器装有记忆辅助物,以进一步方便遵循治疗方案。这种记忆辅助物的一个实例是指示已分配的日剂量数的机械计数器。

这种记忆辅助物的另一个实例是配备了液晶读数或声音提醒信号的电池驱动的微芯片存储器,例如它可读出最后的日剂量被摄入的日期和/或提醒何时摄入下一剂量。

2-亚烷基-19-去甲基-维生素 D 衍生物和甲状旁腺激素或其活性片段或变体可以在相同的剂型中或在不同的剂型中同时或在不同时间给药。给药方法的所有变化形式是所预期的。优选的给药方法是在相同的剂型中同时施用。另一种优选的给药方法是在一个剂型中施用 2-亚烷基-19-去甲基-维生素 D 衍生物,而在另一个剂型中施用甲状旁腺激素或其活性片段或变体,二者均同时摄入。

具有基本结构 I 的  $1\alpha$ -羟基-2-烷基-19-去甲基-维生素 D 化合物、特别是  $1\alpha$ -羟基-2-甲基-19-去甲基-维生素 D 化合物的制备可以通过常见的一般方法实现,即将二环 Windaus-Grundmann 型酮 II 与烯丙基氧化膦 III 缩合成对应的 2-亚甲基-19-去甲基-维生素 D 类似物 IV,然后在后一化合物的 C-1 和 C-3 处脱保护:



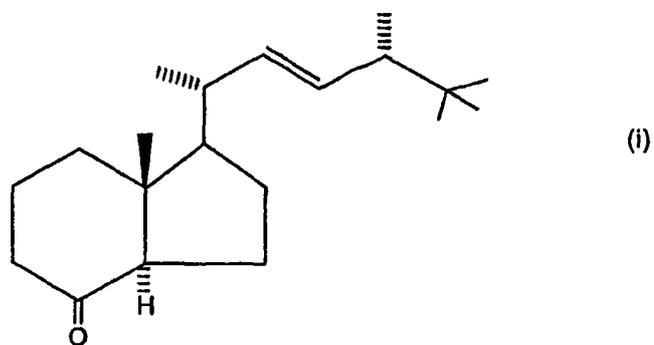
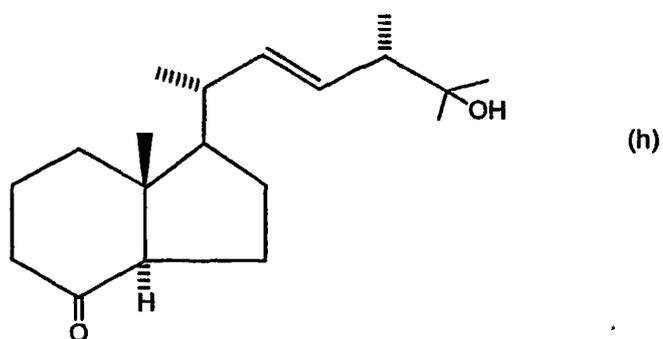
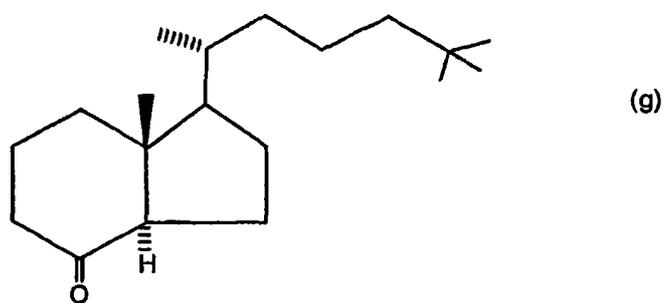
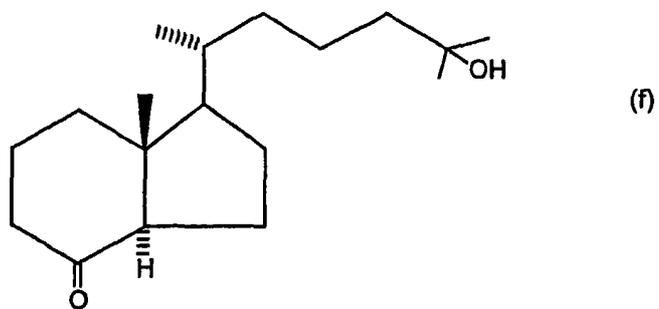


在结构 II、III 和 IV 中，基团  $Y_1$  和  $Y_2$  以及 R 代表以上定义的基团； $Y_1$  和  $Y_2$  优选为羟基保护基，还应认识到，R 中可能敏感的或者干扰缩合反应的任何官能团可以如本领域中熟知的那样被适宜地保护。以上所示的方法代表汇集成概述的一种应用，它已被有效地用于制备维生素 D 化合物 [例如 Lythgoe 等人, J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1, 590 (1978); Lythgoe, Chem. Soc. Rev. 9, 449 (1983); Toh 等人, J. Org. Chem. 48, 1414 (1983); Baggiolini 等人, J. Org. Chem. 51, 3098 (1986); Sardina 等人, J. Org. Chem. 51, 1264 (1986); J. Org. Chem. 51, 1269 (1986); DeLuca 等人, 美国专利 5,086, 191; DeLuca 等人, 美国专利 5,536, 713]。

通式结构 II 的茛烷酮是已知的，或者可以由已知的方法制备。这些已知的二环酮的重要的具体实例是具有上述侧链 (a)、(b)、(c) 和 (d) 的结构，即 25-羟基 Grundmann 酮 (f) [Baggiolini 等人, J. Org. Chem. 51, 3098 (1986)]; Grundmann 酮 (g) [Inhoffen 等人, Chem. Ber.

---

90, 664 (1957)]; 25-羟基 Windaus 酮 (h) [Baggiolini 等人, J. Org. Chem. 51, 3098 (1986)] 和 Windaus 酮 (i) [Windaus 等人, Ann., 524, 297 (1936)]:



为制备通式结构 III 的所需氧化磷, 已开发出一种由如 Perlman 等人, Tetrahedron Lett. 32, 7663 (1991) 和 DeLuca 等人, 美国专利 5, 086, 191 所述容易地由商购的 (1R, 3R, 4S, 5R)-(-)-奎尼酸得到的奎尼酸甲酯衍生物 1 开始的新合成路线。将起始甲酯 1 转化成期望的 A-环合成子 2 的全过程总结在方案 I 中。如此用 RuO<sub>4</sub> 氧化 1 的仲 4-羟基 (用 RuCl<sub>3</sub> 和 NaIO<sub>4</sub> 作为助氧化剂的催化方法)。使用这种强氧化剂对于这种位阻厉害的羟基的有效氧化过程来说必需的。但是, 也可应用其它更常用的氧化剂 (例如重铬酸吡啶鎓盐), 虽然该反应通常需要更长的时间来完成。合成的第二步包括空间位阻的 4-酮化合物 2 与由甲基三苯基溴化磷和正丁基锂制备的内鎓盐进行的 Wittig 反应。还可以使用其它碱合成反应性亚甲基正磷, 例如 t-BuOK、NaNH<sub>2</sub>、NaH、K/HMPT、NaN(TMS)<sub>2</sub> 等。为制备 4-亚甲基化合物 3, 可以使用某些所述的改良的 Wittig 方法, 例如 2 与活化的亚甲基三苯基正磷反应 [Corey 等人, Tetrahedron Lett. 26, 555 (1985)]。作为可替代的选择, 可以应用其它广泛用于化学惰性的酮的甲基化的方法, 例如与在用正丁基锂脱质子化时由甲基二苯基氧化磷得到的 PO-内鎓盐进行 Wittig-Horner 反应 [Schosse 等人, Chimia 30, 197 (1976)], 或者酮与甲基亚磺酸钠 [Corey 等人, J. Org. Chem. 28, 1128 (1963)] 和甲基亚磺酸钾 [Greene 等人, Tetrahedron Lett. 3755 (1976)] 的反应。用氢化锂铝或其它适宜的还原剂 (例如 DIBALH) 还原酯 3 得到二醇 4, 然后用高碘酸钠将其氧化得到环己酮衍生物 5。该过程的下一步包括酮 5 与甲基 (三甲基甲硅烷基) 乙酸酯的 Peterson 反应。用二异丁基氢化铝处理所得的烯丙酯 6, 并进一步将所形成的烯丙醇 7 转化成期望的 A-环氧化磷 8。7 至 8 的转化包括三个步骤, 即用正丁基锂和对甲基磺酰氯现场甲苯磺酰化, 然后与二苯基磷锂盐反应, 并用过氧化氢氧化。

