

(19) DANMARK



PATENTDIREKTORATET
TAASTRUP



(12) FREMLÆGGELSESSKRIFT

(11) 159652 B

(21) Patentansøgning nr.: 5245/85

(51) Int.Cl.⁵ C 07 C 401/00

(22) Indleveringsdag: 13 nov 1985

(41) Alm. tilgængelig: 17 maj 1986

(44) Fremlagt: 12 nov 1990

(86) International ansøgning nr.: -

(30) Prioritet: 16 nov 1984 US 672059

(71) Ansøger: *F. Hoffmann-La Roche AG; Grenzacherstrasse 124; Basel, CH

(72) Opfinder: Enrico *Baggiolini; US, Giacomo *Pizzolato; US, Milan *Uskokovic; US, Gary *Truitt; US

(74) Fuldmægtig: Plougmann & Vingtoft Patentbureau

(54) **Cholecalciferolderivater, disse derivater til brug som terapeutisk aktive substanser, fremgangsmåde til fremstilling deraf samt farmaceutisk præparat baseret på disse cholecalciferolderivater**

(56) Fremdragne publikationer

(57) Sammendrag:

5245-85

Δ^{22} - eller Δ^{23} -26,26,26,27,27,27-hexafluor-1 α ,25-dihydroxycholecalciferol har vitamin D-aktivitet. De kan fremstilles ved, at [1R-[1 β -(R*),3 α ,4 β ,7 α]]-octahydro-1-[6,6,6-trifluor-5-trimethylsilyloxy-5-trifluormethyl-1-methyl-2-hexenyl]-7 α -methyl-1H-inden-4-on eller [1R-[1 β -(R*),3 α ,4 β ,7 α]]-octahydro-1-[6,6,6-trifluor-5-trimethylsilyloxy-5-trifluormethyl-1-methyl-3-hexenyl]-7 α -methyl-1H-inden-4-on omsættes med [3S-(3 α ,5 β ,Z)]-2-[2-metylen-3,5-bis[(1,1-dimethylethyl)dimethylsilyloxy]cyclohexyliden]ethylidiphenylphosphinoxid og fraspaltning af silylbeskyttelsesgruppen.

Den foreliggende opfindelse angår de hidtil ukendte cholecalciferol-derivater Δ^{22} - og Δ^{23} -26,26,26,27,27,27-hexafluor-1 α ,25-dihydroxycholecalciferol, disse derivater til brug som terapeutisk aktive substanser, især med vitamin D-aktivitet, farmaceutiske præparater
5 baseret på disse, samt en fremgangsmåde til fremstilling af disse. Fremgangsmåden ifølge opfindelsen er ejendommelig ved det i krav 4's kendetegnende del angivne.

Cholecalciferolderivaterne ifølge opfindelsen er Δ^{22} - eller Δ^{23} -26,26,26,27,27,27-hexafluor-1 α ,25-dihydroxycholecalciferol, i det
10 følgende betegnet henholdsvis Δ^{22} - og Δ^{23} -forbindelsen. Ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen fremstilles disse forbindelser ved, at
[1R-[1 β (R*),3 α ,4 β ,7 α]]-octahydro-1-[6,6,6-trifluor-5-trimethylsilyloxy-5-trifluormethyl-1-methyl-2-hexenyl]-7 α -methyl-1H-inden-4-on
eller [1R-[1 β (R*),3 α ,4 β ,7 α]]-octahydro-1-[6,6,6-trifluor-5-trime-
15 thylsilyloxy- 5-trifluormethyl-1-methyl-3-hexenyl]-7 α -methyl-1H-in-
den-4-on behandles med [3S-(3 α ,5 β ,Z)]-2-[2-methylen-3,5-bis[(1,1-dimethylethyl)dimethylsilyloxy]cyclohexyliden]ethyldiphenylphosphino-
xid, og silylbeskyttelsesgrupperne fraspaltes.

