

CHROM. 4804

Beziehungen zwischen physikalisch-chemischen Eigenschaften und Wirksamkeit bei Steroiden

V. Papierchromatographisches Verhalten und Aktivität anabol wirksamer Steroide*

Das papierchromatographische Verhalten einer Verbindung wird bekanntlich durch ihren Verteilungskoeffizienten (α) in dem angewandten Laufmittelsystem bestimmt (Verteilungschromatographie)². Daher kann umgekehrt aus der Laufstrecke die Verteilung zwischen mobiler und stationärer Phase abgeleitet werden.

Der Verteilungskoeffizient besitzt andererseits auch für die Pharmakokinetik Bedeutung. Die Verteilung kommt für die Beeinflussung verschiedener Wirkungsfaktoren in Betracht:

- (1) Resorption³, Transport^{4,5} und Ausscheidung⁶,
- (2) Anreicherung in verschiedenen Verteilungsräumen des Organismus⁷,
- (3) hydrophobe Bindung an Albumin und Ribonucleinsäure⁸⁻¹¹,
- (4) freie Reaktionsenergie¹²⁻¹⁴,
- (5) Elektronen-Acceptor/Donator-Kapazität¹⁵ und Bildung von Elektronenadditionsverbindungen¹⁶,
- (6) Metabolisierung¹⁷, mikrosomale Oxydation¹⁸ und biologische Halbwertszeit¹⁹.

Zwischen α und papierchromatographischem (PC) R_F -Wert besteht die Beziehung^{20,21}:

$$\alpha = \frac{A_M}{A_S} \left(\frac{1}{R_F} - 1 \right).$$

Für den dekadischen Logarithmus des in Klammern stehenden Ausdrucks wurde der Begriff " R_M -Wert" eingeführt²²:

$$R_M = \lg \left(\frac{1}{R_F} - 1 \right).$$

Daraus folgt für den Zusammenhang mit α :

$$\alpha = \frac{A_M}{A_S} \cdot 10^{R_M}.$$

$$\lg \alpha = \lg A_M - \lg A_S + R_M.$$

Betrachtet man das Verhalten verschiedener Substanzen bei gleichem Phasenverhältnis, $A_M/A_S = \text{const.} = K$, so ergibt sich:

$$R_M = \lg \alpha + K'$$

Somit sind R_M und α nach einer einfachen logarithmischen Funktion voneinander abhängig. Da sich der R_M -Wert bei Einführung oder Eliminierung einer

* IV. Mitt., siehe Lit. 1.

TABELLE I

FLÜSSMITTELSYSTEME

System	Stationäre Phase	Mobile Phase	Mischungsverhältnis
A	Methanol-Wasser	Benzol	1 : 1 : 2
B	Methanol-Wasser	Toluol-Benzin	85 : 15 : 33 : 67
C	Methanol-Wasser	Benzol	17 : 3 : 20
D	Essigsäure (80%)	Benzol	Imprägnierung
E	Essigsäure (80%)	Benzin	Imprägnierung
F	1,2-Propylenglykol	Benzol	Imprägnierung
G	1,2-Propylenglykol	Toluol	Imprägnierung
H	Methanol-Wasser (chloroformgesättigt)	Methanol-Wasser (chloroformgesättigt)	Sättigung Chloroform- Methanol-Wasser (2 : 1 : 1)

Funktion in spezifischer Weise und nahezu unabhängig von der Grundstruktur ändert, also eine additive Grösse darstellt, kann das PC Verhalten eines Derivats ausserdem durch das Gruppeninkrement des R_M -Werts (ΔR_M) charakterisiert werden. Die Beziehung des ΔR_M zum α und zur Struktur wurde mehrfach überprüft²³.

Untersuchungen an Steroiden ergaben²⁴, dass zwischen der Wirkstoffverteilung in bestimmten Lösungsmittelsystemen und der biologischen Wirksamkeit ein Zusammenhang besteht. Wir erwarteten daher, auf Grund der genannten Relation zwischen α und R_F -Wert auch ein PC System zu finden, das physiologischen Bedingungen entspricht. Uns interessierte, inwieweit eine Beziehung des R_F - bzw. R_M -Werts zur Aktivität (anabol) wirksamer Steroide vorhanden ist.

