



(12) Ausschließungspatent

(11) DD 299 044 A5

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1
Patentgesetz der DDR
vom 27. 10. 1983
in Übereinstimmung mit den entsprechenden
Festlegungen im Einigungsvertrag

5(51) A 61 K 37/02

DEUTSCHES PATENTAMT

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21)	DD A 61 K / 335 580 5	(22)	13. 12. 89	(44)	26. 03. 92
(71)	Berlin-Chemie AG, Glienicker Weg 125–127, O - 1199 Berlin, DE				
(72)	Matthies, Hansjürgen, Prof. Dr. sc. med.; Grecksch, Gisela, Dr. sc. med. Dipl.-med.; Becker, Axel, Dr. rer. nat. Dipl.-Lehrer; Neubert, Klaus, Dr. sc. nat. Dipl.-Chem.; Schröder, Helmut, Dr. rer. nat. Dipl.-Biochem.; Hammerer, Edgar, Doz. Dr. sc. med. Dipl.-med., DE				
(73)	Berlin-Chemie AG, Glienicker Weg 125–127, O - 1199 Berlin; Institut für Neurobiologie, Brennicke Straße 6, O - 3090 Magdeburg; Martin-Luther-Universität Halle – Wittenberg, Universitätsplatz 10, O - 4020 Halle, DE				
(54)	Verfahren zur Herstellung neuer Antikonvulsiva/Antiepileptika				

(55) Neuropsychopharmaka; Antikonvulsiva; Antiepileptika; Des-Tyrosin¹-β-Casomorphin; Derivate; Herstellung; Verfahren; Wirkungsprofil; Nebenwirkungen; Verträglichkeit

(57) Die Erfindung bezieht sich auf die Entwicklung und Anwendung neuartiger Neuropsychopharmaka, die zur Therapie von Erkrankungen des epileptischen Formenkreises geeignet sind. Die erfindungsgemäß entwickelten Substanzen enthalten als Wirkstoff Peptide vom Des-Tyrosin¹-β-Casomorphin-5-Typ und deren Derivate. Sie zeichnen sich im Vergleich zu den gegenwärtig eingesetzten Standardpräparaten durch ein neuartiges Wirkungsspektrum, eine Langzeitwirkung und eine gute Verträglichkeit aus. Durch die Erfindung ist es möglich, Erkrankungen des epileptischen Formenkreises therapeutisch zu beeinflussen.

Patentansprüche:

