(19)

SUOMI - FINLAND
(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS
PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN
FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 941262 A7**

(12) **JULKISEKSI TULLUT PATENTTIHAKEMUS**
PATENTANSÖKAN SOM BLIVIT OFFENTLIG
PATENT APPLICATION MADE AVAILABLE TO THE PUBLIC

(21) Patenttihakemus - Patentansökan - Patent application 941262

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation - International patent classification
C07D333/56

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date **17.03.1994**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **17.03.1994**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **20.09.1994**

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date **13.06.2019**

(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet - Priority

19.03.1993 US 035121

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 • **Eli Lilly and Company,** Lilly Corporate Center, INDIANAPOLIS, IN 46285, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 • **Black, Larry John,** USA, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)
2 • **Bryant, Henry Uhlman,** USA, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)
3 • **Cullinan, George Joseph,** USA, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Kolster Oy Ab, Salmisaarenaukio 1, 00180 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention

3-aroyylibentso(b)tiofeenien sulfonaatti- ja karbamaattijohdannaisia

Sulfonat- och karbamatderivat av 3-aroylbenso(b)tiofener

3-aroyylibentso[b]tiofeenien sulfonaatti- ja karbamaatti-johdannaisia

Keksinnön tausta

Esillä oleva keksintö koskee 3-aroyylibentsotiofeeneja, näitä yhdisteitä sisältäviä koostumuksia ja niiden käyttöä luukadon ehkäisemiseen, veren liiallisen kolesterolipitoisuuden hoitoon ja hormoneista johtuvan nisäkkään rinta- ja kohtusyövän hoitoon.

Luukadon mekanismi ei ole hyvin tunnettu, mutta itse asiassa sairaus aiheutuu uuden terveen luun muodostumisessa ja vanhan luun resorptiossa tapahtuvasta epätasapainosta, mistä aiheutuu luukudoksen nettohäviötä. Tämä luukato merkitsee vähenemistä sekä luun mineraalipitoisuudessa että luun proteiinimatriisikomponenteissa ja johtaa pääasiallisesti reisiluiden ja kyynärvarressa ja nikamissa olevien luiden suurentuneeseen murtumismäärään. Nämä murtumat vuorostaan aiheuttavat lisääntymistä yleisessä sairastumistiheydessä, koon ja liikkuvuuden huomattavan vähenemisen ja monissa tapauksissa lisääntymisen komplikaatioista tuloksena olevassa kuolleisuudessa.

Luukatoa esiintyy monenlaisilla henkilöillä, joita ovat mm. naiset vaihdevuosien jälkeen, potilaat, joille on suoritettu kohdunpoisto, potilaat joille annetaan tai joille on annettu pitkän ajan kortikosteroideja, potilaat, jotka kärsivät Cushingin oireesta, sekä potilaat, jotka kärsivät sukurauhasten kehityshäiriöstä.

Ehkäisemätön luukato voi johtaa luun huokoistumiseen, merkittävään heikentävään sairauteen, jonka silmäänpistävänä piirteenä on luumassan väheneminen (pienentynyt tiheys ja luun ontelotilojen suureneminen) ilman että luun tilavuudessa tapahtuu pienenemistä, mikä aiheuttaa huokoisuutta ja haurautta.

Eräs osteoporoosin tavallisimmista tyypeistä löytyy naisilla vaihdevuosien jälkeen ja siitä kärsii yksistään

Yhdysvalloissa arviolta 20 - 25 miljoonaa naista. Vaihdevuosien jälkeisen osteoporoosin eräänä merkittävänä piirteenä on luumassan suuri ja nopea häviäminen munasarjojen estrogeenin tuotannon lakkaamisen johdosta. Tiedot todellakin selvästi tukevat estrogeenien kykyä rajoittaa osteoporoottisen luukadon etenemistä, ja estrogeenin korvaaminen on arvostettu hoitotapa vaihdevuosien jälkeiselle osteoporoosille Yhdysvalloissa ja monissa muissa maissa.

Kaikkien nisäkkäiden solut tarvitsevat kolesterolia niiden solukalvojen rakennekomponenteiksi ja ei-steroli-tyyppisille lopputuotteille. Kolesterolia tarvitaan myös steroidihormonin synteesiin. Kuitenkin se ominaisuus, joka tekee kolesterolin käyttökelpoiseksi solukalvoissa, sen liukenemattomuus veteen, tekee sen myös mahdollisesti kuolettavaksi. Jos kolesterolia kerääntyy väärään paikkaan, esimerkiksi valtimon seinämän sisään, se ei voi helposti liikkua ja sen läsnäolo aiheuttaa ateroskleroottisen plakin kehittymisen. Seerumin kolesterolin ja siihen liittyneiden tiheydeltään alhaisten lipoproteiinien kohonneiden konsentraatioiden on osoitettu olevan merkittävänä myötävaikuttavana tekijänä ateroskleroosin kehittymiseen ja lisääntymiseen.

Nisäkkäissä seerumin lipoproteiini koostuu kolesterolista yhdessä kolesteryyliesterien, triglyseridien, fosfolipidien ja apoproteiinien kanssa. Seerumin tai plasman lipoproteiini koostuu useista fraktioista. Plasman lipoproteiinien pääasiallisia fraktioita tai luokkia ovat tiheydeltään hyvin alhainen lipoproteiini (VLDL), tiheydeltään alhainen lipoproteiini (LDL), tiheydeltään keskinkertainen lipoproteiini (IDL) ja tiheydeltään suuri lipoproteiini (HDL). Nämä luokat eroavat toinen toisistaan kooltaan ja tiheydeltään sydänosassa olevien triglyseridien ja kolesteryyliesterien suhteellisissa osuuksissa, ja pintaosassa olevien apoproteiinien luonteessa.

Nisäkkäissä seerunin kolesteroli johtuu ulkopuolisista ravintolähteistä samoin kuin endogeenisen synteesin johdosta. Kolesterolin endogeeninen synteesi käsittää kompleksisen sarjan entsyymin katalysoimia reaktioita ja säätömekanismeja, joista yleensä käytetään nimitystä mevalonaattitie. Soluja kohtaa kompleksinen probleema mevalonaatti-synteesin säätämiseksi, koska kolesteroli, mevalonaatti-metabolismin pääasiallinen lopputuote, on peräisin plasman tiheydeltään alhaisesta lipoproteiinista, jota tulee soluun reseptorin välittämän endokytoosin johdosta, samoin kuin solun sisässä tapahtuvasta synteesistä. Jokaisen solun täytyy tasapainoittaa nämä ulkoiset ja sisäiset lähteet mevalonaatti-synteesin torjumiseksi samalla välttämällä sterolia akkumuloitumasta liiaksi. Tämä tasapaino saavutetaan aikaansaamalla mevalonaatti-synteesissä ainakin kahden peräkkäisen entsyymin, 3-hydroksi-3-metyyliglutaryyli-koentsyymi A (HMG-CoA)-syntaasin ja HMG-CoA-reduktaasin ja myös LDL-reseptorien palautteen säätö. LDL:n poissaollessa nisäkkään soluissa säilyy kahden entsyymin korkeat aktiviteetit, mikä aiheuttaa mevalonaatin syntetisoitumisen kolesterolin samoin kuin ei-steroli-tuotteiden muodostamiseksi. Jos LDL on läsnä, eksogeenisistä lähteistä, tulee HMG-CoA-syntateesi- ja reduktaasiaktiviteetti ehkäistyksi ja solut tuottavat pienempiä määriä mevalonaattia ei-steroli-tyyppisiä lopputuotteita varten.

Runsas todistusaineisto osoittaa, että veren runsaan lipoproteiinipitoisuuden hoito vähentää ateroskleroottisia komplikaatioita tai estää ne. Ruokavalion lisäksi, joka ylläpitää normaalia kehon painoa ja pitää rasvojen konsentraatiot plasmassa minimissään, ovat terapeuttisia strategioita sellaisten tekijöiden eliminoiminen, jotka pahentavat veren runsasta lipoproteiinipitoisuutta, ja sellaisten terapeuttisten aineiden antaminen, jotka alentavat plasman lipoproteiinipitoisuuksia, joko pienentämäl-

lä lipoproteiinien tuotantoa tai lisäämällä niiden tehokasta poistamista plasmasta.

Paljon lupaava ryhmä lääkeaineita, joita nykyisin on saatavissa hyperkolesterolemian hoitoon, vaikuttaa estämällä HMG-CoA-reduktaasia, endogeenisen kolesterolin synteesistä peräisin olevaa määrää rajoittavaa entsyymiä. Tämän luokan lääkeaineet ehkäisevät kilpailukykyisesti entsyymin aktiiviteettia. Tämä vähentää mahdollisesti kolesterolin endogeenistä synteesiä ja, normaalien homeostaattisten mekanismien avulla, plasman kolesteroli sitoutuu LDL-reseptoreihin solujen sisäisen kolesteroli-tasapainon palauttamiseksi entiselleen.

Suhteessa muihin kehon soluihin, maksan soluilla on kriittinen osa seerumin kolesteroli-homeostaasin ylläpitämiseksi sekä vapauttamalla LDL:n edeltäjäaineet että aikaansaamalla reseptorin välittämän LDL:n sitomisen seerumista. Sekä ihmisiä ja eläimiä koskevissa mallikokeissa näyttää vallitsevan käänteinen korrelaatio maksan LDL:n reseptorien ja LDL:ään liittyneiden seerumin kolesterolimäärien välillä. Korkeammista hepatosyytti-reseptorien lukumääristä on yleensä tuloksena LDL:ään liittyviä seerumin kolesterolimääriä. Hepatosyyteiksi vapautunut kolesteroli voi varastoitua kolesteroliestereinä, muuttua sappihapoiksi ja vapautua sappitiehyihin, tai sisältyä oksikolesterolikeräymään. Juuri tämän oksikolesterolikeräymän arvellaan aikaansaavan sekä LDL-reseptorin geenien että kolesterolin synteesitiehen sisältyvien entsyymien lopputuotteen torjunnan.

Väestöissä, joissa sepelvaltimotauti on huomattava terveysprobleema, sairauden esiintymistiheys on huomattavasti pienempi naisilla kuin miehillä. Näin on erityisesti asianlaita nuoremmissa ikäryhmissä, kuten miehissä ja naisissa, joiden ikä on 35 ja 44 vuoden välillä.

Plasman lipoproteiinin metabolismiin vaikuttaa yleensä sukurauhassteroidien konsentraatiot verenkierros-

sa. Muutokset veren estrogeeni- ja androgeenikonsentraatioissa, jotka ovat tuloksena sukurauhasten tilassa tapahtuvista muutoksista tai eksogeenisten sukurauhas-steroidien antamisesta, liittyvät seerumin lipoproteiinimäärien muutoksiin. Estrogeenien ja androgeenien aiheuttaat muutokset tukevat yleensä sitä kasitystä, että lipoproteiineissa esiintyvät 6 eroavaisuutta johtuvat hormonaalisista eroavaisuuksista miesten ja naisten välillä.

Yleisesti hyväksytty suhde sukurauhas-steroidien ja plasman lipoproteiinien välillä on se, että androgeenit alentavat HDL:n konsentraatioita ja suurentavat LDL:ää, edistäen siten osaltaan alhaisia HDL- ja korkeita LDL-pitoisuuksia, jotka on todettu miehissä verrattuina naisiin. Estrogeeneillä katsotaan olevan päinvastaiset vaikutukset lipoproteiineihin; so. HDL suurenee ja LDL pienenee. Näiden kuuden, steroidien aiheuttamien eroavaisuuksien lipoproteiinikonsentraatioissa ajatellaan osaltaan vaikuttavan sydän- ja verisuonisairauksien pienempään esiintymistiheyteen naisilla miehiin verrattuna. Kuukautisten loppumisen jälkeen estrogeenien suojaava vaikutus naisissa lakkaa ja sydän- ja verisuonisairauksien esiintymistiheys suurenee miehillä esiintyvien määrien suhteen. Naisilla, jotka vaihdevuosien jälkeen ottavat estrogeeneja, on yleensä vähemmän sydän- ja verisuonisairauksia kuin samanikäisillä naisilla, jotka eivät niitä ota. Estrogeeni, erityisesti oraalisesti otettuna, alentaa LDL:n määriä plasmassa ja kohottaa HDL:n määriä.

Mekanismeja, joilla esterogeeni alentaa LDL:n määriä ja kohottaa HDL:n määriä, ei tunneta. Yleensä lipoproteiinin konsentraation muutokset plasmassa ovat tuloksena muutoksista sen synteesin nopeudessa tai sen katabolismin nopeudessa. Esimerkiksi estrogeeni voi alentaa LDL-määriä suurentamalla LDL:n vapautumista plasmasta, koska estrogeeni suurentaa maksan LDL-reseptorien lukumäärää eläimissä.

