(19) **Bundesrepublik Deutschland**
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 600 08 430 T2** 2004.12.23

(12) # Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) **EP 1 244 655 B1**
(21) Deutsches Aktenzeichen: **600 08 430.2**
(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US00/28876**
(96) Europäisches Aktenzeichen: **00 976 590.0**
(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 01/36414**
(86) PCT-Anmeldetag: **03.11.2000**
(87) Veröffentlichungstag der PCT-Anmeldung: **25.05.2001**
(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **02.10.2002**
(97) Veröffentlichungstag der Patenterteilung beim EPA: **18.02.2004**
(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **23.12.2004**

(51) Int Cl.[7]: **C07D 409/14**
C07D 409/10, C07D 409/12, A61K 31/445, A61K 31/38

(30) Unionspriorität:
166575 P **19.11.1999** **US**

(84) Benannte Vertragsstaaten:
AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LI, LU, MC, NL

(73) Patentinhaber:
Eli Lilly and Co., Indianapolis, Ind., US

(74) Vertreter:
Spott & Weinmiller, 80336 München

(72) Erfinder:
SALL, Jon, Daniel, Greenwood, US; TOTH, Eldon, John, Indianapolis, US; TAKEUCHI, Kumiko, Indianapolis, US; BASTIAN, Anne, Jolie, Beech Grove, US; KOHN,Todd,Jonathan, Indiana 46038, US

(54) Bezeichnung: **VERBINDUNGEN MIT ANTITHROMBOTISCHER WIRKUNG**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

[0001] Diese Anmeldung beansprucht die Priorität der US Anmeldung 60/166 575 vom 19. November 1999.

[0002] Die Erfindung betrifft Thrombininhibitoren, die als Antikoagulationsmittel bei Säugern brauchbar sind. Insbesondere betrifft sie Benzo[b]thiophenderivate mit einer hohen Antikoagulansaktivität und einer antithrombotischen Aktivität. Daher betrifft die Erfindung neue Thrombininhibitoren, pharmazeutische Zusammensetzungen, die die Verbindungen als Wirkstoffe enthalten und die Verwendung der Verbindungen als Antikoagulantien zur Prophylaxe und Behandlung von Lungenembolie, arterieller Thrombose, insbesondere Myokardischämie, Myokardinfarkt und cerebraler Thrombose, allgemeinen Hyperkoagulationszuständen und lokalen Hyperkoagulationszuständen, wie nach einer Angioplastie und koronaren Bypass-Operationen, und allgemeiner Gewebeverletzung, da sie mit dem Entzündungsprozess zusammenhängt. Zusätzlich sind die antithrombotischen Mittel als Antikoagulantien bei in vitro Anwendungen brauchbar.

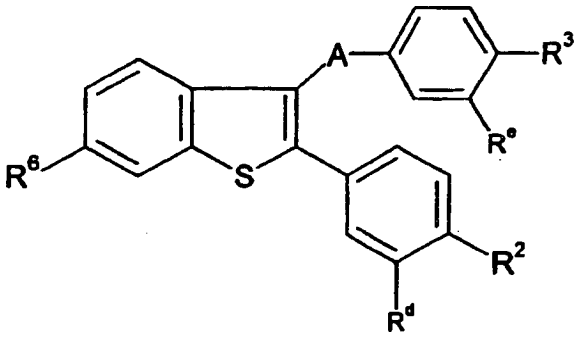
[0003] Der Vorgang der Blutgerinnung, die Thrombose, wird durch eine komplexe proteolytische Kaskade ausgelöst, die zur Bildung von Thrombin führt. Thrombin entfernt proteolytisch die Aktivierungspeptide von den Aα und Bβ-Ketten von Fibrinogen, das in Blutplasma löslich ist, was die Bildung von unlöslichem Fibrin auslöst.

[0004] Die Antikoagulation wird derzeit durch die Verabreichung von Heparinen und Kumarinen erreicht. Die parenterale pharmakologische Kontrolle der Koagulation und der Thrombose basiert auf der Hemmung von Thrombin durch die Verwendung der Heparine. Heparine wirken indirekt auf Thrombin durch die Beschleunigung der hemmenden Wirkung von endogenem Antithrombin III (der hauptsächliche physiologische Inhibitor von Thrombin). Da die Antithrombin III Spiegel im Plasma variieren können und da oberflächengebundenes Thrombin gegenüber diesem indirekten Mechanismus resistent zu sein scheint, können Heparine eine uneffektive Behandlung darstellen. Da man glaubt, dass Gerinnungstests mit Wirksamkeit und Sicherheit zusammenhängen, müssen die Heparinspiegel mit Gerinnungstests überwacht werden (insbesondere mit dem aktivierten partiellen Thromboplastinzeittest (APTT)). Kumarine verhindern die Bildung von Thrombin durch die Blockierung der posttranslationalen gamma-Carboxylierung bei der Synthese von Prothrombin und anderen Proteinen dieses Typs. Aufgrund ihres Wirkmechanismus kann die Wirkung von Kumarinen sich nur langsam entwickeln, nämlich 6–24 Stunden nach der Verabreichung. Ferner sind sie keine selektiven Antikoagulantien. Kumarine erfordern ebenfalls die Überwachung mit Gerinnungstests (insbesondere dem Prothrombinzeittest (PT)).

[0005] Antithrombotische Diamine sind in der WO 97/25033 A, der WO 98/48798 A und der WO 98/49161 A beschrieben. Die erfindungsgemäßen Verbindungen haben ein geringeres Verteilungsvolumen und daher bessere pharmakokinetische Eigenschaften gegenüber denen aus WO 97/25033 A, WO 98/48798 und WO 98/49161 A.

[0006] Obwohl die Heparine und Kumarine wirksame Antikoagulantien sind und bis jetzt aus den kleinen synthetischen Molekülen kein allgemein anerkanntes kommerzielles Arzneimittel hervorging und trotz der anhaltenden Versprechungen dieser Verbindungsklasse existiert ein Bedarf für Antikoagulantien, die selektiv auf Thrombin wirken und unabhängig von Antithrombin III sind, eine schnelle Hemmwirkung nach der Verabreichung, vorzugsweise einem oralen Weg, hervorrufen, und nicht mit der Lyse von Blutgerinnseln wechselwirken, wie dies zur Erhaltung der Hämostase erforderlich ist.

[0007] Gemäß der Erfindung wird eine Verbindung der Formel I oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz hiervon bereitgestellt



I

worin
A für Carbonyl oder Methylen steht,

R^d für $-[O-(CH_2)_d]_c-R^c$ steht, worin c für 0 oder 1 steht, d für 1, 2 oder 3 steht und R^c für Carboxy, C_1-C_4 Alkoxycarbonyl, Hydroxymethyl oder Carbamoyl steht, mit der Maßgabe, dass wenn c für 0 steht, R^c dann für Carboxy, C_1-C_4 Alkoxycarbonyl oder Carbamoyl steht, oder
R^e für Wasserstoff, Methyl, Methoxy oder Halogen steht,
R^2 für R^{2a} oder R^{2b} steht, worin
R^{2a} für $-X^2-(CH_2)_n-R^f$ steht, worin X^2 für eine direkte Bindung, Methylen oder O steht, n für 1, 2 oder 3 steht und R^f für 5-Tetrazolyl, Carboxy, C_1-C_4 Alkoxycarbonyl oder Hydroxymethyl steht,
R^{2b} für $-X^2-(CH_2)_m-NR^aR^b$ steht, worin X^2 für eine direkte Bindung, Methylen oder O steht, m für 1, 2 oder 3 steht, mit der Maßgabe, dass wenn m für 1 steht, X^2 dann für eine direkte Bindung steht und R^a und R^b unabhängig für Wasserstoff oder C_1-C_3 Alkyl stehen oder die Gruppe NR^aR^b für Pyrrolidino, Piperidino oder Morpholino steht,
R^3 für R^{3a} oder R^{3b} steht, worin
R^{3a} für 2-(2-Oxopyrolidin-1-yl)ethoxy steht,
mit der Maßgabe, dass R^2 für R^{2b} steht, wenn R^3 für R^{3a} steht,
R^{3b} für $-X^3-(CH_2)_s-NR^sR^t$ steht, worin X^3 für eine direkte Bindung, Methylen oder O steht, s für 1 oder 2 steht, mit der Maßgabe, dass wenn s für 1 steht, X^3 dann für eine direkte Bindung steht und R^s und R^t unabhängig für Wasserstoff oder C_1-C_3 Alkyl stehen oder die Gruppe NR^sR^t für Pyrrolidino, Piperidino oder Morpholino steht, und
R^6 für Wasserstoff, Hydroxy oder Methoxy steht.

[0008] Als weiteren Aspekt der Erfindung wird ein Prodrug oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz hiervon einer der oben beschriebenen Thrombin-hemmenden Verbindungen der Formel I bereitgestellt, die ein Prodrug bilden.

[0009] In dieser Beschreibung werden die folgenden Definitionen verwendet, falls nichts anderes angegeben ist: Halogen steht für Fluor, Chlor, Brom oder Iod. Alkyl, Alkoxy usw. stehen beide für gerade und verzweigte Gruppen, aber der Bezug auf einen einzelnen Rest, wie "Propyl", umfasst nur den geradkettigen ("normalen") Rest, wobei ein verzweigtkettiges Isomer, wie "Isopropyl", spezifisch erwähnt wird.

[0010] Es ist ersichtlich, dass bestimmte Verbindungen der Formel I (oder Salze oder Prodrugs usw.) in isomeren Formen vorkommen und so isoliert werden können, einschließlich cis- oder trans-Isomeren, wie auch als optisch aktive razemische oder diastereomere Formen. Es ist auch verständlich, dass die vorliegende Erfindung eine Verbindung der Formel I als Diastereomerengemisch wie auch in Form eines einzelnen Diastereomers umfasst und dass die vorliegende Erfindung eine Verbindung der Formel I als Enantiomerengemisch wie auch in Form eines einzelnen Enantiomers umfasst, wobei alle diese Gemische oder Formen eine hemmende Aktivität gegenüber Thrombin aufweisen, wobei es in der Technik bekannt ist, wie man bestimmte Formen herstellt oder isoliert und wie man die hemmenden Eigenschaften gegen Thrombin durch Standardtests bestimmt, einschließlich der unten beschriebenen.

[0011] Zusätzlich kann eine Verbindung der Formel I (oder ein Salz oder Prodrug usw.) einen Polymorphismus zeigen oder kann ein Solvat mit Wasser oder einem organischen Lösemittel bilden. Die vorliegende Erfindung umfasst alle solchen polymorphen Formen, jedes Solvat oder jedes Gemisch hiervon.

[0012] Besondere Bedeutungen sind im folgenden für Reste, Substituenten und Bereiche nur zur Erläuterung angegeben und sie schließen nicht andere definierte Bedeutungen oder andere Bedeutungen innerhalb der definierten Bereiche für die Reste und Substituenten aus.

[0013] Eine bestimmte Bedeutung für eine C_1-C_3 Alkylgruppe ist Methyl, Ethyl, Propyl oder Isopropyl und für eine C_1-C_4 Alkoxygruppe Methoxy, Ethoxy, Isopropoxy oder t-Butoxy.

[0014] Eine besondere unabhängige Bedeutung für A, ist Carbonyl oder Methylen, für R^d Carboxy, Methoxycarbonyl, Carbamoyl, 3-(Ethoxycarbonyl)propoxy, 3-Carboxypropoxy, 4-Amino-4-oxobutoxy, 4-Hydroxybutoxy, t-Butoxycarbonylmethoxy oder Carboxymethoxy,
für R^e Wasserstoff oder Methoxy,
für R^2 2-(1-Pyrrolidinyl)ethoxy, 3-Carboxypropoxy oder 3-Methoxycarbonylpropoxy,
für R^3 2-(1-Pyrrolidinyl)ethoxy, 1-Pyrrolidinylmethyl oder 2-(2-Oxopyrrolidin-1-yl)ethoxy, und
für R^6 Wasserstoff oder Hydroxy.

[0015] Eine bestimmte Bedeutung für R^2 ist R^{2a}. Eine weitere besondere Bedeutung für R^2 ist R^{2b}.

[0016] Eine bestimmte Bedeutung für R^3 ist R^{3a}. Eine weitere besondere Bedeutung für R^3 ist R^{3b} und für R^2 ist R^{2b}.

[0017] Eine bestimmte Verbindung der Formel I ist eine, worin R^d für Methoxycarbonyl steht, R^e für Wasserstoff steht und R^3 für 2-(2-Oxopyrrolidin-1-yl)ethoxy steht.

[0018] Eine weitere bestimmte Verbindung der Formel I ist 2-[3-Methoxycarbonyl-4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy)phenyl]-3-[4-[2-(2-oxopyrrolidin-1-yl)ethoxy]benzyl]benzo[b]thiophen.

[0019] Bestimmte Verbindungen der Formel I sind in den begleitenden Beispielen beschrieben. Die als Beispiel 13 beschriebene Verbindung, nämlich 2-[3-Carboxymethoxy-4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]-3-[4-[2-(2-oxopyrrolidin-1-yl)ethoxy]benzyl]benzo[b]thiophen oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz hiervon ist ein bevorzugter Vertreter.

[0020] Ein pharmazeutisch annehmbares Salz eines antithrombotischen Mittels der vorliegenden Erfindung umfasst eines, worin ein Säureadditionssalz mit einer Säure hergestellt wird, die ein pharmazeutisch annehmbares Anion liefert. Daher stellt ein oben angegebenes Säureadditionssalz einer neuen Verbindung der Formel I, die einen sauren Rest aufweist und mit einer Säure hergestellt wird, die ein pharmazeutisch annehmbares Anion liefert, einen bestimmten Aspekt der Erfindung dar. Beispiele für solche Säuren und Basen werden hierin später bereitgestellt.

[0021] Als zusätzlicher Aspekt der Erfindung wird eine pharmazeutische Formulierung geliefert, die eine Verbindung der Formel I oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz hiervon zusammen mit einem pharmazeutisch annehmbaren Träger, Verdünnungsmittel oder Hilfsstoff enthält, wie dies in einer der Beschreibungen hierin bereitgestellt wird.

[0022] Eine Verbindung der Formel I kann durch Verfahren hergestellt werden, die in der Chemie zur Herstellung von strukturell analogen Verbindungen bekannt sind oder durch ein neues hierin beschriebenes Verfahren hergestellt werden. Ein Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel I oder eines pharmazeutisch annehmbaren Salzes hiervon und neue Zwischenprodukte zur Herstellung einer Verbindung der Formel I gemäß obiger Definition stellen weitere Merkmale der Erfindung dar und werden durch die folgenden Verfahren erläutert, worin die Bedeutungen der allgemeinen Reste wie oben definiert sind, falls nichts anderes angegeben ist. Es ist ersichtlich, dass es bevorzugt oder erforderlich ist, eine Verbindung der Formel I herzustellen, worin eine funktionelle Gruppe durch eine herkömmliche Schutzgruppe geschützt wird, und die Schutzgruppe anschließend unter Bildung der Verbindung der Formel I zu entfernen.

[0023] Daher wird ein Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel I oder eines pharmazeutisch annehmbaren Salzes hiervon bereitgestellt, wie sie in einer der obigen Beschreibungen bereitgestellt wird, das ausgewählt wird aus:

(A) Für eine Verbindung der Formel I, worin R^c für C_1-C_4 Alkoxycarbonyl steht, oxidative Veresterung einer entsprechenden Verbindung der Formel I, worin R^c für Formyl steht, unter Verwendung eines Oxidationsmittels und des entsprechenden C_1-C_4 Alkanols. Die oxidative Veresterung kann durch ein herkömmliches Verfahren ausgeführt werden, die mit der Struktur der Verbindung der Formel I übereinstimmt, beispielsweise mittels Mangan-(IV)-oxid und Natriumcyanid in trockenem Methanol, wie dies in Beispiel 1-C beschrieben ist.

(B) Für eine Verbindung der Formel I, worin R^c für Carbamoyl steht, oxidative Amidierung einer entsprechenden Verbindung der Formel I, worin R^c für Formyl steht, mit einem Oxidationsmittel und Ammoniak. Die oxidative Aminierung kann durch ein herkömmliches Verfahren ausgeführt werden, das mit der Struktur der Formel I zusammenhängt, beispielsweise mittels Natriumcyanid und Mangan-(IV)-oxid in Gegenwart von Ammoniak, wie dies in Beispiel 4 beschrieben ist.

(C) Für eine Verbindung der Formel I, worin R^c für Carboxy steht, Oxidation der Formylgruppe einer entsprechenden Verbindung der Formel I, worin R^c für Formyl steht, beispielsweise unter Verwendung eines Verfahrens, wie es in Beispiel 5-J beschrieben ist.

(D) Für eine Verbindung der Formel I, worin R^c für C_1-C_4 Alkoxycarbonyl steht, Veresterung der Carboxygruppe einer entsprechenden Verbindung der Formel I, worin R^c für Carboxy steht, beispielsweise unter Verwendung eines Verfahrens, wie es in Beispiel 1-C beschrieben ist.

(E) Für eine Verbindung der Formel I, worin R^d für $-O-(CH_2)_d-R^c$ steht, Alkylierung der Hydroxygruppe einer entsprechenden Verbindung der Formel I, worin R^d für Hydroxy steht, mittels eines Alkylierungsmittels der Formel $X-(CH_2)_d-R^c$ oder eines geschützten Derivats hiervon, worin X für eine herkömmliche Abgangsgruppe steht, unter Verwendung eines Standardalkylierungsverfahrens, wie es in Beispiel 6-G beschrieben ist.

(F) Für eine Verbindung der Formel I, worin R^c für Carbamoyl steht, Amidierung der Säure oder eines aktivierten Derivats hiervon einer entsprechenden Verbindung der Formel I, worin R^c für Carboxy steht. Bequemerweise wird die Zugabe mittels eines Niederalkylesters, Ammoniumchlorid und Trimethylaluminium in Toluol ausgeführt, wie dies beispielsweise in Beispiel 8 beschrieben ist.
(G) Für eine Verbindung der Formel I, worin R^c für Hydroxymethyl steht, Reduktion des Esters einer entsprechenden Verbindung der Formel I, worin R^c für C_1-C_4 Alkoxycarbonyl steht, beispielsweise unter Verwendung eines Verfahrens, wie es in Beispiel 9 beschrieben ist,

wonach in jedem der obigen Verfahren, wenn eine funktionelle Gruppe mittels einer Schutzgruppe geschützt ist, die Schutzgruppe entfernt wird,
wonach in jedem der obigen Verfahren, wenn ein pharmazeutisch annehmbares Salz einer Verbindung der Formel I erforderlich ist, dies erhalten wird durch Umsetzung der basischen Form einer solchen Verbindung der Formel I mit einer Säure, die ein physiologisch annehmbares Gegenion liefert oder für eine Verbindung der Formel I, die einen sauren Rest enthält, Umsetzung der sauren Form einer solchen Verbindung der Formel I mit einer Base, die ein pharmazeutisch annehmbares Kation liefert oder durch jedes andere herkömmliche Verfahren,
und worin, falls nichts anderes beschrieben ist, A, R^d, R^e, R^2, R^3 und R^6 die oben beschriebenen Bedeutungen aufweisen.

[0024] Wie hierin verwendet, ist eine Abgangsgruppe ein Rest, der in einer nukleophilen Substitutionsreaktion abgespalten wird, beispielsweise eine Halogengruppe (wie Chlor, Brom oder Iod), eine Sulfonatestergruppe (wie Methylsulfonyloxy, p-Toluylsulfonyloxy oder Trifluormethylsulfonyloxy) oder reaktive Gruppen, die aus einer Behandlung eines Alkohols mit Triphenylphosphin, Diethylazodicarboxylat und Triethylamin (in einer Mitsunobureaktion) resultieren.

[0025] Wie oben erwähnt kann eine Verbindung, die einer Verbindung der Formel I entspricht, worin aber eine funktionelle Gruppe geschützt ist, als Zwischenprodukt für eine Verbindung der Formel I dienen. Demnach liefern solche geschützten Zwischenprodukte für eine neue Verbindung der Formel I weitere Aspekte der Erfindung. Daher wird als ein bestimmter Aspekt der Erfindung eine Verbindung bereitgestellt, die einer wie oben definierten Verbindung der Formel I entspricht, worin R^6 für Hydroxy steht, in der aber der entsprechende Substituent $-OR^p$ anstelle von Hydroxy ist, worin R^p für eine Phenolschutzgruppe steht, die nicht Methyl ist. Phenolschutzgruppen sind in der Technik gut bekannt und sind beispielsweise beschrieben in T. W. Greene und P. G. M. Wuts, "Protecting Groups in Organic Synthesis" (1991). Bestimmte Bedeutungen für R^p können beispielsweise Isopropyl sein. Ferner kann R^p für ein funktionalisiertes Harz stehen, wie dies beispielsweise beschrieben ist in H. V. Meyers et al., Molecular Diversity, (1995), 1, 13–20.

[0026] Wie oben erwähnt, umfasst die Erfindung pharmazeutisch annehmbare Salze der Thrombinhemmenden Verbindungen, die durch die obige Formel I definiert sind. Eine Verbindung der Formel I, die einen sauren Rest trägt, bildet Salze mit pharmazeutisch annehmbaren Basen. Ein solches pharmazeutisch annehmbares Salz kann mit einer Base hergestellt werden, die ein pharmazeutisch annehmbares Kation liefert, wobei dies Alkalimetallsalze (speziell Natrium und Kalium), Erdalkalimetallsalze (speziell Calcium und Magnesium), Aluminiumsalze und Ammoniumsalze, wie auch Salze umfasst, die aus physiologisch annehmbaren organischen Basen stammen, wie Triethylamin, Morpholin, Piperidin und Triethanolamin. Die Kalium- und Natriumsalzformen sind besonders bevorzugt.

