HU 000022384 1 B1

(19) HU

(11) Lajstromszám: 223 841 (13) B1

MAGYAR KÖZTÁRSASÁG
Magyar Szabadalmi Hivatal

SZABADALMI LEÍRÁS

(21) A bejelentés ügyszáma: **P 97 00238**
(22) A bejelentés napja: **1995. 07. 11.**

(40) A közzététel napja: **1997. 11. 28.**
(45) A megadás meghirdetésének dátuma a Szabadalmi Közlöny és Védjegyértesítőben: **2005. 02. 28.**

(51) Int. Cl.[7]: **A 61 K 31/195**
A 61 K 31/22
A 61 P 25/22

(86) A nemzetközi (PCT) bejelentési szám:
PCT/US 95/08702
(87) A nemzetközi közzétételi szám: **WO 9603122**

(30) Elsőbbségi adatok:

08/281,285	**1994. 07. 27.**	**US**
08/445,398	**1995. 06. 06.**	**US**

(72) Feltalálók:
Woodruff, Geoffrey Neil, Ware, Hertfordshire (GB);
Gee, Nicolas S., Stansted, Essex (GB);
Singh, Lakhbir, Harlow, Essex (GB);
Brown, Jason P., Stapleford, Cambridgeshire (GB)

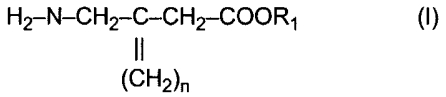
(73) Jogosult:
Warner-Lambert Company, Morris Plains, New Jersey (US)

(74) Képviselő:
Kováts Zerna, S. B. G. & K. Budapesti Nemzetközi Szabadalmi Iroda, Budapest

(54) **Gabepentin alkalmazása szorongás és pánik kezelésére alkalmazható gyógyszerkészítmények előállítására**

(57) Kivonat

A találmány tárgya (I) általános képletű – mely képletben R_1 jelentése hidrogénatom vagy rövid szénláncú alkilcsoport, és n jelentése 4, 5 vagy 6 – vegyületek vagy sóik alkalmazása szorongásérzet kezelésére és pánikérzés kezelésére és/vagy megelőzésére alkalmas gyógyszerkészítmények előállítására.



(I)

HU 223 841 B1

A találmány tárgya az (I) általános képletű vegyületek – ahol R_1 jelentése hidrogénatom vagy rövid szénláncú alkilcsoport, és n jelentése 4, 5 vagy 6 – vagy sóik alkalmazása szorongásérzet kezelésére és pánikérzés kezelésére és/vagy megelőzésére alkalmas gyógyszerkészítmények előállítására.

$$H_2\text{–}N\text{–}CH_2\text{–}C(=(CH_2)_n)\text{–}CH_2\text{–}COOR_1 \quad (I)$$

Közelebbről a jelen találmány tárgya egy ismert vegyület, a gabapentin, annak származékai és gyógyszerészetileg elfogadható sói új gyógyászati alkalmazása.

Az 5 084 479 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás tárgya eljárás neurodegeneratív rendellenességek kezelésére.

Ilyen neurodegeneratív rendellenességek például az Alzheimer-kór, a Huntington-kór, a Parkinson-kór és az amyotrophikus laterális szklerózis. Ezek közé tartozik az akut agykárosodásnak nevezett neurodegeneratív rendellenességek kezelése is. Ezek többek között, de nem kizáró jelleggel a gutaütés, fejtrauma és az asphyxia.

A gutaütés egy agyérbetegség vagy agyérincidens („cerebral vascular incident"; CVA), és idetartozik az akut tromboembolitikus szélütés. A gutaütés mind a fokális, mind a globális ischaemiát magában foglalja. Idetartoznak az átmeneti agyi ischaemiás rohamok és az agyi ischaemiával kísért egyéb agyérproblémák is. Használható specifikusan carotid endarteriális erectomián áteső páciensnél is, vagy általában egyéb sebészeti agyér- vagy érműtéteknél vagy diagnosztikai érvizsgálatoknál, mint agyi angiográfiánál és hasonlóknál.

Egyéb betegségek a gerincoszlop-trauma vagy általános anoxiából származó károsodás, a hipoxia, hipoglikémia, az alacsony vérnyomás, valamint hasonló, az embóliás, hiperfúziós és hipoxiás kezelések alatt tapasztalt károsodások.

Az EPIEPSIA, Vol. 34, No. 6, 1993., p. 45., Leidermann et. al., „Gabapentin therapy..." című irodalmi helyen a gabapentinterápia és az életminőség közötti összefüggés vizsgálatával kapcsolatosan sorolnak fel mellékhatásokat, így szorongást.

A WO A 92 22302 számú szabadalmi leírás GABA-agonista tulajdonságú avermectinekkel foglalkozik.

A 4 028 175 számú, és ennek függő, 4 087 544 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírása ismerteti a jelen találmány szerinti vegyületeket, ezek előállítási eljárását és számos felhasználásukat. Az ismertetett felhasználások: védőhatás tioszemikarbazid okozta görcs ellen, védőhatás kardiazolgörcs; agyi epilepsziabetegségek, ájulási rohamok; hipokinézia és koponyatraumák ellen; és agyfunkciók javítása. A vegyületek idős páciensek kezelésére használhatók. A szabadalmi leírásokat hivatkozásként említjük.

A hivatkozott szabadalmi leírások nem tartalmaznak olyan ismertetést, ami nyilvánvalóvá tenné, hogy a 4 024 175 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás szerinti vegyületeknek a jelen találmány szerinti új alkalmazási lehetősége van szorongásos megbetegedések kezelésére.

A gabapentin (NEURONTIN^R) a τ-amino-vajsav (GABA) egy szerkezeti analógja, amely utóbbi az emlősök agyában a legfőbb ideginger-közvetítő inhibitor. A GABA-tól eltérően azonban könnyen hatol át a véragy gáton, és nincs kölcsönhatásban sem a $GABA_A$, sem a GAB_B receptorokkal [Bartoszyk D. G. és Reimann W. (1985): „Preclinical characterisation of the anticonvulsant gabapentin", a 16. Nemzetközi Epilepszia Kongresszus kivonatanyaga (16th Epilepsy International Congress. Abstracts; Ciba-Geigy, Basel, kiad., 1. old.)]. Kimutatták, hogy görcsoldó hatása van sokféle állatiroham-modellnél. Az ezekből a preklinikai tanulmányokból megjósolt görcsoldóhatás-spektrumba tartoznak a részleges rohamok és az általános tónusos rángásos rohamok. Ezt megerősítették a klinikai vizsgálatok [Goe K. L., Sorkin E. M.: „Gabapentin: A review of its pharmacological properties and clinical potential in epilepsy", Drug Evaluation, *46 (3):*409–427, (1933)]. A 93/23383 számú nemzetközi szabadalmi bejelentés τ-amino-vajsav- (GABA) és L-glutaminsav-analógok rohamkezelésre történő felhasználására vonatkozik. Ismertet egy depresszió-, szorongás- és pszichóziskezelést is.

