



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 113662929 A

(43) 申请公布日 2021. 11. 19

(21) 申请号 202110943867.0

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2016.09.29

A61K 31/02 (2006.01)

(30) 优先权数据

A61K 9/08 (2006.01)

15187760.2 2015.09.30 EP

A61P 27/02 (2006.01)

15192429.7 2015.10.30 EP

(62) 分案原申请数据

201680056178.5 2016.09.29

(71) 申请人 诺瓦利克有限责任公司

地址 德国海德尔堡

(72) 发明人 迪特尔·谢勒

拉尔夫·格里伦恩伯杰

弗兰克·洛施尔 哈特穆特·沃斯

(74) 专利代理机构 北京安信方达知识产权代理

有限公司 11262

代理人 贺淑东

权利要求书1页 说明书12页 附图2页

(54) 发明名称

用于眼部给药的半氟化化合物

(57) 摘要

本发明涉及用于眼部给药的半氟化化合物，具体涉及包含以通式 $\text{CF}_3 - (\text{CF}_2)_n - \text{CH}(\text{CH}_3) - (\text{CH}_2)_m - \text{CH}_3$ 表征的半氟化化合物的眼用组合物，其中 n 是选自3至5的整数，且 m 是选自1至5的整数。本发明还提供所述组合物作为药物局部施用于眼的用途，以及一种试剂盒，其包含所述组合物和容器，所述容器包括分配装置，例如滴管。

1. 一种眼用组合物,其包含由以下通式表征的化合物:
$$\text{CF}_3 - (\text{CF}_2)_n - \text{CH}(\text{CH}_3) - (\text{CH}_2)_m - \text{CH}_3$$
其中n是选自3至5的整数,且m是选自1至5的整数。
2. 根据权利要求1所述的组合物,其中n为5且m为5,或其中n为3且m为2。
3. 根据权利要求1或2中任一项所述的组合物,其为液体形式并且包含基于所述组合物总重量计至少1重量%的所述化合物,特别是1重量%至5重量%的所述化合物。
4. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其被配制为透明液体溶液。
5. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其基本上不含:
 - (a) 聚合物,
 - (b) 全氟化化合物,和/或
 - (c) 不是半氟化烷烃的溶解的药理活性成分。
6. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其在环境温度和压强下的动态粘度不超过10mPa • s,并且优选不超过4mPa • s。
7. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其基本上由所述化合物和任选的一种或多种亲脂性液体组分组成。
8. 根据前述权利要求中任一项所述的组合物,其用作药物。
9. 根据权利要求8所述的组合物,其中所述组合物局部施用于泪囊内、下眼睑内、眼睛表面或眼组织。
10. 根据权利要求8或9所述的组合物,其用于治疗干眼病(干燥性角膜结膜炎)和/或睑板腺功能障碍或与其相关的症状或病症。

用于眼部给药的半氟化化合物

[0001] 相关申请

[0002] 本申请为2016年9月29日提交的、发明名称为“用于眼部给药的半氟化化合物”、申请号为201680056178.5的中国发明专利申请的分案申请。

技术领域

[0003] 本发明属于半氟化化合物、其组合物、以及它们作为特别用于眼部给药的药物的用途的领域。

背景技术

[0004] 半氟化烷烃是包含至少一种非氟化烃链段和至少一种全氟化烃链段的化合物。描述了通式为 $\text{CF}_3(\text{CF}_2)_n(\text{CH}_2)_m\text{CH}$ 的直链、非支化半氟化烷烃，其中n和m是表示各个链段的碳原子数的整数，以用于各种应用，例如商业上用于展开和重新涂覆视网膜，作为玻璃体液替代物的长期填充物(H.Meinert et al., European Journal of Ophthalmology, Vol.10 (3), pp.189-197, 2000)，以及作为在玻璃体视网膜手术后的残余硅油的洗出液。

[0005] 式 $\text{CF}_3(\text{CF}_2)_n(\text{CH}_2)_m\text{CH}_3$ 的半氟化烷烃在其他申请中有描述。

[0006] W02011/073134公开了在式 $\text{CF}_3(\text{CF}_2)_n(\text{CH}_2)_m\text{CH}_3$ 的半氟化烷烃中的环孢素溶液，任选存在例如乙醇之类的共溶剂，其中半氟化烷烃用作作用于环孢素的液体药物递送载体，以用于局部治疗干燥性角膜结膜炎。

[0007] W02014/041055描述了式 $\text{CF}_3(\text{CF}_2)_n(\text{CH}_2)_m\text{CH}_3$ (其可以可选地表示为 $\text{F}(\text{CF}_2)_n(\text{CH}_2)_m\text{H}$) 的半氟化烷烃的混合物。这些混合物被描述为眼上可用作泪膜替代品或用于治疗患有干眼症和/或睑板腺功能障碍的患者。

