

國 籍：(中文/英文) 1-3. 加拿大/CA

四、聲明事項：

☐ 主張專利法第二十二條第二項 ☐ 第一款或 ☐ 第二款規定之事實，其事實發生日期為： 年 月 日。

☒ 申請前已向下列國家（地區）申請專利：

【格式請依：受理國家（地區）、申請日、申請案號 順序註記】

☒ 有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1. 美國；2007/3/30；60/909,324

☐ 無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

☐ 主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號 順序註記】

☐ 主張專利法第三十條生物材料：

☐ 須寄存生物材料者：

國內生物材料 【格式請依：寄存機構、日期、號碼 順序註記】

國外生物材料 【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼 順序註記】

☐ 不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

國 籍：(中文/英文) 1-3. 加拿大/CA

四、聲明事項：

☐ 主張專利法第二十二條第二項 ☐ 第一款或 ☐ 第二款規定之事實，其事實發生日期為： 年 月 日。

☒ 申請前已向下列國家（地區）申請專利：

【格式請依：受理國家（地區）、申請日、申請案號 順序註記】

☒ 有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1. 美國；2007/3/30；60/909,324

☐ 無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

☐ 主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號 順序註記】

☐ 主張專利法第三十條生物材料：

☐ 須寄存生物材料者：

國內生物材料 【格式請依：寄存機構、日期、號碼 順序註記】

國外生物材料 【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼 順序註記】

☐ 不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

九、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明是關於一種兩相脂質微泡組合物以及以陰道給藥治療子宮頸表皮化性不良的方法。

【先前技術】

在美國每年執行的估計 55,000,000 子宮頸抹片檢查 (Pap smears) 中，5%以上被報導為異常 (ALTS study 2003)。每年估計 800,000 女性呈現低度鱗狀上皮內病變 (low-grade squamous intraepithelial lesion, LSIL) (Jones, BA, Davey DD. Quality management in gynaecologic cytology using interlaboratory comparison. Arch Pathol Lab Med 2000;124(5):672-81)。

所述病變將隨時間進展至 CIN 2-3 或侵襲性癌症，此在呈現高危 HPV 亞型之女性中尤如此，或在無治療之情況下隨時間消退。在經診斷患有 LSIL 之女性中，25%的女性將進展至子宮頸上皮內贅瘤 (cervical intraepithelial neoplasia, CIN) 2 或 3 級，22-32%的女性將患有持續性 CIN 1，且約 50%-70%的女性將在 2 年內經歷 LSIL 的自發消退 (ALTS group 2003, Östör AG Natural history of cervical intraepithelial neoplasia: a critical review. Int. J. Gynecol Pathol 1993;12:186-92)。約 75%的女性將在 5 年內經歷自發消退。

貝塞斯達系統 (Bethesda System) 的細胞學 LSIL 定義與在德國以及整個歐盟中使用的慕尼黑分級系統 (Munich

classification system) 不同。在貝塞斯達系統中 LSIL 對應於濕疣或 CIN 1。在慕尼黑分級中，所述發現以 Pap 組 II W-組 III D 表示。然而，應注意在 III D 組中亦包括經陰道鏡診斷患有 CIN 2 (中度表皮化性不良) 的患者。

目前，尚無直接療法可用於呈現 LSIL 之 HPV 女性患者。一旦偵測到低度異常子宮頸抹片，患者以及臨床醫師剩下一或多次重複子宮頸抹片檢查、或進行陰道鏡檢查的選擇。陰道鏡檢查常常伴隨切片檢查。基於陰道鏡檢查及切片檢查之發現，治療選擇包括子宮頸錐狀切除 (conization)、冷凍療法或雷射治療。經歷所述治療選擇之女性的流產以及早產之危險性可能增加。

存在若干已公開的臨床試驗，其描述干擾素 (interferon, IFN) 可有效對抗多種 HPV 子宮頸感染。關於干擾素用於治療子宮頸上皮內贅瘤之用途的研究報導 0-100% 之間的治癒率。所述改變很有可能反映劑量、治療持續時間、施用模式、研究設計、疾病嚴重程度以及功效量測之差異。

在一項開放式研究中，Penna 等人(1994) (Penna C, Fallan MG, Gordigiani R *et al.*, Intralesional beta-interferon treatment of cervical intraepithelial neoplasia associated with human papillomavirus infection, Tumori 1994; 80:146-150) 報導在患有與 HPV 感染有關之 CIN 的女性中每天將 3 百萬國際單位 (million international unit, MIU) 的 IFN β 以病變周圍內 (intra-perilesionally) 的方式施加至子宮頸中

歷時 3 週之後，80%病變消退且 51% HPV 類型 16/18 徹底改變至正常。類似地，在一項開放式試驗性的研究中，Katesmark 等人(1999) (Katesmark M., Coulter Smith S., Reynolds K., Lawton F. A pilot study of the efficacy and tolderability of intralesional recombinant human beta interferons in cervical intraepithelial neoplasia. Ann Acad Singapore 1999; 28(6)775-7) 顯示當將 IFN 注射至轉型區時對 CIN 之組織學完全反應率為 73%。

Schneider 等人(1995) (Schneider A, Grubert T, Kirchmayr R, Wagner D, Papendick U, Schlunck G. Efficacy trial of topically administered Interferon gamma-1b gel in comparison to laser treatment in cervical intraepithelial neoplasia. Arch Gynecol Obstet 1995; 256:75-83) 報導在患有 CIN 之女性中進行 IFN- γ 1b 凝膠療法後 42%完全反應，42%部分反應。在此項研究中，與 CIN III 患者相比，CIN II 患者反應更佳。亦值得關注的是注意到當與非吸煙者相比時，吸煙者顯示顯著較低的治癒率。

Zarcone 等人(1995)(Zarcone R., Bellini P., Cardone G., Cardone A. Treatment of cervix condylomata with alpha-IFN leucocytar. Clin Exp Obst Gyn 1995;22(4):326-9) 已報導在 12 名患者的小型研究中使用組合之肌肉內及局部 α -IFN 療法治療 HPV+女性之 CIN I 及 II 獲得成功。每天肌肉內投予達 3 MIU 之劑量的 IFN，歷時 3 週，聯同在治療的最後兩週期間於陰道內施加非指定劑量之 IFN 乳膏，引起 7 名

患者完全反應，4 名患者部分反應，且 1 名患者無反應。

Syed 等人(1998) (Syed TA, Ahmadpour A. Human leukocyte derived interferon- α in hydrophilic gel for the treatment of intravaginal warts in women: a placebo-controlled, double-blind study. Intl J STD and AIDS 1998;9:769-772)證明經 4 週治療時期每週連續 5 天陰道內投予 16 MIU 日劑量之干擾素 α 親水性凝膠比安慰劑明顯更為有效治癒陰道疣。雖然所述研究顯示如藉由陰道鏡檢查所量測且藉由隨機切片檢查之細胞學及組織學檢查所證實，干擾素療法能有效治療 CIN 相關性 HPV 感染，但所述研究皆未在治療後檢查 HPV 狀態。

基於所述研究的多種限制性，能夠在疾病過程早期期間徹底改變異常細胞學現象且減少或消除 HPV 存在之非侵入性療法，將顯著有益於許多年輕女性的保健系統以及身體與情緒上之安寧舒適。

【發明內容】

在一態樣中，本發明包括一種用於以陰道給藥治療子宮頸表皮化性不良的兩相脂質微泡組合物。所述組合物包括內部包封有水中油乳液(oil-in water emulsion)、人類干擾素 α -2b 以及甲硫胺酸之雙層脂質 (lipid-bilayer) 微泡懸浮液，所述組合物具有每公克組合物約 1-10 MIU (百萬國際單位)之間的干擾素- α -2b 比活性以及 0.01 至 0.5 重量百分比之間的甲硫胺酸。

所述組合物可為乳膏形式，在特定實施例中其含有每

公克組合物人類干擾素 α -2b 比活性在 1 至 3 MIU 之間的干擾素 α -2b 以及 0.01 至 0.5 重量百分比之間的 L-甲硫氨酸。

在另一態樣中，本發明包括一種藉由以 1-20 MIU 之間劑量的干擾素 α -2b 向受試者陰道內投予上述組合物且每週至少 3 天重複給藥歷時至少 4 週之時期來治療受試者之子宮頸表皮化性不良的方法。

