



## (12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 114452298 A

(43) 申请公布日 2022.05.10

(21) 申请号 202210078304.4

A61K 31/675 (2006.01)

(22) 申请日 2014.12.19

A61K 47/36 (2006.01)

(30) 优先权数据

61/918,445 2013.12.19 US

A61K 47/12 (2006.01)

A61P 31/18 (2006.01)

(62) 分案原申请数据

201480075975.9 2014.12.19

A61P 1/16 (2006.01)

A61P 31/14 (2006.01)

(71) 申请人 伊沃菲姆股份有限公司

A61P 31/22 (2006.01)

地址 美国加利福尼亚州

A61P 15/00 (2006.01)

A61P 15/18 (2006.01)

(72) 发明人 W·格斯里 盖瑞·哈恩

A61P 15/02 (2006.01)

(74) 专利代理机构 永新专利商标代理有限公司

A61P 31/02 (2006.01)

72002

A61P 31/10 (2006.01)

专利代理人 刘鸿林 张晓威

A61P 33/02 (2006.01)

(51) Int.Cl.

A61K 31/734 (2006.01)

A61K 31/19 (2006.01)

权利要求书2页 说明书16页

(54) 发明名称

使用基于藻酸的抗微生物化合物抑制炎症  
和疾病的组合物和方法

(57) 摘要

本公开内容涉及使用基于藻酸的抗微生物化合物抑制炎症和疾病的组合物和方法,更具体地涉及一种避孕杀微生物组合物,其包含约1-10%藻酸、约1-10%生物粘附化合物和约1-10%L-乳酸,其中所述藻酸具有100,000至200,000的平均分子量和约0.25至约2.0的甘露糖醛酸:古洛糖醛酸残基之比,并且其中所述组合物在不与精液接触时具有非基质态,并在与精液接触时具有基质态,其中所述组合物实质上不含D-乳酸。

1. 一种避孕杀微生物组合物,其包含约1-10%藻酸、约1-10%生物粘附化合物和约1-10%L-乳酸,其中所述藻酸具有100,000至200,000的平均分子量和约0.25至约2.0的甘露糖醛酸:古洛糖醛酸残基之比,并且其中所述组合物在不与精液接触时具有非基质态,并在与精液接触时具有基质态,其中所述组合物实质上不含D-乳酸。
2. 根据权利要求1所述的组合物,其中所述藻酸的甘露糖醛酸:古洛糖醛酸残基之比为约0.3至约1.5或约0.5至约1.2。
3. 根据权利要求1所述的组合物,其包含约3-5%藻酸、约2.5-6%生物粘附化合物和约1-7%L-乳酸。
4. 根据权利要求1所述的组合物,其中所述生物粘附化合物选自黄原胶、藻酸、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、壳聚糖、聚卡波非和卡波姆。
5. 根据权利要求1所述的组合物,其具有约1.5至约3.5的pH。
6. 根据权利要求1所述的组合物,其具有一种或多种缓冲剂、增稠剂、和/或防腐剂。
7. 根据权利要求6所述的组合物,其中所述缓冲剂选自柠檬酸、酸性酒石酸钾、苯甲酸、山梨酸、富马酸、抗坏血酸、硬脂酸、油酸、酒石酸、酒石酸氢钾、依地酸、乙二胺四乙酸、乙酸、和苹果酸。
8. 根据权利要求6所述的组合物,其中所述增稠剂选自黄原胶、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、壳聚糖、聚卡波非、卡波姆、吉兰糖胶、泊洛沙姆、角叉藻聚糖、和iota角叉藻聚糖。
9. 根据权利要求6所述的组合物,其中所述防腐剂选自苯甲酸、苯甲酸钠、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸乙酯、对羟基苯甲酸丁酯、对羟基苯甲酸丙酯、苯扎氯铵、硝酸苯汞、和氯己定。
10. 根据权利要求1所述的组合物,其进一步包含药学上可接受的载体。
11. 根据权利要求1所述的组合物,其中所述药学上可接受的载体是水或凡士林。
12. 一种避孕杀微生物组合物,其包含约3-5%藻酸、约2.5-6%生物粘附化合物和约1-7%L-乳酸,其中所述藻酸的甘露糖醛酸:古洛糖醛酸残基之比为约0.25至约2.0;并且其中所述藻酸具有100,000至200,000的平均分子量,其中所述组合物实质上不含D-乳酸。
13. 根据权利要求12的组合物,所述组合物具有约1.5至约3.5的pH。
14. 根据权利要求1-13之一所述的组合物在制备用于防止怀孕或者降低性传播疾病的传播风险的药物中的应用。
15. 根据权利要求14所述的应用,其中所述药物被配制为用于在性活动之前或之后局部施用。
16. 根据权利要求15所述的应用,其中所述药物被配制为用于在性活动之前至少15分钟,或至少30分钟,或至少1小时,或至少1.5小时,或至少2小时,或至少2.5小时,或至少3小时,或至少3.5小时,或至少4小时,或至少4.5小时,或至少5小时,或至少6小时,或至少7小时,或至少8小时,或至少9小时,或至少10小时,或至少11小时,或至少12小时施用。
17. 根据权利要求15所述的应用,其中所述药物被配制为用于在性活动之后至少5分钟内,或10分钟内,或15分钟内,或20分钟内,或30分钟内,或45分钟内,或1小时内,或2小时内,或3小时内,或4小时内,或5小时内,或6小时内,或7小时内,或8小时内,或9小时内,或10小时内施用。

18. 根据权利要求14所述的应用,其中所述药物被配制为用于以包含约1-10克、或约3-7克、或约4-6克的所述组合物的剂量施用。

## 使用基于藻酸的抗微生物化合物抑制炎症和疾病的组合物和方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求于2013年12月19日提交的美国临时申请号61/918,445的权益，该临时申请的内容通过引用以其全文并入本文。

### 技术领域

[0003] 本公开内容涉及使用基于藻酸的抗微生物化合物抑制炎症和疾病如性传播疾病的组合物和方法。这样的组合物通过(1)攻击并灭活病毒和其他微生物，以及(2)阻止病毒触发的、侵袭宿主细胞的宿主反应而提供了双重保护。这样的组合物还可以是酸缓冲避孕药的一部分。

### 背景技术

[0004] 性传播疾病(STD)是通过性行为在人之间传播的疾病。STD可由细菌、病毒、原生动物和寄生虫引起。尽管许多STD，尤其是由细菌、原生动物和寄生虫引起的那些STD，可采用抗生素或其他药物治愈，但大多数由病毒引起的STD无法治愈。更确切地说，使用药物来保持病毒水平低于引起症状的水平。在已知的病毒STD中，三种问题最大的是人类免疫缺陷病毒、肝炎病毒和单纯疱疹病毒。

[0005] 人类免疫缺陷病毒(HIV)——获得性免疫缺陷综合征(AIDS)的病原体——是育龄女性中增长最快的死亡原因。在全世界，AIDS的异性传播是AIDS传播的普遍方式，占女性中所有HIV感染的约90%。因此，研究阻断HIV感染的性传播的措施已受到极大关注。由于没有有效的针对AIDS的治疗或疫苗，因此预防措施是目前可以减少HIV传播的主要手段。例如，坚持正确使用安全套是预防HIV传播的有效屏障。然而，在HIV流行的群体中只有针对几乎所有性交都使用安全套才可能显著降低获得感染的风险；这是无法实现的目标，尽管有增加安全套使用的加强的预防计划。

[0006] 肝炎病毒引起肝脏的炎症。最常见的肝炎病毒是以下五种不相关的嗜肝病毒：甲型肝炎(HAV)、乙型肝炎(HBV)、丙型肝炎(HCV)、丁型肝炎(HDV)和戊型肝炎(HEV)病毒。这五种肝炎病毒经由粪-口途径(甲型和戊型肝炎)或经由血液接触(乙型、丙型和丁型肝炎)传播。HAV、HBV和HEV通常可被身体的免疫系统清除。然而，HCV和HBV可引起慢性肝炎。HDV的独特之处在于它仅在HBV的存在下才可以繁殖。然而，HDV的存在加剧了HBV的症状。适当使用安全套可以帮助预防HBV、HCV和HDV的传播。

[0007] 单纯疱疹病毒(HSV)属于病毒家族，已知其中的九种引起人类疾病。这九种人类疱疹病毒引起多种疾病，包括水痘、带状疱疹、单核细胞增多症、第六病和卡波西肉瘤。HSV家族包括被称为HSV-1和HSV-2的两种病毒，它们引起口、唇和/或生殖器的皮肤或粘膜中的水疱。尽管这两种病毒均可感染口或生殖器，但HSV-1主要感染口面组织，而HSV-2主要感染生殖器组织。HSV-1和HSV-2均通过亲密的身体接触传播。疾病控制中心(CDC)估计，14-49岁的人中有六分之一感染HSV-2。尽管安全套的使用可以降低传播HSV的风险，但HSV仍然可以通

