

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 특허공보(B1)

(51) Int. Cl.⁶
C07C 401/00
A61K 31/59

(45) 공고일자 1994년04월21일
(11) 공고번호 94-003360

(21) 출원번호	특 1989-0702480	(65) 공개번호	특 1990-7000448
(22) 출원일자	1989년 12월 28일	(43) 공개일자	1990년 08월 13일
(86) 국제출원번호	PCT/US 89/001632	(87) 국제공개번호	WO 89/10352
(86) 국제출원일자	1989년 04월 18일	(87) 국제공개일자	1989년 11월 02일

(30) 우선권주장 187,675 1988년 04월 29일 미국(US)
(71) 출원인 위스콘신 알럼나이 리써취 파운데이션 존 알. 파이크
미합중국 53705 위스콘신주 매디슨 월릿 스트리트 614

(72) 발명자 드루카, 핵터, 에프.
미합중국 53531 위스콘신주 디어필드 하이웨이 비비 1809
쉬노에스, 하인리히, 케이.
미합중국 53705 위스콘신주 매디슨 서미트 애비뉴 1806
필먼, 캐토, 엘.

(74) 대리인 미합중국 53711 위스콘신주 매디슨 치퍼와 코트 1
김성택, 장수길

심사관 : 연무식 (책자공보 제3604호)

(54) 불포화 측쇄를 갖는 1 α -히드록시비타민 D동족체

요약

내용 없음.

대표도

도 1

명세서

[발명의 명칭]

불포화 측쇄를 갖는 1 α -히드록시비타민 D동족체

[발명의 상세한 설명]

본 발명은 종양세포를 정상 세포로 분화시키는 것을 유발하는데 있어서 특이적 활성을 갖는 신규 비타민 D화합물에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 본 발명은 불포화 측쇄 및 신장된 측쇄를 갖는 1 α ,25-디히드록시비타민 D₃[1,25-(OH)₂D₃]의 유사체에 관한 것으로서 이것은 종양 세포를 분화시키는 데 있어서 증가된 작용을, 칼슘 대사에 있어서 훨씬 감소된 작용을 나타냄으로써 항종양제로서의 선택적인 작용을 갖는다.

[발명의 배경]

칼슘 대사 및 정상적인 뼈의 성장 및 발달을 조절하는데 있어서 D비타민군(비타민(D₃ 또는 D₂))의 활성은 모 비타민의 특성 히드록시화 형태로의 대사를 필요로 하는 것으로 알려졌다. 구체적으로, 동물 또는 사람에게 있어서 비타민 D₃로부터 통상적으로 형성된 이히드록시화 대사물질인 1 α ,25-디히드록시비타민 D₃[1,25-(OH)₂D₃]가 장에서의 칼슘 운반 및 뼈로부터의 칼슘 흡수(뼈의 이동화)를 자극하는데 관여하므로 생물체의 전체 혈중 칼슘 농도를 조절하는 활성 종(species)이라는 것이 입증되었다(비타민 D대사물질 또는 유사체의 칼슘 관련작용을, 이후의 본 명세서에서 총체적으로 화합물의 "칼세믹 활성" 또는 "칼세믹 작용"으로 칭함). 또한, 예를들면, 1 α -히드록시비타민 D₃, 1 α -히드록시비타민 D₂, 1 α ,25-디히드록시비타민 D₂ 또는 1,25-(OH)₂D₃의 플루오로치환 유도체와 같은 1,25-(OH)₂D₃의 특정 구조적 유사체도 고도의 활성을 갖는 칼세믹제로 알려져 왔으며, 그 결과 1,25-(OH)₂D₃ 및 그의 활성 유사체가 신성골이영양증(腎性骨異營養症), 비타민 D-내성 구루병 또는 골다공증 및 관련 질병과 같은 다양한 칼슘 대사 및 뼈 질병의 예방 및 치료에 있어서 약품으로 사용되고

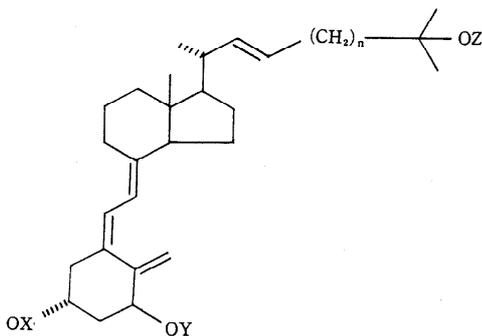
권유되어 왔다.

보다 최근에는 1,25-(OH)₂D₃ 가 상기의 잘 알려진 “칼세믹 작용” 이외에 다른 생물학적 기능을 나타낸다는 것이 발견되었다. 예를들면, 1,25-(OH)₂D₃ 및 밀접한 관련 유사체(1 α -OH-D₃, 1,25(OH)₂D₂, 플루오로-치환 유사체 등)가 세포 분화를 유발할 수 있는 것으로 밝혀졌다[Abe등, Proc.Natl.Acad.Sci.USA 제78권, 4990페이지(1981년) ; Honma등, Proc.Natl.Acad.Sci.USA 제80권, 201페이지(1983)]. 구체적으로 1,25-(OH)₂D₃ 및 그의 유사체는 배양중의 종양 세포(즉, 인체 백혈병 세포)의 증식을 억제하고 이들을 정상 대식형 세포로 전환시키는 것으로 밝혀졌다. (이후의 본 명세서에서, 이러한 형태의 작용을 총체적으로 비타민 D 화합물의 “분화 작용”으로 나타냄). 분화 유발제로서 이들의 뛰어난 효능 때문에, 이들 비타민 D 유도체는 잠재적으로는 항암제로 유용하며, 실제로 이들의 인체 백혈병 치료용의 용도가 제안되었다. (Suda등, 미합중국 특허 제4,391,802호). 그러나, 이들 화합물이 배양 중의 종양 세포를 분화시키는데 있어서는 고도의 효능을 나타내지만, 생체 내에서는 이들의 동일하게 높은 칼세믹 작용이 실질적인 항암제로서의 이들의 용도를 제한하거나 또는 방해한다. 따라서 1,25-(OH)₂D₃ 또는 그의 플루오로화 유도체는 대단히 강력한 화합물이다. 이들 유사한 화합물들은 항암(백혈병 억제)제로서의 용도로 유효하기 위한 생체내 필요 농도에서 이들의 본질적인 칼세믹 작용에 의해 혈중 칼슘 농도를 위험할 정도로 증가시킬 수 있다. 알려진 다른 비타민 D유도체는 분화 작용과 칼세믹 작용 사이의 유사한 대응 관계와 잠재적인 항암제로서의 이들의 실질적인 용도를 나타내므로 동일한 제한 및 위험성을 갖게 된다. 이러한 관찰을 통하여 확실히 항암제로서 더 높은 작용 특이성과 선택성을 가진 화합물 즉, 개선된 분화/칼세믹 작용비를 갖는 화합물에 대한 필요성을 인지하게 되었으며 이러한 연구를 고무하여 최근의 연구에 의해 분화 작용을 증진시킨 몇가지 비타민 D유도체를 제조하기에 이르렀다. 예를 들면, 그의 측쇄가 1개의 탄소 원자에 의해(사슬내 또는 그의 말단에서) 연장된 특정 1,25-(OH)₂D₃ 동족체는 배양 중인 백혈병 세포에 대해 1,25-(OH)₂D₃ 그 자체보다 현저하게 높은(약 10배의) 분화 작용을 나타낸다는 것을 발견하였다. [DuLuca등, 미합중국 특허 제4,717,721호 ; Ostrem 및 DeLuca, Steroid 제49권, 73-102 페이지(1988년) ; Ostrem등, J. Biol. Chem, 제262권, 14864페이지(1987년)]. 그러나, 이들 동족체는 여전히 1,25-(OH)₂D₃의 칼세믹 작용과 거의 동등한 칼세믹 작용을 나타내는 대단히 강력한 칼세믹 제이다. 따라서, 이들 화합물들은 증대된 분화/칼세믹 활성 비율의 특성을 갖지만 이들은 상기 논의한 바람직하지 못한 강력한 칼세믹 작용의 문제를 해결하지는 못한다. 선택적 분화 작용을 갖는 것으로 보고된 다른 비타민 D-관련 화합물이 제조되었으나[Ostrem등, 상기함 ; Kubodera등, Chem.Pharm.Bull.제34권, 2286-2289페이지(1986년) ; Ikekawa등, Chem.Pharm.Bull 제35권, 4362페이지 (1987년)], 이들은 본 발명의 화합물과 구조적으로 별개이며 상이하다.

