



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104208067 A

(43) 申请公布日 2014. 12. 17

(21) 申请号 201410381416. 2

(22) 申请日 2005. 07. 06

(30) 优先权数据

60/586, 045 2004. 07. 07 US

(62) 分案原申请数据

200580022779. 6 2005. 07. 06

(71) 申请人 惠氏公司

地址 美国新泽西州

(72) 发明人 G. S. 格鲁布 G. D. 康斯坦蒂纳

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公

司 72001

代理人 权陆军 万雪松

(51) Int. Cl.

A61K 31/536(2006. 01)

A61P 15/18(2006. 01)

A61K 31/57(2006. 01)

权利要求书3页 说明书8页

序列表2页

(54) 发明名称

周期性黄体酮方案及试剂盒

(57) 摘要

本发明涉及周期性黄体酮方案及试剂盒。提供了避孕方法,所述方法包括在不存在雌激素或其他类固醇化合物时递送连续 21 至 27 天的黄体酮,例如 tanaproget,继之为无有效量活性剂的 1 至 7 天。也描述了便于递送该方案的可药用试剂盒。

1. 黄体酮在制备用于育龄雌性避孕的药物中的用途,其中所述药物在连续 28 天时间段中施用,所述药物包括:

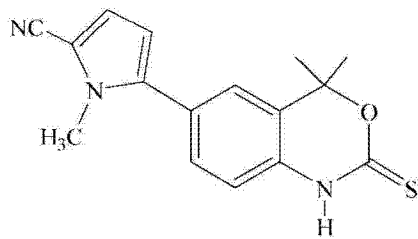
(a) 第一阶段,其中施用活性剂的 21 至 27 个日剂量单位,各日剂量单位含有包含黄体酮的有效量的活性剂;以及

(b) 1 至 7 天的第二阶段,其中施用无有效量的活性剂。

2. 根据权利要求 1 的用途,其中所述黄体酮选自 17-羟基黄体酮酯、19-降-17-羟基黄体酮酯、17 α -乙炔基甾酮及其衍生物、17 α -乙炔基-19-降-甾酮及其衍生物、炔诺酮、醋酸炔诺酮、双醋炔诺醇、去氢孕酮、醋酸安宫黄体酮、异炔诺酮、烯丙雌烯醇、炔雌烯醇、fuingestanol acetate、美罗孕酮、诺孕烯酮、dimethiderome、炔孕酮、环丙孕酮、左旋炔诺孕酮、炔诺孕酮、d-17 α -乙酰氧基-13 β -乙基-17 α -a-乙炔基-甾-4-烯-3-酮肟、环丙孕酮、孕二烯酮、去氧孕酮、酮去氧孕烯、炔诺肟酯、炔雌醇、氯地孕酮、双烯孕酮和曲螺酮。

3. 黄体酮在制备用于育龄雌性避孕的药物中的用途,其中所述药物在连续 28 天时间段中施用,所述药物包括:

(a) 第一阶段,其中施用活性剂的 21 至 27 个日剂量单位,各日剂量单位含有包含黄体酮的有效量的活性剂,所述黄体酮具有式:



以及

;

(b) 1 至 7 天的第二阶段,其中施用无有效量的活性剂。

4. 根据权利要求 1 至 3 中任一项的用途,其中在第二阶段递送 1 至 7 个日剂量单位的可药用安慰剂。

5. 根据权利要求 1 至 4 中任一项的用途,其中所述药物包括:

(a) 21 个日剂量单位的第一阶段;以及

(b) 7 个日剂量单位的口服和可药用安慰剂的第二阶段。

6. 根据权利要求 1 至 4 中任一项的用途,其中所述药物包括:

(a) 23 个日剂量单位的第一阶段;以及

(b) 5 个日剂量单位的口服和可药用安慰剂的第二阶段。

7. 根据权利要求 1 至 4 中任一项的用途,其中所述药物包括:

(a) 25 个日剂量单位的第一阶段;以及

(b) 3 个日剂量单位的口服和可药用安慰剂的第二阶段。

8. 根据权利要求 1 至 4 中任一项的用途,其中所述药物包括:

(a) 27 个日剂量单位的第一阶段;以及

(b) 1 个日剂量单位的口服和可药用安慰剂的第二阶段。

9. 根据权利要求 1 至 8 中任一项的用途,其中所述黄体酮是 5-(4,4-二甲基-2-硫代-1,4-二氢-2H-苯并[d][1,3]噁嗪-6-基)-1-甲基-1H-吡咯-2-腈(Tanaproget)。

10. 适于每日经口施用的可药用试剂盒,其包括:

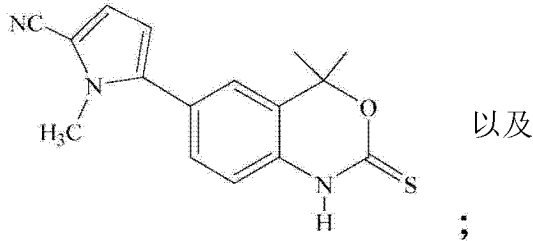
(a) 活性剂的 21 至 27 个日剂量单位,各日剂量单位含有包含黄体酮的有效量的活性剂;以及

(b) 所述日剂量单位的一个或多个包装。

11. 根据权利要求 10 的可药用试剂盒,其中所述黄体酮选自 17-羟基黄体酮酯、19-降-17-羟基黄体酮酯、17 α -乙炔基孕酮及其衍生物、17 α -乙炔基-19-降-孕酮及其衍生物、炔诺酮、醋酸炔诺酮、双醋酸炔诺醇、去氢孕酮、醋酸安宫黄体酮、异炔诺酮、烯丙雌烯醇、炔雌烯醇、fuingestanol acetate、美罗孕酮、诺孕烯酮、dimethiderome、炔孕酮、环丙孕酮、左旋炔诺孕酮、炔诺孕酮、d-17 α -乙酰氧基-13 β -乙基-17 α -a-乙炔基-甾-4-烯-3-酮肟、环丙孕酮、孕二烯酮、去氧孕酮、酮去氧孕烯、炔诺肟酯、炔雌醇、氯地孕酮、双烯孕酮和曲螺酮。

12. 适于每日经口施用的可药用试剂盒,其包括:

(a) 活性剂的 21 至 27 个日剂量单位,各日剂量单位含有包含黄体酮的有效量的活性剂,所述黄体酮具有式:



(b) 所述日剂量单位的一个或多个包装。

13. 根据权利要求 10 至 12 中任一项的可药用试剂盒,另外包括 1 至 7 个日剂量单位的可药用安慰剂。

14. 根据权利要求 10 至 13 中任一项的适于每日经口施用的可药用试剂盒,其包括:

(a) 活性剂的 21 个日剂量单位;以及

(b) 口服和可药用安慰剂的 7 个日剂量单位。

15. 根据权利要求 10 至 13 中任一项的适于每日经口施用的可药用试剂盒,其包括:

(a) 活性剂的 23 个日剂量单位;以及

(b) 口服和可药用安慰剂的 5 个日剂量单位。

16. 根据权利要求 10 至 13 中任一项的适于每日经口施用的可药用试剂盒,其包括:

(a) 活性剂的 25 个日剂量单位;以及

(b) 口服和可药用安慰剂的 3 个日剂量单位。

17. 根据权利要求 10 至 13 中任一项的适于每日经口施用的可药用试剂盒,其包括:

(a) 活性剂的 27 个日剂量单位;以及

(b) 口服和可药用安慰剂的 1 个日剂量单位。

18. 根据权利要求 10 至 17 中任一项的可药用试剂盒,其中所述日剂量单位为片剂形式。

19. 根据权利要求 10 至 17 中任一项的可药用试剂盒,其中所述日剂量单位为局部乳膏或凝胶形式。

20. 根据权利要求 10 至 17 中任一项的可药用试剂盒,其中所述日剂量单位通过持续释放递送系统递送,所述持续释放递送系统选自经皮、跨粘膜或经阴道的药物递送系统。

21. 根据权利要求 10 至 20 中任一项的试剂盒,其中所述黄体酮是 5-(4,4-二甲基-2-硫代-1,4-二氢-2H-苯并[d][1,3]噁嗪-6-基)-1-甲基-1H-吡咯-2-腈。

22. 育龄雌性避孕方法,其包括在连续 18 至 28 天的时间段向育龄雌性送递含有有效量活性剂的日剂量单位、继之为对受试者送递无有效量活性剂的连续 1 至 7 天,所述活性剂由黄体酮组成。

周期性黄体酮方案及试剂盒

[0001] 本申请是国际申请日为 2005 年 7 月 6 日的国际申请 PCT/US2005/023955 进入中国、申请号为 200580022779.6 的题为“周期性黄体酮方案及试剂盒”的发明专利申请的分案申请。

[0002] 技术领域和背景技术

[0003] 1960 年引入黄体酮 / 雌激素组合口服避孕药 (OC) 丸剂之后,很快就引入了几种仅有黄体酮的丸剂 (POP)。POP 中黄体酮的剂量低于组合 OC 中的,以使由完全卵巢抑制引起的闭经的发生最小化。因此,排卵在大约一半的 POP 使用者中受到抑制。(标准 POP 主要依赖于子宫颈粘液增稠以为排卵者提供避孕保护)。部分因为较低的黄体酮剂量、不存在外源性雌激素并且不存在规则的撤退性出血,POP 使用者比组合 OC 使用者具有更高的不定期突破性出血和长斑 (spotting) 率。主要因为出血问题,与大约 30% 使用组合 OC 的相比,仅约 1 ~ 2% 的避孕妇女使用 POP。

