

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

A61K 31/59

C07C401/00



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 01818519.3

[43] 公开日 2004年2月4日

[11] 公开号 CN 1473048A

[22] 申请日 2001.6.11 [21] 申请号 01818519.3

[30] 优先权

[32] 2000.9.8 [33] JP [31] 09/657,828

[86] 国际申请 PCT/US01/18710 2001.6.11

[87] 国际公布 WO02/20021 英 2002.3.14

[85] 进入国家阶段日期 2003.5.7

[71] 申请人 威斯康星校友研究基金会

地址 美国威斯康星州

[72] 发明人 赫克托·F·德鲁卡

拉法尔·R·西钦斯基

苏米思罗·高鲁加里

洛里·A·普拉姆

玛格丽特·克拉格特-达姆

[74] 专利代理机构 永新专利商标代理有限公司

代理人 林晓红

权利要求书5页 说明书11页 附图7页

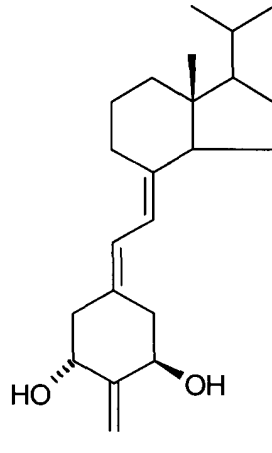
[54] 发明名称 1 α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型孕钙佛醇及其治疗应用

[57] 摘要

本发明公开了1 α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型孕钙佛醇及其药学用途。该化合物在抑制未分化细胞增殖和诱导它们分化为单核细胞方面显示出明显的活性，这表明其作为抗癌药的用途和治疗皮肤病如银屑病，以及皮肤病况如皱纹、皮肤松弛、皮肤干燥和皮脂分泌不足的用途。该化合物还具有即使有也是很少的钙活性，因此可以用于治疗人的免疫疾病和肾性骨营养不良症。

ISSN 1008-4274

1. 治疗银屑病的方法，所述方法包括给予患有银屑病的患者有效量的具有下式结构的 1α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型孕钙佛醇：



2. 权利要求 1 的方法，其中将 1α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型孕钙佛醇口服给予。

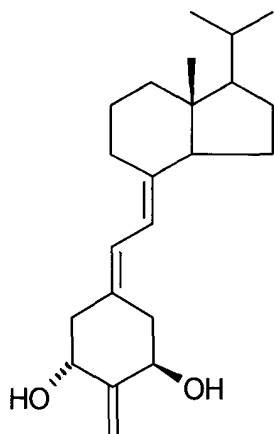
3. 权利要求 1 的方法，其中将 1α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型孕钙佛醇胃肠外给予。

4. 权利要求 1 的方法，其中将 1α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型孕钙佛醇经皮给予。

5. 权利要求 1 的方法，其中将 1α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型孕钙佛醇局部给予。

6. 权利要求 1 的方法，其中将 1α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型孕钙佛醇以约 $0.01 \mu\text{g}/\text{日}$ 至约 $100 \mu\text{g}/\text{日}$ 的剂量给予。

7. 治疗选自白血病、结肠癌、乳腺癌或前列腺癌的疾病的方法，所述方法包括给予患有所述疾病的患者有效量的具有下式结构的 1α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型孕钙佛醇：



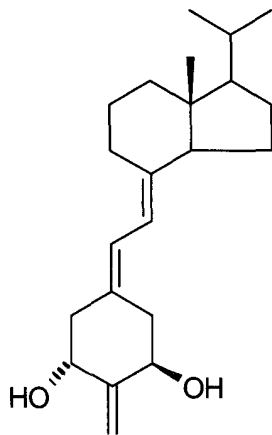
8. 权利要求 7 的方法, 其中将 1α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型孕钙佛醇口服给予。

9. 权利要求 7 的方法, 其中将 1α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型孕钙佛醇胃肠外给予。

10. 权利要求 7 的方法, 其中将 1α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型孕钙佛醇经皮给予。

11. 权利要求 7 的方法, 其中将 1α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型孕钙佛醇以约 $0.01 \mu\text{g}/\text{日}$ 至约 $100 \mu\text{g}/\text{日}$ 的剂量给予。

12. 治疗选自多发性硬化、狼疮、糖尿病、宿主对移植物反应和器官移植物排斥反应的自身免疫病的方法, 所述方法包括给予患有所述疾病的患者有效量的具有下式结构的 1α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型孕钙佛醇:



13. 权利要求 12 的方法, 其中将 1α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型

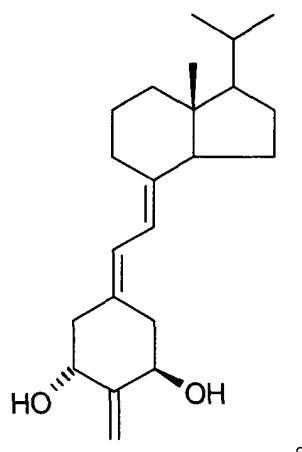
孕钙佛醇口服给予。

14. 权利要求 12 的方法, 其中将 1α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型孕钙佛醇胃肠外给予。

15. 权利要求 12 的方法, 其中将 1α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型孕钙佛醇经皮给予。

16. 权利要求 12 的方法, 其中将 1α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型孕钙佛醇以约 $0.01 \mu\text{g}/\text{日}$ 至约 $100 \mu\text{g}/\text{日}$ 的剂量给予。

17. 治疗选自类风湿性关节炎、哮喘和炎性肠病的炎性疾病的方法, 所述方法包括给予患有所述疾病的患者有效量的具有下式结构的 1α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型孕钙佛醇:



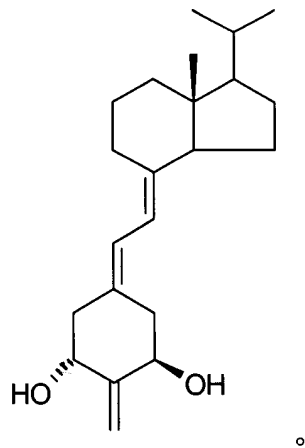
18. 权利要求 17 的方法, 其中将 1α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型孕钙佛醇口服给予。

19. 权利要求 17 的方法, 其中将 1α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型孕钙佛醇胃肠外给予。

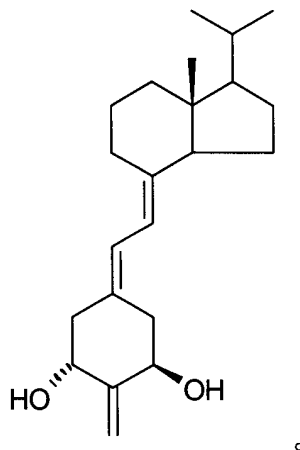
20. 权利要求 17 的方法, 其中将 1α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型孕钙佛醇经皮给予。

21. 权利要求 17 的方法, 其中将 1α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型孕钙佛醇以约 $0.01 \mu\text{g}/\text{日}$ 至约 $100 \mu\text{g}/\text{日}$ 的剂量给予。

22. 具有下式结构的 1α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型孕钙佛醇:



23. 治疗选自皱纹、缺乏适度皮肤坚韧性、缺乏适度皮肤水合和皮脂分泌不足的皮肤病况的方法，所述方法包括给予患有所述皮肤病况的患者有效量的具有下式结构的 1α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型孕钙佛醇：



24. 权利要求 23 的方法，其中将 1α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型孕钙佛醇口服给予。

25. 权利要求 23 的方法，其中将 1α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型孕钙佛醇胃肠外给予。

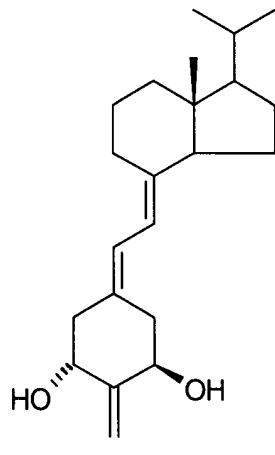
26. 权利要求 23 的方法，其中将 1α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型孕钙佛醇经皮给予。

27. 权利要求 23 的方法，其中将 1α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型孕钙佛醇局部给予。

28. 权利要求 23 的方法，其中将 1α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型

孕钙佛醇以约 0.01 μg /日至约 100 μg /日的剂量给予。

29. 治疗肾性骨营养不良症的方法，所述方法包括给予患有肾性骨营养不良症的患者有效量的具有下式结构的 1 α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型孕钙佛醇：



30. 权利要求 29 的方法，其中将 1 α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型孕钙佛醇口服给予。

31. 权利要求 29 的方法，其中将 1 α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型孕钙佛醇胃肠外给予。

32. 权利要求 29 的方法，其中将 1 α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型孕钙佛醇经皮给予。

33. 权利要求 29 的方法，其中将 1 α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型孕钙佛醇以约 0.01 μg /日至约 100 μg /日的剂量给予。

1 α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型孕钙佛醇及其治疗应用

技术领域

本发明涉及维生素 D 化合物,更具体而言涉及 1 α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型孕钙佛醇(homopregnacalciferol)及其药学用途。

背景技术

已知天然激素, 1 α ,25-二羟维生素 D₃ 及其麦角骨化醇系列类似物,即 1 α ,25-二羟维生素 D₂ 是动物和人的钙体内稳态的强力调节剂,最近也已经明确了它们在细胞分化方面的活性, Ostrem 等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84, 2610 (1987)。已经制备并测试了这些代谢产物的许多结构类似物,包括 1 α -羟维生素 D₃、1 α -羟维生素 D₂、各种侧链确认的(homologated)维生素和氟化类似物。这些化合物中的一些在细胞分化和钙调节方面显示出令人感兴趣的活性分离。此种活性差异对于治疗多种疾病,如肾性骨营养不良症、维生素 D 抗性佝偻病、骨质疏松症、银屑病和某些癌可能是有益的。

近来,业已发现一类新的维生素 D 类似物,即所谓的 19-去甲-维生素 D 化合物,其特征在于维生素 D 系统典型的 A-环环外亚甲基(碳 19)被两个氢原子替换。对此 19-去甲-类似物(例如,1 α ,25-二羟-19-去甲-维生素 D₃)的生物学测试表明,它具有高效诱导细胞分化和极低钙动员活性的选择性活性特征。因此,这些化合物作为治疗癌或治疗各种皮肤病的治疗剂可能有用。已经公开了两种不同的合成此 19-去甲-维生素 D 类似物的方法(Perlman 等人, Tetrahedron Lett. 31, 1823 (1990); Perlman 等人, Tetrahedron Lett. 32, 7663 (1991), 以及 DeLuca 等人, 美国专利 5,086,191)。

在美国专利 4,666,634 中, Chugai 研究小组已经描述并且检测了

作为用于骨质疏松症的可能药物和作为抗肿瘤药的 $1\alpha,25$ -二羟维生素 D_3 的 2β -羟基和烷氧基(例如, ED-71)类似物。请参阅 Okano 等人, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **163**, 1444 (1989)。也已经制备并且测试了 $1\alpha,25$ -二羟维生素 D_3 的其它 2-取代(用羟烷基取代, 如 ED-120, 和氟烷基取代) A-环类似物(Miyamoto 等人, *Chem. Pharm. Bull.* **41**, 1111 (1993); Nishii 等人, *Osteoporosis Int. Suppl.* **1**, 190 (1993); Posner 等人, *J. Org. Chem.* **59**, 7855 (1994), 以及 *J. Org. Chem.* **60**, 4617 (1995))。

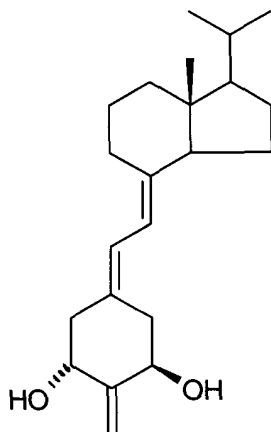
最近, 也已合成了 $1\alpha,25$ -二羟-19-去甲-维生素 D_3 的 2-取代类似物, 即在 2-位有羟基或烷氧基取代的化合物(DeLuca 等人, 美国专利 5,536,713), 有 2-烷基取代的化合物(DeLuca 等人, 美国专利 5,945,410), 有 2-亚烷基取代的化合物(DeLuca 等人, 美国专利 5,843,928), 它们显示令人感兴趣的选择性活性特征。所有这些研究表明, 维生素 D 受体中的结合位点可以适应在合成维生素 D 类似物中 C-2 位的不同取代基。

在探究药理学上重要的 19-去甲类维生素 D 化合物的继续努力中, 已合成并测试了以碳 2 (C-2)上亚甲基取代基的存在为特征的类似物。其中特别关注的是以碳 1 的羟基和连接于碳 20 的短侧链为特征的类似物, 即 1α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型孕钙佛醇。该维生素 D 类似物似乎是令人感兴趣的靶, 因为在 C-2 位相对小的亚甲基应当不会干扰维生素 D 受体。而且, 对 1α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-维生素模型进行的分子力学研究表明, 此种分子修饰基本上不改变环己二醇环 A 的构象。然而, 将 2-亚甲基引入 19-去甲-维生素 D 碳骨架中则改变其 1α -和 3β -A-环羟基的特性。两个羟基现在都在烯丙型的位置, 类似于天然激素分子 $1\alpha,25$ -(OH) $_2$ D_3 中的 1α -羟基(对于生物活性至关重要)。

发明内容

本发明涉及 1 α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型孕钙佛醇、其生物活性和该化合物的各种药学用途。

该 19-去甲类似物的结构以下示通式 I 为特征：



上述化合物显示所期望的和高度有利的生物活性特征。该化合物的特征为，与 1 α ,25-二羟维生素 D₃ 相比相对高的维生素 D 受体结合但很低的肠钙转运活性，与 1 α ,25-二羟维生素 D₃ 相比，其具有很低的从骨动员钙的能力。因此，该化合物的特征可以为具有即使有也是很少的钙活性(calcemic activity)。但是，其抑制甲状旁腺素(PTH)的能力使该化合物成为用作治疗肾性骨营养不良症的治疗剂的理想候选药。