通式结构 IV 的一些 2-亚甲基-19-去甲基-维生素 D 化合物可以用 A-环合成子 8 和具有期望的侧链结构的适宜 Windaus-Grundmann 酮 II 合成。因此, 例如, 将由 8 和正丁基锂产生的锂磷氧基负碳离

子 (lithium phosphinoxy carbanion) 与根据公开的方法 [Sicinski 等人, J. Med. Chem. 37, 3730 (1994)] 制备的受保护的 25-羟基 Grundmann 酮 9 进行 Wittig-Horner 偶联得到期望的受保护的维生素化合物 10。在用 AG 50W-X4 阳离子交换树脂脱保护之后得到 1 $\alpha$ , 25-二羟基-2-亚甲基-19-去甲基-维生素 D<sub>3</sub> (11)。

通过将氧化磷 8 与受保护的 (20S)-25-羟基 Grundmann 酮 13 进行类似的偶联来完成 C-20 差向异构化 (方案 II), 得到 19-去甲基-维生素 14, 其在水解羟基保护基之后得到 (20S)-1 $\alpha$ , 25-二羟基-2-亚甲基-19-去甲基-维生素 D<sub>3</sub> (15)。

如上述, 可以通过本文公开的方法合成其它 2-亚甲基-19-去甲基-维生素 D 类似物。例如, 可以通过提供 Grundmann 酮 (g) 来获得 1 $\alpha$ -羟基-2-亚甲基-19-去甲基-维生素 D<sub>3</sub>。

本申请中引述的所有文献, 包括专利和专利申请, 在此被引用以供参考。以下所示的实施例意在例示本发明的特定实施方案, 并不以任何方式限定本发明, 包括权利要求。

### 实施例

本申请中使用以下的缩写。

NMR	核磁共振
mp	熔点
H	氢
h	小时
min	分钟
t-Bu	叔丁基
THF	四氢呋喃
n-BuLi	正丁基锂
MS	质谱
HPLC	高压液相色谱
SEM	标准误差测定

Ph	苯基
Me	甲基
Et	乙基
DIBALH	二异丁基氢化铝
LDA	二异丙基氨基化锂

式 I 的化合物的制备如下在美国专利 5,843,928 中作了描述:

在这些实施例中,由阿拉伯数字(例如 1、2、3 等)所示的特定产物指在前面的描述和方案 I 与方案 II 中确定的特定结构。

### 实施例 1

#### 制备 1 $\alpha$ ,25-二羟基-2-亚甲基-19-去甲基-维生素 D<sub>3</sub>(11)

首先参照方案 I,原料奎尼酸甲酯衍生物 1 是由市售(-)-奎尼酸如前所述获得的[Perlman 等人, Tetrahedron Lett. 32,7663(1991)和 DeLuca 等人,美国专利 5,086,191]. 1: mp. 82°-82.5°C. (来自己烷), <sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>) $\delta$ , 0.098, 0.110, 0.142, 和 0.159(各 3H, 各 s, 4xSiCH<sub>3</sub>), 0.896 和 0.911(9H 和 9H, 各 s, 2xSi-t-Bu), 1.820(1 H, dd, J=13.1, 10.3 Hz), 2.02(1H, ddd, J=14.3, 4.3, 2.4 Hz), 2.09(1H, dd, J=14.3, 2.8 Hz), 2.19(1H, ddd, J= 13.1, 4.4, 2.4 Hz), 2.31(1H, d, J=2.8 Hz, OH), 3.42(1H, m; 在 D<sub>2</sub>O dd 之后, J=8.6, 2.6 Hz), 3.77(3H, s), 4.12(1 H, m), 4.37(1 H, m), 4.53(1 H, br s, OH)。

#### (a) 甲基奎尼酸甲酯衍生物 1 中的 4-羟基的氧化

(3R,5R)-3,5-二[(叔丁基二甲基甲硅烷基)氧]-1-羟基-4-氧代环己烷羧酸甲酯(2)。往在水(42 mL)中的氯化钨(III)水合物(434 mg,

2.1 mmol)和高碘酸钠(10.8 g, 50.6 mmol)的搅拌的混合物中加入在  $\text{CCl}_4/\text{CH}_3\text{CN}$ (1: 1, 64 mL)中的奎尼酸甲酯 1(6.09 g, 14 mmol)溶液。持续剧烈搅拌 8 h。加入数滴 2-丙醇, 将混合物倾入水中, 并用氯仿萃取。合并有机萃取物, 用水洗涤, 干燥( $\text{MgSO}_4$ ), 并蒸发得到一种深色油状残余物(约 5 g), 用快速色谱法将其纯化。用己烷/乙酸乙酯(8 : 2)洗脱, 得到纯的油状 4-酮 2(3.4 g, 56%):  $^1\text{H}$  NMR( $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$  0.054, 0.091, 0.127, 和 0.132(各 3H, 各 s,  $4\times\text{SiCH}_3$ ), 0.908 和 0.913(9H 和 9H, 各 s,  $2\times\text{Si-t-Bu}$ ), 2.22(1H, dd,  $J=13.2, 11.7$  Hz), 2.28(1 H, ~ dt  $J=14.9, 3.6$  Hz), 2.37(1 H, dd,  $J=14.9, 3.2$  Hz), 2.55(1 H, ddd,  $J=13.2, 6.4, 3.4$  Hz), 3.79(3H, s), 4.41(1H, t,  $J \sim 3.5$  Hz), 4.64(1H, s, OH), 5.04(1H, dd,  $J=11.7, 6.4$  Hz); MS  $m/z$ (相对强度)无  $M^+$ , 375( $M^+-\text{t-Bu}$ , 32), 357( $M^+-\text{t-Bu}-\text{H}_2\text{O}$ , 47), 243(31), 225(57), 73(100)。

#### (b) 4-酮 2 的 Wittig 反应

(3R, 5R)-3, 5-二[(叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基]-1-羟基-4-亚甲基环己烷羧酸甲酯(3)。在氩气氛下, 往在  $0^\circ\text{C}$  的无水 THF(32 mL)中的甲基三苯基溴化磷(2.813 g, 7.88 mmol)滴加  $n\text{-BuLi}$ (在己烷中 2.5M, 6.0 mL, 15 mmol)并搅拌。然后加入另一份  $\text{MePH}_3\text{P}^+\text{Br}$ (2.813g, 7.88 mmol), 并将溶液于  $0^\circ\text{C}$  下搅拌 10min, 并在室温下搅拌 40min。再次将橙红色混合物冷却至  $0^\circ\text{C}$ , 并在 20 分钟内将在无水 THF(16+2 mL)中的 4-酮 2(1.558 g, 3.6 mmol)溶液虹吸至反应瓶中。将反应混合物于  $0^\circ\text{C}$  下搅拌 1h, 并在室温下搅拌 3h。然后小心地将混合物倾入含 1% HCl 的盐水中, 并用乙酸乙酯和苯萃取。用稀释的  $\text{NaHCO}_3$  和盐水洗涤合并的有机萃取物, 干燥( $\text{MgSO}_4$ ), 并蒸发得到一种橙色油状残余物(约 2.6 g), 用快速色谱法将其纯化。用己烷/乙酸乙酯(9: 1)洗脱得到纯的 4-亚甲基化合物 3, 为一种无色油(368 mg, 24%):  $^1\text{H}$  NMR( $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$  0.078, 0.083, 0.092, 和 0.115(各 3H, 各 s,  $4\times\text{SiCH}_3$ ), 0.889 和 0.920(9H 和 9H, 各 s,  $2\times\text{Si-t-Bu}$ ), 1.811(1H, dd,

