



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) DE 697 24 548 T2 2004.08.05

(12)

Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) EP 0 838 461 B1

(21) Deutsches Aktenzeichen: 697 24 548.9

(96) Europäisches Aktenzeichen: 97 308 413.0

(96) Europäischer Anmeldetag: 22.10.1997

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: 29.04.1998

(97) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung beim EPA: 03.09.2003

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: 05.08.2004

(51) Int Cl.⁷: C07D 333/54

A61K 31/38

(30) Unionspriorität:
29050 P 24.10.1996 US

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

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

(72) Erfinder:
Cullinan, George Joseph, Trafalgar, Indiana 46181,
US; Muehl, Brian Stephen, Indianapolis, Indiana
46217, US

(74) Vertreter:
Spott & Weinmiller, 80336 München

(54) Bezeichnung: Substituierte 2,3-Aryl-Benzothiophene und ihre östrogene Aktivität

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

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

Beschreibung

[0001] Osteoporose beschreibt eine Krankheitsgruppe, die aus unterschiedlichen Ätiologien hervorgeht, die aber durch den Nettoverlust an Knochenmasse pro Volumeneinheit gekennzeichnet ist. Die Konsequenz dieses Verlusts an Knochenmasse und die daraus resultierende Knochenfraktur ist das Versagen des Skeletts, eine angemessene Unterstützung für den Körper bereitzustellen. Einer der bekanntesten Typen der Osteoporose ist der, der mit der Menopause zusammenhängt. Die meisten Frauen verlieren etwa 20% bis etwa 60% der Knochenmasse im Trabekelkompartment des Knochens innerhalb von 3 bis 6 Jahren nach dem Einstellen der Menstruation. Dieser rapide Verlust geht im allgemeinen mit einer Erhöhung der Knochenresorption und Bildung einher. Jedoch ist der resorptive Zyklus dominanter und das Ergebnis ist ein Nettoverlust an Knochenmasse. Osteoporose ist eine bekannte und ernste Erkrankung bei postmenopausalen Frauen.

[0002] Es gibt alleine in den Vereinigten Staaten geschätzte 25 Millionen Frauen, die von dieser Erkrankung betroffen sind. Die Folgen von Osteoporose sind für die Person schwerwiegend und sind für einen großen ökonomischen Verlust aufgrund ihrer chronischen Erscheinung und dem Bedarf für eine ausgiebige und langanhaltende Versorgung (Krankenhausaufenthalt und Heimpflege) dieser Krankheitsfolgen verantwortlich. Dies trifft insbesondere für ältere Patienten zu. Dazu kommt, obwohl Osteoporose im allgemeinen nicht als lebensbedrohender Zustand angesehen wird, daß die Sterblichkeitsrate von 20% bis 30% mit Hüftfrakturen bei älteren Frauen zusammenhängt. Ein großer Prozentsatz dieser Sterblichkeitsrate kann direkt mit postmenopausaler Osteoporose zusammenhängen.

[0003] Das anfällige Gewebe im Knochen für die Wirkungen der postmenopausalen Osteoporose ist der Trabekelknochen. Dieses Gewebe wird oft als spongiöser oder schwammiger Knochen bezeichnet und konzentriert sich insbesondere an den Enden des Knochens (nahe den Gelenken) und in der Wirbelsäule. Das Trabekelgewebe ist durch kleine Osteoidstrukturen gekennzeichnet, die miteinander verbunden sind, wie auch durch das festere und dichtere kortikale Gewebe, das die äußere Oberfläche und den zentralen Schaft des Knochens aufbaut. Dieses untereinander verbundene Netzwerk an Trabekeln vermittelt eine laterale Unterstützung für die äußere kortikale Struktur und ist für die biomechanische Stärke der Gesamtstruktur entscheidend. Bei der postmenopausalen Osteoporose ist es primär die Nettoresorption und der Verlust der Trabekel, die zum Versagen und zur Fraktur des Knochens führen. In Anbetracht des Verlusts der Trabekel bei postmenopausalen Frauen ist es nicht überraschend, daß die meisten herkömmlichen Frakturen die sind, die bei Knochen vorkommen, welche stark von der Trabekelunterstützung abhängen, beispielsweise die Wirbel, der Hals der gewichttragenden Knochen, wie der Oberschenkel und der Unterarm. Tatsächlich sind Hüftfraktur, Schenkelhalsfrakturen und Wirbelbruchfrakturen Merkmale der postmenopausalen Osteoporose.

[0004] Die am allgemeinsten akzeptierte Methode zur Behandlung der postmenopausalen Osteoporose ist die Östrogenersatztherapie. Obwohl die Therapie allgemein erfolgreich ist, ist die Patientenakzeptanz der Therapie gering, da die Östrogenbehandlung häufig unerwünschte Nebenwirkungen hervorruft. Eine zusätzliche Behandlungsmethode wäre die Verabreichung einer Bisphosphonatverbindung, beispielsweise Fosamax® (Merck & Co., Inc.).

[0005] Die WO 96/09041 A beschreibt Benzothiophenverbindungen und ihre Verwendung zur Linderung der Symptome des postmenopausalen Syndroms und zur Hemmung der Endometriose, Uterusfibrose und Proliferation der glatten Muskelzellen. Die US 3 394 125 A beschreibt Benzofuranverbindungen, die Antifertilitätsaktivität aufweisen sollen., Durani et al., in J. Med. Chem., 1989, 32, 1700–1707 beschreibt die Struktur-Wirkungs-Beziehung von Antiöstrogenen unter Verwendung von Triarylbutenon-, Benzofuran- und Triarylfuranaloga als Modelle für Triarylethylene und Triarylpropenone. Die EP 0 062503 A beschreibt Benzothiophenverbindungen, die Antiöstrogene und Antiandrogene sind. Die US 5 354 861 A beschreibt eine Reihe an grundlegenden Ethern von 2-Benzyl-3-arylbenzofuranen und ihre biologische Evaluierung als Antitumormittel. Die WO 96/26935 A beschreibt 2-Benzyl-3-arylbenzothiophene und ihre Verwendung zur Linderung der Symptome des postmenopausalen Syndroms.

[0006] Vor der Menopause weisen die meisten Frauen eine geringere Häufigkeit für kardiovaskuläre Erkrankungen auf, als gleichaltrige Männer. Nach der Menopause erhöht sich jedoch langsam die Rate der kardiovaskulären Erkrankung bei Frauen, um die beim Mann beobachtete zu erreichen. Dieser Schutzverlust wurde dem Verlust an Östrogen und insbesondere dem Verlust der Fähigkeit des Östrogens zugeschrieben, die Serumlipidspiegel zu regulieren. Die Art der Fähigkeit des Östrogens, die Serumlipidspiegel zu regulieren, ist nicht gut verstanden, aber Erkenntnisse deuten darauf hin, daß Östrogen die Rezeptoren für Lipid niedriger Dichte (LDL) in der Leber hochregulieren kann, um überschüssiges Cholesterin zu entfernen. Zusätzlich scheint Östrogen eine Wirkung auf die Biosynthese von Cholesterin und andere nützliche Effekte auf die kardiovaskuläre Gesundheit zu haben.

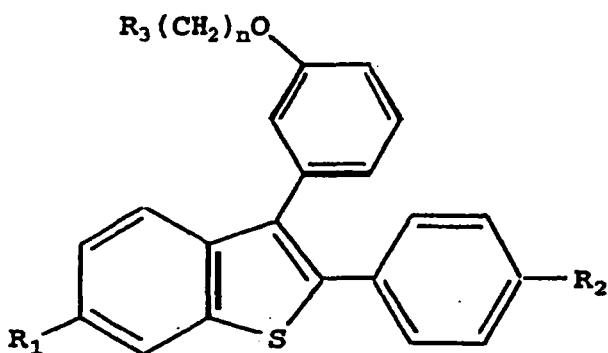
[0007] Es wurde in der Literatur berichtet, daß die Serumlipidkonzentrationen bei postmenopausalen Frauen mit einer Östrogenersatztherapie auf die Konzentrationen des prämenopausalen Zustands zurückkehren. Daraus scheint Östrogen eine sinnvolle Behandlung für diesen Zustand zu sein. Jedoch sind die Nebenwirkungen der Östrogenersatztherapie nicht für jede Frau akzeptabel, was die Verwendung dieser Therapie limitiert. Eine

ideale Therapie für diesen Zustand wäre ein Mittel, das die Serumlipidspiegel auf eine ähnliche Weise reguliert, wie dies Östrogen tut, dem aber die Nebenwirkungen und Risiken fehlen, die mit einer Östrogentherapie zusammenhängen.

[0008] Östrogen-abhängige Krebsarten sind Haupterkrankungen, die sowohl Frauen als auch in einem geringeren Ausmaß Männer betreffen. Krebszellen dieses Typs sind auf eine Östrogenquelle angewiesen, um den ursprünglichen Tumor aufrechtzuerhalten als auch zu proliferieren und an anderen Stellen zu metastasieren. Die bekanntesten Formen des Östrogen-abhängigen Krebses sind Brust- und Uteruscarzinome. Die derzeitige Chemotherapie dieser Erkrankungen beruht primär auf der Verwendung von Antiöstrogenen, vorwiegend Tamoxifen. Die Verwendung von Tamoxifen ist trotz der Wirksamkeit nicht ohne unerwünschte Nebenwirkungen, beispielsweise Östrogenagonisteigenschaften, wie Uterushypertrophie und karzinogenem Potential. Die erfindungsgemäßen Verbindungen zeigen auch ein geringeres Potential für eine Östrogenagonistaktivität, während sie dasselbe oder ein besseres Potential bezüglich der Antikrebsaktivität zeigen.

[0009] Als Reaktion auf den klaren Bedarf für neue pharmazeutische Mittel, die zur Linderung der Symptome unter anderem des postmenopausalen Syndroms fähig sind, liefert die vorliegende Erfindung neue Benzo[b]thiophenverbindungen, pharmazeutische Formulierungen hiervon und Verfahren zur Verwendung solcher Verbindungen zur Hemmung der erwähnten Erkrankungszustände.

[0010] Die vorliegende Erfindung betrifft Verbindungen der Formel I



I

worin

R¹ für-H, -OH, -O(C₁-C₄ Alkyl), -OCO(C₁-C₆ Alkyl), -O(CO)O(C₁-C₆ Alkyl), -OCOAr, -O(CO)OAr, worin Ar für Phenyl oder wahlweise substituiertes Phenyl steht, oder -OSO₂(C₂-C₆ Alkyl) steht,

R² für -H, -OH, -O(C₁-C₄ Alkyl), -OCO(C₁-C₆ Alkyl), -O(CO)O(C₁-C₆ Alkyl), -OCOAr, -O(CO)OAr, worin Ar für Phenyl oder wahlweise substituiertes Phenyl steht, -OSO₂(C₂-C₆ Alkyl), -Cl oder -F steht,

R³ für 1-Piperidinyl, 1-Pyrrolidinyl, Methyl-1-pyrrolidinyl, Dimethyl-1-pyrrolidinyl, 4-Morpholino, Dimethylamino, Diethylamino oder 1-Hexamethylenimino steht, und

n für 2, 3 oder 4 steht,

oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz oder Solvat hiervon.

