



PCT
WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro
INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

<p>(51) Internationale Patentklassifikation⁵ : C07C 43/23, A61K 31/09, 31/12 C07C 49/25</p>	<p>A1</p>	<p>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 92/16485 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 1. Oktober 1992 (01.10.92)</p>
<p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP92/00602 (22) Internationales Anmeldedatum: 19. März 1992 (19.03.92) (30) Prioritätsdaten: P 41 09 627.4 23. März 1991 (23.03.91) DE (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): BOEHRINGER MANNHEIM GMBH [DE/DE]; Sandhoferstr. 116, D-6800 Mannheim 31 (DE). (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US) : WITTE, Ernst-Christian [DE/DE]; Beethovenstr. 2, D-6800 Mannheim 1 (DE). WOLFF, Hans, Peter [DE/DE]; Untere Clignet Str. 4, D-6800 Mannheim 1 (DE). DRESEL, Alois [DE/DE]; Mozartstr. 1, D-6905 Schriesheim (DE).</p>		<p>(74) Anwälte: WEBER, Manfred usw. ; Boehringer Mannheim GmbH, Sandhoferstr. 116, D-6800 Mannheim 31 (DE). (81) Bestimmungsstaaten: AT (europäisches Patent), AU, BE (europäisches Patent), BG, BR, CA, CH (europäisches Patent), CS, DE (europäisches Patent), DK (europäisches Patent), ES (europäisches Patent), FI, FR (europäisches Patent), GB (europäisches Patent), GR (europäisches Patent), HU, IT (europäisches Patent), JP, KR, LU (europäisches Patent), MC (europäisches Patent), NL (europäisches Patent), NO, PL, RO, RU, SE (europäisches Patent), US. Veröffentlicht Mit internationalem Recherchenbericht.</p>
<p>(54) Title: NEW PHENOL ETHERS, PROCESS FOR PRODUCING THE SAME AND MEDICAMENTS CONTAINING THESE COMPOUNDS</p>		
<p>(54) Bezeichnung: NEUE PHENOLETHER, VERFAHREN ZU IHRER HERSTELLUNG UND ARZNEIMITTEL, DIE DIESE VERBINDUNGEN ENTHALTEN</p>		
<p>(I)</p>		
<p>(57) Abstract</p>		
<p>Anti-atherosclerotic medicaments contain a compound having the formula (I), in which m is an integer from 1 to 6 and A stands for a bond, methylene group, a ketone group or a -CH(OH)- group. Also disclosed are new compounds having the formula (I) as well as a process for producing the same.</p>		
<p>(57) Zusammenfassung</p>		
<p>Arzneimittel, enthaltend eine Verbindung der Formel (I), in der m eine ganze Zahl zwischen 1 und 6 und A eine Bindung, eine Methylengruppe, eine Ketogruppe oder eine Gruppe -CH(OH)- bedeuten, als Antiatherosclerotica, neue Verbindungen der Formel (I) sowie Verfahren zu ihrer Herstellung.</p>		

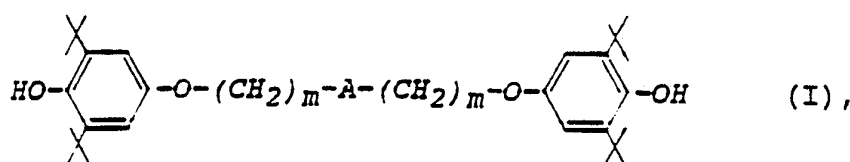
LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Code, die zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AT	Österreich	FI	Finnland	MN	Mongolei
AU	Australien	FR	Frankreich	MR	Mauritanien
BB	Barbados	GA	Gabon	MW	Malawi
BE	Belgien	GB	Vereinigtes Königreich	NL	Niederlande
BF	Burkina Faso	GN	Guinea	NO	Norwegen
BG	Bulgarien	GR	Griechenland	PL	Polen
BJ	Benin	HU	Ungarn	RO	Rumänien
BR	Brasilien	IE	Irland	RU	Russische Föderation
CA	Kanada	IT	Italien	SD	Sudan
CF	Zentrale Afrikanische Republik	JP	Japan	SE	Schweden
CG	Kongo	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SN	Senegal
CH	Schweiz	KR	Republik Korea	SU	Soviet Union
CI	Côte d'Ivoire	LI	Liechtenstein	TD	Tschad
CM	Kamerun	LK	Sri Lanka	TG	Togo
CS	Tschechoslowakei	LU	Luxemburg	US	Vereinigte Staaten von Amerika
DE*	Deutschland	MC	Monaco		
DK	Dänemark	MG	Madagaskar		
ES	Spanien	ML	Mali		

Neue Phenoether, Verfahren zu ihrer Herstellung und Arzneimittel, die diese Verbindungen enthalten

Gegenstand der vorliegenden Anmeldung sind Phenoether der allgemeinen Formel I



in welcher

m = eine ganze Zahl zwischen 1 und 6 und

A = eine Bindung, eine Methylengruppe, eine Ketogruppe oder eine Gruppe $-\text{CH}(\text{OH})-$

darstellen, Verfahren zu ihrer Herstellung sowie Arzneimittel, die diese Verbindungen enthalten.

