

Neuere nichtsteroidartige entzündungshemmende Wirkstoffe (Antiphlogistica)

Von T. Y. Shen^[*]

Unter den neueren nichtsteroidartigen Antiphlogistica haben Analoga des Indomethacins, der Phenylelessigsäure und der Heteroarylessigsäuren das Stadium der klinischen Prüfung erreicht. Ihre biochemische Wirkungsweise wird am Beispiel von Indomethacin beschrieben, welches Hemmwirkungen auf Entzündungssubstanzen und Enzyme sowie Einflüsse auf die Zellmembran ausübt und die Prostaglandin-Biosynthese hemmt. Die Bedeutung der pharmakodynamischen Eigenschaften für die klinischen Wirkungen konnte an einigen Beispielen gezeigt werden. Mehrere Prüfsubstanzen schieden wegen ihrer Nebenwirkungen aus. Einige α -Methyl-arylessigsäuren zeigten hinsichtlich Wirkungsstärke und Metabolismus *in vivo* sowie der Hemmung der Prostaglandin-Synthetase und der Albumin-Bindung *in vitro* hohe Stereospezifität. Mit dem induzierten Cotton-Effekt steht eine empfindliche Methode zur Untersuchung der Wechselwirkungen zwischen Wirkstoffen und Biopolymeren zur Verfügung. Kompetitive Bindungen und antagonistische Wechselwirkungen zwischen den nichtsteroidartigen Wirkstoffen, speziell bei Acetylsalicylsäure (Aspirin) wurden sowohl *in vitro* als auch *in vivo* beobachtet. Ein Fortschritt auf dem Gebiet der Salicylsäure-Derivate war die Synthese des stärker und länger wirkenden Flufenisals. Analoga der Fenamate und mehrere neuartige chemische Verbindungen zeigten vielversprechende Eigenschaften in ersten klinischen Versuchen. Einige immunologische Methoden zur Behandlung der rheumatoiden Arthritis werden z. Z. untersucht. Für eine wirksamere Bekämpfung der arthritischen Erkrankungen sind jedoch neue Konzepte erforderlich.

1. Einleitung^[1]

Trotz der intensiven und ständig verstärkten Bemühungen auf dem Gebiet der Entzündungshemmung in den letzten zehn Jahren ist die Behandlung der rheumatoiden Arthritis bis heute eine Herausforderung für Biologen und Chemiker geblieben. Um einen entscheidenden Durchbruch auf diesem schwierigen Gebiet zu erzielen, werden genauere Kenntnisse über die Krankheit, speziell über ihre Ätiologie und Pathogenese, bessere Modellsysteme für Tierversuche, neue medizinisch-chemische Konzepte und neuartige chemische Verbindungen benötigt.

Nach Angaben im Annual Report in Medicinal Chemistry^[2] wurden 1966 in der Patentliteratur mehr als hundert Gruppen entzündungshemmender Substanzen beschrieben, was ein weitverbreitetes Interesse an der Suche nach neuen entzündungshemmenden Mitteln beweist. Dieses Tempo bei der Suche und Synthese wurde während der letzten Jahre offensichtlich beibehalten, wenn nicht sogar gesteigert. Nach der wissenschaftlichen Literatur zu urteilen, zeigten jedoch nur einige Präparate eine ausreichende Wirkung und Verträglichkeit während kurzdauernder Versuche, so daß sie weitere Untersuchungen verdienten. Und ein noch geringerer Teil dieser Präparate qualifizierte sich nach Prüfung der chronischen Toxizität für die präklinische Untersuchung. Dieses Aussondern der Wirkstoffe ist stets äußerst kostspielig und entmutigend.

Da die allgemeinen Themen der Arthritis-Forschung, z. B. klinische Aspekte^[3-6], pharmakologische Untersuchungen^[7-10] und neue wirksame Verbindungen^[11, 12], regel-

mäßig in ausgezeichneten Beiträgen zusammengefaßt werden, soll dieser Fortschrittsbericht sich vor allem mit einer ausgewählten Gruppe von Verbindungen befassen, die derzeit klinisch geprüft oder angewendet werden. Diese Auswahl ist notwendigerweise dadurch begrenzt, daß nur wenige klinische Angaben über neue Substanzen zur Verfügung stehen, doch sollte sie die Aufmerksamkeit der pharmakologisch interessierten Chemiker auf die wenigen brauchbaren unter der Fülle der angeblich wirksamen Verbindungen lenken. Es wäre zu wünschen, daß das Studium der Entwicklungsgeschichte dieser Verbindungen einige kritische Probleme der Arthritis-Forschung aufzeigt und die Notwendigkeit einer Neuorientierung unserer Forschungsmethoden sowie biologischer Bekämpfungsverfahren unterstreicht.

2. Arylessigsäuren

2.1. Allgemeines

Arylessigsäuren als nichtsteroidartige entzündungshemmende Wirkstoffe wurden in mehreren Laboratorien unabhängig voneinander vor ungefähr 15 Jahren entwickelt. Es ist bemerkenswert, wenn es auch damals unbeachtet blieb, daß das Gerüst zweier Pflanzenwuchsstoffe, der Indolylessigsäure und der Phenoxyllessigsäure, den zuerst untersuchten Verbindungen bei den Firmen Boots^[13] und Merck^[14] zugrunde lag. Durch Substitution mit hydrophoben Gruppen, die bekanntlich die Wirkung zahlreicher pharmakologischer Substanzen verstärken, z. B. Aryl, Aralkyl oder Aroyl, wurden diese Pflanzenwuchsstoffe in Derivate übergeführt, die sich in Tierversuchen wie dem Fußbödentest, dem UV-Erythemtest, dem Granulom-

[*] Dr. T. Y. Shen
Merck Sharp & Dohme Research Laboratories
Rahway, New Jersey 07065 (USA)

Pellet-Test und im Adjuvans-Arthritis-Modell als hochwirksam erwiesen^[15]. Neuerdings wurden auch bei einigen Analoga oder Derivaten anderer Pflanzenhormone in vitro eine Cytotoxizität und in vivo eine beschränkte entzündungshemmende Wirkung gefunden^[16].

Da fast alle Arylessigsäuren eine antiphlogistische Wirkung zeigen, dominiert diese Verbindungsklasse heute bei der Entwicklung entzündungshemmender Wirkstoffe. Dieses Verhalten legte einen Vergleich mit der Antihistaminwirkung von Diaryl-alkylaminen oder der Wirkung von Phenothiazinyl-alkylaminen auf das Zentralnervensystem nahe. Hierbei überrascht nicht, daß die optimalen Aryl-Reste in allen Fällen verschieden sind. Versuche, die Di-alkylamino-Seitenketten in den Alkylgruppen bei den beiden letztgenannten Verbindungsreihen durch einen Essigsäure-Rest auszutauschen, führten nur zu Analoga mit verringerter Wirkung^[17].

2.2. Biochemische Wirkungsweise von Indomethacin

Die Wirkungsweise der entzündungshemmenden Aryl-carbonsäuren ist noch nicht ganz aufgeklärt, doch scheinen die Verbindungen auf zahlreichen Wegen in den komplexen Entzündungsprozeß einzugreifen. Ihre breiten Wirkungsprofile sind vermutlich die Ursache für ihre sehr unspezifische klinische Wirksamkeit und auch für mögliche Nebenwirkungen.

Das Indomethacin (1)^[14-18] wurde zu einer Zeit eingeführt, als die Pharmakologie der nichtsteroidartigen entzündungshemmenden Wirkstoffe zunehmend interessierte. Als neue Bezugssubstanz wurde es in mehreren biochemischen Systemen geprüft, doch bleibt die Bedeutung mancher Beobachtungen noch zu erhärten. Einige seiner biochemischen Eigenschaften sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Diese Eigenschaften werden im allgemeinen auch bei den anderen entzündungshemmenden Aryl-carbonsäuren beobachtet.

Die biochemischen Wirkungen von Indomethacin lassen sich in großen Zügen in zwei Gruppen unterteilen: die Hemmung von Enzymen und Entzündungssubstanzen sowie die Wirkung auf die Zellmembranen. Die zuletzt genannte Wirkung scheint speziell die Grundlage für zahlreiche neuere Beobachtungen zu sein. Wie in Tabelle 1 gezeigt, inhibiert Indomethacin mehrere proteolytische Enzyme in vitro bei Konzentrationen von 10^{-4} bis 10^{-3} mol/l^[19,20]. Einige dieser Proteasen können beim Gewebeabbau, beim Metabolismus der Immunglobuline und bei der Aktivierung von Entzündungssubstanzen beteiligt sein^[21]. Die potentielle Beteiligung der Kollagenase^[22-24] und eines lysosomalen Enzyms, Kathepsin D^[25], bei der Veränderung arthritischer Gelenke haben neuerdings große Aufmerksamkeit erregt^[4]. Die Auffindung von Säugetier-Kollagenasen mit unterschiedlichen pH-Optima und Empfindlichkeiten gegen Serum-Inhibitoren legt es nahe, Untersuchungen an in-vitro-Modellen vorsichtig zu interpretieren^[26].

Das Interesse an Histamin als wichtigster Entzündungssubstanz ließ nach. Vor einiger Zeit fand man, daß Indo-

methacin fetale Histidin-Decarboxylase in vitro bei einer Konzentration von 0,4 mmol/l hemmt^[27]. In vivo scheint der Effekt aber je nach Herkunft des Enzyms zu variieren^[28,29]. Die Vorstellung über die Hemmung der Histidin-Decarboxylase wurde weiter kompliziert durch das Postulat eines „induzierten“ Enzyms^[30]. Der Lymphknoten-

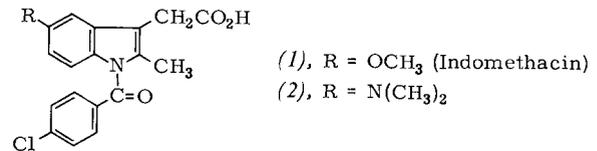


Tabelle 1. Biochemisches Wirkungsprofil von Indomethacin (1).

1. Wirkungen auf Enzyme und Entzündungssubstanzen (10^{-4} bis 10^{-3} mol/l)
 - 1.1. Hemmung proteolytischer Enzyme, z. B. Trypsin, α -Chymotrypsin und „Gewebeproteasen“
 - 1.2. Hemmung von Histidin-Decarboxylase in vitro
 - 1.3. Hemmung des Lymphknotenpermeabilitätsfaktors (LNPF)
 - 1.4. Beschränkte Wirkungen auf die Kininsysteme, den Hageman-Faktor und die Fibrinolyse
 - 1.5. Antagonismus von langsam reagierenden Substanzen (SRS)
 - 1.6. Entkopplung der oxidativen Phosphorylierung
 - 1.7. Hemmung der Mucopolysaccharid-Biosynthese
 - 1.8. Stabilisierung des Serumproteins
 - 1.9. Hemmung der Prostaglandin-Synthetase (10^{-6} mol/l)
2. Wirkungen auf Membran-Strukturen (10^{-5} bis 10^{-4} mol/l)
 - 2.1. Stabilisierung der Erythrocyten
 - 2.2. Hemmung von Funktionen der Thrombocyten
 - Ansammlung und Freisetzung von Entzündungssubstanzen
 - 2.3. Hemmung der Teilnahme neutrophiler Leukocyten an der Schwartzman-Reaktion
 - 2.4. Hemmung der Wechselwirkung zwischen Fibroblasten und Leukocyten in vitro
 - 2.5. Hemmung der Leukocyten-Wanderung
 - Chemotaxis und Beweglichkeit polymorphkerniger neutrophiler Leukocyten
 - 2.6. Stabilisierung von Lysosomen der menschlichen Haut gegen Histamin

permeabilitätsfaktor (LNPF) ist eine in den Lymphknoten entstehende Entzündungssubstanz; er wird mit zahlreichen Erscheinungen bei verzögerten Allergien in Verbindung gebracht^[31]. Der Faktor bewirkt eine Zunahme der Gefäßdurchlässigkeit, der Leukocyten-Wanderung und der Ablagerung von Fibrin. Die Wirkung des LNPF auf die Gefäße wird durch Indomethacin antagonistisch beeinflusst. Nur einen geringen oder gar keinen Effekt hat Indomethacin dagegen auf die Bildung und Wirkung von Bradykinin^[32,33]. Es hat einen beschränkten Effekt auf die Aktivierung des Hageman-Faktors am Kniegelenk des Hundes^[33] und eine sehr schwache Wirkung auf die Fibrinolyse in vitro^[34].

Indomethacin wirkt der Fähigkeit der „langsam reagierenden Substanzen“ (SRS-A, SRS-C), der Arachidonsäure und des Bradykinins entgegen, die Resistenz von Meerschweinchenlungen gegen Blähung zu steigern^[35]. Es blockiert direkt die spasmogene Wirkung von SRS-C^[36] und die mögliche Freisetzung einer aorta-kontrahierenden Substanz^[37].

Die meisten nichtsteroidartigen entzündungshemmenden Wirkstoffe entkoppeln die oxidative Phosphorylierung und hemmen die Biosynthese der Mucopolysaccharide^[38]. Die Korrelation dieser Eigenschaften mit den entzündungs-

hemmenden Wirkungen wurde jedoch durch das Fehlen einer Strukturspezifität und durch die pharmakodynamische Forderung nach in-vivo-Wirkungen abgeschwächt. Der Einfluß dieser Substanzen auf den ATP-Spiegel scheint nicht dem Effekt auf den ^{35}S -Einbau zu entsprechen^[39]. Zwischen diesen beiden Wirkungen bestehen also wahrscheinlich keine direkten Beziehungen.

