



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 698 27 149 T2** 2006.03.09

(12)

Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) **EP 1 014 959 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **698 27 149.1**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US98/17033**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **98 942 082.3**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 99/008669**

(86) PCT-Anmeldetag: **17.08.1998**

(87) Veröffentlichungstag

der PCT-Anmeldung: **25.02.1999**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **05.07.2000**

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: **20.10.2004**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **09.03.2006**

(51) Int Cl.⁸: **A61K 31/13** (2006.01)
A61P 25/02 (2006.01)

(30) Unionspriorität:

55847 P **15.08.1997** **US**

(73) Patentinhaber:

Fairbanks, Carolyn Ann, Rochester, Minn., US;

Wilcox, George L., Minneapolis, Minn., US;

Schreiber, Kristin, Mequon, Wis., US; Laughlin,

Tinna Marie, Anoka, Minn., US

(74) Vertreter:

Becker, Kurig, Straus, 80336 München

(84) Benannte Vertragsstaaten:

AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, IT, LI, NL, SE

(72) Erfinder:

Fairbanks, Carolyn Ann, Rochester, US; Wilcox,

George L., Minneapolis, US; Schreiber, Kristin,

Mequon, US; Laughlin, Tinna Marie, Anoka, US

(54) Bezeichnung: **AGMATIN FÜR DIE BEHANDLUNG NEUROPATHISCHER SCHMERZEN**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung**HINTERGRUND DER ERFINDUNG**

[0001] Die vorliegende Erfindung bezieht sich im allgemeinen auf eine Behandlung von chronischem Schmerz und insbesondere von neuropathischem Schmerz. Insbesondere betrifft die vorliegende Erfindung die Verwendung von Agmatin zur Behandlung von neuropathischem Schmerz.

Chronischer Schmerz:

[0002] Eine große Zahl von Krankheitszuständen (z.B. Krebs, AIDS), entzündliche Zustände (z.B. Arthritis), Stoffwechselkrankheiten (z.B. Diabetes) und Verletzungen (z.B. Amputationen) können zu chronischem Schmerz führen, wobei der Schmerz länger als ein paar Monate andauern kann; andere Formen chronischen Schmerzes haben keine bekannte Ursache und werden als idiopathisch bezeichnet. Neuropathischer Schmerz, Schmerz, der sich aus der Dysfunktion des zentralen oder peripheralen Nervensystems ergibt, kann auch eine Konsequenz der Beschädigung peripheraler Nerven oder Regionen des zentralen Nervensystems sein, wobei er aus Erkrankungen resultieren kann oder idiopathisch sein kann. Das gemeinsame Merkmal jeder dieser Schmerzformen ist, dass eine Person unverminderten Schmerz ertragen muss, der normalerweise resistent zu den gebräuchlichen Formen analgetischer Therapie ist.

[0003] Symptome neuropathischen Schmerzes beinhalten ungewöhnliche Empfindungen von Brennen, nervösem Zittern, Elektrizität, Ameisenlaufen, Steifheit, Gefühllosigkeit in den Extremitäten, Gefühle körperlicher Distorsion, Allodynie (Schmerz, der durch harmlose Stimulation der Haut hervorgerufen wird) und Hyperpathie (eine übertriebene Schmerzreaktion, anhaltend, lange nachdem die Schmerzstimuli aufhören).

[0004] Einige übliche Ursachen von neuropathischem Schmerz sind Diabetes, Krebs-Chemotherapie, Herpes zoster-Infektion, cervicale oder lumbale Wurzelkompression infolge degenerativer Wirbelsäulenerkrankung, bösartige Läsionen von Nervenplexus oder Wurzel, Nerven-Degeneration, beispielsweise durch Amputation, HIV-Infektion und Läsionen zentraler Schmerz-Nervenbahnen, einschliesslich Tractus spinothalamicus, Thalamus oder Thalamustrahlungen. (Max, 1991)

[0005] Weitere Ursachen von neuropathischem Schmerz schließen Arzneimittel-verursachte oder toxische Neuropathien ein. Beispielsweise verursachen Antivirale dd1 und ddC gewöhnlich periphere Neuropathien, ebenso Phenytoin (ein Anfallsmedikament), Isoniazid (ein Tuberkulosemedikament), Vincristin (ein krebs-chemotherapeutisches Mittel), hohe Vitamindosen und Folsäure-Antagonisten.

[0006] Üblicherweise verwendete Analgetika, wie z.B. Morphin, Kodein, Tramadol und Aspirin haben sich bei neuropathischem Schmerz vorübergehend als effektiv lindernd erwiesen. Jedoch sind die analgetischen Effekte dieser Verbindungen fast immer vorübergehend. Der Großteil der Patienten, die mit diesen Mitteln behandelt werden, erfahren weiterhin Schmerz, sofern das Analgetikum nicht wieder verabreicht wird.

[0007] Sowohl wissenschaftliche als auch klinische Erfahrung deuten darauf hin, dass Zustände neuropathischen Schmerzes chronisch nur schwierig mit narkotisierenden Analgetika (z.B. Morphin) zu behandeln sind. Darüber hinaus rufen sowohl narkotisierende und einige nicht-narkotisierende (z.B. Clonidin, ein alpha-2 adrenerger Rezeptor-Agonist) Analgetika kontraindizierende Nebenwirkungen hervor, einschließlich Konstipation (Opioid), Hypotension (Sympathomimetikum), Atemdepression (Opioid), pharmakologische Toleranz (Opioid und Sympathomimetikum), physische Abhängigkeit/Entzug (Opioid), Sedierung (Opioid und Sympathomimetikum) und trockener Mund (Sympathomimetikum). Diese Nebenwirkungsprofile können auf beides einwirken, physische Verteilung und Patienten-Toleranz/Akzeptanz analgetischer Therapie, die diese Mittel verwendet. Eine Zahl andere Substanzen mit unterschiedlichen Erfolgsgraden bei der Behandlung neuropathischen Schmerzes wurde ebenso verwendet. Diese beinhalten das Antidepressivum Amitriptylin, das Anticonvulsivum Carbamazepin, das antiarrhythmische Medikament Mexiletin und die lokalen Betäubungsmittel Lidocain und Tocaïmid; diesen Mitteln mangelt es auch an beschränkter Effektivität oder signifikanten Nebenwirkungen. (Dray et al. 1994) Die Einschränkungen des gegenwärtigen Instrumentariums von Analgetika verlangen nach einer Entwicklung nicht-toxischer Therapeutika mit neuen oder unentdeckten Wirkmechanismen. Von diesen Entwicklungen wurden mehrere Patente auf derartige Verbindungen zuletzt erteilt.

[0008] Mayer et al., U.S. Patent Nr. 5,352,683 offenbart die Verabreichung von nicht-toxischem N-Methyl-D-Aspartat (NMDA)-Rezeptor-Antagonisten, wie Dextromethorphan, Dextrorphan oder Ketamin für die Behandlung von chronischem Schmerz.

[0009] Pert et al., U.S. Patent Nr. 5,534,495 beschreibt eine Behandlung für nicht-HIV neuropathischen Schmerz durch Verabreichung einer wirksamen Menge eines Peptids, dem es möglich ist, den Verlust, die Zerstörung oder Dysfunktion zellulärer Teile zu blockieren, die zu nicht-HIV neuropathischem Schmerz führen.

[0010] Justice et al., U.S. Patent No. 5,587,454 diskutiert die Verwendung von Omega-Conopetiden, um Analgetika für bestimmte Arten von neuropathischem Schmerz herzustellen, in welchen von Morphinum nicht erwartet wurde, dass es positive Resultate zeigt.

