

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第3882027号
(P3882027)

(45) 発行日 平成19年2月14日(2007.2.14)

(24) 登録日 平成18年11月24日(2006.11.24)

(51) Int. Cl. F I
C07C 401/00 (2006.01) C O 7 C 401/00
A61K 31/59 (2006.01) A 6 1 K 31/59
A61P 5/18 (2006.01) A 6 1 P 5/18
A61P 13/12 (2006.01) A 6 1 P 13/12
A61P 17/06 (2006.01) A 6 1 P 17/06

請求項の数 3 (全 29 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願平10-69563
 (22) 出願日 平成10年3月3日(1998.3.3)
 (65) 公開番号 特開平11-246520
 (43) 公開日 平成11年9月14日(1999.9.14)
 審査請求日 平成15年1月15日(2003.1.15)

(73) 特許権者 504179255
 国立大学法人 東京医科歯科大学
 東京都文京区湯島1-5-4 5
 (74) 代理人 100095832
 弁理士 細田 芳徳
 (72) 発明者 増野 弘幸
 神奈川県横浜市旭区左近山1997-7-
 2-22-103
 (72) 発明者 山本 恵子
 東京都中野区鷺宮6-28-6
 (72) 発明者 山田 幸子
 東京都八王子市初沢町1227-4

審査官 井上 千弥子

最終頁に続く

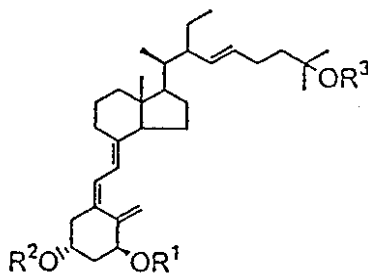
(54) 【発明の名称】 20-エピ-22-エチル-23, 24-デヒドロ-24, 24-ジホモビタミンD誘導体及びその合成中間体

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

式(I) :

【化1】



(I)

10

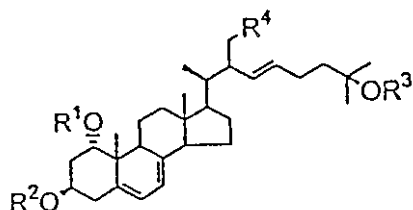
(式中、R¹、R²及びR³はそれぞれ水素原子又は水酸基の保護基を示す)で表される20-エピ-22-エチル-23, 24-デヒドロ-24, 24-ジホモビタミンD誘導体。

【請求項2】

20

式(II) :

【化2】



(II)

10

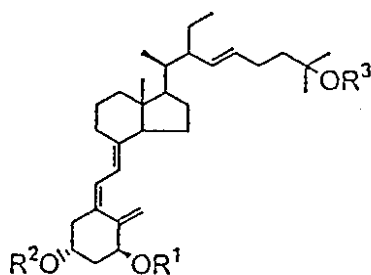
(式中、R¹、R²及びR³はそれぞれ水素原子又は水酸基の保護基、R⁴はメチル基、ヒドロキシメチル基、ハロゲノメチル基、有機スルホニルオキシメチル基又はアルコキシカルボニル基を示す)

で表される20-エピ-22-置換メチル-23, 24-デヒドロ-24, 24-ジホモプロビタミンD誘導体。 20

【請求項3】

式(I) :

【化3】



(I)

30

(式中、R¹、R²及びR³はそれぞれ水素原子又は水酸基の保護基を示す)

で表される20-エピ-22-エチル-23, 24-デヒドロ-24, 24-ジホモビタミンD誘導体を有効成分として含有してなるカルシウム代謝改善剤。 40

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、20-エピ-22-エチル-23, 24-デヒドロ-24, 24-ジホモビタミンD誘導体、その合成中間体及び前記誘導体を有効成分として含有するカルシウム代謝改善剤に関する。さらに詳しくは、慢性腎不全、副甲状腺機能低下症、副甲状腺機能亢進症、骨軟化症、骨粗鬆症等のカルシウム代謝の欠陥症、乾癬等の皮膚疾患、骨髄性白血病、乳ガンに代表される悪性腫瘍等の細胞分化機能に異常をきたした疾患の治療薬として有用である20-エピ-22-エチル-23, 24-デヒドロ-24, 24-ジホモビタミンD誘導体、その合成中間体及び前記誘導体を有効成分として含有するカルシウム代謝改 50

善剤に関する。

【 0 0 0 2 】

【 従来 の 技 術 】

近年、ビタミンDの研究の進展に伴い、各種の1 - ヒドロキシビタミンD誘導体が医薬品として開発されてきており、例えば、1 - ヒドロキシビタミンD₃や、1, 25 - ジヒドロキシビタミンD₃がすでに臨床的に骨粗鬆症治療薬として用いられている。

しかしながら、これらの化合物は、血中カルシウムの上昇作用等の副作用を呈することから、かかる副作用の少ないビタミンD誘導体の研究が近年、活発に行われてきている。前記ビタミンD誘導体として、例えば、24, 25 - ジヒドロキシビタミンD₃、24 - エピビタミンD₂等が骨粗鬆症治療薬として検討されており、また、22 - オキサ - 1, 25 - ジヒドロキシビタミンD₃等が副甲状腺機能亢進症治療薬として検討されている。

本発明者らは、カルシウムの代謝改善剤に有用な化合物として、20 - エピ - 22 - メチルビタミンD誘導体をすでに開発している（特開平6 - 25155号公報）。しかしながら、前記ビタミンD受容体結合活性は極めて高いという優れた性質を有するが、その反面、血中カルシウム上昇作用は高い。したがって、疾患を治療する立場から、高いビタミンD受容体結合活性を有し、かつ安全性に優れたビタミンD誘導体の開発が望まれているのが実状である。

【 0 0 0 3 】

【 発 明 が 解 決 し よ う と す る 課 題 】

本発明は、前記従来技術に鑑みてなされたものであり、ビタミンD受容体結合活性が高く、血中カルシウム上昇作用がさほど高くなく、安全性により優れたビタミンD誘導体、その合成中間体及び前記誘導体を有効成分として含有するカルシウム代謝改善剤を提供することを目的とする。

【 0 0 0 4 】

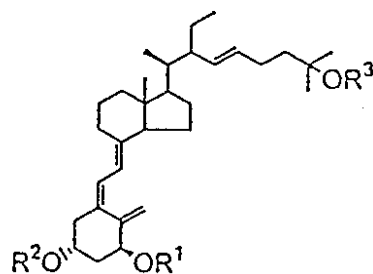
【 課 題 を 解 決 す る た め の 手 段 】

即ち、本発明の要旨は、

(1) 式 (I) :

【 0 0 0 5 】

【 化 4 】



(I)

【 0 0 0 6 】

(式 中 、 R¹ 、 R² 及 び R³ は それ ぞ れ 水 素 原 子 又 は 水 酸 基 の 保 護 基 を 示 す)

で 表 さ れ る 20 - エ ピ - 22 - エ チ ル - 23 , 24 - デ ヒ ド ロ - 24 , 24 - ジ ホ モ ビ タ ミ ン D 誘 導 体 、

(2) 式 (II) :

【 0 0 0 7 】

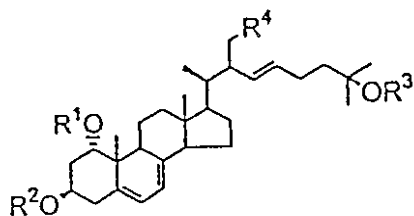
【 化 5 】

10

20

30

40



(II)

10

【0008】

(式中、R¹、R²及びR³はそれぞれ水素原子又は水酸基の保護基、R⁴はメチル基、ヒドロキシメチル基、ハロゲノメチル基、有機スルホニルオキシメチル基又はアルコキシカルボニル基を示す)

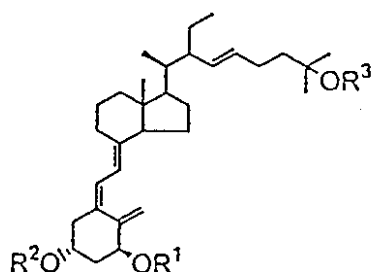
で表される20-エピ-22-置換メチル-23, 24-デヒドロ-24, 24-ジホモプロビタミンD誘導体、並びに

(3) 式(I):

【0009】

【化6】

20



(I)

30

【0010】

(式中、R¹、R²及びR³はそれぞれ水素原子又は水酸基の保護基を示す)

で表される20-エピ-22-エチル-23, 24-デヒドロ-24, 24-ジホモビタミンD誘導体を有効成分として含有してなるカルシウム代謝改善剤に関する。

【0011】

【発明の実施の形態】

本発明者らは、20-エピビタミンD誘導体の置換基の影響について詳細に検討を行ったところ、20-エピ-22-エチル-23, 24-デヒドロ-24, 24-ジホモビタミンD誘導体が高いビタミンD受容体結合活性を有するとともに、副作用が小さいことを見出した。本発明は、かかる知見に基づいて完成されたものである。

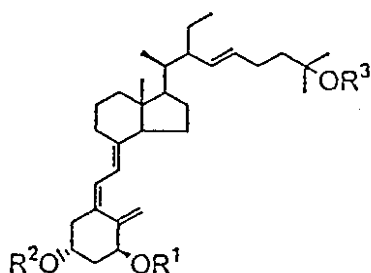
【0012】

本発明の20-エピ-22-エチル-23, 24-デヒドロ-24, 24-ジホモビタミンD誘導体は、前記したように、式(I):

【0013】

【化7】

40



(I)

10

【0014】

(式中、 R^1 、 R^2 及び R^3 はそれぞれ水素原子又は水酸基の保護基を示す) で表される化合物である。

【0015】

式 (I) において、 R^1 、 R^2 及び R^3 が表す水酸基の保護基としては、例えば、アセチル基、プロピオニル基、ブチリル基、イソブチリル基、ピバロイル基、ヘキサノイル基、ベンゾイル基等のアシル基；メトキシカルボニル基、エトキシカルボニル基、アリルオキシカルボニル基、*t*-ブトキシカルボニル基、ベンジルオキシカルボニル基等のアルコキシカルボニル基；トリエチルシリル基、*t*-ブチルジメチルシリル基、フェニルジメチルシリル基、トリイソプロピルシリル基等の有機シリル基；メトキシメチル基、1-エトキシエチル基、メトキシエトキシメチル基等のアルコキシメチル基；2-テトラヒドロフラン基、2-テトラヒドロピラニル基等のオキサシクロアルキル基等を挙げることができる。

20

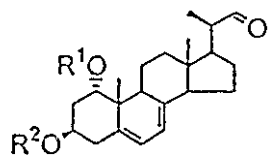
【0016】

式 (I) で表される 20-エピ-22-エチル-23, 24-デヒドロ-24, 24-ジ

30

【0017】

【化8】



(V)

