



(12) Ausschließungspatent

(11) DD 293 052 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 31/175

DEUTSCHES PATENTAMT

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21)	DD A 61 K / 338 268 0	(22)	29.08.89	(44)	22.08.91
(71)	Berlin-Chemie AG, Glienicker Weg 125, O - 1199 Berlin, DE				
(72)	Sydow, Günter; Schulze, Werner, Dr. rer. nat.; Schinkowski, Klaus, Dr. rer. nat.; Koßowicz, Joachim, Dipl.-Chem.; Voigt, Wolf-Eckehard, Dr. med., DE				
(73)	Berlin-Chemie AG, O - 1199 Berlin; Zentralinstitut für Krebsforschung der Akademie der Wissenschaften, O - 1115 Berlin, DE				
(54)	Verfahren zur Herstellung eines Mittels gegen retrovirale Erkrankungen				

(55) Mittel; retrovirale Erkrankungen; HIV; Bioverfügbarkeit; Toxizität; Injektion; Infusion; Lösungsvermittler; Tabletten; Kapseln; Dragee; Zäpfchen; Ambazon

(57) Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung eines Mittels gegen retrovirale Erkrankungen, das eine hohe Bioverfügbarkeit sichert. Anwendungsgebiet ist die pharmazeutische Industrie. Erfindungsgemäß wird Ambazon in Form der löslichen Salze mit pharmazeutischen Träger- und Hilfsstoffen verarbeitet und werden daraus Injektions- und Infusionslösungen, Tabletten, Kapseln, Dragees und Zäpfchen bereitet.

Patentansprüche:

1. Verfahren zur Herstellung eines Mittels mit hoher Bioverfügbarkeit und geringer Toxizität gegen retrovirale Erkrankungen, insbesondere HIV-Infektionen, **dadurch gekennzeichnet**, daß Ambazon [1,4-Benzochinonguananylhydrazonthiosemicarbazon] in Form seines Acetats oder seiner Hydroxycarbonsäuresalze Lactat oder Ascorbinat mit einem Resorptionsvermittler vom Typ eines Eiweiß-Fettsäure-Kondensates und/oder eines Aminosäure-Fettsäure-Kondensates versetzt und mit weiteren pharmazeutischen Zusatz- und Hilfsstoffen vermischt und zur Tablette oder einem Drageekern gepreßt und mit einem magensaftresistenten Überzug versehen, oder als magensaftresistente Kapsel formuliert wird.
2. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß der Resorptionsvermittler in Konzentrationen von 0,1 bis 20 % eingesetzt wird.

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft die Herstellung eines Mittels gegen retrovirale Erkrankungen, insbesondere gegen HIV-Infektion. Anwendungsgebiet ist die pharmazeutische Industrie.

Charakteristik des bekannten Standes der Technik

Seitdem nachgewiesen wurde, daß Retroviren nicht nur beim Tier die Ursache für maligne und andere destruktive Erkrankungen sein können, sondern auch beim Menschen das kausale Agens für bestimmte Leukämien (HTLV-1 und HTLV-2) und für das Acquired Immundeficiency Syndrom = AIDS (HIV-1 und HIV-2) sind, hat die Suche nach Substanzen, die die Infektion bzw. Replikation dieser Viren verhindern oder zumindest signifikant hemmen, eine außerordentlich starke Zunahme erfahren. Gegen die bei zahlreichen Spezies durch Retroviren verursachten Erkrankungen konnten bisher noch keine Mittel zur Anwendung gelangen. In der Humanmedizin kommt zur Zeit lediglich ein Mittel in größerem Umfang gegen AIDS mit einigem Erfolg zum Einsatz, das AZT 1-(3'-Azido-2',3'-dideoxy-β-D-erythro-pentofuranosyl)thymidin, das jedoch schwer herstellbar und außerdem teuer ist. Darüber hinaus führt auch dieses Therapeutikum nur zu einem vorübergehenden Aufschub der Erkrankungen und zeigt erhebliche toxische Nebeneffekte, die seinen Einsatz begrenzen. Eine völlige Heilung der durch Retroviren bedingten Erkrankungen ist im Augenblick nicht gegeben. Zur Zeit besteht keine Möglichkeit, die Expression der einmal in das Zellgenom eingebauten Proviren völlig und auf Dauer zu stoppen bzw. die von infizierten Zellen gebildeten Viren restlos zu inaktivieren. Es kann somit nur versucht werden, die Infektion weiterer Zellen zu verhindern, um den Krankheitsverlauf möglichst zu verlangsamen. Eine Schutzimpfung ist in den nächsten Jahren ebenfalls nicht zu erwarten.