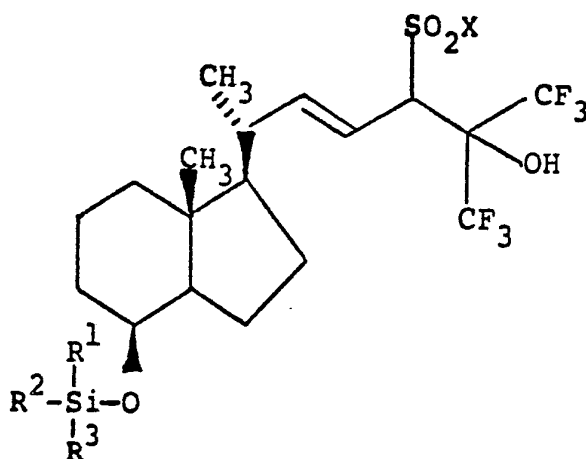
Denne reaktion kan udføres ved lav temperatur, fx under -50°C, for-
20 trinsvis ved ca. -78°C, under en inert atmosfære, fx under argon, i et inert opløsningsmiddel såsom en cyclisk ether, fortrinsvis tetrahydrofuran (THF). Hensigtsmæssigt omdannes phosphinoxidet først og fremmest til den tilsvarende carbanion. Dette kan udføres ved, at
phosphinoxidet til at begynde med behandles med et alkylolithium, fx
25 n-butylolithium, i et inert opløsningsmiddel såsom en lavere alkan, fx hexan, ved nedsat temperatur. Det resulterende produkt kan fx oprenses på chromatografi på silicagel.

Inden for opfindelsens rammer betegner udtrykket "lavere alkyl" li-
gekadede eller forgrenede alkylgrupper med 1-8 carbonatomer, fx me-
30 thyl, ethyl, n-propyl, i-propyl og tert.butyl. "Aryl" betegner phenyl, eventuelt substitueret med alkyl, halogen, nitro, cyan eller trifluormethyl. Eksempler på aralkylgrupper er benzyl og phenethyl.

De ved ovenstående fremgangsmåde anvendte indenonudgangsforbindelser kan fremstilles på følgende måde:

[1R-[1 β ,[α S*, β S*],3 α ,4 β ,7 α]]-octahydro- β ,7 α -dimethyl-4-[(1,1-dimethylethyl)dimethylsilyloxy]- α -ethenyl-1H-inden-1-ethanol kan ved behandling med thionylchlorid efterfulgt af pyridin omdannes til [1R-[1 β (R*),3 α ,4 β ,7 α]]-1-(4-chlor-1-methyl-2-butenyl)octahydro-4-[(1,1-dimethylethyl)-dimethylsilyloxy]-7 α -methyl-1H-inden. Det resulterende allyliske chlorid omsættes derefter med et arylsulfinsyre-salt, fx benzensulfinsyrenatriumsalt, til den tilsvarende 4-arylsulfonylforbindelse, fx [1R-[1 β (R*),3 α ,4 β ,7 α]]-1-[(4-phenylsulfonyl)-1-methyl-2-butenyl]octahydro-4-[(1,1-dimethylethyl)dimethylsilyloxy]-7 α -methyl-1H-inden. Til fuldendelse af sidekæden i en vunden sulfonylforbindelse kan sidstnævnte omsættes med n-butyllithium eller lithiumdiisopropylamid og den opståede carbanion omsættes med hexafluoracetone.

I den vundne forbindelse med den almene formel I



hvor X er aryl, og R¹, R² og R³ er lavere alkyl, aryl eller aralkyl,

er X fortrinsvis phenyl, R¹ og R³ methyl og R² tert.butyl.

Forbindelsen med den almene formel I kan først og fremmest omsættes med et di-alkalimetaphosphat, fx dikaliumhydrogenphosphat, hensigtsmæssigt under stuebetingelser og derefter omsættes med et alkalimetallamalgam, fx natriumamalgam, hensigtsmæssigt ved en temperatur under 0°C, fx ved ca. -20°C. Reaktionen kan udføres i et inert opløsningsmiddel såsom en lavere alkanol, fx methanol, en cyclisk ether, fx

THF, fortrinsvis i blandinger deraf. Reaktionsprodukterne [1R-[1 β (R*),3 α ,4 β ,7 α]]-octahydro-1-[6,6,6-trifluor-5-hydroxy-5-trifluormethyl-1-methyl-2-hexenyl]-7a-methyl-1H-inden-4-ol eller [1R-[1 β (R*),3 α ,4 β ,7 α]]-octahydro-1-[6,6,6-trifluor-5-hydroxy-5-trifluormethyl-1-methyl-3-hexenyl]-7a-methyl-1H-inden-4-ol kan fås i rensat og opspaltet form ved en første chromatografering på en silicagelsøjle efterfulgt af behandling med en kationbytterharpiks og til slut ved selektiv chromatografi på en silicagelsøjle.

