

Arch. Pharm. (Weinheim) 313, 919–925 (1980)

Mammatumorhemmende Antiöstrogene vom Typ des 3,3'-Dihydroxy- α,β -dialkylstilbens

Martin Schneider, Erwin von Angerer, Gerhard Kranzfelder und Helmut Schönenberger*

Institut für Pharmazie der Universität Regensburg, Universitätsstraße 31, D 8400 Regensburg
Eingegangen am 17. Dezember 1979

Die *trans*-3,3'-Dihydroxy- α,β -dialkylstilbene **1**, **3–5**, Antiöstrogene mit einer ausgeprägten Wirkung am DMBA-induzierten hormonabhängigen Mammaadenocarcinom der SD-Ratte (speziell **3** und **4**), sind durch Umsetzung von 3-Methoxyphenyldiazoalkanen **c** mit SO₂ zu 1,1-Dioxo-2,5-dialkyl-2,5-di-(3'-methoxyphenyl)- Δ^3 -1,3,4-thiadiazolinen **d**, thermische Zersetzung von **d** zu 3,3'-Dimethoxy- α,β -dialkylstilbenen **e** und Etherspaltung von **e** erhältlich.

Mammary Tumor Inhibiting Antiestrogens of the 3,3'-Dihydroxy- α,β -dialkylstilbene Type.

The *trans*-3,3'-dihydroxy- α,β -dialkylstilbenes **1**, **3–5** are antiestrogens with a marked effect on the DMBA-induced hormone dependent mammary carcinoma of the SD-rat (especially **3** and **4**). They are synthesized by reaction of (3-methoxyphenyl)diazoalkanes **c** with SO₂ to give 1,1-dioxo-2,5-dialkyl-2,5-bis-(3-methoxyphenyl)- Δ^3 -1,3,4-thiadiazolines **d**. Thermal decomposition yields the 3,3'-dimethoxy- α,β -dialkylstilbenes **e** which are then subjected to ether cleavage.

Durch Verlagerung der für die östrogene Wirkung essentiellen phenolischen OH-Gruppen in die *m*-Position und durch Variation der Länge und des Verzweigungsgrades der Alkankette bei Hexöströl werden Östradiolrezeptor-affine Verbindungen mit geringen oder fehlenden östrogenen Nebenwirkungen erhalten^{1,2)}. Am DMBA-induzierten hormonabhängigen Mammaadenocarcinom der SD-Ratte ist eine ausgeprägte Wirkung dieser Verbindungen feststellbar, wobei das Ausmaß der Wirkung von ihrer Affinität zum Östradiolrezeptor bestimmt wird.

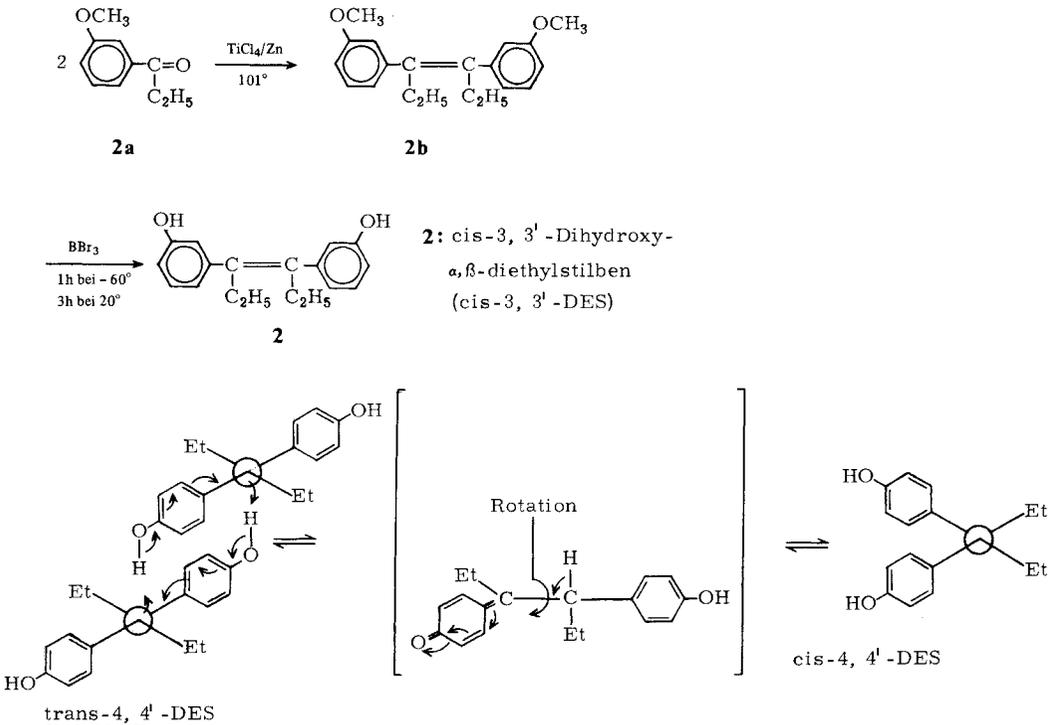
Da eine starke Antitumorwirkung auch beim postmenopausalen menschlichen Mammacarcinom auf thymusaplastischen Nacktmäusen (Östradiol- und Progesteronrezeptor positiv)³⁾ und bei hormonabhängigen MCF 7-Mammacarcinom-Zellen des Menschen *in vitro*⁴⁾ hervorgerufen wird, ist der neue Verbindungstyp für die Behandlung des disseminierten hormonabhängigen Mammacarcinoms beim Menschen von Interesse.