还已发现本发明的化合物特别适用于治疗和预防以免疫系统失衡为特征的人的疾病，例如自身免疫病，包括多发性硬化、狼疮(tupis)、糖尿病、宿主抗移植物反应和器官移植物排斥反应；另外，用于治疗炎性疾病如类风湿性关节炎和哮喘，以及炎性肠病如乳糜泻和克罗恩病(croans disease)，用于促进骨折愈合和改善骨移植。本发明的化合物可以治疗的其它病况是痤疮、脱发和高血压。

上述化合物还以高的细胞分化活性为特征。因此，该化合物也提供用于治疗银屑病的治疗剂，或者作为抗癌药，尤其是抗白血病、结肠癌、乳癌和前列腺癌。此外，由于其相对高的细胞分化活性，该化

合物提供用于治疗各种皮肤病况的治疗剂，所述皮肤病况包括皱纹，缺乏适度真皮水合，即皮肤干燥，缺乏适度皮肤坚韧性，即皮肤松弛，和皮脂分泌不足。因此，该化合物的使用不仅导致皮肤的湿润，而且改善皮肤的屏障功能。

该化合物可以存在于治疗上述疾病和病症的组合物中，其量为约 0.01 $\mu\text{g}/\text{gm}$ 至约 100 $\mu\text{g}/\text{gm}$ 组合物，并且可以局部、经皮、口服或者胃肠外给药，给药剂量可以为约 0.01 $\mu\text{g}/\text{日}$ 至约 100 $\mu\text{g}/\text{日}$ 。

附图说明

图 1 是说明 1α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型孕钙佛醇和 $1\alpha,25$ -二羟维生素 D_3 与 $[^3\text{H}]-1,25-(\text{OH})_2-\text{D}_3$ 竞争结合维生素 D 猪肠核受体的相对活性的图；

图 2 是说明与 $1\alpha,25$ -二羟维生素 D_3 相比， 1α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型孕钙佛醇的肠钙转运活性的图。

图 3 是说明与 $1\alpha,25$ -二羟维生素 D_3 相比， 1α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型孕钙佛醇的骨钙动员活性的图。

图 4 是说明作为 1α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型孕钙佛醇和 $1\alpha,25$ -二羟维生素 D_3 的浓度的函数的 HL-60 细胞分化百分比的图。

图 5 是说明与 2-亚甲基-19-去甲-20(S)- $1\alpha,25$ -二羟维生素 D_3 和 $1\alpha,25$ -二羟维生素 D_3 相比， 1α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型孕钙佛醇在骨细胞中的转录活性的图。

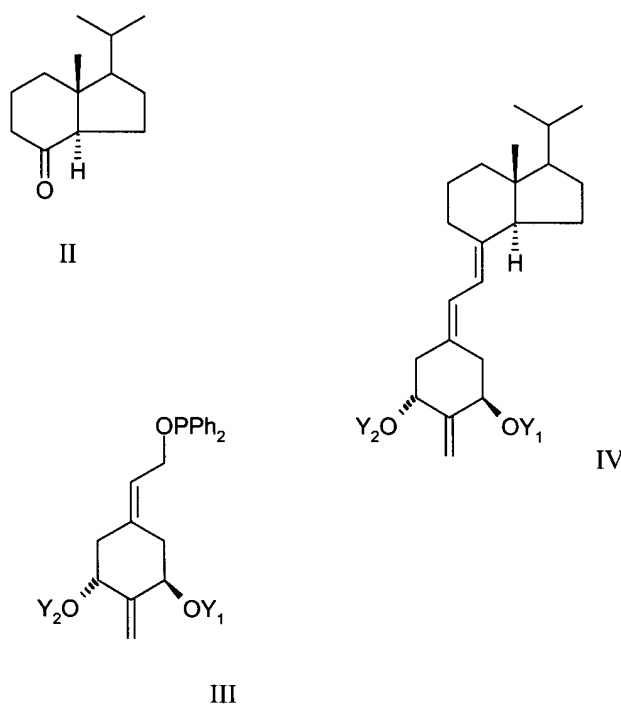
图 6 是说明与 2-亚甲基-19-去甲-20(S)- $1\alpha,25$ -二羟维生素 D_3 和 $1\alpha,25$ -二羟维生素 D_3 相比， 1α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型孕钙佛醇在肾细胞中的转录活性的图。

图 7 是说明与 $1\alpha,25$ -二羟维生素 D_3 和 2-亚甲基-19-去甲-20(S)- $1\alpha,25$ -二羟维生素 D_3 相比，用 1α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型孕钙佛醇的单剂治疗后雄性大鼠中的血清钙水平的棒图。

具体实施方式

合成并测试了 1 α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型孕钙佛醇(本文称为 2MHP)。该 19-去甲类似物以本文前述的通式 I 为特征。

通过常用的一般方法，即二环 Windaus-Grundmann 型酮 II 与烯丙型氧化膦 III 缩合成相应的 2-亚甲基-19-去甲-维生素 D 类似物 IV，其后在上一化合物的 C-1 和 C-3 位脱保护，可以完成具有基本结构 I 的 1 α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型孕钙佛醇的制备：



在结构 II、III 和 IV 中，基团 Y₁ 和 Y₂ 是羟基保护基，还应理解，可能对缩合反应敏感，或者干扰缩合反应的任何官能团均如本领域众所周知的予以适当保护。上述方法代表汇集合成概念的应用，其已经有效地用于制备维生素 D 化合物[例如 Lythgoe 等人, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 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]。

一般结构 II 的茛烷酮(Hydrindanones)是已知的,或者可以通过已知方法制备。

为了制备所需的一般结构 III 的氧化磷,已经开发了从甲基奎尼酸(methyl quinic acid)衍生物开始的新的合成路线,所述甲基奎尼酸衍生物如 Perlman 等人, *Tetrahedron Lett.* 32, 7663 (1991)和 DeLuca 等人, 美国专利 5,086,191 所述,容易地从商品(1R,3R,4S,5R)-(-)-奎尼酸获得。

在 1999 年 8 月 10 日提交的名称为“2-亚烷基-19-去甲-维生素 D 化合物”的申请 09/370,966 中,对化合物 I 的整个合成过程作了更完整的说明和描述,该申请说明书特别地引入本文作参考。

1 α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型孕钙佛醇的生物活性

与 1 α ,25-(OH)₂D₃ 相比,向 1 α -羟基-19-去甲-同型孕钙佛醇的 2-位引入亚甲基对于与猪肠维生素 D 受体的结合几乎没有或没有影响。与标准 1,25-(OH)₂D₃ 相比,该化合物同样好地与猪受体结合(图 1)。由这些结果可以预期,该化合物将具有相等的生物活性。然而,令人惊奇地,2-亚甲基取代产生高度选择性的类似物,其具有独特的生物活性。

表 1 和图 2 显示,与天然激素 1,25-二羟维生素 D₃ (1,25-(OH)₂D₃) 相比,2MHP 在刺激肠钙转运方面具有极低的活性。

表 1 和图 3 说明,与 1,25-(OH)₂D₃ 相比,2MHP 在具有极低的骨钙动员活性。

图 2 和 3 说明 2MHP 可以被表征为具有即使有也是很少的钙活性。

图 4 说明 2MHP 对 HL-60 分化几乎和 1,25(OH)₂D₃ 一样有效,使其成为治疗银屑病和癌症,特别是抗白血病、结肠癌、乳癌和前列腺癌的优异的候选药。此外,由于其相对高的细胞分化活性,该化合物