[0027] Eine bestimmte Verbindung der Formel I, die eine oder mehrere ausreichend basische funktionelle Gruppen aufweist, um mit einer von mehreren anorganischen und organischen Säuren zu reagieren, die ein physiologisch annehmbares Gegenion liefern, bildet ein pharmazeutisch annehmbares Säureadditionssalz. Säuren, die herkömmlich zur Bildung pharmazeutisch annehmbarer Säureadditionssalze verwendet werden, sind anorganische Säuren, wie Chlorwasserstoffsäure, Bromwasserstoffsäure, Iodwasserstoffsäure, Schwefelsäure, Phosphorsäure und dergleichen, wie auch organische Säuren, wie p-Toluolsulfonsäure, Methansulfonsäure, Oxalsäure, p-Brombenzolsulfonsäure, Kohlensäure, Bernsteinsäure, Citronensäure, Benzoesäure, Essigsäure und dergleichen. Beispiele für solche pharmazeutisch annehmbaren Salze sind daher Sulfat, Pyrosulfat, Bisulfat, Sulfit, Bisulfit, Phosphat, Monohydrogenphosphat, Dihydrogenphosphat, Metaphosphat, Pyrophosphat, Chlorid, Bromid, Iodid, Acetat, Propionat, Decanoat, Caprylat, Acrylat, Formiat, Isobutyrat, Caproat, Heptanoat, Propiolat, Oxalat, Malonat, Succinat, Suberat, Sebacat, Fumarat, Maleat, Butin-1,4-dioat, Hexin-1,6-dioat, Benzoat, Chlorbenzoat, Methylbenzoat, Dinitrobenzoat, Hydroxybenzoat, Methoxybenzoat, Phthalat, Sulfonat, Xylolsulfonat, Phenylacetat, Phenylpropionat, Phenylbutyrat, Citrat, Lactat, γ-Hydroxybutyrat, Glycolat, Tartrat, Methansulfonat, Propansulfonat, Naphthalin-1-sulfonat, Naphthalin-2-sulfonat, Mandelat

und dergleichen. Bevorzugte pharmazeutisch annehmbare Säureadditionssalze umfassen die, die mit Mineralsäuren gebildet werden, wie Chlorwasserstoffsäure, Bromwasserstoffsäure und Schwefelsäure.

[0028] Falls sie nicht im Handel erhältlich sind, können die erforderlichen Ausgangsmaterialien zur Herstellung einer Verbindung der Formel I durch Verfahren hergestellt werden, die aus Standardtechniken der organischen Chemie ausgewählt werden, einschließlich aromatischer und heteroaromatischer Substitution und Transformation, aus Techniken, die zur Synthese von bekannten, strukturell ähnlichen Verbindungen analog sind, und Techniken, die analog zu den oben beschriebenen Verfahren oder zu den in den Beispielen beschriebenen Verfahren sind. Es ist dem Fachmann bekannt, dass eine Vielzahl an Sequenzen zur Herstellung der Ausgangsmaterialien erhältlich ist. Ausgangsmaterialien und Verfahren, die neu sind, liefern einen weiteren Aspekt der Erfindung.

[0029] Die phenolischen Ausgangsverbindungen der Formel I, worin R^2 für Hydroxy steht, können hergestellt und durch Verfahren verwendet werden, die zu denen in Beispiel 1, Teil E bis I beschrieben sind.

[0030] Ausgangsmaterialien für Diesterverbindungen der Formel I, worin R^2 und R^d für C_1-C_4 Alkoxycarbonyl stehen, können durch Verfahren hergestellt werden, die zu denen ähnlich sind, welche in WO 98/48798 A in Beispiel 19-B beschrieben sind.

[0031] Die sauren Ausgangsverbindungen können mit Verfahren hergestellt werden, die ähnlich zu den in WO 97/25033, Beispiel 1, Teil A und S. C. Graham et al., J. Med. Chem., 1989, 32, 2548–2554 beschriebenen sind.

[0032] Ein Ausgangsether, wie 4-Brom-2-methoxyphenyl-2-(1-pyrrolidinyl)ethylether, kann durch Verfahren hergestellt werden, die zu denen von Beispiel 6, Teil A ähnlich sind.

[0033] Das Ausgangsmaterial für eine Verbindung der Formel I, worin R^2 für R^{2b} steht und R^3 für R^{3a} steht, kann durch Verfahren hergestellt werden, die zu den in WO 98/48798 A, Beispiel 18, Teil A beschriebenen ähnlich sind.

[0034] Im allgemeinen werden die erfindungsgemäßen Verbindungen am besten in Form der Säureadditionssalze isoliert. Salze der Verbindungen der Formel I, wie die, welche mit einer der oben erwähnten Säuren gebildet werden, sind als pharmazeutisch annehmbare Salze zur Verabreichung der antithrombotischen Mittel und zur Herstellung einer Formulierung dieses Mittels brauchbar. Es können andere Säureadditionssalze hergestellt und zur Isolierung und Reinigung der Verbindungen verwendet werden.

[0035] Wie oben erwähnt werden die optisch aktiven Isomere und Diastereomere der Verbindungen der Formel I auch als Teil der Erfindung betrachtet. Solche optisch aktiven Isomere können aus ihren jeweiligen optisch aktiven Vorläufern durch die oben beschriebenen Verfahren oder durch die Auftrennung der razemischen Gemische hergestellt werden. Diese Auftrennung kann durch Derivatisierung mit einem chiralen Reagenz ausgeführt werden, gefolgt von einer Chromatographie oder durch wiederholte Kristallisation. Die Entfernung des chiralen Auxiliars durch Standardverfahren ergibt im wesentlichen optisch reine Isomere der Verbindungen der vorliegenden Erfindung oder ihrer Vorläufer. Weitere Details in Bezug auf Auftrennungen können von Jaques et al., Enantiomers, Racemates and Resolutions, John Wiley & Sons 1981 erhalten werden.

[0036] Die erfindungsgemäßen Verbindungen dürften ohne deutliche Beeinflussung der natürlichen Gerinnselauflösungsfähigkeit des Körpers (die Verbindungen weisen eine geringe hemmende Wirkung auf die Fibrinolyse auf) Thrombin selektiv gegenüber anderen Proteinasen und Nichtenzymproteinen hemmen, die in der Blutgerinnung beteiligt sind. Ferner dürfte eine solche Selektivität die Verwendung mit thrombolytischen Mitteln erlauben, ohne die Thrombolyse und Fibrinolyse wesentlich zu beeinträchtigen.

[0037] Viele der im Stand der Technik beschriebenen antithrombotischen Verbindungen sind lipophil und zeigen hohe Verteilungsvolumina aus der Plasmakomponente in die Gewebe. Da Thrombin im Plasma vorkommt, ist diese Gewebeverteilung nicht bevorzugt. Die Verbindungen der vorliegenden Erfindung haben hydrophile Substituenten, um die gesamte Lipophilie der Moleküle zu verringern und ihre Plasmakonzentrationen zu erhöhen. Die Daten in der folgenden Tabelle 1 bestätigen, dass die erfindungsgemäßen Verbindungen geringere Verteilungsvolumina und daher bessere pharmakokinetische Eigenschaften aufweisen, als ihre entsprechenden Verbindungen der Formel I, worin R^d für Wasserstoff steht.

[0038] Das Verteilungsvolumen (V_D) wird gemäß der Standardgleichung beschrieben:

V_D = Clearance/K

worin Clearance = Dosis (µg)/AUC (µg/ml), worin AUC die Menge an Arzneimittel ist, die im Plasma nach einer oralen Dosierung vorhanden ist, wie dies als Fläche unter der Kurve der Arzneimittelkonzentration über die Zeit gemessen wird. K (h^{-1}) ist die Eliminierungsgeschwindigkeitskonstante.

Tabelle 1
Vergleich der Verteilungsvolumina (V_D)

Beispiel Nr.	R^d Wert	V_D (L/kg)	Vergleich, worin R^d = H V_D (L/kg)	Literaturangabe
1	Carboxy	1,27	29,0	(a)
2	Carboxy	0,46	1,3	(b)
4	Carbamoyl	3,36	N/D	(c)
8	3-Carbamoylbutoxy	13,53	26,6	(d)
11	3-Carboxybutoxy	5,13	6,4	(e)
13	Carboxymethoxy	N/D	26,6	(f)

(a) WO 97/25033 A, Beispiel 3
(b) Erhältlich durch Verseifung von Beispiel 13
(c) WO 98/48798 A, Beispiel 8
(d) WO 98/49161 A, Beispiel 20
(e) WO 98/49161 A, Beispiel 19
(f) WO 98/49161 A, Beispiel 20
N/D nicht bestimmt

[0039] Die Erfindung liefert ein Verfahren zur Hemmung von Thrombin in Säugerblut, das die Verwendung einer wirksamen Menge einer Verbindung der Formel I (oder eines pharmazeutisch annehmabren Salzes hiervon) umfasst, wie dies in einer der Beschreibungen hierin bereitgestellt wird.

[0040] Die Erfindung liefert in einem ihrer Aspekte ein Verfahren zur Hemmung von Thrombin in Säugern, das gekennzeichnet ist durch die Verabreichung einer wirksamen (Thrombin-hemmenden) Dosis einer Verbindung der Formel I an einen behandlungsbedürftigen Säuger.

[0041] In einem weiteren ihrer Aspekte liefert die Erfindung ein Verfahren zur Behandlung einer thromboembolischen Störung, das gekennzeichnet ist durch die Verabreichung einer wirksamen Dosis (für die thromboembolische Störung therapeutische und/oder prophylaktische Menge) einer Verbindung der Formel I an einen behandlungsbedürftigen Säuger.

[0042] Die Erfindung liefert in einem anderen ihrer Aspekte ein Verfahren zur Hemmung der Koagulation bei Säugern, das gekennzeichnet ist durch die Verabreichung einer wirksamen (gerinnungshemmenden) Dosis einer Verbindung der Formel I an einen behandlungsbedürftigen Säuger.

[0043] Die Behandlung der Thrombinhemmung, Gerinnungshemmung und thromboembolischen Störung, die durch das vorliegende Verfahren beschrieben wird, umfasst die medizinisch-therapeutische und/oder prophylaktische Behandlung, wie dies geeignet ist.

[0044] In einer weiteren Ausführungsform betrifft die Erfindung die Behandlung von Zuständen bei einem Menschen oder einem Tier, bei denen die Hemmung von Thrombin erforderlich ist. Die erfindungsgemäßen Verbindungen dürften bei Tieren, einschließlich dem Menschen, zur Behandlung oder Prophylaxe von Thrombose und Hyperkoagulabilität in Blut und Geweben brauchbar sein. Krankheitszustände, bei denen die Verbindungen eine potentielle Brauchbarkeit aufweisen, sind bei der Behandlung oder Prophylaxe von Thrombose und Hyperkoagulabilität in Blut und Geweben gegeben. Krankheitszustände, bei denen die Verbindungen eine potentielle Brauchbarkeit bei der Behandlung und/oder Prophylaxe haben, sind unter anderem venöse Throm-

bose und pulmonale Embolie, arterielle Thrombose, wie myokardiale Ischämie, Myokardinfarkt, instabile Angina, auf Thrombosen beruhender Schlaganfall und periphere arterielle Thrombose. Ferner haben die Verbindungen eine erwartete Brauchbarkeit bei der Behandlung oder Prophylaxe von arteriosklerotischen Störungen (Erkrankungen), wie koronarer arterieller Erkrankung, cerebraler arterieller Erkrankung und peripherer arterieller Erkrankung. Ferner dürften die Verbindungen zusammen mit Thrombolytika beim Myokardinfarkt brauchbar sein. Ferner haben die Verbindungen eine erwartete Brauchbarkeit bei der Prophylaxe einer Reokklusion nach einer Thrombolyse, einer perkutanen transluminalen Angioplastie (PTCA) und koronaren Bypassoperationen. Ferner haben die Verbindungen eine erwartete Brauchbarkeit bei der Prävention der Rethrombose nach einer Mikrooperation. Ferner haben die Verbindungen eine erwartete Brauchbarkeit bei der Antikoagulationsbehandlung in Zusammenhang mit künstlichen Organen und Herzklappen. Ferner haben die Verbindungen eine erwartete Brauchbarkeit bei der Antikoagulationsbehandlung bei einer Hämodialyse und disseminierter intravaskulärer Koagulation. Eine weitere erwartete Brauchbarkeit ist beim Waschen von Kathetern und mechanischen Vorrichtungen, die in Patienten in vivo verwendet wurden und als ein Antikoagulans zur Konservierung von Blut, Plasma und anderen Blutprodukten in vitro. Ferner haben die Verbindungen eine erwartete Brauchbarkeit bei anderen Krankheiten, bei denen die Blutgerinnung ein fundamentaler beitragender Prozess oder eine Quelle einer sekundären Pathologie sein könnte, wie bei Krebs, einschließlich Metastasierung, entzündlichen Erkrankungen, einschließlich Arthritis, und Diabetes. Die Antikoagulationsverbindung wird oral, parenteral, beispielsweise durch intravenöse Infusion (iv), intramuskuläre Injektion (im) oder subkutan (SC) verabreicht.

[0045] Die bestimmte Dosis einer erfindungsgemäß verabreichten Verbindung zur Erlangung von therapeutischen und/oder prophylaktischen Wirkungen wird natürlich durch die bestimmten, den Fall umgebenden Umstände bestimmt, beispielsweise der verabreichten Verbindung, der Verabreichungsgeschwindigkeit, des Verabreichungswegs und des zu behandelnden Zustands.

[0046] Eine typische Tagesdosis für jede der obigen Anwendungen liegt zwischen etwa 0,01 mg/kg und etwa 1000 mg/kg. Der Dosisplan kann variieren, beispielsweise kann zur prophylaktischen Verwendung eine einzelne Tagesdosis verabreicht werden oder es können mehrere Dosen, wie drei- oder fünfmal täglich, geeignet sein. Bei kritischen Gesundheitszuständen wird eine erfindungsgemäße Verbindung durch i. v. Infusion mit einer Geschwindigkeit zwischen etwa 0,01 mg/kg/h und etwa 20 mg/kg/h und vorzugsweise zwischen etwa 0,1 mg/kg/h und etwa 5 mg/kg/h verabreicht.

[0047] Das erfindungsgemäße Verfahren wird auch zusammen mit einem gerinnselauflösenden Mittel, beispielsweise Gewebsplasminogenaktivator (tPA), modifiziertem tPA, Streptokinase oder Urokinase durchgeführt. In Fällen, bei denen eine Gerinnselbildung aufgetreten ist und eine Arterie oder Vene entweder teilweise oder völlig blockiert ist, wird gewöhnlich ein gerinnselauflösendes Mittel verwendet. Eine erfindungsgemäße Verbindung kann vor oder zusammen mit dem Lysemittel oder anschließend an dessen Verwendung verabreicht werden, und wird ferner vorzugsweise zusammen mit Aspirin verabreicht, um das Wiederauftreten der Gerinnselbildung zu vermeiden.

[0048] Das erfindungsgemäße Verfahren kann auch zusammen mit einem Blutplättchenglykoproteinrezeptor (IIb/IIIa) Antagonisten durchgeführt werden, der die Blutplättchenaggregation hemmt. Eine erfindungsgemäße Verbindung kann vorher oder zusammen mit dem IIb/IIIa Antagonisten oder anschließend an dessen Verwendung verabreicht werden, um das Wiederauftreten der Gerinnselbildung zu vermeiden.

[0049] Das erfindungsgemäße Verfahren kann auch zusammen mit Aspirin durchgeführt werden. Eine erfindungsgemäße Verbindung kann vorher oder zusammen mit Aspirin oder anschließend an dessen Verwendung verabreicht werden, um das Auftreten oder das Wiederauftreten der Gerinnselbildung zu vermeiden. Wie oben erwähnt, wird vorzugsweise eine erfindungsgemäße Verbindung zusammen mit einem gerinnselauflösenden Mittel und Aspirin verabreicht.

[0050] Die Erfindung liefert auch pharmazeutische Formulierungen zur Verwendung im oben beschriebenen therapeutischen Verfahren. Erfindungsgemäße pharmazeutische Formulierungen umfassen eine wirksame Thrombin-hemmende Menge einer Verbindung der Formel I zusammen mit einem pharmazeutisch annehmbaren Träger, Hilfsstoff oder Verdünnungsmittel. Zur oralen Verabreichung wird die antithrombotische Verbindung in Gelatinekapseln oder Tabletten formuliert, die Hilfsstoffe enthalten können, wie Bindemittel, Gleitmittel, Zerfallshilfsmittel und dergleichen. Zur parenteralen Verabreichung wird das Antithrombotikum in einem pharmazeutisch annehmbaren Verdünnungsmittel formuliert, beispielsweise physiologische Kochsalzlösung (0,9 Prozent), 5 Prozent Glucose, Ringerlösung und dergleichen.

[0051] Die erfindungsgemäße Verbindung kann in Einheitsdosierungsformulierungen formuliert werden, die eine Dosis zwischen etwa 0,1 mg und etwa 1000 mg umfassen. Vorzugsweise liegt die Verbindung in Form eines pharmazeutisch annehmbaren Salzes vor, wie beispielsweise dem Sulfatsalz, Acetatsalz oder Phosphatsalz. Ein Beispiel für eine Einheitsdosierungsformulierung umfasst 5 mg einer erfindungsgemäßen Verbindung als pharmazeutisch annehmbares Salz in einer sterilen 10 ml Glasampulle. Ein weiteres Beispiel für eine Einheitsdosierungsformulierung umfasst etwa 10 mg einer erfindungsgemäßen Verbindung als pharmazeutisch annehmbares Salz in 20 ml isotonischer Kochsalzlösung, die in einer sterilen Ampulle enthalten sind.

[0052] Die Verbindungen können auf eine Vielzahl an Arten verabreicht werden, einschließlich oral, rektal, transdermal, subkutan, intravenös, intramuskulär und intranasal. Die erfindungsgemäßen Verbindungen werden vorzugsweise vor der Verabreichung formuliert. Eine weitere Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist eine pharmazeutische Formulierung, die eine wirksame Menge einer Verbindung der Formel I oder eines pharmazeutisch annehmbaren Salzes oder Solvats hiervon zusammen mit einem pharmazeutisch annehmbaren Träger, Verdünnungsmittel oder Hilfsstoff hierfür enthält.

[0053] Der Wirkstoff umfasst in solchen Formulierungen 0,1 bis 99,9 Gewichtsprozent der Formulierung. Mit "pharmazeutisch annehmbar" ist gemeint, dass der Träger, das Verdünnungsmittel oder der Hilfsstoff mit den anderen Bestandteilen der Formulierung kompatibel sein muss und für den Empfänger hiervon nicht schädlich sein darf.

[0054] Die vorliegenden pharmazeutischen Formulierungen werden durch gut bekannte Verfahren und mit leicht verfügbaren Inhaltsstoffen hergestellt. Die erfindungsgemäßen Zusammensetzungen können unter Verwendung von in der Technik gut bekannten Verfahren so formuliert werden, dass sie eine schnelle, anhaltende oder verzögerte Freisetzung des Wirkstoffs nach der Verabreichung an den Patienten bereitstellen. Bei der Herstellung der erfindungsgemäßen Zusammensetzungen wird der Wirkstoff gewöhnlich mit einem Träger gemischt oder mit einem Träger verdünnt oder in einem Träger eingeschlossen, der in Form einer Kapsel, eines Sachets, eines Papiers oder eines anderen Behälters vorliegen kann. Wenn der Träger als Verdünnungsmittel dient, kann dies ein festes, halbfestes oder flüssiges Material sein, das als Vehikel, Hilfsstoff oder Medium für den Wirkstoff dient. Daher können die Zusammensetzungen vorliegen in Form von Tabletten, Pillen, Pulvern, Lonzetten, Sachets, Cachets, Elixieren, Suspensionen, Emulsionen, Lösungen, Sirupen, Aerosolen (als Feststoff oder in einem flüssigen Medium), Weich- und Hartgelatinekapseln, Zäpfchen, sterilen injizierbaren Lösungen, sterilen verpackten Pulvern und dergleichen.

[0055] Die folgenden Formulierungsbeispiele sind nur erläuternd und sollen den Schutzumfang der Erfindung in keiner Weise beschränken. "Wirkstoff" meint natürlich ein Addukt gemäß Formel I oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz oder Solvat hiervon.

Formulierung 1

[0056] Hartgelatinekapseln werden unter Verwendung folgender Inhaltsstoffe hergestellt:

	Menge (mg/Kapsel)
Wirkstoff	250
Stärke, getrocknet	200
Magnesiumstearat	10
Gesamt	460 mg

Formulierung 2

[0057] Eine Tablette wird unter Verwendung der folgenden Inhaltsstoffe hergestellt:

	Menge (mg/Tablette)
Wirkstoff	250
mikrokristalline Cellulose	400
pyrogen hergestelltes Siliciumdioxid	10
Stearinsäure	5
Gesamt	665 mg

[0058] Die Bestandteile werden vermischt und unter Bildung von Tabletten gepresst, wobei jede 665 mg wiegt.

Formulierung 3

[0059] Eine Aerosollösung, die die folgenden Bestandteile enthält, wird hergestellt:

	Gewicht
Wirkstoff	0,25
Ethanol	25,75
Propellant 22 (Chlordifluormethan)	70,00
Gesamt	100,00

[0060] Der Wirkstoff wird mit Ethanol gemischt und das Gemisch wird zu einem Teil Propellant 22 gegeben, auf –30°C abgekühlt und in ein Abfüllgerät gegeben. Die erforderliche Menge wird anschließend in einen Edelstahlbehälter gefüllt und mit dem Rest des Propellants verdünnt. Die Ventileinheiten werden anschließend am Behälter angebracht.

Formulierung 4

[0061] Tabletten, die jeweils 60 mg des Wirkstoffs enthalten, werden folgendermaßen hergestellt:

Wirkstoff	60 mg
Stärke	45 mg
Mikrokristalline Cellulose	35 mg
Polyvinylpyrrolidon (als 10% Lösung in Wasser)	4 mg
Natriumcarboxymethylstärke	4,5 mg
Magnesiumstearat	0,5 mg
Talkum	1 mg
Gesamt	150 mg

[0062] Der Wirkstoff, die Stärke und die Cellulose werden durch ein Nr. 45 Mesh U.S. Sieb gegeben und sorgfältig vermischt. Die wässrige Lösung, die Polyvinylpyrrolidon enthält, wird mit dem entstehenden Pulver vermischt und das Gemisch wird anschließend durch ein Nr. 14 Mesh U.S. Sieb gegeben. Die so hergestellten Granula werden bei 50°C getrocknet und durch ein Nr. 18 Mesh U.S. Sieb gegeben. Die Natriumcarboxymethylstärke, das Magnesiumstearat und das Talkum werden, nachdem sie vorher durch ein Nr. 60 Mesh U.S. Sieb gegeben wurden, zu den Granula gegeben und nach dem Mischen in einer Tablettenmaschine unter Bildung von Tabletten gepresst, die jeweils 150 mg wiegen.