[0011] Die vorliegende Erfindung liefert ferner pharmazeutische Formulierungen, die die Verbindungen der Formel I enthalten und die Verwendung der Verbindungen zumindest zur Hemmung des Knochenverlusts oder der Knochenresorption, insbesondere von Osteoporose, kardiovaskulären, pathologischen Zuständen, einschließlich Hyperlipidämie, und Östrogen-abhängigem Krebs.

[0012] Allgemeine Ausdrücke, die bei der Beschreibung der erfindungsgemäßen Verbindungen verwendet werden, haben die gewöhnlichen Bedeutungen. Beispielsweise bezieht sich "C₁-C₆ Alkyl" auf gerade oder verzweigte aliphatische Ketten mit 1 bis 6 Kohlenstoffatomen, einschließlich Methyl, Ethyl, Propyl, Isopropyl, Butyl, n-Butyl, Pentyl, Isopentyl, Hexyl, Isohexyl und dergleichen. Ähnlich steht der Ausdruck "-OC₁-C₄ Alkyl" für eine C₁-C₄ Alkylgruppe, die über einen Sauerstoff gebunden ist, wie beispielsweise Methoxy, Ethoxy, n-Propoxy, Isopropoxy und dergleichen. Von diesen C₁-C₄ Alkoxygruppen ist Methoxy äußerst bevorzugt.

[0013] Der Ausdruck "substituiertes Phenyl" bezieht sich auf eine Phenylgruppe mit einem oder mehreren Substituenten ausgewählt aus der Gruppe, die besteht aus C₁-C₄ Alkyl, -O-C₁-C₄ Alkyl, Hydroxy, Nitro, Chlor, Fluor, Trichlor- oder Trifluormethyl.

[0014] Der Ausdruck "Hydroxyschutzgruppe" umfaßt mehrere Funktionalitäten, die in der Literatur zum Schutz einer Hydroxyfunktion während einer chemischen Sequenz verwendet werden, und die unter Bildung eines Phenols entfernt werden können. In dieser Gruppe befinden sich Acyle, Mesylate, Tosylate, Benzyl, Alkylsilyloxy, -C₁-C₄ Alkyle und dergleichen. Es sind mehrere Reaktionen zur Bildung und Entfernung solcher Schutzgruppen in mehreren Standardwerken beschrieben, einschließlich beispielsweise Protective Groups in Organic Chemistry, Plenum Press (London und New York, 1973), T. W. Greene, Protective Groups in Organic

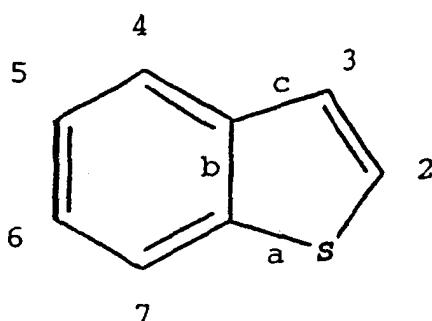
Synthesis, Wiley (New York, 1981) und The Peptides, Band I, Schroeder und Lubke, Academic Press (London und New York, 1965). Verfahren zur Entfernung der bevorzugten Hydroxyschutzgruppen, insbesondere Methyl, sind im wesentlichen später in den Beispielen beschrieben.

[0015] Der Ausdruck "Abgangsgruppe" meint eine chemische Einheit, die durch eine Aminofunktion durch eine SN_2 Reaktion ersetzt werden kann. Solche Reaktionen sind in der Technik gut bekannt und solche Gruppen würden Halogene, Mesylate, Tosylate und dergleichen umfassen. Eine bevorzugte Abgangsgruppe ist Brom.

[0016] Der Ausdruck "hemmen" umfaßt die allgemein anerkannte Bedeutung, die die Verhinderung, Vermeidung, Unterdrückung und Verlangsamung, das Anhalten oder die Umkehr des Fortschreitens oder Schwere, oder die Linderung eines entstehenden Symptoms oder Effekts umfaßt.

[0017] Der Ausdruck "Solvat" steht für ein Aggregat, das ein oder mehrere Moleküle des Soluts, wie einer Verbindung der Formel I, und ein oder mehrere Lösemittelmoleküle umfaßt.

[0018] Die Verbindungen der Formel I sind Derivate von Benzo[b]thiophen, das gemäß dem Ringindex, The American Chemical Society folgendermaßen benannt und nummeriert wird:



[0019] Die Verbindungen der Formel I umfassen unter anderem:

2-(4-Methoxyphenyl)-3-[3-[2-(1-piperidinyl)ethoxy]phenyl]-6-methoxybenzo[b]thiophenhydrochlorid,

2-(4-Methoxyphenyl)-3-[3-[3-(1-piperidinyl)propoxy]phenyl]-6-methoxybenzo[b]thiophenhydrochlorid,

2-(4-Methoxyphenyl)-3-[3-[4-(1-piperidinyl)butoxy]phenyl]-6-methoxybenzo[b]thiophenhydrochlorid,

2-(4-Hydroxyphenyl)-3-[3-[2-(1-piperidinyl)ethoxy]phenyl]-6-hydroxybenzo[b]thiophenhydrochlorid,

2-(4-Hydroxyphenyl)-3-[3-(1-piperidinyl)propoxy]phenyl]-6-hydroxybenzo[b]thiophen,

2-(4-Hydroxyphenyl)-3-[3-(1-piperidinyl)butoxy]phenyl]-6-hydroxybenzo[b]thiophenhydrochlorid,

2-(4-Methoxyphenyl)-3-[3-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]phenyl]-6-methoxybenzo[b]thiophenhydrochlorid,

2-(4-Methoxyphenyl)-3-[3-[3-(1-pyrrolidinyl)propoxy]phenyl]-6-methoxybenzo[b]thiophenhydrochlorid,

2-(4-Methoxyphenyl)-3-[3-[4-(1-pyrrolidinyl)butoxy]phenyl]-6-methoxybenzo[b]thiophenhydrochlorid,

2-(4-Hydroxyphenyl)-3-[3-[2-(1-pyrrolidinyl)ethoxy]phenyl]-6-hydroxybenzo[b]thiophenhydrochlorid,

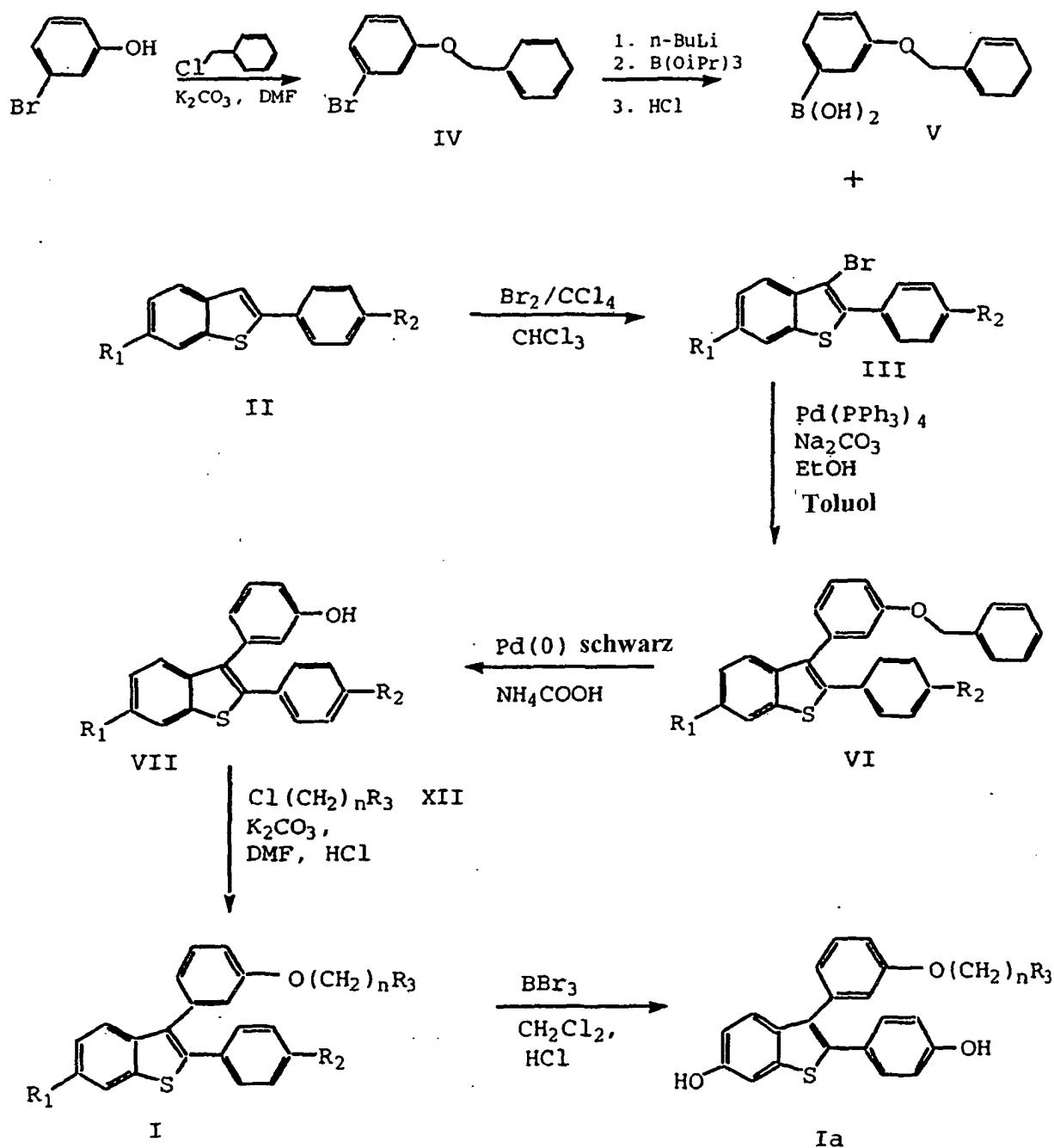
2-(4-Hydroxyphenyl)-3-[3-(1-pyrrolidinyl)propoxy]phenyl]-6-hydroxybenzo[b]thiophen,

2-(4-Hydroxyphenyl)-3-[3-(1-pyrrolidinyl)butoxy]phenyl]-6-hydroxybenzo[b]thiophenhydrochlorid und dergleichen.

