(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 115279358 A
(43)申请公布日 2022.11.01

(21)申请号 202180017791.7
(22)申请日 2021.03.03
(30)优先权数据
20160817.1 2020.03.03 EP
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2022.08.30
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/EP2021/055230 2021.03.03
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2021/175877 EN 2021.09.10
(71)申请人 赛罗医学有限公司
地址 奥地利萨尔茨堡
(72)发明人 N•富克斯
(74)专利代理机构 北京市正见永申律师事务所 11497
专利代理师 黄小临 闵丹
(51)Int.Cl.
A61K 31/19(2006.01)
A61K 31/194(2006.01)
A61K 31/185(2006.01)
A61K 31/191(2006.01)
A61P 31/12(2006.01)
A61K 33/04(2006.01)
A61P 35/00(2006.01)
A61K 9/00(2006.01)
A61K 9/06(2006.01)
A61K 9/02(2006.01)
A61K 9/10(2006.01)
A61K 9/107(2006.01)
A61K 9/12(2006.01)
A61K 9/14(2006.01)
A61K 47/02(2006.01)
A61K 47/38(2006.01)
A61K 47/12(2006.01)

权利要求书2页 说明书6页 附图5页

(54)发明名称

用于治疗宫颈细胞异常的包含亚硒酸盐化合物和酸的组合物

(57)摘要

本发明提供了一种药物组合物，其包含含亚硒酸盐的化合物和选自柠檬酸，乙酸，苹果酸，碳酸，硫酸，硝酸，盐酸，水果酸及其混合物的药学上可接受的酸，该组合物用于在女性患者中减少宫颈细胞异常的进展，其中该患者至少在子宫颈的一个区域中为p16阳性和Ki-67阳性。该组合物经阴道施用。

CN 115279358 A

1.药物组合物，包含含亚硒酸盐的化合物和药学上可接受的酸，所述酸选自柠檬酸、乙酸、苹果酸、碳酸、硫酸、硝酸、盐酸、水果酸及它们的混合物，所述组合物用于在女性患者中减少宫颈细胞异常的进展，其中该患者至少在子宫颈的一个区域中为p16阳性和Ki-67阳性，其中所述组合物是经阴道内施用的组合物。

2.根据权利要求1的用途的药物组合物，其中所述宫颈细胞异常选自ASC-US、ASC-H、AGC、LSIL和HSIL，优选选自ASC-US、ASC-H、AGC和LSIL，更优选选自ASC-US、ASC-H和AGC，还更优选选自ASC-US和ASC-H，特别是选自ASC-US。

3.根据权利要求1或2的用途的药物组合物，其中所述组合物一直施用到患者在所述区域中变为p16-阴性，优选p16-阴性且Ki-67-阴性。

4.根据权利要求1-3中任一项所述的用途的药物组合物，其中，每5毫升组合物中硒的含量为0.01mg-1.25mg，优选0.025mg-1.00mg，更优选0.05mg-0.75mg，甚至更优选0.10mg-0.50mg，还更优选0.15mg-0.40mg，尤其是0.20mg-0.30mg；和/或每次施用时硒的总剂量为0.01mg-1.25mg，优选为0.025mg-1.00mg，更优选为0.05mg-0.75mg，甚至更优选为0.10mg-0.50mg，还更优选0.15mg-0.40mg，尤其是0.20mg-0.30mg。

5.根据权利要求1至4中任一项所述的用途的药物组合物，其中所述组合物至少每天施用一次，优选持续施用至少30天，更优选至少60天，甚至更优选至少90天；任选地，其中所述施用在患者月经期间中断。

6.根据权利要求1至5中任一项所述的用途的药物组合物，其中所述组合物每天施用一次，任选地其中在患者月经期间中断施用。

7.根据权利要求1至6中任一项所述的用途的药物组合物，其中，所述施用在患者月经期间中断；和/或其中所述施用在治疗至少30天，更优选至少60天，甚至更优选至少90天后，中断至少30天，更优选至少60天，甚至更优选至少90天，任选其中在患者月经期间停止施用。

8.根据权利要求1至7中任一项所述的用途的药物组合物，其中所述宫颈细胞异常的进展包括下列至少一项变化：从ASC-US到ASC-H、从ASC-US到AGC、从ASC-US到LSIL、从ASC-US到HSIL、从ASC-H到AGC、从ASC-H到LSIL、从ASC-H到HSIL、从AGC到LSIL、从AGC到HSIL和从LSIL到HSIL，优选至少下列变化之一：从ASC-US到ASC-H、从ASC-US到AGC、从ASC-US到LSIL、从ASC-US到HSIL、从ASC-H到AGC、从ASC-H到LSIL和从ASC-H到HSIL，更优选至少下列变化之一：从ASC-US到ASC-H、从ASC-US到AGC、从ASC-US到LSIL和从ASC-US到HSIL，特别是至少下列变化之一：从ASC-US到ASC-H和从ASC-US到LSIL。

9.根据权利要求1至8中任一项所述的用途的药物组合物，其中所述组合物以凝胶，悬浮液，乳剂，诸如明胶胶囊或无明胶胶囊等栓剂，喷雾剂或粉剂的形式存在。

10.根据权利要求1至9中任一项所述的用途的药物组合物，其中所述组合物还包含二氧化硅，优选高度分散的二氧化硅。

11.根据权利要求1至10中任一项所述的药物组合物，其中，所述组合物的pH小于7.0，优选小于5.0，特别是4.0至2.5之间。

12.根据权利要求1至11中任一项所述的用途的药物组合物，其中，所述药学上可接受的酸为柠檬酸。

13.根据权利要求1至12中任一项所述的用途的药物组合物，其中，所述含亚硒酸盐的

化合物为亚硒酸钠。

14.根据权利要求1至13中任一项所述的药物组合物,其中患者子宫颈的所述区域,优选整个子宫颈,的人乳头瘤病毒(HPV)感染状态未知或未确定;或所述子宫颈区域,优选整个子宫颈,未被选自HPV16、HPV18、HPV31、HPV33和HPV58的任何HPV感染,优选未被任何HPV感染。

