



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101405010 B

(45) 授权公告日 2013. 03. 06

(21) 申请号 200780010036. 6

A61P 15/18 (2006. 01)

(22) 申请日 2007. 03. 21

A61P 31/12 (2006. 01)

(30) 优先权数据

2006901474 2006. 03. 22 AU

(56) 对比文件

WO 00/15239 A1, 2000. 03. 23, 摘要.

CN 1503816 A, 2004. 06. 09, 说明书第 5 页第 2-4 段.

(85) PCT 申请进入国家阶段日

2008. 09. 22

WO 00/15240 A1, 2000. 03. 23, 摘要.

(86) PCT 申请的申请数据

PCT/AU2007/000352 2007. 03. 21

WO 95/34595 A1, 1995. 12. 21, 摘要.

WO 98/03573 A1, 1998. 01. 29, 摘要.

(87) PCT 申请的公布数据

W02007/106944 EN 2007. 09. 27

审查员 李佳博

(73) 专利权人 星药股份有限公司

地址 澳大利亚维多利亚

(72) 发明人 T · D · 麦卡锡

(74) 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专

利商标事务所 11038

代理人 陈轶兰

(51) Int. Cl.

A61K 31/785 (2006. 01)

权利要求书 9 页 说明书 17 页

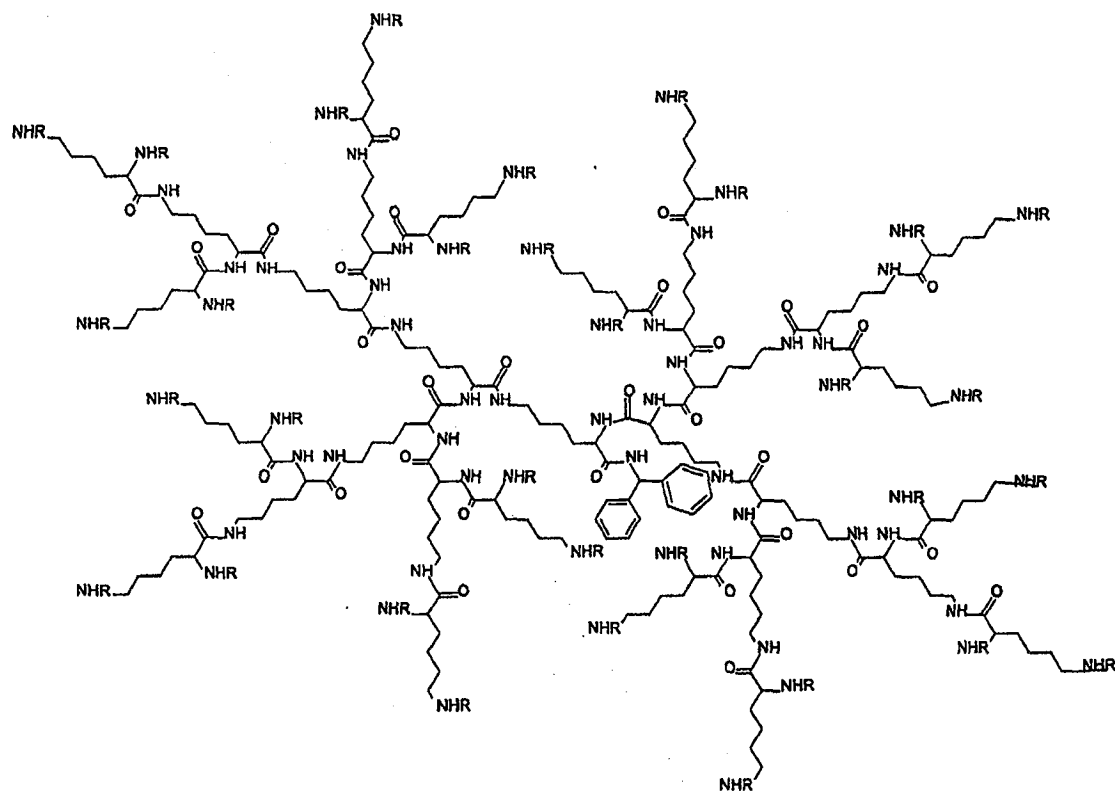
(54) 发明名称

避孕组合物

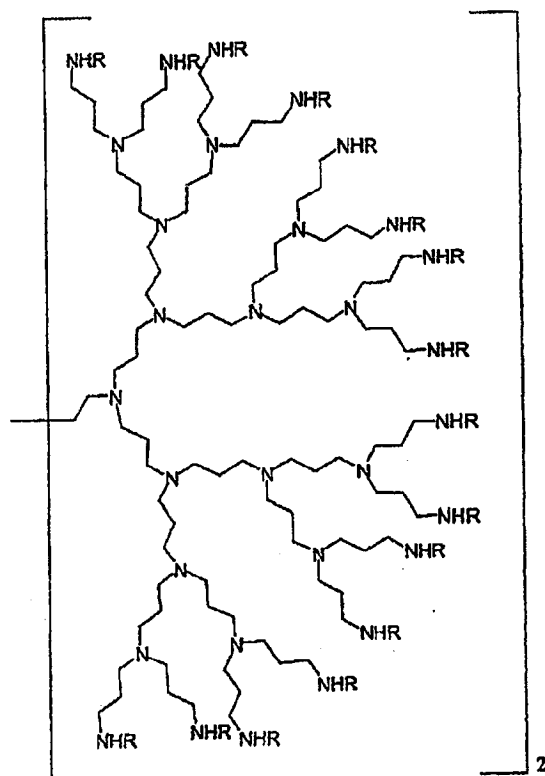
(57) 摘要

本发明涉及避孕组合物,其包括有效量的包含一个或多个萘基二磺酸表面基团的树枝状化合物,或所述树枝状化合物的药学上可接受的盐或溶剂化物;和用于其的药学上可接受的载体、赋形剂和/或稀释剂。所述避孕组合物还可显示出抗微生物活性。本发明还涉及选择性地减少或防止包括人在内的雌性动物受孕的方法,所述方法包括给动物施用有效量的避孕组合物,所述组合物包括:有效量的包含一个或多个萘基二磺酸表面基团的树枝状化合物,或所述树枝状化合物的药学上可接受的盐或溶剂化物;和用于其的药学上可接受的载体、赋形剂和/或稀释剂。

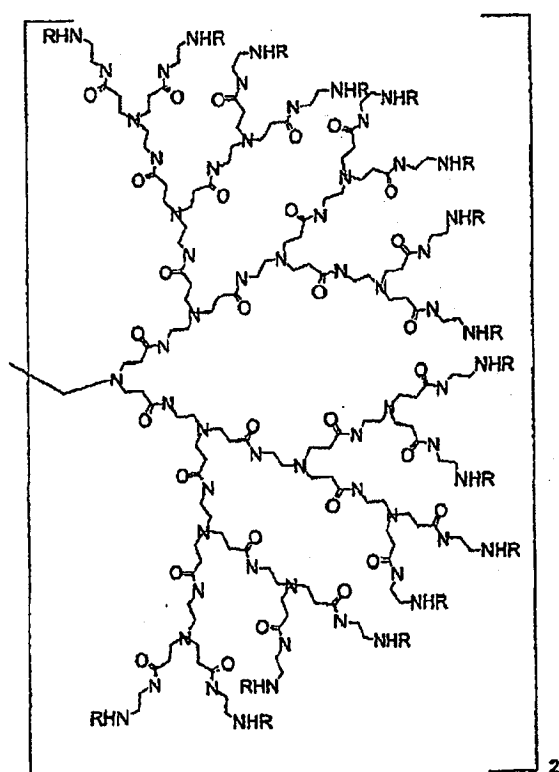
1. 包含一个或多个羧基二磺酸表面基团的树枝状化合物或所述树枝状化合物的药学上可接受的盐制备用于选择性地减少或防止雌性动物受孕的药物的用途,其中所述树枝状化合物选自式 I、II 或 III 的化合物:



