

РЕПУБЛИКА БЪЛГАРИЯ



ОПИСАНИЕ КЪМ ПАТЕНТ

ЗА

ИЗОБРЕТЕНИЕ

(19) BG

(11) 61429 B1

6(51) A 61 K 31/445

A 61 K 31/40

A 61 K 31/55

A 61 K 31/38

ПАТЕНТНО ВЕДОМСТВО

(21) Регистров № 97982

(22) Заявено на 22.07.93

(24) Начало на действие
на патента от:

Приоритетни данни

(31) 920933 (32) 28.07.92 (33) US

(41) Публикувана заявка в
бюлетин № 4 на 29.04.94

(45) Отпечатано на 28.11.97

(46) Публикувано в бюлетин № 8
на 29.08.97

(56) Информационни източници:
US 4133814; US 4418068

(62) Разделена заявка от рег. №

(73) Патентоприитежател(и):

ELI LILLY AND CO.,
INDIANAPOLIS, IN (US)

(72) Изобретател(и):

Larry John Black, Indianapolis, IN
George Joseph Cullinan, Trafalgar, IN (US)

(74) Представител по индустриална
собственост:

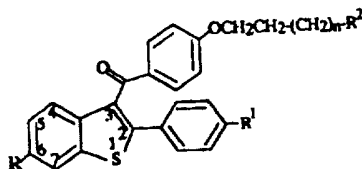
Юлиан Иванов Върбанов, 1000 София,
ул. "Съборна" 11 А

(86) № и дата на РСТ заявка:

(87) № и дата на РСТ публикация:

(54) 2-ФЕНИЛ-3-АРОИЛБЕНЗОТИОФЕНИ И ТЯХНОТО ИЗПОЛЗВАНЕ

(57) 2-фенил-3-ароилбензотиофените имат формула



в която n има стойности 0, 1 или 2; R и R¹, независимо един от друг, са водород, хидроксил, C₁-C₆ алкокси, C₁-C₆ ацилоксил, C₁-C₆ алкокси-C₂-C₆ ацилоксил, R³-заместен арилоксил, хлор или бром, R⁴-заместен карбонилокси; R² е хетероцикличесен пръстен, избран от групата, състояща се от пирролидин, пиперидин или хексаметиленмин; R³ е C₁-C₃ алкил, C₁-C₃ алкокси, водород или халоген; и R⁴ е C₁-C₆ алкокси или арилокси. Съединенията и тяхната фармацевтично приемлива сол намират приложение за лечение или предотвратяване на остеопороза.

6 претенции

BG 61429 B1

(54) 2-ФЕНИЛ-3-АРОИЛБЕНЗОТИОФЕНИ И ТЯХНОТО ИЗПОЛЗВАНЕ

Област на техниката

Настоящото изобретение се отнася до откритието, че група от 2-фенил-3-ароилбензотиофени е полезна за предотвратяването на костна загуба

Предшестващо състояние на техниката

Механизмът за загубването на костно вещество не е добре изяснен, но практическото следствие е, че нарушението е предизвикано от нарушения баланс при образуването на нова здрава кост и резорбцията на стара кост, несиметрична по отношение на нетната загуба на костна тъкан. Тази костна загуба включва намаляване както на минералното съдържание, така и на основната маса протеинови компоненти на костта и води до един увеличен процент на фрактура най-вече на бедрените кости и костите на ръката от лакътя до китката и на гръбначния стълб. На свой ред, тези фрактури водят до увеличаване на общата заболяемост, значителна загуба на ръста и подвижността и в много случаи до увеличаване на смъртността вследствие на усложнения.

Костна загуба съществува при голям кръг субекти, включително при жените след периода на менопауза, пациенти, които са претърпели хистеректомия, пациенти, които дълго време са приемали или приемат кортикостероиди, пациенти, страдащи от синдрома Кушинг и пациенти с нарушения на половите жлези.

Когато не е установена или не се наблюдава, костната загуба може да доведе до остеопороза - едно сериозно заболяване, чиято основна характеристика е загубата на костна маса /намаляване на плътността и увеличаване на костните пространства/ без намаляване на костния обем, което води до поръзност и трошливост.

Един от най-разпространените видове остеопороза се наблюдава при жените след менопауза и засегнатите само в САЩ жени наброяват от 20 до 25 милиона. Съществена характеристика на остеопороза след менопауза е голямата и бърза загуба на костна маса в

резултат на прекратяването на отделянето на естроген от яйчниците. Наистина, данните безспорно сочат за възможността на естрогените да ограничават развитието на остеопорозна

- 5 костна загуба и заместването на естрогена е признато лечение при остеопороза след менопауза както в Съединените щати, така и в много други страни. Обаче, въпреки че естрогените имат благоприятно въздействие върху
- 10 костите, даже когато се дават в малки дози, дългосрочната естрогенна терапия води до различни нарушения, включително увеличаване на риска от рак на матката и гърдата, в резултат на което много жени избягват това лечение.
- 15 Предлагащите напоследък терапевтични режими, при които се търси намаляване на риска от рак, като например назначаване на комбинации от прогестоген и естроген причиняват на пациентите кървене, което е неприемливо за повечето възрастни жени. Загрижеността по отношение на сериозните нежелани
- 20 последствия, свързани с естрогенната терапия, както и ограничената способност на естрогените да прекратят костната загуба, водят до необходимостта от развитие на алтернативно
- 25 лечение на костната загуба, което да съдържа благоприятните въздействия върху костите, но да не причинява нежеланите странични ефекти.

Опитите да се отговори на тази необходимост посредством използването на съединения, известни най-общо като антиестрогени, които взаимодействат с естрогенния рецептор, имат ограничен успех в резултат вероятно на факта, че тези съединения проявяват обикновено смесено агонистично/антагонистично въздействие. Тоест, въпреки че тези съединения могат да неутрализират естрогенното взаимодействие с рецептора, самите съединения могат да предизвикват естрогенични реакции

- 40 в онези тъкани, които имат естрогенни рецептори. Ето защо, някои антиестрогени предизвикват същите неблагоприятни въздействия, както и при естрогенната терапия.
- Настоящото изобретение предлага методи за спиране на костната загуба, без те да предизвикват свързаните с естрогенната терапия неблагоприятни въздействия и по този начин предлага ефективно и приемливо лечение на остеопороза.

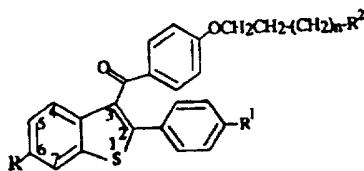
- 50 2-фенил-3-ароилбензотиофеновите съединения, които са активен компонент на формулировките и методите от настоящото

изобретение са разработени най-напред от С. Дейвид Джоунс и Тулио Суареш като средства срещу безплодие /1/. Някои съединения от тази група се оказват полезни за потискане на развитието на тумори на млечната жлеза.

По-късно Джоунс открива една група от свързани с горните съединения, полезни за антиестрогенната и антиандрогенната терапия, по-специално при лечението на тумори на млечната жлеза и на простата /2/. Едно от тези съединения, съединението от формула 1, в която n е 0, R и R^1 са хидроксил, а R^2 е пиперидинов пръстен, е клинично изпитано за кратко време при лечението на рак на гърдата. Това съединение се нарича ралоксифен, а предишното му название е кеоксифен. Когато се предписва за лечение, ралоксифенът е за предпочитане във вид на сол, най-добре като хидрохлоридна сол.