15.根据权利要求1至14中任一项所述的用途的药物组合物,其中,所述患者未患有癌症、和/或除了HPV感染之外的慢性病毒性疾病,和/或其中所述患者未被免疫抑制。

用于治疗宫颈细胞异常的包含亚硒酸盐化合物和酸的组合物

[0001] 本发明涉及用于治疗宫颈细胞异常的组合物。

[0002] 宫颈涂片筛查(也称为巴氏检验或巴氏涂片)是一种用于检测女性患者子宫颈潜在的癌前病变和癌变过程的广泛使用的实践。通常,宫颈细胞异常根据Bethesda系统进行分类(参见Nayar R,Wilbur D.The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology,Definitions,Criteria,and Explanatory Notes.Springer;2015.)。此类异常包括意义不明的非典型鳞状细胞(ASC-US)、非典型鳞状细胞-不能排除HSIL(ASC-H)、非典型腺细胞(AGC)、低度鳞状上皮内病变(LSIL)和高度鳞状上皮内病变(HSIL)等。众所周知,这些异常会随着时间的推移而改善,但也会恶化。在这方面,缓解(remission)定义为从异常的细胞学涂片结果中完全恢复,消退(regression)定义为细胞学涂片结果的改善(例如从HSIL到LSIL或ASC-US,或从LSIL到ASC-US),持续定义为细胞学涂片检查结果没有变化,进展定义为细胞学涂片检查结果恶化(例如从ASC-US到ASC-H或LSIL,或从ASC-H到LSIL或从LSIL到HSIL)。

[0003] 根据宫颈细胞异常的严重程度,且通常经过一段时间的“观察等待”以评估所述异常是否会自发缓解或消退(或者相反,会持续或甚至进展),按常见的治疗指南来建议手术干预。典型的手术包括锥形切除术、冷冻疗法、环形电外科切除术(LEEP)或宫颈转化区大环形切除术(LLETZ)。

[0004] 由于任何手术干预都会带来一定的健康风险,因此需要非手术干预来降低宫颈细胞异常的进展率(progression rates),以减少对手术的需求或至少在必须干预的情况下减少手术的侵入性。

[0005] 因此,本发明的一个目的是提供一种降低宫颈细胞异常的进展率的非手术处理。

[0006] 本发明涉及一种药物组合物,其包含含亚硒酸盐的化合物和药学可接受的酸,所述药学可接受的酸选自柠檬酸、乙酸、苹果酸、碳酸、硫酸、硝酸、盐酸、水果酸(例如苹果酸、柠檬酸、酒石酸、草酸和富马酸,特别是柠檬酸)及它们的混合物。所述组合物用于在女性患者中减少宫颈细胞异常的进展(通常通过宫颈涂片筛查确定)。该组合物是经阴道内施用于患者。在一个特别优选的实施方案中,患者至少在子宫颈的一个区域中是p16-阳性和Ki-67-阳性(即p16/Ki-67-双阳性),和/或所述宫颈细胞异常的至少一部分为p16阳性和Ki-67阳性(即p16/Ki-67双阳性)。

[0007] 在本发明的过程中,令人惊讶地发现该药物组合物不仅能有效增加宫颈细胞异常的缓解和消退,而且显着减少宫颈细胞异常的进展。这被受控的临床试验确认(见实施例2)。

[0008] 尽管先前已公开了所述药物组合物用于其他治疗适应症,但这些公开并未预示或暗示本发明:

[0009] US 2003/0180387 A1涉及一种用于提高含硒水溶液的抗氧化能力的方法。它公开了一种制剂,其包含药学上可施用的或与食物相容的形式的硒,即亚硒酸盐(selenite),以及药学上可接受或与食物相容的酸,所述酸选自柠檬酸、乙酸、苹果酸、碳酸、各种果酸及其混合物,所述制剂可用于预防或治疗单纯疱疹感染,以及多种其他适应症。然而,该文件既

没有公开阴道内应用,也没有公开目标器官是子宫颈,也没有公开本发明的治疗适应症。

[0010] US 2005/0048134 A1涉及局部或颊部施用含亚硒酸盐的化合物的用途。乳头瘤病毒感染、尤其生殖区感染的治疗或预防已被公开为众多适应症之一。但是,该文献既没有公开阴道内的应用,也没有公开靶器官是子宫颈,也没有公开本发明的治疗适应症。

[0011] US 2013/0323328 A1(也即WO 2012/109685 A1)涉及用于治疗宫颈发育不良或癌的含有亚硒酸盐或含有含亚硒酸盐的化合物的药物制剂。但是,该文件至少没有提及本发明的治疗适应症。

[0012] 在本发明一个特别优选的实施方案中,待处理的宫颈细胞异常选自ASC-US、ASC-H、AGC、LSIL和HSIL,优选选自ASC-US、ASC-H、AGC和LSIL,更优选选自ASC-US、ASC-H和AGC,甚至更优选选自ASC-US和ASC-H,特别是ASC-US,所有这些都根据Bethesda系统(也参见上文的解释和书籍引用)。