Die Verbindungen der Formel I sind bis auf zwei Ausnahmen noch nicht beschrieben: In der CH-A-56624 ist die Verbindung I mit $m = 3$, $A =$ Bindung als Stabilisator für Polyamide und in C.A. 75, 64588d die Verbindung I mit $m = 2$, $A =$ Bindung als Inhibitor der Polymerisation von Vinylmonomeren beschrieben. Die beiden Verbindungen werden daher aus dem Stoffanspruch der vorliegenden Anmeldung ausgeschlossen. Nicht ausgeschlossen sei dagegen ihre Verwendung als pharmakologisch wirksame Substanzen im Sinne der folgenden Erläuterungen, da eine derartige Verwendung in den beiden genannten Patentschriften nicht beschrieben wird.

Die Verbindungen der allgemeinen Formel I erfüllen alle Voraussetzungen für ein wirksames Arzneimittel gegen die vorzeitige Atheromatose und die progressive Arteriosklerose.

Sie verfügen aufgrund ihrer 2,6-Di-tert.butyl-phenylgruppe über eine starke Antioxidantienaktivität. Die Lipophilie dieser Antioxidantiengruppe bedingt, daß die Verbindungen sich im atherogenen low-density lipoprotein (LDL) anreichern und die sensitiven Bestandteile des LDL wirksam gegen reaktive Sauerstoffspezies schützen. Damit wird aber der LDL-Influx in die makrophagozytären Schaumzellen deutlich abgebremst, denn die pathologisch gesteigerte Aufnahme von atherogenem LDL in den Atheromzellen setzt dessen oxidative Modifikation voraus.

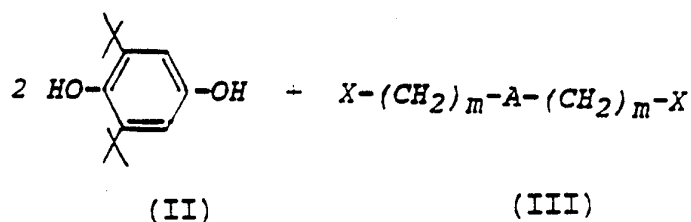
Sie sind Senker der Plasmalipide, indem sie wie Probucol die Plasmaclearance des LDL beschleunigen.

Die Substanzen werden weit besser als Probucol absorbiert. Sie verhindern dadurch die schaumzellige Degeneration der Macrophagen der Arterienwand bei einer deutlich geringeren Dosis.

Die Verbindungen haben therapeutischen Nutzen auch bei weiteren Erkrankungen mit pathologischer Lipidoxidation. Sie verhindern Reperfusionsschäden in ischämischen Geweben und können antiarrhythmisch wirken, da am Herzen eine starke arrhythmische Aktivität vor allem unter den Bedingungen der Reperfusion-ischämie entsteht. Außerdem stabilisieren sie Gewebe-Lipoproteine, z. B. den Lungensurfactant, und sie wirken antiinflammatorisch und cytoprotektiv.

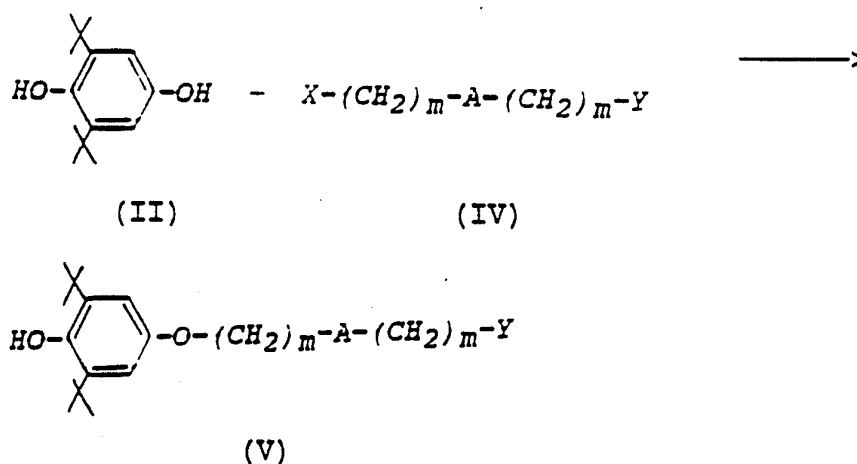
Die Herstellung der neuen Verbindungen der allgemeinen Formel I erfolgt in der Weise, daß man

- a) Zwei Mol 3,5-Di-tert.butyl-hydrochinon (II) mit einem Mol einer Verbindung III zur Umsetzung bringt:



In Formel (III) bedeutet X eine reaktive Gruppe, und A und m haben die oben angegebene Bedeutung oder