[0008] 常用于具有线性和无支化链段的半氟化化合物的命名是 FnHm ，其中F表示全氟化烃链段，H表示非氟化链段，n和m定义相应链段的碳原子数。例如， F_3H_3 用于全氟丙基丙烷 $\text{CF}_3(\text{CF}_2)_2(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$ ，即1-全氟丙基丙烷。

[0009] 但是，通式 $\text{CF}_3-(\text{CF}_2)_n-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_m-\text{CH}_3$ 的半氟化烷烃尚未被描述，特别尚未被描述用于眼应用。因此，本发明的一个目的是提供这样的化合物，特别是在它们在组合物中的用途方面，特别是在眼应用领域中的用途。

发明内容

[0010] 在第一方面，本发明涉及包含以通式 $\text{CF}_3-(\text{CF}_2)_n-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_m-\text{CH}_3$ 表征的半氟化化合物的组合物，其中n是选自3至5的整数，且m是选自1至5的整数。优选地，这些组合物为液体形式，其中所述组合物包含至少1重量%，特别是1重量%至5重量%的以 $\text{CF}_3-(\text{CF}_2)_n-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_m-\text{CH}_3$ 表征的化合物，其中n是选自3至5的整数，m是选自1至5的整数。

[0011] 另一方面，本发明涉及包含透明液体溶液形式的所述化合物的组合物以及还涉及基本上由所述化合物和任选的一种或多种亲脂性液体组分组成的组合物。

[0012] 在又一方面，本发明提供了包含所述化合物的组合物用于治疗干眼病和/或睑板

腺功能障碍以及与其相关的任何症状或病症的用途。

[0013] 在另一方面,本发明提供了治疗干眼病和与其相关的任何症状或病症的方法,包括将所述组合物局部施用于泪囊、下眼睑内、眼睛表面或眼组织。

[0014] 在又一方面,本发明提供了一种包含本发明的组合物的试剂盒,该组合物装在容器中,该容器包含适于将所述组合物局部施用于眼或眼组织的分配装置。

附图说明

[0015] 图1是描绘了由化合物 $\text{CF}_3(\text{CF}_2)_5(\text{CH}_2)_7\text{CH}_3$ 和 $\text{CF}_3-(\text{CF}_2)_5-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}_3$ 组成的组合物的相对蒸发时间与化合物 $\text{CF}_3-(\text{CF}_2)_5-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}_3$ 在所述组合物中的百分比的函数关系(在图中用实心圆和虚线表示),以及由化合物 $\text{CF}_3(\text{CF}_2)_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$ 和 $\text{CF}_3-(\text{CF}_2)_3-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_2-\text{CH}_3$ 组成的组合物的相对蒸发时间与化合物 $\text{CF}_3-(\text{CF}_2)_3-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_2-\text{CH}_3$ 在所述组合物中的百分比的函数关系(由图中的空心圆和虚线表示)的图。

[0016] 图2是描绘了由化合物 $\text{CF}_3(\text{CF}_2)_5(\text{CH}_2)_7\text{CH}_3$ 和 $\text{CF}_3-(\text{CF}_2)_5-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}_3$ 组成的组合物的测得的折射率与化合物 $\text{CF}_3-(\text{CF}_2)_5-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}_3$ 在所述组合物中的百分比的函数关系的图。

[0017] 图3是描绘了由化合物 $\text{CF}_3(\text{CF}_2)_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$ 和 $\text{CF}_3-(\text{CF}_2)_3-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_2-\text{CH}_3$ 组成的组合物的测得的折射率与化合物 $\text{CF}_3-(\text{CF}_2)_3-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_2-\text{CH}_3$ 在所述组合物中的百分比的函数关系的图。

[0018] 图4是代表包含 $\text{CF}_3(\text{CF}_2)_5(\text{CH}_2)_7\text{CH}_3$ 和 $\text{CF}_3-(\text{CF}_2)_5-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}_3$ 的组合物、透明质酸标准参比物和0.01%BAC阳性对照的离体眼刺激试验(EVEIT)比较的三天过程中角膜糜烂尺寸测量值(mm^2)的示意图。

具体实施方式

[0019] 在第一方面,本发明涉及以通式 $\text{CF}_3-(\text{CF}_2)_n-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_m-\text{CH}_3$ 表征的半氟化化合物,其中n是选自3至5的整数,m是从1到5中选择的整数。