A találmány összefoglalása

A gabapentint jelenleg klinikailag használják részleges rohamok és azok szekunder kiterjedése kisegítő kezelésére olyan betegeknél, akik nincsenek kielégítő módon ellenőrizve, vagy nem viselik el a szokásos terápiákat. A gabapentin hatásmódja korábban ismeretlen volt, de úgy gondolták, hogy az egy új, bár nem definiált antiepileptikus mechanizmust foglal magában, amely affinitást mutat az agy egy korábban nem azonosított megkötőhelyével [Hill D. R. és mások: „Localization of [^{3}H]-gabapentin to a novel site in rat brain: antidiographic studies", Eur. J. Pharmacol.–Mol. Pharmacol. Sec., *244,* 303–309, (1993)], és a [^{3}H]-gabapentin a patkány cortikális syneptikus plazmamembránjának egy új helyéhez kapcsolódik [Suman–Chaukan N. és mások, British Journal of Pharmacology Proceedings Supplement, *71P,* július 10–12. (1991)].

Megtisztítottuk a gabapentinmegkötő proteint, és meghatároztuk az első tíz aminosav szekvenciáját (EPEPSAVTIK). Ebből az eredményből arra következtetünk, hogy a gabapentint megkötő protein egy agyi kalciumcsatorna $\alpha_2\delta$-alegysége. A Ca^{2+}-csatorna $\alpha_2\delta$-alegységével együttműködő további vegyületeknek szorongás-, pánik- és görcsoldó hatásuk lesz. Azt találtuk, hogy a gabapentin, az izobutil-GABA és a hasonló vegyületek a patkány-, disznó- és emberi agy [^{3}H]-gabapentin-megkötő proteinjéhez kötődnek.

Jelen találmányunk során a gabapentint négy állatmodellen vizsgáltuk.

A jelen találmány tárgya az ismert gabapentinvegyület (NEURONTIN^R); kémiai elnevezés: 1-(aminometil)-ciklohexán-ecetsav új felhasználása szorongást oldó szerként és pánikrohamokat kezelő és/vagy megelőző szerként használható gyógyszerkészítmények előállítására.

A rajzok rövid leírása

Az 1. ábra a gabapentin hatását mutatja a világos/sötét egérdobozban,

a 2. ábra a gabapentin hatását mutatja patkány által működtetett X-labirintusban,

a 3. ábra a gabapentin hatását mutatja az ember általi majomfenyegetés-vizsgálatnál,

a 4. ábra a gabapentin és CDP hatását mutatja patkány-konfliktusvizsgálatnál.

A találmány részletes leírása

A jelen találmány tárgya az (I) általános képletű – mely képletben R_1 jelentése hidrogénatom vagy rövid szénláncú alkilcsoport, és n jelentése 4, 5 vagy 6 – vegyületek vagy gyógyszerészetileg elfogadható sóik alkalmazása szorongásérzet kezelésére és pánikérzés kezelésére és/vagy megelőzésére alkalmas gyógyszerkészítmények előállítására.

A „rövid szénláncú" alkilcsoport kifejezés alatt 8-ig terjedő szénatomszámú, egyenes vagy elágazó szénláncú alkilcsoportot értünk.

Előnyös fenti (I) általános képletű vegyületek közé tartoznak, de nem korlátozó értelemben az
1-amino-metil-1-ciklohexán-ecetsav,
etil-1-amino-metil-1-ciklohexán-acetát,
1-amino-metil-1-ciklopentán-ecetsav,
1-amino-metil-1-cikloheptán-ecetsav,
metil-1-amino-metil-1-ciklohexán-acetát,
n-butil-1-amino-metil-1-ciklohexán-acetát,
metil-1-amino-metil-1-cikloheptán-acetát,
n-butil-1-amino-metil-1-cikloheptán-acetát,
toluolszulfonát,
1-amino-metil-1-ciklopentán-acetát,
benzolszulfonát és
n-butil-1-amino-metil-1-ciklopentán-acetát.

A legelőnyösebb vegyület az 1-amino-metil-ciklohexán-ecetsav (gabapentin).

A találmány szerinti vegyület vagy sói gyógyszerkészítményeit úgy állítjuk elő, hogy a hatóanyag-vegyületet dózisegység alakjában gyógyszerészeti hordozóanyaggal recepturáljuk. A dózisegységformák néhány példája a tabletták, kapszulák, pirulák, porok, orális vizes és nemvizes oldatok, szuszpenziók és egy vagy több dózisegységet tartalmazó, egyedi dózisokra felosztható, tárolóedényekbe csomagolt parenterális oldatok. Alkalmas gyógyszerészeti hordozóanyagok, ezen belül gyógyszerészeti hígítószerek a zselatinkapszulák; cukrok, mint a laktóz, szacharóz; keményítők, mint búza- és kukoricakeményítő; cellulózszármazékok, mint a nátrium-karboxi-metil-cellulóz, etil-cellulóz, metil-cellulóz és cellulóz-acetát-ftalát; zselatin; talkum; sztearinsav; magnézium-sztearát; növényi olajok, mint a földimogyoró-olaj, gyapotmagolaj, szezámolaj, olívaolaj, gabonaolaj és teobrómaolaj; propilénglikol; glicerin; szorbitol; polietilénglikol; víz; agar; alginsav; izotóniás sóoldat; foszfátpufferoldatok; valamint egyéb, a gyógyszerészeti receptúrákban normálisan használt, összeférhető anyagok. A találmány szerinti készítmények egyéb komponenseket, mint színezőanyagokat, ízesítőanyagokat és/vagy tartósítószereket is tartalmazhatnak. Amennyiben jelen vannak, úgy ezeket az anyagokat viszonylag kis mennyiségben használjuk. A készítmények kívánt esetben egyéb gyógyászati szereket is tartalmazhatnak.

Az előzőekben említett készítmények százalékos hatóanyag-tartalma tág határok között változtatható, de az gyakorlati célokra szilárd készítményeknél előnyösen legalább 10% és folyékony készítményeknél előnyösen legalább 2%. A legmegfelelőbb készítmények azok, melyekben ennél sokkal nagyobb mennyiségű hatóanyag van jelen.

A nevezett vegyületet vagy sóját orálisan vagy parenterálisan adagoljuk. Az alkalmazható intravénás dózis 5 és 50 mg között, az alkalmazható orális dózis 50 és 600 mg között, előnyösen 20 és 200 mg között van.

