[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200380100718.8

[51] Int. Cl[7]
A61K 31/436
A61K 31/57
A61K 31/167
A61K 31/137
A61K 31/135
A61K 31/44
A61K 31/18

[43] 公开日 2005 年 11 月 2 日

[11] 公开号 CN 1691946A

[22] 申请日 2003.11.4
[21] 申请号 200380100718.8
[30] 优先权
[32] 2002.11.8 [33] AU [31] 2002952559
[86] 国际申请 PCT/JP2003/014077 2003.11.4
[87] 国际公布 WO2004/041278 英 2004.5.21
[85] 进入国家阶段日期 2005.3.17
[71] 申请人 藤泽药品工业株式会社
地址 日本大阪府大阪市
[72] 发明人 平山良孝 森下佳彦

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
代理人 关立新 谭明胜

A61P 11/06

权利要求书 1 页 说明书 13 页

[54] 发明名称 他克莫司(FK506)衍生物联合 β2 - 激动剂用于治疗哮喘的用途

[57] 摘要

本发明涉及 FK506 衍生物和 β2 - 激动剂用于制备同时、分开或顺序使用的治疗或预防急性或慢性哮喘的药物的新用途。

ISSN1008-4274

1. FK506衍生物和β2-激动剂用于制备同时、分开或顺序使用的治疗或预防急性或慢性哮喘的药物的用途。

2. 通过同时、分开或顺序对人或动物施用有效量的FK506衍生物和β2-激动剂而治疗或预防急性或慢性哮喘的方法。

3. 含有FK506衍生物和β2-激动剂作为联合制剂用于治疗或预防急性或慢性哮喘的组合物。

4. 根据权利要求1的用途，其中FK506衍生物是他克莫司或其水合物。

5. 根据权利要求1的用途，其中β2-激动剂是沙美特罗或福莫特罗。

6. FK506衍生物用于制备和β2-激动剂同时、分开或顺序使用而治疗或预防急性或慢性哮喘的药物的用途。

7. 一种含有FK506衍生物用于和β2-激动剂同时，分开或顺序使用而治疗或预防急性或慢性哮喘的组合物。

8. β2-激动剂用于制备和FK506衍生物同时，分开或顺序使用而治疗或预防急性或慢性哮喘的药物的用途。

9. 一种含有β2-激动剂用于和FK506衍生物同时，分开或顺序使用而治疗或预防急性或慢性哮喘的组合物。

他克莫司（FK506）衍生物联合β2-激动剂用于治疗哮喘的用途

技术领域

本发明涉及一种 FK506 衍生物和β2-激动剂新的联合用途，其在医疗领域是有益的。

背景技术

尽管近来在对哮喘的认识上和引入强效的抗哮喘药方面取得了进展，但哮喘仍是未被充分认识而且经常是难于治疗的疾病。近来取得的对该疾病的治疗进展是由于认识到哮喘是慢性炎性疾病。现在治疗的目的在于控制症状和减少炎症。症状可以用β2-激动剂如特布他林，柳丁氨醇，福莫特罗和沙美特罗控制。通常用类固醇如二丙酸氯地米松，丙酸氟替卡松，糠酸莫米他松和布地奈德提供预防性治疗。

尽管有现代的维持治疗，但由于多种原因有很多哮喘病人是治疗不足的，对它们生活质量具有负面影响。使用不同药物疗法和装置进行的过于复杂的治疗可能导致病人和医生之间的误解和交流问题。不配合是一个普遍的现象。改进对病人的教育可以部分抵消这个现象，但是不能完全解决这个问题。因此，一种新的和更简单的哮喘治疗方法能够大大有助于许多患有呼吸疾病，尤其是哮喘的病人。在 PCT 申请 WO93/11773 和 WO98/15280(都属于瑞典的 Astra AB)中提出的在同一装置中将布地奈德和福莫特罗的联合使用为改善现今的哮喘治疗提供了具有极好的安全性的有利的途径。