[0013] 在多个实施方案中,患者具有的宫颈细胞异常选自ASC-US、ASC-H、AGC、LSIL和HSIL,优选选自ASC-US、ASC-H、AGC和LSIL,更优选选自ASC-US、ASC-H和AGC,甚至更优选选自ASC-US和ASC-H,特别是ASC-US;特别是如宫颈涂片筛查(尤其是子宫颈的所述区域的宫颈涂片筛查)所确定的。

[0014] 根据一个优选,所述宫颈细胞异常的进展包括(或:进一步定义为)至少下列变化之一:从ASC-US到ASC-H、从ASC-US到AGC、从ASC-US到LSIL、从ASC-US到HSIL、从ASC-H到AGC、从ASC-H到LSIL、从ASC-H到HSIL、从AGC到LSIL、从AGC到HSIL、从LSIL到HSIL,优选至少下列变化之一:从ASC-US到ASC-H、从ASC-US到AGC、从ASC-US到LSIL、从ASC-US到HSIL、从ASC-H到AGC、从ASC-H到LSIL和从ASC-H到HSIL,更优选至少下列变化之一:从ASC-US到ASC-H、从ASC-US到AGC、从ASC-US到LSIL和从ASC-US到HSIL,特别是从ASC-US到ASC-H和从ASC-US到LSIL的变化中的至少一种。优选地,这种变化在初始筛选(例如在开始本发明的处理时进行)过了至少30天、优选至少60天、更优选至少90天、甚至更优选至少120天、甚至更优选至少150天或甚至至少180天之后确定。

[0015] 在本发明的上下文中,减少进展优选定义为不包括增加缓解和增加消退。

[0016] p16(也称为$p16^{INK4a}$或细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂2A)是一种由人体中CDKN2A基因编码的蛋白质。p16的过度表达是宫颈癌风险增加的生物标志物。Ki-67(也称为KI-67或MKI67)是由MKI67基因在人体中编码的蛋白质。Ki-67是细胞增殖的生物标志物。这两种生物标志物都可以通过例如CINtec® PLUS测试法(罗氏,瑞士)来测试,这是一种可商购的、已获批准的细胞学测试法(例如,见Ravarino,A.等(2012).CINtec PLUS immunocytochemistry as a tool for the cytologic diagnosis of glandular lesions of the cervix uteri.American Journal of Clinical Pathology,138(5),652-656)。p16/Ki-67双染色亦可见于Schmidt,Dietmar,等"p16/Ki-67dual-stain cytology in the triage of ASCUS and LSIL Papanicolaou cytology:results from the European equivocal or mildly abnormal Papanicolaou cytology study."Cancer cytopathology 119.3(2011):158-166。

[0017] 在本发明的过程中,发现本发明的疗法在与生物标志物p16和Ki-67相关联时尤其有效于减少宫颈细胞异常的进展。因此,在本发明的优选实施方案中,患者至少在子宫颈的一个区域中是p16阳性,优选p16阳性且Ki-67阳性(和/或所述宫颈细胞异常的一个部分是

p16阳性和/或Ki-67阳性)。优选地,所述药物组合物一直施用到患者在所述区域变为p16阴性,优选p16阴性且Ki-67阴性(和/或至少所述宫颈细胞异常的一个部分变为p16阴性和/或Ki-67阴性)。

[0018] 本领域技术人员知道如何评估子宫颈的一个区域(或细胞异常的至少一部分)是否为p16阳性,例如对该区域进行活检并使用本领域已知的p16测定法(例如免疫细胞化学测定法)。优选地,与健康对照组织例如活检标本中的健康邻接细胞相比,如果从子宫颈的所述区域获得的活检标本中有至少一个细胞,优选至少两个邻接细胞,更优选至少三个邻接细胞,甚至更优选至少五个邻接细胞,特别是至少十个邻接细胞过度表达p16(优选其中每个所述细胞是上皮细胞),则将该活检标本定义为p16阳性。相反地,与健康对照组织例如活检标本中的健康邻接细胞相比,如果有少于十个邻接细胞,优选少于五个邻接细胞,更优选少于三个邻接细胞,甚至更优选少于两个细胞,特别是零个细胞过度表达p16(优选其中每个所述细胞是上皮细胞),则这种活检标本优选地定义为p16阴性。

[0019] 此外,本领域技术人员还知道如何评估子宫颈的一个区域(或细胞异常的至少一部分)是否为Ki-67阳性,例如对该区域进行活检并使用本领域已知的Ki-67测定法(例如免疫细胞化学测定法)。优选地,与健康对照组织例如活检标本中的健康邻接细胞相比,如果从子宫颈的所述区域获得的活检标本中有至少一个细胞,优选至少两个相邻细胞,更优选至少三个相邻细胞,甚至更优选至少五个相邻细胞,尤其至少十个邻接细胞过度表达Ki-67(优选其中每个所述细胞是上皮细胞),则将该活检标本定义为Ki-67阳性。相反,与健康对照组织例如活检标本中的健康邻接细胞相比,如果活检标本中有少于十个邻接细胞,优选少于五个邻接细胞,更优选少于三个邻接细胞,甚至更优选少于两个细胞,特别是零个细胞的过表达Ki-67(优选其中每个所述细胞是上皮细胞),则该活检标本优选地定义为Ki-67阴性。

[0020] 在特别优选的情况下,“p16阳性且Ki-67阳性”被定义为在现有CINtec® PLUS测试法(罗氏,瑞士)中的阳性结果,尤其是如CINtec® PLUS指南(Roche,2016年)所述。在该指南中,阳性结果定义为存在至少一个双重染色的宫颈上皮细胞(细胞质染成褐色(p16),细胞核染成红色(Ki-67))。