A jelen találmány szerinti dózisegységforma egyéb, a szorongásos betegség kezelésére vagy szorongással járó betegségek kezelésére használható vegyületeket is tartalmazhat.

A találmány szerinti (I) általános képletű vegyületeknek, különösen a gabapentinnek előnye, hogy viszonylag nem toxikusak, könnyen előállíthatók; az a tény, hogy ezeket a szervezet jól elviseli, és a gyógyszer intravénásan könnyen adagolható. Továbbá a gyógyszer nem vesz részt a test anyagcseréjében.

A gyógyszert emlősök, ezen belül emberek kezelésére használjuk.

A fenti (I) általános képletű vegyületek és sóik szorongás és pánikbetegségek kezelésére való alkalmasságát standard farmakológiai vizsgálatokkal bizonyítjuk.

Anyag és módszerek

Állatok

200–250 g testtömegű, hím Hooded Lister patkányokat szereztünk be az Interfauna (Hintington, UK) cégtől és 20–25 g testtömegű hím TO egereket a Bantin és Kingman (Hull, UK) cégtől. Mindkétfajta rágcsálót hatos csoportokban helyeztük el. Tíz darab 280 és 360 g közötti testtömegű, a Manchester University Medical Schoolban (Manchester, UK) tenyésztett közönséges fehér majmot (Callithrix Jacchus) páronként helyeztünk el. Minden állatot 12 órás fény/sötétség ciklusban (világítás bekapcsolva 07,00 órakor) tartottunk, korlátlan táplálékkal és vízzel.

Gyógyszeradagolás

A gyógyszereket vagy intraperitoneálisan (ip.) vagy szubkután (sc.) adagoltuk 40 perccel a vizsgálat előtt 1 ml/kg testtömeg mennyiségben a patkányok és majmok esetében, és 10 ml/kg testtömeg mennyiségben az egerek esetében.

Egér fény/sötét doboz

A berendezés egy nyitott fedelű 45 cm hosszú, 27 cm széles és 27 cm magas, két kis (2/5) és egy nagy (3/5) kamrára osztott, egy, a falak fölé 20 cm-re nyúló osztóelemmel ellátott doboz volt [Costall B. és mások: „Exploration of mice in a black and white box: validation as a model of anxiety", Pharmacol. Biochem. Behav., *32*, 777–785, (1989)].

Az osztóelem közepén, az alapszinten egy 7,5-7,5 cm méretű nyílás volt. A kis kamrákat feketére, a nagy kamrát fehérre festettük. A fehér kamrát 60 W-os

volfrámizzóval világítottuk meg. A laboratórium vörös fénnyel volt megvilágítva. Mindegyik egeret úgy vizsgáltuk meg, hogy a fehér kamra közepére helyeztük, és hagytuk, hogy új környezetét 5 percig megfigyelje. A megvilágított térben eltöltött időt mértük [Kilfoil T. és mások: „Effect of anxiolitic and anxiogenic drugs on exploratory activity in a simple model of anxiety in mice", Neuropharmacol. *28,* 901–905, (1989)].

Patkány általi emeléssel működtetett X-labirintus

Egy standard, emeléssel működő X-labirintust [Handley S. L. és mások: „Effects of alpha-adrenoreceptor agonists and antagonists in a maze-exploration model of fear-motivated behavior", Naunyn-Schiedeberg's Arch. Pharmacol., *327,* 1–5, (1984)] automatizáltunk úgy, amint ezt előzőleg leírtuk [Field és mások: „Automation of the rat elevated X-maze test of anxiety", Br. J. Pharmacol., *102 (Suppl),* 304, (1991)]. Az állatokat az X-labirintus közepére helyeztük fejjel a nyitott szárnyak egyike felé. A szorongásos hatások meghatározása céljából a belépéseket és a nyitott ágak végén eltöltött időt 5 perc periódusú vizsgálat során mértük [Costall és mások: „Use of the elevated plus maze to assess anxiolitic potential in the rat", Br. J. Pharmacol., *96 (Suppl),* 312, (1989)].

Fehér majom emberijesztéses vizsgálata

Az állatnak a fenyegetési inger (a majomketrectől 0,5 méterre álló és a majom szemébe bámuló ember) hatására kiváltott minden testhelyzete összes számát feljegyeztük a 2 perc időtartamú vizsgálat alatt. A megszámolt testhelyzetek a ferdevágású figyelés, a farokállások, a ketrec/rudak szagjelzése, a felborzolódás, visszarettenés, a hátdomborítás voltak. A vizsgálat napján a gyógyszerkezelés előtt és után minden állatot kétszer vetettünk alá az ijesztési vizsgálatnak. A testhelyzetek száma közötti különbséget a Dunnet-féle t-teszt szerinti egyutas variációs analízissel analizáltuk. Minden gyógyszeres kezelést az első (kontroll-) ijesztés után legalább 2 órával, szubkután végeztünk. Az előkezelési idő mindegyik vegyület esetében 40 perc volt.

Patkány-konfliktusvizsgálat

A patkányokat idomítottuk arra, hogy a kísérleti ketrecben emelőket nyomjanak meg, ha táplálékhoz akarnak jutni. Az ütemezés abban állt, hogy négy 4 perces, 30 másodperc változtatható intervallumú, nem büntetett periódus után – amelyet a ketrec megvilágítása jelzett – és három 3 perces büntetett periódust alkalmaztunk 5-ös, állandó arány mellett (táplálékszolgáltatással együtt járó láblenyomás mellett), amit a ketrecvilágítás kialvása jelzett. A láblenyomás fokát minden patkányra úgy állítottuk be, hogy körülbelül 80–90% válaszvisszafojtást kapjunk a nem büntetett válaszhoz képest. A patkányok az idomítás napjai alatt sós vehiculumot kaptak.

Eredmények

A világított/sötét egérdoboz

A (3–100 mg/kg testtömeg mennyiségű) gabapentin vizsgálat előtt 40 perccel, 10 és 30 mg/kg dózisban történt adagolása megnövelte az egér tartózkodási idejét a doboz megvilágított részében, ami szorongásszerű viselkedést mutat (1. ábra). Ez a hatás azonban a legnagyobb, 100 mg/kg gabapentindózisnál eltűnt (1. ábra).

A patkány emelésével működtetett X-labirintus

A (3–100 mg/kg testtömeg) gabapentin szubkután adagolása megnövelte a százalékosan eltöltött időt (TEOA %) és a nyitott szárnyak végébe történő belépések számát (EEOA %), lásd a 2. ábrát. Ezek a növekedések szorongásszerű hatást mutatnak. Az összes belépések számának növekedését is megfigyeltük továbbá, 30 mg/kg testtömeg adagolása mellett.