过与安全套未覆盖的生殖器皮肤接触而传播。

[0008] 重点已放在开发能够预防和/或减少各种STD的传播的阴道内杀微生物剂上。供局部使用的杀微生物剂的开发代表了安全套使用的重要替代方案。杀微生物剂是杀死或灭活包括病毒在内的致病微生物的任何药剂。根据国际艾滋病保健医师协会 (International Association of Physicians in AIDS CARE) (IAPAC), 杀微生物剂的定义还包括能够阻止或预防感染的干预, 以及用来预防通过性行为的感染的身体自然防御的扩大。

[0009] 在理想情况下, 杀微生物剂在有效的杀微生物浓度下应当没有或几乎没有副作用。因此, 用作杀微生物剂的药物在有效的杀微生物浓度下应当没有或几乎没有免疫抑制活性。此外, 理想的杀微生物剂应当足以承受变化的温度并在变化的pH范围(在阴道的碱性和酸性水平的范围)内可接受地起作用。而且, 它不应消除存在于阴道中并有助于阴道健康的天然有益乳杆菌(*lactobacilli*)。

[0010] 如果局部杀微生物剂还具有避孕能力, 则它们将会更加有益。避孕对于患有STD的女性防止将疾病传播给后代也是重要的, 尤其是因为许多患有STD的女性处于生育年龄。目前, 大部分商购可得的双重用途的杀精子杀微生物剂具有能破坏细胞膜的去污剂成分。使用最广泛的阴道杀精子剂壬苯醇醚-9(N-9)由于其膜破坏特性已显示损伤子宫颈阴道上皮, 引起急性炎性组织反应, 改变阴道微生物群落, 并增大了促进泌尿生殖道中的机会感染的风险。N-9还对阴道和子宫颈细胞有毒, 增大了阴道组织的通透性。它还可以杀死存在于阴道中且通常被视为有益的乳杆菌。乳杆菌产生乳酸和过氧化氢, 它们帮助维持阴道的酸性pH(约pH3.5至5.0)和健康的阴道菌群。在该pH下, 多种导致STD的生物体如HIV失活。

[0011] 阴道乳膏和软膏形式的其他杀微生物剂目前可通过非处方或通过处方获得。其他一些仍然处于各种开发阶段。实例包括辛苯昔醇-9和苯扎氯铵。被设计为控制阴道pH的凝胶也是可获得的, 如AciJel<sup>TM</sup>(Ortho-McNeil Pharmaceutical Corp., Raritan, N.J.), 它是pH为3.9至4.1的水分散性缓冲凝胶。它用来恢复和维持正常的阴道酸度。这样的凝胶被设计为控制阴道pH, 并且不是针对预防STD和/或避孕而专门设计的, 因此不总是具有有效的杀微生物活性。

[0012] 如所讨论的, 目前市售的常含有N-9作为活性成分的阴道避孕组合物通常是本领域已知的。尽管目前市售的阴道避孕制剂有助于防止妊娠, 但它们有效预防STD特别是HIV/AIDS的能力非常有限。而且, 最近的分析显示, 当N-9被高危女性频繁使用时, 实际上可能增加HIV感染的风险(WHO 2002, WHO/CONRAD关于壬苯醇醚-9的技术咨询, Geneva)。

[0013] 此外, 若干开发中的杀微生物剂含有最初为了治疗具有HIV感染的患者而开发的抗逆转录病毒剂。然而, 在用任何实际抗逆转录病毒剂或其组合治疗的HIV感染患者中仅观察到暂时且有限的益处。这些药剂降低病毒负荷、抗性的快速形成和大部分药物的毒副作用的有限能力已经限制了它们的长期功效。与向患者施用抗病毒剂有关的一个主要问题是该抗病毒剂渗入和靶向受感染细胞的能力差。快速的药物清除以及母体化合物或代谢物的毒性也构成了可能会减慢许多抗病毒剂的开发和使用的一些主要缺点。鉴于实际可用于治疗AIDS和其他病毒性疾病的抗病毒剂的严重毒性和它们靶向受感染细胞的有限能力, 需要旨在使治疗水平的药物到达受感染细胞内并降低毒性的策略。

[0014] 最新的研究表明, 对阴道中天然存在的抗微生物特性的重要贡献主要是由乳酸分子的杀微生物活性引起的, 而不一定是由单独的低pH或过氧化氢的存在引起的。(O' Hanlon

等人,BMC Infect Dis.,11:200,2011)。特别是,已经证明在阴道液中,与细菌性阴道病有关的细菌可以用乳酸来抑制,但在相同pH下使用其他酸程度要小得多。

[0015] 因此,需要替代性的、易于使用的、有效降低基于病毒的STD的传播风险的STD抑制剂。这样的组合物应当可用于以不灭活乳杆菌或不引起明显的阴道刺激或其他毒性的有效剂量进行阴道施用。如果该组合物还具有避孕能力,则它们将会更加有益。

## 发明内容

[0016] 以下公开的实施方案满足了上述需要。提供以下简要总结是为了建立对所请求保护的主题的一些方面的基本理解。该总结不是泛泛的概述,并且不是旨在确定关键/决定性要素或勾画出所请求保护的主题的范围。

[0017] 一个实施方案是一种用于抑制疾病的传播的组合物。该组合物包含1-(6-氨基嘌呤-9-基)丙-2-基氧基甲基膦酸(替诺福韦)或其生理学功能衍生物、藻酸聚合物和水基载体。本公开内容的示例性藻酸聚合物具有约20,000至约400,000的平均分子量,以及约0.25至约2.0的该聚合物中的甘露糖醛酸:古洛糖醛酸残基之比。在另一个实施方案中,藻酸聚合物中的甘露糖醛酸:古洛糖醛酸残基之比为0.3至1.5。在另一个实施方案中,藻酸聚合物中的甘露糖醛酸:古洛糖醛酸残基之比为0.3至1。在另一个实施方案中,藻酸聚合物中的甘露糖醛酸:古洛糖醛酸残基之比为0.3至0.8。在另一个实施方案中,藻酸聚合物中的甘露糖醛酸:古洛糖醛酸残基之比为0.3至0.6。在另一个实施方案中,藻酸聚合物中的甘露糖醛酸:古洛糖醛酸残基之比为约0.2、0.25、0.3、0.35、0.4、0.45、0.5、0.55、0.6、0.65、0.7、0.75、0.8、0.85、0.9、0.95、1、1.05、1.1、1.15、1.2、1.25、1.3、1.35、1.4、1.45、1.5、1.55、1.6、1.65、1.7、1.75、1.8、1.85、1.9、1.95或2.0。在另一个实施方案中,藻酸的平均分子量为75,000至375,000。在另一个实施方案中,藻酸的平均分子量为100,000至300,000。在另一个实施方案中,藻酸的平均分子量为100,000至200,000。在另一个实施方案中,藻酸的平均分子量为125,000至175,000。在另一个实施方案中,藻酸的平均分子量为至少20,000。在另一个实施方案中,藻酸的平均分子量为至少50,000。在另一个实施方案中,藻酸的平均分子量为至少75,000。在另一个实施方案中,藻酸的平均分子量为至少100,000。在另一个实施方案中,藻酸的平均分子量为至少125,000。在另一个实施方案中,藻酸的平均分子量为至少150,000。

[0018] 在另一个实施方案中,所述组合物还包含乳酸。在另一个实施方案中,该乳酸是“L”形式的乳酸。在另一个实施方案中,所述组合物还包含帕莫酸或其盐或酯。在又一个实施方案中,所述组合物还包含角叉藻聚糖。在又一个实施方案中,该角叉藻聚糖是*iota*角叉藻聚糖。在又一个实施方案中,所述组合物还可以包含缓冲剂(如柠檬酸、酸性酒石酸钾、山梨酸、富马酸、抗坏血酸、硬脂酸、油酸、酒石酸、酒石酸氢钾、依地酸、乙二胺四乙酸、乙酸、苹果酸等)、增稠剂(如黄原胶、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、壳聚糖、聚卡波非、卡波姆、吉兰糖胶、泊洛沙姆、角叉藻聚糖、*iota*角叉藻聚糖等)、湿润剂(如甘油、聚乙二醇、丙二醇、山梨糖醇、三乙酸甘油酯等)或防腐剂(如苯甲酸、苯甲酸钠、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸乙酯、对羟基苯甲酸丁酯、对羟基苯甲酸丙酯、苯扎氯铵、硝酸苯汞、氯己定等)。在另一个实施方案中,所述组合物的载体是水。

