

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
A61K 31/44 (2006.01)



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200480025225.7

[43] 公开日 2006 年 10 月 11 日

[11] 公开号 CN 1845736A

[22] 申请日 2004.9.1

[21] 申请号 200480025225.7

[30] 优先权

[32] 2003.9.2 [33] US [31] 60/499,607

[86] 国际申请 PCT/US2004/028407 2004.9.1

[87] 国际公布 WO2005/020995 英 2005.3.10

[85] 进入国家阶段日期 2006.3.2

[71] 申请人 3M 创新有限公司

地址 美国明尼苏达州

[72] 发明人 理查德·L·米勒 大卫·Q·马

[74] 专利代理机构 中原信达知识产权代理有限责任
公司

代理人 郇春艳 郭国清

权利要求书 6 页 说明书 26 页

[54] 发明名称

治疗粘膜相关病症的方法

[57] 摘要

通过间歇地将 IRM 施涂到粘膜表面上，使用 IRMs 的间断传递，能获得治疗水平和持续时间的诱导细胞因子，同时基本上减少发炎的副作用。

1. 一种将免疫反应调节剂 (IRM) 化合物传递到粘膜表面的方法, 从而获得减少发炎的免疫调节, 该方法包括:

5 通过间歇地将 IRM 施涂到粘膜表面上, 并且每次施涂之后, 在其本来将被自然吸收或消除之前的某一时间, 从粘膜表面除去大量 IRM, 来间断传递咪喹莫特以外的 IRM 化合物。

2. 权利要求 1 的方法, 其中用同样的装置来施涂和除去 IRM。

10

3. 权利要求 1 或 2 的方法, 其中所述粘膜表面与选自以下的病症相关: 宫颈异常、子宫颈乳头状瘤病毒感染、低度鳞状上皮内病变、高度鳞状上皮内病变、未明确诊断意义的不典型鳞状细胞、宫颈上皮内瘤变、异常过敏反应、过敏性鼻炎、肿瘤病变和恶性前病变。

15

4. 权利要求 3 的方法, 其中所述粘膜表面在子宫颈上, 相关病症选自宫颈异常、高度鳞状上皮内病变、低度鳞状上皮内病变和存在高危险性 HPV 的未明确诊断意义的不典型鳞状细胞。

20

5. 权利要求 4 的方法, 其中所述粘膜表面在子宫颈上, 相关病症是存在高危险性 HPV 的未明确诊断意义的不典型鳞状细胞。

6. 权利要求 3 的方法, 其中所述粘膜表面在子宫颈上, 相关病症是子宫颈乳头状瘤病毒感染。

25

7. 权利要求 1~6 中任何一项的方法, 其中使用选自以下的装置将 IRM 施涂到粘膜表面上: 棉球、子宫颈帽、隔膜、棉花药签、棉花海绵、泡沫海绵和栓剂。

30

8. 权利要求 1~7 中任何一项的方法, 其中在小于其施涂后的 8

小时，除去大量的 IRM。

9. 权利要求 8 的方法，其中在其施涂后的 6 小时或以下，除去大量的 IRM。

5

10. 权利要求 9 的方法，其中在其施涂后的 4 小时或以下，除去大量的 IRM。

10

11. 权利要求 10 的方法，其中在其施涂后的 2 小时或以下，除去大量的 IRM。

12. 权利要求 11 的方法，其中在其施涂后的 1 小时或以下，除去大量的 IRM。

15

13. 权利要求 1~12 中任何一项的方法，其中所述的 IRM 与粘膜表面接触至少 15 分钟。

14. 权利要求 1~13 中任何一项的方法，其中所述的 IRM 激活选自 TLR6、TLR7、TLR8、TLR9 及其组合的 TLR。

20

15. 权利要求 14 的方法，其中所述的 TLR 是 TLR7。

16. 权利要求 1~15 中任何一项的方法，其中所述的 IRM 是小分子免疫反应调节剂。

25

17. 权利要求 1~15 中任何一项的方法，其中所述的 IRM 选自咪唑啉胺、四羟基咪唑啉胺、咪唑吡啶胺、6,7-稠环烷基咪唑吡啶胺、1,2-桥连的咪唑啉胺、咪唑萘啶胺、咪唑四羟基萘啶胺、噁唑啉胺、噻唑啉胺、噁唑吡啶胺、噻唑吡啶胺、噁唑萘啶胺、噻唑萘啶胺、1H-咪唑二聚物并吡啶胺、啉胺、四羟基啉胺、萘啶胺或四羟基萘啶

30

胺，其药理可接受的盐，及其组合。

18. 权利要求 17 的方法，其中所述的 IRM 选自酰胺取代的咪唑啉胺、磺酰胺取代的咪唑啉胺、脲取代的咪唑啉胺、芳基醚取代的咪唑啉胺、杂环醚取代的咪唑啉胺、酰氨基醚取代的咪唑啉胺、磺酰氨基醚取代的咪唑啉胺、脲取代的咪唑啉醚、硫醚取代的咪唑啉胺、6-、7-、8-或 9-芳基或杂芳基取代的咪唑啉胺、酰胺取代的四羟基咪唑啉胺、磺酰胺取代的四羟基咪唑啉胺、脲取代的四羟基咪唑啉胺、芳基醚取代的四羟基咪唑啉胺、杂环醚取代的四羟基咪唑啉胺、酰氨基醚取代的四羟基咪唑啉胺、磺酰氨基醚取代的四羟基咪唑啉胺、脲取代的四羟基咪唑啉醚、硫醚取代的四羟基咪唑啉胺、酰胺取代的咪唑吡啶胺、磺酰胺取代的咪唑吡啶胺、脲取代的咪唑吡啶胺、芳基醚取代的咪唑吡啶胺、杂环醚取代的咪唑吡啶胺、酰氨基醚取代的咪唑吡啶胺、磺酰氨基醚取代的咪唑吡啶胺、脲取代的咪唑吡啶醚、硫醚取代的咪唑吡啶胺、1,2-桥连的咪唑啉胺、6,7-稠环烷基咪唑吡啶胺、咪唑萘啶胺、四羟基咪唑萘啶胺、噁唑啉胺、噻唑啉胺、噁唑吡啶胺、噻唑吡啶胺、噁唑萘啶胺、噻唑萘啶胺，其药理可接受的盐，及其组合。

19. 权利要求 18 的方法，其中所述的 IRM 选自脲取代的咪唑啉胺、硫醚取代的咪唑啉胺、咪唑萘啶胺，及其药理可接受的盐。

20. 权利要求 19 的方法，其中所述的 IRM 是咪唑萘啶胺或其药理可接受的盐。

21. 权利要求 20 的方法，其中所述的 IRM 是 1-(2-甲基丙基)-1H-咪唑[4,5-c][1,5]萘啶-4-胺或其药理可接受的盐。

22. 权利要求 1~15 中任何一项的方法，其中所述的 IRM 包括 2-氨基吡啶并五元含氮杂环。

23. 权利要求 1~22 中任何一项的方法，其中所述的 IRM 被包含在包括脂肪酸的配方中。

5 24. 权利要求 23 的方法，其中所述的脂肪酸为异硬脂酸。

25. 权利要求 23 或 24 的方法，其中所述配方还包括脂肪酸酯。

26. 权利要求 25 的方法，其中所述的脂肪酸酯为肉豆蔻酸异丙酯。

10

27. 一种用免疫反应调节剂(IRM)化合物治疗粘膜表面相关病症，并减少由 IRM 引起的发炎的方法，包括：

15 通过间歇地将 IRM 施涂到受感染的粘膜表面上足够时间，以获得治疗性免疫调节，并且每次施涂之后，在其本来将被自然吸收或消除之前的某一时间，从粘膜表面除去大量 IRM，来间断传递咪喹莫特以外的 IRM 化合物。