提供用于治疗各种皮肤病况的治疗剂，所述皮肤病况包括皱纹，缺乏适度真皮水合，即皮肤干燥，缺乏适度皮肤坚韧性，即皮肤松弛，和皮脂分泌不足。因此，该化合物的使用不仅导致皮肤的湿润，而且改善皮肤的屏障功能。

图 5 说明 2MHP 在骨细胞中具有转录活性，而图 6 说明 2MHP 在肾细胞中具有转录活性。这些数据为图 1 中的 VDR 结合数据提供进一步的支持。在两种不同的细胞系中测量转录活性。用萤光素酶报道基因的 24-羟化酶(24OHase)基因启动子上游稳定转染 ROS 17/2.8 (骨)或 LLC (肾)细胞。给予细胞一定范围的剂量。给药十六小时后收集细胞并用发光计测量萤光酶活性。1 α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型孕钙佛醇的 EC₅₀ 在骨细胞中比在肾细胞中低约 10 倍。在肾细胞中，1 α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型孕钙佛醇强于或等于 1,25(OH)₂D₃。图 5 和图 6 的曲线代表 4 至 5 个独立的试验。在图 5 和 6 中，RLU 指相对萤光酶单元。

表 2 和图 7 显示给予 2MHP 的单剂之前和之后大鼠中的血清钙分析。这些数据给图 3 中的数据提供了进一步的支持。

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

如 Ostrem 等人所述(J. Biol. Chem. 262, 14164-14171, 1987)测定 HL-60 前髓细胞向单核细胞的分化。

数据解释

测定零钙饮食大鼠血清钙的体内实验提供对 2MHP 的成骨细胞或骨活性的了解。剂量反应曲线显示，在通过刺激成骨细胞提高血浆中的钙方面，2MHP 的效力显著低于 1,25(OH)₂D₃ 的(图 3 和图 7)。同时，2MHP 对肠钙转运的活性显著低于 1,25(OH)₂D₃ 的(图 2)。因此，这些数据显示 2MHP 对骨具有即使有也是很少的活性。

在与维生素 D 受体结合方面, 2MHP 比 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 活性稍低(图 1), 但在骨细胞(图 5)和肾细胞(图 6)中具有显著的转录活性。然而, 在引起前髓细胞 HL-60 向单核细胞分化方面, 其也比 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 活性稍低(图 4)。该结果提示, 2MHP 将对银屑病非常有效, 因为它在引起细胞分化以及在抑制细胞生长方面具有直接的细胞活性。这也表明, 它将具有作为抗癌药的显著活性, 尤其是抗白血病、结肠癌、乳腺癌和前列腺癌, 以及对抗皮肤病况如皮肤干燥(缺乏真皮水合)、过度皮肤松弛(皮肤坚韧性不足)、皮脂分泌不足和皱纹。

这些结果说明, 2MHP 是多种人治疗的优异的候选药, 它可能对多种情况如自身免疫病、癌症和银屑病有用。由于 2MHP 具有对维生素 D 受体的显著结合活性, 但几乎没有提供血清钙的能力, 而仍具有抑制 PTH 产生的能力, 所以其也可能对肾性骨营养不良症的治疗有用。

给雄性刚断奶的 Sprague-Dawley 大鼠喂以食物 11 (0.47% Ca)+AEK, 持续 11 天, 接着喂以食物 11 (0.02% Ca)+AEK, 持续 31 天。在处死前 7 天开始给药。给药以每日为基础进行, 间隔 24 小时。为了进行肠转运研究, 收集肠的前 10 cm, 为了进行骨 Ca 动员分析, 收集血清。结果报告在表 1 中, 并在图 2 中说明。

表 1

肠钙转运和血清钙(骨钙动员)活性对 $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 和 2MHP 长期给药的反应

组	剂量 (pmol/日/7 日)	肠钙转运* (S/M)	血清钙* (mg/100 ml)
维生素 D 缺乏	载体	3.28±0.64	3.72±0.32
$1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$	250	5.21±0.73	7.40±0.47
$1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$	500	6.85±0.79	7.20±0.33
2MHP	250	3.22±0.14	4.84±0.37
2MHP	500	3.90±0.38	3.96±0.19

*以上数据是来自 5 只动物的平均值和标准误差(SE)。

给雄性刚断奶的 Sprague Dawley 大鼠(6/组)喂以维生素 D 缺乏的

食物，持续 5 周。在第一周期间，给动物喂以正常钙食物(食物 11+0.47% Ca+AEK 增补剂)，在最后两周期间，给它们喂以低钙食物(食物 11+0.02% Ca+AEK 增补剂)。处死之前约 24 小时，对动物进行尾部取血并给予 1 nmol 相应的化合物。给药通过饲管在 100 微升植物油中进行。给药约 24 小时后收集血清，并将其与给药前的血清一起接受使用原子吸收光谱进行的总钙分析。这些数据报告在表 2 中，并在图 7 中说明。

表 2

血清钙(骨动员)活性对 1,25(OH)₂D₃ 和 2MHP 以及 2-亚甲基-19-去甲-20(S)-1,25(OH)₂D₃ 的单剂给药前和给药后的反应

治疗	给药前*	SE	给药后*	SE
载体	4.70	0.08	4.64	0.12
1,25-(OH) ₂ D ₃	4.51	0.05	5.42	0.09
1 α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型孕钙佛醇	4.86	0.13	4.36	0.16
20(S)-1 α ,25-(OH) ₂ -2-亚甲基-19-去甲维生素 D ₃	4.45	0.06	7.33	0.15

*以上是来自 6 只动物的平均值和标准误差(SE)。

为了治疗目的，根据本领域已知的常规方法，由式 I 定义的本发明的化合物可以配方成以下形式用于药学应用：在无毒溶剂中的溶液，或者在适宜溶剂或载体中的乳剂、混悬剂或分散体，或者与固体载体一起的丸剂、片剂或胶囊剂。任何这种配方还可以含有其它药学可接受和无毒的赋形剂，如稳定剂、抗氧化剂、粘合剂、着色剂或乳化剂或矫味剂。

化合物可以口服、局部、胃肠外或经皮给予。化合物有利地通过注射或通过静脉输注或适宜的无菌溶液给予，或者以液体或固体剂量形式经由消化道给予，或者以乳膏剂、软膏剂、贴剂或适于经皮施用的类似载体的形式给予。0.01 μ g 至 100 μ g 每日剂量的化合物适于治疗目的，该剂量如本领域所熟知的那样根据受治疗的疾病、其严重程度

度以及受试者的反应而加以调整。由于化合物显示特异性作用，因此它们各自可以适宜地单独给予，或者在发现其中不同程度骨盐动员和钙转运刺激有利的情况下，与分级剂量的另一活性维生素 D 化合物—例如 1α -羟维生素 D₂ 或 D₃、或 $1\alpha,25$ -二羟维生素 D₃ 一起给予。