[0011] Anders als die Vermeidung durch Vorbehandlung oder akute Schwächung durch Nachbehandlung mit dem NMDA-Rezeptor-Antagonisten (z.B. Dextromethorphan, Ketamin), die in Patent Nr. 5,352,683 beschrieben wurden, beobachten wir, dass die Nachbehandlung mit Agmatin einen chronischen und vielleicht permanenten Umschwung von schmerzverwandtem Verhalten verursacht, das durch chemische Behandlung oder spinale Nervenligatur hervorgerufen wird, verursacht.

[0012] Um beim Studium von neuropathischem Schmerz zu unterstützen, wurden Techniken entwickelt, um Allodynie bei Mäusen oder Ratten durch Injektion von Dynorphin A chemisch hervorzurufen (Laughlin et al. 1997 und Vanderah et. al. 1996) und mechanische Allodynie bei Mäusen oder Ratten durch L5/(L6) spinale Nervenligatur hervorzurufen (Kim und Chung 1992; Chung und Chung 1997.)

Agmatin:

[0013] Von Agmatin wird angenommen, dass es ein endogener Ligand für den Imidazolin-Rezeptor (Li. Et al. 1994) ist. Zusätzlich schlagen veröffentlichte Studien vor, dass Agmatin auch die Enzym-Neuronale-Salpetersäure-Synthase (nNOS) (Galea, 1996), welche entsprechend in Neuronen gefunden wird, als auch induzierbare Salpetersäure-Synthase (iNOS) (Auguet et al. 1995 und Galea et al. 1996) blockiert, welche in Immunzellen durch inflammatorische Stimuli verursacht wird. Andere veröffentlichte Studien haben ergeben, dass systemische Vor- oder Co-Behandlung mit Agmatin den Excitotoxin-verursachten Verlust von Zellen in primären Cerebellar-Kulturen und Tiermodellen von Ischemia verringert (Gilad et al. 1996) und Gilad et al., wobei U.S. Patent Nr. 5,677,349 eine Behandlung für Schlaganfall beschreibt. Obwohl Agmatin NMDA-Rezeptoren antagonisieren kann (Yang und Reis, 1997), haben wir bestimmt, dass der für den anti-neuropathischen Schmerz mindestens hier beanspruchte therapeutische Effekt, weit unter der notwendigen Dosis zur Blockade dieser Rezeptoren liegt. Dieses Ergebnis schlägt vor, dass andere Mechanismen für die therapeutischen Effekte von Agmatin, die wir hier beanspruchen, verantwortlich sind.

[0014] Zusätzlich beschreibt US-A-5,574,059 Agmatin als I₂ Imidazolin-Rezeptor-Agonist. AT-B-393 079 beschreibt die Verwendung von Agmatin zur Hemmung von Querverbindungs-(Cross-Linking)-Kollagen. EP-A-494 848 beschreibt Agmatin zur Medikamentenvorbereitung zur Behandlung Endotoxin-verursachter Effekte. US-A-4,507,321 offenbart Agmatin in Zusammensetzungen zur Regulierung epithelischen Zellwachstums. Kate J. Badley et al. beschreibt in Eur. Jour. Pharmacol., 331 (2/3), 1997, pp. 133–138 Studien, die den Effekt von Agmatin auf spinal nozizeptive Reflexe betrachten.

LITERATURVERZEICHNIS

- Aanonsen, L. M., Wilcox, G. L. (1986) Phencyclidine selectively blocks a spinal action of N-Methyl-D-Aspartate in mice. *Neurosci. Lett.* 67: 191–197.
- M. Auguet et al. (1995) Selective Inhibition of Inducible Nitric Oxide Synthase by Agmatine, *JAPAN J. PHARMACOL.* 69, 285.
- R. Beitel et al. (1976) Response of Unmyelinated (C) Polymodal Nociceptors to Thermal Stimuli Applied to Monkey's Face, *NEUROPHYSIOLOGY* 39, 1160.
- Bradley KJ and Headley PM Effect of Agmatine on spinal nociceptive reflexes: lack of interaction with alpha2-adrenoceptor or mu-opioid receptor mechanisms. *European Journal of Pharmacology.* 331(2–3):133–8, 1997 Jul 23.
- H. Bratzke et al. (1988) Drug-induced Unconsciousness With Subsequent Criminal Acts, *ARCHIV FÜR KRI-MINOLOGIE* 181, 33.
- Chung, K., Noh, H., Chung J. M. (1996) The development of tactile hypersensitivity varies among strains of the mice after a peripheral nerve injury. *Soc. Nsci Abst.* 22(2): 864.
- D. Corbett (1989) Possible Abuse Potential of the NMDA Antagonist MK-801, *BEHAVIORAL BRAIN RESEARCH* 34, 239.
- Dalo, NL and Larson, AA Effects of urethane and ketmaine on substance P- and excitatory amino acid-induced behavior in mice. *European Journal of Pharmacology* 1990 Aug 2; 184 (1) 173–177.

- M. Dillman (1995) Substance Abuse in the Perioperative Setting, AORN J.62,111. A. Dray et al. (June 1994) Pharmacology of Chronic Pain, TIPS 15, 190.
- Fairbanks, C. A. and Wilcox, G. L. Acute tolerance to spinally administered morphine compares mechanistically with chronically induced morphine tolerance. J Pharmacol Exp Ther. 282:1408–1417 (1997).
- E. Galea et. al. (1996) Inhibition of Mammalian Nitric Oxide Synthases by Agmatin, an Endogenous Polyamine Formed by Decarboxylation of Arginine, BIOCHEM J. 316, 247.
- G. Gilad et al. (1996) Agmatine Treatment is Neuroprotective in Rodent Brain Injury Models, LIFE SCIENCES 58, PL41-6.
- R. Johansson et al. (1980) Thresholds of Mechanosensitive Afferents in the Human Hand as Measured with von Frey Hairs, BRAIN RESEARCH 184, 343.
- Kim, S. H., Chung, J. M. (1992) An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. Pain 50(3) 355–63.
- Kolesnikov, Y., Jain, S. and Pasternak, Modulation of opioid analgesia by Agmatin. Eur. J. Pharm. 296:17–22 (1996).
- R. LaMotte et al. (1986) Tactile Detection of a Dot on a Smooth Surface: Peripheral Neural Events, J. NEUROPHYSIOLOGY 56, 1109.
- T. Laughlin et al. (1997) Spinally Administered Dynorphin A Produces Long-Lasting Allodynia: Involvement of NMDA but not Opioid Receptors, PAIN 72, 253.
- Li, G., Regunathan, S., Barrow, C. J., Eshraghi, J., Cooper, R., Reis, D. J. (1994) Agmatin: an endogenous clonidine-displacing substance in the brain [see comments]. Science 263 (5149): 966–969.
- M. Max (1991) Neuropathic Pain Syndromes, ADVANCES IN PAIN RESEARCH & THERAPY 18.
- Pinthong, D., Wright, I. K., Hanmer, C., Millns, P., Mason, R., Kendall, D. A., Wilson, V. G. (1995) Agmatin recognizes alpha 2-adrenoceptor binding sites but neither activates or inhibits alpha 2-adrenoceptors. 351(1): 10–16.
- T. Vanderah et al. (1996) Single Intrathecal Injections of Dynorphin, A or des-Tyrdynorphins Produce Long-Lasting Allodynia in Rats: Blockade by MK-801 but not Naloxone, PAIN 68, 275.
- Yamamoto T and Yaksh TL Studies on the spinal interaction of morphine and the NMDA antagonist MK-801 on the hyperesthesia observed in a rat model of sciatic mononeuropathy. Neuroscience Letters 1992 Jan 20; 135(1): 67–70.
- Yang, CY. Wong. CS, Chang, JY. Intrathecal ketamine reduces morphine requirements in patients with terminal cancer pain. Canadian Journal of Anaesthesia 1996 Apr; 43(4):379–83.
- Yang, X. C., Reis, D. L.(1997) Agmatin selectively blocks the NMDA subclass of glutamate receptor channels in cultured mouse hippocampal neurons. Soc. Neurosci. Abstracts 23(2): 1763.