40

【0018】

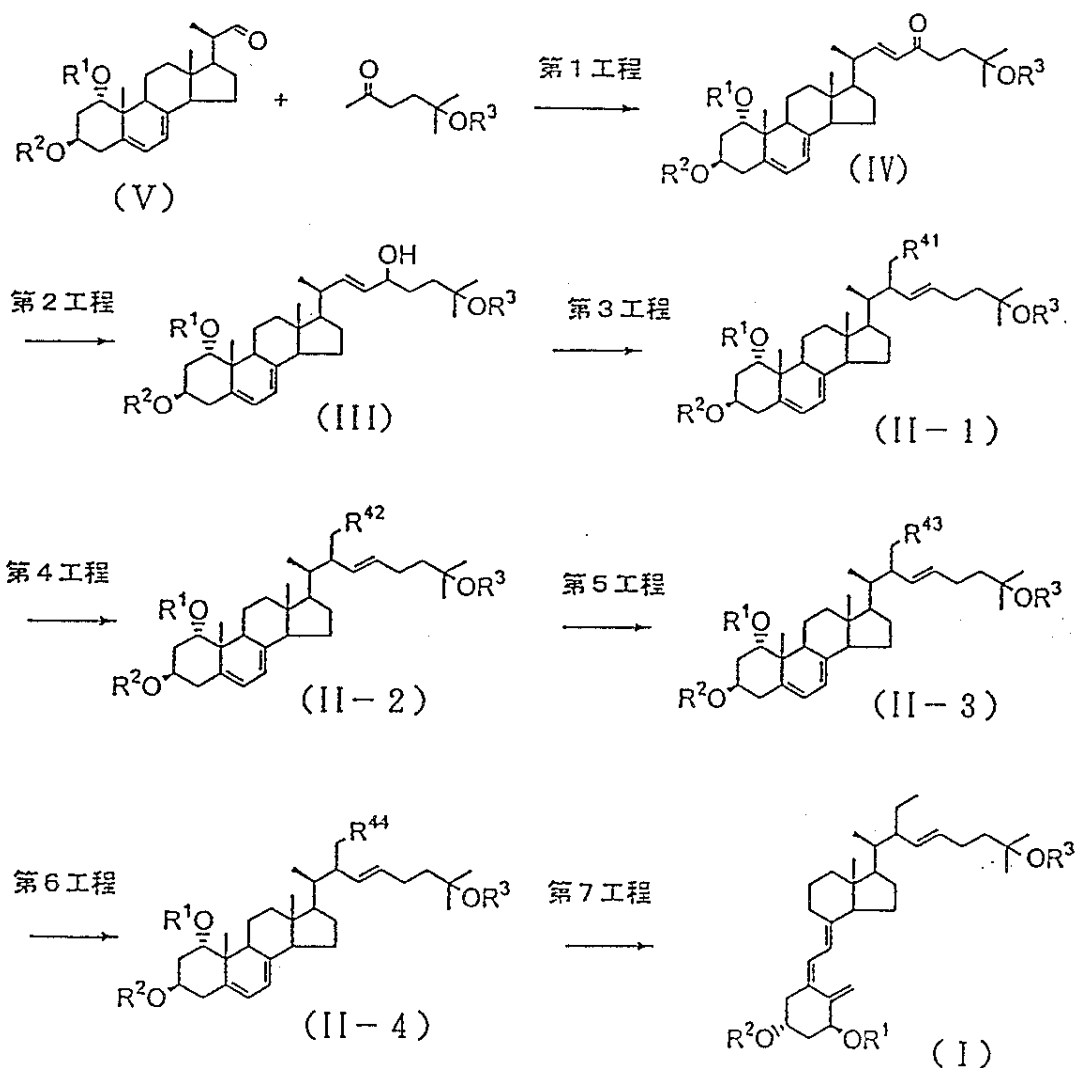
50

(式中、 R^1 及び R^2 は前記と同じ)

で表されるプレグナ - 5 , 7 - ジエン - 20 - カルバルデヒド誘導体を出発原料とし、式

【 0 0 1 9 】

【 化 9 】



10

20

30

【 0 0 2 0 】

(式中、 R^1 、 R^2 及び R^3 は前記と同じ、 R^{41} はアルコシカルボニル基、 R^{42} はヒドロキシメチル基、 R^{43} は有機スルホニルオキシメチル基又はハロゲンメチル基及び R^{44} はメチル基を示す)

で表されるスキームにしたがって合成することができる。

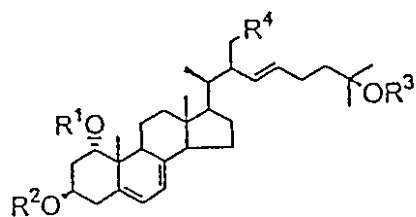
【 0 0 2 1 】

前記スキームにしたがって得られる式 (I) で表される化合物の合成中間体である式 (II - 1)、式 (II - 2)、式 (II - 3) 及び式 (II - 4) に代表される式 (II) :

【 0 0 2 2 】

【 化 1 0 】

40



(II)

10

【0023】

(式中、 R^1 、 R^2 及び R^3 は前記と同じ、 R^4 はメチル基、ヒドロキシメチル基、有機スルホニルオキシメチル基、ハノゲノメチル基又はアルコキシカルボニル基を示す) で表される 20 - エピ - 22 - 置換メチル - 23, 24 - デヒドロ - 24, 24 - ジホモプロビタミン D 誘導体は、いずれも新規化合物である。

【0024】

式 (II) において、 R^1 、 R^2 及び R^3 は、いずれも式 (I) における R^1 、 R^2 及び R^3 と同様であればよい。

20

【0025】

また、式 (II) において、 R^4 が表す有機スルホニルオキシメチル基としては、例えば、メタンスルホニルオキシメチル基、ベンゼンスルホニルオキシメチル基、トルエンスルホニルオキシメチル基等を挙げることができる。また、式 (I) において、 R^4 が表すアルコキシカルボニル基としては、例えば、メトキシカルボニル基、エトキシカルボニル基、プロポキシカルボニル基等を挙げることができる。

【0026】

前記スキームの各工程について、以下に詳しく説明する。

【0027】

式 (V) で表される プレグナ - 5, 7 - ジエン - 20 - カルバルデヒド誘導体は、例えば、国際公開第 88 / 07545 号パンフレット (1988) 及び特開平 7 - 188281 号公報等に記載されている方法にしたがって合成することができる。

30

【0028】

1 第 1 工程

前記プレグナ - 5, 7 - ジエン - 20 - カルバルデヒド誘導体と水酸基を保護した 5 - ヒドロキシ - 5 - メチル - 2 - ヘキサノンとを常法によりアルドール縮合させ、脱水することにより、式 (IV) で表される不飽和ケトンが得られる。

【0029】

2 第 2 工程

前記 (IV) で表される不飽和ケトンを、常法に従い、水素化リチウムアルミニウム、水素化ホウ素ナトリウム、水素化ホウ素亜鉛等の還元剤で還元し、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製することにより、式 (III) で表される不飽和アルコールが得られる。

40

【0030】

前記反応で得られる式 (III) で表される不飽和アルコールには、24 位の水酸基が S の立体配置をとる不飽和アルコール (以下、S - 不飽和アルコールという) と R の立体配置をとる不飽和アルコール (以下、R - 不飽和アルコールという) が含まれる。前記式 (III) で表される不飽和アルコールの立体異性体の混合物から、シリカゲルカラムクロマトグラフィーなどの分離手段を用いて両者を分離することにより S - 不飽和アルコールと R - 不飽和アルコールとをそれぞれ単離することができる。

【0031】

50

また、以下の製造工程には、前記不飽和アルコールとしては、前記S - 不飽和アルコール及びR - 不飽和アルコールの混合物又はそれぞれを単独で用いることができる。

【0032】

3 第3工程

前記式(III)で表される不飽和アルコールを、プロピオン酸、ステアリン酸、安息香酸等の酸触媒の存在下で、常法によりオルト酢酸トリエチル、オルト酢酸トリメチル、オルト酢酸トリプロピル、オルト酢酸トリブチル等のオルト酢酸エステルと反応させて、転位反応を進行させることにより、式(II-1)で表される20-エピ-22-置換メチル-23, 24-デヒドロ-24, 24-ジホモプロビタミンD誘導体を得られる。

【0033】

前記反応は、立体特異的に進行する。即ち、前記S - 不飽和アルコールからは、22位がSの立体配置をとる式(II-1)で表される化合物(以下、S - (II-1)という)が得られ、R - 不飽和アルコールからは、22位がRの立体配置をとる化合物(以下、R - (II-1)という)が得られる。

【0034】

また、前記不飽和アルコールとして、S - 不飽和アルコールとR - 不飽和アルコールの混合物を用いた場合には、前記のように式(II-1)で表される化合物の立体異性体の混合物を得られる。該混合物からは、第2工程で説明したのと同様の方法により、S - (II-1)とR - (II-1)とをそれぞれ単離することができる。

【0035】

また、以下の製造工程には、前記式(II-1)で表される化合物としては、S - (II-1)及びR - (II-1)の混合物又はそれぞれを単独で用いることができる。

【0036】

4 第4工程

前記式(II-1)で表される化合物を、水素化ジイソブチルアルミニウム、水素化リチウムアルミニウム、水素化ホウ素リチウム等の還元剤で還元することにより、式(II-2)で表される20-エピ-22-置換メチル-23, 24-デヒドロ-24, 24-ジホモプロビタミンD誘導体を得られる。

【0037】

前記反応においては、22位の立体化学は変化しない。即ち、式(II-1)で表される化合物として、前記S - (II-1)を用いた場合には、22位がSの立体配置をとる式(II-2)で表される化合物(以下、S - (II-2)という)、また前記R - (II-1)を用いた場合には、22位がRの立体配置をとる式(II-2)で表される化合物(以下、R - (II-2)という)とをそれぞれ得ることができる。

【0038】

また、前記反応に前記式(II-1)で表される化合物として、S - (II-1)とR - (II-1)の混合物を用いた場合には、前記のようにS - (II-2)とR - (II-2)の混合物を得られる。該混合物からは、第2工程と同様の方法により、S - (II-2)とR - (II-2)とをそれぞれ単離することができる。

【0039】

また、以下の製造工程には、前記式(II-2)で表される化合物としては、S - (II-2)及びR - (II-2)の混合物又はそれぞれを単独で用いることができる。

【0040】

5 第5工程

前記式(II-2)で表される化合物を、メタンスルホニルクロライド、ベンゼンスルホニルクロライド、p - トルエンスルホニルクロライド等の有機スルホニルハライドとピリジン、トリエチルアミン等の塩基の存在下で反応させることにより、式(II-3)で表される20-エピ-22-置換メチル-23, 24-デヒドロ-24, 24-ジホモプロビタミンD誘導体を得られる。

【0041】

10

20

30

40

50

また、他の製造方法としては、前記式(11-2)で表される化合物を、THF中でトリフェニルホスフィン及びイミダゾールの存在下でヨウ素、トリフェニルホスフィン-四臭化炭素等のハロゲン化剤と反応させることにより、式(11-3)で表される20-エピ-22-置換メチル-23, 24-デヒドロ-24, 24-ジホモプロビタミンD誘導体を得られる。

【0042】

前記反応においては、22位の立体化学は変化しない。即ち、式(11-2)で表される化合物として、前記S-(11-2)を用いた場合には、22位がSの立体配置をとる式(11-3)で表される化合物(以下、S-(11-3)という)、また前記R-(11-2)を用いた場合には、22位がRの立体配置をとる式(11-3)で表される化合物(以下、R-(11-3)という)とをそれぞれ得ることができる。

