EE 03384 B1

(19) EESTI VABARIIK
PATENDIAMET

(11) EE 03384 B1

(51) Int. Cl.[7]: A61K 31/4045

(12) PATENDIKIRJELDUS

(21) Patenditaotluse number: P199700166
(85) Rahvusvahelise patenditaotluse siseriiklikku faasi esitamise kuupäev: 01.08.1997
(86) Rahvusvahelise patenditaotluse number: PCT/IB96/00082
(86) Rahvusvahelise patenditaotluse esitamise kuupäev: 29.01.1996
(30) Prioriteediandmed: 01.02.1995 US 381535
06.06.1995 EP 95303853.6
(24) Patendi kehtivuse alguse kuupäev: 29.01.1996
(43) Patenditaotluse avaldamise kuupäev: 16.02.1998
(45) Patendikirjelduse avaldamise kuupäev: 16.04.2001

(73) Patendiomanik:
Neurim Pharmaceuticals (1991) Ltd.
8 Hanechoshet Street, 69710 Tel Aviv, IL

(72) Leiutise autor:
Nava Zisapel
23 Kissufim Street, 69355 Tel Aviv, IL

(74) Patendivolinik:
Juta-Maris Uustalu
OÜ Lasvet
Suurtüki 4a, 10133 Tallinn, EE

(54) Melatoniini kasutamine ravimi tootmiseks

(57) Melatoniini kasutatakse ravimi tootmiseks, mida saab kasutada mitme ravimi narkomaanide või patsientide ravis, kellel on bensodiasepiinidest tekkinud sõltumuse, taluvuse või narkomaania sümptoomid, või patsientide ravis, kellel on kliiniliselt diagnoositud seisund, mida saab leevendada bensodiasepiinide manustamisega, aga samaaegselt ka nimetatud bensodiasepiinidest tekkivate sõltumuse, taluvuse või narkomaania sümptoomide vältimiseks patsientidel. Leiutis käsitleb veel farmatseutilist preparaati ülalnimetatud otstarbeks, mis sisaldab vähemalt ühte lahjendit, kandjat või abiainet ning toimeainetena bensodiasepiini ja melatoniini.

(57) Melatonin is used in the manufacture of a medicament for treating a multidrug addict, or a patient who has symptoms of having become dependent on, tolerant of, or addicted to a benzodiazepine drug, or for treating a patient who has been clinically diagnosed as having a condition susceptible to alleviation by administration of a benzodiazepine drug, while simultaneously preventing the occurrence in the patient of symptoms of dependence on, tolerance of, or addiction to said benzodiazepine drug. The invention further relates to a pharmaceutical formulation for the above-stated purposes, which comprises at least one diluent, carrier or adjuvant and as active ingredients a benzodiazepine drug and melatonin.

MELATONIINI KASUTAMINE RAVIMI TOOTMISEKS

Käesolev leiutis käsitleb melatoniini kasutamist ravimi tootmiseks, mida saab kasutada bensodiasepiinidest tekkinud sõltumuse, taluvuse või narkomaania sümptoomide ravis ja vältimiseks, mitme ravimi narkomaanide ravis ning farmatseutilist preparaati sellises ravis kasutamiseks.

Sõltumus bensodiasepiinidest areneb sageli unetutel, kes kasutavad neid une esilekutsumiseks, ja mitme ravimi narkomaanidel, kes narkootikumidest võõrutamisel muutuvad sõltuvaks bensodiasepiinidest, et vabaneda ärevusest ja krampidest. Veelgi enam, bensodiasepiinide krooniline manustamine (kusjuures bensodiasepiinidel on tavaliselt pikad poolväärtusajad) võib põhjustada teadmata mehhanismi teel taluvust, mis väljendub annuse suurendamise ebaefektiivsuses. Pealegi viib nende ravimite manustamise järsule lõpetamisele järgnev tagasilöögi- või ärajätufenomen, mida on täheldatud nii loomadel kui inimestel, narkomaania tekkimisele (Greenblatt, D.J. ja Shader, R.I., Drug Metab. Rev., kd 8, lk 13-28, 1978). 1990. aasta USA Üleriigilise Psühhoterapeutikumide Kasutamise Pereuuringu andmetel suurendasid umbes 8% uinutite meditsiinilisel otstarbel kasutajatest väljakirjutatud annust iseseisvalt, mis on suurenemine 25% võrra, võrreldes eelneva teatega 1979. aastast. Võttes arvesse, et uuringus leiti 2,6% USA elanikkonnast tarvitavat bensodiasepiinuinuteid (võrreldes 2,4% 1979. aastal), võib ainult nende indiviidide arvuks USA-s, kellel arenes taluvus ja sõltumus,

hinnata 560 000. Need arvud ei hõlma väljaspool meditsiinilisi või sotsiaalseid norme kasutatavaid aineid ja mitme ravimi kuritarvitamist. Patsientide jaoks, kellel areneb sõltumus bensodiasepiinuinutitest, ei ole siiani avaldatud ühtegi kiiret võõrutusmeetodit järgneva efektiivse alternatiivse raviga ja see probleem on suureks takistuseks narkomaanide rehabilitatsioonis ja paranemises.

