

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6383365号
(P6383365)

(45) 発行日 平成30年8月29日 (2018.8.29)

(24) 登録日 平成30年8月10日 (2018.8.10)

(51) Int. Cl.

F I

C O 7 C 401/00 (2006.01)

C O 7 C 401/00 C S P

C O 7 F 7/18 (2006.01)

C O 7 F 7/18 A

A 6 1 K 31/592 (2006.01)

A 6 1 K 31/592

A 6 1 P 3/04 (2006.01)

A 6 1 P 3/04

A 6 1 P 5/18 (2006.01)

A 6 1 P 5/18

請求項の数 14 (全 25 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2015-555167 (P2015-555167)
 (86) (22) 出願日 平成25年12月23日 (2013.12.23)
 (65) 公表番号 特表2016-509601 (P2016-509601A)
 (43) 公表日 平成28年3月31日 (2016.3.31)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2013/077486
 (87) 国際公開番号 W02014/116386
 (87) 国際公開日 平成26年7月31日 (2014.7.31)
 審査請求日 平成28年11月17日 (2016.11.17)
 (31) 優先権主張番号 61/755,702
 (32) 優先日 平成25年1月23日 (2013.1.23)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 14/084,281
 (32) 優先日 平成25年11月19日 (2013.11.19)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 509087922
 ウィスコンシン アラムニ リサーチ フ
 ァンデーション
 アメリカ合衆国 ウィスコンシン州 マデ
 イソン ウォルナット ストリート 61
 4 第13 フロアー
 (74) 代理人 100102978
 弁理士 清水 初志
 (74) 代理人 100102118
 弁理士 春名 雅夫
 (74) 代理人 100160923
 弁理士 山口 裕孝
 (74) 代理人 100119507
 弁理士 刑部 俊

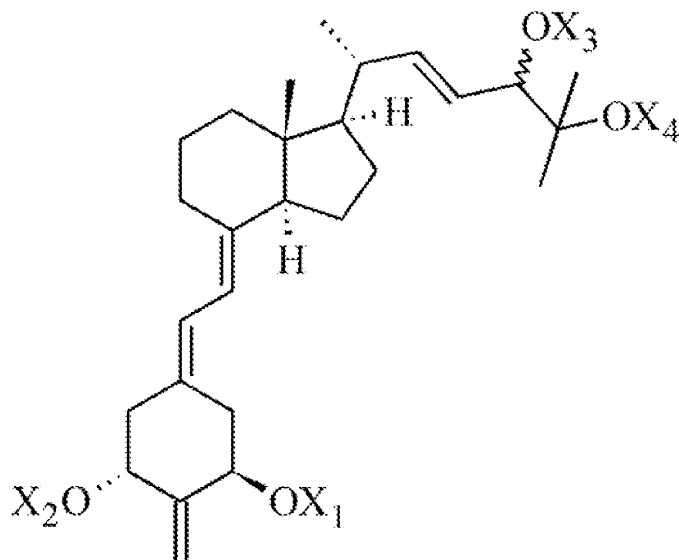
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 (22E) -2-メチレン-22-デヒドロ-1 α , 24, 25-トリヒドロキシ-19-ノル
 -ビタミンD3類似体

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

式：



を有する化合物であって、

式中、X₁、X₂、X₃、およびX₄が、同一でも異なってもよく、それぞれ水素

またはヒドロキシ保護基より選択され、ならびに前記ヒドロキシ保護基が、アルコキシカルボニル基、アシル基、アルキルシリル基、アルキルアリアルシリル基、およびアルコキシアルキル基からなる群より選択される、
前記化合物。

【請求項 2】

X_1 および X_2 が *t*-ブチルジメチルシリルである、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 3】

X_1 および X_2 が水素である、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 4】

X_3 および X_4 がトリエチルシリルである、請求項 1 に記載の化合物。

10

【請求項 5】

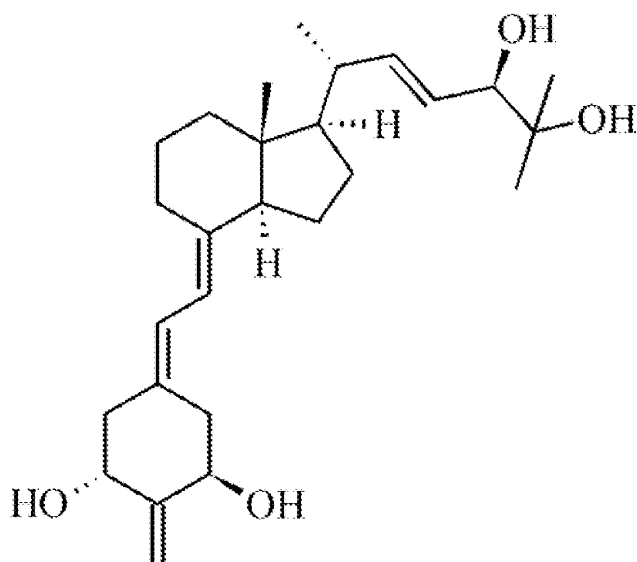
X_3 および X_4 が水素である、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 6】

X_1 、 X_2 、 X_3 、および X_4 が水素である、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 7】

式：



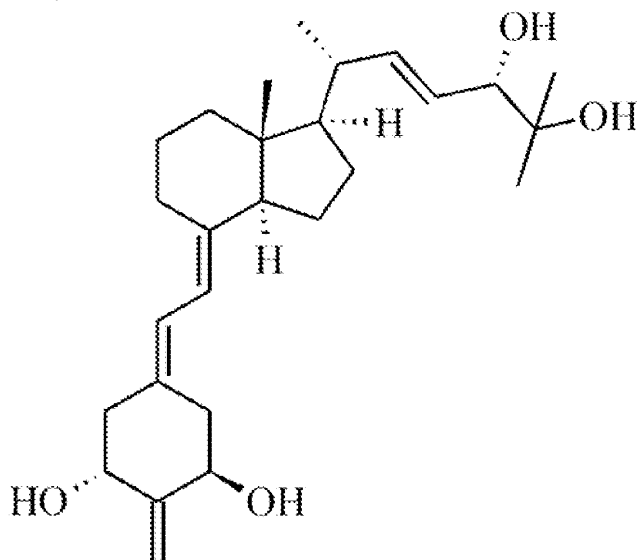
20

30

を有し、かつ (22E) - (24R) - 2 - メチレン - 22 - デヒドロ - 1, 24, 25 - トリヒドロキシ - 19 - ノル - ビタミン D₃ と命名された、化合物。

【請求項 8】

式：



40

50

を有し、かつ(22E)-(24S)-2-メチレン-22-デヒドロ-1,24,25-トリヒドロキシ-19-ノル-ビタミンD₃と命名された、化合物。

【請求項9】

請求項1～8のいずれか一項に記載の化合物の有効量と薬学的に許容される賦形剤とを含む、薬学的組成物。

【請求項10】

請求項1～8のいずれか一項に記載の化合物の有効量を含む、患者において骨疾患または骨障害を処置または予防するための薬学的組成物。

【請求項11】

請求項1～8のいずれか一項に記載の化合物の有効量を含む、患者において骨強度を増大するための薬学的組成物。

10

【請求項12】

請求項1～8のいずれか一項に記載の化合物の有効量を含む、患者において皮膚疾患、皮膚障害、または皮膚状態を処置または予防するための薬学的組成物。

【請求項13】

請求項1～8のいずれか一項に記載の化合物の有効量を含む、患者において細胞増殖性疾患または細胞増殖性障害を処置または予防するための薬学的組成物。

【請求項14】

請求項1～8のいずれか一項に記載の化合物の有効量を含む、患者において腎性骨異常症の二次性副甲状腺機能亢進症を処置するための薬学的組成物。

20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は2013年1月23日出願の米国特許仮出願第61/755,702号の米国特許法119条(e)項に基づく恩典を主張し、その全体が参照により本明細書に組み入れられる。

【0002】

本発明の分野は、ビタミンD化合物に関し、より具体的には、(22E)-2-メチレン-22-デヒドロ-1,24,25-トリヒドロキシ-19-ノル-ビタミンD₃類似体およびそれらの薬学的使用に関する。

30

【背景技術】

【0003】

天然ホルモンである1,25-ジヒドロキシビタミンD₃、およびエルゴステロール系列のその類似体、すなわち1,25-ジヒドロキシビタミンD₂は、動物およびヒトにおけるカルシウム恒常性に関する非常に強力な制御因子であることが知られており、細胞分化におけるそれらの活性も確立された(Ostrem et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84, 2610 (1987)(非特許文献1)を参照)。1-ヒドロキシビタミンD₃、1-ヒドロキシビタミンD₂、様々な側鎖同族体化(side-chain homologated)類似体およびフッ素化類似体を含むこれらの代謝産物の多くの構造類似体が調製および試験された。これらのビタミンD類似体のうちいくつかは、カルシウム制御および細胞分化に関連する天然ビタミンD化合物に比べて減少または増大した生物活性を含む、天然ビタミンD化合物の生物活性とは異なる生物活性を示す。ビタミンD類似体は、生物活性の差は、ビタミンD化合物のいくつかの生物活性が望ましいがビタミンD化合物の他の生物活性が望ましくない、腎性骨異常症、ビタミンD抵抗性くる病、骨粗鬆症、乾癬および特定の悪性腫瘍などの種々の疾患の処置において用いることができる。

40

【0004】

ビタミンD類似体の1つのクラス、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系に典型的なA環外メチレン基(炭素19)を2個の水素原子で置き換えることを特徴とする。いくつかの19-ノル-類似体(例えば1,25-ジヒドロキシ-19-ノル-ビタミンD₃)は、細胞分化を誘導する高い有効性、およびカルシウム動員活性を誘導する低い有効性を特徴

50

とする、選択的な生物活性プロファイルを示す。したがって、これらの化合物のうちいくつかは悪性腫瘍の処置または様々な皮膚障害の処置用の治療的物質として潜在的に有用である。そのような19-ノル-ビタミンD類似体を合成するための方法が記載されている(Perlman et al., Tetrahedron Lett. 31, 1823 (1990)(非特許文献2); Perlman et al., Tetrahedron Lett. 32, 7663 (1991)(非特許文献3)およびDeLuca et al., 米国特許第5,086,191号(特許文献1)を参照)。

【0005】

炭素2(C-2)においてヒドロキシ基またはアルコキシ基で置換された化合物(DeLuca et al., 米国特許第5,536,713号(特許文献2)); 2-アルキル基で置換された化合物(DeLuca et al., 米国特許第5,945,410号(特許文献3)); および2-アルキリデン基で置換された化合物(DeLuca et al., 米国特許第5,843,928号(特許文献4))を含む、C-2において置換されたビタミンD₃類似体も合成された。これらの化合物も、19-ノル類似体と同様に、選択的な生物活性プロファイルを示す。特に、米国特許第5,843,928号(特許文献4)では、「2MD」とも呼ばれる2-メチレン-(20S)-1 β ,25-ジヒドロキシ-19-ノル-ビタミンD₃類似体が開示されている。これらの類似体に関する研究は、ビタミンD受容体中の結合部位が合成ビタミンD類似体中のC-2における異なる置換基を収容することができることを示す。

【0006】

炭素2(C-2)におけるメチレン置換基、炭素1(C-1)と炭素3(C-3)との両方におけるヒドロキシル基、および炭素20(C-20)に結合した短縮側鎖の存在を特徴とする類似体を含む、さらなるビタミンD類似体が合成および試験された(1 β -ヒドロキシ-2-メチレン-19-ノル-プレグナカルシフェロールが開示されているDeLuca et al., 米国特許第6,566,352号(特許文献5); 1 β -ヒドロキシ-2-メチレン-19-ノル-ホモプレグナカルシフェロールが開示されているDeLuca et al., 米国特許第6,579,861号(特許文献6); および1 β -ヒドロキシ-2-メチレン-19-ノル-ビスホモプレグナカルシフェロールが開示されているDeLuca et al., 米国特許第6,627,622号(特許文献7)を参照)。これらの類似体は、1 β ,25-ジヒドロキシビタミンD₃に比べて相対的に高いビタミンD受容体に対する結合活性および相対的に高い細胞分化活性を示すが、血漿カルシウム上昇活性はあったとしてもほとんど示さない。これらの類似体は、その生物活性によって、種々の薬学的使用のための優れた候補となる。