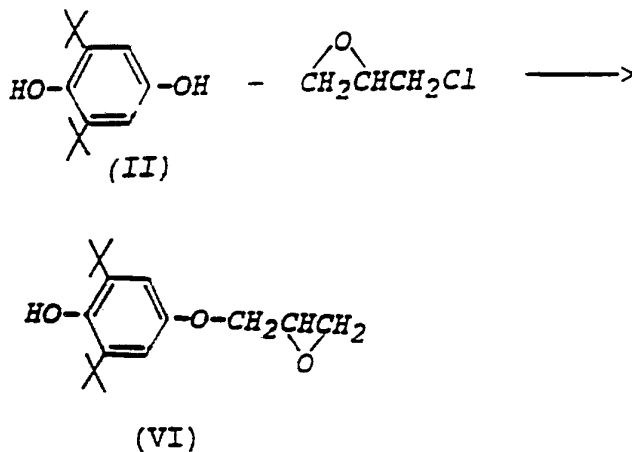
- b) zunächst ein Mol 3,5-Di-tert.butyl-hydrochinon (II) mit einem Mol einer Verbindung IV zur Umsetzung bringt



und anschließend die erhaltene Verbindung V gegebenenfalls nach Umwandlung der Gruppe Y in eine reaktive

Gruppe X mit einem weiteren Mol II zur Reaktion bringt. In den Formeln IV und V haben X, m und A die oben angegebene Bedeutung, und Y bedeutet eine Gruppe, die selbst nicht zur Kondensation mit einem Phenol befähigt ist, die aber leicht in eine aktive Gruppe X umzuwandeln ist oder

- b 2) für den speziellen Fall, daß $m = 1$ und $A = \text{CHOH}$ bedeuten, kommt eine Umsetzung der Verbindung II mit Epichlorhydrin oder Epibromhydrin zur Verbindung VI infrage:



Die erhaltene Verbindung (VI) wird nun mit einem weiteren Mol II zum Di-ether umgesetzt.

Für die nachträgliche Umwandlung einer Gruppe A in eine andere Gruppe A bieten sich folgende Verfahren an:

- 1) Die Umwandlung einer Gruppe $A = \text{CO}$ in eine Gruppe CH_2 ist durch Reduktion möglich.
- 2) Auch die Umwandlung von $A = -\text{CHOH}-$ zu $A = -\text{CH}_2-$ erfolgt durch Reduktion, gegebenenfalls nach Umwand-

lung der Gruppe A = -CHOH- in eine Gruppe -CHHal-, wobei Hal die Bedeutung Chlor oder Brom hat.

- 3) Umgekehrt ist es möglich, eine Gruppe A = -CHOH- Oxidativ in eine Gruppe A = CO umzuwandeln.

Bevorzugt im Sinne des Erfindungsgedankens sind solche Verbindungen I, in denen m die Bedeutung 1 bis 3 hat und A eine Methylengruppe darstellt, wobei besonders bevorzugt ist eine Verbindung I, in der $m = 1$ und $A = CH_2$.

Bevorzugt sind weiterhin solche Verbindungen I, in denen A eine Ketogruppe oder eine Gruppe -CHOH- darstellt und m eine ganze Zahl zwischen 1 und 3 darstellt.

Als reaktive Gruppen der allgemeinen Formeln III und IV sind die Halogene Chlor und Brom sowie Sulfonsäureester-Gruppen wie z.B. der Mesyloxy- oder der Tosyloxy-Rest zu nennen.

Als Gruppe Y der allgemeinen Formeln IV und V ist bevorzugt die Hydroxylgruppe, es kommen aber auch alle anderen Gruppen infrage, die sich gegebenenfalls in mehreren Schritten in eine aktive Gruppe X umwandeln lassen, also z.B. die Carbaldehyd-Gruppe, die Carboxy- und die Alkoxy-carbonylgruppe.

Die Umsetzung zwischen Di-tert.butylhydrochinon und einer Verbindung der allgemeinen Formel III erfolgt vorzugsweise in Gegenwart starker Basen wie Natronlauge oder Kalilauge, entweder ohne Lösungsmittel oder in Gegenwart von Ethanol oder Methanol.

Als Basen sind aber auch z.B. Natrium- oder Kaliumcarbonat oder organische Basen wie Tetraalkyl-ammoniumhydroxide einsetzbar.

Um unerwünschte Nebenreaktionen weitgehend auszuschließen, wird für das Verfahren a) eine Verfahrensweise bevorzugt, bei der zu dem Gemisch der beiden Reaktionspartner in Ethanol bei Siedehitze sehr langsam 5N-Natronlauge zugetropft wird.

Die Umsetzung der Verbindung II mit einer Verbindung IV zu einer Verbindung V gemäß b) wird in einer zu Verfahren a) analogen Weise vorgenommen.

Die Umwandlung der Gruppe Y in eine reaktive Gruppe X erfolgt nach an sich literaturbekannten Verfahren: Stellt Y eine Hydroxylgruppe dar, so ist eine Umwandlung in $X = \text{Br}$ z.B. dadurch zu erreichen, daß man die Hydroxyverbindung mit Mesylchlorid in das Mesylat umwandelt und dieses mit Lithiumbromid in Aceton zur Bromverbindung umsetzt.