28. 权利要求 27 的方法，其中在其施涂后的 6 小时或以下，除去所述的 IRM。

20

29. 权利要求 28 的方法，其中在其施涂后的 4 小时或以下，除去所述的 IRM。

25 30. 权利要求 29 的方法，其中在其施涂后的 2 小时或以下，除去所述的 IRM。

31. 权利要求 30 的方法，其中在其施涂后的 1 小时或以下，除去所述的 IRM。

30 32. 权利要求 27~31 中任何一项的方法，其中所述的 IRM 与粘膜

表面接触至少 15 分钟。

33. 权利要求 27~32 中任何一项的方法，其中用同样的装置来施涂和除去所述的 IRM。

5

34. 权利要求 27~33 中任何一项的方法，其中将所述的 IRM 预分散在固体基质中，该固体基质与粘膜表面接触时能够释放 IRM。

10

35. 权利要求 34 的方法，其中通过撤去固体基质与粘膜表面的接触来除去所述的 IRM。

36. 权利要求 34 或 35 的方法，其中所述的固体基质选自棉球、海绵和栓剂。

15

37. 权利要求 34~36 中任何一项的方法，其中所述的 IRM 作为溶液、粉末或乳状液被预分散在固体基质中。

20

38. 权利要求 27~37 中任何一项的方法，其中所述的粘膜表面在子宫颈上，被治疗的病症选自宫颈异常、高度鳞状上皮内病变、低度鳞状上皮内病变和存在高危险性 HPV 的未明确诊断意义的不典型鳞状细胞。

25

39. 一种免疫反应调节剂 (IRM) 化合物在制备药物组合物中的用途，该药物组合物传递到粘膜表面上，以获得减少发炎的免疫调节，包括：

通过间歇地将 IRM 施涂到粘膜表面上，并且每次施涂之后，在其本来将被自然吸收或消除之前的某一时间，从粘膜表面除去大量的 IRM，来间断传递咪喹莫特以外的 IRM 化合物。

30

40. 一种免疫反应调节剂 (IRM) 化合物在制备药物组合物的用途，

该药物组合物用于治疗粘膜表面相关病症，并减少由 IRM 引起的发炎，包括：

- 5 通过间歇地将 IRM 施涂到受感染的粘膜表面上足够的时间，以获得治疗性免疫调节，并且每次施涂之后，在其本来将被自然吸收或消除之前的某一时间，从粘膜表面除去大量的 IRM，来间断传递咪喹莫特以外的 IRM 化合物。

治疗粘膜相关病症的方法

5 对相关申请的交叉参考

本申请要求 2003 年 9 月 2 日提交的美国临时专利申请序列号 60/499607 的优先权，其全部内容在此处引入作为参考。

背景

10 近年来，已主要致力于发现新的药物化合物，并且取得了引人注目的成功，这些药物化合物通过刺激免疫系统的某些重要方面，以及通过抑制免疫系统的某些其它方面来发挥作用。这些化合物被称作免疫反应调节剂（IRMs），可能通过已知为 Toll 样蛋白受体的基础免疫系统机理来发挥作用，以诱导选择的细胞因子生物合成。而且，它们
15 可用来处理各种各样的疾病和病症。例如，某些 IRMs 可用来处理病毒性疾病（例如人类乳头状瘤病毒、肝炎、疱疹）、瘤形成（例如基底细胞癌、鳞状上皮细胞癌、光化学角化病）和 TH2-媒介的疾病（例如哮喘、过敏性鼻炎、遗传性过敏症皮炎、多发性硬化），也用作疫苗的佐剂。许多 IRM 化合物是小有有机分子咪唑喹啉胺的衍生物，但是许多
20 其它化合物类型也是已知的，并且更多的化合物还在被发现。其它 IRMs 具有更高的分子量，如低聚核苷酸，包括 CpGs。由于 IRMs 的巨大治疗潜力，尽管已经完成了重要的工作，但仍持续需要研究控制 IRMs 传递和活性的新方法，以扩展它们的用途和治疗益处。

25 发明概述

当在粘膜表面上使用 IRM 化合物时，例如对于有关粘膜病症的治疗，发现了一个问题，即它可导致明显的发炎，或者如果使用低 IRM 浓度来避免发炎，它可能无效。但是，现在已经发现，使用间歇应用 IRMs 的间断传递方案可显著减少发炎，同时还获得治疗免疫反应调节
30 （即，由例如细胞因子的诱导、免疫细胞的刺激、TH2 免疫反应的抑制

等表示的免疫调节)。受限地持续受 IRM 化合物作用似乎快速“跨越启动(jump-start)”免疫反应,使得然后可除去与粘膜表面的接触的大量 IRM 以减少发炎。这也将降低由于吸收过量药物而导致身体组织受到影响的危险。而且,虽然 IRM 咪喹莫特(imiquimod)已被应用,且在例如过夜使用近肛门棉球之前除去,但是没有认识到间歇应用的有益现象。

因此本发明涉及通过使用 IRMs 的间断传递(即间隔传递,如脉冲的或周期性的传递)来减少发炎,以及使用这种传递方法治疗粘膜病症的方法,IRMs 的间断传递是通过间歇地将 IRM 施涂到粘膜表面而实现的。也就是说,该方法涉及以各种间隔施涂 IRM,并在这些间隔之间除去 IRM,从而在施涂之间有间断。施涂之间的时间周期,以及施涂时间本身可以变化。也就是说,在规则的时间段没有必要以规则的间隔传递,尽管这在需要的情况下是可能的。施涂时间和间隔的周期是足够的,从而发生免疫反应的“跨越启动”。

在一个具体的实施方案中,本发明提供将免疫反应调节剂(IRM)化合物传递到粘膜表面的方法,从而获得减少发炎的免疫调节。该方法包括通过间歇地将 IRM 施涂到粘膜表面上,并且每次施涂之后,在其本来将被自然吸收或消除之前的某一时间,从粘膜表面除去大量 IRM,来间断传递咪喹莫特以外的 IRM 化合物。

在另一实施方案中,本发明提供用免疫反应调节剂(IRM)化合物治疗与粘膜表面相关的病症,并减少由 IRM 引起的发炎的方法。该方法包括通过间歇地将 IRM 施涂到受感染的粘膜表面上足够的时间,以获得治疗性免疫调节,并且每次施涂之后,在其本来将被自然吸收或消除之前的某一时间,从粘膜表面除去大量 IRM,来间断传递咪喹莫特以外的 IRM。

当这些术语出现在说明书和权利要求中时,术语“包括”及其变

化没有限制的含义。

如本文中使用的，“一个(a)”、“一个(an)”、“该(the)”、“至少一个”和“一个或多个”是可互换使用的。

5

而且，本文中，由端点描述的数字范围包括含在该范围内的所有数字（例如，1~5 包括 1、1.5、2、2.75、3、3.80、4、5 等）。

10

本发明的以上概述并不意图描述本发明每个公开的实施方案或每个实行方案。参考以下详细描述、实施例和权利要求，本发明的各种其它特征和优点将变得更加清楚。在说明书的多个地方，通过列出实施例来提供指导。在每种情况下，描述的条目仅用作代表性的组，不应该被解释为唯一的条目。

15

本发明示意性实施方案的详述

20

虽然 IRMs 的有益作用是已知的，但是通过将 IRM 化合物局部施涂到粘膜表面用于治疗粘膜相关病症，从而提供治疗益处能力受阻。这是因为随着与 IRM 化合物广泛接触而引起的粘膜表面产生的发炎，并且因为局部施涂的 IRM 化合物发生不期望的系统传递(systemic delivery)。

25

现在已令人惊奇地发现，将 IRM 间歇施涂到粘膜表面上提供了治疗益处，而没有与连续（或广泛）接触 IRM 有关的粘膜组织的发炎。因此，本发明提供使用 IRM 化合物治疗或预防粘膜表面相关病症的新方法。在一些实施方案中，本发明提供对于将 IRM 局部施涂到子宫颈的特别有利的方法，用于治疗子宫颈病症例如宫颈异常，包括与人类乳头状瘤病毒(HPV)有关的发育异常、低度鳞状上皮内病变、高度鳞状上皮内病变、未明确诊断意义的不典型鳞状细胞（通常存在高危

30

险性 HPV) 和宫颈上皮内瘤变(CIN)。

本发明提供减少与用IRM治疗粘膜相关病症中相关的粘膜表面发炎的方法。换句话说，本发明提供将IRM传递到粘膜表面、以获得减少发炎的免疫调节的方法。

5 本发明也提供治疗粘膜相关病症的方法。换句话说，本发明提供用IRM化合物治疗粘膜表面相关病症并减少由IRM引起的发炎的方法。

10 这些方法包括将IRM间歇施涂到粘膜表面上。优选地，每次施涂之后，在比相同量（即被除去的量）的IRM被自然吸收或消除所需时间更短的某一时间，除去大量IRM。优选地，每次间歇施涂之后，在小于将其施涂之后的8小时，除去大量IRM。