I næste trin kan et vundet indenolderivat (forbindelse II) behandles med et basisk organisk aminchromatsalt, fx pyridiniumhalogenchromat, især pyridiniumchlorchromat. Reaktionen udføres hensigtsmæssigt under stuebetingelser i et inert opløsningsmiddel såsom en halogeneret alkan, fx en chloralkan, fortrinsvis methylenchlorid.

Et vundet indenonderivat (forbindelse III) kan derefter under en inert atmosfære, fx under argon, behandles med et middel, der indfører en trimethylsilylbeskyttelsesgruppe på sidekædens hydroxygruppe, fx trimethylsilylimidazol.

De vundne forbindelser [1R-[1 β (R*),3 α ,4 β ,7 α]]-octahydro-1-[6,6,6-trifluor-5-trimethylsilyloxy-5-trifluormethyl-1-methyl-2-hexenyl]-7a-methyl-1H-inden-4-on eller [1R-[1 β (R*),3 α ,4 β ,7 α]]-octahydro-1-[6,6,6-trifluor-5-trimethylsilyloxy-5-trifluormethyl-1-methyl-3-hexenyl]-7a-methyl-1H-inden-4-on samt de yderligere ovenfor nævnte forbindelser I og III er hidtil ukendte.

Δ^{22} - og Δ^{23} -forbindelserne har vitamin D₃-lignende aktivitet og udviser antiproliferative og celledifferentieringsinducerende virkninger. Disse virkninger på HL-60-celler *in vitro* kan påvises ved kendte metoder, fx som beskrevet i *Progress in Cancer Research and Therapy*, bind 23: "Maturation Factors and Cancer", Red. M.A.S. Moore, Raven Press, New York 1982; *Nature*, 270 (1977) s. 347-349 og *Blood*, 54 (1979), s. 429-439. Resultaterne er anført i nedenstående tabel:

Koncentration af ^{a)} Δ^{22} -forbindelse ($\times 10^{-9}$ molar)

		Proliferation ^{b)}	
		HL-60-celler pr. ml $\times 10^{-4}$	% Reduktion i antal celler
Eksperiment 1			
10	Nul (mediekontrol)	77,1 $\pm$ 3,3	-
	Vehikel (0,1% ethanol)	76,9 $\pm$ 5,1	0
	0,1	66,7 $\pm$ 1,6	13
	1	24,8 $\pm$ 0,6	68
	10	17,0 $\pm$ 1,6	78
15	100	16,4 $\pm$ 1,1	79
Eksperiment 2			
	Nul (mediekontrol)	92,2 $\pm$ 7,6	-
	Vehikel (0,1% ethanol)	94,1 $\pm$ 3,4	0
20	0,1	97,9 $\pm$ 6,2	0
	0,3	74,3 $\pm$ 0,8	21
	1	47,6 $\pm$ 1,3	49
	3	30,9 $\pm$ 1,2	67
	10	28,2 $\pm$ 0,6	70
25	30	25,3 $\pm$ 2,0	73
Eksperiment 3			
	Nul (mediekontrol)	74,4 $\pm$ 1,9	-
	Vehikel (0,1% ethanol)	80,6 $\pm$ 4,8	0
30	0,1	74,4 $\pm$ 1,3	8
	0,3	60,9 $\pm$ 2,0	24
	1	38,4 $\pm$ 1,6	52
	3	24,7 $\pm$ 1,0	69
	10	21,0 $\pm$ 0,4	74
35	30	21,0 $\pm$ 0,5	74