$J=12.6, 11.2$  Hz), 2.10 (2H, m), 2.31 (1H, dd,  $J=12.6, 5.1$  Hz), 3.76 (3H, s), 4.69 (1H, t,  $J=3.1$  Hz), 4.78 (1H, m), 4.96 (2H, m;  $D_2O$  1 H 之后, br s), 5.17 (1 H, t,  $J=1.9$  Hz); MS  $m/z$  (相对强度) 无  $M^+$ , 373 ( $M^+-t-Bu$ , 57), 355 ( $M^+-t-Bu-H_2O$ , 13), 341 (19), 313 (25), 241 (33), 223 (37), 209 (56), 73 (100)。

(c) 4-亚甲基化合物 3 中酯基的还原

[(3R, 5R)-3, 5-双[(叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基]-1-羟基-4-亚甲基环己基]甲醇 (4)。 (i) 在  $0^\circ C$  和氩气氛下往在无水 THF (8 mL) 中的酯 3 (90 mg, 0.21 mmol) 的搅拌溶液加入氢化锂铝 (60 mg, 1.6 mmol)。 1 h 后除去冷却浴, 在  $6^\circ C$  下继续搅拌 12h, 并在室温下搅拌 6h。 用饱和  $Na_2SO_4$  水溶液分解过量的试剂, 并用乙酸乙酯和醚萃取混合物, 干燥 ( $MgSO_4$ ) 并蒸发。 用己烷/乙酸乙酯 (9: 1) 快速色谱处理残余物, 得到未反应的底物 (12 mg) 和纯的结晶二醇 4 (35 mg, 48%, 基于回收的酯 3):  $^1H$  NMR ( $CDCl_3+D_2O$ )  $\delta$  0.079, 0.091, 0.100, 和 0.121 (各 3H, 各 s,  $4xSiCH_3$ ), 0.895 和 0.927 (9H 和 9H, 各 s,  $2xSi-t-Bu$ ), 1.339 (1H, t,  $J \sim 12$  Hz), 1.510 (1H, dd,  $J=14.3, 2.7$  Hz), 2.10 (2H, m), 3.29 和 3.40 (1H 和 1H, 各 d,  $J=11.0$  Hz), 4.66 (1H, t,  $J \sim 2.8$  Hz), 4.78 (1H, m), 4.92 (1H, t,  $J=1.7$  Hz), 5.13 (1H, t,  $J=2.0$  Hz); MS  $m/z$  (相对强度) 无  $M^+$ , 345 ( $M^+-t-Bu$ , 8), 327 ( $M^+-t-Bu-H_2O$ , 22), 213 (28), 195 (11), 73 (100)。

(ii)  $-78^\circ C$  和氩气氛下, 将二异丁基氢化铝 (1.5M, 在甲苯中, 2.0 mL, 3 mmol) 加到在无水醚 (3 mL) 中的酯 3 (215 mg, 0.5 mmol) 溶液。 将混合物于  $-78^\circ C$  下搅拌 3 h, 并在  $-24^\circ C$  下搅拌 1.5h, 用醚 (10 mL) 稀释, 并通过缓慢加入 2N 酒石酸钾钠猝灭反应。 将溶液温热至室温, 并搅拌 15 min, 倾入盐水中, 并用乙酸乙酯和醚萃取。 合并有机萃取物, 用稀释的 (约 1%) HCl 和盐水洗涤, 干燥 ( $MgSO_4$ ) 并蒸发。 用快速色谱法纯化结晶残余物。 用己烷/乙酸乙酯 (9: 1) 洗脱得到结晶二醇 4 (43 mg, 24%)。

#### (d) 邻位二醇 4 的裂解

(3R, 5R)-3, 5-双[(叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基]-4-亚甲基环己酮 (5)。0℃下将高碘酸钠饱和的水 (2.2 mL) 加到在甲醇 (9 mL) 中的二醇 4 (146 mg, 0.36 mmol) 溶液。将溶液于 0℃下搅拌 1 h, 倾入盐水, 并用醚和苯萃取。合并有机萃取物, 用盐水洗涤, 干燥 (MgSO<sub>4</sub>) 并蒸发。将油状残余物溶于己烷 (1 mL), 并施加到二氧化硅 Sep-Pak 柱体上。用己烷/乙酸乙酯 (95: 5) 洗脱纯的 4-亚甲基环己酮衍生物 5 (110 mg, 82%), 为无色的油: <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 0.050 和 0.069 (6H 和 6H, 各 s, 4xSiCH<sub>3</sub>), 0.881 (18H, s, 2xSi-t-Bu), 2.45 (2H, ddd, J=14.2, 6.9, 1.4 Hz), 2.64 (2H, ddd, J=14.2, 4.6, 1.4 Hz), 4.69 (2H, dd, J=6.9, 4.6 Hz), 5.16 (2H, s); MS M/z (相对强度) 无 M<sup>+</sup>, 355 (M<sup>+</sup>-Me, 3), 313 (M<sup>+</sup>-t-Bu, 100), 73 (76)。

#### (e) 制备烯丙酯 6

[(3'R, 5'R)-3', 5'-双[(叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基]-4'-亚甲基亚环己基]乙酸甲酯 (6)。在氩气氛和 -788℃下往在无水的 THF (200 μL) 中的二异丙基胺 (37 μL, 0.28 mmol) 溶液搅拌加入 n-BuLi (2.5M, 在己烷中, 113 μL, 0.28 mmol), 然后加入甲基(三甲基甲硅烷基)乙酸酯 (46 μL, 0.28 mmol)。15 min 后, 滴加在无水的 THF (200+80 μL) 中的酮化合物 5 (49 mg, 0.132 mmol)。将溶液在 -78℃下搅拌 2h, 并用饱和 NH<sub>4</sub>Cl 猝灭反应混合物的反应, 倾入盐水中, 并用醚和苯萃取。用盐水洗涤合并的有机萃取物, 干燥 (MgSO<sub>4</sub>) 并蒸发。将残余物溶于己烷 (1 mL), 并施加到二氧化硅 Sep-Pak 柱体上。用己烷和己烷/乙酸乙酯 (98: 2) 洗脱, 得到纯的烯丙酯 6 (50 mg, 89%), 为无色的油: <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 0.039, 0.064, 和 0.076 (6H, 3H, 和 3H, 各 s, 4xSiCH<sub>3</sub>), 0.864 和 0.884 (9H 和 9H, 各 s, 2xSi-t-Bu), 2.26 (1H, dd, J=12.8, 7.4 Hz), 2.47 (1H, dd, J=12.8, 4.2 Hz), 2.98 (1H, dd, J=13.3, 4.0 Hz), 3.06 (1H, dd, J=13.3, 6.6 Hz), 3.69 (3H, s), 4.48 (2H, m), 4.99 (2H, s), 5.74 (1 H, s); MS m/z (相对强度) 426 (M<sup>+</sup>, 2), 411 (M<sup>+</sup>-Me, 4), 369 (M<sup>+</sup>-t-Bu, 100), 263 (69)。

