



(19)  
Bundesrepublik Deutschland  
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) DE 699 31 789 T2 2007.05.24

(12)

## Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) EP 1 102 583 B1

(21) Deutsches Aktenzeichen: 699 31 789.4

(86) PCT-Aktenzeichen: PCT/US99/17220

(96) Europäisches Aktenzeichen: 99 941 982.3

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: WO 2000/007583

(86) PCT-Anmeldetag: 05.08.1999

(87) Veröffentlichungstag  
der PCT-Anmeldung: 17.02.2000

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: 30.05.2001

(97) Veröffentlichungstag  
der Patenterteilung beim EPA: 07.06.2006

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: 24.05.2007

(51) Int Cl.<sup>8</sup>: A61K 31/00 (2006.01)

A61K 31/195 (2006.01)

A61K 31/19 (2006.01)

A61K 31/165 (2006.01)

A61K 31/135 (2006.01)

A61K 31/22 (2006.01)

A61K 31/35 (2006.01)

A61K 31/445 (2006.01)

A61K 31/16 (2006.01)

(30) Unionspriorität:

129253 05.08.1998 US

189166 09.11.1998 US

209952 11.12.1998 US

(84) Benannte Vertragsstaaten:

AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,  
LI, LU, MC, NL, PT, SE

(73) Patentinhaber:

Brookhaven Science Associates, Upton, N.Y., US

(74) Vertreter:

LOUIS, PÖHLAU, LOHRENTZ, 90409 Nürnberg

(72) Erfinder:

DEWEY, L., Stephen, Manorville, NY 11949, US;  
BRODIE, D., Jonathan, Cos Cob, CT 06807, US;  
ASHBY, R., Charles, Miller PLace, NY 11764, US

(54) Bezeichnung: BEHANDLUNG VON NICOTINSUCHT UND SUCHT BEDINGTEM VERHALTEN

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 eingeleitet, 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

**[0001]** Die Erfindung wurde mit Regierungsunterstützung unter vertraglicher Vereinbarung mit dem US-Department of Energy Office of Biological and Environmental Research (USDOE/OBER DE-AC02-98CH10886), durch die National Institutes of Mental Health (NIMH MH49165 und NIMH R2955155) und das National Institute on Drug Abuse (Y1-DA7047-01) gemacht. Die Regierung hält bestimmte Rechte an der Erfindung.

### Hintergrund der Erfindung

**[0002]** Die Erfindung betrifft die Verwendung eines irreversiblen Inhibitors von GABA-Transaminase zur Behandlung von suchtartigen Abhängigkeiten von Substanzen. Eine suchtartige Abhängigkeit von Substanzen, z. B. Drogenmissbrauch, und das sich daraus ergebende suchtartige Verhalten führen zu erheblichen sozialen und wirtschaftlichen Problemen, die ständig zunehmen und verheerende Folgen haben.

**[0003]** Eine suchtartige Abhängigkeit kann durch Verwendung von legalen und illegalen Substanzen erfolgen. Nikotin, Kokain, Amphetamin, Methamphetamin, Ethanol, Heroin, Morphin und andere suchterregende Substanzen sind leicht erhältlich und werden routinemäßig von großen Gruppen der Bevölkerung in den Vereinigten Staaten konsumiert.

**[0004]** Zahlreiche Missbrauchsdrogen kommen in der Natur vor. Beispielsweise ist Kokain ein natürlich vorkommendes Nichtamphetamin-Stimulationsmittel, das aus Blättern der Kokapflanze, Erythroxylon coca, stammt. Kokablätter enthalten nur etwa 0,5 bis 1% reines Kokain-Alkaloid. Beim Kauen werden nur relativ mäßige Kokainmengen freigesetzt und die gastrointestinale Absorption ist gering. Dies stellt mit Sicherheit eine Erklärung dafür dar, dass die Praxis des Kauens von Kokablättern in Lateinamerika nie zu einem öffentlichen Gesundheitsproblem geworden ist. Die Situation ändert sich aber durch den Missbrauch des Alkaloids selbst erheblich.

**[0005]** Es wurde festgestellt, dass suchterregende Drogen, wie Nikotin, Kokain, Amphetamin, Methamphetamin, Ethanol, Heroin und Morphin zu einer Erhöhung (in einigen Fällen direkt, in anderen Fällen indirekt oder sogar transsynaptisch) von Dopamin (DA) innerhalb der mesotelenzephalischen Belohnungs/Verstärkungs-Schaltung ("reward/reinforcement circuitry") des Vorhirns führen, indem sie vermutlich die verstärkte "Hirn-Belohnung" erzeugen, die den euphorischen Zustand ("high") des Drogennutzers begründen. Man nimmt an, dass Veränderungen in der Funktion dieser DA-Systeme am dringenden Verlangen nach Drogen und an der Rückfälligkeit zur gewohnheitsmäßigen Einnahme von Drogen bei Süchtigen in der Entwöhnungsphase beteiligt sind. Beispielsweise wirkt Kokain auf diese DA-Systeme durch Bindung an den Dopamin-Transporter (DAT) und durch Verhinderung der DA-Wiederaufnahme in die präsynaptische Endfaser.

**[0006]** Es gibt erhebliche Anzeichen dafür, dass die Suchtanfälligkeit für Nikotin, Kokain, Amphetamin, Methamphetamin, Ethanol, Heroin, Morphin und andere missbräuchlich verwendete Drogen mit einer Wiederaufnahmefluktuierung in den Belohnungs/Verstärkungs-Wegen des Zentralnervensystems (ZNS) verknüpft ist. Beispielsweise wurde eine durch Kokain induzierte Zunahme von extrazellulärem DA mit dessen "belohnender" und ein heftiges Verlangen verursachenden Wirkungen bei Nagetieren in Verbindung gebracht. Bei Menschen zeigt das pharmakokinetische Bindungsprofil von <sup>11</sup>C-Kokain, dass die Aufnahme von markiertem Kokain in direkter Korrelation mit dem selbst angegebenen euphorischen Zustand steht. Ferner zeigten von Kokain abhängige Personen, die einer Umgebung mit Kokain-Hintergrund ausgesetzt waren, ein verstärktes Verlangen nach Kokain, dem antagonistisch der DA-Rezeptor-Antagonist Haloperidol entgegenwirkt. Auf der Grundlage der mutmaßlichen Verbindung zwischen der Anfälligkeit für Kokainsucht und der DA-Belohnungs-/Verstärkungs-Schaltung des Vorhirns wurden zahlreiche pharmakologische Strategien zur Behandlung von Kokainsucht vorgeschlagen.

**[0007]** Bisher bestand eine Behandlungsstrategie darin, direkt auf den DAT mit einem Kokain-Analogen von hoher Affinität abzuzielen und dadurch die Bindung von Kokain zu blockieren. Eine weitere Behandlungsstrategie bestand in der direkten Modulation von synaptischem DA durch Verwendung von DA-Agonisten oder -Antagonisten. Eine weitere Behandlungsstrategie bestand in der indirekten oder transsynaptischen Modulation von synaptischem DA durch eine spezifische zielgerichtete Einwirkung auf ein funktionell verknüpftes, jedoch biochemisch unterschiedliches Neurotransmitter-System.

**[0008]** Es wurde eine Anzahl von Drogen vorgeschlagen, die dazu verwendet werden sollten, Personen, die Kokain einnehmen, von ihrer Abhängigkeit zu befreien. Bestimmte therapeutische Mittel werden aufgrund der "Dopamin-Verarmungshypothese" bevorzugt. Man weiß, dass Kokain die Dopamin-Wiederaufnahme blockiert,

wodurch die synaptischen Dopamin-Konzentrationen scharf ansteigen. Jedoch wird in Gegenwart von Kokain synaptisches Dopamin zu 3-Methoxytyramin metabolisiert und ausgeschieden. Aufgrund des synaptischen Dopamin-Verlustes wird vom Körper eine erhöhte Dopamin-Synthese verlangt, wie sich durch den Anstieg der Aktivität an Tyrosin-hydroxylase nach Verabreichung von Kokain zeigt. Wenn der Vorläufer-Vorrat verbraucht ist, entwickelt sich ein Mangel an Dopamin. Diese Hypothese führte dazu, dass Bromocriptin, ein Dopamin-Rezeptor-Agonist, getestet wurde. Ein anderer Weg bestand in der Verabreichung von Amantadin, einem Dopamin-Freisetzungsmittel. Noch ein weiterer Weg, der ebenfalls auf der Dopamin-Verarmungshypothese beruhte, bestand in der Bereitstellung eines Vorläufers für Dopamin, wie L-Dopa.

**[0009]** Agonisten werden als therapeutische Mittel nicht bevorzugt. Ein verabreichter Agonist kann auf mehrere Rezeptoren oder auf ähnliche Rezeptoren an unterschiedlichen Zellen und nicht genau auf den Rezeptor oder die Zelle, die man stimulieren möchte, einwirken. Mit der Entwicklung einer Arzneistofftoleranz (durch Veränderungen in der Anzahl an Rezeptoren und ihrer Affinität für den Arzneistoff) kann sich gleichermaßen eine Toleranz gegen den Agonisten entwickeln. Ein spezielles Problem beispielsweise beim Agonisten Bromocriptin besteht darin, dass er selbst eine Arzneistoffabhängigkeit erzeugen kann. Somit führten die in der Vergangenheit angewandten Behandlungsstrategien nicht zu einer Linderung des heftigen Verlangens des Patienten nach Kokain. Außerdem bestand bei Verwendung bestimmter Agonisten, wie Bromocriptin, die Wahrscheinlichkeit, dass bei einem Patienten das Verlangen nach einer Droge durch das Verlangen nach einer anderen Droge ersetzt wird.

**[0010]** Eine weitere Droge, die häufig missbräuchlich verwendet wird, ist Nikotin. Das Alkaloid (–)-Nikotin ist in Zigaretten und anderen Tabakprodukten, die geraucht oder gekaut werden, vorhanden. Es wurde festgestellt, dass Nikotin zu verschiedenen Krankheiten beiträgt, einschließlich Krebs, Herzkrankheiten, Krankheiten der Atmungswege und andere Zustände, für die Tabak einen Risikofaktor darstellt, insbesondere Herzkrankheiten.

**[0011]** Es fanden verschiedene Kampagnen gegen die Verwendung von Tabak oder Nikotin statt und es stellt derzeit eine allgemeine Erkenntnis dar, dass bei Aufgabe des Tabakgenusses zahlreiche unangenehme Entzugserscheinungen auftreten, einschließlich Reizbarkeit, Angstzustände, Ruhelosigkeit, Konzentrationsmangel, Schwindelzustände, Schlaflosigkeit, Tremor, verstärkte Hungergefühle und Gewichtszunahme und natürlicherweise ein heftiges Verlangen nach Tabak.

**[0012]** Das Suchtverhalten bei Nikotin wurde mit den Belohnungs/Verstärkungs-Wirkungen und ihren Einflüssen auf DA-Neuronen in den Belohnungswegen des Gehirns in Verbindung gebracht (Nisell et al., 1995; Pontieri et al., 1996). Beispielsweise erzeugt die akute systemische Verabreichung von Nikotin sowie von anderen zahlreichen Missbrauchsdrogen eine Zunahme an extrazellulären DA-Konzentrationen im Nucleus accumbens (NACC), einer wichtigen Komponente des Belohnungssystems (Damsma et al., 1989; Di Chiara und Imperato, 1988; Imperato et al., 1986; Nisell et al., 1994a, 1995; Pontieri et al., 1996). Gleichermaßen erzeugt die Infusion von Nikotin in den ventralen segmentalen Bereich (VTA) eines Nagers eine erhebliche Zunahme der DA-Konzentrationen im NACC (Nisell et al., 1994b).

**[0013]** Von einigen pharmazeutischen Mitteln wurde berichtet, dass sie sich zur Behandlung der Nikotin-Abhängigkeit eignen, einschließlich Nikotin-Kaugummi, transdermale Nikotin-Pflaster, Nasensprays, Nikotin-Inhalationsmittel und Bupropion, das erste Nichtnikotin-Behandlungsmittel zum Aufgeben des Rauchens (Heningfield, 1995; Hurt, et al., 1997).

**[0014]** Ungünstigerweise beinhaltet die Nikotin-Substitutionstherapie die Verabreichung von Nikotin, was häufig zu Nikotin-Entzugserscheinungen und einem anschließenden Rückfall zum Konsum von Tabakprodukten führt. Somit besteht ein Bedürfnis nach einer Therapie mit einem wünschenswerten Nebenwirkungsprofil, um Nikotin-Entzugssymptome zu lindern, einschließlich das Langzeitverlangen nach Nikotin.

**[0015]** Bei anderen bekannten Suchtsubstanzen handelt es sich um narkotische Analgetika, wie Morphin, Heroin und andere Opioide sowohl von natürlicher als auch von halbsynthetischer Herkunft. Der Missbrauch von Opoiden erzeugt Toleranz und Abhängigkeit. Entzugssymptome nach Absetzen der Verwendung von Opoiden variieren stark in ihrer Intensität in Abhängigkeit von zahlreichen Faktoren, einschließlich der Dosis des verwendeten Opoids, des Grads, mit dem die Opoidwirkung auf das ZNS kontinuierlich ausgeübt wird, die Dauer der chronischen Verwendung und die Rate, mit der das Opoid von den Rezeptoren entfernt wird. Zu diesen Entzugssymptomen gehören heftiges Verlangen, Angstzustände, Dysphorie, Gähnen, Schweißausbrüche, Tränenentwicklung, Rhinorrhoe, ruheloser und unterbrochener Schlaf, Reizbarkeit, erweiterte Pupillen, Schmerzen von Knochen, Rücken und Muskeln, Piloerektion, heiße und kalte Flashes, Übelkeit, Erbrechen,

Diarrhoe, Gewichtsverlust, Fieber, Erhöhung von Blutdruck, Puls und Atemfrequenz, Muskelzucken und Stoßbewegungen der unteren Extremitäten.

**[0016]** Zu medizinischen Komplikationen in Verbindung mit der Injektion von Opioiden gehören eine Vielzahl von pathologischen Veränderungen im ZNS, einschließlich degenerative Veränderungen im Globus pallidus, Nekrose von grauer Rückenmarksubstanz, transverse Myelitis, Amblyopie, Plexitis, periphere Neuropathie, Parkinson-Syndrome, intellektuelle Beeinträchtigungen, Persönlichkeitsveränderungen und pathologische Veränderungen in Muskeln und peripheren Nerven. Infektionen von Haut und systemischen Organen sind ebenfalls recht häufig, einschließlich Staphylokokken-Pneumonitis, Tuberkulose, Endokarditis, Septikämie, virale Hepatitis, humanes Immunschwächevirus (HIV), Malaria, Tetanus und Osteomyelitis. Die Lebenserwartung von Opioidsüchtigen ist deutlich verringert, und zwar aufgrund von Überdosierungen, drogenbedingten Infektionen, Selbstmord und Tötungsdelikten.

**[0017]** Zu pharmazeutischen Mitteln, die bei der Behandlung von Opioid-Abhängigkeit verwendet werden, gehören Methadon, das ein Opioid darstellt, und Opioid-Antagonisten, vorwiegend Naloxon und Naltrexon. Von Clonidin wurde gezeigt, dass es einige Elemente von Opioid-Entzugserscheinungen unterdrückt, jedoch mit Nebenwirkungen, wie Hypotonie und Sedierung behaftet ist, die recht stark werden können. In Verbindung mit pharmazeutischen Mitteln werden häufig eine verhaltensmodifizierende psychologische Behandlung und Training als Begleitmaßnahmen eingesetzt. Es besteht ein Bedürfnis nach einer Therapie mit einem erstrebenswerteren Nebenwirkungsprofil, um Suchterscheinungen und Entzugssymptome bei Opioiden zu lindern.

**[0018]** Ethanol ist vermutlich in den meisten Kulturen das am häufigsten verwendete und missbräuchlich verwendete Depressivum und stellt eine Hauptursache für Morbidität und Mortalität dar. Die wiederholte Aufnahme von großen Mengen an Ethanol kann nahezu jedes Organsystem im Körper beeinträchtigen, insbesondere den Magendarmtrakt, das kardiovaskuläre System und das zentrale und periphere Nervensystem. Zu gastrointestinalen Wirkungen gehören Gastritis, Magengeschwüre, Zwölffingerdarmgeschwüre, Leberzirrhose und Pankreatitis. Ferner gibt es eine erhöhte Krebsrate an der Speiseröhre, dem Magen und anderen Teilen des Magendarmtrakts. Zu kardiovaskulären Wirkungen gehören Hypotonie, Kardiomyopathie und andere Myopathien, deutlich erhöhte Spiegel an Triglyceriden und an Lipoprotein-Cholesterin von geringer Dichte. Diese kardiovaskulären Wirkungen tragen zu einem erhöhten Risiko in Bezug auf Herzerkrankungen bei. Eine periphere Neuropathie kann sich durch Muskelschwäche, Parästhesien und eine verminderte periphere Empfindungsfähigkeit bemerkbar machen. Zu Auswirkungen auf das Zentralnervensystem gehören kognitive Defizite, schwere Gedächtnisstörungen, degenerative Veränderungen im Kleinhirn und durch Ethanol induzierte anhaltende Gedächtnisstörungen, bei denen die Fähigkeit zum Aufbau von neuen Gedächtnisleistungen schwer beeinträchtigt ist. Im allgemeinen sind diese Effekte mit Vitamin-Mangelerscheinungen, insbesondere in Bezug auf die B-Vitamine, verbunden.

**[0019]** Personen mit Ethanol-Abhängigkeit oder -Sucht zeigen Symptome und physikalische Veränderungen, einschließlich Dyspepsie, Übelkeit, Blähungen, Speiseröhren-Krampfadern, Hämorrhoiden, Tremor, ungleichmäßiger Gang, Schlaflosigkeit, Erektionsstörungen, verringerte Hodengröße, Verweiblichungsscheinungen in Verbindung mit verringerten Testosteronspiegeln, spontaner Abort und fötales Alkoholsyndrom. Zu Symptomen in Verbindung mit dem Absetzen von Ethanol oder Entzugserscheinungen gehören Übelkeit, Erbrechen, Gastritis, Hämatemesis, trockener Mund, aufgedunsenes, fleckiges Gesicht und periphere Ödeme.

**[0020]** Die allgemein anerkannte Behandlung von Ethanol-Sucht und -Entzugserscheinungen wird durch Verabreichung eines milden Tranquillizers, wie Chlordiazepoxid, erreicht. Typischerweise werden auch Vitamine, insbesondere die B-Vitamine, verabreicht. Gegebenenfalls werden auch Magnesiumsulfat und/oder Glucose gegeben. Übelkeit, Erbrechen und Diarrhoe werden symptomatisch gemäß Entscheidung des behandelnden Arztes behandelt. Ferner kann Disulfiram verabreicht werden, um die Aufrechterhaltung der Abstinenz zu unterstützen. Wenn Ethanol von einer Person, die unter Behandlung mit Disulfiram steht, eingenommen wird, reichert sich Acetaldehyd an, der Übelkeit und Hypotonie verursacht. Es besteht ein Bedürfnis nach einer Therapie mit einem erstrebenswerteren Nebenwirkungsprofil, um die Symptome von Ethanol-Sucht und -Entzug zu lindern.

**[0021]** Kürzlich wurde berichtet, dass der Missbrauch durch Einnahme von zahlreichen Arzneistoffen oder Arzneistoffkombinationen in alarmierender Weise zunimmt. Beispielsweise werden Kokain und Heroin häufig in einer als "speedballing" bekannten Arzneistoffkombination missbräuchlich eingenommen. Es wird angenommen, dass diese beschriebene Zunahme auf einer synergistischen Wirkung beruht, die die Euphorie beim Anwender steigert.

**[0022]** Demzufolge besteht immer noch ein Bedürfnis zur Behandlung von Suchterscheinungen bei missbräuchlich verwendeten Arzneistoffen unter Bereitstellung von neuartigen Verfahren, die das heftige Verlangen eines Patienten lindern können, indem sie die pharmakologischen Auswirkungen von missbräuchlich verwendeten Arzneistoffen auf das Zentralnervensystem verändern. Ferner besteht ein Bedürfnis nach neuen Verfahren zur Behandlung von missbräuchlicher Verwendung von Arzneistoffkombinationen.

Zusammenfassende Darstellung der Erfindung

**[0023]** Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung von gamma-Vinyl-GABA (GVG) oder eines pharmazeutisch verträglichen Salzes davon oder eines Enantiomeren oder eines razemischen Gemisches davon zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung eines Säugers, der an Nikotinsucht leidet, durch Verabreichung einer wirksamen Menge des Arzneimittels an den Säuger, wobei die Menge ausreicht, das Verhalten, das mit dem Verlangen nach Nikotin oder mit dem Genuss von Nikotin verbunden ist, abzuschwächen, zu hemmen oder zu beseitigen.

**[0024]** Die vorstehend beschriebene Erfindung, die auf die Bedürfnisse des Stands der Technik abgestellt ist, beschreibt Verfahren zur Behandlung von Nikotinsucht und zur Veränderung des suchtbezogenen Verhaltens eines Säugers, z. B. eines Primaten, der an einer Sucht nach einer Substanz leidet, durch Verabreichung einer wirksamen Menge einer pharmazeutischen Zusammensetzung oder eines Arzneimittels, das gamma-Vinyl-GABA (GVG) enthält, an den Säuger. Die Menge an GVG variiert von etwa 15 mg/kg bis etwa 2 g/kg, vorzugsweise von etwa 100 mg/kg bis etwa 600 mg/kg und insbesondere von etwa 150 mg/kg bis etwa 300 mg/kg.

**[0025]** Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform beschreibt die vorliegende Erfindung ein Verfahren zur Beseitigung der Wirkung von Nikotinsucht durch Behandlung eines Säugers mit einer wirksamen Menge einer Zusammensetzung oder eines Arzneimittels mit einem Gehalt an GVG. Bei Behandlung der Auswirkungen von Nikotinsucht beträgt die Menge an GVG, die in der pharmazeutischen Zusammensetzung oder im Arzneimittel enthalten ist, etwa 15 mg/kg bis etwa 2 g/kg, vorzugsweise 75 mg/kg bis etwa 150 mg/kg und insbesondere etwa 18 mg/kg bis etwa 20 mg/kg.

**[0026]** Gemäß einer weiteren Ausführungsform beschreibt die vorliegende Erfindung ein Verfahren zur Veränderung des suchtbezogenen Verhaltens eines Säugers, der an Nikotinsucht leidet, wobei das Verfahren die Verabreichung einer wirksamen Menge an GVG oder eines pharmazeutisch verträglichen Salzes davon an den Säuger umfasst, wobei die wirksame Menge die Belohnungs-/Anreizwirkung von Nikotin und gegebenenfalls einem oder mehreren missbräuchlich verwendeten Arzneistoffen, die aus der Gruppe Psychostimulantien, narkotische Analgetika, Alkohole und Kombinationen davon ausgewählt sind, bei fehlender Veränderung der Belohnungs/Anreiz-Wirkungen von Nahrungsmitteln bei dem Säuger abschwächt.

**[0027]** Die Menge an GVG variiert von etwa 15 mg/kg bis etwa 2 g/kg, vorzugsweise von etwa 15 mg/kg bis etwa 600 mg/kg und insbesondere von etwa 150 mg/kg bis etwa 600 mg/kg.

**[0028]** Als Ergebnis der vorliegenden Erfindung werden Verfahren zur Verringerung der Substanzabhängigkeit und zur Veränderung des suchtbezogenen Verhaltens beschrieben, die auf einer pharmazeutischen Zusammensetzung oder einem Arzneimittel beruhen, die selbst nicht süchtig machen, jedoch hochgradig wirksam bei der Besserung der Sucht und des Suchtverhaltens von süchtigen Patienten sind. Die für das erfindungsgemäße Verfahren geeignete pharmazeutische Zusammensetzung oder Arzneimittel hemmt oder beseitigt das Verlangen, das Drogensüchtige in Bezug auf die Missbrauchsdroge empfinden. Außerdem erfolgt die Beseitigung des mit Missbrauchsdrogen verbundenen Verhaltens in Abwesenheit einer aversiven Reaktion oder appetitiven Reaktion auf GVG. Ferner werden die Verhaltenseigenschaften, die mit der Abhängigkeit von Missbrauchsdrogen verbunden sind, bei fehlender Veränderung der lokomotorischen Funktionen des Primaten verringert oder beseitigt. Gemäß einer weiteren Ausführungsform beschreibt die Erfindung ein Verfahren zur Veränderung des suchtbezogenen Verhaltens eines Säugers, der an Nikotinsucht leidet, wobei das Verfahren die Verabreichung einer wirksamen Menge an GVG oder eines pharmazeutisch verträglichen Salzes davon oder eines Enantiomeren oder eines razemischen Gemisches davon an den Säuger umfasst, wobei die wirksame Menge ausreicht, das Verhalten, das mit dem Verlangen nach Nikotin oder mit dem Genuss von Nikotin verbunden ist, abzuschwächen, zu hemmen oder zu beseitigen.

**[0029]** Gemäß einer weiteren beispielhaften Ausführungsform der vorliegenden Erfindung beschreibt das Verfahren die Veränderung des suchtbezogenen Verhaltens eines Säugers, der an Nikotinsucht leidet, wobei das Verfahren die Verabreichung einer wirksamen Menge einer Zusammensetzung oder eines Arzneimittels, das die GABA-Konzentrationen im Zentralnervensystem erhöht, an den Säuger umfasst, wobei die wirksame

Menge ausreicht, das Verhalten, das mit dem Verlangen nach Nikotin oder mit dem Genuss von Nikotin verbunden ist, abzuschwächen, zu hemmen oder zu beseitigen.

**[0030]** Gemäß einer weiteren Ausführungsform beschreibt die vorliegende Erfindung ein Verfahren zur Behandlung eines Säugers, der an Nikotinsucht leidet, wobei das Verfahren die Verabreichung einer wirksamen Menge an GVG oder eines pharmazeutisch verträglichen Salzes davon oder eines Enantiomeren oder eines razemischen Gemisches davon an den Säuger umfasst.

**[0031]** Gemäß einer weiteren Ausführungsform beschreibt die Erfindung ein Verfahren zur Verhinderung von Nikotinsucht, wobei das Verfahren die Verabreichung einer wirksamen Menge an GVG oder eines pharmazeutisch verträglichen Salzes davon oder eines Enantiomeren oder eines razemischen Gemisches davon an den Säuger umfasst.

**[0032]** Weitere Verbesserungen, die erfindungsgemäß gegenüber dem Stand der Technik erzielt werden, lassen sich als Ergebnis der folgenden Beschreibung, in der bevorzugte Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung dargelegt sind, identifizieren. Die Beschreibung soll in keiner Weise den Schutzmfang der vorliegenden Erfindung beschränken, vielmehr soll sie lediglich ein Ausführungsbeispiel der derzeit bevorzugten Ausführungsformen bieten. Der Schutzmfang der vorliegenden Erfindung ergibt sich aus den beigefügten Ansprüchen.

#### Kurze Beschreibung der Zeichnungen

**[0033]** [Fig. 1](#) ist ein Diagramm zur Erläuterung der prozentualen Veränderung des Verteilungsvolumens (DV) für drei Gruppen von mit Kokain behandelten Tieren.

**[0034]** [Fig. 2](#) ist eine photographische Aufnahme von transaxialen, parametrischen DV-Verhältnisbildern des nicht-humanen Primatenhirns auf dem Niveau des Corpus striatum.

**[0035]** [Fig. 3A](#) und [Fig. 3B](#) sind Diagramme zur Erläuterung der Einflüsse von GVG auf das lokomotorische Verhalten im Vergleich zu Kochsalz-Kontrollen.

**[0036]** [Fig. 4](#) ist ein Diagramm zur Erläuterung der Einflüsse von GVG auf durch Nikotin induziertes, extrazelluläres Dopamin.

**[0037]** [Fig. 5A](#) und [Fig. 5B](#) sind Diagramme zur Erläuterung der Einflüsse von Nikotin und GVG auf die extrazellulären Dopamin-Spiegel im Nucleus accumbens von sich frei bewegenden Ratten.

