[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl[7]
A61K 31/495
A61P 27/06

[12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 00802526.6

[45] 授权公告日 2005 年 6 月 15 日

[11] 授权公告号 CN 1205932C

[22] 申请日 2000.1.4 [21] 申请号 00802526.6
[30] 优先权
[32] 1999. 1. 4 [33] US [31] 09/225036
[86] 国际申请 PCT/US2000/000068 2000.1.4
[87] 国际公布 WO2000/040245 英 2000.7.13
[85] 进入国家阶段日期 2001.7.3
[71] 专利权人 阿勒根公司
地址 美国加利福尼亚州
[72] 发明人 L·A·维勒 E·沃德穆斯
R·K·赖
审查员 于 杰

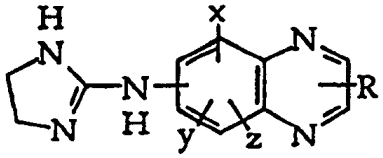
[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
代理人 罗 宏 姜建成

权利要求书 1 页 说明书 20 页 附图 4 页

[54] 发明名称 使用(2－咪唑啉－2－基氨基)喹喔啉治疗神经损伤的方法

[57] 摘要

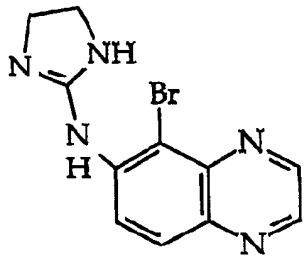
本发明提供一种保护哺乳动物视神经细胞或视网膜神经细胞的方法，包括给予神经细胞正在遭受有害作用、或冒着遭受有害作用危险的所述哺乳动物有效量的式(I)化合物(或其药学上可接受的盐和其混合物)。 以抑制或预防神经细胞损伤或死亡，其中 2－咪唑啉－2－基氨基位于喹喔啉母核的 5－或 6－位上；x，y 和 z 位于剩余的 5－，6－，7－或 8－位的任一位置上，并选自氢、卤素、低级烷基、低级烷氧基或三氟甲基；R 是位于喹喔啉母核 2－或 3－位上的任选取代基，并可以是氢，低级烷基或低级烷氧基。 这种有害作用可能是由青光眼视神经病、年龄相关性黄斑变性或色素性视网膜炎引起。



(I)

ISSN1008-4274

1. 下式化合物在制备用于治疗由激光射入眼睛造成的损害的药物中的应用：



使用（2-咪唑啉-2-基氨基）喹喔啉治疗神经损伤的方法

发明领域

本发明涉及保护哺乳动物的神经细胞，包括视网膜、视神经和脊髓免受有害刺激的方法，该有害刺激包括来自压迫或机械作用或创伤或应激反应因素的损伤，包括但不限制于神经血流量的减少，和涉及视网膜和视神经的青光眼、色素性视网膜炎，及年龄相关性黄斑变性。

发明背景

青光眼是一种眼睛疾病，其特点在于最初至少眼内压升高。根据它的病因，将青光眼分为原发性或继发性。在成人中，原发性青光眼是一种独立的症候群，可以将其分为慢性开角型或慢性闭角型。原发性开角型青光眼是最普遍发生的青光眼形式，其没有其它归属的根本原因。闭角型青光眼通常使那些在前房中具有“浅”角的人痛苦，且它是由汇聚并阻塞眼房水穿过小梁网流出的房的侧面（或角度）引起的。继发性青光眼，像其名称所暗示的那样，是由预先-存在的视觉疾病如葡萄膜炎、眼内肿瘤或扩大的白内障引起的。

至今还不知道原发性青光眼的根本原因。升高的眼内压可能是眼房水液流出受阻的结果。在慢性开角型青光眼中，前房和其解剖结构呈现正常，但是眼房水液的排出受到阻碍。在急性和慢性闭角型青光眼中，前房浅，滤角狭窄且虹膜可能在巩膜静脉窦的入口处阻塞小梁网。瞳孔的扩大可以相对于房角推动虹膜的根部向前或可以产生瞳孔阻塞并因此而加速升高眼内压的急性发病。具有狭窄前房角的眼睛易患各种严重程度的急性闭角型青光眼。

继发性青光眼是通过对眼房水液自后房流至前房、接着进入巩膜静脉窦的任何干扰所引起的。前部的炎性疾病可以通过在虹膜隆起部位引起完全性后虹膜粘连而预防眼房水逸出，且可以用渗出物堵塞排出通道。其他常见的原因是眼内肿瘤、扩大的白内障、前侧视网膜静脉闭塞、对眼部的创伤、手术操作和眼内出血。

将所有类型一起考虑，在所有40岁以上的人中，约2%发生青光

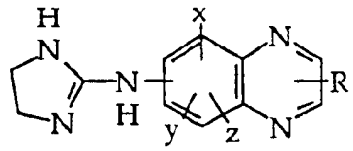
眼，且在发展至视力迅速丧失之前，很多年都可能是无症状的。还不清楚青光眼神经损伤是否是一种病理性过程的最终结果，或者是否有若干机理，根据这些机理知道最终的疾病。

不断增长的证据表明，在早期的青光眼过程中可以包含不止一个病理机理。例如见：Ruben,S.T.,Hitchings,等，《眼睛》8(5)pp516-20(1994)。在这些危险因素中，有升高的眼内压，青光眼家族史，年龄和眼后房中内部结构的垂直杯-对-盘的比例。一项研究发现在高血压患者的眼睛中没有视野的丧失，在预测青光眼诱发性丧失的可能性中，最重要的因素是杯-对-盘的比例和年龄。Johnson,C.A.,Brandt,J.D.,等 Arch.ophthalmol.113(1)pp.70-76(1995)。这些研究暗示具有升高的眼内压（眼睛压力过高）的人不伴有视乳头盘或视网膜的神经损伤。见 Pfeiffer N.,Bach,M.Ger.J.Ophthalmol.1(1)pp.35-40(1992)。已知青光眼的视野损伤也发生在具有正常压力的眼内压的个体眼睛中。一种理论认为在统计学上正常眼内压下，视乳头盘的大小决定神经头对青光眼视野损伤的敏感性。Burk,R.O.,Rohrschneider,K.,Noack,H.,等 Graefes Arch.Clin.Exp.Ophthalmol.230(6)pp.552-60(1992)。另一种解释为正常压力下的视野损伤，通过另一个不同的、还未确定的病理性机理而产生。Trick,G.L.,Doc.Ophthalmol.85(2),pp.125-33(1993)。不顾及此理论，在统计学上正常眼内压下，青光眼的视野损伤是一种经过临床承认的疾病。

通常认为升高的眼内压是青光眼可能发病的危险因素，而不是青光眼视野损伤的必要条件。神经细胞损伤可以在有或没有升高的眼内压的情况下发生，且神经细胞损伤不是必定发生在经历升高的眼内压的个体中。两研究已经提示增加的脉络膜灌注（循环）可以帮助眼睛压力过高的患者预防青光眼视神经损伤。Schmidt,K.G.,von Ruckmann,A.,等，Ophthalmologica,212(1)pp.5-10(1998)和 Kerr J;Nelson P;O'brien C,Am J Ophthalmol.,126(1)pp.42-51(1998)。因此，近来似乎认为青光眼的特征在于它是一复杂的症候群，它本身是在有或没有升高的眼内压下的视神经损伤。似乎还认为，每一症状，或者是升高的眼内压对神经细胞的损伤，或者是青光眼对神经细胞的损伤，可以独立于其它而发生。本发明提供一种方法，尽管眼内

压的治疗降低在正常的水平之内，也可以保护损伤或丧失的视网膜神经节细胞和视神经；它可以保护这种细胞在所谓的正常压力的青光眼的情况下免受损伤；且它可以保护青光眼中的这种细胞不对想要降低眼内压的治疗方式充分地作出反应。

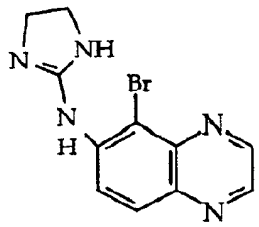
在没有显示必须作外科手术的情况下，局部β-肾上腺素受体拮抗剂是治疗青光眼的选择药物。然而，近来已经批准α-肾上腺素能激动剂用于治疗升高的眼内压，且很可能变成这种疾病治疗中的主要支柱。在这类药物中，有具有X_2激动活性喹喔啉衍生物，Danielewicz，等在美国专利No.3，890，319和4，029，319中最初建议将它们作为治疗剂。这些专利公开了作为心血管系统调节剂的化合物，其具有下列通式：