本發明之此等以及其他目標及特徵將在結合附圖閱讀本發明之以下實施方式時得到更充分的瞭解。

【實施方式】

I. 兩相脂質體組合物以及其製備方法

本發明是關於一種用於藉由經黏膜給藥（例如藉由陰道投藥）來遞送干擾素（例如干擾素 α -2b）的雙層脂質或脂質體或脂質微泡組合物，尤其是用於治療子宮頸表皮化性不良。

一種製備本發明之多層脂質微泡的較佳方法如下。將油與稠度增強劑混合。單獨地將水與界面活性劑混合。亦可將例如對羥苯甲酸甲酯（methyl paraben）或對羥苯甲酸丙酯（propylparaben）之水溶性抗微生物劑、諸如磷酸鹽之緩衝劑以及諸如 EDTA 之螯合劑溶於水中。將此等者逐漸地加熱至約 70°C，並接著將其與油以及稠度增強劑混合且勻化。此舉導致乳液形成，其中水作為連續相，且油以及稠度增強劑作為分散相。希望油滴直徑應小於約 1 微米、尤其小於約 0.5 微米，且必要時可使乳液經受額外剪

切或超音波處理以減小液滴尺寸。

單獨地，藉由將磷脂、醣脂及/或神經醯胺 (ceramide) 以及醫藥學上可接受之親水性溶劑 (例如，丙二醇) 混合，且將其加熱以形成熔體來製備無水前體脂質體 (proliposome) 凝膠。熔體中亦可併有用以增強雙層脂質強度之物質 (例如，膽固醇)、用以增強穿透之物質 (例如，單月桂醯基離胺酸 (monolauroyllysine)) 以及用以向雙層脂質賦予電荷之物質 (例如，硬脂酸 (stearic acid))。熔體中可併有少量抗氧化劑，例如抗壞血酸棕櫚酸酯 (ascorbyl palmitate)、二丁基羥基甲苯 (butylated hydroxytoluene) 或丁基羥基甲氧苯 (butylated hydroxyanisole)。將水性乳液添加至熔體中且使各種成分經受攪動，此舉導致形成所需多層脂質微泡，所述多層脂質微泡在中心核心區中具有含有油以及稠度增強劑作為分散相之水性乳液。

如下文所討論，水溶性生物活性物質尤其是人類干擾素 α -2b 可以溶液形式併入乳液的水相中。將干擾素 α -2b 併入水相中以形成每公克組合物比活性在 1-10 MIU 之間的最終組合物。組合物亦經調配以含有 0.01 至 0.5 重量百分比之間的 L-甲硫胺酸，例如 0.01-0.2 重量百分比之 L-甲硫胺酸，且此成分以及諸如 EDTA 之螯合劑或諸如 L-甲硫胺酸之抗氧化劑及/或諸如甘胺酸 (glycine) 之蛋白質穩定劑亦可以有效得到在最終組合物中之所需濃度的濃度併入水相中。

A. 無水可塑性前體脂質體凝膠之形成

將脂質體形成成分以及其他必需賦形劑與醫藥學上可接受之親水性溶劑（諸如，丙二醇）一起熔融。

表述“脂質體形成成分”表示用作雙層脂質之主要成分之物質。典型脂質體形成成分包括糖脂、卵磷脂（lecithin）、磷脂、神經醯胺或其混合物，其在雙層脂質形成過程中用作主要成份。然而，具有所需兩性特徵之其他天然以及合成化合物可與磷脂、糖脂或神經醯胺一起被併入，代替一些此等昂貴物質，其限制條件為雙層脂質之基本特徵不會受到不利影響。對合適物質之選擇在熟習此項技術者的知識範圍內。實例包括磷脂醯乙醇胺（phosphatidylethanolamine）、溶血卵磷脂（lysolecithin）、溶血磷脂醯乙醇胺（lysophosphatidylethanolamine）、磷脂醯絲胺酸（phosphatidylserine）、磷脂醯肌醇（phosphatidylinositol）、鞘磷脂（sphingomyelin）、心磷脂（cardiolipin）、磷脂酸（phosphatidic acid）以及腦甘脂（cerebroside）、醚脂質（ether lipid）以及植烷醇（phytanol）。

本發明之脂質體調配物較佳含有飽和及/或不飽和磷脂，更佳含有磷脂醯膽鹼（phosphatidylcholine）、溶血磷脂醯膽鹼（lysophosphatidylcholine）、磷脂醯絲胺酸、磷脂醯乙醇胺、糖脂以及神經醯胺。磷脂較佳與諸如單月桂醯基離胺酸、二軟脂醯基離胺酸（dipalmitoyllysine）或水楊酸甲酯（methyl salicylate）之穿透增強劑組合，以實現主要經皮給藥的可能性。

“脂肪物質”可用於增強雙層脂質之強度。適用脂肪

物質之實例包括類固醇（諸如，膽固醇、糞甾醇（coprostanol）、膽甾醇（cholestanol）以及膽甾烷（cholestane））以及長鏈脂肪酸（ C_{16} 至 C_{22} ），尤其飽和長鏈脂肪酸，諸如硬脂酸。除增強雙層脂質強度外，酸賦予負電荷。可使用飽和或不飽和酸。可使用的其他脂肪物質包括 C_{16} 至 C_{22} 脂肪胺（fatty amine）、脂肪醯化蛋白（fatty acylated protein）、脂肪醯化肽（fatty acylated peptide）、脂肪醯化 PEG（fatty acylated PEG）以及衍生物。將此等脂肪物質與以上提及之脂質體形成成分一起併入且改良產品之物理穩定性以及外觀。

親水性溶劑用作脂質體形成成分之增塑劑且有助於製備均勻熔體。親水性溶劑之實例包括（但不限於）丙二醇、甘油（glycerol）、分子量在 300 與 8000 之間的範圍內之聚乙二醇（polyethylene glycol）、乙醇（ethanol）以及其混合物。所得熔體可稱為無水可塑性前體脂質體凝膠。此無水可塑性前體脂質體凝膠含有所有脂質相成份且可大量預先製備且儲存。其為具有均勻稠度之半固體物質。

B. 多層脂質微泡之形成

將諸如穿透增強劑、防腐劑以及其類似物之親水性成份單獨地製備為水溶液，其構成乳液之連續相。將此添加至先前加熱至可在 40°C 至 80°C 範圍內之合適熔融溫度的脂質相熔體中，且藉由使得可實現所需產物尺寸之任何給定技術劇烈混合。混合技術之實例包括渦流式或螺旋槳式混合。在此階段，亦可能使將包封於雙層脂質內之固體生

物活性劑併入（溶解）。

此程序適用於製備各種量之局部脂質體產物。若將渦流式混合用作攪動，則可製備達約 20 公克之產物。若使用實驗室規模之螺旋槳式混合器，則可製得達約 2 公斤至 10 公斤之產物。此調配程序亦可適於大規模製造。因此，可藉由以幾何級數增加容器尺寸以及螺旋槳式混合器之直徑，直接按比例放大螺旋槳式混合技術。然而，當容器尺寸增加時，較佳裝配將會為組合式混合器，亦即具有螺旋槳式混合器與刮面式攪拌器的高強度混合器。水相可自貯槽 A 抽至含有無水可塑性前體脂質體凝膠之貯槽 B，或水相可與乳液混合，之後在所需溫度下添加至貯槽 B 中且混合。此程序適於大規模產生任何局部脂質體產物。

就本發明之多層脂質微泡而言可藉由使用合適之醫藥添加劑來製備脂質體組合物。舉例而言，可能需要將增黏劑添加至最終脂質體製劑中。其他醫藥學上可接受之化合物之添加在熟習此項技術者之技能範圍內。