Für die Umsetzung der Verbindung II mit Epichlorhydrin gemäß b. 2) verwendet man zweckmäßig einen großen Überschuß an letzterem. Die Reaktion wird unter Schutzgas und in Gegenwart einer wasserfreien Base, bevorzugt pulv. Kaliumcarbonat, durchgeführt. Die so erhaltene Verbindung (VI) wird dagegen bevorzugt mit einer äquimolaren Menge II in Gegenwart von katalytischen Mengen einer starken Lauge wie z.B. Natronlauge zum Di-ether (I), $m = 1$, $A = \text{CHOH}$, umgesetzt.

Für die nachträgliche Umwandlung einer Gruppe $A = \text{CO}$ in eine Gruppe $A = \text{CH}_2$ bevorzugt sind Reduktionsverfahren, die ohne Anwesenheit von starken Säuren auskommen, also z.B. die Umsetzung mit Hydrazinhydrat in Gegenwart von starkem Alkali (z.B. Kaliumhydroxid).

Für die nachträgliche Umwandlung einer Gruppe $A = \text{CO}$ in eine sekundäre Alkoholgruppe ist bevorzugt die Reduktion mit komplexen Metallhydriden wie z.B. LiAlH_4 in Ether oder Tetrahydrofuran oder NaBH_4 in wäßrig-alkoholischem Medium.

Umgekehrt läßt sich eine Gruppe A = -CHOH- auch zur Ketogruppe oxidieren. Exemplarisch für eine derartige Oxidation seien die in Beispiel 3 genannten Bedingungen.

Zur Herstellung von Arzneimitteln werden die Verbindungen der allgemeinen Formel I in an sich bekannter Weise mit geeigneten pharmazeutischen Trägersubstanzen, Aroma-, Geschmacks- und Farbstoffen gemischt und beispielsweise als Tabletten oder Dragees ausgeformt oder unter Zugabe entsprechender Hilfsstoffe in Wasser oder Öl, wie z.B. Olivenöl, suspendiert oder gelöst.

Die Substanzen der allgemeinen Formel I können in flüssiger oder fester Form oral und parenteral appliziert werden. Als Injektionsmedium kommt vorzugsweise Wasser zur Anwendung, welches die bei Injektionslösungen üblichen Stabilisierungsmittel, Lösungsvermittler und/oder Puffer enthält. Derartige Zusätze sind z.B. Tartrat- oder Borat-Puffer, Ethanol, Dimethylsulfoxid, Komplexbildner (wie Ethylendiamintetraessigsäure), hochmolekulare Polymere (wie flüssiges Polyethylenoxid) zur Viskositätsregulierung oder Polyethylen-Derivate von Sorbitanhydriden.

Feste Trägerstoffe sind z.B. Stärke, Lactose, Mannit, Methylcellulose, Talkum, hochdisperse Kieselsäure, höhermolekulare Fettsäuren (wie Stearinsäure), Gelatine, Agar-Agar, Calciumphosphat, Magnesiumstearat, tierische und pflanzliche Fette oder feste hochmolekulare Polymere (wie Polyethylenglykole). Für die orale Applikation geeignete Zubereitungen können gewünschtenfalls Geschmacks- und Süßstoffe enthalten.

Die verabreichte Dosierung hängt vom Alter, der Gesundheit und dem Gewicht des Empfängers, dem Ausmaß der Krankheit, der Art gleichzeitiger gegebenenfalls durchgeführter weiterer Behandlungen, der Häufigkeit der Behandlungen und der Art der gewünschten Wirkung ab. Üblicherweise beträgt die tägliche Dosis der aktiven Verbindung 0.1 bis 50 mg/kg Körpergewicht.

Normalerweise sind 0.5 bis 40 und vorzugsweise 1.0 bis 20 mg/kg in einer oder mehreren Anwendungen pro Tag wirksam, um die gewünschten Resultate zu erhalten.

Bevorzugte Verbindungen im Sinne der vorliegenden Anmeldung sind:

1. 1,2-Bis-[4-hydroxy-3,5-di-tert.butyl-phenoxy]ethan
2. 1,5-Bis-[4-hydroxy-3,5-di-tert.butyl-phenoxy]-3-hydroxy-pentan
3. 1,5-Bis-[4-hydroxy-3,5-di-tert.butyl-phenoxy]-3-oxo-pentan
4. 1,7-Bis-[4-hydroxy-3,5-di-tert.butyl-phenoxy]-4-hydroxy-heptan
5. 1,7-Bis-[4-hydroxy-3,5-di-tert.butyl-phenoxy]-4-oxo-pentan

Die nachfolgenden Beispiele zeigen einige der zahlreichen Verfahrensvarianten, die zur Synthese der erfindungsgemäßen Verbindungen verwendet werden können. Sie sollen jedoch keine Einschränkung im Sinne des Erfindungsgedankens darstellen.

