



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 1965825 B

(45) 授权公告日 2011.07.06

(21) 申请号 200510047735.0

(22) 申请日 2005.11.17

(73) 专利权人 洪晶

地址 110001 辽宁省沈阳市和平区和平北大  
街 57 号 1-7-1

专利权人 李兵

(72) 发明人 洪晶 李兵

(74) 专利代理机构 沈阳晨创科技专利代理有限  
责任公司 21001

代理人 张晨

(51) Int. Cl.

A61K 31/436(2006.01)

A61K 9/00(2006.01)

A61K 9/06(2006.01)

A61K 9/107(2006.01)

A61P 27/02(2006.01)

(56) 对比文件

CN 1674896 A, 2005.09.28, 说明书第 3 页第  
9-12 行, 第 9 页第 24-27 行.

高华. 新型免疫抑制剂雷帕霉素在眼科的应  
用. 国外医学眼科学分册 28 3. 2004, 28(3), 165  
页-167 页 ‘六、在眼科的应用’ 部分.

审查员 俞可嘉

权利要求书 1 页 说明书 5 页

(54) 发明名称

一种治疗眼部免疫性疾病及抑制增殖、新生  
血管的眼表用药

(57) 摘要

一种治疗眼部免疫性疾病及抑制增殖、新生  
血管的眼表用药,以雷帕霉素为主活性成分,雷帕  
霉素的浓度范围 0.01%~2%重量。本发明治疗  
眼部免疫性疾病及抑制增殖、新生血管的眼表用  
药可以用于治疗 **Sjögren** 综合征,变应性结膜  
炎,巨乳头性结膜炎,春季结膜炎,特应性角膜结  
膜炎,翼状胬肉,Mooren 溃疡, Stevens-Johnson  
综合征,干眼、巩膜炎和表层巩膜炎等眼表疾病;  
各种类型的色素膜炎症;角膜移植术后、眼部外  
伤及手术后预防纤维增生、粘连及瘢痕形成、抑制  
新生血管。

1. 一种治疗眼部免疫性疾病及抑制增殖、新生血管的眼表用药,以雷帕霉素为主活性成分,雷帕霉素的浓度范围 0.01%~2%重量。

2. 按照权利要求 1 所述治疗眼部免疫性疾病及抑制增殖、新生血管的眼表用药,其特征在于:雷帕霉素的浓度范围为 0.02%~0.5%重量。

3. 按照权利要求 1 所述治疗眼部免疫性疾病及抑制增殖、新生血管的眼表用药,其特征在于:还含有皮质类固醇激素、或环孢霉素 A、他克莫司。

4. 按照权利要求 1、2 或 3 所述治治疗眼部免疫性疾病及抑制增殖、新生血管的眼表用药,其特征在于:以棕榈油、橄榄油、蓖麻油、月见草油、维生素 A、D、E、K、鱼肝油、硬脂酸、单硬脂酸之一的油酯为赋型剂制备成滴眼液。

5. 按照权利要求 1、2 或 3 所述治疗眼部免疫性疾病及抑制增殖、新生血管的眼表用药,其特征在于:以卡波姆、聚乙二醇、聚三梨醇、甲壳素、透明质酸、泊洛沙姆之一为赋型剂制备成凝胶。

6. 按照权利要求 1、2 或 3 所述治疗眼部免疫性疾病及抑制增殖、新生血管的眼表用药,其特征在于:以羊毛脂、液体石蜡、黄凡士林之一为赋型剂制备成眼膏。

7. 按照权利要求 1、2 或 3 所述治疗眼部免疫性疾病及抑制增殖、新生血管的眼表用药,其特征在于:以西黄嗜胶为为赋型剂制备成乳剂。

8. 按照权利要求 1 或 2 所述治疗眼部免疫性疾病及抑制增殖、新生血管的眼表用药,其特征在于:以尼泊金乙脂为防腐剂。

9. 权利要求 1 所述药物在制备治疗 Sjögren 综合征,变应性结膜炎,巨乳头性结膜炎,春季结膜炎,特应性角膜结膜炎,翼状胬肉,Mooren 溃疡,Stevens-Johnson 综合征,干眼、巩膜炎和表层巩膜炎;各种类型的色素膜炎症;角膜移植术后、眼部外伤及手术后预防纤维增生、粘连及瘢痕形成、抑制新生血管形成药物中的用途。