[0004] 所需要的是避免突破性出血和长斑问题的含黄体酮的避孕药。

发明内容

[0005] 本发明提供了避孕方案,其包括连续 21 至 27 天递有效量的黄体酮、继之为不递所述黄体酮的连续 1 至 7 天。在一个实施方案中,黄体酮是 5-(4,4-二甲基-2-硫代-1,4-二氢-2H-苯并[d][1,3]噻嗪-6-基)-1-甲基-1H-吡咯-2-腈,也称为 tanaproget。

[0006] 本发明另外提供用于递该方案的药用试剂盒。

[0007] 从下面的发明详述,本发明的其它方面将是显而易见的。

具体实施方式

[0008] 一方面,本发明提供了育龄雌性避孕方法。在所述方法中,将黄体酮或黄体酮组合作为唯一的活性(即抗避孕的(anti-contraceptive))剂递一段连续的天数以防止受孕。

[0009] 另一方面,本发明提供了黄体酮或黄体酮组合在制备可用于育龄雌性避孕的药物中的用途。在一个实施方案中,该药物包含一个阶段,其中,连续施用 21 至 27 个日剂量单位,每个日剂量单位含有包含黄体酮的活性剂。在另一个实施方案中,药物也包含第二阶段施用 1 至 7 个日剂量单位的可药用安慰剂。在其他实施方案中,黄体酮用于制备可用于在此所述任何避孕方法中的药物。

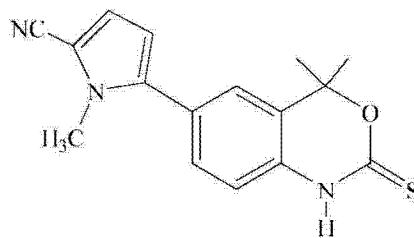
[0010] 不期望受理论束缚,相信本发明将通过两条途径降低传统的仅含黄体酮的避孕药的出血问题。首先,由于各循环中整合了无有效量黄体酮的 1 至 7 天,所以约每 28 天将出现规则的撤退性出血。第二,增加黄体酮剂量高于标准的仅含黄体酮的避孕药,产生几乎完全的排卵抑制,而且,本发明的组合物不像传统的仅含黄体酮的方案那样依赖于子宫颈粘液增稠以保持避孕效力。

[0011] 此处所用的术语“黄体酮”指任何促孕活性化合物,即,任何结合并活化黄体酮受体的化合物。代表性黄体酮包括黄体酮合成衍生物,例如 17-羟基黄体酮酯、19-降-17-羟

基黄体酮酯、17 α -乙炔基睾酮及其衍生物、17 α -乙炔基-19-降-睾酮及其衍生物、炔诺酮、醋酸炔诺酮、双醋炔诺醇、去氢孕酮、醋酸安宫黄体酮、异炔诺酮、烯丙雌烯醇、炔雌烯醇、fuingestanol acetate、美罗孕酮、诺孕烯酮、dimethiderome、炔孕酮、环丙孕酮、左旋炔诺孕酮、炔诺孕酮、d-17 α -乙酰氧基-13 β -乙基-17 α -a-乙炔基-甾(gon)-4-烯(en)-3-酮肟、环丙孕酮、孕二烯酮、去氧孕酮、酮去氧孕烯(etonorgestrel)、炔诺肟酯和炔雌醇(norelgestromin)。用于口服避孕药的其他具有促孕活性的化合物包括氯地孕酮、双烯孕酮和曲螺酮(drospirenone)。

[0012] 在一个满意的实施方案中,黄体酮是5-(4,4-二甲基-2-硫代-1,4-二氢-2H-苯并[d][1,3]噁嗪-6-基)-1-甲基-1H-吡咯-2-酮,也称为tanaproget和NSP-989。所述化合物可以具有式:

[0013]



[0014] 并包括其可药用的盐、酯或其他前药形式。在美国专利号 6,436,929、美国专利申请号 11/113,794(于 2005 年 4 月 25 日提交)和美国临时专利申请号 60/675,550(于 2005 年 4 月 28 日提交);60/675,551(于 2005 年 4 月 28 日提交);60/675,559(于 2005 年 4 月 28 日提交);60/675,737(于 2005 年 4 月 28 日提交);和 60/675,738(于 2005 年 4 月 28 日提交)中描述了该化合物及制备该化合物的方法。

[0015] 另外,美国专利号 6,436,929;6,355,648;6,521,657;6,407,101;6,562,857 和 6,358,947、美国专利公开号 2003-0158182-A1 和美国临时专利申请号 60/601,254(于 2004 年 8 月 13 日提交)中描述的其他黄体酮可用于本发明的方法和试剂盒。可以用从可药用或生理学可接受的酸或碱衍生的盐的形式使用可用于本发明的黄体酮化合物。这些盐包括但不限于下列例如盐酸、硫酸、硝酸、磷酸的无机酸、以及视情况而定例如乙酸、草酸、琥珀酸和马来酸的有机酸的盐。其他盐包括酯、氨基甲酸酯和其他常规“前药”形式的碱金属或碱土金属(例如钠、钾、钙或镁)的盐,以所述形式施用,所述盐体内转化为活性部分。