10

【0043】

また、前記反応に前記式(11-2)で表される化合物として、S-(11-2)とR-(11-2)の混合物を用いた場合には、前記のようにS-(11-3)とR-(11-3)の混合物が得られる。該混合物からは、第2工程と同様の方法により、S-(11-3)とR-(11-3)とをそれぞれ単離することができる。

【0044】

また、以下の製造工程には、前記式(11-3)で表される化合物としては、S-(11-3)及びR-(11-3)の混合物又はそれぞれを単独で用いることができる。

【0045】

20

6 第6工程

前記式(11-3)で表される化合物において、 R^{43} として有機スルホニルオキシメチル基を有する化合物の場合、該有機スルホニルオキシメチル基を有する化合物を水素化リチウムアルミニウム、水素化トリエチルホウ素リチウム等の還元剤で還元することにより、式(11-4)で表される20-エピ-22-置換メチル-23, 24-デヒドロ-24, 24-ジホモプロビタミンD誘導体を得られる。

【0046】

また、式(11-3)で表される化合物において、 R^{43} としてハロゲノメチル基を有する化合物の場合には、該ハロゲノメチル基を有する化合物を、水素化ホウ素ナトリウム、水素化リチウムアルミニウム、水素化トリエチルホウ素リチウム等の還元剤で還元することにより、式(11-4)で表される20-エピ-22-置換メチル-23, 24-デヒドロ-24, 24-ジホモプロビタミンD誘導体を得られる。

30

【0047】

前記反応においては、22位の立体化学は変化しない。即ち、式(11-3)で表される化合物として、前記S-(11-3)を用いた場合には、22位がSの立体配置をとる式(11-4)で表される化合物(以下、S-(11-4)という)、また前記R-(11-3)を用いた場合には、22位がRの立体配置をとる式(11-4)で表される化合物(以下、R-(11-4)という)とをそれぞれ得ることができる。

【0048】

また、前記反応に前記式(11-3)で表される化合物として、S-(11-3)とR-(11-3)の混合物を用いた場合には、前記のようにS-(11-4)とR-(11-4)の混合物が得られる。該混合物からは、第2工程と同様の方法により、S-(11-4)とR-(11-4)とをそれぞれ単離することができる。

40

【0049】

また、以下の製造工程には、前記式(11-4)で表される20-エピ-22-置換メチル-23, 24-デヒドロ-24, 24-ジホモプロビタミンD誘導体としては、S-(11-4)及びR-(11-4)の混合物又はそれぞれを単独で用いることができる。

【0050】

7 第7工程

前記式(11-4)で表される化合物を、常法に従い、光異性化、熱異性化することにより

50

、式(I)で表される20-エピ-22-エチル-23,24-デヒドロ-24,24-ジホモビタミンD誘導体を得ることができる。

【0051】

また、前記反応を行なう際に、前記式(II-4)で表される化合物を、メタノール、エタノール等のアルコール及び/又は水の存在下にp-トルエンスルホン酸、メタンスルホン酸、カンファースルホン酸等の酸触媒を用いて、25位の水酸基の保護基であるR³を脱保護したものをを用いることができる。

【0052】

前記反応においては、22位の立体化学は変化しない。即ち、式(II-4)で表される化合物として、前記S-(II-4)を用いた場合には、22位がSの立体配置をとる式(I)で表される化合物(以下、S-(I)という)、また前記R-(II-4)を用いた場合には、22位がRの立体配置をとる式(I)で表される化合物(以下、R-(I)という)とをそれぞれ得ることができる。

10

【0053】

また、前記反応に前記式(II-4)で表される化合物として、S-(II-4)とR-(II-4)の混合物を用いた場合には、前記のようにS-(I)とR-(I)の混合物が得られる。該混合物からは、第2工程と同様の方法により、S-(I)とR-(I)とをそれぞれ単離することができる。

【0054】

このようにして得られた式(I)で表される化合物の反応混合物からの単離・精製は、一般に有機化合物を反応混合物から単離・精製する際に用いられている方法と同様の方法によって行うことができる。例えば、反応混合物を濃縮することにより粗生成物を得、得られた粗生成物を必要に応じて再結晶、クロマトグラフィー等に付することによって行うことができる。

20

【0055】

本発明の式(I)で表される化合物は、1,25-ジヒドロキシビタミンD₃。受容体に対して高い結合活性を示し、しかもビタミンD結合タンパクとの親和性が低く、高い分化誘導能を有することから、乾癬等の皮膚疾患、骨髄性白血病、乳ガンに代表される悪性腫瘍等の細胞分化機能に異常をきたした疾患の治療薬として有用である。また、低カルシウム、低ビタミンD食ラットに対する投与においても血中カルシウムの上昇作用が弱く、急性毒性試験においても低毒性であったことから、副作用の少ない、骨粗鬆症、副甲状腺機能亢進症、慢性腎不全、骨軟化症等のカルシウム代謝の欠陥症の治療薬として有用である。このように本発明の化合物は、カルシウム代謝改善剤として有用である。

30

【0056】

また、式(I)で表される化合物を有効成分とする本発明のカルシウム代謝改善剤は、適当な剤型の医薬組成物として経口または非経口的に投与することができる。本発明の化合物の投与量は、患者の年齢、体重、症状、投与ルートなどによって異なるが、医師の診断に応じて適宜決定される。

【0057】

本発明のカルシウム代謝改善剤は、有効成分である式(I)で表される化合物の有効量と、薬理的に許容される担体または賦形剤とを含有する組成物であってもよい。このような組成物は、経口または非経口投与に適する剤型として提供される。

40

【0058】

即ち、経口投与のための組成物の剤型としては、例えば、固体または液体の剤型、具体的には錠剤、丸剤、顆粒剤、散剤、カプセル剤、シロップ剤、乳剤、懸濁剤などがあげられる。このような組成物は、公知の方法によって製造され、製剤分野において通常用いられている担体または賦形剤を含有するものである。例えば、錠剤用の担体、賦形剤としては、乳糖、でんぷん、蔗糖、ステアリン酸マグネシウムなどがあげられる。

【0059】

非経口投与のための組成物を、例えば、注射剤として用いる場合、公知の方法に従い、通

50

常、注射剤に用いられている無菌の水性ないしは油性液に溶解、懸濁または乳化することによって該注射剤を調製することができる。注射用の水性液としては、生理食塩水、ブドウ糖などや、その他の補助液を含む等張液などがあげられ、これらは、適当な溶解補助剤などと併用してもよい。

【0060】

かくして得られる本発明のカルシウム代謝改善剤には、式(I)で表わされる化合物を配合することによって好ましくない相互作用を生じないかぎり、他の活性成分が含有されていてもよい。

【0061】

【実施例】

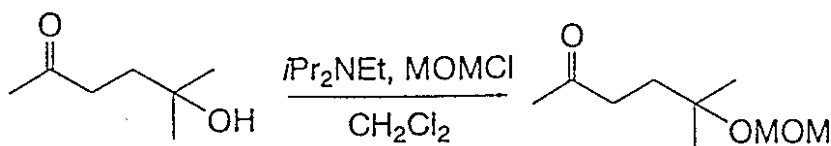
次に、本発明を実施例に基づいてさらに詳細に説明するが、本発明はかかる実施例のみに限定されるものではない。

【0062】

製造例1〔水酸基を保護した5-ヒドロキシ-5-メチル-2-ヘキサノンの製造〕

【0063】

【化11】



【0064】

0 に冷却した5-ヒドロキシ-5-メチル-2-ヘキサノン5.47g(42.0mmol)及びジイソプロピルエチルアミン29ml(0.168mol)のジクロロメタン(30ml)溶液にメチルクロロメチルエーテル10.2ml(0.126mol)を加え、室温で5時間10分間攪拌した後、水5mlを加え、ジクロロメタンで3回抽出した。有機層を水で3回洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒を減圧留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、水酸基をメトキシメチル基で保護した5-ヒドロキシ-5-メチル-2-ヘキサノン5.31gを得た(収率73%)。

【0065】

製造例2〔20-エピ-1,3-ビス(メトキシカルボニルオキシ)-25-メトキシメトキシ-24,24-ジホモコレスタ-5,7,22-トリエン-24-オン(IV)の製造〕(第1工程)

【0066】

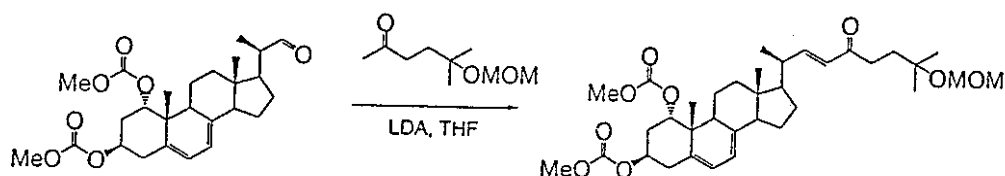
【化12】

10

20

30

40



10

【 0 0 6 7 】

- 78 に冷却したジイソプロピルアミン 643 μ l (4.59 mmol) のテトラヒドロフラン (1 ml) 溶液に n-ブチルリチウムの 1.6 M ヘキサン溶液 2.15 ml を滴下し、15 分間攪拌してリチウムジイソプロピルアミド (LDA) 溶液を調製した。- 78 に冷却した製造例 1 で得られた 5-ヒドロキシ-5-メチル-2-ヘキサノン 600 mg (3.44 mmol) のテトラヒドロフラン (1 ml) 溶液に LDA 溶液を滴下し、15 分間攪拌し、エノラート溶液を調製した。- 78 に冷却した (20R)-1,3-ビス(メトキシカルボニルオキシ)-20-メチルプレグナ-5,7-ジエン-22-オン (V) 477.7 mg (1.16 mmol) のテトラヒドロフラン (0.5 ml) 溶液にエノラート溶液を滴下し、- 78 で 1 時間攪拌した後、- 20 で 1 時間、0 で 2 時間攪拌した。反応溶液に飽和塩化アンモニウム水溶液 2 ml を加え、酢酸エチルで 3 回抽出した。有機層を水で 3 回洗浄した後、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、20-エピ-1,3-ビス(メトキシカルボニルオキシ)-25-メトキシメトキシ-24,24-ジホモコレスタ-5,7,22-トリエン-24-オン (IV) 292 mg を得た (収率 41%)。なお、この化合物の物理化学的性質は、下記のとおりであった。

20

¹H-NMR (400 MHz) :
 0.58 (s, 3H, H-18), 0.98 (s, 3H, H-19), 1.01 (d, 2H, J = 6.6 Hz, H-21), 1.24 (s, 6H, (CH₃)₂C), 1.39 - 1.97 (m), 2.24 - 2.59 (m), 2.63 (ABq, J = 7.6 Hz, H-25), 2.70 (bd, 1H), 3.36 (s, 3H, メトキシメチル基の CH₃O), 3.77 と 3.78 (s, 各 3H, メトキシカルボニル基の CH₃O), 4.69 (s, 2H, メトキシメチル基の OCH₂), 4.81 (s, 1H, H-1), 4.89 (m, 1H, H-3), 5.37 と 5.68 (m, 各 1H, H-6 と H-7), 6.06 (d, J = 15.9 Hz, H-23), 6.74 (dd, J = 15.8, 9.8 Hz, H-22)