Техническа същност на изобретението

Настоящото изобретение предлага нови методи за лечение на костна загуба и включва назначаване на ефективно количество от съединение на лице, което се нуждае от таква лечение, като съединение е с формула 1



в която n има стойности 0, 1 или 2; R и R^1 са, независимо един от друг, водород, хидроксил, C_1 - C_6 -алкоксил, C_1 - C_6 -ацилоксил, C_1 - C_6 -алкоксил- C_2 - C_6 -алкоксил, R^2 -заместен арилоксил, R^4 -заместен карбонилоксил, хлор или бром;

R^2 е хетероцикличесен пръстен, избран от групата, състояща се от пиролидин, пиперидин или хексаметиленмин;

R^3 е C_1 - C_3 -алкил, C_1 - C_3 -алкоксил, водород или халоген; и

R^4 е C_1 - C_6 -алкоксил или арилоксил; или тяхната фармацевтично приемлива сол.

Изобретението предоставя също и фармацевтична формулировка, която да се използва за спиране на костната загуба, включваща съединение от формула 1, в която R , R^1 , R^2 и n са, както е посочено по-горе, в количество, което увеличава или поддържа кос-

тната плътност, както и фармацевтично приемлив носител.

Настоящото изобретение се отнася до откритието, че група на 2-фенил-3-арилбензотиофени /бензотиофени/ с формула 1 е полезна при лечението на остеопороза. Бензотиофените с формула 1 спират загубата на костно вещество, предизвикана от липсата на ендемогенен естроген, както се случва при жените след спиране на менструацията в резултат от естествени, хирургически или други процеси. Намаляването на костната плътност и маса, която, макар и по-рядко, се случва и при мъжете, а също свързана със загубата на хормонално регулиране, поради което е също обект на терапия съгласно методите на настоящото изобретение.

Бензотиофените с формула 1 са серия нестероидни съединения, които проявяват голям афинитет към конвенционалните естрогенни рецептори в основните полови тъкани - предмет на лечението. Обаче, те предизвикват минимални естрогенни реакции в тези тъкани и в действителност служат като действени антагонисти на естествените естрогени като естрадиол. Бензотиофените от формула 1 са способни да се противопоставят на класическите естрогенни реакции в най-важните полови тъкани без значително да намаляват костната плътност, когато се дават на незасегнати или лекувани с естроген животни, и те предотвратяват костна загуба при животни с естрогенна недостатъчност. Тази дихотомия показва селективност на агонистичните/антагонистичните действия върху специфичните обработвани клетки, което явно е изключително желано при лечение на синдрома на менопауза. Съответно, истински благоприятният фактор на настоящото изобретение е, че бензотиофените от формула 1 задържат загубата на костно вещество, но не предизвикват значителни естрогенни реакции в обработваните основни полови тъкани. Така, настоящото изобретение предлага метод за спиране на загубата на костно вещество, който включва назначаване на едно количество от съединението от формула 1, което спира костната загуба, но не оказва сериозно въздействие върху обработваните основни полови тъкани. Комбинацията от тези характеристики позволява дългосрочно лечение на хронични заболявания при намален риск от развитие на нежеланите последици, както

при обичайната терапия на естрогенно заместване.

Биологичното действие на бензотиофените от формула 1 е комплексно и може да не бъде свързано със забележимото присъствие на основното съединение в кръвта. След назначаване на предпочитания бензотиофен от настоящото изобретение, ралоксифена /даван като хидрохлоридна сол/ за приемане през устата на хора в клинични условия, основното съединение не се забелязва в серума на тези обекти. Определено е, че след приемане през устата съединението конюгира до глюкуронидатна форма и се изчиства бързо от кръвта. Въпреки че не бяха установени никакви биологически последиствия при хората-реципиенти, съществува съмнение, че съединението не е биологически пригодно.

Започнати са експерименти, които да отговорят на въпроса за биологическата пригодност, като за целта се използват лабораторни животни, при които биологическата активност може да бъде установена. Изследванията върху животни показват, че ралоксифенът е максимално активен за задържане както на маточното приемане на тритиран-естрадиол, така и на нормалната утеротрофна реакция към естрадиол, дори в условията, когато ралоксифенът екстензивно се конюгира в плазмата на животните. Нещо повече, конюгатът, изолиран от урината на хора, подложени на лечение с ралоксифен, показва значителна антиестрогенна/антиутеротрофна активност, когато се назначава венозно на плъхове и задържа взаимодействието на тритиран-естрадиол с маточните естрогенни рецептори на плъховете по начин, подобен на основното съединение. Тези изследвания водят до предположението, че конюгираното съединение може да се е преобразувало до основната форма на мястото на действие вероятно под въздействието на β -глюкуронидаза. Такова преобразуване може да допринесе за активността на съединението. β -глюкуронидазата е значително разпространена и се смята, че е активна при резорбционния процес на костното ремоделиране и се предполага, че е пригодна за преобразуването на конюгираното съединение в основната форма, ако това е необходимо за неговото въздействие. Ето защо, конюгирането на бензотиофените от формула 1 не се счита непременно за нежелателно или пагубно за биоп-

ригидността им като инхибитори на костната загуба.

Методът на лечение, предлаган от настоящото изобретение, се прилага посредством назначаване на лицето, което се нуждае от преустановяване на костна загуба, една доза от съединението от формула 1 или негова фармацевтично приемлива сол, която е ефективна за прекратяването на загубата на костно вещество. Особено благоприятно при този метод е, че той избягва потенциално вредните и неприемливи естрогенни странични ефекти. Спирането на костна загуба, предлагано от настоящия метод, включва както медицинско терапевтично, така и/или профилактично лечение, в зависимост от съответния случай.

Методът включва също назначаване на съединението от формула 1, давано в комбинация с естроген. Понятието естроген, както е използвано тук, означава всяко съединение, което приближава спектъра от дейности на естествено действащата молекула, която е прието да се счита за 17 β -естрадиол. Примери на такива съединения включват естриол, естрон, етинил естрадиол, Премарин /търговският препарат на конюгирани естрогени, изолирани от естествени източници - Айерст/, и други подобни. Благодарение на селективните агонистични/антагонистични свойства на съединенията от формула 1, тази комбинация осигурява напълно положителните въздействия от естрогенната терапия без съпровождащите я отрицателни въздействия, които се наблюдават само при естрогенна терапия.

Общите химически термини, използвани при описанието на съединение от формула 1 имат обикновените си значения. Например, терминът " C_1 - C_3 -алкил" включва такива групи като метил, етил, пропил и изопропил.

Терминът " C_1 - C_6 -алкоксил" включва такива групи като метоксил, етоксил, пропоксил, бутоксил, пентилоксил и хексилоксил и включва също разклонени верижни структури такива, като например, изопропоксил и изобутоксил.

Терминът " C_1 - C_6 -ацилоксил" включва метаноилоксил, етаноилоксил, пропаноилоксил, бутаноилоксил, пентаноилоксил, хексаноилоксил и други подобни и включва също разклонени верижни структури като например 2,2-диметилпропаноилоксил и 3,3-диметилбутаноилоксил.

Терминът " C_1 - C_6 -алкокси- C_2 - C_6 -ацилоксил" предполага, например, метоксиетаноилоксил, метоксипропаноилоксил, метоксибутаноилоксил, метоксипентаноилокси, метоксихексаноилоксил, етоксипентаноилоксил, етоксипропаноилоксил, етоксипентаноилоксил, етоксидетаноилоксил, етоксипентаноилоксил, етоксидетаноилоксил, пропоксидетаноилоксил, пропоксипропаноилоксил, пропоксипентаноилоксил и други подобни.

Трябва да се има предвид също, че използваните тук алкилни и алкоксилни структури включват също циклоалкилни и циклоалкоксилни групи, в които броят на въглеродите вътре в структурата е най-малко 3.