[0016] 以对应于月经周期长度的时间段(即,在 23 至 35 天范围内,平均为 28 天)实施本发明的方法。因此,本发明的方法包括在连续 18 至 28 天的时间段向育龄雌性送递含有由黄体酮组成的有效量活性剂的日剂量单位、继之为向受试者送递无有效量的活性剂的连续 1 至 7 天。

[0017] 术语“有效量”的黄体酮是提供避孕的剂量。不受理论束缚,主要通过防止排卵而实现避孕。术语“无有效量”的黄体酮用于指送递有效量的黄体酮后的 1 至 7 天。在此时间段期间,优选不向动物送递黄体酮量。然而,可能的情况是,在此时间段期间,持续释放制剂或其他送递方法可以是“渗漏的”并继续送递对避孕无效的少量黄体酮。短语“无有效量”包括不送递黄体酮。

[0018] 根据本发明,雌性优选为人。然而,如此处所用的,雌性可以包括非人类哺乳动物,例如家畜或牲畜、马、猪、家畜等。

[0019] 一方面,本发明的方法包括连续 28 天中至少连续 21 天递含有活性剂的日剂量单位。在该实施方案中,该方案由在连续 21 至 27 天的时间段向育龄雌性施用黄体酮、继之为向受试者递无有效量的或不递活性剂的连续 1 至 7 天组成。任选地,向受试者递无有效量活性剂的 1 至 7 天时间段可以包括递第二阶段的可药用安慰剂的 1 至 7 天的日剂量单位。另外,在所述“安慰剂阶段”期间,不施用安慰剂。

[0020] 在一个实施方案中,本发明的方法包括将黄体酮作为唯一的活性剂递连续 21 天,继之为递无有效量的活性剂的 7 天。任选地,在这 7 天期间,可以递第二阶段的口服和可药用安慰剂的 7 个日剂量单位。

[0021] 在另一个实施方案中,本发明的方法包括将黄体酮作为唯一的活性剂递连续 23 天,继之为递无有效量的活性剂的 5 天。任选地,在这 5 天期间,可以递第二阶段的口服和可药用安慰剂的 5 个日剂量单位。

[0022] 在另一个实施方案中,本发明的方法包括将黄体酮作为唯一的活性剂递连续 25 天,继之为递无有效量的活性剂的 3 天。任选地,在这 3 天期间,可以递第二阶段的口服和可药用安慰剂的 3 个日剂量单位。

[0023] 在另一个实施方案中,本发明的方法包括将黄体酮作为唯一的活性剂递连续 27 天,继之为递无有效量的活性剂的 1 天。任选地,可以递第二阶段的口服和可药用安慰剂的 1 个日剂量单位。

[0024] 本发明包括含有一种或多种黄体酮化合物的药物组合物作用唯一的活性成分在制剂和方案中的用途。将黄体酮化合物与可药用载体或赋形剂配制。

[0025] 适当地,为了通过任何合适的递装置、以任何合适的途径递而配制用于本发明的黄体酮,所述途径包括例如经皮、粘膜(鼻内、口腔、阴道)、经口、肠胃外等,所述递装置其中包括例如经皮贴剂(transdermal patches)、局部乳膏或凝胶、阴道环。在另一个实施方案中,通过任何合适的途径将黄体酮以持续释放制剂施用。这类持续释放制剂为本领域技术人员所公知。

[0026] 当化合物用于上述用途时,可以将其与一种或多种可药用载体或赋形剂(例如溶剂、稀释剂等)组合。当为经口递配制时,黄体酮化合物可以是片剂、胶囊、囊片、gel tab、可分散粉末、颗粒或含有例如约 0.05 至 5% 悬浮剂的悬浮液、含有例如约 10 至 50% 的糖的糖浆、以及含有例如约 20 至 50% 乙醇的酞剂等形式。当为肠胃外送递配制时,可以以无菌注射液或悬浮液的形式递黄体酮化合物,所述悬浮液在等渗介质中含有约 0.05 至 5% 的悬浮剂。这类药物制剂可以含有例如约 25% 至约 90% 的活性成分与载体的组合,更通常为以重量计约 5% 至约 60%。

[0027] 采用的活性成分有效量可以依赖于采用的具体化合物、施用模式和所需的卵巢抑制程度而变化。然而,总体而言,当本发明的化合物在约 0.03 至 0.6mg、或约 0.1 至约 0.5mg 的日剂量优选每日给予或以持续释放形式施用时,获得了满意的结果。可以调节该剂量方案以提供最佳治疗反应。例如,可以每日施用分开的几剂,或按照治疗情况的紧急性所示成比例地降低剂量。

