



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 113573706 B

(45) 授权公告日 2025.02.07

(21) 申请号 202080021135.X

(22) 申请日 2020.03.13

(65) 同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 113573706 A

(43) 申请公布日 2021.10.29

(30) 优先权数据  
102019000003843 2019.03.15 IT

(85) PCT国际申请进入国家阶段日  
2021.09.14

(86) PCT国际申请的申请数据  
PCT/EP2020/056799 2020.03.13

(87) PCT国际申请的公布数据  
W02020/187729 EN 2020.09.24

(73) 专利权人 洛利制药有限责任公司  
地址 意大利罗马

(72) 发明人 V·伍弗

(74) 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公司 31100  
专利代理师 陈扬扬 钱文字

(51) Int. Cl.  
A61K 31/353 (2006.01)  
A61K 31/4415 (2006.01)

A61K 31/593 (2006.01)  
A61K 31/235 (2006.01)  
A61K 31/355 (2006.01)  
A61P 35/00 (2006.01)

(56) 对比文件  
CN 102670584 A, 2012.09.19  
CN 1251527 A, 2000.04.26  
US 8221803 B1, 2012.07.17  
Michal ciebiaera .Alternative Oral Agents in Prophylaxis and Therapy of Uterine Fibroids-An Up-to-Date Review. 《international journal of molecular sciences》.2017,第18卷(第12期),第4页第3段,图1,第6页第2-4段.  
D. MIRIELLO.Uterine fibroids treatment: do we have new valid alternative? Experiencing the combination of vitamin D plus epigallocatechin gallate in childbearing age affected women.《European Review for Medical and Pharmacological Sciences》.2021,第25卷(第7期),摘要.

审查员 安梦晨

权利要求书3页 说明书24页 附图6页

(54) 发明名称  
用维生素D和表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)等药物治疗纤维瘤

(57) 摘要  
本发明涉及使用维生素D和选自表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)、儿茶素、没食子儿茶素和表儿茶素没食子酸酯(ECG)的药剂用来预防、控制和/或治疗对象的纤维瘤。

1. 维生素D和一种选自下组的药剂:表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)和(-)-没食子儿茶素-3-O-没食子酸酯在制备用于预防、控制和/或治疗子宫纤维瘤或纤维腺瘤的药物组合物中的用途。

2. 如权利要求1所述的维生素D和一种药剂的用途,其中所述维生素D是维生素D3或维生素D2。

3. 如权利要求1所述的维生素D和一种药剂的用途,其中所述维生素D是维生素D3。

4. 如权利要求1~3中任一项所述的维生素D和一种药剂的用途,其中所述维生素D每天量为1  $\mu\text{g}$ 至100  $\mu\text{g}$ ,和/或所述药剂每天量为5 mg至1000 mg和/或所述维生素D和所述药剂的重量比为1 : 50至1 : 1000000。

5. 如权利要求1~3中任一项所述的维生素D和一种药剂的用途,其中所述维生素D每天量为50  $\mu\text{g}$ ,和/或所述药剂每天量为300 mg和/或所述维生素D和所述药剂的重量比为1 : 6000。

6. 如权利要求1~3中任一项所述的维生素D和一种药剂的用途,其中所述维生素D和所述药剂的重量比为1 : 50。

7. 如权利要求1~3中任一项所述的维生素D和一种药剂的用途,其中所述维生素D和所述药剂的重量比为1 : 2000。

8. 如权利要求1~3中任一项所述的维生素D和一种药剂的用途,其中所述维生素D和所述药剂的重量比为1 : 2500。

9. 如权利要求1~3中任一项所述的维生素D和一种药剂的用途,其中所述维生素D和所述药剂的重量比为1 : 3000。

10. 如权利要求1~3中任一项所述的维生素D和一种药剂的用途,其中所述维生素D和所述药剂的重量比为1 : 5000。

11. 如权利要求1~3中任一项所述的维生素D和一种药剂的用途,其中所述维生素D和所述药剂的重量比为1 : 7000。

12. 如权利要求1~3中任一项所述的维生素D和一种药剂的用途,其中所述维生素D和所述药剂的重量比为1 : 10000。

13. 如权利要求1~3中任一项所述的维生素D和一种药剂的用途,其中所述维生素D和所述药剂的重量比为1 : 1000000。

14. 如权利要求1~3中任一项所述维生素D和一种药剂的用途,所述药物组合物还包含至少一种其他药剂,其他药剂选自下组:维生素B、多酚和DL- $\alpha$ -生育酚。

15. 如权利要求14所述维生素D和一种药剂的用途,所述维生素D、所述药剂和所述至少一种其他药剂的重量比为1 : 5000 : 100至1 : 10000 : 1000。

16. 如权利要求14所述维生素D和一种药剂的用途,所述维生素D、所述药剂和所述至少一种其他药剂的重量比为1 : 6000 : 200。

17. 如权利要求14所述维生素D和一种药剂的用途,所述维生素D、所述药剂和所述至少一种其他药剂的重量比为1 : 5000 : 1000。

18. 如权利要求14所述维生素D和一种药剂的用途,所述维生素D、所述药剂和所述至少一种其他药剂的重量比为1 : 10000 : 100。

19. 如权利要求14所述维生素D和一种药剂的用途,所述维生素D、所述药剂和所述至少

一种其他药剂的重量比为1 : 10000 : 1000。

20. 如权利要求14所述维生素D和一种药剂的用途,所述至少一种其他药剂为维生素B6。

21. 如权利要求20所述维生素D和一种药剂的用途,所述维生素B6每天量为1至100 mg。

22. 如权利要求14所述维生素D和一种药剂的用途,所述至少一种其他药剂每天量为1至10 mg。

23. 如权利要求14所述维生素D和一种药剂的用途,所述至少一种其他药剂每天量为1至5 mg。

24. 如权利要求1~3中任一项所述的维生素D和一种药剂的用途,其中所述表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)为茶叶或茶叶提取物的形式。

25. 如权利要求24所述维生素D和一种药剂的用途,所述茶叶是绿茶树叶。

26. 如权利要求24所述维生素D和一种药剂的用途,其中所述药剂量为30重量%至95重量%。

27. 如权利要求24所述维生素D和一种药剂的用途,其中所述药剂量为30重量%。

28. 如权利要求24所述维生素D和一种药剂的用途,其中所述药剂量为45重量%。

29. 如权利要求24所述维生素D和一种药剂的用途,其中所述药剂量为50重量%。

30. 如权利要求24所述维生素D和一种药剂的用途,其中所述药剂量为95重量%。

31. 如权利要求1~3中任一项所述的维生素D和一种药剂的用途,其中所述维生素D和所述药剂减少纤连蛋白和/或胶原蛋白的释放。

32. 如权利要求1~3中任一项所述的维生素D和一种药剂的用途,其中所述预防、控制和/或治疗子宫纤维瘤包括所述预防、控制和/或治疗子宫纤维瘤的至少一种症状,所述症状选自下组:月经过多、痛经、经间出血、急性或慢性盆腔疼痛、性交疼痛、贫血、生殖功能受损、生育能力低下、不孕不育、早孕流产、复发性流产、早产和妊娠并发症、疲劳和压力症状。

33. 如权利要求32所述维生素D和一种药剂的用途,其中所述压力症状包括肿胀、尿频增加、肠紊乱。

34. 如权利要求1~3中任一项所述的维生素D和一种药剂的用途,其中所述维生素D和所述EGCG同时给药和/或口服和/或一天给药两次。

35. 一种组合物用于制备用于预防、控制和/或治疗子宫纤维瘤或纤维腺瘤的药物或补充剂的用途,所述组合物包括:

- 维生素D,

- 一种选自下组的药剂:表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)或(-)-没食子儿茶素-3-O-没食子酸酯,

- 赋形剂,和/或

- 至少一种其他药剂。

36. 如权利要求35所述组合物的用途,其中所述维生素D是维生素D3或维生素D2。

37. 如权利要求35所述组合物的用途,其中所述维生素D是维生素D3。

38. 如权利要求35~37中任一项所述组合物的用途,其中所述药剂为茶叶或茶叶提取物的形式。

39. 如权利要求35~37中任一项所述组合物的用途,其中所述赋形剂选自下组:磷酸二钙、微晶纤维素、硬脂酸镁、二氧化硅、蔗糖、阿拉伯树胶、玉米淀粉、中链甘油三酯、磷酸三钙、交联羧甲基纤维素钠、羟丙基甲基纤维素、聚乙二醇、二氧化钛、聚乙烯吡咯烷酮、滑石粉、赤藓糖醇、木糖醇、甜菊糖苷和三氯蔗糖,和/或所述至少一种其他药剂选自下组:维生素B、多酚和DL- $\alpha$ -生育酚,和/或所述组合物为口服给药,和/或所述组合物为片剂、硬胶囊、软凝胶胶囊、粉剂、糖浆、扁囊剂或锭剂的形式。

40. 如权利要求39所述的组合物的用途,其中所述锭剂包括糖锭或软锭剂。

41. 如权利要求35~37中任一项所述的组合物的用途,其中所述药物或补充剂与其他治疗干预组合。

42. 如权利要求41所述的组合物的用途,所述其他治疗干预选自下组:手术、促性腺激素释放激素激动剂、选择性孕酮受体调节剂、抗激素剂、激素、抗炎止痛剂和氨甲环酸。

43. 如权利要求35~37中任一项所述的组合物的用途,其特征在于所述组合物包括:绿茶树叶提取物形式的EGCG、微晶纤维素、磷酸钙或磷酸二钙、维生素D3、维生素B6、硬脂酸镁和二氧化硅。

## 用维生素D和表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)等药物治疗 纤维瘤

### 发明领域

[0001] 本发明涉及使用维生素D和一种或多种选自表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)、儿茶素、没食子儿茶素和表儿茶素没食子酸酯(EGC)的药剂用来预防、控制和/或治疗对象的纤维瘤。

### 背景技术

[0002] 子宫纤维瘤,也称为子宫平滑肌瘤或肌瘤,是女性生殖道最常见的肿瘤。其为子宫平滑肌的单克隆良性肿瘤,因此起源于发展在育龄女性(主要在35到50岁之间)的子宫肌层。子宫纤维瘤是众所周知的绝经前女性子宫内的雌激素依赖性肿瘤。子宫平滑肌瘤的标志是细胞外基质(ECM)的过度沉积[Malik M,等Matrix Biol 2012,7-8:389-397]。构成子宫纤维瘤的大部分体积的ECM成分是纤连蛋白、胶原蛋白和蛋白聚糖[Ingber D和Folkman J.J Cell Biol 1989,109:317-330]。与体内其他组织一样,子宫纤维瘤中的ECM作用刺激细胞间粘附、细胞迁移、细胞增殖和细胞分化并促进ECM进一步沉积[Ingber D和Folkman J.J Cell Biol 1989,109:317-330]。子宫组织中的ECM,无论是正常子宫肌层中的或是纤维瘤中的,都含有大量的胶原蛋白。子宫纤维瘤中过量的ECM是由于胶原蛋白的过度产生和胶原蛋白分解的减少,胶原蛋白沉积在子宫纤维瘤中占ECM成分的比例比健康子宫组织更大[Leppert PC,等Fertil Steril 2004,82:1182-1187]。胶原蛋白和纤连蛋白沉积增加的部分原因是平滑肌瘤组织相对于健康子宫肌层的物理特性改变。子宫纤维瘤间质基质中胶原蛋白的取向和组织异常,形成了其刚性特性[Tomasek JJ,等Nat Rev Mol Cell Biol 2002,3:349-363]。子宫肌层的平滑肌细胞可以通过合成细胞外纤维基质对损伤作出反应。

[0003] 子宫纤维瘤通常无症状发展。它们也可能与不同的症状有关,例如:月经出血过量(月经过多)、痛经和经间出血、慢性盆腔疼痛、周围器官受压、性交疼痛、贫血和压力症状,例如肿胀感、尿频增加和肠紊乱。此外,它们可能会损害生殖功能,可能导致生育能力低下、早孕流产、晚孕并发症、不孕不育、复发性流产、早产。

[0004] 子宫纤维瘤对生活质量 and 治疗总成本的影响备受全世界关注。

[0005] 其他纤维瘤疾病包括纤维腺瘤和前列腺增生。

[0006] 纤维腺瘤为良性人乳腺肿瘤,其特征在于末端导管单元的上皮和成纤维细胞基质成分的增殖。

[0007] 前列腺增生,也称为良性前列腺增生(BPH)、前列腺肿大或前列腺平滑肌瘤,是前列腺腺体大小非癌性生长,其胞外基质沉积或纤维状胶原蛋白增加。

[0008] 因此,仍然需要提供用于纤维瘤治疗的非侵入性且有效的治疗方法。

[0009] EGCG

[0010] 表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)是从绿茶中提取的表没食子儿茶素和没食子酸的酯。其在肿瘤中的作用已经被彻底研究,已经表现出有益的效果。EGCG抑制增殖、诱导人子宫纤维瘤细胞中的细胞凋亡并减少小鼠子宫纤维瘤肿瘤的体积[Zhang, D.等,

Am.J.Obstet.Gynecol.2010,202,289.e1-289.e9]。一项临床研究表明,在接受EGCG治疗后患有子宫纤维瘤的女性总纤维瘤体积减少32.6% [E.Roshdy等,Int.J.Women's Health,2013:5 477-486]。在这些研究中,EGCG是子宫纤维瘤肿瘤的增殖、转化和炎症的调节剂。EGCG发挥其作用可能调节涉及增殖、细胞周期调控和细胞凋亡的不同因子,例如增殖细胞核抗原(PCNA)、细胞周期蛋白依赖性激酶1(CDK1)和B细胞淋巴瘤2(BCL2)。

#### [0011] 维生素D

[0012] 维生素D是一组发挥不同生物活性的脂溶性开环甾类化合物。它们在增加肠道对钙、镁和磷酸盐的吸收方面的作用是众所周知的。事实上,维生素D改变骨细胞活性,对儿童和成人新骨形成是重要的。维生素D主要从阳光中在皮肤中生成,约10%也从饮食摄取中吸收。肝和肾将维生素D转化为活性激素,称为骨化三醇。

[0013] 已经证明1,25-二羟基维生素D在体外抑制子宫纤维瘤细胞增殖,在动物模型中减少子宫纤维瘤的大小。维生素D(维生素D<sub>3</sub>)在体外减少子宫纤维瘤细胞增殖,在体外动物模型中减少子宫纤维瘤肿瘤生长。根据体外实验,子宫纤维瘤细胞对维生素D的活性形式的生长抑制作用高度敏感,维生素D通过下调增殖细胞核抗原(PCNA)和细胞周期蛋白依赖性激酶1(CDK1)调节细胞增殖并诱导凋亡。

[0014] 维生素D缺乏与子宫纤维瘤风险增加有关,尤其是维生素D血清水平和纤维瘤严重程度之间具有反比关系。

#### [0015] 发明概述

[0016] 作者惊奇地发现,维生素D与至少一种选自表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)、儿茶素、没食子儿茶素和表儿茶素没食子酸酯(ECG)的组合使用在体外成纤维细胞中对纤连蛋白和胶原蛋白释放具有强烈的抑制作用。维生素D和所述至少一种药剂的组合发挥协同作用,减少纤维化成分的增殖,然后减少纤维瘤中常见的细胞外基质的过度沉积。与维生素D单独或所述至少一种药剂单独的效力相比,维生素D与所述至少一种药剂组合的药效增加对纤维化成分的增殖减少具有主要作用。

[0017] 换言之,作者惊奇的发现,维生素D和至少一种选自EGCG、儿茶素、没食子儿茶素和ECG的药剂的组合或联合给药用于治疗成纤维细胞比其中单一组分发挥更有利的效果。至今为止,已知给药维生素D或EGCG可用于治疗子宫纤维瘤,但并不知道或暗示这些化合物共同用于治疗这种纤维瘤病症可以更有利。纤维瘤体积减少的证据表明了使用维生素D和至少一种选自EGCG、儿茶素、没食子儿茶素和ECG的药剂的绝对新颖的可实现的有利效果。