Beispiel 1

1,3-Bis-[4-hydroxy-3,5-di-tert.butyl-phenoxy]propan

Eine Lösung aus 39.0 g (175.4 mmol) 2,6-Di-tert.butyl-hydrochinon, 17.7 g (87.7 mmol) 1,3-Dibrompropan und 250 ml Ethanol wird unter Stickstoffatmosphäre zum Sieden erhitzt. Man tropft innerhalb drei Stdn. 38.6 ml 5N-NaOH zu, hält weitere drei

Stdn. auf Siedetemperatur und kühlt dann ab. Dann wird mit 6N-HCl schwach angesäuert. Man dampft das Ethanol ab, gibt Wasser zu und extrahiert mit Ether. Die Etherphase wird getrocknet (Na_2SO_4) und eingedampft. Man digeriert im Ultraschallbad den Rückstand mit 90proz. Methanol, saugt ab, wäscht mit kaltem 90proz. Methanol nach und trocknet über KOH. Ausb. 17.0 g (40 % d.Th.); Schmp. 125°C.

In analoger Weise wird dargestellt:

1,10-Bis-(4-hydroxy-3,5-di-tert.butyl-phenoxy)decan

aus 2,6-Di-tert.butyl-hydrochinon und 1,10-Dibromdecan.
Ausb. 52 % d.Th.; Schmp. 100-101°C (Ligroin).

Beispiel 2

1,3-Bis-[4-hydroxy-3,5-di-tert.butyl-phenoxy]-2-hydroxy-propan

a) 1-(4-Hydroxy-3,5-di-tert.butylphenoxy)-2,3-epoxypropan

Ein Gemisch aus 50.6 g (0.227 mol) 2,6-Di-tert.butyl-hydrochinon, 31.4 g (0.227 mol) pulv. Kaliumcarbonat sicc. und 680 ml Epichlorhydrin wird unter Stickstoff 48 Stdn. auf Rückflußtemperatur gehalten, dann dampft man weitgehend ein und nimmt den Rückstand in Ether auf. Die Etherphase wird mehrfach mit Wasser extrahiert, dann getrocknet und eingedampft. Der Rückstand (quant. Ausbeute), ein farbl. Oel, wird roh in die nächste Reaktion eingesetzt.

b) Titelverbindung

Ein Gemisch aus 56.6 g (0.2 mol) des nach a) erhaltenen Epoxids, 44.4 g (0.2 mol) 2,6-Di-tert.butyl-hydrochinon

- 10 -

und 16 Tropfen 10 N-NaOH wird 16 Stdn. unter Stickstoff auf Rückflußtemperatur gehalten, wobei die Reaktionsmasse fest wird. Man löst in 200 ml heißem Methanol, filtriert u und fügt bis zur beginnenden Trübung Wasser zu. Nach dem Erkalten werden ausgefallene Kristalle abgesaugt, mit einem Gemisch aus 250 ml Methanol und 100 ml Wasser mehrmals gewaschen und dann getrocknet. Nach Umkristallisieren aus einem Gemisch aus Methanol und Wasser (4:1 Vol.) erhält man 68 g (68 % d.Th.) Produkt mit dem Schmp. 140-142°C.

Beispiel 3

1,3-(4-Hydroxy-3,5-di-tert.butyl-phenoxy)-2-oxo-propan

Zu einem Gemisch aus 16.0 g (32 mmol) 1,3-(4-Hydroxy-3,5-di-tert.butyl-phenoxy)-2-hydroxypropan, 240 ml Ether, 19.8 g (96 mmol) Dicyclohexyl-carbodiimid, 9 ml Dimethylsulfoxid und 1.5 ml (18.6 mmol) Pyridin setzt man 1.2 ml (15.7 mmol) Trifluoressigsäure unter Eiskühlung zu, läßt über Nacht bei Raumtemperatur stehen und tropft dann innerhalb 30 min eine Lösung aus 9.6 g (106 mmol) Oxalsäure in 60 ml Methanol zu. Nach weiteren 30 min Rühren saugt man ab und löst die Kristalle in Ether. Die Etherlösung wird dreimal mit NaHCO₃-Lösung ausgeschüttelt, dann mit MgSO₄ getrocknet und eingedampft. Man kristallisiert aus Ligroin unter Zusatz von Aktivkohle um. Ausb.: 10.7 g (67 % d.Th.), Schmp. 124-126°C.

Pharmakologischer Versuchsbericht

Die aufgeführten Verbindungen erfüllen alle Voraussetzungen für ein neues hochpotentes Antioxidans bzw. eines LDL assoziierten Lipoxidasehemmers gegen die vorzeitige Atheromatose und die progressive Arteriosklerose, da die durch ihre Anreicherung im

LDL und starke Hemmwirkung gegenüber potentiell bei der LDL-Modifikation entscheidenden Lipoxydasen der Zielzellen des LDL im Atherom ihre Wirkung stärker als das bisher bekannte Probucol entfalten.