供上述治疗之用的组合物包含有效量的作为活性成分的由上述式 I 定义的 1α -羟基-2-亚甲基-19-去甲-同型孕钙佛醇和适宜的载体。本发明所用的这种化合物的有效量是每 gm 组合物约 0.01 μg 至约 100 μg ，并且可以以约 0.01 $\mu\text{g}/\text{日}$ 至约 100 $\mu\text{g}/\text{日}$ 的剂量局部、经皮、口服或胃肠外给予。

化合物可以配方成乳膏剂、洗剂、软膏剂、局部用贴剂、丸剂、胶囊剂或片剂，或在药学无毒并可接受的溶剂或油中的溶液、乳剂、分散体或混悬剂的液体形式，这种制剂可以另外含有药学无毒或有益的组分，如稳定剂、抗氧化剂、乳化剂、着色剂、粘合剂或矫味剂。

化合物有利地以足以影响前髓细胞向正常巨噬细胞分化的量给予。上述剂量是适宜的，应当懂得，给药量将如本领域所熟知的那样根据疾病的严重程度和受试者的情况和反应而加以调整。

本发明的配方包含活性成分与药学可接受的载体，并且任选地包含其它治疗成分。载体必须是“可接受的”，其含义是与配方的其它成分相容并且对其接受者无毒。

适于口服给药的本发明的配方可以是如胶囊剂、小袋、片剂或锭剂的分立单位形式，各自含有预定量的活性成分；可以是散剂或颗粒剂的形式；可以是在含水液体或非水液体中的溶液剂或混悬剂的形式；或者可以是水包油型乳剂或油包水型乳剂的形式。

用于直肠给药的配方可以是掺入活性成分和载体如可可脂的栓剂的形式，或者是灌肠剂的形式。

适于胃肠外给药的配方方便地包含活性成分的无菌油性或含水制剂，其优选与接受者的血液等渗。

适于局部给药的配方包括液体或半流体制剂，如搽剂、洗剂、涂剂(applicants)、水包油型或油包水型乳剂如乳膏剂、软膏剂或糊剂；或者溶液或混悬剂如滴剂；或者如喷雾剂。

为了治疗哮喘，可以使用用喷壶、喷雾器或者雾化器发送的粉末吸入、自推进的或者喷雾配方。当发送时，配方优选具有 10 至 100 μ 的粒径。

配方可以方便地以剂量单位形式存在并且可以用药领域众所周知的任何方法制备。术语“剂量单位”是指一个单元，即包含等量活性成分或者活性成分与固体或液体药物稀释剂或载体的混合物的单一剂量，其能够作为物理和化学上稳定的单位剂量被给予患者。