**[0038]** [Fig. 6](#) ist ein Diagramm zur Erläuterung der Einflüsse von Methamphetamin auf die extrazellulären Dopamin-Spiegel im Nucleus accumbens von sich frei bewegenden Ratten.

**[0039]** [Fig. 7](#) ist ein Diagramm zur Erläuterung der Einflüsse von GVG auf durch Methamphetamin induzierte Veränderungen der extrazellulären Dopamin-Spiegel im Nucleus accumbens von sich frei bewegenden Ratten.

**[0040]** [Fig. 8](#) ist ein Diagramm zur Erläuterung der Einflüsse von GVG auf die durch Alkohol induzierten Veränderungen der extrazellulären Dopamin-Spiegel im Nucleus accumbens von sich frei bewegenden Ratten.

**[0041]** [Fig. 9](#) ist ein Diagramm zur Erläuterung der Einflüsse von GVG auf die Auswirkungen von Kokain, Heroin und die Kombination von Kokain und Heroin auf die extrazellulären Dopamin-Spiegel im Nucleus accumbens von sich frei bewegenden Ratten.

#### Ausführliche Beschreibung der Erfindung

**[0042]** Die vorliegende Erfindung beschreibt ein hochwirksames Verfahren zur Behandlung einer substanzbezogenen Sucht und zur Veränderung des suchtbezogenen Verhaltens von Säugern, z. B. von Primaten, die an einer substanzbezogenen Sucht leiden.

**[0043]** Der hier verwendete Ausdruck "suchtbezogenes Verhalten" bedeutet ein Verhalten, das sich aus der zwanghaften Verwendung einer Substanz ergibt und das durch eine offensichtliche, vollkommene Abhängigkeit von der Substanz charakterisiert ist. Symptomatisch für das Verhalten ist (i) ein überwältigendes Engage-

ment bei der Anwendung der Droge, (ii) die Sicherstellung des Drogennachschnitts und (iii) eine hohe Rückfallwahrscheinlichkeit nach Entzug.

**[0044]** Beispielsweise unterliegt ein Verbraucher von Kokain drei Stadien der Drogeneinflüsse. Die erste akute Intoxikation ("Gelage") verläuft euphorisch, ist durch verminderte Angst, erhöhtes Selbstvertrauen und sexuelles Verlangen gekennzeichnet und kann durch sexuelle Taktlosigkeiten, unverantwortliches Ausgabeverhalten und Unfälle, die einem sorglosen Verhalten zuzuschreiben sind, beeinträchtigt werden. Das zweite Stadium, der "Absturz" ("Crash"), ersetzt die Euphorie durch Angst, Müdigkeit, Reizbarkeit und Depression. Einige Verbraucher haben während dieses Zeitraums Selbstmord begangen. Schließlich handelt es sich beim dritten Stadium, der "Anhedonie", um eine Zeit von begrenzter Fähigkeit, Gefallen an normalen Aktivitäten zu finden, und um eine Zeit des heftigen Verlangens nach den euphorisierenden Wirkungen von Kokain, was zur Einnahme dieser Droge verführt; vergl. Gawin und Kleber, Medical Management of Cocaine Withdrawal, 6-8 (APT Foundation). Was Kokain-Anwender betrifft, umfasst das suchtbezogene Verhalten Verhaltensweisen, die mit allen drei Stadien der Drogeneffekte verbunden sind.

#### Missbrauchsdrogen

**[0045]** Zu Missbrauchsdrogen gehören (ohne Beschränkung hierauf) Psychoaktivstoffe, narkotische Analgetika, Alkohole und suchterregende Alkaloide, wie Nikotin, oder Kombinationen davon. Zu einigen Beispielen für Psychoaktivstoffe gehören (ohne Beschränkung hierauf) Amphetamin, Dextroamphetamine, Methamphetamine, Phenmetrazin, Diethylpropion, Methylphenidat, Kokain und pharmazeutisch verträgliche Salze davon.

**[0046]** Zu speziellen Beispielen für narkotische Analgetika gehören Alfentanil, Alphaprodin, Anileridin, Bezitramid, Codein, Dihydrocodein, Diphenoxylat, Ethylmorphin, Fentanyl, Heroin, Hydrocodon, Hydromorphon, Isomethadon, Levomethorphan, Levorphanol, Metazocin, Methadon, Metopon, Morphin, Opiumextrakte, flüssige Opiumextrakte, pulverisiertes Opium, granulierte Opium, rohes Opium, Opiumtinkturen, Oxycodon, Oxyphillin, Pethidin, Phenazocin, Piminodin, Racemethorphan, Racemorphan, Thebain und pharmazeutisch verträgliche Salze davon.

**[0047]** Missbrauchsdrogen umfassen auch ZNS-Depressiva, wie Barbiturate, Chlordiazepoxid und Alkohole, wie Ethanol, Methanol und Isopropylalkohol.

**[0048]** Das erfundungsgemäße Verfahren kann zur Behandlung von Säugern verwendet werden, die süchtig nach Nikotin in Kombination mit einer Sucht nach einer oder mehreren Missbrauchsdrogen sind.

**[0049]** Der hier verwendete Ausdruck "Kombination von Missbrauchsdrogen" umfasst Kombinationen von Psychoaktivstoffen, narkotischen Analgetika, Alkoholen und suchterregenden Alkaloiden gemäß den vorstehenden Ausführungen. Beispielsweise umfassen Kombinationen von Missbrauchsdrogen Kokain, Nikotin, Methamphetamine, Ethanol, Morphin und Heroin.

**[0050]** Ein zwanghafter Drogengebrauch umfasst drei unabhängige Komponenten: Toleranz, psychologische Abhängigkeit und physische Abhängigkeit. Die Toleranz erzeugt ein Bedürfnis nach einer Steigerung der Drogendosis nach mehreren Verabreichungen, um eine Wirkung der gleichen Größenordnung zu erzielen. Die physische Abhängigkeit stellt einen Anpassungszustand dar, der durch wiederholte Drogenverabreichung erzeugt wird und der sich durch eine starke physische Störung bei einem Absetzen der Drogenverabreichung manifestiert. Bei einer psychologischen Abhängigkeit handelt es sich um einen Zustand, der durch einen starken Trieb, das Verlangen oder die Anwendung einer Droge charakterisiert ist, deren Wirkungen der Anwender als erforderlich für sein Wohlbefinden erachtet; vergl. R. S. Feldman und L. F. Quenzer, "Fundamentals of Neuropsychopharmacology", (Sinauer Associates, Inc.) (1984), S. 418-422. Auf der Grundlage der vorstehenden Definitionen umfassen gemäß dem hier benutzten Sprachgebrauch die "Abhängigkeitseigenschaften" alle Eigenschaften, die mit einer zwanghaften Arzneistoffanwendung verbunden sind, Eigenschaften, die durch die biochemische Zusammensetzung des Wirts und die physischen und psychologischen Eigenschaften des Wirts beeinflusst werden.

**[0051]** Wie vorstehend erläutert, führt die zwanghafte Verwendung von Missbrauchsdrogen oder der Kombination von Missbrauchsdrogen zu einem euphorischen Stadium, dem ein Stadium des Verlangens nach den euphorischen Wirkungen dieser Droge folgt, was zum Gebrauch der Droge oder der Kombination von Drogen führt. Die hier verwendete Ausdrucksweise Belohnungs/Anreizwirkungen von Missbrauchsdrogen bezieht sich auf jeglichen Reiz (in diesem Fall eine Droge), die Anhedonie hervorruft oder die Wahrscheinlichkeit einer erlernten Reaktion erhöht. Synonym damit ist die "Verstärkung". In Bezug auf Versuchstiere wird ein Reiz als lohn-

nend angesehen, indem man Paradigmen verwendet, von denen angenommen wird, dass sie die lohnende Wirkung messen. Dies kann durch Messen der Tatsache erreicht werden, ob Reize eine Zugangsreaktion hervorrufen, die auch als appetitive Reaktion oder Entzugsreaktion bekannt ist, oder ob das Tier die Reize vermeidet, auch bekannt als aversive Reaktion. Die konditionierte Platzpräferenz ("conditioned place preference" (CPP)) stellt ein Paradigma dar, das Zugangsreaktionen (appetitive Reaktionen) oder Entzugsreaktionen (aversive Reaktionen) misst. Man kann annehmen, dass die lohnenden Reize ein Zugangsverhalten erzeugen. Tatsächlich besteht eine Definition von lohnender Wirkung in einem beliebigen Reiz, der ein Zugangsverhalten hervorruft. Ferner bestehen die Folgen der lohnenden Wirkung in einer Verstärkung der Anreizeigenschaften von Stimuli, die mit der lohnenden Wirkung verbunden sind.

**[0052]** Eine lohnende Wirkung kann auch gemessen werden, indem man feststellt, ob die Abgabe einer Belohnung von einer bestimmten Reaktion abhängig ist, wodurch die Wahrscheinlichkeit zunimmt, dass die Reaktion in einer ähnlichen Situation erneut auftritt, d. h. ein Verstärkungsparadigma. Beispielsweise stellt eine Ratte, die in bestimmter Häufigkeit eine Stange drückt, um eine Injektion von Kokain zu erhalten, ein Beispiel für eine Verstärkung dar. Ein anderer Weg zur Messung der lohnenden Wirkung besteht darin, festzustellen, ob ein Stimulus (z. B. ein Arzneistoff) durch mehrfache Paarungen mit neutralen Stimuli aus der Umgebung bewirken kann, dass die vorher neutralen Stimuli aus der Umgebung Verhaltenseffekte hervorrufen können, die ursprünglich nur mit der Droge verbunden waren (Konditionierung der Verstärkung). CPP wird als eine Form von konditionierter Verstärkung angesehen.

**[0053]** Der anreizende Motivationswert einer Droge (oder anderer Stimuli) kann unter Anwendung der konditionierten Platzpräferenz (CPP) bestimmt werden. In Bezug auf Kokain, Nikotin, Heroin, Morphin, Methamphetamine, Ethanol oder andere Missbrauchsdrogen oder Kombinationen davon werden Tiere in einem drogenfreien Zustand getestet, um festzustellen, ob sie eine Umgebung bevorzugen, in der sie früher die Missbrauchsdroge erhalten haben, verglichen mit einer Umgebung, in der sie vorher Kochsalzlösung erhalten haben. Beim CPP-Paradigma erhalten Tiere eine Droge in einer bestimmten Umgebung und erhalten den entsprechenden Träger in einer alternativen Umgebung. Das CPP-Paradigma wird in breitem Umfang zur Bewertung der anreizenden Motivationseffekte von Drogen bei Labortieren herangezogen (Van Der Kooy, 1995). Im Anschluss an die Konditionierung oder Paarung mit der Droge wird dann, wenn das Tier in einem drogenfreien Zustand über-einstimmend die vorher mit der Missbrauchsdroge verbundene Umgebung wählt, der Schluss gezogen, dass der appetitive Wert der Missbrauchsdroge im Gehirn kodiert war und im drogenfreien Zustand zugänglich ist. CPP spiegelt sich in einer verlängerten Dauer wieder, die in Gegenwart der drogenassoziierten Stimuli relativ zu Kontrolltieren mit einer Injektion des Trägers verbracht wird. CPP kann auch zur Bestimmung der Sucht nach einer Kombination von Missbrauchsdrogen verwendet werden.

**[0054]** Es wurde postuliert, dass aufgrund der Tatsache, dass das heftige Verlangen beim Menschen häufig durch sensorische Stimuli, die vorher mit der Drogeneinnahme verbunden waren, hervorgerufen wird, Konditionierungsparadigmen wie CPP als Modell für das heftige Verlangen bei Labortieren herangezogen werden können.

**[0055]** Der hier verwendete Ausdruck "heftiges Verlangen" nach einer Missbrauchsdroge oder einer Kombination von Missbrauchsdrogen stellt den intensiven Wunsch zur Selbstverabreichung des oder der früher vom Säuger verwendeten Drogen dar. Der Säuger benötigt die Missbrauchsdroge nicht, um Entzugssymptome zu verhindern.

**[0056]** Die Suchtgefährdung durch Missbrauchsdrogen, wie Kokain, Nikotin, Methamphetamine, Morphin, Heroin, Ethanol oder andere Missbrauchsdrogen wurde mit ihren pharmakologischen Wirkungen auf die mesotelencephalischen Dopamin (DA)-Verstärkungs-/Belohnungs-Wege im Zentralnervensystem (ZNS) in Verbindung gebracht. Eine dopaminerige Transmission innerhalb dieser Wege wird durch gamma-Aminobuttersäure (GABA) moduliert.

**[0057]** Beispielsweise hemmen Kokain, Nikotin, Methamphetamine, Morphin, Heroin und Ethanol die präsynaptische Wiederaufnahme von Monoaminen. Dopaminerige Neuronen des mesokortikolimbischen DA-Systems, deren Zellkörper innerhalb des ventralen, tegmentalnen Bereiches (VTA) liegen und die vorwiegend zum Nucleus accumbens (NACC) vorstehen, scheinen an der Kokain-, Nikotin-, Methamphetamine-, Morphin-, Heroin- oder Ethanol-Verstärkung beteiligt zu sein. Eine elektrische Stimulation der Belohnungszentren innerhalb des VTA erhöht die extrazellulären DA-Spiegel im NACC, während 6-Hydroxdopamin-Läsionen des NACC die Selbstverabreichung von Kokain, Nikotin, Methamphetamine, Morphin, Heroin oder Ethanol beseitigen. In vivo-Mikrodialysestudien bestätigen die Fähigkeit von Kokain, Nikotin, Methamphetamine, Morphin, Heroin und Ethanol zur Erhöhung des extrazellulären DA im NACC.

**[0058]**  $\gamma$ -Aminobuttersäure (GABA)-erge Neuronen im NACC und im ventralen Pallidum stehen im VTA in Richtung auf DA-Neuronen vor. Pharmakologische und elektrophysiologische Studien zeigen, dass diese Vorsprünge hemmend sind. Die Hemmung von VTA-DA-Neuronen ist wahrscheinlich das Ergebnis der GABA-B-Rezeptorstimulation. Ferner kann eine Mikroinjektion von Baclofen in den VTA unter Einwirkung über diese Rezeptor-Subtypen die DA-Konzentrationen im NACC verringern. Insgesamt ist ersichtlich, dass eine pharmakologische Manipulation von GABA die DA-Spiegel im NACC durch Modulation von VTA-DA-Neuronen beeinflussen kann.

#### Gamma-Vinyl-GABA

**[0059]** Gamma-Vinyl-GABA (GVG) stellt einen selektiven und irreversiblen Inhibitor von GABA-Transaminase (GABA-T) dar, von der bekannt ist, dass sie die GABA-erge Hemmung verstärkt. Es ist ferner bekannt, dass GVG die biochemischen Wirkungen von Kokain verändert, indem es eine dosisabhängige und verlängerte Erhöhung von extrazellulären, endogenen Gehirn-GABA-Spiegeln bewirkt.

**[0060]** Bei GVG handelt es sich um  $C_6H_{11}NO_2$  oder 4-Amino-5-hexansäure, die als Vigabatrin<sup>R</sup> der Fa. Hoechst Marion Roussel verfügbar ist und von Marion Merrell Dow, Cincinnati, Ohio, bezogen werden kann. GVG bindet nicht an einen Rezeptor oder einen Wiederaufnahmekomplex, sondern erhöht die endogenen, intrazellulären GABA-Spiegel durch selektive und irreversible Hemmung von GABA-Transaminase (GABA-T), dem Enzym, das normalerweise GABA katabolisiert.

**[0061]** Der hier verwendete Ausdruck GVG umfasst die razemische Verbindung oder ein Gemisch, das gleiche Mengen an S(+)-gamma-Vinyl-GABA und R(-)-gamma-Vinyl-GABA enthält. Diese razemische Verbindung von GVG ist als Vigabatrin<sup>R</sup> der Fa. Hoechst Marion Roussel verfügbar und kann von Marion Merrell Dow, Cincinnati, Ohio, bezogen werden.

**[0062]** GVG enthält asymmetrische Kohlenstoffatome und kann somit in Form von Enantiomeren vorliegen. Die vorliegende Erfindung umfasst beliebige enantiomere Formen von GVG, einschließlich der Razemate oder razemischer Gemische von GVG. In einigen Fällen können Vorteile, d. h. eine höhere Wirksamkeit, erreicht werden, wenn man bei dem erfindungsgemäßen Verfahren ein bestimmtes Enantiomeres verwendet, verglichen mit dem anderen Enantiomeren oder dem Razemat oder einem razemischen Gemisch. Derartige Vorteile lassen sich vom Fachmann leicht ermitteln.

**[0063]** Beispielsweise ist das Enantiomere S(+)-gamma-Vinyl-GABA wirksamer in Bezug auf die Erhöhung von endogenen, intrazellulären GABA-Spiegeln als das Enantiomere R(-)-gamma-Vinyl-GABA.

**[0064]** Verschiedene Enantiomere können aus chiralen Ausgangsmaterialien synthetisiert werden oder die Razemate können durch herkömmliche Verfahren, die dem Fachmann geläufig sind, aufgetrennt werden, beispielsweise durch chirale Chromatographie, fraktionierende Kristallisation von diastereomeren Salzen und dergl.

#### Verabreichung von gamma-Vinyl-GABA

**[0065]** Bei lebenden Säugern (in vivo) können GVG oder pharmazeutisch verträgliche Salze davon systemisch auf parenteralen und enteralen Wegen verabreicht werden, die auch Abgabesysteme mit kontrollierter Freisetzung umfassen. Beispielsweise kann GVG leicht intravenös oder intraperitoneal (i. p.), das den bevorzugten Abgabeweg darstellt, verabreicht werden. Eine intravenöse oder intraperitoneale Verabreichung kann vorgenommen werden, indem man GVG in einem geeigneten pharmazeutischen Träger (Vehikel) oder Exzipiens vermischt, wie es dem Fachmann geläufig ist.

**[0066]** Eine orale oder enterale Anwendung kommt ebenfalls in Betracht. Zubereitungen, wie Tabletten, Kapseln, Pillen, Pastillen, Elixiere, Suspensionen, Sirups, Oblaten, Kaugummis und dergl., können verwendet werden, um GVG oder pharmazeutisch verträgliche Salze davon bereitzustellen.

**[0067]** Der hier verwendete Ausdruck "pharmazeutisch verträgliche Salze" umfasst solche salzbildenden Säuren und Basen, die die Toxizität der Verbindung nicht wesentlich erhöhen. Zu einigen Beispielen für geeignete Salze gehören Salze von Mineralsäuren, wie Salzsäure, Iodwasserstoffsäure, Bromwasserstoffsäure, Phosphorsäure, Metaphosphorsäure, Salpetersäure und Schwefelsäure, sowie Salze von organischen Säuren, wie Weinsäure, Essigsäure, Citronensäure, Äpfelsäure, Benzoesäure, Glycolsäure, Gluconsäure, Gulonsäure, Bernsteinsäure, Arylsulfonsäure, wie p-Toluolsulfonsäure, und dergl.

**[0068]** Der hier verwendete Ausdruck "wirksame Menge" bedeutet eine Menge, mit der das angegebene Ergebnis der Veränderung des suchtbezogenen Verhaltens des Säugers bewirkt werden kann. Es handelt sich um eine Menge, die ein oder mehr Symptome oder Zustände, die sich durch das Absetzen oder den Entzug des Psychostimulans, des narkotischen Analgetikums, von Alkohol, Nikotin oder Kombinationen davon ergeben, verringert oder lindert. Es ist jedoch zu betonen, dass die Erfindung nicht auf eine bestimmte Dosis begrenzt ist.

**[0069]** Vorzugsweise wird GVG in einer Menge verabreicht, die nur geringe oder gar keine nachteiligen Wirkungen ausübt. Beispielsweise kann die verabreichte Menge etwa 15 mg/kg bis etwa 2 g/kg oder etwa 15 mg/kg bis etwa 600 mg/kg betragen.

**[0070]** Beispielsweise wird zur Behandlung von Kokainsucht GVG in einer Menge von etwa 15 mg/kg bis etwa 2 g/kg, vorzugsweise von etwa 100 mg/kg bis etwa 300 mg/kg oder von etwa 15 mg/kg bis etwa 600 mg/kg und insbesondere von etwa 150 mg/kg bis etwa 300 mg/kg oder von etwa 75 mg/kg bis etwa 150 mg/kg verabreicht.

**[0071]** Zur Behandlung von Nikotinsucht wird GVG beispielsweise in einer Menge von etwa 15 mg/kg bis etwa 2 g/kg oder von etwa 15 mg/kg bis etwa 600 mg/kg, vorzugsweise von etwa 100 mg/kg bis etwa 300 mg/kg oder von etwa 150 mg/kg bis etwa 300 mg/kg und insbesondere von etwa 18 mg/kg bis etwa 20 mg/kg oder von etwa 75 mg/kg bis etwa 150 mg/kg verabreicht.

**[0072]** Zur Behandlung von Methamphetaminsucht wird GVG in einer Menge von etwa 15 mg/kg bis etwa 2 g/kg, vorzugsweise von etwa 100 mg/kg bis etwa 300 mg/kg oder von etwa 15 mg/kg bis etwa 600 mg/kg und insbesondere von etwa 150 mg/kg bis etwa 300 mg/kg oder von etwa 75 mg/kg bis etwa 150 mg/kg an einen Säuger verabreicht.

**[0073]** Wenn der Säuger nach einer Kombination von Missbrauchsdrogen süchtig ist, wird GVG in einer Menge von etwa 15 mg/kg bis etwa 2 g/kg vorzugsweise von etwa 100 mg/kg bis etwa 300 mg/kg oder von etwa 15 mg/kg bis etwa 600 mg/kg und insbesondere von etwa 150 mg/kg bis etwa 300 mg/kg oder von etwa 75 mg/kg bis etwa 150 mg/kg an einen Säuger verabreicht.

**[0074]** Säuger umfassen beispielsweise Menschen, Paviane und andere Primaten, sowie Haustiere, wie Hunde und Katzen, Labortiere, wie Ratten und Mäuse und landwirtschaftlich genutzte Tiere, wie Pferde, Schafe und Kühe.

**[0075]** Gamma-Vinyl-GABA (GVG) stellt einen selektiven und irreversiblen Inhibitor von GABA-Transaminase (GABA-T) dar, von dem bekannt ist, dass er die GABA-erge Hemmung verstärkt. Ferner ist bekannt, dass GVG die biochemischen Wirkungen von Kokain verändert, indem es eine dosisabhängige und verlängerte Erhöhung von extrazellulären, endogenen Gehirn-GABA-Spiegeln bewirkt.

**[0076]** Aufgrund der Erkenntnis, dass Kokain sowie andere Missbrauchsdrogen, extrazelluläres NACC-DA erhöhen, und aufgrund der Tatsache, dass GABA in den gleichen Nuclei eine Hemmung von DA bewirkt, haben wir gezeigt, dass GVG die durch Kokain, Nikotin, Methamphetamine und Ethanol induzierten Veränderungen des extrazellulären DA abschwächen können. In einem Beispiel wurden in vivo-Mikrodialysetechniken bei sich frei bewegenden Tieren angewandt, um die Einflüsse einer akuten (einige Injektion) und chronischen (11 Tage) GVG-Verabreichung auf Kokain-induzierte Zunahmen der extrazellulären DA-Konzentration im NACC zu zeigen; vergl. speziell A. E. Morgan et al., "Effects of Pharmacologic Increases in Brain ABA Levels on Cocaine-Induced Changes in Extracellular Dopamine", *Synapse*, Bd. 28 (1998), S. 60-65.

**[0077]** Es wurde überraschenderweise festgestellt, dass die Einnahme von GVG das Verhalten und insbesondere das suchtbezogene Verhalten, das mit den biochemischen Veränderungen aufgrund der Einnahme von Missbrauchsdrogen verbunden ist, verändert. Beispielsweise schwächte GVG in signifikanter Weise die Kokain-induzierten Zunahmen des neostriatalen, synaptischen DA im Primatenhirn (Pavian), wie durch Positronenemissionstomographie (PET) festgestellt wurde und beseitigte sowohl die Expression als auch den Erwerb der Kokain-induzierten, konditionierten Platzpräferenz oder CPP. Es hatte jedoch keinen Einfluss auf CPP in Bezug auf eine Nahrungsbelohnung oder auf die Abgabe von Kokain an die lokomotorische Aktivität des Gehirns. Diese Befunde sprechen für die mögliche therapeutische Eignung einer pharmakologischen Strategie bei Kokainsucht, wobei die Strategie auf das GABA-erge Neurotransmittersystem abzielt, ein System, das sich vom mesotelencephalischen DA-Belohnungs-/Verstärkungssystem unterscheidet, aber funktionell damit verknüpft ist. Jedoch zielt dieser neue Weg mit GVG nicht auf den GABA-Rezeptorkomplex mit einem direkten

GABA-Agonisten ab, sondern nützt die verlängerten Wirkungen eines irreversiblen Enzminhibitors aus, der die endogenen GABA-Spiegel erhöht, ohne dass eine Suchtgefahr besteht, die mit direkt auf den Rezeptor selbst einwirkenden GABA-Agonisten verbunden ist.

**[0078]** Obgleich in den vorliegenden Beispielen GVG verwendet wird, ist es für den Fachmann ersichtlich, dass andere Zusammensetzungen oder Arzneimittel verwendet werden können, von denen bekannt ist, dass sie das GABA-erge System verstärken oder die extrazellulären, endogenen GABA-Spiegel im ZNS erhöhen.

**[0079]** Zu derartigen Zusammensetzungen oder Arzneimitteln gehören Arzneistoffe, die die Erzeugung oder Freisetzung von GABA im ZNS verstärken. Diese Arzneistoffe umfassen (ohne Beschränkung hierauf) Gabapentin, Valproasäure, Progabid, gamma-Hydroxybuttersäure, Fengabin, Cetyl-GABA, Topiramat, Tiagabin, Acamprosat (Homocalciumacetyltaurin) oder ein pharmazeutisch verträgliches Salz davon oder ein Enantiomeres oder ein razemisches Gemisch davon.

**[0080]** Die vorliegende Erfindung umfasst beliebige enantiomere Formen von Gabapentin, Valproasäure, Progabid, gamma-Hydroxybuttersäure, Fengabin, Cetyl-GABA, Topiramat, Tiagabin oder Acamprosat, einschließlich die Razemate oder razemischen Gemische davon.

**[0081]** Wie vorstehend ausgeführt, kann es in einigen Fällen vorteilhaft sein (d. h. zur Erzielung einer höheren Wirksamkeit), ein spezielles Enantiomeres bei dem erfindungsgemäßen Verfahren zu verwenden, verglichen mit dem anderen Enantiomeren oder dem Razemat oder dem razemischen Gemisch. Derartige Vorteile können vom Fachmann leicht bestimmt werden.

**[0082]** Die vorliegende Erfindung umfasst Zusammensetzungen oder Arzneimittel, die Arzneistoffvorstufen von GABA oder Arzneistoffe, die GABA als Rest in ihrer chemischen Struktur enthalten, umfassen. Diese Arzneistoffvorstufen werden pharmakologisch aktiv, wenn sie im ZNS metabolisch, enzymatisch oder nicht-enzymatisch zu GABA biologisch umgewandelt oder gespalten werden. Ein Beispiel für eine Arzneistoffvorstufe von GABA ist Progabid, das beim Durchqueren der Blut-Hirn-Schranke die endogenen ZNS-GABA-Spiegel erhöht.

**[0083]** Wie vorstehend ausgeführt, stellt gamma-Vinyl-GABA (GVG) einen selektiven und irreversiblen Inhibitor von GABA-Transaminase (GABA-T) dar, von dem bekannt ist, dass er die GABA-erge Hemmung verstärkt. Weitere Zusammensetzungen oder Arzneimittel, die die GABA-Wiederaufnahme im ZNS hemmen, kommen erfindungsgemäß ebenfalls in Betracht. Ein Beispiel für einen GABA-Wiederaufnahme-Inhibitor ist Tiagabin.

**[0084]** Das erfindungsgemäße Verfahren eignet sich zur Verstärkung des GABA-ergen Systems oder zur Erhöhung der extrazellulären, endogenen GABA-Spiegel im ZNS. Der hier verwendete Ausdruck "Verstärkung oder Erhöhung der endogenen ZNS-GABA-Spiegels" ist als eine Erhöhung oder Hochregulierung der GABA-Spiegel in einem Säuger, die erheblich über die normalen in vivo-Spiegel hinausgehen, definiert. Vorzugsweise werden die endogenen ZNS-GABA-Spiegel um mindestens etwa 10% bis etwa 600% über die normalen Spiegel erhöht.

