

(19) Országkód:

HU



**MAGYAR
KÖZTÁRSASÁG
ORSZÁGOS
TALÁLMÁNYI
HIVATAL**

**SZABADALMI
LEÍRÁS
SZOLGÁLATI TALÁLMÁNY**

(21) A bejelentés száma: 369/91
(22) A bejelentés napja: 1991. 02. 04.

(40) A közzététel napja: 1992. 10. 28.
(45) A megadás meghirdetésének dátuma a Szabadalmi
Közlönyben: 1993. 12. 28. SZKV 93/12

(11) Lajstromszám:

208 633 B

(51) Int. Cl.⁵
A 61 K 31/485

(72) Feltalálók:

dr. Borsodi Anna 25%, Szeged (HU)
dr. Fürst Zsuzsa 25%, Budapest (HU)
dr. Hosztafi Sándor 25%, Monostorpályi (HU)
dr. Schäfferné Varga Éva 8%, Szeged (HU)
Buzás Beáta 8%, Eger (HU)
dr. Friedmann Tamás 5%, Budapest (HU)
dr. Benyhe Sándor 2%, Szeged (HU)
dr. Szücs Mária 2%, Szeged (HU)

(73) Szabadalmas:

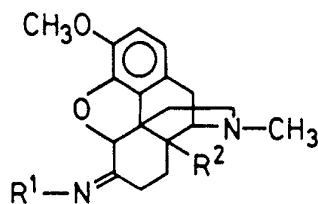
ALKALOIDA Vegyészeti Gyár,
Tiszavasvári (HU)

(54) **Eljárás a légzésdepresszióért felelős opioid kötőhelyek (μ_2 -receptorok) blokkolására alkalmas fájdalomcsillapító készítmény előállítására**

(57) KIVONAT

Eljárás hatóanyagként (I) általános képletű kodeinon származékot vagy sóját tartalmazó biológiailag aktív készítmény előállítására humán vagy veteriner alkalmazásra oly módon, hogy valamely ismert módon előállított (I) általános képletű hatóanyagot vagy sóját a gyógyszergyártásban humán vagy veteriner célra szokásosan alkalmazott adalék- és segédanyagokkal és adott esetben morfinnal vagy azzal biológiailag

ekvipotens agonista típusú opiáttal vagy opioid vegyülettel összekevernek és a légzésdepresszióért felelős opioid kötőhelyek blokkolására alkalmas fájdalomcsillapító készítménnyé alakítanak. A képletben $-R^1$ jelentése amino-, hidroxil-, $-NH$ -fenil vagy $-NH-CO-NH_2$ csoport, $-R^2$ jelentése hidrogénatom vagy hidroxil-csoport.



(I)

A találmány tárgya biológiailag aktív készítmény a légzésdepresszióért felelős agyi opiát kötőhelyek szelektív blokkolására, amely (I) általános képletű kodeinon származékot vagy sóját tartalmazza biológiailag hatásos mennyiségben.

Jelen leírásban a változó jelentésű szubsztituensek mindig a következők:

R¹ jelentése amino-, hidroxil-, -NH-fenil vagy -NH-CO-NH₂-csoport,

R² jelentése hidrogénatom vagy hidroxil-csoport,

R³ jelentése amino-, hidroxil-, -NH-fenil- vagy -NHCONH₂ vagy ezeké alakítható csoport.

Ismeretes, hogy morfinszerű analgetikumok (opiátok) deprimálják a légzést. Akut toxicitási vizsgálatokban ilyen vegyületek letalítását erre a hatásukra vezetik vissza [Prog. Neurobiol, 33 (1989) 1-16; 22 (1984) 345].

Meglehetősen nehéz interpretálni az opiátok légzésdepressziós hatásának kötőhely-(receptor)-összefüggéseit. A jelenlegi felfogás szerint több receptor is részt vehet e hatás közvetítésében. Nem elég világos azonban az egyes receptortípusok relatív aránya ennek a hatásnak a létrejöttében. Tovább növeli a nehézségeket, hogy igen bonyolult a légzési paraméterek értékelése, a metodikák szelektivitása megkérdőjelezhető és nagy és a specieszek közötti különbség.

Számos biokémiai és farmakológiai adat bizonyítja az opioid receptorok heterogenitását mind az idegrendszerben, mind a periférián. [Trends. Neuro. Sci. 7 (1984) 160, Pharmacol. Exp. Ther. 197 (1976) 517, Br. Med. Bull. 39 (1983) 31.]

A fő receptortípusok – amelyeket μ -, δ -, κ - és δ -receptorokként jelölnek – eltérő megoszlást mutatnak a különböző szövetekben, eltérő ligandspecifitással rendelkeznek, valamint különböző fiziológiai folyamatokat közvetítenek. Az utóbbi időben fény derült arra is, hogy ezen fő típusok további altípusokra oszthatók. Ezek közül a μ receptornál μ_1 és μ_2 altípusokat lehet megkülönböztetni. Az ún. μ_1 receptorok az analgéziában, míg a μ_2 -nek a légzésdepresszió kiváltásában tulajdonítanak jelentőséget.