Fehér majom emberijesztéses vizsgálata

10–300 mg/testtömeg/kg gabapentin szubkután adagolása csökkentette a fehér majmok emberi fenyegetés hatására kifejtett reagálását (3. ábra). Ez szorongásszerű viselkedésre utal. Ennél a vizsgálatnál a gabapentinaktivitás tág dózistartományban fennállt.

Patkány-konfliktusvizsgálat

A gabapentin adagolás előtt 40 perccel a vizsgálati dózistól (1–100 mg/kg) függő alkalmazása megnövelte az emelőnyomkodások számát a büntetett periódusban egy minimálisan 3 mg/kg dózissal, ami 65%-os növekedést eredményezett. Maximális hatást (179%-os növekedést) figyeltünk meg 30 mg/kg-mal. A legnagyobb vizsgálati dózisnál (100 mg/kg) az emelőnyomkodás csökkenését (37,4%) figyeltük meg a büntetlen periódusban, ami nyugtatott/ataxiás állapotot jelzett, ez a büntetett fázisban megfigyelt hatás látszólagos csökkenésének tudható be. Hasonló módon klór-diazepoxid (1–100 mg/kg) dózisfüggő módon növelte az emelőnyomkodást a büntetett periódusban egy 3 mg/kg MED-értékekkel, ami 128,4%-os növekedést eredményezett. Maximális hatást (330,0%-os növekedést) figyeltünk meg 30 mg/kg-nál. A nem büntetett periódusban a válasz nem csökkent egyik vizsgálati dózisnál sem (4a. és 4b. ábra).

Kimutattuk továbbá, hogy a gabapentin hatását, vagyis görcsoldó és szorongást oldó hatását a D-szerin megfordíthatja. A D-szerin aktivitásának e megfordulása azt mutatta, hogy ezeknek a tulajdonságoknak közös hatásmechanizmusa van. Ez nem jelent közvetlen együtthatást a D-szerin és gabapentin között a glicin/NMDA receptorkomplexnél, minthogy korábbi radioligandumkötési tanulmányok kimutatták, hogy a gabapentin nem kötődik a glicin/NMDA receptorhoz [Suman–Chanhan és mások: „Eur. J. Pharmacol.–Mol. Pharmacol. Sec., *244,* 293–301 (1993)].

Gabapentin megkötése egy kalciumcsatorna-$\alpha_2\delta$-alegységhez

Összefoglalás

Meghatároztuk egy sertésagy-[^{3}H]-gabapentint kötő protein parciális N-terminális szekvenciáját. Az első tíz gyök szekvenciája, EPFPSAVTIK, azonos a nyúlvázizomból származó L-típusú Ca^{2+}-csatorna érett $\alpha_2\delta$-alegysége N-terminális szekvenciájával. A [^{3}H]-gabapentin patkányszövetekbe kötődési helyeinek eloszlása nagyjából hasonló volt a [^{3}H]-nitréndipin által meghatározott dihidropiridinérzékeny Ca^{2+}-csatornákéhoz. Az izomra ható ligandumok [^{3}H]-gabapentin-megkötő helyre történő beilleszkedési sorrendje a korábban megállapított CNS-helyzeteknek

megfelelő volt. A [^{3}H]-gabapentin az első leírt olyan farmakológiai szer, ami a Ca^{2+}-csatorna egy $\beta_2\delta$-alegységével hat egymásra. Ez azt jelenti, hogy a feszültségfüggő neuronális Ca^{2+}-csatornák modulálása fontos a gabapentin antiepileptikus hatása szempontjából.

Anyagok

A helyi közvágóhídról sertésagyakat szereztünk be, és azokat jégben szállítottuk a laboratóriumba. A pufferkomponenseket a Sigma Chemical Company (Poole, Dorset, UK) vagy az FSA Supplies (Loughborough, Leicestershire, UK) cégtől szereztük be. A [^{3}H]-gabapentint (57,7 Ci/mmol) az Amersham International (Amersham, Bucks, UK) cég szintetizálta. A nem izotópjelzett gabapentint és a 3-izobutil-GABA-t a Warner–Lambert, Ann Arbor, Michigan, USA cégtől szereztük be, a [^{3}H]-nitréndipint (75,3 Ci/mmol) a DuPont (UK) Ltd (Stevanage, Herts, UK) cégtől.

Módszerek

A [^{3}H]-gabapentin membránokhoz kötését a Suman–Chauhan és mások: Eur. J. Pharmacol., *244,* 293 (1993) által leírt módszerrel végeztük. A [^{3}H]-nitréndipin-kötést szobahőmérsékleten 30 perc alatt, 50 mM Trisz/150 mM NaCl/2,5 mM $CaCl_2$-ban hajtottuk végre, és a reakciókat GB/B szűrőkön keresztül végzett gyors szűréssel fejeztük be. A nemspecifikus kötést úgy definiáltuk, hogy ez az, amit 1 μM nifedipin jelenlétében kaptunk meg. A P_2 membránfrakciók előállítását és a [^{3}H]-gabapentin-kötő protein tisztítását a Gee és mások (1994) által leírt (említett) módszerrel végeztük, azzal a különbséggel, hogy a Sephacryl S400-ból származó aktív frakciókat egy Cu^{2+}-töltetű imino-diecetsav-szefaróz-oszlopon tovább frakcionáltuk. A tisztított protein végső mintáját (körülbelül 5 μg) egy 10%-os poliakrilamidgélben elektroforézisnek vetettük alá, és egy immobilon P membránra vittük át. A foltot Coomassie Blue színezékkel színeztük, a 130 kDa csíkot kivágtuk, és egy Applied Biosystems 477A típusú szekvenszerrel vizsgáltuk.

Eredmények

Proteinszekvencia

Egy N-végcsoport-szekvencia-meghatározást végeztünk két különböző tisztított sertés-[^{3}H]-gabapentin-kötő proteinkészítményen. Az első tíz ciklusra kapott szekvencia EPEPSAVTIK volt. A génbank-adatbázis-keresés 100%-os homológiát mutatott az L-kalcium típusú csatorna érett $\alpha_2\delta$-alegysége első tíz maradékával (Ellis és mások; Science, *241,* 1661, 1988).