**[0085]** Wie vorstehend ausgeführt, handelt es sich bei der hier verwendeten wirksamen Menge um eine Menge, die zur Erzielung des angegebenen Ergebnisses in Bezug auf eine Veränderung des suchtbezogenen Verhaltens des Säugers ausreicht. Es handelt sich um eine Menge, die ein oder mehr Symptome oder Zustände, die sich aufgrund des Absetzens oder des Entzugs des Psychostimulans, des narkotischen Analgetikums, von Alkohol, Nikotin oder Kombinationen davon ergeben, vermindert oder lindert. Es ist jedoch zu betonen, dass die Erfindung nicht auf eine bestimmte Dosis begrenzt ist.

**[0086]** Beispielsweise handelt es sich bei einer wirksamen Menge von Gabapentin, das dem Säuger verabreicht wird, um eine Menge von etwa 500 mg bis etwa 2 g/Tag. Gabapentin ist in den Vereinigten Staaten von der Fa. Parke-Davis als Neurontin<sup>R</sup> erhältlich.

**[0087]** Bei einer wirksamen Menge von Valproasäure, die dem Säuger verabreicht wird, handelt es sich beispielsweise um eine Menge von etwa 5 mg/kg bis etwa 100 mg/kg/Tag. Valproasäure ist in den Vereinigten Staaten von der Fa. Abbott als Depakene<sup>R</sup> erhältlich.

**[0088]** Vorzugsweise handelt es sich bei einer wirksamen Menge von Topiramat, das dem Säuger verabreicht wird, beispielsweise um eine Menge von etwa 50 mg bis etwa 1 g/Tag. Topiramat ist in den Vereinigten Staaten von der Fa. McNeil als Topamax<sup>R</sup> erhältlich. Bei einer wirksamen Menge von Progabid, das dem Säuger ver-

abreicht wird, handelt es sich vorzugsweise um eine Menge von etwa 250 mg bis etwa 2 g/Tag. Progabid ist als Gabrene<sup>R</sup> von der Fa. Synthelabo, Frankreich, erhältlich. Die chemische Formel von Progabid ist C<sub>17</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

**[0089]** Eine wirksame Menge von Fengabin, das dem Säuger verabreicht wird, ist vorzugsweise eine Menge von etwa 250 mg bis etwa 4 g/Tag. Fengabin ist als SL 79229 von der Fa. Synthelabo, Frankreich, erhältlich. Die chemische Formel von Fengabin ist C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>C<sub>12</sub>NO.

**[0090]** Vorzugsweise handelt es sich bei einer wirksamen Menge an gamma-Hydroxybuttersäure, die dem Säuger verabreicht wird, um eine Menge von etwa 5 mg/kg bis etwa 100 mg/kg/Tag. Gamma-Hydroxybuttersäure ist von der Fa. Sigma Chemical erhältlich. Die chemische Formel von gamma-Hydroxybuttersäure ist C<sub>4</sub>H<sub>7</sub>O<sub>3</sub>Na.

**[0091]** Nachstehend wird die Erfindung anhand von Beispielen ausführlich erläutert. Der vollständige Schutzmfang der Erfindung ergibt sich aus den beigefügten Ansprüchen.

#### Beispiele

**[0092]** Nachstehend werden Beispiele vorgelegt, um die Erfindung zu erläutern und die beste Ausführungsform der vorliegenden Erfindung zu beschreiben. Der Schutzmfang der Erfindung ist in keiner Weise durch die vorgelegten Beispiele beschränkt.

#### Materialien und Methoden

##### 1. PET-Studien an Primaten

**[0093]** Zwanzig ausgewachsene weibliche Paviane (Papio anubis, 13-18 kg) wurden für sämtliche Studien verwendet. Mit <sup>11</sup>C markiertes Racloprid, von dem früher gezeigt worden ist, dass es gegenüber Veränderungen des synaptischen DA empfindlich ist, wurde gemäß Literaturangaben synthetisiert (Volkow et al., 1994). Arterielle Blutproben wurden während der gesamten Untersuchung gewonnen. Ausgewählte Plasmaproben wurden auf die Anwesenheit des nicht-ausgetauschten, als radioaktive Markierung verwendeten <sup>11</sup>C analysiert. Die Tiere wurden zwischen isotopen Injektionen nicht aus der Anlage entfernt. Bereiche von Interesse (ROIs) wurden direkt auf den PET-Bildern gezeichnet. Kurz zusammengefasst, das Corpus striatum wurde bilateral auf jedem transaxialen Schnitt, auf dem es auftrat, umrissen. Die zerebellaren ROIs wurden durch die Mittellinie auf dem Niveau des Kleinhirnwurms gezeichnet. ROIs von der ersten Studie wurden sodann direkt auf den entsprechenden Schnitt der zweiten Studie kopiert. Durch Prüfung der Platzierung der ROIs auf der zweiten Abtastung konnten gegebenenfalls Veränderungen nur in der ROI-Position vorgenommen werden. Dieses multiplanare Analysenverfahren verringert die Unterschiede, die aufgrund einer Bewegung des Tiers innerhalb der Anlage während des Abtastzeitraums entstehen können.

**[0094]** Ein graphisches Verfahren zur Bestimmung des Verteilungsvolumens (DV) wurde früher für die kinetische Analyse der [<sup>11</sup>C]-Racloprid-Daten entwickelt. Das DV-Verhältnis war das am besten reproduzierbare Maß für die Racloprid-Aufnahme. Es handelt sich um das Verhältnis von DV aus einer rezeptorreichen Region (Corpus striatum) zum DV einer Nichtrezeptorregion (Kleinhirn). Die Konzentration des freien Rezeptors war direkt proportional zum DV-Verhältnis von 1. Die Tierpräparation erfolgte gemäß Literaturangaben (Dewey et al., 1992).

**[0095]** Die statistische Analyse war dazu bestimmt, die folgende Hypothesen zu prüfen: (1) die Kokain-Belastung unterschied sich von der Test/Testwiederholung-Variabilität des Radiotracers <sup>11</sup>C (durchgeführt beim gleichen Tier unter identischen Versuchsbedingungen) und (2) die Belastungsbedingungen unterschieden sich voneinander. Die Tatsache, dass signifikante Ergebnisse für das Striatum und das Striatum-Kleinhirn-Verhältnis erhalten wurden, jedoch nicht für das Kleinhirn, zeigten, dass die Wirkungen der Intervention auf die spezifische, jedoch nicht auf die unspezifische Bindungskomponente begrenzt war. GVG veränderte weder die regionale Verteilung noch die Verstoffwechselungsrate des radioaktiven Tracers.

##### 2. Durch Kokain induzierte, konditionierte Platzpräferenz bei Nagern

**[0096]** Bei sämtlichen Nagerstudien wurden männliche Sprague-Dawley-Ratten verwendet (200-225 g, Taconic Farms, Germantown, NY). Man sorgte dafür, dass die Tiere sich mindestens 5 Tage vor Beginn der Experimente an die Tiergehäuseeinrichtung akklimatisierten. Wir verwendeten Kammern zum Testen der konditio-

nierten Platzpräferenz (CPP) gemäß Literaturangaben (Lepore et al., 1995), mit der Ausnahme, dass nicht eine Kammer vollständig weiß und die andere schwarz war, sondern eine Kammer vollständig hellblau mit einem Boden aus rostfreiem Stahl war und die zweite Kammer hellblau mit horizontalen schwarzen Streifen (Breite 2,5 cm) im Abstand von 3,8 cm war und einen glatten Plexiglasboden aufwies. Bei sämtlichen CPP-Studien mit GVG betrug das Volumen der Kochsalzlösung (1 ml/kg) und die Kokaindosen betragen 20 mg/kg. Kochsalzlösung, Kokain und GVG wurden durchweg intraperitoneal (i. p.) injiziert. Das Konditionierungsverfahren für die Erwerbsphase bestand aus 12 Sitzungen, die hintereinander an 12 Tagen durchgeführt wurden.

**[0097]** Es handelte sich um folgende CPP-Paarungen: 1) Kochsalzlösung/Kochsalzlösung, 2) Kochsalzlösung/Kokain, 3) GVG/Kochsalzlösung, 4) Kochsalzlösung/Kokain und GVG. Die Tiere in jeder Gruppe wurden willkürlich einer  $2 \times 2$ -Faktoranordnung zugeordnet, wobei es sich bei dem einen Faktor um die Paarungskammer und bei dem anderen Faktor um die Konditionierungsreihenfolge handelte. Die Tiere mit der Gabe von Kochsalzlösung oder Kokain erhielten eine Injektion und wurden 30 Minuten im entsprechenden Abteil gehalten. Die GVG-Injektionen wurden 3 Stunden vor der Injektion von Kochsalzlösung oder Kokain gegeben, wodurch die Tiere in der entsprechenden Kammer gehalten wurden. Diese Maßnahme wurde getroffen, da es sich gezeigt hatte, dass die GABA-Spiegel 3 bis 4 Stunden nach der GVG-Verabreichung maximale Werte erreichten.

**[0098]** Am Testtag (Tag 12) wurden weder Arzneistoffe noch Kochsalzlösung verabreicht. Man sorgte dafür, dass sich das Tier 15 Minuten frei zwischen beiden Kammern bewegen konnte. Die Zeit, die das Tier in jeder Kammer verbrachte, wurde unter Verwendung eines automatisierten Infrarotstrahls, der elektronisch an eine Zeitmesseinrichtung angeschlossen war, aufgezeichnet. Für die CPP-Expressionsphase auf Kokain wurden die Tiere gemäß den Angaben in der Erwerbsstudie an Kokain gewöhnt und konditioniert, wobei aber die Tiere bei den Expressionsstudien an den Konditionierungstagen kein GVG erhielten. Am Testtag (Tag 12) erhielten die Tiere, die in der Expressionsphase getestet wurden, im Gegensatz zu den Tieren in der Erwerbsphase, entweder Kochsalzlösung oder GVG 2,5 Stunden, bevor sie in die Vorrichtung gesetzt wurden und 15 Minuten lang freien Zugang zu beiden Kammern erhielten.

### 3. Nahrungsinduzierte, konditionierte Platzpräferenz bei Nagern

**[0099]** Um die nahrungsinduzierte CPP bei Nagern zu testen, sorgte man dafür, dass vier Gruppen von Ratten während der gesamten 12 Sitzungen des CPP-Verfahrens freien Futterzugang hatten. Das CPP-Verfahren mit 12 Sitzungen war genau das gleiche wie bei den durch Kokain induzierten CPP-Studien, mit der Ausnahme, dass es sich bei der appetitiven Substanz um Futter anstelle von Kokain handelte. Die Gruppe 1 erhielt Kochsalzlösung, die Gruppe 2 eine intraperitoneale Verabreichung von 150 mg/kg GVG, die Gruppe 3 Kochsalzlösung und die Gruppe 4 eine intraperitoneale Verabreichung von 300 mg/kg GVG vor der Futterdarreichung und CPP-Paarung auf einer Seite der CPP-Box. Die Tiere in sämtlichen vier Gruppen wurden an Froot Loops, einem mit Fruchtaroma versehenen Zerealien-Frühstücksprodukt, das bei Laborratten sehr beliebt ist, in der entsprechenden Kammer im Testraum während 4 Gewöhnungssitzungen gewöhnt. 24 Stunden nach der letzten CPP-Paarung wurden die Tiere in die Kammer gesetzt und erhielten keine Verabreichung von Arzneistoff oder Kochsalzlösung (dabei war kein Futter verfügbar). Man ließ die Tiere 15 Minuten sich frei innerhalb der CPP-Vorrichtung bewegen. Die Zeit, die die Tiere in den gepaarten und ungepaarten Kammern verbrachten, wurde unter Verwendung einer automatischen Vorrichtung aufgezeichnet.

### 4. Bei Nagern gemessene lokomotorische Aktivität

**[0100]** Zur Verringerung des Handhabungsstresses wurden die Tiere 1 Woche lang jeden Tag 5 Minuten einer vorherigen Handhabung unterzogen. Am Untersuchungstag erhielten sie 2,5 Stunden vor dem Experiment eine intraperitoneale Verabreichung von GVG (150 mg/kg oder 300 mg/kg) oder von Kochsalzlösung (1 ml/kg oder 0,5 ml/kg). Die Tiere wurden 1 Stunde vor jedem Experiment in den Testbereich transportiert. 2,5 Stunden nach Verabreichung von GVG oder Kochsalzlösung wurden die Tiere in die Verhaltenskäfige gebracht und ihre lokomotorische Aktivität wurde 90 Minuten lang in Abständen von 10 Minuten an einem PC-AT-Computer unter Verwendung der Hardware für das Photobeam Activity System aufgezeichnet. Bei den Käfigen zur Bestimmung der lokomotorischen Aktivität handelte es sich um Käfige aus klarem Acrylglass der Abmessungen 41,3  $\times$  41,3  $\times$  30,5 cm. Das elektronische System (Photobeam Activity System, San Diego Instruments, San Diego, Kalifornien), das zur Überwachung der lokomotorischen Aktivität verwendet wurde, bestand aus 16 Infrarotstrahlen, die durch die Käfige von links nach rechts gesandt wurden, und 16 Strahlen, die von vorne nach hinten gesandt wurden. Sämtliche Infrarotstrahlen hatten einen Abstand von 0,39 cm vom Boden.

## 5. Katalepsiestudien bei Ratten

**[0101]** Der Grad der Katalepsie im Anschluss an die intraperitoneale Verabreichung von 150 mg/kg GVG, die intraperitoneale Verabreichung von 300 mg/kg GVG oder Kochsalzlösung (1 ml/kg, i. p. 0,9% Kochsalzlösung) wurde unter Verwendung des Stangen-Tests bestimmt. Kurz zusammengefasst, männliche Sprague-Dawley-Ratten wurden 3 Tage vor den Experimenten einer Handhabung unterzogen und in den Testraum gebracht, um für ihre Akklimatisierung zu sorgen. Am Testtag erhielten die Tiere (n = 10 pro Behandlungsgruppe) entweder Kochsalzlösung oder GVG. Der Grad der Katalepsie wurde 60, 120 und 240 Minuten nach der Injektion gemessen. Der Experimentator kannte die Behandlung der einzelnen Tiere nicht. Die Stange bestand aus Holz und wies einen Durchmesser von 1,2 cm und eine Höhe vom Boden bis zur Stangenspitze von 10 cm auf. Für jede Bestimmung wurden die Vorderpfoten der Tiere vorsichtig auf die Stange gelegt und die Zeitspanne, bis das Tier beide Vorderpfoten auf den Boden bewegte, wurde gemessen.

6.  $[^{11}\text{C}]$ -Kokain-Studien an Nagern und Primaten

**[0102]** Tiere (n = 10) wurden in zwei Gruppen eingeteilt. Die Gruppe 1 erhielt Kochsalzlösung (1 ml/kg) durch intraperitoneale (i. p.) Injektion 3 Stunden vor der i. p.-Verabreichung von  $[^{11}\text{C}]$ -Kokain. Die Gruppe 2 erhielt GVG (300 mg/kg) durch i. p.-Injektion 3 Stunden vor i. p.-Verabreichung von  $[^{11}\text{C}]$ -Kokain. Die Tiere wurden 10 Minuten nach der  $[^{11}\text{C}]$ -Kokain-Injektion getötet. Die Gehirne wurden entnommen und einer Radioaktivitätszählung unterworfen. Bei zwei zusätzlichen Primaten-PET-Studien wurde GVG (300 mg/kg) unmittelbar nach einer Basislinien-Abtastung mit markiertem Kokain verabreicht. Etwa 3 Stunden später wurde erneut markiertes Kokain verabreicht und die Tiere wurden 60 Minuten abgetastet.

## 7. Mikrodialyse-Studien bei Nagern

**[0103]** Sämtliche Tiere wurden nach einem von der IACUC gebilligten Verfahren und unter strenger Einhaltung der NIH-Richtlinien gehalten. Männliche Sprague-Dawley-Ratten (200-300 g, Taconic Farms), die in der Tierversorgungsanlage 12 Stunden im Dunkeln und 12 Stunden bei Licht gehalten wurden, wurden in 6 Gruppen (n = 5-9) eingeteilt und betäubt. Siliconisierte Führungskanülen wurden stereotaktisch in das rechte NACC (2,0 mm hoch und 1,0 mm seitlich zu Bregmen und 7,0 mm ventral zur kortikalen Oberfläche) mindestens 4 Tage vor der Studie implantiert. Mikrodialysesonden (2,0 mm, Bioanalytical Systems, BAS, West Lafayette, IN) wurden innerhalb der Führungskanülen positioniert und eine künstliche zerebrospinale Flüssigkeit (ACSF, 155,0 mM  $\text{Na}^+$ , 1,1 mM  $\text{Ca}^{2+}$ , 2,9 mM  $\text{K}^+$ , 132,76 mM  $\text{Cl}^-$  und 0,83 mM  $\text{Mg}^{2+}$ ) wurde durch die Sonde unter Verwendung einer CMA/100-Mikroinfusionspumpe (BAS) mit einer Fließgeschwindigkeit von 2,0  $\mu\text{l}/\text{min}$  verabreicht. Die Tiere wurden in Schüsseln gesetzt und Sonden wurden eingeführt und über Nacht mit ACSF gespült. Am Tag der Untersuchung wurden mindestens 3 Proben injiziert, um die Basislinienstabilität festzustellen. Alle 20 Minuten wurden Proben genommen und on-line injiziert (CMA/160, BAS). Die durchschnittliche Dopamin-Konzentration dieser drei stabilen Proben wurde als Kontrolle (100%) festgelegt und sämtliche anschließenden Behandlungswerte wurden in einen prozentualen Wert dieser Kontrolle umgewandelt. Nach Festlegen einer stabilen Basislinie wurde Nikotin durch intraperitoneale (i. p.) Injektion verabreicht. Das Hochleistungs-Flüssigchromatographie (HPLC)-System bestand aus einer BAS-Umkehrphasensäule (3,0  $\mu\text{m}$  C-18), einem elektrochemischen BAS-LC-4C-Transducer mit einer doppelten/glasigen Kohlenstoffelektrode, die auf 650 mV eingestellt war, einem Computer, der die Daten on-line unter Verwendung eines handelsüblichen Softwarepaketes (Chromograph Bioanalytical Systems) analysierte und einem Zweifachschreiber-Aufzeichnungsgerät. Die mobile Phase (Fließgeschwindigkeit 1,0 ml/min) bestand aus 7,0 % Methanol, 50 mM monobasischem Natriumphosphat, 1,0 mM Natriumoctylsulfat und 0,1 mM EDNA, pH-Wert 4,0. DA wurde nach 7,5 Minuten eluiert. Nach Beendigung der Studie wurden die Tiere enthauptet und eingefrorene Schnitte wurden für eine Bestätigung der Sondenplatzierung gewonnen.

**[0104]** Parallel zu den quantitativen Bestimmungen der Dopamin-Konzentration wurde die lokomotorische Reaktion dieser Tiere auf die Verabreichung des Stimulans gleichzeitig unter Verwendung eines IR-Bewegungssensors quantitativ bestimmt. Dieser optische IR-Nähendetektor überwachte die Bewegung des aufgehängten Arms, einer integralen Komponente des freien Bewegungssystems. Die digitale Ausgabe des Detektors wurde von einem IBM-PC erfasst und zur Zählung der positiven und negativen Armbeugungen verarbeitet. Diese Daten wurden gewonnen und unter Anwendung des gleichen temporalen Probennahmeverfahrens, das für die Dialyseproben verwendet wurde, summiert. Die lokomotorische Aktivität wurde sodann als Anzahl der Beugungen pro Probenintervall angegeben.

**[0105]** Nicht sämtliche Beispiele fallen unter den Umfang der Ansprüche.

## Beispiel 1

## Studien an nicht-humanen Primaten (Paviane)

**[0106]** In diesem Beispiel erhielten 20 nicht-humanen Primaten 2 Injektionen von [<sup>11</sup>C]-Racloprid gemäß dem in Abschnitt 1 von Materialien und Methoden beschriebenen Verfahren. Die erste Injektion diente als Basislinie und die zweite schloss sich an Kokain oder Placebo an. Die Primaten, die dem Test/erneuten Test unterzogen wurden (n = 7) und als Gruppe 1 der nachstehenden Tabelle I aufgeführt sind, erhielten Placebo (0,9 % Kochsalzlösung, 1 ml/kg) vor der zweiten Injektion des radioaktiven Tracers, um die Variabilität des Tests/erneuten Tests dieses Abbildungsverfahrens zu ermitteln.

Tabelle I

## Gruppen und experimentelle Bedingungen

Gruppe	Pharmakologische Bedingung
1	Kontrolle (Test/erneuter Test)
2	Behandlung mit Kokain
3	Behandlung mit GVG/Kokain

**[0107]** Sämtliche restlichen Primaten, (n = 13) erhielten eine systemische Injektion von Kokain-hydrochlorid (0,5, 1,0 oder 2,0 mg/kg) entweder 5 oder 30 Minuten vor der zweiten Injektion von [<sup>11</sup>C]-Racloprid. Von diesen 13 Tieren erhielten 5 Tiere GVG (300 mg/kg, i. v.) 3 Stunden vor der Verabreichung von Kokain.

**[0108]** Unterschiedliche Kokain-Dosen und Zeitabstände vor der Kokainbehandlung führten zu keinen signifikanten Änderungen der Einflüsse von Kokain auf das Verteilungsvolumen (DV), was den Erwartungen entsprach. Somit sind die durchschnittlichen prozentualen Änderungen des DV-Verhältnisses für mit Kokain allein behandelte Tiere (n = 8) gegen GVG/Kokain (n = 5) als Gruppen 2 und 3 von [Fig. 1](#) aufgeführt.

**[0109]** Als kompetitiver Antagonist ist die Bindung von [<sup>11</sup>C]-Racloprid von der DA-Konzentration im synaptischen Spalt abhängig. Dies bedeutet, dass mit Abnahme der synaptischen DA-Konzentrationen die [<sup>11</sup>C]-Racloprid-Bindung zunimmt. Umgekehrt nimmt mit steigenden synaptischen DA-Konzentrationen die [<sup>11</sup>C]-Racloprid-Bindung ab. Wie in [Fig. 1](#) dargestellt ist, betrug die Variabilität des Tests/erneuten Tests dieses Abbildungsverfahrens für Gruppe 1 weniger als 7 %. Die Variabilität dieser PET-Messungen stimmt mit früheren Werten überein, die mit [<sup>11</sup>C]-Racloprid bei Primaten erhalten wurden. In Gruppe 2 verursachte Kokain eine mehr als 30%ige Verringerung des durchschnittlichen DV-Verhältnisses ( $p < 0,0002$ , 2-teiliger Student-t-Test, [Fig. 1](#)). Diese Daten stimmen mit gleichzeitigen PET- und Mikrodialyse-Studien überein, bei denen eine Belastung mit Amphetamine im Primatenhirn das extrazelluläre DA erhöhte und die [<sup>11</sup>C]-Racloprid-Bindung verringerte. Außerdem sind diese Befunde ähnlich einem kürzlich erschienenen Bericht, der die Einflüsse einer Kokain-Belastung auf die Bindung von markiertem Racloprid beim Menschen untersuchte. Schließlich stimmen diese Daten mit unseren eigenen Mikrodialyse-Studien überein (Morgan und Dewey, 1998) sowie mit unseren PET-Studien an Primaten und Menschen mit Amphetamine, GBR 12909, Tetrabenazin, Methylphenidat und [<sup>11</sup>C]-Racloprid (Dewey et al., 1993; Volkow et al., 1994). Eine GVG-Vorbehandlung blockierte jedoch in signifikanter Weise die durch Kokain induzierte Abnahme, wie sich in Gruppe 2 von [Fig. 1](#) im DV-Verhältnis zeigt (Gruppe 2,  $p < 0,002$ , 2-teiliger Student-t-Test). Diese Unterschiede sind leicht in den parametrischen DV-Verhältnisabbildungen von [Fig. 2](#) erkennbar. Die Werte für die Gruppen 1 und 3 waren statistisch nicht unterschiedlich ( $p > 0,1$ , 2-teiliger Student-t-Test).

## Beispiel 2

## Studien über die durch Kokain induzierte Platzpräferenz bei Nagern

**[0110]** In diesem Beispiel wurde das im Abschnitt 2 von Materialien und Methoden beschriebene Verfahren eingehalten. Kokain erzeugte eine dosisabhängige CPP-Reaktion, wobei die zuverlässigste und robusteste Reaktion bei 20 mg/kg auftrat, wie in der nachstehenden Tabelle II dargelegt ist.

Tabelle II

## Konditionierte Platzpräferenz auf Kokain

Kokain (mg/kg)	In den Kammern verbrachte Zeit (Minuten)	
	Gepaart	Ungepaart <sup>1</sup>
0	7,4±0,3	7,6±0,3
5,0	8,2±0,4	6,8±0,5
10,0	9,6±0,5 <sup>2</sup>	5,4±0,3
20,0	11,8±0,4 <sup>3</sup>	3,2±0,4 <sup>4</sup>

<sup>1</sup>Die beobachteten Tiere erhielten nur eine Injektion von Kochsalzlösung.

<sup>2</sup>Signifikant größer als bei Kokaindosen von 0 und 5 mg/kg,  $p < 0,05$ , Varianzanalyse (ANOVA) und Student-Newman-Keuls-Test.

<sup>3</sup>Signifikant höher als bei Kokaindosen von 0,5 und 10 mg/kg,  $p < 0,05$ , ANOVA und Student-Newman-Keuls-Test.

<sup>4</sup>Signifikant niedriger als bei Kokaindosen von 0,5 und 10 mg/kg,  $p < 0,01$ , ANOVA und Student-Newman-Keuls-Test.

**[0111]** Wir wählten daher eine Kokaindosis von 20 mg/kg zur Prüfung des Einflusses der GVG-Verabreichung auf die Erwerbs- und Expressionsphasen der durch Kokain induzierten CPP. Die Ergebnisse zeigten klar, dass 112, 150 und 300 mg/kg, jedoch nicht 75 mg/kg GVG den Erwerb und die Expression von durch Kokain induzierter CPP blockierten; vergl. speziell die nachstehenden Tabellen III-X.

Tabelle III

## Einfluss von GVG und Kochsalzlösung auf den Erwerb der durch Kokain induzierten konditionierten Platzpräferenz

Behandlungspaarungen <sup>1</sup>	In den Kammern verbrachte Zeit (Minuten)	
	Gepaart	Ungepaart <sup>2</sup>
Kochsalzlösung/Kochsalzlösung	7,3±0,5	7,7±0,6
Kochsalzlösung/Kokain	11,1±0,3 <sup>4</sup>	3,9±0,4
75 mg/kg GVG <sup>3</sup> /Kochsalzlösung	7,3±0,5	7,7±0,6
75 mg/kg GVG <sup>3</sup> /Kokain	9,1±1,1	5,9±1,2

<sup>1</sup>Die einzelnen Werte stellen Mittelwerte der in den einzelnen Kammern verbrachten Zeitspannen in Minuten ±SEM dar (n = 8-10).

<sup>2</sup>Die beobachteten Tiere erhielten nur eine Injektion von Kochsalzlösung.

<sup>3</sup>Die Tiere erhielten GVG oder Kochsalzlösung 2,5 Stunden vor der Verabreichung von Kochsalzlösung oder Kokain (20 mg/kg).

<sup>4</sup>Signifikant höher als sämtliche Behandlungsgruppen,  $p < 0,05$ , ANOVA und Newman-Keuls-Test.

<sup>5</sup>Signifikant niedriger als sämtliche Behandlungsgruppen,  $p < 0,01$ , ANOVA und Newman-Keuls-Test.