I

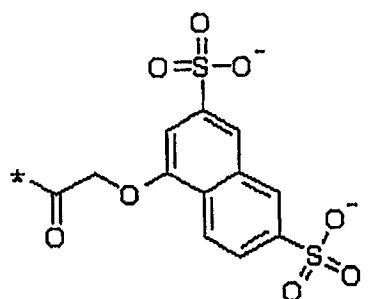


II



III

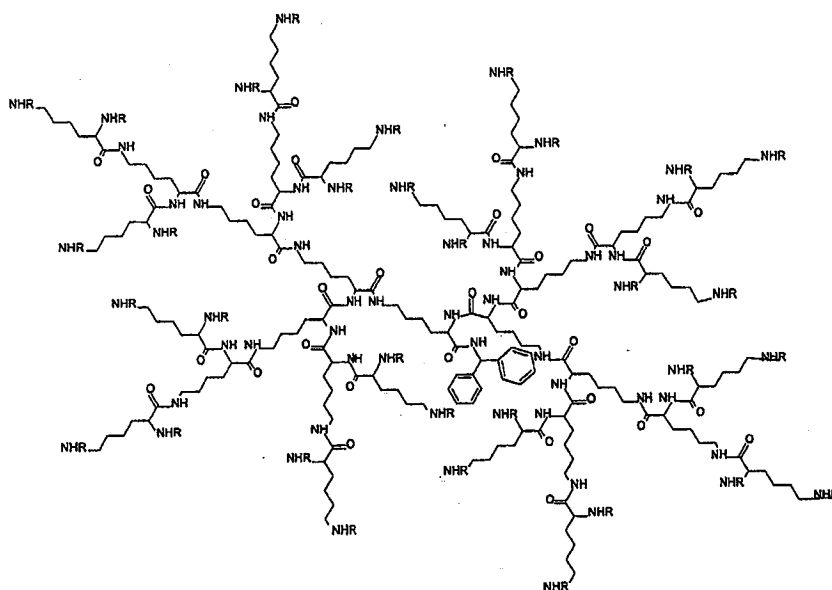
其中 R 代表式 IV 的基团：



IV

或其药学上可接受的盐。

2. 权利要求 1 的用途, 其中所述树枝状化合物是式 I 的化合物



I

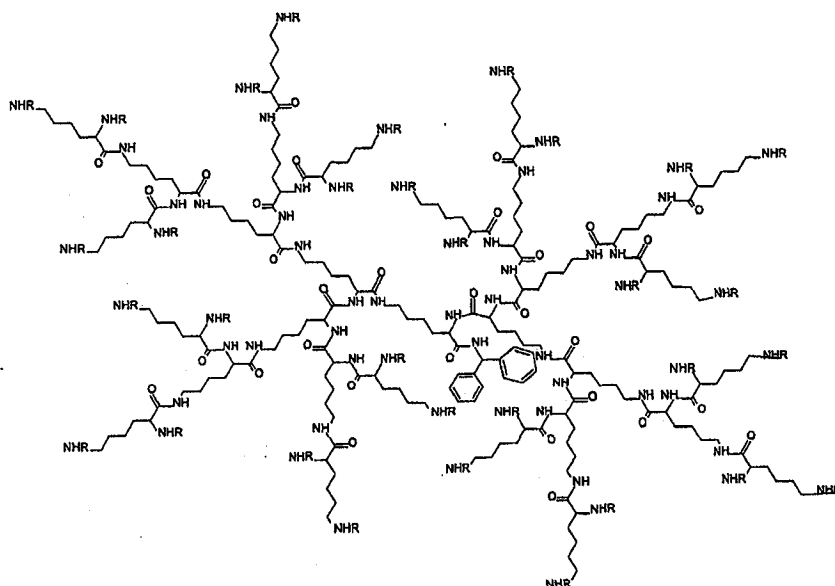
3. 权利要求 1 的用途, 其中所述树枝状化合物是式 I、II 或 III 的化合物的药学上可接受的盐。

4. 权利要求 3 的用途, 其中所述盐是金属盐, 选自铝盐、钙盐、锂盐、镁盐、钾盐、钠盐和锌盐中的一种或多种。

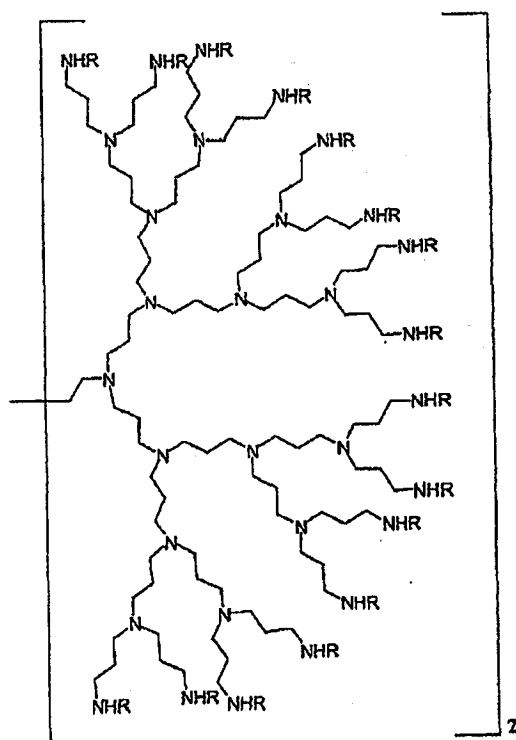
5. 权利要求 3 的用途, 其中所述盐是有机盐, 选自 N, N' - 二苄基乙二胺、氯普鲁卡因、二乙醇胺、乙二胺、环己胺、葡甲胺 (N- 甲基葡糖胺) 和普鲁卡因中的一种或多种。

6. 权利要求 3 的用途, 其中所述盐选自季胺、铕盐和磷鎓盐中的一种或多种。

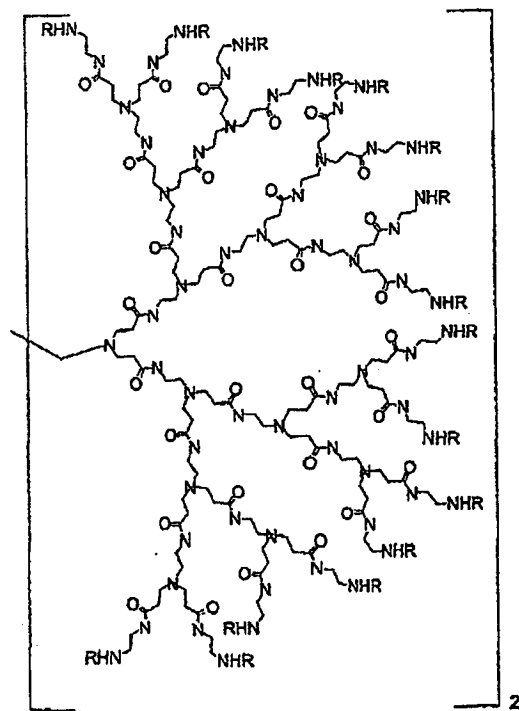
7. 包含一个或多个萘基二磺酸表面基团的树枝状化合物或所述树枝状化合物的药学上可接受的盐制备用于选择性地减少或防止雌性动物受孕和预防一种或多种性传播感染的药物的用途, 其中所述树枝状化合物选自式 I、II 或 III 的化合物:



I

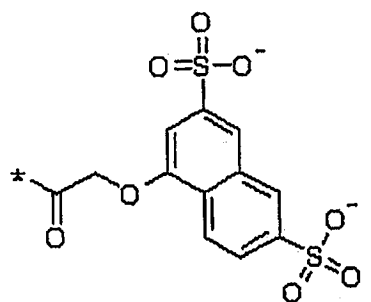


II



III

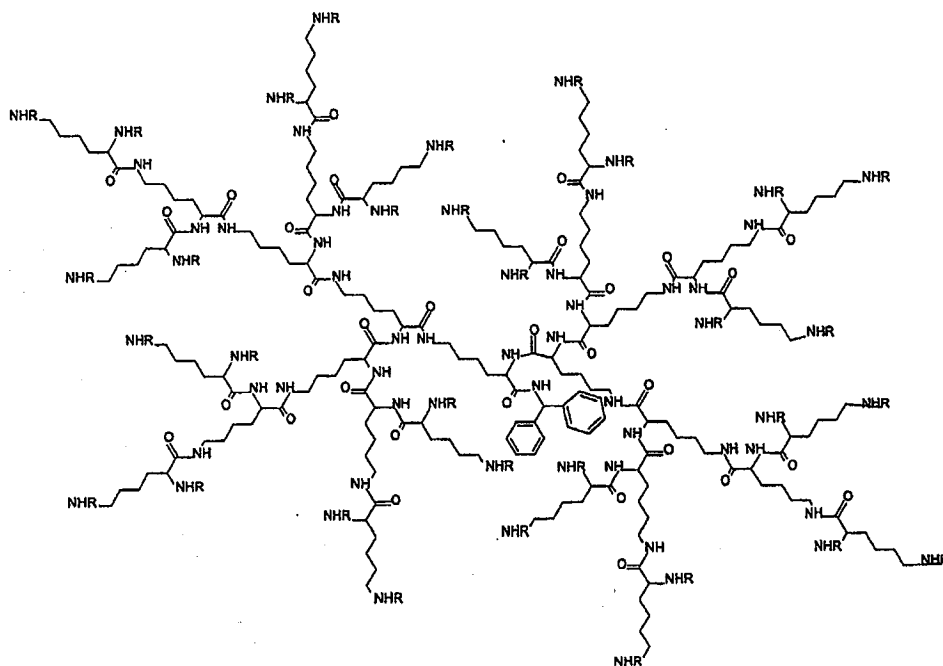
其中 R 代表式 IV 的基团：



IV

或其药学上可接受的盐。

8. 权利要求 7 的用途, 其中所述树枝状化合物是式 I 的化合物



I

9. 权利要求 7-8 任一项的用途,其中所述性传播感染是选自人免疫缺陷病毒、单纯疱疹病毒、乙型肝炎病毒、丙型肝炎病毒、人乳头瘤病毒和巨细胞病毒的病毒感染。

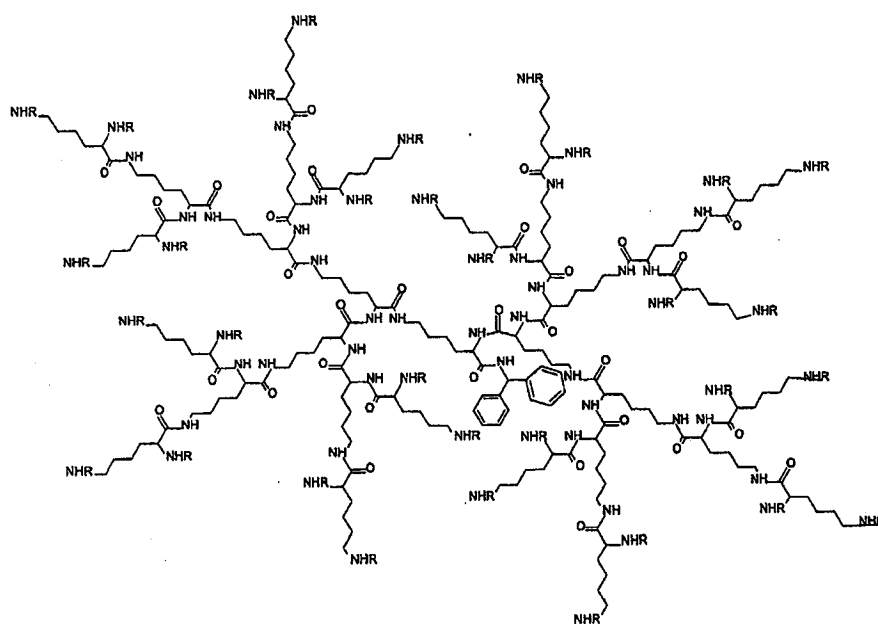
10. 权利要求 7 的用途,其中所述树枝状化合物是式 I、II 或 III 的化合物的药学上可接受的盐。