Differentiering

		NBT-Reduktion		Phagocytose	
		Formazan "+"		phagocytiske celler	
		sum af talte		sum af talte	
		celler	% "+"	celler	% "+"
<u>Eksperiment 1</u>					
	Nul (mediekontrol)	3/378	<1		
10	Vehikel				
	(0,1% ethanol)	2/359	<1		
	0,1	6/347	2		
	1	280/328	85		
	10	306/319	96		
15	100	348/356	98		
<u>Eksperiment 2</u>					
	Nul (mediekontrol)	2/346	<1	4/386	1
	Vehikel				
	(0,1% ethanol)	3/381	<1	3/336	<1
20	0,1	3/343	<1	4/359	1
	0,3	45/355	13	49/376	13
	1	212/317	67	229/330	69
	3	290/316	92	284/303	94
	10	353/360	98	311/328	95
25	30	310/316	98	339/344	98
<u>Eksperiment 3</u>					
	Nul (mediekontrol)	2/346	<1		
	Vehikel				
	(0,1% ethanol)	3/374	<1		
30	0,1	2/380	<1		
	0,3	23/338	10		
	1	231/332	70		
	3	354/367	96		
	10	314/332	95		
35	30	312/322	96		

Tabel fortsat
 Koncentration af ^{a)} Δ^{23} -forbindelse ($\times 10^{-9}$ molar)

		Proliferation ^{b)}	
		HL-60-celler pr. ml $\times 10^{-4}$	% Reduktion i antal celler
Eksperiment 1			
10	Nul (mediekontrol)	74,0 $\pm$ 1,0	-
	Vehikel		
	(0,1% ethanol)	67,8 $\pm$ 0,5	0
	0,1	64,8 $\pm$ 1,7	4
15	0,3	58,8 $\pm$ 3,6	13
	1	42,0 $\pm$ 2,1	38
	3	22,5 $\pm$ 1,4	67
	10	16,2 $\pm$ 0,7	76
	30	14,5 $\pm$ 0,8	79
20	100	13,6 $\pm$ 0,9	80
Eksperiment 2			
	Nul (mediekontrol)	74,4 $\pm$ 1,9	-
	Vehikel		
25	(0,1% ethanol)	80,6 $\pm$ 4,8	0
	0,1	71,4 $\pm$ 1,2	11
	0,3	64,8 $\pm$ 7,3	20
	1	55,1 $\pm$ 0,9	32
	3	47,5 $\pm$ 3,0	41
30	10	44,0 $\pm$ 0,9	45
	30	39,7 $\pm$ 2,2	51

Tabel fortsat
Differentiering

		NBT-Reduktion		Phagocytose	
		Formazan "+"		phagocytiske celler	
		sum af talte		sum af	
		celler	% "+"	talte celler	% "+"
	Eksperiment 1				
10					
	Nul (mediekontrol)	3/318	<1	11/350	3
	Vehikel				
	(0,1% ethanol)	3/316	<1	7/345	2
	0,1	3/310	<1	4/448	<1
15	0,3	16/351	5	12/343	4
	1	184/328	56	155/352	44
	3	342/360	95	305/330	92
	10	353/359	98	335/347	97
	30	335/339	99	372/379	98
20	100	331/335	99		
 Eksperiment 2					
	Nul (mediekontrol)	2/343	<1		
	Vehikel				
25	(0,1% ethanol)	3/374	<1		
	0,1	3/351	<1		
	0,3	13/327	4		
	1	218/347	63		
	3	284/324	88		
30	10	318/324	98		
	30	346/354	98		

a) I alle testkulturer udgjorde vehikelkoncentrationen 0,1% (volumen/volumen) ethanol.

35 b) I alle kulturer var cellelevedygtigheden større end 95%. Begyndelseskoncentrationen i alle kulturer udgjorde 2×10^4 HL-60-celler pr. ml.

Dataene i tabellen viser, at Δ^{22} - og Δ^{23} -forbindelsen hæmmer proliferationen af menneskelige promyelocytiske tumorceller *in vitro* og derved ikke er celletoxiske. Endvidere kunne celler, der var blevet dyrket i lavere koncentrationer af disse forbindelser ($0,3 - 10 \times 10^{-9}$ molær), bringes til at differentiere til en mere moden celletype, 5 hvilket ytrede sig ved opnåelse af enzymaktivitet og cellefunktion. Det kan forventes, at Δ^{22} - og Δ^{23} -forbindelserne kan anvendes ved behandling af sygdomme såsom neoplastiske sygdomme, der delvis er forårsaget af afvigende celleproliferation og/eller -differentiering.