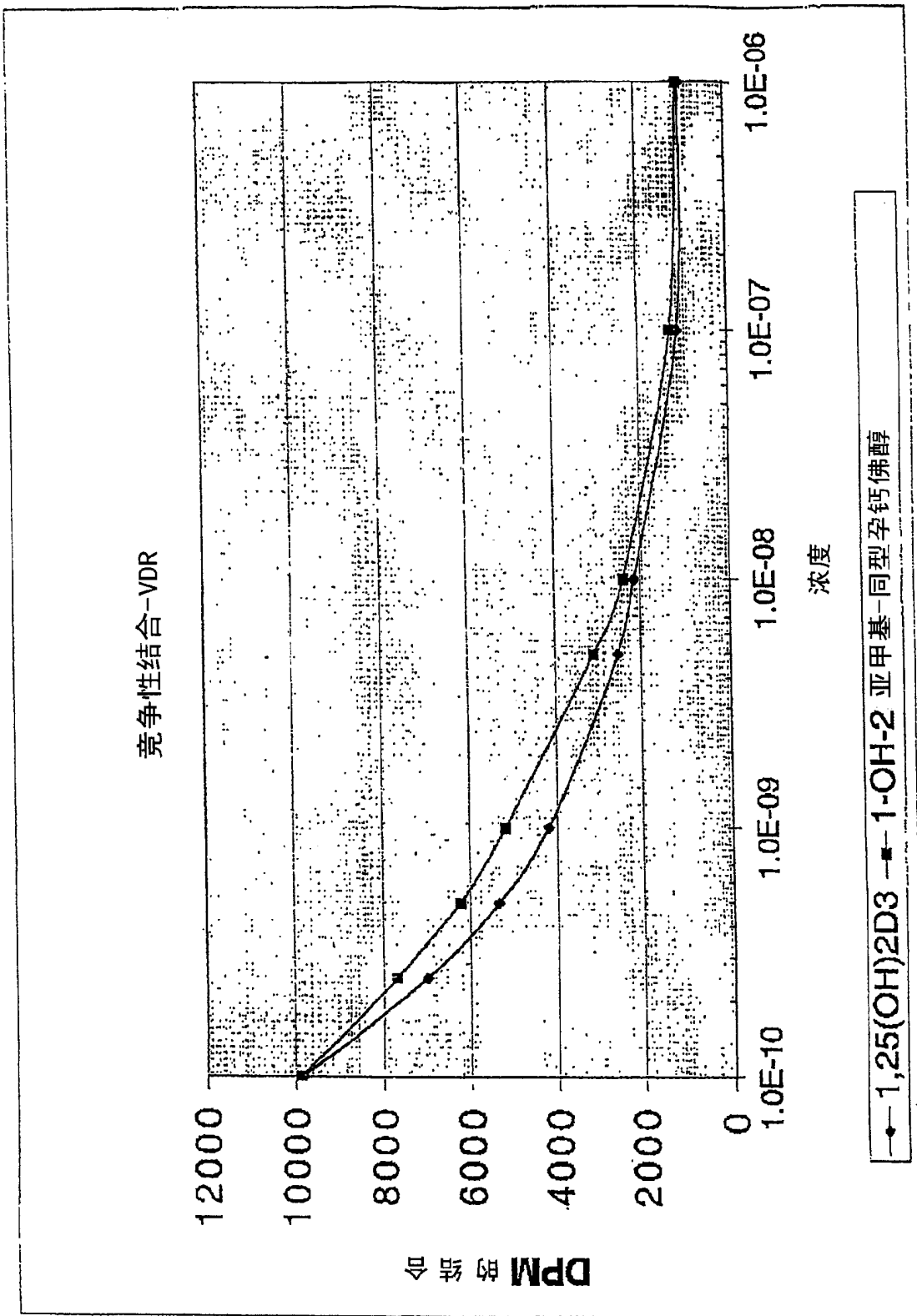


图1

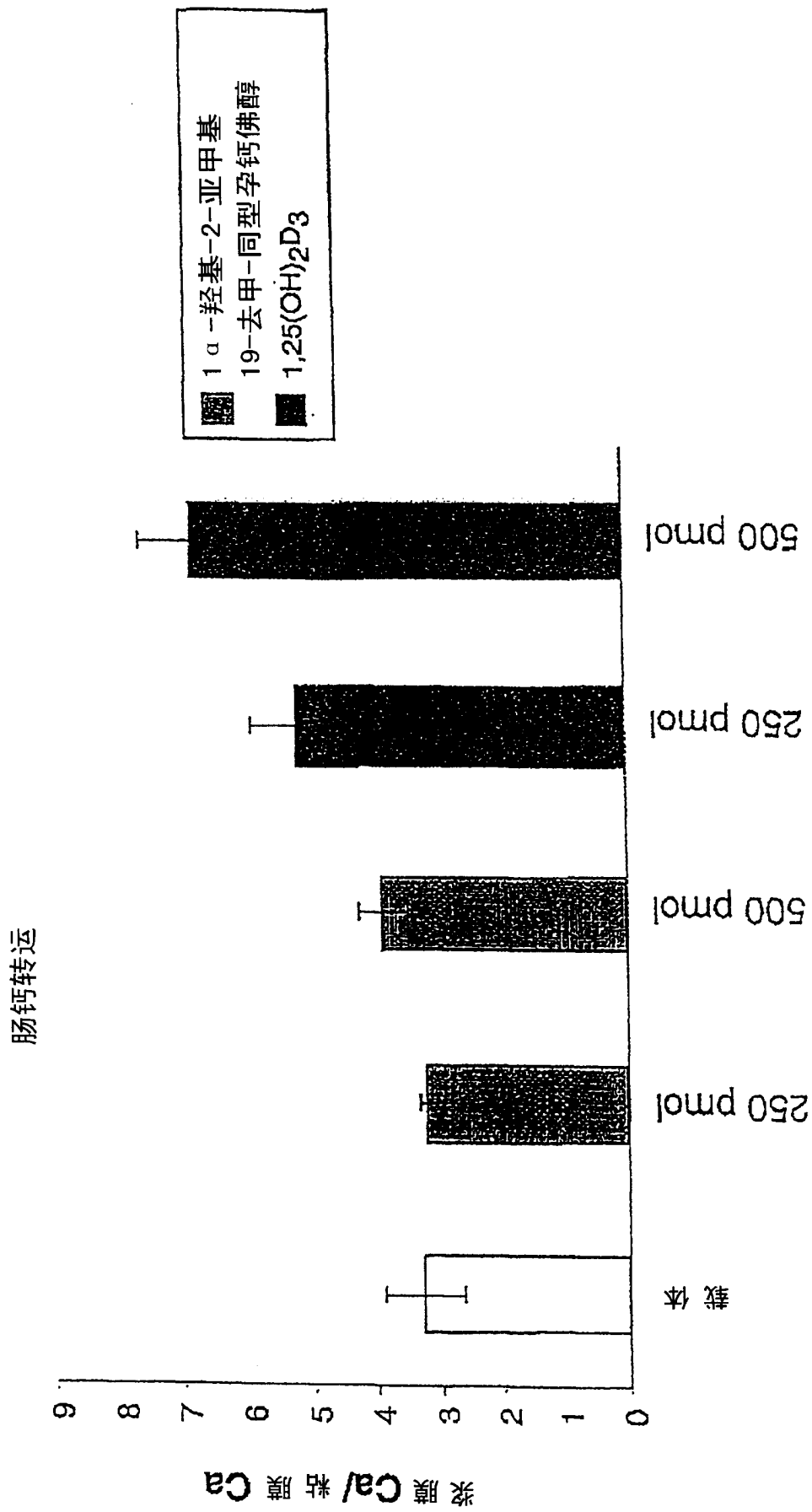


图2

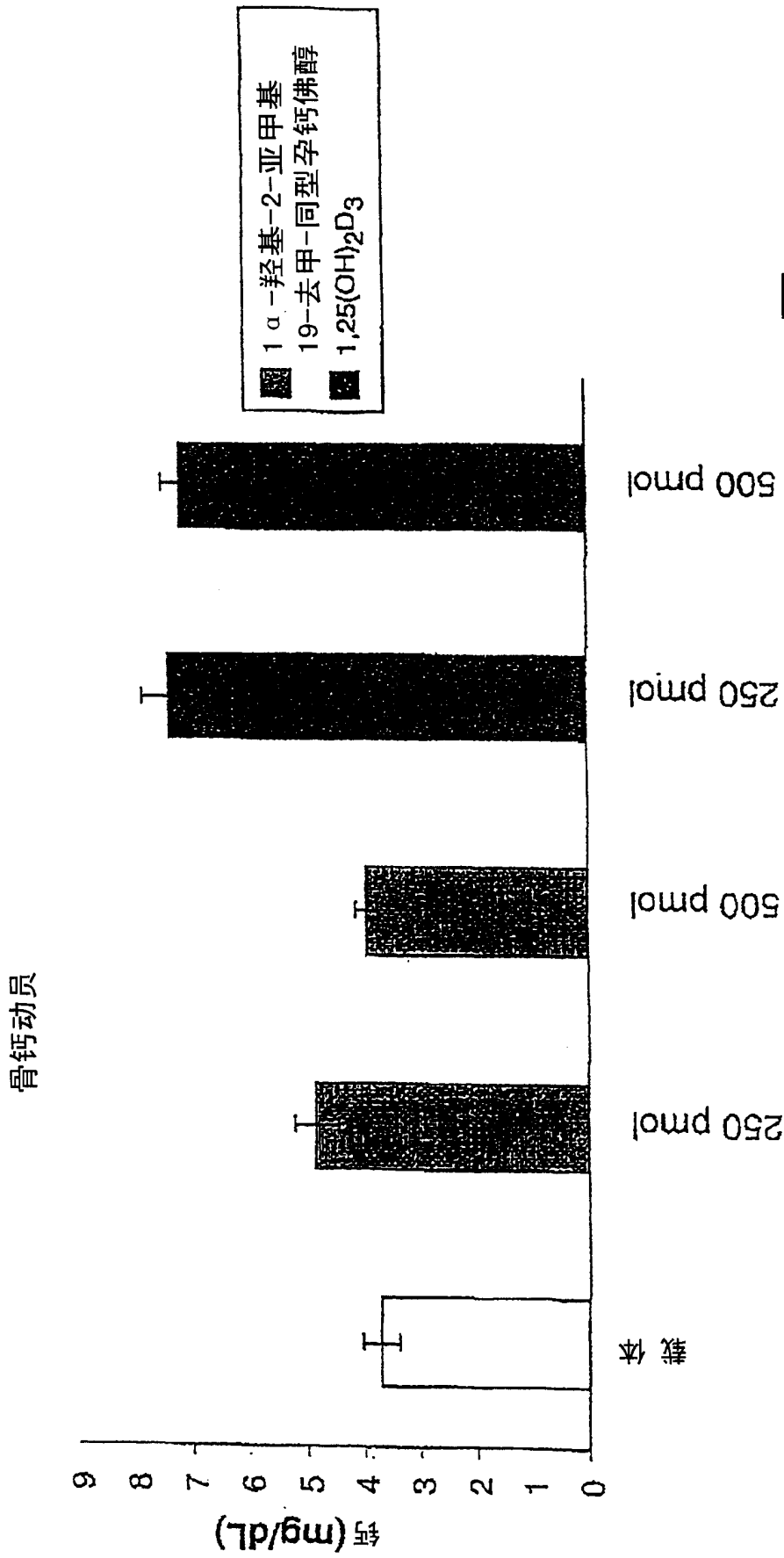