Термините " R^3 -заместен арилоксил" и " R^3 -заместен ароилоксил" включват също групи като фенилоксил, тиенилоксил, фурилоксил, нафтилоксил, бензоилоксил, тиеноилоксил, фурилоксил, нафтоилоксил и други подобни, при което R^3 заместващата група може да бъде водород, хидроксил, C_1 - C_3 -алкил, C_1 - C_3 -алкоксил или хало.

Терминът " R^4 -заместен карбонилоксил", където R^4 заместващата група може да бъде C_1 - C_6 -алкоксил или арилоксил, включва карбонатни структури като метоксикарбонилоксил, етоксикарбонилоксил, пропоксикарбонилоксил, бутоксикарбонилоксил, пентилоксикарбонилоксил, хексилоксикарбонилоксил, фенилоксикарбонилоксил, тиенилоксикарбонилоксил, фурилоксикарбонилоксил и нафтилоксикарбонилоксил. Предпочитани изпълнения на настоящото изобретение включват употребата на съединения от формула 1, в която R и R^1 са различни от водород, алкоксил, арилоксил, хлор или бром и следователно представляват естерни или карбонатни конфигурации. Други предпочитани изпълнения включват употребата на съединения от формула 1, при което R и R^1 са същите. Някои R^2 групи демонстрират също така предпочитани характеристики, когато се използват в изпълненията на настоящото изобретение. Например, предпочитани изпълнения на настоящото изобретение включват употребата на съединения с формула 1, когато R^2 е пиперидин или пиролидин, по-специално пиперидин. Друга предпочитана подгрупа на пиперидиновите и пиролидиновите съединения включва съединения, където R и R^1 са различни от водород и, в частност, онези, при които R и R^1 са хидроксил. Най-предпочитаното изпълнение на изобретението включва употребата на

ралоксифен, по-специално когато се назначава като хидрохлоридна сол.

Всички съединения, използвани в методите на настоящото изобретение, могат да бъдат получени съгласно установените методики, като онези, които са детайлно описани в /1 и 2/. Най-общо, методът започва с бензо/б/тиофен, който има една 6-хидроксилна група и една 2-/4-хидроксифенилна/ група. Изходното съединение е защитено, алкилирано и преустановена защита, за да образува съединения на формула 1, където R и R^1 са и двете хидроксил. Съединенията с формула 1, които са етери, естери и карбонати могат, ако е необходимо, след това да бъдат образувани. Примери за получаването на такива съединения са посочени в /1 и 2/. Специфични получавания на други извлечени съединения, които са от полза за настоящото изобретение, са описани по-долу в раздела Приготвяния. Модификации на горните методики могат да се наложат в случаите на акумулиране на реактивните функционалности на дадени/отделни заместители. За специалистите от областта такива модификации биха били както очевидни, така и с готовност възприемани.

Съединенията, използвани в методите на настоящото изобретение образуват фармацевтично приемливи кисели и основни адитивни соли с голямо разнообразие от органични и неорганични киселини и основи и включват физиологично приемливи соли, които се използват често във фармацевтичната химия. Такива соли са също част от настоящото изобретение. Типични неорганични киселини, използвани за да образуват такива соли, включват солна, бромоводородна, йодоводородна, азотна, сярна, фосфорна, хипофосфорна и други подобни киселини. Могат да бъдат използвани също соли, извлечени от органични киселини, като алифатна монокиселина и дикарбонова киселина, фенилзаместени алканоеви киселини, хидроксиалканоеви и хидроксиалкандиеви киселини, ароматни киселини, алифатни и ароматни сулфонове киселини. Такива фармацевтично приемливи соли следователно включват ацетат, фенилацетат, трифлуорацетат, акрилат, аскорбат, бензоат, хлорбензоат, динитробензоат, хидроксибензоат, метоксибензоат, метилбензоат, о-ацетоксибензоат, нафтален-2-бензоат, бромид, изобутират, фенилбутират, β -хидрокси-

бутират, бутин-1,4-диоат, хексин-1,4-диоат, капрат, каприлат, хлорид, цинамат, цитрат, формат, фумарат, глюконат, хептаноат, хипурат, лактат, малат, малеат, хидроксималеат, малонат, манделат, мезилат, никотинат, 5 изоникотинат, нитрат, оксалат, фталат, терафталат, фосфат, моноводородфосфат, дихидрогенфосфат, метафосфат, пирофосфат, пропиолат, пропионат, фенилпропионат, салицилат, себацат, сукцинат, суберинат, 10 сулфат, бисулфат, пиросулфат, сулфит, бисулфит, сулфонат, бензолсулфонат, р-бромфенилсулфонат, хлорбензолсулфонат, етансулфонат, 2-хидроксиетансулфонат, метансулфонат, нафталин-1-сулфонат, нафта- 15 лин-2-сулфонат, р-толуолсулфонат, ксилол-сулфонат, тартарат и подобни.

Освен това, някои от съединенията с формула 1 могат да образуват солвати с вода или органични разтворители като етанол. Тези сол- 20 вати също могат да бъдат използвани при методите на настоящото изобретение.

Фармацевтично приемливите кисели ад-и- 25 ционни соли се образуват обикновено чрез реагиране на съединението с формула 1 с равновесно моларно или по-голямо количество киселина. Реагиращите вещества обикновено се свързват във взаимен разтворител като ди- 30 етилов етер или бензол. Солта обикновено се утаява от разтвора за период от един час до десет дни и може да бъде изолирана посред- 35 ством филтрация или посредством отстраняване на разтвора чрез конвенционални средства.

Използваните обикновено основи за об- 35 разуването на соли включват амониев хидроокис и хидроокиси на основи и алкалоземни метали, карбонати и бикарбонати, както и али- 40 фатни и ароматни амини, алифатни диамини и хидроксиалкиламини. Особено полезни основи за получаването на адидионни соли включват 40 амониев хидроокис, калиев карбонат, натриев бикарбонат, калциев хидроокис, метиламин, диетиламин, етилендиамин, циклохексиламин и етаноламин.

В сравнение със съединението, от което 45 са извлечени, фармацевтично приемливите соли обикновено имат по-добри характеристики на разтворимост и следователно често са по-по- 50 датливи за формулирането им като течности или емулсии.

Настоящото изобретение предоставя съ- 50 що фармацевтични формулировки, полезни за

спирането на костна загуба, включващи съ-единение от формула 1 или негова фармацев-тично приемлива сол, плюс един или повече фармацевтично приемливи инертни пълнители. Фармацевтичните формулировки могат да бъдат получени посредством извест-ните в тази област методики. Например, съ-единенията могат да бъдат формулирани с об-щоизвестните инертни пълнители, разредите- 5 ли или носители във вид на таблетки, капсули, суспензии, прахове и други подобни. Примери на инертни пълнители, разредители и носители, които са подходящи за тези формулировки, включват: пълнители и инер-тни вещества като нишесте, захари, манит и силициеви производни; свързващи агенти ка-то карбоксиметилцелулоза, други производни на целулозата, алгинати, желатин и поливинилпиролidon; овлажняващи агенти ка-то глицерол; дезинтегриращи агенти като агар-агар, калциев карбонат и натриев бикарбонат; агенти за забавяне на разтварянето като парафин; резорбционни ускорители като чет-въртични амониеви съединения; повърхност-но активни агенти като цетилов алкохол, гли-церинов моностеарат; адсорбционни носители като каолин и бентонит; и лубриканти като талк, калциев и магнезиев стеарат и твърди полиетиленови гликоли.