30

¹³C-NMR (400 MHz) :
 12.2, 13.1, 14.3, 15.9, 20.4, 22.7, 26.2, 27.2, 27.6, 31.8, 35.5, 37.7, 38.0, 38.7, 40.5, 41.2, 41.9, 43.2, 52.7, 54.2, 54.6, 54.8, 55.1, 60.2, 72.2, 76.0, 78.4, 91.0, 115.4, 122.1, 128.5, 132.2, 133.8, 141.1, 155.0, 172.9

40

MS m/z :

554 (69, M-MeOH), 478 (77), 402 (79), 278 (50), 178 (79)

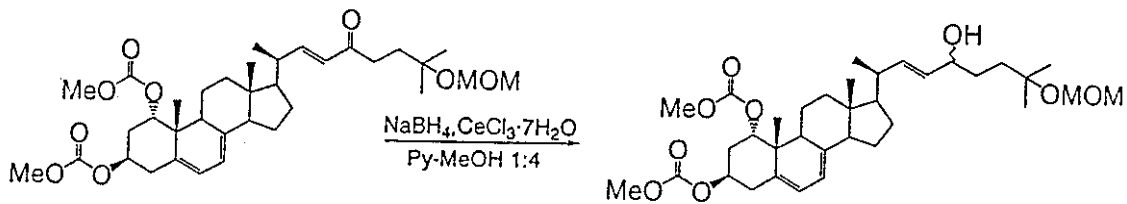
【 0 0 6 8 】

製造例 3 (20-エピ-1,3-ビス(メトキシカルボニルオキシ)-25-メトキシメトキシ-24,24-ジホモコレスタ-5,7,22-トリエン-24-オール) の製造 (第 2 工程)

50

【 0 0 6 9 】

【 化 1 3 】



10

【 0 0 7 0 】

0 に冷却した製造例 2 で得られた 20 - エピ - 1 , 3 - ビス (メトキシカルボニルオキシ) - 25 - メトキシメトキシ - 24 , 24 - ジホモコレスタ - 5 , 7 , 22 - トリエン - 24 - オール (IV) 454 mg (0.74 mmol) のピリジン (0.6 ml)、エタノール (2.4 ml) の混合溶液に塩化セリウム 7 水和物 376 mg (1.00 mmol)、水素化ホウ素ナトリウム 40.0 mg (1.00 mmol) を加えた。室温で 1 時間攪拌した後、反応液に塩化セリウム 7 水和物 276 mg (0.74 mmol)、水素化ホウ素ナトリウム 28.6 mg (0.75 mmol) を加え、40 分間攪拌した。さらに、塩化セリウム 7 水和物 144.0 mg (0.38 mmol)、水素化ホウ素ナトリウム 24.9 mg (0.66 mmol) を加え、25 分間攪拌した後、反応溶液を酢酸エチルで希釈し、1% 塩酸を加え中和した。酢酸エチルで 3 回抽出し、有機層を水で 3 回洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を減圧留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、20 - エピ - 1 , 3 - ビス (メトキシカルボニルオキシ) - 25 - メトキシメトキシ - 24 , 24 - ジホモコレスタ - 5 , 7 , 22 - トリエン - 24 - オール (III) 400 mg を得た (収率 88%、S 体 / R 体 = 72 / 28)。上記の反応操作を繰り返して得られた 20 - エピ - 1 , 3 - ビス (メトキシカルボニルオキシ) - 25 - メトキシメトキシ - 24 , 24 - ジホモコレスタ - 5 , 7 , 22 - トリエン - 24 - オール (III) 1.14 g をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製することにより、(24S) - 20 - エピ - 1 , 3 - ビス (メトキシカルボニルオキシ) - 25 - メトキシメトキシ - 24 , 24 - ジホモコレスタ - 5 , 7 , 22 - トリエン - 24 - オール (S 体) 126.3 mg と (24R) - 20 - エピ - 1 , 3 - ビス (メトキシカルボニルオキシ) - 25 - メトキシメトキシ - 24 , 24 - ジホモコレスタ - 5 , 7 , 22 - トリエン - 24 - オール (R 体) 20.2 mg (S 体が混入、S 体 / R 体 = 22 / 78) および S 体と R 体の混合物 834.3 mg (S 体 / R 体 = 58 / 42) を得た。それぞれの物理化学的性質は、下記のとおりであった。

20

30

【 0 0 7 1 】

S 体

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz) :
 0.60 (s, H-18), 0.94 (d, $J = 6.4\text{ Hz}$, H-21), 0.98 (s, H-19), 1.23 (s, $(\text{CH}_3)_2\text{C}$), 3.37 (s, メトキシメチル基の CH_3O), 3.77 と 3.80 (s, メトキシカルボニル基の CH_3O), 4.04 (bd, ヒドロキシル基に隣接する $>\text{CH}$), 4.71 (s, メトキシメチル基の OCH_2), 4.81 (bs, H-1), 4.89 (H-3), 5.37 - 5.42 (m, H-6 又は H-7, H-22), 5.53 (dd, $J = 15.3, 9.0\text{ Hz}$, H-23), 5.68 (m, H-6 又は H-7)

$^{13}\text{C-NMR}$ (400 MHz) :

40

50

12.1, 15.9, 20.3, 20.5, 22.9, 26.3, 26.4, 28.1, 31.8, 35.5, 37.4, 37.7, 38.8, 39.8, 41.2, 42.8, 54.5, 54.6, 54.8, 55.2, 55.4, 72.2, 73.1, 73.4, 76.1, 78.4, 90.9, 115.5, 122.1, 130.6, 138.0, 141.0, 155.0.

MS m/z:

586 (0.6, M-MeOH), 480 (26), 404 (100), 386 (26), 251 (46), 125 (83)

【0072】

R体

10

¹H-NMR (400 MHz) :

0.59 (s, 3H, H-18), 0.95 (d, 2H, J = 6.6 Hz, H-21), 0.98 (s, 3H, H-19), 1.07 - 1.19 (m, 1H), 1.23 (s, 6H, H-26とH-27), 1.25 - 2.09 (m), 2.33 - 2.37 (m, 1H, H-4), 2.42 - 2.48 (m, 2H), 2.70 - 2.74 (m, 1H, H-4), 3.37 (s, 3H, メトキシメチル基のOCH₃), 3.77と3.78 (s, 各3H, メトキシカルボニル基のOCH₃), 4.04 (bd, 1H, J = 6.2 Hz, H-24), 4.71 (s, 2H, メトキシメチル基のOCH₂O), 4.81 (s, 1H, H-1), 4.85 - 4.92 (m, 1H, H-3), 5.36 - 5.42 (m, 2H, H-6とH-23), 5.54 (dd, 1H, J = 15.5, 8.9 Hz, H-22), 5.68 (dd, 1H, J = 3.5, 2.2 Hz, H-7)

20

MS m/z:

556 (2.4, M-MOMOH), 480 (8.0), 404, 249 (12), 125 (100)

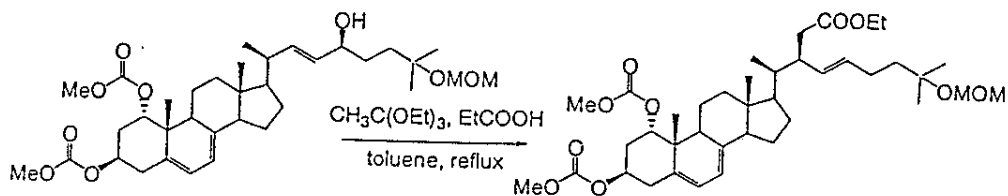
【0073】

実施例1〔(22S)-20-エピ-1, 3-ビス(メトキシカルボニルオキシ)-22-エトキシカルボニルメチル-25-メトキシメトキシ-24, 24-ジホモコレスタ-5, 7, 23-トリエン(S-(II-1))の製造〕(第3工程)

【0074】

【化14】

30



40

【0075】

製造例3で得られた(24S)-20-エピ-1, 3-ビス(メトキシカルボニルオキシ)-25-メトキシメトキシ-24, 24-ジホモコレスタ-5, 7, 22-トリエン-24-オール(S体) 41.0 mg (0.066 mmol)及びオルト酢酸トリエチル 365 μl (1.99 mmol)のトルエン(0.5 ml)溶液に、プロピオン酸トルエン溶液 25 μl (プロピオン酸含有量: 0.0033 mmol)を加え、5時間10分間加熱還流した。得られた反応液を炭酸水素ナトリウム水溶液で中和した後、ベンゼンで

50

抽出した。有機層を水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、(22S)-20-エピ-1,3-ビス(メトキシカルボニルオキシ)-22-エトキシカルボニルメチル-25-メトキシメトキシ-24,24-ジホモコレスタ-5,7,23-トリエン(S-(II-1)) 16.9 mgを得た(収率37%、S体/R体=98/2)。なお、得られた化合物の物理化学的性質は、下記のとおりであった。

¹H-NMR(400MHz) :

0.63(s, 3H, H-18), 0.76(d, J=6.7Hz, H-21), 1.01(s, 3H, H-19), 1.23(s, H-26とH-27), 1.24(6H, t, J=7.4Hz, エチルエステルのCH₃), 1.27-2.13(m), 2.28-2.53(m, 4H, H-22a), 2.70-2.74(m, 1H), 2.92-2.94(m, 1H, H-4), 3.36(s, 3H, メトキシメチル基のOCH₃), 3.78と3.80(s, 各3H, メトキシカルボニル基のOCH₃), 4.11(dABq, J=12.7, 7.1Hz, エチルエステルのOCH₂), 4.70(s, 2H, メトキシメチル基のOCH₂O), 4.84(s, 1H, H-1), 4.86-4.93(m, 1H, H-3), 5.34-5.41(m, 2H, H-23, H-24とH-6), 5.68(bs, 1H, H-7)

10

MS m/z :

656(0.8, M-MeOH), 626(3.4), 550(31), 474(100), 404(61), 386(47), 279(53), 249(88), 209(49), 155(30), 125(47)

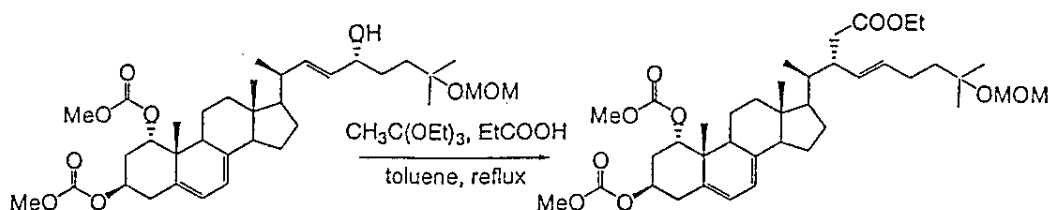
20

【0076】

実施例2(20-エピ-1,3-ビス(メトキシカルボニルオキシ)-22-エトキシカルボニルメチル-25-メトキシメトキシ-24,24-ジホモコレスタ-5,7,23-トリエン(II-1)の製造)(第3工程)