C.最終多層脂質微泡產物之特徵

根據上述方法製備的多層脂質微泡之示意圖顯示於圖 3。多層脂質微泡一般以參照數字 2 表示，其由一系列間隔開之雙層脂質 4、6 以及 8 組成，所述雙層脂質界定一系列外周水溶液區 3 以及 5。最小雙層脂質 7 在其中心界定中心核心區 9。雖然僅顯示 6 個雙層脂質，但應瞭解圖經簡化且為示意性的，且實際上存在多於 6 個之多個雙層脂質。

圖 4 為圖 3 微泡之放大圖，其更詳細地顯示中心核心

區以及一些雙層脂質之部分。中心核心區 9 被水性乳液佔據，所述水性乳液由水 10（作為連續相）以及親脂液滴或微細固體顆粒 11（作為分散相）組成。親脂液滴或微細固體顆粒為一層界面活性劑分子 12 所圍繞，各界面活性劑分子之親水性部分 13 延伸至水相中且疏水性部分 14 處於油滴表面。

核心區周圍為最內雙層脂質 15。所述雙層脂質由兩層脂質分子 16 組成。一層中之各脂質分子 16 實質上平行於相鄰雙層脂質而定向且構成雙層之兩個層具有其分子暴露於水相之極性端 17 以及彼此相鄰之非極性端 18。最內雙層脂質 15 與次最內雙層脂質 19 之間為充滿水或水性乳液的外周區 20。如圖所示，經界面活性劑圍繞之親脂液滴或顆粒 11 可存在於外周區 20 中。

在外周區 20 周圍為次最內雙層脂質 19，其又由另一外周區及另一雙層脂質所圍繞。

應瞭解生物活性成份（例如，干擾素 α -2b）以及 L-甲硫胺酸成分將存在於中心核心區 9 以及外周區 20 中的水性乳液之水中。親脂性生物活性成份（諸如，稠度增強劑或吸收增強劑）可存在於中心區 9 以及外周區 20 中之乳液分散相中。其亦可存在於雙層脂質內部，如 21 所示。生物活性成份可構成親脂液滴 21，或生物活性成份可溶於形成液滴 21 之親脂性溶劑中。因此，本發明允許水溶性或不溶於水的生物活性成份之局部施用。

組合物較佳在至少約 30 重量百分比，且較佳約介於

40 與 70 重量百分比之間的此等水性成分以脂質體包封形式存在（與在組合物之微泡外體相中載運相反）的條件下形成。此等包封程度可藉由各種已知之策略實現，例如藉由逆相蒸發法形成脂質體（liposome），及/或將水相物質以高濃度脂質體形成脂質囊封，從而最小化整體水相之量。

圖 1 為所製備之用作局部塗劑之微泡放大 440 倍的掃描影像。此產品展現塗劑或半固體乳膏之稠度。對掃描影像之檢查顯示具有均勻尺寸分佈之多層結構。此等者展現在一年以上之長期時間內的物理穩定性。

為展示在根據本發明之較佳方法產生的脂質體群體中所觀測到之性質的不同之處，在自相同成份但在一狀況下使用溶劑蒸發法且在另一狀況下使用較佳之無水可塑性前體脂質體凝膠法製備的兩種脂質體組合物之間進行比較測試。圖 2A 為使用無水前體脂質體凝膠（‘熔融’或‘融合’）法製備之脂質體群體的掃描影像，且圖 2B 為使用溶劑蒸發法製備之脂質體群體的掃描影像。如圖可見，使用無水可塑性前體脂質體凝膠法獲得之脂質體群體具有實質上比使用溶劑蒸發法獲得之脂質體尺寸分佈均勻的脂質體尺寸分佈。同樣，當使用無水可塑性前體脂質體凝膠法時形成最小量之聚集或融合脂質體，而在使用溶劑蒸發法獲得之脂質體群體中可觀測到大的聚集體。

在本發明之一些實施例中，親脂物質為可囊封至脂質體中之油或固體/半固體親脂性稠度增強劑。作為固體或半固體親脂性稠度增強劑，提及脂肪醇（fatty alcohol）、蠟、

脂肪醇脂肪酸酯 (fatty alcohol fatty acid ester)、甘油酯 (glyceride ester)、白石蠟脂 (white petrolatum) 以及其混合物。已成功地囊封至脂質體中之油類實例為異戊四醇四辛酸酯 (pentaerythritol tetracaprylate) / 異戊四醇癸酸酯 (pentaerythritol caprate)、異戊四醇四異硬脂酸酯 (pentaerythritol tetraisostearate)、辛酸鯨蠟硬脂基酯 (cetearyl octanoate) 以及菜籽油 (canola oil)、荷荷芭油 (jojoba oil)、花生油 (peanut oil)、米糠油 (rice bran oil)、棉籽油 (cottonseed oil)、向日葵油 (sunflower oil)、玉米油 (corn oil)、核桃油 (walnut oil)、鱷梨油 (avocado oil)、秘魯香脂 (peru balsam)、丁香油 (clove oil) 以及丁香酚 (eugenol)。基於油之植物萃取物亦已被成功地併入脂質體中。固體/半固體親脂性稠度增強劑成份可選自蠟、脂肪醇、脂肪酸酯、硬脂酸甘油酯 (glyceryl stearate)、石蠟脂 (petrolatum) 或其組合。較佳稠度增強劑之特定實例包括蜂蠟 (beeswax)、三山嶺酸甘油酯 (glyceryl tribehenate)、硬脂酸甘油酯、庚酸硬脂醯基酯 (stearyl heptanoate)、棕櫚酸硬脂醯基酯 (stearyl palmitate)、鯨蠟醇 (cetyl alcohol)、硬脂醇 (stearyl alcohol)、肉豆蔻酸肉豆蔻基酯 (myristyl myristate)、芥酸山嶺基酯 (behenyl erucate) 以及棕櫚酸鯨蠟酯 (cetyl palmitate)。

根據本發明且含有稠度增強劑之微泡組合物的黏度大於不包括稠度增強劑但在其他方面相同之相應微泡的黏度。藉由改變稠度增強劑之量，可能實際上實現任何所需

之黏度，自相對流動性液體至“塗劑”，至“乳膏狀”至“稠乳膏”。用以實現組合物之特定黏度的稠度增強劑之量的測定可藉由常規實驗來測定。

用於覆蓋油滴或固體/半固體親脂性稠度增強劑成份的界面活性劑對親脂核心成功囊封至多層脂質微泡中而言為重要的。篩檢約 30 種不同類型之界面活性劑且發現主要陽離子乳化劑產生最可接受之結果。最佳之界面活性劑為氯化苯甲烴銨 (benzalkonium chloride)。亦可使用非離子或兩性界面活性劑，諸如天然衍生之乳化劑：PEG-60 杏仁甘油酯 (PEG-60 almond glyceride)、鱷梨油二乙醇胺 (avocado oil diethanolamine)、乙氧基化荷荷芭油 (PEG-40 荷荷芭酸及 PEG-40 荷荷芭醇)；聚氧化乙烯衍生物：聚氧化乙烯 (20) 脫水山梨糖醇單油酸酯 (polyoxyethylene (20) sorbitan monooleate)、聚氧化乙烯 (20) 脫水山梨糖醇單硬脂酸酯 (polyoxyethylene (20) sorbitan monostearate)；羊毛脂衍生物：羥基羊毛酯醇 (polychol) 20 (Laneth 20)、羥基羊毛酯醇 40 (laneth 40)；中性磷酸酯：PPG-鯨蠟基醚磷酸酯 (PPG-cetyl ether phosphate)、DEA 油醇醚-3 磷酸酯 (DEA oleth-3 phosphate)。亦可能使用陰離子界面活性劑，諸如醯基麩胺酸鹽 (acylglutamate)：TEA-椰油醯基麩胺酸鹽 (TEA-cocoyl glutamate)、月桂醯基麩胺酸鈉 (sodium lauroyl glutamate)、氫化牛脂醯基麩胺酸鈉 (sodium hydrogenated tallow glutamate) 以及椰油醯基麩胺酸鈉 (sodium cocoyl glutamate)。希望界面活性劑具有高臨界膠