Съединенията могат също да бъдат фор-мулирани като елексири или разтвори за удоб-но приемане чрез устата или като разтвори, подходящи за вътрешно приемане, например мускулно, подкожно или венозни инжектиране. Освен това, съединенията са много подхо- 35 дящи за формулиране във вид на дозирувки за продължително освобождаване на дозата. Формулировките могат да бъдат съставени така, че да освобождават активния ингри- 40 ент само или предимно в определено място в чревния тракт и за определен период от време. Покритията, опаковките и защитните матри-ци могат да бъдат направени от например по-лимерни вещества или восък.

Съгласно настоящото изобретение до-зата съединение с формула 1, необходима за лечението или спирането на костна загуба, за- 45 виси от степента на заболяването, начина на прилагане, както и от съпътстващи фактори, които могат да бъдат определени от лекува- 50 щия лекар. Обикновено, една ефективна доза е от около 0,1 до около 1000 mg съединение с

формула 1, по-добре от около 50 до 400 mg, а за предпочитане от около 50 до около 200 mg. Такива дозировки могат да бъдат назначавани на лицето, нуждаещо се от лечението, от 1 до 3 пъти дневно, или по-често, ако е необходимо, за ефективното спиране на процеса на костна загуба.

Обикновено се предпочита назначаването на съединението с формула 1 във вид на кисела адииционна сол, какъвто е обичаят при назначаването на фармацевтични вещества, които имат за основна група пиперидинов пръстен. Преимущество е също и възможността от назначаването на такова съединение за приемане през устата при възрастни хора /например, при жени след менопаузата или мъже, които имат костна загуба, установена от рентгенов анализ/. За тези случаи са достъпни следните видове дозировки за приемане през устата.

Формулировки

Във формулировките, които следват, "активен ингредиент" означава съединение с формула 1.

Формулировка 1. Желатинови капсули

Твърди желатинови капсули се приготвят, като се използват следните съставки:

Ингредиент	Количество/mg/капсула/
Активен ингредиент	0,1-1000
Нишесте, NF	0-650
Течлив нишестен прах	0-650
Силиконов флуид 350	
сантистокси	0-15

Ингредиентите се смесват и пресяват през американско сито с размер 45 меша, след което се напълват в твърди желатинови капсули.

Примери на специфични формулировки на капсула, съдържаща ралоксифен, като хидрохлоридна сол, се получават като включват посочените по-долу:

Формулировка 2. Капсула с ралоксифен

Ингредиент	Количество /mg/капсула/
5 Ралоксифенхидрохлорид	1
Нишесте, NF	112
Течлив нишестен прах	225,3
Силиконов флуид 350	
сантистокси	1,7

Формулировка 3. Капсула с ралоксифен

Ингредиент	Количество /mg/капсула/
15 Ралоксифенхидрохлорид	5
Нишесте, NF	108
Течлив нишестен прах	225,3
Силиконов флуид 350	
20 сантистокси	1,7

Формулировка 4. Капсула с ралоксифен

Ингредиент	Количество /mg/капсула/
25 Ралоксифенхидрохлорид	10
Нишесте, NF	103
Течлив нишестен прах	225,3
30 Силиконов флуид 350	
сантистокси	1,7

Формулировка 5. Капсула с ралоксифен

Ингредиент	Количество /mg/капсула/
35 Ралоксифенхидрохлорид	50
Нишесте, NF	150
40 Течлив нишестен прах	397
Силиконов флуид 350	
сантистокси	3,0

Горните специфични формулировки могат да бъдат променяни в съответствие с посочените разумни граници.

Формулировка за таблетки се получава, като се използват посочените по-долу компоненти.

Формулировка 6. Таблетки

Ингредиент	Количество /mg/таблетка/
Активен ингредиент	0,1-1000
Целулоза, микрокристална	0-650
Силициев двуокис, опушен	0-650
Стеаратна киселина	0-15

Компонентите се смесват и пресоват във вид на таблетки. 10

Алтернативно, таблетки, всяка от които съдържа 0,1-1000 mg активен ингредиент, се приготвят както следва.

Формулировка 7. Таблетки

Ингредиент	Количество /mg/таблетка/
Активен ингредиент	0,1-1000
Нишесте	45
Целулоза, микрокристална	35
Поливинилпиролидон	4
/като 10% -ен разтвор във вода/	
Натриева карбоксиметилцелулоза	4,5
Магнезиев стеарат	0,5
Талк	1

Активният ингредиент, нишестето и целулозата се пресяват през американско сито с размер 45 меша и се смесват добре. 30
Поливинилпиролидоновият разтвор се смесва с получените прахове и получената смес се пресява през американско сито с размер 14 меша. Така получените гранули се изсушават при температура 50-60°C и се пресяват през амери- 35
канско сито с размер от 18 меша. След това

към гранулите се прибавят предварително пресетите през американско сито с размер 60 меша натриева карбоксиметилцелулоза, нишесте, магнезиев стеарат и талк. След разбъркване сместа се пресова на таблетки с мощта на машина за таблетки.

Суспензиите, всяка от които съдържа 0,1-1000 mg медикамент за 5 ml доза, се приготвят както следва.

Формулировка 8. Суспензии

Ингредиент	Количество /mg/5 ml/
Активен ингредиент	0,1-1000 mg
Натриева карбоксиметилцелулоза	50 mg
Сироп	1,25 mg
Разтвор на бензоена киселина	0,10 ml
Аромат	q.v.
Оцветител	q.v.
Пречистена вода до	5 ml

Медикаментът се пресява през американско сито с размер 45 меша и се смесва с натриевата карбоксиметилцелулоза и сиропа, при което се образува еднородна гладка паста. Разтворът на бензоената киселина, ароматът и оцветителят се разреждат с малко от водата и се прибавят, като се разбъркват. След това се добавя достатъчно количество вода, за да се получи необходимият обем.

Илюстрация на съединенията, които могат да бъдат използвани за формулирането, и методите от настоящото изобретение са посочени в таблица 1.

Таблица 1

Съединение №	n	R и R ¹	R ²	Вид
1	0		пиперидин	основа
2	0		пиперидин	HCl
3	0		пиперидин	основа
4	0		пиперидин	HCl
5	0	$-OC(=O)CH_2CH_2CH_3$	пиперидин	основа
6	0	$-OC(=O)CH_2CH_2CH_3$	пиперидин	HCl
7	0	$-OC(=O)C(CH_3)_3$	пиперидин	основа
8	0	$-OC(=O)C(CH_3)_3$	пиперидин	HCl

9	0	$-\text{OC}(0)\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$	пиперидин	основа
10	0	$-\text{OC}(0)\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$	пиперидин	HCl
11	0	$-\text{OC}(0)-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_3$	пиперидин	HCl
12	0	$-\text{OC}(0)-\text{C}_6\text{H}_5$	пиперидин	основа
13	0	$-\text{OC}(0)\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$	пиперидин	основа
14	0	$-\text{OC}(0)\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$	пиперидин	HCl
15	0	$-\text{OC}(0)\text{O}-\text{C}_6\text{H}_5$	пиперидин	основа
16	0	$-\text{OC}(0)\text{O}-\text{C}_6\text{H}_5$	пиперидин	HCl
17	0	$-\text{OC}(0)-\text{C}_{10}\text{H}_7$	пиперидин	основа
18	0	$-\text{OC}(0)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$	пиперидин	основа
19	0	$-\text{OC}(0)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$	пиперидин	HCl
20	0	OH	пиперидин	основа
21	0	OH	пиперидин	HCl
22	0	H	пиперидин	основа
23	1	OH	пиперидин	HCl
24	2	OH	пиперидин	HCl
25	1	H	пиперидин	HCl
26	0	OH	пиролодин	основа
27	0	OH	пиролодин	HCl
28	1	OH	пиролодин	HCl
29	2	OH	пиролодин	HCl
30	0	H	пиролодин	HCl
31	0	OH	хексаметиле- нимин	HCl
32	1	OH	хексаметиле- нимин	HCl
33	2	OH	хексаметиле- нимин	HCl
34	0	OCH_3	пиперидин	HCl

При следните приготовления номерата на съединенията съответстват на номерата, посочени в таблица 1.