Tamoksifeeni (1-p-β-dimetyyliaminoetoksifenyyli-trans-1,2-difenyyli-but-1-eeni) on hyvin tunnettu antiestrogeeniyhdiste, jolla on aktiviteettia nisäkkään rintasyöpää vastaan. Katso The Merck Indeex, 11. painos, 1430 (1989). Lisäksi tamoksifeenin analogeilla on myös antiestrogeenista aktiviteettia, mukaan luettuna aktiviteetti nisäkkään rintasyöpää vastaan (US-patentti nro 4 623 660). Monilla muillakin yhdisteillä on vastaavasti osoitettu antiestrogeenistä aktiviteettia, josta on tuloksena nisäkkään rintasyövän kasvun estyminen. Esimerkiksi 2-fenyyli-3-aroyylibentsotiofeeneja ja 2-fenyyli-3-aroyylibentsotiofeeni-1-oksideja esitettiin US-patentissa nro 4 133 814; 3-fenyyli-4-aroyyli-1,2-dihydronaftaleeneja ja 1-aroyyli-2-fenyylinaftaleeneja selostettiin US-patentissa nro 4 230 862; ja 6-hydroksi-2-(4-hydroksifenyyli)-3-[4-(2-piperidinoetoksi)bentsoyyli]bentso[b]tiofeeni esitettiin US-patentissa nro 4 418 068.

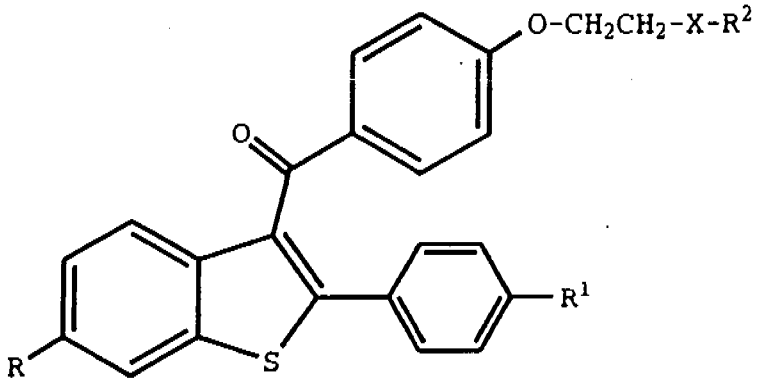
Vaikkakin estrogeeneilla on edullisia vaikutuksia luuhun ja seerumin lipideihin, annettuna hyvinkin alhaisina määrinä, pitkäaikainen estrogeenihoito on aiheuttanut monenlaisia sairauksia, mukaan luettuna kohtu- ja rintasyövän riskin suureneminen, mikä on saanut monen naisen välttämään tätä käsittelyä. Viime aikoina ehdotetut hoito-ohjeet, joilla pyritään vähentämään syöpäriskiä, kuten progestogeenin ja estrogeenin yhdistelmien antaminen, saa potilaan kokemaan säännöllisen verenvuodon ehtymisen, mikä on vastenmielistä useimmille vanhemmille naisille. Huolestumiset estrogeeniterapiaan liittyvien huomattavien, ei-toivottujen vaikutusten johdosta, ja estrogeenien rajoitettu kyky torjua esiintyvä luukato, tukevat tarvetta kehittää vaihtoehtoista terapiaa luukatoa, hyperkolesterolemiaa ja hormoneista johtuvaa nisäkkään rinta- ja kohtusyöpää varten, joka hoito synnyttäisi toivottavia vaikutuksia, mutta ei aiheuttaisi ei-toivottuja vaikutuksia.

Yrityksillä täyttää tämä tarve käyttämällä yhdisteitä, jotka yleisesti tunnetaan antiestrogeeneinä, jotka ovat vuorovaikutuksessa esterogeenireseptorin kanssa, on ollut rajoitettua menestystä, mahdollisesti sen johdosta, että näillä yhdisteillä on yleensä agonistinen/antagonistinen sekavaikutus. Tämä tarkoittaa sitä, että vaikkakin nämä yhdisteet voivat vaikuttaa estrogeenin ja reseptorin välistä vuorovaikutusta vastaan, voivat itse yhdisteet aiheuttaa estrogeenisia vastauksia niissä kudoksissa, joissa on estrogeenin reseptoreita. Tämän vuoksi jotkin antiestrogeenit ovat syynä samoihin haitallisiin vaikutuksiin, jotka liittyivät estrogeeniterapiaan.

Esillä oleva keksintö tarjoaa yhdisteitä, mainittuja yhdisteitä sisältäviä farmaseuttisia koostumuksia sekä menetelmiä luukadon ehkäisemiseksi, hyperkolesterolemian käsittelemiseksi ja hormoneista johtuvan nisäkkään rinta- ja kohtusyövän käsittelemiseksi ilman että tähän liittyy estrogeeniterapian haitallisia vaikutuksia, ja sen vuoksi menetelmät merkitsevät tehokasta ja hyväksyttävää hoitoa mainituissa sairauksissa ja sairaustiloissa.

Keksinnön yhteenveto

Tämä keksintö tarjoaa uusia 3-aroyylibentso[b]tiofeeneja, joilla on kaava



I

jossa

X on sidos tai $-CH_2-$;

R^2 on heterosyklinen rengas valittuna ryhmästä, johon kuuluvat pyrrolodino, piperidino tai heksametyleeni-imino;

R on OH, $-OSO_2-(CH_2)n-CH^3$ tai $-O\overset{O}{\overset{\|}{C}}N(H)-R^3$;

R^1 on vety, OH, fluori, kloori, $-OSO_2-(CH_2)n-CH_3$, tai $-O\overset{O}{\overset{\|}{C}}N(H)-R^3$;

jokainen R^3 on riippumattomasti C_{1-6}-alkyyli, C_{3-6}-sykloalkyyli, ei-substituoitu tai substituoitu fenyyli, jossa substituentti on fluori, kloori, C_{1-3}-alkyyli tai C_{1-3}-alkoksi;

jokainen n on riippumattomasti 3, 4 tai 5, ja näiden yhdisteiden farmaseuttisesti hyväksyttäviä suoloja ja solvaatteja; edellyttäen, että ainakin toinen symboleista R ja R^1 on $-OSO_2-(CH_2)_n-CH_3$ tai $-O\overset{O}{\overset{\|}{C}}N(H)-R^3$.

Esillä oleva keksintö tarjoaa myös farmaseuttisia valmisteita, jotka sisältävät kaavan I mukaista yhdistettä yhdessä farmaseuttisesti hyväksyttävän kantaja-aineen, laimennusaineen tai eksipientin kanssa.

Esillä oleva keksintö tarjoaa myös menetelmiä luukadon estämiseksi, hyperkolesterolemian käsittelemiseksi ja hormoneista johtuvan nisäkkäiden rinta- ja kohtusyövän käsittelemiseksi, joiden menetelmien mukaan tällaisen käsittelyn tarpeessa olevalle nisäkkäälle annetaan tehokas määrä kaavan I mukaista yhdistettä.

Keksinnön yksityiskohtainen kuvaus

Kaavan I mukaisia yhdisteitä voidaan yksiselitteisesti nimittää ainakin käyttämällä metanonia molekyylin runkona tai käyttämällä bentso[b]tiofeenia molekyylin run-

kona. Asian valaisemiseksi minitetään kaavan I mukaisia yhdisteitä jäljempänä käyttämällä yhtä molekyylirunkoa tai molempia.

Kaavan I mukaisen yhdisteen kuvauksessa käytetyillä yleisillä kemiallisilla termeillä on niiden tavanomaiset merkitykset. Esimerkiksi termi "alkyyli" tarkoittaa yksinään tai muun substituentin osana suoraketjuista tai haarautunutta alkyyliradikaalia, jossa on ilmoitettu lukumäärä hiiliatomeja, kuten metyyliä, etyyliä, propyyliä ja isopropyyliä, sekä korkeampia homologeja ja isomeerejä, mikäli niitä on mainittu.

Termi "alkoksi" tarkoittaa alkyyliryhmää, jossa on ilmoitettu lukumäärä hiiliatomeja liittyneenä happiatomin avulla, kuten metoksia, etoksia, propoksia, ja se tarkoittaa myös haarautuneita ketjurakenteita, kuten esimerkiksi isopropoksia.

Kaavan I mukaiset bentso[b]tiofeenit ehkäisevät luukatoa, joka on tuloksena endogeenisen estrogeenin puuttumisesta, jollaista esiintyy naisilla kuukautisten lakkaamisen jälkeen, joka on seurauksena luonnollisista, kirurgisista tai muista prosesseista. Luun tiheyden ja massan väheneminen, jota esiintyy miehillä, liittyy myös hormonaalisen säädön puuttumiseen ja on sen vuoksi myös esillä olevan keksinnön mukaisten menetelmien mukaisen terapian kohteena.

Kaavan I mukaisten bentso[b]tiofeenien tarkoituksena on myös alentaa seerumin kolesterolipitoisuuksia ihmisissä. Liiallinen seerumin kolesterolipitoisuus saattaa olla tuloksena monista sairaustiloista ja sairauksista, joita ovat mm. endogeenisen estrogeenin puuttuminen, jollaista esiintyy naisilla kuukautisten lakkaamisen jälkeen, joka johtuu luonnollisista, kirurgisista tai muista prosesseista, sekä potilailla, joilla on glonadaalinen dysgeneesi.

Kaavan (I) mukaiset yhdisteet ovat myös käyttökelpoisia hoidettaessa hormoneista johtuvaa nisäkkään rinta- ja kohtusyöpää annettaessa näitä yhdisteitä tehokas määrä. Tässä käytettynä tarkoittaa termi "hormoneista johtuvan rinta- ja kohtusyövän terapeuttinen käsittely" nisäkkäissä esiintyvän rinta- ja kohtusyövän olemassaolon tai kasvun torjumista, mukaan luettuna ennalta ehkäisevät toimenpiteet. Termi "tehokas määrä" tarkoittaa sitä aktiivisen aineen annostusta, joka on riittävä aikaansaamaan nisäkkään rinta- ja kohtusyövän ennakolta ehkäisevän tai terapeuttisen hoidon.

Termillä "hormoneista johtuva syöpä" ymmärretään yleensä tällä alalla tarkoitettavan niitä syöpälajeja, joissa niiden kasvuun vaikuttaa jollakin tavalla nisäkkään hormonien läsnäolo, puuttuminen, runsaus tai riittämättömyys. Tällaisia hormoneja ovat estrogeeni ja prolaktiini näihin kuitenkaan rajoittumatta.

Kaavan I mukaiset bentsotiofeenit ovat sarja ei-steroidisia yhdisteitä, jotka osoittavat suurta affiniteettia tavallisiin estrogeenin reseptoreihin nähden ensisijaisesti kuudessa kohteena olevassa kudoksessa. Ne kuitenkin tuovat esiin minimaalisia estrogeenisia vastauksia näissä kudoksissa ja toimivat varsinaisesti luonnollisten estrogeenien, kuten estradiolin, voimakkaina antagonisteina. Päinvastoin kuin muut rakenteellisesti selvästi erotettavat antiestrogeeniyhdisteet, kaavan I mukaiset bentsotiofeenit pystyvät vaikuttamaan klassisia esterogeenisia vastauksia vastaan pääasiallisissa kuudessa kohteena olevassa kudoksessa, samalla kun ne tuovat esiin estrogeenisen vastauksen luun tiheydessä ja seerumin kolesterolimäärissä. Tämä kahtiajakautuvuus osoittaa selektiivisiä agonisti/antagonistivaikutuksia spesifisiin kohdesoluihin, jotka vaikutukset ovat erittäin toivottavia luukadon ehkäisemiseksi ja hyperkolesterolemian käsittelemiseksi. Niinpä esillä olevan keksinnön ensisijaisena etu-

na on se, että kaavan I mukaiset bentsotiofeenit ehkäisevät luukatoa ja alentavat seerumin kolesterolipitoisuuksia, mutta eivät tuo esiin huomattavia estrogeenisia vastauksia ensisijaisissa kuudessa kohdekudoksessa. Tällöin esillä oleva keksintö tarjoaa menetelmiä luukadon estämiseksi, ja seerumin kolesterolipitoisuuksien alentamiseksi, joiden menetelmien mukaan hoidon tarpeessa olevalle ihmiselle annetaan kaavan I mukaista yhdistettä määrä, joka estää luukadon ja/tai alentaa seerumin kolesterolipitoisuuksia, mutta ei merkittävästi vaikuta primaarisiin kuuteen kohdekudokseen.

Edullisia esillä olevan keksinnön mukaisia yhdisteitä ovat ne kaavan I mukaiset yhdisteet, joissa R^2 on pyrrolidino tai piperidino; R on $-OSO_2(CH_2)_n-CH_3$; R^1 on valittu ryhmästä, johon kuuluvat fluori, kloori tai $-OSO_2-(CH_2)_n-CH_3$; jokainen n on riippumattomasti 3, 4 tai 5, sekä farmaseuttisesti hyvaksyttavät happoadditiosuolat ja solvaatit.

Erityisen edullisia yhdisteitä ovat ne kaavan I mukaiset yhdisteet, joissa R^2 on piperidinorengas; R on $-OSO_2-(CH_2)_n-CH_3$; R^1 on $-OSO_2-(CH_2)_n-CH_3$; ja jokainen n on riippumattomasti 3 tai 4, sekä näiden yhdisteiden farmaseuttisesti hyväksyttävät happoadditiosuolat ja solvaatit.

