

Kemi for tiden

Opdagelsen af citalopram og andre SSRI'er

Af funktionschef Klaus P. Bøgesø, H. Lundbeck A/S

Aminhypotesen for depression

Dopamin (DA), noradrenalin (NA) og serotonin (5-hydroxytryptamine, 5-HT) (Fig. 1) er tre signalstoffer, der spiller en afgørende rolle for virkningen af lægemidler til behandling af skizofreni og depression. Reserpin (5), der isoleres fra planten *Rauwolfia serpentina*, blev i mange år brugt til behandling af forhøjet blodtryk. Chlorpromazin (6) udvikledes oprindeligt af firmaet Rhone-Poulenc som antihistaminikum (behandling af høfeber). Men i 50'erne opdagedes det i henholdsvis USA og Frankrig, at begge stoffer havde effekt ved behandling af skizofreni.¹ Stofferne mildnede i betydelig grad de skizofrene psykoser, men samtidig fik patienterne karakteristiske neurologiske symptomer såsom rystelser (parkinsonisme) og ufrivillige bevægelser (dystonier, dyskinesier). Stofferne »greb fat i nerven« og fik fællesbetegnelsen neuroleptika. Alligevel har de to stoffer en helt forskellig virkningsmekanisme. Reserpin medfører »udtøm-

ning« af alle tre signalstoffer ved at påvirke vesiklerne (det naturlige opbevaringssted for signalstofferne, se Fig. 2), således at signalstofferne kan trænge ud i det præsynaptiske neuron. Her nedbrydes de hurtigt af enzymet monoaminoxidase (MAO), der findes i mitokondriernes ydre membran.¹ Chlorpromazin derimod virker ved at blokere postsynaptiske receptorer for dopamin. Nettoeffekten er imidlertid den samme, hvad enten dopamin fjernes ved nedbrydning eller forhindres i at aktivere sin receptor. Disse observationer førte til »dopaminhypotesen for skizofreni«: At de psykotiske symptomer skyldes en overaktivitet af dopamin i visse hjerneområder. De neurologiske bivirkninger opstår, når dopamin-receptorer andre steder i hjernen, involveret i styring af bevægelser, også blokeres.

Reserpinets stærke blodtryksænkende effekt gjorde det i længden ikke velegnet til skizofrenibehandling, mens det fortsat blev brugt til behandling af forhøjet blodtryk. Men efterhånden erkendtes det, at stoffet havde en ubehagelig bivirkning: Det inducerede depression i helt op til 15 til 20% af patienterne. På det tidspunkt var det opdaget, at antituberkulosemidlet iproniazid (4) havde antidepressiv effekt. Det opklarede, at denne virkning skyldtes, at 4 er en effektiv hæmmer af monoaminoxidase. I mus og rotter kan 4 modvirke reserpinets »udtømmende« effekt (der gør, at dyrene immobiliseres) ved at blokere monoaminoxidase, så signalstofferne ikke mere nedbrydes. Imens var synteserne af analoger af chlorpromazi-

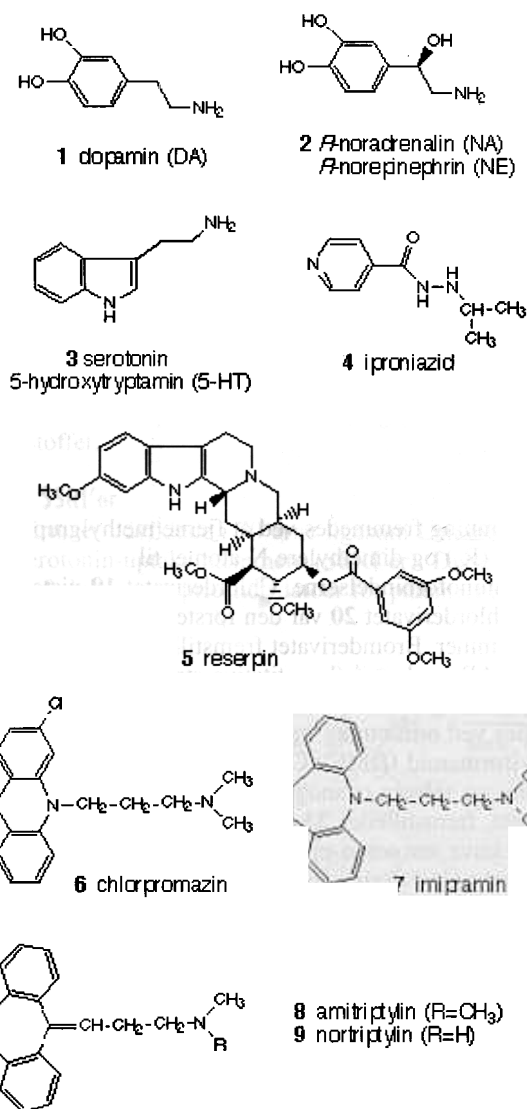


Fig. 1. Depression og skizofreni: Struktur af signalstoffer og tidlige lægemidler