10 Δ^{22} - og Δ^{23} -forbindelserne kan indgives i doser i området fra ca. 0,10 til 3,0, fortrinsvis fra 0,25 til 2,0 $\mu\text{g}/\text{dag}$ til behandling af sygdomme såsom osteoporose, osteodystrofi, steroidinduceret osteopeni, hypoparathyroidi, hypophosphatæmisk rachitis og hypophosphatæmisk osteomalaci, der er karakteriseret ved unormalt lave niveauer af endogent produceret $1\alpha,25$ -dihydroxycholecalciferol. Δ^{22} - og Δ^{23} -forbindelserne kan indgives i det ovennævnte dosisområde til behandling af 15 proliferative sygdomme såsom leukæmi. Δ^{22} - og Δ^{23} -forbindelserne kan indgives oralt, fx i form af tabletter, kapsler eller eliksirer; eller subcutant, intramuskulært, intravenøst, intraperitonealt eller 20 topisk, fx i form af sterile opløsninger eller suspensioner. En enkeltdosis kan indeholde ca. 0,10-3,0, fortrinsvis 0,25-2,0 μg af Δ^{22} - eller Δ^{23} -forbindelsen sammen med en farmaceutisk acceptabel vehikel, bærer, konserveringsmiddel, stabiliseringsmiddel, bindemiddel, fx traganthgummi, excipiens, fx kalciumphosphat, sprængmiddel, fx 25 majsstivelse, glittemiddel, fx magnesiumstearat, sødemiddel, fx sucrose, smagsstof, fx pebermynte. Til modificering af enkeltdoserings udseende kan der anvendes andre materialer såsom overtræk, fx Shellac.

Δ^{22} - og Δ^{23} -forbindelserne kan også indgives i sædvanlige formuleringer til behandling af mælkefeber hos drægtige drøvtyggere i doser i 30 området 100-1500 $\mu\text{g}/\text{dag}$, fortrinsvis 200-1000 $\mu\text{g}/\text{dag}$. Fx kan der fremstilles sterile præparater til injektionsbrug og/eller topisk indgivelse ved opløsning eller suspendering af Δ^{22} - eller Δ^{23} -forbindelsen i en vehikel, fx en 10-20%'s eller 80-95%'s ethanol-(eller

propylenglycol)-vandblanding, en naturligt forekommende planteolie såsom sesamolie, eller et syntetisk fast bindemiddel såsom ethylololat. Δ^{22} - eller Δ^{23} -forbindelsen lader sig også indgive oralt i en mængde på 100-1500 μg i form af fedtsyrepellets.

5 EKSEMPEL 1

- a) En opløsning af 2,9 g (8,22 mmol) [1R-[1 β ,[α S*, β S*],3 α ,4 β ,7 α]]-octahydro- β ,7a-dimethyl-4-[(1,1-dimethylethyl)dimethylsilyloxy]- α -ethenyl-1H-inden-1-ethanol i 100 ml vandfri ether blev afkølet til 0°C og blev dråbevis og under argon behandlet med 2,76 ml
- 10 (37,84 mmol) thionylchlorid efterfulgt af 0,276 ml pyridin. Blandingen blev omrørt i 2 timer ved 0°C, og der blev derefter tilsat 50 ml af en 2N opløsning af natriumkaliumtartrat. Etherfasen blev skilt fra, og den vandige fase blev ekstraheret med ethylacetat. De forenede organiske faser blev vasket med 1N saltsyre, vand, 2N kalium-
- 15 hydrogencarbonat og saltvand, tørret og inddampet. Opløsningsmidlet blev dampet af i vakuum, og remanensen blev oprenset ved chromatografi på silicagel ved hjælp af hexan/ethylacetat. Herved fås 2,9 g (95%'s udbytte) rent [1R-[1 β (R*),3 α ,4 β ,7 α]]-1-(4-chlor-1-methyl-2-butenyl)octahydro-4-[(1,1-dimethylethyl)-dimethylsilyloxy]-7a-metyl-
- 20 1H-inden i form af et lavtsmeltende fast stof.