Formulierung 5

[0063] Kapseln, die jeweils 80 mg des Wirkstoffs enthalten, werden folgendermaßen hergestellt:

Wirkstoff	80 mg
Stärke	59 mg
Mikrokristalline Cellulose	59 mg
Magnesiumstearat	2 mg
Gesamt	200 mg

[0064] Der Wirkstoff, die Cellulose, die Stärke und das Magnesiumstearat werden gemischt, durch ein Nr. 45 Mesh U.S. Sieb gegeben und in Hartgelatinekapseln in 200 mg Mengen abgefüllt.

Formulierung 6

[0065] Zäpfchen, die jeweils 225 mg des Wirkstoffs enthalten, werden folgendermaßen hergestellt:

Wirkstoff	225 mg
Gesättigte Fettsäureglyceride	2 000 mg
Gesamt	2 225 mg

[0066] Der Wirkstoff wird durch ein Nr. 60 Mesh U.S. Sieb gegeben und in den gesättigten Fettsäureglyceriden suspendiert, die vorher bei möglichst geringer Hitze geschmolzen werden. Das Gemisch wird anschließend in eine Zäpfchenform mit einer nominalen Kapazität von 2 g gegossen und abgekühlt.

Formulierung 7

[0067] Suspensionen, die jeweils 50 mg des Wirkstoffs pro 5 ml Dosis enthalten, werden folgendermaßen hergestellt:

Wirkstoff	50 mg
Natriumcarboxymethylcellulose	50 mg
Sirup	1,25 ml
Benzoesäurelösung	0,10 ml
Geschmacksstoff	q. v.
Farbstoff	q. v.
Gereinigtes Wasser auf gesamt	5 ml

[0068] Der Wirkstoff wird durch ein Nr. 45 Mesh U.S. Sieb gegeben und mit Natriumcarboxymethylcellulose und Sirup vermischt, um eine glatte Paste zu erhalten. Die Benzoesäurelösung, der Geschmacksstoff und der Farbstoff werden mit einem Anteil Wasser vermischt, und unter Rühren zugegeben. Anschließend wird ausreichend Wasser zugegeben, um das erforderliche Volumen zu erhalten.

Formulierung 8

[0069] Eine intravenöse Formulierung kann folgendermaßen hergestellt werden:

Wirkstoff	100 mg
Isotonische Kochsalzlösung	1 000 ml

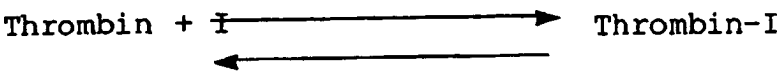
[0070] Die Lösung der obigen Inhaltsstoffe wird im allgemeinen einem Patienten mit einer Geschwindigkeit von 1 ml pro Minute intravenös verabreicht.

[0071] Die Fähigkeit der erfindungsgemäßen Verbindungen, ein effektiver und oral wirksamer Thrombininhibitor zu sein, wird in einem oder mehreren der folgenden Tests evaluiert.

[0072] Die durch die Erfindung bereitgestellten Verbindungen (Formel I) hemmen selektiv die Wirkung von Thrombin bei Säugern. Die Hemmung von Thrombin wird durch die in vitro Hemmung der Amidaseaktivität von Thrombin gezeigt, wie dies in einem Test gemessen wird, worin Thrombin das chromogene Substrat N-Benzoyl-L-phenylalanyl-L-valyl-L-arginyl-p-nitroanilid, N-Benzoyl-L-Phe-L-Val-L-Arg-p-nitroanilid hydrolysiert.

[0073] Der Test wird in 50 µl Puffer (0,03 M Tris, 0,15 M NaCl, pH 7,4) mit 25 µl humaner Thrombinlösung (gereinigtes Humanthrombin, Enzyme Research Laboratories, South Bend, Indiana mit 8 NIH Einheiten/ml) und 25 µl der Testverbindung in einem Lösemittel (50% wässriges Methanol (V : V)) durchgeführt. Dann werden 150 µl einer wässrigen Lösung des chromogenen Substrats (mit 0,25 mg/ml) zugegeben und die Hydrolyseraten des Substrats gemessen, indem man die Reaktionen bei 405 nm durch die Freisetzung des p-Nitroanilins verfolgt. Es werden Standardkurven durch die Auftragung der freien Thrombinkonzentration gegen die Hydrolyserate erstellt. Die mit den Testverbindungen beobachteten Hydrolyseraten werden dann in "freie Thrombinwerte" in den jeweiligen Tests durch die Verwendung der Standardkurven umgewandelt. Das gebundene Thrombin (an die Testverbindung gebunden) wird durch Subtraktion der Menge an freiem Thrombin, die in jedem Test beobachtet wird, von der bekannten Anfangsmenge an Thrombin, die in jedem Test beobachtet wird, errechnet. Die Menge an freiem Inhibitor in jedem Test wird durch Subtraktion Anzahl der Mole an gebundenem Thrombin von der Anzahl der Mole an zugegebenem Inhibitor (Testverbindung) errechnet.

[0074] Der Kass Wert ist die hypothetische Gleichgewichtskonstante für die Reaktion zwischen Thrombin und der Testverbindung (I).



$$Kass = \frac{[Thrombin\text{-}I]}{[(Thrombin) \times (I)]}$$

[0075] Kass wird für einen Konzentrationsbereich der Testverbindungen errechnet und der Mittelwert wird in Einheiten pro Liter pro Mol angegeben. Im allgemeinen zeigt eine erfindungsgemäße Thrombinhemmende

Verbindung der Formel I einen Kass von 0,1 × 10^6 l/mol oder viel größer.

[0076] Indem man im wesentlichen die oben für Humanthrombin beschriebenen Verfahren befolgt und andere Serinproteasen des humanen Blutgerinnungssystems und Serinproteasen des fibrinolytischen Systems mit den geeigneten chromogenen Substraten verwendet, wie sie unten angegeben sind, wird die Selektivität der erfindungsgemäßen Verbindung in Bezug auf die Koagulationsfaktorserinproteasen und die fibrinolytischen Serinproteasen, wie auch die im wesentlichen fehlende Beeinträchtigung der Gerinnselfibrinolyse in Humanplasma ermittelt.

[0077] Die Humanfaktoren X, Xa, IXa, XIa und XIIa werden von Enzyme Research Laboratories, South Bend, Indiana bezogen, humane Urokinase von Leo Pharmaceuticals, Denmark und rekombinantes aktiviertes Protein C (aPC) wird von Eli Lilly und Co. im wesentlichen gemäß US-A 4 981 952 hergestellt. Chromogene Substrate: N-Benzoyl-Ile-Glu-Gly-Arg-p-nitroanilid (für Faktor Xa), N-Cbz-D-Arg-Gly-Arg-p-nitroanilid (für den Faktor IXa Test als Substrat für den Faktor Xa), Pyroglutamyl-Pro-Arg-p-nitroanilid (für Faktor XIa und für aPC), H-D-Pro-Phe-Arg-p-nitroanilid (für Faktor XIIa) und Pyroglutamyl-Gly-Arg-p-nitroanilid (für Urokinase) werden von KabiVitrum, Stockholm, Schweden oder von Midwest Biotech, Fishers, Indiana bezogen. Rindertrypsin wird von Worthington Biochemicals, Freehold, New Jersey, und Humanplasmakallikrein von Kabi Vitrum, Stockholm, Schweden bezogen. Das chromogene Substrat H-D-Pro-Phe-Arg-p-nitroanilid für Plasmakallikrein wird von Kabi Vitrum, Stockholm, Schweden bezogen. N-Benzoyl-Phe-Val-Arg-p-nitroanilid, das Substrat für Humanthrombin und für Trypsin, wird gemäß den oben für die erfindungsgemäßen Verbindungen beschriebenen Verfahren mittels bekannter Methoden der Peptidkupplung aus im Handel erhältlichen Reaktanden synthetisiert oder von Midwest Biotech, Fishers, Indiana bezogen.

[0078] Das Humanplasmin wird von Boehringer Mannheim, Indianapolis, Indiana bezogen, nt-PA wird als einkettige Aktivitätsreferenz von American Diagnostica, Greenwich, Conneticut bezogen, modifiziertes t-PA6 (mt-PA6) wird bei Eli Lilly und Company durch das in der Technik bekannte Verfahren hergestellt (siehe Burck et al., J. Biol. Chem., 265, 5120–5177 (1990)). Das chromogene Substrat für Plasmin H-D-Val-Leu-Lys-p-nitroanilid und das Substrat für den Gewebsplasminogenaktivator (t-PA) H-D-Ile-Pro-Arg-p-nitroanilid werden von Kabi Vitrum Stockholm, Schweden bezogen.

[0079] In den oben beschriebenen chromogenen Substraten werden die Dreibuchstabensymbole Ile, Glu, Gly, Pro, Arg, Phe, Val, Leu und Lys verwendet, um jeweils die entsprechende Aminosäuregruppe Isoleucin, Glutaminsäure, Glycin, Prolin, Arginin, Phenylalanin, Valin, Leucin und Lysin zu bezeichnen.

[0080] Thrombininhibitoren sollten vorzugsweise die durch Urokinase, Gewebsplasminogenaktivator (t-PA) und Streptokinase ausgelöste Fibrinolyse schonen. Dies wäre für die therapeutische Verwendung solcher Mittel als Zusatz zu einer thrombolytischen Therapie mit Streptokinase, t-PA oder Urokinase wichtig und für die Verwendung solcher Mittel als endogene Fibrinolyse-sparende (in Hinblick auf t-PA und Urokinase) antithrombotische Mittel. Zusätzlich zur fehlenden Beeinflussung mit der Amidaseaktivität der fibrinolytischen Proteasen, kann ein Sparen am fibrinolytischen System durch die Verwendung von humanen Plasmagerinnseln und ihrer Lyse durch die jeweiligen fibrinolytischen Plasminogenaktivatoren untersucht werden.

Materialien

[0081] Hundeplasma wird von bewusst gemischt gekreuzten Jagdhunden (beider Geschlechts Hazelton-LRE, Kalamazoo, Michigan, USA) durch eine Venenpunktion in 3,8 Prozent Citrat erhalten. Das Fibrinogen wird aus frischem Hundeplasma präpariert und das humane Fibrinogen wird von humanem nicht abgelaufenem ACD Blut bei der Fraktion I–2 gemäß bekannter Verfahren und Spezifikationen präpariert. Smith, Biochem. J., 185, 1–11 (1980) und Smith et al., Biochemistry, 11, 2958–2967, (1972). Humanes Fibrinogen (98 Prozent rein/plasminfrei) stammt von American Diagnostica, Greenwich, Connecticut. Die radioaktive Markierung von Fibrinogen I–2 Präparationen wird wie vorher beschrieben durchgeführt. Smith et al., Biochemistry, 11, 2958–2967 (1972). Die Urokinase wird von Leo Pharmaceuticals, Denmark mit 2200 Ploug Einheiten/Gläschen bezogen. Die Streptokinase wird von Hoechst-Roussel Pharmaceuticals, Somerville, New Jersey bezogen.

Verfahren – Wirkungen auf die Lyse der humanen Plasmagerinnsel durch t-PA

[0082] Humane Plasmagerinnsel werden in Mikroteströhrchen durch die Zugabe von 50 µl Thrombin (73 NIH Einheiten/ml) zu 100 µl humanem Plasma gebildet, das 0,0229 µCi 125-Iod-markiertes Fibrinogen enthält. Die Gerinnselauflösung wird durch die Überschichtung der Gerinnsel mit 50 µl Urokinase oder Streptokinase (50,

100 oder 1000 Einheiten/ml) und einer Inkubation für 20 Stunden bei Raumtemperatur untersucht. Nach der Inkubation werden die Röhrchen in einer Beckman Microfuge zentrifugiert. 25 µl Überstand werden in ein Volumen von 1,0 ml 0,03 M Tris/0,15 M NaCl Puffer für die Gammazählung gegeben. Zählkontrollen mit 100% Lyse werden durch das Weglassen von Thrombin (und den Ersatz durch Puffer) erhalten. Die Thrombininhibitoren werden auf die mögliche Wechselwirkung mit der Fibrinolyse getestet, indem man die Verbindungen in die Überschichtungslösungen in Konzentrationen von 1,5 und 10 µg/ml einarbeitet. Grobe Annäherungen der HK_{50} Werte werden durch lineare Extrapolationen von Datenpunkten zu einem Wert abgeschätzt, der 50 Prozent Lyse für diese bestimmte Konzentration des fibrinolytischen Mittels darstellen würde.

Antikoagulationsaktivität

Materialien

[0083] Hundeplasma und Rattenplasma werden von bewusst gemischt gekreuzten Jagdhunden (beider Geschlechts Butler Farms, Clyde, New York, USA) oder von anaesthesierten männlichen Sprague-Dawley Ratten (Harlan Sprague-Dawley, Inc., Indianapolis, Indiana, USA) durch eine Venenpunktion in 3,8 Prozent Citrat erhalten. Das Fibrinogen wird von humanem nicht abgelaufenem ACD Blut bei der Fraktion I–2 gemäß vorheriger Verfahren und Spezifikationen präpariert. Smith, Biochem. J., 185, 1–11 (1980) und Smith et al., Biochemistry, 11, 2958–2967, (1972). Humanes Fibrinogen zu 98 Prozent rein/plasminfrei stammt von American Diagnostica, Greenwich, Connecticut. Die Koagulationsreagentien ACTIN, Thromboplastin, Innovin und humanes Plasma werden von Baxter Healthcare Corp., Dade Division, Miami, Florida erhalten. Rinderthrombin von Parke-Davis (Detroit, Michigan) wird für Koagulationstests im Plasma verwendet.

Verfahren

Antikoagulationsbestimmungen

[0084] Die Koagulationstestverfahren laufen wie vorher beschrieben. Smith et al., Thrombosis Research, 50, 163–174 (1988). Ein CoA-Screener-Koagulationsgerät (American LABor, Inc.) wird für alle Koagulationstestmessungen verwendet. Die Prothrombinzeit (PT) wird durch die Zugabe von 0,05 ml Kochsalzlösung und 0,05 ml Thromboplastin-C Reagenz zu 0,05 ml Testplasma gemessen. Die aktivierte partielle Thromboplastinzeit (APTT) wird durch die Inkubation von 0,05 ml Testplasma mit 0,05 ml Actinreagenz für 120 Sekunden gefolgt von 0,05 ml $CaCl_2$ (0,02 M) gemessen. Die Thrombinzeit (TT) wird durch die Zugabe von 0,05 ml Kochsalzlösung und 0,05 ml Thrombin (10 NIH Einheiten/ml) zu 0,05 ml Testplasma gemessen. Die Verbindungen der Formel I werden zu Human- oder Tierplasma über einen weiten Konzentrationsbereich gegeben, um die Verlängerungswirkungen auf die APTT, PT und TT Tests zu bestimmen. Es werden lineare Extrapolationen durchgeführt, um die Konzentrationen zu bestimmen, die zur Verdoppelung der Gerinnungszeit für jeden Test erforderlich sind.

Tiere

[0085] Männliche Sprague Dawley Ratten (350–425 g, Harlan Sprague Dawley Inc., Indianapolis, IN) werden mit Xylazin (20 mg/kg, s. c.) und Ketamin (120 mg/kg, s. c.) anaesthesiert und auf einem mit Wasser geheizten Kissen gehalten (37°C). Die Jugularvene wird kanüliert, um Infusionen zu ermöglichen.

Arterio-venöses Shuntmodell

[0086] Die linke Jugularvene und die rechte Arteria carotis werden mit 20 cm langen Polyethylen PE 60 Schläuchen kanüliert. Ein 6 cm langer zentraler Abschnitt eines größeren Schlauchs (PE 190) wird mit einem Baumwollfaden (5 cm) im Lumen zwischen den längeren Abschnitten per Reibung befestigt, um den arterio-venösen Shuntkreislauf zu vervollständigen. Das Blut zirkuliert für 15 Minuten durch den Shunt bevor der Faden sorgfältig entfernt und gewogen wird. Das Gewicht eines nassen Fadens wird vom Gesamtgewicht des Fadens und des Thrombus abgezogen (siehe J. R. Smith, Br. J. Pharmacol., 77: 29, 1982). In diesem Modell verringern die bevorzugten Verbindungen der vorliegenden Erfindung bei einer i. v. Dosis von 33,176 µmol/kg/h das Nettogerinnselgewicht auf etwa 25–30% der Kontrolle oder sogar noch weiter.

$FeCl_3$ Modell einer arteriellen Verletzung

[0087] Die Carotisarterien werden über eine ventrale cervikale Inzision entlang der Mittellinie isoliert. Ein Thermoelement wird unter jede Arterie plaziert und die Gefäßtemperatur wird kontinuierlich auf einem Band-

schreiber aufgezeichnet. Ein Cuff eines Schlauchs (0,058 ID × 0,077 OD × 4 mm, Baxter Med. Grade Silicone), der längs aufgeschnitten ist, wird um jede Carotis direkt über dem Thermoelement plaziert. $FeCl_3$ Hexahydrat wird in Wasser gelöst und die Konzentration (20 Prozent) wird als tatsächliches Gewicht des isolierten $FeCl_3$ angegeben. Um die Arterie zu verletzen und eine Thrombose zu induzieren werden 2,85 µl in den Cuff pipettiert, um die Arterie über der Thermoelementsonde zu benetzen. Die arterielle Okklusion wird durch einen rapiden Temperaturabfall angezeigt. Die Zeit bis zur Okklusion wird in Minuten angegeben und stellt die vergangene Zeit zwischen der Verabreichung des $FeCl_3$ und des rapiden Abfalls der Gefäßtemperatur dar (siehe K. D. Kurz, Thromb. Res. 60: 269, 1990)

Modell für die spontane Thrombolyse

[0088] In vitro Daten legen nahe, dass die Peptidthrombininhibitoren Thrombin und in höheren Konzentrationen andere Serinproteasen hemmen, wie Plasmin und den Gewebsplasminogenaktivator. Um zu ermitteln, ob die Verbindungen die Fibrinolyse in vivo hemmen, wird die Geschwindigkeit der spontanen Thrombolyse durch die Implantation eines markierten Gesamtblutgerinnsels in die pulmonale Zirkulation bestimmt. Rattenblut (1 ml) wird schnell mit Rinderthrombin (4 IE, Parke Davis) und ^{125}I Humanfibrinogen (5 µCi, ICN) gemischt, unmittelbar in einen Silastikschlauch gezogen und bei 37°C für 1 Stunde inkubiert. Der gereifte Thrombus wird aus dem Schlauch herausgenommen, in 1 cm Segmente geschnitten, 3 × in normaler Kochsalzlösung gewaschen und jedes Segment wird in einem Gammazähler ausgezählt. Ein Segment mit einer bekannten Aktivität wird in den Katheter gesaugt, der anschließend in die Jugularvene implantiert wird. Die Katheterspitze wird in die Nähe des rechten Vorhofs vorgeschoben und das Gerinnsel befreit, um in den Lungenkreislauf zu flotieren. Eine Stunde nach der Implantation werden das Herz und die Lungen entnommen und getrennt ausgezählt. Die Thrombolyse wird als Prozentsatz ausgedrückt, wobei folgendes gilt:

$$\% \text{ Thrombolyse} = \frac{(\text{injizierte cpm} - \text{Lungen cpm}) \times 100}{\text{injizierte cpm}}$$

[0089] Die fibrinolytische Auflösung des implantierten Gerinnsels tritt zeitabhängig auf (siehe J. P. Clozel, Cardiovas. Pharmacol., 12: 520, 1988).

Koagulationsparameter

[0090] Die Plasmathrombinzeit (TT) und die aktivierte partielle Thromboplastinzeit (APTT) werden mit einem Fibrometer gemessen. Das Blut wird aus einem Jugularkatheter entnommen und in Spritzen gesammelt, die Natriumcitrat enthalten (3,8 Prozent, 1 Teil auf 9 Teile Blut). Um TT zu messen, wird Rattenplasma (0,1 ml) mit Kochsalzlösung (0,1 ml) und Rinderthrombin (0,1 ml, 30 E/ml in Tris-Puffer, Parke Davis) bei 37°C gemischt. Für die APTT werden Plasma (0,1 ml) und APTT Lösung (0,1 ml Organon Teknika) für 5 Minuten inkubiert (37°C) und $CaCl_2$ (0,1 ml, 0,025 M) wird zum Starten der Koagulation zugegeben. Die Tests werden doppelt ausgeführt und gemittelt.

Index der Bioverfügbarkeit

[0091] Ein Maß der Bioaktivität, die Plasmathrombinzeit (TT), dient als Stellvertreter für den Test der Ursprungsverbindung mit der Annahme, dass die Zunahme der TT nur von der Thrombinhemmung durch die Ursprungsverbindung kommt. Der Zeitverlauf der Wirkung des Thrombininhibitors auf TT wird nach einer i. v. Bolusverabreichung an anaesthesierten Ratten und nach einer oralen Verabreichung an gefasteten Ratten bei Bewusstsein bestimmt. Aufgrund von Beschränkungen im Blutvolumen und der Anzahl an Messpunkten, die zur Bestimmung des Zeitverlaufs vom Zeitpunkt der Behandlung bis zum Zeitpunkt, wenn die Reaktion zu Werten vor der Behandlung zurückkehrt, erforderlich sind, werden zwei Rattenpopulationen verwendet. Jede Probenpopulation stellt alternierende aufeinanderfolgende Zeitpunkte dar. Die mittlere TT über den Zeitverlauf wird zur Berechnung der Fläche unter der Kurve verwendet (AUC). Der Index der Bioverfügbarkeit wird durch die unten gezeigte Formel errechnet und wird als prozentuale relative Aktivität ausgedrückt.

[0092] Die Fläche unter der Kurve (AUC) des Plasma TT Zeitverlaufs wird bestimmt und die Dosis eingestellt. Dieser Index der Bioverfügbarkeit wird "% Relative Aktivität" genannt und wird folgendermaßen errechnet

$$\% \text{ Relative Aktivität} = \frac{\text{AUC po}}{\text{AUC iv}} \times \frac{\text{Dosis iv}}{\text{Dosis po}} \times 100$$

Verbindungen

[0093] Die Lösungen der Verbindungen werden täglich frisch in normaler Kochsalzlösung hergestellt und werden als Bolus injiziert oder 15 Minuten vor und während der experimentellen Pertubation infundiert, die im arteriovenösen Shuntmodell 15 min und im $FeCl_3$ Modell der arteriellen Verletzung und im spontanen Thrombolysemodell 60 min beträgt. Das Bolusinjektionsvolumen beträgt 1 ml/kg für i. v. und 5 ml/kg für p. o. und das Infusionsvolumen beträgt 3 ml/h.