Versuche und Ergebnisse

Wir benutzten wässrige Systeme vom Bush-Typ (A bis E), wasserfreie Systeme vom Zaffaroni-Typ (F und G)²⁵ und eine eigene Anordnung mit umgekehrtem Phasenverhältnis (H), in dem die schwach polare Phase zur Kammerättigung (mit Papier)

TABELLE II

UNTERSUCHTE VERBINDUNGEN UND IHRE hR_F -bzw. R_M -WERTE

No.	Verbindung	Fließmittelsystem								hR_M	R_M	
		A	B	C	D	E	F	G	H			
I	17 α -Methyl- testosteron (M)	89	45	22	86	61	69	74	44	hR_M	R_M	
II	1(2)-Dehydro-M	-0.89	+0.09	+0.54	-0.79	-0.19	-0.35	-0.45	+0.10	53	hR_M	R_M
III	4-Chlor-M	87	29	08	85	62	61	65	-0.05	27	hR_M	R_M
IV	11 β -Hydroxy-M	-0.80	+0.38	+1.06	-0.77	-0.21	-0.19	-0.26	-0.05	84	hR_M	R_M
V	4-Chlor-11 β -hydroxy-M	-0.96	-0.15	+0.30	-0.91	-0.17	-0.52	-0.71	+0.42	86	hR_M	R_M
VI	4-Chlor-11 β -hydroxy-M	61	08	01	30	15	21	21	86	87	hR_M	R_M
VII	4-Chlor-11 β -hydroxy- 1-dehydro-M	-0.19	+1.04	+2.00	+0.37	+0.77	+0.56	+0.59	-0.87	78	hR_M	R_M
VIII	4-Chlor-1-dehydro-M	77	13	02	49	09	36	38	78	47	hR_M	R_M
IX	4-Chlor-11 β -hydroxy- 1-dehydro-M	-0.47	+0.83	+1.72	+0.03	+1.01	+0.21	+0.22	-0.53	47	hR_M	R_M
X	4-Chlor-11 β -hydroxy- 1-dehydro-M	87	43	15	89	46	73	78	47	85	hR_M	R_M
XI	4-Chlor-11 β -hydroxy- 1-dehydro-M	-0.82	+0.12	+0.78	-0.91	+0.08	-0.42	-0.55	+0.06	85	hR_M	R_M
XII	4-Chlor-11 β -hydroxy- 1-dehydro-M	73	14	02	40	04	36	36	85	75	hR_M	R_M
XIII	4-Chlor-11 β -hydroxy- 1-dehydro-M	-0.42	+0.79	+1.72	+0.18	+1.33	+0.24	+0.24	-0.75		R_M	

^a Diese Werte stellen mittlere Grössen aus den einzelnen R_M -Werten dar und wurden nicht aus den mittleren hR_F -Werten berechnet.

TABELLE III

 ΔR_M -WERTE ZUR GRUNDSTRUKTUR 17 α -METHYLTESTOSTERON

Funktion	Derivat	Fliessmittelsystem							
		A	B	C	D	E	F	G	H
1(2)-Dehydro	II	+0.09	+0.29	+0.52	+0.02	-0.02	+0.16	+0.19	-0.15
4-Chlor	III	-0.07	-0.24	-0.24	-0.12	-0.02	-0.17	-0.26	+0.32
11 β -Hydroxy	IV	+0.70	+0.95	+1.46	+1.16	+0.96	+0.91	+1.04	-0.97
4-Chlor-11 β -hydroxy	V	+0.42	+0.74	+1.18	+0.82	+1.20	+0.56	+0.67	-0.63
4-Chlor-1-dehydro	VI	+0.07	+0.03	+0.24	-0.12	+0.27	-0.07	-0.10	-0.04
4-Chlor-11 β -hydroxy-1-dehydro	VII	+0.47	+0.70	+1.18	+0.97	+1.52	+0.59	+0.69	-0.85

und die polare Phase als Fliessmittel eingesetzt wurde. Die Systeme sind in Tabelle I beschrieben.

Alle Bestimmungen wurden mehrfach ausgeführt. Die mittleren hR_F -Werte in den Systemen A bis H sind in Tabelle II zusammengefasst. Aus den einzelnen hR_F -Werten folgen die darunter angegebenen R_M -Werte. Die ΔR_M -Werte werden in Tabelle III mitgeteilt.

TABELLE IV

VERGLEICH DER AKTIVITÄT MIT hR_F -bzw. R_M -WERTEN

Verbindung	Relative anabole Aktivität (Methyltestosteron = 100)	Fliessmittel G		Fliessmittel H	
		hR_F	R_M	hR_F	R_M
4-Chlor-M	50	84	-0.71	27	+0.42
4-Chlor-1-dehydro-M	65	78	-0.55	47	+0.06
Methyltestosteron (M)	100	74	-0.45	44	+0.10
1(2)-Dehydro-M	125	65	-0.26	53	-0.05
11 β -Hydroxy-M	290	(21)	(+0.59)	(86)	(-0.87)
4-Chlor-11 β -hydroxy-M	406	38	+0.22	78	-0.53
4-Chlor-11 β -hydroxy-1-dehydro-M	1085	36	+0.24	85	-0.75

Vergleicht man das PC Verhalten mit den biologischen Aktivitäten der Verbindungen²⁶, so erhält man folgende Ergebnisse: Bei Anwendung der Fliessmittel A bis E treten zwischen beiden Parametern keine erkennbaren Zusammenhänge auf. Dagegen bestehen bei der Entwicklung der Chromatogramme in den Systemen F, G oder H zwischen den chromatographischen Kennzahlen und der anabolen Wirksamkeit gute Übereinstimmungen (Tabelle IV).

Da sich die Systeme F bzw. G und H in der Polarität der mobilen Phase grundsätzlich unterscheiden, zeigt die Abhängigkeit der beiden verglichenen Grössen erwartungsgemäss einen entgegengesetzten Verlauf. In einem System mit lipophiler mobiler Phase (F bzw. G) nehmen die hR_F -Werte beim Anstieg der anabolen Aktivität ab. Wird die Chromatographie mit einer hydrophilen mobilen Phase (H) durchgeführt, so erhält man eine Verteilung, bei der hohe hR_F -Werte einer hohen Wirksamkeit entsprechen. Die beachtlich gute Übereinstimmung zwischen den Ergebnissen in

TABELLE V

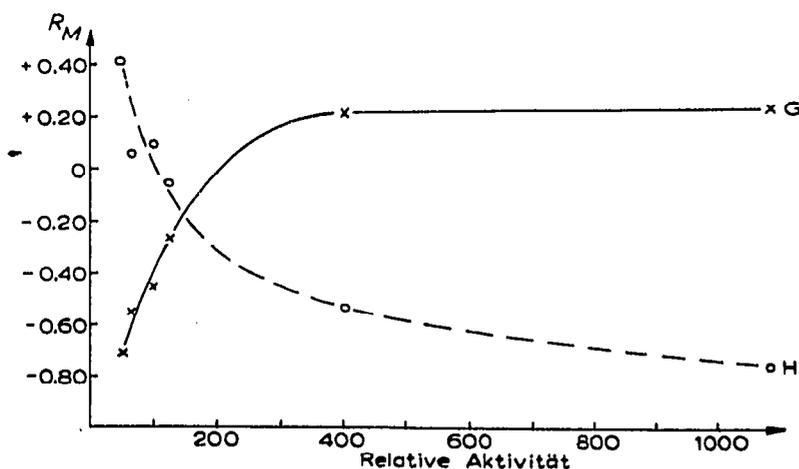
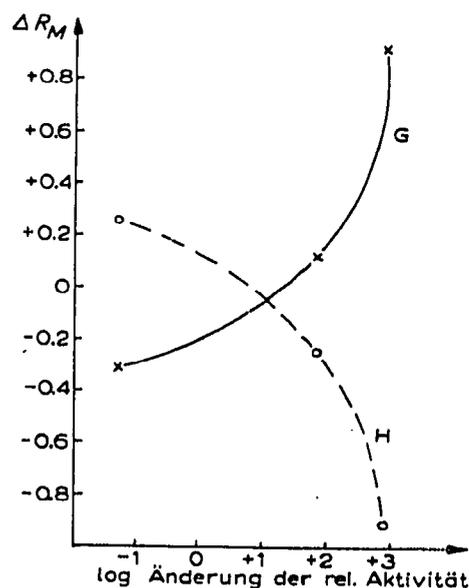
VERGLEICH DER AKTIVITÄTSÄNDERUNGEN MIT ΔR_M -WERTEN

Funktion	Δ Anabole Aktivität, Rel.-% (Mittelwerte)	ΔR_M - und mittlere ΔR_M -Werte	
		Fließmittel G	Fließmittel H
4-Chlor	- 19	-0.26; -0.29; -0.37 -0.31	+0.32; +0.11; +0.34 +0.26
1(2)-Dehydro	+ 74	+0.19; +0.02; +0.16 +0.12	-0.15; -0.22; -0.36 -0.24
11 β -Hydroxy	+823	+1.04; +0.79; +0.93 +0.95	-0.97; -0.81; -0.95 -0.91

beiden (zueinander inversen) Systemen wird durch den Kurvenverlauf in Fig. 1 veranschaulicht.

Eine Ausnahme in der Reihenfolge ist unter den sieben verglichenen Verbindungen nur bei 11 β -Hydroxy-methyltestosteron zu beobachten. Somit können innerhalb dieser oder ähnlicher Verbindungsreihen aus dem Verhalten in bestimmten PC Systemen relativ wahrscheinliche Aussagen über die pharmakologischen Eigenschaften neuer Wirkstoffe abgeleitet werden.

Eine ähnliche Beziehung ist zwischen der Änderung des R_M -Wertes (der Gruppenkonstante) und der prozentualen Änderung der Aktivität²⁶ zu erkennen. Beide Größen ändern sich bei Einführung einer Funktion gegenüber verschiedenen Vergleichs- bzw. Ausgangsverbindungen in regelmässiger Weise. Besitzt die mobile Phase lipophilen Charakter (System F oder G), so nimmt der ΔR_M -Wert im gleichen Sinne wie die Aktivität zu. Benutzt man dagegen eine mobile Phase mit hydrophilen Eigenschaften (System H), so entspricht einer Erhöhung der anabolen Aktivität eine Herabsetzung des ΔR_M -Wertes (Tabelle V).

Fig. 1. Beziehung zwischen R_M -Wert und Aktivität.Fig. 2. Beziehung zwischen ΔR_M -Wert und Aktivitätsänderung.

Im vorliegenden Fall unterscheiden sich die mittleren ΔR_M -Werte der beiden Systeme G und H innerhalb der gegebenen Fehlergrenze nur durch das Vorzeichen. Die semilogarithmische Darstellung des Zusammenhangs veranschaulicht Fig. 2.

Aus den Ergebnissen folgt, dass bei einer Derivatbildung das PC Verhalten (unter bestimmten Entwicklungsbedingungen) und die biologische Aktivität gegenüber der Ausgangsverbindung so verändert werden, dass zwischen den Änderungen der beiden Eigenschaften ein Zusammenhang besteht. Diese Beziehung zwischen den Einflüssen einer Funktion auf R_F -Wert und Wirkung bildet die Grundlage für die Korrelation der Größen im Gesamtmolekül.

Wissenschaftliche Laboratorien des VEB Jenapharm,
Jena (D.D.R.)

R. HÜTTENRAUCH
I. SCHEFFLER

- 1 R. HÜTTENRAUCH, *Pharmazie*, 24 (1969) 118.
- 2 A. J. P. MARTIN UND R. L. M. SYNGE, *Biochem. J.*, 35 (1941) 1358.
- 3 J. G. HART, *Dissertation*, Freie Universität, Berlin, 1967.
- 4 B. B. BRODIE, H. KURZ UND L. S. SCHANKER, *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, 130 (1960) 20.
- 5 H. KURZ, *Arch. Exptl. Pathol. Pharmacol.*, 247 (1964) 164.
- 6 H. REMMER, *Deut. Med. Wochschr.*, 91 (1966) 289.
- 7 W. SCHELER, *Grundlagen der allgemeinen Pharmakologie*, Gustav Fischer, Jena, 1969.
- 8 F. W. ALY, H. J. BRAUN, W. R. HADAM UND E. KALLEE, *Arzneimittel-Forsch.*, 18 (1968) 1467.
- 9 W. SCHOLTAN, *Arzneimittel-Forsch.*, 18 (1968) 505.
- 10 W. SCHOLTAN, K. SCHLOSSMANN UND H. ROSENKRANZ, *Arzneimittel-Forsch.*, 18 (1968) 767.
- 11 H. TAHIKAWA, *J. Pharm. Soc. Japan*, 79 (1959) 794.
- 12 J. FERGUSON, *Proc. Roy. Soc. (London)*, Ser. B, 127 (1939) 387.
- 13 R. ZAHRADNIK UND M. CHVAPIL, *Experientia*, 16 (1960) 512.
- 14 R. ZAHRADNIK, *Experientia*, 18 (1962) 536.
- 15 H. J. SMITH UND H. WILLIAMS, *J. Pharm. Pharmacol.*, 17 (1965) 529.
- 16 W. C. HOLLAND, R. L. KLEIN UND A. H. BRIGGS, *Molekulare Pharmakologie*, Thieme, Stuttgart, 1967.
- 17 E. J. LIEN UND C. HANSCH, *J. Pharm. Sci.*, 57 (1968) 1027.
- 18 B. B. BRODIE UND C. A. M. HOGGEN, *J. Pharm. Pharmacol.*, 9 (1957) 345.
- 19 J. RIEDER, *Arzneimittel-Forsch.*, 13 (1963) 81.
- 20 R. CONSDEN, A. H. GORDON UND A. J. P. MARTIN, *Biochem. J.*, 38 (1944) 224.
- 21 K. B. SANDELL, *Monatsh. Chem.*, 89 (1958) 36.
- 22 E. C. BATE-SMITH UND R. G. WESTALL, *Biachim. Biophys. Acta*, 4 (1950) 427.
- 23 J. E. BUSH, *The Chromatography of Steroids*, Pergamon, Oxford, 1961.
- 24 R. HÜTTENRAUCH UND I. KEINER, *Arch. Pharm.*, 301 (1968) 641.
- 25 R. NEHER, *Steroid Chromatography*, Elsevier, Amsterdam, 1964.
- 26 R. HÜTTENRAUCH UND K. MATTHEY, *Arch. Pharm.*, 300 (1967) 1007.

Eingegangen am 8. Dezember 1969; geänderte Fassung am 18. April 1970

J. Chromatog., 50 (1970) 529-533