1. Verfahren zur Herstellung neuer Antikonvulsiva/Antiepileptika, **dadurch gekennzeichnet**, daß als wirksame Komponente Peptide vom Des-Tyrosin¹-β-Casomorphin-5-Typ und deren Derivate mit üblichen Träger- und Hilfsstoffen in eine parenterale Anwendungsform gebracht werden.
2. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß als wirksame Komponenten lineare oder cyclische Oligopeptide vom Des-Tyrosin¹-β-Casomorphin-5-Typ, deren Salze bzw. C- und/oder N-terminal modifizierte Derivate zugesetzt werden, wobei in der Grundstruktur Pro-Phe-Pro-Gly Prolin in einer oder beiden Positionen auch durch Hydroxyprolin, Homoprolin, Dehydroprolin, Pipercolinsäure, davon abgeleitete substituierte Verbindungen, Alanin, Phenylalanin, Valin, Serin, Ornithin, Lysin, 2,4-Diaminobuttersäure, Arginin, Cystein und Methionin und Phenylalanin auch durch Homophenylalanin, N-Alkylphenylalanin, Tyrosin, N-Alkyltyrosin, analoge ringsubstituierte Verbindungen, Tryptophan, Tyrosin, Valin und Alanin sowohl in der L- oder D-Konfiguration als auch als Racemat ersetzt werden können, wobei Glycin vorhanden oder auch nicht vorhanden sein kann, und wenn es vorhanden ist, dann auch durch alle Aminosäuren in der L- oder D-Konfiguration oder auch als Racemat ausgetauscht werden kann und darüber hinaus die oben aufgeführte Grundstruktur auch auf Pro-Phe-Peptide, deren Salze und Derivate, bevorzugt die entsprechenden Dipeptidpyrrolidide und -piperidide, verkürzt werden kann.
3. Verfahren nach Anspruch 1 und 2, **dadurch gekennzeichnet**, daß als wirksame Komponenten bevorzugt die Oligopeptide Pro-D-Phe-Pro-Gly, Pro-Phe-D-Pro-Gly, Pro-Phe-D-Pip-Gly, Pro-D-Phe-N , Pro-Phe-N  zugesetzt werden.
4. Verfahren nach Anspruch 1, 2 und 3, **dadurch gekennzeichnet**, daß die als wirksame Komponenten eingesetzten Oligopeptide vom Des-Tyrosin¹-β-Casomorphin-5-Typ durch Segmentkondensation, vorzugsweise aber durch stufenweisen Aufbau vom C-terminalen Ende hergestellt werden.
5. Verfahren nach Anspruch 1, 2, 3 und 4, **dadurch gekennzeichnet**, daß die als wirksame Komponenten eingesetzten Oligopeptide vom Des-Tyrosin¹-β-Casomorphin-5-Typ in Form antikonvulsiv/antiepileptisch wirksamer Präparate mit neuartigem Wirkungsmechanismus, breitem Wirkungsspektrum, hoher metabolischer Stabilität, ausgesprochener Langzeitwirkung, geringen Nebenwirkungen und guter Verträglichkeit zur Behandlung von Erkrankungen des epileptischen Formenkreises zur Anwendung kommen.
6. Verfahren nach Anspruch 1, 2, 3, 4 und 5, **dadurch gekennzeichnet**, daß auf der Basis bekannter antikonvulsiv/antiepileptisch wirkender Präparate in Kombination mit Peptiden des Des-Tyr¹-β-Casomorphin-5-Typs und seiner Derivate verbesserte Therapeutika mit neuartigem Wirkprofil hergestellt werden.

Die Erfindung betrifft neuartige Neuropsychopharmaka, die als wirksame Komponente lineare oder cyclische Oligopeptide vom Des-Tyrosin¹-β-Casomorphin-Typ enthalten und sich im Gegensatz zu den bekannten Neuropsychopharmaka durch ein neuartiges Wirkungsprofil auszeichnen. Die Erfindung ist von Bedeutung für die pharmazeutische Industrie und zur Anwendung in der Medizin zur therapeutischen Behandlung neuropsychiatrischer Erkrankungen geeignet.

Erkrankungen des epileptischen Formenkreises nehmen in der Morbiditätsstatistik unter den Erkrankungen des zentralen Nervensystems einen vorderen Platz ein und stellen infolge ihres chronischen Verlaufes ein ernst zu nehmendes gesundheitspolitisches, soziales und auch ökonomisches Problem dar. Die lebenslang notwendige Pharmakotherapie des genannten Krankheitsbildes stellt gegenwärtig eine rein symptomatische Therapie dar. Problematisch dabei erweist sich, daß ein nicht unerheblicher Teil der Patienten therapieresistent ist. Weiterhin weisen die in der Therapie verwendeten Antiepileptika z. T. nicht unbeträchtliche Nebenwirkungen auf.

Das Auffinden hochwirksamer, auch bei therapieresistenten Patienten einsetzbarer, weitgehend nebenwirkungsfreier, langwirksamer Neuropsychopharmaka ist kaum noch auf der Grundlage der bisher zugrundeliegenden Wirkungsprofile und Wirkungsmechanismen zu erwarten.

Hinsichtlich der chemischen Struktur sind die bekannten Antiepileptika vorzugsweise heterocyclische Verbindungen unterschiedlicher Strukturklassen, die durch Chemosynthese unter teilweise erheblichem Aufwand zugänglich sind.