[0021] 在本发明的过程中,事实证明,本发明的组合物在令人惊讶的低硒浓度下也有效。因此,在另一个优选的实施方案中,药物组合物的总硒含量为每5毫升组合物中0.01mg-1.25mg,优选0.025mg-1.00mg,更优选0.05mg-0.75mg,甚至更优选0.10mg-0.50mg,还更优选0.15mg-0.40mg,尤其是0.20mg-0.30mg。显而易见的是,“总硒含量”并不意味着硒必须作为元素硒存在于组合物中。举例来说,每5ml组合物中0.83mg亚硒酸钠作为唯一的含硒化合物对应于每5ml中0.25mg的总硒含量(“硒当量含量”)。

[0022] 还发现,每次施用的硒剂量可以很低并且仍然有效。根据另一个优选实施方案,硒的总剂量为每次施用时0.01mg-1.25mg,优选0.025mg-1.00mg,更优选0.05mg-0.75mg,甚至更优选0.10mg-0.50mg,再更优选0.15mg-0.40mg,尤其是0.20mg-0.30mg。很明显,“总硒剂量”并不意味着硒必须以元素硒的形式存在于剂量中。举例来说,每次施用时0.83mg亚硒酸钠作为所施用剂量单位的唯一含硒化合物对应于0.25mg的总硒剂量(“硒当量剂量”)。

[0023] 为了提高效力,优选药物组合物每天施用至少一次,优选施用至少30天,更优选至少60天,甚至更优选至少90天。

[0024] 事实证明，每天仅施用一次该组合物适合于达到有效性。由于这比每天施用数次进一步降低了副作用的风险，因此另一个优选的实施方案涉及本发明的药物组合物每天施用一次，优选施用至少30天，更优选至少60天，甚至更优选至少90天。

[0025] 药物组合物的施用在患者月经期间可以中断。

[0026] 根据本发明使用的药物组合物可以另外包含其他合适的成分和/或药学上可接受的赋形剂。

[0027] 优选地，根据本发明使用的药物组合物包含亚硒酸钠形式的亚硒酸盐(其主要以五水合物形式存在，在40℃时开始释放结晶水)。

[0028] 在本发明的另一个优选实施方案中，所述组合物包含一种或多种酸，其总量为每100g组合物中1mg至10g酸，更优选10mg至5g酸，特别是100mg至1g酸(特别是当酸以固体形式添加时)。或者，酸也可以以其液体形式添加(例如伴有水，即作为水溶液)。水和水溶液，分别任选包含其他成分，可以以0至(约)99.9g，优选50至99g，特别是80至98g的量添加至100g的本发明组合物中。

[0029] 根据另一优选实施方案，组合物的形式为凝胶、悬浮液、乳剂、栓剂如明胶胶囊或无明胶的胶囊、喷雾剂或粉剂。

[0030] 当以凝胶形式存在时，根据本发明使用的药物组合物优选包含胶凝剂。无机和有机含水胶凝剂都可以用作胶凝剂。特别合适的胶凝剂是纤维素衍生物，特别是羧甲基纤维素，甲基纤维素，羟丙基纤维素，以及，特别是羟乙基纤维素。优选地，每100g组合物中，所述胶凝剂，特别是羟乙基纤维素的总浓度为0.1g至30g，更优选0.5g至5g，特别是1g至3g。

[0031] 根据本发明使用的组合物的另一特别优选的实施方案，尤其当该组合物以凝胶形式存在时，包含二氧化硅，特别是高度分散的二氧化硅，例如根据WO2001/85852A1，作为技术悬浮介质和/或作为吸附剂。优选地，每100g组合物中使用100mg至50g，更优选500mg至10g，特别是1g至5g的量的SiO2。

[0032] 根据本发明使用的组合物优选pH值小于7.0，更优选小于5.0，特别是在4.0至2.5之间。

[0033] 有利地，组合物可以包含其他赋形剂和/或其他活性成分，特别是缓冲物质，着色剂，稳定剂，防腐剂，载体物质或它们的组合。防腐剂的优选实例是山梨酸钾和苯甲酸钠。

[0034] 此外，组合物可另外包含其他活性剂，例如抗生素，抗病毒剂，抗真菌药，止痛剂，抗炎剂或其组合。

[0035] 本发明还涉及一种减少女性患者(优选所述患者为p16阳性和Ki-67阳性)宫颈细胞异常的进展的方法，该方法包括：

[0036] -获得本文定义的药物组合物；和

[0037] -向患者施用有效量的组合物，其中所述组合物经阴道内施用。

[0038] 通常，所述患者是需要本发明的处理的。

[0039] 根据特别优选，患者的子宫颈的所述区域(优选整个子宫颈)的人乳头瘤病毒(HPV)感染状态是未知的或未确定的。此外或作为另外一种选择，子宫颈的所述区域(优选整个子宫颈)优选未感染选自HPV16、HPV18、HPV31、HPV33和HPV58的任何HPV(优选五种均未感染)。

[0040] HPV感染可以通过例如对活检样品(例如宫颈涂片)的聚合酶链式反应(PCR)或转

录介导的扩增(TMA)分析或本领域已知的其他方法而被特异性检测到,因为HPV16、HPV18、HPV31、HPV33和HPV58的基因组序列是已知的。这些HPV型别的基因组序列在例如National Center for Biotechnology Information(NCBI)GenBank中用以下登录号公开:K02718.1(HPV16)、X05015.1(HPV18)、J04353.1(HPV31)、M12732.1(HPV33)和D90400.1(HPV58)。