[0028] 可以经口施用这些活性化合物(一种或多种黄体酮)。固体载体包括淀粉、乳糖、磷酸二钙、微晶纤维素、蔗糖和高岭土,而液体载体包括无菌水、非离子表面活性剂、乙醇(例如甘油、丙二醇和液体聚乙二醇)、其合适的混合物、以及植物或食用油例如玉米、花生

和芝麻油,只要适合于活性成分的性质和所需的具体施用形式。通常在药物组合物制备中采用的佐剂可以有利地包括例如调味剂、着色剂、防腐剂和抗氧化物(例如维生素 E、抗坏血酸、BHT 和 BHA)。

[0029] 从便于制备和施用的视点看,优选的药物组合物是固体组合物,特别是片剂和填紧的胶囊或液体填充的胶囊。优选经口施用该化合物。

[0030] 也可以通过阴道环施用这些活性化合物。适宜地将阴道环的使用定时于 28 天周期。在一个实施方案中,将环插入阴道,并将其在适当的位置保持 3 周。在第四周期间,去除阴道环并出现月经。接下来一周插入新环,佩带另一个 3 周直至下一个时间段。在另一个实施方案中,每周插入阴道环,并连续三周更换。然后,在无环的一周之后,插入新环以开始新的方案。在另一个实施方案中,将阴道环插入更长或更短的时间段。

[0031] 对于用于阴道环,以类似于先前所述的通过阴道环送递的避孕化合物描述的方式配制黄体酮化合物。见,例如美国专利号 5,972,372 ;6,126,958 和 6,125,850。

[0032] 任选地,可以为在持续释放制剂中肠胃外送递、以及通过注射(例如每月或每季度)施用而配制黄体酮组合物。

[0033] 在本发明的另一方面,通过合适的途径为以乳膏或凝胶送递而配制黄体酮化合物。适宜地,这类途径的载体为本领域技术人员所公知。

[0034] 在本发明另一方面,通过经皮贴剂送递黄体酮化合物。适宜地,将贴剂的使用定时于 28 天周期。在一个实施方案中,通过合适的粘合剂将贴剂应用于皮肤上,贴剂在此位置保留 1 周并在共三周的时间段内每周更换。在第四周期间,不应用贴剂,并出现月经。下一周应用新佩带的贴剂,以开始新的方案。在另一个实施方案中,贴剂将在合适的位置保留更长或更短时间段。

[0035] 本发明也包括为用于在此所述方案设计的药物制剂的试剂盒或包装。合适地,试剂盒含有在此所述的一种或多种黄体酮化合物。在一个实施方案中,黄体酮选自 17-羟基黄体酮酯、19-降-17-羟基黄体酮酯、17 α -乙炔基睾酮及其衍生物、17 α -乙炔基-19-降-睾酮及其衍生物、炔诺酮、醋酸炔诺酮、双醋炔诺醇、去氢孕酮、醋酸安宫黄体酮、异炔诺酮、烯丙雌烯醇、炔雌烯醇、fuingestanol acetate、美罗孕酮、诺孕烯酮、dimethiderome、炔孕酮、环丙孕酮、左旋炔诺孕酮、炔诺孕酮、d-17 α -乙酰氧基-13 β -乙基-17 α -a-乙炔基-甾-4-烯-3-酮肟、环丙孕酮、孕二烯酮、去氧孕酮、酮去氧孕烯、炔诺肟酯、炔雌醇、氯地孕酮、双烯孕酮和曲螺酮。另外,美国专利号 6,436,929、6,355,648、6,521,657、6,407,101 和 6,562,857 中描述的其他黄体酮可用于本发明的方法和试剂盒中。

[0036] 在一个满意的实施方案中,黄体酮是 NSP-989(也称为 tanaproget)、或其可药用盐或前药。

[0037] 对于用于本发明的试剂盒有利的是,为所需送递载体和途径配制黄体酮。例如,可以为经口送递、肠胃外送递、阴道环、经皮送递或粘膜送递配制黄体酮。

[0038] 在一个实施方案中,为在 28 天周期中每日经口施用(优选每天一次经口施用)设计本发明的试剂盒,并将其进行组织以显示在 28 天周期的每天将取用的单独经口制剂或经口制剂的组合。优选各试剂盒将包括在指定的各天取用的经口片剂;优选一个经口片剂将含有所示的各个组合的日剂量。例如,本发明的试剂盒可以含有 21 至 27 个有效量活性

剂的日剂量单位和任选的 1 至 7 个安慰剂日剂量单位,及其他适当成分,包括例如使用说明书。

[0039] 本发明的试剂盒优选是含有按照其取用顺序排列的日剂量的包装(例如泡罩包装(blister pack))。

[0040] 在另一个实施方案中,为在 28 天周期中通过阴道环每周或每月施用设计本发明的试剂盒。合适地,该试剂盒包含每月周期所需的各个阴道环的独立包装,即一至三个,以及其他适当组分,包括例如使用说明书。