Psychopharmaka auf Peptidbasis wurden erstmals durch D. de Wied et al. (vgl. Europ. J. Pharmacol. 49 [1978], 424; Arch. Gen. Psychiatry 36 [1979], 294; Life Sci. 26 [1980], 1575; H.M. Greven et al. vgl. Recl. trav. Chim. Pays-Bas 99 [1980], 284) im Rahmen seiner Untersuchungen zur Verhaltensphysiologie von Des-Tyrosin¹-γ-Endorphin beschrieben. Durch Wegfall der N-terminalen Aminosäure im γ-Endorphin, einem im Säugerorganismus endogenem Opiatpeptid, wird das Wirkungsspektrum des Moleküls verändert. Des-Tyrosin¹-γ-Endorphin ist im Gegensatz zum γ-Endorphin psychotrop wirksam, ohne daß es analgetische Effekte auslöst. Der Synthesaufwand für Peptide dieser Kettenlänge ist aber trotz der in den letzten Jahren erzielten Fortschritte auf dem Gebiet der Peptidsynthese noch immer sehr hoch. Der daraus resultierende hohe ökonomische Aufwand erlaubt damit noch keine Anwendung dieser Des-Tyr¹-γ-Endorphin-Peptide in der Medizin. Außerdem sind die klinischen Untersuchungsergebnisse noch immer sehr widersprüchlich.

Das Ziel der Erfindung besteht in der Entwicklung neuartiger Neuropsychopharmaka auf der Basis einfacher Oligopeptide und Peptidderivate des Des-Tyrosin¹- β -Casomorphin-Typs, die sich gegenüber den gegenwärtig in der Therapie psychiatrischer Erkrankungen eingesetzten Standardpräparaten durch ein neuartiges Wirkprofil, einen neuen Wirkungsmechanismus und ein breites Wirkungsspektrum, durch einfache Strukturmodifikation beeinflussbar, auszeichnen und darüber hinaus eine hohe metabolische Stabilität, Langzeitwirkung und gute Verträglichkeit aufweisen. Die Erfindung dient der Erhöhung von Qualität und Wirksamkeit der medizinischen Betreuung neuropsychiatrischer Patienten und besitzt damit eine hohe gesundheitspolitische Bedeutung.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, neuartige Antikonvulsiva/Antiepileptika zu entwickeln und deren Anwendungsspektren zu erfassen.

Die Aufgabe wurde dadurch gelöst, daß lineare oder cyclische Oligopeptide der Grundstruktur Pro-Phe-Pro-Gly (Des-Tyr¹- β -Casomorphin-5), deren Salze bzw. C- und/oder N-terminal modifizierte Derivate synthetisiert werden, wobei Prolin in einer oder beiden Positionen auch durch Hydroxyprolin, Homoprolin, Dehydroprolin, Pipicolinsäure, davon abgeleitete substituierte Verbindungen, Alanin, Phenylalanin, Valin, Serin, Ornithin, Lysin, 2,4-Diaminobuttersäure, Arginin, Cystin und Methionin und Phenylalanin auch durch Homophenylalanin, N-Alkyltyrosin, (z.B. N-Methylphenylalanin), Tyrosin, N-Alkyltyrosin), analoge ringsubstituierte Verbindungen, Tryptophan, Tyrosin, Valin und Alanin ersetzt sein kann. Die Aminosäuren können sowohl in der L- oder D-Konfiguration als auch als Racemat in den Peptidstrukturen enthalten sein. Glycin kann vorhanden sein oder auch nicht, und wenn es vorhanden ist, so kann es durch alle Aminosäuren in der L- oder D-Konfiguration oder auch als Racemat ausgetauscht werden. Darüber hinaus kann die oben aufgeführte Grundstruktur auch auf Pro-Phe-Peptide, deren Salze und Derivate, bevorzugt die entsprechenden Dipeptidpyrrolidide und -piperidide, verkürzt werden. Einige bevorzugte Verbindungen sind die Oligopeptide Pro-D-Phe-Pro-Gly, Pro-Phe-D-Pro-Gly, Pro-Phe-D-Pip-Gly, Pro-D-Phe-N , Pro-Phe-N .