Statistiken

[0094] Die Ergebnisse werden als Mittel ± SEM ausgedrückt. Es wird eine Einwegsanalyse der Varianz verwendet, um statistisch signifikante Unterschiede festzustellen und dann wird der Dunnett's Test angewendet, um zu bestimmen, welche Mittel unterschiedlich sind. Die Signifikanzgrenze für die Zurückweisung der Nullhypothese von gleichen Mittelwerten ist $P < 0,05$.

Tiere

[0095] Männliche Hunde (Beagles, 18 Monate–2 Jahre, 12–13 kg, Marshall Farms, North Rose, New York 14516) lässt man über Nacht fasten und füttert sie mit zertifizierter Prescription Diet von Purina (Purina Mills, St. Louis, Missouri) 240 Minuten nach der Dosisverabreichung. Wasser ist frei verfügbar. Die Raumtemperatur wird zwischen 66–74°F gehalten, die Luftfeuchtigkeit beträgt 45–50 Prozent relative Luftfeuchte und es wird von 6 Uhr bis 18 Uhr beleuchtet.

Pharmakokinetisches Modell

[0096] Die Testverbindung wird unmittelbar vor der Dosierung formuliert, indem man sie in steriler 0,9 prozentiger Kochsalzlösung in einer 5 mg/ml Präparation auflöst. Den Hunden wird eine einzelne 2 mg/kg Dosis der Testverbindung durch orale Verabreichung gegeben. Blutproben (4,5 ml) werden aus der Vena cephalica 0,25, 0,5, 0,75, 1, 2, 3, 4 und 6 Stunden nach der Dosisverabreichung entnommen. Proben werden in citratisierten Vacutainerröhrchen gesammelt und vor der Reduzierung auf das Plasma durch Zentrifugation auf Eis gehalten. Die Plasmaproben werden durch HPLC MS analysiert. Die Plasmakonzentration der Testverbindung wird aufgezeichnet und zur Berechnung der pharmakokinetischen Parameter verwendet: Eliminationsgeschwindigkeitskonstante, Ke, totale Clearance, Clt, Verteilungsvolumen, V_D, Zeit der maximalen Plasmakonzentration der Testverbindung, T_{max}, maximale Konzentration der Testverbindung von T_{max}, C_{max}, Plasmahalbwertszeit, $t_{0,5}$, die Fläche unter der Kurve, A. U. C, und den Teil der Testverbindung, der absorbiert wurde, F.

Hundemodell der Koronararterienthrombose

[0097] Die operative Vorbereitung und instrumentelle Ausstattung der Hunde erfolgt, wie dies in Jackson et al., Circulation, 82, 930–940 (1990) beschrieben wurde. Gemischt-gekreuzte Jagdhunde (6–7 Monate alt, beider Geschlechts, Hazelton-LRE, Kalamazoo, MI, USA) werden mit Natriumpentobarbital (30 mg/kg intravenös, i. v.) anaesthesiert, intubiert und mit Raumluft beatmet. Das Differenzvolumen und die Atemgeschwindigkeit werden eingestellt, um die PO_2, PCO_2 und pH Werte des Bluts innerhalb der normalen Grenzen zu halten. Subdermale Nadelelektroden werden zur Aufzeichnung eines Leit II EKG eingeführt.

[0098] Die linke Jugularvene und die Arteria carotis communis werden durch einen mediolateralen Halsschnitt auf der linken Seite isoliert. Der arterielle Blutdruck (ABP) wird kontinuierlich mit einem vorkalibrierten Millarwandler (Modell MPC-500, Millar Instruments, Houston, TX, USA) gemessen, der in die Arteria carotis eingeführt wurde. Die Jugularvene wird zur Blutprobenentnahme während des Experiments kanüliert. Zusätzlich werden die femoralen Venen beider Hinterbeine zur Verabreichung der Testverbindung kanüliert.

[0099] Es wird eine Thorakotomie auf der linken Seite im fünften intercostalen Raum durchgeführt und das Herz wird in einem perikardialen Drahtgestell aufgehängt. Es wird ein 1 bis 2 cm Segment der linken circumflexen Koronararterie (LCX) proximal zur ersten diagonalen ventrikulären Hauptverzweigung isoliert. Eine Anodenelektrode, die mit einer 26 Gauge Nadel versehen wurde (Teflon-beschichtet, silberbeschichteter 30 Gauge Kupferdraht), mit einer Länge von 3–4 mm wird in die LCX eingeführt und mit der Intimaoberfläche der Arterie in Kontakt gebracht (wird am Ende des Experiments bestätigt). Der stimulierende Kreislauf wird durch die Plazierung einer Kathode an einer subkutanen Stelle (s. c.) vervollständigt. Ein einstellbarer Plastikverschluss wird um die LCX über die Region der Elektrode plaziert. Eine vorkalibrierte elektromagnetische Flusssonde (Carolina Medical Electronics, King, NC, USA) wird um die LCX proximal zur Anode zum Messen des korona-

ren Blutflusses (CBF) plaziert. Der Verschluss wird zur Herstellung einer 40–50 prozentigen Hemmung der hyperämischen Blutflussreaktion eingestellt, die nach 10 Sekunden mechanischer Okklusion der LCX beobachtet wird. Alle hämodynamischen und EKG Messungen werden mit einem Datenaufnahmesystem (Modell M3000, Modular Instruments, Malvern, PA, USA) aufgezeichnet und analysiert.

Thrombusbildung und Verabreichungplan der Verbindung

[0100] Eine elektrolytische Verletzung der Intima der LCX wird durch Anlegen eines Gleichstroms (DC) von 100 μA an die Anode hergestellt. Der Strom wird für 60 Minuten aufrechterhalten und dann abgebrochen, ob das Gefäß verschlossen ist oder nicht. Die Thrombusbildung läuft spontan bis die LCX total verschlossen ist (bestimmt als Null CBF und Anstieg im S-T Segment). Die Verabreichung der Verbindung wird begonnen, nachdem der verschließende Thrombus für eine Stunde reifen konnte. Eine 2 Stunden dauernde Infusion der erfindungsgemäßen Verbindungen in Dosen von 0,5 und 1 mg/kg/Stunde wird gleichzeitig mit einer Infusion eines thrombolytischen Mittels begonnen (beispielsweise Gewebsplasminogenaktivator, Streptokinase, APSAC). Die Reperfusion wird für 3 Stunden nach einer Verabreichung der Testverbindung verfolgt. Eine Reokklusion der Koronararterien nach einer erfolgreichen Thrombolyse, die für mehr als 30 Minuten anhält, wird als Null CBF definiert.

Hämatologie und Bestimmung der Zielblutungszeit

[0101] Bestimmungen der gesamten Blutzellen, des Hämoglobins und der Hämotokritwerte werden in einer 40 μl Probe citratisierten (3,8 Prozent) Bluts (1 Teil Citrat : 9 Teile Blut) mit einem Hämatologieanalysegerät bestimmt (Cell-Dyn 900, Sequoia-Turner, Mount View, CA, USA) Zahnfleischzielblutungszeiten werden mit einer Simplate II Blutungszeitvorrichtung bestimmt (Organon Teknika Durham, N. C., USA). Die Vorrichtung wird verwendet, um zwei horizontale Schnitte in das Zahnfleisch entweder des oberen oder des unteren Kiefers des Hundes zu machen. Jeder Schnitt ist 3 mm breit und 2 mm tief. Die Schnitte werden gemacht und es wird eine Stoppuhr zur Bestimmung verwendet, wie lange die Blutung dauert. Es wird ein Baumwolltupfer verwendet, um das Blut aufzusaugen, wenn es aus dem Schnitt sickert. Die Zielblutungszeit ist die Zeit vom Schnitt bis zur Beendigung der Blutung. Die Blutungszeiten werden direkt vor der Verabreichung der Testverbindung (0 min), 60 min bei der Infusion, bei Beendigung der Verabreichung der Testverbindung (120 min) und am Ende des Experiments bestimmt.

[0102] Alle Daten werden durch Einwegsanalyse der Varianz (ANOVA) gefolgt von einem Student-Neuman-Kuels post hoc T Test analysiert, um die Signifikanzgrenze zu bestimmen. Wiederholungs ANOVA Messungen werden zur Bestimmung der signifikanten Unterschiede zwischen den Zeitpunkten während der Experimente verwendet. Die Werte sind per Definition mindestens ab der Grenze von $p < 0,05$ statistisch unterschiedlich. Alle Werte sind Mittelwerte ± SEM. Alle Untersuchungen werden gemäß den Richtlinien der American Physiological Society durchgeführt. Weitere Details, die die Verfahren betreffen, sind in Jackson et al., J. Cardiovasc. Pharmacol., 21, 587–599 (1993) beschrieben.

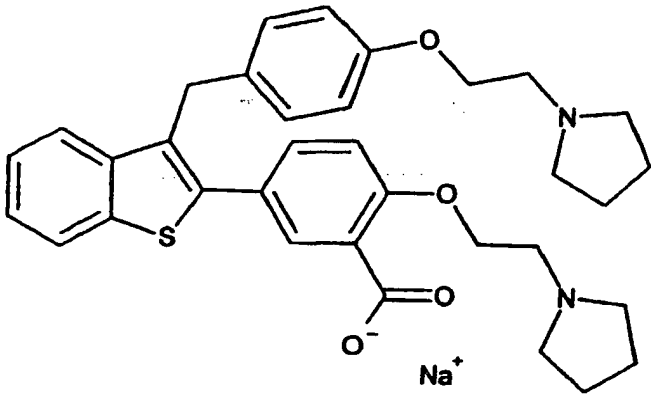
[0103] Die folgenden Beispiele werden bereitgestellt, um die Erfindung weiter zu erläutern und sollen nicht als Beschränkung hiervon aufgefasst werden.

[0104] Die in den Beispielen verwendeten Abkürzungen, Symbole und Ausdrücke haben die folgenden Bedeutungen:
Anal. = Elementaranalyse
Bn oder Bzl = Benzyl
Bu = Butyl
DMF = Dimethylformamid
Et = Ethyl
EtOH = Ethanol
FAB = Massenspektrum durch schnellen Atombeschuss
FDMS = Felddesorptionsmassenspektrum
Hex = Hexan
HPLC = Hochleistungsflüssigchromatographie
HRMS = Hochauflösungsmassenspektrum
i-PrOH = Isopropanol
IR = Infrarotspektrum
LAN = Lithiumaluminiumhydrid
Me = Methyl

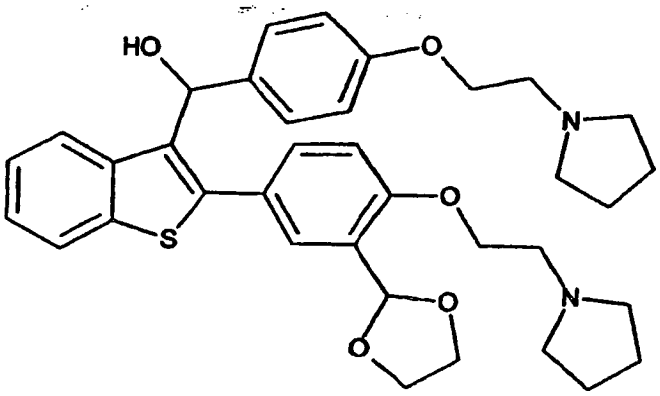
MeOH = Methanol
MPLC = Mitteldruckflüssigchromatographie
NMR = Kernmagnetresonanz
Ph = Phenyl
i-Pr = Isopropyl
Rochellesalz = Kaliumnatriumtartrat
RPHPLC = Umkehrphasenhochleistungsflüssigchromatographie
SiO_2 = Silicagel
TBS = tert-Butyldimethylsilyl
TFA = Trifluoressigsäure
THF = Tetrahydrofuran
TIPS = Triisopropylsilyl
TLC = Dünnschichtchromatographie

[0105] Falls nichts anderes angegeben ist, werden die pH Einstellungen und die Aufarbeitung mit wässrigen Säure- oder Basenlösungen ausgeführt. PrepLC zeigt eine präparative Flüssigchromatographie mittels "Prep Pak®" Silicakartuschen an, Radialchromatographie zeigt eine präparative Chromatographie mittels eines "Chromatotron®" Geräts an.

Beispiel 1
Herstellung von 2-[2-(1-Pyrrolidinyl)ethoxy]-5-[3-[4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]benzyl]benzo[b]thiophen-2-yl]benzoesäurenatriumsalz



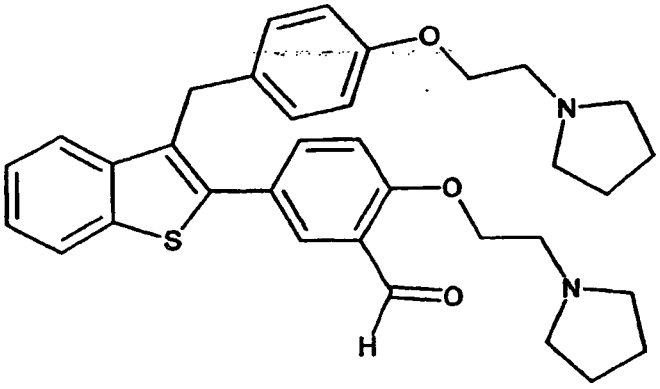
A.
2-[3-(1,3-Dioxolan-2-yl)-4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]-phenyl]-α-[4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]phenyl]-benzo[b]thiophen-3-methanol



[0106] Zu einer Lösung aus 500 mg (0,966 mmol) an 2-[3-(1,3-Dioxolan-2-yl)-4-hydroxyphenyl]-α-[4-[2-(1-pyrrolidinyl)-ethoxy]phenyl]benzo[b]thiophen-3-methanol in 5,0 ml trockenem DMF wird Cäsiumcarbonat (1,25 g, 3,86 mmol) gefolgt von der Zugabe von 1-(2-Chlorethyl)pyrrolidinhydrochlorid (181 mg, 1,06 mmol) gegeben. Die Aufschlämmung wird bei 80°C für 2 h gerührt. Das Reaktionsgemisch wird dann auf Raumtemperatur gekühlt und mit 10 ml Wasser verdünnt. Das Gemisch wird mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Kochsalzlösung gewaschen und über $MgSO_4$ getrocknet. Das Filtrat

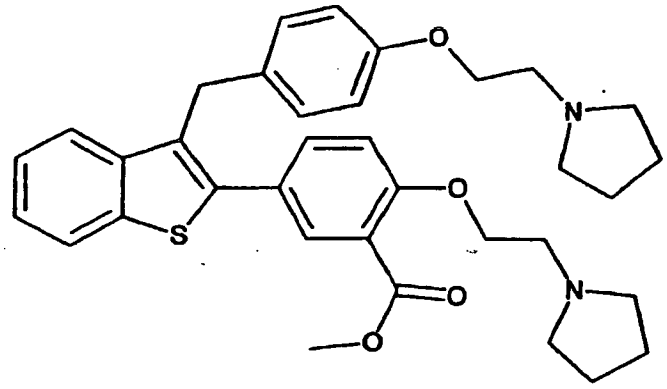
wird im Vakuum konzentriert und Xylol wird als Azeotrop zur Entfernung des übrigen DMF verwendet. Eine Reinigung durch Blitzchromatographie (Silicagel, 9% [10% konz. NH_4OH in MeOH] in CH_2Cl_2 ergibt 500 mg (0,813 mmol, 84%) des Titelprodukts als weißen Schaum.
Smp. 81–84°C. FDMS 615 (M^+).
Elementaranalyse für $C_{36}H_{42}N_2O_5S$
Berechnet: C 70,33, H 6,89, N 4,56. Gefunden: C 70,33, H 6,77, N 4,50.

B. 2-[2-(1-Pyrrolidinyl)ethoxy]-5-[3-[4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]benzyl]benzo[b]thiophen-2-yl]benzaldehyd



[0107] Die Titelverbindung wird mit 68% Ausbeute aus dem obigen Carbinol (Teil A) unter Behandlung einer Lösung des Carbinols in Methylenchlorid, Kühlen in einem Eis-Wasserbad und unter Argon mit einem Überschuss an Triethylsilan (etwa 7 Äquivalente), gefolgt von der tropfenweisen Zugabe von TFA (etwa 10 Äquivalente) hergestellt. Nach 1 min wird die Reaktion mit gesättigtem wässrigem Natriumbicarbonat gestoppt und das Gemisch wird mit EtOAc extrahiert. Die Extrakte werden mit Kochsalzlösung gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und unter Bildung eines Rückstands eingedampft, der durch Blitzchromatographie auf Silicagel unter Elution mit einem Gradienten aus EtOAc/Et_3N gereinigt wird.
FDMS 555 (M^+)
Elementaranalyse für $C_{34}H_{38}N_2O_3S \times 0{,}75\ CH_2Cl_2$:
Berechnet: C 67,49, H 6,44, N 4,53. Gefunden: C 67,53, H 6,67, N 4,46.

C. Methyl-2-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]-5-[3-[4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]benzyl]benzo[b]thiophen-2-yl]-benzoat



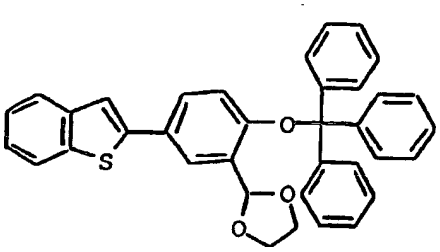
[0108] Zu einer 270 mg (0,487 mmol) Lösung aus 2-[2-(1-Pyrrolidinyl)ethoxy]-5-[3-[4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]benzyl]-benzo[b]thiophen-2-yl]benzaldehyd (Teil B) in 5,0 ml trockenem MeOH werden 5,40 mg (0,111 mmol) Natriumcyanid und 580 mg (4,87 mmol) Mangan(IV)oxid gegeben. Das Gemisch wird dann am Rückfluss für 2 h erhitzt. Das Reaktionsgemisch wird auf Raumtemperatur gekühlt und durch Kissen aus Diatomäenerde filtriert und mit einem Gemisch aus EtOAc : CH_2Cl_2 gewaschen. Das rohe Produkt wird durch Chromatographie (Silicagel, 7% [2 M NH_3 in MeOH] in CH_2Cl_2 unter Bildung von 135 mg (0,231 mmol, 47%) eines hellgelben halbfesten Materials gereinigt.
^1H NMR ($CDCl_3$) δ 7,92 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 7,83 (m, 1H), 7,55 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 7,54 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,30 (m, 2H), 7,03 (d, J = 8,6 Hz, 2H), 6,99 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 6,80 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 4,23 (t, J = 6,1 Hz, 2H), 4,18 (s, 2H), 4,06 (t, J = 6,0 Hz, 2H), 3,83 (s, 3H), 3,00 (t, J = 6,1 Hz, 2H), 2,89 (t, J = 6,0 Hz, 2H), 2,62–2,69 (m, 8H), 1,81 (m, 8H). FDMS 585 (M^+).

D. 2-[2-(1-Pyrrolidinyl)ethoxy]-5-[3-[4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]benzyl]benzo[b]thiophen-2-yl]benzoesäurenatriumsalz

[0109] Die Titelverbindung wird mit 81% Ausbeute aus Methyl-2-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]-5-[3-[4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]benzyl]benzo[b]thiophen-2-yl]benzoat (Teil C) durch Verseifung einer gerührten Lösung (etwa 10% G/V) in 1 : 1 THF : MeOH mit 1 N NaOH (1 Äquivalent) bei Raumtemperatur (etwa 22 Stunden) hergestellt. Das Reaktionsgemisch wird unter verringertem Druck eingedampft und in einem Vakuumofen über P_2O_5 unter Bildung des Säuresalzes getrocknet.
Smp. 253–255°C (Zers.) IR (KBr) 3400 (br), 1603, 1586 cm^{-1}.
Ionenspray MS 571 $(M + 1)^+$, 569 $(M – 1)^–$.
Elementaranalyse für $C_{34}H_{37}N_2O_4S \times 1{,}0\ Na \times 0{,}8\ H_2O$:
Berechnet: C 67,26, H 6,42, N 4,61. Gefunden: C 66,92, H 6,29, N 4,52.

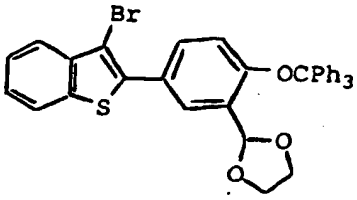
[0110] Das phenolische Ausgangsmaterial für Teil A, oben, wird folgendermaßen hergestellt:

E. 2-[4-Trityloxy-3-(1,3-dioxolan-2-yl)phenyl]benzo[b]thiophen



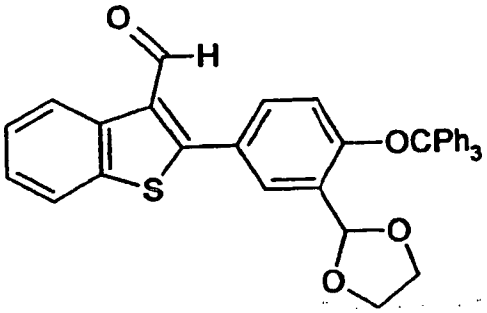
[0111] Die Titelverbindung wird mit 69% Ausbeute durch Kupplung der Benzo[b]thiophen-2-borsäure und des 2-(5-Brom-2-trityloxyphenyl)-1,3-dioxolans unter Verwendung von Benzol, Tetrakis(triphenylphosphin)palladium(0) und 2,0 N Natriumcarbonatlösung unter kräftigem Rühren bei 85°C hergestellt. Es folgt eine Kühlung und Zugabe von Kochsalzlösung, die Phasen werden getrennt und die wässrige Phase wird mit EtOAc extrahiert. Nach dem Trocknen und Eindampfen der organischen Phase wird das Produkt durch Chromatographie gereinigt.
FDMS 540 (M^+). Basispeak 243 (M – 297)
Elementaranalyse für $C_{36}H_{28}O_3S$:
Berechnet: C 79,97, H 5,22. Gefunden: C 79,76, H 5,44.