Die Bindung von Serumprotein durch zahlreiche entzündungshemmende Arylcarbonsäuren und ihre Wechselwirkung wurden eingehend untersucht. An den drei stark bindenden Stellen sind möglicherweise die ϵ -Amino-Gruppen von Lysin sowie Tryptophan- und Tyrosin-Gruppen in Serumalbumin beteiligt^[40]. Durch diese Bindung wird die Denaturierung des Proteins gehemmt. Ob der Übergang von Thiol- in Disulfid-Gruppen^[41] wirklich zur pathologischen Protein-Denaturierung in vivo beiträgt, bleibt spekulativ. Einige entzündungshemmende Substanzen verdrängen an Albumin gebundenes Warfarin und beeinflussen seine antikoagulative Wirkung^[42]; dieser angebliche Effekt wurde jedoch beim Indomethacin widerlegt^[43]. Indomethacin scheint die Blutgerinnung bei Patienten unter Antikoagulantien-Therapie nicht zu beeinflussen.

Die Stabilisierung von Protein gegen Denaturierung war ursprünglich von *Mitsushima* als einfacher Test auf potentiell entzündungshemmende Verbindungen vorgeschlagen worden^[44]. Bei Konzentrationen von 0.4 mmol/l hemmt Indomethacin die Hitzedenaturierung des Serumalbumins^[44]. Man vermutete, daß ähnliche Wechselwirkungen von entzündungshemmenden Substanzen mit Membranproteinen die Grundlage für ihre vielfachen Wirkungen auf die Zellen bilden. Indomethacin hemmt bei Konzentrationen von 0.05–0.3 mmol/l die durch Hitze oder hypertonsche Lösungen induzierte Lyse menschlicher und tierischer Erythrocyten^[45, 46]. In vitro verhindert es die durch Gelatine oder Fibrinogen hervorgerufene Agglutination der Erythrocyten^[47]. Indomethacin und Aspirin inhibieren die Zusammenballung von Thrombocyten durch Kollagen, Epinephrin, ADP usw.^[48, 49].

Ein vorübergehender, aber demonstrierbarer Effekt wurde durch eine einzige orale Gabe von Indomethacin am Menschen erzielt^[49]: Bei Konzentrationen von 5 $\mu\text{mol/l}$ ist Indomethacin eine der Substanzen, die die Freisetzung von Serotonin und anderen Entzündungssubstanzen durch Thrombocyten in Gegenwart von Bindegewebe, ADP oder anderen Stimulantien am wirksamsten hemmen^[50]. Es inhibiert die Teilnahme, aber nicht die Wanderung von neutrophilen Leukocyten in der Schwartzman-Reaktion am Kaninchen^[51] und die Wechselwirkung von Fibroblasten und Leukocyten in vitro^[52]. Die Membranwirkung zeigt sich ferner in den chemotaktischen oder Wanderungseigenschaften der Zellen. Indomethacin verringert die durch kristalline Urate induzierte Motilität der polymorphkernigen Leukocyten^[53], die Wanderung von Monocyten aus dem Knochenmark zur entzündeten Stelle in vivo^[54] und die Infiltration von neutrophilen Leukocyten in die entzündete Rattenpfote^[55]. Der Effekt von entzündungshemmenden Stoffen auf die Membran intrazellulärer Granula wurde durch Dichtebestimmung mit einer Mikromethode nachgewiesen^[56]. Bei einer Konzentration von

$5 \cdot 10^{-5}$ mol/l hemmt Indomethacin die Zerstörung der Lysosomen unter dem Einfluß von Histamin in Kulturen menschlicher Haut^[57]. Im Gegensatz zu den Steroiden hat es keinen Effekt auf die durch Histamin gesteigerte Permeabilität der Mitochondrien.

Der Stabilisierung der Lysosomen-Membranen wurde als potentieller Methode zur Rheumabekämpfung große Aufmerksamkeit zugewandt. Neuere in-vivo-Untersuchungen^[58, 59] mit Chloroquine (Resochin) zeigten, daß tägliche Gaben von 120 mg/kg die Lysosomen in Rattenleber gegen die zerstörende Wirkung von überschüssigem Sauerstoff und von Neutralrot schützen. Es führt außerdem zur Bildung myeloischer Substanz in Leber- und Herzgewebe, wahrscheinlich durch Verringerung der Membrandurchlässigkeit und dadurch bedingte Störung der Bildung primärer Lysosomen. Andere nichtsteroidartige entzündungshemmende Substanzen haben in niedrigen Konzentrationen keine ausgesprochene Wirkung auf isolierte Lysosomen^[60]. Einige widersprüchliche Ergebnisse bei in-vitro-Versuchen^[61, 62] sind vermutlich auf die Empfindlichkeit solcher Experimente gegenüber wechselnden pH-Werten, Temperaturen, Kulturmedien und Wirkstoffkonzentrationen zurückzuführen. Einen Fortschritt brachte die Entwicklung künstlicher Lysosomen-Modelle, doch fragt es sich, ob die Ergebnisse über die Zerstörung von Lysosomen in einem künstlichen System außerhalb ihrer cytoplasmatischen Umgebung auf die Verhältnisse in vivo übertragen werden dürfen.

Die Komplementbindung ist eine bekannte Reaktion in arthritischen Gelenken^[63, 64]. Neben ihrer Teilnahme an der Antigen-Antikörper-Reaktion und an der Hämolyse setzt sie nacheinander Anaphylatoxin, einen chemotaktischen Faktor und Prostaglandine frei. Die bekannten entzündungshemmenden Substanzen können diesen wichtigen pathologischen Prozeß im allgemeinen nicht beeinflussen.

Die entzündungshemmende Wirkung von Indomethacin war ursprünglich im Carrageenin-Fußödemtest an der Ratte nachgewiesen worden. Bei der Suche nach der Primärwirkung wurde neuerdings die Hypothese aufgestellt, daß der beobachtete Rückgang der Schwellung durch Indomethacin möglicherweise auf der Unterdrückung der Monocyten-Wanderung zur entzündeten Stelle beruht; hierdurch werden die Aktivierung von Komplement oder Enzymen, die Bildung von Prostaglandinen, die Zunahme der Permeabilität usw. vermieden^[54].

In jüngster Zeit berichteten *Vane* und seine Kollegen, daß Indomethacin und Aspirin die Biosynthese von Prostaglandin aus Arachidonsäure in einigen Gewebekomponenten^[160], in Thrombocyten aus menschlichem Blut^[161] und in der isolierten, perfundierten, intakten Hundemilz^[162] hemmen. Prostaglandine als Entzündungssubstanzen werden mehreren experimentellen Systemen zugeschrieben, u. a. der Entzündung menschlicher Haut^[163] und dem Carrageenin-Fußödem bei Ratten^[164].

Da die beiden Verbindungen die Biosynthese der Prostaglandine in vitro und in vivo bereits unterhalb der physiologischen Konzentration hemmen, scheint sich die Wirkung tatsächlich durch diese Hemmung erklären zu lassen^[165]. Ergänzend stellten wir fest, daß das 5-Fluor-Analogon von Indomethacin in unserem in-vitro-System als

kompetitiver Inhibitor ($K_i = 8 \cdot 10^{-6}$ mol/l) der Arachidonsäure ($K_m = 2 \cdot 10^{-4}$ mol/l) wirkt^[166]. Viele nichtsteroidartige entzündungshemmende Wirkstoffe wie Phenylbutazon, die Indomethacin-Analoga (2)–(5), die Phenyl-essigsäuren (11) und (12), Ibuprofen (19), Alclofenac (22), Naproxen (24), Metiazininsäure (26), Flufenisal (33), Fenamate^[*], Nifluril (38), Azapropazon (41) und einige Verbindungen ohne Carboxygruppe (z. B. Indoxol und Thiabendazol) wirken in Mengen von 0.1 bis 10 µg/ml stark hemmend auf die Umwandlung von markierter Arachidonsäure in Prostaglandin E₂. Die in-vitro-Wirkungen dieser Verbindungen entsprechen etwa ihrer Wirkung beim Carrageenin-Fußödemtest.

Die Spezifität des Prostaglandin-Synthetase-Tests zeigte sich ferner dadurch, daß langsam wirkende antirheumatische Verbindungen wie D-Penicillamin und Chloroquin (Resochin) sowie viele andere Wirkstoffe wie Benemid, Dinatrium-cromoglycat, Glyvenol und Colchicin bei Konzentrationen oberhalb 10 µg/ml inaktiv sind.

Besonders interessant ist die Tatsache, daß die hohe Stereospezifität von enantiomeren α -Methyl-arylessigsäuren bei der Entzündungshemmung in vivo (s. Abschnitt 3) auch bei der Hemmung der Prostaglandin-Synthetase in vitro zu beobachten ist. In allen überprüften Fällen, z. B. bei (3), (4) und (11), ist das rechtsdrehende viel wirksamer als das linksdrehende Enantiomere. Unseres Wissens ist dies die erste Korrelation der Stereospezifität eines enzymatischen Effektes in vitro und der in-vivo-Aktivität der entzündungshemmenden Arylessigsäuren.

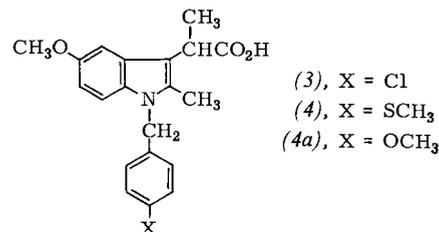
Die Fähigkeit der nichtsteroidartigen entzündungshemmenden Wirkstoffe zur Hemmung der Prostaglandin-Biosynthese gestattet vielerlei Rückschlüsse^[167]. Am wichtigsten scheint die selektive Wirkung dieser Verbindungen auf verschiedene Gewebe zu sein. Die Verteilung der Wirkstoffe, die Empfindlichkeit der Prostaglandin-Synthetasen und das wechselnde Verhältnis von Prostaglandin E zu F könnte die Sicherheit der Wirkung und die Art der Primärwirkung in vivo erklären. Ein besseres Verständnis der Ursachen der Gewebespezifität wäre ebenfalls wesentlich für die breitere Anwendung verwandter Verbindungen bei Asthma und Cholera sowie zur Beeinflussung der Fortpflanzungsfähigkeit und bei anderen Problemen, an denen Prostaglandine beteiligt sind.

2.3. Indomethacin-Analoga

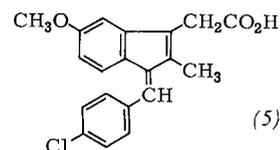
Bei unseren Untersuchungen über Indol-Derivate wurden als erste Substanzen für die klinische Prüfung die beiden rechtsdrehenden *N-p*-substituierten α -(1-Benzyl-5-methoxy-2-methyl-3-indolyl)propionsäuren (3) und (4) ermittelt.

Ihre klinische Erprobung am Menschen bestätigte überzeugend die im Tierversuch erhaltenen Befunde, obwohl sich bei täglichen Gaben von 1–2.5 g gastrointestinale Reizungen einstellten. Die weiteren Untersuchungen in dieser Reihe führten dann zur Entdeckung des noch wirksameren

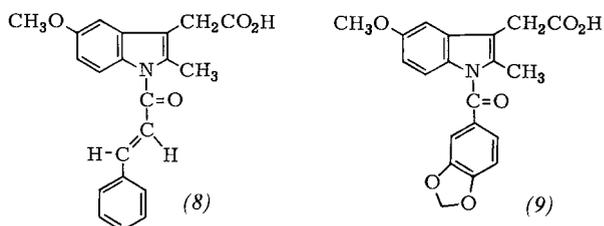
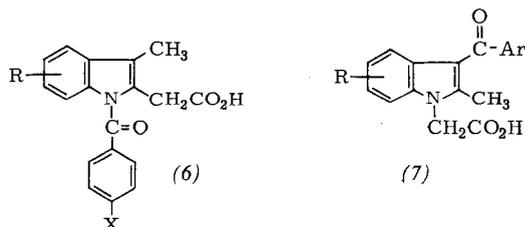
Indomethacins (1)^[14]. Anschließend fand man, daß das 5-Dimethylamino-Analogon (2)^[65] und ein Inden-Isosteres (5)^[66] in Tierversuchen ein Drittel bis halb so wirksam wie Indomethacin sind; sie zeigten jedoch hinsichtlich des



Metabolismus und der Verteilung etwas andere Eigenschaften^[67, 68]. Beide Analoga erwiesen sich in der klinischen Prüfung als wirksam, wurden aber weniger gut vertragen. Weitere verwandte Substanzen werden z. Z. noch untersucht.



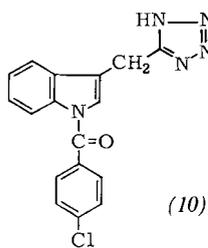
Inzwischen wurden in anderen Laboratorien mehrere Indomethacin-Analoga [(6), (7), (8) und (9)] geprüft. Das Stellungsisomere (6) ist in einem Patent der Firma Geigy^[69] und in einigen neueren zusammenfassenden Beiträgen beschrieben, jedoch fehlen Angaben über Tests. Nach unseren früheren Untersuchungen schienen einige substituierte 2-Indolylpropionsäuren metastabil zu sein; sie wurden sehr rasch thermisch decarboxyliert^[70]. Eine weitere Gruppe von Stellungsisomeren, die 3-Aroyl-1-indolylpropionsäuren (7), wurden von uns und unabhängig auch von den Firmen Roussel^[71], Geigy^[72] und anderen untersucht. Im allgemeinen sind sie weniger wirksam als die Analoga der Indomethacin-Reihe.



Das Sumitomo-Laboratorium in Japan entwickelte mehrere neue Verfahren zur Herstellung von Indol-Verbindungen und suchte auch nach neuen Analoga. Das Cinnamoyl-Analogon (8) zeigt im Carrageenin-Fußödem-Test ein

[*] Fenamate nennen wir Verbindungen wie Mefenaminsäure und Flufenaminsäure.

Sechstel und in anderen Versuchen ein Drittel der Wirkung von Indomethacin^[73]. Die pharmakologischen Eigenschaften einer weiteren Substanz der Firma Sumitomo, ID-955 (9), des Piperonylsäure-Analogen, wurden ebenfalls ausführlich beschrieben^[74]. Es ist etwa ein Drittel so wirksam wie Verbindung (8).