束濃度（critical micellar concentration，CMC）。

在製備水包親脂物質乳液時，將親水性成份以及界面活性劑全部併入水中。一旦已製備乳液水相後，將油及/或固體/半固體親脂性成份添加至勻化器（homogenizer）中之水中，歷時 5 至 30 分鐘範圍內之時間以獲得相對小的液滴尺寸。較佳液滴尺寸在 0.1 微米至 1 微米之範圍內，最佳為約 0.5 微米以下。接著將脂質相熔體加熱且添加水包親脂物質乳液並視產物尺寸而定，藉由渦流式或螺旋槳式混合劇烈混合。

可易於採用上述調配程序進行大規模製造。可藉由以幾何級數增加容器尺寸以及螺旋槳式混合器之直徑，直接按比例放大螺旋槳式混合方法。然而，當容器尺寸增加時，較佳裝配可能為組合式混合器，諸如具有螺旋槳式混合器與刮面式攪拌器的高強度混合器。在大規模操作中，在所需溫度下可將水包親脂物質乳液自第一貯槽抽至含有無水可塑性前體脂質體凝膠之第二水槽中且混合。

在本發明之多層脂質微泡的情況下，含有溶解之親脂性生物活性化合物或油性植物提取物的油滴可經由脂質體囊封而給藥。此外，多區囊封之可能性提供在長期時間內的藥物釋放。將親脂性固體/半固體稠度增強劑囊封至中心親脂性核心區中亦使最終脂質體組合物的黏度增強。在此狀況下，可避免在最終脂質體製劑中添加增黏劑。

總而言之，具有中心乳液核心成分之多層脂質微泡的製備提供物理上穩定的均勻脂質體組合物。組合物具有適

於局部投藥之黏度且可易於大規模製造。

D.供陰道內使用之例示性 IFN- α -2b 乳膏調配物

表 1 給出根據本發明形成之一種例示性雙層脂質組合物中的成分，其中各成分之量以每公克最終組合物中之毫克數的單位表示，且以範圍以及例示性量（括號）給出。所得組合物在以下研究中稱為“調配物 Q25C”且如下詳述形成。

表 1

成分	量 毫克/公克
<u>活性</u>	
干擾素 α -2b 藥物物質	0.01-5 (0.808)
<u>賦形劑以及保護劑</u>	
氯化苯甲烴銨 50%溶液	1-10 (2)
二丁基羥基甲苯	0.1-0.5 (0.102)
鯨蠟醇	2-40 (20.514)
膽固醇	2-40 (20)
乙二醇四乙酸二鈉二水合物	0.1-0.5 (0.103)
單硬脂酸甘油酯 (Glycerol Monostearate) 40-55, 類型 1	5-50 (30.771)
甘胺酸	0.1-5 (1)
L-甲硫胺酸	0.1-5 (1.126)
對羥苯甲酸甲酯	0.1-5 (1.538)
橄欖油 (olive oil), 超精製	10-70 (51.285)
PEG-40 氫化蓖麻油 (PEG-40 Castor Oil, Hydrogenated)	10-70 (51.285)
七水合磷酸氫二鈉 (Sodium phosphate, Dibasic, Heptahydrate)	1-2 (1.670)
無水磷酸二氫鈉 (Sodium phosphate, Monobasic, anhydrous)	0.25-1 (0.480)
Phospholipon 90H	60-200 (100)
丙二醇	30-100 (69.95)
對羥苯甲酸丙酯	0.1-1 (0.513)
純水 (Purified Water)	補足至 1000 (646.846)

對 Q25C 之製造方法的描述

步驟 1. 水中油微乳液之製備：在 $75^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ 下將橄欖油、單硬脂酸甘油酯 40-55 類型 I、鯨蠟醇以及二丁基羥基甲苯熔融於一起。將包括純水、PEG-40 氫化蓖麻油、氯化苯甲烴銨 50% 溶液、對羥苯甲酸甲酯、對羥苯甲酸丙酯、

L-甲硫胺酸、乙二胺四乙酸二鈉二水合物以及磷酸鹽之乳液的水性成分一起在不鏽鋼容器中於 $75^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$ 下加熱同時攪拌直至成份溶解。接著將油性成分 ($75^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$) 逐漸添加至水性成分 ($75^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$) 中，同時混合以形成粗乳液。接著藉由經由微射流機 (Microfluidizer) 加工來勻化粗乳液直至形成均質乳液。將此微乳液冷卻至 8°C - 12°C 。

步驟 2：脂質相之製備：藉由加熱至約 80 - 90°C 同時低速混合使 Phospholipon 90H、膽固醇以及二丁基羥基甲苯與丙二醇在 MMU 10 混合器中一起熔融來製備脂質相。繼續脂質相成份之混合以及加熱直至形成透明熔體，接著將透明熔體冷卻至約 60°C 。

步驟 3：水相之製備：添加所需量之 IFN α -2b 儲備溶液且將其與 L-甲硫胺酸、甘胺酸以及純水之混合物輕輕混合。

步驟 4：產物調配：將含有干擾素 α -2b 之水相（來自步驟 3）添加至不鏽鋼夾套混合槽中之系統 A（來自步驟 1）中。將此混合物維持在 8°C - 12°C 之間同時將混合物緩慢混合且用氮氣淨化。將系統 A-水相之冷卻混合物快速添加至在 MMU10 混合器中以高速混合的脂質相中。混合進行 10-15 分鐘，同時將混合物溫度維持為約 57 - 60°C 。在 MMU 10 混合器中將由此所形成之整體產物緩慢混合且冷卻至 19°C - 25°C 。將產物自 MMU 10 混合器轉移至 10 L 不鏽鋼儲存容器中且用氮氣淨化。使用 Unipac 100 填充器將整體產物填充至 1 公克聚丙烯管中。將所述之管用氮淨化且接

著將所需量之產物填充至管中，將管熱密封。將干擾素 α -2b 乳膏之填充管儲存在 $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ 下。

II. 關於對抗 LSIL 之功效的臨床前以及臨床研究

A. 研究基本原理

目前，尚無直接療法可用於呈現 LSIL 之 HPV 女性患者。已知干擾素具有對抗多種 HPV 誘發之病變（尤其皮膚病變，諸如生殖器疣）的活性。可治療早期子宮頸 HPV 感染之療法將顯著有益於許多年輕女性的身體與情緒上之安寧舒適。

B. 關於 Q25C 之臨床前研究之概述

為支持本發明而進行的毒物學研究是按照 “Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies” 以及 OECD Principles of Good Laboratory Practice 的要求進行。進行以下三種類型之毒物學研究：

在天竺鼠（guinea pig）中局部干擾素 α -2b 乳膏之皮膚致敏性研究（Buehler 方法）。

在兔中重複給予局部 Biphaxix 干擾素 α -2b 乳膏之皮膚刺激研究。

在兔中干擾素 α -2b 乳膏之陰道刺激研究。

除以上提及之 3 種毒物學研究外，對於本發明之 IFN- α -2b 組合物的毒物學概況而言，應考慮以下內容：廣泛地認為如由藥物物質之 Helix 廠商 Schering Plough（Intron A[®]）在全世界出售的活性藥物物質干擾素 α -2b 為

一種安全藥物療法。

Schering Plough 已完成干擾素 α -2b 在許多物種中的廣泛毒物學概況分析 (profiling)。

專利所有人執行本文所述之臨床試驗以使向患者投予的每天以及全部干擾素 α -2b 不超過公開之安全限度。

構成組合物的成分均為品質認可之成份。

臨床前概況分析包括稱為“調配物 Q25C”之干擾素 α -2b 乳膏的兩種調配物，其組成以及製備方法描述於上文。

B1. 皮膚致敏性研究

執行 10 天的探索性研究，其中將濃度為每公克乳膏 2 MIU 干擾素 α -2b (所建議之臨床濃度的 1 倍) 的調配物 Q25C 每天兩次塗敷至新西蘭白兔 (New Zealand Albino rabbit) 背面之經剃毛皮膚上的位點。在介於塗敷之間的期間使用濕紗布技術清洗測試位點以移除先前塗敷之任何殘餘乳膏。研究對照包括陰性對照 (鹽水) 以及媒劑對照 (在組成上與調配物 Q25C 相同，但無干擾素 α -2b，而以額外的純水代替)。