Tabelle IV

Behandlungspaarungen <sup>1</sup>	In den Kammern verbrachte Zeit (Minuten)	
	Gepaart	Ungepaart <sup>2</sup>
Kochsalzlösung/Kochsalzlösung	7,2±0,5	7,8±0,4
Kochsalzlösung/Kokain	11,8±0,5 <sup>4</sup>	3,2±0,5
112 mg/kg GVG <sup>3</sup> /Kochsalzlösung	7,6±0,6	7,4±0,6
112 mg/kg GVG <sup>3</sup> /Kokain	8,2±0,5	6,8±0,5

<sup>1</sup>Die einzelnen Werte stellen Mittelwerte der in den einzelnen Kammern verbrachten Zeitspannen in Minuten  $\pm$  SEM dar (n = 8-10).

<sup>2</sup>Die beobachteten Tiere erhielten nur eine Injektion von Kochsalzlösung.

<sup>3</sup>Die Tiere erhielten GVG oder Kochsalzlösung 2,5 Stunden vor der Verabreichung von Kochsalzlösung oder Kokain (20 mg/kg).

<sup>4</sup>Signifikant höher als sämtliche Behandlungsgruppen, p < 0,05, ANOVA und Newman-Keuls-Test.

<sup>5</sup>Signifikant niedriger als sämtliche Behandlungsgruppen, p < 0,01, ANOVA und Newman-Keuls-Test.

Tabelle V

Behandlungspaarungen <sup>1</sup>	In den Kammern verbrachte Zeit (Minuten)	
	Gepaart	Ungepaart <sup>2</sup>
Kochsalzlösung/Kochsalzlösung	7,4±0,3	7,6±0,4
Kochsalzlösung/Kokain	11,6±0,5 <sup>4</sup>	3,4±0,4 <sup>5</sup>
150 mg/kg GVG <sup>3</sup> /Kochsalzlösung	7,8±0,6	7,2±0,6
150 mg/kg GVG <sup>3</sup> /Kokain	7,9±0,8	7,1±0,8

<sup>1</sup>Die einzelnen Werte stellen Mittelwerte der in den einzelnen Kammern verbrachten Zeitspannen in Minuten  $\pm$  SEM dar (n = 8-10).

<sup>2</sup>Die beobachteten Tiere erhielten nur eine Injektion von Kochsalzlösung.

<sup>3</sup>Die Tiere erhielten GVG oder Kochsalzlösung 2,5 Stunden vor der Verabreichung von Kochsalzlösung oder Kokain (20 mg/kg).

<sup>4</sup>Signifikant höher als sämtliche Behandlungsgruppen, p < 0,05, ANOVA und Newman-Keuls-Test.

<sup>5</sup>Signifikant niedriger als sämtliche Behandlungsgruppen, p < 0,01, ANOVA und Newman-Keuls-Test.

Tabelle VI

Behandlungspaarungen <sup>1</sup>	In den Kammern verbrachte Zeit (Minuten)	
	Gepaart	Ungepaart <sup>2</sup>
Kochsalzlösung/Kochsalzlösung	7,7±0,3	7,3±0,3
Kochsalzlösung/Kokain	11,2±0,6 <sup>4</sup>	0,8±0,5 <sup>5</sup>
300 mg/kg GVG <sup>3</sup> /Kochsalzlösung	7,2±0,4	7,8±0,4
300 mg/kg GVG <sup>3</sup> /Kokain	7,6±0,7	7,2±0,7

<sup>1</sup>Die einzelnen Werte stellen Mittelwerte der in den einzelnen Kammern verbrachten Zeitspannen in Minuten  $\pm$  SEM dar (n = 8-10).

<sup>2</sup>Die beobachteten Tiere erhielten nur eine Injektion von Kochsalzlösung.

<sup>3</sup>Die Tiere erhielten GVG oder Kochsalzlösung 2,5 Stunden vor der Verabreichung von Kochsalzlösung oder Kokain (20 mg/kg).

<sup>4</sup>Signifikant höher als sämtliche Behandlungsgruppen, p < 0,05, ANOVA und Newman-Keuls-Test.

<sup>5</sup>Signifikant niedriger als sämtliche Behandlungsgruppen, p < 0,01, ANOVA und Newman-Keuls-Test.

Tabelle VII

Einfluss von GVG und Kochsalzlösung auf die Expression der durch Kokain induzierten konditionierten Platzpräferenz

Behandlungspaarungen <sup>1</sup>	Am Testtag verabreichter Arzneistoff	In den Kammern verbrachte Zeit (Minuten)	
		Gepaart	Ungepaart <sup>2</sup>
Kochsalzlösung/Kochsalzlösung	Kochsalzlösung	7,5±0,4 <sup>1</sup>	7,5±0,4
Kochsalzlösung/Kochsalzlösung	GVG, 75 mg/kg	7,5±0,3	7,5±0,3
Kochsalzlösung/Kokain	Kochsalzlösung	11,8±0,5 <sup>3</sup>	3,2±0,5
Kochsalzlösung/Kokain	GVG, 75 mg/kg	10,6±0,6 <sup>3</sup>	4,4±0,9
Kochsalzlösung/Kochsalzlösung	Kochsalzlösung	7,8±0,5 <sup>1</sup>	4,4±0,9

<sup>1</sup>Die einzelnen Werte stellen Mittelwerte der in den einzelnen Kammern verbrachten Zeitspannen in Minuten ± SEM dar (n = 10).

<sup>2</sup>Die beobachteten Tiere erhielten nur eine Injektion von Kochsalzlösung.

<sup>3</sup>Signifikant höher als sämtliche Behandlungspaarungen, p < 0,01, ANOVA und Student-Newman-Keuls-Test.

Tabelle VIII

Behandlungspaarungen <sup>1</sup>	Am Testtag verabreichter Arzneistoff	In den Kammern verbrachte Zeit (Minuten)	
		Gepaart	Ungepaart <sup>2</sup>
Kochsalzlösung/Kochsalzlösung	Kochsalzlösung	7,1±0,5	7,9±0,5
Kochsalzlösung/Kochsalzlösung	GVG, 112 mg/kg	7,2±0,3	7,8±0,3
Kochsalzlösung/Kokain	Kochsalzlösung	12,2±0,6 <sup>3</sup>	2,8±0,5
Kochsalzlösung/Kokain	GVG, 112 mg/kg	8,1±0,7	6,9±0,6

<sup>1</sup>Die einzelnen Werte stellen Mittelwerte der in den einzelnen Kammern verbrachten Zeitspannen in Minuten ± SEM dar (n = 10).

<sup>2</sup>Die beobachteten Tiere erhielten nur eine Injektion von Kochsalzlösung.

<sup>3</sup>Signifikant höher als sämtliche Behandlungspaarungen, p < 0,01, ANOVA und Student-Newman-Keuls-Test.

Tabelle IX

Behandlungspaarungen <sup>1</sup>	Am Testtag verabreichter Arzneistoff	In den Kammern verbrachte Zeit (Minuten)	
		Gepaart	Ungepaart <sup>2</sup>
Kochsalzlösung/Kochsalzlösung	Kochsalzlösung	7,2±0,2 <sup>1</sup>	7,8±0,2
Kochsalzlösung/Kochsalzlösung	GVG, 150 mg/kg	7,7±0,2	7,3±1,1
Kochsalzlösung/Kokain	Kochsalzlösung	11,1±0,5 <sup>3</sup>	3,9±0,4 <sup>4</sup>
Kochsalzlösung/Kokain	GVG, 150 mg/kg	7,9±0,3	7,1±0,3

<sup>1</sup>Die einzelnen Werte stellen Mittelwerte der in den einzelnen Kammern verbrachten Zeitspannen in Minuten ± SEM dar (n = 10).

<sup>2</sup>Die beobachteten Tiere erhielten nur eine Injektion von Kochsalzlösung.

<sup>3</sup>Signifikant höher als sämtliche Behandlungspaarungen, p < 0,01, ANOVA und Student-Newman-Keuls-Test.

<sup>4</sup>Signifikant niedriger als sämtliche Behandlungspaarungen,  $p < 0,01$ , ANOVA und Student-Newman-Keuls-Test.

Tabelle X

Behandlungspaarungen <sup>1</sup>	Am Testtag verabreichter Arzneistoff	In den Kammern verbrachte Zeit (Minuten)	
		Gepaart	Ungepaart <sup>2</sup>
Kochsalzlösung/Kochsalzlösung	Kochsalzlösung	7,8±0,5 <sup>1</sup>	7,2±0,6
Kochsalzlösung/Kochsalzlösung	GVG, 300 mg/kg	7,3±0,4	7,7±0,3
Kochsalzlösung/Kokain	Kochsalzlösung	12,5±0,8 <sup>3</sup>	2,5±0,6 <sup>4</sup>
Kochsalzlösung/Kokain	GVG, 300 mg/kg	7,9±0,5	7,1±0,6

<sup>1</sup>Die einzelnen Werte stellen Mittelwerte der in den einzelnen Kammern verbrachten Zeitspannen in Minuten ± SEM dar (n = 10).

<sup>2</sup>Die beobachteten Tiere erhielten nur eine Injektion von Kochsalzlösung.

<sup>3</sup>Signifikant höher als sämtliche Behandlungspaarungen,  $p < 0,05$ , ANOVA und Student-Newman-Keuls-Test.

<sup>4</sup>Signifikant niedriger als sämtliche Behandlungspaarungen,  $p < 0,05$ , ANOVA und Student-Newman-Keuls-Test.

GVG selbst rief weder eine CPP noch eine konditionierte aversive Reaktion hervor; vergl. ebenfalls die Tabelle III-X.

## Beispiel 3

## Studien über die durch Nahrung induzierte konditionierte Platzpräferenz bei Nagern

**[0112]** In diesem Beispiel wurde das in Abschnitt 3 von Materialien und Methoden beschriebene Verfahren eingehalten. Die in der nachstehenden Tabelle XI aufgeführten Ergebnisse zeigen, dass Nahrung eine Anreiz- oder Belohnungswirkung hervorrief. Beispielsweise zeigen sämtliche gepaarten Werte, dass Nager mehr Zeit in der Kammer verbrachten, wo Nahrung vorhanden war.

Tabelle XI

## Einfluss von GVG (150, 300 mg/kg, i. p.) auf die konditionierte Platzpräferenz in Bezug auf Nahrung

Behandlungspaarungen	In den Kammern verbrachte Zeit (Minuten)	
	Gepaart	Ungepaart <sup>2</sup>
Kochsalzlösung/Kochsalzlösung	7,3±0,6	7,7±0,6
GVG/Kochsalzlösung	7,5±0,7	7,5±0,7
Kochsalzlösung/Nahrung	9,3±0,7	5,7±0,7
GVG (150 mg/kg) /Nahrung	9,4±0,7	5,6±0,7
GVG (300 mg/kg) /Nahrung	9,0±0,5	6,0±0,5

<sup>1</sup>Die einzelnen Werte stellen Mittelwerte der in den einzelnen Kammern verbrachten Zeitspannen in Minuten ± SEM dar.

<sup>2</sup>Die beobachteten Tiere erhielten nur eine Injektion von Kochsalzlösung.

**[0113]** Die Verabreichung von 150 oder 300 mg/kg GVG veränderte die CPP-Reaktion auf Nahrung nicht, wie in Tabelle XI dargelegt ist, und zwar trotz Abschwächung der anreizenden, motivierenden Einflüsse von Kokain bei den vorerwähnten CPP-Experimenten, die in den vorstehenden Tabellen III-X aufgeführt sind.

## Diskussion der in den Beispielen 1, 2 und 3 erhaltenen experimentellen Ergebnisse

**[0114]** In früheren PET-Studien zeigten wir, dass GVG allein die extrazellulären DA-Konzentrationen verringert, was zu einem Anstieg der [<sup>11</sup>C]-Racloprid-Bindung im Primatenhirn führt (Dewey et al., 1992). Bei den PET-Studien der vorliegenden Erfindung unterliegen die GVG-induzierten Verringerungen der extrazellulären DA-Spiegel vor der Verabreichung von Kokain klar der Abschwächung der Einflüsse von Kokain, die in Gruppe 3 von Tabelle I beobachtet wird. Jedoch zeigen die offensichtlich identischen Werte, die für die Gruppen 1 und 3 festgestellt wurden, in Kombination mit unseren früheren Befunden bei Verwendung von GVG allein (Dewey et al., 1992), dass Kokain die extrazellulären DA-Spiegel in der vorliegenden Erfindung trotz der GVG-Verabreichung erhöhte, jedoch nur auf die Basislinienwerte.

**[0115]** Jedoch war auf der Grundlage der hier vorgelegten CPP-Daten diese durch Kokain induzierte Rückkehr zur Basislinie offensichtlich unzureichend, um anreizende, motivierende Effekte hervorzurufen. Unsere Ergebnisse zeigen, dass Kokain eine CPP-Reaktion hervorrief. Im Gegensatz dazu bewirkten Vehikel-Paarungen keine CPP-Reaktion, was zeigt, dass die Tiere keine Kammer bevorzugten, d. h. die Vorrichtung ist ohne Einfluss. Ferner war die CPP-Reaktion auf Kokain von der Dosis abhängig, wobei die zuverlässigste und robusteste Reaktion bei einer Dosis von 20 mg/kg Kokain erfolgte.

**[0116]** Die Verabreichung von 112, 150 und 300 mg/kg, jedoch nicht von 75 mg/kg GVG blockierte den durch Kokain hervorgerufenen Erwerb und die Expression der CPP-Reaktion. Im Gegensatz dazu rief GVG bei Paarung mit Kochsalzlösung keine CPP- oder aversive Reaktion hervor. Dies zeigt, dass die Blockade der Kokain-CPP durch GVG nicht im Zusammenhang damit stand, dass GVG selbst eine aversive oder appetitive Reaktion hervorrief. Unsere in Beispiel 2 vorgelegten Ergebnisse zeigten, dass Nahrung eine Anreiz- oder Belohnungswirkung hervorrief. Die Verabreichung von 150 oder 300 mg/kg GVG veränderte die CPP-Reaktion auf Nahrung nicht, trotz der Abschwächung der Anreizwirkungen von Kokain. Dieser Befund lässt darauf schließen, dass GVG spezifisch die belohnenden/anreizenden Wirkungen von Kokain abschwächt.

## Beispiel 4

## Studien über die lokomotorische Aktivität und Katalepsie bei Laboratoriumsnagetieren

**[0117]** In diesem Beispiel wurden die in den Abschnitten 4 und 5 von Materialien und Methoden beschriebenen Verfahren eingehalten. Obgleich weitgehend anerkannt wird, dass das CPP-Paradigma anreizende, motivierende Effekte von motorischen Effekten trennt, bestimmten wir trotzdem die GVG-Einflüsse auf die Lokomotion und Katalepsie bei Ratten. Wir stellten fest, dass eine Vorbehandlung mit GVG in Dosen von 150 mg/kg oder 300 mg/kg die lokomotorische Aktivität nicht veränderte, verglichen mit Kontrollen, die mit Kochsalzlösung vorbehandelt worden waren, wie aus den [Fig. 3a](#) und [Fig. 3b](#) hervorgeht. Ferner induzierte eine Vorbehandlung mit GVG in Dosen von 150 mg/kg oder 300 mg/kg die Katalepsie bei Ratten nicht. Die Katalepsiedauer nach 300 mg/kg GVG betrug  $1,1 \pm 0,4$  Sekunden ( $n = 10$ ), was sich nicht signifikant von  $0,7 \pm 0,3$  Sekunden ( $n = 10$ ) bei mit Kochsalzlösung behandelten Ratten unterschied.  $n$  bedeutet die Anzahl an Nagern, die getestet wurden.

## Beispiel 5

<sup>11</sup>C-Kokain-Spiegel bei Nagern und Primaten

**[0118]** In diesem Beispiel wurde das im Abschnitt 6 von Materialien und Methoden beschriebene Verfahren eingehalten. Um die Möglichkeit festzustellen, dass GVG die Wirkungen von Kokain durch Veränderung des Eindringverhaltens in das Gehirn verändert, prüften wir den Einfluss von Kochsalzlösung und GVG auf die [<sup>11</sup>C]-Kokain-Spiegel im gesamten Ratten- und Primatenhirn. Bei Nagern betragen die Spiegel an [<sup>11</sup>C]-Kokain im Hirn im Anschluss an eine intraperitoneale Verabreichung von Kochsalzlösung und von 300 mg/kg GVG  $0,110 \pm 0,03$  bzw.  $0,091 \pm 0,02$ , was statistisch nicht unterschiedlich war. Bei Primaten unterschied sich das pharmakokinetische Profil der Bindung von markiertem Kokain im Neostriatum nicht signifikant von der Basislinien-Abtastung sowohl in Bezug auf die absolute Aufnahme als auch auf die Clearance.

## Beispiel 6

**[0119]** In diesem Beispiel wurden die Einflüsse von GVG auf durch Nikotin induzierte Veränderungen der extrazellulären Dopamin-Konzentrationen in sich frei bewegenden Ratten gemessen. Es wurde das im Abschnitt 7 von Materialien und Methoden beschriebene Verfahren eingehalten.

**[0120]** Insgesamt 8 Ratten wurden für jede Behandlungspaarung geprüft. Die Tiere erhielten 4 Paarungen über einen Zeitraum von 8 Tagen und zwar jeweils eine Paarung pro Tag. Die Tiere erhielten 75 mg/kg GVG 2,5 Stunden vor der Verabreichung von 0,4 mg/kg Nikotin. Am ersten Tag erhielten die Tiere GVG und sodann Nikotin und wurden in die entsprechende Kammer gebracht. Am Tag 2 erhielten die Tiere GVG und anschließend Kochsalzlösung und wurden in die entsprechende Kammer gebracht. Das Verfahren der Tage 1 und 2 wurde weitere 3-mal wiederholt. 24 Stunden nach Verabreichung der letzten Paarung wurde den Tieren 15 Minuten lang freier Zugang in der gesamten Vorrichtung zur Verhaltensprüfung gestattet und die Zeitspannen, die die Tiere in den gepaarten und ungepaarten Kammern verbrachten, wurden unter Verwendung einer automatischen Vorrichtung aufgezeichnet. Die Einflüsse von 75 mg/kg intraperitoneal verabreichtem GVG auf den Erwerb von Nikotin-CPP durch Ratten, die in diesem Beispiel geprüft wurden, sind in der nachstehenden Tabelle XII aufgeführt.

Tabelle XII

Einfluss von 75 mg/kg i. p. GVG auf den Erwerb der konditionierten Platzpräferenz in Bezug auf (–)-Nikotin

Behandlungspaarungen	In den Kammern verbrachte Zeit (Minuten)	
	Gepaart	Ungepaart <sup>2</sup>
Nikotin 0,4 mg/kg, s. c./Vehikel <sup>3</sup>	9,4±0,5	5,6±0,5
75 mg/kg GVG/Nikotin, 0,4 mg/kg, s. c.	6,4±0,3 <sup>4</sup>	8,6±0,3 <sup>5</sup>

<sup>1</sup>Die einzelnen Werte stellen Mittelwerte der in den einzelnen Kammern verbrachten Zeitspannen in Minuten ± SEM dar.

<sup>2</sup>Die beobachteten Tiere erhielten nur eine Injektion von Kochsalzlösung.

<sup>3</sup>Beim Vehikel handelte es sich um 1 ml/kg 0,9% NaCl oder Kochsalzlösung.

<sup>4</sup>Signifikant niedriger als bei der Nikotin/Vehikel-Paarung, p < 0,01, ANOVA und Student-Newman-Keuls-Test.

<sup>5</sup>Signifikant höher als bei der Nikotin/Vehikel-Paarung, p < 0,01, ANOVA und Student-Newman-Keuls-Test.

**[0121]** Die Ergebnisse eines ähnlichen Experiments, wie es in Tabelle XII aufgeführt ist, sind in [Fig. 4](#) dargestellt. [Fig. 4](#) zeigt, dass GVG (150 mg/kg) die durch Nikotin induzierten Erhöhungen der Dopamin-Konzentrationen in sich frei bewegenden Ratten blockiert. Bei den leeren Kreisen handelt es sich um Kontrolltiere. Die ausgefüllten Kreise stellen Tiere dar, die 2,5 Stunden vor der Verabreichung von Nikotin mit GVG behandelt wurden.

#### Vergleichsbeispiel

##### Einflüsse von Baclofen auf den Kokain-Gebrauch

**[0122]** Unsere in den Beispielen 1, 2 und 3 erhaltenen Ergebnisse stimmten mit früheren Studien überein, die darauf schließen ließen, dass die Erhöhung der GABA-ergen Funktion die Belohnung/Verstärkungs-Wirkungen von Kokain und anderen Missbrauchsdrogen abschwächen kann. Beispielsweise wurde gezeigt, dass bei Anwendung des progressiven Verhältnisparadigmas der selektive GABAB-Agonist Baclofen eine dosisabhängige Verringerung der Durchbruchspunkte für die intravenöse (i. v.) Verabreichung von Kokain bei männlichen Wistar-Ratten hervorrief, obgleich es die Rate der Drogeneinnahme nicht beeinflusste. Diese Ergebnisse ließen darauf schließen, dass Baclofen die Verstärkungswirkungen von Kokain abschwächt, da eine Verringerung des Durchbruchpunkts eine Abnahme der Motivation zur Selbstverabreichung von Kokain darstellt.

**[0123]** Ferner wurde die Hypothese aufgestellt, dass die Verstärkung der GABAA-Rezeptorfunktion die Selbstverabreichung von Kokain abschwächen kann, da Chlordiazepoxid und Alprazolam, positive allosterische Modulatoren des GABA<sub>A</sub>-Rezeptorkomplexes, die Rate der Selbstverabreichung von Kokain verringerten. Jedoch steht dieser Effekt vermutlich im Zusammenhang mit einer Zunahme des Verstärkungswerts von jeder Dosisseinheit Kokain, da Chlordiazepoxid den Durchbruchspunkt für die Selbstverabreichung von Kokain in einem progressiven Verhältnisschema steigert.

**[0124]** Die Befunde mit Baclofen wurden durch eine neuere Studie aus dem gleichen Laboratorium bestärkt, die zeigt, dass eine akute Vorbehandlung von Ratten mit Baclofen (1,25-5 mg/kg i. p.) die Selbstverabreichung von Kokain in einem Paradigma mit getrennten Versuchen mindestens 4 Stunden lang unterdrückt, ohne dass

die Reaktion auf die Nahrungsverstärkung signifikant verändert wird. Eine Mikroinjektion von Baclofen in den ventralen, tegmentalnen Bereich ipsilateral zu einer Stimulationselektrode im lateralen Hypothalamus von Ratten verursachte eine Rechtsverschiebung der Raten-Strom-Intensitätskurve, was darauf hinweist, dass Baclofen den Belohnungswert der elektrischen Stimulation abschwächt. Jedoch beeinflusste Baclofen nicht die maximale Reaktionsrate für eine elektrische Hirn-Stimulationsbelohnung oder die nicht-verstärkten Verhaltensniveaus, was darauf hinweist, dass die Wirkung von Baclofen nicht im Zusammenhang mit Veränderungen des motorischen Verhaltens/Geschicklichkeit stand.

**[0125]** Eine neuere Studie zeigte, dass GVG eine dosisabhängige Erhöhung der Hirnstimulations-Belohnungsschwellen in männlichen F344-Ratten hervorruft (Kushner et al., 1997b), ohne dass signifikante Einflüsse auf das motorische Verhalten bestehen. Die Verringerung der Gehirnstimulations-Belohnungsschwellen, die durch 2,5 und 5 mg/kg intraperitoneal verabreichtes Kokain hervorgerufen wurden, wurden durch eine Dosis von 900 mg/kg GVG signifikant antagonisiert.

**[0126]** Schließlich wurde die durch Morphin (8 mg/kg) hervorgerufene CPP-Reaktion signifikant durch Mikroinjektion von Baclofen (0,1-1 nmol) in den ventralen segmentalen Bereich signifikant abgeschwächt und dieser Einfluss wurde durch den GABAB-Antagonisten 2-Hydroxysaclofen antagonisiert. Somit zeigen diese Studien trotz der unterschiedlichen Paradigmen zur Bestimmung von Belohnung/Verstärkung, dass die Aktivierung von GABAB-Rezeptoren den appetitiven Wert von Kokain, Morphin und der elektrischen Gehirnstimulationsbelohnung abschwächt.

**[0127]** Früher wurde berichtet, dass eine Vorbehandlung mit der GABA-mimetischen Verbindung Progabid (die die GABA-Spiegel im Gehirn über Verstoffwechselung zu GABA erhöht), das allein keine konditionierte Platzpräferenz oder -aversion hervorruft, die CPP-Reaktion auf 1,5 mg/kg i. p. Amphetamine nicht veränderte. Es ist jedoch schwierig, diesen Befund mit der vorliegenden Erfindung zu vergleichen, da Unterschiede bezüglich der Rattenstämme, der GABA-ergen Verbindungen und der zur Herbeiführung von CPP verwendeten Drogen bestanden. Ferner ist darauf hinzuweisen, dass Progabid nur 35 Minuten lang vorlag. Da gezeigt worden ist, dass der maximale Anstieg der GABA-Spiegel im Hirn im Anschluss an eine systemische Verabreichung von Progabid 4 bis 6 Stunden nach Injektion auftritt, lagen die GABA-Spiegel während der Bestimmung der durch Amphetamine induzierten CPP nicht bei ihrem Maximalwert.

**[0128]** Aufgrund der Hinweise, dass die Verstärkung der dopaminergen Funktion im mesolimbischen System eine Rolle bei der Vermittlung der Belohnungs/Verstärkungs-Wirkungen von Kokain spielt, kann die Beseitigung der CPP-Reaktion auf Kokain durch GVG mit einer Veränderung der dopaminergen Aktivität/Funktion in Zusammenhang gebracht werden. Diese Hypothese wird durch unsere in vivo-Mikrodialyse-Studie gestützt, die zeigt, dass eine akute (300 und 500 mg/kg i. p.) oder wiederholte Verabreichung (100, 300 und 500 mg/kg i. p.) von GVG eine signifikante, dosisabhängige Verringerung der Erhöhung der extrazellulären DA-Spiegel im NACC und Striatum, die durch 20 mg/kg i. p. Kokain hervorgerufen wurde, erzeugte (Dewey, et al., 1998). Gleichzeitig ist es unwahrscheinlich, dass eine Veränderung der Empfindlichkeit von DA-Rezeptoren im Anschluss an eine GVG-Verabreichung für die Abschwächung der Kokain-Wirkung verantwortlich ist, da bekannt ist, dass die wiederholte Verabreichung von GVG nicht die D1- oder D2-Rezeptorempfindlichkeit im Ratten-Striatum verändert. Jedoch gibt es keine Anzeichen bezüglich der GVG-Einflüsse auf andere DA-Rezeptoren (D<sub>3</sub>, D<sub>4</sub> und D<sub>5</sub>). Alternativ ist es möglich, dass Kokain die GABA<sub>B</sub>-Rezeptorfunktion verändert, wodurch möglicherweise die Freisetzung von Neurotransmittern, wie DA, verändert wird und GVG dagegen antagonistisch wirkt, und zwar über eine Erhöhung der GABA-Spiegel und eine daraus folgende Stimulation von GABAB-Rezeptoren.

**[0129]** Ferner wurde gezeigt, dass die wiederholte Verabreichung von Kokain die Wirksamkeit der präsynaptischen GABAB-Auto- und Heterorezeptoren an lateralen, septalen Nucleus-Neuronen in Rattenhirnschnitten verringert. Dies kann zu einer enthemmenden Wirkung und zu einer verstärkten Neurotransmitter-Freisetzung führen. Es ist ferner möglich, dass Baclofen die Wirkung von DA abschwächt und dies wiederum die Wirkungen von Kokain abschwächt. Dies wird indirekt durch die Befunde von Lacey et al. (1988) gestützt, die zeigen, dass bei intrazellulären Aufzeichnungen von Rattenneuronen der Substantia nigra-Zona compacta die durch DA hervorgerufenen Auswärtsströme durch von Baclofen erzeugte maximale Ströme geschlossen wurden.

**[0130]** Es sind mehrere Interpretationen der vorliegenden Ergebnisse möglich. Zunächst ist es möglich, dass GVG den Metabolismus von Kokain verstärken kann, wodurch die Menge verringert wird, die das Gehirn erreicht, und anschließend die neurochemischen Wirkungen und letztlich die Auswirkungen auf das Verhalten verringert werden. Jedoch ist dies unwahrscheinlich, da die <sup>11</sup>C-Kokain-Hirnspiegel in Ratten oder Primaten, die mit GVG (300 mg/kg) vorbehandelt worden waren, nicht signifikant verändert waren. Ferner wird Kokain

vorwiegend durch Plasma-Cholinesterase metabolisiert, während GVG vorwiegend unverändert im Urin ausgeschieden wird, was eine pharmakokinetische Wechselwirkung unwahrscheinlich macht.