FK506 衍生物，如他克莫司和其相关化合物，已知能用于预防或治疗可逆性阻塞性气道疾病，如哮喘（美国专利 5,519,049）。并且根据美国专利 6,361,760 含有 FK506 衍生物的气雾剂也是已知的。

本发明的公开

本发明涉及 FK506 衍生物和β2-激动剂用于制备同时、分开或顺序使用的治疗或预防急性或慢性哮喘的药物的新用途。

而且更进一步地，本发明还涉及一种通过同时、分开或顺序对人或动物施用有效量的 FK506 衍生物和β2-激动剂而治疗或预防急性或慢性哮喘的方法。

本发明的一个进一步的目标是提供一种含有 FK506 衍生物和β2-激动剂作为联合制剂用于治疗或预防急性或慢性哮喘的组合物。

并且本发明还涉及以下内容。

FK506 衍生物用于制备和β2-激动剂同时、分开或顺序使用而治疗或预防急性或慢性哮喘的药物的用途。

一种含有 FK506 衍生物用于和β2-激动剂同时，分开或顺序使用而治疗或预防急性或慢性哮喘的组合物。

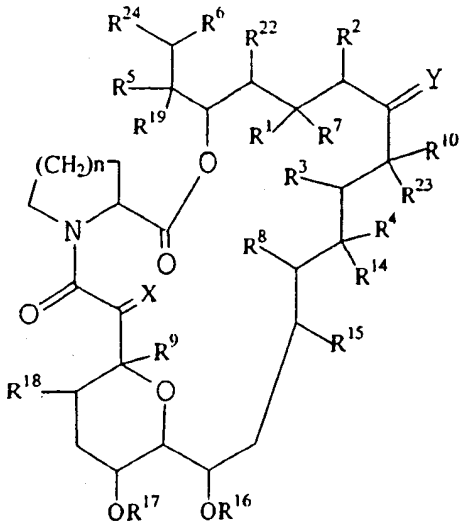
β2-激动剂用于制备和 FK506 衍生物同时，分开或顺序使用而治疗或预防急性或慢性哮喘的药物的用途。

一种含有β2-激动剂用于和 FK506 衍生物同时，分开或顺序使用而治疗或预防急性或慢性哮喘的组合物。

在本发明中，“β2-激动剂”不应被限制而应被认为指任何能够刺激β2 受体的化合物。优选地，可举例长效β2-激动剂（如沙美特罗、福莫特罗等）和短效β2-激动剂（如沙丁胺醇、比托特罗、非诺特罗、乙基异丙肾上腺素、间羟异丙肾上腺素、吡布特罗、特布他林、柳丁氨醇等）。更优选的是长效β2-激动剂，如沙美特罗或福莫特罗。

“FK506 衍生物”指在 EP-0184162、WO89/5303、WO93/05058、WO96/31514 等公开的三环化合物，其公开的内容在这里结合作为参考。已知这些三环化合物具有强烈的免疫抑制活性。

作为三环化合物的一个特定的例子，可举例以下式（I）的三环化合物。



(I)

(其中每对相邻的 R^1 和 R^2、R^3 和 R^4 及 R^5 和 R^6 独立地

(a) 为两个相邻的氢原子，但 R^2 也可以是烷基或者

(b) 可在它们所连接的碳原子之间形成另一个键;

R^7 是氢原子、羟基、被保护的羟基、或烷氧基、或与 R^1 一起形成氧基;

R^8 和 R^9 独立地是氢原子或羟基;

R^{10} 是氢原子、烷基、被一个或多个羟基取代的烷基、链烯基、被一个或多个羟基取代的链烯基、或被氧基取代的烷基;

X 是氧基、(氢原子和羟基)、(氢原子和氢原子)、或式 $-CH_2O-$ 所代表基团;

Y 是氧基、(氢原子和羟基)、(氢原子和氢原子)、或式 $N-NR^{11}R^{12}$ 或 $N-OR^{13}$ 所代表的基团;