15 优选地，用与施涂IRM所用的同样装置来除去大量IRM。也即，不用例如冲洗的方法将其除去。

在某些实施方案中，将IRM预分散在能够释放IRM的固体基质中。可用与施涂IRM所用的相同固体预分散基质来除去IRM。而且，对于这种方法，可在小于将其施涂之后的8小时，除去大量IRM。

20

在某些实施方案中，本发明提供使用间歇施涂IRM来治疗子宫颈的乳头状瘤病毒感染。在某些其它实施方案中，本发明提供在高危险性HPV存在下，治疗未明确诊断意义的不典型鳞状细胞的方法。

25 传递时间：

本发明的方法减少IRM与粘膜表面接触的时间。使粘膜表面与IRM接触的一段时间足以开始诱导细胞因子产生。然后，在指定的传递时间之后，从粘膜表面除去IRM，减少粘膜表面发炎的发生。这样除去IRM也用来除去过量的IRM。令人惊奇的是，使用间歇施涂IRM，
30 通过“跨越启动”细胞因子产生可获得有益的结果，而没有对粘膜组

织产生明显的发炎，而常规的施涂方法会导致这种发炎。

如此处所用的，“指定的传递时间”是从施涂 IRM 到除去大量 IRM 的时间段。如此处所用的，“大量”是指初始施涂 IRM 重量的至少 25 %，通常至少 50 %。将 IRM 施涂到粘膜表面的指定传递时间通常并优选为小于 8 小时的时间段。但是，根据需要的治疗方案，将 IRM 施涂到粘膜表面的指定传递时间可为 6 小时或以下，4 小时或以下，2 小时或以下，或 1 小时或以下。将 IRM 施涂到粘膜表面的指定传递时间甚至可以更短。例如，它可为 60 分钟或以下，30 分钟或以下，或者甚至 20 分钟或以下。通常，指定传递时间为至少 10 分钟，为获得期望的效果，优选至少 15 分钟。

在本发明的方法中，IRM 可一周施涂一次。在本发明的方法中，IRM 也可一周施涂几次。例如，IRM 可一周施涂两次，一周施涂三次，或一周施涂五次。IRM 也可每天施涂。

在本发明的方法中，根据需要的治疗方案，施涂 IRM 可持续至少一周的总时间段，至少两周，至少三周，至少一个月，至少两个月，至少三个月，或更长。

用于给定情况或主体的实际给药（治疗）方案可至少部分取决于本领域已知的许多因素，包括但不限于，IRM 化合物的物理和化学性质、传递物质的性质、IRM 的给药量、主体免疫系统的状态（例如抑制的、受损的、发炎的）、IRM 的给药方法和被 IRM 给药的物类。

本发明的方法可用于任何合适的主体。合适的主体包括但不限于动物，例如但不限于，人类、非人类的灵长类、啮齿动物、狗、猫、马、猪、羊、山羊、母牛或鸟。

本发明的方法适合于各种医学目的，包括治疗的、预防的（例如

作为疫苗佐剂)或诊断的目的。如此处所用的,“治疗”病症或主体包括治疗的、预防的和诊断的治疗。

5 术语“有效量”(例如治疗地或预防地)指的是足以诱导所需要(例如治疗或预防)效果的化合物的量,例如诱导细胞因子、抑制 TH2 免疫反应、抗病毒或抗肿瘤活性、减少或消除肿瘤细胞。在具体情况下治疗有效的 IRM 化合物的量将取决于这些因素,如具体化合物的活性、给药方案、施涂位置、具体配方和被治疗的病症。这样,此处确定具体给药量一般是不现实的;但是,本领域技术人员根据此处提供的指导和本领域中可获得的有关这些化合物的信息,将能够确定合适的
10 的治疗有效量。

粘膜相关病症:

15 本发明的方法可用于将 IRM 化合物施涂到粘膜表面上,以治疗粘膜相关病症。本发明的方法对于粘膜施涂 IRM 足够长的时间以获得期望的治疗效果,且没有相同程度的不期望的发炎是特别有利的,所述发炎可能在使粘膜表面连续(或广泛)暴露于 IRM 之后引发。本发明的方法对于由粘膜施涂 IRM 以获得期望的治疗效果,同时减少不希望的 IRM 系统吸收方面也是有利的。

20

如此处所用的,“粘膜相关病症”指的是发炎的、感染的、肿瘤的病症,或其它涉及粘膜表面的病症,或足够接近将被治疗剂影响的粘膜组织的病症,所述治疗剂被局部施涂到粘膜组织表面上。这种病症的例子包括子宫颈乳头状瘤病毒感染、宫颈异常,包括与人类乳头
25 状瘤病毒(HPV)相关的发育异常、低度鳞状上皮内病变、高度鳞状上皮内病变、未明确诊断意义的不典型鳞状细胞(通常存在高危险性 HPV)和宫颈上皮内瘤变(CIN)、异常过敏反应、过敏性鼻炎、肿瘤病变和恶性前病变。

30

如此处所用的,“粘膜表面”包括粘膜,如口腔的、牙龈的、鼻

5 的、眼的、气管的、支气管的、胃肠的、直肠的、尿道的、输尿管的、阴道的、子宫颈的和子宫粘膜。例如，通过所述方法可治疗口腔病变、阴道病变或肛门病变。也可结合疫苗的粘膜施涂使用所述方法。根据 IRM 的浓度、配方组成和粘膜表面，IRM 的治疗效果可仅扩展至粘膜表面的表面层或表面以下的深层组织。

在一个实施方案中，可将 IRM 施涂到阴道的或阴道上的粘膜表面，用于治疗宫颈异常。在其它实施方案中，可将 IRM 施涂到直肠的粘膜表面，用于治疗例如肛管湿疣。

10

将用本发明方法治疗的宫颈异常优选包括发育异常病症，如低度鳞状上皮内病变、高度鳞状上皮内病变、未明确诊断意义的不典型鳞状细胞（通常存在高危险性 HPV）和宫颈上皮内瘤变（CIN）。

15

尽管妇女广泛地检查以检测细胞变化前兆，但在美国每年诊断出大约 16000 个子宫颈侵入性癌变的新病例。仅在美国由于子宫颈癌也有约 3000 人死亡，这通常仅次于没有及时检测的主要癌症病变。

20

Papanicolaou（宫颈抹片检查）是自从 20 世纪 50 年代以来，已被接受的作为检测子宫颈异常细胞方法的筛选试验，所述异常包括发炎和异常，其包括子宫颈癌。此筛选试验已被广泛应用于工业化国家，已对与子宫颈癌相关的死亡率产生深刻影响。异常宫颈抹片检查促进密切观察疾病进展，其具有治疗干涉破坏或切除癌变或癌变前组织的可能性。这些切除治疗是昂贵的、不舒服的，其相关的失败率在 2%～25 23%，对于更深度的病症报道了更高的失败率。随着激光治疗，目前失败率已被证明为约 10%。

30

子宫颈癌的病源学试剂最初被认为是疱疹病毒。但是，有从这种集中疱疹病毒到人类乳头状瘤病毒（HPV）的逐步转变。近年来改进的试验方法已能够表征 HPV 亚型的全部图谱，这已得出结论，高危险

性 HPV 型（例如，HPV16，18 和频率较低的 31、33、35、45）很可能是宫颈异常和随后癌症的唯一引发因素（即致癌剂）。正常细胞 HPV 转化为异常细胞的机理与 HPV 编码的致癌蛋白（E6 和 E7）相关，该致癌蛋白来自高危险性基因类型，其结合细胞肿瘤抑制基因产物 p53 和 Rb，导致细胞循环控制机制的破坏，其中 p53 和 Rb 起了重要作用。此外，应用这些分子方法已得出对流行病的观察结果，即，HPV 从约 93% 的子宫颈肿瘤被分离，这进一步加强了普遍接受的结论，即，HPV 感染是子宫颈癌最重要的引发剂。