[발명의 요약]

본 발명자들은 비타민 D-관련 화합물이 이들의 분화 대 칼세믹 반응면에 있어서 바람직하고 매우 유리한 작용 유형을 나타낸다는 것을 발견하였다. 이러한 신규 비타민 유사체는 종양 세포의 증식을 억제하고 이들의 정상 단핵구 형 세포로의 분화를 유발하는 데 있어서 매우 탁월한 활성[1,25-(OH)₂D₃의 활성과 비슷하거나, 그 이상임]을 나타내나 칼세믹 작용에 관한 한 1,25-(OH)₂D₃보다 훨씬 적은 활성을 갖는다. 따라서, 이들 신규 화합물은 극적으로 증대된 분화/칼세믹 활성 비를 나타내며 이러한 특징에 의해, 이 화합물들이 종양 질병의 치료를 위한 바람직한 시약을 대표한다. 분화의 유발에 있어서는 활성이 높고 칼세믹제로서는 활성이 훨씬 낮을 경우, 이들 화합물들을 투여하여도 혈중 칼슘 농도를 과도하게 증가시키지 않으므로 높은 칼세믹 작용과 관련된 주된 실질적인 문제를 극복할 수 있다.

이들 신규 화합물은 두 개 또는 세 개의 메틸렌 단위를 탄소 사슬에 삼입시킴으로서 측쇄를 신장시킨, 불포화된 측쇄를 갖는 1,25-(OH)₂D₃의 동족체로서의 구조적 특징을 갖는다. 따라서, 이들은 다음의 일반 구조로 나타내진다.



식 중에서, X, Y 및 Z는 서로 동일하거나 또는 상이할 수 있고, 수소 원자 및 히드록시 보호기로 구성되는 군 중에서 선택되고, n은 3 또는 4이다.

이들 화합물의 구체적이고 바람직한 예로는 24-디호모-1,25-디히드록시-22-데히드로비타민 D₃ (X, Y 및 Z가 수소원자이고 n이 3인 상기 화합물) 및 24-트리호모-1,25-디히드록시-22-데히드로비타민 D₃ (X, Y 및 Z가 수소원자이고 n이 4인 상기 화합물)을 들 수 있다.

이들 신규 화합물이 미합중국 특허 제4,717,721호에 나타낸 불포화된 측쇄를 갖는 24-호모-비타민 D 화합물과 관련됨이 명백하다. 그러나, 신규 화합물은 특색있는 구조적 및 생물학적 특성을 갖는다. 구조적으로, 구별 가능한 특징은 2개 또는 3개의 메틸렌 단위를 삼입하여 동족체화시킨 불포화된 측

쇄이며, 생물학적으로 이 화합물은 칼세믹 작용이 없거나 크게 감소된 매우 강력한 세포 분화제라는 점이다.

[신규 화합물의 제조]

본 발명의 신규 화합물의 합성예를 반응식 1, 2 및 3에 개략적으로 나타내었다. 반응식 1은 목적하는 1 α -히드록시비타민 D-22-알데히드 중간체를 나타내고 이것은 반응식 2에 나타낸 바와 같이, 적절한 알킬페닐술폰 촉매 단위와 결합시켰을 때 목적하는 비타민 D동족체(예, 각각의 화합물(25) 및 (26))를 제공한다. 반응식 3은 촉매 커플링에 필요한 알킬페닐술폰 단위의 제조를 설명한다. 반응식으로 나타낸 화학 반응 단계를 위한 실험적인 상세한 과정을 다음의 구체적인 실시예에 나타내었다. 이들 실시예에서 사용된 바와 같이 아라비아 숫자(예, 1, 2, 3 등)로 표시한 화합물들은 이 반응식에서 동일 번호를 부여한 구조를 의미한다.

[일반적인 방법]

3 β -아세톡시-22,23-비스노르 5-콜렌산(1)은 스테랄로이드(Steralods, 뉴햄프셔주 월큰 소재)사로부터 구입하였다. 기타 모든 화학약품은 상업적으로 입수가 용이한 출처로부터 구입한 최상품이었다. 용매는 표준 방법에 의해 정제하였다.

EM 사이언스(뉴저지주 김슨타운 소재)사의 UV 지시계를 갖춘 예비 도포된 실리카 겔 시트를 사용하여 박층 크로마토그래피(TLC)를 수행하였다. 용매계는 A[클로로포름-에탄올 18 : 15(v/v)], B[hexan-에틸 아세테이트 1 : 1] 및 C[hexan-에틸 아세테이트 3 : 1]를 사용하였다.

고성능 액체 크로마토그래피(HPLC)는 모델 6000A 용매 전달계, 모델 6 UK 유니버설 주입기 및 모델 450의 다양한 파장을 검출할 수 있는 검출기가 장착된 워터스 어소시에트(Waters Associates)사의 액체 크로마토그래피를 사용하여 수행하였다. 조르박스-실(Zorbax-Sil, Phenomenex사 제품) 컬럼(6.2mm \times 25cm 및 10mm \times 25cm)을 사용하였다. 용매계는 A(hexan 중의 3% 2-프로판올), B(hexan 중의 2% 2-프로판올), C(hexan 중의 6% 2-프로판올), D : hexan 중의 10% 2-프로판올) 및 E(hexan 중의 20% 2-프로판올)이었다. 실리카 겔 Sep-Pak(Water Associates) 카트리지를 HPLC 시료의 예비여과용으로 사용하였다.

전자 충격 질량 스펙트럼(MS)을 크라토스(Kratos)S-55 데이터 시스템이 장착된 크라토스 MS-50 TC 질량 분광계로 70 eV에서 기록하였다.

자외선(UV)흡수 스펙트럼을 히다찌 모델 60-100 UV-Vis 분광 광도계로 기록하였다.

적외선 스펙트럼을 유상 물질의 필름이나 사염화탄소 용액을 사용한 Nicolet MX-1 FT-IR 분광계로 기록하였다.

양성자 자기 공명 스펙트럼(¹H-NMR)을 내부 기준물로서 테트라메틸실란(TMS)을 함유한 CDCl₃ 용액 중에서 부루커(Bruker)270,400 또는 500MHz 분광계로 기록하였다.

[실시예 1]

보호 C-22-알데히드의 합성 (화합물 18 ; 반응식 1)

이 알데히드는 쿠트너 등[Kutner et al, Tet. Letters 제28권, 6129-6132페이지(1987년)]의 일반적인 방법에 의해 제조하였다.

화합물(1) 10g을 메탄올 중의 5% KOH 420ml에 용해시키고 이 용액을 출발 물질이 TLC(용매계 A)에 의해 검출되지 않을 때까지 주위온도에서 15분 동안 교반시켰다.

이 용액에 메탄올 중의 10% 황산 160ml를 교반하면서 적가하고 생성된 현탁액을 메탄올 중의 1% 황산 400ml로 희석시켰다. 이 혼합물을 환류 하에서 48시간 동안 가열하여 에스테르화(TLC, 용매계A)를 완결시켰다.

화합물(2)(상기 에스테르)를 에틸 아세테이트로 추출하였다. 유기층을 5% NaHCO₃ 및 포화 NaCl로 세척하고 황산 마그네슘으로 건조시켰다. 생성된 화합물(2) 9.0g(88%)을 추가의 정제 없이 다음 단계에 사용하였다.

무수 디메틸포름아미드(DMF) 135ml 중의 화합물(2) 4.4g(12mmol)의 용액에 이미다졸 3.6g(52.8mmol)에 이어서 tert-부틸디메틸실릴 클로라이드 4.0g(26.4mmol)을 첨가하였다. 이 용액을 과상 침전물이 형성될 때까지 실온에서 5분간 교반시키고 이어서 추가로 15분 동안 교반을 계속하였다. 반응 혼합물을 hexan 400ml로 추출하고, 물 및 포화 NaCl 용액으로 세척하고 황산 마그네슘으로 건조시켰다. 용매를 증발하여 TLC 순수 생성물(용매계 B)을 얻었고 이 화합물(3) 5.3g(91%)을 추가의 정제없이 다음 단계에 사용하였다. 분석용 시료는 hexan 중의 2% 에틸 아세테이트를 사용하여 플래쉬 크로마토그래피하여 얻었다.

hexan 20ml 중의 화합물(3)(1.0g, 2.1mmol), 디브롬안틴(0.42g, 1.5mmol) 및 무수 중탄산나트륨(0.91g, 10mmol)의 혼합물을 출발물질이 탐지되지 않을 때까지 환류 하의 질소 분위기 중에서 30분 동안 가열하였다(TC, 계 C). 침전물을 여과, 제거하고 용액을 감압하에서 건조시켰다. 잔류물을 무수 THF 5ml 중에 재용해시키고 브롬화 테트라부틸암모늄 0.06g(0.19mmol)을 첨가하고, 이 혼합물을 실온에서 30분동안 질소 분위기 하에서 교반시켰다. 이어서 불화테트라부틸암모늄(10ml, THF 중의 1M 용액)에 이어서 S-폴리딘 0.7ml를 첨가하고, 이 혼합물을 질소 분위기 하에서 실온에서 1시간 동안 교반 시켰다. 다시 불화 테트라부틸암모늄 용액 5ml를 첨가하고 3시간 동안 계속 교반하였다. 에테르 50ml를 첨가하고 유기층을 물, 차가운 1N HCl, 10% NaHCO₃로 세척한 후에, 무수 황산마그네슘으로 건조시켰다. 생성물인 화합물(4)를 벤젠 중에 용해시켜 실리카겔 70-230메쉬(30g)로 크로마토그래피하였다. 화합물(4) 0.44(58%)를 hexan 중의 에틸 아세테이트를 사용하여 용출시켰다. 분석용