Приготовление

Получаване на съединение 1.

6-/4-флуорбензоилокси/-2-/4-/4-флуорбензоилокси/фенил/-бензо/б/тиен-3-ил-/4-/2-/пиперидин-1-ил/етокси/фенил/-метанон

Ралоксифенхидрохлорид /наричан още 6-хидрокси-2-/4-хидроксифенил/-бензо/б/тиен-3-ил-4-/2-/пиперидин-1-ил/етоксифенил/-метанонов хидрохлорид/, /5,1 g, 10 mmol/ се суспендира в 250 ml сух тетраhydroфуран и 7,1 g /70 mmol/ триетиламин и се прибавят приблизително 10 mg 4-/N,N-диметиламин/пиридин. Суспензията се охлажда в ледена баня и се поставя под азотна атмосфера. 4-флуорбензоилхлорид /4,75 g, 30 mmol/, разтворен

ни в 20 ml сух тетраhydroфуран, се подава бавно в продължение на период от 20 min. Реакционната смес се разбърква и се оставя да се затопли бавно до стайна температура за период от около 18 h. След това сместа се филтрира и филтратът се изпарява вакуумно до получаване на лепкаво вещество. Така полученият суров продукт се разтваря в малко количество хлороформ и се хроматографира в колона от силикагел, елуирана с линеен градиент на разтворител, започвайки с хлороформ и завършвайки със смес от хлороформ-метанол /19:1 /об.об.//. Фракциите, съдържащи желания продукт, се определят посредством тънкослойна хроматография /силициев двуокис, хлороформ-метанол /9:1//. Тези фракции се смесват и се изпаряват до получаването на смола. Крайният продукт се криста-

лизира с етер, при което се получават 3,21 g от съединение 1.

PMR: съвместим със структурата

FDMS: $m/e = 717 M^+$

Анализ на елементите за $C_{42}H_{33}F_2NO_6S$: 5

Теоретически: C 70,29; H 4,60; N 1,95

Установено: C 70,05; H 4,60; N 1,89

Мол.тегло: 717

Приготовление 2.

Получаване на съединение 2.

6-/4-флуорбензоилокси/-2-/4-/4-флуорбензоилокси/-фенил/-бензо/б/тиен-3-ил-/4-/2-/пиперидин-1-ил/етокси/-фенил/-метанонов хидрохлорид.

Съединение 1 /5,15 g, 7,18 mmol/ се разтваря в 25 ml тетраhydroфуран и се добавят 150 ml етер. Сух HCl газ се пропуска на мехурчета през разтвора и се образува бяла смолиста утайка. Течността се отстранява чрез декантиране и остатъкът се кристализира от етилацетат с добавено малко количество етанол за подобряване на разтвора. Продуктът се филтрира, измива се с етер и се изсушава, при което се получават 4,41 g от съединение 2 във вид на бял прах.

PMR: съвместим със структурата

Анализ на елементите за $C_{42}H_{34}ClF_2NO_6S$:

Теоретически: C 66,88; H 4,54; N 1,86

Установено: C 66,59; H 4,39; N 1,60

Мол.тегло 753,5

Приготовление 3.

Получаване на съединение 3.

6-/циклопропилкарбонилокси/-2-/4-/циклопропилкарбонилокси/-фенил/бензо/б/тиен-3-ил-/4-/2-/пиперидин-1-ил/етокси/-фенил/метанон.

Съединението с горното название се получава, като се използват методиките, аналогични на описаните в приготовление 1, с тази разлика, че се използва циклопропилкарбонилхлорид и че продуктът не се кристализира. Добив = 2,27 g.

PMR: съвместим със структурата

FDMS: $m/e = 610 M^+$

Приготовление 4.

Получаване на съединение 4.

6-/циклопропилкарбонилокси/-2-/4-циклопропилкарбонилокси/-фенил/бензо/б/тиен-3-ил-/4-/2-/пиперидин-1-ил/етокси/фенил/-

метанонов хидрохлорид.

Съединение 4 се получава от съединение 3 съгласно описанието в приготовление 2.

Приготовление 5.

Получаване на съединение 5.

6-/п-бутаноилокси/-2-/4-/п-бутаноилокси/фенил/бензо/б/тиен-3-ил-/4-/2-/пиперидин-1-ил/етокси/фенил/метанон.

Съединение 5 се получава съгласно метода от приготовление 1, с тази разлика, че се започва с п-бутаноилхлорид, при което се получават 4,12 g от крайния продукт във вид на масло.

PMR: съвместим със структурата

FDMS: $m/e = 614 M^+$

Приготовление 6

Получаване на съединение 6.

6-/п-бутаноилокси/-2-/4-/п-бутаноилокси/фенил/бензо/б/тиен-3-ил-/4-/2-/пиперидин-1-ил/етокси/фенил/метанонов хлороводород.

Съединение 5 /4,12 g/ се разтваря в етилов ацетат /50 ml/ и се подава разтвор на солна киселина в етер, докато утаяването спре. Течността се декантира и белият на цвят смолист остатък се стрива с диетилов етер и се филтрира. Остатъкът се изсушава, при което се получават 1,33 g от съединение 6.

PMR: съвместим със структурата

Анализ на елементите: за $C_{36}H_{40}ClNO_6S$:

Теоретично: C 66,50; H 6,20; N 2,15

Установено: C 66,30; H 6,28; N 1,98

Мол.тегло: 650,24

Приготовление 7.

Получаване на съединение 7.

6-/2,2-диметилпропаноилокси/-2-/4-/2,2-диметилпропаноилокси/фенил/бензо/б/тиен-3-ил-/4-/2-/пиперидин-1-ил/етокси/фенил/метанон.

Съединение 7 се получава, като се използва методиката, описана в приготовление 1, с тази разлика, че се използва 2,2-диметилпропаноилхлорид.

Приготовление 8.

Получаване на съединение 8.

6-/2,2-диметилпропаноилокси/-2-/4-/2,2-диметилпропаноилокси/фенил/бензо/б/тиен-3-ил-/4-/2-/пиперидин-1-ил/етокси/фенил/метанонов хидрохлорид.

Съединение 8 се получава от съединение 7 съгласно описаната в приготвление 2 методика.

FDMS: $m/e = 641$ /M-HCl-1/

Анализ на елементите на $C_{38}H_{44}ClNO_6S$: 5

Теоретично: C 67,29; H 6,54; N 2,07

Установено: C 67,02; H 6,54; N 1,90

Мол.тегло: 678,29

Приготвление 9.

Получаване на съединение 9.

6-/3,3-диметилбутаноилокси/-2-/4-/3,3-диметилбутаноилокси/-фенил/бензо/б/тиен-3-ил/4-/2-/пиперидин-1-ил/етокси/-фенил/метанон.

Съединение 9 се получава, като се използва описаната в приготвление 1 методика, с тази разлика, че се използва 3,3-диметилбутаноилхлорид.

Приготвление 10.

Получаване на съединение 10.

6-/3,3-диметилбутаноилокси/-2-/4-/3,3-диметилбутаноилокси/-фенил/бензо/б/тиен-3-ил/4-/2-/пиперидин-1-ил/етокси/-фенил/-метанонов хидрохлорид.

Съединение 10 се получава от съединение 9 съгласно методиката, описана в приготвление 2.