[0041] 在另一个实施方案中,为在 28 天周期中通过经皮贴剂每周或每月施用设计本发明的试剂盒。合适地,该试剂盒包含每月周期所需的各个贴剂的独立包装,即一至三个,以及其他适当组分,包括例如使用说明书。

[0042] 在另一个实施方案中,为肠胃外送递黄体酮设计本发明的试剂盒。一般为为家庭送递设计该试剂盒,并且可以包括针、注射器及其他适当的包装和使用说明书。

[0043] 在另一个实施方案中,本发明的试剂盒含有黄体酮化合物的凝胶或乳膏制剂。试剂盒可以任选地包括例如管或其他容器的适当包装、敷料器和/或使用说明书。

[0044] 在此所述的各方案和试剂盒中,优选该方案的各药物活性成分的日剂量在施用的各具体阶段保持固定。也应当理解,按照所述顺序施用所述日剂量单位,其中第一阶段随后按顺序为任选的第二阶段。为了便于与各方案相适应,也优选试剂盒含有对周期最后数天所述的安慰剂。另外优选各包装或试剂盒包含指示 28 天周期各天的可药用包装,例如标记的泡罩包装、刻度盘分配器或其他本领域已知的包装。

[0045] 可以调整这些剂量方案以提供最佳避孕效果。例如,可以每日施用各组分的分开的几剂,或按照避孕效力所示成比例增加或降低剂量。在这里的描述中,日剂量单位的涵义也可以包括在预期周期中各天过程中施用的分开的单位。

[0046] 下列实施例仅为说明性的,且无意对本发明进行限制。

[0047] 实施例 1- 黄体酮化合物 NSP-989 的排卵抑制

[0048] 与溶于 2% Tween80/0.5% 甲基纤维素载体中的参照黄体酮醋酸安宫黄体酮(MPA) 和曲美孕酮(trimegestone)(TMG) 一起,在三个不同的黄体酮活性大鼠模型中经口评价 NSP-989 的活性。在本实施例的 A、B 和 C 部分中描述了这些模型。

[0049] A. NSP-989 在大鼠排卵抑制模型中的作用

[0050] 排卵抑制测定测量化合物在成年雌性大鼠中抑制排卵的能力。该活性是避孕功效所必需的。在本测定中,NSP-989 具有 0.03 mg/kg 的平均 ED₁₀₀ 值,而 TMG 和 MPA 二者均具有 1mg/kg 的 ED₁₀₀ 值(n = 2-3)。

[0051] 从 Charles River Laboratory(Boston, MA) 获得随机循环(Random cycling) 成熟雌性 Sprague-Dawley 大鼠(约 200 g)。于 0900 h 以及再次于 1600h 以每只大鼠皮下(sc) 施用 2 μg LHRH(溶于含有 0.1% 牛血清清蛋白的磷酸缓冲盐水中) 而将大鼠同步化于动情期。在施用测试化合物之前使动物休息 8 天。然后将动物分组,每个处理组 7-9 只大鼠。LHRH 处理后第九天早晨,通过强饲法以测试化合物每天一次处理大鼠。该处理持续连续 4 天。最后一次处理后的早晨对动物实施安死术。取出输卵管,置于两个载玻片之间,并通过解剖显微镜观察以计数卵细胞。记录各处理组在输卵管中出现卵细胞的动物的数目及各动物输卵管中的卵细胞数目。

[0052] B. 大鼠蜕膜化模型

[0053] 确定促孕活性的第二个大鼠模型是卵巢切除的成年大鼠的子宫蜕膜化测定。由于黄体酮是将子宫基质细胞转化为分化的蜕膜细胞所绝对需要的,所以在此模型中,仅黄体酮受体激动剂化合物是有活性的。

[0054] 如以前所述进行大鼠蜕膜化测定 [Lundeen SG 等人,“Rat uterine complement C3 expression as a model for progesterone receptor modulators: characterization of the Hew progestin trimegestone”, J Steroid Biol Mol Biol. 2001 ;78 :137-143]。

[0055] 简单而言,在处理前至少 10 天将成熟雌性 Sprague-Dawley 大鼠 (约 220 g) 进行卵巢切除以降低循环性类固醇。通过强饲法 (0.5ml) 将 NSP-989 在 2% Tween 80/0.5% 甲基纤维素载体中每日一次经口施用七天。第三次每日处理后约 24 小时,通过以 21- 号钝针刮拭子宫系膜对向腔上皮 (antimesometrial luminal epithelium),在各麻醉大鼠的一个子宫角中诱导蜕膜化。对侧角不经刮拭,并作为未刺激的对照。末次处理后 24 小时通过 CO₂ 窒息对动物实施安死术。取出子宫并修整脂肪,且分别将蜕膜化的 (D) 和对照 (C) 角称重。将蜕膜反应表示为 D/C。