图 3

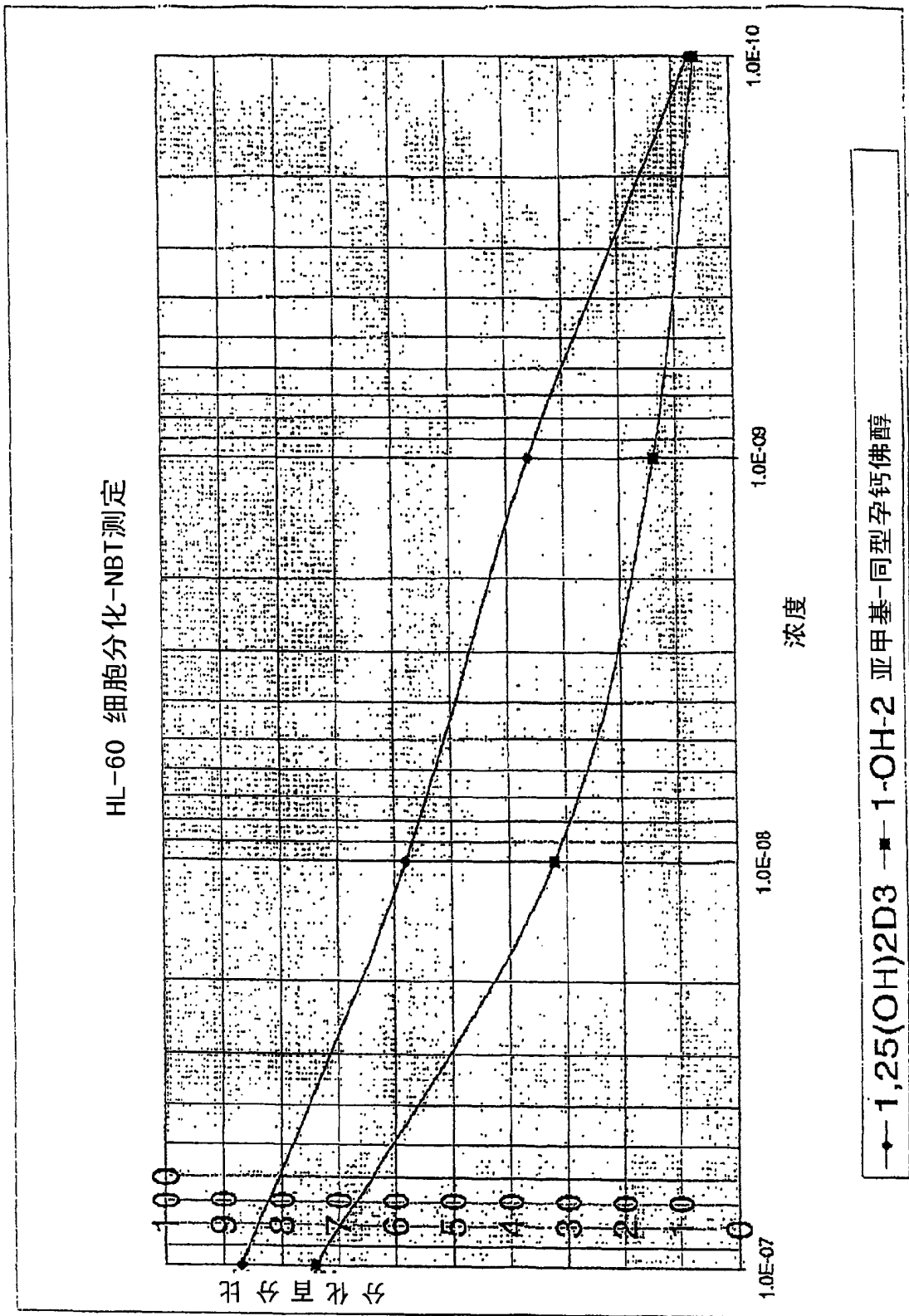


图4

骨细胞中24-羟化酶-荧光素酶的反式激活

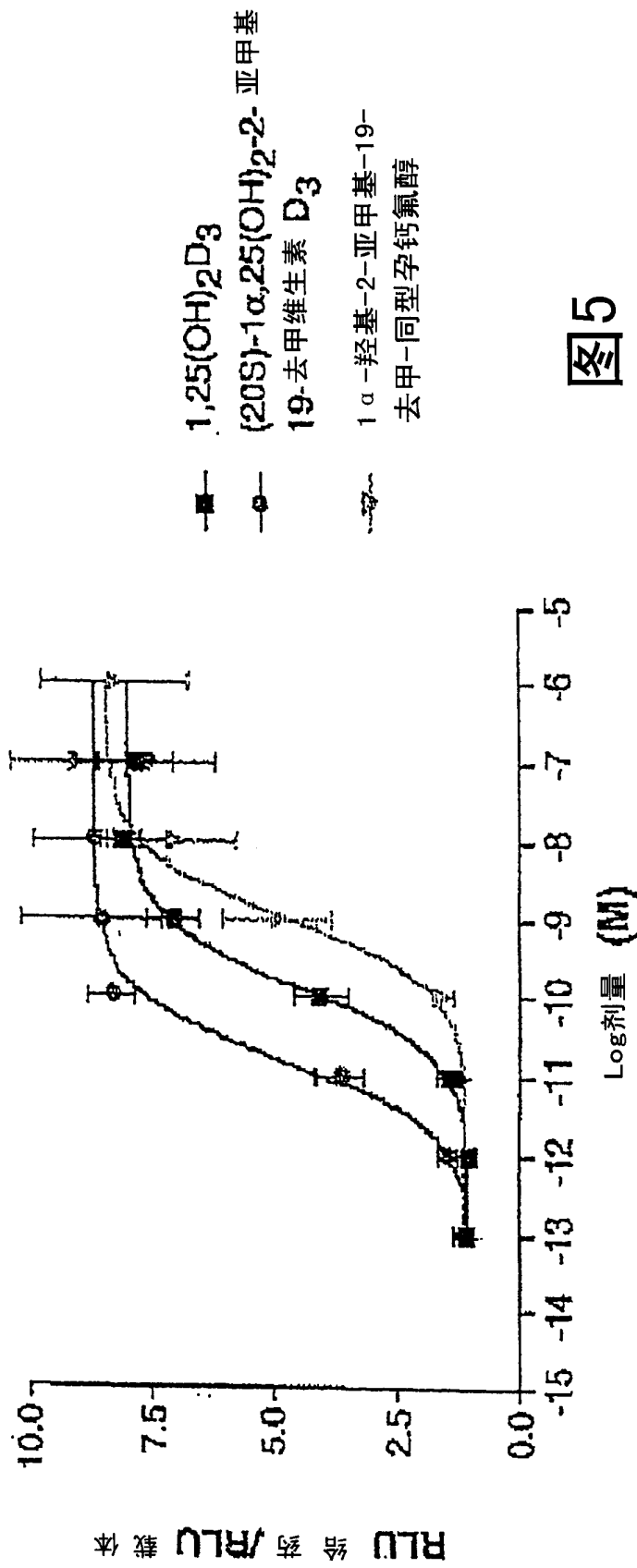


图5

肾细胞中24羟化酶-荧光素酶的反式激活

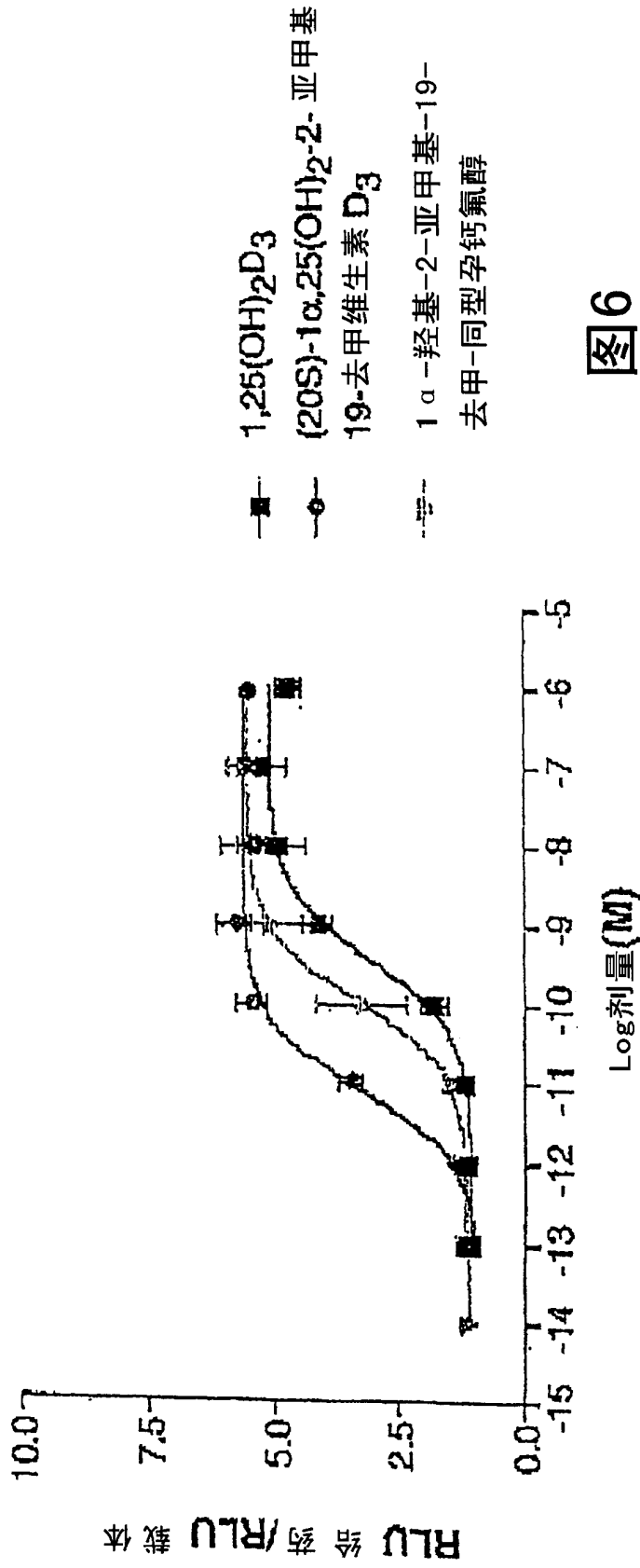


图6

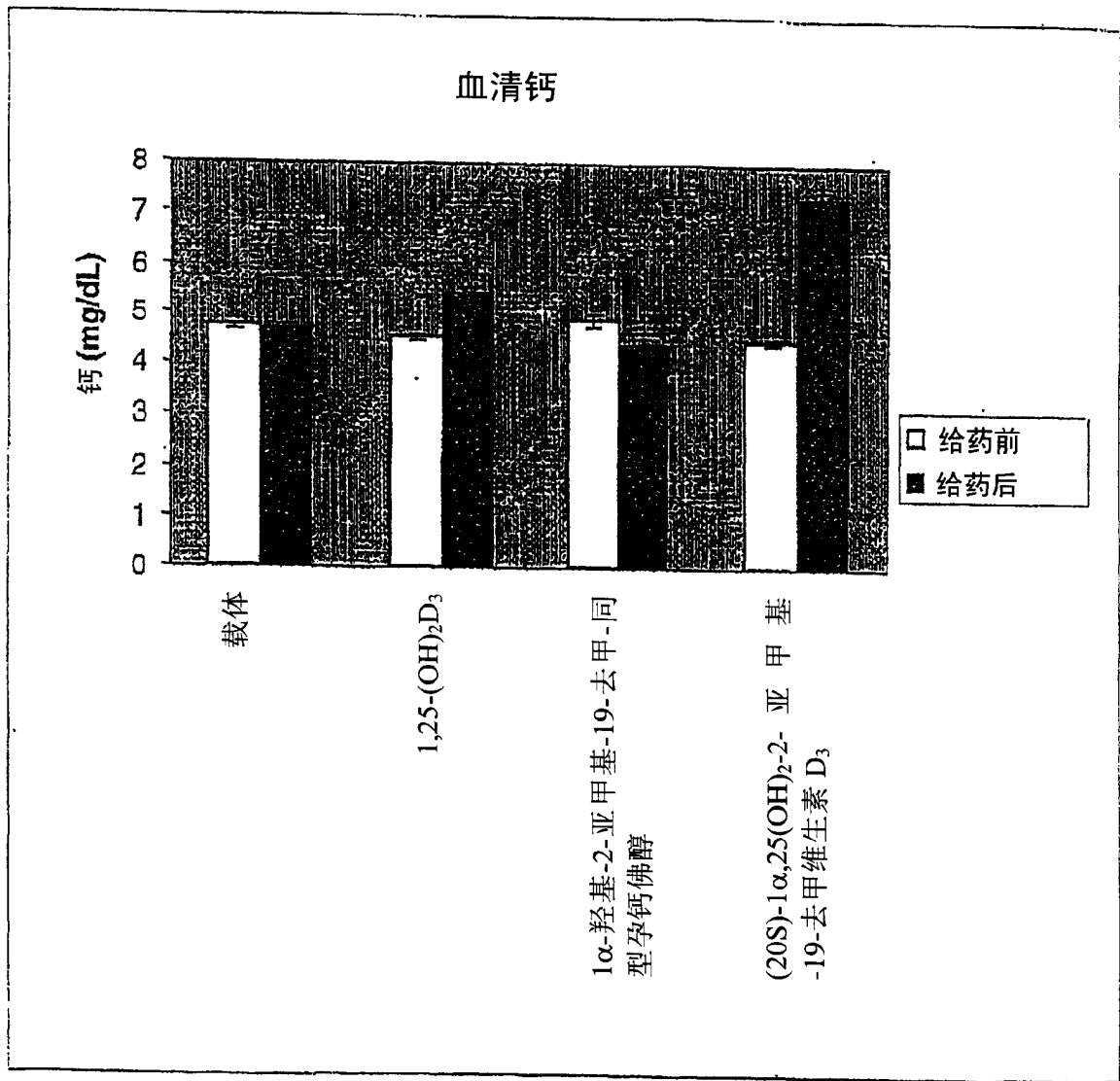


图7