[0019] 另一个实施方案是一种酸缓冲避孕药。该酸缓冲避孕药包含在药学上可接受的载

体中的藻酸、生物粘附化合物和乳酸。该藻酸具有20,000至400,000的平均分子量和0.25至2.0的甘露糖醛酸:古洛糖醛酸残基之比。在另一个实施方案中,甘露糖醛酸:古洛糖醛酸残基为0.3至1.5。在另一个实施方案中,甘露糖醛酸:古洛糖醛酸残基为0.3至1。在另一个实施方案中,甘露糖醛酸:古洛糖醛酸残基为0.3至0.8。在另一个实施方案中,甘露糖醛酸:古洛糖醛酸残基为0.3至0.6。在另一个实施方案中,藻酸聚合物中的甘露糖醛酸:古洛糖醛酸残基之比为约0.2、0.25、0.3、0.35、0.4、0.45、0.5、0.55、0.6、0.65、0.7、0.75、0.8、0.85、0.9、0.95、1、1.05、1.1、1.15、1.2、1.25、1.3、1.35、1.4、1.45、1.5、1.55、1.6、1.65、1.7、1.75、1.8、1.85、1.9、1.95或2.0。在另一个实施方案中,藻酸的平均分子量为75,000至375,000。在另一个实施方案中,藻酸的平均分子量为100,000至300,000。在另一个实施方案中,藻酸的平均分子量为至少50,000。在另一个实施方案中,藻酸的平均分子量为至少75,000。在另一个实施方案中,藻酸的平均分子量为至少100,000。在另一个实施方案中,藻酸的平均分子量为至少125,000。在另一个实施方案中,藻酸的平均分子量为至少150,000。使用上述藻酸可进一步增强所述酸缓冲避孕药抑制疾病传播的能力。

[0020] 在一个实施方案中,所述酸缓冲避孕药的生物粘附化合物可以是黄原胶、角叉藻聚糖、*iota*角叉藻聚糖、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、壳聚糖、聚卡波非、卡波姆等。在另一个实施方案中,所述酸缓冲化合物还可以包含缓冲剂(如柠檬酸、酸性酒石酸钾、山梨酸、富马酸、抗坏血酸、硬脂酸、油酸、酒石酸、酒石酸氢钾、依地酸、乙二胺四乙酸、乙酸、苹果酸等)、增稠剂(如黄原胶、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、壳聚糖、聚卡波非、卡波姆、吉兰糖胶、泊洛沙姆、角叉藻聚糖、*iota*角叉藻聚糖等)、湿润剂(如甘油、聚乙二醇、丙二醇、山梨糖醇、三乙酸甘油酯等)、防腐剂(如苯甲酸、苯甲酸钠、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸乙酯、对羟基苯甲酸丁酯、对羟基苯甲酸丙酯、苯扎氯铵、硝酸苯汞、氯己定等)或增强药物溶解性、渗透性和吸收的试剂(如帕莫酸及其盐和酯)。在另一个实施方案中,所述乳酸是L-乳酸。

[0021] 在一个实施方案中,所述酸缓冲避孕药包含藻酸、黄原胶和乳酸。在另一个实施方案中,所述酸缓冲避孕药包含藻酸、角叉藻聚糖和乳酸。在另一个实施方案中,所述酸缓冲避孕药包含藻酸、*iota*角叉藻聚糖和乳酸。在又一个实施方案中,所述酸缓冲避孕药包含藻酸、黄原胶、帕莫酸和乳酸。在另一个实施方案中,所述酸缓冲避孕药包含藻酸、角叉藻聚糖、帕莫酸和乳酸。在另一个实施方案中,所述酸缓冲避孕药包含藻酸、*iota*角叉藻聚糖、帕莫酸和乳酸。

[0022] 在另一个实施方案中,所述酸缓冲避孕药还可以包含缓冲剂(如柠檬酸、酸性酒石酸钾、苯甲酸、山梨酸、富马酸、抗坏血酸、硬脂酸、油酸、酒石酸、酒石酸氢钾、依地酸、乙二胺四乙酸、乙酸、苹果酸等)、增稠剂(如黄原胶、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、壳聚糖、聚卡波非、卡波姆、吉兰糖胶、泊洛沙姆、角叉藻聚糖、*iota*角叉藻聚糖等)、湿润剂(如甘油、聚乙二醇、丙二醇、山梨糖醇、三乙酸甘油酯等)或防腐剂(如苯甲酸、苯甲酸钠、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸乙酯、对羟基苯甲酸丁酯、对羟基苯甲酸丙酯、苯扎氯铵、硝酸苯汞、氯己定等)。在又一个实施方案中,所述组合物的载体是水。

[0023] 另一个实施方案是一种酸缓冲避孕药。该酸缓冲避孕药包含在药学上可接受的载体中的1-(6-氨基嘌呤-9-基)丙-2-基氧基甲基膦酸(替诺福韦)或其生理学功能衍生物、藻

酸、生物粘附化合物和乳酸。该藻酸具有20,000至400,000的平均分子量和0.25至2.0的甘露糖醛酸:古洛糖醛酸残基之比。在另一个实施方案中,甘露糖醛酸:古洛糖醛酸残基为0.3至1.5。在另一个实施方案中,甘露糖醛酸:古洛糖醛酸残基为0.3至1。在另一个实施方案中,甘露糖醛酸:古洛糖醛酸残基为0.3至0.8。在另一个实施方案中,甘露糖醛酸:古洛糖醛酸残基为0.3至0.6。在另一个实施方案中,藻酸聚合物中的甘露糖醛酸:古洛糖醛酸残基之比为约0.2、0.25、0.3、0.35、0.4、0.45、0.5、0.55、0.6、0.65、0.7、0.75、0.8、0.85、0.9、0.95、1、1.05、1.1、1.15、1.2、1.25、1.3、1.35、1.4、1.45、1.5、1.55、1.6、1.65、1.7、1.75、1.8、1.85、1.9、1.95或2.0。在另一个实施方案中,藻酸的平均分子量为75,000至375,000。在另一个实施方案中,藻酸的平均分子量为100,000至300,000。在另一个实施方案中,藻酸的平均分子量为100,000至200,000。在另一个实施方案中,藻酸的平均分子量为至少50,000。在另一个实施方案中,藻酸的平均分子量为至少75,000。在另一个实施方案中,藻酸的平均分子量为至少100,000。在另一个实施方案中,藻酸的平均分子量为至少125,000。在另一个实施方案中,藻酸的平均分子量为至少150,000。使用上述藻酸可进一步增强所述酸缓冲避孕药抑制疾病传播的能力。

[0024] 在一个实施方案中,含有替诺福韦的酸缓冲避孕药的生物粘附化合物可以是黄原胶、角叉藻聚糖、*iota*角叉藻聚糖、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、壳聚糖、聚卡波非、卡波姆等。在另一个实施方案中,所述酸缓冲化合物还可以包含缓冲剂(如柠檬酸、酸性酒石酸钾、山梨酸、富马酸、抗坏血酸、硬脂酸、油酸、酒石酸、酒石酸氢钾、依地酸、乙二胺四乙酸、乙酸、苹果酸等)、增稠剂(如黄原胶、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、壳聚糖、聚卡波非、卡波姆、吉兰糖胶、泊洛沙姆、角叉藻聚糖、*iota*角叉藻聚糖等)、湿润剂(如甘油、聚乙二醇、丙二醇、山梨糖醇、三乙酸甘油酯等)、防腐剂(如苯甲酸、苯甲酸钠、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸乙酯、对羟基苯甲酸丁酯、对羟基苯甲酸丙酯、苯扎氯铵、硝酸苯汞、氯己定等)或增强药物溶解性、渗透性和吸收的试剂(如帕莫酸及其盐和酯)。在另一个实施方案中,所述乳酸是L-乳酸。

[0025] 在一个实施方案中,含有替诺福韦的酸缓冲避孕药包含藻酸、黄原胶和乳酸。在另一个实施方案中,所述酸缓冲避孕药包含藻酸、角叉藻聚糖和乳酸。在另一个实施方案中,所述酸缓冲避孕药包含藻酸、*iota*角叉藻聚糖和乳酸。在又一个实施方案中,所述酸缓冲避孕药包含藻酸、黄原胶、帕莫酸和乳酸。在另一个实施方案中,所述酸缓冲避孕药包含藻酸、角叉藻聚糖、帕莫酸和乳酸。在另一个实施方案中,所述酸缓冲避孕药包含藻酸、*iota*角叉藻聚糖、帕莫酸和乳酸。

[0026] 在另一个实施方案中,含有替诺福韦的酸缓冲避孕药还可以包含缓冲剂(如柠檬酸、酸性酒石酸钾、苯甲酸、山梨酸、富马酸、抗坏血酸、硬脂酸、油酸、酒石酸、酒石酸氢钾、依地酸、乙二胺四乙酸、乙酸、苹果酸等)、增稠剂(如黄原胶、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、壳聚糖、聚卡波非、卡波姆、吉兰糖胶、泊洛沙姆、角叉藻聚糖、*iota*角叉藻聚糖等)、湿润剂(如甘油、聚乙二醇、丙二醇、山梨糖醇、三乙酸甘油酯等)或防腐剂(如苯甲酸、苯甲酸钠、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸乙酯、对羟基苯甲酸丁酯、对羟基苯甲酸丙酯、苯扎氯铵、硝酸苯汞、氯己定等)。在又一个实施方案中,所述组合物的载体是水。