FDMS: $m/e = 669$ /M-HCl-1/

Анализ на елементите на $C_{40}H_{48}ClNO_6S$: 30

Теоретично: C 68,02; H 6,85; N 1,98

Установено: C 67,75; H 6,83; N 2,04

Мол.тегло: 706,35

Приготвление 11.

Получаване на съединение 11.

6-/4-метилбензоилокси/-2-/4-/4-метилбензоилокси/-фенил/бензо/б/тиен-3-ил/4-/2-/пиперидин-1-ил/етокси/-фенил/метанон-хидрохлорид.

Съединение 11 се получава от свободна основа, като се използва методика, подобна на описаната в приготвление 2.

FDMS: $m/e = 710$ /M-HCl-1/

Анализ на елементите на $C_{44}H_{40}ClNO_6$:

Теоретично: C 70,81; H 5,39; N 1,88

Установено: C 71,10; H 5,39; N 1,94

Мол.тегло: 746,33.

Приготвление 12.

Получаване на съединение 12.

6-бензоилокси-2-/4-бензоилокси/фенил/бензо/б/тиен-3-ил/4-/2-/пиперидин-1-ил/етокси/-фенил/метанон.

Съединение 12 се получава от подходящ кисел хлорид съгласно методиката, описана в приготвление 1.

FDMS: $m/e = 682$ /M*1/

Анализ на елементите на $C_{42}H_{35}NO_6S$:

Изчислено: C 73,80; H 5,14; N 2,05

Установено: C 73,27; H 5,27; N 1,94

Мол.тегло: 681,8.

Приготвление 13.

Получаване на съединение 13.

6-/п-бутоксидилокси/-2-/4/п-бутоксидилокси/фенил/-бензо/б/тиен-3-ил/4-/2-/пиперидин-1-ил/етокси/-фенил/метанон

Съединение 13 се получава посредством методика, аналогична на описаната в приготвление 1, с изключение на това, че вместо кисел хлорид се използва п-бутилхлорформат. Добив = 6,13 g във вид на масло.

PMR: съвместим със структурата

FDMS: $m/e = 674$ /M*1/

Приготвление 14.

Получаване на съединение 14.

6-/п-бутоксикарбонилокси/-2-/4-/п-бутоксикарбонилокси/фенил/-бензо/б/тиен-3-ил/4-/2-/пиперидин-1-ил/етокси/фенил/-метанонов хидрохлорид.

Съединение 13 се преобразува в хидрохлоридна сол съгласно методика, аналогична на описаната в приготвление 6.

PMR: съвместим със структурата

Анализ на елементите на $C_{38}H_{44}ClNO_6S$:

Изчислено: C 64,26; H 6,24; N 1,97

Установено: C 63,97; H 6,34; N 1,98

Мол.тегло: 710,29.

Приготвление 15.

Получаване на съединение 15.

6-/фенилоксикарбонилокси/-2-/4/фенилоксикарбонилокси/фенил/-бензо/б/тиен-3-ил/4-/2-/пиперидин-1-ил/етокси/фенил/-метанон.

Съединението се получава по начин, аналогичен на описания в приготвление 13, с тази разлика, че се използва съответен ацилов естер. Добив = 3,59 g от крайния продукт във вид на

червеникавокафяв аморфен прах.

PMR: съвместим със структурата
FDMS: $m/e = 713 / M+ /$.

Приготовление 16.

Получаване на съединение 16.

6-/фенилоксикарбонилокси/-2-/4-/фенилоксикарбонилокси/фенил/-бензо/б/тиен-3-ил/4-/2-/пиперидин-1-ил/етокси/фенил/-метанонов хидрохлорид.

Съединение 15 се преобразува в хидрохлоридна сол по начин, аналогичен на този, описан в приготвяне 6.

PMR: съвместим със структурата

Анализ на елементите на $C_{38}H_{44}ClNO_8S$: 15
Изчислено: C 67,24; H 4,84; N 1,87
Установено: C 66,94; H 4,96; N 1,84
Мол.тегло: 750,27.

Приготовление 17.

Получаване на съединение 17.

6-/нафтоилокси/-2-/4/1-нафтоилокси/фенил/бензо/б/тиен-3-ил/4-/2-/пиперидин-1-ил/етокси/фенил/метанон.

Съединение 17 се получава съгласно описанието в приготвяне 1, като се използва съответен кисел халид. Добив = 3,5 g бяла аморфна пудра.

PMR: съвместим със структурата

FDMS: $m/e = 781 / M+ /$
Анализ на елементите на $C_{50}H_{39}NO_6S$:
Изчислено: C 76,80; H 5,03; N 1,79
Установено: C 76,53; H 5,20; N 1,53
Мол.тегло: 781,94.

Приготовление 18.

Получаване на съединение 18.

6-/метоксиетаноилокси/-2-/4/метоксиетаноилокси/фенил/-бензо/б/тиен-3-ил/4-/2-/пиперидин-1-ил/етокси/фенил/-метанон.

Съединение 18 се получава съгласно описанието от приготвяне 1, като се използва съответен кисел халид. Добив = 3,61 g смолисто твърдо вещество.

PMR: съвместим със структурата

FDMS: $m/e = 618 / M+ /$

Приготовление 19.

Получаване на съединение 19.

6-/метоксиетаноилокси/-2-/4/метоксиетаноилокси/фенил/-бензо/б/тиен-3-ил/4-/2-/пиперидин-1-ил/етокси/фенил/-метанонов

хидрохлорид.

Съединение 19 се получава от 3,5 g съединение 18 съгласно описанието в приготвяне 2. Добив = 1,65 g аморфен бял прах.

PMR: съвместим със структурата

FDMS: $m/e = 618 / M+ /$

Анализ на елементите на $C_{34}H_{36}NO_8S$:

Изчислено: C 62,43; H 5,55; N 2,14

Установено: C 62,23; H 5,63; N 2,15

Следните, неограничаващи изобретенията примери, илюстрират методите и формулировките на настоящото изобретение.

Пример 1. В примерите, илюстриращи методите, се използва моделът на остеопороза след менопауза и се установяват въздействията от различните лечения върху плътността на бедрената кост.

От Charles River Laboratories (Portage, MI) се вземат женски плъхове Sprague Dawley на възраст 75 дни /тегло в границите на 225 до 275 g/. Наставят се на групи от 3 и имат свободен достъп до храна /съдържание на калций приблизително 1% / и вода. Стайната температура се поддържа на $22,2^{\circ}C \pm 1,7^{\circ}C$ с относително минимална влажност от 40%. Фотопериодът в стаята е 12 h светлина и 12 h тъмнина.

Една седмица след пристигането им плъховете претърпяват двустранна операция на яйчниците /овариектомия/ под упойка /44 mg/kg Кетамин и 5 mg/kg Ксилазин /Battler, Indianapolis поставена мускулно/. Лечение с разтвор, естроген или съединение от формула 1 започва в деня на операцията, след премиване на упойката. Дозировката за приемане през устата е 0,5 ml от 1% карбоксиметилцелулоза (СМС). Телесното тегло се определя по време на операцията и всяка седмица след това, като дозировката се променя в съответствие с промяната на теглото. Оперираниите и обработвани с разтвори или естроген плъхове и неоперираниите /непокътнати/ плъхове се наблюдават паралелно при всяка експериментална група, като това служи като отрицателен и положителен контрол.

Плъховете се обработват ежедневно в продължение на 35 дни /по шест плъха на обработвана група/ и се умъртвяват като се обезглавяват на 36-ия ден. Периодът от 35 дни е достатъчен, за да се постигне максимално намаляване на плътността на костта,

измерено както е описано тук. По време на умъртвяването се отстранява матката, като от нея се отделя външната тъкан и се премахва флуидното съдържание преди да се измери теглото, за да се потвърди естрогенната недостатъчност, свързана с пълната овариектомия. Теглото на матката намалява със 75% вследствие на овариектомията. Матката след това се поставя в 10% неутрален буфериран формалин, за да се осигури извършването на последващи хистологични анализи.