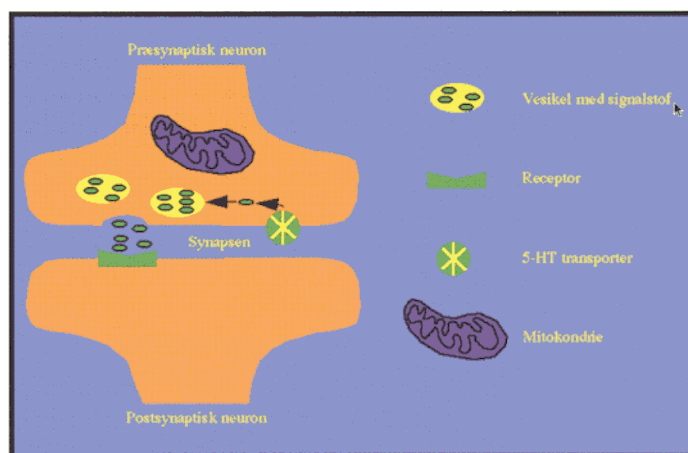


Fig. 2. Synapse. Transporteren er virkningsstedet for antidepressiv medicin

net i gang, og hos Geigy i Schweiz syntetiseredes imipramin (7). Dette stof havde ikke chlorpromazinets dæmpende effekt, men virkede tværtimod stimulerende og antidepressivt i patienter. I dyr kunne 7 som 4 modvirke reserpineffekten, men 7 var ingen monoaminoxidase-hæmmer. Det viste sig, at stoffet virkede ved at blokere de såkaldte transportere (eng. »reuptake sites« eller blot »uptake sites«) for noradrenalin og serotonin. Herved forhindres genoptagelsen af signalstofferne, og deres koncentration øges i synapsen med en stimulerende virkning som følge. Som følge heraf opstod aminhypotesen for depression, som altså går på, at der ved depression er underskud af signalstofferne noradrenalin og serotonin.¹

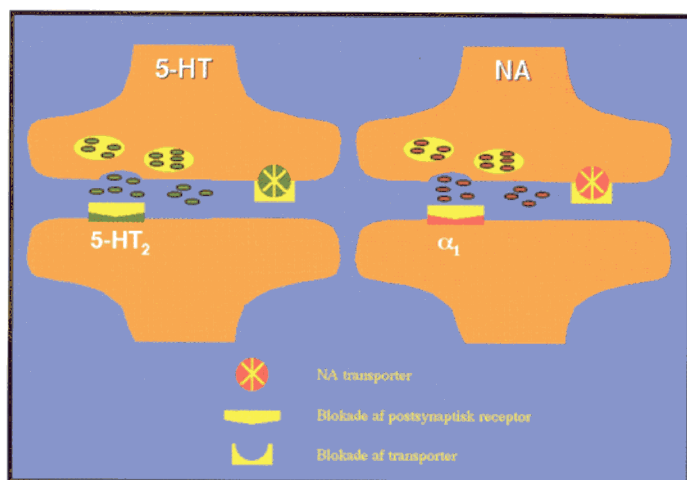


Fig. 3. Virkning af tricykliske antidepressiva

Tricykliske antidepressiva

Hos Lundbeck udvikledes de tricykliske antidepressiva amitriptylin (8), nortriptylin (9) og melitracen (lig med stof 11 uden CF₃-gruppen, Fig. 4). Disse hæmmer alle genoptagelsen af noradrenalin, og 8 hæmmer tillige 5-HT uptake. Men stofferne er ikke selektive, ligesom imipramin og andre tricykliske antidepressiva blokerer de en række postsynaptiske receptorer (Fig. 3), specielt visse receptorer for signalstofferne acetylcholin, histamin, (nor)adrenalin (α_1) og serotonin (5-HT₂).² Stofferne giver derfor forskellige bivirkninger såsom mundtørhed og vandladningsproblemer. Desuden kan hjerte og kredsløb påvirkes, hvilket især er et problem blandt ældre og folk med hjerte-kar-sygdom. Spørgsmålet var derfor, om det var muligt at finde stoffer, der kun blokerede transporterne og ikke postsynaptiske receptorer?

