

Synthese, Biotransformation und Pharmakodynamik eines neuen Theophyllinderivats

Herbert Oelschläger*, Christian Harsche und Jürgen Engel

Institut für Pharmazeutische Chemie der Johann Wolfgang Goethe-Universität, Georg-Voigt-Str. 14, D-6000 Frankfurt am Main

Pharma-Forschung der ASTA-Pharma, D-6000 Frankfurt am Main

Eingegangen am 13. Juli 1990

7-[(*RS*)-2-[(*RS*)-1-Methyl-2-phenyl-ethylamino]propyl]-theophyllin (3) ist bisher nicht beschrieben worden. Dieses Fenetyllin-Analoge läßt sich durch Umsetzung von (*RS*)-Proxiphyllintosylat (7) mit überschüssigem (*RS*)-Amphetamin (2) bei 150°C erhalten, während bei der Reaktion von (*RS*)-7-(2-Chlorpropyl)-theophyllin (4) mit 2 keine S_N-Reaktion eintritt, sondern als Ergebnis einer dominierenden E₂-Reaktion ausschließlich E-7-Propenyltheophyllin (5) anfällt. Vergleichende Biotransformationsuntersuchungen von 3 mit Fenetyllin 1 an männlichen White-Wistar-Ratten ergaben, daß aus 3, vermutlich wegen sterischer Hinderung beim Angriff der Monooxygenasen, statt 4,7% der Dosis (*RS*)-2 nur ca. 1% (*RS*)-2 entsteht (0,6-1,8%). 3 zeigt im Tierversuch (Maus) mit 1 vergleichbare pharmakodynamische Effekte.

Synthesis, Biotransformation, and Pharmacodynamics of a New Theophylline Derivative

7-[(*RS*)-2-[(*RS*)-1-Methyl-2-phenyl-ethylamino]propyl]-theophylline (3) was not described until now. This fenetylline analogue is available by reaction of 7 with an excess of 2 at 150°C. If 2 reacts with 4, an E₂-elimination overwhelms S_N-nucleophilic displacement yielding compound 5. *In vivo* studies with male White-Wistar rats, comparing biotransformation of 3 and 1, demonstrate, that the amount of 2 is decreased from 4.7% of (*RS*)-2 to 1%, probably due to steric hindrance of the attacking monooxygenases by the methyl group at C-11 of 3. Pharmacodynamic studies of 3, tested with mice, gave similar results to those obtained with 1.

Derivate des Theophyllins mit basischer Seitenkette zeigen mannigfache pharmakologische Wirkungen. Fenetyllin (Captagon®) ist ein zentrales Psychostimulans, während im Präparat Akrinor® eine interessante Kombination von Theodrenalin mit Cafedrin als Kreislaufanaleptikum vorliegt. Die Wirkung von Theodrenalin tritt rasch, die von Cafedrin dagegen langsam und zögernd ein, hält dafür aber 8 h an¹⁾ (Abb. 1).

ben. Außerdem hat sich 1 bei psychomotorischer Unruhe und Aufmerksamkeitsstörungen von Kindern (hyperkinetisches Syndrom) bewährt²⁾. 1 wird im menschlichen Organismus weitgehend und in mehreren Richtungen metabolisiert³⁾. Nach einer Dosis von 50 mg p.o. wurde im Harn von Probanden (n = 3) nur etwa 1% unverändertes 1 gefunden⁴⁾. Der Angriff erfolgt überwiegend oxidativ und zwar entweder am C-11 oder C-13 der