【0077】

【化15】



30

【0078】

製造例3で得られた20-エピ-1,3-ビス(メトキシカルボニルオキシ)-25-メトキシメトキシ-24,24-ジホモコレスタ-5,7,22-トリエン-24-オール51.6 mg(0.083mmol、S体/R体=22/78)、オルト酢酸トリエチル460 μl(2.51mmol)のトルエン(0.5ml)溶液に、プロピオン酸トルエン溶液31 μl(プロピオン酸含有量:0.0042mmol)を加え、3時間加熱還流した。反応液を室温に戻した後、炭酸水素ナトリウム水溶液で中和した。ベンゼンで抽出し、有機層を水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、20-エピ-1,3-ビス(メトキシカルボニルオキシ)-22-エトキシカルボニルメチル-25-メトキシメトキシ-24,24-ジホモコレスタ-5,7,23-トリエン(II-1) 18.5 mgを得た(収率

40

50

32%、S体/R体 = 27/73)。得られた化合物の物理化学的性質は、以下のとおりであった。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz) :

0.65 (s, 3H, H-18), 0.77 (d, 3H, $J = 6.8\text{ Hz}$, H-21), 1.02 (s, 3H, H-19), 1.23 (t, 3H, $J = 7.2\text{ Hz}$, エトキシカルボニル基の CH_3), 1.27 - 2.54 (m), 2.70 - 2.75 (m, 1H), 2.81 - 2.86 (m, 1H), 3.35 (s, 3H, メトキシメトキシ基の OCH_3), 3.77と3.79 (s, 各3H, メトキシカルボニル基の OCH_3), 4.69 (s, 1H, H-1), 4.79 - 7.93 (m, 1H, H-3), 5.33 - 5.46 (m, 3H, H-7, H-23とH-24), 5.68 (bd, 1H, $J = 3.5\text{ Hz}$, H-7)

10

$^{13}\text{C-NMR}$ (400 MHz) :

5.64, 12.2, 14.2, 16.3, 20.8, 22.9, 26.3, 26.8, 27.3, 33.0, 38.0, 38.6, 39.7, 40.0, 41.8, 42.3, 43.3, 47.0, 52.1, 54.4, 55.1, 65.5, 72.9, 76.0, 91.0, 115.3, 122.0, 131.6, 132.2, 136.0, 141.0

MS m/z :

656 (0.8, M-MeOH), 626 (2.7, M-MOMOH), 550 (29), 474 (100)

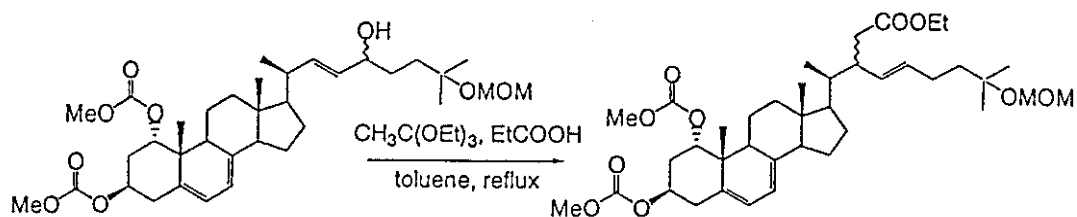
【0079】

20

実施例3〔20-エピ-1, 3-ビス(メトキシカルボニルオキシ)-22-エトキシカルボニルメチル-25-メトキシメトキシ-24, 24-ジホモコレスタ-5, 7, 23-トリエン(II-1)の製造〕(第3工程)

【0080】

【化16】



30

40

【0081】

製造例3で得られた20-エピ-1, 3-ビス(メトキシカルボニルオキシ)-25-メトキシメトキシ-24, 24-ジホモコレスタ-5, 7, 22-トリエン-24-オール(III) 506.3 mg (0.82 mmol, S体/R体 = 58/42)をトルエン4 mlに溶解し、オルト酢酸トリエチル4.5 ml (24.5 mmol)、プロピオン酸トルエン溶液30 μl (プロピオン酸含有量: 0.0041 mmol)を加え、3時間加熱

50

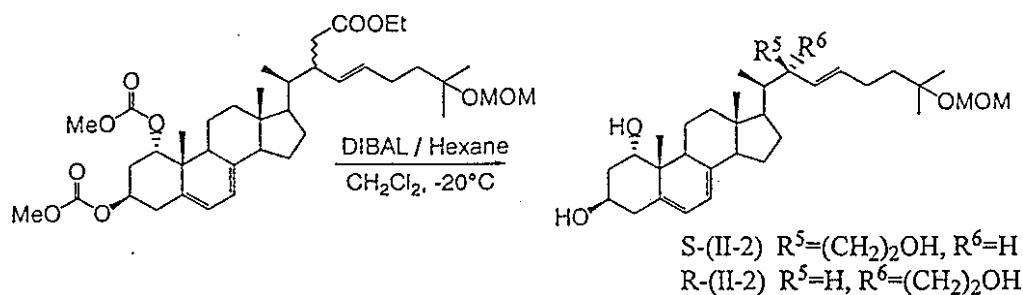
還流した。室温に戻した後、炭酸水素ナトリウム水溶液中で中和し、ベンゼンで抽出した。有機層を無水硫酸マグネシウムで乾燥し、溶媒を留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、20-エピ-1,3-ビス(メトキシカルボニルオキシ)-22-エトキシカルボニルメチル-25-メトキシメトキシ-24,24-ジホモコレスタ-5,7,23-トリエン(II-1) 361.1 mgを得た(収率64%、S体/R体=73/27)。

【0082】

実施例4〔20-エピ-22-ヒドロキシエチル-25-メトキシメトキシ-24,24-ジホモコレスタ-5,7,23-トリエン-1,3-ジオール(II-2)の製造〕(第4工程)

【0083】

【化17】



【0084】

-20℃に冷却した、実施例3で得られた20-エピ-1,3-ビス(メトキシカルボニルオキシ)-22-エトキシカルボニルメチル-25-メトキシメトキシ-24,24-ジホモコレスタ-5,7,23-トリエン(II-1) 118.5 mg (0.17 mmol、S体/R体=73/27)のジクロロメタン1 ml溶液に、1 M 水素化ジイソブチルアルミニウム(DIBAL)/ヘキサン溶液2.0 mlを滴下して35分間攪拌したのち、さらに1 M DIBAL/ヘキサン溶液1 mlを滴下し、20分間攪拌した。反応液に飽和塩化アンモニウム水溶液2 mlを加え、0℃で20分間攪拌した。反応液を酢酸エチルで希釈した後、希塩酸を加え、反応液のpHを3~4(酸性)とし、酢酸エチルで抽出した。有機層を食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、(22S)-20-エピ-22-ヒドロキシエチル-25-メトキシメトキシ-24,24-ジホモコレスタ-5,7,23-トリエン-1,3-ジオール(S-(II-2)) 60.0 mg(収率66%)及び(22R)-20-エピ-22-ヒドロキシエチル-25-メトキシメトキシ-24,24-ジホモコレスタ-5,7,23-トリエン-1,3-ジオール(R-(II-2)) 23.3 mg(収率26%)を得た。得られた化合物の物理化学的性質は、下記のとおりであった。

【0085】

S-(II-2)

$^1\text{H-NMR}(400\text{MHz})$:

0.62 (s, 3H, H-18), 0.67 (d, $J=5.5\text{Hz}$, H-21), 0.94 (s, 3H, H-19), 1.23 (s, 6H, H-26, 27), 1.25-2.55 (m), 3.37 (s, 3H, OCH_3), 3.58-3.67 (m, 2H, CH_2OH), 3.77 (s, 1H, H-1), 4.06 (m, 1H, H-3), 4.71 (s, 2H, OCH_2O), 5.33-5.44 (s, 3H, H-6, H-22とH-23),

10

20

30

40

50

5.67 (m, 1H, H-7)

¹³C-NMR (400 MHz) :

12.6, 13.4, 16.2, 20.9, 22.7, 26.2, 26.9, 27.6, 36.7, 37.4, 38.0, 39.0, 39.4, 40.0, 41.2, 42.0, 42.3, 43.4, 52.8, 54.3, 55.1, 61.6, 65.4, 72.8, 76.1, 91.0, 115.2, 122.1, 130.2, 132.3, 135.9, 141.3

MS m/z :

530 (2.7, M⁺), 498 (9.9, M-MeOH), 468 (48, M-MOMOH), 450 (72), 432 (46), 267 (100)

【0086】

R-(II-2)

¹H-NMR (400 MHz) :

0.62 (s, 3H, H-18), 0.80 (d, J = 5.5 Hz, H-21), 0.94 (s, 3H, H-19), 1.21 (s, 6H, H-26とH-27), 1.23-2.73 (m), 3.36 (s, 3H, OCH₃), 3.46-3.63 (m, 1H, CH₂OH), 3.78 (s, 1H, H-1), 4.20 (m, 1H, H-3), 4.68 (s, 2H, OCH₂O), 5.34 (bs, 1H, H-6), 5.38と5.39 (s, 2H, H-22とH-23), 5.60 (m, 1H, H-7)

¹³C-NMR (400 MHz) :

11.9, 13.7, 16.2, 20.8, 22.6, 26.3, 27.2, 37.7, 38.3, 41.0, 41.4, 41.8, 42.6, 52.3, 55.1, 73.7, 76.0, 91.0, 114.9, 122.0, 130.6, 133.6, 136.3, 141.3

MS m/z :

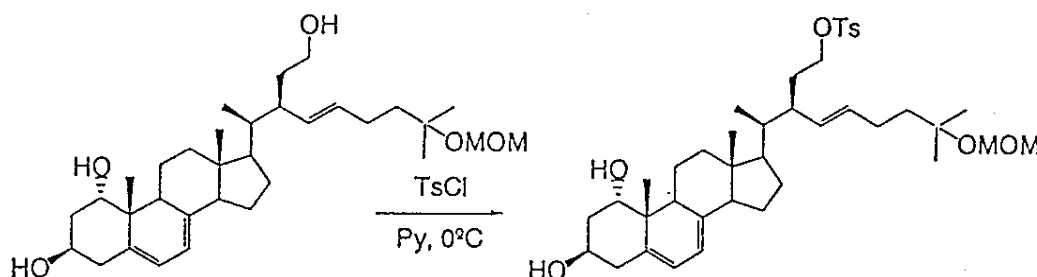
530 (3.0, M⁺), 498 (9.8), 468 (43), 450 (48), 432 (8.9), 394 (15), 267 (100)

【0087】

実施例5〔(225)-20-エピ-22-(2-(4-メチルベンゼンスルホニルオキシ)エチル)-25-メトキシメトキシ-24,24-ジホモコレスタ-5,7,23-トリエン-1,3-ジオール(S-(II-3))の製造〕(第5工程)