## 一种治疗眼部免疫性疾病及抑制增殖、新生血管的眼表用药

### 技术领域：

[0001] 本发明涉及眼科药物制剂，特别提供了一种通过眼表给药的以雷帕霉素为主要活性成分的治疗眼部免疫性疾病及抑制增殖、新生血管的眼表用药的药物。

### 背景技术：

[0002] 眼部免疫性疾病是眼科顽固性眼病，目前眼局部用药主要有皮质类固醇激素、环孢霉素 A，一方面有些疾病不能得到有效的控制，另一方面皮质类固醇激素长期应用可引起青光眼、白内障，继发感染等严重危害眼的健康。角膜移植术后免疫排斥反应广义上亦为免疫性疾病，角膜移植是治疗角膜盲的重要复明手术，也是治疗某些顽固角膜病变的主要措施。在所有器官移植中，角膜移植是成功率最高的手术。尽管如此，免疫排斥仍是导致角膜移植失败的最常见原因，尤其是血管化角膜及二次角膜移植患者。目前临床上抑制角膜移植排斥反应的药物有皮质类固醇激素，环孢霉素 A 以及 FK506，虽然大大地提高了角膜移植的成功率及植片长期存活率，但仍有部分患者排斥不能被逆转。另外，眼部外伤及手术后患者常因新生血管及大量瘢痕形成导致治疗失败。因此寻找高效低毒的抑制免疫、增殖及新生血管形成的药物一直是防治眼部免疫性疾病及瘢痕粘连的重要课题。

[0003] 雷帕霉素 (Rapamycin, RPM, RAPA, Sirolimus) 是 1975 年从吸水性链霉菌 (*Streptomyces hygroscopicus*) 发酵液中提取出来的一种大环内酯类抗真菌抗生素，自 1989 年发现它具有强大的免疫抑制作用后，其研究进展相当迅速。它不但对多种自身免疫性异常有显著疗效，而且在不同种类的器官移植动物模型上显示出显著的抗排斥反应活性，是一种疗效好、低毒、无肾毒性及神经毒性的新型免疫抑制剂。比他克莫司 (FK506) 或环孢素 A (CsA) 更有效，近来还发现它抑制肿瘤内新生血管的产生，具有良好的抗肿瘤及新生血管形成作用。现已把其作为器官移植抗排斥作用新药进行 III 期临床试验。

[0004] RPM 的作用机制不同于 Calcineurin 抑制剂如 CsA 和 FK506。CsA 和 FK506 分别与细胞浆内的免疫亲素环孢亲和素和 FKBP12 结合，抑制 Calcineurin，抑制第 1/ 第 2 信号，阻止细胞因子如 IL-2 的表达和转录，抑制 T 细胞活化的早期阶段，抑制 T 细胞由 G0 期向 G1 期转变。RPM 则从另外途径发挥作用，它不直接阻断 T 细胞生长因子的生成，而是阻断这些细胞因子提供的增生信号，抑制多种刺激引起的 T 和 B 淋巴细胞增生，使细胞停留在细胞周期 G1 期的晚期，阻止这些细胞进入 S 期，RPM 属 T 细胞晚期激活抑制剂。RPM 可抑制对 CsA 和 FK506 不敏感的免疫激活途径。在同种移植后发生的对 CsA 不敏感的排斥反应中，有 CD28 介入。T 淋巴细胞上 CD28 受体的反应为 TH 细胞产生抗原依赖性细胞因子提供了重要的辅助信号，它的传播不能被 CsA 或 FK506 抑制，但对 RPM 敏感，RPM 影响 CD28 介导的持续上调 IL-2 的转录。虽然 RPM 阻断 IL-2 诱导的 T 细胞增殖，但不影响这一信号引起的活化诱导凋亡。