【0007】

17-エン二重結合を有するビタミンD類似体、および側鎖中に二重結合を有するビタミンD化合物も公知であり、様々な薬学的使用のために提示された(Bretting, 米国特許第5,545,633号(特許文献8); Mourino et al., 米国特許第5,929,056号(特許文献9); およびvon Daehne, et al., 米国特許第6,399,797号(特許文献10)を参照)。骨粗鬆症などの骨疾患、乾癬などの皮膚障害、白血病などのがん、および皺などの美容的状态が、そのような化合物に関して提示されたごくいくつかの用途である。二重結合がその中にある側鎖を有する2-アルキリデン化合物も記載されている(DeLuca et al., 米国特許第5,843,928号(特許文献4)を参照)。

【0008】

多数のビタミンD類似体が存在するが、治療的方法において使用可能な新規類似体が望ましい。本明細書において、本発明者らはさらなるビタミンD類似体を説明する。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0009】

【特許文献1】米国特許第5,086,191号

【特許文献2】米国特許第5,536,713号

【特許文献3】米国特許第5,945,410号

【特許文献4】米国特許第5,843,928号

【特許文献5】米国特許第6,566,352号

【特許文献6】米国特許第6,579,861号

【特許文献7】米国特許第6,627,622号

10

20

30

40

50

【特許文献 8】米国特許第5,545,633号

【特許文献 9】米国特許第5,929,056号

【特許文献 10】米国特許第6,399,797号

【非特許文献】

【0010】

【非特許文献 1】Ostrem et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84, 2610 (1987)

【非特許文献 2】Perlman et al., Tetrahedron Lett. 31, 1823 (1990)

【非特許文献 3】Perlman et al., Tetrahedron Lett. 32, 7663 (1991)

【発明の概要】

【0011】

10

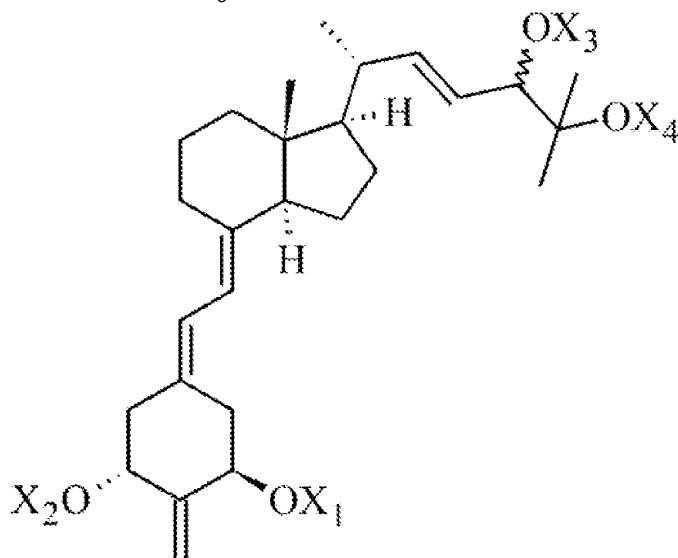
概要

(22E)-2-メチレン-22-デヒドロ-1,24,25-トリヒドロキシ-19-ノル-ビタミンD₃化合物、それらの生物活性、およびこれらの化合物の様々な薬学的使用が開示される。これらの新規ビタミンD化合物は、炭素2位(C-2)にメチレン基を有し、炭素22位(C-22)に脱飽和炭素を有することで炭素22と炭素23(C-23)との間に二重結合を生じさせ、かつ炭素1(C-1)、炭素24(C-24)および炭素25(C-25)にヒドロキシル基を有する、19-ノル-ビタミンD類似体である。また、これらの化合物は(22E)-2-メチレン-22-デヒドロ-1,24,25-トリヒドロキシ-19-ノル-ビタミンD₃類似体と命名されることがあり、本明細書において、特に本明細書におけるそれらの合成の説明、およびスキームにおいてそう呼ばれることがある。好ましいビタミンD₃類似体は、本明細書において「WT-51」とも呼ばれる(22E)-(24R)-2-メチレン-22-デヒドロ-1,24,25-トリヒドロキシ-19-ノル-ビタミンD₃、および本明細書において「WT-52」とも呼ばれる(22E)-(24S)-2-メチレン-22-デヒドロ-1,24,25-トリヒドロキシ-19-ノル-ビタミンD₃である。

20

【0012】

構造的には、これらの(22E)-2-メチレン-22-デヒドロ-1,24,25-トリヒドロキシ-19-ノル-ビタミンD₃類似体は、以下に示す一般式I:



30

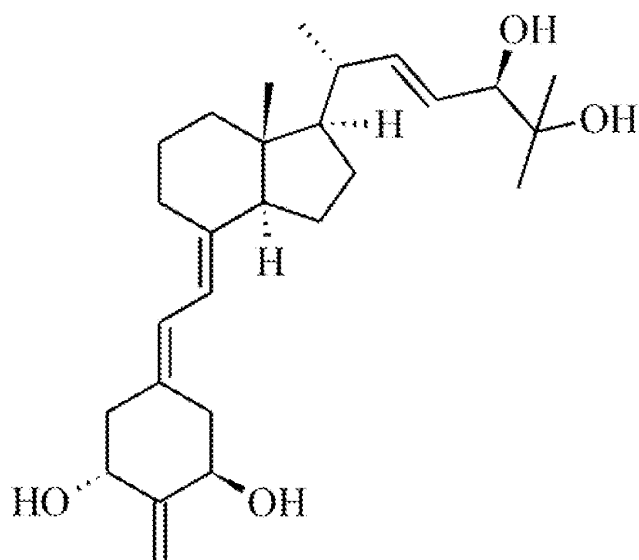
を特徴とし、

式中、X₁、X₂、X₃、およびX₄は、同一でも異なってもよく、それぞれ水素またはヒドロキシ保護基より選択される。

【0013】

1つの好ましい類似体は、下記式Ia:

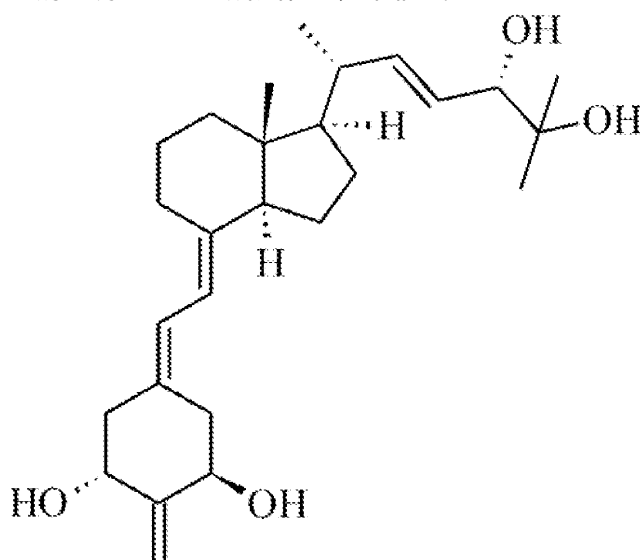
40

**Ia**

を有する、本明細書において「WT-51」とも呼ばれる (22E)-(24R)-2-メチレン-22-デヒドロ-1,24,25-トリヒドロキシ-19-ノル-ビタミンD₃である。

【0014】

別の好ましい類似体は、下記式Ib:

**Ib**

を有する、本明細書において「WT-52」とも呼ばれる (22E)-(24S)-2-メチレン-22-デヒドロ-1,24,25-トリヒドロキシ-19-ノル-ビタミンD₃である。

【0015】

本明細書に記載の通り、これらの化合物は生物活性の望ましくかつ非常に有利なパターンを示す。本化合物は、それを必要とする患者において、ビタミンD活性に関連する疾患または障害を処置および/または予防するための方法に用いることができる。いくつかの態様では、本明細書に開示される化合物は、骨量の増大が望ましい骨代謝疾患および骨代謝障害、例えば骨粗鬆症(例えば老人性骨粗鬆症、閉経後骨粗鬆症、ステロイド性骨粗鬆症および低骨代謝回転骨粗鬆症)、骨減少症、ならびに骨軟化症を含みうる骨疾患ならびに骨障害を処置ならびに/または予防するための方法に用いることができる。開示される化合物は、患者において骨強度を増大させるための方法で投与することもできる。

【0016】

他の態様では、本明細書に開示される化合物は、それを必要とする患者において皮膚疾患、皮膚障害、および皮膚状態を処置および/または予防するための方法に用いることができる。これらとしては乾癬、ざ瘡、皮膚の十分な堅さの欠如、皮膚の十分な水和の欠如、および皮脂の不十分な分泌を挙げることができるがそれらに限定されない。

【0017】

さらなる態様では、本明細書に開示される化合物は、それを必要とする患者においてがんなどの細胞増殖性疾患または細胞増殖性障害を処置および/または予防するための方法に用いることができる。これらとしては白血病、結腸がん、乳がん、皮膚がん、および前立腺がんを挙げることができるがそれらに限定されない。

【0018】

なおさらなる態様では、本明細書に開示される化合物は、それを必要とする患者において自己免疫疾患および自己免疫障害を処置および/または予防するための方法に用いることができる。これらとしては多発性硬化症、糖尿病、ループス、宿主対移植片反応、および移植片拒絶を挙げることができるがそれらに限定されない。

10

【0019】

なおさらなる態様では、本明細書に開示される化合物は、炎症性疾患を処置および/または予防するための方法に用いることができる。これらとしては関節リウマチ、喘息、および炎症性腸疾患を挙げることができるがそれらに限定されない。本化合物は、具体的には、クローン病および潰瘍性大腸炎を含む炎症性腸疾患を処置または予防する方法に用いることができる。

【0020】

なおさらなる態様では、本明細書に開示される化合物は、肥満を処置および/もしくは予防し、脂肪細胞分化を阻害し、SCD-1遺伝子転写を阻害し、かつ/または体脂肪を減少させるための方法に用いることができる。

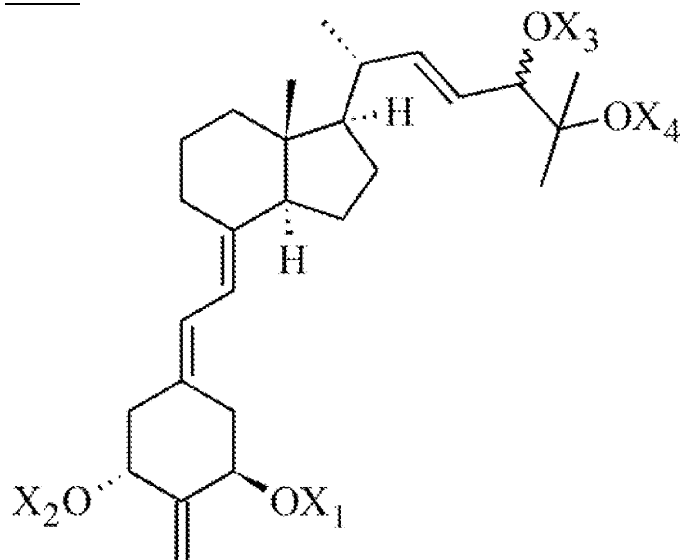
20

【0021】

なおさらなる態様では、本明細書に開示される化合物は、二次性副甲状腺機能亢進症、例えば腎性骨異栄養症の二次性副甲状腺機能亢進症を処置および/または予防するための方法に用いることができる。

[本発明1001]