11. 权利要求 10 的用途,其中所述盐是金属盐,选自铝盐、钙盐、锂盐、镁盐、钾盐、钠盐和锌盐中的一种或多种。

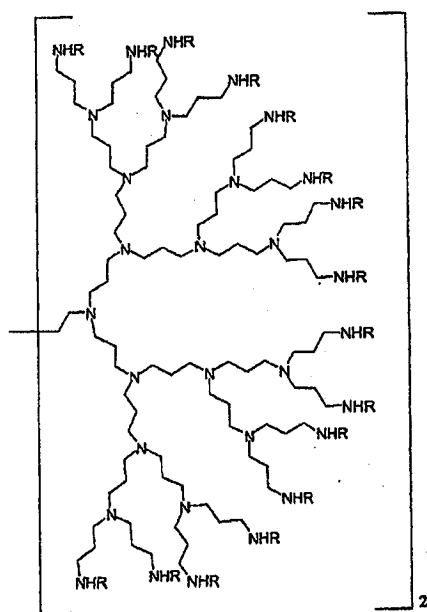
12. 权利要求 10 的用途,其中所述盐是有机盐,选自 N, N' - 二苄基乙二胺、氯普鲁卡因、二乙醇胺、乙二胺、环己胺、葡甲胺(N- 甲基葡糖胺)和普鲁卡因中的一种或多种。

13. 权利要求 10 的用途,其中所述盐选自季胺、铕盐和磷鎓盐中的一种或多种。

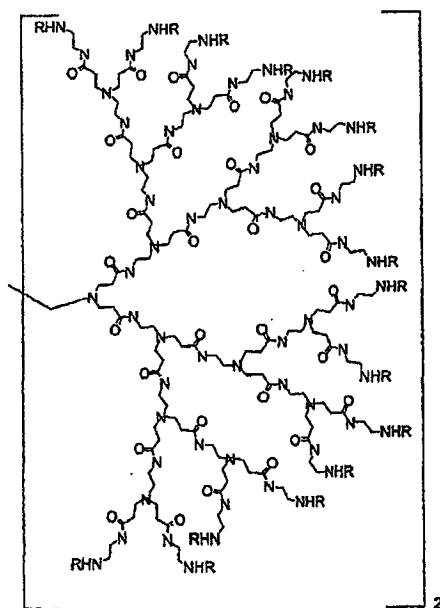
14. 有效量的避孕组合物和预防性装置制备用于减少或防止包括人在内的雌性动物受孕的装置的用途,所述避孕组合物包括:具有一个或多个萘基二磺酸表面基团的树枝状化合物或所述树枝状化合物的药学上可接受的盐;和用于其的药学上可接受的载体,其中所述树枝状化合物选自式 I、II 或 III 的化合物:



I

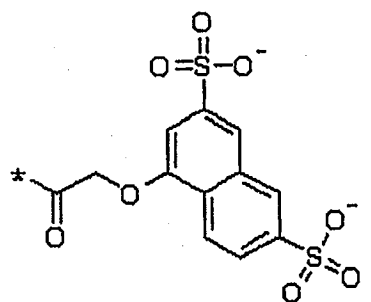


II



III

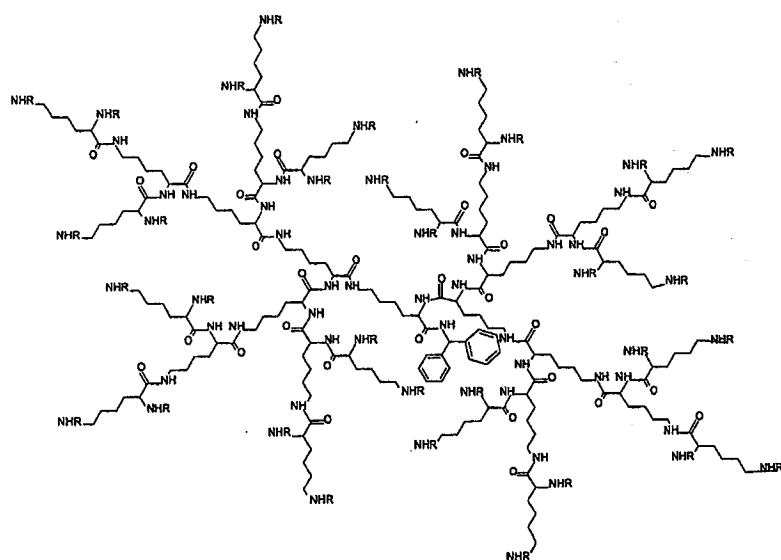
其中 R 代表式 IV 的基团：



IV

或其药学上可接受的盐。

15. 权利要求 14 的用途, 其中所述树枝状化合物是式 I 的化合物



I

16. 权利要求 14-15 任一项的用途,其中所述预防性装置是避孕套。
17. 权利要求 14-15 任一项的用途,其中所述避孕组合物负载在预防性装置的外表面。
18. 权利要求 17 的用途,其中所述避孕组合物负载在避孕套的外表面。
19. 权利要求 14 的用途,其中所述树枝状化合物是式 I、II 或 III 的化合物的药学上可接受的盐。
20. 权利要求 19 的用途,其中所述盐是金属盐,选自铝盐、钙盐、锂盐、镁盐、钾盐、钠盐和锌盐中的一种或多种。
21. 权利要求 19 的用途,其中所述盐是有机盐,选自 N, N' - 二苄基乙二胺、氯普鲁卡因、二乙醇胺、乙二胺、环己胺、葡甲胺(N- 甲基葡糖胺) 和普鲁卡因中的一种或多种。
22. 权利要求 19 的用途,其中所述盐选自季胺、铈盐和磷鎓盐中的一种或多种。
23. 权利要求 15 的用途,其中所述载体是赋形剂和 / 或稀释剂。

避孕组合物

发明领域

[0001] 本发明涉及防止怀孕的药物组合物及方法,尤其涉及包括萘基二磺酸表面基团的树枝状化合物的应用。

[0002] 本发明由美国政府支持在国立卫生研究院 (NIH) 颁发的 U19AI060598 下完成。政府享有本发明的某些权利。

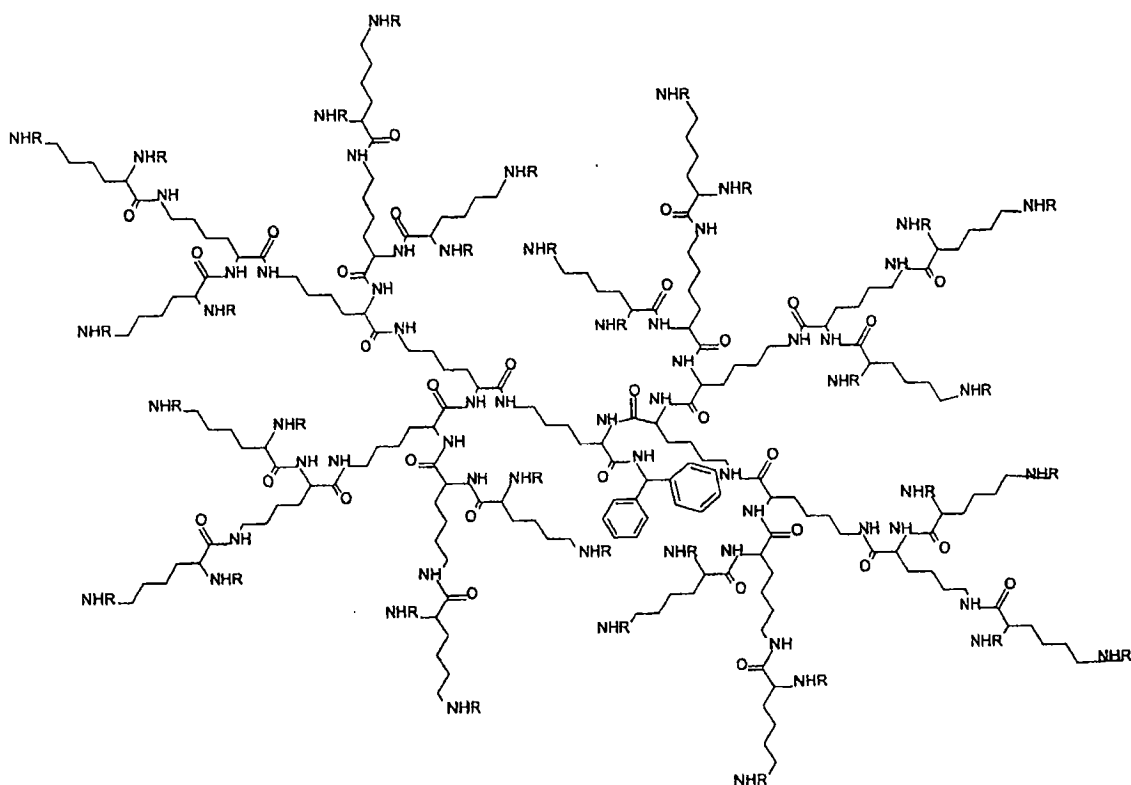
[0003] 发明背景

[0004] 杀精剂是现有技术中已知的多种避孕方法之一。最大众化的杀精剂含有壬苯聚醇-9 (N9) 作为活性成分。但 N9 不向使用者提供针对性传播感染 (STI) 如人免疫缺陷病毒 (HIV)、单纯疱疹病毒 (HSV) 及其他病毒和微生物病原体的防护。实际上, N9 是基于去污剂的杀精剂, 可能实际上对预防 STI 具有不良影响。尽管这类去污剂起作用破裂 HIV 和 HSV 膜, 它们也可能损害天然阴道屏障, 显著提高对感染的易感性。