KURZE ZUSAMMENFASSUNG DER ERFINDUNGEN

[0015] Die vorliegende Erfindung liefert die Verwendung von Agmatin in der Vorbereitung eines Medikaments in einem Verfahren zur Behandlung neuropathischen Schmerzes, wobei das Verfahren die Verabreichung einer effektiven Menge an Agmatin umfasst.

KURZE BESCHREIBUNG DER ZEICHNUNG

[0016] [Fig. 1](#) ist ein Graph, der zeigt, dass Agmatin eine dosis-abhängige Befreiung von permanenter Dynorphin-verursachter Allodynie in Mäusen hervorruft.

[0017] [Fig. 2](#) ist ein Graph, der zeigt, dass Agmatin eine dosis-abhängige Befreiung von permanenter L5 Ligatur-verursachter Allodynie in Mäusen hervorruft.

[0018] [Fig. 3A](#) ist ein Graph verschiedener Behandlungsmodi zur Befreiung von permanenter L5-Ligatur-verursachter Allodynie in Mäusen 2 Stunden nach Agmatin-Behandlung.

[0019] [Fig. 3B](#) ist ein Graph der Agmatin-Hemmung von NMDA-hervorgerufenem Verhalten.

GENAUE BESCHREIBUNG DER BEVORZUGTEN AUSFÜHRUNGSFORMEN

[0020] Die vorliegende Erfindung liefert die Verwendung von Agmatin in der Vorbereitung eines Medikaments in einem Verfahren zur Behandlung neuropathischen Schmerzes.

[0021] Agmatin ist eine endogenes Amin, das durch die enzymatische Decarboxylation der Aminosäure Arginin hergestellt wird.

[0022] Es wurde festgestellt, dass die Verabreichung von Agmatin mit NMDA- (Yang und Reis 1997) Alpha-2-adrenergischen- (Pinthong) und Imidazolin- (Li et al. 1994) -Rezeptoren wechselwirkt, zusätzlich zu verschiedenen Isoformen von Salpetersäure-Synthase (Auguet et. al., 1995 und Galea et. al., 1996). Es kann durch eine oder eine Kombination dieser Interaktionen geschehen, dass Agmatin plastische Ereignisse im zentralen oder peripheren Nervensystem moderiert und/oder umkehrt, so wie das Rückenmark, was zu unerwünschter klinischer Folgeerscheinung, so wie Toleranz zu Opioiden und neuropathischem Schmerz führt.

[0023] Die Verabreichung von Agmatin nach einem neuropathisch Schmerz-verursachenden Ereignis bringt den Patienten dabei zu einem schmerzfreien Vorverletzungs-Zustand zurück. Es wird auch angenommen, dass die Verabreichung von Agmatin vor dem neuropathischen Schmerz-verursachenden Ereignis den vom raschen Ereignis erwarteten neuropathischen Schmerz verhindern oder im Wesentlichen verringern wird.

[0024] Langanhaltende Allodynie (100 Tage) wurde in Mäusen durch eine einfache intrathekale Injektion von Dynorphin A hervorgerufen, einem opioiden Peptid, von welchem angenommen wird, dass es neuropathische Wechsel hervorruft. (Laughlin et al. 1997). Die Dynorphin-hervorgerufene Allodynie erhöht die Sensitivität von nicht-noxischer mechanischer Stimulation der Haut durch Anwendung von von Frey Filamenten, welche eine konstante Kraft liefern, wenn sie auf ihre Biegestelle angewandt werden. Die Verwendung von von Frey Filamenten zum Messen der Sensitivität zu mechanischen Stimuli oder Punktdruck ist eine gut etablierte Technik in der Schmerzforschung. (Siehe Beitel et al., 1976; Johansson et al., 1980; und LaMotte et al. 1986). Tiere, die mit Dynorphin A behandelt wurden, reagieren auf von Frey Filamente von geringer Kraft (0,4 mN); zum Vergleich, Kontrollmäuse reagieren mit einer Frequenz von 10% zu der gleichen Kraft (0,4 mN) und gleichen Stimulationszahl. Der Unterschied zwischen den Dynorphin-behandelten und den Vergleichsmäusen stellt eine Hypersensitivität der Dynorphin-behandelte Mäuse zu dem Wert der mechanischen Kraft dar. Diese Hypersensitivität zeigt eine erhöhte Sensitivität zu Stimuli dar, die normalerweise nicht noxisch sind und von dem angenommen wird, ein Maß von Allodynie zu sein und neuropathischen Schmerz darzustellen.

[0025] Dynorphin A-behandelte Mäuse, denen Agmatin einen Tag nach der chemischen Verletzung verabreicht wurde, reagieren nicht länger auf von Frey-Filament-Stimulation beim gleichen Niveau wie Dynorphin A-behandelte Mäuse, die keine Agmatin-Nachbehandlung bekommen haben. Die Agmatin-behandelten Mäusen reagierten vergleichsweise wie Salzlösungsvorbehandelte Kontrollmäuse.

[0026] Spinale Verabreichung von Agmatin innerhalb eines Tages von Dynorphin-verursachter Spinalverletzung befreit das Rückenmark von der Entwicklung von Dynorphin-verursachter Allodynie. Intrathekale Verabreichung von Agmatin ergibt ähnliche Ergebnisse, wenn die Injektion innerhalb 2–3 Tage nach der Dynorphin-verursachten Spinal-Verletzung verabreicht wird.

[0027] Agmatin, das bei Dosen von bis zu 100 Nanomol verabreicht wird, ist ohne analgetischen Effekt und im Gegensatz zu den Analgetika, erscheint Agmatin Tiere von ihrem ständigen Schmerzzustand ständig zu befreien, da Agmatin die Sensitivität zu den Vergleichswerten während der Studiendauer von 24 Tagen verringert.

[0028] Ein Vorteil der Verabreichung von Agmatin, verglichen zur Verwendung anderer NOS-Inhibitoren und NMDA-Rezeptor-Antagonisten, ist ein offensichtliches Fehlen von Nebenwirkungen. Beispielsweise stellen andere NOS-Inhibitoren und NMDA-Rezeptor-Antagonisten spinale Toxizität dar, die hintere Gliedmaßen-Paralyse und/oder Hyper-Lokomotion aufweisen, wenn sie bei Verwendung von Labortieren ausgewertet.

[0029] Zusätzlich, wird von anderen nicht-konkurrierenden NMDA-Rezeptor-Antagonisten, wie Ketamin, die für therapeutische Anwendung erforscht werden, angenommen, dass sie Missbrauchs-Potential besitzen. (Bratzke et al. 1988, Corbett, 1989 und Dillman, 1995) Agmatin kann oral, sub-lingual, intranasal, bukkal, parenteral, intrathekal, epidural, topikal oder rektal verabreicht werden. Abhängig von der gewünschten Verabreichungstechnik, kann Agmatin in einer Suspension, einer Lösung oder einer Emulsion in einem wässrigen oder öligen Träger gebildet sein, um die Verabreichung des Agmatins zu unterstützen. Agmatin kann auch mit Suspensions-Mitteln, Stabilisierungsmitteln oder Dispersionsmitteln gemischt sein.