Die eingesetzten Oligopeptide besitzen als Wirkkomponenten u.a. folgende Vorteile:

1. Nichttoxische Strukturen
2. Wirkungspotenzierung und -prolongierung u.a. durch Einbau von D-Aminosäuren
3. Hohe Resistenz gegenüber enzymatischem Abbau
4. Beeinflussung psychotroper Wirkungsparameter durch Strukturmodifikation
5. Beeinflussung der Lipophilie und anderer physikochemischer Parameter im Sinne einer Verbesserung der Transport- und Penetrationseigenschaften durch gezielte Strukturmodifikation

Der Aufbau der erfindungsgemäßen Peptidwirkstoffe erfolgt vorzugsweise durch schrittweise Verlängerung der Peptidkette vom C-terminalen Ende. Eine der bevorzugten Verbindungen ist, wie oben aufgeführt, das Peptid der Formel I



Die strategische Variante der step-by-step-Kondensation zur Herstellung der Verbindung entsprechend Formel I, ist dadurch gekennzeichnet, daß ein Glycinderivat H-Gly-Z schrittweise mit X-Pro-Y, X-D-Phe-Y nach den in der Peptidchemie üblichen Kupplungsmethoden (vgl. E. Wunsch: Synthese von Peptiden; in Houben-Weyl, Band 15/II, Methoden der organ. Chemie, Hgr. E. Müller, Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart, 1974) zu dem geschützten Tetrapeptid der Formel II verlängert wird,



wobei

X für tert. Butyloxycarbonyl, Benzyloxycarbonyl, p-Methoxybenzyloxy-carbonyl, Biphenylisopropylloxycarbonyl, α, α' -Dimethyl-3,5-dimethoxybenzyloxycarbonyl, o-Nitrophenylsulfenyl, 9-Fluorenylmethyloxy-carbonyl

Y für OH, Pentafluorphenyl-, Pentachlorphenyl-, Trichlorphenyl, 4-Nitrophenyl-, N-Hydroxysuccinimid-, N-Hydroxy-5-norbornen-2,3-dicarboximidester und Hydrazid

Z für OH, Methyl-, Ethyl-, tert. Butyl-, 4-Nitrobenzyl- und Phenacylester steht.

Vorzugsweise erfolgte der schrittweise Aufbau des Peptides der Formel II nach der Mischanhydridtechnik bzw. dem DCCI/Additiva-Verfahren. Als Schutzgruppenkombination kommt bevorzugt tert. Butyloxycarbonyl/Methylester zum Einsatz.

Die entsprechenden geschützten Peptide gemäß Formel II werden mittels Adsorptionschromatographie an einer Kieselgel-Säule durch Chloroform/Methanol-Elution oder durch Gelfiltration an Sephadex LH 20 (Elutionsmittel: Methanol) oder auch durch Umkristallisation aus Essigester/Petrolether, Essigester/Diisopropylether oder Chloroform/Diisopropylether gereinigt und danach die jeweilige Amino- und Carboxylschutzgruppe gleichzeitig oder nacheinander mit den in der Peptidchemie üblichen Deblockierungsverfahren (vgl. Wunsch, s.o.), insbesondere mittels HCl/Dioxan, HCl/Eisessig, Trifluoressigsäure, HBr/Eisessig, katalytischer Hydrierung, Transferhydrogenolyse, Zink/Eisessig, Piperidin/Dimethylformamid oder alkalischer Hydrolyse entfernt. Das resultierende Peptid der Formel I wird bevorzugt als Hydrochlorid oder als freie Verbindung (Freisetzung aus dem Hydrochlorid mittels Triethylanilin) isoliert und gegebenenfalls durch Gelfiltration an Sephadex G 10 (Elutionsmittel: Methanol oder Wasser) gereinigt. Im Falle der freien Verbindung ist eine anschließende Umkristallisation am Ethanol vorteilhaft.

Analytische Daten für H-Pro-D-Phe-Pro-Gly-OH $\cdot$ HCl

Fp.: 130–140°C (Zersetzung)

$[\alpha]_D^{22}$: -82,0° (c = 1, Essigsäure)

Chromatographisch einheitlich (s. Ausführungsbeispiel)

Analytische Daten für H-Pro-D-Phe-Pro-Gly-OH

Fp.: 228–230°C

$[\alpha]_D^{22}$: 105,0° (c = 1, Essigsäure)

Chromatographisch einheitlich (siehe Ausführungsbeispiel)

Die erhaltenen Oligopeptide vom Des-Tyrosin¹- β -Casomorphin-5-Typ können in Form antikonvulsiv wirksamer Präparate als neuartige Pharmaka zur neuropsychiatrischen Behandlung bei Erkrankungen des epileptischen Formenkreises im Dosissbereich

von 0,2 bis 5 µmol/kg zur Anwendung kommen. Ihr neuartiges Wirkungsprofil und ihr neuartiger Wirkungsmechanismus gegenüber den gegenwärtig in der Therapie konvulsiver Erkrankungen eingesetzten Standardpräparaten werden anhand der Ausführungsbeispiele näher erläutert.