[^{3}H]-gabapentin-kötő helyek megoszlása a patkányban

Radioligandumkötési vizsgálatokat végeztünk egy sor patkányszövetből előállított membrán felhasználásával [^{3}H]-gabapentinnel vagy [^{3}H]-nitréndipinnel. Viszonylag nagy mennyiségű [^{3}H]-gabapentin-megkötő helyet találtunk a vázizomban. Mérsékelten nagy mennyiséget az agykéregben és kisagyban, kisebb mennyiséget az előagyban és szívben. Nyomokban találtunk [^{3}H]-gabapentin-megkötő helyeket a tüdőben, lépben, májban és vesében, de a hasnyálmirigy és a bél aktivitásmentes volt. A dihidropiridinérzékeny L-típusú Ca^{2+} kalciumcsatornák eloszlása, melyet a [^{3}H]-nitréndipin definiált, nagyjából hasonló volt a [^{3}H]-gabapentinéhez, bár bizonyos szövetekben a radioligandum relatív mennyiségeiben apró különbségeket figyeltünk meg.

A parciális N-terminál-szekvenciaadatok azt mutatják, hogy a sertésagy gabapentinmegkötő proteinje egy feszültségfüggő Ca^{2+}-csatorna $\alpha_2\delta$ alegysége.

Az ábrák ismertetése

Az 1. ábra gabapentin hatása a világos/sötét egérdobozban

Gabapentint adtunk be intraperitoneálisan 40 perccel a vizsgálat előtt. Mértük a világos/sötét doboz világos részében eltöltött időt. Az eredményeket a 10 állatból álló csoport átlagaként tüntetjük fel (a függőleges oszlopok ±SEM-et képviselnek).

* Jelentős különbség a hordozóközeggel kezelt csoporttól (VEH), $p<0,05$ (ANOVA), melyet Dunnet t-vizsgálat követett.

A 2. ábra gabapentin hatása a patkány által történő emeléssel működtetett X-labirintusban

A gabapentint a vizsgálat előtt 40 perccel szubkután adtuk be. A nyitott szárnyak végeiben eltöltött idő százalékát (% TOEA), a belépések százalékát (% EEOA) és a belépések összes számát (TE) mértük. Az eredményeket a 10 állatból álló csoport átlagaként tüntetjük fel (a függőleges oszlopok ±SEM-et képviselnek).

* Jelentős különbség a hordozóközeggel kezelt csoporttól, $p<0,05$ (ANOVA), melyet Dunnet t-vizsgálat követett.

A 3. ábra gabapentin hatása a fehér majom emberijesztési vizsgálat során

Minden állatot 2 perces ijesztési ingerlésnek tettünk ki az adagolás előtt és után. A vegyületeket 40 perccel a vizsgálat előtt szubkután adagoltuk. Az eredményeket az 5-6 állatból álló csoport testállás-csökkenés-százalékában fejezzük ki (a függőleges oszlopok ±SEM-et jelölnek).

* Jelentős különbség az átlagos napi kontrolltól, $p<0,5$ (ANOVA, melyet Dunnet t-vizsgálat követ).

A 4. ábra gabapentin és CDP hatása a patkány-konfliktusvizsgálatnál és gabapentin hatása a fehér majom emberijesztési vizsgálatnál

A gabapentint vagy klór-diazepoxidot (CDP) a vizsgálat előtt 40 perccel adtuk be. Az eredményeket a legalább 5 állatból álló csoportnak a vizsgálat napján megfigyelt emelőnyomkodása átlagos százalékos növekedésével vagy csökkenésével fejeztük ki (a függőleges oszlopok ±SEM-et jelentenek) ahhoz képest, amelyet az állatok átlagosan a hordozóközeg beadása előtti 2 napon mutattak.

* Jelentősen különböző az előző kontrollnapokhoz képest,
$p<0,05$

** $p<0,01$ (páros hallgatói t-teszt).

Az ábrákon bemutatott eredmények azt jelentik, hogy a gabapentin azon túlmenően, hogy görcsoldó hatása van, erős szorongásoldószerű hatást is kifejt az állatokban. Így a világos-sötét egérdobozban, a pat-

kányemeléssel működő X-labirintus vizsgálatnál, a patkány-konfliktusteszt során és az emberijesztéses fehérmajom-vizsgálatnál.

Az a dózistartomány, amelynél a gabapentin szorongásoldószerű hatást mutat, hasonló ahhoz, ami az állatokban görcsoldó hatást fejt ki. A patkányemeléssel működtetett X-labirintus vizsgálatnál és a fehér majmok emberijesztési vizsgálatánál az elért hatás nagysága hasonló volt ahhoz, amit benzodiazepin görcsoldó anyagoknál tapasztaltunk [Costall és mások, (1988); Singh és mások, (1991)]. A jelen adatok azt mutatják továbbá, hogy a gabapentin jó szorongásoldószerű hatást idéz elő a patkány-konfliktusvizsgálatnál. A legtöbb nem benzodiazepin ligandum, amely erős szorongásoldószerű hatást idéz elő a patkányemeléssel működő X-labirintus vizsgálatnál és a fehér majom emberijesztési vizsgálatnál, sokkal kisebb aktivitást mutat sokkindukált konfliktustesztek során. A gabapentinnek az a képessége, hogy jó konfliktusviselkedésinhibíciót idéz elő, előnyt jelenthet olyan vegyületekkel szemben, mint a buspiron és olyanokkal szemben, amelyek jelenleg állnak klinikai vizsgálat alatt a szorongásos állapot kezelésére, de csak kis aktivitást mutatnak ennek a tesztnek során (például a CCK_B és $T\text{-}HT_3$ receptorantagonisták; lásd Broekkamp és mások, 1989; Singh és mások, 1991).

Az emberijesztéses vizsgálat eredményei különösen arra utalnak, hogy a gabapentinnek szerepe van a pánikhangulat kezelésénél.

A találmány szerinti vegyületek vagy sóik receptúrált készítményeinek példáit a következő példák szemléltetik.

1. példa

Injekciós készítmények

1–100 mg/ml
gabapentin
víz, injekciós oldathoz, q. s.

A vegyületet vagy annak valamely alkalmas sóját oldjuk fel, és az oldatot 0,2 μ-os szűrőn szűrjük. A leszűrt oldatot ampullákba vagy üvegcsékbe töltjük, lezárjuk és sterilizáljuk.

2. példa

Kapszulák

50 mg, 100 mg, 200 mg, 300 mg vagy 400 mg
gabapentin 250 g
laktóz, vízmentes (USP) q. s. vagy 250 g
Sterotex por HM, 5 g.

A vegyületet és a laktózt bolygókeverőben 2 percig, az erősítőrúddal 1 percig, majd a bolygókeverőben ismét 1 percig keverjük. A keverék egy részét ezután a Sterotex porral keverjük össze, 30-as szitán átszitáljuk, és hozzáadjuk a keverék többi részéhez. A komponenseket ezután 1 percig, az erősítőrúddal 30 másodpercig, majd a bolygókeverőben további egy percig keverjük. A megfelelő méretű kapszulákat 141 mg, 352,5 mg vagy 705 mg keverékkel töltjük meg az 50, 125 és 250 mg tartalmú kapszuláknak megfelelően.

