

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



# [12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200610160483.7

[51] Int. Cl.

A61K 45/00 (2006.01)  
A61K 31/4709 (2006.01)  
A61K 31/4706 (2006.01)  
A61K 31/439 (2006.01)  
A61P 31/12 (2006.01)

[43] 公开日 2007年7月11日

[11] 公开号 CN 1994466A

[22] 申请日 2000.8.23

[21] 申请号 200610160483.7

分案原申请号 00814357.9

[30] 优先权

[32] 1999.8.23 [33] US [31] 60/150261

[71] 申请人 凤凰生物科学有限公司

地址 美国佛罗里达州

[72] 发明人 R·H·凯勒

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司  
代理人 李波 刘玥

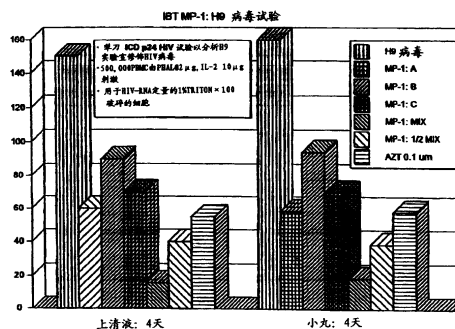
权利要求书2页 说明书12页 附图3页

## [54] 发明名称

组合物在制备治疗病毒性感染的药物中的用途

## [57] 摘要

一种药物组合物，含有治疗有效量的与喹啉相结合的钙通道阻断剂。在具体地实施方案中，本发明进一步的包含有槲皮素。这些成分结合及联合作用以有效的治疗病毒性的感染。



- 1.一种药物组合物, 包括可降低哺乳动物体内病毒活性的治疗有效量及比例的至少一种钙通道阻断剂, 至少一种喹啉或其衍生物或其中间体或其盐类的组合。
- 5 2.权利要求1的组合物, 含有槲皮素或其衍生物。
- 3.权利要求1的组合物, 其中钙通道阻断剂成分与喹啉成分和槲皮素成分的重量比例为大约10-20: 大约 3-8: 大约1-4。
- 4.权利要求1的组合物, 其中喹啉成分包括氯喹或其衍生物。
- 10 5.权利要求1的组合物, 其中的喹啉成分包括至少一种4-氨基喹啉或其衍生物。
- 6.权利要求1的组合物, 其中的喹啉成分包括奎宁或其衍生物。
- 7.权利要求1的组合物, 其中的喹啉成分包括至少一种选自甲氟喹、甲氟喹盐酸盐、伯氨喹啉、伯氨喹啉磷酸盐、羧基伯氨喹啉, 和其衍生物的成分。
- 15 8.权利要求1的组合物, 其中的钙通道阻断剂成分包括维拉帕米或其衍生物。
- 9.权利要求1的组合物, 其中的钙通道阻断剂成分包括至少一种选自尼莫地平、双丙外林、史克药物no. 9512及其衍生物的成分。
- 10.权利要求1的组合物, 其中的钙通道阻断剂成分由至少一种选自维拉帕米、尼群地平、地尔硫革和其衍生物的成员形成。
- 20 11.权利要求1的组合物, 其中的钙通道阻断剂成分含有至少一种选自苗扶来精、氟桂利嗪、苜普地尔、利多氟嗪、CERM-196、R58735、R-56865、拉洛来静、尼索地平、尼卡地平、PN200-110、费乐地平、氨氯地平, R-(-)-202-791、R-(+)Bay K-8644和其衍生物的成分。
- 25 12.权利要求1的组合物, 其中的成分呈颗粒形式且与药学上可接受的载体或制片剂制成片剂。
- 13.权利要求1的组合物, 其中的成分结合有一种药学上可接受的液体载体。
- 14.权利要求11的组合物, 含有大约5到500mg钙通道阻断剂, 和大约5到1200 mg 喹啉成分。
- 30 15.用于降低感染的哺乳动物体内的病毒活性的一种药物组合物, 含有有效

量的维拉帕米和氯喹或其药学上等效的衍生物。

16. 权利要求15的组合物，包括含5到500mg维拉帕米或其药学上等价的衍生物的单位剂型。

17. 权利要求15的组合物，包括在与维拉帕米和氯喹联用时抑制受感染哺乳  
5 动物体内的病毒活性的有效量的槲皮素或其药学上等价的衍生物。

18. 权利要求15的组合物，包括含大约5到500 mg 维拉帕米、大约5到1200 mg 氯喹和大约5到500 mg 槲皮素或其药学上等效的衍生物的单位剂型。

19. 权利要求15的组合物，包括含大约20到240 mg 维拉帕米、大约20到  
10 1200mg氯喹和大约10到500 mg槲皮素或其药学上等效的衍生物的单位剂型。

## 组合物在制备治疗病毒性感染的药物中的用途

- 5 本申请是申请日为2000年8月23日的中国专利申请00814357.9“组合物在制备治疗病毒性感染的药物中的用途”的分案申请。

### 技术领域

本发明涉及治疗哺乳动物中病毒性感染的方法和组合物，病毒性的感染包括逆转录酶病毒，如HIV和丙型肝炎。

### 10 背景技术

目前被称为获得性免疫缺陷综合征(AIDS)的疾病，最早被发现确认于1979年。据疾病控制和预防中心(CDC)报道的病例数，从发现之日起每年呈急剧的增加，在1982年，CDC宣布AIDS为一种新的流行性疾病。同时估计有超过4000万的人被确诊为患上了AIDS。

- 15 逆转录病毒被提出是引起AIDS的病因体。最近，这种引起AIDS的病毒出现了一个比较贴切的名字：人类免疫缺陷病毒1型(HIV)。在超过80%被诊断为患有AIDS或者前AIDS综合征的病人身上存在着HIV抗体，且在确认的危险群体中发现该抗体的几率也很高。