In dieser Arbeit wird die Synthese und Wirkung analoger Verbindungen vom 3,3'-Dihydroxy- α,β -dialkylstilben-Typ (s. Formelschema 3, Verb. **1–5**) beschrieben.

cis-3,3'-Dihydroxy- α,β -diethylstilben (2)

2 wird durch reduktive Kupplung von 3-Methoxypropiophenon mit $\text{TiCl}_4/\text{Zn}^{5,6)}$ und Etherspaltung mit $\text{BBr}_3^7)$ gewonnen.

Die Bildung von **2b** erfolgt stereoselektiv (cis/trans 97 : 3; ermittelt durch GC-Untersuchung des **2b**-Destillats; Varian GC Serie 1400, Column: 3 % OV 101 auf Chromosorb WAW 80–100 mesh, 180°; Injector : 245°; Detector: 280°, N_2 -Flow: 60 ml/min, Chart 0,5 cm/min; t_R **2b** : 2,95; t_R **3e** : 4,35). Die Zuordnung zum cis- (**2b**) bzw. trans- (**3e**) Isomer ergibt sich aus den NMR-Spektren. Im Vergleich zu **3e** sind bei **2b** die Signale der O- CH_3 -Gruppen zu höherem, die Signale der C_2H_5 -Gruppen zu tieferem Feld verschoben⁸⁾ (Tab. 3). Bei Überführung von **2b** in **2** findet eine teilweise Isomerisierung zu **3** (ca. 15 %) und 3,4-Bis-(3'-hydroxyphenyl)-2-hexen (ca. 35 %) statt (ermittelt durch GC-Untersuchung des Trimethylsilyl ethers, Bedingungen wie bei **2b**). Das durch mehrfaches Umkristallisieren in Toluol/Petrolether gewonnene cis-Produkt **2** ist mit 2–3 % der trans-Verbindung **3** verunreinigt. Die von Winkler et al.⁸⁾ in verschiedenen Solventien beobachtete cis-trans-Isomerisierung des Diethylstilböstrols (trans-4,4'-DES; siehe Formelschema 2) kann bei **2** nicht festgestellt werden.⁺) Das für diesen Vorgang postulierte chinoide Zwischenprodukt setzt eine 4-Stellung der beiden Hydroxylgruppen voraus.