[0018] 因此,本发明的一个目的是维生素D和一种或多种选自表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)、儿茶素、没食子儿茶素和表儿茶素没食子酸酯(ECG)的药剂用来预防、控制和/或治疗纤维瘤。优选地,所述一种或多种药剂选自下组:表没食子儿茶素-3-没食子酸酯、(-)-表没食子儿茶素-3-没食子酸酯、(-)-没食子儿茶素-3-0-没食子酸酯(GCG)、(-)-没食子儿茶素-3-没食子酸酯、(+)-儿茶素(C)、(-)-表儿茶素(EC)、(+)-没食子儿茶素(GC)、(-)-表没食子儿茶素(EGC)、(-)-表儿茶素-3-没食子酸酯、(-)-儿茶素-3-没食子酸酯和(+)-儿茶素-3-没食子酸酯。优选地,所述一种或多种药剂是表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)。优选地,所述维生素D选自:维生素D<sub>3</sub>(胆钙化醇)、维生素D<sub>2</sub>(麦角钙化醇)、25(OH)维生素D(骨化二醇)、1,25-二羟基维生素D(骨化三醇)及其组合。优选地,维生素D指的是维生素D<sub>3</sub>。

[0019] 优选地,所述纤维瘤在含有成纤维细胞的组织中。优选地,所述纤维瘤是子宫纤维

瘤、纤维腺瘤或前列腺增生。优选地,所述纤维瘤是子宫纤维瘤。优选地,所述子宫纤维瘤是壁内的、浆膜下的和/或粘膜下的。

[0020] 优选地,维生素D每天的量是大约1 $\mu$ g至100 $\mu$ g。优选地,维生素D每天的量是大约25 $\mu$ g至50 $\mu$ g,优选每天的量是大约50 $\mu$ g。优选地,维生素D每天给药两次,每次给药大约25 $\mu$ g。优选地,1IU维生素D对应于0.025 $\mu$ g维生素D,使得维生素D的量为大约40IU至4000IU。

[0021] 优选地,所述一种或多种药剂每天的量是大约5mg至1000mg。优选地,所述一种或多种药剂每天的量是大约300mg。优选地,所述一种或多种药剂每天给药两次,每次给药为大约120mg至180mg,优选大约150mg。应当理解,当存在更多药剂时,一种或多种药剂的量可以指其中每种药剂或指存在的所有药剂的总和。

[0022] 优选地,维生素D和所述一种或多种药剂的重量比约为1:50至1:1000000。优选地,维生素D和所述一种或多种药剂的重量比约为1:100至1:1000,优选维生素D和所述一种或多种药剂的重量比约为1:300至1:600。优选地,维生素D和所述一种或多种药剂的重量比约为1:6000、1:50、1:2000、1:2500、1:3000、1:5000、1:7000、1:10000或1:1000000。应当理解,当存在更多药剂时,一种或多种药剂的重量比可以指其中每种药剂或指存在的所有药剂的总和。

[0023] 在一个优选的方面,维生素D和如上定义的一种或多种药剂与至少一种其他药剂一起使用,其任选地选自下组:维生素B、多酚和DL- $\alpha$ -生育酚,优选所述至少一种其他药剂是维生素B6。然后,本发明还提供了维生素D、如上定义的一种或多种药剂与至少一种其他药剂一起使用,其任选地选自下组:维生素B、多酚和DL- $\alpha$ -生育酚,优选所述至少一种其他药剂是维生素B6,用于如上所定义的用途。

[0024] 优选地,维生素D、所述一种或多种药剂和所述至少一种其他药剂的重量比约为1:5000:100至1:10000:1000。优选地,维生素D、所述一种或多种药剂和所述至少一种其他药剂的重量比约为1:5000:1000至1:10000:100。优选地,维生素D、所述一种或多种药剂和所述至少一种其他药剂的重量比约为1:6000:200、1:5000:1000、1:10000:100或1:10000:1000。

[0025] 优选地,所述至少一种其他药剂每天的量是约1至100mg,优选每天约1至10mg,优选每天约1至5mg,优选每天约1、5或10mg。

[0026] 优选地,所述其他药剂为维生素B6。优选地,所述维生素B6每天的量是约1至100mg,优选每天约1至10mg,优选每天约1至5mg,优选每天约1、5或10mg。优选地,维生素B6每天给药两次,每次给药大约5mg。

[0027] 在优选的实施方式中,本发明提供维生素D和一种或多种药剂用于如上定义的用途,其中所述一种或多种药剂为表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)和/或其中所述纤维瘤为子宫纤维瘤。然后,在优选的实施方式中,本发明提供维生素D和表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)用于治疗子宫纤维瘤。

[0028] 优选地,所述一种或多种药剂呈茶树叶或茶树叶的提取物的形式。优选地,所述茶树叶是绿茶树叶。优选地,所述茶树叶包含约30重量%至95重量%、优选约30重量%、45重量%、50重量%或95重量%的所述一种或多种药剂。应当理解,当存在更多药剂时,所述叶片中一种或多种药剂的重量%可以指其中每种药剂或指存在的所有药剂的总和。

[0029] 在上述用途的优选实施方式中,所述维生素D和所述一种或多种药剂减少纤连蛋

白和/或胶原蛋白的释放。

[0030] 本发明的另一个目的是维生素D和一种或多种选自表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)、儿茶素、没食子儿茶素和表儿茶素没食子酸酯(ECG)的药剂,用于减少纤连蛋白和/或胶原蛋白释放的方法。

[0031] 优选地,通过与完全无治疗的合适的对照组、单独用维生素D治疗或单独用一种或多种药剂治疗比较,测定纤连蛋白和/或胶原蛋白的释放减少。

[0032] 在上述用途的优选实施方式中,所述维生素D和所述一种或多种药剂减少纤维瘤的体积。

[0033] 本发明的另一个目的是维生素D和一种或多种选自表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)、儿茶素、没食子儿茶素和表儿茶素没食子酸酯(ECG)的药剂,用于减少纤维瘤的体积的方法。

[0034] 优选地,通过与完全无治疗的合适的对照组、单独用维生素D治疗或单独用一种或多种药剂治疗比较,测量纤维瘤体积的减少。

[0035] 优选地,所述纤维瘤是子宫纤维瘤,所述预防、控制和/或治疗子宫纤维瘤包括预防、控制和/或治疗至少一种子宫纤维瘤症状。优选地,所述子宫纤维瘤的症状选自:月经过多(月经过多)、痛经、经间出血、盆腔疼痛(急性或慢性)、性交疼痛、贫血、生殖功能受损、生育能力低下、不孕不育、早孕流产、复发性流产、早产和妊娠并发症、疲劳和压力症状如肿胀、尿频增加、肠紊乱。

[0036] 优选地,维生素D和所述一种或多种药剂是同时和/或口服和/或一天两次给药。

[0037] 优选地,维生素D和所述一种或多种药剂与其他治疗干预组合使用。优选地,所述其他治疗干预选自:手术、促性腺激素释放激素激动剂(GnRHa)、选择性孕酮受体调节剂(sPRM)、抗激素剂、激素、抗炎止痛剂和氨甲环酸。

[0038] 优选地,所述手术选自:保守手术疗法(肌瘤切除术)、子宫切除术、肌溶解、子宫动脉栓塞术(UAE)和磁共振成像引导的聚焦超声手术(MRgFUS)。优选地,所述激素为雌孕激素或孕酮。优选地,所述抗炎止痛剂是非甾体抗炎药(NSAID)。优选地,所述选择性孕酮受体调节剂是醋酸乌利司他(UPA)。

[0039] 本发明的另一目的是组合物,其包括:

[0040] -维生素D,

[0041] -一种或多种药剂选自下组:表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)、儿茶素、没食子儿茶素和表儿茶素没食子酸酯(ECG),

[0042] -赋形剂或稀释剂,和

[0043] -任选地至少一种其他药剂。

[0044] 应当理解,上述任何量、重量比、重量%、一种或多种药剂的定义、其他药剂的定义、纤维瘤的定义也适用于该组合物。

[0045] 优选地,所述组合物用于预防、控制和/或治疗纤维瘤,优选所述纤维瘤是在含有成纤维细胞的组织内,优选所述纤维瘤是子宫纤维瘤、纤维腺瘤或前列腺增生。

[0046] 优选地,组合物中,所述一种或多种药剂选自下组:表没食子儿茶素-3-没食子酸酯、(-)-表没食子儿茶素-3-没食子酸酯、(-)-没食子儿茶素-3-O-没食子酸酯(GCG)、(-)-没食子儿茶素-3-没食子酸酯、(+)-儿茶素(C)、(-)-表儿茶素(EC)、(+)-没食子儿茶素

(GC)、(-)-表没食子儿茶素、(-)-表儿茶素-3-没食子酸酯、(-)-儿茶素-3-没食子酸酯和(+)-儿茶素-3-没食子酸酯。优选地,所述组合物中的一种或多种药剂是药剂表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)。优选地,所述维生素D选自如上定义的组。

[0047] 优选地,在组合物中,所述一种或多种药剂呈如上定义的茶树叶或茶树叶的提取物的形式。优选地,组合物中的维生素D的量是约1 $\mu$ g至100 $\mu$ g,优选量为约25 $\mu$ g或50 $\mu$ g。优选地,组合物中的所述一种或多种药剂的量是约5mg至1000mg,优选为约300mg或120mg至180mg,优选为约150mg。优选地,在所述组合物中,维生素D和所述一种或多种药剂的重量比约为1:50至1:1000000、优选为约1:6000、1:50、1:2000、1:2500、1:3000、1:5000、1:7000、1:10000或1:1000000。

[0048] 优选地,所述赋形剂和/或稀释剂选自:磷酸钙、磷酸二钙、微晶纤维素、硬脂酸镁、二氧化硅、蔗糖、阿拉伯树胶、玉米淀粉、中链甘油三酯、磷酸三钙、交联羧甲基纤维素钠、羟丙基甲基纤维素、聚乙二醇、二氧化钛、聚乙烯吡咯烷酮、滑石粉、赤藓糖醇、木糖醇、甜菊糖苷和三氯蔗糖。

[0049] 优选地,组合物中所述至少一种任选的其他药剂是选自下组:维生素B、多酚和DL- $\alpha$ -生育酚。优选地,在所述组合物中维生素D、所述一种或多种药剂和所述至少一种其他任选药剂的重量比约为1:5000:100至1:10000:1000,优选为约1:6000:200、1:5000:1000、1:10000:100或1:10000:1000。优选地,组合物中所述至少一种其他任选药剂每天的量是约1至100mg,优选每天约1至10mg,优选每天约1至5mg,优选每天约1、5或10mg。优选地,组合物中所述至少一种任选其他药剂为维生素B6,优选的量为每天约1至100mg,优选每天约1至10mg,优选每天约1至5mg,优选每天约1、5或10mg。

[0050] 优选地,所述组合物是口服给药。优选地,所述组合物每天给药一次或两次。

[0051] 优选地,所述组合物为片剂、硬胶囊、软凝胶胶囊、粉剂、糖浆、扁囊剂、糖锭(troche)、锭剂(lozenge)或软锭剂(pastille)的形式。

[0052] 优选地,所述组合物用于与其他治疗干预组合使用。优选地,所述其他治疗干预选自:手术、促性腺激素释放激素激动剂(GnRHa)、选择性孕酮受体调节剂(sPRM)、抗激素剂、激素、抗炎止痛剂和氨甲环酸,所有这些可以优选地如上所定义。

[0053] 优选地,所述组合物是药物组合物或补充剂。然后,本发明还提供了药物组合物或补充剂,其包含上文针对组合物定义的组分。

[0054] 在组合物是药物组合物的情况下,所述赋形剂和/或稀释剂优选为药学上可接受的。

## 附图说明

[0055] 图1和2分别表示了培养的成纤维细胞中纤连蛋白和胶原蛋白释放。对照=培养18天后的成纤维细胞(无TGF- $\beta$ 1刺激和无处理);24h=成纤维细胞培养18天后,然后是24小时的TGF- $\beta$ 1刺激,并在随后的24h内加入空的新鲜培养基;D3=成纤维细胞培养18天后,然后是24小时的TGF- $\beta$ 1刺激,并在随后的24h内用维生素D3处理;EGCG=成纤维细胞培养18天后,然后进行24h的TGF- $\beta$ 1刺激,并在随后的24h内用维生素EGCG处理;D3+EGCG=成纤维细胞培养18天后,然后是24小时的TGF- $\beta$ 1刺激,并在随后的24h内用维生素D3和EGCG的组合处理。

[0056] 图1显示了单独或组合的维生素D和EGCG孵育24小时后,在体外对成纤维细胞中纤连蛋白的产生的影响:单独的维生素D略微增加了纤连蛋白的产生。单独的EGCG减少了纤连蛋白的产生。维生素D和EGCG的组合显著减少了纤连蛋白的产生。

[0057] 图2显示了单独或组合的维生素D和EGCG孵育24小时后,在体外对成纤维细胞中胶原蛋白的产生的影响:单独的维生素D减少了胶原蛋白的产生。单独的EGCG减少了胶原蛋白的产生。维生素D和EGCG的组合显著减少了胶原蛋白的产生。维生素D加上EGCG的组合增加了胶原蛋白的减少。

[0058] 图3显示了在维生素D3(A)或EGCG(B)以不同的浓度存在下24小时后在培养的成纤维细胞中纤连蛋白的释放。对照=成纤维细胞培养18天后,然后是24小时的TGF- $\beta$ 1刺激,并在随后的24h添加空的新鲜培养基。

[0059] 图4显示了在维生素D3(A)或EGCG(B)以不同的浓度存在下24小时后在培养的成纤维细胞中胶原蛋白的释放。对照=成纤维细胞培养18天后,然后是24小时的TGF- $\beta$ 1刺激,并在随后的24h添加空的新鲜培养基。

[0060] 图5和6分别表示在维生素D3和EGCG的组合存在下24小时后在培养的成纤维细胞中纤连蛋白和胶原蛋白释放。对照=成纤维细胞培养18天后,然后是24小时的TGF- $\beta$ 1刺激,并在随后的24h添加空的新鲜培养基。

[0061] 在x-轴标签中,第一个数字(斜线之前)是指维生素D3的浓度ug/L,第二个数字(斜线之后)是指EGCG的浓度mg/L,例如5/3表示给予5ug/L的维生素D3和3mg/L的EGCG。

[0062] 图7显示了经治疗的和对照的患者组在基线处( $T_0$ )和在4个月研究期后( $T_1$ )的肌瘤(即子宫纤维瘤)体积。肌瘤的体积以 $\text{cm}^3$ 表示(平均值 $\pm$ SEM)。治疗组=维生素D+EGCG持续4个月;对照组=无治疗持续4个月。 $p$ -值 $\leq 0.05$ 被认为具有统计学显著性。\*显著性 $T_1$ 比 $T_0$ 。统计学检验=未配对t-检验。

[0063] 图8显示患有肌瘤的女性症状严重程度(SS)的平均评分。治疗组(维生素D+EGCG持续4个月);对照组(无治疗持续4个月); $T_0$ =基线; $T_1$ =4个月的研究期之后。 $p$ -值 $\leq 0.05$ 被认为具有统计学显著性。\*显著性 $T_1$ 比 $T_0$ 。统计学检验=未配对t-检验。

[0064] 图9显示患有肌瘤的女性生活质量(QoL)和症状严重程度(SS)的变化。数据以箱形图表示。A:生活质量(QoL)的变化。B:症状严重程度(SS)的变化。通过评估问卷中患者的反应,确定每组从 $T_0$ 到 $T_1$ 的变化之间的变化(即 $T_1$ 时的分数- $T_0$ 时的分数的差)。治疗组(维生素D+EGCG持续4个月);对照组(无治疗持续4个月)。维尔克松-曼-惠特尼检验(Wilcoxon-Mann-Whitney test)用于分析。 $p$ -值 $\leq 0.05$ 被认为具有统计学显著性。

[0065] 发明详述

[0066] 下面提供了在本申请中用于描述本发明的各种术语和表达的定义。应当理解,在本发明的一个以上方面或实施方式中使用的术语和表达的定义同样适用于这些术语和表达在其中出现的本文描述的本发明的任何方面或实施方式。无论在本申请中的何处(即哪部分)定义或讨论了这些术语,这同样适用。

[0067] 此外,虽然本申请提到了离散的实施方式,但应理解,任何实施方式及其中的特征可以与任何其他实施方式及其中的特征自由组合,即使没有对其效果的明确陈述。因此一个实施方式与另一个实施方式,或者任何一个实施方式中的一个或多个特征与任何其他实施方式中的一个或多个特征的这种组合,属于本领域技术人员所理解的本申请的公开内

容。

[0068] 在本申请中,单数(例如“一个”或“一种”)的使用可包括复数,除非另外明确说明。如本文所用,“一个或多个”是“至少一个”的同义词,并且旨在指代一种药剂或多于一种药剂的任何组合。如下文所用,单数“一个药剂”或“一种药剂”旨在指代如上定义的一种或多种药剂。当成分与不同于一种或多种药剂的附加药剂一起给药时,该附加药剂被定义为“其他药剂”。此外,术语“包括”以及诸如“包括了”和“包括的”之类的其他语法形式的使用不是限制性的。

[0069] 如本文所用,术语“包含”具有广泛的标准含义“包括”、“涵盖”或“含有”。它包括明确列举的一个或多个元素,并且还允许但不要求,存在其他或另一个未引用的一个或多个元素。除了本文所用的这种广泛含义之外,术语“包括”还涵盖限制性含义“由……组成”,根据该含义,仅存在明确列举的一个或多个元素,不存在其他一个或多个元素。此外,术语“包括”还包括“基本上由……组成”的含义,这意味着除了明确列举的那些之外,还可以存在额外一个或多个元素,前提是额外存在的一个或多个元素不会改变通过明确列举的一个或多个元素所实现的技术效果。

[0070] 如本文所用,术语“约”、“大约”及其同义词在涉及特定值时,例如一个范围的一个或多个端点,除了具体列举的值本身之外,还涵盖并公开了围绕具体列举的值的某种变化。这种变化可以例如由正常的测量可变性引起,例如通过技术人员已知的方法称重或分配各种物质。术语“约”、“大约”及其同义词应理解为涵盖和公开高于和低于指定的具体值的可变性范围,所述百分比值相对于具体列举值本身,如下所示。术语“约”可涵盖并公开 $\pm 5.0\%$ 、 $\pm 4.9\%$ 、 $\pm 4.8\%$ 、 $\pm 4.7\%$ 、 $\pm 4.6\%$ 、 $\pm 4.5\%$ 、 $\pm 4.4\%$ 、 $\pm 4.3\%$ 、 $\pm 4.2\%$ 、 $\pm 4.1\%$ 、 $\pm 4.0\%$ 、 $\pm 3.9\%$ 、 $\pm 3.8\%$ 、 $\pm 3.7\%$ 、 $\pm 3.6\%$ 、 $\pm 3.5\%$ 、 $\pm 3.4\%$ 、 $\pm 3.3\%$ 、 $\pm 3.2\%$ 、 $\pm 3.1\%$ 、 $\pm 3.0\%$ 、 $\pm 2.9\%$ 、 $\pm 2.8\%$ 、 $\pm 2.7\%$ 、 $\pm 2.6\%$ 、 $\pm 2.5\%$ 、 $\pm 2.4\%$ 、 $\pm 2.3\%$ 、 $\pm 2.2\%$ 、 $\pm 2.1\%$ 、 $\pm 2.0\%$ 、 $\pm 1.9\%$ 、 $\pm 1.8\%$ 、 $\pm 1.7\%$ 、 $\pm 1.6\%$ 、 $\pm 1.5\%$ 、 $\pm 1.4\%$ 、 $\pm 1.3\%$ 、 $\pm 1.2\%$ 、 $\pm 1.1\%$ 、 $\pm 1.0\%$ 、 $\pm 0.9\%$ 、 $\pm 0.8\%$ 、 $\pm 0.7\%$ 、 $\pm 0.6\%$ 、 $\pm 0.5\%$ 、 $\pm 0.4\%$ 、 $\pm 0.3\%$ 、 $\pm 0.2\%$ 、 $\pm 0.1\%$ 的可变性。术语“约”、“大约”及其同义词,就特定的列举值而言,可以包含并公开该确切的具体值本身,无论是否明确提及包含该确切的具体值;即使在没有明确指示这些术语包含特定的确切列举值的情况下,该确切的具体值仍然包括在由所述术语创建的变化范围内,因此被公开。

[0071] 如上所述,本发明涉及维生素D和如上定义的药剂例如EGCG用于控制/预防/治疗对象的纤维瘤的方法。在相关方面中,本发明涉及一种在有需要或有潜在需要的对象中控制/预防/治疗纤维瘤的方法,包括向所述对象给予维生素D和如上定义的药剂例如EGCG的步骤。在另一相关方面中,本发明涉及维生素D和如上定义的药剂例如EGCG在制备用于治疗/预防/控制对象的纤维瘤的药物中的用途。

[0072] 如本文所用,术语“对象”是指哺乳动物,优选人。对象可以是需要、潜在需要或怀疑需要预防/治疗/控制纤维瘤的。

[0073] 对象可以是需要治疗纤维瘤的。在这种情况下,通常会事先通过获得纤维瘤的诊断确定这种需求。在这种情况下,其中一种或多种病理状况的一个或多个诊断已经存在,可以实施如本文所述的本发明治疗现有病理(例如子宫纤维瘤),同时防止其至少一种症状(例如月经出血过量、痛经、慢性盆腔疼痛和压力症状,如肿胀感和肠紊乱)的发展。然而,还

考虑了如本文所述的本发明的主题可应用于怀疑有此需要的对象。这些患者可能处于发展此症状的风险中。例如,超重或肥胖对象、子宫内膜异位症或高血压阳性诊断的对象,以及有子宫纤维瘤家族史的对象或更普遍的更具有发展子宫纤维瘤风险的女性。

[0074] 因此,如本文所用,术语“治疗”或其语法相关变体如“疗法”、“正在治疗”等意指改善(甚至暂时地)涵盖但不要求完全消除病理状态或其至少一种症状。在最广泛的意义上,通过本文的医学用途和治疗方法治疗纤维瘤意指实现功能失调的纤维化组织至少部分恢复到其先前的功能状态。具体来说,目前意义上的治疗包括在已经发展了纤维化组织的器官中恢复适当的器官结构和功能。例如,在器官是子宫的情况下,治疗将包括减少纤维化组织中细胞外基质(ECM)蛋白质和成纤维细胞的增殖,以恢复功能性子宫组织。

[0075] 如本文所用,术语“纤维瘤”特别是指非癌性肌肉组织细胞和纤维性结缔组织在组织中发展的病症。这种纤维瘤可以从组织中的异常肌肉细胞发展而来。纤维瘤可以在常规检查中或通过以下任何一项或多项来诊断:X-射线、超声波或超声检查、磁共振成像、子宫输卵管造影、宫腔镜检查、活检、血液检测。如本文所用,“纤维瘤”优选为子宫纤维瘤。

[0076] 纤维瘤的大部分体积通常由纤连蛋白、胶原蛋白和/或蛋白聚糖组成。因此,纤维瘤的控制、治疗和/或预防可以通过纤连蛋白、胶原蛋白和/或蛋白聚糖的释放来测量。具体来说,保持大致恒定、减少、抑制和/或防止纤连蛋白、胶原蛋白和/或蛋白聚糖的释放是纤维瘤控制、治疗和/或预防的指示。

[0077] 这种保持大致恒定、减少、抑制和/或防止可以通过本领域已知的技术针对适当的对照来测量,包括检测和/或定量纤连蛋白、胶原蛋白和/或蛋白聚糖的任何已知方法,例如蛋白质印迹和酶免疫分析。

[0078] 适当的对照包括但不限于:健康对象、患有纤维瘤且未接受治疗的对象、患有纤维瘤且接受不同于本发明的治疗方法治疗的对象、患有纤维瘤且仅接受维生素D治疗的对象,患有纤维瘤且仅接受诸如EGCG的药剂治疗的对象。

[0079] 如本文所用,术语“子宫纤维瘤”、“子宫平滑肌瘤”和“肌瘤”可互换使用并且是指位于子宫中的如上定义的纤维瘤。这种纤维瘤肿瘤可以从子宫中的异常肌肉细胞发展而来,由于子宫的雌激素的影响,异常肌肉细胞迅速繁殖,增加ECM蛋白质(特别是纤连蛋白、胶原蛋白和/或蛋白聚糖)和成纤维细胞的数量,导致改变的病理功能。子宫纤维瘤可以在常规检查中或通过以下任何一项或多项来诊断:X-射线、经阴道或经腹超声或超声检查、磁共振成像、子宫输卵管造影、宫腔镜检查、子宫内膜活检、血液检测。通常,子宫纤维瘤的治疗可包括:手术、促性腺激素释放激素激动剂(GnRHa)、选择性孕酮受体调节剂(sPRM)、抗激素剂、激素、抗炎止痛剂和氨甲环酸,如上定义。子宫纤维瘤的任何此类治疗可以与根据本发明的维生素D和所述药剂组合使用。

[0080] 如本文所用,术语“前列腺增生”、“良性前列腺增生(BPH)”、“前列腺肿大”和“前列腺平滑肌瘤”是指位于前列腺中的如上定义的纤维瘤。例如,“前列腺增生”表示前列腺中细胞数量的增加和/或前列腺腺体大小的非癌性生长。前列腺增生可能导致细胞外基质(ECM)沉积增加,即纤连蛋白、胶原蛋白和/或蛋白聚糖的释放/水平增加。换言之,前列腺增生是一种前列腺纤维瘤。

[0081] 如本文所用,术语“纤维腺瘤”是指位于乳房中的如上定义的纤维瘤。优选地,它是良性人乳腺肿瘤,其特征在于末端导管单元的上皮和成纤维细胞基质成分的增殖,即纤连

蛋白、胶原蛋白和/或蛋白聚糖的释放/水平增加。换言之,纤维腺瘤是一种乳腺纤维瘤。

[0082] 如本文所用,术语“防止”或其语法相关变体如“预防”是指应用本文所述的医学用途和治疗方法来避免纤维瘤的可能、疑似或预期发生的情形。这种对纤维瘤的怀疑(即使在没有相应诊断的情况下)可能来自对象的病史,例如,如果对象先前患过纤维瘤。在这种情况下,可能存在合理的怀疑,即先前治疗过的纤维瘤可能会再次发生。这种对可能发生纤维瘤的怀疑(即使没有相应的诊断)也适用于有发展这种病症的风险的对象,例如,超重或肥胖的对象,子宫内膜异位症或高血压的阳性诊断的对象,以及有纤维瘤家族史的对象或更普遍的更具有发展子宫纤维瘤风险的女性。

[0083] 维生素D和一种或多种如上定义的药剂或组合物也可用于在长时间内(例如1个月以上、4个月左右、6个月以上、1年以上或更多年)控制纤维瘤的大小和/或生长。例如当肌瘤为无症状或小尺寸以至于没有指定干预时,此类情况可能适用,并建议患者通过常规专科医师访视和回声分析来控制肌瘤的大小和生长。

[0084] 如本文所用,术语“维生素D”涵盖并公开了所有通常称为维生素D的物质,包括具有化学式 $C_{27}H_{44}O$ =维生素D3(胆钙化醇)、 $C_{28}H_{44}O$ =维生素D2(麦角钙化醇)、 $C_{27}H_{44}O_2=25(OH)$ 维生素D(骨化二醇)、 $C_{27}H_{44}O_3=1,25$ 二羟基-维生素D(骨化三醇)的物质。优选地,维生素D指的是维生素D3。

[0085] 维生素D的来源包括膳食摄入,如鱼油、多脂鱼、强化食品和维生素补充剂。

[0086] 如本文所用,术语“维生素B”涵盖并公开了所有通常称为维生素B的物质,包括但不限于:硫胺素(维生素B1)、核黄素、烟酸、泛酸、生物素、维生素B6、叶酸、维生素B12(氰钴维生素)。优选地,维生素B指的是维生素B6。维生素B6反过来又涵盖并公开了所有通常称为维生素B6的物质,例如吡哆醇(PN)、5'-磷酸吡哆醇(P5P)、吡哆醛(PL)、5'-磷酸吡哆醛(PLP)、吡哆胺(PM)、5'-磷酸吡哆胺(PMP)、4-吡哆酸(PA)、吡硫醇。

[0087] 维生素B6的来源包括植物或动物来源的食物,例如谷物、全麦面粉、扁豆、牛奶、鳄梨、干果、辣椒、菠菜、西兰花、青豆、胡萝卜、土豆、香蕉、葵花籽、芹菜籽、内脏、金枪鱼、甲壳类、鲑鱼、栗子、鸡蛋、大豆、蘑菇、巧克力、芳香草、辣椒粉、辣椒、绿叶蔬菜、啤酒酵母、鱼、豌豆。

[0088] 如本文所用,术语“EGCG”涵盖并公开了所有通常称为EGCG的物质,包括具有化学式 $C_{22}H_{18}O_{11}$ 的物质,例如:表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)、表没食子儿茶素-3-没食子酸酯、(-)-表没食子儿茶素-3-没食子酸酯、(-)-没食子儿茶素-3-0-没食子酸酯(GCG)、(-)-没食子儿茶素-3-没食子酸酯。

[0089] 如本文所用,术语“表儿茶素没食子酸酯”(ECG)涵盖并公开了所有通常称为表儿茶素没食子酸酯的物质,包括具有化学式 $C_{22}H_{18}O_{10}$ 的物质,例如:(-)-表儿茶素-3-没食子酸酯、(-)-儿茶素-3-没食子酸酯(CG)和(+)-儿茶素-3-没食子酸酯(CG)。

[0090] 如本文所用,术语“儿茶素”涵盖并公开了所有通常称为儿茶素的物质,包括具有化学式 $C_{15}H_{14}O_6$ 的物质,例如:儿茶素、(+)-儿茶素(C)、表儿茶素、(-)-表儿茶素(EC)。

[0091] 如本文所用,术语“没食子儿茶素”涵盖并公开了所有通常称为没食子儿茶素的物质,包括具有化学式 $C_{15}H_{14}O_7$ 的物质,例如:没食子儿茶素、(+)-没食子儿茶素(GC)、表没食子儿茶素、(-)-表没食子儿茶素(EGC)。

[0092] EGCG、ECG、儿茶素和没食子儿茶素包含在多种食物中,其中任何一种或任何组合

可以在本发明中用作EGCG、ECG、儿茶素和/或没食子儿茶素的来源。具体地,在本发明中,EGCG、ECG、儿茶素和/或没食子儿茶素的来源可以是:绿茶、白茶、乌龙茶、红茶、角豆粉、黑莓、苹果、覆盆子、山核桃、榛子、开心果、蓝莓、李子、桃子、鳄梨、葡萄、草莓、可可、巧克力、葡萄酒、水果、蔬菜和/或洋葱。角豆粉可以从长角豆(*Ceratonia*)植物的果实中获得。

[0093] 优选地,EGCG、ECG、儿茶素和/或没食子儿茶素的来源是茶,特别是绿茶、白茶、乌龙茶和红茶。任何茶树均可用作本发明中EGCG、ECG、儿茶素和/或没食子儿茶素的来源。优选地,使用野茶树(*Camellia sinensis*)。茶树的任何部分或整个植物都可以用作本发明中EGCG、ECG、儿茶素和/或没食子儿茶素的来源。优选地,使用茶树的叶子。优选地,野茶树的叶子被用作本发明中EGCG、ECG、儿茶素和/或没食子儿茶素的来源。

[0094] 茶叶可包含不同量的EGCG、ECG、儿茶素和/或没食子儿茶素,特别是从30重量%至95重量%,例如30重量%、45重量%、50重量%和95重量%。此类量可通过滴定测定,并取决于原材料的纯度和加工。

[0095] 优选地,EGCG、ECG、儿茶素和/或没食子儿茶素在本发明中作为茶干提取物使用,优选为绿茶干提取物。

[0096] 在一个实施方式中,本发明涉及维生素D和EGCG的组合。

[0097] 在一个优选实施方式中,本发明涉及维生素D、EGCG和维生素B6的组合。

[0098] 在一个实施方式中,本发明涉及各自的浓度:

[0099] 1片组合物

[0100] 绿茶提取物:333.35mg(表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)150mg中滴度(Tit.)45%)

[0101] 维生素B6 5mg

[0102] 维生素D 25 $\mu$ g

[0103] 在一个实施方式中,本发明涉及每日的摄入量:

[0104] 绿茶提取物:666.70mg(表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)300mg中滴度(Tit.)45%)

[0105] 维生素B6 10mg

[0106] 维生素D 50 $\mu$ g对应于2.000IU

[0107] 本发明的物质,尤其是维生素D、维生素B、EGCG、ECG、儿茶素和没食子儿茶素可以以任何盐、溶剂化物、立体异构、两性离子、互变异构和/或同位素的形式根据本发明存在和使用。

[0108] 本发明的物质的盐优选为药学上可接受的。合适的药学上可接受的盐包括通过本发明的试剂与无机酸(例如盐酸、氢溴酸、硫酸或磷酸)或有机酸(例如乙酸、丙酸、琥珀酸、苯甲酸、磺胺酸、2-乙酰氧基苯甲酸、肉桂酸、扁桃酸、水杨酸、乙醇酸、乳酸、草酸、苹果酸、马来酸、丙二酸、富马酸、酒石酸、柠檬酸、对甲苯磺酸、甲磺酸、乙磺酸或萘磺酸)的成盐作用而获得的常规的无毒盐。关于合适的药用盐的综述参见[Berge S.M.等, *J.Pharm.Sci.*1977,66,1-19;Gould P.L.*Int.J.Pharm* 1986,33,201-217;Bighley等,《药学技术的百科全书》(*Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*)、马塞尔·德克尔公司,纽约1996,卷13,页453-497;以及Remington的“药学的科学与实践”(The Science and Practice of Pharmacy),Lippincott Williams和Wilkins,2000]。

[0109] 此外,药学上可接受的碱加成盐可以是与合适的无机盐或有机碱例如三乙胺、乙醇胺、三乙醇胺、二环己胺、氢氧化铵、吡啶形成的。如本文所用,术语“无机碱”具有如本领域普通技术人员所理解的普通含义,并且广义地指可以充当质子受体的无机化合物。如本文所用,术语“有机碱”具有如本领域普通技术人员所理解的普通含义,并且广义地指可以充当质子受体的有机化合物。

[0110] 其他合适的药学上可接受的盐包括药学上可接受的碱金属或碱土金属盐,例如钠盐、钾盐、钙盐或镁盐。

[0111] 本发明涉及本发明物质的盐的所有可能的化学计量和非化学计量形式的用途。

[0112] 此外,本发明的物质可以以非溶剂化形式存在,也可以与药学上可接受的溶剂例如水、EtOH等的溶剂化形式存在。

[0113] 本发明的某些物质,特别是EGCG、ECG、儿茶素和没食子儿茶素,可以立体异构形式存在(例如,它们可以包含一个或多个不对称碳原子)。本发明物质的所有立体异构体,特别是EGCG、ECG、儿茶素和没食子儿茶素,可用于根据本发明用于治疗纤维瘤。单独的立体异构体(对映异构体和非对映异构体)及其混合物的使用包括在本发明的范围内。可以使用具有手性固定相的柱的制备型HPLC分离外消旋混合物以得到它们的单独对映异构体,或者使用本领域技术人员已知的方法拆分得到单独的对映异构体。

[0114] 本发明的物质可以以两性离子形式存在,所有这些物质都可以用于根据本发明治疗纤维瘤。同样,应当理解,本发明的物质可以互变异构形式存在并且它们的用途也包括在本发明的范围内。

[0115] 本发明还包括本发明的物质所有合适的同位素变体的用途。本发明的物质的“同位素变体”定义为其中至少一个原子被具有相同原子序数但原子质量不同于通常在自然界中发现的原子质量的原子所替代的物质。可纳入本发明物质的同位素的实例包括同位素例如 $^2\text{H}$ 、 $^3\text{H}$ 、 $^{13}\text{C}$ 、 $^{14}\text{C}$ 、 $^{15}\text{N}$ 、 $^{17}\text{O}$ 、 $^{18}\text{O}$ 、 $^{31}\text{P}$ 、 $^{32}\text{P}$ 、 $^{35}\text{S}$ 、 $^{18}\text{F}$ 和 $^{36}\text{Cl}$ 。本发明的某些同位素变体,例如,放射性同位素例如 $^3\text{H}$ 或 $^{14}\text{C}$ 被纳入其中的那些,可用于药物和/或底物组织分布研究。此外,用同位素(如氘 $^2\text{H}$ )取代可提供某些由于更高的代谢稳定性而产生的治疗优势。本发明物质的同位素变体通常可以通过常规方法制备,例如通过说明性方法或使用合适的试剂的适当的同位素变体通过下文实施例中描述的制备方法。

[0116] 如本文所用,术语“组合”通常是指将如上定义的药剂与至少维生素D偶合,用以在给定的治疗方案内将它们共同给药至对象。给定的治疗方案可以包括在预定的时间过程中多次、重复地共同给药维生素D和如上定义的药剂,例如超过1个月、超过2个月、超过3个月、超过4个月、超过5个月或超过6个月或更长时间,优选至少4个月或约4个月的时间过程。如上定义的药剂和至少维生素D的共同给药可以每天重复多次,例如一次、两次、3次、4次、5次或更多次,优选每天重复约两次。即,维生素D和如上定义的药剂的共同给药在预定时间长度内重复,并且在该预定时间长度内共同给药的情况的总和构成预防或治疗方案。

[0117] 维生素D和药剂的偶合,例如如上由这两种物质“组合”定义的,不需要是物理的,也不需要暗示给药的同时性。因此,如上文所定义的维生素D和药剂或其组合的给药涵盖并公开了关于各物质的给药途径和时间的多种可能性。涵盖和公开的是例如维生素D和如上定义的药剂的偶合,用于通过相同途径同时给药、通过不同途径同时给药、通过相同途径按时间顺序交错(即非同时)给药或通过不同途径按时间顺序交错(即非同时)给药。可以以任

何方式组合本文所述的任何给药途径,尽管通常优选该途径是口服。尤其优选的是通过口服途径同时给予维生素D和如上定义的药剂,例如,当维生素D和如上定义的药剂存在于组合物中时,例如,在本文所述的发明组合物之一中,例如,以片剂、硬胶囊、软凝胶胶囊或粉剂的形式,例如以小袋的形式,用于摄取。

[0118] 通过相同途径同时给予维生素D和如上定义的药剂可能例如采取维生素D和如上定义的药剂被包含于同一物理组合物中,将该组合物向对象给予(例如被摄取)使得维生素D和如上定义的药剂通过相同途径(例如通过口服途径)同时进入体内。然而,维生素D和如上定义的药剂的偶合用以在给定的共同给药中交错的(即非同时的)给药也是可能的,并且也涵盖在本发明中并以术语“组合”公开。上述维生素D和药物的给药顺序不是特别重要;维生素D和如上定义的药剂按时间顺序交错(即非同时)给药可能涵盖如上定义的药剂的在前给药和维生素D的随后给药,或维生素D的在前给药和如上定义的药剂的随后给药。例如,通过相同途径交错(即非同时)给予维生素D和如上定义的药剂可以采取维生素D的初始口服给药形式,随后通过口服给药如上定义的药剂;以这种方式偶合的维生素D和如上定义的药剂落入本发明范围内,并在本文所用“组合”的含义内并由“组合”所公开。相反地,通过不同途径交错(即非同时)给予维生素D和如上定义的药剂可以例如采取维生素D的初始口服给药形式,随后通过例如栓剂给予如上定义的药剂;以这种方式偶合的维生素D和如上定义的药剂也落入本发明范围内,并在本文所用“组合”的含义内并由“组合”所公开。

[0119] 如本文所用,术语“非同时”是指以按时间顺序交错的方式,即在不同时间给予维生素D和如上定义的药剂。给药是指在更广泛的治疗或预防方案中维生素D和如上定义的药剂各自共同给药。例如,一个实施方式需要在给予对象维生素D之前先给予如上定义的药剂。另一个实施方式需要在给予对象维生素D之后向对象给予如上定义的药剂。应当理解,这种非同时给药表示在整个治疗方案的更广泛的背景下,维生素D和如上定义的药剂共同给药的任何相应实例。如本文所述,无论给予顺序如何,例如是首先给予上文定义的药剂和其次给予维生素D,或反之亦然,各自的组合给药可以通过相同或不同的途径。

[0120] 在另一个实施方式中,将维生素D和如上定义的药剂同时给予对象。如上所述,维生素D和如上定义的药剂的同时给药可以通过相同或不同的途径实现。最典型地,通过相同途径,优选通过口服给药途径实现维生素D和如上定义的药剂的同时给药将是最有利和方便的。这通常是通过将维生素D和如上定义的药剂组合以在同一组合物中给药来实现的,例如以片剂的形式,包括但不限于泡腾片、粉剂(特别是以小袋形式)、硬胶囊、软凝胶胶囊、糖浆、扁囊剂、糖锭或锭剂。

[0121] 如果共同给药是按时间顺序交错的(即非同时),则对维生素D和如上定义的药剂给药之间的持续时间没有特别限制,但是当给予维生素D和如上定义药剂之间任何间隔短暂时(接近同时,例如分钟级的),通常是最有效和方便的。在某些情况下,这样的间隔可能会在各给药之间延长至约一个小时或几个小时。然后,在某些情况下,如果维生素D和如上定义的药剂的共同给药按时间顺序错开,在某些情况下给药之间的间隔可能长达12小时。然而,即使在维生素D和如上定义的药剂以时间顺序交错的方式给药的情况下,无论是通过相同还是不同的途径,术语“组合”是指给定任何方案内维生素D和如上定义的药剂的共同给药将会被完成,即,到维生素D和如上定义的药剂的各自下一次共同给药之前(其本身可以再次同时或按时间顺序以相同或不同的途径交错以对应于不同于先前共同给药的时间

顺序交错和途径),两种物质都将被给予,在相同的方案中接着发生。

[0122] 如本文所用,术语“组合物”涵盖并公开任何包含各自列举的物质(或由其组成或基本上由其组成)的物理实体,例如包含或由或基本上由维生素D和如上定义的药剂组成。组合物的物理形式不受限制。例如,术语“组合物”涵盖并公开了一种粉末,其中所述列举的物质各自以粉末形式存在。作为另一示例,术语“组合物”还涵盖并公开了一种液体溶液,其中所述列举的物质各自以可溶性形式存在。作为另一示例,术语“组合物”还涵盖并公开了一种乳液,其中存在列举的物质。作为另一示例,术语“组合物”还涵盖并公开了一种悬浮液,其中存在列举的物质。作为另一示例,术语“组合物”还涵盖并公开了混合物,其中如上定义的药剂呈一种形式,例如,固体,如粉末,而维生素D是另一种形式,例如液体。特别地,术语“组合物”可以是如下文定义的“药物组合物”,并且可以配制用于期望的给药途径。如本文所用和公开的,术语“组合物”也可以是适合于口服递送的组合物,例如以片剂形式,包括但不限于泡腾片或多层片剂、粉剂(例如以小袋形式)、硬胶囊、软凝胶胶囊、糖浆、扁囊剂、糖锭或锭剂、软锭剂(例如软糖锭剂)、药膏或液体制剂的形式。在本发明的某些特别优选的实施方式中,包含维生素D和如上定义的药剂的“组合物”可以是软凝胶胶囊的形式。在本发明的某些特别优选的实施方式中,包含维生素D和如上定义的药剂的“组合物”可以是粉剂的形式。术语“组合物”也可以是适合通过非口服途径递送的组合物,例如以栓剂、片剂、硬胶囊、软凝胶胶囊、霜、凝胶、贴剂或液体的形式。组合物的其他剂型以及提及的给药途径在下文中列出。

[0123] 在本文所述的医学用途和治疗方法中,预期维生素D和如上定义的药剂可以与一种或多种额外物质组合给药。

[0124] 例如,维生素D和如上定义的药剂可以与维生素B6来源组合给药。根据本文列出的医学用途和治疗方法,将维生素B6的来源与维生素D和上述定义的药剂结合起来给予,可能对纤维瘤的情况可能特别有利。维生素B6的摄入有助于调节激素活性,这被认为是子宫纤维瘤的危险因素。维生素B6的这种来源指的是一组化学相似的化合物:例如吡哆醇(PN)、5'-磷酸吡哆醇(P5P)、吡哆醛(PL)、5'-磷酸吡哆醛(PLP)、吡哆胺(PM)、5'-磷酸吡哆胺(PMP)、4-吡哆酸(PA)、吡硫醇。

[0125] 例如,本文所述的医学用途和治疗方法的一个实施方式可能需要组合给药约150mg EGCG和约25 $\mu$ g维生素D。本文所述的医学用途和治疗方法的另一个实施方式可能需要组合给药约150mg EGCG、约25 $\mu$ g维生素D以及5mg维生素B6。

[0126] 作为另一个示例,维生素D和如上定义的药剂在本文所述的医学用途和治疗方法中可能也与一种或多种多酚组合给药。根据本文列出的医学用途和治疗方法,包含一种或多种多酚用于与维生素D和上述定义的药剂组合给药,可能对纤维瘤的情况特别有利。例如,多酚可以从可可、橄榄油、葡萄和石榴中提取。已知多酚对纤维瘤有积极作用;橄榄油多酚,例如羟基酪醇,以其强大的抗氧化和抗炎作用而闻名。

[0127] 因此,在一个实施方式中,本发明组合物是药物组合物。本发明的组合物,包括药物组合物,还可包含至少一种药学上可接受的成分。虽然本发明组合物,包括药物组合物,本身可以给予对象,但应理解,在维生素D和如上定义的药剂之外添加一种或多种药学上可接受的成分可能有利于使组合物更适合通过给定的预定途径直接给予对象。因此,“药物组合物”可以被配制除了维生素D和如上定义的药剂之外包含药学上可接受的成分,其有助

于该组合物更适合或特别适合通过给定的途径向对象直接给予,无需进一步检查。这种适用性可能涉及许多不同的给药途径,包括口服、肠胃外、经粘膜、阴道或阴道周围、局部、透皮或膀胱内,如下文进一步阐述。当存在时,作为非限制性说明,这些成分以及它们对包括药物组合物和补充剂在内的本发明组合物对于不同给药途径的适用性的有利影响在下文列出。

[0128] a) 适合口服给药的制剂

[0129] 适合口服给药的组合物可以以分散的固体剂量单位的形式制备、包装或售卖,包括小袋(例如小袋中的粉剂)、片剂、硬或软胶囊、扁囊剂、糖锭或锭剂,每个含有预定量的维生素D和本文中指定的药剂。适合口服给药的其他制剂包括粉状或颗粒状制剂、水性或油性悬浮液、水性或油性溶液或乳液。如本文所用,“油性”液体包括含碳液体分子,其表现出的极性比水小。

[0130] 特别优选的是,本发明组合物的分散固体剂量单位是以粉末形式,尤其以小袋形式存在。如本文所用,术语“小袋”是指包含本发明组合物的密封袋。小袋可由纸、蜡纸、增塑纸或纸和箔的组合制成。制成小袋的材料优选不渗透环境水分和其他潜在的大气污染物,从而通过密封所述小袋,包含在其中的粉末形式的本发明组合物在使用前保持自由流动的形式。

[0131] 包含任何上述浓度的维生素D和如上定义的药剂的片剂可以例如通过将维生素D和如上定义的药剂与一种或多种额外成分压制或模制而制成。可以通过在合适的装置中压制自由流动形式如粉末或颗粒制剂的维生素D和如上定义的药剂制备压制片剂,任选地与粘合剂、润滑剂、赋形剂、表面活性剂和分散剂中的一种或多种混合。模制片剂可以通过例如在合适的装置中模制维生素D和如上定义的试剂、运载体和至少足以润湿混合物的液体来制备。

[0132] 用于制造片剂的可接受的赋形剂包括但不限于惰性稀释剂、制粒剂和崩解剂、粘合剂和润滑剂。已知的分散剂包括但不限于马铃薯淀粉和羟基乙酸淀粉钠。已知的表面活性剂包括但不限于月桂基硫酸钠。已知的稀释剂包括但不限于碳酸钙、碳酸钠、乳糖、微晶纤维素、磷酸钙、磷酸氢钙和磷酸钠。已知的造粒剂和崩解剂包括但不限于玉米淀粉和海藻酸。已知的粘合剂包括但不限于明胶、阿拉伯胶、预胶化玉米淀粉、聚乙烯吡咯烷酮和羟丙基甲基纤维素。已知的润滑剂包括但不限于硬脂酸镁、硬脂酸、二氧化硅和滑石。

[0133] 片剂可以是未包衣的或者它们可以使用已知方法包衣以实现在对象的胃肠道中的延迟崩解,从而提供维生素D和如上定义的药剂的持续释放和吸收。作为示例,例如单硬脂酸甘油酯或二硬脂酸甘油酯的材料可用于包衣片剂。片剂还可包含甜味剂、调味剂、着色剂、防腐剂或这些的一些组合以提供有吸引力且可口的制剂。

[0134] 包含维生素D和如上定义的药剂的硬胶囊可以使用生理学可降解的组合物(例如明胶或纤维素衍生物)制备。这种硬胶囊包含维生素D和如上定义的药剂,并且可以进一步包含额外成分,包括例如惰性固体稀释剂,例如碳酸钙、磷酸钙或高岭土。

[0135] 包含维生素D和如上定义的药剂的软明胶胶囊可以使用生理学可降解组合物(例如明胶)与作为软明胶壳的基本成分的增塑剂(即甘油)组合来制备。软明胶胶囊可能含有液体或半固体溶液、悬浮液或微乳液预浓缩物。软胶囊填充物包含维生素D和如上定义的试剂,其可以与水或油介质混合,例如花生油、液体石蜡、橄榄油、大豆油、葵花油、卵磷脂,例

如大豆卵磷脂或向日葵卵磷脂、中链甘油三酯、聚甘油油酸酯、蜂蜡、脂肪酸的甘油单酯和甘油二酯,或上述任何一种的组合。

[0136] 特别适合口服给药的液体制剂可以以液体形式或以在摄入前用水或另一种合适的载剂重建的干产品形式制备、包装和销售。

[0137] 液体悬浮液可以使用常规方法制备以实现一种或多种活性成分在水性或油性载剂中的悬浮。水性载剂包括例如水和等渗盐水。油性载剂包括例如杏仁油、油性酯、乙醇、植物油(如花生油、橄榄油、芝麻油或椰子油)、分馏植物油和矿物油(如液体石蜡)。液体悬浮液还可包含一种或多种额外成分,包括但不限于悬浮剂、分散剂或润湿剂、乳化剂、缓和剂、防腐剂、缓冲剂、盐、调味剂、着色剂和甜味剂。油性悬浮液还可包括增稠剂。已知的悬浮剂包括但不限于山梨糖醇糖浆、氢化食用脂肪、海藻酸钠、聚乙烯吡咯烷酮、黄蓍胶、阿拉伯树胶和纤维素衍生物,例如羧甲基纤维素钠、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素。已知的分散剂或润湿剂包括但不限于天然存在的磷脂,如卵磷脂,环氧烷与脂肪酸、与长链脂肪醇、与衍生自脂肪酸和己糖醇的偏酯、或与衍生自脂肪酸和己糖醇酐的偏酯的缩合产物(例如,分别为聚氧乙烯硬脂酸酯、十七乙烯氧十六醇、聚氧乙烯山梨糖醇单油酸酯和聚氧乙烯脱水山梨糖醇单油酸酯)。已知的乳化剂包括但不限于卵磷脂和阿拉伯胶。已知的防腐剂包括但不限于对羟基苯甲酸甲酯、乙酯或正丙酯、抗坏血酸和山梨酸。已知的甜味剂包括例如甘油、丙二醇、山梨糖醇、蔗糖和糖精。用于油性悬浮液的已知增稠剂包括例如蜂蜡、硬石蜡和鲸蜡醇。

[0138] 可以使用已知方法制备适用于本发明的组合物的粉状和粒状制剂,例如药物组合物。此类制剂可直接向对象给药,用于例如形成小袋或片剂、填充胶囊、或通过向其中添加水性或油性载剂来制备水性或油性悬浮液或溶液。这些制剂中的每一种还可包含分散剂或润湿剂、悬浮剂和防腐剂中的一种或多种。这些制剂中还可以包括额外的赋形剂,例如填充剂和甜味剂、调味剂或着色剂。

[0139] 组合物也可以以水包油乳液或油包水乳液的形式制备、包装或销售。油相可以是植物油如橄榄油或花生油,矿物油如液体石蜡,或这些的组合。此类组合物还可包含一种或多种乳化剂,例如天然存在的树胶(例如阿拉伯树胶或黄蓍胶)、天然存在的磷脂(例如大豆或卵磷脂)、衍生自脂肪酸和己糖醇酐的酯或偏酯(例如脱水山梨糖醇单油酸酯)以及此类偏酯与环氧乙烷的缩合产物,例如聚氧乙烯脱水山梨糖醇单油酸酯。这些乳液还可包含额外成分,包括例如甜味剂或调味剂。

[0140] 用化学组合物浸渍或涂覆材料的方法是本领域已知的,包括但不限于将化学组合物沉积或结合到表面上的方法、在材料合成期间将化学组合物纳入材料结构中的方法(例如用生理可降解材料),以及将水性或油性溶液或悬浮液吸收到吸收性材料中的方法,随后干燥或不干燥。

[0141] b) 适合肠胃外给药的制剂

[0142] 对于肠胃外给药,包含维生素D和如上定义的药剂的组合物可以配制用于注射或输注,例如静脉内、肌肉内或皮下注射或输注,或以推注剂量和/或连续输注给药。可以使用在油性或水性载剂中的悬浮液、溶液或乳液,任选地包含其他试剂,例如悬浮剂、稳定剂和/或分散剂,例如上述那些。

[0143] 通过与可接受的运载体例如无菌水或无菌等渗盐水一起配制,可以使包含维生素

D和如上定义的药剂的组合物特别适合肠胃外给药。此类制剂可以以适合于推注给药或连续给药的形式制备、包装或销售。可注射制剂可以以单位剂型制备、包装或销售,例如在安瓿、可压碎或其他、或在含有防腐剂的多剂量容器中。特别适合肠胃外给药的组合物包括但不限于悬浮液、溶液、油性或水性载剂中的乳液、糊剂和可植入的缓释或生物可降解制剂。此类组合物还可包含一种或多种额外成分,包括但不限于悬浮剂、稳定剂或分散剂。在特别适合肠胃外给药的组合物中的一个实施方式中,活性成分以干燥(例如粉末或颗粒)形式提供,用来以合适的载剂(例如无菌无热原水)重建,然后将重建的组合物肠胃外给药。

[0144] 适用于本发明的组合物可以以无菌可注射水性或油性悬浮液或溶液的形式制备、包装或出售。该悬浮液或溶液可以根据本领域已知技术配制,并且除了一种或多种活性成分之外,还可以包含额外成分,例如本文所述的分散剂、润湿剂或悬浮剂。此类无菌可注射组合物可使用无毒、肠胃外可接受的稀释剂或溶剂例如水或1,3-丁二醇制备。其他可接受的稀释剂和溶剂包括但不限于林格氏溶液、等渗氯化钠溶液和固定油(例如合成甘油单酯或甘油二酯)。其他通常可肠胃外给药的制剂包括包含微晶形式、脂质体制剂中的活性成分,或作为可生物降解聚合物系统的组分的那些制剂。用于持续释放或植入的组合物可包含可接受的聚合物或疏水材料,例如乳液、离子交换树脂、微溶聚合物或微溶盐。

#### [0145] c) 适合经粘膜给药的制剂

[0146] 可以配制适合经粘膜给药的包含维生素D和如上定义的药剂的组合物。制剂可包括任何适用于粘膜组织施用的物质或剂量单位。例如,所选择的活性剂可以以粘性片剂或贴剂形式颊粘膜给药,通过将固体剂型置于舌下进行舌下给药,通过将固体剂型置于舌上进行向舌给药,作为液滴鼻(内)给药或鼻喷雾剂、鼻非气雾剂液体制剂或鼻干粉剂,置于直肠内或直肠附近(“经直肠”制剂),或作为栓剂、软膏剂等给药于尿道。

#### [0147] d) 适合阴道给药或阴道周围给药的制剂

[0148] 可以配制适合阴道给药或阴道周围给药的包含维生素D和如上定义的药剂的组合物。为此,合适的剂型可包括阴道栓剂、乳膏、软膏、液体制剂、子宫托(pessaries)、棉条、凝胶、糊剂、泡沫或喷雾剂。用于阴道或阴道周围递送的栓剂、乳膏、软膏、液体制剂、子宫托、棉条、凝胶、糊剂、泡沫或喷雾剂包含治疗有效量的所选一种或多种活性剂和一种或多种适用于阴道或阴道周围给药的常规无毒运载体。本发明的阴道或阴道周围形式可以使用常规工艺制造,如在前述Remington的《药学的科学与实践》(The Science and Practice of Pharmacy)中所公开的。阴道或阴道周围剂量单位可制成迅速崩解或在数小时内崩解。完全崩解的时间可在约10分钟至约6小时的范围内,例如小于约3小时。

#### [0149] e) 适合局部制剂的制剂

[0150] 可以配制适合局部给药的包含维生素D和如上定义的药剂的组合物。为此,合适的剂型可以包括任何适用于身体表面施用的剂型,并且可以包括例如软膏、乳膏、凝胶、洗剂、溶液、糊剂等,和/或可以制备成含有脂质体、胶束和/或微球。在某些实施方式中,本文的局部制剂是软膏、乳膏和凝胶。

#### [0151] f) 适合透皮给药的制剂

[0152] 可以配制适合透皮给药的包含维生素D和如上定义的药剂的组合物。如本领域技术人员已知的,透皮给药涉及通过化合物经由皮肤通道进入患者的体循环来递送化合物。这可能会受到例如透皮贴剂或离子电渗疗法(iontophoresis)设备的影响。除了维生素D和

如上定义的药剂之外的其他组分也可以掺入透皮贴剂中。例如,组合物和/或透皮贴剂可以用一种或多种防腐剂或抑菌剂配制,包括但不限于羟基苯甲酸甲酯、羟基苯甲酸丙酯、氯甲酚、苯扎氯铵等。用于局部给药维生素D和如上定义的药剂的本发明组合物的剂型可包括乳膏、喷雾、洗剂、凝胶、软膏、滴眼剂、滴鼻剂、滴耳剂等。在这样的剂型中,本发明组合物的成分可以与例如作为防腐剂的1%或2% (重量/重量) 苯甲醇、乳化蜡、甘油、棕榈酸异丙酯、乳酸、纯水和山梨糖醇溶液混合,以形成白色、光滑、均匀、不透明的乳膏或洗剂。此外,组合物可包含聚乙二醇400。它们可与例如作为防腐剂的2% (重量/重量) 苯甲醇、白凡士林、乳化蜡和tenox II (丁基化羟基茴香醚、没食子酸丙酯、柠檬酸、丙二醇) 混合以形成软膏。绷带材料例如纱布的编织垫或卷可以用溶液、洗剂、乳膏、软膏或其他此类形式的组合物浸渍,也可以用于局部给药。组合物也可以使用透皮系统局部给药,例如丙烯酸基聚合物粘合剂和树脂交联剂之一用组合物的浸渍并层压到防渗透基材。

[0153] 合适的皮肤接触粘合剂材料的例子包括但不限于聚乙烯、聚硅氧烷、聚异丁烯、聚丙烯酸酯、聚氨酯等。或者,含有药物的储库和皮肤接触粘合剂是分开的不同层,粘合剂在储库下方,在这种情况下,储库可以是如上所述的聚合物基质,或者是液体或水凝胶储库,或者采取一些其他形式。

[0154] g) 适合膀胱内给药的制剂

[0155] 术语膀胱内给药在本文中以其常规意义使用,意指将药物直接递送到膀胱中。合适的膀胱内给药方法可以在例如美国专利号6,207,180和6,039,967中找到。

[0156] 维生素D和如上定义的药剂也可以根据本文所述的医学用途和治疗方法以包含维生素D和如上定义的药剂的补充剂的形式给予。

[0157] 应当理解,本文描述的用途不需要满足任何监管要求,例如用于药物或补充剂的定义。优选地,本文所述的用途是非治疗性的。

[0158] 如本文所用,术语“补充剂”或更通常的“组合物”是指优选意向将组合物的任意一种或多种如上定义的成分补充给饮食中缺少这类成分或在其他方面缺乏此类成分的对象,和/或诱导有益的健康效果,例如通过预防、控制和/或治疗任何如上定义的病状、紊乱或症状。优选地,将补充剂配制为经口给药,例如上述的药丸、胶囊、片剂或液体。

[0159] 作者已经发现,提供本发明的组合物中某个最小量的维生素D和如上定义的药剂可以有利于确保在合理的给药次数中可以实现所需的治疗或预防效果。通常,通过每天给药总计多达约300mg的总EGCG和约50 $\mu$ g的总维生素D可以实现成功治疗或预防纤维瘤。然而,从任何这种重复给药对患者生活质量的影响的角度来看,确保组合物中最小量的维生素D和如上定义的药剂从而相应地减少到达给定目标量的这种维生素D和如上定义的药剂(例如如上所述的目标量的维生素D和如上定义的药剂)的所需每日给药次数可能是有利的。

[0160] 因此,本文所述的医学用途和治疗方法可包括在一次组合给药中(例如以片剂或以粉末形式,例如以小袋提供)向对象给予多达:约300mg如上定义的药剂和50 $\mu$ g维生素D、约150mg如上定义的药剂和25 $\mu$ g维生素D、约100mg如上定义的药剂和20 $\mu$ g维生素D、约75mg如上定义的药剂和17.5 $\mu$ g维生素D、约50mg如上定义的药剂和10 $\mu$ g维生素D、41.25mg如上定义的药剂和6.9 $\mu$ g维生素D、约5mg如上定义的药剂和1 $\mu$ g维生素D。

[0161] 本文所述医学用途和治疗方法的一个实施方式还可包括在任何一次给药中(例如

在任何一次组合给药中)向对象给予约300mg如上定义的药剂和50 $\mu$ g维生素D,或150至300mg如上定义的药剂和25-50 $\mu$ g维生素D。本文所述医学用途和治疗方法的一个实施方式还可包括在任何一次给药中(例如在任何一次组合给药中)向对象给予约5至1000mg如上定义的药剂和1-100 $\mu$ g维生素D。本文所述医学用途和治疗方法的另一个实施方式还可包括在任何一次给药中(例如在任何一次组合给药中)向对象给予约41.25mg如上定义的药剂和6.9 $\mu$ g维生素D。

[0162] 在一个实施方式中,如果维生素D和如上定义的药剂以粉末形式(例如在小袋中)提供以给予对象,那么它可以包含或由约150mg如上定义的药剂和25 $\mu$ g维生素D组成,并且可以将其给予对象。在一个相关的实施方式中,维生素D和如上定义的药剂以粉末形式(例如在小袋中)提供以给予对象,且该粉末组合物可以包含约300mg如上定义的药剂和50 $\mu$ g维生素D,并且可以将其给予对象。替代地,在一个实施方式中,如果维生素D和如上定义的药剂以软凝胶胶囊的形式提供以给予对象,那么它可以包含或由约150mg如上定义的药剂和25 $\mu$ g维生素D组成,并且可以将其给予对象。在相关实施方式中,该组合以软凝胶胶囊的形式提供以给予对象,且软凝胶胶囊中的组合可包含41.25mg如上定义的药剂和6.9 $\mu$ g维生素D,并且可以将其给予对象。

[0163] 尤其是包括给予约150mg如上定义的药剂和25 $\mu$ g维生素D的后续实施方式特别有利,因为用单次剂量达到每日目标量。

[0164] 以下量和组合代表本发明的优选实施方式:

- [0165] • 约5-1000mg如上定义的药剂和1-100 $\mu$ g维生素D;
- [0166] • 约10-500mg如上定义的药剂和5-70 $\mu$ g维生素D;
- [0167] • 约50-150mg如上定义的药剂和10-60 $\mu$ g维生素D;
- [0168] • 约100-300mg如上定义的药剂和25-50 $\mu$ g维生素D;
- [0169] • 约120-180mg如上定义的药剂,特别地,150mg EGCG $\pm$ 20%;
- [0170] • 约25 $\mu$ g维生素D;
- [0171] • 约150mg如上定义的药剂和25 $\mu$ g维生素D;
- [0172] • 约41.25mg如上定义的药剂和6.9 $\mu$ g维生素D;
- [0173] • 约82.5mg如上定义的药剂和约13.8 $\mu$ g维生素D;
- [0174] • 约150mg如上定义的药剂、5mg维生素B6和25 $\mu$ g维生素D;
- [0175] • 维生素D和如上定义的药剂,重量比为约1:6000;
- [0176] • 维生素D和如上定义的药剂,重量比为约1:50-1:1000000;
- [0177] • 约150mg如上定义的药剂和60 $\mu$ g维生素D;
- [0178] • 维生素D和如上定义的药剂,重量比为约1:2500;
- [0179] • 约300mg如上定义的药剂和100 $\mu$ g维生素D;
- [0180] • 维生素D和如上定义的药剂,重量比为约1:3000;
- [0181] • 维生素D和如上定义的药剂,重量比为约1:50;
- [0182] • 维生素D和如上定义的药剂,重量比为约1:1000000;
- [0183] • 维生素D和如上定义的药剂,重量比为约1:2000至1:7000;
- [0184] • 维生素D和如上定义的药剂,重量比为约1:100-1:100000;
- [0185] • 维生素D、维生素B6和如上定义的药剂,重量比为约1:200:6000。

[0186] 下面提供几个实施例来说明本发明的各种实施方式,以及它所实现的技术效果和优点。应当理解,以下实施例仅用于说明目的而非限制要求保护的发明。实际上,在实现所描述的技术优点的同时,本领域技术人员将能够容易地实现在要求保护的发明的精神和范围内的其他实施方式。

### 实施例

[0187] 本发明人已经发现,给予维生素D和诸如EGCG的药剂可以预防/控制/治疗由亲缘(familiarity)、年龄、肥胖、荷尔蒙活动等引起的纤维瘤,特别是子宫纤维瘤。这代表了一种新的意想不到的预防/控制/治疗纤维瘤的方法。

[0188] 实施例1:组合物1

[0189] 本发明的第一示例性组合物是圆形片剂形式(直径10mm),重约500mg,预期保质期为24个月,并具有以下组成:

[0190] 表1.组合物1

成分	mg/片	每片摄入量
绿茶(野茶树)叶提取物 95% 多酚 45% EGCG	333.35	150 mg EGCG
微晶纤维素	89.37	
磷酸钙	45.00	
维生素 D3 (1.000 IU)	11.11	25 µg
维生素 B6 (盐酸吡哆醇)	6.02	5 mg
硬脂酸镁	5.00	
二氧化硅	5.00	
总重量 mg	500	

[0192] 实施例2:组合物2

[0193] 本发明的第二示例性组合物是圆形片剂形式(直径10mm),预期保质期为24个月,并具有以下组成:

[0194] 表2.组合物2

成分	mg/片	每片摄入量
EGCG 中 45%绿茶提取物	333.35	150 mg EGCG
维生素 B6 HCl	7.8	5 mg
维生素 D3	14.5	25 $\mu$ g
[0195] 磷酸二钙	40	
微晶纤维素	84.35	
硬脂酸镁	15	
二氧化硅	5	
总 mg	500 mg	

[0196] 应注意的是,在本实施例中,EGCG滴定量的耐受范围为120-180mg/片(150 $\pm$ 20%)。

[0197] 表1和表2中“mg/片”一栏所表示的成分量是指制备一片所用的成分量。表1和表2中“每片摄入量”一栏所表示的成分量是指存在于一片中的成分量。过量使用维生素B6和D3与以下因素有关:

[0198] -原材料的起始滴定量(title);

[0199] -分子底物的起始化学形式;

[0200] -生产工艺期间的物质损失。

[0201] 建议每天给药一或两片组合物1或2。

[0202] 实施例3:表没食子儿茶素没食子酸酯和维生素D3单独或组合的抗纤维化特性的体外评估

[0203] 材料和方法

[0204] 表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)和维生素D3(单独或组合)的抗纤维化特性已在2D培养的人正常成纤维细胞中进行了初步检测。本实验中使用的正常成纤维细胞是原代细胞培养物。为了排除对成纤维细胞活力的任何影响,还研究了增殖和细胞凋亡。

[0205] 成纤维细胞培养:DMEM、10%FBS、1%L-Glu、1%青霉素/链霉素,持续18天;

[0206] 使成纤维细胞在上述成纤维细胞培养物中生长18天,直到达到50%融合。然后,通过添加10ng/ml TGF- $\beta$ 1(派普泰克公司(Peprotech),目录号#100-21-10UG)促进纤维化过程。加入TGF- $\beta$ 1后24小时,用PBS彻底洗涤成纤维细胞,加入新鲜成纤维细胞培养基和以下配方。然后让成纤维细胞再生长24小时。

[0207] 配方如下:

[0208] -维生素D3(麦角钙化醇,CAS号67-97-0):DMSO中0.005 $\mu$ g/ml。维生素D3被溶解于DMSO中,然后在PBS中进一步稀释。本质上,细胞接受相同“剂量”的DMSO,这允许对检测进行清晰比较。在这种情况下,使用DMSO 1:10000;

[0209] -EGCG(绿茶干提取物95%多酚;CAS-号84650-60-2):H<sub>2</sub>O中0.03mg/ml;

[0210] -组合治疗:EGCG 0.03mg/ml+维生素D3 0.005 $\mu$ g/ml;

[0211] -对照:仅载剂(DMSO);

[0212] 纤连蛋白和胶原蛋白释放均在蛋白质印迹中测量,以评估抗纤维化效果。结果报告为任意OD-单位。当停止处理时,加入处理后24小时,将细胞在-80℃冷冻过夜。第二天进行蛋白质提取,随后进行蛋白质印迹。

[0213] 进行了统计分析。就单一处理而言,结果是显著的。

[0214] 结果

[0215] -研究的第I阶段

[0216] 添加单独的维生素D3、单独的EGCG或维生素D3和EGCG的组合既不显著改变成纤维细胞增殖率,也不显著改变它们的活力(数据未显示)。细胞形态在用TGF-β1处理的细胞和对照细胞之间没有显著变化。

[0217] 在对照成纤维细胞中,在常规培养基中培养24小时后,注意到纤连蛋白和胶原蛋白的释放均出现轻度增加(图1和2)。这种轻微的增加可以被视为对培养环境的非特异性反应。

[0218] 在维生素D3处理的细胞中,维生素D3略微增加纤连蛋白沉积,同时显著减少胶原蛋白释放(图1和2)。

[0219] 在EGCG处理的细胞中,EGCG显著降低了纤连蛋白和胶原蛋白的释放(图1和2)。

[0220] 维生素D3+EGCG的联合显著(与单一处理相比)降低了培养的成纤维细胞中纤连蛋白和胶原蛋白的释放(图1和2)。

[0221] 构成纤维瘤大部分体积的成分是纤连蛋白和胶原蛋白,因此这两种蛋白质的产生和沉积的减少可能会减小纤维瘤的大小。

[0222] -研究的第II阶段

[0223] 如上所述,在先前刺激的成纤维细胞中加入EGCG或维生素D3后24小时,分析从成纤维细胞中释放的纤连蛋白和胶原蛋白。为了建立剂量反应关系,检测了不同浓度(DMSO中1-100μg/L维生素D3;H<sub>2</sub>O中0.5-10mg/L EGCG)的两种化合物。这些体外浓度可视为代表每天1-100μg维生素D和每天5-1000mg EGCG的体内剂量。

[0224] 数据报告在图3A-B和图4A-B中,并表示为相对于对照值的OD-单位减少倍数,其为用TGF-β1刺激成纤维细胞24小时后获得的(例如,在两次测量之间减少50%将被称为“半倍变化”)。倍数变化是描述量在原始测量和后续测量之间变化多少的度量。它被定义为两个量之间的比率;对于量A和B,则B相对于A的倍数变化是B/A。

[0225] 图3A显示维生素D3的浓度(特别是从5μg/L到100μg/L)对纤连蛋白的减少有影响。图3B显示EGCG的浓度(特别是从5mg/L到10mg/L)对纤连蛋白的减少有影响。

[0226] 图4A显示维生素D3的浓度(特别是从5μg/L到100μg/L)对胶原蛋白的减少有影响。图4B显示EGCG的浓度(特别是从3mg/L到10mg/L)对胶原蛋白的减少有影响。

[0227] 通过比较图5与图3和图6与图4,还观察到了叠加效应和/或协同作用。

[0228] 实施例4:临床研究

[0229] 患者和方法

[0230] 一项临床研究于2019年3月到10月间在奥维多医院(Hospital of Orvieto)进行。所有参与者在解释研究目的后给予了知情同意。遵守赫尔辛基宣言的伦理原则和国家法律。入组标准:18岁及以上,绝经前阶段,阴道和腹部超声检查至少有一个≥2cm<sup>3</sup>的(壁内、浆膜下和/或粘膜下)肌瘤,有中重度肌瘤相关症状,且不需要常规观察以外的治疗。排除标

准:孕妇或打算在未来4个月内怀孕、目前正在哺乳、患有严重贫血或医疗发病率 (medical morbidity)、手术适格、肝酶升高、激素 (雌激素、孕激素、口服避孕药) 治疗 (过去3个月内)、皮质类固醇、可能具有激素影响的补充剂、在过去6个月内使用选择性孕酮受体调节剂 (sPRM) 或促性腺激素释放激素 (GnRH) 类似物。患者被分为两组:一组 (15名患者) 每日治疗, 通过口服25 $\mu$ g维生素D+150mg EGCG+5mg维生素B6, 每天两次, 持续4个月。第二组 (15名患者) 未接受治疗 (对照), 持续4个月。主要转归是通过使用Voluson™E8超声 (GE医疗公司 (GE Healthcare)) 经阴道超声 (TVU) 和/或经腹超声检查分析肌瘤体积变化。次要转归是肌瘤数量的变化、月经期间出血引起的痛苦、骨盆区域的压力感、疲劳感以及生活质量 (QoL) 和症状严重程度 (SS)。如Spies等, UFS-QOL, 平滑肌瘤的新的疾病特异性症状和健康相关生活质量问卷 (The UFS-QOL, a New Disease-Specific Symptom and Health-Related Quality of Life Questionnaire for Leiomyomata.), 美国妇产科学会 (The American College of Obstetricians and Gynecologists.), 2002年, 第99卷, 第2号所述, 测量QoL和SS。评分越高, 健康相关的QoL越好。评分越低, SS越低。通过自填问卷的出血评估, 出血的主观体验被表示为重度、中度和正常。收集了所有女性的完整病史; 在基线处 ( $T_0$ ) 和4个月后 ( $T_1$ ) 进行了仔细的身体检查、超声仪器评估和问卷汇编。从所有鉴定的肌瘤中, 通过Voluson™E8超声 (GE医疗公司) 计算总肌瘤体积。

#### [0231] 统计分析

[0232] 当比较两组时, 通过使用非配对t-检验 (2018GraphPad软件, 美国加利福尼亚州拉由拉) 进行统计分析, 结果表示为平均值 $\pm$ 平均值的标准差 (SEM)。通过单向ANOVA为组内分析评估重复测量的比较: 值表示为平均值 $\pm$ SEM。

[0233] 维尔克松-曼-惠特尼检验 (Wilcoxon-Mann-Whitney test) 用于分析QoL和SS: 值表示为中位数、第25百分位数和第75百分位数。在p-值 $\leq$ 0.05的水平上接受统计学显著性。

#### [0234] 结果

[0235] 招募了30名年龄在28至46岁之间的患有肌瘤的女性。基线处 ( $T_0$ ) 各组患者的临床特征示于表3。

[0236] 表3. 基线处各组患者的临床特征。

	治疗 $T_0$ 平均值 $\pm$ SEM	对照 $T_0$ 平均值 $\pm$ SEM	p-值
年龄	37.27 $\pm$ 1.15	37.67 $\pm$ 1.71	0.8475
身高	165.73 $\pm$ 1.78	167.73 $\pm$ 1.09	0.3469
体重	62.13 $\pm$ 2.21	64.00 $\pm$ 1.64	0.5023
[0237] BMI ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )	22.67 $\pm$ 0.64	22.72 $\pm$ 0.49	0.9542
N°肌瘤	23	21	
平均n°肌瘤	1.53 $\pm$ 0.19	1.40 $\pm$ 0.19	0.6256
肌瘤体积 $\text{cm}^3$	10.84 $\pm$ 1.16	10.17 $\pm$ 1.43	0.7188
SS	22.67 $\pm$ 1.76	27.13 $\pm$ 2.04	0.1086
QoL	91.60 $\pm$ 5.55	84.93 $\pm$ 6.13	0.4270

[0238] 两组患者的基线特征(维生素D+EGCG治疗组比对照组)。各组匹配良好,无显著差异。p-值 $\leq 0.05$ 被认为具有统计学显著性。所有数据结果均不显著。缩写: BMI, 体重指数; SS, 症状严重程度; QoL, 生活质量; SEM, 平均值的标准差。

[0239] 在 $T_0$ 处,两组的所有参数都具有可比性。两组均无中途退出记录。在整个研究期间未观察到可归因于治疗的不良反应。治疗组和对照组的肌瘤总数分别为23和21。治疗组中,壁内、浆膜下和粘膜下肌瘤的发病率分别为43.75%、12.5%、43.75%。对照组中,47.4%为壁内,10.5%为浆膜下,42.1%为粘膜下。在治疗组中观察到肌瘤体积显著减少(从基线处的 $10.84 \pm 1.16 \text{cm}^3$ 到治疗4个月后的 $8.04 \pm 0.85 \text{cm}^3$ ,  $p < 0.0001$ ) (图7),对应于肌瘤体积减少34.7%。体积的减少与肌瘤的类型无关。在对照组中,肌瘤体积从 $T_0$ 时的 $10.17 \pm 1.43 \text{cm}^3$ 显著波动到4个月观察期后的 $10.94 \pm 1.50 \text{cm}^3$  ( $p < 0.001$ ),对应于肌瘤体积增加6.9% (图7)。在 $T_1$ 时,治疗组与对照组的肌瘤体积之间存在显著性趋势 ( $p = 0.0930$ )。从 $T_0$ 到 $T_1$ ,治疗组和对照组的肌瘤的数目没有变化,显示出未变化的平均值 $\pm$  SEM (治疗组 $1.53 \pm 0.19$ , 对照组 $1.40 \pm 0.19$ , 组间无显著差异) (表3)。表4中说明了治疗组和对照组中主要肌瘤相关症状的发生率,以百分比(%)在 $T_0$ 和 $T_1$ 表示。治疗组QoL从 $T_0$ 到 $T_1$ 的变化呈增加趋势(中值31),而对照组略有下降(中值-1),且两组间 $T_0$ 到 $T_1$ 的变化在统计学上有显著差异 ( $p < 0.0001$ ) (图9A)。治疗组SS从 $T_0$ 到 $T_1$ 的变化显示降低(中值-7, 对应SS降低47%),而对照组无变化(中值0),两组之间 $T_0$ 到 $T_1$ 的变化在统计学上有显著差异 ( $p < 0.0001$ ) (图9B)。然后,发现所有QoL方面和SS都有显著改善,包括日常活动、性功能、出血和盆腔疼痛。

[0240] 表4. 第1次访视和第2次访视时肌瘤的数量、类型和相关症状的发生率。

		治疗		对照	
		$T_0$	$T_1$	$T_0$	$T_1$
		$n^\circ$ 患者 (%)	$n^\circ$ 患者 (%)	$n^\circ$ 患者 (%)	$n^\circ$ 患者 (%)
[0241]	壁内肌瘤	7 (43.75%)	7 (43.75%)	9 (47.4%)	9 (47.4%)
	浆膜下肌瘤	2 (12.5%)	2 (12.5%)	2 (10.5%)	2 (10.5%)
	粘膜下肌瘤	7 (43.75%)	7 (43.75%)	8 (42.1%)	8 (42.1%)
	正常出血	3 (20 %)	5 (33.3 %)	3 (20 %)	3 (20 %)
[0242]	重度出血	8 (53.3 %)	0 (0 %)	6 (40 %)	6 (40 %)
	中度出血	4 (26.7 %)	10 (66.7 %)	6 (40 %)	6 (40 %)
	疲劳	10 (66.7 %)	3 (20 %)	8 (53.3 %)	8 (53.3 %)
	盆腔疼痛	8 (53.3 %)	1 (6.7 %)	8 (53.3 %)	8 (53.3 %)

[0243] 发生率表示为在两个时间点(基线 $T_0$ 或4个月后的 $T_1$ ) 每组中患有肌瘤类型或相关症状的对象的百分比(%) ;n,对象数。

[0244] 总之,口服补充维生素D组合EGCG对女性生殖健康有相当大的影响。事实上,这种组合可以避免手术治疗,使女性能够保持生育能力并预防妇科并发症。本组合适用于提高QoL和降低SS。此外,这些发现表明维生素D和EGCG可用于治疗肌瘤,以防止可能的大小增加,从而控制纤维瘤。此外,维生素D和EGCG可以与其他药物治疗一起给药,或作为手术前的预治疗;这可能帮助患者减少副作用并减少可使手术复杂化并增加风险的可能的的高肌瘤体积。

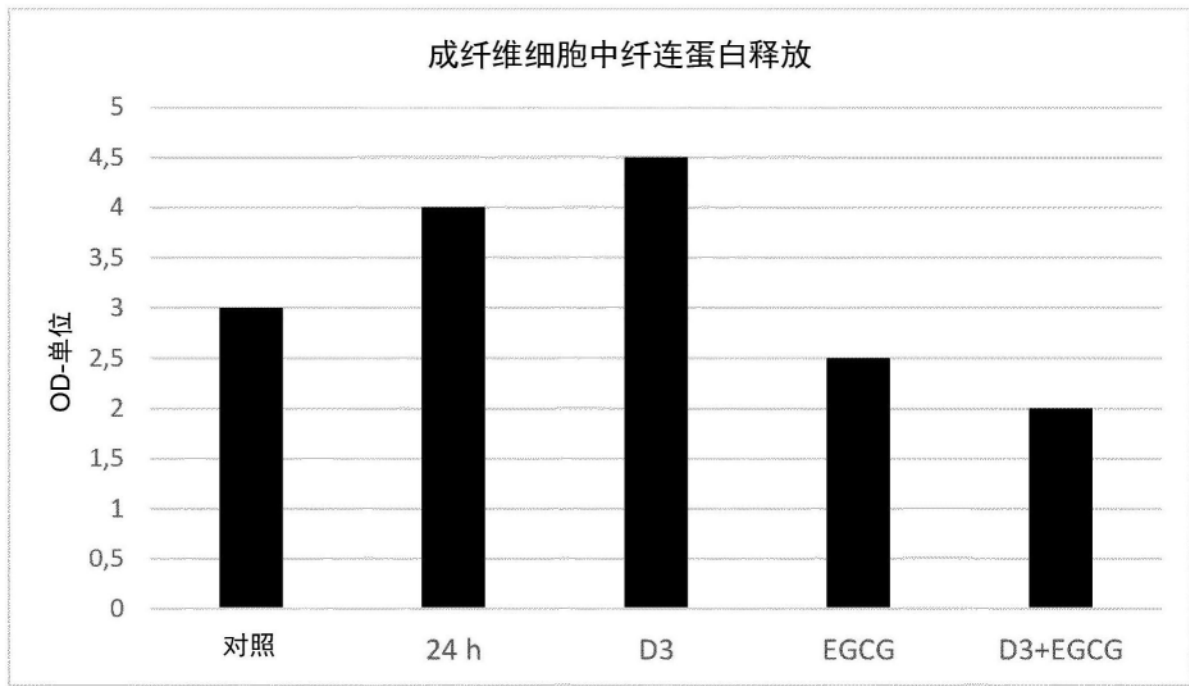


图1

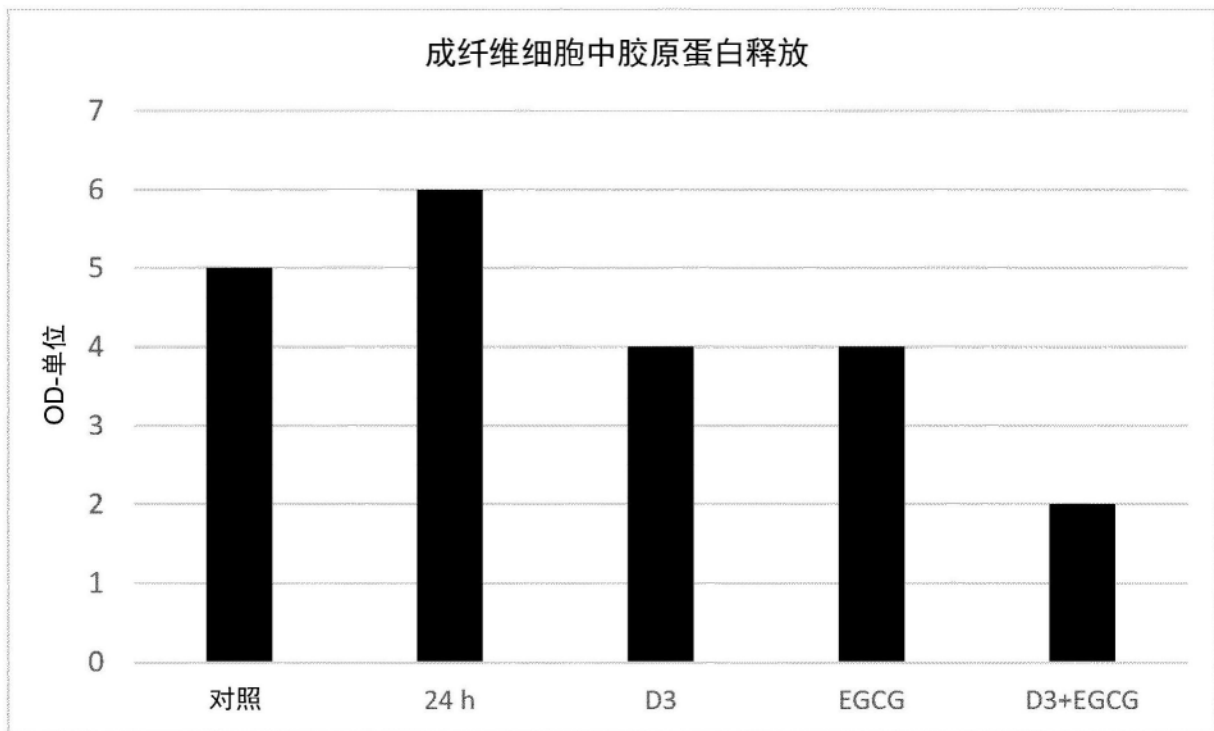
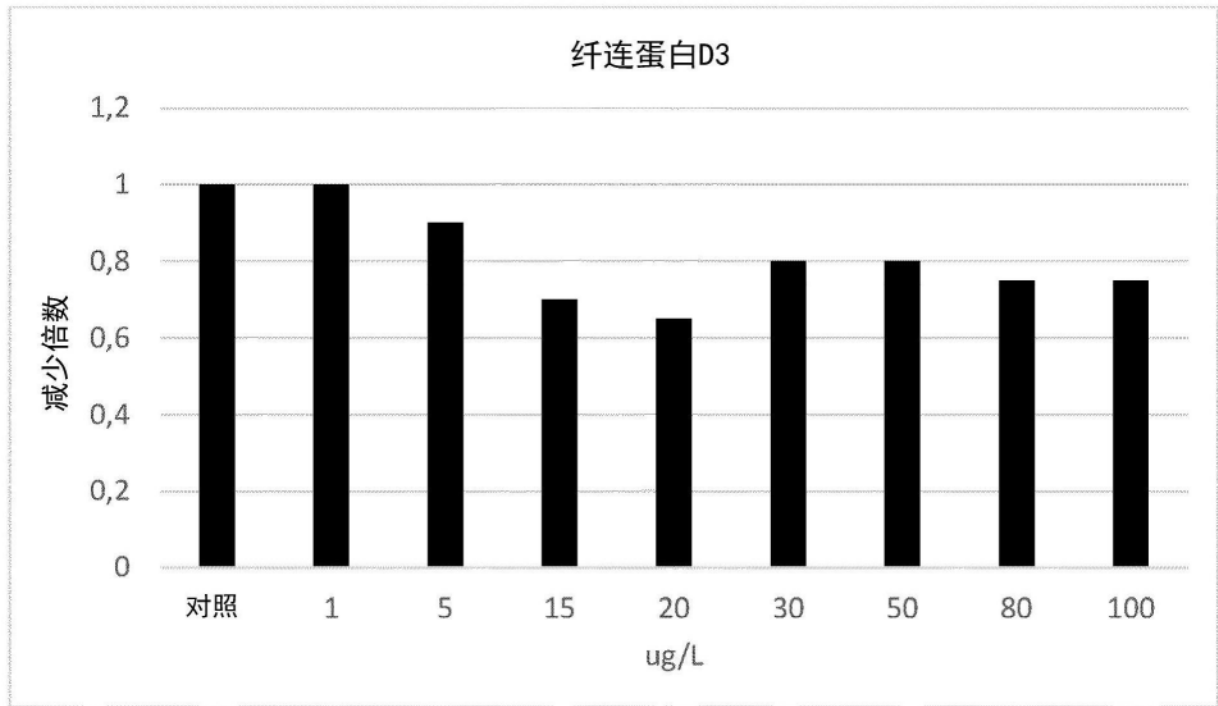


图2

A



B

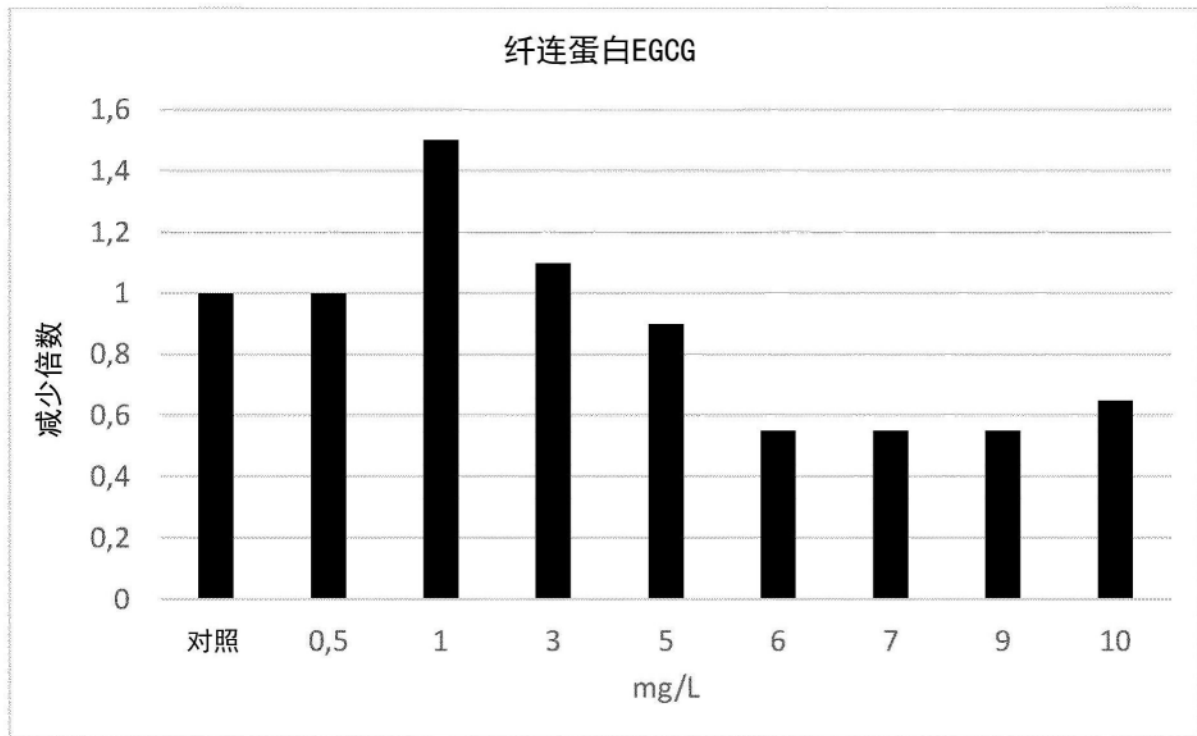
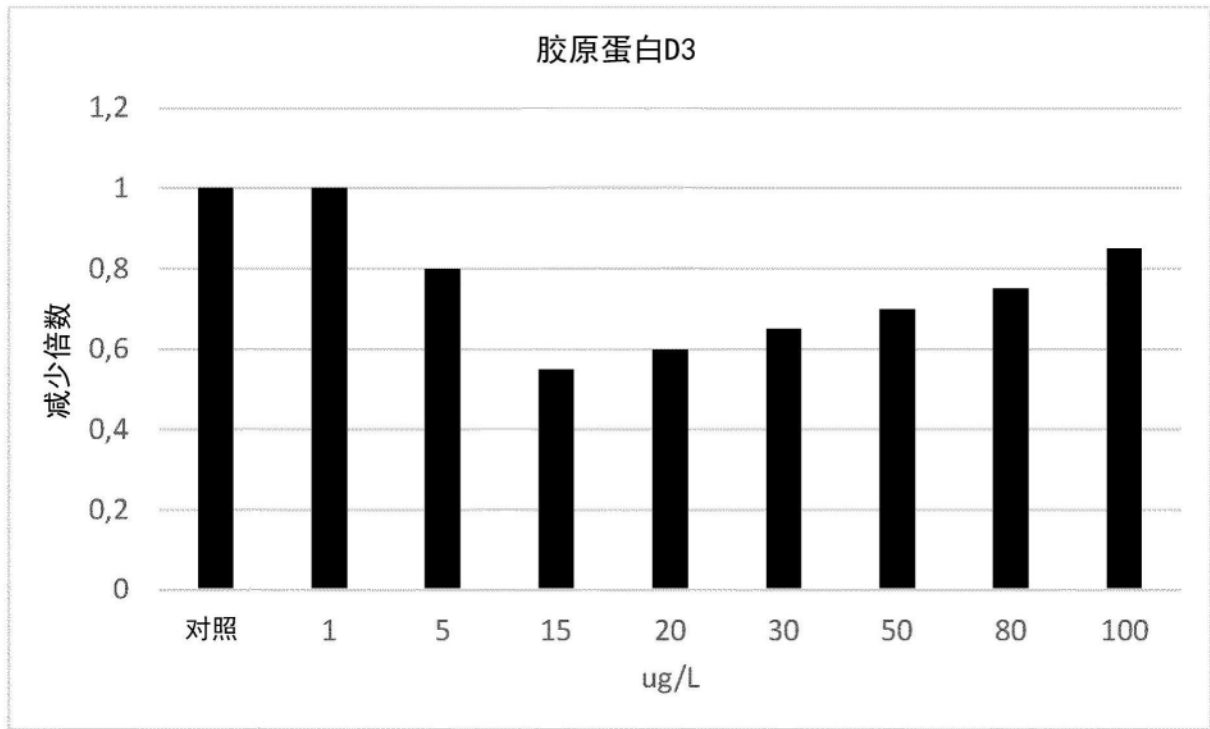


图3

A



B

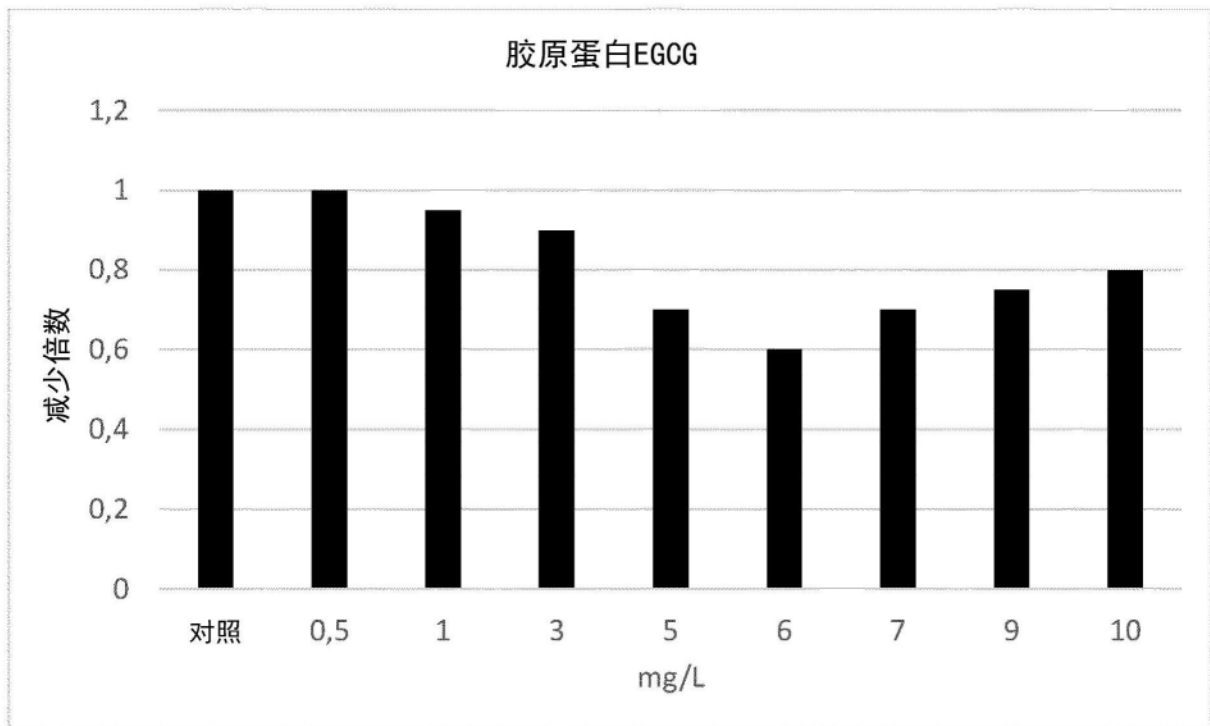


图4

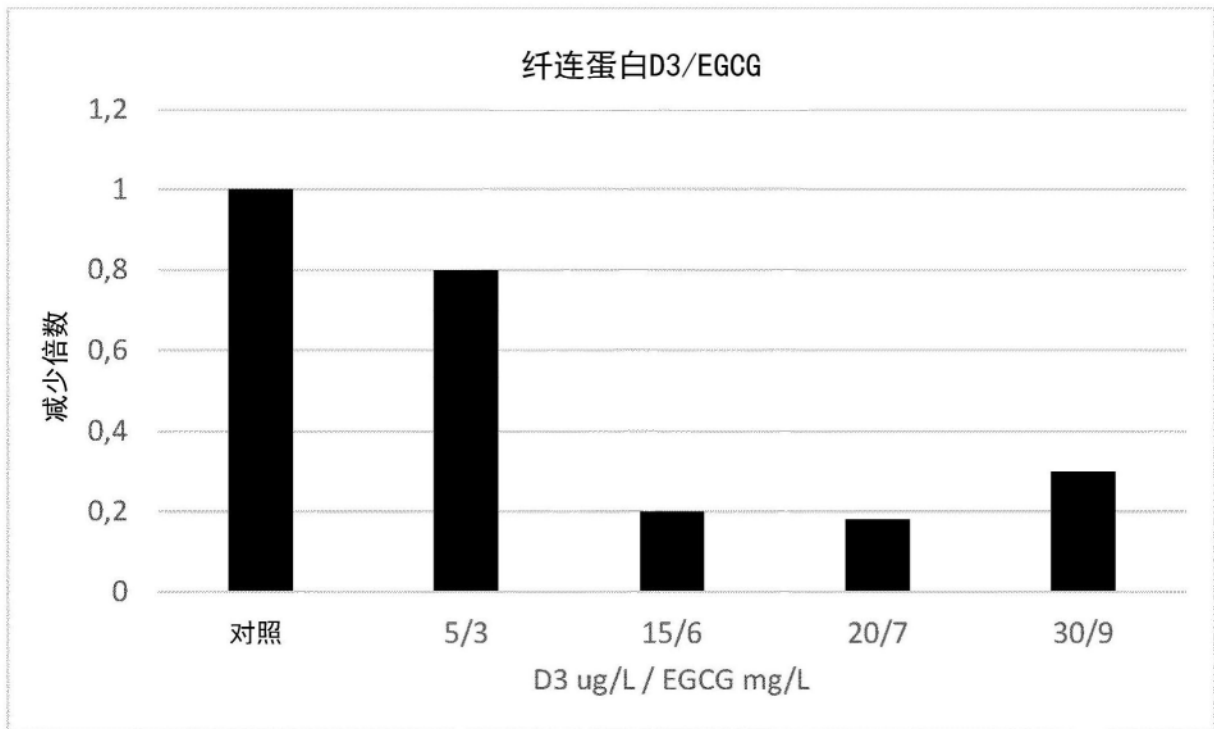


图5

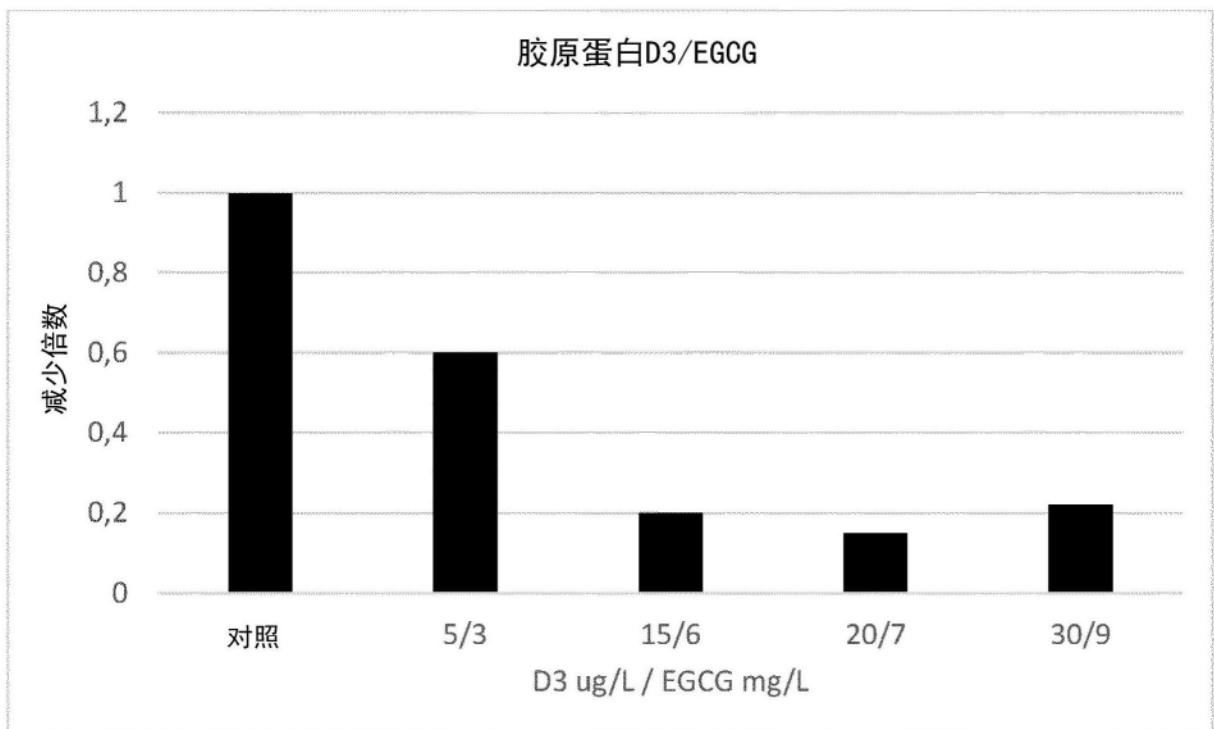


图6

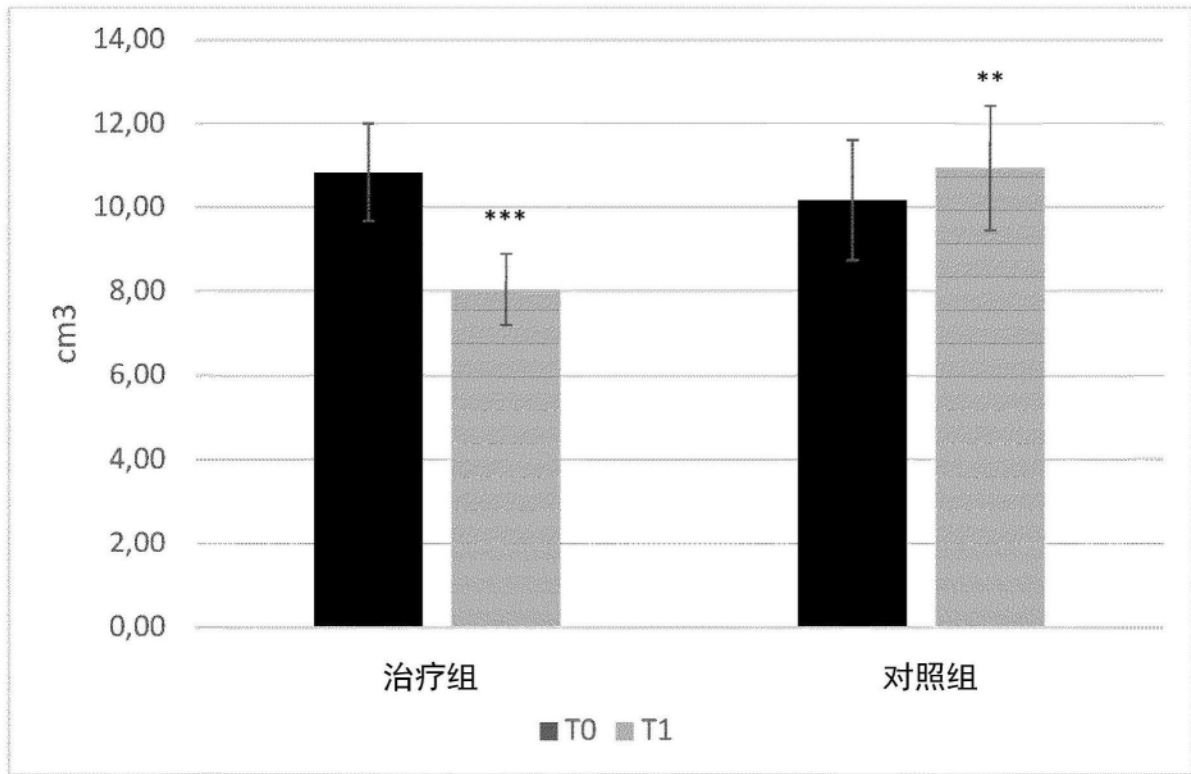


图7

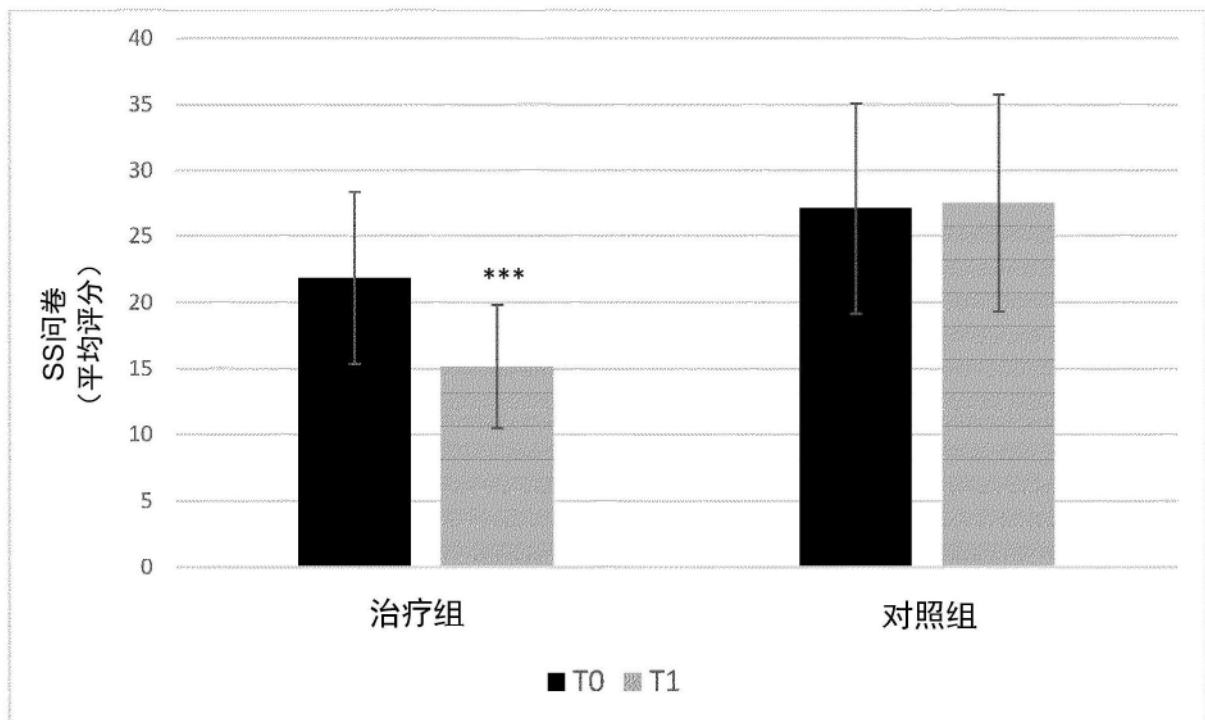


图8

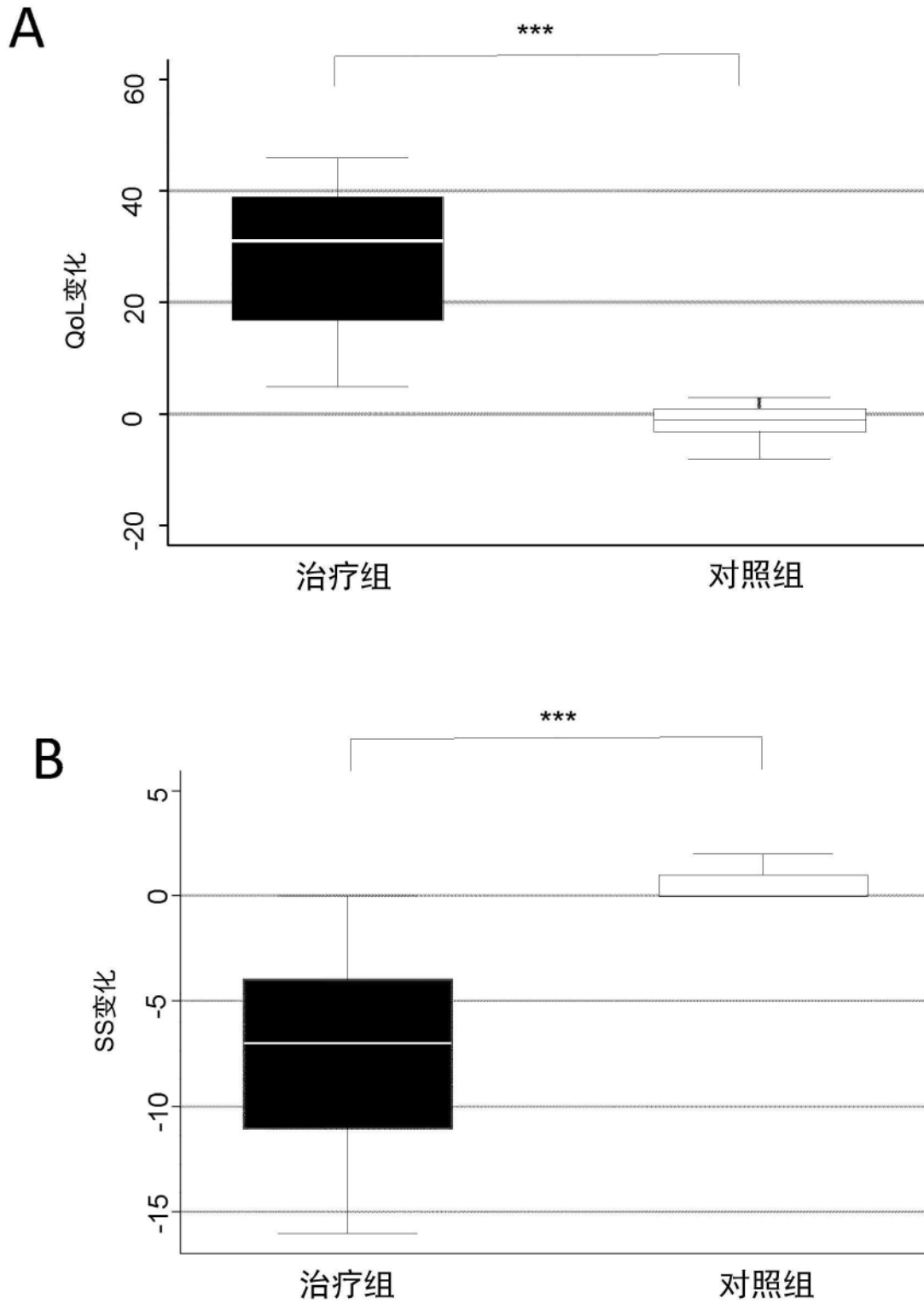


图9