



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 698 28 196 T2** 2006.02.23

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 030 547 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **698 28 196.9**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US98/22184**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **98 956 122.0**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 99/020098**

(86) PCT-Anmeldetag: **21.10.1998**

(87) Veröffentlichungstag
der PCT-Anmeldung: **29.04.1999**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **30.08.2000**

(97) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung beim EPA: **15.12.2004**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **23.02.2006**

(51) Int Cl.⁸: **A61K 9/14** (2006.01)

A61K 31/715 (2006.01)

A61K 31/717 (2006.01)

A61P 31/04 (2006.01)

A61P 31/12 (2006.01)

A61P 31/18 (2006.01)

A61P 31/22 (2006.01)

(30) Unionspriorität:

62936 P **22.10.1997** **US**

71017 P **13.01.1998** **US**

112130 **08.07.1998** **US**

175909 **20.10.1998** **US**

(74) Vertreter:

derzeit kein Vertreter bestellt

(84) Benannte Vertragsstaaten:

AT, CH, DE, ES, FR, GB, IT, LI, NL, SE

(73) Patentinhaber:

New York Blood Center, Inc., New York, N.Y., US;
Neurath, Alexander Robert, New York, N.Y., US;
Jiang, Shibo, Jackson Heights, N.Y., US; Debnath,
Asim Kumar, Fort Lee, N.J., US; Strick, Nathan,
Oceanside, N.Y., US; Dow, Gordon J., Santa Rosa,
Calif., US

(72) Erfinder:

NEURATH, Robert, Alexander, New York, US;
JIANG, Shibo, Jackson Heights, US; DEBNATH,
Kumar, Asim, New York, US; STRICK, Nathan,
Oceanside, US; DOW, Jay, Gordon, Santa Rosa,
US

(54) Bezeichnung: **VERFAHREN ZUR VORBEUGUNG UND BEHANDLUNG BAKTERIELLER INFEKTIONEN UNTER VERWENDUNG VON CELLULOSEACETATPHTHALAT- ODER HYDROXYPROPPYLMETHYLCELLULOSETRÄGERSTOFFEN**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

HINTERGRUND DER ERFINDUNG

GEBIET DER ERFINDUNG

[0001] Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind Medikamente zur Verminderung der Häufigkeit der Übertragung einer Virusinfektion, wie zum Beispiel des Human Immunodeficiency Virus und Herpesvirus und zur Prävention und Behandlung sexuell übertragener Bakterieninfektionen, wie zum Beispiel Chlamydia trachomatis, durch Verabreichung von Celluloseacetatphthalat oder Hydroxypropylmethylcellulosephthalat, die bisher als pharmazeutische Hilfsstoffe eingesetzt wurden.

HINTERGRUNDINFORMATION

A. PHARMAZEUTISCHE HILFSSTOFFE

[0002] Pharmazeutische Hilfsstoffe sind als inerte Substanzen definiert, die ein Vehikel zur Abgabe des Medikaments bilden (Webster's Ninth New Collegiate Dictionary, Merriam-Webster Inc. Publishers, Springfield, MA, USA, 1985, S. 432). Hilfsstoffe wandeln folglich pharmakologische Wirkstoffe in zur Verabreichung an Patienten geeignete pharmazeutische Dosierungsformen um. Einige Hilfsstoffe werden auch zur Formulierung oder Herstellung von Süßwaren, Kosmetika und Nahrungsmittelpunkten verwendet. Deshalb werden zugelassene Hilfsstoffe, im Vergleich zu den meisten Medikamenten, häufig und in höherer Dosierung verwendet. Hilfsstoffe sind auch viel billiger und lassen sich im Vergleich zu den meisten Medikamenten leichter in sehr großem Umfang herstellen.

B. SEXUELL ÜBERTRAGENE ERKRANKUNGEN („STDs“: EINE ÜBERSICHT)

[0003] Die Pandemie des Human Immunodeficiency Virus (HIV) wird unterhalten und schreitet überwiegend aufgrund sexueller Übertragung des Virus (Mann, J. M., Tarantola, D. J. M., Netter, T. W., „AIDS in the World“, Cambridge: Harvard University Press, (1992)), gefördert durch eine vorherige Infektion mit anderen STD-Pathogenen (Perine, P. L., „Sexually Transmitted Diseases in the Tropics“, Med. J. Aust., 160, (1994), 358–366), fort.

[0004] Die dringende Notwendigkeit zur Verhinderung der Übertragung von STDs ist durch die HIV/AIDS-Epidemie hervorgehoben worden, die bisher zur Infektion von ca. 42 Millionen Menschen und zu ca. 12 Millionen Todesfällen geführt hat (UNAIDS und WHO, Bericht über die globale HIV/AIDS-Epidemie, Genf: Joint United Nations Programm zu HIV/AIDS, 1. Juni 1988). Die Fakten, dass HIV-Infektionen bis heute nicht heilbar sind, zur führenden Todesursache unter jungen Erwachsenen geworden sind und die Lebenserwartung in zahlreichen Ländern vermindert haben, und die Beobachtung, dass mehrere nicht-virale STDs eine HIV-Infektion fördern, haben den dringenden Bedarf an neuen präventiven Ansätzen weiter nachdrücklich hervorgehoben.

[0005] Es wurde ermittelt, dass die Behandlung von STDs (mit Ausnahme von HIV) ein durchführbarer und wirtschaftlich gerechtfertigter Ansatz zur Verminderung der HIV-1-Übertragungsrate darstellt (St. Louis, M. E., Levine, W. C., Wasserheit, J. N. et al., „HIV Prevention Through Early Detection and Treatment of other Sexually Transmitted Diseases – United States Recommendation of the Advisory Committee for HIV and STD Prevention“, Mor. Mort. Wkly. Rep., (1998), 47 (Nr. RR-12). 1–24; Over, M., Piot, P., „Human Immunodeficiency Virus Infection and Other Sexually Transmitted Diseases in Developing Countries: Public Health Importance and Priorities for Resource Allocation“, J. Infect. Dis., (1996), 174 (Suppl. 2), 162–175). Dieser vorteilhafte Ansatz ist jedoch zur Kontrolle der Ausbreitung von STDs, einschließlich HIV-1, nicht ausreichend.

[0006] In Abwesenheit prophylaktischer Vakzine gegen STD-Pathogene und HIV in der absehbaren Zukunft und sicheren Anti-HIV-1-Medikamenten, die in Entwicklungsländern preislich erschwinglich sind, müssen andere einfache Verfahren zur Kontrolle der sexuellen Übertragung von STD, einschließlich HIV-1, angewendet werden. Hierzu zählen mechanische (Kondome) und chemische Barrieremethoden und Kombinationen davon. Spermizid-Formulierungen, von denen gezeigt wurde, dass sie STD-Pathogene in vitro inaktivieren, wurden für diesen Zweck in Erwägung gezogen, ihr Nutzen bleibt jedoch basierend auf dem Outcome klinischer Prüfungen zur Sicherheit und Wirksamkeit zweifelhaft.

[0007] Die Verwendung chemischer Barrieremethoden (topische „Mikrobizide“) unter der Kontrolle von Frauen wurde als eine Methode zur Kontrolle der sexuellen Übertragung von HIV-1 und anderen STDs vorgeschla-

gen (Alexander, N. J., „Barriers to Sexually Transmitted Diseases", *Scientific American & Medicine*, (1996), 3: 32–41). Die schnellste Weise zur Einführung topischer Mikrobizide in die Praxis schien die Anwendung von freiverkäuflichen Kontrazeptiva, enthaltend das Detergens Nonoxinol-9 (N-9), zu sein. Es wurde gezeigt, dass N-9 HIV-1 in vitro inaktiviert (Hicks, D. R., Martin, L. S., Getchell, J. P. et al., „Inactivation of HTLV-III/LAV-infected Cultures of Normal Human Lymphocytes by Nonoxynol-9 in vitro", *Lancet*, (1985), 2: 1422–1423; Jennings, R., Clegg, A., „The Inhibitory Effect of Spermicidal Agents on Replication of HSV-2 and HIV-1 in vitro", *J. Antimicrob. Chemother.*, (1993), 32: 71–82), HSV-2 (Sugarman, B., Mummaw, N., „Effects of Antimicrobial Agents on Growth and Chemotaxis of *Trichomonas Vaginalis*", *Antimicrob. Agents Chemother.*, (1988), 32: 1323–1326) und *Chlamydia trachomatis* (Lyons, J. M., Ito, J. I., Jr., „Reducing the Risk of *Chlamydia Trachomatis* Genital Tract Infection by Evaluating The Prophylactic Potential of Vaginally Applied Chemicals", *Clin. Infect. Dis.*, (1995), 21 (Suppl. 2): S174–S177). Es wurde auch gefunden, dass N-9 cytotoxisch ist. Dieser Ansatz scheint durch klinische Daten erschwert zu sein, die auf unerwünschte Wirkungen einiger N-9-Formulierungen (Stafford, M. K., Ward, H., Flanagan, A., et al., „Safety Study of Nonoxynol-9 As A Vaginal Microbicide: Evidence of Adverse Effects", *J. Acquir. Imm. Defic. Synd. Hum. Retrovir.*, (1998), 17: 327–331; Rosenstein, I. J., Stafford, M. K., Kitchen, V. S. et al., „Effects on Normal Vaginal Flora of Three Intravaginal Microbicidal Agents Potentially Active Against Human Immunodeficiency Virus Type 1", *J. Infect. Dis.*, (1998), 177: 1386–1390; Kilmarx, P. H., Limpakarnjanarat, K., Supawitkul, S. et al., „Mucosal Disruption Due to Use of A Widely-distributed Commercial Vaginal Product: Potential to Facilitate HIV Transmission", *AIDS*, (1998), 12: 767–773) und Wirksamkeitsmangel bei der Verminderung der Rate der heterosexuellen HIV-1-, Gonorrhoe- und *Chlamydia*-Übertragung durch eine der N-9-Formulierungen hinweisen (Roddy, R. E., Zekeng, L., Ryan, K. A. et al., „A Controlled Trial of Nonoxynol 9 Film to Reduce Male-to-Female Transmission of Sexually Transmitted Diseases", *N. Engl. J. Med.*, (1998), 339, 504–510). Dies deutet darauf hin, dass andere mikrobizide Verbindungen als Prophylaktika gegen HIV-1 und andere STD getestet werden.

[0008] Unter Berücksichtigung der Dringlichkeit der Kontrolle der HIV-Epidemie wird die schnelle Entwicklung anderer Mikrobizid-Formulierungen benötigt. Die Einführung solcher Mikrobizid-Formulierungen in die Praxis würde durch die Verwendung von Wirkstoffen mit einem bereits etablierten Sicherheitsnachweis zum menschlichen Gebrauch signifikant verbessert.

[0009] Zur Suche nach sicheren Mikrobizid-Formulierungen müssen Kriterien verwendet werden, die sich von denen unterscheiden, die zum Screening auf Anti-HIV-1-Medikamente angewendet wurden, wobei die Möglichkeit zunimmt, dass vielversprechende Mikrobizide mit Anti-HIV-1-Aktivität bisher zuvor während des eingehenden Screenings auf therapeutische Anti-HIV-1-Verbindungen übersehen worden sein könnten. Die Kriterien zur Auswahl von Anti-HIV-Mikrobiziden, im Vergleich zu denen für therapeutische Anti-HIV-1-Medikamente, können wie folgt zusammengefasst werden: (a) Unerwünschtheit der systemischen Ausbreitung, die zur bevorzugten Erwägung von Verbindungen mit hohem Molekulargewicht ($M_w \geq 2$ kD) führt, die am Ort der Applikation selektiv aktiv sind; (b) hoher Sicherheitsgrad und Mangel an Nebenwirkungen (aufgrund wiederholter Verwendung durch Gesunde im Vergleich mit der Verwendung therapeutischer Anti-HIV-1-Medikamente durch bereits Infizierte), wobei die Sicherheit durch den Mangel an systemischer Ausbreitung augmentiert wird; (c) Erwägung von Verbindungen mit geringerer spezifischer antiviraler Aktivität, für die durch höhere Konzentrationen der Verbindungen mit etablierter Sicherheit kompensiert werden kann und (d) gegen die früheren Infektionsphasen gerichtete Aktivität und bevorzugt direkte Inaktivierung des Pathogens wie durch den Begriff „Mikrobizid" impliziert ist.

[0010] Unter Verbindungen, die mindestens einigen dieser Kriterien entsprechen, befinden sich folgende: (a) sulfatierte Polysaccharide (Javan, C. M., Gooderham, N. J., Edwards, R. J. et al., „Anti-HIV Type 1 Activity of Sulfated Derivatives of Dextrin Against Primary Viral Isolates of HIV Type 1 in Lymphocytes and Monocyte-Derived Macrophages", *AIDS Res. Human Retroviruses*, (1997), 13, 875–880; Stafford, M. K., Cain, D., Rosenstein, I., et al., „A Placebo-Controlled, Double Blind Prospective Study in Healthy Female Volunteers of Dextrin Sulphate Gel: A Novel Potential Intravaginal Virucide", *J. Acquir. Immune Defic. Syndr. Hum. Retrovir.*, (1997), 14, 213–218; Zacharopolous, V. R., Phillips, D. M., „Vaginal Formulations of Carrageenan Protect Mice From Herpes Simplex Virus Infection", *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, (1997), 4, 465–468; Carlucci, M. J., Pujol, C. A., Ciancia, M. et al., „Antitherpetic and Anticoagulant Properties of Carrageenans From the Red Seaweed *Gigartina Skottsbergii* and Their Cyclized Derivatives: Correlation Between Structure and Biological Activity", *Int. J. Biol. Macromol.*, (1997), 20, 97–105) und andere sulfonierte Polymere (die viruzide und bakterielle Aktivität dieser Verbindungen wurde jedoch nicht etabliert, und ihre Aktivität wird ihrer Fähigkeit zugeschrieben, mit Targetzellen zur Inhibition des Eindringens von Viren zu interagieren (Rusconi, S., Moonis, M., Merrill, D. P. et al., „Naphthalen Sulfonate Polymers With CD-4-Blocking and Anti-Human Immunodeficiency Virus Type 1 Activities", *Anticob. Agents Chemother.*, (1996), 40, 234–236; McClure, M. O., Moore, J. P., Blanc, D. F. et al., „Investigations into the Mechanism By Which Sulfated Polysaccharides Inhibit HIV Infection In Vitro", *AIDS*

Res. Hum. Retroviruses, (1992), 8, 19–26); und (b) Protegrine, die eine Breitspektrum-Aktivität gegen Bakterien und umhüllte Viren aufweisen (Tamamura, H., Murakami, T., Horiuchi, S. et al., „Synthesis of Protegrin-Related Peptides and Their Antibacterial and Anti-Human Immunodeficiency Virus Activity“, Chem. Pharm. Bull., (Tokio), (1995), 43, 853–858; Lehrer, R. I., Ganz, T., „Endogenous Vertebrate Antibiotics, Defensins, Protegrins, and Other Cysteine-Rich Antimicrobial Peptides“, Ann. N.Y. Acad. Sci., (1996), 797, 228–239; Qu, X. D., Harwig, S. S., Shafer, W. M. et al., „Protegrin Structure and Activity Against Neisseria Gonorrhoeae“, Infect. Immun., (1997), 65, 636–639), sie weisen jedoch auch eine unerwünschte Aktivität gegen Lactobacilli auf, und ihre Applikation kann im Vergleich zu der von sulfatierten Polymeren wirtschaftliche Nachteile aufweisen.

[0011] Da erwartet würde, dass wirksame topische „Mikrobizide“ über Jahrzehnte wiederholt verwendet würden, sollten sie einen etablierten Sicherheitsnachweis besitzen und sollten sich nach topischer Applikation bevorzugt nicht systemisch ausbreiten. Sie sollten die folgenden Merkmale aufweisen: (a) preisgünstig sein, (b) aus überall verfügbaren Ressourcen hergestellt werden, (c) über eine breite Spezifität verfügen, die in der Prävention der Übertragung mehrerer STDs resultiert und (d) die Infektivität der entsprechenden STD-Pathogene inaktivieren. Gemäß diesen Anforderungen entwickelten einige dieser Erfinder vor kurzem ein potentes Anti-HIV- und Anti-Herpesvirus-Mittel, das zur Inkorporation in topische Gele/Cremes geeignet ist (Neurath, A. R., Jiang, S., Strick, N. et al., „Bovine β -Lactoglobulin Modified by 3-Hydroxyphthalic Anhydride Blocks the CD4 Cell Receptor for HIV“, Nature Med., (1996), 2, 230–234; Neurath, A. R., Debnath, A. K., Strick, N. et al., „3-Hydroxyphthaloyl β -Lactoglobulin, I, Optimization of Production and Comparison With Other Compounds Considered for Chemoprophylaxis of Mucosally Transmitted Human Immunodeficiency Virus Type 1“, Antiviral Chem. Chemother., (1997), 8, 131–140; Neurath, A. R., Debnath, A. K., Strick, N. et al., „3-Hydroxyphthaloyl β -Lactoglobulin, II, Anti-Human Immunodeficiency Virus Type 1 Activity in in vitro Environments Relevant to Prevention of Sexual Transmission of the Virus“, Antiviral Chem. Chemother., (1997), 8, 141–148; Neurath, A. R., Strick, N., Li, Y-Y, „3-Hydroxyphthaloyl β -Lactoglobulin, III. Antiviral Activity Against Herpesviruses“, Antiviral Chem. Chemother., (1998), 9, 177–184; Kokuba, H., Aurelian, L., Neurath, A. R., „3-Hydroxyphthaloyl β -Lactoglobulin, IV, Antiviral Activity in the Mouse Model of Genital Herpesvirus Infection“, Antiviral Chem. Chemother., (1988), 9, 353–357, durch chemische Modifikation des bovinen Milchprodukts β -Lactoglobulin mit 3-Hydroxyphthalsäureanhydrid. Mögliche Nachteile dieser antiviralen Verbindung waren die mangelnde Aktivität gegen bakterielle STD-Pathogene.

C. VIRUSINFEKTIONEN

[0012] Human Immunodeficiency Viren („HIV“) sind als das kausale Virus für AIDS (Acquired Immunodeficiency Syndrom) bekannt. Die Prävalenz von AIDS-Fällen nimmt derzeit mit alarmierender Rate zu.

[0013] Zwei verwandte Retroviren, die AIDS verursachen können, sind das Human Immunodeficiency Virus Typ 1 (HIV-1) und Typ 2 (HIV-2). Die Genome dieser beiden Viren sind auf der Nukleotidebene ca. 50% homolog, enthalten das gleiche Genkomplement und scheinen die gleichen humanen Zellen über den gleichen Mechanismus anzugreifen und abzutöten.

[0014] HIV-1 wurde 1983 identifiziert. Nahezu alle AIDS-Fälle in den USA lassen sich mit einer HIV-1-Infektion in Zusammenhang bringen. HIV-2 wurde 1986 aus westafrikanischen AIDS-Patienten isoliert.

[0015] HIV-1 und HIV-2 sind Retroviren, bei denen das genetische Material RNA anstelle von DNA darstellt. Die HIV-1- und HIV-2-Viren tragen eine Polymerase (reverse Transkriptase), welche die Transkription von viraler RNA in die doppelhelische DNA katalysiert.

[0016] Die virale DNA kann als eine nicht integrierte Form in der infizierten Zelle existieren oder kann in das Genom der Wirtszelle integriert werden. Nach dem derzeitigen Verständnis dringt das HIV in den T4-Lymphocyt ein, wo es seine äußere Hülle verliert, wobei es virale RNA und reverse Transkriptase freisetzt.

[0017] Die reverse Transkriptase katalysiert die Synthese eines komplementären DNA-Stranges aus der viralen RNA-Matrize. Die DNA-Helix inseriert dann in das Wirtsgenom, wo sie als das Provirus bekannt ist. Die integrierte DNA kann als eine latente Infektion persistieren, die durch wenig oder keine Virusproduktion oder den Tod von Helfer-/Inducerzellen für eine unbestimmte Zeitspanne gekennzeichnet ist. Wenn die virale DNA durch den infizierten Lymphocyt transkribiert und translatiert wird, werden neue virale RNA und Proteine zur Bildung neuer Viren produziert, die aus der Zellmembran knospen und andere Zellen infizieren.

[0018] Versuchen zur Behandlung von AIDS mit Medikamenten, die die reverse Transkriptase inhibieren, wie zum Beispiel 3'-Azido-3'-desoxythymidin (AZT), war nicht der erwünschte Erfolgsgrad beschieden. Bei Ver-

wendung von antiviralen Medikamenten besteht überdies ein Potenzial für Toxizität. Folglich besteht ein Bedarf an einem wirksamen und sicheren Mittel zur Prävention und Behandlung von AIDS.

[0019] HIV-Infektionen werden beispielsweise mittels kontaminierter intravenöser Drogennadeln und durch sexuellen Kontakt übertragen. Die sexuelle Übertragung stellt die häufigste (86%) Route der HIV-1-Infektionen unter Erwachsenen weltweit dar (AIDS in the World, Harvard University Press, Cambridge, Mass., (1992)).

[0020] Die Übertragung von HIV durch heterosexuellen Sex stellt für Frauen ein besonders schwerwiegendes Problem dar. Bis zum Jahr 2000 werden schätzungsweise 90% der HIV-Infektionen durch heterosexuellen Geschlechtsverkehr erworben.

[0021] Die Verwendung von Kondomen stellt einen erheblichen Schutzgrad gegen die Übertragung von HIV- und Herpesvirusinfektionen während des Geschlechtsverkehrs bereit, eine Schwierigkeit ergibt sich jedoch, wenn Kondome nicht angewendet werden. Die Anwendung von Kondomen scheint überdies in vielen Ländern eine kulturell und sozial nicht akzeptierbare Praxis darzustellen.

[0022] Obwohl sich Männer durch Anwendung von Kondomen selbst vor der sexuell übertragenen HIV- und Herpesvirusinfektion schützen können, stehen sexuell aktiven Frauen keine ähnlichen Mittel zur Verfügung. Frauen können ihre männlichen Sexpartner zur Verwendung eines Kondoms anhalten, sie können gegebenenfalls jedoch keinen Erfolg damit haben. Das weibliche Kondom, das gerade verfügbar wird, ist teuer, und es liegen derzeit keine Hinweise vor, dass es die sexuelle Übertragung von HIV oder des Herpesvirus verhindert.

[0023] Selbst die Unterhaltung einer monogamen sexuellen Beziehung stellt keine Sicherheitsgarantie dar, denn wenn der männliche Partner einer Frau infiziert wird, kann er das Virus an sie weitergeben. Und je mehr Frauen infiziert werden, um so mehr Säuglinge werden infiziert.

[0024] Derzeit herrscht im medizinischen Bereich Frustration wegen der trostlosen Aussichten für ein wirksames AIDS-Vakzin in der nahen Zukunft und die schwerwiegenden Limitationen der Medikamente, mit denen HIV wirksam und sicher bekämpft werden kann.

[0025] Aufgrund eines derzeit nicht verfügbaren prophylaktischen Anti-HIV-Vakzins und aufgrund der Limitationen von erzieherischen Bildungsprogrammen, wurde nach anderen Präventivverfahren gesucht. Spermizide mit viruziden Eigenschaften wurden für diesen Zweck in Erwägung gezogen, ihre Applikation ist jedoch aufgrund der unerwünschten Wirkungen kontraindiziert (Bird, K. D., „The Use of Spermicide Containing Nonoxonyl-9 in the Prevention of HIV Infection“, AIDS, 5, 791–796 (1991)).