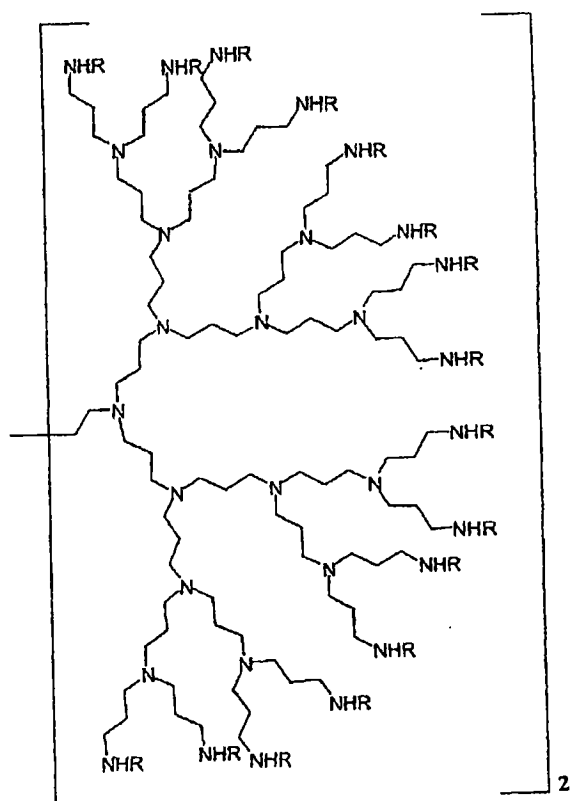
[0005] 本申请人的国际专利申请 No. PCT/AU02/00407 (W002/079299) (其全部内容通过引用并入本文) 公开了一类树状物 (具有多聚阴离子或阳离子表面基团的限定包被的高度分枝的大分子), 已显示出其表现出一系列的抗病毒和抗微生物活性, 同时毒性极低。

[0006] 例如, 聚赖氨酸、聚乙二胺 (polyamidoamine) (PAMAM)、聚醚羟胺 (poly(etherhydroxylamine)) (PEHAM) 和聚丙烯亚胺 (polypropyleneimine) 树状物, 包括以下式 I 至 III 所示并且带有萘基二磺酸表面基团的化合物, 已显示出表现抗微生物活性, 尤其是抗病毒活性。

[0007]

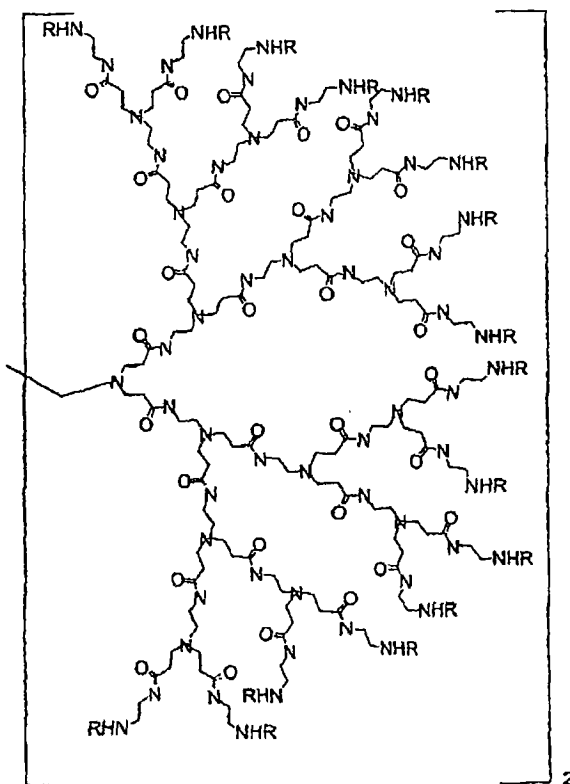


[0008]



II

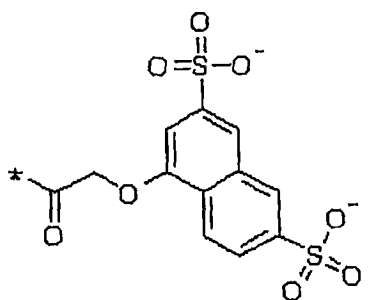
[0009]



III

[0010] 其中 R 代表式 IV 的基团：

[0011]



IV.

[0012] 如果可提供一种在预防 STI 传播中无不良效应的避孕化合物,作为本领域目前已知的包括 N9 在内的杀精剂的替代物,将会是本领域的显著进展。

[0013] 发明概述

[0014] 申请人惊奇地发现,某些含有萘基二磺酸表面基团且显示出抗微生物活性的树枝状化合物还可起避孕药作用。

[0015] 本发明第一方面提供避孕组合物,其包括:有效量的包含一个或多个萘基二磺酸表面基团的树枝状化合物,或所述树枝状化合物的药学上可接受的盐或溶剂化物;和用于其的药学上可接受的载体、赋形剂和/或稀释剂。

[0016] 所述避孕组合物可以局部用形式(如泡沫、凝胶、乳膏、膜等)提供。所述组合物可在性交过程中的任何时间施用,但优选在性交前和期间施用。

[0017] 在进一步的实施方案中,该避孕组合物可进一步包括第二药学活性成分。

[0018] 在一个优选的实施方案中,该避孕组合物还可显示出抗微生物活性。该抗微生物活性优选针对性传播感染(STI)。该抗微生物活性优选是针对病毒性性传播感染(STI)的抗病毒活性,所述病毒性性传播感染包括 HIV、HSV、乙型肝炎病毒和丙型肝炎病毒(HBV 和 HCV)、人乳头瘤病毒(HPV)和巨细胞病毒(CMV)的性传播感染。

[0019] 本发明另一方面提供选择性地减少或防止雌性动物受孕的方法。该方法包括给动物施用有效量的避孕组合物,该组合物包括:有效量的包含一个或多个萘基二磺酸表面基团的树枝状化合物,或所述树枝状化合物的药学上可接受的盐或溶剂化物;和用于其的药学上可接受的载体、赋形剂和/或稀释剂。

[0020] 包括于该方法中的所述组合物还可包括第二药学活性成分。

[0021] 再一方面,所述避孕组合物可负载于与之相容的预防性装置的表面上。

[0022] 实施方式详述

[0023] 除非上下文中另有清晰指示,在本说明书和权利要求书中使用的单数形式“一/该”包括复数指示。

[0024] 本说明书和权利要求书中使用的术语“包含(comprises)”(或其语法变体)等同于术语“包括”,不应理解为排除其他要素或特征的存在。

[0025] 含有某些特定的具有萘基二磺酸表面基团的树枝状化合物的组合物出乎意料地显示出避孕活性。本说明书和权利要求书中使用的术语“避孕活性”指防止或降低雌性动物怀孕或生育的可能性的活性。

[0026] 组合物的避孕活性通常可由多种机理产生。

[0027] 例如, N9 是杀精剂,杀死精子以阻止其使卵子受精。非杀精避孕组合物可起改变

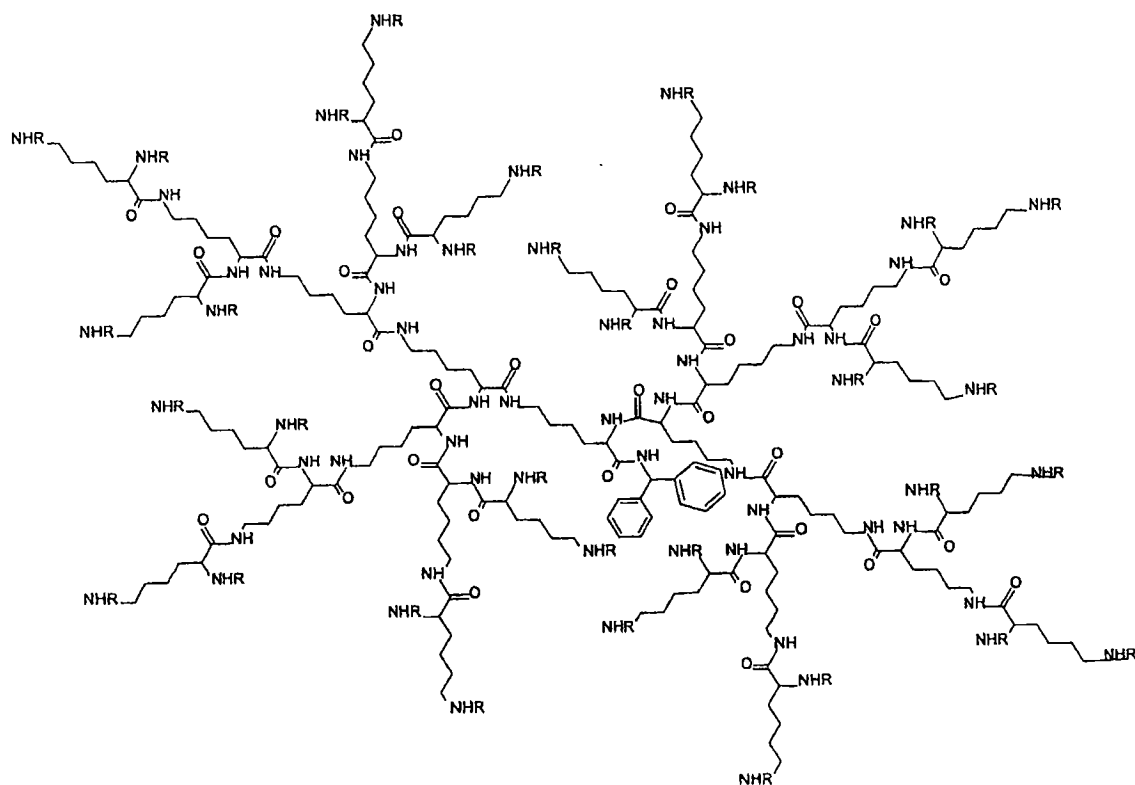
阴道内环境的作用。例如,高渗组合物可导致宫颈粘液硬化,从而防止或阻碍精子进入子宫颈。其他组合物可在其在阴道内与精液接触时形成基质,该基质俘获精子并限制其到达子宫颈的能力。维持阴道的酸性环境也可辅助灭活精子,尤其是在射精后阴道 pH 从约 4 升高到“对精子更友好的”中性至略碱性环境时。