E két receptor-altípus biokémiai azonosítása az ún. nagy és kis affinitású opioid receptorokhoz való kötődésük alapján történhet. A nagy affinitású naloxon (opioid antagonist) kötőhelyéhez kapcsolódnak a μ_1 ligandumok. (Affinitási állandóik a nanomólos koncentrációk alatt vannak.) A kis affinitású kötőhelyek képviselik a μ_2 receptorokat. (Affinitási állandóik a nanomólos koncentrációtartományban vagy felette vannak.)

Ismeretessé váltak olyan ligandumok, amelyek képesek szelektíven gátolni a μ_1 kötőhelyeket. Ezek közé tartoznak pl. a naloxonazin, az oximorfazon, egyéb számos C-6 morfinán származék és érdekes módon néhány peptidszármazék is, az enkefalinok klórmetilketonjai.

Tudomásunk szerint a második kötőhely blokkolására alkalmas vegyületek eddig nem voltak ismeretesek. Új megfigyelés, hogy a kodeinon és dihidrokodeinon C-6-os helyzetben szubsztituált származékai részlegesen irreverzibilisen kötődnek a μ_2 receptor-

hoz [Trends. Neuro. Sci (1984) 7; 160-164, Pharmacol. Exp. Ther (1976) 197; 517-532, Br. Med. Bull. (1983) 39, 31-36].

5 Meg kell azonban említeni, hogy sokan nem tartják kellőképpen megalapozottnak és indokoltnak a μ_2 receptor elkülönítését. A fő bizonyítékul szolgáló kísérletet – hogy a szelektív μ_1 -antagonista, a naloxonazin nem gátolja a morfin okozta légzésdepressziót – többben nem tudták megismételni.

10 További nehézségeket okozhat az opiátok légzésre gyakorolt komplex hatásának az elemzése is. Ismeretesek olyan opiátok, amelyek deprimálják (μ -agonisták: morfin stb.), olyanok, amelyek stimulálják (receptor agonisták: ciklazocin), illetve olyanok, amelyek dózistól függetlenül dualisztikus (deprimáló, illetve stimulatív) hatásokkal rendelkeznek (parciális antagonisták: nalorfin).

A μ_2 receptor indentifikálásának gyakorlati és elméleti jelentősége az, hogy ismeretében előállíthatók lennének olyan vegyületek, melyek jelentős analgetikus hatékonyság mellett nem deprimálják a légzést. Természetesen a többi mellékhatás, elsősorban a tolerancia és dependencia receptor függősége és ezen keresztül kiküszöbölhetősége is tisztázásra vár.

20 Ismeretes továbbá, hogy bizonyos, a 6-helyzetben hidrazon-, fenilhidrazon-, dinitrofenil-hidrazon, szemikarbazon- és tioszemikarbazon-csoporttal szubsztituált dihidro-morfinon és dihidro-kodeinon-származékok és ezek 14-OH-származékai fokozott analgetikus hatással rendelkeznek a 6-helyettesítetlen analógokhoz képest (56-85. sz. magyar szabadalmi bejelentés, illetve 199901 sz. szabadalmi leírás).

30 A morfinán ketonok C-6 karbonil csoportja viszonylag könnyen helyettesíthető és a korábbi irodalom arra utal, hogy az ilyen változtatások általában nem befolyásolják a ligand opioid jellegét.

35 14-Hidroxi-dihidromorfinon 6-szubsztituált hidrazon származékait (J. Med. Chem. 23 (1980) 674-677, Pharm Res. 3 (1986) 56-60, Life Sci, 40 (1987) 1579-1588) vizsgálva megállapították (J. Pharm. Exp. Ther. (1980) 214 és 455-462), hogy ezek a származékok irreverzibilisen blokkolják mind a μ , mind a δ receptorok nagy affinitású kötőhelyeit. Farmakológiai vizsgálatok azt mutatták, hogy ennek a kötőhelynek az irreverzibilis blokkolása agonisták esetében tartós analgetikus hatásban nyilvánul meg, míg antagonisták esetében a morfin analgetikus hatása hosszú időre blokkolódik, miközben azonban a halálos légzésdepressziós hatások kivédése nem következik be [Life Sci. 31 (1983) 1389-1392, Science 208 (1989) 514-516]. Megállapították, hogy az opiát analgéziát a μ_1 elnevezésű közös receptor közvetíti. Az analgetikus hatás disszociációja más opiát hatástól igen kívánatos feladat lenne tehát a gyógyszertervezők számára.

50 Amikor a találmányunk szerinti munkába fogtunk, 55 különféle C-6 szubsztituált (hidrazon-, fenilhidrazon-, dinitro-fenilhidrazono-, oxim-, szemikarbazon-) dihidro-morfinon és dihidro-kodeinon származékot vizsgáltunk patkány agyi membránokon. A C-6 szubsztituáció nem változtatta meg a (³H)naloxon-receptorokhoz való affinitásukat kisméretű szubsztituáló csoportok eseté-

ben, míg az affinitás nagyobb térfogatú helyettesítők esetében csökkent.

Megállapítottuk, hogy oximorfon és dihidromorfinon minden vizsgált C-6 helyettesített származéka irreverzibilisen, dózisfüggő módon blokkolja a (^3H) naloxon specifikus kötődését lnM izotóp koncentrációknál és ez a μ_1 kötőhelyet érinti.