## (f) 还原烯丙酯 6

2-[(3'R, 5'R)-3', 5'-双[(叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基]-4'-亚甲基亚环己基]乙醇(7)。在-78°C 和氩气氛下将二异丁基氢化铝(1.5M 在甲苯中的溶液, 1.6 mL, 2.4 mmol)缓慢加到在甲苯/二氯甲烷(2: 1, 5.7 mL)中的烯丙酯 6(143 mg, 0.33 mmol)搅拌溶液中。在-78°C 下继续搅拌 1h, 并在-46°C 下(环己酮/干冰浴)搅拌 25 min。通过缓慢加入酒石酸钾钠(2N, 3 mL)、HCl 水溶液(2N, 3 mL)和 H<sub>2</sub>O(12 mL)猝灭混合物反应, 然后用二氯甲烷(12 mL)稀释, 并用醚和苯萃取。合并有机萃取物, 用稀释的(约 1%)HCl 和盐水洗涤, 干燥(MgSO<sub>4</sub>)并蒸发。用快速色谱法纯化残余物。用己烷/乙酸乙酯(9: 1)洗脱得到结晶烯丙醇 7(130mg, 97%): <sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>) δ 0.038, 0.050, 和 0.075(3H, 3H, 和 6H, 各 s, 4xSiCH<sub>3</sub>), 0.876 和 0.904(9H 和 9H, 各 s, 2xSi-t-Bu), 2.12(1H, dd J=12.3, 8.8 Hz), 2.23(1H, dd, J=13.3, 2.7 Hz), 2.45(1 H, dd, J=12.3, 4.8 Hz), 2.51(1H, dd, J=13.3, 5.4 Hz), 4.04(1H, m; 在 D<sub>2</sub>O dd 之后, J=12.0, 7.0 Hz), 4.17(1H, m; 在 D<sub>2</sub>O dd 之后, J=12.0, 7.4 Hz), 4.38(1 H, m), 4.49(1 H, m), 4.95(1 H, br s), 5.05(1 H, t, J=1.7 Hz), 5.69(1 H, ~t, J=7.2 Hz); MS m/z(相对强度) 398(M<sup>+</sup>, 2), 383(M<sup>+</sup>-Me, 2), 365(M<sup>+</sup>-Me-H<sub>2</sub>O, 4), 341(M<sup>+</sup>-t-Bu, 78), 323(M<sup>+</sup>-t-Bu-H<sub>2</sub>O, 10), 73(100)。

## (g) 将烯丙醇 7 转化成氧化膦 8

[2-[(3'R, 5'R)-3', 5'-双[(叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基]-4'-亚甲基亚环己基]乙基]二苯基氧化膦(8)。在氩气氛和 0°C 下往在无水 THF(2.4 mL)中的烯丙醇 7(105 mg, 0.263 mmol)加入 n-BuLi(2.5M 在己烷中, 105μL, 0.263 mmol)。将新鲜重结晶的甲苯磺酰氯(50.4 mg, 0.264 mmol)溶于无水 THF(480μL), 并加到烯丙醇-BuLi 溶液中。将混合物于 0°C 下搅拌 5 min, 并在 0°C 下放置。在另一个其中的空气被氩气代替的干燥烧瓶中, 于 0°C 下将 n-BuLi(2.5M 在己烷中, 210μL, 0.525 mmol)加到在无水 THF(750 μL)中的 Ph<sub>2</sub>PH(93μL, 0.534 mmol)内并搅拌。在氩气压下虹吸红色溶液至甲苯磺酸盐溶液内, 直

至保持橙色(加入约 1/2 的溶液)。将所得的混合物于 0℃下再搅拌 30 分钟,并通过加入 H<sub>2</sub>O(30μL)猝灭反应。将溶剂于减压下蒸发,将残余物再溶于二氯甲烷(2.4 mL),并与 10%H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>一起于 0℃下搅拌 1 h。分离有机层,用冷的亚硫酸钠水溶液和 H<sub>2</sub>O 洗涤,干燥(MgSO<sub>4</sub>)并蒸发。将残余物作快速色谱处理。用苯/乙酸乙酯(6:4)洗脱,得到半结晶氧化膦 8(134 mg, 87%): <sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>) δ 0.002, 0.011 和 0.019(3H, 3H, 和 6H, 各 s, 4xSiCH<sub>3</sub>), 0.855 和 0.860(9H 和 9H, 各 s, 2xSi-t-Bu), 2.0-2.1(3H, br m), 2.34(1H, m), 3.08(1H, m), 3.19(1H, m), 4.34(2H, m), 4.90 和 4.94(1 H 和 1H, 各 s, ), 5.35(1 H, ~q, J=7.4 Hz), 7.46(4H, m), 7.52(2H, m), 7.72(4H, m); MS m/z(相对强度)无 M<sup>+</sup>, 581(M<sup>+</sup>-1, 1), 567(M<sup>+</sup>-Me, 3) 525(M<sup>+</sup>-t-Bu, 100), 450(10), 393(48)。

(h) 受保护的 25-羟基 Grundmann 酮 9 与氧化膦 8 的 Wittig-Horner 偶联反应

1α, 25-二羟基-2-亚甲基-19-去甲基-维生素 D<sub>3</sub>(11)。在氩气氛下,往 0℃在无水的 THF(450μL)中的氧化膦 8(33.1 mg, 56.8μmol)溶液缓慢加入 n-BuLi(2.5M 在己烷中, 23μL, 57.5 μmol),同时搅拌。溶液变成深橙色。将混合物冷却至-78℃。缓慢加入在无水的 THF(200+100μL)中的根据公开的方法[Sicinski 等人, J. Med. Chem. 37, 3730(1994)]制备的受保护羟基酮 9(9.0 mg, 22.8 μmol)的预先冷却(-78℃)溶液。将混合物在氩气氛和-78℃下搅拌 1h,并在 0℃下搅拌 18h。加入乙酸乙酯,并用盐水洗涤有机相,干燥(MgSO<sub>4</sub>)并蒸发。将残余物溶于己烷,并施加到二氧化硅 Sep-Pak 柱上,用己烷/乙酸乙酯(99:1, 20 mL)洗涤,得到 19-去甲基-维生素 D<sub>3</sub>衍生物 10(13.5 mg, 78%)。然后用己烷/乙酸乙酯(96:4), 10 mL)洗涤 Sep-Pak 以回收某些未变化的 C, D-环酮 9(2 mg),并用乙酸乙酯(10 mL)洗涤以回收二苯基氧化膦(20 mg)。为分析目的,进一步通过 HPLC(6.2 mm x 25 cm Zorbax-Sil 柱, 4 mL/min)用己烷/乙酸乙酯(99.9:0.1)溶剂系统纯化受保护的维生素 10 的样品。在 R<sub>v</sub>26

mL 下洗脱纯化化合物 10, 为一种无色的油: UV (在己烷中)  $\lambda_{\max}$  224, 253, 263nm;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.025, 0.049, 0.066, 和 0.080 (各 3H, 各 s,  $4 \times \text{SiCH}_3$ ), 0.546 (3H, s, 18-H<sub>3</sub>), 0.565 (6H, q,  $J=7.9$  Hz,  $3 \times \text{SiCH}_2$ ), 0.864 和 0.896 (9H 和 9H, 各 s,  $2 \times \text{Si-t-Bu}$ ), 0.931 (3H, d,  $J=6.0$  Hz, 21-H<sub>3</sub>), 0.947 (9H, t,  $J=7.9$  Hz,  $3 \times \text{SiCH}_2\text{CH}_3$ ), 1.188 (6H, s, 26-和 27-H<sub>3</sub>), 2.00 (2H, m), 2.18 (1H, dd,  $J=12.5, 8.5$  Hz, 4 $\beta$ -H), 2.33 (1H, dd,  $J=13.1, 2.9$  Hz, 10 $\beta$ -H), 2.46 (1H, dd  $J=12.5, 4.5$  Hz, 4 $\alpha$ -H), 2.52 (1H, dd,  $J=13.1, 5.8$  Hz, 10 $\alpha$ -H), 2.82 (1H, brd,  $J=12$  Hz, 9 $\beta$ -H), 4.43 (2H, m, 1 $\beta$ -和 3 $\alpha$ -H), 4.92 和 4.97 (1 H 和 1 H, 各 s, =CH<sub>2</sub>), 5.84 和 6.22 (1 H 和 1 H, 各 d,  $J=11.0$  Hz, 7-和 6-H); MS  $m/z$  (相对强度) 758 ( $M^+$ , 17), 729 ( $M^+ - \text{Et}$ , 6), 701 ( $M^+ - \text{t-Bu}$ , 4), 626 (100), 494 (23), 366 (50), 73 (92)。