感染 HPV 在性活跃的妇女中是普遍的，但是在大多数被感染的妇女中，它不一定导致异常或癌症。带有持久性病毒 DNA 的感染妇女与能够根除病毒的妇女相比，有约 5 倍持久异常的几率。对 HPV 感染的细胞媒介的免疫响应的重要性由这种观察现象来解释，抗体媒介的免疫反应在消除已建立的感染方面是无效的，其由这样的事实证明，带有侵入性子宫颈癌的病人经常表现出抗病毒 E6 和 E7 蛋白的高抗体水平。这种特殊的抗体响应可能反映了面对增加的肿瘤负担时广泛的抗原作用。与体液免疫反应的明显不合理的效果相反，细胞媒介的免疫反应（Th-1-型反应）好像在控制肿瘤发展方面有效。上皮内的病变衰退伴随着由 CD4⁺T-细胞、CD8⁺T-细胞、自然杀伤细胞（NK）和巨噬细胞组成的细胞渗透。这种发炎渗透通常与肿瘤衰退有关，这与缺乏增长这种发炎反应能力和经受疾病发展的妇女相反。此外，在细胞媒介免疫力方面有缺陷的病人具有增加的子宫颈癌发病率，然而那些在产生抗体方面有缺陷的病人没有显示出同样的敏感性。

合适的免疫反应调节剂：

在本发明的方法中有用的免疫反应调节剂（“IRMs”）包括通过诱导和/或抑制细胞因子生物合成而对免疫系统起作用的化合物。IRMs 具有有力的免疫调节活性，包括但不限于，抗病毒和抗肿瘤活性，也可下调免疫反应的其它方面，例如将免疫反应从 TH-2 免疫反应转移开，这对于治疗各种 TH-2 媒介的疾病是有用的。IRMs 也可用来通过用 B

细胞刺激抗体产生而调节体液的免疫力。而且，已公开了各种 IRMs 用作疫苗佐剂(参见例如，美国专利 6,083,505、6,406,705 和国际公开 WO 02/24225)。

5 尤其是，某些 IRMs 通过诱导细胞因子的产生和分泌，来产生它们的免疫调节活性，所述细胞因子例如 I 型干扰素、TNF- α 、IL-1、IL-6、IL-8、IL-10、IL-12、MIP-1 和/或 MCP-1，IRMs 也可抑制某些 Th2 细胞因子的产生和分泌，如 IL-4 和 IL-5。据说一些 IRMs 抑制 IL-1 和 TNF (参见例如国际专利公开 WO 00/09506)。优选的 IRMs 是所谓的小分子 IRMs，其是相对小的有机化合物(例如分子量在约 1000 道尔顿以下，优选在约 500 道尔顿以下，与大的生物蛋白、肽等相反)。

10

虽然不希望被任何单个活性理论限制，一些 IRMs 公知为至少一种 Toll 样蛋白受体 (TLR) 的激动剂。为选自 6、7、8 和 9 的 TLR 激动剂的 IRMs 对某些应用特别有用。一些小分子 IRMs 是 TLR 如 6、7 和 8 的激动剂，而低聚核苷酸 IRM 化合物是 TLR9 的激动剂，也可能是其它的激动剂。这样，在一些实施方案中，被施涂到粘膜表面的 IRM 可为确定为一种或多种 TLRs 激动剂的化合物。优选地，IRM 激动 TLR7。

15

20 优选的 IRM 化合物包括 2-氨基吡啶并五元含氮杂环。小分子 IRM 化合物类型的例子包括但不限于，咪唑喹啉胺类，包括但不限于取代的咪唑喹啉胺，例如酰胺取代的咪唑喹啉胺、磺酰胺取代的咪唑喹啉胺、脲取代的咪唑喹啉胺、芳基醚取代的咪唑喹啉胺、杂环醚取代的咪唑喹啉胺、酰氨基醚取代的咪唑喹啉胺、磺酰氨基醚取代的咪唑喹啉胺、脲取代的咪唑喹啉醚、硫醚取代的咪唑喹啉胺和 6-、7-、8-或 9-芳基或杂芳基取代的咪唑喹啉胺；四羟基咪唑喹啉胺，包括但不限于，酰胺取代的四羟基咪唑喹啉胺、磺酰胺取代的四羟基咪唑喹啉胺、脲取代的四羟基咪唑喹啉胺、芳基醚取代的四羟基咪唑喹啉胺、杂环醚取代的四羟基咪唑喹啉胺、酰氨基醚取代的四羟基咪唑喹啉胺、磺酰

25

30

氨基醚取代的四羟基咪唑啉胺、脲取代的四羟基咪唑啉醚和硫醚取代的四羟基咪唑啉胺；咪唑吡啶胺，包括但不限于，酰胺取代的咪唑吡啶胺、磺酰胺取代的咪唑吡啶胺、脲取代的咪唑吡啶胺、芳基醚取代的咪唑吡啶胺、杂环醚取代的咪唑吡啶胺、酰氨基醚取代的咪唑吡啶胺、磺酰氨基醚取代的咪唑吡啶胺、脲取代的咪唑吡啶醚和硫醚取代的咪唑吡啶胺；1,2-桥连的咪唑啉胺；6,7-稠环烷基咪唑吡啶胺；咪唑萘啶胺；咪唑四羟基萘啶胺；噁唑啉胺；噻唑啉胺；噁唑吡啶胺；噻唑吡啶胺；噁唑萘啶胺；噻唑萘啶胺；和1H-咪唑二聚物并吡啶胺、啉胺、四羟基啉胺、萘啶胺或四羟基萘啶胺，如在例如美国专利 4,689,338、4,929,624、4,988,815、5,037,986、5,175,296、5,238,944、5,266,575、5,268,376、5,346,905、5,352,784、5,367,076、5,389,640、5,395,937、5,446,153、5,482,936、5,693,811、5,741,908、5,756,747、5,939,090、6,039,969、6,083,505、6,110,929、6,194,425、6,245,776、6,331,539、6,376,669、6,451,810、6,525,064、6,545,016、6,545,017、6,558,951、6,573,273、6,656,938、6,660,735、6,660,747、6,664,260、6,664,264、6,664,265、6,667,312、6,670,372、6,677,347、6,677,348、6,667,349、6,683,088、6,756,382；欧洲专利 0 394 026；美国专利公开 2002/0016332、2002/0055517、2002/0110840、2003/0133913、2003/0199538 和 2004/0014779；以及国际专利公开 WO 04/058759 中公开的那些化合物。

据说诱导干扰素（在其它事物中）的小分子 IRMs 另外的例子包括，嘌呤衍生物（如美国专利 6,376,501 和 6,028,076 中描述的那些）、咪唑啉酰胺衍生物（如美国专利 6,069,149 中描述的那些）、1H-咪唑吡啶衍生物（如日本专利申请 9-255926 中描述的那些）和苯并咪唑衍生物（如美国专利 6,387,938 中描述的那些）。据说 1H-咪唑吡啶衍生物（如美国专利 6,518,265 和欧洲专利申请 EP1 256 582 中描述的那些）抑制 TNF 和 IL-1 细胞因子。

包括 4-氨基吡啶并五元含氮杂环小分子的 IRM 的例子包括腺嘌呤

衍生物（如美国专利 6,376,501、6,028,076 和 6,329,381，以及国际专利公开 WO 02/08595 中描述的那些）。

5 在某些实施方案中，本发明的方法不使用咪唑莫特。在某些实施方案中，本发明的方法不使用咪唑莫特或 resiquimod（一种咪唑莫特的衍生物）。

10 在某些实施方案中，免疫反应调节剂选自咪唑喹啉胺、四羟基咪唑喹啉胺、咪唑吡啶胺、6,7-稠环烷基咪唑吡啶胺、1,2-桥连的咪唑喹啉胺、咪唑萘啶胺、咪唑四羟基萘啶胺、噁唑喹啉胺、噻唑喹啉胺、噁唑吡啶胺、噻唑吡啶胺、噁唑萘啶胺、噻唑萘啶胺、1H-咪唑二聚物并吡啶胺、喹啉胺、四羟基喹啉胺、萘啶胺或四羟基萘啶胺，及其组合。