Beispiele

Abkürzungsverzeichnis:

Aminosäuresymbole entsprechend IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature, J. Biol. Chem. **247** (1972) 977

Pip = Pípecolinsäure

AcOH	Essigsäure
Boc	tert. Butyloxycarbonyl
CAIBE	Chlorameisensäureisobutylester
DC	Dünnschichtchromatogramm, -chromatographisch
ECS	elektrokonvulsiver Schock
EE	Essigsäureethylester
Fp.	Schmelzpunkt
h	Stunden
i. Vak.	im Vakuum
LM	Lösungsmittel
MeOH	Methanol
min	Minuten
NEM	N-Ethylmorpholin
OMe	Methylester
PE	Petrolether
RT	Raumtemperatur
sc.	subkutan
THF	Tetrahydrofuran
Zers.	Zersetzung

Unter der „üblichen Aufarbeitung“ versteht man:

Nach beendeter Kupplungsreaktion wird das jeweilige Rohprodukt in Essigester aufgenommen und die Lösung nacheinander zweimal mit Wasser (NaCl-gesättigt), dreimal mit 5%iger KHSO_4 -Lösung, dreimal mit Wasser, dreimal mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und dreimal mit Wasser gewaschen. Die organische Phase wird über Na_2SO_4 getrocknet und das Rohprodukt durch Abdampfen des Lösungsmittels im Vakuum isoliert.

Folgende Laufmittelsysteme (in Volumenanteilen) zur Dünnschichtchromatographie auf Silicagel-Fertigplatten (Silufol UV 254, ČSSR) wurden verwendet:

BAE	Benzol-Aceton-Essigsäure 50 + 20 + 1
BAW	2-Butanol-Ameisensäure-Wasser 75 + 13,5 + 11,5
BEWE	1-Butanol-Essigsäure-Wasser-Essigester 20 + 20 + 20 + 20
BPEW	1-Butanol-Pyridin-Essigsäure-Wasser 30 + 20 + 6 + 24
CM	Chloroform-Methanol 90 + 10
EPEW	Essigester-Pyridin-Essigsäure-Wasser 90 + 15 + 4,5 + 8,3

Beispiel 1

Synthese von H-Pro-D-Phe-Pro-Gly-OH · HCl

1.1. Boc-Pro-Gly-OMe

5,38 g Boc-Pro-OH wurden in 50 ml THF gelöst und bei -15°C nacheinander mit 3,175 ml NEM und 3,25 ml CAIBE versetzt. Nach 10 min gab man 3,14 g H-Gly-OMe · HCl und 3,175 ml NEM zum Reaktionsansatz und ließ 1,5 h bei -15°C und weitere 12 h bei RT rühren. Der Ansatz wurde wie üblich aufgearbeitet und das Rohprodukt aus EE-PE und aus Diisopropylether umkristallisiert.

Ausbeute: 5,0 g (70% d. Th.)

Fp.: $70,5^\circ\text{C}$ bis 72°C

$[\alpha]_D^{25}$: $-78,5^\circ$ ($c = 1$, AcOH)

DC: einheitlich in BAE, CM und EPEW

1.2. Boc-D-Phe-Pro-Gly-OH

4,6 g Boc-D-Phe-OH, 2,2 ml NEM und 2,25 ml CAIBE wurden bei -15°C in 40 ml THF gelöst und nach 10 min mit 3,85 g H-Pro-Gly-OMe · HCl (erhalten durch Entacylierung von 1. mit 1,1 N HCl/AcOH-Öl: $[\alpha]_D^{25} -57,7^\circ$ ($c = 1$ · AcOH) und 2,2 ml NEM wie unter 1. beschrieben zur Reaktion gebracht. Man arbeitete wie üblich auf und kristallisierte das Rohprodukt aus EE-Diisopropylether um.