- AIDS的特征为一种被破坏的免疫系统，其源于CD4+T淋巴细胞(T细胞)系统性的耗竭，并且剩余的CD4+T淋巴细胞反应迟钝且丧失机能。CD4+T细胞水平用作疾病程度的诊断指标。已知受HIV感染的CD4+T细胞直接引起其他的CD4+T淋巴细胞病变，且此单细胞致死过程经由HIV膜蛋白(gp120/41)与CD4分子相互作用开始。HIV的极为致命的分离物会引起多核体(定义为在一普通细胞膜内含有4个以上细胞核)，此过程与CD4+T细胞的迅速减少以及疾病的快速恶化有关。
- 20
- 25

- 人类HIV-1感染引起整体性的免疫抑制且涉及其他的机能紊乱，如失明、脊髓病变或痴呆性神经病，即AIDS痴呆综合症，其中后者是在感染晚期阶段病人中发病的常见且重要的原因。HIV-1感染被记载发生于中枢神经系统的不同部位，包括大脑皮层、脊椎和视网膜。Price等(1988,科学*Science* 239: 586)和 Ho等(1989, 内科学年报*Annals in Internal Medicine* 111: 400)回顾了AIDS痴呆综合
- 30

症的临床学、流行病学、病理学方面的研究，提出神经学上的机能障碍的机理在于由感染细胞释放的病毒源或细胞源毒素引起的间接的组织损害。这些参考文献的内容在此综合引入作为参考。

5 诊断AIDS发展的危险性有相当地难度。几乎所有感染HIV病毒的个体被认为最终都将患上AIDS。

10 当一个具有完整的免疫系统的原本健康的人被削弱了T细胞免疫性时，该病人通常被诊断为患上了AIDS。削弱的免疫性通常在18个月到3年的时间段内显现出来。削弱免疫性的结果，就是病人对任何偶遇的传染病、不同种类的癌症如卡波氏肉瘤、非何杰金氏淋巴瘤和其他与免疫系统衰退机能有关的疾病都易受感染。

HIV的复制通过DNA中间体进行。每个病毒分子含有两条相同的单链RNA分子，周围环绕有病毒的核壳蛋白。病毒细胞核的剩余部分由衣壳蛋白和基质蛋白组成。病毒遗传物质进入宿主细胞进行复制和整合所需要的酶也包含在衣壳中。病毒粒子细胞被膜由病毒膜糖蛋白和源于宿主细胞的细胞膜组成。

15 尽管HARRT(高活性抗-逆转录病毒疗法)可以逆转AIDS的免疫缺损，人们尚无法得到能够预防该疾病的充分有效的治疗方法。基本上所有伴随有偶遇感染的病人和大约半数的伴随有卡波氏肉瘤的病人在诊治的两年内死亡。迄今为止,试图恢复AIDS病人免疫系统机能的努力基本上都没有成功。

20 当3'-叠氮基-3'-脱氧胸苷(AZT)被最广泛的用于治疗HIV感染和AIDS时，其表现出相当大的副作用，如可逆的骨髓毒性和病人病毒对AZT的耐药性的提高。因此非常需要有其他的治疗方法。

25 病毒通常不对抗生素疗法产生反应。因此，在病毒治疗中使用其他的治疗方法。最近发现的一种上述疗法，其涉及使用蛋白酶抑制剂以中断病毒复制循环。蛋白酶抑制剂疗法潜在的可用于多种疾病的治疗，包括诸如由逆转录病毒(如HIV)、嗜肝DNA病毒(如丙肝病毒)、疱疹病毒(如单纯疱疹病毒和巨细胞病毒)和粘液病毒(如流感病毒)引起的病毒感染，寄生原生动物(如cryptosporidium和疟疾)引起的疾病,及用于癌症化疗和不同的病理上的失调症。然而，在HAART中使用的酶蛋白抑制剂引起了不可忽视的并发症，如脂肪营养不良、肝失活、冠状动脉疾病。

30 相应的，人们需要提供改进的组合物和方法用于病毒感染的治疗，包括逆

转录病毒感染如HIV和丙型肝炎。

### 发明内容

总的来说，本发明涉及对病人施予治疗有效量的一种药物组合物，该组合物的本身，由治疗有效比例和量的与喹啉、喹啉-醌，或其中间体或衍生物(如氯喹)相组合的钙通道阻断剂(或其代谢物)组成。在优选的具体实施方案中，本发明进一步的含有槲皮素或其一种活性成分。该组分通过降低感染细胞内病毒活性而与之结合及发生作用，从而有效的对付逆转录病毒。

相应的，本发明的目的是提供一种安全且有效的治疗病毒（如HIV）的方法。

### 10 附图说明

为了能够完全的理解本发明，以下与附图相应的详细说明中，给出了本发明的参考内容，其中

图1描述的是从100例本发明组合物对感染了实验室变种HIV病毒(H9)的末梢血液淋巴细胞内的病毒负荷(通过P24ICD测量)的影响的试验中所得出的结果。

15 图2描述的是从20例本发明实施方案的组合物对感染了耐HAART的临床病毒分离株的末梢血液淋巴细胞内的病毒负荷(通过P24ICD测量)的影响的试验中所得出的结果。

图3描述在一个拒绝使用抗逆转录病毒治疗的高血压病人身上使用维拉帕米和槲皮素对CD4计数和病毒负载的影响。

### 20 具体实施方式

已经确信,向病人施予组合了喹啉、喹啉-醌或中间体或衍生物(如氯喹)的钙通道阻断剂,可有效地治疗病毒性的感染。在优选的具体实施方案中，本发明进一步的包含给予槲皮素或者一种其活性成分。包含前述性活性成分的组合物能有效降低哺乳动物中病毒活性。优选的组分重量比例是10-20份的钙通道阻断剂比约3-8份喹啉、喹啉/醌或中间体比约1-4份槲皮素。正如此文所使用的，药物或者其他治疗化合物延伸的定义同样也指药物在药学上有效的形式，如盐类、氯化物、螯合物，进一步的，当其用于药物给药时，也可建立起一种或多种活性成分缓慢释放的方式。