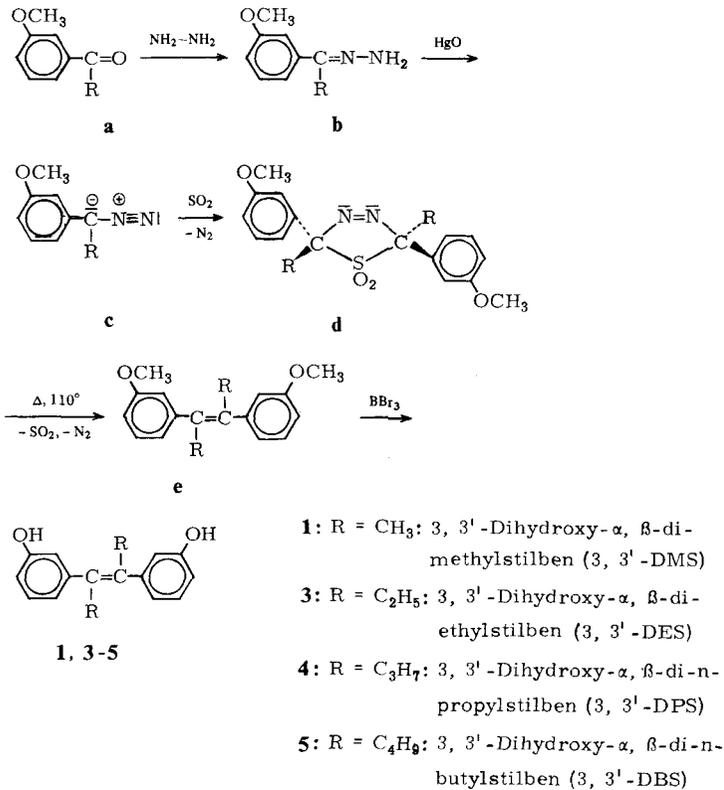


trans-4, 4' -DES

⁺) Die NMR-spektroskopische Untersuchung wurde mit 5proz. 2- CD_3OD - und d_6 -Benzol-Lösungen durchgeführt, die 5 Tage bei 37° gehalten wurden.

trans-3,3'-Dihydroxy- α,β -dialkylstilbene 1, 3-5

Die neuen Stilbenderivate **1**, **4** und **5** und das von *Vargha* und *Kovacs*⁹⁾ sowie von *Wessely* et al.¹⁰⁾ bereits beschriebene **3** werden nach *Staudinger* und *Pfenninger*¹¹⁾ aus den entsprechenden 3-Methoxyphenyl-alkyl-ketonen **a** synthetisiert. **a** wird nach Überführen in das Hydrazon **b** und Oxidation zum Diazoalkan **c** in einer 1,3-dipolaren Cycloadditionsreaktion mit SO₂ zu 1,1-Dioxo-2,5-dialkyl-2,5-di-(3'-methoxyphenyl)- Δ^3 -1,3,4-thiadiazolin **d** umgesetzt (zum Reaktionsmechanismus siehe: *Huisgen*¹²⁾, *Hesse* und *Reichold*¹³⁾, *Inhoffen* et al.¹⁴⁾. Durch thermische Zersetzung entsteht aus **d** unter N₂- und SO₂-Abspaltung 3,3'-Dimethoxy- α,β -dialkylstilben **e** als cis-trans-Isomerenmischung (Isomerenverhältnis 1 : 1, ermittelt durch GC analog **2b**) und nach Isolierung von trans **e** durch Umkristallisieren in Ethanol/Wasser aus diesem durch Etherspaltung mit BBr₃⁷⁾ die trans-3,3'-Dihydroxy- α,β -dialkylstilbene **1**, **3-5**. Die bei der Etherspaltung von **2e** beobachtete cis-trans-Isomerisierung ist bei den trans-3,3'-Dihydroxy- α,β -dialkylstilben **1**, **3-5** nicht feststellbar.



Tab. 1: Angaben zur Synthese der 3,3'-Dimethoxy- α,β -dialkylstilbene **1e**, **2b**, **3–5e**

Verb. Nr.	Formel (Mol.-Masse)	Schmp. ^o	hRf Methylen- chlorid/ Petroleth. (1:1)	Ausb.: ber. auf a in %	Elementaranalyse		
					Ber.: Gef.:	C	H
1e (trans)	C ₁₈ H ₂₀ O ₂ (268,4)	86	66	17		80.5	7.45
						80.5	7.50
2b (cis)	C ₂₀ H ₂₄ O ₂ (296,4)	Öl	61	90		81.0	8,16
						80.9	8.18
3e (trans)	C ₂₀ H ₂₄ O ₂ (296,4)	78	71	26		81.0	8.16
						81.0	8.27
4e (trans)	C ₂₂ H ₂₈ O ₂ (324,4)	82	73	19		81.4	8.63
						81.3	8.73
5e cis-trans- Gemisch	C ₂₄ H ₃₂ O ₂ (352,4)	Öl	cis: 67 trans: 75	36		81.7	9.08
						81.3	9.20