Die neuen Phenolether wirken LDL-protektiv. Bei Inkubation des LDL mit Redoxmetallen hemmen sie die Bildung von thiobarbitursäure-reaktiven Lipidperoxiden (Tab. 1), bei der Oxidation des LDL durch Lipoxydase wird eine selektive Hemmwirkung deutlich (Tab. 2). Unter Testbedingungen, die zu einem wirksamen LDL-Schutz führen, wird die Cholesterinesterbildung in kultivierten Makrophagen gehemmt (Tab. 3).

Beim arteriosklerotischen Kaninchen ist die Wirkung der neuen Phenolether direkt am arteriosklerotischen Plaque nachzuweisen. ^{131}I -TDS-LDL, ein Radioiod-LDL, das von den Zellen nach oxydativer Modifikation aufgenommen wird, akkumuliert nach i.v. Gabe massiv im Plaquegewebe. Die neuen Phenolether hemmen signifikant und massiv den LDL-Katabolismus und damit die Cholesterinüberladung der Arterienwandzellen. Daraus resultiert langfristig die Hemmung des Wachstums der Läsionen (Tab. 4).

In sämtlichen Versuchen wird mit Probucol=4,4'[Isopropylidenedithio]-bis(2,6-di-tert.-butyl) verglichen.

Tabelle 1Inhibition der Cu⁺⁺-abhängigen LDL-Oxidation

Testsubstanz	Zeit Std.	TBARS (OD 532) %
Kontrolle	16	75
	23	100
Probucol	16	56
	23	88
Verb. gem. Bsp.1	16	19
	23	76

125 $\mu\text{g/ml}$ LDL-protein + 10 μM Cu⁺⁺ wurden bei 37° C in 2 ml TN-Puffer (20 mM Tris ph 8, 150 mM NaCl) in An- und Abwesenheit von 10 μM Testsubstanz inkubiert. Die Bildung von LDL-Oxidationsprodukten wurde anhand thiobarbitursäurereaktiver Substanzen (TBARS) bei OD532 16 und 23 Stunden nach Beginn der Inkubation gemessen.

Tabelle 2Inhibition der LDL-Oxidation durch Lipoxydase

Testsubstanz	IC50 (μM)
Probucol	10
Verb. gem. Bsp. 1	0.05

100 μg LDL-Protein und 500 U/ml Lipoxydase aus Sojabohne (Sigma, München) wurden bei 37° C in TN-Puffer (50 mM Tris pH 8, 150 mM NaCl in An- und Abwesenheit von 0-10 μM Testsubstanz inkubiert. Die Bildung von Dienen aus der Oxidation ungesättigter Fettsäuren des LDL wird bei A 234 über 3 h verfolgt und ist im Kontrollansatz ca. 0.075/h. Die Inhibition der Dienbildung dient als Maß der Lipoxydaseaktivität am LDL-Substrat.

Tabelle 3

Inhibition der LDL-Oxidation-abhängigen Cholesterinesterbildung im P388-Makrophagen

Versuch	CE/FC ($\mu\text{g}/\mu\text{g}$)
Kontrolle ohne LDL	0.44
Kontrolle + LDL	1.81
Kontrolle + LDL + 10 μM Probucol	0.52
Kontrolle + LDL + 10 μM Bsp. 1	0.48

125 $\mu\text{g}/\text{ml}$ LDL-Protein wurde in F 10-Medium + 1 μM Cu^{++} für 5 Stunden inkubiert, um LDL-Antioxidantien zu depletieren. Dann wurden P388D.1 murine Makrophagen (1×10^6 Zellen/ml) in F 10-Medium + 10 % FCS für 18 Stunden mit diesem Ansatz weiter inkubiert. Unter diesen Versuchsbedingungen bleibt das Verhältnis freies Cholesterin (FC)/Protein konstant bei 0.2 $\mu\text{g}/\text{mg}$, während die Cholesterinester in Abhängigkeit von LDL im Medium in den P388D.1 Makrophagen ansteigen, hier ausgedrückt als Anstieg des Verhältnisses von Cholesterinester/

freiem Cholesterin (ED/FC).

Tabelle 4

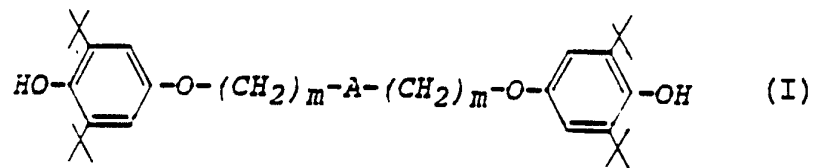
Reduktion des LDL-Katabolismus im arteriosklerotischen Arterienwandgewebe

Gruppe	Anzahl der Tiere n	Ausgewertete Läsionen n	Einbau von ^{131}J -TDS-LDLnorm \pm SEM ng/(mm ³ xdt/2)	U-Test
Kontrolle	6	43	65.7 \pm 3.9 (20-131)	p<0.001
Verb. gem. Bsp.1	6	48	35 \pm 1,9 (7-63)	
Probucol	3	20	84 \pm 7.5 (40-144)	n.s.

Jeweils 6 Kaninchen in der Kontrollgruppe und Bsp.1-Gruppe, bzw. 3 Kaninchen in der Probucol-Gruppe für 3 Monate mit 0.5 % Cholesterin-fettreicher Kaninchendiät gefüttert. Die Tiere der verschiedenen Gruppen haben S-Cholspiegel von 1028 \pm 99 (771-1358) - 1155 \pm 200 (655-1787) mg % am Ende der Fütterungsphase und ein Körpergewicht von 3050-3680 g erreicht. Die Tiere erhalten dann für 10 Tage 0.2 % Testsubstanz in der fettreichen Diät und anschließend eine Infusion von ^{131}J -Deoxysorbitol-LDL. Der Einbau von ^{131}J -Deoxysorbitol in den Arterienwandzellen erfolgt ganz überwiegend in der arteriosklerotischen Läsion und ermöglicht die Quantifizierung des LDL-Umsatzes in den Zellen. 24 Stunden nach der Infusion des LDL werden die Tiere getötet und die thorakale Aorta präpariert. Es werden Transversalschnitte angefertigt, die im Gewebe gespeicherte Radiojodaktivität gemessen, eine Autoradiographie durchgeführt und die Plauevolumina jedes Transversalschnittes morphometrisch gemessen. Der Einbau von LDL ist in ng/mm³ x d angegeben.

Patentansprüche

1. Arzneimittel, enthaltend neben üblichen Träger- und Hilfsstoffen mindestens eine Verbindung der Formel I



in der

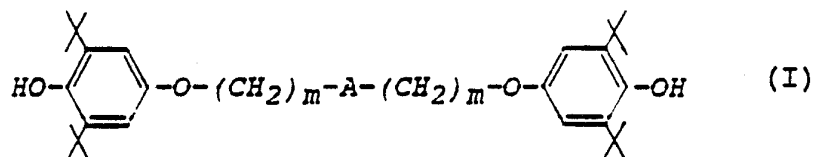
m eine ganze Zahl zwischen 1 und 6 und

A eine Bindung, eine Methylengruppe, eine Ketogruppe oder eine Gruppe $-\text{CH}(\text{OH})-$

bedeuten.

2. Verwendung von Verbindungen der Formel I gemäß Anspruch 1 als Antiatherosclerotica.

3. Verbindungen der Formel I



in der

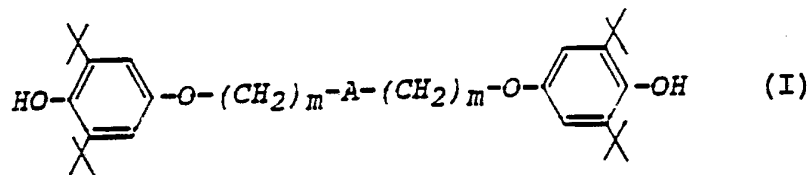
m eine ganze Zahl zwischen 1 und 6 und

A eine Bindung, eine Methylengruppe, eine Ketogruppe oder eine Gruppe -CH(OH)-

bedeuten,

wobei für den Fall, daß A eine Bindung darstellt, m nicht die Zahl 2 oder 3 bedeuten darf.

4. Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der Formel I



in der

m eine ganze Zahl zwischen 1 und 6 und

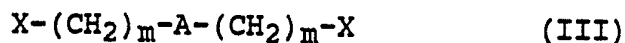
A eine Bindung, eine Methylengruppe, eine Ketogruppe oder eine Gruppe -CH(OH)-

bedeuten,

wobei für den Fall, daß A eine Bindung darstellt, m nicht die Zahl 2 oder 3 bedeuten darf,

dadurch gekennzeichnet, daß man in an sich bekannter Weise entweder

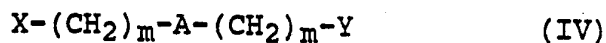
- a) zwei Mol 3,5-Di-tert.butyl-hydrochinon mit einem Mol einer Verbindung der Formel (III)



in der X, A und m die oben angegebene Bedeutung haben,

umsetzt, oder

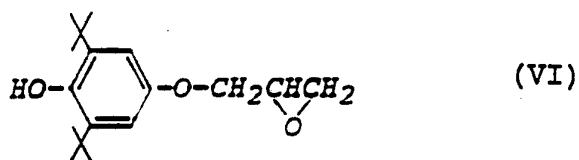
- b) zunächst ein Mol 3,5-Di-tert.butyl-hydrochinon mit einem Mol einer Verbindung der Formel IV



in der X, A und m die oben angegebene Bedeutung haben, und Y einen in die Gruppe X umwandelbaren Rest darstellt, umsetzt, und anschließend die erhaltene Verbindung nach Umwandlung der Gruppe Y in die Gruppe X mit einem weiteren Mol 3,5-Di-tert.butyl-hydrochinon umsetzt,

oder

- c) für den Fall, daß $m=1$ und A die Gruppe CHOH bedeuten, 3,5-Di-tert.butyl-hydrochinon mit Epichlorhydrin oder Epibromhydrin zur Verbindung der Formel VI



und diese Verbindung mit einem weiteren Mol 3,5-Di-tert.butyl-hydrochinon zur gewünschten Verbindung der Formel I umsetzt,

und anschließend gewünschtenfalls eine Verbindung mit A=CO oder CH(OH) reduziert, oder umgekehrt eine Verbindung mit A=CH₂ oder CH(OH) oxidiert.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PCT/EP92/00602

I. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER (If several classification symbols apply, indicate all) ⁶		
According to International Patent Classification (IPC) or to both National Classification and IPC		
Int.Cl ⁵ : C07C 43/23; A61K 31/09; A61K 31/12; C07C 49/255		
II. FIELDS SEARCHED		
Minimum Documentation Searched ⁷		
Classification System	Classification Symbols	
Int.Cl ⁵	C07C; A61K	
Documentation Searched other than Minimum Documentation to the Extent that such Documents are Included in the Fields Searched ⁸		
III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT ⁹		
Category ⁹	Citation of Document, ¹¹ with indication, where appropriate, of the relevant passages ¹²	Relevant to Claim No. ¹³
A	US, A, 4115590 (S. I. LERNER) 19 September 1978 see column 1 - column 4	1-4
A	WO, A, 9101124 (BIODOR) 7 February 1991 see page 6, line 35 - page 8, line 24	1,3

<p>⁹ Special categories of cited documents: ¹⁰</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> <p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.</p> <p>"&" document member of the same patent family</p>		
IV. CERTIFICATION		
Date of the Actual Completion of the International Search	Date of Mailing of this International Search Report	
19 June 1992 (19.06.92)	26 June 1992 (26.06.92)	
International Searching Authority	Signature of Authorized Officer	
European Patent Office		

**ANNEX TO THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT
ON INTERNATIONAL PATENT APPLICATION NO. EP 9200602
SA 57420**

This annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The members are as contained in the European Patent Office EDP file on
The European Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information. 19/06/92

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US-A-4115590	19-09-78	None	
WO-A-9101124	07-02-91	US-A- 4985465	15-01-91
		AU-A- 5965890	22-02-91
		EP-A- 0482071	29-04-92

EPO FORM P0079

For more details about this annex : see Official Journal of the European Patent Office, No. 12/82

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 92/00602

I. KLASSIFIKATION DES ANMELDUNGSGEGENSTANDS (bei mehreren Klassifikationssymbolen sind alle anzugeben) ⁶		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC		
Int.Kl. 5 C07C43/23;	A61K31/09;	A61K31/12; C07C49/255
II. RECHERCHIERTER SACHGEBIETE		
Recherchiertes Mindestprüfstoff ⁷		
Klassifikationssystem	Klassifikationssymbole	
Int.Kl. 5	C07C ; A61K	
Recherchierte nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Sachgebiete fallen ⁸		
III. EINSCHLAGIGE VERÖFFENTLICHUNGEN ⁹		
Art. ⁹	Kennzeichnung der Veröffentlichung ¹¹ , soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile ¹²	Betr. Anspruch Nr. ¹³
A	US,A,4 115 590 (S. I. LERNER) 19. September 1978 siehe Spalte 1 - Spalte 4 ---	1-4
A	WO,A,9 101 124 (BIODOR) 7. Februar 1991 siehe Seite 6, Zeile 35 - Seite 8, Zeile 24 ---	1,3
<p>¹⁰ Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen:</p> <p>"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist</p> <p>"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist</p> <p>"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)</p> <p>"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht</p> <p>"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist</p> <p>"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist</p> <p>"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden</p> <p>"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist</p> <p>"Z" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist</p>		
IV. BESCHEINIGUNG		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche	Absenddatum des internationalen Recherchenberichts	
19. JUNI 1992	25 JUN 1992	
Internationale Recherchenbehörde	Unterschrift des bevollmächtigten Bediensteten	
EUROPAISCHES PATENTAMT	WRIGHT M.W. <i>M. W. Wright</i>	

**ANHANG ZUM INTERNATIONALEN RECHERCHENBERICHT
 ÜBER DIE INTERNATIONALE PATENTANMELDUNG NR.**

EP 9200602
 SA 57420

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten internationalen Recherchenbericht angeführten Patentdokumente angegeben.
 Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am 19/06/92.
 Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

19/06/92

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US-A-4115590	19-09-78	Keine	
WO-A-9101124	07-02-91	US-A- 4985465	15-01-91
		AU-A- 5965890	22-02-91
		EP-A- 0482071	29-04-92

EPO FORM P0473

Für nähere Einzelheiten zu diesem Anhang : siehe Amtsblatt des Europäischen Patentamts, Nr.12/82