【0088】

【化18】



10

20

30

40

50

【0089】

0 に冷却した実施例4で得られた(22S)-20-エピ-22-ヒドロキシエチル-25-メトキシメトキシ-24,24-ジホモコレスタ-5,7,23-トリエン-1,3-ジオール(S-(II-2))12.9mg(0.024mmol)のピリジン0.25ml溶液に塩化p-トルエンスルホニル7.0mg(0.036mmol)を加え、155分間攪拌した。反応液に塩化p-トルエンスルホニル6.5mg(0.034mmol)を加え、5時間攪拌した後、塩化p-トルエンスルホニル7.2mg(0.038mmol)を加え、一夜放置した。塩化p-トルエンスルホニルをさらに5.3mg(0.027mmol)加え、2時間30分間攪拌した。反応溶液に水2mlを加え、酢酸エチルで3回抽出した。有機層を水で3回洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、(22S)-20-エピ-22-(2-(4-メチルベンゼンスルホニルオキシ)エチル)-25-メトキシメトキシ-24,24-ジホモコレスタ-5,7,23-トリエン-1,3-ジオール(S-(II-3))6.3mgを得た(収率38%)。得られた化合物の物理化学的性質は、下記のとおりであった。

10

¹H-NMR(400MHz) :

0.57(s,3H,H-18),0.73(d,J=6.7Hz,H-21),0.96(s,3H,H-19),1.22(s,6H,H-26とH-27),1.27-2.40(m),2.45(s,3H,CH₃-Ph),2.45-2.52(m,2H),3.37(s,3H,メトキシメチル基のOCH₃),3.79(s,1H,H-1),3.96-4.08(m,3H,H-3とCH₂OTs),4.71(s,2H,メトキシメチル基のOCH₂O),5.17-5.22(m,2H,H-22とH-23),5.37(m,1H,H-6),5.72(m,1H,H-7),7.33(d,2H,J=8.1Hz,Ph-H),7.78(d,2H,J=8.2Hz,Ph-H)

20

¹³C-NMR(400MHz) :

12.5,13.2,16.3,22.7,26.3,26.9,27.5,32.8,38.6,38.8,39.3,40.0,40.4,41.9,42.3,43.4,52.7,54.3,55.1,65.5,69.2,72.9,91.0,115.3,122.1,127.9,128.4,129.8,133.3

MS m/z :

684(1.2,M⁺),672(7.5),642(6.2),572(11),540(100),510(64)

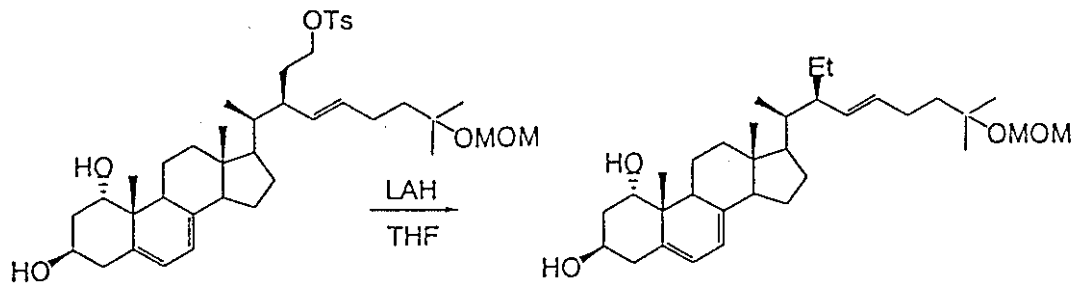
30

【0090】

実施例6〔(22S)-20-エピ-22-エチル-25-メトキシメトキシ-24,24-ジホモコレスタ-5,7,23-トリエン-1,3-ジオール(S-(II-4))の製造〕(第6工程)

【0091】

【化19】



10

【0092】

水素化リチウムアルミニウム 1.0 mg (0.028 mmol) のテトラヒドロフラン (0.1 ml) 溶液を 15 分間、加熱還流した。室温に戻した水素化リチウムアルミニウムのテトラヒドロフラン溶液に実施例 5 で得られた (22S) - 20 - エピ - 22 - (2 - (4 - メチルベンゼンスルホニルオキシ) エチル) - 25 - メトキシメトキシ - 24, 24 - ジホモコレスタ - 5, 7, 23 - トリエン - 1, 3 - ジオール (S - (II - 3)) 6.3 mg (0.009 mmol) のテトラヒドロフラン (0.2 ml) 溶液を加え、65 分間、加熱還流した。反応液を室温まで戻した後、水素化リチウムアルミニウム 7.0 mg (0.18 mmol) を加え、さらに 30 分間、加熱還流した。反応液を 0 に冷却し、水 0.5 ml とテトラヒドロフラン 0.5 ml の混合液を加えた。反応液に 1 N - 塩酸及び酢酸エチルを加え、酢酸エチルで 3 回抽出し、有機層を水で 3 回洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、(22S) - 20 - エピ - 22 - エチル - 25 - メトキシメトキシ - 24, 24 - ジホモコレスタ - 5, 7, 23 - トリエン - 1, 3 - ジオール (S - (II - 4)) 2.1 mg を得た (収率 44%)。得られた化合物の物理化学的性質は、下記のとおりであった。

20

30

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz) :

0.61 (s, 3H, H-18), 0.75 (d, $J = 6.9\text{ Hz}$, H-21), 0.84 (t, 3H, $J = 7.4\text{ Hz}$, エチル基の CH_3), 0.95 (s, 3H, H-19), 1.23 (s, 6H, H-26 と H-27), 1.25 - 2.56 (m), 3.37 (s, 3H, メトキシメチル基の OCH_3), 3.78 (s, 1H, H-1), 4.07 (m, 1H, H-3), 4.72 (s, 2H, メトキシメチル基の OCH_2O), 5.25 - 5.39 (m, 3H, H-7, H-22 と H-23), 5.74 (m, 1H, H-7)

MS m/z :

514 (2.5, M^+), 496 (5), 482 (8.1), 464 (12), 452 (72), 434 (100)

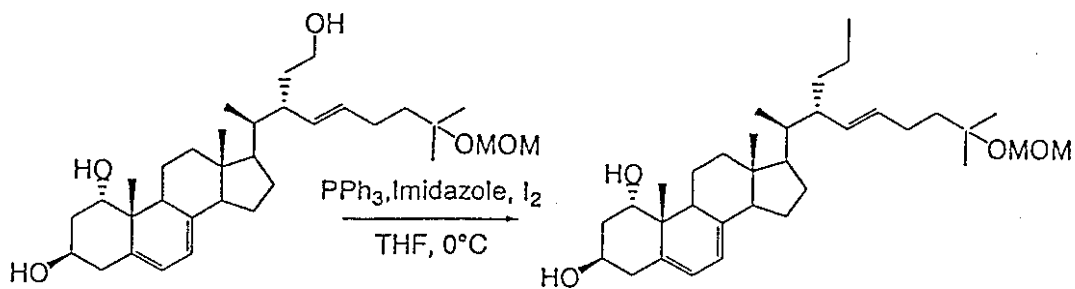
40

【0093】

実施例 7 [(22R) - 20 - エピ - 22 - (2 - ヨードエチル) - 25 - メトキシメトキシ - 24, 24 - ジホモコレスタ - 5, 7, 23 - トリエン - 1, 3 - ジオール (R - (II - 3)) の製造] (第 5 工程)

【0094】

【化 20】



10

【0095】

0 に冷却した実施例4で得られた(22R)-20-エピ-22-ヒドロキシエチル-25-メトキシメトキシ-24,24-ジホモコレスタ-5,7,23-トリエン-1,3-ジオール(R-(II-2))19.8mg(0.037mmol)、トリフェニルホスフィン19.5mg(0.73mmol)及びイミダゾール7.1mg(0.10mmol)のテトラヒドロフラン(0.4ml)溶液にヨウ素14.2mg(0.055mmol)を加え、1時間攪拌した。反応混合物に酢酸エチル1ml、水1mlを加え酢酸エチルで抽出した。有機層をチオ硫酸ナトリウム水溶液、水でそれぞれ洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、(22R)-20-エピ-22-(2-ヨードエチル)-25-メトキシメトキシ-24,24-ジホモコレスタ-5,7,23-トリエン-1,3-ジオール(R-(II-3))13.3mgを得た(収率56%)。得られた化合物の物理化学的性質は、下記のとおりであった。

20

¹H-NMR(400MHz) :

0.63(s,3H,H-18),0.80(d,3H,J=6.8Hz,H-21),0.95(s,1H,H-19),1.22(s,6H,H-26とH-27),1.26-1.84(m),1.91-2.18(m,7H),2.24-3.78(m,2H),2.51-2.57(m,1H),2.71-2.76(m,1H),2.95(q,1H,J=9.2Hz,CH₂I),3.22(dt,1H,J=9.5,4.3Hz,CH₂I),3.37(s,3H,-OCH₃),3.78(s,1H,H-1),4.04(m,1H,H-3),4.71(s,2H,OCH₂O),5.26(dd,2H,J=15.2,8.8Hz,H-23),5.58(dd,1H,J=5.6,2.8Hz,H-6),5.48(dt,J=15.1,5.5Hz,H-24),5.78(dd,1H,J=5.6,2.6Hz,H-7)

30

¹³C-NMR(400MHz) :

12.0,12.6,13.9,16.2,20.8,20.9,22.9,27.3,29.3,38.1,38.5,38.6,40.0,40.5,42.3,43.6,47.0,52.2,54.6,65.5,72.9,115.2,122.1,130.5,134.4,135.8,141.3

40

MS m/z :

640(5.8,M⁺),578(59),560(100),504(41),267(64)

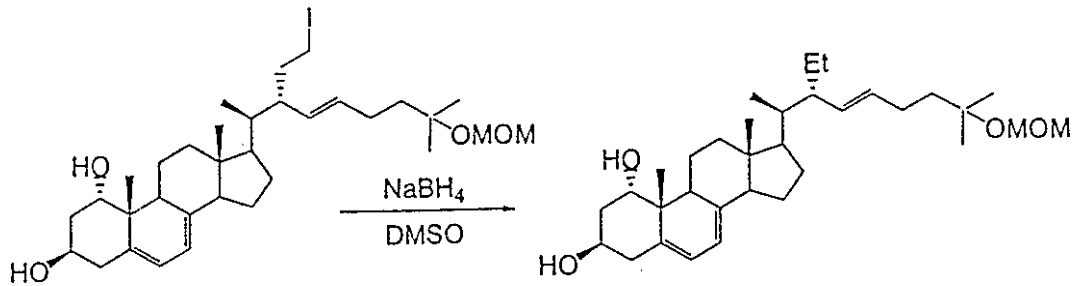
【0096】

実施例8[(22R)-20-エピ-22-エチル-25-メトキシメトキシ-24,24-ジホモコレスタ-5,7,23-トリエン-1,3-ジオール(R-(II-4))の製造](第6工程)

【0097】

【化21】

50



10

【0098】

実施例7で得られた(22R)-20-エピ-22-(2-ヨードエチル)-25-メトキシメトキシ-24,24-ジホモコレスタ-5,7,23-トリエン-1,3-ジオール(R-(II-3))20.7mg(0.032mmol)のジメチルスルホキシド(0.4ml)溶液に水素化ホウ素ナトリウム4.1mg(0.11mmol)を加え、1時間40分間攪拌した。反応液に水素化ホウ素ナトリウム2.2mg(0.058mmol)を更に加え、1時間攪拌した。反応混合物に水1mlを加え、酢酸エチルで抽出した。水層に食塩水0.5mlを加え、さらに酢酸エチルで抽出した。得られた有機層を水で5回洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒を減圧留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、(22R)-20-エピ-22-エチル-25-メトキシメトキシ-24,24-ジホモコレスタ-5,7,23-トリエン-1,3-ジオール(R-(II-4))12.1mgを得た(収率73%)。得られた化合物の物理化学的性質は、下記のとおりであった。