Ziel der Erfindung

Die Erfindung hat das Ziel, ein Verfahren zur Herstellung eines Therapeutikums gegen alle durch Retroviren verursachten Erkrankungen bei Mensch und Tier zu entwickeln.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein Verfahren zur Herstellung eines neuen Mittels gegen retrovirale Erkrankungen mit hoher Bioverfügbarkeit und geringer Toxizität aufzuzeigen. Die Aufgabe wird erfindungsgemäß gelöst, indem ein Mittel aus Ambazon [1,4-Benzochinonguananylhydrazonthiosemicarbazon] in Form des löslichen Salzes als Acetat oder als Hydroxycarbonsäuresalz wie Lactat oder Ascorbinat als Injektions- oder Infusionslösung zubereitet wird. Ambazon kann auch unter Verwendung eines Lösungsvermittlers, gegebenenfalls unter Beimengung von Ascorbinsäurelösung, direkt zur Injektions- oder Infusionslösung formuliert werden. Als Lösungsvermittler dient in diesem Fall Glycerol in 100facher Menge. Der Wirkstoff in Form der löslichen Salze kann unter Zusatz eines Resorptionsvermittlers wie 0,1 % bis 20 % eines Eiweiß-Fettsäure-Kondensates und/oder eines Aminosäure-Fettsäure-Kondensates mit weiteren pharmazeutischen Zusatz- und Hilfsstoffen zu Tabletten oder Drageekernen gepreßt und mit einem magensaftresistenten Überzug versehen werden. Er kann auch als magensaftresistente Kapsel formuliert werden. Außerdem kann der Wirkstoff in der Form des löslichen Salzes mit einem Resorptionsvermittler, wie oben beschrieben, und weiteren pharmazeutischen Zusatz- und Hilfsstoffen zu einer Zäpfchengrundmasse verarbeitet werden, aus der Zäpfchen geformt werden. Das Mittel bietet die Möglichkeit, die Virämie (Virusgehalt im Blut) erheblich zu senken und die in bestimmten Fällen auftretende Entartung normaler Gewebe erheblich einzuschränken. Dies ist vor allem für die Humanmedizin nach einer bekannt gewordenen HIV-Infektion von Bedeutung, um die Entwicklung der AIDS-Erkrankung zu verhindern oder wenigstens stark zu verlangsamen. Hierbei muß besonders die Möglichkeit einer Kombinationstherapie mit anderen einsetzbaren Mitteln in Erwägung gezogen werden, um toxische Nebenwirkungen bei Langzeitbehandlungen zu reduzieren. Da das Mittel als anti-neoplastisches und anti-bakterielles Therapeutikum bereits produziert und angewendet wird, und somit zahlreiche pharmakokinetische und andere Untersuchungen schon erfolgt sind, bietet die Substanz u. a. den Vorteil einer schnellen Einsetzbarkeit.

Ausführungsbeispiele**Herstellung des Mittels****Beispiel 1**

1 g Ambazon wird in 100 ml Glycerol mittels Erwärmung gelöst. Unmittelbar vor der Injektion werden zu 1 Teil dieser Lösung 3 Teile steriles Wasser gegeben.

Beispiel 2

1 g Ambazon wird mit 4 g Milchzucker/Stärke gemischt und zu Tabletten oder Drageekernen gepreßt, die mit einem magensaftresistenten Überzug versehen werden.

Beispiel 3

2 g Ambazonacetat werden in 100 ml sterilem Wasser aufgelöst und steril filtriert. Die Lösung kann als Injektions- oder Infusionslösung eingesetzt werden.

Beispiel 4

5 g Ambazonascorbinat werden in 100 ml sterilem Wasser aufgelöst und steril filtriert. Die Lösung kann als Injektions- oder Infusionslösung eingesetzt werden.

Beispiel 5

5 g Ambazon werden mit 50 mg Na-Lauroylleucin intensiv vermischt. Das so erhaltene Gemisch wird zu jeweils 250 mg in handelsüblichen Gelatinekapseln abgefüllt.

Beispiel 6

44,5 g Rosupol U,
5,0 g Ambazon und
0,5 g N-Lauroylleucin
werden intensiv miteinander gemischt.
Nach üblichen Verfahren werden daraus 25 Zäpfchen zu 2 g hergestellt.

Anwendung des Mittels

Als Modellversuch wurden das Retrovirus der Rauscher-Leukämie und als Tierspezies Mäuse des Stammes Balb/c/Blm ausgewählt. Die Infektion der Tiere erfolgte durch i. p.-Applikation von virushaltigem Serum (ca. 1:100 mit PBS verdünnt). An sieben darauffolgenden Tagen erfolgte die orale oder i. p.-Verabreichung der Substanz (0,5 bis 2,0 mg/Tier pro Applikation). Die Gesamtdosis lag zwischen 8 bis 16 mg je Tier. 18 bis 25 Tage nach der Retrovirusinfektion wurden die Tiere getötet und die Milzgewichte sowie im Serum der Virusgehalt ermittelt (Revertase-Test; RT = dpm/µl Serum).

Die folgend aufgeführten Versuchsbeispiele zeigen deutlich, daß durch Verabreichung der Substanz eine starke Verminderung des Milzgewichtes sowie der Virämie bewirkt wird. Toxische Effekte wurden bei der angewandten Dosierung bei den Tieren nicht beobachtet (Sterberate, Gewichtsabnahme, starke Abweichung der Leukozytenzahl).

Beispiel 7

Balb/c oo, 12 Wochen alt

1. Gruppe = 9 Mäuse, am 1. Tag RLV-Infektion
2. Gruppe = 8 Mäuse, am 1. Tag RLV-Infektion und am 2., 5., 7., 9. und 12. Tag je 2 mg Ambazon in PBS suspendiert und i. p. appliziert.
(= insgesamt 10 mg Ambazon/Tier)

Am 20. Tag wurden die Tiere beider Versuchsgruppen getötet:

	Milzgewicht/Tier	RT dpm/µl Serum
1. Gruppe	1,4 ± 0,4 g	66 000
2. Gruppe	0,5 ± 0,2 g	13 000

Beispiel 8

Balb/c ++, 15 Wochen alt

1. Gruppe = 10 Tiere, am 1. Tag RLV-Infektion
2. Gruppe = 10 Tiere, am 1. Tag RLV-Infektion und am 2. bis 19. Tag täglich 0,5 mg Ambazon gelöst im Trinkwasser der Tiere.
(= insgesamt 9 mg Ambazon/Tier)

Am 21. Tag wurden die Tiere beider Gruppen getötet:

	Milzgewicht/Tier	RT dpm/µl Serum
1. Gruppe	2,3 ± 0,4 g	65 000
2. Gruppe	1,2 ± 0,5 g	20 000

Beispiel 9

Balb/c ++, 8 Wochen alt

1. Gruppe = 10 Tiere, am 1. Tag RLV-Infektion

2. Gruppe = 8 Tiere, am 1. Tag RLV-Infektion und am 3., 6., 8. und 10. Tag je 1 mg Ambazon und am 13. Tag sowie am 15. Tag je 2 mg Ambazon in 10%igem Glycerol i.p. appliziert.
(= insgesamt 8 mg Ambazon/Tier)

Die Tiere beider Versuchsgruppen wurden am 25. Tag getötet:

	Milzgewicht/Tier	RT dpm/ μ l Serum
1. Gruppe	1,3 + 0,4 g	93 000
2. Gruppe	0,4 + 0,1 g	900

Beispiel 10

Balb/c ++, 14 Wochen alt

1. Gruppe = 14 Tiere, am 1. Tag RLV-Infektion

2. Gruppe = 14 Tiere, am 1. Tag RLV-Infektion und am 2., 3., 6., 8., 10., 13., 15. und 17. Tag je 2 mg Ambazon gelöst in 0,2 ml 50%igem Glycerol per os appliziert.
(= insgesamt 16 mg Ambazon/Tier)

Am 20. Tag wurden von jeder Versuchsgruppe 7 Tiere (a) getötet. Von den jeweils verbliebenen 7 Tieren (b) jeder Gruppe wurde die Überlebenszeit ermittelt.

	Milzgewicht/Tier (a)	RT dpm/ μ l Serum (a)	Überlebenszeit (b)
1. Gruppe	2,1 + 0,3 g	122 000	30 + 7 Tage
2. Gruppe	0,9 + 0,4 g	58 000	41 + 18 Tage

Das letzte Beispiel belegt, daß die Substanz neben ihrer hemmenden Wirkung auf die Virämie und Splenomegalie auch eine Verlängerung der Überlebenszeit bewirkt, obwohl die Applikation in diesem Versuch bereits am 17. Tag beendet wurde.