F. 3-Brom-2-[4-trityloxy-3-(1,3-dioxolan-2-yl)phenyl]-benzo[b]thiophen



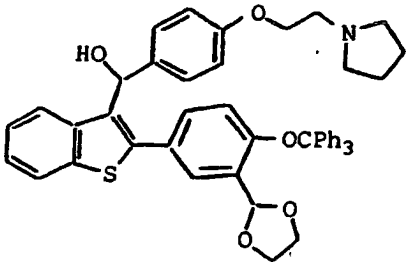
[0112] Die Titelverbindung wird aus dem obigen Benzothiophen in quantitativer Ausbeute durch die Behandlung einer Lösung in CCl_4 mit einem leichten Überschuss an NBS (etwa 1,1 Äquivalente) und AIBN (0,1 Äquivalent) hergestellt. Das Gemisch wird unter Rückfluss erhitzt, gekühlt, filtriert und unter verringertem Druck konzentriert, gefolgt von einer Behandlung mit Hexan und Filtration.
FDMS 620 (M^+).
Elementaranalyse für $C_{36}H_{27}BrO_3S \times 0{,}11\ CCl_4$:
Berechnet: C 68,14, H 4,28. Gefunden: C 68,14, H 4,31.

G. 2-[4-Trityloxy-3-(1,3-dioxolan-2-yl)phenyl]-benzo[b]thiophen-3-carboxaldehyd



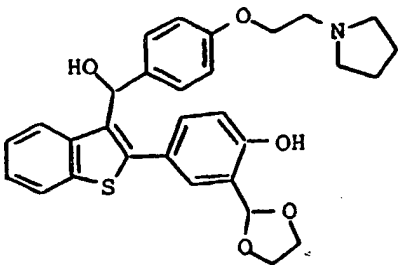
[0113] 3-Brom-2-[4-trityloxy-3-(1,3-dioxolan-2-yl)phenyl]-benzo[b]thiophen (Teil F, 28,7 g, 46,2 mmol) wird in 300 ml frisch destilliertem THF gelöst und auf –78°C gekühlt. Zu dieser Lösung wird 1,6 M N-BuLi in Hexan (34,7 ml, 55,5 mmol) tropfenweise über einen Zeitraum von 1 h gegeben. Die dunkelbraune Lösung wird bei –78°C für 1,5 h gerührt. Trockenes DMF (14,3 ml, 185 mmol) wird dann tropfenweise über 20 min zugegeben und das Reaktionsgemisch wird langsam auf Raumtemperatur erwärmt und für 19 h gerührt. Die Reaktion wird mit 300 ml gesättigter NH_4Cl Lösung gestoppt. Das Gemisch wird mit EtOAc extrahiert (3 × 1 l). Die vereinigten organischen Phasen werden über Na_2SO_4 getrocknet und unter verringertem Druck konzentriert. Eine Reinigung durch Säulenchromatographie auf der PrepLC (Silicagel, 0% bis 6% bis 10% EtOAc-Hexan) ergibt 6,70 g (11,8 mmol, 25%) als weißen Schaum.
FDMS 243 (M – 325). 325 (M – 243)
Elementaranalyse für $C_{37}H_{28}O_4S \times 0{,}15\ CH_2Cl_2$:
Berechnet: C 76,74, H 4,91. Gefunden: C 76,69, H 5,15.

H. 2-[4-Trityloxy-3-(1,3-dioxolan-2-yl)phenyl]-α-[4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]phenyl]benzo[b]thiophen-3-methanol



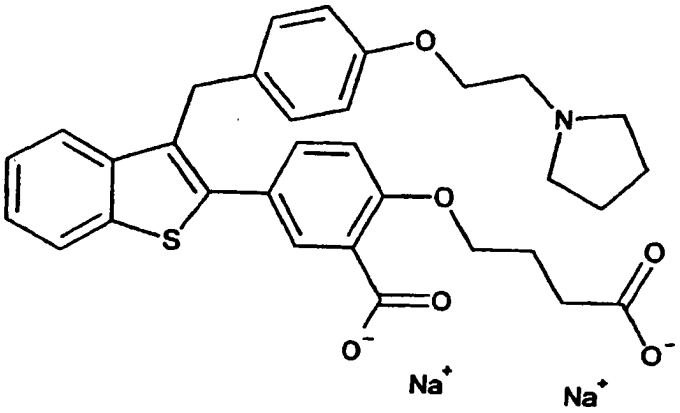
[0114] Die Titelverbindung wird mit 77% Ausbeute durch Behandlung von 2-[4-Trityloxy-3-(1,3-dioxolan-2-yl)phenyl]-benzo[b]thiophen-3-carboxaldehyd (Teil G) mit 4-[2-(1-Pyrrolidinyl)ethoxy]phenylmagnesiumbromid in THF bei 0°C hergestellt. Die Reaktion wird bei 0°C mit gesättigter wässriger NH_4Cl Lösung gestoppt und mit EtOAc extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden getrocknet ($MgSO_4$), eingedampft und durch Blitzchromatographie gereinigt.
^1H NMR ($CDCl_3$): δ 7,75 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 7,66 (d, J = 7,7 Hz, 1H), 7,58 (d, J = 2,3 Hz, 1H), 7,49 (d, J = 7,1 Hz, 6H), 7,14–7,31 (m, 12H), 6,89–6,99 (m, 2H), 6,81 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 6,45 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 6,27 (s, 1H), 6,05 (s, 1H), 4,24 (t, J = 5,3 Hz, 2H), 3,99 (m, 4H), 3,12 (dist t, 2H), 2,96 (m, 4H), 1,94 (m, 4H). FDMS 760 (M^+) Basispeak 243 (M – 517).

I. 2-[4-Hydroxy-3-(1,3-dioxolan-2-yl)phenyl]-α-[4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]phenyl]benzo[b]thiophen-3-methanol

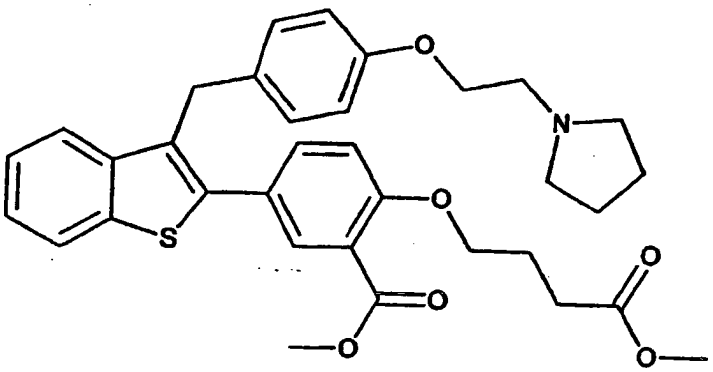


[0115] Zu einer Lösung aus 2-[4-Trityloxy-3-(1,3-dioxolan-2-yl)phenyl]-α-[4-(2-(1-pyrrolidinyl)-ethoxy]phenyl]benzo[b]thiophen-3-methanol (1,74 g, 2,29 mmol) (Teil H) in 23 ml eines THF-EtOH Gemisches (Verhältnis 1 : 1) wird Anisol (0,50 ml, 4,57 mmol) gefolgt von der Zugabe von 1,75 g an 10% Pd auf Kohle gegeben. Die schwarze Aufschlämmung wird bei Raumtemperatur unter Wasserstoff (Ballondruck) für 24 Stunden gerührt. Die Aufschlämmung wird durch ein Kissen aus Diatomäenerde filtriert und mit warmem EtOH gespült. Das Filtrat wird konzentriert. Eine Reinigung durch Blitzchromatographie (Silicagel, 7% bis 9% [10% konz. NH_4OH in MeOH]/CH_2Cl_2) ergibt 954 mg (1,84 mmol, 81%) eines gelben Schaums.
^1H NMR ($CDCl_3$) δ 7,79 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,71 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 7,40 (d, J = 2,2 Hz, 1H), 7,17–7,36 (m, 5H), 6,91 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 6,82 (d, J = 8,6 Hz, 2H), 6,16 (s, 1H), 5,93 (s, 1H), 5,29 (s, 1H), 4,03–4,16 (m, 6H), 2,96 (dist t, 2H), 2,74 (m, 4H), 1,83 (m, 4H). FDMS 517 (M^+)

Beispiel 2
Herstellung von 2-(3-Carboxypropoxy)-5-[3-[4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]benzyl]benzo[b]thiophen-2-yl]-benzoesäuredinatriumsalz



A. Methyl-2-(3-carbomethoxypropoxy)-5-[3-[4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]benzyl]benzo[b]thiophen-2-yl]-benzoat



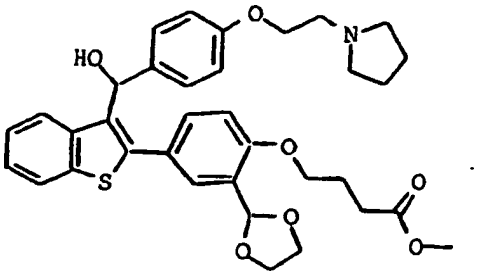
[0116] Die Titelverbindung wird mit 85% Ausbeute im wesentlichen gemäß demselben Verfahren wie in Beispiel 1, Teil C beschrieben, aus Methyl-4-[2-formyl-4-[3-[4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]benzyl]benzo[b]thiophen-2-yl]-phenoxy]butyrat hergestellt.
IR ($CHCl_3$) 1729 cm^{-1}. ^1H NMR ($CDCl_3$) δ 7,93 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 7,84 (m, 1H), 7,53 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 7,52 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,31 (m, 2H), 7,03 (d, J = 8,6 Hz, 2H), 6,98 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 6,79 (d, J = 8,7 Hz, 2H), 4,21 (dist t, 2H), 4,18 (s, 2H), 4,12 (t, J = 6,0 Hz, 2H), 3,85 (s, 3H), 3,68 (s, 3H), 3,08 (dist t, 2H), 2,89 (br. m, 4H), 2,62 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 2,16 (m, 2H), 1,92 (br m, 4H). FDMS 587 (M^+).

B. 2-(3-Carboxypropoxy)-5-[3-[4-[2-(1-pyrrolidinyl)-ethoxy]benzyl]benzo[b]thiophen-2-yl]benzoesäuredinatriumsalz

[0117] Die Titelverbindung wird mit 98% Ausbeute aus Methyl-2-(3-carbomethoxypropoxy)-5-[3-[4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]benzyl]benzo[b]thiophen-2-yl]benzoat (Teil A) im wesentlichen gemäß dem Verfahren von Beispiel 1, Teil D, (mit der Ausnahme, dass 2,0 Äquivalente an 1 N NaOH Lösung verwendet werden) hergestellt.
Smp. > 250°C. IR (KBr) 3425 (br), 1610, 1576 cm^{-1}. Ionenspray MS 560 $(M + 2)^+$, 558 (M^-).
Elementaranalyse für $C_{32}H_{31}NO_6S \times 2\ Na \times 0{,}6\ H_2O$:
Berechnet: C 62,46, H 5,29, N 2,28. Gefunden: C 62,16, H 5,15, N 1,97.

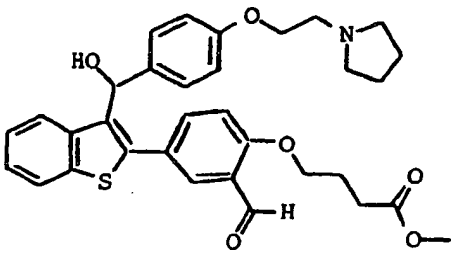
[0118] Das Methyl-4-[2-formyl-4-[3-[4-[2-(1-pyrrolidinyl)-ethoxy]benzyl]benzo[b]thiophen-2-yl]phenoxy]butyratausgangsmaterial für Teil A, oben, wird folgendermaßen hergestellt:

C. Methyl-4-(2-(1,3-dioxolan-2-yl)-4-[3-[α-hydroxy-4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]benzyl]benzo[b]thiophen-2-yl]-phenoxy]butyrat



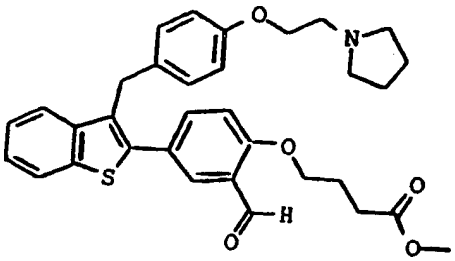
[0119] Die Titelverbindung wird mit 54% Ausbeute im wesentlichen durch die oben in Beispiel 1, Teil A, angegebenen Verfahren aus dem Phenol von Beispiel 1, Teil I, oben, und Methyl-4-chlorbutyrat, hergestellt.
FDMS 618 (M^+)
Elementaranalyse für $C_{35}H_{39}NO_7S$:
Berechnet: C 68,05, H 6,36, N 2,27. Gefunden: C 68,28, H 6,58, N 2,43.

D. Methyl-4-[2-formyl-4-[3-[α-hydroxy-4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]benzyl]benzo[b]thiophen-2-yl]phenoxy]butyrat



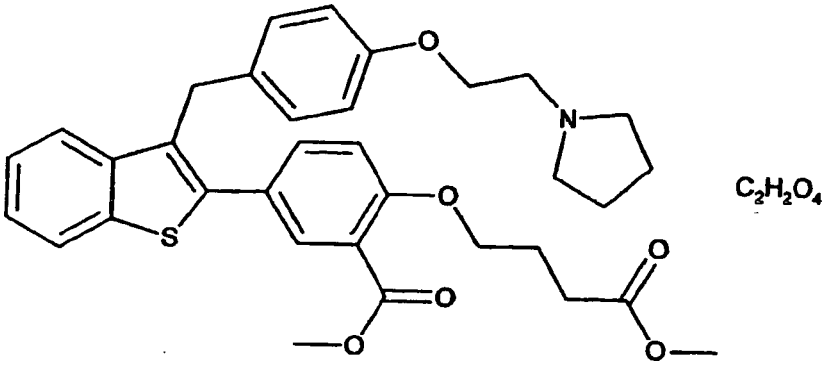
[0120] Eine Lösung aus Methyl-4-[2-(1,3-dioxolan-2-yl)-4-[3-[α-hydroxy-4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]benzyl]benzo[b]thiophen-2-yl]phenoxy]butyrat (160 mg, 0,259 mmol) in 2,6 ml AcOH/H_2O Gemisch (Verhältnis 4 : 1) wird bei Raumtemperatur für 1 h 40 min gerührt. Das Reaktionsgemisch wird dann unter verringertem Druck konzentriert und mit Benzol unter Bildung von 149 mg (0,259 mmol, quantitative Ausbeute) eines nicht ganz weißen Schaums azeotrop gemacht.
FDMS 573 (M^+)
Elementaranalyse für $C_{33}H_{35}NO_6S$:
Berechnet: C 69,09, H 6,15, N 2,44. Gefunden: C 68,84, H 5,91, N 2,57.

E. Methyl-4-[2-formyl-4-[3-[4-[2-(1-pyrrolidinyl)-ethoxy]benzyl]benzo[b]thiophen-2-yl]phenoxy]butyrat



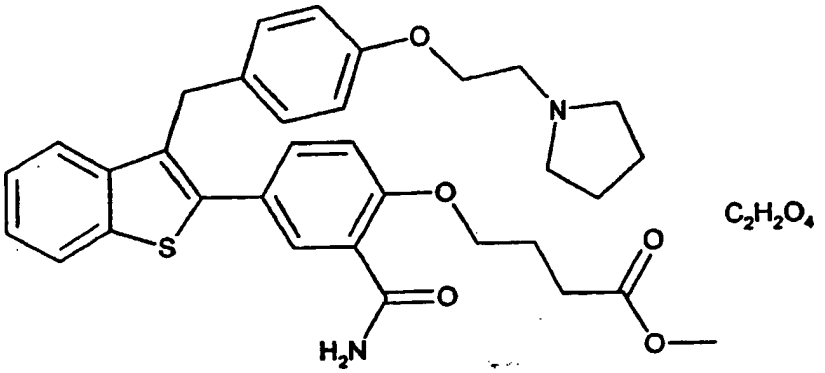
[0121] Die Titelverbindung wird mit 79% Ausbeute im wesentlichen durch die oben in Beispiel 1, Teil B, angegebenen Verfahren aus dem obigen Carbinol hergestellt.
FDMS 558 (M^+)
Elementaranalyse für $C_{33}H_{35}NO_5S$:
Berechnet: C 71,07, H 6,33, N 2,51. Gefunden: C 70,79, H 6,32, N 2,22.

Beispiel 3
Herstellung von Methyl-2-(3-carbomethoxypropoxy)-5-[3-[4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]benzyl]benzo[b]thiophen-2-yl]benzoatoxalatsalz



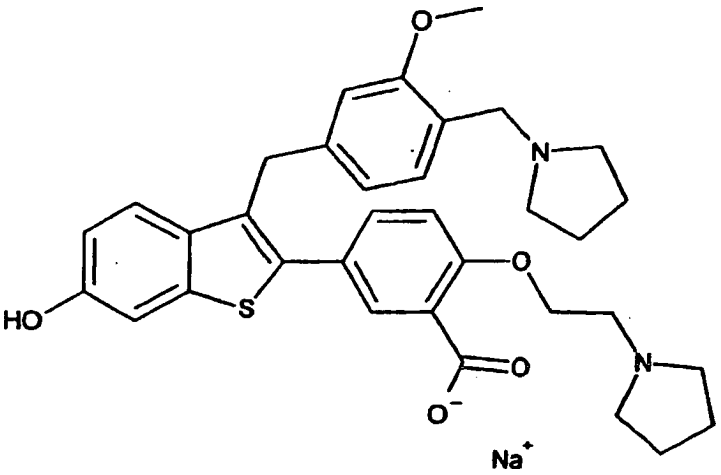
[0122] Die Titelverbindung wird mit quantitativer Ausbeute aus Methyl-2-(3-carbomethoxypropoxy)(-5-[3-[4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]benzyl]benzo[b]thiophen-2-yl]benzoat (Beispiel 2, Teil A) durch Behandlung einer Lösung des Diesters in 3 : 1 EtOAc: CH_2Cl_2 mit einer äquimolaren Menge an 0,5 M Oxalsäure in EtOAc hergestellt. Die entstehende Aufschlämmung wird bei Raumtemperatur für etwa 2 h gerührt, bevor sie im Vakuum unter Bildung des Titelprodukts als Feststoff konzentriert wird.
Ionenspray MS 588 (M^+)
Elementaranalyse für $C_{34}H_{37}NO_6S \times 0{,}84\ C_2H_2O_4$:
Berechnet: C 64,60, H 5,88, N 2,11. Gefunden: C 64,58, H 6,25, N 2,11.

Beispiel 4
Herstellung von 2-(3-Carbomethoxypropoxy)-5-[3-[4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]benzyl]benzo[b]thiophen-2-yl]benzamidoxalatsalz

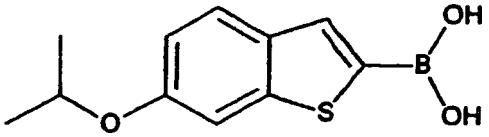


[0123] Zu einer Lösung aus 133 mg (0,238 mmol) an Methyl-4-[2-formyl-4-[3-[4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]benzyl]-benzo[b]thiophen-2-yl]phenoxy]butyrat (Beispiel 2, Teil E) in 5,0 ml an 0,5 M Ammoniak in Dioxan werden 58,2 mg (1,19 mmol) Natriumcyanid und zwei Portionen (286 mg jeweils, 2,37 mmol jeweils) an Mangan(IV)oxid nach 10 Minuten zugegeben. Die schwarze Aufschlämmung wird für 22 h bei Raumtemperatur gerührt, durch ein Kissen aus Diatomäenerde filtriert und mit THF gewaschen. Das Filtrat wird im Vakuum zur Trockne konzentriert. Der Rückstand wird dann durch Chromatographie (Silicagel, 5% [2 M Ammoniak in MeOH]/CH_2Cl_2 unter Bildung von 78,1 mg (0,136 mmol, 57%) eines weißen Schaums gereinigt. Das Oxalatsalz wird mit quantitativer Ausbeute im wesentlichen gemäß dem in Beispiel 3 beschriebenen Verfahren ausgeführt.
IR (freie Base) (KBr) 3485, 3385, 1734, 1670 cm^{-1}. Ionenspray MS 573 (M^+).
Elementaranalyse für $C_{33}H_{36}N_2O_5S \times 0{,}68\ C_2H_2O_4$:
Berechnet: C 65,10, H 5,94, N 4,42. Gefunden: C 65,05, H 6,27, N 4,61.

Beispiel 5
Herstellung von
2-[2-(1-Pyrrolidinyl)ethoxy]-5-[6-hydroxy-3-[3-methoxy-4-[(1-pyrrolidinyl)methyl]benzyl]benzo[b]thiophen-2-yl] benzoesäurenatriumsalz

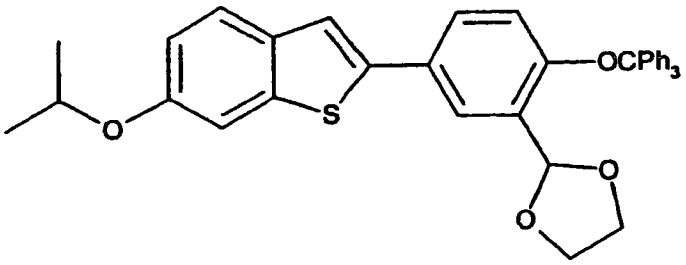


A. Herstellung von 6-Isopropoxybenzo[b]thiophen-2-borsäure



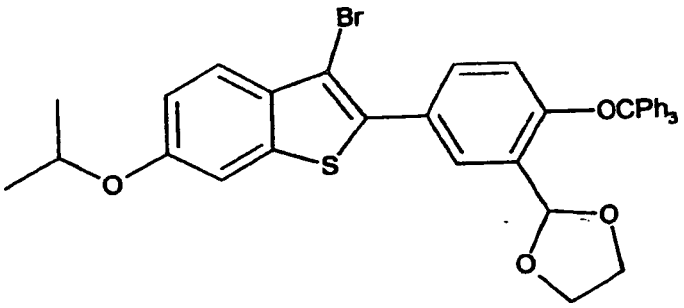
[0124] Die Titelverbindung wird mit 36% Gesamtausbeute aus 6-Isopropoxybenzothiophen im wesentlichen gemäß dem in WO 97/25033, Beispiel 1, Teil A, beschriebenen Verfahren, hergestellt.
FDMS 236 (M^+), Basispeak 192 $(M - 44)^+$.
^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 8,19 (s, 1H), 7,83 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,39 (d, J = 2,1 Hz, 1H), 7,02 (dd, J = 8,8 , 2,3 Hz, 1H), 4,66 (m, J = 6,1 Hz, 1H), 1,41 (d, J = 6,0 Hz, 6H).