針對紅斑以及水腫的徵象，每天使用標準 Draize 評分系統評定皮膚位點之外觀且評分。此外，針對全身性毒性之任何徵象，每天觀察動物。在研究結束時未執行屍檢評估。

經由此探索性研究過程，對於紅斑之發現一般為良好的 (對於發紅之 Draize 評分一般為 2)，且僅觀測到極輕微或輕微水腫 (評分為 1-2)。最值得注意的是完整表面上呈

現的皮膚裂紋僅在一隻動物中明顯。未觀測到全身性毒性之徵象。C.陰道刺激研究

每天經陰道內投予濃度為每公克乳膏 2 MIU 以及 20 MIU 干擾素 α -2b（所建議之臨床濃度的 1 倍以及 10 倍）的調配物 Q25A，每週連續 5 天，歷時 6 週。研究對照包括陰性對照（鹽水）以及媒劑對照（無干擾素 α -2b，而以額外的純水代替）。

針對紅斑、水腫的徵象以及陰道排出物，每天評定陰道口以及會陰之外觀。此外，針對全身性毒性之任何徵象，每天觀測動物，且在研究結束時殺死動物以測定肉眼病變之任何徵象。

基於研究期間兔活時對陰道口以及會陰之觀測，兔未顯示全身性毒性或陰道刺激之跡象。屍檢時，注意到在組織/器官（包括陰道）中無肉眼病變發現。基於組織病理學等級，將乳膏分類為最小刺激。

在投予媒劑對照乳膏之若干動物以及 1 隻鹽水對照動物中觀測到最小至輕度陰道上皮細胞增生、化生以及上皮或固有層之大的空泡形成（vacuolation）。增生以及化生可代表對經 6 週研究持續時間重複每天投予媒劑乳膏的最小至輕度適應性上皮反應。無陰道上皮壞死、糜爛或潰瘍出現於任一動物中。至此之毒物學研究的結論

以上研究證明以下結論：如調配物 Q25C 具體化之本發明之組合物為非致敏性的，並在最壞的情況下在初始瞬變期時為輕度至中度刺激且此後（若有）經 30 天研究時期

僅溫和刺激。D.臨床研究

測試如 Q25C 調配物具體化之本發明組合物治療具有 HPV 狀態之 LSIL（具有人類乳頭瘤病毒狀態之低度鱗狀上皮內病變）的臨床功效以及副作用，其中“上皮內”意謂異常細胞僅出現於子宮頸之表層。研究之目標為與作為用以描述疾病進展或消退之自然史的對照群體而執行之第二研究相比測定施用局部干擾素 α -2b 乳膏 Q25C 之功效以及安全性。方法以及臨床研究、受試者研究數目以及臨床終點呈現於表 2 中，且評估標準呈現於表 3 中。

表 2：臨床試驗概述：用於治療細胞學上確認之具有 HPV 狀態之 LSIL 的低劑量干擾素 α -2b 乳膏

所研究之產品：	IFN002：局部干擾素 α -2b 乳膏 HPV001：無治療		
研究標題	• 方案號：IFN 002-對用於治療細胞學上確認之具有 HPV 狀態之 LSIL（II 期）的局部干擾素 α-2b 乳膏之開放式研究 • 方案號：HPV001-對呈現細胞學上確認之具有 HPV+ 狀態之 LSIL 的女性之 3 個月的前瞻性研究-非介入性研究		
研究者：	主要研究者： • IFN002：Prof. Dr. med. Achim Schneider, 德國 • HPV001：Dr. med. Gerd Böhmer, 德國		
研究中心：	• IFN002：德國的 3 個中心 • HPV001：德國的 1 個中心		
目標：	• IFN 002：用於測定施用局部干擾素 α-2b 乳膏之功效以及安全性 • HPV001：用於描述疾病進展或消退之自然史		
方法：	• IFN 002：前瞻性開放式標記研究，6 週治療以及 6 週隨訪觀測時期 • HPV001：前瞻性單隊列研究，12 週觀測時期		
受試者總數（計劃以及分析）		IFN002（治療）	HPV001（對照）
	對於 PP 所計劃	20	20
	登記/篩檢*	78	38
	安全性分析	20	21
	ITT-分析	20	21
	PP-分析	15	19
診斷以及主要納入標準：	兩個研究：呈現細胞學上確認之具有 HPV+ 狀態之 LSIL 的女性		
治療種類以及持續時間：	• IFN 002：局部干擾素 α-2b 乳膏歷時 6 週 • HPV001：無治療		
評估標準：			
功效：	主要終點： • IFN002：PAP-反應率，其被定義為在意向治療群		

安全性：	體（Intention to Treat population，ITT）中治療時期開始後 12 週期間（亦即，第 2 週或第 4 週或第 6 週或第 12 週=診訪 V04、V05、V06 以及 V07）異常子宮頸抹片消除的患者比例 • HPV001：12 週觀測時期結束時異常子宮頸抹片消除的患者比例。 次要終點： • 無論如何，與符合方案群體（Per Protocol population，PP）之主要終點相同 • 在觀測時期開始後 12 週期間 HPV+狀態徹底改變至陰性（定性評定）的患者比例（ITT 以及 PP） • 在觀測時期開始後 12 週期間 HPV 病毒負荷數量降低的患者比例（ITT） • 不利事件 • 安全性實驗室測試 • 生命參數
------	--

表 3

統計學方法：	功效參數：對功效參數之推論性統計學分析純粹為探索性的，對於所進行之各測試使用 $\alpha = 0.05$ 而對於多重測試未進行 α-調整。兩組之間反應率的差異是使用 Chi^2 測試來測定。 安全性參數：所有分析均為描述性的。藉助於漸近 Mann-Whitney-U 測試（組間差異）以及漸近 Wilcoxon 測試（組內差異）（對於相依樣本而言）來分析實驗室參數。所有 AE 是根據 MedDRA 編碼且按研究組完全地及單獨地列出。執行 AE 相關分析以及患者相關分析。
主要功效結果：	• 主要終點 (ITT)：與對照組中 3/21 (14.29%) 的患者相比，治療組中 8/20 的患者 (40.00%) 為反應者。然而，治療組之兩名患者的子宮頸抹片結果在初期診訪時初步 PAP 反應後惡化。因此，若僅考慮 12 週觀測時期後的 PAP 反應，則治療組之 6/20 患者 (30.00%) 為反應者。 • 符合方案群體 (PP) 中之 PAP-反應：與對照組中 3/19 (15.79%) 的患者相比，治療組中 7/15 的患者 (46.67%) 為反應者。若僅考慮 12 週觀測時期後的 PAP-反應，則治療組的 6/15 患者 (40.00%) 為反應者。 • 在 12 週治療時期期間 HPV+狀態消除的患者（亦即在 V03=治療開始後出現 HPV-至少一次的患者）比例 (ITT 以及 PP)。ITT：與對照組中 2/21 (9.52%) 的患者相比，治療組中 3/20 的患者 (15.00%) 為 HPV-反應者。備註：一名治療組患者之 HPV-狀態在 V06 時惡化，但其在診訪 V07 時再次為陰性。PP：治療組中 2/15 的患者 (13.33%) 為 HPV-反應者且對照組中 2/19 (10.53%) 的患者為 HPV-反應者。
額外功效結果	• 來自參加研究的僅為 PAP IIId (亦即，根據 LSIL 細胞學之“貝塞斯達分級系統”) 患者之分層群體的 Pap 反應。對呈現 PAP IIId 之患者的亞群分析顯示治療組之間的顯著差異。與來自 PP 群體之 14 名 PAP IIId 患者中無反應者相比，來自研究 IFN002 之 ITT 群體之 6/14 的 PAP IIId 患者為反應者。 • 陰道鏡診斷。在個體最終觀測時，與對照組相比，治療組中陰道鏡診斷在統計學上明顯更佳。在研究 IFN 002 中，12 名患者 (60%) 向‘正常’或‘非典型’改善。相比之下，在非介入性研究中，僅 2 名患者 (9.52%) 在個體最終觀測時發生改善。