시료는 HPLC에 의해 얻었다. (계 A, Rv 77ml) :

IR(필름) : 1737, 1604, 1495, 1082, 1030 cm^{-1} ; UV(헥산중의 3% 2-프로판올) λ_{max} 262nm (ϵ 7,000), λ_{max} 272nm (ϵ 9,800), λ_{max} 282nm (ϵ 10,500), λ_{max} 293nm (ϵ 6,000) ; $^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ 0.54(3H, s, 18- CH_3), 0.94(3H, s, 19- CH_3), 1.22(3H, d, $J=6\text{Hz}$, 2- CH_3), 3.6(1H, m, 3-H), 3.68(3H, s, CO_2CH_3), 5.42(1H, m, 6-H), 5.58(1H, m, 7-H) ; MS m/z (상대강도) 358(61), 340(12), 325(100), 299(68), 271(7), 253(17), 237(26), 211(27), 143(72), 119(35).

벤젠-에틸에테르 1 : 4(v/v) 혼합액 350ml 중의 화합물(4) 830mg(2.3mmol)의 용액을 질소 기포 형성기(bubbler) 및 비코르(Vycor) 여과기가 장착된 수냉식 석영 함침 웰 중에서 하노비아(Hanovia) 608A36중간 기압 UV램프를 사용하여 40분(4×10 분) 동안 질소 분위기하에서 교반하면서 조사하였다. 반응을 헥산중의 2% 2-프로판올을 사용한 HPLC에 의해 265nm에서 조사하였다. 용액을 감압하에서 건조시키고 순수 에탄올 100ml 중에 재용해시킨 후, 질소 분위기 하에서 3시간 동안 환류시키면서 가열하였다. 이어서 용액을 농축시키고, 헥산 중의 10% 에틸 아세테이트 1ml 중에 용해시킨 후 실리카 겔 70-230메쉬(30g)로 크로마토그래피하였다. 비타민 에스테르(5) 298mg(36%)을 헥산 중의 15%에틸 아세테이트 혼합물을 사용하여 용출시켰다. 분석 시료는 HPLC(시스템 B, Rv94ml)에 의해 얻었다.

IR(필름) : 1738 cm^{-1} ; UV(EtOH) λ_{max} 264nm, λ_{min} 288nm ; $^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ : 0.56(3H, s, 18- CH_3), 1.20(3H, d, $J=7\text{Hz}$, 21- CH_3), 3.66(3H, s, CO_2CH_3), 3.95(1H, m, 3-H), 4.80(1H, d, $J=1.2\text{Hz}$, 19Z-H), 5.05(1H, d, $J=1.2\text{Hz}$, 19E-H), 6.03(1H, d, $J=11\text{Hz}$, 7-H), 6.23(1H, d, $J=11\text{Hz}$, 6-H) ; MS m/z (상대강도), M^+ 358(45), 340(9), 325(45), 299(22), 253(19), 237(18), 136(60), 118(100).

건조 톨루엔 5ml 화합물(5) 10mg(0.028mmol)의 용액을 건조 얼음-아세톤 욕조 중에서 질소 분위기 하에서 -70°C 까지 냉각시켰다. 이 용액에 수소화디이소부틸알루미늄(DIBAL-H, 50 μl , 톨루엔 중의 25%용액, 0.088mmol)을 교반하면서 첨가하였다. 이 반응 혼합물을 -70°C 에서 10분동안 교반시킨 후, 메탄올 2ml를 서서히 첨가하였다. 혼합물을 실온까지 승온시키고 에틸 에테르로 희석시킨 후에, 5% HCl, 5% NaHCO_3 , 물 및 포화 NaCl로 세척하고 무수 황산 마그네슘으로 건조시켰다. 실리카 겔 크로마토그래피(헥산 중의 15% 에틸 아세테이트)를 행하여 다음의 스펙트럼 통계를 나타내는 화합물(6) 4.9mg(54%)을 얻었다.

MS : 328(M^+ , 29), 310(5), 295(31), 269(11), 253(6), 136(47), 118(86), 29(100) ; $^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ : 0.59(3H, s, 18- CH_3), 1.14(3H, d, $J=7\text{Hz}$, 21- CH_3), 4.0(1H, m, 3-H), 4.81(1H, d, $J=1.2\text{Hz}$, 19E-H), 5.05(1H, d, $J=1.2\text{Hz}$, 19Z-H), 6.05(1H, d, $J=11\text{Hz}$, 7-H), 6.23(1H, d, $J=11\text{Hz}$, 6-H), 9.58(1H, d, $J=3.8\text{Hz}$, 22-H).

헥산 중의 5% 2-프로판올로 실리카겔 컬럼에서 추가 용출시켜 C-22-알코올인 화합물(7) 2.7mg(29%)을 얻었다.

화합물(5)를 4°C 에서 20시간 동안 피리미딘 중의 염화 p-톨루엔술포닐을 사용하여 화합물(8)로 전환시켰다. 무수 중탄산 칼륨 250mg 중의 메탄올 용액(15ml)에 무수 디클로로메탄 2ml 중에 용해시킨 화합물(8) 102mg(0.2mmol)을 55°C 에서 교반하면서 첨가하였다. 이 혼합물을 질소 분위기하에서 55°C 에서 24시간 동안 교반시켰다. 이어서 용매를 감압하에서 제거하고 잔류물을 에테르로 추출하였다. 유기층을 물로 세척하고 무수 황산 마그네슘으로 건조시켰다. 생성물인 화합물(9)를 헥산중의 20%에틸 아세테이트를 사용하여 실리카 겔 크로마토그래피로 정제하였다 (50mg, 68%).

tert-부틸 하이드로퍼옥사이드(112 μl , 톨루엔 중의 3.0M 용액, 0.34mmol)을 건조 염화 메틸렌 2ml 중의 이산화 셀레늄 9mg(0.8mmol)의 현탁액에 첨가하였다. 이 혼합물을 실온에서 질소 분위기 하에서 맑은 용액이 형성될 때까지 교반시켰다. 이어서, 무수 피리딘(12 μl , 0.15mmol)에 이어 무수 디클로로메탄 2ml 중에 용해시킨 화합물(9) 50mg을 첨가하였다. 이 혼합물을 질소 분위기하에서 30분동안 교반시켰다. 차가운 10% 중탄산나트륨 2ml를 첨가하고 이 혼합물을 에테르로 추출하였다. 유기층을 차가운 10% 중탄산나트륨, 빙수로 세척한 후에, 무수 황산 마그네슘으로 건조시켰다. 실리카겔 크로마토그래피(헥산 중의 10-20% 에틸 아세테이트)를 수행하여 화합물(10) 12.5mg을 얻었다. 이 생성물을 즉시 빙초산 0.5ml 중에 용해시켜 이 용액을 질소 분위기하에서 교반시키면서 55°C 에서 15분동안 가열하였다. 반응 혼합물을 얼음에 붓고, 에테르로 추출한 후 빙냉된 포화 중탄산 나트륨으로 세척하였다. 합쳐진 에테르 추출물을 물로 세척하고 건조 황산 마그네슘으로 건조시켰다. 각각 (5Z, 7E) 및 (5E, 7E) 이성질체인 (11) 및 (12)의 분석용시료를 예비 HPLC에 의해 2.5 : 1로 얻었다.

화합물 11 : HPLC, Rv 68ml ; UV(EtOH) λ_{max} 264nm, λ_{min} 277nm, $\frac{A_{264}}{A_{227}} = 2.07$; $^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ , 0.56(3H, s, 18- CH_3), 1.20(3H, d, $J=6.5\text{Hz}$, 21- CH_3), 2.04(3H, s, 3 β -아세틸), 3.66(3H, s, 22- CO_2CH_3), 4.4(1H, m, 1-H), 5.2(1H, m, 3-H), 5.01(1H, br s, 19E-H), 5.34(1H, br s, 19Z-H), 6.01(1H, d, $J=10\text{Hz}$, 7-H), 6.33(1H, d, $J=10\text{Hz}$, 6-H) ; MS m/z (상대강도), 416(M^+ , 4), 356(100), 338(21), 251(13), 134(95).