[0026] Die sich derzeit im Gebrauch befindenden Anti-HIV-Medikamente oder solche, von denen erwartet wird, dass sie in der nahen Zukunft klinisch angewendet werden (Steele, F., „AIDS Drugs Lurch Towards Market“, Nature Medicine, 1, 285–286 (1995)), die meist nicht auf die frühesten Phasen im Replikationszyklus des Virus abgezielt sind, führen zur Entstehung von Medikamenten-resistenten Mutanten und sind teuer, was darauf hindeutet, dass ihre Applikation zur verbreiteten Verwendung in der topischen Chemoprophylaxe unwahrscheinlich ist.

[0027] Zellen, bei denen es sich um die primären Targets für eine sexuelle und mukosale Übertragung von HIV, entweder in der Form von virusfreien oder virusinfizierten Zellen, handelt, wurden nicht vollständig definiert und können divers sein (Miller, C. J. et al., „Genital Mucosal Transmission of Simian Immunodeficiency Virus: Animal Model for Heterosexual Transmission of Human Immunodeficiency Virus“, J. Virol., 63, 4277–4284 (1989); Phillips, D. M. und Bourinbaier, A. S., „Mechanism of HIV Spread from Lymphocytes to Epithelia“, Virology, 186, 261–273 (1992); Phillips, D. M., Tan, X., Pearce-Pratt, R. und Zacharopoulos, V. R., „An Assay for HIV Infection of Cultured Human Cervix-derived Cells“, J. Virol. Methods, 52, 1–13 (1995); Ho, J. L. et al., „Neutrophils from Human Immunodeficiency Virus (HIV)-Seronegative Donors Induce HIV Replication from HIV-infected Patients Mononuclear Cells and Cell Lines“: An In Vitro Model of HIV Transmission Facilitated by Chlamydia Trachomatis“, J. Exp. Med., 181, 1493–1505 (1995); und Braathen, L. R. und Mork, C. in „HIV Infection of Skin Langerhans Cells“, in: Skin Langerhans (dendritic) cells in virus infections and AIDS (Hrsg. Becker, Y.) 131–139 (Kluwer Academic Publishers, Boston, (1991)). Solche Zellen schließen T-Lymphocyten, Monocyten/Makrophagen und dendritische Zellen ein, was darauf hindeutet, dass CD4-Zellrezeptoren am Vorgang der Virusübertragung beteiligt sind (Parr, M. B. und Parr, E. L., „Langerhans Cells and T lymphocyte Subsets in the Murine Vagina und Cervix“, Biology of Reproduction, 44, 491–498 (1991); Pope, M. et al., „Conjugates of Dendritic Cells and Memory T Lymphocytes from Skin Facilitate Productive Infection With HIV-1“, Cell, 78, 389–398 (1994); und Wira, C. R. und Rossoll, R. M., „Antigen-presenting Cells in the Female

Reproductive Tract: Influence of Sex Hormones on Antigen Presentation in the Vagina", *Immunology*, 84, 505–508 (1995)).

[0028] Deshalb wird erwartet, dass Mittel, die die HIV-CD4-Bindung blockieren, die Virusübertragung vermindern oder verhindern. Lösliche rekombinante CD4 können für diesen Zweck nicht in Betracht gezogen werden, da zur Neutralisation der Infektivität der primären HIV-Isolate hohe Konzentration erforderlich sind (Daar, E. S., Li, X. L., Moudgil, T. und Ho, D. D., „High Concentrations of Recombinant Soluble CD4 are Required to Neutralise Primary Human Immunodeficiency Virus Type 1 Isolates", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87, 6574–6578 (1990), und im Fall von SIV die Infektivität durch CD4 gefördert wird (Werner, A., Winskowsky, G. und Kurth, R., „Soluble CD4 Enhances Simian Immunodeficiency Virus SIV_{agm} Infection", *J. Virol.*, 64, 6252–6256 (1990)). Es wird jedoch erwartet, dass Anti-CD4-Antikörper die Übertragung von Viren unabhängig vom Subtyp und der Variabilität verhindern, ihre Applikation wäre aber zu kostspielig (Daar et al., vorstehend, Watanabe, M., Boyson, J. E., Lord, C. I. und Letvin, N. L., „Chimpanzees Immunized with Recombinant Soluble CD4 Develop Anti-self CD4 Antibody Responses with Anti-human Immunodeficiency Virus Activity", *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 89, 5103–5107 (1992); und Perno, C.-F., Baseler, M. W., Broder, S. und Yarchoan, R., „Infection of Monocytes by Human Immunodeficiency Virus Type 1 Blocked by Inhibitors of CD4 gp120 Binding, Even in the Presence of Enhancing Antibodies", *J. Exp. Med.*, 171, 1043–1056 (1990)).

[0029] Es besteht ein Bedarf an einer sicheren und wirksamen Substanz, die mittels eines Schaums, Gels, Schwamms oder einer anderen Form zur Prävention, dass HIV-1 oder HIV-2 Zellen im Körper infizieren, in die Vagina eingeführt werden kann. Es besteht die Hoffnung, dass eine derartige Substanz von einer Frau ohne Kenntnis ihres Partners verwendet wird.

[0030] Die Prospekte für die nahe und möglicherweise nicht so ferne Zukunft bei der Prävention der HIV-1-Übertragung durch Vakzination sehen nicht gut aus. Ein kürzlich erschienener Bericht, dass eine Vakzination mit inaktiviertem SIV die afrikanischen grünen Meerkatzen, trotz einer starken Immunantwort auf SIV, nicht vor einer Infektion mit dem homologen Virus schützte, scheint in dieser Hinsicht nicht ermutigend zu sein (Siegel, F., Kurth, R. und Norley, S., (1995), „Neither Whole Inactivated Virus Immunogen nor Passive Immunoglobulin Transfer Protects Against SIV_{agm} Infection in the African Green Monkey Natural Host", *J. AIDS*, 8, 217–226). Bei der Erwägung dieses Problems wurde der Schwerpunkt auf Versuche zum Aufbau einer chemischen Barriere gegen eine HIV-1-Übertragung verlagert (Taylor, (1994), „Building a Chemical Barrier to HIV-1 Transmission", *J. NIH Res.*, 6, 26–27).

[0031] Es wurde vorgeschlagen, dass die Entwicklung von topisch applizierten Mikrobiziden, von denen erwartet wird, dass sie die sexuelle (mukosale) Übertragung von HIV-1 verhindern, „wirksam gegen alle sexuell übertragenen Erkrankungen sein müssen und während des Gebrauchs nicht gesehen, gerochen oder gefühlt werden sollten". Sie sollten auch preisgünstig und überall verfügbar sein, und es wurde erwartet, dass 1995 in den USA 25 Millionen USD für ihre Entwicklung aufgewendet werden (Taylor (1994) vorstehend). Detergenzien (Nonoxinol-9) als ein universeller „Killer" von Pathogenen wurden für klinische Prüfungen ausgewählt. Es war jedoch nicht überraschend, dass sich diese Verbindung für den Wirt als schädlich erwies.

[0032] Das Targetieren der chemischen Barriere gegen die Übertragung individueller Pathogene könnte vielleicht die Entwicklung von Verbindungen fördern, die die Übertragung der Human Immunodeficiency Viren verhindern. Durch die wirksame Blockade von Rezeptoren könnte dieses Ziel für die Viren zum Beispiel gegebenenfalls erlangt werden. Dieses Konzept kann durch Befunde unterstützt werden, dass die Immunisierung von Schimpansen bzw. Rhesusaffen mit menschlichem CD4, die im Vergleich zu CD4-Sequenzen von nicht menschlichen Primaten mehrere Aminosäure-Punktmutationen aufweist (Fomsgaard, A., Hirsch, V. M. und Johnson, P. R. (1992), „Cloning and Sequences of Primate CD molecules: Diversity of the Cellular Receptor for Simian Immunodeficiency Virus/Human Immunodeficiency Virus", *Eur. J. Immunol.*, 22, 2973–2981), entwickelte Anti-CD4-Antikörper, die die HIV-1- und SIV-Replikation inhibierten (Watanabe, M., Levine, C. G., Shen, L., Fisher, R. A., und Letvin, N. L. (1991), „Immunization of Simian Immunodeficiency Virus-Infected Rhesus Monkeys with Soluble Human CD4 Elicits an Antiviral Response", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88, 4616–4620. Watanabe, M., Chen, Z. W., Tsubota, H., Lord, C. I., Levine, C. G., und Letvin, N. L. (1991), „Soluble Human CD4 Elicits an Antibody Response in Rhesus Monkeys that Inhibits Simian Immunodeficiency Virus Replication", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88, 120–124; und Watanabe, M., Boyson, J. E., Lord, C. I. und Letvin, N. L., (1992), „Chimpanzees Immunised with Recombinant Soluble CD4 Develop Anti-self CD4 Antibody Responses with Anti-human Immunodeficiency Virus Activity", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89, 5103–5107).

[0033] Herpesviren schließen die folgenden aus Menschen isolierten Viren ein:

- (1) Herpes-simplex-Virus 1 („HSV-1")

- (2) Herpes-simplex-Virus 2 („HSV-2“)
- (3) Humanes Cytomegalievirus („HCMV“)
- (4) Varicella-Zoster-Virus („VZV“)
- (5) Epstein-Barr-Virus („EBV“)
- (6) Humanes Herpesvirus 6 („HHV6“)
- (7) Herpes-simplex-Virus 7 („HSV-7“)
- (8) Herpes-simplex-Virus 8 („HSV8“)

[0034] Herpesviren wurden auch aus Pferden, Vieh, Schweinen (Pseudorabies-Virus („PRV“) und dem porcinen Cytomegalievirus, Hühnern (infektiöse Laryngotracheitis), Schimpansen, Vögeln (Marek'sche Krankheit durch Herpesvirus 1 und 2), Truthähnen und Fischen (siehe „Herpesviridae: A Brief Introduction“, Virology, Zweite Auflage, Hrsg. B. N. Fields, Kapitel 64, 1987 (1990)) isoliert.

[0035] Die Herpes-simplex-Virusinfektion („HSV“-Infektion) stellt im Allgemeinen eine rezidivierende Virusinfektion dar, gekennzeichnet durch das Auftreten auf der Haut oder den Schleimhäuten einzelner oder mehrerer Cluster mit kleinen Bläschen, die mit klarer Flüssigkeit gefüllt sind, auf leicht erhabenen Entzündungsbasen.

[0036] Das Herpes-simplex-Virus ist ein Virus von relativ großer Größe. HSV-2 ruft häufig Herpes labialis hervor. HSV2 kann gewöhnlich, aber nicht immer, aus Genitalläsionen wiedergewonnen werden. Im Allgemeinen wird HSV-2 venerisch übertragen.

[0037] Mindestens 20% aller Menschen in den USA wurden mit dem Herpesvirus Typ 2 (HSV-2) infiziert, das gewöhnlich sexuell übertragen wird und rezidivierende Genitalulcera hervorrufen kann (Fleming, D. T., McQuillan, G. M., Johnson, R. E. et al., „Herpes simplex virus type 2 in the United States, 1976 to 1994“, N. Engl. J. Med., (1997), 337: 1105–1111; Arvin, A. M., Prober, C. G., „Herpes Simplex Virus Type 2 – A Persistent Problem“, N. Engl. J. Med., (1997), 337: 1158–1159). Die Prävalenz von HSV-2-Infektionen liegt in einigen Entwicklungsländern sogar noch höher (Nahmias, A. J., Lee, F. K., Beckman-Nahmias, S., „Sero-epidemiological and Sociological Patterns of Herpes-simplex Virus Infection in the World“, Scand. J. Infect. Dis., (1990), Suppl. 69: 19–36). Obwohl die Infektion durch antivirale Medikamente behandelbar ist, ist die wirksame Langzeitsuppression des Genitalherpes teuer (Engel, J. P., „Long-term Suppression of Genital Herpes“, JAMA, (1998), 280: 928–929). Wenn man die hohe Prävalenz von Infektionen bedenkt, ist die Wahrscheinlichkeit der weiteren Ausbreitung des Virus durch unbehandelte Menschen und asymptomatische Träger, die keine antivirale Therapie erhalten, extrem hoch. Andere Herpesviren, einschließlich das Cytomegalievirus (Krieger, J. N., Coombs, R. W., Collier, A. C. et al., „Seminal Shedding of Human Immunodeficiency Virus Type 1 and Human Cytomegalovirus: Evidence For Different Immunologic Controls“, J. Infect. Dis. (1995), 171: 1018–1022; van der Meer, J. T. M., Drew, W. L., Bowden R. A. et al., „Summary of the International Consensus Symposium on Advances in the Diagnosis, Treatment and Prophylaxis of Cytomegalovirus Infection“, Antiviral Res., (1996), 32: 119–140) (HCMV), Herpesvirus 6 (Leach, C. T., Newton, E. R., McParlin, S. et al., „Human Herpesvirus 6 Infection of the Female Genital Tract“, J. Infect. Dis., (1994), 169: 1281–1283) und Herpesvirus 8 (Howard, M. R., Whitby, D., Bahadur, G. et al., „Detection of Human Herpesvirus 8 DNA in Semen from HIV-infected Individuals But Not Healthy Semen Donors“, AIDS, (1997), 11: F15–F19), der kausale Krankheitserreger des Kaposi-Sarkoms, werden auch sexuell übertragen.

[0038] Die Zeit der initialen Herpes-simplex-Infektion ist gewöhnlich obskur, außer bei der ungewöhnlichen primären systemischen Infektion, die bei Kindern vorkommt und durch generalisierte Haut- und Schleimhautläsionen, begleitet von schwerwiegenden Allgemeinsymptomen gekennzeichnet ist. Lokalisierte Infektionen treten gewöhnlich in der Kindheit auf, können aber bis zum Erwachsenenalter verzögert sein. Es wird angenommen, dass das Herpes-simplex-Virus in der Haut dormant bleibt und dass herpetische Eruptionen durch Überexposition gegenüber Sonnenlicht, fieberhafte Erkrankungen oder physischen oder emotionalen Stress herbeigeführt werden; auch bestimmte Nahrungsmittel und Medikamente sind impliziert gewesen. In vielen Fällen kann der Trigger-Mechanismus nicht nachgewiesen werden.

[0039] Die durch das Herpes-simplex-Virus verursachten Läsionen können überall auf der Haut oder auf den Schleimhäuten auftreten, am häufigsten aber im Gesicht, besonders um den Mund herum oder auf den Lippen, der Bindehaut und Kornea oder den Genitalien. Einer kurzen Prodromalperiode mit prickelnden Beschwerden oder Jucken folgt das Auftreten kleiner, straffer Bläschen auf einem erythematösen Grund. Die einzelnen Cluster können größtmäßig von 0,5 bis 1,5 cm variieren, mehrere Gruppen können jedoch zusammenfließen. Herpes simplex auf der Haut, die straff an den unterliegenden Strukturen haftet (zum Beispiel der Nase, Ohren oder Finger) kann schmerzhaft sein. Die Bläschen können einige Tage persistieren, dann beginnen sie auszutrocknen, wobei sie eine dünne gelbliche Kruste bilden. Heilung tritt im Allgemeinen innerhalb von 10 Tagen

nach dem Beginn auf. In feuchten Körperbereichen, kann die Heilung mit einer sekundären Entzündung langsamer ablaufen. Die Heilung individueller Herpesläsionen findet gewöhnlich vollkommen statt, rezidivierende Läsionen an der gleichen Stelle können jedoch zu Atrophie und Narbenbildung führen.

[0040] Bei mit HSV-2 infizierten Frauen können gegebenenfalls keine Hautläsionen auftreten, die Infektion kann vollständig auf das Innere der Vagina beschränkt bleiben. Die Cervix ist häufig befallen, und es liegen zunehmend Hinweise vor, dass dies einen Faktor bei der Entwicklung eines Cervixkarzinoms spielen könnte.

[0041] Kornealäsionen bestehen häufig aus rezidivierender herpetischer Keratitis, die sich durch ein unregelmäßiges Ulcus dendriticum auf den superfiziellen Lagen manifestiert. Als Folgeerscheinungen können Narbenbildung und Sehstörungen auftreten.

[0042] Bei Kindern oder Kleinkindern können aufgrund einer Herpesinfektion Gingivostomatitis und Vulvovaginitis auftreten. Zu den Symptomen zählen Reizbarkeit, Anorexia, Fieber, Entzündung und weißliche Plaques und Ulcera im Mund. Die Primärinfektionen können insbesondere bei Kindern, obwohl manchmal bei älteren Kindern, eine extensive Organbeteiligung und fatale Virämie hervorrufen.

[0043] Bei Frauen, bei denen eine HSV-2-Attacke in der Spätschwangerschaft auftritt, kann die Infektion mit der Entwicklung einer schweren Virämie auf den Fetus übertragen werden. Das Herpes-simplex-Virus kann auch eine fatale Encephalitis hervorrufen.

[0044] Kaposi's varicelliforme Eruption (Ekzema herpeticum) ist eine potenziell fatale Komplikation des atopischen Ekzems bei Kindern oder Erwachsenen. Die Exposition von Patienten mit ausgebreiteter atopischer Dermatitis gegenüber Personen mit aktivem Herpes simplex sollte vermieden werden.

[0045] Es wurde nachgewiesen, dass kein lokales oder systemisches Chemotherapeutikum zur Behandlung des Herpes-simplex-Virus, mit der möglichen Ausnahme von topischem Idoxuridin (IDU) bei der herpetischen Keratitis superficialis wirksam ist. Berichte über diese Verbindung beim kutanen Herpes sind widersprüchlich. Zu anderen Medikamenten, die zur Behandlung von HSV eingesetzt wurden, gehören Trifluorthymidin; Vidarabin (Adeninarabinosid, Ara-A), Aciclovir, und andere Inhibitoren der viralen DNA-Synthese können bei der herpetischen Keratitis wirksam sein. Diese Medikamente inhibieren die Replikation des Herpes-simplex-Virus und können die klinischen Manifestationen supprimieren. Das Herpes-simplex-Virus bleibt jedoch latent in den sensorischen Spinalganglien, und die Rezidivrate ist bei medikamentös behandelten und unbehandelten Patienten ähnlich. Darüber hinaus sind einige Medikamenten-resistente Herpesvirus-Stämme hervorgegangen.

[0046] Durch das Varicella-Zoster-Virus (humanes Herpesvirus 3) verursachte Erkrankungen schließen Varicella (Windpocken) und Zoster (Gürtelrose) ein.

[0047] Das Cytomegalievirus (humanes Herpesvirus 5) ist für die zytomegale Einschlusskrankheit bei Kindern verantwortlich. Es gibt derzeit keine spezifische Behandlung zur Behandlung von mit dem Cytomegalievirus infizierten Patienten.

[0048] Das Epstein-Barr-Virus (humanes Herpesvirus 4) ist der kausale Krankheitserreger der infektiösen Mononucleose und wurde mit dem Burkitt-Lymphom und dem nasopharyngealen Karzinom in Verbindung gebracht.

[0049] Zu Herpesviren der Tiere, die ein Problem für Menschen darstellen können, gehören das B-Virus (Herpesvirus von Altweltaffen) und das Herpesvirus der Krallenaffen (Herpesvirus der Neuweltaffen).

[0050] Bei der Suche nach preisgünstigen antiviralen Verbindungen, die zur Verminderung der Häufigkeit einer sexuellen Übertragung des Human Immunodeficiency Virus Typ 1 (HIV-1) und Herpesviren (HSV) topisch appliziert werden könnten, entschieden sich die Anmelder, obwohl alles dagegen sprach, zum Screening von Hilfsstoffen auf Anti-HIV-1-Aktivität und entdeckten den erfindungsgemäßen Gegenstand, der die Verabreichung von Celluloseacetatphthalat („CAP“) oder Hydroxypropylmethylcellulosephthalat („HPMCP“) beinhaltet.

D. SEXUELL ÜBERTRAGENE ERKRANKUNGEN BAKTERIELLEN URSPRUNGS

[0051] Heilbare sexuell übertragene Erkrankungen (STDs) bakteriellen Ursprungs stellen weltweit die häufigste Krankheitsursache mit signifikanten gesundheitlichen, sozialen und wirtschaftlichen Konsequenzen dar.

Sie können zu langfristigen, schwerwiegenden Komplikationen und Folgeerscheinungen führen. Die geschätzte jährliche (1995) weltweite Inzidenz der vier wichtigsten heilbaren STDs, nämlich Syphilis, Gonorrhoe (*Neisseria gonorrhoeae*), Chlamydia und Trichomoniasis, lag bei ca. 330 Millionen (Gerbase, A. C., Rowley, J. T., Heymann, D. H. L. et al., „Global Prevalence and Incidence Estimates of Selected Curable STDs“, *Sex. Transm. Inf.*, (1998), 74, (Suppl. 1): S12–S16). Eine andere behandelbare STD, *Ulcus molle*, eine ulzerative Erkrankung der Genitalien, die von *Haemophilus ducreyi* verursacht wird, kommt in Entwicklungsländern in Afrika, Asien und Lateinamerika häufig vor, wo die Inzidenz über die von Syphilis hinausgehen kann (Trees, D. K., Morse, S. A., „Chancroid and *Haemophilus ducreyi*: An Update“, *Clin. Microb. Rev.*, (1995), 8: 357–375). Die vorgeschlagenen Kontrollmaßnahmen für diese STDs schließen Folgendes ein: Surveillance, Labordiagnose, Management des Syndroms, Datenmonitoring, Behandlung mit antibakteriellen Mitteln, Benachrichtigung des Partners und Entwicklung von Vakzinen (Rao, P., Mohamedali, F. Y., Temmerman, M. et al., „Systematic Analysis of STD Control: an Operational Model“, *Sex. Transm. Inf.* (1998), 74 (Suppl 1): S17–S22; Dallabetta, G. A., Gerbase, A. C., Holmes, K. K., „Problems, Solutions, and Challenges in Syndromic Management of Sexually Transmitted Diseases“, *Sex. Transm. Inf.*, (1998), 74 (Suppl 1): S1–S11; Burstein, G. R., Gaydos, C. A., Diener-West, M., „Incident Chlamydia Trachomatis Infections Among Inner-City Adolescent Females“, *JAMA*, (1998), 280: 521–526).

[0052] EP0706794 offenbart Anti-AIDS-Pharmazeutika, umfassend einen Wirkstoff, der sich von Cellulosephthalaten unterscheidet. Dieses Präparat umfasst eine Beschichtung, worin das Beschichtungsmittel Hydroxypropylmethylcellulosephthalat darstellt.

[0053] EP 677322 offenbart die Verwendung von Cellulosephthalaten als Beschichtungsmaterialien.

[0054] US 5356634 offenbart die Verwendung von Cellulosephthalaten als Beschichtungsmaterialien.

[0055] Es wurde bisher folglich die Entwicklung eines topischen Mikrobizids aus preisgünstigen, weithin verfügbaren Ressourcen mit breiten antiviralen und antibakteriellen Aktivitäten gewünscht.

ZUSAMMENFASSUNG DER ERFINDUNG

[0056] Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist die Bereitstellung eines sicheren und relativ preisgünstigen Medikamentes, das zur Verminderung der Häufigkeit der Übertragung der Virusinfektionen mit dem Human Immunodeficiency Virus und Herpesvirus, insbesondere denen, die sexuell übertragen werden, geeignet sind.

[0057] Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist die Bereitstellung einer Zusammensetzung zur Verminderung der Häufigkeit der Übertragung des Human Immunodeficiency Virus und Herpesvirus.

[0058] Ein anderer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist die Bereitstellung von Medikamenten, die zur Behandlung und Prävention von sexuell übertragenen Bakterieninfektionen geeignet sind.

[0059] Die vorstehenden Gegenstände, zusammen mit allen Gegenständen, Aufgaben und Vorteilen werden durch die vorliegende Erfindung erreicht.

[0060] Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist ein Medikament zur Verminderung der Häufigkeit einer Übertragung und insbesondere der Prävention der Übertragung des Human Immunodeficiency Virus oder Herpesvirus durch Verabreichung einer gegen das Human Immunodeficiency Virus oder gegen das Herpesvirus gerichteten wirksamen Menge von mindestens einem Cellulosephthalat, das aus Acetatphthalat (CAP) und Hydroxypropylmethylcellulosephthalat (HPMCP), entweder allein oder in Kombination mit einem pharmazeutisch verträglichen Träger oder Verdünnungsmittel ausgewählt ist, an einen Menschen.

[0061] Gegenstand der Erfindung ist auch eine pharmazeutische Zusammensetzung zur Verminderung der Häufigkeit einer Übertragung des Human Immunodeficiency Virus oder Herpesvirus umfassend eine gegen das Immunodeficiency Virus gerichtete wirksame Menge oder eine gegen das Herpesvirus gerichtete wirksame Menge von mindestens einem Cellulosephthalat, das aus Celluloseacetatphthalat und Hydroxypropylmethylcellulosephthalat in Kombination mit einem pharmazeutisch verträglichen Träger oder einem Verdünnungsmittel ausgewählt ist.

[0062] Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist weiter ein Medikament zur Prävention der Übertragung einer sexuell übertragenen Bakterieninfektion an einen Menschen oder Behandlung eines mit einer sexuell übertragenen Bakterieninfektion infizierten Menschen, umfassend die Verabreichung einer wirksamen antibakteriell-

len Menge von mindestens einem Cellulosephthalat, das aus Acetatphthalat (CAP) und Hydroxypropylmethylcellulosephthalat (HPMCP) entweder allein oder in Kombination mit einem pharmazeutisch verträglichen Träger oder einem Verdünnungsmittel ausgewählt ist, an einen Menschen.

[0063] Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist auch eine pharmazeutische Zusammensetzung zur Prävention der Übertragung oder zur Behandlung einer sexuell übertragenen Bakterieninfektion, umfassend eine wirksame antibakterielle Menge aus mindestens einem Cellulosephthalat, das aus Celluloseacetatphthalat und Hydroxypropylmethylcellulosephthalat in Kombination mit einem pharmazeutisch verträglichen Träger oder Verdünnungsmittel ausgewählt ist.

[0064] Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind auch die vorstehend erwähnten Medikamente und pharmazeutischen Zusammensetzungen, worin das Cellulosephthalat (CAP und/oder HPMCP) in der Form einer Suspension und bevorzugt in einer mikronisierten Form bereitgestellt wird. Eine derartige Suspension kann weiter ein mit Wasser mischbares, weitgehend wasserfreies Nichtlösungsmittel für CAP oder HPMCP, wie zum Beispiel Glycerol, einschließen.

KURZE BESCHREIBUNG DER ZEICHNUNGEN

[0065] [Fig. 1](#) ist eine grafische Darstellung der Inhibition (%) vs. der Celluloseacetatphthalat-Konzentration („CAP“-Konzentration) für HSV-1 und HSV-2. [Fig. 1](#) zeigt folglich die inhibitorische Wirkung von Celluloseacetatphthalat („CAP“) auf HSV-1 und HSV-2.

[0066] [Fig. 2](#) ist eine grafische Darstellung der Inhibition (%) vs. der HPMCP-Konzentration für HSV-1 und HSV-2. Die in [Fig. 2](#) gezeigten Ergebnisse sind den in [Fig. 1](#) gezeigten ähnlich.

[0067] [Fig. 3](#) ist eine grafische Darstellung von HIV-1-p24-Antigen (Absorption bei 450 nm) vs. HIV-1-Verdünnung. [Fig. 3](#) zeigt die Disintegration von gereinigtem HIV-1 durch Behandlung mit einer „AQUATERIC“-Glycerolformulierung („CAP-Formulierung I“) mit oder ohne Polyvinylpyrrolidon (PVP) und Crospovidon 5 Minuten bei 37°C, wie durch die Freisetzung des Nukleocapsid-Antigens p24 gemessen.

[0068] [Fig. 4](#) ist eine grafische Darstellung des HIV-1-p24-Antigens (Absorption bei 450 nm) vs. der Viruskonzentration. [Fig. 4](#) zeigt die Inaktivierung der HIV-1-Infektivität durch Behandlung mit einer „AQUATERIC“-Glycerolformulierung, enthaltend 286 mg/ml „AQUATERIC“ 5 Minuten bei 37°C, wie durch Bildung des Nukleocapsid-Antigens p24 durch infizierte Zellen, wie mittels ELISA gemessen, bestimmt.

[0069] [Fig. 5](#) ist eine grafische Darstellung der Absorption (410 nm) vs. der Virusverdünnung. [Fig. 5](#) zeigt die Inaktivierung von HSV-1 und HSV-2 durch eine Suspension von „AQUATERIC“ in Glycerol. Viruspräparationen wurden 1:1 mit einer Suspension aus „AQUATERIC“ in Glycerol 5 Minuten bei 37°C gemischt.

[0070] [Fig. 6](#) ist eine grafische Darstellung der Absorption (410 nm) vs. der Virusverdünnung. [Fig. 6](#) zeigt die Inaktivierung von HSV-1 und HSV-2 durch eine „AQUATERIC“-Glycerolformulierung mit PVP und Crospovidon.

[0071] [Fig. 7](#) ist eine grafische Darstellung, welche die Disintegration von gereinigtem HIV-1 durch Behandlung mit einer Formulierung aus mikronisiertem CAP in Glycerol („CAP-Formulierung I“, die hierin nachstehend definiert ist) 5 Minuten bei 37°C bei Anwesenheit von Samenflüssigkeit bzw. Vollblut zeigt (nähere Einzelheiten sind in [Fig. 3](#) ersichtlich).

[0072] [Fig. 8](#) ist eine grafische Darstellung, welche die Inaktivierung von CMV durch die CAP-Formulierung I zeigt. Die Viruspräparationen wurden 1:1 mit der CAP-Formulierung I 5 Minuten bei 37°C gemischt. Reihenverdünnungen von den Viruspräparationen wurden unter Verwendung eines auf der Quantifizierung von β -Galactosidase basierenden Ablesesystems auf Infektivität getestet (Absorption bei 410 nm).

AUSFÜHRLICHE BESCHREIBUNG DER ERFINDUNG

[0073] Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung von Celluloseacetatphthalat (CAP) und/oder Hydroxypropylmethylcellulosephthalat (HPMCP) zur Prävention der Übertragung von Virusinfektionen und zur Prävention oder Behandlung von sexuell übertragenen Bakterieninfektionen.

[0074] Einige der Eigenschaften von CAP, wie im Handbook of Pharmaceutical Excipients beschrieben, sind

wie folgt zusammengefasst:

FREINAMEN:

BP: Cellacephate
PhEur: Cellulose acetat phthalat
USPNF: Celluloseacetatphthalat

SYNONYME:

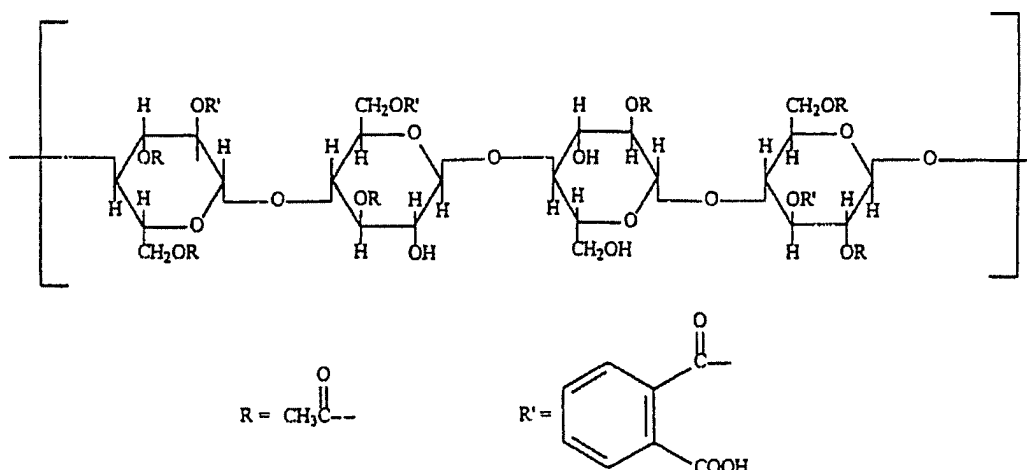
[0075] Acetylphthalylcellulose; CAP; Cellacefat; Celluloseacetathydrogen-1,2-benzendicarboxylat; Celluloseacetathydrogenphthalat; Celluloseacetatmonophthalat; Celluloseacetophthalat; Celluloseacetylphthalat.

CHEMISCHE BEZEICHNUNG UND CAS REGISTRY NUMBER:

Cellulose, Acetat, 1,2-Benzendicarboxylat [9004-38-0]

Celluloseacetatphthalat ist eine Cellulose, worin ca. die Hälfte der Hydroxylgruppen acetyliert und ca. ein Viertel verestert sind, wobei eine der beiden Säuregruppen Phthalsäure darstellt. Die andere Säuregruppe ist frei. Siehe nachstehende Strukturformel.

STRUKTURFORMEL:



[0076] Funktionskategorie: Beschichtungsmittel.

APPLIKATIONEN IN DER PHARMAZEUTISCHEN FORMULIERUNG ODER TECHNOLOGIE:

[0077] Celluloseacetatphthalat wurde bisher als ein magensaftresistentes Filmüberzugsmaterial oder als ein Matrix-Bindemittel für Tabletten und Kapseln verwendet (Spitael, J., Kinget, R., Naessens, K., „Dissolution Rate of Cellulose Acetate Phthalate and Brönsted Catalysis Law“, Pharm. Ind., (1980), 42: 846–849; Takenaka, H., Kawashima, Y., Lin, S-Y., „Preparation of Enteric-Coated Microcapsules for Tabletng by Spray-Drying Technique and in vitro Simulation of Drug Release from the Tablet in GI Tract“, J. Pharm. Sci., (1980), 69: 1388–1392; Stricker, H., Kulke, H., „Rate of Disintegration and Passage of Enteric-Coated Tablets in Gastrointestinal Tract“, Pharm. Ind., (1981), 43: 1018–1021; Takenaka, H., Kawashima, Y., Lin, S-Y., „Polymorphism of Spray-Dried Microencapsulated Sulfamethoxazole with Cellulose Acetate Phthalate and Colloidal Silica Montmorillonite, or Talc“, J. Pharm. Sci., (1981), 70: 1256–1260; Maharaj, I., Nairn, J. G., Campbell J. B., „Simple Rapid Method for the Preparation of Enteric-Coated Microspheres“, J. Pharm. Sci., (1984), 73: 39–42; Beyger, J. W., Nairn, J. G., „Some Factors Affecting the Microencapsulation of Pharmaceuticals with Cellulose Acetat Phthalate“, J. Pharm. Sci., (1986), 75: 573–578; Lin, S-Y, Kawashima, Y., „Drug Release from Tablets Containig Cellulose Acetate Phthalate as an Additive or Enteric-Coating Material“, Pharm. Res., (1987), 4: 70–74; Thoma, K., Hekemüller, H., „Effect of Film Formers and Plasticizers on Stability of Resistance and Disintegration Behaviour, Part 4: Pharmaceutical-Technological and Analytical Studies of Gastric Juice Resistant Commercial Preparations“, Pharmazie, (1987), 42: 837–841).

[0078] Derartige Überzüge sind beständig gegen verlängerten Kontakt mit dem stark sauren Magensaft, werden aber weich und quellen im leicht sauren oder neutralen intestinalen Milieu.

[0079] Celluloseacetatphthalat, wenn bisher als ein Adjuvans verwendet, wurde im Allgemeinen auf feste Dosierungsformen entweder durch Beschichtung aus organischen oder wässrigen Lösungsmittelsystemen oder durch direkte Kompression appliziert. Die verwendeten Konzentrationen betragen 0,5 bis 9,0% des Kerngewichts. Das Zufügen von Weichmachern verbessert die Wasserbeständigkeit dieses Überzugsmaterials, und derartig weich gemachte Filme sind wirksamer, als wenn Celluloseacetatphthalat als ein Adjuvans allein verwendet wird. Celluloseacetatphthalat ist kompatibel mit den folgenden Weichmachern: acetyliertem Monoglycerid; Butylphthalylbutylglycolat; Dibutyltarnat; Diethylphthalat; Dimethylphthalat; Ethylphthalylethylglycolat; Glycerin; Propylenglycol; Triacetin; Triacetincitrat und Tripropionin. Celluloseacetatphthalat wurde bisher auch in Kombination mit anderen Beschichtungsmitteln zur Kontrolle der Medikamenten-Freisetzung, z. B. Ethylcellulose, verwendet.

BESCHREIBUNG:

[0080] Celluloseacetatphthalat stellt ein hygroskopisches, weißes, freifließendes Pulver oder farblose Flocken dar. Es ist geschmacklos und geruchlos oder kann einen leichten Essigsäuregeruch aufweisen.

ARZNEIBUCH-SPEZIFIKATIONEN:

Test	PhEur 1984	USPNF XVII (Suppl. 2)
Identifikation	+	+
Aussehen der Lösung	+	-
Aussehen eines Films	+	-
Löslichkeit eines Films	+	-
Viskosität bei 25°C	-	45-90 cP
Wasser	≤5,0%	≤5,0%
Glührückstand	-	≤0,1%
Sulfatierte Asche	≤0,1%	-
Freie Säure	≤3,0%	≤6,0%
Schwermetalle	≤10 ppm	-
Phthalylgehalt	30,0-40,0%	30,0-36,0%
Acetylgehalt	17,0-26,0%	21,5-26,0%

TYPISCHE EIGENSCHAFTEN:

[0081] Hygroskopizität: Celluloseacetatphthalat ist hygroskopisch, und es sind Vorsichtsmaßnahmen notwendig, um eine übermäßige Absorption von Feuchtigkeit zu vermeiden (Callahan, J. C., Cleary, G. W., Elephant, M., Kaplan, G., Kensler, T., Nash, R. A., „Equilibrium Moisture Content of Pharmaceutical Excipients“, Drug Dev. Ind. Pharm., (1982), 8: 355–369).

[0082] Schmelzpunkt: 192°C. Die Glasübergangstemperatur liegt bei 160–170°C (Sakellariou, P., Rowe, R. C., White, E. F. T., „The Thermomechanical Properties and Glass Transition Temperatures of Some Cellulose Derivatives used in Film Coating“, Int. J. Pharmaceutics, (1985), 27: 267–277).

[0083] Löslichkeit: Nahezu unlöslich in Alkoholen, chlorierten Kohlenwasserstoffen, Kohlenwasserstoffen und Wasser; löslich in cyclischen Ethern, Estern, Etheralkoholen, Ketonen und gewissen Lösungsmittel-Gemischen. Auch löslich in gewissen gepufferten wässrigen Lösungen bei höher als pH 6. Die folgende Liste zeigt einige der Lösungsmittel und Lösungsmittel-Gemische, in denen Celluloseacetatphthalat eine Löslichkeit von 1 in 10 Teilen oder mehr aufweist.

Aceton

Aceton: Ethanol (1:1)

Aceton: Methanol (1:1/1:3)

Aceton: Methylenchlorid (1:1/1:3)

Aceton: Wasser (97:3)

Benzen: Methanol (1:1)

Diacetonalkohol

Dioxan

Ethoxyethylacetat

Ethylacetat: Ethanol (1:1)

Ethylacetat: Propan-2-ol (1:1/1:3)

Ethylenglycolmonoacetat

Ethyllactat

Methoxyethylacetat β -Methoxyethylenalkohol

Methylacetat

Methylenchlorid: Ethanol (3:1)

Methylethylketon

Viskosität (dynamisch): 50–90 mPas (50–90 cP) für eine 15 gew.-%ige Lösung in Aceton mit einem Feuchtigkeitsgehalt von 0,4%. Hierbei handelt es sich um eine gute Beschichtungslösung mit einer honigartigen Konsistenz, die Viskosität wird jedoch von der Reinheit des Lösungsmittels beeinflusst.

STABILITÄT UND LAGERUNGSBEDINGUNGEN:

[0084] Celluloseacetatphthalat hydrolysiert unter verlängerten adversen Bedingungen, wie zum Beispiel hoher Temperatur und Feuchtigkeit, langsam mit einer resultierenden Zunahme des Gehaltes an freier Säure, Viskosität und Essigsäuregeruch. Wenn sein Feuchtigkeitsgehalt über ca. 6 Gew.-% liegt, tritt eine ziemlich rasche Hydrolyse auf. Celluloseacetatphthalat ist jedoch stabil, wenn es in einem fest verschlossenen Behälter an einem kühlen, trockenen Ort aufbewahrt wird.

INKOMPATIBILITÄTEN:

[0085] Celluloseacetatphthalat ist nicht kompatibel mit Eisen(II)-sulfat, Eisen(III)-chlorid, Silbernitrat, Natriumcitrat, Aluminiumsulfat, Calciumchlorid, Quecksilberchlorid, Bariumnitrat, basischem Bleiacetat und starken Oxidationsmitteln, wie zum Beispiel starken Alkalien und Säuren. Es ist zur Kenntnis zu nehmen, dass eine Carbonsäuregruppe der Phthalsäurekomponente unverestert und für Interaktionen frei bleibt. Demgemäß kann Inkompatibilität mit säureempfindlichen Medikamenten auftreten (Rawlins, E. A., Hrsg., „Bentley's Textbook of Pharmaceutics", London: Baillière, Tindall und Cox, (1977), 291).

HERSTELLUNGSVERFAHREN:

[0086] Celluloseacetatphthalat wird durch zur Reaktion bringen des teilweisen Acetatesters von Cellulose mit Phthalsäureanhydrid in Gegenwart einer tertiären organischen Base, wie zum Beispiel Pyridin, hergestellt.

SICHERHEIT:

[0087] Celluloseacetatphthalat wird überall in oralen Pharmazeutika verwendet und wird im Allgemeinen als nicht toxisches Material angesehen, das frei von unerwünschten Wirkungen ist. Ergebnisse von Langzeitfütterungsstudien mit Celluloseacetatphthalat, an Ratten und Hunden, haben eine geringe orale Toxizität erkennen lassen. Die Ratten überlebten tägliche Fütterungen von bis zu 30% in der Ration für die Dauer bis zu einem Jahr, ohne eine Verminderung des Wachstums zu zeigen. Hunde, denen täglich 16 g in der Ration für die Dauer eines Jahres verfüttert wurde, blieben auch normal (Hodge, H. C., „The Chronic Toxicity of Cellulose Acetate Phthalate in Rats and Dogs", J. Pharmacol, 80, 250–255, (1944)).

BEHÖRDLICHER ZULASSUNGSSTATUS:

[0088] Eingeschlossen in den Richtlinien der FDA zu „Arzneilich nicht wirksamen Bestandteilen (orale Kapseln und Tabletten)". Eingeschlossen in nicht parenteralen Medikamenten, die in Großbritannien zugelassen sind.

[0089] Arzneibücher: Aust, Br, Bras, Cz, Eur, Fr, Ger, Gr, Hung, Ind, It, Jpn, Mex, Niederlande, Nord, Port, Schweiz und USPNF.

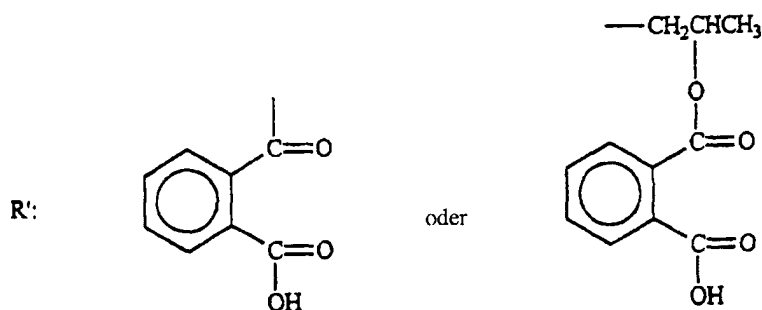
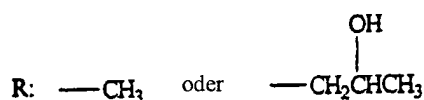
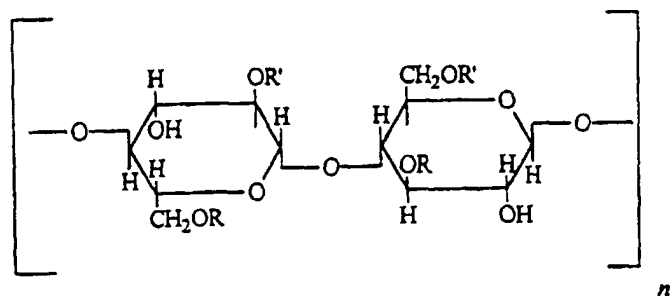
[0090] Einige der im Handbook of Pharmaceutical Excipients beschriebenen Eigenschaften von HPMCP sind wie folgt zusammengefasst:

Freinamen: BP: Hypromellose phthalate; PhEur: Methylhydroxypropylcellulose phthalas und USPNF: Hydroxypropyl methylcellulose phthalate.

Synonyme: Cellulosephthalathydroxypropylmethylether; HPMCP; 2-Hydroxypropylmethylcellulosephthalat; Methylhydroxypropylcellulosephthalat.

Chemische Bezeichnung und CAS Registry Number: Cellulose, Hydrogen-1,2-benzendicaboxylat, 2-Hydroxypropylmethylether [9050-31-1]

STRUKTURFORMEL:



[0091] Funktionskategorie: Beschichtungsmittel.

APPLIKATIONEN IN PHARMAZEUTISCHEN FORMULIERUNGEN ODER TECHNOLOGIE

[0092] Hydroxypropylmethylcellulosephthalat wurde bisher weithin in oralen pharmazeutischen Formulierungen als ein magensaftresistentes Überzugsmaterial für Tabletten oder Granulate verwendet (Ehrhardt, L., Patt, L., Schindler, E., „Optimization of Film Coating Systems“, Pharm. Ind., (1973), 35: 719–722; Delporte, J. P., Jaminet, F., „Influence of Formulation of Enteric-Coated Tablets on the Bioavailability of the Drug“, J. Pharm. Belg., (1976), 31: 263–276; Patt, L., Hartmann, V., „Solvent Residues in Film Forming Agents“, Pharm. Ind., (1976), 38: 902–906; Stafford, J. W., „Enteric Film Coating Using Completely Aqueous Dissolved Hydroxypropyl Methylcellulose Phthalate Spray Solutions“, Drug. Dev. Ind. Pharm., (1982), 8: 513–530; Thoma, K., Heckenmüller, H., Oschmann, R., „Resistance and Disintegration Behaviour of Gastric Juice Resistant Drugs“, Pharmazie, (1987), 42: 832–836; Thoma, K., Heckenmüller, H., Oschmann, R., „Impact of Film Formers and Plasticizers on Stability of Resistance and Disintegration Behaviour“, Pharmazie, (1987), 42: 837–841).

[0093] Hydroxypropylmethylcellulosephthalat ist in Magensaft unlöslich, quillt aber und löst sich rasch im Dünndarm auf. Im Allgemeinen wurden Konzentrationen von 5–10% Hydroxypropylmethylcellulosephthalat eingesetzt, wobei das Material in entweder einem Lösungsmittelgemisch aus Dichlormethan: Ethanol (50:50) oder Ethanol: Wasser (80:20) aufgelöst wird. Hydroxypropylmethylcellulosephthalat kann in der Regel auf Tabletten und Granulate ohne das Zufügen eines Weichmachers oder anderer Filmbildner unter Verwendung etablierter Beschichtungsverfahren appliziert werden (Rowe, R. C., „Molecular Weight Studies on the Hydroxypropyl Methylcellulose Phthalate (HP55)“, Acta. Pharm. Technol., (1982), 28(2): 127–130. Das Zufügen einer kleinen Menge Weichmacher oder Wasser kann Filmplatzprobleme vermeiden; viele häufig verwendete Weichmacher, wie zum Beispiel Diacetin, Triacetin, Diethyl- und Dibutylphthalat, Castoröl, Acetylmonoglycerid und Polyethylenglycole sind mit Hydroxypropylmethylcellulosephthalat kompatibel. Mit Hydroxypropylmethylcellulosephthalat beschichtete Tabletten disintegrieren schneller als Tabletten, die mit Celluloseacetatphthalat überzogen sind.

[0094] Hydroxypropylmethylcellulosephthalat kann unter Verwendung einer Dispersion aus dem mikronisierten Hydroxypropylmethylcellulosephthalatpulver in einer wässrigen Dispersion aus einem geeigneten Weichmacher, wie zum Beispiel Triacetin, Triethylcitrat oder Diethyltartrat zusammen mit einem Netzmittel auf Tab-

lettenoberflächen appliziert werden (Muhammad, N. A., Boisvert, W., Harris, M. R., Weiss, J., „Evaluation of Hydroxypropyl Methylcellulose Phthalate 50 as Film Forming Polymer from Aqueous Dispersion Systems", Drug Dev. Ind. Pharm., (1992), 18: 1787–1797).

[0095] Hydroxypropylmethylcellulosephthalat kann alleine oder in Kombination mit anderen löslichen oder unlöslichen Bindemitteln bei der Herstellung von Granulaten mit hinhaltenden Medikamentenfreigabeeigenschaften verwendet werden; die Freigaberate ist pH abhängig. Da Hydroxypropylmethylcellulosephthalat geschmacklos und in Speichel unlöslich ist, kann es als eine Beschichtung zur Maskierung des unangenehmen Geschmacks einiger Tablettenformulierungen verwendet werden.

BESCHREIBUNG:

[0096] Hydroxypropylmethylcellulosephthalat liegt als weiße bis leicht weißliche freifließende Flocken oder als ein granulöses Pulver vor. Es ist geruchlos oder hat einen leicht sauren Geruch und hat einen kaum nachweisbaren Geschmack.

TYPISCHE EIGENSCHAFTEN:

Schmelzpunkt: 150°C.

Löslichkeit: Nahezu unlöslich in Ethanol und Wasser; wenig löslich in Aceton und Toluol; löslich in wässrigen Alkalien, einem Gemisch aus gleichen Volumina Aceton und Methanol und in einem Gemisch aus gleichen Volumina Dichlormethan und Methanol.

STABILITÄT UND LAGERUNGSBEDINGUNGEN:

[0097] Hydroxypropylmethylcellulosephthalat ist bei Umgebungstemperatur und -feuchte chemisch und physikalisch 3–4 Jahre und 2–3 Monate bei 40°C und 75% relativer Feuchte stabil (Shin-Etsu Chemical Co., Ltd., Technical Literature: Hydroxypropyl Methylcellulose Phthalate (1993). Hydroxypropylmethylcellulosephthalat ist bei UV-Lichtexposition bis zu 3 Monate bei 25°C und 70% relativer Feuchte stabil (Shin-Etsu Chemical Co., Ltd., Technical Literature: Hydroxypropyl Methylcellulose Phthalate, (1993). Im Allgemeinen ist Hydroxypropylmethylcellulosephthalat stabiler als Celluloseacetatphthalat. Bei Umgebungslagerungsbedingungen ist Hydroxypropylmethylcellulosephthalat für einen mikrobiellen Angriff nicht anfällig.

INKOMPATIBILITÄTEN:

[0098] Inkompatibel mit starken Oxidationsmitteln. Ein Reißen der Filmüberzüge wurde selten berichtet, vor allem mit Überzugstabletten, die mikrokristalline Cellulose und Calciumcarboxymethylcellulose enthalten. Ein Reißen des Films trat auch auf, wenn ein Gemisch aus Aceton: Propan-2-ol oder Dichlormethan:Propan-2-ol als Beschichtungslösungsmittel verwendet wurde oder wenn Beschichtungen unter niedrigen Temperatur- und Feuchtigkeitsbedingungen appliziert wurden. Das Reißen des Films kann jedoch durch sorgfältige Auswahl des verwendeten Beschichtungslösungsmittels unter Verwendung eines Polymergrades mit höherem Molekulargewicht (Rowe, R. C., „Molecular Weight Studies on the Hydroxypropyl Methylcellulose Phthalate (HP55), Acta. Pharm. Technol., (1982), 28(2): 127–130) oder durch das Zufügen eines Weichmachers, wie zum Beispiel Acetylmonoglycerid oder Triacetin, vermieden werden. Das Zufügen von mehr als ca. 10% Titandioxid zu einer Beschichtungslösung aus Hydroxypropylmethylcellulosephthalat, die zur Herstellung eines farbigen Filmüberzugs verwendet wird, kann in Überzügen mit verminderter Elastizität und Magensaftbeständigkeit resultieren (Shin-Etsu Chemical Co., Ltd., Technical Literature: Hydroxypropyl Methylcellulose Phthalate, (1993)).

HERSTELLUNGSVERFAHREN:

[0099] Hydroxypropylmethylcelluloseacetatphthalat wird durch die Veresterung von Hydroxypropylmethylcellulose mit Phthalsäureanhydrid hergestellt. Der Grad der Methoxy- und Phthalylsubstitution bestimmt die Eigenschaften des Polymers und insbesondere des pH, bei dem es sich in wässrigen Medien auflöst.

SICHERHEIT:

[0100] Hydroxypropylmethylcellulosephthalat wurde bisher weithin verwendet, primär als ein magensaftresistentes Beschichtungsmittel in oralen pharmazeutischen Formulierungen. Chronische und akute Tierfütterungsstudien an mehreren verschiedenen Spezies haben keine mit Hydroxypropylmethylcellulosephthalat in Verbin-

dung stehende Hinweise auf oder Teratogenität oder Toxizität gezeigt (Kitagawa, H., Kawana, H., Satoh, T., Fukuda, Y., „Acute and Subacute Toxicities of Hydroxypropyl Methylcellulose Phthalat“, Pharmacometrics, (1970), 4(6): 1017–1025; Kitagawa, H., Satoh, T., Yokoshima, T., Nanbo, T., „Absorption, Distribution and Excretion of Hydroxypropyl Methylcellulose Phthalat in the Rat“, Pharmacometrics, (1971), 5(1): 1–4; Ito, R., Toida, S., „Studies on the Teratogenicity of a New Enteric Coating Material, Hydroxypropyl Methylcellulose Phthalate (HPMCP) in Rats and Mice“, J. Med. Soc. Toho-Univ., (1972), 19(5): 453–461; Kitagawa, H., Yano, H., Fukuda, Y., „Chronic Toxicity of Hydroxypropylmethylcellulose Phthalate in Rats“, Pharmacometrics, (1973), 7(5): 689–701; Kitagawa, H., Yokoshima, T., Nanbo, T., Hasegawa, M., „Absorption, Distribution, Excretion and Metabolism of ¹⁴C-Hydroxypropyl Methylcellulose Phthalate“, Pharmacometrics, (1974), 8(8): 1123–1132. Hydroxypropylmethylcellulosephthalat wird im Allgemeinen als ein nicht reizendes und nicht toxisches Material angesehen.

[0101] LD₅₀ (Ratte, oral): > 15 g/kg (Kitagawa et al., Pharmacometrics, (1970), 4(6): 1017–1025).

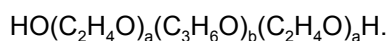
[0102] Behördlicher Zulassungsstatus: Eingeschlossen in den Richtlinien der FDA für Arzneilich unwirksame Bestandteile (orale Kapseln und Tabletten) und eingeschlossen unter in Großbritannien zugelassenen nicht parenteralen Medikamenten.

[0103] Arzneibücher: Br, Eur, Fr, Gr, It, Jpn, Niederlande, Port, Schweiz und USPNF.

[0104] Verwandte Substanzen: Celluloseacetatphthalat; Hydroxypropylmethylcellulose.

[0105] Eine besonders bevorzugte erfindungsgemäße Zusammensetzung zur topischen Verabreichung an einen Menschen umfasst eine mikronisierte Präparation, enthaltend CAP oder HPMCP, ein Poloxamer und destillierte acetylierte Monoglyceride (ein Gemisch aus mikronisiertem CAP, Poloxamer und acetylierten Monoglyceriden wird von der FMC Corporation unter dem Warenzeichen „AQUATERIC“ angeboten) in Glycerol suspendiert. Ein Poloxamer stellt ein nicht ionisches Polyoxyethylen-Polyoxypropylen-Copolymer dar. Squalan (2,6,10,15,19,23-Hexamethyltetracosan) kann anstelle von Glycerol verwendet werden.

[0106] Eine chemische Bezeichnung für ein Poloxamer ist α-Hydro-ω-hydroxypoly(oxyethylen)-Poly(oxypropylen)-Poly(oxyethylen)-Blockcopolymer. Die Poloxamer-Polyole stellen eine Reihe eng verwandter Blockcopolymerer aus Ethylenoxid und Propylenoxid dar, die der folgenden Formel entsprechen:



[0107] Im Folgenden findet sich eine Liste von Poloxamer-Graden (USPNF XVII):

Poloxamer	Physikalische Form	a	b	Durchschnittliches Molekulargewicht
124	Flüssig	12	20	2090 bis 2360
188	Fest	80	27	7680 bis 9510
237	Fest	64	37	6840 bis 8830
338	Fest	141	44	12700 bis 17400
407	Fest	101	56	9840 bis 14600

[0108] Zur Verhinderung der Trennung der Mikrosuspension, enthaltend das CAP oder HPMCP, das Poloxamer und die destillierten Monoglyceride, vom Glycerol, wird das Zufügen von Polyvinylpyrrolidon („PVP“) und ein 1-Ethenyl-2-pyrrolidinon-Homopolymer (Crospovidon) (Polyplasdone) (C₆H₉NO)_n, Molekulargewicht > 1000000) (wasserunlösliches synthetisches vernetztes Homopolymer von N-Vinyl-2-pyrrolidinon) bevorzugt.

[0109] Der hierin verwendete Begriff „mikronisiert“ verweist auf Partikel mit einer Partikelgröße von weniger als 35 Mikron, bevorzugt weniger als 15 Mikron, bevorzugter weniger als 10 Mikron und am bevorzugtesten weniger als 5 Mikron.

[0110] In der hierin beschriebenen Zusammensetzung, die Glycerol enthält, kann das Glycerol mit einer Kochsalzlösung oder Wasser ersetzt werden, so lange die Zusammensetzung bei ≤ 25°C gelagert wird.

[0111] CAP wird im Allgemeinen als ein magensaftresistentes Filmüberzugsmaterial oder als ein Matrix-Bindemittel für Tabletten und Kapseln verwendet. Seine Sicherheit wurde eingehend untersucht, und es wurde gezeigt, dass es frei von unerwünschten Wirkungen ist. Vaginale Irritationstests am Kaninchenmodell bestätigten

seine Sicherheit weiter. CAP ist eine Verbindung mit einem hohen Molekulargewicht (das M_w beträgt ca. 60000), was darauf hindeutet, dass es sich bei topischer Applikation nicht systemisch ausbreitet. Die Wahrscheinlichkeit, dass sich CAP über die Applikationsstelle hinaus ausbreitet, wurde durch seine Verwendung in mikronisierter Form weiter vermindert.

[0112] Die Anmelder entdeckten, dass CAP-Formulierungen gegen HIV-1, Herpesviren, HSV-1 und HSV-2, Cytomegalievirus, Chlamydia trachomatis, Gardnerella, Neisseria gonorrhoeae, Haemophilus ducreyi und Trichomonas vaginalis aktiv sind.

[0113] Andererseits wirkten sich die CAP-Formulierungen nicht auf die Lebensfähigkeit von Lactobacilli aus, bei denen es sich weitgehend um essentielle Komponenten der natürlichen Vaginalflora handelt, die für die Resistenz gegen einige STD-Pathogene wichtig ist (Hawes, S. E., Hillier, S. L., Benedetti, J. et al., „Hydrogen Peroxide-Producing Lactobacilli and Acquisition of Vaginal Infections“, J. Infect. Dis., (1995), 172, 756–763).

[0114] Die Ergebnisse ließen erkennen, dass sich die Formulierung nicht auf die Infektivität von Papillomaviren, einem anderen am Cervikalkarzinom beteiligten STD-Erreger auswirkt (Franco, E. L., Villa, L. L., Ruiz, A. et al., „Transmission of Cervical Human Papillomavirus Infection by Sexual Activity: Differences Between Low and High Oncogenic Risk Types“, J. Infect. Dis., (1995) 172, 756–763; Bosch, F. X., Munoz, N., de Sanjose, S. et al., „Importance of Human Papillomavirus Endemicity in the Incidence of Cervical Cancer: An Extension of the Hypothesis on Sexual Behavior“, Cancer Epidemiol. Biomarkers & Prev., (1994), 3, 375–379).

[0115] Ohne durch eine bestimmte Theorie der Funktionsfähigkeit gebunden sein zu wollen, wird in Erwägung gezogen, dass die antivirale und antibakterielle Aktivität von CAP der hydrophoben Beschaffenheit der Phthalat-Reste am CAP-Polymer zuschreibbar sein kann, da seine Aktivität gegen Pathogene von sexuell übertragenen Erkrankungen wichtig zu sein scheint, weil vielen anderen getesteten Cellulose-Derivaten sowohl die Anti-HIV-1- als auch Anti-Herpesvirus-Aktivität mangelte.

[0116] Eine bevorzugte erfindungsgemäße Zusammensetzung zur Verabreichung kann wie folgt hergestellt werden: Man löst PVP in Glycerol auf, fügt dann vernetztes 1-Ethenyl-2-pyrrolidinon-Homopolymer (Crosopovidon) (Crosopovidon ist vernetztes Povidon) und eine Zusammensetzung, umfassend mikronisiertes CAP und Poloxamer und acetylierte Monoglyceride zu. Das PVP und vernetztes 1-Ethenyl-2-pyrrolidinon-Homopolymer wären in Konzentrationen zur Stabilisierung der Suspension aus „AQUATERIC“ in Glycerol ausreichend. Squalan kann anstelle von Glycerol verwendet werden.

[0117] Das erfindungsgemäße Verfahren kann zur Prävention der Übertragung des Human Immunodeficiency Virus, wie zum Beispiel HIV-1 und HIV-2 und Herpesvirus bei Menschen verwendet werden. Der erfindungsgemäße Gegenstand ist folglich wirksam bei der Prävention der Übertragung von HIV-1 oder HSV, wie zum Beispiel HSV-1, HSV-2, HSV-7 und HSV-8 ebenso wie vom humanen Cytomegalievirus, Varizella-Zoster-Virus, Epstein-Barr-Virus und humanen Herpesvirus 6. Bevorzugte erfindungsgemäße Ausführungsformen sind zur Prävention der Übertragung von HIV-1, HSV-1 oder HSV-2, von denen bekannt ist, dass sie sexuell übertragen werden sowie von HSV-8, von dem bekannt ist, dass es der kausale Erreger des Karposi-Sarkoms ist, vorgehen.

[0118] Der erfindungsgemäße Gegenstand betrifft auch die Prävention der Übertragung von oder die Behandlung einer sexuell übertragenen Bakterieninfektion, wie zum Beispiel Syphilis, Gonorrhoe, Chlamydia, Trichomoniasis oder eine durch Gardnerella vaginalis verursachte Infektion.

[0119] In den erfindungsgemäßen Medikamenten zur Prävention der Übertragung einer HIV- oder Herpesvirusinfektion in einem Menschen oder zur Prävention der Übertragung oder zur Behandlung einer sexuell übertragenen Bakterieninfektion in einem Menschen wird einem Menschen eine pharmazeutisch wirksame antivirale Menge bzw. eine antibakterielle Menge CAP oder HPMCP oder CAP wie auch HPMCP verabreicht. Die Zusammensetzung zur erfindungsgemäßen Verwendung wird an eine geeignete Region des menschlichen Körpers verabreicht.

[0120] Die Phrase „Verabreichung an eine geeignete Region des menschlichen Körpers“ schließt zum Beispiel die Applikation des Wirkstoffs (CAP oder HPMCP oder beides) oder eine Zusammensetzung ein, enthaltend das gleiche, das an Regionen des Körpers eines Menschen, zum Beispiel an der Region des menschlichen Körpers verwendet wurde, der mit einem anderen menschlichen Körper in engen Kontakt kommt, zum Beispiel die Applikation (direkt oder indirekt) auf die männlichen oder weiblichen Genitalien zur Prävention der Übertragung von HIV-1-, HSV-1-, HSV-2- oder Bakterieninfektion während des Geschlechtsverkehrs.

[0121] Der Begriff „lokale Verabreichung“ schließt jedwedes Verabreichungsverfahren ein, bei dem die Aktivität von CAP oder HPMCP oder von beidem erfindungsgemäß verwendet wird, ist weitgehend auf die Region des menschlichen Körpers, auf die es appliziert wird, d. h. vaginale oder rektale (topische) Verabreichung, beschränkt.

[0122] Der erfindungsgemäße Gegenstand ist folglich zur Bereitstellung eines Medikamentes zur Prävention der Übertragung einer Virusinfektion, wie zum Beispiel einer HIV- oder Herpesvirusinfektion oder zur Prävention der Übertragung oder zur Behandlung einer Bakterieninfektion, die durch sexuellen Kontakt übertragen wird, wie zum Beispiel vaginale Übertragung, entweder während des Geschlechtsverkehrs oder während der Geburt (vaginale Entbindung), durch vaginale Verabreichung, wie zum Beispiel durch Verabreichung einer Creme-, Salben-, Lotion-, Gelee-, Lösungs-, Emulsions- oder Schaumformulierung, enthaltend eine pharmazeutisch wirksame Anti-HIV-1-Menge oder eine Anti-HSV-Menge oder antibakterielle Menge von CAP (wie zum Beispiel mikronisiertes CAP) oder HPMCP (wie zum Beispiel mikronisiertes HPMCP) oder beides, entweder allein oder in Kombination mit einem pharmazeutisch verträglichen Träger oder Verdünnungsmittel, besonders geeignet.

[0123] Zur Prävention der Übertragung der HIV-1- oder Herpesvirusinfektion oder einer Bakterieninfektion, die durch sexuellen Kontakt übertragen wird, kann CAP oder HPMCP (in mikronisierter Form) oder beides auf eine kontrazeptive Vorrichtung (zum Beispiel ein männliches oder weibliches Kondom, ein kontrazeptives Diaphragma oder einen kontrazeptiven Schwamm, zum Beispiel einen Polyurethanschaumschwamm) vor dem Geschlechtsverkehr appliziert werden.

[0124] Als Alternative kann CAP oder HPMCP oder beides auf einem Pessar oder Tampon zur vaginalen Verabreichung appliziert werden. Die pharmazeutische Formulierung zur topischen Verabreichung würde eine pharmazeutisch wirksame Anti-HIV-Menge oder Anti-Herpesvirusmenge oder antibakterielle Menge von CAP oder HPMCP oder beides und mindestens einen pharmazeutisch verträglichen topischen Träger oder ein Verdünnungsmittel zur Bildung einer Salbe, Creme, eines Gels, einer Lotion, Paste, eines Gelees, Sprays oder Schaums umfassen.

[0125] Die Menge (Dosierung) des Wirkstoffs (CAP oder HPMCP oder beides) in einer topischen Formulierung zur erfindungsgemäßen Verwendung beträgt im Allgemeinen weniger als 1000 Milligramm, bevorzugt zwischen 200 bis 800 Milligramm.

[0126] Die Verabreichung des Wirkstoffs zusammen mit einem pharmazeutisch verträglichen Verdünnungsmittel oder Träger ist als eine pharmazeutische Formulierung bevorzugt. Folglich ist erfindungsgemäß auch die Verwendung einer pharmazeutischen Formulierung oder Zusammensetzung vorgesehen, umfassend den Wirkstoff zusammen mit einem oder mehr pharmazeutisch verträglichen Träger(n) oder Verdünnungsmittel(n) und optional anderen Prophylaktika. Der/die Träger oder das/die Verdünnungsmittel sollten „verträglich“ im Sinne von kompatibel mit den anderen Bestandteilen der Formulierung und nicht schädlich für den Empfänger sein.

[0127] Pharmazeutische Formulierungen schließen die ein, die zur vaginalen, rektalen oder topischen Verabreichung geeignet sind. Die Formulierungen können gegebenenfalls zweckmäßiger Weise in diskreten Dosierungseinheiten dargereicht werden und können mittels jedweder der im Stand der Pharmazie weithin bekannten Verfahren hergestellt werden. Alle diese Verfahren schließen den Schritt ein, in dem der Wirkstoff mit flüssigen Trägern, Gelen oder fein verteilten festen Trägern oder beidem und dann gegebenenfalls Formen des Produkts zur gewünschten Formulierung miteinander in Verbindung gebracht werden.

[0128] Zur vaginalen Verabreichung geeignete Formulierungen können als Pessare, Tampons, Cremes, Gele, Pasten, Gelees, Schäume oder Sprays oder wässrige oder ölige Suspensionen, Lösungen oder Emulsionen (flüssige Formulierungen), enthaltend, außer dem Wirkstoff, solche Träger, wie sie im Stand der Technik geeignet sind, dargereicht werden. Diese Formulierungen sind zum Schutz nicht nur gegen sexuelle Übertragung einer HIV- oder HSV- oder einer sexuell übertragenen Bakterieninfektion, sondern auch zur Prävention der Infektion eines Säuglings während der Passage durch den Geburtskanal nützlich. Folglich kann die vaginale Verabreichung vor dem Geschlechtsverkehr, während des Geschlechtsverkehrs und unmittelbar vor der Geburt erfolgen.

[0129] Als eine vaginale Formulierung kann der Wirkstoff zusammen mit einem Spermizid verwendet werden und kann wie vorstehend besprochen mit einem Kondom, einem Diaphragma, einem Schwamm oder anderen Kontrazeptiva eingesetzt werden.

[0130] Pharmazeutische Formulierungen und Präparate, die zur Verabreichung geeignet sind, können zweckmäßigerweise als eine Lösung, eine wässrige oder ölige Suspension oder eine Emulsion dargereicht werden. Der Wirkstoff kann auch als ein Bolus, Electuarium oder eine Paste dargereicht werden.

[0131] Flüssige Präparate zur vaginalen Verabreichung können übliche Zusatzstoffe, wie zum Beispiel Suspendiermittel, Emulgatoren, nicht-wässrige Vehikel (die genießbare Öle einschließen können) oder Konservierungsmittel, enthalten.

[0132] Pharmazeutische Formulierungen, die zur rektalen Verabreichung geeignet sind, worin der Träger ein Feststoff ist, werden am bevorzugtesten als Suppositorien in einer Einheitsdosis dargereicht. Geeignete Träger schließen Kakaobutter und andere im Stand der Technik üblicherweise verwendete Materialien ein, und die Suppositorien können zweckmäßigerweise durch Beimischen des Wirkstoffs mit dem/den weich gemachten oder geschmolzenen Träger(n), gefolgt von Abkühlen und Formen in Formwerkzeugen gebildet werden.

[0133] Tropfen können mit einer wässrigen oder nicht wässrigen Grundlage, umfassend ein oder mehr Dispergiermittel, Solubilisierungsmittel und Suspendiermittel, formuliert werden. Flüssige Sprays werden zweckmäßiger Weise aus unter Druck stehenden Packungen abgegeben.

[0134] Gegebenenfalls können die vorstehend beschriebenen Formulierungen, die zur inhaltenden Abgabe des Wirkstoffs angepasst sind, eingesetzt werden.

[0135] Die pharmazeutischen Zusammensetzungen zur erfindungsgemäßen Verwendung können auch andere Wirkstoffe, wie zum Beispiel Spermizide oder antimikrobielle Mittel, Konservierungsmittel oder andere antivirale Mittel enthalten.

[0136] Das erfindungsgemäße mikronisierte CAP und seine Suspension in Glycerol oder Squalan ergibt eine aktive und stabile Formulierung, die antivirale Aktivität besitzt und zur topischen Applikation zur Prävention der sexuellen Übertragung von HIV-1, Herpesviren und sexuell übertragenen Bakterieninfektionen geeignet ist.

[0137] Der erfindungsgemäße Gegenstand betrifft auch pharmazeutische Zusammensetzungen, enthaltend 1 bis 25 Gew.-%, bevorzugt 5 bis 20 Gew.-% und bevorzugter 12 bis 18 Gew.-% mikronisiertes Celluloseacetatphthalat und Glycerol und entweder Polyvinylpyrrolidon oder Crospovidon (1-Ethenyl-2-pyrrolidinon-Homopolymer) oder kolloidales Siliciumdioxid zur Bildung einer leicht applizierbaren homogenen Creme.

[0138] Außer den beiden vorstehend offenbarten Formulierungen kann eine halb feste Formulierung, enthaltend alle festen Bestandteile (d. h. "AQUATERIC", Povidon, Crospovidon und kolloidales Siliciumdioxid) mit Glycerol und Squalan vermischt werden, worin die Mengen aller Komponenten ausreichend sind, um in einem halb festen Teig oder einer kittartigen Masse zu resultieren, der/die leicht geformt, in die gewünschten Aliquote aufgeteilt und zum Schutz vor Umweltfaktoren (Feuchtigkeit usw.) verpackt werden kann.

[0139] „AQUATERIC“ kann überdies durch eine andere Form des mikronisierten CAP ersetzt werden. Dies könnte zum Beispiel durch Auflösen von 100 mg CAP und 100 mg Polyvinylpyrrolidon (Povidon, PVP) pro 1 ml Dimethylsulfoxid geschehen. Nach Auflösung der festen Komponenten wird Wasser unter effizientem, kräftigem Mischen langsam zugefügt. Dies resultiert in der Bildung eines feinen Präzipitats von PVP enthaltendem CAP. Das Präzipitat wird anschließend mit Wasser gewaschen und schließlich gefriergetrocknet. Das feine, gefriergetrocknete Pulver kann anstelle von "AQUATERIC" verwendet werden.

[0140] Das im vorangehenden Abschnitt offenbarte Verfahren ist viel einfacher als ein ähnliches Verfahren, das sich Polyvinylalkohol anstelle von PVP und Aceton anstelle von Dimethylsulfoxid zunutze macht und auch das Vorliegen eines Mineralsalzes, wie zum Beispiel Magnesiumchlorid (USP 4.968.350 an Bindschaedler et al., "Process for Preparing a Powder of Water-insoluble Polymer which can be Redispersed in a Liquid Phase, the Resulting Powder and Utilization Thereof"). Die Gegenwart von Mg^{++} ist auch unerwünscht, da es die Stabilität von CAP vermindert.

[0141] Die vorstehend erwähnte Formulierung von "AQUATERIC", PVP und Crospovidon in Glycerol ist zur topischen Applikation geeignet. Um die Formulierung jedoch in prädefinierten Mengen, zusätzlich zur Formulierung, zu applizieren (zu verabreichen), sollte eine Messvorrichtung, z. B. ein Applikator, bereitgestellt werden.

[0142] Die Inkorporation der Formulierungen, enthaltend CAP und/oder HPMCP in Hydroxypropylmethylcel-

lulose-Kapseln, wie zum Beispiel "VEGI CAPS" oder "VEGGIE-CAPS", hergestellt von GS Technologies, Springville, Utah, die als vaginale Suppositorien konfiguriert sein können, ist vorteilhaft. Damit würden die Kosten reduziert und mögliche Entsorgungsprobleme vermieden. Diese Suppositorien können in die Vagina intakt eingeführt werden, wobei sich die Hülle der Kapsel erweichen und nach Interaktion mit der Feuchtigkeit in der Vagina bersten wird, wobei sie folglich die CAP- und/oder HPMCP-Formulierung freigibt.

[0143] Die vorstehend beschriebenen Hydroxypropylmethylcellulose-Kapseln können zum Beispiel gefüllt werden, entweder mit:

(a) "AQUATERIC" suspendiert in Glycerol; oder

(b) "AQUATERIC" in fester Form, mit oder ohne zusätzliche(n) Wirkstoffe(n), kann auch in Gelatinekapseln inkorporiert werden.

[0144] Die Formulierung, enthaltend den erfindungsgemäßen Wirkstoff (CAP und/oder HPMCP) kann in der Form einer einzelnen Kapsel vorliegen, oder die Formulierung kann in der Form von zwei oder mehr Kapseln vorliegen, wobei jede die gleichen oder unterschiedliche Bestandteile enthält.

[0145] Die Anmelder entdeckten, dass zwei unter vielen pharmazeutischen Hilfsstoffen eine potente Anti-HIV-1-Aktivitäts- und Antibakterienwirkung aufweisen. Dies ist von großer Wichtigkeit, da Hilfsstoffe keine kostspieligen Verbindungen sind. Es wird erwartet, dass die Dosis von CAP oder HPMCP pro topischer Einzelapplikation (ca. 300 mg) ca. 1,33 US Cents kostet. Die Applikation von CAP und/oder HPMCP zur Verminderung der Häufigkeit der sexuellen Übertragung von HIV-1- und Bakterieninfektionen ist weltweit wirtschaftlich möglich, und es wird erwartet, dass sie zur Kontrolle der weltweiten HIV-1-Epidemie beiträgt.

[0146] Da Viren mit Ausnahme von HIV-1 auch sexuell übertragen werden können, war die Bestimmung von Interesse, ob CAP und/oder HPMCP auch die Infektion durch solche Viren inhibieren können. Für diese Experimente wurden Herpesvirus Typ 1 (HSV-1) und Typ 2 (HSV-2) ausgewählt. Die in der Figur zusammengefassten Ergebnisse deuten darauf hin, dass CAP die Infektion von sowohl HSV-1 als auch HSV-2 inhibierte. Ähnliche Ergebnisse wurden mit HPMCP erhalten (siehe [Fig. 2](#)).

[0147] Einige der hierin dargestellten Ergebnisse wurden auf der 12. Welt-AIDS-Konferenz, Neurath, A. R., Strick, N., Lin, K. et al., "Microbicide B195", Proceedings of the 12th World AIDS Conference, Genf, Schweiz, 28. Juni – 3. Juli, 1998, S. 239–242, kurz unter dem Code "Mikrobizid B195" zusammengefasst.

BEISPIELE

BEISPIEL 1: SCREENING PHARMAZEUTISCHER HILFSSTOFFE AUF ANTI-HIV-AKTIVITÄT

[0148] Alle Verbindungen wurden durch Messen der Inhibition der Fusion zwischen HIV-1-infizierten und nicht infizierten Zellen zuerst auf Anti-HIV-1-Aktivität gescreent (Jiang, S., Lin, K., Strick, N., Neurath, A. R., „Inhibition of HIV-1 Infection by a Fusion Domain Bindung Peptide from the HIV-1 Envelope Glycoprotein gp41“, Biochem. Biophys. Res. Commun. (1993), 195, 533–538).

[0149] Die Auswahl pharmazeutischer Hilfsstoffe zum Screening auf Anti-HIV-Aktivität erfolgte aus einer Liste pharmazeutischer Hilfsstoffe, die sich aus dem Handbook of Pharmaceutical Excipients, Hrsg. Ainley Wade und Paul J. Weller, 2. Auflage, American Pharmaceutical Association, Washington, DC, und der Pharmaceutical Press, London (1994) herleiteten. Die ausgewählten Verbindungen sind in der folgenden Tabelle 1A aufgelistet. Andere im Handbook of Pharmaceutical Excipients aufgelisteten Hilfsstoffe wurden nicht auf Anti-HIV-1-Aktivität getestet, seit aus früheren Studien bekannt wurde, dass sie keine derartige Aktivität aufweisen (siehe die folgende Tabelle 2). In Wasser unlösliche Verbindungen oder Puffer (siehe die folgende Tabelle 3), organische Verbindungen, einschließlich Ölen, Wachsen, Lösungsmitteln und Detergenzien, von denen bekannt ist, dass sie die Zellmembranen und Hüllen Lipid-enthaltender Viren solubilisieren (siehe die folgende Tabelle 4), für Aerosol-Treibmittel verwendete Gase (siehe die folgende Tabelle 5) und Oxidationsmittel und Desinfektionsmittel mit antibakterieller Aktivität (siehe die folgende Tabelle 6) wurden aus dem Screening-Verfahren ausgeschlossen.

[0150] Von allen in Tabelle 1A aufgelisteten Verbindungen inhibieren überraschenderweise nur zwei Verbindungen die Fusion zwischen HIV-1-infizierten und nicht infizierten Zellen, was einem Verfahren zur raschen Beurteilung der Anti-HIV-1-Aktivität von Verbindungen entspricht. In diesem Assay wurden mit HIV-1-IIIB infizierte H9-Zellen mit 2',7'-Bis(2-carboxyethyl)-5-(und -6)-carboxyfluoresceinacetoxymethylester (BCECF; Molecular Probes, Inc., Eugene, Oregon) nach den Anweisungen des Herstellers markiert. BCECF-markierte

H9/HIV-1-IIIB-Zellen (10^4) wurden mit 2×10^5 nicht infizierten MT-2-Zellen gemischt. Nach der Inkubation in einer 96-Well-Platte 1 Stunde bei 37°C wurden die fusionierten und nicht fusionierten markierten Zellen unter einem invertierten Fluoreszenz-Mikroskop bei einer Vergrößerung von $160 \times$ gezählt. Es wurden mindestens 200 BCECF-markierte Zellen gezählt, und der Anteil fusionierter Zellen wurde bestimmt. Diese Tests wurden in An- und Abwesenheit von zu screenenden abgestuften Verbindungsmengen durchgeführt. Alle Experimente mit HIV-1 wurden unter den Biorisiko-Containment-Konzentrationen nach P2 durchgeführt.

[0151] Die Anti-HIV-1-Aktivität der beiden Verbindungen, nämlich des in Tabelle 1A aufgelisteten Celluloseacetatphthalats und Hydroxypropylmethylcellulosephthalats, wurde anhand der folgenden zusätzlichen Tests bestätigt und quantifiziert: (a) Inhibition des cytopathischen Effekts (CPE) von HIV-1 und (b) Inhibition der Produktion des HIV-1-Nukleocapsid-Antigens (p24) (Neurath, A. R., Strick, N., Haberfield, P., Jiang, S., „Rapid Prescreening for Antiviral Agents Against HIV-1 Based on their Inhibitory Activity in Site-Directed Immunoassays, II. Porphyrins Reacting with the V3 loop of gp120“, *Antivir. Chem. Chemother.*, (1992), 3, 55–63) (Tabelle 1B). Die beiden Verbindungen waren für nicht infizierte Zellen bei Konzentrationen von $\leq 2500 \mu\text{g/ml}$ nicht toxisch.

[0152] MT-2-Zellen (10^4) in 96-Well-Platten wurden mit HIV-1 (in einer Dosis, die zum Erreichen einer Infektionsmultiplizität von 0,0045 ausreicht) in $200 \mu\text{l}$ RPMI 1640-Medium, supplementiert mit 10 Vol-% fetalem Rinderserum („FBS“) infiziert. Nach 1 Stunde und 24 Stunden wurde die Hälfte des Kulturmediums ausgewechselt und durch frisches Medium ersetzt. Am vierten Tag nach der Inkubation bei 37°C wurden $100 \mu\text{l}$ der Kulturüberstände aus jedem Well entnommen, und den Wells wurde ein entsprechendes Volumen frischen Mediums zugefügt. Die gesammelten Überstände wurden mit einem gleichen Volumen von 5 Vol-% TRITON X-100 gemischt und unter Verwendung eines ELISA-Kits (ELISA = Enzyme-linked Immunoassay) von Coulter Immunology (Hialeah, FL) auf p24-Antigen untersucht. Am sechsten Tag nach der Infektion wurde den Zellen ein Indikator XTT-Tetrazolium-Farbstoff (1 mg/ml ; $50 \mu\text{l/Well}$; PolySciences, Inc., Warrington, PA) zugefügt. Nach vier Stunden wurde intrazelluläres Formazan kolorimetrisch bei 450 nm nach dem beschriebenen Verfahren bestimmt (Weislow, O. S., Kiser, R., Fine, D. L. et al., „New Soluble-Formazan Assay for HIV-1 Cytopathic Effects: Application to High-Flux Screening of Synthetic and Natural Products for AIDS-Antiviral Activity“, *J. Natl. Cancer Inst.*, 81, 577–586, (1989)). Der prozentuale Anteil der Cytopathogenese wurde unter Verwendung der folgenden Formel berechnet: $100 \times [(\text{OD}_{450} \text{ in der negativen Kontrolle} - \text{OD}_{450} \text{ im Experiment}) / (\text{OD}_{450} \text{ in der negativen Kontrolle} - \text{OD}_{450} \text{ in der positiven Kontrolle})]$. Die negative Kontrolle entsprach den mit Kulturmedium anstelle von HIV-1 vermischten Zellen, während die positive Kontrolle mit 100 CCID_{50} gemischte Zellen (in der Zellkultur infektiöse Dosen) von HIV-1-IIIB, die die MT-2-Zellen 100%ig lysierten, darstellte. Die cytopathische Wirkung („CPE“) der Verbindungen auf nicht infizierte Zellen wurde unter Verwendung der gleichen Methodik gemessen.

[0153] Pharmazeutische Hilfsmittel, außer Verbindungen, die in Wasser unlöslich sind, Detergenzien und Oxidationsmittel wurden anhand eines Assays, wobei die Fusion zwischen infizierten und nicht infizierten Zellen gemessen wird, auf Anti-HIV-1-Aktivität gescreent. Nur zwei Verbindungen, Celluloseacetatphthalat (CAP) und Hydroxypropylmethylcellulosephthalat (HPMCP) wiesen eine Inhibitionsaktivität auf. Ein anderes polymeres Phthalat, Vinylacetatphthalat, wies keine Inhibitionsaktivität auf. Anderen Cellulose-Derivaten, wie zum Beispiel Carboxymethylcellulose, mangelte es auch an Aktivität. Die beiden ausgewählten Verbindungen, CAP und HPMCP, inhibierten auch die HIV-1-Infektion, wie anhand der Inhibition des CPE und der Produktion des HIV-1-Nukleocapsid-Antigens p24 gemessen (Tabelle 1B). Die beiden Verbindungen waren für nicht-infizierte Zellen bei Konzentrationen von $\geq 2500 \mu\text{g/ml}$ nicht toxisch. Die Anti-HIV-1-Aktivität von CAP war besser als die von HPMCP, beide Verbindungen stellten jedoch wünschenswerte Ergebnisse bereit.

[0154] Da Herpesviren auch häufig sexuell übertragen werden, war die Bestimmung von Interesse, ob CAP auch die von diesen Viren verursachte Infektion zu inhibieren vermochte. Herpesvirus Typ 1 (HSV-1) und Typ 2 (HSV-2) wurden ausgewählt, um diese Möglichkeit zu testen. Die in [Fig. 1](#) zusammengefassten Ergebnisse deuten darauf hin, dass CAP die Infektion aufgrund von HSV-1 wie auch HSV-2 inhibierte. CAP inhibierte auf ähnliche Weise die durch HCMV verursachte Infektion. In Bezug auf [Fig. 1](#) wurden Viruspräparationen unter Verwendung eines auf der Quantifizierung von β -Galactosidase basierenden Ablesesystems (Absorption bei 410 nm) auf Infektivität getestet.

TABELLE 1A. Auf Anti-HIV-1-Aktivität getestete pharmazeutische Hilfsstoffe

	Inhibition der Zellfusion		Inhibition der Zellfusion
VERBINDUNG	*ED ₅₀ ± SD (µg/ml)	VERBINDUNG	*ED ₅₀ ± SD (µg/ml)
Acacia	— **	Maltodextrin	—
Acesulfam-Kalium	—	Maltol	—
Alginsäure	—	Menthol	—
Ascorbyl-Palmitat	—	Methylcellulose	—
Aspartam	—	Methylparaben	—
Benzylbenzoat	—	Poloxamer	—
Bronopol	—	Polymethacrylate	—
Butyliertes Hydroxyanisol	—	Povidon	—
Butyliertes Hydroxytoluen	—	Propylgallat	—
Butylparaben	—	Propylencarbonat	—
Carbomer 934P	—	Propylenglycolalginat	—
Carboxymethylcellulose	—	Propylparaben	—
Celluloseacetatphthalat	51,91 ± 1,32	Saccharin	—
Chlorcresol	—	Natriumalginat	—
Croscarmellose-Natrium	—	Natriumcyclamat	—
Dextrate	—	Natriumstärkeglycolat	—
Dibutylsebacat	—	Natriumstearylfumarat	—
Ethylparaben	—	Sorbinsäure	—
Hydroxyethylcellulose	—	Vorverkleisterte Stärke	—
Hydroxypropylcellulose	—	Triacetin	—
Hydroxypropylmethylcellulose	—	Vanillin	—
Hydroxypropylmethylcellulose-phthalat	68,30 ± 11,48	Vinylacetatphthalat	—
Imidharnstoff	—	Xanthan-Gummi	—

*ED₅₀ = Wirkdosis für eine 50%ige Inhibition der HIV-1-induzierten Zellfusion.

** - = Mittelwerte von keiner Inhibitionsaktivität auf die HIV-1-induzierte Zellfusion bei der Endkonzentration von 1000 µg/ml

TABELLE 1B. Auf Anti-HIV-1-Aktivität getestete pharmazeutische Hilfsstoffe

Inhibition der HIV-1-Infektion	Celluloseacetatphthalat		Hydroxypropylmethylcellulosephthalat	
	ED ₅₀ * ± SD (µg/ml)	ED ₉₀ * ± SD (µg/ml)	ED ₅₀ * ± SD (µg/ml)	ED ₉₀ * ± SD (µg/ml)
p24-Produktion	2,54 ± 0,16	4,76 ± 1,05	4,76 ± 1,20	8,86 ± 1,11
CPE	3,68 ± 0,74	7,62 ± 1,66	7,79 ± 1,30	15,62 ± 7,61
Zellfusion	51,91 ± 1,32	94,89 ± 3,12	68,30 ± 11,48	157,32 ± 32,86

* ED₅₀₍₉₀₎ = Wirkdosis/Wirkdosen für eine 50%ige (90%ige) Inhibition der HIV-1-vermittelten p24-Produktion, CPE und Zellfusion

TABELLE 2. Verbindungen von denen bekannt ist, dass sie keine Anti-HIV-1-Aktivität aufweisen

Albumin	Gelatine	Natriumcitrat-Dihydrat
α -Tocopherol	Flüssige Glucose	Natriummetabisulfit
Ascorbinsäure	Glycerin	Dinatriumphosphat
Benzoessäure	Guar-Gummi	Mononatriumphosphat
Benzylalkohol	Milchsäure	Natriumpropionat
Dibasisches Calciumphosphat	Lactose	Sorbitol
Calciumsulfat	Äpfelsäure	Stärke
Cholesterol	Maltitol-Lösung	Sterilisierbare Maisstärke
Citronensäure-Monohydrat	Mannitol	Saccharose
Cyclodextrine	Meglumin	Komprimierbarer Zucker
Dextrin	Monoethanolamin	Konditoreizucker
Dextrose	Polyethylenglycol	Zuckerkügelchen
Diethanolamin	Polyvinylalkohol	Weinsäure
Diethylphthalat	Kaliumchlorid	Thimerosal
Edetinsäure	Kaliumcitrat	Triethanolamin
Ethylmaltol	Kaliumsorbat	Triethylcitrat
Ethylvanillin	Propylenglycol	Xylitol
Fructose	Natriumbicarbonat	
Fumarsäure	Natriumchlorid	

TABELLE 3. In Wasser oder Puffern unlösliche Verbindungen

Bentonit	Crospovidon	Schellack
Calciumcarbonat	Ethylcellulose	Kolloidales Siliciumdioxid
Calciumstearat	Kaolin	Suppositorien-Grundlagen
Carboxymethylcellulosecalcium	Magnesiumaluminiumsilikat	Talcum
Mikrokristalline Cellulose	Magnesiumcarbonat	Titandioxid
Pulverförmige Cellulose	Magnesiumoxid	Tragant
Cetostearylalkohol	Magnesiumstearat	Zein
Cetylalkohol	Magnesiumtrisilikat	Zinkstearat
Cetylester-Wachs	Polacrilin-Kalium	

TABELLE 4. Zellmembranen und Hüllen von Lipid-enthaltenden Viren solubilisierende organische Verbindungen, Öle, Wachse und Lösungsmittel und Detergenzien

Alkohol	Isopropylpalmitat	Polyoxyethylensorbitan-Fettsäureester
Benzalkoniumchlorid	Lanolin	Polyoxyethylenstearate
Benzethoniumchlorid	Lanolinalkohole	Sesamöl
Canolaöl	Wasserhaltiges Lanolin	Natriumlaurylsulfat
Hydriertes Castoröl	Lecithin	Sorbitanester (Sorbitan-Fettsäureester)
Cetrimid	Mittelkettige Triglyceride	Sojabohnenöl
Maisöl	Mineralöl	Stearinsäure
Baumwollsamensöl	Leichtmineralöl	Stearylalkohol
Docusat-Natrium	Mineralöl- und Lanolin-Alkohole	Hydriertes Pflanzenöl Typ 1
Ethyloleat	Ölsäure	Anionisches Emulgierwachs
Glycerylmonooleat	Paraffin	Carnauba-Wachs

Glycerylmonostearat	Erdnussöl	Mikrokristallines Wachs
Glycerylpalmitostearat	Petrolatum	Nicht ionisches Emulgierwachs
Glycofurol	Petrolatum- und Lanolin-Alkohole	Weißes Wachs
Isopropylalkohol	Polyoxyethylenalkylether	Gelbes Wachs
Isopropylmyristat	Polyoxyethylen-Castoröl-Derivate	

TABELLE 5. Zum Beispiel in Aerosol-Treibgasen verwendete Gase

Butan	Dichlortetrafluorethan	Distickstoffoxid
Kohlendioxid	Difluorethan	Propan
Chlordifluorethan	Dimethylether	Tetrafluorethan
Chlordifluormethan	Isobutan	Trichlormonofluormethan
Dichlordifluormethan	Stickstoff	

TABELLE 6. Oxidationsmittel und Desinfektionsmittel

Chlorhexidin	Phenol	Phenylquecksilberacetat
Chlorbutanol	Phenoxyethanol	Phenylquecksilberborat
Cresol	Phenylethylalkohol	Phenylquecksilbernitrat

BEISPIEL 2: CAP-FORMULIERUNGEN

[0155] Die CAP- und HPMCP-Formulierung zur topischen vaginalen Applikation als ein antivirales Mittel oder Viruzid zur Prävention der sexuellen Übertragung von HIV-1 bzw. Herpesviren stellt ein schwieriges Challenge dar, dem nur durch innovative Ansätze begegnet werden könnte. Sowohl CAP als auch HPMCP sind in Wasser unlöslich und können in Wasser durch Einstellen des pH des Milieus auf ca. 6 oder darüber (Handbook of Pharmaceutical Excipients, 2. Auflage, Hrsg. Ainley Wade und Paul J. Weller, American Pharmaceutical Association, Washington, (1994)) oder durch die Verwendung von geeigneten organischen Lösungsmitteln löslich gemacht werden. Andererseits sind vaginale Sekrete von gesunden Frauen im gebärfähigen Alter charakteristisch sauer (pH-Werte von 3,4 bis 6,0) (B. Voeller, D. J. Anderson, „Heterosexual Transmission of HIV“, JAMA, 267, 1917–1918, (1992)). Infolge dessen würde erwartet, dass die topische Applikation einer Formulierung, in der entweder CAP oder HPMCP löslich wäre (d. h. $\text{pH} \geq 6$) zu einem vaginalen Milieu beiträgt, das physiologisch unerwünscht ist. Es wurden dennoch Versuche zur Formulierung von CAP oder HPMCP in Gelen/Cremes unternommen, die üblicherweise für vaginale Applikationen als Feuchthaltemittel und/oder Kontrazeptiva verwendet werden. Diese schlossen die folgenden ein: Hydroxyethylcellulosegele (z. B. K-Y JELLY, Johnson and Johnson, Raritan, N.J.); auf Carbomer 934P basierende Gele (z. B. REPLENS, Roberts Pharmaceuticals, Inc., Mississauga, Ontario, Kanada; Taro-Gel, Taro Pharmaceuticals, Inc. Bramalea, Ontario, Kanada); Hydroxypropylmethylcellulose und auf Carbomer 934P basierende Gele (z. B. H-R Lubricating Jelly, Carter-Wallace, Inc., New York, N.Y.); Polyglycerylmethacrylat (Gyne-Mostrin Moisturizing Gel (Shearing-Plough Healthcare Products, Inc., Mississauga, Ontario, Kanada)), und Gele, die Carbomer 934P und Hydroxypropylmethylcellulose allein enthalten. Alle die vorstehend erwähnten Formulierungen weisen Wasser als ihren Hauptbestandteil auf. Wenn die Präparationen von CAP und HPMCP in den vorstehenden Gelen 7 Tage bei 45°C beschleunigten Stabilitätsstudien unterworfen und anschließend daran auf Anti-HIV-1-Aktivität getestet wurden, wurde keine antivirale Aktivität nachgewiesen. Dies war wahrscheinlich auf die Hydrolyse von jedem dieser Cellulosederivate zurückzuführen, die in der Freisetzung von Essig- und Phthalsäuren resultierten und zu verminderter Anti-HIV-1-Aktivität führten.

[0156] Zur Vermeidung dieses Problems wurde die Entscheidung getroffen, die Cellulose-Derivate in organischen Lösungsmitteln aufzulösen (die Experimente wurden hauptsächlich mit CAP durchgeführt, das im Vergleich zu HPMCP eine höhere Anti-HIV-1-Aktivität aufweist; siehe Tabelle 1B hierin), die einen geringen Wassergehalt aufweisen, aber zur Kompatibilität in vivo dennoch mit Wasser mischbar und für die vaginale Schleimhaut nicht toxisch sind, die auf der Basis vorläufiger Studien ausgewählt wurden. Diese Lösungsmittel schlossen die folgenden ein: Propylenglycol, Propylencarbonat, Benzylalkohol, Polyethylenglycol (PEG 400), Dimethylisoborbid und Ethoxydiglycol („TRANSCUTOL“). Die Löslichkeit von CAP in diesen Lösungsmitteln liegt im Bereich zwischen 5,3 und 30 Gew.-%. Zur Erhöhung der Viskosität dieser Lösungen war es notwendig, sie als Gele/Cremes für topische Applikationen zu verwenden. Den CAP-Lösungen in den verschiedenen or-

ganischen Lösungsmitteln wurden entweder Polyvinylpyrrolidon (PVP) und/oder andere Poloxamere (z. B. Pluronic F68) zugefügt. Zur Bestimmung der Eigenschaften der verschiedenen Formulierungen nach Kontakt mit einer physiologischen Umgebung wurden sie mit Wasser oder physiologischer Kochsalzlösung (0,14 M NaCl) gemischt. Unter diesen Bedingungen präzipitierte CAP an der Grenzfläche der Formulierungen mit Wasser (Kochsalzlösung) in der Form einer großen polymeren Masse, von der nicht erwartet würde, dass sie antivirale Aktivität aufweist und wäre nicht zur topischen Applikation geeignet. Es war möglich, diesem Problem durch Inkorporation von Verbindungen in die CAP-enhaltende Formulierung, welche den pH nach Kontakt mit Wasser oder einer Kochsalzlösung (= 0,14 M NaCl), wie z. B. Natriumacetat oder Triethanolamin steigert, zu begegnen. Der Einschluss der letzteren Verbindungen in die Formulierung eliminierte oder verminderte das Problem des Auftretens großer CAP-Aggregate. Die beschleunigten Stabilitätsstudien (7-tägige Inkubation bei 45°C) mit CAP in den vorstehenden organischen pharmazeutischen Hilfsstoffen/Lösungsmitteln, die zusätzlich die vorstehend erwähnten Geliermittel und Puffer enthielten, resultierten überraschend im vollkommenen Verlust der Anti-HIV-1-Aktivität. Diese Aktivität wurde beibehalten, wenn die Puffer ausgelassen wurden und erst kurz vor der Initiierung des Assays auf die Anti-HIV-1-Aktivität zugefügt wurden. Folglich ist zusammenfassend ersichtlich, dass die CAP-Formulierungen in organischen Lösungsmitteln, die auch einen Puffer enthalten, Formulierungen darstellen, die für topische Applikationen ungeeignet sind, entweder aufgrund dessen, dass der Wirkstoff, CAP, nach Kontakt mit physiologischen Flüssigkeiten (bei Abwesenheit in die Formulierung inkorporierter geeigneter Puffer) aus der Formulierung in einer großen polymeren Masse ausfallen oder in nutzlose Formulierungen umgewandelt werden, denen aufgrund der Inaktivierung des Wirkstoffs, CAP, die Anti-HIV-1-Aktivität mangelt.

[0157] Zum Vermeiden der vorstehenden Probleme wurde die Möglichkeit der Verwendung von CAP in der Form einer mikronisierten Präparation in Suspension untersucht. Dies machte die Verwendung eines Lösungsmittels erforderlich, in dem CAP nicht löslich ist, da anderweitig erwartet würde, dass die erhaltenen Ergebnisse genau mit den vorstehend erwähnten gleich wären. Ein Lösungsmittel mit derartigen Eigenschaften ist Wasser, in dem weder CAP noch HPMCP löslich sind (Handbook of Pharmaceutical Excipients, 2. Auflage, Hrsg. Ainley Wade und Paul J. Weller, American Pharmaceutical Association, Washington (1994)).

[0158] Es wurde eine Formulierung, die Wasser und eine im Handel erhältliche mikronisierte Form von CAP („AQUATERIC“ von der FMC Corporation, Philadelphia, PA), enthielt, die außer CAP (63 bis 70 Gew.-%) Poloxamer und destillierte acetylierte Monoglyceride enthielt, hergestellt. Verdickungsmittel, d. h. PVP und/oder Pluronic F68, wurden der Wasser-Suspension aus dem „AQUATERIC“ zugefügt. Wenn dieses Gel den beschleunigten Stabilitätsstudien (7 Tage bei 45°C) unterworfen und daran anschließend auf Anti-HIV-1-Aktivität getestet wurde, wurde im Wesentlichen keine antivirale Aktivität wiedergefunden. Folglich wurde ein anderes Lösungsmittel benötigt, in dem das CAP („AQUATERIC“) nicht löslich wäre und die antivirale Aktivität nicht verloren ginge. Glycerol (sehr ähnlich dem Propylenglycol, in dem CAP bis zu ca. 30 Gew.-% löslich ist) entspricht diesen beiden Anforderungen. Basierend auf dieser Entdeckung wurde eine CAP-Formulierung („AQUATERIC“-Formulierung) wie folgt hergestellt: 200 mg PVP (MG 40000, Spectrum) wurden in 1 ml Glycerol aufgelöst. Anschließend daran wurden 50 mg Crospovidon (Polyplasdone INF-10, ISP Technologies) in der Lösung suspendiert, gefolgt vom Zufügen von 286 mg „AQUATERIC“. PVP und Crospovidon wurden zur Verhinderung der Trennung der „AQUATERIC“-Mikrosuspension aus Glycerol zugefügt. Die resultierende Formulierung behielt im Verlauf der Zeit ihre Gleichförmigkeit und nach einem beschleunigten Stabilitätstest, der unter den vorstehend beschriebenen Bedingungen durchgeführt wurde, auch ihre Anti-HIV-1-Aktivität bei.

[0159] Zusammenfassend wird darauf hingewiesen, dass die folgenden Eigenschaften von CAP seine Formulierung vorschrieben: (a) geringe Löslichkeit in wässrigen Lösungen bei pH < 6, (b) Hydrolyse während der Lagerung in wässrigen Lösungen bei Raumtemperatur und (c) Löslichkeit in mehreren biokompatiblen organischen Lösungsmitteln, zum Beispiel Propylencarbonat, Propylenglycol und Polyethylenglycol, aus denen CAP nach Kontakt mit wässrigen Lösungsmitteln ausfällt. Zum Vermeiden dieser Probleme wurde eine Formulierung von mikronisiertem CAP in Glycerol (worin CAP nicht löslich ist), „CAP-Formulierung I“, hergestellt.

[0160] Die „CAP-Formulierung I“ ist eine Präparation aus mikronisiertem CAP („AQUATERIC“, enthaltend 66–73% CAP, ein Polyoxyethylen-Polyoxypropylen-Blockcopolymer und destillierte acetylierte Monoglyceride, wurde in wässrigen Medien als eine magensaftresistente Filmüberzugsflüssigkeit (FMC Corporation, Philadelphia, PA) verwendet); (15,9 g) wurden mit Glycerol (70,2 g) vermischt, und Polyvinylpyrrolidon K-30 (Spectrum Quality Products, Inc., New Brunswick, NJ) (11,1 g) und Crospovidon NF (ISP Technologies, Inc., Wayne, NJ) (2,8 g) wurden zugefügt, um das mikronisierte CAP in Suspension zu halten.

[0161] Eine andere Formulierung, „CAP-Formulierung II“ wurde durch Ersatz von Polyvinylpyrrolidon + Crospovidon mit kolloidalem Siliciumdioxid M-5P (Cabot Corp., Cab-O-Sil Division, Tuscola, IL), einem Hilfs-

stoff mit einer erwiesenen Verwendung in vaginalen Präparaten, hergestellt. Die CAP-Formulierung II, enthielt 23,7 g „AQUATERIC“ und 7,89 g Siliciumdioxid pro 100 g Glycerol.

[0162] Alle Komponenten dieser beiden CAP-Formulierungen waren von USP-Gütegrad und wurden zur humanmedizinischen Anwendung zugelassen.

BEISPIEL 3: MESSUNG DER INHIBITORISCHEN FÄHIGKEIT GEGEN HSV-1 UND HSV-2 UND GEGEN HCMV

[0163] Das folgende Verfahren wurde zum Messen der inhibitorischen Aktivität verwendet: 500 µl Verbindungen (bei distinkten Dosierungen) in Eagle's Minimum Essential Medium (EMEM) wurden mit einem gleichen Volumen von angemessen verdünntem infektiösem HSV-1 oder HSV-2 gemischt. Das Gemisch wurde den ELVIS-HSV-Zellen in 24-Well-Platten zugefügt. Die ELVIS-Zellen wie auch die Medien wurden von Diagnostic Hybrids, Inc, Athens, OH) bezogen.

[0164] ELVIS-Zellen leiten sich von der Auswahl von G400-resistenten Kolonien nach der Cotransfektion von Baby-Hamster-Nierenzellen mit einem Plasmid her, das einen G418-Antibiotika-resistenten Marker enthält und ein Plasmid, das ein LacZ-Gen von Escherichia coli enthält, das hinter einen induzierbaren HSV-Promotor platziert ist. Der Promotor stammt von HSV-1UL39, das ICP6, die große Subeinheit der Ribonukleotid-Reduktase (RR1), kodiert. Dieser Promotor weist eine Anzahl von Merkmalen auf, die ihn zum Nachweis von HSV ideal geeignet machen. Erstens, es findet keine konstitutive Expression aus diesem Promotor in nicht infizierten Zellen statt. Zweitens, die Aktivierung des Promotors scheint für HSV spezifisch zu sein. Drittens, die Expression aus diesem Promotor tritt innerhalb von Stunden nach der Infektion auf. Viertens, dieser Promotor wird durch das Virion-assoziierte Transaktivator-Protein VP16 stark transaktiviert. Bereits so früh wie sechs Stunden nach der Infektion können HSV-infizierte Zellen mittels histochemischer Färbung auf β -Galactosidase-Aktivität nachgewiesen werden (Stabell E. C. und Olivo P. D., „Isolation of a Cell Line for Rapid and Sensitive Histochemical Assay for the Detection of Herpes Simplex Virus“, J. Virological Methods, 38, 195–204, (1992)).

[0165] Vierundzwanzig Stunden nach der HSV-Infektion wurden die ELVIS-Zellen bei An- und Abwesenheit von abgestuften Quantitäten der Testverbindungen mit TRITON X-100 lysiert, und die β -Galactosidase in den Zelllysaten wurde anhand eines ELISA-Kits, das von Five Prime \rightarrow Three Prime, Inc. (Boulder, CO) bezogen wurde, bestimmt. Dieses ELISA-Kit ist zum Nachweis und zur Quantifizierung von Pikogramm-Mengen von β -Galactosidase-Protein von Escherichia coli, das in transformierten Bakterien oder eukaryotischen Zellen und Geweben exprimiert wird, in der Lage. Das Verfahren basiert mehr auf dem Nachweis des β -Galactosidase-Proteins als auf der enzymatischen Aktivität. Die β -Galactosidase aus E. coli stellt ein tetrameres Enzym dar, das sich aus vier identischen Subeinheiten zusammensetzt. Die individuellen Subeinheiten weisen keine Enzymaktivität auf und sind deshalb mithilfe von Standard-Enzymaktivitätsassays nicht nachweisbar. Das Five Prime \rightarrow Three Prime ELISA-Kit auf β -Galactosidase begegnet dieser Limitation durch den Nachweis des eigentlichen Proteins, das exprimiert wird.

[0166] Die überraschende Schlussfolgerung der beschriebenen Experimente bestand darin, dass Cellulase-acetatphthalat und Hydroxypropylmethylcellulosephthalat unter allen den getesteten Hilfsstoffen einzigartig waren, insoweit, dass sie eine potente antivirale Aktivität sowohl gegen HIV-1 als auch HSV-1 und HSV-2 und gegen andere Viren aufweisen, die zur Herpesvirus-Gruppe gehören.

[0167] Als Alternative wurde die antivirale Aktivität gegen HSV-1 unter Verwendung von HSV vgCL5, einem rekombinanten Virus gemessen, in dem sich die Expression von β -Galactosidase („ β -gal“) unter der Kontrolle der Regulationsregion des späten Gens gC von HSV-1 befindet (Weir, J. P., Steffy, K. R., Sethna, M., „An Insertion Vector for the Analysis of Gene Expression During Herpes Simplex Virus Infection“, Gene 91990), 89, 271–274).

[0168] In diesem Test wurden 50 µl MEM-Gewebekulturmedium, enthaltend 5% FBS und abgestufte Konzentrationen von CAP mit 100 µl Vero-Zellen im gleichen FBS-enthaltenden Medium (10^6 Zellen/ml) 30 Minuten bei 25°C gemischt. Daran anschließend wurden 50 µl HSV vgCL5 bei einer Verdünnung, die ausreicht, um ca. 50% der Zellen zu infizieren, wie anhand der Färbung in situ auf β -Galactosidase bestimmt, zugefügt, und das Gemisch wurde in Wells von 96-Well-Platten gegeben. Nach der 24-stündigen Inkubation bei 37°C wurden die Zellen entweder sofort lysiert oder 1 bis 5 Tage zur Lagerung eingefroren und im Anschluss daran durch Zufügen zu den Zellen und Medium, 50 µl von 2,5 Vol-% TRITON X-100, enthaltend Protease-Inhibitoren (PMSF, Leupeptin und Pepstatin, alle bei 10 µg/ml) lysiert. Die β -Galactosidase in den lysierten Präparationen wurde mithilfe des ELISA-Kits von Five Prime \rightarrow Three Prime nachgewiesen.

[0169] Die inhibitorische Aktivität gegen das humane Cytomegalievirus (HCMV) wurde unter Verwendung des HCMV-Stammes RC-256 (ATCC VR-2536), eine Rekombinante von HCMV Towne, enthaltend das LacZ-Gen von *E. coli*, gemessen (Spaete, R. R., Mocarski, E. S., „Regulation of Cytomegalovirus Gene Expression: α and β Promoters Are Trans Activated by Viral Functions in Permissive Human Fibroblasts", *J. Virol.*, (1985), 56, 135–143).

[0170] Die Inhibitionswirkung auf CMV bei der Replikation des β -Galactosidase exprimierenden HCMV RC-256 wurde unter Bedingungen ähnlich denen gemessen, die für HSV vgCL5 beschrieben wurden, außer dass die Zell-Virus-Gemische vor dem Messen der β -Galactosidase-Konzentrationen 48 Stunden bei 37°C gehalten und humane Vorhaut-Fibroblastenzellen (HFF-Zellen) verwendet wurden.

BEISPIEL 4: VIRUZIDE AKTIVITÄT DER CAP-FORMULIERUNGEN

[0171] Sowohl die Anti-HIV-1-Aktivität als auch die Anti-HSV-1- und Anti-HSV-2-Aktivitäten der CAP-Formulierung, vor und nach dem Stabilitätstest, entsprachen dem CAP-Gehalt in der Präparation und den in Tabelle 1B und [Fig. 1](#) und [Fig. 2](#) gezeigten Ergebnissen für HIV-1 bzw. Herpesviren.

[0172] Wenn eine HIV-1-Präparation mit entweder einem gleichen Volumen einer Suspension aus „AQUATERIC" in Glycerol oder mit einem gleichen Volumen der vorstehend erwähnten Formulierung 5 Minuten bei 37°C 1:1 gemischt wurde, trat ein vollkommener Verlust der HIV-1-Infektivität auf ([Fig. 4](#)). Die Inaktivierung der HIV-1-Infektivität kann der vollständigen Zerstörung der HIV-1-Virionen zugeschrieben werden, wie durch die quantitative Freisetzung des internen Nukleocapsid-Antigens p24 nachgewiesen wurde ([Fig. 3](#)). Die Infektivität sowohl von HSV-1 als auch HSV-2 wurde anhand von Suspensionen aus „AQUATERIC" in Glycerol oder der „AQUATERIC"-Glycerol-Formulierung mit PVP und Crospovidon ([Fig. 5](#) und [Fig. 6](#)) ähnlich zerstört.

[0173] In Bezug auf [Fig. 3](#) wurden Reihenverdünnungen von unbehandelten und behandelten HIV-1 mittels ELISA auf p24 getestet. Als positive Kontrolle wurden auch mit dem Detergens NP40 behandelte HIV-1 getestet. Die mit der „AQUATERIC"-Glycerol-Formulierung, enthaltend PVP und Crospovidon und NP40, erhaltenen Ergebnisse waren identisch und wiesen auf eine ca. 100fache Zunahme des freigesetzten p24-Antigens im Vergleich zu den Hintergrundkonzentrationen auf, die dem unbehandelten Virus entsprachen. Die Infektivität von HIV-1 wurde auch mithilfe der Behandlung mit der „AQUATERIC"-Glycerolformulierung, enthaltend PVP und Crospovidon, eliminiert.

[0174] Bezüglich [Fig. 5](#) wurden Reihenverdünnungen der Viruspräparationen vor und nach der Behandlung mit „AQUATERIC" unter Verwendung von zwei verschiedenen Ablesesystemen basierend auf der Quantifizierung von β -Galactosidase (Absorption bei 410 nm) auf Infektivität getestet.

[0175] Unter Bezugnahme auf [Fig. 6](#) wurden die Viruspräparationen mit einer „AQUATERIC"-Glycerolformulierung mit PVC und Crospovidon 5 Minuten bei 37°C 1:1 gemischt. Reihenverdünnungen der Viruspräparationen wurden unter Verwendung eines Ablesesystems basierend auf der Quantifizierung von β -Galactosidase (Absorption bei 410 nm) auf Infektivität getestet.

[0176] CAP als ein Essigsäureester von Cellulose kann in wässrigem Milieu der Hydrolyse unterliegen. Deshalb wurden CAP-Formulierungen in organischen Lösungsmitteln untersucht. Die besten Ergebnisse wurden mittels Dispersion mikronisierter CAP, enthaltend außer CAP ein Polyoxyethylen-Polyoxypropylen-Blockcopolymer und destillierte acetylierte Monoglyceride („AQUATERIC") in Glycerol, dem Povidon und Crospovidon zur Stabilisierung der Suspension (CAP-Formulierung I) zugefügt wurde, erhalten. Eine Alternative, CAP-Formulierung II, enthaltend kolloidales Siliciumdioxid, anstelle von Povidon und Crospovidon, wurde auch hergestellt. Mit dem Mischen dieser Formulierungen mit einem gleichen Volumen einer Suspension von infektiösem HIV-1 war es möglich zu zeigen, dass diese Behandlung zur Disintegration der HIV-1-Partikel führte, was durch die Freisetzung des Nukleocapsid-Antigens p24 messbar war ([Fig. 3](#)). Die CAP-Formulierung war bei der Freisetzung des Nukleocapsid-Antigens aus den Viruspartikeln genauso wirksam wie das Detergens NP40. Ähnliche Ergebnisse wurden erhalten, wenn den HIV-CAP-Formulierungsgemischen Samenflüssigkeit oder Vollblut zugefügt wurde ([Fig. 7](#)).

[0177] Die CAP-Formulierungen inaktivierten auch die Infektivität von HSV-1 und HSV-2 ([Fig. 6](#)). Ähnliche Ergebnisse wurden unter Verwendung von HCMV ([Fig. 8](#)) erhalten. Das Zufügen von Samenflüssigkeit oder Vollblut zur CAP-Formulierung griff nicht störend in ihre virusinaktivierenden Eigenschaften unter den verwendeten Bedingungen ein, was darauf hindeutete, dass das mikrobizide Potenzial von CAP unter analogen Bedingungen in vivo aufrechterhalten bleibt.

BEISPIEL 5: INAKTIVIERUNG MEHRERER SEXUELL ÜBERTRAGENER PATHOGENE DURCH CAP-FORMULIERUNGEN

[0178] Zur Untersuchung der Wirkung des formulierten CAP auf HIV-1, HSV-1, HSV-2 und HCMV wurden die entsprechenden Virus-Suspensionen mit einem gleichen Volumen der CAP-Formulierungen I und II (jeweils bei 37°C vorgewärmt) vermischt. Nach der 5-minütigen Inkubation bei 37°C wurden die Suspensionen durch ein 0,45-µm-Filter filtriert und anschließend zur Entfernung von suspendiertem CAP zentrifugiert. Die Überstandsflüssigkeiten wurden auf Virusinfektivität getestet. Diese Trennung konnte unter Verwendung der CAP-Formulierung II nicht erreicht werden, und die entsprechenden Virus-CAP-Formulierungsgemische wurden direkt auf Virus-Infektivität getestet. In Kontrollexperimenten wurden Formulierungen, denen das CAP („AQUATERIC“) mangelte, gemischt mit den entsprechenden Viruspräparationen bzw. PBS (0,14 M NaCl, 0,01 M Phosphat pH 7,2), verwendet. Reihenverdünnungen (2fach) der entsprechenden Viruspräparationen wurden unter Verwendung von β-Galactosidase-Ablesesystemen auf Herpesviren, wie vorstehend beschrieben, auf HIV-1- und Herpesvirus-Infektivität getestet. In einigen Experimenten wurden Samenflüssigkeit (0,6 ml; bezogen von den New England Immunology Associates, Cambridge, MA) oder heparinisiertes humanes Vollblut (0,11 ml) den CAP-Formulierungen (1 ml) zugefügt, gefolgt vom Zufügen des Virus (1 ml), um ihre Wirkung auf die Virusinaktivierung zu bewerten.

[0179] Zur Bestimmung, ob sich die CAP-Formulierungen gegebenenfalls auf die Integrität von HIV-1 auswirken, wurde eine Präparation aus gereinigtem Virus (Stamm IIIB; 5 µl; $1,52 \times 10^{10}$ Viruspartikel/ml; Advanced Biotechnologies, Columbia, MD) mit 45 µl 0,14 M NaCl und 50 µl der entsprechenden CAP-Formulierung, jeweils auf 37°C vorgewärmt, gemischt. Nach 5 Minuten bei 37°C wurden 400 µl 0,14 M NaCl zugefügt, und das Gemisch wurde durch ein 0,45-µm-Filter mit 0,14 M NaCl, 0,01 M Tris (pH 7,2), 0,02 M Na₃N₃ (TS; Testlösung) vorgewaschen. Reihenverdünnungen (5fach) vom Filtrat wurden mittels ELISA, wie vorstehend beschrieben, auf das p24-Antigen getestet. In Kontrollexperimenten wurden entweder unbehandelte HIV-1-IIIB oder mit dem Detergens NP40 (Endkonzentration 5 µg/ml, 5 Minuten bei 37°C) behandelte Viren gleichmäßig verdünnt und auf das p24-Antigen getestet. Ähnliche Experimente wurden mit den CAP-Formulierungen in Gegenwart von Samenflüssigkeit oder Vollblut (Anteile sind vorstehend angegeben) durchgeführt. Wenn den CAP-Formulierungen Vollblut zugefügt wurde, wurden die verdünnten Präparationen vor der Filtration durch 0,45-µm-Filter bei $2000 \times g$ 5 Minuten zentrifugiert.

BEISPIEL 6: INAKTIVIERUNG BAKTERIELLER PATHOGENE

[0180] Zum Testen der Wirkung der CAP-Formulierung I (einer Präparation aus mikronisiertem CAP („AQUATERIC“, enthaltend 66–73% CAP, ein Polyoxyethylen-Polyoxypropylen-Blockcopolymer und destillierten acetylierten Monoglyceriden, verwendet in wässrigen Medien als eine magensaftresistente Filmüberzugsflüssigkeit (FMC Corporation, Philadelphia, PA)), wurden (15,9 g) mit Glycerol (70,2 g) gemischt und Polyvinylpyrrolidon K-30 (Spectrum Quality Products, Inc., New Brunswick, NJ) (11,1 g) und Crospovidon NF (ISP Technologies, Inc., Wayne, NJ) (2,8 g) wurden zugefügt, um das mikronisierte CAP in Suspension zu halten), auf verschiedene bakterielle Pathogene von sexuell übertragenen (STD) Erkrankungen bzw. Lactobacilli, wurden gleiche Volumina der CAP-Formulierung und einer Bakteriensuspension (10^8 bis 10^9 Zellen/ml in 0,14 M NaCl) gemischt und entweder 5 oder 15 Minuten bei 37°C inkubiert. Im Anschluss daran wurden 50 µl der 0,43 M Na₃PO₄·12H₂O pro 1 ml der Suspension zugefügt. Nach 5 Minuten bei Raumtemperatur und intermittierendem Mischen wurden die neutralisierten Suspensionen in PBS oder geeigneten Nährbouillonmedien um in einer Reihenverdünnung das 10fache verdünnt. Ein Volumen zu 20 µl von jeder Verdünnung wurde pro Well einer Mikrotiterplatte, enthaltend Wachstumsmedien, oder auf eine entsprechende Agarplatte inokuliert und unter geeigneten Bedingungen zur Überwachung des Bakterienwachstums inkubiert. Eingeschlossen in jedem Experiment war eine positive Antibiotika-Kontrolle, um die Inhibition des Bakterienwachstums nachzuweisen und eine Kontrolle ohne die Formulierung oder das Antibiotikum, um das Wachstum der Bakterien zu überwachen.

[0181] Die verwendeten Bakterienstämme, die entsprechenden Wachstumsmedien und die Kontrollantibiotika waren wie folgt: *Lactobacillus crispatus*, ATCC 33820 (*Lactobacillus*-Nährbouillon; Tetracyclin 0,5 bis 64 µg/ml); *Neisseria gonorrhoeae*, ATCC 49226 (GC-Medien [Becton Dickinson Microbiology Systems, Sparks, MD], supplementiert mit 500 µl einer 2%igen Hämoglobin-Stammlösung und 10 ml "ISOVITALEX" (Becton Dickinson Microbiology Systems, Sparks, MD) pro Liter Medien; Ceftriaxon zu 0,005 bis 0,128 µg/ml); *Haemophilus ducreyi*, ATCC 33940 (revidiertes *Ducreyi*-Medium, Kulturmedium 1724 der American Type Culture Collection (ATCC), supplementiert mit 10% FBS (Life Technologies, Gaithersburg, MD) und 1% "ISOVITALEX" (Becton Dickinson Microbiology Systems, Sparks, MD); Tetracyclin 0,125 bis 64 µg/ml; *Trichomonas vaginalis*, ATCC 30092 (modifizierte Fuji-Medien (Ohkawa M., Yamaguchi, K., Tokunaga, S. et al., "The Incidence of *Trichomonas Vaginalis* in Chronic Prostatitis Patients Determined by Culture Using a Newly Modified Liquid Me-

dium", J. Infect. Dis., (1992), 166, 1205–1206); Metronidazol 1 bis 128 µg/ml).

[0182] Die von der Environmental Protection Agency etablierten Richtlinien (Efficacy Data Requirements: Virucides DISITSS-7, 12. Nov. 1981, Modifying ADAC Methods 4.007–4.014, Office of Pesticide Research, Environmental Protection Agency, Washington, D. C.) wurden zur Untersuchung der Wirkung der CAP-Formulierung I auf *Chlamydia trachomatis* (Stamm LGV Typ III; ATCC VR-903) befolgt. Nach der Inkubation mit der Formulierung und Neutralisation, wurde die Präparation in DMEM-Wachstumsmedien, enthaltend 3,6 mM L-Glutamin, 45 µg/ml Gentamicin und 8,9% FBS verdünnt, und es wurden Reihenverdünnungen (10fach) hergestellt. Die Verdünnungen wurden den McCoy-Zellmonolayers (ATCC CRL 1996) zugefügt, und die Infektion wurde mittels mikroskopischer Beobachtung von CPE oder durch Färbung von Einschluss- oder Elementarkörperchen mittels Iodfärbung nach 7-tägiger Inkubation bei 37°C mit CO₂ bestimmt.

[0183] Folglich wurde die vorstehend beschriebene CAP-Formulierung I auf ihre Inaktivierungswirkung auf die folgenden sexuell übertragenen Pathogene getestet: *Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Haemophilus ducreyi* und auf *Lactobacillus crispatus*. Die in der folgenden Tabelle 7 gezeigten Ergebnisse weisen darauf hin, dass alle Bakterien, außer *Lactobacillus crispatus*, die Kapazität zur Replikation nach Exposition gegenüber der CAP-Formulierung verloren. Die Aktivität der CAP-Formulierung gegen *Treponema palladium* wurde nicht getestet, weil geeignete In-vitro-Assays nicht zur Verfügung standen. Die CAP-Formulierung war aktiv gegen vier wichtige nicht-virale STD-Pathogene, wirkte sich aber nicht auf *Lactobacilli*, eine wesentliche Komponente der normalen vaginalen Flora, aus.

TABELLE 7. Antibakterielle Aktivität von formuliertem CAP

Verdünnung	<i>Trichomonas vaginalis</i>			<i>Neisseria gonorrhoeae</i>			<i>Haemophilus ducreyi</i>			<i>Lactobacillus crispatus</i>			<i>Chlamydia trachomatis</i>	
	Wachstumskontrolle	5 min Exposition	15 min Exposition	Wachstumskontrolle	5 min Exposition	15 min Exposition	Wachstumskontrolle	5 min Exposition	15 min Exposition	Wachstumskontrolle	5 min Exposition	15 min Exposition	Wachstumskontrolle	10 min Exposition
10 ⁰	nd	nd	nd	+	0	0	+	+	0	5+	5+	5+	4+	
10 ⁻¹	+	0	0	+	0	0	+	+	+/-	5+	5+	5+		
10 ⁻²	+	0	0	+	0	0	+	+	0	5+	3+	3+	4+	0
10 ⁻³	+	0	0	+	0	0	+	+	0	3+	2+	2+	4+	0
10 ⁻⁴	+	0	0	+	0	0	+	+	0	2+	2+	2+	4+	0
10 ⁻⁵	0	0	0	+	0	0	+	+	0	2+	2+	1+	0	0
10 ⁻⁶	0	0	0	0	0	0	+	+	0	2+	1+	1+	0	0
10 ⁻⁷	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0	1+	0	0	0

nd = nicht durchgeführt

„0“ = Kein Wachstum

„+“ = Wachstum

„+/-“ = Geringgradiges Wachstum

„1+“ = Wachstumsspur

„2+“ = Leichtes Wachstum

„3+“ = Mittelgradiges Wachstum

„4+“ = Mittelgradig dichtes Wachstum

„5+“ = Dichtes Wachstum

Patentansprüche

1. Verwendung von mindestens einem Cellulosephthalat, das aus Celluloseacetatphthalat und Hydroxypropylmethylcellulosephthalat, entweder allein oder in Kombination mit einem pharmazeutisch verträglichen Träger oder Verdünnungsmittel, bei der Herstellung eines Medikamentes für entweder (i) die Verminderung der Häufigkeit der Übertragung eines Virus, ausgewählt aus dem Human Immunodeficiency Virus und Herpesvirus

oder (ii) die Prävention der Übertragung von oder die Behandlung einer sexuell übertragenen Bakterieninfektion, wobei das Medikament das mindestens eine Cellulosephthalat in einer wirksamen Menge gegen das Human Immunodeficiency Virus, gegen das Herpesvirus oder gegen Bakterien enthält.

2. Verwendung nach Anspruch 1, worin das Medikament zur Verminderung der Häufigkeit der Übertragung eines Virus, ausgewählt aus dem Human Immunodeficiency Virus und Herpesvirus, bestimmt ist.

3. Verwendung nach Anspruch 1, worin das Medikament zur Prävention der Übertragung von oder Behandlung einer sexuell übertragenen Bakterieninfektion bestimmt ist.

4. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, worin das mindestens eine Cellulosephthalat Celluloseacetatphthalat darstellt.

5. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, worin das mindestens eine Cellulosephthalat Hydroxypropylmethylcellulosephthalat darstellt.

6. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, worin das mindestens eine Cellulosephthalat eine Kombination aus Celluloseacetatphthalat und Hydroxypropylmethylcellulosephthalat darstellt.

7. Verwendung nach einem der Ansprüche 1, 2 und 4 bis 6, worin das Virus HIV-1 darstellt.

8. Verwendung nach einem der Ansprüche 1, 2 und 4 bis 6, worin das Virus ein Herpesvirus darstellt.

9. Verwendung nach Anspruch 8, worin das Herpesvirus HSV-1 darstellt.

10. Verwendung nach Anspruch 8, worin das Herpesvirus HSV-2 oder das humane Cytomegalievirus darstellt.

11. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 und 3 bis 6, worin die Bakterieninfektion aus Trichomonas vaginalis, Neisseria gonorrhoeae, Haemophilus ducreyi, Lactobacillus crispatus und Chlamydia trachomatis ausgewählt ist.

12. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 11, worin das Medikament zur topischen Verabreichung geeignet ist.

13. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, worin das Medikament, umfassend die wirksame Menge gegen das Human Immunodeficiency Virus, gegen das Herpesvirus oder gegen Bakterien von dem mindestens einen Cellulosephthalat in der Form einer Suspension vorliegt.

14. Verwendung nach Anspruch 13, worin das mindestens eine Cellulosephthalat in mikronisierter Form vorliegt und in einem mit Wasser mischbaren, im Wesentlichen wasserfreien Nichtlösungsmittel für Celluloseacetatphthalat oder Hydroxypropylmethylcellulosephthalat suspendiert ist.

15. Verwendung nach Anspruch 14, worin die mikronisierte Form Partikel einer mittleren Partikelgröße von weniger als 35 Mikron umfasst.

16. Verwendung nach Anspruch 14, worin die mikronisierte Form Partikel einer mittleren Partikelgröße von weniger als 5 Mikron umfasst.

17. Verwendung nach Anspruch 14, worin das Nichtlösungsmittel Glycerol darstellt.

18. Verwendung nach Anspruch 13, worin das mindestens eine Cellulosephthalat in mikronisierter Form vorliegt und in Wasser suspendiert ist.

19. Verwendung nach Anspruch 13, worin das mindestens eine Cellulosephthalat in mikronisierter Form vorliegt und in einer Kochsalzlösung suspendiert ist.

20. Verwendung nach Anspruch 17, worin die mikronisierte Form Partikel einer mittleren Partikelgröße von weniger als 35 Mikron umfasst.

21. Verwendung nach Anspruch 20, worin die Suspension weiter Polyvinylpyrrolidon und ein vernetztes 1-Ethenyl-2-pyrrolidinon-Homopolymer umfasst.

22. Verwendung nach Anspruch 13, worin das mindestens eine Cellulosephthalat in einer Hydroxypropylmethylcellulose-Kapsel enthalten ist.

23. Pharmazeutische Zusammensetzung zur Verminderung der Häufigkeit der Übertragung eines Virus, ausgewählt aus dem Human Immunodeficiency Virus und Herpesvirus oder zur Prävention der Übertragung von oder zur Behandlung einer sexuell übertragenen Bakterieninfektion, umfassend als den einzigen Wirkstoff eine wirksame Menge gegen das Human Immunodeficiency Virus oder gegen das Herpesvirus oder eine wirksame Menge gegen Bakterien von mindestens einem Cellulosephthalat, ausgewählt aus Celluloseacetatphthalat und Hydroxypropylmethylcellulosephthalat, in Kombination mit einem pharmazeutisch verträglichen Träger oder Verdünnungsmittel.

24. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 23, worin das Cellulosephthalat eine Kombination aus Celluloseacetatphthalat und Hydroxypropylmethylcellulosephthalat darstellt.

25. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 23, worin das Cellulosephthalat in einer suspendierten Form vorliegt.

26. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 23, worin das Cellulosephthalat in mikronisierter Form vorliegt.

27. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 26, umfassend (a) 1 bis 25 Gew.-% eines mikronisierten Celluloseacetatphthalats, (b) Glycerol oder Squalan, (c) Polyvinylpyrrolidon und (d) vernetztes 1-Ethenyl-2-pyrrolidinon-Homopolymer, worin das Glycerol oder Squalan, Polyvinylpyrrolidon und vernetztes 1-Ethenyl-2-pyrrolidinon-Homopolymer in Mengen dergestalt vorliegen, dass die Zusammensetzung in einer homogenen Creme resultiert.

28. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 26, umfassend (a) 1 bis 25 Gew.-% eines mikronisierten Celluloseacetatphthalats, (b) Glycerol oder Squalan und (c) kolloidales Siliciumdioxid, worin das Glycerol oder Squalan und das kolloidale Siliciumdioxid in Mengen dergestalt vorliegen, dass die Zusammensetzung in einer homogenen Creme resultiert.

29. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 27 oder 28, worin das mikronisierte Celluloseacetatphthalat in einer Menge von 5 bis 20 Gew.-% vorliegt.

30. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 27 oder 28, worin das mikronisierte Celluloseacetatphthalat in einer Menge von 12 bis 18 Gew.-% vorliegt.

31. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 26, umfassend (a) mikronisiertes Celluloseacetatphthalat, (b) Glycerol oder Squalan und (c) kolloidales Siliciumdioxid und/oder Polyvinylpyrrolidon und vernetztes 1-Ethenyl-2-pyrrolidinon-Homopolymer, worin alle Bestandteile in Mengen dergestalt vorliegen, dass die Zusammensetzung in einem halbfesten Teig oder einer Paste resultiert.

32. Pharmazeutische Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 23 bis 31 in einer zur topischen Verabreichung an die Vagina oder das Rektum geeigneten Form.

33. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 32, worin die Dosierung des Cellulosephthalats von 200 bis 800 mg beträgt.

34. Verfahren zur Herstellung eines pharmazeutischen Wirkstoffs zur Verminderung der Häufigkeit der Übertragung eines Virus, ausgewählt aus dem Human Immunodeficiency Virus und Herpesvirus oder zur Prävention der Übertragung von oder zur Behandlung einer sexuell übertragenen Bakterieninfektion, umfassend eine wirksame Menge gegen das Human Immunodeficiency Virus oder gegen das Herpesvirus oder eine wirksame Menge gegen Bakterien von mikronisiertem Celluloseacetatphthalat, wobei das Verfahren Folgendes umfasst: Auflösen von Celluloseacetatphthalat und Polyvinylpyrrolidon in Dimethylsulfoxid, Zufügen von Wasser während des Mischens zur Bildung eines feinen Präzipitats aus Celluloseacetatphthalat, enthaltend Polyvinylpyrrolidon, Waschen des Präzipitats mit Wasser und dann Gefrietrocknen zur Bildung eines feinen Pul-

vers.

Es folgen 8 Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

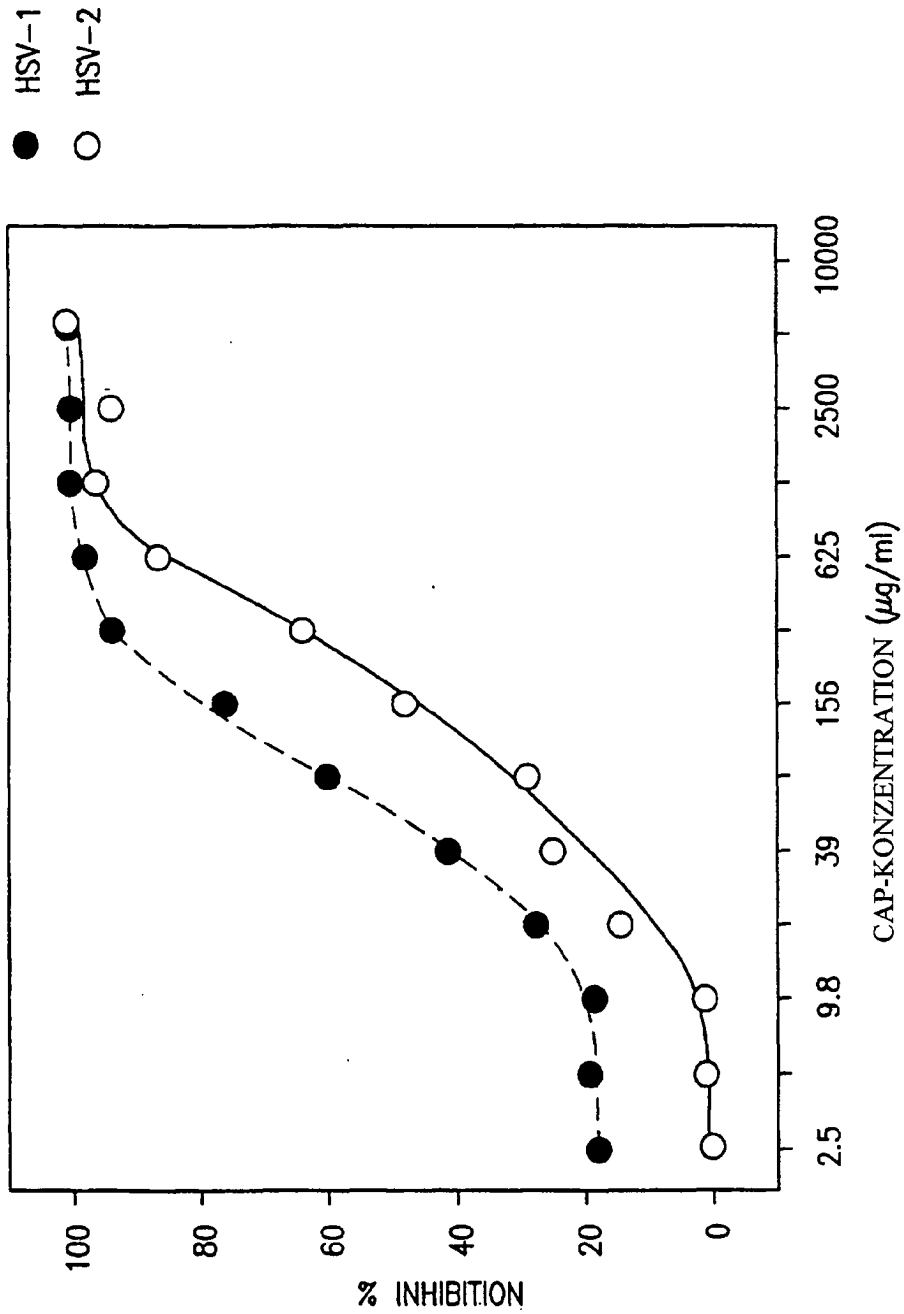


FIG.1

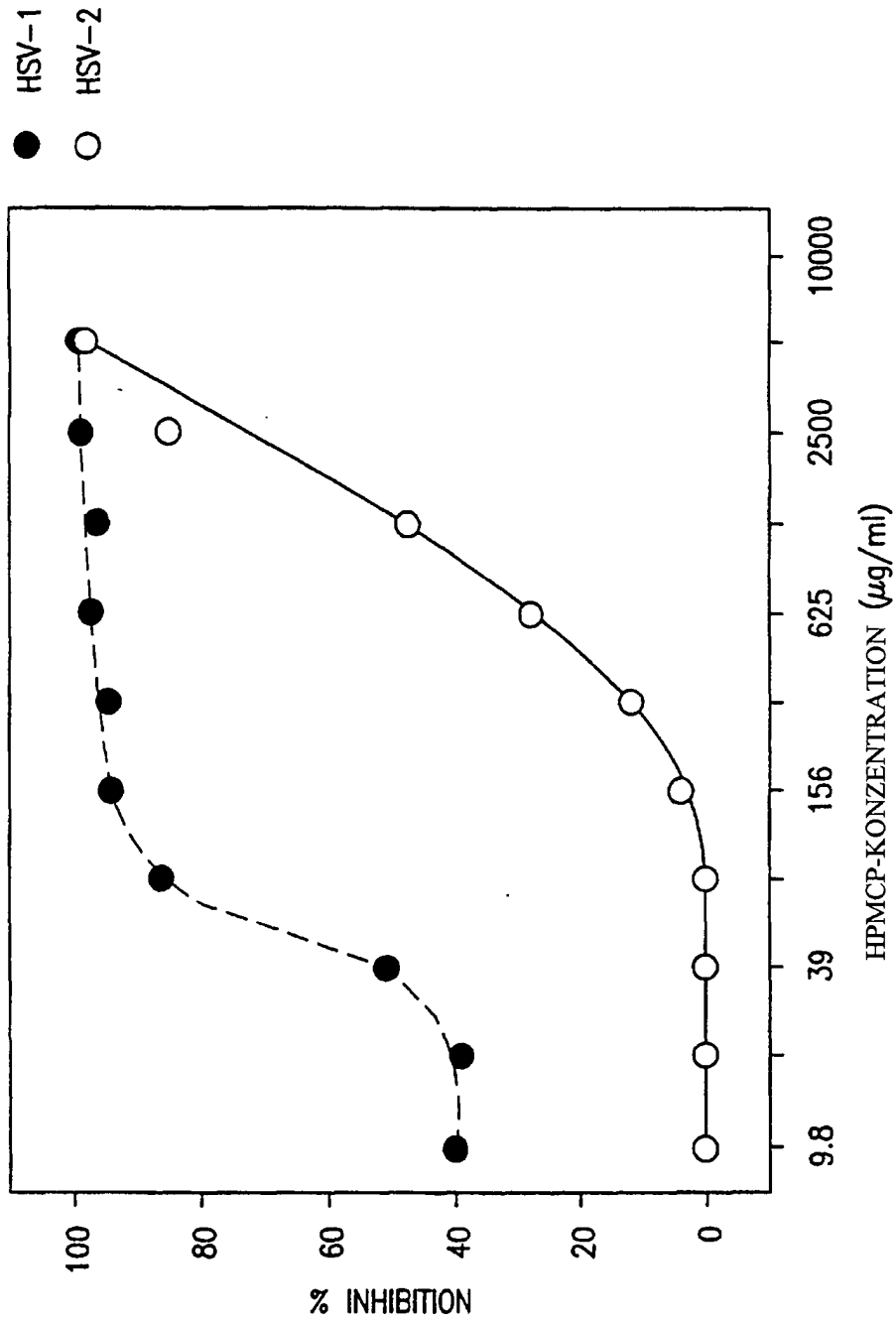


FIG.2

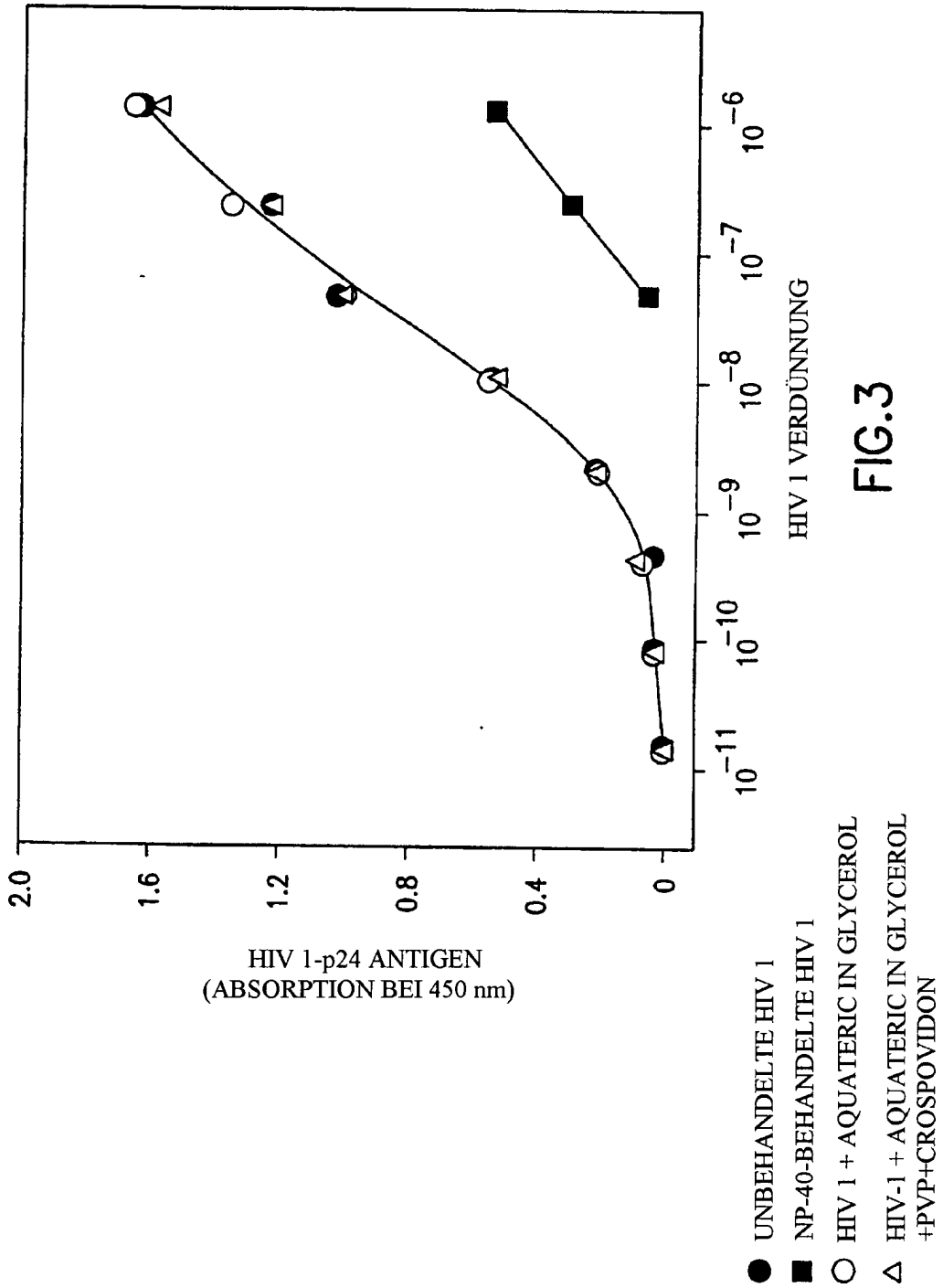


FIG.3

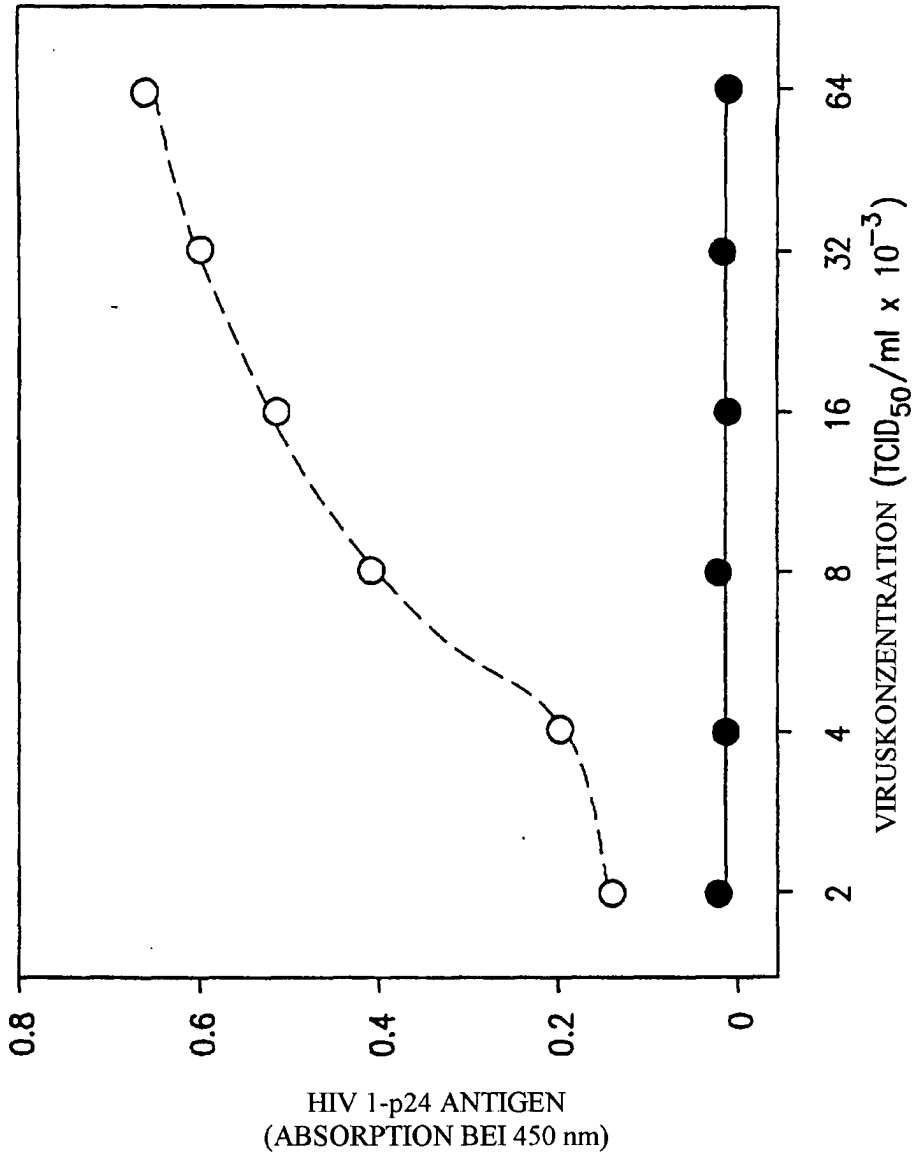


FIG.4

- AQUATERIC-GLYCEROL-HIV 1
- MEDIUM-HIV 1

vc15

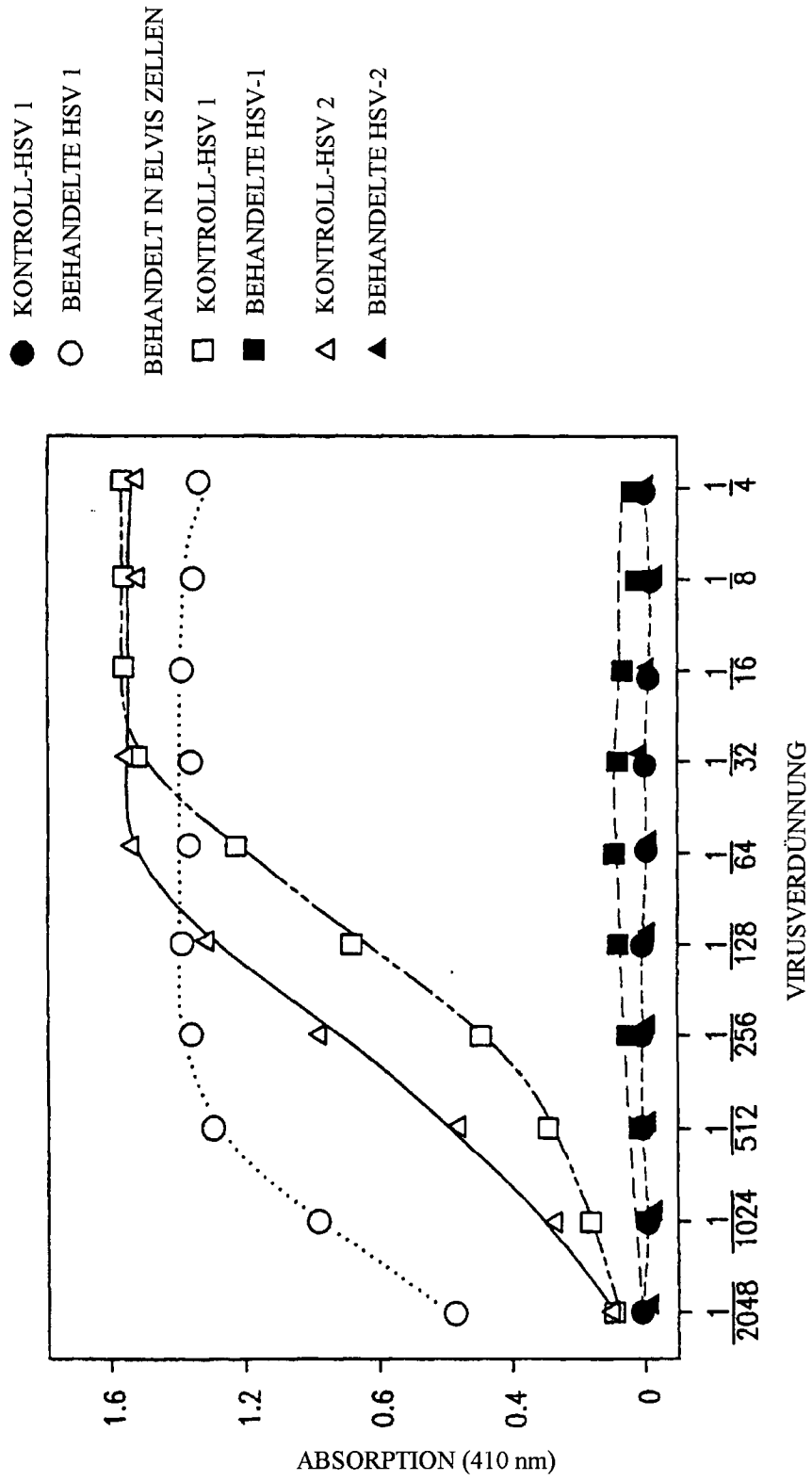


FIG. 5

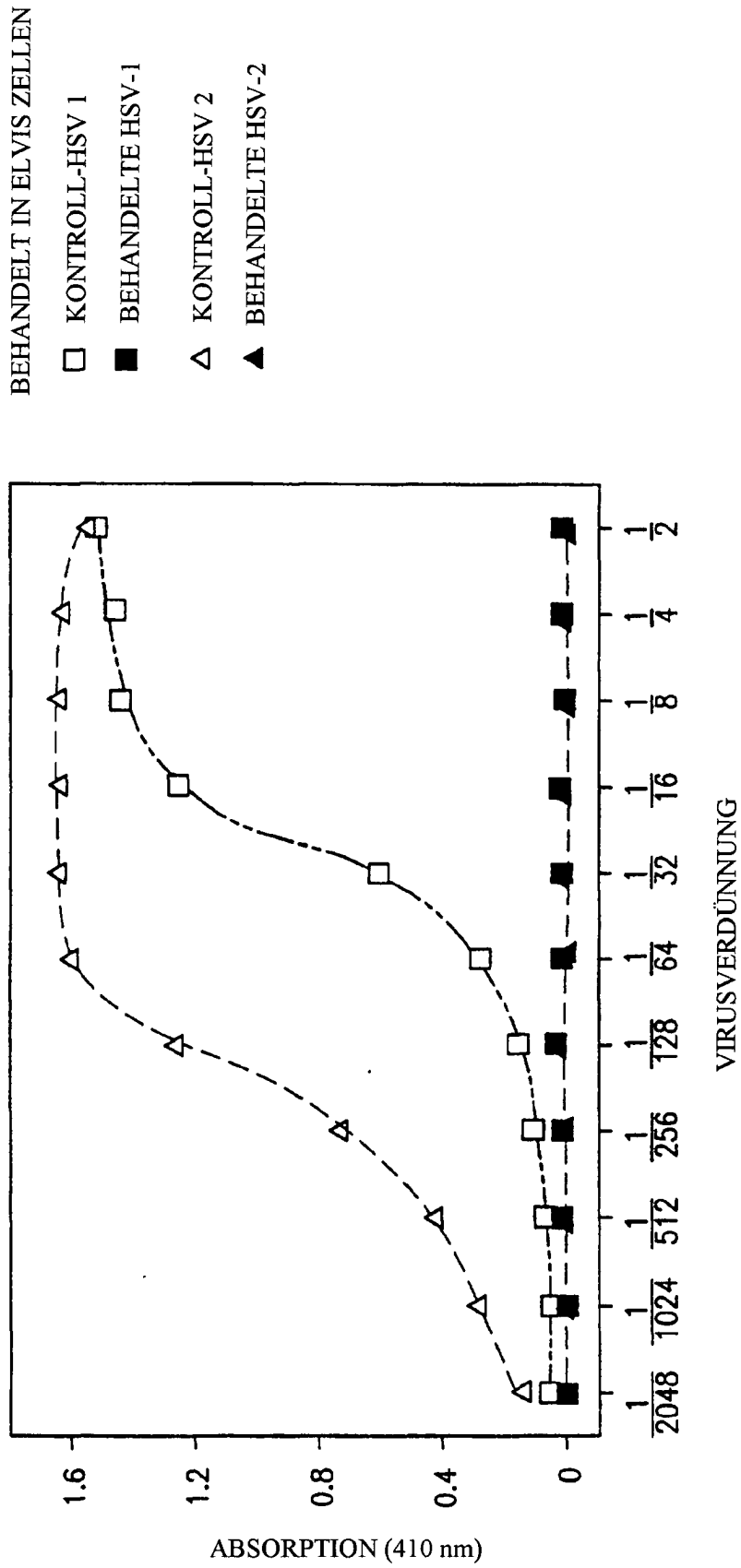


FIG. 6

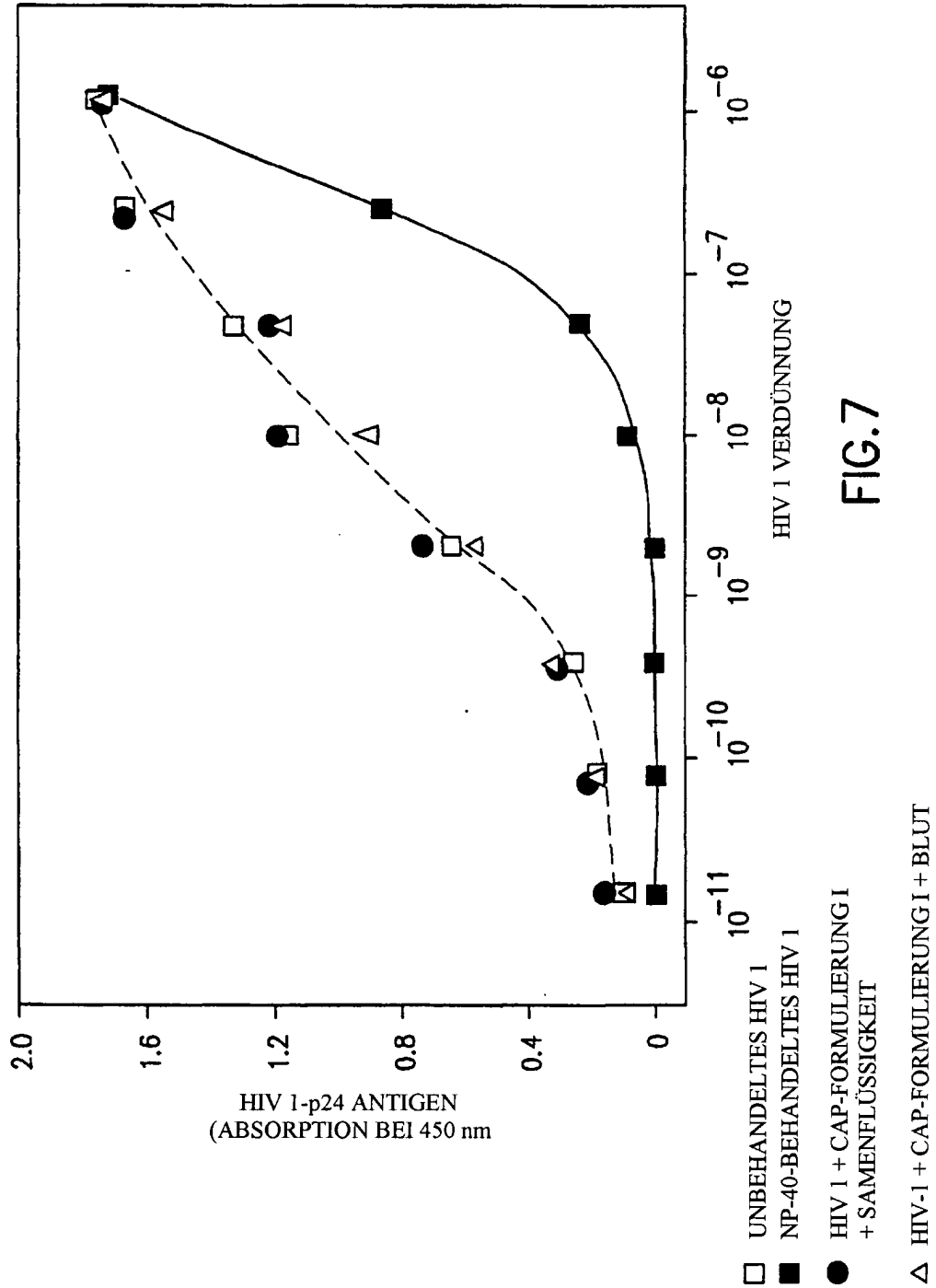


FIG.7

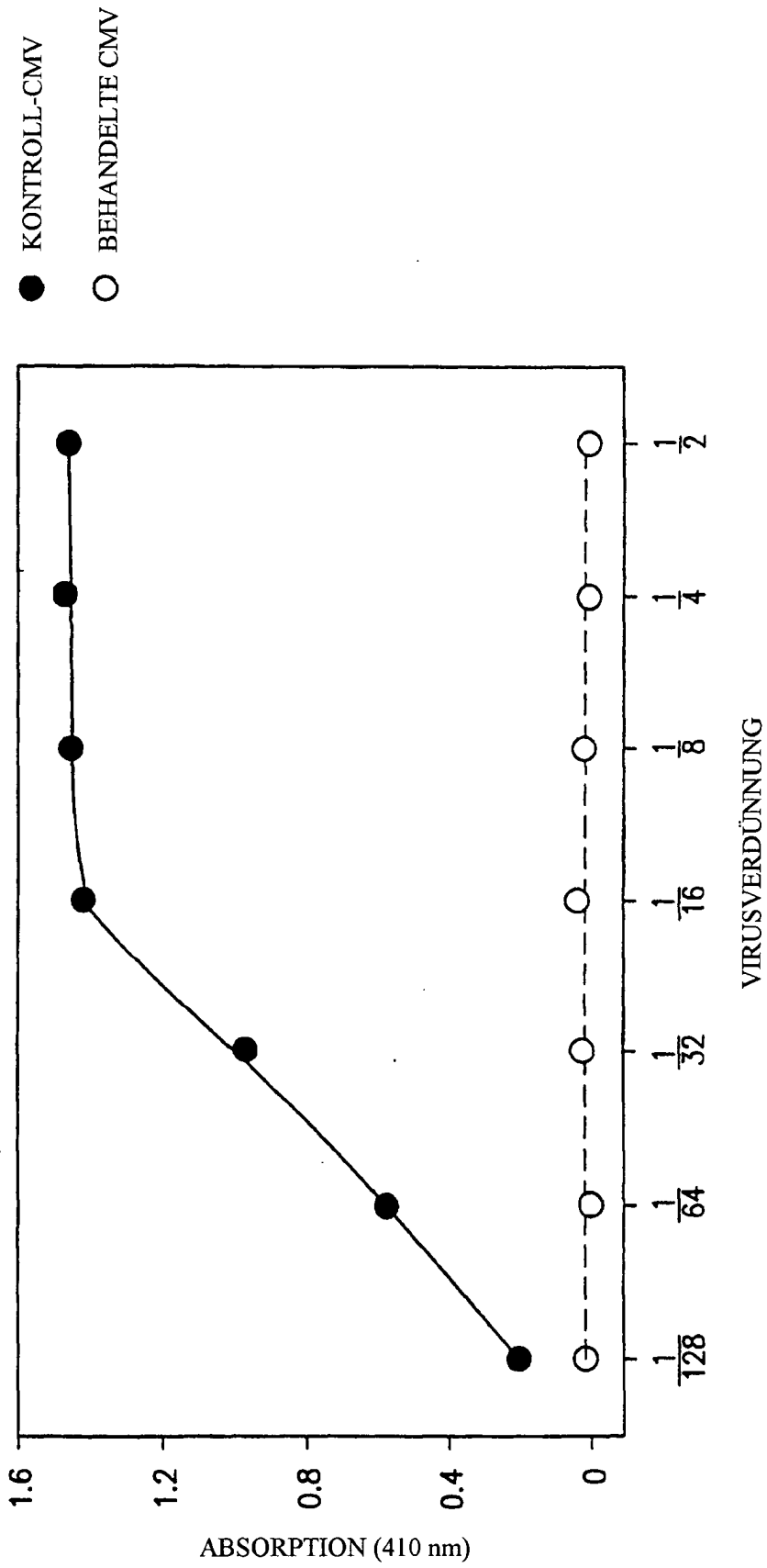


FIG.8