15 在某些实施方案中，本发明方法的 IRM 选自酰胺取代的咪唑喹啉胺、磺酰胺取代的咪唑喹啉胺、脲取代的咪唑喹啉胺、芳基醚取代的咪唑喹啉胺、杂环醚取代的咪唑喹啉胺、酰氨基醚取代的咪唑喹啉胺、磺酰氨基醚取代的咪唑喹啉胺、脲取代的咪唑喹啉醚、硫醚取代的咪唑喹啉胺、6-、7-、8-或 9-芳基或杂芳基取代的咪唑喹啉胺、酰胺取代的四羟基咪唑喹啉胺、磺酰胺取代的四羟基咪唑喹啉胺、脲取代的四羟基咪唑喹啉胺、芳基醚取代的四羟基咪唑喹啉胺、杂环醚取代的四羟基咪唑喹啉胺、酰氨基醚取代的四羟基咪唑喹啉胺、磺酰氨基醚取代的四羟基咪唑喹啉胺、脲取代的四羟基咪唑喹啉醚、硫醚取代的四羟基咪唑喹啉胺、酰胺取代的咪唑吡啶胺、磺酰胺取代的咪唑吡啶胺、脲取代的咪唑吡啶胺、芳基醚取代的咪唑吡啶胺、杂环醚取代的咪唑吡啶胺、酰氨基醚取代的咪唑吡啶胺、磺酰氨基醚取代的咪唑吡啶胺、脲取代的咪唑吡啶醚、硫醚取代的咪唑吡啶胺、1,2-桥连的咪唑喹啉胺、6,7-稠环烷基咪唑吡啶胺、咪唑萘啶胺、四羟基咪唑萘啶胺、噁唑喹啉胺、噻唑喹啉胺、噁唑吡啶胺、噻唑吡啶胺、噁唑萘啶胺、噻唑萘啶胺，其药理可接受的盐，及其组合。

30

在某些其它实施方案中，IRM 选自脲取代的咪唑啉胺、硫醚取代的咪唑啉胺、咪唑萘啉胺，及其药理可接受的盐。优选地，IRM 为咪唑萘啉胺或其药理可接受的盐，更优选地，IRM 为 1-(2-甲基丙基)-1H-咪唑[4,5-c][1,5]萘啉-4-胺或其药理可接受的盐。

5

其它 IRMs 包括大的生物分子如低聚核苷酸序列。一些 IRM 低聚核苷酸序列包括胞核嘧啶-鸟嘌呤二核苷酸 (CpG)，在例如美国专利 6,199,388、6,207,646、6,239,116、6,339,068 和 6,406,705 中进行了描述。一些含 CpG 的低聚核苷酸可包括合成的免疫调节结构模体，如在例如美国专利 6,426,334 和 6,476,000 中描述的那些。其它 IRM 核苷酸序列不含 CpG，在例如国际专利公开 WO 00/75304 中进行了描述。

10

IRMs 如咪喹莫特，一种小分子，咪唑啉 IRM，以 ALDARA (3M Pharmaceuticals, St Paul, MN) 销售，已显示出用于治疗疣，以及某些癌或癌前性病变 (参见，例如，Geisse 等, J. Am. Acad. Dermatol., 47(3): 390-398(2002); Shumack 等, Arch. Dermatol., 138:1163-1171(2002))。

15

IRM 可用作治疗剂的其他疾病包括但不限于：

病毒性疾病，如生殖器疣、普通疣、脚底疣、肝炎 B、肝炎 C、I 型和 II 型单纯疱疹病毒、传染性软疣、天花、HIV、CMV、VZV、鼻病毒、腺病毒、冠状病毒、流行性感、变异流行性感；

20

细菌性疾病，如肺结核和鸟型分枝杆菌、麻风病；

其它传染性疾病，如真菌病、衣原体、假丝酵母、曲霉菌、隐球菌脑膜炎、间质性浆细胞、cryptosporidiosis、组织胞浆菌病、弓形体病、锥体虫传染、利什曼病；

25

肿瘤，如上皮内瘤形成、宫颈异常、光化学角化症、基底细胞癌、鳞状上皮细胞癌、毛发细胞白血病、Kaposi 恶性毒瘤、黑素瘤、肾细胞癌、骨髓性白血病、多骨髓瘤、非 Hodgkin 淋巴瘤、皮肤 T 细胞淋巴瘤、和其它癌症；

30

TH-2 媒介的遗传性过敏症和自免疫疾病，如遗传性过敏症的皮炎

或湿疹、嗜酸粒细胞增多症、哮喘、敏感症、过敏性鼻炎、系统性红斑狼疮、原发性血小板减少症、多硬化症、Ommen 综合病症、盘状狼疮、斑秃症、抑制瘢痕疙瘩形成及其它类型的疤痕，和提高伤口愈合，包括慢性创伤；和

5 作为疫苗佐剂，与任何提高体液和/或细胞媒介的免疫反应的物质结合使用，这种活的病毒和细菌免疫原和不活泼的病毒、源自瘤的、原生物的、源自生物体的、真菌的、和细菌的免疫原、类毒素、毒素、多糖、蛋白质、糖蛋白类、肽、细胞疫苗、DNA 疫苗、重组细胞蛋白、糖蛋白类和肽等，用于以下疾病，例如 BCG、霍乱、瘟疫、伤寒、肝炎 A、B 和 C，流行性感 A 和 B、变异流感病毒、脑灰质炎、狂犬病、麻疹、腮腺炎、风疹、黄热病、破伤风、白喉、嗜血菌流行性感
10 冒 b、肺结核、流行性脊髓膜炎和肺炎球菌疫苗、腺病毒、HIV、水痘、细胞巨化病毒、登革热、猫白血、禽类瘟疫、HSV-1 和 HSV-2、猪瘟疫、日本脑炎、呼吸性多核体病毒、轮状病毒、乳突淋巴瘤病毒和黄热病。

15

IRMs 在具有受损免疫功能的个体中也是特别有帮助的，如那些带有 HIV AIDS 的患者、移植患者和癌症患者。

IRM 配方：

20

在本发明的方法中，可提供 IRM 作为适合于传递至粘膜表面的配方。合适的配方可包括但不限于乳霜、凝胶、泡沫、药膏、洗液、溶液、悬浮液、分散液、乳状液、微乳液、糊、粉末、油、擦剂或喷雾。

25

IRM 的量或浓度优选为基于配方总重量的至少 0.001 重量%。IRM 的量或浓度优选不大于基于配方总重量的 10 重量%。在某些实施方案中，IRM 的量为至少 0.003 重量%，例如至少 0.005%，至少 0.01%，至少 0.03%，至少 0.10%，至少 0.30%和至少 1.0%。在其它实施方案中，IRM 的量为至多 5.0 重量%，例如至多 3.0%，和至多 1.0%。某些示例性范围包括，例如 0.01 重量%~5.0%重量，或 0.03~1.0 重量%。

30

一种或多种 IRM 可存在于配方中，作为单独的治疗活性成分或与其它治疗剂结合。这种其它治疗剂可包括，例如抗生素如青霉素或四环素，皮质类固醇如氢化可的松或倍他米松，非甾醇类抗炎药，如 fluripufen、布洛芬或萘普生，或抗病毒素如 acyclovir 或 valcyclovir。

5

如果需要的话，可用于本发明方法的 IRM 配方可包括脂肪酸。如此处所用的，术语“脂肪酸”是指饱和/或不饱和的羧酸，包括 6~28 个碳原子，例如 10~22 个碳原子。这种脂肪酸的非限制性例子包括异硬脂酸、油酸和 6~18 个碳原子的直链或支链羧酸。脂肪酸可以足够的量存在于配方中以使 IRM 化合物溶解。在一个实施方案中，脂肪酸的量可为基于配方总重量的 1~99 重量%，例如 30%~70%，40%~60% 和 45%~55%。在某些实施方案中，脂肪酸的量为至少 10 重量%，例如至少 20%，至少 30% 和至少 40%。在某些实施方案中，脂肪酸的量为至多 70 重量%，例如至多 60%，和至多 55%。配方的脂肪酸组分可包括一种或多种脂肪酸。