**[0131]** Es wurde berichtet, dass Arzneistoffe, die eine GABA-erge Funktion ausüben, Sedierung und Ataxie hervorrufen können. Infolgedessen ist es vernünftig zu postulieren, dass GVG durch Erzeugung derartiger ungünstiger Einflüsse auf das Verhalten in nicht-spezifischer Weise antagonistisch gegen die Wirkung von Kokain wirken kann. Jedoch zeigen die Ergebnisse in der vorliegenden Studie, dass GVG keine Katalepsie oder keine signifikante Veränderung der lokomotorischen Aktivität hervorruft, was diese Hypothese unhaltbar macht. Ferner zeigen die vorstehend erörterten Beispiele, dass GVG keine konditionierte Ortsaversion hervorruft, was zeigt, dass sein Antagonismus gegen die Wirkung von Kokain nicht das Ergebnis einer Ausgleichswirkung auf die Aversion ist. Ferner ruft GVG allein keine CPP hervor, was zeigt, dass es nicht die Präferenz der Tiere von der mit Kokain gepaarten Umgebung zu der mit GVG gepaarten Umgebung verschiebt.

**[0132]** Es wurde gezeigt, dass eine Verabreichung von GVG die Nahrungsaufnahme bei Ratten verändert kann. Auf der Grundlage dieses Befunds ist es möglich, dass GVG den hedonistischen Wert von natürlichen Belohnungen sowie von durch Kokain hervorgerufenen Belohnungen verringern oder abschwächen kann. Jedoch zeigt die vorliegende Studie, dass weder 150 noch 300 mg/kg GVG die CPP in Bezug auf Nahrung verändert.

**[0133]** Es gibt Anzeichen, die darauf hinweisen, dass das Verhalten beim Paradigma der konditionierten Platzpräferenz (CPP) sowohl von den affektiven Eigenschaften als auch von den Gedächtnisverbessernden Eigenschaften der getesteten Verstärker abhängt. Daher könnte man argumentieren, dass die GVG-Blockade der Expression und des Erwerbs der kokaininduzierten CPP das Ergebnis der GVG-Störung der Assoziation des kokaininduzierten, positiven Anreizwerts mit den entsprechenden Stimuli durch Gedächtnisstörung ist. Tatsächlich ist es bekannt, dass bestimmte Arzneistoffe, die die GABA-erge Funktion verstärken, das Gedächtnis beeinträchtigen können. Jedoch beeinflusst GVG nicht die Ortskonditionierung für Nahrung, was darauf schließen lässt, dass diese Hypothese nicht den GVG-Antagonismus der Wirkung von Kokain beim CPP-Paradigma erklären kann.

**[0134]** Es wurde festgestellt, dass GVG-Dosen von 112, 150 und 300 mg/kg antagonistisch gegen den Erwerb und die Expression von kokaininduzierter CPP wirken kann. Im Gegensatz dazu rief GVG keine CPP oder konditionierte Ortsaversionsreaktion hervor, was zeigt, dass GVG nicht antagonistisch gegen die Wirkung von Kokain wirkt, indem es eine CPP-Reaktion allein hervorruft oder CPP durch Erzeugung einer aversiven Wirkung abschwächt. Ferner verursachte GVG keine Katalepsie und veränderte den Anreizwert von Nahrung nicht. Es gibt Anzeichen dafür, dass mit Kokain im Zusammenhang stehende Stimuli oder Hinweise das Verhalten einer Suche nach Drogen und das heftige Verlangen bei detoxifizierten Kokain-Süchtigen wiederherstellen, wodurch es zu einem Rückfall kommt. Die Expression der CPP auf Kokain, bestimmt in Abwesenheit von Kokain, wird durch GVG antagonisiert. Diese Ergebnisse zeigen, dass das von Kokain-Süchtigen empfundene heftige Verlangen durch GVG abgeschwächt werden kann.

**[0135]** Es wurde angenommen, dass die dopaminerge Übertragung im NACC spezifisch an den Verstärkungswirkungen von Kokain beteiligt ist. In den vorstehend erörterten PET-Studien wurden Messungen im Corpus striatum und nicht im NACC gemacht. Obgleich eine Beteiligung der DA-Neurotransmission im Corpus striatum bei der Kokain-Belohnung und Verstärkung nicht angenommen wird, sind die Einflüsse von Kokain auf die extrazellulären DA-Spiegel qualitativ in beiden Bereichen ähnlich. Ferner zeigten unsere in vivo-Mikrodialyse-Studien die Fähigkeit von GVG zur Abschwächung der kokaininduzierten Zunahmen der extrazellulären DA-Spiegel in beiden Bereichen in einem ähnlichen Ausmaß (Dewey et al., 1997; Morgan und Dewey, 1998).

**[0136]** In der vorliegenden Erfindung wurden zwei verschiedene Spezies von Nagern und Primaten verwendet, um Abbildungs- und Verhaltensexperimente durchzuführen. Jedoch ist das mesokortikolimbische DA-System neuroanatomisch und neurophysiologisch in beiden Spezies homolog. Ferner sind bei beiden Spezies die biochemischen Einflüsse von Kokain auf extrazelluläres DA bei Messung durch in vivo-Mikrodialyse-Techniken ähnlich und sowohl Nager als auch Primaten nehmen bereitwillig eine Selbstverabreichung von Kokain vor (Morgan et al., 1998).

**[0137]** Auf der Grundlage der erfindungsgemäßen experimentellen Ergebnisse wird angenommen, dass die Verhaltensblockade im CPP-Paradigma auf eine Abschwächung der Einflüsse von Kokain auf Gehirn-DA im Anschluss an die GVG-induzierte Zunahme der GABA-ergen Hemmung des mesokortikolimbischen DA-Systems zurückzuführen war.

**[0138]** GVG bietet den konzeptuellen Vorteil der Blockierung der anreizenden Motivationswirkungen und biochemischen Einflüsse von Kokain auf Gehirn-DA durch irreversible Hemmung von GABA-T, wodurch die relativ langsame de novo-Synthese dieses Enzyms zur geschwindigkeitsbestimmenden Stufe bei der Umkehr der Hemmung der Kokain-Wirkungen wird. Eine neue Fallstudie über eine Person, die missbräuchlich Kokain einnimmt, lässt darauf schließen, dass Gabapentin, ein Antikonvulsivum, das auch die GABA-erge Transmission über einen unbekannten Mechanismus verstärkt, die mit Kokain verbundenen Entzugs- und Verlangenserscheinungen abschwächt. Insgesamt zeigen diese Daten, dass Arzneistoffe, die selektiv auf das GABA-erge System abzielen, für die Behandlung von Kokain-Sucht günstig sein können. Insbesondere stellt die GVG-induzierte GABA-T-Hemmung, die eine Erhöhung der extrazellulären GABA-Hirnspiegel hervorruft, einen wirksamen Arzneistoff und eine neue Strategie zur Behandlung von Kokainsucht dar.

#### Beispiel 7

**[0139]** Die Erscheinung der Sensibilisierung wird bei praktisch sämtlichen Suchtdrogen festgestellt. Man nimmt an, dass die Sensibilisierung eine Rolle bei der Suchtätiologie spielt. In diesem Beispiel wurde der Einfluss von Kochsalzlösung und 150 mg/kg i. p. GVG auf die Expression des durch Kokain induzierten, stereotypen Verhaltens im Anschluss an eine Sensibilisierungsgabe von Kokain bei zehn sich frei bewegenden Ratten gemessen.

**[0140]** Die Tiere erhielten 15 mg/kg i. p. Kokain und die Stereotypie wurde in üblichen Lokomotionskäfigen bestimmt. An 6 aufeinanderfolgenden Tagen erhielten die Tiere 1-mal täglich in ihren Heimkäfigen 15 mg/kg i. p. Kokain. 8 Tage später wurden die Tiere erneut mit 15 mg/kg i. p. Kokain belastet und ihre Stereotypie wurde bestimmt. Eine Bewertungsskala mit 5 Punkten wurde zur Bestimmung der Stereotypie herangezogen. Die bewertende Person kannte die Behandlung, die jedes Tier erhalten hatte, nicht. Es wurde festgestellt, dass GVG die Expression der durch Kokain induzierten Sensibilisierung in einer Dosis von 150 mg/kg i. p. beseitigte, wenn die Verabreichung 2,5 Stunden vor der Kokain-Belastung erfolgte. Die Ergebnisse sind in der nachstehenden Tabelle XIII zusammengestellt.

Tabelle XIII

Einfluss von Kochsalzlösung und 150 mg/kg i. p. GVG auf die Expression von kokaininduzierten Stereotypien im Anschluss an eine Kokain-Sensibilisierungsbehandlung

Stereotypiebewertung am Tag 1	Behandlung 2 Stunden vor Messen der Stereotypiebewertung	Stereotypien am Tag 15
2,5±0,4	1 ml/kg i. p. 0,9 % NaCl	4,1±0,5*
2,5±0,4	150 mg/kg i. p. GVG	2,3±0,6

\*Signifikant größer als am Tag 1,  $p < 0,05$ , Student-Test

**[0141]** Die anschließenden Experimente waren zur Bestimmung der Einflüsse von GVG auf nikotininduzierte Zunahmen an NACC-DA sowie auf das mit dieser biochemischen Wirkung verbundene Verhalten konzipiert. Speziell wurde dies folgendermaßen durchgeführt: 1) Anwendung von in vivo-Mikrodialyse an sich frei bewegenden, naiven und chronisch mit Nikotin behandelten Tieren zur Messung der Einflüsse von GVG und Nikotin auf extrazelluläres NACC-DA; 2) Anwendung von Positronenemissionstomographie (PET) zur Messung des Einflusses von GVG auf nikotininduzierte Abnahmen der <sup>11</sup>C-Racloprid-Bindung im Striatum von betäubten, weiblichen Pavianen und 3) Prüfung des Einflusses von GVG auf nikotininduzierte CPP.

#### Beispiel 8

Einflüsse von GVG auf nikotininduzierte Zunahmen an NACC-DA

##### 1. Mikrodialysestudien an Nagern

**[0142]** In diesem Beispiel wurde Nikotin als Suchtdroge verwendet. Den Tieren der Gruppe 1 wurde Nikotin (0,9 mg/kg, s. c.) 2,5 Stunden nach Verabreichung von GVG (75, 90, 100 oder 150 mg/kg, i. p.) verabfolgt. In einer getrennten Reihe von Experimenten (Gruppe 2) wurden Tiere 21 Tage mit Nikotin (0,4 mg/kg, s. c. 2-mal täglich) behandelt. Am Untersuchungstag wurde GVG (100 mg/kg) 2,5, 12 oder 24 Stunden vor der Belastung

mit Nikotin (0,4 mg/kg, s. c.) verabreicht. Bei sämtlichen Studien wurden die Tiere in der Nacht vor dem Experiment in die Mikrodialyse-Schüsseln gebracht und künstliche Zerebrospinalflüssigkeit (ACSF) wurde durch die Mikrodialysesonden mit einer Fließgeschwindigkeit von 2,0  $\mu$ l/min perfundiert. Am Ende der einzelnen Studien wurden die Tiere getötet. Ihre Gehirne wurden entfernt und zur Bestätigung der Sondenplatzierung seziert.

**[0143]** Bei den Tieren der Gruppe 1 erhöhte Nikotin die extrazellulären DA-Konzentrationen im NACC um etwa 100%, und zwar 80 Minuten nach der Verabreichung ([Fig. 5A](#)). Dies bedeutet, dass die DA-Spiegel auf etwa 200 % der Basiswerte anstiegen. Etwa 160 Minuten nach der Verabreichung kehrte DA auf die Basiswerte zurück. GVG hemmte in dosisabhängiger Weise den Anstieg, wie [Fig. 5A](#) zeigt. Bei einer Dosis von 75 mg/kg hatte GVG keinen Einfluss auf die nikotininduzierten Anstiege von DA, während GVG bei einer Dosis von 90 mg/kg die DA-Anstiege um etwa 50 % hemmte und bei einer Dosis von 100 mg/kg jeglichen DA-Anstieg vollständig beseitigte. Die höchste Dosis von 150 mg/kg beseitigte die Wirkungen ebenfalls vollständig (Daten nicht aufgeführt). Besonders bemerkenswert ist der Befund, dass bei den drei höheren Dosen (90, 100 oder 150 mg/kg) GVG die basalen DA-Werte vor der Verabreichung von Nikotin senkte. Die geringste Dosis (75 mg/kg) hatte keinen Einfluss auf die basalen DA-Werte und anschließend keinen Einfluss auf die Fähigkeit von Nikotin extrazelluläres NACC-DA zu erhöhen.

**[0144]** Bei den Tieren der Gruppe 2 erhöhte Nikotin die extrazellulären NACC-DA-Spiegel innerhalb der gleichen Zeitspanne und im gleichen Ausmaß wie bei den Tieren der Gruppe 1 (etwa 100% über der Basislinie, [Fig. 5B](#)). Ähnlich wie bei unseren Befunden in Gruppe 1 beseitigte GVG (100 mg/kg) bei Verabreichung 2,5 Stunden vor der Verabreichung von Nikotin vollständig die nikotininduzierten Anstiege des extrazellulären DA. Bei einer Verabreichung 12 Stunden vor der Belastung erhöhte Nikotin jedoch die extrazellulären DA-Spiegel um etwa 25% über die Basiswerte ([Fig. 5B](#)). Bei den Tieren der Gruppe 2, die GVG 24 Stunden vor der Belastung mit Nikotin erhalten hatten, stiegen die extrazellulären DA-Spiegel auf Werte an, die ähnlich wie die Messwerte bei den Kontrolltieren waren ([Fig. 5B](#)). Übereinstimmend mit unseren früheren Befunden (Dewey et al., 1997) veränderte GVG nicht die grobe lokomotorische Aktivität während des 2,5-stündigen Vorbehandlungszeitraums. Jedoch erhöhte Nikotin die grobe lokomotorische Aktivität bei sämtlichen Tieren, unabhängig von der erhaltenen GVG-Dosis.

#### Beispiel 9

##### Nikotininduzierte CPP bei Nagern

##### Beschreibung der CPP-Vorrichtung

**[0145]** Die CPP-Vorrichtung wurde vollständig aus Plexiglas gefertigt, mit Ausnahme des Bodens in einem der Paarungskammern, der aus einer Platte aus rostfreiem Stahl mit Löchern (Durchmesser 0,5 mm) in einem Abstand von 0,5 mm von Rand zu Rand gefertigt war. Die beiden Paarungskammern unterschieden sich in visueller und taktiler Hinsicht. Eine Kammer mit dem Boden aus rostfreiem Stahl war vollkommen hellblau und die zweite Kammer war hellblau mit horizontalen schwarzen Streifen (Breite 2,5 cm) im Abstand von 3,8 cm und wies einen glatten Plexiglasboden auf. Die beiden Paarungskammern waren durch einen dritten, neutralen Verbindungstunnel (10  $\times$  14  $\times$  36 cm) mit klaren Plexiglaswänden und einem Plexiglasboden getrennt. Die visuellen und taktilen Merkmale waren so ausgeglichen, dass die Tiere vor der Konditionierung keine Seite signifikant bevorzugten.

##### Einfluss von GVG auf die Expression von CPP bei Nagern

**[0146]** Das Konditionierungsverfahren bestand aus 20 Sitzungen, die nacheinander an 20 Tagen durchgeführt wurden. Bei den ersten drei Sitzungen handelte es sich um Gewöhnungssitzungen, bei denen man sich 5 Minuten pro Tag um die Tiere kümmerte und die Tiere den Sicht- und Schallmerkmalen des Testraums ausgesetzt waren. Daran schlossen sich 16 Sitzungen mit 8 Paarungen mit 1) Träger/Träger (1 ml/kg i. p. 0,9 % Kochsalzlösung, n = 10 Tiere) oder 7 Gruppen mit Kochsalzlösung/Nikotin (0,4 mg/kg s. c.) an, wobei jede Gruppe 10 Tiere umfasste. Die Hälfte der Tiere in jeder Testgruppe erhielt vor dem Aufenthalt in der blauen Kammer Nikotin und die andere Hälfte erhielt vor dem Aufenthalt in der blau und schwarz gestreiften Kammer Kochsalzlösung. Die Tiere, die Träger oder Nikotin erhalten hatten, erhielten eine Injektion und wurden 30 Minuten mittels Plexiglas-Falltüren auf das entsprechende Abteil beschränkt, um den Zugang zum Rest der Kammer zu verhindern. Die letzte Sitzung (Tag 20) war eine Testsitzung, bei der die Tiere 30 Minuten vor dem Experiment eine der folgenden Behandlungen erhielten: 1) Kochsalzlösung oder 2) GVG (18,75, 37,5, 75 oder 150 mg/kg i. p.). Die Eingänge zu beiden Paarungskammern wurden geöffnet und den Tieren wurde 15 Minuten lang eine freie Bewegung zwischen den drei Kammern gestattet. Die Zeitspanne, die die Tiere in jeder

Kammer verbrachten, wurde unter Verwendung eines automatischen Infrarotstrahls, der elektronisch mit einer Zeitmessvorrichtung gekuppelt war, aufgezeichnet.

#### Einfluss von GVG auf den Erwerb von CPP

**[0147]** Die Tiere wurden auf die vorstehende Weise einer Gewöhnung unterzogen. Die Tiere erhielten entweder Kochsalzlösung oder GVG (37,5 und 75 mg/kg i. p.) 2,5 Stunden vor der Verabreichung von Nikotin. Anschließend wurden die Tiere 30 Minuten in die entsprechende Kammer gesetzt. Dieser Vorgang wurde für 8 Paarungen für einen Zeitraum von 16 Tagen wiederholt. Am Testtag wurden die Tiere in die CPP-Vorrichtung gesetzt und erhielten freien Zugang zu sämtlichen CPP-Kammern. Die Aufenthaltsdauer in den Kammern wurde aufgezeichnet.

**[0148]** Die Verabreichung von Kochsalzlösung verursachte keine Kammerbevorzugung. Jedoch erzeugte Nikotin (0,4 mg/kg s. c.) eine statistisch signifikante und zuverlässige CPP-Reaktion, wobei die Tiere  $9,6 \pm 0,6$  Minuten auf der gepaarten Seite (Nikotinseite) im Vergleich zu  $5,4 \pm 0,6$  Minuten auf der ungepaarten Seite (Kochsalzlösungsseite) verbrachten (Tabellen XIV und XV). Eine statistische Analyse der Expressionsdaten ergab eine Behandlungswirkung ( $F(5,50) = 21,6$ ,  $p < 0,001$ ). Eine anschließend durchgeführte Analyse ergab, dass GVG in Dosen von 18,75, 37,5, 75,0 oder 150 mg/kg, jedoch nicht Kochsalzlösung, die Expressionsphase von nikotininduzierter CPP beseitigte (Tabelle XIV).

**[0149]** Eine Analyse der Erwerbsdaten zeigte eine Behandlungswirkung ( $F(3,32) = 11,8$ ,  $p < 0,05$ ). Eine anschließende Analyse zeigte, dass GVG (37,5 mg/kg) nicht in signifikanter Weise den Erwerb der nikotininduzierten CPP blockierte (Tabelle XV). Im Gegensatz dazu blockierte GVG in einer Dosis von 75 mg/kg die Erwerbsphase von nikotininduzierter CPP (Tabelle XV) in signifikanter Weise.

Tabelle XIV

Einfluss von Kochsalzlösung und GVG auf die Expression der konditionierten Platzpräferenzreaktion bei 0,4 mg/kg s. c. (-)-Nikotin

Behandlungspaarungen	Am Testtag verabreichter Arzneistoff	Aufenthaltsdauer in den Kammern (min)	
		Gepaart	Ungepaart
Kochsalzlösung/Kochsalzlösung	Kochsalzlösung <sup>2</sup>	$7,4 \pm 0,31$	$7,6 \pm 0,3$
Kochsalzlösung/Nikotin	Kochsalzlösung	$9,6 \pm 0,6$	$5,4 \pm 0,6$
Kochsalzlösung/Nikotin	GVG, 18,75 mg/kg <sup>3</sup>	$7,5 \pm 0,7^*$	$7,5 \pm 0,7$
Kochsalzlösung/Nikotin	GVG, 37,5 mg/kg <sup>3</sup>	$6,8 \pm 1,0^{**}$	$8,2 \pm 1,0$
Kochsalzlösung/Nikotin	GVG, 75 mg/kg	$6,4 \pm 0,3^{**}$	$8,6 \pm 0,3$
Kochsalzlösung/Nikotin	GVG, 150 mg/kg	$5,0 \pm 0,9^{**}$	$10,0 \pm 0,9$

<sup>1</sup>Die einzelnen Werte geben die durchschnittliche Aufenthaltsdauer in Minuten in den einzelnen Kammern  $\pm$  SEM wieder. Insgesamt 8-10 Ratten wurden für jede Behandlungspaarung geprüft. Sämtliche Tiere erhielten 8 Paarungen mit Nikotin und Kochsalzlösung vor dem Testtag. Am Testtag erhielten die Tiere entweder Kochsalzlösung oder GVG 2,5 Stunden, bevor sie in die CPP-Vorrichtung gesetzt wurden.

<sup>2</sup>Bei "Kochsalzlösung" handelte es sich um 1 ml/kg s. c. 0,9 % Kochsalzlösung.

<sup>\*</sup>Signifikant geringer als die Kochsalzlösung/Nikotin-Paarung bei Kochsalzlösung am Testtag,  $p < 0,05$ , ANOVA und Student-Newman-Keuls-Test.

<sup>\*\*</sup>Signifikant geringer als die Kochsalzlösung/Nikotin-Paarung bei Kochsalzlösung am Testtag,  $p < 0,01$ , ANOVA und Student-Newman-Keuls-Test.

Tabelle XV

Einfluss von Kochsalzlösung und GVG auf den Erwerb der konditionierten Platzpräferenzreaktion bei 0,4 mg/kg s. c. (–)-Nikotin

Behandlungspaarungen	Aufenthaltsdauer in den Kammern (min)	
	Gepaart	Ungepaart
Kochsalzlösung/Kochsalzlösung <sup>2</sup>	7,3±0,3 <sup>1</sup>	7,7±0,3
Kochsalzlösung/Nikotin	9,6±0,6 <sup>1</sup>	5,4±0,6
Nikotin/GVG, 37,5 mg/kg i. p.	8,8±0,5	6,2±0,5
Nikotin/GVG, 75 mg/kg i. p.	6,9±0,9*	8,1±0,9

<sup>1</sup>Die einzelnen Werte geben den Mittelwert der Aufenthaltsdauer in Minuten in den einzelnen Kammern ± SEM wieder. Insgesamt 8-10 Ratten wurden bei jeder Behandlungspaarung geprüft. Die Tiere wurden entweder mit Kochsalzlösung, 37,5 oder 75 mg/kg i. p. GVG vorbehandelt und erhielten 2,5 Stunden später jeweils 0,4 mg/kg s. c. Nikotin, ausgenommen eine Gruppe, die Kochsalzlösung erhielt und anschließend mit Kochsalzlösung behandelt wurde (Kochsalzlösung/Kochsalzlösung-Paarung). Für jedes Tier wurden 8 Paarungen durchgeführt.

<sup>2</sup>Bei "Kochsalzlösung" handelte es sich um 1 ml/kg s. c. 0,9 Kochsalzlösung.

\*Signifikant geringer als die Kochsalzlösung/Nikotin-Paarung bei Kochsalzlösung am Testtag, p < 0,05, ANOVA und Student-Newman-Keuls-Test.

#### PET-Studien an Primaten

**[0150]** Ausgewachsene weibliche Paviane (n = 16) (*Papio anubis*, 13-18 kg) wurden für sämtliche Abbildungsstudien unter Verwendung von <sup>11</sup>C-markiertem Racloprid (<sup>11</sup>C-Racloprid) eingesetzt. Die Tiere wurden gemäß den Angaben in Tabelle XVI in 5 Gruppen eingeteilt. Die Kontrolltiere (Gruppe 1) erhielt zwei Injektionen von <sup>11</sup>C-Racloprid ohne jegliche Arzneistoffgabe, um die Variabilität der Messung vom Test zum erneuten Test zu bestimmen. Diese Daten wurden bereits früher mitgeteilt (Dewey et al., 1998). Die Tiere der Gruppe 2 erhielten 2,5 Stunden vor der zweiten Injektion von <sup>11</sup>C-Racloprid nur GVG (300 mg/kg). Ähnlich wie bei den Tieren der Gruppe 1 wurden diese Daten bereits früher mitgeteilt (Dewey et al., 1992). Die Tiere der Gruppe 3 erhielten 30 Minuten vor der zweiten Injektion von <sup>11</sup>C-Racloprid nur Nikotin (insgesamt 0,3 mg, etwa 0,02 mg/kg). Bei den kombinierten GVG/Nikotin-Studien wurde die GVG intravenös (i. v.) in Dosen von 100 (Gruppe 4) oder 300 mg/kg (Gruppe 5) 2,5 Stunden vor der Verabreichung von Nikotin verabfolgt. Nikotin (insgesamt 0,3 mg, i. v.) wurde 30 Minuten vor der zweiten Injektion von <sup>11</sup>C-Racloprid verabreicht. Arterielle Blutproben wurden während der gesamten Studie abgenommen und ausgewählte Plasmaproben wurden auf die Anwesenheit von unverändertem <sup>11</sup>C-Racloprid analysiert. Zwischen den isotopen Injektionen wurden die Tiere nicht aus dem Gehege entfernt. Die Datenanalyse wurde unter Anwendung des Logan-Verfahrens, das früher ausführlich beschrieben wurde, durchgeführt (Logan et al., 1990).

**[0151]** Die einzelnen Primaten (n = 16) erhielten zwei Injektionen von <sup>11</sup>C-Racloprid. Die erste Injektion diente als Basislinie für die zweite Injektion, der sich die Verabreichung von GVG, Nikotin oder von beidem anschloss. Die dem Test/erneuten Test unterzogenen Primaten (n = 7, Gruppe 1, Tabelle XVI) erhielten Placebo (0,9% Kochsalzlösung, 1 ml/kg) 30 Minuten vor der zweiten Injektion des radioaktiven Tracers, um die Variabilität des Verfahrens von Test zu erneutem Test zu bestimmen. Sämtliche übrigen Primaten (n = 9) erhielten eine systemische Injektion von GVG, Nikotin oder von beidem vor der zweiten Injektion von <sup>[11]C</sup>-Racloprid.

**[0152]** Wie früher berichtet (Dewey et al., 1998) war die Variabilität des durchschnittlichen Verteilungsvolumen (DV)-Verhältnisses von Test zu erneutem Test bei markiertem Racloprid im Primaten-Striatum geringfügig größer als 7% (Tabelle XVII). Eine Verabreichung von GVG (300 mg/kg, Gruppe 2) überschritt in signifikanter Weise das durchschnittliche DV-Verhältnis um 18% (Tabelle XVII). Diese Daten stimmen mit Mikrodialyse-Studien überein, die zeigen, dass GVG in dosisabhängiger Weise extrazelluläres DA bei sich frei bewegenden Tieren verringert. Eine Verabreichung von Nikotin (Gruppe 3) erzeugte jedoch die entgegengesetzte Wirkung von GVG und verringerte in signifikanter Weise das durchschnittliche DV-Verhältnis um 12 % (Tabelle XVII). Dies stimmt erneut mit unseren Mikrodialyse-Daten überein, die belegen, dass Nikotin extrazelluläres DA bei sich frei bewegenden Tieren erhöht. Bei aufeinanderfolgender Verabreichung beseitigte GVG (100 mg/kg, Gruppe 4) die Verringerung des durchschnittlichen DV-Verhältnisses, die durch Nikotin allein (Gruppe 3) hervorgerufen worden war. Bei dieser GVG-Dosis war das durchschnittliche DV-Verhältnis ähnlich wie der Test/erneuter

Test-wert, der bei Tieren der Gruppe 1 erhalten worden war (9%, Tabelle XVII). Bei Verabreichung in einer Dosis von 300 mg/kg (Gruppe 5) war jedoch das durchschnittliche DV-Verhältnis für markiertes Racloprid signifikant höher (15%) als die Test/erneuter Test-Werte und war tatsächlich ähnlich den Werten, die bei Tieren der Gruppe 2 erhalten worden waren, die nur GVG allein erhalten hatten (Tabelle XVII).