On hästi teada, et öösel käbinäärme poolt produtseeritav indooli derivaat hormoon melatoniin mängib suurt osa une-ärkveloleku ööpäevases tsüklis ja une regulatsioonis. Samuti on mõned tõendid, et melatoniin võib suurendada bensodiasepiinide efektiivsust (vt näiteks Cardinali, D.P. jt, Adv. Biochem. Psychopharm., kd 42, lk 155-164, 1986; Acuna Castroviejo, D. jt, J. Pineal Res., kd 3, lk 101-102, 1986 ja Niles, L.P. jt, J. Neural. Transm., kd 70, lk 117-124). Melatoniin võib suurendada ka diasepaami anksiolüütilist toimet hiirtel (Guardiola-Lemaitre, B. jt, Pharmacol. Biochem. Behav., kd 41, lk 405-408, 1992). Teisest küljest on täheldatud, et bensodiasepiinid võivad mõnedel liikidel, kaasa arvatud inimesed, potentseerida GABA poolt põhjustatud melatoniini sünteesi ja sekretsiooni pärssimist (McIntyre, I.M. jt, Biol. Psychiat., kd 24, lk 105-108, 1988) ja et melatoniini sisalduse öist suurenemist inimese vereplasmas võib pärssida bensodiasepiinidega, moonutades seega melatoniini päevast rütmi (Kabuto, M. jt, Endocr. Japon., kd 33, lk 405-414, 1986). Veelgi enam, on täheldatud, et krooniline oksasepaamiravi muudab ööpäevaseid varieerumisi melatoniiniretseptorite tiheduses roti ajus ja seda toimet ei täheldatud

eemaldatud käbinäärmega loomadel (Anis, Y. jt, Neural. Transm., kd 89, lk 155-166, 1992).

Seoses käesoleva leiutisega on üllatavalt leitud, et melatoniini manustamine samaaegselt bensodiasepiinidega võib (1) võõrutada patsiendi nende ravimite sõltumusest, narkomaaniast või taluvusest ja (2) patsiendil, kellel on diagnoositud bensodiasepiinide vajadus (kusjuures selliseid soovimatuid sümptoome ei ole veel tekkinud), vältida nende sümptoomide tekkimist.

TEHNIKA SENINE TASE

Patenditaotlus EP-A 513 702 kirjeldab melatoniini ja selle mõningate derivaatide kasutamist unehäirete ravis ja preanesteetilises medikatsioonis, vajadusel koos bensodiasepiiniga. See dokument konstateerib, et bensodiasepiini võib sealjuures manustada suhteliselt väikeses annuses ja seega vältida toimeid (unerütmide muutus, tagasilöögiefekt ja taluvuse arenemine), mis öeldakse olevat seotud bensodiasepiinide manustamisega suurtes annustes pika aja vältel. See dokument ei soovita kasutada melatoniini või selle derivaate konkreetsel eesmärgil väiksemas annuses kui 10 mg ega soovita kasutada melatoniini, kui patsiendil on bensodiasepiinide kasutamise tulemusena juba tekkinud sõltumus, taluvus või narkomaania.

Patenditaotlus EP-A 518 468 kirjeldab reguleeritud toimega farmatseutilisi preparaate, mis, lühidalt väljendades, va-

bastavad melatoniini vastavalt profiilile, mis aimab järele normaalse endogeense melatoniini profiili inimese vereplasmas. Melatoniiniretseptori profiili modifitseerijat sisaldavad preparaadid nagu oksasepaam on kasulikud melatoniinivaeguse või -rütmi moonutatusega seotud seisundite ravis, nagu imikute äkksurmasündroom ja migreen. See dokument ei soovita kasutada melatoniini bensodiasepiininarkomaania vältimiseks või ravis.

DIALOG File Supplier PHIND.AN 00 302 794, 13-03-92, teatab, et indool-3-püruuvhape (IPH) suurendab unetutel uneaega, näiteks bensodiasepiini ärajätmisel, ja et IPA toime unele on vahendatud peamiselt melatoniini suurenenud ringluse poolt käbinäärmes. See dokument ei soovita melatoniini kasutada bensodiasepiininarkomaania ravis või vältimiseks.

LEIUTISE KIRJELDUS

Käesolev leiutis pakub seega melatoniini kasutamist ravimi tootmiseks, mida saab kasutada bensodiasepiininarkomaania ravis mitme ravimi narkomaanidel või patsientide ravis, kellel on bensodiasepiinidest tekkinud sõltumuse, taluvuse või narkomaania sümptoomid, või patsientide ravis, kellel on kliiniliselt diagnoositud seisund, mida saab leevendada bensodiasepiinide manustamisega, aga samaaegselt ka nimetatud bensodiasepiinidest tekkivate sõltumuse, taluvuse või narkomaania sümptoomide vältimiseks patsientidel, kusjuures nimetatud ravim sisaldab melatoniini vähemalt koguses, mis on efektiivne mistahes nimetatud ravis, ja nimetatud kogus, mis

on kohandatud manustamiseks päevaannusena vahemikus 0,01-100 mg, näeb ette, et kui nimetatud ravim on patsientide raviks, kellel on kliiniliselt diagnoositud seisund, mida saab leevendada bensodiasepiinide manustamisega, siis nimetatud ravimiks on prolongeeritud toimega farmatseutiline preparaat, mis sisaldab melatoniini mitte enam kui 5 mg.

Nimetatud ravim võib olla peroraalseks, rektaalseks, parenteraalseks või transdermaalseks manustamiseks kohandatud farmatseutiline preparaat, mis sisaldab vähemalt ühte lahjendit, kandjat või abiainet ja mida lisaks võib iseloomustada vähemalt ühe järgmise tunnusega: (i) see on üksikannusvormis, iga üksikannus sisaldab melatoniini kogust vahemikus 0,0025-100 mg; (ii) see on reguleeritud toimega preparaadi vormis, millest melatoniin eelistatavalt vabastatakse ette määratud reguleeritud kiirusega; (iii) see sisaldab ka vähemalt ühte melatoniiniretseptori modifitseerijat ja/või melatoniini profiili modifitseerijat. Ravim võib ka sisaldada, ja leiutisekohane farmatseutiline preparaat sisaldab, vähemalt ühte bensodiasepiini alprasolaami, kloordiasepoksiidi, kloorasepaadi, diasepaami, flunitrasepaami, halasepaami, lorasepaami, oksasepaami, prasepaami, temasepaami ja triasolaami hulgast. Preparaati, mis sisaldab vähemalt ühte bensodiasepiini, võib iseloomustada lisaks ka ühe või enama tunnusega (i), (ii), (iii) nagu kirjeldatud ülalpool.