[0028] 或者,避孕组合物可诱导顶体丧失。顶体含有允许精子穿入卵子中的酶。与之类似,需要透明质酸酶来分散卵子周围的卵泡细胞,从而允许精子穿透。照此,抑制该酶的组合物可具有避孕活性。

[0029] 本发明的相同避孕组合物还显示出抗微生物活性。本说明书和权利要求书中使用的术语“抗微生物活性”指组合物或其组分杀死微生物(如细菌、病毒、真菌和寄生虫)或抑制其生长。

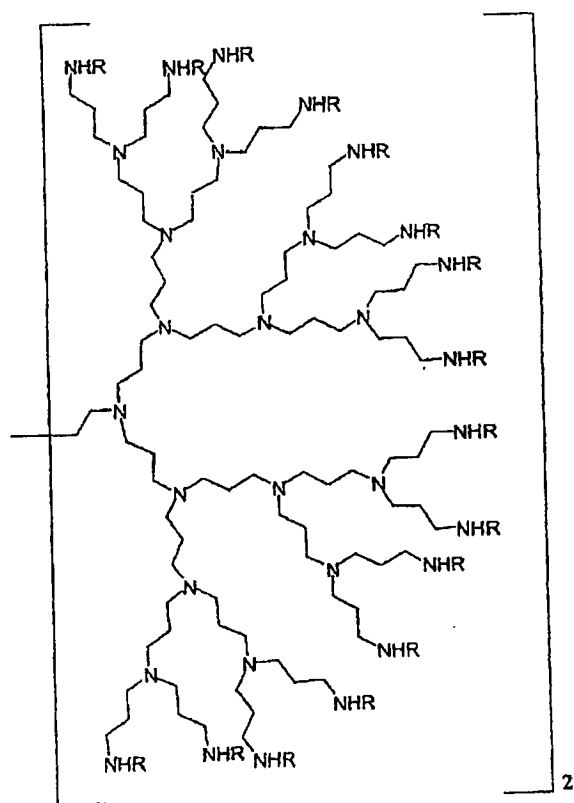
[0030] 本说明书和权利要求书中使用的术语“树枝状化合物”指任何适合的高度分枝的大分子。该树枝状化合物可为任何适合的类型。该树枝状化合物优选包括聚赖氨酸、聚乙二醇(PAMAM)、聚醚胺(PEHAM)或聚丙烯亚胺树状物支架。该树枝状化合物更优选选自式 I、II 或 III 的化合物:

[0031]



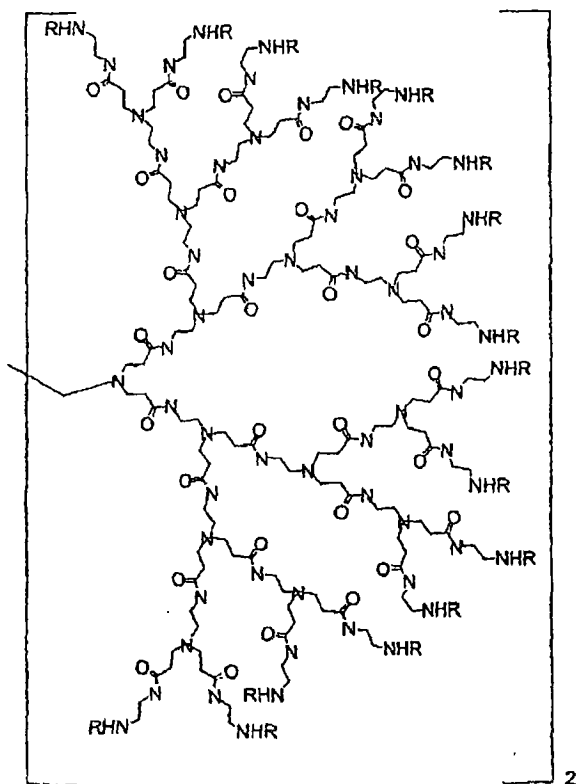
I

[0032]



II

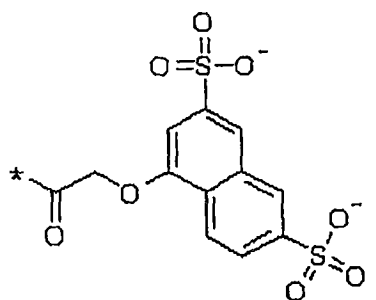
[0033]



III

[0034] 其中 R 代表式 IV 的基团：

[0035]



IV.

[0036] 相应地,本发明第一方面提供有效量的包含一个或多个萘基二磺酸表面基团的树枝状化合物,或所述树枝状化合物的药学上可接受的盐或溶剂化物;和用于其的药学上可接受的载体、赋形剂和/或稀释剂。尤其优选式 I 的树枝状化合物。

[0037] 该树枝状化合物可以任何适合的量存在于所述避孕组合物中。优选地,基于组合物的总重量,该树枝状化合物以约 0.5wt% 至 70wt% 的量存在于所述组合物中。更优选地,基于组合物的总重量,该树枝状化合物的存在量为 1wt% 至 50wt%,最优选 1wt% 至 30wt%。

[0038] 适合的药学上可接受的碱加成盐包括,但不限于:金属盐,如铝盐、钙盐、锂盐、镁盐、钾盐、钠盐和锌盐;及由有机胺如 N,N'-二苄基乙二胺、氯普鲁卡因、二乙醇胺、乙二胺、二环己基胺、葡甲胺(N-甲基葡糖胺)和普鲁卡因制成的有机盐;季胺(如胆碱)的盐以及铊盐和磷鎓盐。

[0039] 避孕组合物可为局部应用的组合物,优选以泡沫、凝胶、乳膏、膜等形式提供。适合的药学上可接受的载体、赋形剂和稀释剂可包括以下的一种或多种:任何及全部适合于局部施用的常规溶剂、分散介质、填料、固体载体、水溶液、包衣、媒介物,其他用于药学活性物质的抗微生物剂、等渗及吸收增强或延迟剂、活性增强或延缓剂;并且是本领域所熟知的。它们描述于例如在 Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Edition, Mack Publishing Company, Pennsylvania, USA 中。除与活性剂不相容的任何常规载体、赋形剂或稀释剂之外,考虑其在本发明的避孕组合物中的应用。

[0040] 适合于局部施用的载体包括水包油和油包水乳剂、白软石蜡、吸水性软石蜡、羊毛脂乳剂、聚乙二醇类、可可脂、粘膜粘着剂、胶凝剂、缓冲剂、润滑油(如水溶性油,包括如聚乙二醇)、润滑凝胶(包括如水、丙二醇、羟乙基纤维素、苯甲酸和氢氧化钠)、水溶性油(包括如甘油、丙二醇、聚季铵 #5、对羟苯甲酸甲酯和对羟苯甲酸丙酯)、乳膏(包括如苯甲醇、棕榈油、十六烷基酯、蜡、辛基十二烷醇、聚山梨酯 60、净化水、和脱水山梨醇单硬脂酸酯)等。

[0041] 所述载体、赋形剂和/或稀释剂优选包括氢氧化钠、水溶性油、粘膜粘着剂、胶凝剂、缓冲剂、润滑凝胶、丙二醇、甘油和水中的一种或多种。

[0042] 所述载体、赋形剂和/或稀释剂更优选包括氢氧化钠、水溶性油、卡波普®、丙二醇、甘油、羟乙基纤维素和水中的一种或多种。它们更优选包括氢氧化钠、EDTA 二钠二水合物(EDTA·2Na·2H₂O)、对羟苯甲酸甲酯、对羟苯甲酸丙酯、卡波普® 971P、丙二醇、甘油、和净化水相组合。

[0043] 在一个优选的实施方案中,所述避孕组合物还可显示出抗微生物活性。该抗微生物

物活性优选针对引发性传播感染 (STI) 的微生物。本发明的避孕组合物可以足以预防性传播感染的量施用。该量可取决于有待预防的特定性传播感染,和个体患者参数,包括年龄、身体健康状况、身材大小、体重及并行治疗。这些因素为本领域普通技术人员所熟知,只需通过常规实验便可确定。

[0044] STI 的常见病原包括,但不限于乳头瘤病毒、沙眼衣原体、白色念珠菌、阴道毛滴虫、单纯疱疹病毒 (HSV)、巨细胞病毒 (CMV)、淋病奈瑟氏菌、人免疫缺陷病毒 (HIV)、苍白密螺旋体、乙型肝炎病毒和丙型肝炎病毒 (HBV 和 HCV)、肉芽肿鞘杆菌、杜克雷嗜血杆菌、疥螨、阴虱、支原体、阴道加德那菌。

[0045] 所述抗微生物活性优选是抗病毒活性,表现出对抗性传播病毒包括 HIV、HSV、HCV、HBV、人乳头瘤病毒 (HPV) 和 CMV 的活性。

[0046] 本发明的避孕组合物还可包括第二药理学活性成分,例如,但不限于,选自麻醉药、镇痛药、抗寄生虫药、抗细菌药、抗体、抗病毒药、抗真菌药、抗炎药、抗原生动物药、抗感染药、抗微生物药、生物制剂、避孕药、激素及类似物、矿物质、肌肉松弛药、天然产物、营养药品和营养品、疼痛治疗剂、肽和多肽及维生素中的一种或多种化合物。

[0047] 所述第二药理学活性成分优选选自第二杀微生物成分、杀精剂和避孕剂中的一种或多种。第二药理学活性成分可选自,但不限于,鬼臼树脂、四环素、制霉菌素、氟康唑、甲硝唑、阿昔洛韦、青霉素、头孢噻肟、壮观霉素、立妥威、红霉素、头孢曲松、复方新诺明、复方新诺明、苯甲酸苄酯、马拉硫磷、孟苯醇醚、孕激素、雌激素、雌二醇等中的一种或多种。其他适合于防止受孕 (避孕) 及优选预防 STI 的合适的第二药理学活性成分为本领域技术人员所知。

[0048] 还提供了避孕抗微生物组合物,其包括:有效量的包含一个或多个萘基二磺酸表面基团的树枝状化合物,或所述树枝状化合物的药学上可接受的盐或溶剂化物;和用于其的药学上可接受的载体、赋形剂和 / 或稀释剂。