Meglepő módon azt találtuk, hogy oxikodon és dihidrokodeinon (I) általános képletű származékai dózis-dependens módon irreverzibilis inhibitorai (^3H) naloxon specifikus kötődésének lnM izotóp koncentrációnál és alacsonyabb affinitásuk van a (^3H) naloxon kötőhelyekhez a megfelelő morfinszármazékokhoz képest.

Megállapítottuk ezzel szemben, hogy 10 nM izotóp koncentrációnál e dihidrokodeinon származékokkal való preinkubáció irreverzibilisen és tökéletesen gátolja a (^3H) naloxon specifikus kötődését, amint az jól látható a (^3H) naloxon telítési izotermáiból (a membránok preinkubációját e dihidrokodeinon származékokkal végezve, majd ezt követő kimosás után). Lényeges, hogy ez a kis affinitású (μ^2) kötőhelyet érinti, amely felelős a légzésdepresszióért. A fentiekre alapított farmakológiai kísérleteinkben arra kerestük a választ, hogy a (I) általános képletű származékok a már ismert számottevő analgetikus hatásuk mellett mentesek-e a feltételezés szerinti, μ_2 receptor által közvetített légzésdepressziós hatástól. Abból kiindulva, hogy a morfin toxicitása elsősorban a nagy dózisok légzésbénító hatására vezethető vissza, patkányon elvégeztük a morfin és a fenti anyagok kombinációjának toxicitási vizsgálatát, hogy így közvetve kapjunk felvilágosítást a légzésdepressziós hatástermészetéről. A klasszikus opiát-spektrumból az analgetikus hatáson kívül a szedatív, illetve a neurokémiai transzmisszióra (tengerimalacból izolált hosszanti simaizom) kifejtett hatásokat vizsgáltuk még.

Megállapítottuk, hogy az (I) általános képletű kodeinon származékok szignifikánsan gátolják a morfin okozta letális légzésdepressziót (például patkányon), átlagosan kétszeresére növelve a morfin kontrollokon mért LD_{50} értékét.

A kísérleti példákban bemutatott táblázatok alapján azt is megállapíthatjuk, hogy a vegyületek egy része kis dózistartományban stimulálja a légzés frekvenciáját, néha még az amplitúdóját is, iv. és sc. adagolásnál. Például az oxikodon-szemikarbazon, illetve -oxim kis dózisokban jelentősen fokozzák a légzésszámot és néhány kísérletben a morfin hatását kivédték. Reverzálni nem voltak képesek a már kialakult morfin hatást. Minden kísérlet végén naloxonnal reverzáltuk a légzést annak igazolására, hogy a depressziót opiát receptor mediálta. Együttadás esetén $100 \mu\text{g}/\text{kg}$ dózisban kissé gátolták a morfin hatását. Az oxikodon-hidrazon $50 \mu\text{g}/\text{kg}$ dózisban fokozza mind a légzés volumenét, mind a frekvenciáját. Morfin után adva parciálisan reverzál. Az oxikodon-fenilhidrazon, bár önmagában kissé deprimálja a légzést, morfin hatását parciálisan kivédi. Megjegyzendő, hogy a referens „anyavegyületek” közül a dihidrokodeinon sc. $50\text{--}2500 \mu\text{g}/\text{kg}$ dózisban, az oxikodon $10\text{--}2500 \mu\text{g}/\text{kg}$ dózisban légzésdep-

ressziót okoz. Mindkét vegyület egyértelműen potenciózza a morfin légzésdepressziós hatásait.

A fenti kísérletek arra mutatnak, hogy találmányunk szerinti (I) általános képletű kodeinon származékok a légzésdepresszióért felelős agyi opioid kötőhelyeket szelektíven blokkolják, és így mind humán, mind veteriner készítményekben alkalmazhatók olyan esetekben, ahol ez a blokkolás szükséges.

Így az (I) általános képletű kodeinon-származékokat hatóanyagként alkalmazhatjuk analgetikus készítményekben, anélkül, hogy a letális légzésdepresszió a huzamosabb adagolás vagy nagyobb dózisok esetén fellépne.

Az (I) általános képletű származékok találmányunk értelmében előnyösen alkalmazhatók kombinációkban is. Így különösen fontosnak tartjuk, hogy morfinnal együtt adagolva a morfin által okozott légzésdepresszió csökkenthető, illetve a letalitás kivédhető. Ily módon lehetőség van morfin huzamosabb vagy nagyobb dózisokban való alkalmazására olyan esetekben, amikor erre a páciensnek szüksége van, anélkül, hogy a halálos kimenetelű légzésbénulás fellépne.

Azokban a készítményekben, amelyekben együtt alkalmazzuk a morfint és az (I) általános képletű kodeinonokat a morfin : kodeinon származék tömegaránya előnyösen $1 : 2\text{--}3$.

Morfin helyett ezekben a kombinációs készítményekben agonista típusú más opiátot, illetve opioid anyagot is alkalmazhatunk, biológiailag ekvipotens mennyiségben. Ilyen anyagok pl. a morfínátok, benzomorfinok, opioid peptidek, illetve morfin hatású pentaciklikus vegyületek.

A találmányunk szerinti készítmények inert, gyógyászatilag elfogadott kísérőanyagokat tartalmaznak a fenti hatóanyagokon kívül.

Találmányunk szerinti készítmények alkalmasak légzésdepresszióért felelős agyi opioid kötőhelyek szelektív blokkolására oly módon, hogy fájdalomcsillapító szoruló páciensnek (I) általános képletű kodeinon származékot vagy sóját tartalmazó készítményt adagolunk előnyösen napi $3 \times 2,5\text{--}5 \text{ mg}$ dózisban.

A szert im., iv. vagy epidurális injekció formájában előnyös alkalmazni, de más dozírozás is felhasználható.

Az (I) általános képletű kodeinon származékot tartalmazó biológiailag aktív készítmény előállítható (II) általános képletű keton és (III) általános képletű hidrazin származék reagáltatásával oly módon, hogy az (I) általános képletű kodeinon származékot (önmagában, vagy morfinnal, illetve más, agonista típusú opiáttal, illetve opioid anyaggal $1 : 2\text{--}3$ tömegarányban együtt) a gyógyszergyártásban humán vagy veteriner célra szokásosan alkalmazott adalék- és/vagy segédanyagokkal összekeverjük, és a légzésdepresszióért felelős opioid kötőhelyek blokkolására alkalmas, előnyösen fájdalomcsillapító készítménnyé alakítjuk.

Találmányunk értelmében az (I) általános képletű kodeinon származék ásványi vagy szerves savval, előnyösen foszforsavval, sósavval képezett sója formájában lehet jelen.

Találmányunk értelmében a vegyületeket cisz és/vagy transz izomerjeik formájában alkalmazhatjuk.

Megállapítottuk tehát – a 199901 sz. magyar szabadalmi leírásban védett molekulákkal összehasonlítva –, hogy az ott védett 6-szubsztituált származékoknak csak meghatározott, behatárolt része alkalmazható találmányunk értelmében.

Nem alkalmazható a morfinán-származékok nagy csoportja. Így a találmányunk értelmében feltárt szelektív kötődés olyan tulajdonság, amelynek felismerése és ennek alapján a kiemelkedően hasznos vegyületeknek ezen új szempont alapján a többiek nagyobb köréből való kiemelése képezi találmányunk lényeges alapját.

Az (I) általános képlet alá eső oximokat korábban gyógyszerként egyáltalán nem írták le tudomásunk szerint.

Találmányunk részleteit a példákban mutatjuk be.

I. Készítménypéldák

Az alábbi hatóanyag-tartalmú készítményeket állítjuk elő a szokásos adalékanyagokkal és módszerekkel:

Táblázat

Vegyület	tableta vagy kapszula	im. vagy sc. inj.	iv. inj.	epidurális inj.
I.1. Oxikodon-oxim× foszfát	5	2	1	0,5
I.2. Oxikodon-oxim×HCl + morfin×HCl	2	0,5	0,1	0,1
	5,0	5,0	5,0	1,0
I.3. Oxikodon-szemikarbazon-bitartarát	2,5	1	0,5	0,1
I.4. Oxikodon-fenilhidrazon×HCl	2,5	1	0,5	0,1
I.5. Oxikodon-hidrazon×HBr	2,5	1	0,5	0,1
I.6. Oxikodon-szemikarbazon×HCl + morfin×HCl	2,5	1	0,5	0,1
	5,0	5,0	5,0	1,0
I.7. Oxikodon-fenilhidrazon×HCl + morfin×HCl	2,5	1	0,6	0,1
	5,0	5,0	5,0	1,0
I.8. Oxikodon-hidrazon×HCl + morfin×HCl	2,5	1	0,5	0,1
	5,0	5,0	5,0	1,0
I.9. Dihidrokodeinon-oxim-foszfát	10,0	5,0	2,0	1,0
I.10. Dihidrokodeinon-oxim×HCl + morfin×HCl	5	2,5	1	0,1
	5,0	5,0	5,0	1,0

A hatóanyagok dózistát a bázisra vonatkoztatva adjuk meg mg/kikészített egység (tableta, kapszula) mértékben.

I.11. példa

A szokásos módszerekkel az alábbi összetételű tablettát készítjük el:

5	Hatóanyag só	5,0 mg (bázisra számítva)
	Laktóz	60,0 mg
	Keményítő	30,0 mg
	Magnézium-sztearát	1,0 mg
10	Talkum	3,0 mg

II. Kötődési vizsgálatok

Módszerek:

Membrán előállítás: Patkány nyers membránfrakcióját készítettük el (PVG/C törzs) [Mol. Pharm. 11 (1975) 340–351.] és meghatároztuk a protein tartalmat [Anal. Biochem. 72 (1976). 248–254].

Kötődési teszt leírása:

A membrán szuszpenziót (200–400 µg protein) a meghatározott radioliganddal inkubáltuk 1 órán át jégen. Az inkubációt gyors, vákuumban való szűréssel állítottuk le, majd jéghideg trisz–HCl pufferral mostuk (50 mM, pH 7,4). A radioaktivitást toluol bázisú szcintillációs keverékben LKB Minibeta folyadékszintillációs spektrométeren mértük. A nem-specifikus kötődést 10 µM jelöletlen naloxonnal határoztuk meg. Minden mérést három párhuzamossal végeztünk és többször megismételtünk. A K_i értékeket az egyensúlyi mérésekből határoztuk meg a Csang–Pruszov egyenlettel számoltuk. Az adatokat a Ligand program [Anal. Biol. Chem. 107 (1980) 220–239.] felhasználásával értékeltük. (Eredmények a II/1. táblán.)

Mosásálló kötődés meghatározása: a preinkubáció után elvégeztük az alapos mosást [Life Sci. 32 (1983) 2777–2784]. A kontrollérték a (^3H)naloxonnak pufferral preinkubált és azonos módon kezelt membránhoz való kötődése. Heterológ kompetíciós kísérleteket alkalmaztunk a vizsgált anyagok (^3H)naloxon receptorjaihoz való kötődési affinitásának meghatározására. Az eredményeket a II/2. tábla mutatja.

II/1. Kötődési teszt

III/1. táblázat

Különböző opioid ligandumok affinitási állandói (K_i , nM) kompetíciós kísérletben

	hidrazon	fenilhidrazon	szemikarbazon	oxim	só
50	oximorfon	2	20	4	2 szulfát
	dihidromorfinon	6	5	3	2 szulfát
	oxikodon	800	1150	588	32 HCl
55	dihidrokodeinon	–	323	–	52 HCl

A membránokat (^3H)naloxonnal (nM) és a ligandok emelkedő koncentrációjával inkubáltuk.

Értékelés:

A legmagasabb affinitást a (^3H)naloxon receptorok-

hoz az oxim származékok mutatják. A kodeinon és dihidrokodeinon származékok lényegesen magasabb K_i értékeket mutatnak.

II/2. Mosással szemben ellenálló kötés tesztelése

VII/2. táblázat

Oxikodon és dihidrokodeinon származékok affinitási állandói

példa	anyag×HCl	K_i (nM)
	Oxikodon	127
IV.2.	Oxikodon-oxim	32
IV.5.	Oxikodon-szemikarbazon	588
IV.8.	Oxikodon-fenilhidrazon	1150
–	Dihidrokodeinon	476
	Dihidrokodeinon-oxim	53
	Dihidrokodeinon-fenilhidrazon	323

A membránokat (^3H)naloxonnal (lnM) és a vizsgált anyagok növekvő koncentrációival preinkubáltuk, és többszörös mosás után mértük a visszamaradó (^3H)naloxon specifikus kötődést. A közölt adatok 2–4 megfigyelt eredmény átlagát mutatják.

A kodeinon származékokat 10 μM preinkubációs koncentrációban mértük.

Már korábban igazolták [Life. Sci. 40 (1980) 1579–1588, J. Pharm. Exp. Ther. 214 (1980) 455–462], hogy oximorfon és naloxon hidrazon-származékaival végzett preinkubáció irreverzibilisen gátolja a magas affinitású (^3H)naloxon komponenst, miközben az alacsony affinitású komponens változatlanul marad. Amint az a II/1. táblázatból látható, az oxikodon és dihidrokodeinon származékok alacsonyabb affinitást mutatnak (^3H)naloxon receptorokhoz a megfelelő morfin származékokkal összehasonlítva, ha az izotóp-koncentráció alacsony. Ezen ligandok azonban egyúttal magasabb (10 nM) izotóp koncentrációnál a (^3H)naloxon specifikus kötődését erősen gátolják. Éppen ezért vizsgáltuk ezen származékokkal az előinkubáció hatását a (^3H)naloxon telítési izotermáin.

Az 1., 2. és 3. grafikon mutatja a (^3H)naloxon specifikus telítési kötődési izotermáinak Scatchard-transzformációit dihidro-kodeinon származékokkal és kontrollként csak pufferrel való előkezelés után. Világosan látszik a Scatchard-analízisekből az az eredmény, hogy az előinkubáció és intenzív mosások után az alacsony affinitású receptorhatás majdnem teljesen eltűnik.

Magyarázat: 1. 2. és 3. grafikonokhoz

1. grafikon: ○ Kontroll
● Dihidrokodeinon-hidrazon
2. grafikon: ○ Kontroll
● Dihidrokodeinon-oxim
3. grafikon: ○ Kontroll
● Naloxon-3-metiléter-oxim

B és B/F jelentése a 14–17. oldalon van magyarázva.

III. Farmakológiai vizsgálatok

A vegyületek többségére jelentős, néhányra pedig gyengébb agonista (analgetikus, illetve szedatív) aktivitás jellemző (1., 2., 3. sz. táblázatok)

III/1. Analgetikus hatások

Összehasonlítás 4 teszten (egéren és patkányon) nyert adatok alapján (ED_{50} mg/kg):

III/1. táblázat

Vegyület	hot plate (patkány)	tail flick (patkány)	writing teszt (egér)	algotitikus t. (patkány) 100%-os hatás
Oxikodon-oxim×foszfát	1,8	1,0	0,11	10,0 ^x
Oxikodon-szemikarbazon-bitartarát	0,58	0,35	0,15	5,0 ^x
Oxikodon-fenilhidrazon×HCl	0,8	1,2	1,2	10,0 ^x
Oxikodon-tioszemikarbazon×HCl	8,5	4,5	–	100,0
Dihidrokodeinon-szemikarbazon×HCl	0,38	0,35	–	10,0 ^x
Dihidrokodeinon-fenilhidrazon×HCl	2,4	2,3	–	10,1 ^{xx}
Dihidrokodeinon-oxim×foszfát	4,2	3,7	0,38	25,0 ^x
Dihidrokodeinon-tioszemikarbazon×HCl	1,7	0,6	–	5,0
Morfin	3,6	1,8	0,45	15,0
Oxikodon	0,92	0,68	0,45	2,2
Dihidrokodeinon	2,2	0,98	0,9	4,9

^x katótonia

^{xx} konvulzió

Módszerek: Eur. J. of Pharm. (1982) 239–241; Arzn. Forschung 38 (1988) 552

A legerősebb analgetikum a hot plate teszten a dihidrokodeinon-szemikarbazon (ED_{50} : 0,38 mg/kg hot plate, tail flick).

Az algotitikus teszten az oxikodon-oxim, -szemikarbazon, -fenilhidrazon és -hidrazon – bár enyhe katótonia tünetei mellett – önmagukban is képesek teljes fájdalomcsillapításra, gyakorlatilag a morfin, illetve az anyavegyületek (oxikodon, dihidrokodeinon) nagyságrendjében.

III/2. Szedatív hatás vizsgálata
Inactint (35 mg/kg) használtunk bázis-narkotikumként

III/2. táblázat
Szedatív (narkózispotenciáló) hatás
(ED₅₀% mg/kg) patkányon, sc.

kémiai példa	név	ED ₅₀ % mg/kg ^x
	Oxikodon-hidrazon×HBr	0,45
	Oxikodon-oxim×foszfát	0,5
	Oxikodon-szemikarbazon×HCl	1,5
	Oxikodon-fenilhidrazon×HCl	1,5
	Dihidrokodeinon-fenilhidrazon×HCl	3,5
	Dihidrokodeinon-szemikarbazon-bitartarát	1,0
-	Morfin	1,75
-	Dihidrokodeinon	1,9
-	Oxikodon	1,2

^x ED₅₀% = A kontroll narkózis ötszörösére növelő dózis.

A hatóanyagok dózisékat a bázisra vonatkoztatva adjuk meg.

Értékelés:

Valamennyi vizsgált vegyület erősen potenciózza az Inactin hatását. Leghatékonyabban az oxikodon-hidrazon, illetve -oxim prolóngálja a narkózis időtartamát. Leggyengébb e tekintetben a dihidrokodeinon-fenilhidrazon.

III/3. Fizikális dependencia vizsgálata

III/3. táblázat
(„ugrás teszt”) egéren

Kémiai példa	vegyület	kezelés 7×mg/kg ip.	naloxon 50 mg/kg ip.	ugrás-szám/egér (átlag)	ugró állatok aránya %
-	Morfin	100	+	34,5	100
IV.1.	Oxikodon-oxim×foszfát	2	+	2,7	70
		5	+	2,5	50
	Oxikodon-hidrazon×HBr	1	+	1,5	50

A hatóanyagok dózisékat a bázisra vonatkoztatva adjuk meg.

A III/3. táblázat egy tájékoztató fizikális dependencia vizsgálat eredményeit mutatja egérugrás teszten. Az egereket három napon keresztül összesen hét alkalommal a vizsgálandó anyagok nagy dóziséval kezeljük ip., majd az utolsó injekció után morfin-antagonista beadásával kiváltjuk az elvonási tüneteket, azaz ugráskényszert idézünk elő. A tesztanyagokból morfin-ekvivalens mennyiségeket adtunk be. Morfin esetében 7×100 mg/kg a bizto-

san dependenciát kiváltó dózis. Ebben a csoportban 50 mg/kg naloxon beadására az átlagos ugrásszám 34,5 (összegrés szám/ugró egyedek) és a vizsgált állatok 100%-a ugrott. Az ekvianalgetikus dózisokban adagolt oxikodon-szemikarbazon-oxim, illetve -hidrazon igen alacsony, csaknem elhanyagolható számú ugrási reakciót váltott ki 50–70%-os részvétel mellett. E vegyületek dependencia-kapacitása tehát rendkívül gyenge.

10 III/4. Morfintoxicitás vizsgálata

A morfint és a tesztanyagokat együtt sc. adtuk be patkányoknak. Amint azt a III/4. táblázat adatai szemléltetik, a morfintól átlagosan kétszer több szükséges azonos letalitás kialakulásához, azaz a morfin toxicitása mintegy felére csökken a hatékony tesztanyagok (oxikodon-oxim, -szemikarbazon, -fenilhidrazon, -hidrazon, illetve dihidrokodeinon-oxim) hatására. Kevésbé hatnak a dihidrokodeinon-szemikarbazon, illetve -fenilhidrazon. Az oxikodon és dihidrokodeinon potenciózzák a morfin toxicitását!

III/4. táblázat

Morfintoxicitás alakulása a tesztanyagok jelenlétében (patkány)

Név	Dózis mg/kg sc.	Morfin LD ₅₀ mg/kg sc.	kombináció LD ₅₀ /morfin LD ₅₀
Oxikodon-oxim×foszfát	15	620	2,2
Oxikodon-szemikarbazon×bitartarát	50	580	2,0
Oxikodon-fenilhidrazon×HCl	25	620	2,2
Oxikodon hidrazon×HBr	10	650	2,3
Dihidrokodeinon-szemikarbazon×bitartarát	50	340	1,2
Dihidrokodeinon-fenilhidrazon×HCl	50	500	1,7
Dihidrokodeinon-oxim×foszfát	25	750	2,6
Oxikodon	10	160	0,57
Dihidrokodeinon	10	150	0,53
Morfin	-	280	1,0

A hatóanyagok dózisékat a bázisra vonatkoztatva adjuk meg.

55 III/5. Légzésre gyakorolt hatás vizsgálata összehasonlító anyagokon

Éber, mindkét nemű, 3–4 kg tömegű nyulakon vizsgáltuk a légzést Marey-dob segítségével. Kvantitatíve értékeltük a légzés frekvenciáját és amplitúdóját. Néhány eredményt a III/5. táblázatban mutatunk be.

III/5. táblázat

Vegyület	dózis µg/kg sc.	légzés		légzési hatás
		volu- men	frek- ven- cia/ min.	
Morfin×HCl	2500–5000 iv., sc.	↓↓	↓↓	depresszió
Dihid- rokodeinon×HCl	10–5500 iv., sc.	↓	↓	depresszió
Oxikodon×HCl	10–2500 iv., sc.	↓	↓	depresszió

A morfin 2,5–5 mg/kg dózisban jelentősen csökkentette a légzésfrekvenciát és a -volumen, hasonlóképpen a dihidrokodeinon és az oxikodon 0,01–2,5 mg/kg adagjaihoz.

III/6–10. példák

Éber nyúlón dolgoztunk a III/5. példában megadotthoz hasonlóan. A tesztanyagokat háromféle protokoll szerint vizsgáltuk:

A. típusú kísérlet

A dózishatás összefüggéseinek vizsgálata „alacsony” és „magas” dózistartományban a tesztvegyületet önmagában adva, majd a beadás után 10 perccel a biztosan légzésdepressziót okozó morfin dózis beadása (5 mg/kg) annak vizsgálatára, hogy a vegyület képes-e kivédeni a morfin légzésdepressziót kiváltó hatását.

B. típusú kísérlet

A beadás sorrendje: Először 5 mg/kg morfin, majd 10, illetve 20 perccel utána a tesztvegyület annak vizsgálatára, hogy a már kialakult légzésdepresszió reverzálható-e.

C. típusú kísérlet:

A morfin és a tesztanyagok beadása szimultán történik, annak tisztázására, hogy befolyásolják-e egymás hatását a vegyületek. Az eredményeket a III/6.–III/10. táblázatokban mutatjuk be.

III/6. táblázat
Oxikodon-oxim (OX)

OX dózis mg/kg sc.	előkeze- lési idő min.	morfin mg/kg sc.	előkeze- lési idő min.	légzés változás	
				fr./min.	válto- zás ampl.
0,005	30	–	–	+30	+30
0,1	30	–	–	+47	+40
0,025	30	–	–	+28	0
0,5 + naloxon	10	–	–	–50	–50
0,25	10	–	–	+50	+50
–	–	0,5	30	–15	0
–	–	1,0	30	–20	0

OX dózis mg/kg sc.	előkeze- lési idő min.	morfin mg/kg sc.	előkeze- lési idő min.	légzés változás	
				fr./min.	válto- zás ampl.
5	–	2,5	30	–39	–20
–	–	5,0	30	–47	–80
–	–	–	120	–66	–80
A. 0,1	10	–	–	+57	+20
10	–	+5	30	+71	0
–	–	–	40	–29	–40

III/7. táblázat

Oxikodon-szemikarbazon (OS)

OS dózis mg/kg sc.	előkeze- lési idő min.	morfin mg/kg sc.	előkeze- lési idő min.	légzésváltozás	
				fr./min.	ampl.
15	10	–	–	+48	0
20	30	–	–	+51	+20
–	0,025	–	–	+51	+20
–	0,05	–	–	+50	+75
25	10	–	–	+48	+20
–	0,025	5	20	+24	–16
–	30	–	30	+13	–20
–	0,50	–	–	+36	0
–	30	20	21	+10	0

III/8. táblázat

Oxikodon-fenilhidrazon (OP)

OP dózis mg/kg sc.	előkeze- lési idő min.	morfin mg/kg sc.	előkeze- lési idő min.	légzésváltozás	
				fr./min.	ampl.
35	A. 0,1	–	–	+33	+20
–	0,5	–	–	+16	0
–	–	5	10	–17	–20
–	–	–	–	0	0
40	B. –	5	10	–40	–40
–	1,0	20	–16	+15	20
–	–	–	–	30	–6
45	C. 0,25	5	20	+44	+20
–	–	–	30	+92	+30
–	0,25	10	10	+23	+20
–	0,25	20	30	–8	0

III/9. táblázat

Oxikodon-hidrazon (OH)

OH dózis mg/kg sc.	előkeze- lési idő min.	morfin mg/kg sc.	előkeze- lési idő min.	légzésváltozás	
				fr./min.	ampl.
50	A. 0,25	–	–	+150	+20,
–	–	–	–	+127	+20
–	–	5	10	36	–30
60	C. 0,25	5	20	+30	+10

III/10. táblázat
Dihidrokodeinon-fenilhidrazon (DP)

DP dózis mg/kg sc.	előkeze- lési idő min.	morfin mg/kg sc.	előkeze- lési idő min.	légzésváltozás	
				fr./min.	ampl.
A. 0,01	10'	–	–	+85	0
	20'	–	–	+96	0
0,025	10'	–	–	+114	0
	20'	–	–	+114	0
0,05	10'	–	–	+132	0
C. 0,25	együtt	5	10'	+39	0
			20'	20'	0
			30'	–3	0
			50'	–4	0

Látható az adatokból, hogy a teszt anyagok általánosan kisebb dózisokban stimulálják a légzést: mind a frekvencia, mind az amplitúdó növekszik. Az „A” típusú kísérletekben kivédik, illetve erősen redukálják a morfin hatását. A „B” kísérletekben a már kialakult morfin-hatást jelentősen csökkentik. A „C” típusú kísérletekben a szokásosnál magasabb morfin dózisok (10–20 mg/kg, lásd III/8. táblázat) sem váltanak ki légzésdepressziót.

IV. Kémiai eljárási példák

(Módszer: 1991 901 sz. magyar szabadalmi leírás)

IV/1. Dihidrokodeinon-oxim

1,5 g Hidroxil-amin klórhidrátot 70 ml vízben 3,0 g dihidrokodeinon bázissal reagáltatunk 3 órát, majd pH = 9–10-re állítjuk. Az oxim kristályosan kiválik, szűrjük, vízzel mossuk, propanolból kristályosítjuk. A termék 2,5 g, op.: 265–266 °C.

IV/2. 14-Hidroxi-dihidrokodeinon-oxim

A IV/1. példa szerint előállított terméket vizes etanolból kristályosítjuk, op.: 194 °C.

IV/3. 14-OH-dihidrokodeinon-hidrazon (transz)

10 ml dimetil-formamidban 5 ml 100%-os hidrazin-hidrátot 2,0 g 14-OH-dihidrokodeinonnal két órát melegítjük, majd vízbe öntjük, a kivált kristályos anyagot izoláljuk, és szilikagélen kromatografálva (kloroform-metanol 9,1, v/v) a tiszta frakciókat (VRK „B” futtatóelegy) metanolból kristályosítjuk. Op.: 192–194 °C.

IV/4. 14-OH-kodeinon-hidrazon

A IV/3. példa szerint eljárva 2,0 g 14-OH-kodeinonból 1,8 g 14-OH-kodeinon-hidrazont kapunk. A nyers termék vékonyrétegen kétkomponensű (B rendszer), a fő komponens tisztán preparatív vékonyrétegekromatográfiával nyerhető. Etanolból kristályosítva op.: 212–215 °C.

IV/5. 14-OH-dihidrokodeinon-szemikarbazon (transz)

A IV/4. példában leírt módon 3,0 g 14-OH-dihidrokodeinonból 3,2 g nyers terméket kapunk, amely szin és anti-izomerek keveréke (cisz : transz = 1 : 1). Kristályosítással (kloroform-etanol) tiszta transz szemikarbazon kapható, op.: 236–238 °C.

IV/6. 14-OH-dihidrokodeinon-fenilhidrazon (cisz)

1,55 g 14-OH-dihidrokodeinonból kiindulva a IV. 3. példában megadott eljárással 1,7 g 14-OH-dihidrokodeinon-fenilhidrazont kapunk. Átkristályosítás után op.: 174–176 °C. Tiszta cisz izomer.

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

- 25 1. Eljárás hatóanyagként (I) általános képletű $-R^1$ jelentése amino-, hidroxil-, $-NH$ -fenil vagy $-NH-CO-NH_2$ csoport, $-R^2$ jelentése hidrogénatom vagy hidroxil-csoport, kodeinon származékot vagy sóját tartalmazó biológiai-
- 30 lag aktív készítmény előállítására humán vagy veteriner alkalmazásra, *azzal jellemezve*, hogy az ismert módon előállított (I) általános képletű hatóanyagot vagy sóját a gyógyszergyártásban humán vagy veteriner célra szokásosan alkalmazott adalék és segédanyagokkal,
- 35 valamint adott esetben morfinnal vagy azzal biológiailag ekvipotens agonista típusú opiáttal vagy opioid vegyülettel összekeverjük és a légzésdepresszióért felelős opioid kötőhelyek (m_2 -receptorok) blokkolására alkalmas fájdalomcsillapító készítménnyé alakítjuk.
- 40 2. Az 1. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy hatóanyagként az (I) általános képletű $-R^1$ és R^2 jelentése a fenti – kodeinon-származék mellett 1 : 2–3 tömegarányban (IV) képletű morfin vagy azzal biológiailag ekvipotens agonista típusú más opiátot vagy opioid vegyületet alkalmazunk.
- 45 3. Az 1. vagy 2. igénypontok bármelyike szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a (I) általános képletű kodeinon származékot $-R^1$ és R^2 jelentése a fenti – cisz vagy transz izomerje formájában alkalmazzuk.

50