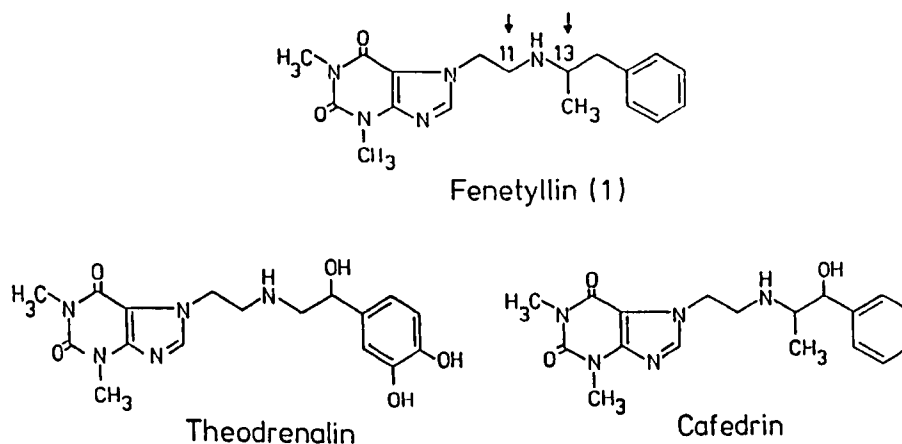
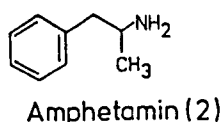


Abb. 1: Pharmakologisch interessante Theophyllin-Derivate



Fenetyllin

7-[(*RS*)-2-[(*RS*)-1-Methyl-2-phenyl-ethylamino]ethyl]-theophyllin (1) entsteht durch Umsetzung von (*RS*)-7-Chlorethyl-theophyllin mit (*RS*)-Amphetamin (2). Als Indikationen für 1 werden Antriebsarmut, besonders im Alter und nach schweren Erkrankungen, Schädeltraumen und Operationen angege-

ben. Seitenkette mit weiteren Reaktionen der aus dem Zerfall der instabilen Halbaminale resultierenden Produkte. Bisher sind 18 Metabolite nachgewiesen worden^{3,5,6)}. Diese Publikationen haben ganz überwiegend qualitativen Charakter, nur in drei Arbeiten finden sich quantitative Angaben, z.B. über 2, 7-(2-Aminoethyl)-theophyllin und 7-(2-Hydroxyethyl)-theophyllin. *Iffland*⁷⁾ bestimmte z.B. gc (n = 6) im Urin durchschnittlich 17,5% 2 nach oraler Gabe von 50 mg 1, während *Nickel et al.*⁴⁾ nach der gleichen Dosis (n = 3) mittels HPLC nur 4 - 15% 2 im 24-h Harn fanden⁴⁾. Die größten Mengen an 2 fand gc *Yoshimura*⁸⁾, nämlich nach oraler Gabe von 30 mg 1 18,1 - 25,5% 2 im 24-h Harn (n = 3).

Problemstellung

Die wichtige Frage, ob die Bildung von 2 aus 1 stereoselektiv erfolgt, ist bisher ungeklärt. Sie hat deshalb Bedeutung, weil S(+)-2 etwa 3-5 mal stärker zentralstimulierend wirkt als das R(-)-Enantiomer⁹⁾. Aber nur das S(+)-Enantiomer wird für das Entstehen einer Amphetaminabhängigkeit verantwortlich gemacht. Daher haben wir uns diesem Problem seit einiger Zeit zugewendet¹⁰⁾. Aus der Tatsache, daß 1 nach oraler Gabe partiell zu 2 biotransformiert wird, wurde u.E. vorschnell gefolgert, daß auch die Medikation mit 1, ungeachtet der völlig anders verlaufenden Konz.-Zeit-Kurven des durch Biotransformation entstandenen 2, zwangsläufig zur Abhängigkeit führt. Allerdings wurde 1 bei sportlichen Wettkämpfen gelegentlich als Dopingmittel verwendet¹¹⁾. Mit nach unserer Auffassung nicht ausreichender Begründung wurde 1 1985 in die Liste der vom WHO-Expert Committee nach dem Übereinkommen über Psychotrope Stoffe von 1971 kontrollierten Substanzen aufgenommen und fällt daher in der Bundesrepublik Deutschland unter die Betäubungsmittelverschreibungsverordnung.