- b) En opløsning af 2,9 g (7,81 mmol) af det allyliske chlorid fra 1a) i 130 ml hexamethylphosphoramid blev behandlet med 10,1 g (61,52 mmol) benzensulfinsyrenatriumsalt og omrørt ved stuetemperatur under argon i 24 timer. Der blev derefter tilsat 130 ml isvand, og
- 25 efter omrøring i 30 minutter blev blandingen ekstraheret med ethylacetat. De forenede ekstrakter blev vasket med vand, tørret og inddampet til tørhed. Remanensen blev oprenset ved chromatografi på silicagel med hexan/ethylacetat. Herved fås 3,5 g (94%'s udbytte) [1R-[1 β (R*),3 α ,4 β ,7 α]]-1-[(4-phenylsulfonyl)-1-methyl-2-butenyl]-octahydro-4-[(1,1-dimethylethyl)dimethylsilyloxy]-7a-methyl-1H-inden i
- 30 form af et lavtsmeltende fast stof.

- c) En opløsning af 0,628 ml (4,48 mmol) diisopropylamin i 10 ml vandfri THF blev afkølet til 0°C og blev dråbevis under argon behandlet

med 2,70 ml (4,32 mmol) af en 1,6 M opløsning af n-butyllithium i hexan. Efter omrøring i 15 minutter ved 0°C blev den resulterende opløsning afkølet til -78°C og fortyndet med 17 ml vandfri THF. Den blev derefter behandlet dråbevis med en opløsning af 1,25 g (2,62 mmol) af sulfonen fra 1b) i 16 ml THF og omrørt i 30 minutter ved -78°C. Der blev boblet hexafluoracetone gennem opløsningen indtil den gule farve forsvandt. Efter omrøring i 5 minutter blev reaktionen standset ved tilsætning af 30 ml af en 1:1-blanding af 2N natriumkaliumtartrat og 2N kaliumhydrogencarbonat, reaktionsblandingen fik lov at varme op til stuetemperatur og blev ekstraheret med methylenchlorid. De organiske ekstrakter blev vasket med saltvand, tørret og indampet til tørhed. Remanensen blev oprenset ved chromatografi på silicagel ved hjælp af hexan/ethylacetat. Herved fås 1,23 g (72% udbytte) [1R-[1 β (R*),3 α ,4 β ,7 α]]-octahydro-1-[6,6,6-trifluor-5-hydroxy-5-trifluormethyl-4-phenylsulfonyl-1-methyl-2-hexenyl]-4-[(1,1-dimethylethyl)-dimethylsilyloxy]-7a-methyl-1H-inden i form af en farveløs olie.

d) En opløsning af 1,23 g (1,91 mmol) af sulfonen fra 1c) i form af en epimer blanding i 40 ml methanol og 40 ml THF blev behandlet med 23 g dikaliumhydrogenphosphat og, efter afkøling til -20°C, med 24 g 6% natriumamalgam. Efter omrøring af den resulterende blanding i 15 minutter blev der tilsat 60 ml saltvand. Efter opvarmning til stuetemperatur blev der ekstraheret med ethylacetat. De organiske ekstrakter blev vasket med saltvand, tørret og indampet til tørhed. Remanensen blev oprenset ved chromatografi på silicagel ved hjælp af hexan/ethylacetat. Produktet (0,815 g) blev opløst i 40 ml ethanol, omrørt i 6 dage ved stuetemperatur med 10 g af en kationbytterharpiks (AG 50W-X4, 0,074-0,037 mm, Bio-Rad Laboratories, Richmond, Californien, USA). Efter frafiltrering af harpiksen og afdampning af opløsningsmidlet blev remanensen oprenset ved to på hinanden følgende chromatograferinger på silicagel, den første med hexan/ethylacetat, og den anden med methylenchlorid. Herved fås 200 mg rent [1R-[1 β (R*),3 α ,4 β ,7 α]]-octahydro-1-[6,6,6-trifluor-5-hydroxy-5-trifluormethyl-1-methyl-2-hexenyl]-7a-methyl-1H-inden-4-ol og 50 mg [1R-[1 β (R*),3 α ,4 β ,7 α]]-octahydro-1-[6,6,6-trifluor-5-hydroxy-5-trifluormethyl-1-methyl-3-hexenyl]-7a-methyl-1H-inden-4-ol.