Käesoleva leiutise rakendamisel mitme ravimi narkomaanide või patsientide ravis, kellel on bensodiasepiinidest tekkinud sõltumuse, taluvuse või narkomaania sümptoomid, jätka-

takse vähemalt alguses patsientidele bensodiasepiinide manustamist ja melatoniini manustatakse samaaegselt koguses, mis on efektiivne leevendamaks vähemalt ühte sellist sümptoomi.

Sellise ravi täpsemas teostuses võib üks bensodiasepiinidest ja melatoniin olla peroraalseks, rektaalseks, parenteraalseks või transdermaalseks manustamiseks kohandatud farmatseutilise preparaadi vormis, mis sisaldab vähemalt ühte lahjendit, kandjat või abiainet. Alternatiivselt võib bensodiasepiini ja melatoniini manustada kas eraldi preparaatidena või kombineerida ühes farmatseutilises preparaadis, mis sisaldab nii bensodiasepiini kui melatoniini.

Melatoniini, mida manustatakse eraldi või koos ühe või enama bensodiasepiiniga, võib manustada päevaannusena, mis on näiteks vahemikus 0,01-100 mg; seda võib manustada reguleeritud toimega preparaadi vormis. Näiteks võib melatoniini reguleeritud toimega preparaadi vormis manustada õhtul 1-2 mg. Melatoniini võib manustada koos melatoniiniretseptori modifitseerijaga või melatoniini profiili modifitseerijaga. Melatoniiniretseptori modifitseerijad on näiteks lühitoimelised bensodiasepiinid nagu oksasepaam, melatoniini profiili modifitseerijad on näiteks bensodiasepiinid, beeta-adrenoblokaatorid ja serotoniini tagasihaarde inhibiitorid. Sellise profiili modifitseerija kasutamise asemel, või sellele lisaks, võib melatoniini profiili modifitseerida, allutades patsiendi valguse toimele enne või pärast melatoniini manustamist või selle ajal.

Siin esitatud bensodiasepiinid võivad tekitada sõltumuse, taluvuse ja/või narkomaania sümptoome. Kahjustamata seda üldreeglit, võib sellist ravimit või ravimeid olla üks või enam, näiteks alprasolaam, kloordiasepoksiid, kloorasepaat, diasepaam, flunitrasepaam, halasepaam, lorasepaam, oksasepaam, prasepaam, temasepaam ja triasolaam, nagu näidatud ülalpool.

Leiutise rakendamise ühes alternatiivses teostuses ülalnimetatud sümptoomide ravis jätkatakse patsiendile alguses bensodiasepiini(de) manustamist samaaegselt melatoniiniga praktiliselt sama päevaannusena kui patsient sai enne melatoniiniravi alustamist. Leiutise rakendamise teises alternatiivses teostuses manustatakse selliste sümptoomide ravis patsiendile bensodiasepiini(e) samaaegselt melatoniiniga järk-järgult väheneva päevaannusena, võrreldes sellega, mis patsient sai enne melatoniiniravi alustamist. Selles teostuses võib manustamise järk-järgult vähenev päevaannus jätkuda, näiteks kuni saavutatakse ette määratud stabiliseeritud annus, või alternatiivselt näiteks kuni manustatava bensodiasepiini kogus on null.

Leiutise rakendamisel profülaktilistel eesmärkidel, st patsiendi ravis, kellel on kliiniliselt diagnoositud seisund, mida saab leevendada bensodiasepiinide manustamisega, aga samaaegselt ka nimetatud bensodiasepiinidest tekkivate sõltumuse, taluvuse või narkomaania sümptoomide vältimiseks, manustatakse patsiendile bensodiasepiini koguses, mis on efektiivne nimetatud seisundi leevendamiseks, kusjuures

patsiendile manustatakse samaaegselt melatoniini koguses, mis on efektiivne vähemalt ühe sellise sümptoomi vältimiseks. Mitmesugused konkreetsete sümptoomidega patsiendi ravis kasutatavad ülalkirjeldatud teostused on vastavalt kasutatavad ka profülaktilistel eesmärkidel, välja arvatud niivõrd, kui nad ei ole kasutatavad põhjustel, mis on endastmõistetavad antud ala asjatundjatele, näiteks kui ravi bensodiasepiinidega on patsendi poolt ihaldatud, siis ilmselt pole arsti poolt igal konkreetsel juhul võimalikult vähendatud manustatavat bensodiasepiinikogust võimalik vähendada nullini.

Siiski on leiutise rakenduse ulatuses konkreetse tulemuse saavutamiseks mitte ainult bensodiasepiini(de) melatoniiniga samaaegne tavaliste päevaannustena manustamine, vaid alternatiivselt ka manustamine selliste ravimi(te) päevaannustena, mis on väiksemad patsiendile nimetatud seisundi leevendamiseks tavaliselt manustatavast.

Nagu ülalpool märgitud, pakub leiutis ka vähemalt ühte bensodiasepiini ja melatoniini sisaldavat farmatseutilist preparaati. Kuna bensodiasepiine manustatakse tavaliselt 1-4 korda päevas, saavutatakse bensodiasepiini(de)ga samas preparaadis või isegi sellest eraldi manustatud melatoniini manustamise päevaannus 0,01-100 mg, mis tavaliselt manustatakse õhtul, bensodiasepiinide manustamisega järgnevalt:

Päevad	Bensodiasepiinide ühekordne annus vahemikus
1	0,01-100 mg
2	0,05-50 mg
3	0,033-33,3 mg
4	0,025-25 mg

Seega, kui leiutisekohane farmatseutiline preparaat on üksikannusvormis, manustatakse iga üksikannus eelistatavalt õhtul ja eelistatavalt sisaldab see melatoniini kogust vahemikus 0,0025-100 mg.

Järgmine tabel annab bensodiasepiinide kogused, mida kasutatakse konkreetsete seisundite ravis täiskasvanutel. Täiendavaks informatsiooniks, näiteks varutingimused, poolväärtusaeg, manustamisviisid ja sobivad annused lastele või imikutele, vt Goodman ja Gilman "The Pharmacological Basis of Therapeutics", 7. väljaanne, 1985 (McMillian Publishing Co.), lõigud, mis käsitlevad bensodiasepiinide kasutamist (nt lk-d 352, 437).

Bensodiasepiin	Peroraalse ühekordse annuse sisaldus mg (x päevas)		Tavaline päevane peroraalne annus*
	sedatiivne	uinutav	anksiolüütiline
Alprasolaam			0,75-1,5
Kloordiasepoksiid	10-100 (1-3)	50-100	15-40
Kloorasepaat	3,75-15 (2-4)	15-30	30
Diasepaam	5-10 (3-4)	5-10	4-40
Flurasepaam		15-30	
Halasepaam			60-160
Lorasepaam		2-4	2-6
Oksasepaam	15-30 (3-4)	15-30	30-60
Prasepaam			20-40
Temasepaam		15-30	
Triasolaam		0,25-0,5	

*mg, tavaliselt jagatuna 2-4 üksikannuseks, täiendavaks informatsiooniks, kaasa arvatud parenteraalsed annustamiskogused, vt Goodman ja Gilman, eelmainitud kohas.

Leiutisekohaselt kasutatavate preparaatide valmistamist ja vabanemiseprofiili või rakendusi selgitatakse allpool.

(a) Pärast pulbriliste materjalide kuiva segamist pressitakse 7 mm silindrilises stantsis kaaluga 2540 kg (2,5 tonni) kokku 2 mg tableti kohta melatoniini (Biosynth Co., Šveits) ja akrüülvaigust kandja (Rohm Pharma), milleks oli Eudragit® RS100 (preparaat SR-Ms) või Eudragit® RSPO (preparaat SR-Mf), lisaks teised komponendid nagu märgitud:

preparaat SR-Ms: Eudragit® RS100 48,8%, laktoosi 50%, melatoniini 1,2%; preparaat SR-Mf: Eudragit® RSPO 36,3%, laktoosi 16,7%, kaltsiumvesinikfosfaati 41,4%, talki 1,3%, magneesiumstearaati 4%, melatoniini 1,3%. SR-Ms ja SR-Mf on prolongeeritud toimega preparaadid.

Traditsiooniline preparaat (RM) valmistati sarnaselt preparaadile SR-Mf, kuid kandjana kasutati Eudragit® asemel laktoosi.

(b) Lõigu (a) kirjelduse järgi valmistatud tablettide võimalikku vabanemisprofiili uuriti esiteks *in vitro* melatoniini lahustumisega tablettidest destilleeritud vees temperatuuril 37 °C. Tulemused tabelis A näitavad kindlatel ajavahemikel lahustunud melatoniini sisaldust protsentides (6 tableti keskmine väärtus).

Tabel A

Aeg (tundides)	1	2	4	6	8	10
Preparaatidest vabanenud melatoniin (%)						
SR-Ms	12	29	62	84	90	100
SR-Mf	32	51	76	88	100	
RM	93	96	100			

(c) Lõigu (a) kirjelduse järgi valmistatud SR-Mf tablettide *in vivo* profiili uuriti kahel korral tervele meessoost isi-

kule (vanus 36 aastat) kell 10 hommikul peroraalse manustamisega, st kui tsirkuleeriva melatoniini tasemed ei ole määratavad. *In vivo* vabanenud melatoniini kogus määrati selle peamise metaboliidi, 6-sulfaatoksümelatoniini, radioimmuunmääramisega uriinis. 6-sulfaatoksümelatoniini kogus uriinis kajastab täpselt hormooni taset vereplasmas. Tulemused tabelis B näitavad melatoniini, määratuna kogu manustatud melatoniini protsendina (2 tableti keskmine väärtus).

Tabel B

Melatoniini *in vivo* vabanemine preparaadist SR-Mf

Aeg (tundides)	**1**	**2**	**4**	**6**	**8**	**10**
Vabanemise protsent ajavahemikel	10,7	25,7	40,6	14,0	7,0	1,9
Kogu vabanemise protsent	10,7	36,4	77,0	91,0	98,0	99,9

Täheldati, et tabelis A näidatud melatoniini vabanemine *in vitro* osutab ainult ligikaudsele *in vivo* vabanemisprofiilile, tingituna toimeaine imendumisest kudedesse varases vabanemisstaadiumis.

Melatoniini kogust prolongeeritud toimega preparaatides võib muuta, näiteks kuni 0,5, 1 või 5 mg tableti kohta, ilma 2 mg melatoniini sisaldavate tablettide kohta leitud vabanemismudelit mõjustamata.

Niivõrd kui antud teadusalal tuntakse melatoniini analooge, mis praktiliselt jäljendavad melatoniini funktsiooni inimorganismis, tunnustatakse käesolevas kontekstis selliseid analooge kui melatoniini ilmseid keemilisi ekvivalente.

Käesoleva leiutise kohaselt võib ülaltoodud preparaatides kasutada ühte või mitut bensodiasepiini siin kirjeldatud kogustes.

Leiutist selgitatakse nüüd järgmiste näidetega.

NÄIDE 1

Uuriti bensodiasepiini ja melatoniini kroonilise manustamise vastastikuseid toimeid melatoniini- ja bensodiasepiiniretseptoritele ajus ja melatoniini võimet neid toimeid kõrvaldada. Isaseid rotte hoiti ööpäevasel režiimil 14 tundi valgust : 10 tundi pimedust (valgus alates kella 05.00; külm valge fluorestsentsvalgustus) temperatuuril 24 ± 2 °C. Toidu ja joogiveega varustati *ad libitum*. Loomad (2 kuud vanad) jagati nelja gruppi, igas 5 looma. Esimese grupi loomadele (KON, kontroll) süstiti i.p. kord päevas kell 16.00 füsioloogilist naatriumkloriidilahust (200 µl). Teise grupi loomadele (VAL, vaalium e diasepaam) süstiti i.p. kord päevas kell 16.00 diasepaami (1 mg 200 µl füsioloogilises naatriumkloriidilahuses; Roche). Kolmanda grupi loomadele (MEL, melatoniin) süstiti kord päevas kell 16.00 füsioloogilist naatriumkloriidilahust, selle grupi loomade joogivesi sisaldas melatoniini (4 mg lahustatuna 100 ml etanoolis ja lah-

jendatuna 1 liitrini). Neljanda grupi loomadele (VAL/MEL) süstiti kord päevas kell 16.00 diasepaami (1 mg 200 µl füsioloogilises naatriumkloriidilahuses), selle grupi loomade joogivesi sisaldas melatoniini (4 mg lahustatuna 100 ml etanoolis ja lahjendatuna 1 liitrini). 21 päeva pärast ravi peatati ja loomad kaaluti. Keskmised kehamassi väärtused VAL- (274 ± 20 g) ja VAL/MEL-grupis (239 ± 30 g) olid veidi madalamad kui CON- (292 ± 30 g) või MEL-grupis (285 ± 30 g).

Loomad dekapiteeriti järgmisel päeval kella 18 ja 19 vahel (sel ajal peaks 2-^{125}I-iodomelatoniini tihedus piklikus ajus ja sillas (*medulla oblongata, pons*) olema maksimaalne), nende ajud eemaldati kiiresti, valmistati toored sünaptosoaalsed pelletid ning melatoniiniretseptorid määrati nagu kirjeldatud Laudon, M ja Zisapel, N. poolt ajakirjas FEBS Lett., kd 197, lk 9-12, 1986. Bensodiasepiiniretseptorid määrati ^{3}H-flunitrasepaami (^{3}H-FNZ) ja ^{3}H-Ro 15-1788 sidumise mõõtmisega nagu kirjeldatud Amiri, Z. jt poolt ajakirjas Brain Res., kd 553, lk 155-158, 1991. Sidumisparameetrid arvutati sidumistasakaalu andmetest. B_{max} (maksimaalne sidumiskohtade arv) väärtused näitavad 2-^{125}I-iodomelatoniini, ^{3}H-FNZ või ^{3}H-Ro 15-1788 spetsiifilist sidumist küllastuse korral ja K_d väärtused on näivad dissotsiatsioonikonstandid. Erinevate gruppide sidumisparameetreid võrreldi dispersioonianalüüsiga Student-Newman-Keul'i testi abil, millele järgnes mitmene võrdlemine. Erinevused loeti olulisteks, kui $P < 0,05$. 3-nädalane päevane diasepaami süstimine (1 mg i.p. kell 16.00) isastele vähendas märkimisväärselt 2-^{125}I-iodomelatoniini sidumiskohtade tihedust piklikus ajus ja sillas

(tabel 1), kuna bensodiasepiini sidumine ei olnud praktiliselt mõjustatud (tabel 2). Kui melatoniiniretseptorid on seotud une-ärkveloleku tsükli kontrollimisega, tähendavad tulemused, et bensodiasepiini krooniline manustamine põhjustab melatoniinitundlike mehhanismide ja sellest tuleneva füsioloogilise aktiivsuse vähenemise.

3 nädalat peroraalselt joogiveega manustatud melatoniin suurendas oluliselt ^{3}H-Ro 15-1788 sidumist piklikus ajus ja sillas (tabel 2, 3), kuna 2-^{125}I-iodomelatoniini sidumine ei olnud mõjustatud. Melatoniiniravi poolt esilekutsutud bensodiasepiini sidumiskohtade tiheduse ja näiva K_d suurenemine piklikus ajus ja sillas korreleerub eelnevalt roti ajukoores täheldatud suurenemisega ja näidati olevat vahendatud opioidpeptiidide poolt (Gomar, M.D. jt, Neuroendocrinology, kd 4, lk 987-990, 1993). Fakt, et see suurenemine püsib isegi diasepaamiga ravitud loomadel, võib välistada konkurentsi melatoniini ja bensodiasepiinide vahel bensodiasepiini sidumiskohtadel.