Aus medizinischer Sicht muß bei der Diskussion dieser Entscheidung in Kalkül gestellt werden, daß 1 seit mehr als 23 Jahren erfolgreich als Psychostimulans für die Therapie des hyperkinetischen Syndroms bei Kindern verwendet wurde. Im Vergleich mit Amphetamin und anderen zentralen Stimulantien tritt nach seiner Gabe psychische Abhängigkeit wesentlich seltener ein. Neuere Untersuchungen widersprechen sogar der aufgestellten Hypothese, daß 1 ein Pro-drug für 2 ist und betonen sein eigenständiges pharmakologisches Wirkprofil⁴⁾. Außerdem ist 1 wesentlich weniger akut toxisch als 2 (LD₅₀ p.o. für 1: 310 (mg/kg), für 2: 24.2 (mg/kg), Maus)¹²⁾.

Ergebnisse

Im Rahmen unserer Studien über Gesetzmäßigkeiten zwischen chemischer Struktur, Biotransformation und pharmakologischer Wirkung wollten wir prüfen, ob 1 tatsächlich ein Pro-drug ist, und ob seine Wirkung nur auf der metabolischen Bildung von 2 beruht. Hierzu streben wir biotransformationsstabile Fenetyllin-Analoga an, deren psychostimulierende Effekt im Vergleich zu 1 untersucht werden sollte.

Das unter diesem Aspekt von uns zuerst dargestellte 7-[(RS)-2-((RS)-1-Methyl-2-phenyl-ethylamino)-propyl]-theophyllin (3) ist bisher nicht beschrieben worden. Zielvorstellung bei der Synthese war es, durch eine Methylgruppe am

C-11 der Seitenkette die Monooxygenasen an einer Hydroxylierung dieses C-Atoms sterisch zu hindern. Dadurch unterbliebe die Bildung des entspr. instabilen Halbaminals, das nichtenzymatisch 2 liefert. Völlig offen war dabei die Frage des Enantiomerenverhältnisses von 2.

Wir haben zunächst versucht, 3 durch Umsetzung von (RS)-7-(2-Chlorpropyl)-theophyllin (4) mit 2 zu gewinnen. Trotz mannigfacher Variation der Versuchsbedingungen (Lösungsmittel z.B. Toluol, Xylol, DMF, Butanol, Ethanol, Reaktionstemp. von 60-153° mit und ohne Hilfsbase) erhielten wir statt 3 in wechselnden Mengen das E-7-Propeptyltheophyllin (5) (Abb. 2). Es dominiert also die E₂-Reaktion über die S_N-Reaktion. Zu einem ähnlichen Ergebnis kamen bei der Umsetzung von 4 mit verschiedenen Aminen, z.B. Diethylamin, Zelnik¹³⁾ bzw. Priewe und Poljak¹⁴⁾. Von der Überlegung ausgehend, daß die Qualität der Abgangsgruppen häufig den Reaktionsverlauf entscheidend beeinflusst, veresterten wir 6 mit p-Toluolsulfonsäurechlorid. Zu unserer großen Überraschung fielen nach 7-stdg. Reaktion von 7 (1 Mol) mit 2 (8 Mol) 35% 3 an. Das Eliminationsprodukt 5 war dc nicht nachzuweisen, aber auch kein unverändertes (RS)-Proxyphyllintosylat (7), da unter den Reaktionsbedingungen der Xanthinring partiell zersetzt wird.

Die Strukturen der Verbindungen 3 und 7 wurden durch Spektren (IR, MS, ¹H-NMR (300 MHz)) bestätigt.

Orientierende Untersuchungen zur Biotransformation und der pharmakologischen Wirkung von 3 sind mit geeigneten Tiermodellen durchgeführt worden.

Zur Bestimmung der durch Biotransformation gebildeten Menge 2 aus 3 und 1 wurde der 24-h-Harn von männlichen White-Wistar Ratten (250 - 300 g) nach oraler Gabe von 40 mg/kg untersucht, während für die pharmakologischen Prüfungen die Testsubstanzen subkutan an männliche Mäuse OF1 (25 - 35 g) appliziert wurden.