화합물 12 : HPLC, Rv 78ml ; UV(EtOH) λ_{max} 267nm, λ_{min} 277nm, $\frac{A_{267}}{A_{227}} = 3.51$; $^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ , 0.56(3H, s, 18- CH_3), 1.20(3H, d, $J=6.5\text{Hz}$, 21- CH_3), 2.04(3H, s, 3 β -OAc), 3.66(3H, s, 22- CO_2CH_3), 4.5(1H, m, 1-H), 5.3(1H, m, 3-H), 4.99(1H, br s, 19E-H), 5.13(1H, br s, 19Z-H), 5.81(1H, d, $J=10\text{Hz}$, 7-H), 6.56(1H, d, $J=10\text{Hz}$, 6-H).

대규모 제조를 위해, 이성체(11) 및 (12)를 또한 미합중국 특허 제 4,554,106호에 기재된 무수 말레

산 방법에 의해서도 효과적으로 유리하게 분리할 수 있다.

수소화 디이소부틸알루미늄($15\mu\text{l}$, 톨루엔 중의 1.5M용액)을 -70°C 에서 질소 분위기 하에서 무수 톨루엔 0.5ml 중의 화합물(11) 2mg의 용액에 교반하면서 첨가하였다. 이 혼합물을 -70°C 에서 10분동안 교반하고 메탄올 0.2ml를 서서히 첨가하여 유기 금속성 착화합물을 분해시켰다. 이 혼합물을 실온까지 승온시키고 에틸 에테르로 추출하였다. 유기층을 물로 세척한 후에 무수 황산마그네슘으로 건조시켰다. 용매계 E를 사용한 예비 HPLC에 의해 화합물(13) 및 화합물(14)을 얻었다. 화합물(13)은 다음의 스펙트럼 데이터를 나타냈다.

$334(\text{M}^+, 22)$, $326(13)$, $311(2)$, $285(4)$, $269(4)$, $152(29)$, $134(100)$; $^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ , 0.59(3H, s, 18- CH_3), 1.15(3H, d, $J=7\text{Hz}$, 21- CH_3), 4.2(1H, m, 3-H), 4.4(1H, m, 1-H), 4.99(1H, d, $J=1.2\text{Hz}$, 19Z-H), 5.31(1H, d, $J=1.2\text{Hz}$, 19E-H), 6.02(1H, d, $J=11\text{Hz}$, 7-H), 6.36(1H, d, $J=11\text{Hz}$, 6-H), 9.56(1H, d, $J=4\text{Hz}$, 22-H).

메탄올 10ml 중의 0.1N KOH 용액을 에틸 에테르 10ml 중의 화합물(11) 100mg(0.24mmol)의 교반된 용액에 첨가하였다. 생성된 용액을 출발 물질이 TLC(용매계 B)에 의해 검출되지 않을 때까지 실온에서 90분동안 교반시켰다. 화합물(15)를 표준 추출 방법(에틸 아세테이트, 포화 NaCl, 무수 황산 나트륨)에 의해 분리하여 무색 유상물 86.2mg(96%)를 얻었다.

DMF 2ml 중의 이미다졸 250mg(3.6mmol) 및 tert-부틸디메틸 클로라이드 250mg(1.6mmol)의 혼합물을 디메틸 포름아미드 4ml 중의 화합물(15) 86.2mg(0.23mmol)의 교반된 용액에 첨가하였다. 생성된 균질의 혼합물을 출발 물질이 TLC(용매계 B)에 의해 검출되지 않을 때까지 55°C 에서 15분 동안 교반시켰다. 이 생성물을 반응 혼합물의 헥산 추출에 의해 분리하였다. 유기 추출물을 염수로 세척하고 무수 황산 마그네슘으로 건조시켰다. 조 생성물의 헥산 용액을 실리카 겔 Sep-Pak 카트리지를 통해 여과시켜 혼합물(16) 136ml(98%) 얻었다.

IR(필름) : 2974, 2930, 1736, 1447, 1286, 1258, 1150, 1085cm^{-1} ; UV(헥산) λ_{max} 264nm, λ_{min}

$\frac{\text{A}_{264}}{\text{A}_{227}}=1.91$; $^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ , 0.07[12H, s, $\text{Si}(\text{CH}_3)_2$], 0.55(3H, s, 18- CH_3), [18H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 1.20(3H, d, $J=6.8\text{Hz}$, 21- CH_3), 3.65(3H, s, O- CH_3), 4.18(1H, m, 3-H), 4.36(1H, m, 1-H), 4.84(1H, d, $J=1.2\text{Hz}$, 19Z-H), 5.16(1H, d, $J=1.2\text{Hz}$, 19E-H), 5.96(1H, d, $J=11.2\text{Hz}$, 7-H), 6.19(1H, d, $J=11.2\text{Hz}$, 6-H); MS m/z (M/e 248까지 표준화시킨 강도)

$602(\text{M}^+, 10)$, 470(59), 413(7), 338(10), 248(100).

수소화 리튬 알루미늄 25mg(0.65mmol)을 아르곤 하의 0°C 에서 무수 THF 5ml 중의 화합물(16) 136.2mg(0.23mmol)의 교반된 용액에 첨가하였다. 이 현탁액을 0°C 에서 15분 동안 교반시키고 과량의 수소화 리튬 알루미늄을 THF 중의 10%물을 적가하여 분해시켰다. 이 현탁액을 THF 10ml로 희석하고, 추가로 15분 동안 실온에서 교반을 계속하였다. 생성물을 에틸 아세테이트를 사용하여 표준 추출에 의해 분리하였다. 무색 유상물로서 화합물(17) 118.4mg을 91% 수율로 얻었다.

IR(필름) : 3450, 2952, 2886, 1447, 1258, 1105, 1085, 834cm^{-1} ; UV(EtOH) λ_{max} 264nm, λ_{min}

$\frac{\text{A}_{264}}{\text{A}_{227}}=1.57$; $^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$ δ , 0.00[12H, s, $\text{Si}-\text{CH}_3$], 0.53(3H, s, 18- CH_3), 0.85[18H, s, $\text{Si}-\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 1.04(3H, d, $J=6.4\text{Hz}$, 21- CH_3), 3.37 and 3.63(1H 및 1H, 각각 m, 22- CH_2), 4.17(1H, m, 3-H), 4.35(1H, m, 1-H), 4.84(1H, br s, 19Z-H), 5.16(1H, br, s, 19E-H), 6.00(1H, d, $J=12.2\text{Hz}$, 7-H), 6.21(1H, d, $J=12.2\text{Hz}$, 6-H); MS m/z (m/z 248까지 표준화시킨 강도), $574(\text{M}^+, 17)$, 442(67), 383(11), 308(17), 248(100).

디클로로메탄 0.5ml 중의 염화 옥살릴 $30\mu\text{l}$ (0.34mmol)의 용액을 질소 분위기 하의 -60°C 에서 디클로로메탄 3ml 중의 DMSO($50\mu\text{l}$ (0.7mmol))의 교반된 용액에 첨가하였다. 생성된 용액을 -60°C 에서 10분 동안 교반하고 디클로로메탄 1ml 중의 화합물(17) 27mg(0.05mmol)을 서서히 첨가하였다. 이 혼합물을 -60°C 에서 30분동안 교반시켰다. 이어서, 트리에틸아민 0.2ml를 첨가하고 용액을 5분 동안 추가로 교반시켰다. 생성물, 화합물(18)을 에틸 에테르로 추출하고 유기층을 포화 NaCl 용액으로 세척하고 무수 황산 마그네슘으로 건조시켰다. 실리카겔 Sep-Pak 여과에 의해 TLC 순수 생성물 17mg(62%)을 얻었다.