[0041] 在此,接受本发明处理的患者优选大于20岁,优选大于30岁,甚至更优选大于40岁,还更优选大于50岁。所述患者是人类。

[0042] 已发现本发明的处理在免疫抑制的患者中不那么有效。因此,优选患者不是免疫抑制患者。另外地或替代地,患者优选地未患有癌症和/或慢性病毒性疾病(或除了HPV感染以外的慢性病毒性疾病)。

[0043] 在本文中,关于基因(产物)A的术语"过表达"或类似术语通常可以表示活检标本中A的表达水平(例如,通过Western印迹或免疫组织化学或免疫细胞化学测量)比适当对照(例如相同类型的健康组织)的表达水平高至少1.2倍(即增加至少20%),优选至少1.4倍,更优选至少1.6,甚至更优选至少1.8,特别是至少2.0。

[0044] 本发明通过以下附图和实施例进一步说明,但不限于此。

[0045] 图1:宫颈涂片结果的差异—筛查相比于第三次随访。中期分析显示,与未处理的对照组相比,接受本发明疗法处理的处理组的进展率大大降低(处理组0.0%,对照组20.7%)。"筛查时":对患者的初始筛查,"第三次随访时":每天一次的处理进行了3x28天后。

[0046] 图2:宫颈涂片结果的差异—筛查相比于第四次随访。与未处理的对照组相比,接受本发明疗法处理的处理组甚至在处理结束的数月后进展率仍大大降低(处理组1.9%,对照组19.3%)。"筛查时":对患者的初始筛查,"第四次随访时":初始筛查的6个月后。

[0047] 图3:p16/Ki-67状态的改善。在接受本发明疗法处理的处理组中,甚至在处理结束的数月后,都观察到从p16/Ki-67双染色阳性的大得多的缓解率。"p16/Ki-67-":按已有的CINtec® PLUS测试法(罗氏,瑞士)确定为阴性。"p16/Ki-67+":按已有的CINtec® PLUS测试法(罗氏,瑞士)确定为阳性。

[0048] 图4A和4B:基线时为p16/Ki-67阴性的患者(图4A)与基线时为p16/Ki-67阳性的患者(图4B)之间的比较。两组患者在p16/Ki-67状态方面也受益于本发明疗法;即通过保持p16/Ki-67-阴性状态或将状态变回p16/Ki-67-阴性而受益。令人惊讶的是,对于基线时处于p16/Ki-67阳性的患者组(图4B),当将相应的处理组与相应的对照组进行比较时,观察期内在p16/Ki-67状态方面受益于本发明疗法的患者百分比要大得多。"p16/Ki-67(-)":按已有的CINtec® PLUS测试(罗氏,瑞士)确定为阴性。"p16/Ki-67(+)":按已有的CINtec® PLUS测试(罗氏,瑞士)确定为阳性。

[0049] 实施例1-用于减少宫颈细胞异常的进展的药物组合物

[0050] 所述组合物是具有以下成分的水性阴道凝胶(每5ml凝胶):

[0051]

高度分散的二氧化硅	10.00 mg
柠檬酸	24.80 mg
亚硒酸钠	0.83 mg(相当于 0.25 mg 硒当量)
苯甲酸钠	2.50 mg

	山梨酸钾	5.00 mg
[0052]	羟乙基纤维素	100.00 mg
	水	(最多 5 毫升)

[0053] 实施例2-控制下的临床试验

[0054] 本试验是一项随机、有预期的、对照组开放标签的多中心研究，每天一次用实施例1的组合物进行处理，共进行3x 28天(女性患者，年龄25-60岁，无慢性病毒性疾病、癌症和免疫抑制性处理)。每日剂量为5ml组合物，经阴道施用。

[0055] 这些受试者是在3个中心招募的。宫颈涂片按本领域已知的标准程序收集，保存在称为SurePath®(Becton&Dickinson)的特定液体环境中，并且按Bethesda分类法进行评估。样品进一步用CINtec® PLUS细胞学试剂盒(罗氏，瑞士)进行分析。

[0056] 在大约50％的患者(N＝111;每组50％可评估)完成了大约3个月的试验后，进行了中期分析(见图1)。在试验结束时，即处理结束3个月后，对更大的患者组进行最终评估(见图2和图3)。

[0057] 结果：

[0058] 评估数据表明，处理组患者的所有测量参数的结果都明显改善。仅有少数轻微不良事件被报道。

[0059] 与未处理的对照组相比，用本发明疗法处理的处理组中的进展率大大降低(参见图1，处理组中为0.0％，而对照组中为20.7％)，并且即使在处理结束数月后仍保持大大降低(见图2，处理组为1.9％，对照组为19.3％)。

[0060] 此外，与未处理的对照组相比，在用本发明疗法处理的处理组中观察到了从p16/Ki-67双染色阳性缓解的大得多的缓解率(见图3)。

[0061] 此外，对于基线时为p16/Ki-67阳性的患者组，观察期内在p16/Ki-67状态方面受益于本发明疗法的患者百分比特别大(参见图4A和4B)，这是一个惊喜。