**[0153]** Es wurde festgestellt, dass GVG, Nikotin oder beide weder die Geschwindigkeit der systemischen Metabolisierung von markiertem Racloprid noch die regionale Verteilung des radioaktiven Tracers verändern. Die Erholung von jeder Studie war unbeachtlich.

Tabelle XVI

## Gruppen für Primaten-PET-Studien

Gruppe	Bedingung
1	Test/erneuter Test (keine Belastung)
2	GVG (300 mg/kg)
3	Nikotin (0,3 mg)
4	GVG (100 mg/kg), Nikotin (0,3 mg)
5	GVG (3100 mg/kg), Nikotin (0,3 mg)

Tabelle XVII

## Einflüsse der Arzneistoffbelastung auf das durchschnittliche DV-Verhältnis

Gruppe	% Veränderung des durchschnittlichen DV-Verhältnisses
1	7,16±1,2
2	18,8±3,2
3	-12,3±2,6
4	9,45±2,1
5	15,1±2,8

## Erörterung der in Beispiel 9 erhaltenen experimentellen Ergebnisse

**[0154]** In diesem Beispiel haben wir gezeigt, dass Nikotin (0,4 mg/kg s. c.) NACC-DA um etwa 100% (oder 200% über der Basislinie) bei sich frei bewegenden Tieren etwa 80 Minuten nach der Verabreichung erhöhte. Frühere Mikrodialyse-Studien haben ergeben, dass eine Verabreichung in Dosen von 0,6 oder 0,8 mg/kg Nikotin (s. c.) eine 220%ige bzw. 179%ige Zunahme der extrazellulären DA-Spiegel im NACC ergab (Di Chiara und Imperato, 1988; Imperato et al., 1986; Brazell et al., 1990). Obgleich keine direkte Vergleichbarkeit besteht, liegen unsere Ergebnisse klar auf der Linie dieser früheren Befunde. Ferner erzeugte bei unseren Tieren, die chronisch mit Nikotin belastet waren, eine Nikotin-Belastung eine 90%ige Zunahme der extrazellulären NACC-DA-Spiegel. Dieser Befund stimmt mit früheren Daten überein, die zeigen, dass eine chronische Verabreichung von Nikotin keine Toleranz oder Sensibilisierung gegen eine akute Belastung mit Nikotin hervorruft (Damsma et al., 1989).

**[0155]** Bezuglich unserer Befunde unter Verwendung von GVG haben wir gezeigt, dass es in dosisabhängiger Weise die durch Nikotin induzierten Anstiege an NACC-DA sowohl bei naiven als auch bei chronisch mit Nikotin behandelten Tieren hemmte. Dies stellt die erste Studie dar, die über eine derartige Wirkung von GVG berichtet. In einer Dosis von 75 mg/kg hatte GVG keine Wirkung, da Nikotin extrazelluläres DA um nahezu 200% erhöhte, während in einer Dosis von 90 mg/kg eine Hemmung von nahezu 50 erreicht wurde. Bei den beiden höchsten geprüften Dosen (100 und 150 mg/kg) beseitigte GVG vollständig den durch Nikotin induzierten Anstieg der extrazellulären NACC-DA-Spiegel. Wir haben früher gezeigt, dass eine akute Injektion von GVG (300 mg/kg i. p.) eine 25%ige Abnahme des durch Kokain induzierten Anstiegs an NACC-DA hervorruft (Dewey et

al., 1998). Jedoch bewirkte eine chronische Behandlung mit GVG in einer ähnlichen Dosis eine stärkere Hemmung (Morgan und Dewey, 1998). Zusammen zeigen diese Daten, dass die GVG-Dosis, die zu einer signifikanten Abschwächung der drogeninduzierten Zunahme der NACC-DA-Spiegel führt, nicht nur von der verwendeten Belastungsdroge (z. B. Kokain, Nikotin) abhängig ist, sondern auch von der Dosis, in der die Belastungsdroge verabreicht wird.

**[0156]** Die vorliegenden Daten zeigen ferner, dass die Wirksamkeit von GVG in Zusammenhang mit seiner dosisabhängigen Fähigkeit zur Senkung der basalen DA-Konzentrationen vor der Drogenbelastung steht. Beispielsweise hatte die Dosis von 75 mg/kg keinen Einfluss auf basales DA und auf durch Nikotin induzierte DA-Zunahmen. Jedoch senkte GVG in einer Dosis von entweder 90 oder 100 mg/kg die basalen DA-Spiegel und bewirkte eine 50%ige Verringerung bzw. eine Beseitigung der Einflüsse von Nikotin. Es hat daher den Anschein, dass die dosisabhängige Abschwächung der durch Nikotin oder Kokain induzierten Anstiege an NACC-DA auf eine vorherige Senkung der basalen DA-Konzentrationen, im Anschluss an eine Zunahme von durch GVG erzeugtem endogenen GABA zurückzuführen ist. Dies stimmt mit Daten überein, die zeigen, dass eine Erhöhung der GABA-ergen Funktion DA im NACC verringert.

**[0157]** Bei einer Ausdehnung unserer früheren Arbeiten mit GVG und Kokain prüften wir den zeitlichen Verlauf der GVG-Einflüsse auf die durch Nikotin induzierte Zunahme von NACC-DA an Tieren, die 21 Tage chronisch mit Nikotin behandelt worden waren. Bei Verabreichung 2,5 Stunden vor der Gabe von Nikotin in einer Dosis von 100 mg/kg beseitigte GVG vollständig die drogeninduzierte Zunahme von NACC-DA. Erfolgte jedoch die Verabreichung in der gleichen Dosis 12 Stunden vor der Belastung, bewirkte Nikotin eine Zunahme von extrazellulärem DA um etwa 25%.

**[0158]** GVG hatte keinen Einfluss auf die durch Nikotin induzierte Zunahme an NACC-DA, wenn es 24 Stunden vor der Belastung mit Nikotin in der gleichen Dosis verabreicht wurde. Unsere Mikrodialyse- und Verhaltensdaten zeigen klar, dass selbst geringe Veränderungen der GABA-T-Hemmung, die durch Erhöhung der GVG-Dosen erzielt werden, einen starken Einfluss auf die Hemmung der durch Nikotin induzierten Erhöhungen von NACC-DA bzw. auf CPP haben.

**[0159]** Diese Daten sind insbesondere im Hinblick auf die Synthesegeschwindigkeit von GABA-T, die Halbwertszeit von GVG im Nagerhirn, die Dauer des Einflusses auf GABA und die hier detailliert dargestellte scharfe Dosis-Reaktions-Kurve von Interesse. Frühere Befunde belegen, dass die biologische Halbwertszeit von GABA-T im Nagerhirn 3,4 Tage beträgt, während die Halbwertszeit von GVG im Hirn etwa 16 Stunden beträgt. Ferner zeigen die gesamten Hirn-GABA-Spiegel bis 24 Stunden nach akuter GVG-Verabreichung keine beginnende Abnahme (Jung et al., 1977). Der Unterschied zwischen den anhaltenden Hirn-GABA-Spiegeln, die 24 Stunden im Anschluss an eine einzelne Dosis von GVG gemessen wurden, und der normalen Reaktion auf eine Nikotin-Belastung, die zum gleichen Zeitpunkt beobachtet wurde, lässt darauf schließen, dass die GABA-erge Hemmung des mesotelenzephalischen Belohnungsweges nicht in einfacher Weise die gesamten Hirn-GABA-Spiegel widerspiegelt. Dies bedeutet, dass zwar die gesamten Hirn-GABA-Spiegel 24 Stunden im Anschluss an eine akute Dosis von GVG immer noch signifikant erhöht sind, aber geringe funktionelle Unterschiede in speziellen Wegen durch diese globalen Messungen maskiert werden können. Schließlich ist es denkbar, dass GABA-Rezeptoren innerhalb der Periode von 24 Stunden auf GABA desensibilisiert worden sind, wobei wir jedoch keinerlei Hinweise im GABA-System haben, die eine derartige Hypothese stützen würden.

**[0160]** In der vorliegenden Studie haben wir nachgewiesen, dass 8 Kochsalz-Nikotin-Paarungen eine zuverlässige CPP-Reaktion erzeugen. Unsere Ergebnisse stimmen mit früheren Studien überein, die zeigen, dass Nikotin (0,1-1,2 mg/kg s. c.) eine Dosisabhängigkeit bei der CPP-Reaktion von männlichen Sprague-Dawley-Tieren erzeugt (Fudala et al., 1985; Fudala und Iwamoto, 1986). Wir haben ferner gezeigt, dass Lewis-, jedoch nicht F344-Tiere nach 10 Paarungen eine CPP-Reaktion auf Nikotin zeigen (Horan et al., 1997). Jedoch hat ein früherer Bericht gezeigt, dass 4 Nikotin-Träger-Paarungen keine CPP-Reaktion bei männlichen "hooded"-Tieren hervorrufen (Clarke und Fibiger, 1987). Es hat somit den Anschein, dass die durch Nikotin induzierte CPP möglicherweise speziesabhängig ist, obgleich eine Verfälschung durch die Tatsache entstehen kann, dass die erwähnten Studien sich einer unterschiedlichen Anzahl von Paarungen bedienten. Die durch Nikotin induzierte CPP-Reaktion, von der in der vorliegenden Studie berichtet wird, stimmt mit der Annahme überein, dass Nikotin eine positive Auswirkung auf das Anreiz-Bewegungsverhalten hat.

**[0161]** Diese Daten belegen erstmalig, dass GVG die biochemischen Wirkungen und Verhaltenswirkungen von Nikotin blockieren kann, wobei man sich des CPP-Paradigmas bedient. Die CPP-Daten zeigen klar, dass GVG in einer geringen Dosis von nur 18,75 mg/kg die Expression der durch Nikotin erzeugten CPP-Reaktion

beseitigt. Unsere Daten zeigten ferner, dass eine Dosis von 75 mg/kg, jedoch nicht von 37,5 mg/kg den Erwerb der CPP-Reaktion auf Nikotin blockierte. Auf der Grundlage dieser Befunde kann die GVG-Dosis, die zur Raucherentwöhungsbehandlung erforderlich ist, insgesamt 250-500 mg/Tag betragen (verglichen mit 2-4 g/Tag bei Epilepsie), ein Bereich, der deutlich unter der Dosis, die Epileptikern verabreicht wird, liegt.

**[0162]** Es ist unwahrscheinlich, dass die Einflüsse von GVG auf die durch Nikotin induzierte CPP in Zusammenhang mit der Erzeugung eines belohnenden oder aversiven Einflusses stehen, da wir früher nachgewiesen haben, dass GVG allein (75-300 mg/kg i. p.) keine CPP oder Aversion hervorruft (Dewey et al., 1998). Ferner ist es unwahrscheinlich, dass GVG die Verhaltenswirkungen von Nikotin beseitigt, indem es das Gedächtnis oder die lokomotorische Aktivität beeinträchtigt, da GVG in den hohen Dosen von 300 mg/kg nicht die Futterbelohnungsaktivität oder lokomotorische Aktivität blockiert (Dewey et al., 1998).

**[0163]** Schließlich wurde gezeigt, dass GVG bei Rhesus-Affen nicht durch Selbstverabreichung verabfolgt wird und dass Tiere, bei denen eine chronische GVG-Behandlung abgesetzt worden ist, keine Zeichen oder Symptome von Entzug zeigen (Takada und Yanagita, 1997). Somit macht GVG im Gegensatz zu anderen Arzneistoffen, die bei der Pharmakotherapie von bestimmten Suchtarten verwendet werden (z. B. Methadon, Antabuse), selbst nicht süchtig und erzeugt keine signifikanten aversiven Wirkungen.

**[0164]** Die Abschwächung des Erwerbs der CPP-Reaktion auf Nikotin durch GVG kann als eine Abnahme des positiven Anreizwerts von Nikotin interpretiert werden. Diese Daten zeigen, dass GVG die Wahrscheinlichkeit, dass ein Tier die Assoziation einer positiven Anreizwirkung im Anschluss an eine Verabreichung von Nikotin erwirkt, verringert. Interessanterweise zeigten unsere Ergebnisse, dass die GVG-Dosis, die zum Blockieren der Expressionsphase der CPP-Reaktion, die durch Nikotin hervorgerufen wird, erforderlich ist, 1/4 der Menge beträgt, die zum Blockieren des Erwerbs der CPP-Reaktion benötigt wird. Dieser Befund stimmt mit unseren Daten überein, die zeigen, dass eine höhere GVG-Dosis zum Blockieren des Erwerbs erforderlich war, im Gegensatz zur Expression von CPP auf Kokain (Dewey et al., 1998). Für diesen Unterschied ist keine Erklärung bekannt. Da GVG die Expression der CPP-Reaktion auf Nikotin abschwächt, zeigt dies, dass GVG das Drogen-Suchtverhalten des Tiers verringert, da das Tier bereits den positiven Anreizwert der Droge erworben hat.

**[0165]** Somit zeigen unsere Daten, dass GVG in wirksamerer Weise das heftige Verlangen nach Nikotin blockiert, als es den positiven Anreizwert oder die Belohnungswirkung von Nikotin blockiert. Schließlich erzeugte GVG in der höchsten getesteten Dosis (150 mg/kg) eine signifikante aversive Reaktion am Testtag (Tabelle XV), an dem die Tiere  $5,0 \pm 0,9$  Minuten auf der gepaarten Seite (Nikotin-Seite) und  $10,0 \pm 0,9$  Minuten auf der ungepaarten Seite (KochsalzSeite) verbrachten. Diese Daten lassen darauf schließen, dass es möglicherweise eine Grenzwirkung gibt, bei der GVG in hohen Dosen bei Tieren aversiv wirkt, die mit Nikotin behandelt und in einem drogenfreien Zustand getestet worden sind. Diese Daten haben möglicherweise Auswirkungen auf die Entwicklung der Dosierungsgrenzen, die bei klinischen Versuchen am Menschen zu testen sind.

**[0166]** Nach unserer Kenntnis des CPP-Paradigmas stützen unsere Daten die folgenden Ergebnisse. Beim CPP-Paradigma werden Tiere in drogenfreiem Zustand getestet, um festzustellen, ob sie eine Umgebung bevorzugen, in der sie früher Nikotin erhalten haben, verglichen mit einer Umgebung, in der sie früher Kochsalzlösung erhalten haben. Wenn das Tier in einem drogenfreien Zustand konsequent die vorher mit Nikotin verbundene Umgebung wählt, wird der Schluss gezogen, dass der appetitive Wert von Nikotin im Gehirn kodiert wurde und im drogenfreien Zustand zugänglich ist (Gardner, 1997). Tatsächlich kann am Testtag die Herangehensweise und die Assoziation der Tiere mit der mit der Droge gepaarten Seite als Drogen-Suchtverhalten angesehen werden. Im wesentlichen wurden Umgebungsreize und andere Stichpunkte, die vorher neutral oder nicht herausragend waren, durch wiederholte Paarungen mit Nikotin herausragend. Wenn anschließend die Tiere erneut diesen Situationen ausgesetzt werden, wird eine CPP-Reaktion erzeugt, d. h. die Situationen können den Drogeneffekt herbeiführen. Somit können drogenbezogene Situationen eine konditionierte Pawlowsche Reaktion hervorrufen.

**[0167]** Dies ist kritisch, da es bekannt ist, dass nicht-pharmakologische Faktoren zusätzlich zu pharmakologischen Faktoren eine Rolle bei der Vermittlung des Anreizwerts von Suchtdrogen spielen können (Jarvik und Henningfield, 1988). Tatsächlich wurde klinisch nachgewiesen, dass bei detoxifizierten Süchtigen die Einwirkung von Reizen, die vorher mit der Drogeneinnahme verbunden waren, einen Rückfall hervorrufen kann (Childress et al., 1986a, b; Childress et al., 1988; Ehrman et al., 1992; O'Brien et al., 1992; Wikler, 1965). Somit zeigen diese Daten, dass aufgrund der Tatsache, dass GVG die Expression der durch Nikotin induzierten CPP-Reaktion blockiert, anschließend GVG das heftige Verlangen oder die Sucht nach Nikotin blockieren. Daher erweist sich GVG als wirksam bei der Behandlung von Personen, die den Wunsch haben, das Rauchen

von Zigaretten aufzugeben. Diese Daten zeigen ferner, dass GVG in wirksamer Weise die Expression der CPP-Reaktion auf Nikotin beseitigt und das heftige Verlangen bei Konfrontation mit Umweltsituationen, die vorher mit dem Rauchen verbunden waren, abschwächt.

**[0168]** Unsere Primaten-PET-Daten stimmen mit früheren Befunden unter Anwendung von mehrfachen pharmakologischen Belastungen überein, die zeigen, dass die  $^{11}\text{C}$ -Racloprid-Bindung sowohl gegenüber Zunahmen als auch Abnahmen von synaptischem DA empfindlich ist (Dewey et al., 1993; Seeman et al., 1989). Wie sich bei den Tieren der Gruppe 3 zeigt (Tabelle XVII), nahm im Anschluss an eine Nikotin-Verabreichung das durchschnittliche DV-Verhältnis relativ zu den Basislinienwerten konsequent ab. Diese Abnahme überstieg die Test/erneuter Test-Variabilität von markiertem Racloprid und beträgt weniger als die Abnahme, die bei GBR-12909 (Dewey et al., 1993) oder Scopolamin (Dewey et al., 1993) gemessen wurde. Eine Vorbehandlung mit GVG in einer Dosis von 100 mg/kg 2,5 Stunden vor der Verabreichung von Nikotin erzeugte ein durchschnittliches DV-Verhältnis, das ähnlich wie bei Tieren der Gruppe I war (Tabelle XVII). Wenn jedoch die GVG-Dosis auf 300 mg/kg erhöht wurde, erhöhte sich das durchschnittliche DV-Verhältnis auf Werte, die mit den Werten der Tiere der Gruppe 2 übereinstimmten. Diese Daten zeigen, dass die geringere GVG-Dosis eine Abnahme an synaptischem DA hervorrief, die in etwa gleichwertig mit der durch Nikotin erzeugten Zunahme war, während die höhere GVG-Dosis eine Abnahme erzeugte, die die Fähigkeit von Nikotin zur Erhöhung von DA weit überstieg. Unsere Mikrodialyse-Studien stützen diese Daten, die besagen, dass höhere Dosen an GVG eine größere Abnahme an extrazellulärem DA bei sich frei bewegenden Tieren hervorrufen.

**[0169]** Die Mikrodialyse- und PET-Befunde zeigen in Kombination mit den CPP-Daten, dass Zunahmen an DA im NACC allein der Suchtgefährdung nach Missbrauchsdrogen zugrunde liegen. Erstens zeigen diese Daten in Kombination mit den vorstehenden Daten für Kokain, dass in vivo-Mikrodialyse-Studien oder PET-Messungen von endogenem DA allein nicht notwendigerweise eine Vorhersage über die Wirksamkeit von Arzneistoffen gestatten, die zur Behandlung von Krankheiten verwendet werden, bei denen eine Neurotransmitter-spezifische Natur angenommen wird. Zweitens zeigen sowohl die Mikrodialyse-Daten als auch die PET-Daten klar, dass eine Dosis von 100 mg/kg GVG vollständig die durch Nikotin induzierten Zunahmen der NACC-DA-Spiegel blockierte, während eine Dosis von 75 mg/kg keine Wirkung besaß. Im Gegensatz dazu beseitigte GVG in einer Dosis von nur 18,75 mg/kg vollständig die Expressionsphase von durch Nikotin induzierter CPP, während eine Dosis von 75 mg/kg notwendig war, um die Erwerbsphase zu beseitigen.

**[0170]** Auf der Grundlage der aus den Mikrodialyse-Daten erhaltenen Dosiswirkungskurve war zu erwarten, dass GVG in einer Dosis von 18,75 mg/kg keinerlei Einfluss auf die durch Nikotin induzierte Zunahme an NACC-DA hat. Ferner wurde eine ähnliche Wirkung bei Verwendung von Kokain festgestellt, wo eine Dosis von 300 mg/kg GVG die durch Kokain induzierte Zunahme der NACC-DA-Spiegel um 25% verringerte, während eine Dosis von 150 mg/kg die Expressions- und Erwerbsphase von durch Kokain induzierter CPP vollständig beseitigte (Dewey et al., 1997; 1998).

**[0171]** Zusammengenommen legen diese Daten mindestens zwei plausible und möglicherweise kombinierte Erklärungen nahe. Erstens sind möglicherweise differenzielle Veränderungen an DA im Anschluss an eine pharmakologische Belastung in Bereichen, die vom NACC allein abweichen, für die Suchtgefährdung durch einen bestimmten Arzneistoff verantwortlich. Tatsächlich wurde berichtet, dass verschiedene Suchtdrogen die DA-Spiegel in vom NRCC abweichenden Hirnbereichen, einschließlich Mandel, Corpus striatum und frontaler Cortex, verändern können (Hurd et al., 1997; Dewey et al., 1997; Di Chiara und Imperato, 1988; Marshall et al., 1997). Zweitens spielen Neurotransmitter, die von DA abweichen, möglicherweise eine entscheidende Rolle bei der Suchtgefährdung durch Missbrauchsdrogen. Beispielsweise wird eine CPP-Reaktion auf Kokain bei Mäusen immer noch aufrechterhalten, denen DA- und 5-HT-Transporter fehlen (Sora et al., 1998; Rocha et al., 1998). Außerdem ist es bekannt, dass Neurotransmitter, wie 5-MT, Acetylcholin, Enkephaline und Glutamat, eine Rolle bei der Vermittlung der Wirkungen von Suchtdrogen, einschließlich Nikotin, spielen (Bardo, 1998; Gardner, 1997). Zusammengenommen zeigen diese Daten, dass GVG die Einflüsse von Kokain und Nikotin durch Veränderungen von DA in von NACC abweichenden Bereichen hemmt. Gleichzeitig hemmt GVG möglicherweise andere Neurotransmitter, die entweder DA direkt modulieren oder selbst bei der Vermittlung der Einflüsse von Suchtdrogen beteiligt sind. Weitere Studien, die dazu bestimmt sind, die Mehrfachwirkungen von GVG auf andere Neurotransmitter zu ermitteln, werden derzeit angestellt.

**[0172]** Früher haben wir gezeigt, dass die Fähigkeit von GVG zur Abschwächung von durch Kokain induzierter Zunahme an NACC-DA vollständig beseitigt wird, indem man Tiere mit dem selektiven GABAB-Rezeptor-Antagonisten SCH 50911 vorbehandelt (Bolser et al., 1995), einem Arzneistoff, der bei alleiniger Verabreichung die DA-Spiegel nicht signifikant verändert. Daher lässt sich zeigen, dass GVG den Einfluss von Nikotin über seine Steigerung der GABA-Spiegel, wodurch anschließend die GABAB-Rezeptoren stimuliert werden,

beseitigt. Dies stimmt mit Daten überein, die darauf hinweisen, dass die Verabreichung von Baclofen, einem selektiven GABAB-Agonisten (Bowery und Pratt, 1992; Kerr et al., 1990) in das VTA in signifikanter Weise die CPP-Reaktion, die durch systemisches Morphin hervorgerufen wird, abschwächt (Tsuiji et al., 1995). Ferner schwächt eine systemische Verabreichung von Baclofen die Kokain-Selbstverabreichung bei einem Programm mit zunehmendem Verhältnis und Einzelversuchen ab (Roberts et al., 1996, 1997).

**[0173]** Es kann argumentiert werden, dass GVG die pharmakologischen Wirkungen und Verhaltenswirkungen von Nikotin lediglich durch Veränderung der Menge, die in wirksamer Weise in das Gehirn eintritt, vermindert, und zwar entweder durch Veränderung der Durchlässigkeit der Blut-Hirn-Schranke oder durch Erhöhung der systemischen Metabolisierungsgeschwindigkeit von Nikotin. Diese Möglichkeit ist aus zahlreichen Gründen unwahrscheinlich. Erstens hatte GVG keinen Einfluss auf den Transport von <sup>11</sup>C-Kokain, einem Alkaloid, von dem früher die Erhöhung von NACC-DA gezeigt worden war, durch die Blut-Hirn-Schranke sowohl im Gehirn von Nagern als auch von Primaten. Zweitens wird GVG vorwiegend in unveränderter Form durch die Nieren ausgeschieden (Grant und Heel, 1991; Porter und Meldrum, 1998), während Nikotin durch Enzyme in der Leber metabolisiert wird. Schließlich tritt GVG nicht in Wechselwirkung mit hepatischen mikrosomalen Enzymen (Grant und Heel, 1991; Porter und Meldrum, 1998) und führt somit weder zu einer Induktion noch zu einer Hemmung dieser Enzyme.

**[0174]** Die Größe des NACC liegt deutlich unter der Auflösung unseres Tomographen, weswegen eine spezielle Analyse mit dieser Technik nicht möglich ist. Daher umfasste unsere Analyse das Corpus striatum bilateral und das Kleinhirn. Marshall et al. (1995) haben gezeigt, dass Nikotin zu einer Erhöhung von DA gleichermaßen sowohl im NACC als auch im Corpus striatum führt, während unsere eigenen Mikrodialyse-Daten belegen, dass GVG die DA-Konzentrationen gleichermaßen in beiden Regionen verringert (Dewey et al., 1997). Diese Primaten-Daten stützen ferner die Anwendung dieser Abbildungstechnik zur Bewertung der funktionellen Konsequenzen von pharmakologischen Belastungen im intakten lebenden Gehirn.

**[0175]** Außerdem öffnet diese medizinische Abbildungstechnik ein besonderes Fenster zu den Wechselwirkungen, deren Existenz zwischen funktionell verknüpften Neurotransmittern sowohl im Primatenhirn als auch im menschlichen Hirn gezeigt worden ist.

**[0176]** Bei Kombination mit einer erschöpfenden Literatur, die das grundlegende Prinzip, dass Neurotransmitter in Wechselwirkung sowohl mit funktionell spezifischen als auch mit regional spezifischen neuroanatomischen Herden treten, stützt, wird es in zunehmendem Maße klar, dass neue Behandlungsstrategien für Gehirnstörungen (einschließlich Sucht nach Kokain, Nikotin, Heroin, Methamphetamine und Alkohol) bei einer stärker globalen Berücksichtigung dieses fundamentalen und gut dokumentierten Prinzips eingeführt werden können. Während Veränderungen von individuellen Neurotransmitter-Konzentrationen tatsächlich der Ätiologie einer spezifischen Störung unterliegen können, ist es wahrscheinlich, dass der Krankheitsfortschritt und die Symptomentwicklung mit kompensatorischen oder krankheitsinduzierten Veränderungen in anderen Neurotransmittern verbunden sind, die funktionell mit dem ursprünglichen Ziel verknüpft sind. Mit diesen Kenntnissen haben wir neue Behandlungsstrategien entwickelt, die speziell dazu vorgesehen sind, einen oder mehrere Neurotransmitter zu verändern, indem man auf einen anderen abzielt. Unsere Befunde mit Nikotin, Kokain, Methamphetamine, Alkohol und GVG sind von großem Wert für die Behandlung von Säugern, die nach Missbrauchsdrogen süchtig sind.

#### Beispiel 10

##### Einflüsse von GVG auf die durch Methamphetamine induzierte Zunahme an NACC-DA

**[0177]** In diesem Beispiel wurden die Einflüsse von GVG auf durch Methamphetamine induzierte Veränderungen von NACC-Dopamin-Konzentrationen an 6-8 sich frei bewegenden Ratten untersucht. Methamphetamine wurde den Tieren in einer Dosis von 1,25 mg/kg i. p. und 2,5 mg/kg i. p. verabreicht. Es wurde festgestellt, dass Methamphetamine die extrazellulären DA-Konzentrationen im NACC 100 Minuten nach Verabreichung von 2,5 mg/kg um etwa 2500 % über die Basiskonzentrationen und nach Verabreichung von 1,25 mg/kg um etwa 1500 % über die Basiskonzentrationen erhöhte ([Fig. 6](#)). Etwa 200 Minuten nach der Verabreichung kehrte DA auf die Basiskonzentrationen zurück.

**[0178]** Wenn GVG vor der Gabe von Methamphetamine verabreicht wurde, hemmte GVG in dosisabhängiger Weise die DA-Zunahme, wie in [Fig. 7](#) gezeigt ist. Bei einer Dosis von 300 mg/kg hemmte GVG die DA-Zunahme um etwa 38% und 600 mg/kg hemmten die Zunahme an DA um etwa 58%. Diese Daten belegen, dass GVG die durch Methamphetamine bedingte Zunahme der extrazellulären Dopamin-Konzentrationen im NACC

hemmt.

**[0179]** Somit ist aus den vorstehenden Daten festzustellen, dass sich für Nikotin, Kokain und Methamphetamine in Bezug auf die Erhöhung der NACC-DA-Spiegel folgende Reihenfolge ergibt: Methamphetamine (2500%) > Kokain (450%) > Nikotin (90%), was parallel zur Reihenfolge der Höhe einer akuten Dosis an GVG verläuft, die erforderlich ist, um eine drogeninduzierte Zunahme an NACC-DA signifikant zu verringern.

#### Beispiel 11

##### Einflüsse von GVG auf die durch Ethanol induzierte Zunahme an NACC-DA

**[0180]** In diesem Beispiel wurden die Einflüsse von GVG auf durch Ethanol induzierte Veränderungen an NACC-Dopamin-Konzentrationen an 6-8 sich frei bewegenden Ratten untersucht. Ethanol wurde den Tieren in einer Dosis von 1,0 g/kg i. p. verabreicht. Ethanol erhöhte die extrazellulären DA-Konzentrationen im NACC um etwa 200% über die Basiskonzentrationen zu einem Zeitpunkt von etwa 125 Minuten nach der Verabreichung von Ethanol.

**[0181]** Wenn GVG in einer Dosis von 300 mg/kg verabreicht wurde, hemmte es die DA-Zunahme um etwa 50 % ([Fig. 8](#)). Ferner hemmt GVG in einer Dosis von 100 mg/kg in signifikanter Weise die Fähigkeit von Alkohol zur Erhöhung des Nucleus accumbens-Dopamins bei sich frei bewegenden Ratten um etwa 40 % (Daten nicht aufgeführt). Diese Daten belegen, dass GVG die durch Ethanol bedingte Zunahme der extrazellulären Dopamin-Konzentrationen im NACC hemmt.

#### Beispiel 12

##### Einflüsse von GVG auf durch Kokain/Heroin induzierte Zunahmen an NACC-DA

**[0182]** In diesem Beispiel untersuchten wir die Einflüsse von GVG auf synergistische Erhöhungen von NACC-DA im Anschluss an eine Belastung mit Kokain/Heroin ("Speedball"). In vivo-Mikrodialyse-Studien wurden unter Einsatz von männlichen Sprague-Dawley-Ratten (Taconic Farms) gemäß Literaturangaben (Morgan und Dewey, 1998) durchgeführt. Kokain, ein Inhibitor der Dopamin-Wiederaufnahme, (n = 6-8) wurde in einer Dosis von 20 mg/kg verabreicht (i. p.), während Heroin ein indirekter Dopamin-Freisetzer, (n = 6-8) in einer Dosis von 0,5 mg/kg (i. p.) verabreicht wurde. In Studien zur Untersuchung der synergistischen Wirkungen einer Kokain/Heroin-Kombination (n = 6-8) wurden beide Drogen in identischer Dosis, wie sie für die Einzeldrogenstudien verwendet wurden, verabreicht. Nur Kokain erzeugte eine ausgeprägte Erhöhung des extrazellulären DA von etwa 380 % über den Basislinienwerten, und zwar 60 Minuten nach der Verabreichung. DA kehrte innerhalb von 120 Minuten auf die Basislinie zurück. Im Gegensatz dazu erhöhte Heroin NACC-DA nur um 70 %, und zwar 60 Minuten nach der Verabreichung, und kehrte innerhalb von 140 Minuten zur Basislinie zurück. Jedoch erzeugten die beiden Drogen in Kombination eine Zunahme an NACC-DA um etwa 1000 %, und zwar 180 Minuten nach der Verabreichung, wobei die Werte auf 200 Minuten nach Erreichen der Peakwerte nicht zur Basislinie zurückgekehrt waren ([Fig. 9](#)). Diese Zunahme unterscheidet sich signifikant ( $p > 0,001$ ) von Kokain oder Heroin allein.

**[0183]** Diese neurochemische Synergie, verglichen mit einer additiven Wirkung, war nicht nur aus der Größenordnung der Zunahme an NACC-DA ersichtlich, sondern auch aus der Zeitspanne bis zum Erreichen der Peakhöhe und bis zur Rückkehr auf Basislinienwerte. Einzeln erzeugte jede Droge innerhalb von 60 Minuten nach der Belastung eine maximale Zunahme. In Kombination dauerte jedoch diese maximale Zunahme fast 3-mal so lang wie bei jeder Droge allein. Ferner dauerte die Rückkehr zu Basislinienwerten erheblich länger, verglichen mit jeder Droge allein. Diese Befunde zeigen, dass die Dauer der Euphorie wesentlich länger ist, wenn beide Drogen in Kombination verwendet werden, im Gegensatz zu einer getrennten Verwendung.

**[0184]** In Bezug auf die absolute Größe der Reaktion beseitigte GVG die synergistischen Wirkungen im Anschluss an die kombinierte Drogenbelastung vollständig. Bei Tieren, die GVG (300 mg/kg, i. p.) 2,5 Stunden vor der Belastung erhalten hatten, stieg NACC-DA 180 Minuten nach der Belastung um etwa 500% an ([Fig. 9](#)). Diese Zunahme unterschied sich signifikant sowohl von Kokain als auch von Heroin allein ( $p > 0,05$  bzw.  $0,001$ ); sowie von der Kombination Kokain/Heroin ( $p > 0,001$ ). Die nach einer Vorbehandlung mit GVG erhaltenen Daten sind ähnlich wie bei einer additiven Wirkung von Kokain (380 %) und Heroin (70%), verglichen mit einer synergistischen Wirkung.

**[0185]** Obgleich GVG die synergistische Wirkung beider Drogen auf die absolute Größe der Zunahme besei-

tigte, hatte GVG keinen Einfluss auf die temporalen Aspekte der Reaktion. Im Anschluss an eine GVG-Verabreichung und eine anschließende Kokain/Heroin-Belastung erreichte NACC-DA innerhalb von 180 Minuten eine maximale Konzentration, was identisch mit der Reaktion ist, die bei Tieren gemessen wurde, die vor der Belastung kein GVG erhalten hatten.

**[0186]** Die Ergebnisse dieses Beispiels zeigen, dass GVG in wirksamer Weise die synergistische Erhöhung von NACC-DA, die durch eine Kokain/Heroin-Belastung erzeugt worden ist, abschwächt. In Kombination mit unseren früheren Studien zeigt dieser Befund die Wirksamkeit von GVG für die Behandlung von Mehrfachdrogenmissbrauch.

**[0187]** Die vorstehenden Beispiele belegen, dass Arzneistoffe, die selektiv auf das GABA-erge System abzielen, für die Behandlung bei Drogenmissbrauch, z. B. von Psychostimulanten, narkotischen Analgetika, Alkoholen und Nikotin oder Kombinationen davon, günstig sein können. Insbesondere stellt eine durch GVG induzierte GABA-T-Hemmung, die eine Zunahme der extrazellulären Hirn-GABA-Spiegel bewirkt, einen wirksamen Arzneistoff und eine neuartige Strategie zur Behandlung von Sucht nach Kokain, Nikotin, Heroin, Methamphetamine und Ethanol dar.

#### Literatur

- Bardo, M. T. (1998) Neuropharmacological mechanism of drug reward: beyond dopamine in the nucleus accumbens. *Crit. Rev. Neurobiol.*, 12: 37-67.
- Bolser, D. C., Blythin, D. J., Chapman, R. W., Egan, R. W., Hey, J. A., Rizzo, C., Kuo S.-C., Kreutner, W. (1995). The pharmacology of SCH 5091 1: A novel, orally-active GABA-B receptor antagonist. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 274: 1393-1398.
- Bowery, N. G., Pratt, G. D. (1992) GABAB receptors as targets for drug action. *Arzneim. Forsch.*, 42: 215-223.
- Brazell, M. P., Mitchell, S. N., Joseph, M. H., Gray, J. A. (1990) Acute administration of nictoine increases the in vivo extracellular levels of dopamine, 3,4-dihydroxyphenylacetic acid and ascorbic acid preferentially in the nucleus accumbens of the rat: Comparison with caudateputamen. *Neuropharmacology*, 29: 1177-1185.
- Chesselet, M.-F. (1984) Presynaptic regulation of neurotransmitter release in the brain: Facts and hypothesis. *Neuroscience*, 12: 347-375.
- Childress, A. R., McLellan, A. T., O'Brien, C. P. (1988). The role of conditioning factors in the development of drug dependence. *Psychiatr. Clin. North Amer.*, 9: 413-426.
- Childress, A. R., McLellan, A. T., Ehrman, R. N., O'Brien, C. P. (1986a) Extinction of conditioned responses in abstinent cocaine or opioid users. *NIDA Res. Monogr.*, 76: 189-195.
- Childress, A. R., McLellan, A. T., Ehrman, R. N., O'Brien, C. P. (1986b) Classically conditioned responses in abstinent cocaine or opioid users. *NIDA Res. Monogr.*, 76: 24-43.
- Clarke, P. B. S., Fibiger, H. C. (1987) Apparent absence of nicotine-induced conditioned place preference. *Psychopharmacology*, 92: 84-88.
- Clarke, P. B. S., Fu, D. S., Jakubovic, A., Fibiger, H. C. (1988) Evidence that mesolimbic dopaminergic activation underlies the locomotor stimulant action of nicotine in animals. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 246: 701-708.
- Damsma, G., Day, J., Fibiger, H. C. (1989) Lack of tolerance to nicotine-induced dopamine release in the nucleus accumbens. *Eur. J. Pharmacol.*, 168: 363-368.
- Dewey, S. L., Chaurasia, C. S., Chen, C., Volkow, N. D., Clarkson F. A., Porter, S. P., Straughter-Moore, R. M., Alexoff, D. L., Tedeschi, D., Russo, N. B., Fowler, J. S. and Brodie, J. D. GABAergic attenuation of cocaine-induced dopamine release and locomotor activity. *Synapse* 25: 393-398, 1997.
- Dewey, S. L., Morgan, A. E., Ashby, Jr., C. R., Horan, B., Gardner, E. L., Logan, J., Volkow, N. D., Fowler, J. S., Kushner, S. A., Brodie, J. D. (1998) A novel strategy for the treatment of cocaine addiction. *Synapse*, 30: 119-129.
- Dewey, S. L., Smith, G. S., Logan, J., Brodie, J. D., Yu, D-W., Ferrieri, R. A., King, P. T., MacGregor, R. R., Martin, T. P., Wolf, A. P., Volkow, N. D., Fowler, J. S. GABAergic inhibition of endogenous dopamine release measured in vivo with 11C-raclopride and positron emission tomography. *J. Neuroscience* 12, 3773-3780, 1992.
- Dewey, S. L., Smith, G. S., Logan, J., Brodie, J. D., Fowler, J. S., Wolf, A. P. Striatal binding of the PET ligand 11C-raclopride is altered by drugs that modify synaptic dopamine levels. *Synapse* 13, 350-356, (1993).
- Dewey, S. L., Smith, G. S., Logan, J., Simkowitz, P., Brodie, J. D., Volkow, N. D., Fowler, J. S., Wolf, A. P. (1993) Effects of central cholinergic blockade on striatal dopamine release measured with positron emission tomography (PET) in normal human subjects. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 90: 11816-11820.
- Di Chiara, G., Imperato, A. (1988) Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system of freely moving animals. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 85: 5274-5278.
- Ehrman, R. N., Robbins, S. J., Childress, A. R., O'Brien, C. P. (1992) Conditioned responses to cocaine-related

- stimuli in cocaine abuse patients. *Psychopharmacology*, 107: 523-529.
- Fudala, P. J., Iwamoto, E. T. (1986) Further studies on nicotineinduced conditioned place preference. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 25: 1041-1049.
- Fudala, P. J., Teoh, K. W., Iwamoto, E. T. (1985) Pharmacologic characterization of nicotineinduced conditioned place preference. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 22: 237-241.
- Gardner, E. L. (1997) Brain reward mechanisms in Substance Abuse: A Comprehensive Textbook, 3rd edn., eds. Lowinson, J. H., Ruiz, P., Millman, R. B. & Langrod, J. G., 51-85 (Williams and Wilkins, Baltimore, Md., 1997).
- Grant, S. M. and Heel, R. C. Vigabatrin: A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic potential in epilepsy and disorders of motor control. *Drugs*, 41:889-926, 1991.
- Henningfield, J. E. (1995) Nicotine medications for smoking cessation. *New Eng. J. Med.*, 333: 1196-1203. 26
- Henningfield, J. E., Goldberg, S. R. (1983) Control of behavior by intravenous nicotine injections in human subjects. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 19: 1021-1026.
- Henningfield, J. E., London, E. D., Jaffe, J. H. (1987) nicotine reward: studies of abuse liability and physical dependence potential. In: *Brain Reward Systems and Abuse*, ed. By J. Engel and L. Orelan, New York, Raven Press, pp. 147-164.
- Henningfield, J. E., Miyasato, K., D. R. Jasinski (1983) Cigarette smokers self-administer intravenous nicotine. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 19: 887-890.
- Horan, P., Smith, M., Gardner, E. Lepore, M., Ashby, Jr. C. R. (1997) (-)-nicotine produces conditioned place preference in Lewis, but not Fischer 344 animals. *Synapse*, 26: 93-94.
- Hurd, Y. L., McGregor, A., Ponten, M. (1997). In vivo amygdala dopamine levels modulate cocaine self-administration behaviour in the rat: D1 dopamine receptor involvement. *Eur. J. Neuroscience*, 12: 2541-2548.
- Hurt, R. D., Sachs, D. P., Glover, E. D., Offord, K. P., Johnston, J. A., Dale, L. C., Khayrallah, M. A., Schroeder, D. R., Glover, P. N., Sullivan, C. R., Croghan, I. T., Sullivan, P. M. (1997) A comparison of sustained-release bupropion and placebo for smoking cessation. *N. Eng. J. Med.*, 237: 1195-1202.
- Imperato, A., Mulas, A., Di Chiara, G. (1986) Nicotine preferentially stimulates dopamine release in the limbic system of the freely moving rat. *Eur. J. Pharmacol.*, 132: 337-338.
- Jarvik, M. E., Henningfield, J. E. (1988) Pharmacological treatment of tobacco dependence. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 30: 279-294.
- Jung, M. J., Lippert, B., Metcalf, B. W., Bohlen, P., Schechter, P. J. (1977) Gamma-Vinyl GABA (4amino-hex-5-enoic acid), a new selective irreversible inhibitor of GABA-T: effects on brain GABA metabolism in mice. *J. Neurochem.*, 29: 787-802.
- Kerr, D. I. B., Ong, J., Prager, R. H. (1990) GABAB receptor agonists and antagonists. In: *GABAB receptors in Mammalian Function*, Bowery, N. G., Bittiger, H. and Olpe, H.-R. (eds.) John Wiley and Sons, New York, pp. 29-45.
- Kushner, S. A., Dewey, S. L., Kornetsky, C. Comparison of the effects of vigabatrin on cocaine self-administration and food reinforcement. *Soc. Neuro. Abstr.* 23: 1942 (1997a).
- Kushner, S. A., Dewey, S. L., Kornetsky, C. The effects of gammavinyl GABA on cocaine-induced lowering of brain-stimulation reward thresholds. *Psychopharmacology*, 133, 383-388, (1997b).
- Lacey, M. G., Mercuri, N. B. and North, A. N. On the potassium conductance increase activated by GABAB and dopamine D2 receptors in rat substantia nigra neurones. *J. Physiol.* 401: 437-453, 1988.
- Logan, J., Fowler, J. S., Volkow, N. D., Wolf, A. P., Dewey, S. L., Schlyer, D. J., MacGregor, R. R., Hitzemann, R., Bendriem, B., Gately, S. J., Christman, D. R. (1990) Graphical analysis of reversible radioligand binding from time activity measurements applied to [N-<sup>11</sup>C-methyl]-(-)-cocaine PET studies in human subjects. *J. Cereb. Blood Flow and Metab.*, 10: 740-747.
- Marshall, D. L., Redfern, P. H., Wonnacott, S. (1997) Presynaptic nicotinic modulation of dopamine release in the three ascending pathways studied by in vivo microdialysis: Comparison of naive and chronic nicotine-treated rats. *J. Neurochem.*, 68: 1511-1519.
- Morgan, A. E., Dewey, S. L. Effects of pharmacologic increases in brain GABA levels on cocaine-induced changes in extracellular dopamine. *Synapse* 28, 60-65 (1998).
- Nisell, M., Nomikos, G. G., Svensson, T. H. (1994a) Systemic nicotine-induced dopamine release in the rat nucleus accumbens is regulated by nicotinic receptors in the ventral segmental area. *Synapse*, 16: 36-44.
- Nisell, M., Nomikos, G. G., Svensson, T. H. (1994b). Infusion of nicotine in the ventral segmental area or the nucleus accumbens differentially affects accumbal dopamine release. *Pharmacol. Toxicol.*, 75: 348-352.
- Nisell, M., Nomikos, G. G., Svensson, T. H. (1995) Nicotine dependence, midbrain dopamine systems and psychiatric disorders. *Pharmacol. Toxicol.*, 76: 157-162.
- N. R., Van der Kooy, G. F. & Wenger, J. R. Cholecystokinin produces conditioned place-aversion, not place-preferences, in food-deprived rats: evidence against involvement in satiety. *Life Sci.* 32, 2087-2093, (1989).
- O'Brien, C. P., Childress, A. R., McLellan, A. T., Ehrman, R. (1992) A learning model of addiction,. In: *Addictive States*, O'Brien, C. P. and Jaffe, J. H., (eds), Raven Press, New York, pp. 157177.

- Pontieri, F. E., Tanda, G., Orzi, F., Di Chiara, G. (1997) Effects of nicotine on the nucleus accumbens and similarity to those of addictive drugs. *Nature*, 382: 255-257.
- Porter, R. J., Meldrum, B. S. (1998) Antiepileptic drugs. In: *Basic and Clinical Pharmacology*, ed. by Katzung, B.G., Appelton and Lange, Stamford, Conn., pp. 386-408.
- Roberts, D. C., Andrews, M. M. (1997) Baclofen suppression of cocaine self-administration: demonstration using a discrete trials procedure. *Psychopharmacology*, 131: 271-277.
- Roberts, D. C., Andrews, M. M., Vickers, G. J. (1996) Baclofen attenuates the reinforcing effects of cocaine in animals. *Neuropsychopharmacology*, 15: 417-423.
- Rocha, B. A., Scearce-Levie, K., Lucas, J. J., Hiroi, N., Castanon, N., Crabbe, J. C., Nestler, E. J., Hen, R. (1998). Increased vulnerability to cocaine in mice lacking the serotonin-1B receptor. *Nature Neuroscience*, 393: 175-178.
- Seeman, P., Guan, H. C., Niznik, H. B. (1989) Endogenous dopamine lowers the dopamine D2 receptor density as measured by [<sup>3</sup>H]raclopride: implications for positron emission tomography of the human brain. *Synapse*, 3: 96-97.
- Sora, I., Wichems, S. I., Takahashi, C., Li, X.F., Zeng, Z., Revay, R., Lesch, K. P., Murphy, D. L., Uhl, D. R. (1998) cocaine reward models: conditioned place preference can be established in dopamine- and serotonin-transporter knockout mice. *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A.*, 95: 7699-7704.
- Takada, K., Yanagita, T. (1997) Drug dependence study on vigabatrin in rhesus monkeys and animals. *Arzneim-Forsch Drug Res.* 47: 1087-1095.
- Tsuji M, Nakagawa Y, Ishibashi Y, Yoshii T, Takashima T, Shimada M, Suzuki T. (1995) Activation of ventral segmental GABAB receptors inhibits morphineinduced place preference in animals. *Eur. J. Pharmacol.*, 313: 169-173.
- Valentine, J. D., Hokanson, J. S., Matta, S. G., Sharp, B. M. (1997) Self-administration in animals allowed unlimited access to nicotine. *Psychopharmacology*, 133: 300-304.
- Van Der Kooy, K. (1987). In *Methods of Assessing the Properties of Abused Drugs*, M. A. Bozarth, Ed., Springer-Verlag, New York, pp. 229-241.
- Volkow, N. D., Wang, G. J., Fowler, J. S., Logan, J., Schlyer, D., Hitzemann, R., Liberman, J., Angrist, B., Papas, N., MacGregor, R., Burr, G., Cooper, T., Wolf, A. P. Imaging endogenous dopamine competition with [<sup>11</sup>C]raclopride in the human brain. *Synapse*, 16, 255-262 (1994).
- Wikler, A. (1965) Conditioning factors in opiate addiction and relapse. In: *Narcotics*, Kassenbaum, G. G. and Wilner, D. I. (eds), McGraw-Hill, New York, pp. 85-100.

### Patentansprüche

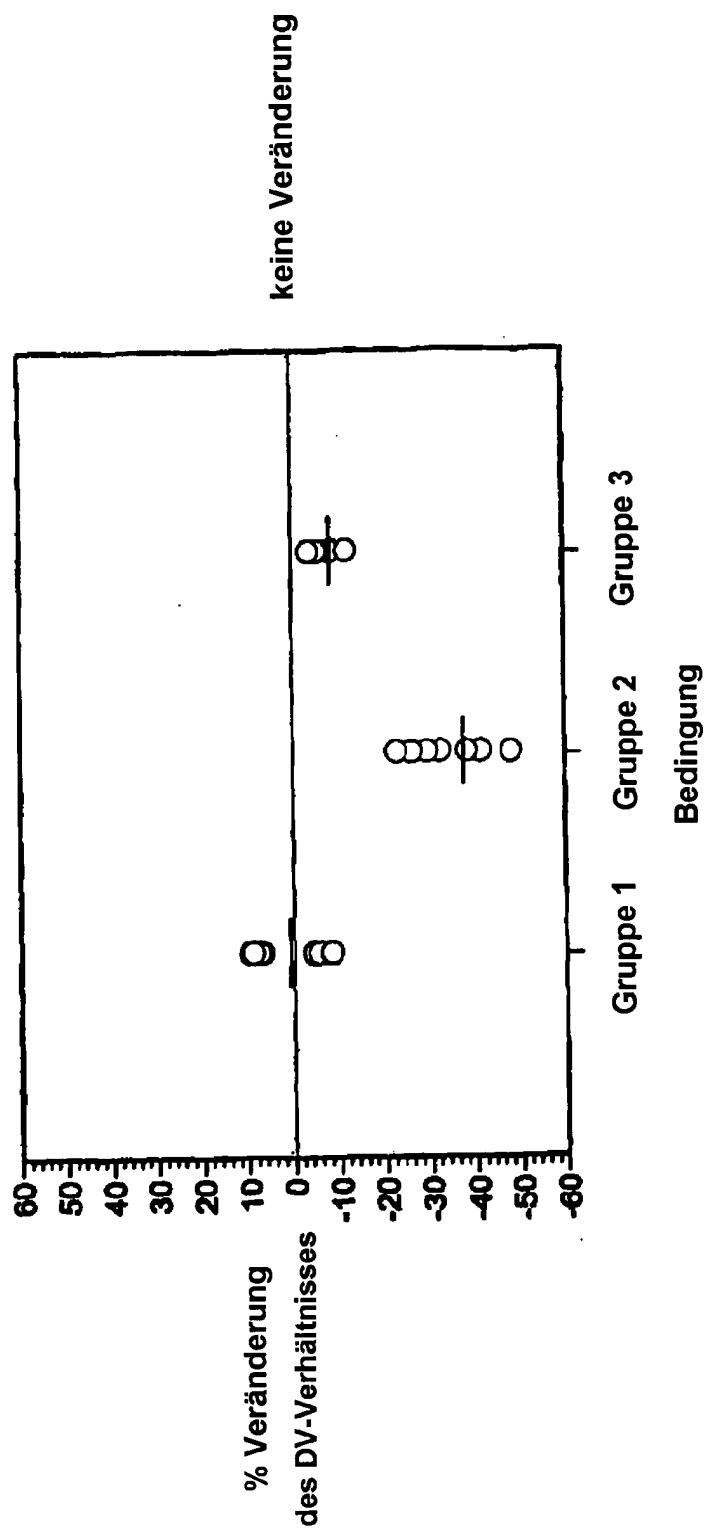
1. Verwendung von gamma-VinylGABA (GVG) oder eines pharmazeutisch verträglichen Salzes davon oder eines Enantiomeren oder eines razemischen Gemisches davon zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung eines Säugers, der an Nikotinsucht leidet, durch Verabreichung einer wirksamen Menge des Arzneimittels an den Säuger, wobei die wirksame Menge ausreicht, das Verhalten, das mit dem Verlangen nach Nikotin oder mit dem Genuss von Nikotin verbunden ist, abzuschwächen, zu hemmen oder zu beseitigen.
2. Verwendung nach Anspruch 1, wobei der Säuger an einer Nikotinsucht in Kombination mit einer oder mehreren missbräuchlich verwendeten Drogen, die aus der Gruppe, die aus Psychostimulantien, narkotischen Analgetika oder Alkoholika und Kombinationen davon besteht, ausgewählt ist, leidet.
3. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2, wobei die Beseitigung des mit einem Verlangen nach Nikotin oder nach Nikotin in Kombination mit einer oder mehreren missbräuchlich verwendeten Drogen in Abwesenheit einer aversiven Reaktion oder einer appetitanregenden Reaktion auf das Arzneimittel erfolgt.
4. Verwendung nach Anspruch 2 oder 3, wobei die eine oder die mehreren missbräuchlich verwendeten Drogen aus der Gruppe ausgewählt sind, die aus Methamphetamin, Ethanol, Morphin, Heroin und Kombinationen davon besteht.
5. Verwendung nach Anspruch 1, wobei es sich bei dem mit der Sucht verbundenen Verhalten um die konditionierte Platzpräferenz handelt.
6. Verwendung nach Anspruch 1, wobei GVG in einer Menge von etwa 15 mg/kg bis etwa 600 mg/kg verabreicht wird.
7. Verwendung nach Anspruch 1, wobei die Beseitigung des Verhaltens, das mit einem Verlangen nach Nikotin oder nach Nikotin in Kombination mit einer oder mehreren missbräuchlich verwendeten Drogen ver-

bunden ist, in Abwesenheit einer Veränderung der lokomotorischen Funktion des Säugers abgeschwächt wird.

8. Verwendung nach Anspruch 1, wobei die Menge an GVG im Arzneimittel 15 mg/kg bis 2 g/kg beträgt.
9. Verwendung nach Anspruch 8, wobei die Menge an GVG im Arzneimittel 75 mg/kg bis 150 mg/kg beträgt.
10. Verwendung nach Anspruch 8, wobei die Menge an GVG im Arzneimittel 18 mg/kg bis 20 mg/kg beträgt.