IR(필름) : 2954, 2929, 2884, 2857, 1727, 1472, 1375, 1256, 1085, 909, 880, 835cm^{-1} ; NMR(CDCl_3) δ , 0.00(12H, s, $\text{Si}-\text{CH}_3$), 0.60(3H, s, 18- CH_3), 0.88[18H, d, $\text{Si}-\text{C}(\text{CH}_3)_3$], 1.11(3H, d, $J=6.9\text{Hz}$, 21- CH_3), 4.23(1H, m, 3-H), 4.43(1H, m, 1-H), 4.93(1H, br s, 19Z-H), 5.19(1H, br s, 19E-H), 6.07(1H, d, $J=10.0\text{Hz}$, 7-H), 6.26(1H, d, $J=10.0\text{Hz}$, 6-H), 9.54(1H, d, $J=3\text{Hz}$, 22-H);

UV(헥산) λ_{max} 264nm, λ_{min} 277nm, $\frac{\text{A}_{264}}{\text{A}_{227}}=1.9$; MS m/z (m/z에 대한 상대 강도 248) $572(\text{M}^+, 13)$, 440(53), 383(11), 308(14), 248(100);

$\text{C}_{34}\text{H}_{60}\text{O}_3\text{Si}_2$ 에 대한 질량 분석

이론치 : 572.4081

실측치 : 572.4117

다음의 조건 하에서 산화단계를 수행했을 때 증가된 수율로 알데히드(18)을 얻었다; 무수 디클로로메탄 0.75ml 중의 염화 옥살릴 $15\mu\text{l}$ (0.17mmol)의 용액을 아르곤 분위기 하의 -60°C 에서 무수 디클로로

메탄 0.25ml 중의 디메틸 술폭시드 25 μ l(0.36mmol)의 교반된 용액을 적가하였다. 이 혼합물을 -60 $^{\circ}$ C에서 10분 동안 교반시킨후에, 무수 디클로로메탄 0.5ml 중의 알코올(17) 20.3mg(0.035mmol)의 용액을 서서히 첨가하고, 이 플래쉬를 추가의 무수 디클로로메탄 0.2ml로 세정하였다. 이 혼합물을 -60 $^{\circ}$ C에서 30분간 교반시킨 후에 트리에틸아민 0.3ml(2.15mmol)을 -60 $^{\circ}$ C에서 첨가하였다. 이 혼합물을 5분동안 교반시킨 후에 0 $^{\circ}$ C까지 승온시키고 에테르로 추출하였다. 에테르층을 염수로 세척하고 건조시켰다(MgSO₄). 실리카겔 Sep-Pak 여과에 의해 무색 유상물(18)을 얻고 이것을 HPLC에 의해 정제(Zorbax-Sil 9.4 \times 25cm, hexan 중의 10% EtOAc)하여 순수 알데히드(18) 19mg(96%)를 얻었다 ; 소량의 알코올만이 회수되었다(0.12mg).

[실시예 2]

추채 부착 : 24-디호모-1 α ,25-디히드록시-22-데하이드로비타민 D₃의 합성(화합물 25, 반응식2)

(a) 히드록시술포의 제조(19)

아르곤 분위기 하의 -78 $^{\circ}$ C에서 무수 테트라히드로푸란(지시약으로서, 1,10-페난트롤린을 함유함) 300 μ l 중의 2-메틸-6-페닐술포닐)-2-(트리에틸실릴옥시)-헥산(화합물 31, 반응식 3) 31mg(84 μ mol)의 교반된 용액에 디이소프로필아민 13 μ l(90 μ mol)에 이어서 n-BuLi(91 μ mol)(헥산 중의 1.30M 용액)을 첨가하였다. 이 용액을 아르곤 분위기 하에서 -78 $^{\circ}$ C에서 30분간 교반시킨 후에, 이어서, 무수 테트라히드로푸란 300 μ l 중의 C-22-알데히드(화합물 18) 6mg(10mmol)을 첨가하고 -78 $^{\circ}$ C에서 1시간 동안 교반시켰다. 이 혼합물을 포화 NH₄Cl 용액 1ml을 첨가하여 분해시키고 0 $^{\circ}$ C까지 승온시킨 후, 에틸 아세테이트로 추출하였다. 에틸 아세테이트를 물 및 염수로 세척하고 무수 MgSO₄ 로 건조시킨 후에 여과 및 증발시켰다. 예비 HPLC(Zorbax-Sil 컬럼 9.6 \times 25cm, 용매계 : 헥산중의 10%에틸 아세테이트)를 행하여 미반응 알데히드 0.6mg과 에피머 혼합물로서 히드록시술포(19) 6.6mg을 얻었다(수율 77%).

(b) 24-디호모-1 α ,25-디히드록시-22-데하이드로-비타민 D₃(25)

메탄올 1.0ml 중의 Na₂HPO₄의 포화 용액을 무수 테트라히드로푸란 1.0ml 중의 히드록시술포(19) 3.3mg의 교반된 용액에 이어 무수 분말 Na₂HPO₄ 160mg에 첨가하였다. 이 혼합물을 아르곤하에서 30분 동안 교반시킨후 0 $^{\circ}$ C까지 냉각시켰다. 이어서 신선한 5% 아말감나트륨 약 400mg을 첨가하고 혼합물을 5 $^{\circ}$ C에서 16시간 동안 교반시켰다. 혼합물을 헥산 5ml로 희석하고 15분 동안 교반을 계속하였다. 용매를 경사하고 고상물을 헥산으로 세척(5ml \times 3회)하였다. 얼음 및 포화 NaCl 용액을 합쳐진 유기 용액에 첨가하였다. 유기층을 분리하고 헥산 중의 Sep-pak 카트리지를 통과시켰다. HPLC정제(Zorbax-Sil 9.4 \times 25 컬럼, 헥산 중의 10% EtOAc)에 의해 보호된 ²²-24-디호모-1,25-(OH)₂D₃(21) 2.0mg(71%) 및 22-히드록시화 생성물(22) 소량을 얻었다. 보호된 트리올(21) 2mg을 무수 THF 1.0ml 중에 용해시키고 이 용액에 THF 50 μ l 중의 불화 테트라부틸암모늄 1M 용액을 첨가하였다. 혼합물을 아르곤 하의 50 $^{\circ}$ C에서 1시간 동안 교반 시켰다. 이어서 에테르 8ml를 첨가하고 유기층을 포화 NaCl로 세척하였다. 용매를 제거한 후에 잔류물을 헥산 중의 10% 2-프로판올 중에 용해시키고 실리카 Sep-Pak를 통해 여과하였다. HPLC(헥산 중의 20% 2-프로판올, Zorbax-Sil 9.4 \times 25cm)에 의해 목적 생성물인 디호모 화합물(25) 0.6mg을 얻었다.

UV(EtOH) λ_{max} 264nm, λ_{min} 228nm, $\frac{A_{264}}{A_{228}}=1.87$; ¹H NMR(CDCI₃), 0.55(3H, s, 18-CH₃), 1.00(3H, d, J=6.6Hz, 21-CH₃), 1.23(6H, s, 26, 27-CH₃), 4.23(1H, m, 3-H), 4.43(1H, m, 1-H), 5.00(1H, brs, 19Z-H), 5.32(1H, brs, 19E-H), 5.29(2H, m, 22H 및 23H), 6.01(1H, d, J=11.3Hz, 7-H) ; MS m/z(상대강도) 442(M⁺, 15), 424(23), 406(33), 391(7), 287(11), 285(10), 269(27), 251(23), 152(33), 134(100), 116(6), 59(20) ;

C₂₉H₄₆O₃에 대한 질량 분석

이론치 : 442.3446

실측치 : 442.3441

[실시예 3]

추채 부착 : 24-트리호모-1 α ,25-디히드록시-22-데하이드로비타민 D₃의 합성(화합물 26, 반응식 2)

(a) 히드록시술포의 제조(20)

아르곤 분위기 하의 -78 $^{\circ}$ C에서 무수테트라히드로푸란(지시약으로 1,10-페난트롤린을 함유함) 500 μ l 중의 2-메틸-7-(페닐술포닐)-2-(트리에틸실릴옥시)-헥탄(화합물 35, 반응식 3) 58mg(151 μ mol)의 교반된 용액에 디이소프로필아민 23 μ l(160 μ mol)에 이어서, n-BuLi-(헥산 중의 1.5M 용액) 160 μ M을 첨가하였다. 이 용액을 아르곤 분위기 하에서 -78 $^{\circ}$ C에서 30분 동안 교반한 후에, 이어서, 무수 테트라히드로푸란 300 μ l 중의 C-22-알데히드(화합물 18) 7mg(12 μ mol)을 첨가하고 1시간 동안 교반시켰다. 이 혼합물을 포화 NH₄Cl 용액 1ml을 첨가하여 분해시키고, 0 $^{\circ}$ C까지 승온시킨 후에, 에틸 아세테이트로 추출하였다. 에틸 아세테이트를 물 및 염수로 세척하고 무수 MgSO₄ 로 건조시키고, 여과 및 증발시켰다. 예비 HPLC(Zorbax-Sil 컬럼 9.4 \times 25cm, 용매계 : 헥산 중의 10% 에틸 아세테이트)를 수행하여 미반응 알데히드 0.4mg과 에피머의 혼합물로서 히드록시술포(20) 7.5mg을 얻었다(수율 78%).