[0030] Effektive Verabreichungswerte von Agmatin variieren von Zustand und Umständen des Patienten, der behandelt wird. Wie Fachleute erkennen, werden viele Faktoren, wie Alter, Körpergewicht, Geschlecht, Diät und Zustand des Patienten, die Zeitspanne zwischen der Verletzung und der Verabreichung von Agmatin und die Verabreichungstechnik, die die Wirkung eines aktiven Bestandteils verändern, durch einen behandelnden Arzt in Betracht gezogen. Eine Person mit normalen technischen Fähigkeiten wird fähig sein, die optimale Dosierung einer gegebenen Anzahl von Zuständen mit Sicht auf die hier enthaltenen experimentellen Daten zu

gewährleisten.

[0031] Wir beobachten NMDA-Antagonismusverhalten mit einer Effektivität bei Mäusen mit einem ED₅₀ von ungefähr 6.8 µg (30 nmol) von Agmatin pro Maus. Dalo und Larson (1990) beobachteten NMDA-Antagonismus-Verhalten bei Mäusen für Ketamin mit einem ED₆₀ von ungefähr 78 ng (0,3 nmol) Ketamin (einen NMDA-Rezeptor-Antagonist in klinischer Entwicklung) pro Maus. Wir schätzen den ED₅₀-Wert für Agmatin:Ketamin in Mäusen auf ungefähr 100:1 (Agmatin ist 100 mal schwächer) in diesem besonderen Test von NMDA-hervorgerufenen Nozizeption, wenn sie intrathekal verabreicht wird. Der intrathekale Dosisbereich, wo Ketamin beim Menschen aktiv ist, beträgt ungefähr 1 mg (3,6 µMol) (Yang et. Al., 1996). Wenn die Maus-intrathekale Agmatin:Ketamin-Stärkeverhältnis verwendet wird, schätzen wir die NMDA-Antagonismus-Dosen für Agmatin für intrathekale Verabreichung auf ungefähr 82 mg (360 µMol) beim Menschen.

[0032] Die benötigten Dosen, um die Agmatin-verursachte Allodynie umzukehren, ist ungefähr 100 mal geringer als jene verwendete, um das NMDA-verursachte Verhalten zu antagonisieren. Deshalb schätzen wir, dass die Anti-allodynischen Dosen für Agmatin ungefähr 0,82 mg (3,6 µMol) beim Menschen betragen. Wir sagen vorher, dass die effektive intrathekale Dosis von ungefähr 0.03–10 mg beim Menschen ausreicht.

BEISPIELE 1–3

[0033] Die folgenden Beispiele werden vorgestellt, um die Aspekte der vorliegenden Erfindung weiter zu beschreiben. Die in den Beispielen dargestellten Daten, beschreiben die Effektivität von Agmatin in der Erleichterung/Linderung von nozizeptivem (allodynischem) Verhalten bei Mäusen, die entweder chemisch (durch Aussetzung zu endogenem Dynorphin, Beispiel 1, Vanderah et. al., 1996; Laughlin, et. al. 1997) oder mechanisch leiden (durch Ligatur des L5 Spinalnervs, Kim und Chung 1992; Chung und Chung 1997). Es ist wichtig anzumerken, dass dieses Ligaturmodell von vielen Schmerzforschern als das Standard-Modell schlechthin von neuropathischem Schmerz bei Nagern betrachtet wird. Beispiel 3 stellt einen Vergleich zwischen den Fähigkeiten höherer Dosen Agmatins zu 1) Hemmen akut mechanischer Allodynie, die durch L5 Ligatur hervorgerufen wird, und zu 2) Hemmen akut nozizeptiven Verhaltens (Beißen), das durch intrathekale Verabreichung von 0,3 nmol von exzitatorischer Aminosäure analog zu N-Methyl-D-Aspartat (NMDA) verursacht wird. Diese Beispiele sind nicht beabsichtigt, den Schutzbereich der vorliegenden Erfindung zu beschränken.

AUSLÖSUNG VON ALLODYNIE.

[0034] Agmatin wurde untersucht für die mögliche Umkehrung von Allodynie, die durch eines von zwei Verfahren hervorgerufen wird: Dynorphin-verursachte Allodynie und L5 Spinalnerv Ligatur-verursachte Allodynie. Alle experimentellen Versuchstiere waren 15–25 g männliche ICR Mäuse (Harlan, Madison, WI). Alle Mäuse wurden in Zehnergruppen in Temperatur- und Luftfeuchtigkeit-gesteuerten Umgebungen für vier bis fünf Tage vor der Versuchsreihe untergebracht. Alle Tiere wurden in einem 12 Stunden hell/dunkel Zyklus aufbewahrt und hatten freien Zugang zu Nahrung und Wasser. Jedes Tier wurde nur einmal verwendet. Basis-Messungen (Tag 0) wurden bei allen Versuchstieren vor der Dynorphin-Injektion oder L5 Spinalnerv-Ligatur durchgeführt. Um Allodynie durch chemische Manipulation hervorzurufen, wurde Dynorphin intrathekal (3 nmol, i. t., Laughlin et. al., 1997) injiziert. Um Allodynie durch mechanische Manipulation hervorzurufen, wurde die L5 Spinalnerven gemäß dem Verfahren von Kim und Chung, 1992, abgebunden, wie es für Mäuse durch Chung und Chung, 1997, modifiziert wurde. Kurz beschrieben, unter tiefer Halothan- (2–3%) Anästhesie, wurde der linke Paraspinal-Muskel einer Maus von den spinösen Prozessen bei den L4–S2 Niveaus getrennt und entfernt. Bei dieser Stufe war der L6 transverse Prozess und die rostrale Spitze des Sakrums sichtbar. Der L6 transverse Prozess wurde dann entfernt, um die L4–L6 Spinalnerven visuell zu erkennen. Die L5 Spinalnerven wurden mit einem 6-0 Seidenfaden eng abgebunden (ligiert). Nachdem die Hämostase bestätigt wurde, wurde die Wunde mit 3-0 Seidenfaden vernäht und die Haut wurde mit sterilen Wundverschlüssen geschlossen. Das Tier wurde dann in eine moderne, geheizte, mit Sauerstoff angereicherte Kunststoff-Einschließung gebracht, um die Heilung zu erleichtern. Die Tiere waren innerhalb von dreißig Minuten nach Aufhören des Anästhesiakums vollständig beweglich. Zum Vergleich wurde in einer separaten Gruppe von Tieren eine Schein-Operation durchgeführt, die gleich zu der vorherstehenden war. Der einzige Unterschied mit den schein-operierten Tieren war, dass ihre L5 Spinalnerven nicht ligiert wurden.

[0035] Experimenteller Plan ([Fig. 1](#), [Fig. 2](#)). Allodynie zu mechanischer Stimulation durch von Frey (vF) Monofilamentanwendung (zu dem Biegepunkt) wurde in den Dynorphin-verursachten Allodynie-Experimenten gemäß dem Verfahren, das durch Laughlin et. al, 1997 beschrieben wird, durchgeführt. Während jeder Testperiode wurde Kraft (0,4 mN) durch Anwendung des vF-Filaments zu dem Biegepunkt 3 Mal zu der Dorsalseite jeder Hinterpfote verabreicht. Die Daten wurden für einen Gesamtwert von 6 Stimulationen pro Tier pro Zeit-

punkt verteilt. Die Daten wurden als eine Reaktion der 6 Stimulationen ausgedrückt ((# der Fußentnahmen oder des Fußzitterns/6)·100).