Eine von der Firma Bristol entwickelte Verbindung, Intrazol (BL—R 743) (10), hat $\frac{1}{15}$ bis $\frac{1}{20}$ der Aktivität von Indomethacin^[75]. Interessanterweise verhindert der Austausch der Carboxygruppe gegen einen sauren Tetrazol-Ring ($pK_a = 6$) die Bildung von Acyl-glucuronid im Stoffwechsel und verlängert dadurch die Halbwertszeit im Serum^[76]. Intrazol enthält keine 2-Methyl- und 5-Methoxy-Substituenten, die sich bei den Untersuchungen in der Indomethacin-Reihe als wirkungssteigernd erwiesen hatten. Bei klinischen Tests führte es zwar offensichtlich zu weniger Reizungen, doch waren die Eigenschaften insgesamt vermutlich weniger erfolgversprechend als erwartet.

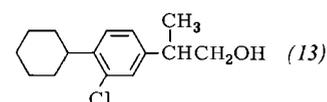
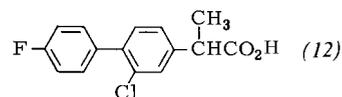
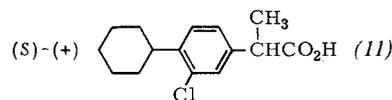
Der fortgesetzten Suche nach neuen Indomethacin-Analoga liegt wahrscheinlich die Annahme zugrunde, daß noch besser verträgliche, wenn auch weniger wirksame Derivate für die klinische Anwendung gefunden werden könnten. Diese an sich schöne Idee wird aber methodisch dadurch kompliziert, daß zwischen den Tierversuchen und den klinischen Befunden meist nur geringe Beziehungen bestehen und daß sich von der akuten Toxizität beim Tier nicht auf die Langzeitverträglichkeit beim Menschen schließen läßt. Die ED_{50} ^[*] des Indomethacins beim Carrageenin-Fußödemtest beträgt 2.5 mg/kg, beim Adjuvans-Arthritis-Modell aber nur 0.5 mg/kg. Beim Menschen liegt die durchschnittliche tägliche Dosis bei 1–1.5 mg/kg. Indomethacin ist bei den beiden genannten Tierversuchen 20- bis 80-mal wirksamer als Phenylbutazon, in der Klinik aber nur 3- bis 4-mal wirksamer.

Wir haben bereits früher gezeigt, daß die Toxizität und, bis zu einem gewissen Grade, auch der Metabolismus von Indomethacin in hohem Maße spezies-spezifisch sind^[67]. Bei der Auswahl eines neuen Wirkstoffes kann sich ergeben, daß ein Derivat, das im Tierversuch weniger wirksam ist, aber beim Menschen höhere Plasma- und Gewebespiegel erreicht oder andere, vorteilhaftere pharmakodynamische Eigenschaften hat, tatsächlich in der Klinik besser wirksam ist. Dieselben Unterschiede im Stoffwechsel lassen aber auch aus den Toxizitätsbefunden bei kleinen Tieren keine Rückschlüsse auf die Langzeitverträglichkeit beim Menschen zu. Ein bemerkenswertes Beispiel für die Speziesunterschiede hinsichtlich der Gewebespeicherung und der sich daraus ergebenden chronischen Toxizität wurde unlängst am Metazamid beschrieben^[7] (siehe Abschnitt 5.1).

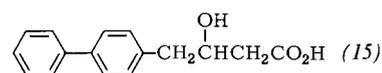
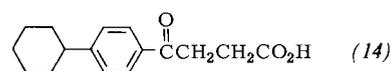
[*] Unter ED_{50} versteht man die Dosis, die 50% Inhibition bewirkt.

2.4. Phenyl-aliphatische Carbonsäuren

Unter zahlreichen wirksamen Phenylessigsäuren zeigt vermutlich die (S)-(+)-3-Chlor-4-cyclohexyl- α -methyl-phenylessigsäure (11) den stärksten Effekt; sie ist im Carrageenin-Fußödemtest 20-mal so wirksam wie Indomethacin^[77, 78]. Leider verhinderte die geringe therapeutische Breite hinsichtlich gastrointestinaler Reizung und Nekrosen an den

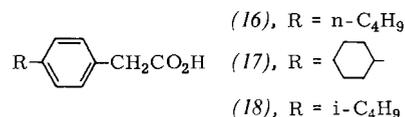


Nierenpapillen die weitere Entwicklung dieser Verbindung. Kein wesentlicher therapeutischer Vorteil wurde beim Austausch des Cyclohexyl- gegen den 4-Fluorphenyl-Ring (12) oder bei der Reduktion der Säure (11) zum Alkohol (13) erzielt^[78]. Vielversprechende entzündungshemmende Wirkungen wurden auch bei Phenylbuttersäure-Derivaten wie (14)^[78] und (15) (BDH 7538)^[79, 80] nachgewiesen, doch stehen hier keine klinischen Ergebnisse zur Verfügung.



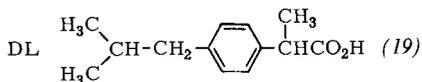
2.5. Entwicklung von Ibuprofen

Die Entwicklung von Ibuprofen (19) (Brufen®) durch die Firma Boots geht auf die ersten Untersuchungen über *p*-Alkyl-phenoxyessigsäuren vor 15 Jahren zurück^[13]. Insgesamt wurden dabei 600 Substanzen untersucht. Bemerkenswert bei dieser Versuchsreihe war, daß – sicher aus gutem Grund – ständig einige Substanzen in der Klinik

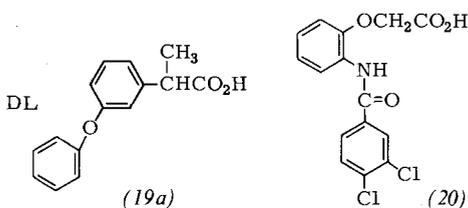


geprüft wurden. Bei der ersten Prüfsubstanz, der *p*-Butylphenylessigsäure (16), fand man, daß sie in Gaben von 2 g/Tag bei 50% der Patienten Hautausschläge hervorrief^[81]; ähnlich wirkte auch das *p*-Cyclohexyl-Analogen (17). Ibufenac (18) verursachte keine Ausschläge und schien auch den Gastrointestinaltrakt weniger als Aspirin zu reizen; seine klinische Anwendbarkeit wurde aber durch

die Hepatotoxizität, z. B. Steigerung der SGOT^[*] bei hohen Dosen, begrenzt^[82]. Zuletzt konnte das α -Methyl-Analogon Ibuprofen (19)^[83] entwickelt werden, das sich bei täglichen Gaben von 0,8 bis 1,6 g als gut verträgliches Antiarthriticum erwies^[84, 85]. Es wird z. Z. von den Upjohn-Laboratorien in den USA ausgewertet. (Einzelheiten über seine Eigenschaften als racemisches Gemisch siehe Abschnitt 3.)



Fenoprofen^[85a], DL- α -(3-Phenoxy-phenyl)propionsäure (19a), ist ein *m*-substituiertes Analogon, das von der Lilly-Gruppe entwickelt wurde. Es ist im UV-Erythemtest am Meerschweinchen hochwirksam ($\text{ED}_{50} = 0,5\text{--}1,0$ mg/kg), aber wesentlich weniger wirksam beim Fußödemtest an der Ratte ($\text{ED}_{50} \approx 50$ mg/kg) und auch bei fiebrigen Ratten (etwa 25 mg/kg). Fenoprofen und auch einige andere entzündungshemmende Säuren sollen den analgetischen Effekt von (+)-Propoxyphen potenzieren. Verbindung (19a) wird im Organismus vor allem durch Hydroxylieren in 4'-Stellung abgebaut. Die Substanz befindet sich z. Z. in der klinischen Prüfung.

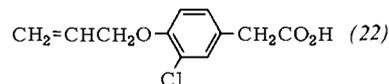
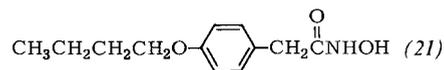


Eine *o*-substituierte Phenoxyessigsäure, die in ihren Strukturelementen an ein offenkettiges Analogon des Indomethacins erinnert, ist die Clamidoxinsäure (20)^[16]. Sie ist in den Tests über akute Entzündungen dem Phenylbutazon ebenbürtig und wird z. Z. klinisch geprüft.

2.6. Bufexamac und Alclofenac

Eine allgemeine Anforderung an nichtsteroidartige entzündungshemmende Substanzen besteht darin, daß ihre Wirkung nicht auf einer Anregung der Hypophyse oder Nebennierenrinde oder einer Freisetzung von endogenen Corticohormonen beruhen soll. Ob eine mäßige Stimulierung immer vermieden werden soll, wird jedoch von einigen Forschern bestritten. Das Hydroxam-Derivat der *p*-Butoxy-phenylessigsäure, Bufexamac (21) (Droxaryl[®]), ist ein solches Beispiel. Seine entzündungshemmende Wirkung bei Tieren beruht wenigstens teilweise auf einer Stimulierung der Nebennierenrinde^[86]. Rheumatische Patienten erhalten am Tage viermal 250 mg und für die Nacht ein 1-g-Suppositorium^[87]. Anders als die meisten Arylcarbonsäuren verringert es die erhöhte Sedimentationsgeschwindigkeit der Erythrocyten bei arthritischen Patienten sehr stark. Interessant wäre es, die Dauerverträglichkeit dieser Substanz zu ermitteln. Die dem Bufexamac zu-

grundliegende Säure ist in Tierversuchen nur sehr schwach wirksam.

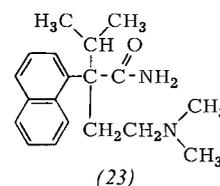


Bei unseren Untersuchungen über Phenylessigsäuren fanden wir, daß ein *m*-Chlor-Substituent die Wirkung verstärkt^[78]. In Analogie zum Beispiel von Verbindung (11) sind die 3-Chlor-Derivate von 4-Isobutyl- und 4-Cyclohexyl-phenylessigsäure ebenfalls wirksamer als die unsubstituierten Verbindungen. Durch Kombinieren des 3-Chlor- mit dem 4-Allyloxy-Substituenten erhielten *Buu-Hoi* et al. das Alclofenac (22) (Mervan[®])^[88]. Auch bei dieser Substanz wurde wieder eine ausgeprägte Speziespezifität hinsichtlich Metabolismus und Toxizität gefunden^[89]. Seine LD_{50} ^[†] beträgt bei Ratten nur 45 mg/kg, bei Hunden und Affen aber 300–500 mg/kg. Blutspiegel, Metabolismus und Ausscheidungswege (z. B. Anteil des Harntrakts verglichen mit Anteil der Gallenwege) variieren ebenfalls drastisch von Spezies zu Spezies. Bei Anwesenheit einer *p*-Allyloxy-Gruppe wird offensichtlich die Ausscheidung über die Harnwege viel stärker bevorzugt als bei *p*-Alkylphenylessigsäuren. Einige Anzeichen sprechen dafür, daß die Allyloxy-Gruppe im Stoffwechsel unter Bildung mehrerer Metaboliten leicht angegriffen wird.

Die Wirkung von Alclofenac bei Tests über akute Entzündungen ist mit der von Phenylbutazon vergleichbar^[88]. Bei Osteoarthritis-Patienten wurden jedoch 1,5–3 g täglich benötigt, um den gleichen Effekt wie mit 300 mg Phenylbutazon zu erzielen^[90, 91]. Die erforderliche höhere Dosierung könnte auf dem niedrigeren Plasmaspiegel und auf der kürzeren Halbwertszeit beim Menschen beruhen.

2.7. Derivate der Naphthylessigsäure

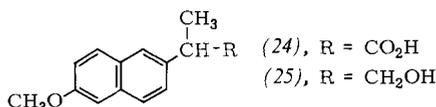
Ein α,α -disubstituiertes α -Naphthylacetamid, Naphthylpramid (23) (DA-992), wurde als schwach analgetisch wirkendes Antiphlogisticum eingeführt; es besitzt als wertvolle Ergänzung eine gewisse muskelrelaxierende Wirkung^[92, 93].



Neuerdings wurden die (+)- α -(6-Methoxy-2-naphthyl)propionsäure (24) (Naproxen) und der analoge (–)-Alkohol (25) (Naproxol) von der Syntex-Gruppe als wirksame entzündungshemmende Substanzen erkannt^[94, 95]. Napro-

[*] SGOT = Serum-Glutamin-Oxalacetat-Transaminase.

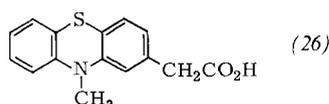
[†] Unter LD_{50} versteht man die Dosis, die 50% der Versuchstiere tötet.



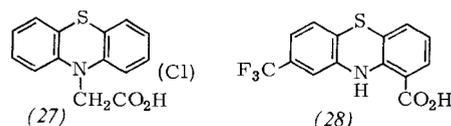
xen besitzt etwa ein Drittel der Antiödemwirkung von Indomethacin bei vergleichbaren Reizwirkungen auf den Gastrointestinaltrakt. Beide Verbindungen sollen z. Z. klinisch geprüft werden.

2.8. Metiazininsäure

Das 2-Essigsäure-Derivat von *N*-Methyl-phenothiazin, die Metiazininsäure (26) (Soripal®), wurde von der Firma Rhône-Poulenc als klinisch wertvolle Substanz erkannt^[96]. Einige Jahre früher hatten wir mehrere Phenothiazinyl-*N*-carbonsäuren (27) hergestellt, um die optimalen Aryl-



Reste bei Substanzen mit Wirkung auf das Zentralnervensystem und bei Antihistaminen mit den Resten in entzündungshemmenden Wirkstoffen zu vergleichen; hierbei entmutigte uns jedoch die schwache antiphlogistische Wirkung der Substanzen. Bei den Untersuchungen der Firma Rhône-Poulenc war die Metiazininsäure als eine der ersten Verbindungen in dieser Reihe synthetisiert worden; ihre entzündungshemmende Wirkung konnte von etwa 300 Analoga nicht überboten werden. Die Substanz wurde in 6000 klinischen Fällen über einen Zeitraum von 5 Jahren geprüft. Die täglichen Dosen lagen bei 3 bis 6 Kapseln zu je 250 mg; hierbei wurden nur einige geringe Nebenwirkungen bekannt^[97, 98].



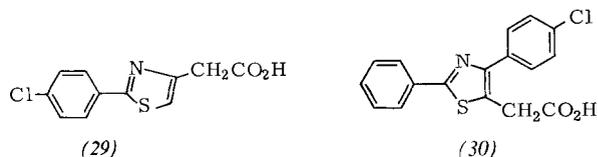
An dieser Stelle sei kurz erwähnt, daß das Phenothiazin-Analogon der Flufenaminsäure (28) von der Firma Smith, Kline and French wenige Jahre vorher untersucht worden war, jedoch wurden keine klinischen Befunde bekannt^[99].

2.9. Fenclozinsäure und verwandte Verbindungen

Als ein weniger glückliches Ergebnis auf dem Gebiet der Heteroaryl-essigsäuren erwies sich die Fenclozinsäure (29) (Myalex®) der I.C.I.^[100, 101]. Sie schien zunächst eine sehr vielversprechende, mäßig wirksame, aber überaus verträgliche Substanz zu sein. In Kurzzeitversuchen, z. B. im Carrageenin-Fußödemtest, war sie mit einer ED₅₀ von etwa 90 mg/kg mit Phenylbutazon vergleichbar. Im Ad-

juvans-Arthritis-Modell erwies sie sich als etwa viermal so wirksam wie Phenylbutazon, und zwar sowohl bei beginnender als auch bei manifester Arthritis. Ratten vertrugen die Substanz gut in Mengen von 70 mg/kg über 3 Monate. Außerdem wurde speziesspezifisch eine besonders günstige Serumhalbwertszeit beim Menschen beobachtet, die sogar bei Rheuma-Arthritis-Patienten fast doppelt so hoch (46 Std.) wie bei gesunden Versuchspersonen war^[102, 103]. Die Substanz wurde im Urin vor allem unverändert oder in Form von Esterkonjugaten ausgeschieden. Die klinische Wirksamkeit von 300–400 mg Fenclozinsäure war mit derjenigen von 3.6 g Aspirin vergleichbar^[104]. Hepatotoxische Effekte setzten der weiteren Erforschung des Wirkstoffs jedoch ein Ende^[105]. Die analogen Oxazol-, Isoxazol-, Pyridin- und Pyrimidin-Verbindungen sind nach den Befunden der I.C.I.^[106] weniger wirksam.

Interessanterweise hat die Fenclozinsäure (auf das Gewicht bezogen) beim Menschen eine höhere Wirksamkeit als bei Tieren. Sie ist bei Tieren etwa so groß wie bei anderen Arylessigsäuren, z. B. Ibuprofen, Metiazininsäure und Alclofenac, in den Kliniken muß jedoch nur ein Viertel bis ein Fünftel der Menge der anderen Verbindungen gegeben werden. Es ist möglich, daß derjenige pharmakodynamische Vorteil, der für die verstärkte Wirksamkeit verantwortlich ist, unglücklicherweise auch die Toxizität beim Menschen erhöht.



Eine verwandte Substanz, die [2-Phenyl-4-(*p*-chlorphenyl)-5-thiazolyl]essigsäure (30) der Firma Wyeth in England, wird derzeit klinisch untersucht^[107].

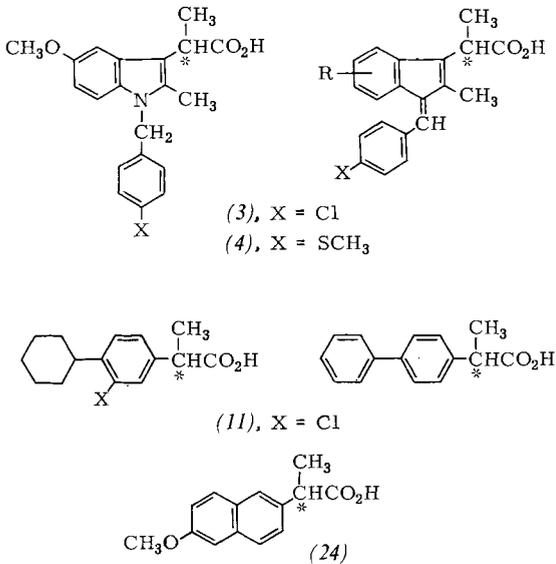
3. Stereospezifität der Arylessigsäuren

Die Arylessigsäuren bilden heute eine führende Gruppe wirkungsvoller Antiphlogistica. Wir haben gesehen, daß sich mäßige bis gute Wirkungen sehr häufig bei Kombinationen von Heteroaryl- und substituierten Phenyl-Gruppen mit einer Essigsäure-Seitenkette finden lassen. Es gelang teilweise durch Verwendung geeigneter Aryl-Reste, die therapeutische Wirkung zu steigern und die Verträglichkeit beim Menschen zu verbessern.

Ziel der Untersuchungen ist es, weniger toxische Aryl-Reste zu finden, doch stehen leider nicht genügend Einzelbefunde zu Verfügung, die eine gezielte Suche ermöglichen könnten. Folgende Einflüsse wurden u. a. untersucht: Bau der Aryl-Gruppen, ihre Wechselwirkungen mit aromatischen Aminosäuren wie Tryptophan und Tyrosin im Albumin oder in Membranproteinen, ihre Stoffwechselstabilität und ihre Verteilungs- und Ausscheidungscharakteristika. In den letzten Jahren gewannen wir Einblick in einige Eigenschaften der Essigsäure-Seitenkette, die als konstantes Strukturmerkmal bei allen Arylessigsäuren vorhanden ist, besonders in die Stereochemie der α -Methyl-Gruppe.

3.1. Beziehungen zur Wirkungsstärke

Bei einigen Präparatereihen erhöht sich die Wirkung der Arylessigsäuren durch Einführung einer α -Methyl-Gruppe um das Mehrfache. Meist scheint das rechtsdrehende Isomere mit (*S*)-Konfiguration eine höhere, wenn nicht die ausschließliche Wirkung *in vivo* zu besitzen^[2]. Ein neueres Beispiel hierfür ist das Naproxen (24) (siehe Schema 1).



Schema 1. Beispiele für (*S*)-(+)-Isomere, die wirksamer als die (*R*)-(-)-Isomere sind.

3.2. Bevorzugter Metabolismus

Beim Ibuprofen (19) der Firma Boots verwendet man das DL-Gemisch; bei beiden optischen Isomeren wurde wahrscheinlich eine ähnliche Wirkung gefunden^[83]. Interessanterweise zeigte jedoch eine Analyse der Stoffwechselprodukte, daß nur rechtsdrehende Metaboliten gebildet wurden^[108]. Im Metaboliten (31) befindet sich das einzige Asymmetriezentrum in der Essigsäure-Seitenkette. Eine α -Alkyl-phenyllessigsäure gibt im allgemeinen eine einfache positive ORD-Kurve^[109]. Da die Drehung durch *p*-Alkyl-Substitution nicht stark beeinflußt wird, kann man annehmen, daß der Metabolit (31) ebenfalls (*S*)-(+)-Konfiguration wie die Verbindungen in Schema 1 hat. Beim Metaboliten (32) wird die Zuordnung der absoluten Konfiguration durch das zweite Asymmetriezentrum im Molekül erschwert. In anderen Fällen wurde ein stereoselektiver Abbau eines racemischen Gemisches beobachtet^[110]. Eine

weitere Untersuchung des Metaboliten (32) könnte Aufklärung über die Art der Seitenkettenoxidation bei Arylessigsäuren geben.

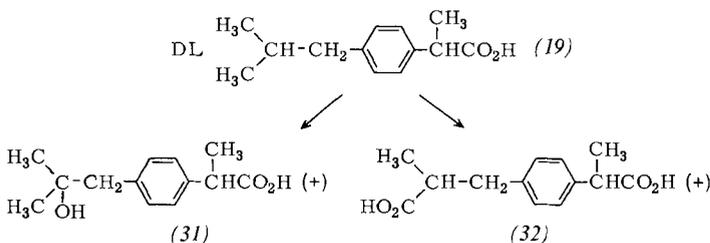
3.3. Biochemische Vergleiche

Um zu überprüfen, ob die Unterschiede, die bei *in-vivo*-Wirkungen der optischen Enantiomeren gefunden wurden, auf einer selektiven Bindung am Receptor beruhen, wurden die Verbindungen in mehreren biochemischen *in-vitro*-Tests untersucht. Bei mehreren Paaren von substituierten Indolyl- und Phenyl- α -methyl-essigsäuren wurde kein bemerkenswerter Unterschied bei der Stabilisierung der Erythrocyten-Membranen^[111], der Protein-Denaturierung und der Entkopplung der oxidativen Phosphorylierung^[112] beobachtet. Beide Isomeren zeigten Inhibitor-Wirkung bei Konzentrationen von 10^{-4} bis 10^{-5} mol/l, was etwa der *in-vivo*-Wirkung des rechtsdrehenden Enantiomeren entspricht. Das einzige Beispiel für eine stereospezifische Wirkung ist die Hemmung der Prostaglandin-Synthetase durch rechtsdrehende Enantiomere (siehe Abschnitt 2.2).

3.4. Serumalbumin-Bindung

Die meisten Arylessigsäuren haben eine starke Affinität zu den Serumproteinen; dies ist offensichtlich von pharmakodynamischer oder sogar mechanistischer Bedeutung. Neuerdings untersuchten wir die Wechselwirkungen der Wirkstoffe mit Biopolymeren anhand des induzierten Cotton-Effekts. Als Cotton-Effekt werden Drehungsanomalien optisch aktiver Stoffe im Bereich ihrer UV-Absorptionsmaxima bezeichnet. Eine Verbindung wie Phenylbutazon ist nicht asymmetrisch und zeigt daher keine optische Drehung. Wenn Phenylbutazon jedoch an Serumalbumin gebunden ist, beeinflußt – wie es Chignall^[113, 114] treffend beschrieb – die Wechselwirkung zwischen dem gebundenen Chromophor und einer asymmetrischen Stelle am Receptor den Chromophor derartig, daß Asymmetrie und damit optische Aktivität induziert werden. Die Rotationsdispersionskurve des Gemisches zeigt einen Cotton-Effekt nahe beim UV-Maximum von Phenylbutazon, den man als „induzierten“ Cotton-Effekt bezeichnen kann.

Chignall untersuchte die vergleichbaren Bindungen von Phenylbutazon-Analoga^[114] und Flufenaminsäure-Analoga^[40]. Beide Gruppen werden über drei Bindungsstellen fest an menschliches Serumalbumin gebunden. Die molaren Elliptizitäten der Wirkstoff-Albumin-Komplexe nehmen durch hydrophobe Wechselwirkungen und die Starrheit des Komplexes zu. Die Änderung der Elliptizität ermöglicht außerdem auch eine schnelle Abschätzung von Assoziationskonstanten^[115]. Die Bindung von Wirkstoffen wie Dicumarol und Warfarin an das Serumalbumin löscht die natürliche Tryptophan-Fluoreszenz des Proteins. Die von den Tryptophangruppen absorbierte Lichtenergie wird strahlungslos auf das gebundene Warfarin übertragen und durch den Wirkstoff als Fluoreszenzlicht abgestrahlt. Die auf diese Weise abgeschätzte mittlere Entfernung zwischen den beiden Gruppen ermöglicht Rückschlüsse auf die Struktur des Receptors^[116].



Schema 2. Bevorzugter Metabolismus eines racemischen Gemisches von Ibuprofen (19).

Hypothetische „Receptorbindungsstellen“, die aus Struktur-Wirkungs-Beziehungen abgeleitet wurden, sind als Arbeitsmodelle oft von Biochemikern aufgestellt worden. Solange aber eine solche Bindungsstelle nicht wirklich isoliert wird – wie z. B. beim Östradiol^[117] oder möglicherweise bei den Corticosteroiden^[118] – haben die postulierten Bindungsstellen nur soweit Bedeutung, als sie zur Synthese neuer und wirksamer Strukturäquivalente anregen. Bei einem Wirkstoff wie Indomethacin, der wahrscheinlich zahlreiche Einzelwirkungen ausübt, ist anzunehmen, daß seine Strukturelemente mehreren ähnlichen, aber nicht gleichen Bindungsstellen am besten entsprechen. Da eine starke Serumprotein-Bindung ein allgemeines Charakteristicum für die nichtsteroidartigen entzündungshemmenden Arylcarbonsäuren ist, kann man Serumalbumin als Modell benutzen, um die Wechselwirkung mit der „Receptorbindungsstelle“ zu untersuchen; Thrombocyten- und Erythrocyten-Membran-Präparate^[119, 120] können ebenfalls als Modelle dienen.

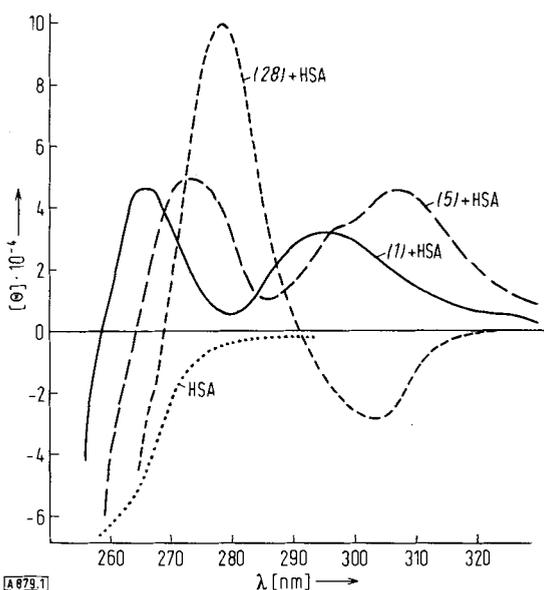


Abb. 1. CD-Spektren von Indomethacin (1), seinem Inden-Isosteren (5) und Flufenaminsäure (28) in Gegenwart von menschlichem Serumalbumin; HSA = Serumalbumin ohne Zusätze (Phosphatpuffer pH = 7.4).

Phenyllessigsäure-Derivate ergeben in Gegenwart von menschlichem Serumalbumin keinen ausgeprägten „induzierten“ Cotton-Effekt. Aus der Indomethacin-Reihe sind in Abbildung 1 die Circular dichroismus-(CD)-Spektren von Indomethacin und seinem Inden-Analogen gezeigt^[121]. Die optische Aktivität ist bei den genannten Verbindungen im allgemeinen weniger ausgeprägt als bei Flufenaminsäure. Wir waren besonders an der Bindung der α -Methyl-Analoga interessiert, die eine asymmetrische Säure-Seitenkette haben. Wie oben erwähnt, wurde die bei in-vivo-Versuchen beobachtete Stereospezifität der α -Methyl-Seitenkette bei mehreren in-vitro-Versuchen nicht gefunden. Wenn die Albumin-Bindung die Essigsäure-Seitenkette auf stereospezifische Weise einbezieht, könnte sich die unterschiedliche Art der Bindung in den CD-Spektren der optischen Enantiomeren widerspiegeln. Wie in Abbildung 2 gezeigt, unterscheiden sich die Spektren von menschlichem Serum-

albumin, dem man ein optisches Isomeres zugegeben hat, tatsächlich je nach Konfiguration am α -Kohlenstoff-Atom. Die Differenzspektren in Abbildung 3 scheinen den Schluß auf zwei definierte bindende Gruppen nahezulegen. Der Einfluß von *p*-Substituenten auf die Bindung ist ebenfalls sichtbar. Da die theoretischen Konsequenzen einer asym-

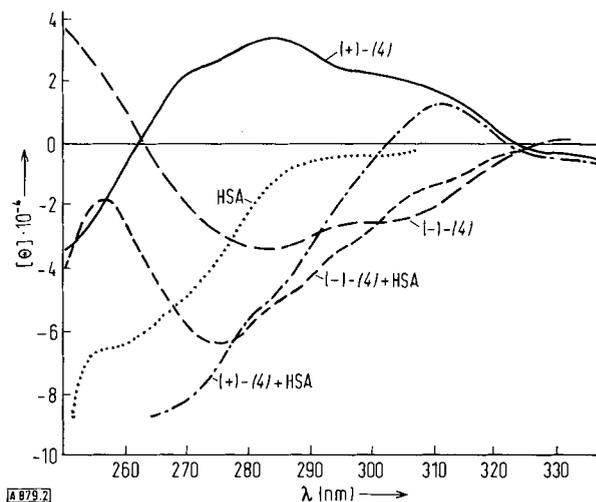


Abb. 2. CD-Spektren der Enantiomeren von α -[1-(*p*-Methylthiobenzyl)-5-methoxy-2-methyl-3-indolyl]propionsäure (4) mit und ohne Zusatz von menschlichem Serumalbumin (HSA).

metrischen Seitenkette auf den „induzierten“ Cotton-Effekt eines Chromophors noch nicht analysiert worden sind, wurde auf detailliertere Interpretation dieser Spektren verzichtet. Weitere Untersuchungen, die die Zahl der Bindungsstellen für jede Gruppe von Enantiomeren und die

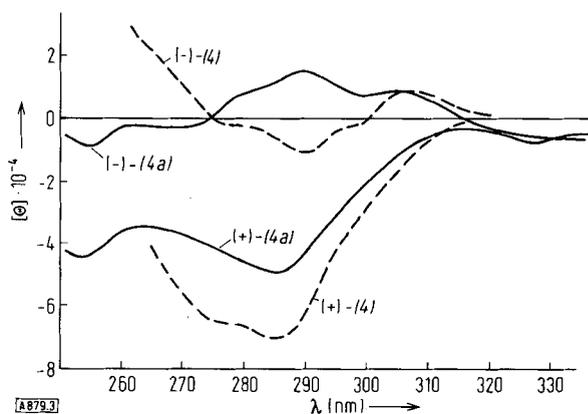


Abb. 3. Differenz-CD-Spektren der Enantiomeren von α -[1-(*p*-Methylthiobenzyl)-5-methoxy-2-methyl-3-indolyl]propionsäure (4) und dem *p*-Methoxy-Derivat (4a) mit und ohne Zusatz von menschlichem Serumalbumin (HSA); [beobachtetes Spektrum (Verbindung + HSA)] – (Spektrum der Verbindung) – (Spektrum von HSA).

Konkurrenz der Enantiomeren um die gemeinsamen Bindungsstellen bei verschiedenen Analoga aufklären sollen, sind im Gange. Die Empfindlichkeit dieser Untersuchungstechnik gegenüber sterischen und elektronischen Einflüssen und die geringen benötigten Mengen qualifizieren diese Methode zum Studium der Wechselwirkungen zwischen Wirkstoffen und Biopolymeren in Lösung.

4. Neue Salicylsäure-Derivate

4.1. Zielsetzung; Beziehungen zwischen Struktur und Wirkung

Die Suche nach einem neuen, antiarthritisch wirksameren Salicylsäure-Analogen war über viele Jahre eine sehr attraktive, aber schwer zu realisierende Aufgabe. Allgemein bestehen bei diesen Arbeiten drei Zielsetzungen: die Wirkung zu verstärken, die Magen-Reizung zu verringern und die Wirkungsdauer zu verlängern. Während in den letzten Jahren mehrere Depotformen und säureneutralisierende Zubereitungen des Aspirins entwickelt wurden, die die beiden zuletzt genannten Eigenschaften verbessern, konnte kein einziges Derivat der Salicylsäure entdeckt werden, das wirksamer als Aspirin war.

Wir prüften vor einigen Jahren zahlreiche substituierte Salicylsäure-Derivate im Granulom-Pellet-Test und im Carrageenin-Fußödemtest, die sich für den Nachweis entzündungshemmender Wirkungen bei nichtsteroidartigen Substanzen wie Phenylbutazon, Indomethacin und anderen Prüfsubstanzen bewährt hatten.

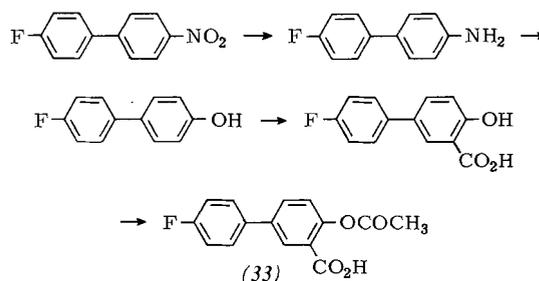
Frühere Untersuchungen über Beziehungen zwischen Struktur und Wirkung bei Salicylsäure-Abkömmlingen^[13] hatten gezeigt, daß der Austausch der *O*-Acetyl-Gruppe beim Aspirin durch andere Acyl- oder Alkyl-Gruppen und die Bildung von Derivaten an der Carboxy-Gruppe trotz einiger Vorteile allgemein die antiphlogistisch-analgetisch-antipyretischen Eigenschaften verschlechtert. Die Substitution des Ringes mit Chlor, Hydroxy, Methoxy, Amino, Alkyl usw. verminderte entweder die Wirksamkeit oder erhöhte sowohl die Wirksamkeit als auch die Toxizität in unspezifischer Weise. Ähnliche Ergebnisse ließen sich leicht in unseren Versuchen mit über 300 Salicylaten einschließlich vieler neu synthetisierter Derivate erhalten.

Die Aufstellung einer definierten Beziehung zwischen Struktur und Wirkung wurde bei den Salicylsäure-Derivaten durch die geringe Wirkung vieler Analoga, die aber sehr empfindlich auf biologische Änderungen reagierten, und durch das Fehlen additiver Effekte bei wirkungsverstärkenden Gruppen kompliziert. Offensichtlich werden die physikochemischen Eigenschaften und die Stoffwechseleigenschaften bei einem kleinen Molekül wie Salicylsäure durch mehrfache Substitutionen leicht beeinflußt. Vorteile traten manchmal bei der *O*-Acetylierung von weniger hydrophoben Salicylsäure-Analoga auf, vermutlich infolge verbesserter Absorption oder Verteilung. Besser ausgeprägt war vielleicht der Trend, daß hydrophobe Substituenten, z. B. Phenyl, 4'-Chlorphenyl und Benzyloxy in 5-Stellung die Wirksamkeit der Salicylsäure verstärken. Interessanterweise wurde eine ähnliche Bevorzugung von 5-Alkyl-^[122] und 5-Halogen-Substituenten^[123] neuerdings bei der Hemmung von Enzymsystemen durch Salicylsäure-Derivate beobachtet.

4.2. Synthese von Flufenisal

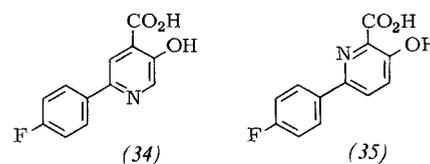
Der wirkungsverstärkende Effekt der *p*-Fluorphenyl-Gruppe bei entzündungshemmenden Substanzen ließ sich be-

sonders gut bei den *p*-Fluorphenylpyrazolo[3,2-*c*]-Steroiden^[124] und bei der α -(4'-Fluorbiphenyl)propionsäure (12) zeigen, die früher in unserem Laboratorium untersucht worden waren. Das 5-(4-Fluorphenyl)-Derivat des Aspirins, Flufenisal (33), wurde wie in Schema 3 gezeigt synthetisiert^[125].



Schema 3. Synthese von Flufenisal (33).

Andere in 5-Stellung substituierte Aryl- und Heteroaryl-Analoga^[126] sowie zwei Aza-isostere von Flufenisal, (34) und (35)^[127], wurden ebenfalls untersucht.



4.3. Biologische Eigenschaften von Flufenisal

Flufenisal (33) ist im Carrageenin-Fußödemtest und im Granulom-Pellet-Test vier- bis fünfmal wirksamer als Aspirin. Beim Test auf akute Magenblutungen an der Ratte betrug die ED₅₀ beim Flufenisal etwa 200 mg/kg; sie lag damit fast 15-mal höher als beim Aspirin (14 mg/kg). Der analgetische Effekt während der ersten zwei bis drei Stunden wurde beim Test auf hefe-induzierte Hyperaesthesie auf doppelt so hoch wie beim Aspirin geschätzt; interessanter war, daß die Wirkung wesentlich länger anhält. Im Plasma liegt Flufenisal in Form der desacetylierten Verbindung vor, die, wie Gleichgewichtsdialyse-Versuche zeigten, zu 98–99,5% an das Plasmaprotein gebunden ist. Flufenisal ergibt bei Ratten und Hunden einen höheren und länger anhaltenden Plasma-Spiegel als Aspirin. Die längere Dauer der analgetischen Wirkung konnte in der Klinik bestätigt werden^[128]. Eine einzige Dosis von 300 oder 600 mg Flufenisal schien bei der Aufhebung eines Episiotomieschmerzes ebenso wirksam wie die Gabe von 600 bis 1200 mg Aspirin zu sein; Flufenisal wirkte auch doppelt so lange wie Aspirin.

Aspirin hat eine Reihe von Nebenwirkungen, die überall bekannt sind, aber als unumgängliche Risiken von Arzt und Patient hingenommen werden müssen^[129]. Aus einer neueren pharmakologischen Analyse geht hervor, daß die vielen Wirkungen des Aspirins auf einer Unterdrückung von Abwehrreaktionen beruhen^[130]. Einige sehr langsam einsetzende Wirkungen, wie die möglichen Nekrosen an den Nierenpapillen^[131] und in vivo die Acetylierung der

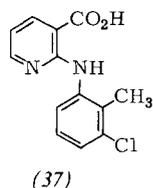
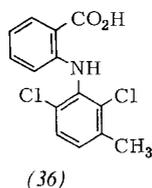
Thrombocyten-Membran^[132] und der Serumproteine, haben größere Aufmerksamkeit erregt. Auch auf die Notwendigkeit, die Sicherheit des Aspirins neu zu überdenken, wurde hingewiesen^[129].

Die Schwierigkeit, den entzündungshemmenden Effekt der nichtsteroidartigen, aspirinähnlichen Verbindungen quantitativ zu erfassen, geht aus der neueren klinischen Literatur eindeutig hervor. Um die altbewährte Aspirin-Therapie durch ein neues Derivat zu übertreffen, könnten umfangreiche und langdauernde vergleichende Untersuchungen notwendig sein. Der Erfolg von Flufenisal hat uns jedoch ermutigt und uns auch einen neuen Weg für weitere Untersuchungen auf dem Gebiet dieser großartigen alten Arthritis gewiesen.

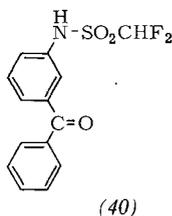
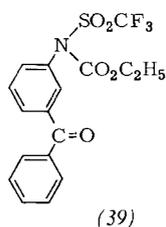
5. Weitere chemische Verbindungen

5.1. Entzündungshemmende Wirkstoffe

Einige Verbindungen aus der Fenamat-Familie (Mefenaminsäure, Flufenaminsäure), z. B. Meclofenaminsäure (36) und Sch 10304 (37), befinden sich noch in klinischer Erprobung. Neuerdings wurde bekannt, daß *N*-Arylanthranilsäuren dazu neigen, bei Tieren Nekrosen an den Nierenpapillen auszulösen^[133]. Das Aza-analogon der Flufenaminsäure, Nifluril (38), scheint im klinischen Gebrauch den Gastrointestinaltrakt mehr zu reizen als die Fenamate.

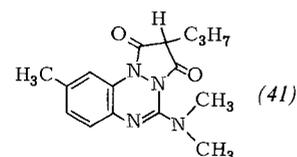


Zwei Benzophenon-Derivate^[134], Triflumidat (39) und Diflumidon (40), die den Fenamaten strukturell etwas ähnlich sind, zeigten vielversprechende entzündungshemmende Wirkungen und geringere Reizungen. Die fluorierten Methansulfonyl-amino-Gruppen sind Alternativen für die Carboxy-Gruppe bei den entzündungshemmenden Arylcarbonsäuren.

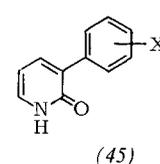
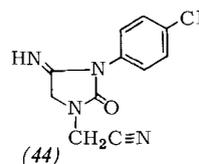
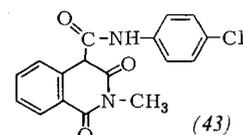
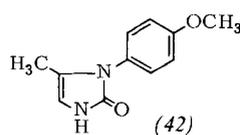


Ein neuer antiarthritischer Wirkstoff, der Strukturelemente des Phenylbutazons (oder allgemein der 3,5-Dioxo-pyrazolidine) enthält, ist das Azapropazon der Firma Siegfried (MI 85, Apazone®) (41)^[135]. Im allgemeinen läßt es sich mit Phenylbutazon vergleichen; im UV-Erythemtest ist es aber wirksamer. Die tägliche Dosis beim Menschen liegt

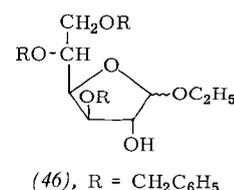
bei 0,6–1,2 g, d. h. sie ist etwa zwei- bis viermal so hoch wie beim Phenylbutazon^[136].



Einige Aryl-lactam-Derivate, z. B. Metazamid (42)^[6, 137], Tesikam (43)^[138, 139], Nimazon (44)^[140] und substituierte Pyridone (45)^[141], zeigten Wirkungen bei Tieren; ihre Wirkungsprofile unterscheiden sich anscheinend von denen der Arylcarbonsäuren. Die weitere Entwicklung dieser Verbindungen wurde jedoch durch ihre unerwartete Toxizität, die sich bei der klinischen Erprobung oder in Tierversuchen ergab, eingeschränkt.



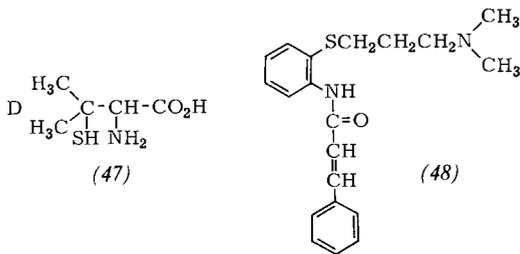
Ein neues Kohlehydrat-Derivat, Tribenosid (Glyvenol®, Ciba 21401-Ba) (46), wurde als antiallergischer und antiexsudativer Wirkstoff beschrieben, der die Antigen-Antikörper-Reaktion zu unterdrücken vermag und die Kapillargefäße stabilisiert^[142]. Bei der Behandlung von Patienten mit rheumatoider Arthritis war er nicht sehr wirksam^[143].



5.2. Antirheumatische Wirkstoffe

Bei den Rheumatologen in Europa und in den USA ist neuerdings wieder einiges Interesse an der Behandlung mit D-Penicillamin (47)^[144–147] und an der Gold-Therapie zu bemerken. Beide Medikamente zeigen eine langsam einsetzende Wirkung, führen aber bei rheumatischen Patienten oft nach drei- bis sechsmonatiger Behandlung zu anhaltenden objektiven Besserungen. Ihre klinische Anwendung wird durch Nebenwirkungen noch immer etwas eingeschränkt. Leider ist kein Tierversuch bekannt, mit dessen Hilfe eine besser geeignete Substanz mit ähnlicher klinischer Wirkung entwickelt werden könnte. Die Wirkungsweise von D-Penicillamin bleibt spekulativ. Die bisherigen Ergebnisse gestatten keine Entscheidung, ob irgendeine

seiner früher angenommenen biochemischen Eigenschaften, wie Vermehrung der Thiol-Gruppen im Gewebe^[148], Dissoziation von Makroglobulinen^[149], Chelat-Bildung mit Metallen, Pyridoxin-Antagonismus und Hemmung der Kollagen-Biosynthese, eine größere Rolle bei der anti-rheumatischen Wirkung spielt^[144].



Immunsuppressiv wirkende Substanzen wie z. B. Cyclo-xan^[150] und Imuran wurden mit Erfolg in schweren Fällen von rheumatoider Arthritis angewendet, zeigten aber wie zu erwarten toxische Wirkungen. Die Anwendung des weniger cytotoxischen Cinanserins (48)^[151] war von vornherein wegen seiner Lebertoxizität ausgeschlossen.

Entgegen der allgemeinen Annahme konnte beim Cyclophosphamid keine direkte Beziehung zwischen der klinischen Wirksamkeit und der Unterdrückung mehrerer immunologischer Erscheinungen wie Auftreten des Rheumatoid-Faktors, der Serum-Immunglobuline und der Lymphocyten-Reaktion in vitro usw. gefunden werden^[152]. Die Wirkung der Immunsuppressoren läßt sich verstärken, wenn man die potentiell antikörperbildenden Zellen zunächst durch Antigene stimuliert. Wird der Wirkstoff mit dem Antigen zusammen appliziert, so unterdrückt er sowohl die primäre Reaktion als auch die spätere Produktion der Antikörper. Die hierdurch induzierte spezifische Toleranz kann über mehrere Monate andauern^[153]. Es wäre äußerst interessant, wenn man die Autoimmunkomponente der rheumatoiden Arthritis durch ein ähnliches Vorgehen unterdrücken könnte.

Neue Untersuchungen über die immunologischen Aspekte der rheumatoiden Arthritis befaßten sich vor allem mit abnormen Immunglobulinen, der Komplementbindung, abbauenden Enzymen, Substanzen, die eine verzögerte Allergie auslösen, und mit gestörten Stoffwechselreaktionen der Synovialzellen in arthritischen Gelenken^[3]. Die gegenwärtigen Forschungen auf dem Gebiet der Immunologie könnten vielleicht auch neue Wege weisen, um den pathogenetischen Prozeß bei der Arthritis einzuschränken. Ohne Zweifel werden in den kommenden Jahren zahlreiche nichttoxische Inhibitoren oder Immunregulatoren mit engbegrenztem Wirkungsprofil aus vielen Laboratorien hervorgehen. Ihre klinische Anwendung, allein oder in Kombination mit einer konventionellen entzündungshemmenden Therapie, könnte eine neue Ära der antiarthritischen Behandlung einleiten.

6. Wirkstoffkombinationen und Wechselwirkungen

Wie bereits erwähnt, besteht ein wesentliches Ziel bei der gegenwärtigen Suche nach neuen antiarthritischen Stoffen

darin, die Nebenwirkungen auf ein Minimum herabzusetzen. Die Brauchbarkeit mancher Substanzen in der Klinik wird wahrscheinlich weniger durch ihre zu geringe Wirkung als durch ihre schlechte Verträglichkeit begrenzt. Eine einleuchtende Methode, die üblichen Nebenwirkungen der Breitspektrum-Antiphlogistica zu umgehen, wäre die Entwicklung einer Gruppe spezifischer Wirkstoffe, von denen jeder nur auf einen bestimmten Teil im komplexen Entzündungsgeschehen, z. B. auf lysosomale Enzyme, Entzündungssubstanzen usw., einwirkt. Die Anwendung eines Gemisches mehrerer solcher Inhibitoren wurde als bestmögliche Behandlung vorgeschlagen^[154]. Diese futuristisch anmutende Methode einer Kombinationstherapie ist in dem Maße weiterer Überlegungen wert, wie wir die Pathogenese verschiedener arthritischer Erkrankungen besser erkennen werden und damit die optimalen Kombinationen individuell zusammenstellen können.

Allerdings müssen jedoch auch die Wechselwirkungen der Wirkstoffe miteinander sehr sorgfältig erforscht werden. Ein treffendes Beispiel hierfür sind vielleicht die möglichen Wechselwirkungen zwischen Aspirin und anderen nicht-steroidartigen entzündungshemmenden Stoffen, die in steigendem Umfang bekannt werden. Aspirin wird oft – beabsichtigt oder unbeabsichtigt – neben anderen Wirkstoffen in der Therapie der Arthritis angewendet. In zwei unabhängigen Tieruntersuchungen^[155, 156] wurde kein kumulativer entzündungshemmender Effekt bei Kombinationen von Aspirin mit anderen Wirkstoffen beobachtet. Bei manchen Adjuvans-Arthritis-Fällen^[156] trat sogar ein Antagonismus auf: Die Inhibitorwirkung von Indomethacin, Phenylbutazon und anderen Präparaten wurde durch geringe Dosen von Aspirin deutlich verringert. Wie dieser Antagonismus zustandekommt, ist nicht bekannt; er erinnert jedoch an die Beobachtung, daß Aspirin oder Phenylbutazon die Antikoagulantien-Wirkung von Warfarin infolge einer Störung der Serumprotein-Bindung von Warfarin potenzieren^[157, 158]. Ein starker Einfluß von Aspirin, aber nicht von Phenylbutazon, auf den Stoffwechsel und die Ausscheidung von Indomethacin wurde neuerdings an Ratten gezeigt^[159]. Als Faktoren, die möglicherweise daran beteiligt sind, kommen Hemmung der intestinalen Absorption, Änderung der Verteilung im Gewebe und kompetitive Glucuronid-Konjugation sowie Serumprotein-Bindung in Frage. Ob diese Laboratoriumsbeobachtungen sich auch in der Klinik bewahrheiten, bleibt abzuwarten.

7. Schluß

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß die ausgedehnten chemischen Untersuchungen über Arylessigsäuren, Fenamate und Salicylsäure-Derivate in den letzten Jahren allmählich zu einer kleinen Gruppe von klinisch geeigneten, antiphlogistisch-analgetisch-antipyretisch wirksamen Präparaten der zweiten Generation geführt haben. Trotzdem werden auch weiterhin besser verträgliche und wirksamere Substanzen dieser Art benötigt. Fortschritte im Verständnis der Wirkungsweise bekannter Arzneistoffe und in der Erkenntnis ihrer möglichen Nebenwirkungen, wie Reizung des Gastrointestinaltrakts, Lebertoxizität und Nekrose der Nierenpapillen, sollten bei der Auswahl eines sichereren

antiarthritischen Präparats helfen. Interessant wäre es zu verfolgen, ob neuere aktive Verbindungen, die in vielen Laboratorien bearbeitet werden, zur Entwicklung überlegener Wirkstoffe mit bestimmten biologischen Profilen führen werden. Vom pathogenetischen Gesichtspunkt aus scheint sich die immunologische Kontrolle als neuer Weg mit vielversprechenden Möglichkeiten anzubieten; um ein rationales Konzept mit einem hohen Maß an Selektivität zu entwickeln, werden jedoch noch genauere Kenntnisse und überzeugendere klinische Überprüfungen mancher Vorstellungen notwendig sein. Fortschritte auf dem Gebiet der Membranchemie, der Immuntoleranz und der Wirtsresistenz können neue Perspektiven eröffnen, die es erlauben, in den vielfach vernetzten chronischen Entzündungsprozeß einzugreifen.

Eingegangen am 21. April 1971

ergänzt am 3. Dezember 1971 [A 879]

Übersetzt von Dipl.-Chem. Johanna Förster, Ludwigshafen

[1] Nach einem Vortrag bei der Gordon Conference on Medicinal Chemistry, New Hampshire (USA), August 1970.
 [2] T. Y. Shen, *Annu. Rep. Med. Chem.* 1967, S. 215.
 [3] Nineteenth Rheumatism Review in *Arthritis Rheum.* 13, Sept.-Oct. 1970.
 [4] R. H. Ferguson u. J. W. Worthington, *Ann. Intern. Med.* 73, 109 (1970).
 [5] *Brit. Med. J.* [4] 601 (1970).
 [6] F. D. Hart, *Practitioner* 205, 597 (1970).
 [7] M. Weiner u. S. J. Piliero, *Annu. Rev. Pharmacol.* 10, 171 (1970).
 [8] J.-R. Boissier, J.-M. Lwoff u. F. Hertz, *Therapie* 25, 43 (1970).
 [9] R. Domenjoz, *Z. Rheumaforsch.* 28, Suppl. 1, 343 (1969).
 [10] A. Bertelli u. J. C. Houck: *Inflammation Biochemistry and Drug Interaction*. Williams and Wilkins, Baltimore und Excerpta Medica Foundation, Amsterdam 1969.
 [11] T. Y. Shen, *Annu. Rep. Med. Chem.* 1968, 215.
 [12] K. J. Doebel, M. L. Graeme, N. Gruenfeld, L. J. Iguarro, S. J. Piliero u. J. W. F. Wasley, *Annu. Rep. Med. Chem.* 1969, 207.
 [13] S. S. Adams u. R. Cobb, *Progr. Med. Chem.* 5, 59 (1967).
 [14] T. Y. Shen, T. B. Windholz, A. Rosegay, B. E. Witzel, A. N. Wilson, J. D. Willet, W. J. Holtz, R. L. Ellis, A. R. Matzuk, S. L. Lucas, C. H. Stammer, F. W. Holly, L. H. Sarett, E. A. Risley, G. W. Nuss u. C. A. Winter, *J. Amer. Chem. Soc.* 85, 488 (1963).
 [15] C. A. Winter, *Fortschr. Arzneimittelforsch.* 10, 139 (1966).
 [16] D. J. Drain, M. J. Daly, B. Davy, M. Horlington, J. G. B. Howes, J. M. Scrutton u. R. A. Selway, *J. Pharm. Pharmacol.* 22, 684 (1970).
 [17] T. Y. Shen, unveröffentlichte Beobachtungen.
 [18] Weitere neuere klinische Beurteilungen: a) J. Smyth, *Ann. Intern. Med.* 72, 430 (1970); b) E. C. Huskisson, R. T. Taylor, D. Burston, P. J. Chuter u. F. Dudley Hart, *Ann. Rheum. Dis.* 29, 393 (1970); c) *Brit. Med. J.* 1970, Nr. 5720, S. 449.
 [19] I. F. Skidmore u. M. W. Whitehouse, *J. Pharm. Pharmacol.* 18, 558 (1966); A. Bertelli, *Biochem. Pharmacol. Suppl.* 229 (1968).
 [20] J. H. Brown u. S. H. Pollock, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 135, 792 (1970).
 [21] K. Fehr, J. LoSpalluto u. M. Ziff, *J. Immunology* 105, 973 (1970).
 [22] A. J. Anderson, *Biochem. J.* 113, 457 (1969).
 [23] E. D. Harris, D. R. DiBona u. S. M. Krane, *Clin. Res.* 18, 534 (1970).
 [24] A. Z. Eisen, E. A. Bauer u. J. J. Jeffrey, *J. Invest. Dermatol.* 55, 359 (1970).
 [25] P. D. Weston, A. J. Barrett u. J. T. Dingle, *Nature* 222, 285 (1969).
 [26] E. A. Bauer, A. Z. Eisen u. J. J. Jeffrey, *Biochim. Biophys. Acta* 206, 152 (1970).
 [27] I. F. Skidmore u. M. W. Whitehouse, *Biochem. Pharmacol.* 15, 1965 (1966).
 [28] A. G. Radwan u. G. B. West, *Brit. J. Pharmacol. Chemother.* 33, 193 (1968).
 [29] J. J. Petillo, A. Gulbenkian u. I. I. A. Tabachnick, *Biochem. Pharmacol.* 18, 1784 (1969).
 [30] R. W. Schayer, *Amer. J. Physiol.* 198, 1187 (1960).

[31] M. I. D. Cawley u. D. A. Willoughby, *Lancet* 1956 II, 24; W. G. Spector u. D. A. Willoughby: *The Pharmacology of Inflammation*. Grune and Stratton, New York 1968, S. 81.
 [32] G. E. Davies, G. Holman, T. P. Johnston u. J. J. Lowe, *Brit. J. Pharmacol. Chemother.* 28, 212 (1966).
 [33] C. G. Van Arman u. R. P. Carlson in: *Bradykinin and Related Kinins*. Plenum Press, New York 1970, S. 525.
 [34] K. N. von Kaulla, *Thromb. Diath. Haemorrh.* 18, 301 (1967).
 [35] B. B. Vargaftig, E. P. De Miranda u. B. Lacoume, *Nature* 222, 883 (1969).
 [36] B. B. Vargaftig u. N. Dao, *Pharmacol. Res. Commun.* 2, 149 (1970).
 [37] P. J. Piper u. J. R. Vane, *Nature* 223, 29 (1969).
 [38] M. W. Whitehouse, *Fortschr. Arzneimittelforsch.* 8, 358 (1965).
 [39] H. J. Broehr u. D. A. Kalbhen, *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* 176, 380 (1968).
 [40] C. F. Chignell, *Mol. Pharmacol.* 5, 455 (1969).
 [41] D. A. Gerber, N. Cohen u. R. Giustra, *Biochem. Pharmacol.* 16, 115 (1967); K. F. Swingle, L. W. Jaques, T. J. Grant u. D. C. Kuam, *ibid.* 19, 2995 (1970).
 [42] E. M. Sellers u. J. Koch-Weser, *Clin. Pharmacol. Ther.* 11, 524 (1970).
 [43] G. Müller u. W. Zollinger in R. Heister u. H. F. Hofmann: *Die Entzündung - Grundlagen und pharmakologische Beeinflussung*. Urban und Schwarzenberg, München 1966, S. 376; C. A. Winter, *Calif. Med.* 110, 175 (1969).
 [44] N. H. Grant, H. E. Alburn u. C. Kryzanaukas, *Biochem. Pharmacol.* 19, 715 (1970).
 [45] J. H. Brown, H. K. Mackey u. D. A. Riggilo, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 125, 837 (1967); B. Catanese, R. Lisciani u. D. Piccinelli, *Biochem. Pharmacol.* 18, 1707 (1969).
 [46] D. A. Kalbhen, P. Gelderblom u. R. Domenjoz, *Pharmacology* 3, 353 (1970).
 [47] P. Görög u. I. B. Kovács, *J. Pharm. Pharmacol.* 22, 86 (1970).
 [48] J. Peterson u. M. B. Zucker, *Thromb. Diath. Haemorrh.* 23, 148 (1970).
 [49] J. R. O'Brien, W. Finch u. E. Clark, *J. Clin. Pathol.* 23, 522 (1970).
 [50] M. B. Zucker u. J. Peterson, *J. Lab. Clin. Med.* 76, 66 (1970); M. B. Zucker u. J. Peterson, *Blood* 34, 536 (1969).
 [51] C. G. Van Arman u. R. P. Carlson, persönliche Mitteilung.
 [52] M. Yaron u. C. W. Castor, *Arthritis Rheum.* 12, 365 (1969).
 [53] P. Phelps, *Arthritis Rheum.* 12, 189 (1969).
 [54] Di Rosa, J. M. Papadimitriou u. D. A. Willoughby, noch unveröffentlicht.
 [55] C. G. Van Arman, D. L. Bokelman, E. A. Risley u. G. W. Nuss, *Fed. Proc.* 30, A 386 (1971).
 [56] J. Chayen, L. Bitensky, R. G. Butcher, L. W. Poulter u. G. S. Ubhi, *Brit. J. Dermatol.* 82, Suppl. 6, 62 (1970).
 [57] J. Chayen u. L. Bitensky, persönliche Mitteilung.
 [58] R. Abraham, R. Hendy u. P. Grasso, *Exp. Mol. Pathol.* 9, 212 (1968); R. Abraham u. R. Hendy, *ibid.* 12, 148 (1970).
 [59] R. J. Hendy, R. Abraham u. P. Grasso, *J. Ultrastruct. Res.* 29, 485 (1969).
 [60] D. H. Harford u. M. J. H. Smith, *J. Pharm. Pharmacol.* 22, 578 (1970); D. A. Lewis, *ibid.* 22, 909 (1970).
 [61] K. Tanaka u. Y. Iizuka, *Biochem. Pharmacol.* 17, 2023 (1968).
 [62] J. Hyttel u. A. Jørgensen, *Eur. J. Pharmacol.* 11, 383 (1970).
 [63] S. Ruddy u. K. F. Austen, *Arthritis Rheum.* 13, 713 (1970).
 [64] N. J. Zvaifler, *Arthritis Rheum.* 13, 895 (1970).
 [65] T. Y. Shen, B. E. Witzel, A. Rosegay, R. E. Ellis u. L. H. Sarett, *Proceedings 2nd IUPAC Symposium on Pharmaceutical Chemistry*, Münster, Juli 1968.
 [66] T. Y. Shen, R. E. Ellis, B. E. Witzel u. A. R. Matzuk, *Abstr. Pap., 152nd Meeting, Amer. Chem. Soc. New York, Sept. 1966*, 3 P; T. Y. Shen, *Top. Med. Chem.* 1, 48 (1967).
 [67] H. B. Hucker, A. G. Zacchei, S. V. Cox, D. A. Brodie u. N. H. Cantwell, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 153, 237 (1966); D. W. Yesair, M. Callahan, L. Remington u. C. J. Kensler, *Biochem. Pharmacol.* 19, 1579 (1970).
 [68] H. B. Hucker, A. Hochberg, E. A. Hoffman u. B. O. Braunfeld, *Fed. Proc.* 27, 238 (1968).
 [69] K. Fitz, R. Göschke u. R. Pfister, *Schweiz. Pat.* 454858 u. 455777 (1968), Geigy.
 [70] R. A. Firestone u. T. Y. Shen, unveröffentlichte Beobachtungen.
 [71] A. Allais u. M. Paturet, *Franz. Pat.* 5173 M (1967), Roussel-Uclaf.

- [72] K. J. Doebel u. J. W. F. Wasley, US-Pat. 3 505 354 (1970), Geigy.
- [73] H. Yamamoto u. M. Nakao, *J. Med. Chem.* 12, 176 (1969).
- [74] H. Yamamoto, C. Saito, T. Okamoto, H. Awata, T. Inukai, A. Hirohashi u. Y. Yukawa, *Arzneim.-Forsch.* 19, 981 (1969).
- [75] P. F. Juby u. T. W. Hudyma, *J. Med. Chem.* 12, 396 (1969).
- [76] J. S. Fleming, M. E. Bierwagen, M. Losada, J. A. L. Campbell, J. P. King u. M. H. Pindell, *Arch. Int. Pharmacodyn.* 186, 120 (1970).
- [77] T. Y. Shen, *Chim. Ther.* 459 (1967).
- [78] C. P. Dorn, W. V. Ruyle, B. E. Witzel u. T. Y. Shen, unveröffentlicht.
- [79] D. I. Barron, P. T. Bysouth, R. W. Clarke, A. R. Copley, O. Stephenson, D. K. Vallance u. A. M. Wild, *J. Med. Chem.* 11, 1139 (1968).
- [80] D. I. Barron, A. R. Copley u. D. K. Vallance, *Brit. J. Pharmacol. Chemother.* 33, 396 (1968).
- [81] J. S. Nicholson, Vortrag beim Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs. Sympos. Chelsea College of Technology, London, Jan. 1970.
- [82] M. Thompson, P. Stephenson u. J. S. Percy, *Ann. Rheum. Dis.* 23, 397 (1964).
- [83] S. S. Adams, K. F. McCullough u. J. S. Nicholson, *Arch. Int. Pharmacodyn.* 178, 115 (1969).
- [84] M. K. Jasani, W. W. Downie u. B. M. Samuels, *Ann. Rheum. Dis.* 27, 457 (1968).
- [85] T. M. Chalmers, *Ann. Rheum. Dis.* 28, 513 (1969).
- [85a] R. C. Nickander, R. J. Kraay u. W. S. Marshall, *Fed. Proc.* 30, 563 (1971); J. A. Miller, Jr. u. T. A. Bromstrup, *ibid.* 30, 564 (1971).
- [86] G. Lambelin, N. P. Buu-Hoi, H. Brouilhet, M. Gautier, G. C. Gillet, J. Roba u. S. Thiriaux, *Arzneim.-Forsch.* 18, 1404 (1968).
- [87] K. Pavelka u. F. Wagenhauser, *Curr. Ther. Res.* 12, 69 (1970).
- [88] G. Lambelin, J. Roba, C. Gillet u. N. P. Buu-Hoi, *Arzneim.-Forsch.* 20, 610 (1970).
- [89] R. Roncucci, M.-J. Simon, G. Lambelin, C. Gillet, M. Staquet u. N. P. Buu-Hoi, *Arzneim.-Forsch.* 20, 569 (1970).
- [90] F. Lambotte, *Arzneim.-Forsch.* 20, 569 (1970); C. Klemm, R. Fricke, M. Schattenkirschner, W. Treiber u. H. Mathies, *Z. Rheumaforsch.* 30, 17 (1971).
- [91] J. Van Hoek, *Curr. Ther. Res.* 12, 551 (1970).
- [92] B. Lumachi, E. Marazzi-Uberti, M. Gaetani u. G. Coppi, *Arch. Int. Pharmacodyn.* 186, 66 (1970).
- [93] E. Camarri, D. D'Alonzo u. L. Zaccherotti, *Curr. Ther. Res.* 12, 1 (1970).
- [94] I. T. Harrison, B. Lewis, P. Nelson, W. Rooks, A. Roszkowski, A. Tomolonis u. J. H. Fried, *J. Med. Chem.* 13, 203 (1970).
- [95] G. F. Thompson u. J. M. Collins, *Abstr. 9th Nat. Meeting Amer. Pharm. Assoc. Acad. Pharm. Sci.*, Washington, D. C., Nov. 1970.
- [96] D. Farge, J. C. Guyonnet, C. Jeanmart u. L. Julous, *Arzneim.-Forsch.* 19, 1193 (1969).
- [97] A. M. Recordier, P. Acquaviva, J. Eisinger, D'Omezon u. H. Roux, *Marseille Med.* 106, 531 (1969).
- [98] G. Vignon, P. P. Boissel u. M. Cibert, *Rev. Rhum.* 36, 715 (1969).
- [99] B. M. Sutton u. J. H. Birnie, *J. Med. Chem.* 9, 835 (1966).
- [100] W. Hepworth, B. B. Newbould, D. P. Platt u. G. J. Stacey, *Nature* 221, 582 (1969).
- [101] B. B. Newbould, *Brit. J. Pharmacol.* 35, 487 (1969).
- [102] T. M. Chalmers, J. E. F. Pohl u. D. S. Platt, *Ann. Rheum. Dis.* 28, 590 (1969).
- [103] D. M. Foulkes, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 172, 115 (1970).
- [104] T. M. Chalmers, J. H. Kellgren u. D. S. Platt, *Ann. Rheum. Dis.* 28, 595 (1969).
- [105] *Lancet* 1970 I, 662; F. Dudley Hart, L. S. Bain, E. C. Huskisson, T. R. Littler u. R. T. Taylor, *Ann. Rheum. Dis.* 29, 684 (1970).
- [106] W. Hepworth, Vortrag beim Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs Symposium, Chelsea College of Technology, London, Jan. 1970.
- [107] K. Brown, J. F. Cavalla, D. Green u. A. B. Wilson, *Nature* 219, 164 (1968).
- [108] S. S. Adams, E. E. Cliffe, B. Lessel u. J. S. Nicholson, *J. Pharm. Sci.* 56, 1686 (1967).
- [109] G. Barth, W. Voelter, H. S. Mocher, E. Bunnenberg u. C. Djerassi, *J. Amer. Chem. Soc.* 92, 875 (1970).
- [110] D. R. Galpin, T. G. Cochran u. A. C. Huitric, *Biochem. Pharmacol.* 18, 979 (1969).
- [111] M. Hichens, unveröffentlicht.
- [112] J. Peter, persönliche Mitteilung.
- [113] C. F. Chignell, *Life Sci.* 7, 1181 (1968).
- [114] C. F. Chignell, *Mol. Pharmacol.* 5, 244 (1969).
- [115] A. Rosen, *Biochem. Pharmacol.* 19, 2075 (1970).
- [116] C. F. Chignell, *Mol. Pharmacol.* 6, 1 (1970).
- [117] E. V. Jensen, T. Suzuki, T. Kawashima, W. E. Stumpf, P. W. Jungblut u. E. R. De Sombre, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 59, 632 (1968).
- [118] B. P. Schaumburg, *Biochim. Biophys. Acta* 214, 520 (1970).
- [119] A. J. Barber u. G. A. Jamieson, *J. Biol. Chem.* 245, 6357 (1970).
- [120] A. H. Maddy, *Seminars Hematol.* 7, 275 (1970).
- [121] K. H. Boswell, E. J. Maitheny u. T. Y. Shen, unveröffentlicht.
- [122] A. McCoubrey, M. H. Smith u. A. C. Lane, *J. Pharm. Pharmacol.* 22, 333 (1970).
- [123] R. Karler, W. C. Petty u. T. S. Sulkowski, *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* 173, 270 (1968).
- [124] J. H. Fried, H. Mrozik, G. E. Arth, T. S. Bry, N. G. Steinberg, M. Tishler, R. Hirschmann u. S. L. Steelman, *J. Amer. Chem. Soc.* 85, 236 (1963).
- [125] J. Hannah, W. V. Ruyle, K. Kelly, A. Matzuk, W. J. Holtz, B. E. Witzel, C. A. Winter, R. H. Silber u. T. Y. Shen, *Abstr. Pap. Joint Conference Chem. Inst. Canada u. Amer. Chem. Soc. Mai 1970, Toronto, Canada, Medi.* 18.
- [126] W. V. Ruyle, H. Jones, M. Fordice u. T. Y. Shen, unveröffentlicht.
- [127] G. L. Walford, H. Jones u. T. Y. Shen, *J. Med. Chem.* 14, 339 (1971).
- [128] S. S. Bloomfield, T. P. Barden u. R. Hille, *Clin. Pharmacol. Ther.* 11, 747 (1970).
- [129] R. S. Farr u. *J. Allergy* 45, 321 (1970).
- [130] H. O. J. Collier, *Advan. Pharmacol. Chemother.* 7, 333 (1969).
- [131] L. F. Prescott, *Scot. Med. J.* 14, 83 (1969); R. S. Mantra u. P. Kincaid-Smith, *Brit. Med. J.* 1970, Nr. 3, S. 559.
- [132] *Brit. Med. J.* 1969, Nr. 5667, S. 371; A. H. Youssef u. P. Barkhan, *ibid.* 1969, Nr. 5667, S. 394.
- [133] T. L. Hardy, *Brit. J. Exp. Pathol.* 51, 348 (1970).
- [134] K. T. McGurran, R. J. Trancik, K. F. Swingle, G. G. I. Moore u. J. F. Gerster, *J. Med. Chem.* 13, 137 (1970); K. F. Swingle, R. R. Hamilton, J. E. Robertson, J. K. Harrington u. D. C. Kvam, *Pharmacologist* 11, 266 (1969); K. F. Swingle, R. R. Hamilton, J. K. Harrington u. D. C. Kvam, *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* 189, 129 (1971).
- [135] U. Jahn u. R. W. Adrian, *Arzneim.-Forsch.* 19, 36 (1969).
- [136] W. Beckschäfer, *Arzneim.-Forsch.* 19, 52 (1969).
- [137] K. J. Doebel, *Int. Symp. Pharm. Chem., in Pure and Applied Chemistry* 19, 45 (1969).
- [138] S. B. Kadın u. E. H. Wiseman, *Nature* 222, 275 (1969).
- [139] E. H. Wiseman, E. J. Gralla, J. Chiaini, J. R. Migliandi u. Y.-H. Chang, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 172, 138 (1970).
- [140] *J. Amer. Med. Ass.* 204, 814 (1968).
- [141] B. E. Witzel, P. Graham u. T. Y. Shen, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [142] M. Di-Rosa, *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* 173, 162 (1968).
- [143] W. C. Dick, G. M. Cunningham, G. Nuki, M. K. Jasani u. K. Whaley, *Ann. Rheum. Dis.* 28, 187 (1969).
- [144] I. A. Jaffe, *Arthritis Rheum.* 13, 436 (1970).
- [145] J. G. Golding, J. V. Wilson u. A. T. Day, *Postgrad. Med. J.* 46, 599 (1970).
- [146] J. Zuckner, R. H. Ramsey, R. W. Dornier u. G. E. Gantner, Jr., *Arthritis Rheum.* 13, 131 (1970).
- [147] D. Hagemann u. R. Frankl, *Med. Welt* 35, 1920 (1969); J. P. Camus, P. Guillien, J. Crouzet, A. Schaeffer u. J. A. Lievre, *Ann. Med. Intern.* 121, 237 (1970).
- [148] A. Lorber, C. C. Chang, D. Masuoka u. I. Meacham, *Biochem. Pharmacol.* 19, 1551 (1970).
- [149] G. Virella u. M. F. Lopes-Virella, *Clin. Exp. Immunol.* 7, 85 (1970).
- [150] *New England J. Med.* 283, 883 (1970).
- [151] J. Krapcho, R. C. Millonig, C. F. Turk u. B. J. Amrein, *J. Med. Chem.* 12, 164 (1969).
- [152] F. P. Alepa, N. J. Zvaifler u. A. J. Sliwinski, *Arthritis Rheum.* 13, 754 (1970).
- [153] A. Many u. R. S. Schwartz, *Clin. Exp. Immunol.* 6, 87 (1970).
- [154] INFLO (Intramural Upjohn Publication, News of Inflammation and Therapy) 3, Nr. 2 (1970); D. A. Willoughby, persönliche Mitteilung.
- [155] K. F. Swingle, T. J. Grant, L. W. Jaques u. D. C. Kvam, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 172, 423 (1970).
- [156] *J. Amer. Med. Ass.* 214, 39 (1970).
- [157] L. T. Sigell u. H. C. Flessa, *J. Amer. Med. Ass.* 214, 2035 (1970).
- [158] M. G. MacDonald, D. S. Robinson, D. Sylvestre u. J. J. Jaffe, *Clin. Pharmacol. Ther.* 10, 80 (1969).

- [159] D. W. Yesair, L. Remington, M. Callahan u. C. J. Kensler, *Biochem. Pharmacol.* 19, 1591 (1970).
 [160] J. R. Vane, *Nature* 231, 232 (1971).
 [161] J. B. Smith u. A. L. Willis, *Nature* 231, 235 (1971).
 [162] S. H. Ferreira, S. Moncada u. J. R. Vane, *Nature* 231, 237 (1971).
 [163] M. W. Greaves, J. Sondergaard u. W. MacDonald-Gibson, *Brit. Med. J.* 1971, Nr. 2, S. 258.

- [164] A. L. Willis, *Pharmacol. Res. Commun.* 2, 297 (1970); A. J. Anderson, W. E. Brocklehurst u. A. L. Willis, *ibid.* 3, 13 (1971).
 [165] *Brit. Med. J.* 1971, Nr. 5766, S. 61.
 [166] E. A. Ham, V. J. Cirillo, M. Zanetti, T. Y. Shen u. F. A. Kuehl, Jr., *Proceedings of the Alza Conference on Prostaglandins in Cellular Biology and the Inflammatory Processes*, 1972, im Druck.
 [167] H. O. J. Collier, *Nature* 232, 17 (1971).
 [168] J. G. Collier u. R. J. Flower, *Lancet*, 1971 II, 852.

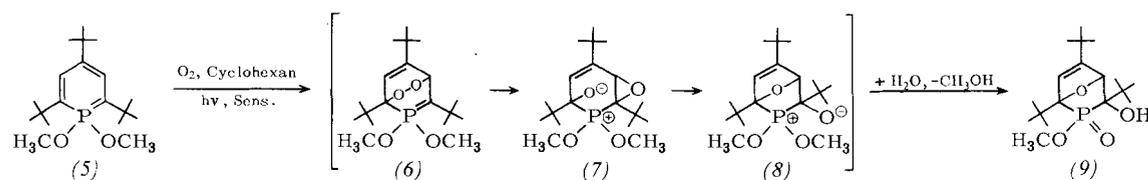
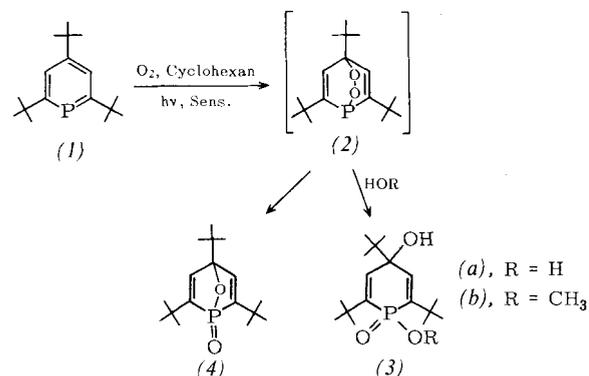
ZUSCHRIFTEN

Photochemische Oxygenierung von 2,4,6-Tri-tert.-butyl- λ^3 -phosphorin und 2,4,6-Tri-tert.-butyl-1,1-dimethoxy- λ^5 -phosphorin

Von Karl Dimroth, Anastasios Chatzidakis und
 Ortwin Schaffer^[*]

Herrn Professor G. Wittig in dankbarer Verehrung zum
 75. Geburtstag gewidmet.

Oxygenierungen von Heterocyclen mit durch Photosensibilisierung erzeugtem Singlettsauerstoff^[1] fanden in der letzten Zeit großes Interesse^[2]. Wir beobachteten eine



neuartige Reaktion, bei der im Primärschritt der Sauerstoff unter Beteiligung des Heteroatoms in 1,4-Stellung addiert wird: Bestrahlt man 2,4,6-Tri-tert.-butylphosphorin (1)^[3] in wasserfreiem Cyclohexan mit Eosin als Sensibilisator unter Durchleiten von Sauerstoff mit einer Quecksilberhochdrucklampe, dann lassen sich mit je etwa 15% Ausbeute zwei kristallisierte Verbindungen vom Fp = 167 und 152°C isolieren. Der höher schmelzende Stoff ist identisch mit der bereits bekannten, aus (1) durch HNO₃/H₂SO₄-Oxidation erhaltenen 4-Hydroxyphosphinsäure (3a)^[4]. Die Verbindung vom Fp = 152°C besitzt

aufgrund der Elementaranalyse sowie des UV-, IR-, NMR- und Massenspektrums die Konstitution (4). Wir nehmen den durch die Formeln (1) bis (4) dargestellten Reaktionsverlauf an. Das Primärprodukt (2) wurde nicht in Substanz gefaßt, wie dies auch bei anderen Oxygenierungsreaktionen meist der Fall ist^[5].

2,4,6-Triphenylphosphorin liefert bei der Photooxygenierung eine größere Zahl von Produkten, die nur schwer zu trennen sind^[6].

Anders verläuft die sensibilisierte Photooxygenierung von 2,4,6-Tri-tert.-butyl-1,1-dimethoxy- λ^5 -phosphorin (5)^[**]. Hier wird der Sauerstoff im Primärschritt wieder „normal“ in 1,4-Stellung an die Kohlenstoffatome 2 und 5 addiert. Auch hier läßt sich das Primärprodukt (6) nicht fassen. Unter Spaltung der O—O-Bindung lagert es sich wahrscheinlich über (7) und (8) in den 2-Hydroxy-phosphinsäuremethylester (9) um. Dessen Konstitution ergibt sich aus der Elementaranalyse und den spektroskopischen Daten.

Arbeitsvorschrift:

528 mg (2 mmol) (1) und 15 mg Eosin werden in 60 ml wasserfreiem Cyclohexan 45 min unter Durchleiten von wasserfreiem Sauerstoff mit einer Quecksilberhochdruck-

lampe (Hanau NK 6/20; Emissionsmaximum 366 nm) bestrahlt. Nach Abdestillieren von $\frac{2}{3}$ des Lösungsmittels fällt man mit wenig Methanol die Phosphinsäure (3a) aus, die aus Äthanol/Wasser umkristallisiert bei 167°C schmilzt. Mit Diazomethan bilden sich die beiden durch Dünnschichtchromatographie trennbaren *cis-trans*-isomeren Methylester (3b) vom Fp = 274 und 280°C (Zers.)^[4].

Durch präparative Schichtchromatographie an Kieselgel mit Benzol/Methanol 5:1 als Laufmittel erhält man (4), das aus Ligroin umkristallisiert bei 152°C schmilzt.

[*] Prof. Dr. K. Dimroth, Dr. A. Chatzidakis und
 Dipl. Chem. O. Schaffer
 Fachbereich Chemie der Universität
 355 Marburg, Lahnberg

[**] Nach einem Vorschlag der IUPAC-Kommission für Nomenklatur der organischen Chemie wird die Wertigkeit von Heteroatomen in heterocyclischen Systemen durch die Zahl λ^n der von ihnen ausgehenden Bindungen (Bindungszahl, connecting number) gekennzeichnet.