[0062] 这些结果证明了所述组合物特别适合本文提到的治疗适应症。

处理组 实施例1的组合物		第三次随访时的细胞学 – 患者(个数)							宫颈涂片结果的差异 – 患者(%)			
筛查时的细胞学	患者(n)	正常	有反应	ASC-US	ASC-H	AGC	LSIL	HSIL	缓解+消退	缓解	消退	持续	进展
正常	0												
有反应	2	2							100,0%	100,0%			
ASC-US	14	8	2	4					71,4%	57,1%	14,3%	28,6%	
ASC-H	6	2		4					100,0%	33,3%	66,7%		
AGC	1	1							100,0%	100,0%			
LSIL	30	12	3	3	3	1	8		73,3%	40,0%	33,3%	26,7%	
HSIL	5	1		2			2		100,0%	20,0%	80,0%		
总数	58	26	5	13	3	1	10	0	**79,3%**	**44,8%**	**34,5%**	**20,7%**	**0,0%**

对照组 “观察等待”		第三次随访时的细胞学 – 患者(个数)							宫颈涂片结果的差异 – 患者(%)				
筛查时的细胞学	患者(n)	正常	有反应	ASC-US	ASC-H	AGC	LSIL	HSIL	缓解+消退	缓解	消退	持续	进展
正常	1		1										100,0%
有反应	0												
ASC-US	8			2			6					25,0%	75,0%
ASC-H	7	1		1	2		3		28,6%	14,3%	14,3%	28,6%	42,9%
AGC	1						1						100,0%
LSIL	41	5		2	2		31	1	22,0%	12,2%	9,8%	75,6%	2,4%
HSIL	0												
总数	58	6	1	5	4	0	41	1	**19,0%**	**10,3%**	**8,6%**	**60,3%**	**20,7%**

图1

患者个数 筛查时的 细胞学	细胞学 – 第四次随访 – 处理组								缓解&消退	缓解	消退	持续	进展
	正常	有反应	ASC-US	ASC-H	AGC	LSIL	HSIL						
正常	1	1										100.0%	
有反应	5	5							100.0%	100.0%			
ASC-US	21	16	4			1			76.2%	76.2%		19.0%	4.8%
ASC-H	7	4	3						100.0%	57.1%	42.9%		
AGC	1	1							100.0%	100.0%			
LSIL	59	36	10	2	1	9	1		83.1%	61.0%	22.0%	15.3%	1.7%
HSIL	9	2	2	3		1	1		88.9%	22.2%	66.7%	11.1%	
总数	103	65	19	5	1	11	2		83.5%	62.1%	21.4%	14.6%	1.9%

患者个数 筛查时的 细胞学	细胞学 – 第四次随访 – 对照组								缓解&消退	缓解	消退	持续	进展
	正常	有反应	ASC-US	ASC-H	AGC	LSIL	HSIL						
正常	1					1							100.0%
有反应	0												
ASC-US	24	6	7	4		7			25.0%	25.0%		29.2%	45.8%
ASC-H	18	4	4	3		6	1		44.4%	22.2%	22.2%	16.7%	38.9%
AGC	1					1							100.0%
LSIL	60	5	1	9	4	40	1		31.7%	8.3%	23.3%	66.7%	1.7%
HSIL	5	1	1	1		2	0		100.0%		100.0%		
总数	109	15	2	21	12	0	57	2	34.9%	13.8%	21.1%	45.9%	19.3%