3. példa

Tabletták

5 mg, 100 mg, 200 mg, 300 mg, 400 mg, 500 mg vagy 600 mg
gabapentin 125 g
búzakeményítő NF, 200 g
mikrokristályos cellulóz 46 g
Sterotex por HM, 4 g
tisztított víz, q. s. vagy 300 ml.

Bolygókeverőben összekeverjük a búzakeményítőt, cellulózt, a vegyületet, és azt 2 percig keverjük. Hozzáadjuk a vizet, és 1 percig keverjük. A keveréket tálcára kiterítjük, és meleg levegős szárítószekrényben 50 °C-on addig szárítjuk, míg 1-2 százalék nedvességtartalmat érünk el. A szárított keveréket ezután Fitzmill őrlőmalomban őröljük rH2B-s szitán át, és forgódobban 5 percig keverjük. 150 mg-os, 375 mg-os és 750 mg-os tablettákat sajtolunk megfelelő méretű szerszámban, amelyek 50, 125 vagy 500 mg hatóanyagot tartalmaznak.

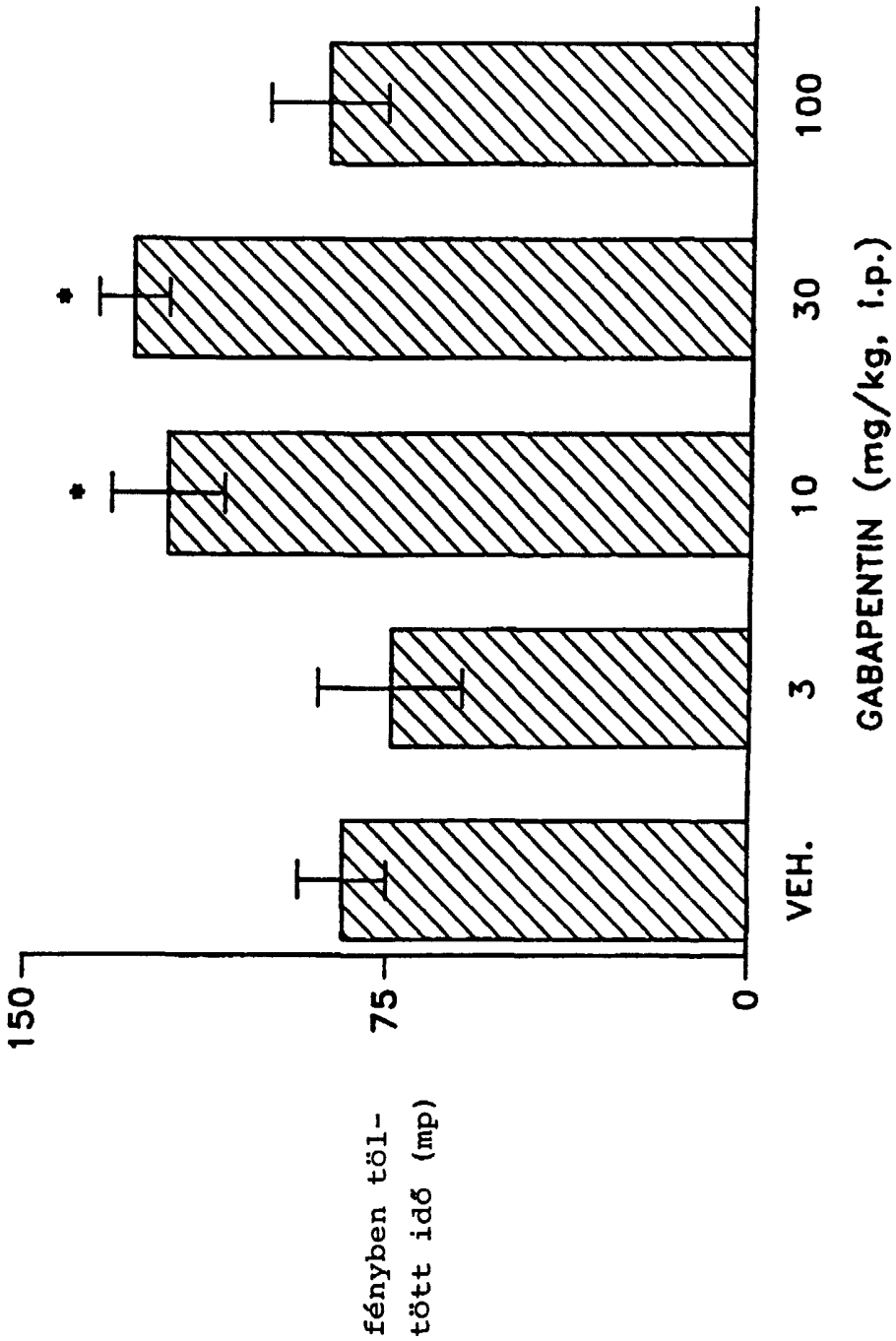
SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Az (I) általános képletű – mely képletben R_1 jelentése hidrogénatom vagy rövid szénláncú alkilcsoport, és n jelentése 4, 5 vagy 6 – vegyületek vagy sóik alkalmazása szorongásérzet kezelésére alkalmas gyógyszerkészítmények előállítására.