B. 6-Isopropoxy-2-[4-trityloxy-3-(1,3-dioxolan-2-yl)-phenyl]benzo[b]thiophen



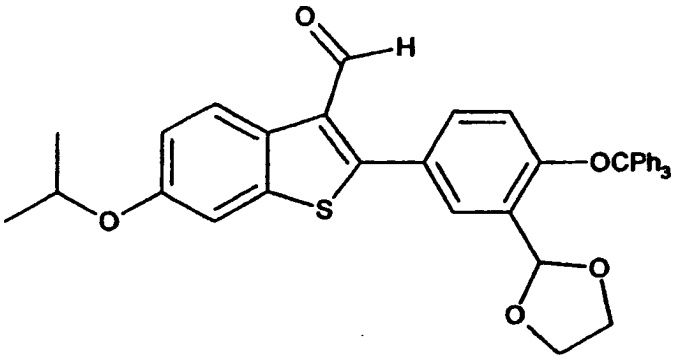
[0125] Die Titelverbindung wird mit 67% Ausbeute im wesentlichen gemäß dem in WO 97/25033 A, Beispiel 1, Teil B beschriebenen Verfahren, aus 6-Isopropoxybenzo[b]thiophen-2-borsäure (Teil A) und 2-(5-Brom-2-trityloxyphenyl)-1,3-dioxolan hergestellt.
FDMS 598 (M^+)
Elementaranalyse für $C_{39}H_{34}O_4S$:
Berechnet: C 78,23, H 5,72. Gefunden: C 78,18, H 5,67.

C. 3-Brom-6-isopropoxy-2-[4-trityloxy-3-(1,3-dioxolan-2-yl)phenyl]benzo[b]thiophen



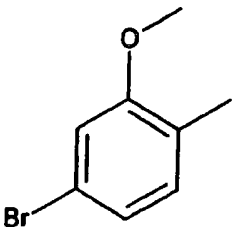
[0126] Die Titelverbindung wird mit quantitativer Ausbeute im wesentlichen durch das oben in Beispiel 1, Teil F, beschriebene Verfahren aus 6-Isopropoxy-2-[4-trityloxy-3-(1,3-dioxolan-2-yl)phenyl]benzo[b]-thiophen hergestellt.
FDMS 678 (M^+), Basispeak 243 $(M - 435)^+$.
^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 7,85 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 7,65 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,52 (d, J = 7,1 Hz, 6H), 7,33–7,21 (m, 11H), 7,01 (dd, J = 8,9, 2,3 Hz, 1H), 6,49 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 6,31 (s, 1H), 4,59 (m, J = 6,1 Hz, 1H), 4,21–4,04 (m, 4H), 1,37 (d, J = 6,0 Hz, 6H).

D. 2-[3-(1,3-Dioxolan-2-yl)-4-trityloxyphenyl]-3-formyl-6-isopropoxybenzo[b]thiophen



[0127] Die Titelverbindung wird mit 18% Ausbeute im wesentlichen durch das oben in Beispiel 1, Teil G, beschriebene Verfahren aus 3-Brom-6-isopropoxy-2-(4-trityloxy-3-(1,3-dioxolan-2-yl)phenyl]benzo[b]thiophen (Teil C) hergestellt.
FDMS 626 (M^+), Basispeak 243 $(M - 384)^+$.
^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 9,81 (s, 1H), 8,57 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 7,68 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 7,51 (d, J = 6,9 Hz, 6H), 7,33–7,23 (m, 10H), 7,05 (dd, J = 9,0, 2,5 Hz, 1H), 7,02 (dd, J = 8,8, 2,5 Hz, 1H), 6,52 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 6,28 (s, 1H), 4,61 (m, 1H), 4,18–4,06 (m, 4H), 1,37 (d, J = 6,0 Hz, 6H).

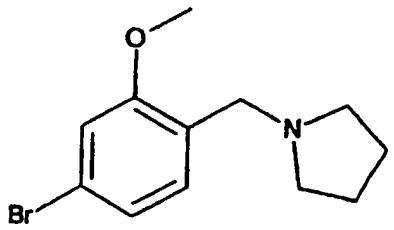
E. 3-Brom-6-methylanisol



[0128] Eine Lösung aus 5,00 g (30,1 mmol) an 3-Methoxy-4-methylbenzoesäure, die in 40 ml Thionylchlorid gelöst ist, wird bei Raumtemperatur für 3,5 Tage gerührt. Die entstehende Lösung wird im Vakuum zur Trockne eingedampft. Das übrige Thionylchlorid wird mit Benzol entfernt und als Azeotrop verwendet. Das entstehende rohe Säurechlorid wird dann unter Hochvakuum für 4 h gesetzt. Zu einer Aufschlämmung aus 4,80 g (33,1 mmol) an 1-Hydroxypyridin-2-thionnatriumsalz in 180 ml Bromtrichlormethan werden 5,56 g (33,1 mmol) des rohen 3-Methoxy-4-methylbenzoylchlorids und etwa 500 mg AIBN gelöst in 120 ml Bromtrichlormethan gegeben. Das Gemisch wird am Rückfluss für 2 h gerührt. Das Gemisch wird dann filtriert und mit CH_2Cl_2 gewaschen. Das Filtrat wird im Vakuum konzentriert. Das rohe Produkt wird durch Blitzchromatographie (Silicagel,

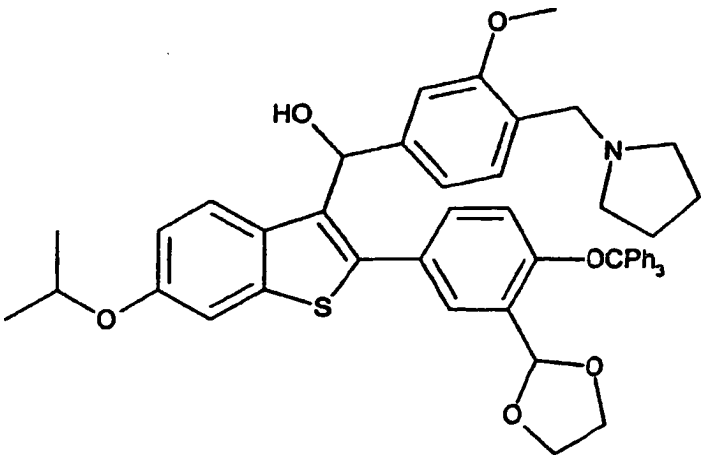
6% EtOAc in Hexan) unter Bildung von 2,86 g (14,2 mmol, 47%) als gelbes Öl gereinigt.
FDMS 200 (M^+).
Elementaranalyse für C_8H_9BrO:
Berechnet: C 47,79, H 4,51. Gefunden: C 47,50, H 4,36.

F. 1-(4-Brom-2-methoxybenzyl)pyrrolidin



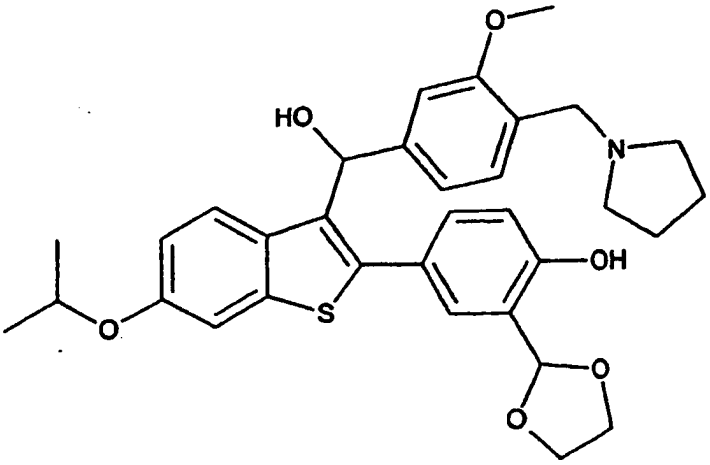
[0129] Die Titelverbindung wird mit 53% Ausbeute unter Verwendung eines ähnlichen Verfahrens wie in WO 97/25033 A, Beispiel 37, Teil A, beschrieben, aus 3-Brom-6-methylanisol (Teil E) hergestellt.
Ionenspray MS 270 (M^+).
Elementaranalyse für $C_{12}H_{16}BrNO \times 6\ H_2O \times 0{,}3\ CH_2Cl_2$:
Berechnet: C 48,20, H 5,85, N 4,57. Gefunden: C 47,87, H 5,47, N 4,96.

G.
2-[3-(1,3-Dioxolan-2-yl)-4-trityloxyphenyl]-6-isopropoxy-α-[3-methoxy-4-(1-pyrrolidinylmethyl)phenyl]benzo[b]thiophen-3-methanol



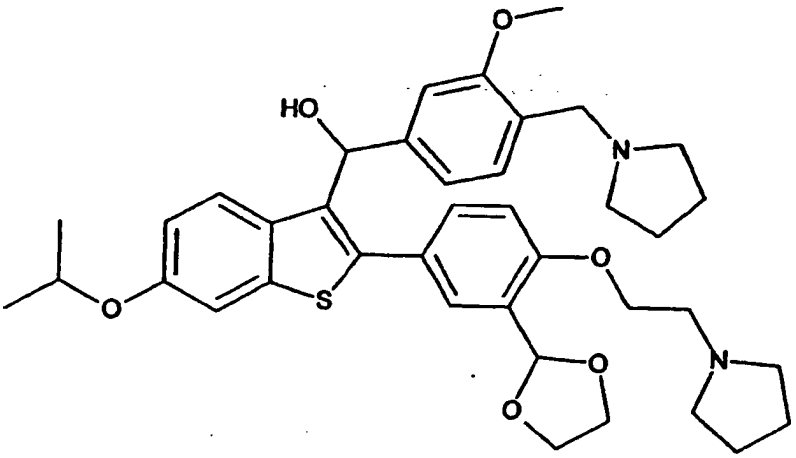
[0130] Zu einer Lösung aus 539 mg (1,99 mmol) an 1-(4-Brom-2-methoxy)benzylpyrolidin (Teil F) in 20 ml trockenem auf –78°C gekühltem THF werden 1,37 ml (2,19 mmol) an 1,6 M n-BuLi in Hexan gegeben. Die Lösung wird bei –78°C für 50 min gerührt. Zu der Lösung werden über eine Kanüle 1,27 g (2,03 mmol) an 2-[3-(1,3-Dioxolan-2-yl)-4-trityloxyphenyl]-3-formyl-6-isopropoxybenzo[b]thiophen (Teil D) in 15 ml THF gelöst, gegeben. Das Aceton/Trockeneisbad wird entfernt und das Gemisch wird für 2 h gerührt und dann werden 20 ml gesättigte NH_4Cl Lösung zugegeben um die Reaktion zu stoppen. Das Gemisch wird mit EtOAc (2 × 250 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über $MgSO_4$ getrocknet, filtriert und konzentriert. Das rohe Produkt wird durch Blitzchromatographie (Silicagel, 7% [10% konz. NH_4OH in MeOH]/CH_2Cl_2) unter Bildung von 1,4076 g (1,72 mmol, 86%) eines nicht ganz weißen Schaums gereinigt.
IR 3437 (br) cm^{-1}. FDMS 819 (M^+), 576 $(M - 243)^+$.
Elementaranalyse für $C_{52}H_{51}NO_6S \times 0{,}2\ NH_5O \times 0{,}1\ H_2O$:
Berechnet: C 75,53, H 6,36, N 2,03. Gefunden: C 75,21, H 6,37, N 2,06.

H. 2-[3-(1,3-Dioxolan-2-yl)-4-hydroxyphenyl]-6-isopropoxy-α-[3-methoxy-4-(1-pyrrolidinylmethyl)phenyl]benzo[b]thiophen-3-methanol



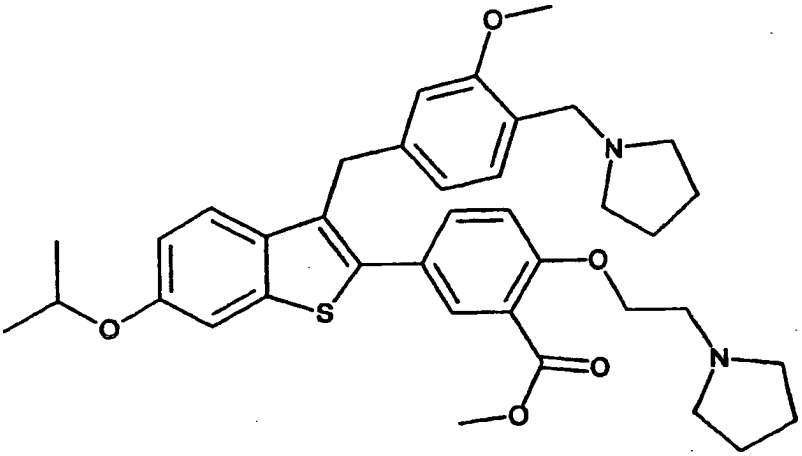
[0131] Die Titelverbindung wird mit 65% Ausbeute im wesentlichen durch das oben in Beispiel 1, Teil I, beschriebene Verfahren aus 2-[3-(1,3-Dioxolan-2-yl)-4-trityloxyphenyl]-6-isopropoxy-α-[3-methoxy-4-(1-pyrrolidinylmethyl)-phenyl]benzo[b]thiophen-3-methanol (Teil G) hergestellt.
IR 3403 (br) cm^{-1}. Ionenspray MS 576 $(M)^+$, 575 $(M - 1)^-$.
Elementaranalyse für $C_{33}N_{37}NO_6S \times 0{,}1\ NH_4OH$:
Berechnet: C 68,43, H 6,53, N 2,66. Gefunden: C 68,31, H 6,57, N 3,06.

I.
2-[3-(1,3-Dioxolan-2-yl)-4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]-phenyl]-6-isopropoxy-α-[3-methoxy-4-(1-pyrrolidinylmethyl)phenyl]-benzo[b]thiophen-3-methanol



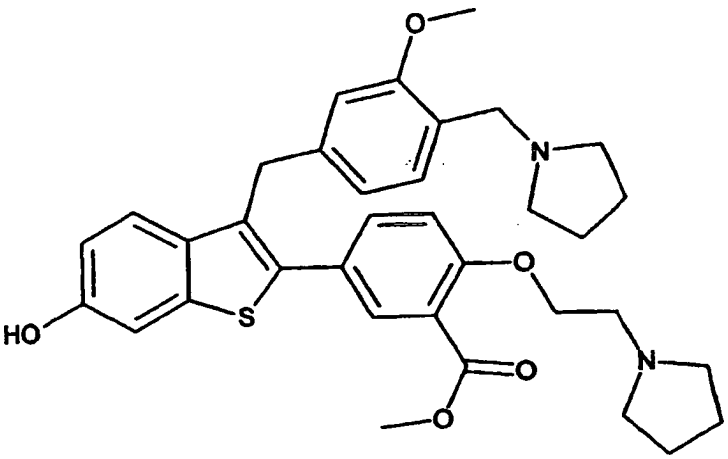
[0132] Die Titelverbindung wird mit 90% Ausbeute im wesentlichen durch das oben in Beispiel 1, Teil A, beschriebene Verfahren aus 2-[3-(1,3-Dioxolan-2-yl)-4-hydroxyphenyl]-6-isopropoxy-α-[3-methoxy-4-(1-pyrrolidinylmethyl)-phenyl]benzo[b]thiophen-3-methanol (Teil H) hergestellt.
FDMS 672 (M^+).
Elementaranalyse für $C_{39}H_{48}N_2O_6S$:
Berechnet: C 69,62, H 7,19, N 4,16. Gefunden: C 69,82, H 7,40, N 4,32.

J. Methyl-5-[6-isopropoxy-3-[3-methoxy-4-(1-pyrrolidinylmethyl)benzyl]benzo[b]thiophen-2-yl]-2-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]benzoat



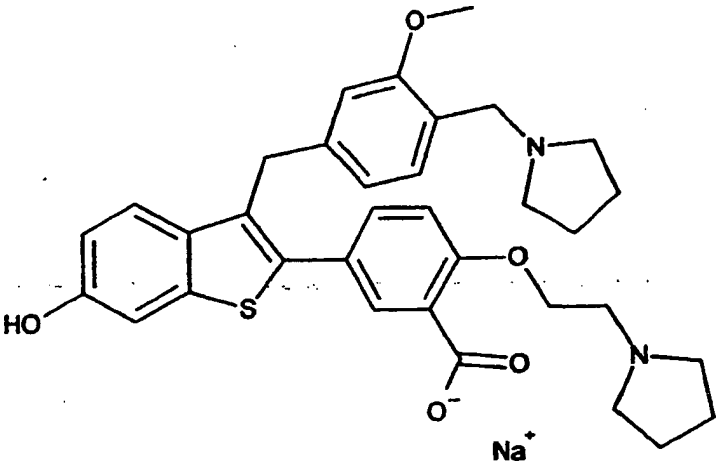
[0133] Eine Lösung die 622 mg (0,924 mmol) an 2-[3-(1,3-Dioxolan-2-yl)-4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]phenyl]-6-isopropoxy-α-[3-methoxy-4-(1-pyrrolidinylmethyl) phenyl]-benzo[b]thiophen-3-methanol (Teil I) in 9,2 ml an 4 : 1 HOAc : H_2O Gemisch enthält, wird bei Raumtemperatur für 4 Stunden gerührt. Die Lösung wird dann zur Trockne im Vakuum konzentriert und die restliche HOAc wird mit Benzol das als azeotrop verwendet wird, entfernt. Der entstehende Schaum wird dann unter verringertem Druck für 2 h unter Bildung von 581 mg (0,924 mmol, quantitative Ausbeute) des rohen Benzaldehyds gegeben. Zu einer Lösung aus 581 mg (0,9237 mmol) des obigen Benzaldehyds in 14 ml trockenem CH_2Cl_2 das auf 0°C gekühlt ist, werden 1,03 ml (6,47 mmol) Triethylsilan gefolgt von der tropfenweisen Zugabe von 0,64 ml (8,31 mmol) Trifluoressigsäure gegeben. Die Lösung wird für 2 h bei 0°C gerührt. Das Eisbad wird entfernt und die Lösung wird bei Raumtemperatur für weitere 2 h gerührt. Die Reaktion wird durch die Zugabe von 14 ml gesättigter $NaHCO_3$ Lösung gestoppt. Das Gemisch wird mit CH_2Cl_2 (2 × 75 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über $MgSO_4$ getrocknet, filtriert und im Vakuum konzentriert. Das rohe Produkt wird durch Blitzchromatographie (Silicagel, 75 : 22 : 3 THF : Hexan : Et_3N) unter Bildung von 168 mg (0,268 mmol, 29%) der Benzoesäure (erhalten durch Luftoxidation aus dem deoxygeniertem Benzaldehyd) gereinigt. Zu einer Lösung, die 168 mg (0,268 mmol) der Benzoesäure in 5 ml MeOH enthält, werden 25 Tropfen an 3 M H_2SO_4 gegeben. Die Lösung wird am Rückfluss für 4 Tage gerührt. Die Lösung wird gekühlt und zu einem Volumen von etwa 2 ml im Vakuum konzentriert. Der Rückstand wird in EtOAc verdünnt und mit 20 ml gesättigtem $NaHCO_3$ basisch gemacht. Die Phasen werden getrennt und die wässrige Phase wird mit EtOAc (1 × 30 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über $MgSO_4$ getrocknet, filtriert und im Vakuum konzentriert. Das rohe Produkt wird durch Blitzchromatographie (Silicagel, 6% [2 M NH_3 in MeOH]/CH_2Cl_2) unter Bildung von 135,3 mg (0,210 mg, 79%, 23% Gesamt aus dem Acetal) als hellbrauner Schaum gereinigt.
IR 1725 cm^{-1}. Ionenspray MS 643 (M^+), 674 (M + 31)$^-$. ^1H NMR ($CDCl_3$) δ 7,83 (d, J = 2,2 Hz, 1H), 7,46 (dd, J = 8,6, 2,5 Hz, 1H), 7,30 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 7,23 (d, J = 2,2 Hz, 1H), 7,13 (d, J = 7,3 Hz, 1H), 6,92–6,79 (m, 2H), 6,61 (d, J = 7,7 Hz, 1H), 6,57 (s, 1H), 4,54–4,45 (m, 1H), 4,18–4,10 (m, 4H), 3,76 (s, 3H), 3,62 (s, 3H), 3,57 (s, 2H), 2,90 (t, J = 6,1 Hz, 2H), 2,60–2,40 (m, 8H), 1,75–1,60 (m, 8H), 1,29 (d, J = 6,2 Hz, 6H).

K. Methyl-5-[6-hydroxy-3-[3-methoxy-4-(1-pyrrolidinylmethyl)benzyl]-2-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]benzo[b]thiophen-2-yl]benzoat



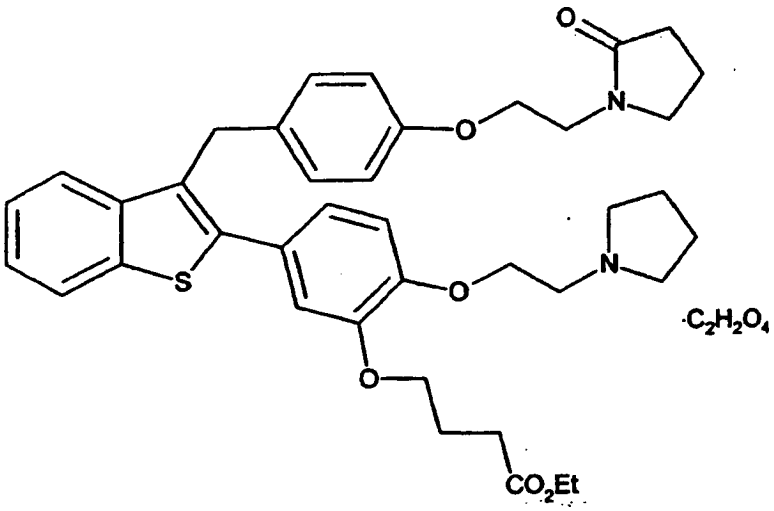
[0134] Zu einer Lösung die 86,1 mg (0,120 mmol) Methyl-5-[6-isopropoxy-3-[3-methoxy-4-(1-pyrrolidinylmethyl)-benzyl]benzo[b]thiophen-2-yl]-2-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]-benzoatdihydrochlorid (hergestellt aus der freien Base von Teil J) in 2,5 ml trockenem CH_2Cl_2 enthält, werden 0,60 ml an 1 M Bortrichlorid in CH_2Cl_2 bei 0°C gegeben. Das heterogene Gemisch wird bei 0°C für 45 min gerührt. Zu dem Gemisch werden 0,75 ml MeOH gegeben und die Lösung wird für weitere 45 min bei 0°C gerührt. Die Reaktion wird mit 3 ml gesättigter $NaHCO_3$ Lösung gestoppt und die Phasen werden getrennt. Die wässrige Phase wird mit CH_2Cl_2 (1 × 20 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über $MgSO_4$ getrocknet, filtriert und im Vakuum konzentriert. Das rohe Produkt wird durch Blitzchromatographie (Silicagel, 8% [10% konz. NH_4OH in MeOH]/CH_2Cl_2) unter Bildung von 6,5 mg (0,011 mmol, 9%) eines gelben Feststoffs gereinigt.
Ionenspray MS 601 (M^+), 599 (M – 1)
^1H NMR ($CDCl_3$) δ 7,86 (d, J = 2,3 Hz, 1H), 7,34 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 7,27 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,21 (d, J = 7,7 Hz, 1H), 7,01 (s, 1H), 6,77 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 6,68 (d, J = 8,7 Hz, 1H), 6,64 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 6,60 (s, 1H), 4,19 (t, J = 5,3 Hz, 2H), 4,10 (s, 2H), 3,84 (s, 2H), 3,81 (s, 3H), 3,60 (s, 3H), 3,04 (dist t, 2H), 2,82 (m, 8H), 1,87 (m, 8H).