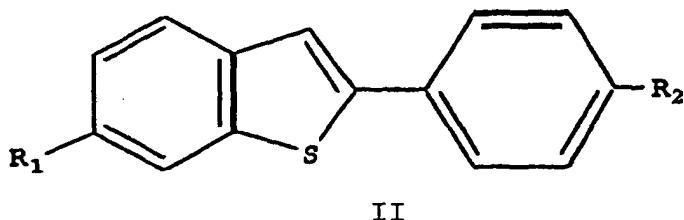
[0020] Bevorzugte Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung sind die Verbindungen, worin n für 3 steht und R_3 für Piperidinyl steht.

[0021] Es sind mehrere Synthesewege zur Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen verfügbar. Ein solcher Syntheseweg ist im folgenden Schema I beschrieben.

Schema I



[0022] In den Verfahren zur Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen sind das Ausgangsmaterial für die Benzo[b]thiophenderivate Benzo[b]thiophenvorläufer der Formel II:

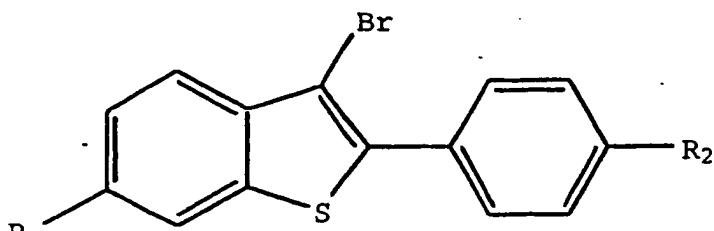


worin R_1 und R_2 die vorherigen Bedeutungen aufweisen.

[0023] Eine Verbindung der Formel II kann gemäß den Verfahren von Jones et al., US 4 133 814 A hergestellt werden, wobei die Beschreibung hiervon hiermit eingeführt ist.

[0024] Eine Verbindung der Formel II wird mit einem Äquivalent Brom in einem geeigneten chlorierten Lösungsmittel, wie Chloroform, Tetrachlorkohlenstoff oder Gemischen hiervon bromiert. Das Substrat wird im Lösungsmittel bis zum Rückfluß erhitzt. Das Brom wird tropfenweise zugegeben, wobei die Umsetzung langsam auf

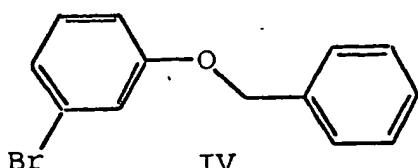
Raumtemperatur unter Bildung einer Verbindung der Formel III abgekühlt wird, die an der Position 3 bromiert ist.



III

worin R₁ und R₂ ihre vorherigen Bedeutungen aufweisen.

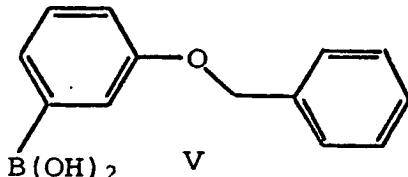
[0025] Benzylchlorid und m-Bromphenol werden in DMF mit einem Überschuß Kaliumcarbonat über Nacht bei Raumtemperatur unter Bildung einer benzylgeschützten Phenolverbindung der Formel IV gekuppelt.



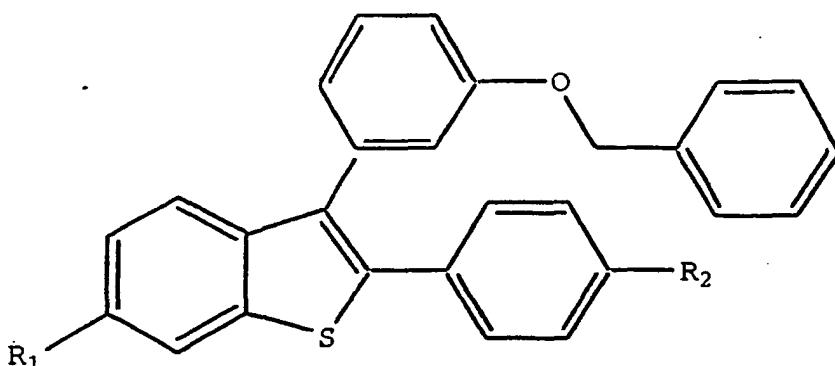
IV

[0026] Die Benzylschutzgruppe ist eine von vielen Gruppen, die zum Schutz des Phenols während der anschließenden Kupplungsreaktion verwendet werden kann. Siehe beispielsweise J. W. Barton "Protective Groups in Organic Chemistry", J. G. W. McOmie (Herausgeber), Plenum press, New York, NY, 1973, Kapitel 2 und T. W. Green, "Protective Groups in Organic Synthesis", John Wiley and Sons, New York, NY, 1981, Kapitel 7.

[0027] Das 3-Benzylxybrombenzol der Formel IV wird zum Borsäurederivat durch Auflösen in THF und der Zugabe eines Äquivalents an n-Butyllithium bei -78°C umgewandelt. Nach dem Rühren bei -78°C für etwa 30 Minuten wird ein Äquivalent Triisopropylborat zugegeben und die Reaktion wird langsam auf Raumtemperatur erwärmt, wonach eine Ansäuerung mit wässriger Chlorwasserstoffsäure unter Bildung einer 3-Benzylxybenzolborsäureverbindung der Formel V erfolgt.



[0028] Eine Verbindung der Formel III und eine Verbindung der Formel V werden dann in 10% Ethanol in Toluol mit wässrigem Natriumcarbonat und katalytischem Tetrakis(triphenylphosphin)palladium-(0) vereinigt und für 2-3 Stunden auf Rückfluß erhitzt. Es wird typischerweise herkömmliche Dünnschichtchromatographie verwendet, um die Vollständigkeit der Umsetzung zu verfolgen, die eine Verbindung der Formel VI ergibt

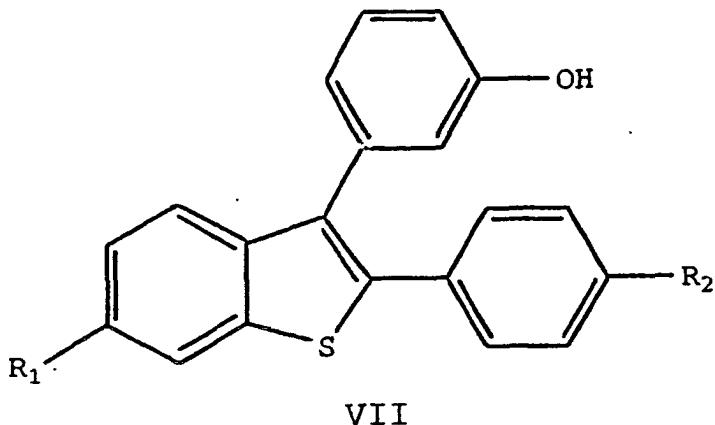


VI

worin R₁ und R₂ ihre vorherigen Bedeutungen haben.

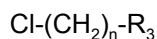
[0029] Die Benzylxysschutzgruppe auf einer Verbindung der Formel VI kann durch jedes der verfügbaren Standardverfahren entfernt werden, wie Hydrierung mittels katalytischem Palladium auf Aktivkohle in THF un-

ter Druck. Alternativ dazu kann die Schutzgruppenentfernung durch Kochen am Rückfluß für 30 Minuten in einem Ethylacetat/Ethanol/Wasser-Lösungsmittelsystem mit einem Äquivalent Palladium-(0)-schwarz und fünf Äquivalenten Ammoniumformiat unter Bildung der Phenolverbindung der Formel VII ausgeführt werden (siehe beispielsweise J. W. Barton, obige Literaturstelle)



worin R_1 und R_2 wie vorher definiert sind.

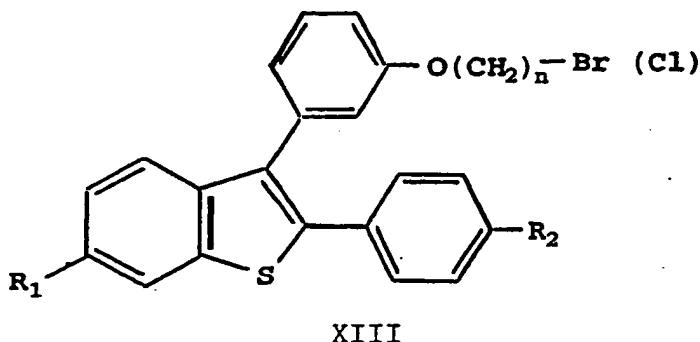
[0030] Die oben erhaltenen Phenolverbindungen der Formel VII können durch die Zugabe einer Verbindung der Formel XII in DMF bei Raumtemperatur gewöhnlich über Nacht mit einem Überschuß an trockenem Kaliumcarbonat alkyliert werden



XII

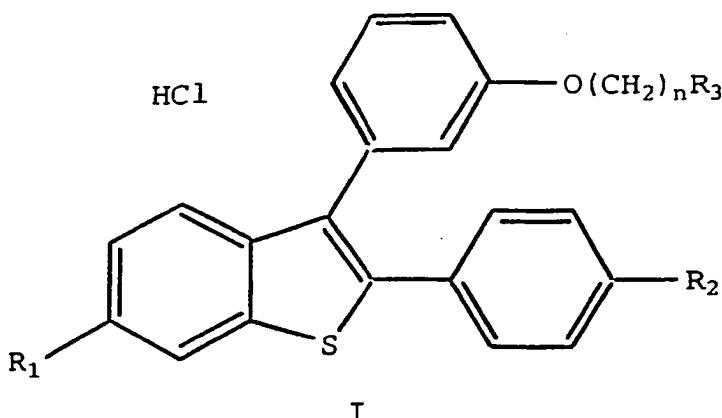
worin R_3 und n die vorherigen Bedeutungen haben.

[0031] Alternativ dazu kann das obige Phenol mit einem Überschuß eines Dihalogenalkylrests unter Bildung eines Oxyalkylhalogenderivats, beispielsweise einer Verbindung der Formel XIII, alkyliert werden. Bevorzugte Halogene wären Chlor oder Brom, wobei Brom besonders bevorzugt ist



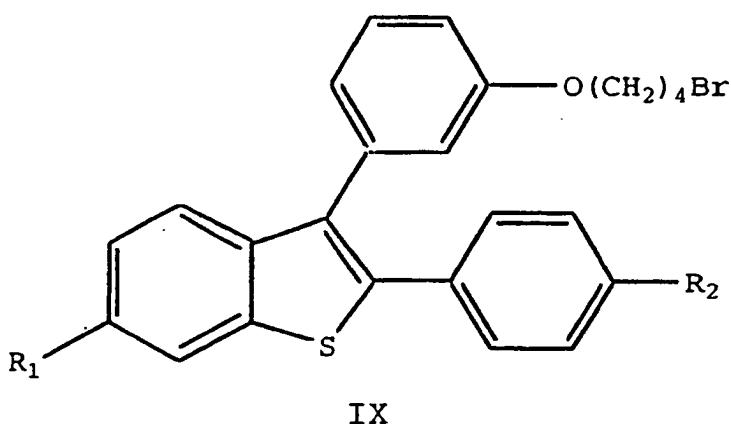
worin R_1 , R_2 und n wie vorher definiert sind.