- e) Til en opløsning af 182 mg (0,469 mmol) af diolen [1R-[1 β (R*),3 α ,4 β ,7 α]]-octahydro-1-[6,6,6-trifluor-5-hydroxy-5-trifluormethyl-1-methyl-2-hexenyl]-7a-methyl-1H-inden-4-ol i 2 ml methylenchlorid blev sat en opslæmning af 300 mg (1,392 mmol) pyridiniumchlorchromat i 7 ml methylenchlorid. Den resulterende blanding blev omrørt i 2 1/2 time ved stuetemperatur. Blandingen blev fortyndet med 10 ml ether, omrørt i 15 minutter og filtreret. Remanensen blev revet flere gange med ether. Tritureringssekstrakterne blev forenet og filtreret. Efter inddampning til tørhed og oprensning af remanensen ved chromatografi med hexan/ethylacetat opnåedes 174 mg (96%'s udbytte) [1R-[1 β (R*),3 α ,4 β ,7 α]]-octahydro-1-[6,6,6-trifluor-5-hydroxy-5-trifluormethyl-1-methyl-2-hexenyl]-7a-methyl-1H-inden-4-on.
- f) En opløsning af 174 mg (0,450 mmol) af ketonen fra 1e) i 9 ml methylenchlorid blev behandlet med 0,4 ml (2,726 mmol) trimethylsilylimidazol og omrørt i 6 timer ved stuetemperatur under argon. Efter tilsætning af 1 ml vand blev blandingen omrørt i 20 minutter, blev derefter fortyndet med vand og ekstraheret med ethylacetat. De organiske ekstrakter blev vasket med vand og saltopløsning, tørret og inddampet til tørhed. Remanensen blev oprenset ved chromatografi ved hjælp af hexan/ethylacetat. Herved fås 177 mg (86%'s udbytte) rent [1R-[1 β (R*),3 α ,4 β ,7 α]]-octahydro-1-[6,6,6-trifluor-5-trimethylsilyloxy-5-trifluormethyl-1-methyl-2-hexenyl]-7a-methyl-1H-inden-4-on.
- g) En opløsning af 365 mg (0,584 mmol) [3S-(3 α ,5 β ,Z)]-2-[2-methylen-3,5-bis[(1,1-dimethylethyl)dimethylsilyloxy]cyclohexyliden]ethyl-diphenylphosphinoxid i 10 ml vandfrit THF blev afkølet til -78°C og blev dråbevis under argon behandlet med 0,358 ml (0,573 mmol) af en 1,6M opløsning af n-butyllithium i hexan. Efter omrøring i 5 minutter blev der til den orange farvede phosphinoxy-carbanionopløsning dråbevis sat en opløsning af 177 mg (0,386 mmol) af ketonen fra 1f) i 2,5 ml vandfrit THF. Den resulterende blanding blev omrørt i 1 time ved -78°C. Den blev derefter behandlet med 3 ml af en 1:1-blanding (volumen/volumen) af 2N kaliumnatriumtartrat og 2N kaliumcarbonat, fortyndet med vand efter opvarmning til stuetemperatur og ekstraheret med ethylacetat. De forenede organiske faser blev vasket med saltvand, tørret og inddampet til tørhed. Remanensen blev oprenset ved

- filtrering gennem silicagel og eluering med hexan/ethylacetat, blev derefter opløst i 0,8 ml methylenchlorid og 9 ml methanol og omrørt natten over ved stuetemperatur sammen med 3,5 g af en kationbytterharpiks (AG 50W-X4). Efter filtrering og afdampning af opløsnings-
- 5 midlet blev remanensen opløst i 5 ml THF og behandlet med 0,650 ml af en 1M opløsning af tetrabutylammoniumfluorid i THF og omrørt i 1 time. Blandingen blev derefter behandlet med 0,5 ml vand og ekstraheret med ethylacetat. De forenede organiske faser blev vasket med vand, tørret og indampet til tørhed. Det rå produkt blev oprenset ved
- 10 chromatografi på silicagel ved hjælp af hexan/ethylacetat. Herved fås 181 mg (90%’s udbytte) rent 26,26,26,27,27,27-hexafluor-1 α ,25-dihydroxy- Δ^{22} -cholecalciferol som et hvidt amorft pulver, $[\alpha]_D^{25} = 13,9^\circ$ (c = 0,2 i ethanol).