[0020] 特别优选的式 $\text{CF}_3-(\text{CF}_2)_n-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_m-\text{CH}_3$ 的化合物是其中n是5并且m是5的那些(即式 $\text{CF}_3-(\text{CF}_2)_5-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}_3$)或其中n是3或m是2的那些(即式 $\text{CF}_3-(\text{CF}_2)_3-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_2-\text{CH}_3$)。其他优选的化合物包括 $\text{CF}_3-(\text{CF}_2)_3-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_3-\text{CH}_3$, $\text{CF}_3-(\text{CF}_2)_3-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}_3$, $\text{CF}_3-(\text{CF}_2)_5-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_1-\text{CH}_3$,和 $\text{CF}_3-(\text{CF}_2)_5-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_3-\text{CH}_3$ 。

[0021] 替代地,本发明的化合物也可以通常称为2-全氟烷基烷烃,例如,基于烷烃作为词根(root),化合物 $\text{CF}_3-(\text{CF}_2)_5-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}_3$ 也可以被称为2-全氟己基辛烷。

[0022] 这些化合物在2-烷基位置具有立体中心。如本文所理解,所述通式包括两种对映异构体、所述两种对映异构体的富集混合物以及外消旋混合物。

[0023] 已经发现如上所定义的化合物提供了许多意想不到的优点,如下所述。当作为组合物提供时,它们是特别有用的,例如用于医疗应用,特别是用于局部给药,例如局部给药。

[0024] 本发明涉及包含如上定义的以通式 $\text{CF}_3-(\text{CF}_2)_n-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_m-\text{CH}_3$ 表征的这些半氟化化合物的组合物,优选为液体形式,例如配制成以液体溶液施用。在任选的实施方式中,组合物可以配制成作为凝胶、悬浮液、微乳液或喷雾剂施用。优选地,组合物以无菌形式

提供。

[0025] 在特别优选的实施方式中,包含以通式 $\text{CF}_3-(\text{CF}_2)_n-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_m-\text{CH}_3$ (其中n是选自3至5的整数,m是选自1到5的整数)表征的半氟化化合物的组合物是液体形式,并且包含基于所述组合物的总重量计至少1重量%的所述化合物,特别是1重量%到5重量%的所述化合物。在其他实施方式中,所述组合物可包含基于组合物的总重量计约3重量%至5重量%,或约5重量%至10重量%,或至多25重量%的所述化合物。

[0026] 在一优选的实施方式中,如上定义的组合物配制成透明液体溶液。在这种情况下,透明意味着不存在导致混浊的分散的固体或液体颗粒。换句话说,这种透明溶液是一种纯的单相液体体系,只是可能存在少量和技术上不相关含量的微粒杂质。

[0027] 此外,该组合物优选配制成在室温(RT)下显示出与水的1.333的折射率接近的折射率的液体溶液。在特别优选的实施方式中,通过折射计测定,液体溶液在20℃下的折射率在约1.30至约1.35的范围内。

[0028] 如上所定义的组合物还可以根据需要或可用性包含其它赋形剂,例如一种或多种酸、碱、电解质、缓冲剂、溶质、抗氧化剂、稳定剂,以及如果需要的话,包含防腐剂。在一个优选的实施方式中,如上定义的组合物基本上不含水和/或基本上不含防腐剂,防腐剂如苯扎氯铵(benzalkonium chloride)。

[0029] 在另一个优选的实施方式中,本发明的组合物配制为基本上不含以下成分的透明液体溶液:(a) 聚合物,(b) 全氟化合物,和/或(c) 不是半氟化烷烃的溶解的药理活性成分。在另一实施方式中,如本文所述的组合物可以基本上不含任何形式的药理活性成分并且其不是半氟化烷烃。

[0030] 如本文所理解的,关于组合物组分的术语“基本上不含”是指所述组分的存在量不超过痕量,并且如果以痕量存在,则组分对组合物不提供技术贡献。

[0031] 在本发明组合物中优选不存在的聚合物的示例包括硅氧烷聚合物(聚合硅氧烷)、聚醚聚合物和其氟化或全氟化衍生物。

[0032] 全氟化合物(即所有氢原子被氟取代并且在本发明的组合物中优选不存在的化合物)的示例包括全氟烷烃,如全氟萘烷,以及卤代全氟烷烃,如全氟辛基溴。

[0033] 处于透明液体溶液形式的本发明的组合物也基本上不含溶解的药理学活性成分(其不是半氟化烷烃)。如本文所使用的,术语“药理学活性成分”是指任何类型的药物活性化合物或药物,即产生药理作用并因此可用于预防、诊断、稳定化、治疗或一般来说可用于治理病情或疾病的药物活性化合物或药物。

[0034] 然而,本发明的化合物以及包含它们的组合物即使不含其它药理学活性成分,在给药部位也具有有益的治疗效果。

[0035] 在进一步优选的实施方式中,本发明的组合物基本上由通式 $\text{CF}_3-(\text{CF}_2)_n-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_m-\text{CH}_3$ (其中n是选自3至5的整数,m是选自1至5的整数)所表征的化合物和任选的一种或多种亲脂性液体组分组成。在一个具体的实施方式中,组合物基本上由化合物 $\text{CF}_3-(\text{CF}_2)_5-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}_3$ 或 $\text{CF}_3-(\text{CF}_2)_3-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_2-\text{CH}_3$ 、或其混合物、以及任选的一种或多种亲脂性液体成分组成。