Wie Tab. 1 zeigt, beträgt im arithmetischen Mittel die Menge des aus 3 entstandenen 2 nur etwa 20% verglichen

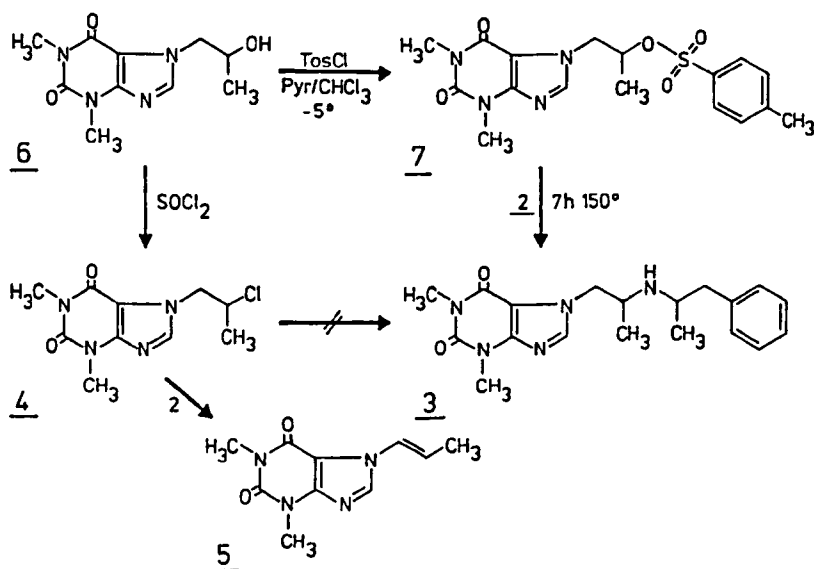


Abb. 2: Umsetzungen von Theophyllin-Derivaten

mit dem aus 1 gebildeten 2, was u.E. auf eine Behinderung der Biotransformation durch die eingeführte C-11 Methylgruppe schließen läßt. Über das Enantiomerenverhältnis von 2 liegen z.Zt. noch keine Ergebnisse vor.

In den Laboratorien der Sarget-Pharma/Merignac wurde 3 im Vergleich mit (RS)-Amphetamin und Fenetyllin auf lokomotorische Aktivität im Motility-Test nach Boissier¹⁵ und auf psychostimulierende Wirkung im Tail-Suspension-Test¹⁶ (TST) geprüft. 3 bewirkt eine Abnahme der lokomotorischen Aktivität bei Gabe von 8 und 16 mg/kg s.c. und keinen Effekt im TST-Test. Diese Befunde bedeuten qualitativ das gleiche pharmakologische Profil wie Fenetyllin in dieser Studie, entsprechen aber nicht dem Profil des Amphetamins, das sowohl eine Erhöhung der lokomotorischen Aktivität und eine Verkürzung der Immobilitätsphasen im TST-Test bewirkt.

Tab. 1: Amphetamin im 24-h Harn, gebildet durch Biotransformation von 1 und 3 (n = 8)

Xanthin-Derivat	1	3
• Prozent der Dosis des im 24-h Harn gefundenen 2	4.7	1
• gefundene Menge (µg) 2 im 24-h Urin	187	40
• range (µg)	155-240	23-67

Dem Fonds der chemischen Industrie, Frankfurt a.M., und der Deutschen Forschungsgemeinschaft, Bonn-Bad Godesberg, danken wir für die Förderung vorstehender Arbeit.

Experimenteller Teil

1. Synthesen

(RS)-7-(2-Tosyloxypropyl)-theophyllin(7), (Proxypheyllintosylat)