图2

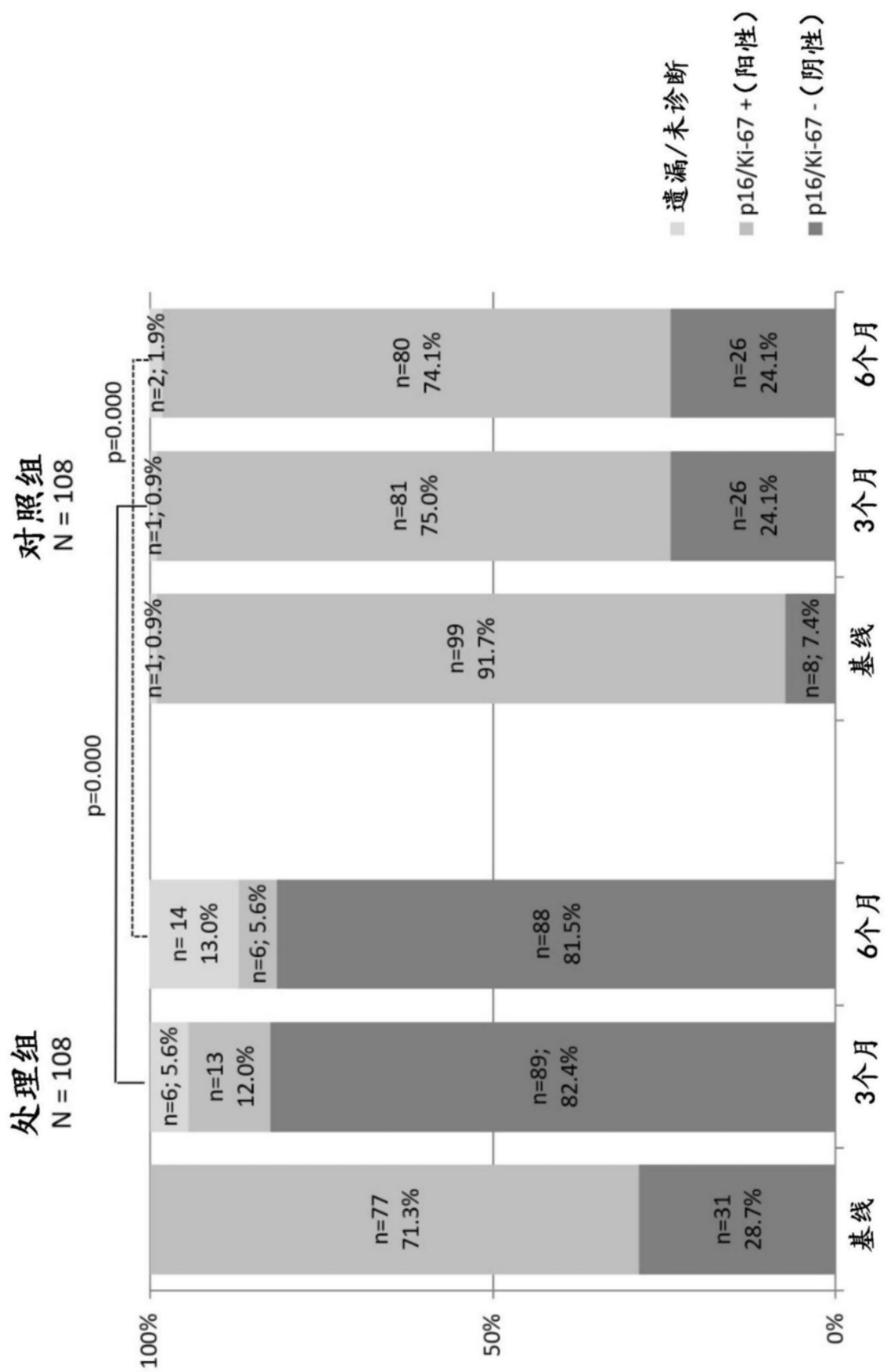

遗漏/未诊断
p16/Ki-67 +（阳性）
p16/Ki-67 -（阴性）
处理组
N = 108
对照组
N = 108
p=0.000
p=0.000
100%
50%
0%
基线
3个月
6个月
基线
3个月
6个月
n=77
71.3%
n=31
28.7%
n=6; 5.6%
n=13
12.0%
n=89;
82.4%
n= 14
13.0%
n=6; 5.6%
n=88
81.5%
n=1; 0.9%
n=99
91.7%
n=8; 7.4%
n=1; 0.9%
n=81
75.0%
n=26
24.1%
n=2; 1.9%
n=80
74.1%
n=26
24.1%