R^{11} 和 R^{12} 独立地是氢原子，烷基，芳基或甲苯磺酰基;

R^{13}，R^{14}，R^{15}，R^{16}，R^{17}，R^{18}，R^{19}，R^{22} 和 R^{23} 独立地是氢原子或烷基;

R^{24} 是含有一个或多个杂原子的任选被取代的环系;

n 是 1 或 2 的整数; 并且

除上述定义外，Y、R^{10} 和 R^{23} 与它们相连的碳原子一起可以表示饱和或不饱和的含氮，硫和/或氧的 5 或 6 元杂环，该杂环可任选地被一个或多个选自烷基、羟基、烷氧基、苄基、式 $-CH_2Se(C_6H_5)$ 的基团和被一个或多个羟基取代的烷基所取代。

现在详细解释和阐明以上通式(I)的定义及关于它的具体的和优

选的实例。

除非另外指明，术语“低级”指具有 1-6 个碳原子的基团。

“烷基”和“烷氧基”的烷基部分的优选例子包括直链或支链的脂肪族烃基残基，例如低级烷基如甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、戊基、新戊基和己基。

“链烯基”优选的例子包括含有一个双键的直链或支链脂肪族烃基残基，例如低级链烯基如乙烯基、丙烯基（例如烯丙基）、丁烯基、甲基丙烯基、戊烯基和己烯基。

“芳基”的优选例子包括苯基、甲苯基、二甲苯基、异丙苯基、2,4,6-三甲苯基和萘基。

“被保护的羟基”和“被保护的氨基”中优选的保护基团是 1-(低级烷硫基)-(低级)烷基如低级烷硫基甲基（例如甲硫基甲基、乙硫基甲基、丙硫基甲基、异丙硫基甲基、丁硫基甲基、异丁硫基甲基、己硫基甲基等），更优选 C_1—C_4 烷硫基甲基，最优选甲硫基甲基；

三取代的甲硅烷基如三（低级）烷基甲硅烷基（例如三甲基甲硅烷基、三乙基甲硅烷基、三丁基甲硅烷基、叔丁基二甲基甲硅烷基、三叔丁基甲硅烷基等）或低级烷基-二芳基甲硅烷基（例如甲基二苯基甲硅烷基、乙基二苯基甲硅烷基、丙基二苯基甲硅烷基、叔丁基二苯基甲硅烷基等），更优选三（C_1—C_4）烷基甲硅烷基和 C_1—C_4 烷基二苯基甲硅烷基，最优选叔丁基二甲基甲硅烷基和叔丁基二苯基甲硅烷基；和酰基如脂肪族酰基、芳族酰基或被芳基取代的脂肪族酰基，其衍生自羧酸、磺酸或氨基甲酸。

脂肪族酰基的例子包括任选具有一个或多个适宜取代基如羧基的低级烷酰基，例如甲酰基、乙酰基、丙酰基、丁酰基、异丁酰基、戊酰基，异戊酰基、新戊酰基、己酰基、羧基乙酰基、羧基丙酰基、羧基丁酰基、羧基己酰基等；任选具有一个或多个适宜取代基如低级烷基的环（低级）烷氧基（低级）烷酰基，例如环丙氧基乙酰基、环丁氧基丙酰基、环庚氧基丁酰基、薄荷基氧基乙酰基、薄荷基氧基丙酰基、薄荷基氧基丁酰基、薄荷基氧基戊酰基、薄荷基氧基己酰基等；樟脑磺酰基；或具有一个或多个适宜取代基如羧基或被保护的羧基的低级烷基氨基甲酰基，例如羧基（低级）烷基氨基甲酰基（例如羧甲基氨基甲酰基、羧乙基氨基甲酰基、羧丙基氨基甲酰基、羧丁基氨基