10 g (0.04 mol) racem. Proxypheyllin (6) werden in 100 ml Chloroform und 50 ml Pyridin unter Feuchtigkeitsausschluß gelöst und auf -5°C gekühlt. Anschließend tropft man unter Rühren 12 g (0.06 mol) p-Toluolsulfonsäurechlorid in 100 ml Chloroform so langsam zu, daß die Temp. 0°C nicht überschritten wird. Es wird 4 h bei -5°C und danach 2 h bei Raumtemp. gerührt. Der Ansatz wird mit verd. HCl angesäuert, die org. Phase abgetrennt, neutral gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Man filtriert und engt i.Vak. ein. Das Tosylat wird mit EtOH versetzt und fällt nach längerem Stehenlassen aus. Nach Umkristallisieren aus Methylenchlorid/Ethanol (1 + 5) und Trocknen i.Vak. farblose, dc reine Kristalle, Schmp. 180°C (Ausb. 50%).- C₁₇H₂₀N₄O₅S (392.4) Ber. C 52.0 H 5.1 N 14.3 O 20.4 S 8.1 Gef. C 52.1 H 5.1 N 14.3 O 20.7 S 8.1.- IR (KBr): 1650; 1700 (CO); 1185; 1370 (R-SO₂-OR) cm⁻¹.- ¹H-NMR: (300 MHz, CDCl₃): δ (ppm) = 7.50 (d; ³J = 8.1 Hz, 2H arom. H-2', H-6'), 7.46 (s; 1H, H-8), 7.08 (d; ³J = 8.1 Hz, 2H, arom. H-3', H-5'), 4.98-4.88 (m; 1H, CH-O), 4.38 (dd; ²J = 14.4 Hz, ³J = 2.3 Hz, 1H, N-CH₂), 4.02 (dd; ²J = 14.4 Hz, ³J = 9.6 Hz, 1H, N-CH₂) 3.55 (s; 3H, N-CH₃), 3.32 (s; 3H, N-CH₃), 2.34 (s; 3H, Phenyl-CH₃), 1.54 (d; ³J = 6.3 Hz, 3H, CH-CH₃).- MS (90 eV): m/z = 392 (85%, M⁺), 237 (100), 193 (44), 180 (59), 155 (34), 91 (79).

7-[(RS)-2-((RS)-1-Methyl-2-phenyl-ethylamino)-propyl]-theophyllin(3), (Diastereomerenverhältnis 9:1)

3 g (0.008 mol) 7 werden unter Feuchtigkeitsausschluß mit 8 g (0.06 mol) racem. Amphetaminbase 7 h bei 150°C Ölbadtemp. in einem 25 ml Braunglas-Rundkolben unter N₂ und Rühren erhitzt. Der Überschuß von 2 wird i.Vak. (80°C, 10⁻³ Torr) abdestilliert. Man säuert mit etherischer HCl an, saugt das auskristallisierte Hydrochlorid ab und wäscht mit Ethanol und

Diethylether. Schmp. 3-HCl: Diastereomer A: 252°C, Diastereomer B: 155°C. Reinigt man den Reaktionsansatz nach der Vakuumdestillation sc über eine 20 g Kieselgel Woelm TSC-Säule mit Ethylacetat als Eluens, destilliert das Lösungsmittel i.Vak. ab und nimmt den öligen Rückstand in wenig Diethylether auf, so erhält man nach längerem Stehenlassen im Kühlschrank farblose Kristalle der freien Base (Diastereomer A): Schmp. (Base): 89-90°C, dc-rein (Ausb. 35%).- C₁₉H₂₅N₅O₂ (355.4) Ber. C 64.2 H 7.0 N 19.7 O 9.0 Gef. C 63.9 H 7.0 N 19.6 O 8.8.- IR (KBr): 3520; 3580 (NH); 1660; 1720 (CO) cm⁻¹.- ¹H-NMR: (300 MHz, DMSO-d₆): δ (ppm) = 8.0 (s; 1H, H-8), 7.27-7.14 (m; 5H, arom.), 4.19-4.03 (m; 2H, N-CH₂), 3.42 (s; 3H, N-CH₃, N-3), 3.23 (s; 3H, N-CH₃, N-1), 3.14-3.08 (m; 1H, CH-N), 2.83-2.76 (m; 1H, N-CH), 2.72-2.66 (m; 1H, CH₂-Phenyl), 2.42-2.35 (m; 1H, CH₂-Phenyl), 1.40 (s; 1H, NH, D-aust.), 0.85 (d; ³J = 6.4 Hz, 3H, N-CH₂-CH-CH₃), 0.76 (d; ³J = 6.1 Hz, 3H, Phenyl-CH₂-CH-CH₃).- MS (90 eV): m/z = 355 (0.2%, M⁺), 264 (100), 221 (47), 162 (34), 91 (22).