主要安全性結果：	• 不利事件：記錄 36 個 AE。治療組中 34 個 AE：此等 AE 中之 7 個 AE 在治療開始之前發生。在對照組之 1 名患者中觀測到 2 個 SAE。AE 分析是基於治療組之 27 個 AE，所述 AE 在治療開始之後突然出現（‘治療突現 AE’）；此等 27 個 AE 在治療組之 14/20 患者（70.00%）中出現。根據 MedDRA-主要術語（primary terms），3 個 AE 來自類別‘子宮出血’且 4 個 AE 來自類別‘頭痛’；所有其他 AE 為僅發生一或兩次的種類。3 名患者中 5 個 SAE（均無與治療相關的任何因果關係）在研究藥物治療期間發生（治療組：1 名患者在治療開始之前懷孕，1 名患者在游泳期間發生事故，造成腦震盪以及頸椎壓縮；對照組：1 患者懷孕流產）。無死亡以及其他重大 AE。 • 實驗室：<u>尿</u>：未觀測到關於尿-pH 值隨時間之顯著變化。在一中心，定量測定一些尿參數：雖然平均紅血球（erythrocyte）顯然有增加，但此參數以及其他參數的前後變化微小且並不顯著。在定性測定之一些患者中，在尿中發現白血球（leucocyte）、硝酸鹽、蛋白質、尿膽素原（urobilinogen）、膽紅素（bilirubin）及/或血液。<u>血液</u>：在研究開始以及結束時發現組之間關於血球比容（hematocrit）、MCV、MCHC、血小板（thrombocyte）以及嗜鹼性細胞（basophil）的顯著差異，然而未發現關於平均前後變化的顯著差異。治療組患者中的白血球（然而，並不顯著）、淋巴細胞（lymphocyte）[Gpt/I]（顯著）、單核細胞（monocyte）[Gpt/I]（顯著）以及嗜鹼性細胞[Gpt/I]（顯著）似乎有增加之趨勢。在研究開始以及結束時，發現組之間關於肌酸酐（creatinine）、ASAT 以及鹼性磷酸酶（alkaline phosphatase, AP）的顯著差異，然而，未發現關於平均前後變化的顯著差異。在兩組中，關於膽紅素明顯平均減少，且對照組中關於 ALAT 明顯平均增加。關於 CRF 中提出之所有實驗室參數，需要研究者之評估（正常，若超出正常範圍：臨床相關或臨床不相關）。僅在若干罕見案例中記錄有臨床相關性。 • 身體檢查以及生命徵象：僅在來自治療組之一例中在診訪 V06 時觀測到病理性發現（絞痛）。在各研究組內，生命徵象在試驗期間在正常波動以及量測誤差範圍之內保持幾乎恆定。在診訪 V01 時，組之間關於舒張血壓以及心率存在顯著差異（U-測試），其中治療組中值較高，但關於前後差異，無顯著差異。
-----------------	--

結論：	總而言之，與未經治療之比較組相比，治療組具有較高反應率。若直接比較，則關於主要終點，未滿足使用 $\alpha = 0.05$ 之統計顯著性。然而，樣本尺寸小以及所述研究是單獨及獨立地以略有不同的陰道鏡檢查時程進行之事實使得此類比較存在困難。 對呈現 PAP III_d 之患者的亞群分析顯示治療組之間的顯著差異。與來自 PP 群體之 14 名 PAP III_d 患者中無反應者相比，來自研究 IFN002 之 ITT 群體之 6/14 的 PAP III_d 患者為反應者。 在個體最終觀測時，與對照組相比，治療組中陰道鏡診斷在統計學上明顯更佳。在研究 IFN 002 中，12 名患者 (60%) 向 '正常' 或 '非典型' 改善。相比之下，在非介入性研究中，僅 2 名患者 (9.52%) 在個體最終觀測時發生改善。SAE 皆與研究藥物無關且無其他重大 AE 發生。治療顯示極佳的安全概況。 具有潛在臨床益處以及沒有重大藥物相關性不利事件為對於所測試之藥物的正指示。
------------	---

功效參數：對功效參數之推論性統計學分析純粹為探索性的，對於所進行之各測試使用 $\alpha = 0.05$ 而對於多重測試未進行 α -調整。兩組之間反應率的差異是使用 Chi^2 測試來測定。

主要研究結果是基於如在兩個研究群體之間所比較的 Pap-反應率。根據 LSIL 細胞學之通用歐洲或“慕尼黑分級”系統，若患者的子宮頸抹片向組 II 或更佳自子宮頸抹片組 II_W 至組 III_D 中之任一者改善，則認為發生子宮頸抹片正常化。

安全性參數：所有分析均為描述性的。藉助於漸近 Mann-Whitney-U 測試（組間差異）以及漸近 Wilcoxon 測試（組內差異）（對於相依樣本而言）來分析實驗室參數。

所有 AE 是根據 MedDRA 編碼且按研究組完全地及單獨地列出。執行 AE 相關分析以及患者相關分析。

• 主要終點 (ITT)：與對照組中 3/21 (14.29%) 的患者相比，治療組中 8/20 的患者 (40.00%) 為反應者。然而，治療組之兩名患者的子宮頸抹片結果在初期診訪時初步 PAP 反應後惡化。因此，若僅考慮 12 週觀測時期（如按對照組之定義）後的 PAP 反應，則治療組的 6/20 患者 (30.00%) 為反應者。

符合方案群體 (PP) 中之 PAP-反應：與對照組中 3/19 (15.79%) 的患者相比，治療組中 7/15 的患者 (46.67%) 為反應者。若僅考慮 12 週觀測時期後的 PAP-反應，則治療組的 6/15 患者 (40.00%) 為反應者。

• 不利事件：記錄 36 個 AE。治療組中 34 個 AE：此等 AE 中之 7 個 AE 在治療開始之前發生。在對照組之 1 名患者中觀測到 2 個 SAE。AE 分析是基於治療組之 27 個 AE，所述 AE 在治療開始之後突然出現（‘治療突現 AE’）；此等 27 個 AE 在治療組之 14/20 患者 (70.00%) 中出現。根據 MedDRA-主要術語，3 個 AE 來自類別‘子宮出血’且 4 個 AE 來自類別‘頭痛’；所有其他 AE 為僅發生一或兩次的種類。3 名患者中 5 個 SAE（均無與治療相關的任何因果關係）在研究藥物治療期間發生（治療組：1 名患者在治療開始之前懷孕，1 名患者在游泳期間發生事故，造成腦震盪以及頸椎壓縮；對照組：1 患者懷孕流產）。無死亡以及其他重大 AE。

•實驗室：尿：未觀測到關於尿-pH 值隨時間之顯著變化。在一中心，定量測定一些尿參數：雖然平均紅血球顯然有增加，但此參數以及其他參數的前後變化微小且並不顯著。在定性測定之一些患者中，在尿中發現白血球、硝酸鹽、蛋白質、尿膽素原、膽紅素及/或血液。血液：在研究開始以及結束時發現組之間關於血球比容、MCV、MCHC、血小板以及嗜鹼性細胞的顯著差異，然而未發現關於平均前後變化的顯著差異。治療組患者中的白血球(然而，並不顯著)、淋巴細胞[Gpt/I](顯著)、單核細胞[Gpt/I](顯著)以及嗜鹼性細胞[Gpt/I](顯著)似乎有增加之趨勢。在研究開始以及結束時，發現組之間關於肌酸酐、ASAT 以及鹼性磷酸酶(AP)的顯著差異，然而未發現組之間關於平均前後變化的顯著差異。在兩組中，關於膽紅素明顯平均減少，且對照組中關於 ALAT 明顯平均增加。關於 CRF 中提出之所有實驗室參數，需要研究者之評估(正常，若超出正常範圍：臨床相關或臨床不相關)。僅在若干罕見案例中記錄有臨床相關性。

身體檢查以及生命徵象：僅在來自治療組之一例中在診訪 V06 時觀測到病理性發現(絞痛)。在各研究組內，生命徵象在試驗期間在正常波動以及量測誤差範圍之內保持幾乎恆定。在診訪 V01 時，組之間關於舒張血壓以及心率存在顯著差異(U-測試)，其中治療組中值較高，但關於前後差異，無顯著差異。