[0032] Eine Verbindung der Formel XIII kann in eine Verbindung der Formel I durch Verdrängung des Halogens durch ein geeignetes Amin in Gegenwart einer anorganischen Base, wie K₂CO₃ oder dergleichen umgewandelt werden. Verbindungen der Formel I, worin R_1 und R_2 für Ester oder Sulfonate stehen, können durch die Demethylierung der Mono- oder Dimethoxyverbindungen mit AlCl₃, BCl₃ und dergleichen und einer Acylierung mit dem geeigneten Acyl- oder Sulfonylrest hergestellt werden. Die Methoxygruppen werden mittels eines geeigneten Protokolls entfernt, so daß die Spaltung der Oxyalkylbasisseitenkette nicht erfolgt. Dies kann durch die Umwandlung des basischen Stickstoffs in das Hydrochloridsalz erreicht werden



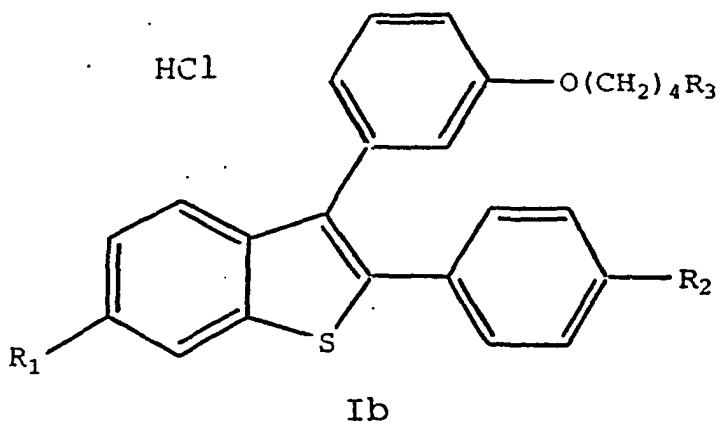
worin R_1 , R_2 , R_3 und n wie vorher definiert sind.

[0033] Falls n in einer Verbindung der Formel Ib für 4 steht, wird ein alternativer Syntheseansatz verwendet, da 1-(4-Chlorbutyl)piperidinhydrochlorid nicht leicht verfügbar ist. Eine Verbindung der Formel VII wird mit 1,4-Dibrombutan mit einem Überschuß an trockenem Kaliumcarbonat in 2-Butanon am Rückfluß für eine Stunde alkyliert, was zu einer Verbindung der Formel IX führt



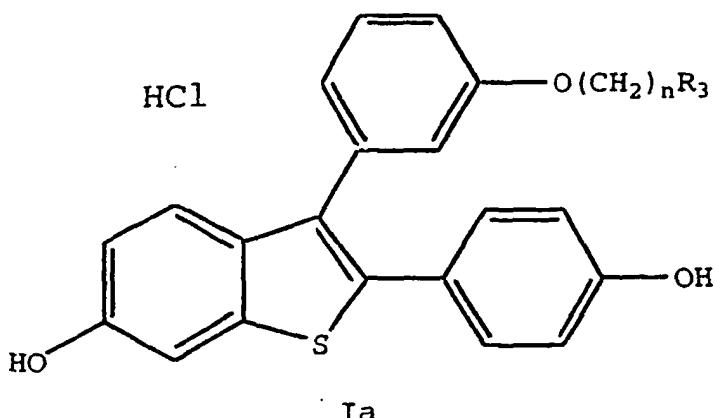
worin R_1 und R_2 wie vorher definiert sind.

[0034] Eine Verbindung der Formel IX wird dann mit einer geeigneten Base, wie beispielsweise Piperidin, und einem Überschuß an trockenem Kaliumcarbonat in DMF bei Rückfluß für 3 Stunden unter Bildung einer Verbindung der Formel Ib umgesetzt. Das HCl Salz wird mittels Standardtechniken hergestellt.



worin R_1 , R_2 und R_3 wie vorher definiert sind.

[0035] Eine Verbindung der Formel I, worin R_1 und R_2 beide für $-OCH_3$ stehen kann, können durch die Umsetzung mit 2,5 Äquivalenten an Bortribromid in Dichlormethan bei $0^\circ C$ für 3 Stunden unter Bildung der Verbindungen der Formel Ia demethyliert werden. Das HCl Salz wird durch Standardtechniken hergestellt.



[0036] Die Verbindungen der Formel Ia und Ib werden durch die Definition einer Verbindung der Formel I umfaßt.

[0037] Obwohl die Verbindungen der Formel I in Form der freien Base in den erfindungsgemäßen Verfahren verwendet werden können, ist es bevorzugt, die pharmazeutisch annehmbare Salzform herzustellen und zu verwenden. Der Ausdruck "pharmazeutisch annehmbares Salz" bezieht sich entweder auf Säure- oder Basen-additionssalze, die bekanntermaßen nicht toxisch sind und herkömmlich in der pharmazeutischen Literatur verwendet werden. Die pharmazeutisch annehmbaren Salze weisen im allgemeinen erhöhte Löslichkeitseigenschaften verglichen mit der Verbindung, von der sie stammen, auf, und sind daher bei der Formulierung als Flüssigkeiten oder Emulsionen oft beliebter. Die in den erfindungsgemäßen Verfahren verwendeten Verbindungen bilden mit einer großen Vielzahl an organischen und anorganischen Säuren primär pharmazeutisch annehmbare Säureadditionssalze und beinhalten die physiologisch annehmbaren Salze, die oft in der pharmazeutischen Chemie verwendet werden. Solche Salze sind auch Teil der Erfindung.

[0038] Typische anorganische Säuren, die zur Bildung solcher Salze verwendet werden, sind unter anderem Chlorwasserstoff-, Bromwasserstoff-, Iodwasserstoff-, Salpeter-, Schwefel-, Phosphor-, Hypophosphorsäure und dergleichen. Salze, die von organischen Säuren stammen, wie aliphatischen Mono- und Dicarbonsäuren, phenylsubstituierten Alkansäuren, Hydroxyalkan- und Hydroxyalkanidsäuren, aromatischen Säuren, aliphatischen und aromatischen Sulfonsäuren, können ebenfalls verwendet werden. Solche pharmazeutisch annehmbaren Salze sind daher unter anderem Acetat, Phenylacetat, Trifluoracetat, Acrylat, Ascorbat, Benzoat, Chlorbenzoat, Dinitrobenzoat, Hydroxybenzoat, Methoxybenzoat, Methylbenzoat, o-Acetoxybenzoat, Naphthalin-2-benzoat, Bromid, Isobutyrat, Phenylbutyrat, β -Hydroxybutyrat, Butin-1,4-dioat, Hexin-1,4-dioat, Caproat, Caprylat, Chlorid, Cinnamat, Citrat, Formiat, Fumarat, Glycollat, Heptanoat, Hippurat, Lactat, Malat, Maleat, Hydroxymaleat, Malonat, Mandelat, Mesylat, Nicotinat, Isonicotinat, Nitrat, Oxalat, Phthalat, Terephthalat, Phosphat, Monohydrogenphosphat, Dihydrogenphosphat, Metaphosphat, Pyrophosphat, Propiolat, Propionat, Phenylpropionat, Salicylat, Sebacat, Succinat, Suberat, Sulfat, Bisulfat, Pyrosulfat, Sulfit, Bisulfit, Sulfonat, Benzolsulfonat, p-Bromphenylsulfonat, Chlorbenzolsulfonat, Ethansulfonat, 2-Hydroxyethansulfonat, Methansulfonat, Naphthalin-1-sulfonat, Naphthalin-2-sulfonat, p-Toluolsulfonat, Xylolsulfonat, Tartrat und dergleichen. Ein bevorzugtes Salz ist das Hydrochloridsalz.

[0039] Die pharmazeutisch annehmbaren Säureadditionssalze werden typischerweise durch die Umsetzung einer Verbindung der Formel I mit einer äquimolaren oder überschüssigen Menge einer Säure gebildet. Die Reaktanden werden im allgemeinen in einem gemeinsamen Lösemittel vereinigt, wie Diethylether oder Ethylacetat. Das Salz fällt normalerweise innerhalb von etwa einer Stunde bis 10 Tagen aus der Lösung aus und kann durch Filtration isoliert werden oder das Lösemittel kann durch herkömmliche Verfahren abgezogen werden. Die vorliegende Erfindung liefert ferner pharmazeutisch annehmbare Formulierungen zur Verabreichung an einen Säuger, einschließlich dem Menschen, der einer Behandlung bedarf, die eine wirksame Menge einer Verbindung der Formel I und ein pharmazeutisch annehmbares Verdünnungsmittel oder einen Träger enthält.

[0040] Wie hierin verwendet, meint der Ausdruck "wirksame Menge" eine Menge einer Verbindung der vorliegenden Erfindung, die zur Hemmung, Linderung Besserung, Behandlung oder Prävention weiterer Symptome bei Säugern einschließlich dem Menschen fähig ist, die an Knochenverlust oder Knochenresorption, insbesondere Osteoporose, und kardiovaskulären pathologischen Zuständen, einschließlich Hyperlipidämie, leiden.

[0041] Im Fall von Östrogen-abhängigen Krebsarten meint der Ausdruck "wirksame Menge" die Menge einer erfindungsgemäßen Verbindung, die zur Linderung, Besserung, Hemmung des Krebswachstums, Behandlung oder Prävention des Krebses und/oder dessen Symptome bei Säugern, einschließlich dem Menschen, fähig ist.

[0042] Mit "pharmazeutisch annehmbare Formulierung" ist gemeint, daß der Träger, das Verdünnungsmittel, die Hilfsstoffe und das Salz mit dem Wirkstoff (einer Verbindung der Formel I) der Formulierung kompatibel

sind und für den Empfänger hiervon nicht schädlich sind. Pharmazeutische Formulierungen können durch in der Technik bekannte Verfahren hergestellt werden. Beispielsweise können die erfindungsgemäßen Verbindungen mit herkömmlichen Hilfsstoffen, Verdünnungsmitteln oder Trägern formuliert und zu Tabletten, Kapseln und dergleichen geformt werden. Beispiele für Hilfsstoffe, Verdünnungsmittel und Träger, die für solche Formulierungen geeignet sind, beinhalten die folgenden: Füllstoffe und Streckmittel, wie Stärke, Zuckerarten, Mannit und Kieselsäuredervative, Bindemittel, wie Carboxymethylcellulose und andere Cellulosederivate, Alginat, Gelatine und Polyvinylpyrrolidon, Befeuchtungsmittel, wie Glycerin, Zerfallshilfsmittel, wie Agar-Agar, Calciumcarbonat und Natriumbicarbonat, Mittel zur Verzögerung der Auflösung, wie Paraffin, Resorptionsbeschleuniger, wie quarternäre Ammoniumverbindungen, oberflächenaktive Mittel, wie Cetylalkohol, Glycerinmonostearat, adsorptive Träger, wie Kaolin und Bentonit und Gleitmittel, wie Talkum, Calcium- und Magnesiumstearat und feste Polyethylenglycole. Schließliche pharmazeutische Formen können sein: Pillen, Tabletten, Pulver, Lonzetten, Sirupe, Aerosole, Sachets, Cachets, Elixiere, Suspensionen, Emulsionen, Salben, Zäpfchen, sterile injizierbare Lösungen oder sterile verpackte Pulver und dergleichen in Abhängigkeit des verwendeten Hilfsstofftyps.