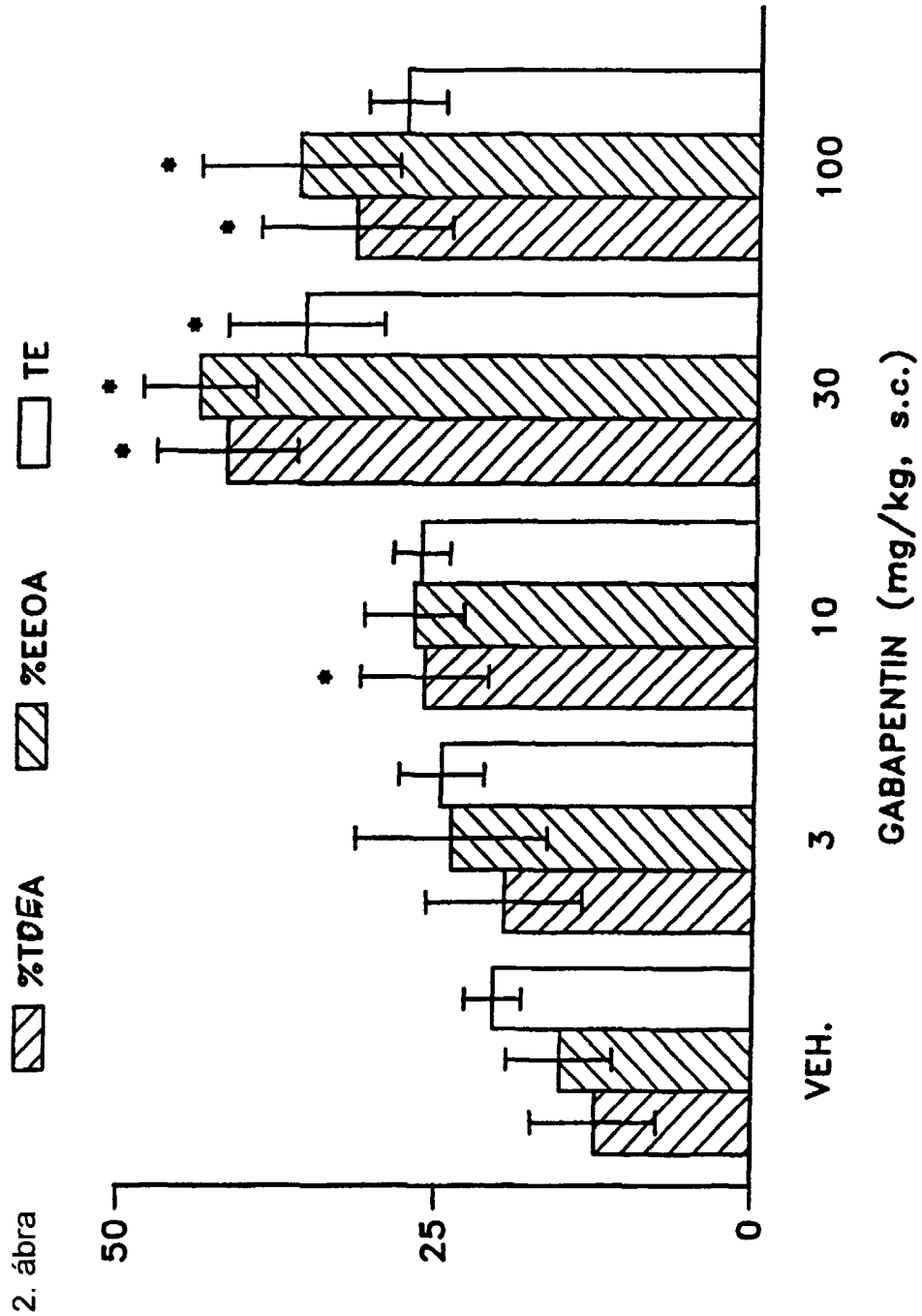
2. Az (I) általános képletű – mely képletben R_1 jelentése hidrogénatom vagy rövid szénláncú alkilcsoport, és n jelentése 4, 5 vagy 6 – vegyületek vagy sóik alkalmazása pánikérzés kezelésére és/vagy megelőzésére alkalmas gyógyszerkészítmények előállítására.

3. Az 1. vagy 2. igénypont szerinti alkalmazás gabapentin vagy gyógyszerészetileg elfogadható sóját tartalmazó, szorongásérzet kezelésére és pánikérzés kezelésére és/vagy megelőzésére alkalmas gyógyszerkészítmények előállítására.

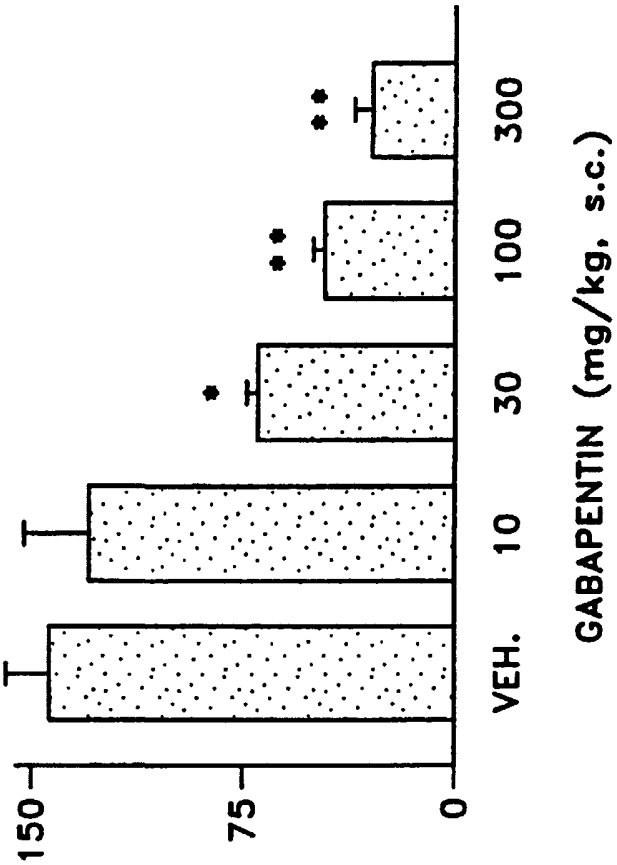
4. Az 1–3. igénypontok bármelyike szerinti alkalmazás az (I) általános képletű vegyületeket vagy sóikat tartalmazó, szorongásérzet kezelésére és pánikérzés kezelésére és/vagy megelőzésére alkalmas, parenterálisan 5–50 mg-os egyedi dózisban beadható, enterálisan 50–600 mg-os egyedi dózisban beadható gyógyszerkészítmények előállítására.


150
75
0
fényben töl-
tött idő (mp)
VEH.
3
10
30
100
GABAPENTIN (mg/kg, i.p.)
*
*