[0049] 该组合物可用于选择性地减少或防止受孕,及预防性传播感染,尤其是病毒性性传播感染。

[0050] 本发明再一方面提供选择性地减少或防止雌性动物 (包括人) 受孕的方法,该方法包括给动物施用有效量的避孕组合物,该组合物包括有效量的包含一个或多个萘基二磺酸表面基团的树枝状化合物,或所述树枝状化合物的药学上可接受的盐或溶剂化物;和用于其的药学上可接受的载体、赋形剂和 / 或稀释剂。

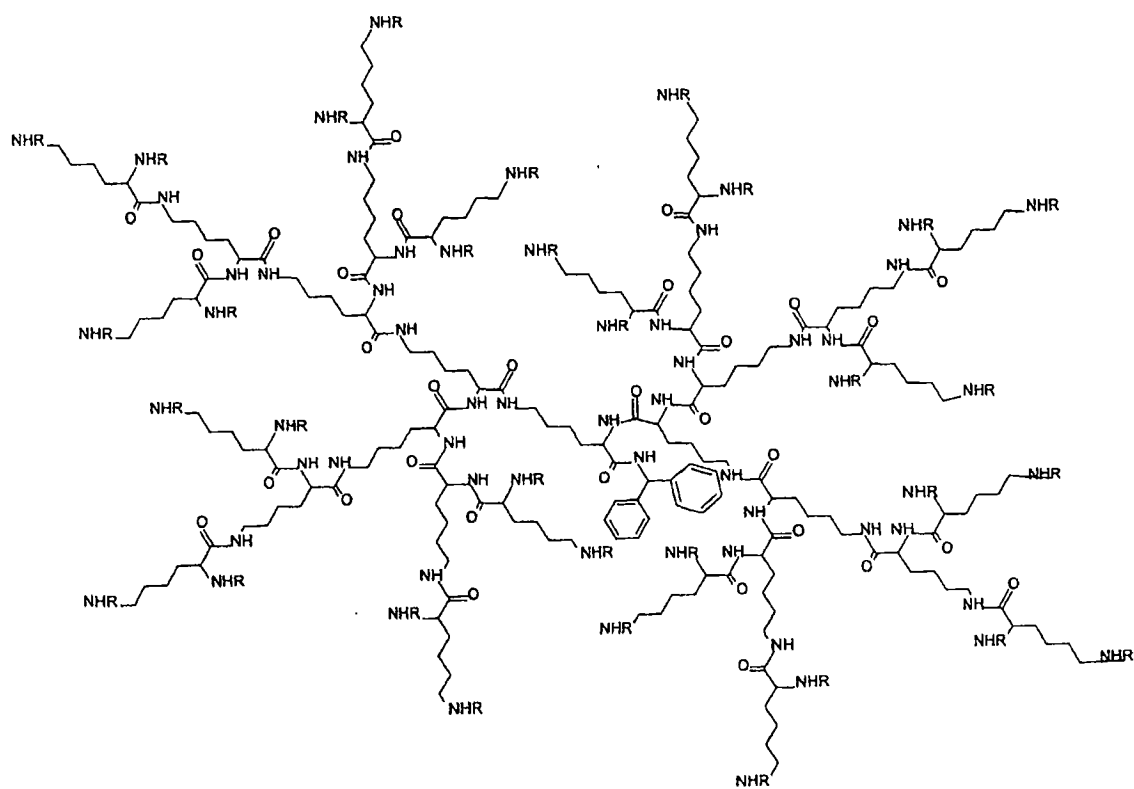
[0051] 该避孕组合物可在任何时间施用,即在性交前和 / 或性交过程中和 / 或性交后,但优选在性交前和 / 或性交过程中施用。

[0052] 包括于本发明的方法中的所述避孕组合物可如上所述还包括第二药理学活性成分。

[0053] 上述树枝状化合物还可用于制备选择性地减少或防止雌性动物受孕的药物。

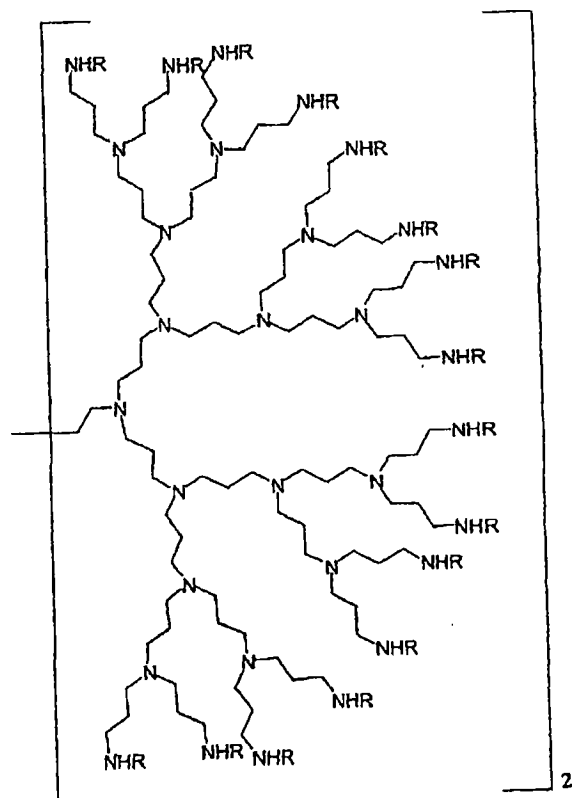
[0054] 所述树枝状化合物优选包括聚赖氨酸、聚乙二醇 (PAMAM)、聚醚胺 (PEHAM) 或聚丙烯亚胺树状物支架。该树枝状化合物更优选选自式 I、II 或 III 的化合物:

[0055]



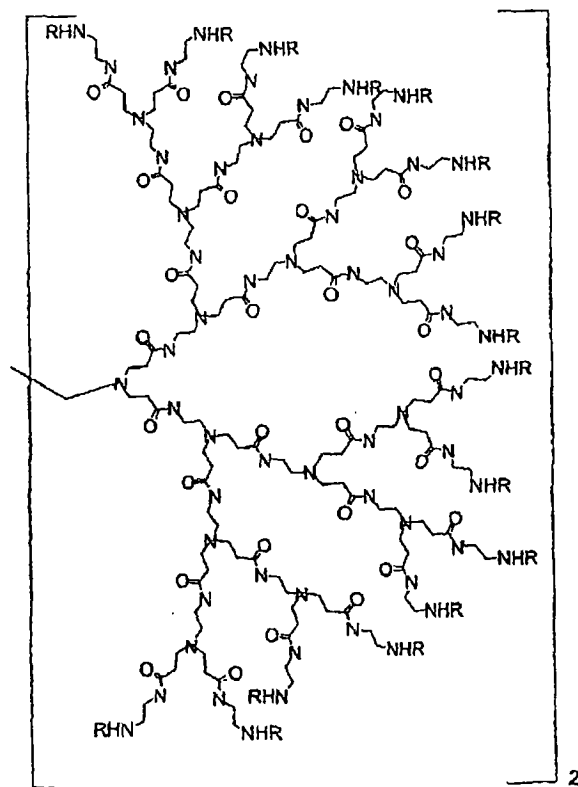
I

[0056]



II

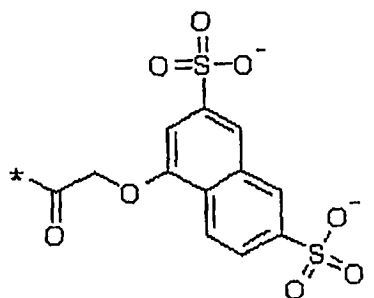
[0057]



III

[0058] 其中 R 代表式 IV 的基团：

[0059]



IV

[0060] 尤其优选式 I 的树枝状聚合物。

[0061] 本发明另一方面提供选择性地减少或防止雌性动物（包括人）受孕并预防一种或多种性传播感染的方法。该方法包括给动物施用有效量的避孕组合物，该组合物包括有效量的包含一个或多个萘基二磺酸表面基团的树枝状化合物，或所述树枝状化合物的药学上可接受的盐或溶剂化物；和用于其的药学上可接受的载体、赋形剂和 / 或稀释剂。

[0062] 所预防的 STI 优选是病毒性 STI，包括 HIV、HSV、HBV、HCV、HPV 和 CMV 感染。

[0063] 上述树枝状化合物还可用于制备选择性地减少或防止雌性动物受孕并预防一种或多种性传播感染的药物。

[0064] 在本发明再一方面，该避孕组合物可负载于与之相容的预防性装置的表面上。相应地，提供了选择性地减少或防止雌性动物（包括人）受孕的方法，该方法包括提供有效量的避孕组合物，该避孕组合物包括：包含一个或多个萘基磺酸表面基团的树枝状化合物，或

所述树枝状化合物的药学上可接受的盐或溶剂化物；和用于其的药学上可接受的载体、赋形剂和 / 或稀释剂；和预防性装置；该避孕组合物负载在所述预防性装置的表面并与其相容。

[0065] 所述预防性装置可为任何适合的类型。可使用避孕套、宫颈帽、避孕隔膜、阴道海绵、宫内装置、阴道栓等。优选避孕套。

[0066] 所述树枝状化合物可以任何适合的方式接触所述预防性装置的表面。例如，可将所述树枝状化合物包被在所述预防性装置的一个或多个表面上或浸渍入所述预防性装置的一个或多个表面中。所述树枝状化合物可共价结合到所述预防性装置的一个或多个表面。

[0067] 根据本发明的方法的树枝状化合物可以足以防止怀孕的量施用。

[0068] 例如，包括在本发明避孕组合物中的树枝状化合物的量可为 0.5wt% 到 70wt%，基于所述组合物的总重量。

[0069] 所施用的避孕组合物的量可在 0.1 至 10g 的范围内，优选在 0.5 至 8g 的范围内，更优选在 1 至 5g 的范围内。

[0070] 在一个优选的实施方案中，上述方法中使用的避孕组合物还可如上述显示出抗微生物活性。

[0071] 本发明的更多特征将体现在下列实施例中，包含这些实施例仅旨在例示而非限制本发明。

[0072] 实施例

[0073] 实施例 1- 避孕组合物 (3% w/w 活性剂) 的制备

[0074] 表 1. 3% w/w 避孕组合物的成分

[0075]