EKSEMPEL 2

- 15 a) Efter metoden beskrevet i eksempel 1e) blev 45,0 mg [1R-[1 β -(R*),3 $\alpha\alpha$,4 β ,7 $\alpha\beta$]]-octahydro-1-[6,6,6-trifluor-5-hydroxy-5-trifluormethyl-1-methyl-3-hexenyl]-7a-methyl-1H-inden-4-ol omdannet til 42,0 mg [1R-[1 β -(R*),3 $\alpha\alpha$,4 β ,7 $\alpha\beta$]]-octahydro-1-[6,6,6-trifluor-5-hydroxy-5-trifluormethyl-1-methyl-3-hexenyl]-7a-methyl-1H-inden-4-on.
- 20 b) Efter metoden beskrevet i eksempel 1f) blev 42,0 mg af ketonen fra 2a) omdannet til 35,5 mg [1R-[1 β -(R*),3 $\alpha\alpha$,4 β ,7 $\alpha\beta$]]-octahydro-1-[6,6,6-trifluor-5-trimethylsilyloxy-5-trifluormethyl-1-methyl-3-hexenyl]-7a-methyl-1H-inden-4-on.
- c) Efter metoden beskrevet i eksempel 1g) blev 35,5 mg af ketonen fra
- 25 2b) omdannet til 18,8 mg 26,26,26,27,27,27-hexafluor-1 α ,25-dihydroxy- Δ^{23} -cholecalciferol, $[\alpha]_D^{25} = +14,2^\circ$ (c = 0,1 i ethanol).

EKSEMPEL A

Bestanddele

mg/kapsel

	1.	Δ^{22} - eller Δ^{23} -forbindelse	0,00010	0,00025	0,00050
5	2.	Polyethylengly- col 400	200,00	200,00	200,00
	3.	Butyleret hy- droxylanisol	0,100	0,100	0,100
	4.	Ascorbylpalmitat	1,00	1,00	1,00
10	Bestanddelene 1, 3 og 4 opløses under kvælstof i bestanddel 2 og fyldes i en kapsel.				

EKSEMPEL B

Bestanddele

	1.	Δ^{22} - eller Δ^{23} -forbindelse	0,10 mg	0,50 mg
15	2.	95% ethanol/5% vand	2,00 ml	3,00 ml.

Bestanddel 1 opløses under kvælstof i bestanddel 2 og injiceres in-
tramuskulært.

PATENTKRAV

1. Δ^{22} - eller Δ^{23} -26,26,26,27,27,27-hexafluor-1 α ,25-dihydroxycholecalciferol.
2. Δ^{22} - eller Δ^{23} -26,26,26,27,27,27-hexafluor-1 α ,25-dihydroxycholecalciferol til brug som terapeutisk aktiv substans, især med vitamin D-aktivitet.
3. Farmaceutisk præparat baseret på Δ^{22} - eller Δ^{23} -26,26,26,27,27,27-hexafluor-1 α ,25-dihydroxycholecalciferol.
4. Fremgangsmåde til fremstilling af Δ^{22} - eller Δ^{23} -
 10 26,26,26,27,27,27-hexafluor-1 α ,25-dihydroxycholecalciferol,
 k e n d e t e g n e t ved, at [1R-[1 β (R*),3 α ,4 β ,7 α β]]-octahydro-1-[6,6,6-trifluor-5-trimethylsilyloxy-5-trifluormethyl-1-methyl-2-hexenyl]-7 α -methyl-1H-inden-4-on eller [1R-[1 β (R*),3 α ,4 β ,7 α β]]-octahydro-1-[6,6,6-trifluor-5-trimethylsilyloxy-5-trifluormethyl-1-methyl-
 15 3-hexenyl]-7 α -methyl-1H-inden-4-on behandles med [3S-(3 α ,5 β ,Z)]-2-[2-methylen-3,5-bis[(1,1-dimethylethyl)-dimethylsilyloxy]cyclohexylden]ethyl-diphenylphosphinoxid, og silylbeskyttelsesgrupperne fraspaltes.