Opdagelsen af talopram

I 1965 ville en kemiker hos Lundbeck syntetisere trifluormethyl derivatet 11 af melitracen. Ved syntesen af melitracen ringsluttedes 10 (uden CF₃-gruppen) ved behandling med koncentreret svovlsyre. Den deaktivierende effekt af CF₃-gruppen gjorde imidlertid, at der dannedes noget andet end det ønskede produkt. Heldigvis blev stoffet testet, og det viste sig yderst overraskende, at det selektivt hæmmede noradrenalin-uptake! Strukturoptiklaring viste, at stoffet var

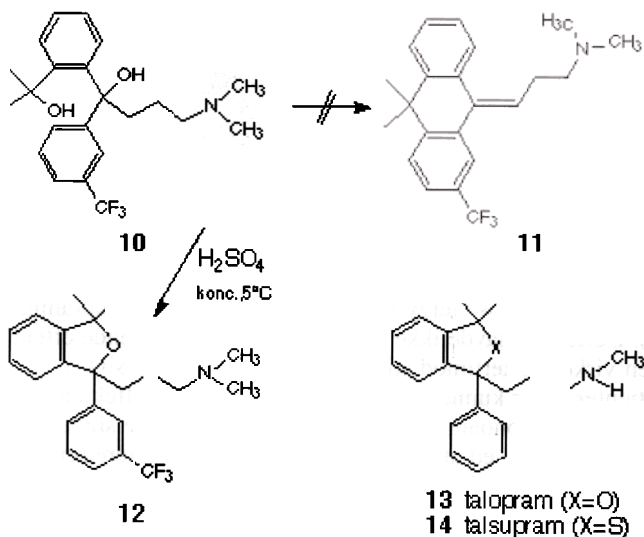


Fig. 4. Den første phenylphthalan syntese: Serendipity!
Talopram og talsupram udvikledes ved variation af 12

phenylphthalanen 12, og dermed havde Lundbeck opdaget de første virkelige selektive noradrenalin-uptake hæmmere! Analog syntese førte til stofferne talopram (13) og talsupram (14), begge ekstremt selektive noradrenalin-uptake hæmmere (se Fig. 5 og Tabel 2).

Opdagelsen af citalopram

Omtrent samtidig med opdagelsen af talopram fremsatte flere forskere (deriblandt svenskeren Arvid Carlsson) og klinikere den hypotese, at det var serotonin, der primært var involveret i depressionen (altså patientens »stemningsleje«, eller engelsk »mood«), medens noradrenalin påvirkede patienters fysiske energi (»aktivering«, engelsk »drive«).³ Carlsson foreslog derfor, at man skulle udvikle helt selektive serotonin-uptake hæmmere - når først stemningslejet var hævet, ville »drive« komme af sig selv.

På Lundbeck var der da syntetiseret nogle få talopram-derivater (17 og 18, Tabel 1), der både hæmmede serotonin- og noradrenalin-uptake. På det tidspunkt var der ikke testmodeller for måling af neuronalt uptake, i stedet måltes hæmning af serotonin-uptake i blodplader fra kaniner, medens noradrenalin-uptake måltes som hæmning af optagelsen af tritieret noradrenalin *in vivo* i musehjerter (Tabel 1). Måling af neuronalt uptake etableredes senere (Tabel 2), men under det meste af projektet anvendtes de nævnte tests. Det var klart, at serotonin-

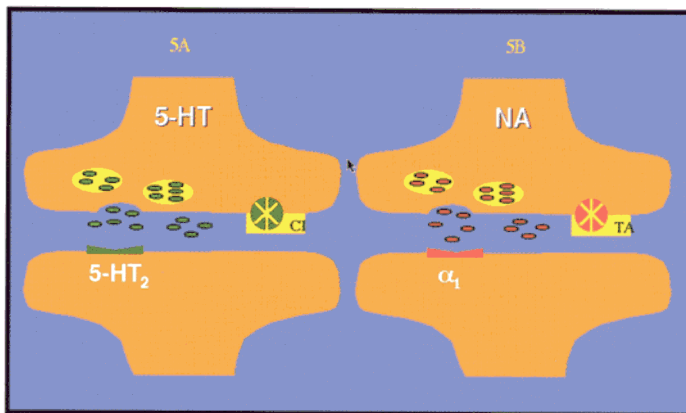


Fig. 5. Citalopram (5A) og talopram (5B) blokerer selektivt transporterne for henholdsvis 5-HT og NA