式:



30

40

を有する化合物であって、

式中、 X_1 、 X_2 、 X_3 、および X_4 が、同一でも異なってもよく、それぞれ水素またはヒドロキシ保護基より選択される、化合物。

[本発明1002]

X_1 および X_2 がt-ブチルジメチルシリルである、本発明1001の化合物。

[本発明1003]

X_1 および X_2 が水素である、本発明1001の化合物。

[本発明1004]

X_3 および X_4 がトリエチルシリルである、本発明1001の化合物。

50

[本発明1005]

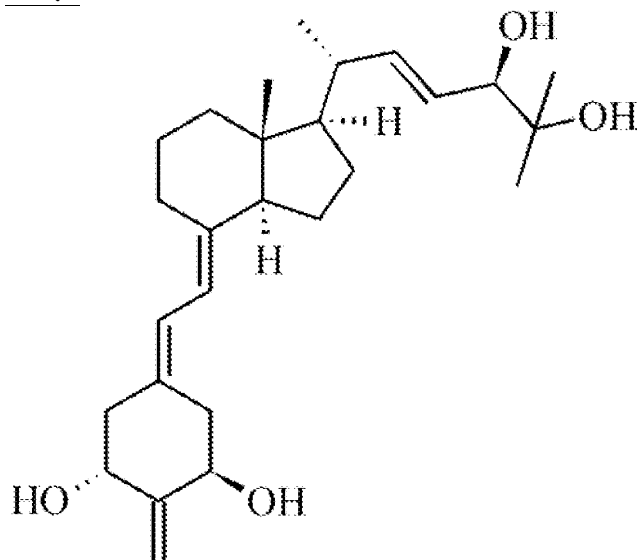
X_3 および X_4 が水素である、本発明1001の化合物。

[本発明1006]

X_1 、 X_2 、 X_3 、および X_4 が水素である、本発明1001の化合物。

[本発明1007]

式：



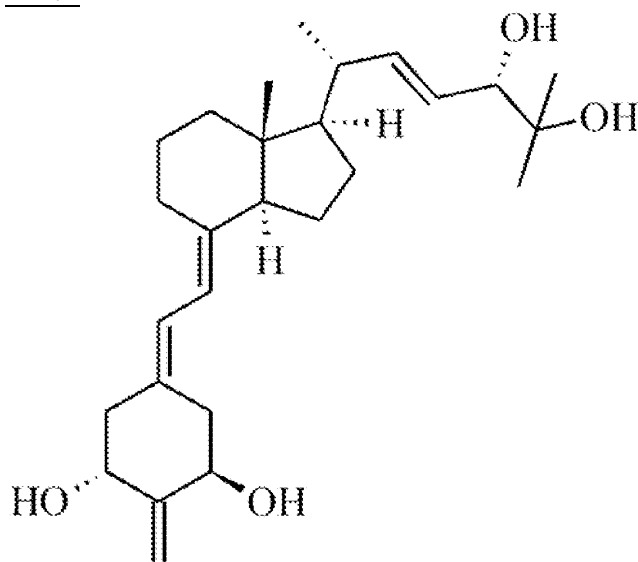
10

20

を有し、かつ(22E)-(24R)-2-メチレン-22-デヒドロ-1,24,25-トリヒドロキシ-19-ノル-ビタミンD₃と命名された、化合物。

[本発明1008]

式：



30

40

を有し、かつ(22E)-(24S)-2-メチレン-22-デヒドロ-1,24,25-トリヒドロキシ-19-ノル-ビタミンD₃と命名された、化合物。

[本発明1009]

本発明1001の化合物の有効量と薬学的に許容される賦形剤とを含む、薬学的組成物。

[本発明1010]

本発明1007の化合物の有効量と薬学的に許容される賦形剤とを含む、薬学的組成物。

[本発明1011]

本発明1008の化合物の有効量と薬学的に許容される賦形剤とを含む、薬学的組成物。

[本発明1012]

それを必要とする患者において骨疾患または骨障害を処置または予防する方法であって

50

、本発明1001の化合物の有効量を該患者に投与する段階を含む、方法。

[本発明1013]

それを必要とする患者において骨疾患または骨障害を処置または予防する方法であって、本発明1007の化合物の有効量を該患者に投与する段階を含む、方法。

[本発明1014]

それを必要とする患者において骨疾患または骨障害を処置または予防する方法であって、本発明1008の化合物の有効量を該患者に投与する段階を含む、方法。

[本発明1015]

それを必要とする患者において骨強度を増大するための方法であって、本発明1001の化合物の有効量を該患者に投与する段階を含む、方法。

[本発明1016]

それを必要とする患者において骨強度を増大するための方法であって、本発明1007の化合物の有効量を該患者に投与する段階を含む、方法。

[本発明1017]

それを必要とする患者において骨強度を増大するための方法であって、本発明1008の化合物の有効量を該患者に投与する段階を含む、方法。

[本発明1018]

それを必要とする患者において皮膚疾患、皮膚障害、または皮膚状態を処置または予防する方法であって、本発明1001の化合物の有効量を該患者に投与する段階を含む、方法。

[本発明1019]

それを必要とする患者において皮膚疾患、皮膚障害、または皮膚状態を処置または予防する方法であって、本発明1007の化合物の有効量を該患者に投与する段階を含む、方法。

[本発明1020]

それを必要とする患者において皮膚疾患、皮膚障害、または皮膚状態を処置または予防する方法であって、本発明1008の化合物の有効量を該患者に投与する段階を含む、方法。

[本発明1021]

それを必要とする患者において細胞増殖性疾患または細胞増殖性障害を処置または予防する方法であって、本発明1001の化合物の有効量を該患者に投与する段階を含む、方法。

[本発明1022]

それを必要とする患者において細胞増殖性疾患または細胞増殖性障害を処置または予防する方法であって、本発明1007の化合物の有効量を該患者に投与する段階を含む、方法。

[本発明1023]

それを必要とする患者において細胞増殖性疾患または細胞増殖性障害を処置または予防する方法であって、本発明1008の化合物の有効量を該患者に投与する段階を含む、方法。

[本発明1024]

それを必要とする患者において肥満を処置もしくは予防し、脂肪細胞分化を阻害し、SCD-1遺伝子転写を阻害し、かつ/または体脂肪を減少させる方法であって、本発明1001の化合物の有効量を該患者に投与する段階を含む、方法。

[本発明1025]

それを必要とする患者において肥満を処置もしくは予防し、脂肪細胞分化を阻害し、SCD-1遺伝子転写を阻害し、かつ/または体脂肪を減少させる方法であって、本発明1007の化合物の有効量を該患者に投与する段階を含む、方法。

[本発明1026]

それを必要とする患者において肥満を処置もしくは予防し、脂肪細胞分化を阻害し、SCD-1遺伝子転写を阻害し、かつ/または体脂肪を減少させる方法であって、本発明1008の化合物の有効量を該患者に投与する段階を含む、方法。

[本発明1027]

それを必要とする患者において腎性骨異栄養症の二次性副甲状腺機能亢進症を処置する方法であって、本発明1001の化合物の有効量を該患者に投与する段階を含む、方法。

[本発明1028]

10

20

30

40

50

それを必要とする患者において腎性骨異栄養症の二次性副甲状腺機能亢進症を処置する方法であって、本発明1007の化合物の有効量を該患者に投与する段階を含む、方法。

[本発明1029]

それを必要とする患者において腎性骨異栄養症の二次性副甲状腺機能亢進症を処置する方法であって、本発明1008の化合物の有効量を該患者に投与する段階を含む、方法。

【図面の簡単な説明】

【0022】

【図1】開示される化合物および天然ホルモン(すなわち $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$)による核ホルモン受容体に対する競合的結合を示す。図示した通り、VDRに対する結合に関してWT-51およびWT-52は天然ホルモンよりも約1log小さく競合する。

10

【図2】開示される化合物および天然ホルモンによるHL-60細胞分化の誘導を示す。図示した通り、細胞分化を促進する際にはWT-51は天然ホルモンよりもおよそ10倍強力であり、一方、WT-52は天然ホルモンと有効性が同様である。

【図3】開示される化合物および天然ホルモンによるインビトロ転写の誘導を示す。図示した通り、遺伝子転写の刺激においてWT-51は天然ホルモンよりもおよそ1log強力であり、一方、WT-52は天然ホルモンとほぼ同一の活性を示す。

【図4】開示される化合物および天然ホルモンによるラットにおけるカルシウム動員および腸管カルシウム輸送を示す。骨および腸管のいずれにおいても、WT-51およびWT-52は天然ホルモンと同様の有効性を示す。

【図5】WT-51、および「2MD」とも呼ばれる2-メチレン-(20S)-1,25-ジヒドロキシ-19-ノルピタミン D_3 による骨小結節誘導を示す。図示した通り、骨小結節誘導においてWT-51は2MDと同様の有効性を示す。

20

【図6】WT-51または2MDによる処置後の骨強度試験を示す。図示した通り、濃度60ng/kg体重のWT-51は卵巣切除ラットにおける骨強度を2.5ng/kg体重の2MDと同程度に向上させる。

【図7】WT-52のX線解析を示す。

【発明を実施するための形態】

【0023】

詳細な説明

開示される主題は、以下に定義の用語を用いてさらに記述することができる。

30

【0024】

文脈により別途指定または指示しない限り、「1つの(a)」、「1つの(an)」および「その(the)」という用語は「1つまたは複数」を意味する。例えば、「1つの化合物」および「1つの類似体」という語句は、それぞれ「1つまたは複数の化合物」および「1つまたは複数の類似体」を意味するものと解釈すべきである。

【0025】

本明細書において使用される「約」、「およそ」、「実質的に」および「著しく」は当業者に理解されるものであり、それらが使用される文脈によってある程度異なる。用語が使用される文脈があることを前提として、当業者に不明瞭にその用語が使用される場合、「約」および「およそ」は特定の用語のプラスまたはマイナス10%以下を意味し、「実質的に」および「有意に」は特定の用語のプラスまたはマイナス10%超を意味する。

40

【0026】

本明細書において使用される「含む(include)」および「含む(including)」という用語は、「含む(comprise)」および「含む(comprising)」という用語と同一の意味を有する。「含む(comprising)」という移行語は「オープンエンド型(open-ended)」であると解釈すべきであり、したがって、「含む(comprising)」という用語を用いる請求項は、記載の構成要素を必要とするが他のさらなる構成要素を含むことが許容されるものと解釈すべきである。「～から本質的になる」という移行語は「部分的クローズド型(partially closed)」であると解釈すべきであり、したがって、「～から本質的になる」という用語を用いる請求項は、記載の構成要素を必要とし、かつ特許請求される主題の基本的でかつ新規の特

50

徴に実質的に影響しない他のさらなる構成要素のみを許容するものと解釈すべきである。「～(から)なる」という移行語は「クローズド型(closed)」であると解釈すべきであり、したがって、「～(から)なる」という用語を用いる請求項は、記載の構成要素を必要としかつ他のさらなる構成要素を許容しないものと解釈すべきである。

【0027】

本明細書において使用される「天然ホルモン」および「1,25(OH)₂D₃」という用語は互換的に使用することができる。

【0028】

本明細書において使用される「WT-51」という化合物は(22E)-(24R)-2-メチレン-22-デヒドロ-1,24,25-トリヒドロキシ-19-ノル-ビタミンD₃を意味する。

10

【0029】

本明細書において使用される「WT-52」という化合物は(22E)-(24S)-2-メチレン-22-デヒドロ-1,24,25-トリヒドロキシ-19-ノル-ビタミンD₃を意味する。

【0030】

本明細書において使用される「2MD」という化合物は2-メチレン-(20S)-1,25-ジヒドロキシ-19-ノルビタミンD₃を意味する(DeLuca et al., 米国特許第5,843,928号を参照)。