Tab. 2: Angaben zur Synthese, Hemmung der ³H-Östradiol-Rezeptor-Wechselbeziehung *in vitro* und Wirkung am DMBA-induzierten hormonabhängigen Mammapadenocarcinom der SD-Ratte *in vivo* der 3,3'-Dihydroxy- α,β -dialkylstilbene **1–5**

Verbind.	Formel (Mol.-Masse)	Schmp. ^o	hRf Toluol/ Ethylacetat (8 : 2)	Ausb. auf e in %	Ber.: Gef.:		K _i [*]	%Änderung der Tumorfläche** und Totalremission bei x/y- Tumoren
					C	H		
trans- 3,3'-DMS (1)	C ₁₆ H ₁₆ O ₂ (240,3)	134	35	63	79.9 80.1	6.65 6.62	1,4 · 10 ⁻⁷	Z = 3,6; 403 % (Kontr. 430 %); 5/55 = 9 %
cis- 3,3'-DES (2)	C ₁₈ H ₂₀ O ₂ (268,3)	158	30	49	80.6 80.5	7.45 7.47	0,9 · 10 ⁻⁶	nicht getestet
trans- 3,3'-DES (3)	C ₁₈ H ₂₀ O ₂ (268,3)	176	45	65	80.6 80.4	7.45 7.29	6,4 · 10 ⁻⁹	Z = 4,0; -26 % (Kontr. 247 %); 15/54 = 27 %
trans- 3,3'-DPS (4)	C ₂₀ H ₂₄ O ₂ (296,3)	180	47	68	81.0 81.1	8.10 7.98	2,5 · 10 ⁻⁸	Z = 4,4; 101 % (Kontr. 430 %); 11/33 = 33 %
trans 3,3'-DBS (5)	C ₂₂ H ₂₈ O ₂ (324,3)	161	52	34	81.5 81.3	8.63 8.74	6,3 · 10 ⁻⁸	Z = 4,8; 228 % (Kontr. 430 %); 2/55 = 4 %

*^o) Dissoziationskonstante des Inhibitor-Rezeptor-Komplexes-K_i (μ): Methodik zur Bestimmung: Kohleadsorptionstechnik. Rezeptorquelle: Kalbsuteruscytosol^[5]; Östradiol: K_i = 1,2 · 10⁻⁹

**^o) Induktion der Mammatumoren: 20 mg 7,12-Dimethylbenz[a]anthracen (DMBA) po pro SD-Ratte (♀, Alter 50 d). Tumorausgangsfläche pro Versuchsgruppe (10 Tiere) 1900–2400 mm². Applikation: 6 mal Z mg/kg sc pro Woche, Behandlungsdauer 28 d. Erfassung der %-Änderung der Tumorausgangsfläche u. der Totalremission am Versuchstag 28.

Tab. 3: NMR-Daten der Verbindungen **1e**, **2b**, **3-5e** δ (ppm), $CDCl_3$, TMS)

Verb.-Nr.	Aromat. H	O-CH ₃	Alkyl	
			$\begin{array}{c} \\ -C = C - \\ \\ \text{Alkyl} \end{array}$	
1e	6,60-7,43 m, 8H	3,83 s, 6H	-CH ₃	
			1,90 s, 6H	
2b	6,46-7,33 m, 8H	3,66 s, 6H	-CH ₂ -	-CH ₃
			2,60 q, 4H	1,00 t, 6H
			J = 7 Hz	
3e	6,70-7,43 m, 8H	3,90 s, 6H	-CH ₂ -	-CH ₃
			2,20 q, 4H	0,83 t, 6H
			J = 7 Hz	
4e	6,73-7,43 m, 8H	3,83 s, 6H	-C ₃ H ₇	
			0,60-2,26 m, 14H	
5e	6,75-7,44 m, 8H	3,85 s, 6H	-C ₄ H ₉	
			0,66-2,33 m, 18H	