[0043] Zusätzlich sind die erfindungsgemäßen Verbindungen gut geeignet zur Formulierung als verzögert freisetzende Dosierungsformen. Die Formulierungen können so gestaltet werden, daß sie den Wirkstoff nur oder vorzugsweise in einen bestimmten Teil des Verdauungstrakts möglicherweise über eine bestimmte Zeitspanne freisetzen. Solche Formulierungen können Beschichtungen, Umhüllungen und Schutzmatrizen umfassen, die aus polymeren Substanzen oder Wachsen hergestellt werden können.

[0044] Die bestimmte Dosis einer Verbindung der Formel I, die zur Behandlung, Hemmung oder Verhinderung der Symptome und/oder der Erkrankung eines Säugers, einschließlich des Menschen erforderlich ist, der an den obigen Erkrankungen leidet, hängt ab von der einzelnen Erkrankung, den Symptomen und der Schwere. Die Dosierung, die Verabreichungswege und die Häufigkeit der Dosierung werden am besten vom behandelnden Arzt bestimmt. Im allgemeinen anerkannte und wirksame Dosierungen betragen 15 mg bis 1000 mg und typischer 15 mg bis 80 mg ein- bis dreimal am Tag. Solche Dosierungen werden einem behandlungsbedürftigen Patienten für mindestens 30 Tage und typischer für 6 Monate oder dauerhaft verabreicht.

[0045] Die vorliegende Erfindung liefert auch Verbindungen zur Verwendung bei der Hemmung der Östrogen-defizienten Pathologien, einschließlich beispielsweise Fehlen der Geburtskontrolle, postmenopausales Syndrom, einschließlich beispielsweise Osteoporose, kardiovaskuläre Erkrankung, Restenose und Hyperlipidämie, bestimmte Krebsarten beim Mann, wie Prostatakrebs, Akne, Hirsutismus, dysfunktionelle Uterusblutung, Dysmenorrhoe und atrophe Vaginitis, gekennzeichnet durch die Verabreichung einer wirksamen Menge einer Verbindung der Formel I und wahlweise einer wirksamen Menge Progestin an einen behandlungsbedürftigen Säugern. Der Fachmann erkennt, daß die östrogenen Mittel viele Anwendungen zur Behandlung von Östrogen-defizienten Pathologien neben den oben aufgeführten aufweisen. Die vorliegende Erfindung betrifft und umfaßt solche Erkrankungen, obwohl sie nicht namentlich aufgeführt sind.

[0046] Die folgenden Formulierungen werden zu Erläuterungszwecken angegeben und sollen nicht beschränkend wirken. Die gesamten Wirkstoffe in solchen Formulierungen umfassen 0,1 bis 99,9 Gewichtsprozent der Formulierung. Der Ausdruck "Wirkstoff" meint eine Verbindung der Formel I.

Formulierung 1: Gelatinekapseln

Bestandteil	Menge (mg/Kapsel)
Wirkstoff	0,1 – 1000
Stärke, NF	0 – 500
Stärke, fließfähiges Pulver	0 – 500
Siliconflüssigkeit 350 Centistoke	0 – 15

[0047] Die Bestandteile werden gemischt, durch ein Nr. 45 Mesh US Sieb gegeben und in Hartgelatinekapseln gefüllt.

Formulierung 2: Tabletten

Bestandteil	Menge (mg/Tablette)
Wirkstoff	2,5 – 1000
Stärke	10 – 50
Cellulose, mikrokristallin	10 – 20
Polyvinylpyrrolidon (als 10 % Lösung in Wasser)	5
Natriumcarboxymethylcellulose	5
Magnesiumstearat	1
Talkum	1 – 5

[0048] Der Wirkstoff die Stärke und die Cellulose werden durch ein Nr. 45 Mesh US Sieb gegeben und gründlich gemischt. Die Lösung des Polyvinylpyrrolidons wird mit den entstehenden Pulvern gemischt, die dann durch ein Nr. 14 Mesh US Sieb gegeben werden. Die so hergestellten Granula werden bei 50°C–60°C getrocknet und durch ein Nr. 18 Mesh US Sieb gegeben. Die Natriumcarboxymethylcellulose, das Magnesiumstearat und das Talkum, die vorher durch ein Nr. 60 Mesh US Sieb gegeben wurden, werden dann zu den obigen Granula gegeben und sorgfältig gemischt. Das entstehende Material wird in einer Tablettenmaschine unter Bildung von Tabletten gepreßt.

Formulierung 3: Aerosol

Bestandteil	Gewichtsprozent
Wirkstoff	0,25
Ethanol	29,75
Propellant 22 (Chlordifluormethan)	70,00
Gesamt	100,00

[0049] Der Wirkstoff wird mit Ethanol gemischt und das Gemisch wird zu einem Teil Propellant 22 gegeben, auf –30°C abgekühlt und in ein Abfüllgerät gegeben. Die erforderliche Menge wird anschließend in einen Edelstahlbehälter gefüllt und mit dem Rest des Propellants verdünnt. Die Ventileinheiten werden anschließend am Behälter angebracht.

Formulierung 4: Zäpfchen

Bestandteil	Gewicht
Wirkstoff	150 mg
Gesättigte Fettsäureglyceride	3000 mg

[0050] Der Wirkstoff wird durch ein Nr. 60 Mesh U.S. Sieb gegeben und in den gesättigten Fettsäureglyceriden suspendiert, die vorher auf ihren Schmelzpunkt erhitzt wurden. Das Gemisch wird anschließend in eine Zäpfchenform gegossen und abgekühlt.

Formulierung 5: Suspension

Suspensionen, die jeweils 0,1–1000 mg einer Verbindung der Formel I pro 5 ml Dosis enthalten.

Bestandteil	Gewicht
Wirkstoff	0,1 - 1000 mg
Natriumcarboxymethylcellulose	50 mg
Sirup	1,25 ml
Benzoësäurelösung (0,1 M)	0,10 ml
Geschmacksstoff	q.v.
Farbstoff	q.v.
gereinigtes Wasser auf gesamt	5 ml

[0051] Eine Verbindung der Formel I wird durch ein Nr. 45 Mesh US Sieb gegeben und mit der Natriumcarboxymethylcellulose und dem Sirup unter Bildung einer glatten Paste vermischt. Die Benzoësäurelösung, der Geschmacks- und der Farbstoff werden mit etwas Wasser verdünnt und zugegeben und das Gemisch wird gründlich gemischt. Dann wird ausreichend Wasser zugegeben, um die Formulierung auf das Endvolumen zu bringen.

[0052] Die folgenden Beispiele und Präparationen werden bereitgestellt, um die Durchführung der vorliegenden Erfindung besser darzustellen und sollen nicht so interpretiert werden, daß sie den Schutzmfang beschränken. Der Fachmann erkennt, daß verschiedene Modifikationen vorgenommen werden können, ohne sich vom Gedanken und Schutzmfang der Erfindung zu entfernen. Alle Veröffentlichungen und Patentanmeldungen, die in der Beschreibung erwähnt sind, definieren das Wissen des Fachmanns, den diese Erfindung betrifft.

[0053] Die NMR Daten für die folgenden Beispiele werden auf einem GE 300 MHz NMR Instrument erzeugt und es wird wasserfreies CDCl_3 als Lösemittel verwendet, falls nichts anderes angegeben ist. Die Feldstärke für die ^{13}C Spektren beträgt 75,5 MHz, falls nichts anderes angegeben ist.

Präparation 1

2-(4-Methoxyphenyl)-3-brom-6-methoxybenzo[b]thiophen

[0054] Eine Aufschlämmung aus 100 g (370 mmol) 2-(4-Methoxyphenyl)-6-methoxybenzo[b]thiophen in 1 l CHCl_3 wird bis zum Rückfluß erhitzt und dann von der Heizquelle entfernt. Eine Lösung aus 19,3 ml (370 mmol) Brom in 170 ml Tetrachlorkohlenstoff wird tropfenweise zugegeben, während sich die Lösung langsam auf Raumtemperatur abkühlt. Das entstehende Gemisch wird im Vakuum zur Trockne unter Bildung von 129 g der Titelverbindung als brauner Feststoff konzentriert.

^1H NMR: Stimmt mit der vorgeschlagenen Struktur überein.

MS: 348 und 350 (M^+) FD

EA: Berechnet: C 55,03, H 3,75. Gefunden: C 55,30, H 3,70. $\text{C}_{16}\text{H}_{13}\text{BrO}_2\text{S}$.

Präparation 2

3-Benzylxylobrombenzol

[0055] Eine Aufschlämmung aus 100 g (580 mmol) 3-Bromphenol, 80 g (700 mmol) Benzylchlorid und 168 g (1210 mmol) K_2CO_3 wird in 2 l DMF für 16 Stunden bei Umgebungstemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wird filtriert und bis zur Trockne eingedampft. Der Feststoff wird zwischen CHCl_3 und Wasser aufgeteilt. Die organische Phase wird abgetrennt, zweimal mit Kochsalzlösung gewaschen und durch Filtration durch wasserfreies Na_2SO_4 getrocknet. Die Lösung wird zur Trockne eingedampft. Dies ergibt 142,5 g der Titelverbindung als weißen Feststoff

^1H NMR: Stimmt mit der vorgeschlagenen Struktur überein.

MS: 262 und 264 (M^+) FD

EA: Berechnet: C 59,34, H 4,21. Gefunden: C 59,59, H 4,17. $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{BrO}$.

Präparation 3

3-Benzylxyloxyphenylborsäure

[0056] Eine Lösung aus 10 g (38 mmol) 3-Benzylxyloxybrombenzol im 150 ml wasserfreiem THF wird unter einer Stickstoffatmosphäre auf -70°C abgekühlt. 28,5 ml n-Butyllithium 1,6 M in Hexan) werden tropfenweise zur Lösung gegeben. Das Reaktionsgemisch wird für 30 Minuten gerührt und dann werden 10,6 ml (45,6 mmol) Triisopropylborat zugegeben. Das Reaktionsgemisch kann sich dann auf Umgebungstemperatur über einen Zeitraum von 2 Stunden erwärmen. Die Reaktion wird durch die Zugabe von 200 ml an 1 N HCl gestoppt und das Reaktionsgemisch wird für eine weitere Stunde gerührt. Die Aufschämmung wird zweimal mit EtOAc extrahiert und die organische Phase wird abgetrennt und vereinigt. Die EtOAc Lösung wird zweimal mit Kochsalzlösung gewaschen, mit Na_2SO_4 getrocknet und zu einem gelben Öl eingedampft. Das Produkt wird aus Ether-Hexan kristallisiert. Dies ergibt 4,85 g der Titelverbindung als weißen Feststoff

^1H NMR: Stimmt mit der vorgeschlagenen Struktur überein.