Kuten edellä mainittiin, keksintö käsittää edellä määriteltyjen kaavan I mukaisten yhdisteiden farmaseuttisesti hyväksyttävät suolat. Kaavan I mukainen yhdiste voidaan saattaa reagoimaan minkä lukumäärän kanssa tahansa ei-myrkyllisiä epäorgaanisia emäksiä ja ei-myrkyllisiä epäorgaanisia ja orgaanisia happoja farmaseuttisesti hyväksyttävän suolan muodostamiseksi. Farmaseuttisesti hyväksyttävän happoadditiosuolan muodostamiseen yleisesti käytettyjä happoja ovat epäorgaaniset hapot, kuten kloorivetyhappo, bromivetyhappo, jodivetyhappo, rikkihappo, fosforihappo ja näiden kaltaiset, sekä orgaaniset hapot, ku-

ten p-tolueeni-sulfonihappo, metaanisulfonihappo, p-bromifenyyli-sulfonihappo, hiilihappo, meripihkahappo, sitruunahappo, bentsoehappo, etikkahappo ja näiden kaltaiset. Esimerkkejä tällaisista farmaseuttisesti hyväksyttävistä suoloista ovat tällöin sulfaatti, pyrosulfaatti, bisulfaatti, sulfiitti, bisulfiitti, fosfaatti, monovetyfosfaatti, divetyfosfaatti, metafosfaatti, pyrofosfaatti, kloridi, bromidi, jodidi, asetaatti, propionaatti, dekanoaatti, kaprylaatti, akrylaatti, formiaatti, isobutyraatti, kaproaatti, heptanoaatti, propiolaatti, malonaatti, sukkinaatti, suberaatti, sebakaatti, fumaraatti, maleaatti, butiini-1,4-dioaatti, heksiini-1,6-dioaatti, bentsoaatti, klooribentsoaatti, metyylibentsoaatti, dinitrobentsoaatti, hydroksibentsoaatti, metoksibentsoaatti, ftalaatti, sulfonaatti, ksyleenisulfonaatti, fenyyliasetaatti, fenyylipropionaatti, fenyylibutyraatti, sitraatti, laktaatti, gamma-hydroksibutyraatti, glykollaatti, tartraatti, metaanisulfonaatti, propaanisulfonaatti, naftaleeni-1-sulfonaatti, naftaleeni-2-sulfonaatti, mandelaatti ja näiden kaltaiset. Edullisia farmaseuttisesti hyväksyttävia happoadditiosuoloja ovat ne, jotka on muodostettu mineraalihappojen, kuten kloorivetyhapon ja bromivetyhapon kanssa, sekä ne, jotka on muodostettu orgaanisten happojen, kuten sitruunahapon kanssa.

Emäsadditiosuoloja ovat ne, jotka on johdettu eimyrkyllisistä epäorgaanisista emäksistä, kuten ammonium- tai alkali- tai maa-alkalimetallihydroksideista, karbonaateista, bikarbonaateista ja näiden kaltaisista. Tämän keksinnön mukaisten suolojen valmistamiseksi käyttökelpoisia tällaisia emäksiä ovat natriumhydroksidi, kaliumhydroksidi, ammoniumhydroksidi, kaliumkarbonaatti. Kalium- ja natriumsuolamuodot ovat erityisen edullisia.

Esillä olevan keksinnön mukaisia yhdisteitä voidaan valmistaa tunnettujen menetelmien mukaan, esimerkiksi sellaisten, jotka on esitetty yksityiskohtaisesti US-paten-

tissa nro 4 133 814 ja US-patentissa nro 4 418 068, jotka molemmat sisällytetään tähän viittauksena. Esimerkkejä analogisten yhdisteiden valmistamiseksi esitetään edellä mainituissa US-patenteissa. Menetelmässä lähdetään yleensä bentso[b]tiofeenista, jossa on 6-hydroksyyliryhmä ja 2-(4-hydroksifenyyli)ryhmä. Lähtöyhdiste suojataan, alkyloidaan ja mahdollisesti poistetaan suojaus kaavan I mukaisten yhdisteiden muodostamiseksi. Sen jälkeen voidaan halutaessa muodostaa muita kaavan I mukaisia yhdisteitä. Jäljempänä esitetään esillä olevan keksinnön mukaisten yhdisteiden erityisiä valmistustapoja. Edellä esitettyjen menetelmien muunnokset voidaan tarvittaessa mukauttaa kysymyksessä olevien substituenttien reaktiivisten funktionaliteettien mukaan. Tällaiset muunnokset olisivat sekä ilmeisiä alan ammattimiehille että helposti selvitettävissä.

Farmaseuttisesti hyväksyttäviä happoadditiosuoloja muodostetaan tyypillisesti saattamalla kaavan I mukainen yhdiste ekvimolaarisen tai ylimäärin käytetyn määrän kanssa emästä tai happoa. Reaktantit yhdistetään yleensä niille yhteisessä liuottimessa, kuten dietyylieetterissä tai bentseenissä. Suola saostuu yleensä liuoksesta noin yhden tunnin - 10 päivän kuluessa ja voidaan eristää suodattamalla tai liuotin voidaan tislata pois tavanomaisella tavalla.

Jotkut kaavan I mukaiset yhdisteet voivat lisäksi muodostaa solvaatteja veden tai orgaanisten liuottimien, kuten etanolin kanssa. Tällaiset solvaatit ovat myös tarkoitettuja käytettäväksi tämän keksinnön mukaisissa menetelmissä.

Seuraavat esimerkit valaisevat tämän keksinnön mukaisten yhdisteiden valmistusta, mutta eivät ole tarkoitetut millään tavalla rajoittamaan sitä.

Esimerkki 1

[6-[n-butyylisulfonoyyli]-2-[4-(n-butyylisulfonoyyli)fenyyli]bentso[b]tien-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]fenyyli]metanonin valmistus

5,1 g (10 mmol) [6-hydroksi-2-(4-hydroksifenyyli)-bentso[b]tien-3-yyli][4[2-(1-piperidinyyli)etoksifenyyli]-metanonihydrokloridia suspendoitiin 250 ml:aan kuivaa THF:ää ja joukkoon lisättiin 7,1 g (70 mmol) trietyyliamiinia. Reaktioseos jäähdytettiin 0 °C:seen jääkylvyssä ja joukkoon lisättiin 10 mg dimetyyliaminopyridiiniä (DMAP). 4,7 g (30 mmol) n-butyylisulfonoyylikloridia lisättiin hitaasti. Reaktioseos saatettiin typpiatmosfäärin alaiseksi ja sen annettiin lämmetä hitaasti huoneenlämpötilaan ja annettiin seistä 72 tuntia. Reaktioseos suodatettiin ja haihdutettiin öljyksi. öljymäinen jäännös liuotettiin trikloorimetaaniin ja kromatografoitiin käyttäen piihappogeelipylvästä, joka eluoitiin käyttämällä lineaarista gradienttia $CHCl_3$ → $CHCl_3$-MeOH (19:1; til./til.) (MeOH = metanoli). Toivotut fraktiot yhdistettiin ja haihdutettiin kuiviin, jolloin saatiin 5,60 g otsikkoyhdistettä nahanruskeana amorfisena jauheena.

$C_{36}H_{43}NO_8S_3$

MS (FD) m/e = 714 (M+1)

NMR oli tavoiteltua rakennetta vastaava.

Esimerkki 2

[6-(n-butyylisulfonoyyli)-2-[4-(n-butyylisulfonoyyli)fenyyl]]bentso[b]tien-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]fenyyli]metanolihydrokloridin valmistus

5,4 g [6-(n-butyylisulfonoyyli)-2-[4-(n-butyylisulfonoyyli)fenyyli]bentso[b]tien-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]fenyyli]metanonia liuotettiin etyyliasetaattiin (EtOAc) ja joukkoon lisattiin HCl:llä kyllästettyä eetteriliuosta siksi kunnes ei enää muodostunut lisää sakkaa. Neste poistettiin dekantoimalla ja kiinteää ainetta

hierrettiin eetterin kanssa. Otsikkoyhdiste kiteytettiin kuumasta EtOAc:stä, jolloin saatiin 3,74 g tuotetta valkoisena jauheena.

Alkuaineanalyysi $C_{36}H_{43}NO_8S_3$-HCl:lle

laskettu: C 57,7; H 5,88; N 1,87

saatu: C 57,75; H 5,93; N 1,93

NMR oli tavoiteltua rakennetta vastaava.

Esimerkki 3

[6-(n-pentyylisulfonoyyli)-2-[4-[n-pentyylisulfonoyyli)fenyyli]bentso[b]tien-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]fenyyli]metanonin valmistus

3 g (5,9 mmol) [6-hydroksi-2-(4-hydroksifenyyli)-bentso[b]tien-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]fenyyli]metanonihydrokloridia suspendoitiin 100 ml:aan THF:ää ja joukkoon lisättiin 10 mg DMAP:tä ja sen jälkeen 3 g (30 mmol) trietyyliamiinia. Reaktioseosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa ja suojakaasuna olevan typen alaisena noin 20 minuuttia. 2,5 g (14,7 mmol) n-pentyylisulfonoyylikloridia liuotettiin 25 ml:aan THF:ää ja lisättiin hitaasti sekoitettuun reaktioseokseen. Reaktion annettiin edistyä huoneenlämpötilassa ja typpikaasun alaisena 18 tuntia. Reaktioseos suodatettiin ja haihtuvat aineet poistettiin haihduttamalla tyhjössä. Saatu aine liuotettiin pieneen määrään $CHCl_3$:a ja kromatografoitiin (HPLC) käyttäen piihappogeelipylvästä, joka eluoitiin käyttämällä lineaarista gradienttia lähtemällä $CHCl_3$:lla ja lopettamalla käyttäen $CHCl_3$-MeOH-seosta (19:1 til./til.). Toivotut fraktiot määritettiin ohutkerroskromatografian (TLC) avulla, yhdistettiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin 3,82 g otsikkoyhdistettä paksuna öljynä.

NMR: tavoiteltua rakennetta vastaava

MS: (FD) m/e = 743 (M+2)

Alkuaineanalyysi $C_{3847}NO_8S_3$:lle

laskettu: C 61,51; H 6,39; N 1,89

saatu: C 57,63; H 6,44; N 1,50

Esimerkki 4

[6-(n-pentyylisulfonoyyli)-2-[4-(n-pentyylisulfonoyyli)fenyyli]bentso[b]tien-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]fenyyli]metanonihydrokloridinvalmistus

3,7 g [6-(n-pentyylisulfonoyyli)-2-[4-(n-pentyylisulfonoyyli)fenyyli]bentso[b]tien-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]fenyyli]metanonia liuotettiin 25 ml:aan EtOAc:tä ja joukkoon lisättiin HCl:n dietyylieetteriliuosta. Tällöin muodostui sakkaa ja neste erotettiin dekantoimalla. Kumimaista kiinteää ainetta hierrettiin Et_2O:n (= dietyylieetterin) kanssa ja kuivattiin tyhjössä huoneenlämpötilassa, jolloin saatiin 2,12 g otsikkoyhdistettä valkoisena amorfisena ja hygroskooppisena kiinteänä aineena.

NMR: tavoiteltua rakennetta vastaava

Alkuaineanalyysi $C_{38}H_{47}NO_8S_3$-HCl:lle

laskettu:	C 58,63; H 6,22; N 1,80
saatu:	C 57,35; H 6,45; N 1,38

Esimerkki 5

[6-(n-heksyylisulfonoyyli)-2-[4-(n-heksyylisulfonyyli)fenyyli]bentso[b]tien-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]fenyyli]metanonin valmistus

3 g (5,9 mmol) [6-hydroksi-2-(4-hydroksifenyyli)-bentso[b]tien-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]fenyyli]metanonihydrokloridia suspendoitiin 250 ml:aan THF:ää ja joukkoon lisättiin 10 mg DMAP:tä. 4 g (40 mmol) trietyyliamiinia lisättiin ja reaktioseosta sekoitettiin 20 minuuttia huoneenlämpötilassa typen muodostaman suojakaasun alaisena. 3,6 g (19,6 mmol) n-heksyylisulfonoyylikloridia lisättiin 25 ml:ssa THF:ää hitaasti reaktioseokseen. Reaktion annettiin tapahtua huoneenlämpötilassa ja typpikaasun alaisena 3 päivää. Reaktioseos haihdutettiin tyhjössä ja suspendoitiin uudelleen EtOAc:hen ja pestiin vedellä. Orgaaninen kerros kuivattiin suodattamalla vedet-

tömän Na_2SO_4:n läpi ja haihdutettiin keltaiseksi öljyksi. Öljy liuotettiin $CHCl_3$:een ja kromatografoitiin (HPLC) käyttäen piihappogeelipylvästä, joka eluoitiin käyttäen lineaarista gradienttia aloittamalla $CHCl_3$:lla ja lopettamalla käyttäen $CHCl_3$-MeOH-seosta (19:1, til./til.). Toivotut fraktiot määritettiin TLC:n avulla, yhdistettiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin 3,14 g otsikkoyhdistettä paksuna öljynä.

