



(12) Ausschließungspatent

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1 Patentgesetz

(19) **DD** (11) **261 095 A5**

4(51) **A 61 K 31/52**
A 61 K 31/10
A 61 K 31/075.

AMT FÜR ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21)	AP A 61 K / 299 551 3	(22)	29.01.87	(44)	19.10.88
(31)	8602346	(32)	30.01.86	(33)	GB

(71) siehe (73)
 (72) Zimmermann, Thomas P.; Wolberg, Gerald, US
 (73) THE WELLCOME FOUNDATION LIMITED, 183-193 Euston Road, London NW1 2BP, GB
 (74) Patentanwaltsbüro Berlin, Frankfurter Allee 286, Berlin, 1130, DD

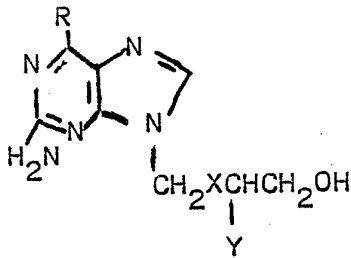
(54) Verfahren zur Herstellung einer antiviralen Kombination

(55) Verfahren, Antivirus-Kombinationen, Nucleosid-Analoga, Virus-DNS-Polymerase-Inhibitoren, Enzym, Transport-Inhibitoren, Herpes-Virus-Infektionen

(57) Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung einer antiviralen Kombination von Nucleosid-Analoga, die durch die Wirkung mindestens eines virusinduzierten Enzyms in Virus-DNS-Polymerase-Inhibitoren umgewandelt werden, und Nucleosid-Transportinhibitoren. Diese Kombinationen sind für die Bekämpfung von Herpes-Virus-Infektionen besonders nützlich.

Patentansprüche:

1. Verfahren zur Herstellung einer antiviralen Kombination aus
 - (a) einer Antivirusverbindung, die von mindestens einem virusinduzierten Enzym für die in vivo Umwandlung in einen Inhibitor von und/oder ein alternatives Substrat für Virus-DNS-Polymerase abhängig ist, und
 - (b) einem nicht-toxischen Nucleosid-Transportinhibitor
 wobei die Komponenten (a) und (b) der Kombination in einem Verhältnis eingesetzt werden, durch das eine synergistische Antiviruswirkung erzielt wird, **dadurch gekennzeichnet**, daß man die Antivirusverbindung (a) mit dem Nucleosid-Transportinhibitor (b) zur Bildung der Kombination zusammenbringt.
2. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß es sich bei der Antivirusverbindung um eine Verbindung der Formel (1)



(worin X Sauerstoff oder Schwefel ist, R Wasserstoff, Hydroxy oder Amino ist und Y Wasserstoff oder Hydroxymethyl ist), und physiologisch annehmbare Salze und Ester davon handelt.

3. Verfahren nach Anspruch 2, **dadurch gekennzeichnet**, daß es sich bei der Antivirusverbindung um 9-[(2-Hydroxyethoxy)methyl] guanin und physiologisch annehmbare Salze und Ester davon handelt.
4. Verfahren nach Anspruch 1 oder Anspruch 2, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Antivirusverbindung 2-Amino-9-[(2-hydroxyethoxy)methyl]purin ist.
5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, **dadurch gekennzeichnet**, daß der Nucleosid-Transportinhibitor Dilazep, Dipyrodamol oder 6-[(4-Nitrobenzyl)thio]-9-(β-D-ribofuranosyl)purin oder ein physiologisch annehmbares(r) Salz oder Ester davon ist.
6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 5, **dadurch gekennzeichnet**, daß die resultierende Kombination anschließend mit mindestens einem pharmazeutischen Trägermittel oder Arzneimittelträger zur Bildung einer pharmazeutischen Formulierung vermischt wird.

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft neue Antivirus-Kombinationen zur chemotherapeutischen Behandlung von Virusinfektionen, vor allem von Viren der Herpes-Gruppe.

Charakteristik des bekannten Standes der Technik

In den letzten zehn Jahren oder schon früher sind verschiedene chemotherapeutische Antivirusmittel für die klinische Erprobung entwickelt worden. Bei der Entwicklung solcher Mittel gibt es das folgende Problem dadurch, daß Viren, im Unterschied zu Bakterien, keine freilebenden Organismen sind, sondern für ihre Replikation von Lebensprozessen der Wirtszelle, die sie infizieren, abhängig sind. Es wäre daher sehr wünschenswert, wenn das Antivirusmittel seine Wirkung speziell auf den Replikationsprozeß des Virus ausüben würde, anstatt auf die entsprechenden Prozesse normaler (nicht-infizierter) Zellen. Bei den bisher entwickelten Antivirusmitteln erfolgt die Ausübung ihrer Antiviruswirkung über eine Anzahl von Mechanismen, wobei solche Mechanismen die Inhibition verschiedener Stadien im Virus-Replikationsprozeß in der Wirtszelle umfassen. Ein besonderes Replikationsstadium, in dem das Virus auf Inhibition reagiert, ist das Stadium der Nucleinsäurereplikation. Im Falle von DNS-Viren umfaßt die Erzeugung von neuer Virus-DNS die Wechselwirkung der Enzym-DNS-Polymerase mit den Bestandteil-Nucleotiden (speziell Desoxyribonucleotiden), die als Baublöcke für die neue DNS fungieren. Die Antivirus-Wirkung umfaßt in diesem Stadium im allgemeinen den Metabolismus von Nucleosid-Analoga zu „arglistigen“ oder schädlichen Nucleotiden, die die normalen Virusstoffe nachahmen und sich entweder um die DNS-Polymerase bewerben oder in die Virus-DNS-Kette eingebaut werden, um sie funktionsunfähig zu machen.

Diese „arglistigen“ oder schädlichen Nucleotide weisen ein von einem Nucleosid-Analogen abgeleitetes Nucleotid-Triphosphat auf, das durch Enzyme zuerst in das Monophosphat und dann anschließend in das Diphosphat und schließlich in das Triphosphat umgewandelt wird. Ein Beispiel für diesen Typ von Antivirum ist Acyclovir (d. h. 9-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]guanin), das mit dem natürlich vorkommenden Nucleosid, Guanosin, verwandt ist, das aber eine acyclische Seitenkette in der 9-Stellung im Gegensatz zu einem cyclischen Zuckerrest, der in dieser Stellung im Guanosin vorhanden ist, enthält. Der Antivirum-Wirkungsmechanismus von Acyclovir umfaßt zuerst dessen Penetration der Zellmembran und dann seine Umwandlung in Acyclovir-Monophosphat durch das virus-spezifizierte Enzym Thymidinkinase. Acyclovirmonophosphat wird sofort nach seiner Bildung durch normale Zellenzyme (Kinasen) in das Diphosphat und anschließend in Acyclovirtriphosphat (ACVTP) umgewandelt. Acyclovirtriphosphat dient als Inhibitor für Virus-DNS-Polymerase, weil es dem natürlichen Nucleotid-Substrat, Desoxyguanosintriphosphat (dGTP) ähnelt, und infolgedessen mit dGTP um die Bindung an die DNS-Polymerase konkurriert und daher die Wirksamkeit des Enzyms und folglich die Virusreplikation konkurrierend inhibiert. Wenn ACVTP als Substrat für DNS-Polymerase dient, wird es in die Virus-DNS-Kette eingebaut; da ihm aber die 3'-Hydroxylgruppe der cyclischen Zuckerkomponente fehlt, wirkt es als DNS-Ketten-Terminator. Offensichtlich inhibiert es auch die Virus-DNS-Polymerase. Die Virusreplikation wird dadurch verhindert.

Daher besteht die Antivirum-Wirkung von Acyclovir und verwandten Verbindungen, die über eine analoge Aktionsweise wirksam werden, in der konkurrierenden Inhibition und der scheinbaren Inaktivierung der Virus-DNS-Polymerase.

Ein mit einem konkurrierenden Inhibitor verbundener nachteiliger Aspekt ist, daß sich das konkurrierende Substrat für das betreffende, in Frage kommende Enzym ansammeln kann und dadurch der Bindung des Inhibitors entgegenwirken kann. Auf diese Weise kann die Ansammlung von beispielsweise Thymidin die Bindung von Acyclovir an die virus-spezifizierte Thymidinkinase behindern und somit der anschließenden Phosphorylierung von Acyclovir entgegenwirken, wobei von der Phosphorylierung gezeitigt wurde, daß sie ein wichtiger Schritt für die Antivirum-Wirkung dieses Medikamentes ist.

Ziel der Erfindung

Mit der Erfindung sollen die aufgezeigten Mängel des Standes der Technik beseitigt werden.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Es wurde jetzt entdeckt, daß die Anwendung eines Nucleosid-Transport-Inhibitors in Verbindung mit einem Antivirummittel des oben beschriebenen Typs überraschenderweise die Mengen des Antivirummittels in der Zelle nicht beeinträchtigt, obwohl das Einströmen von natürlich vorkommenden Nucleosiden, z. B. Thymidin, in die Zelle verringert wird. Man nimmt an, daß das durch den Nucleosid-Transport-Inhibitor hervorgerufene Einschränkung des Einströmens von physiologisch vorkommenden Nucleosiden zurückzuführen ist, und folglich das Verhältnis von Antivirumverbindung zu dem konkurrierenden Nucleosidsubstrat der virus-spezifierten Thymidinkinase stark verbessert wird. Die Phosphorylierung der virus-spezifierten Antivirumverbindung wird dadurch verstärkt.

Als echtes Ergebnis wird erreicht, daß die Anwendung eines Nucleosid-Transport-Inhibitors in Kombination mit einem Antivirummittel des oben beschriebenen Typs zu einer überraschenden synergistischen Steigerung der Antivirumwirksamkeit führt, wenn man sie mit den Antivirumwirkungen der einzelnen Bestandteile der Kombination vergleicht. In Wirklichkeit können Nucleosid-Transport-Inhibitoren trotz allem keine Antivirumwirkung ausüben. Es ist besonders überraschend, daß Inhibitoren des Nucleosidtransportes die Aktivität der erfindungsgemäßen Antivirumverbindungen verstärken sollen, weil solche Antivirumverbindungen vielleicht infolge ihrer strukturellen Ähnlichkeit auf dem gleichen Wege wie natürlich vorkommende Nucleoside Zugang zu den Zellen erlangen können. Somit könnte man erwarten, daß die Antivirumverbindungen auch dadurch inhibiert werden, daß sie Zugang zu den Zellen finden. Es konnte aber jetzt ermittelt werden, daß das nicht der Fall ist.

Nach einem ersten erfindungsgemäßen Aspekt wird eine Kombination aus (a) einer Antivirumverbindung, die in vivo durch ein virus-induziertes Enzym in einen Inhibitor von einer, und/oder ein alternatives Substrat für eine Virus-DNS-Polymerase, umgewandelt wird, und (b) einem Nucleosid-Transport-Inhibitor zur Verfügung gestellt, wobei die Komponenten (a) und (b) der Kombination in einem Verhältnis verwendet werden, durch das eine synergistische Antivirumwirkung erzielt wird.

Durch die Bezeichnung „synergistische Antivirumwirkung“ soll eine Antivirumwirkung gekennzeichnet werden, die größer als die vorausgesagten additiven Wirkungen der einzelnen oben definierten Bestandteile der Kombination ist.

Nach einem zweiten Aspekt der Erfindung wird eine Kombination nach obiger Beschreibung für die Anwendung in der medizinischen Therapie, vor allem für die Behandlung oder Prophylaxe von Herpes-Virusinfektionen, vor allem für Infektionen mit Herpes simplex, Varicella Zoster, Cytomegalovirus (CMV) und Epstein-Barr-Virus (EBV) zur Verfügung gestellt.

Ein noch weiterer Aspekt der Erfindung betrifft die Anwendung einer Kombination nach obiger Beschreibung bei der Herstellung eines Medikamentes zur Behandlung oder Prophylaxe von Herpes-Virus-Infektionen.

Die Erfindung betrifft außerdem ein Verfahren zur Behandlung oder Prophylaxe von Viruserkrankungen bei einem Menschen oder Tier, wobei dem Menschen oder Tier eine wirksame Menge einer Kombination nach obiger Definition verabreicht wird. Man wird einsehen, daß die Antivirumverbindung und der Nucleosid-Transport-Inhibitor in Übereinstimmung mit der Erfindung gleichzeitig oder nacheinander oder sogar auf verschiedenen Wegen verabreicht werden können. Im zuletzt genannten Fall werden die Bestandteile der Kombination jedoch innerhalb eines so kurzen Intervalls verabreicht, daß eine synergistische Antivirumwirkung auf jeden Fall erzielt wird.

Die Erfindung betrifft auch ein Verfahren, durch das in einem durch ein Virus infizierten Säugetier die Antivirumaktivität von einer Antivirumverbindung verstärkt werden soll, die dem Säugetier verabreicht wird, und die für die Umwandlung in ein schädliches Substrat und/oder einen Inhibitor von Virus-DNS-Polymerase von einem virus-induzierten Enzym abhängt, wobei das Verfahren in der Verabreichung einer wirksamen, nicht-toxischen, verstärkenden Menge eines Nucleosid-Transport-Inhibitors an das Säugetier gleichzeitig mit der, vor der oder anschließend an die Verabreichung der Antivirumverbindung besteht.

Die erfindungsgemäße Kombination weist den Vorteil auf, daß man mit ihrer Hilfe eine verbesserte Antivirum-Wirksamkeit bei einer bestimmten Dosis der Antivirumverbindung (im Vergleich zu der alleine verwendeten Verbindung) erzielen kann und dadurch den therapeutischen Index der Verbindung verbessern kann. So kann die Kombination beispielsweise zur Behandlung

von Zuständen verwendet werden, für die sonst verhältnismäßig große Mengen der Antiviruserbindung erforderlich wären, bei denen Toxizitätsprobleme auftreten können. Die geringeren Mengen der Kombination können zu größerer Annehmlichkeit für die Patienten und besserer Aufnahme führen.

Die erfindungsgemäße Kombination ist besonders für die Behandlung oder Prophylaxe von Infektionen mit Herpes Simplex der Typen 1 und 2 anwendbar, es können aber auch andere Herpes-Virus-Infektionen behandelt werden, zum Beispiel Infektionen mit Varicella Zoster, Cytomegalovirus und Epstein-Barr-Virus. In bezug auf die Antiviruserbindung ist zu sagen, daß diese von einer Verbindung der Formel (I) ausgewählt werden kann, die in vivo durch virus-induzierte Enzyme phosphoryliert wird. Solche Verbindungen sind im allgemeinen Substrate für ein entsprechendes von Viren stammendes Kinaseenzym, das die Verbindungen phosphoryliert, daß anfangs ein Monophosphat gebildet wird, das danach phosphoryliert wird (gleichfalls durch Kinaseenzyme, entweder viralen oder zellulären Ursprungs), und zwar zuerst zu dem Diphosphat und schließlich zu dem Triphosphat, das als DNS-Polymerase-Inhibitor dient. Durch die Verwendung einer Antiviruserbindung, die selektiv durch Virusenzyme und weniger durch Zellenzyme phosphoryliert wird, ergibt sich eine höhere Konzentration des phosphorylierten Materials in den infizierten Zellen als in nicht-infizierten Zellen, und dadurch wird eine selektivere Antiviruserwirkung geschaffen. Es wird auch bevorzugt, eine Antiviruserbindung zu verwenden, bei der es sich nicht nur um einen DNS-Polymerase-Inhibitor handelt, sondern auch, wenn sie in die Virus-DNS-Kette eingebaut ist, um einen Ketteterminator und möglicherweise einen Inaktivator der Virus-DNS-Polymerase.

So wird zum Beispiel das oben erwähnte Acyclovir durch viruskodierte Thymidinkinase (aber nicht in bemerkenswertem Ausmaß durch zelluläre Thymidinkinase) in das Monophosphat umgewandelt, das anschließend durch Zellenzyme über das Diphosphat in Triphosphat umgewandelt wird. Acyclovir ist auch ein DNS-Ketten-Terminator. Der Mechanismus von Acyclovir und anderen Antiviruser-Nucleosid-Analoga wird durch de Clerque in „New Trends in Antiviral Chemotherapy“ (Neue Trends in der Antiviruser-Chemotherapie), Archives Internationales de Physiologie et de Biochimie, 1979, **87** (2), Seiten 353 bis 395, beschrieben.

Die in den erfindungsgemäßen Kombinationen verwendete Antiviruserbindung kann zum Beispiel unter Acyclovir und Analoga davon, z. B. denjenigen Verbindungen der Formel



(worin X Sauerstoff oder Schwefel ist, R Wasserstoff, Hydroxy oder Amino ist und Y Wasserstoff oder Hydroxymethyl ist) und physiologisch annehmbaren Salzen und Estern davon ausgewählt werden.

Neben Acyclovir umfassen Beispiele bevorzugter Verbindungen der Formel (I) zur Verwendung gemäß der Erfindung 9-[[2-(2-Hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethoxy)methyl]guanin sowie Vorprodukte die in vivo in die obigen Verbindungen umgewandelt werden, z. B. 2-Amino-9-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-adenin, 9-[[2-(2-Hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethoxy)methyl]-2,6-diaminopurin und 2-Amino-9-[(2-hydroxyethoxy)methyl]purin.

Die oben beschriebenen Antiviruserverbindungen können durch Verfahren gewonnen werden, die in der Literatur beschrieben werden, zum Beispiel in den GB-PS 1.523.865A und 2.104.070A und der EU-PS 108.285.

Die für die erfindungsgemäße Anwendung vorgesehenen Nucleosid-Transport-Inhibitoren können jeder nicht-toxische Nucleosid-Transport-Inhibitor sein. Besonders bevorzugte erfindungsgemäße Verbindungen sind Dilazep, Dipyridamol, 6-[[4-Nitrobenzyl]thio]-9-(β-D-ribofuranosyl)purin, Papaverin, Mioflazin, Hexobendin und Lidoflazin oder physiologisch annehmbare Salze und Ester davon. Man sollte beachten, daß diese bevorzugten Verbindungen eine große Veränderlichkeit in der chemischen Struktur aufweisen, obwohl sie die übliche biochemische Eigenschaft der Nucleosid-Transport-Inhibition besitzen.

Die oben beschriebenen Nucleosid-Transport-Inhibitoren können beispielsweise wie in den folgenden Veröffentlichungen beschrieben hergestellt werden Dipyridamol

(GB-PS 807.826), Dilazep (GB-PS 1.107.470), Hexobendin (US-PS 3.267.103), Lidoflazin (GB-PS 1.055.100) Mioflazin (EU-PS 0.068.544), Papaverin (Popp, F. D. und McEwen W. E., J. Am. Chem. Soc. (1957), **79**, 3773-3777), 6-[[4-Nitrobenzyl]thio]-9-(β-D-ribofuranosyl)purin (Brajewar, P., Chen, M. F., Paterson, A. R. P., J. Med. Chem. (1975), **18**, Nr. 10. 968-973).

Die Erfindung betrifft des weiteren ein Verfahren zur Herstellung der oben definierten erfindungsgemäßen Kombinationen, das in der Vereinigung der oben definierten Antiviruserbindung und eines Nucleosid-Transport-Inhibitors zur Schaffung einer synergistischen Antiviruserwirkung besteht.

Die erfindungsgemäßen Kombinationen können an den betreffenden Patienten in herkömmlicher Weise verabreicht werden. Wie oben angedeutet wurde, können die Antiviruserbindung und der Nucleosid-Transport-Inhibitor gleichzeitig (z. B. in einer pharmazeutischen Einheitsformulierung) oder getrennt (z. B. in einzelnen pharmazeutischen Formulierungen) verabreicht werden. Im allgemeinen können die Kombinationen auf örtlichem, oralem, rektalem oder parenteralem Wege (z. B. intravenös, subkutan oder intramuskulär) verabreicht werden. Die Dosis der Kombination wird von dem jeweiligen zu behandelnden Zustand abhängen, sowie von dem betreffenden Antivirusermittel und dem entsprechenden Nucleosid-Transport-Inhibitor sowie anderen klinischen Faktoren, wie dem Gewicht und dem Zustand des Patienten und dem Verabreichungsweg der Verbindung. Bei der Verabreichung auf oralem Wege ist jedoch eine Dosis der Antiviruserbindung von 1 bis 100 mg/kg/Tag, vorzugsweise von 10 bis 40 mg/kg/Tag, im allgemeinen ausreichend. Bei der Verabreichung auf dem parenteralen Wege reicht im allgemeinen eine Dosis der Antiviruserbindung von 1 bis 60 mg/kg/Tag, vorzugsweise von 15 bis 30 mg/kg/Tag, aus. Die Menge des Nucleosid-Transport-Inhibitors in der Kombination wird von der oben spezifizierten Menge der Antiviruserbindung unabhängig sein und wird ausreichen, um den Nucleosidtransport wirksam zu inhibieren, und vorzugsweise im Bereich von 0,1 bis 100 mg/kg/Tag und besonders im Bereich von 1 bis 20 mg/kg/Tag liegen.

Der Einfachheit halber werden die Antiviruserbindung und der Nucleosid-Transport-Inhibitor vorzugsweise in einer einzigen pharmazeutischen Formulierung verabreicht. Daher betrifft die Erfindung auch eine pharmazeutische Formulierung, die eine erfindungsgemäße, oben definierte Antiviruserbindung und einen Nucleosid-Transport-Inhibitor zusammen mit mindestens

Für die parenterale Verabreichung geeignete Formulierungen sind wäßrige und nicht-wäßrige sterile Injektionslösungen, die Antioxydationsmittel, Puffer, bakteriostatische Mittel und aufgelöste Stoffe enthalten, durch die die Formulierung mit dem Blut des vorgesehenen Empfängers isotonisch wird; sowie wäßrige und nicht-wäßrige sterile Suspensionen, die Suspendiermittel und Dichtungsmittel enthalten können. Die Formulierungen können in Ein-Dosis- oder Mehr-Dosis-Behältern, zum Beispiel versiegelten Ampullen und Glasfläschchen vorliegen und können in einem gefrier-getrockneten (lyophilisierten) Zustand aufbewahrt werden, denen unmittelbar vor der Anwendung nur das sterile flüssige Trägermittel, zum Beispiel Wasser für Injektionen, zugesetzt werden muß. Unvorbereitete Injektionslösungen und Suspensionen können aus sterilen Pulvern, Granulaten und Tabletten der zuvor beschriebenen Art hergestellt werden.

Bevorzugte Einheits-Dosis-Formulierungen sind diejenigen, die von dem Wirkstoff eine tägliche Dosis oder Einheit, eine tägliche Teildosis wie oben erläutert, oder einen entsprechenden Teil davon enthalten.

Es ist selbstverständlich, daß die erfindungsgemäßen Formulierungen neben den oben besonders erwähnten Bestandteilen andere, im Fachgebiet übliche Mittel enthalten können, die für die betreffende Art der Formulierung in Betracht kommen, zum Beispiel können die für die orale Verabreichung geeigneten Geschmacksstoffe enthalten sein.

Antivirus-Aktivität

1) Beispiele für die Wirksamkeit von Dilazep, Dipyridamol und 6-[(4-Nitrobenzyl)thio]-9-β-D-ribofuranosyl)purin (Verbindung A) und Acyclovir (ACV) sowie Kombinationen von ACV mit jedem der vorstehenden Nucleosid-Transport-Inhibitoren gegenüber Herpes-Simplex-Virus werden in Tabelle I gezeigt.

Die Antivirus-Aktivität wurde unter Anwendung einer Fleck-Reduktions-Analyse bestimmt. Petrischalen wurden mit Vero-Zellen besät, die danach bis zum Zusammenwachsen gezüchtet wurden. Jede Schale wurde anschließend mit einer bestimmten Anzahl von fleckenbildenden Einheiten (etwa 100 bis 500) von Herpes Simplex Typ 1 (Stamm KOS) infiziert. Die Inhibitoren wurden, entweder alleine oder in den angegebenen Kombinationen, gelöst, um die angegebenen Konzentrationen in minimalem essentiellm Medium zu erhalten, das 2% durch Wärme inaktiviertes fetales Kalbsserum und 0,5% Human-Immun-Serum-Globulin enthielt. Eine Stunde nach der Infektion wurden die Lösungen (10 ml je Schale) zu den Kulturen gegeben. Drei Tage später wurden die Kulturen mit Formalin fixiert und mit Kristallviolett gefärbt, und die Flecken wurden gezählt.

Tabelle 1

Inhibitor	Konz. (µm)	Durchschn. Fleckenzahl	% Inhibition
ACV	1,0	279,5	41,8
	2,5	133,5	72,3
	5,0	29,5	93,8
Dilazep	1,0	442,0	8,0
Dipyridamol	5,0	474,0	1,0
Verbindung A	2,0	484,0	0
Dilazep/ACV	1,0/1,0	88,5	81,5
	1,0/2,5	12,5	97,4
	1,0/5,0	1,0	99,8
Dipyridamol/ACV	5,0/1,0	100,0	79,2
	5,0/2,5	9,0	98,1
	5,0/5,0	2,0	99,6
Verbindung A/ACV	2,0/1,0	211,0	56,0
	2,0/2,5	27,5	94,3
	2,0/5,0	0	100,0

Durchschnittliche Anzahl von Flecken in Kontrollen = 480.

Ausführungsbeispiele

Das folgende Beispiel dient zur weiteren Erläuterung der Erfindung.

Pharmazeutische Formulierungen

In den folgenden Beispielen handelt es sich bei der Antivirusverbindung um Acyclovir und bei dem Nucleosid-Transport-Inhibitor um Dilazep.

Beispiel 1

Tablette	Masse (mg)
Nucleosid-Transport-Inhibitor	300
Antivirusverbindung	200
Lactose	105
Stärke	50
Polyvinylpyrrolidinon	20
Magnesiumstearat	10
	<hr/> 685

Die aktiven Verbindungen werden mit der Lactose und Stärke und das feuchte Granulat mit einer Lösung des Polyvinylpyrrolidinons vermischt. Die Granulate werden getrocknet, gesiebt und mit Magnesiumstearat vermischt und gepreßt.

einem pharmazeutischen Trägermittel oder Arzneimittelträger enthält, wobei die Antiviruserbindung und der Nucleosid-Transport-Inhibitor in der Formulierung in einem Verhältnis vorhanden sind, durch das eine synergistische Antiviruserwirkung nach der Verabreichung an einen Menschen oder ein Tier erzielt wird.

Die Formulierungen umfassen solche, die für die orale, rektale, nasale, örtliche (einschließlich bukkale und sublinguale), vaginale oder parenterale (einschließlich subkutane, intramuskuläre, intravenöse, intradermale, intrathekale und epidurale) Verabreichung geeignet sind. Die Formulierungen können am besten in Einheitsdosisform angeboten werden und können mit Hilfe herkömmlicher pharmazeutischer Techniken hergestellt werden. Solche Techniken sehen den Schritt vor, bei dem die Wirkstoffe mit dem (den) pharmazeutischen Trägermittel(n) oder Arzneimittelträger(n) zusammengebracht werden. Im allgemeinen werden die Formulierungen durch gleichmäßiges und inniges Vermischen der Wirkstoffe mit flüssigen Trägermitteln oder feinverteilten festen Trägermitteln oder beiden und anschließend, wenn erforderlich, Formen des Produktes hergestellt. Für die orale Verabreichung geeignete erfindungsgemäße Formulierungen können als einzelne Einheiten wie Kapseln, Pillen oder Tabletten angeboten werden, von denen jede bestimmte Mengen der Wirkstoffe enthält; sowie als Pulver oder Granulate; als Lösungen oder Suspensionen in einer wäßrigen Flüssigkeit oder einer nicht-wäßrigen Flüssigkeit; oder als Öl-in-Wasser-Emulsion oder als flüssige Wasser-in-Öl-Emulsionen. Eine Tablette kann durch Pressen oder Formen, wahlweise mit einem oder mehreren zusätzlichen Bestandteil(en), hergestellt werden. Gepreßte Tabletten können in einer geeigneten Maschine durch Zusammenpressen der Wirkstoffe in frei fließender Form, wie als Pulver oder Granulat, wahlweise mit einem Bindemittel, Gleitmittel, inerten Verdünnungsmittel, Konservierungsmittel, oberflächenaktiven Mittel oder Dispergiermittel vermischt hergestellt werden. Geformte Tabletten können so hergestellt werden, daß eine Mischung der pulverförmigen Verbindung, angefeuchtet mit einem inerten flüssigen Verdünnungsmittel in einer geeigneten Maschine geformt wird. Die Tabletten können wahlweise beschichtet oder markiert werden und können so formuliert werden, daß eine langsame oder gesteuerte Freisetzung des darin enthaltenen Wirkstoffes erfolgt. Bei Infektionen des Auges oder anderer äußerlicher Gewebe, z. B. des Mundes und der Haut, werden die Formulierungen vorzugsweise als örtliche Salbe oder Creme angewandt, die den Antiviruserstoff in einer Menge von beispielsweise 0,075 bis 20 Ma.-%/M, vorzugsweise 0,2 bis 15 Ma.-%/M und am besten von 0,5 bis 10 Ma.-%/M enthält. Wenn sie als Salbe formuliert werden, dann können die Wirkstoffe entweder mit einer paraffinischen oder einer wasser-mischbaren Salbengrundlage verwendet werden. Die Wirkstoffe können auch als Creme mit einer Öl-in-Wasser-Cremegrundlage formuliert werden. Alternativ kann die Antiviruserbindung örtlich verabreicht werden, während der Nucleosid-Transport-Inhibitor getrennt auf einem anderen Wege (z. B. oral, rektal, intravenös, subkutan oder intramuskulär) verabreicht wird.

Auf Wunsch kann die wäßrige Phase der Cremegrundlage zum Beispiel mindestens 30 Ma.-%/M eines mehrwertigen Alkohols, d. h. eines Alkohols mit zwei oder mehr Hydroxygruppen wie Propylenglycol, Butan-1,3-diol, Mannitol, Sorbitol, Glycerol und Polyethylenglycol, und Mischungen davon enthalten. Die örtlich anwendbare Formulierung könnte auch eine Verbindung enthalten, die die Absorption oder Penetration des Wirkstoffes durch die Haut oder andere befallene Bereiche verstärkt. Beispiele für derartige dermatologische Penetrationsverstärker sind Dimethylsulfoxid und verwandte Analoga.

Die Ölphase der erfindungsgemäßen Emulsionen kann in einer bekannten Weise aus bekannten Bestandteilen zusammengesetzt werden. Obwohl die Phase auch nur aus einem Emulgiermittel bestehen kann, so sollte sie doch möglichst eine Mischung aus mindestens einem Emulgiermittel mit einem Fett oder einem Öl oder sowohl einem Fett als auch einem Öl sein. Vorzugsweise ist ein hydrophiles Emulgiermittel zusammen mit einem lipophilen Emulgiermittel, das als Stabilisierungsmittel wirkt, vorhanden. Es wird auch bevorzugt, sowohl ein Öl als auch ein Fett einzumischen. Zusammen bilden das (die) Emulgiermittel mit oder ohne Stabilisierungsmittel das sogenannte Emulgierwachs, und das Wachs bildet zusammen mit dem Öl und/oder Fett die sogenannte Emulgiersalbengrundlage, die die ölige dispergierte Phase der Cremeformulierungen bildet.

Für die Verwendung in der erfindungsgemäßen Formulierung geeignete Emulgiermittel und Emulsionsstabilisierungsmittel sind Tween 60, Span 80, Cetostearylalkohol, Myristylalkohol, Glycerylmonostearat und Natriumlaurylsulfat.

Die Wahl geeigneter Öle oder Fette für die Formulierung wird durch die Erzielung der erwünschten kosmetischen Eigenschaften bestimmt, weil die Löslichkeit der aktiven Verbindung in den meisten Ölen, die für die Verwendung in pharmazeutischen Emulsionsformulierungen in Frage kommen, sehr gering ist. So sollte die Creme möglichst ein nicht-fettendes, nicht-färbendes und abwaschbares Produkt mit geeigneter Konsistenz sein, um ein Austreten aus den Tuben oder anderen Behältern zu verhindern. Gerad- oder verzweigt-kettige, ein- oder zweibasige Alkylester, wie Diisoadipat, Isocetylstearat, Propylenglycoldiester von Kokosnußfettsäuren, Isopropylmyristat, Decyloleat, Isopropylpalmitat, Butylstearat, 2-Ethylhexylpalmitat oder ein Verschnitt von als Crodamol CAP bekannten verzweigt-kettigen Estern können verwendet werden, wobei es sich bei den letzten drei um bevorzugte Ester handelt. Diese können alleine oder in Kombination je nach den verlangten Eigenschaften angewandt werden. Alternativ können hochschmelzende Lipide wie weißes Weichparaffin und/oder flüssiges Paraffin oder andere Mineralöle eingesetzt werden. Für die örtliche Anwendung für die Augen geeignete Formulierungen umfassen auch Augentropfen, in denen die Wirkstoffe in einem geeigneten Trägermittel, besonders einem wäßrigen Lösungsmittel für den Wirkstoff, gelöst oder suspendiert sind. Der Antiviruserstoff ist in derartigen Formulierungen vorzugsweise in einer Konzentration von 0,5 bis 20%, möglichst von 0,5 bis 10% und vor allem von etwa 1,5 Ma.-%/M vorhanden.

Für die örtliche Anwendung im Mund geeignete Formulierungen sind Bonbons, die den Wirkstoff in einer schmackhaften Grundlage, gewöhnlich Saccharose und Akazien- oder Tragacanthgummi, enthalten; Pastillen, die den Wirkstoff in einer inerten Grundlage, wie Gelatine und Glycerin oder Saccharose und Akaziengummi enthalten; und Mundspülmittel, die die Wirkstoffe in einem geeigneten flüssigen Trägermittel enthalten. Formulierungen für die rektale Anwendung können ein Suppositorium mit einer geeigneten Grundlage aus beispielsweise Kakaobutter oder einem Salicylat sein.

Für die nasale Verabreichung geeignete Formulierungen, in denen das Trägermittel ein Feststoff ist, enthalten ein grobes Pulver mit einer beispielsweise im Bereich von 20 bis 500 Mikrometer liegenden Teilchengröße, das in einer Weise verabreicht wird, wie Schnupftabak genommen wird, d. h. durch schnelle Inhalation durch die Nase aus einem Pulverbehälter, der dicht an die Nase gehalten wird. Formulierungen, in denen das Trägermittel eine Flüssigkeit ist, und die für die Verabreichung als beispielsweise Nasenspray oder Nasentropfen geeignet sind, umfassen wäßrige oder ölige Lösungen des Wirkstoffes.

Für die vaginale Anwendung geeignete Formulierungen können als Pessare, Tampons, Cremes, Gele, Pasten, Schaum- oder Sprühformulierungen hergestellt werden, die neben dem Wirkstoff solche Trägermittel enthalten, von denen im Fachgebiet bekannt ist, daß sie geeignet sind.

Beispiel 2

Kapsel	Masse (mg)
Nucleosid-Transport-Inhibitor	300
Antivirusverbindung	200
Lactose	100
Natriumstärkeglycollat	10
Polyvinylpyrrolidinon	10
Magnesiumstearat	3
	<hr/> 623

Die aktiven Verbindungen werden mit der Lactose und Natriumstärkeglycollat und feuchtes Granulat mit einer Lösung des Polyvinylpyrrolidinons vermischt. Die Granulate werden getrocknet, gesiebt und mit dem Magnesiumstearat vermischt und in harte Gelatine kapseln gefüllt.

Beispiel 3

Creme	Masse
Nucleosid-Transport-Inhibitor	7,5 g
Antivirusverbindung	5,00 g
Glycerol	2,00 g
Cetostearylalkohol	6,75 g
Natriumlaurylsulfat	0,75 g
Weißes Weichparaffin	12,50 g
Flüssiges Paraffin	5,00 g
Chlorcresol	0,10 g
Gereinigtes Wasser bis	100,00 g

Die aktiven Verbindungen werden in einer Mischung von gereinigtem Wasser und Glycerol gelöst und auf 70°C erhitzt. Die übrigen Ingredienzien werden zusammen auf 70°C erhitzt. Die beiden Teile werden zusammengegeben und emulgiert, dann gekühlt und in Behälter gefüllt.

Beispiel 4

Intravenöse Injektionen	Menge
(1) Antivirusverbindung	200 mg
Nucleosid-Transportinhibitor	300 mg
Glycerol	250 mg
Natriumhydroxidlösung q. s.	pH-Wert 7,0 bis 7,5
Wasser für Injektionen bis	10 ml

Verfahren: Das Glycerol wird zu einem Teil des Wassers für Injektionen gegeben. Die beiden aktiven Verbindungen werden gelöst, und der pH-Wert wird mit Natriumhydroxidlösung eingestellt. Das Volumen wird mit zusätzlichem Wasser für Injektionen aufgefüllt. Unter aseptischen Bedingungen wird die Lösung durch Filtration sterilisiert, in sterile Ampullen gefüllt, und die Ampullen werden versiegelt.

(2) Antivirusverbindung	100 mg
Nucleosid-Transport-Inhibitor	150 mg
Natriumhydroxidlösung q. s. bis	pH-Wert 8,0 bis 9,0
Mannitol	125 mg
Wasser für Injektionen bis	2,5 ml

Verfahren: Die aktiven Verbindungen und das Mannitol werden in einem Teil des Wassers für Injektionen gelöst. Der pH-Wert wird mit der Natriumhydroxidlösung eingestellt und das Volumen mit zusätzlichem Wasser für Injektionen aufgefüllt. Unter aseptischen Bedingungen wird die Lösung durch Filtration sterilisiert, in sterile Glasfläschchen gefüllt, und das Wasser wird durch Gefriertrocknung entfernt. Die Glasfläschchen werden unter einer Stickstoffatmosphäre versiegelt und mit einem sterilen Verschluss und einem Metallring verschlossen.

Toxizität

Die LD₅₀ Werte von dem oben angeführten Acyclovir, Dilazep und Dipyridamol sind wie folgt:

Verbindung	LD ₅₀ (mg/kg)
Dilazep	3 740 (männliche Mäuse, oral)
Dipyridamol	8 400 (Ratten, oral)
Acyclovir	10 000 (Mäuse, oral)