Es folgen 11 Blatt Zeichnungen

FIG. 1



**FIG. 2**  
Transaxiale parametrische DV-Verhältnisabbildungen des nicht-humanen Primatenhirns  
auf dem Niveau des Corpus striatum

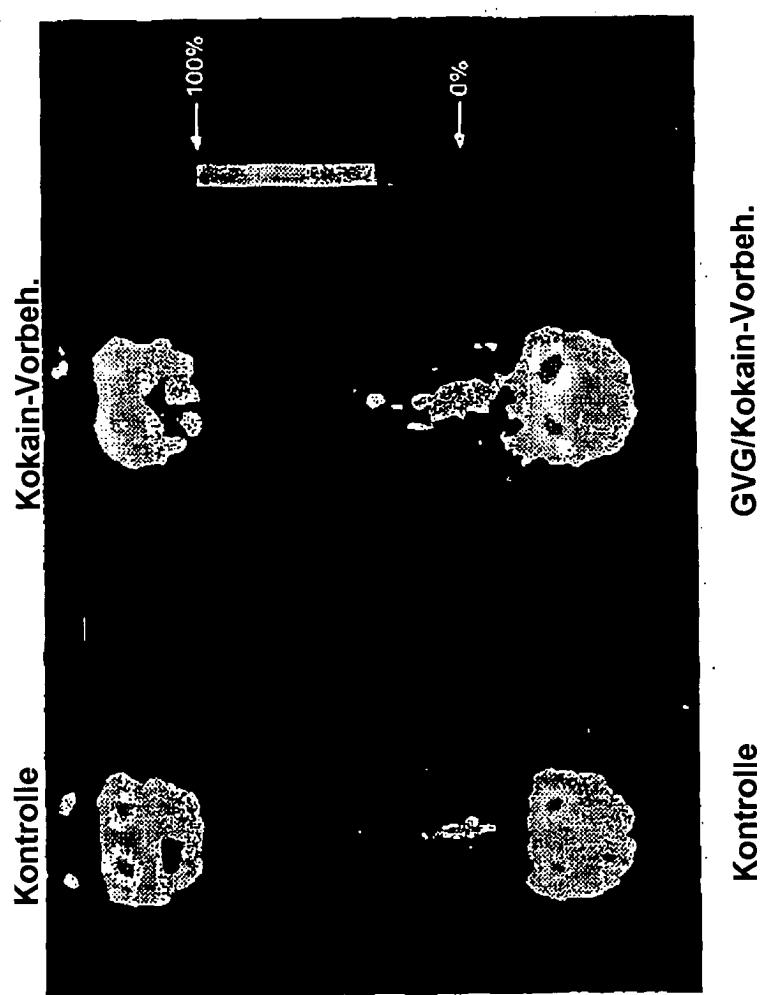


FIG. 3A

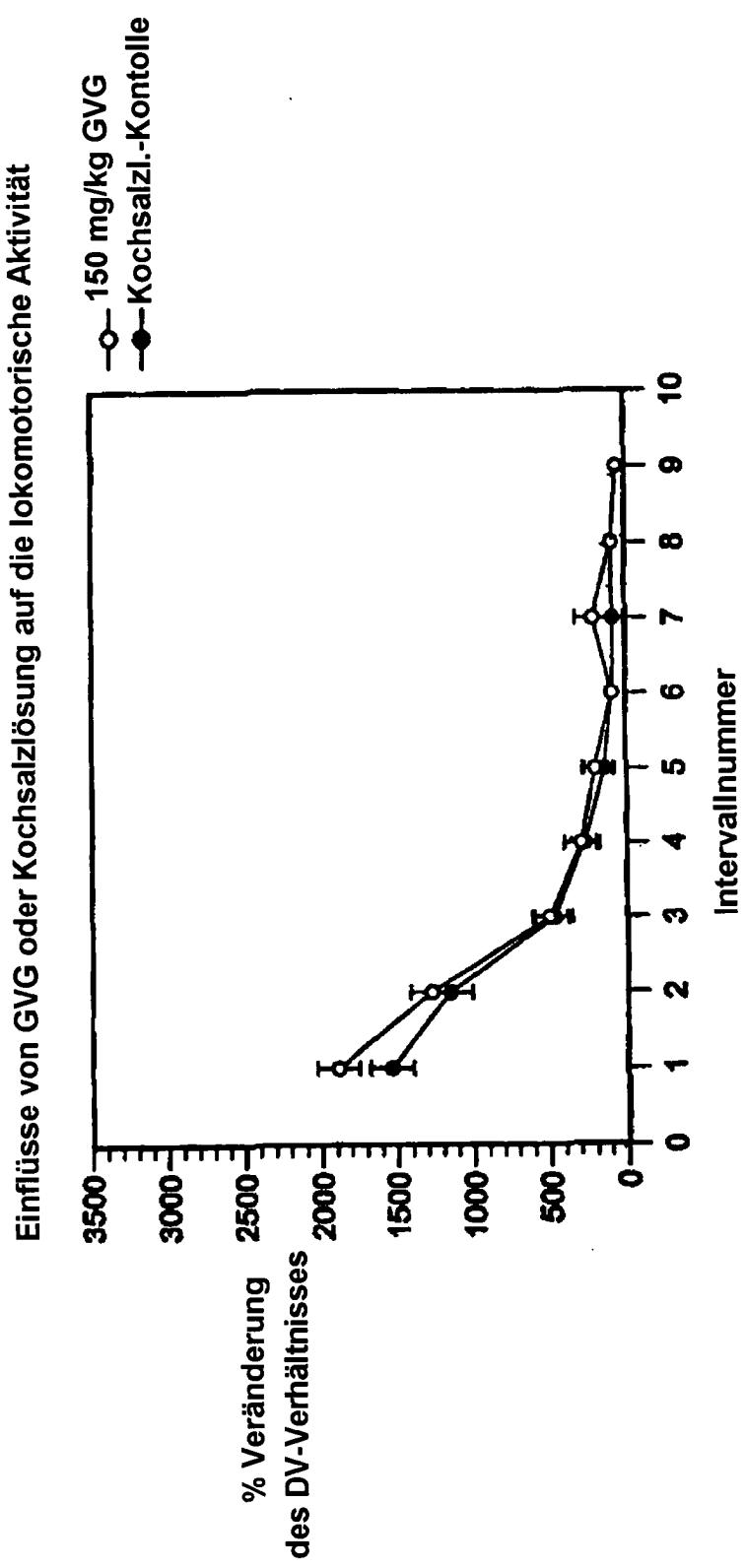


FIG. 3B

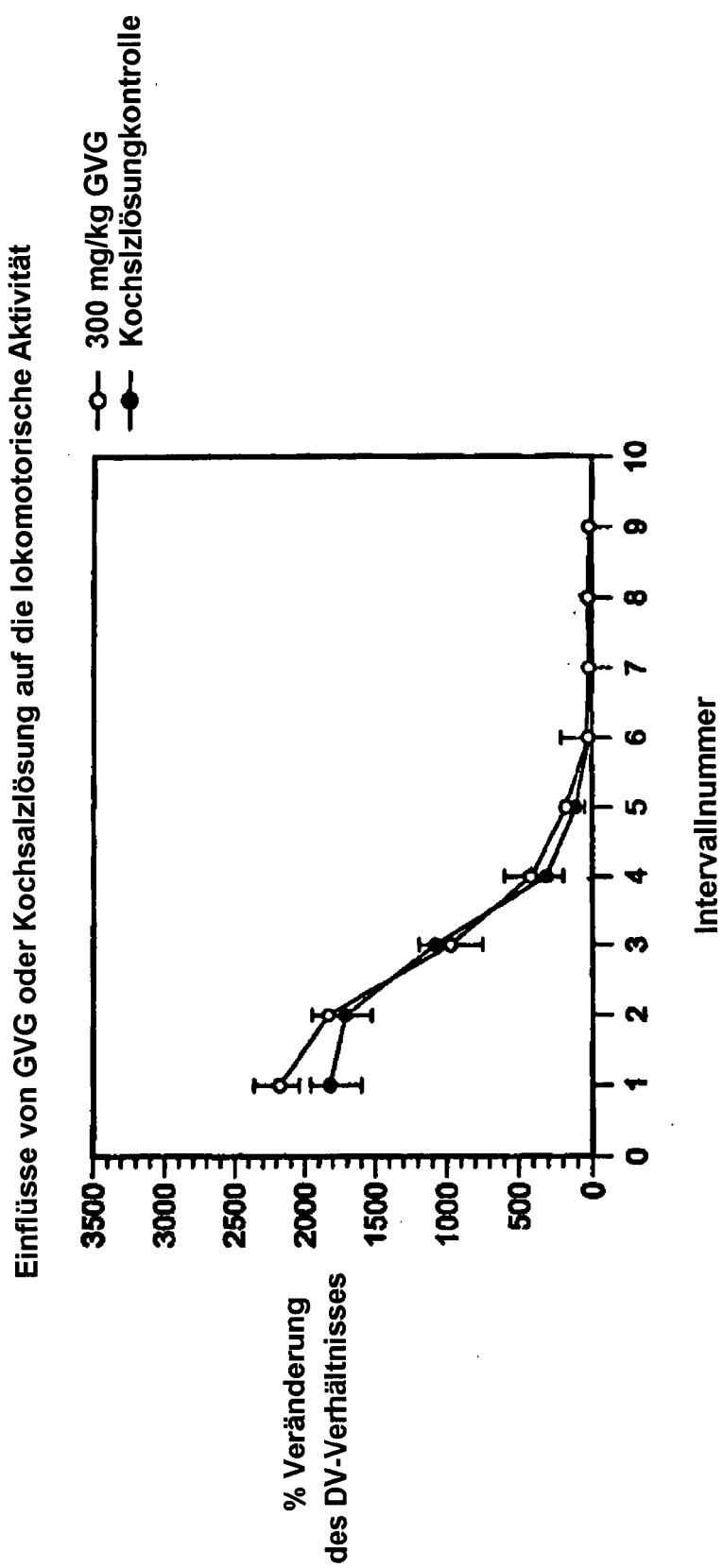


FIG. 4

Einflüsse von GVG auf Nikotin-induziertes extrazelluläres DA

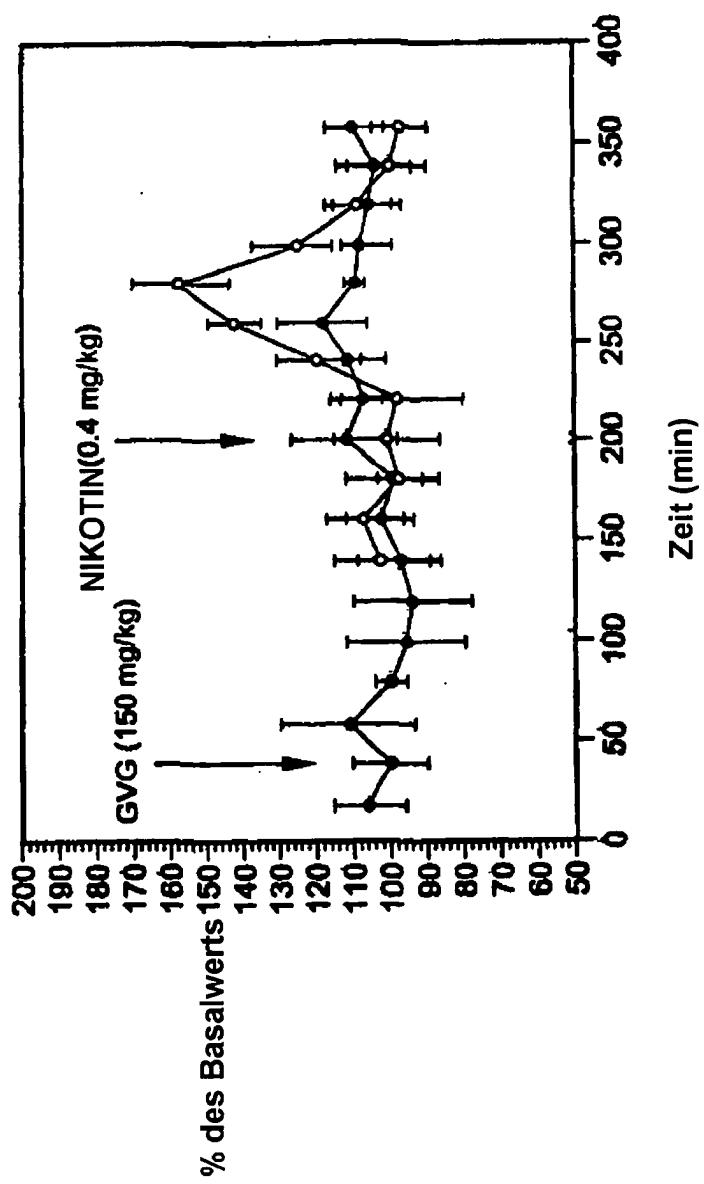


FIG. 5A

Einflüsse von (-)-Nikotin auf extrazelluläres NACC-DA bei  
naiven, sich frei bewegenden Ratten

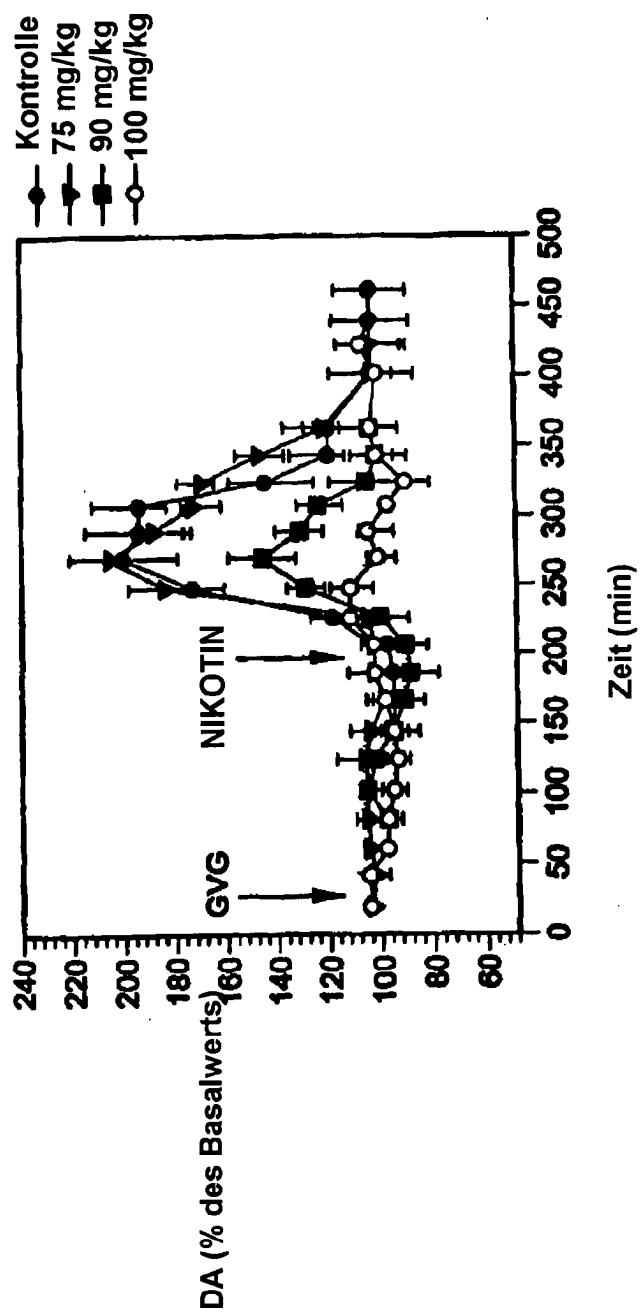


FIG. 5B

Einflüsse von (-)-Nikotin auf extrazelluläres NACC-DA bei chronisch behandelten, sich frei bewegenden Ratten

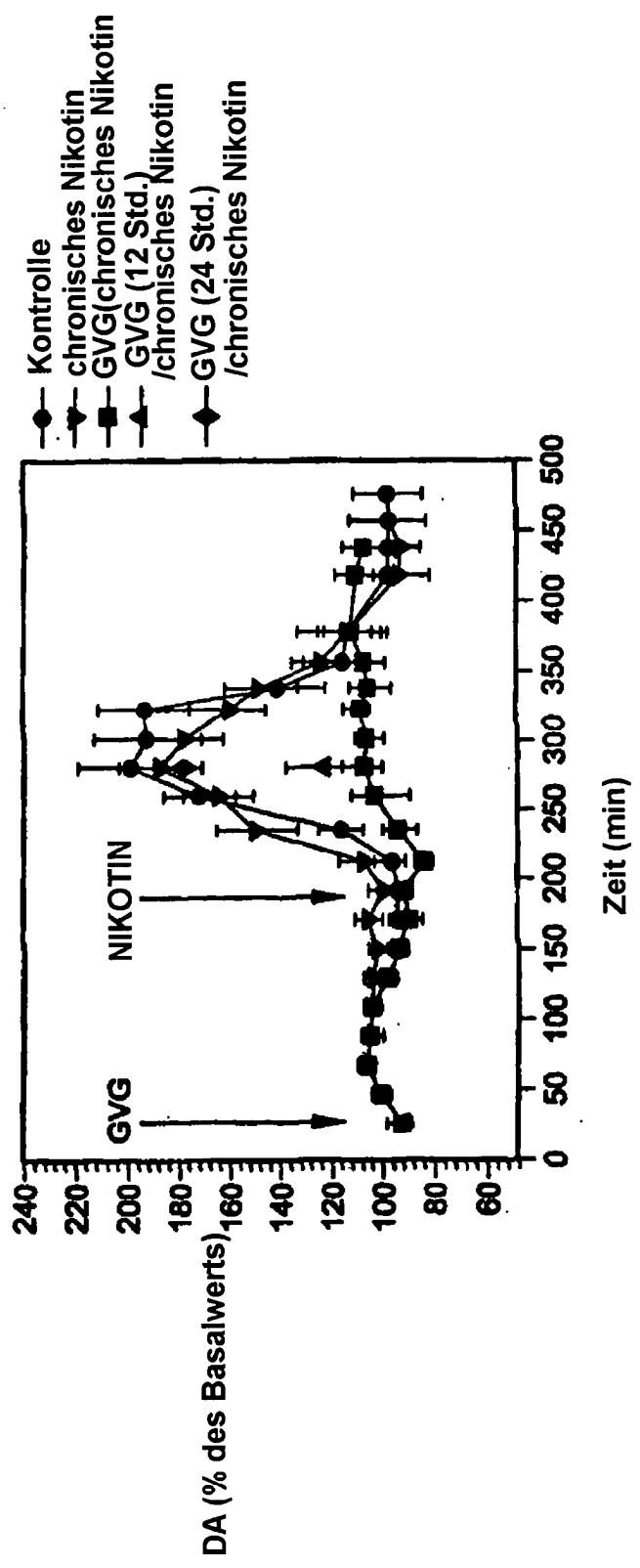


FIG. 6

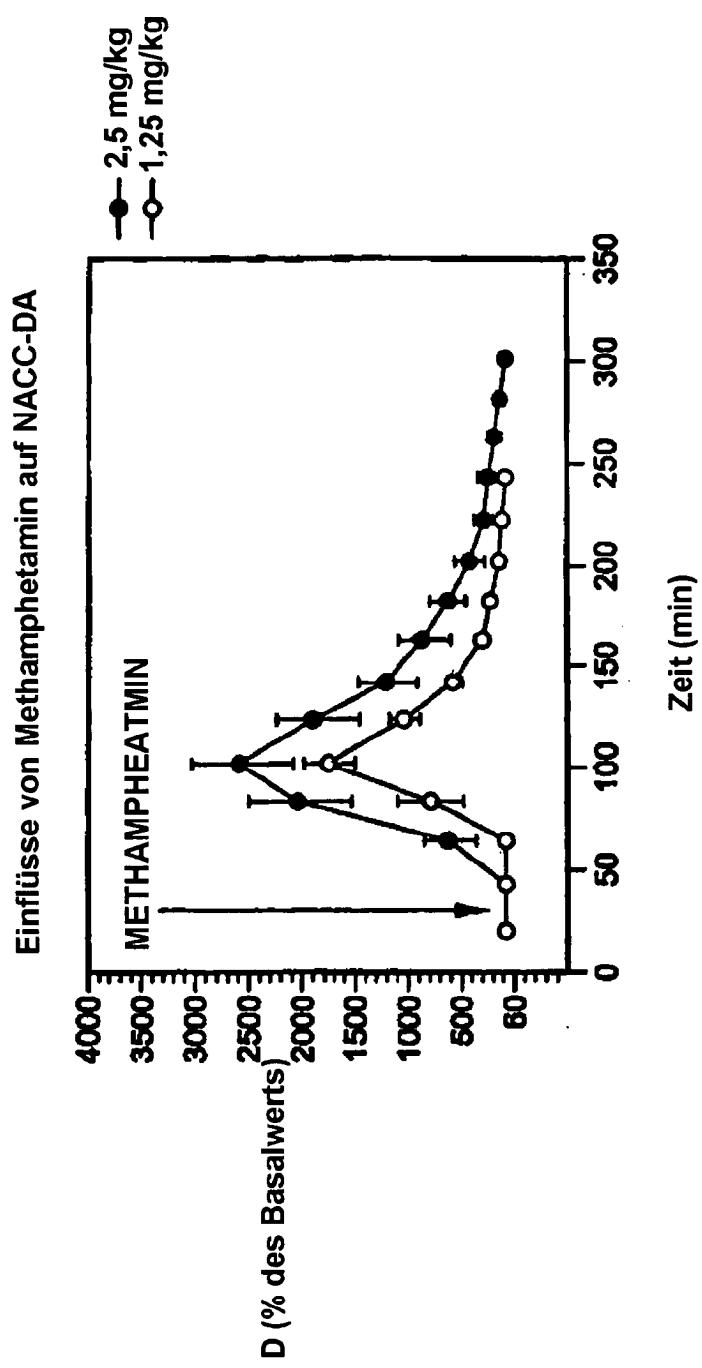


FIG. 7

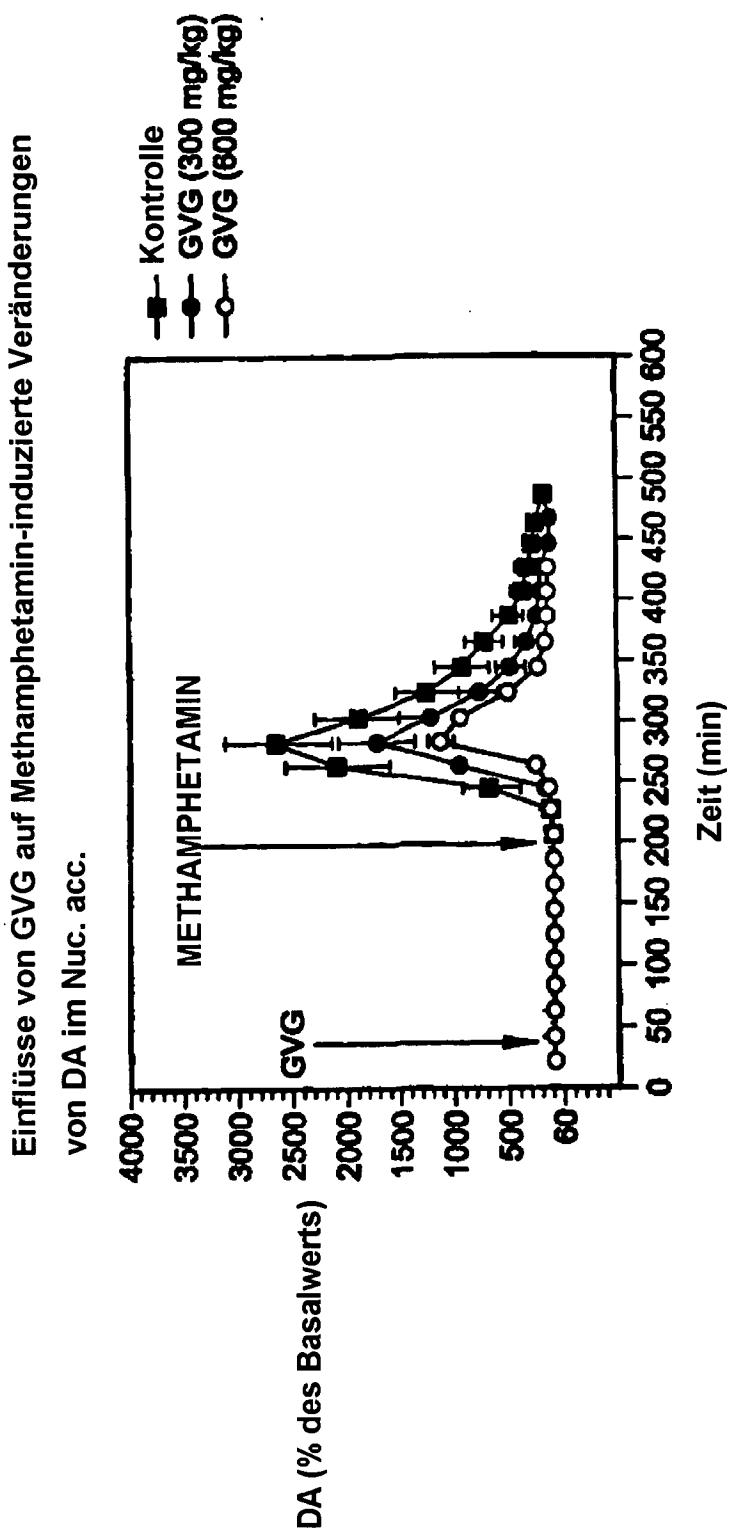


FIG. 8

Einflüsse von GVG auf die Alkohol-induzierte Zunahme an NAc-DA

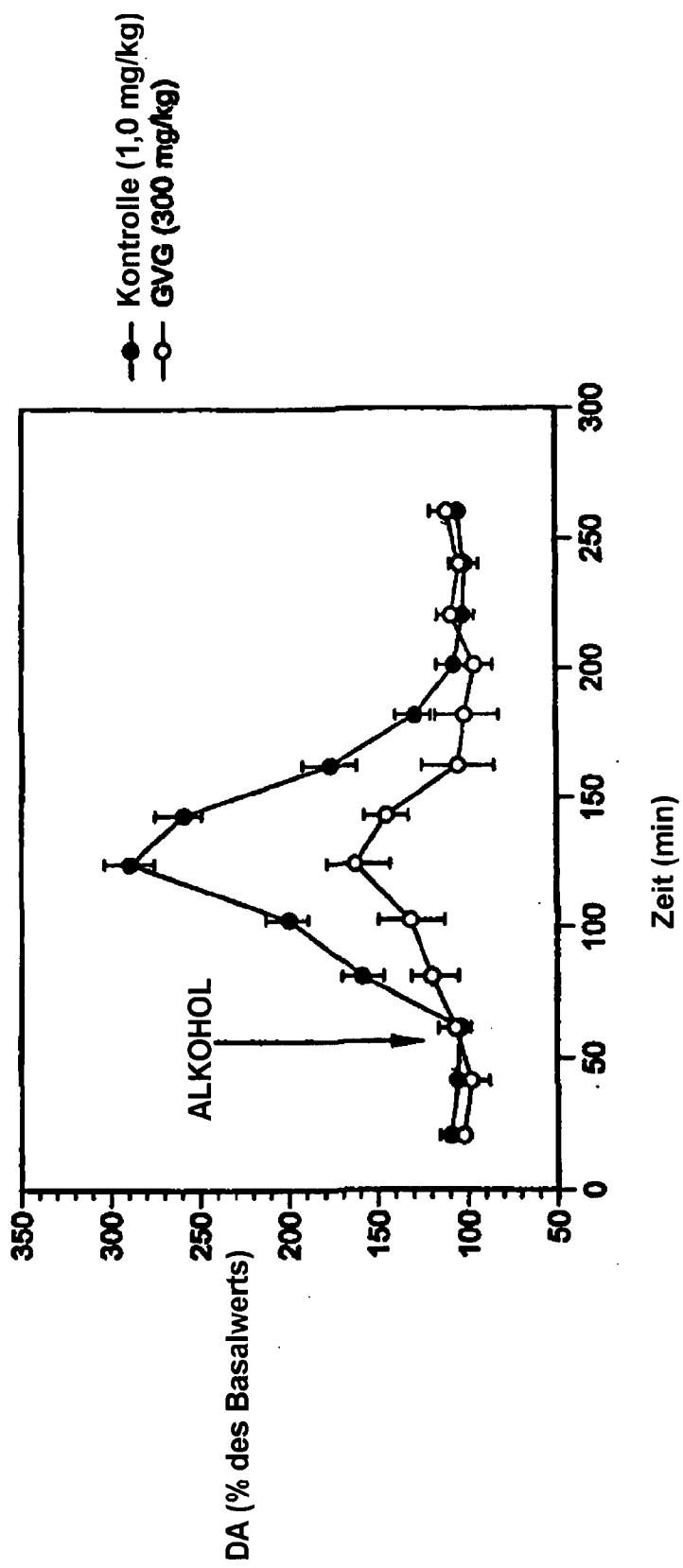


FIG. 9