[0056] NSP-989 以 0.01mg/kg 的 ED₅₀ 值 (n = 23) 诱导子宫内膜蜕膜化,并且效力分别为 MPA 和 TMG 的约 40 和 100 倍 (表 1)。

[0057] 表 1. NSP-989 在各种啮齿类动物模型中的促孕活性概括

[0058]

化合物	大鼠排卵抑制测定 (ED ₁₀₀ , mg/kg, 口服(po))	大鼠蜕膜测定 (ED ₅₀ , mg/kg, 口服)	大鼠 C3 测定 (ED ₅₀ , mg/kg, 口服)	兔 Clauberg 测定 (AED ₅₀ , mg/kg, 口服)
NSP-989	0.03	0.01	0.0005	0.001
MPA	1.0	0.4	0.03	0.03
TMG	1.0	1.0	0.005	0.001

[0059] C. 大鼠子宫 C3 模型

[0060] 第三个 PR 激动剂活性模型是成年卵巢切除的大鼠子宫 C3 模型。该测定评估黄体酮在子宫上皮中阻断雌激素诱导的 C3 表达的能力。

[0061] 从 Harlan (Indianapolis, IN) 获得 60 天龄的卵巢切除的雌性 Sprague-Dawley 大鼠。在处理前至少 8 天由供应商实施卵巢切除。将大鼠随机化并安排为 6 只一组。通过强饲法 (口服) 以 0.5ml 体积将动物每日一次经口处理 2 天。在处理第二天,也通过强饲法将动物以 EE (0.08mg/kg 体重 (BW)) 经口处理。末次处理之后约 24 小时,通过 CO₂ 窒息对动物实施安死术。然后取出子宫,剥除残留脂肪和肠系膜,称重,并于干冰上速冻。按照厂商说明使用 Trizol Reagent (GibcoBRL) 从子宫分离总 RNA。使用以前报导的实时逆转录聚合酶链反应 (RT-PCR) [Sampath D 等人,“Aberrant expression of Cyr61, a member of the CCN (CTGF/Cyr61/Cef10/NOVH) family, and dysregulation by 17 β -estradiol and basic fibroblast growth factor in human uterine leiomyomas”]

Clin Endocrinol Metab. 2001 ;86 :1707-1715] 对互补 C3 表达定量。简要的说,使用无 DNA 试剂盒 (Ambion) 将 RNA 样品进行 DNA 酶 I 处理。使用 C3 特异性引物对 (5' 引物 GGTCGGTCAAGGTCTACTCCTACTA[SEQ ID NO :1], 3' 引物 CACAGCGGCACATTTTCATTG[SEQ ID NO :2]) 和定制探针 (6FAM-AGCATTCCATCGTCCCTTCTCCGGATG-TAMRA[SEQ ID NO :3]) 对共 50 ng RNA 一式三份地进行分析。使用由 PE Applied Biosystems 提供的引物和探针将 C3 信使 RNA (mRNA) 水平对各样品反应物中含有的 18S 核糖体 RNA 进行标准化。

[0062] NSP-989 的平均 ED₅₀ 值为 0.0005mg/kg (n = 6)。MPA 和 TMG 在该测定中分别具有 0.03 和 0.005mg/kg 的平均 ED₅₀ 值。总而言之,在大鼠中,在几种无关的黄体酮活性模型中,NSP-989 的效力为用于这些研究的参照黄体酮的 3010 至 10060 倍。

[0063] D. 兔子宫内膜转化 (Clauberg) 测定

[0064] 除了上述大鼠促孕模型之外,也在兔子宫内膜转化模型的经典促孕测定 Clauberg 模型中评估了 NSP-989 [McPhail MK, "The assay of progestin." J Physiol. 1934 ;83 : 145-1567]。简单而言,以 5 μg 17β-雌二醇 (E₂)/兔/天对未成熟雌性新西兰大白兔 (约 1kg 体重) 皮下注射连续六天。末次 E₂ 注射后的开始 24 个小时,经口给予单独载体或测试化合物连续五天。通过子宫重量和子宫内膜腺成树状分枝 (McPhail 指数) 的增加确定促孕活性。

[0065] 在有限的剂量反应研究中,NSP-989 具有 0.001mg/kg 的估计 ED₅₀ (AED₅₀)。其在此测定中的效力与 TMG 类似,并为 MPA 的约 30 倍。

[0066] 实施例 2- 使用黄体酮化合物的周期方案

[0067] 安排三剂 NSP-989 在继之为 7 天安慰剂丸剂的 21 天方案中、以及比较物 (comparator) (类固醇 OC 去氧孕酮 (DSG) 150 μg/20 μg 炔雌醇的组合,进行 21 天,继之为 2 天的安慰剂丸剂,随后为 5 天的 10 μg EE,以名称 Mircette 在美国上市) 的 2 期随机双盲多中心剂量范围研究。