15

如果需要的话，IRM 配方还可包括至少一种缓和剂。有用的缓和剂的例子包括但不限于，脂肪酸酯，例如肉豆蔻酸异丙酯、棕榈酸异丙酯、二亚油酸二异丙酯二聚体；三甘油酯，例如辛酸/羊蜡酸三甘油酯；十六烷基酯蜡；8 或更多碳原子的烃，例如轻矿物油、白矿脂；蜡，例如蜂蜡；和长链醇，例如十六醇和硬脂醇。在一些实施方案中，缓和剂选自肉豆蔻酸异丙酯、棕榈酸异丙酯、辛酸/羊蜡酸三甘油酯和二亚油酸二异丙酯二聚体的一种或多种。在其它实施方案中，缓和剂是肉豆蔻酸异丙酯。在一个实施方案中，缓和剂的量可为基于配方总重量的 1~99 重量%，例如 30%~70%，40%~60% 和 45%~55%。在某些实施方案中，缓和剂的量为至少 10 重量%，例如至少 20%，至少 30%，至少 40% 和至少 45%。在某些实施方案中，缓和剂的量为至多 70 重量%，例如至多 60% 和至多 55%。

20

25

某些优选的配方包括脂肪酸和脂肪酸酯二者。例如，可一起使用

30

异硬脂酸和肉豆蔻酸异丙酯。特别优选的配方包括 1:1 重量比的异硬脂酸和肉豆蔻酸异丙酯。

5 如果需要的话，IRM 配方也可包括粘度增强剂。合适的亲水粘度增强剂的例子包括纤维素醚，如羟丙基甲基纤维素、羟乙基纤维素、羟丙基纤维素和羧甲基纤维素；多糖胶如黄原胶；与烯丙基蔗糖或烯丙基季戊四醇交联丙烯酸均聚物和共聚物，如美国药典(United States Pharmacopoeia)中命名为卡波姆(carbomers)的那些聚合物。

10 如果需要的话，IRM 配方还可包括乳化剂。合适的乳化剂包括非离子表面活性剂，例如聚山梨醇酯 60、山梨糖醇单硬脂酸酯、多甘油-4 油酸酯、聚环氧乙烷(4)月桂醇醚等。在某些实施方案中，乳化剂选自泊洛沙姆(例如 POLOXAMER 188，聚(乙二醇)-嵌段-聚(丙二醇)-嵌段-聚(乙二醇)，可从 BASF, Ludwigshafen, Germany 获得)和山梨糖醇三油酸酯(例如 SPAN 85，可从 Uniqema, New Castle, DE 获得)。

15

在某些实施方案中，IRM 配方也可包括至少一种螯合剂。螯合剂用来螯合配方中可能存在于的金属离子。合适的螯合剂包括乙二胺四乙酸(EDTA)的盐，如二钠盐。

20 在某些实施方案中，IRM 配方也可包括一种或多种防腐剂。合适的防腐剂的例子包括对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸乙酯、对羟基苯甲酸丙酯、苯氧基乙醇、丁基氨基甲酸碘丙炔酯、山梨酸、甘油的脂肪酸单酯如单月桂酸甘油酯和丙二醇的脂肪酸单酯，如单辛酸丙二醇酯。

25

如果需要的话，IRM 配方还可包括至少一种 pH 调节剂。合适的 pH 调节剂可包括有机碱和无机碱，例如 KOH 和 NaOH。

30 合适的传递装置：

可使用传递装置将 IRM 施涂到粘膜表面上。合适的装置包括子宫颈帽、隔膜和固体基质如棉球、棉花海绵、棉花药签、泡沫海绵和栓剂。可通过撤去装置与粘膜表面的接触来除去 IRM。

5 在一些实施方案中，装置可与 IRM 配方结合使用。在一个实施方案中，可将包含 IRM 的乳膏或凝胶置于子宫颈帽的凹入区域中，然后将其直接放在子宫颈上。在另一实施方案中，棉花或泡沫海绵可与包含 IRM 的溶液结合使用。

10 在一些实施方案中，可将 IRM 或 IRM 配方预分散在基质中。在一个实施方案中，可在将海绵放置与粘膜表面接触之前，用包含 IRM 的溶液浸渍棉花或泡沫海绵。此处，“预分散”是指 IRM 基本上均匀地分散或分布在整个固体基质中，与仅仅被施涂到固体基质表面上相反。IRM 可作为溶液、粉末或乳状液被预分散在固体基质中。

15 在一些实施方案中，IRM 可包括在 IRM 配方中，IRM 配方包括脂肪酸，脂肪酸包括异硬脂酸。在优选的实施方案中，IRM 可被包括在 IRM 配方中，该 IRM 配方包括脂肪酸例如异硬脂酸，和缓和剂例如肉豆蔻酸异丙酯。

20 在一些实施方案中，涂药器可用来将装置和/或 IRM 放置在粘膜表面上的合适位置。这种涂药器的例子包括，例如通常用于插入棉球或栓剂的纸板或塑料管涂药器。

25 实施例

已选择以下实施例仅仅来进一步解释本发明的特征、优点和其它细节。但是应该清楚地理解，当实施例用于此目的时，具体的物质和使用量以及其它条件和细节不应该以将不适当地限制本发明范围的方式来解释。

30

在以下实施例中，使用以下一般测试方法获得血清和阴道内的细胞因子数据。

5 在实际给药之前的连续两天内，使老鼠适应脖子周围的颈圈（Lomir Biomedical, Malone, NY）。给老鼠戴颈圈以防止装置的移动和药物的摄取。然后用可移除装置或用 50 μ L 乳膏对动物进行阴道内给药。单个给药的老鼠接受一次阴道内给药，给药之后在不同的时间收集样品。通过胸腔穿刺收集血液。使血液在室温下简单凝结，通过离心过滤从凝块分离血清。在-20 $^{\circ}$ C 储存血清，直到分析它的细胞因子浓度。

10 在收集血液之后，使老鼠安乐死，然后切除它们的阴道包括子宫颈，并将组织称重，置于密封的 1.8 mL 冷冻管中，在液氮中闪冻。然后使冻结的阴道组织样品悬浮在 1.0 mL RPMI 介质（Celox, St. Paul, MN）中，其包含 10% 胎牛血清（Atlas, Fort Collins, CO）、2 mM L-谷氨酸盐、青霉素/链霉素和 2-巯基乙醇（RPMI 完全），并结合蛋白酶抑制剂混合物系列 III（protease inhibitor cocktail set III）（Calbiochem, San Diego, CA）。使用组织粉碎器（Tissue Tearor）（Biospec Products, Bartlesville, OK）使该组织匀化约 1 分钟。然后在制冷下，2000 rpm 下离心分离该组织悬浮液 10 分钟，以使碎片成小球，收集上层清夜，在-20 $^{\circ}$ C 储存直到分析细胞因子浓度。

25 从 BD PharMingen（San Diego, CA）购买用于老鼠 TNF 的 ELISA 试剂盒，从 BioSource Intl.（Camarillo, CA）购买的老鼠 MCP-1 ELISA 试剂盒。两个试剂盒都根据厂家的说明书使用。TNF 和 MCP-1 的结果都以 pg/mL 表示，以每 200 mg 组织进行标称。基于用于建立标准曲线的最低值，TNF ELISA 的敏感性为 63 pg/mL，对于 MCP-1 ELISA 敏感性为 12 pg/mL。“剂量给药后”指的是开始治疗之后。例如，如果在 0 小时插入装置，在 2 小时移除，并在 4 小时分析细胞因子，那么细胞因子的分析为剂量给药 4 小时后。