甲酰基、羧戊基氨基甲酰基、羧己基氨基甲酰基等），三-(低级)烷基甲硅烷基（低级）烷氧羰基（低级）烷基氨基甲酰基（例如三甲基甲硅烷基甲氧羰基乙基氨基甲酰基、三甲基甲硅烷基乙氧羰基丙基氨基甲酰基、三乙基甲硅烷基乙氧羰基丙基氨基甲酰基、叔丁基二甲基甲硅烷基乙氧羰基丙基氨基甲酰基、三甲基甲硅烷基丙氧羰基丁基氨基甲酰基等）等。

芳香族酰基的例子包括任选具有一个或多个适宜取代基如硝基的芳酰基，例如苯甲酰基、甲苯甲酰基、二甲苯甲酰基、萘甲酰基、硝基苯甲酰基、二硝基苯甲酰基、硝基萘甲酰基等；和任选具有一个或多个适宜取代基如卤素的芳烃磺酰基，例如苯磺酰基、甲苯磺酰基、二甲苯磺酰基、萘磺酰基、氟苯磺酰基、氯苯磺酰基、溴苯磺酰基、碘苯磺酰基等。

被芳族基团取代的脂肪族酰基的例子包括任选具有一个或多个适宜取代基如低级烷氧基或三卤代（低级）烷基的芳基（低级）烷酰基，例如苯基乙酰基、苯基丙酰基、苯基丁酰基、2-三氟甲基-2-甲氧基-2-苯基乙酰基、2-乙基-2-三氟甲基-2-苯基乙酰基、2-三氟甲基-2-丙氧基-2-苯基乙酰基等。

在以上所述酰基中更优选的酰基是任选具有羧基的 C_1-C_4 烷酰基、在环烷基部分带有两个（C_1-C_4）烷基的环（C_5-C_6）烷氧基（C_1-C_4）烷酰基、樟脑磺酰基、羧基-(C1-C4)烷基氨基甲酰基、三（C_1-C_4）烷基甲硅烷基(C1-C4)烷氧羰基（C_1-C_4）烷基氨基甲酰基、任选具有一个或两个硝基的苯甲酰基，具有卤素的苯磺酰基，或具有 C_1-C_4烷氧基和三卤代（C_1-C_4）烷基的苯基（C_1-C_4）烷酰基。在这些基团中，最优选乙酰基，羧基丙酰基，薄荷基氧基乙酰基，樟脑磺酰基，苯甲酰基，硝基苯甲酰基，二硝基苯甲酰基，碘苯磺酰基和 2-三氟甲基-2-甲氧基-2-苯乙酰基。

“5 或 6 元含氮，硫和/或氧的杂环” 优选的例子包括吡咯基和四氢呋喃基。

R^{24}是任选取代的具有一个或多个杂原子的环系，优选的 R^{24}可以是任选具有适宜取代基的环（C_{5-7}）烷基，举例如下。

(a) 3,4-二氧代环己基;

(b) 3-R^{20}-4-R^{21}-环己基，

其中 R^{20} 是羟基、烷氧基、氧基或 $-OCH_2OCH_2CH_2OCH_3$ 基团，而

R^{21} 是羟基，－OCN、烷氧基、可被适宜取代基取代的杂芳基氧基、1-或 2-四唑基、$-OCH_2OCH_2CH_2OCH_3$ 基团、被保护的羟基、氯、溴、碘、氨基乙二酰氧基，叠氮基、对甲苯基氧基硫代羰基氧基、或 R^{25} $R^{26}CHCOO-$，其中 R^{25} 是任选被保护的羟基或被保护的氨基，而 R^{26} 是氢或甲基，或

R^{20} 和 R^{21} 一起形成环氧环的氧原子；或

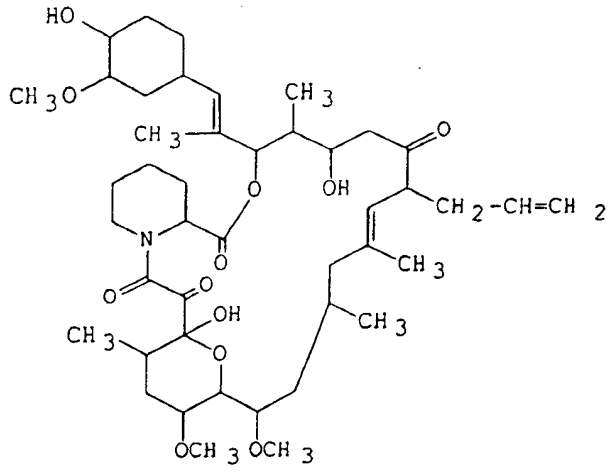
(c) 被甲氧基甲基、任选被保护的羟甲基、酰氧基甲基（其中酰基部分任选含有可被季铵化的二甲基氨基或被酯化的羧基）、一个或多个可以被保护的氨基和/或羟基、或氨基乙二酰氧基甲基取代的环戊基，优选的例子是 2-甲酰基-环戊基。

“可被适宜取代基取代的杂芳基氧基”的“可被适宜取代基取代的杂芳基”部分可以是 EP-A-532，088 中为通式化合物的 R^1 举例的基团，优选 1-羟乙基吲哚-5-基，其公开的内容在这里结合作为参考。

根据本发明使用的三环化合物（I）及其药学上可接受的盐已知具有极佳的免疫抑制活性、抗微生物活性和其他药理学活性，因此具有治疗或预防器官或组织移植所引起的排斥反应，移植物抗宿主疾病，自身免疫性疾病和传染性疾病的价值[EP-A-0184162, EP-A-0323042, EP-A-423714, EP-A-427680, EP-A-465426, EP-A-480623, EP-A-532088, EP-A-532089, EP-A-569337, EP-A-626385, WO89/05303, WO93/05058, WO96/31514, WO91/13889, WO91/19495, WO93/04680, WO93/5659 等]，这些文献所公开的内容在这里结合作为参考。

特别地，称为 FR900506(＝FK506)，FR900520(子囊霉素)，FR900523 和 FR900525 的化合物是由以下链霉菌属的微生物制得的产品：筑波链霉菌 No.9993[保藏单位：National Institue of Bioscience and Human Techology Agency of Industrial Science and Technology(以前：Fermentation Research Institute Agency of Industrial Science and Technology)，1-3, Higashi 1-chome, Tsukuba-shi, Ibaraki, Japan，保藏日：1984 年 10 月 5 日，保藏号：FERM BP-927]或吸水链霉菌雅库亚种 No.7238[保藏单位：National Institue of Bioscience and Human Techology Agency of

Industrial Science and Technology(以前: Fermentation Research Institute Agency of Industrial Science and Technology), 1-3, Higashi 1-chome, Tsukuba-shi, Ibaraki, Japan, 保藏日: 1985年1月12日, 保藏号: FERM BP-928] [EP-A-0184162]。特别是, 具有如下化学式的FK506(通用名称: 他克莫司)是一种代表性的化合物。



化学名:

17-烯丙基-1,14-二羟基-12-[2-(4-羟基-3-甲氧基环己基)-1-甲基乙烯基]-23,25-二甲氧基-13,19,21,27-四甲基-11,28-二氧杂-4-氮杂三环[22.3.1.$0^{4,9}$]二十八碳-18-烯-2,3,10,16-四酮

三环化合物(I)的优选的例子是如下化合物, 其中每对相邻的R^3和R^4或R^5和R^6在它们连接的碳原子之间独立形成另外的键;

R^8和R^{23}各自独立地是氢原子;

R^9是羟基;

R^{10}是甲基、乙基、丙基或烯丙基;

X是(氢原子和氢原子)或氧基;

Y是 氧基;

R^{14}, R^{15}, R^{16}, R^{17}, R^{18}, R^{19}, 和R^{22}各是甲基;

R^{24}是3-R^{20}-4-R^{21}-环己基,

其中R^{20}是羟基、烷氧基、氧基或-$OCH_2OCH_2CH_2OCH_3$基团, 而

R^{21}是羟基、-OCN、烷氧基、可被适宜取代基取代的杂芳氧基、

1-或 2-四唑基、$-OCH_2OCH_2CH_2OCH_3$ 基团、被保护的羟基、氯、溴、碘、氨基乙二酰氧基、叠氮基、对甲苯基氧基硫代羰基氧基或 $R^{25}R^{26}CHCOO-$，其中 R^{25} 是任选被保护的羰基或被保护的氨基，而 R^{26} 是氢或甲基，或者 R^{20} 和 R^{21} 一起形成环氧环中的氧原子；和

n 是 1 或 2 的整数。

除 FK506 外，最优选的三环化合物（I）是子囊霉素衍生物如卤代子囊霉素（例如 33-表-氯-33-脱氧子囊霉素），其公开于 EP427,680 实施例 66a 中。

三环化合物（I）可以是其盐的形式，包括常规的无毒和药学上可接受的盐如与无机或有机碱的盐，特别是，碱金属盐如钠盐和钾盐，碱土金属盐如钙盐和镁盐，铵盐和胺盐如三乙胺盐和 N-苯甲基-N-甲基胺盐。

至于本发明的三环化合物，应该理解为由于不对称碳原子或双键，其可能有构象异构体和一种或多种立体异构体如光学和几何异构体，并且此类构象异构体和同分异构体也包括在本发明的范围内。更进一步，三环化合物可以是溶剂化物的形式，其包括在本发明的范围内。溶剂化物优选包括水合物和乙醇化物。

虽然 FK506 衍生物的有效剂量依赖于所述 FK506 衍生物的类型，病人的年龄，疾病的类型，病的严重程度及其它因素，但出于治疗的目的，每日剂量为约 0.001 至 10000μg，优选 0.01 至 1000μg，更优选 0.1 至 500μg。通常的平均单位剂量为约 0.1μg，0.5μg，1μg，5μg，10μg，50μg，100μg，250μg 或 500μg。

β2-激动剂适宜的单位剂量范围为 0.1μg 至 500μg，优选 0.5μg 至 250μg，更优选在 1μg 至 100μg 之间。包括维持治疗，β2-激动剂如福莫特罗（富马酸酸盐二水合物）的日剂量范围应为 0.1μg 至 1000μg，优选 0.5μg 至 500μg，更优选 1μg 至 200μg

具体的剂量依赖于病人（年龄、性别、体重等）和疾病的严重程度（轻微，中度，严重的哮喘等）。

优选混合物含有一种或多种药学上可接受的添加剂，稀释剂或载体，优选在每一剂量中的量为 50μg 至 4000μg，更优选的为 100μg 至 2000μg 和最优选 100μg 至 1000μg。适宜的添加剂，稀释剂或载体的

例子包括乳糖、葡聚糖、甘露醇或葡萄糖。优选使用乳糖，而且更优选乳糖一水合物。

混合物中的一种或多种成分可以是干燥粉末的形式，更优选是小颗粒干燥粉末，最优选团聚的小颗粒干燥粉末。

或者是，将一种或多种活性成分制成和稀释剂，添加剂或载体有序混合物的形式。本发明使用的这些成分可以使用那些本领域熟练人员公知的方法以这些优选形式制得。活性成分的粒子大小优选小于10μm。

可以通过吸入、口服或鼻内给药。给药系统的成分优选适合于通过干粉吸入器，加压计量剂量吸入器或喷雾器给药。当给药系统的成分适合于通过加压计量剂量吸入器给药时，它们优选为小颗粒的形式。它们溶解或优选悬浮在液体抛射剂混合物中。可以使用的抛射剂包括含氯氟烃，烃或液化氟代烷烃。特别优选的抛射剂是HFA-134a(四氟乙烷）和 HFA-227，它们均可单独使用或联合使用。它们可任选地和一种和/或多种其他抛射剂和/或一种或多种表面活性剂和/或一种或多种其他赋形剂如乙醇，润滑剂，抗氧剂和/或稳定剂结合使用。

当本发明的给药系统的成分适合于通过喷雾器给药时，它们可以是雾化的含水混悬液或溶液的形式，其中含有或不含有适宜的pH或渗透压调节剂，可为单剂量或多剂量制剂。

如果适宜，β2-激动剂可以在其使用前和 FK506 衍生物混合。因此本发明的含有所述β2-激动剂的组合物可以进一步含有 FK506 衍生物。并且任选地，还可以含有另外的活性成分。

下面给出的实施例用于详细解释本发明。

实施例 1

对呼吸阻力、抗原诱导的气道炎症和气道高反应性的抑制活性的测定。

方法

（1）抗原致敏的豚鼠的制备

采用和 Am.. J. Respir. Crit. Care Med. 160(2): 663-671 (1999) 相似的方法制备卵清白蛋白（OA）致敏的豚鼠。

（2）呼吸阻力、抗原诱导的气道炎症以及气道高反应性的测定

通过喷射药物的气雾剂将药物给予放置在塑料盒中的动物，然后将气雾化的卵清白蛋白溶液导入塑料盒。用和 Eur J Pharmacol (1996) Apr 11; 300(3) : 215-9 相似的方法监测到抗原诱导的气道阻力的立即增加。

第二天，采用和 J. Exp. Med (1998) 188: 157-167 相似的方法测定鼠体内乙酰胆碱引起的气道反应性。

在处死动物后，进行支气管肺泡灌洗(BAL)同时收集支气管肺泡灌洗液中的细胞并分别计数。

实施例 2

方法

（1）免疫接种

给重约 300 克的 Hartley 豚鼠通过腹膜内和皮下注射卵白蛋白的生理盐水溶液（卵白蛋白，5mg/ml），在第一次免疫接种 7 天后重复同样的过程。

（2）抗原激发

在第二次免疫接种 7 或 8 天之后，用卵白蛋白激发动物。将清醒的动物放置在双隔室盒子中，该盒子由一个鼻室和一个躯体室构成。使用超声喷雾器向鼻室喷雾卵白蛋白溶液（1％在生理盐水中）3 分钟。阴性对照组使用生理盐水代替卵白蛋白溶液。在抗原激发前 35 分钟，通过腹膜内给予所有动物 10mg/kg 的马来酸吡拉明（pyriramine maleate）。

（3）药物吸入

在抗原激发前 30 分钟，将下面确定的 FK506 气雾剂（2 个喷雾单元），其安慰剂（4 个喷雾单元），下面确定的 Serevent®（沙美特罗昔萘酸酯）吸入气雾剂（2 个喷雾单元），或 FK506+Serevent®（每个 2 个喷雾单元）给药一次。将动物放置在双隔室盒子中喷气雾剂，并保持 2 分钟。

FK506 气雾剂(0.1%): HFA-134a 和 Miglyol 812 混合物中有 FK506 (5mg), 采用和 US6,361,760 实施例 1 相似的方法制备。

Serevent®: 2 种含氯氟烃抛射剂(三氯氟甲烷和二氯二氟甲烷)混合物中有沙美特罗昔萘酸酯(36.25μg/1 个喷雾单元)和大豆磷脂。

(4) 抗原诱导的速发型应答:

如参考文献 1 所描述, 通过测定增加的间歇 (Penh) 评估速发型支气管收缩。在测定增加的间歇的基线值 5 分钟后, 用卵白蛋白或生理盐水激发动物, 然后测定增加的间歇 10 分钟。

(5) 抗原诱导的迟发反应

在抗原攻击 24 小时以后, 评估了嗜酸性粒细胞在气道中的积聚情况。在处死动物后, 通过气管插管重复三次支气管肺泡灌洗(BAL), 然后收集支气管肺泡灌洗液 (BALF)。通过离心获得支气管肺泡灌洗液的细胞, 用生理盐水悬浮, 计数总的细胞数, 并将细胞悬浮液涂在玻璃载玻片上。将细胞染色并在显微镜下分别计数嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、巨噬细胞、淋巴细胞和其他细胞。将每种细胞类型的百分比乘以从支气管肺泡灌洗液中回收得到的细胞的总数而得到支气管肺泡灌洗液每种细胞类型的绝对数。

结果和结论

结果归纳在表 1 和表 2 中。抗原吸入引起了速发型支气管收缩和迟发反应 (气道炎症)。FK506 气雾剂和 Serevent®吸入气雾剂的联合使用抑制了速发型应答和迟发反应。

表 1.

FK506 气雾剂和 Serevent®吸入气雾剂对抗原诱导的速发型支气管收缩的影响

药物	喷雾单元	抗原激发	n	%增加的间歇（Penh）基线上的增加值
–	–	–	5	33±17*
安慰剂	4	+	7	507±127
FK506 气雾剂	2	+	8	630±171
Serevent®吸入气雾剂	2	+	8	61±38*
FK506 气雾剂 + Serevent®吸入气雾剂	2 + 2	+	8	61±38*

*: P<0.05 相对安慰剂组（t 检验） Mean±S.E.

表 2.

FK506 气雾剂和 Serevent®吸入气雾剂对抗原诱导的气道炎症的影响

药物	喷雾单元	抗原攻击	n	%增加的间歇（Penh）基线上的增加值
–	–	–	5	3.77±1.06**
安慰剂	4	+	7	71.99±16.82
FK506 气雾剂	2	+	8	16.36±2.81
Serevent®吸入气雾剂	2	+	8	44.44±6.53**
FK506 气雾剂 + Serevent®吸入气雾剂	2 + 2	+	8	7.92±1.98 **, #, &&

*: P<0.01 相对安慰剂组（t 检验） Mean±S.E.

**: P<0.05 相对 FK506 气雾剂组（t 检验）

&&: P<0.01 相对 Serevent®吸入气雾剂组（t 检验）

因此，使用 FK506 和 Serevent®联合治疗哮喘要大大优于单独使用 FK506 或 Serevent®治疗哮喘。

参考文献

1)E. HAMELMANN, J. SCHWARZE, K. TAKEDA, A. OSHIBA, G. L. LARSEN, C. G. IRVIN, and E. W. GELFAND
Am. J. Respir. Crit. Care Med., Volume 156, Number 3, September 1997, 766-775 Noninvasive Measurement of Airway Responsiveness in Allergic Mice Using Barometric Plethysmography。

工业实用性

从以上发明，证实 FK506 衍生物和β2-激动剂的联合使用对预防抗原接触引起的哮喘发作，缓解持续支气管痉挛，降低气道高反应性和减少气道炎症显示出显著的和/或协同的作用，这使得哮喘病人的疾病状况更好控制。由于提供了更好的控制以及减少了每种药物总量，联合使用对于减少 FK506 衍生物和/或β2-激动剂的副反应也是有益的。

从另一方面，本发明也提供了以下发明。

i）一种制品，含有包装材料和装在所述包装材料中的 FK506 衍生物和β2-激动剂，其中所述 FK506 衍生物和β2-激动剂对治疗和预防急性或慢性哮喘是治疗上有效的，并且在所述包装材料中含有简要说明 FK506 衍生物和β2-激动剂能够用于治疗和预防急性或慢性哮喘的标签或书面材料。

ii）一种制品，含有包装材料和装在所述包装材料中的 FK506 衍生物和β2-激动剂，其中所述 FK506 衍生物和β2-激动剂对治疗和预防急性或慢性哮喘是治疗上有效的，并且在所述包装材料中含有简要说明 FK506 衍生物和β2-激动剂能够用于治疗和预防急性或慢性哮喘的标签或书面材料。

这里引用的专利，专利申请和出版物结合作为参考。