(b) 24-트리호모-1 α ,25-디히드록시-22-디히드로 비타민 D₃(26)

메탄올 1.0ml 중의 Na_2HPO_4 의 포화 용액을 무수 테트라히드로푸란 1.0ml 중의 히드록시술폰(20) 7.5mg의 교반된 용액에 이어, 무수 분말 Na_2HPO_4 160mg에 첨가하였다. 이 혼합물을 아르곤하에서 30분 동안 교반시킨 후에 0°C까지 냉각시켰다. 이어서 신선한 5% 아말감나트륨(약 400mg)을 첨가하고 혼합물을 5°C에서 16시간 동안 교반시켰다. 혼합물을 헥산 5ml로 희석하고 15분 동안 교반을 계속하였다. 용매를 경사하고 고상물을 헥산으로 세척(5ml×3회)하였다. 합쳐진 유기층을 염수로 세척하고, 분리하여, 건조시키고 증발시켰다. 잔류물을 헥산 중의 10% 에틸 아세테이트 중의 Sep-Pak 카트리지를 통과시켰다. HPLC정제에 의해 보호된 22-24-트리호모-1,25-(OH) $_2$ D $_3$ (23) 2.12mg 및 22-히드록시화 생성물 (24) 1.33mg을 얻었다. (Zorbax-Sil 9.4×25컬럼, 헥산 중의 10% EtOAc). 화합물 (23) 2.1mg을 무수 THF 1.0ml 중에 용해시키고 이 용액에 THF 중의 불화 테트라부틸암모늄(1M 용액) 50 μ l을 첨가하였다. 혼합물을 아르곤 하에서 5°C에서 1시간 동안 교반시켰다. 이어서 에테르를 첨가하고 유기층을 염수로 세척하였다. 에테르층을 무수 MgSO_4 로 건조시킨 후 여과 및 증발시켰다. 잔류물을 헥산 중의 30% 2-프로판올 중에 용해시키고 실리카 Sep-Pak를 통과시켰다. HPLC(헥산 중의 20% 2-프로판올, Zorbax-Sil 9.4×25cm 컬럼)에 의해 정제하여 목적 생성물인, 트리호모 화합물(26) 0.8mg을 얻었다.

UV(EtOH) λ_{\max} 264nm, λ_{\min} 228nm, $\frac{A_{264}}{A_{228}}=1.81$; $^1\text{H NMR}$: (CDCl_3) 0.56(3H, s, 18-CH $_3$), 1.00(3H, d, J=6.6Hz, 21-CH $_3$), 1.23(6H, s, 26, 27-CH $_3$), 4.23(1H, m, 3-H), 4.43(1H, m, 1-H), 5.00(1H, brs, 19Z-H), 5.32(1H, brs, 19E-H), 5.29(2H, m, 22H 및 23H), 6.01(1H, d, J=11.3Hz, 7-H); MS m/z (상대강도) 456(M $^+$)(11)438(50), 420(30), 402(8), 287(10), 269(23), 251(23), 152(35), 134(100).

[실시예 4]

술폰 측쇄 단위의 합성(반응식 3)

(a) 술폰 측쇄 잔기(32)의 제조

무수 THF 25ml 중의 4-클로로발레릴클로라이드 27 3g(알드리치사 제품; 19.2mmol)의 용액을 아르곤 하에서 30분에 걸쳐 격렬하게 교반시키면서 -10°C에서 무수 THF 25ml 중의 브롬화 메틸마그네슘(12.9ml, 에테르 중의 3M 용액) 용액에 첨가하였다. 이어서 반응 혼합물을 2시간 내에 실온까지 승온시킨 후 물로 급냉시키고 묽은 염산으로 중화시켰다. 이 혼합물을 에테르로 추출하고 합쳐진 유기층을 물로 세척한 후에 황산 나트륨으로 건조시켰다. 용매를 제거한 후에 잔류물을 진공 중에서 증류시켜 무색 액체로서 클로로-알코올(28) 2.1kg(70%)을 얻었다. 이어서 무수 디메틸포름아미드 5ml 중의 클로로-알코올 28 1.5g(10mmol)을 무수 디메틸포름아미드 25ml 중의 티오페닐 1.32g(12mmol) 및 t-부톡시화 칼륨 1.32g(11.3mmol)의 교반된 용액에 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 철야 교반시킨 후에 용액을 디클로로메탄과 물 사이에서 분배시켰다. 유기층을 중탄산 나트륨 수용액, 물로 세척하고 무수 황산 마그네슘으로 건조시켰다.

용매를 진공 중에서 증발시키고 조 유상물을 헥산-에틸 아세테이트를 사용한 실리카겔 플래쉬 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 술폰이드 29 2.2g(98%)을 무색 액체로서 얻었다. 이어서 이 술폰이드 29(1.01g, 4.5mmol)을 건조 디클로로메탄 40ml 중에 용해시키고 3-클로로퍼벤조산(2.5g(11.6mmol); 알드리치사 제품 80-85%)을 교반시키고 가끔 냉각시키면서 부분적으로 첨가하였다. 반응 혼합물을 2시간 동안 교반시킨후에 10% 중탄산나트륨으로 급냉시켰다. 합쳐진 추출물을 아황산 나트륨 용액 및 염수로 세척하고 황산 마그네슘으로 건조시켰다. 용매를 진공 중에서 제거하고 조 유상물을 헥산-에틸 아세테이트 혼합물을 사용한 실리카겔 플래쉬 크로마토그래피에 의해 정제하여 무색 액체로서 술폰 30 1.1g(97%)을 얻었다. 건조 디메틸포름아미드 50ml 중의 술폰 30 1.3g(5.1mmol) 및 이미다졸 1.5g(22.7mmol)의 교반된 용액에 염화 트리메틸실릴 1.15g(77mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 유지시킨 후에 디클로로메탄으로 희석시켰다. 혼합물을 염화 암모늄 수용액 및 물로 세척하였다. 유기층을 황산 나트륨으로 건조시키고 용매를 진공 중에서 제거하였다. 잔류물을 실리카 겔 플래쉬 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 먼저 헥사메틸디실록산을 헥산으로 용출시켰다. 무색 액체로서 트리메틸실릴-보호 술폰 31.1.8(97%)를 헥산-에틸 아세테이트 9 : 1 혼합액으로 용출시켰다.

IR(니트): 3.45, 2940, 1440, 1360, 1130, 1020 cm^{-1} ; $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 0.518(6H, q, J=6.2Hz, Si-CH $_2$), 0.899(9H, t, J=6.2Hz, Si-C-CH $_3$) δ 0.518(6H, q, J=6.2Hz, Si-CH $_2$), 0.899(9H, t, J=6.2Hz, Si-C-CH $_3$), 1.142(6H, s, CH $_3$), 1.307-1.462(4H, m), 1.655-1.738(2H, m, H-4), 3.080-3.122(2H, m, H-2), 7.567(2H, t, J=6.8Hz, H-아릴 메타), 7.648(1H, t, J=6.8Hz, H-아릴 파라), 7.916(2H, d, J=6.83Hz, H-아릴 오르토); MS(EI, 70eV): m/z(상대 강도) 372(M $^+$, 2), 341(100), 229(2), 227(18), 173(24), 103(22), 75(45), 55(33).

(b) 술폰 측쇄 단위(35)의 제조

무수 테트라히드로푸란 10ml 중의 6-브로모헥실 클로라이드(32) 3.8g(2.8ml, 18mmol)의 용액을 아르곤 분위기하에서 15-20분 동안에 걸쳐서 격렬하게 교반하면서 -10°C에서 무수 테트라히드로푸란 15ml 중의 브롬화 메틸마그네슘 14ml(에테르 중의 3M 용액)의 용액에 첨가하였다. 이 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반시킨 후에, 0°C까지 냉각시켜 1 : 1 묽은 염산으로 조심스럽게 분해시켰다. 혼합물을 에테르로 추출하고, 합쳐진 유기층을 물로 세척하고, 무수 황산 마그네슘으로 건조시키고 증발시켜 무색 유상물로서 브로모 알코올(33) 3.6g(94%)을 얻었다. 이 브로모-알코올 3.4g(16mmol)을 70°C에서 4-1/2시간 동안 무수 디메틸포름아미드 중의 벤젠 술핀산 나트륨염 3.3g(20mmol)으로 처리하였다. 혼합물을 얼음위에 붓고, 디클로로메탄으로 추출하고 1N HCl, 물, 10% NaHCO_3 용액으로 세척한 무수 MgSO_4 로 건조시키고 여과 및 증발시켜 술폰(34)를 얻고 이것을 실리카 겔상에서 플래쉬

크로마토그래피하여 정제시킨 후에 헥산 중의 40-50% 에틸 아세테이트로 용출시켜 일부의 대응 스펙트럼 에스테르 4.18g(98%)을 함유한 스펙트럼을 얻었다.

MS, m/z 270(M⁺), 255(M⁺-15), 77, 59.

무수 디메틸포름아미드 13ml 중의 스펙트럼(34) 4g(14mmol) 및 이미다졸 3.8g(55mmol)의 교반된 용액에 염화 트리에틸실릴 4.6g(5.1ml, 30mmol)을 첨가하였다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반시킨 후에 얼음물을 붓고, 에테르로 추출하고, 무수 MgSO₄로 건조시키고, 여과 및 증발시켰다. 잔류물을 플래쉬 크로마토그래피에 의해 정제하였다. 먼저 헥사에틸디실록산을 헥산으로 용출시켰다. 헥산 중의 3% 에틸 아세테이트는 약간의 스펙트럼과 함께 스펙트럼 에스테르를 용출시키고 헥산 중의 10% 에틸 아세테이트는 보호된 순수 스펙트럼(35) 3.4g(60%)을 용출시켰다.