[0005] RPM 不局限于对免疫系统的细胞产生作用，还抑制 bFGF, PDGF 引起的平滑肌细胞、

内皮细胞和成纤维细胞等的增殖。

[0006] 联合应用较小剂量的 RPM 与 CsA 或 FK506 后,由于在免疫抑制作用上的协同,既可产生足够的疗效,又可避免或减轻它们各自的毒性反应。

[0007] 但是,目前雷帕霉素只有全身性用药制剂,无眼科专用制剂。由于血眼屏障的存在,全身性用药的体内生物利用率差,眼内的药物浓度极低。通常情况下,雷帕霉素口服生物利用率仅有 15%,药物吸收入血后 95% 的药物分布于红细胞内,血浆中的含量仅占 3%,游离状态的药物极少。由此带来全身性的用药的剂量加大,不仅增加了治疗成本,特别是具有很大的毒副作用。

[0008] 为此,史伟云等人也曾经提出采用眼内用药的雷帕霉素制剂,并向中国专利局提交了专利申请,申请号 200410086255.0,名称为“雷帕霉素在制备眼内植入缓释药物中的应用”。在该专利的申请文件中,申请人特别指出,免疫抑制剂在眼内的药物浓度很低时,不能起到治疗眼科与免疫有关的疾病。

#### 发明内容:

[0009] 本发明的目的在于提供一种治疗眼部免疫性疾病及抑制增殖、新生血管的眼表用药,既可避免全身性用药的副作用又可达到治疗效果,同时可与小量的皮质类固醇激素、环孢霉素 A 及 FK506 联合应用,既可产生足够的疗效,又可避免或减轻它们各自的毒性反应。

[0010] 本发明提供了一种治疗眼部免疫性疾病及抑制增殖、新生血管的眼表用药,以雷帕霉素为主活性成分,雷帕霉素的浓度范围 0.01%~2% 重量,较佳的浓度范围为 0.02%~0.5% 重量。

[0011] 本发明治疗眼部免疫性疾病及抑制增殖、新生血管的眼表用药,还可以含有皮质类固醇激素、环孢霉素 A 或 FK506。

[0012] 本发明治疗眼部免疫性疾病及抑制增殖、新生血管的眼表用药,可以以棕榈油、橄榄油、蓖麻油、月见草油、维生素 A、D、E、K、鱼肝油、硬脂酸、单硬脂酸之一的油酯为赋型剂制备成滴眼液。以卡波姆、聚乙二醇、聚三梨醇、甲壳素、透明质酸、泊洛沙姆之一为赋型剂制备成凝胶。以羊毛脂、液体石蜡、黄凡士林之一为赋型剂制备成眼膏。以西黄耆胶为为赋型剂制备成乳剂。

[0013] 本发明的发明人经过大量的试验证明:正如史伟云等在前述专利中所描述的,雷帕霉素药物浓度过高稳定性差、分散不均匀;但是与史伟云等在前述专利中指出的“免疫抑制剂在眼内的药物浓度很低时,不能起到治疗眼科与免疫有关的疾病”的论断正好相反,雷帕霉素药物浓度在较低的范围时可以产生良好的疗效,而超过最大有效浓度之后可见明显的毒副反应。

[0014] 本发明治疗眼部免疫性疾病及抑制增殖、新生血管的眼表用药可以用于治疗 **Sjögren** 综合征,变应性结膜炎,巨乳头性结膜炎,春季结膜炎,特应性角膜结膜炎,翼状胬肉,Mooren 溃疡,Stevens-Johnson 综合征,干眼、巩膜炎和表层巩膜炎等眼表疾病;各种类型的色素膜炎症;角膜移植术后、眼部外伤及手术后预防纤维增生、粘连及瘢痕形成、抑制新生血管。

[0015] 具体实施方式:

[0016] 实施例 1 滴眼液

[0017] 处方 :雷帕霉素分别为 0.01、0.02、0.05、0.1、0.2、0.5、0.9、2g

[0018] 尼泊金乙脂 0.03g

[0019] 维生素 E、维生素 A 或月见草油 加至 100ml

[0020] 工艺 :将尼泊金乙脂用维生素 E、维生素 A 或月见草油加热溶解,放冷。另取雷帕霉素加维生素 E、维生素 A 或月见草油使溶。将两溶液合并,加维生素 E、维生素 A 或月见草油至足量即得。

[0021] 雷帕霉素滴眼液稳定性试验 :

[0022] 以  $\text{CH}_3\text{COOK} \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$  饱和溶液,调整相对湿度 22.5%,温度 25℃,进行 2%雷帕霉素滴眼液稳定性考察, HPLC 测定雷帕霉素含量,结果如下 :2%雷帕霉素滴眼液储存 6 个月考察结果

[0023]

| 时间        | 1 个月        | 2 个月        | 3 个月        | 6 个月        |
|-----------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 雷帕霉素含量 PH | 2.04%       | 2.04%       | 2.04%       | 2.02%       |
| 外观检测      | 6.4<br>符合规定 | 6.4<br>符合规定 | 6.4<br>符合规定 | 6.6<br>符合规定 |

[0024] 结论 :储存 6 个月,按标准检查,该制剂符合规定

[0025] 实施例 2 凝胶

[0026] 处方 :雷帕霉素 分别为 0.5、1g

[0027] 尼泊金乙脂 0.03g

[0028] 卡波姆 2g

[0029] 蒸馏水 加至 100ml

[0030] 工艺 :将尼泊金乙脂用灭菌蒸馏水加热溶解,放冷 ;取卡波姆,加蒸馏水适量,待溶胀完全,备用 ;另取雷帕霉素加少量无水乙醇使溶。将上述溶液合并,搅拌至均匀,加蒸馏水至足量即得。

[0031] 实施例 3 眼膏

[0032] 处方 :雷帕霉素 2g

[0033] 尼泊金乙脂 0.03g

[0034] 液体石蜡 3g

[0035] 无水羊毛脂 10g

[0036] 黄凡士林 85g

[0037] 工艺 :将尼泊金乙脂、雷帕霉素加入到经灭菌、滤过后放冷的液体石蜡中,搅匀,再加入已干热灭菌、滤过并冷至约 50℃ 的凡士林和羊毛脂中搅匀凝固,即得。

[0038] 实施例 4 乳剂

[0039] 处方 :雷帕霉素 0.01-2g

[0040] 尼泊金乙脂 0.03g

[0041] 蓖麻油 30g

[0042] 阿拉伯胶 6.75g

[0043] 西黄嗜胶 0.75g

[0044] 蒸馏水适量 制成 100ml

[0045] 工艺 :将尼泊金乙脂用灭菌蒸馏水加热溶解,放冷。将雷帕霉素以蓖麻油溶解。

取阿拉伯胶、西黄耆胶与蓖麻油置研钵内略研匀,使胶分散于油中,一次加入 15ml 蒸馏水,迅速急烈研磨 1-2 分钟至发出吱吱声,即得初乳,加入尼泊金乙脂、雷帕霉素溶液边加边研磨,最后加入蒸馏水至配制量,研匀即得。

[0046] 实施例 6 不同浓度 RPM 滴眼液眼局部耐受性及安全性的评价

[0047] (1)RPM 滴眼液眼部刺激性试验:结果采用 Draize 眼部刺激性试验评分

[0048] 方法:健康 Wistar 大鼠 20 只,鼠龄 8-12 周,体重 150-200 克,随机分成 4 组,每组 4 只。一组为空白对照组,其他三组为实验组,右眼为实验眼。对照组实验眼点 RPM 滴眼液基质成分 50  $\mu$  l 一次,实验组实验眼点分别滴 0.5% RPM 滴眼液 50  $\mu$  l、0.2% RPM 滴眼液 50  $\mu$  l、0.05% RPM 滴眼液 50  $\mu$  l 一次,给药后轻合眼睑约 1 秒钟,纪录给药后 1、24、48、72 小时角膜荧光素钠染色,裂隙灯检查角膜、虹膜、结膜以及其他所观察到的损伤情况,以 Draize 眼部刺激实验评分表示。

[0049] 结果判定:将每只动物的角膜、虹膜、结膜的刺激反应分值相加,即是全部受试动物眼刺激反应的总分值。将总分值除以动物数,即为该受试动物眼刺激的最后分值。刺激程度积分 0-3 分:为无刺激、4-8 分:轻度刺激、9-12 分:中度刺激、13-16 分:重度刺激。

[0050] 结果:全部受试动物眼刺激反应评分均为 0 分。

[0051] 结论:0.5% RPM 滴眼液、0.2% RPM 滴眼液、0.05% RPM 滴眼液眼局部应用无刺激性。

[0052] (2)PM 滴眼液眼长期给药的眼毒性试验

[0053] 方法:健康 Wistar 大鼠 20 只,鼠龄 8-12 周,体重 150-200 克,随机分成 4 组,每组 4 只。一组为空白对照组,其他三组为实验组,右眼为实验眼。对照组实验眼点 RPM 滴眼液基质成分,实验组实验眼滴 0.5% RPM 滴眼液 50  $\mu$  l、0.2% RPM 滴眼液 50  $\mu$  l、0.05% RPM 滴眼液,每次 50  $\mu$  l,每日四次,给药后轻合眼睑约 1 秒钟,连续给药 4 周。观察其全身状态如营养状态、饮食情况、体重等;裂隙灯+检眼镜观察结膜、角膜、虹膜、晶状体、脉络膜、视网膜的损害,并对角膜组织进行组织学检查。

[0054] 结果:所有实验动物营养状态良好、饮食正常、体重均增加;裂隙灯+检眼镜观察,结膜、角膜、虹膜、晶状体、脉络膜、视网膜未见损害;角膜组织学检查未见异常。

[0055] 结论:0.5% RPM 滴眼液、0.2% RPM 滴眼液、0.05% RPM 滴眼液眼局部应用安全,无毒副作用。

[0056] 实施例 7 雷帕霉素滴眼液的药效学评价

[0057] 方法:建立大鼠穿透性角膜移植动物模型,以 SD 大鼠为受体,Wistar 大鼠为供体,分为 5 组,每组 6 只。手术后第二日起分别以雷帕霉素滴眼液基质 100  $\mu$  l、0.2%雷帕霉素滴眼液 100  $\mu$  l、0.1%雷帕霉素滴眼液 100  $\mu$  l、0.05%雷帕霉素滴眼液 100  $\mu$  l、1%环孢霉素 A100  $\mu$  l 滴眼,每日四次,用药至排斥反应发生。对角膜植片进行临床观察,以混浊、水肿和新生血管 3 项指标作为临床评估标准。

[0058] 结果:5 组角膜植片的存活时间分别为 11.00 $\pm$ 1.85d、31.71 $\pm$ 8.44d、22.17 $\pm$ 4.07d 及 19.71 $\pm$ 3.86d,25.00 $\pm$ 8.85d,各用药组与对照组比较差异有显著性 ( $P < 0.01$ )。

[0059] 结论:0.2%、0.1%及 0.05%的雷帕霉素滴眼液能显著延长角膜植片的存活时间,对大鼠穿透性角膜移植排斥反应具有抑制作用,随着药物浓度的增大抗排斥作用增强。

[0060] 实施例 8 雷帕霉素滴眼液对低危角膜移植免疫排斥反应的抑制作用

[0061] 方法:建立大鼠穿透性角膜移植动物模型,以 SD 大鼠为受体,Wistar 大鼠为供体,分为 4 组,每组 6 只。手术后第二日起分别以雷帕霉素滴眼液基质 100  $\mu$  l、0.2%雷帕霉素滴眼液 100  $\mu$  l、1%环孢霉素 A100  $\mu$  l、0.2%雷帕霉素 50  $\mu$  l+1%环孢霉素 A 滴眼 50  $\mu$  l 滴眼,每日四次,用药至排斥反应发生。对角膜植片进行临床观察,以混浊、水肿和新生血管 3 项指标作为临床评估标准。

[0062] 结果:4 组角膜植片的存活时间分别为 11.00 $\pm$ 1.85d、31.71 $\pm$ 8.44d、25.00 $\pm$ 8.85d 及 41.33 $\pm$ 1.63d,各用药组与对照组比较差异有显著性 ( $P < 0.01$ ),联合用药组与各单药物治疗组比较差异有显著性 ( $P < 0.01$ ),雷帕霉素与环孢霉素 A 组比较差异无显著性 ( $P > 0.01$ )。

[0063] 结论:雷帕霉素滴眼液能显著延长角膜植片的存活时间,对大鼠穿透性角膜移植排斥反应具有抑制作用,联合用药组效果更加,具有协同作用。

[0064] 实施例 9 雷帕霉素滴眼液对高危角膜移植免疫排斥反应的抑制作用

[0065] 方法:建立大鼠高危穿透性角膜移植动物模型,以 SD 角膜新生血管化大鼠为受体,Wistar 大鼠为供体,分为 4 组,每组 6 只。手术后第二日起分别以雷帕霉素滴眼液基质 100  $\mu$  l、0.2%雷帕霉素滴眼液 100  $\mu$  l、1%环孢霉素 A100  $\mu$  l、0.2%雷帕霉素 50  $\mu$  l+1%环孢霉素 A 滴眼 50  $\mu$  l 滴眼,每日四次,用药至排斥反应发生。对角膜植片进行临床观察,以混浊、水肿和新生血管 3 项指标作为临床评估标准。

[0066] 结果:4 组角膜植片的存活时间分别为 7.67 $\pm$ 1.03d、16.67 $\pm$ 1.63d、15.50 $\pm$ 2.43d 及 21.33 $\pm$ 2.94d,各用药组与对照组比较差异有显著性 ( $P < 0.01$ ),联合用药组与各单药物治疗组比较差异有显著性 ( $P < 0.01$ ),雷帕霉素与环孢霉素 A 组比较差异无显著性 ( $P > 0.01$ )。

[0067] 结论:雷帕霉素滴眼液能显著延长角膜植片的存活时间,对大鼠高危穿透性角膜移植排斥反应具有抑制作用,联合用药组效果更加,具有协同作用。

[0068] 实施例 10 雷帕霉素滴眼液免疫性角膜病的临床效果评价

[0069] 方法:局部应用 0.2% RPM 滴眼液治疗免疫性角膜病患者 13 例 (13 眼),其中二次穿透性角膜移植术后 5 例 (5 眼),蚕食性角膜溃疡 3 例 (3 眼),眼部化学伤及热烧伤患者 5 例 (5 眼)。全部患者均局部应用 0.2% RPM 滴眼液,4 次/日,穿透性角膜移植术后加用 1% CsA 滴眼液 4 次/日。

[0070] 结果:

[0071] (1) 二次穿透性角膜移植术后 5 例,平均随访 8.5 个月,角膜植片全部透明。

[0072] (2) 蚕食性角膜溃疡 3 例 (3 眼) 全部治愈,平均治愈时间 28.3 天。

[0073] (3) 眼部化学伤及热烧伤 4 例眼表稳定,无瘢痕形成,一例轻微粘连。

[0074] 结论:

[0075] (1) 雷帕霉素滴眼液能有效抑制同种异体角膜移植术后免疫排斥反应。

[0076] (2) 雷帕霉素滴眼液能阻止蚕食性角膜溃疡的破坏过程,促进角膜表面的愈合及上皮化。

[0077] (3) 抑制眼外伤后纤维增生、瘢痕形成。