成分	专著	每批次的量 (kg)
赋形剂		
氢氧化钠 (NF)	NF	0.1443
EDTA 二钠二水合物 (USP)	USP	0.010
对羟苯甲酸甲酯 (NF)	NF	0.018
对羟苯甲酸丙酯 (NF)	NF	0.002
卡波普 [®] 971P (NF)	NF	0.500
丙二醇 (USP)	USP	0.100
甘油 (USP)	USP	0.100
净化水 I	USP	1.804
净化水 II	USP	8.370
活性药学成分		
SPL7013		0.339

[0076] 实验方案

[0077] i. 在制备前清洗设备。

[0078] ii. 在不锈钢罐中将氢氧化钠 (NF) 溶解于净化水中。

[0079] iii. 在不锈钢容器中将 EDTA 二钠二水合物 (USP) 加入到净化水中，用高剪切混合器搅拌至溶解。

- [0080] iv. 分别加入对羟苯甲酸甲酯 (NF) 和对羟苯甲酸丙酯 (NF), 混合至完全分散。
- [0081] v. 缓慢加入卡波普® 971P (NF), 搅拌混合物至卡波普® 971P (NF) 完全分散, 并形成平滑凝胶。
- [0082] vi. 将丙二醇 (USP) 和甘油 (USP) 加入到所述容器管中, 混合溶液至内容物完全分散。
- [0083] vii. 加入步骤 ii 所得的氢氧化钠溶液至 pH 大于 4.0。
- [0084] viii. 加入经计算产生 3% w/w 凝胶的适量 SPL7013。
- [0085] ix. 加入步骤 ii 所得的氢氧化钠溶液至达到所期望的 pH, 如 pH4.5 或 pH5.0。
- [0086] x. 测量 pH 后, 加入净化水至总体积, 混合溶液直至所有成分分散, 并形成均质凝胶。
- [0087] xi. 测量批量产率。
- [0088] 实施例 2- 杀精活性测试
- [0089] 进行改进的 Sander-Cramer 测定来评价本发明的避孕组合物的杀精活性。此测定法测定精子制动的最小有效浓度 (MEC)。
- [0090] 从 2% (对于水溶性化合物) 或 4% (对于水不溶性化合物) 的储液制备 2 倍连续稀释液。将 250 μ L 每一稀释液与 50mL 含有 60×10^6 活动精子/mL 的正常精液样品混合。在 CASA 系统 (Hamilton-Thorne,IVOS ;Beverly,MA) 的辅助下评价精子样品是否正常。将精液与化合物等份试样用显微镜检查, 同时于室温下温育 30 秒钟。如果在初始检查中或在培养基中温育 1 小时后观察到任何活动的精子, 则将该稀释液标记为“失败”。用诱导精子完全制动的最高稀释度计算给定化合物的 MEC。用 6 至 10 个精液样品获得更可靠的结果。将 N9 (MEC = ~ 0.1 - 0.2 mg/mL) 和溶剂用作对照。显示 MEC 小于 1mg/mL 的化合物具有强有力的精子制动活性。
- [0091] 结果与结论
- [0092] 本发明的组合物被标记为“失败”, 未能确定 MEC。
- [0093] 看来本发明的组合物的避孕活性并非杀精活性的结果。对照试剂 N9 的杀精活性是由于此试剂的细胞毒性。因此, 所述避孕组合物无杀精活性提示其与 N9 不同, 且其不会对人具有细胞毒性。
- [0094] 实施例 3 在兔中的避孕有效性
- [0095] 新西兰白兔的典型精液中含有约 $2-3 \times 10^8$ 个精子, 如果将其通过插管递送到宫颈阴道, 则将递送约 5000 个半数受精剂量 (FD_{50})。如在本文中使用, 一个半数受精剂量定义为将导致给定兔群体中 50% 怀孕的精子量。相比之下, 人的精液递送小于 1 个 FD_{50} 。因此, 为了与预测在人中的避孕效力更相关, 应将待测试剂和精子都递送到宫颈阴道, 且递送的总精子数应该降低。
- [0096] 将兔的实验方案用于测试多种制剂, 包括羟基纤维素 (HEC) 安慰剂凝胶。如表 2 所示分配实验受试者。
- [0097] 表 2- 研究中涉及的兔数目
- [0098]

实验物质	兔数目
羟乙基纤维素 (HEC)-(无活性的对照组合物)	11

活性成分在 HEC 中	8
活性成分在实施例 1 的制剂中	8

[0099] 用 1ml 注射器上的 30 号针头皮下注射 100 IU 的人绒毛膜促性腺激素 (0.1ml ; Sigma) 准备雌性新西兰兔 (~ 71bs = ~ 3kg)。用连于 5ml 注射器的聚乙烯输液管的软插管将待测制剂 (2ml) 投递到兔宫颈阴道内。将从 2 只雄兔中收集的新鲜兔精液合并并用兔精浆稀释 5 倍。施用待测制剂后 5 分钟, 将 0.5ml 经稀释的精液 (用 0.4ml 精浆稀释的 0.1ml 精液) 投递到宫颈阴道中与待测制剂相同的区域。这一授精剂量递送 ~ 10 个 FD₅₀, 其足以产生平均 7 个胚胎 / 兔。

[0100] 避孕效力测定如下: 通过授精后 15 天处死动物, 解剖分离出子宫角以确定动物是否怀孕, 而对怀孕的动物, 计数植入胚胎数。

[0101] 结果

[0102] 表 3- 避孕有效性研究的结果

[0103]

实验物质	怀孕兔数	相对于 HEC 安慰剂凝胶对照组的 P 值 *	所有兔的总胚胎数	相对于 HEC 安慰剂凝胶对照组的 P 值 ^
HEC	11 只中 9 只	参照值	79 个胚胎	参照值
活性成分在 HEC 中	8 只中 2 只	0.024	2 个胚胎	0.005
活性成分在实施例 1 的制剂中	8 只中 2 只	0.024	13 个胚胎	0.03

[0104] *Fisher 精确双尾检验

[0105] ^ 曼 - 怀二氏非配对双尾检验

[0106] 因此, 当与 HEC 安慰剂凝胶相比时, 在 HEC 中或实施例 1 的制剂中的活性成分在兔模型中显示出显著的避孕效应。比较 HEC 中和实施例 1 的制剂中的活性成分的避孕效应, 差异不显著。

[0107] 完成上述测试后, 进行试验性观察以估计避孕效力的持续时间, 结果总结于下表:

[0108] 表 4- 避孕效力的持续时间

[0109]

施用待测试剂后递送授精剂量的时间	HEC 对照动物 (5 只中 5 只怀孕, 37 个胚胎)	HEC 中的活性成分	实施例 1 的制剂中的活性成分
6 小时			1 只中 0 只怀孕, 0 个胚胎
22-24 小时		1 只中 0 只怀孕, 0 个胚胎	1 只中 0 只怀孕, 0 个胚胎
48 小时			3 只中 1 只怀孕, 13 个胚胎
7 天			2 只中 2 只怀孕, 16 个胚胎

[0110] 结合这些试验性结果显示,活性成分在 HEC 中的制剂或根据实施例 1 的制剂在施用后~24 小时是高度有效的避孕药。基于对怀孕率或胚胎数的分析对表 4 中数据的统计学分析显示,(i) 怀孕率:通过 Fisher 精确两尾检验 $P = 0.05$;(ii) 胚胎:通过曼-怀二氏非配对非参数两尾检验 $P = 0.016$ 。另外,48 小时和 7 天的结果强烈提示此避孕效应是可逆的。

[0111] 结论

[0112] 在 HEC 中配制或根据实施例 1 的本发明组合物,在人工授精前 5 分钟递送时(表 3),及在授精前~24 小时递送时(表 4),在所述兔模型中显示出显著的避孕效应。

[0113] 实施例 4- 评价本发明的避孕组合物对 HSV-2 易感性的影响的研究

[0114] 进行研究,通过测量小鼠对 2 型单纯疱疹病毒(HSV-2)感染的易感性,以检测本发明的避孕组合物的潜在的不良效应,所述病毒通常引发生殖器疱疹。这是重要的,因为杀精组合物如 N9 已被提出可削弱天然的阴道屏障并显著增加对总体 STI 感染的易感性。

[0115] 美国 Baltimore 的 Johns Hopkins 大学的 Richard Cone 用小鼠 HSV-2 阴道传播模型评价了与杀精剂和可导致对病原体(如 HSV-2)易感的其他避孕组合物关联的毒性。

[0116] 方法

[0117] 小鼠模型

[0118] 在评价易感性前,用孕激素(Depo **Provera**®,乙酸甲羟孕酮)处理 6-8 周龄的雌性 CF-1 小鼠(Harian, Indianapolis, IN, USA),以增加 HSV-2 易感性,并使所述小鼠比处于不同动情周期阶段的小鼠就易感性而言更均一。

[0119] 病毒接种物

[0120] 5×10^8 TCID₅₀/mL 的 HSV-2G 株

[0121] 操作步骤

[0122] 将 20 μ L 本发明的避孕组合物施用于阴道,12 小时后施用于 10 μ L Bartels 培养液中递送的 HSV-2 低剂量接种物(0.1 ID₅₀)。对照动物接受 20 μ L PBS 替代待测产品。

[0123] 在施用待测产品后 12 小时递送病毒接种物的原因是之前的实验(参考文献: Cone RA, Hoen TE, Wang XX & Moench TR. Microbicidal Detergents Increase HSV Susceptibility in Mice Without Causing Visible Epithelial Defects. Abstract # 02421, "Microbicides 2004" Conference, London, UK; March 2004) 显示这是施用 N9 后出现对 HSV-2 感染的易感峰值的时间。

[0124] 本研究中,共 40 只小鼠接受了本发明的避孕组合物,并且共 40 只小鼠接受了 PBS。

[0125] 结果

[0126] 经本发明的避孕组合物处理的 40 只小鼠中仅 1 只感染 HSV-2。相比之下,对照组中 40 只小鼠中有 7 只感染。换言之,施用本发明的避孕组合物后易感性未增加。

[0127] 之前的研究中,经 N9 处理的 42 个动物中有 29 个感染,经杀精成分 1 处理的 30 个动物中有 20 个感染,经杀精成分 2 处理的 41 个动物中有 25 个感染。

[0128] 为测定之前研究中小鼠的相对易感性,对用待测产品处理的每组小鼠,用 PBS 处理两组对照小鼠。一个对照组接种 0.1 ID₅₀,而另一组接种 10 ID₅₀。然后用每个对照组中感染的动物分数构建剂量-响应图(感染分数相对于 log ID),在低剂量点和高剂量点之间画线性内插。然后将实验组中感染的小鼠分数标绘在此图上,以确定此实验组中低剂量接种

物的有效 ID。相对易感性定义为递送到实验小鼠的低剂量接种物的有效 ID 除以其递送到对照动物的 ID。

[0129] 经 N9 处理的动物比对照动物对 HSV-2 感染 29.7 倍更易感 ($P < 0.001$, Fishers 精确两侧 t 检验), 而经杀精成分 1 和杀精成分 2 处理的动物分别为 29.1 倍 ($P < 0.001$) 和 17.5 倍 ($P < 0.001$) 更易感。

[0130] 结论

[0131] 本发明的避孕组合物不表现出在 HSV-2 感染小鼠模型中导致易感性增加。本研究表明所述避孕组合物无细胞毒性, 且提示这对用于人将是安全的。N9 和其他杀精杀微生物剂可导致易感性增加 (参考文献: Cone RA, Hoen TE, Wang XX & Moench TR. Microbicidal Detergents Increase HSV Susceptibility in Mice Without Causing Visible Epithelial Defects. Abstract # 02421, "Microbicides 2004" Conference, London, UK; March 2004)。

[0132] 实施例 5- 卡波普® 凝胶中 3% w/w 活性成分的避孕套相容性研究

[0133] 阴道制剂中的某些特定成分可损害避孕套完整性。用此方法测定本发明的组合物对避孕套的影响。

[0134] 单独包装的由天然橡胶胶乳制成的一次性男性避孕套符合 ASTM 编号 D3492-97 (美国测试和材料学会, 橡胶避孕物的标准规格, 男性避孕套) 检测方法规定的特定最低要求。该检测方法设计为确保避孕套质量始终如一。测定经处理和未处理避孕套的下列参数: 爆裂压力、爆裂容积、长度、厚度和宽度。如果组合物损害避孕套, 预期爆裂压力和爆裂容积会较低。避孕套长度也可能受影响。

[0135] 对于所有检测, 将避孕套从其单独包装中取出并展开。用软刷将每个避孕套全长涂敷本发明组合物的凝胶制剂。将单个避孕套放在有衬托盘上, 并于 37°C 和 90% 相对湿度下温育不少于 1 小时。每个温育期后, 并在检测前, 用干的非磨砂性布除去避孕套上的过量凝胶。依次检测每个经处理避孕套的空气爆裂压力和容积。通过对未处理避孕套和用缺乏任何活性药学成分的安慰剂凝胶处理的避孕套进行类似检测而得到基线数据, 以进行比较。

[0136] 表 5 中提供了这些实验的数据。

[0137] 表 5- 暴露于避孕组合物不少于 1 小时后乳胶避孕套的空气爆裂压力和容积

[0138]

避孕套 类型	避孕套 批次	平均爆裂容积, L (n=80)			观察到的变化		
		基线	安慰剂	经 SPL7013 处理的	基线 - 安 慰剂	基线 - 经 处理的	安慰剂 - 经处理的
乳胶, 非润滑 的	1	42.8 (2.4)	43.7 (2.7)	45.4 (2.6)	0.9 (0.3)	2.6 (0.2)	1.7 (-0.1)
	2	44.0 (2.6)	44.6 (2.2)	45.6 (3.5)	0.6 (-0.4)	1.6 (0.9)	1.0 (1.3)
	3	43.9 (2.1)	44.0 (2.5)	44.7 (5.4)	0.1 (0.4)	0.8 (3.3)	0.7 (2.9)
乳胶, 硅酮润 滑的	1	40.7 (3.1)	42.5 (3.5)	42.6 (4.0)	1.8 (0.4)	1.9 (0.9)	0.1 (0.5)
	2	42.0 (3.2)	42.2 (3.3)	44.1 (2.6)	0.2 (0.1)	2.1 (-0.6)	1.9 (-0.7)
	3	42.1 (3.7)	44.5 (3.1)	43.9 (3.0)	2.4 (-0.6)	1.8 (-0.7)	-0.6 (-0.1)
乳胶, 水基润 滑剂	1	43.4 (2.8)	42.3 (4.2)	43.5 (4.2)	-1.1 (1.4)	0.1 (1.4)	1.2 (0.0)
	2	45.3 (2.7)	44.6 (3.7)	45.1 (4.0)	-0.7 (1.0)	-0.2 (1.3)	0.5 (0.3)
	3	44.1 (3.1)	42.5 (2.8)	44.5 (4.2)	-1.6 (-0.3)	0.4 (1.1)	2.0 (1.4)

[0139]

避孕套类型	避孕套批次	平均爆裂压力, kPa (n=80)			观察到的变化		
		基线	安慰剂	经 SPL7013 处理的	基线 - 安慰剂	基线 - 经处理的	安慰剂 - 经处理的
乳胶, 非润滑的	1	2.0 (0.1)	1.9 (0.1)	1.9 (0.1)	-0.1 (0.0)	-0.1 (0.0)	0.0 (0.0)
	2	2.1 (0.1)	2.0 (0.1)	2.0 (0.1)	-0.1 (0.0)	-0.1 (0.0)	0.0 (0.0)
	3	2.0 (0.1)	1.9 (0.1)	1.9 (0.1)	-0.1 (0.0)	-0.1 (0.0)	0.0 (0.0)
乳胶, 硅酮润滑的	1	1.6 (0.1)	1.6 (0.1)	1.6 (0.1)	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)
	2	1.7 (0.1)	1.6 (0.1)	1.7 (0.1)	-0.1 (0.0)	0.0 (0.0)	0.1 (0.0)
	3	1.6 (0.1)	1.5 (0.1)	1.5 (0.1)	-0.1 (0.0)	-0.1 (0.0)	0.0 (0.0)
乳胶, 水基润滑剂	1	2.1 (0.1)	2.1 (0.2)	2.0 (0.2)	0.0 (0.1)	-0.1 (0.1)	-0.1 (0.0)
	2	2.2 (0.1)	2.2 (0.1)	2.2 (0.2)	0.0 (0.0)	0.0 (0.1)	0.0 (0.1)
	3	2.1 (0.1)	2.1 (0.1)	2.1 (0.2)	0.0 (0.0)	0.0 (0.1)	0.0 (0.1)

[0140] 除了检测空气爆裂压力和容积外,还研究了经本发明组合物的凝胶制剂处理后避孕套的拉伸强度。在这些检测中,将避孕套从其单独包装中取出并展开。根据 ISO 4074 : 2002 从所述避孕套剪下避孕套材料的待测小片,并将这些小片放在有衬托盘上。剪下的避孕套待测小片全部用所述凝胶包被,放在有衬托盘上,并于 37℃ 和 90% 相对湿度下温育不少于 1 小时。温育期后,并在检测前,用异丙醇除去样品小片上的过量润滑剂,并使待测小片完全干燥。根据 ISO 4074 : 2002 规定的操作步骤测定待测小片的拉伸强度。

[0141] 表 6 提供了这些测定的数据。

[0142] 表 6- 暴露于避孕组合物不少于 1 小时后乳胶避孕套待测小片的拉伸强度和延伸性质

[0143]

避孕套类型	避孕套批次	拉伸强度, N			观察到的变化		
		基线	安慰剂	经 SPL7013 处理的	基线 - 安慰剂	基线 - 经处理的	安慰剂 - 经处理的
乳胶, 非润滑的	1	83	79	78	-4	-5	-1
	2	84	81	79	-3	-5	-2
	3	85	83	80	-2	-5	-3
乳胶, 硅酮润滑的	1	49	49	45	0	-4	-4
	2	52	50	47	-2	-5	-3
	3	59	45	49	-14	-10	+4
乳胶, 水基润滑剂	1	92	87	89	-5	-3	+2
	2	97	86	90	-11	-7	+4
	3	83	79	83	-4	0	+4
避孕套类型	避孕套批次	% 延伸率			观察到的变化		
		基线	安慰剂	经 SPL7013 处理的	基线 - 安慰剂	基线 - 经处理的	安慰剂 - 经处理的
乳胶, 非润滑的	1	898	841	845	-57	-53	+4
	2	891	834	837	-57	-54	+3
	3	896	847	846	-49	-50	-1
乳胶, 硅酮润滑的	1	814	813	798	-1	-16	-15
	2	801	807	794	+6	-7	-13
	3	831	795	808	-36	-23	+13
乳胶, 水基润滑剂	1	825	828	837	+3	+12	+9
	2	833	821	836	-12	+3	+15
	3	807	803	815	-4	+8	+12

[0144] 结果

[0145] 通过空气爆裂特性和拉伸强度测量的涂有避孕组合物和安慰剂组合物的避孕套的完整性未受所述避孕组合物损害。

[0146] 将认识到,可以对本文宽泛描述的发明作出除具体描述以外的变化和改动,而不偏离本发明的精神和范围。要理解本发明延伸至包括所有这些变化和改动。还将理解在本说明书中公开并定义的发明延伸至所提到的或从文本或附图显而易见的两种或多种个别特征的所有替代组合。所有这些不同组合构成本发明的多种不同替代方面。