20

$^1\text{H-NMR}$ (400MHz) :

0.64 (s, 3H, H-18), 0.77 (d, 3H, $J = 6.3\text{ Hz}$, H-21), 0.80 (t, 3H, $J = 7.3\text{ Hz}$, エチル基の CH_3), 0.95 (s, 3H, H-19), 1.22 (s, 6H, H-26とH-27), 1.25-2.16 (m), 2.34 (t, 1H, $J = 13.3\text{ Hz}$), 2.51-2.56 (m, 1H), 2.69-2.73 (m), 3.77 (s, 1H, H-1), 4.02-4.10 (m, 1H, H-3), 5.30-5.45 (m, 3H, H-6, H-23とH-24), 5.73 (dd, 1H, $J = 5.6, 2.1\text{ Hz}$, H-7)

30

MS m/z :

514 (3.8, M^+), 482 (14), 465 (12), 452 (76), 434 (100)

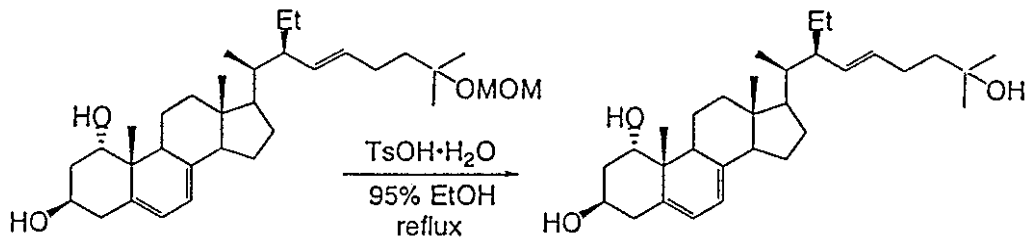
【0099】

実施例9[(20S,22S)-22-エチル-23,24-デヒドロ-24,24-ジホモ-1,25-ジヒドロキシビタミン D_3 (S-(I))の製造](第7工程)

40

【0100】

【化22】



10

【0101】

実施例6で得られた(22S)-20-エピ-22-エチル-25-メトキシメトキシ-24,24-ジホモコレスタ-5,7,23-トリエン-1,3-ジオール(S-(II-4)) 5.9 mg (0.0033 mmol)の95%エタノール0.2 ml溶液にp-トルエンスルホン酸1水和物6.7 mg (0.035 mmol)を加え、15分間加熱還流した。反応溶液をトリエチルアミンで中和した後、溶媒を減圧留去した。残渣に酢酸エチル1 ml及び水1 mlを加え、酢酸エチルで3回抽出し、有機層を水で2回洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を減圧留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、(20S,22S)-22-エチル-24,24-ジホモコレスタ-5,7,23-トリエン-1,3,25-トリオール(S-プロビタミンD) 3.4 mgを得た(収率63%)。なお、得られたS-プロビタミンDの物理化学的性質は、以下のとおりであった。

20

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz) :

0.62 (s, 3H, H-18), 0.74 (d, $J=6.9\text{ Hz}$, H-21), 0.84 (t, 3H, $J=7.6\text{ Hz}$, エチル基の CH_3), 0.95 (s, 3H, H-19), 1.22 (s, 6H, H-26とH-27), 1.27-2.70 (m), 3.77 (s, 1H, H-1), 4.06 (m, 1H, H-3), 5.28-5.42 (m, 3H, H-7, H-22とH-23), 5.73 (m, 1H, H-7)

MS m/z :

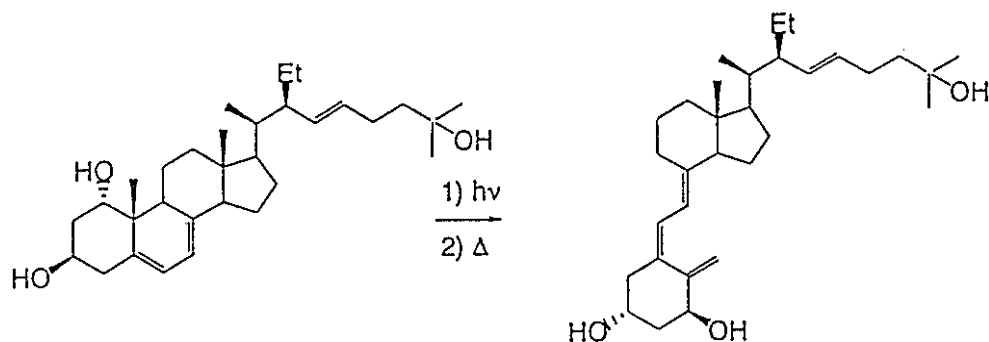
470 (19, M^+), 452 (100), 434 (42), 297 (26), 279 (36), 227 (26), 137 (35)

UV (max , 95% EtOH, nm) :

294, 282, 271, 262, 204

【0102】

【化23】



40

【0103】

次いで、氷水で冷却したS-プロビタミンD 3.166 mg ($6.73 \times 10^{-3}\text{ mmol}$)

50

)のベンゼン150ml、エタノール20mlの混合溶液にアルゴンガスを15分間バブリングし、溶存酵素を除去した。100W高圧水銀ランプをvycor filterを通して3分間照射した。反応溶液を濃縮し、セファデックスLH-20(クロロホルム:ヘキサン:メタノール=70:30:0.7、以下も同様)で精製し、(20S, 22S)-22-エチル-23, 24-デヒドロ-24, 24-ジホモ-1, 25-ジヒドロキシプレビタミンD₃(S-プレビタミンD)1.255mg(UV(max):258nm)を得た。これを遮光下室温で2週間放置した後、溶媒を留去し、セファデックスLH-20で精製し、(20S, 22S)-22-エチル-23, 24-デヒドロ-24, 24-ジホモ-1, 25-ジヒドロキシプレビタミンD₃(S-(I))0.84mgを得た。得られた化合物の物理化学的性質は、下記のとおりであった。¹H-NMR(400MHz)

0.53(s, 3H, H-18), 0.74(d, 3H, J=6.75Hz, H-21), 0.83(t, 3H, J=7.4Hz, エチル基のCH₃), 1.24と1.25(s, 6H, H-26とH-27), 1.25-2.34(m), 2.60(bd, 1H, J=10.2Hz), 2.84(bd, 1H, J=11.4Hz), 4.22(m, 1H, H-3), 4.42(dd, 1H, J=7.6, 4.3Hz, H-1), 5.00(s, 1H, H-19), 5.28-5.42(m, 3H, H-23, H-24とH-19), 6.01(d, 1H, J=11.4Hz, H-7), 6.38(d, 1H, J=11.3Hz, H-6)

MS m/z:

452(45, M-MeOH), 437(47), 416(28), 368(35), 236(78), 137(58), 97(77)

UV(max, 95% EtOH, nm):

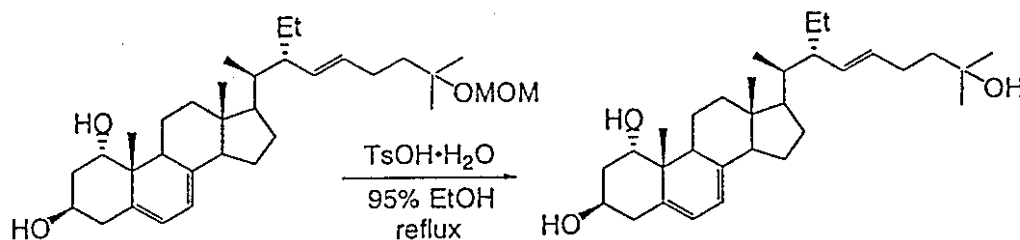
263

【0104】

実施例10[(20S, 22R)-22-エチル-23, 24-デヒドロ-24, 24-ジホモ-1, 25-ジヒドロキシプレビタミンD₃(R-(I))の製造](第7工程)

【0105】

【化24】



【0106】

実施例8で得られた(22R)-20-エピ-22-エチル-25-メトキシメトキシ-24, 24-ジホモコレスタ-5, 7, 23-トリエン-1, 3-ジオール(R-(II-4))8mg(0.015mmol)の95%エタノール(0.3ml)溶液に、p-トルエンスルホン酸1水和物6.8mg(0.036mmol)を加え、15分間加熱還流した。反応液を室温に戻し、トリエチルアミンで中和した後、エタノールを留去した。残渣を酢酸エチル、食塩水に溶解し、酢酸エチルで抽出した。有機層を食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグ

ラフィーで精製し、(20S, 22R) - 22 - エチル - 24, 24 - ジホモコレスタ - 5, 7, 23 - トリエン - 1, 3, 25 - トリオール (R - プロビタミンD) 6.6 mgを得た (収率90%)。なお、得られたR - プロビタミンDの物理化学的性質は、以下のとおりであった。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz) :

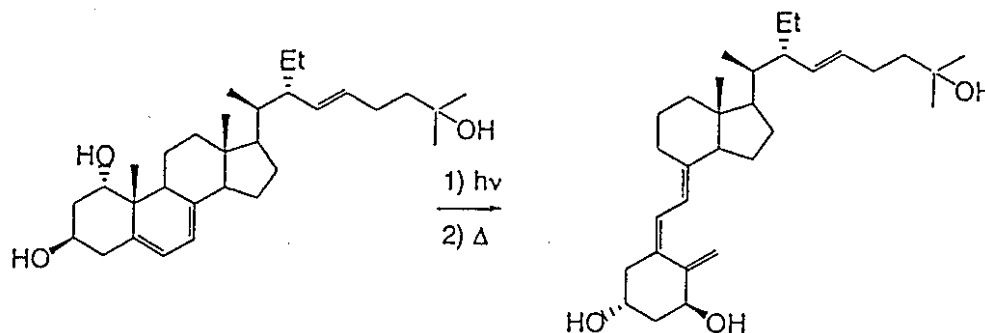
0.64 (s, 3H, H-18), 0.77 (d, 3H, $J = 6.3\text{ Hz}$, H-21), 0.80 (t, 3H, $J = 7.3\text{ Hz}$, エチル基の CH_3), 0.95 (s, 3H, H-19), 1.22 (s, 6H, H-26とH-27), 1.25 - 2.16 (m), 2.31 - 2.37 (m, 1H), 2.51 - 2.57 (m, 1H), 2.70 - 2.71 (m, 1H), 3.77 (s, 1H, H-1), 4.04 - 4.10 (m, 1H, H-3), 5.31 - 5.45 (m, 3H, H-6, H-23とH-24), 5.73 (dd, 1H, $J = 5.7\text{ Hz}$, 2.3)

UV (max, 95% EtOH, nm) :