Biologische Prüfung

3,3'-Dihydroxy- α,β -dialkylstilbene hemmen in vitro die ³-H-Östradiol-Rezeptor-Wechselbeziehung kompetitiv, wobei **3**, die Verbindung mit α,β -ständigen Ethylgruppen, die stärkste Wirkung aufweist. Sie ist mit der des stellungsisomeren trans-4,4'-DES vergleichbar. Eine Verkürzung (**1**) oder Verlängerung (**4**, **5**) der Hexenkette von **3** und die Überführung von der trans in die cis-Form (**2**) führt zu einer merklichen Verringerung der Rezeptoraffinität entsprechend der Reihenfolge der Ki-Werte: **3** < **4** \leq **5** < **1** \leq **2** (s. Tab. 2).

Bei der Testung der Verbindungen **1**, **3**, **4** und **5** in äquimolaren Konzentrationen am DMBA-induzierten hormonabhängigen Mammaadenocarcinom der SD-Ratte ist die gleiche Wirkungsabstufung wie im Rezeptorexperiment feststellbar. Die hervorstechende Wirkung von **3** konnte auch am hormonabhängigen postmenopausalen menschlichen Mammacarcinom auf thymusaplastischen Nacktmäusen bestätigt werden³⁾. Über eingehendere pharmakologische Untersuchungen mit 3,3'-Dihydroxy- α,β -dialkylstilbenen wird in einer weiteren Veröffentlichung¹⁵⁾ berichtet.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Verband der Chemischen Industrie – Fonds der Chemischen Industrie – danken wir für die Förderung dieser Untersuchungen.

Tab. 4: NMR-Daten der Verbindungen 1-5 (δ (ppm), CD_3COCD_3 , TMS)

Verb.-Nr.	OH	Aromat. H.	Alkyl -C = C - Alkyl	
1	8,56 s, 2H	6,60-7,30 m, 8H	-CH ₃ 1,86 s, 6H	
2	8,00 s, 2H	6,36-7,16 m, 8H	-CH ₂ - 2,56 q, 4H J = 7 Hz	-CH ₃ 0,96 t, 6H
3	8,20 s, 2H	6,50-7,33 m, 8H	-CH ₂ - 2,1 q, 4H J = 7 Hz	-CH ₃ 0,76 t, 6H
4	8,23 s, 2H	6,56-7,36 m, 8H	-C ₃ H ₇ 0,56-2,23 m, 14H	
5	8,16 s, 2H	6,56-7,40 m, 8H	-C ₄ H ₉ 0,56-2,30 m, 18H	

Experimenteller Teil

Schmp.: Büchi 510-Schmelzpunktsapparat, nicht korr.; *¹H-NMR-Spektren*: Varian EM 360 A (60 MHz); *IR-Spektren*: Beckman Acculab. III; *DC*: Silikagelplatten Merck F 254; *Elementaranalysen* Mikroanal. Lab. Universität Regensburg, wofür wir an dieser Stelle unseren herzlichen Dank aussprechen möchten.

Normalvorschrift für 2b

17,7 g (0,09 mol) 3-Methoxypropiofenon und 25,7 g (0,135 mol) Titan-tetrachlorid werden in 600 ml absol. Dioxan bei 0° mit einer Suspension von 17,7 g (0,27 mol) Zink in 300 ml absol. Dioxan portionsweise versetzt, anschließend 2 h bei 0° gehalten und dann bei 101° 4 h erhitzt. Das nach Zugabe von 10proz. Natriumcarbonatlösung mit Ether extrahierte Rohprodukt wird durch Hochvakuumdestillation gereinigt.

Normalvorschrift für 2

5,0 g (0,0168 mol) 2b in 250 ml absol. Methylenchlorid werden unter Stickstoffbegasung bei -60° mit 13,2 g (0,053 mol) Bortribromid versetzt und nach 1 h langsam auf Raumtemp. erwärmt. Nach

weiteren 3 h wird das Methylenchlorid abdestilliert, der Rückstand mit Wasser hydrolysiert, in 3 N-NaOH gelöst, filtriert, mit 3 N-H₂SO₄ angesäuert und mit Ether extrahiert. Das Rohprodukt wird aus Toluol/Petrolether umkristallisiert.