Präparation 4

2-(4-Methoxyphenyl)-3-(3-benzylxyloxyphenyl)-6-methoxybenzo[b]thiophen

[0057] Eine Lösung aus 40 g (112 mmol) 2-(4-Methoxyphenyl)-3-brom-6-methoxybenzo[b]thiophen und 51 g (224 mmol) 3-Benzylxyloxyphenylborsäure wird in 1,4 l Toluol und 1 l EtOH hergestellt. Zu dieser Lösung wird eine katalytische Menge an Tetrakis(triphenylphosphin)palladium-(0) und 180 ml an wässrigem 2 N Na_2CO_3 gegeben. Die Aufschämmung wird am Rückfluss für 1 Stunde erhitzt. Die organische Phase wird abgetrennt und zweimal mit 0,1 N NaOH und zweimal mit Kochsalzlösung gewaschen, mit N_2SO_4 getrocknet und bis zur Trockne eingedampft. Das Produkt wird auf einer Silicagelsäule chromatographiert, die mit einem linearen Gradienten eluiert wird, welcher mit EtOAc-Hexan (9 : 1) (V/V) beginnt und mit EtOAc-Hexan (4 : 1) (V/V) endet. Die gewünschten Fraktionen werden durch TLC bestimmt, vereinigt und zu einem klaren Öl eingedampft. Dies ergibt 28 g der Titelverbindung.

^1H NMR: Stimmt mit der vorgeschlagenen Struktur überein.

MS: m/e = 452 (M⁺) FD

EA: Berechnet: C 76,96, H 5,35. Gefunden: C 76,75, H 5,44. $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{O}_3\text{S}$.

Präparation 5

2-(4-Methoxyphenyl)-3-(3-hydroxyphenyl)-6-methoxybenzo[b]thiophen

[0058] Es wird eine Aufschämmung, die aus 2-(4-Methoxyphenyl)-3-(3-benzylxyloxyphenyl)-6-methoxybenzo[b]thiophen besteht, in 1 l EtOH, 250 ml EtOAc und 40 ml Wasser hergestellt. 4,04 g (38 mmol) Palladium-(0)-schwarz und 12,6 g (200 mmol) Ammoniumformiat werden zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird für 1 Stunde auf Rückfluß erhitzt, dann durch Celite filtriert und zur Trockne eingedampft. Der Feststoff wird zwischen EtOAc und gesättigter Na_2HCO_3 Lösung aufgeteilt. Die organische Phase wird mit Kochsalzlösung gewaschen, mit Na_2SO_4 getrocknet und zur Trockne eingedampft. Dies ergibt 12,8 g der Titelverbindung als weißen Feststoff

^1H NMR: Stimmt mit der vorgeschlagenen Struktur überein.

MS: m/e = 362 (M⁺) FD

EA: Berechnet: C 72,90, H 4,97. Gefunden: C 73,11, H 5,00. $\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{O}_3\text{S}$.

Beispiel 1

2-(4-Methoxyphenyl)-3-[3-[2-(1-piperidinyl)ethoxy]phenyl]-6-methoxybenzo[b]thiophenhydrochlorid

[0059] Eine Aufschämmung aus 2,7 g (7,1 mmol) 2-(4-Methoxyphenyl)-3-(3-hydroxyphenyl)-6-methoxybenzo[b]thiophen, 1,8 g (10,7 mmol) 2-Chlorethylpiperidinhydrochlorid und 4,9 g (35,5 mmol) K_2CO_3 wird in 200 ml DMF hergestellt. Die Umsetzung kann für 16 Stunden bei Umgebungstemperatur ablaufen. Das Reaktionsgemisch wird zur Trockne eingedampft und der Feststoff wird zwischen EtOAc und Wasser aufgeteilt. Die organische Phase wird abgetrennt und mit Kochsalzlösung gewaschen und mit Na_2SO_4 getrocknet. Die Lösung wird zu einem braunen Öl eingedampft und in 80 ml EtOAc rückgelöst. Es wird trockenes HCl Gas in die EtOAc Lösung geblasen und es bildet sich ein Niederschlag. Das Lösemittel wird durch Verdampfung entfernt. Dies ergibt 2,8 g der Titelverbindung als hellbraunes Pulver.

^1H NMR: Stimmt mit der vorgeschlagenen Struktur überein.

MS: m/e = 473 (M-HCl) FD

EA: Berechnet: C 68,28, H 6,32, N 2,75. Gefunden: C 68,57, H 6,23, N 2,45. $C_{29}H_{32}ClNO_3S$.

Beispiel 2

2-(4-Methoxyphenyl)-3-[3-[3-(1-piperidinyl)propoxy]phenyl]-6-methoxybenzo[b]thiophenhydrochlorid

[0060] Auf eine zu der in Beispiel 1 verwendeten Weise werden 3,09 g (8 mmol) an 2-(4-Methoxyphenyl)-3-(3-hydroxyphenyl)-6-methoxybenzo[b]thiophen, 2,4 g (12 mmol) an 1-(3-Chlorpropyl)piperidinhydrochlorid und 5,5 g (40 mmol) an K_2CO_3 in 200 ml DMF zu 2,8 g der Titelverbindung umgewandelt, die als weißer Feststoff isoliert wird.

1H NMR: Stimmt mit der vorgeschlagenen Struktur überein.

MS: m/e = 488 (M $^+$) FD

EA: Berechnet: C 68,75, H 6,54, N 2,67. Gefunden: C 68,49, H 6,64, N 2,81. $C_{30}H_{34}ClNO_3S$.

Präparation 6

2-(4-Methoxyphenyl)-3-[3-(4-brombutyl)phenyl]-6-methoxybenzo[b]thiophen

[0061] Eine Aufschämmung aus 4,04 g (11 mmol) an 2-(4-Methoxyphenyl)-3-(3-hydroxyphenyl)-6-methoxybenzo[b]thiophen, 26,3 ml (220 mmol) 1,4-Dibrombutan und 3,5 g (25,3 mmol) K_2CO_3 in 200 ml 2-Butanon wird hergestellt. Das Reaktionsgemisch wird für 2 Stunden auf Rückfluß erhitzt, dann filtriert und zur Trockne eingedampft. Das entstehende Öl wird auf einer Silicagelsäule chromatographiert die mit einem linearen Gradienten eluiert wird, der mit EtOAc-Hexan (1 : 9) (V/V) beginnt und mit EtOAc-Hexan (1 : 4) (V/V) aufhört. Die gewünschten Fraktionen werden vereinigt und zu einem gelben Öl eingedampft. Dies ergibt 5 g der Titelverbindung.

1H NMR: Stimmt mit der vorgeschlagenen Struktur überein.

MS: m/e = 497 and 499 (M $^+$) FD

EA: Berechnet: C 62,78, H 5,07. Gefunden: C 62,59, H 5,28. $C_{26}H_{25}BrNO_3S$.

Beispiel 3

2-(4-Methoxyphenyl)-3-[3-[4-(1-piperidinyl)butoxy]phenyl]-6-methoxybenzo[b]thiophenhydrochlorid

[0062] 5,4 g (11 mmol) an 2-(4-Methoxyphenyl)-3-[3-(4-brombutyl)phenyl]-6-methoxybenzo[b]thiophen, 4,4 ml (44 mmol) Piperidin und 6 g (44 mmol) an K_2CO_3 werden zu 100 ml DMF gegeben. Das Reaktionsgemisch wird für 1 Stunde auf Rückfluß erhitzt, filtriert und zur Trockne eingedampft. Der entstehende Feststoff wird zwischen EtOAc und Wasser aufgeteilt und die organische Phase wird abgetrennt. Die EtOAc Lösung wird dreimal mit Wasser und zweimal mit Kochsalzlösung gewaschen und mit Na_2SO_4 getrocknet. Die entstehende Lösung wird zu einem braunen Öl eingedampft und in 80 ml an EtOAc gelöst. Es wird trockenes HCl gas durch die EtOAc Lösung geblasen und es bildet sich ein weißer Niederschlag. Das Lösemittel wird durch Verdampfung entfernt. Dies ergibt 2,7 g der Titelverbindung als hellbraunes Pulver.

1H NMR: Stimmt mit der vorgeschlagenen Struktur überein.

IR (KBr): 3691, 3425, 2960, 2839, 2453, 2374, 1603, 1577, 1542, 1508, 1473, 1439, 1352, 1292, 1249, 1179, 1146, 1061, 1034, 832 cm^{-1} .

HRMS: Berechnet für $C_{31}H_{36}NO_3S$ (M-Cl): 502,2416. Gefunden: 502,2426

Beispiel 4

2-(4-Hydroxyphenyl)-3-[3-[2-(1-piperidinyl)ethoxy]phenyl]-6-hydroxybenzo[b]thiophenhydrochlorid

[0063] 2 g (4 mmol) an 2-(4-Methoxyphenyl)-3-[3-[2-(1-piperidinyl)ethoxy]phenyl]-6-methoxybenzo[b]thiophenhydrochlorid werden in 125 ml CH_2Cl_2 gelöst und auf 0°C abgekühlt. 1,0 ml (10 mmol) Br_3 werden zugegeben und das Reaktionsgemisch wird für 3 Stunden bei 0°C unter einer Stickstoffatmosphäre gerührt. Die Reaktion wird gestoppt, indem man sie in ein Gemisch aus 125 ml wässrigem $NaHCO_3$, 25 ml Isopropanol und 250 ml $CHCl_3$ gießt. Die organische Phase wird abgetrennt und zweimal mit Kochsalzlösung gewaschen, mit Na_2SO_4 getrocknet und zur Trockne eingedampft. Der entstehende Feststoff wird in 150 ml EtOAc rückgelöst und trockenes HCl Gas wird durchgeblasen. Die Lösemittel werden durch Verdampfen entfernt. Dies ergibt 850 mg der Titelverbindung als weißes Pulver.

1H NMR: Stimmt mit der vorgeschlagenen Struktur überein.

IR (KBr): 3217, 2950, 2739, 1590, 1586, 1508, 1466, 1433, 1360, 1262, 1216, 1171, 1148, 907 cm⁻¹.

HRMS: Berechnet für C₂₇H₂₈NO₃S: 446,1790. Gefunden: 446,1795.