将受保护的维生素 10 (4.3 mg) 溶于苯 (150  $\mu\text{L}$ ), 并加入在甲醇 (800  $\mu\text{L}$ ) 中的树脂 (AG 50W-X4, 60 mg; 用甲醇预洗过)。将混合物于室温和氩气氛下搅拌 17 h, 用乙酸乙酯/醚 (1:1, 4 mL) 稀释并倾析。用醚 (8 mL) 洗涤树脂, 并用盐水和饱和  $\text{NaHCO}_3$  洗涤合并的有机相, 干燥 ( $\text{MgSO}_4$ ) 并蒸发。通过 HPLC (62 mm x 25 cm Zorbax-Sil 柱, 4 mL/min.), 用己烷/2-丙醇 (9: 1) 溶剂系统纯化残余物。在  $R_v$  29 mL 下收集分析纯的 2-亚甲基-19-去甲基-维生素 11 (2.3 mg, 97%) (在相同的系统中, 在  $R_v$  52 mL 下洗脱  $1\alpha, 25$ -二羟基维生素 D<sub>3</sub>), 为一种白色固体: UV (在 EtOH 中)  $\lambda_{\max}$  243.5, 252, 262.5nm;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.552 (3H, s, 18-H<sub>3</sub>), 0.941 (3H, d,  $J=6.4$  Hz, 21-H<sub>3</sub>), 1.222 (6H, s, 26-和 27-H<sub>3</sub>), 2.01 (2H, m), 2.27-2.36 (2H, m), 2.58 (1 H, m), 2.80-2.88 (2H, m), 4.49 (2H, m, 1 $\beta$ -和 3 $\alpha$ -H), 5.10 和 5.11 (1 H 和 1 H, 各 s, =CH<sub>2</sub>), 5.89 和 6.37 (1 H 和 1 H, 各 d,  $J=11.3$  Hz, 7-和 6-H); MS  $m/z$  (相对强度) 416 ( $M^+$ , 83), 398 (25), 384 (31), 380 (14), 351 (20), 313 (100)。

实施例 2 制备 (20S)-1 $\alpha$ , 25-二羟基-2-亚甲基-19-去甲基-维生素 D<sub>3</sub> (15)

方案 II 例示了受保护的 (20S)-25-羟基 Grundmann 酮 13 的制备和它与氧化膦 8 (如在实施例 1 中所述得到) 的偶联。

(a) 羟基酮 12 的甲硅烷基化

(20S)-25-[(三乙基甲硅烷基)氧基]-des-A, B-胆甾烷-8-酮 (13)。用三乙基甲硅烷基氯 (95  $\mu$ L, 0.56 mmol) 处理在无水 DMF (1.2 mL) 中的酮 12 (Tetrionics, Inc. Madison, WI.; 56 mg, 0.2 mmol) 和咪唑 (65 mg, 0.95 mmol) 溶液, 并将混合物于室温和氩气氛下搅拌 4 h。加入乙酸乙酯和水, 并分离有机层。用水和盐水洗涤乙酸乙酯层, 干燥 (MgSO<sub>4</sub>) 并蒸发。使残余物通过在己烷/乙酸乙酯 (9: 1) 中的二氧化硅 Sep-Pak 柱体, 并在蒸发后通过 HPLC (9.4 mm x 25 cm Zorbax-Sil 柱, 4 mL/min)、用己烷/乙酸乙酯 (9: 1) 溶剂系统纯化。在 R<sub>v</sub> 35 mL 下洗脱纯的受保护的羟基酮 13 (55 mg, 70%), 为一种无色的油: <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  0.566 (6H, q, J=7.9 Hz, 3xSiCH<sub>2</sub>), 0.638 (3H, s, 18-H<sub>3</sub>), 0.859 (3H, d, J=6.0 Hz, 21-H<sub>3</sub>), 0.947 (9H, t, J=7.9 Hz, 3xSiCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1.196 (6H, s, 26-和 27-H<sub>3</sub>), 2.45 (1H, dd, J=11.4, 7.5 Hz, 14 $\alpha$ -H)。

(b) 受保护的 (20S)-25-羟基 Grundmann 酮 13 与氧化膦 8 的 Wittig-Horner 偶联。

(20S)-1 $\alpha$ , 25-二羟基-2-亚甲基-19-去甲基-维生素 D<sub>3</sub> (15)。在氩气氛下, 往 0 $^{\circ}$ C 在无水 THF (200  $\mu$ L) 中的氧化膦 8 (15.8 mg, 27.1  $\mu$ mol) 溶液加入 n-BuLi (2.5M 在己烷中, 11  $\mu$ L, 27.5  $\mu$ mol) 并搅拌。溶液变成深橙色。将混合物冷却至 -78 $^{\circ}$ C。缓慢加入在无水 THF (100  $\mu$ L) 中的受保护的羟基酮 13 (8.0 mg, 20.3  $\mu$ mol) 的预先冷却 (-78 $^{\circ}$ C) 溶液。将混合物在氩气氛和 -78 $^{\circ}$ C 下搅拌 1h, 并在 0 $^{\circ}$ C 下搅拌 18h。加入乙酸乙酯, 并用盐水洗涤有机相, 干燥 (MgSO<sub>4</sub>) 并蒸发。将残余物溶于己烷, 施加到二氧化硅 Sep-Pak 柱体上, 并用己烷/乙

酸乙酯(99.5: 0.5, 20 mL)洗涤,得到 19-去甲基-维生素衍生物 14(7 mg, 45%), 为一种无色的油。然后用己烷/乙酸乙酯(96: 4), 10 mL)洗涤 Sep-Pak 以回收一些未变化的 C, D-环酮 13(4 mg), 并用乙酸乙酯(10 mL)洗涤以回收二苯基氧化磷(9 mg)。为分析目的, 进一步通过 HPLC(6.2 mm x 25 cm Zorbax-Sil 柱, 4 mL/min)、用己烷/乙酸乙酯(99.9 : 0.1)溶剂系统纯化受保护的维生素 14 的样品。

14: UV(在己烷中) $\lambda_{\max}$  244, 253.5, 263 nm;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.026, 0.049, 0.066 和 0.080(各 3H, 各 s,  $4\times\text{SiCH}_3$ ), 0.541(3H, s, 18- $\text{H}_3$ ), 0.564(6H, q,  $J=7.9$  Hz,  $3\times\text{SiCH}_2$ ), 0.848(3H, d,  $J=6.5$  Hz, 21- $\text{H}_3$ ), 0.864 和 0.896(9H 和 9H, 各 s,  $2\times\text{Si-t-Bu}$ ), 0.945(9H, t,  $J=7.9$  Hz,  $3\times\text{SiCH}_2\text{CH}_3$ ), 1.188(6H, s, 26-和 27- $\text{H}_3$ ), 2.15-2.35(4H, br m), 2.43-2.53(3H, br m), 2.82(1 H, br d,  $J=12.9$  Hz, 9 $\beta$ -H), 4.42(2H, m, 1 $\beta$ -和 3 $\alpha$ -H), 4.92 和 4.97(1 H 和 1 H, 各 s,  $=\text{CH}_2$ ), 5.84 和 6.22(1 H 和 1H, 各 d,  $J=11.1$  Hz, 7-和 6-H); MS  $m/z$ (相对强度) 758( $\text{M}^+$ , 33), 729( $\text{M}^+-\text{Et}$ , 7), 701( $\text{M}^+-\text{t-Bu}$ , 5), 626(100), 494(25), 366(52), 75(82), 73(69)。