C₂₀H₃₆O₃SSi에 대한 원소 분석치

이론치 : C ; 62.45%, H ; 9.43%, S ; 38.34%

실측치 : C ; 61.97%, H ; 9.45%, S ; 8.33%

MS, m/z(상대강도)

355(100)(M⁺-29), 277(15), 173(35), 103(43), 75(95), 55(23), NMR(400MHz, CDCl₃), 0.54(6H, q, J=7Hz, Si-CH₂), 0.94(9H, t, J=8Hz, Si-C-CH₃), 1.15(6H, s, CH₃), 1.31-1.36(4H, m), 3.08-3.12(2H, m, H=2), 7.57(2H, t, J=6.8Hz, H-아릴 메타), 7.66(1H, t, H-아릴 파라), 7.92(2H, d, J=6.8Hz, H-아릴 오르토).

생물학적 활성

당업계에 공지된 확립된 분석법을 사용하여 신규 동족체(25)의 분화 작용 및 칼세믹 작용 모두에 대하여 시험하였다. 분석 방법 및 얻어진 결과는 다음의 실시예에 보다 상세하게 기재되어 있다.

[실시예 5]

HL-60세포 내에서의 디호모 화합물(25)의 분화 활성에 대한 측정(표 1)

시험 화합물에 대한 HL-60세포(인체 백혈병 세포)의 분화 정도를 3개의 다른 분석법(NBT-환원, 식작용 및 에스테라제 활성)에 의해 확인하였다. 처음의 두 분석법은 델루카 등(DeLuca et al. 미합중국 특허 제4,717,721호)에 의해 제공된 일반적인 방법에 의해 수행하였다. 분화에 대한 표식으로서 비특이적 산에스테라제 활성을 측정하는 세번째 분석은 시그마 케미칼사[Sigma Chemical Corp., 몬타나주 세인트루이스 소재]로부터 용이하게 입수할 수 있는 시그마 키트 제90번에 주어진 방법에 따라 행하였다[Osterm 등의 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 제84권, 제2610페이지-제2614페이지(1987년); Osterm 등의 J.Biol. Chem. 제262권, 제14164페이지-제14171페이지(1987년) 참조]. 결과는 다음 표 1에 나타났다. 데이터는 여러가지 농도의 1,25-(OH)₂D₃ (비교 기준으로서 사용됨) 또는 비타민 D 시험 화합물의 처리 결과, 분화된 세포의 비율로서 나타났다.

[표 1]

배양 중인 HL-60세포에 있어서 1,25-(OH)₂D₃ 및 측정 디호모 화합물의 분화 활성의 비교

투여 화합물	농도(몰)	% 분 화 세 포		
		에스테라제	식작용	NBT
1, 25-(OH) ₂ D ₃	1×10 ⁻⁷ M	91±2	90±3	90±2
	1×10 ⁻⁸ M	61±4	56±2	55±4
	1×10 ⁻⁹ M	30±3	31±2	34±4
24-디호모-1, 25-(OH) ₂ -22-	5×10 ⁻⁹ M	92±2	93±3	92±2
	1×10 ⁻⁹ M	78±4	77±3	78±3
데히드로 비타민	5×10 ⁻⁹ M	67±4	69±2	69±3
D ₃ (화합물 25)	1×10 ⁻⁹ M	49±2	50±3	48±3
	5×10 ⁻⁹ M	36±4	36±4	40±3

[실시예 6]

디호모 화합물(25)의 칼세믹 작용

(a) 장의 칼슘 수송 작용(표 2)

위스콘신 소재의 할란-스프라그 다울리 캄파니 오브 메디슨(Harlan-Sprague Dawley Company of Madison)으로부터 이유기의 수컷 쥐를 입수하여 수다 등[Suda et al, J. Nutr. 제100권, 제1049페이지-1052페이지, (1970년)]에 의해 기재된 방법에 의해 저칼슘의 구루병발생 사료(칼슘 0.02%, 인 0.3%)를 공급하였다. 이들에 총 4주 동안 이 사료 임의량을 공급하였다. 제3주의 말기에 동물들을 6마리씩 구성된 군으로 나누었다. 한 군은 날마다 기초제(95% 프로필렌 글리콜 0.1ml, 5% 에탄올)를 7일동안 복강내에 주사하였다. 나머지 군들은 동량의 기초제를 동일한 기간에 걸쳐 주사하였으나 다음의 화합물을 다음과 같은 투여량으로 함유시켰다 : 1,25-(OH)₂D₃의 2.5ng 또는 25ng 또는 24-디호모-1α,25-디히드록시-22-데하이드로비타민 D₃ (화합물 25)의 125ng. 동물들을 최종 투여한지 24시간 후에 죽이고, 장을 제거한 후 십이지장 절편을 할로란 및 델루카[Halloran and Deluca, Arch,

Biochem. Biophys. 제208권, 제477페이지-제486페이지, (1981년)]에 의해 기재된 방법으로 장의 칼슘 수송도를 측정하는데 사용하였다. 결과는 다음의 표 2에 나타났다.

[표 2]

위에 있어서 1,25-(OH)₂D₃ 및 측쇄 동족체의 장의 칼슘 수송 활성

투여 화합물	투여량(ng/d/7일)	Ca수송(평균±S.E.M.)
D-결핍(대조군)	0	4.8±0.2
1,25-(OH) ₂ D ₃	12.5	11.2±0.6
	25.0	13.4±1.2
24-디호모-1,25-(OH) ₂ -	125.0	6.8±0.45
22-데하이드로비타민 D ₃ (화합물25)		

(b) 뼈의 칼슘 이동화의 측정(표 3)

이유기의 수컷 쥐를 할란 스프라그 다울리 캄파니로 부터 입수하여 수다 등[J. Nutr. 제100권, 제1049페이지-제1052페이지, (1970년)]에 의한 방법으로 저 칼슘(칼슘 0.02%, 인 0.3%) 비타민 D-결핍 사료를 4주 동안 공급하였다. 제3주의 말기에, 동물들은 6마리씩으로 구성된 군으로 나누어 95% 프로필렌 글리콜 및 5% 에탄올 0.1ml 중에 용해된 표 3에 지시된 투여량을 주입하였다. 대조군에는 용매 기초제 만을 주입하였다. 다른 군들은 7일 동안 각각 1,25-(OH)₂D₃ 또는 디호모 화합물(25)의 지시 투여량을 주입시켰다. 혈청 칼슘을 자동 흡수에 의해 투여한 지 7일의 말기에 측정하였다. 상기 두 시험의 결과를 다음 표 3에 나타내었다.

[표 3]

위에 있어서, 1,25-(OH)₂D₃ 및 측쇄 동족체의 뼈칼슘 이동화 작용(혈청 칼슘 농도)

투여 화합물	투여량(ng/d/7일)	혈청 칼슘(평균±S.E.M)mg%	
		실험 1	실험 2
D-결핍(대조군)	0	3.4±0.07	4.1±0.05
1,25-(OH) ₂ D ₃	12.5	3.7±0.17	4.8±0.08
	25.0	4.1±0.07	4.8±0.08
	75.0	4.6±0.09	-
24-디호모-1,25-(OH) ₂ -	25.0	3.6±0.16	-
22-데하이드로-	125.0	3.7±0.13	4.36±0.15
비타민 D ₃	250.0	4.1±0.05	-
(화합물25)	500.0	3.8±0.11	-

표 1에 나타난 결과는 디호모 유사체25가 백혈병 세포를 정상단핵 세포로 분화시키는데 있어서 1,25-(OH)₂D₃ 보다 훨씬 강력하다는 것을 명백히 보여준다. 예를 들면 1,25-(OH)₂D₃의 1×10^{-8} M 농도에서, 55-61%의 분화 세포를 생성하는 반면, 동일한 농도의 화합물(25)는 78%의 분화를 유발시킨다. 5×10^{-8} M 디호모 유사체에 의해 생성된 바(약 92%)와 동일한 분화도(90%)를 유발하는데 1×10^{-7} M 농도의 1,25-(OH)₂D₃가 필요함을 고려해 볼 때, 이 유사체 25가 분화제로서 1,25-(OH)₂D₃보다 5배 정도 더 강력하다는 결론을 내릴 수 있다.