293, 282, 271

【0107】

【化25】



【0108】

次いで、氷水で冷却したR - プロビタミンD 16.8 mg (0.036 mmol)のベンゼン150 ml、エタノール20 ml混合溶液に、アルゴンガスを20分間バブリングし、溶存酵素を除去し、実施例9と同様に、(20S, 22R) - 22 - エチル - 23, 24 - デヒドロ - 24, 24 - ジホモ - 1, 25 - ジヒドロキシプレビタミンD₃ (R - プレビタミンD) 7.31 mgを得た。これを95%エタノール1 mlに溶解し、遮光下室温で2週間放置した。溶媒を留去し、セファデックスLH - 20で精製し、(20S, 22R) - 22 - エチル - 23, 24 - デヒドロ - 24, 24 - ジホモ - 1, 25 - ジヒドロキシビタミンD₃ (R - (I)) 3.97 mgを得た (収率24%)。得られた化合物の物理化学的性質は、下記のとおりであった。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz) :

0.54 (s, 3H, H-18), 0.76 (d, 3H, $J = 6.5\text{ Hz}$, H-21), 0.81 (t, 3H, $J = 7.3\text{ Hz}$, エチル基の CH_3), 1.09 - 1.18 (m), 1.22 (s, 6H, H-26とH-27), 1.26 - 1.77 (m), 1.89 - 2.13 (m, 8H), 2.31 (dd, 1H, $J = 13.4, 6.6\text{ Hz}$), 2.60 (dd, 1H, $J = 13.4, 3.3\text{ Hz}$), 2.83 (dd, 1H, $J = 12.1, 3.8\text{ Hz}$), 4.21 - 4.24 (m, 1H, H-3), 4.23 (dd, 1H, $J = 7.4, 4.3\text{ Hz}$, H-1), 5.00 (s, 1H, H-19), 5.28 - 5.44 (m, 3H, H-19, H-23とH-24), 6.02 (d, 1H, H-6又はH-7), 6.38 (d, 1H, H-6又はH-7)

^{13}C - NMR (4 0 0 M H z) :
 1 2 . 2 , 1 2 . 6 , 1 4 . 1 , 2 1 . 1 , 2 2 . 2 , 2 3 . 6 , 2 6 . 6 , 2 7 . 8 ,
 2 9 . 1 , 2 9 . 3 , 3 9 . 6 , 4 0 . 2 , 4 2 . 8 , 4 3 . 6 , 4 5 . 3 , 4 6 . 0 ,
 4 7 . 3 , 5 2 . 8 , 5 6 . 2 , 6 6 . 8 , 7 0 . 8 , 7 1 . 1 , 1 1 1 . 8 , 1 1 7 .
 0 , 1 2 5 . 0 , 1 3 0 . 5 , 1 3 4 . 3 , 1 4 7 . 6

M S m / z :

4 7 0 (1 5 , M⁺) , 4 5 2 (1 0 0) , 4 1 6 (4 4) , 2 9 7 (3 4) , 2 7 9 (3 8) , 1 3 4 (5 9) , 9 5 (4 5)

U V m a x (9 5 % E t O H , n m) :

2 6 4

10

【 0 1 0 9 】

試験例 1 [ウシ胸腺 1 , 2 5 - ジヒドロキシビタミン D₃ 受容体との結合性試験]

実施例 9 で得られた (2 0 S , 2 2 S) - 2 2 - エチル - 2 3 , 2 4 - デヒドロ - 2 4 , 2 4 - ジホモ - 1 , 2 5 - ジヒドロキシビタミン D₃ (化合物 I - A) 及び実施例 1 0 で得られた (2 0 S , 2 2 R) - 2 2 - エチル - 2 3 , 2 4 - デヒドロ - 2 4 , 2 4 - ジホモ - 1 , 2 5 - ジヒドロキシビタミン D₃ (化合物 I - B) のウシ胸腺 1 , 2 5 - ジヒドロキシビタミン D₃ 受容体との結合能を測定した。

【 0 1 1 0 】

即ち、化合物 I - A、化合物 I - B の段階的希釈溶液 (2、4、8、16、32、63、125、250、500、5000 pg / 50 μl エタノール溶液) の各々に、ウシ胸腺 1 , 2 5 - ジヒドロキシビタミン D₃ 受容体 ((株) ヤマサ製) 溶液 (500 μl リン酸緩衝液) を添加し、攪拌した後、室温で 1 時間プレインキュベーションした。各々にトリチウムラベルした 1 , 2 5 - ジヒドロキシビタミン D₃ (4 . 8 5 T B q / m m o l) 1 0 6 7 2 d p m / 5 0 μ l エタノール溶液を加え、攪拌し、4 で一夜放置した後、DCC (デキストランコーテッドチャコール) 懸濁液 ((株) ヤマサ製) を加え、攪拌し、1 , 2 5 - ジヒドロキシビタミン D₃ 受容体と結合していない試料 (遊離型) を吸着させた。

20

【 0 1 1 1 】

反応混合物を遠心分離 (3 0 0 0 r p m) することにより、DCC を分離し、1 , 2 5 - ジヒドロキシビタミン D₃ 受容体と結合している試料 (結合型) を遊離型から分離 (B F 分離) した。上清 5 0 0 μ l を採り、シンチレーションカウンターにて放射活性を測定し、1 , 2 5 - ジヒドロキシビタミン D₃ 受容体に結合しているトリチウムラベルした 1 , 2 5 - ジヒドロキシビタミン D₃ の割合を求めて、トリチウムラベルした 1 , 2 5 - ジヒドロキシビタミン D₃ の 5 0 % が 1 , 2 5 - ジヒドロキシビタミン D₃ 受容体と結合する時の被験化合物の濃度 (E D₅₀ 値) を求めた。

30

【 0 1 1 2 】

対照化合物として、1 , 2 5 - ジヒドロキシビタミン D₃ を用いて同様の試験を行い、該化合物の E D₅₀ 値を求め、これを 1 とした時の被験化合物の結合活性 (相対活性) を求めた。その結果を表 1 に示す。

【 0 1 1 3 】

40

【 表 1 】

化合物の種類	被験化合物の結合活性 (相対活性)
対照化合物	1
被験化合物	
化合物 I - A	1 / 7.1
化合物 I - B	1 / 457

10

【0114】

なお、表1中の対照化合物、化合物I-A及び化合物I-Bは、以下の化合物を示す。 20

対照化合物：1, 25-ジヒドロキシビタミンD₃

化合物I-A：(20S, 22S)-22-エチル-23, 24-デヒドロ-24, 24-ジホモ-1, 25-ジヒドロキシビタミンD₃

化合物I-B：(20S, 22R)-22-エチル-23, 24-デヒドロ-24, 24-ジホモ-1, 25-ジヒドロキシビタミンD₃

【0115】

表1に示された結果から、化合物I-A及び化合物I-Bは、表1に示された結果から、いずれもウシ胸腺1, 25-ジヒドロキシビタミンD₃受容体と高い結合活性を有することがわかる。また、ラットを用いた血中カルシウム上昇作用も弱い。

【0116】

以上の結果から、本発明の20-エピ-22-エチル-23, 24-デヒドロ-24, 24-ジホモビタミンD誘導体は、高いビタミンD受容体結合活性を有し、血中カルシウム上昇作用がさほど高くなく、安全性により優れるという優れた性質を有することがわかる。

30

【0117】

試験例2〔一過性の遺伝子導入法を用いた遺伝子転写活性評価〕

実施例9で得られた(20S, 22S)-22-エチル-23, 24-デヒドロ-24, 24-ジホモ-1, 25-ジヒドロキシビタミンD₃ (化合物I-A)及び実施例10で得られた(20S, 22R)-22-エチル-23, 24-デヒドロ-24, 24-ジホモ-1, 25-ジヒドロキシビタミンD₃ (化合物I-B)の一過性の遺伝子導入法を用いた遺伝子転写活性を測定した。 40

【0118】

一過的な遺伝子導入は、以下のとおりに行った。即ち、サルCV-1 cells / gal-1-hVDR細胞を培地(培地条件：DMDM 10% FBS)で培養し(培養条件：37、5% CO₂)、各ウェル毎にリン酸カルシウム法を用いて下記プラスミドのトランスフェクションを行った。各ウェルあたりに使用したDNA量としては、pCMX-GAL-VDR(酵母GAL4蛋白質のDNA結合ドメインとヒトVDRのリガンド結合ドメインのキメラ蛋白質の発現ベクター)30ng、pGAL4-TK-LUC(GAL4蛋白質の結合サイトを持つシフェラーゼレポーター遺伝子を含有するプラスミド)150ng、pCMX-GAL(トランスフェクション効率補正用の - ガラクトシダーゼ発現 50

プラスミド) 350 ng 及び pGEM4 (DNA量を補正するためのキャリアプラスミド) 220 ng を用いた。

【0119】

リン酸カルシウムとの共沈殿とした前記DNAを前記細胞に加え、6時間培養後、PBS (リン酸緩衝生理食塩水) で2回細胞を洗浄して、沈殿を除去した。沈殿に新鮮な培地を加える際に、段階的希釈濃度 (10^{-7} 、 10^{-8} 、 10^{-9} 、 10^{-10} 、 10^{-11} M) を有する化合物I-A、化合物I-B又は対照として1, 25-ジヒドロキシビタミンD₃ を加え、36時間培養した後、細胞をPBSで洗浄し、LYSIS bufferで溶解させ、これを100 µlの細胞抽出液とした。このうち20 µlを用いてルシフェラーゼ活性を蛍光法により測定し、また、50 µlを用いてONPG (o-ニトロフェニル-D-ガラクトプラノシド) による発色反応を指標として、D-ガラクトシダーゼ活性を測定した。各ウェル毎に得られたルシフェラーゼ活性をD-ガラクトシダーゼ活性で補正した。この結果を表2に示す。

【0120】

【表2】

化合物の種類	被検化合物の遺伝子転写活性 (相対活性)
対照化合物	1
被験化合物	
化合物I-A	1 / 10
化合物I-B	50

【0121】

表2に示された結果から、一過性の遺伝子導入法を用いた遺伝子転写活性に関して、特に化合物I-Bは対照化合物の50倍という強い活性を有することがわかる。

【0122】

【発明の効果】

本発明の式(I)で表される20-エピ-22-エチル-23, 24-デヒドロ-24, 24-ジホモビタミンD誘導体は、高いビタミンD受容体結合活性を有し、かつ安全性に優れたものである。副甲状腺機能低下症、副甲状腺機能亢進症、骨軟化症、骨粗鬆症等のカルシウム代謝の欠陥症、乾癬等の皮膚疾患及び骨髄性白血病、乳ガンに代表される悪性腫瘍等の細胞分化機能に異常をきたした疾患の治療に有用なカルシウム代謝改善剤として好適に使用しうるものである。

フロントページの続き

(51) Int.Cl. F I
A 6 1 P 19/08 (2006.01) A 6 1 P 19/08
A 6 1 P 19/10 (2006.01) A 6 1 P 19/10
A 6 1 P 35/00 (2006.01) A 6 1 P 35/00

(56) 参考文献 特許第 3 5 8 9 4 1 3 (J P , B 2)
特表平 5 - 5 0 1 7 1 8 (J P , A)
特開平 7 - 2 0 6 8 1 3 (J P , A)

(58) 調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

C07C401/00
A61K 31/59
CA(STN)
REGISTRY(STN)