将受保护的维生素 14(5.0 mg)溶于苯(160 $\mu\text{L}$ ), 并加入在甲醇(900 $\mu\text{L}$ )中的树脂(AG 50W-X4, 70 mg; 用甲醇预洗过)。将混合物于室温和氩气氛下搅拌 19h, 用乙酸乙酯/醚(1:1, 4 mL)稀释并倾析。用醚(8mL)洗涤树脂, 并用盐水和饱和  $\text{NaHCO}_3$  洗涤合并的有机相, 干燥( $\text{MgSO}_4$ )并蒸发。通过 HPLC(62 mm x 25 cm Zorbax-Sil 柱, 4 mL/min.), 用己烷/2-丙醇(9: 1)溶剂系统纯化残余物。在  $R_v$  28 mL 下收集分析纯的 2-亚甲基-19-去甲基-维生素 15(2.6 mg, 95%) [在相同的系统中在  $R_v$  29 mL 下洗脱(20R)-类似物, 在  $R_v$  52 mL 下洗脱 1 $\alpha$ , 25-二羟基维生素  $\text{D}_3$ ], 为白色固体: UV(在 EtOH 中) $\lambda_{\max}$  243.5, 252.5, 262.5nm;  $^3\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.551(3H, s, 18- $\text{H}_3$ ), 0.858(3H, d,  $J=6.6$  Hz, 21- $\text{H}_3$ ), 1.215(6H, s, 26-和 27- $\text{H}_3$ ), 1.95-2.04(2H, m), 2.27-2.35(2H, m), 2.58(1H, dd,  $J=13.3, 3.0$  Hz), 2.80-2.87(2H, m), (2H, m, 1 $\beta$ -和 3 $\alpha$ -H), 5.09 和 5.11(1H 和 1H,

各 s, =CH<sub>2</sub>), 5.89 和 6.36 (1 H 和 1 H, 各 d, J=11.3 Hz, 7-和 6-H); MS m/z (相对强度) 416 (M<sup>+</sup>, 100), 398 (26), 380 (13), 366 (21), 313 (31)。

## 2-亚甲基-取代的 19-去甲基-1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 化合物和它们的 20S-异构体的生物学活性

式 I 化合物的生物活性如下在美国专利 5, 843, 928 中作了描述。将亚甲基引入 19-去甲基-1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 或它的 20S-异构体的 2-位处对其与猪肠维生素 D 受体的结合影响小或没有。所有的化合物同样良好地结合到该猪受体上, 包括标准的 1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>。由这些结果可以预计, 所有的这些化合物都将具有等同的生物活性。但是令人惊奇的是, 2-亚甲基取代得到了高度选择性的类似物, 其主要作用于骨。当以长期模式给药 7 天时, 所测试的最有效的化合物是 2-亚甲基-19-去甲基-20S-1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (表 1)。如果以 130 pmol/天给药, 则它对骨钙转移 (血清钙) 的活性在至少比天然激素高 10 倍、并可能高 100-1, 000 倍的数量级。在相同的条件下, 将 1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 的剂量翻倍, 得到的血清钙值是在 130 pmol 剂量为 13.8 mg/100ml 的血清钙。如果以 260 pmol/天给药, 则它在以骨为代价的情况下产生令人惊讶的 14 mg/100ml 血清钙值。为表明它的选择性, 该化合物在 130 或 260 pmol 剂量下在肠钙转运方面没有产生明显变化, 而 1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 在仅在一个所测试的剂量, 即 260 pmol/天下导致肠钙转运的预期提高。2-亚甲基-19-去甲基-1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 在两种剂量水平下也具有极强的骨钙转移, 而且不表现出肠钙转运活性。这种化合物的骨钙转移活性可能是 1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 活性的 10-100 倍。这些结果表明, 19-去甲基-1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 的 2-亚甲基和 20S-2-亚甲基衍生物对钙从骨中的转移有选择性。表 2 例示了肠和血清钙对单一剂量的各化合物的反应, 再次支持了表 1 得出的结论。

这些结果表明, 2-亚甲基-19-去甲基-20S-1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 在诱导

HL-60 细胞分化成单核细胞方面极其有效。2-亚甲基-19-nor 化合物具有类似于  $1, 25-(OH)_2D_3$  的活性。这些结果表明 2-亚甲基-19-去甲基-20S- $1, 25-(OH)_2D_3$  和 2-亚甲基-19-去甲基- $1, 25-(OH)_2D_3$  化合物有潜力作为抗癌药，特别是抗白血病、结肠癌、乳腺癌和前列腺癌的抗癌药，或者作为治疗牛皮癣的药物。

该类似物与猪肠受体的竞争性结合通过 Dame 等人 (Biochemistry 25, 4523-4534, 1986) 所述的方法进行。

HL-60 早幼粒细胞向单核细胞的分化如 Ostrem 等人 (J. Biol. Chem. 262, 14164-14171, 1987) 所述测定。

表 1

肠钙转运和血清钙(骨钙转移)活性对长期给予 19-去甲基- $1, 25-(OH)_2D_3$  及其 20S 异构体的 2-亚甲基衍生物的反应

组	剂量 (pmol/天/7 天)	肠钙转运 (S/M)	血清钙 (mg/100ml)
维生素 D 缺乏	赋形剂	5.5±0.2	5.1±0.16
1, 25-(OH) $_2D_3$ 治疗	260	6.2±0.4	7.2±0.5
2-亚甲基-19-去甲基 -1, 25- (OH) $_2D_3$	130	5.3±0.4	9.9±0.2
2-亚甲基-19-去甲基 -20S- 1, 25-(OH) $_2D_3$	130	5.7±0.8	13.8±0.5
1, 25-(OH) $_2D_3$	260	4.6±0.7	14.4±0.6

从 Sprague Dawley Co. (Indianapolis, Ind.) 得到雄性断乳大鼠，并饲喂 0.47% 钙、0.3% 磷、维生素 D 缺乏的食谱 1 周，然后给予含 0.02% 钙、0.3% 磷的相同食物 2 周。在最后一周内，通过持续 7 天每天腹膜内注射 0.1 ml 95% 丙二醇和 5% 乙醇给它们施用指示剂量的化合物。对照动物仅接受 0.1 ml 95% 丙二醇、5% 乙醇。最后一次

给药后 24 小时，处死大鼠，通过如前述的外翻囊技术 (everted sac technique) 测定肠钙转运，并在 Model 3110 Perkin Elmer 仪器 (Norwalk, Conn.) 上通过原子吸收光谱测定血清钙。每组有 5 只大鼠，数值代表平均值 ( $\pm$ ) SEM。

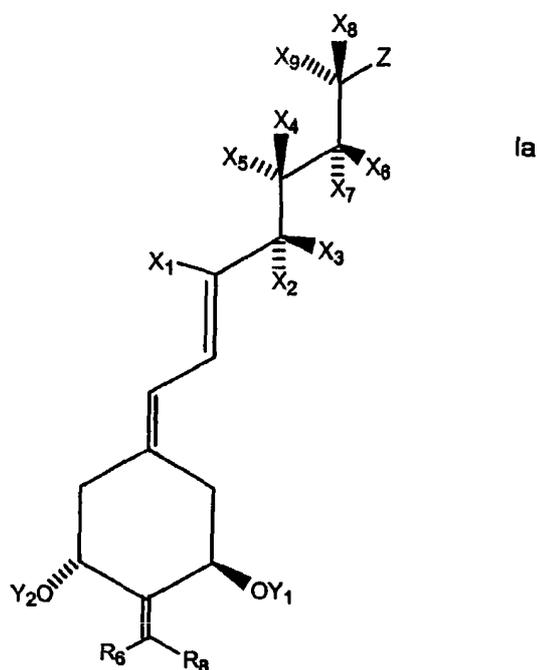
表 2

肠钙转运和血清钙 (骨钙转移) 活性对长期施用 19-去甲基-1, 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 及其 20S 异构体的 2-亚甲基衍生物的反应