Normalvorschrift für Lund 3-5

trans-3,3'-Dihydroxy- α,β -dimethylstilben (1)

46,5 g (0,31 mol) 3-Methoxyacetophenon in 90 ml absol. Ethanol werden mit 28,35 g (0,62 mol) Hydrazinhydrat und 46,5 g (0,30 mol) Bariumoxid versetzt und 20 h unter Rückfluß erhitzt. Der Reaktionsansatz wird mit Eiswasser versetzt und das Hydrazon-Rohprodukt durch Etherextraktion und Abdestillieren gewonnen.

43,0 g (0,262 mol) dieses 3-Methoxyacetophenonhydrazons und 79,0 g (0,367 mol) Quecksilberoxid in 250 ml Petrolether werden 7 h bei 20° gerührt. Der Reaktionsansatz wird nach Zugabe von wenig Aktivkohle filtriert. In die Petroletherlösung des 3-Methoxyphenyldiazoethans wird unter Eiskühlung 7 h SO₂ eingeleitet. Nach Abdestillieren des Petrolethers bei 60° wird das entstandene 1,1-Dioxo-2,5-dimethyl-2,5-di-(3'-methoxyphenyl)- Δ^3 -1,3,4-thiadiazolin im doppelten Vol. Toluol bei 115° innerhalb 2 h thermisch zersetzt. Nach Abziehen des Toluols wird durch Umkristallisieren aus Ethanol/Wasser trans-3,3'-Dimethoxy- α,β -dimethylstilben und aus diesem mit BBr₃ analog 2 trans 3,3'-Dihydroxy- α,β -dimethylstilben gewonnen. Die Herstellung der Verbindungen 3-5 erfolgte analog 1.

Literatur

- 1 Klinge Pharma (Erf. H. Schönenberger, G. Kranzfelder und H. Schmitt-Wallenborn) D.B.P. 2658307 (23. Dez. 1976); 89, 197163x (1968).
- 2 R. W. Hartmann, G. Kranzfelder, E. v. Angerer und H. Schönenberger, J. Med. Chem., im Druck.
- 3 R. Th. Michel und H. Schönenberger, in G. Bastert, H. Schmidt-Matthiesen und H. P. Fortmeyer, Symposium Thymusaplastische Nacktmäuse und Ratten in der klinischen Onkologie, Frankfurt/Main, 11.-15. Juni 1979, G. Fischer Verlag, Stuttgart 1980.
- 4 Drug Evaluation Branch, National Cancer Institute, National Institute of Health, Bethesda, Maryland, Unveröffentlichte Ergebnisse.
- 5 T. Mukaiyama, Angew. Chem. 89, 858 (1977).
- 6 T. Mukaiyama, T. Sato und J. Hanna, Chem. Letters 1973, 1041.
- 7 F. L. Benton und T. E. Dielon, J. Am. Chem. Soc. 64, 1128 (1942).
- 8 V. W. Winkler, M. A. Nyman und R. S. Egan, Steroids 17, 197 (1970).
- 9 L. v. Vargha und E. Kovacs, Ber. Dtsch. Chem. Ges. 75, 6794 (1942).
- 10 F. Wessely, A. Bauer, Ch. Chwala, I. Plaichinger und R. Schönbeck, Monatsh. Chem. 79, 596 (1948).
- 11 H. Staudinger und F. Pfenninger, Ber. Dtsch. Chem. Ges. 49, 1941 (1916).
- 12 R. Huisgen, Angew. Chem. 75, 604 (1962).
- 13 G. Hesse und R. Reichold, Chem. Ber. 90, 2101 (1957).
- 14 H. H. Inhoffen, R. Jones, R. H. Krösche und U. Eder, Justus Liebigs Ann. Chem. 694, 19 (1966).
- 15 G. Kranzfelder, M. Schneider, E. v. Angerer und H. Schönenberger, J. Cancer Res. Clin. Onc. 97, 167 (1980).