Diasepaami ja melatoniini igapäevane manustamine suurendas ^{3}H-Ro 15-1788 sidumist piklikus ajus ja sillas ning blokeeris diasepaami poolt põhjustatud 2-^{125}I-iodomelatoniini sidumise pärssimist selles piirkonnas (tabel 1, 2). Need tulemused on üllatavad, kuna nagu eelnevalt näidatud (Anis, Y. jt, melatoniini sidumiskohtades hamstri ajus: melatoniini efekt. Molec. Cell. Endocrinol., kd 67, lk 121-128, 1989; Oaknin-Bendahan, S. jt, J. Basic. Clin. Physiol. Pharmacol., kd 3, lk 253-268, 1992) ja kinnitatakse ka käesolevas uurin-

gus, ei mõjusta melatoniini manustamine süstimise teel hommikuti või õhtuti või peroraalselt joogiveega melatoniini sidumiskohtade tihedust või päevaseid varieerumisi suuremas osas ajus, kaasa arvatud piklikus ajus ja sillas. Veelgi enam, käbinäärme eemaldamine ei muuda päevaseid varieerumisi 2-^{125}I-iodomelatoniini sidumiskohtades, kuigi see mõjustab nende faasilist asetust (Oaknin-Bendahan jt, 1992, samas). Seetõttu muutused melatoniini sidumiskohtade tiheduses ei pea olema tingitud retseptorite autoregulatsioonist melatoniini poolt.

Ajukoores vähendas melatoniin veidi ^{3}H-Ro 15-1788 ja ^{3}H-FNZ sidumist. Diasepaamiravi ei mõjustanud oluliselt ^{3}H-Ro 15-1788 ja ^{3}H-FNZ sidumist, aga vältis melatoniini poolt vahendatud vähenemist (tabel 2, 3). Need andmed tähendavad esiteks, et melatoniini toimed bensodiasepiini sidumiskohtadele avalduvad pigem sidumise üldises pärssimises või hõlbustamises ja teiseks, et melatoniini asendusravi võib takistada kroonilise bensodiasepiiniravi kahjulikke toimeid.

Tabel 1 näitab 2-^{125}I-iodomelatoniini sidumiskohtade sidumisparameetrite tasakaalu diasepaamiga ja/või melatoniiniga ravitud ja mitteravitud rottide pikliku aju ja silla sünaptosomaalsetes preparaatides, väljendatuna K_d (nM) ja B_{max} (μmooli/mg valgu kohta) keskmise ja standardhälbe (sh) väärtustena. Sama tähendusega väärtused tabelis 1 ei erine oluliselt (neid koode kasutatakse ka allpool tabelis 2 ja 3).

Tabel 1

Grupp	K_d ± sh	B_{max} ± sh
KON	0,87 ± 0,2 a	7,9 ± 1,0 a
MEL	1,16 ± 0,3 a	7,7 ± 1,0 a
VAL	0,98 ± 0,21 a	5,1 ± 0,5 b
VAL/MEL	2,27 ± 0,75 b	12,5 ± 2,0 c

Tabel 2 näitab ^{3}H-Ro 15-1788 sidumiskohtade sidumisparameetrite tasakaalu diasepaamiga ja/või melatoniiniga ravitud ja mitteravitud rottide pikliku aju ja silla sünaptosomaalsetes preparaatides, väljendatuna K_d (nM) ja B_{max} (µmooli/mg valgu kohta) keskmise ja standardhälbe väärtustena.

Tabel 2

Grupp	K_d ± sh	B_{max} ± sh
KON	2,3 ± 0,4 a	310 ± 22 a
MEL	2,8 ± 0,2 a	476 ± 26 b
VAL	2,5 ± 0,4 a	295 ± 34 a
VAL/MEL	2,6 ± 0,5 a	375 ± 87 b

Tabel 3 näitab diasepaami või melatoniini toimet ^{3}H-FNZ ja ^{3}H-Ro 15-1788 sidumisele roti ajukoore membraanidel, väljendatuna B_{max} (µmooli/mg valgu kohta) keskmise ja standardhälbe väärtustena.

Tabel 3

Grupp	^{3}H-FNZ	^{3}H-Ro 15-1788
KON	935 ± 31 a	1354 ± 48 a
MEL	765 ± 78 b	1060 ± 26 b
VAL	870 ± 22 a	1264 ± 99 a
VAL/MEL	980 ± 16 a	1362 ± 155 a

NÄIDE 2

See näide selgitab melatoniini üllatavat toimet bensodiasepiinitaluvusest võõrutamise väga kiireks kergendamiseks. 43-aastane abielus kahe lapse ema on kannatanud uinumishäirete all 10 viimast aastat, millega kaasnesid sagedad ja tõsised migreenihood. Põhjalik neuroloogiline läbivaatus oli negatiivne. Psühhiaatrilised või muud orgaanilised probleemid olid samuti välistatud. Kõigi nende aastate jooksul oli teda ravitud bensodiasepiinide, tritsükliliste antidepressantide ja neuroleptikumidega, samuti biotagasiside ja relaksatsioonimeetoditega ilma nähtava paranemiseta. Viimasel aastal on ta kasutanud 4-8 mg lorasepaami igal õhtul.

Põhjalikul psühholoogilisel uurimisel Tel Avivi Ülikooli Unelaboratooriumis ei avastatud mingisugust olulist patoloogiat. Une kvaliteet määrati aktigraafiga, mis automaatselt kontrollib uneaja magamise-ärkamise vahekorda väikese randmele kinnitatud seadme abil. Määramist teostati kolmel järjestikusel päeval ja see näitas segipaisatud unemustrit:

vähenenud efektiivsust, pikka uinumisaega ja mitmeid ärkamisi. Uriin koguti iga kolme tunni järel (36 tunni jooksul) ja määrati melatoniini peamine metaboliit, 6-sulfaatoksümelatoniin, kui melatoniini päevase sekretsiooni näitaja vereplasmas. Tulemused näitasid, et 6-sulfaatoksümelatoniini eritumine oli madalam kui indiviidile eakohane ja puudus tüüpiline ööpäevane rütm (tabel 4).

Melatoniini rütmi puudulikkuse ja moonutatuse korrigeerimiseks alustati 1 mg melatoniini (Neurim Pharmaceuticals, Israel) sisaldava reguleeritud toimega melatoniinipreparaadi peroraalset manustamist tableti vormis. Iga päev kell 20.30 manustati üks tablett. Patsienti paluti igal õhtul võetavat bensodiasepiini tablettide hulka järk-järgult vähendada. Üllatavalt peatas patsient 2 päeva jooksul bensodiasepiinuinutite kasutamise täiesti ja kinnitas, et tema unetus oli silmnähtavalt paranenud. Lisaks raugesid järk-järgult ka tema peavalud. Aktigraafia kordamine pärast 3-nädalast ravi näitas märkimisväärset unemustri paranemist.

Ravi peatati ja 2 nädala pärast koguti jälle uriini iga kolme tunni järel (36 tunni jooksul) ning määrati 6-sulfaatoksümelatoniin. Tulemused (tabel 4) näitasid 6-sulfaatoksümelatoniini koguse ja selge öise maksimumi suurenemist. 5-kuuline pidev jälgimine kinnitas, et patsient säilitas ikka oma une kvaliteedi ja kannatas harva peavalude all. Kuus kuud peale ravi hakkas une kvaliteet halvenema ja melatoniiniravi alustati uuesti.

See haigusjuhtum näitab võimalikku läbimurret paljude patsientide abistamisel, kelle elukvaliteet on halvenenud bensodiasepiinuinutite kasutamise tõttu. Eksogeense melatoniini manustamine võib pealegi sobida kiire ja sümptoomideta võõrutusvahendina bensodiasepiinidest sõltuvatel patsientidel.

Tabel 4

6-sulfaatoksümelatoniini sisaldus uriinis bensodiasepiinidest sõltuvatel patsientidel enne ja pärast melatoniiniravi (µg/tunnis)

Aeg	Enne ravi	Peale ravi
15.00	0,3	0,11
18.00	0,16	0,45
21.00	0,18	0,11
24.00	0,13	1,24
3.00	0,23	0,74
6.00	0,23	0,36
9.00	0,22	0,21
12.00	0,13	0,01
15.00	0,22	0,04

NÄIDE 3

See näide selgitab melatoniini kroonilise manustamise toimeid bensodiasepiinidest sõltuvate patsientide unetuse ravis.

Kaks vabatahtlikku, Y.L., 80-aastane mees ja E.L., 73-aastane naine, olid mõlemad kannatanud mitmeid aastaid unetuse ja/või öösel sagedate ärkamiste all, millega kaasnesid raskused uuesti magamajäämisel. Metaboliidi 6-sulfaatoksümelatoniini hulga määramisel uriinis leiti mõlemal olevat madal melatoniini sekretsioon. Mõlemad patsiendid olid võtnud igal õhtul enne magamaminekut peroraalselt 1-2 mg flunitrasepaami.

Kumbki patsient võõrutati flunitrasepaamist annuse järk-järgulise vähendamise ja samaaegse peroraalse melatoniini manustamisega (2 mg melatoniini iga päev reguleeritud toimega preparaadi vormis) 2-kuulise perioodi jooksul. Ravijärgsel perioodil on kumbki patsient jätkanud melatoniini võtmist samas vormis ja annuses umbes kaks aastat.

Kumbki patsient on isiklikult teatanud heast uinumisest ja une kvaliteedi olulisest paranemisest. Eriti täheldas patsient E.L. une kvaliteedi paranemist võõrutusperioodi alguses ja Y.L. täheldas samasugust toimet umbes kaks nädalat võõrutusperioodi alguses. Kumbki patsient teatas vähenenud väsimusest päevasel ajal mitme päeva jooksul pärast võõrutusperioodi algust ja samuti ei põhjustanud melatoniin järelejäävat väsimust hommikul ega lootusetuse tundeid. Mingitest kõrvaltoimetest kumbki patsient ei teatanud.

NÄIDE 4

See näide, mis kavandati randomiseeritud kahekordse pimekatse ristuuringuna, selgitab melatoniini asendusravi võimet parandada une kestvust bensodiasepiine krooniliselt kasutavatel patsientidel.

Grupp, keskmise vanusega 78 aastat (sh = 9,7), koosnes kaheksast mehest ja viiest naisest, kes kõik kaebasid pikaajalist unetust ja kasutasid une esilekutsumiseks mitmesuguseid bensodiasepiine. Uriini koguti iga 4 tunni järel 15 tunni jooksul ja melatoniini peamise metaboliidi 6-sulfaatoksümelatoniini öine eritumine uriinis määrati duplikaatides radioimmuunmääramisega. Nende patsientide uriinianalüüs näitas madalat ja aeglustunud 6-sulfaatoksümelatoniini eritumist (< 14 µg öö jooksul, võrreldes 25 µg kohta minutis nooremaealistel). Uuringu protokoll koosnes kahest 3-nädalasest raviperioodist, mille vahel oli ühenädalane väljapesu. Ravi kestel manustati patsientidele kaks tundi enne uinumist peroraalselt kas 2 mg reguleeritud toimega melatoniini tablette või platseebot. Viis patsienti jätkas melatoniiniravi 2 kuu jooksul peale esialgset katseperioodi.

Patsientide uni määrati objektiivselt iga raviperioodi lõpus kolmel järjestikusel ööl, kasutades randmel kantavat aktigraafi. Registreeritud liigutusi uinumisaja, une efektiivsuse, täieliku uneaja, pärast uinumist ärkamise ja ärkamiste arvu määramiseks kolme öö keskmisena iga patsiendi kohta analüüsiti Neurim'i algoritmiga. Kuus analüüsi Wilcoxon'i

ühildatud paaride ja märgistatud astmete meetodil näitasid statistiliselt olulisi erinevusi une parameetrites melatoniini- ja platseeboravi vahel perioodide lõikes. Need tulemused on toodud tabelis 5.

Tabel 5

Parameeter	**Peale 3-nädalast ravi**		**Peale ravi + kaks kuud melatoniiniravi**
	melatoniin	**platseebo**	
Une efektiivsus	82%	75% (z = -2,82, p = 0,005)	85%
Uinumisaeg	17 min	39 min (z = -2,12, p = 0,03)	7 min
Ärkamine pärast uinumist	59 min	76 min (z = -2,00, p = 0,04)	42 min
Ärkamiste arv	11	17 (z = -2,70, p = 0,007)	10
Üldine uneaeg	386 min	375 min (z = -0,57, p = 0,58)	348 min

Ülaltoodud tulemustest järeldatakse, et melatoniini asendusravi võib parandada uinumist ja une kestvust bensodiasepiine kasutavatel eakatel madala endogeense melatoniini sekretsiooniga patsientidel. Melatoniiniravi kasud suurenevad ajaga, mis viitab ööpäevase süsteemi ümberkujunemisele.

PATENDINÕUDLUS

1. Melatoniini kasutamine ravimi tootmiseks, mida saab kasutada mitme ravimi narkomaanide või patsientide ravis, kellel on bensodiasepiinidest tekkinud sõltumuse, taluvuse või narkomaania sümptoomid, või patsientide ravis, kellel on kliiniliselt diagnoositud seisund, mida saab leevendada bensodiasepiinide manustamisega, aga samaaegselt ka nimetatud bensodiasepiinidest tekkivate sõltumuse, taluvuse või narkomaania sümptoomide vältimiseks patsientidel, kusjuures nimetatud ravim sisaldab melatoniini vähemalt koguses, mis on efektiivne mistahes nimetatud ravis, ja nimetatud kogus, mis on kohandatud manustamiseks päevaannusena vahemikus 0,01-100 mg, näeb ette, et kui nimetatud ravim on patsientide raviks, kellel on kliiniliselt diagnoositud seisund, mida saab leevendada bensodiasepiinide manustamisega, siis nimetatud ravimiks on prolongeeritud toimega farmatseutiline preparaat, mis sisaldab melatoniini mitte enam kui 5 mg.

2. Melatoniini kasutamine vastavalt nõudluspunktile 1 ravimi tootmiseks, mida saab kasutada bensodiasepiininarkomaania ravis mitme ravimi narkomaanidel või patsientide ravis, kellel on bensodiasepiinidest tekkinud sõltumuse, taluvuse või narkomaania sümptoomid.

3. Kasutamine vastavalt nõudluspunktile 2, milles nimetatud ravimiks on prolongeeritud toimega ravim, mis sisaldab melatoniini mitte enam kui 5 mg.

4. Melatoniini kasutamine vastavalt nõudluspunktile 1 prolongeeritud toimega ravimi tootmiseks, mida saab kasutada patsientide ravis, kellel on kliiniliselt diagnoositud seisund, mida saab leevendada bensodiasepiinide manustamisega, aga samaaegselt ka nimetatud bensodiasepiinidest tekkivate sõltumuse, taluvuse või narkomaania sümptoomide vältimiseks patsientidel, kusjuures nimetatud ravim sisaldab melatoniini vähemalt nimetatud raviks toimivas koguses, milles manustamise päevaannuseks kohandatud nimetatud kogus on vahemikus 0,01-5 mg.

5. Kasutamine vastavalt mistahes nõudluspunktile 1 kuni 4, milles nimetatud ravim hõlmab farmatseutilist preparaati, mis on kohandatud peroraalseks, rektaalseks, parenteraalseks või transdermaalseks manustamiseks ja mis sisaldab vähemalt ühte lahjendit, kandjat või abiainet.

6. Kasutamine vastavalt nõudluspunktile 5, milles nimetatud farmatseutilist preparaati iseloomustatakse lisaks vähemalt ühe järgmise tunnusega:

(i) see on üksikannusvormis, iga üksikannus sisaldab melatoniini kogust vahemikus 0,0025-100 mg, kui nimetatud preparaat ei ole prolongeeritud toimega preparaat, ja vahemikus 0,0025-5 mg, kui nimetatud preparaat on prolongeeritud toimega preparaat;

(ii) kui nimetatud preparaat on prolongeeritud toimega preparaat, on ta reguleeritud toimega preparaat, millest melatoniin vabastatakse ette määratud reguleeritud kiirusega;

(iii) see sisaldab ka vähemalt ühte melatoniiniretseptori modifitseerijat ja/või melatoniini profiili modifitseerijat.

7. Kasutamine vastavalt mistahes nõudluspunktile 1 kuni 6, milles nimetatud bensodiasepiin hõlmab vähemalt ühte bensodiasepiini, eelistatavalt alprasolaami, kloordiasepoksiidi, kloorasepaadi, diasepaami, flunitrasepaami, flurasepaami, halasepaami, lorasepaami, oksasepaami, prasepaami, temasepaami ja triasolaami hulgast.