组	肠钙转运 (S/M)	血清钙 (mg/100ml)
-D 对照	4.2 $\pm$ 0.3	4.7 $\pm$ 0.1
1, 25-(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub>	5.8 $\pm$ 0.3	5.7 $\pm$ 0.2
2-亚甲基-19-去甲基-1, 25-(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub>	5.3 $\pm$ 0.5	6.4 $\pm$ 0.1
2-亚甲基-19-去甲基-20S-1, 25-(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub>	5.5 $\pm$ 0.6	8.0 $\pm$ 0.1

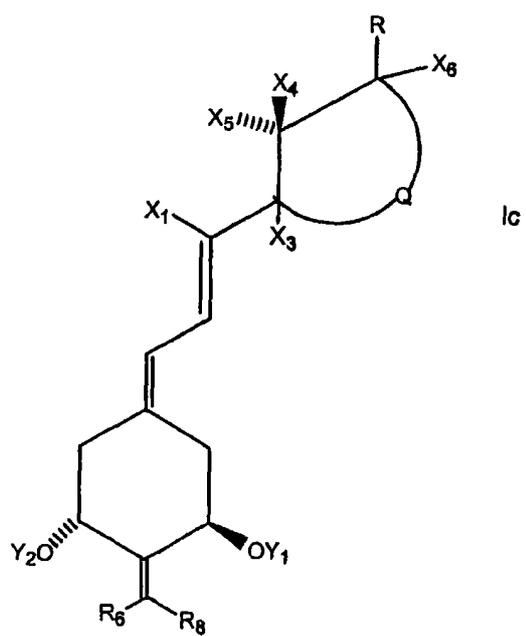
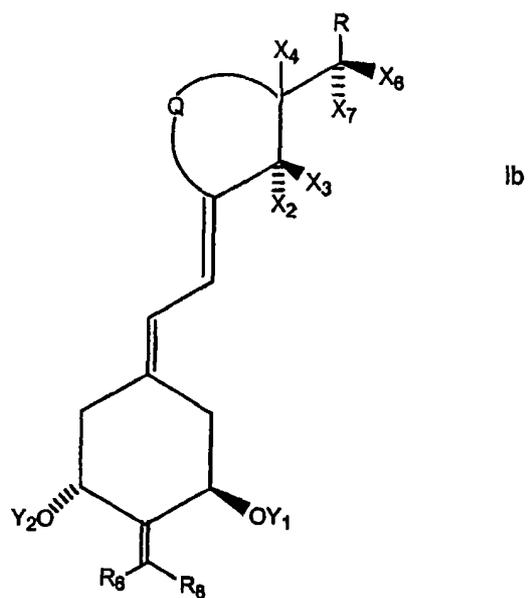
从 Sprague Dawley Co. (Indianapolis, Ind.) 得到雄性 Holtzman 品系断乳大鼠，并饲喂 Suda 等人 (J. Nutr. 100, 1049-1052, 1970) 所述的 0.47% 钙、0.3% 磷食谱 1 周，然后给予含 0.02% 钙、0.3% 磷的相同食谱 2 周。此时，它们接受单一颈静脉内注射溶于 0.1 ml 95% 丙二醇/5% 乙醇的所示剂量。24 小时后将它们处死，并如表 1 所述测定肠钙转运和血清钙。化合物的剂量为 650 pmol，且每组有 5 只动物。数据表示为平均值 ( $\pm$ ) SEM。

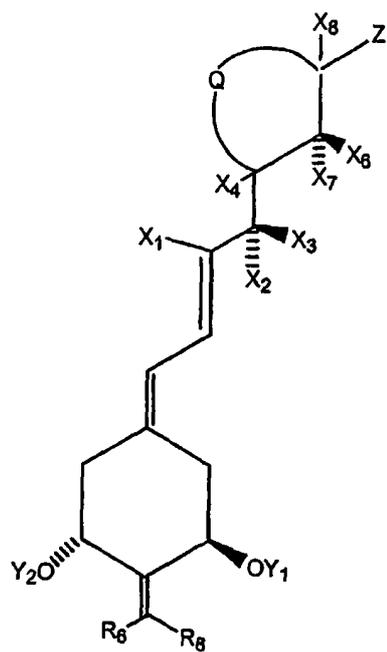
因此，下式 Ia 的化合物和式 I 的化合物一起也包括在本发明内：



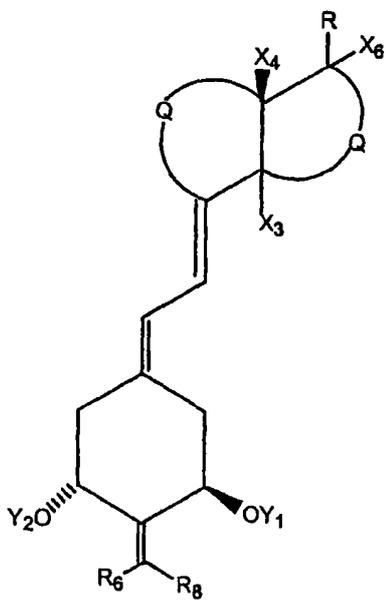
在上式 Ia 中， $Y_1$ 、 $Y_2$ 、 $R_6$ 、 $R_8$  和  $Z$  均如本文前面所定义。至于  $X_1$ 、 $X_2$ 、 $X_3$ 、 $X_4$ 、 $X_5$ 、 $X_6$ 、 $X_7$ 、 $X_8$  和  $X_9$ ，这些取代基可以相同或不同，并选自氢或低级烷基，即  $C_{1-5}$  烷基，例如甲基、乙基或正丙基。此外，配对的取代基  $X_1$  和  $X_4$ ，或者  $X_5$ 、 $X_2$  或  $X_3$  和  $X_6$  或  $X_7$ ， $X_4$  或  $X_5$  和  $X_8$  或  $X_9$ ，当与对应于该化合物中央部分的三个相邻的碳原子（分别对应于 8、14、13 或 14、13、17 或 13、17、20 位）一起可以相同或不同，并形成饱和或不饱和、取代或未取代的碳环 3、4、5、6 或 7 元环。

优选的本发明化合物可以由下式之一表示：

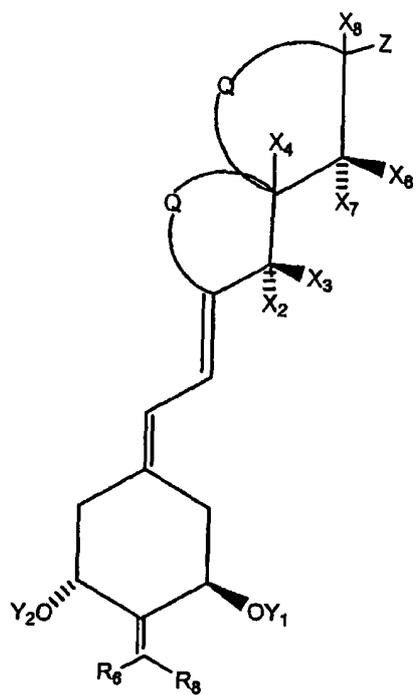




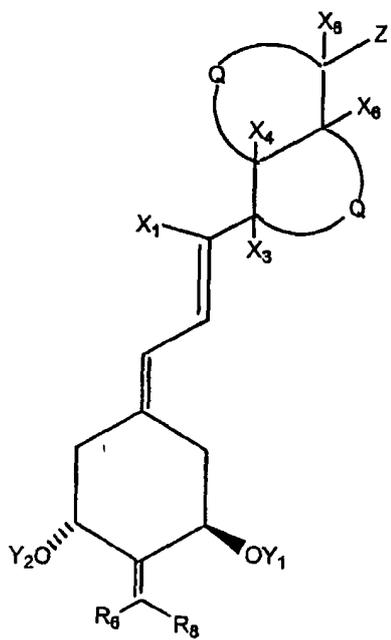
Id



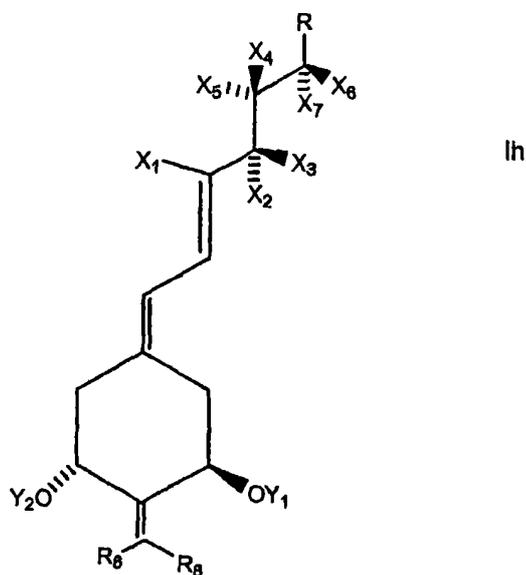
Ie



If



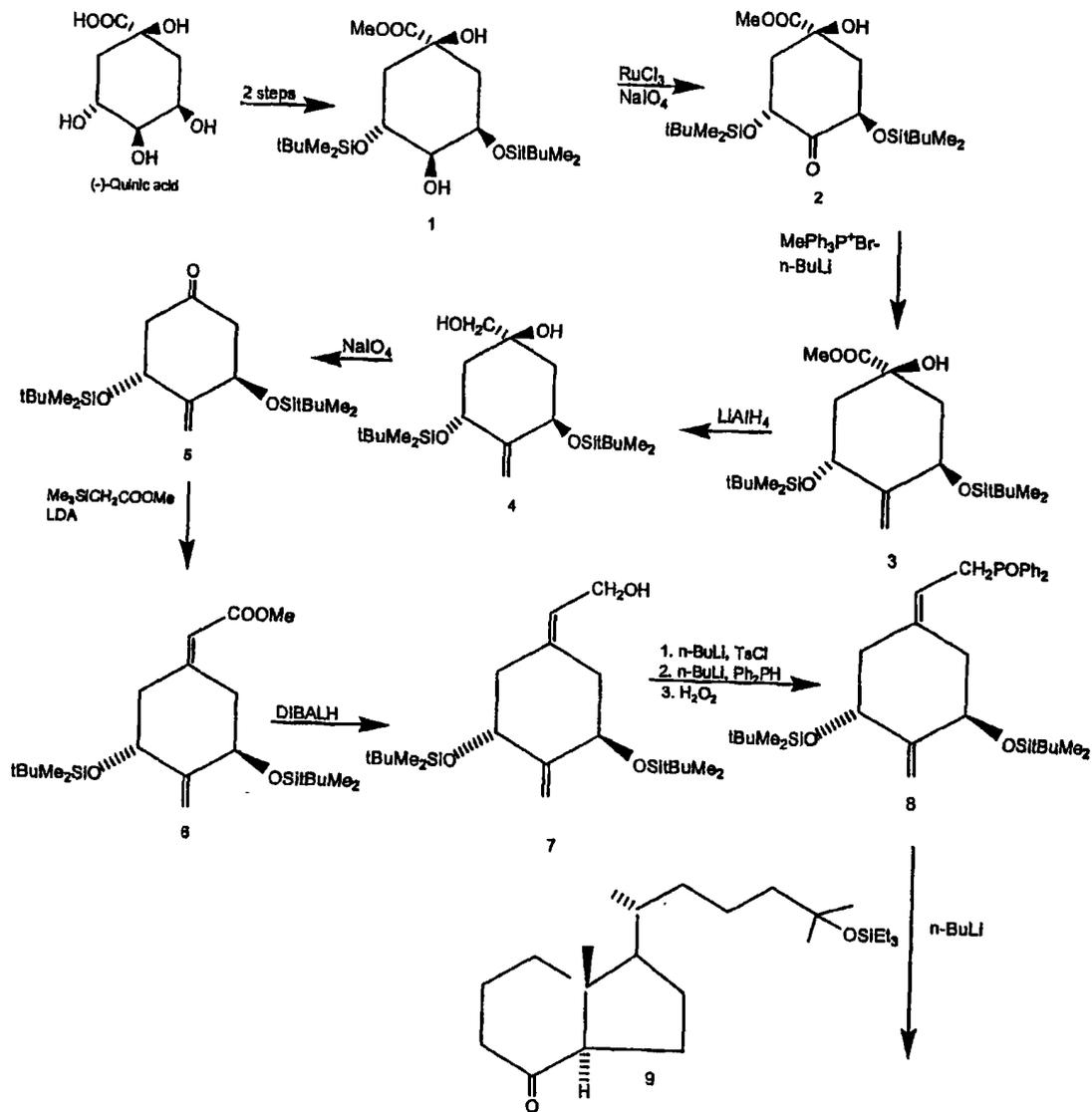
Ig



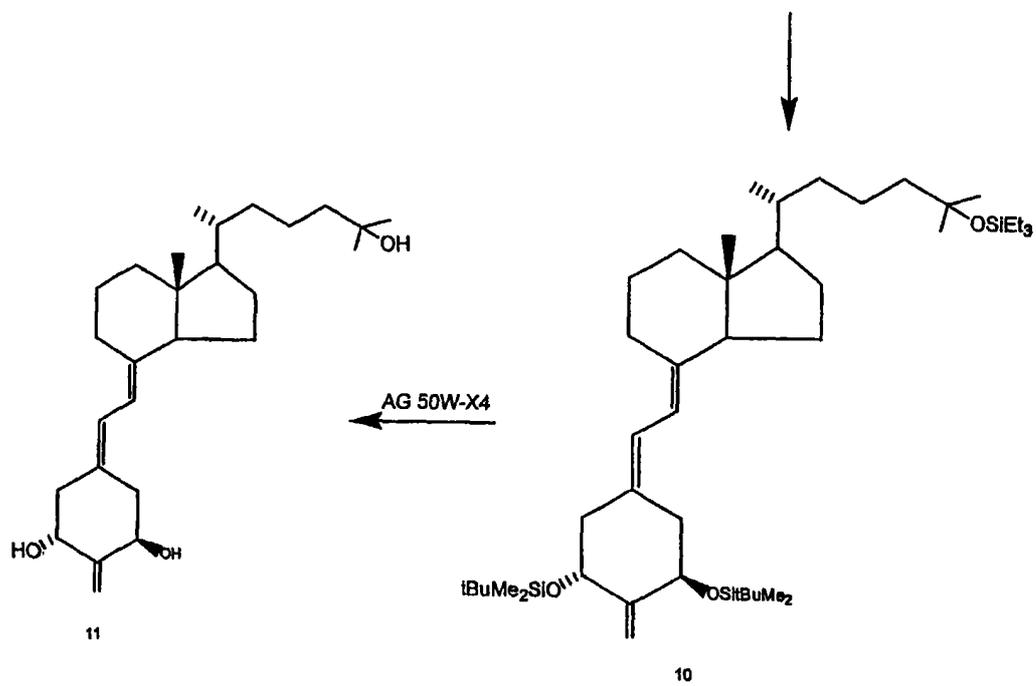
在上式 Ib、Ic、Id、Ie、If、Ig 和 Ih 中， $Y_1$ 、 $Y_2$ 、 $R_6$ 、 $R_8$ 、 $R$ 、 $Z$ 、 $X_1$ 、 $X_2$ 、 $X_3$ 、 $X_4$ 、 $X_5$ 、 $X_6$ 、 $X_7$  和  $X_8$  的定义如本文前面所述。取代基  $Q$  代表饱和或不饱和的、取代或未取代的含 0、1、2、3 或 4 个碳原子的烃链，但优选为基团  $-(CH_2)_k-$ ，其中  $k$  为等于 2 或 3 的整数。

制备式 Ia-Ih 的方法是已知的。具体而言，可参考 1994 年 7 月 7 日提交的国际申请 CT/EP94/02294，其于 1995 年 1 月 19 日公开，公开号为 W095/01960。

## 方案 I



## 方案 I (续)



## 方案 II