[0027] 另一个实施方案是一种通过局部施用有效量的以上和在此描述的任何组合物来

降低性传播疾病的传播风险的方法。在另一个实施方案中，所述组合物可局部施用至阴道、子宫颈、口、肛门和/或直肠。所述组合物可在性活动之前施用。在一个实施方案中，所述组合物可在性活动之前至少15分钟，或至少30分钟，或至少1小时，或至少1.5小时，或至少2小时，或至少2.5小时，或至少3小时，或至少3.5小时，或至少4小时，或至少4.5小时，或至少5小时，或至少6小时，或至少7小时，或至少8小时，或至少9小时，或至少10小时或至少11小时，或至少12小时施用。所述组合物还可在性活动之后施用。在一个实施方案中，所述组合物可在性活动之后立即施用或在之后5分钟内，或10分钟内，或15分钟内，或20分钟内，或30分钟内，或45分钟内，或1小时内，或2小时内，或3小时内，或4小时内，或5小时内，或6小时内，或7小时内，或8小时内，或9小时内，或10小时内施用。在另一个实施方案中，可将所述组合物施加在物理屏障器具如安全套、海绵或隔膜的表面，之后使用该屏障器具。

[0028] 在另一个实施方案中是用于制备本文所述组合物的方法。在一个实施方案中，将1-(6-氨基嘌呤-9-基)丙-2-基氧基甲基膦酸(替诺福韦)或其生理学功能衍生物溶解在碱性溶液中。一旦替诺福韦溶解，则使该溶液处于中性以下，并添加藻酸。在一个实施方案中，通过添加乳酸降低该溶液的pH。在另一个实施方案中，根据添加剂的pH添加额外的添加剂。例如，可使用缓冲剂降低溶液的pH，即，使其酸性更强。在另一个实施方案中，可添加增稠剂。在一些方法中，可以最后添加增稠剂，因为增稠剂的添加可能会抑制一些成分的加入。

[0029] 在另一个实施方案中是包含在易于分配的容器中的上述组合物的药剂盒。分配容器的非限制性实例包括瓶子、管、注射器、栓剂或泵。所述药剂盒还可包含用于将所述组合物施加在所需表面上的器具和/或关于使用或应用的说明书。非限制性的施加器具包括注射器、海绵、刷子、拭子或药刀。在一个实施方案中，可将所述组合物分成单次使用剂量。非限制性实例包括预填充注射器、预填充挤压管或栓剂。在另一个实施方案中，可将所述组合物涂覆在屏障器具上。屏障器具的非限制性实例包括海绵、安全套或隔膜。

[0030] 本公开内容的其他方面见于整篇说明书中。

## 具体实施方式

[0031] 本文公开了使用基于藻酸的抗微生物化合物抑制炎症和降低性传播疾病(STD)的传播风险的组合物和方法。这样的组合物通过(1)攻击并灭活病毒和其他微生物，以及(2)阻止病毒激活的、促进宿主细胞侵袭的宿主反应而提供了双重保护。更具体地，本文公开的组合物和方法涉及协同组合物，该协同组合物包含增强单个组分的功效的在载体中的藻酸和抗病毒剂的组合。基于藻酸的抗微生物化合物还可以是酸缓冲避孕药的一部分。

[0032] 为了促进对以下公开内容的理解，下文定义了一些术语。

[0033] 当在本公开内容中使用术语“一个”或“一种”时，除非另有说明，它们意指“至少一个(种)”或“一个(种)或多个(种)”。

[0034] 如本文所用的，术语“抗微生物剂”、“杀微生物剂”和“杀微生物的”是指能够防止或抑制微生物的生长和/或防止或降低微生物的感染性的化合物，该微生物包括病毒、细菌、真菌、原生动物、寄生虫和藻类。

[0035] 如本文所用的，术语“性传播疾病”与“STD”、“性传播感染”“STI”和/或其复数可互换使用。STD是依靠任何形式的性接触(包括接吻)在人之间具有极大传播可能性的疾病或病理生理状况。术语STD还可以包括受感染的并且可能潜在地感染其他人而不表现出疾病

或感染的体征的人。

[0036] 术语“协同”和“协同的”意指化合物一起使用所达到的效果大于所述化合物单独使用所产生的效果的总和,即大于基于单独施用的两种活性成分所预期的效果。当所述化合物:(1)共同配制并以联合制剂同时施用或递送;(2)作为单独的制剂交替或并行递送;或(3)按照某种其他方案时,可获得协同效应。协同抗病毒效应表示大于该组合中单独化合物的预测的纯叠加效应的抗病毒效应。

[0037] 如本文所用的,术语“生理学功能衍生物”是指当在本公开内容的组合中与另一种药学活性化合物联合施用时具有与替诺福韦等同或几乎等同的生理功能的药学活性化合物。如本文所用的,术语“生理学功能衍生物”包括任何:生理学上可接受的盐,醚,酯,前药,溶剂化物,立体异构体,包括对映体、非对映体或立体异构富集的或外消旋的混合物,以及一旦向接受者施用便能够(直接或间接)提供这样的化合物或其抗病毒活性代谢物或残基的任何其他化合物。

[0038] 如本文所用的,术语“接触”是指如本文所述使一种或多种本文所述基于藻酸的化合物与性传播性或性获得性微生物或微生物细胞接触的任何合适的方法。在体外或离体情况下,这通过将微生物或微生物细胞在合适的培养基中暴露于杀微生物剂来实现。对于示例性的体内应用,如本文所述,局部施用方法是合适的。

[0039] 如本文所用的,术语“基质”意指通过它们之间的离子相互作用而形成三维结构的多个不同的分子。

[0040] 术语“缓冲能力”意指当与具有不同pH的化合物接触时维持所需pH的能力。特别是,缓冲能力意指维持健康的阴道pH的能力。

[0041] 术语“与精液接触”意指以射精过程中一般发生的体积存在精液,例如,0.1至11毫升(Rehan等人,Fertil Steril.1975,26:492-502)。

[0042] 术语“碱性溶液”意指pH大于7如8、9、10、11、12或13的溶液。用于制备“碱性溶液”的示例性碱包括但不限于氢氧化钠、氢氧化钾和氢氧化锂。

[0043] 如本文所用的术语“抑制疾病”通常是指抑制性传播疾病,包括抑制其传播。

[0044] 术语“藻酸”(alginic acid)或“藻酸聚合物”或“藻酸酯”(alginate)可互换使用,并且是指 $\beta$ -D-甘露糖醛酸和 $\alpha$ -L-古洛糖醛酸的多糖聚合物。

[0045] 本文公开的基于藻酸的杀微生物剂组合物和方法防止或降低STD和/或常见阴道感染的传播风险。STD包括但不限于HIV/AIDS、疱疹(由1型单纯疱疹病毒(HSV-1)或2型单纯疱疹病毒(HSV-2)引起)、肝炎、淋病、衣原体病、梅毒和滴虫病。常见阴道感染的非限制性实例包括细菌性阴道病(BV)和阴道念珠菌病。如本文所述,类似的组合物和此类组合物的施用方法可用于预防或治疗STD和/或常见的阴道感染。可将额外的化学品添加至基于藻酸的杀微生物剂组合物中以形成酸缓冲避孕药。

[0046] 本公开内容的组合物包含藻酸聚合物和特定抗病毒剂替诺福韦的组合。藻酸是一种酸性聚合物,它具有(1)提供物理屏障的粘膜粘附和生物粘附特性,(2)帮助维持阴道中的酸性环境的缓冲能力,和(3)减轻宿主细胞中的病毒感染的抗炎特性。替诺福韦是被设计为抑制逆转录酶的抗逆转录病毒药物。替诺福韦的前药形式富马酸替诺福韦二吡呋酯(tenofovir disoproxyl fumarate)已被美国食品和药品管理局批准用于治疗HIV和慢性乙型肝炎,并且可能对其他病毒如疱疹有效。(Andrei等人,Cell Host Microbe.,10:379-89,

2011)。在示例性的实施方案中,藻酸聚合物与抗病毒剂之间实现协同效应。更特别地,替诺福韦的带负电荷的单磷酸部分与藻酸聚合物形成离子相互作用,促进了替诺福韦的延长释放,从而增强了功效。在其他实施方案中,藻酸聚合物和替诺福韦可以与乳酸和生物粘附剂如黄原胶或角叉藻聚糖组合以形成酸缓冲避孕药。该酸缓冲避孕药在与精液接触时形成基质,该基质捕获存在于精液中的精子和其他微生物。

[0047] 不希望受到任何特定操作理论的限制,进一步认为本公开内容的组合物显示出改善的功效,因为替诺福韦浓度通过藻酸的粘膜粘附和生物粘附特性(该特性抑制抗逆转录病毒药物稀释远离递送点)而维持在有效与有毒的水平之间,从而改善了药物的靶向和定位。在这种情况下,粘膜粘附和生物粘附增大了替诺福韦与粘膜表面之间接触的紧密性和持续时间。这种增强的直接药物吸收和由降低的扩散和改善的定位导致的排泄率降低的组合效应显著增强了药物的生物利用度,并允许更小的剂量和更低频率的施用。

#### [0048] 微生物感染和炎症

[0049] Toll样受体(TLR)是免疫系统对暴露于潜在有害的物质尤其是来源于微生物的化学物质的早期警报信号。具体而言,TLR与存在于细菌、原生动物、真菌和病毒中的被称为病原体相关分子模式(PAMP)的分子结构结合。一旦激活,TLR便触发激发炎症和细胞免疫防御的多个生物化学级联,包括活化的B细胞的核因子κ-轻链-增强子(NFkB)。NFkB是炎症的主要基因调控因子,它的激活导致许多炎性调节和促炎性细胞因子(包括TNF-α、IL-1和其他白介素)的合成增加。对于许多病毒,通常有助于针对微生物感染的免疫防御的炎性途径的激活反而增强了感染性。现已知某些病毒,包括HIV、肝炎和HSV,需要激活NFkB来感染宿主细胞。例如,一旦激活,NFkB便与HIV长末端重复序列上的位点结合以开始整合的HIV基因组的转录。(参见Pande和Ramos,Curr.Med.Chem.,vol.10,no.16,pgs.1603-15(2003))。实际上,身体自身的自然反应有助于病毒的感染性。

#### [0050] 物理创伤和炎症

[0051] 许多性活动造成组织在微观水平上的物理创伤。一旦破坏解剖屏障例如粘膜,则嗜中性粒细胞被由炎性细胞如肥大细胞释放的多种细胞因子吸引。嗜中性粒细胞通过吞噬作用吞没受损细胞,并且在该过程中生成并释放大量对健康的周围细胞有毒的活性氧(ROS)。ROS与细胞抗氧化剂特别是谷胱甘肽反应。一旦暴露于ROS,还原的谷胱甘肽(GSH)转换成其氧化态(GSSG)。氧化的谷胱甘肽的增加的细胞水平触发NFkB的激活。如上所述,NFkB的激活促进了病毒STD的感染。

#### [0052] 藻酸

[0053] 藻酸是可从褐藻中提取的天然存在的聚合物。该聚合物由1,4-连接的β-D-甘露糖醛酸(M)和α-L-古洛糖醛酸(G)这两种糖组成。该聚合物可以由连续M残基的嵌段、连续D残基的嵌段或交替的D和M残基组成。M:G比根据来源而变化。大多数商购可得的藻酸具有14-31%的G含量,然而,来自极北海带(Laminaria hyperborean)的藻酸具有60%的G含量。利用细菌生物合成可以获得具有更加确定的化学结构和物理性质的藻酸。然而,细菌藻酸在C2和/或C3处具有O-乙酰基。乙酰基只与甘露糖醛酸残基结合,且乙酰化程度为4-57%不等。(参见Donati和Paoletti,“Material Properties of Alginates,”in Alginates: Biology and Applications:Biology and Applications,Rehm编著,Springer Dordrecht Heidelberg,London,UK,2009,第10页,以及“The History of Aglinate Chemistry-

Bacterial,"Cyber Colloids,LTD,<http://www.cybercolloids.net/information/technical-articles/history-alginate-chemistry-bacterial>)。乙酰基降低阳离子结合的能力和选择性,增加溶液粘度,增强保水能力,并防止被藻酸裂解酶降解。(参见Flemming和Wingender,“The Crucial Role of Extracellular Polymeric Substances in Biofilms,”in Biofilms in Wastewater Treatment:An Interdisciplinary Approach,Wuertz,Bishop,Wilderer编著,IWA Publishing,London,UK 2003,第184页)。通常使用碱性溶液和盐从褐藻中提取藻酸以形成藻酸盐。可进一步用酸处理藻酸盐以形成藻酸。

[0054] 藻酸,通常像多糖一样,在分子量方面是多分散的。由于这种多分散性,藻酸的“分子量”是分子量的整体分布的平均值。(参见Draget等人,“Alginates From Algae,”*Biopolymers Online*,DOI:10.1002/3527600035.bpol6008(2005))。分子量分布可影响藻酸的使用,因为仅含有短G-嵌段的低分子量片段可能不参与凝胶网络形成,并因此对凝胶强度没有贡献。大部分藻酸盐的分子量在约10,000至600,000克/摩尔(g/mol)的范围内。

[0055] 藻酸聚合物可使用一价和二价阳离子如钙、钠和钾交联以形成水凝胶。然而,据认为当使用二价阳离子时只有G残基参与。因此,藻酸的M:G比影响藻酸水凝胶的物理性质。此外,当使用阳离子时,胶凝时间和温度还影响凝胶均匀性和强度。在较低温度(例如低于体温)下的缓慢胶凝速率(例如大于15分钟)导致具有更均匀的结构和更大机械完整性的凝胶。(参见Asada等人,*Biosci.Biotech.Biochem.*,vol.61,no.6,pgs.1030-1032(1997)。)

[0056] M和G糖残基均含有羧基,且pKa为约3.5。在生理pH下,羧基被离子化,形成重复的带负电荷的羧基的长链,其可与水发生氢键键合以形成稠的组织粘附凝胶,例如生物粘附剂。藻酸还利用氢键键合粘附至粘膜表面。据认为,藻酸可以充当保护免受化学和物理创伤的“人造粘膜”。由于藻酸固有的粘膜粘附和生物粘附特性,如果它不被女性取出,则应当在阴道内保持约12至24小时(或甚至更长时间)。

[0057] 藻酸具有抗炎能力。具体而言,研究已表明藻酸抑制NFkB激活。NFkB是控制DNA转录的蛋白质复合物。(参见Jeong等人,*Clinical and Experimental Allergy*,vol.36,pgs.785-794(2006))。NFkB参与对刺激如应激、细胞因子、自由基、紫外线照射、氧化的LDL以及细菌或病毒抗原的细胞应答。NFkB在调节对感染的免疫应答中发挥关键作用。现已知,包括HIV、肝炎和疱疹在内的许多病毒激活NFkB以促进宿主细胞感染。通过防止NFkB的激活并相关地防止多个炎性途径的激活,藻酸降低了病毒STD感染的风险。

[0058] 藻酸还抑制免疫球蛋白E-介导的肥大细胞脱颗粒。(参见Asada等人,*Biosci.Biotech.Biochem.*,vol.61,no.6,pgs.1030-1032(1997))。肥大细胞在防御病原体方面发挥重要作用。病原体可通过免疫球蛋白E(IgE)受体的刺激或通过模式识别受体激活肥大细胞,该模式识别受体包括tol1样受体(TLR)、Nod样受体、C型凝集素和糖基磷脂酰肌醇锚定蛋白CD48。一旦激活,肥大细胞便释放影响血管通透性并触发另外的免疫应答的各种介质。该介质包括颗粒相关介质,包括组胺、5-羟色胺、肝素、类胰蛋白酶、类胰凝乳蛋白酶(chymase)和肿瘤坏死因子- $\alpha$ 、细胞因子和趋化因子。在可能是HIV感染的主要部位的粘膜组织中,导致增加的血管通透性和肥大细胞与T细胞的相互作用的肥大细胞激活可能有助于HIV感染性。此外,在HIV感染中,肥大细胞可充当潜伏性感染过程中的病毒储库,并且可以通过TLR介导的信号而再活化。(参见Urb M和Sheppard,DC(2012)“The Role of Mast

Cells in the Defence against Pathogens." PLoS Pathog 8(4):e1002619. doi: 10.1371/journal.ppat.1002619)。

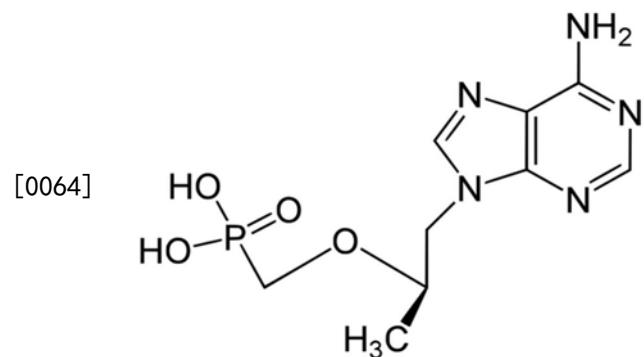
[0059] 出乎意料地发现，并非所有分子量的藻酸都对阻止炎症有效。具体而言，分子量为20,000至400,000g/mol的藻酸在抑制肥大细胞脱颗粒方面表现出较强的能力。在一个实施方案中，藻酸的分子量可以为100,000至375,000g/mol。在另一个实施方案中，藻酸的分子量可以为200,000至350,000g/mol。在又一个实施方案中，藻酸的分子量可以为290,000至340,000g/mol。(参见Asada等人,Biosci.Biotech.Biochem.,vol.61,no.6,pgs.1030-1032(1997)。)

[0060] 还意外地发现，M:G比也影响藻酸的抗炎特性。在一个实施方案中，M:G比可以为0.25至2.0。在另一个实施方案中，M:G比可以为0.3至1.5。在另一个实施方案中，M:G比为0.5至1.2。在又一个实施方案中，M:G比为1。(参见Asada等人,Biosci.Biotech.Biochem., vol.61,no.6,pgs.1030-1032(1997)，其通过引用并入本文。Asada描述了M:G比为3:7的0.6型藻酸钠，参见文章的第二段，然而，3:7的M:G比在数学上为0.43。)

[0061] 如上所述，藻酸在一价和二价阳离子如钠、钾和钙的存在下交联。阴道液通常含有非常少量的这些阳离子。另一方面，精液富含这些阳离子。因此，在精液的存在下，藻酸将交联以形成可以捕获精子和微生物的基质。捕获存在于精液中的精子和其他微生物将降低STD传播的风险。此外，藻酸在水溶液中具有约1.5至3.5的pH。不希望受任何特定操作理论的限制，藻酸的天然低pH可帮助维持健康的阴道pH(即，3.5至5.0)。如上所述，低pH使许多导致STD的微生物失活。此外，藻酸具有在性活动过程中将基于藻酸的组合物保持在适当位置的生物粘附和粘膜粘附特性。最后，藻酸由于其高分子量通常不被身体吸收。

#### [0062] 替诺福韦

[0063] 替诺福韦，包括其衍生物、类似物、前药和盐，属于一类抗逆转录病毒药物，其被称为核苷酸类似物逆转录酶抑制剂(NtRTI)，其阻断逆转录酶。它具有化学名称1-(6-氨基嘌呤-9-基)丙-2-基氧基甲基磷酸[CAS登记号：147127-20-6]。替诺福韦是商购可得的，如可从Gilead Sciences, Inc. (Foster City, CA) 获得。替诺福韦的结构如下所示：



[0065] 替诺福韦是其他天然存在的核苷酸的竞争性抑制剂，并且其最终的生物活性是病毒DNA链终止。替诺福韦是对HIV和乙型肝炎均具有抗病毒活性的新型核苷酸类似物。替诺福韦的机理类似于核苷类似物的机理，它干扰逆转录酶并阻止病毒遗传物质翻译为病毒DNA。不同于核苷类似物，NtRTI在磷酸基团的存在下被化学预激活。由于磷酸化步骤不是必需的，因此核苷酸类似物可以比核苷类似物更迅速地并入到病毒DNA链中。更重要的是，这将绕开核苷抗性的病毒机理。

[0066] 酸缓冲避孕药

[0067] 在一个实施方案中,上述特定的藻酸亚组可以是酸缓冲避孕药的一部分。这样的酸缓冲避孕药的一个非限制性实例是Acidform(也被称为Amphora®凝胶(美国专利号6,706,276,WO 01/66084)),它是一种当放置在身体孔口(例如,阴道)中时一旦与精液接触便形成基质并因此捕获并灭活精子和/或导致STD和STI的微生物的凝胶。在一个普通的实施方案中,所述酸缓冲避孕药含有(1)基质形成化合物,(2)生物粘附化合物,和(3)乳酸。一些化合物如藻酸、角叉藻聚糖或壳聚糖既可充当基质形成化合物又可充当生物粘附化合物。

[0068] 在示例性的实施方案中,使用的Acidform通常含有(1)约1-10%的一种或多种基质形成化合物,(2)约1-10%的一种或多种生物粘附化合物,和(3)约1-10%的乳酸。在其他实施方案中,所述Acidform组合物含有(1)约3-5%的一种或多种基质形成化合物,(2)约2.5-6%的一种或多种生物粘附化合物,和(3)约1-7%的乳酸。在其他实施方案中,所述Acidform组合物含有(1)约3.5-4.5%的一种或多种基质形成化合物,(2)约2.5-3.5%的一种或多种生物粘附化合物,和(3)约1-4%的乳酸。

[0069] 在其他示例性实施方案中,使用的Acidform通常含有(1)约1-10%的一种或多种基质形成化合物,(2)约1-10%的一种或多种生物粘附化合物,和(3)约1-10%的L-乳酸。在其他实施方案中,所述Acidform组合物含有(1)约3-5%的一种或多种基质形成化合物,(2)约2.5-6%的一种或多种生物粘附化合物,和(3)约1-7%的L-乳酸。在其他实施方案中,所述Acidform组合物含有(1)约3.5-4.5%的一种或多种基质形成化合物,(2)约2.5-3.5%的一种或多种生物粘附化合物,和(3)约1-4%的L-乳酸。

[0070] 适合于在本公开内容中使用的基质形成化合物应当在宽pH范围内稳定,尤其是在阴道中所见的正常酸性pH值内稳定。合适的基质形成化合物包括,例如,藻酸、壳聚糖、吉兰糖胶、泊洛沙姆、角叉藻聚糖、iota角叉藻聚糖等。该基质形成化合物优选保持在非基质状态,直到它开始与精液接触。一旦与精液接触,该基质形成化合物便形成半固体基质,该基质捕获精子和导致STD的微生物,从而使它们不能迁移通过女性下生殖道。一些基质形成化合物如藻酸(它在水溶液中具有约1.5-3.5的pH)可有助于酸缓冲避孕药的酸缓冲能力。此外,一些基质形成化合物还可有助于酸缓冲避孕药的生物粘附性质。在一些实施方案中,所述基质形成化合物和生物粘附化合物是相同的。

[0071] 适合于在本公开内容中使用的生物粘附化合物包括,例如,黄原胶、角叉藻聚糖、iota角叉藻聚糖、藻酸、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、壳聚糖、聚卡波非、卡波姆等。在至少一个实施方案中,该生物粘附化合物是黄原胶,即一种含有D-葡萄糖基、D-甘露糖基和D-葡萄糖基糖醛酸残基以及不同比例的0-乙酰基和丙酮酸乙缩醛的高分子量多糖胶。一级结构是具有三糖侧链的纤维素骨架;重复单元是戊多糖。通常,分子量大于约106g/mol。

[0072] 所述酸缓冲避孕药进一步包含乳酸或用于甚至在正常量的精液的存在下使阴道pH维持在其正常酸性范围内(即,小于约5并且更优选在约3.5至约4.5的范围内的pH)的其他缓冲剂。除了乳酸以外,合适的缓冲剂还包括但不限于,例如,柠檬酸、酸性酒石酸钾、苯甲酸、藻酸、山梨酸、富马酸、抗坏血酸、硬脂酸、油酸、酒石酸、酒石酸氢钾、苯甲酸、依地酸、乙二胺四乙酸、乙酸、苹果酸等。所述酸可作为游离酸、水合物或药学上可接受的盐添加。当然,游离酸可以原位(即,在阴道内)转化为相应的盐。在多个示例性实施方案中,若干种缓

冲剂包含在Acidform组合物中以提供提高的缓冲能力。当然,藻酸可以用作基质形成剂和缓冲剂。由于藻酸不会被身体吸收,因此与其他可被身体吸收的缓冲剂相比,藻酸的酸缓冲效果将持续更长时间。

[0073] 因此,如上所讨论的,乳酸或其他合适的缓冲剂可用于在应用后使阴道的pH维持在其正常酸性范围内(即,小于约5并且更优选在约3.5至约4.5的范围内的pH)。特别是,已发现与其他天然的阴道防御机制如过氧化氢相比,乳酸显著增大了杀微生物效力。这一特征是本领域技术人员先前未知的,并且本发明的发明人出乎意料地发现,酸缓冲避孕药在使用乳酸作为缓冲剂配制时,比不使用乳酸作为缓冲剂的制剂具有显著更大的杀微生物活性。

[0074] 具体地,在相等的pH下,与诸如过氧化氢或乙酸等化合物相比,乳酸的存在导致包括病毒在内的微生物的更大失活。乳酸增大杀微生物效力的作用机理被认为是破坏革兰氏阴性菌的细胞膜,并且还起到灭活HIV和HSV-2的作用。

[0075] 更具体地,乳酸具有两种异构体,一种被称为L-(+)-乳酸或(S)-乳酸,而另一种为D-(-)-乳酸或(R)-乳酸。最近的发现已表明,在灭活HIV方面,L形式的乳酸比D或外消旋乳酸更有效。尽管L-乳酸如何灭活HIV的确切机理是未知的,但提示依赖于立体化学的活性作用于蛋白质。(Purcell等人,AIDS Res Hum Retroviruses.2012Nov;28 (11):1389-96.)

[0076] 乳酸由乳酸菌如乳杆菌产生。然而,乳酸菌通常产生D和L乳酸两者。此外,乳酸菌可能难以生长。可以利用重组方法,具体使用比较容易生长的宿主如酵母或大肠杆菌制备L-乳酸。(Ishida等人,Appl Environ Microbiol.2005年4月;71 (4):1964-1970;以及Dien等人,J Ind Microbiol Biotechnol.2001年10月;27 (4):259-64)。或者,可从确定的化学品供应商如Sigma-Aldrich<sup>®</sup>(St.Louis,Missouri)购买纯化的L-乳酸。

[0077] 在一个实施方案中,所述酸缓冲避孕药进一步如下所述:所述基质形成化合物是藻酸;所述生物粘附化合物是黄原胶和/或羟基纤维素和/或角叉藻聚糖;使用乳酸或代之以柠檬酸、苯甲酸或酸性酒石酸钾;包含甘油作为湿润剂;使用苯甲酸作为防腐剂;并且水是药学上可接受的载体。在另一个实施方案中,所述组合物含有黄原胶、藻酸、乳酸、柠檬酸、苯甲酸、酒石酸氢钾、甘油和水。在另一个实施方案中,该乳酸是L-乳酸。

[0078] 在另一个实施方案中,所述酸缓冲避孕药包含藻酸、角叉藻聚糖和乳酸。在另一个实施方案中,所述酸缓冲避孕药包含藻酸、角叉藻聚糖、乳酸、柠檬酸、苯甲酸、酒石酸氢钾、甘油和水。在另一个实施方案中,该角叉藻聚糖是iota角叉藻聚糖。在另一个实施方案中,该乳酸是L-乳酸。

#### [0079] 药学上可接受的载体

[0080] 在一个实施方案中,所述药物载体是水。适合于阴道递送的其他药学上可接受的载体是公知的并且可代替水使用。合适的药学上可接受的载体的一个实例是凡士林,如白凡士林。

#### [0081] 任选的成分

[0082] 在本公开内容的组合物中可使用额外的任选赋形剂,如缓冲剂、增稠剂、湿润剂和防腐剂。合适的缓冲剂包括但不限于,例如,乳酸、柠檬酸、酸性酒石酸钾、酒石酸氢钾、苯甲酸、山梨酸、富马酸、抗坏血酸、硬脂酸、油酸、酒石酸、依地酸、乙二胺四乙酸、乙酸、苹果酸等。合适的增稠剂包括但不限于,例如,黄原胶、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羧甲基

纤维素钠、壳聚糖、聚卡波非、卡波姆、吉兰糖胶、泊洛沙姆、角叉藻聚糖、iota角叉藻聚糖等。合适的湿润剂包括但不限于，例如，甘油、聚乙二醇、丙二醇、山梨糖醇、三乙酸甘油酯等。在一个示例性实施方案中，使用甘油来防止当放置在阴道内时在凝胶上形成干膜。甘油还可充当润滑剂。此外，所述组合物还可包含防腐剂。合适的防腐剂包括但不限于，例如，苯甲酸、苯甲酸钠、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸乙酯、对羟基苯甲酸丁酯、对羟基苯甲酸丙酯、苯扎氯铵、硝酸苯汞、氯己定等。在一个示例性实施方案中，使用苯甲酸并且它还可有助于Acidform凝胶的缓冲能力。

[0083] 任选的成分还包括增强药物溶解性、渗透性和吸收的试剂。非限制性实例包括帕莫酸(也称为“双羟萘酸”)及其盐和酯。

[0084] 制剂

[0085] 所述药物组合物可以是凝胶、半固体、乳膏和/或洗剂的形式。通常，基于藻酸的杀微生物剂可作为施加至阴道和/或子宫颈和/或直肠的内衬的局部软膏来施用，其可作为凝胶、乳膏、洗剂、用于冲洗阴道或直肠腔的非水性溶液或水性溶液和/或阴道或直肠栓剂来实现。在其他实施方案中，基于藻酸的杀微生物剂组合物可以以喷雾制剂的形式施用。此外，可使用杀微生物剂浸渍的隔膜以及女性和男性安全套递送基于藻酸的杀微生物剂组合物。

[0086] 此外，除了本文公开的基于藻酸的杀微生物剂组合物之外，所述组合物的剩余部分，即通常约0-10%重量或约0.1-5%重量或约0.1-3%重量，可任选地包含一种或多种美容成分。这样的美容成分是本领域技术人员已知的，并且在本领域中通常被称为稀释剂、溶剂和佐剂。通常，美容成分包括，例如：水、乙醇、异丙醇、甘油、甘油丙二醇、山梨糖醇和其他高分子量醇。此外，所述组合物可含有少量的其他添加剂，例如：稳定剂、表面活性剂、薄荷醇、桉树油、其他精油、香料等。美容成分、其他添加剂的选择和量以及混合程序可根据本领域公知的技术进行。

[0087] 制备方法

[0088] 替诺福韦是分子量为287.2(无水)或305(作为一水合物)的灰白色粉末。它在酸性pH下是非水溶性的，因此不易与藻酸组合。本公开内容提供了使替诺福韦与藻酸组合的多种制备方法。

[0089] 最终的制剂应当具有足够的粘性，以使其在不使用物理器具的情况下保持在合适的位置。太稀的组合物将会泄漏，而太稠的组合物将难以适当地使用(例如，涂抹以覆盖阴道和子宫颈)。此外，在使用过程中，由于例如阴道液的存在和暴露于精液，预期会发生稀释。当转矩百分比为约20%时，本文所述的制剂的粘度可以为20,000-200,000厘泊(cP)。或者，粘度可以为30,000-150,000cP。

[0090] 本文公开的方法通常包括三个步骤。第一步，将替诺福韦溶解于碱性溶液中。第二步，使pH处于中性以下。第三步，添加藻酸。可以在任何步骤中添加任选的成分，如增稠剂、湿润剂或防腐剂，只要该任选的成分在各个步骤中不影响溶液的总pH即可。

[0091] 在一个实施方案中，第一步将水、替诺福韦和氢氧化钠合并。第二步添加乳酸。第三步添加藻酸。在另一个实施方案中，第一步将水、替诺福韦和氢氧化钠合并。第二步添加乳酸。第三步添加藻酸和iota角叉藻聚糖。在又一个实施方案中，第一步将水、替诺福韦和氢氧化钠合并。第二步添加L-乳酸。第三步添加藻酸和iota角叉藻聚糖。

[0092] 上述方法还可用于将基于藻酸的杀微生物剂并入到酸缓冲避孕药中。在一个实施方案中,第一步将水、替诺福韦和氢氧化钠合并。第二步添加乳酸。第三步添加藻酸和黄原胶。或者,第一步将水、替诺福韦和氢氧化钠合并。第二步添加柠檬酸和乳酸。第三步添加藻酸和黄原胶。在另一个替代方法中,第一步将水、替诺福韦和氢氧化钠合并。第二步添加苯甲酸、柠檬酸和乳酸。第三步添加藻酸和黄原胶。在又一个替代方法中,第一步将水、替诺福韦和氢氧化钠合并。第二步添加苯甲酸、柠檬酸、酒石酸氢钾和乳酸。第三步添加藻酸和黄原胶。在又一个替代方法中,第一步将水、替诺福韦和氢氧化钠合并。第二步添加苯甲酸、柠檬酸、酒石酸氢钾和乳酸。第三步添加藻酸、甘油和黄原胶。

[0093] 在另一个实施方案中,第一步将水、替诺福韦、氢氧化钠和苯甲酸合并。第二步添加乳酸。第三步添加藻酸和黄原胶。或者,第一步将水、替诺福韦、氢氧化钠和苯甲酸合并。第二步添加柠檬酸和乳酸。第三步添加藻酸和黄原胶。在另一个替代方法中,第一步将水、替诺福韦、氢氧化钠和苯甲酸合并。第二步添加酒石酸氢钾、柠檬酸和乳酸。第三步添加藻酸和黄原胶。在又一个替代方法中,第一步将水、替诺福韦、氢氧化钠和苯甲酸合并。第二步添加酒石酸氢钾、柠檬酸和乳酸。第三步添加藻酸、甘油和黄原胶。

[0094] 在又一个实施方案中,第一步将水、替诺福韦、氢氧化钠、苯甲酸和酒石酸氢钾合并。第二步添加乳酸。第三步添加藻酸和黄原胶。或者,第一步将水、替诺福韦、氢氧化钠、苯甲酸和酒石酸氢钾合并。第二步添加柠檬酸和乳酸。第三步添加藻酸和黄原胶。在另一个替代方法中,第一步将水、替诺福韦、氢氧化钠、苯甲酸和酒石酸氢钾合并。第二步添加柠檬酸和乳酸。第三步添加藻酸、甘油和黄原胶。

[0095] 在又一个实施方案中,第一步将水、替诺福韦和氢氧化钠合并。第二步添加乳酸。第三步添加藻酸和iota角叉藻聚糖。或者,第一步将水、替诺福韦和氢氧化钠合并。第二步添加柠檬酸和乳酸。第三步添加藻酸和iota角叉藻聚糖。在另一个替代方法中,第一步将水、替诺福韦和氢氧化钠合并。第二步添加苯甲酸、柠檬酸、酒石酸氢钾和乳酸。第三步添加藻酸和iota角叉藻聚糖。在又一个替代方法中,第一步将水、替诺福韦和氢氧化钠合并。第二步添加苯甲酸、柠檬酸、酒石酸氢钾和乳酸。第三步添加藻酸和iota角叉藻聚糖。在又一个替代方法中,第一步将水、替诺福韦和氢氧化钠合并。第二步添加苯甲酸、柠檬酸、酒石酸氢钾和乳酸。第三步添加藻酸、甘油和iota角叉藻聚糖。

[0096] 在又一个实施方案中,第一步将水、替诺福韦、氢氧化钠和苯甲酸合并。第二步添加乳酸。第三步添加藻酸和iota角叉藻聚糖。或者,第一步将水、替诺福韦、氢氧化钠和苯甲酸合并。第二步添加柠檬酸和乳酸。第三步添加藻酸和iota角叉藻聚糖。在另一个替代方法中,第一步将水、替诺福韦、氢氧化钠和苯甲酸合并。第二步添加酒石酸氢钾、柠檬酸和乳酸。第三步添加藻酸和iota角叉藻聚糖。在又一个替代方法中,第一步将水、替诺福韦、氢氧化钠和苯甲酸合并。第二步添加酒石酸氢钾、柠檬酸和乳酸。第三步添加藻酸、甘油和iota角叉藻聚糖。

[0097] 在又一个实施方案中,第一步将水、替诺福韦、氢氧化钠、苯甲酸和酒石酸氢钾合并。第二步添加乳酸。第三步添加藻酸和iota角叉藻聚糖。或者,第一步将水、替诺福韦、氢氧化钠、苯甲酸和酒石酸氢钾合并。第二步添加柠檬酸和乳酸。第三步添加藻酸和iota角叉藻聚糖。在另一个替代方法中,第一步将水、替诺福韦、氢氧化钠、苯甲酸和酒石酸氢钾合并。第二步添加柠檬酸和乳酸。第三步添加藻酸、甘油和iota角叉藻聚糖。

[0098] 使用方法

[0099] 在示例性的实施方案中,本公开内容包括如本文所述的基于藻酸的抗微生物组合物的局部施用。在本公开内容的上下文中,应当理解,术语“局部施用”包括施用至体腔以及皮肤。因此,例如,将上述组合物施用至体腔如阴道、肛门、直肠或口。此外,局部施用可在性交之前、期间或之后进行,或者独立于性交而进行。

[0100] 应当理解,可通过本领域技术人员已知的任何方法将本公开内容的基于藻酸的抗微生物组合物递送至哺乳动物的阴道。该组合物的典型递送形式包括,例如:乳膏、洗剂、凝胶、泡沫、阴道内 (intervaginal) 器具如海绵和栓剂以及膜剂。此外,基于藻酸的抗微生物组合物可用作个人护理用品,例如,安全套润滑剂等。这样的润滑剂可包含众所周知的成分,例如:湿润剂,例如,甘油、山梨糖醇、甘露醇、二醇和二醇醚;缓冲剂,例如,葡萄糖酸-d-内酯;杀菌剂或杀细菌剂,例如,葡萄糖酸氯己定;防腐剂,例如,对羟基苯甲酸甲酯;增粘剂,例如,羟乙基纤维素等;其他佐剂,例如,颜料和香料;以及本公开内容的组成物。本领域技术人员将会认识到,这样的递送形式的物理性质,例如粘度,可能变化很大。例如,本公开内容的组合物的凝胶形式的粘度,例如150,000厘泊,可大大高于本公开内容的组合物的洗剂形式的粘度,例如100厘泊。可根据本领域公知的技术选择关于这类递送形式的材料、成分、比例和程序的进一步细节。

[0101] 在多个实施方案中,本公开内容的基于藻酸的抗微生物组合物优选以有效降低STD传播风险的剂量施用至哺乳动物的阴道。典型的剂量在约1-10克或3-7克或4-6克组合物的范围内。在多个实施方案中,可使用器具或涂药器如栓剂、海绵、拭子、刷子或注射器施用所公开的基于藻酸的抗微生物组合物。在其他实施方案中,所公开的基于藻酸的抗微生物组合物可施加至屏障器具如海绵、安全套或隔膜上。在一个实施方案中,所公开的基于藻酸的抗微生物组合物可以在预填充的一次性器具如预填充的可挤压管或预填充的注射器中。

[0102] 对于本领域技术人员显而易见的是,可以使用充当本文化合物的前体、类似物和衍生物如盐和酯的其他化合物。

[0103] 提供上述公开内容是为了给予本领域普通技术人员关于如何制备和使用所述组合物和方法的实施方案的完整公开内容和描述,而并非旨在限制本发明人视其发明的范围。上述方式的修改(用于实施本公开内容的,对于本领域技术人员显而易见的)确定在以下权利要求的范围内。本说明书中引用的所有出版物、专利和专利申请均通过引用以其全文并入本文,如同特别地且单独地指出每一个这样的出版物、专利或专利申请通过引用并入本文。

[0104] 实施例

[0105] 以下配制使用具有20,000至400,000的分子量和0.25至2.0的M:G比的藻酸亚组。

[0106] 实施例1:基于藻酸的杀微生物剂的配制

[0107] 作为其最简单的形式,所述基于藻酸的杀微生物剂含有藻酸、替诺福韦和水。作为一种形式,藻酸、iota角叉藻聚糖、替诺福韦和水合并。对于本文提到的任何一种配制,任选地添加帕莫酸以增强替诺福韦的溶解性、渗透性或吸收。

[0108] 所述配制如下进行:将替诺福韦溶解在水和氢氧化钠的碱性溶液中。使pH处于中性以下,并添加藻酸。在藻酸之前、同时或之后添加iota角叉藻聚糖(如果使用)。

[0109] 实施例2:基于藻酸的杀微生物剂和避孕药的配制

[0110] 作为其最简单的形式,所述基于藻酸的杀微生物剂和避孕药含有藻酸、替诺福韦、乳酸和水。作为另一种形式,藻酸、黄原胶、替诺福韦、乳酸和水合并。作为另一种形式,藻酸、iota角叉藻聚糖、替诺福韦、乳酸和水合并。作为另一种形式,藻酸、黄原胶、替诺福韦、乳酸、柠檬酸、苯甲酸、酒石酸氢钾、甘油和水合并。作为另一种形式,藻酸、iota角叉藻聚糖、替诺福韦、乳酸、柠檬酸、苯甲酸、酒石酸氢钾、甘油和水合并。对于本文提到的任何一种配制,任选地添加帕莫酸以增强替诺福韦的溶解性、渗透性或吸收。

[0111] 所述配制如下进行:将替诺福韦溶解在水和氢氧化钠的碱性溶液中。接着添加pH降低成分,如柠檬酸、乳酸和藻酸。最后添加增稠剂,如黄原胶和iota角叉藻聚糖。不影响pH的其他成分如甘油、苯甲酸和酒石酸氢钾可以在任何阶段添加。最终的pH应当类似于正常的阴道pH范围,如约2至约5,或约2至约4,或约3至约4。

[0112] 实施例3:酸缓冲避孕药Amphora凝胶的临床试验

[0113] 在本实施例中,进行临床试验以评价酸缓冲避孕药Amphora凝胶的避孕能力。在非劣效性研究中比较Amphora凝胶与Conceptrol ®阴道凝胶(Revive Personal Products Company, Madison, New Jersey)。Conceptrol阴道凝胶是在2.5mL体积的凝胶中含有4%壬苯醇醚-9的局部凝胶。在该临床试验中招募了年龄为18-35岁的健康女性,一半给予Amphora凝胶(每次使用5mL剂量),而另一半给予Conceptrol凝胶(每次使用2.5mL剂量)。指示女性在异性间性交之前最多2小时在阴道中插入所述凝胶。两种凝胶均施用7个月经周期的时间段,并且使用者亚组继续使用Amphora凝胶另外6个周期。在评价阶段结束时,对女性亚组行阴道镜检查以检测阴道和子宫颈中的损伤,并进行测试以测量阴道菌群的任何变化。

[0114] 通过使用Kaplan-Meier统计分析,结果表明,对于避孕目的而言,Amphora凝胶并不次于Conceptrol阴道凝胶。Amphora凝胶耐受良好并且没有显著的不良事件。细菌性阴道病、尿路感染和酵母感染的发生率在两种凝胶之间是类似的。此外,没有关于Amphora凝胶泄漏的报告,并且女性似乎更喜欢Amphora凝胶。

[0115] \*\*\*\*

[0116] 提供上述实施例是为了给予本领域普通技术人员关于如何制备和使用所述组合物的实施方案的完整公开内容和描述,而并非旨在限制本发明人视其发明的范围。上述方式的修改(用于实施本发明的,对于本领域技术人员显而易见的)确定在以下权利要求的范围内。

[0117] 本文引用的所有参考文献均特此通过引用而并入。