L.
5-[6-Hydroxy-3-[3-methoxy-4-(1-pyrrolidinylmethyl)-benzyl]-2-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]benzo[b]thiophen-2-yl]-benzoesäurenatriumsalz

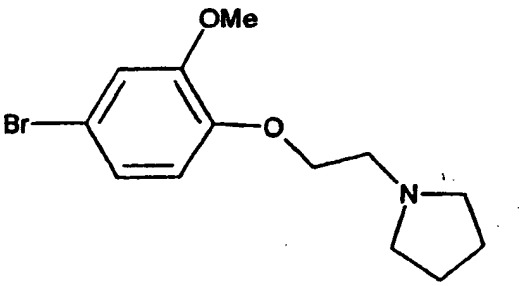


[0135] Die Titelverbindung wird mit quantitativer Ausbeute im wesentlichen durch die oben in Beispiel 1, Teil D, beschriebenen Verfahren aus Methyl-5-[6-hydroxy-3-[3-methoxy-4-(1-pyrrolidinylmethyl)benzyl]-2-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]-benzo[b]thiophen-2-yl]benzoat (Teil K) hergestellt.
Ionenspray MS 587 $(M + 1)^+$, 586 (M^-)
^1H NMR (CD_3OD) δ 7,57 (s, 1H), 7,38 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 7,35 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,18 (s, 1H), 7,11 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 7,03 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 6,76 (d, J = 7,3 Hz, 1H), 6,74 (s, 1H), 6,63 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 4,28–4,17 (m, 4H), 3,68 (s, 3H), 3,63 (s, 2H), 3,03 (m, 2H), 2,82 (m, 4H), 2,58 (m, 4H), 1,85–1,65 (m, 8H).

Beispiel 6
Herstellung von
2-[[3-(3-Ethoxycarbonyl)propoxy]-4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]phenyl]-3-(4-[2-(6-oxopyrrolidin-1-yl)-ethoxy]benzyl]benzo[b]thiophenoxalat

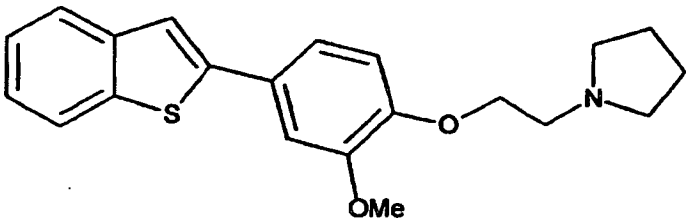


A. 4-Brom-2-methoxyphenyl-2-(1-pyrrolidinyl)ethylether



[0136] 4-Bromguaicol, (4-Brom-2-methoxyphenol: 30 g, 147,8 mmol) und 1-(2-Chlorethyl)pyrrolidin HCl (37,7 g, 221,6 mmol) werden bei 80°C in 500 ml DMF in Gegenwart von K_2CO_3 (61,3 g, 443,3 mmol) für 20 h erhitzt. Nach dem Kühlen wird das rohe Produkt filtriert und im Vakuum konzentriert. Der rohe Rückstand wird durch Blitzchromatographie (SiO_2, Gradient 0–2% TEA in EtOAc) unter Bildung von 27,7 g (92,3 mmol, 62%) der Titelverbindung als klares, farbloses Öl gereinigt.
FDMS 299 (M – 1), 301 (M + 1)
Elementaranalyse für $C_{13}H_{18}BrNO_2$:
Berechnet: C 52,01, H 6,04, N 4,67. Gefunden: C 52,24, H 5,97, N 4,62.

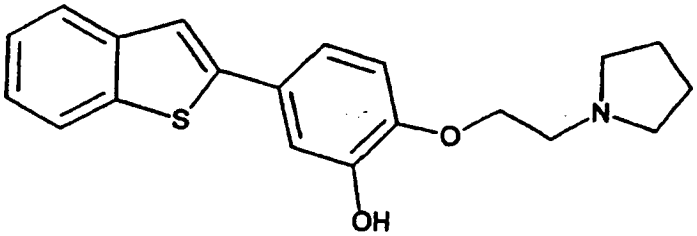
B. 2-[3-Methoxy-4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]phenyl]-benzo[b]thiophen



[0137] Eine Lösung aus Benzo[b]thiophen-2-borsäure (18 g, 101,1 mmol) und 4-Brom-2-methoxyphenyl-2-(1-pyrrolidinyl)-ethylether (27,6 g, 91,9 mmol) in 500 ml THF wird mit $Pd(PPh_3)_4$ (5 g, 4,3 mmol) und 96 ml an 2 N wässrigem Na_2CO_3 behandelt. Das entstehende Gemisch wird über Nacht auf 60°C im Dunklen erhitzt. Während dem Kühlen bei Raumtemperatur wird die organische Phase aus dem Feststoff dekantiert, der mit THF (3 × 100 ml) gewaschen wird. Die vereinigten organischen Phasen werden im Vakuum konzentriert. Eine Reinigung des rohen Rückstands durch Blitzchromatographie (SiO_2, Gradient von 0–2% TEA in EtOAc) ergibt eine quantitative Ausbeute der Titelverbindung als hellbrauner Feststoff.
FDMS 353 (M^+)

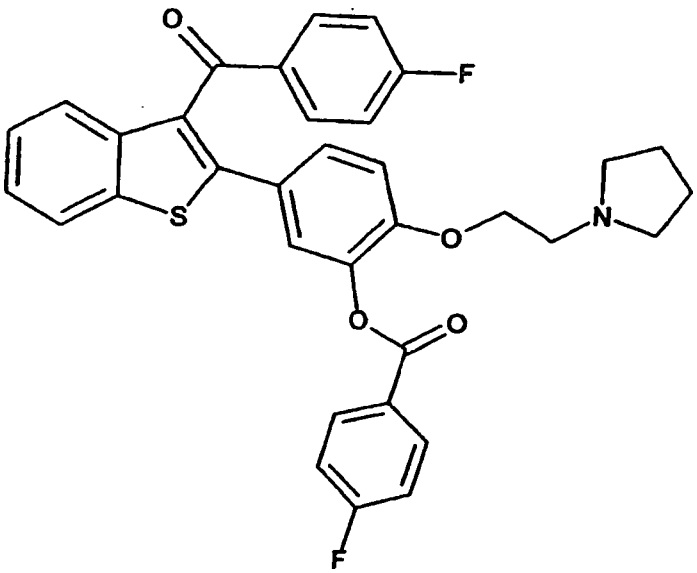
Elementaranalyse für $C_{21}H_{23}NO_2S \times 0{,}2\ H_2O$:
Berechnet: C 70,63, H 6,61, N 3,92. Gefunden: C 70,69, H 6,52, N 4,12.

C. 2-[3-Hydroxy-4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]phenyl]-benzo[b]thiophen



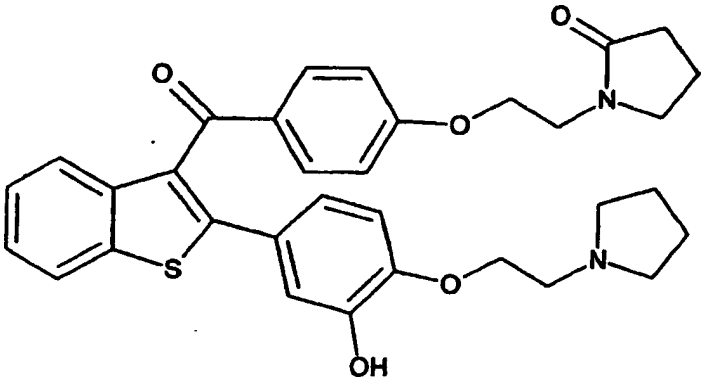
[0138] Eine 0°C Lösung aus 2-[3-Methoxy-4-[2-(1-pyrrolidinyl)-ethoxy]phenyl]benzo[b]thiophen (32 g, 91,9 mmol) in 500 ml Dichlorethan wird mit BBr_3 (92 g, 369,6 mmol) tropfenweise über einen Tropftrichter behandelt. Nach 1,5 Stunden wird das Reaktionsgemisch langsam in 1 l gesättigtes wässriges NaH-CO_3/Eis gegossen. Die Phasen werden getrennt und die wässrige Phase wird mit 5% MeOH/$CHCl_3$ (5 × 200 ml) extrahiert. Der braune feste Borkomplex wird in 200 ml an 1 N HCl gerührt. Die saure Lösung wird mit NaOH neutralisiert und mit EtOAc (4 × 150 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über K_2CO_3 getrocknet, filtriert und im Vakuum konzentriert. Der rohe Rückstand wird durch Blitzchromatographie (SiO_2, 1% MeOH in $CHCl_3$, gesättigt mit NH_4OH) unter Bildung von 8,01 g (23,7 mmol, 26%) des Titelphenols als nicht ganz weißer Feststoff gereinigt.
ISMS 338 (M – 1), 340 (M + 1)
Elementaranalyse für $C_{20}H_{21}NO_2S \times 0{,}5\ H_2O$:
Berechnet: C 68,94, H 6,36, N 4,02. Gefunden: C 68,88, H 6,23, N 4,20.

D. 4-Fluorphenyl-2-[3-(4-fluorbenzoyloxy)-4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]phenyl]benzo[b]thiophen-3-ylketon



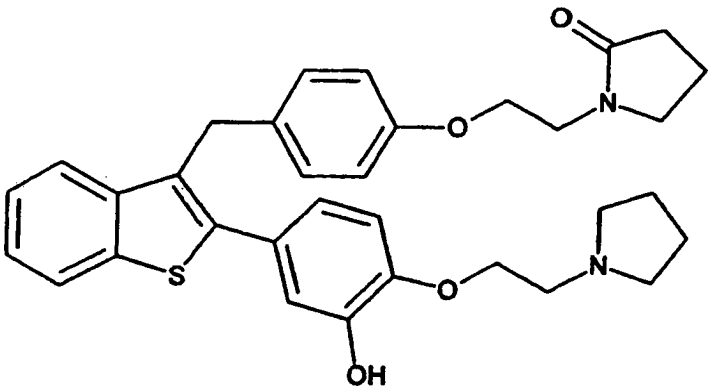
[0139] Eine 0°C Lösung aus 2-[3-Hydroxy-4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]phenyl]benzo[b]thiophen (6,7 g, 19,8 mmol) in 200 ml Dichlorethan wird mit 4-Fluorbenzoylchlorid (2,6 ml, 21,8 mmol) tropfenweise behandelt. Es bildet sich ein weißer Niederschlag. Das Reaktionsgemisch wird auf Umgebungstemperatur erwärmt und für 6,5 h gerührt. Der Zwischenproduktester wird auf 0°C gekühlt und mit 4-Fluorbenzoylchlorid (2,6 ml, 21,8 mmol) und $TiCl_4$ (8,7 ml, 79,2 mmol) behandelt. Das Reaktionsgemisch kann sich auf Umgebungstemperatur erwärmen. Nach 5 h wird das Reaktionsgemisch langsam in 200 ml gesättigte wässrige $NaHCO_3$ gegossen. Die Phasen werden getrennt und die wässrige Phase wird mit $CHCl_3$ (4 × 100 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über K_2CO_3 getrocknet, filtriert und im Vakuum konzentriert. Eine Reinigung des rohen Rückstands durch PrepLC (SiO_2, Gradient von 100 $CHCl_3$ bis 0,5% MeOH in $CHCl_3$, gesättigt mit NH_4OH) ergibt 7,5 g (12,9 mmol, 65%) der Titelverbindung als gelben Schaum.
ISMS 584 (M + 1).
Elementaranalyse für $C_{34}H_{27}F_2NO_4S \times H_2O$:
Berechnet: C 67,87, H 4,86, N 2,33. Gefunden: C 67,87, H 4,82, N 2,41.

E. 2-[3-Hydroxy-4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]phenyl]-benzo[b]thiophen-3-yl-4-[2-(2-oxopyrrolidin-1-yl)ethoxy]-phenyl]keton



[0140] Eine 0°C Lösung aus 4-Fluorphenyl-2-[3-(4-fluorbenzoyloxy)-4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]phenyl]benzo[b]thiophen-3-ylketon (7,0 g, 12,0 mmol) und NaH (1,1 g, 26,4 mmol) in 60 ml DMF wird mit 1-(2-Hydroxyethyl)pyrrolidin-2-on (2,85 ml, 25,2 mmol) tropfenweise behandelt. Nach 30 min wird das Reaktionsgemisch auf Umgebungstemperatur erwärmt und kann über Nacht rühren. Das Reaktionsgemisch wird in 150 ml Kochsalzlösung gegossen und die wässrige Phase wird mit EtOAc (4 × 100 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit H_2O (2 × 300 ml) gewaschen, über K_2CO_3 getrocknet, filtriert und im Vakuum konzentriert. Eine Reinigung des rohen Rückstands durch PrepLC (SiO_2, Gradient von 0–2% MeOH/$CHCl_3$, gesättigt mit NH_4OH) ergibt 5,35 g (9,37 mmol, 78%) der Titelverbindung. Eine kleine Probe des Titelketons wird in das entsprechende Oxalatsalz umgewandelt.
FDMS 571 (M + 1).
Elementaranalyse für $C_{33}H_{34}N_2O_5S \times C_2H_2O_4 \times 0{,}1\ H_2O$:
Berechnet: C 63,45, H 5,51, N 4,23. Gefunden: C 63,18, H 5,87, N 4,62.

F. 2-[3-Hydroxy-4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]phenyl]-3-[2-(2-oxopyrrolidin-1-yl)ethoxy]benzyl]benzo[b]thiophen



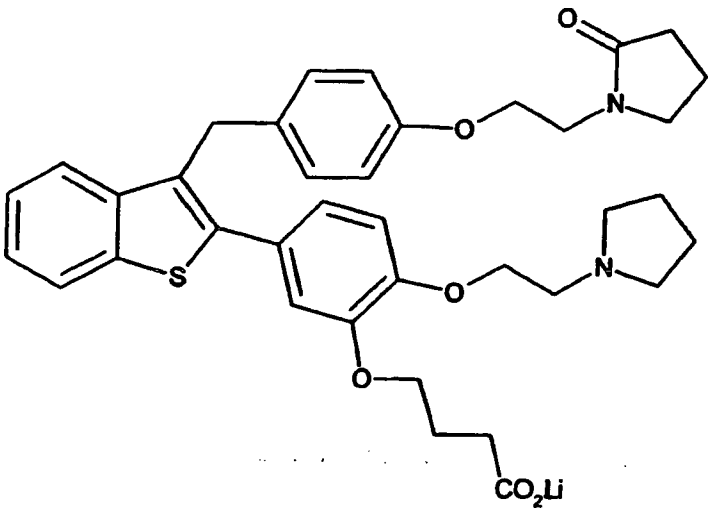
[0141] Eine –35°C Lösung aus 2-[3-Hydroxy-4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]phenyl]benzo[b]thiophen-3-yl-4-[2-(2-oxopyrrolidin-1-yl)ethoxy]phenyl]keton (5,0 g, 8,76 mmol) in 50 ml THF wird mit LAN (1 M in THF, 8,8 ml, 8,76 mmol) tropfenweise behandelt. Nach 3 h wird das Reaktionsgemisch kalt mit 10 ml H_2O gestoppt. EtOAc und gesättigtes wässriges Rochelle's Salz (50 ml jeweils) werden zugegeben Die Phasen werden getrennt und die wässrige Phase wird mit EtOAc (4 × 50 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über K_2CO_3 getrocknet, filtriert und im Vakuum konzentriert. Eine Reinigung des rohen Rückstands durch PrepLC (SiO_2, Gradient von 0,5–1% MeOH/$CHCl_3$, gesättigt mit NH_4OH) ergibt 4,0 g des Zwischenproduktalkohols, der sofort in 50 ml Dichlorethan gelöst wird. Die entstehende Lösung wird mit Et_3SIH (9,8 ml, 61,3 mmol) behandelt. Während dem Kühlen auf 0°C wird TFA (6,7 ml, 87,6 mmol) tropfenweise zugegeben. Nach 1 h wird das Reaktionsgemisch in 150 ml gesättigtes wässriges $NaHCO_3$ gegossen. Die Phasen werden getrennt und die wässrige Phase wird mit $CHCl_3$ (3 × 50 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über K_2CO_3 getrocknet, filtriert und im Vakuum konzentriert. Eine Reinigung des rohen Rückstands durch Blitzchromatographie (SiO_2, Gradient von 1–2 MeOH/$CHCl_3$, gesättigt mit NH_4OH) ergibt 3,3 g (5,93 mmol, 68%) der Titelverbindung, von der eine kleine Probe in das entsprechende Oxalatsalz umgewandelt wird.
FDMS 557 (M + 1)
Elementaranalyse für $C_{33}H_{36}N_2O_4 \times C_2H_2O_4$:

Berechnet: C 65,00, H 5,92, N 4,33. Gefunden: C 64,73, H 6,13, N 4,54.

G.
2-[3-(3-Ethoxycarbonyl)propoxy]-4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]phenyl]-3-[4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]phenyl]-3-[4-[2-(2-oxopyrrolidin-1-yl)ethoxy]benzyl]benzo[b]thiophenoxalat

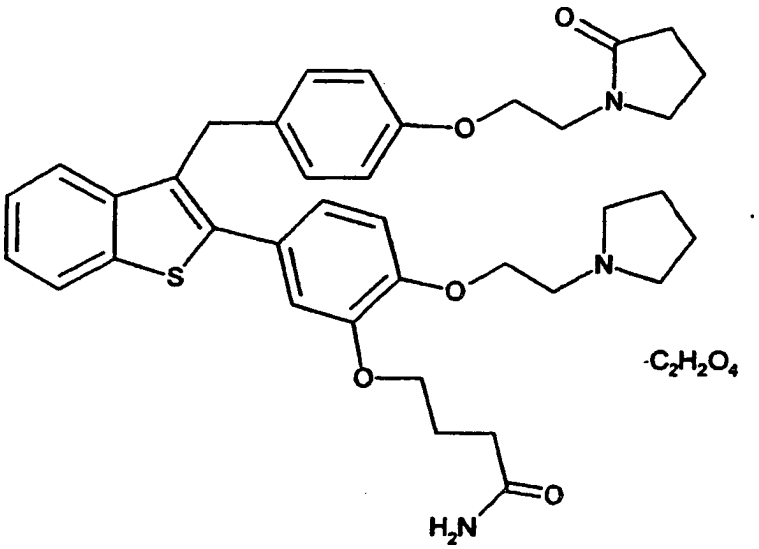
[0142] Eine Aufschlämmung aus 2-[3-Hydroxy-4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]phenyl]-3-[2-(2-oxopyrrolidin-1-yl)ethoxy]benzyl]benzo[b]thiophen (1,0 g, 1,8 mmol), Ethyl-4-brombutyrat (0,285 ml, 2,0 mmol) und Cs_2CO_3 (1,8 g, 5,5 mmol) in 10 ml DMF wird bei 80°C für 3 h erhitzt. EtOAc und H_2O (30 ml jeweils) werden zugegeben Die Phasen werden getrennt und die wässrige Phase wird mit EtOAc (2 × 50 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit H_2O (3 × 50 ml) gewaschen, über K_2CO_3 getrocknet, filtriert und im Vakuum konzentriert. Eine Reinigung des rohen Rückstands durch Radialchromatographie (SiO_2, Gradient 1–2% MeOH/$CHCl_3$, gesättigt mit NH_4OH) ergibt 1,0 g (1,49 mmol, 83%) der Titelverbindung, von der eine kleine Probe in das Oxalatsalz umgewandelt wird.
FDMS 671 (M + 1).
Elementaranalyse für $C_{39}H_{46}N_2O_6S \times 0{,}6\ C_2H_2O_4 \times 1{,}7\ H_2O$:
Berechnet: C 63,91, H 6,75, N 3,71. Gefunden: C 63,51, H 6,42, N 4,10.