Ausbeute: 5,25 g (70% d. Th.)

Fp.: 138°C bis 139°C

$[\alpha]_D^{25}$: $-102,5^\circ$ ($c = 1$, AcOH)

DC: einheitlich in BAE, CM und EPEW

1.3. Boc-Pro-D-Phe-Pro-Gly-OMe

1,64 g Boc-Pro-OH wurden bei -15°C in 20 ml THF gelöst und mit 0,97 ml NEM und 0,99 ml CAIBE versetzt. Nach 10 min gab man 2,02 g H-D-Phe-Pro-Gly-OMe $\cdot$ HCl (erhalten durch Entacylierung von 1.2. mit 1,1 N HCl/AcOH – Fp.: 128°C bis 131°C , $[\alpha]_D^{25} -138,8^{\circ}$ ($c = 1$, AcOH)) und 0,97 ml NEM zum Reaktionsgemisch und ließ 1 h bei -15°C und 4 h bei RT rühren. Der Ansatz wurde wie üblich aufgearbeitet und das Rohprodukt aus EE/PE umgefällt.

Ausbeute: 3,2 g (79% d. Th.)

Fp.: 65°C bis 71°C (Zersetzung)

$[\alpha]_D^{25}$: $-117,9^{\circ}$ ($c = 1$, AcOH)

DC: einheitlich in BAE, CM und EPEW

1.4. Boc-Pro-D-Phe-Pro-Gly-OH

3,18 g Boc-Pro-D-Phe-Pro-Gly-OMe wurden in 40 ml Aceton gelöst und mit 6 ml 1 N NaOH zur Reaktion gebracht. Nach einer Reaktionszeit von 5 h bei RT wurde das organische LM i. Vak. abgedampft und der Rest in 40 ml gesättigter NaHCO_3 -Lösung gelöst. Die wäßrige Phase wurde zweimal mit EE extrahiert und anschließend mit fester Zitronensäure auf pH 3 angesäuert. Nach 5maligem Extrahieren mit EE wurden die vereinigten EE-Phasen mit Wasser neutral gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und i. Vak. eingedampft. Das Produkt wurde aus EE/PE und CHCl_3 /Diisopropylether umgefällt.

Ausbeute: 2,76 g (89% d. Th.)

Fp.: ab 90°C Zersetzung

$[\alpha]_D^{25}$: $-113,5^{\circ}$ ($c = 1$, AcOH)

DC: einheitlich in BAE, CM und EPEW

1.5. H-Pro-D-Phe-Pro-Gly-OH $\cdot$ HCl

2,7 g Boc-Pro-D-Phe-Pro-Gly-OH wurden in 16 ml 1,1 N HCl/AcOH gelöst. Nach 30 min bei RT wurde das Produkt mit Ether ausgefällt, abfiltriert und mit Ether gewaschen. Umfällen aus MeOH/Ether lieferte das in BAW, BEWE und BPEW DC-einheitliche Produkt.

Ausbeute: 2,14 g (90% d. Th.)

Fp.: ab 130°C Zersetzung

$[\alpha]_D^{25}$: $-82,1^{\circ}$ ($c = 1$, AcOH)

Pharmakologische Wirkungen

Die pharmakologische Wirkung der durch den Patentanspruch gekennzeichneten Peptide wurde in zahlreichen tierexperimentellen Untersuchungen ermittelt, die zur Charakterisierung antikonvulsiver Eigenschaften unter besonderer Berücksichtigung von Beeinflussungen der Verhaltensregulation üblich sind.

Gleichzeitig erfolgten Untersuchungen über ihre Resistenz gegen enzymatische Degradation in vitro und in vivo.