總而言之，治療組具有比未經治療之比較組高的反應

率。若直接比較，則關於主要終點，未滿足使用 $\alpha = 0.05$ 之統計顯著性。然而，樣本尺寸小以及所述研究是單獨及獨立地以略有不同的陰道鏡檢查時程進行之事實使得此類比較存在困難。

額外功效結果：對呈現 PAP IIIId 之患者的亞群分析顯示治療組之間的顯著差異。與來自 PP 群體之 14 名 PAP IIIId 患者中無反應者相比，來自研究 IFN002 之 ITT 群體之 6/14 的 PAP IIIId 患者為反應者。

除 PAP-反應率參數外，在個體最終觀測時，與對照組相比，治療組中陰道鏡診斷在統計學上明顯更佳。在研究 IFN 002 中，12 名患者（60%）向‘正常’或‘非典型’改善。相比之下，在非介入性研究中，僅 2 名患者（9.52%）在個體最終觀測時發生改善。

雖然已就特定實施例而言描述了本發明，但熟習此項技術者應瞭解在不偏離本發明之情況下可進行各種變化以及修改。

【圖式簡單說明】

圖 1 為使用無水可塑性前體脂質體凝膠法製備的本發明之組合物中之多層脂質微泡的掃描影像。

圖 2A 為使用“無水可塑性前體脂質體-凝膠”（‘熔融’或‘融合’）法製備的多層脂質體之掃描影像。

圖 2B 為與 2A 之組合物相同但藉由溶劑蒸發法製備的多層脂質體之掃描影像。

圖 3 為具有中心水性乳液核心之兩相多層脂質微泡

(multilamellar lipid vesicle , MLV) 的示意剖視圖。

圖 4 為圖 3 之 MLV 的放大部分。

【主要元件符號說明】

- 2：多層脂質微泡
- 3：外周水溶液區
- 4：雙層脂質
- 5：外周水溶液區
- 6：雙層脂質
- 7：最小雙層脂質
- 8：雙層脂質
- 9：中心核心區
- 10：水
- 11：親脂液滴/微細固體顆粒
- 12：界面活性劑分子
- 13：親水性部分
- 14：疏水性部分
- 15：最內雙層脂質
- 16：脂質分子
- 17：極性端
- 18：非極性端
- 19：次最內雙層脂質
- 20：外周區
- 21：親脂液滴

五、中文發明摘要：

本發明是關於一種用於以陰道給藥治療子宮頸表皮化性不良的兩相脂質微泡組合物。所述組合物包括內部包封有水中油乳液、人類干擾素 α -2b 以及 L-甲硫胺酸之雙層脂質微泡懸浮液，組合物具有每公克組合物約 1-10 MIU (百萬國際單位)之間的干擾素 α -2b 比活性以及 0.01 至 0.5 重量百分比之間的 L-甲硫胺酸。在治療方法中，將組合物以約 1-20 MIU 干擾素 α -2b 之劑量投予，且所述劑量每週至少投予 3 天，歷時至少 4 週之時期。

六、英文發明摘要：

A biphasic lipid vesicle composition for treating cervical dysplasia by intravaginal delivery is described. The composition includes a suspension of lipid-bilayer vesicles having entrapped therein, an oil-in-water emulsion, human interferon alpha-2b and L-methionine, the composition having an interferon alpha-2b specific activity of between about 1-10 MIU (million international units) per gram composition, and between 0.01 to 0.5 weight percent L-methionine. In the treatment method, the composition is administered at a dose of between about 1-20 MIU interferon alpha-2b, and this dose is administered at least 3 days/week, for a period of at least 4 weeks.

七、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：圖 4

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

9：中心核心區

10：水

11：親脂液滴/微細固體顆粒

12：界面活性劑分子

13：親水性部分

14：疏水性部分

15：最內雙層脂質

16：脂質分子

17：極性端

18：非極性端

19：次最內雙層脂質

20：外周區

21：親脂液滴

八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

無

發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號：97111592

※ 申請日期：97.3.28

※ IPC 分類：A61K 9/107, 47/44, 38/21

一、發明名稱：(中文/英文)

兩相微泡組合物用於製備治療具人類乳突病毒狀態之低度鱗狀上皮內
病變之藥物的用途/ USE OF BIPHASIC VESICLE COMPOSITION IN
THE PREPARATION OF A MEDICAMENT FOR TREATING
LOW-GRADE SQUAMOUS INTRAEPITHELIAL LESION WITH
HUMAN PAPALOMA VIRUS STATUS

二、申請人：(共 1 人)

姓名或名稱：(中文/英文)

喜立克拜爾筏瑪股份有限公司

HELIX BIOPHARMA CORP.

代表人：(中文/英文)(簽章) 多雀迪 約翰/ DOCHERTY, JOHN

住居所或營業所地址：(中文/英文)

加拿大 安大略 奧羅拉 南工業大道 3-305

3-305 INDUSTRIAL PARKWAY SOUTH, AURORA, ONTARIO

CANADA

國 籍：(中文/英文) 加拿大/CA

三、發明人：(共 3 人)

姓 名：(中文/英文)

1. 佛爾德瓦里 瑪莉亞安納/ FOLDVARI, MARIANNA

2. 庫瑪 普立文/ KUMAR, PRAVEEN

3. 多雀迪 約翰 M. / DOCHERTY, JOHN M.

十、申請專利範圍：

1.一種兩相微泡組合物用於製備治療具人類乳突病毒狀態之低度鱗狀上皮內病變之藥物的用途，其中所述藥物包括所述兩相微泡組合物，所述兩相微泡組合物包括：

(a)第一相，所述第一相包括水中油乳液，其本身包括油、水、干擾素 α -2b 以及甲硫胺酸；以及

(b)第二相，所述第二相包括多重薄層脂質微泡懸浮於所述第一相，其中所述微泡包含組合物內封於其中，所述組合物包括水中油乳液，其本身包括油、水、干擾素 α -2b 以及甲硫胺酸，

其中任一相包含足以穩定干擾素 α -2b 對抗氧化的量的甲硫胺酸，以及所述組合物包含醫療上有效總量的干擾素 α -2b，

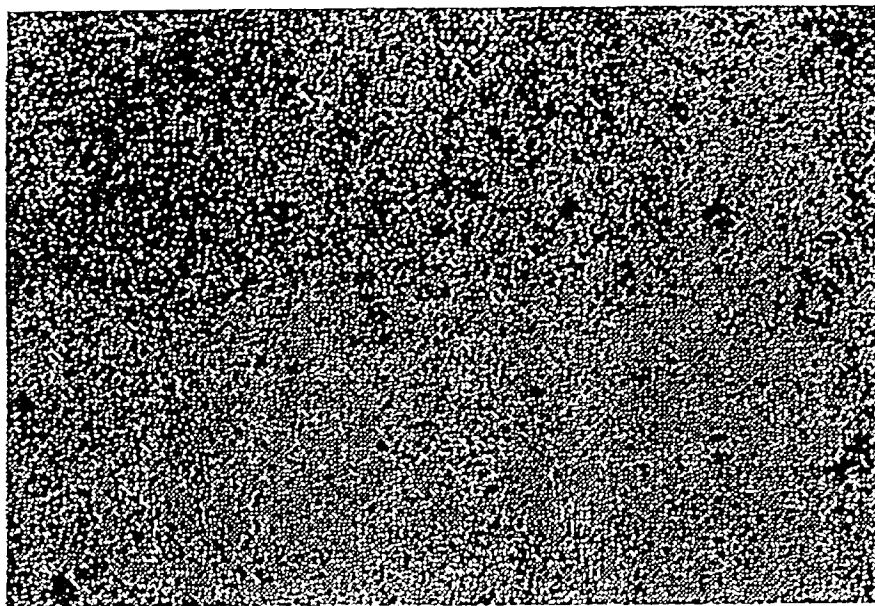
所述兩相微泡組合物具有每公克組合物介於 1 至 10 MIU 之間人類干擾素 α -2b 的干擾素 α -2b 比活性且具有 0.01 至 0.5 重量百分比之間的甲硫胺酸，且所述兩相微泡組合物更包括額外的抗氧化劑。