Beispiel 7
Herstellung von
2-[3-(3-Carboxypropoxy)-4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]phenyl]-3-[4-[2-(2-oxopyrrolidin-1-yl)ethoxy]-benzyl]benzo[b]thiophenlithiumsalz



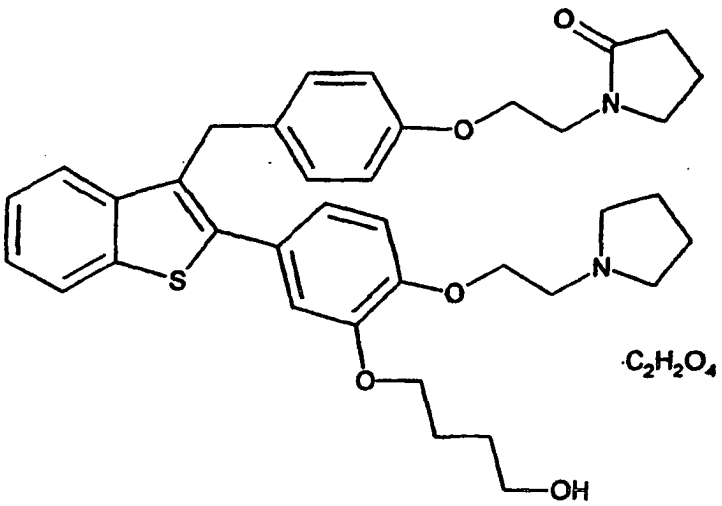
[0143] Eine Lösung aus 2-[[3-(3-Ethoxycarbonyl)propoxy]-4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]phenyl]-3-[4-[2-(2-oxopyrrolidin-1-yl)ethoxy]benzyl]benzo[b]thiophen (Beispiel 6, Teil G, 300 mg, 0,447 mmol) in 5 ml THF/MeOH/H_2O (3 : 1 : 1) wird mit LiOH (11 mg, 0,459 mmol) behandelt. Nach 6 h wird das Reaktionsgemisch im Vakuum zu einem weißen Schaum konzentriert. Der Rückstand wird in 2 ml H_2O gelöst und über Nacht unter Bildung von 281 mg (0,433 mmol, 97%) des Titellithiumsalzes gefriergetrocknet.
FDMS 649 (M + 1 + Li), 655 (M + 1 + 2Li)
Elementaranalyse für $C_{37}H_{41}LiN_2O_6S$:
Berechnet: C 68,50, H 6,37, N 4,32. Gefunden: C 68,22, H 6,21, N 4,17.

Beispiel 8
Herstellung von
2-[3-(4-Amino-4-oxobutoxy)-4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]phenyl]-3-[4-[2-(2-oxopyrrolidin-1-yl)ethoxy]-benzyl]benzo[b]thiophenoxalat



[0144] Eine 0°C Aufschlämmung an NH_4Cl (0,785 ml, 1,57 mmol) in 5 ml Toluol wird mit Me_3Al (2 M in THF, 0,785 ml, 1,57 mmol) tropfenweise über eine Spritze behandelt. Das entstehende Gemisch kann sich auf Umgebungstemperatur erwärmen und wird für 45 Minuten gerührt. Eine Lösung aus 2-[[3-(3-Ethoxycarbonyl)propoxy]-4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]phenyl]-3-[4-[2-(2-oxopyrrolidin-1-yl)ethoxy]benzyl]benzo[b]thiophen (Beispiel 6, Teil G, 300 mg, 0,447 mmol) in 5 ml Toluol wird zugegeben und die Reaktionstemperatur wird auf 50°C erhöht. Nach 4 h wird das Reaktionsgemisch auf Umgebungstemperatur gekühlt, mit 5 ml an 0,1 N HCl gestoppt und mit 0,2 N NaOH basisch gemacht. Die Phasen werden getrennt und die wässrige Phase wird mit $CHCl_3$ (3 × 25 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über K_2CO_3 getrocknet, filtriert und im Vakuum konzentriert. Eine Reinigung des rohen Rückstands durch Radialchromatographie (SiO_2, Gradient von 1–2% MeOH/$CHCl_3$, gesättigt mit NH_4OH) ergibt 119 mg (0,185 mmol, 41%) der Titelverbindung, die in das entsprechende Oxalatsalz umgewandelt wird.
ISMS 642 (M + 1).
Elementaranalyse für $C_{37}H_{43}N_3O_5S \times C_2H_2O_4 \times 0{,}1\ H_2O$:
Berechnet: C 62,47, H 6,32, N 5,60. Gefunden: C 62,54, H 6,35, N 5,46.

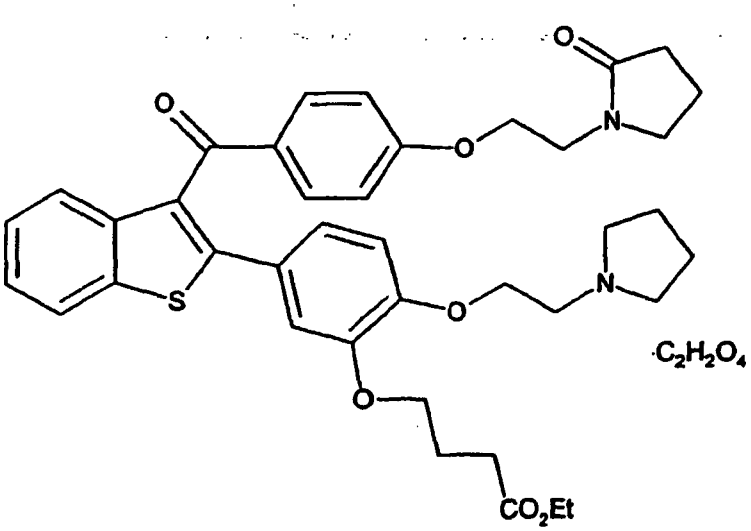
Beispiel 9
Herstellung von 2-[3-(4-Hydroxybutoxy)-4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]phenyl)-3-[4-[2-(2-oxopyrrolidin-1-yl)ethoxy]-benzyl]benzo[b]thiophenoxalat



[0145] Eine –10°C Lösung aus 2-[[3-(3-Ethoxycarbonyl)propoxy]-4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]phenyl]-3-[4-[2-(2-oxopyrrolidin-1-yl)ethoxy]benz

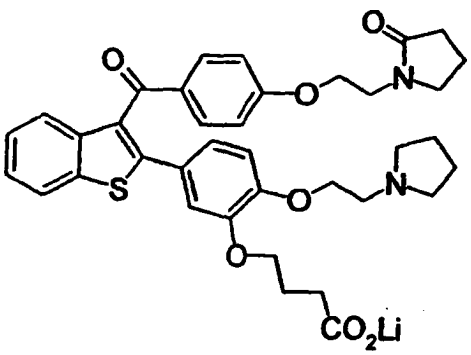
yl)benzo[b]thiophen (Beispiel 6, Teil G, 180 mg, 0,268 mmol) in 5 ml THF wird mit LAH (1 M in THF, 0,27 ml, 0,268 mmol) tropfenweise behandelt. Nach 2 h wird das Reaktionsgemisch kalt mit 1 ml H_2O gestoppt. EtOAc und gesättigtes wässriges Rochelle's Salz (20 ml jeweils) werden zugegeben Die Phasen werden getrennt und die wässrige Phase wird mit EtOAc (2 × 20 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über K_2CO_3 getrocknet, filtriert und im Vakuum konzentriert. Eine Reinigung des rohen Rückstands durch Radialchromatographie (SiO_2, Gradient von 1–3% MeOH/$CHCl_3$, gesättigt mit NH_4OH) ergibt 38 mg (0,060 mmol, 23%) der Titelverbindung, die in das entsprechende Oxalatsalz umgewandelt wird.
ISMS: 629 (M + 1)
Elementaranalyse für $C_{37}H_{44}O_5S \times 1{,}5\ C_2H_2O_4 \times 1{,}5\ H_2O$:
Berechnet: C 60,74, H 6,37, N 3,54. Gefunden: C 60,59, H 6,23, N 3,75.

Beispiel 10
Herstellung von
2-[3-(3-Ethoxycarbonyl)propoxy]-4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]phenyl]benzo[b]thiophen-3-yl-4-[2-(2-oxopyrrolidin-1-yl)ethoxy]phenyl]ketonoxalat



[0146] Die Titelverbindung wird mit 91% Ausbeute aus 2-[3-Hydroxy-4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]phenyl]benzo[b]thiophen-3-yl-4-[2-(2-oxopyrrolidin-1-yl)ethoxy]phenyl]keton (Beispiel 6, Teil E) gemäß dem in Beispiel 6, Teil G, beschriebenen Verfahren hergestellt.
FDMS: 685 (M + 1)
FAB HRMS berechnet für $C_{39}H_{45}N_2O_7S$: 685,2948. Gefunden: 685,2952 (M + 1). IR (KBr) 3446 (br), 1730, 1656, 1600.

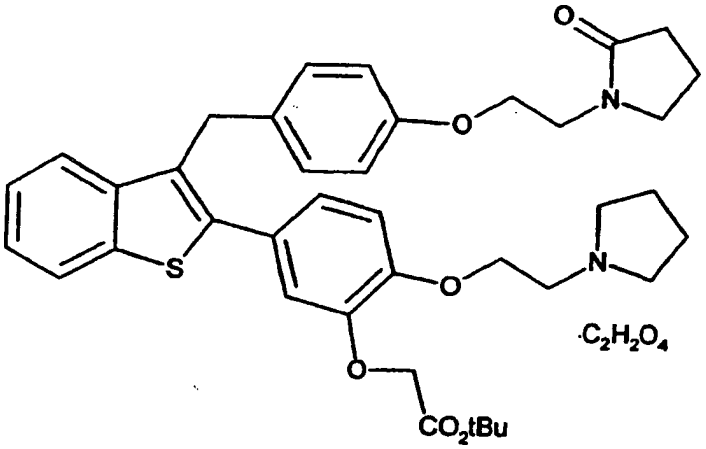
Beispiel 11
Herstellung von
2-[3-(3-Carboxypropoxy)-4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]phenyl]-benzo[b]thiophen-3-yl-4-[2-(2-oxopyrrolidin-1-yl)ethoxy]phenyl]ketonlithiumsalz



[0147] Die Titelverbindung wird mit 90% Ausbeute aus

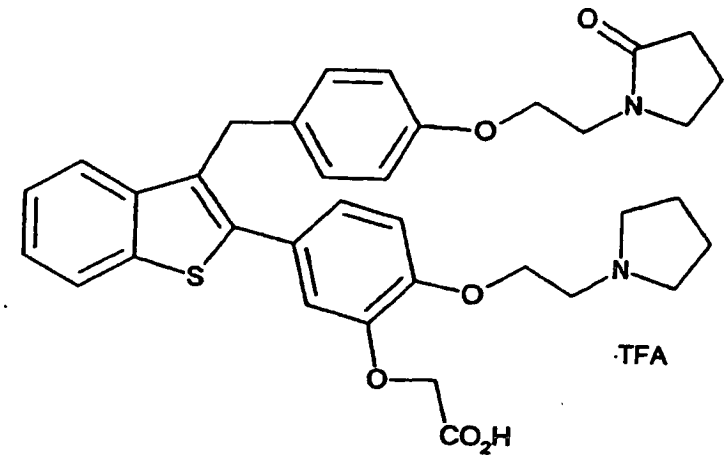
2-[[3-(3-Ethoxycarbonyl)propoxy]-4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]phenyl]-benzo[b]thiophen-3-yl-4-[2-(2-oxopyrrolidin-1-yl)ethoxy]phenyl]keton (Beispiel 10) gemäß dem in Beispiel 7 beschriebenen Verfahren hergestellt.
FDMS 663 (M + Li).
Elementaranalyse für $C_{37}H_{39}LiN_2O_7S \times 2\ H_2O$:
Berechnet: C 63,60, H 6,20, N 4,01. Gefunden: C 63,82, H 6,03, N 4,11.

Beispiel 12
Herstellung von
2-[3-t-Butoxycarbonylmethoxy-4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]phenyl]-3-[4-[2-(2-oxopyrrolidin-1-yl)ethoxy]-benzyl]benzo[b]thiophenoxalat



[0148] Die Titelverbindung wird mit 86% Ausbeute aus 2-[3-Hydroxy-4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]phenyl]-3-[2-(2-oxo-pyrrolidin-1-yl)ethoxy]benzyl]benzo[b]thiophen (Beispiel 6, Teil F) und t-Butylbromacetat durch ein Verfahren hergestellt, das zu dem in Beispiel 6, Teil G, beschriebenen ähnlich ist.
FDMS 671 (M + 1).
Elementaranalyse für $C_{39}H_{46}N_2O_6S \times 0{,}5\ C_2H_2O_4$:
Berechnet: C 67,11, H 6,62, N 3,91. Gefunden: C 66,77, H 6,94, N 3,80.

Beispiel 13
Herstellung von
2-[3-Carbomethoxy-4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]phenyl]-3-[4-[2-(2-oxopyrrolidin-1-yl)ethoxy]-benzyl]benzo[b]thiophentrifluoracetat

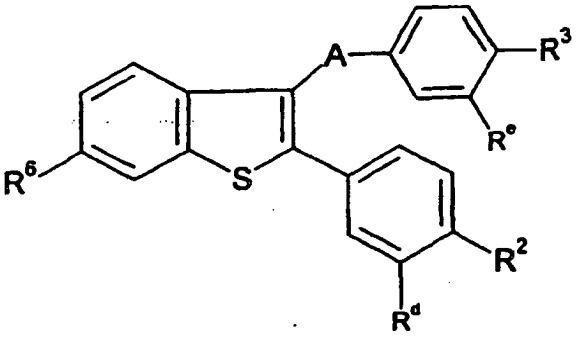


[0149] Eine Lösung aus 2-[3-t-Butoxycarbonylmethoxy-4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]phenyl]-3-[4-[2-(2-oxopyrrolidin-1-yl)-ethoxy]benzyl]benzo[b]thiophen (Beispiel 12, 250 mg, 0,374 mmol) in 2 ml Anisol wird mit 5 ml TFA tropfenweise behandelt. Nach dem Rühren für 2,5 Tage wird das Reaktionsgemisch in 15 ml H_2O gegossen. Die wässrige Phase wird mit EtOAc (2 × 25 ml) extrahiert und im Vakuum konzentriert. Der Rückstand wird in 2 ml H_2O gelöst und unter Bildung von 205 mg (0,281 mmol, 75%) des Titelsalzes als hygroskoper weißer Feststoff gefriergetrocknet.
FDMS 615 (M + 1)

Elementaranalyse für $C_{35}H_{38}N_2O_6S \times CF_3CO_2H \times 2{,}5\ H_2O$:
Berechnet: C 57,43, H 5,73, N 3,62. Gefunden: C 57,03, H 5,36, N 3,84.

Patentansprüche

1. Verbindung der Formel I oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz hiervon



I

worin
A für Carbonyl oder Methylen steht,
R^d für $-[O-(CH_2)_d]_c-R^c$ steht, worin c für 0 oder 1 steht, d für 1, 2 oder 3 steht und R^c für Carboxy, C_1-C_4 Alkoxycarbonyl, Hydroxymethyl oder Carbamoyl steht, mit der Maßgabe, dass wenn c für 0 steht, R^c dann für Carboxy, C_1-C_4 Alkoxycarbonyl oder Carbamoyl steht, oder
R^d für $-[O-(CH_2)_d]_c-R^c$ steht, worin c für 1 steht, d für 1, 2 oder 3 steht und R^c für Carboxy, C_1-C_4 Alkoxycarbonyl, Hydroxymethyl oder Carbamoyl steht,
R^e für Wasserstoff Methyl, Methoxy oder Halogen steht,
R^2 für R^{2a} oder R^{2b} steht, worin
R^{2a} für $-X^2-(CH_2)_n-R^f$ steht, worin X^2 für eine direkte Bindung, Methylen oder O steht, n für 1, 2 oder 3 steht und R^f für 5-Tetrazolyl, Carboxy, C_1-C_4 Alkoxycarbonyl oder Hydroxymethyl steht,
R^{2b} für $-X^2-(CH_2)_m-NR^aR^b$ steht, worin X^2 für eine direkte Bindung, Methylen oder O steht, m für 1, 2 oder 3 steht, mit der Maßgabe, dass wenn m für 1 steht, X^2 dann für eine direkte Bindung steht und R^a und R^b unabhängig für Wasserstoff oder C_1-C_3 Alkyl stehen oder die Gruppe NR^aR^b für Pyrrolidino, Piperidino oder Morpholino steht,
R^3 für R^{3a} oder R^{3b} steht, worin
R^{3a} für 2-(2-Oxopyrolidin-1-yl)ethoxy steht,
mit der Maßgabe, dass R^2 für R^{2b} steht, wenn R^3 für R^{3a} steht,
R^{3b} für $-X^3-(CH_2)_s-NR^sR^t$ steht, worin X^3 für eine direkte Bindung, Methylen oder O steht, s für 1 oder 2 steht, mit der Maßgabe, dass wenn s für 1 steht, X^3 dann für eine direkte Bindung steht und R^s und R^t unabhängig für Wasserstoff oder C_1-C_3 Alkyl stehen oder die Gruppe NR^sR^t für Pyrrolidino, Piperidino oder Morpholino steht, und
R^6 für Wasserstoff, Hydroxy oder Methoxy steht.

2. Verbindung oder Salz hiervon nach Anspruch 1, worin C_1-C_3 Alkyl für Methyl, Ethyl, Propyl oder Isopropyl steht, C_1-C_4 Alkoxy für Methoxy, Ethoxy, Propoxy, Isopropoxy, Butoxy oder tert-Butoxy steht und Halogen für Fluor, Chlor, Brom oder Iod steht.

3. Verbindung oder Salz hiervon nach Anspruch 1 oder 2, worin A für Carbonyl oder Methylen steht,
R^d für Carboxy, Methoxycarbonyl, Carbamoyl, 3-(Ethoxycarbonyl)propoxy, 3-Carboxypropoxy, 4-Amino-4-oxobutoxy, 4-Hydroxybutoxy, t-Butoxycarbonylmethoxy oder Carboxymethoxy steht,
R^e für Wasserstoff oder Methoxy steht,
R^2 für 2-(1-Pyrrolidinyl)ethoxy, 3-Carboxypropoxy oder 3-Methoxycarbonylpropoxy steht,
R^3 für 2-(1-Pyrrolidinyl)ethoxy, 1-Pyrrolidinylmethyl oder 2-(2-Oxopyrrolidin-1-yl)ethoxy steht, und
R^6 für Wasserstoff oder Hydroxy steht.

4. Verbindung oder Salz hiervon nach einem der Ansprüche 1 bis 3, worin R^2 für R^{2a} steht.

5. Verbindung oder Salz hiervon nach einem der Ansprüche 1 bis 3, worin R^2 für R^{2b} steht.

6. Verbindung oder Salz hiervon nach einem der Ansprüche 1, 3 oder 5, worin R^3 für R^{3a} steht.

7. Verbindung oder Salz hiervon nach einem der Ansprüche 1, 3 oder 5, worin R^2 für R^{2b} steht und R^3 für

R^{3b} steht.

8. Verbindung oder Salz hiervon nach einem der Ansprüche 1 bis 3 und 5, worin R^d für Methoxycarbonyl steht, R^e für Wasserstoff steht und R^3 für 2-(2-Oxopyrrolidin-1-yl)ethoxy steht.

9. Verbindung nach Anspruch 1, die 2-[3-Methoxycarbonyl-4-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy)phenyl]-3-[4-[2-(2-oxopyrrolidin-1-yl)ethoxy]benzyl]benzo[b]thiophen oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz hiervon ist.

10. Pharmazeutisch annehmbares Salz einer Verbindung der Formel I nach einem der Ansprüche 1 bis 10, das ein Säureadditionssalz ist, das mit einer Säure hergestellt wurde, die ein pharmazeutisch annehmbares Anion liefert oder für eine Verbindung, die einen sauren Rest enthält, ein Salz ist, das mit einer Base hergestellt wurde, die ein pharmazeutisch annehmbares Kation liefert.

11. Pharmazeutische Formulierung, die eine Verbindung der Formel I oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz hiervon nach einem der obigen Ansprüche 1 bis 11 zusammen mit einem pharmazeutisch annehmbaren Träger, Verdünnungsmittel oder Hilfsstoff enthält.

12. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel I oder eines pharmazeutisch annehmbaren Salzes hiervon nach Anspruch 1, ausgewählt aus
(A) für eine Verbindung der Formel I, worin R^c für C_1-C_4 Alkoxycarbonyl steht, oxidative Veresterung einer entsprechenden Verbindung der Formel I, worin R^c für Formyl steht, unter Verwendung eines Oxidationsmittels und des entsprechenden C_1-C_4 Alkanols,
(B) für eine Verbindung der Formel I, worin R^c für Carbamoyl steht, oxidative Amidierung einer entsprechenden Verbindung der Formel I, worin R^c für Formyl steht, mit einem Oxidationsmittel und Ammoniak,
(C) für eine Verbindung der Formel I, worin R^c für Carboxy steht, Oxidation der Formylgruppe einer entsprechenden Verbindung der Formel I, worin R^c für Formyl steht,
(D) für eine Verbindung der Formel I, worin R^c für C_1-C_4 Alkoxycarbonyl steht, Veresterung der Carboxygruppe einer entsprechenden Verbindung der Formel I, worin R^c für Carboxy steht,
(E) für eine Verbindung der Formel I, worin R^d für -O-$(CH_2)_d$-R^c steht, Alkylierung der Hydroxygruppe einer entsprechenden Verbindung der Formel I, worin R^d für Hydroxy steht, mittels eines Alkylierungsmittels der Formel X-$(CH_2)_d$-R^c oder eines geschützten Derivats hiervon, worin X für eine herkömmliche Abgangsgruppe steht,
(F) für eine Verbindung der Formel I, worin R^c für Carbamoyl steht, Amidierung der Säure oder eines aktivierten Derivats hiervon einer entsprechenden Verbindung der Formel I, worin R^c für Carboxy steht,
(G) für eine Verbindung der Formel I, worin R^c für Hydroxymethyl steht, Reduktion des Esters einer entsprechenden Verbindung der Formel I, worin R^c für C_1-C_4 Alkoxycarbonyl steht,
wonach in jedem der obigen Verfahren, wenn eine funktionelle Gruppe mittels einer Schutzgruppe geschützt ist, die Schutzgruppe entfernt wird,
wonach in jedem der obigen Verfahren, wenn ein pharmazeutisch annehmbares Salz einer Verbindung der Formel I erforderlich ist, dies erhalten wird durch Umsetzung der basischen Form einer solchen Verbindung der Formel I mit einer Säure, die ein physiologisch annehmbares Gegenion liefert oder für eine Verbindung der Formel I, die einen sauren Rest enthält, Umsetzung der sauren Form einer solchen Verbindung der Formel I mit einer Base, die ein pharmazeutisch annehmbares Kation liefert oder durch jedes andere herkömmliche Verfahren,
und worin, falls nichts anderes beschrieben ist, A, R^d, R^e, R^2, R^3 und R^6 die oben beschriebenen Bedeutungen aufweisen.

13. Verbindung der Formel I oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz hiervon nach einem der Ansprüche 1 bis 10 zur Verwendung als antithrombotisches Mittel.

14. Verwendung einer Verbindung der Formel I oder eines pharmazeutisch annehmbaren Salzes hiervon nach einem der Ansprüche 1 bis 10 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung einer thromboembolischen Störung.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen