



(10) 授权公告号 CN 112203656 B

(45) 授权公告日 2024.09.27

(21) 申请号 201980034993.5

(22) 申请日 2019.05.23

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 112203656 A

(43) 申请公布日 2021.01.08

(30) 优先权数据
1808564.7 2018.05.24 GB

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2020.11.24

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/IB2019/054292 2019.05.23

(87) PCT国际申请的公布数据
W02019/224779 EN 2019.11.28

(73) 专利权人 道格拉斯制药有限公司
地址 新西兰奥克兰

(72) 发明人 伊恩·汉普森 琳妮·汉普森

(74) 专利代理机构 北京品源专利代理有限公司
11332

专利代理师 刘明海 周瑞

(51) Int.Cl.
A61K 31/427 (2006.01)
A61K 31/513 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(56) 对比文件
WO 2013034927 A1, 2013.03.14
WO 2015059485 A1, 2015.04.30
Hongmei Mo et al..Characterization of
resistant HIV variants generated by in
vitro passage with lopinavir/ritonavir.
《Antiviral Research》.2003,第59卷(第3期),
摘要,第174页表1.

审查员 霍春芳

权利要求书1页 说明书44页 附图9页

(54) 发明名称

用于治疗宫颈病症的洛匹那韦和利托那韦

(57) 摘要

本发明涉及配制用于局部应用的药物组合物,所述药物组合物可用于治疗与HPV相关的病状,并且尤其是治疗宫颈的恶变前病况和恶性病况。所述组合物包含在药学上可接受的载体中的治疗有效量的洛匹那韦和利托那韦,并且其中洛匹那韦:利托那韦的重量比(w/w)在9:1和18:1之间。

1. 一种配制用于局部应用的药物组合物,其包含在药学上可接受的局部载体中的治疗有效量的洛匹那韦和利托那韦,并且其中洛匹那韦:利托那韦的重量比(w/w)在11:1和13.5:1之间。

2. 根据权利要求1所述的组合物,其中洛匹那韦和利托那韦的重量比为12:1。

3. 根据权利要求1所述的组合物,其中所述组合物被配制成软膏剂、凝胶剂、糊剂、乳膏剂、洗剂、胚珠、软胶囊、栓剂、子宫托或其任何组合。

4. 根据权利要求1所述的组合物,其中所述药学上可接受的载体是软膏。

5. 根据权利要求4所述的组合物,其中所述组合物是用于局部应用的无水组合物,其包含:

(a) 重量比在11:1和13.5:1之间的洛匹那韦和利托那韦;和

(b) 亲水性粘膜粘附剂;

其中当将所述无水组合物局部施用到应用部位时,所述无水组合物转化为粘膜粘附剂组合物。

6. 根据权利要求5所述的组合物,其中所述粘膜粘附剂是羟丙基甲基纤维素。

7. 根据权利要求5或6所述的组合物,其包含利托那韦、洛匹那韦、羟丙基甲基纤维素、油酸、硬脂酸;和丁羟甲苯。

8. 根据权利要求4所述的组合物,其中所述组合物包含:

(a) 不饱和游离脂肪酸;

(b) 硬化剂;以及

(c) 重量比为11:1至13.5:1的洛匹那韦和利托那韦;

其中所述不饱和游离脂肪酸的存在量为药物组合物总重量的至少20重量%,并且其中所述药物组合物在室温下为半固体。

9. 根据权利要求1-8中任一项所述的组合物在制备用于治疗 and/或抑制宫颈癌和宫颈的良性增生性病征的发展或进展的药物中的用途。

10. 根据权利要求9所述的用途,其中所述组合物包含有效量的洛匹那韦和利托那韦以用于治疗具有或不具有伴随的异常病状的人类乳头瘤病毒(HPV)感染。

11. 根据权利要求9所述的用途,其中所述药物用于治疗 and/或抑制早期瘤变或HPV相关的宫颈瘤变的发展。

12. 根据权利要求9所述的用途,其中所述药物用于治疗患有与HPV相关的宫颈发育不良的患者或减轻与HPV相关的发育不良的严重程度。

13. 根据权利要求12所述的用途,其中与HPV相关的发育不良的严重程度从CIN3降低至CIN2、从CIN3降低至CIN1、从CIN3降低至HPV阴性、从CIN2降低至CIN1、从CIN2降低至HPV阴性或从CIN1降低至HPV阴性。

14. 根据权利要求9-13中任一项所述的用途,其中患者的宫颈细胞学为高级别鳞状上皮内病变(HSIL)、意义不明的非典型鳞状细胞(ASCUS)或低级别鳞状上皮内病变(LSIL);并且

其中所述组合物将宫颈细胞学从HSIL降低至正常细胞学、从HSIL降低至ACSUS、从HSIL降低至LSIL、从ACSUS降低至正常细胞学或从LSIL降低至正常细胞学。

用于治疗宫颈病症的洛匹那韦和利托那韦

技术领域

[0001] 本文提供了用于治疗宫颈的癌症和良性增生性病症和/或抑制其发展或进展的方法和组合物,特别是由人类肿瘤病毒如人类乳头瘤病毒(HPV)引起的这类癌症和病症。特别地,提供了包含洛匹那韦(lopinavir)和利托那韦(ritonavir)的组合物,其用于治疗与HPV相关的宫颈发育不良和/或抑制其进展。

背景技术

[0002] 存在许多不同形式的癌症,并且据信该疾病有许多不同原因。癌症的发病率各有不同,但在大多数发达国家中,它是仅次于心脏病的第二大致死原因。当前的估计表明,目前活着的美国人中有三分之一会患有某种形式的癌症。众所周知,需要开发用于治疗癌症的新的和改进的疗法。此外,还需要开发可用于抑制普通人群、易感高危个体中的癌症发展的治疗剂或在已经受影响的个体中用作预防疾病再发生的药剂。

[0003] 人类肿瘤病毒被认为是人类癌症的主要原因,并且有大量证据支持这些病毒通过在被感染的细胞中诱导遗传不稳定性而导致癌症的论点。实际上,已知人类T细胞白血病毒1型(HTLV1)Tax和人类乳头瘤病毒16型(HPV16)E6癌蛋白(oncoprotein)均可诱导遗传不稳定,从而产生异常数量的细胞中心体、多核化和核异型。

[0004] 浸润性宫颈癌(ICC)是与病毒感染相关的癌症的一个例子,其每年导致超过270,000例死亡,其中85%以上的死亡发生在资源贫乏的国家。高危型HPV感染已被确定为ICC的主要发病原因。ICC的发展可能需要10到20年的时间,然后是与HPV相关的浸润前病状(pathology),其特征是低级别(CIN1)或高级别的宫颈上皮内瘤变(CIN2/3)。病变可通过宫颈细胞学检测进行筛查,将其诊断(或分级)为临界性的意义不明的非典型鳞状细胞(ASCUS)、低级别鳞状上皮内病变(LSIL)或高级别鳞状上皮内病变(HSIL)。

[0005] 在发达国家,ICC相关死亡率的降低在很大程度上取决于有组织的细胞学筛查,而在世界其他地区,通过有组织的单筛查和治疗,已经实现了类似的宫颈癌死亡率趋势。但是,在较贫穷的国家中,缺乏资源和健康教育意味着大多数浸润前宫颈疾病仍未得到诊断和治疗。因此,在资源有限的地方,低成本的筛查和治疗方案显然是当务之急。

[0006] 临床实践中当前的治疗方案是消融(破坏性的)或切除方式。系统评价表明,这些治疗方式的成功率相似,但发病率不同。在发达国家,大多数阴道镜诊所都使用移行区大环切除术LLETZ(又名环形电切术-LEEP)。这些手术中有80%以上是在局部镇痛下进行的,而整个移行区都可用于随后的组织学检查。该手术与原发性和继发性出血、出院拖延、感染以及后续妊娠中早产的风险相关。前者副作用可能会成问题,特别是在资源匮乏的国家。通常提倡在资源贫乏的国家使用冷凝和冷冻疗法形式的消融治疗,因为它们的成本低,所需的基础设施最少并且可以由训练有素的非医学卫生专业人员进行。然而,一些研究表明冷冻疗法与其他治疗方式相比有较高的失败率。

[0007] 存在已被评估用于治疗宫颈发育不良的多种局部应用的非外科手术方法,其包括:光动力疗法(PDT);抗巨细胞病毒(CMV)药物西多福韦(cidofovir)的许可使用(off-

licence use);免疫激活剂咪喹莫特 (Imiquimod) 的局部应用和细胞毒性药物5氟尿嘧啶 (5FU) 的直接应用。虽然这些替代治疗方式中的一些显示出前景,但它们的治疗结果低于在有质量保证的阴道镜检查单位中获得的报告的80-95%的成功率。

[0008] 用于HPV相关的宫颈发育不良的一种有效、廉价、非外科手术、自行应用的治疗将具有巨大的潜力,尤其是在资源匮乏的情况下。此外,如果副作用最小化,则局部治疗的依从性将得到提高。

[0009] 在W02015/059485中公开了治疗由病毒引起的癌症的最新进展,其描述了蛋白酶抑制剂洛匹那韦和利托那韦(其以前曾用作口服摄入药物用于逆转录病毒感染(如HIV)的临床管理)在临床上可用于组织局部施用,以预防或治疗由HPV引起的恶性肿瘤。作者特别惊讶地发现, **KALETRA**[®]软胶囊(由Abbott/Abbvie销售,用于通过口服施用治疗HIV感染)可以局部施用(即插入阴道用于宫颈的治疗)用于预防或治疗癌性病况、用于预防或治疗致癌性病毒感染以及用于预防或治疗良性增生性病况。

[0010] **KALETRA**[®](或其等效物LOPIMUNE)可以作为每毫升包含80mg洛匹那韦和20mg利托那韦的溶液,也可以作为包含133.3mg洛匹那韦和33.3mg利托那韦的用于口服施用的软胶囊来口服使用。在这两种情况下,活性药物成分(API)的比例均为4:1(洛匹那韦:利托那韦)。鉴于W02015/059485的作者发现**KALETRA**[®]软胶囊有效,因此他们认为4:1的比例对于局部使用是最佳的。

[0011] 本发明基于发明人进行的工作,以配制用于局部应用的洛匹那韦和利托那韦的定制配方。他们出乎意料地确定,在包含洛匹那韦和利托那韦的已知药物产品(例如LOPIMUNE或**KALETRA**[®])中发现的API的比例可能具有功效,但对于治疗宫颈的癌症和良性增生性病况和/或抑制其发展或进展不是最佳的,而本发明提供了包含最佳比例的洛匹那韦:利托那韦的组合物,用于治疗此类病况和/或抑制此类病况的发展。

发明内容

[0012] 本文公开了包含洛匹那韦和利托那韦的组合物,其作为药物以用于治疗宫颈癌或宫颈良性增生性病况或预防此类癌症和病况的发展。

[0013] 根据本发明的第一方面,提供了配制用于局部应用的药物组合物,其在药学上可接受的载体中包含治疗有效量的洛匹那韦和利托那韦,其中洛匹那韦:利托那韦的重量(w/w)比在9:1和18:1之间。

[0014] 根据本发明的第二方面,提供了根据本发明的第一方面的药物组合物,其作为药物以用于治疗宫颈癌或宫颈良性增生性病况和/或抑制宫颈癌或宫颈良性增生性病况的发展或进展。

[0015] 根据本发明的第三方面,提供了一种在需要这种治疗或抑制的受试者中治疗宫颈癌和宫颈的良性增生性病况和/或抑制宫颈癌和宫颈的良性增生性病况的发展或进展的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的根据本发明第一方面的药物组合物。

[0016] 优选地,所述癌症或良性增生性病况是由病毒感染引起的,更优选由致癌病毒引起的,特别是由人类肿瘤病毒例如HPV引起的。

[0017] 在优选的实施方案中,本发明涉及治疗患有与HPV相关的宫颈发育不良的受试者,

这包括向所述受试者施用治疗有效剂量的所公开的药物组合物。

附图说明

[0018] 当结合附图阅读时,将进一步理解所述发明内容以及以下详细描述。为了说明所公开的组合物和方法,在附图中示出了所述组合物和方法的示例性实施方案;然而,所述组合物和方法不限于所公开的具体实施方案。在所述附图中:

[0019] 图1显示了条形图,其示出了多种重量比的洛匹那韦:利托那韦对在E6/E7永生化非转化宫颈内膜细胞(endocervical cell)中诱导细胞凋亡的影响,如实施例1中所探讨的;

[0020] 图2显示了(A)条形图,其示出了多种重量比的洛匹那韦:利托那韦对在HPV18+ve HeLa细胞中诱导细胞凋亡的影响,如实施例2中所探讨的;和(B)条形图,其示出了在用HPV18+ve HeLa进行的另一个实验中,14:1w/w比例的洛匹那韦:利托那韦对诱导细胞凋亡的影响,这也在实施例2进行了探讨;

[0021] 图3显示了:(A)条形图,其示出了12:1重量比的洛匹那韦:利托那韦对在HPV16+ve SiHa细胞中诱导细胞凋亡的影响,如实施例3中所探讨的;和(B)示例性细胞计数结果,所述条形图中的数据基于该结果;和

[0022] 图4是示出10:1和12:1重量比的洛匹那韦:利托那韦对在HPV16+ve SNU17细胞中诱导细胞凋亡的影响(如实施例4中所探讨的)的条形图;

[0023] 图5显示了:(A)条形图,其示出了洛匹那韦:利托那韦的w/w比在11和13.5:1之间的较小变化对其在HeLa细胞中诱导细胞凋亡的能力的影响;和(B)示例性细胞计数结果,所述条形图中的数据基于该结果。

[0024] 图6是示出洛匹那韦:利托那韦的w/w比在11和13.5:1之间的较小变化对其在SiHa细胞中诱导细胞凋亡的能力的影响的条形图。

具体实施方式

[0025] 通过参考以下结合附图的详细描述,可以更容易地理解所公开的组合物和方法,所述附图形成了本公开的一部分。应当理解,所公开的组合物和方法不限于本文描述和/或示出的特定组合物和方法,并且本文所用的术语仅用于通过示例的方式描述特定实施方案,而不旨在限制所要求保护的组合物和方法。

[0026] 除非上下文另外明确指出,否则对特定值的引用至少包括该特定值。当表达值的范围时,另一实施方案包括从一个特定值和/或至另一特定值。此外,在范围内陈述的值的引用包括该范围内的每个值。所有范围都是包含性的和可组合的。

[0027] 应当理解,为清楚起见,本文在单独的实施方案的上下文中描述的所公开的组合物和方法的某些特征也可以在单个实施方案中组合提供。相反,为简洁起见,在单个实施方案的上下文中描述的所公开的组合物和方法的某些特征也可以单独地或以任何子组合提供。

[0028] 如本文所用,单数形式“一”、“一个”和“该”包括复数。

[0029] 本文使用以下缩写:人类乳头瘤病毒(HPV);意义不明的非典型鳞状细胞(ASC-US);低级别鳞状上皮内病变(LSIL);非典型鳞状细胞-不能排除HSIL(ASC-H);高级别鳞状

上皮内病变 (HSIL) ;鳞状细胞癌 (SCC) ;腺细胞异常 (AGC) ;宫颈上皮内瘤变1 (CIN1) ;宫颈上皮内瘤变2 (CIN2) ;宫颈上皮内瘤变3 (CIN3) ;原位癌 (CIS) ;浸润性宫颈癌 (ICC) 。

[0030] 当通过使用先行词“约”将值表示为近似值时,将理解的是,所述特定值形成另一实施方案。此外,术语“约”在涉及数字范围、截止值或特定值时用于表示所述值与所列值的差异可能至多为10%。由于本文使用的许多数值是通过实验确定的,本领域技术人员应该理解,这种确定可以并且经常会在不同的实验之间变化。由于这种固有的变化,本文所用的值不应被视为过度限制。因此,术语“约”用于涵盖与特定值的 $\pm 10\%$ 或更小的差异、 $\pm 5\%$ 或更小的差异、 $\pm 1\%$ 或更小的差异、 $\pm 0.5\%$ 或更小的差异、 $\pm 0.1\%$ 或更小的差异。

[0031] 如本文所用,“治疗”等术语是指降低症状的严重性和/或频率、消除症状和/或所述症状的潜在原因、降低症状和/或其潜在原因的频率或可能性,延迟、预防和/或减缓癌症或良性增生性病征的进展,以及改善或补救由癌症或病症直接或间接引起的损害。

[0032] 如本文所用,短语“治疗有效剂量”是指包含洛匹那韦和利托那韦的组合物的量,如本文所述,其有效达到特定的生物学或治疗结果,所述生物学或治疗结果例如但不限于本文所公开的、所描述的或举例说明的生物学或治疗结果。所述治疗有效剂量可根据如个体的疾病状态、年龄、性别和体重以及所述组合物在受试者中引起所需响应的能力等因素而变化。这样的结果包括但不限于通过本领域中任何合适的方法确定的良性或恶性疾病的减少、缓解和/或消退或预防良性或恶性疾病的发展。

[0033] 如本文所用,“受试者”包括脊椎动物、哺乳动物、家畜或优选地,人类。

[0034] “药学上可接受的载体”可以是本领域普通技术人员已知的可用于配制药组组合物的任何生理载体。所述载体是最适合地适于通过局部应用将活性药物成分 (API) 递送至靶组织的载体。

[0035] 如本文所用,“胚珠”是指包含固体或半固体栓剂的乳膏或凝胶,所述栓剂被配置用于插入阴道。

[0036] 本文公开了包含洛匹那韦和利托那韦的组合物,其作为药物以用于治疗宫颈癌或宫颈良性增生性病征(例如疣)或预防宫颈癌的发展。

[0037] 洛匹那韦 (CAS#192725-17-0) 是一种蛋白酶抑制剂,其化学名称为[1S-[1R*(R*), 3R*, 4R*]]-N-[4-[(2,6-二甲基苯氧基)乙酰基]氨基]-3-羟基-5-苯基-1-(苯基甲基)戊基]四氢- α -(1-甲基乙基)-2-氧杂-1(2H)-嘧啶乙酰胺。其分子式为 $C_{37}H_{48}N_4O_5$ 且分子量为628.80。

[0038] 利托那韦 (CAS#155214-67-5) 是一种蛋白酶抑制剂,其化学名称为10-羟基-2-甲基-5-(1-甲基乙基)-1-[2-(1-甲基乙基)-4-噻唑基]-3,6-二氧杂-8,11双(苯基甲基)-2,4,7,12-四氮杂十三烷-13酸,5-噻唑基甲基酯,[5S-(5R*, 8R*, 10R8, 11R*)]。其分子式为 $C_{37}H_{48}N_6O_5S_2$ 且分子量为720.95。

[0039] 出人意料地,鉴于现有技术,本发明人发现,用于治疗宫颈癌或宫颈良性增生性病征或预防其发展、或用于预防此类癌症或此类病症的发展的洛匹那韦:利托那韦的摩尔比应该最佳地在10:1-18:1的摩尔比范围内。所述范围可能是10.5:1-18:1。优选地,所述范围为11.5:1-17:1,更优选地为11.5:1-16.0:1并且甚至更优选地为11.5:1-15:1。所述范围可以是下列摩尔比:约11.75:1;约12:1;约12.5:1;约13:1;约13.5:1;约13.75:1;约14.0:1;或约14.5:1。在优选的实施方案中,所述洛匹那韦:利托那韦的摩尔比为约12:1。在另一个

优选实施方案中,所述洛匹那韦:利托那韦的摩尔比为约13.8:1。

[0040] 在优选的实施方案中,所述洛匹那韦:利托那韦的摩尔比在11:1和16:1之间,更优选地在11:1和13:5之间,并且最优选地在11:1和12.5:1之间。最优选的摩尔比是11:1、11.5:1和12:1。

[0041] 应当理解,洛匹那韦的分子量为628.8道尔顿,利托那韦的分子量为720.95道尔顿。因此,摩尔比和w/w比将不相同,当将摩尔比转换为w/w时,应采用0.872的因数。因此,本发明人发现,用于治疗宫颈癌或宫颈良性增生性病或预防其发展、或用于预防此类癌症或此类病症的发展的洛匹那韦:利托那韦的w/w比可能在9:1-18:1或9:1-16:1的重量比范围内。例如,所述范围可以是9.5:1-16:1或10.0:1-16:1。优选地,所述范围为10.0:1-15.0:1,更优选地为10.25:1-14.5:1,并且最优选地为10.5:1-13.0:1。所述范围可以是下列w/w比:约10.25:1;约10.5:1;约10.75:1;约11:1;约11.25:1;约11.5:1;约11.75:1;约12.0:1;约12.25:1;约12.5:1;约12.75:1;约13.0:1;约13.25:1;约13.5:1;约13.75:1;约14.0:1或约14.25:1。在优选的实施方案中,所述洛匹那韦:利托那韦的w/w比为约10.5:1。在最优选的实施方案中,所述洛匹那韦:利托那韦的w/w比为约12:1。

[0042] 根据本发明的第一方面的组合物可用于治疗宫颈癌,并且特别可用于预防此类癌症的发展。因此,可以通过局部施用根据本发明的组合物来治疗正常受试者(即没有可检测到的癌症的受试者)、具有恶性肿瘤前(pre-malignant)细胞的受试者或特别是有癌症倾向的受试者,以预防宫颈癌的发展。

[0043] 本发明特别适用于,但绝不仅适用于由致癌病毒(例如高风险或甚至低风险形式的人类乳头瘤病毒(HPV))引起的宫颈癌和宫颈的癌前病况。

[0044] 根据本发明的优选实施方案,可以施用所述组合物以治疗宫颈癌,特别是预防宫颈癌的发展。最优选地,所述抑制剂被用于治疗由HPV(特别是高风险类型的HPV,例如HPV16或HPV18)引起的宫颈癌或预防其发展。

[0045] 在拥有宫颈筛查程序的发达国家,HPV测试和宫颈细胞学目前处于不断发展的状态。目前,宫颈涂片(或Pap测试)通常在HPV测试之前进行,并根据获得的结果遵循以下程序。但是,取决于地理位置,可能会先进行HPV测试。表1示出了基于HPV和Pap测试的组合结果的典型的推荐管理方案。

[0046] 表1:组合的HPV和Pap测试的推荐管理

	HPV 测试	Pap 测试	管理
	阴性	阴性	在 5 年内重复测试
	任何的	阴性	在 3 年内重复测试
	阴性	ASC-US	在 3 年内重复测试
[0047]	阴性	LSIL	在 6-12 年内重复测试
	未进行	ASC-US	在 6-12 年内重复测试
	阳性	阴性	在 6-12 年内重复测试
	未进行	LSIL	直接阴道镜
	阳性	LSIL	直接阴道镜
	任何的	ASC-H	直接阴道镜
	阳性	ASC-US	直接阴道镜
[0048]	任何的	HSIL	直接阴道镜
	任何的	SCC	直接阴道镜
	任何的	AGC	直接阴道镜

[0049] 表1:首字母缩略词:意义不明的非典型鳞状细胞(ASC-US);低级别鳞状上皮内病变(LSIL);非典型鳞状细胞-不能排除HSIL(ASC-H);高级别鳞状上皮内病变(HSIL);鳞状细胞癌(SCC);腺细胞异常(AGC)。摘自Schiffman,M.,Solomon,D.,Clinical practice.Cervical-cancer screening with human papillomavirus and cytologic cotesting.N Engl J Med.2013,369(24):2324-31

[0050] 从在阴道镜进行的活检获得的病理学结果描述如下:宫颈上皮内瘤变1(CIN1);宫颈上皮内瘤变2(CIN2);宫颈上皮内瘤变3(CIN3);原位癌(CIS);浸润性宫颈癌(ICC)。HPV阴性CIN1在临床上等同于LSIL,目前在6-12个月内进行重新筛查(观察并等待)。

[0051] 该推荐的管理方案代表了测试25岁以上女性的当前最佳临床实践。可以看出,在没有HPV测试的情况下,对于任何LSIL细胞学或更高(HSIL等)的女性,建议直接阴道镜检查。表现为HPV阴性的患有LSIL的女性在6-12个月内接受了重新筛查。

[0052] 使用根据本发明的第一方面的组合物的优选机会窗口是在初次诊断出HPV阳性疾病(ASC-US、LSIL、ASC-H、HSIL)至阴道镜检查之间的时间,这通常需要大约2周或更长的时间,取决于等待时间。基于在阴道镜检查中观察到的情况,然后决定在这次就诊时进行手术治疗(见并治疗),或者进行病理活检,这需要在大约一个月后进行进一步的阴道镜检查。显然,如果阴道镜检查的时间合适,则可能有利的是,根据本发明的治疗消除了对手术的需要。

[0053] 根据本发明的组合物不仅可用于治疗实际的癌症,而且令人惊讶地还可用于预防

癌症的发展,特别是对于可能表现出在HPV阳性患者中的任何先前描述的癌前病变的患者。因此,所述包含洛匹那韦和利托那韦的组合物可以有利地用作预防剂。

[0054] 可以将所述组合物施用于具有发展成宫颈癌的遗传倾向的受试者,或者甚至那些面临环境风险的受试者(例如,暴露于致癌物质的人)。在优选的实施方案中,可以将所述组合物施用于有发展成宫颈癌的风险的女性。这类女性可以包括那些被诊断出患有泌尿生殖道(尤其是宫颈)的高风险HPV(例如HPV16或HPV18)感染的女性。在诊断时,可能没有任何临床证据表明此类女性患有宫颈癌,甚至患有宫颈癌前细胞,但患有此类感染的女性据信有发展为宫颈癌的风险。所述组合物可以局部应用于患有宫颈病毒感染的女性的宫颈,以治疗病毒感染,从而防止将来的癌症发展。

[0055] 所述组合物可以作为单一疗法(即,单独使用两种抑制剂)或与用于癌症疗法中的其他化合物或治疗(例如,化疗剂、放疗)组合用于预防或治疗癌症。

[0056] 最优选地,所述组合物用于治疗人类(即患有宫颈癌或有患宫颈癌的风险的女性)。然而,应该理解的是,所述组合物也可以具有一些兽医用途。

[0057] 药物组合物

[0058] 根据本发明的组合物被配制成适合于局部应用的药物,特别是配制成用于经阴道内递送和局部应用于宫颈的药物。

[0059] 合适的制剂包括但不限于凝胶剂、乳膏剂、糊剂、软膏剂、洗剂、胚珠、软胶囊、栓剂、子宫托或其任意组合。在一些方面,所述药物组合物可以被配制成凝胶剂。在一些方面,所述药物组合物可以被配制成乳膏剂。在一些方面,所述药物组合物可以被配制成糊剂。在一些方面,所述药物组合物可以被配制成软膏剂。在一些方面,所述药物组合物可以被配制成洗剂。在一些方面,所述药物组合物可以被配制成胚珠。在一些方面,所述药物组合物可以被配制成软胶囊。在一些方面,所述药物组合物可以被配制成栓剂。在一些方面,所述药物组合物可以被配制成子宫托。在一些方面,所述药物组合物可以被配制成上述制剂的任意组合。

[0060] 在优选的实施方案中,所述组合物被配制成使得其适合于将API局部递送至宫颈(例如,作为软膏剂、凝胶剂、糊剂、乳膏剂、软胶囊或子宫托)以预防宫颈癌的发展或治疗宫颈癌(例如,由如HPV16或HPV18的高风险类型的HPV引起的)。

[0061] 当用于治疗宫颈癌(或预防宫颈癌的发展)时,可以将所述组合物配制成可通过本领域已知的技术直接应用于宫颈的凝胶剂、糊剂、乳膏剂或软膏剂。或者,可根据本领域已知的技术将所述组合物配制成阴道栓剂(或掺入子宫托中)。

[0062] 在其他方面,所述药物可以是胚珠的形式。所述胚珠可包含位于包衣内的乳膏剂或凝胶剂,所述包衣被构造成在阴道内施用时代化并释放所述乳膏剂或凝胶剂。或者,所述胚珠可以由被配置为在阴道内施用时代化的乳膏剂或凝胶剂组成。

[0063] 在一个实施方案中,所述药学上可接受的载体可以是液体,并且所述组合物可以是溶液。在另一个实施方案中,所述载体可以是凝胶,并且所述组合物可以是栓剂或子宫托。在另一个实施方案中,所述载体可以是乳液(或其他药学上可接受的基质),并且所述组合物可以是乳膏剂或糊剂。在另一个实施方案中,所述载体可以是光滑且油性的,并且所述组合物可以是软膏剂。

[0064] 将根据本发明使用的优选组合物配制成用作阴道软膏剂,其包含根据本发明第一

方面的组合物所限定的重量比的洛匹那韦和利托那韦。

[0065] 液体载体可用于制备溶液、悬浮液、乳液、糖浆、酞剂和加压组合物。活性成分可以溶解或悬浮在药学上可接受的液体载体中,例如水、有机溶剂、两者的混合物或药学上可接受的油或脂肪。所述液体载体可以包含其他合适的药物添加剂,例如增溶剂、乳化剂、缓冲剂、防腐剂、悬浮剂、增稠剂、着色剂、粘度调节剂、稳定剂或渗透调节剂。合适的液体载体的实例包括水(部分含有上述添加剂,例如纤维素衍生物,优选羧甲基纤维素钠溶液)、醇(包括一元醇和多元醇,例如乙二醇)及其衍生物,以及油(例如分馏的椰子油和花生油)。所述载体也可以是油性酯,如油酸乙酯和肉豆蔻酸异丙酯。用于加压组合物的液体载体可以是卤代烃或其他药学上可接受的推进剂。

[0066] 所述药物组合物可以是阴道栓剂。本领域技术人员可以选择常规的阴道栓剂的载体、包衣和其他成分以形成一种栓剂,所述栓剂的特征在于其包含治疗有效量的洛匹那韦和利托那韦。在一个实施方案中,阴道栓剂通常可以使用聚乙二醇作为洛匹那韦和利托那韦的主要载体。所述载体的其余部分可以由例如油酸、PEG35、蓖麻油、纯净水、明胶、山梨醇特殊多元醇或其任意组合组成。洛匹那韦和利托那韦几乎不溶于水,优选将这种有机碱(或其等效物)配制在这种阴道栓剂中。

[0067] 优选的药物组合物是软膏,并且包含最适合制备软膏的载体。这些形式中的一些在所述组合物中存在水。然而,含水的局部用组合物与易于通过水解降解的活性药物成分(API)一起使用并不总是理想的,因为这可能导致药物产品的保质期短和/或要求将所述组合物在特定条件下储存以使活性API的降解最小化。洛匹那韦和利托那韦是可能易于降解的API的实例。因此,优选的组合物是包含非水性载体的无水组合物。这样的载体通常是光滑的油性组合物,并且通常包含显著比例(w/w)的药学上可接受的油或脂肪(例如油酸)。这种载体可以包含其他合适的药物添加剂,例如增溶剂、乳化剂、缓冲剂、防腐剂、悬浮剂、增稠剂、着色剂、粘度调节剂、稳定剂或渗透调节剂。

[0068] 应当理解,洛匹那韦和利托那韦在根据本发明的组合物中的量将取决于确切的组分,尤其是所述组合物的载体。

[0069] 仅作为示例,软膏剂(例如下文所述的无水组合物和其他优选的组合物)中的洛匹那韦的合适的量可以为约0.1-30%w/w。在一些实施方案中,洛匹那韦在所述组合物中的量可以为约1.0-25%w/w。在一些实施方案中,洛匹那韦在所述组合物中的量可以为2.0-20%w/w。例如,软膏剂可包含约5%、6%、10%或12%(w/w)的洛匹那韦。

[0070] 利托那韦在此类组合物中的合适的量为约0.01-3%w/w。在一些实施方案中,利托那韦在所述组合物中的量可以为约0.1-2.5%w/w。在一些实施方案中,利托那韦在所述组合物中的量可以为0.15-1.5%w/w。例如,软膏剂可包含约0.4775%、0.5%、0.625%、0.995%、1%或1.25%(w/w)的洛匹那韦。

[0071] 优选的组合物可包含约8重量%至约14重量%的洛匹那韦和约0.75重量%至约1.4重量%的利托那韦。例如,所述组合物可以包含10重量%的洛匹那韦和0.955重量%的利托那韦,或者所述组合物可以包含12重量%的洛匹那韦和1重量%的利托那韦。

[0072] 另一优选的组合物可包含约4重量%至约7重量%的洛匹那韦和约0.375重量%至约0.75重量%的利托那韦。例如,所述组合物可以包含5重量%的洛匹那韦和0.4775重量%的利托那韦,或者所述组合物可以包含6重量%的洛匹那韦和0.5重量%的利托那韦。

[0073] 优选的无水组合物

[0074] 根据本发明使用的优选组合物是用于局部应用的无水组合物,其包含:

[0075] a. 重量比为9:1至18:1的洛匹那韦和利托那韦;和

[0076] b. 亲水性粘膜粘附剂(muco-adhesive);

[0077] 其中当将所述无水组合物局部施用到应用部位时,所述无水组合物转化为粘膜粘附剂组合物。

[0078] 有利地,在将所述无水组合物局部施用至施用部位(例如宫颈的粘膜)时,所述无水组合物转化为粘膜粘附剂组合物。无水组合物向粘膜粘附剂组合物的这种原位转化导致粘膜粘附剂组合物具有不同的流变行为,例如,与所述无水组合物相比,粘度增加和/或粘附性增加和/或粘着性增加。

[0079] 优选地,洛匹那韦:利托那韦的重量比在10.5:1和13.5:1之间,最优选约12.0:1(w/w)。

[0080] 亲水性粘膜粘附剂可以是非离子聚合物或离子聚合物。在一个实施方案中,所述非离子聚合物是纤维素醚。在一个实施方案中,所述纤维素醚选自甲基纤维素、乙基纤维素和羟丙基甲基纤维素。

[0081] 在优选的实施方案中,所述亲水性粘膜粘附剂是羟丙基甲基纤维素。在一个实施方案中,所述羟丙基甲基纤维素的甲氧基取代度为19至24重量%,而羟丙基取代度为4至12重量%。

[0082] 在另一个实施方案中,所述离子聚合物是聚丙烯酸钠。

[0083] 任选地,所述无水组合物中可以包含额外的赋形剂。

[0084] 在一个实施方案中,所述无水组合物还包含增稠剂。增稠剂是这样一种赋形剂,当将其添加到混合物中时,会增加混合物的粘度,并在将所述活性药物成分递送至应用部位的过程中赋予所述无水组合物更大的物理稳定性和/或控制。在一个实施方案中,所述增稠剂选自单二甘油酯(mono di glyceride)、地蜡(ceresin wax)和氢化植物油,或其组合。

[0085] 在一个实施方案中,所述无水组合物还包含硬化剂。所述硬化剂是用于使所述组合物硬化的赋形剂,使得所述组合物在室温下为半固体。方便地,所述硬化剂是饱和的游离脂肪酸,例如C₁₀-C₃₈的饱和游离脂肪酸,例如C₁₆-C₂₂的饱和游离脂肪酸。饱和游离脂肪酸是其中脂肪酸的碳原子之间没有双键的游离脂肪酸(即,所述脂肪酸未与另一分子结合,例如甘油)。在一个实施方案中,所述硬化剂选自:癸酸、十一酸、月桂酸、十三酸、肉豆蔻酸、十五酸、棕榈酸、十七酸、硬脂酸、十九酸、花生酸、二十一酸、二十二酸、二十三酸、二十四酸、二十五酸、蜡酸、二十七酸、褐煤酸、二十九酸、蜂花酸、三十一酸、虫漆醋酸、叶虱酸、格地酸、三十五酸、三十六酸、三十七酸和三十八酸。所述硬化剂优选是硬脂酸。

[0086] 在一个实施方案中,所述组合物中存在的总饱和脂肪酸(结合的和游离形式的脂肪酸)中,至少90重量%,例如至少95重量%、例如至少98重量%、例如至少99重量%,或例如至少99.5重量%,为游离形式,即未酯化的或未结合至其他组分(如甘油)。技术人员将知道用于确定游离脂肪酸含量相对于总脂肪酸含量的方法。例如,可以通过使游离脂肪酸与发色化合物反应,从而改变发色化合物吸收电磁辐射的频率来测量游离脂肪酸含量。因此,可以通过使用合适的波长监测发色化合物来确定反应的发色化合物的浓度,其转而可以用于确定样品中的游离脂肪酸含量。

[0087] 在一个实施方案中,所述饱和的游离脂肪酸不是甘油三酯或聚山梨酸酯的形式。

[0088] 在一个实施方案中,所述无水组合物还包含洛匹那韦和利托那韦的溶剂。

[0089] 在一个实施方案中,所述溶剂选自不饱和游离脂肪酸、PEG蓖麻油、二甘醇单乙醚、丙二醇、聚乙二醇和中链甘油三酯。脂肪酸通常衍生自甘油三酯或磷脂。甘油具有三个羟基官能团,可以将它们与一种、两种或三种脂肪酸酯化以分别形成甘油单酯、甘油二酯或甘油三酯。磷脂分子由两个疏水性脂肪酸“尾部”和一个由磷酸基团组成的亲水性“头部”组成。这两个组分通过甘油分子连接在一起。甘油三酯和磷脂两者均包含处于结合状态的脂肪酸。相反,游离脂肪酸是未结合的脂肪酸,即它们是未酯化的。不饱和游离脂肪酸是其中脂肪酸的碳原子之间存在至少一个双键的游离脂肪酸。在一个实施方案中,所述溶剂是不饱和和游离脂肪酸。

[0090] 在一个实施方案中,所述不饱和游离脂肪酸选自油酸、亚油酸、 α -亚油酸、棕榈油酸、巨头鲸鱼酸和蓖麻油酸。

[0091] 在一个实施方案中,所述不饱和游离脂肪酸是油酸。

[0092] 在一个实施方案中,所述组合物中存在的总不饱和脂肪酸(结合的和游离形式的不饱和脂肪酸)中,至少90重量%,例如至少95重量%、例如至少98重量%、例如至少99重量%,或例如至少99.5重量%,为游离形式,即未酯化的或未结合至其他组分(如甘油)。技术人员将知道用于确定游离脂肪酸含量相对于总脂肪酸含量的方法。例如,可以通过使游离脂肪酸与发色化合物反应,从而改变发色化合物吸收电磁辐射的频率来测量游离脂肪酸含量。因此,可以通过使用合适的波长监测发色化合物来确定反应的发色化合物的浓度,其转而可以用于确定样品中的游离脂肪酸含量。

[0093] 应当理解,可商购的游离脂肪酸产品可以包含少量其他游离脂肪酸。例如,油酸通常包含7-12%的饱和游离脂肪酸(例如硬脂酸和棕榈酸)以及其他不饱和游离脂肪酸(例如亚油酸)(《药物赋形剂手册》,第二版,请参见油酸条目)。术语“饱和游离脂肪酸”或“不饱和游离脂肪酸”应理解为是指药典等级(例如美国药典和/或英国药典)的饱和游离脂肪酸或不饱和游离脂肪酸,并且饱和的游离脂肪酸或不饱和的游离脂肪酸可以包含少量其他游离脂肪酸。

[0094] 在一个实施方案中,所述不饱和的游离脂肪酸不是甘油三酯或聚山梨酸酯的形式。

[0095] 所述组合物中存在的总饱和脂肪酸(结合的和游离形式的不饱和以及饱和脂肪酸)中,至少90重量%,例如至少95重量%、例如至少98重量%、例如至少99重量%,或例如至少99.5重量%,可以为游离形式,即未酯化的或未结合至其他组分(如甘油)的。

[0096] 在一个实施方案中,所述无水组合物还包含油酸和硬脂酸。

[0097] 在一个实施方案中,所述无水组合物还包含油酸、硬脂酸、单二甘油酯、地蜡和氢化植物油。

[0098] 在一个实施方案中,提供了用于局部应用的无水组合物,其包括:

- [0099] a. 利托那韦;
- [0100] b. 洛匹那韦;
- [0101] c. 羟丙基甲基纤维素;
- [0102] d. 油酸;

- [0103] e. 硬脂酸;以及
- [0104] f. 丁羟甲苯。
- [0105] 在一个实施方案中,所述无水组合物包括:
- [0106] a. 约1.2至约1.4重量%的利托那韦;
- [0107] b. 约9至约11重量%的洛匹那韦;
- [0108] c. 约0.5至约1.5重量%的羟丙基甲基纤维素;
- [0109] d. 约55至约65重量%的油酸;
- [0110] e. 约28至约32重量%的硬脂酸;以及
- [0111] f. 约0.05至约0.5重量%的丁羟甲苯;
- [0112] 其中所有重量%均基于所述组合物的总重量计。
- [0113] 在另一个实施方案中,所述无水组合物包括:
- [0114] a. 约0.5至约0.7重量%的利托那韦;
- [0115] b. 约4至约6重量%的洛匹那韦;
- [0116] c. 约0.5至约1.5重量%的羟丙基甲基纤维素;
- [0117] d. 约55至约65重量%的油酸;
- [0118] e. 约28至约32重量%的硬脂酸;以及
- [0119] f. 约0.05至约0.5重量%的丁羟甲苯;
- [0120] 其中所有重量%均基于所述组合物的总重量计。
- [0121] 优选的无水组合物包括:
- [0122] a. 利托那韦;
- [0123] b. 洛匹那韦;
- [0124] c. 羟丙基甲基纤维素;
- [0125] d. 油酸;
- [0126] e. 硬脂酸;
- [0127] f. 丁羟甲苯;
- [0128] g. 单二甘油酯;
- [0129] h. 地蜡;
- [0130] i. 氢化植物油;
- [0131] j. 聚乙二醇100硬脂酸酯;以及
- [0132] k. 单油酸甘油酯;
- [0133] 在一个实施方案中,所述无水组合物包括:
- [0134] a. 约0.9至约1.1重量%的利托那韦;
- [0135] b. 约9至约11重量%的洛匹那韦;
- [0136] c. 约0.5至约1.5重量%的羟丙基甲基纤维素;
- [0137] d. 约55至约65重量%的油酸;
- [0138] e. 约4至约5重量%的硬脂酸;
- [0139] f. 约0.1至约0.3重量%的丁羟甲苯;
- [0140] g. 约4至约6重量%的单二甘油酯;
- [0141] h. 约5至约7重量%的地蜡;

- [0142] i. 约9至约11重量%的氢化植物油;
- [0143] j. 约1至约3重量%的聚乙二醇100硬脂酸酯;以及
- [0144] k. 约2至约4重量%的单油酸甘油酯;
- [0145] 其中所有重量%均基于所述组合物的总重量计。
- [0146] 在一个实施方案中,所述无水组合物包括:
- [0147] a. 约0.9至约1.1重量%的利托那韦;
- [0148] b. 约11至约13重量%的洛匹那韦;
- [0149] c. 约0.5至约1.5重量%的羟丙基甲基纤维素;
- [0150] d. 约50至约60重量%的油酸;
- [0151] e. 约4至约5重量%的硬脂酸;
- [0152] f. 约0.1至约0.3重量%的丁羟甲苯;
- [0153] g. 约4至约6重量%的单二甘油酯;
- [0154] h. 约5至约7重量%的地蜡;
- [0155] i. 约9至约11重量%的氢化植物油;
- [0156] j. 约1至约3重量%的聚乙二醇100硬脂酸酯;以及
- [0157] k. 约2至约4重量%的单油酸甘油酯;
- [0158] 其中所有重量%均基于所述组合物的总重量计。
- [0159] 在一个实施方案中,所述无水组合物包括:
- [0160] a. 约0.4至约0.6重量%的利托那韦;
- [0161] b. 约4至约6重量%的洛匹那韦;
- [0162] c. 约0.5至约1.5重量%的羟丙基甲基纤维素;
- [0163] d. 约55至约65重量%的油酸;
- [0164] e. 约4至约5重量%的硬脂酸;
- [0165] f. 约0.1至约0.3重量%的丁羟甲苯;
- [0166] g. 约4至约6重量%的单二甘油酯;
- [0167] h. 约5至约7重量%的地蜡;
- [0168] i. 约9至约11重量%的氢化植物油;
- [0169] j. 约1至约3重量%的聚乙二醇100硬脂酸酯;以及
- [0170] k. 约2至约4重量%的单油酸甘油酯;
- [0171] 其中所有重量%均基于所述组合物的总重量计。
- [0172] 在一个实施方案中,所述无水组合物包括:
- [0173] a. 约0.4至约0.6重量%的利托那韦;
- [0174] b. 约5至约7重量%的洛匹那韦;
- [0175] c. 约0.5至约1.5重量%的羟丙基甲基纤维素;
- [0176] d. 约55至约65重量%的油酸;
- [0177] e. 约4至约5重量%的硬脂酸;
- [0178] f. 约0.1至约0.3重量%的丁羟甲苯;
- [0179] g. 约4至约6重量%的单二甘油酯;
- [0180] h. 约5至约7重量%的地蜡;

- [0181] i. 约9至约11重量%的氢化植物油;
- [0182] j. 约1至约3重量%的聚乙二醇100硬脂酸酯;以及
- [0183] k. 约2至约4重量%的单油酸甘油酯;
- [0184] 其中所有重量%均基于所述组合物的总重量计。
- [0185] 其他优选的组合物
- [0186] 根据本发明使用的另一种优选的组合物是药物组合物,其包含:
- [0187] a. 不饱和游离脂肪酸;
- [0188] b. 硬化剂;以及
- [0189] c. 重量比为10:1至18:1的洛匹那韦和利托那韦;
- [0190] 其中所述不饱和游离脂肪酸的存在量为药物组合物总重量的至少20重量%,并且其中所述药物组合物在室温下为半固体。
- [0191] 优选地,洛匹那韦:利托那韦的重量比在10.5:1和13.5:1之间,最优选约12.0:1 (w/w)。
- [0192] 常规组合物使用植物油和/或聚山梨酸酯作为增稠组合物的剂。有利地,确立了:不饱和的游离脂肪酸和硬化剂可以用于制备在室温下为半固体的药物组合物,其可以以静止的材料状态存在,直到施加外应力导致所述材料流动。这样的外部应力可以是将组合物应用到靶组织(即宫颈)上,并且发明人发现,这种组合物对于将洛匹那韦和利托那韦递送至靶组织特别有效。
- [0193] 有利地,所述药物组合物仅包含游离脂肪酸(不饱和游离脂肪酸和/或饱和游离脂肪酸)形式的脂肪,例如所述组合物中的所有脂肪酸均以游离脂肪酸的形式存在。这允许所述药物组合物在室温下生产,这在以下情况是有利的:至少一种活性药物易于降解,并且其中当所述活性药物成分暴露于热时降解的速率和/或程度增加。
- [0194] 所述不饱和游离脂肪酸可以如以上对于无水组合物所述,并且优选为油酸。
- [0195] 所述硬化剂可以如以上对于无水组合物所述,并且优选为硬脂酸。
- [0196] 这样的药物组合物可以任选地包括如以上对于无水组合物所述的粘膜粘附剂和其他赋形剂。
- [0197] 优选的药物组合物在实施例7和表2-5中公开,并且如实施例7或实施例10.1中所公开的进行制造。
- [0198] 给药
- [0199] 应该理解的是,所需的洛匹那韦和利托那韦的量由生物活性和生物有效性决定,而生物活性和生物有效性又部分取决于所用组合物的精确的施用方式、理化性质以及所述组合物是用作单一疗法或是在与其他口服或局部药物的联合疗法中使用。实际上,除了将相同化合物或其他活性药物成分口服给药外,还可以局部应用所述至少一种活性药物成分。施用频率还将受到上述因素的影响,特别是活性药物成分在被治疗的受试者体内的半衰期。
- [0200] 每日剂量可以单次施用(例如,作为软膏剂、软胶囊、阴道栓剂、胚珠或子宫托)。优选地,每天一次并且优选地在晚上入睡前施用所述组合物。或者,一天中可以两次或多次施用。例如,可以将所述组合物至少每天一次局部施用,例如每天一次或每天两次。
- [0201] 所施用的最佳的剂量可以由本领域技术人员确定,并且将随制剂的强度、施用方

式和疾病状况的进展而变化。取决于所治疗的特定受试者的其他因素将导致需要调节剂量,所述其他因素包括例如受试者的年龄、体重、饮食和施用时间。

[0202] 给予的洛匹那韦的合适量为约0.1mg至约10.0g的日剂量。在一些实施方案中,洛匹那韦的日剂量可以为约10mg至约5.0g。在一些实施方案中,洛匹那韦的日剂量可以为约25mg至约1.0g。方便地,洛匹那韦的日剂量可在25mg至500mg之间(例如约300mg或150mg)。

[0203] 给予的利托那韦的合适量为约0.01mg至约1.0g的日剂量。在一些实施方案中,利托那韦的日剂量可以为约1.0mg至约250.0mg。在一些实施方案中,利托那韦的日剂量可以为约2.5mg至约100mg。方便地,利托那韦的日剂量可在5mg至50mg之间(例如约25mg、28.65mg、12.5mg或14.325mg)。

[0204] 在一个实施方案中,每天可以将约300mg的洛匹那韦和约28.65mg的利托那韦施用于女性的宫颈。

[0205] 在另一个实施方案中,每天可以施用约150mg的洛匹那韦和约14.325mg的利托那韦以治疗女性的宫颈。

[0206] 在另一个实施方案中,每天可以施用约300mg的洛匹那韦和约25mg的利托那韦以治疗女性的宫颈。

[0207] 在另一个实施方案中,每天可以施用约150mg的洛匹那韦和约12.5mg的利托那韦以治疗女性的宫颈。

[0208] 应当理解,需要向受试者施用的组合物的量将取决于洛匹那韦和利托那韦在所述组合物中的浓度以及需要治疗的病变的尺寸。举例来说,优选的软膏剂(例如上述优选的无水组合物)可以通过注射器以足以施用0.5-15.0g的体积施用,优选以足以施用1.0-7.5g所述组合物的体积施用。

[0209] 在一个实施方案中,每天可以向受试者施用约3.0g的组合物。这样的剂型可包含约300mg洛匹那韦和约28.65mg利托那韦;或约150mg的洛匹那韦和约14.325mg的利托那韦。

[0210] 在另一个实施方案中,每天可以向受试者施用约2.5g的组合物。这样的剂型可包含约300mg洛匹那韦和约25mg利托那韦;或约150mg的洛匹那韦和约12.5mg的利托那韦。

[0211] 在一个优选的实施方案中,将约3.0g的表2或表3中公开的软膏剂通过注射器施用器以每天一次的应用(优选在晚上在夜晚就寝之前)施用于宫颈。

[0212] 在最优选的实施方案中,将约2.5g的表4或表5中公开的软膏剂通过注射器施用器以每天一次的应用(优选在晚上在夜晚就寝之前)施用于宫颈。

[0213] 优选的治疗方案

[0214] 只要需要治疗,就可以将所述药物施用于受试者。治疗所需的时长取决于要治疗或预防的确切病况及其严重程度。本领域技术人员将理解,应考虑多种因素来维持治疗,所述因素将包括根除任何致癌病毒(例如HPV);减少或根除具有癌前表型或癌表型的细胞;或缩小或根除任何肿瘤或其他病变(例如疣)的任何需要。

[0215] 在一个实施方案中,一个疗程可以持续2-4周、7-21天或大约14天。在这段时间之后,临床医生可以评估所述疗程是否成功。然后可以做出是否继续治疗的决定。

[0216] 应当理解,在为患有与宫颈有关的病况的女性决定治疗方案时,临床医生可能希望考虑月经。因此,优选的治疗方案可以持续约14-21天,并且可以在月经之间施用。临床医生可以选择在月经期间停止宫颈的局部治疗,并在下一个月经周期重新开始新的疗程。举

例来说,优选的治疗方案可以是:(1)施用14-21天;(2)随后1-14天不治疗(在此期间如果治疗宫颈可能会出现月经);以及(3)如果认为有医学上的必要性,则可再进行周期为14-21天的治疗。

[0217] 在优选的实施方案中,可以治疗女性的宫颈,使得她每天接受约300mg洛匹那韦和约28.65mg利托那韦,持续14-21天;然后可以停止治疗1-14天,并可以进行临床重新评估;然后,如果需要,可以再施用每天约300mg洛匹那韦和约28.65mg利托那韦的第二治疗周期,持续14-21天。在第二周期后,可以进行进一步的临床评估,并决定是否需要后续治疗周期。

[0218] 在另一优选的实施方案中,可以治疗女性的宫颈,使得她每天接受约150mg洛匹那韦和约14.325mg利托那韦,持续14-21天;然后可以停止治疗1-14天,并可以进行临床重新评估;然后,如果需要,可以再施用每天约150mg洛匹那韦和约14.325mg利托那韦的第二治疗周期,持续14-21天。在第二周期后,可以进行进一步的临床评估,并决定是否需要后续治疗周期。

[0219] 在另一优选的实施方案中,可以治疗女性的宫颈,使得她每天接受约300mg洛匹那韦和约25mg利托那韦,持续14-21天;然后可以停止治疗1-14天,并可以进行临床重新评估;然后,如果需要,可以再施用每天约300mg洛匹那韦和约25mg利托那韦的第二治疗周期,持续14-21天。在第二周期后,可以进行进一步的临床评估,并决定是否需要后续治疗周期。

[0220] 在另一优选的实施方案中,可以治疗女性的宫颈,使得她每天接受约150mg洛匹那韦和约12.5mg利托那韦,持续14-21天;然后可以停止治疗1-14天,并可以进行临床重新评估;然后,如果需要,可以再施用每天约150mg洛匹那韦和约12.5mg利托那韦的第二治疗周期,持续14-21天。在第二周期后,可以进行进一步的临床评估,并决定是否需要后续治疗周期。

[0221] 这些方案中的每一个可以最优选地涉及(每天一次)对受试者施用0.5-15.0g的根据本发明的软膏剂,优选1.0-7.5g的软膏剂,并且最优选约2.5g或约3.0g的软膏剂。

[0222] 实施例8中描述了优选的治疗方案。

[0223] 与HPV相关的发育不良的治疗

[0224] 在本发明的优选实施方案中,所述药物组合物可用于治疗患有与HPV相关的宫颈发育不良的女性受试者。

[0225] 如本文所用,“发育不良”涵盖浸润前病变和癌症。与HPV相关的浸润前病变包括高级别鳞状上皮内病变(HSIL)、意义不明的非典型鳞状细胞(ASCUS)和低级别鳞状上皮内病变(LSIL)。与HPV相关的癌症包括,例如宫颈上皮内瘤变(CIN)和浸润性宫颈癌(ICC)。

[0226] 所公开的方法和治疗方案可以用于治疗与HPV相关的发育不良。在一些方面,例如,所公开的方法和治疗方案可以用于治疗HSIL。在一些方面,所公开的方法和治疗方案可以用于治疗ASCUS。在其他方面,所公开的方法和治疗方案可以用于治疗LSIL。在其他方面,所公开的方法和治疗方案可以用于治疗CIN。在其他实施方案中,所公开的方法和治疗方案可以用于治疗ICC。另外,所公开的方法和治疗方案可以用于抑制与HPV相关的发育不良的进展。在一些方面,例如,所公开的方法和治疗方案可以用于抑制HSIL的进展。在一些方面,所公开的方法和治疗方案可以用于抑制ASCUS的进展。在其他方面,所公开的方法和治疗方案可以用于抑制LSIL的进展。在其他方面,所公开的方法和治疗方案可以用于抑制CIN的进展。在其他实施方案中,所公开的方法和治疗方案可用于抑制ICC的进展。

[0227] 所述药物组合物可以减轻与HPV相关的发育不良的严重性。可以通过例如组织学变化来测量和分级与HPV相关的发育不良的严重性。进行与HPV相关病变的活检的组织学研究的方法是本领域众所周知的。在一些实施方案中,例如,所公开的组合物可以降低CIN3的严重性。在一些方面,所公开的组合物可以将CIN3的严重性降低至CIN2。在其他方面,所公开的组合物可以将CIN3的严重性降低至CIN1。在其他方面,所公开的组合物可以将CIN3的严重性降低至HPV阴性。在其他方面,所公开的组合物可以将CIN2的严重性降低至CIN1。在其他方面,所公开的组合物可以将CIN2的严重性降低至HPV阴性。在其他方面,所公开的组合物可以将CIN1的严重性降低至HPV阴性。

[0228] 受试者可能具有HSIL、ASCUS或LSIL的宫颈细胞学(例如,来自PAP涂片检查)。将所述药物组合物施用于这样的受试者可以降低宫颈细胞学。在一些方面,所述宫颈细胞学从HSIL降低至正常细胞学。在一些方面,所述宫颈细胞学从HSIL降低至ACSUS。在一些方面,所述宫颈细胞学从HSIL降低至LSIL。在一些方面,所述宫颈细胞学检查从至ACSUS降低至正常细胞学。在一些方面,所述宫颈细胞学从LSIL降低至正常细胞学。

[0229] 可以在用所公开的组合物治疗之前、期间和/或之后的任何合适的时间段进行组织学评估,以评估和/或分级与HPV相关的发育不良的严重性,以及进行细胞学筛查。在一些实施方案中,所述方法进一步包括对受试者的治疗后监测。用于治疗后监测的合适时间框包括但不限于用所公开的药物组合物治疗后4周、8周、12周、16周、20周、24周、28周、32周、36周、40周、44周、48周或52周。在某些方面,例如,可以在基线(治疗前)和治疗后6个月进行组织学评估,以评估CIN状况的变化。在其他方面,可以在基线和治疗后6个月进行细胞学筛查以评估宫颈细胞学的变化。在其他方面,可以在基线和治疗后6个月进行组织学评估和细胞学筛查,以分别评估CIN状态和宫颈细胞学的变化。

[0230] 在施用所述组合物后约4周至约52周的时间内,可以降低与HPV相关的发育不良的程度和等级。在一些方面,在施用所述组合物后约4周至约46周,可以降低所述发育不良的程度和组织学等级。在一些方面,在施用所述组合物后约4周至约40周,可以降低所述发育不良的程度和组织学等级。在一些方面,在施用所述组合物后约4周至约34周,可以降低所述发育不良的程度和组织学等级。在一些方面,在施用所述组合物后约4周至约28周,可以降低所述发育不良的程度和组织学等级。在一些方面,在施用所述组合物后约4周至约24周,可以降低所述发育不良的程度和组织学等级。在一些方面,在施用所述组合物后约4周至约18周,可以降低所述发育不良的程度和组织学等级。在一些方面,在施用所述组合物后约4周至约12周,可以降低所述发育不良的程度和组织学等级。在一些方面,在施用所述组合物后约6周至约10周,可以降低所述发育不良的程度和组织学等级。在一些方面,在施用所述组合物后约8周至约52周,可以降低所述发育不良的程度和组织学等级。在一些方面,在施用所述组合物后约12周至约52周,可以降低所述发育不良的程度和组织学等级。在一些方面,在施用所述组合物后约18周至约52周,可以降低所述发育不良的程度和组织学等级。在一些方面,在施用所述组合物后约24周至约52周,可以降低所述发育不良的程度和组织学等级。在一些方面,在施用所述组合物后约30周至约52周,可以降低所述发育不良的程度和组织学等级。在一些方面,在施用所述组合物后约36周至约52周,可以降低所述发育不良的程度和组织学等级。在一些方面,在施用所述组合物后约42周至约52周,可以降低所述发育不良的程度和组织学等级。在一些方面,在施用所述组合物后约48周至约52周,可以降

低。在一些方面,在施用所述组合物后约8周内,宫颈细胞学等级降低。在一些方面,在施用所述组合物后约9周内,宫颈细胞学等级降低。在一些方面,在施用所述组合物后约10周内,宫颈细胞学等级降低。在一些方面,在施用所述组合物后约11周内,宫颈细胞学等级降低。在一些方面,在施用所述组合物后约12周内,宫颈细胞学等级降低。在一些方面,在施用所述组合物后约16周内,宫颈细胞学等级降低。在一些方面,在施用所述组合物后约20周内,宫颈细胞学等级降低。在一些方面,在施用所述组合物后约24周内,宫颈细胞学等级降低。在一些方面,在施用所述组合物后约28周内,宫颈细胞学等级降低。在一些方面,在施用所述组合物后约32周内,宫颈细胞学等级降低。在一些方面,在施用所述组合物后约36周内,宫颈细胞学等级降低。在一些方面,在施用所述组合物后约40周内,宫颈细胞学等级降低。在一些方面,在施用所述组合物后约44周内,宫颈细胞学等级降低。在一些方面,在施用所述组合物后约48周内,宫颈细胞学等级降低。在一些方面,在施用所述组合物后约52周内,宫颈细胞学等级降低。

[0234] 所公开的药物组合物的治疗有效剂量可以施用药约1周至约4周。在这段时间之后,临床医生可以评估所述疗程是否成功。然后可以做出是否继续治疗的决定。

[0235] 在一些实施方案中,所述组合物诱导HPV感染的细胞的凋亡。

[0236] 实施例

[0237] 实施例1:评估总API浓度为 $20\mu\text{M}$ 的、比例为8:1-16:1w/w的洛匹那韦:利托那韦对E6/E7永生化非转化宫颈内膜细胞的效应

[0238] E6/E7宫颈内膜细胞是一种非转化细胞系,其表型类似于在与HPV相关的宫颈发育不良中发现的表型。因此,所述细胞系代表了良好模型用于评估洛匹那韦和利托那韦对癌前和早期癌症病况的效应。例如,与HPV相关的发育不良CIN1-CIN3。

[0239] 1.1方法

[0240] 1.1.1细胞培养

[0241] 在5%CO₂和37°C下,将E6/E7细胞通过标准方法维持在RPMI生长培养基中,所述培养基含有5%胎牛血清(FCS)。

[0242] 对从T75融合起始培养物接种到T25烧瓶中的细胞进行了实验。将所述细胞在T25烧瓶中培养6天。前三天遵循标准培养条件,而在第4-6天,使所述细胞在没有FCS的生长培养基中生长。此步骤使细胞在生长周期中同步化,并且发明人发现此步骤改善了后续测定步骤的性能。

[0243] 1.1.2处理

[0244] 第六天(1.1.1)后,在RPMI生长培养基中继续培养3天,所述RPMI培养基含有5%FCS且总API浓度为 $20\mu\text{M}$,并且具有在结果部分所述比例的洛匹那韦和利托那韦。

[0245] 1.1.3在NC3000图像细胞仪(Chemometec Ltd,挪威)中进行DNA片段化测定。

[0246] 用API培养的最后一天后,将所述细胞用胰蛋白酶消化、沉淀并使用标准化程序用PBS洗涤。然后根据制造商的DNA片段化测定程序(Chemometec Ltd,挪威),将所述细胞在70%乙醇中固定至少4个小时,在PBS中洗涤、计数,然后用DAPI染色。

[0247] 然后使用八腔室载玻片以NC3000图像细胞仪分析染色的细胞。代表性的细胞周期/DNA片段化图显示在图3(B)中。流式细胞仪区分细胞周期的四个阶段的细胞(图3(B)中的M1-M4对应于Sub G1(死细胞)、G1、S和G2),具体取决于检测所测定的样品中每个细胞的

特征性DNA染色。盒须图(Box and Whisker Plot)上的每个数据点都是这四个测定的结果,使用R程序通过成对排列检验对这四个测定的统计学显著性进行了分析。计算经历凋亡性DNA片段化(Sub G1)的细胞相对于具有完整2N DNA(G1)的细胞的百分比,并且对于用指定比例的洛匹那韦:利托那韦处理的细胞,将数据绘制为条形图。

[0248] 1.2结果

[0249] 图1表现了以8:1、10:1、12:1、14:1和16:1(w/w)的洛匹那韦和利托那韦处理后,经历凋亡性DNA片段化(Sub G1)的细胞相对于具有完整2N DNA(G1)的细胞的百分比的数据。

[0250] 发明人惊讶地注意到,对于12:1(w/w)比例的API,凋亡活性的统计学上显著的峰(对应于E6/E7细胞的诱导的细胞死亡)是明显的(参见图1)。

[0251] 这说明,根据本发明的比例的洛匹那韦和利托那韦对于治疗宫颈的浸润前病状,并且特别是与HOV相关的病状(CIN1-CIN3)具有改善的功效。

[0252] 实施例2:评估总API浓度为20 μ M的、比例为8:1-14:1w/w的洛匹那韦:利托那韦对HPV18阳性HeLa宫颈癌细胞的效应

[0253] 在HeLa细胞中评估了不同比例的洛匹那韦和利托那韦的效应。HeLa细胞是HPV18阳性宫颈癌细胞系,是与HPV相关的恶性疾病(例如浸润性宫颈癌(ICC))的良好模型。

[0254] 2.1方法

[0255] 遵循1.1中描述的方法,除了:

[0256] 2.1.1:将所述细胞在T25烧瓶中培养2天。第一天遵循标准培养条件,而在第二天使所述细胞在没有FCS的生长培养基中生长。

[0257] 2.1.2:在RPMI生长培养基中继续培养2天,所述RPMI培养基含有5%FCS且总API浓度为20 μ M,并且具有在结果部分所述比例的洛匹那韦和利托那韦。

[0258] 2.2结果

[0259] 图2(A)表现了以DMSO(对照);单独的20 μ M洛匹那韦;以及8:1、10:1、12:1、和14:1(w/w)的洛匹那韦和利托那韦处理后,经历凋亡性DNA片段化(Sub G1)的细胞相对于具有完整2N DNA(G1)的细胞的百分比的数据。

[0260] 发明人注意到,当利托那韦以8:1和10:1的比例包括在内时,由洛匹那韦引起的凋亡活性增加,并且与E6/E7细胞的情况一样,在12:1(w/w)比例的API时达到峰值。

[0261] 图2(B)表示第二个实验的数据,其检查了DMSO(对照);单独的20 μ M洛匹那韦;8:1和14:1(w/w)的洛匹那韦和利托那韦的效果。该图说明,对于杀死HeLa细胞来讲,根据本发明的比例的洛匹那韦:利托那韦(14:1)比单独的洛匹那韦或者8:1比例的API明显更加有效。

[0262] 这说明根据本发明的比例的洛匹那韦和利托那韦对于治疗与HPV相关的恶性疾病和ICC将具有改善的功效。

[0263] 实施例3:评估总API浓度为20 μ M的、比例为12:1w/w的洛匹那韦:利托那韦对HPV16阳性SiHa宫颈癌细胞的效应

[0264] 在SiHa细胞中评估了不同比例的洛匹那韦和利托那韦的效应。SiHa细胞是HPV16阳性宫颈癌细胞系,并且是与HPV相关的恶性疾病以及ICC浸润性宫颈癌(ICC)的良好模型。

[0265] 3.1方法

[0266] 遵循1.1中描述的方法,除了:

[0267] 3.1.1:将所述细胞在T25烧瓶中培养7天。前4天遵循标准培养条件,而在第5-7天,使所述细胞在没有FCS的生长培养基中生长。

[0268] 3.1.2:在RPMI生长培养基中继续培养3天,所述RPMI培养基含有5%FCS且总API浓度为20 μ M,并且具有在结果部分所述比例的洛匹那韦和利托那韦。

[0269] 3.2结果

[0270] 图3(A)表现了以DMSO(对照);单独的20 μ M洛匹那韦;以及8:1或12:1(w/w)的洛匹那韦和利托那韦处理后,经历凋亡性DNA片段化(Sub G1)的细胞相对于具有完整2N DNA(G1)的细胞的百分比的数据。所述数据说明,对于杀死SiHa细胞来讲,根据本发明的比例的洛匹那韦:利托那韦(12:1)比单独的洛匹那韦或者8:1(w/w)比例的API明显更加有效。

[0271] 这说明,根据本发明的比例的洛匹那韦和利托那韦对于治疗与HPV相关的恶性疾病和ICC的将具有改善的功效。

[0272] 图3(B)表示从图像细胞仪生成的细胞周期/DNA片段化图(如盒须图),并且图3(B)被包括在内以显示导出图3(A)的原始数据。类似的图(未显示)是图1、2和4的基础。

[0273] 实施例4:评估总API浓度为25 μ M的、比例为10:1和12:1w/w的洛匹那韦:利托那韦对HPV16阳性SNU17宫颈癌细胞的效应

[0274] SNU17细胞是HPV16阳性宫颈细胞癌细胞,来自40岁的蒙古女性,并获自Creative Bioarray。所述细胞系是用于治疗与HPV相关的恶性疾病和浸润性宫颈癌(ICC)的另一种模型。

[0275] 4.1方法

[0276] 遵循1.1中描述的方法,除了:

[0277] 4.1.1:将所述细胞在T25烧瓶中培养4天。前两天遵循标准培养条件,而在第3和4天,使所述细胞在没有FCS的生长培养基中生长。

[0278] 4.1.2:在RPMI生长培养基中继续培养3天,所述RPMI培养基含有5%FCS且总API浓度为25 μ M,并且具有在结果部分所述比例的洛匹那韦和利托那韦。

[0279] 4.2结果

[0280] 图4表现了以DMSO(对照);单独的20 μ M洛匹那韦;以及8:1、10:1或12:1(w/w)的洛匹那韦和利托那韦处理后,经历凋亡性DNA片段化(Sub G1)的细胞相对于具有完整2N DNA(G1)的细胞的百分比的数据。所述数据说明,对于杀死SNU17细胞来讲,根据本发明的比例的洛匹那韦:利托那韦(10:1和12:1(w/w))比单独的洛匹那韦或者8:1(w/w)比例的API明显更加有效。

[0281] 实施例5:评估总API浓度为20 μ M的、比例为(11-13.5)w/w的Lop/Rit的小的变化对HeLa细胞的影响

[0282] 进行另外的实验以进一步评估根据本发明使用的洛匹那韦:利托那韦的最佳比例。

[0283] 5.1方法

[0284] 遵循实施例2中描述的方法。

[0285] 5.2结果

[0286] 图5(A)表现了以DMSO(对照);单独的20 μ M洛匹那韦;以及11:1、11:5、12:1、12.5:1、13:1和13:5(w/w)的洛匹那韦和利托那韦处理后,经历凋亡性DNA片段化(Sub G1)的细胞

相对于具有完整2N DNA (G1) 的细胞的百分比的数据。所述数据说明,对于杀死HeLa细胞来讲,根据本发明的比例的洛匹那韦:利托那韦(特别是在11.5和12:1)比单独的洛匹那韦明显更加有效。

[0287] 这说明,根据本发明的比例的洛匹那韦和利托那韦对于治疗与HPV相关的恶性疾病将具有改善的功效。

[0288] 图5(B)表示从图像细胞仪生成的细胞周期/DNA片段化图(如盒须图),并且图5(B)被包括在内以说明导出图5(A)的原始数据。类似的图(未显示)是图1、2和4的基础。

[0289] 实施例6:评估总API浓度为20 μ M的、比例为(11-13.5)w/w的Lop/Rit的小的变化对SIHA细胞的影响

[0290] 进行其他的实验以进一步评估根据本发明使用的洛匹那韦:利托那韦的最佳比例。

[0291] 6.1方法

[0292] 遵循实施例3中描述的方法。

[0293] 6.2结果

[0294] 图6表现了以DMSO(对照);单独的20 μ M洛匹那韦;以及11:1、11.5:1、12:1、12.5:1、13:1和13.5(w/w)的洛匹那韦和利托那韦处理后,经历凋亡性DNA片段化(Sub G1)的细胞相对于具有完整2N DNA (G1) 的细胞的百分比的数据。所述数据说明,对于杀死SiHa细胞来讲,根据本发明的比例的洛匹那韦:利托那韦(特别是在11:1、11.5和12:1)比单独的洛匹那韦明显更加有效。

[0295] 这说明,根据本发明的比例的洛匹那韦和利托那韦对于治疗与HPV相关的宫颈恶性疾病或ICC将具有改善的功效。

[0296] 实施例1-6中给出的这些数据表明,对于诱导的细胞死亡,根据本发明的比例的洛匹那韦和利托那韦比单独的洛匹那韦或落在本发明限定范围外的比例的洛匹那韦和利托那韦具有显著更大的影响。优选的API比率在E6/E7永生化宫颈内膜细胞、HeLa、SiHa和SNU17细胞的每一种中均有效,这一事实清楚地证明了洛匹那韦和利托那韦按限定的比率可用于治疗与HPV相关的宫颈病状。

[0297] 实施例1-6中给出的这些数据表明,对于诱导的细胞死亡,根据本发明的比例的洛匹那韦和利托那韦比单独的洛匹那韦或落在本发明限定范围外的比例的洛匹那韦和利托那韦具有显著更大的影响。优选的API比率在E6/E7永生化宫颈内膜细胞、HeLa、SiHa和SNU17细胞的每一种中均有效,这一事实清楚地证明了洛匹那韦和利托那韦按限定的比率可用于治疗宫颈病状,特别是与HPV相关的恶性疾病。

[0298] 实施例7:优选制剂的制备

[0299] 对于以下列出的所有制剂,所使用的所有材料均为药物级(美国药典或欧洲药典),除了白地蜡为日本药用赋形剂级。

[0300] 下面根据表2-5描述适合于注射器施用器阴道给药的显示出流变性的阴道剂型的制备。

[0301] i. 将以下材料添加到混合器中-3、4、5、6、7、8、9、1、10、11

[0302] ii. 将空气从容器内部排除

[0303] iii. 在低剪切混合下加热至70 $^{\circ}$ C,以获得清澈透明的熔体。

- [0304] iv.将以下材料添加到混合器中-2
- [0305] v.将空气从容器内部排除
- [0306] vi.通过低剪切混合,以将HPMC良好地分散在所述熔体中
- [0307] vii.在低剪切混合时将所述物料温度降至45°C
- [0308] viii.排出至存储容器并在存储期间将空气排除。
- [0309] ix.将组合物包装到铝管中,所述铝管适于分配1.0-5.0g的组合物。铝管可以包含20-50ml体积的组合物。
- [0310] 表2

#	成分	功能	%w/w
[0311] 1	油酸;	不饱和游离 脂肪酸	62.823
2	羟丙甲纤维素 2208 (4000cps)	粘膜粘附剂	1.00
3	单二甘油酯 (1 型)	增稠剂	5.00
4	白地蜡	增稠剂	6.00
5	氢化植物油 (1 型)	增稠剂	10.00
6	聚乙二醇 100 硬脂酸酯	掺合剂	2.00
[0312] 7	硬脂酸	硬化剂	4.50
8	单油酸甘油酯;	掺合剂	3.00
9	丁羟甲苯	抗氧化剂	0.20
10	洛匹那韦	API	5.000
11	利托那韦	API	0.4775
		总计	100.000

- [0313] 表3

#	成分	功能	%w/w
1	油酸;	不饱和游离 脂肪酸	57.345
2	羟丙甲纤维素 2208 (4000cps)	粘膜粘附剂	1.00
3	单二甘油酯 (1 型)	增稠剂	5.00
4	白地蜡	增稠剂	6.00
[0314] 5	氢化植物油 (1 型)	增稠剂	10.00
6	聚乙二醇 100 硬脂酸酯	掺合剂	2.00
7	硬脂酸	硬化剂	4.50
8	单油酸甘油酯;	掺合剂	3.00
9	丁羟甲苯	抗氧化剂	0.20
10	洛匹那韦	API	10.000
11	利托那韦	API	0.9550
		总计	100.000

[0315] 表4

#	成分	功能	%w/w
1	油酸;	不饱和游离 脂肪酸	61.800
2	羟丙甲纤维素 2208 (4000cps)	粘膜粘附剂	1.00
3	单二甘油酯 (1 型)	增稠剂	5.00
4	白地蜡	增稠剂	6.00
[0316] 5	氢化植物油 (1 型)	增稠剂	10.00
6	聚乙二醇 100 硬脂酸酯	掺合剂	2.00
7	硬脂酸	硬化剂	4.50
8	单油酸甘油酯;	掺合剂	3.00
9	丁羟甲苯	抗氧化剂	0.20
10	洛匹那韦	API	6.000
11	利托那韦	API	0.500
总计			100.000

[0317] 表5

#	成分	功能	%w/w
1	油酸;	不饱和游离 脂肪酸	55.300
[0318] 2	羟丙甲纤维素 2208 (4000cps)	粘膜粘附剂	1.00
3	单二甘油酯 (1 型)	增稠剂	5.00
4	白地蜡	增稠剂	6.00
5	氢化植物油 (1 型)	增稠剂	10.00
6	聚乙二醇 100 硬脂酸酯	掺合剂	2.00

[0319]	7	硬脂酸	硬化剂	4.50
	8	单油酸甘油酯;	掺合剂	3.00
	9	丁羟甲苯	抗氧化剂	0.20
	10	洛匹那韦	API	12.000
	11	利托那韦	API	1.000
		总计		100.000

[0320] 下面根据表6描述适合于注射器施用器阴道给药的安慰剂软膏剂的制备。

[0321] i. 将以下材料添加到混合器中-3、4、5、6、7、8、9、1

[0322] ii. 将空气从容器内部排除

[0323] iii. 在低剪切混合下加热至70°C, 以获得清澈透明的熔体。

[0324] iv. 将以下材料添加到混合器中-2

[0325] v. 将空气从容器内部排除

[0326] vi. 通过低剪切混合, 以将HPMC良好地分散在所述熔体中

[0327] vii. 在低剪切混合时将所述物料温度降至45°C

[0328] viii. 排出至存储容器并在存储期间将空气排除。

[0329] iv. 将组合物包装到铝管中, 所述铝管适于分配1.0-5.0g的组合物。铝管可以包含20-50ml体积的组合物。

[0330] 表6

#	成分	功能	%w/w
1	油酸**	不饱和游离 脂肪酸	68.30
2	羟丙甲纤维素 2208 (4000cps)	粘膜粘附剂	1.00
3	单二甘油酯 (1型)	增稠剂	5.00
4	白地蜡	增稠剂	6.00
5	氢化植物油 (1型)	增稠剂	10.00

	6	聚乙二醇 100 硬脂酸酯	掺合剂	2.00
	7	硬脂酸	硬化剂	4.50
[0332]	8	单油酸甘油酯*	掺合剂	3.00
	9	丁羟甲苯	抗氧化剂	0.20
		总计		100.00

[0333] *完全熔化/混合源供应,然后分配

[0334] **采样后N2净化源供应

[0335] ***防紫外线

[0336] 实施例8:优选的给药方案

[0337] 向受试者提供包含表5中限定的组合物的铝管。

[0338] 指示受试者每天一次,优选在晚上,将2.5g组合物应用于宫颈。所述铝管适于向一次性注射器装载2.5g的组合物。使用后,将注射器丢弃。如果所述铝管仍含有足够的组合物,则可在随后的数天中使用所述铝管装载注射器。

[0339] 根据医生的建议,治疗可以持续14-21天。然后可以停止(停顿的时间可恰好与经期相符)治疗1-14天。在这段时间内可以进行临床评估;然后,如果需要,可以再施用一个或多个进一步的治疗周期,每个周期再持续14-21天。在每个周期后,可以进行进一步的临床评估,并决定是否需要后续治疗周期。

[0340] 实施例9:在健康女性志愿者中进行的优选制剂的1期、单中心、双盲、随机、平行组、单次和多次递增剂量、安全性和耐受性、药代动力学(PK)和药效学(PD)研究。

[0341] 根据下面描述的临床试验,研究根据表2和3的组合物(并与表6的安慰剂进行比较)。

[0342] 9.1方法

[0343] 研究目标

[0344] 在将根据表2和3的制剂进行多次给药后,在健康女性志愿者中评估组合物的安全性、PK和PD。

[0345] 观察与安慰剂相比、使用该组合物的女性所报告的副作用率。

[0346] 研究计划/研究设计

[0347] 这项研究包括两个队列,其均来自无宫颈病状的健康志愿者。每个队列有9名参与者,其中6名接受了积极治疗,而3名接受了安慰剂。对于所有测试的制剂,每剂量施用的组合物的量为3g。对于表3的组合物,这等同于向患者施用每剂量300mg洛匹那韦和28.7mg利托那韦。对于表2的组合物,这等同于施用每剂量150mg洛匹那韦和14.3mg利托那韦。

[0348] 队列1:

[0349] 阶段1:单剂量的表2的组合物或安慰剂,然后是限制期(confinement)。在限制期期间进行PK血液采样。

[0350] 阶段2:21个日剂量的表2的组合物或安慰剂,然后进行PK血液采样。队列2:

[0351] 阶段1:单剂量的表3的组合物或安慰剂,然后是限制期。在限制期期间进行PK血液

采样。

[0352] 阶段2:21个日剂量的表3的组合物或安慰剂,然后进行PK血液采样。

[0353] 参与标准

[0354] 入选标准:

[0355] a. 20至45岁的女性,子宫和阴道完整。

[0356] b. 大体上,身体健康,没有临床上显著的肺部、心脏、胃肠病、胰腺、神经疾病、肾脏、肌肉骨骼、风湿病、代谢、瘤变或内分泌疾病。

[0357] c. BMI为 ≥ 19 和 ≤ 30.0 。

[0358] d. ECG和生命体征在正常范围内。

[0359] e. 从在阶段1服药前48小时到阶段2接受最终剂量后的7天之间,同意不饮酒。

[0360] f. 在整个研究过程中,应避免含葡萄柚、杨桃、石榴、菠萝或柚子的食物或饮料。

[0361] g. 在阶段1和阶段2中,在给药前后大约6个小时内能够并愿意放弃性交。

[0362] h. 在需要的禁欲期之后直至第29天(阶段2中接受最终剂量后的7天),能够并且愿意使用严格的避孕方法,这包括使用非乳胶避孕套(用于保护伴侣)和第二种可接受的避孕方法;允许输精管结扎术、避孕药、避孕植入物或IUD。(注意:IUD应该在入组前至少1个月就已经插入,而不是因为参与此研究)

[0363] i. 同意在入组前和整个研究过程中避免诸如阴道冲洗或插入除研究药物以外的任何阴道产品之类的活动至少48小时。

[0364] j. 筛查时或入组3年内为Pap测试阴性,并且在过去3年内无宫颈上皮内病变史。

[0365] k. 能够并且愿意返回诊所进行所有研究程序。

[0366] l. 能够并愿意提供知情同意。

[0367] 排除标准:

[0368] a. 怀孕的女性,计划在未来三个月内怀孕的女性或正在哺乳的女性。

[0369] b. 每年发作3次以上的生殖器疱疹或活跃的非HPV阴道感染史。

[0370] c. Hep B、Hep C或HIV呈阳性结果。

[0371] d. 具有活跃的盆腔感染(淋病或衣原体感染的尿液筛查阳性,细菌性阴道病、念珠菌性阴道炎或滴虫性阴道炎的阳性检测和症状)。

[0372] e. 根据研究者的调查,在随机分组之前的3个月内,当前或最近的阴道分泌物异常和/或异常阴道流血。

[0373] f. 随机分组前3个月内有过堕胎或流产。

[0374] g. 目前正在服用以下药物的任意一种:口服糖皮质激素,吸入沙美特罗(salmeterol)和氟替卡松(fluticasone);免疫调节治疗、非处方药(OTC)阴道内制剂或研究者认为可能干扰结果解释的任何处方药。

[0375] h. 目前正在服用此处列出的药物的任何一种-阿夫唑嗪(Alfuzosin)、胺碘酮(Amiodarone)、决奈达隆(dronedarone)、雷诺嗪(Ranolazine)、夫西地酸(Fusidic Acid)、秋水仙碱、阿司咪唑(Astemizole)、特非那定(terfenadine)、卢拉西酮(Lurasidone)、匹莫齐特(Pimozide)、喹硫平(Quetiapine)、二氢麦角胺(Dihydroergotamine)、麦角新碱(ergonovine)、麦角胺(ergotamine)、甲基麦角新碱(methylergonovine)、西沙必利(Cisapride)、洛伐他汀(Lovastatin)、辛伐他汀(simvastatin)、阿伐那非(Avanafil)、西

地那非 (Sildenafil)、伐地那非 (Vardenafil)、口服咪达唑仑 (midazolam)、三唑仑 (triazolam)、圣约翰草 (St. John's wort)。

[0376] i. 以下疾病的近期病史 (过去3个月内): 史蒂文斯—约翰逊综合征、多形性红斑、荨麻疹、血管性水肿、深静脉血栓形成、耳鸣、眩晕、血糖紊乱、胰腺炎、血友病。

[0377] j. 对R131阴道软膏赋形剂的任何成分过敏。

[0378] k. 在入组后30天内或5个半衰期 (以较长者为准) 内, 参与使用实验性药物或设备的任何临床研究。

[0379] l. 研究者评估的当前酗酒或药物滥用情况。

[0380] m. 雇员或雇员的一级亲属、赞助者、CRO或研究场所的人。

[0381] n. 没有GP。

[0382] 筛查评估:

[0383] 所述筛查评估必须在随机分组进入研究的3个月内进行。筛查包括以下部分:

[0384] 人口统计学/病史

[0385] 从每个参与者那里获取了完整的病史。

[0386] 体检

[0387] 所述体检包括对包括身高和体重 (身着室内衣物) 在内的身体系统进行检查。

[0388] 血液测试

[0389] 进行以下实验室血液测试:

[0390] • 电解质 (钠和钾)、ALT、GGT、ALP、白蛋白、总蛋白、总胆红素、尿素、尿酸、血清肌酐、TFT、空腹血脂、淀粉酶、葡萄糖和HbA1c

[0391] • 血红蛋白、红细胞计数、PCV、MCV、MCH、血小板计数、白细胞计数、中性粒细胞、淋巴细胞、单核细胞、嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞。

[0392] CD4/CD8计数

[0393] • HIV与乙型和丙型肝炎。

[0394] 筛查时的测量作为基线, 以监测可能由于给药而出现的任何异常情况。

[0395] 其他测试

[0396] 作为筛查程序的一部分, 对所有参与者进行了滥用药物测试。需要尿样来测试大麻素类 (大麻)、苯丙胺类、苯二氮卓类和鸦片类 (即吗啡、海洛因和可待因)。

[0397] 尿检试纸检查蛋白质、白细胞、亚硝酸盐、pH、比重、葡萄糖、酮和血液。

[0398] 用于微生物学 (淋病、衣原体、细菌性阴道病、念珠菌属) 的阴道拭子和HPV基因分型

[0399] 在每个限制期的第一个晚上, 在临床场所进行酒精呼气测试。

[0400] 作为筛查程序的一部分, 在第一剂之前3天内对所有参与者进行了血清HCG测试。

[0401] 生命体征

[0402] 记录生命体征, 其包括血压 (仰卧位和坐位)、心率、体温和呼吸率。参与者的生命体征应在以下范围内:

[0403] 心率 ≥ 60 或 ≤ 99 次/分钟

[0404] 仰卧位:

[0405] 收缩压 ≥ 90 或 ≤ 160 mm Hg; 舒张压 ≥ 50 或 ≤ 90 mm Hg

- [0406] 坐位:
- [0407] 收缩压 ≥ 90 或 ≤ 160 mm Hg;舒张压 ≥ 50 或 ≤ 90 mm Hg
- [0408] 体温 $\geq 36^{\circ}\text{C}$ 或者 $\leq 37.7^{\circ}\text{C}$
- [0409] 呼吸率 ≥ 12 或 ≤ 20 次/分钟
- [0410] 研究活动的内容/事件日程
- [0411] 每个参与者都需要知情同意。筛选参与者以确认研究资格。
- [0412] 随机分组
- [0413] 在完成筛查程序的审查之后,在首席研究者或其代表记录接纳参与者后,将参与者随机分组。
- [0414] 研究限制期
- [0415] 参与者在第1天和第22天大约下午5点到达。研究限制期约27小时。一旦完成给药后24小时评估,就将参与者从临床场所释放。
- [0416] 给药
- [0417] 计划每天在大约晚上8点开始给药。指示参与者私下插入药物。给药器被送回研究人员并进行检查,以确保已施加全部剂量并调和研究药物。
- [0418] 样品收集
- [0419] 参与者自行施用阴道拭子。
- [0420] PK血液样品:通过静脉导管抽取血液样品(8mL),并转移到含有肝素钠作为抗凝剂的真空容器(vacutainer)中。将收集时间记录为收集全部8mL血液的时间。每次取样后(0-24小时),用1.5mL-2.0mL肝素化盐水冲洗静脉导管,以保持开放(patent)。采样间隔为:第1-2天:0、1、2、4、8、12、24小时;第22-23天:0、1、2、4、8、12、24小时。在适当的时间收集样品。任何偏差都应注意。
- [0421] 样品处理和储存
- [0422] 血浆:通过在约 4°C 下以3500rpm离心5分钟,来分离血浆。没有使用辅助方法将血浆与红细胞分离。用干净的移液器转移血浆样品。该测定是使用经过验证的分析方法确定的。
- [0423] 将每份血浆样品放入带有螺帽的聚丙烯储存管中。在临床场所将血浆冷冻保存在 -60°C 或更低温度,直至转移到实验室进行分析。
- [0424] 研究结束
- [0425] 在最后一个研究日后的一周内,要求每个参与者提供血液样本以进行分析。监测与最初筛查相比的任何异常情况,并跟进直至恢复正常。
- [0426] 评估每个队列中的参与者从同意后直到最后一个研究日的不良事件的发生。
- [0427] 最后一次研究访视时的生命体征(血压、心率、呼吸率和体温)。
- [0428] • 最后一次研究访视时的实验室检测(血液学(CBC、CD4+/CD8+外周淋巴细胞计数、生物化学(RFT、LFT、电解质、TFT、空腹血脂、HbA1c、淀粉酶)、血清HCG妊娠和尿液分析(试纸))。
- [0429] • 在研究结束后的7天内(+2天)给每个参与者进行跟进电话,以记录研究后的任何可能的不良事件(AE)。任何事件都记录在源文档中。
- [0430] 对所有AE进行跟进直至解决,或者直至研究者认为不再需要跟进,或者直至最后

一次给药后30天(只要研究者确信不再需要跟进),以较早者为准。

[0431] 不良事件

[0432] 在限制期期间,整个研究过程中,研究的指定主管或委派代表必须在研究场所。在整个研究过程中,首席研究者或至少一名委派的试验医师随叫随到。在所有研究访视中,每个参与者都被问到他们的感受。在整个研究过程中,在每个采样点都会这么做。AE已记录在源文档中。

[0433] 首席研究员将每种AE分类为严重的不良事件(SAE)或非严重的。将非严重不良事件评估为轻度、中度或重度,以描述AE的最大强度。首席研究员还提供了AE与研究药物之间的可能关系,与研究药物高度很可能、很可能、可能、稍微可能相关或不(非)相关。

[0434] 首席研究员应说明AE的原因是否与同时服用的非研究性药物(如果正在服用的话)、潜在疾病、这些因素的组合有关或原因未知。

[0435] 9.2结果

[0436] 安全性结果:

[0437] • 18位参与者报告了109起不良事件,参见表7。

[0438] • 1个事件与研究药物“相关”

[0439] • 6个事件与研究药物“很可能相关”

[0440] • 82个事件与研究药物“可能相关”

[0441] • 6个事件与研究药物“很可能不相关”

[0442] • 14个事件与研究药物“不相关”

[0443] • 无SAE

[0444] 结论

[0445] 由于所有AE都是与研究药物的施用较小相关或不相关,因此认为根据本发明的制剂具有良好的耐受性。

[0446] 表7:不良事件汇总:

[0447]

<i>AE</i>	表 2 的组合物 (队列 1)	表 6 的组合物 (安慰剂)	表 3 的组合物 (队列 2)
阴道分泌物	5	4	5
阴道瘙痒	4	5	3
外阴阴道不适	3	5	2
阴道异味	1	2	2
月经过少	4	2	3
盆腔痛	2	2	0
外阴阴道烧灼感	1	2	0
外阴阴道痛	0	1	0
排尿困难	0	1	0
腹痛	5	3	2
恶心	0	1	0
腹胀	0	0	1

[0448]	细菌性阴道病	2	4	3
	外阴阴道念珠菌病	4	4	1
	鼻溢	1	1	0
	鼻咽炎	0	0	1
	头痛	2	0	0
	失眠	0	0	1
	导管部位疼痛	1	1	1
	头晕	1	0	0
	药物过敏	1	0	0
	食欲下降	0	0	1

[0449] 药代动力学分析:

[0450] 药代动力学参数:

[0451] 对每个接受积极治疗的受试者确定洛匹那韦和利托那韦的血浆药物浓度时间曲线下的面积 (AUC)、血浆药物浓度峰值 (C_{max}) 和达到最大药物浓度的时间 (T_{max})。

[0452] 通过“非房室”方法分析血浆药物浓度 (C) 与实际采样时间 (t) 的数据,以获得药代动力学参数。最初,使用线性回归拟合血浆浓度-时间图的分布后阶段的血浆数据:

[0453] $\ln C = \ln C_0 - t \cdot K_{el}$

[0454] 其中C₀是外推的终端期的零时截距,K_{el}是终端消除速率常数。

[0455] 使用梯形法则计算从时间零开始到分布后阶段中最后确定的浓度-时间点 (t) 的面积 (AUC_{0-t})。

[0456] 洛匹那韦和利托那韦的浓度及药代动力学参数

[0457] 表8和表9列出了每个采样时间的平均的洛匹那韦和利托那韦血浆浓度-时间数据。表10和表11汇总了洛匹那韦和利托那韦的药代动力学参数。

[0458] 表8:平均(±SD)血浆洛匹那韦和利托那韦浓度数据与采样时间(表2的组合物,阴道软膏剂)

	洛匹那韦				利托那韦			
	测试治疗 B: 单剂量 1 x 3g 的 150mg 表 2 的组合物 阴道软膏剂 (n=6)		测试治疗 B: 多剂量 21 x 3g 的 150mg 表 2 的组 合物 阴道软膏剂 (n=5)		测试治疗 B: 单剂量 1 x 3g 的 150mg 表 2 的组合物 阴道软膏剂 (n=6)		测试治疗 B: 多剂量 21 x 3g 的 150mg 表 2 的 组合物 阴道软膏剂 (n=5)	
采 样 时 间 (小 时)	浓 度 平 均 值 (pg/mL)	S.D	浓 度 平 均 值 (pg/mL)	S.D	浓 度 平 均 值 (pg/mL)	S.D	浓 度 平 均 值 (pg/mL)	S.D
[0459] 0	0.0	0.0	115.1	64. 3	0.0	0.0	3.7	8.2
1	28.9	35. 9	115.8	50. 1	2.7	6.5	0.0	0.0
2	49.6	44. 0	169.6	76. 4	3.0	7.4	3.9	8.6
4	94.3	79. 7	194.1	77. 5	35.8	66. 4	12.5	11.7
8	103.7	60. 3	170.4	43. 4	9.4	14. 6	9.9	9.0
12	132.1	78. 2	168.2	51. 2	11.8	13. 7	6.9	9.5
24	150.8	63. 0	178.3	64. 4	0.0	0.0	10.1	14.0

[0460] 表9: 平均(±SD) 血浆洛匹那韦和利托那韦浓度数据与采样时间(表3的组合物, 阴道软膏剂)

		洛匹那韦				利托那韦			
		测试治疗 A: 单剂量 1 x 3g 的 300mg 表 3 的组合物 阴道软膏剂 (n=6)		测试治疗 A: 多剂量 21 x 3g 的 300mg 表 3 的组合物 阴道软膏剂 (n=5)		测试治疗 A: 单剂量 1 x 3g 的 300mg 表 3 的组合物 阴道软膏剂 (n=6)		测试治疗 A: 多剂量 21 x 3g 的 300mg 表 3 的 组合物 阴道软膏剂 (n=5)	
[0461] 采 样 时 间 (小 时)	浓度 平均值 (pg/mL)	S.D	浓度 平均值 (pg/mL)	S.D	浓度 平均值 (pg/mL)		浓度 平均值 (pg/mL)	S.D	
0	0.0	0.0	334.7	310.3	0.0	0.0	40.2	43.1	
1	55.5	73.1	288.9	234.2	4.5	11.1	44.6	43.9	
2	114.8	165.8	344.9	310.0	11.8	28.8	34.0	38.3	
4	181.4	241.0	323.2	252.9	12.3	30.1	44.0	31.9	
8	198.7	181.8	307.4	211.6	14.7	20.5	37.3	21.8	
12	179.4	141.8	337.7	218.4	16.0	22.0	39.5	24.3	
24	169.2	71.1	248.4	186.9	12.1	13.4	29.4	14.8	

[0462] 表10:洛匹那韦的药代动力学参数

[0463]	药代动力学参数	测试治疗 B: 单剂量 1 x 3g 的 150mg 表 2 的 组合物 阴道软膏剂	测试治疗 B: 多剂量 21 x 3g 的 150mg 表 2 的组合物 阴道软膏剂
--------	---------	---	---

	(n=6) (平均值± S.D) (范围)	(n=5) (平均值± S.D) (范围)
AUC_{0-t} (pg.hr/ml)	1560.2±989.7 (491.1-3206.0)	2529.1±840.3 (1478.7-3614.2)
Cmax (pg/ml)	181.8±66.9 (72.0-269.2)	228.1±60.3 (168.2-320.3)
Tmax(小时)	18.72±8.67 (4.00-24.23)	11.61 ± 11.36 (2.00-24.03)
[0464] 药代动力学参数	测试治疗 A: 单剂量 1 x 3g 的 300mg 表 3 的 组合物 阴道软膏剂 (n=6) (平均值± S.D) (范围)	测试治疗 A: 单剂量 21 x 3g 的 300mg 表 3 的组合物 阴道软膏剂 (n=6) (平均值± S.D) (范围)
AUC_{0-t} (pg.hr/ml)	4021.1±3093.5 (1710.9-9944.3)	7368.1±4973.1 (2366.4-13858.2)
Cmax (pg/ml)	254.7±211.7 (97.8-670.2)	396.3±297.3 (130.2-840.7)
Tmax(小时)	16.03±9.16 (4.00-24.12)	11.61±8.06 (2.00-24.03)

[0465] 表11:利托那韦的药代动力学参数

[0466] 药代动力学参数	测试治疗 B: 单剂量 1 x 3g 的 150mg 表 2 的组合物 阴道软膏 剂	测试治疗 B: 多剂量 21 x 3g 的 150mg 表 2 的组合物 阴道软膏剂 (n=5)
-----------------------	---	---

	(n=6) (平均值± S.D) (范围)	(平均值± S.D) (范围)
AUC_{0-t} (pg.hr/ml)	161.1±254.9 (0.0-667.8)	165.0±158.3 (16.5-407.8)
C_{max} (pg/ml)	45.5±61.7 (0.0-169.1)	21.2±5.1 (15.6-27.9)
T_{max}(小时)	5.33±4.13 (0.00-12.00)	8.82±8.71 (4.00-24.08)
[0467] 药代动力学参数	测试治疗 A: 单剂量 1 x 3g 的 300mg 表 3 的组合 阴道软膏剂 (n=6) (平均值± S.D) (范围)	测试治疗 A: 单剂量 21 x 3g 的 300mg 表 3 的组合 阴道软膏剂 (n=6) (平均值± S.D) (范围)
AUC_{0-t} (pg.hr/ml)	313.5±447.6 (0.0-1156.4)	890.0±548.3 (420.6-1564.5)
C_{max} (pg/ml)	23.1±27.2 (0.0-73.8)	53.3±35.3 (25.3-98.5)
T_{max}(小时)	10.02±11.27 (0.00-24.12)	5.20±4.77 (1.00-12.02)

[0468] 结果讨论:

[0469] C_{max}:

[0470] 每天两次口服400mg洛匹那韦 (Kaletra 400mg/100mg片剂)*,持续2周后,洛匹那韦的平均C_{max}为12.3±5.4μg/mL (SPMC Kaletra)。相较于软膏剂形式局部施用的300mg剂量调整剂量后,平均C_{max}为9.23±4.1μg/mL。

[0471] 每天服用300mg洛匹那韦 (2.5g含12%w/w洛匹那韦的软膏剂) 的局部剂量21天后,平均C_{max}为396.3±297.3pg/mL。

[0472] 口服C_{max}/局部C_{max}的比例>23,000,这表明少于0.004%局部剂量是可以全身施用的。

[0473] AUC 0-t:

[0474] 每天两次口服400mg洛匹那韦 (Kaletra 400mg/100mg片剂)*,持续2周后,洛匹那

韦的AUC_{0-t}为113.2±60.5μg·h/mL(SPMC Kaletra)。相较于软膏剂形式局部施用的300mg剂量调整剂量后,AUC_{0-t}为84.9±45.4μg·h/mL。

[0475] 每天服用300mg洛匹那韦(2.5g含12%w/w洛匹那韦的软膏剂)的局部剂量21天后,AUC_{0-t}为7368.1±4973.1pg/mL。

[0476] 口服AUC/局部AUC的比例>11,500,这表明少于0.009%局部剂量是可以全身施用的。

[0477] 结论

[0478] 结合C_{max}和AUC数据表明,局部施用的软膏的洛匹那韦的全身吸收微不足道。

[0479] 实施例10:含利托那韦和洛匹那韦的组合物在具有子宫宫颈细胞学异常的女性中的功效、安全性和耐受性的1b期、多中心、开放标签研究。

[0480] 10.1使用的组合物

[0481] 将根据表5的组合物用于1b期试验中,只是如下文所述采用冷制法,而不是采用实施例7的方法。

[0482] 下面根据表5描述适合于注射器施用器阴道给药的显示出流变性的阴道剂型的制备。

[0483] i.将1、9、10、11加入药物混合器

[0484] ii.放下盖子并用氮气吹扫

[0485] iii.无加热混合数小时直至获得澄清透明的溶液

[0486] iv.升起盖子并加入7

[0487] v.放下盖子并用氮气吹扫

[0488] vi.无加热混合直至获得澄清透明的溶液

[0489] vii.升起盖子并加入2、3、4、5、6、8

[0490] viii.放下盖子并用氮气吹扫

[0491] ix.无加热混合数小时

[0492] x.将产品倒入大容量存储容器中,等待包装到铝管中

[0493] 10.2方法

[0494] 研究目标

[0495] 功效目标

[0496] 在患有高级别或低级别CIN(宫颈上皮内瘤变)的女性中应用根据本发明的组合物之后,展示了细胞学异常的组织学清除。

[0497] 在应用根据本发明的组合物之后,展示了子宫宫颈的阴道镜外观的变化;

[0498] 在应用根据本发明的组合物之后,评估HPV状态的变化。

[0499] 安全性目标

[0500] 在应用根据本发明的组合物之后,评估AE的发生率。

[0501] 耐受性目标

[0502] 评估根据本发明的组合物的耐受性,通过在连续21天的治疗期间(多达3个治疗周期)遵守根据本发明的组合物的给药方案来测量。

[0503] 研究设计:

[0504] 该研究被设计为1b期多中心、开放标签研究,其研究根据本发明的组合物在具有

宫颈细胞学异常的女性中的功效、安全性和耐受性。

[0505] 在这项单臂研究中,根据参与者的细胞学异常等级对其进行分级:

[0506] • 活检证实的、被定义为CIN 2及以上的高级别子宫宫颈细胞异常;

[0507] • 定义为CIN 1/LSIL的低级别子宫宫颈细胞异常。

[0508] 将根据本发明的组合物连续21天每天一次自行施用于阴道,多达3个治疗周期。参与者在研究产品的最终剂量的施用后7天参与诊所访视。参与者填写每日日记卡和阴道刺激问卷,以获取对研究产品施用的依从性、AE和合并用药的变更。

[0509] 参加本研究包括筛查访视、多达3个治疗周期和研究结束访视,如下所示:

[0510] • 筛查访视:第-28天到第0天。

[0511] • 治疗周期1:

[0512] 第1天*至第21天:治疗周期1-研究产品每天应用一次,持续21天;

[0513] 第8、15、22天:电话跟进;检查AE、合并用药(conmeds)、依从性、剂量问题;

[0514] 第28天:目测评估疾病,如果未检测到疾病#,则停止治疗,并在6周后(第70天)进行活检。

[0515] • 治疗周期2:

[0516] 第29天**至第49天:治疗周期2-无响应者(在第28天被确定的)将继续每天一次的研究应用,持续21天;

[0517] 第36、43、50天:电话跟进;检查AE、合并用药、依从性、剂量问题;

[0518] 第56天:目测评估疾病,如果未检测到疾病#,则停止治疗,并在6周后(第98天)进行活检。

[0519] • 治疗周期3:

[0520] 第57天**至第77天:治疗周期3-无响应者(在第56天被确定的)可以继续每天一次的研究应用,持续21天,或被推荐给他们的主治医师;

[0521] 第64、71、78天:电话跟进;检查AE、合并用药、依从性、剂量问题;

[0522] 第84天:目测评估疾病并在6周后(第126天)进行活检。

[0523] • 治疗后评估访视(PTAV)/提前终止访视(ETV):第70天、第98天或第126天,取决于响应。

[0524] *第1天在参与者的月经周期结束时开始。

[0525] **如果需要,第29天和第57天可能会推迟到参与者的月经周期结束。

[0526] #如果没有疾病(定义为无CIN的阴道镜证据),则参与者被视为有响应者。如果检测到疾病(定义为CIN的持续阴道镜证据),则参与者被视为无响应者。

[0527] 参与标准

[0528] 入选标准:

[0529] 要有资格参加研究,参与者必须满足以下所有条件:

[0530] 1. 在任何特定于研究的程序之前,提供书面知情同意;

[0531] 2. 筛查访视时,年龄在25-45岁(含)之间的女性参与者;

[0532] 3. 宫颈高风险HPV(16、18型或“其他”)阳性结果;

[0533] 4. 如经筛查时收集的阴道镜活检所证实的,被定义为CIN 2的高级别的子宫宫颈细胞学异常

- [0534] 或
- [0535] 如筛查前6个月内经阴道镜活检所证实的,被定义为CIN 1/LSIL的低级别的子宫颈细胞学异常
- [0536] 参与者将根据他们的细胞学异常等级进行分级;
- [0537] 5. 移行区须是完全可见的;
- [0538] 6. 通常,由研究者确定身体状况良好,没有临床上明显的疾病;
- [0539] 7. 正常的月经周期为约28天的周期
- [0540] 或
- [0541] 因有效避孕而闭经的女性(例如Mirena、Jadelle或持续性COC)
- [0542] 8. 同意在入组前和整个研究过程中避免诸如阴道冲洗或插入除研究药物以外的任何阴道产品之类的活动至少48小时。卫生棉条只能在月经期间使用。
- [0543] 9. 有生育能力的女性(WOCBP)必须使用一种高效的节育方式(由研究者确认)。安全期避孕法将不被视为高效的节育方法。高效的节育方式包括:
- [0544] • 真正的性禁欲(定义为在研究期间以及在服用最后一剂研究药物后至少30天不进行异性性交);
- [0545] • 输精管结扎的伴侣(前提是所述伴侣是所述有生育能力的女性参与者的唯一性伴侣,并且所述输精管结扎的伴侣已经接受了手术成功的医学评估);
- [0546] • 与排卵抑制有关的口服或经皮联合(含雌激素和孕激素)激素避孕;
- [0547] • 与排卵抑制有关的口服、可注射或可植入的仅孕激素的激素避孕(Depo-ProveraTM, Implanon);
- [0548] • 任何有效的宫内装置/左炔诺孕酮宫内系统;
- [0549] • 因输卵管阻塞而绝育的女性;
- [0550] • Evra PatchTM。
- [0551] 从入组开始,并在第1天之前至少14天,在整个研究期间以及最后一次IMP给药后30天内,WOCBP必须同意使用如上所述的高效的节育方法。
- [0552] WOCBP被定义为既不是永久绝育的(子宫切除术、双侧卵巢切除术或双侧输卵管切除术),也不是绝经后的女性。女性将被视为绝经后的,如果她们已经闭经12个月或更长时间而没有其他生物学或医学原因(例如,如Mirena的避孕方法)。
- [0553] 10. 从研究产品的第一剂直至所述参与者的最后一剂后的30天,女性参与者的男性伴侣必须同意在性交时使用避孕套,以避免研究产品的潜在转移。
- [0554] 11. 从给药前6小时到给药后6小时能够并且愿意放弃性交;
- [0555] 12. 能够并且愿意参加研究中心的必要访视;
- [0556] 13. 能够理解所有与研究相关的文档,包括书面知情同意书,并能够完成所有与研究相关的任务,包括每日的日记;
- [0557] 14. 愿意并且能够遵守协议中规定的禁止和限制。
- [0558] 排除标准:
- [0559] 如果符合以下标准的一项或多项,则将参与者排除在研究之外:
- [0560] 1. 在研究者看来可能因参与研究而使参与者处于风险之中的,或可能影响研究结果的,或影响参与者参与研究的能力的任何重大疾病或病症(例如,心血管、肺、胃肠、肝、

肾、神经、肌肉骨骼、内分泌、代谢、恶性、精神病、重大身体障碍)；

[0561] 2. 在研究者看来可能因参与研究而使参与者处于风险之中的,或可能影响研究结果的,或影响参与者完成整个研究期间的能力的在筛查期间和基线时,在体格检查、生命体征、血液学、临床化学或尿液分析中的任何临床显著异常发现；

[0562] 3. 怀孕的、哺乳的或泌乳的女性(WOCBP在筛查时血清妊娠检测必须为阴性,并且在每个治疗期开始时[即第1天、第28天、第56天]尿液妊娠检测必须为阴性)；

[0563] 4. 计划在未来六个月内怀孕的女性；

[0564] 5. 每年发作3次以上的生殖器疱疹或活跃的非HPV阴道感染史；

[0565] 6. 活跃的盆腔感染(淋病或衣原体感染阳性,细菌性阴道病、念珠菌性阴道炎或滴虫性阴道炎检测阳性)。具有阳性结果的参与者在筛查期间可以重新检测一次；

[0566] 7. 符合盆腔炎性疾病的双手检查阳性；

[0567] 8. 乙型肝炎、丙型肝炎或人类免疫缺陷病毒阳性；

[0568] 9. 根据研究者的调查,在第一天之前的3个月内,当前或最近的阴道分泌物异常和/或异常阴道流血；

[0569] 10. 入组前三个月内有过堕胎或流产或服用过翌晨避孕丸；

[0570] 11. 目前正在使用免疫抑制剂、阴道内制剂或研究者认为可能是潜在安全问题或干扰结果解释的任何处方药；

[0571] 12. 以前曾接触过洛匹那韦/利托那韦(筛查前3个月内),对使用洛匹那韦/利托那韦有禁忌或已知对洛匹那韦/利托那韦软膏剂赋形剂的任何成分有过敏、超敏或不耐受；

[0572] 13. 以前有过HPV疫苗接种；

[0573] 14. 以下疾病的近期病史(筛查前3个月内):史蒂文斯—约翰逊综合征、多形性红斑、荨麻疹、血管性水肿、深静脉血栓形成、耳鸣、眩晕、血糖紊乱、胰腺炎、血友病；

[0574] 15. 给药前30天内或5个半衰期内接受任何研究产品；

[0575] 16. 临床研究团队的雇员或此类个体的家庭成员(一级亲属)或参与计划和/或进行研究的任何人。临床研究团队是指直接参与研究的雇员,其已相应地委派了研究相关任务；

[0576] 17. 在研究者看来,不了解研究的信息和程序或不顺应它们(尤其是所涉及的研究限制和风险)的参与者。

[0577] 给药时间表：

[0578] 每天施用研究产品,持续21天,多达3个周期,如下所示：

[0579] • 周期1(从第1天到第21天,每天晚上8点)；

[0580] • 周期2(从第29天到第49天,每天晚上8点)；

[0581] • 周期3(从第57天到第77天,每天晚上8点)；

[0582] 在两个周期之间要停止治疗7天,以允许月经。

[0583] 参与者在每天晚上大约晚上8点(±1小时)自行施用研究产品。向参与者提供了给药说明和重要的应用说明。

[0584] 参与者每天在日记卡中记录研究产品应用的详细信息,以监控依从性。还要求参与者在日记卡上注明是否有废物/溢出物。

[0585] 要求参与者在每次研究地点访视时携带其研究产品和日记卡。在分配给参与者之

前以及在每次诊所访视时都要对所述管称重,以评估依从性。

[0586] 没有与研究产品的应用时间相关的禁食要求。

[0587] 安全性评估

[0588] 在事件时间表中概述的时间点执行以下安全评估,请参见表12。

[0589] 病史

[0590] 体检

[0591] 生命体征

[0592] 体重和身高

[0593] 12导心电图

[0594] 临床实验室安全性测试(血液学、生物化学、尿液分析、阴道微生物学、病毒血清学、滥用药物筛查、酒精筛查、妊娠筛查)

[0595] 功效评估

[0596] 通过改善子宫宫颈的细胞学异常来评估研究产品的功效。在事件时间表中概述的时间点执行以下功效评估,请参见表12。

[0597] 阴道镜目测评估

[0598] 阴道镜活检

[0599] 细胞学取样

[0600] HPV基因分型

[0601] 表12

	筛查	治疗周期 1 (所有参与者)					治疗周期 2(仅 治疗周期 1 的 无响应者)					治疗周期 3(仅 治疗周期 1 和 2 的无响应者)					治疗后评 估/提前终 止访视
		1	8	15	22	28	35	42	49	56	63	70	77	84			
天数	-28 至 0																最后一剂 组合物后 6 周
在研究场所 参加	X	X				X					X					X	X
电话跟进			X	X	X			X	X	X			X	X	X		
知情同意	X																
入选/ 排除标准:	X	X															
人口统计学 特征	X																
病史	X																
体检	X																X
生命体征	X	X				X					X					X	X
体重、身高	X																
12 导安全性 心电图	X																
酒精呼吸测 试	X																
药物滥用筛 查	X	X															
合并用药	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
不良事件	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
血液学	X					X					X					X	X
生物化学	X					X					X					X	X

[0602]

[0603]

	筛查	治疗周期 1 (所有参与者)					治疗周期 2(仅 治疗周期 1 的 无响应者)					治疗周期 3(仅 治疗周期 1 和 2 的无响应者)					治疗后评 估/提前终 止访视
		1	8	15	22	28	35	42	49	56	63	70	77	84			
天数	-28 至 0																最后一剂 组合物后 6 周
血清学	X																
尿液分析	X				X					X						X	X
妊娠检查	X				X					X						X	X
阴道微生物学	X				X					X						X	X
阴道 pH	X				X					X						X	X
宫颈脱落细胞涂片	X																X
HPV 基因分型	X																X
阴道镜目测评估	X				X					X						X	X
阴道镜活检	X																X
研究产品分发		X			X					X							
化合物施用		X	X	X		X	X	X			X	X	X				
参与者日记/VIQ 完成		X	--	--	--	X	--	--	--	X	--	--	--	--			X
		--	-	-	-		-	-	-		-	-	-	-			
		--															
查阅参与者日记卡和问卷					X					X						X	

	筛查	治疗周期 1 (所有参与者)					治疗周期 2(仅 治疗周期 1 的 无响应者)					治疗周期 3(仅 治疗周期 1 和 2 的无响应者)					治疗后评 估/提前终 止访视
[0604] 天数	-28 至 0	1	8	1 5	2 2	2 8	2 9	3 6	4 3	5 0	5 6	5 7	6 4	7 1	7 8	8 4	最后一剂 组合物后 6 周
查阅研究产 品						X					X					X	

[0605] 10.3结果

[0606] 筛选时具有CIN1的受试者的初步结果(接受组合物21天,没有漏服):

[0607] (A) 受试者在21天之内有轻微刺激感和阴道瘙痒,但此症状有所缓解。

[0608] (B) 受试者在21天后进行了阴道镜目测评估,未发现病变。

[0609] 计划:由于病况倒退(regress),临床评估认为无需继续第2周期。受试者将在研究结束后接受随访。

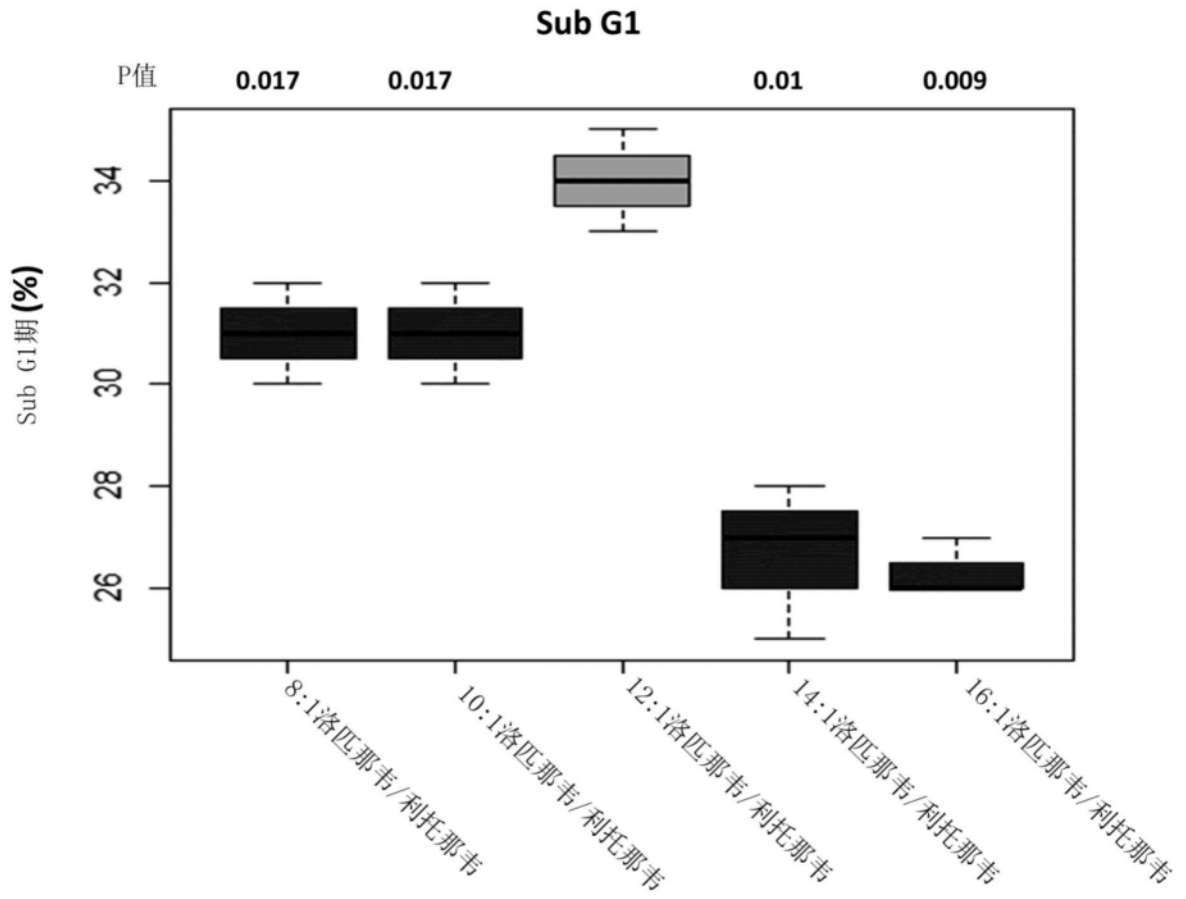


图1

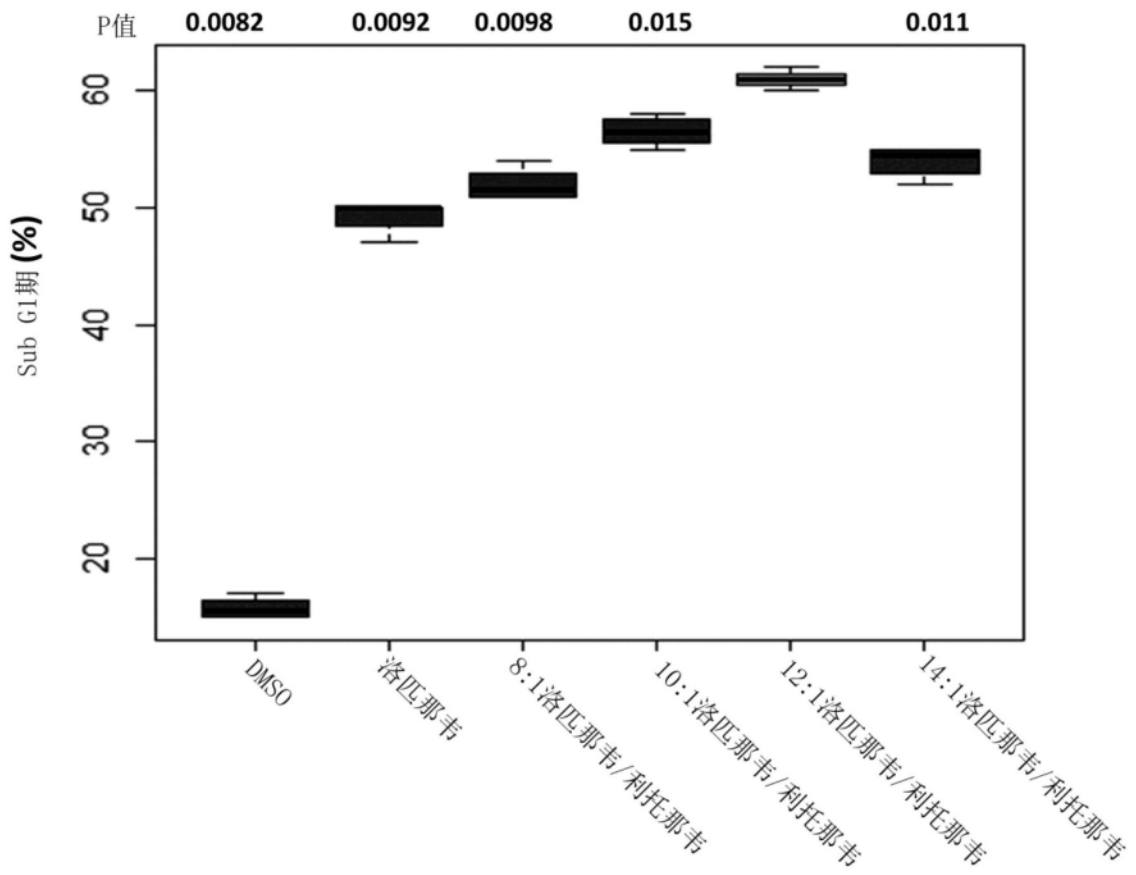


图2A

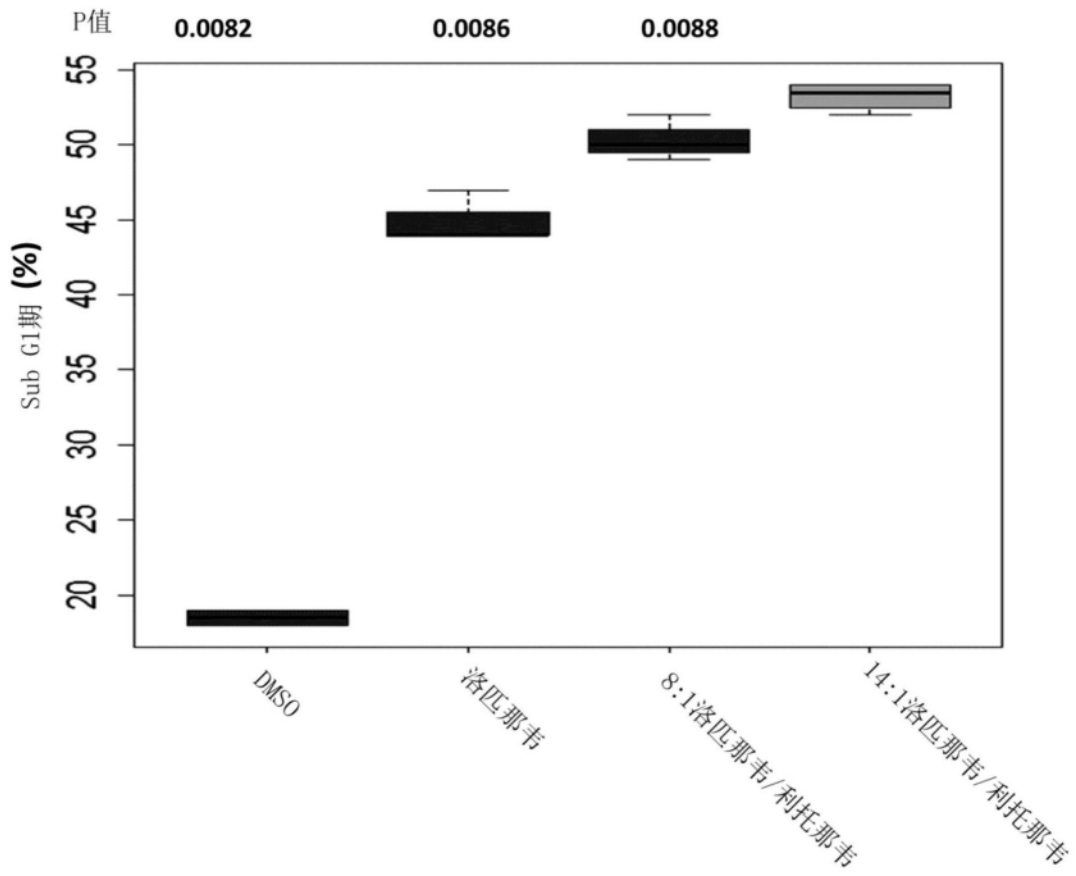


图2B

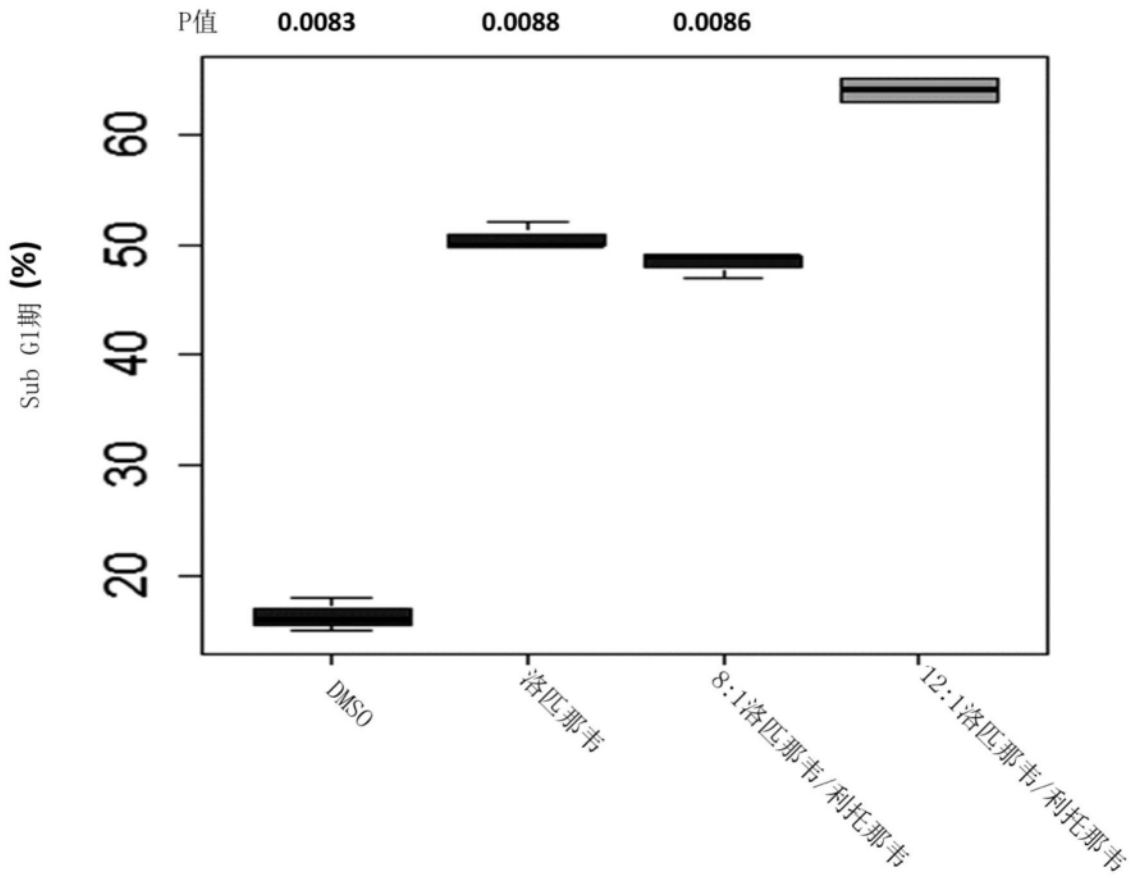


图3A

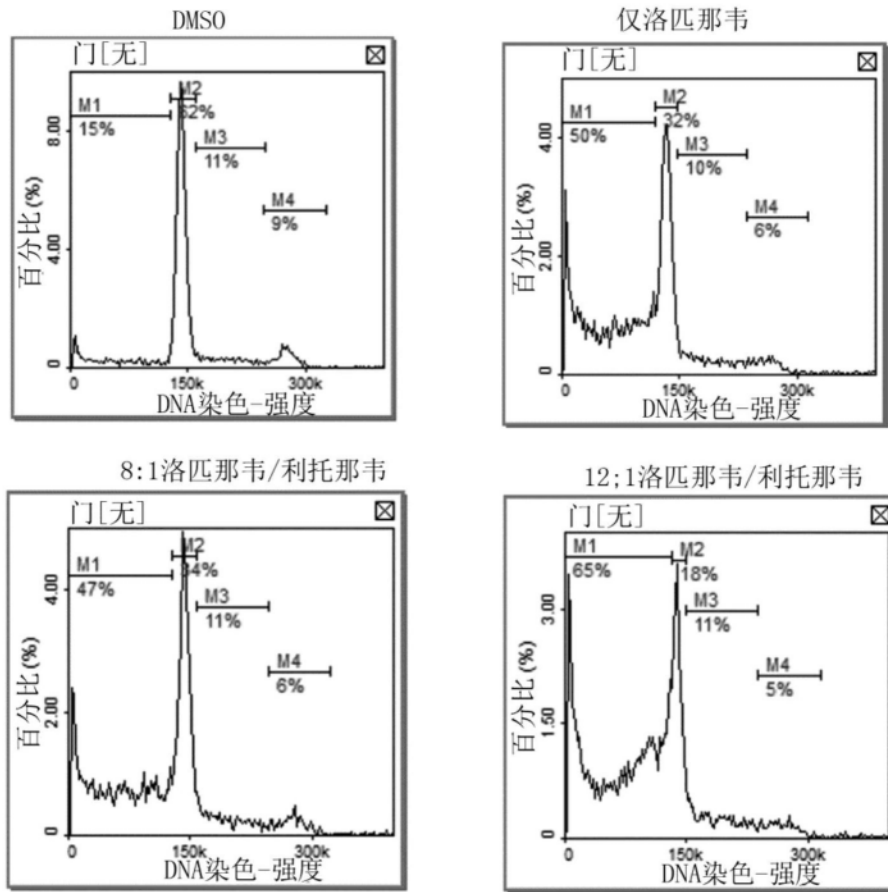


图3B

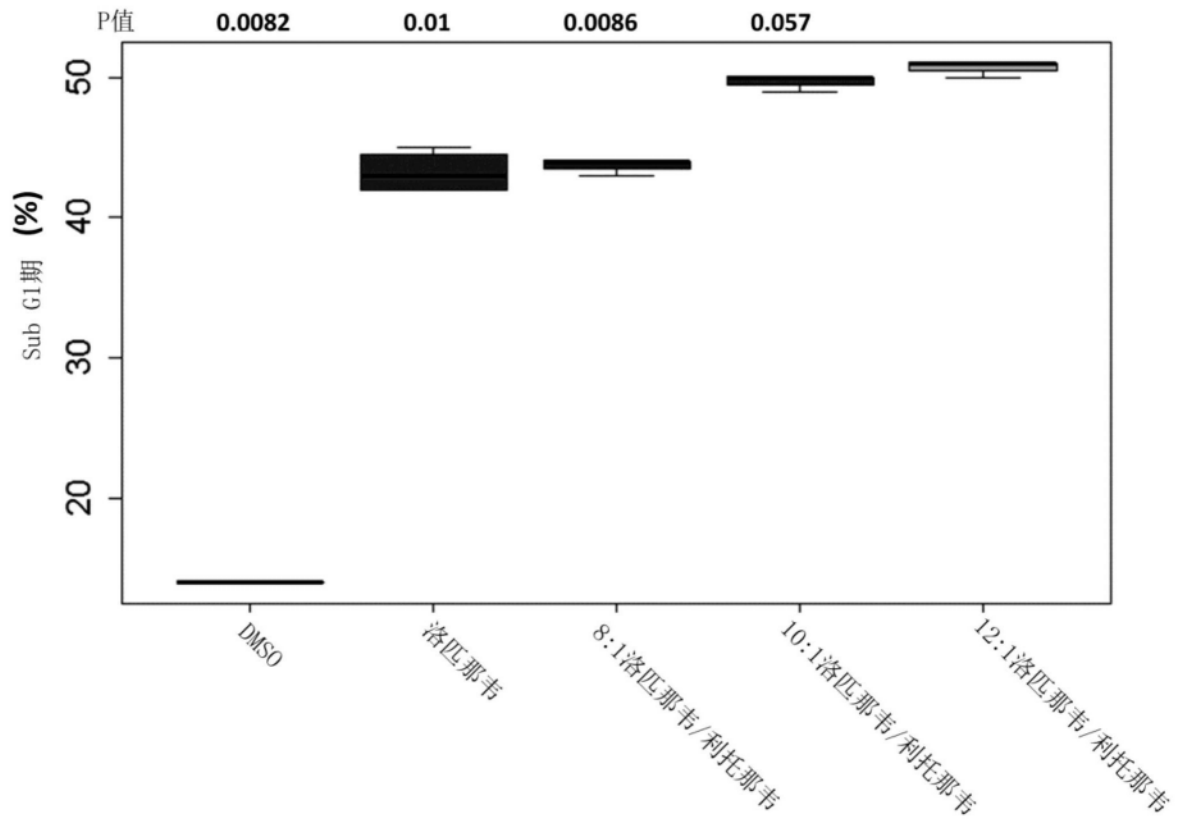


图4

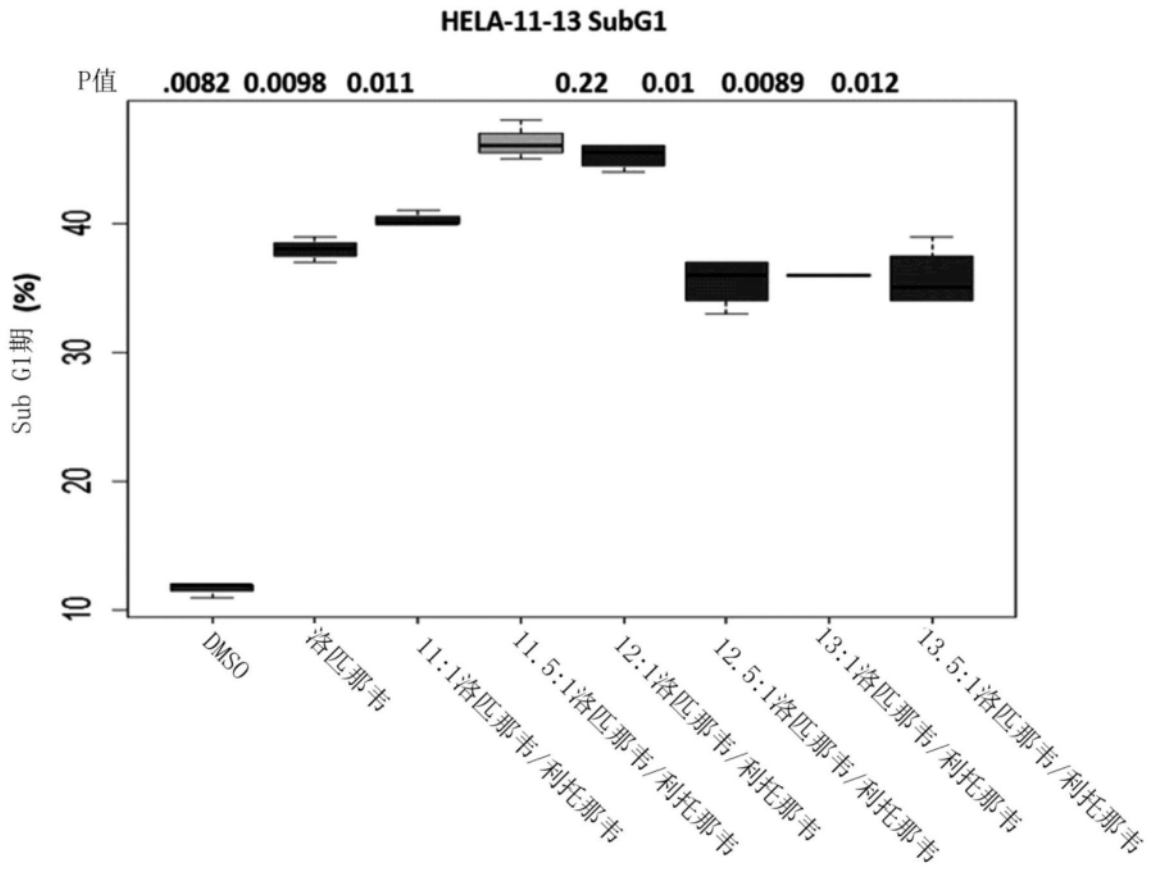


图5A

Hela 细胞 **20 μ M 11.0 – 13.5 : 1** 洛匹那韦/利托那韦比例

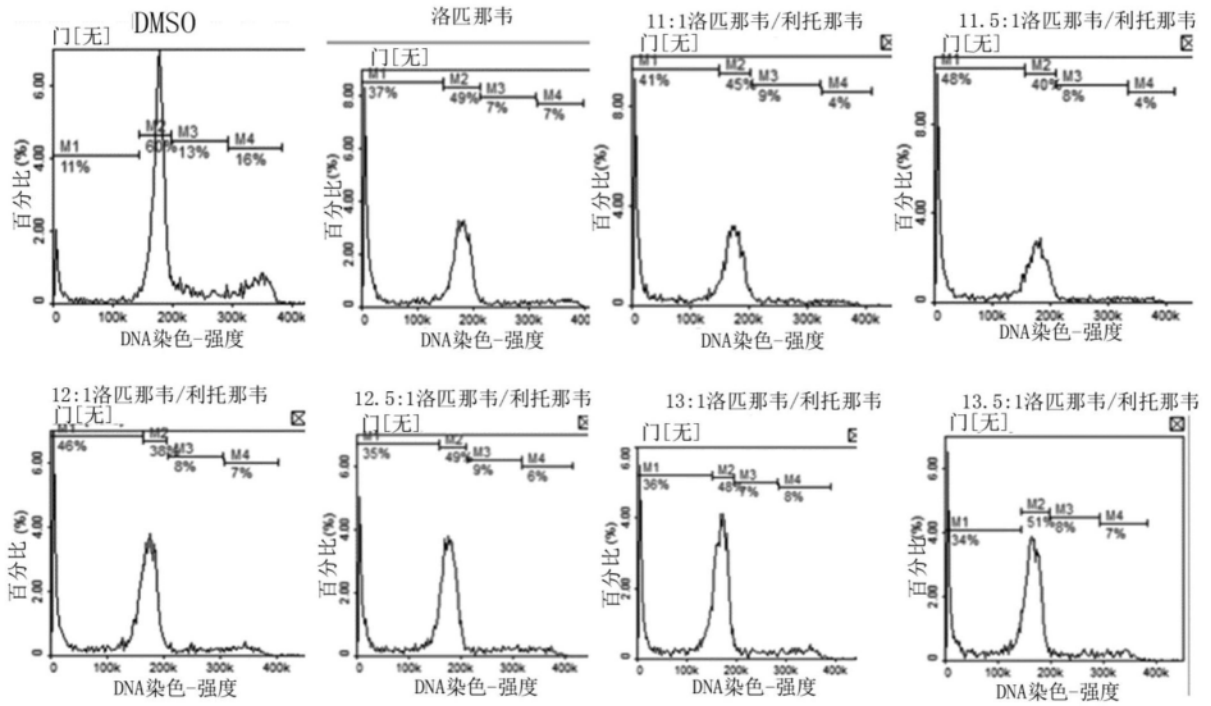


图5B

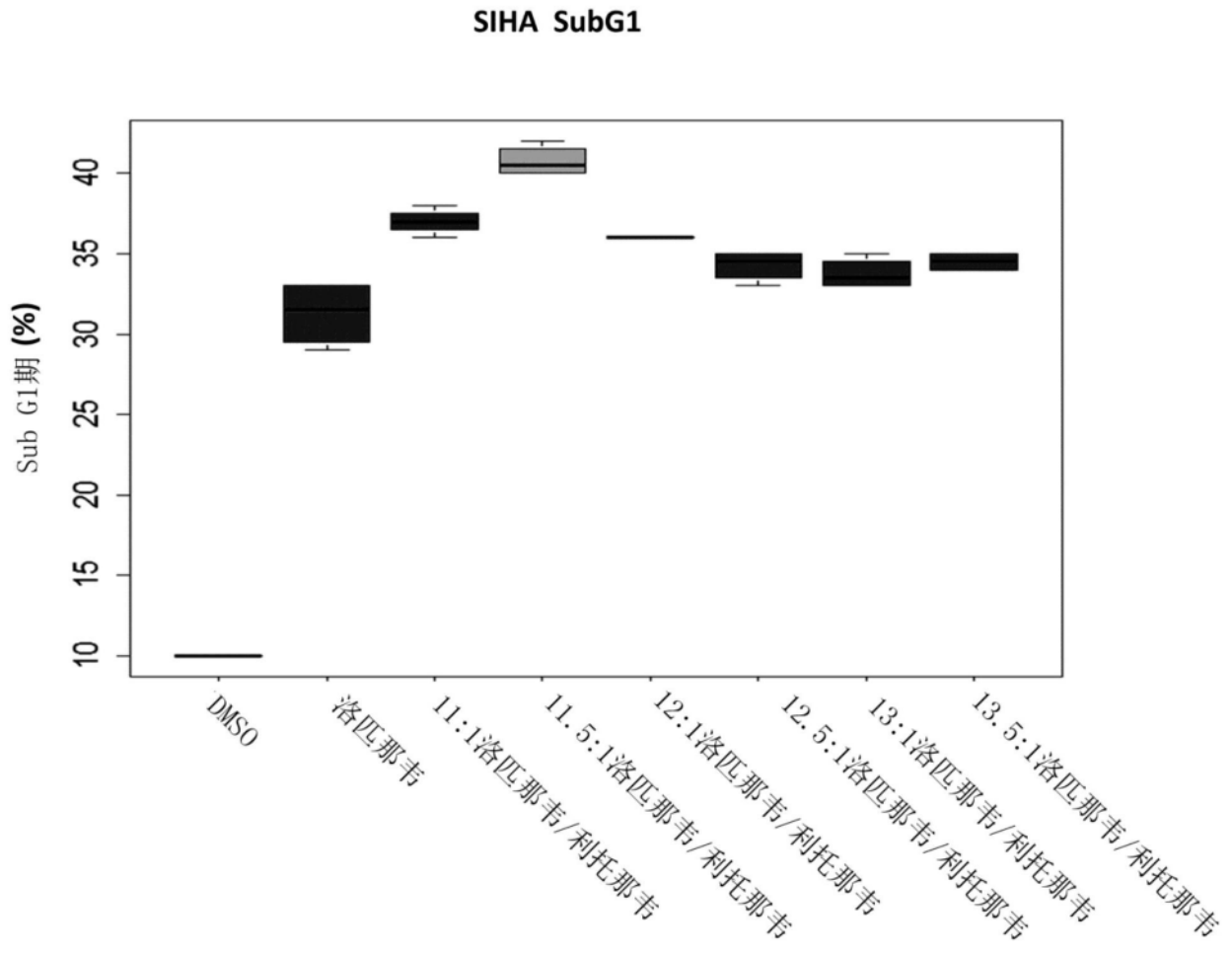


图6