Beispiel 5

2-(4-Hydroxyphenyl)-3-[3-(1-piperidinyl)propoxy]phenyl]-6-hydroxybenzo[b]thiophen

[0064] 1,1 g (2,1 mmol) an 2-(4-Methoxyphenyl)-3-[3-(1-piperidinyl)propoxy]phenyl]-6-methoxybenzo[b]thiophenhydrochlorid werden in 60 ml CH₂Cl₂ gelöst und auf 0°C abgekühlt. 0,5 ml (5,25 mmol) an BBr₃ werden zugegeben und die Reaktion wird für 90 Minuten bei 0°C unter einer Stickstoffatmosphäre geführt. Die Reaktion wird gestoppt, indem man sie in ein Gemisch aus 125 ml NaHCO₃, 25 ml Isopropanol und 250 ml CHCl₃ gießt. Die organische Phase wird abgetrennt und zweimal mit Kochsalzlösung gewaschen, mit Na₂SO₄ getrocknet und zur Trockne eingedampft. Das Rohprodukt wird auf einer Silicagelsäule chromatographiert, die mit einem linearen Gradienten eluiert wird, welcher mit CHCl₃ beginnt und mit CHCl₃-MeOH (9 : 1) (V/V) endet. Die gewünschten Fraktionen werden vereinigt und zur Trockne eingedampft. Das Hydrochloridsalz wird wie in Beispiel 4 hergestellt. Dies ergibt 550 mg der Titelverbindung als hellbraunen, amorphen Feststoff.

¹H NMR: Stimmt mit der vorgeschlagenen Struktur überein.

MS: m/e = 460 (M-Cl)

HRMS: Berechnet für C₂₈H₃₀NO₃S = 460,1950. Gefunden: 460,1946

Beispiel 6

2-(4-Hydroxyphenyl)-3-[3-(1-piperidinyl)butoxy]phenyl]-6-hydroxybenzo[b]thiophenhydrochlorid

[0065] Auf eine ähnliche Weise zu der von Beispiel 4 werden 1,1 g (2,04 mmol) an 2-(4-Methoxyphenyl)-3-[3-(1-piperidinyl)butoxy]phenyl]-6-methoxybenzo[b]thiophenhydrochlorid mit 0,5 ml (5,1 mmol) an BBr₃ zu 370 mg der Titelverbindung als hellbraunes, amorphes Pulver umgewandelt.

¹H NMR: Stimmt mit der vorgeschlagenen Struktur überein.

MS: m/e = 473 (M⁺) FD.

HRMS: Berechnet für C₂₉H₃₂NO₃S = 474,2103. Gefunden: 474,2097.

[0066] In den Beispielen, die die Verfahren erläutern, wird ein postmenopausales Modell verwendet, worin die Wirkungen der unterschiedlichen Behandlungen auf die zirkulierenden Lipide bestimmt werden.

[0067] Fünfundsiebzig Tage alte weibliche Sprague Dawley Ratten (Gewichtsbereich 200 bis 225 g) erhält man von den Charles River Laboratories (Portage, MI). Die Tiere werden entweder beidseitig ovariekтомiert (OVX) oder einem operativen Scheinverfahren bei den Charles River Laboratories unterzogen und dann nach einer Woche geliefert. Nach der Ankunft werden sie in Metallhängekäfigen in Gruppen von 3 oder 4 pro Käfig gehalten und haben für eine Woche freien Zugang zu Futter (Calciumgehalt etwa 0,5%) und Wasser. Die Raumtemperatur wird bei 22,2°C ± 1,7°C mit einer minimalen relativen Luftfeuchte von 40% gehalten. Die Lichtperiode im Raum beträgt 12 Stunden Licht und 12 Stunden Dunkelheit.

Dosierungsplan zur Gewebeentnahme

[0068] Nach einer Woche Akklimatisierungszeit (daher zwei Wochen nach OVX) wird die tägliche Dosierung mit der Testverbindung begonnen. 17 α -Ethinylöstradiol oder die Testverbindung werden als Suspension 1% Carboxymethylcellulose oder gelöst in 20% Cyclodextrin oral verabreicht, falls nichts anderes angegeben ist. Die Tiere erhalten die Dosen 4 Tage lang. Nach dem Dosierungsplan werden die Tiere gewogen und mit einem Gemisch aus Ketamin : Xylazin (2 : 1, V : V) betäubt und es wird eine Blutprobe durch eine cardiale Punktion entnommen. Die Tiere werden dann durch Erstickung mit CO₂ getötet, der Uterus wird durch eine Mittellinienincision entfernt und das Naßgewicht des Uterus wird bestimmt.

Cholesterinanalyse

[0069] Die Blutproben können bei Raumtemperatur für 2 Stunden gerinnen und das Serum wird nach der Zentrifugation für 10 Minuten bei 3000 Upm erhalten. Das Serumcholesterin wird mittels eines Hochleistungscholesterintests von Boehringer Mannheim Diagnostics bestimmt. Kurz gesagt wird das Cholesterin zu Cholest-4-en-3-on und Wasserstoffperoxid oxidiert. Das Wasserstoffperoxid wird dann mit Phenol und 4-Aminophenazon in Gegenwart von Peroxidase unter Bildung eines p-Chinoniminfarbstoffs umgesetzt, der spektralphotometrisch bei 500 nm ausgelesen wird. Die Cholesterinkonzentration wird dann aus einer Standardkurve errechnet.

[0070] Die Uteri werden bis zur enzymatischen Analyse bei 4°C aufbewahrt. Die Uteri werden dann in 50 Volumina 50 mM Tris-Puffer (pH 8,0) homogenisiert, worin 0,005% Triton-X 100 enthalten sind. Nach der Zugabe von 0,01% Wasserstoffperoxid und 10 mM o-Phenyldiamin (Endkonzentrationen) in Tris-Puffer, wird die Absorptionszunahme für eine Minute bei 450 nm verfolgt. Die Anwesenheit von Eosinophilen im Uterus ist ein Zeichen für die östrogene Aktivität einer Verbindung. Die maximale Geschwindigkeit eines 15 Sekunden langen Intervalls wird über den anfänglichen, linearen Teil der Reaktionskurve bestimmt.

Quelle der Verbindung

[0071] 17 α -Ethinylöstradiol erhält man von Sigma Chemical Co., St. Louis, MO.

Einfluß der Verbindungen der Formel I auf das Serumcholesterin und Bestimmung der Agonist/Nicht-Agonist-Aktivität

[0072] Die in der späteren Tabelle 1 gezeigten Daten zeigen vergleichende Ergebnisse bei ovarektomierten Ratten, Ratten, die mit 17 α -Ethinylöstradiol (EE₂, eine oral verfügbare Form von Östrogen) behandelt wurden und Ratten, die mit bestimmten erfindungsgemäß Verbindungen behandelt wurden. Obwohl EE₂ bei einer oralen Verabreichung mit 0,1 mg/kg/Tag eine Verringerung im Serumcholesterin verursacht, übt es auch eine stimulierende Wirkung auf den Uterus aus, so daß das EE₂ Uterusgewicht wesentlich größer ist, als das Uterusgewicht von ovarektomierten Testtieren. Diese Uterusreaktion auf Östrogen ist in der Technik gut verstanden.

[0073] Die erfindungsgemäß Verbindungen verringern das Serumcholesterin im Vergleich zu den ovarektomierten Kontrolltieren nicht nur, sondern das Uterusgewicht wird mit der Mehrzahl der getesteten Verbindungen nur minimal erhöht bis leicht verringert. Im Vergleich zu den in der Technik bekannten Östrogenverbindungen ist der Nutzen einer Serumcholesterinverringerung ohne schädliche Beeinflussung des Uterusgewichts ziemlich selten und erwünscht.

[0074] Wie es in den folgenden Daten zum Ausdruck kommt, wird die Östrogenität auch durch die Evaluierung der schädlichen Reaktion der Eosinophileninfiltration in den Uterus untersucht. Die erfindungsgemäß Verbindungen verursachen keine große Erhöhung der Anzahl an Eosinophilen, die in der Stomaschicht des Uterus von ovarektomierten Ratten beobachtet werden, während Östradiol eine wesentlich und erwartete Erhöhung der Eosinophileninfiltration verursacht.

[0075] Die in der Tabelle 1 gezeigten Daten spiegeln die Reaktion von 5 oder 6 Ratten pro Behandlung wider.

Tabelle 1

4-Tages OVX Rattentest

Verbindung Nr.	Dosis mg/kg ^a	Uterusgewicht % Zunahme ^b	Uterus Eosinophile (Vmax) ^c	Serumcholesterin % Abnahme ^d
EE ₂	0,1	118,6*	234,2*	89,3*
Beispiel 1	0,1	24	7,5	25,8
	1,0	37,2*	22,2	56,1*
	10,0	68,2*	103,5*	71,1*
Beispiel 2	0,1	20,2	24,0	59,1*
	1,0	35,7*	32,4	76,5*
	10,0	39,1*	32,1	69,4*
Beispiel 3	0,1	23,9	4,8	35,5*
	1,0	62,1*	43,5*	64,4*
	10,0	65,0*	91,2*	78,0*
Beispiel 4	0,1	9,1	4,8	33,3*
	1,0	5,6	4,8	57,2*
	10,0	78,7*	103,8*	81,0*
Verbindung A ^f	0,1	24,6*	21,0*	45,4*
	1,0	64,8*	49,9*	68,8*
	10,0	41,7*	55,9*	65,3*

^a mg/kg p.o.^b Prozentuale Uterusgewichtzunahme gegenüber den ovarektomierten Kontrollen^c Eosinophilperoxidase V_{max}^d Serumcholesterinabnahme gegenüber den ovarektomierten Kontrollen^e 17- α -Ethinylöstradiol^f 2-(4-Hydroxyphenyl)-3-[4-[2-(1-piperidinyl)ethoxyl]phenyl]-6-hydroxybenzo[b]thiophen (siehe: Crenshaw US 3 413 305 A)

* p < 0,05

[0076] Zusätzlich zu den gezeigten Vorteilen der Verbindungen der vorliegenden Erfindung zeigen die Daten deutlich, daß die Verbindungen der Formel I keine Östrogenmimetika sind. Darüberhinaus werden keine schädlichen toxikologischen Effekte (beispielsweise Anzahl der Überlebenden) bei den Behandlungen beobachtet.

Osteoporosetestverfahren

[0077] Gemäß des oben beschriebenen allgemeinen Präparationsverfahrens werden die Ratten täglich für 35 Tage (6 Ratten pro Behandlungsgruppe) behandelt und durch Erstickung mit Kohlendioxid am 36. Tag getötet. Die 35 Tage dauernde Periode reicht aus, um eine maximale Verringerung der Knochendichte zu erhalten, wobei dies wie hierin beschrieben gemessen wird. Zum Tötungszeitpunkt werden die Uteri entfernt, von andersartigem Gewebe befreit und der Flüssigkeitsinhalt wird vor der Bestimmung des Naßgewichts entleert, um die mit der vollständigen Ovarektomie zusammenhängende Östrogendefizienz zu bestätigen. Das Uterusgewicht wird routinemäßig in Reaktion auf die Ovarektomie um etwa 75% verringert. Die Uteri werden dann in neutral gepufferte 10% Formalinlösung gegeben, um die anschließende histologische Untersuchung zu ermöglichen.