【0031】

本明細書に開示される類似体は、本明細書に既に示した一般式Iを特徴とする。本明細書に開示される類似体のプロドラッグ形態および保護ヒドロキシ形態も一般式Iを特徴とする。本明細書において想定される「保護ヒドロキシ」基とは、ヒドロキシ官能基の一時的または恒久的保護に一般に使用される上記の基のいずれか(例えば本明細書に記載のシリル基、アルコキシアルキル基、アシル基またはアルコキシカルボニル基)で誘導体化または保護されたヒドロキシ基のことである。「ヒドロキシ保護基」という用語は、ヒドロキシ官能基の一時的保護に一般に使用される任意の基、例えばアルコキシカルボニル基、アシル基、アルキルシリル基、またはアルキルアリールシリル基(以下単に「シリル」基と呼ぶ)、およびアルコキシアルキル基を意味する。アルコキシカルボニル保護基とは、メトキシカルボニル、エトキシカルボニル、プロポキシカルボニル、イソプロポキシカルボニル、ブトキシカルボニル、イソブトキシカルボニル、tert-ブトキシカルボニル、ベンジルオキシカルボニル、またはアリルオキシカルボニルなどのアルキル-O-CO-基のことである。「アシル」という用語は、すべての異性体形態の炭素数1~6のアルカノイル基、またはオキサリル基、マロニル基、スクシニル基、グルタリル基などの炭素数1~6のカルボキシアルカノイル基、またはベンゾイルなどの芳香族アシル基、またはハロ置換、ニトロ置換もしくはアルキル置換ベンゾイル基を意味する。本明細書において想定される通り、本明細書または特許請求の範囲において使用される「アルキル」という用語は、すべての異性体形態の炭素数1~10の直鎖状または分岐状のアルキル基を示す。「アルコキシ」とは、酸素によって結合する任意のアルキル基(すなわち「アルキル-O-」で表される基)を意味する。アルコキシアルキル保護基とは、メトキシメチル、エトキシメチル、メトキシエトキシメチル、またはテトラヒドロフラニルおよびテトラヒドロピラニルなどの基のことである。好ましいシリル保護基としてはトリメチルシリル基、トリエチルシリル基、t-ブチルジメチルシリル基、ジブチルメチルシリル基、ジフェニルメチルシリル基、フェニルジメチルシリル基、ジフェニル-t-ブチルシリル基および類似のアルキル化シリル基がある。「アリール」という用語はフェニル基、またはアルキル置換、ニトロ置換もしくはハロ置換フェニル基を指す。「ヒドロキシアルキル」、「ジュウテロアルキル」および「フルオロアルキル」という用語は、それぞれ1個または複数のヒドロキシ基、重水素基またはフルオロ基で置換されたアルキル基を意味する。「アルキリデン」とは、Kが整数である一般式C_kH_{2k}-を有する基を意味する。

20

30

40

【0032】

構造Iを有する(22E)-2-メチレン-22-デヒドロ-1,24,25-トリヒドロキシ-19-ノル-ビタミンD₃類似体の調製は、例えばスキームIおよびIIに示す共通の一般的方法によって達成することができる。スキームIは、前駆体ケトン7を調製した後、これをアリルホスフィ

50

ンオキシド8と縮合して、炭素1(C-1)、炭素3(C-3)、炭素24(C-24)および炭素25(C-25)に保護ヒドロキシ基を含む対応する2-メチレン-22-デヒドロ-1,24,25-トリヒドロキシ-19-ノル-ビタミンD₃類似体9にするための方法を示す。続いて(22E)-2-メチレン-22-デヒドロ-1,24,25-トリヒドロキシ-19-ノル-ビタミンD₃類似体9を炭素1(C-1)、炭素3(C-3)、炭素24(C-24)および炭素25(C-25)において脱保護することで(22E)-(24R)-2-メチレン-22-デヒドロ-1,24,25-トリヒドロキシ-19-ノル-ビタミンD₃類似体10および(22E)-(24S)-2-メチレン-22-デヒドロ-1,24,25-トリヒドロキシ-19-ノル-ビタミンD₃類似体11を得る。

【0033】

スキームIでは、ヒドロキシ基の保護はベンゾイル基(Bz)、トリエチルシリル基(TES)およびt-ブチルジメチルシリル基(TBS)のうち1つにより行われる。スキームIではBz、TESおよびTBS基がヒドロキシ保護基として用いられているが、反応工程中では本明細書に記載のどのヒドロキシ保護基も用いることができる。スキームIでは、基質1と本明細書のスキームIIに示す方法により調製可能な基質2とを反応させることで前駆体3を調製する。

10

【0034】

類似体9を形成するスキームIの縮合工程は、ビタミンD化合物の調製に有効に適用された収束的合成の概念の適用を表す(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 et al., 米国特許第5,086,191号; およびDeLuca et al., 米国特許第5,536,713号を参照)。

20

【0035】

一般構造8の所要のホスフィンオキシドの調製について、市販の(1R,3R,4S,5R)-(-)-キナ酸から容易に得られるメチルキナ酸(methyl quinate)誘導体から出発する合成経路が開発された(Perlman et al., Tetrahedron Lett. 32, 7663 (1991); およびDeLuca et al., 米国特許第5,086,191号を参照)。

【0036】

本明細書に開示される通り、(22E)-2-メチレン-22-デヒドロ-1,24,25-トリヒドロキシ-19-ノル-ビタミンD₃類似体は、それを必要とする患者において疾患または障害を処置および/または予防するために用いることができる。「患者」、「対象」、および「個体」という用語は本明細書において互換的に使用することができる。

30

【0037】

それを必要とする患者は任意の動物を含みうる。動物はヒト、飼育動物、例えばイヌもしくはネコ、または農業用動物、特にヒト消費向けの食肉を供給する動物、例えばニワトリ、シチメンチョウ、キジ、もしくはウズラなどの家禽、およびウシ、ヒツジ、ヤギ、もしくはブタ動物でありうる。

【0038】

それを必要とする患者とは、ビタミンD活性に関連する疾患もしくは障害を有する患者または該疾患もしくは該障害を引き起こす危険性がある患者を意味しうる。例えば、それを必要とする患者は、骨量の増大が望ましい骨代謝疾患および骨代謝障害、例えば骨粗鬆症(例えば老人性骨粗鬆症、閉経後骨粗鬆症、ステロイド性骨粗鬆症および低骨代謝回転骨粗鬆症)、骨減少症、および骨軟化症を含みうる骨疾患ならびに骨障害を有する患者または該骨疾患ならびに該骨障害を引き起こす危険性がある患者を含みうる。それを必要とする患者はまた、骨強度の増大を必要とする患者を含みうる。

40

【0039】

それを必要とする患者は、皮膚疾患、皮膚障害、および皮膚状態を有する患者または該皮膚疾患、該皮膚障害、および該皮膚状態を発生させる危険性がある患者を含みうる。これらとしては乾癬、ざ瘡、皮膚の十分な堅さの欠如、皮膚の十分な水和の欠如、および皮脂の不十分な分泌を挙げることができるがそれらに限定されない。

【0040】

それを必要とする患者は、がんなどの細胞増殖性疾患もしくは細胞増殖性障害を有する

50

患者または該細胞増殖性疾患もしくは該細胞増殖性障害を発生させる危険性がある患者を含みうる。これらとしては白血病、結腸がん、乳がん、皮膚がん、および前立腺がんを挙げることができるがそれらに限定されない。

【0041】

それを必要とする患者は、自己免疫疾患および自己免疫障害を有する患者または該自己免疫疾患および該自己免疫障害を発生させる危険性がある患者を含みうる。これらとしては多発性硬化症、糖尿病、ループス、宿主対移植片反応、および移植片拒絶を挙げることができるがそれらに限定されない。

【0042】

それを必要とする患者は、炎症性疾患もしくは炎症性障害を有する患者または該炎症性疾患もしくは該炎症性障害を発生させる危険性がある患者を含みうる。これらとしては関節リウマチ、喘息、および炎症性腸疾患を挙げることができるがそれらに限定されない。それを必要とする患者は、クローン病および潰瘍性大腸炎を有する患者または該クローン病および該潰瘍性大腸炎を発生させる危険性がある患者を含みうる。

【0043】

それを必要とする患者は、肥満を有する患者または該肥満を発生させる危険性がある患者を含みうる。それを必要とする患者は、脂肪細胞分化を阻害し、SCD-1遺伝子転写を阻害し、かつ/もしくは体脂肪を減少させる必要がある患者またはそうすることが望ましい患者を含みうる。

【0044】

それを必要とする患者は、二次性副甲状腺機能亢進症を有する患者または該二次性副甲状腺機能亢進症を発生させる危険性がある患者を含みうる。特に、それを必要とする患者は、腎性骨異常栄養症の二次性副甲状腺機能亢進症を有する患者または該二次性副甲状腺機能亢進症を発生させる危険性がある患者を含みうる。

【0045】

予防および/または処置の目的で、式Iにより定義される本発明の化合物、特にWT-51およびWT-52を、当技術分野において公知である従来の方に従って、無害の溶媒中の溶液剤として、または好適な溶媒中もしくは担体中の乳剤、懸濁液剤もしくは分散液剤として、または固体担体と共に丸剤、錠剤、もしくはカプセル剤として、薬学的適用のために製剤化することができる。任意のそのような製剤は、安定剤、抗酸化剤、結合剤、着色料、または乳化剤もしくは味覚変革剤などの他の薬学的に許容される無毒の賦形剤を含んでもよい。

【0046】

式Iの化合物、特にWT-51およびWT-52を経口投与、局所投与、非経口投与、直腸投与、経鼻投与、舌下投与、または経皮投与することができる。本化合物は、好適な滅菌溶液剤の注射もしくは静脈内注入によって、または消化管を経由する液体剤形もしくは固体剤形で、または経皮適用に好適なクリーム剤、軟膏剤、パッチ剤、もしくは同様のビヒクルの形態で投与することが有利である。

【0047】

1日当たり0.01 μg ~ 1000 μg 、好ましくは1日当たり約0.1 μg ~ 約500 μg の用量の化合物I、特にWT-51およびWT-52が予防および/または処置の目的に適しており、そのような用量は、当技術分野において十分理解されている通り、処置すべき疾患、その重症度、および対象の応答に従って調整される。本化合物が作用特異性を示すことから、それぞれ単独で好適に投与することができるか、あるいは、異なる程度の骨塩動員およびカルシウム輸送刺激が有利であるとわかる状況では、段階的用量の別の活性ビタミンD化合物(例えば1-ヒドロキシビタミンD₂もしくはD₃、または1,25-ジヒドロキシビタミンD₃)と共に好適に投与することができる。

【0048】

上述の処置における使用のための組成物は、有効成分としての式I、特に上記式IaおよびIbにより定義されるWT-51およびWT-52の有効量と、好適な担体とを含む。本発明に従っ

10

20

30

40

50

て使用されるそのような化合物の有効量は、組成物1グラム当たり約0.01 μg ~ 約1000 μg 、好ましくは組成物1グラム当たり約0.1 μg ~ 約500 μg であり、約0.01 $\mu\text{g}/\text{日}$ ~ 約1000 $\mu\text{g}/\text{日}$ 、好ましくは約0.1 $\mu\text{g}/\text{日}$ ~ 約500 $\mu\text{g}/\text{日}$ の投薬量で局所投与、経皮投与、経口投与、直腸投与、経鼻投与、舌下投与、または非経口投与することができる。

【0049】

式Iの化合物、特にWT-51およびWT-52をクリーム剤、ローション剤、軟膏剤、局所パッチ剤、丸剤、カプセル剤もしくは錠剤、坐薬、エアロゾル剤として、または薬学的に無害で許容される溶媒もしくは油中の溶液剤、乳剤、分散液剤、もしくは懸濁液剤などの液体形態で調剤することができ、そのような調製物は、安定剤、抗酸化剤、乳化剤、着色料、結合剤または味覚変革剤などの他の薬学的に無害または有益な成分をさらに含む。

10

【0050】

式Iの化合物、特にWT-51およびWT-52は、前骨髄球の正常マクロファージへの分化を実行するために十分な量で投与することが有利でありうる。上記の投薬量が好適であり、当技術分野において十分に理解される通り、投与量は疾患の重症度、ならびに対象の状態および応答に従って調整すべきであると理解される。

【0051】

本発明の製剤は、有効成分と薬学的に許容されるその担体および任意で他の治療的成分との結合を含む。担体は、製剤の他の成分に適合性がありそのレシピエントに有害でないという意味で「許容される」ものでなければならない。

【0052】

20

経口投与に好適な本発明の製剤は、それぞれ所定量の有効成分を含むカプセル剤、サシエ剤、錠剤、もしくは舐剤などの分離単位の形態；散剤もしくは顆粒剤の形態；水性液体中もしくは非水性液体中の溶液剤もしくは懸濁液剤の形態；または水中油型乳剤もしくは油中水型乳剤の形態でありうる。

【0053】

直腸投与用製剤は、有効成分とカカオバターなどの担体とを包含する坐薬の形態、または浣腸剤の形態でありうる。

【0054】

非経口投与に好適な製剤は、レシピエントの血液と等張性であることが好ましい有効成分の滅菌油性または水性調製物を好都合に含む。

30

【0055】

局所投与に好適な製剤としては、リニメント剤、ローション剤、塗布剤；クリーム剤、軟膏剤、もしくはペースト剤などの水中油型もしくは油中水型乳剤；または液滴剤などの溶液剤もしくは懸濁液剤；またはスプレー剤などの、液体または半液体調製物が挙げられる。

【0056】

経鼻投与では、スプレー缶、ネブライザーまたは噴霧器によって分配される散剤、自己推進製剤またはスプレー剤の吸入を使用することができる。製剤は分配される際に10 ~ 100 μ の範囲の粒径を有することが好ましい。

【0057】

40

製剤は、単位剤形で好都合に提示することができ、薬学分野において周知の方法のいずれかによって調製することができる。「単位剤形」という用語は、有効成分をそのまま、または固体もしくは液体の薬学的希釈剤もしくは担体との混合物として含む、物理的および化学的に安定な単位剤形として患者に投与可能な一体の、すなわち単一の剤形を意味する。

【実施例】

【0058】

以下の実施例は例示的なものであり、特許請求される主題の範囲を限定することを意図するものではない。

【0059】

50

実施例1および実施例2では、紫外(UV)吸収スペクトルを記載の溶媒中にてBeckman-Coulter DU 530紫外可視分光光度計によって記録した。¹H核磁気共鳴(NMR)スペクトルを記載の溶媒中にて400MHzまたは500MHzでBruker Instruments DMX-400およびDMX-500 Avanceコンソール分光計によって記録した。¹³C核磁気共鳴(NMR)スペクトルを記載の溶媒中にて101MHzまたは126MHzでBruker Instruments DMX-400およびDMX-500 Avanceコンソール分光計によって記録した。化学シフト()を内部Me₄Si(0.00)から低磁場で報告する。電子衝撃(EI)質量スペクトルをMicromass AutoSpec(マサチューセッツ州Beverly)機器によって記録した。高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を、モデルDelta 600溶媒送達システム、モデル600コントローラ、Rheodyne 7725i注入器およびモデル2487二重 吸光度検出器を備えたWaters Associates液体クロマトグラフ上で行った。旋光度値を記載の濃度および溶媒中でPerkin-Elmerモデル343旋光計によって記録した。

10

【 0 0 6 0 】

実施例1 - (22E)-(24R)-2-メチレン-22-デヒドロ-1 ,24,25-トリヒドロキシ-19-ノル-ビタミンD₃(化合物WT-51)および(22E)-(24S)-2-メチレン-22-デヒドロ-1 ,24,25-トリヒドロキシ-19-ノル-ビタミンD₃(化合物WT-52)の調製

(22E)-デス-A,B-8 -ベンゾイルオキシ-24-オキソ-25-[(トリエチルシリル)オキシ]-22-デヒドロコレスタン(3)

2(スキーム1; 250mg; 0.64mmol)のテトラヒドロフラン(1.5ml)中攪拌溶液にリチウムヘキサメチルジシラジドのテトラヒドロフラン中1M溶液(700 μl; 0.70mmol)を滴下した。1時間後、1¹(200mg; 0.64mmol)のテトラヒドロフラン(1.5ml)溶液をカニューレ経由で添加した。反応混合物を3日間攪拌した。次に飽和NH₄Cl水溶液(2ml)、ブライン(2ml)および水(5ml)を0 で添加し、得られた混合物を二塩化メチレン(3×50ml)で抽出した。有機相を無水Na₂SO₄で乾燥させ、減圧濃縮し、残渣をカラムクロマトグラフィー(2~5%酢酸エチル/ヘキサン)で精製して200mg(0.39mmol; 収率61%)の3を得た。

20

[α]_D²⁵ = +94.3 (c 1.1, CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 0.60 (6H,

q, J = 7.9 Hz), 0.95 (9H, t, J = 7.9 Hz), 1.10 (3H, s), 1.12 (3H, d, J = 6.6 Hz), 1.34 (6H, s), 2.04 (2H, m), 2.32 (1H, m), 5.42 (1H, br d, J = 1.9 Hz), 6.71 (1H, d, J = 15.4 Hz), 6.84 (1H, dd, J = 15.4 Hz, J = 8.6 Hz), 7.45 (2H, t, J = 7.4 Hz), 7.56 (1H, t, J = 7.4 Hz), 8.05 (2H, d, J = 7.4 Hz); ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 6.5, 7.0, 13.8, 18.0, 19.2, 22.6, 27.0, 27.1, 27.2, 30.5, 39.8, 42.2, 51.4, 55.4, 72.0, 78.8, 121.7, 128.4, 129.5, 132.7, 153.2, 166.4, 203.2; C₃₁H₄₉O₄Siの精密質量(ESI)計算値 ([M + H]⁺) 513.3395, 実測値 513.3405

30

【 0 0 6 1 】

(22E)-デス-A,B-8 -ベンゾイルオキシ-24-ヒドロキシ-25-[(トリエチルシリル)オキシ]-22-デヒドロコレスタン(4、24-異性体の混合物)

3(200mg; 0.39mmol)のテトラヒドロフラン(1.5ml)およびエタノール(4.5ml)中攪拌溶液にCeCl₃ × 7H₂O(298mg; 0.80mmol)およびNaBH₄(46mg; 1.20mmol)を0 で添加した。30分後、飽和NH₄Cl水溶液(2ml)および水(5ml)を添加し、混合物を二塩化メチレン(3×40ml)で抽出した。有機相を無水Na₂SO₄で乾燥させ、減圧濃縮し、残渣をカラムクロマトグラフィー(5~15%酢酸エチル/ヘキサン)で精製して180mg(0.35mmol; 収率90%)の4を24-ジアステレオ異性体の混合物として得た。C₃₁H₅₀O₄SiNaの精密質量(ESI)計算値 ([M+Na]⁺) 537.3371、実測値 537.3380。

40

【 0 0 6 2 】

(22E)-デス-A,B-8 -ベンゾイルオキシ-24,25-ジ-[(トリエチルシリル)オキシ]-22-デヒドロコレスタン(5、24-異性体の混合物)

4(150mg; 0.29mmol)および2,6-ルチジン(67 μl; 62mg; 0.58mmol)の二塩化メチレン(1ml)中攪拌溶液にトリエチルシリルトリフルオロメタンスルホネート(79 μl; 92mg; 0.35mmol)を-50 で滴下した。20分後、湿潤二塩化メチレン(1ml)および水(5ml)を添加し、混合

50

物を二塩化メチレン(3×25ml)で抽出した。有機相を無水Na₂SO₄で乾燥させ、減圧濃縮した。残渣をカラムクロマトグラフィー(ヘキサン～3%酢酸エチル/ヘキサン)で精製して165mg(0.26mmol; 収率90%)の5を得た。C₃₇H₆₄O₄Si₂Naの精密質量(ESI)計算値([M+Na]⁺)651.4236、実測値651.4234。

【0063】

(22E)-デス-A,B-24,25-ジ-[(トリエチルシリル)オキシ]-22-デヒドロコレストン-8 -オール(6、24-異性体の混合物)

5(160mg; 0.25mmol)のテトラヒドロフラン(3ml)溶液を0 にてメチルマグネシウムブロミドのジエチルエーテル中3M溶液(750 μl; 2.25mmol)で5時間処理した。飽和NH₄Cl水溶液(2ml)、ブライン(2ml)および水(5ml)を慎重に添加し、混合物を二塩化メチレン(3×25ml)で抽出した。有機相を無水Na₂SO₄で乾燥させ、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルSep-Packカートリッジ(5～15%酢酸エチル/ヘキサン)上で精製して106mg(0.20mmol; 収率81%)の6を得た。C₃₀H₆₀O₃Si₂Naの精密質量(ESI)計算値([M+Na]⁺)547.3974、実測値547.3957。

【0064】

(22E)-デス-A,B-24,25-ジ-[(トリエチルシリル)オキシ]-22-デヒドロコレストン-8-オン(7、24-異性体の混合物)

6(65mg; 120 μmol)およびp-トルエンスルホン酸ピリジニウム(2結晶)の二塩化メチレン(6ml)溶液をニクロム酸ピリジニウム(150mg; 400 μmol)で3時間処理した。混合物をシリカゲルSep-Packカートリッジ(3～7%酢酸エチル/ヘキサン)上で精製して54mg(103 μmol; 86%)の7を得た。C₃₀H₅₈O₃Si₂Naの精密質量(ESI)計算値([M+Na]⁺)545.3817、実測値545.3817。

【0065】

(22E)-(24R)-2-メチレン-22-デヒドロ-1 ,24,25-トリヒドロキシ-19-ノルビタミンD₃(10、WT-51)および(22E)-(24S)-2-メチレン-22-デヒドロ-1 ,24,25-トリヒドロキシ-19-ノルビタミンD₃(11、WT-52)

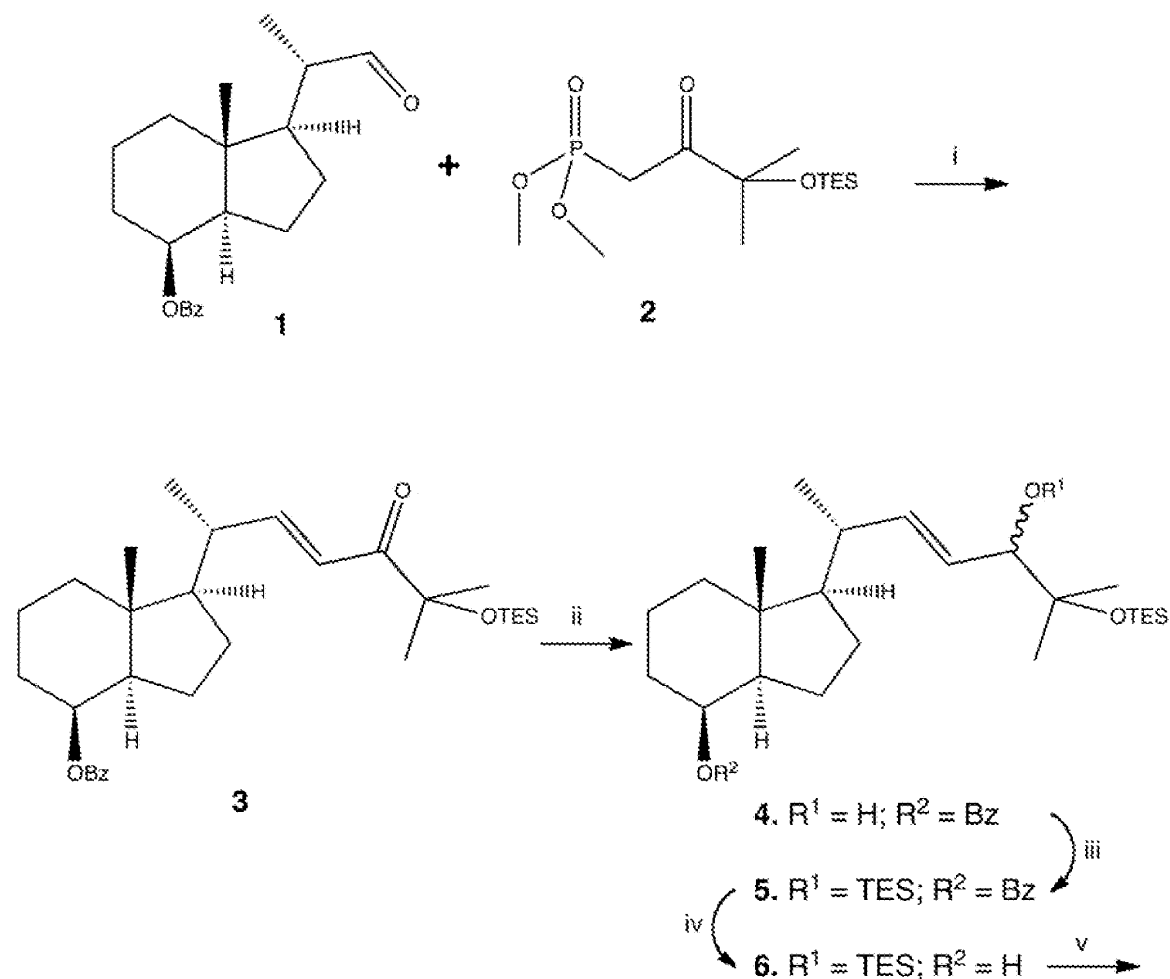
8(87mg; 150 μmol)のテトラヒドロフラン(1.5ml)中攪拌溶液にフェニルリチウムのジ-n-ブチルエーテル中1.8M溶液2滴を-25 で添加したところ、溶液は濃橙色になった。次に化学量論的量のフェニルリチウム溶液(78 μl; 140 μmol)を滴下した。20分後、混合物を-78 に冷却し、7(53mg; 101 μmol)のテトラヒドロフラン(0.75ml)溶液をカニューレ経由で移した。混合物を2時間攪拌し、0 に昇温させ、次の2時間攪拌した。飽和NH₄Cl水溶液(1ml)、ブライン(1ml)および水(5ml)を慎重に添加し、混合物をヘキサン(3×25ml)で抽出した。有機相をNa₂SO₄で乾燥させ、減圧濃縮した。残渣をシリカゲルSep-Packカートリッジ(ヘキサン～2%酢酸エチル/ヘキサン)上で精製して90mgの粗製物9を得た。粗製物9をアセトニトリル(2ml)に溶解させ、(±)-カンファー-10-スルホン酸(40mg; 172 μmol)で2日間処理した。混合物を、トリエチルアミン10滴で既に処理したシリカゲルSep-Packカートリッジ(10～30% 2-プロパノール/ヘキサン)上で精製して、28mg(65 μmol; 7からの収率64%)の10および11をジアステレオ異性体の混合物として得た。混合物をHPLC(15%水/メタノール; Zorbax-Eclipse XDB C18 5 μm; 3.5ml/分; 10のR_t = 5.30分および11のR_t = 5.80分)上で分離して9.5mg(22 μmol; 7からの収率22%)の10および13.5mg(31 μmol; 7からの収率31%)の11を得た。11のX線解析(図7)では24S配置が示された。

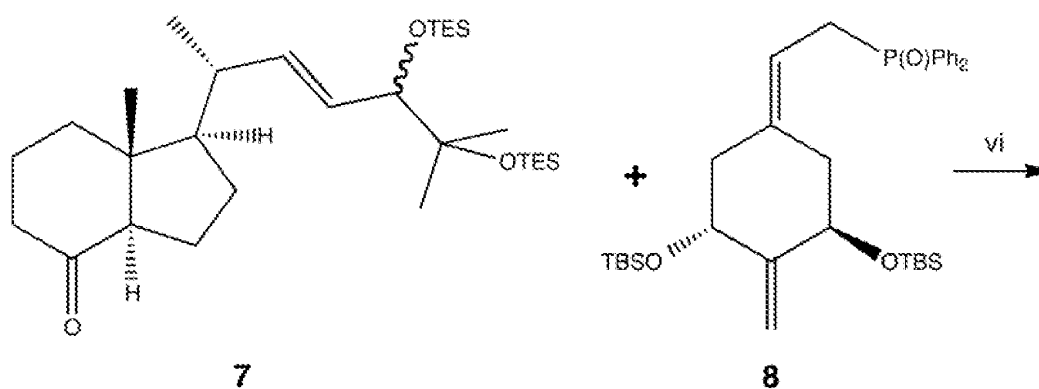
10: UV (EtOH) λ_{max} = 245, 252, 262 nm; ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ

0.60 (3H, s), 1.07 (3H, d, J = 6.6 Hz), 2 x 1.13 (各3H, s), 2.25-2.31 (2H, m), 2.48 (1H, dd, J = 13.4 Hz, J = 3.8 Hz), 2.66 (1H, dd, J = 13.2 Hz, J = 4.3 Hz), 2.85 (1H, dd, J = 12.2 Hz, J = 3.8 Hz), 3.73 (1H, d, J = 7.4 Hz), 4.37 (1H, m), 4.41 (1H, m), 5.04 (1H, s), 5.05 (1H, s), 5.43 (1H, dd, J = 15.4 Hz, J = 7.5 Hz), 5.52 (1H, dd, J = 15.4 Hz, J = 8.6 Hz), 5.90 (1H, d, J = 11.1 Hz), 6.26 (1H, d, J = 11.1 Hz); **11:** UV (EtOH) λ_{max} = 244, 252, 261 nm; ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 0.60 (3H, s), 1.06 (3H, d, J = 6.6 Hz), 1.12 (3H, s), 1.13 (3H, s), 1.65-1.70 (2H, m), 1.79-1.83 (1H, m), 1.93-2.07 (2H, m), 2.13 (1H, m), 2.25-2.31 (2H, m), 2.48 (1H, dd, J = 13.3 Hz, J = 3.9 Hz), 2.67 (1H, dd, J = 13.2 Hz, J = 4.3 Hz), 2.85 (1H, dd, J = 12.2 Hz, J = 3.7 Hz), 3.75 (1H, d, J = 6.7 Hz), 4.37 (1H, m), 4.41 (1H, m), 5.04 (1H, s), 5.06 (1H, s), 5.45 (1H, dd, J = 15.4 Hz, J = 6.9 Hz), 5.57 (1H, dd, J = 15.4 Hz, J = 8.4 Hz), 5.90 (1H, d, J = 11.1 Hz), 6.26 (1H, d, J = 11.1 Hz); MS (EI) m/z 430 (M^+ , 10), 396 (7), 253 (22), 91 (100); $\text{C}_{27}\text{H}_{42}\text{O}_4\text{Na}$ の精密質量(ESI)計算値 ($[\text{M} + \text{Na}]^+$) 453.2976, 実測値 453.2977

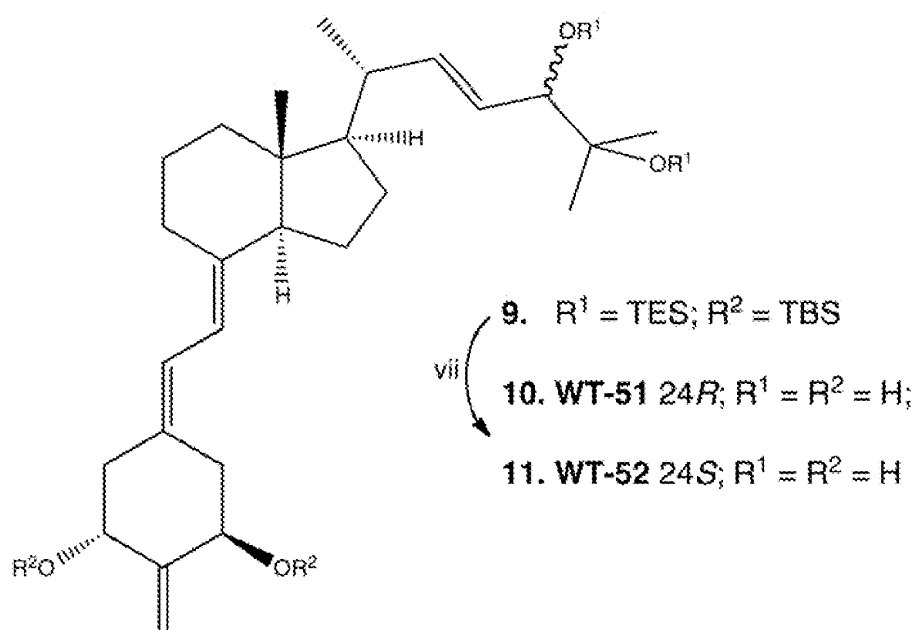
【 0 0 6 6 】

スキーム I





10



20

(i) LiHMDS、THF、61%; (ii) NaBH₄、CeCl₃ × 7H₂O、EtOH、THF、90%; (iii) TESOTf、2,6-ルチジン、CH₂Cl₂、90%; (iv) MeMgBr、Et₂O、THF、81%; (v) PDC、PPTS、CH₂Cl₂、86%; (vi) PhLi、(n-Bu)₂O、THF; (vii) CSA、MeCN、7由来の10が22%および7由来の11が31%。

【 0 0 6 7 】

実施例2 - 1-(ジメトキシホスホリル)-3-メチル-3-[(トリエチルシリル)オキシ]-2-ブタノン(化合物2)の調製

3-メチル-3-[(トリエチルシリル)オキシ]-2-ブタノン(13)

3-ヒドロキシ-3-メチル-2-ブタノン(スキーム2; 1.20ml; 1.16g; 11.4mmol)および2,6-ルチジン(1.86ml; 1.71g; 16.0mmol)の二塩化メチレン(30ml)中攪拌溶液にトリエチルシリルトリフルオロメタンスルホネート(3.11ml; 3.61g; 13.7mmol)を-50 で滴下した。20分後、湿潤二塩化メチレン(5ml)および水(50ml)を添加し、混合物を二塩化メチレン(3 × 100ml)で抽出した。有機相を無水Na₂SO₄で乾燥させ、減圧濃縮した。残渣をカラムクロマトグラフィー(ヘキサン~3%酢酸エチル/ヘキサン)で精製して2.40g(10.4mmol; 収率91%)の13を得た。

40

¹H NMR (500 MHz,

CDCl₃) δ 0.63 (6H, q, *J* = 7.9 Hz), 0.97 (9H, t, *J* = 7.9 Hz), 1.33 (6H, s), 2.23 (3H, s); ¹³C

NMR (126 MHz, CDCl₃) δ 6.5, 7.0, 27.0, 27.7, 79.7, 214.0; MS (EI) *m/z* 216 ([*M* - Et]⁺, 100),

173 (81), 172 (30) 115 (68), 87 (67); C₉H₁₉O₂Siの精密質量計算値 ([*M* - Et]⁺)

187.1149, 実測値 187.1144

50

【 0 0 6 8 】

1-ブロモ-3-メチル-3-[(トリエチルシリル)オキシ]-2-ブタノン(14)

13(2.40g; 10.4mmol)およびトリエチルアミン(2.92ml; 2.12g; 21.0mmol)の二塩化メチレン(50ml)中攪拌溶液にトリエチルシリルトリフルオロメタンスルホネート(2.37ml; 2.75g; 10.4mmol)を0 で滴下した。15分後、N-ブロモスクシンイミド(2.05g; 11.5mmol)を添加し、冷却浴を取り外した。30分後、飽和NH₄Cl水溶液(10ml)および水(50ml)を添加し、混合物を二塩化メチレン(3×100ml)で抽出した。有機相を無水Na₂SO₄で乾燥させ、減圧濃縮した。残渣をカラムクロマトグラフィー(ヘキサン~5%酢酸エチル/ヘキサン)で精製して1.55g(5.25mmol; 収率50%)の14を得た。

¹H NMR (400 MHz,

10

CDCl₃) δ 0.64 (6H, q, *J* = 7.9 Hz), 0.97 (9H, t, *J* = 7.9 Hz), 1.41 (6H, s), 4.44 (2H, s); ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 6.5, 7.0, 27.8, 33.6, 80.4, 206.2; MS (EI) *m/z* 294および296 ([M - Et]⁺, 24および23), 187 (45), 173 (100); C₉H₁₈O₂BrSiの精密質量計算値 ([M - Et]⁺)

265.0254, 実測値 265.0247

【 0 0 6 9 】

1-(ジメトキシホスホリル)-3-メチル-3-[(トリエチルシリル)オキシ]-2-ブタノン(2)

14(1.55g; 5.25mmol)および亜リン酸トリメチル(514 μl; 782mg; 6.31mmol)のトルエン(20ml)溶液を3日間還流させた。混合物をカラムクロマトグラフィー(5~15% 2-プロパノール/ヘキサン)で精製して1.54g(4.75mmol; 収率90%)の2を得た。

20

¹H NMR (400

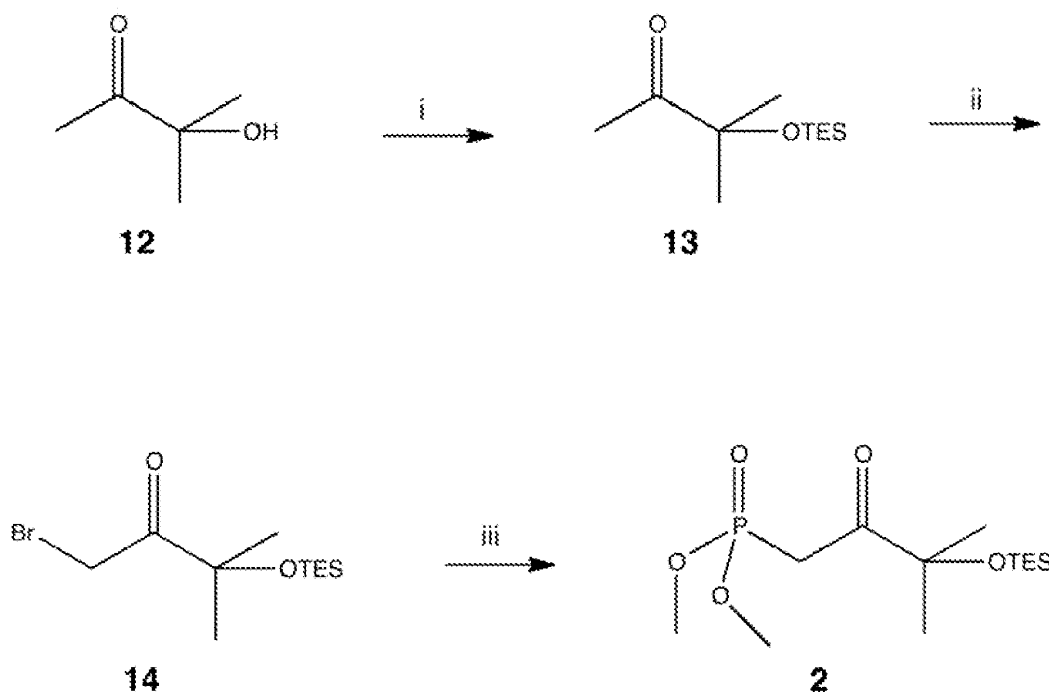
MHz, CDCl₃) δ 0.65 (6H, q, *J* = 7.9 Hz), 0.98 (9H, t, *J* = 7.9 Hz), 1.36 (6H, s), 3.40 (2H, d, *J*_{H-P} = 20.7 Hz) 3.80 (6H, d, *J*_{H-P} = 11.2 Hz); ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 6.4, 6.9, 26.8, 33.7 (d, *J*_{C-P} = 137.8 Hz), 52.8 (d, *J*_{C-P} = 6.7 Hz) 80.0, 207.1 (d, *J*_{C-P} = 6.0 Hz); MS (EI) *m/z* 324 ([M - Et]⁺, 98), 238 (65), 211 (61), 173 (100); C₁₁H₂₄O₅PSiの精密質量計算値 ([M - Et]⁺)

295.1126, 実測値 295.1126

30

【 0 0 7 0 】

スキームII



40

50

(i) TESOTf、2,6-ルチジン、 CH_2Cl_2 、91%; (ii) TESOTf、 Et_3N 、 CH_2Cl_2 ; NBS、50%; (iii) $\text{P}(\text{OMe})_3$ 、PhMe、90%。

【0071】

実施例3 - (22E)-(24R)-2-メチレン-22-デヒドロ-1,24,25-トリヒドロキシ-19-ノル-ビタミン D_3 (化合物WT-51)および(22E)-(24S)-2-メチレン-22-デヒドロ-1,24,25-トリヒドロキシ-19-ノル-ビタミン D_3 (化合物WT-52)の生物活性

実験方法

ビタミンD受容体結合

タンパク質源

全長組換えラット受容体が大腸菌(*E. coli*)BL21(DE3)コドン + RIL細胞中で発現させ、2つの異なるカラムクロマトグラフィーシステムを使用して均一になるまで精製した。第1のシステムは、このタンパク質上でC-末端ヒスチジンタグを用いるニッケルアフィニティー樹脂とした。この樹脂から溶離したタンパク質を、イオン交換クロマトグラフィー(S-セファロース高速流)を使用してさらに精製した。精製タンパク質のアリコート液体窒素中で急速凍結させ、使用まで-80℃で保管した。結合アッセイ法での使用のために、タンパク質を0.1% Chaps界面活性剤を伴うTEDK₅₀(50mM Tris、1.5mM EDTA、pH7.4、5mM DTT、150mM KCl)中で希釈した。受容体タンパク質およびリガンドの濃度を、添加された放射標識リガンドの20%以下が受容体に結合するように最適化した。

【0072】

試験薬

非標識リガンドをエタノールに溶解させ、濃度を紫外分光光度法($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$: モル吸光係数 = 18,200および λ_{max} = 265nm; 類似体: モル吸光係数 = 42,000および λ_{max} = 252nm)を使用して測定した。放射標識リガンド(^3H - $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 、約159Ci/ミリモル)をエタノール中に最終濃度1nMで添加した。

【0073】

アッセイ条件

放射標識リガンドおよび非標識リガンドを希釈タンパク質100mclに最終エタノール濃度10%以下で添加し、混合し、結合平衡に到達するように氷上で終夜インキュベートした。翌日、ヒドロキシルアパタイトスラリー(50%)100mclを各管に添加し、10分間隔で30分間混合した。ヒドロキシルアパタイトを遠心分離で収集した後、0.5% Titron X-100を含有するTris-EDTA緩衝液(50mM Tris、1.5mM EDTA、pH7.4)で3回洗浄した。最終洗浄後、ペレットをBiosafe IIシンチレーションカクテル4mlを収容するシンチレーションバイアルに移し、混合し、シンチレーションカウンターに入れた。全結合を放射標識リガンドのみを収容する管から測定した。

【0074】

HL-60分化

試験薬

試験薬をエタノールに溶解させ、紫外分光光度法を使用して濃度を測定した。細胞培養液中に存在するエタノールの最終濃度(0.2%以下)を変化させずにある範囲の薬物濃度を試験することができるように、系列希釈液を調製した。

【0075】

細胞

ヒト前骨髄球性白血病(HL-60)細胞を、10%ウシ胎仔血清を含有するRPMI-1640培地中で増殖させた。細胞を5% CO_2 の存在下、37℃でインキュベートした。

【0076】

アッセイ条件

HL-60細胞を 1.2×10^5 細胞/mlでプレーティングした。プレーティングの18時間後、二つの細胞を薬物で処理した。4日後、細胞を収集し、ニトロブルーテトラゾリウム還元アッセイ法を行った(Collins et al., 1979; J. Exp. Med. 149:969-974)。分化細胞の割合を、合計200個の細胞を計数して細胞内黒青色ホルマジン沈着物を含む数を記録すること

10

20

30

40

50

で決定した。単球細胞への分化の検証は、食細胞活性を測定することによって明らかにされた(データは示さず)。

【0077】

インビトロ転写アッセイ法

ルシフェラーゼレポーター遺伝子の上流に24-ヒドロキシラーゼ(24OHアーゼ)遺伝子プロモーターを安定的に形質移入させたROS 17/2.8(骨)細胞中で転写活性を測定した(Arbouret al., 1998)。ある範囲の用量を細胞に与えた。投薬の16時間後に、細胞を収集し、ルシフェラーゼ活性をルミノメーターを使用して測定した。RLU = 相対ルシフェラーゼ単位。

【0078】

腸管カルシウム輸送および骨カルシウム動員

雄の離乳Sprague-Dawleyラットに食餌11(0.47% Ca)食 + AEK油を1週間、続いて食餌11(0.02% Ca) + AEK油を3週間与えた。次にラットを1週間の0.47% Caを含有する食餌、続いて2週間の0.02% Caを含有する食餌に切り換えた。投薬を0.02%カルシウム食餌の最終週の間に始めた。4回の連続した腹腔内用量をおよそ24時間の間隔で与えた。最終投薬の24時間後、切断した頸部から血液を採取し、血清カルシウム濃度を骨カルシウム動員の尺度として決定した。腸管の最初の10cmも、反転腸囊法を使用する腸管カルシウム輸送分析のために採取した。

【0079】

骨小結節アッセイ法

ヒト骨芽細胞系をATCCから購入した(CRL-11372)。これらの細胞を34 においてDMEM-F12、10% FBS中5% CO₂で増殖させた。12ウェルプレート中に細胞(細胞2~4×10⁴個/ウェル)をプレATINGした4~5日後に薬物投与を開始した。2つのビタミンD類似体WT-51および2MDを試験した(DeLuca et al., 米国特許第5,843,928号を参照)。試験用量は濃度10⁻⁸M、10⁻⁹M、10⁻¹⁰M、10⁻¹¹M、10⁻¹²M、または10⁻¹³Mを含んだ。3つの別々の用量の投与を、投薬間の間隔を約48時間空けて行った。ビヒクル(1% v/v未満のエタノール)またはビタミンD類似体の最後の用量を投与した2日後に、細胞をアスコルビン酸中およびb-グリセリンリン酸中で6日間インキュベートした。次に細胞を硝酸銀で染色することで、ミネラル化した骨小結節を明らかにした。

【0080】

卵巣切除ラットモデル

4ヶ月齢の未交尾Sprague-Dawley雌ラットをベンダー(Harlan)が偽手術または卵巣切除(OVX)した。術後16週から動物にビヒクルまたは試験類似体(WTもしくは2MD)を1日1回17週間与えた。試験を通じて周期的に骨塩量(BMD)ならびに血清および尿カルシウムレベルを評価した。最後に、大腿骨を骨強度試験(3点屈曲、Numira Biosciences)用に収集した。

【0081】

生物活性データの解釈

図1に示す通り、ビタミンD受容体(VDR)に結合する際には化合物WT-51およびWT-52は天然ホルモンに比べておよそ10倍活性が低かった。しかし、図2に示す通り、HL-60細胞の細胞分化を促進する際には化合物WT-51は天然ホルモンよりもおよそ10倍有効であった。さらに、図3に示す通り、24OHアーゼ遺伝子プロモーターからの遺伝子転写を刺激する際には化合物WT-51は天然ホルモンよりもおよそ10倍有効であった。これらの結果は、本明細書に開示される類似体、特にWT-51が分化を引き起こしかつ増殖を抑制する際に直接的な細胞活性を示すことから、本類似体が乾癬などの疾患を処置するために有効であるということを示唆している。これらの結果はまた、本明細書に開示される類似体、特にWT-51が特に白血病、神経芽細胞腫、網膜芽細胞腫、黒色腫、結腸がん、乳がん、および前立腺がんに対する抗がん剤として有効であることを示唆している。

【0082】

図4に示す通り、骨カルシウム動員および腸管カルシウム輸送に関して化合物WT-51およびWT-52は天然ホルモンと同様の有効性を示す。このことは、化合物WT-51およびWT-52が

10

20

30

40

50

治療的物質として用いられる際に天然ホルモンに比べて増大した高カルシウム血症の危険性を示さないことを示唆している。

【 0 0 8 3 】

図5に示す通り、小結節形成に関して化合物WT-51は化合物2MDと同様の有効性を示した。図6に示す通り、卵巣切除ラットにおける骨強度を濃度60ng/kg体重のWT-51は濃度2.5ng/kg体重の2MDと同程度に向上させた。骨形成を刺激しかつ骨強度を増大させる際にWT-51の有効性が強力であり、かつ対応する腸管カルシウム輸送または骨カルシウム動員の増大がないことから、WT-51は、骨粗鬆症および骨代謝障害を含む様々な骨障害の予防および処置のための重要な治療として役立つ。

【 0 0 8 4 】

生物学的知見の結論

22-炭素の脱飽和および24-ヒドロキシルの導入によって、24-ヒドロキシル基の向きにかかわらず天然ホルモンよりも1log小さい親和性でビタミンD受容体(VDR)に結合する化合物が得られる。他方で、細胞分化およびインビトロ転写は24-ヒドロキシル基の向きに著しく影響され、R配置の類似体(WT-51)はS配置の類似体(WT-52)または天然ホルモンよりも1log大きい有効性を示す。WT-51の増強された有効性は、WT-51が2MDと同様の有効性を示すインビトロ骨形成モデルにおいても観察される。ラット骨減少症モデルにおけるWT-51のさらなる試験は、それが2MDと同様に骨強度を増大させることができることを示す。インビボでWT-51およびWT-52はいずれも天然ホルモンに比べて同様の腸管カルシウム輸送および骨吸収活性を示す。骨形成を刺激しかつ骨強度を増大させる際にWT-51の有効性が強力であり、かつ対応する腸管カルシウム輸送または骨カルシウム動員の増大がないことから、WT-51は様々な骨障害および骨疾患の予防および処置のための重要な治療として役立つ。

【 0 0 8 5 】

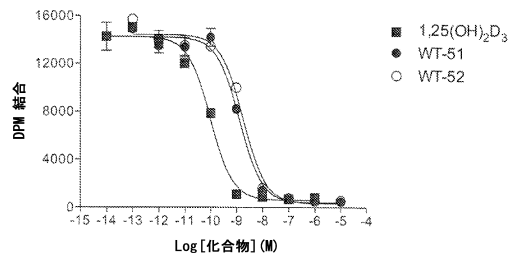
前述の説明において、当業者には本発明の範囲および真意を逸脱することなく本明細書に開示される本発明に様々な置換および修正を加えることができることが容易に明らかであろう。本明細書に例示的に記載されている本発明は、本明細書に具体的に開示されていない任意の1つまたは複数の要素、1つまたは複数の限定の非存在下で好適に実施することができる。使用された用語および表現は、限定ではなく記述の用語として使用されており、そのような用語および表現の使用において、提示および記述される特徴の任意の均等物またはその一部を排除するという意図はなく、本発明の範囲内で様々な修正が可能であると認識される。したがって、具体的な態様および任意的な特徴により本発明を説明してきたが、本明細書に開示される概念の修正および/または変形を当業者が使用することができること、および、そのような修正および変形が本発明の範囲内であると考えられることを理解すべきである。

【 0 0 8 6 】

いくつかの参照文献の引用が本明細書において行われる。引用文献はその全体が参照により本明細書に組み入れられる。本明細書におけるある用語の定義と引用文献におけるその用語の定義との間に不一致がある場合、その用語は本明細書における定義に基づいて解釈すべきである。

【図 1】

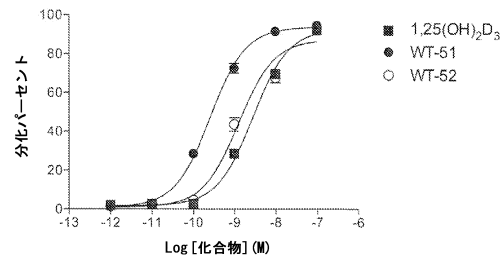
競合的VDR結合



K_i: 1,25(OH)₂D₃ = 1×10^{-11} M
 WT-51 = 2×10^{-10} M
 WT-52 = 3×10^{-10} M

【図 2】

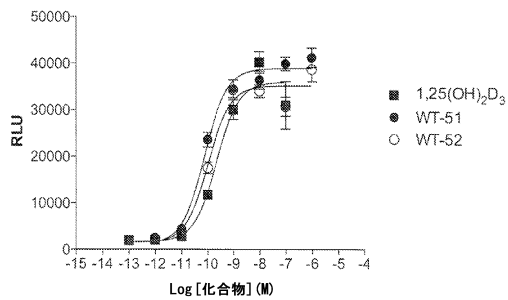
HL-60 細胞分化



EC₅₀: 1,25(OH)₂D₃ = 3×10^{-9} M
 WT-51 = 3×10^{-10} M
 WT-52 = 1×10^{-9} M

【図 3】

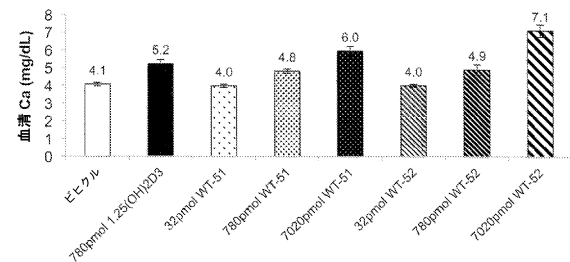
24-OHase 転写



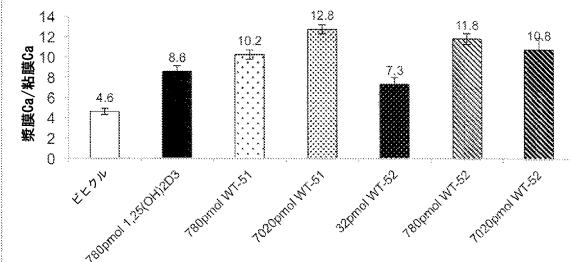
EC₅₀: 1,25(OH)₂D₃ = 2×10^{-10} M
 WT-51 = 7×10^{-11} M
 WT-52 = 1×10^{-10} M

【図 4】

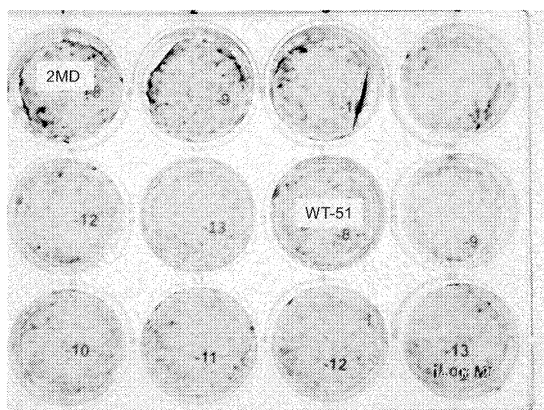
骨カルシウム動員



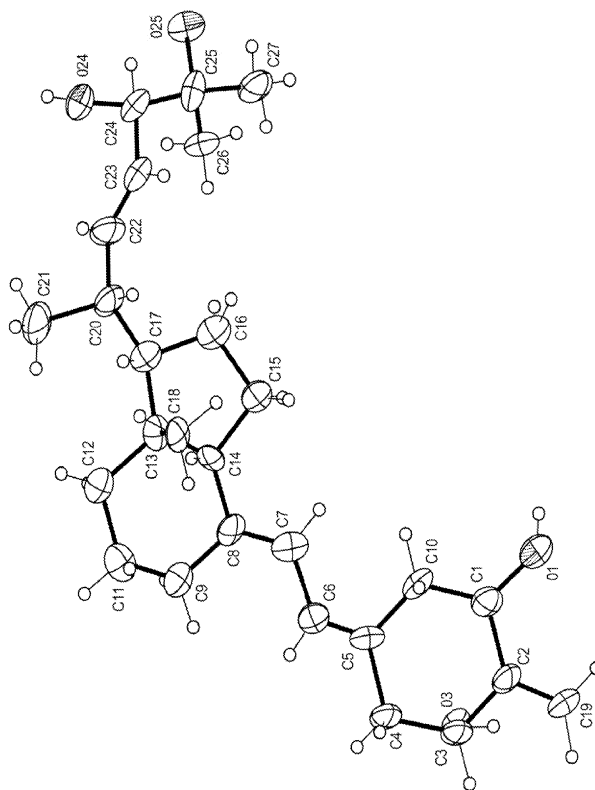
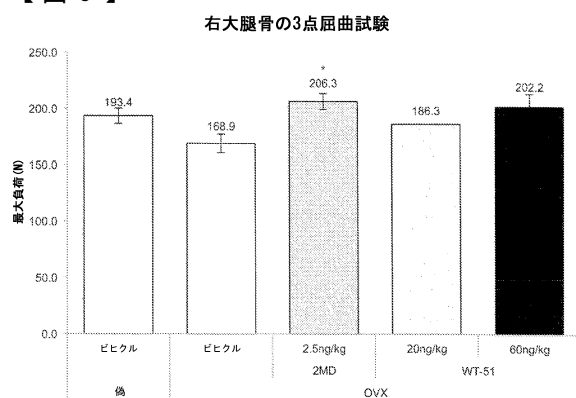
腸管カルシウム輸送



【圖 7】



【 図 6 】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I
A 6 1 P 17/00	(2006.01)	A 6 1 P 17/00
A 6 1 P 19/00	(2006.01)	A 6 1 P 19/00
A 6 1 P 35/00	(2006.01)	A 6 1 P 35/00

(74)代理人 100142929
弁理士 井上 隆一

(74)代理人 100148699
弁理士 佐藤 利光

(74)代理人 100128048
弁理士 新見 浩一

(74)代理人 100129506
弁理士 小林 智彦

(74)代理人 100114340
弁理士 大関 雅人

(74)代理人 100114889
弁理士 五十嵐 義弘

(74)代理人 100121072
弁理士 川本 和弥

(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 ディアフィールド ハイウェー ビービー 1 8 0 9

(72)発明者 ブラム ローリー エイ .
アメリカ合衆国 ウィスコンシン州 アリーナ ハイウェー エイチ 6 1 3 9

(72)発明者 バリーキ ラファル
アメリカ合衆国 ウィスコンシン州 マディソン ハーバー ハウス ドライブ 8 0 9 # 4

(72)発明者 クラゲット - デーム マーガレット
アメリカ合衆国 ウィスコンシン州 ディアフィールド ハイウェー ビービー 1 8 0 9

審査官 新留 素子

(56)参考文献 特表 2 0 0 7 - 5 1 2 3 7 6 (J P , A)
特表 2 0 0 1 - 5 0 4 1 3 5 (J P , A)
国際公開第 2 0 0 5 / 0 7 4 3 8 9 (W O , A 1)
特表 2 0 0 2 - 5 1 6 2 9 9 (J P , A)
特表 2 0 0 2 - 5 0 5 6 6 8 (J P , A)
特表平 0 7 - 5 0 1 3 4 3 (J P , A)

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

C 0 7 C
A 6 1 K
A 6 1 P
C 0 7 F
C A p l u s / R E G I S T R Y (S T N)