uptake hæmning fremmedes ved at fjerne methylgrupperne i 1-positionen (R₁) og dimethylere N-atomet til dimethylaminoforbindelserne. Chlorderivatet 19 viste selektivitet, og dichlorderivatet 20 var den første selektive serotonin-uptake hæmmer. Bromderivatet fremstilledes som følge af tidlige QSAR-analyser⁴ (kvantitative struktur-aktivitetsberegninger), og ud fra dette stof kunne cyano-forbindelsen 22 fremstilles ved omsætning med cuprocyanid i dimethylformamid (DMF). Cyanoderivatet viste bedre effekt end brom, og selvom cyanogruppen var en usædvanlig substituent, fremstilledes 23 og 24 (citalopram), begge ekstremt selektive serotonin-uptake hæmmere. Efter kun at have syntetiseret ca. 60 derivater af talopram⁴ var det dermed lykkedes at udvikle en selektiv serotonin reuptake inhibitor (SSRI): Citalopram!

Synteseproblemer

Den første citalopram-syntese var på ni trin og ikke specielt teknisk egnet. 5-Bromphthalid (29) (og senere 5-cyanophthalid, 30) er nøgleintermediater (Fig. 6). I første trin nitreres phthalimid (25) med salpetersyre/svovlsyre. I august 1978 løb en nitring af 20 kg phthalimid løbsk, fordi der under tilsætningen af phthalimid til nitrsyren var kølet for

Lu nr.	Stof nr.	R ₁	R ₂	X	Y	5-HT uptake (in vitro) Kaninblodpl. IC ₅₀ (nM)	NA uptake (in vivo) Muehjerter ED ₅₀ (μmol/kg)
3-010	13	CH ₃	H	H	H	3400	2.2
3-009	15	CH ₃	CH ₃	H	H	53000	5
3-039	16	H	H	H	H	1300	43
3-018	17	H	CH ₃	H	H	600	66
7-087	18	H	H	H	Cl	110	170
8-052	19	H	H	Cl	H	220	>200
9-191	20	H	H	Cl	Cl	24	>80
9-249	21	H	H	H	Br	310	NT
9-270	22	H	H	H	CN	54	23
10-036	23	H	H	CN	Cl	10	>80
10-171	24	H	H	CN	F	38	>40

Tabel 1. 5-HT og NA-uptake hæmning af udvalgte talopramderivater

kraftigt, således at der var for meget ureageret stof i reaktionsmediet. De tre tilstedeværende personer nåede at bringe sig i sikkerhed, så ingen kom til skade, selvom halvdelen af beholdrens indhold slyngedes ud i lokalet. Nitroforbindelsen fremstilledes herefter hos Dynamit Nobel. 5-Aminophthalid (28), der fremstilles gennem to efterfølgende reduktioner, kan ved Sandmeyer-reaktion omdannes til enten 5-brom- eller 5-cyanophthalid. Citalopram fremstilledes første gang fra 5-bromphthalid (29), som vist på Fig. 7. Lundbeck er specialist i at køre Grignard-reaktioner i produktionsskala. Der var ingen tekniske problemer med de første to trin, men omsætningen med cuprocyanid var ikke teknisk egnet. Der udvikledes først en anden proces⁴, ved hvilken de første kilomængder fremstilledes, men heller ikke denne proces viste sig i længden teknisk egnet. Men så opdagedes det, at 5-cyanophthalid helt overraskende kunne omsættes med de to Grignard-reagenser på Fig. 7 og ringsluttet i stærk syre, uden at nitrilgruppen reagerede eller hydrolyserede. Denne proces anvendes i dag til teknisk fremstilling af stoffet.

Gruppen af SSRI'er

En række firmaer udviklede i 70'erne ligesom Lundbeck selektive serotonin-uptake hæmmere (SSRI'er). Disse stoffer er vist på Fig. 8, hvor også prioritetsdatoer for patenterne er vist.

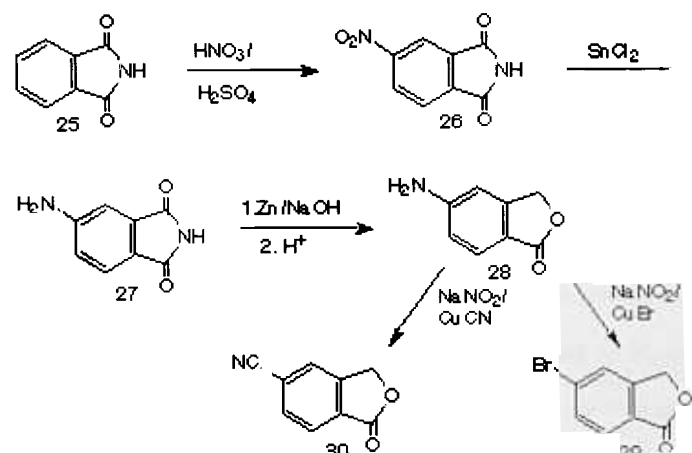


Fig. 6. Syntese af 5-brom- og 5-cyanophthalid

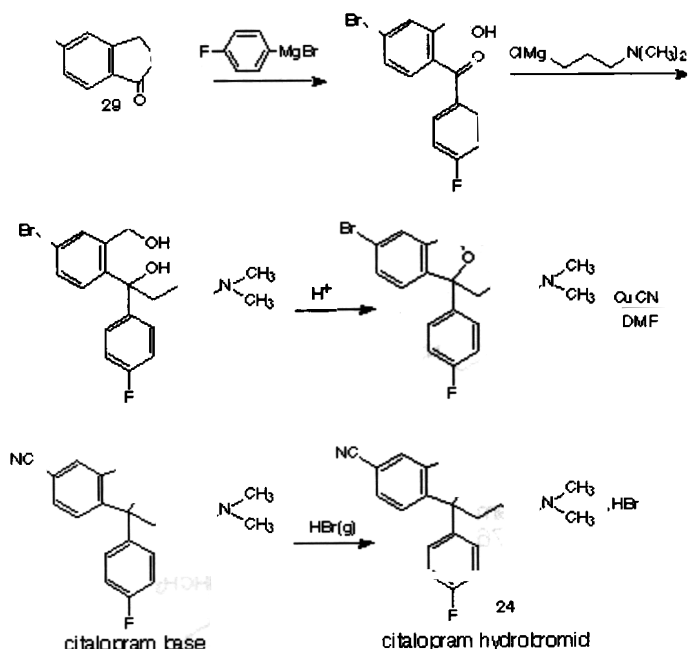


Fig. Den første citalopramsyntese

Selvom citalopram fremstilledes første gang i august 1972, indleveredes det endelige patent af forskellige grunde først i januar 1976. Det interessante er, at ingen firmaer (undtagen Pfizer, der fremstillede sertraline senere) kendte konkurrenternes stoffer, medens opfindelserne stod på. Strukturerne er da også meget forskellige. Alle stoffer udviser imidlertid selektivitet for serotonin-transporteren relativt til noradrenalin- eller dopamin-transporteren (Tabel 2).² Citalopram er det mest selektive stof. Ingen stoffer blokerer i væsentligt omfang postsynaptiske receptorer. SSRI'erne har derfor ikke de bivirkninger, der blev omtalt for de tricykliske stoffer, og stofgruppen har derfor generelt fået en kolossal markedsomfattende udbredelse. De omtales ofte her i landet som »lykkepiller«. Dette er en uheldig betegnelse, idet der ingen effekt er på raske personer, medens navnet kan virke sårende på depressive. To af stofferne i Fig. 8 fik en krank skæbne. Både zimeldin og indalpin blev trukket tilbage fra markedet på grund af sjældne bivirkninger. Zimeldin blev trukket tilbage i september 1983 efter 1 1/2 år på markedet på grund af en influenzalignende reaktion i 1-2% af patienterne, som i sjældne tilfælde (1/10000) udviklede Guillain-Barré syndrom, en sygdom der påvirker nerver, der styrer musklernes bevægelses-evne.⁵ Indalpin viste sig at fremkalde agranulocytose (blod-ændring) i 1/20000 patienter, og det blev trukket tilbage efter mindre end ét år i april 1984.⁶

En generel model for serotonin-uptake sitet

SSRI'ernes strukturer er som vist på Fig. 8 meget forskellige. Alligevel binder de selektivt til samme site. Det er også et

Stof	5-HT	NA	DA	NA/5-HT	DA/5-HT
citalopram	1.8	6100	40000	3400	22200
indalpin	2.1	2100	1200	1000	570
sertraline	0.19	160	48	840	250
paroxetin	0.29	81	5100	280	17600
fluvoxamin	3.8	620	42000	160	11000
zimeldin	56	3100	26000	55	460
fluoxetin	6.8	370	5000	54	740
talopram	1400	2.5	44000	0.0017	0.00006
talsupram	770	0.79	9300	0.0010	0.00008

^aIC₅₀ værdier i nM
(Ref. 2 og Lundbeck's Pharmacological Screening Database).

Tabel 2. Effekten af SSRI'er samt talopram og talsupram på hæmning af uptake af 5-HT, NA og DA^a

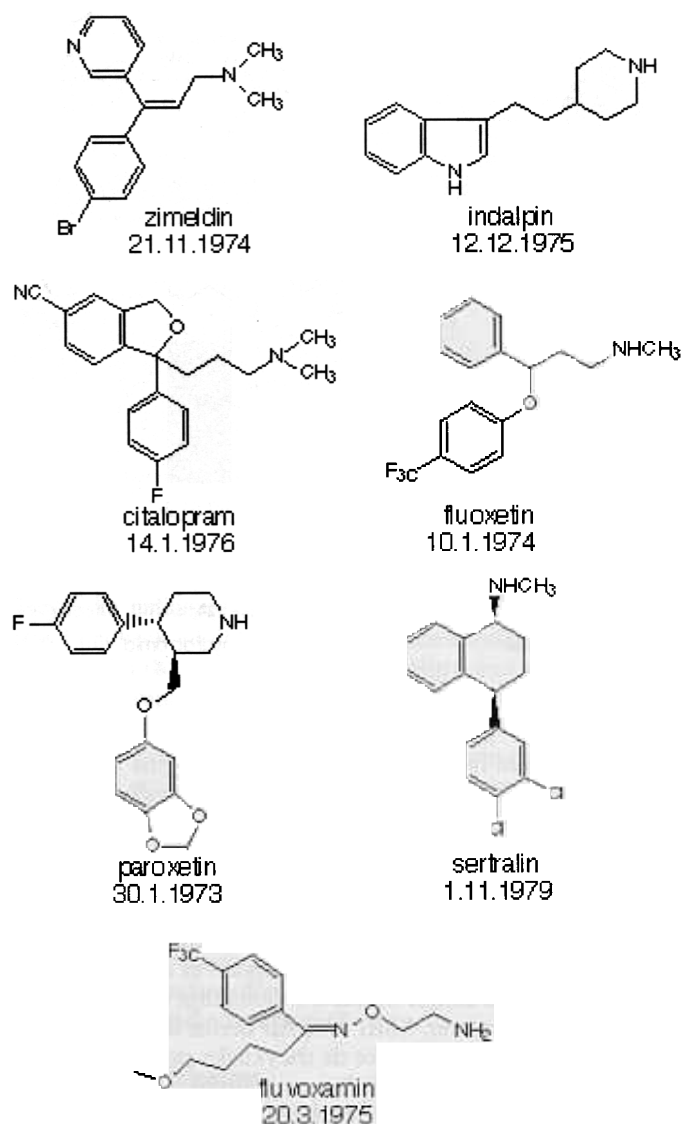


Fig. 8. Struktur af SSRI'er, der er (eller har været) markedsført. De anførte datoer er prioritetsdatoer for patentet

mysterium, hvordan to stoffer, der ligner hinanden så meget som talopram og citalopram, kan have så forskellig aktivitet. For at forklare disse spørgsmål har vi undersøgt stoffernes konformationer med computerbaserede beregnings-metoder (molecular modelling) og sammenlignet alle lavenergikonformationer.⁷ Disse studier har ført til den på Fig. 9 viste farmakoformodel af serotonin-uptake sitet. Når talopram og andre selektive noradrenalin-uptake hæmmere indpasses i modellen, bliver det klart, at de alle, i modsætning til serotonin-uptake hæmmerne, har substituent i området symboliseret med den hvide pyramidestruktur, hvilket

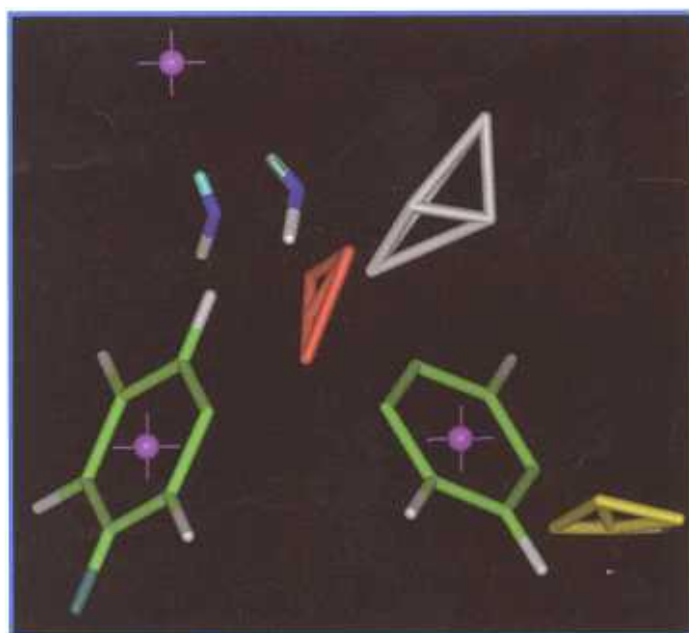


Fig. 9. Farmakoformodel for 5-HT uptake sitet. SP: Hypotetisk bindingssted på 5-HT transporteren. N: Basisk kvælstof i SSRI'erne. Substituenten placeret indenfor den hvide pyramide fremmer NA-uptake hæmning.

rationaliserer noradrenalin-selektivitet. Både citalopram og fluoxetin er racemblandinger. Fluoxetin enantiomererne udviser ringe stereoselektivitet, medens citalopram enantiomererne udviser høj stereoselektivitet. Også dette kan rationaliseres ud fra de steriske energier af de konformationer af enantiomererne, der passer i modellen. Med disse metoder er det derfor vist, at selvom SSRI'erne umiddelbart ser meget forskellige ud, så passer de nøje ind i den samme tredimensionelle model.

En kopi af denne artikel er også tilgængelig på Kemisk Forenings homepage (<http://frederik.ruc.dk/dis/chem/kemfor/kemfor.thm>)

Baggrundsgruppen for »Kemi for tiden«: Gurli Mogenssen, Kemiingeniørgruppen; Preben Albertsen, Kemilærerforeningen; Poul Erik Hansen, Kemisk Forening og Jørn Kofod, Lundbeck.

Referencer

1. S.H. Snyder, *Drugs and the Brain*. Scientific American Library; 18, W.H. Freeman and Company, New York, 1996, 61-119.
2. J. Hyttel, Pharmacological characterization of selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs). *Int. Clin. Psychopharmacology* 9, Suppl. 1 (1994) 19-26.
3. A. Carlsson, H. Corrodi, K. Fuxe og T. Hökfelt, Effect of antidepressant drugs on the depletion of intraneuronal brain 5-hydroxytryptamine stores caused by 4-methyl- α -ethyl-meta-tyramine. *Eur. J. Pharmacol.* 5 (1969) 357-366.
4. A.J. Bigler, K.P. Bøgesø, A. Toft og V. Hansen, Quantitative structure-activity relationships in a series of selective 5-HT uptake inhibitors. *Eur. J. Med. Chem. - Chim. Ther.* 12 (1977) 289-295.
5. A. Kristofferson, og B. Nilsson, Zimeldine: Febrile reactions and peripheral neuropathy. In: *Autoimmunity and Toxicology*. M. E. Kammüller, N. Bloksma og W. Seinen, eds, Elsevier Science Publishers B.V. (Biomedical Division), 1989, 184-213.
6. M.-C. Pérault-Pochat, A. Paillat og B. Vandel, Pharmacovigilance. In: *Thérapeutique psychiatrique*. J.-L. Senon, D. Sechter og D. Richard, eds, Hermann Éditeurs des Sciences et des Arts, 1995, 117-124.
7. K. Gundertofte, T. Liljefors og K.P. Bøgesø, A Stereoselective Pharmacophoric Model of the Serotonin Reuptake Site. In: *Computer-Assisted Lead Finding and Optimization*. H. van de Waterbeemd, B. Testa og G. Folkers, eds, (Basel: VHC), 1997, 443-459.

Rettelser til »Opdagelsen af citalopram og andre SSRI'er«

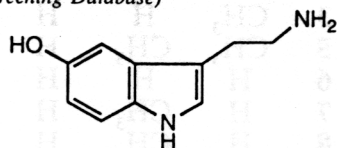
(Dansk Kemi, 79, 2/26
(1998))

Der er desværre fundet
nogle fejl i denne artikel.
Der mangler en
hydroxygruppe i 5-
hydroxytryptamin (3, fig.
1). Den rigtige formel ses
på fig. 1. I tabel 2 er der
udregnet et DA/5-HT-

forhold. For de to sidste
stoffer i tabellen, talopram
og talsupram, er det
imidlertid NA/DA-forhol-
det, der er udregnet. Vi
bringer tabel 2 igen.
Endelig er bogstaverne N
og Sp af uransagelige
årsager forsvundet fra fig.
9. Vi bringer figuren igen.
Red.

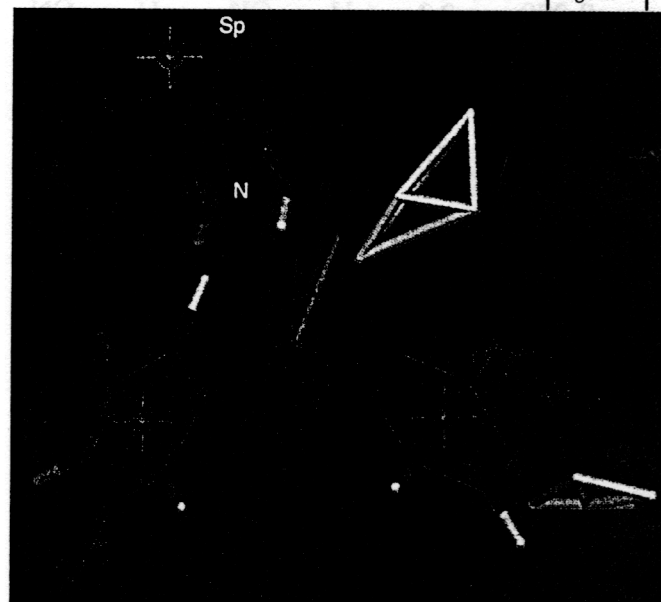
Figur 1. Depression og skizofreni: Struktur af
signalstoffer og tidlige lægemidler.

^aIC₅₀ værdier i nM. ^bNA/DA
(Ref. 2 og Lundbeck's Pharmacological
Screening Database)



3 serotonin
5-hydroxytryptamin (5-HT)

Figur 9

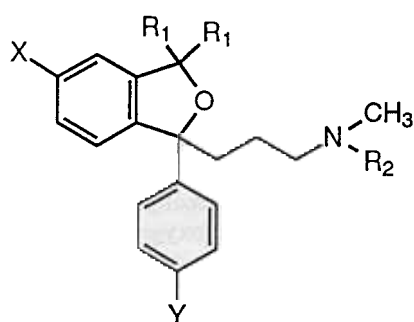


Tabel 2 Effekten af SSRI'er samt talopram og talsupram på hæmning af
uptake af 5-HT, NA og DA^a

Stof	5-HT	NA	DA	NA/5-HT	DA/5-HT
citalopram	1.8	6100	40000	3400	22200
indalpin	2.1	2100	1200	1000	570
sertraline	0.19	160	48	840	250
paroxetin	0.29	81	5100	280	17600
fluvoxamin	3.8	620	42000	160	11000
zimeldin	56	3100	26000	55	460
fluoxetin	6.8	370	5000	54	740
talopram	1400	2.5	44000	0.0017	0.00006 ^a
talsupram	770	0.79	9300	0.0010	0.00008 ^b

^aIC₅₀ værdier i nM. ^bNA/DA
(Ref. 2 og Lundbeck's Pharmacological Screening Database).

Tabel 1. 5-HT- og NA-uptake hæmning af udvalgte talopramderivater



Lu nr.	Stof nr.	R ₁	R ₂	X	Y	5-HT uptake (<i>in vitro</i>) Kaninblodpl. IC ₅₀ (nM)	NA uptake (<i>in vivo</i>) Musehjerte ED ₅₀ (μmol/kg)
3-010	13	CH ₃	H	H	H	3400	2.2
3-009	15	CH ₃	CH ₃	H	H	53000	5
3-039	16	H	H	H	H	1300	43
3-018	17	H	CH ₃	H	H	600	66
7-087	18	H	CH ₃	H	Cl	110	170
8-052	19	H	CH ₃	Cl	H	220	>200
9-191	20	H	CH ₃	Cl	Cl	24	>80
9-249	21	H	CH ₃	H	Br	310	NT
9-270	22	H	CH ₃	H	CN	54	23
10-036	23	H	CH ₃	CN	Cl	10	>80
10-171	24	H	CH ₃	CN	F	38	>40