[0036] Allodynie zu mechanischer Stimulation durch vF-Monofilament wurde in den L5 Ligatur-verursachten Allodynie-Versuchsmäusen separat für jede Hinterpfote ausgewertet. Während jeder Testperiode wurde Kraft (0,4 mN) 5 Mal zu der Ventralseite von jeder Hinterpfote in zwei separaten Versuchen für einen Gesamtbetrag von 10 Stimulationen pro Testperiode verabreicht. Basismessungen zeigten keinen Unterschied zwischen linken (L) und rechten (R) Pfoten (n = 111 Mäuse; L: 15% (s.e.m.: 1,3) R: 17 % (s.e.m.: 1,3) p > 0,05). Folgend einer unilateralen Nervenligatur, wurde ein signifikanter Unterschied zwischen linken und rechten Hinterpfote (n = 75, L: 55 % (s.e.m. 2,1) R: 33 % (s.e.m.: 2,6) p<0,05) beobachtet. Die linke Pfote stellt die Pfote ipsilateral zu dem verletzten Nerv dar und zeigt verstärkte Sensitivität relativ zu der rechten Pfote, welche kontralateral zu der Seite der Verletzung ist. Die Daten sind als die Delta-Prozent-Reaktion von 10 Stimulationen ausgedrückt (%-Reaktion bei jedem spezifizierten Zeitpunkt D %-Reaktion der Basis). Der Schein-Operation folgend, wurde kein signifikanter Unterschied zwischen linken und rechten Hinterpfoten festgestellt (n = 23, L: 27% (s.e.m. 4,8); R: 20 % (s.e.m.: 3,1) p>0,05). Einfache Tiere (Erhalten des selben Betrags von Stimulation zu gleichen Zeitpunkten) zeigen vergleichbare Reaktionen zwischen linken und rechten Pfoten (n=13, L:5,4 % (s.e.m. 2,4); R: 12 % (s.e.m.: 3,2) p > 0,05). Gemeinsam zeigen diese Ergebnisse an, dass die erhöhte Sensitivität der ipsilateralen Pfote zu der Ligatur entsprechend auf den speziellen mechanischen Schmerz zurückzuführen ist, der durch die Nervligatur entsteht. Am Tag, der der Dynorphininjektion oder L5-Ligatur folgte, wurde die Allodynie wie oben beschrieben eingeschätzt. Agmatin (0,1, 0,3, 1, 3, 4, 10, 30, 40, 60, 100 nmol, i. t.) oder Salzlösung wurde ständig als eine einfache i. t. Injektion verabreicht. Die folgenden experimentellen und Vergleichs-Gruppen waren in den meisten Experimenten enthalten:

Einfach (keine Injektion), notwendig, um die Basisreaktion über wiederholte Stimulationen zu bestimmen.

Einfach + Agmatin, notwendig als eine Kontrolle für Änderungen, die durch Agmatin auf normale Versuchstiere hervorgerufen wurden.

Salzlösung oder vorgetäuscht + Salzlösung, notwendig als eine Kontrolle für Veränderungen, die durch Stress der intrathekalen Injektion hervorgerufen wurden.

Salzlösung oder vorgetäuscht + Agmatin, notwendig als eine Kontrolle für Veränderungen, die durch Agmatin in Salzlösung-injizierten Versuchstieren hervorgerufen wurden.

Dynorphin oder L5 + Salzlösung, notwendig um zu sehen, ob die chemische oder mechanische Manipulation effektiv im Hervorrufen von mechanischer Allodynie war.

Dynorphin oder L5 + Agmatin. Die experimentelle Gruppe zeigt, ob die Zusammensetzung effektiv war, um das Versuchstier vor Dynorphin-verursachter Allodynie zu befreien.

[0037] Nach der Injektion von Agmatin oder Salzlösung, wurden mehrere Messungen 120 Minuten nach Agmatin-Injektion vorgenommen, und dann an den Tagen 2, 3, 5, 7, 10, 14, 21, 24 und 28 nach Agmatin (Dynorphin-verursachtes Allodynie-Modell) oder nach Operation (L5 Ligatur-verursachtes Allodynie-Modell). Jedes Experiment wurde wiederholt und wurde mindestens einmal blind ausgeführt.

[0038] Agmatin-Hemmung von mechanischer Nozizeption in Neuropathischen (L5-ligierten)-Mäusen ([Fig. 3A](#), [Fig. 3B](#)). Intrathekale Verabreichung von Agmatin erzeugte eine Dosisbezogene Hemmung von mechanischer Allodynie, die 120 Minuten nach Injektion ([Fig. 2](#)) gemessen wurde. Diese Daten wurden für die Dosen-Abhängigkeit analysiert und als eine Prozent-Hemmung der allodynischen Spitze (Prozent-Reaktion 1 Tag nach Operation) ausgedrückt. Jede Maus diene als ihr eigener Vergleich und die %-Hemmung wurde durch Verwendung der folgenden Gleichung bestimmt:

(Delta % Reaktion Tag 1 nach Operation D Delta % Reaktion 120 Min. Nach Agmatin)

Delta % Reaktion Tag 1 nach Operation

[0039] Der ED50-Wert und Vernauensbereiche wurden gemäß dem Verfahren von Talarida und Murray (1987) berechnet. Gruppen von 6 bis 8 Tieren wurden für jede Dosis und/oder jeder Vorbehandlung verwendet.

EXPERIMENTELLE AUSFÜHRUNG für die NMDA Nozizeptive Analyse ([Fig. 3B](#)).

[0040] Intrathekale Verabreichung von N-Methyl-D-Aspartat (NMDA) ruft dosis-abhängiges Beiß- und Kratz-Verhalten bei Mäusen (Aanonsen und Wilcox, 1987) hervor. Eine konstante Dosis von NMDA (0,3 nmol) wurde intrathekal injiziert und die Anzahl von NMDA-verursachtem Verhalten wurde für 1 Minute gezählt. Diese Dosis von NMDA ruft typischerweise ungefähr 40–60 Verhalten (Kratzen und Beißen, das zu den hinteren Gliedmaßen und zum Schwanz gerichtet ist) während dieser Minute nach der Injektion hervor. Um die Fähigkeit und Stärke von Agmatin, um die NMDA-Rezeptoren zu blockieren, zu bestimmen, wurde Agmatin gemein-

sam verabreicht (0,3, 4, 10, 40, 70 und 100 nmol, i.t.) mit NMDA und der Grad von Agmatin-verursachter Hemmung von NMDA-verursachten Verhalten untersucht. Prozent-Hemmung wurde als ein Prozentwechsel in der Haupt-Reaktion der Vergleichsgruppe (n=12, Mittel = 56 Verhalten, s.e.m = 5,1) gemäß der folgenden Gleichung: % Hemmung = 100 (56 D experimenteller Wert)/56 ausgedrückt; 56 war die Anzahl der Verhalten, die in der Vergleichsgruppe von Mäusen beobachtet wurde, denen 0,3 nmol NMDA i.t. verabreicht wurden. Der ED50-Wert und der Vertrauensbereich wurden gemäß dem Verfahren von Tallarida und Murray (1987) berechnet. Gruppen von 6 bis 8 Tieren wurden für jede Dosis und/oder jede Vorbehandlung verwendet.