Für neuartige Möglichkeiten einer klinischen Anwendung sprechen:

- das von vergleichbaren bereits in Anwendung befindlichen Antikonvulsiva/Antiepileptika abweichende Wirkprofil bei fehlenden toxischen Nebenwirkungen in höherer Dosierung;
- der von bisherigen Standard-Arzneimitteln abweichende Wirkungsmechanismus;
- die erreichbare hohe Stabilität gegen enzymatische Degradation;
- die lang anhaltende Wirkung und
- die Wirksamkeit bei systematischer und oraler Applikation.

1. Untersuchung des antikonvulsiven Wirkprofils von Des-Tyr- β -Casomorphinderivaten

Die antikonvulsive Wirkung von β -Casomorphinderivaten wurde in den Modellen Pentetrazolkrampf, Picrotoxinkrampf und elektrokonvulsiver Schock an der Maus geprüft.

Die Des-Tyr- β -Casomorphinderivate wurden in einer Dosierung von $1 \mu\text{mol/kg}$ sc. injiziert und nach einer Vorbehandlungszeit von 20 min wurden die Konvulsiva bzw. der ECS appliziert.

Die Versuchsergebnisse zeigen, daß von den ausgewählten Derivaten Des-Tyr-D-Phe³ im Modell elektrokonvulsiver Schock, dagegen Des-Tyr-D-Pro⁴ in den Modellen Pentetrazolkrampf und Picrotoxinkrampf antikonvulsiv wirken.

Peptid	Krampfmodell Pentetrazol	Picrotoxin	ECS
Des-Tyr-D-Phe ³	0	0	+
Des-Tyr-D-Pro ⁴	+	+	0

Wirkung der Des-Tyr- β -Casomorphinderivate in verschiedenen Krampfmodellen

+ signifikante antikonvulsive Wirkung ($p < 0,05$)

0 ohne deutlichen Effekt

2. Dauer der protektiven Wirkung von Des-Tyr-D-Phe³ gegen elektrisch evozierte Krämpfe bei Mäusen

Die Dauer der protektiven Wirkung von Des-Tyr-D-Phe³ gegen elektrisch induzierte Krämpfe wurde nach sc. Applikation von $1 \mu\text{mol/kg}$ geprüft. Eine signifikante antikonvulsive Wirkung ($p < 0,05$) ließ sich 0,3–5 Stunden post applicationem nachweisen; die Tendenz einer Wirkung ist bis 12 Stunden post applicationem erkennbar.

3. Untersuchung des antiepileptischen Wirkprofils im Modell Pentetrazol-Kindling an Mäusen

Die Des-Tyr- β -Casomorphinderivate Des-Tyr-D-Phe³ und Des-Tyr-D-Pro⁴ wurden in Dosierungen von 20, 200 und 1000 nmol/kg nach subkutaner Injektion auf ihre Wirksamkeit gegen das entwickelte Kindling-Phänomen geprüft. Es konnte nachgewiesen werden, daß die Peptide in Dosierungen von 200 und 1000 nmol/kg signifikant ($p < 0,05$) das entwickelte Kindling-Phänomen

unterdrücken. Im Vergleich zu Standardantiepileptika (Diazepam, Phenytoin, Phenobarbital) zeigten sich die verwendeten β -Casomorphinderivate in der Effizienz als überlegen.

4. Wirkung von Des-Tyr-D-Phe³ in Kombination mit probaten Antiepileptika

Das Des-Tyr- β -Casomorphinderivat Des-Tyr-D-Phe³ wurde in Dosierungen von 100, 500 und 1000 nmol/kg sc. in Kombination mit Diazepam (1, 4, 8, 16 μ mol/kg)
Phenobarbital (110, 220, 330 μ mol/kg)
Phenytoin (100, 200, 300 μ mol/kg)

im Modell elektrisch konvulsiver Schock sowie mit

Diazepam (0,2, 2, 4, 8 μ mol/kg)

Phenobarbital (110, 220, 330 μ mol/kg)

Phenytoin (100, 200, 300 μ mol/kg)

im Modell Pentetrazolkrampf getestet. Dabei konnte bei Diazepam und Phenobarbital eine signifikante Wirkungsverstärkung im Modell Pentetrazolkrampf festgestellt werden. Im Modell elektrisch konvulsiver Schock verstärkte das Peptid die Wirkung aller verwendeten Antiepileptika.