25 30 在真核细胞周期控制和编程性细胞死亡方面进行的研究发现这两项过程间有非常密切的关联。此外，许多促进细胞生长的酶及转录因子也显示出参与了

细胞的死亡。这些物质包括Nkfb, TAR, c-Myc, p53,依赖于细胞周期蛋白的蛋白激酶,和 细胞周期蛋白, Bcl-2, 和 Bax.。正如早已提及的, HIV-诱导的细胞病变同样显示出能引起磷酸化状态和/或CDK1 和细胞周期蛋白B的表达发生变化。其他激活程序细胞死亡的促进因素同样也能引起依赖于细胞周期蛋白的蛋白激酶表达和活化的异常。

5 已经确信, 钙通道阻断剂对于感染AIDS的病人具有积极的治疗效果。钙通道阻断剂对HIV适应性细胞链(HUT/H9)和急性感染的外周血淋巴细胞中发生的HIV感染的影响的体外研究已开始展开。总的来说, 这些试验表明在药理学上可得的浓度下, 其降低了50-60%的HIV产生(HIV 聚合酶链反应 RNA)和CD  
10 P24抗原。

这些结果被另一项关于钙通道阻断剂的研究所证实。该试验证明在细胞激活时, 通过阻断由电位控制的Ca通道以抑制钙(Ca)的流动, 将使被免疫系统亢进所折磨的病人的症状有所减轻。它也表明了电位控制的Ca<sup>++</sup> 通道的阻断能显著的减缓CFIDS中日益衰弱的症状。另外, 在免疫效果或机制(NK 细胞毒性  
15 , IgG 水平)没有任何变化的情况下, T细胞的活化作用也相应的降低。这种降低的活化作用, 与白介素合成的降低及促细胞分裂剂反应活性的降低有关。

### 喹啉

喹啉的衍生物,如喹啉-醌或其中间体, 如氯喹, 在和钙通道阻断剂联用时, 显示出协同的作用。

20 氯喹及其类似物, 包括羟基氯喹, 显示出能抑制多种病毒性的感染, 同样也能降低免疫的应答性。所有的作用都由抑制病毒及与活化作用有关的酶的细胞内pH的变化来介导。羟基氯喹 (HCQ), 一种抗疟疾药物, 通过抑制病毒的转录后修饰, 可治疗患自身免疫疾病的患者, 也可在体外抑制T细胞和单核细胞中人类免疫系统缺陷病毒1型(HIV-1)的复制。

25 氯喹通常被选择用于治疗由敏感菌株引起的急性疟疾。氯喹能杀死裂殖子,因此能降低寄生物血症, 但是并不影响肝脏中P vivax 和P ovale休眠子。这些寄生虫必须使用伯氨喹啉来杀死, 以防止疾病复发。

以固体或者液体的形式给药的氯喹,与公知的药学上有效的载体结合, 是一种合成的4-氨基喹啉, 典型的是制成用于口服的磷酸盐和制成用于非肠道服  
30 用的盐酸盐。这些盐类, 盐酸盐、螯合物和文中描述的其他形式的活性成分都

包括在术语“衍生物”中。这样，本发明的组合物也包括氯喹和其衍生物。

氯喹在胃肠道中快速且几乎完全吸收，在大约3小时内达到最高血浆浓度(50-65%)蛋白结合，且很快的在组织内达到分布。由于浓度集中在组织中，其具有非常大的表观分布体积，约为13000L。从这些位点开始，氯喹的释放和代谢变得非常缓慢。该药极易通过胎盘，其以3-5天的半衰期在尿液中排泄。酸化尿液可增加肾排泄。

由于氯喹的分布体积很大，在治疗急性疾病时又迫切需要有效的能杀死裂殖子的血药浓度，因而在此时给予填充剂量是必须的。为了避免氯喹经非肠道给药时产生威胁生命的毒性，其必须通过缓慢地静脉输注或者肌肉内缓慢增加药量的方式给药。抗敏感性p疟原虫的治疗上有效的血药浓度大约为30 $\mu$ g/L，抗P vivax 大约为15 $\mu$ g/L。

氯喹在口服给药之后的吸收快速且完全。通常4天时间能足够的治愈疾病。药物可浓集于红血球、肝脏、脾脏、肾脏、肺及白细胞，因此其有非常巨大的分布体积。其在红血球中能持续一定时间。药物同样也能穿过中枢神经系统及胎盘。氯喹可被肝脏内的混合功能氧化酶脱去烷基，但是其某些代谢产物依然保持有抗疟活性。原药和其代谢产物主要都随尿液排泄。当尿液被酸化时其排泄速度将加快。

氯喹是高效的血液裂殖体杀灭剂，且4-氨基喹啉是使用最广泛的vivax、ovale和疟疾导致的疾病的化学预防和治疗剂。氯喹对红细胞前环疟原虫没有作用活性，且对p vivax 或P ovale感染也没有明显的治愈效果，因为它不能除去滞留的肝脏阶段的寄生虫。

氯喹抗疟活性精确的机理尚未定论。它可能是通过以下方式起作用：阻断哺乳动物和原生动物体内酶作用的DNA和RNA合成，且与DNA形成复合物以阻止复制或转录成RNA。在寄生虫内，药物浓集在液泡中且升高这些细胞器的pH值，阻断寄生虫新陈代谢和利用红血球血红蛋白的能力。该药物也可能通过瓦解核酸的三级结构来降低寄生虫体内DNA的合成。也有人提出其能阻断寄生虫体内的磷脂代谢。对疟疾寄生虫选择性的毒性决定于寄生细胞内的氯喹浓集机制。氯喹在正常红血球中的浓度是在血浆中的10-20倍；在寄生的红血球内，其浓度约是正常红血球的25倍。

当用于疟疾的预防(包括延长使用)或治疗时，病人通常对氯喹有很好的承

受力。胃肠道反应、轻度头痛、瘙痒、食欲不振、不适、视力模糊、和荨麻疹并不常见。饭后服用此药能降低某些副作用。罕见的反应包括发生于G6PD-缺陷病人的溶血现象，及听力损伤、精神混乱、精神病、大笑、血质不调、皮肤反应、脱发、毛发退色和血压下降。

- 5 氯喹禁用于有如下病史的病人：肝损伤、酒精中毒或神经病学或血液病学上的失调症。某些抗酸药和抗腹泻药(高岭土、钙、碳酸盐和三硅酸镁)能干扰氯喹的吸收，因此不能在服用氯喹的前后4小时内服用这些药物。

奎宁，一种带苦味的生物碱，吸收非常快，能在1-3小时内达到血浆峰浓度，且广泛的分布于体内组织中。大约80%的血浆中的奎宁是与蛋白结合的；在10 红细胞中的水平大约为血浆浓度的20%，在脑脊液中的浓度是在血浆中的7%。奎宁的灭活半衰期在正常人体内是7-12小时，但在感染疟疾的病人身上是8-21小时，按疾病的严重程度不同而不同。大约80%的药物在肝脏中代谢，大部分随尿液排泄。在酸性尿液中加速其排泄。

在每日固定的剂量下，血浆浓度通常在第三天到达坪浓度。在正常或者轻15 微感染人体中，标准口服剂量下血浆浓度大约为7 $\mu$ g/mL；在严重疟疾患者中能达到很高的血药浓度。平均血药浓度超过大约5 $\mu$ g/mL能有效的消除vivax疟疾的无性寄生虫，当对付恶性疟原虫疟疾时需要的浓度要稍高些。低于2 $\mu$ g/mL的浓度几乎没有作用，然而超过7 $\mu$ g/mL浓度时通常会伴随有“金鸡纳中毒”的副反应发生。由于其大约2-7 $\mu$ g/mL的狭窄的治疗范围，在使用奎宁治疗恶性疟原20 虫疟疾时副反应的发生非常普遍。

奎宁是快速起效的，高效的，应对四种疟疾寄生虫的血液裂殖体杀灭剂。该药可杀灭P vivax和P ovale的配子体，但对恶性疟原虫的配子体不十分有效。奎宁对孢子或肝脏阶段的任何寄生物都无能为力。

25 该药物的分子学机理尚不清楚。奎宁被认为能抑制多种酶系。它也能和双螺旋DNA形成氢键结合的复合物从而抑制链分离、转录和蛋白质合成。

甲氟喹用于预防和治疗耐氯喹和耐多种药物的恶性疟原虫疟疾。它也用于应对P vivax 的预防，可能也能对抗P ovale和 P 疟疾。

30 甲氟喹盐酸盐是在化学上与喹啉相关的，合成的4-喹啉甲醇衍生物。它通常只口服给药，因为在非肠道使用时会产生强烈的局部刺激。它有很好的吸收，且在7-24小时内能达到血药峰浓度。250mg 其盐的单口服剂量能产生290-340

ng/mL的血浆浓度。然而每日继续给以此剂量产生平均不变状态的560-1250 ng/mL的血浆浓度。为了达到化学抑制恶性疟原虫疟疾的效果，必须达到200-300 ng/mL的血浆浓度。该药物与血浆蛋白有很高的结合，在红细胞中高度浓集，且广泛的分布在组织中，包括中枢神经系统。

- 5 甲氟喹在肝脏中清除。它的酸性代谢产物排泄缓慢，主要在粪便中。它的灭活半衰期从13天到33天不等，在急性疟疾病人中有所缩短。在剂量停止后，能在血液中检测到药物。

伯氨喹啉磷酸盐是合成的8-氨基喹啉衍生物。口服给药后该药物通常很好的被吸收，在1-2小时那达到血浆峰浓度，然后几乎完全代谢且在尿中排泄。伯氨喹啉的血浆半衰期是3-8小时，其血浆峰浓度为50-66 ng/mL；少量存在于组织中，但是只有很少量与之结合。

它的主要代谢产物是脱氨基衍生物、羧基伯氨喹啉，它们达到的血浆浓度超过10倍于原型化合物，灭活缓慢(半衰期22-30小时)，且日剂量蓄积；14小时后达到的峰血浆浓度为432-1240 ng/mL。伯氨喹啉或其某种代谢产物是否是活性化合物尚未定论。

伯氨喹啉的抗疟作用机理尚不清楚。从伯氨喹啉衍生的喹啉-醌中间体是可用作氧化剂的带电子具还原氧化作用的化合物。几乎所有与使用伯氨喹啉有关的溶血和高铁血红蛋白现象很有可能是由这些中间体产生的。

### 槲皮素

20 槲皮素[2-(3,4-二羟基苯基)-3,5,7-三羟基-4H-1-苯并吡喃-4-酮]，和其衍生物是天然的黄酮类物质，其能用于消除存在于肝内的有毒化合物。它具有抗肝毒性、抗病毒、抗炎和抗菌的性质。它可通过Shakhova等*Zh. Obsheh. Khim.*, 32,390 (1962)所述的方法合成，在此引入作为参考。槲皮素能抑制HIV对CD4的结合，也能抑制病毒的整合酶和病毒逆转录酶，且同时显示其有抑制HIV活性的能力。

25 槲皮素是天然存在的黄酮物质，通常存在于动物(包括人类)日用的植物材料中。槲皮素，植物中的常见成分，其从TCM提取物中鉴别得到，被认为是一种Ah受体拮抗剂。和大多数的黄酮类相似，槲皮素的化学结构由两个通过杂环吡喃环相连的苯环组成。槲皮素表现为基因毒性化合物，当超长时间段内持续给予高剂量时，它可能会启动某些组织内的致癌物质(Dunnick, J. K.和Hailey, J. R.

1992, 在此引入作为参考)。已有人提出当存在于已发生转变的细胞时, 槲皮素对这些发生转变的癌性的细胞具有一种抗-增殖作用(Scambia et al., 1993, 在此引入作为参考)。

与本发明具体实施方案相应的物质组合物, 可包括以下混合物: 一种钙通道  
5 道阻断剂、喹啉、槲皮素、这些化合物的衍生物(如药学上可接受的盐类、它们的盐酸盐螯合物和代谢产物)和用于口服给药的可药用系统载体。本发明也包括这三种成分的代谢产物的组合。此组合可制成固体或液体形式, 如颗粒混悬液或以水或酒精为基础的溶液。虽优选口服的形式, 该组合物仍可以口服或者非肠道的方式给药。组合物中的成分必须给予治疗上有效的量来对付病毒, 如HIV。  
10 重量/浓度比例为: 大约10-20Ca通道阻断剂(或代谢产物):大约3-8氯喹, 喹啉, 喹啉/醌:大约1-4 槲皮素。

本发明还包括向患有如HIV病毒感染的哺乳动物施以足够剂量的与本发明具体实施方案相应的组合物以减轻和治疗这样的感染。

有人阐明, 在细胞激活时通过阻断电位控制的Ca通道以抑制钙(Ca)的流入,  
15 能缓解受亢进免疫系统困扰的病人的症状。此降低的活化作用涉及白介素合成的减少和促细胞分裂活性的降低。体外研究钙通道阻断剂对HIV适应病毒链(HUT/H9)和急性感染的周边血淋巴细胞的HIV感染产生的影响表明, 当在其药理学上可达到的浓度下, HIV的产生(HIV 聚合酶链反应RNA)和ICD P24抗原减少了50-60%。其次, 需要寻找能提供附加或引起协同效果的非竞争性的补充  
20 药物。

在与上述相似的试验中, 向H4T感染的细胞和急性感染的PBMC中加入有效量的氯喹, 氯喹使病毒活性(复制)降低了20-40%。在具有药理学上可得到的浓度相似的维拉帕米、Ca 通道阻断剂、和氯喹的培养基中, 病毒活性降低了75-85%。与钙通道阻断剂相一致, 其产生的净效果能降低细胞的NKFB激活  
25 和HIV TAT启动, 且使未包被病毒处于恶劣的细胞质环境中。在多项试验中显示, 那些未翻译的, 未整合的病毒最易受影响而降解, 且病毒处于这种易损害状态的时间越长, 其复制的能力就越弱。

在与以上描述相似的试验中, 一种槲皮素的标准提取物(含有从Sigma Alcrich 得到的1-10 $\mu$ g/ml 槲皮素)显示出能使HIV活性降低5-20%。当加入优  
30 选的浓度时(30 $\mu$ g/ml维拉帕米和10 $\mu$ g/ml氯喹)组合物能使HIV活性降低85-95%

。槲皮素被确认为能通过抑制CO4的结合和阻止病毒DNA在基因组中的整合以抑制RNA向DNA的转变的方式降低病毒的活性。此试验以体内容易达到的体外浓度以无细胞毒性的方式发生，结果至少有两项病毒活性呈对数下降。与R横向抑制剂，如病毒活性下降4- .7 log 的AZT, D4T, DDI 相比，这种下降明显得多。

钙通道阻断剂和氯喹及其类似物之间意义重大的交互作用的发现和槲皮素良性副作用特性的发现向全世界没有能力接受现行HAART疗法的病人提供了另一种安全，效果潜在，廉价的选择。

对成人的初步研究显示以下每一成分的单位剂量的范围是较为适合的。

10 维拉帕米 5到500 mg, 优选20到240 mg

氯喹 5 到1200 mg, 优选20到1200 mg

槲皮素 5到500 mg, 优选10 to 500 mg。

15 这些剂量应当每日服用1-4次，优选1次。也可以想见，较低的剂量可适用于儿童。根据体重和代谢情况调整服药剂量对于本领域技术人员来说是显而易见的。

通常神经元的电压依赖性Ca. sup. ++通道的任何适宜拮抗剂，在某种条件下也有效果。优选为钙通道拮抗剂，包括但不局限于以下药物，其中最优选的是那些能穿透血脑屏障的药物，如：尼莫地平(Miles Pharmaceuticals, West Haven, CT)、史克药物no. 9512(Smith Kline, French Beecham, Philadelphia, PA)、和双丙外林(Smith Kline, French-Beecham)。次优选的拮抗剂是那些CNS穿透力较差的，如维拉帕米 (Calan, G. D. Searle & Co., Chicago, Ill.; Isoptin, Knoll, Whippany, NJ)、尼群地平和地尔硫革 (Cardizem, Marion, Kansas City, MO)。其他比较有效的Ca. sup. 2+通道拮抗剂是苗扶来精，氟桂利嗪、苜普地尔、利多氟嗪、CERM-196、R58735、R-56865、拉洛来静、尼索地平、尼卡地平、PN200-110、费乐地平、25 氨氯地平, R-(-)-202-791、和R-(+)Bay K-8644(Miles, Bayer)，其结构式记载于Boddeke等所著*Trends in Pharmacologic Sciences*(1989)10: 397和Triggle 等所著*Trends in Pharmacologic Sciences*(1989)10: 370中，在此引入作为参考。

正如Inoue等(1993)、Hunter等(1993)、Hori等(1993)、Pourter-Manzanedo等(1992)、Boesch & Loo (1994)、Zacherlet等(1994)、Shirai等(1991)、Morris等30 (1991)、Muller等(1994)和Miyamoto等(1992)所描述的，维拉帕米是公知的Ca通

道阻断剂和P-糖蛋白竞争性抑制剂。Thalhammer 等(1994)表明阳离子染料吡啶橙黄、穿过胆小管的p-糖蛋白-介导的转运能被环孢菌素A和维拉帕米所抑制。p糖蛋白参与的两亲阳离子穿过肝细胞小管膜的ATP-15依赖性转运同样也被Muller等所(1994)研究。恒带电的两亲的阳离子的转运被维拉帕米、奎尼丁和柔红霉素(一种抗菌素)所抑制。Bear(1994)提出维拉帕米、秋水仙素、长春碱、柔红霉素和(50M)阻断向外-调整氯通道, 它被认为与p糖蛋白的表达有关。Ohi等(1992) 使用钙-通道阻断剂, 维拉帕米,与柔红霉素联用于表面膀胱癌的化疗。给予5安瓿(10 ml) 可注射的维拉帕米。维拉帕米盐酸盐是苯乙晴  $\alpha$  -[3-[[2-(3,4-二甲氧苯基)乙基]-甲氨基] 丙基]-3,4-二甲氧基-  $\alpha$  - (1-甲基乙基)盐酸盐, 也称作 CALAN (TM) 和 ISOPTIN (TM), 其可从Searle、Knoll和Parke-Davis购得。

其超过90%被吸收, 但是由于广泛的肝首过代谢作用, 只有20到35%的剂量能到达系统中。其大约90%与血浆蛋白结合。它能很快的通过肝脏代谢成去甲维拉帕米和少部分的其他代谢产物。大约70%的剂量以代谢物的形式由尿液排出, 16%的剂量在5天内由粪便排出, 低于5%的量以原型排出。口服给药的维拉帕米效果在30到60分钟内很明显。静脉给药的维拉帕米峰效应发生在15分钟内。在正常人中其半衰期为1.5到5小时, 但是对于慢性治疗会超过9小时。在患有肝硬化的病人中, 半衰期会延长至14到16小时。在肝病病人中半衰期的延长归结为药物分布体积的增加。在重复给药后将发现饱和和动力学现象。

优选的剂量包括: 静脉注射, 成人, 初期, 在超过2分钟内给予5到10 mg (0.075到0.15 mg/kg) (老年人为3分钟), 如有需要, 后续剂量为10 mg (0.150 mg/kg)30分钟后; 不满1岁的儿童, 初期在超过2分钟内给予0.1到0.2 mg/kg (伴有ECG监控),如有需要,在30分钟后重复给药; 1到15岁, 初期给予0.1到0.3 mg/kg, 不超过5mg, 如有需要, 在30分钟后重复给药。口服, 成人, 80mg 一天3或4次或者在缓释形式下240 mg一天一次, 逐渐增加至480mg一天(如有需要)。可得的维拉帕米为5mg/2mL和10mg/4mL的注射剂; 40mg、80mg和120mg的片剂和240 mg的缓释片剂。

本发明同样涉及用于系统性的给药(口服、局部给药、经皮包括长期治疗和预防的药物控释)的药学剂量单位形式, 其有效用于治疗哺乳动物, 包括人类。用于此说明书和权利要求书中的术语“剂量单位形式”指物理上分散的单位, 适于给哺乳动物单个的服用, 每一个单位含有预定量的足够活性成分, 通过

为达到系统性给药而调整所述成分的药学方法，可计算得到所需的效果。

本发明相应的剂量单位形式的实施例是片剂、胶囊、存在于液体载体中的口服液体制剂、栓剂和干制剂，干制剂用于制备即用即制的，存在于在液体载体中的制剂。固体口服药物单位形式的固体稀释剂或载体选自脂类、碳水化合物、蛋白质、固体矿物质；如淀粉、蔗糖、高岭土、磷酸二钙、明胶、阿拉伯胶、玉米浆、玉米淀粉、滑石粉等等。胶囊，无论硬的还是软的，可使用常用的稀释剂和赋形剂制成，如食用油，碳酸钙、硬脂酸钙、硬脂酸镁等等。用于口服的液体药物制剂可制成水溶液或者水性溶液，最好含有助悬剂，如羧甲基纤维素钠、甲基纤维素、阿拉伯胶、聚乙烯吡咯烷酮、聚乙烯醇等等。

10 上述制剂在制造和储存时必须保持稳定，通常在基本的溶剂或者混悬液之外还含有具有杀菌剂和杀真菌剂性质的防腐剂，如羟苯烷基酯类、三氯叔丁醇、苜基醇、苯酚、乙基汞硫代水杨酸钠等等。在很多情况下，优选的含有等渗剂，如糖类、或氯化钠。载体和赋形剂包括植物油、水、乙醇、和多元醇如甘油、丙二醇、液态聚乙二醇等等。

15 药学上的剂量单位形式的制备是依据前面的一般描述，伴随着适应系统性给药的方法，提供每一剂量单位形式中必要的活性成分的有效剂量。通常，单位剂量形式将含有3-73%（重量）的必要活性成分。

20 用于与本发明方法相应的哺乳动物的治疗，由必要活性物质的精确剂量构成的一种有效的剂量，其如能根据实施临床治疗的特性、病况的严重程度、哺乳动物的种类、年龄、体重和状况施以与之相应的给药形式和确定的制剂，将会有很好效果。当需要给予精确剂量的情况下，可事先给予一试验剂量，然后观察临床反应以确定所需的精确剂量。总的来说，给药的有效剂量在对受药者体重大约每天~.1mg每千克到50mg每千克之间。优选每日0.5 mg/kg到大约25 mg/kg。大多数情况下，给药一个月即得到显著的反应且带来所需的治疗结果

25 在进行免疫学方面的治疗的情况下，可能需要长时间的每日重复给予多次剂量。

以下实施例用于且仅用于描述而无限制性的延伸意义。

### 实施例1

手工混合制备以下成分的混合物：

成分

数量

维拉帕米	20到240 mg
氯喹	20到1200 mg
槲皮素	10到500 mg

口服给予一剂量一天1-4次, 优选1-2次, 可有效减缓由病毒感染或者其他病源性原因引起的成年人免疫-缺陷症。

当给予感染HIV的成年人一日1-4剂量单位时, 水平可升至正常范围。

- 5 可见给予上述剂量单位混合物一天1-4次(优选1或2次), 可有效减缓由病毒感染或者其他病源性原因引起的成年人免疫-缺陷症。

### 实施例2

制备如下物质:

MP-1: A	35 µg/ml	维拉帕米 (35 ug)
MP-1: B	10 µg/ml	氯喹 (10 ug)
MP-1: C	4 µg/ml	槲皮素 (4 Rg)
MP-1: MIX	所有上述成分的组合	
MP-1: 1/2MIX	上述成分 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> 含量的组合	

- 10 给药4天后, 上述药物对被实验室改性的HIV病毒感染而导入病毒的外周血淋巴细胞产生的效果见诸图1。从中可发现, MP-1: MIX: 和MP-1: 1/2MIX 显示出协同的治疗效果且胜于AZT产生的效果。

### 实施例3

给药4天后, 上述药物对被耐HAART临床病毒分离株感染的外周血淋巴细胞的病毒负荷产生的效果见诸图2。其在此显示了优于AZT的协同治疗效果。

### 实施例4

- 15 维拉帕米 SR 180和槲皮素 150 mg对拒绝抗逆转录病毒疗法的高血压病人的CD4计数和病毒负荷产生的效果见诸图3, 从中可看出本发明的优点。

- 显然, 药物的含量和成分应根据疾病的程度和病人对单个药物成分的容纳能力而进行调整。更深一步的, 须知钙通道拮抗剂或喹啉的代谢产物应以适当地形式使用。再进一步的, 槲皮素的活性成分, 如多元酚类、糖甙类、黄酮类、  
20 和生物黄酮类应以适宜的含量提取及使用, 以得到所需的效果。

这样, 本发明的优点能得以实现, 且优选的具体实施方案已被公开。

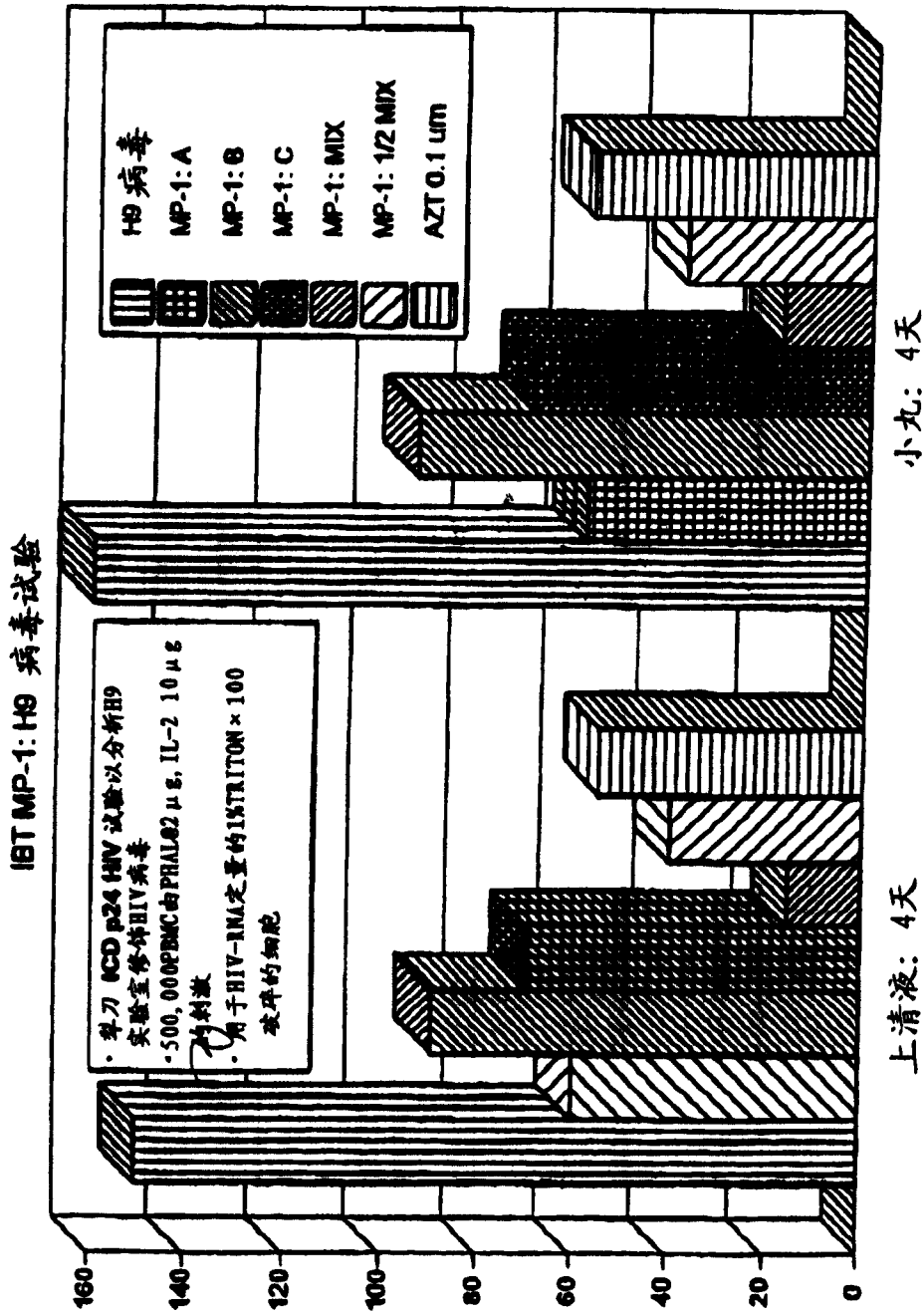


图 1

IBT MP-1: 耐药病毒试验

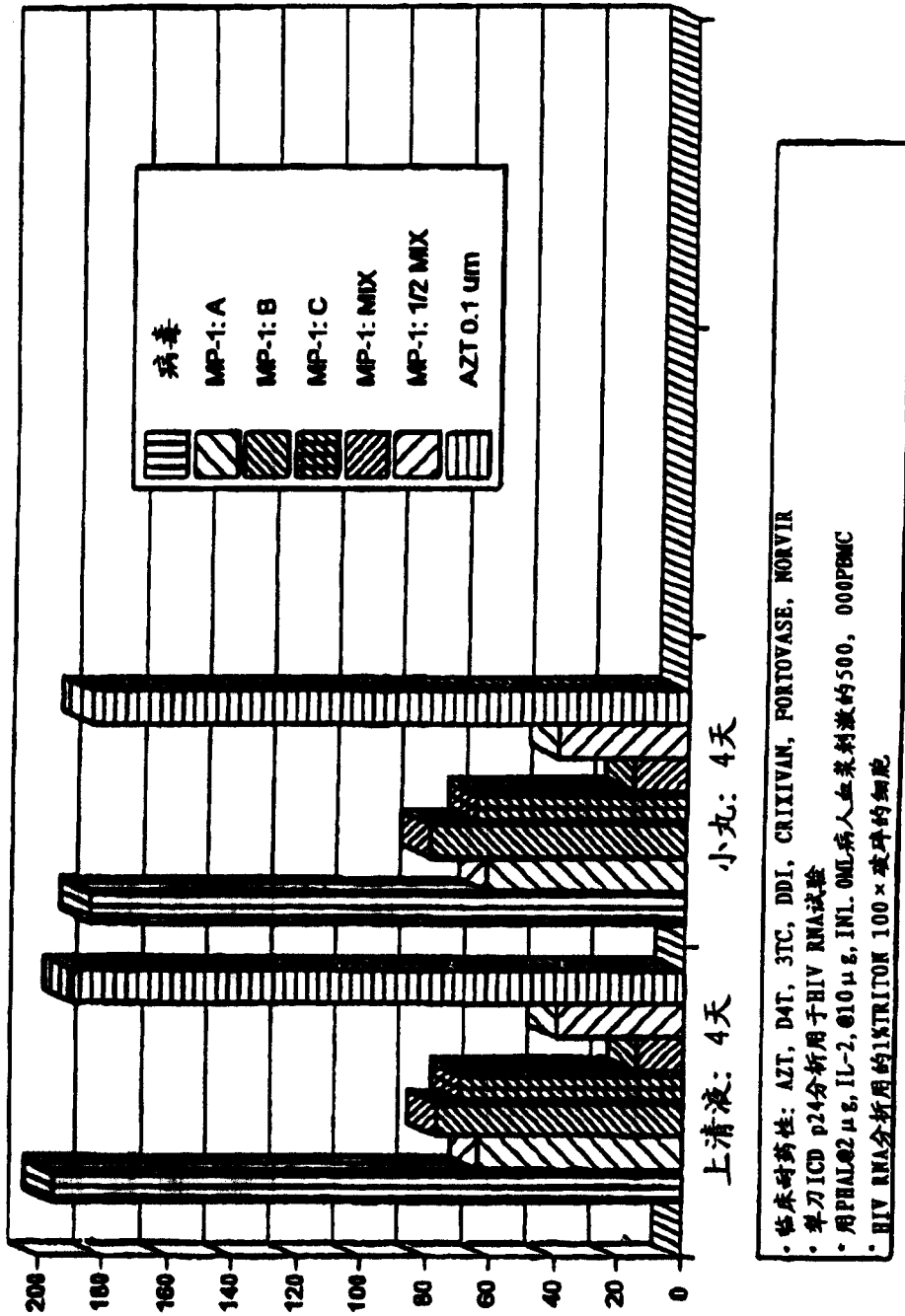


图 2

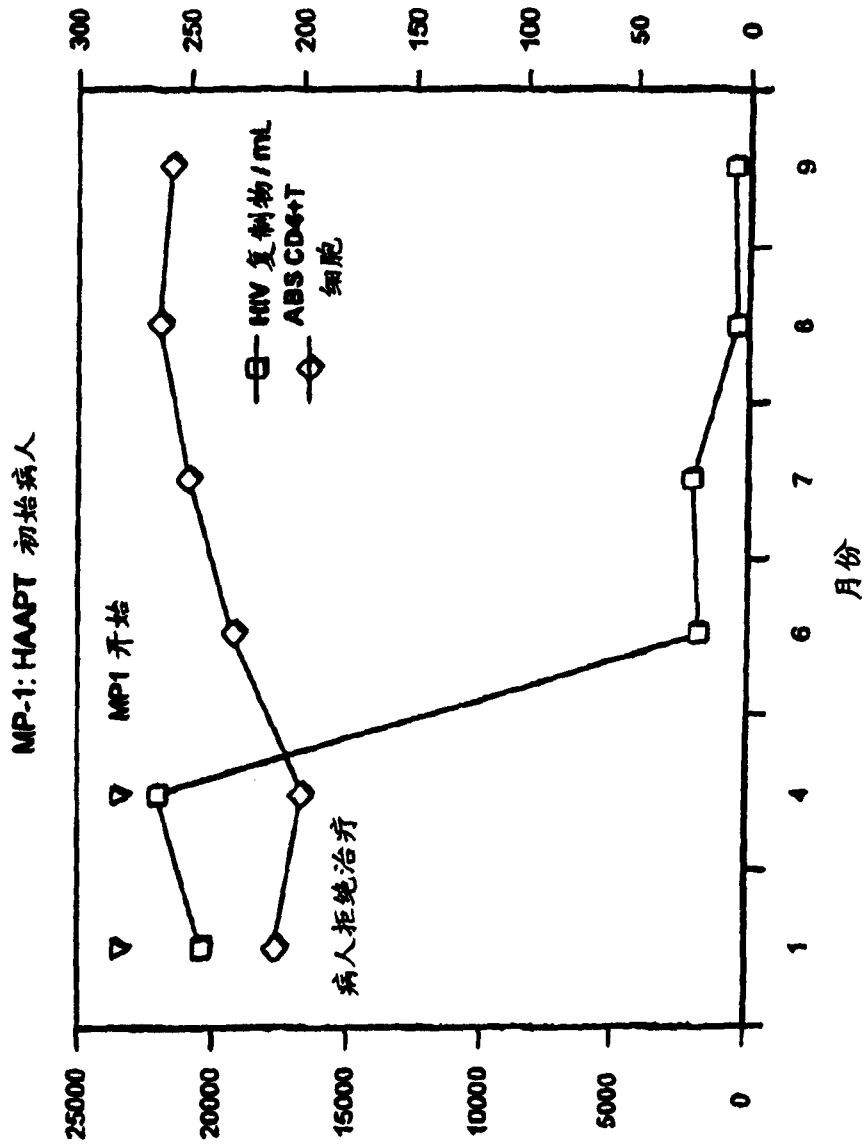


图 3