式I

其中2-咪唑啉-2-基氨基可以在喹喔啉母核的5-，6-，7-或8-位的任一位置；x，y和z可以位于剩余的5-，6-，7-或8-位的任一位置且可以选自氢、卤素、低级烷基、低级烷氧基或三氟甲基；R是位于喹喔啉母核2-或3-位的任意取代基且可以是氢、低级烷基或低级烷氧基。可以根据Danielewicz等概述的方法来制备目前有用的化合物。美国专利No.3，890，319和4，029，792号的全部内容可以在此引入作为参考。

在“在猫，兔和猴中相对选择性α_2-激动剂（UK-14,304-18）的眼睛效应”[J.A.burke，等，Current Eye Rsrch.，5，(9)，pp.665-676(1986)]一文中，显示了下面列出的并具有属名布莫尼定（brimonidine）的喹喔啉衍生物在降低兔、猫和猴的眼内压中是有效的。将此研究中的化合物局部用于所研究动物的角膜。



长期以来就已经知道青光眼的后遗症之一是对视神经头的损伤。视神经头或视乳头盘，与视网膜脉管系统，视网膜神经节细胞（RGC）体的轴突一起传输信号至外侧膝状母核，该视网膜神经节细胞（RGC）体是沿着视网膜会聚的上层分布的、且被束在一起。（见图 6 中的表）对视神经头的损伤，临床上称之为杯状陷凹形成，其作为视乳头盘神经纤维中的凹陷区域是可见的。杯状陷凹形成是视神经纤维死亡以及筛板中和提供结构支撑的细胞外基质的改变的结果。周围视力的丧失是 RGC 死亡的结果，且通常直到疾病的更高阶段，其中直至 50%的视网膜神经节细胞可能已经损伤或丧失时，仍未被发现。剩下未治疗的青光眼可能从视觉的暗淡或分辨能力的丧失而发展至全盲。

不幸的是，尽管可以通过药物的给予或通过外科手术促进眼房水液的流出而长期降低眼内压至统计学上正常的水平，但是在大多数患者中，青光眼过程中，对神经的损伤仍然继续存在。这种明显的矛盾是由 Cioffi 和 Van Buskirk[Surv. of Ophthalmol., 38, Suppl. p. S107-16, discussion S116-17, May 1994]在文章“前视神经的微脉管系统”中提到的，他们叙述：

作为的眼内压升高（IOP）疾病的青光眼的传统定义过于简化了临床状况。某些青光眼患者从未具有高于正常 IOP 的眼内压，另外一些患者尽管最大限度地减低 IOP，但视神经损伤仍继续发展。

与青光眼相关的神经损伤即使是在眼内压显著降低后也可以发展的事实，已经暗示不依靠压力的原因在很多情况下也可以起作用。例如见：Schulzer M, 等，“两种不同的慢性开角型青光眼人群的生物统计学证明” Br. J. Ophthal. pp74916-74200(1990); Lamping KA, 等，“最初滤光外科手术的长期评估”《眼科学》 93(1)pp. 91-101(1986); Migdal, 1994; Spaeth GL “关于青光眼的适当结果测定：单独使用眼内压的不适性” Eur. J. Ophthal. 6(2)pp101-105(1996)。已表明这些原因包括：(1)视网膜神经节细胞凋亡（apoptosis）（计

划的细胞死亡）的降低，它是一种遗传控制过程，由此不需要的或已经损伤的细胞在没有引起炎性反应的条件下死亡。（例如见：Quigley HA,等 Invest.Ophth.Vis.Sci.,36pp.774-786(1995)“在实验性青光眼中和神经细胞轴索显微外科术发生之后由凋亡（Apoptosis）的视网膜神经节细胞死亡”）和（2）早期损伤的神经细胞死亡或损伤之后、影响细胞（其不是由初次损害而损伤的）的进一步神经元变性。继发于初次损害的对神经细胞的损伤是由所释放的刺激性神经系统传递质的过量积聚、和由其他邻近 RGC 的死亡和变性所造成的有害环境条件所引起的。 在青光眼视神经病中，更次要的原因之一或更少被理解的部分是：在细胞外基质代谢中，有助于无规律的遗传决定因素和因此的 RGC 对损伤的敏感性；无论是否与升高的 IOP 相关、加速局部缺血的脉管损害；和代谢紊乱。本发明的另一个优点是它提供一种对神经更加直接且更加广泛的保护水平，因为本发明的化合物在源自原发性和继发性原因的神经损伤的位置提供保护。

色素性视网膜炎是一组影响视网膜的遗传疾病的术语，纤细的神经组织是由若干细胞层组成的，其中细胞层排列在眼睛后侧的内部并含有光感受器细胞。这些疾病的特征是光感受器细胞、所谓的杆和锥体的逐渐损坏和变性，其导致视力的渐进性丧失。据估计在美国色素性视网膜炎影响 100，000 个人。所述的杆集中在视网膜中心的外面，称为黄斑，且它是周围视觉和夜晚视觉所需要的。所述的锥体集中在黄斑上且负责中心视觉和彩色视觉。合起来，杆和锥体负责使光转换成电脉冲，该电脉冲传递信息到视网膜神经节细胞中，视网膜神经节细胞反过来又穿过外侧膝状母核传递脉冲进入可以感受到视觉的脑部区域中。因此 RP 影响那些受青光眼影响的不同的视网膜细胞类型。在色素性视网膜炎的所有类型中，最普遍的是杆和锥体的逐渐损坏和变性。根据哪种类型的细胞主要受影响，症状可不同，包括夜盲、丧失周围视力（也称为管状视力）、和在周围视力降低之前辨别色彩能力的丧失。

色素性视网膜炎的症状是在青少年和年轻的成人中最常被认识的，他们通常患有持续贯穿于个人生命的发展性疾病。发展的速度和视力丧失的程度是不定的。至今，对于色素性视网膜炎还没有已知的治愈。

虽然没有治愈，但已经发现在某些个体中，特定剂量的维生素A可以稍稍减缓色素性视网膜炎的发展。研究人员已经发现一些引起色素性视网膜炎的基因。现在，在某些具有X-联锁的色素性视网膜炎或常染色体显性色素性视网膜炎的家族中，在源于血液或其它细胞的遗传材料上进行试验，以确定受影响的家族成员是否具有若干色素性视网膜炎基因中的一种，并因此在疾病的损伤作用变得明显之前开始治疗。本发明的一个目的是通过此处描述的化合物和方法来保护光感受器细胞、杆和锥体，特别是有关通过神经保护化合物来保护光诱发性损伤的光感受器细胞的研究。

年龄相关性黄斑变性（ARMD）是黄斑或中心视网膜的退化性疾病。在西方50岁以上的人群中，它是视觉丧失最普遍的原因。它最普遍地影响那些北欧后裔，在非洲人-美洲人和西班牙人中不普遍。它的发病率随着年龄增加，影响15%的55岁人口且高于30%的75岁人口受影响。黄斑变性可以引起中心视觉的丧失且无法阅读或驾驶，但是与青光眼不同，黄斑变性不会引起全盲，因为周围视觉不受影响。在眼科检查过程中，黄斑变性通常是显而易见的。

黄斑变性分为干性（非新血管）或湿性（新血管的）。在其渗出性、或“湿性”形式中，流体使视网膜层升高，引起视网膜分离和波状视力变形。变态血管也可以在视网膜中、或在视网膜下生长，形成可以渗漏的新血管膜，进一步遮蔽视力。在晚期病例中，疤痕组织形成，引起不可逆的暗点或盲点。干性黄斑变性，虽然更加普遍，由于视网膜一层或多层变性和萎缩，典型的是导致视力不严重的更逐渐丧失。黄色沉淀物，称作“脉络膜小疣”，或色素凝块可能出现。

在两种形式中，受影响的视网膜的区域是黄斑（3）-视网膜的最敏感区域。由于这个原因，有黄斑变性的人虽然丧失了中心视觉和看得更详尽的能力，而他们的周围视觉保持不变。

就年龄相关性黄斑变性来说，已经提出并研究了治疗方法，但是在临床应用中获得的成功是是有限的。激光凝固在封闭渗漏或出血血管中是有效的。不幸的是，通常不能恢复丧失的视觉而只能减缓或预防进一步的丧失。通常用于渗出性黄斑变性的常规的激光治疗在有限量的时间内是有效的，因为变态血管趋向于向后生长。

一种新的、调查研究的方法，光能作用治疗，在湿性（新血管的）

ARMD 的治疗中已经显示了某些期望的结果。将一种光敏染料的注射剂全身性地给予患者，其仅在变态组织如存在于湿性 ARMD 的变态血管中吸收，一种“冷”激光直接进入眼睛中，激活染料在变态血管细胞壁中的吸收，因此形成氧化的化合物，该化合物导致新血管的组织中的凝块形成。因此流体渗漏停止了且剩余的流体被重吸收了，视力提高了。不幸的是，肌体在 4-12 周内也吸收凝块，所以必须重复所述步骤，另外，激光治疗可以对视网膜引起光损伤。本发明的另一方面是给予本发明的化合物可以保护视网膜免受激光损伤，该激光是这种 ARMD 治疗的一部分。

已经发展了一种侵入性外科技术，它使用专用的镊子进入到眼睛中，分出新血管膜。不幸的是，血管再生经常向后生长。

已经从实验室中生长的人胎儿组织中采集了营养视网膜的细胞、视网膜色素上皮的细胞、和光感受器组织然后进行了移植。在有遗传视网膜疾病的大鼠的研究中，将胎儿视网膜色素上皮以外科手术引进眼睛中，其正常地发挥了作用并恢复了视力。不幸的是，在人移植的研究中，虽然最初是成功的，但是由于排斥反应在三个月内失败了。

因此，很显然对于具有神经作用的药剂有一个未满足的需要，即可以终止或阻碍渐进性损伤，这种损伤是由对神经细胞的一种或多种有害刺激产生的。

发明概述

已经发现一种保护哺乳动物的脊柱和眼睛神经细胞免受有害刺激的新方法。此方法包含全身性地、局部地、鞘内地、硬膜外地、或通过延髓内注射给予哺乳动物有效量的一种或多种某些芳基-亚氨基-2-咪唑烷(如本文定义)、其盐和其混合物。

对于遭受那样条件的人青光眼视网膜的治疗，根据本发明将活性化合物（或混合物或其盐）与眼科可接受的载体混合，给予眼睛。可以使用任何适宜的，例如，常规的、眼科可接受的载体。如果它对于已经给药的眼睛实质上没有长期或持久的有害作用，那么载体是眼科可接受的。眼科可接受的载体的实例包括水（蒸馏水或去离子水）、盐水和其他含水的介质。根据本发明，活性化合物优选可溶于用于给药的载体，以使活性化合物以溶液的形式对眼睛给药。或者，也可以

使用适宜载体中的活性化合物或混合物（或其盐）的混悬液。

根据本发明，给予眼科可接受载体中的足够浓度的活性化合物（或混合物或其盐），以便传递有效量的活性化合物或混合物至眼睛。优选地，眼科的治疗溶液包含约 0.0001%-约 10%（重量比体积）、更优选约 0.0005%-约 0.5%（重量比体积）的浓度范围的一种或多种活性化合物。

根据本发明，可以使用对哺乳动物眼睛直接给药的任何方法给予受治疗的眼睛以活性化合物或混合物。术语“直接给药”意为排除那些一般的全身性给药方式，例如，直接注射进患者血管中，口服给药等，这些方式导致化合物或混合物全身性地利用。对哺乳动物的主要作用优选眼内压的降低，这种作用是由活性化合物或混合物对哺乳动物眼睛直接给药所引起的。更优选，有用的活性化合物或混合物局部地施用于眼睛或直接注射进眼睛中。特别是，当将化合物或混合物以眼科溶液（眼睛的滴剂）的形式局部地施用于眼睛上时，可以获得有益的结果。

优选局部眼科制剂，例如眼睛的滴剂、凝胶或乳膏，这是因为其易于使用、剂量传递简便、和较少的全身性副作用，如心血管血压过低。一种示范性的局部眼科制剂如下表 1 所示。缩写 q.s.意为足够达到结果或获得体积的数量。

表 1

成分	量（%W/V）
本发明的活性化合物	约 0.0001-约 1
防腐剂	0-0.10
赋形剂	0-40
张力调节剂（Tonicity Adjnstor）	1-10
缓冲液	0.01-10
PH 调节剂	q.s.PH4.5-7.5
抗氧化剂	按照所需要的
净化水	按照所需要至获得 100%

在上面表 1 中所描述的眼科制剂中可以使用各种防腐剂。优选的防腐剂包括，但不限制于，苯扎氯铵、氯丁醇、硫柳汞、乙酸苯汞、和硝酸苯汞。同样地，在这种眼科制剂中可以使用各种优选的赋形

剂。这些赋形剂包括，但不限制于，聚乙烯醇、聚乙烯吡咯酮、羟丙基甲基纤维素、泊咯沙姆、羧甲基纤维素、羟乙基纤维素、和净化水。

可以根据需要或便利加入张力调节剂。它们包括，但不限制于，盐，特别是氯化钠，氯酸钾，甘露糖醇，和丙三醇，或任何其他适宜的眼科可接受的张力调节剂。

只要最终的制剂是眼科可接受的，还可以使用调节 PH 的各种缓冲液和方法。因此，缓冲液包括，但不限制于，醋酸盐缓冲液、柠檬盐缓冲液、磷酸盐缓冲液、和硼酸盐缓冲液。可以按照需要使用酸或碱来调节这些制剂的 PH。

在类似的血管中，眼科可接受的抗氧化剂包括，但不限制于，焦亚硫酸钠、硫代硫酸钠、乙酰半胱氨酸、丁基羟基苯甲醚、和丁基羟基甲苯。每当需要时可以将眼科溶液（眼睛的滴剂）给予哺乳动物的眼睛，以得到提供神经保护的所需晶体内（intravitreally）浓度。对于急性神经保护作用，如上面描述的 ARMD 激光治疗中的光保护，可以在治疗之前给予保护剂，以在激光过程中提供最佳保护。对于慢性治疗，如在保护视网膜神经节细胞免受青光眼或“干性”ARMD 的神经性作用的损伤中，可以在需要时给予药物以便一直保持所期望的晶体内浓度或浓度范围。换句话说，在需要时将包含 α_2 肾上腺素能剂作为活性成分的眼科溶液（或其他制剂）给予哺乳动物的眼睛，以保持眼睛中活性成分的有益的神经保护作用。本领域技术人员会认识到给药的频率取决于活性成分在眼科制剂中的准确特性和其在眼科制剂中的浓度。在这些指导原则之内，预期大约每天一次或两次将本发明的眼科制剂给予哺乳动物的眼睛。

使用本发明化合物的 ARMD 治疗采用了一个不同的治疗方法，该治疗方法不同于上面所讨论的注重治疗血管形成的治疗方式。使用 α 肾上腺素能激动剂的治疗，可以保护黄斑的视网膜细胞免受由变性过程的有害刺激所引起的损伤或免受治疗中所使用的激光的损伤。这些有害事件包括，但不限制于：源自有或没有光反应性染料的激光过程的激光损伤，和与 ARMD 的干性形式相关的萎缩。因此可以将本发明的 α_2 肾上腺素能激动剂单独地给药，或与任何一种前面描述的治疗一起使用。

当作为一种预防性治疗给药时，即，在对神经的损伤发生之前，

或疾病状态，如青光眼、色素性视网膜炎或 ARMD 的长期发展发生之前，这种新方法特别有效。不希望受缚于关于本发明化合物在神经保护中起作用的具体理论中，申请人猜测所述的化合物和方法引起经由 α_2 刺激的 bFGF(一种神经元细胞的存活因子)表达的增量调节，这种内源代谢的释放可以通过提示细胞存活来提供神经保护，尽管细胞从有害刺激接收凋亡信号。随着响应 α_2 激动剂的 bFGF 内源性代谢浓度不断增加，细胞存活和细胞死亡信号的平衡可以朝着促进细胞存活的方向移动。更进一步地，人们已经发现，通过编码其产品的 mRNA 的表达增加的测定，也可生产出 bcl-2 族的确定因子；这些标记 bcl-2 和 bcl-x_L 的因子还抑制凋亡过程。这些因子还可以平衡 bcl-2 凋亡因子，如 bad 和 bax 的存在和减少，bad 和 bax 可以由对神经细胞有害刺激而产生。因此进一步预期对神经提供细胞存活信号的本发明化合物可以有利地用于与抑制细胞死亡的化合物结合。这种抑制细胞死亡化合物包括 NMDA 拮抗剂，特别是美金刚（memantine），其阻碍多余谷氨酸盐的兴奋毒性（excitotoxic）作用；氧化氮合成酶抑制剂；游离基清除剂和钙通道阻滞剂。

发明详述

首先简要描述附图。

附图

图 1 是用谷氨酸盐治疗的天数绘制的谷氨酸盐治疗所杀死的细胞的百分比的柱状图。还包括未用谷氨酸盐治疗的一个对照组以测定没有任何这种治疗时所发生的细胞死亡。还显示了用 AGN191103 和谷氨酸盐治疗、及用 MK-801 和谷氨酸治疗后的测量值。MK-801 是本领域熟知的充当 NMDA 拮抗剂的神经保护剂。NMDA 受体在其他神经传递器中结合谷氨酸盐。谷氨酸盐；AGN19110+谷氨酸盐；和 MK-801+谷氨酸盐条线下面的数字表示每种情况中所使用的谷氨酸盐和药物的浓度。第 8 天时，在保护细胞免受谷氨酸盐诱发的神经毒性的损伤中，AGN191103 和 MK-801 显示可比的效应。产生此图数据的实验方法在实施例 1 中详细描述。

图 2 表示所测量的视神经纤维的复合动作电位(CAP)曲线图：在左手的图框中，对在损伤之后 2 周（即神经压碎之后）、使用 AGN191103 治疗的视神经（上面的线）和用作对照的未治疗的神经（下面的线）

进行了测定；在右手的图框中，是未损伤的视神经的对照 CAP。每个图框均给出了曲线图的标度。损伤后的横坐标标度是 25× 未损伤的曲线图的标度。（单位：毫伏和毫秒）。复合动作电位的值是以每一曲线下面积的积分计算的。曲线的不规则性是复合反应分散的特征；某些神经细胞传导较其它更为迅速，所以所测量的电压的振幅随时间而变化。

图 3 是以微伏（μv）表示的细胞的最大 CAP 振幅的柱状图，该细胞是由大鼠视神经压碎而损伤的，并使用以下治疗：1）单独的赋形剂；2）可乐定和 3）AGN191103。每种药物在四种不同的浓度下测试（按照受试者体重的倍数给药）并用图中的条线表示。与试验化合物 AGN191103 相对照，可乐定以其非常确定的药理学作用而被选择为基准 α_2 激动剂化合物。虽然可乐定较之单独使用赋形剂时，确实显示出某些神经保护活性，但是它只显示 AGN191103 最大 CAP 反应的约一半值。

图 4 是视觉激发性电位反应的曲线图，并表示由于视觉（光）刺激、在视觉皮层（可与脑电图比较）引发的电位活性。测试是在活的大鼠上进行的，且是从视网膜经过视神经进入外侧膝状核并最后到达位于大脑后部的视觉皮质的整个视觉系统的完整测量。左手的图框表示没有神经压碎损伤的反应，右手的图框表示在损伤后 2 周时用 AGN191103 治疗的大鼠的反应，为上面的线（标为阳性），及神经压碎前对照大鼠的反应，为下面的线（标为阴性）。两图均以μv 对微秒的标度在纵坐标轴的下面表示。

图 5 是表示确定布莫尼定在神经保护中的局部效果的研究结果柱状的图。大鼠急性视网膜局部缺血的模型用于提供有害作用。在局部缺血性损害之前一小时，将 10μl 的布莫尼定局部地施于一只眼睛上，将 10μl 的盐水施于另一只眼睛上。损害一周之后测量 ERG（视网膜电图）。柱状图表示作为剂量函数的 ERG 信号恢复的百分比。结果显示布莫尼定以剂量依赖的方式提供局部神经保护。

图 6 是切掉眼睛的一部分以显示前房和后房的示意图。充满眼房水液且与后房分离的前房围绕在眼睛晶状体的周围。后房部分充满了玻璃体液（6），一种保持眼睛形状的澄明、粘稠的液体。在眼睛的后部是视网膜（4）、视乳头盘（3）和视神经（5）。在视网膜下面

是视网膜色素上皮和脉络膜（2），它是负责视网膜神经细胞的维持和支撑的。视网膜进一步的图解视图表示神经细胞层和组成视网膜的相关辅助细胞。与穿过晶状体射入的光相接触的细胞的第一层是视网膜神经节细胞（7），朝着脉络膜方向的视网膜底部是光感受器细胞（8），它是由杆（9）和锥体（10）组成的。

有关神经压碎模型及其在评价神经损伤和恢复中的重要性的论述和参考书目见："视神经损伤后的功能性恢复和形态学变化"，Sabel,B.A.和 Aschoff.A.，《神经精神生物学》，28，pp.62-65(1993)。

哺乳动物视神经的损伤，与哺乳动物中枢神经系统(CNS)的任何其他部分一样，导致轴突的变性及随后的细胞体丧失，轴突自存活神经元的再生失败。最初，损伤神经的变性可能归因于直接的神经元损伤。然而，损伤之后立即发生在神经中的相关生理和生化作用可能是造成随后的渐进性变性的原因，变性不仅是直接损伤的轴突，而且涉及那些避开了初次损伤的轴突。这些继发效应很大程度上决定长期的功能性结果。

损伤诱发的即时反应强烈地影响随后的变性反应。因此，降低或削弱即时反应的治疗很可能最佳预防或延缓继发性变性过程。对于即时反应的监测，显然优选使用非侵入技术。已经证明，使用使最早期的后-创伤性事件的测量成为可能的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸（NADH）监测技术是一种有价值的非侵入性方法。在成年大鼠体内的视神经受到适当控制的压碎性损伤之前和之后，该技术的使用反应可在真实时间内即时地得到评价损伤的即时反应。在这种实验性范例中，损伤的视神经代谢活性的测量代表损伤的轴突和它们的相关非神经元细胞的活性，并由此评价处理有害应激反应的潜在能力。该模型对于各种试剂活性的监测是有益的，可以克服或减轻来自这种应激反应的神经细胞损伤或死亡。

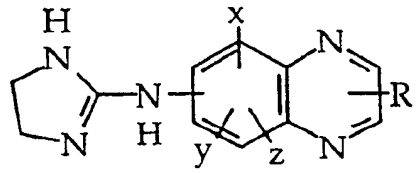
在能够完全排除局部缺血性事件的条件下，损伤诱发的最早期的反应是神经能态的降低。能态的降低与下列有关：1）损伤后，游离脂肪酸水平的升高，这可以干扰线粒体的功能并导致电子传送的解偶联；和 2）细胞内的游离 Ca^{2+} 显著升高。已知轴突损伤通常随后伴有细胞外钾离子的升高，这可以通过电压敏感通道（L,T 或 N 型） 或

受体运行的 Ca^{2+} 通道来刺激 Ca^{2+} 的摄取。细胞内游离 Ca^{2+} 的显著升高可以加速不利于细胞存活的过程，包括那些涉及 Ca^{2+} 依赖性的酶，主要是脂酶、蛋白酶和核酸内切酶，它们可以引起线粒体损伤且最后导致细胞死亡。为了克服这些事件，细胞需要更多的能量以便积极地恢复离子内环境平衡。在损伤部位，由线粒体机能障碍所引起的增加的能量需求和减少的能量守恒的结合可能是损伤后继发的不可逆神经损伤和神经变性的主要原因。因此代谢活性的早期测量预示轴突、其相关的神经胶质细胞和其非神经元细胞体的命运。从上述可以得出，在预防损伤后发生在神经中的变性过程时，线粒体活性的恢复可能是关键的。

因为在神经压碎模型中，神经受到的损伤是一种适当控制、校准和可再生的损伤，因此，通过具有长期形态学和生理学效应的药物或其他治疗，有可能使早期创伤后的代谢缺乏与其可能的减轻相互关联。

从前面的图和讨论显然可知，在神经压碎模型中，对于谷氨酸盐诱发的毒性和物理损害，神经细胞受到了神经保护。

现在已经发现，在对神经细胞损害之前或之后、但在细胞死亡之前的一段时期内，通过将式 I 的药物给予哺乳动物的神经细胞或视网膜和视神经，而给予视神经细胞以神经保护。

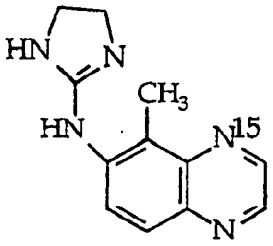


式 I

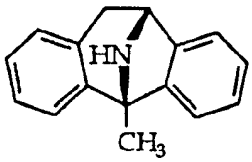
其中 2-咪唑啉-2-基氨基可以位于喹喔啉母核的 5-或 6-位上；x,y 和 z 可以位于剩余的 5-，6-，7-或 8-位的任一位置上，并选自氢、卤素、低级烷基、低级烷氧基或三氟甲基；R 是位于喹喔啉母核 2-或 3-位上的任选取代基，且可以是氢、低级烷基或低级烷氧基。

定义

称为 AGN191103 的化合物具有所示的化学结构。通过化学命名法，它也叫做 6-甲基-（2-咪唑啉-2-基氨基）喹喔啉。



称为 MK-801 的神经保护剂也叫做地佐环平，并具有下列化学结构:



在第 11 版默克索引中的第 3392 号专题文章中，另外进行了定义和描述。

将术语有害作用或有害刺激定义为一种对神经细胞有害或破坏的事件。它不仅限于对受治疗哺乳动物的外在事件，还包括疾病状态和生理学现象或事件，例如，经由一串事件对神经细胞有害或破坏的中风或心脏病发作。有害作用的非限定性实例包括: 压缩性或机械性作用或创伤或应激反应因素，如谷氨酸盐神经毒性，至神经和有关视网膜或视神经的血流减少（局部缺血），色素性视网膜炎和年龄相关性黄斑变性和青光眼。

人的剂量和给药

本发明的方法在治疗任何哺乳动物、包括人时是有益的。

根据本发明，用药学有效量的神经保护剂治疗哺乳动物一段时间，同时，这种对视神经和视网膜的有害刺激不会杀死或永久地损伤神经细胞。保护剂可以通过口服、或对眼睛局部地、或通过下面描述的或本领域熟知的任何其他适宜的运送方法给药。

根据本发明，可以单独给予药学有效量的保护剂以治疗神经损伤或预防神经细胞死亡。或者，保护剂可与抗青光眼药，例如 β-阻滞剂、α_2 激动剂、毒蕈碱剂如毛果芸香碱、碳酸酐酶抑制剂（CAI）、或其它对维持眼内压（IOP）在正常水平或对降低升高的 IOP 有益的药物，顺序地或同时地给药。保护剂最有效的给药方式和剂量服法取决于所治疗疾病的类型、该疾病的严重程度和病程、先前的治疗、患者的健康状况、及对药物的反应和治疗医生的判断。通常，应当以获得 0.01nM-500nM 的血清或玻璃体内浓度的剂量给药。优选在神经损

伤之前给予神经保护剂，但是也可以在损伤发生之后给予，只是效果减弱了。

可以使用保护剂、例如 MK-801 的常规给药方式和标准剂量方式。可以使用本领域熟知的方法来确定药物例如 IOP 降低剂（IOP olwering drug），与神经保护剂一起给药的最佳剂量。根据与神经保护剂联合给药的药物的剂量和患者对治疗方案的反应，可以调节针对个体患者的神经保护剂的剂量。可以将神经保护剂在一个时期内或经过一系列治疗后给予患者。

对于眼睛的神经保护，可以将神经保护剂通过延髓内注射晶体内局部给药，对于脊柱的保护，可以将神经保护剂通过鞘内或硬膜外给药。可以将本发明的多种神经保护剂全身性地给药，例如口服，或静脉内、或通过肌肉内注射而给药。另外，用于视网膜或视神经保护的制剂能够穿过角膜，在玻璃体液中获得足够的浓度，如 AGN191103 和布莫尼定，也可以对眼睛局部给药。

这些治疗中所使用的组合物也可以是各种形式。它们包括，例如，固体、半固体、和液体剂量形式，如片剂、丸剂、粉剂、防腐的或未防腐的液体溶液或混悬液、微脂粒、栓剂、可注射的和不熔的溶液。该组合物还优选包括本领域技术人员熟知的那些常规的药学上可接受的载体。

下列非限定性实施例描述了试验和测定，该试验和测定用于 1）测定神经细胞免受谷氨酸盐诱发毒性的保护和 2）在机械损伤的神经压碎模型中，测定由神经保护剂所给予的神经保护的方法。

实施例 1:

在谷氨酸盐诱发的神经细胞兴奋中毒效应（excitotoxic effect）的模型中测量神经保护的实验方法:

低密度大鼠海马神经元的培养物是通过Goslin和banker过程制备的。在瓷制支架中以这种方式清洗和消毒盖玻片，即它们不会相互粘连(Cohen 盖玻片着色支架，Thomas Scientific)。把盖玻片（13mm）置于着色支架上，用蒸馏水冲洗（四次冲洗，每次 1 分钟）以除去灰尘并转移至浓 HNO_3 中 36 小时。在蒸馏水中冲洗盖玻片（四次转换超过 3 小时）并用干热法（在 225℃过夜）灭菌。将盖玻片转移至 24 孔皿上，每孔一个盖玻片。为了在联合培养过程中支撑神经

胶质上的盖玻片，在引入盖玻片之前，将石蜡点置于皿上，并 UV 照射（30 分钟）。将 1mg/mL 的聚-L-赖氨酸氢溴酸盐（PLL）（Sigma）(MW30,000-70,000)溶解于硼酸盐缓冲液（0.1M,pH8.5）中，过滤，灭菌并用于覆盖每个盖玻片过夜。除去 PLL，在蒸馏水中冲洗盖玻片（两次冲洗，每次 2 小时），加入平板培养基[Eagle's MEM 与包含额外的葡萄糖（600mg/L）和 10%马血清的 Earle's 盐]并将该皿在培养箱中贮存。用类似于 Levinson 和 Mccarthy 所描述的方法，从新生大鼠的脑制备星形神经胶质培养物，只是将它们置于较低的浓度中，以便它们主要含有 I 型星形神经胶质。每个孔中培养 10^5 个细胞。用平板培养基每周两次供给神经胶质培养物，并在培养约 2 周达到融合后使用。使用前一天，除去平板培养基，加入神经元维持培养基（含有 N2 补充物的 MEM），并继续培养。在保存于平板培养基中的 PLL-治疗盖玻片上，培养 3×104 活性大鼠海马神经（E18 胚胎）。3-4 小时之后，当大部分神经元附着后，在维持培养基中，以神经元侧面面对支撑神经元存活和发育的神经胶质的这种方式，将盖玻片转移至含有神经胶质细胞的皿中。为了减少神经胶质增殖，在培养之后 2 天，将阿糖胞苷（1-β-D-阿糖呋喃胞嘧啶）（Calbiochem）(5×10M 终浓度）加入到培养物中。在培养的第 6 天，用 1mM 谷氨酸盐或谷氨酸盐与 AGN-191103-0.1nM(MW=200)或谷氨酸盐与 MK-801-10nM 处理细胞（每次处理使用 2-3 个盖玻片）。

培养 24 小时后，用 trypan 蓝着色。从随机选择的培养域（每个盖玻片 5 个视野）计算存活和死亡的细胞。计算死亡细胞的百分数。

实施例 2:

神经压碎损伤方法（nerve crash injury）和损伤后化合物复合动作电位（CAP）测量

A 部分

代谢测量

在动物使用的调查中，动物的应用是依据 ARVO 决定。用戊巴比妥钠麻醉（腹膜内，35mg/kg）重 300-400g 的雄性 Sprague-Dawley(SPD)大鼠。当需要时，将插管插入气管中，以用于人工换气。用头部固定器将动物的头固定在适当的位置，在双目操作显微镜下进行外侧眦切开术，且侧面切开结膜至角膜。眼球收缩肌分离之后，确

定了视神经，且用钝器解剖法在眼球近旁暴露 303.5mm 的长度。保留硬脑膜完整并注意不要损伤神经。将光导支架（见下面）的第一部分插入到视神经的下面，并将神经轻轻地放入光导管中。然后以这种方式将第二部分固定在适当的位置，即将光导置于视神经的表面，该视神经的表面距离已经给药的损伤位置 1mm。

表面荧光测定法-反射测定法

线粒体内 NADH 氧化还原状态的监测是基于 366nm 处 NADH 的荧光，导致在 450nm 处具有峰强度的蓝光的发射，它不同于其氧化形式，NAD+，其缺少这种荧光。366nm 激发的来源是 100-W 空气冷却的水银灯，该水银灯装备有强 366nm 过滤器（Corning 5860(7-37)加 9782(4-96)）。一种柔韧的 Y 型光学纤维束（光导）用于传送到达或来自视神经的光，从而使得体内测定在技术上是可行的。激发光通过激发纤维束传送至神经。自神经发射的光，在通过第二纤维束传送后，以 90:10 的比例分开，以测量 450nm 处的荧光（90%）和 366nm 处的反射光（10%），该测量是通过连接于一通道直流电荧光计-反射计的两个光电倍增管进行的。为了减小动物间的差异，在记录开始时使用标准信号校准方法。实验过程中荧光和反射光信号的变化是相对于校准信号计算的。这种校准类型虽然不是绝对的，然而，从各种动物中和在不同的实验室中已经发现产生了可靠和可再现的结果。

发射光的改变与在血液动力学效应引起的组织吸收中的改变和继发于动脉血压和神经容量变化的视神经运动有关。对于 NADH 氧化还原状态的测量，已经发现可以通过从荧光中减去反射光（366nm）（1:1 比例）而获得纠正的荧光信号，从而适宜地校正荧光测量。

代谢测量

让仍然麻醉的动物从上面描述的外科手术过程中恢复 30 分钟，然后将其暴露于缺氧和富氧的条件下。通过让大鼠在 100%的氮气中呼吸 2 分钟而获得缺氧状态，之后将其返回到空气中。当动物不能自然地恢复到正常呼吸时，通过向气管内吹气两次而换气。富氧状态是通过让动物呼吸 100%的氧气 6-10 分钟而诱发的。为了评价视神经的代谢活性，在压碎损伤之前和之后，测量响应缺氧状态和富氧状态的反射光和荧光强度的相对变化。

代谢测量的实验过程

使用校准的 cross-action 镊子，使眼睛和光导支架之间的神经在相应的 120g 压力下经过 30 秒钟受到良好校准的适度的压碎损伤。

B 部分

生理学测量

记录复合动作电位(CAP)的实验设置:

为了测量电生理，在视神经去除之前，用 70mg/kg 戊巴比妥将大鼠深度麻醉。自颅骨除去皮肤，自眼球分离视神经。进行次全断头术，并用咬骨钳打开颅骨。外侧移置大脑，暴露视神经的颅侧部分。交叉水平的解剖能使神经的整个长度切除，并将其转移至装有新鲜，冷却的 Krebs 溶液的小瓶中，Krebs 溶液的组成是 NaCl(125mM),KCl(5mM),KH_2PO_4(1.2mM),$NaHCO_3$(26mM),$MgSO_4$(0.6mM),$CaCl_2$(24mM),D-葡萄糖（11mM），用 95%O_2和 5%CO_2充气。将神经保存在此溶液中，在其中电活性保持稳定至少 3-4 小时。恢复 1 小时之后，37℃时将神经浸入 Krebs 溶液中。电生理记录是从神经末梢到压碎损伤获得的，因为神经太小以致于不能在压碎的两侧测定。然后将神经末端连接到浸入在浴液中的两个吸入 Ag-AgCl 电极上。经过近端电极使用刺激脉冲，并通过远端电极记录动作电位。Grass SD9 刺激器用于电刺激（2V,50μs）。将信号传递至 Medelec PA63 前置放大器，并由此至 Medelec MS7 肌电图机和 AA7T 放大器。溶液，刺激器和放大器具有共同的基座。用 Polaroid 照相机记录和照相 8 个平均 CAP 的最大振幅。剩下的神经（未损伤的）用于测定正常神经的对照值并校准压碎镊子。

视觉激发性电位（VEP）反应的记录

在损伤后 2 周检查损伤的用药物治疗的大鼠，以评价其功能恢复。在此实验组中，从初级视觉皮质记录了响应光刺激的场电位图。在视网膜中，由光源激发的电位延着存活的轴突传播到它们的最终目标，视觉皮质。只有那些在初级及次级变性过程中存活的轴突能够传导动作电位。在治疗和未治疗的动物中，场电位图的比较分析将揭示治疗对轴突存活的作用。

将麻醉的大鼠（Rumpon,Ketalar）置于一小动物 sterotaxic 设备中。颅骨暴露后，用圆柱形钻头钻两个孔，保持硬膜完整以减小皮

质损伤。一个孔钻于鼻骨以上，用作对照点。第二个孔位于具有前囟点#8mm，侧面#3mm 坐标的 OC1 区域。将连接于螺丝钉上的金触针用作电极，旋进孔中并用丙烯酸粘结剂粘在颅骨上。用频闪刺激来激发场电位，平均每分钟 90 次扫描。通过 Lab View 数据收集和管理系统的使用来分析闪光-激发电位。将场电位数字化并贮存以用于脱机分析。

C 部分

测试神经保护性能的药物效果的测定

第一组实验包括代谢测定。在若干不同的浓度下，腹膜内注射每种药物。每种药物在一组 8 只动物中测试，连同 8 只对照（用缓冲赋形剂治疗的受损伤动物）。在每个实例中，在损伤之前，损伤之后 0.5 小时和此后 4-6 小时的每一小时，进行联机代谢测量。用 ANOVA 分析得到的数据。

长期效果测定：生理学活性的测定

CAPS

损伤之后立即将待测试的药物注射进 10 只动物中，并用赋形剂注射 10 只对照动物。两周后，使用吸入电极体外记录每个神经的 CAP。对侧的一面用作内部对照。结果表明受检测的药物是否对剩余轴突的解救和/或变性的减缓具有任何电位效应。阳性结果导出确定每种有希望的药物最佳剂量的效果。

VEP 反应

在两组年龄和性别匹配的天然 SPD 大鼠的皮质中植入电极。植入之后，当光闪烁进入右眼，左眼被覆盖时，立即从左侧记录 VEP 反应。使视神经上受到适当控制的压碎损伤，立即按预先确定的最佳剂量给予药物。除了给予赋形剂而不是药物外，以相同的方式处理对照动物。在操作后 1 天，1 周，2 周和 4 周记录每只动物的 VEP 反应。

在类似的静脉中，已经证实神经细胞损伤发生在脊柱局部缺血的模型中，且暗示了诱发的脊柱低温具有神经保护作用。Marsala, M, Gulik, J., Ishikawa, T. 和 Yaksh, T. L.，《神经科学方法杂志》74, pp97-106(1997)。相信局部缺血后的神经细胞死亡的机理与已经发现的那些机理相类似，并且通过将本发明化合物在神经，如视神经和视网膜上给药来有效地治疗。在 Marsala, Galik, et

al(supra)的研究中引用了缺氧神经元去极化和谷氨酸盐毒性。

近来的研究表明肾上腺素能α_{2A}受体是位于人脊髓的主要的α_2亚型。先前已经提出α_{2A}激动剂通过在脊柱中与α_{2A}受体结合和α_{2A}受体的激活，而可能在痛觉丧失和镇静中是有益的。参见实施例，Lawhead,R.G.,Blaxall,H.S.,和 Bylund,D.B.《麻醉学》，77(5)983-91(1992)。新近发现这些激动剂会给予脊柱细胞神经保护。对于脊柱中的神经保护，本发明化合物有效量地给药可以是鞘内地，硬膜外地或全身性地进行，如口服地或通过注射，象上述在“剂量和给药”下讨论的那样。这种对脊髓的给药可以保护脊柱神经细胞免受有害刺激，如局部缺血和创伤。

下列论文：Marsala,M,Malmerg,A.B.,和 Yaksh,T.L.,《神经科学方法杂志》，62,pp.43-53(1995);Taira,Y.,Marsala,M.,《中风》,27(10),pp.1850-58(1996);Marsala,M.,Vanicky,I.,Yaksh,T.L.,《中风》，25(10),pp.2038-46(1994)中提供了脊柱局部缺血的动物模型；诱发这种局部缺血的方法，在局部缺血过程中和局部缺血之后，使用鞘内渗析来测量释放的内源性代谢化合物量的方法，和神经组织的组织学研究，和局部缺血事件之后的行为性神经病功能。

使用这些参考文献的结合，一个实验用于测试本发明化合物的效果。在脊柱局部缺血的诱发和再灌注，或校准的神经压碎损伤之后，将化合物给予一测试动物，例如大鼠。谷氨酸盐和其他内源代谢性化合物释放的测量，是通过鞘内渗析的使用进行的。神经学行为改变的研究，如allodynia降低和运动原能力丧失的研究，被用来证实相对于没有用神经保护化合物治疗的动物对照组来说，化合物对于脊柱神经保护的有效性。

虽然已经就各种特殊的实施例和实施方案描述了本发明，应该理解到本发明不限制于此，而仅应当通过所附的权利要求范围的阐述来解释。

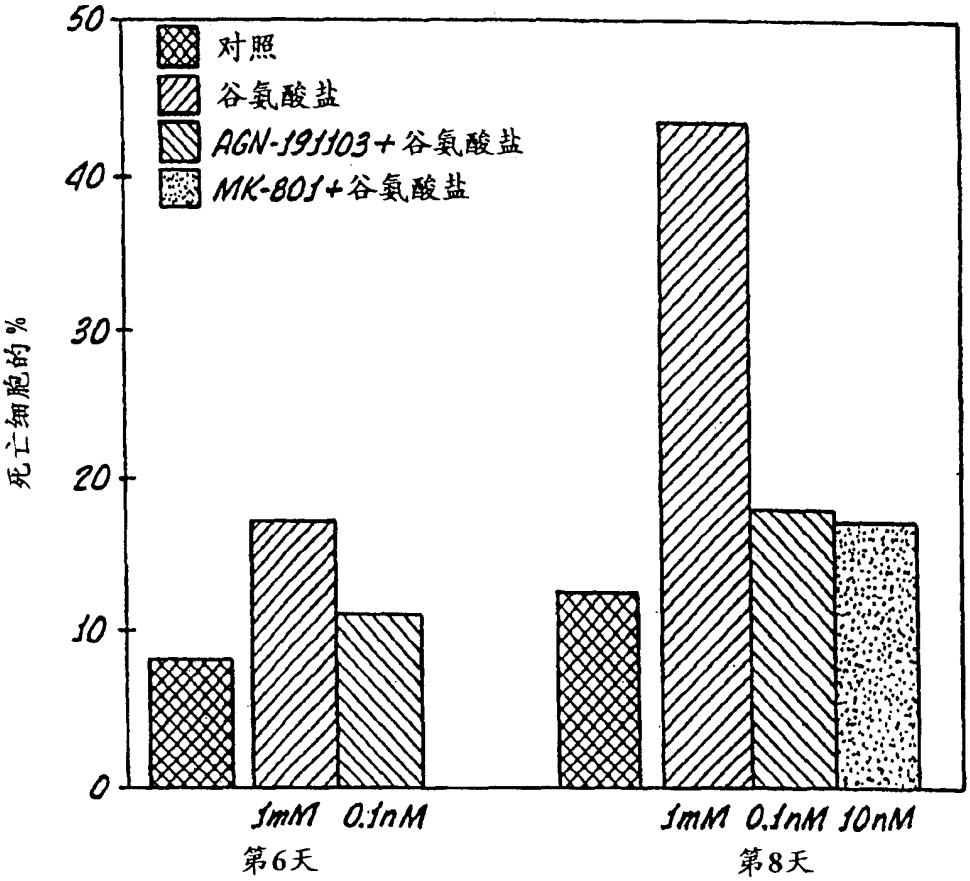

50
40
30
20
10
0
死亡细胞的%
对照
谷氨酸盐
AGN-191103+谷氨酸盐
MK-801+谷氨酸盐
1mM
0.1nM
1mM
0.1nM
10nM
第6天
第8天

图 1

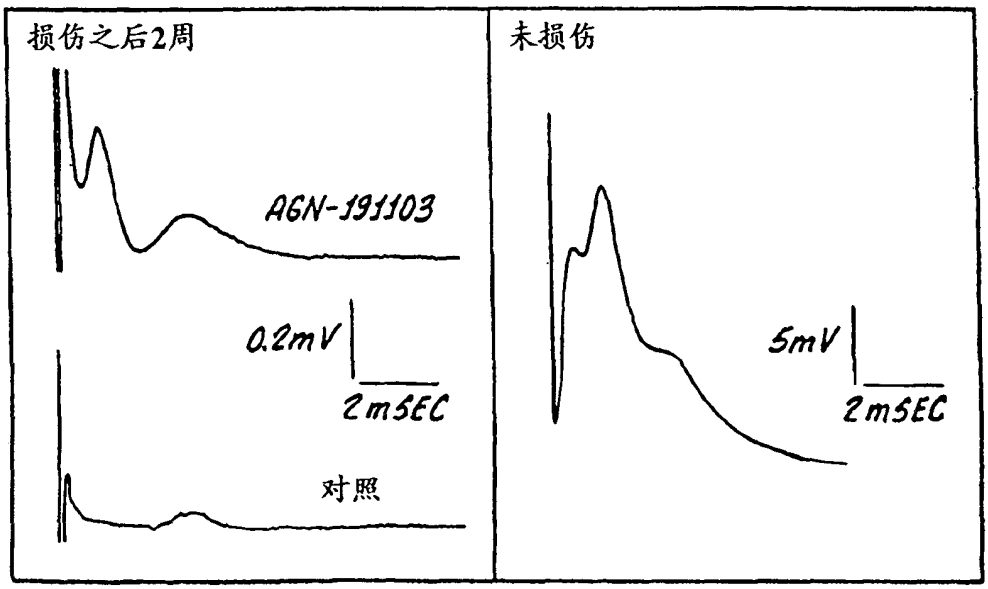

损伤之后2周
AGN-191103
0.2mV
2mSEC
对照
未损伤
5mV
2mSEC

图 2

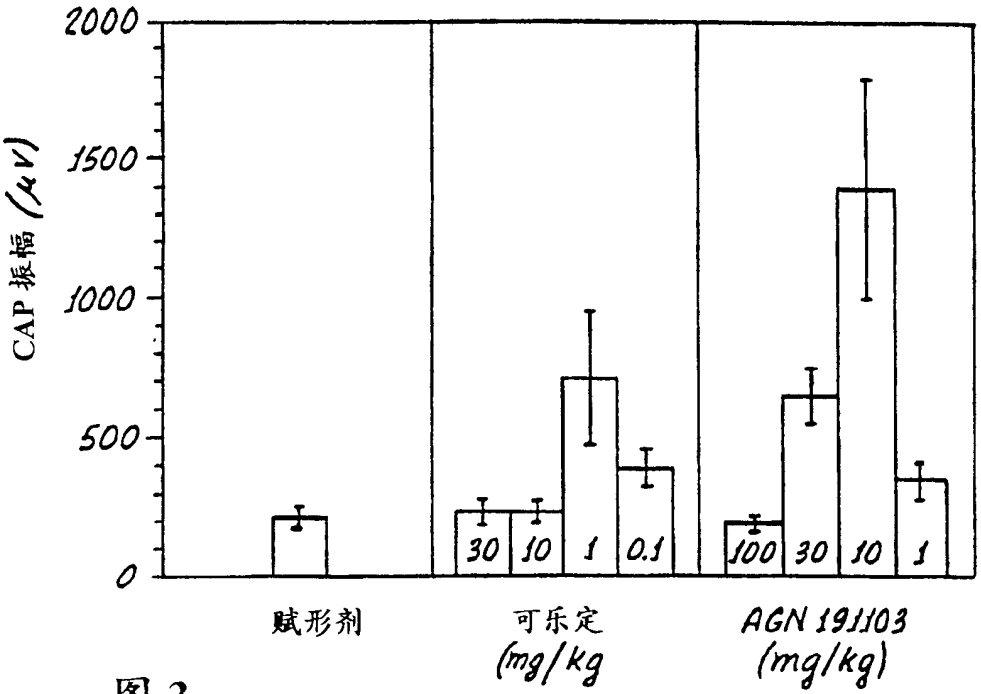

2000
1500
1000
500
0
CAP 振幅 (μV)
30
10
1
0.1
100
30
10
1
赋形剂
可乐定
(mg/kg
AGN 191103
(mg/kg)

图 3

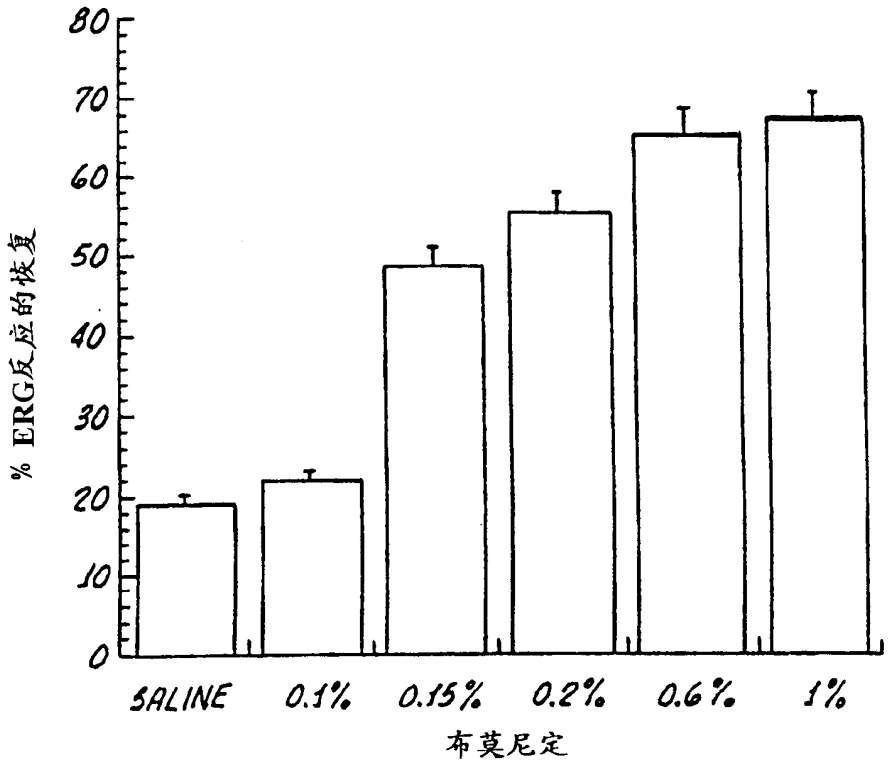

80
70
60
50
40
30
20
10
0
% ERG反应的恢复
SALINE
0.1%
0.15%
0.2%
0.6%
1%
布莫尼定

图 5

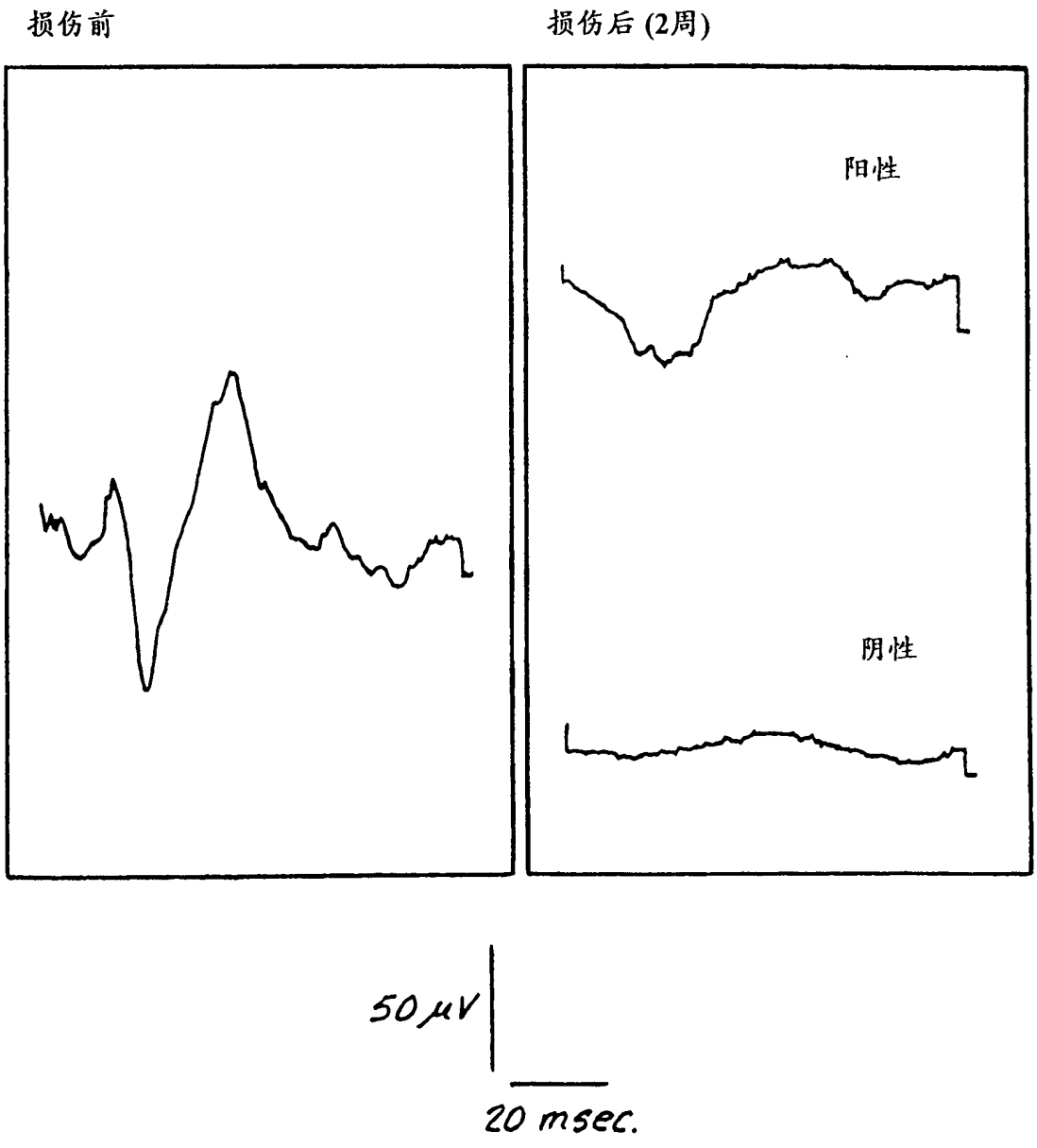


图 4

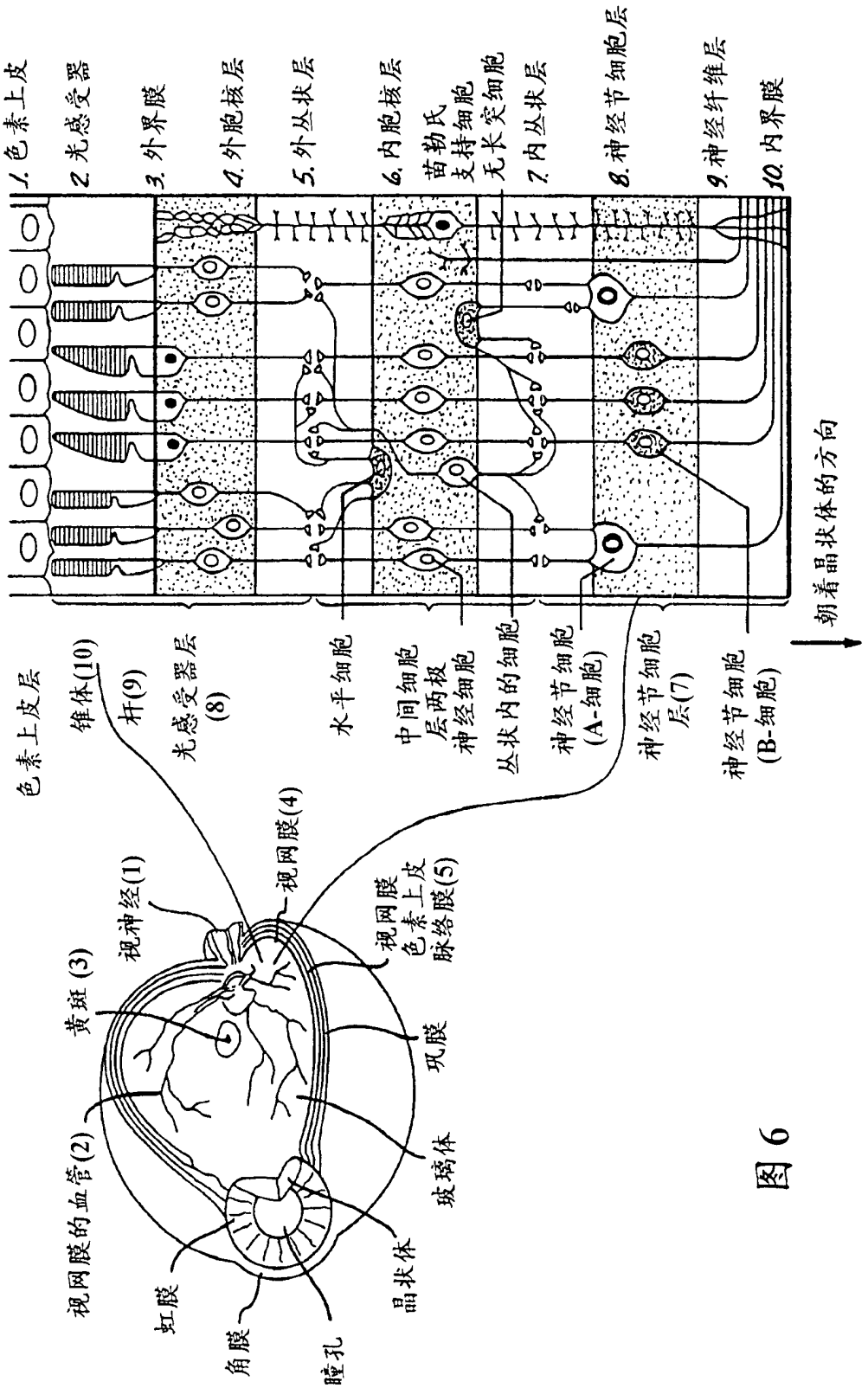

1. 色素上皮
2 光感受器
3. 外界膜
4. 外胞核层
5. 外丛状层
6. 内胞核层
苗勒氏
支持细胞
无长突细胞
7. 内丛状层
8. 神经节细胞层
9. 神经纤维层
10. 内界膜
朝着晶状体的方向
色素上皮层
锥体(10)
杆(9)
光感受器层
(8)
水平细胞
中间细胞
层两极
神经细胞
丛状内的细胞
神经节细胞
(A-细胞)
神经节细胞
层(7)
神经节细胞
(B-细胞)
视网膜的血管(2)
黄斑 (3)
视神经(1)
视网膜(4)
视网膜
色素上皮
脉络膜(5)
巩膜
虹膜
角膜
瞳孔
晶状体
玻璃体

图 6