图3

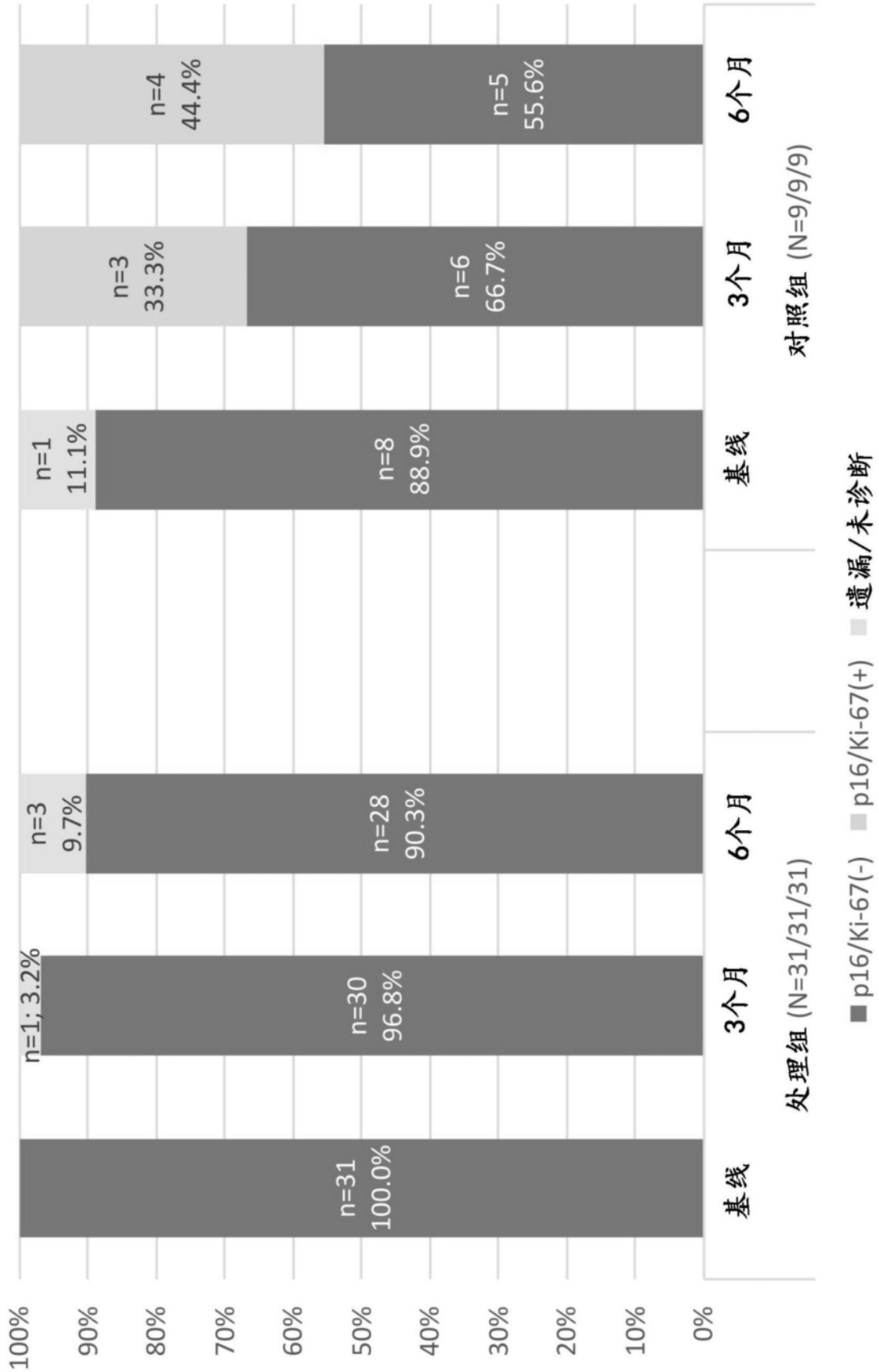

100%
90%
80%
70%
60%
50%
40%
30%
20%
10%
0%
n=31
100.0%
n=1; 3.2%
n=30
96.8%
n=3
9.7%
n=28
90.3%
n=1
11.1%
n=8
88.9%
n=3
33.3%
n=6
66.7%
n=4
44.4%
n=5
55.6%
基线
3个月
6个月
基线
3个月
6个月
处理组 (N=31/31/31)
对照组 (N=9/9/9)
p16/Ki-67(-)
p16/Ki-67(+)
遗漏/未诊断

图4A

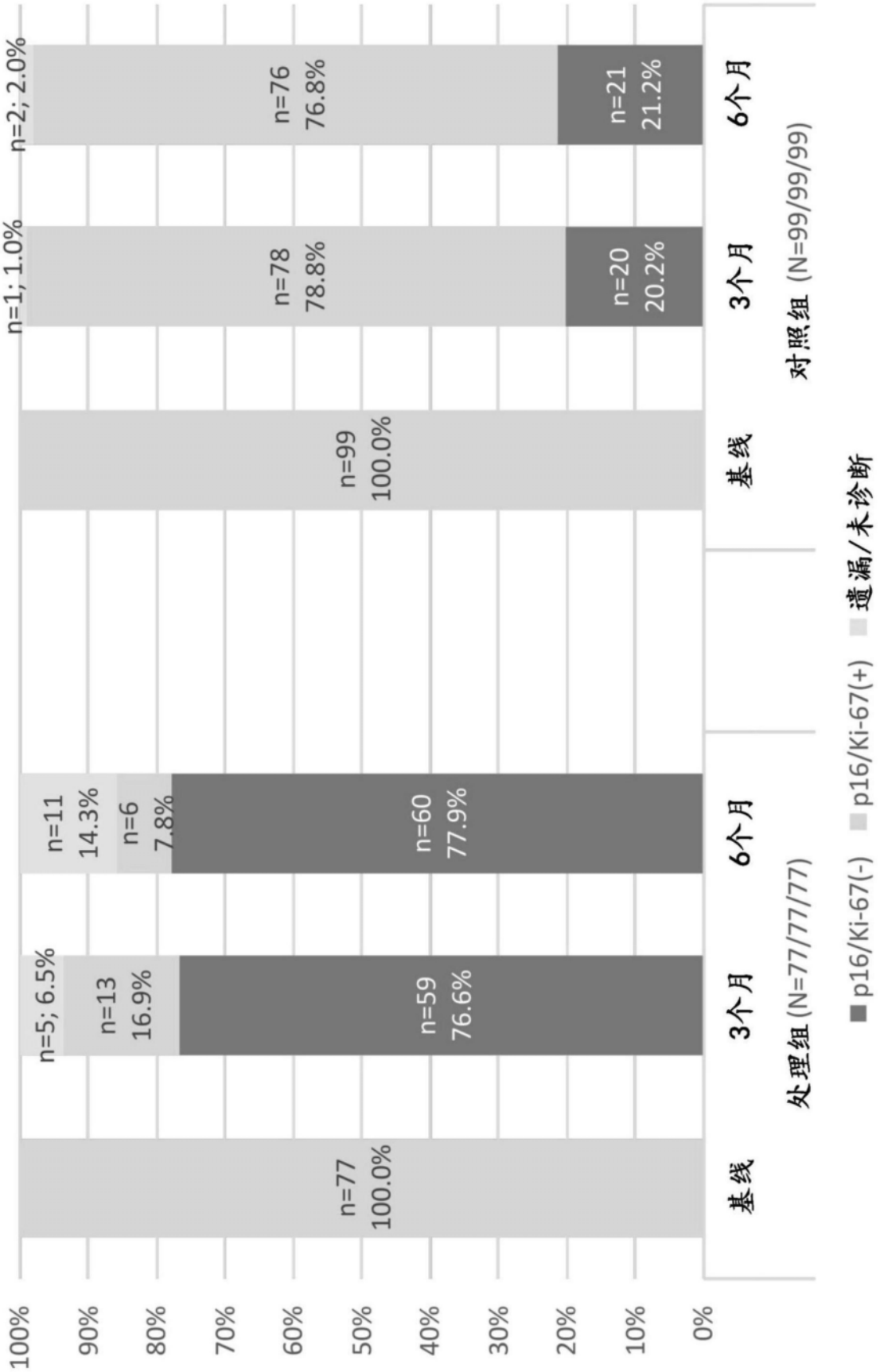

100%
90%
80%
70%
60%
50%
40%
30%
20%
10%
0%
基线
3个月
6个月
处理组 (N=77/77/77)
n=77 100.0%
n=5; 6.5%
n=13 16.9%
n=59 76.6%
n=11 14.3%
n=6 7.8%
n=60 77.9%
基线
3个月
6个月
对照组 (N=99/99/99)
n=99 100.0%
n=1; 1.0%
n=78 78.8%
n=20 20.2%
n=2; 2.0%
n=76 76.8%
n=21 21.2%
p16/Ki-67(-)
p16/Ki-67(+)
遗漏/未诊断

图4B