NMR: tavoiteltua rakennetta vastaava

S: (FD) m/e = 771 (M+1)

Alkuaineanalyysi $C_{40}H_{51}NO_8S_3$:lle

laskettu: C 62,39; H 6,68; N 1,82

saatu: C 62,33; H 6,62; N 2,03

Esimerkki 6

[6-(n-heksyylisulfonoyyli)-2-[4-(n-heksyylisulfonoyyli)fenyyli]bentso[b]tien-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]fenyyli]metanonihydrokloridin valmistus

3 g[6-(n-heksyylisulfonoyyli)-2-[4-(n-heksyylisulfonoyyli)fenyyli]bentso[b]tien-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]fenyyli]metanonia liuotettiin 20 ml:aan EtOAc:tä ja joukkoon lisättiin HCl-Et_2O:ta. Mitään sakkaa ei muodostunut. Reaktioseos haihdutettiin paksuksi öljyksi ja sitä hierrettiin useita kertoja etyylieetterin kanssa ja kuivattiin tyhjössä huoneenlämpötilassa, jolloin saatiin 1,64 g otsikkoyhdistettä valkoisena amorfisena ja hygroskooppisena jauheena.

NMR: tavoiteltua rakennetta vastaava

Alkuaineanalyysi $C_{40}H_{51}NO_8S_3$-HCl:lle

laskettu: C 59,67; H 6,50; N 1,74

saatu: C 59,47; H 6,59; N 1,77

Esimerkki 7

[6-(n-butyylisulfonoyyli)-2-[4-(n-butyylisulfonoyyli)fenyyli]bentso[b]tien-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]fenyyli]metanoni-sitraatinvalmistus

2 g (2,8 mmol [6-(n-butyylisulfonoyyli)-2-[4-(n-butyylisulfonoyyli)fenyyli]bentso[b]tien-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]fenyyli]metanonia liuotettiin 200 ml:aan asetonia ja joukkoon lisättiin 0,63 g (3 mmol) sitruunahappoa. Reaktioseosta pidettiin huoneenlämpötilassa ja typen muodostaman suojakaasun alaisena 18 tuntia. Reaktioseos haihdutettiin tyhjössä 50 °C:ssa.

Reaktioseosta hierrettiin useita kertoja eetterin kanssa ja kuivattiin huoneenlämpötilassa tyhjössä, jolloin saatiin 2,35 g otsikkoyhdistettä valkoisena amorfisena ja hygroskooppisena jauheena.

Alkuaineanalyysi:

laskettu:	C 55,68; H 5,67; N 1,55
saatu:	C 55,39; H 5,60; N 1,60

NMR: tavoiteltua rakennetta vastaava

Esimerkki 8

[6-(n-butyylisulfonoyyli)-2-[4-(n-butyylisulfonoyyli)fenyyli]bentso[b]tien-3-yyli][4-[3-(1-piperidinyyli)propyylioksi]fenyyli]metanonin valmistus

2,5 g (4,77 mmol) [6-hydroksi-2-[4-hydroksifenyyli]bentso[b]tien-3-yyli][4-[3-(1-piperidinyyli)propyylioksi]fenyyli]metanonihydrokloridia liuotettiin 100 ml:aan THF:ää, joukkoon lisättiin 3,9 g (39 mmol) trietyyliamiinia ja 10 mg DMAP:tä. Reaktioseosta sekoitettiin 15 minuuttia huoneenlämpötilassa ja typen muodostaman suojakaasun alaisena. 4 g (25,5 mmol) n-butyylisulfonoyylikloridia lisättiin hitaasti 15 ml:ssa THF:ää. Reaktion annettiin tapahtua 18 tuntia huoneenlämpötilassa ja typpikaasun alaisena. Reaktio keskeytettiin lisäämällä 25 ml MeOH:ta ja tilavuutta pienennettiin tyhjössä. Raakatuote kromatografoitiin käyttäen piihappogeelipylvästä, joka eluotiin

$CHCl_3$-MeOH-seoksella (19:1, til./til.). Toivotut fraktiot määritettiin TLC:n avulla, yhdistettiin ja haihdutettiin nahanruskeaksi öljyksi.

Esimerkki 9

[6-(n-butyylisulfonoyyli)-2-[4-(n-butyylisulfonoyyli)fenyyli]bentso[b]tien-3-yyli][4-[3-(1-piperidinyyli)propyylioksi]fenyyli]metanonihydrokloridin valmistus

[6-(n-butyylisulfonoyyli)-2-[4-(n-butyylisulfonoyyli)fenyyli]bentso[b]tien-3-yyli][4-[3-(1-piperidinyyli)-propyylioksi]fenyyli]metanonia liuotettiin EtOAc-heksaaniseokseen ja HCl-kaasua kuplitettiin liuokseen. Reaktioseos haihdutettiin ja kromatografoitiin (HPLC) käyttäen piihappogeelipylvästä, joka eluoitiin $CHCl_3$:lla ja sen jälkeen $CHCl_3$-MeOH-seoksella (19:1, til./til.). Toivotut fraktiot määritettiin TLC:n avulla ja yhdistettiin ja haihdutettiin nahanruskeaksi amorfiseksi jauheeksi, jolloin saatiin 2,5 g otsikkoyhdistettä.

NMR: tavoiteltua rakennetta vastaava

MS: (FD) m/e = 728 (M-HCl)

Alkuaineanalyysi $C_{37}H_{46}NO_8S_3$-HCl:lle

laskettu:	C 58,14; H 6,07; N 1,83
saatu:	C 57,90; H 6,05; N 1,82

Esimerkki 10

[6-(n-butyylisulfonoyyli)-2-[4-butyylisulfonoyyli)-fenyyli]bentso[b]tien-3-yyli][4-[2-(1-pyrrolidinyyli)etoksi]fenyyli]metanonin valmistus

1,5 g [6-hydroksi-2-[4-hydroksifenyyli]bentso[b]-tien-3-yyli][4-[2-(1-pyrrolidinyyli)etoksi]fenyyli]metanonihydrokloridia (3 mmol) suspendoitiin 200 ml:aan THF:ää. 1,5 g trietyyliamiinia (15 mmol) ja 10 mg 4-N,N-dimetyyliaminopyridiiniä lisättiin. Reaktioseosta sekoitettiin useita minuutteja typpiatmosfäärin alaisena. 1,56 g n-butyylisufonoyylikloridia (10 mmol) liuotettiin 50 ml:aan THF:ää ja lisättiin hitaasti reaktioseokseen 20 minuutin

kuluessa. Reaktioseosta sekoitettiin 18 tuntia huoneenlämpötilassa ja typpiatmosfäärin alaisena. Reaktioseos haihdutettiin kumimaiseksi aineeksi tyhjössä. Raakatuote suspendoitiin 100 ml:aan EtOAc:tä ja pestiin $NaHCO_3$-liuoksella ja sen jälkeen vedellä. Orgaaninen kerros kuivattiin suodattamalla vedettömän Na_2SO_4:n läpi ja haihdutettiin keltaiseksi öljyksi. Lopputuote kiteytettiin kuumasta EtOAc-heksaaniseoksesta, jolloin saatiin 410 mg otsikkoyhdistettä.

NMR oli tavoiteltua rakennetta vastaava

MS: m/e = 700 (M+1) FD

Alkuaineanalyysi $C_{35}H_{41}NO_8S_3$:lle

laskettu:	C 60,2; H 5,86; N 2,01
saatu:	C 59,94; H 5,94; N 2,00

Molekyylipaino: 699

Esimerkki 11

[6-(n-butyylisulfonoyyli)-2-[4-(n-butyylisulfonoyyli)fenyyli]bentso[b]tien-3-yyli][4-[2-(1-pyrrolidinyyli)etoksi]fenyyli]metanonihydrokloridin valmistus

350 mg [6-(n-butyylisulfonoyyli)-2-[4-butyylisulfonoyyli)fenyyli]bentso[b]tien-3-yyli][4-[2-(1-pyrrolidinyyli)etoksi]fenyyli]metanonia (0,5 mmol) liuotettiin 10 ml:aan EtOAc:tä ja joukkoon lisättiin HCl:llä kyllästettyä eetteriliuosta. Mitään sakkaa ei muodostunut ja reaktioseos haihdutettiin kumimaiseksi, valkoiseksi kiinteäksi aineeksi. Tuotetta hierrettiin eetterin kanssa (2x) ja suodatettiin ja kuivattiin tyhjössä huoneenlämpötilassa, jolloin saatiin 220 mg otsikkoyhdistettä.

NMR: tavoiteltua rakennetta vastaava

Alkuaineanalyysi $C_{35}H_{41}NO_8S_3$-HCl:lle

laskettu:	C 57,09; H 5,75; N 1,90
saatu:	C 57,27; H 5,91; N 1,86

Molekyylipaino = 736,37

Esimerkki 12

[6-hydroksi-2-[4-(n-butyylisulfonoyyli)fenyyli]-bentso[b]tien-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]fenyyli]metanonin valmistus

20 g [6-hydroksi-2-[4-hydroksifenyyli]bentso[b]-tien-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]fenyyli]metanoni(Raloxifene)-hydrokloridia (0,04 mol) suspendoitiin 250 ml:aan THF:ää. 10 g trietyyliamiinia (0,1 mol) ja 10 mg 4-N,N-dimetyyliaminopyridiiniä lisättiin. Reaktioseosta sekoitettiin muutamia minuutteja typpikaasun alaisena. 6,25 g n-butyylisulfonoyylikloridia (0,04 mol) liuotettiin 25 ml:aan THF:ää ja lisättiin hitaasti reaktioseokseen 20 minuutin kuluessa. Reaktion annettiin jatkua 5 päivää huoneenlämpötilassa ja N_2:n alaisena. Reaktioseos haihdutettiin kumimaiseksi aineeksi ja suspendoitiin EtOAc:hen. EtOAc-seos pestiin peräkkäisesti vedellä, laimealla $NaHCO_3$:lla ja vedellä. EtOAc-liuos kuivattiin suodattamalla vedettömän Na_2SO_4:n läpi ja haihdutettiin amorfiseksi kiinteäksi aineeksi.

Saatu kiinteä aine liuotettiin 50 ml:aan CH_2Cl_2 ja kromatografoitiin (HPLC) käyttämällä piihappogeelipylvästä, joka eluoitiin käyttämällä lineaarista gradienttia $CHCl_3$ → $CHCl_3$-MeOH-seos (19:1) (til./til.). Neljä fraktiota määritettiin TLC:n avulla ja haihdutettiin tyhjössä amorfisiksi kiinteiksi aineiksi:

Fraktio A: [6-(n-butyylisulfonoyyli)-2-[4-(n-butyylisulfonoyyli) fenyyli]bentso[b]tien-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]fenyyli]metanonia, 5,43 g

Fraktio B: [6-hydroksi-2-[4-(n-butyylisulfonoyyli)fenyyli]bentso[b]-tien-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]fenyyli]metanonia, 2,19 g
RF = 0,50, piihappogeeli, $CHCl_3$-MeOH (19:1) til./til.

Fraktio C: [6-n-butyylisulfonyyli-2-(4-hydroksifenyyli)-bentso[b]tien-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)-etoksi]fenyyli]metanonia, 3,60 g
Rf = 0,41, piihappogeeli, $CHCl_3$-MeOH [19:1] til./til.

Fraktio D: Raloksifeeniä, 3,94 g

Fraktio B liuotettiin kokonaan kuumaan EtOAc:hen ja lisättiin heksaania ja otsikkoyhdiste kiteytettiin, jolloin saatiin 1,89 g otsikkoyhdistettä.

NMR: tavoilteltua rakennetta vastaava
MS: m/e = 594 (M+1) FD
Alkuaineanalyysi
laskettu: C 64,8; H 5,90; N 2,36
saatu: C 64,85; H 6,07; N 2,49

Esimerkki 13

[6-hydroksi-2-[4-(n-butyylisulfonoyyli)fenyyli]-bentso[b]tien-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]fenyyli]metanonihydrokloridin valmistus

1,7 g [6-hydroksi-2-[4-(n-butyylisulfonoyyli)fenyyli]bentso[b]-tien-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]fenyyli]metanonia (2,86 mmol) liuotettiin EtOAc:hen ja joukkoon lisättiin HCl:llä kyllästettyä eetteriliuosta. Tällöin muodostui paksua valkoista sakkaa. Neste erotettiin dekantoimalla. Jäljelle jäänyttä kiinteää ainetta hierrettiin eetterin kanssa (2x) ja kuivattiin, jolloin saatiin 1,57 g otsikkoyhdistettä valkoisena amorfisena jauheena.

NMR: tavoiteltua rakennetta vastaava
Alkuaineanalyysi $C_{32}H_{35}NO_6S_2$-HCl:lle
laskettu: C 60,99; H 5,76; N 2,22
saatu: C 61,17; H 5,88; N 2,27
Molekyylipaino = 630,23
MS: m/e = 594 (M-HCl) F.D.

Esimerkki 14

[6-n-butyylisulfonoyyli-2-[4-hydroksifenyyli]bentso[b]tien-3-yyli][4[2-(1-piperidinyyli)etoksi]fenyyli]metanonin valmistus

Esimerkistä 17 saatu fraktio C liuotetaan kokonaan 50 ml:aan kuumaa EtOAc:tä ja heksaania. Mitään kiteytymistä ei tapahtunut. Liuottimet haihdutettiin tyhjössä, jolloin saatiin 3,17 g otsikkoyhdistettä öljyisenä, valkoisena kiinteänä aineena.

NMR: tavoiteltua rakennetta vastaava

MS: m/e = 594 (M+1) FD

Alkuaineanalyysi $C_{32}H_{35}NO_6S$:lle

laskettu:	C 64,8; H 5,90; N 2,36
saatu:	C 64,37; H 5,87; N 2,28

Molekyylipaino = 593

Esimerkki 15

[6-n-butyylisulfonoyyli-2-[4-hydroksifenyyli]bentso[b]tien-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]-fenyyli]metanonihydrokloridin valmistus

3 g [6-n-butyylisulfonoyyli-2-[4-hydroksifenyyli]-bentso[b]tien-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]fenyyli]metanonia liuotettiin 50 ml:aan EtOAc:ta ja joukkoon lisättiin HCl:llä kyllästettyä eetteriliuosta. Tällöin muodostui valkoinen sakka ja neste erotettiin dekantoimalla. Kiinteää ainetta hierrettiin (2x) eetterin kanssa ja kuivattiin. Tällöin saatiin 2,51 g otsikkoyhdistettä valkoisena amorfisena jauheena.

NMR: tavoiteltua rakennetta vastaava

Alkuaineanalyysi $C_{32}H_{35}NO_6S_2$-HCl:lle

laskettu:	C 60,99; H 5,76; N 2,22
saatu:	C 60,71; H 5,84; N 2,21

Molekyylipaino = 630,23

MS: m/e = 594 (M-HCl) F.D.

Esimerkki 16

[6-[N-(4-kloorifenyyli)karbamoyyli]-2-[4-[N-(4-kloorifenyyli)karbamoyyli]fenyyli]bentso[b]tien-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]-fenyyli]metanonin valmistus

5,56 g (10,7 mmol) [6-hydroksi-2-(4-hydroksifenyyli)bentso[b]tien-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]fenyyli]metanonia liuotettiin 200 ml:aan kuivaa THF:ää ja joukkoon lisättiin 5,45 g (35,2 mmol) 4-kloorifenyyli-isosyanaattia. Reaktioseosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa typpiatmosfäärin alaisena. 18 tunnin kuluttua liuotin poistettiin haihduttamalla tyhjössä ja jäännös liuotettiin uudelleen kloroformiin. $CHCl_3$-liuos jäähdytettiin -20 °C:seen 24 tunnin ajaksi ja muodostunut sakka erotettiin suodattamalla. Jäljelle jäänyt liuos kromatografoitiin (Waters Prep 500, HPLC) käyttäen piihappogeelipylvästä, joka eluoitiin käyttämällä lineaarista gradienttia alkaen $CHCl_3$:lla ja lopettaen $CHCl_3$-MeOH-seoksella (19:1) (til./til.). Toivotut fraktiot määritettiin TLC:n avulla, yhdistettiin ja haihdutettiin kuiviin, jolloin saatiin 4,01 g otsikkoyhdistettä nahanruskeana amorfisena jauheena.

Alkuaineanalyysi $C_{42}C_{35}Cl_2N_3O_6S$:lle

laskettu:	C 64,6; H 4,48; N 5,38
saatu:	C 65,69; H 4,81; N 4,83

MS (FD) m/e = 779,781

Esimerkki 17

[6-[N-(4-kloorifenyyli)karbamoyyli]-2-[4-[N-(4-kloorifenyyli)karbamoyyli]fenyyli]bentso[b]tien-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]-fenyyli]metanonihydrokloridin valmistus

4,01 g [6-[N-(4-kloorifenyyli)karbamoyyli]-2-[4-[N-(4-kloorifenyyli)karbamoyyli]fenyyli]bentso[b]tien-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]fenyyli]metanonia liuotettiin 200 ml:aan eetteriä ja joukkoon lisättiin liu-

kenemisen aikaansaamiseksi pieni määrä THF:ää. Eetteriliuosta, joka oli kyllästetty HCl:llä, lisättiin siksi kunnes lisää sakkaa ei enää muodostunut. Reaktioseos haihdutettiin kuiviin ja sitä hierrettiin eetterin kanssa useita kertoja. Tehtiin yritys suolan kiteyttämiseksi kuumasta EtOAc:stä ja absoluuttisesta EtOH:sta, mikä onnistuikin. Liuottimen haihdutus antoi 2,58 g otsikkoyhdistettä nahanruskeana amorfisena jauheena.

Alkuaineanalyysi $C_{42}H_{35}Cl_2N_3O_6S$-HCl:lle

laskettu: C 61,73; H 4,44; N 5,14

saatu: C 57,43; H 4,29; N 4,19

NMR: tavoiteltua rakennetta vastaava ja sisältää määrittömättömän määrän liuotinta.

Esimerkki 18

[6-(N-n-butyylikarbamoyyli]-2-[4-(N-n-butyylikarbamoyyli)fenyyli]bentso[b]tien-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]fenyyli]metanonin valmistus

4,47 g (9 mmol) [6-hydroksi-2-(4-hydroksifenyyli)-bentso[b]tien-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]fenyyli]metanonia liuotettiin 250 ml:aan THF:ää ja joukkoon lisättiin 4 g (40 mmol) n-butyyli-isosyanaattia. Reaktioseoksen annettiin reagoida huoneenlämpötilassa ja typpikaasun alaisena 72 tuntia. Reaktioseos haihdutettiin tämän ajan päätyttyä ja jäännös liuotettiin minimaaliseen määrään $CHCl_3$:a. Tämä liuos kromatografoitiin (HPLC) käyttäen piihappogeelipylvästä, joka eluoitiin käyttämällä lineaarista gradienttia alkaen $CHCl_3$:lla ja päättäen $CHCl_3$-MeOH-seoksella (19:1), jolloin saatiin 4,87 g otsikkoyhdistettä nahan värisenä amorfisena jauheena.

Alkuaineanalyysi

laskettu: C 67,73; H 6,75; N 6,52

saatu: C 66,43; H 6,67; N 6,24

MS (FD) m/e = 672 (M+1)

NMR oli tavoilteltua rakennetta vastaava.

Esimerkki 19

[6-(N-metyylikarbamoyyli)-2-[4-(N-metyylikarbamoyyli)fenyyli]bentso[b]tien-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]fenyyli]metanonin valmistus

Valmistettiin suspensio, joka sisälsi 3 g (5,9 mmol) [6-hydroksi-2-(4-hydroksifenyyli)]bentso[b]tien-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]fenyyli]metanonihydrokloridia 250 ml:ssa vedetöntä THF:ää. Tähän suspensioon lisättiin 2 g (10 mmol) trietyyliamiinia ja reaktioseosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa noin 15 minuuttia typpiatmosfäärin alaisena. Sekoitettuun seokseen lisättiin 5,8 g (20 mmol) metyyli-isosyanaattia. Reaktion annettiin jatkua 36 tuntia. Reaktioseos suodatettiin ja haihdutettiin kuiviin tyhjössä. Jäännös liuotettiin 30 ml:aan kloroformia ja kromatografoitiin (HPLC) käyttäen piihappogeelipylvästä, joka eluoitiin käyttämällä lineaarista gradienttia alkaen kloroformilla ja päättäen kloroformi-metanoli-seoksella (19:1). Fraktiot analysoitiin TLC:n avulla ja toivotut fraktiot yhdistettiin ja haihdutettiin kuiviin tyhjössä, jolloin saatiin 2,2 g otsikkoyhdistettä amorfisena jauheena.

NMR: tavoiteltua rakennetta vastaava.

IR: 3 465, 2 942, 1741 cm^{-1} ($CHCl_3$)

MS: m/e = 588 (M+1) FD

$C_{32}H_{33}N_3O_6S$.

Esimerkki 20

[6-(N-metyylikarbamoyyli)-2-[4-(N-metyylikarbamoyyli)fenyyli]bentso[b]tien-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]fenyyli]metanonihydrokloridin valmistus

2 g [6-(N-metyylikarbamoyyli)-2[4-(N-metyylikarbamoyyli)fenyyli]bentso[b]tien-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]fenyyli]metanoniyhdistettä liuotettiin 20 ml:aan EtOAc:tä ja joukkoon lisättiin HCL:n eetteriliuosta, jolloin muodostui valkoinen sakka. Reaktioseos haih-

dutettiin kuiviin tyhjössä. Kiinteät aineet kiteytettiin asetoni-EtOAc-seoksesta, suodatettiin ja pestiin EtOAc:llä ja kuivattiin, jolloin saatiin 1,98 g otsikkoyhdistettä.

NMR: tavoiteltua rakennetta vastaava

Alkuaineanalyysi $C_{32}H_{34}ClN_3O_6S$:lle:

laskettu: C 61,58; H 5,49; N 6,73

saatu: C 61,25; H 5,96; N 5,97

Esimerkki 21

[6-(N-etyylikarbamoyyli)-2-[4-(N-etyylikarbamoyyli)fenyyli]bentso[b]tien-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]fenyyli]metanonin valmistus

4 g (7,85 mmol) [6-hydroksi-2-(4-hydroksifenyyli)-bentso[b]tien-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]fenyyli]metanonihydrokloridia suspendoitiin 250 ml:aan vedetöntä THF:ää ja joukkoon lisättiin 3 g (30 mmol) trietyyliamiinia. Reaktioseosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa typpikaasun alaisena 15 minuuttia. 1,67 g (23,5 mmol) etyyli-isosyanaattia lisättiin. 24 tunnin kuluttua reaktiota tarkistettiin TLC:n avulla ja todettiin, että reaktio ei ollut tapahtunut täydellisesti. Lisättiin lisäksi 4,5 g isosyanaattia. 96 tunnin kuluttua reaktioseos suodatettiin ja kromatografoitiin esimerkissä 19 kuvatulla tavalla, jolloin saatiin 4,23 g otsikkoyhdistettä valkoisena amorfisena jauheena.

NMR: tavoiteltua rakennetta vastaava

MS: m/e = 616 (M+1) FD

$C_{34}H_{37}N_3O_6S$.

Esimerkki 22

[6-(N-etyylikarbamoyyli)-2-[4-(N-etyylikarbamoyyli)fenyyli]bentso[b]tien-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]fenyyli]metanonihydrokloridin valmistus

Tätä yhdistettä valmistettiin oleellisesti samalla tavalla kuin esimerkin 20 menetelmissä on esitetty, jolloin saatiin 3,58 g otsikkoyhdistettä.

NMR: tavoiteltua rakennetta vastaava

Alkuaineanalyysi $C_{34}H_{38}ClN_3O_6S$:lle:

laskettu: C 62,61; H 5,87; N 6,44

saatu: C 62,33; H 6,16; N 6,41

Esimerkki 23

[6-(N-isopropyylikarbamoyyli)-2-[4-(N-isopropyylikarbamoyyli)fenyyli]bentso[b]tien-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]fenyyli]metanonin valmistus

4 g (7,85 mmol) [6-hydroksi-2-(4-hydroksifenyyli)-bentso[b]tien-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]fenyyli]metanonihydrokloridia suspendoitiin 250 ml:aan vedetöntä THF:ää ja joukkoon lisättiin 3 g (30 mmol) trietyyliamiinia. Reaktioseosta sekoitettiin 15 minuuttia huoneenlämpötilassa ja typpikaasun alaisena.

2,77 g (32,6 mmol) isopropyyli-isosyanaattia lisättiin. 24 tunnin kuluttua reaktiota tarkistettiin TLC:n avulla sen täydellisyyden osalta ja todettiin, että reaktio ei ollut tapahtunut täydellisesti. Lisättiin lisäksi 10,8 g (130,4 mmol) isosyanaattia ja reaktion annettiin jatkua vielä 96 tuntia. Toivottu yhdiste eristettiin oleellisesti esimerkissä 19 esitettyjen menetelmien mukaan ja tällöin saatiin 4,01 g otsikkoyhdistettä nahanruskeana amorfisena jauheena.

NMR: tavoiteltua rakennetta vastaava.

MS m/e = 644 (M+1) FD

$C_{36}H_{41}N_3O_6S$

Esimerkki 24

[6-(N-isopropyylikarbamoyyli)-2-[4-(N-isopropyylikarbamoyyli)fenyyli]bentso[b]tien-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]fenyyli]metanonihydrokloridin valmistus

Tätä yhdistettä valmistettiin oleellisesti noudattamalla esimerkin 20 menetelmiä, jolloin saatiin 3,58 g otsikkoyhdistettä valkoisena kiteisenä jauheena.

NMR: tavoiteltua rakennetta vastaava.

Alkuaineanalyysi $C_{36}H_{42}ClN_3O_6S$:lle:

laskettu: C 63,56; H 6,22; N 6,18

saatu: C 63,63; H 6,52; N 5,95

Esimerkki 25

[6-(N-sykloheksyylikarbamoyyli)-2[4-(N-sykloheksyylikarbamoyyli)fenyyli]bentso[b]tienyl-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]fenyyli]metanonin valmistus

3 g (5,9 mmol) [6-hydroksi-2-(4-hydroksifenyyli)-bentso[b]tien-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]fenyyli]metanonihydrokloridia suspendoitiin 250 ml:aan vedetöntä THF:ää ja joukkoon lisättiin 2 g (20 mmol) trietyyliamiinia. Reaktioseosta sekoitettiin 15 minuuttia huoneenlämpötilassa typpikaasun alaisena. 14,5 g (105 mmol) sykloheksyyli-isosyanaattia lisättiin. Reaktion annettiin jatkua 48 tuntia, jonka jälkeen lisättiin vielä 20 mmol isosyanaattia. Sen jälkeen kun oli kulunut 24 tuntia, eristettiin toivottu tuote oleellisesti esimerkin 19 menetelmien mukaan ja tällöin saatiin 4,07 g otsikkoyhdistettä nahanruskeana amorfisena jauheena.

NMR: tavoiteltua rakennetta vastaava

MS: m/e = 724 (M+1) FD

$C_{42}H_{49}N_3O_6S$

Esimerkki 26

6-(N-sykloheksyylikarbamoyyli)-2[4-(N-sykloheksyylikarbamoyyli)fenyyli]bentso[b]tienyl-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]fenyyli]metanonihydrokloridin valmistus

3,9 g 6-(N-sykloheksyylikarbamoyyli)-2[4-(N-sykloheksyylikarbamoyyli)fenyyli]bentso[b]tienyl-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]fenyyli]metanonia muutettiin sen hydrokloridisuolaksi oleellisesti samoilla menetelmillä kuin esimerkissä 20 on esitetty ja kiteytettiin kuumasta EtOAc:stä. Tällöin saatiin 3 g otsikkoyhdistettä valkoisena jauheena.

NMR: tavoiteltua rakennetta vastaava.

Alkuaineanalyysi $C_{42}H_{50}ClN_3O_6S$:lle

saatu: C 66,34; H 6,63; N 5,53

laskettu: C 66,32; H 6,92; N 5,62

Esimerkki 27

[6-(N-fenyylikarbamoyyli)-2[4-(N-fenyylikarbamoyyli)fenyyli]bentso[b]tien-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]fenyyli]metanonin valmistus

3 g (5,9 mmol) [6-hydroksi-2[4-hydroksifenyyli)-bentso[b]tien-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]fenyyli]metanonihydrokloridia suspendoitiin 250 ml:aan vedetöntä THF:ää ja joukkoon lisättiin 2 g (20 mmol) trietyyliamiinia. Reaktioseosta sekoitettiin 15 minuuttia huoneenlämpötilassa typpikaasun alaisena. 15 ml fenyyli-isosyanaattia lisättiin ja reaktion annettiin jatkua 96 tuntia. Lisäksi lisättiin 5 ml isosyanaattia. Sen jälkeen kun oli vielä kulunut 48 tuntia, reaktioseos suodatettiin ja haihdutettiin öljyksi. Öljyä hierrettiin heptaanin kanssa ja neste erotettiin dekantoimalla. Öljy liuotettiin kloroformiin ja kromatografoitiin (HPLC) käyttäen piihappogeelipylvästä, joka eluoitiin käyttäen lineaarista gradienttia alkaen kloroformilla ja päättäen kloroformi-MeOH-seoksella (19:1). Toivotut fraktiot yhdistettiin ja haihdutettiin öljyksi, jolloin saatiin 3,31 g otsikkoyhdistettä.

NMR: tavoiteltua rakennetta vastaava

MS: m/e = 711 ja jonkin verran 212 (difenyyliurea)

$C_{42H37}N_3O_6S$.

Esimerkki 28

[6-(N-fenyylikarbamoyyli)-2[4-(N-fenyylikarbamoyyli)fenyyli]bentso[b]tien-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]fenyyli]metanonihydrokloridin valmistus

3,2 g [6-(N-fenyylikarbamoyyli)-2[4-(N-fenyylikarbamoyyli)fenyyli]bentso[b]tien-3-yyli][4-[2-(1-piperidi-

nyyli)etoksi]fenyyli]metanonia liuotettiin EtOAc:hen ja suodatettiin. HCl:n eetteriliuosta lisättiin liuokseen ja tällöin muodostui valkoinen sakka. Neste erotettiin dekantoimalla. Kiinteä aine liuotettiin pieneen määrään asetonia ja suodatettiin, jonka jälkeen se haihdutettiin kuiviin, jolloin saatiin 270 mg otsikkoyhdistettä nahanruskeana amorfisena jauheena.

Alkuaineanalyysi $C_{42}H_{38}ClN_3O_6S$:lle:

laskettu: C 67,42; H 5,12; N 5,62

saatu: C 67,51; H 5,37; N 5,50

Noudattamalla oleellisesti edellä kuvattuja menetelmiä voi alan ammattimies valmistaa kaavan I mukaisia yhdisteitä.

Kuten edellä mainittiin, esillä olevan keksinnön mukaiset yhdisteet ovat käyttökelpoisia luukadon ehkäisemiseksi, seerumin kolesterolipitoisuuksien alentamiseksi ja hormoneista johtuvan nisäkkään rinta- ja kohtusyövän käsittelemiseksi. Esillä olevan keksinnön muita toteutusmuotoja ovat tällöin menetelmät luukadon ehkäisemiseksi, seerumin kolesterolin alentamiseksi ja hormoneista johtuvan rinta- kohtusyövän käsittelemiseksi antamalla käsittelyn tarpeessa olevalle nisäkkäälle luukatoa ehkäisevä, seerumin kolesterolia alentava ja hormoneista johtuvan rinta- tai kohtusyövän ehkäisevä annos (tehokas määrä) kaavan I mukaista yhdistettä tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävää suolaa tai solvaattia.

Termi "tehokas määrä" tarkoittaa tässä käytettynä esillä olevan keksinnön mukaisen yhdisteen määrää, joka kykenee ehkäisemään luukadon, alentamaan seerumin kolesterolipitoisuuksia tai ehkäisemään hormoneista johtuvan rinta- ja kohtusyövän. Esillä olevat menetelmät käsittävät tarkoituksenmukaista terapeuttista ja/tai ennakolta ehkäisevää käsittelyä. Tämän keksinnön mukaan annettu yhdisteen tarkka annos terapeuttisten ja/tai ennakolta ehkäisevien vaikutusten saavuttamiseksi määräytyy luonnollisestikin

tapaukseen liittyvien erityisten olosuhteiden johdosta, joita ovat esimerkiksi annettu yhdiste, lääkkeenantotapa ja käsiteltävä sairaustila. Tyypillinen päiväannos sisältää tämän keksinnön mukaista aktiivista yhdistettä ei-myrkyllisen annostusmääran, joka on välillä noin 0,1 mg/kg - noin 1 000 mg/kg kehon painoa annettuna yksinään tai annettuna estrogeenin kanssa tai yhdistelmänä estrogeenin kanssa. Edulliset päivittäiset annokset ovat yleensä välillä noin 0,5 - noin 600 mg/kg ja ihanteellisesti välillä noin 1,0 - noin 300 mg/kg. Hyväksyttävät ja tehokkaat esterogeenin päivittäiset annokset ovat yleensä välillä noin 0,01 - noin 4,0 mg ja tyypillisemmin välillä noin 0,1 - noin 2,0 mg.

Esillä olevan keksinnön mukaiset menetelmät ovat käyttökelpoisia miehille samoin kuin naisille. Estrogeenisen vastauksen oleellinen puuttuminen tekisi miehille suotavaksi käyttää esillä olevan keksinnön mukaista menetelmää ilman että ilmenisi esterogeenin tai estrogeeniagonistien naismaisistavaa vaikutusta, kuten miehen nisän liikakasvua. Esillä olevan keksinnön mukainen menetelmä on kuitenkin edullisesti käyttökelpoinen naisille, erityisemmin esterogeenin puutetta kärsiville naisille. Luukadolla tarkoitetaan luumassan vähenemistä luun tilavuuden säilyessä staattisena, kuten osteoporoosia ja Cushing in sairautta. Estrogeenin puutetta saattaa esiintyä luonnollisesti, kuten kuukautisten lakkaamisen jälkeen, tai kirurgisesti. Potilaat, jotka käyttävät tai ovat pitkän ajan käyttäneet kortikosteroideja, ja ne joilla on gonadaalinen dysgeneesi, voivat myös käyttää esillä olevan keksinnön mukaisia yhdisteitä, valmisteita ja menetelmiä.

Yhdisteitä voidaan antaa monella tavalla ja näitä ovat oraalinen, rektaalinen, transdermaalinen, subkutaaninen, intravenöösinen, intramuskulaarinen ja intranasaalinen lääkkeenantotapa. Esillä olevan keksinnön mukaisia yhdisteitä valmistetaan edullisesti valmisteiksi ennen

lääkkeenantoa. Tällöin esillä olevan keksinnön vielä eräänä toteutusmuotona on farmaseuttinen valmiste, joka sisältää tehokkaan määrän kaavan I mukaista yhdistettä tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävää suolaa tai solvaattia, yksinään tai yhdistelmänä esterogeenin ja sopivan farmaseuttisesti hyväksyttavän kantaja-aineen, laimennusaineen tai eksipientin kanssa.

Aktiivista ainetta on tällaisissa valmisteissa 0,1 - 99,9 paino-% valmisteesta. "Farmaseuttisesti hyväksyttävällä" tarkoitetaan sitä, että kantaja-aineen, laimennusaineen tai eksipientin tulee olla sekoituskelpoinen valmisteen muiden aineosien kanssa eivätkä ne saa olla vahingollisia niiden vastaanottajalle.

Kyseisiä farmaseuttisia valmisteita valmistetaan tunnetuilla menetelmillä käyttämällä hyvin tunnettuja ja helposti saatavia aineksia. Esillä olevan keksinnön mukaisten koostumusten valmistamiseksi sekoitetaan aktiivinen aineosa yleensä kantaja-aineen kanssa, tai laimennetaan kantaja-aineella, tai suljetaan kantajan sisään, joka voi olla kapselin, lääkepussin, paperin tai jonkin muun säiliön muodossa. Jos kantaja-aine toimii laimennusaineena, se voi olla kiinteää, puolikiinteää tai nestemäistä ainetta, joka toimii liuottimena, eksipienttinä tai väliaineena aktiiviselle aineosalle. Niinpä koostumukset voivat olla tablettien, pillerien, jauheiden, pastillien, lääkepussien, tärkkelyskapselien, eliksiirien, suspensioiden, emulsioiden, liuosten, siirappien, aerosolien, (kiinteässä tai nestemäisessä väliaineessa), pehmeiden tai kovien gelatiinikapselien, suppositorioiden, steriilien injektoitavien liuosten, steriilisti pakattujen jauheiden ja näiden kaltaisten muodossa. Tyypillisiä ulkonaiseen käyttöön tarkoitettuja valmisteita ovat salvat, kermat, geelit ja liuokset, jotka sisältävät esimerkiksi enintään 10 paino-% aktiivista yhdistettä.

Seuraavat valmiste-esimerkit ovat ainoastaan asiaa valaisevia, mutta eivät ole tarkoitetut millään tavalla rajoittamaan keksinnön piiriä. "Aktiivinen aines" tarkoittaa luonnollisestikin kaavan I mukaista yhdistettä tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävää suolaa tai solvaattia.

Valmiste 1

Kovia gelatiinikapseleita valmistetaan käyttämällä seuraavia aineksia:

	Määrä (mg/kapseli)
aktiivista ainesta	250
tärkkelystä, kuivattua	200
magnesiumstearaattia	10
yhteensä	460 mg

Valmiste 2

Valmistetaan tabletti käyttämällä seuraavia aineksia:

	Määrä (mg/tabletti)
aktiivista ainesta	250
selluloosaa, mikrokiteistä	400
piidioksidia, höyrytettyä	10
steariinihappoa	5
yhteensä	665 mg

Komponentit sekoitetaan ja puristetaan tableteiksi, joista jokainen painaa 665 mg.

Valmiste 3

Valmistetaan aerosoliliuos, joka sisältää seuraavia komponentteja:

	Paino
aktiivista ainesta	0,25
etanolia	25,75
Propellant	22,00
(klooridifluorimetaania)	70,00
yhteensä	100,00

Aktiivinen yhdiste sekoitetaan etanolin kanssa ja seos lisätään osaan propellant 22, jäähdytetään -30 °C:seen ja siirretään täyttölaitteeseen. Tarvittava määrä syötetään sen jälkeen ruostumatonta terästä olevaan säiliöön ja laimennetaan jäljellä olevan ponnekaasun kanssa. Venttiiliyksiköt kiinnitetään sen jälkeen säiliöön.

Valmiste 4

Tabletteja, joista jokainen sisältää 60 mg aktiivista ainesta, valmistetaan seuraavalla tavalla:

aktiivista ainesta	60 mg
tärkkelystä	45 mg
mikrokiteistä selluloosaa	35 mg
polyvinyylipyrrolidonia (10-%:isena vesiliuoksena)	4 mg
natriumkarboksimetyylitärkkelystä	4,5 mg
magnesiumstearaattia	0,5 mg
talkkia	1 mg
yhteensä	150 mg

Aktiivinen aines, tärkkelys ja selluloosa johdetaan US-seulan nro 45 meshiä läpi ja sekoitetaan perusteellisesti. Vesiliuos, joka sisältää polyvinyylipyrrolidonia, sekoitetaan tuloksena olevan jauheen kanssa, ja seos johdetaan sen jälkeen US-seulan nro 14 meshiä läpi. Näin valmistetut rakeet kuivataan 50 °C:ssa ja johdetaan US-seulan nro 18 meshiä läpi. Natriumkarboksimetyylitärkkelys, magnesiumstearaatti ja talkki, jotka on etukäteen johdettu US-seulan nro 60 meshiä läpi, lisätään sen jälkeen rakei-

siin, jotka sekoittamisen jälkeen puristetaan tabletoimiskoneessa tablettien saamiseksi, joista jokainen painaa 150 mg.

Valmiste 5

Kapseleita, joista jokainen sisältää 80 mg aktiivista ainesta, valmistetaan seuraavalla tavalla:

aktiivista ainesta	80 mg
tärkkelystä	59 mg
mikrokiteistä selluloosaa	59 mg
magnesiumstearaattia	2 mg
yhteensä	200 mg

Aktiivinen aines, selluloosa, tärkkelys ja magnesiumstearaatti sekoitetaan, johdetaan US-seulan nro 45 meshiä läpi ja täytetään koviin gelatiinikapseleihin 200 mg:n määrissä.

Valmiste 6

Suppositorioita, joista jokainen sisältää 225 mg aktiivista ainesta, valmistetaan seuraavalla tavalla:

aktiivista ainesta	225 mg
tyydytettyjä rasvahappoglyseridejä	2,000 mg
yhteensä	2,225 mg

Aktiivinen aines johdetaan US-seulan nro 60 meshiä läpi ja suspendoidaan tyydytettyihin rasvahappoglyserideihin, jotka on etukäteen sulatettu käyttäen mahdollisimman vähäistä tarvittavaa lämpöä. Seos kaadetaan sen jälkeen suppositoriomuottiin, jonka nimellinen kapasiteetti on 2 g, ja annetaan jäähtyä.

Valmiste 7

Suspensioita, joista jokainen sisältää 50 mg aktiivista ainesta 5 ml:n suuruista annosta kohti, valmistetaan seuraavalla tavalla:

aktiivista ainesta	50 mg
natriumkarboksimetyyliselluloosaa	50 mg

siirappia	1,25 ml
bentsoehapon liuosta	0,10 ml
maustetta	q.v.
väriainetta	q.v.
puhdistettua vettä kokonaismäärään asti, joka on	5 ml

Aktiivinen aines johdetaan US-seulan nro 45 meshiä läpi ja sekoitetaan natriumkarboksimetyyliselluloosan ja siirapin kanssa pehmeän tahtaan muodostamiseksi. Bentsoehapon liuos, mauste ja väriaine laimennetaan osalla vettä ja lisätään samalla hämmentäen. Sen jälkeen lisätään riittävästi vettä vaadittuun tilavuuteen asti.

Valmiste 8

Suonensisäisesti annettavaa valmistetta voidaan valmistaa seuraavalla tavalla:

aktiivista ainesta	100 mg
isotonista ruokasuolaliuosta	1,000 ml

Edellä mainittujen ainesten liuosta annetaan yleensä suonensisäisesti kohteelle nopeudella 1 ml/min.

Seuraavat arvostelut suoritettiin kuukautisten lakkaamisen jälkeen tapahtuvassa osteoporoosimallikokeessa, jossa erilaisten käsittelyjen vaikutukset reisiluun distaaliseen tiheyteen ja seerumin kolesteroliin määritettiin.

Luun tiheys

75 päivän vanhoja naaraspuolisia Sprague Dawley -rottia (painoalue välillä 225 - 275 g) saatiin toiminimeltä Charles River Laboratories (Portage, MI). Ne majoitettiin kolmen ryhmissä ja ne saivat mielin määrin ravintoa (kalsiumpitoisuus noin 1 %) ja vettä. Huoneenlämpötila pysytettiin arvoissa 22,2 ± 1,7 °C suhteellisen minimikosteuden ollessa 40 %. Valojaksot huoneessa olivat 12 tuntia valoa ja 12 tuntia pimeää.

Viikon kuluttua saapumisen jälkeen rotille suoritettiin molemminpuolisten munasarjojen poisto narkoosissa (44 mg/kg ketamiinia ja 5 mg/kg ksylatsiinia (Butler, Indianapolis, IN) annettuna lihaksensisäisesti. Käsittely kantaja-aineella, estrogeenilla ja kaavan I mukaisella yhdisteellä aloitettiin sinä päivänä, jolloin suoritettiin kirurginen toimenpide, nukutuksesta palautumisen jälkeen. Letkun kautta annettu oraalinen annostus tapahtui 0,5 ml:ssa 1-%:ista karboksimetyyliselluloosaa (CMC). Kehon paino määritettiin leikkausajankohtana ja viikko sen jälkeen ja annostus säädettiin kehon painon muutosten mukaan. Kantaja-aineella tai estrogeenilla käsiteltyjä rottia, joilta munasarjat oli poistettu (OVX), ja rottia, joilta munasarjoja ei oltu poistettu (koskemattomia), arvosteltiin rinnakkain kunkin koeryhmän kanssa toimimaan negatiivisina ja positiivisina kontrolleina.

Rottia käsiteltiin päivittäin 35 päivän ajan (6 rottaa käsittelyryhmää kohti) ja rotat tapettiin tukehduttamalla hiilidioksidilla 36. päivänä. Joissakin tapauksissa otettiin sydämestä verinäytteet (kolesterolianalyysiä varten) nukutetuilta (ketamiini/ksylatsiini) rotilta ennen niiden tukehduttamista hiilidioksidilla. 35 päivän pituinen ajanjakso oli riittävä tuottamaan maksimaalisen pienenemisen luun tiheydessä, mitattuna tässä kuvatulla tavalla. Surmaamisajankohtana kohdut poistettiin, niistä leikattiin irti ylimääräinen kudos ja nestepitoisuudet poistettiin ennen märkäpainon määritystä täydelliseen munasarjojen poistoon liittyvän estrogeenin puutoksen vahvistamiseksi. Kohdun paino väheni tavallisesti noin 75 % munasarjojen poiston johdosta. Kohdut pantiin 10-%:iseen, neutraaliksi puskuroituun formaliiniin jälkeenpäin suoritettavia histologisia analyysejä varten.

Oikeat reisiluut leikattiin irti ja niitä tarkasteltiin distaalisen metafyysin kohdalta 1 mm polvilumpion uurteesta yksinkertaisella fotoabsorptiomittarilla. Ti-

heysmittarin mittausten tulokset edustavat luun tiheyden laskelmaa luun mineraalipitoisuuden ja luun laajuuden funktiona.

Seerumin kolesteroli (4-päiväinen koe)

75 päivän vanhoja naaraspuolisia Sprague Dawley -rottia (painoalue välillä 200 - 225 g) saatiin toiminimeltä Charles River Laboratories (Portage, MI). Eläimiltä oli joko poistettu molemmat munasarjat (OVX) tai niille oli suoritettu Shamin kirurginen toimenpide toiminimessä Charles River Laboratories, ja sen jälkeen kun viikko oli kulunut, ne oli lähetetty.

Saapumisen jälkeen rotat majoitettiin riippuviin metallisiin häkkeihin ryhmissä, joissa oli 3 tai 4 rottaa häkkiä kohti ja ne saivat mielen mukaan ravintoa (kalkkipitoisuun noin 0,5 %) ja vettä yhden viikon ajan. Huoneenlämpötila pysytettiin arvoissa 22,2 + 1,7 °C suhteellisen kosteuden minimiarvon ollessa 40 %. Valojaksotus huoneessa vastasi 12 tuntia valoa ja 12 tuntia pimeää.

Annostusohje/kudos

Kooste. Viikon pituisen sopeutusjakson jälkeen (tällöin 2 viikkoa OVX:n jälkeen) aloitettiin päivittäinen annostus koeyhdisteellä. Kaikkia yhdisteitä annettiin oraalisesti 1 ml/kg kehon painoa, ellei toisin ole ilmoitettu. 17ß-estradiolia annettiin subkutaanisesti 20-%:isessa polyetyleeniglykolikantaja-aineessa, 17α-etynyyliestradiolia ja koeyhdistettä annettiin oraalisesti, ellei toisin ole mainittu, suspensiona 1-%:isessa karboksimetyyliselluloosassa tai 20-%:isessa syklodekstriinissä. Eläimille annosteltiin aineita päivittäin 4 päivän ajan. 4-päiväisen annostusohjeen jälkeen eläimet punnittiin ja nukutettiin ketamiini:ksylatsiini-seoksella (2:1, til./til.) ja verinäytteet otettiin sydänpunktion avulla. Sen jälkeen eläimet surmattiin tukehduttamalla CO_2:lla ja kohtu poistettiin suorittamalla ruumiinavaus keskiviivaa pitkin ja märkäpaino määritettiin.

Kolesterolianalyysi. Verinäytteiden annettiin hyytyä huoneenlämpötilassa 2 tuntia, ja seerumi saatiin suorittamalla sen jälkeen sentrifugointi 10 minuutin ajan nopeudella 3 000 kierrosta minuutissa. Seerumin kolesteroli määritettiin käyttämällä toiminimen Boehringer Mannheim Diagnostics in korkeatehoista kolesterolikoetta. Lyhyesti sanottuna, kolesteroli hapetettiin kolest-4-en-3-oniksi ja vetyperoksidiksi. Vetyperoksidi saatettiin sen jälkeen reagoimaan fenolin ja 4-aminofenatsonin kanssa peroksidaasin läsnä ollessa p-kinonoe-imiini-väriaineen muodostamiseksi, joka määritettiin spektrofotometrisesti arvolla 500 nm. Kolesterolikonsentraatio laskettiin sen jälkeen standardikäyrää vasten. Koko koe automatisoitiin käyttäen Biomek Automated Workstation -järjestelmää.

Kohdun eosinomielteinen peroksidaasikoe. Sekä luun tiheyttä että seerumin kolesterolia koskevissa arvioinneista saatuja kohtuja pidettiin 4 °C:ssa entsymaattisen analyysin suorituksen ajankohtaan asti. Kohdut homogenoitiin sen jälkeen 50 tilavuudessa 50 nM tritpuskuria (pH - 8,0), joka sisälsi 0,005 % Triton X-100. Sen jälkeen kun oli lisätty 0,01-%:ista vetyperoksidia ja 10 mM o-fenyleenidiamiinia (lopulliset konsentraatiot) tris-puskuriin, tarkkailtiin absorbenssissa tapahtuvaa suurenemista yhden minuutin ajan arvolla 450 nm. Eosinofiilien läsnäolo kohdussa on merkki yhdisteen estrogeenisesta aktiviteetista. Enimmäisnopeus 15 sekunnin aikavälilä määritti reaktiokäyrän lineaarisen alkuosuuden.

Yhdisteiden lähteet: 17ß-estradiolia ja 17α-etynyyliestradiolia saatiin toiminimeltä Sigma Chemical Co., St. Louis, MO.

Tilastotietoja. Kaikki koeryhmät käsittivät 5 tai 6 eläintä. Tilastollisia vertailuja tehtiin käyttämällä 1-tie-varianssianalyysiä, ja siinä tapauksessa, että tilastollinen merkitys osoitettiin ($p \leq 0,05$), keskiarvot erotettiin post-hoc-vaihteluanalyysin avulla. Tulokset

ilmoitetaan prosentuaalisena muutoksena laskettuna vertaamalla kantaja-aineella käsiteltyihin OVX-verranteisiin.

US-patentissa 4 418 068 esitetään [6-(metyylisulfonoyylioksi)-2-[4-(metyylisulfonoyylioksi)fenyyli]bentso[b]tien-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]fenyyli]-metanonihydrokloridin ja [6-(fenyylisulfonoyylioksi)-2-[4-(fenyylisulfonoyylioksi]fenyyli]bentso[b]tien-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]fenyyli]metanonihydrokloridin valmistusta hydroksi-suojattuina välituotteina, jotka ovat käyttökelpoisia mainitussa patentissa esitettyjen toivottujen yhdisteiden synteesissä. Näitä välituotteita valmistetaan myös ja arvostellaan edellä kuvatuissa testausjärjestelmissä.

Neljä päivää kestäneiden arvostelujen tulokset esitetään taulukossa 1 ja 35 päivää kestäneiden arvostelujen tulokset taulukossa 2. Taulukot 3 ja 4 esittävät tuloksia, jotka on saatu US-patentilla 4 418 068 suojatuilla välituotteilla käyttäen samoja arvostelumenetelmiä sekä sulfonaattianalogeilla esillä olevan keksinnön puitteiden ulkopuolella, joissa kaavan I mukaan R ja R^1 ovat $-OSO_2-(CH_2)_n-CH_3$ ja n on 2 tai 6; X on sidos; ja R^2 on piperidino (vain 4 päivää kestänyt arvostelu).

Taulukko 1

4-päiväinen OVX

Esimerkki nro	Annos (mg/kg)	Kohdun paino (lisäys %)	Esinofiiliperoksidoosi (Vmaks)	Seerumin kolesteroli (pieneneminen %)
1	0,1	-7,2	5,2	32,0
	1	-8,9	5,6	44,8
	10	-6,4	5,0	65,2
2	0,01	0	4,2	0
	0,1	22,4	4,2	32,9
	1	32,6	5,2	58,0
	10	27,6	7,0	69,9
4	0,1	-8,4	5,2	-10,9
	1	-1,3	3,2	14,7
	10	24,2	5,6	37,7
6	0,1	-11,8	3,8	29,7
	1	-11,8	4,1	15,1
	10	10,1	4,4	26,6
9	0,1	19,5	4,7	31,7
	1	43,9	7,3	52,0
	10	56,1	22,9	73,0
11	0,1	2,8	14,9	33,4
	1	17,7	14,4	61,7
	10	22,3	10,1	62,3
13	0,1	33,3	7,7	44,4
	1	12,5	7,6	72,0
	10	25,0	5,5	75,2
15	0,1	6,3	5,3	72,7
	1	16,7	4,8	69,9
	10	-2,0	5,3	72,1
20	0,01	16,7	5,3	24,3
	0,1	19,0	4,9	23,0
	1	45,2	10,7	52,0
22	0,1	48,8	3,1	43,8
	1	35,1	3,7	65,5
	10	41,8	1,2	63,0
24	0,1	34,9	4,8	28,2
	1	42,3	7,1	56,1
	10	50,5	5,3	55,7
26	0,1	13,0	3,5	12,2
	1	23,7	4,6	51,3
	10	14,4	5,2	52,8

Taulukko 2

35-päiväinen OVX

Esimerkki nro	Annos (mg/kg)	Luun mineraalipitoisuus (% suojattu)	Kohdun paino (% lisäys vs. OVX)	Seerumin kolesteroli (% pieneneminen vs. OVX)
2	0.01	-40	14,4	0,9
	0.1	-17,5	49,0	16,4
	1.0	-7,5	71,2	30,7
	10.0	50	73,5	48,2
4	0.01	10,7	-1,0	2,3
	0.1	14,7	-4,8	-37
	1.0	41,3	74,8	-24
	10.0	54,2	83,3	51,3
6	0.01	6,7	13,4	-1,5
	0.1	10,0	16,2	-15,8
	1.0	0	27,6	-11,6
	10.0	40,0	77,6	-2,0
20	0.01	-2,1	38,6	45,0
	0.1	20,8	89,2	42,6
	1.0	12,5	78,4	57,7
	10.0	25	90,6	53,6
22	0.01	-24,4	-2,3	9,2
	0.1	6,7	55,0	31,9
	1.0	44,4	48,4	53,5
	10.0	42,2	48,8	59,5
24	0.01	-24,4	4,2	19,9
	0.1	33,3	40,0	30,6
	1.0	31,1	81,6	49,6
	10.0	64,4	42,0	50,5
26	0.01	0	1,3	0,5
	0.1	-29,2	41,1	39,4
	1.0	54,2	96,9	51,8
	10.0	50,0	62,5	45,0
28	0.01	-0,6	13,4	-6,1
	0.1	42,7	61,8	10,4
	1.0	22,1	80,8	4,4

Taulukko 3

4-päiväinen OVX

Yhdiste	Annos mg/kg	Kohdun paino (lisäys) prosenteissa)	Eonofiili peroksidoosi (Vmaks)	Seerumin, kolesteroli (pienenemi-nen %)
[6-(metyylisulfonyylioksi)-2-[4-(metyylifulfonoyylioksi)fenyyli]-bentso[b]tien-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]fenyyli]-metanonihydrokloridi	0,1	-19,6	6,2	1,7
	1,0	-20,8	8,3	6,2
	10,0	-17,8	6,2	3,7
[6-(fenyylisulfonoyylioksi)-2-[4-(fenyylisulfonoyylioksi)fenyyli] bentso[b]-tien-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]fenyyli]-metanonihydrokloridi	0,1	20,9	4,8	-6,8
	1,0	-7	3,6	-0,2
	10,0	27,9	4,9	6,1
[6-(n-propyylisulfonoyyli)-2-[4-(n-propyylisulfonoyyli)fenyyli]-bentso[b]-tienyyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]fenyyli]-metanonihydrokloridi	0,1	-22,2	16,1	-8
	1,0	-12,6	6,6	7,3
	10,0	4,8	11,6	10,7
[6-(n-heptyylisulfonoyyli)-2-[4-(n-heptyylisulfonoyyli)fenyyli]-bentso[b]tien-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]fenyyli]-metanonihydrokloridi	0,1	2,9	3,6	11,6
	1,0	-2,6	4,01	9,9
	10,0	3,5	3,5	13,5

Taulukko 4

35-päiväinen OVX

Yhdiste	Annos mg/kg	Luun mineraali-pitoisuus pitoisuus (suojattu %)	Kohdun paino (lisäys % versus OVX)	Seerumin kolesteroli (väheneminen % versus OVX)
[6-(metyylisulfonoyylioksi)-2-[4-(metyylisulfonoyylioksi)fenyyli]-bentso-[b]tien-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]fenyyli]-metanonihydrokloridi	0,01	2,8	-17,7	4
	0,1	5,6	-10,5	3,6
	1,0	2,8	-13,4	2,6
	10,0	5,6	-7,9	3,5
[6-(fenyylisulfonoyylioksi)-2-[4-(fenyylisulfonoyylioksi)fenyyli]-bentso[b]tien-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi)fenyyli]-metanonihydrokloridi	0,01	-35,3	-6,4	-10,8
	0,1	5,9	-7,7	-14,4
	1,0	-17,6	-9,9	-19,0
	10,0	-50,0	-29,4	-15,5

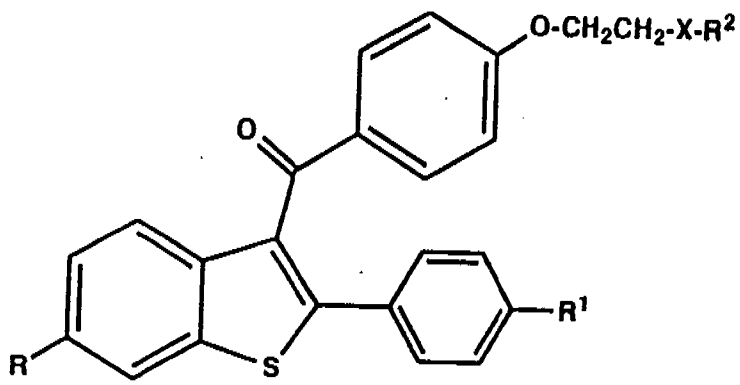
DMBA:n indusoiman nisäsyövän ehkäiseminen

Nisäsyöpää aiheutettiin naaraspuolisissa Sprague-Dawley-rotissa, jotka hankittiin toiminimeltä Harlan Industries, Indianapolis, Indiana. Noin 55 päivän vanhoina rotille annettiin oraalisesti 20 mg 7,12-dimetyylibents-[a]antraseenia (DMBA). Noin 6 viikkoa DMBA:n antamisen jälkeen nisiä tunnusteltiin käsin viikon välein kasvannaisten toteamiseksi. Aina kun yksi tai useampia kasvannaisia ilmeni, mitattiin jokaisesta kasvannaisesta pisin ja lyhin halkaisija metrisellä mittatulkilla, mittaustulokset merkittiin muistiin ja tämä eläin valittiin testausta varten. Pyrittiin jakamaan eri kokoisia kasvannaisia yhdenmukaisesti käsiteltyihin ja vertailuryhmiin, niin että kooltaan keskinkertaiset kasvannaiset jakautuivat tasaisesti koeryhmien kesken. Vertailuryhmät ja koeryhmät kutakin koetta varten käsittivät 5 - 9 eläintä. Koe-eläinten keskimääräinen lukumäärä ilmoitetaan kussakin kokeessa tässä esitetyissä tulostaulukoissa.

Koeyhdisteitä annettiin joko intraperitoneaalisina ruiskeina 2-%:isessa arabikumissa (acacia) tai oraalisesti. Oraalisesti annetut yhdisteet oli joko liuotettu tai suspendoitu 0,2 ml:aan maissiöljyä. Jokainen käsittely, mukaan lukien akaasialla ja maissiöljyllä suoritetut vertailukäsittelyt, suoritettiin kerran päivässä kullekin koe-eläimelle. Kasvannaisen ensimmäisen mittauksen ja koe-eläinten valinnan jälkeen kasvannaisia mitattiin joka viikko edellä kuvatulla menetelmällä. Eläinten käsittely ja mittaukset jatkuivat 3 - 5 viikkoa, jolloin määritettiin kasvannaisten lopulliset pinta-alat. Kunkin yhdisteen ja vertailukäsittelyn osalta määritettiin muutos keskimääräisessä kasvannaisen pinta-alassa. Keskimääräinen muutos analysoitiin merkityksensä osalta käyttäen Student's t-test-nimistä koetta. Näiden kokeiden tulokset esitetään jäljempänä olevassa taulukossa 5.

Patenttivaatimukset:

1. Menetelmä valmistaa yhdistettä, jolla on kaava



I

jossa

X on sidos tai $-CH_2-$;

R^2 on heterosyklinen rengas valittuna ryhmästä, johon kuuluvat pyrrolidino, piperidino tai heksametyleenimino;

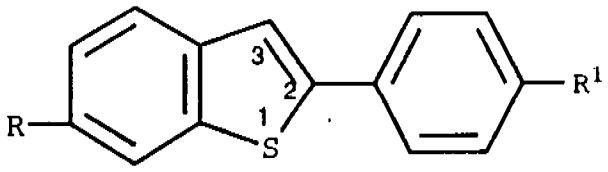
R on OH, $-OSO_2-(CH_2)_n-CH_3$ tai $-O\overset{O}{\overset{\|}{C}}\overset{H}{N}-R^3$;

R^1 on vety, OH, fluori, kloori, $-OSO_2-(CH_2)_n-CH_3$ tai $-O\overset{O}{\overset{\|}{C}}\overset{H}{N}-R^3$;

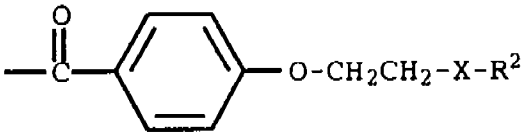
jokainen R^3 on riippumattomasti C_{1-6}-alkyyli, C_{3-6}-sykloalkyyli, ei-substituoitu tai substituoitu fenyyli, jossa substituentti on fluori, kloori, C_{1-3}-alkyyli tai C_{1-3}-alkoksi;

jokainen n on riippumattomasti 3, 4 tai 5; ja näiden yhdisteiden farmaseuttisesti hyväksyttäviä suoloja ja solvaatteja; edellyttäen, että ainakin toinen symboleista R ja R^1 on $-OSO_2-(CH_2)_n-CH_3$ tai $-O\overset{O}{\overset{\|}{C}}\overset{H}{N}-R^3$.

jonka menetelmän mukaan asyloidaan yhdiste, jolla on kaava



(joka tarvittaessa voi olla suojattu R:n ja R^1:n kohdalla), 3-asemassa ryhmällä



(ja poistamalla tarvittaessa suojaus R:n ja R^1:n kohdalta).

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, jossa R^2 on pyrrolidino- tai piperidinorengas.

3. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, jossa R on $-OSO_2-(CH_2)_nCH_3$ ja n on 3, 4 tai 5.

4. Patenttivaatimuksen 3 mukainen menetelmä, jossa R^1 on vety, OH, kloori, fluori tai $-OSO_2-(CH_2)_n-CH_3$ ja n on 3, 4 tai 5.

5. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, jossa R^2 on piperidinorengas; R ja R^1 ovat $-OSO_2-(CH_2)_n-CH_3$; ja jokainen n on riippumattomasti 3 tai 4.

6. Patenttivaatimuksen 5 mukainen menetelmä, jossa yhdiste I on [6-(n-butyylisulfonoyyli)-2-[4-(n-butyylisulfonoyyli)fenyyli]bentso[b]tien-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]fenyyli]metanoni tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävä suola tai solvaatti.

7. Patenttivaatimuksen 5 mukainen menetelmä, jossa yhdiste I on [6-(n-pentyylisulfonoyyli)-2-[4-(n-pentyylisulfonoyyli)fenyyli]bentso[b]tien-3-yyli][4-[2-(1-piperidinyyli)etoksi]fenyyli]metanoni tai sen farmaseuttisesti hyväksyttävä suola tai solvaatti.