ERGEBNISSE

AGMATIN DOSIS-ABHÄNGIGE HEMMUNG VON DYNORPHIN-VERURSACHTER ALLODYNIE. [Fig. 1.](#)

[0041] Eine einfache Spinal-Nachbehandlung mit Agmatin ergab wieder abnormale (sensitivierte) nozizeptive Reaktionen von allodynischen Mäusen (Mäusen in einem chronischen Schmerzzustand) zu normalen Werten. Es ist wichtig anzumerken, dass von diesem hypersensitiven Zustand berichtet wurde, dass er bis zu 63 Tage andauern kann (Laughlin et. al., 1997) und es wurde beobachtet, dass er bis zu 100 Tagen nach der Behandlung andauern kann (Laughlin, unveröffentlichte Beobachtungen). [Fig. 1](#) stellt die Auslösung bei Mäusen eines offensichtlich ständigen allodynischen Zustands dar (hyperreaktiv zu nicht-noxischen, kutanen Stimuli) nach einer intrathekalen Injektion einer hohen Dosis von dem Peptid Dynorphin A (1–17) (offene aufwärtsgerichtete Dreiecke). Eine einfache intrathekale Injektion von Agmatin einen Tag nach der Injektion von Dynorphin führt das Tierverhalten zu normalen Werten (geschlossene Kreise: Salzlösung + Salzlösungsinjektion) voll (abwärtsgerichtete geschlossene Dreiecke: 0,3 nmol) oder teilweise (abwärtsgerichtete offene Dreiecke: 1 nmol) zurück. Eine einfache intrathekale Injektion von Agmatin alleine, einen Tag nach der Injektion von Salzlösung, hatte keinen Effekt (offene Kreise: Salzlösung + 0,3 nmol Agmatin) relativ zu der Salzlösung alleine. Injektion hoher (offene Quadrate: 60 nmol) oder geringer (offene Diamanten: 0,01 nmol) Dosen von Agmatin sind ineffektiv zur Rückführung Dynorphin-verursachter Allodynie. Dieses Ergebnis schlägt vor, dass Agmatin das normale Empfinden Versuchstieren, die neuropathischen Schmerz erfahren, wieder zurückgibt, falls es in einer passenden Dosis zu einer passenden Zeit nach dem schmerzauslösenden Ereignis oder Ereignissen verabreicht wird.

AGMATIN DOSIS-ABHÄNGIGE HEMMUNG VON L5 LIGATUR-VERURSACHTER ALLODYNIE.

[0042] [Fig. 2](#). Übereinstimmend mit den beobachteten Ergebnissen in [Fig. 1](#), führt eine einfache Spinal-Nachbehandlung mit Agmatin in einem anderen neuropathischen Schmerzmodell zu sensitivierten nozizeptiven Reaktionen von allodynischen Mäusen zu normalen Werten zurück. Der Graph stellt die Herbeiführung in Mäusen in einem ständigen allodynischen Zustand nach L5-Spinalnerv-Ligatur dar (Ligiert + Salzlösung: offene aufrechte Dreiecke; ligiert (keine Injektion): geschlossene aufrechte Dreiecke). Der Agmatinverabreichung (0,3, 1, 3, 10, 30, 60, 100 nmol, i. t.) folgend, nahm die Reaktion der betroffenen Hinterpfote der ligierten Tiere dosis-abhängig 2 Stunden nach Agmatin-Verabreichung (ED50: 36 nmol [Fig. 3A, B](#)) ab. Durch Nachoperation am Tag 2, zeigten jene Versuchstiere, die Dosen von Agmatin (3, 10, 30, 60, 100 nmol) erhielten, die effektiv die Reaktionsfähigkeit 2 Stunden nach Medikamentenbehandlung verringerten, eine Rückkehr zu allodynischen Reaktionswerten. Zum größten Teil, blieb die Reaktionsfähigkeit in jenen Gruppen vergleichbar zu den allodynischen Vergleichsgruppen (Ligiert + Salzlösung: offene aufrechte Dreiecke; Ligiert (keine Injektion): geschlossene aufrechte Dreiecke) durch den Rest der Testperiode (Tage 3–14). Mit anderen Worten, 3 oder mehr nmol Agmatin erzeugten akute aber nicht chronische Remission des hyperreaktiven Zustands. Ab Tag 2, zeigten bestimmte Gruppen der Versuchstiere, die Dosen von Agmatin erhielten (aufwärtsgerichtete geschlossene Dreiecke: 0,3 nmol; abwärtsgerichtete offene Dreiecke: 1 nmol), die nicht signifikant die Reaktionsfähigkeit zwei Stunden nach Medikamentenbehandlung beeinflussten, eine Rückkehr zu normalen Reaktionswerten ab Tag 3. Die Reaktionsfähigkeit in jenen Gruppen blieb größtenteils vergleichbar zu den normalen Vergleichsgruppen (einfache oder vorgetäuschte + Salzlösung, Daten nicht dargestellt) während der Testperiode. Mit anderen Worten, 0,3 und 1 nmol Agmatin erzeugte chronische aber nicht akute Remission des hyperreaktiven Zustands. Einfache oder Schein-Vergleiche (Agmatin-behandelt oder Salzlösungs-behandelt) zeigten keine wesentliche Zunahme in der Reaktionsfähigkeit auf jeder Pfote während der Testperiode (Tage 1–14, Daten nicht dargestellt). Injektion hoher Dosen (offene Quadrate: 60 nmol; offener Diamant: 100 nmol) von Agmatin war weniger effektiv als die mehr gemäßigten Dosen im Umkehren von L5-Spinalnerv-Ligatur-hervorgehender Allodynie.

[0043] [Fig. 3A](#) und [Fig. 3B](#). Hohe Dosen von Agmatin (10–100 nmol, i.t.) wirken der NMDA-Rezeptor-Aktivierung entgegen. Figur A.

[0044] [Fig. 3A](#) ist eine ausgedehnte Darstellung des Zeitpunktes 120 Minuten nach Agmatin in [Fig. 2](#); abwärtsgerichtete Krümmungen stellen Agmatin-verursachte, dosis-abhängige Hemmung von Allodynie dar. Höhere Dosen von Agmatin sind im Allgemeinen effektiver als geringere Dosen. Figur B. Agmatin-verursachte Dosis-abhängige Hemmung der Allodynie, die in Teil A dargestellt ist, erreicht eine Dosis-Hemmungskurve (geschlossene Kreise, ED_{50} -Wert: 36 nmol). Diese Dosis-Hemmungskurve wird mit Agmatin-verursachter Hemmung des Verhaltens, das durch eine konstante Dosis von intrathekal verabreichtem NMDA (offene Kreise, ED_{50} -Wert: 30 nmol) hervorgerufen wird, verglichen. Diese Daten zeigen, dass die intrathekalen Dosen von Agmatin (10–100 nmol, i.t.) die akut (aber nicht chronisch Mäuse von ([Fig. 1](#), [Fig. 2](#)) befreien) Allodynie abschwächen, die gleichen Dosen sind die NMDA-verursachtes Verhalten hemmen. Wir interpretieren dieses Ergebnis, um zu zeigen, dass Agmatin-verursachter Antagonismus von NMDA-Rezeptoren in Maus-Rückenmark akute und gegenwärtige Erleichterung von allodynischer Hyperreaktionsfähigkeit vermittelt. Im Gegensatz dazu, zeigte die Dosis von Agmatin, die sich als effektiv in chronischer Erleichterung von Allodynie in beiden neuropathischen Schmerzmodellen ([Fig. 1](#), [Fig. 2](#): 0,3 nmol) herausgestellt hat, minimale akute Erleichterung von Allodynie und keine Hemmung von NMDA-verursachten Verhaltens. Wir interpretieren diese Ergebnisse derart, dass Agmatin nicht als NMDA-Antagonist wirken kann, um seinen anti-allodynschen Effekt zu übertreffen und stattdessen bei anderen, jetzt noch zu bestimmenden Bindungsseiten wirkt, um diese therapeutische Wirkung zu übertreffen.

Agmatin Modulation Nozizeption in anderen Tests.

[0045] Wir haben beobachtet, dass spinal verabreichtes Agmatin (0,3–100 nmol, i.t.) keine Antinozizeption (Analgetika) in Schwanzzucken, mechanischer Nozizeption (vF-Stimulierung in einfachen Mäusen) oder den Substanz P-Test (Daten nicht gezeigt) erzeugt. Andere zeigten, dass systematisch verabreichtes Agmatin keine Antinozizeption im Schwanzzuck-Test erzeugt (Kolesnikov und Pasternak, 1996). Systematisch verabreichtes Agmatin wurde auch für seinen potentiellen Effekt auf spinal-nozizeptive Reflexe getestet, die durch mechanische oder elektrische Stimuli verursacht wird. (Bradley KJ und Headley PM, 1997). Agmatin hat keine Reflexe bis sehr hohen Dosen (200 mg/kg i.v.) im Bereich verursacht, wo es ungünstige kardiovaskuläre Störungen erzeugte. Diese elektrophysiologischen Ergebnisse stimmen mit den vorherstehenden Verhaltensergebnissen überein und unterstützen die allgemeine Beobachtung, dass Agmatin nicht in und aus ihm selbst analgetisch ist. Ergebnisse aus diesem Labor (Fairbanks und Wilcox, 1997) unterscheiden weiter Agmatin von NMDA-Rezeptor-Antagonisten: Co-Verabreichung von Agmatin mit Morphin i.t. scheitert bei verstärkter Morphin-Analgesia; Bei NMDA-Antagonisten wurde beobachtet, dass sie Morphin verstärken (Yamamoto T und Yaksh TL, 1992).

Schlussfolgerung:

[0046] Der Effekt von Agmatin, um die Sensitivität in allodynschen Mäusen zu verringern, erscheint deshalb spezifisch zu der Indikation zu sein, und diese Selektivität unterscheidet Agmatin von gegenwärtig verwendeten Analgetika. Bei Dosen, die größer als 10 nmol sind, ermöglicht es Agmatin jedoch Kratz-Verhalten, das durch intrathekale Injektion von NMDA verursacht wurde, zu hemmen. Dosen, die geringer als 1 nmol sind, hemmen dieses Verhalten nicht. Deshalb wirkt Agmatin bei höheren Dosen als ein Antagonist beim NMDA-Rezeptor. Diese Dosen sind ineffektiv für Langzeitunterstützung von Dynorphin oder L5-Ligatur verursachter Allodynie. Geringere Dosen, die ineffektiv für Antagonisierung des NMDA-verursachten Verhaltens sind, sind effektiv für die Umkehrung der Allodynie, die durch L5-Ligatur oder intrathekale Verabreichung von Dynorphin verursacht wurde.

[0047] Insgesamt zeigen diese Ergebnisse, dass Agmatin seinen anti-allodynschen Effekt durch verschiedene (wie noch undefinierte) Mechanismen von NMDA-Rezeptor-Antagonismus anwendet.

Patentansprüche

1. Verwendung von Agmatin zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung von neuropathischem Schmerz.
2. Verwendung gemäß Anspruch 1, wobei das Agmatin in einer wirksamen Menge intrathekal zu verabreichen ist.
3. Verwendung gemäß Anspruch 2, wobei das Agmatin in einem Bereich von etwa 0,03–10 mg zu verabreichen ist.

4. Verwendung gemäß Anspruch 3, wobei das Agmantin in einer ungefähren Dosis von 0,82 mg zu verabreichen ist.

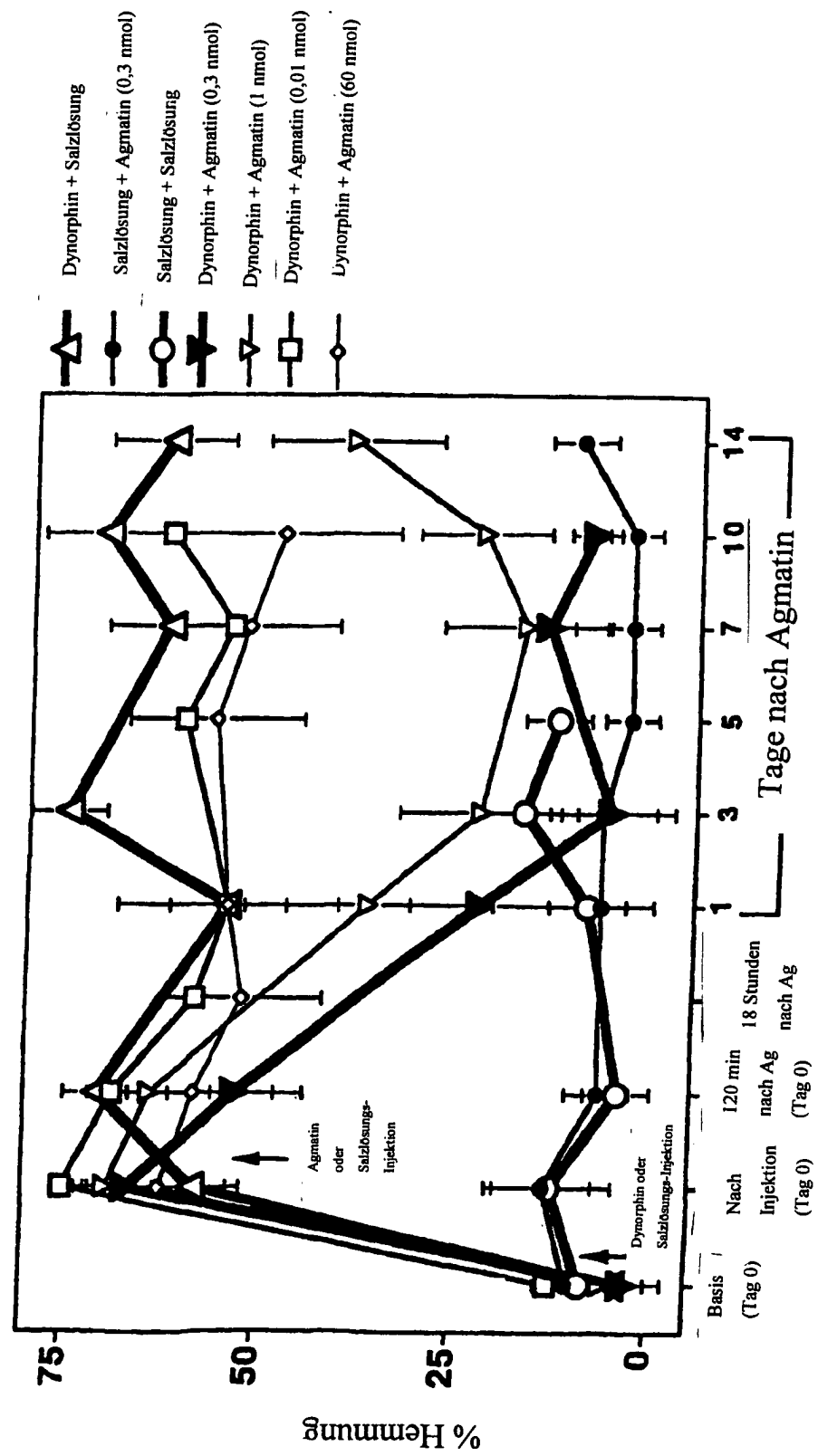
5. Verwendung gemäß Anspruch 1, wobei das Agmantin vor Verabreichung in einer Suspension, einer Lösung oder einer Emulsion gebildet ist.

6. Verwendung gemäß Anspruch 1, wobei das Agmantin vor Verabreichung mit Suspensionsmitteln, Stabilisierungsmitteln, Dispersionsmitteln oder Kombinationen davon gemischt ist.

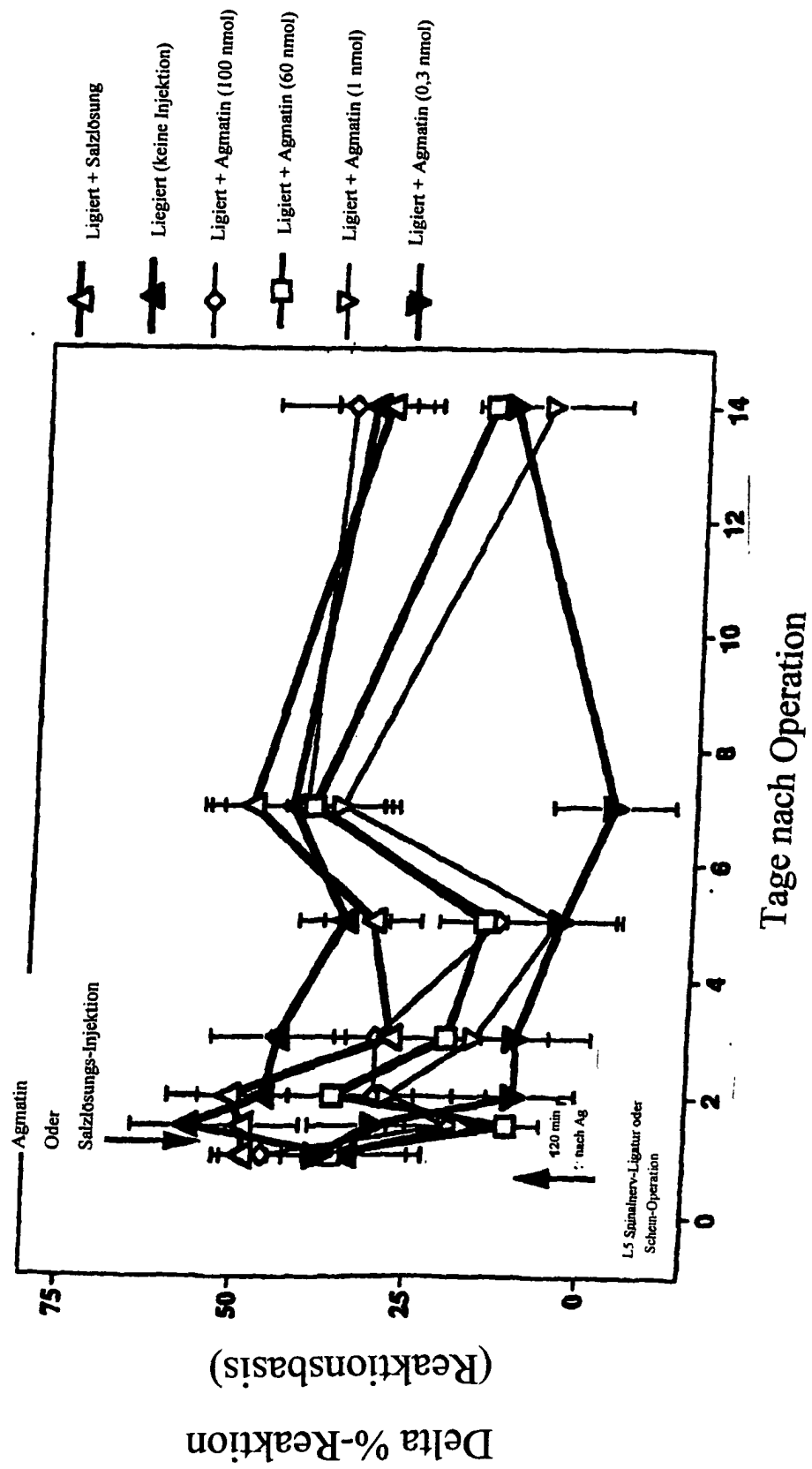
Es folgen 3 Blatt Zeichnungen

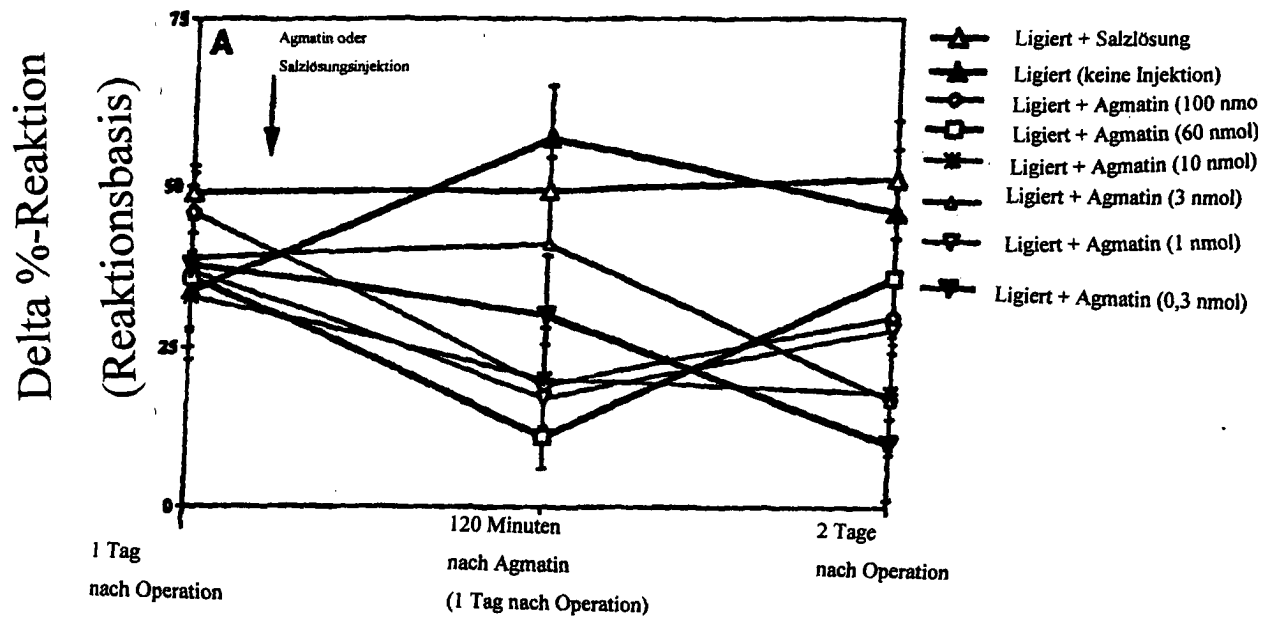
Anhängende Zeichnungen

FIGUR 1



FIGUR 2



FIGUR 3A**FIGUR 3B**