매우 대조적으로 디호모 화합물은 1,25-(OH)₂D₃에 비하여 매우 낮은 칼세믹 작용을 나타낸다. 이 결론은 표 2 및 3의 결과에 의해 뒷받침 된다. 예를 들면, 표 2에 나타난 장의 칼슘 수송 분석은 공지된 활성 대사물 1,25-(OH)₂D₃를 12.5 또는 25ng/일의 투여량으로 7일 동안 투여하였을 때 예견한 바와 같이, (대조군에 비하여) 매우 뚜렷한 반응을 나타냄을 제시하고 있다. 그러나 신규 디호모 화합물(25)의 경우에는 반응을 유발하는데 7일 동안 125mg/일의 투여량이 필요하였으며, 이러한 고 농도의 투여량에서조차도 중간정도의 반응을 나타내었고 1,25-(OH)₂D₃의 10배 낮은 투여량에 의해 유발된 반응의 절반보다 약간 컸다. 따라서, 이 분석에 있어서 신규 디호모 유사체는 1,25-(OH)₂D₃보다 적어도 10배가 약한 칼세믹 활성을 갖는다.

동일한 결론을 표 3에 나타난 뼈의 칼슘 이동화 분석의 결과로부터 추론할 수 있다. 1,25-(OH)₂D₃ 12.5 및 25ng 각각에 의해 유발된 바와 같은 동일한 정도의 반응을 얻는데는 디호모 유사체(25) 125 및 250ng/일의 투여량(7일동안 투여함)이 필요하다. 또한, 주목할 만한 점은, 디호모 화합물(약 500ng/일)의 투여량을 증가시켜도 다른 조건이 억제된다면 뼈의 칼슘 이동화 반응은 더 이상 증가되지 않는다는 사실이다(표 3 참조). 표 2에 나타난 두번째 실험에 있어서, 1,25-(OH)₂D₃가 12.5 및 25ng/일의 투여량에서(대조군에 비하여) 매우 중요한 반응을 각각 유발하였으며 디호모 유사체는 125ng/일의 투여량에서 아무런 작용을 나타내지 않았다. 디호모 유사체 25를 1000ng/일까지의 투여량 범위에 걸쳐 시험한 세번째 시험에 있어서, 이 화합물은 어느 투여량 농도에서도 칼슘 이동화 반응을 유발하지 않았으며, 이는 이 물질이 본질적으로 뼈를 소모하여 혈청 칼슘을 생성시키는 작용을 하지 않음을 나타낸다. 따라서 이들 뼈의 이동화 분석은 표 2의 칼슘 수송 데이터와 완전히 일치하

여 신규 디호모 유사체25가 그의 칼세믹 작용에 있어서 1,25-(OH)₂D₃ 보다 수배 덜 강력한 것임을 나타낸다.

본 발명의 트리호모 화합물 26에서 동일한 유형의 활성 양상이 본 발명의 트리호모 화합물 26에서 관찰되었다. 이 물질도 역시 HL-60세포의 분화를 유도함에 있어서는 예견된 활성을 나타내는 반면 쥐의 혈청 칼슘 농도에 있어서는(대조군에 비해) 어떤 중요한 반응도 일으키지 않으므로 또한 매우 우수하고 극적으로 증대된 분화/칼세믹 작용비를 나타낸다.

이러한 형태의 작용 양상은, 물론, 종양 질병의 치료에 있어서 분화제용으로 계획한 바로 그것이다. 목적하던 바람직한 작용인 종양세포의 세포 분화는 매우 뛰어난 반면, 바람직하지 못한 작용인 칼세믹 작용은 극적으로 감소됨으로서 매우 크게 증가된 분화/칼세믹 작용비를 나타낸다. 공지된 1 α -히드록시 비타민 D화합물은 백혈병의 치료에 유효한 치료제로 알려져 왔다(수다(Suda)등, 미합중국 특허 제4,391,802호 참조). 본 발명에 인용된 생물분석 데이터에 기초하여, 본 발명의 신규 촉쇄 호모 화합물을 종래의 선행 기술에 의한 화합물과 동일한 농도로 투여했을 때 종래의 공지 화합물의 바람직하지 못한 칼세믹 작용이 없거나 또는 1/10 이하로 나타남으로서 치료된 개체에 있어서 혈중 칼슘 농도 증가를 유발하는 문제가 대부분 제거될 수 있음을 결론지을 수 있다. 또한, 표 1에 나타난 결과에 기초하여, 신규 호모 화합물이 종양 세포 특히, 백혈병 세포에 대해 매우 큰 분화 활성을 나타내므로 이로써, 그 치료적 잇점이 증가될 수 있음을 예견할 수 있다. 따라서, 본 발명의 신규 화합물은 종양 질병의 분화 치료라는 개념의 효과적이고 실제적인 실시 태양을 제시하여 이들의 작용 양상은 이 화합물들이 상기 치료에 대한 바람직한 치료제임을 명백히 제시한다.

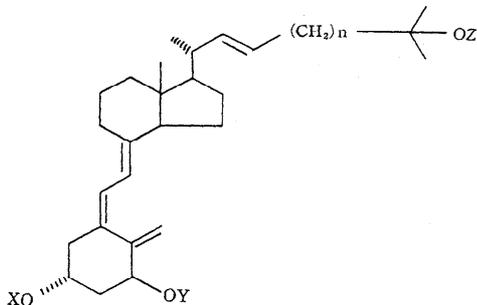
치료의 목적을 위해, 이들 화합물은 무해한 용매 중의 용액으로서, 또는 적합하고 무해한 용매 또는 담체중의 유제, 현탁제 또는 분산제로서, 또는 당업계에 공지된 통상의 방법에 의한 환제, 정제, 캡슐제로서 제형할 수 있다. 이러한 제형은 또한 안정화제, 산화방지제, 결합제, 착색제 또는 유화제 또는 미각 개선제와 같은 기타의 제약상으로 허용되고 비독성인 부형제를 함유할 수 있다.

본 화합물은 주사에 의하거나 또는 적합한 살균 용액의 정맥내 주입에 의해 또는 소화관을 경유한 경구투여의 형태로 유리하게 투여된다. 인체 백혈병의 치료를 위해, 본 발명의 호모비타민 D화합물은 백혈병 세포의 대식 세포로의 분화를 유발하는데 있어서 충분한 투여량으로 개체에 투여된다. 적합한 투여량은 일일 0.5 μ g 내지 50 μ g까지이며, 투여량은 당업계에 용인되는 바와 같이 환자의 질병의 정도 또는 반응성 또는 상태에 따라 조정(예, 추가로 더욱 증가시킴)될 수 있음은 이해되어야 한다.

(57) 청구의 범위

청구항 1

다음 구조식을 갖는 화합물.



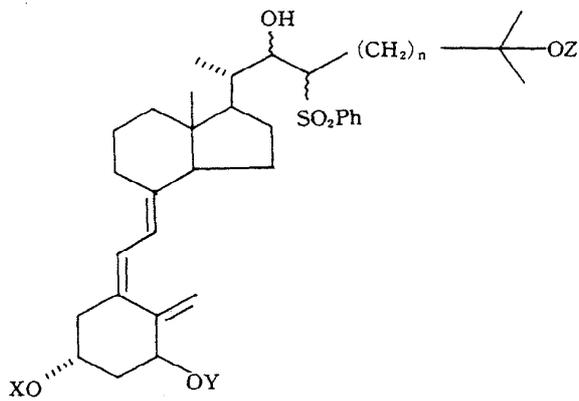
위 식에서, X, Y 및 Z는 서로 동일하거나 또는 상이할 수 있고, 수소 원자 또는 트리에틸실릴기이며, n은 3 또는 4이다.

청구항 2

제1항에 있어서, X, Y 및 Z가 각각 수소 원자인 화합물.

청구항 3

다음 구조식을 갖는 화합물.



위 식에서, X, Y 및 Z는 서로 동일하거나 또는 상이할 수 있고, 수소 원자 또는 트리에틸실릴기이며, n은 3 또는 4이다.

청구항 4

1종 이상의 제1항에 의한 화합물과 제약학상 허용되는 부형제를 함유하는 백혈병 치료용 제약 조성물.

청구항 5

제4항에 있어서, 상기 화합물이 24-디호모-1 α ,25-디히드록시-22-데히드로비타민 D₃인 것을 특징으로 하는 제약 조성물.

청구항 6

제4항에 있어서, 상기 화합물이 24-트리호모-1 α ,25-디히드록시-22-데히드로비타민 D₃인 것을 특징으로 하는 제약 조성물.

청구항 7

제5항에 있어서, 약 0.5 내지 약 50 μ g의 상기 비타민 동족체를 함유하는 것을 특징으로 하는 제약 조성물.

청구항 8

제6항에 있어서, 약 0.5 내지 약 50 μ g의 상기 비타민 동족체를 함유하는 것을 특징으로 하는 제약 조성물.

청구항 9

제1항에 있어서, 상기 화합물이 24-디호모-1 α ,25-디히드록시-22-데히드로비타민 D₃인 화합물.

청구항 10

제1항에 있어서, 상기 화합물이 24-트리호모-1 α ,25-디히드록시-22-데히드로비타민 D₃인 화합물.

도면

도면1