在下表中确定实施例中使用的 IRM 化合物。

IRM	化学名称	参考文献
IRM 1	2-丙基[1,3]噻唑[4,5-c]喹啉-4-胺	U.S. 6,110,929 实施例 12
IRM 2	4-氨基- $\alpha,\alpha,2$ -三甲基-1H-咪唑[4,5-c]喹啉-1-乙醇	U.S. 5,266,575 实施例 C1
IRM 3	1-(2-甲基丙基)-1H-咪唑[4,5-c][1,5]萘啶-4-胺	U.S. 6,194,425 实施例 32
IRM 4	N-{4-[4-氨基-2-(2-甲氧基乙基)-1H-咪唑[4,5-c]喹啉-1-基]丁基}甲磺酰胺	U.S. 6,331,539 实施例 111
IRM 5	N-[3-(4-氨基-2-丁基-1H-咪唑[4,5-c]喹啉-1-基)丙基-N'-丁基脲	U.S. 6,573,273 实施例 150
IRM 6	2-丁基-1-{2-[(1-甲基乙基)磺酰基]乙基}-1H-咪唑[4,5-c]喹啉-4-胺	U.S. 6,667,312 实施例 56
IRM 7	N-{2-[4-氨基-2-(乙氧基甲基)-1H-咪唑[4,5-c]喹啉-1-基]乙基}-N'-异丙基脲	U.S. 6,541,485 [#]
IRM 8	N-(2-{2-[4-氨基-2-(乙氧基甲基)-1H-咪唑[4,5-c]喹啉-1-基]乙氧基}乙基)-N'-苯基脲	U.S. 6,660,735 实施例 53
IRM 9	1-[2-(吡啶-4-基甲氧基)乙基]-1H-咪唑[4,5-c]喹啉-4-胺	U.S. 6,664,260 实施例 15
IRM 10	2-丁基-1-[3-(甲基磺酰基)丙基]-1H-咪唑[4,5-c]喹啉-4-胺	U.S. 6,664,264 实施例 19

[#]这一化合物没有具体示例，但是使用所引用参考文献中公开的合成方法可以容易地制备。

5

在几个实施例中使用乳膏配方。乳膏的组成在下表中示出，其中量为%w/w。使用 WO 03/045391 中描述的方法制备配方。

组分	1% IRM 2 乳膏	5% IRM 3 乳膏
IRM	1.00	5.0
异硬脂酸	6.05	50.0
肉豆蔻酸异丙酯	8.95	-
¹ CARBOPOL 974P	1.00	1.0
水	64.55	30.6
二钠 EDTA	0.05	0.05
泊洛沙姆 188	2.5	2.5
丙二醇	15	10.0
对羟基苯甲酸甲酯	0.2	0.2
20%氢氧化钠溶液	0.7	0.7

¹ 从 Noveon, Cleveland, Ohio 获得

实施例 1

这样制备装置：使约 0.02 g 棉花（以 ITEM 666504 WGPS 130WCU-1 从 Walgreen Co., Deerfield, IL 获得的消过毒的棉花球）形成
为圆柱形状，然后环绕一端部系上线。制备在异硬脂酸中包含 1.0 重
量%IRM 1 的溶液。用 IRM 1 溶液或异硬脂酸（载体）使装置饱和。在
治疗期间的最后阶段，通过牵拉线的接合位置移除装置。用包含 IRM 1
溶液的装置对每组 3 只老鼠的两组进行阴道内剂量给药。在一组中，
两小时后移除装置；在第二组中，4 小时后移除装置。用包含异硬脂酸
的装置对第三组进行剂量给药。在剂量给药 4 小时后，对所有三组测
定阴道组织和血清的 TNF 和 MCP-1 水平。结果如下表所示，其中每个
值是组中 3 只老鼠的平均值。

治疗	剂量给药 4 小时后的细胞因子浓度			
	TNF (pg/mL)		MCP-1 (pg/mL)	
	血清	组织	血清	组织
载体/装置	0	33	124	408
IRM 1/装置 2 小时	0	328	122	961
IRM 1/装置 4 小时	15	452	93	894

实施例 2

如实施例 1 中所述制备装置，用异硬脂酸中含 1.0 重量%IRM 1

的溶液，或者用异硬脂酸中包含 0.1 重量%IRM 1 的溶液使装置饱和。对老鼠进行阴道内剂量给药；两小时后移除装置。在剂量给药 2、4 和 6 小时后分析细胞因子。一组没有接受任何治疗的老鼠用作对比实验。结果如下表所示，其中每个值是 3 只老鼠的平均值。

5

剂量给药 后时间(小 时)	治疗 IRM 1 装置	细胞因子浓度			
		TNF (pg/mL)		MCP-1 (pg/mL)	
		血清	组织	血清	组织
2 小时	0.1%	0	58	146	69
2 小时	1.0%	0	461	120	247
4 小时	0.1%	0	136	155	252
4 小时	1.0%	1	1427	123	649
6 小时	0.1%	0	215	128	137
6 小时	1.0%	3	161	279	484
2 小时	对比实验	0	76	113	108

实施例 3

如实施例 1 中所述制备装置，用异硬脂酸 (ISA) 中含 1.0 重量 %IRM 1 的溶液，或者用 50/50 w/w 异硬脂酸 (ISA) /肉豆蔻酸异丙酯 (IPM) 中含 1.0 重量%IRM 1 的溶液使装置饱和。对老鼠进行阴道内剂量给药；两小时后移除装置。在剂量给药 4 小时后分析细胞因子。结果如下表所示，其中每个值是 3 只老鼠的平均值。

10

治疗 IRM 1/装置	剂量给药 4 小时后的细胞因子浓度			
	TNF (pg/mL)		MCP-1 (pg/mL)	
	血清	组织	血清	组织
ISA 溶液	7	571	101	583
ISA/IPM 溶液	0	263	113	686

15

实施例 4

5 如实施例 1 中所述制备装置，用 50/50 w/w 异硬脂酸 (ISA) /肉豆蔻酸异丙酯(IPM)中含 1.0 重量%IRM 2 的溶液,或者用 50/50 w/w ISA/ IPM（载体）使装置饱和。对老鼠进行阴道内剂量给药；15 分钟、30 分钟、60 分钟或 120 分钟后移除装置。用 1%IRM 2 乳膏对一组老鼠进行剂量给药。没有除去乳膏配方。在剂量给药 4 小时后分析细胞因子。结果如下表所示，其中每个值是 5 只老鼠的平均值。

治疗	剂量给药 4 小时后的细胞因子浓度			
	TNF (pg/mL)		MCP-1 (pg/mL)	
	血清	组织	血清	组织
IRM 2/装置 15 分钟	0	493	68	433
IRM 2/装置 30 分钟	0	390	83	454
IRM 2/装置 60 分钟	0	537	118	889
IRM 2/装置 120 分钟	0	716	92	2462
载体/装置 120 分钟	0	443	73	63
1% IRM 2 乳膏	92	1691	94	2175

实施例 5

10 由如实施例 1 中所述的棉花，或者由聚氨酯泡沫（Medisorb 100-1.25: 1%浓度、1.25/1 比例的聚山梨醇酯 60，来自 Lendell Manufacturing, Inc, St. Charles, MI）制备装置。用以下溶液的一种使装置饱和：50/50 ISA/ IPM 中的 0.1 % IRM 3；50/50 ISA/ IPM 中的 1.0 % IRM 3；50/50 ISA/ IPM 中的 3.0 % IRM 3，或者用 50/50 ISA/ IPM（载体）
15 对老鼠进行阴道内剂量给药；两小时后移除装置。一组没有接受任何治疗的老鼠用作对比实验。在剂量给药 4 小时后分析细胞因子。结果如下表所示，其中每个值是 3 只老鼠的平均值。

治疗	剂量给药 4 小时后的细胞因子浓度			
	TNF (pg/mL)		MCP-1 (pg/mL)	
	血清	组织	血清	组织
0.1%IRM 3/棉花	0	108	72	179
0.1%IRM 3/泡沫	0	85	77	143
1.0%IRM 3/棉花	0	173	111	468
1.0%IRM 3/泡沫	0	148	86	279
3.0%IRM 3/棉花	0	175	79	402
3.0%IRM 3/泡沫	0	302	105	351
载体/棉花	0	97	49	101
载体/泡沫	0	57	98	94
对比实验	0	139	81	27

实施例 6

5 由棉花球（棉花球，未消毒的，100%棉花，尺寸#3，5/32 英寸（0.4 cm）；从 Richmond Dental, Barnhardt Manufacturing 的分部，Charlotte, NC 获得）制备装置。用以下溶液的一种使装置饱和：50/50 ISA/ IPM 中的 1.0 % IRM 2；50/50 ISA/ IPM 中的 1.0 % IRM 4；50/50 ISA/ IPM 中的 1.0 % IRM 5；50/50 ISA/ IPM 中的 1.0 % IRM 6；50/50 ISA/ IPM 中的 1.0 % IRM 7；50/50 ISA/ IPM 中的 1.0 % IRM 8；或者用

10 50/50 ISA/ IPM（载体）。对老鼠进行阴道内剂量给药；两小时后移除装置。用 1% IRM 2 乳膏对一组老鼠进行剂量给药。在剂量给药 4 小时后分析细胞因子。结果如下表所示，其中每个值是 3 只老鼠的平均值。

治疗	剂量给药 4 小时后的细胞因子浓度			
	TNF (pg/mL)		MCP-1 (pg/mL)	
	血清	组织	血清	组织
1%IRM 2/装置	4	384	114	1016
1%IRM 4/装置	0	109	105	713
1%IRM 5/装置	1	358	108	958
1%IRM 6/装置	1	491	114	1840
1%IRM 7/装置	0	219	93	642
1%IRM 8/装置	0	294	82	331
载体/装置	1	143	79	272
1% IRM 2 乳膏	176	725	365	1570

实施例 7

由如实施例 6 中所述的棉花球制备装置。用以下溶液的一种使装置饱和：50/50 ISA/ IPM 中的 5.0 % IRM 3；50/50 ISA/ IPM 中的 5.0 % IRM 7；50/50 ISA/ IPM 中的 5.0 % IRM 9；50/50 ISA/ IPM 中的 5.0 % IRM 10；或者用 50/50 ISA/ IPM（载体）。对老鼠进行阴道内剂量给药；两小时后移除装置。在剂量给药 2、4 和 6 小时后分析细胞因子。结果如下表所示，其中每个值是 6 只老鼠的平均值。

剂量给药后时间（小时）	配方	细胞因子浓度			
		TNF（pg/mL）		MCP-1（pg/mL）	
		血清	组织	血清	组织
2 小时	5%IRM 3	4	809	95	815
2 小时	5%IRM 7	1	512	92	498
2 小时	5%IRM 9	30	597	85	328
2 小时	5%IRM 10	16	1110	111	739
4 小时	5%IRM 3	3	608	114	1260
4 小时	5%IRM 7	0	460	112	851
4 小时	5%IRM 9	4	697	131	1556
4 小时	5%IRM 10	25	887	160	1440
6 小时	5%IRM 3	5	114	171	840
6 小时	5%IRM 7	2	267	140	670
6 小时	5%IRM 9	8	248	180	850
6 小时	5%IRM 10	10	519	155	975
4 小时	载体	4	48	115	130

实施例 8

如实施例 1 中所述制备棉花装置。用 50/50 w/w 异硬脂酸/肉豆蔻酸异丙酯中含 1 重量%IRM 2 的溶液，或者用 50/50 w/w 异硬脂酸/肉豆蔻酸异丙酯（载体）使装置饱和。用 1%IRM 2 装置、载体装置或用 1

5 %IRM 2 乳膏,一周两次对三组老鼠进行阴道内剂量给药,连续 3 周(周二、周五、周一、周四、周一、周四)。两小时后移除装置。使乳膏留在原处。最后一次剂量给药 4 小时后分析细胞因子。用 1%IRM 2 装置、载体装置或用 1%IRM 2 乳膏,对另外三组老鼠进行阴道内剂量给药。两小时后移除装置。使乳膏留在原处。剂量给药 4 小时后分析细胞因子。一组没有接受任何治疗的老鼠用作对比实验。结果如下表所示,其中每个值是 3 只老鼠的平均值。

治疗	剂量给药 4 小时后的细胞因子浓度			
	TNF (pg/mL)		MCP-1 (pg/mL)	
	血清	组织	血清	组织
IRM 2 装置—单次	0	888	59	1390
IRM 2 装置—多次	0	1075	87	2353
载体装置—单次	0	291	43	59
载体装置—多次	0	279	28	150
IRM 2 乳膏—单次	27	991	86	1720
IRM 2 乳膏—多次	8	264	66	768
对比实验	0	117	51	36

10 实施例 9

如实施例 5 中所述治疗 3 只老鼠的组,移除装置后 22 小时对尸体剖检。常规地收集、固定和处理阴道和外阴,用于组织学检查。结果概括于下表中。如下评价发炎: 0=没有, 1=最小, 2=轻的, 3=中等, 4=严重。表中的值是 3 只老鼠的平均值。糜烂或溃疡的值表达为发生率,例如 0/3 是指该特定组的 3 只老鼠中都没有表现出糜烂或溃疡。

组织	装置	治疗溶液			
		载体	0.1%IRM 3	1.0%IRM 3	3.0%IRM 3
阴道炎	棉花	0.67	1.0	2.5	3.17
	泡沫	0.83	2.17	2.83	2.5
阴道糜烂或溃疡	棉花	0/3	0/3	0/3	0/3
	泡沫	0/3	0/3	0/3	0/3
外阴炎	棉花	0.5	0.33	0.5	2.17
	泡沫	0.33	0.33	0.33	1.75
外阴糜烂或溃疡	棉花	0/3	0/3	0/2*	0/3
	泡沫	0/3	0/3	0/3	0/2*

*来自该组中的 1 只老鼠的组织是不可评估的。

实施例 10

5 如实施例 1 中所述制备棉花装置。用 50/50 w/w 异硬脂酸/肉豆蔻酸异丙酯中含 5 重量%IRM 3 溶液使装置饱和。用该装置对一组 5 只老鼠进行阴道内剂量给药。两小时后移除装置。用 5%IRM 3 乳膏对第二组 5 只老鼠进行阴道内剂量给药。两小时后洗去乳膏。用 5%IRM 3 乳膏对第三组 5 只老鼠进行阴道内剂量给药，但是不除去乳膏。治疗开始后 24 小时对老鼠尸体剖检。常规地收集、固定和处理阴道和外阴，用于组织学检查。结果概括于下表中。使用如实施例 9 中所述的评价体系。

组织	治疗		
	5%IRM 3/装置	5%IRM 3/乳膏洗净	5%IRM 3/乳膏未除去
阴道炎	3.1	3.0	3.0
阴道糜烂	0/5	3/5	3/5
阴道溃疡	0/5	1/5	1/5
外阴炎	1.7	2.1	1.6
外阴 preulcer	3/5	1/5	2/5
外阴溃疡	0/5	0/5	1/5

15 实施例 11

 如实施例 8 中所述处理 3 只老鼠的组，移除装置后 22 小时对尸体剖检。常规地收集、固定和处理子宫、子宫颈、阴道、外阴和会阴的

皮肤，用于组织学检查。结果概括于下表中。

位置	病变	治疗组/病变发生率					
		载体/装置		1%IRM 2/装置		1%IRM 2 乳膏	
		多次 给药	单次 给药	多次 给药	单次 给药	多次 给药	单次 给药
外阴	浮肿，固有层	0/3	0/3	1/3	0/3	3/3	0/3
	发炎，固有层	0/3	0/3	3/3	3/3	3/3	0/3
	海绵层水肿，上皮	0/3	0/3	1/3	0/3	3/3	0/3
	坏死，上皮	0/3	0/3	1/3	1/3	0/3	0/3
	上皮内的脓疱	0/3	0/3	0/3	1/3	1/3	0/3
	糜烂	0/3	0/3	0/3	0/3	2/3	0/3
	溃疡	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	0/3
阴道	水肿，固有层	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	0/3
	炎症，固有层	1/3	0/3	3/3	3/3	3/3	0/3
子宫	发炎	0/3	0/3	1/3	0/3	2/3	0/3
颈	成洞（上皮）	0/3	0/3	0/3	0/3	1/3	0/3
会阴 皮肤	表面上渗出物，上皮	0/3	0/3	0/3	0/3	1/3	0/3
	发炎，表面真皮	0/3	0/3	1/3	1/3	2/3	0/3
	角膜下的脓疱，上皮	0/3	0/3	1/3	0/3	0/3	0/3
	海绵层水肿，上皮	0/3	0/3	1/3	0/3	1/3	1/3

5 本文引用的专利、专利文献和公开的所有公开内容全部引入作为参考，好像每个都单独引入一样。在冲突的情况下，应当参考本说明书，包括定义。不偏离本发明的范围和精神的前提下，对本发明的各种改进和改变对于本领域技术人员将是明显的。示例性的实施方案和实施例仅作为实施例提供，并不意图限制本发明的范围。本发明的范围仅由以下提出的权利要求限制。