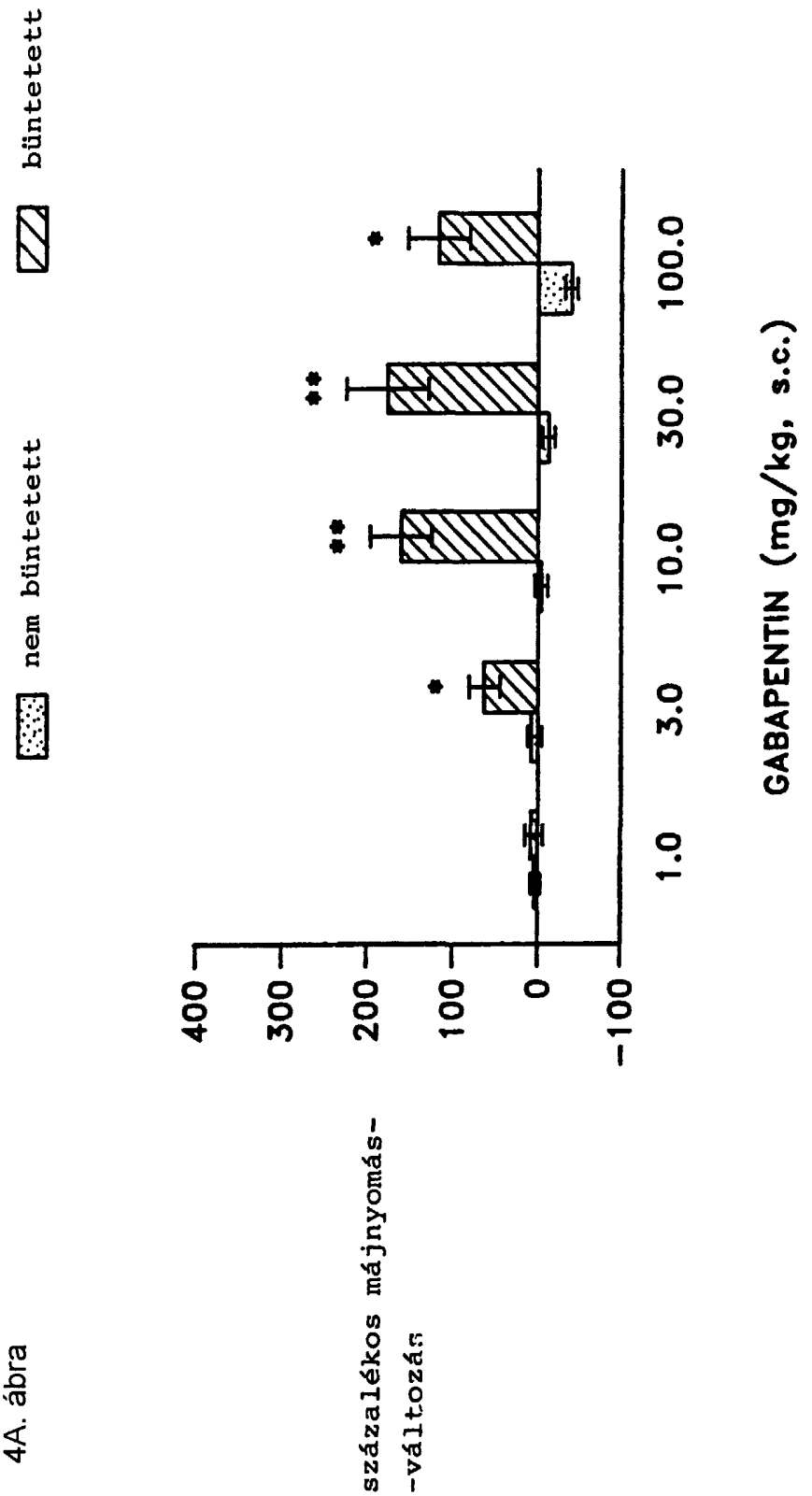
1. ábra



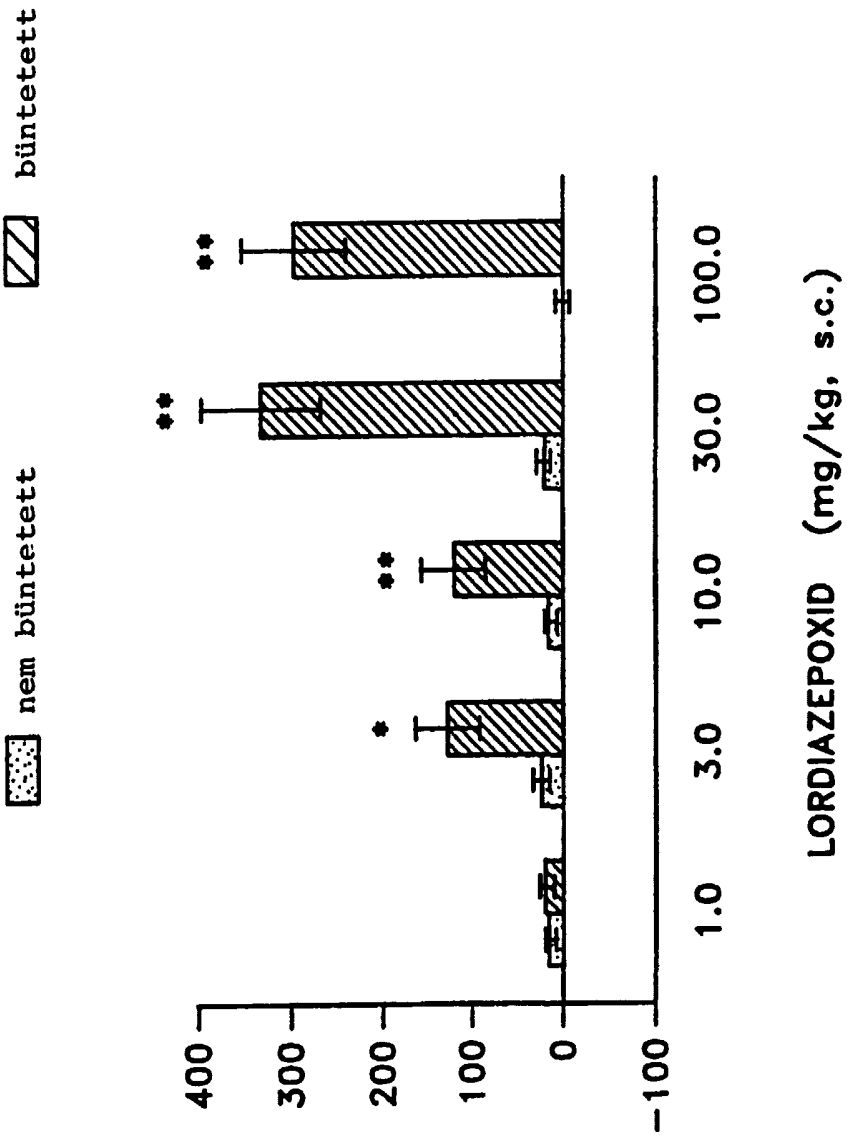
2. ábra


150
75
0
testhelyzet-csökkenés
VEH.
10
30
100
300
GABAPENTIN (mg/kg, s.c.)
*
**
**
**

3. ábra


nem büntetett
büntetett
százalékos májnyomás-
-változás
400
300
200
100
0
-100
1.0
3.0
10.0
30.0
100.0
GABAPENTIN (mg/kg, s.c.)

4A. ábra


nem büntetett
büntetett
400
300
200
100
0
-100
1.0
3.0
10.0
30.0
100.0
LORDIAZEPOXID (mg/kg, s.c.)
százalékos-májnyo-más változás

4B. ábra