Десните бедрени кости се отрязват и скенират при дистална метафиза 1 mm от улея на пателата с фотометрия /измерваща абсорбцията/оптичната плътност/. Резултатите от измерванията с дензиметъра представляват изчисления на костната плътност като функция на минералното съдържание в костта и ширината на костта.

Влияние на ралоксифена върху плътността на костта

Резултатите от контролното лечение /обработване от пет отделни експеримента/ са събрани в таблица 2. Като цяло овариектомията, извършена върху плъховете, причиня-

ва намаляване на плътността на костта от около 25%, в сравнение с неоперираните контролни плъхове, обработвани с разтвор. Естрогенът, даван през устата във вид на етинилестрадиол /EE₂/, предотвратява тази загуба на костта в зависимост от дозировката, но оказва също и стимулиращо действие върху матката, което води до приближаване на теглото на матката до това на неоперираните плъхове, когато се дава в дози от 100 µg/kg. Резултатите са докладвани като средните от измервания върху тридесет плъха плюс/минус стандартната грешка за средните.

При тези изследвания ралоксифенът, даван като хидрохлорид, също предотвратява костната загуба в зависимост от дозировката; обаче, при тези контролни групи от оперирани животни се наблюдава само минимално увеличаване на теглото на матката. Резултатите от пет измервания, използвайки ралоксифен, са представени в таблица 3. Съответно, всяка точка отразява реакциите на тридесет плъха и описва кривата на реакцията към типична доза ралоксифен в този модел. Резултатите са представени като средни плюс/минус стандартната грешка за средните.

Таблица 2

	Плътност на костта /mg/cm/cm/	Тегло на матката /mg/
Оперирана контролна група /0,5 ml СМС през устата/	170 ± 3	127 ± 5
Неоперирана контролна група /0,5 ml СМС през устата/ EE ₂ 100 µg/kg, през устата	220 ± 4 210 ± 4	545 ± 19 490 ± 11

Таблица 3

	Плътност на костта /mg/cm/cm/	Тегло на матката /mg/
Оперирана контролна група /0,5 ml СМС през устата/	171 ± 3	127 ± 5
Неоперирана контролна група /0,5 ml СМС през устата/	222 ± 3	540 ± 22
ралоксифен 0,01 mg/kg, през устата	176 ± 3	150 ± 5
ралоксифен 0,10 mg/kg, през устата	197 ± 3	196 ± 5
ралоксифен 1,00 mg/kg, през устата	201 ± 3	199 ± 5
ралоксифен 10,00 mg/kg, през устата	199 ± 3	186 ± 4

Пример 2. Ралоксифенът като хидрохлорид се дава самостоятелно или в комбинация с етинилестрадиол. Плъховете, които са обработвани само с ралоксифен имат тегло на матката, което е малко по-голямо от това на оперираните контролни плъхове и много по-малко от това на онези, които са обработвани

с етинилестрадиол, което се приближава до онова на неоперираните. Обратно, обработването с ралоксифен намалява значително костната загуба при оперираните плъхове, а когато се дава в комбинация с етинилестрадиол не намалява значително защитния ефект на естрогена върху плътността на костта. Резултатите са представени в таблица 4.

Таблица 4

Експеримент А	Плътност на костта /mg/cm/cm/	Тегло на матката /mg/
Оперирана контролна група /0,5 ml СМС през устата/ Неоперирана контролна група /0,5 ml СМС през устата/ ЕЕ ₂ 100 µg/kg, през устата ЕЕ ₂ 100 µg/kg плюс ралоксифен 0,10 mg/kg, през устата ЕЕ ₂ 100 µg/kg плюс ралоксифен 1 mg/kg, през устата	162 ± 4 219 ± 5 202 ± 6 204 ± 2 200 ± 5	142 ± 18 532 ± 49 450 ± 17 315 ± 10 250 ± 21
Експеримент В	Плътност на костта /mg/cm/cm/	Тегло на матката /mg/
Оперирана контролна група /0,5 ml СМС през устата/ Неоперирана контролна група /0,5 ml СМС през устата/ ЕЕ ₂ 100 µg/kg, през устата ралоксифен 1 mg/kg плюс ЕЕ ₂ 100 µg/kg, през устата ралоксифен 1 mg/kg	165 ± 8 220 ± 4 215 ± 11 197 ± 7 198 ± 11	116 ± 6 605 ± 69 481 ± 24 263 ± 17 202 ± 5

Пример 3. Способността на ралоксифена да спира загубата на костно вещество се сравнява с това на тамоксифена /IGMA, Сейнт Луис, Монтана/. Установено е, че тамоксифенът, добре известен антиестроген, използван понастоящем при лечението на някои ракови заболявания, е способен да спира костната загуба. Сравнително малък кръг от дози на ралоксифен и тамоксифен се дават през устата на оперираните плъхове, както и при пре-

дишния пример. Въпреки че и двата агента проявяват способност да предпазват от намаляване на плътността на бедрената кост, като в същото време предизвикват само слаба утеротрофна дейност, идентифицирана посредством увеличаване на теглото на матката /таблица 5/, едно сравнение на няколко хистологични параметъра показва значителна разлика между плъховете, обработвани с тези агенти /таблица 6/.

Увеличения в епителната височина са признак за естрогенността на терапевтичните агенти и могат да бъдат свързвани с увеличената заболяемост от рак на матката. Когато се дава ралоксифен, както е описано в пример 1, само при една от дозите има статистически измерено увеличение на епителната височина при оперираните контролни групи. Това е в противоположност на резултатите, получени при обработка с тамоксифен и ралоксифен. При всички дадени дози тамоксифенът увеличава епителната височина, равна на тази при неоперираните плъхове, което е около шест пъти по-голямо увеличение в сравнение с реакцията, която се наблюдава при ралоксифена. Обработката с естрадиол увеличава епителната височина до дебелина, по-голяма от тази при неоперираните плъхове.

Естрогенността се измерва също посредством преценяване на неблагоприятната реак-

ция от инфилтрацията на еозинофил в стромалния слой на матката /таблица 6/. Ралоксифенът не предизвиква никакво увеличение в броя на еозинофилите, наблюдавани в стромалния слой на оперираните плъхове, докато тамоксифенът предизвиква реакция на значителното им увеличаване. Естрадиолът, както се предполагаше, предизвиква голямо увеличение на еозинофилна инфилтрация.

Между въздействията на ралоксифена и тамоксифена върху дебелината на стромата и миометриума няма никаква или почти никаква разлика. При тези измервания двата агента причиняват увеличение, което е много по-малко от въздействието на естрогена.

Общият резултат за естрогенността, който е компилация от всичките четири параметъра, показва, че ралоксифенът е значително по-малко естрогенен, отколкото тамоксифена.

Таблица 5

	Плътност на костта /mg/cm/cm/	Тегло на матката /mg/
Оперирана контролна група /0,5 ml СМС през устата/	171 ± 5	126 ± 17
Неоперирана контролна група /0,5 ml СМС през устата/	208 ± 4	490 ± 6
EE ₂ 100 µg/kg, през устата	212 ± 10	501 ± 37
ралоксифен 1 mg/kg, през устата	207 ± 13	198 ± 9
тамоксифен 1 mg/kg, през устата	204 ± 7	216 ± 18

Таблица 6

	Епител- на ви- сочина	Стро- мални еозино- фили	Миомет- рична дебел- лина	Стро- мална екс- панзия
Оперирана контролна група /0,5 ml СМС през устата/	1,24	1,00	4,42	10,83
Неоперирана контролна група /0,5 ml СМС през устата/	2,71	4,17	8,67	20,67
EE ₂ 100 µg/kg, през устата	3,42	5,17	8,92	21,17
ралоксифен 1 mg/kg	1,67	1,17	5,42	14,00
тамоксифен 1 mg/kg	2,58	2,83	5,50	14,17

Пример 4. Други съединения с формула 1 се дават на плъховете през устата съгласно описанието в пример 1. Таблица 7 предста-

вярезултатите от въздействието на 1 mg/kg доза от всяко съединение в проценти на задържане на костната загуба и в проценти увеличаване на теглото на матката.