2. Analytischer Teil

Elementaranalysen: Mikroanalytisches Labor Pascher, Remagen.- IR-Spektren: Perkin Elmer 299 (KBr).- ¹H-NMR-Spektren: Bruker AC 300, 300 MHz, CDCl₃ und DMSO-d₆, TMS als int. Standard.- Massenspektren: Varian MAT 212 (90 eV), MAT/Bremen.

3. Biotransformationsuntersuchungen

An männliche White-Wistar Ratten (250 - 300 g, Fa. Ivanowas, Kisslegg/BRD) wurden 1 und 3 oral (40 mg/kg) als wäßrige Lösung ihrer Hydrochloride per Schlundsonde appliziert. In Stoffwechselkäfigen wurde der 24-h Harn gesammelt und sofort aufgearbeitet.- Probenvorbereitung: Die Urinproben wurden mittels Festphasenextraktion über Bondelut Certify-Kartuschen (ICT, Frankfurt) nach der von Analytchem International empfohlenen Methode extrahiert. Die Eluate wurden im trockenen N₂-Strom bei 35°C eingengt, der Rückstand wurde in 1 ml Pic-B7-Puffer gelöst, 20 µl wurden durch HPLC untersucht.

HPLC-Parameter

Hewlett Packard 1082 B, UV-Detektor 210/540 nm.- Säule: Lichrospher 60 RP-Select-B -5 µm, 125/4 mm (Merck).- Eluenten: A: 0.005 M Pic-B7 low UV (pH 2.5), B: Acetonitril (Merck).- Gradient: 0-6 min %B = 10, 6-60 min %B = 75 (linear), Flow rate: 1 ml/min.- Innerer Standard: Methamphetamin (10 µg/ml).

Von allen Proben wurden Dreifachbestimmungen durchgeführt und die erhaltenen Werte gemittelt. Für Amphetamin wurde über den gesamten beobachteten Bereich eine lineare Responsefunktion erhalten, Korrelationskoeffizient 0.999. Die Wiederfindungsrate für 2 liegt über 80%. Die gefundenen Werte wurden auf 100% korrigiert.

Literatur

- 1 F. Zenger, Praxis 54, 1477 (1965).
- 2 G. Kristen, A. Schaefer und A.v. Schlichtegroll, Drug Alcohol Depend. 17, 259 (1986).
- 3 G. Rücker, M. Neugebauer und P.G. Heiden, Arzneim.-Forsch. 38, 500 (1988).
- 4 B. Nickel, G. Niebch, G. Peter, A.v. Schlichtegroll und U. Tibes, Drug Alcohol Depend. 17, 235 (1986).
- 5 S. Goenechea und H. Brzezinka, Arch. Kriminol. 173, 97 (1984).
- 6 Th. Ellison, L. Levy, J.W. Bolger und R. Okun, Eur. J. Pharmacol. 13, 123 (1970).
- 7 R. Iffland, Arch. Kriminol. 169, 81 (1982).
- 8 H. Yoshimura, T. Yoshimitsu, H. Yamada, N. Koga und K. Oguri, Xenobiotika 8, 929 (1988).
- 9 R. Young und R.A. Glennon, Med. Res. Rev. 6, 108 (1986).
- 10 R. Fendt und H. Oelschläger, Arch. Pharm. (Weinheim) 322, 316 (1989).

- 11 M. Donike und D. Stratmann, Sportarzt Sportmed. 21, 287 (1970).
- 12 Merck Index, 11. Ausg., S. 163, Rahway, New Jersey, USA, 1989.
- 13 R. Zelnik, Bull. Soc. Chim. Fr. 314, 1917 (1960).
- 14 H. Priewe und A. Poljak, Chem. Ber. 90, 1651 (1957).
- 15 J.R. Boissier und P. Simon, Arch. Int. Pharmacodyn. 158, 212 (1965).
- 16 L. Steru, Psychopharmacology 85, 367 (1985). [Ph891]