[0078] Die rechten Femuren werden entnommen und digitalisierte Röntgenstrahlen werden an der distalen Metaphyse erzeugt und durch ein Bildanalyseprogramm (NIH image) analysiert. Der proximale Bereich der Tibia aus diesen Tieren wird auch durch quantitative Computertomographie gescannt.

[0079] Gemäß den obigen Verfahren werden die erfindungsgemäßen Verbindungen und Ethinylöstradiol (EE₂) in 20% Hydroxypropyl- β -cyclodextrin oral an Testtiere verabreicht. Die Daten für die distale Femurmeta-

physe und die proximalen Tibien sind die Ergebnisse der Behandlung mit der Verbindung der Formel I im Vergleich zu intakten und ovariotomierten Testtieren. Die Ergebnisse sind als prozentualer Schutz relativ zur Ovariotomie angegeben.

[0080] Die Ovariotomie der Testtiere verursacht eine signifikante Verringerung der Femurdichte verglichen mit intakten, nur mit Träger behandelten Kontrollen. Oral verabreichtes Ethinylöstradiol (EE₂) verhindert diesen Verlust, aber das Risiko der Uterusstimulierung mit dieser Behandlung ist immer gegenwärtig.

Östrogen-abhängiger Brustkrebs

MCF-7 Proliferationstest

[0081] MCF-7 Brustadenocarzinomzellen (ATCC HTB 22) werden in MEM (Minimal Essential Medium, Phenolrot-frei, Sigma, St. Louis, MO) gehalten, das mit 10% fetalem Rinderserum (FBS) (V/V), L-Glutamin (2 mM), Natriumpyruvat (1 mM), HEPES (10 mM), nicht essentiellen Aminosäuren und Rinderinsulin (1 µg/ml) supplementiert ist (Erhaltungsmedium). Zehn Tage vor dem Test werden die MCF-7 Zellen in Erhaltungsmedium überführt, das mit 10% mit dextranbeschichteter Aktivkohle behandeltem fetalem Rinderserum (DCC-FBS) anstelle von 10% FBS supplementiert ist, um die internen Östrogenvorräte abzubauen. Die MCF-7 Zellen werden aus dem Erhaltungskolben mittels Zelldissoziationsmedium entfernt (Ca/Mg freies HBSS (Phenolrot-frei), das mit 10 mM HEPES und 2 mM EDTA supplementiert ist). Die Zellen werden zweimal mit Testmedium gewaschen und auf 80 000 Zellen/ml eingestellt. Etwa 100 µl (8000 Zellen) werden in Flachbodenmikrotiterkulturplatten (Costar 3596) gegeben und bei 37°C in einem befeuchteten Inkubator mit 5% CO₂ für 48 Stunden inkubiert, um die Zellhaftung und die Äquilibrierung nach dem Transfer zu ermöglichen. Es werden serielle Verdünnungen der Verbindungen der Formel I oder von DMSO als Verdünnungskontrolle in Testmedium hergestellt und 50 µl werden in dreifach angelegten Mikrokulturen gefolgt von 50 µl Testmedium auf ein Endvolumen von 200 µl überführt. Nach weiteren 48 Stunden Inkubation werden die Mikrokulturen mit Tritium-versetztem Thymidin für 4 Stunden markiert (1 µCi/ Vertiefung). Die Kulturen werden durch Einfrieren bei -70°C für 24 Stunden gefolgt von einem Auftauen und Ernten der Mikrokulturen mittels eines Skatron Semiautomatic Cell Harvester beendet. Die Proben werden durch Flüssigscintillation gemessen. Die Konzentrationen der Testarzneimittel für 50% Hemmung (HK₅₀) werden gegenüber der Kontrolle bestimmt (DMSO). Die erfindungsgemäßen Verbindungen sind in diesem Experimentalmodell wirksam, wie dies im folgenden in Tabelle 2 gezeigt ist.

Tabelle 2

Verbindung	HK ₅₀
4	8 nM
5	0,2 nM
6	2 nM

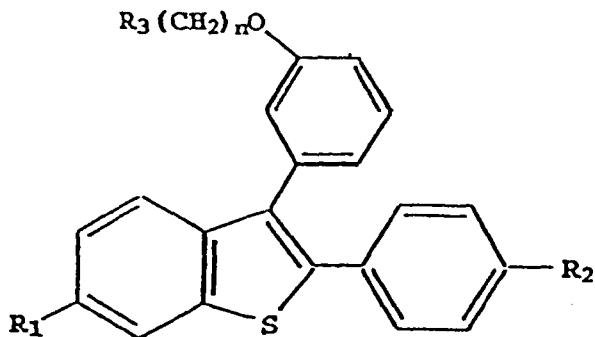
DMBA-induzierte Brusttumorhemmung

[0082] Es werden östrogenabhängige Brusttumoren in weiblichen Sprague-Dawley Ratten gebildet, die von Harlan Industries, Indianapolis, Indiana bezogen werden. Bei einem Alter von etwa 55 Tagen erhalten die Ratten eine einzelne orale Gabe aus 20 mg 7,12-Dimethylbenz[*a*]anthrazen (DMBA). Etwa 6 Wochen nach der DMBA Verabreichung werden die Brustdrüsen in wöchentlichen Intervallen auf das Vorkommen von Tumoren palpirt. Immer wenn ein oder mehrere Tumoren auftreten, werden die längsten und kürzesten Durchmesser jedes Tumors mit einem Mikrometer gemessen, die Messungen werden aufgezeichnet und das Tier wird für das Experiment ausgewählt. Es wird der Versuch unternommen, die verschiedenen Tumogrößen in den Behandlungs- und Kontrollgruppen so gleich zu verteilen, daß die Tumoren der mittleren Größe zwischen den zwei Testgruppen gleich verteilt sind. Die Kontrollgruppen und die Testgruppen für jedes Experiment enthalten 5 bis 9 Tiere.

[0083] Die Verbindungen der Formel I werden entweder über intraperitoneale Injektionen in 2% Akaziengummi oder oral verabreicht. Oral verabreichte Verbindungen werden entweder gelöst oder in 0,2 ml Maisöl suspendiert. Jede Belandung, einschließlich Kontrollbehandlungen mit Akaziengummi und Maisöl, wird einmal am Tag jedem Testtier verabreicht. Nach der anfänglichen Tumormessung und der Auswahl der Testtiere werden die Tumoren jede Woche durch das oben erwähnte Verfahren gemessen. Die Behandlung und die Messungen der Tiere werden für 3 bis 5 Wochen fortgesetzt, wonach die schließlich Tumorflächen bestimmt werden. Für jede Verbindung und die Kontrollbehandlung wird die Veränderung der mittleren Tumorfläche berechnet.

Patentansprüche

1. Verbindung der Formel I

**I**

worin

R¹ für -H, -OH, -O(C₁-C₄ Alkyl), -OCO(C₁-C₆ Alkyl), -O(CO)O(C₁-C₆ Alkyl), -OCOAr, -O(CO)OAr, worin Ar für Phenyl oder substituiertes Phenyl steht, oder -OSO₂(C₂-C₆ Alkyl) steht,

R² für -H, -OH, -O(C₁-C₄ Alkyl), -OCO(C₁-C₆ Alkyl), -O(CO)O(C₁-C₆ Alkyl), -OCOAr, -O(CO)OAr, worin Ar für Phenyl oder substituiertes Phenyl steht, -OSO₂(C₂-C₆ Alkyl), -Cl oder -F steht,

R³ für 1-Piperidinyl, 1-Pyrrolidinyl, Methyl-1-pyrrolidinyl, Dimethyl-1-pyrrolidinyl, 4-Morpholino, Dimethylamino, Diethylamino oder 1-Hexamethylenimino steht, und

n für 2, 3 oder 4 steht,

oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz oder Solvat hiervon, worin substituiertes Phenyl für Phenyl mit einem oder mehreren Substituenten steht, ausgewählt aus der Gruppe, die besteht aus C₁-C₄ Alkyl, -OC₁-C₄ Alkyl, Hydroxy, Nitro, Chlor, Fluor oder Trichlormethyl oder Trifluormethyl.

2. Verbindung nach Anspruch 1, worin n für 2 steht.

3. Verbindung nach Anspruch 1, worin R³ für Piperidinyl steht.

4. Pharmazeutische Zusammensetzung, die eine Verbindung nach Anspruch 1 oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz hiervon, und wahlweise eine wirksame Menge Östrogen oder Progestin, in Kombination mit einem pharmazeutisch annehmbaren Träger, Verdünnungsmittel oder Hilfsstoff enthält.

5. Verbindung nach Anspruch 1 oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz hiervon zur Verwendung in der Medizin.

6. Verwendung einer Verbindung der Formel I nach einem der Ansprüche 1 bis 3 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Linderung der Symptome des postmenopausalen Syndroms.

7. Verwendung einer Verbindung der Formel I nach einem der Ansprüche 1 bis 3 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Linderung der Symptome des postmenopausalen Syndroms des pathologischen Zustands der Osteoporose.

8. Verwendung einer Verbindung der Formel I nach einem der Ansprüche 1 bis 3 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Linderung der Symptome des postmenopausalen Syndroms des pathologischen Zustands, der mit einer kardiovaskulären Erkrankung zusammenhängt.

9. Verwendung einer Verbindung der Formel I nach einem der Ansprüche 1 bis 3 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Linderung der Symptome einer kardiovaskulären Erkrankung, die mit Hyperlipidämie zusammenhängt.

10. Verwendung einer Verbindung der Formel I nach einem der Ansprüche 1 bis 3 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Linderung der Symptome des postmenopausalen Syndroms des pathologischen Zustands von östrogenabhängigem Krebs.

11. Verwendung einer Verbindung der Formel I nach einem der Ansprüche 1 bis 3 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Linderung der Symptome von Brust- oder Uteruskrebs.
12. Verwendung einer Verbindung der Formel I nach einem der Ansprüche 1 bis 3 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Linderung der Symptome der fibroiden Uteruskrankung.
13. Verwendung einer Verbindung der Formel I nach einem der Ansprüche 1 bis 3 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Linderung der Symptome der Endometriose.
14. Verwendung einer Verbindung der Formel I nach einem der Ansprüche 1 bis 3 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Linderung der Symptome der Proliferation der glatten Muskelzellen der Aorta.
15. Verwendung einer Verbindung der Formel I nach einem der Ansprüche 1 bis 3 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Linderung der Symptome der Restenose.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen