



-

(52) CPC특허분류

A61F 9/0079 (2013.01)
A61K 31/525 (2013.01)
A61K 33/26 (2013.01)
A61K 9/0048 (2013.01)
A61N 5/062 (2013.01)
A61P 27/02 (2018.01)
A61N 2005/0661 (2013.01)

(30) 우선권주장

62/255,452	2015년11월14일	미국(US)
62/262,919	2015년12월04일	미국(US)
62/263,598	2015년12월04일	미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

리보플라빈을 포함하는 광증감제(photosensitizer); 및

이게팔(IGEPAL) CO-360, 트리톤(Triton) X-100, 폴리도칸올(Polidocanol) 또는 이게팔 CO-720 중 하나 이상을 포함하고, 광증감제에 대한 눈 영역의 투과성을 증가시키도록 구성된 투과성 증진 조성물

을 포함하는, 눈 치료용 제제.

청구항 2

제1항에 있어서, 철, 구리, 망가니즈, 크로뮴, 바나듐, 알루미늄, 코발트, 수은, 카드뮴, 니켈, 비소, 2,3-부탄 디온 및 폴산으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 1종의 첨가제를 추가로 포함하는 제제.

청구항 3

제2항에 있어서, 적어도 1종의 첨가제가 철(II)을 포함하는 것인 제제.

청구항 4

제1항에 있어서, 눈 영역이 각막 상피인 제제.

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] <관련 출원의 상호 참조>

[0002] 본 출원은 2015년 7월 21일에 출원된 미국 특허 가출원 제62/195,144호, 2015년 11월 14일에 출원된 미국 특허 가출원 제62/255,452호, 2015년 12월 4일에 출원된 미국 특허 가출원 제62/262,919호, 및 2015년 12월 4일에 출원된 미국 특허 가출원 제62/263,598호를 우선권 주장하며, 이들 가출원의 내용은 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0003] <발명의 분야>

[0004] 본 개시내용은 눈을 치료하기 위한 시스템 및 방법, 및 보다 특히 눈 치료를 위해 눈 부위에 광증감제를 전달하기 위한 시스템 및 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0005] 특정 광증감제는 눈 치료를 위해 눈에 도포될 수 있다. 예를 들어, 광증감제는 각막에서 교차 결합 활성을 발생시킬 수 있다. 교차 결합은 원추각막증과 같은 장애를 치료할 수 있다. 특히, 원추각막증은 각막 내 구조적 변화가 각막을 약화시키고 비정상적인 원추형 형상으로 변화시키는 눈의 변성 장애이다. 교차 결합 치료는 원추각막증에 의해 약화된 영역을 강화시키고 안정화시킬 수 있으며, 바람직하지 않은 형상 변화를 방지할 수 있다.

<선행기술문헌>

미국 특허출원 공개공보 제2013/0245598호(2013. 9. 19.)

[0006] <도면의 간단한 설명>

[0007] 도 1은 본 개시내용의 측면에 따른, 각막 콜라겐의 교차 결합을 발생시키기 위해 눈의 각막에 교차 결합제 및 광활성화 광을 전달하는 예시 시스템을 도해한다.

[0008] 도 2a-b는 본 개시내용의 측면에 따른, 각막 교차 결합 치료 동안에 적용된 리보플라빈 및 광활성화 광 (예를

들어, 자외선 A (UVA) 광)을 포함하는 광화학적 운동학적 반응에 대한 반응식을 도해한다.

- [0009] 도 3a-c는 산소 공핍(depletion) 실험에 대한 모델 값과 실험 데이터 간의 상관관계를 나타내는 그래프를 도해하며, 여기서 모델 값은 본 개시내용의 측면에 따른 광화학적 운동학적 반응 모델에 기반한다.
- [0010] 도 4는 비-선형 광학 현미경 형광 실험에 대한 모델 값과 실험 데이터 간의 상관관계를 나타내는 그래프를 도해하며, 여기서 모델 값은 본 개시내용의 측면에 따른 광화학적 운동학적 반응 모델에 기반한다.
- [0011] 도 5a-d는 파파인 소화법 실험에 기반한 형광 데이터에 대한 모델 값과 실험 데이터 간의 상관관계를 나타내는 그래프를 도해하며, 여기서 모델 값은 본 개시내용의 측면에 따른 광화학적 운동학적 반응 모델에 기반한다.
- [0012] 도 6a-b는 각막 기질 경계선 실험에 대한 모델 값과 실험 데이터 간의 상관관계를 나타내는 그래프를 도해하며, 여기서 모델 값은 본 개시내용의 측면에 따른 광화학적 운동학적 반응 모델에 기반한다.
- [0013] 도 7a-c는 본 개시내용의 측면에 따른 광화학적 운동학적 반응 모델에 의해 발생하는 상이한 프로토콜을 사용하는 치료에 대한 교차 결합 프로파일의 그래프를 도해한다.
- [0014] 도 8a-c는 광화학적 운동학적 반응 모델에 의해 발생하는 상이한 프로토콜을 사용하는 치료에 대한 교차 결합 프로파일의 그래프를 도해하며, 여기서 교차 결합 프로파일은 본 개시내용의 측면에 따른 각각의 프로토콜에 대해 경계선에 대한 깊이를 결정하도록 평가된다.
- [0015] 도 9a-b는 본 개시내용의 측면에 따른 광화학적 운동학적 반응 모델에 의해 발생하는 상이한 프로토콜을 사용하는 치료에 대한 교차 결합 프로파일에 기반한 경계 깊이 대 광활성화 광의 선량의 그래프를 도해한다.
- [0016] 도 10은 광화학적 운동학적 반응 모델에 의해 발생하는 상이한 프로토콜을 사용하는 치료에 대한 교차 결합 프로파일의 그래프를 도해하며, 여기서 교차 결합 프로파일은 본 개시내용의 측면에 따른 각각의 프로토콜에 대해 경계선에 대한 깊이를 결정하도록 평가된다.
- [0017] 도 11은 도 10에 이용된 프로토콜에 따라 실험적으로 처리된 각막에 대한 기준치에 대비한 6 및 12개월에서의 최대 각막곡률측정치 (K_{max})를 도해한다.
- [0018] 도 12a는 도 10에서 각각의 프로토콜에 대해 결정된 생물역학적 경직 깊이에 있어서, 본 개시내용의 측면에 따른 각 프로토콜에 상응하는 6 및 12개월 동안의 K_{max} 의 실험적 변화를 플롯팅한 그래프를 도해한다.
- [0019] 도 12b는 도 10에서 각각의 프로토콜에 대해 경계선 위쪽 영역에 있어서, 본 개시내용의 측면에 따른 각 프로토콜에 상응하는 6 및 12개월 동안의 K_{max} 의 실험적 변화를 플롯팅한 그래프를 도해한다.
- [0020] 도 13은 본 개시내용의 측면에 따른 광화학적 운동학적 반응 모델을 이용하는 예시 시스템을 도해한다.
- [0021] 도 14는 각막에 도포되는 상이한 제제에 대한 상대 확산율 값을 도해한다.
- [0022] 도 15는 상이한 리보플라빈 제제로 처리된 교차 결합된 각막에 대한 상대 형광 값을 도해한다.
- [0023] 도 16은 상이한 리보플라빈 제제로 각막을 처리하기 위한 상이한 파라미터를 도해한다.
- [0024] 도 17은 도 16에서 파라미터에 따라 처리된 교차 결합된 각막에 대한 상대 형광 값을 도해한다.
- [0025] 도 18-20은 리보플라빈 용액 중의 상이한 계면활성제로 처리된 교차 결합된 각막 절편에 대한 상대 형광을 도해한다.
- [0026] 도 21은 투과성 증진제로서 벤즈알코늄 클로라이드 (BAC)를 포함하는 리보플라빈 용액에 대비한, BAC를 포함하지 않는 리보플라빈 용액으로 처리된 교차 결합된 각막 절편에 대한 상대 형광을 도해한다.
- [0027] 도 22-24는 투과성 증진제로서 BAC를 포함하는 다른 리보플라빈 용액 및 투과성 증진제가 전혀 없는 다른 리보플라빈 용액에 대비한, 투과성 증진제로서 상이한 농도의 폴리도칸올(Polidocanol)을 포함하는 리보플라빈 용액으로 처리된 교차 결합된 각막 절편에 대한 상대 형광을 도해한다.
- [0028] 도 25-26은 투과성 증진제로서 BAC를 포함하는 다른 리보플라빈 용액에 대비한, 투과성 증진제로서 상이한 농도의 폴리도칸올을 포함하는 리보플라빈 용액, 또는 상이한 농도의 폴리도칸올 뿐만 아니라 첨가제로서 Fe(II)를 포함하는 리보플라빈 용액으로 처리된 교차 결합된 각막 절편에 대한 상대 형광을 도해한다.
- [0029] 도 27은 2종의 상이한 계면활성제 중 하나 또는 2종의 계면활성제의 조합으로 처리된 교차 결합된 절편의 상대

형광을 도해한다.

- [0030] 도 28a는 실험적으로 다양한 기간 동안 리보플라빈 중에 침액되고 다양한 기간 동안 UV 광으로 조사된 각막의 전방, 중앙 및 후방 단면에서 측정된 브릴루앙(Brillouin) 모듈러스 값을 도해한다.
- [0031] 도 28b는 다양한 교차 결합 치료에 대한 실험적으로 측정된 브릴루앙 모듈러스 값, 및 광화학적 운동학적 반응 모델로 계산된 값을 도해한다.
- [0032] 도 29는 소정 경계 깊이를 갖는 각막 깊이에 따른 교차 결합의 농도 뿐만 아니라 2차 미분을 또한 도해한다.
- [0033] 도 30은 14개의 별도의 연구에서 기재된 프로토콜에 있어서 각막 기질 경계선의 깊이에 대한 모델 값 및 실험 데이터의 상관관계를 나타내는 데이터의 또 다른 그래프를 도해한다.
- [0034] 도 31은 신울측정법(extensimetry) 실험에서 다양한 교차 결합 치료에 대한 광화학적 운동학적 반응 모델에 의해 계산된 교차 결합 프로파일의 그래프 (각막 깊이에 따른 교차 결합 농도)를 도해한다.
- [0035] 도 32는 도 31의 실험에서 다양한 교차 결합 치료에 대한 신울측정치 및 모델에 의해 계산된 값의 상관관계를 도해한다.
- [0036] 도 33은 목적하는 교차 결합 활성을 생성하기 위해 어떻게 광화학적 운동학적 반응 모델에 의해 광화학적 과정의 특정 측면이 제어되거나 또는 달리 영향을 받는지를 도해한다.
- [0037] 도 34는 교차 결합 활성화에 대한 도 33의 다양한 첨가제의 효과를 나타낸다.
- [0038] 도 35-36은 광화학적 운동학적 반응 모델에 의해 발생하는 상이한 프로토콜을 이용하는 치료에 대한 교차 결합 프로파일의 그래프를 도해한다.
- [0039] 도 37은 경계선 깊이가 리보플라빈 농도, 증점제의 사용, 조명 (UVA) 장치 보정, 조명 (UVA) 빔 프로파일, 및/또는 지리학적 인자의 측면에 의해 영향을 받을 수 있음을 도해한다.
- [0040] 도 38은 본 개시내용의 측면에 따른 목적하는 생물역학적 변화를 달성하기 위한 치료 파라미터를 제공하기 위해 광화학적 운동학적 반응 모델을 이용하는 예시 시스템을 도해한다.
- [0041] 도 39는 본 개시내용의 측면에 따른 목적하는 생물역학적 변화를 달성하기 위한 치료 파라미터를 결정하기 위해 광화학적 운동학적 반응 모델을 이용하는 예시 방법을 도해한다.

발명의 내용

- [0042] 본 개시내용의 측면은 눈 치료를 위해 눈 부위에 광증감제를 전달하기 위한 시스템 및 방법에 관한 것이다. 특히, 시스템 및 방법은 목적하는 영역으로의 광증감제의 전달을 용이하게 하기 위해 각막 상피와 같은 눈 구조물의 투과성을 증진시키는 제제를 이용한다.
- [0043] 본 개시내용의 측면에 따라, 눈 치료용 제제는 광증감제 및 투과성 증진 조성물을 포함한다. 투과성 증진 조성물은 하나 이상의 투과성 증진제를 포함한다. 투과성 증진 조성물은, 투과성 증진 조성물이 광증감제에 대한 눈 영역의 투과성을 증가시키는 것으로 나타나는 친수성-친지성 균형(Hydrophile-Lipophile Balance, HLB) 수치를 갖는다. 일부 경우에, 투과성 증진 조성물은 복수의 투과성 증진제를 포함하며, 여기서 투과성 증진 조성물에 대한 HLB 수치는 투과성 증진 조성물 중의 각각의 투과성 증진제의 백분율과 각 투과성 증진제에 대한 HLB 수치를 곱한 결과물들의 합이다. 다른 경우에, 제제는 철, 구리, 망가니즈, 크로뮴, 바나듐, 알루미늄, 코발트, 수은, 카드뮴, 니켈, 비소, 2,3-부탄디온 및 폴산으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 1종의 첨가제를 추가로 포함한다. 예를 들어, 적어도 1종의 첨가제는 철(II)을 포함한다. 추가의 경우에, 눈 영역은 각막 상피이다. 다른 추가의 경우에, 광증감제는 리보플라빈을 포함하고, 투과성 증진 조성물은 대략 12.6 내지 대략 14.6의 HLB 수치를 갖는다. 대안적인 경우에, 눈 영역은 병원체에 의해 감염된 영역이다.
- [0044] 본 개시내용의 추가의 측면에 따라, 눈의 치료 방법은 상기 제제를 눈 영역에 도포하고, 눈 영역에 소정 선량의 조명을 전달하여 광증감제를 광활성화시키는 것을 포함한다. 일부 경우에, 방법은 각막에 소정 농도의 산소를 적용하는 것을 추가로 포함한다. 다른 경우에, 제제를 도포하는 것은 제제를 병원체에 의해 감염된 눈 영역에 도포하는 것을 포함하여, 광증감제의 광활성화는 병원체에 의해 감염된 영역에 대한 항미생물 효과를 제공한다. 대안적인 경우에, 제제를 도포하는 것은 제제를 각막 상피에 도포하는 것을 포함한다.
- [0045] 본 개시내용의 다른 측면에 따라, 각막 치료용 제제는 광증감제 및 비-이온성 계면활성제를 포함한다. 비-이온

성 계면활성제는 광증감제에 대한 각막 상피의 투과성을 증가시키는 친수성 및 친지성 균형을 갖는 분자를 포함한다. 일부 경우에, 광증감제는 리보플라빈을 포함하고, 비-이온성 계면활성제는 대략 12.6 내지 대략 14.6의 친수성-친지성 균형 (HLB) 수치를 갖는다. 다른 경우에, 비-이온성 계면활성제는 폴리옥시에틸렌 (9) 라우릴 에테르를 포함한다. 또 다른 경우에, 제제는 철, 구리, 망가니즈, 크로뮴, 바나듐, 알루미늄, 코발트, 수은, 카드뮴, 니켈, 비소, 2,3-부탄디올 및 폴산으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 1종의 첨가제를 포함한다. 예를 들어, 적어도 1종의 첨가제는 철(II)을 포함한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0046] 도 1은 눈(1)의 각막(2)에서 콜라겐의 교차 결합을 발생시키기 위한 예시 치료 시스템(100)을 도해한다. 치료 시스템(100)은 각막(2)에 교차 결합제(130)를 도포하기 위한 도포기(132)를 포함한다. 예시 실시양태에서, 도포기(132)는 각막(2)에 점적으로서 광증감제(130)를 도포하는 점안기, 주사기 등일 수 있다. 교차 결합제(130)는 교차 결합제(130)가 각막 상피(2a)를 통과하여 각막 기질의 기저 부위(2b)까지 이르는 것을 가능케 하는 제제로 제공될 수 있다. 대안적으로, 교차 결합제(130)가 기저 조직에 보다 직접적으로 도포되는 것을 가능케 하기 위해 각막 상피(2a)가 제거되거나 또는 달리 절개될 수 있다.
- [0047] 치료 시스템(100)은 광원(110), 및 광을 각막(2)으로 인도하기 위한 광학 부재(112)를 갖는 조명 시스템을 포함한다. 광은 교차 결합제(130)의 광활성화를 유발하여 각막(2)에서 교차 결합 활성을 발생시킨다. 예를 들어, 교차 결합제는 리보플라빈을 포함할 수 있고, 광활성화 광은 자외선 A (UVA) (예를 들어, 365 nm) 광일 수 있다. 대안적으로, 광활성화 광은 또 다른 파장, 예컨대 가시 파장 (예를 들어, 452 nm)을 가질 수 있다. 하기에 추가로 기재된 바와 같이, 각막 교차 결합은 광화학적 운동학적 반응 시스템에 따라 각막 조직 내에서 화학 결합을 생성함으로써 각막 강도를 개선시킨다. 예를 들면, 리보플라빈 및 광활성화 광이 적용되어 각막 조직을 안정화 및/또는 강화시킴으로써 원추각막증 또는 라식 후 확장증과 같은 질환을 해결한다.
- [0048] 치료 시스템(100)은 광원(110) 및/또는 광학 부재(112)를 포함한, 시스템(100)의 측면을 제어하는 1개 이상의 제어기(120)를 포함한다. 구현예에서, 각막(2)은 교차 결합제(130)로 보다 폭넓게 처리될 수 있고 (예를 들어, 점안기, 주사기 등에 의해), 광원(110)으로부터의 광활성화 광은 특정 패턴에 따라 처리된 각막(2)의 부위에 선택적으로 인도될 수 있다.
- [0049] 광학 부재(112)는 광원(110)에 의해 방출된 광활성화 광을 각막(2) 상의 특정 패턴으로 인도하고 초점을 맞추기 위한 1개 이상의 거울 또는 렌즈를 포함할 수 있다. 광학 부재(112)는 광원(110)에 의해 방출된 광의 파장을 부분적으로 차단하고 교차 결합제(130)의 활성화를 위해 각막(2)에 인도하고자 하는 광의 특정 파장을 선택하기 위한 필터를 추가로 포함할 수 있다. 또한, 광학 부재(112)는 광원(110)에 의해 방출된 광 빔을 분할하기 위한 1개 이상의 빔 분할기를 포함할 수 있고, 광원(110)에 의해 방출된 광을 흡수하기 위한 1개 이상의 히트 싱크 (heat sink)를 포함할 수 있다. 광학 부재(112)는 또한 광활성화 광을 각막(2) 내 특정 초점면에, 예를 들어, 교차 결합 활성이 목적하는 기저 부위(2b)의 특정 깊이에서 정확하게 및 정밀하게 초점을 맞출 수 있다.
- [0050] 게다가, 광활성화 광의 구체적인 요법은 각막(2)의 선택된 부위에서 목적하는 교차 결합도를 달성하기 위해 조정될 수 있다. 파장, 대역폭, 강도, 출력, 위치, 침투 깊이, 및/또는 처리 시간 (노출 주기, 암(dark) 주기의 시간, 및 노출 주기 대 암 주기 시간의 비)의 임의의 조합에 따라 광활성화 광을 정밀하게 전달하도록 광원(110) 및/또는 광학 부재(112)의 작동을 제어하기 위해 1개 이상의 제어기(120)가 사용될 수 있다.
- [0051] 교차 결합제(130)의 광활성화에 대한 파라미터는 예를 들어, 목적하는 교차 결합을 달성하기 위해 필요한 시간을 단축하도록 조절될 수 있다. 예시 구현예에서, 시간은 수분에서 수초로 단축될 수 있다. 일부 구성은 5 mW/cm^2 의 방사조도의 광활성화 광을 적용할 수 있지만, 더 높은 방사조도의 광활성화 광, 예를 들어 5 mW/cm^2 의 배수가 적용되어, 목적하는 교차 결합을 달성하기 위해 필요한 시간을 단축할 수 있다. 각막(2)에서 흡수되는 에너지의 총 선량은 유효 선량이라 기재될 수 있고, 이는 각막 상피 (2a)의 영역을 통해 흡수되는 에너지의 양이다. 예를 들어, 각막 표면(2A)의 부위에 대한 유효 선량은 예를 들어 5 J/cm^2 일 수 있거나 또는 20 J/cm^2 또는 30 J/cm^2 정도로 높을 수 있다. 기재된 유효 선량은 에너지의 단위 적용으로부터 또는 에너지의 반복 적용으로부터 전달될 수 있다.
- [0052] 치료 시스템(100)의 광학 부재(112)는 광활성화 광의 적용을 공간적으로 및 시간적으로 조정하는 디지털 마이크로-거울 장치 (DMD)를 포함할 수 있다. DMD 기술을 사용하여, 광원(110)으로부터의 광활성화 광이 반도체 칩 상의 매트릭스에 펼쳐진 미시적으로 작은 거울에 의해 생성되는 정밀 공간 패턴으로 투영된다. 각각의 거울은

투영된 광의 패턴으로 1개 이상의 픽셀을 나타낸다. DMD에 의해 각막지형도 가이드 교차 결합을 수행할 수 있다. 각막지형도에 따른 DMD의 제어는 여러 상이한 공간적 및 시간적 방사조도 및 선량 프로파일을 이용할 수 있다. 이와 같은 공간적 및 시간적 선량 프로파일은 연속파(continuous wave) 조명을 사용하여 생성될 수 있지만, 또한 상기 기재된 바와 같이 다양한 주파수 및 듀티(duty) 주기 요법 하에 조명원을 펄싱(pulsing)함으로써 펄스형 조명을 통해 조정될 수 있다. 대안적으로, DMD는 연속파 조명을 사용하여 궁극의 용통성을 제공하기 위해 픽셀 기반으로 픽셀에 대한 상이한 주파수 및 듀티 주기를 조정할 수 있다. 또는 대안적으로, 펄스형 조명과 조정된 DMD 주파수 및 듀티 주기 조합이 둘다 조합될 수 있다. 이는 특정 양의 공간적으로 결정된 각막 교차 결합을 가능케 한다. 이러한 공간적으로 결정된 교차 결합은 치료 전의 계획 및/또는 실시간 모니터링 및 치료 중의 각막 교차 결합의 조정을 위해 선량측정법, 간섭법, 광학 간섭성 단층촬영법 (OCT), 각막지형도 등과 조합될 수 있다. 부가적으로, 환자 특이적인 치료 전 계획을 세우기 위해 전임상적 환자 정보가 유한 요소 생물역학 컴퓨터 모델링과 조합될 수 있다.

[0053] 광활성화 광의 전달 측면을 제어하기 위해, 실시양태는 또한 다광자 여기 현미경의 측면을 이용할 수 있다. 특히, 특정 파장의 단일 광자를 각막(2)에 전달하기 보다는, 치료 시스템(100)은 보다 긴 파장, 즉, 보다 낮은 에너지의 다광자를 전달할 수 있고, 이들이 조합되어 교차 결합을 개시한다. 유리하게는, 보다 긴 파장은 각막(2) 내에서 보다 짧은 파장보다 더 낮은 수준으로 산란되고, 이는 보다 긴 파장의 광이 보다 짧은 파장의 광보다 더 효율적으로 각막(2)에 침투하는 것을 가능케 한다. 각막 내 심부 깊이에서의 입사선의 차폐 효과가 또한 통상의 단파장 조명보다 감소하는데, 그 이유는 광증감제에 의한 광의 흡수가 보다 긴 파장에서 훨씬 줄어들기 때문이다. 이는 깊이 특이적 교차 결합에 대하여 증진된 제어를 가능케 한다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 2개의 광자가 이용될 수 있는데, 여기서 각각의 광자는 교차 결합제(130) 내 분자를 여기시켜 하기에 추가로 기재된 광화학적 운동학적 반응을 발생시키기 위해 필요한 에너지의 대략 절반을 전달한다. 교차 결합제 분자는 두 광자를 모두 동시에 흡수할 때, 각막 조직에서 반응성 라디칼을 유리시키기에 충분한 에너지를 흡수한다. 실시양태는 또한, 교차 결합제 분자가 반응성 라디칼을 유리시키기 위해 예를 들어 3, 4 또는 5개의 광자를 동시에 흡수해야만 하도록 보다 낮은 에너지의 광자를 이용할 수 있다. 다광자의 거의 동시의 흡수 가능성은 낮으므로, 높은 플럭스의 여기 광자가 필요할 수 있고, 높은 플럭스는 펄스 레이저를 통해 전달될 수 있다.

[0054] 다수의 조건 및 파라미터가 교차 결합제(130)에 의한 각막 콜라겐의 교차 결합에 영향을 미친다. 예를 들어, 교차 결합제(130)가 리보플라빈이고 광활성화 광이 UVA 광인 경우에, 방사조도 및 선량 둘다 교차 결합의 양 및 속도에 영향을 미친다. UVA 광은 연속적으로 (연속파 (CW)) 또는 펄스형 광으로서 적용될 수 있고, 이와 같은 선택은 교차 결합의 양, 속도 및 정도에 영향을 미친다.

[0055] UVA 광이 펄스형 광으로서 적용된다면, 노출 주기, 암 주기의 기간, 및 노출 주기 대 암 주기 기간의 비는 그에 따른 각막 경직에 영향을 미친다. 펄스형 광 조명을 사용하여 동일한 양 또는 선량의 전달 에너지에 대하여 연속파 조명으로 달성될 수 있는 것보다 더 높거나 또는 더 낮은 각막 조직의 경직을 생성할 수 있다. 적합한 파장 및 주파수의 광 펄스를 사용하여 보다 최적의 화학적 증폭을 달성할 수 있다. 펄스형 광 처리의 경우, 온/오프 듀티 주기는 대략 1000/1 내지 대략 1/1000일 수 있고; 방사조도는 대략 1 mW/cm^2 내지 대략 1000 mW/cm^2 의 평균 방사조도일 수 있으며, 펄스 수(pulse rate)는 대략 0.01 Hz 내지 대략 1000 Hz 또는 대략 1000 Hz 내지 대략 100,000 Hz일 수 있다.

[0056] 치료 시스템(100)은 DMD를 이용함으로써, 광원(110)을 전자적으로 켜고 끄으로써, 및/또는 기계적 또는 광전자적 (예를 들어, 포켈스 셀(Pockels cell)) 셔터(shutter) 또는 기계적 초퍼(chopper) 또는 회전 천공부(aperture)를 이용함으로써 펄스형 광을 발생시킬 수 있다. DMD의 픽셀 특이적 조정 능력 및 조정된 주파수, 듀티 주기, 각막에 전달되는 방사조도 및 선량에 기반한 후속 경직 부여 때문에, 복합적인 생물역학적 경직 패턴이 각막에 부여되어 다양한 양의 굴절 교정을 가능케 할 수 있다. 이와 같은 굴절 교정은 안과 병태, 예컨대 원추각막증, 투명 각막 가장자리 질환, 라식 후 확장증, 및 각막의 생물역학적 변형/변성인 다른 병태 등으로 인한 예를 들어 근시, 원시, 난시, 부정 난시, 노안 및 복합적인 각막 굴절 표면 교정의 조합을 포함할 수 있다. DMD 시스템 및 방법의 구체적인 장점은 랜덤화된 비동기 펄싱 각막지형 패턴화를 가능케 하여, 비-주기적으로 및 균일하게 보여지는 조명을 생성한다 것이고, 이는 2 Hz 내지 84 Hz의 펄스형 주파수에 대하여 광과민성 간질성 발작 또는 명멸 현훈증을 촉발시킬 가능성을 제거한다.

[0057] 예시 실시양태는 단계적 온/오프 펄스형 광 함수를 이용할 수 있지만, 각막에 광을 적용하기 위한 다른 함수가 유사한 효과를 달성하기 위해 이용될 수 있음을 이해한다. 예를 들어, 광은 사인파(sinusoidal) 함수, 톱니파 함수, 또는 다른 복소 함수 또는 곡선, 또는 함수 또는 곡선의 임의의 조합에 따라 각막에 적용될 수 있다. 실

제로, 함수는 실질적으로 단계적일 수 있고, 여기서 온/오프 값들 사이에 보다 점진적인 전이가 있을 수 있음을 이해한다. 또한, 방사조도는 오프 주기 동안에 0의 값으로 감소할 필요가 없으며, 오프 주기 동안에 0보다 클 수 있음을 이해한다. 목적하는 효과는 2개 이상의 값들 사이에 방사조도를 달리하는 곡선에 따라 각막에 광을 적용함으로써 달성될 수 있다.

[0058] 광활성화 광을 전달하기 위한 시스템 및 방법의 예는 예를 들어 2011년 3월 18일에 출원된 미국 특허 출원 공보 제2011/0237999호 (발명의 명칭: "Systems and Methods for Applying and Monitoring Eye Therapy"), 2012년 4월 3일에 출원된 미국 특허 출원 공보 제2012/0215155호 (발명의 명칭: "Systems and Methods for Applying and Monitoring Eye Therapy") 및 2013년 3월 15일에 출원된 미국 특허 출원 공보 제2013/0245536호 (발명의 명칭: "Systems and Methods for Corneal Cross-Linking with Pulsed Light")에 기재되어 있으며, 이들 출원의 내용은 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0059] 산소의 첨가가 또한 각막 경직의 양에 영향을 미친다. 인간 조직에서, O_2 함량은 대기에 비해 매우 낮다. 그러나, 각막에서의 교차 결합 속도는 광활성화 광이 조사될 때의 O_2 농도와 관련있다. 따라서, 목적하는 양의 교차 결합이 달성될 때까지 교차 결합 속도를 제어하기 위해 조사 중에 O_2 농도를 능동적으로 증가 또는 감소시키는 것이 유리할 수 있다. 산소는 교차 결합 치료 중에 여러 상이한 방식으로 적용될 수 있다. 한 접근법은 리보플라빈을 O_2 로 과포화시키는 것을 포함한다. 따라서, 리보플라빈이 눈에 도포될 때, 보다 고 농도의 O_2 가 리보플라빈을 갖는 각막에 직접적으로 전달되고, 리보플라빈이 광활성화 광에 노출될 때 O_2 를 포함하는 반응에 영향을 미친다. 또 다른 접근법에 따라, 정상 상태의 O_2 (선택된 농도)가 각막 표면에서 유지되어 각막을 선택된 양의 O_2 에 노출시키고 O_2 가 각막에 들어가도록 할 수 있다. 예를 들면, 도 1에 나타낸 바와 같이, 치료 시스템 (100)은 또한 산소 공급원(140), 및 선택된 농도의 산소를 각막(2)에 임의로 전달하는 산소 전달 장치(142)를 포함한다. 교차 결합 치료 중에 산소를 적용하기 위한 예시 시스템 및 방법은 예를 들어, 2010년 10월 21일에 출원된 미국 특허 제8,574,277호 (발명의 명칭: "Eye Therapy"), 2012년 10월 31일에 출원된 미국 특허 출원 공보 제2013/0060187호 (발명의 명칭: "Systems and Methods for Corneal Cross-Linking with Pulsed Light")에 기재되어 있으며, 이들 출원의 내용은 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0060] 일반적으로, 각막 구조물은 5개의 층을 포함한다. 눈의 외부 표면에서부터 안쪽으로, (1) 상피, (2) 보우만 (Bowman) 층, (3) 기질, (4) 데스메막(Descemet's membrane), 및 (5) 내피가 있다. 예시 교차 결합 치료 동안에, 기질은 광증감제인 리보플라빈으로 처리되고, 각막에 자외선 (UV) 광이 전달되어 기질 내 리보플라빈을 활성화시킨다. UV 방사선 흡수 시, 리보플라빈은 산소와의 반응을 거치며, 여기서 반응성 산소 종 및 다른 라디칼이 생성된다. 이들 반응성 산소 종 및 다른 라디칼은 추가로 콜라겐 피브릴과 상호작용하여 콜라겐 피브릴의 아미노산을 함께 결합시키는 공유 결합을 유도함으로써 피브릴을 교차 결합시킨다. 콜라겐 교차 결합의 광-산화성 유도는 기질의 생물역학적 강도를 증진시키고, 특정 안과 병태, 예컨대 원추각막증에 대한 치료상 유익을 제공할 수 있거나 또는 근시, 원시 및/또는 난시를 교정하도록 굴절 변화를 발생시킬 수 있다.

[0061] 각막의 최외측 배리어로서, 상피는 눈물막으로부터 기질 조직 내로 들어가는 산소를 포함한 영양소를 조절하는 기능을 한다. 이와 같은 조절은 상피의 양 측면 상의 배리어-투과가능 용질의 차동 농도로 인한 상피를 가로지르는 삼투압에 의해 구동되는 상피의 생리학적 "펌프"를 통해 수행된다. 건강할 때에는, 기질 내에서 공핍해지는 눈물막 내 특정 영양소가 삼투압을 통해 상피를 투과하여 기질에 재공급할 수 있다. 그러나, 산소 및 일부 다른 소분자 영양소는 이와 같은 메카니즘에 따라 기질에 도달할 수 있지만, 특정 광증감제는 상피를 통과할 수 없다.

[0062] 예를 들어, 리보플라빈은 상피의 치밀 이음부를 침투할 수 없는 비교적 큰 친수성 분자이다. 상피는 기질을 침투할 수 있는 양의 리보플라빈을 감속시킨다. 따라서, 각막 교차 결합 치료를 수행하기에 충분한 농도의 리보플라빈을 기질에 전달하고 낮은 리보플라빈 확산율을 극복하기 위해 다양한 접근법이 이용되어 왔다. 한 접근법에 따라, 리보플라빈 용액이 기질에 직접적으로 도포되기 전에 상피가 제거된다 (상피 창면절제). 상피의 제거는 리보플라빈이 기질에 도달하는 것을 가능케 하지만, 상기 접근법은 환자의 불편, 감염의 위험, 및 기타 가능한 합병증과 관련있다.

[0063] 한편, 다른 접근법은 상피 창면절제를 피한다. 예를 들어, 리보플라빈은 교차 결합제가 상피를 통과하는 것을 가능케 하는 제제로 제공될 수 있다. 이러한 제제는 예를 들어, 2009년 5월 6일에 출원된 미국 특허 출원 공보 제2010/0286156호 (발명의 명칭: "Collyrium for the Treatment of Conical Cornea with Cross-Linking

Trans-Epithelial Technique) 및 2013년 1월 4일에 출원된 미국 특허 출원 공보 제2013/0267528호 (발명의 명칭: "Trans-Epithelial Osmotic Collyrium for the Treatment of Keratoconus")에 기재되어 있으며, 이들 출원의 내용은 전문이 본원에 참조로 포함된다. 특히, 일부 리보플라빈 제제는 특정 오스몰농도의 염화나트륨 (NaCl)과, 벤즈알코늄 클로라이드 (BAC)와 같은 이온성 작용제를 포함한다. 이러한 제제는 상피의 투과성을 증진시킬 수 있지만, 불리하게는 상피를 부식시킨다.

[0064] 부가적으로 또는 대안적으로, 상피의 투과성을 증진시키고 리보플라빈이 상피를 보다 용이하게 통과하는 것을 가능케 하기 위해 또 다른 용액 및/또는 기계적 힘이 적용될 수 있다. 각막의 기저 부위로의 교차 결합제의 전달을 증진시키거나 또는 달리 제어하기 위한 접근법의 예는 예를 들어, 2011년 4월 13일에 출원된 미국 특허 출원 공보 제2011/0288466호 (발명의 명칭: "Systems and Methods for Activating Cross-Linking in an Eye") 및 2012년 5월 18일에 출원된 미국 특허 출원 공보 제2012/0289886호 (발명의 명칭: "Controlled Application of Cross-Linking Agent")에 기재되어 있으며, 이들 출원의 내용은 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0065] 본 개시내용에는 또 다른 부류의 리보플라빈 제제를 사용하는 것이 교시되어 있다. 유리하게는, 이러한 제제는 비교적 큰 친수성 리보플라빈 분자 (또는 플라빈 모노뉴클레오티드 (FMN) 또는 리보플라빈-5'-포스페이트 분자)가 창면절제 없이 상피를 통과하는 것을 가능케 하기에 충분하게 상피의 투과성을 증진시키지만, 투과성은 상피가 손상되는 시점까지 증진되지는 않는다. 투과성을 증진시키기 위해, 그러한 제제는 친수성-친지성 균형 (HLB) 시스템을 사용하여 선택되는 비-이온성 작용제를 이용한다.

[0066] 투과성 증진제의 HLB는 증진제의 분자 구조 내 친수성 및 친지성 기의 균형을 가리킨다. 상피에 대한 투과성 증진제 (또는 유화제)는 친수성 및 친지성 기 둘 다를 갖는 분자를 포함한다. 9 미만의 HLB 수치를 갖는 분자는 친지성인 것으로 간주되고, 11 초과인 것들은 친수성인 것으로 간주된다. 9 내지 11의 HLB 수치를 갖는 분자는 중간제이다.

[0067] 각막 상피에 있어서, 지나치게 크거나 지나치게 작은 HLB 수치는 광증감제를 상피에 통과시키는데 도움이 되지 않는다. 특정 HLB 범위는 광증감제가 상피를 통과하여 이동하는 것을 증진시킨다. 따라서, 본 개시내용의 측면은 상피 및 기질을 통한 최적화된 확산율을 달성하는 친수성/친지성 균형을 갖는 비-이온성 작용제를 이용한다. 유리하게는, 비-이온성 작용제는 또한 BAC와 같은 이온성 작용제보다 상피를 덜 부식시키고 덜 손상시킨다.

[0068] 리보플라빈에 있어서, 더 효과적인 투과성 증진제에 대한 HLB 범위는 실험적으로 본 발명자들에 의해 대략 12.6 내지 대략 14.6인 것으로 결정되었다. 투과성 증진제의 부류는 상이한 지방족쇄 길이를 갖는 다양한 형태의 폴리에틸렌 글리콜 (PEG)을 포함한다. 예시 실시양태에 따라, 일부 리보플라빈 제제는 대략 13.6의 HLB 수치를 갖는 특정 농도의 폴리도칸올 (폴리옥시에틸렌 (9) 라우릴 에테르)을 포함한다.

[0069] 친수성 부분이 에틸렌 옥사이드만으로 이루어진 분자 또는 분자의 조합에 대한 HLB를 계산하기 위한 식은 다음과 같다:

[0070] $HLB = E/5$ (여기서, E = 옥시에틸렌 함량 (중량%)).

[0071] 일반적으로, 보다 효과적인 투과성을 달성하는 증진제에 대한 HLB 범위는 제제의 상이한 측면에 따라 다양할 수 있다. 특히, 보다 최적의 증진제에 대한 HLB 범위는 제제에서 이용되는 광증감제에 따라 다양할 수 있다. 예를 들면, 다른 광증감제, 예컨대 로즈 벵갈(Rose Bengal)에 대한 보다 최적의 투과성은 리보플라빈에 대한 HLB 범위 (예를 들어, 대략 12.6 내지 대략 14.6의 HLB)와 상이한 HLB 범위의 증진제를 이용함으로써 달성될 수 있다.

[0072] 아울러, 제제는 보다 최적의 증진제에 대한 HLB 범위에 영향을 미칠 수 있는 다른 첨가제를 포함할 수 있다. 예를 들면, 리보플라빈 제제는 또한 철 이온, 예컨대 Fe(II)를 포함할 수 있다. 광증감제 제제에 포함될 수 있는 첨가제는 예를 들어, 2014년 5월 19일에 출원된 미국 특허 출원 공보 제2014/0343480호 (발명의 명칭: "Systems, Methods, and Compositions for Cross-linking") 및 2014년 12월 2일에 출원된 미국 특허 가출원 제 62/086,572호 (발명의 명칭: "Systems, Methods, and Compositions for Cross-linking")에 기재되어 있으며, 이들 출원의 내용은 전문이 본원에 참조로 포함된다. 다른 첨가제는 예를 들면 구리, 망가니즈, 크로뮴, 바나듐, 알루미늄, 코발트, 수은, 카드뮴, 니켈, 비소, 2,3-부탄디온 및 폴산을 포함한다.

[0073] 부가적으로, 상피에 대해 보다 효과적인 투과성을 달성하는 특정 HLB를 달성하기 위해 여러 투과성 증진제가 조합될 수 있다. 이들은 각각의 증진제의 백분율을 구하고, 거기에 그의 HLB 수치를 곱한 다음, 그 결과를 합하여 계산될 수 있다. 예를 들면, 대략 14의 HLB 수치를 갖는 증진제 A를 30%, 대략 6의 HLB 수치를 갖는 증진제

B를 50%, 및 대략 14의 HLB 수치를 갖는 증진제 C를 20% 포함하는 제제에서, 산정된 HLB 수치는 다음과 같이 계산될 수 있다:

[0074] A에 있어서 $30\% \times \text{HLB } 14 = 4.2$;

[0075] B에 있어서 $50\% \times \text{HLB } 6 = 3.0$;

[0076] C에 있어서 $20\% \times \text{HLB } 14 = 2.8$;

[0077] $A + B + C$ 의 조합에 있어서 산정된 HLB 수치 $= 4.2 + 3.0 + 2.8 = 10.0$

[0078] 따라서, 매우 특이적인 HLB 수치를 달성하기 위해 2종 이상의 증진제가 조합될 수 있으며, 여기서 단일 증진제는 덜 최적의 투과성을 제공할 수 있다. 부가적으로, 상이한 증진제의 조합은 용해도, 점도, 안정성 또는 일부 다른 바람직한 속성과 관련된 최종 제제의 다른 바람직한 특성을 제공할 수 있다.

[0079] 연구 1

[0080] 연구에서, 대략 $100 \mu\text{m}$ 의 상피가 있거나 없는 돼지 눈에서의 BAC 또는 비-이온성 작용제를 함유하는 리보플라빈 제제의 확산율을 측정하기 위해, 프란츠(Franz) 세포를 이용하였다. 도 14는 본 연구에서 제제에 대한 확산율 값의 그래프를 도해한다. 칼럼 A는 상피가 없는 돼지 눈 (에피-오프(epi-off))에 0.1% 리보플라빈의 염수 용액을 적용한 것을 나타낸다. 칼럼 B는 돼지 눈 에피-오프에 BAC가 있는 0.22% 리보플라빈 용액을 적용한 것을 나타낸다. 칼럼 C는 상피가 있는 돼지 눈 (에피-온(epi-on))에 비-이온성 작용제가 있는 0.22% 리보플라빈 용액을 적용한 것을 나타낸다. 칼럼 D는 돼지 눈 에피-온에 BAC가 있는 0.22% 리보플라빈 용액을 적용한 것을 나타낸다. 칼럼 E는 돼지 눈 에피-온에 0.1% 리보플라빈의 염수 용액을 적용한 것을 나타낸다. 그 결과로부터, 비-이온성 작용제가 있는 제제는 BAC가 있는 이온성 제제보다 더 빠른 확산을 달성하였음이 밝혀졌다. 아울러, 에피-온에 도포된 비-이온성 작용제가 있는 제제의 확산율은 에피-오프에 도포된 제제에 대한 확산율과 유사하다. 따라서, 충분한 친수성/친지성 균형이 비-이온성 작용제로 달성되었다.

[0081] 연구 2

[0082] 연구에서, 도살장에서부터 얼음 상에서 밤새 운반된 돼지 눈 (수프렘(SiouxPreme), 미국 아이오와주 수시티)을 세정하고, 37°C 로 설정된 인큐베이터에서 20분 동안 BAC가 있는 0.22% 리보플라빈 용액 또는 비-이온성 작용제가 있는 0.22% 리보플라빈 용액으로 침액시켰다. 각막은 대략 $100 \mu\text{m}$ 의 상피를 가졌다. 각각의 침액 후 및 UVA 광으로 팬(pan)-각막 조사 전 각막의 상피를 제거하였다. 처리 프로토콜은 $7.2 \text{ J}/\text{cm}^2$ 의 선량에 대해 및 $30 \text{ mW}/\text{cm}^2$ 의 조사로 펄스형 UVA 광 (1초 온; 1초 오프)을 적용하는 것을 이용하였고, 각막은 100% 농도의 산소 기체에 노출되었다. $200 \mu\text{m}$ 의 각막 절편을 펄스 레이저를 사용하여 절단하였다. 각막에서의 교차 결합 정도는 파파인으로 콜라겐 가용화 후 형광계(fluorimetric) 분석 (여기서 365 nm, 방출과 450 nm)에 기초하여 평가하였다.

[0083] 도 15는 본 연구에서 제제에 대한 형광 값을 도해하며, 이는 교차 결합 활성 정도를 나타낸다. 칼럼 A는 BAC가 있는 0.22% 리보플라빈 용액으로 처리된 각막의 형광을 나타낸다. 칼럼 B는 비-이온성 작용제가 있는 0.22% 리보플라빈 용액으로 처리된 각막의 형광을 나타낸다. 그 결과로부터, 더 작은 농도의 리보플라빈이 $100 \mu\text{m}$ 상피를 통과하였으며, 교차 결합은 BAC 제제가 이용될 때 리보플라빈-한정됨이 밝혀졌다. 일반적으로, 에피-온 교차 결합은 더 큰 교차 결합 효율을 달성하기 위해 기질 중 충분한 리보플라빈 농도를 필요로 한다.

[0084] 연구 3

[0085] 연구에서, 돼지 눈을 도 16에 나타낸 파라미터에 따라 처리하였다. 대조군을 제공하기 위해, 돼지 눈은 에피-오프를 0.1% 리보플라빈 용액으로 20분 동안 침액시킨 다음, 주위 공기에 노출시키면서 $5.4 \text{ J}/\text{cm}^2$ 의 선량에 대해 $3 \text{ mW}/\text{cm}^2$ 의 방사조도로 연속과 UVA 광으로 조사하였다. 또 다른 대조군을 제공하기 위해, 돼지 눈은 에피-오프를 0.22% 리보플라빈 용액으로 20분 동안 침액시킨 다음, 주위 공기에 노출시키면서 $7.2 \text{ J}/\text{cm}^2$ 의 선량에 대해 $30 \text{ mW}/\text{cm}^2$ 의 방사조도로 연속과 UVA 광으로 조사하였다. 부가적으로, 돼지 눈은 에피-온을 BAC가 있는 0.22% 리보플라빈 용액으로 20분 동안 침액시킨 다음, 주위 공기에 노출시키면서 $7.2 \text{ J}/\text{cm}^2$ 의 선량에 대해 $30 \text{ mW}/\text{cm}^2$ 의 방사조도로 연속과 UVA 광으로 조사하였다. 돼지 눈은 에피-온을 비-이온성 작용제가 있는 0.22% 리

리보플라빈 용액으로 20분 동안 침액시킨 다음, 주위 공기에 노출시키면서 7.2 J/cm^2 의 선량에 대해 30 mW/cm^2 의 방사조도로 연속파 UVA 광으로 조사하였다. 돼지 눈은 에피-온을 BAC가 있는 0.22% 리보플라빈 용액으로 20분 동안 침액시킨 다음, 100% 산소에 노출시키면서 7.2 J/cm^2 의 선량에 대해 30 mW/cm^2 의 방사조도로 펄스형 UVA 광으로 조사하였다. 돼지 눈은 에피-온을 비-이온성 작용제가 있는 0.22% 리보플라빈 용액으로 20분 동안 침액시킨 다음, 100% 산소에 노출시키면서 7.2 J/cm^2 의 선량에 대해 30 mW/cm^2 의 방사조도로 펄스형 UVA 광으로 조사하였다.

[0086] 각막에서의 교차 결합 정도를 형광계 분석에 기초하여 평가하였다. 도 17은 본 연구에서 제제에 대한 형광 값을 도시하며, 이는 교차 결합 활성 정도를 나타낸다. 도 17에서 칼럼 A-F는 도 16에서 각 행 A-F에 제공된 실험 파라미터에 상응하는 결과를 나타낸다. 칼럼 C 및 D로부터, BAC가 있는 0.22% 리보플라빈 용액 또는 비-이온성 작용제가 있는 0.22% 리보플라빈 용액에 의한 교차 결합은 산소-한정됨이 밝혀졌다. 칼럼 E 및 F로부터, BAC가 있는 0.22% 리보플라빈 용액에 의한 교차 결합은 비-이온성 작용제가 있는 0.22% 리보플라빈 용액에 의한 교차 결합과 비교할 때 리보플라빈 한정됨이 밝혀졌다. 또한, 칼럼 E 및 F로부터, 포화 상피에서 리보플라빈에 의한 흡수는 산소가 적용될 때 유의한 인자가 아님이 밝혀졌다.

[0087] 상기에 비추어, 리보플라빈의 확산율 및 리보플라빈의 초기 기질 농도는 교차 결합 활성 정도에 영향을 미친다. 비-이온성 작용제를 포함한 제제로부터의 결과로부터, 친수성-친지성 특성은, 리보플라빈이 상피를 침투하고 임상 적용을 위해 적절한 시간 및 양으로 각막 친수성 기질 내로 확산되는 것을 가능케 하는 인자임이 밝혀졌다.

[0088] 산소는 효율적인 상피관통 (에피 온) 교차 결합의 인자이다. 연구 결과로부터, 비-이온성 작용제와 산소의 적용은 표준 에피-오프 교차 결합과 유사한 교차 결합 효율을 제공함을 알 수 있다.

[0089] 상피에서 광-유도된 산소 소비로 인해 그리고 픽(Fick)의 확산 법칙과 관련될 때 상피 두께로 인해 기질에서 일반적으로 더 적은 산소를 이용가능할 수 있다. 따라서, 본 연구로부터, 산소의 추가 적용은 에피 온 교차 결합 효율을 증진시킬 수 있음을 알 수 있다.

[0090] 또한, 리보플라빈-포화 상피에 의한 UVA 광의 흡수는 광자 효율을 감소시킬 수 있다. 그러나, 본 연구 결과로부터, 산소가 또한 적용되는 경우, 리보플라빈-포화 상피에 의한 흡수는 지배적인 인자가 아님이 밝혀졌다.

[0091] 상기 기재된 바와 같이, 일부 리보플라빈 제제는 각막 상피의 투과성을 증진시키기 위해 특정 농도의 폴리도칸올을 포함한다. 유리하게는, 폴리도칸올의 농도는 상피에 대한 손상을 유발하지 않는다. 이러한 리보플라빈 용액은 또한 Fe(II)와 같은 첨가제를 포함할 수 있다.

[0092] 폴리도칸올 및 임의로 첨가제는 상피를 통한 리보플라빈의 전달을 증진시키고 목적하는 양의 교차 결합 활성을 달성하기 위해, 상기 기재된 바와 같은 다른 교차 결합 기술과 조합하여 이용될 수 있다. 예를 들면, 폴리도칸올 및 임의적 첨가제가 있는 리보플라빈 제제가 산소와 함께 적용될 수 있다. 아울러, 리보플라빈 용액은 광활성화 조명 (펄스형 조명, 상이한 패턴의 조명 등)의 전달을 위해 상이한 접근법으로 이용될 수 있다.

[0093] 연구 4

[0094] 리보플라빈을 함유하는 새로운 상피관통 제제를 확인하기 위해, 벤즈알코늄 클로라이드 (BAC)가 있는 리보플라빈 제제에 대한 더 효율적이고 독성이 경감된 대체물로서, 폴리도칸올이 있는 리보플라빈 제제를 시험하는 연구를 수행하였다.

[0095] 도살장에서부터 얼음 상에서 밤새 운반된 돼지 눈 (수프렘, 미국 아이오와주 수시티)을 염수 중 린싱하였다. 무손상 상피를 갖는 눈을 상단에 용액을 유지하도록 고무 링을 사용하여 37°C 로 설정된 인큐베이터에서 20분 동안 하기 시험 용액 중 하나로 침액시켰다.

[0096] 군 A의 돼지 눈의 경우, 하기 리보플라빈 제제를 사용하였다:

[0097] (a1) BAC를 함유하는 0.25% 리보플라빈 용액 (파라셀(Paracel)TM, 아베드로, 인크.(Avedro, Inc.), 미국 매사추세츠주 월섬);

[0098] (a2) 용액 (a1) 중의 리보플라빈 함량 (0.25%)을 맞추기 위해 리보플라빈이 첨가된, 염수를 함유하는 0.1% w.v. 리보플라빈 용액 (포트렉사(PHOTREXA) ZDTM, 아베드로, 인크., 미국 매사추세츠주 월섬);

[0099] (a3) 1% 폴리도칸올이 있는 용액 (a2);

- [0100] (a4) 5% 폴리도칸올이 있는 용액 (a2); 및
- [0101] (a5) 10% 폴리도칸올이 있는 용액 (a2).
- [0102] 군 A의 눈의 상피는 용액 중 하나에 눈을 침액시킨 후 무딘 칼날로 제거하였고, 각막 표면에서 출력 센서 (모델 PD-300-UV; 오피르, 인크.(Ophir, Inc.), 이스라엘 예루살렘)로 측정된 30 mW/cm^2 의 선택된 방사조도로 365-nm 광원 (UV LED NCSU033B[T]; 니치아 캄파니(Nichia Co.), 일본 도쿠시마 시)에 의해 4분 동안 탑햇(top hat) 빔 (3% 제곱평균제곱근)으로 공기 중에서 팬-각막 조사하였다. 각막 절편 (대략 $200 \mu\text{m}$ 두께)을 인트라레이즈 (Intralase) 펄스 레이저 (애보트 메디칼 옵틱스(Abbot Medical Optics), 미국 캘리포니아주 샌타애나)를 사용하여 눈으로부터 절제하였다. 각막 절편의 평균 두께를, 초음파 후도계(Pachymeter) (디지에이치 테크놀로지(DGH Technology), 미국 펜실베이니아주 엑스턴)에 의해 눈으로부터 절제 전후의 측정치 간의 차이로서 계산하였다. 절편을 종류수로 세척하고, 중량 변화가 10% 미만이 될 때까지 진공에서 건조시켰다 (로터리 베인 진공 펌프 RV3 A652-01-903, 바이오씨 에드워즈(BOC Edwards), 영국 웨스트서식스). 각각의 절편을 파파인 완충제 [BBBS (pH 7.0-7.2), 2 mM L-시스테인 및 2 mM EDTA] 1 ml 중의 2.5 단위/ml의 파파인 (파파야 라텍스(Papaya latex)로부터, 시그마(Sigma))으로 65°C 에서 2.5 h 동안 소화시켰다. 파파인 소화물을 1xBBBS로 0.5배 희석시키고, 용액의 형광을 QM-40 분광형광계 (포톤 테크놀로지 인터.(Photon Technology Int.), 캐나다 온타리오주 런던)에서 360 nm의 여기로 측정하였다. 조직의 부재 하에 형광을 측정하고, 이 값을 샘플의 형광에서 뺀으로써 파파인 완충제의 형광을 고려하였다.
- [0103] 군 B의 돼지 눈의 경우, 하기 리보플라빈 용액을 사용하였다:
- [0104] (b1) BAC를 함유하는 0.25% 리보플라빈 용액 (파라셀™);
- [0105] (b2) 1% 폴리도칸올이 있는, 염수를 함유하는 0.22% 리보플라빈 용액 (비벡스 엑스트라(VIBEX XTRA)™, 아베드로, 인크., 미국 매사추세츠주 윌섬);
- [0106] (b3) 5% 폴리도칸올이 있는, 염수를 함유하는 0.22% 리보플라빈 용액 (비벡스 엑스트라™); 및
- [0107] (b4) 염수를 함유하는 0.22% 리보플라빈 용액 (비벡스 엑스트라™).
- [0108] 군 B의 눈의 상피는 용액 중 하나에 침액시킨 후 제거하지 않았고, 그 표면을 조사 전 염수 완충제로 잠시동안 린싱하였다. 조사 후 상피를 제거하였다. 조사를 위해 사용된 조건 및 이어지는 눈 치료는 군 A의 경우와 동일하였다.
- [0109] 군 C의 돼지 눈의 경우, 하기 리보플라빈 용액을 사용하였다:
- [0110] (c1) BAC를 함유하는 0.25% 리보플라빈 용액 (파라셀™);
- [0111] (c2) 1% 폴리도칸올이 있는, 염수를 함유하는 0.22% 리보플라빈 용액 (비벡스 엑스트라™); 및
- [0112] (c3) 3% 폴리도칸올이 있는, 염수를 함유하는 0.22% 리보플라빈 용액 (비벡스 엑스트라™).
- [0113] 군 C의 눈의 상피는 용액 중 하나에 침액시킨 후 제거하지 않았고, 그 표면을 조사 전 염수 완충제로 잠시동안 린싱하였다. 눈을 조사 전 인큐베이션 챔버에서 2분 동안 산소 스트림 존재 하 비이커에 넣어 두었다. 각막을 30 mW/cm^2 의 방사조도로 팬-각막 조사하고, 8 min (7.2 J)의 총 시간 동안 펄싱 (1초 온: 1초 오프)하였다. 눈을 모든 처리 시간 동안 산소에 노출시켰다. 조사 후 무딘 칼날로 각막으로부터 상피를 제거하였다. 각막 절편 (대략 $200 \mu\text{m}$ 두께)을 인트라레이즈 펄스 레이저를 사용하여 눈으로부터 절제하였고, 이어지는 절편의 처리는 군 A 및 B의 경우와 동일하였다.
- [0114] 군 D 및 군 E의 돼지 눈의 경우, 하기 리보플라빈 용액을 사용하였다:
- [0115] (d1) BAC를 함유하는 0.25% 리보플라빈 용액 (파라셀™);
- [0116] (d2) 1% 폴리도칸올이 있는, 염수를 함유하는 0.22% 리보플라빈 용액 (비벡스 엑스트라™);
- [0117] (d3) 1% 폴리도칸올 및 2.5 mM Fe(II)가 있는, 염수를 함유하는 0.22% 리보플라빈 용액 (비벡스 엑스트라™);
- [0118] (d4) 3% 폴리도칸올이 있는, 염수를 함유하는 0.22% 리보플라빈 용액 (비벡스 엑스트라™); 및
- [0119] (d5) 3% 폴리도칸올 및 2.5 mM Fe(II)가 있는, 염수를 함유하는 0.22% 리보플라빈 용액 (비벡스 엑스트라™).

- [0120] 군 D의 경우, 실험 절차 (조사, 산소 노출, 및 절편 절단 포함)는 군 C의 경우와 동일하였다.
- [0121] 군 E의 눈의 상피는 용액 중 하나에 20 min 동안 침액시킨 후 제거하였다. 이어서, 눈을 조사 전 인큐베이션 챔버에서 2분 동안 산소 스트림 존재 하 비이커에 넣어 두었다. 각막을 30 mW/cm^2 의 방사조도로 팬-각막 조사 하고, 8 min (7.2 J)의 총 시간 동안 펄싱 (1초 온: 1초 오프)하였다. 눈을 모든 처리 시간 동안 산소에 노출 시켰다. 각막 절편 (대략 $200 \mu\text{m}$ 두께)을 인트라레이즈 펄스 레이저를 사용하여 눈으로부터 절제하였고, 이어지는 절편의 처리는 군 A 및 B의 경우와 동일하였다.
- [0122] 도 18-26은 다양한 리보플라빈 용액에 의해 군 A-E에서 유도된 교차 결합 활성을 도해한다. 교차 결합 활성은 처리 샘플에 대한 형광 (F) 대 미처리 대조군에 대한 형광 (F_0)의 비로서 측정되었으며, 여기서 450 nm의 파장에서 방출을 기록하였다. 이러한 교차 결합 활성 측정은 예를 들어, 2012년 6월 4일에 출원된 미국 특허 제 9,020,580호 (발명의 명칭: "Systems and Methods for Monitoring Time Based Photo Active Agent Delivery or Photo Active Marker Presence")에 기재되어 있으며, 이 출원의 내용은 전문이 본원에 참조로 포함된다.
- [0123] 도 18 및 19는 무손상 상피를 갖는 돼지 눈에 20 min 동안 국소적으로 도포된, 염수를 함유하는 0.22% 리보플라빈 용액 (비벡스 엑스트라™) 중의 상이한 계면활성제로 처리된 교차 결합된 각막 절편에 대한 상대 형광을 도해하며, 이후에 이어서 상피를 제거하고 눈을 4 min 동안 30 mW/cm^2 로 조사하였다. 이들 결과는 동일한 절차 조건 하 BAC를 함유하는 0.25% 리보플라빈 용액 (파라셀™)으로 처리된 각막 절편에 대해 제시된다.
- [0124] 도 20은 염수를 함유하는 0.22% 리보플라빈 용액 (비벡스 엑스트라™) 중의 상이한 계면활성제의 1% 용액을 사용한 후 교차 결합된 각막 절편에 대한 상대 형광을 도해한다. 이들 결과는 동일한 절차 조건 하 BAC를 함유하는 0.25% 리보플라빈 용액 (파라셀™)만으로 처리된 각막 절편으로부터의 형광에 대해 제시된다. 도 3-5는 또한 계면활성제에 대한 HLB 수치를 도시하며, 예를 들어 폴리도칸올은 13.6의 HLB 수치를 갖는다.
- [0125] 군 A에 대하여, 도 21은 BAC를 포함하는 용액 (a1)에 대비한, BAC를 포함하지 않는 용액 (a2)으로 처리된 교차 결합된 각막 절편에 대한 상대 형광을 도해한다. 한편, 도 22는 상이한 농도의 폴리도칸올을 포함하는 용액 (a3), (a4) 및 (a5)로 처리된 교차 결합된 각막 절편의 상대 형광을 도해한다. 이들 결과는 BAC를 포함하는 용액 (a1)로 처리된 각막 절편 및 폴리도칸올 또는 BAC를 포함하지 않는 용액 (a2)로 처리된 상피를 갖지 않는 각막 절편에 대해 제시된다.
- [0126] 군 B에 대하여, 도 23은 1% 및 5% 농도의 폴리도칸올을 각각 포함하는 용액 (b2) 및 (b3)으로 처리된 교차 결합된 각막 절편에 대한 상대 형광을 도해한다. 이들 결과는 BAC를 포함하는 용액 (b1)로 처리된 각막 절편 및 폴리도칸올 또는 BAC를 포함하지 않는 용액 (b4)로 처리된 각막 절편에 대해 제시된다.
- [0127] 군 C에 대하여, 도 24는 1% 및 3% 농도의 폴리도칸올을 각각 포함하는 용액 (c2) 및 (c3)으로 처리된 교차 결합된 각막 절편의 상대 형광을 도해한다. 이들 결과는 BAC를 포함하는 용액 (c1)로 처리된 각막 절편에 대해 제시된다.
- [0128] 군 D에 대한 도 25 및 군 E에 대한 도 11은 1% 및 3% 농도의 폴리도칸올을 각각 포함하는 용액 (d2) 및 (d4), 및 2.5 mM 철(II) 뿐만 아니라 1% 및 3% 농도의 폴리도칸올을 각각 포함하는 용액 (d3) 및 (d5)로 처리된 교차 결합된 절편의 상대 형광을 도해한다. 이들 결과는 BAC를 포함하는 용액 (d1)로 처리된 각막 절편에 대해 제시된다. 상기 기재된 바와 같이, 군 D에서 상피는 용액 중 침액 후 제거되지 않은 반면, 군 E에서 상피는 용액 중 침액 후 제거되었다.
- [0129] 연구 결과로 나타나는 바와 같이, 본 발명자들은 폴리도칸올이 투과성을 증진시키고 교차 결합 활성을 발생시키는 많은 다른 계면활성제보다 더 효과적인 비-이온성 계면활성제임을 확인하였다. 리보플라빈 용액 중 BAC를 사용하는 것은 리보플라빈이 상피를 통과하도록 도울 수 있지만, 상피에서 투과성을 증진시키고 교차 결합 활성을 발생시키는데 있어서 폴리도칸올이 BAC보다 훨씬 더 효과적이고 효율적이다. 유리하게는, 폴리도칸올과 같은 비-이온성 작용제가 BAC보다 상피를 덜 부식시키고 덜 손상시킨다.
- [0130] **연구 5**
- [0131] 상기 기재된 바와 같이, 상피에 대해 보다 최적의 투과성을 달성하는 특정 HLB를 달성하기 위해 여러 투과성 증진제가 조합될 수 있다. 상이한 HLB 수치를 갖는 계면활성제의 조합을 시험하기 위해 연구를 수행하였다.
- [0132] 무손상 상피를 하기 용액 중 하나를 사용하여 20 min 동안 침액시켰다:

- [0133] (e1) BAC를 함유하는 0.25% 리보플라빈 용액 (파라셀™);
- [0134] (e2) 1% 이계팔(IGEPAL) CO-630이 있는, 염수를 함유하는 0.22% 리보플라빈 용액 (비벡스 엑스트라™);
- [0135] (e3) 1% 이계팔 CO-720이 있는, 염수를 함유하는 0.22% 리보플라빈 용액 (비벡스 엑스트라™); 및
- [0136] (e4) 이계팔 CO-630과 이계팔 CO-720 (1:1 비)의 혼합물 1%가 있는, 염수를 함유하는 0.22% 리보플라빈 용액 (비벡스 엑스트라™).

[0137] 눈의 상피를 제거하고, 눈을 공기 중에서 연속적으로 4 min 동안 30 mW/cm^2 로 조사하였다. $200 \mu\text{m}$ 의 두께를 갖는 각막 절편을 절단하고, 파파인 소화 및 형광 분석을 이미 상기 기재된 바와 같이 수행하였다.

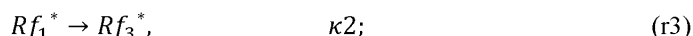
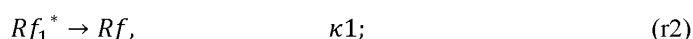
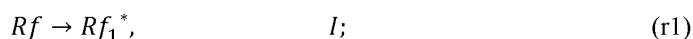
[0138] 도 27은 2종의 상이한 계면활성제 중 하나 또는 2종의 계면활성제의 조합으로 처리된 교차 결합된 절편의 상대 형광을 도해한다. 교차 결합 활성은 각 처리 샘플에 대한 형광 (F) 대 용액 (e1)로 처리된 샘플에 대한 형광 (F파라셀)의 비로서 측정되었으며, 여기서 450 nm 의 파장에서 방출을 기록하였다.

[0139] 계면활성제 이계팔 CO-630은 13의 HLB 수치를 갖고, 계면활성제 이계팔 CO-720은 14의 HLB 수치를 갖고, 1:1 혼합물은 13.5의 HLB 수치를 갖는다. 도 12에 의해 나타난 바와 같이, 계면활성제의 혼합물은 개별적으로 이용된 계면활성제보다 더 효과적으로 각막 상피를 통한 리보플라빈 투과를 용이하게 한다.

[0140] 본원에 기재된 예는 각막 교차 결합 치료를 위한 투과성 증진제로서의 리보플라빈 및 폴리도칸올의 용도에 관한 것일 수 있지만, 다른 광증감제 및/또는 다른 투과성 증진제 (예를 들어, 적절한 HLB 수치를 갖는 비-이온성 계면활성제)가 이용될 수 있음을 이해한다. 아울러, 항미생물 광역학적 요법과 같은 다른 유형의 치료가 고려되며, 이 경우 상피를 통한 광증감제의 증진된 또는 제어된 전달이 유리할 수 있다. 진균과 같은 일부 미생물은 휴면 단계를 갖지만, 다른 미생물, 예컨대 아칸트아메바(Acanthamoeba)는 낭성 세포막 배리어를 생성할 수 있다. 유리하게는, 투과성을 증진시키는 첨가제는 미생물/병원체에 의한 광증감제의 침투 및 흡수를 증가시킬 수 있고, 광증감제의 항미생물 효과를 증진시킬 수 있다. 예를 들면, 비-이온성 투과성 증진제를 이용하는 광증감제 제제는 낭증, 궤양 등의 침투, 및 미생물/병원체의 치료에 특히 효과적일 수 있다. 항미생물 광역학적 요법의 다른 측면은 2016년 4월 25일에 출원된 미국 특허 출원 제15/137,748호 (발명의 명칭: "Systems and Methods for Photoactivating a Photosensitizer Applied to an Eye")에 기재되어 있으며, 이 출원의 내용은 전문이 본원에 참조로 포함된다.

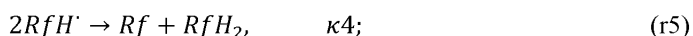
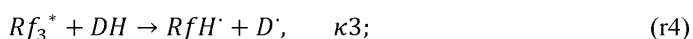
[0141] 리보플라빈이 방사 에너지, 특히 광을 흡수할 때, 광활성화가 진행된다. 리보플라빈의 광활성화에 대한 2가지 광화학적 운동학적 경로, 즉, 제I형 및 제II형이 있다. 제I형 및 제II형 메카니즘 둘 모두에 포함된 반응의 일부는 다음과 같다:

[0142] **공통 반응:**



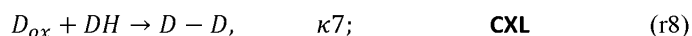
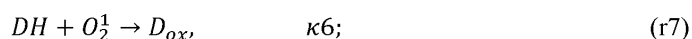
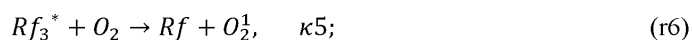
[0143]

[0144] **제I형 반응:**



[0145]

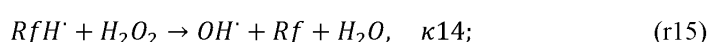
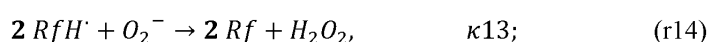
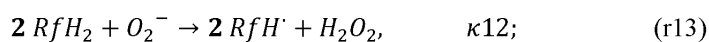
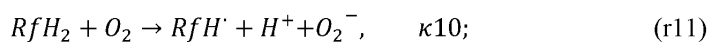
[0146] **제II형 반응:**



[0147]

- [0148] 본원에 기재된 반응에서, Rf는 바닥 상태의 리보플라빈을 나타낸다. Rf_1^* 은 여기 일중항 상태의 리보플라빈을 나타낸다. Rf_3^* 는 삼중항 여기 상태의 리보플라빈을 나타낸다. $Rf^{\cdot-}$ 는 리보플라빈의 환원된 라디칼 음이온 형태이다. $RfH^{\cdot}$ 는 리보플라빈의 라디칼 형태이다. RfH_2 는 리보플라빈의 환원된 형태이다. DH는 기질이다. $DH^{\cdot+}$ 는 중간체 라디칼 양이온이다. $D^{\cdot}$ 는 라디칼이다. D_{ox} 는 기질의 산화된 형태이다.
- [0149] 리보플라빈은 반응 (r1) 내지 (r3)에 나타낸 바와 같이, 그의 삼중항 여기 상태 Rf_3^* 로 여기된다. 삼중항 여기 상태 Rf_3^* 로부터, 리보플라빈은 일반적으로 제I형 또는 제II형 메카니즘에 따라 추가로 반응한다. 제I형 메카니즘에서, 기질이 수소 원자 또는 전자 전달에 의해 여기 상태 리보플라빈과 반응하여 각각 라디칼 또는 라디칼 이온을 발생시킨다. 제II형 메카니즘에서는, 여기 상태 리보플라빈이 산소와 반응하여 일중항 분자 산소를 형성한다. 이어서, 일중항 분자 산소는 조직에 대해 작용하여 추가의 교차 결합을 생성한다.
- [0150] 각막에서의 산소 농도는 UVA 방사조도 및 온도에 의해 조정되고, UVA 노출이 시작되면 급속히 감소한다. 특정 듀티 주기, 주파수 및 방사조도의 펄스형 광을 활용하여, 제I형 및 제II형 광화학적 운동학적 메카니즘 둘 다를로부터의 입력값이 보다 높은 수준의 광화학적 효율을 달성하는데 이용될 수 있다. 게다가, 펄스형 광을 활용하면 리보플라빈을 포함하는 반응의 속도 조절이 가능해진다. 반응 속도는 방사조도, 선량, 온/오프 듀티 주기, 리보플라빈 농도, 침액 시간 등과 같은 파라미터 중 하나를 조절함으로써, 필요에 따라 증가 또는 감소될 수 있다. 또한, 반응 및 교차 결합 속도에 영향을 미치는 추가 성분이 각막에 첨가될 수 있다.
- [0151] UVA 방사가 산소 공핍 직후에 중단되면, 산소 농도는 증가 (보충)하기 시작한다. 과량의 산소는 각막 교차 결합 과정에 유해할 수 있는데, 그 이유는 산소가 라디칼 종과 상호작용하여 왜-종결 퍼옥시드 분자를 형성함으로써 자유 라디칼 광증합 반응을 억제할 수 있기 때문이다. 펄스 수, 방사조도, 선량, 및 다른 파라미터는 보다 최적의 산소 재생 속도를 달성하도록 조절될 수 있다. 산소 재생 속도를 계산 및 조절하는 것은 목적하는 양의 각막 경직을 달성하도록 반응 파라미터를 조절하는 또 다른 예이다.
- [0152] 산소 함량은 산소 확산이 반응 속도론을 맞출 수 있는 매우 얇은 각막 층을 제외하고는, 다양한 화학 반응에 의해 각막 전체에 걸쳐 공핍될 수 있다. 이와 같은 확산-제어 구역은 산소를 흡수하는 기질의 반응 능력이 감소함에 따라 각막 내 심부로 점진적으로 옮겨갈 것이다.
- [0153] 리보플라빈은 방사조도가 증가함에 따라 가역적으로 또는 비가역적으로 환원 (불활성화)되고/거나 보다 높은 수준으로 광분해된다. 광자 최적화는 환원된 리보플라빈이 제I형 반응에서 바닥 상태 리보플라빈으로 복귀하도록 함으로써 달성될 수 있다. 제I형 반응에서 환원된 리보플라빈이 바닥 상태로 복귀하는 속도는 여러 인자에 의해 결정된다. 이들 인자는 펄스형 광 처리의 온/오프 듀티 주기, 펄스 수 주파수, 방사조도 및 선량을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 또한, 리보플라빈 농도, 침액 시간, 및 산화제를 포함한 다른 작용제의 첨가가 산소 흡수 속도에 영향을 미친다. 듀티 주기, 펄스 수 주파수, 방사조도 및 선량을 포함한, 상기 및 다른 파라미터는 보다 최적의 광자 효율을 달성하고 리보플라빈 광증감을 위한 제I형 및 제II형 광화학적 운동학적 메카니즘 둘 다를 효율적으로 사용하도록 선택될 수 있다. 게다가, 이들 파라미터는 보다 최적의 화학적 증폭 효과를 달성하도록 하는 방식으로 선택될 수 있다.
- [0154] 그러나, 본 발명자들은 상기 광화학적 운동학적 반응 (r1)-(r8) 이외에도, 리보플라빈의 광활성화 동안에 또한 발생하는 하기 광화학적 운동학적 반응 (r9)-(r26)을 확인하였다:

[0155] 부가적:



[0156]

[0157] 응집:



[0158]

[0159] 퍼옥시드:



[0160]

[0161] 도 2a는 상기 반응 (r1) 내지 (r26)에서 제공된 광화학적 운동학적 반응에 대한 반응식을 도해한다. 반응식에는 UVA 광활성화 광 하의 리보플라빈 (Rf)의 광화학적 변환 및 그의 다양한 공여자 (DH)와의 전자 전달을 통한 상호작용이 요약되어 있다. 나타낸 바와 같이, 교차 결합 활성화는 (A) 반응 (r6) 내지 (r8)에서 일중항 산소의 존재를 통해 (제II형 메카니즘); (B) 반응 (r4) 및 (r17)에서 산소를 사용하지 않으면서 (제I형 메카니즘); 또한 (C) 반응 (r13) 내지 (r17)에서 퍼옥시드 (H₂O₂), 슈퍼옥시드 (O₂⁻), 및 히드록실 라디칼 (·OH)의 존재를 통해 발생한다.

[0162]

도 2a에 나타낸 바와 같이, 본 발명자들은 또한 교차 결합 활성화가 퍼옥시드, 슈퍼옥시드, 및 히드록실 라디칼을 포함하는 반응으로부터 보다 높은 수준으로 발생한다고 판단하였다. 교차 결합 활성화는 일중항 산소를 포함하는 반응 및 비-산소 반응으로부터는 보다 낮은 수준으로 발생한다. 반응 (r1)-(r26)에 기반한 일부 모델이 각 반

응에 의해 발생하는 교차 결합 활성 수준을 설명할 수 있다. 예를 들면, 일중항 산소가 교차 결합 활성의 발생에서 미미한 역할을 하는 경우, 모델은 일중항 산소로부터 초래되는 교차 결합 활성을 상수로서 처리함으로써 단순화될 수 있다.

[0163] 모든 반응은 반응 (r1)-(r3)에서 제공된 바와 같이 Rf_3^* 로부터 시작된다. Rf_3^* 의 켄칭은 반응 (r10)에서 바닥 상태 Rf 와의 화학 반응을 통해, 또한 반응 (r9)에서 물과의 상호작용에 의한 불활성화를 통해 발생한다.

[0164] 상기 기재된 바와 같이, 과량의 산소는 각막 교차 결합 과정에 유해할 수 있다. 도 2a에 나타난 바와 같이, 시스템이 광자-한정 및 산소-풍부가 될 때, 교차 결합은 슈퍼옥사이드, 퍼옥사이드, 및 히드록실 라디칼을 포함하는 추가 반응으로부터 파괴될 수 있다. 실제로, 일부 경우에, 과량의 산소는 교차 결합의 발생에 대비하여 교차 결합의 순(net) 파괴를 초래할 수 있다.

[0165] 상기 기재된 바와 같이, 온갖 다양한 인자가 교차 결합 반응 속도, 및 교차 결합으로 인해 달성되는 생물역학적 경직의 양에 영향을 미친다. 여러 이러한 인자들은 밀접한 연관이 있으므로, 어느 한 인자의 변화가 또 다른 인자에 대하여 예상치 못한 영향을 미칠 수 있다. 그러나, 교차 결합 치료에 있어서 상이한 인자들 간의 관계를 이해하기 위한 보다 포괄적인 모델이 상기 확인된 광화학적 운동학적 반응 (r1)-(r26)에 의해 제공된다. 따라서, 시스템 및 방법은 산소 동력학 및 교차 결합 활성의 통일된 설명을 제공하는, 상기 광화학적 운동학적 교차 결합 모델에 따라 교차 결합 치료를 위한 다양한 파라미터를 조절할 수 있다. 모델은 치료 파라미터의 상이한 조합에 기반한 예상 결과를 평가하고 목적하는 결과를 제공하는 치료 파라미터의 조합을 확인하는데 이용될 수 있다. 예를 들어, 파라미터는 도포되는 교차 결합제의 농도(들) 및/또는 침액 시간; 광활성화 광의 선량(들), 파장(들), 방사조도(들), 기간(들), 및/또는 온/오프 듀티 주기(들); 조직에서의 산소화 조건; 및/또는 추가 작용제 및 용액의 존재를 포함할 수 있으나 이에 제한되지는 않는다.

[0166] 반응 (r1)-(r19)에 기반한 모델은 교차 결합 활성을 평가하는 적어도 6개의 상이한 방법에 의해 입증되었다:

- [0167] · 신울측정법 실험
- [0168] · 산소 공핍 실험
- [0169] · 비-선형 광학 현미경 형광 실험
- [0170] · 파파인 소화법 실험에 기반한 형광 데이터
- [0171] · 브릴루앙 현미경 실험
- [0172] · 각막 기질 경계선 상관관계 실험

[0173] 신울측정법 실험에 있어서, 각막을 20분 동안 리보플라빈으로 침액시키고, 7.5분 (선량 1.35 J/cm^2), 15분 (선량 2.70 J/cm^2), 30분 (선량 5.4 J/cm^2), 45분 (선량 8.10 J/cm^2), 120분 (선량 21.6 J/cm^2) 및 150분 (선량 27.0 J/cm^2) 동안 3 mW/cm^2 의 방사조도로 주위 공기에서 UVA 광활성화 광에 노출시켰다. 신울측정법 측정치는 각막의 $200 \mu\text{m}$ 절편에 대해 취하였다. 도 31은 각각의 교차 결합 치료에 대한 모델에 의해 계산된 교차 결합 프로파일의 그래프 (각막 깊이에 따른 교차 결합 농도)를 도해한다. 도 32는 신울측정치 및 모델에 의해 계산된 값 ($200 \mu\text{m}$ 에 대한 곡선 하 면적) 간의 상관관계를 도해한다. 일반적으로, 모델에 의해 계산된 값 및 신울측정법 실험에서 결정된 생물역학 간에 우수한 상관관계가 있다. 또한 도 31로부터, 교차 결합은 특정 처리 파라미터 (예를 들어, 더 긴 조사 시간)가 이용될 때 포화될 수 있음을 알 수 있다.

[0174] 산소 공핍 실험에 있어서, O_2 농도는 리보플라빈으로 처리된 각막에 대해 대략 $100 \mu\text{m}$ 내지 대략 $200 \mu\text{m}$ 의 깊이에서 측정 및 계산되었다. 도 3a는 3 mW/cm^2 의 방사조도로 연속파 UVA 광활성화 광에 노출된 각막에 대한 실험 데이터 및 모델에 기반한 이론적 값 간의 상관관계를 나타내는 데이터의 그래프를 도해한다. 도 3b-c는 3 mW/cm^2 의 방사조도로 장기 펄스 및 단기 펄스에 각각 노출된 각막에 대한 모델 값 및 실험 데이터 간의 상관관계를 나타내는 데이터의 그래프를 도해한다.

[0175] 비-선형 광학 현미경 형광 실험에 있어서, 리보플라빈으로 처리되고 3 mW/cm^2 의 방사조도로 UVA 광활성화 광에 노출된 각막에 대해 각막 깊이에 기반한 교차 결합 프로파일을 결정하였다. 도 4는 15분 및 30분 동안 노출된 각막에 대한 모델 및 실험 데이터 간의 상관관계를 나타내는 데이터의 그래프를 도해한다. 제삼자 실험 데이터

는 문헌 [Dongyul Chai et al. "Quantitative Assessment of UVA-riboflavin Corneal Cross-Linking Using Nonlinear Optical Microscopy." *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, June 2011, Vol. 52, No. 7, pp. 4231-4238]에 공개되어 있으며, 이 문헌의 내용은 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0176] 파파인 소화법 실험에 기반한 형광 데이터에 있어서, 교차 결합 농도는 형광 광 강도에 기반하여 평가하였다. 도 5a는 3분 및 30분 동안 3 mW/cm^2 및 30 mW/cm^2 의 방사조도로 5.4 J/cm^2 선량의 UVA 광활성화 광 및 리보플라빈 농도 (0.1%, 0.25% 및 0.5%)의 조합에 노출된 각막 절편 (0 내지 대략 $100 \mu\text{m}$ 깊이로부터 취함)에 대한 모델 값 및 실험 데이터의 상관관계를 나타내는 데이터의 그래프를 도해한다. 유사하게, 도 5b는 3분 및 30분 동안 3 mW/cm^2 및 30 mW/cm^2 의 방사조도로 5.4 J/cm^2 선량의 UVA 광활성화 광 및 리보플라빈 농도 (0.1%, 0.25% 및 0.5%)의 조합에 노출된 각막 절편 (대략 $100 \mu\text{m}$ 내지 대략 $200 \mu\text{m}$ 깊이로부터 취함)에 대한 모델 값 및 실험 데이터의 상관관계를 나타내는 데이터의 그래프를 도해한다. 도 5c는 소정 농도의 리보플라빈으로 처리되고 3 mW/cm^2 , 10 mW/cm^2 , 15 mW/cm^2 , 30 mW/cm^2 , 45 mW/cm^2 , 60 mW/cm^2 및 100 mW/cm^2 의 방사조도로 5.4 J/cm^2 및 7.2 J/cm^2 선량의 연속과 UVA 광활성화 광 및 풀(full) 산소 농도에 노출된 각막 절편에 대한 모델 값 및 실험 데이터의 상관관계를 나타내는 데이터의 그래프를 도해한다.

[0177] 도 5d는 0.1% 리보플라빈의 농도로 처리되고 3 mW/cm^2 , 10 mW/cm^2 , 15 mW/cm^2 , 30 mW/cm^2 , 45 mW/cm^2 , 60 mW/cm^2 및 100 mW/cm^2 의 방사조도로 5.4 J/cm^2 선량의 연속과 UVA 광활성화 광 및 공기 또는 풀 산소 농도에 노출된 각막 절편 (대략 $0 \mu\text{m}$ 내지 대략 $200 \mu\text{m}$ 깊이로부터 취함)에 대한 모델 값 및 실험 데이터의 상관관계를 나타내는 데이터의 그래프를 도해한다. 100% 산소 하 방사조도 3 mW/cm^2 에서의 값은 산소에 의한 Rf_3^* 의 켄칭 효과를 나타낸다.

[0178] 브릴루앙 현미경 실험은 문헌 [Scarcelli G et al., *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* (2013), 54: 1418-1425]에 기재되어 있으며, 이 문헌의 내용은 전문이 본원에 참조로 포함된다. 실험에서는 다양한 교차 결합 치료 후의 각막 기계적 특성을 정량화하는 브릴루앙 모듈러스 값이 측정되었다. 도 28a는 실험적으로 다양한 기간 동안 리보플라빈 중에 침액되고 다양한 기간 동안 UV 광으로 조사된 각막의 전방, 중앙 및 후방 구역에서 측정된 브릴루앙 모듈러스 값을 나타낸다. 도 28b는 다양한 치료에 대해 실험적으로 측정된 값 및 모델로 계산된 값 간의 상관관계를 도해한다. 도 28b에서의 치료 A는 30분의 침액 시간 및 5분의 조사에 상응한다. 치료 B는 30분의 침액 시간 및 15분의 조사에 상응한다. 치료 C는 30분의 침액 시간 및 30분의 조사에 상응한다. 치료 D는 30분의 침액 시간 및 5분의 조사에 상응한다. 치료 E는 5분의 침액 시간 및 30분의 조사에 상응한다. 치료 E는 30분의 침액 시간 및 30분의 조사에 상응한다.

[0179] 각막 기질 경계 상관관계 실험에 있어서, 처리된 각막에 대해 각막 기질 경계선을 평가하였다. 이들 실험을 위한 방법은 슬릿-램프(slit-lamp) 검사를 포함한다 (슬릿 투영 및 샤임플러그(Scheimpflug) 카메라). 문헌 [Theo Seiler and Farhad Hafezi, "Corneal Cross-Linking-Induced Stromal Demarcation Line," *Cornea*, Oct. 2006; 25:1057-59]을 참조하기 바라며, 이 문헌의 내용은 전문이 본원에 참조로 포함된다. 또 다른 방법은 각막 광학 간섭성 단층촬영법 (OCT)을 포함한다. 문헌 [Luigi Fontana, Antonello Moramarco, "Esperienze personali con CXL accelerato," UOC Oculistica ASMN-IRCCS Reggio Emilia, Roma, 20 settembre 2014]을 참조하기 바라며, 이 문헌의 내용은 전문이 본원에 참조로 포함된다. 추가의 방법은 공초점(confocal) 현미경을 포함한다. 문헌 [C. Mazzotta et al., "Treatment of Progressive keratoconus by of Corneal Collagen In Vivo Confocal Microscopy in Humans," *Cornea*, vol. 26, no. 4, May 2007]을 참조하기 바라며, 이 문헌의 내용은 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0180] 각막 기질 치유는 새로운 콜라겐의 침착을 포함하고, 이는 헤이즈(haze) 및 산란을 생성한다. 슬릿-램프 검사 및 OCT는 이와 같은 반사율향진(hyper-reflectivity) 및 아마도 공간 순서 인자의 유의한 변화 (복굴절의 변화, 즉, 지수 변형)를 검출할 수 있다. 각막 기질 경계선은 치유 반응이 발생하는 역치를 가리킨다. 이와 같은 결론은 공초점 현미경에 의해 확증된다. 경계선은 또한 교차 결합된 전방 각막 기질 및 미처리된 후방 각막 기질 간의 전이 구역으로서 보여질 수 있다.

[0181] 상기 기재된 6가지 평가는 상기 확인된 광화학적 운동학적 반응에 기반한 모델에 의해 발생된 계산치 및 실험 데이터 간의 큰 상관관계를 나타낸다. 모델은 파라미터의 다양한 조합에 따라 적용되는 리보플라빈 교차 결합 치료의 결과를 예측하는데 있어서 극히 효과적이고 정확하다. 따라서, 이러한 모델을 사용하면, 시스템 및 방

법은 각막 전반에 걸쳐 교차 결합 활성의 목적하는 프로파일을 보다 효율적이면서 예측가능하게 달성할 수 있다. 모델은 시스템 및 방법이 교차 결합 치료를 위한 파라미터의 보다 최적의 조합을 확인하는 것을 가능케 한다. 따라서, 모델은 상기 기재된 바와 같은 교차 결합 치료 시스템의 상이한 측면에 대한 셋업(set up)을 결정하는데 사용될 수 있다.

[0182] 도 2b에 나타난 바와 같이, 반응 시스템의 측면은 상이한 파라미터에 의해 영향을 받을 수 있다. 예를 들면, 광활성화 광이 시스템으로 전달되는 방사조도는 후속 반응을 위한 Rf_3^* 을 발생시키는 시스템에서 이용가능한 광자에 영향을 미친다. 부가적으로, 더 많은 산소가 시스템 내로 전달되면 산소-기반 반응이 유도된다. 한편, 광활성화 광의 펄싱은, 산소 확산을 위한 추가의 시간을 허용함으로써, 환원된 리보플라빈이 바닥 상태 리보플라빈으로 복귀하는 능력에 영향을 미친다. 물론, 다른 파라미터에 변화를 주어 반응 시스템을 제어할 수 있다.

[0183] 광화학적 운동학적 반응 (r1)-(r26)에 기반한 모델은 도 7a-c에 나타난 바와 같이 상이한 프로토콜을 사용하는 치료에 대한 교차 결합 프로파일을 발생시킬 수 있다. 특히, 각각의 프로토콜은 광활성화 UVA 광의 선량, UVA 광활성화 광에 대한 방사조도, 처리 시간, 및 각막 표면에 전달되는 산소의 농도를 결정한다. 각막은 0.1% 농도의 리보플라빈을 포함한 제제로 처리되었다. 도 7a는 상이한 방사조도 및 상이한 처리 시간에 따라 정상 (주위) 산소 하에 7.2 J/cm^2 선량의 UVA 광을 전달하는 치료에 대한 교차 결합 프로파일을 도해한다. 도 7b는 정상 또는 100% 산소 농도 하에 상이한 방사조도의 연속형 또는 조정형 (펄스형) UVA 광 및 상이한 처리 시간을 이용하는 치료에 대한 교차 결합 프로파일을 도해한다. 도 7c는 각막 표면에서 상이한 산소 조건 (정상, 100% 또는 0.01x)으로 30분 동안 방사조도 3 mW의 UVA 광을 전달하는 치료에 대한 교차 결합 프로파일을 도해한다.

[0184] 도 7a-c에서의 교차 결합 프로파일은 각막 깊이에 따른 교차 결합 농도를 제공한다. 일반적으로, 각각의 교차 결합 프로파일로 나타내는 바와 같이 각막 내 교차 결합의 3차원 분포는 상이한 치료 파라미터의 조합에 좌우된다. 상이한 세트의 치료 파라미터를 이용하는 프로토콜은 모델 내로 입력값으로서 제공될 수 있고, 모델은 각막에서 그에 따른 교차 결합의 3차원 분포를 출력할 수 있다. 따라서, 모델은 각막에서 목적하는 분포의 교차 결합을 달성하기 위해 치료 파라미터를 선택하도록 사용될 수 있다.

[0185] 도 6a는 도 6b에 기재된 프로토콜에 있어서 각막 기질 경계선의 깊이에 대한 모델 값 및 실험 데이터의 상관관계를 나타내는 데이터의 그래프를 도해한다.

[0186] 상기 기재된 바와 같이, 각막 기질 경계선은 교차 결합된 전방 각막 기질 및 미처리된 후방 각막 기질 사이의 전이 구역을 가리킨다. 또한, 도 8a-c에 나타난 바와 같이, 경계선이 대략 5 mol/m^3 의 교차 결합 농도로 보여질 수 있는 깊이를 결정하기 위해, 모델에 의해 발생된 교차 결합 프로파일을 평가할 수 있다. 여기서, 경계선은 각막 조직에 대한 반응성 산소 종의 영향 뿐만 아니라 교차 결합의 분포에 대한 반응으로 치유 반응이 발생하는 역치로서 이해될 수 있다. 각막은 0.1% 농도의 리보플라빈을 포함한 제제로 처리되었다. 도 8a는 30분의 처리 시간 및 3 mW/cm^2 의 방사조도에 따라 정상 산소 하에 5.4 J/cm^2 선량의 광활성화 UVA 광을 전달하는 치료에 대한 교차 결합 프로파일을 도해한다. 도 8a로부터, 대략 5 mol/m^3 의 교차 결합 농도 (경계선)는 초래된 교차 결합 프로파일에서 대략 $290 \mu\text{m}$ 의 깊이에서 발생함을 알 수 있다. 도 8b는 정상 산소 하에 상이한 방사조도 및 상이한 처리 시간에 따라 상이한 선량의 광활성화 UVA 광을 전달하는 치료에 대한 교차 결합 프로파일을 도해한다. 도 8c는 정상 또는 100% 산소 농도 하에 상이한 방사조도 및 상이한 처리 시간에 따라 상이한 선량의 광활성화 UVA 광을 전달하는 치료에 대한 교차 결합 프로파일을 도해한다.

[0187] 도 8b-c로부터, 경계선에 대한 깊이는 상이한 세트의 치료 파라미터에 의해 발생되는 상이한 교차 결합 프로파일에 따라 다양함을 알 수 있다. 상이한 교차 결합 프로파일에 의해 나타나는 경계선의 깊이는 치료 파라미터를 선택하는데 이용될 수 있다. 예를 들면, 치료 파라미터는 교차 결합이 내피에 바람직하지 않은 손상을 초래할 수 있는 깊이로 발생하지 않도록 선택될 수 있다. 이와 같은 분석은 치료 시스템이 상이한 각막 두께, 특히 얇은 각막을 수용하는 것을 가능케 한다.

[0188] 상응하게는, 도 9a-b는 UVA 광활성화 광의 선량에 따른 경계 깊이 (대략 5 mol/m^3 의 교차 결합 농도)의 그래프를 도해한다. 경계 깊이의 결정은 상이한 프로토콜을 사용하는 치료에 대한 모델에 의해 발생되는 교차 결합 프로파일에 기반한다. 각막은 0.1% 농도의 리보플라빈을 포함한 제제로 처리되었다. 도 9a는 정상 산소 하에 상이한 방사조도에 따라 연속형 또는 펄스형 UVA 광활성화 광을 전달하는 치료에 대한 그래프를 도해한다. 도 9b는 더 높은 농도의 산소 하에 상이한 방사조도에 따라 연속형 또는 펄스형 UVA 광활성화 광을 전달하는 치료

에 대한 그래프를 도해한다.

[0189] 도 10은 모델에 의해 발생하는 바와 같은 상이한 프로토콜을 이용하는 치료에 대한 교차 결합 프로파일을 도해한다. 도 10은 또한, 10 mol/m^3 의 교차 결합 농도의 생물역학적 경직 역치에 상응하는 경계선을 나타낸다. 경계선은 프로토콜의 상이한 치료 파라미터에 기반한 다양한 깊이 (생물역학적 경직 깊이)로 교차 결합 프로파일과 교차한다. 도 11은 도 10에 대해 이용된 프로토콜에 따라 실험적으로 처리된 각막에 대한 기준치에 대비한, 3, 6 및 12개월에서의 최대 각막곡률측정치 (K_{max}) (디옵터)를 도해한다.

[0190] 도 12a-b는 모델에 의해 도 10에 대해 발생된 교차 결합 프로파일 및 도 11의 실험 데이터 간의 상관관계를 도해한다. 도 10에서 각각의 프로토콜에 대해 결정된 생물역학적 경직 깊이에 대해, 도 12a는 각 프로토콜에 상응하는 6 및 12개월 동안의 K_{max} 의 실험적 변화를 플롯팅한다. 도 12a는 또한, 6 및 12개월 동안 각각 플롯팅된 데이터의 2차 핏(quadratic fit)을 나타낸다. 2차 핏은 얇은 셀 이론에 따라 디스크 상에 놓여지는 힘 (z-축을 따라)으로부터 초래되는 전단력 (x-y 평면에서)의 2차 성질과 일치한다.

[0191] 한편, 도 10에서 각 프로토콜에 있어서 교차 결합 프로파일에 대한 경계선 위쪽 영역에 대해, 도 12b는 각 프로토콜에 상응하는 6 및 12개월 동안의 K_{max} 의 실험적 변화를 플롯팅한다. 도 12b는 또한, 6 및 12개월 동안 각각 플롯팅된 데이터의 선형 핏(linear fit)을 나타낸다.

[0192] 도 12a에서의 두 곡선에 대한 2차 핏은 실질적으로 유사하다. 유사하게는, 도 12b에서의 두 곡선에 대한 선형 핏은 실질적으로 유사하다. 도 12a-b에 나타난 상관관계로부터, 주어진 세트의 치료 파라미터에 대해 경시적으로 예측가능한 생물역학/치유 반응이 있음이 밝혀졌다. 실험 데이터 점들의 입증, 모델 뿐만 아니라 얇은 셀 분석에 비추어, 근시 교정에 상응하는 디스크의 반경 및 깊이에 따른 굴절 변화를 예측가능하게 결정할 수 있다. 일반적으로, 교차 결합의 분포는 굴절 변화에 영향을 미친다. 교차 결합의 분포를 정확하게 결정함으로써, 모델을 이용하여 상기와 같은 굴절 변화를 결정할 수 있다.

[0193] 도 29는 대략 $360 \mu\text{m}$ 의 경계 깊이를 갖는 각막 깊이에 따른 교차 결합 농도를 또한 도해한다. 도 29는 또한 2차 미분 및 역치 알고리즘을 사용하는 경계 분석 라인을 나타낸다. 2차 미분은 또한 나타낸 바와 같이 계산될 수 있다. 예시된 경계 깊이에서, 2차 미분은 180 mM/mm^2 의 역치 미분을 갖는다.

[0194] 도 35-36은 모델에 의해 발생하는 바와 같은, 상이한 프로토콜을 이용하는 치료에 대한 교차 결합 프로파일의 그래프를 도해한다. 그래프는 또한, 경계선에 있어서 대략 4.4 mM/m^3 의 잠재적 역치 교차 결합 농도를 나타낸다. 나타낸 바와 같이, 경계 깊이는 잠재적 역치 교차 결합 농도 및 교차 결합 프로파일 곡선의 교차로부터 대략 $125 \mu\text{m}$ 의 이동에서 취해진다. 도 35에서, 예를 들면, 경계선은 대략 $350 \mu\text{m}$ 의 깊이에서 발생한다.

[0195] 총 14개의 상이한 연구에 의해 기록된 결과에 대해 광화학적 운동학적 반응 모델을 추가로 평가하였다. 도 30은 이들 14개의 별도의 연구에서 기재된 프로토콜에 대해 각막 기질 경계선의 깊이에 대한 모델 값 및 실험 데이터의 상관관계를 나타내는 데이터의 그래프를 도해한다. 측정치는 상피 표면으로부터 취한다. 표준 편차는 대략 $20 \mu\text{m}$ 이다.

[0196] 표 1은 상이한 치료에 대한 경계선 깊이의 결정을 위한 데이터를 추가로 나타낸다.

표 2. 경계선 깊이					
CXL 치료 84개의 눈	통상의 CXL 44개의 눈 3 mW	C-광 ACXL 10개의 눈 30 mW	P-광 ACXL 10개의 눈 30 mW	TE CXL 10개의 눈 3 mW	TE ACXL 10개의 눈 45 mW
평균 분할선 깊이 (상피 표면으로 부터 측정)	$350 \pm 20 \mu\text{m}$	$200 \pm 20 \mu\text{m}$	$250 \pm 20 \mu\text{m}$	$190 \pm 20 \mu\text{m}$	$190 \pm 20 \mu\text{m}$

*평균 상피 두께: $50 \pm 10 \mu\text{m}$.
CXL, 통상의 교차 결합; C-광 ACXL, 연속형 광이 교차 결합 가속화; P-광 ACXL, 펄스형 광이 교차 결합 가속화; TE CXL, 상피관통 교차 결합; TE ACXL, 상피관통이 교차 결합 가속화.

[0197]

[0198] 기록된 표준 편차는 명목상 동등한 임상 프로토콜에 대한 경계선의 깊이에서의 가변성을 드러낸다. 이러한 가변성은 측정 오차, 임상 기술, 프로토콜, 리보플라빈 제제, 및/또는 이용 장비의 측면의 결과일 수 있다. 기록된 가변성의 분석은 광화학적 운동학적 반응 모델로 수행되었다. 도 37은 경계선 깊이가 리보플라빈 농도, 증점제의 사용, 조사 (UVA) 장치 보정, 조사 (UVA) 빔 프로파일, 및/또는 지리학적인 인자의 측면에 의해 영향을 받

을 수 있음을 도해한다.

- [0199] 요컨대, 경계선은 광화학적 운동학적 반응 모델에 의해 정확하게 예측된다. 이와 같이, 광화학적 운동학적 반응 모델은 각막, 특히 보다 얇은 각막을 더 안전하게 치료하는데 사용될 수 있다. 그러나, 임상 프로토콜의 변화는 경계선 깊이 및 잠재적으로 임상 결과의 가변성을 초래할 수 있으며, 이는 교차 결합 치료 방법에서의 정밀도의 중요성을 암시한다. 프로토콜, 기술 및 장비에서의 일관성은 임상 결과의 예측가능성을 증진시킬 수 있다.
- [0200] 실시양태에 따라, 도 13은 치료 파라미터 및/또는 다른 관련 정보로부터 초래되는 교차 결합의 양을 결정하기 위해 상기 확인된 광화학적 운동학적 반응 (r1)-(r26)에 기반한 모델을 이용하는 예시 시스템(100)을 도해한다. 제어기(120)는 프로세서(122) 및 컴퓨터-판독가능 저장 매체(124)를 포함한다. 저장 매체(124)는 광원(110)으로부터의 광활성화 광이 교차 결합제로 처리된 각막의 선택된 부위에 전달될 때의 교차 결합의 양을 결정하기 위한 프로그램 명령을 저장한다. 특히, 반응 (r1)-(r26)에 기반한 광화학적 운동학적 모델(126)은 퍼옥시드, 슈퍼옥시드, 히드록실 라디칼, 및/또는 일중항 산소의 조합을 비롯한 반응성 산소 종 (ROS)을 포함하는 반응으로부터 초래되는 교차 결합을 결정하기 위한 제1 세트의 프로그램 명령 A, 및 산소를 포함하지 않는 반응으로부터의 교차 결합을 결정하기 위한 제2 세트의 프로그램 명령 B를 포함할 수 있다. 제어기(120)는 치료 파라미터 및/또는 다른 관련 정보와 관련된 입력값을 수용한다. 이어서, 제어기(120)는 프로그램 명령 A 및 B를 실행시켜, 입력값에 기반하여 각막의 선택된 부위에 대한 3차원 교차 결합 분포(들)와 관련된 정보를 출력할 수 있다. 그런 다음, 3차원 교차 결합 분포(들)는 각막의 선택된 부위에서 목적하는 치료를 달성하기 위해 광원(110), 광학 부재(112), 교차 결합제(130), 도포기(132), 산소 공급원(140), 및/또는 산소 전달 장치(142)의 측면을 어떻게 제어할지를 결정하는데 이용될 수 있다 (물론, 도 13에 나타난 시스템(100)과 이러한 과정은 동일한 각막의 1개 초과 선택된 부위를 치료하는데 사용될 수 있음).
- [0201] 한 구현예에 따라, 3차원 교차 결합 분포(들)를 평가하여 각막의 선택된 부위에서의 교차 결합 및 반응성-산소 종의 효과로 인한 치유 반응에 상응하는 역치 깊이를 계산할 수 있다. 부가적으로 또는 대안적으로, 3차원 교차 결합 분포(들)를 평가하여 각막의 선택된 부위에서의 생물역학적 조직 반응에 상응하는 생물역학적 조직 경직 역치 깊이를 계산할 수 있다. 각막에서의 치유 반응 및/또는 생물역학적 조직 경직의 깊이에 대한 정보는 광원(110), 광학 부재(112), 교차 결합제(130), 도포기(132), 산소 공급원(140), 및/또는 산소 전달 장치(142)의 측면을 어떻게 제어할지를 결정하는데 이용될 수 있다. 특정 치유 반응 및/또는 생물역학적 조직 경직은 각막의 특정 깊이에서 요망될 수 있거나 또는 요망되지 않을 수 있다.
- [0202] 도 33에서, 광화학적 운동학적 모델은 광화학적 과정의 특정 측면이 목적하는 교차 결합 활성을 생성하도록 제어되거나 달리 영향받는 것을 가능케 한다. 예를 들면, 상이한 첨가제, 예컨대 철을 이용하여, 도 33에 나타난 바와 같은 광화학적 과정의 상이한 시점에서 메카니즘에 영향을 미칠 수 있다. 도 34는 교차 결합 활성에 대한 도 33에서의 다양한 첨가제의 효과를 나타낸다.
- [0203] 또 다른 실시양태에 따라, 도 38은 각막에서의 목적하는 생물역학적 변화, 예를 들어 굴절 교정을 달성하기 위한 치료 파라미터를 결정하기 위해 광화학적 운동학적 모델(126)을 이용하는 예시 시스템(100)을 도해한다. 도 13에서와 같이, 제어기(120)는 프로세서(122) 및 컴퓨터-판독가능 저장 매체(124)를 포함한다. 그러나, 도 14의 예에서, 저장 매체(124)는 목적하는 생물역학적 변화를 달성하기 위해 어떤 치료 파라미터가 이용될 수 있을지를 결정하기 위한 프로그램 명령(125)을 저장한다. 프로그램 명령(125)은, (i) 퍼옥시드, 슈퍼옥시드, 히드록실 라디칼, 및/또는 일중항 산소의 조합을 비롯한 반응성 산소 종 (ROS)을 포함하는 반응, 및 (ii) 산소를 포함하지 않는 반응으로부터 초래되는 교차 결합을 결정하기 위해 반응 (r1)-(r26)을 이용하는 광화학적 운동학적 모델(126)에 기반한다.
- [0204] 광화학적 운동학적 모델(126)을 사용하여, 치료 파라미터의 조합에 대해 처리된 각막 조직 전반에 걸쳐 초래되는 교차 결합의 3차원 분포를 결정할 수 있다. 상기 기재된 바와 같이, 교차 결합 치료에 대한 파라미터는 도포된 교차 결합제의 농도(들) 및/또는 침액 시간; 광활성화 광에 대한 선량(들), 파장(들), 방사조도(들), 기간(들), 온/오프 듀티 주기(들), 및/또는 기타 조명 파라미터; 조직에서의 산소화 조건; 및/또는 추가 작용제 및 용액의 존재를 포함할 수 있다. 광화학적 운동학적 모델(126)로부터 결정되는 교차 결합의 초래된 분포는 각막에서의 특정 생물역학적 변화와 상관관계를 가질 수 있다. 도 12a-b는 예를 들면 교차 결합의 분포 및 굴절 변화 간의 상관관계를 나타낸다.
- [0205] 도 38에 나타난 바와 같이, 제어기(120)는 각막의 초기 생물역학적 상태와 관련된 입력값(12), 및 각막에 대한, 예를 들어 굴절 교정에 대한 목적하는 생물역학적 변화를 가리키는 입력값(14)을 수용한다. 초기 생물역학적

상태는, 예를 들면, 상기 언급된 미국 특허 출원 공보 제2012/0215155호에 기재된 접근법에 따라 결정될 수 있다. 일부 경우에, 입력값(12)은 제어기(120)에 통신 커플링된 측정 시스템에 의해 제공될 수 있다. 초기 생물역학적 상태는 임의의 치료 전 또는 치료 동안의 각막의 상태를 반영할 수 있음을 이해한다.

[0206] 입력값(12), (14)은 각막지형도 (즉, 형상), 각막 강도 (즉, 경직), 및/또는 각막 두께에 대해 표현될 수 있다. 예를 들면, 굴절 교정에 대한 목적하는 생물역학적 변화는 디오프터 (진료의에 의해) 특정되는 교정, 예를 들어 "1.5 디오프터 교정"으로부터 결정될 수 있다.

[0207] 각막에서의 목적하는 생물역학적 변화는 광화학적 운동학적 모델(126)에 의해 결정되는 바와 같이 특정 분포의 교차 결합과 상관관계를 가질 수 있다. 이와 같이, 제어기(120)는 프로그램 명령(125)을 실행시켜, 입력값(12)에 의해 특정되는 초기 생물역학적 상태를 갖는 각막에서 입력값(14)에 의해 특정되는 목적하는 생물역학적 변화를 발생시킬 수 있는 특정 분포의 교차 결합(16)을 결정할 수 있다. 목적하는 생물역학적 변화에 대한 교차 결합 분포(16)를 결정한 후, 제어기(120)는 특정된 분포의 교차 결합을 달성하기 위한 치료 파라미터 세트를 지정할 수 있다.

[0208] 그러나, 상기 연구에 의해 확립되는 바와 같이, 교차 결합 분포(16)는 많은 경우에 1개 초과 세트의 치료 파라미터에 의해 달성될 수 있다. 예를 들면, 광화학적 운동학적 반응에 따라, 유사한 교차 결합 분포는 (i) 더 긴 시간 동안 더 낮은 선량의 광활성화 광, 또는 (ii) 더 짧은 시간 동안 더 높은 선량의 광활성화 광을 적용함으로써 달성될 수 있다. 따라서, 교차 결합 분포(16)를 달성하기 위한 1개 초과 세트의 치료 파라미터(18)가 확인될 수 있다.

[0209] 1개 초과 가능한 세트의 치료 파라미터(18)로, 진료의는 특정의 바람직한 파라미터, 예컨대 처리 시간 또는 광활성화 광의 선량에 있어서 치료를 최적화할 수 있다. 예를 들면, 진료의는 더 짧은 처리 시간을 달성하도록 치료 파라미터를 최적화할 수 있다. 이와 같은 선호도에 있어서, 제어기(120)는 더 짧은 조명 기간에 걸쳐 교차 결합 분포(16)를 산출하는 더 큰 선량의 광활성화 광을 제공하는 조명 파라미터의 세트를 지정한다. 역으로, 진료의는 더 작은 선량의 광활성화 광을 이용하도록 치료 파라미터를 최적화할 수 있다. 이와 같은 제 2 선호도에 있어서, 제어기(120)는 더 긴 조명 기간에 걸쳐 교차 결합 분포(16)를 산출하는 더 작은 선량의 광활성화 광을 제공하는 조명 파라미터의 세트를 지정한다.

[0210] 일반적으로, 교차 결합 분포(16)를 달성하기 위해, 제어기(120)는 상기 기재된 바와 같이 치료 파라미터 A, B, C, D, E 등의 세트에 대한 값들의 임의의 상이한 조합(18)을 확인할 수 있다. 진료의는 이들 치료 파라미터 중 하나 이상에 대한 선호도를 설정할 수 있다. 예를 들면, 진료의는 먼저 파라미터 A에 대한 바람직한 값 또는 바람직한 값들의 범위를 설정할 수 있다. 반응 시, 제어기(120)는 교차 결합 분포(16)를 달성하면서 파라미터 A에 대한 선호도를 충족시키는, 나머지 파라미터 B, C, D, E 등에 대한 값들의 조합을 특정화할 수 있다. 진료의는 최적화된 세트의 치료 파라미터(18a)에 도달하도록 추가의 선호도에 기반하여, 파라미터 B, C, D 및/또는 E 등의 값들에 대해 선택할 수 있다. 치료 파라미터를 최적화하는 과정은 치료 파라미터에 대한 값이 다양한 우선순위를 갖는 선호도를 충족시키도록 증분적으로 조정될 때 반복적일 수 있다.

[0211] 일부 실시양태에서, 진료의는 제어기(120)에 커플링된 사용자 인터페이스 (도시되지 않음)를 통해 일련의 선택 및 다른 입력값을 거쳐 최적화 과정을 관리할 수 있다. 일부 경우에, 입력값(12), (14)은 또한 그러한 사용자 인터페이스를 통해 제공될 수 있다.

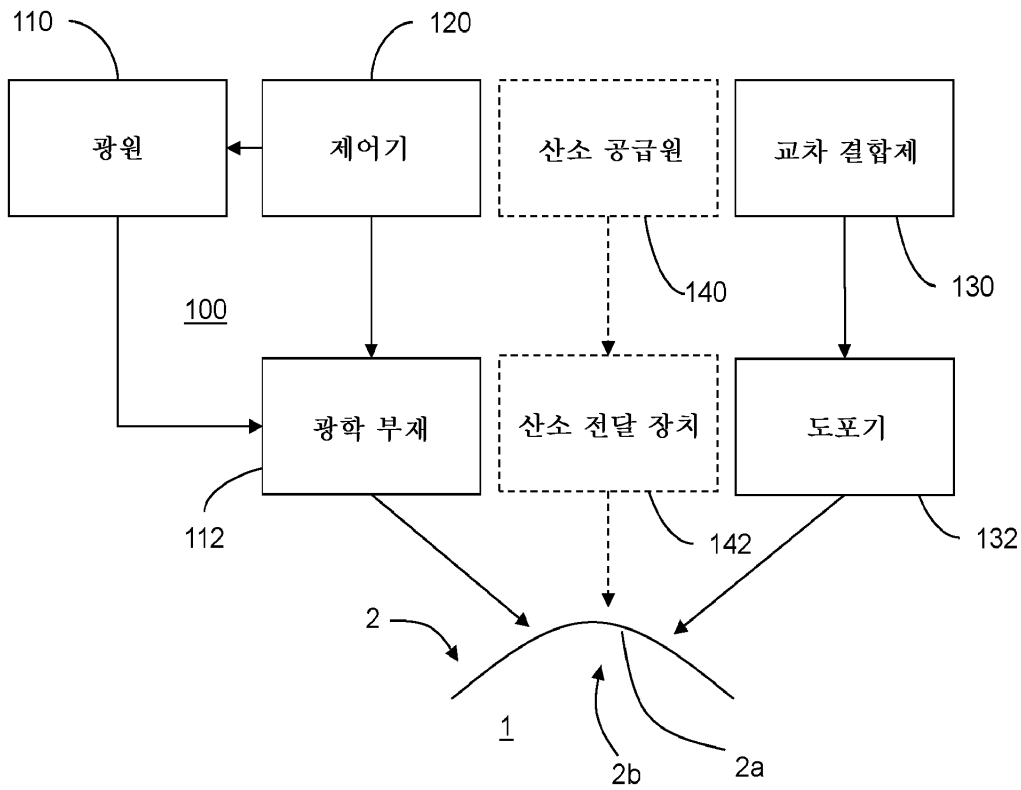
[0212] 이어서, 각막의 선택된 부위에서 목적하는 치료를 달성하기 위해, 최종 세트의 치료 파라미터(18a)를 이용하여 광원(110), 광학 부재(112), 교차 결합제(130), 도포기(132), 산소 공급원(140), 산소 전달 장치(142) 등의 측면을 어떻게 제어할지를 결정할 수 있다.

[0213] 상응하게는, 도 39는 목적하는 생물역학적 변화를 달성하기 위해 치료 파라미터를 결정하도록 광화학적 운동학적 반응 모델 (r1)-(r26)을 이용하기 위한 예시 방법(200)을 도해한다. 단계(202)에서, 각막의 초기 생물역학적 상태와 관련된 정보가 수용된다. 단계(204)에서, 각막에 대한, 예를 들어 굴절 교정에 대한 목적하는 생물역학적 변화와 관련된 정보가 수용된다. 단계(206)에서, 초기 생물역학적 상태를 갖는 각막에서 목적하는 생물역학적 변화를 달성하는 교차 결합 분포가 결정된다. 단계(208)에서, 교차 결합 분포를 달성하는 하나 이상의 세트의 치료 파라미터가 결정된다. 단계(208)와 관련해서, 치료 파라미터에 대한 하나 이상의 선호도가 단계(210)에서 수용될 수 있고, 치료 파라미터는 교차 결합 분포를 달성하기 위해 치료 시스템 (예를 들어, 예시 시스템(100))에서 구현될 수 있는 최종 세트의 치료 파라미터를 결정하도록 하나 이상의 선호도에 기반하여 단계(212)에서 최적화될 수 있다.

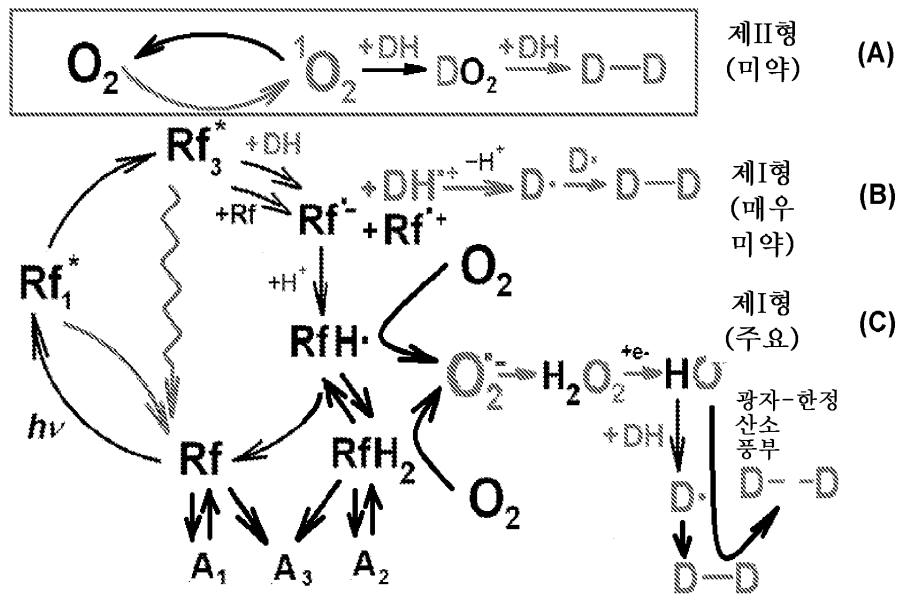
- [0214] 상기 기재된 바와 같이, 본 개시내용의 일부 측면에 따라, 상기 기재 및 예시된 절차의 단계 중 일부 또는 전부는 자동화될 수 있거나 또는 제어기 (예를 들어, 제어기(120))의 제어 하에 가이드될 수 있다. 일반적으로, 제어기는 하드웨어 및 소프트웨어 요소의 조합으로서 구현될 수 있다. 하드웨어 측면은 마이크로프로세서, 논리 회로, 커뮤니케이션/네트워킹 포트(port), 디지털 필터, 메모리, 또는 논리 회로를 포함한 작동 커플링된 하드웨어 구성요소의 조합을 포함할 수 있다. 제어기는 컴퓨터 판독가능 매체 상에 저장될 수 있는 컴퓨터-실행가능 코드에 의해 특정된 작업을 수행하도록 적합화될 수 있다.
- [0215] 상기 기재된 바와 같이, 제어기는 소프트웨어 또는 저장 명령을 실행하는 프로그램가능 프로세싱 장치, 예컨대 외부 재래식 컴퓨터 또는 내장형 필드 프로그램가능 게이트 어레이 (FPGA) 또는 디지털 시그널 프로세서 (DSP) 일 수 있다. 일반적으로, 임의의 프로세싱 또는 평가를 위해 본 개시내용의 실시양태에 의해 이용되는 물리적 프로세서 및/또는 기계는 컴퓨터 및 소프트웨어 기술분야의 통상의 기술자에 의해 이해되는 바와 같이, 본 개시내용의 예시 실시양태의 교시내용에 따라 프로그램가능한 1개 이상의 네트워크 또는 비-네트워크 범용 컴퓨터 시스템, 마이크로프로세서, 필드 프로그램가능 게이트 어레이 (FPGA), 디지털 시그널 프로세서 (DSP), 마이크로 제어기 등을 포함할 수 있다. 물리적 프로세서 및/또는 기계는 이미지 캡처 장치(들)와 외부 네트워킹될 수 있거나, 또는 이미지 캡처 장치 내에 체류하도록 통합될 수 있다. 적절한 소프트웨어는 소프트웨어 기술분야의 통상의 기술자에 의해 이해되는 바와 같이, 예시 실시양태의 교시내용에 기반하여 숙련된 프로그래머에 의해 용이하게 제작될 수 있다. 또한, 예시 실시양태의 장치 및 서브시스템은 전기 기술분야(들)의 통상의 기술자에 의해 이해되는 바와 같이, 주문형 집적 회로의 제작에 의해 또는 통상의 구성요소 회로의 적절한 네트워크 상호연결에 의해 구현될 수 있다. 따라서, 예시 실시양태는 하드웨어 회로 및/또는 소프트웨어의 임의의 특정 조합으로 제한되지 않는다.
- [0216] 본 개시내용의 예시 실시양태는 예시 실시양태의 장치 및 서브시스템을 제어하기 위한 소프트웨어, 예시 실시양태의 장치 및 서브시스템을 구동시키기 위한 소프트웨어, 예시 실시양태의 장치 및 서브시스템이 인간 사용자와 상호작용할 수 있게 하기 위한 소프트웨어 등을, 컴퓨터 판독가능 매체 중 어느 하나에 또는 그의 조합에 저장하여 포함할 수 있다. 이러한 소프트웨어는 장치 드라이버, 펌웨어(firmware), 작동 시스템, 개발 툴, 응용 소프트웨어 등을 포함할 수 있으나 이에 제한되지는 않는다. 이러한 컴퓨터 판독가능 매체는 구현 시 수행되는 프로세싱의 전부 또는 일부를 수행하기 위한 (프로세싱이 배포된 경우) 본 개시내용의 실시양태의 컴퓨터 프로그램 제품을 추가로 포함할 수 있다. 본 개시내용의 예시 실시양태의 컴퓨터 코드 장치는 이에 제한되지는 않으나 스크립트, 해석가능 프로그램, 동적 연결 라이브러리 (DLL), 자바(Java) 클래스 및 애플릿, 전체 실행가능 프로그램 등을 비롯하여, 임의의 적합한 해석가능 또는 실행가능 코드 메카니즘을 포함할 수 있다. 또한, 본 개시내용의 예시 실시양태의 프로세싱의 일부는 더 나은 성능, 신뢰성, 비용 등을 위해 배포될 수 있다.
- [0217] 컴퓨터-판독가능 매체의 통상적인 형태는, 예를 들어, 플로피 디스크, 플렉시블(flexible) 디스크, 하드 디스크, 자기 테이프, 임의의 다른 적합한 자기 매체, CD-ROM, CDRW, DVD, 임의의 다른 적합한 광학 매체, 펀치 카드, 종이 테이프, 광학 마크 시트, 홀(hole) 또는 다른 광학적으로 인식가능한 표시부의 패턴을 갖는 임의의 다른 적합한 물리적 매체, RAM, PROM, EPROM, FLASH-EPROM, 임의의 다른 적합한 메모리 칩 또는 카트리지, 반송파, 또는 컴퓨터가 판독할 수 있는 임의의 다른 적합한 매체를 포함할 수 있다.
- [0218] 본 개시내용을 하나 이상의 특정 실시양태를 들어 기재하였지만, 관련 기술분야의 통상의 기술자라면 본 개시내용의 취지 및 범주로부터 벗어나지 않으면서 그에 대해 많은 변화가 이루어질 수 있음을 인지할 것이다. 각각의 이들 실시양태 및 그의 명백한 변형은 본 발명의 취지 및 범주 내에 속하는 것으로 고려된다. 또한, 본 개시내용의 측면에 따른 추가 실시양태는 본원에 기재된 임의의 실시양태로부터의 특징과 얼마든지 조합될 수 있는 것으로 고려된다.

도면

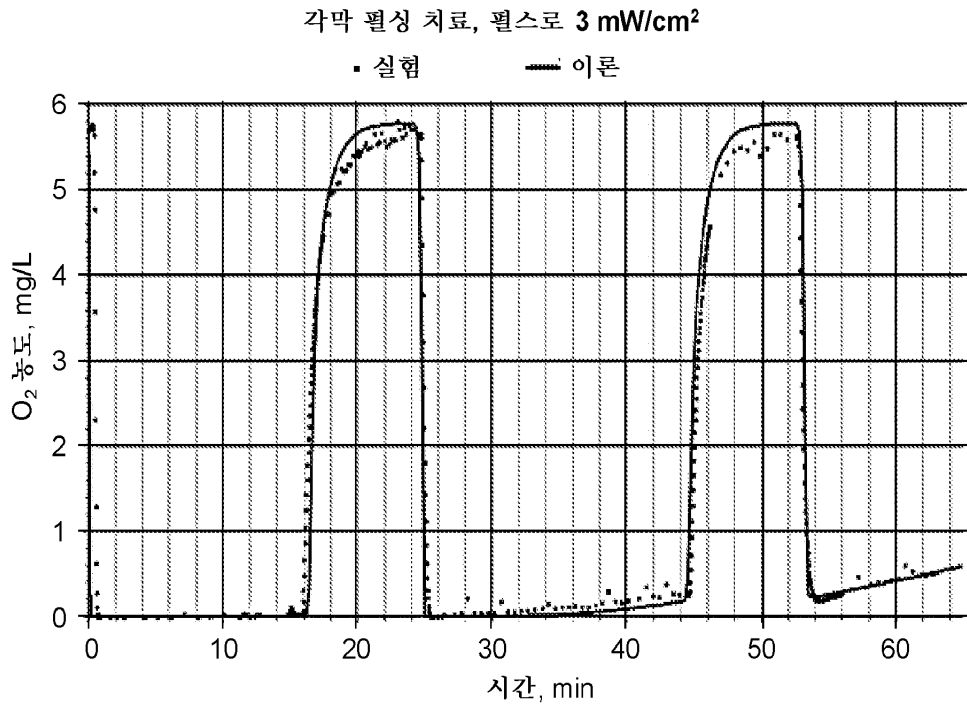
도면1



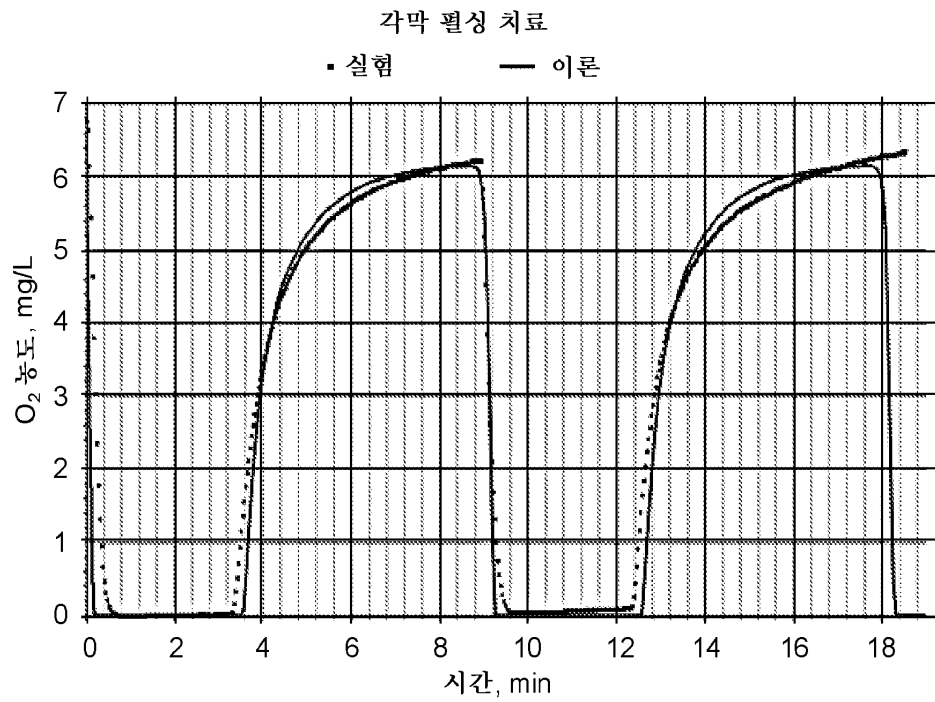
도면2a



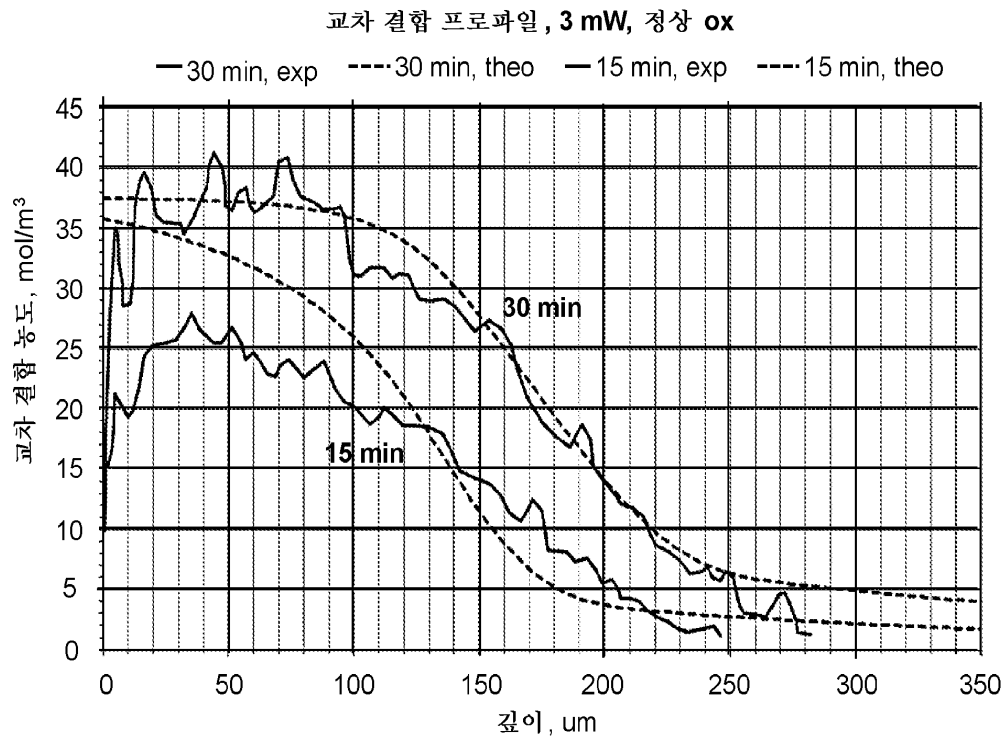
도면3b



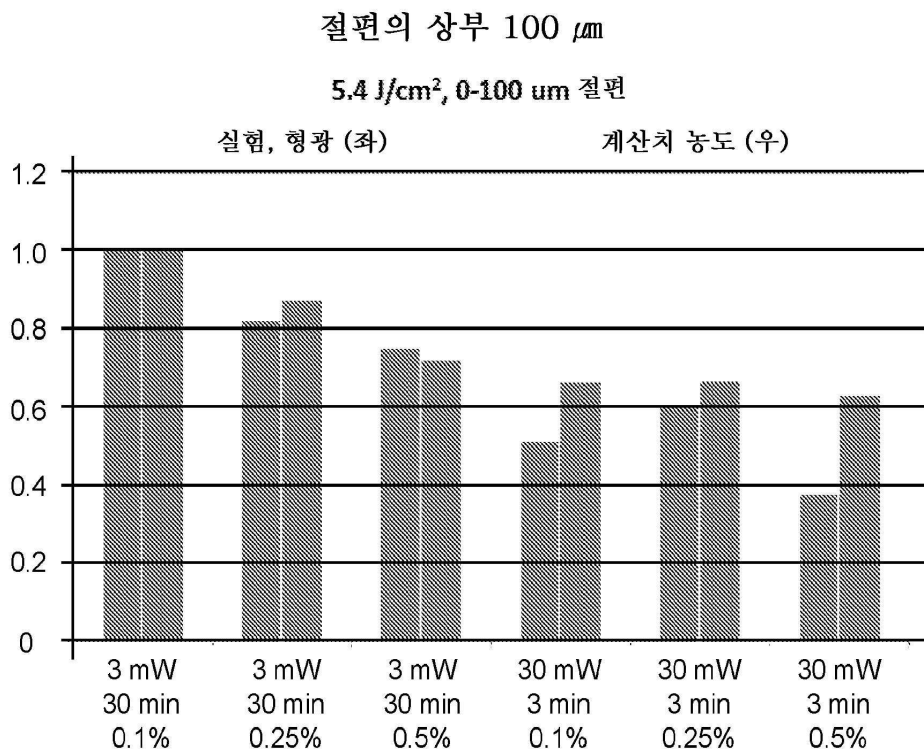
도면3c



도면4



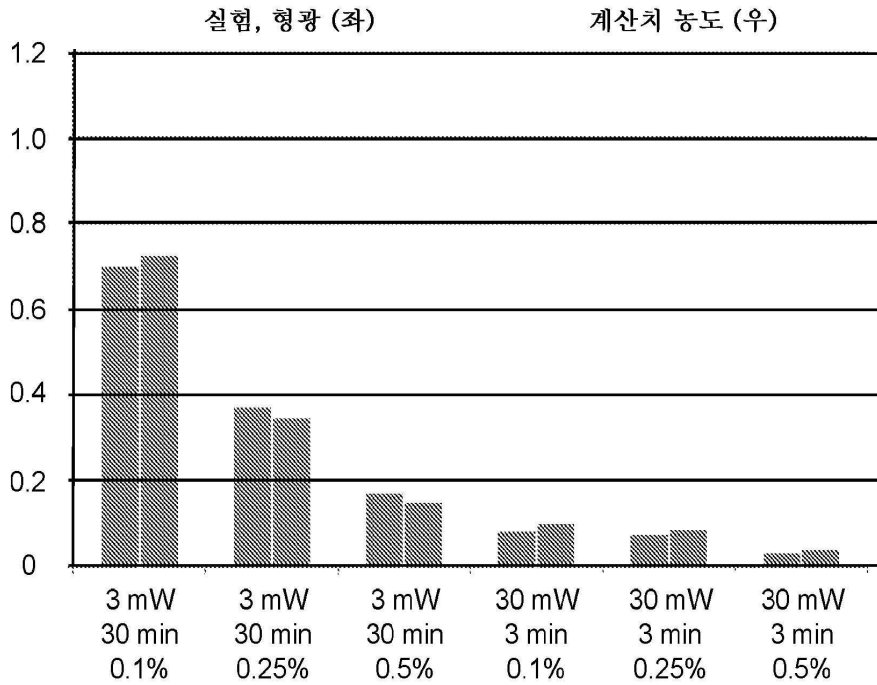
도면5a



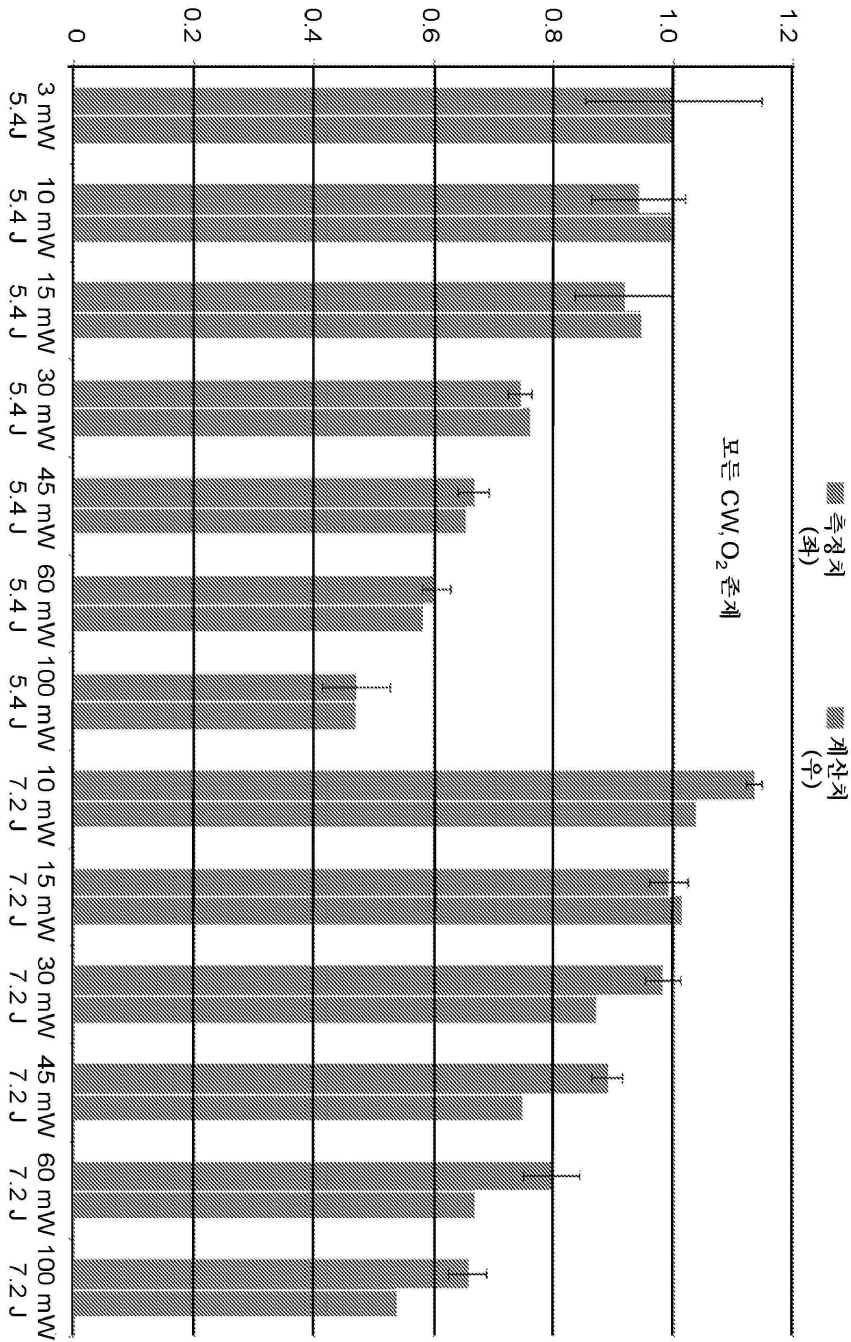
도면5b

100 내지 200 μm 의 절편 슬라이스

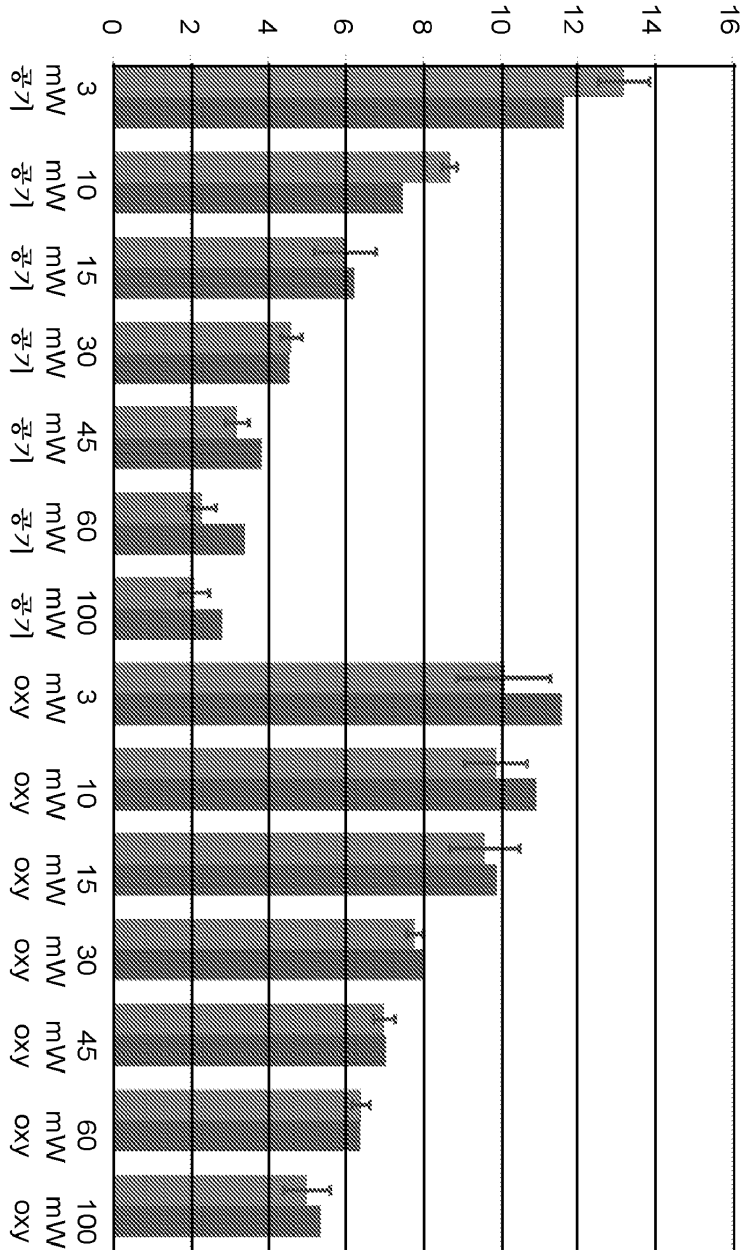
5.4 J/cm², 100-200 μm 절편



도면5c

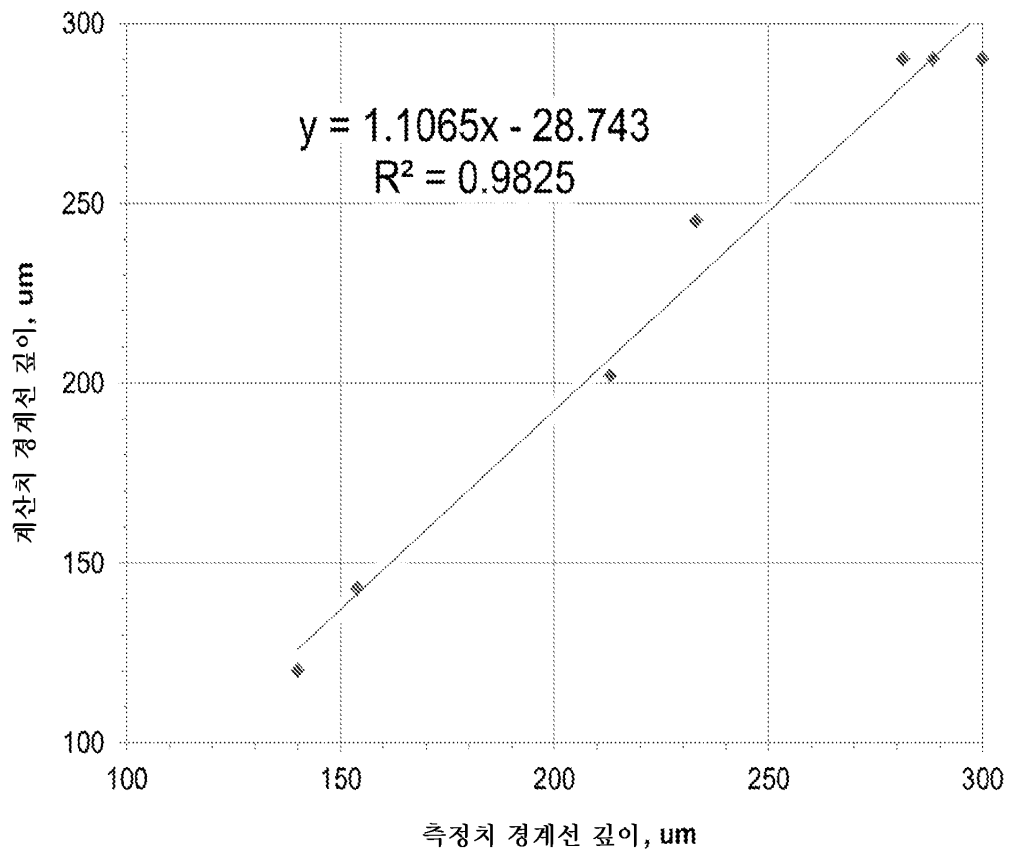


0-200 um 절편, 5.4 J/cm², CW, Rf = 0.1%
측정치 (좌): 계산치, Mlab (우)



도면5d

도면6a

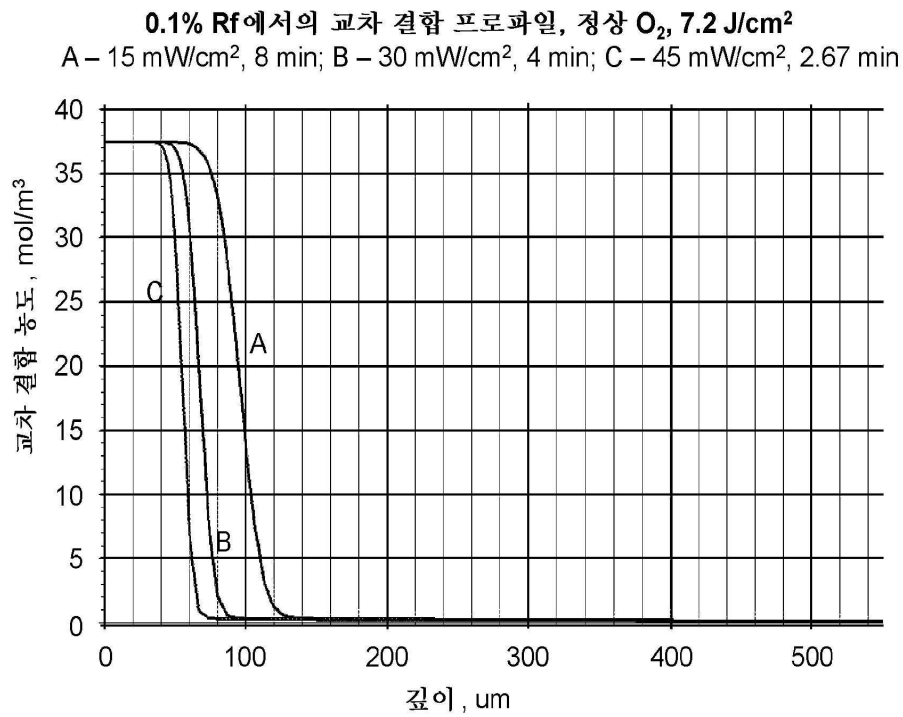


도면6b

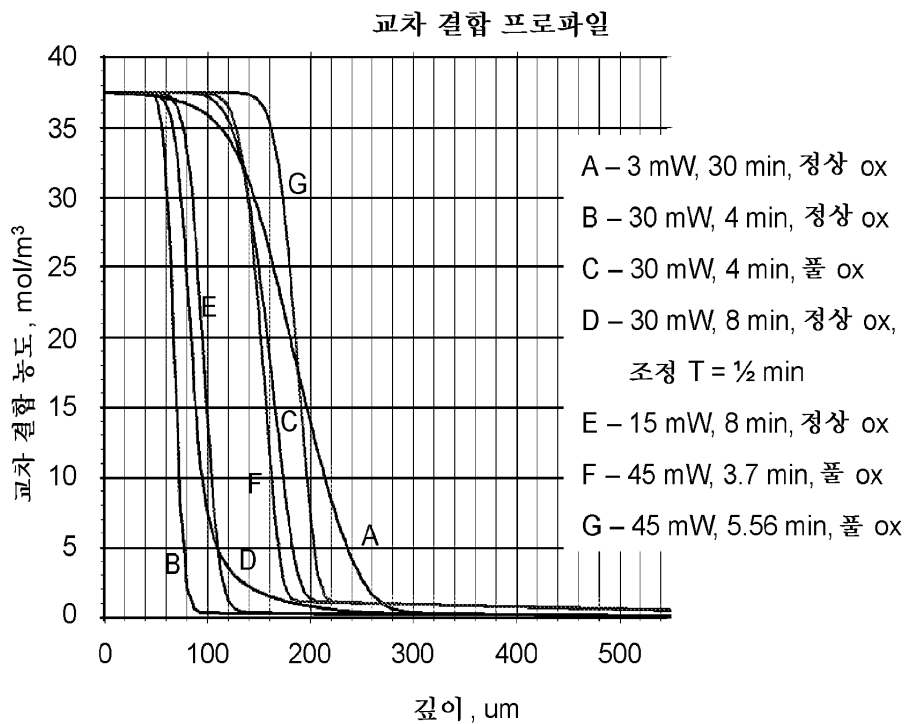
프로토콜	문헌 출처	측정치 값이, μm	계산치 값이, μm
30 min 에비침액 (계산을 위해) 3 mW/cm^2 , 30 min 처리 (드레스덴(Dresden), 5.4 J/cm^2)	[1] [3] [2]	281.4 ± 53.3 ≈ 300 $310.67 \pm 31.04 \mu\text{m}$ (범위, $258\text{-}364 \mu\text{m}$) 중앙으로, $212.07 \pm 24.5 \mu\text{m}$ (범위, $178\text{-}279 \mu\text{m}$) 코로, 및 $218.04 \pm 21.91 \mu\text{m}$ (범위, $191\text{-}261 \mu\text{m}$) 알기적으로 $350.78 \mu\text{m} \pm 49.34 \text{ (SD)}$ (범위 256.5 내지 $410 \mu\text{m}$)	290
15 min 에비침액 30 mW/cm^2 , 3 min 처리 (가스환, 5.4 J/cm^2)	[4]	140.4 ± 39.1	120
15 min 에비침액 30 mW/cm^2 , 4 min 처리(7.2 J/cm^2)	[4]	153.85 ± 33.11	143
10 min 에비침액 15 mW/cm^2 (평균), 8 min 처리(7.2 J/cm^2)	[4]	213 ± 47	202
10 min 에비침액 10 mW/cm^2 (평균), 12 min 처리(7.2 J/cm^2)	[4]	233 ± 92	245
2 sec 온 및 1 sec 오프 *			
15 min 에비침액 12 mW/cm^2 (평균), 10 min 처리(7.2 J/cm^2)	[5,6]	$150\text{-}200$	223
20 min 에비침액 30 mW/cm^2 (평균), 4 min 처리(7.2 J/cm^2)	[5,6]	$140\text{-}180$	143
9 mW/cm^2 와 VVA로 10분 (5.4 J/cm^2)	[7]	$288.46 \pm 42.37 \mu\text{m}$ (범위 238.5 내지 $353.5 \mu\text{m}$)	200

1. Yam JC, et al. Corneal collagen cross-linking demarcation line depth assessed by Visante OCT after CXL for keratoconus and corneal ectasia. J Refract Surg. (Jul. 2012). 28(7):475-81.
2. Kymionis GD, et al. Corneal stroma demarcation line after standard and high-intensity collagen crosslinking determined with anterior segment optical coherence tomography. J Cataract Refract Surg. (May 2014). 40(5):736-40.
3. Theo Seiler MD, PhD and Farhad Hafezi MD. Corneal Cross-Linking-Induced Stromal Demarcation line. Cornea (2006). 25:1057-1059
4. Luigi Fontana and Antonello Moramarco. Esperienze personali con CXL accelerato. UOC Oculistica ASMN-IRCCS Reggjo Emilia. Roma, 20 Sept. 2014.
5. C. Mazzotta. In Vivo Corneal Micro-Structural Analysis in Accelerated Corneal Collagen X-Linking UOC Oculistica ASMN-IRCCS Reggjo Emilia. Roma, 20 Sept. 2014.
6. Cosimo Mazzotta, et al. Qualitative Investigation of Corneal Changes after Accelerated Corneal Collagen Cross-linking (A-CXL) by In vivo Confocal Microscopy and Corneal OCT. J Clin Exp Ophthalmol (2013). 4:6.
7. George D Kymionis, et al. Evaluation of the corneal collagen cross-linking demarcation line profile using anterior segment optical coherence tomography. Cornea (2013). 32: 907-10.

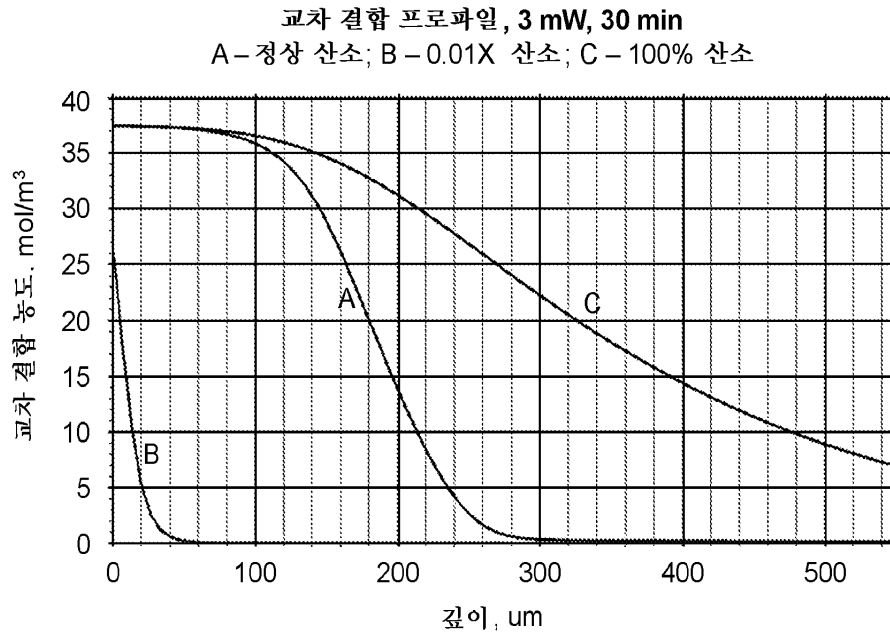
도면7a



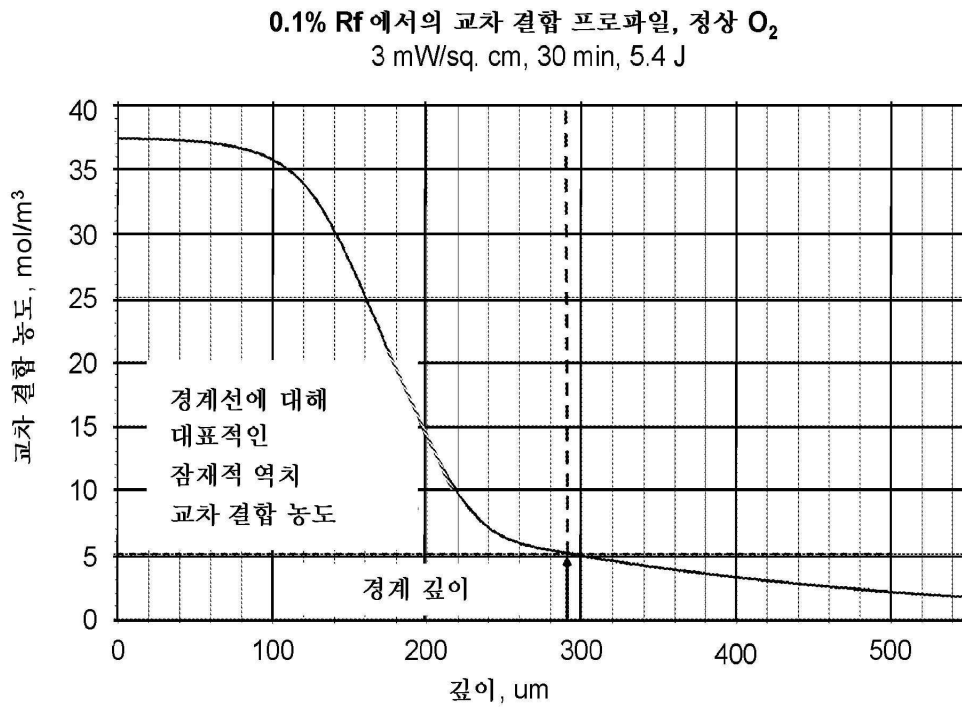
도면7b



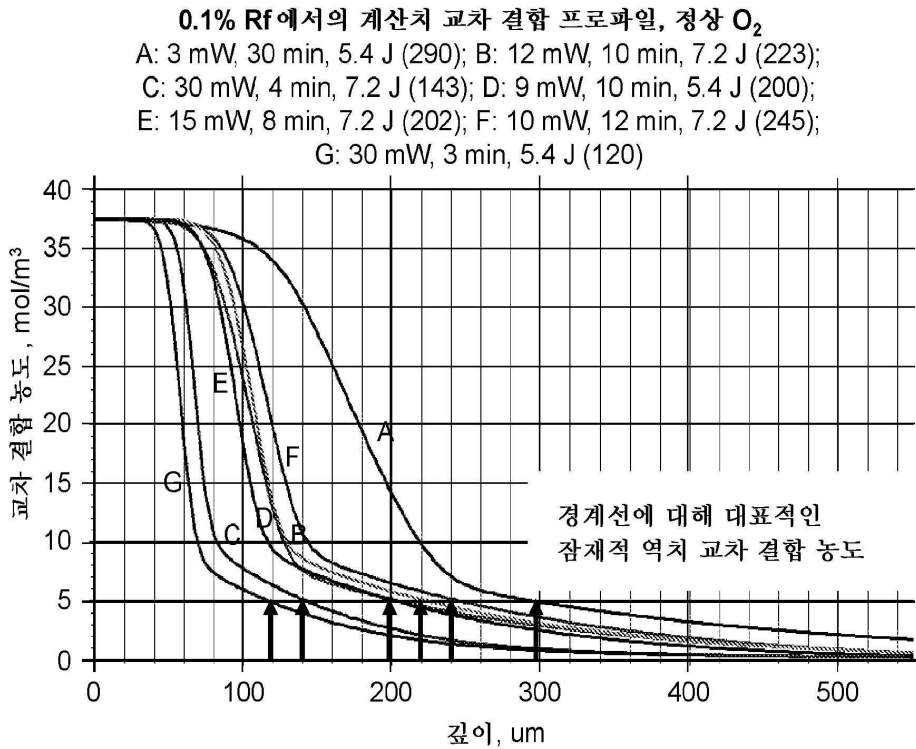
도면7c



도면8a

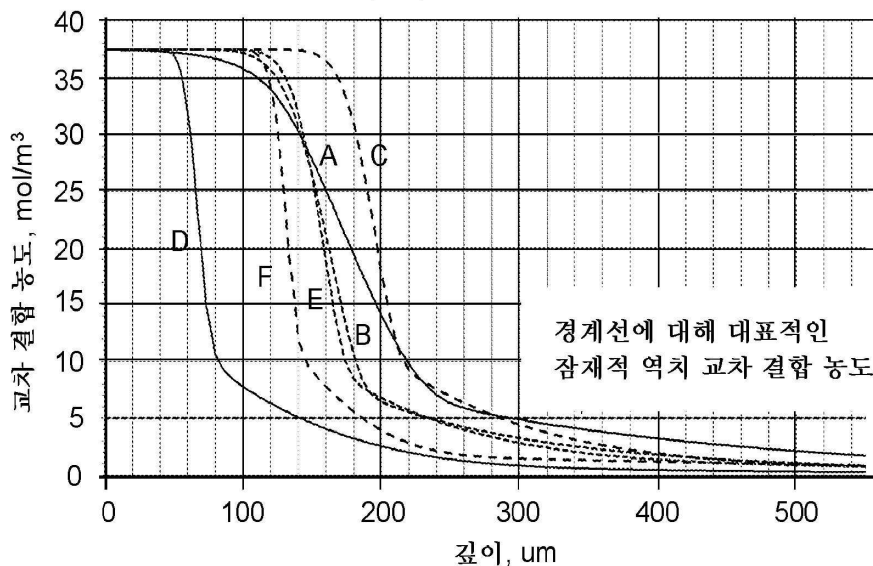


도면8b

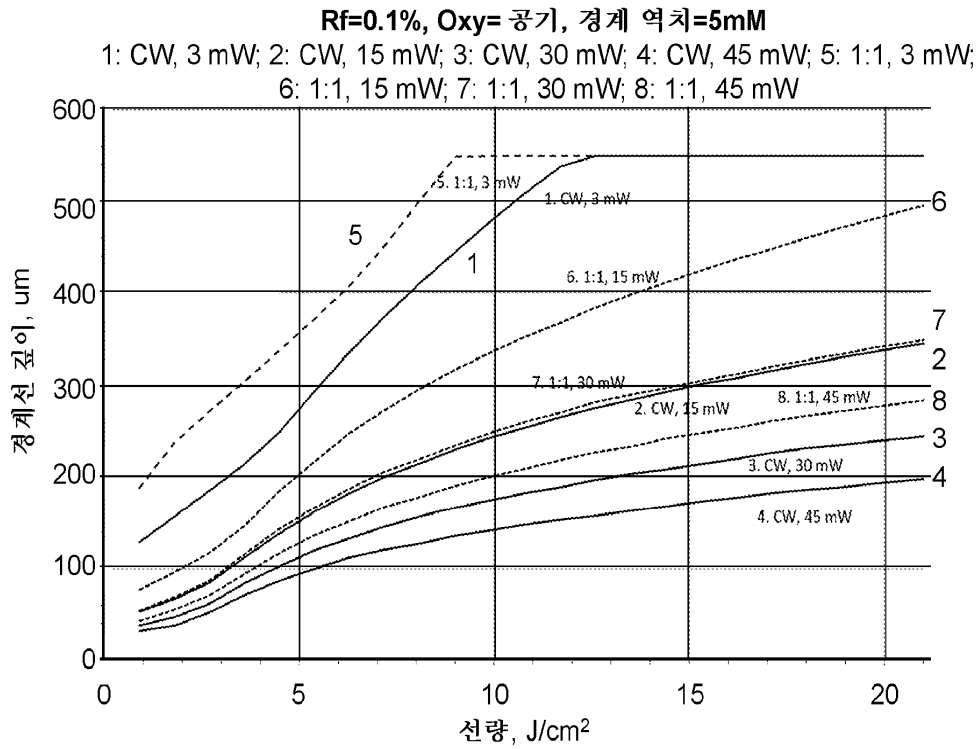


도면8c

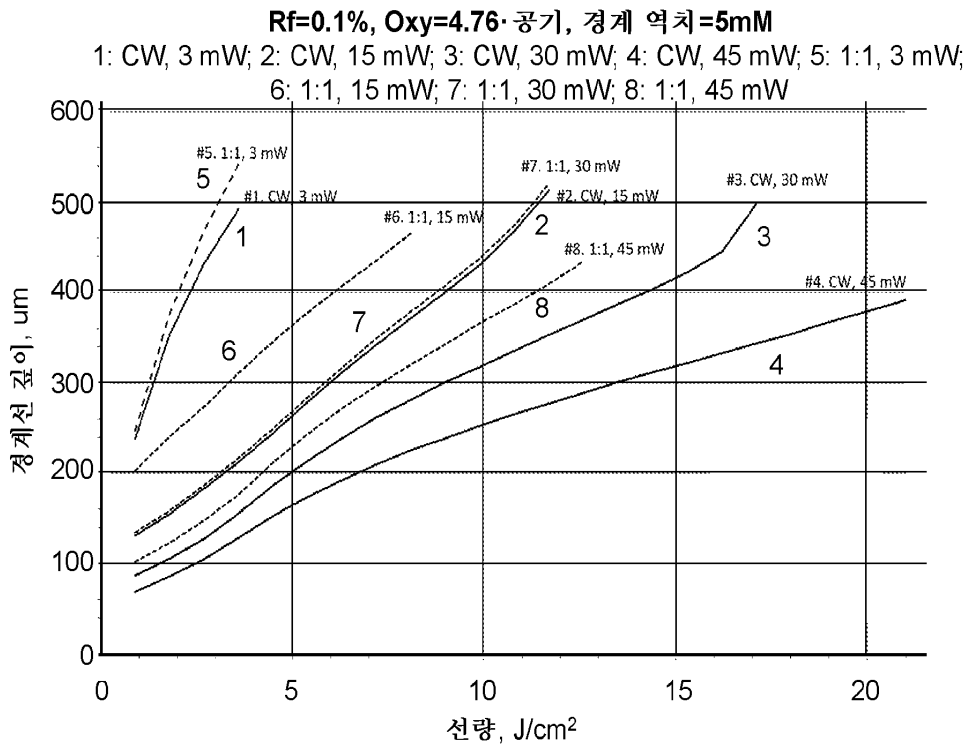
계산치 교차 결합 프로파일, Rf = 0.1% (괄호 안의 숫자는 경계선 깊이 (μm)임)
A: 3 mW, 30 min, 정상 ox, 5.4 J (290); B: 30 mW, 4 min, 풀 ox, 7.2 J (235);
C: 45 mW, 5.56 min, 풀 ox, 15 J (285); D: 30 mW, 4 min, 정상 ox, 7.2 J (140);
E: 45 mW, 3.7 min, 풀 ox, 10 J (235); F: 100 mW/cm², 2.5 min, 풀 ox, 15 J (185);



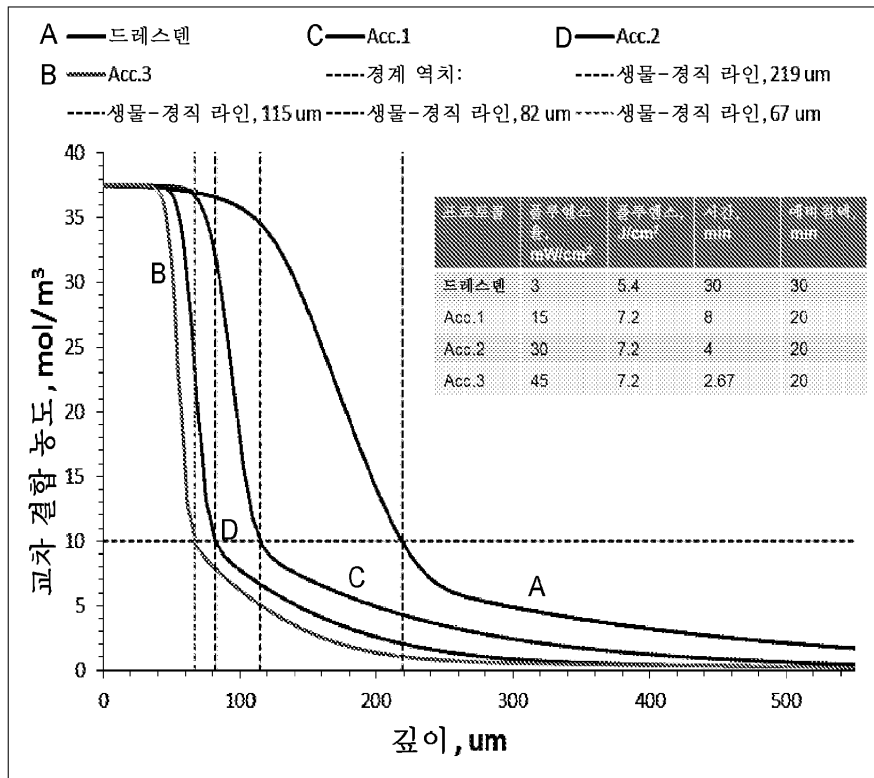
도면9a



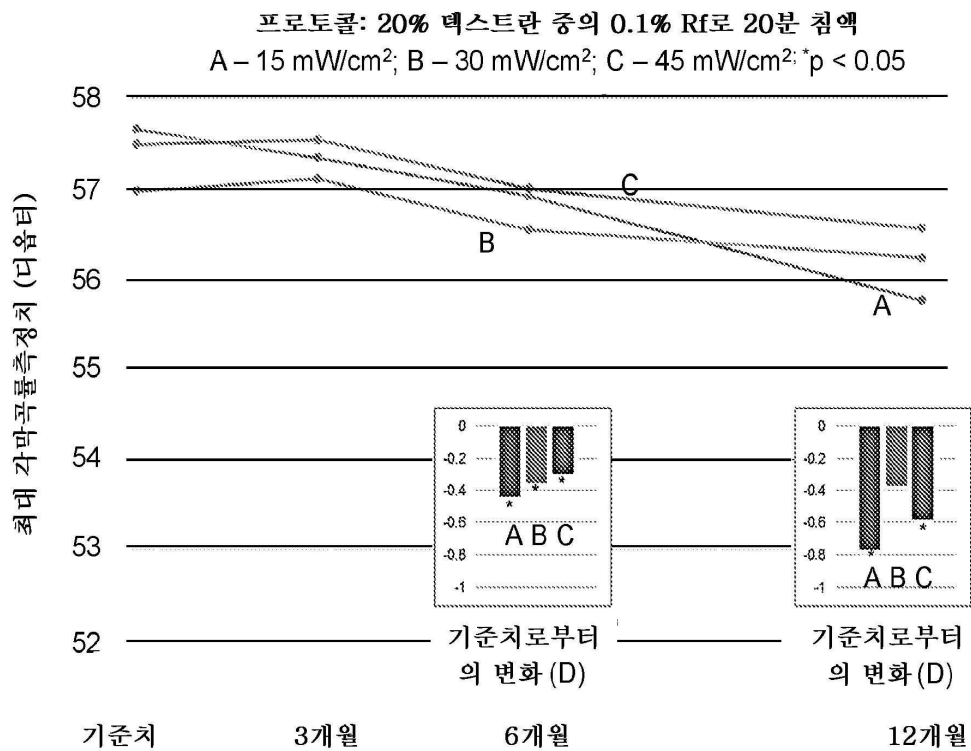
도면9b



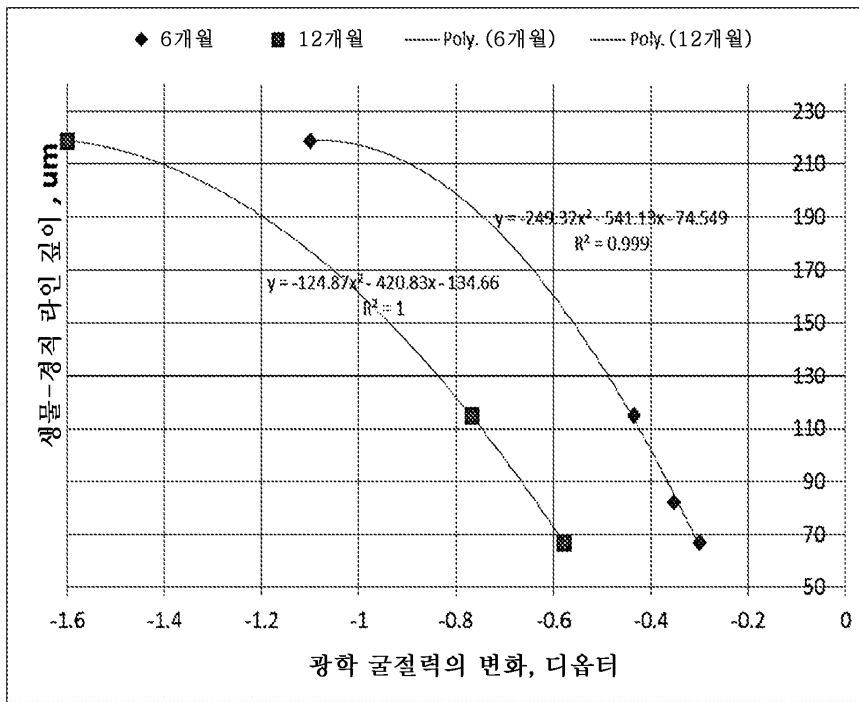
도면10



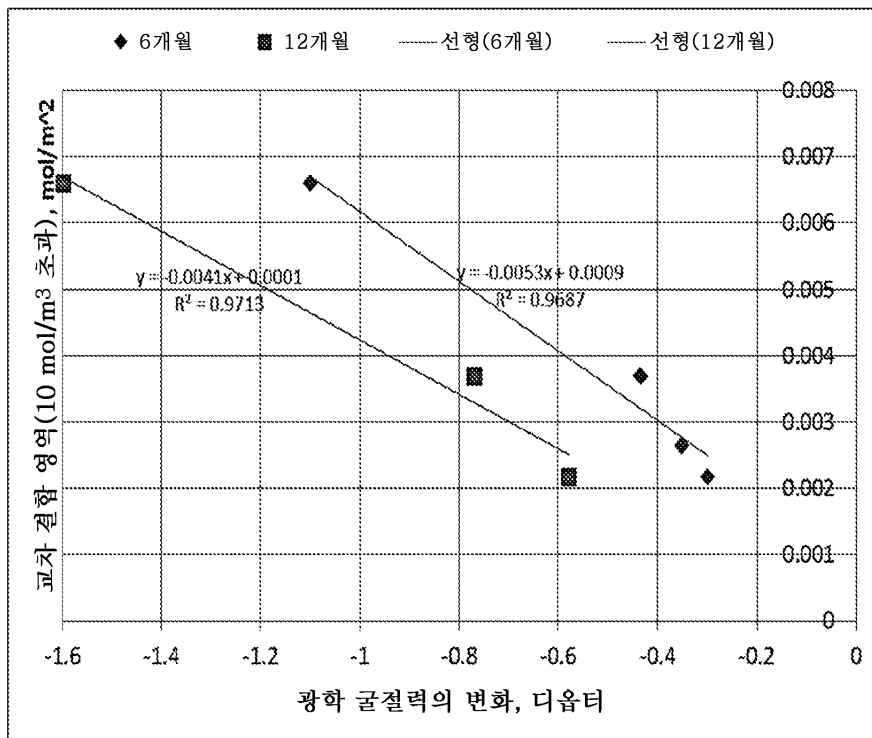
도면11



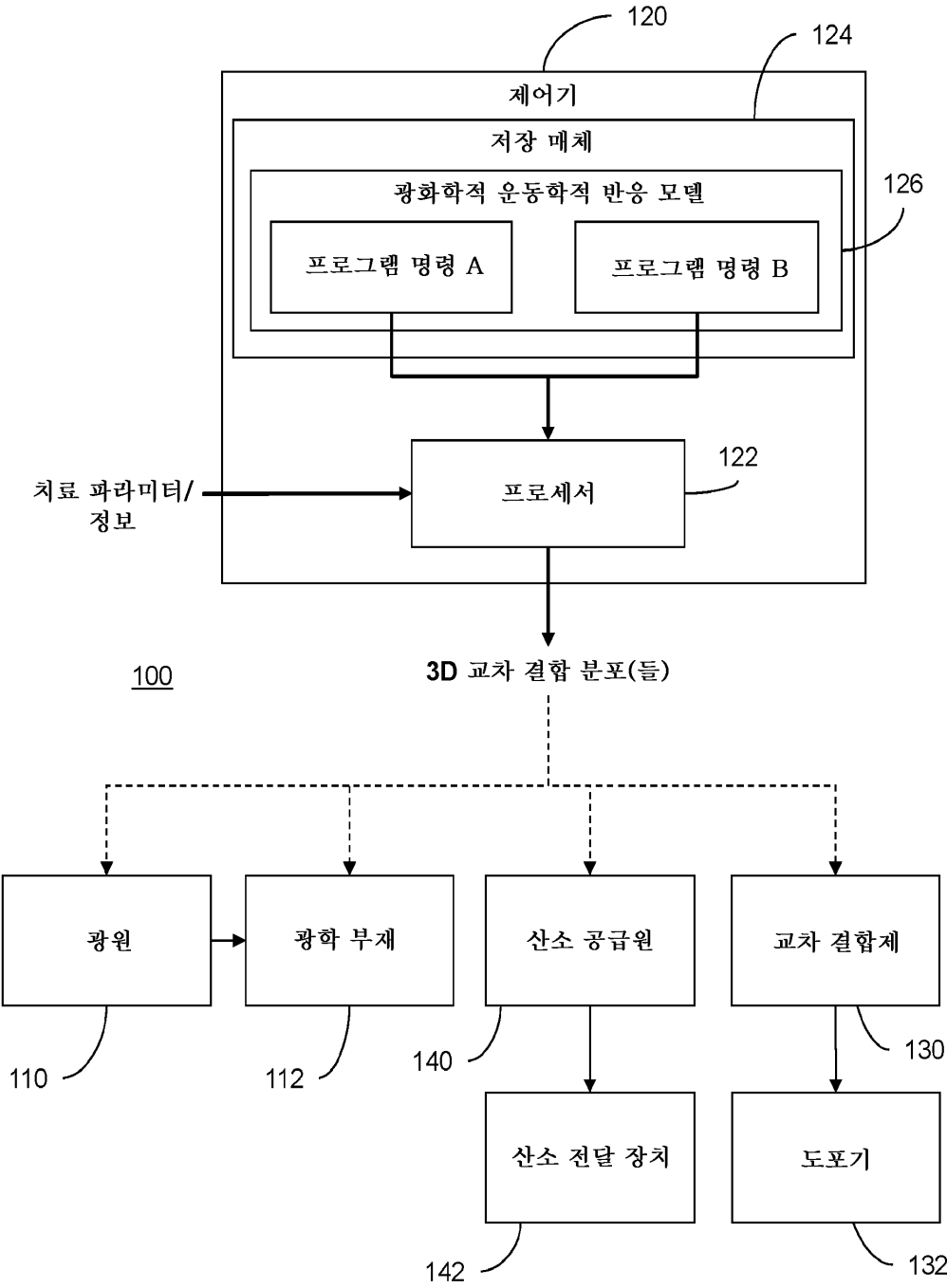
도면12a



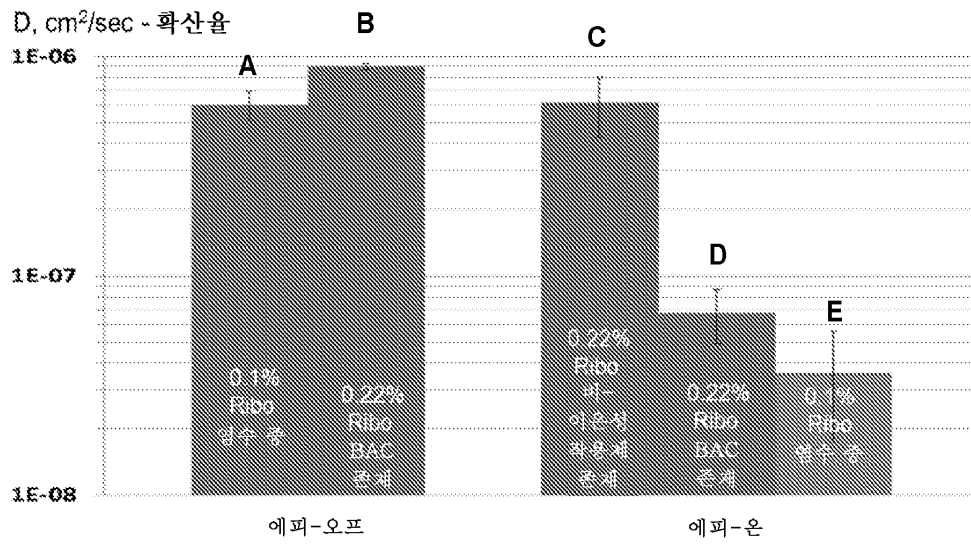
도면12b



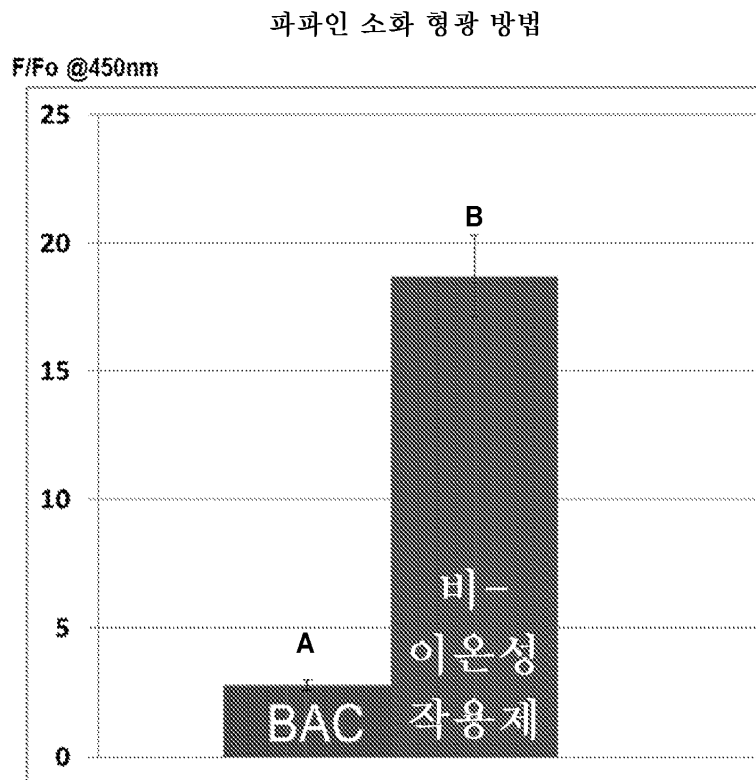
도면13



도면14



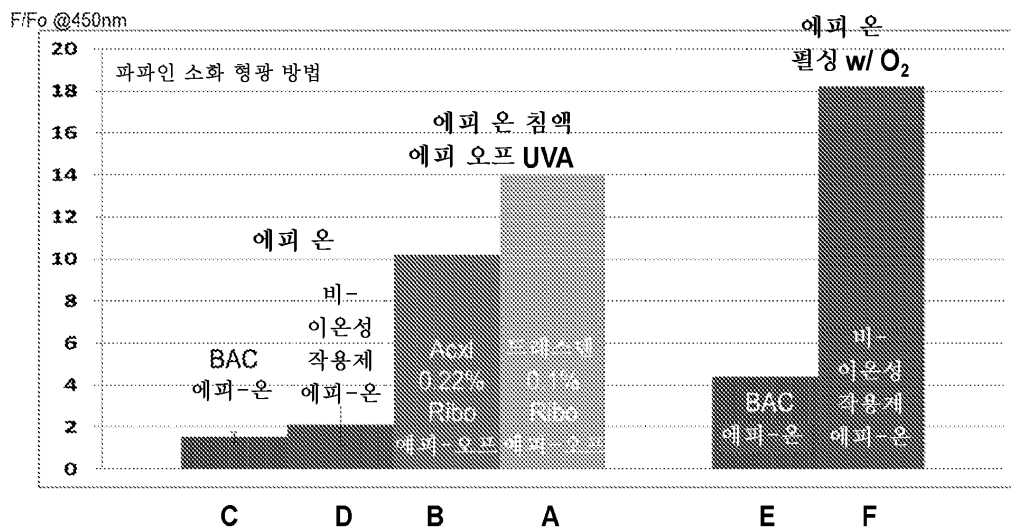
도면15



도면16

	에피-온/오프	BAK/비-이온성	리보플라빈 Conc.	방사조도 (mW/cm ²)	선량 (J/cm ²)	CW/펄싱	공기 또는 산소
대조군							
A	오프	-	0.1%	3	5.4	CW	공기
B	오프	-	0.22%	30	7.2	CW	공기
변수							
C	온	BAC	0.22%	30	7.2	CW	공기
D	온	비-이온성	0.22%	30	7.2	CW	공기
E	온	BAC	0.22%	30	7.2	펄싱	산소
F	온	비-이온성	0.22%	30	7.2	펄싱	산소

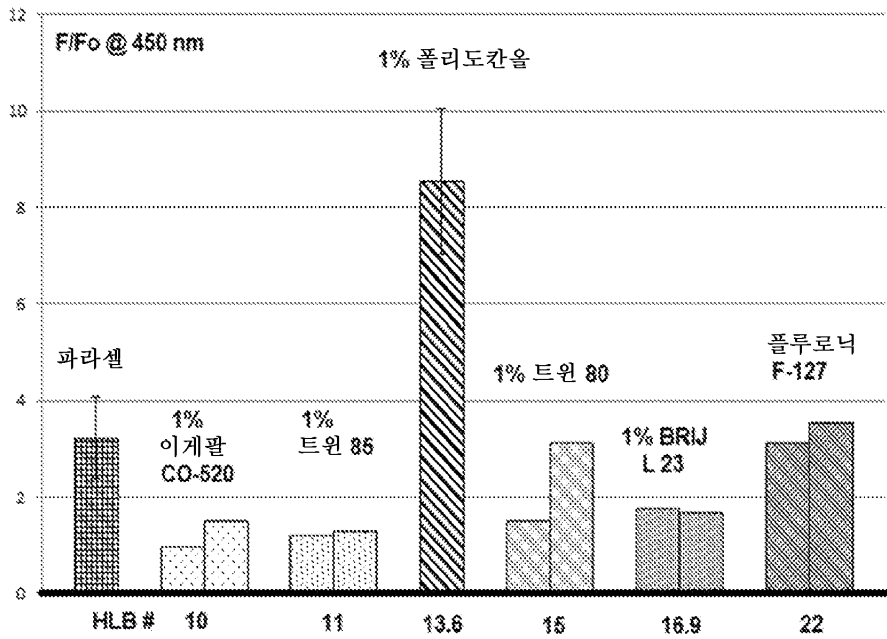
도면17



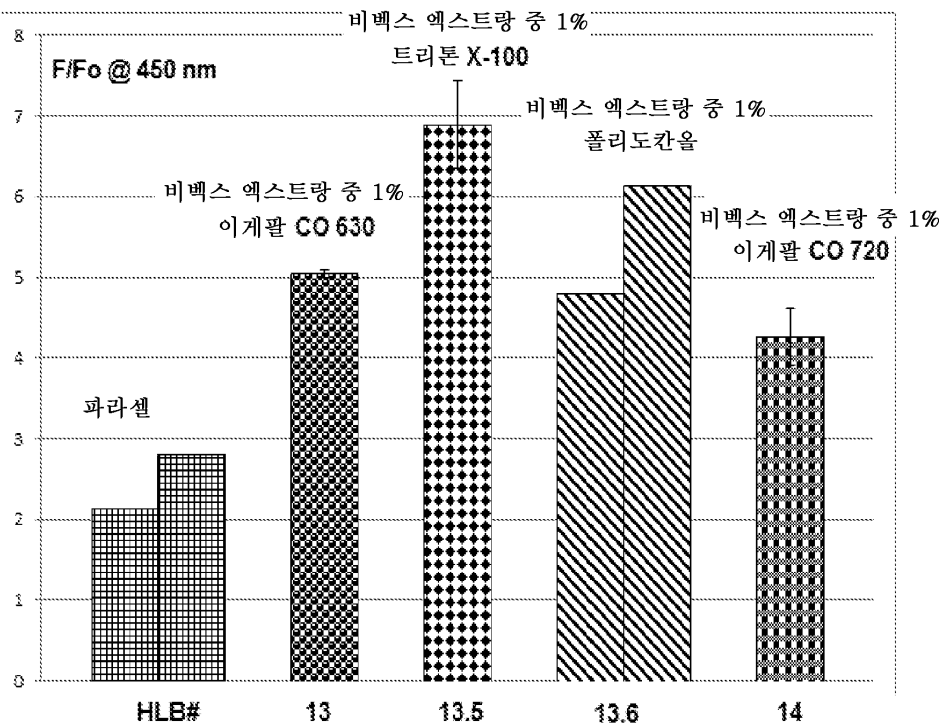
• O₂ 한정

- BAC → 리보플라빈 한정
- 비이온성 작용제 + O₂ → 리보플라빈-포화 에피 미약 인자에 의한 흡수

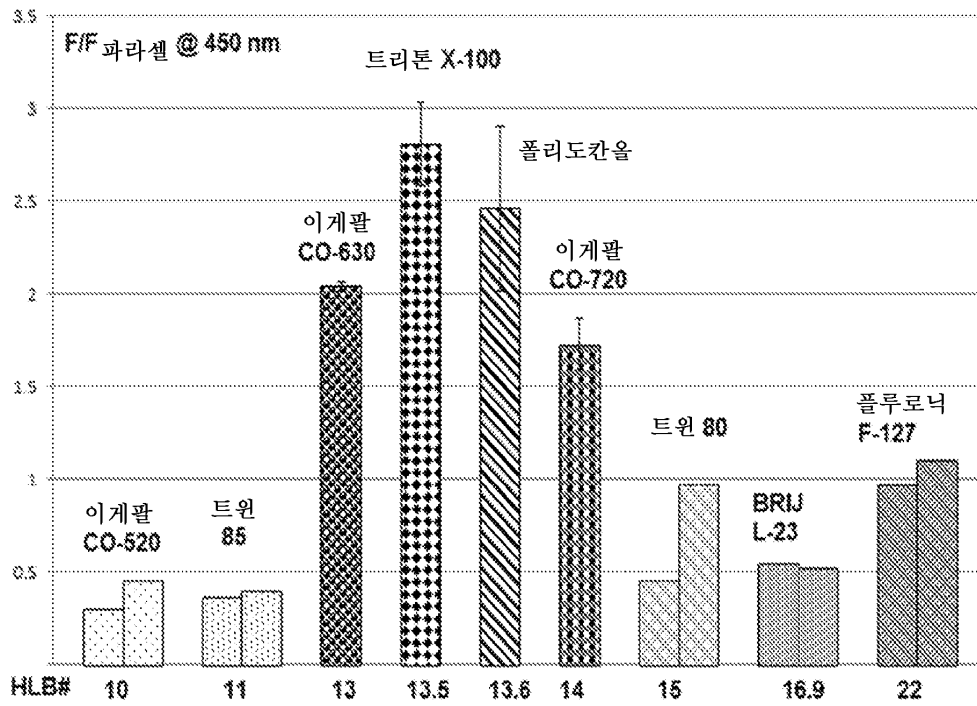
도면18



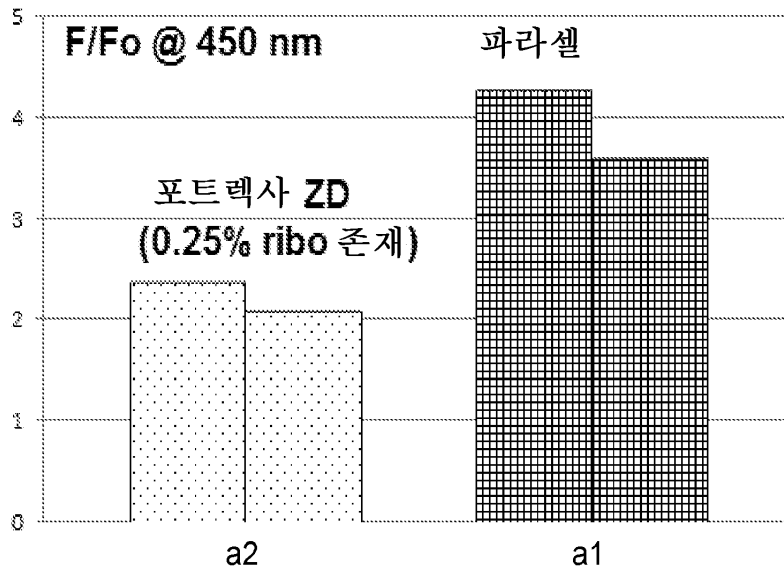
도면19



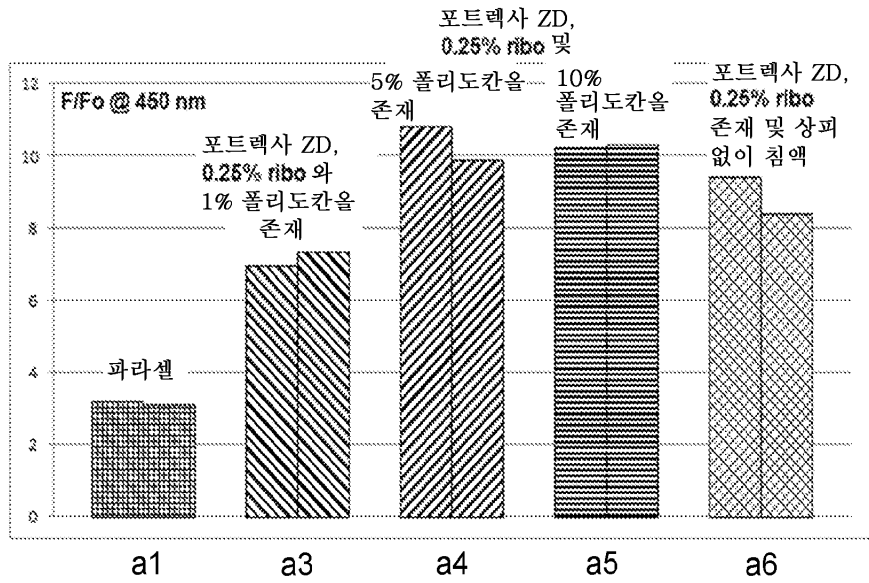
도면20



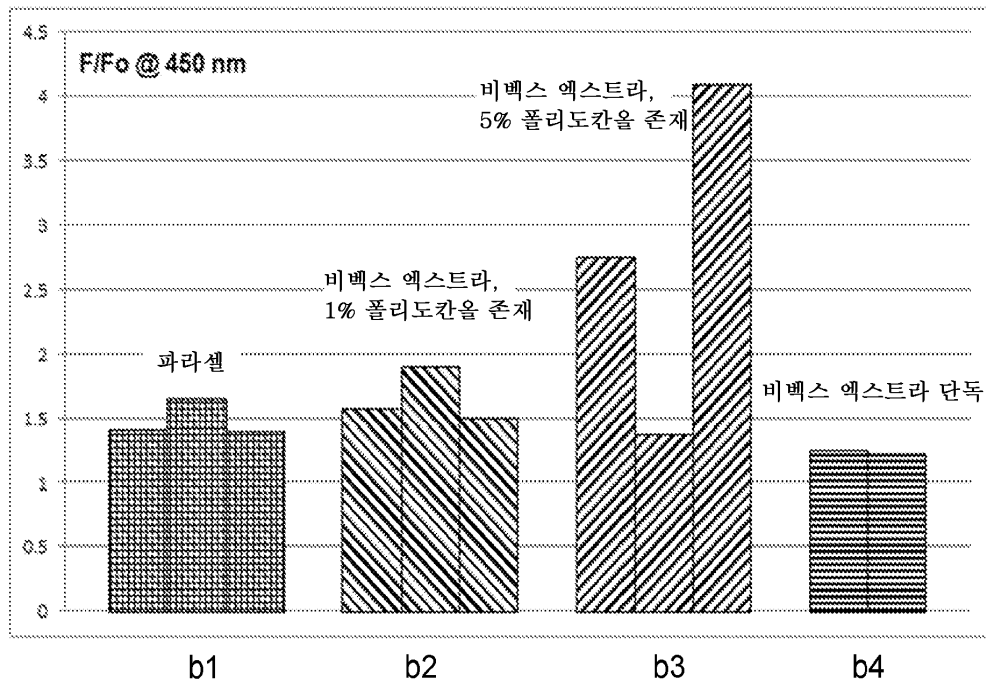
도면21



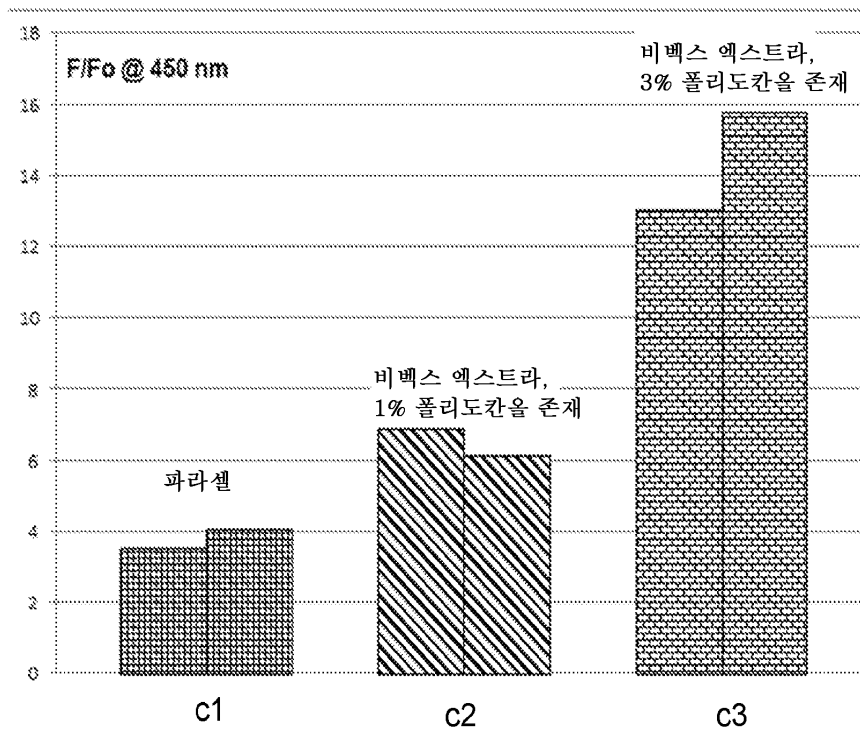
도면22



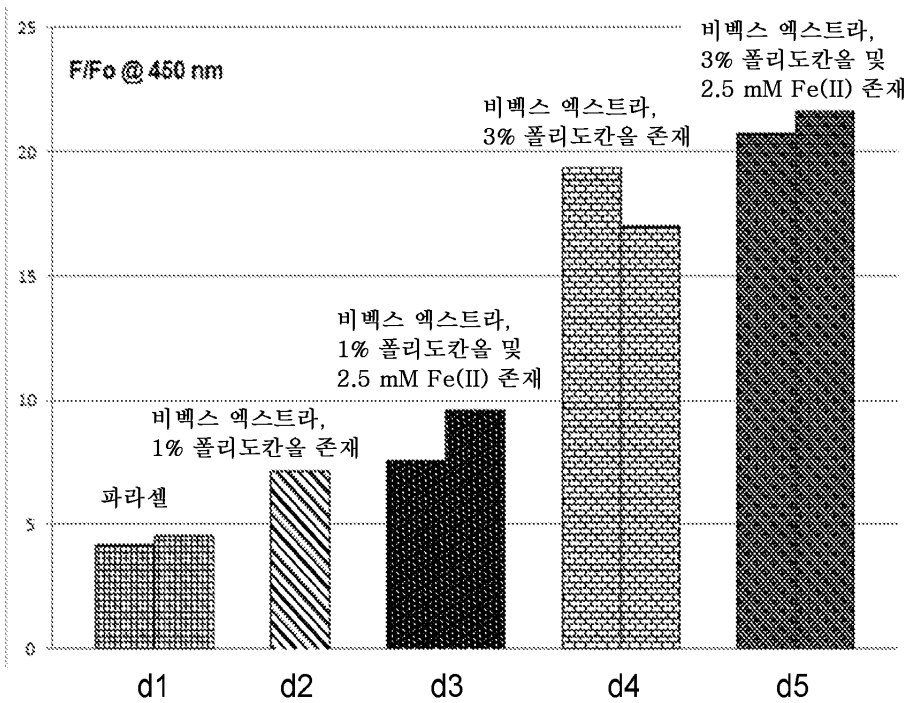
도면23



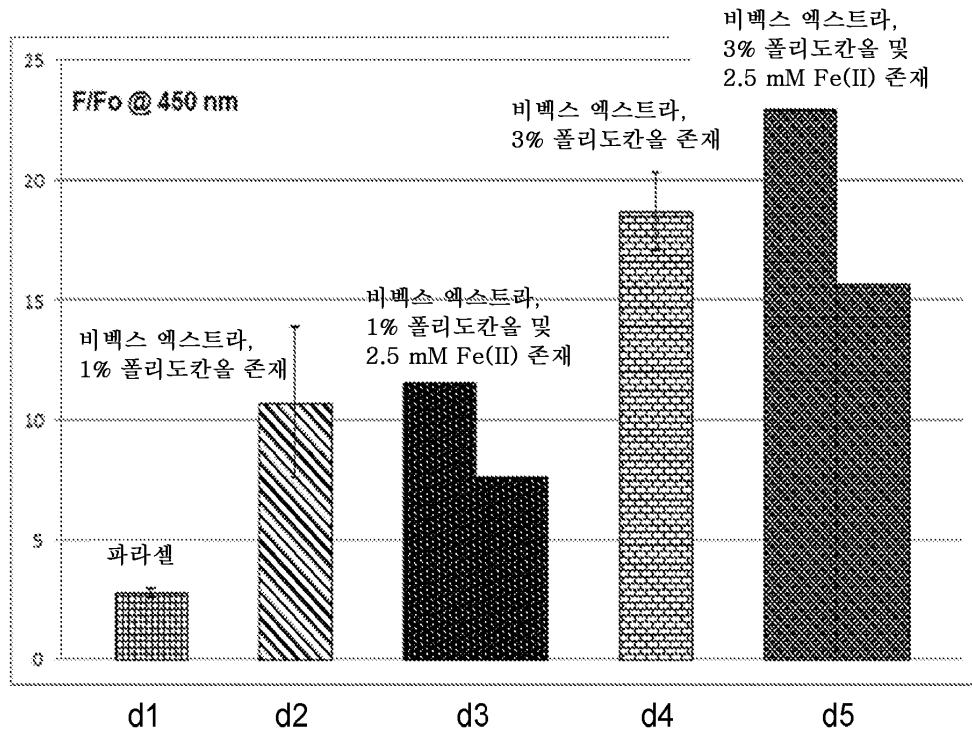
도면24



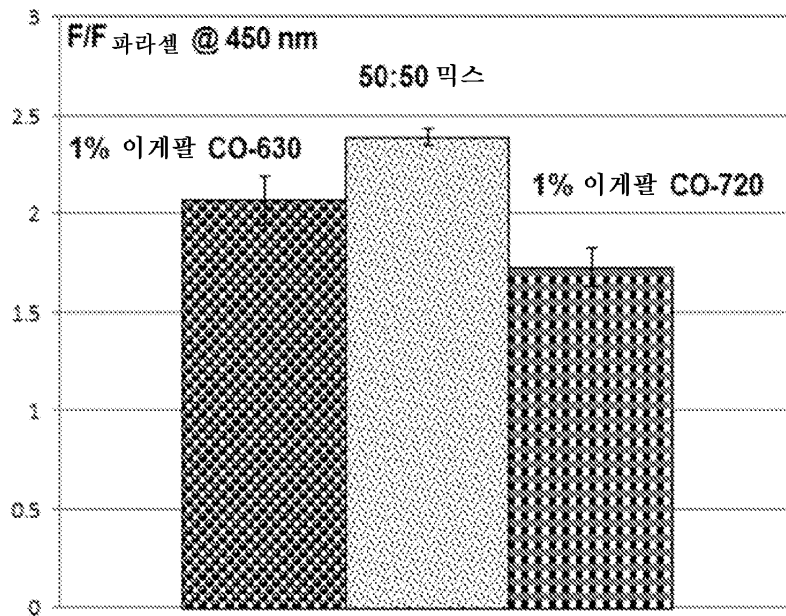
도면25



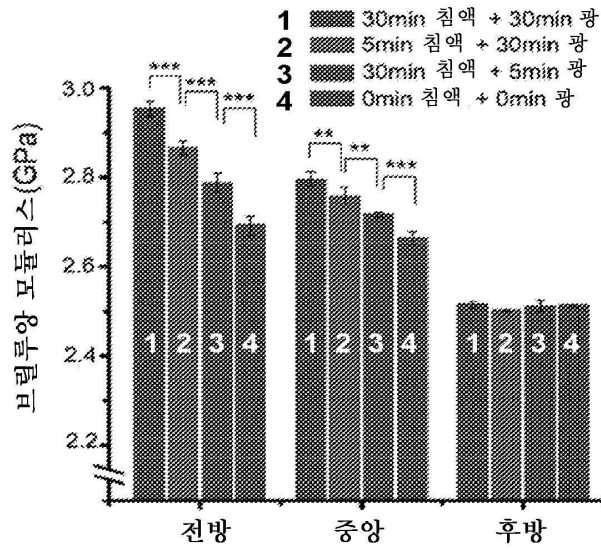
도면26



도면27



도면28a



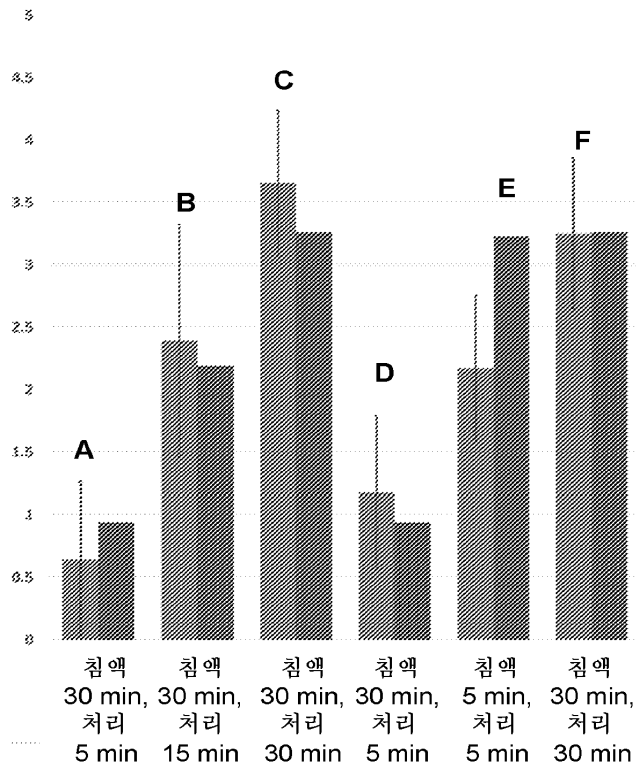
도 2. 전방, 중간 및 후방 각막의 평균 브릴루앙 모듈러스에 대한 다양한 침액 시간 및 광 노출 시간의 효과

** $P < 0.01$. *** $P < 0.005$.

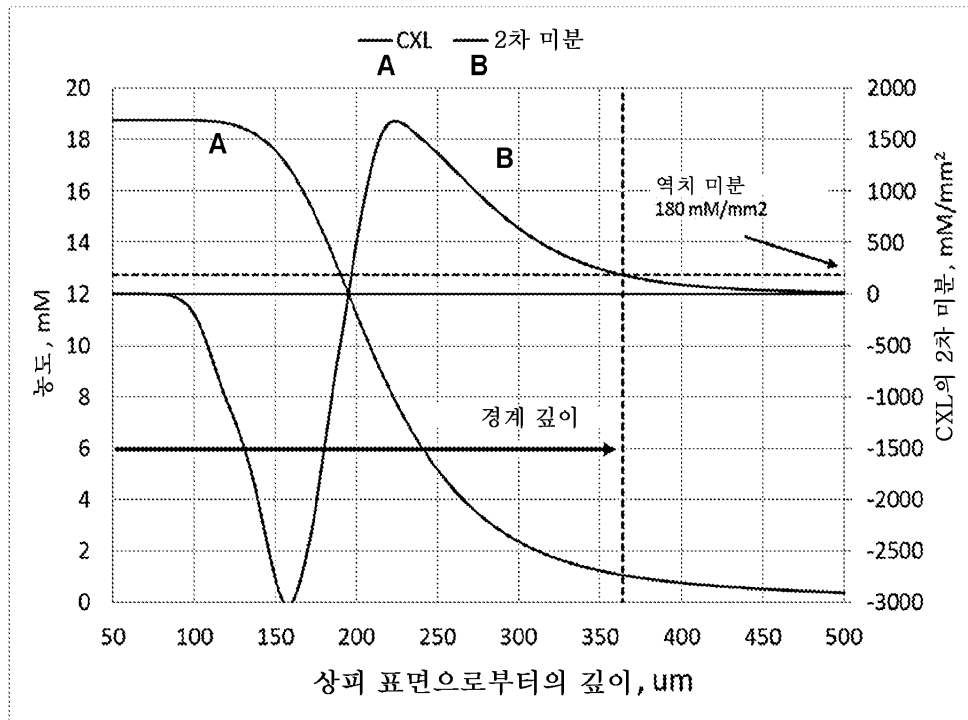
도면28b

광화학적 운동학적 모델 비교

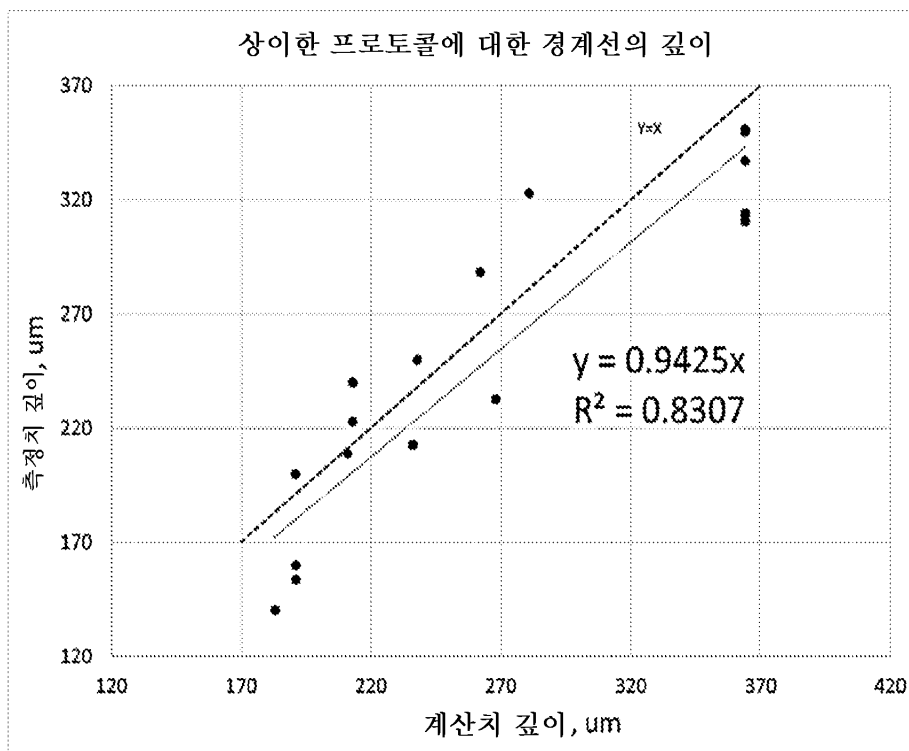
측정치 계산치



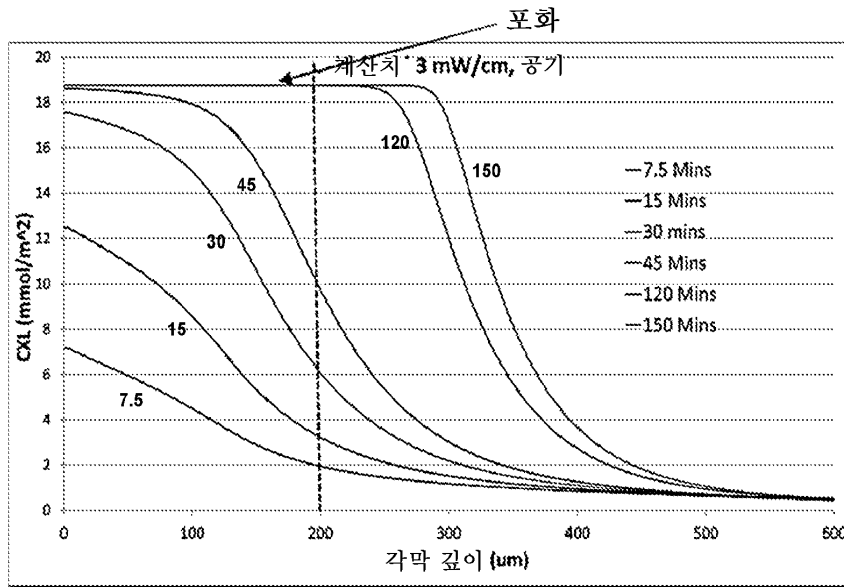
도면29



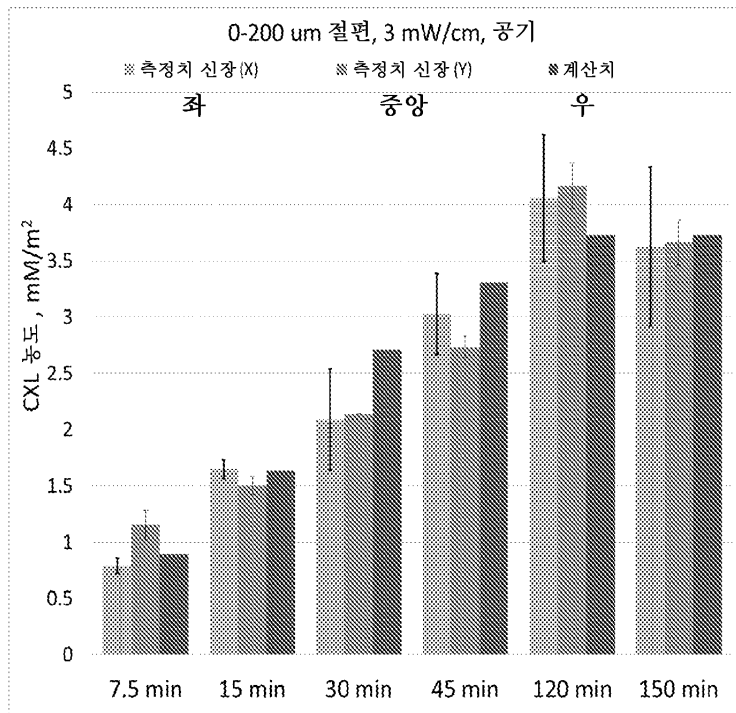
도면30



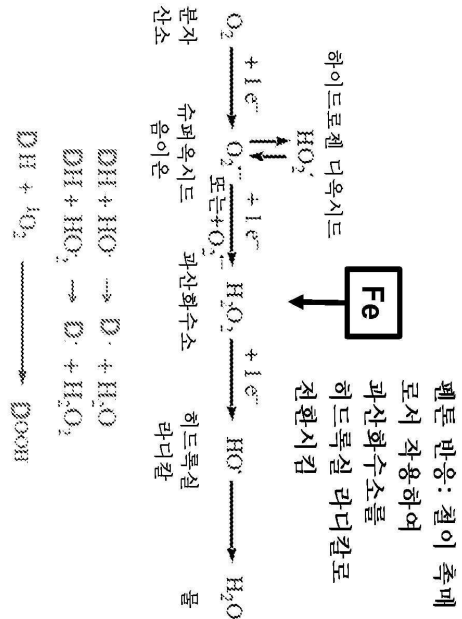
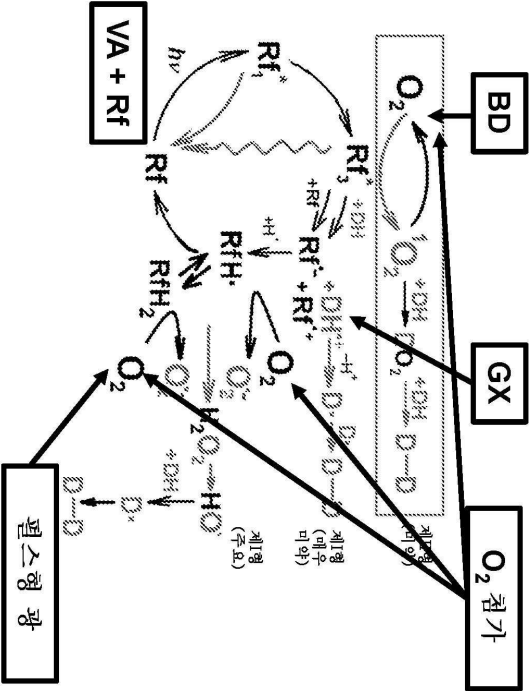
도면31



도면32



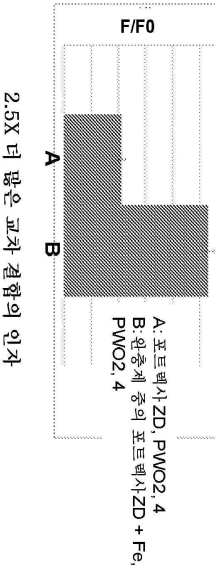
도면33



Fe

* 과산화수소 생성 활용

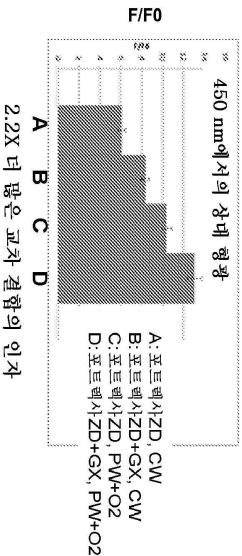
포트테사 대 포트테사+철 첨가제, 완충제 중, 200uM
첨량, PW+O₂, 4min, 30 mw/cm²



GX 첨가제

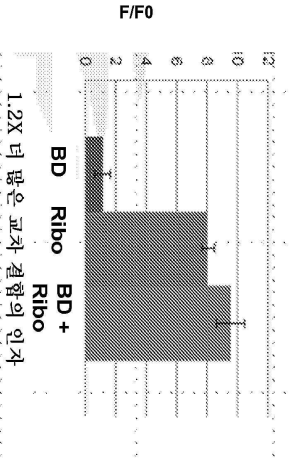
* 슈퍼옥사이드 음이온 생성 활용

450 nm에서의 상대 형광



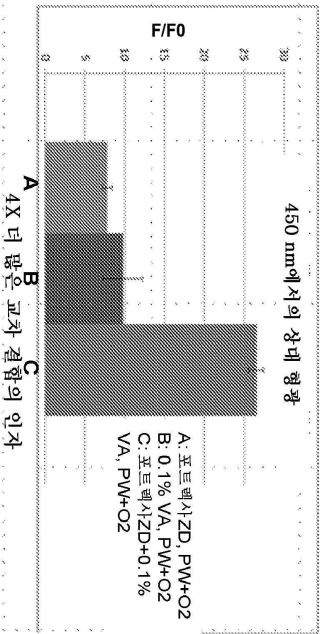
BD 첨가제

* 단일항 산소의 역할 활용

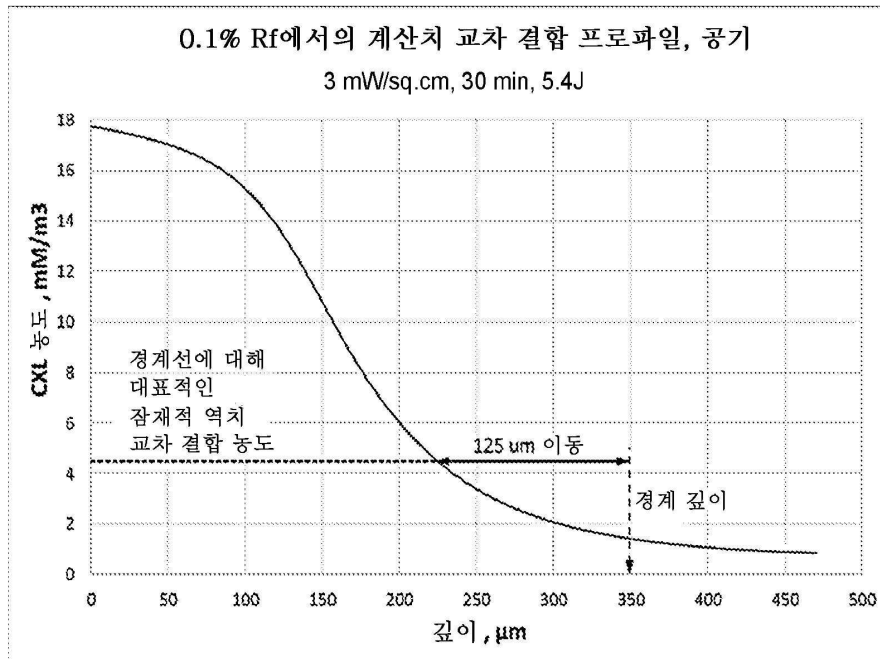


VA ~ 비터민 유사 첨가제

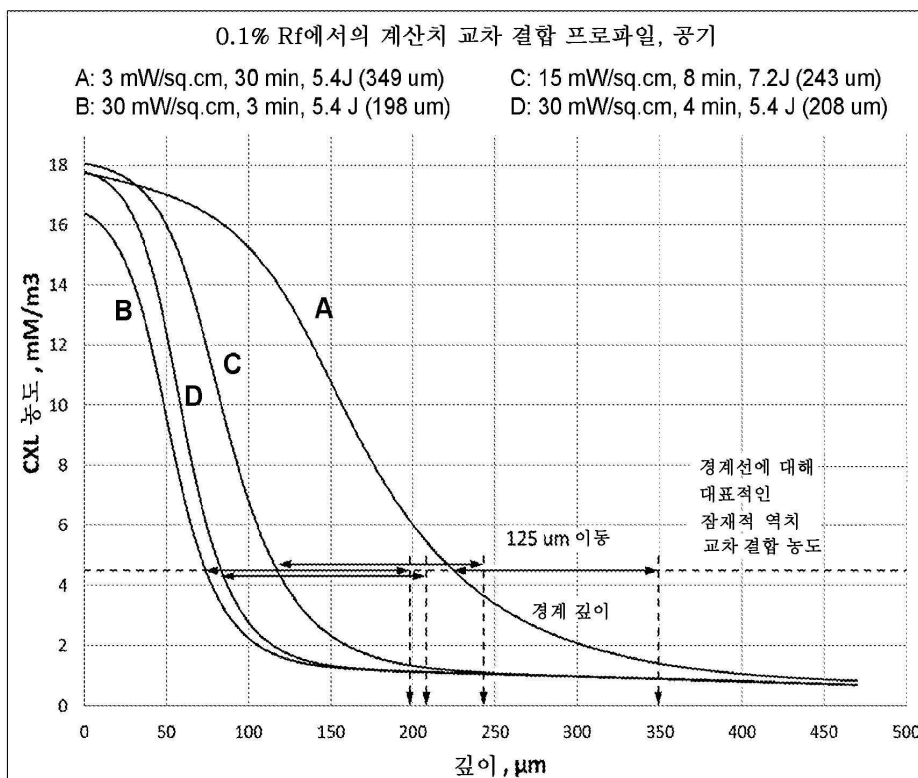
450 nm에서의 상대 형광



도면35

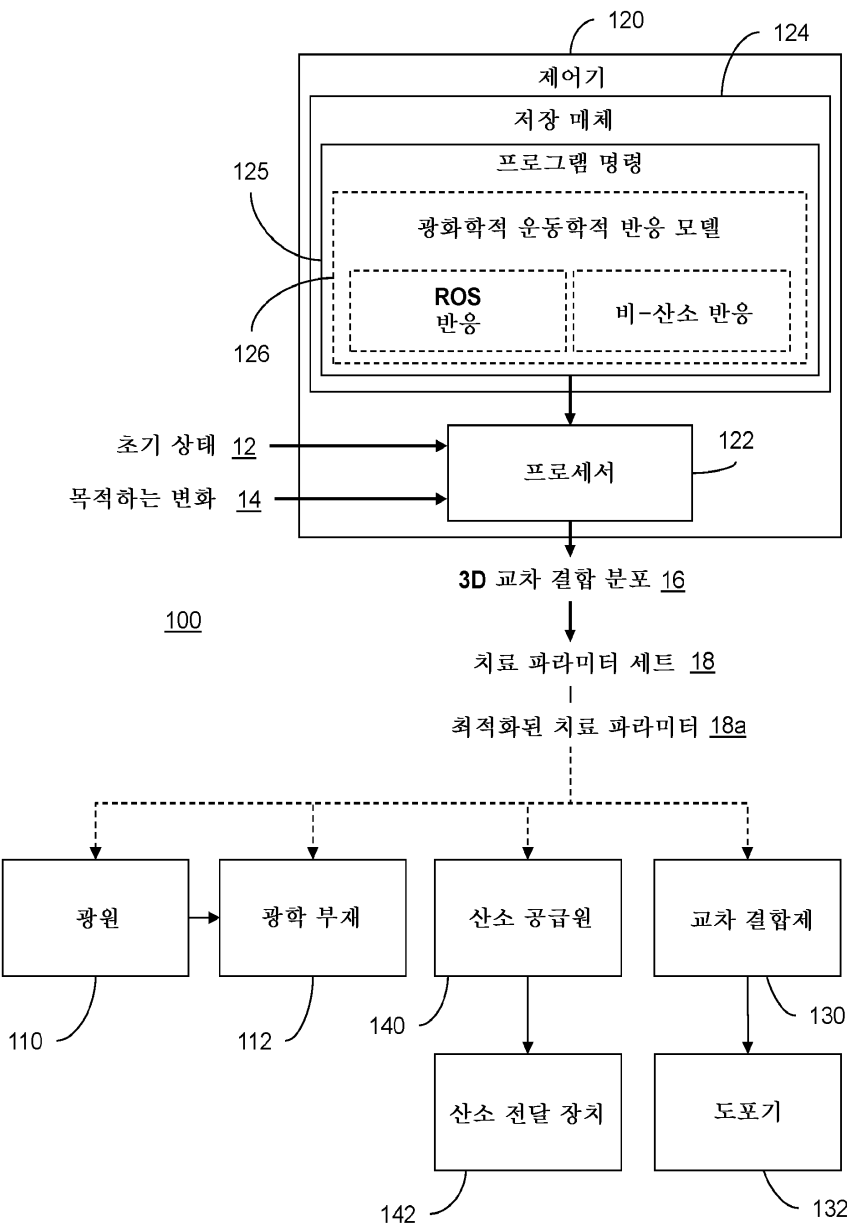


도면36



프로토콜 변수		경계선 값이에 대한 영향
리보플라빈 농도	0.1%에서 0.16%로 농도 증가	-22µm
	0.16%에서 0.22%로 농도 증가	-20µm
증점제 ¹	덱스트란 대신에 염수 (5분 투하 간격)	+22µm
UVA 장치 보정	방사조도의 ±20%의 변화 (보정에 대해 10%, 위치설정으로 인해 10%)	±34µm
UVA 범 프로파일	방사조도의 ±10%	±17µm
지리학적 가변성	중앙에서 여기까지 분산 = ±30% 방사조도	±51µm
	해발 1600 미터의 고도	-5µm

도면38



도면39