[0068] 大约 20 个地点参与,每地点约 16 名受试者。然而,注册将是竞争性的,且在任何地点可以注册额外的受试者。

[0069] 研究将有 2 部分。研究的第一部分 (1-84 天) 将评价 NSP-989 产生卵巢抑制的能力、并评价周期控制、副作用和代谢数据。第二部分 (85-168 天) 将继续跟随受试者以收集周期控制、副作用和代谢数据。盲法方案医学监控和研究队伍将关于功效失败和安全性对该研究进行例行监控。取决于受试者筛选时间段的长度,各受试者将参与最长至 9 个月。观察八个周期。第一个周期将成为排卵的基线观察。六个治疗周期将尾随以一个治疗后观察周期,以评价回复排卵。受试者是在随机化时年龄大于等于 18 岁小于 36 岁的健康女性。受试者在进入预处理观察周期之前必须在三个月的时间段具有自发的规则的 (24 至 32 天) 月经周期,从而排除流产后和非母乳喂养的产后受试者。流产后和非母乳喂养的产后受试者在进入预处理观察周期之前必须已完成了至少一个规则的 (24 至 32 天) 自发月经周期。对所有受试者的预处理观察周期将在完成研究前筛选后发生的自发月经的第一天开始 (诊视 1)。

[0070] 预处理观察周期是对照周期;不施用测试物 (test article)。各受试者将在其月经出血第一天开始测试物 (仅第一个受试者包装 (subject pack))。各受试者包装将含有 NSP-989 或类固醇组合 OC 比较物。受试者将口服 NSP-989, 21 天中每日一次 (第 1 天至第

21 天),继之为 7 天的安慰剂丸剂(第 22 至 28 天),持续 6 个周期。分配给类固醇组合 OC 比较物(DSG150 μ g)的受试者将口服测试物,21 天中每日一次(第 1 至第 21 天),继之为 2 天的安慰剂丸剂(第 22 至 23 天),继之为 5 天的 10 μ g EE(第 24 至 28 天),持续 6 个周期。同样也有治疗后周期,其间将不施用测试物,并将评价回复排卵。

[0071] 随机指定各受试者接受下列之一:

[0072] 组处理

[0073] A 100 μ g NSP-989,21 天,继之为 7 天的安慰剂丸剂

[0074] B 200 μ g NSP-989,21 天,继之为 7 天的安慰剂丸剂

[0075] C 300 μ g NSP-989,21 天,继之为 7 天的安慰剂丸剂

[0076] D 去氧孕酮 150 μ g,21 天,继之为 2 天安慰剂丸剂,继之为 5 天 10 μ g EE

[0077] 各受试者将在其月经出血第一天开始测试物(仅第一个受试者包装)。受试者将在各天大约相同的时间口服测试物,28 天中每日一次。所有后来的受试者包装都将在前一个丸剂包装的第 28 天后开始。在治疗周期期间,受试者将不间断每日服用测试物。

[0078] 预期接受本发明方案的一个或多个治疗组 A、B 和 C 将具有体验有效性避孕(experience effective contraception)、排卵停止,而且所有组将在处理各月的第四周期间具有撤退性出血。

[0079] 实施例 3

[0080] 使用卡片纸板、纸板、箔或塑料衬背制备具有 28 个泡罩容器的泡罩包装,并以合适的盖封闭。安排泡罩容器以容纳 21 个各提供 NSP-989 日剂量 100 μ g 的丸剂及随后 7 个安慰剂丸剂日剂量(或 7 个空泡罩)的顺序。可以常规地将各泡罩容器编号或另外标记,例如,以含有活性成分的 21 个剂量单位的第一个开始,随后为 7 个空泡罩或不含活性剂的 7 个剂量单位。

[0081] 在本说明书中列举的所有专利、专利公开物和其他公开物、以及序列表在此引用作为参考。尽管关于具体的实施方案对本发明进行描述,但应当理解,在不背离本发明的精神下可以进行修改。这类修改意欲在附加的权利要求的范围内。

[0001]

序列表

- <110> Wyeth
 Grubb, Gary S.
 Constantine, Ginger D.
- <120> 周期性黄体酮方案及试剂盒
- <130> AM-101677PCT
- <150> US 60/586, 045
 <151> 2004-07-07
- <160> 3
- <170> PatentIn version 3.3
- <210> 1
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> 人工序列
- <220>
 <223> C3 特异性引物
- <400> 1
 ggtcggtcaa ggtctactcc tacta 25
- <210> 2
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> 人工序列
- <220>
 <223> C3 特异性引物
- <400> 2
 cacagcggca catttcattg 20
- <210> 3
 <211> 26
 <212> DNA

[0002]

<213> 人工序列

<220>

<223> 定制的探针

<400> 3

agcattccat cgtccttctc eggatg

26