5

Таблица 7

Съединение Номер	% Задържане на костната загуба ^a	% Увеличаване на теглото на матката ^b
2	86	26
6	24	19
8	66	24
10	52	24
11	26	28
12	60	15
14	121	32
16	108	25
18	21	17
27	25	1
34	26	-6

^aПроцент на задържане на костната загуба = /плътността на костта на обработваните животни - плътността на костта на необработваните животни/ + /плътността на костта на обработваните с естроген животни - плътността на костта на необработваните животни/ x 100.

^bПроцент на увеличаване на теглото на матката = /теглото на матката на обработваните животни - теглото на матката на необработваните животни/ + /теглото на матката на обработваните с естроген животни - теглото на матката на необработваните животни/ x 100.

Пример 5. Коефициентът на фрактурир-
те вследствие на остеопороза се свързва изця-
ло с костната минерална плътност. Обаче, про-
мените в костната плътност настъпват бавно и
могат да бъдат резултатно измерени само в
течение на много месеци или години. Възможно
е, обаче, да се докаже, че съединенията с фор-
мула 1, като ралоксифенът, имат положител-
но въздействие върху минералната плътност
на костта и върху костната загуба посредст-
вом измерването на различни бързо реагиращи
биохимични параметри, които отразяват

промените в метаболизма на скелета. За тази
цел, при настоящото тестово изследване на
ралоксифена /назначаван като хидрохлорид/
участват най-малко сто и шестдесет пациента
произволно разделени на четири групи за
лечение: естроген, две различни дози ралок-
сифен и плацебо. Пациентите се обработват
ежедневно в продължение на осем седмици.

Кръвта и урината се изследват преди,
по време и при приключване на обработката.
Освен това, в началото и в края на изследва-
нето се прави изследване на епителния на
матката. Даването на естроген и плацебо слу-
жат съответно като положителни и отрица-
телни контроли.

Пациентите са здрави жени след мено-
пауза /хирургическа или естествена/, на въз-
раст от 45 до 60 години, които нормално се
считат за кандидати за естрогенно замества-
не при лечение на остеопороза. Това включва
жени със съхранени матки, последният менс-
труален период при които е бил преди повече
от шест месеца, но през последните шест
години.

Пациенти, които систематично са вземали някои от следните лекарства при започване на изследването са изключени от него: витамин Д, кортикостероиди, хиполипидемици, тиазиди, средства против гуша, салицилати, фенотиазини, сулфонати, тетрациклини, неомицин, антихелминтици. Пациенти, които са подложени на лечение с естроген, прогестин или андроген в течение на предхождащите изследването три месеца; пациенти, които изобщо някога са подлагани на терапия с калцитонин, флуорид или бисфосфонат; пациенти, които имат диабет; пациенти, които имат история на раково заболяване, в който и да е момент от предхождащите изследването пет години; пациенти с недиагностицирано или ненормално генитално кървене; пациенти с история на или активни, тромбоемболични нарушения; пациенти с нарушена чернодробна или бъбречна функция; пациенти с абнормална тироидна функция; пациенти, които представляват риск от медицинска или психиатрична гледна точка; или пациенти, приемащи наркотици или употребяващи значителни количества алкохол.

Пациентите от групата за обработка с естроген получават ежедневни дози от 0,625 mg, а двете групи, приемащи ралоксифен, получават ежедневни дози от 200 и 600 mg, всички групи приемат през устата формулировките във вид на капсули. През целия курс на изследването се дава калциев карбонат, 648 mg таблетки, като допълнение от калций, като всички пациенти вземат две таблетки всяка сутрин.

Изследването има характера на двойно контролирано. Нито изследователите, нито пациентите знаят в коя група е включен отделният пациент.

Основните наблюдения на всеки пациент включват количествени измервания на калция в урината, на креатинина, хидроксипролина и пиридинолиновите напречни връзки. Кръвните проби се изследват за серумни нива на остеокалцин, костни специфични алкални фосфати, ралоксифен и ралоксифинни метаболити. Основните наблюдения включват също и изследване на матката, включително и биопсия на матката.

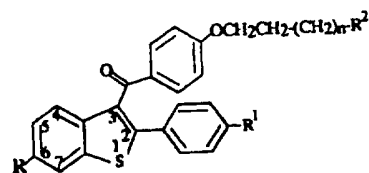
По време на следващите посещения при наблюдаващия лекар отново се прави изследване на горните параметри, за да се установи

реакцията към лечението. Оказва се, че за разлика от необработваните индивиди, горесъброевите биохимични маркери, свързани с костната резорбция са спрени в резултат на приемането на естроген. Очаква се ралоксифенът също да спре в маркерите при индивиди с естрогенна недостатъчност, като индикация на това, че ралоксифенът е ефикасен при задържане на костна загуба от началото на периода на лечение.

По-нататъшни дългосрочни изследвания могат да включат непосредствено измерване на плътността на костта посредством използване на фотонна фотометрия и измерване на фрактурни коефициенти, свързани с терапията.

Патентни претенции

1. 2-Фенил-3-ароилбензотиофени с формула (I)



в която p е 0, 1 или 2, R и R^1 , независимо едно от друго, са водород, хидроксил, C_1 - C_6 алкоксил, C_1 - C_6 ацилоксил, C_1 - C_6 алкокси- C_2 - C_6 ацилоксил, R^3 -заместен арилоксил, хлор или бром, R^4 -заместен карбонилоксил;

R^2 е хетероциклически пръстен, избран от групата, състояща се от пирролидин, пиперидин или хексаметиленмин;

R^3 е C_1 - C_3 -алкил, C_1 - C_3 алкокси, водород или халоген;

R^4 е C_1 - C_6 алкоксил или арилоксил; или тяхната фармацевтично приемлива сол за лечение или предотвратяване на остеопороза.

2. Използване на съединение с формула I, при което p е 0, R и R^1 са хидроксилна група и R^2 е пиперидинов пръстен, наречено ралоксифен за спиране на костна загуба при хора.

3. Използване на хидрохлоридна сол на ралоксифена за спиране на костна загуба при хора.

4. Използване на съединение съгласно претенция 1, 2 или 3 за лечение на остеопороза при хора.

5. Използване на съединение съгласно претенция 1, 2 или 3, при което съединението се дава профилактично.

6. Фармацевтична рецептура за спиране на костна загуба при хора, характеризираща се с това, че включва съединение с формула I съгласно претенции 1 до 3.

Литература

1. US 4 133 814.
2. US 4 418 068.

3. Love, R., et al. 1992 "Effects of tamoxifen on bone mineral density in postmenopausal women with breast cancer", N Eng J.Med 326:852.

- 5 4. Turner, R., et al. 1988 "Tamoxifen inhibits osteoclast-mediated resorption of trabecular bone in ovarian hormone-deficient rats", Eudo 122:1146.

Издание на Патентното ведомство на Република България
1113 София, бул. "Д-р Г. М. Димитров" 52-Б

Експерт: М. Михайлов

Редактор: Р. Николова

Пор. № 38633

Тираж: 40 СК