2.如申請專利範圍第 1 項所述之兩相微泡組合物用於製備治療具人類乳突病毒狀態之低度鱗狀上皮內病變之藥物的用途，所述兩相微泡組合物呈乳膏形式。

3.如申請專利範圍第 1 項所述之兩相微泡組合物用於製備治療具人類乳突病毒狀態之低度鱗狀上皮內病變之藥物的用途，所述兩相微泡組合物具有每公克組合物介於 1 至 3 MIU 之間人類干擾素 α -2b 的干擾素 α -2b 比活性。

4.如申請專利範圍第 1 項所述之兩相微泡組合物用於製備治療具人類乳突病毒狀態之低度鱗狀上皮內病變之藥物的用途，所述額外的抗氧化劑為 L-甲硫胺酸。

5.如申請專利範圍第 1 項所述之兩相微泡組合物用於製備治療具人類乳突病毒狀態之低度鱗狀上皮內病變之藥物的用途，其中至少 30 重量百分比的干擾素 α -2b 以及甲硫胺酸內封於所述微泡作為所述水中油乳液之部分。

$$102 \pm 0.8 \quad 27 \pm 0.2$$


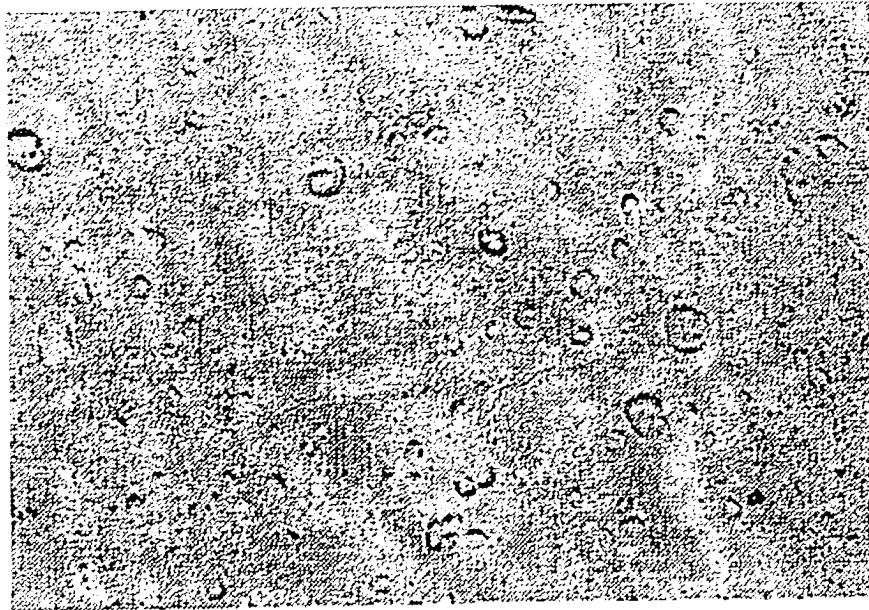


圖 21

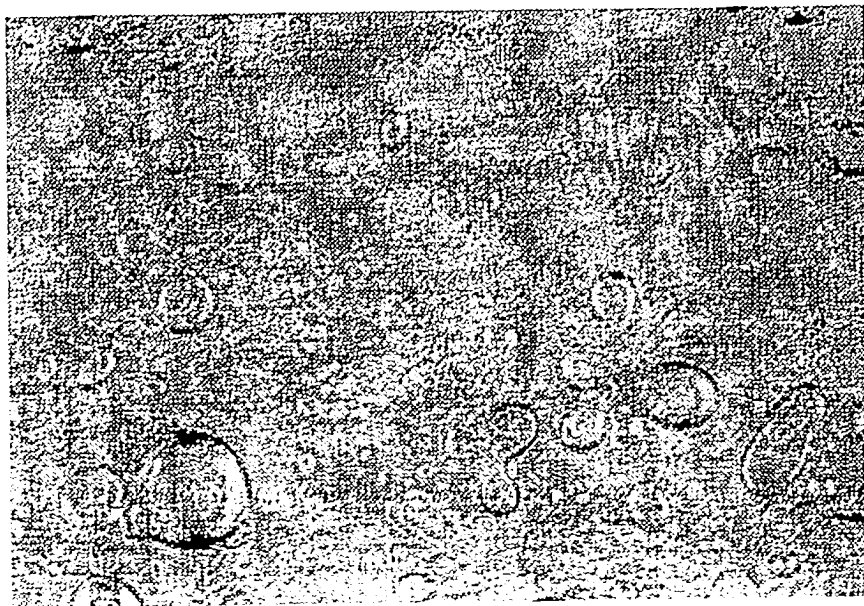


圖 22

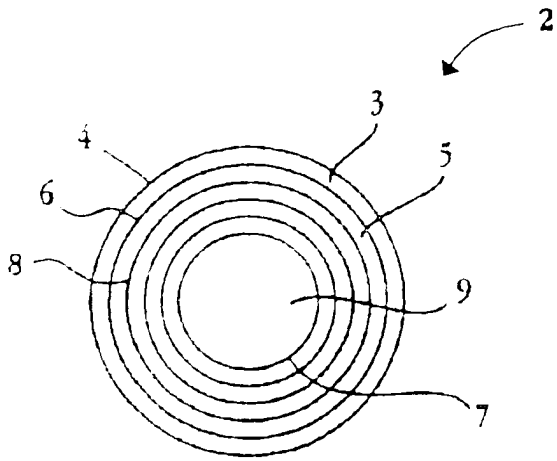


圖 1

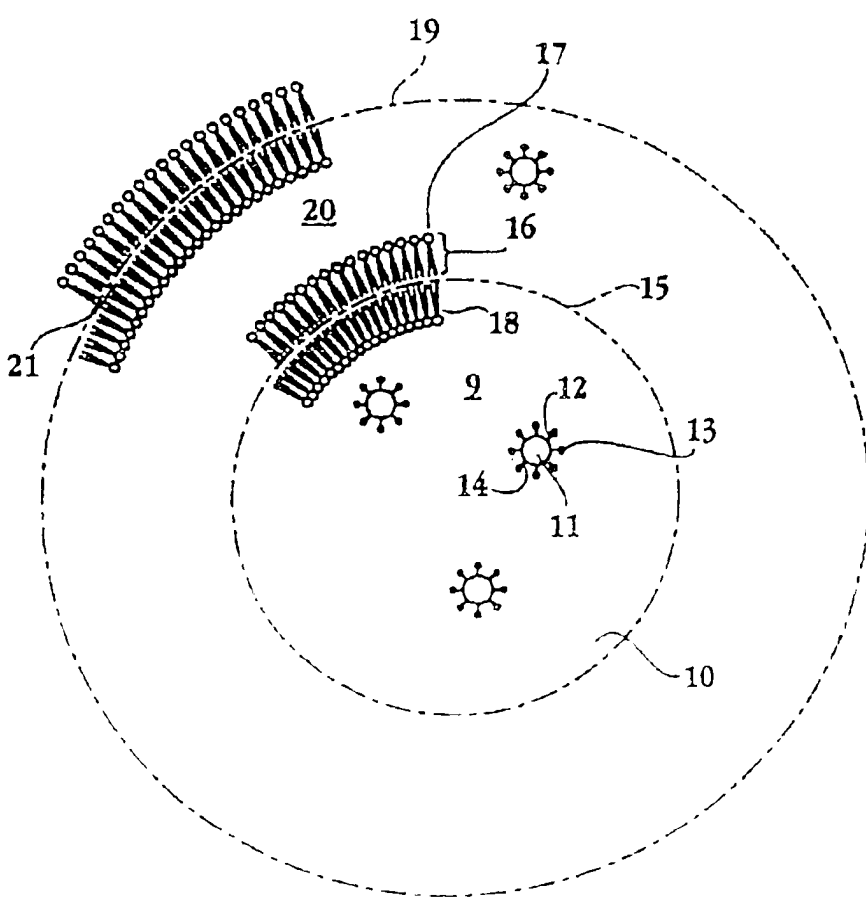


圖 2