

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
8. Januar 2009 (08.01.2009)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2009/003463 A2

(51) Internationale Patentklassifikation:

A61K 9/12 (2006.01) A61P 17/00 (2006.01)
A61K 33/08 (2006.01) A61P 31/00 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE2008/001103

(22) Internationales Anmeldedatum:
3. Juli 2008 (03.07.2008)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
10 2007 031 397.9 5. Juli 2007 (05.07.2007) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme
von US): **D2O BIOSCIENCE GROUP LTD.**; Penthouse
Suite, 129 Front Street, Hamilton HMLX (BM).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **BAYERL, Thomas**
[DE/GB]; 27 Lenox Gardens, Fl. 1, London SW1X 0DE
(GB).

(74) Anwalt: **LIEBHOFF, Dagmar**; Holzbergstrasse 12,
82541 Ambach (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,
AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ,
CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE,
EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID,
IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK,
LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW,
MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT,
RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ,
TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM,
ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW,
GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG,
ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU,
TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK,
EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV,
MC, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF,
BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN,
TD, TG).

Erklärungen gemäß Regel 4.17:

- hinsichtlich der Berechtigung des Anmelders, ein Patent zu
beantragen und zu erhalten (Regel 4.17 Ziffer ii)
- Erfindererklärung (Regel 4.17 Ziffer iv)

Veröffentlicht:

- ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu ver-
öffentlichen nach Erhalt des Berichts

(54) Title: USE OF DEUTERIUM OXIDE FOR TREATING VIRUS-BASED SKIN DISEASES

(54) Bezeichnung: VERWENDUNG VON DEUTERIUMOXID ZUR BEHANDLUNG VON VIRUS-BASIERTEN ERKRAN-
KUNGEN DER HAUT

(57) Abstract: The invention relates to the use of deuterium dioxide (D2O) for the prophylaxis and/or therapy of virus-based skin
diseases, in particular herpes virus- based and wart virus-based skin diseases.

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung von Deuteriumdioxid (D2O) zur Prophylaxe und/oder
Therapie von Virus-basierten Erkrankungen der Haut, insbesondere von Herpesvirus-basierten und Warzenvirus-basierten Erkran-
kungen der Haut



WO 2009/003463 A2

Verwendung von Deuteriumoxid zur Behandlung von Virus-basierten Erkrankungen der Haut

Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung von Deuteriumdioxid (D₂O) zur Prophylaxe und/oder Therapie von Virus-basierten Erkrankungen der Haut, insbesondere von Herpesvirus-basierten Erkrankungen der Haut.

Durch Viren hervorgerufene Erkrankungen (Virusinfektionen) sind weltweit verbreitet und stellen, insbesondere aufgrund der hohen Variabilität, Anpassungsfähigkeit und Mutationsrate von Viren, ein ernsthaftes Problem in der Medizin dar. Viren sind kleine Partikel von ca. 15 bis 400 nm, die nicht in der Lage sind, sich selbst zu replizieren, sondern hierfür eine Wirtszelle benötigen. Ihrer Wirtsspezifität entsprechend werden Viren unterschieden, die Tiere (Invertebraten und Vertebraten), Pflanzen, Bakterien oder Algen, Pilze und Protozoen befallen. Virusinfektionen zeichnen sich allgemein durch eine hohe Vermehrungsrate der Viruspartikel in den befallenen Wirtszellen aus, welche mit einem Exponential- oder Potenzgesetz beschrieben werden kann. Der allgemeine Vermehrungszyklus von Viren erfolgt über die Injektion ihrer Nukleinsäure (RNA oder DNA) in die Wirtszelle, in welcher die Replikation der Nukleinsäure durch Ausnutzung des Replikationsapparates der Wirtszelle erfolgt. Die Vermehrung von Viren kann entweder im lytischen oder lysogenen Zyklus erfolgen. Bei dem lytischen Zyklus (aktive Infektion), erfolgt nach der Injektion der Nukleinsäure die Replikation der Virus-Nukleinsäure im Zellkern der Wirtszelle, ein Zusammenbau der neuen Viruspartikel im Cytoplasma, worauf folgend die Wirtszelle schließlich lysiert (zerstört) wird und die Viren freigesetzt werden. Die so freigesetzten Viren infizieren weitere Wirtszellen. Bei dem lysogenen Zyklus wird die Nukleinsäure (DNA) des Virus in das Genom der Wirtszelle integriert, wo sie zunächst verbleibt ohne die Wirtszelle zu zerstören. Durch äußere Einflüsse (z.B. UV-Strahlung, Zugabe von

mutagenen Substanzen) kann dieser lysogene Zyklus in einen vorangehend beschriebenen lytischen Zyklus übergehen.

Unter Virus-basierten Erkrankungen der Haut werden allgemein Erkrankungen der Haut verstanden, die durch ein Virus hervorgerufen werden. Unter den Virus-basierten Erkrankungen der Haut sind insbesondere durch Herpesviren hervorgerufene Erkrankungen bzw. Infektionen bekannt, die im allgemeinen Sprachgebrauch auch einfach als Herpes bezeichnet werden. Herpesviren sind bei Wirbeltieren, insbesondere bei Säugetieren, und vor allem bei Mensch, Pferd, Schwein, Rind, Ziege, Schaf, Katze und Hund weit verbreitet.

Humanpathogene Herpesviren (HHV) werden in Alpha-, Beta- und Gamma-Herpesviren (HHV-1 bis HHV-8) unterschieden, wobei den Alpha- und Gammaviren auch Viren angehören, die Tiere infizieren können, wie beispielsweise Pferd (Equines Herpesvirus), Rind (bovines Herpesvirus), Schwein (porcines Herpesvirus), Katze (felines Herpesvirus), Hund (canines Herpesvirus) und Huhn (Hühner-Herpesvirus 1).

Unter den humanpathogenen, d.h. den Menschen befallenden, Herpesviren sind insbesondere die Alpha-Herpesviren von großer Bedeutung. Zu den Alpha-Herpesviren werden das Herpes simplex Virus 1 (HSV-1), das Herpes simplex Virus 2 (HSV-2) und das Varizella Zoster Virus (VZV) gezählt.

Zu den durch Herpes Simplex Viren HSV-1 und HSV-2 hervorgerufenen Hauterkrankungen gehören beispielsweise Herpes labiales, auch als Lippenherpes oder Fieberbläschen bezeichnet, und Herpes nasalis, beide überwiegend durch HSV-1 ausgelöst, Keratoconjunctivitis herpetica, Stomatitis herpetica, Herpes facialis, Herpes buccalis, Herpes genitales, Herpes perianalis, Herpes glutealis. Varizella Zoster Viren (VZV) rufen beispielsweise Windpocken und Gürtelrose hervor.

Virologen gehen davon aus, dass 80% der Bevölkerung weltweit mit HSV-1 und 30% mit HSV-2 latent infiziert sind. HSV-1 und HSV-2 sind eng miteinander verwandt und weisen einen großen Anteil identischer Nukleotidsequenzen auf. Während HSV-1 bevorzugt den Mundbereich und das Gesicht infiziert, findet man HSV-2 meistens im Genitalbereich.

Alpha-Herpesviren infizieren in der Regel zunächst Epithelzellen, wie Haut- Schleim- und Schleimhautzellen, gefolgt von einer starken Vermehrung des Virus in der Wirtszelle und einem Absterben der infizierten Wirtszelle.

Beispielsweise erfolgt die Ausbreitung von HSV-1 in Haut- bzw. Schleimhautzellen von Gesicht und Mund und ruft in der Regel eine lokale Schädigung hervor, und zwar in Form eines Bläschens. Antikörper neutralisieren die Viren in den Bläschen nach kurzer Zeit, jedoch werden auch Viren durch Lyse der infizierten Wirtszellen freigesetzt, bevor eine humorale Immunantwort stattfinden kann. Die freigesetzten Viren infizieren weiterhin bestimmte Nervenzellen (Neuronen), indem sie sich im Mund an Rezeptoren der Nervenenden anheften, die zu den Nervenknotten des Gesichtsnervs (Trigeminus) führen. Die Virus-DNA dringt in ein Axon ein, wird in das Cytoplasma der Nervenzellen und schließlich in deren Zellkern befördert. Dort erfolgt der Einbau der Virus-DNA in das Genom der Nervenzelle und führt zu einem Ruhezustand (Latenz), in dem nur wenige virale Gene exprimiert werden (lysogener Zyklus). Verschiedene äußere Reize können zu einer erneuten Aktivierung des Virus führen, d.h. zu dem Übergang von der Latenz bzw. dem lysogenen Zyklus zum lytischen Zyklus, welches letztendlich die Zerstörung (Lyse) der Nervenzelle zur Folge hat. Derartige Reize sind beispielsweise Immunsuppression, Stress, Hormonschwankungen, körperliche oder seelische Belastungen, Fieber (deshalb spricht man auch von Fieberbläschen), UV-Strahlung, Gewebeschäden und in manchen Fällen eine Immunschwäche. Die Häufigkeit einer solchen Aktivierung von HSV-1 ist sowohl von genetischen als auch von umweltbedingten Faktoren abhängig. und auch Alter und Hormonveränderungen spielen dabei eine Rolle. Die im Rahmen einer Aktivierung entstehenden Virusnachkommen werden zunächst durch das Axon an die Stelle bzw. in das Gebiet der ursprünglichen Hautinfektion transportiert und

erzeugen dort durch Infektion von und Vermehrung in den Haut- bzw. Schleimhautzellen wiederum Bläschen (Fieberbläschen). Selbst wenn diese Viren wiederum vom Immunsystem neutralisiert werden, ist eine vollständige Befreiung des Körpers von HSV-1 durch das Immunsystem nicht möglich, da ständig weitere Nervenzellen infiziert werden, in denen die Virus-DNA integriert im Genom verbleibt (Latenz).

Weitere Virus-basierte Erkrankungen der Haut, die weit verbreitet sind, sind durch Warzenviren hervorgerufene Erkrankungen bzw. Infektionen, die im allgemeinen Sprachgebrauch als Warzen bezeichnet werden.

Warzen (Verrucae) sind, unter Umständen sehr ansteckende, kleine, scharf begrenzte, leicht erhabene oder flache, im allgemeinen gutartige Epithelgeschwülste bzw. Wucherungen der Haut, insbesondere der Epidermis. Sie treten insbesondere an Hand und Fuß auf. Warzen haben meistens einen dicken, hornigen, teilweise auch zerklüfteten Überzug aus Plattenepithelzellen unter dem sich weiches Gewebe aus Keratinocyten befindet.

Ausgelöst werden diese Hauterkrankungen (Warzen) durch eine Virusinfektion, vor allem durch Papillomaviren, insbesondere humane Papillomaviren (HPV), wie beispielsweise Verrucae vulgares, Verrucae planae juvenilis, Verrucae plantares, Condylomata acuminata, Verrucae planae, Verrucae filiformes und Molluscipicoviren, z. B. Molluscum contagiosum. Die Infektion erfolgt über kleine Verletzungen der Haut und der Schleimhäute. Warzenviren infizieren Hautzellen von Wirbeltieren, insbesondere Säugetieren, und vor allem vom Mensch.

Bei Warzen handelt es sich grundsätzlich um gutartige Wucherungen, die an bestimmten Stellen, z. B. im Genitalbereich, starke Schmerzen verursachen können und sich - extrem selten - maligne entwickeln können. Durch ihr Erscheinungsbild und eine häufig auftretende weitere Ausbreitung auf der Haut können sie weiterhin auch kosmetisch stören. Eine Behandlung von Warzen ist sehr langwierig. Bislang sind verschiedene Behandlungsansätze entwickelt worden:

- Chirurgische Entfernung
- Elektrokoagulation
- Entfernung durch Laser
- Kryochirurgie (Vereisung)
- Kauterisation (Einsatz von elektrischem Strom oder Ätzmitteln)
- Zytostatika, wie 5-Fluoruracil, Podophyllotoxin und Podophyllin bekannt, mit denen die Warze eingestrichen wird.

Alle vorstehend erläuterten Behandlungsansätze basieren jedoch auf einer Behandlung der Folgen einer Warzenvirusinfektion, nicht auf eine Hemmung oder Verhinderung der Virusvermehrung.

Im Gegensatz dazu erfolgt die Behandlung der erwähnten Herpesvirus-basierten Erkrankungen der Haut allgemein durch den Einsatz von antiviralen Wirkstoffen, die insbesondere in die Virusvermehrung eingreifen. Hierauf wird nachfolgend näher eingegangen.

Ein wichtiger allgemeiner Ansatz bei der Entwicklung von antiviralen Wirkstoffen, und somit auch bei der Prophylaxe und/oder Therapie von Virus-basierten Erkrankungen der Haut, ist es demnach, in den Vermehrungszyklus des Virus einzugreifen und bereits die virale Infektion der Wirtszelle oder die Vermehrung der viralen Nukleinsäure in der Wirtszelle zu inhibieren (d.h. verhindern) oder zu hemmen, beispielsweise indem die Expression der durch die virale Nukleinsäure kodierten viralen Proteine gehemmt oder inhibiert wird.

In den letzten Jahrzehnten sind solche antiviralen Wirkstoffe, sogenannte Virostatika, entwickelt worden. Viele Virostatika hemmen beispielsweise die Enzyme DNA-Polymerase, reverse Transkriptase oder Proteasen und hemmen oder inhibieren somit die Replikation des Virus bzw. die Prozessierung eines synthetisierten langen Virusproteins in kleinere Proteinabschnitte. Beispiele für diese therapeutischen Ansätze finden sich besonders in der Therapie von HIV Infektionen. Aber auch im Bereich der Therapie von Virus-basierten Hauerkrankungen, die durch die

Herpesviren HSV-1 oder HSV-2 ausgelöst werden, sind Virostatika bekannt, welche systemisch oder topisch verabreicht werden. Beispiele hierfür sind die Wirkstoffe Aciclovir, Valaciclovir, Foscarnet und Peniclovir.

Zur Prophylaxe und/oder Therapie von Virus-basierten Erkrankungen der Haut mit Virostatika sind generell zwei Ansätze bekannt:

(1) die systemische Verabreichung: durch systemische Verabreichung von Virostatika kann eine signifikante Verringerung der Aktivierung von in Wirtszellen vorhandenen Viren erreicht werden, da die Wirkstoffe die Vermehrung der Virus-Nukleinsäure im Zellkern oder den Zusammenbau der Viruspartikel zu vollständigen Viren im Cytoplasma der Wirtszellen hemmen oder inhibieren;

(2) die topische Verabreichung: durch topische Applikation von Virostatika in dem Gebiet einer Erstinfektion durch das Virus kann in einem frühen Stadium der Aktivierung der weitere Weg der Vermehrung der Viren, beispielsweise in den sich bildenden Fieberbläschen bei einer HSV-1-Infektion, behindert werden, welches zu einem schnelleren Abschwellen der Fieberbläschen führen kann.

Beide Ansätze für die Verabreichung von Virostatika haben bedeutsame Nachteile:

- bei einer systemischen Verabreichung ist die für eine effektive Behandlung erforderliche Dosis relativ hoch verbunden mit starken Nebenwirkungen für den behandelten Organismus, wie beispielsweise unspezifische Immunantworten und Autoimmunreaktionen. Für Fall von Aciclovir sind zahlreiche solche Nebenwirkungen aus der Literatur bekannt. Weder eine Langzeit-Therapie noch Wiederholungs-Therapien sind daher ratsam und einem Patienten zuzumuten;
- bei der topischen Applikation ist die Menge an Wirkstoff (Virostatikum), welche pro Zeiteinheit in dem Gebiet der Virusinfektion, beispielsweise des

Fieberbläschens, freigesetzt und bioverfügbar werden kann, sehr gering. Diese geringe Bioverfügbarkeit des Virostatikums stellt ein wesentliches Hindernis für eine effektive topische Therapie dar. Für den Fall des nur schwer wasserlöslichen Aciclovir liegt die geringe Bioverfügbarkeit beispielsweise an dem schlechten perkutanen Transport des Wirkstoffs. Auch verschiedene chemische Modifikationen von Virostatika im Rahmen von Pro-Drug Konzepten für eine verbesserte Wirkstoffzufuhr von Virostatika haben zu keiner Verbesserung dieses Phänomens geführt.

Unter den in der Literatur beschriebenen Virostatika zur Behandlung von Virus-basierten Erkrankungen der Haut wird das bereits genannte Aciclovir als eines der effektivsten Virostatika beschrieben wird, zu welchem nahezu keine Alternativen existieren.

Alternativen zu bekannten antiviralen Wirkstoffen, insbesondere den Virostatika, zur Prophylaxe und/oder Therapie von Virus-basierten Erkrankungen der Haut, welche die im Stand der Technik bekannten Nachteile überwinden, gibt es nicht. Es besteht daher Bedarf, verbesserte und verträglichere antivirale Wirkstoffe zu entwickeln, die in den Vermehrungszyklus des Virus einzugreifen und vorzugsweise bereits die virale Infektion der Wirtszelle und die Vermehrung der viralen Nukleinsäure in der Wirtszelle inhibieren (d.h. verhindern) oder zu hemmen.

Aufgabe der Erfindung ist es demnach, verbesserte antivirale Wirkstoffe zur Prophylaxe und/oder Therapie von Virus-basierten Erkrankungen der Haut bereitzustellen.

Diese Aufgabe wird durch die vorliegende Erfindung gelöst. Die Erfindung betrifft in ihren ersten beiden Gegenständen die Verwendung von Deuteriumoxid zur Prophylaxe und/oder Therapie von Virus-basierten Erkrankungen der Haut sowie die Verwendung von Deuteriumoxid zur Herstellung eines Arzneimittels zur Prophylaxe und/oder Therapie von Virus-basierten Erkrankungen der Haut.

In einer bevorzugten Ausführungsform betrifft die Erfindung die Verwendung von Deuteriumoxid zur Prophylaxe und/oder Therapie von Herpesvirus-basierten Erkrankungen der Haut handelt. Bevorzugt werden die Herpesvirus-basierten Erkrankungen der Haut durch Herpes simplex Virus Typ 1, Herpes simplex Virus Typ 2 oder Varizella Zoster Virus hervorgerufen. Besonders bevorzugt handelt es sich um Herpesvirus-basierte Erkrankungen der Haut, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Herpes labiales, Herpes nasalis, Keratoconjunctivitis herpetica, Stomatitis herpetica, Herpes facialis, Herpes buccalis, Herpes genitales, Herpes perianalis und Herpes glutealis und Herpes zoster.

In einer weiteren, bevorzugten Ausführungsform betrifft die Erfindung die Verwendung von Deuteriumoxid zur Prophylaxe und/oder Therapie von Warzenvirus-basierte Erkrankungen der Haut handelt. Bevorzugt werden die Warzenvirus-basierten Erkrankungen der Haut durch Papillomaviren, insbesondere humane Papillomaviren (HPV) oder Molluscipoxvirus hervorgerufen werden. Besonders bevorzugt handelt es sich um Warzenvirus-basierte Erkrankungen der Haut, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Verrucae vulgares (vulgäre Warze), Verrucae planae juvenilis (juvenile (plane) Warze), Verrucae plantares (Fußsohlenwarze), Condylomata acuminata (Feigwarze), Verrucae planae (Flachwarze), Verrucae filiformes (Pinselwarze) oder Molluscum contagiosum (Dellwarze).

Unter „Virus-basierten Erkrankungen der Haut“ werden Erkrankungen der Haut verstanden, die durch ein Virus hervorgerufen werden. Die Begriffe „Virus-basierte Erkrankung“, „Viruserkrankung“ und „Virusinfektion“ der Haut werden im Sinne der Erfindung synonym angewendet. Unter „Herpesvirus-basierte Erkrankungen der Haut“ werden Erkrankungen der Haut verstanden, die durch ein Herpesvirus hervorgerufen werden. Unter „Warzenvirus-basierte Erkrankungen der Haut“ werden Erkrankungen der Haut verstanden, die durch ein Warzenvirus hervorgerufen werden. Zu den Warzenviren gehören insbesondere Papillomaviren, vor allem humane Papillomaviren (HPV), und Molluscopoxvirus.

Die Begriffe „Prophylaxe und/oder Therapie“ bezeichnen erfindungsgemäß jede für die Behandlung einer Virus-basierten Erkrankung der Haut geeignete Maßnahme, die entweder eine vorbeugende Behandlung einer solchen sich abzeichnenden Erkrankung bzw. deren sich abzeichnende Symptome darstellt (Prophylaxe) oder die Vermeidung eines Wiederausbrechens einer solchen Erkrankung, beispielsweise nach einem abgeschlossenen Behandlungszeitraum, oder die Behandlung der Symptome einer solchen bereits ausgebrochenen Erkrankung darstellt (Therapie).

Die wirksame Prophylaxe oder Therapie einer Virus-basierten Erkrankung der Haut kann insbesondere durch Verabreichung eines pharmazeutischen Wirkstoffes bzw. eines antiviralen Wirkstoffes erfolgen, der unter Berücksichtigung der Art seiner Verabreichung (z.B. systemisch oder topisch), vorzugsweise alle der nachstehenden Eigenschaften aufweist:

- a) bei topisch zu verabreichenden antiviralen Wirkstoffen: eine lokale Anwendbarkeit durch topische Verabreichung über einen beliebig langen Zeitraum und mit hoher perkutaner Transportkinetik des Wirkstoffs;
- b) eine weitgehend homogene Wirkstoffverteilung im Bereich des Wirkortes sowie die Vermeidung von lokalen Überkonzentrationen;
- c) eine bevorzugte Anreicherung des antiviralen Wirkstoffes in den vom Virus befallenen Hautgebieten, möglichst verbunden mit einer Retardierung seines transdermalen Transportes in den Blutkreislauf, d.h. in die Blutgefäße;
- d) eine virustatische Wirkung, d.h. eine die Vermehrung von Viren hemmende Wirkung, auf die (Wirts-)Zellen im betroffenen Hautgebiet. D.h. die Virusvermehrung durch den wirtszelleigenen Replikationsapparat wird gehemmt, vorzugsweise inhibiert;
- e) weitgehende Toleranz des antiviralen Wirkstoffs durch die gesunden (vom Virus nicht infizierten) Zellen im Hautgewebe sowie den Blutkreislauf zur Vermeidung von Nebenwirkungen, insbesondere auch im Hinblick auf Immunreaktionen.

Erfindungsgemäß wurde festgestellt, dass Deuteriumoxid (D₂O) diese vorgenannten Anforderungen erfüllt und darüber hinaus gegenüber den im Stand der Technik bekannten antiviralen Wirkstoffen, insbesondere den Virostatika, deutliche Vorteile aufweist, beispielsweise weitaus geringere bzw. keine Nebenwirkungen sowie erhöhte Bioverfügbarkeit. Erfindungsgemäß wurde weiterhin festgestellt, dass Deuteriumoxid ist ein effektiver antiviraler Wirkstoff mit potentieller Langzeitwirkung ist, der sowohl für Kurz-, Langzeit- und Wiederholungs-Therapien von Virus-basierten Erkrankungen der Haut geeignet ist. Erfindungsgemäß wird Deuteriumoxid, nachfolgend D₂O genannt, auch als antiviraler Wirkstoff bezeichnet.

Bevor auf Deuteriumoxid als erfindungsgemäßer antiviraler Wirkstoff näher eingegangen wird, werden nachfolgende erläuternde Definitionen gegeben.

Unter dem Begriff „pharmazeutischer Wirkstoff“ wird erfindungsgemäß jede(s) beliebige anorganische oder organische Molekül, Substanz oder Verbindung, das/die eine pharmakologische Wirkung aufweist verstanden. Der Begriff „pharmazeutischer Wirkstoff“ wird hierin mit dem Begriff „Arzneimittel“ synonym verwendet. Zu den pharmazeutischen Wirkstoffen im Sinne der Erfindung gehören auch antivirale Wirkstoffe einschließlich D₂O.

Der Begriff „antiviraler Wirkstoff“ im Sinne der Erfindung definiert einen Wirkstoff, der zur Behandlung von Virus-basierten Erkrankungen, und insbesondere Virus-basierten Erkrankungen der Haut, einsetzbar ist. Vorzugsweise ist ein solcher antiviraler Wirkstoff geeignet, die virale Infektion der Wirtszelle und/oder die Vermehrung der viralen Nukleinsäure in der Wirtszelle zu inhibieren oder zu hemmen. Sofern ein antiviraler Wirkstoff die Virusvermehrung hemmt oder inhibiert, wird auch der Begriff „virustatischer Wirkstoff“ verwendet.

„Zellen“ im Sinne der Erfindung sind tierische Zellen, bevorzugt humane Zellen, und zwar Hautzellen, insbesondere, aber nicht hierauf beschränkt, Epithelzellen der Haut, wie Schleim- und Schleimhautzellen. Bei „Wirtszellen“ handelt es sich

erfindungsgemäß um solche Hautzellen, die von einem Virus infiziert sind oder infiziert werden können.

Die Eigenschaften von D₂O sowie dessen Wirkungsmechanismus als erfindungsgemäßer antiviraler Wirkstoff stellen sich wie folgt dar:

Deuteriumoxid (D₂O), häufig auch als „schweres Wasser“ bezeichnet, ist eine dem „natürlichen Wasser“ H₂O in seinen physikalischen Eigenschaften äußerst ähnliche Substanz. Deuteriumoxid (D₂O) und Wasser (H₂O) unterscheiden sich physikalisch durch die Substitution der Wasserstoffatome von H₂O durch Deuteriumatome, wobei D₂O eine ca. 10% höhere Dichte und eine ca. 25% höhere Viskosität aufweist. Darüber hinaus sind Schmelz- und Siedetemperaturen von D₂O höher als für H₂O. Ein detaillierter Vergleich der Eigenschaften wird im Handbook of Chemistry and Physics, Sektion 6, gegeben (Handbook of Chemistry and Physics, David R. Lide, Editor, 79. Auflage, 1998 CRC Press, Boca Raton, USA) dargestellt.

Neben den physikalischen ähnlichen Eigenschaften von H₂O und D₂O bestehen bedeutsame physiologische Unterschiede (siehe u.a. Kushner DJ et al., Pharmacological uses and perspectives of heavy water and denatured compounds., Can J Physiol Pharmacol. 1999 Feb;77(2):79-88.). D₂O weist ab einer gewissen Konzentration in einer Zelle, bei tierischen Zellen von mehr als 20 – 25 %, eine Wirkung auf enzymatische Reaktionen auf. Enzymatisch gesteuerte Reaktionen werden zunehmend verändert, insbesondere gehemmt oder inhibiert. Eine Ursache hierfür wird in der höheren Bindungsstärke der Wasserstoffbrückenbindungen, wenn das Wasserstoffatom von H₂O durch ein Deuteriumatom substituiert ist, gesehen. Sowohl in wässrigen Lösungen von H₂O und D₂O, als auch bei der Bindung von Wasser an organische Moleküle, tritt diese erhöhte Bindungsstärke auf (Cuma M, Scheiner S, Influence of Isotopic Substitution on Strength of Hydrogen Bonds of Common Organic Groups, Journal of Physical Organic Chemistry, 1997 Band 10, 383-395).

Es ist allgemeines Fachwissen, dass eine Zelle abhängig von dem Grad ihrer jeweiligen metabolischen Aktivität unterschiedliche Mengen H₂O aufnimmt. Eine Zelle, die von einem Virus infiziert wird, sog. Wirtszelle, und in der damit eine Vermehrung des Virus stattfindet, weist eine weitaus höhere metabolische Aktivität auf als eine nicht infizierte Zelle desselben Zelltyps des umliegenden Gebiets. Der Grund hierfür ist, dass die Wirtszelle nicht nur ihre eigene Replikation, sondern auch die Replikation des Virus bewirkt. Da eine erhöhte metabolische Aktivität von Zellen mit einer erhöhten Wasseraufnahme korreliert, nehmen Virus-infizierte Wirtszellen deutlich mehr Wasser (H₂O) auf als nicht infizierte Zellen. Aufgrund der ähnlichen physikalischen Eigenschaften von H₂O und D₂O, wird D₂O von Zellen parallel zu H₂O (wenn D₂O und H₂O verfügbar sind) oder anstelle von H₂O (wenn nur D₂O verfügbar ist) aufgenommen.

Wie vorstehend erläutert, werden enzymatische Reaktionen in einer Zelle durch D₂O in ausreichender Konzentration verändert. Wie ebenfalls vorstehend erläutert, nehmen Zellen, und Virus-infizierte Zellen in erhöhtem Ausmaß, D₂O parallel oder anstelle von H₂O auf. Wird demnach an eine Virus-infizierte Zelle D₂O in einer erfindungsgemäß „ausreichenden Konzentration“, d.h. mehr als 20% bezogen auf den Gesamtwassergehalt einer Zelle, verabreicht, hat dies eine Hemmung bzw. Inhibierung enzymatischer Reaktionen in der Wirtszelle zur Folge. Hierzu gehört insbesondere die Hemmung oder Inhibierung der DNA-Polymerase (Takeda H et al. Mechanisms of cytotoxic effects of heavy water (deuterium oxide: D₂O) on cancer cells, Anticancer Drugs. 1998 Sep;9(8):715-25). Als Folge hiervon wird die DNA-Replikation in einer Zelle gehemmt bzw. inhibiert. Nicht infizierte Zellen in dem umgebenden Gebiet nehmen D₂O bzw. H₂O in normalem Maß auf, so dass in diesen keine Hemmung oder Inhibierung enzymatischer Reaktionen erfolgt.

Erfindungsgemäß ist nunmehr festgestellt worden, dass, wenn eine Zelle mit einem Virus infiziert (Wirtszelle), durch die Hemmung bzw. Inhibierung der wirtszelleigenen DNA-Polymerase auch die Virus-DNA nicht repliziert wird, da deren Replikation ebenfalls durch die Wirtszell-DNA-Polymerase erfolgt. Im Fall von RNA-Viren erfolgt die enzymatische Hemmung bzw. Inhibierung durch D₂O auch für Synthese der

reversen Transkriptase, die zunächst, durch Virusgene kodiert, in der Wirtszelle synthetisiert werden muss, um die Virus-RNA in DNA umzuschreiben, die dann wiederum von der DNA-Polymerase der Wirtszelle repliziert wird. Eine Hemmung bzw. Inhibierung bestimmter enzymatischer Reaktionen der Wirtszelle durch D₂O hemmt bzw. verhindert demnach auch die Virusvermehrung.

Ein weiterer wichtiger Aspekt der Erfindung, der auf der beschriebenen erhöhten Bindungseigenschaft von D₂O basiert, ist, dass bei Verabreichung von D₂O in ausreichender Konzentration, d.h. mehr als 20%, in einer Zelle, die Zellteilung gehemmt oder inhibiert wird. Dies geschieht höchstwahrscheinlich, zusätzlich zu der erläuterten Hemmung bzw. Inhibierung der DNA-Replikation, durch die Hemmung bzw. Inhibierung der Mitose im Zyklus der Teilung tierischer Zellen (Laissue JA et al. Survival of tumor-bearing mice exposed to heavy water or heavy water plus methotrexate, Cancer Research, 1982, Vol 42, (3) 1125-1129). Dies ist erfindungsgemäß von entscheidender Bedeutung für einen Latenzzustand bei Virus-basierte Erkrankungen der Haut, bei dem Viren im oben bereits beschriebenen Ruhezustand (Latenz) während des lysogenen Vermehrungszyklus vorliegen. In diesem Zustand wird das Virusgenom in das Wirtszellgenom integriert und bei Teilung der Wirtszelle zusammen mit dem Wirtsgenom auf die Wirtszellnachkommen übertragen. Bei einer Hemmung bzw. Inhibierung der Zellteilung wird so eine Übertragung des Virus auf neue Zellen verhindert.

Erfindungsgemäß erfolgt demnach eine Hemmung oder Inhibierung der Virusvermehrung durch die Verwendung von D₂O zur Prophylaxe und/oder Therapie von Virus-basierten Erkrankungen der Haut. Diese Hemmung oder Inhibierung der Virusvermehrung durch D₂O als antiviraler Wirkstoff erfolgt erfindungsgemäß insbesondere durch die Hemmung bzw. Inhibierung der Replikation der Virus-Nukleinsäure und/oder der Wirtszellteilung.

Unter dem Begriff „hemmen“ bzw. „Hemmung“ gemäß der Erfindung ist zu verstehen, dass die Replikation von Virus-Nukleinsäuren bzw. die Zellteilungsrate von Wirtszellen der Erfindung verlangsamt und/oder herabgesetzt wird, bevorzugt bis

zu ca. 5%, vorzugsweise bis zu ca. 10%, ebenfalls bevorzugt bis zu ca. 20%, stärker bevorzugt bis zu ca. 30%, ebenfalls stärker bevorzugt bis zu ca. 40%, noch stärker bevorzugt bis zu ca. 50%, am stärksten bevorzugt bis zu ca. 60% gegenüber der Replikations- bzw. Teilungsrate dieser Zellen oder der viralen Vermehrungsrate ohne Verabreichung von D2O.

Der Begriff „inhibieren“ oder „Inhibierung“ gemäß der Erfindung bedeutet, dass die Replikation von Virus-Nukleinsäuren bzw. die Zellteilungsrate von Wirtszellen der Erfindung, bevorzugt über 50%, ebenfalls bevorzugt bis zu ca. 60%, weiterhin bevorzugt bis zu ca. 65%, vorzugsweise bis zu ca. 70%, ebenfalls bevorzugt bis zu ca. 80%, stärker bevorzugt bis zu ca. 90%, ebenfalls stärker bevorzugt bis zu ca. 95%, noch stärker bevorzugt bis zu ca. 98%, am stärksten bevorzugt um bis zu 100% gegenüber der Replikations- bzw. Teilungsrate dieser Zellen oder der viralen Vermehrungsrate ohne Verabreichung des D2O verlangsamt bzw. herabgesetzt wird.

Eine solche antivirale bzw. virustatische Wirkung von D2O ist bislang im Stand der Technik nicht beschrieben oder angedeutet worden.

D2O weist gegenüber bekannten antiviralen bzw. virustatischen Wirkstoffen zur Behandlung von Virus-basierten Erkrankungen der Haut erhebliche Vorteile auf, vor allem durch folgende Eigenschaften:

- 1) durch die Möglichkeit, D2O topisch auf die Haut zu applizieren, kann wegen des hohen kutanen, perkutanen und intrakutanen Transports von D2O in die Hautzellen eine zur therapeutischen Wirksamkeit ausreichend hohe Konzentration (von mehr als 20% bezogen auf den Gesamtwassergehalt einer Zelle) von D2O in der Epidermis bzw. Dermis der Haut erreicht werden, ohne dass andere Organe des Körpers ähnlich hohen und möglicherweise schädlichen Konzentrationen von D2O ausgesetzt werden, wie es bei der systemischen Verabreichung erfolgen kann. Damit ist ein entscheidendes, im Stand der Technik diskutiertes, Problem zur Erreichung von therapeutisch wirksamen D2O-Konzentrationen am Wirkort (mehr als 20% D2O bezogen auf

den Gesamtwassergehalt der Zelle) ohne starke Nebenwirkungen für andere Organe oder gesundes umliegendes Hautgewebe gelöst. Grundlage hierfür ist der gerichtete Transport von D₂O durch das Stratum Corneum der Haut bis zur Epidermis bzw Dermis;

- 2) der Aggregatzustand von D₂O kann bei einer topischen Verabreichung flüssig, gasförmig oder fest sein. Der Transport in die Haut kann durch direkten Kontakt der D₂O bzw. einer D₂O-enthaltenden Formulierung mit der Haut und indirekt durch Diffusion über eine zwischengelagerte Schicht (z.B. Luft, poröse Membran, polymeres Netzwerk) erfolgen;
- 3) in dem Fall, dass reines flüssiges D₂O allein verabreicht wird (reines D₂O), ist auszuführen, dass D₂O gegenüber allen anderen flüssigen pharmazeutischen Wirkstoffen einen einzigartigen Vorteil hat. Es kann wie normales Wasser (H₂O) in die Haut transportiert werden und durch die Stärke und Richtung des osmotischen Gradienten und einer Manipulation dieser beiden Größen kann weiterhin die Eindringtiefe von D₂O in die Haut an die therapeutische Zielsetzung angepasst werden;
- 4) die Wasserstoffbrückenbindungsstärke von D₂O ist, wie bereits oben beschrieben, höher als bei H₂O, insbesondere bei der Bindung von Wasser an organische Moleküle. Topisch verabreichtes D₂O bindet molekular durch Wasserstoffbrückenbindungen an die nächste verfügbare Zelloberfläche und verdrängt dabei das dort angelagerte H₂O aufgrund seiner höheren Bindungsstärke. Die Austausch-Frequenz der D₂O-Moleküle mit der H₂O-Umgebung ist wiederum durch diese erhöhte Bindungsstärke (und durch das höhere Gewicht des D₂O-Moleküls) etwas langsamer als für H₂O (König, S., et al. „Molecular dynamics of water in oriented multilayers studied by quasi-elastic neutron scattering and deuterium-NMR relaxation“.1994. J.Chem. Phys. 100, 3307-3316). Damit ergibt sich eine erhöhte Aufenthaltswahrscheinlichkeit der D₂O-Moleküle unmittelbar auf der Zelloberfläche, verbunden mit einer verstärkten Internalisierung von D₂O in

der Zelle, wodurch es seine Wirkung entfalten kann – die Hemmung oder Inhibierung der oben beschriebenen enzymatischen Reaktionen einer Virus-infizierten Wirtszelle sowie deren Teilung. Da Virus-infizierte Hautzellen eine höhere Aufnahmefähigkeit für Wasser bzw. D₂O aufweisen als normale Zellen, ist darüber hinaus gesichert, dass D₂O überproportional in diesen Zellen im Vergleich zu gesunden Hautzellen angereichert wird, d.h. in einer ausreichenden D₂O-Konzentration von mehr als 20% bezogen auf den Gesamtwassergehalt der Zelle. Aufgrund dieser Eigenschaften ist die topische Applikation von D₂O auf der Haut außerordentlich wertvoll für die Therapie von Virus-basierten Erkrankungen der Haut, bei denen der gewünschte Wirkort in der Epidermis oder höchstens in der Dermis der Haut liegt;

- 5) D₂O ist das einzige nicht-radioaktive Molekül, welches dem H₂O in seinen Eigenschaften sehr ähnlich ist. Zellen allgemein, und insbesondere Hautzellen, können zwischen den beiden Molekülen nicht „unterscheiden“, so dass D₂O durch aktiven und passiven Transport auf die gleiche Weise wie H₂O in die Zelle transportiert wird und bis in die Zellkerne gelangt. Hierdurch werden Zellbarrieren beliebiger Arten, die ein Eindringen anderer pharmazeutischer Wirkstoffe verhindern, umgangen und ebenfalls Abwehrmechanismen auf zellulärer Ebene, wie die Internalisierung in Lysosomen oder die Aktivierung von MDR (multiple drug resistance) Transportern oder auf Organebene durch das Immunsystem, welche die Wirksamkeit des pharmazeutischen Wirkstoffs D₂O reduzieren oder inhibieren könnten, sind weitgehend ausgeschaltet;
- 6) ein weiterer Vorteil von D₂O als antiviraler bzw. virustatischer Wirkstoff ist die Tatsache, dass Konzentrationen unter 20% D₂O (bezogen auf den Gesamtwassergehalt der Zelle) in der Zelle keine signifikanten Wirkungen entfalten und damit normale Zellen, die wegen ihrer gegenüber den aktiven, Virus-infizierten Zellen geringeren Wasserpermeabilität und/oder Wasseraufnahme vergleichsweise wenig D₂O aufnehmen, kaum den Wirkungen des D₂O ausgesetzt sind.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung wird D₂O erfindungsgemäß nicht-systemisch, insbesondere topisch, verabreicht. Hierdurch werden vor allem Nebenwirkungen, die durch eine systemische Verabreichung von antiviralen bzw. virustatischen Wirkstoffen verursacht werden, vermieden.

Durch eine erfindungsgemäße topische Verabreichung können lokal hohe, therapeutisch wirksame D₂O-Konzentrationen auf der Haut eingesetzt werden und gleichzeitig die Belastungen des Systems (d.h. des Blutkreislaufs) und die Nebenwirkungen auf nicht zu behandelndes, gesundes Hautgewebe sowie Gewebe von anderen Organen (wie beispielsweise der Leber oder Niere, die durch eine hohe Konzentration von D₂O von mehr als 20% D₂O, bezogen auf den Gesamtwassergehalt der Zelle, verursacht werden könnten), zu vermindern bzw. vollständig zu vermeiden. Ein Transport von D₂O von den Hautzellen in das System kann darüber hinaus mit Mitteln, die im Stand der Technik gut bekannt sind, verhindert oder eingeschränkt werden kann. Beispiele für diese Mittel sind u.a. die gezielte Manipulation des osmotischen Gradienten über die Haut (d.h. zwischen systemischen Teil und der Hautoberfläche) durch Verringerung des Wasserpotentials des topisch applizierten D₂O mittels Substanzen, die geeignet sind, dieses Wasserpotential zu verändern, insbesondere physiologisch verträgliche Salze, wie Natriumchlorid, wasserlösliche Polymere und andere nicht-pharmazeutische Stoffe.

Der Begriff „topisch“ bzw. „topische Applikation“ oder „topische Verabreichung“ oder „topische Anwendung“ im Sinne der vorliegenden Erfindung bedeutet das lokale Auftragen oder Einbringen von D₂O und weiteren erfindungsgemäßen Wirkstoffen, z.B. pharmazeutischen Wirkstoffen oder nicht-pharmazeutischen Wirkstoffen, auf die Haut, bevorzugt als Flüssigkeit, Gas oder Formulierung, insbesondere Salbe, Creme, Gel oder Hydrogel.

Eine erfindungsgemäße topische Verabreichung erfolgt bevorzugt durch

- 1) Verabreichung als Flüssigkeit oder Formulierung, insbesondere Salbe, Creme oder Gel (nachfolgend näher beschrieben);
- 2) Verabreichung über ein Pflaster oder eine Bandage (nachfolgend näher beschrieben) oder
- 3) Verabreichung als Aerosol oder Dampf (nachfolgend näher beschrieben).

Ein zu behandelnder Organismus im Sinne der vorliegenden Erfindung ist ein tierischer Organismus, vor allem ein Wirbeltier, insbesondere ein Säugetier, vor allem ein Mensch, Pferd, Schwein, Rind, Ziege, Schaf, Katze und Hund.

D2O kann erfindungsgemäß allein als pharmazeutischer Wirkstoff, genauer als antiviraler bzw. virustatischer Wirkstoff, oder in Kombination mit einem weiteren pharmazeutischen Wirkstoff oder mit einem weiteren nicht-pharmazeutischen Wirkstoff (insbesondere zur Optimierung der topischen Applikation von D2O als pharmazeutischen Wirkstoff auf der Haut) verabreicht werden.

Eine bevorzugte Ausführungsform der vorliegenden Erfindung betrifft die erfindungsgemäße Verwendung von D2O, wobei das D2O zusammen mit mindestens einem weiteren pharmazeutischen Wirkstoff und/oder mindestens einem weiteren nicht-pharmazeutischen Wirkstoff verwendet wird.

Eine solche Kombination aus D2O und mindestens einem weiteren pharmazeutischen Wirkstoff und/oder mindestens einem weiteren nicht-pharmazeutischen Wirkstoff wird nachfolgend als „erfindungsgemäße Kombination“ bezeichnet.

Sämtliche in dieser Beschreibung offenbarten erfindungsgemäßen Verwendungen und Verabreichungen von D2O, beispielsweise mit Pflaster und Bandagen, mit Schichtsystemen, in Formulierungen und als Aerosol, sind ebenfalls auf eine erfindungsgemäße Kombination uneingeschränkt anwendbar, sofern nichts Gegenteiliges angezeigt ist. Gleiches gilt für die Verwendung und Verabreichung von D2O in Kombination mit H2O, auch nachfolgend als „Mischung aus D2O und H2O“

bezeichnet.

Eine weiterhin bevorzugte Ausführungsform der vorliegenden Erfindung betrifft die Verwendung von D2O zusammen mit mindestens einem weiteren pharmazeutischen Wirkstoff, wobei dieser ausgewählt ist aus der Gruppe, bestehend aus Virostatika, Proteinen, Peptiden, Nukleinsäuren und immunsuppressiven Wirkstoffen.

Nachfolgend werden erfindungsgemäß bevorzugte weitere pharmazeutische Wirkstoffe einer erfindungsgemäßen Kombination und deren Wirkung aufgeführt, wobei diese Aufzählung nur beispielhaft ist und die vorliegende Erfindung nicht hierauf beschränkt ist:

- Virostatika

Als Virostatika werden Wirkstoffe bezeichnet, die die Vermehrung von Viren hemmen. Zahlreiche Virostatika hemmen die Aktivität von Enzymen, beispielsweise DNA-Polymerase, reverse Transkriptase oder Proteasen, und hemmen oder inhibieren somit die Replikation des Virus bzw. die Prozessierung eines synthetisierten langen Virusproteins in kleinere Proteinabschnitte. Beispiele hierfür sind Aciclovir, Valaciclovir, Foscarnet und Peniclovir.

- Immunsuppressive Wirkstoffe

Durch Zugabe von immunsuppressiven Wirkstoffen, beispielsweise Kortikoiden und/oder anderen oder Immunmodulatoren kann die Reaktion des Hautgewebes auf die Vermehrung der Viren, insbesondere bei bereits vorhandenen Entzündungen, verbessert und optimiert werden.

- Proteine

Als erfindungsgemäß einsetzbare Proteine sind Proteine zu verstehen, die auf geeignete Weise in den Replikationsmechanismus der

Wirtszelle eingreifen. Auf geeignete Weise bedeutet in diesem Zusammenhang, dass die Proteine die Adsorption des Virus an die Wirtszelle, die Injektion der Virus-Nukleinsäure in die Wirtszelle, die Replikation der DNA der Wirtszelle bzw. der Nukleinsäure des Virus, das Prozessieren der Virus-Nukleinsäure oder den Zusammenbau der Viruspartikel zu einem vollständigen Virus hemmen, bevorzugt inhibieren, oder anderweitig in den Vermehrungszyklus des Virus angreifen. Beispiele hierfür sind Protease-Hemmer, Uncoating-Hemmer, Penetrations-Hemmer, reverse Transkriptions-Hemmer und DNA-Polymerase-Hemmer.

- Peptide

Als erfindungsgemäß einsetzbare Peptide sind beispielsweise Peptide zu verstehen, die auf geeignete Weise die Membranpermeabilität der Wirtszellenmembran beeinflussen, insbesondere erhöhen. Hierdurch kann ein verbesserter Transport von D2O und ggf. der weiteren pharmazeutischen oder der nicht-pharmazeutischen Wirkstoffe der Erfindung in die Wirtszelle erreicht werden. Ein Beispiel hierfür ist Melittin.

- Nukleinsäuren

Durch Zugabe von Nukleinsäuren kann parallel zur antiviralen bzw. virustatischen Wirkung des D2O eine Veränderung der Erbinformation der Zellen im Bereich des Wirkortes oder ein gezieltes Ausschalten („Gene Silencing“) bestimmter Gene, beispielsweise der DNA-Polymerase, von Zellen im Bereich des Wirkortes innerhalb des Hautgewebes und dadurch eine Modifikation des Proteoms erreicht werden. Das „Gene Silencing“ kann beispielsweise dazu führen, dass die in die DNA-Schadenabwehr involvierten Gene (zum Beispiel p53, BRCA1, BRCA2, ATM, CHK2) abgeschaltet werden und damit die durch D2O an der Vermehrung gehinderten Viren in den Zellen auch langfristig (nach Ende der topischen D2O-Verabreichung) nicht mehr in

ein latentes Stadium zurückkehren, sondern langfristig an der Expression viraler DNA gehindert werden. Methoden zum Durchführen eines „Gen Silencing“ sind dem Fachmann gut bekannt und beispielsweise in Mello C C , Conte D „Revealing the world of RNA interference“, in *Nature* **431**, 338-342 (16. September 2004) beschrieben. Bevorzugt handelt es sich bei den Nukleinsäuren um DNA, vorzugsweise Oligonukleotide, Sense- oder Antisense-DNA, natürliche oder synthetische, cDNA, genomische DNA, nackte DNA, einzel- oder doppelsträngige DNA, oder zirkuläre DNA, oder um RNA, vorzugsweise Antisense-RNA, RNAi, siRNA, oder andere zur Interferenz geeignete RNA-Moleküle, die in ihrer Länge nicht beschränkt sind.

Die Konzentration von erfindungsgemäß neben D2O als pharmazeutischem Wirkstoff verwendeten weiteren pharmazeutischen Wirkstoffen bezogen auf die Gesamtlösung einer erfindungsgemäßen Kombination, liegt im Bereich von mindestens 10^{-8} M bis mindestens $5 \cdot 10^{-2}$ M, bevorzugt von mindestens 10^{-7} M bis 10^{-3} M, am stärksten bevorzugt von mindestens 10^{-6} M bis mindestens 10^{-2} M. Ein insbesondere bevorzugter Konzentrationsbereich liegt im Bereich von mindestens 10^{-9} M bis mindestens 10^{-2} M.

Eine ebenfalls bevorzugte Ausführungsform der vorliegenden Erfindung betrifft die Verwendung von D2O zusammen mit mindestens einem weiteren nicht-pharmazeutischen Wirkstoff, wobei dieser ausgewählt ist aus der Gruppe, bestehend aus pharmazeutisch verträglichen anorganischen oder organischen Säuren oder Basen, Polymeren, Copolymeren, Block-Copolymeren, Einfachzucker, Mehrfachzucker, ionische und nicht-ionische Tenside oder Lipiden sowie Mischungen hiervon, Albumin, Transferrin und DNA-Reparatur-Proteinen, wie Kinase-Inhibitoren.

Der Begriff „nicht-pharmazeutischer Wirkstoff“ bezeichnet im Sinne der Erfindung jede(s) pharmakologisch verträgliche und therapeutisch sinnvolle Molekül, Substanz

oder Verbindung, das/die kein pharmazeutischer Wirkstoff ist, jedoch vorzugsweise zusammen mit mindestens einem erfindungsgemäßen pharmazeutischen Wirkstoff an einen zu behandelnden Organismus verabreicht wird, beispielsweise in einer erfindungsgemäßen Formulierung formuliert, um qualitative Eigenschaften des/der pharmazeutischen Wirkstoffs/Wirkstoffe zu beeinflussen, insbesondere zu verbessern. Bevorzugt entfalten die nicht-pharmazeutischen Wirkstoffe keine oder im Hinblick auf die beabsichtigte Prophylaxe oder Therapie von Virus-basierten Erkrankungen der Haut keine nennenswerte oder zumindest keine unerwünschte pharmakologische Wirkung. Geeignete nicht-pharmazeutische Wirkstoffe sind beispielsweise pharmakologisch unbedenkliche Salze, beispielsweise Natriumchlorid, Geschmackstoffe, Vitamine, z.B. Vitamin A oder Vitamin E, Tocopherole oder ähnliche im menschlichen Organismus vorkommende Vitamine oder Provitamine, Antioxidantien, wie beispielsweise Ascorbinsäure, sowie Stabilisatoren und/oder Konservierungsstoffe zum Verlängern der Verwendungs- und Aufbewahrungsdauer eines pharmazeutischen Wirkstoffes oder einer erfindungsgemäßen Formulierung und sonstige dem Fachmann bekannte, übliche nicht-pharmazeutische Wirkstoffe bzw. Hilfs- und Zusatzstoffe. Weitere erfindungsgemäß bevorzugte nicht-pharmazeutische Wirkstoffe sind insbesondere alle zur Bildung wässriger Gele befähigten Stoffe, wie z.B. natürliche oder synthetische wasserlösliche Polymere, die Netzwerke ausbilden können.

Nachfolgend werden erfindungsgemäß bevorzugte weitere nicht-pharmazeutische Wirkstoffe einer erfindungsgemäßen Kombination und deren Wirkung sowie geeignete Konzentrationen aufgeführt, wobei diese Aufzählung nur beispielhaft ist und die vorliegende Erfindung nicht hierauf beschränkt ist:

- Wasserlösliche Hilfs- und Zusatzstoffe

Durch Zugabe von wasserlöslichen Hilfs- und Zusatzstoffen, wie z.B. pharmazeutisch verträglichen anorganischen oder organischen Säuren, Basen, Salzen und/oder Puffersubstanzen zur Einstellung des pH Wertes, kann die physiologische Verträglichkeit des D2O auf und in der Haut für nicht Virus-infizierte Zellen verbessert werden.

Beispiele für bevorzugte anorganische Säuren sind ausgewählt aus der Gruppe, bestehend aus Salzsäure, Bromwasserstoffsäure, Salpetersäure, Schwefelsäure und Phosphorsäure, wobei insbesondere Salzsäure und Schwefelsäure bevorzugt sind. Beispiele für besonders geeignete organische Säuren sind ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Äpfelsäure, Weinsäure, Maleinsäure, Bernsteinsäure, Essigsäure, Ameisensäure und Propionsäure und insbesondere bevorzugt Ascorbinsäure, Fumarsäure und Zitronensäure. Gegebenenfalls können auch Mischungen der genannten Säuren eingesetzt werden, insbesondere von Säuren, die neben ihren Säuerungseigenschaften auch andere Eigenschaften, z.B. in Verwendung als Antioxidantien, besitzen, wie beispielsweise Zitronensäure oder Ascorbinsäure. Beispiele für pharmazeutisch verträgliche Basen sind Alkalihydroxide, Alkalicarbonate und Alkali-Ionen, bevorzugt Natrium. Mischungen dieser Substanzen können insbesondere zur Einstellung und Pufferung des pH Wertes benutzt werden, besonders bevorzugt sind hierbei Kaliumhydrogenphosphat und Di-Kaliumhydrogenphosphat sowie Natriumhydrogenphosphat und Di-Natriumhydrogenphosphat. Bevorzugte Puffersubstanzen im Sinne der Erfindung sind weiterhin PBS, HEPES, TRIS, MOPS sowie weitere physiologisch verträgliche Substanzen mit einem pK Wert im Bereich 5,0 bis 9,0. Die Konzentration dieser Substanzen, bezogen auf die Gesamtlösung einer erfindungsgemäßen Kombination, liegt vorzugsweise im Bereich von Mikromolar bis Millimolar, besonders bevorzugt im Bereich 1- 100 mM.

- Wasserlösliche, polymere Moleküle

Durch Zugabe von wasserlöslichen, nicht-cytotoxischen Molekülen, wie z.B. bestimmten Polymeren (z.B., aber nicht hierauf beschränkt, Dextran, Polyethylenglykol, Agarose, Zellulose, Acrylsäure, Hylaronsäure), Copolymeren und Block-Copolymeren kann durch deren

hohe Wasserbindungskapazität eine zusätzliche Verzögerung (Retardierung) des Übergangs des D₂O aus topischen Applikationsformen in die Haut, wie auch von der Haut ins System, erreicht werden. Durch die Fähigkeit der Polymere, das chemische Potential (Wasserpotential) von D₂O zu erniedrigen, kann darüber hinaus die Stärke und Richtung des osmotischen Gradienten über die Haut verändert bzw. verbessert und optimiert werden. Die Konzentration dieser Substanzen, bezogen auf die Gesamtlösung, liegt im Bereich von Mikromolar bis Molar, bevorzugt im Bereich 1- 500 mM.

- Wasserlösliche, nicht-polymere Moleküle

Durch Zusatz von wasserlöslichen, nicht-polymeren Molekülen, welche die Dichte und/oder Viskosität von D₂O verändern, beispielsweise, aber nicht hierauf beschränkt, Einfachzucker und Mehrfachzucker, insbesondere Glucose, Sacharose, Dextrose, Maltose, Stärke und Cellulose, können die osmotischen Verhältnisse im Bereich der topischen D₂O Applikation sowie der D₂O-Transport und die D₂O-Retention in der Haut verändert bzw. optimiert werden. Die Konzentration dieser Substanzen, bezogen auf die Gesamtlösung einer erfindungsgemäßen Kombination, liegt vorzugsweise im Bereich von Millimolar bis Molar, besonders bevorzugt im Bereich 1,0 mM bis 1,5 M.

- D₂O-Grenzflächenspannungs-verändernde Moleküle

Durch Zugabe von Substanzen, welche die Grenzflächenspannung von D₂O verändern, beispielsweise, aber nicht hierauf beschränkt, ionische und nicht-ionische Tensiden oder Lipiden, insbesondere einer Mischung aus Tensiden und Lipiden, kann der Transport des D₂O von der topischen Applikation in die Haut sowie innerhalb der Haut verändert werden. Die Konzentration dieser Substanzen, bezogen auf die Gesamtlösung einer erfindungsgemäßen Kombination, liegt

vorzugsweise im Bereich von Mikomolar bis Millimolar, besonders bevorzugt im Bereich 0,5 - 500 mM.

- Wasserlösliche nicht-cytotoxische Moleküle

Durch Zugabe von wasserlöslichen Molekülen, welche dafür bekannt sind, dass sie durch metabolisch besonders aktive Zellen, wie z. B. Virus-infizierten Zellen, in besonderem Maße aufgenommen werden, beispielsweise Albumin oder Transferrin, kann eine zusätzliche Erhöhung der D₂O-Transportrate der von einer D₂O-Hydrathülle umgebenen Molekülen in die Targetzellen der Haut erreicht werden.

Die Konzentration bzw. Dosierung von D₂O und ggf. des mindestens einen weiteren pharmazeutischen und/oder nicht-pharmazeutischen Wirkstoffs unterliegt verschiedenen Faktoren, beispielsweise der Art der Behandlung, Art der Erkrankung, Erkrankungszustand des Patienten (Säugetier), Art des Wirkstoffs usw.. Dem Fachmann sind solche Parameter bekannt und die Bestimmung der speziellen Dosierungen unterliegt dem Fachwissen des Fachmanns. Geeignete Konzentrationsangaben werden hierin offenbart. Einige beispielhafte Angaben zu geeigneten Konzentrationsbereichen sind bereits oben aufgeführt, wobei diese lediglich Richtwerte darstellen sollen.

Das erfindungsgemäß verwendbare D₂O liegt bevorzugt als Flüssigkeit vor. Vorzugsweise liegt das D₂O in einer Lösung, bevorzugt mit H₂O (Wasser) als Lösungsmittel, vor und wird hierin auch als „Mischung aus D₂O und H₂O“ oder „D₂O/H₂O“, wenn H₂O enthalten ist, bezeichnet, bzw. als „D₂O-Lösung“ oder „reines D₂O“, wenn kein H₂O enthalten ist, bezeichnet. Reines D₂O enthält D₂O vorzugsweise in einem Konzentrationsbereich von 98,1 bis 100%, bevorzugt von 98,5 bis 99,9%, besonders bevorzugt von 99,7% bezogen auf den Gesamtwassergehalt der Lösung. Eine erfindungsgemäße Mischung aus D₂O und H₂O enthält D₂O vorzugsweise in einem Konzentrationsbereich von 1 bis 98%, bevorzugt von 5 bis 95%, weiterhin bevorzugt von 10 bis 90%, ebenfalls bevorzugt

von 15 bis 80%, stärker bevorzugt von 20 bis 70%, ebenfalls stärker bevorzugt von 30 bis 60%, am stärksten bevorzugt von 40 bis 50%, wobei sich diese Angaben auf den Gesamtwassergehalt der Mischung aus D₂O und H₂O beziehen. Die Herstellung einer erfindungsgemäßen D₂O-Lösung und analog hierzu einer erfindungsgemäßen Kombination erfolgt beispielsweise durch Mischen der Komponenten, insbesondere von D₂O und ggf. H₂O sowie ggf. des mindestens einen weiteren pharmazeutischen und/oder nicht-pharmazeutischen Wirkstoffs. Weiterhin kann ggf. ein Lösungsmittel, wie nachfolgend beschrieben, durch Mischen hinzugefügt werden. Vorzugsweise erfolgt die Beimischung von H₂O bzw. des mindestens einen weiteren pharmazeutischen und/oder nicht-pharmazeutischen Wirkstoffs bzw. des Lösungsmittels zu D₂O im flüssigen Aggregatzustand. Die Herstellung kann jedoch durch jedes beliebige geeignete Verfahren erreicht werden. Im Fall, dass D₂O allein (d.h. nicht in Kombination mit weiteren pharmazeutischen und/oder nicht-pharmazeutischen Wirkstoffen) und bei einer Konzentration von 100% bzw. ca. 99.9% bezogen auf das Gesamtvolumen der Lösung (d.h. reines D₂O) verwendet wird, stellt reines D₂O die erfindungsgemäße D₂O-Lösung dar.

Sämtliche in dieser Beschreibung offenbarten erfindungsgemäßen Verwendungen und (topischen) Applikationen von D₂O sind ebenfalls auf eine erfindungsgemäße Mischung aus D₂O und H₂O uneingeschränkt anwendbar, sofern nichts Gegenteiliges angezeigt ist. Ebenfalls finden Verwendungen einer erfindungsgemäßen Mischung aus D₂O und H₂O in Bezug auf die erfindungsgemäßen Kombinationen, Schichtsysteme, Pflaster und Bandage, Formulierungen und Aerosole (siehe unten) uneingeschränkt Anwendung sofern nichts Gegenteiliges angezeigt ist.

Die erfindungsgemäße Verwendung von D₂O kann, wie nachfolgend näher beschrieben, ebenfalls als Aerosol, Dampf oder Formulierung, insbesondere als Creme, Salbe oder Gel, insbesondere Hydrogel erfolgen. Auf die in diesem Zusammenhang zu verwendenden Konzentrationen von D₂O wird ebenfalls nachfolgend eingegangen.

In einer bevorzugten Ausführungsform ist der mindestens eine weitere pharmazeutische Wirkstoff bzw. weitere nicht-pharmazeutische Wirkstoff an D₂O gebunden. „Gebunden“ im Sinn der vorliegenden Erfindung bedeutet, dass der pharmazeutische bzw. nicht-pharmazeutische Wirkstoff von dem D₂O hydratisiert wird.

In weiteren bevorzugten Ausführungsformen ist das D₂O bzw. die erfindungsgemäße Kombination in einem geeigneten Lösungsmittel enthalten. Ein erfindungsgemäßes Lösungsmittel kann ein anorganisches oder organisches Lösungsmittel sein. Geeignete Lösungsmittel der vorliegenden Erfindung sollten vorzugsweise von dem Organismus (insbesondere Säugetier), dem der Wirkstoff mit Lösungsmittel verabreicht wird, physiologisch gut verträglich sein, d.h. keine Nebenwirkungen, z.B. toxische Nebenwirkungen, auslösen. Ein insbesondere bevorzugtes Lösungsmittel ist destilliertes Wasser. Ebenfalls bevorzugt sind Ethanol-Wasser-Mischungen; hierbei liegt der prozentuale Massenanteil von Ethanol in diesen Mischungen bevorzugt im Bereich zwischen 5 % und 99 % Ethanol, ebenfalls bevorzugt im Bereich von 10 % bis 96 % Ethanol, stärker bevorzugt zwischen 50 % und 92 %, am stärksten bevorzugt zwischen 69 % und 91 % Ethanol.

D₂O oder eine erfindungsgemäße Kombination können „vorformuliert“ vorliegen, beispielsweise verpackt in geeigneten Mitteln zum Transport von pharmazeutischen Wirkstoffen, sog. „drug delivery“-Systemen, beispielsweise in Nanopartikeln, Vektoren, bevorzugt Gentransfer-Vektoren, viralen oder nicht viralen Vektoren, Poly- oder Lipoplex-Vektoren, Liposomen oder Hohlkolloide (d.h. Hohlkugeln kolloider Dimension). Weiterhin zum Transport geeignet sind nackte Nukleinsäuren, insbesondere nackte DNA. Geeigneten Vektoren, Liposomen, Hohlkolloide oder Nanopartikel sowie Verfahren zum Einbringen von Substanzen, in solche Vektoren, Liposomen, Hohlkolloide oder Nanopartikel sind allgemein im Stand der Technik gut bekannt und beispielsweise in Cryan S-A., Carrier-based strategies for Targeting Protein and Peptide Drugs to the Lungs, AAPS Journal, 2005, 07(01):E20-E41 und Sambrook et al. Molecular Cloning A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory (1989) NY beschrieben. Als Gentransfer-Vektoren können vorzugsweise

polyethylenimine oder kationische Lipide, wie z.B. DOTAP, verwendet werden. Liposomen sind bevorzugt für die Verpackung von Cytostatika verwendbar; eine detaillierte Beschreibung erfolgt beispielsweise in Koshkina NV et al., Koshkina, N.V., et al., Paclitacel liposome aerosol treatment induces inhibition of pulmonary metastases in murine renal carcinoma model., Clinical Cancer Research, 2001, 7, 3258-3262. Proteine als pharmazeutische Wirkstoffe können vorzugsweise mittels superkritischer Flüssigkeiten, Emulsionsverfahren und Sprühtrocknung in biokompatible Poly-Milch/Glykolsäure-Polymere (PLGA) verpackt werden.

Die topische Verabreichung von D2O kann ebenfalls über ein Pflaster oder eine Bandage erfolgen. Eine weitere bevorzugte Ausführungsform betrifft demnach die erfindungsgemäße Verwendung von D2O, wobei D2O mit einem bzw. über ein Pflaster oder eine Bandage topisch appliziert wird.

Als „Pflaster“ oder „Bandagen“ im Sinne der Erfindung, sind alle auf der Haut durch mechanische oder chemische Wechselwirkung, Physisorption, Adhäsion oder andere physikalisch-chemische Prozesse fixierbare Vorrichtungen zu verstehen, welche dazu geeignet sind, einen ausgewählten Hautbereich okklusiv oder nicht-okklusiv über einen für die beabsichtigte Behandlung angemessen langen Zeitraum abzudecken und die Zuführung von D2O an die Haut zu ermöglichen und/oder unterstützen. Erfindungsgemäß anwendbare Pflaster und Bandagen als Applikationssysteme zur lokalen Freisetzung von Wirkstoffen auf der Haut (z.B. Wärmepflaster) sowie zur kontrollierten systemischen Freisetzung von Wirkstoffen (z.B. Opiat-Depotpflaster, Nitroglycerin-Depotpflaster) sind im Stand der Technik bekannt. Als „Depot-Pflaster“ oder „Depot-Bandage“ soll zusätzlich zu den oben beschriebenen Eigenschaften die Fähigkeit des Pflasters oder der Bandage zur Speicherung von D2O und dessen kontrollierte Abgabe an die Haut über einen Zeitraum von Tagen oder Wochen verstanden werden. Solche Depot-Pflaster bzw. Depot-Bandagen sind nachfolgend von den Begriffen Pflaster bzw. Bandage umfasst.

Insgesamt ist für jede kontrollierte Freisetzung von D2O an die Haut folgendes Problem zu beachten: die Freisetzung aus einer direkt auf die Haut aufgetragenen Flüssigkeit oder Formulierung als Salben, Creme oder Gel kann durch die Richtung des osmotischen Gradienten innerhalb der Haut von innen nach außen erschwert werden, da das D2O in der Flüssigkeit, Salbe, Creme oder in dem Gel unter Umständen ein niedrigeres Wasserpotential aufweist als das H2O in der Haut und in den darunter liegenden Gefäßen.

Eine besonders bevorzugte Ausführungsform der topischen Applikation von D2O ist es daher, durch gezielte Manipulation der osmotischen Verhältnisse im zu behandelnden Hautgebiet die Tiefe bzw. den Grad des Eindringens von D2O in die Haut zu regulieren und damit zu kontrollieren, und zwar vorzugsweise bis zu der Tiefe, in der die hyperproliferierenden Zellen liegen, bevorzugt bis zur Epidermis oder bis zur Dermis. Dies kann durch die gewählte Zusammensetzung einer applizierten erfindungsgemäßen Kombination erreicht werden, indem Substanzen zugefügt werden, welche in der Lage sind, die osmotischen Verhältnisse an der Oberfläche der Haut zu verändern. Beispiele für solche Substanzen sind weiter oben aufgeführt.

Eine weitere Möglichkeit zum kontrollierten Eindringen von D2O in die Haut besteht in der Verwendung von einer oder mehreren Membran(en) oder Folie(n), welche die Passage von Wasser und Gasen ermöglicht / ermöglichen, von größeren Molekülen oder Partikeln (einschl. Bakterien, Viren, Einzeller) jedoch verhindert / verhindern. Beispiele für solche erfindungsgemäß verwendbaren Membranen und Folien sind im Stand der Technik bekannt und haben zahlreiche Anwendungen, wie z.B. in Textilien unter dem Markennamen GORE Tex® oder in der Medizin sogenannte Biofilme oder atmungsaktive Pflaster wie z.B. Tegaderm®.

Eine ganz besonders bevorzugte Ausführungsform der Erfindung besteht deshalb in der erfindungsgemäßen Verwendung von D2O, wobei das D2O topisch mit einem Pflaster oder einer Bandage appliziert wird, wobei das Pflaster oder die Bandage in Kombination mit mindestens einer Membran oder mindestens einer Folie verwendet

wird. Vorzugsweise ist die mindestens eine Membran bzw. die mindestens eine Folie eine mikro- oder nanoporöse Membran bzw. Folie.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform erfolgt die erfindungsgemäße topische Verwendung von D₂O über eine spezielle Anordnung. Diese Anordnung besteht aus folgenden Komponenten:

- einer vorstehend beschriebenen mikro- oder nanoporösen Membran oder Folie, welche direkt auf die Haut aufgebracht wird,
- gefolgt von einer D₂O-Schicht, welche das D₂O enthält,
- ggf. gefolgt von einer sog. Okklusionsschicht welche eine Verdampfung des D₂O nach außen verhindert oder reguliert und gleichzeitig einen mechanischen Schutz darstellt, welcher das Entweichen von D₂O als Flüssigkeit verhindert und
- gefolgt von einem Pflaster oder einer Bandage.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform erfolgt die erfindungsgemäße topische Verwendung von D₂O über eine weitere spezielle Anordnung. Diese Anordnung besteht aus folgenden Komponenten:

- einer vorstehend beschriebenen mikro- oder nanoporösen Membran oder Folie, welche direkt auf die Haut aufgebracht wird,
- gefolgt von einer D₂O-Schicht, welche das D₂O enthält,
- ggf. gefolgt von einer sog. Okklusionsschicht welche eine Verdampfung des D₂O nach außen verhindert oder reguliert und gleichzeitig einen mechanischen Schutz darstellt, welcher das Entweichen von D₂O als Flüssigkeit verhindert und
- gefolgt von einer weiteren vorstehend beschriebenen mikro- oder nanoporösen Membran oder Folie.

Bei Bedarf können selbstverständlich weitere D₂O-Schichten hinzugefügt werden, die weiteres D₂O enthalten, und die von Membranen bzw. Folien separiert werden,

wodurch die Depotwirkung oder der Übergang des D2O in die Haut verändert werden kann, beispielsweise die Freisetzungsmenge und/oder –dauer von D2O. Der verwendete Begriff „D2O-Schicht“ bezieht sich auf flüssiges reines D2O, auf eine Mischung aus D2O und H2O sowie auf eine Formulierung von D2O, insbesondere als Creme, Salbe, Gel oder Hydrogel.

Ebenfalls können vorzugsweise auch Schichten hinzugefügt werden, die chemische, elektrische oder thermische Eigenschaften aufweisen, welche geeignet sind, den Übergang des D2O in die Haut und/oder die Dauer seiner Freisetzung zu manipulieren. Beispiele hierfür sind Schichten, die geeignet sind, ein elektrisches, thermo-elektrisches, thermisches oder chemisches Potential (oder eine Kombination davon) über die darunter liegenden Schichten und die Haut aufzubauen und/oder aufrechtzuerhalten. Dies kann beispielsweise durch in die beschriebenen Membranen oder Folien eingebettete oder auf ihnen befindliche Elektroden erreicht werden, welche von außen mit Strom (Gleichspannung, Wechselspannung oder hochfrequente Ströme) versorgt werden oder die durch die gezielte Wahl des Elektrodenmaterials mit der D2O Schicht als Elektrolyt elektrochemische Potentiale erzeugen.

Die Gesamtheit solcher vorbeschriebenen D2O-Schichten, Okkulsionsschichten, Schichten mit chemischen, elektrischen oder thermischen Eigenschaften, Membranen und Folien in jeder beliebigen, für den Verwendungszweck geeigneten Anzahl, Kombination und Anordnung, wird nachfolgend als „Schichtsystem“ bezeichnet. Ein solches Schichtsystem wird vorzugsweise in Verbindung mit einem/einer vorstehend beschriebenen (Depot-) Pflaster oder (Depot-) Bandage verwendet werden.

Durch Variation von Morphologie (Porengröße, Membran- bzw. Foliendicke, Oberflächenrauheit und Oberflächenprofil) und Oberflächeneigenschaften (z.B. hydrophil oder hydrophob, chemischen Beschichtungen -kovalent gebunden oder adhäsiv gebunden-, funktionellen Gruppen, Bindung oder Einlagerung anorganischer oder organischer Substanzen) der direkt im Kontakt mit der Haut befindlichen

Membran oder Folie kann der Übergang des D₂O aus einem beschriebenen Pflaster, Bandage oder Schichtsystem in die Haut gezielt beeinflusst bzw. verändert werden.

Eine weitere Variation des Eintritts von D₂O in die Haut ist durch die gezielte Verwendung von Klebstoffen möglich, welche zur mechanischen Befestigung des (Depot-) Pflasters oder der (Depot-) Bandage auf der Haut verwendet werden können, aber nicht zwingend notwendig sind. Die allgemein für topische Anwendungen von Pflastern und Bandagen verwendeten Klebstoffe weisen eher hydrophoben Charakter auf, welcher den Durchtritt von D₂O durch die Klebstoffschicht verhindert kann. Durch Zumischen von Zusatzstoffen in die Klebstoffzubereitung kann eine Veränderung dieser Eigenschaften erreicht werden. Als solche „Zusatzstoffe“ kommen organische und/oder anorganische Substanzen und Verbindungen in Betracht, welche in der Lage sind, die Permeationseigenschaften von D₂O durch die Klebstoffschicht zu verändern. Beispiele für solche Substanzen sind u.a. Polymere, Co-Polymere, Blockpolymere, Block-Co-Polymere, Tenside, Peptide, Proteine, Nukleinsäuren, Sterole und Steroide.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform erfolgt die erfindungsgemäße Verwendung von D₂O, vorzugsweise mit einem Pflaster oder einer Bandage, topisch auf die Haut über eine Anordnung, die den Übergang von D₂O in die Haut weitgehend oder ausschließlich über die Dampfphase ermöglicht. D.h. erfindungsgemäß als Flüssigkeit verwendetes D₂O verdampft als molekulares D₂O und kommt als Dampf mit der Haut in Kontakt. Die Konzentrationen des D₂O entsprechen damit den oben beschriebenen Konzentrationen einer D₂O-enthaltenden Flüssigkeit. Dampfförmiges D₂O hat den Vorteil eines besonders leichten Eindringens in die Haut. Um dieses Verdampfen zu bewirken, ist thermische Energie erforderlich, die entweder von der Haut selbst oder von einer externen Wärmequelle, z.B. bei Verwendung eines beschriebenen Pflasters oder Bandage oder oben beschriebenen Schichtsystems hierin eingebrachten elektrischen Heizung (z.B. Peletier-Heizung), bezogen werden kann. Zusätzlich zu dieser thermischen Energie kann durch gezielte Modifikationen, beispielsweise der Wahl der

Morphologie (insbesondere Porengröße und Oberflächenbeschichtung), einer ersten, auf der Haut befindlichen oben beschriebenen Membran oder Folie des Schichtsystems erreicht werden, dass nur dampfförmiges D₂O durch die Membran oder Folie bis zur Haut vordringen kann, flüssiges D₂O hingegen zurückgehalten wird. Auch bei dieser Ausführungsform lassen sich durch die oben beschriebenen Veränderungen des Schichtsystems und entsprechenden Modifikationen an ggf. weiteren verwendeten Membranen oder Folien, die Menge und die Dauer der Freisetzung von D₂O über die Dampfphase kontrolliert und/oder verändert werden.

Eine weitere bevorzugte Ausführungsform der Erfindung betrifft die Verwendung von D₂O, wobei das D₂O als Aerosol topisch appliziert wird.

Unter einem „Aerosol“ versteht man feste oder flüssige schwebende Partikel mit einem Durchmesser von ca. 0,0001 µm bis ca. 100 µm, in Gasen insbesondere Luft, wobei Zusammensetzung und Form der Aerosole sehr stark variieren kann. Die kleinsten pharmazeutisch wirksamen Partikel in Aerosolen sind beispielsweise Nukleinsäuren, Peptide oder Proteine, die größten Partikel beispielsweise Nebelpartikel. Häufig bestehen Aerosole aus Gemischen von Partikeln unterschiedlicher Partikelgrößen und verkörpern dadurch eine polydisperse Größenverteilung. Aerosole lassen sich künstlich durch im Stand der Technik gut bekannte Dispersions- und Kondensationsverfahren herstellen. Sie können ohne Treibgas verwendet werden oder in Verbindung mit einem verflüssigten Druckgas als Treibgas, beispielsweise in Sprühdosen, verwendet werden.

Die erfindungsgemäße Verwendung von D₂O als Aerosol erfolgt bevorzugt über einen Vernebler. Als „Vernebler“ für die vorliegende Erfindung ist jeder beliebige für medizinische Aerosole geeignete Apparat zu verstehen, mit dem Aerosolpartikel im Größenbereich 50 nm bis 50 µm produziert werden können. Der Vernebler versprüht ein definiertes Volumen des D₂O, meist unter Anwendung hoher Drücke durch kleine Düsen, um so ein auf der Haut applizierbares, Aerosol zu erzeugen.

Geeignete Vernebler für umfassen auch Treibgas-getriebene Inhalationsgeräte bzw. Vernebler. Treibgase können hierbei beispielsweise FCKW oder HFKW sein. Diesbezüglich wird auf „Theorie und Praxis der Inhalationstherapie“, Seiten 31 bis 70 Arcis Verlag (2000) verwiesen, wo eine ausführliche Beschreibung verwendbarer Vernebler sowie Verfahren zu deren Anwendung offenbart ist/sind.

Beispiele für erfindungsgemäß geeignete Vernebler sind pressluftgetriebene Düsenvernebler (z.B. PARI LC plus, PARI GmbH, Starnberg, Deutschland), Venturi-Düsenvernebler, Wasserdampfgetriebene Düsenvernebler oder Ultraschallvernebler (z.B. AeronebLab, Aerogen, Inc., Stierlin Court, Canada; eFLOW, PARI GmbH, Starnberg, Deutschland). Ebenfalls geeignet sind Vernebler mit einer Größe, die von dem Patienten (Mensch) mitgeführt werden können, z.B. der Respimat®, wie in WO 97/12687, beschrieben. Sämtliche hierin zitierten Referenzen sind vollumfänglich in die vorliegende Erfindung einbezogen.

Die Herstellung eines erfindungsgemäß verwendbaren Aerosols kann anhand geeigneter bekannter Standardtechniken zur Aerosolherstellung erfolgen.

Die für die erfindungsgemäße Verwendung von D₂O als Aerosol zu verwendenden D₂O-Konzentrationen ist von verschiedenen Faktoren abhängig, beispielsweise dem Verwendungszweck, Erkrankungszustand und unterliegen dem Fachwissen des Fachmanns. Ein erfindungsgemäß verwendbares Aerosol enthält D₂O vorzugsweise in einem Konzentrationsbereich von 1 bis 98 Gew.-%, bevorzugt von 10 bis 90 Gew.-%, ebenfalls bevorzugt von 15 bis 80 Gew.-%, stärker bevorzugt von 20 bis 70 Gew.-%, ebenfalls stärker bevorzugt von 30 bis 60 Gew.-%, am stärksten bevorzugt von 40 bis 50 Gew.-%.

Die Verabreichung für die erfindungsgemäße Verwendung von D₂O als Aerosol erfolgt vorzugsweise unmittelbar auf die Haut im zu behandelnden Gebiet. Dies kann z.B. durch eine auf der Haut aufsetzbare und zu dieser hin geöffneten Kammer erfolgen, durch welche das Aerosol geleitet wird.

Eine weitere bevorzugte Ausführungsform betrifft die erfindungsgemäße Verwendung von D₂O, wobei D₂O als Formulierung topisch appliziert wird. Vorzugsweise ist eine solche Formulierung eine Salbe, Creme oder Gel, insbesondere Hydrogel.

Unter einer „Salbe“ gemäß der vorliegenden Erfindung ist eine äußerlich zu verwendende Arzneimittelzubereitung aus einer Grundmasse schmierfähiger Stoffe, wie Vaseline, zu der die eigentlichen pharmazeutischen und/oder nicht pharmazeutische Wirkstoffe zugegeben werden, beispielsweise durch Mischen.

Unter einer „Creme“ im Sinne der vorliegenden Erfindung ist eine erfindungsgemäße Salbe zu verstehen, die zusätzlich weitere Bestandteile enthalten kann, wie kosmetische Wirkstoffe, z.B. Duftstoffe, Farbstoffe und/oder Emulgatoren, z.B. Lecithin. Von einer Creme wird im allgemeinen eine Lotion unterschieden, wobei diese Unterscheidung meistens abhängig von dem Grad der Viskosität gemacht wird. Erfindungsgemäß ist unter einer Creme auch eine Lotion zu verstehen.

Ein „Gel“ im Sinne der vorliegenden Erfindung ist die Lösung einer makromolekularen Substanz, z. B. Agarose, Acrylsäure, Alginsäure, Polysiloxane oder Acrylamid, deren Konzentration so hoch ist, dass sich die gelösten Makromoleküle unter geeigneten Bedingungen und ggf. unter Zugabe weiterer Substanzen (z. b. Salze, Säuren, Füllstoffe, Puffersubstanzen) zu einem schwammartigen, dreidimensionalen Gerüst verbinden, in dessen Hohlräumen sich eine Flüssigkeit befindet. Dadurch haben Gele eine relativ feste Konsistenz. Die Viskosität liegt zwischen flüssig und fest. Eine solche Flüssigkeit ist bevorzugt reines D₂O oder eine Mischung aus D₂O und H₂O.

Als „Hydrogel“ im Sinne der Erfindung wird ein Gel bezeichnet, welches durch besonders hohe Aufnahmekapazität von Wasser gekennzeichnet ist, im Sinne der Erfindung besteht es bevorzugt zu 20-99%, stärker bevorzugt zu 70-99%, und besonders bevorzugt zu 80-99%, aus Wasser, ohne jedoch die rheologischen Eigenschaften einer klassischen Flüssigkeit zu zeigen. In einer besonders

bevorzugten Ausführungsform ist das Hydrogel transparent-durchsichtig und gleichzeitig streichfähig, ohne dass seine Morphologie und Integrität durch das Verstreichen des Gels beeinträchtigt wird.

Die Herstellung einer erfindungsgemäß verwendbaren Formulierung, insbesondere einer Salbe, Creme oder einem Gel, ist exemplarisch in den Beispielen beschrieben. Sofern eine solche Formulierung weitere pharmazeutische und/oder nicht-pharmazeutische Wirkstoffe enthalten, werden diese vorzugsweise durch Mischen der Formulierung hinzugefügt. Sie kann jedoch nach jedem beliebigen im Stand der Technik bekannten Standardverfahren erfolgen. Dem Fachmann sind solche Verfahren und ebenfalls die zu wählenden Konzentrationen der zu verwendenden Komponenten bzw. Substanzen bekannt.

Die Konzentrationen von D2O in einer erfindungsgemäß verwendbaren Formulierung liegen vorzugsweise in folgenden Bereichen:

- für eine Creme oder Salbe bevorzugt im Bereich von 0,1 bis 98 Gew.-%, bevorzugt von 5 bis 85 Gew.-%, ebenfalls bevorzugt von 10 bis 80 Gew.-%, besonders bevorzugt von 15 bis 70 Gew.-%, stärker bevorzugt von 20 bis 60 Gew.-% und am stärksten bevorzugt von 25 bis 50 Gew.-% und
- für ein Gel bevorzugt 0,1 bis 99,8 Gew.-%, bevorzugt von 10 bis 99 Gew.-%, ebenfalls bevorzugt von 15 bis 80 Gew.-%, besonders bevorzugt von 20 bis 70 Gew.-%, stärker bevorzugt von 30 bis 70 Gew.-% und am stärksten bevorzugt von 35 bis 65 Gew.-%.

Der Fachmann wird insbesondere abhängig von der vorliegenden Indikation, dem Zustand des zu behandelnden Organismus (Patienten), der Schwere der Erkrankung usw. die geeignete Konzentration wählen.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform enthält eine erfindungsgemäß verwendbare Formulierung weiterhin mindestens ein anorganisches oder

organisches Lösungsmittel. Bevorzugt ist das Lösungsmittel ausgewählt ist aus der Gruppe, bestehend aus Ethanol, Wasser und Glycerol sowie Mischungen davon.

Sämtliche in dieser Beschreibung offenbarten erfindungsgemäßen Verwendungen und Verabreichungen von D₂O, beispielsweise mit Pflastern und Bandagen, Schichtsystemen, finden ebenfalls auf die erfindungsgemäß verwendbaren Formulierungen uneingeschränkt Anwendung, sofern nichts Gegenteiliges angezeigt ist.

Die vorliegende Erfindung wird nachfolgend anhand von Beispielen weiter erläutert, wobei diese die Gegenstände der Erfindung nicht beschränken.

Die vorliegende Erfindung wird ebenfalls anhand der Figuren 1 bis 3 illustriert, wobei diese die Gegenstände der Erfindung nicht beschränken.

Figur 1 ist eine Darstellung auftretender direkter neuer Läsionen bis 2 Tage nach Bestrahlung. Die Anzahl direkter neuer Läsionen im Zeitraum bis zu 2 Tagen nach UV-Bestrahlung für 4 Versuchsgruppen von je 8 Testpersonen, die beginnend nach der Bestrahlung wie folgt behandelt wurden: alle 2,5 Stunden (außer nachts) wurde der bestrahlte Lippenbereich bei jeweils 8 Testpersonen mit D2O-Carbopolsäuregel (hergestellt nach Beispiel 1 mit 100% D2O), mit H2O-Carbopolsäuregel (Placebo, hergestellt nach Beispiel 1 mit 100% H2O), mit Zovirax Creme (Aciclovir im Cremesponder von GlaxoSmithKline) oder mit einer nach Beispiel 7 hergestellten D2O-Creme bestrichen, in welche zusätzlich 20 Gew% Zovirax Creme homogen eingemischt war, bestrichen.

Figur 2 ist eine Darstellung auftretender neuer indirekter Läsionen. Die Anzahl neuer indirekter Läsionen im Zeitraum bis zu 15 Tagen nach der UV Bestrahlung für 4 Versuchsgruppen von je 8 Testpersonen, die beginnend nach der Bestrahlung wie folgt behandelt wurden (Beispiel 11): alle 2,5 Stunden (außer nachts) wurde der bestrahlte Lippenbereich bei jeweils 8 Testpersonen mit D2O Gel (Hergestellt nach Beispiel 1 mit 100% D2O), mit H2O Gel (Placebo, Hergestellt nach Beispiel 1 mit 100% H2O), mit Zovirax Creme (Aciclovir im Cremesponder von GlaxoSmithKline), oder mit einer nach Beispiel 7 hergestellten D2O Creme bestrichen, in welche zusätzlich 20 Gew% Zovirax Creme homogen eingemischt war, bestrichen.

Figur 3 ist eine Darstellung der maximalen Größe auftretender indirekter Läsionen. Die maximale Größe der in Figur 2 dargestellten indirekten Läsionen für die 4 Versuchsgruppen. Die dargestellten Werte für den Flächenbedarf der Läsionen sind die Mittelwerte aus den für die jeweilige Versuchsgruppe bestimmten maximalen Flächen der einzelnen indirekten Läsionen.

Beispiele

Beispiel 1: Herstellung von Hydrogelen auf Basis von Acrylsäure

Es wurde 2,0 Gew.-% Carbopol 980 (Hersteller: Noveon, Inc. , 9911 Brecksville Rd., Cleveland, OH 44141-3247, USA) in getrennten Ansätzen in reinem D₂O, in reinem H₂O oder in einer Mischung aus D₂O und H₂O durch Rühren gelöst und anschließend durch Pipettieren von 10 M NaOH Lösung auf einen pH Wert von 6,8 titriert. Anschließend wurden die durch die NaOH Zugabe infolge Quervernetzung der Polyacrylsäure über ihre Carboxylgruppen mit den alkalischen Hydroxyl-Gruppen entstandenen farblosen, transparenten und optisch klaren Acrylsäuregele (Carbopolgele) (D₂O-Carbopolgel, H₂O-Carbopolgel, D₂O/H₂O-Carbopolgel) bei Raumtemperatur bis zur weiteren Verwendung, für mindestens 24 Stunden, gelagert. Das in diesem und allen folgenden Beispielen verwendete D₂O der Firma Sigma-Aldrich (München) wies eine Isotopenreinheit von 99,0% auf.

Beispiel 2: Herstellung von Hydrogelen auf der Basis von Siloxanen (Silicon)

Es wurde 3,0 Gew.-% Hexamethyldisiloxane (Handelsname SILMOGEN CARRIER von DOW Corning) und 1 Gew.-% Ethanol in getrennten Ansätzen in reinem D₂O, in reinem H₂O oder in einer Mischung aus D₂O und H₂O durch Rühren gelöst. Diese Lösungen wurden anschließend sofort im Gewichtsverhältnis 1:2 (Siliconlösung:Carbopolgel) unter kräftigen Rühren mit dem nach Beispiel 1 hergestellten Gel (Carbopolgel) gemischt, bis optisch transparente Gele (Silicongele) (D₂O-Silicongel, H₂O-Silicongel, D₂O/H₂O-Silicongel) entstanden waren. Die Lagerung der Gele erfolgte bei Raumtemperatur bis zur weiteren Verwendung, für mindestens 24 Stunden.

Beispiel 3: Herstellung von Hydrogel auf der Basis von Alginaten

Es wurde 4,0 Gew-% Alginsäurenatriumsalz (Na-Alginat) (Hersteller: Röhm GmbH Darmstadt, Deutschland) in getrennten Ansätzen in reinem D₂O, in reinem H₂O oder in einer Mischung aus D₂O und H₂O durch Rühren dispergiert und anschließend durch Pipettieren von 10 M NaOH Lösung auf einen pH Wert von 7,0 titriert. Die entstandenen gelblich-braunen, transparenten Gele (Alginatgele) (D₂O-Alginatgel, H₂O-Alginatgel, D₂O/H₂O-Alginatgel) wurden bei Raumtemperatur bis zur weiteren Verwendung, für mindestens 24 Stunden, gelagert.

Beispiel 4: Herstellung von Hydrogel auf der Basis von PVA

Es wurde 20 Gew-% Polyvinylalkohol (PVA C-25, Shin-Etsu Chemical Co., Japan) in getrennten Ansätzen in reinem D₂O, in reinem H₂O oder in einer Mischung aus D₂O und H₂O durch Rühren gelöst. Anschließend wurden die Lösungen 5 Gefrier-Auftau-Zyklen („freeze-thaw-cycles“) unterworfen. Das Ergebnis waren Gele (PVA-Gele) (D₂O-PVA-Gel, H₂O-PVA-Gel, D₂O/H₂O-PVA-Gel) mit gummiartigen Eigenschaften, welches in 2 mm dünne Scheiben geschnitten wurde. Die Gele wurden bei Raumtemperatur bis zur weiteren Verwendung, für mindestens 24 Stunden, gelagert.

Beispiel 5: Herstellung von Hydrogel – Folien bzw. Platten auf der Basis von Agarose

Es wurde 3,0 Gew.-% Agarose in getrennten Ansätzen in reinem D₂O, in reinem H₂O oder in einer Mischung aus D₂O und H₂O gelöst und die Lösungen anschließend auf 90°C erhitzt. Das verwendete D₂O der Firma Sigma-Aldrich (München, Deutschland) wies eine Isotopenreinheit von 98,5% auf. Die heißen Lösungen wurde in geeignete Petrischalen auf 1,0 - 1,5 mm Höhe gegossen und abgekühlt. Die so erhaltenen Gele (Agarosegele) (D₂O–Agarosegele, H₂O-Agarosegele, D₂O/H₂O-Agarosegele) wurden unter sterilen Bedingungen bei 4 °C gelagert.

Beispiel 6: Herstellung von Hydrogel – Folien bzw. Platten auf der Basis von Acrylamid

Es wurden Acrylamidgele (5% Acrylamid) hergestellt, wobei in getrennten Ansätzen reines D₂O, reines H₂O oder eine Mischung aus D₂O und H₂O vor Zugabe des Acrylamids (mit 2,4% bis-Acrylamid) entgast und auf 40 °C erwärmt wurde. Nach Zugabe von Acrylamid und bis-Acrylamid wurden die Lösungen gemischt (Vortex Mischer, 1 min. bei 200 U/min) und anschließend die Katalysatoren Tetramethylethyldiamin (TEMES ; 1,0%) und Ammoniumpersulfat (AP ; 0,1%) zugegeben, gefolgt von 10 Sek. Mischen. Dann wurden die Gele in Petrischalen gegossen (Höhe des Gels 1,0-1,5 mm) und für 2 Stunden bei 40° C gelagert. Anschließend wurden die Gele (D₂O-Acrylamidgel, H₂O-Acrylamidgel, D₂O/H₂O-Acrylamidgel) gewaschen, wobei zum Waschen das analoge Wassergemisch wie zum Hydratisieren des Gels (reines D₂O, reines H₂O oder eine Mischung aus D₂O und H₂O) verwendet wurde. Die Gele wurden bei Raumtemperatur bis zur weiteren Verwendung, für mindestens 24 Stunden, gelagert.

Beispiel 7: Herstellung einer D₂O-haltigen Creme

Zu 50 Gramm Asche Basiscreme (Hersteller: Asche Chiesi GmbH, Hamburg, Deutschland) wurde bei 40 °C unter ständigen Rühren langsam D₂O hinzugegeben, bis ein Gewichtsanteil vom 38% D₂O (bezogen auf das Ausgangsgewicht der Creme) in der homogenen Mischung erreicht war. Die Creme wurde anschließend auf Raumtemperatur abgekühlt und luftdicht verschlossen gelagert.

Beispiel 8: Herstellung eines D₂O-haltigen Aerosols

Für die Erzeugung von Aerosolen wurden ausschließlich Geräte verwendet, die Stand der Technik sind. Verwendet wurde ein Pari LC Plus Universal Vernebler (PARI GmbH, 82319 Starnberg, Deutschland) in Kombination mit einem Pari Universal Kompressor der 200 mg/min polydisperses Aerosol mit einer mittleren Partikelgröße (medianer Massendurchmesser) von 2,5 µm für reines H₂O und D₂O

und von 2.5 - 4,5 µm für H₂O bzw. D₂O erzeugte (Betriebsdruck 2,0 bar, Durchflussmenge der Kompressorluft war 6,0 l/min.) Die Partikelgrößenmessung erfolgte mittels dynamischer Lichtstreuung in einer Durchfluß-Küvette Die Aerosolerzeugung erfolgte bei einer Temperatur von 37 °C durch entsprechende Thermostatierung des Verneblers in einem Wasserbadthermostaten.

Beispiel 9: Wirksamkeit im Zellkulturversuch

Menschliche Keratinozyten Primärkulturen, hergestellt nach Reinl, H. M. et al., (J.Invest. Dermatol. 1995; 105(2); 291-5) wurden nach Ausbildung eines geschlossenen Monolayers in der Zellkulturschale und der Ausbildung von Desmosomen mit Zellkulturmedium inkubiert, welches zusätzlich 35 Gew.% D₂O (Probe) bzw. H₂O (Kontrolle) enthielt. Am Tag nach der Inkubation wurden Probe und Kontrolle mit HSV-1 infiziert. Die Infektion erfolgte durch Zugabe des Virus in Zellkulturmedium (10^7 Viren pro Zellkulturschale in 1 ml Zellkulturmedium). Nach Ablauf von 3 Tagen (nach Infektion) wurden Probe und Kontrolle auf die mittlere Anzahl von Viren pro Zelle untersucht. Die Viruszählung erfolgte mittels Transmissions-Elektronenmikroskopie nach Standard Fixier- und Färbeverfahren (Glutaraldehyd und Osmiumtetroxid). Es wurden jeweils 20 willkürlich ausgewählte Keratinozytenzellen aus Proben- und Kontrollgruppe bezüglich der in ihnen enthaltenen Viruspartikel ausgewertet.

Die daraus erhaltene mittlere Viruszahl war 10 ± 4 für die Probengruppe (D₂O) und 28 ± 4 für die Kontrollgruppe (H₂O).

Beispiel 10: Wirksamkeit im Tierversuch

Die Rücken von 12 Meerschweinchen wurden mittels eines Vakzinierungsinstruments mit HSV-1 infiziert, wie es im Detail von McKeogh M B et. al. (Arch. Dermatol. 2001, 137, 1153-1158) beschrieben wurde. Unmittelbar nach der Infektion wurden die Meerschweinchen in 4 randomisierte Gruppen zu je 3 Tieren eingeteilt. Probengruppe 1 erhielt alle 3 Stunden ein nach Beispiel 1 mit 100% D₂O

hergestelltes Carbopolsäuregel auf den Rücken (auf ca. 12 cm² Fläche) aufgebracht (ca. 1,0 Gramm Gel pro Applikation). Probengruppe 2 erhielt ausschließlich Trinkwasser, welchem 35% D₂O beigemischt war, und keine weitere Behandlung. Die Kontrollgruppe 1 erhielt eine analoge Menge Carbopolsäuregel zu identischen Zeitpunkten auf den Rücken aufgetragen, welches nach Beispiel 1 aus 100% H₂O hergestellt worden war (H₂O-Carbopolgel). Die Kontrollgruppe 2 wurde nach der Infektion keinerlei weiterer Behandlung unterzogen. Nach 5 Tagen wurden die Tiere getötet und die Schwere der Infektion durch Bestimmung der Anzahl und Größe von Läsionen (Papeln und Ulcerationen) untersucht. Außerdem wurde die mittlere Anzahl von HSV-1 pro Keratinozytenzelle (Rücken) elektronenmikroskopisch, wie in Beispiel 9 beschrieben, gemessen.

Das Ergebnis ist in **Tabelle 1** dargestellt und zeigt deutlich die überlegene Wirkung von topisch applizierten D₂O (Probengruppe 1) im Vergleich zu H₂O bzw. keiner Behandlung (Kontrollgruppen 1 und 2) bezüglich der Hemmung der Läsionenzahl und ihrer Fläche sowie der Anzahl von HSV-1 pro Zelle. Eine virustatische Wirkung von D₂O im Trinkwasser (Probengruppe 2) ist ebenfalls nachweisbar, aber nicht so ausgeprägt wie die Wirkung der topischen D₂O Applikation (Probengruppe 1).

Beispiel 11: Wirksamkeit zur HSV-1 Therapie im klinischen Versuch, Vergleich mit Aciclovir

Es wurden 32 gesunde Freiwillige im Alter von 23-58 Jahren (16 weiblich, 16 männlich) für diese Studie ausgewählt. Alle ausgewählten Testpersonen hatten eine Historie von Herpes labialis, welcher insbesondere durch Sonnenlicht (UV-Strahlung) ausgelöst wird. Keine der Testpersonen benutzte eine Woche vor oder während des auf 10 Tage begrenzten Tests antivirale Therapeutika oder immunmodulierende Therapeutika.

Für alle Testpersonen wurde zunächst die individuelle minimale erythematöse Dosis (MED) bestimmt, indem 6 jeweils 1 cm² große Flächen auf dem Oberarm der jeweiligen Testperson für 1 – 6 Minuten mit UV-Licht bestrahlt wurden

(Zeitinkrement zwischen der Bestrahlung der 6 Flächen jeweils 1 Min., die jeweils nicht bestrahlten Flächen wurden abgedeckt). Als UV-Lichtquelle wurden zwei Fluoreszenzlampen Typ FS 20 von Westinghouse, Bloomfield, NJ, USA verwendet, die abgegebene Strahlungsleistung wurde vor Applikation an jeder Versuchsperson mit einem Strahlungsmesser (Radiant Power Meter Typ 70260 mit Messkopf Typ 70268 von Newport, Irvine, CA, USA) überprüft. Während der Bestrahlung befand sich die UV-Lichtquelle in 20 cm Abstand von der zu bestrahlenden Hautfläche.

Die bestrahlten Flächen der Testpersonen wurden nach 24 Stunden begutachtet und die MED wurde als die kürzeste Zeit festgelegt, nach welcher eine bestrahlte Fläche einen distinkten Rand des Erythems nach 24 Stunden aufwies.

Nach Bestimmung der individuellen MED's wurde die Lippenfläche der Versuchspersonen in 4 Bereiche eingeteilt (obere Lippe rechts bzw. links sowie untere Lippe rechts bzw. links). Eine UV-Bestrahlung erfolgte nur in den Bereichen, welche von der Versuchsperson zuvor als jene mit den häufigsten Herpes labialis Rezidiven identifiziert worden war. Der nicht zu bestrahlende Teil der Lippen wurde mit einer Sonnenschutzcreme (Sonnenschutzfaktor 50) vor der Bestrahlung geschützt. Der zu bestrahlende Lippenbereich erhielt eine Bestrahlungsdosis der vierfachen MED, die für die jeweilige Testperson bestimmt wurde. Die Haut um die zu bestrahlenden Lippen wurde durch eine Maske bzw. durch Sonnenschutzcreme (Sonnenschutzfaktor 50) geschützt, dabei wurde ein Hautstreifen von 0,8 - 1,0 cm ab Lippenrand mit bestrahlt. Anschließend wurden die 32 Testpersonen randomisiert in 4 Gruppen zu je 8 Personen aufgeteilt.

Die 4 Versuchsgruppen wurden unterschiedlich behandelt: Unmittelbar nach der Bestrahlung und von diesem Zeitpunkt an alle 2,5 Stunden (außer nachts) wurde der bestrahlte Lippenbereich bei jeweils 8 Testpersonen mit D2O-Carbopolgel (hergestellt nach Beispiel 1 mit 100% D2O), mit H2O-Carbopolgel (Placebo, hergestellt nach Beispiel 1 mit 100% H2O), mit Zovirax Creme (Aciclovir im Cremesponder von GlaxoSmithKline) oder mit einer nach Beispiel 7 hergestellten D2O-Creme bestrichen, in welche zusätzlich 20 Gew% Zovirax Creme homogen eingemischt wurde, bestrichen.

Die Testpersonen wurden an den Tagen 2, 3, 5, 7, 9, und 15 nach der Bestrahlung untersucht. Dabei wurde die Zahl neuer Läsionen (Bläschen und Ulcerationen) sowie deren maximale Ausdehnung bestimmt. Die Flächenberechnung der maximalen Ausdehnung erfolgte unter Annahme einer Kreisform, deren mittlerer Durchmesser aus jeweils 3 Messungen der Läsion ermittelt wurde. Versuchspersonen, die neue Läsionen aufwiesen, wurden für die folgenden 4 Tage nach deren Feststellung täglich auf weitere neue Läsionen untersucht und die Größe aller Läsionen gemessen. Die Läsionen wurden in folgende Klassen unterteilt:

- direkte Läsionen, sie entstanden innerhalb von 48 h nach der Bestrahlung,
- indirekte Läsionen, sie entstanden nach Ablauf dieser Zeit von 48 Stunden und
- reduzierte Läsionen, sie wurden als solche definiert, welche zu jedem Zeitpunkt entstanden, sich aber nicht über eine gerade noch wahrnehmbare Erhebung der betroffenen Haut (Papeln) hinaus entwickelten.

Figur 1 zeigt die Anzahl direkter Läsionen im Zeitraum von bis zu 2 Tagen nach der Bestrahlung für die 4 Versuchsgruppen. **Figur 2** zeigt die Anzahl indirekter Läsionen im Zeitraum von 2 bis 15 Tagen nach der Bestrahlung für die 4 Versuchsgruppen. **Figur 3** zeigt die maximale Größe der indirekten Läsionen für die 4 Versuchsgruppen als Funktion des Tages, an dem das Maximum festgestellt wurde. **Tabelle 2** listet die Gesamtzahl beobachteter direkter bzw. indirekter Läsionen für die 4 Versuchsgruppen auf.

Zusammenfassend kann man aus den Ergebnissen eine deutliche und nachhaltige Wirkung von D2O zur Unterdrückung von Läsionen im Vergleich zum Placebo (H₂O) schlussfolgern. Darüber hinaus ist diese Wirkung von D2O einer handelsüblichen Aciclovir Creme (Zovirax), sowohl bei der Anzahl der Läsionen als auch bei deren maximaler Ausdehnung, deutlich überlegen. Auch eine D2O Creme mit 20% Zovirax zeigt eine Wirkung, die in beiden Bereichen (Läsionenzahl und Ausdehnung) der reinen, handelsüblichen Zovirax Creme deutlich überlegen ist. Bei keiner der 4

Versuchsgruppen wurden Nebenwirkungen der Therapie mit den verwendeten pharmazeutischen Zubereitungen beobachtet.

Beispiel 12: Wirksamkeit von D2O zur HSV-2 Therapie im klinischen Versuch

Es wurden 10 gesunde Freiwillige im Alter von 21- 60 Jahren (6 weiblich, 4 männlich) für diese Studie ausgewählt. Alle ausgewählten Testpersonen hatten eine Historie von rezidivierenden Genitalherpes (HSV-2), bestätigt durch PCR-Tests. Keine der Testpersonen benutzte vier Wochen vor oder während des auf 6 Monate begrenzten Tests antivirale Therapeutika oder immunmodulierende Therapeutika. Die mittlere Zahl von HSV-2 Rezidiven pro Jahr betrug nach Angaben der einzelnen Testpersonen $4,2 \pm 2,5$ (Standardabweichung über alle 10 Testpersonen). Die Testpersonen wurden in 2 Gruppen (eine Probengruppe, eine Kontrollgruppe) zu je 5 Personen randomisiert und single-blind aufgeteilt.

Die Probengruppe erhielt ein nach Beispiel 2 hergestelltes D2O-Silicongel mit 100% D2O, die Kontrollgruppe erhielt nach Beispiel 2 hergestelltes H2O-Silicongel mit 100% H2O. Beide Gruppen wurden angewiesen, bei kleinsten Anzeichen einer Rezidivbildung, d.h. initiale Ausbildung von Läsionen (Papeln bzw Ulcerationen), das jeweilige Gel alle 3 Stunden (außer nachts) für die Dauer von 5 Tagen auf die betroffenen Stellen aufzutragen und von diesem Zeitpunkt des ersten Auftragens an die Dauer der Läsion (Rezidivdauer) in Tagen zu messen. Es wurden ausschließlich Ereignisse gezählt, bei denen es mindestens zur fühlbaren Ausbildung einer Läsion kam. Nach 6 Monaten wurde der Versuch beendet und die Berichte der Testpersonen ausgewertet.

Ergebnisse:

- a) Kontrollgruppe (H2O-Silicongel): Mittlere Zahl der Rezidive in 6 Monaten pro Versuchsperson: $2,4 \pm 1,5$; Mittlere Dauer: $5,5 \pm 1$ Tage
- b) Probengruppe (D2O-Silicongel): Mittlere Zahl der Rezidive in 6 Monaten pro Versuchsperson: $2,2 \pm 1,5$; Mittlere Dauer: $2,0 \pm 1$ Tage

Die Ergebnisse zeigen eine klare Wirksamkeit des D2O-Silicongels zur Verringerung der Dauer eines HSV-2 Rezidivs. Nebenwirkungen wurden von den Testpersonen nicht beobachtet.

Beispiel 13: Wirksamkeit von D2O zur Warzentherapie von HPV-basierten Warzen im klinischen Versuch

Es wurden 10 gesunde Freiwillige im Alter von 21- 41 Jahren (5 weiblich, 5 männlich) für diese Studie ausgewählt. Alle ausgewählten Testpersonen hatten eine Historie von Warzen des Typs Verrucae Vulgares, die sich insbesondere an den Fingern manifestierten. Es wurden nur solche Testpersonen ausgewählt, die an mindestens zwei Fingern Warzen dieses Typs aufwiesen.

Bei allen Testpersonen wurde zunächst die Verhornungsschicht der Warzen an zwei Fingern durch lokale Vereisung mittels flüssigen Stickstoff entfernt. Am Tage darauf wurden die behandelten Warzen bezüglich ihres über die Haut herausstehenden Volumens durch eine berührungslose optische Methode (3D-Warzenvermessung mittels Streifenprojektion System ATOS-1 der Fa. GOM, Bibertal bei Ulm, Deutschland) vermessen und die Daten für jede Testperson und für jede einzelne Warze protokolliert.

Anschließend wurden die Testpersonen randomisiert in 2 Gruppen (Probengruppe und Kontrollgruppe) zu je 5 Personen eingeteilt. Bei der Probengruppe wurden an zwei zuvor in oben beschriebener Weise behandelten Fingern direkt auf den Warzen nach Beispiel 5 hergestellte, 1,5 mm dicke D2O-Agarosegele (in Quadrate von 1 cm² Größe geschnitten, hergestellt aus reinem D2O) aufgebracht und mittels eines darüber angebrachten Tegaderm-Pflasters (Typ 16004 von 3M Corp., Minneapolis, USA) zugeschnitten auf Größe 5cm x 2cm) semi-okklusiv fixiert. Bei der Kontrollgruppe wurde unter ansonsten identischen Bedingungen ein analog nach Beispiel 5 hergestelltes H2O-Agarosegel auf den Warzen aufgebracht und fixiert. Bei

beiden Gruppen wurden pro Testperson mindestens 3 Warzen auf die beschriebene Weise behandelt.

Nach fünf Tagen wurden Pflaster und Gele entfernt und die Warzenvolumina optisch vermessen. Aus dem Vergleich mit den vor Applikation der Gele bestimmten individuellen Warzen-Volumina wurde die prozentuale Volumenzunahme berechnet. Durch Mittelwertbildung wurde die mittlere prozentuale Volumenzunahme $\langle \%V_w \rangle$ der Warzen der jeweiligen Gruppe berechnet.

Ergebnisse:

Kontrollgruppe $\langle \%V_w \rangle = (190 \pm 20)\%$;

Probengruppe $\langle \%V_w \rangle = (105 \pm 5)\%$.

Für die Probengruppe (D2O-Agarosegel) hatte das Warzenvolumen im Beobachtungszeitraum innerhalb des Meßfehlers nicht zugenommen.

Tabelle 1:

Wirksamkeit von D2O bei HSV-1 infizierten Meerschweinchen (Beispiel 10). Dargestellt ist die mittlere Zahl und Größe von Läsionen sowie die mittlere Zahl von HSV-1 pro Keratinozytenzelle (jeweils bezogen auf die mit Gel behandelte Rückenfläche) 5 Tage nach der Infektion mit HSV-1. Unmittelbar nach Infektion wurden die 4 Gruppen von je 3 Tieren wie folgt behandelt: Probengruppe 1 erhielt alle 3 Stunden ein nach Beispiel 1 mit 100% D2O hergestelltes D2O-Carbopolgel auf dem Rücken aufgebracht (ca. 1,0 Gramm Gel pro Applikation). Die Kontrollgruppe 1 erhielt eine gleiche Menge eines nach Beispiel 1 hergestellten H2O-Carbopolgel (aus 100% H2O) zu identischen Zeitpunkten aufgetragen. Probengruppe 2 erhielt ausschließlich Trinkwasser, welchem 35% D2O beigemischt war und keine topische Applikation eines Gels. Die Kontrollgruppe 2 wurde nach der Infektion keinerlei weiterer Behandlung unterzogen.

	Mittl. Läsionenzahl	Mittl. Größe der Läsionen (mm ²)	Mittl. Zahl von HSV1 Viren pro Zelle
Probengruppe 1 (D2O-Carbopolgel)	2	16±3	6±3
Probengruppe 2 (D2O im Trinkwasser)	3	19±3	11±4
Kontrollgruppe 1 (H2O-Carbopolgel)	9	25±3	24±4
Kontrollgruppe 2	10	23±3	26±4

Tabelle 2:

Gesamtzahl direkter und indirekter Läsionen an insgesamt 32 Testpersonen im Zeitraum bis 15 Tage nach der UV- Bestrahlung (Beispiel 11). Laut obiger Angaben (Beispiel 11) treten direkte Läsionen im Zeitraum bis zu 2 Tage nach der Bestrahlung auf, indirekte Läsionen im Zeitraum 2 bis 15 Tage. Unmittelbar nach der Bestrahlung und von diesem Zeitpunkt an alle 2,5 Stunden (außer nachts) wurde der bestrahlte Lippenbereich bei den jeweils 8 Testpersonen der vier Versuchsgruppen mit D2O-Carbopolgel (hergestellt nach Beispiel 1 mit 100% D2O), mit H2O-Carbopolgel (Placebo, hergestellt nach Beispiel 1 mit 100% H2O), mit Zovirax Creme (Aciclovir im Cremesponder von GlaxoSmithKline) oder mit einer nach Beispiel 7 hergestellten D2O-Creme bestrichen, in welche zusätzlich 20 Gew% Zovirax Creme homogen eingemischt war, bestrichen.

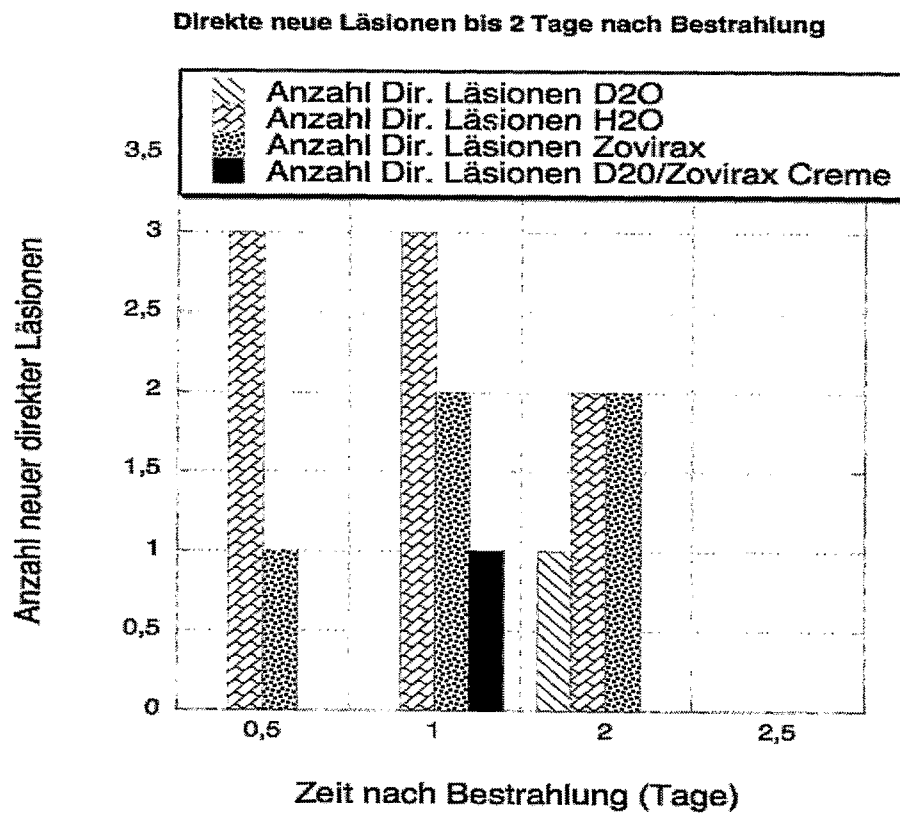
Gel / Creme	Indirekte Läsionen (Gesamtzahl)	Direkte Läsionen (Gesamtzahl)
D2O-Carbopolgel	2	1
H2O-Carbopolgel	6	8
Zovirax Creme	5	5
D2O/Zovirax Creme	2	1

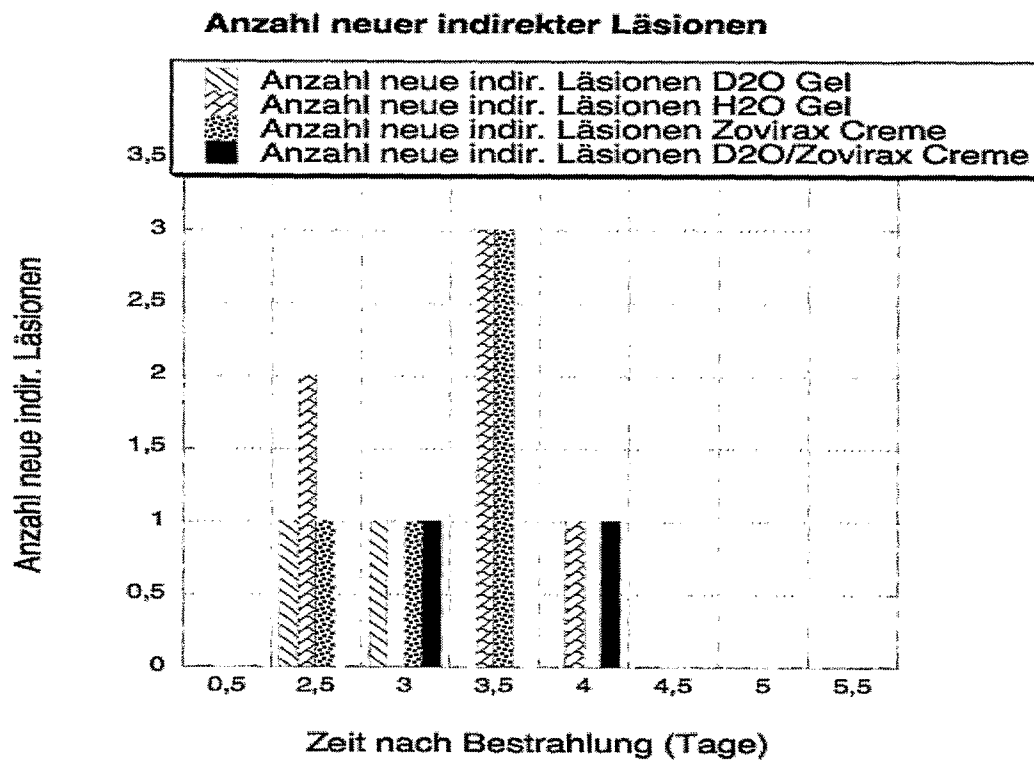
Patentansprüche

1. Verwendung von Deuteriumoxid zur Prophylaxe und/oder Therapie von Virus-basierten Erkrankungen der Haut.
2. Verwendung von Deuteriumoxid zur Herstellung eines Arzneimittels zur Prophylaxe und/oder Therapie von Virus-basierten Erkrankungen der Haut.
3. Verwendung von Deuteriumoxid nach Anspruch 1 oder 2, wobei es sich um Herpesvirus-basierte Erkrankungen der Haut handelt.
4. Verwendung von Deuteriumoxid nach Anspruch 3, wobei die Herpesvirus-basierten Erkrankungen der Haut durch Herpes simplex Virus Typ 1, Herpes simplex Virus Typ 2 oder Varizella Zoster Virus hervorgerufen werden.
5. Verwendung von Deuteriumoxid nach Anspruch 3 oder 4, wobei es sich um Herpesvirus-basierte Erkrankungen der Haut, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Herpes labiales, Herpes nasalis, Keratoconjunctivitis herpetica, Stomatitis herpetica, Herpes facialis, Herpes buccalis, Herpes genitales, Herpes perianalis und Herpes glutealis und Herpes zoster, handelt.
6. Verwendung von Deuteriumoxid nach Anspruch 1 oder 2, wobei es sich um Warzenvirus-basierte Erkrankungen der Haut handelt.
7. Verwendung von Deuteriumoxid nach Anspruch 6, wobei die Warzenvirus-basierten Erkrankungen der Haut durch Papillomaviren, insbesondere humane Papillomaviren (HPV) oder Molluscipoxvirus hervorgerufen werden.

8. Verwendung von Deuteriumoxid nach Anspruch 6 oder 7, wobei es sich um Warzenvirus-basierte Erkrankungen der Haut, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Verrucae vulgares, Verrucae planae juvenilis, Verrucae plantares, Condylomata acuminata, Verrucae planae, Verrucae filiformes oder Molluscum contagiosum, handelt.
9. Verwendung von Deuteriumoxid nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei das Deuteriumoxid topisch auf die Haut appliziert wird.
10. Verwendung von Deuteriumoxid nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei das D₂O in Kombination mit mindestens einem weiteren pharmazeutischen Wirkstoff und/oder mindestens einem weiteren nicht-pharmazeutischen Wirkstoff verwendet wird.
11. Verwendung von Deuteriumoxid nach Anspruch 10, wobei der mindestens eine weitere pharmazeutische Wirkstoff ausgewählt ist aus der Gruppe, bestehend aus Virusstatika, Proteinen, Peptiden, Nukleinsäuren und immunosuppressiven Wirkstoffen.
12. Verwendung von Deuteriumoxid nach Anspruch 10, wobei der mindestens eine weitere nicht-pharmazeutische Wirkstoff ausgewählt ist aus der Gruppe, bestehend aus pharmazeutisch verträglichen anorganischen oder organischen Säuren oder Basen, Polymeren, Copolymeren, Block-Copolymeren, Einfachzucker, Mehrfachzucker, ionische und nicht-ionische Tenside oder Lipiden sowie Mischungen hiervon, Albumin, Transferrin und DNA-Reparatur-Proteinen, wie Kinase-Inhibitoren.
13. Verwendung von Deuteriumoxid nach einem beliebigen der vorangegangenen Ansprüche, wobei das D₂O mit einem Pflaster oder einer Bandage topisch appliziert wird.

14. Verwendung von Deuteriumoxid nach Anspruch 13, wobei das Pflaster oder die Bandage in Kombination mit mindestens einer Membran oder mindestens einer Folie verwendet wird.
15. Verwendung von Deuteriumoxid nach Anspruch 14, wobei die Membran eine mikro- oder nanoporöse Membran ist.
16. Verwendung von Deuteriumoxid nach Anspruch 14, wobei die Folie eine mikro- oder nanoporöse Folie ist.
17. Verwendung von Deuteriumoxid nach einem der Ansprüche 1 bis 12, wobei das D₂O als Aerosol topisch appliziert wird.
18. Verwendung von Deuteriumoxid nach einem beliebigen der vorangegangenen Ansprüche, wobei D₂O als Formulierung topisch appliziert wird.
19. Verwendung von Deuteriumoxid nach Anspruch 18, wobei die Formulierung eine Salbe, Creme, Gel oder Hydrogel ist.

Figur 1

Figur 2

Figur 3