[0036] 如本文所使用的,术语“基本上由...组成”是所谓的封闭式语言,意思是仅存在所提及的成分。相反,术语“包括”、“包含”和“含有”在本文中被用作所谓的开放式语言,这意

味着还可能存在其他成分。

[0037] 任选的亲脂性液体组分优选为基本上非水溶性和/或非水混溶性赋形剂,例如油性赋形剂,如脂质、甘油三酯油和任何其他眼睛生理学耐受的油或如例如属于通式 $\text{CF}_3(\text{CF}_2)_n(\text{CH}_2)_m\text{CH}_3$ 的类别中的其它半氟化烷烃,其中n和m独立地选自3至8的整数,例如, $\text{CF}_3(\text{CF}_2)_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$ 或 $\text{CF}_3(\text{CF}_2)_5(\text{CH}_2)_7\text{CH}_3$ 。

[0038] 这种亲脂性液体成分可以基于组合物的总重量计,以组合物的至多约25重量%或至多约50重量%、或75重量%或90重量%、95重量%或97重量%的量存在于所述组合物中。

[0039] 在进一步优选的实施方式中,根据本发明所述的组合物包含 $\text{CF}_3-(\text{CF}_2)_5-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}_3$ 和 $\text{CF}_3-(\text{CF}_2)_5-(\text{CH}_2)_7-\text{CH}_3$;或包括 $\text{CF}_3-(\text{CF}_2)_3-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_2-\text{CH}_3$ 和 $\text{CF}_3-(\text{CF}_2)_3-(\text{CH}_2)_4-\text{CH}_3$,或基本上由 $\text{CF}_3-(\text{CF}_2)_5-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}_3$ 和 $\text{CF}_3-(\text{CF}_2)_5-(\text{CH}_2)_7-\text{CH}_3$ 组成;或基本上由 $(\text{CF}_2)_3-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_2-\text{CH}_3$ 和 $\text{CF}_3-(\text{CF}_2)_3-(\text{CH}_2)_4-\text{CH}_3$ 组成。

[0040] 如上定义的组合物优选配制成具有在标准环境温度和压强(25℃,1大气压)下测定的动态粘度不超过10mPa·s,并且优选不超过4mPa·s。优选地,组合物具有1mPa·s至4mPa·s的动态粘度。组合物的粘度可以使用本领域已知的任何标准粘度计装置来测定,例如使用玻璃管或毛细管粘度计测定。

[0041] 本文所述的以通式 $\text{CF}_3-(\text{CF}_2)_n-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_m-\text{CH}_3$ (其中n是选自3-5的整数,m是选自1-5的整数)表征的化合物及其组成可用于医学应用,特别是用于眼科学,特别是局部施用于眼,例如施用于泪囊,施用于下眼睑内,施用于眼睛表面或施用于与眼球相关的可用于局部给药的任何眼组织或解剖结构。

[0042] 特别地,本发明的化合物在治疗疾病和病症中使用是有益的,其将受益于泪膜和泪膜脂质层的稳定化和眼睛表面润滑。因此,本发明的组合物特别适用于治疗干眼病(干燥性角膜结膜炎)和/或睑板腺功能障碍(MGD)及其任何症状或与之相关的任何症状。

[0043] 干眼症也称为干燥性角膜结膜炎,可分为两类,即缺水性干眼病和蒸发性干眼病。这些病症不一定是相互排斥的。在患有干燥综合征的患者或患有泪腺功能不全、泪道阻塞或反射性分泌不足的患者中通常会观察到缺水性干眼症。另一方面,蒸发性干眼病具有不同的根本原因,并且与泪膜增加的/异常的蒸发损失有关,例如是由于睑板腺疾病、眼睑孔径疾病、眨眼疾病或眼表疾病。

[0044] 干眼病的症状包括眼睛干燥、发痒、沙粒(gritty,sandy)或异物感;疼痛、酸痛、刺痛或灼痛;瘙痒、对眨眼的的需求增加、眼睛疲劳、畏光、视力模糊、眼部组织发红和发炎、过多粘液排出和结痂/凝结、隐形眼镜不耐受、以及过度反射流泪。

[0045] 睑板腺功能不全(MGD)是指睑板腺不能分泌足够的油,或油性分泌物质量差或异常时的病况。通常情况下,油腺开口可能会阻塞和堵塞,从而导致腺体分泌的油较少。从腺体分泌的油可能是颗粒状(硬皮)或其他异常,并且可能会刺激眼睛。在早期阶段,患者通常无症状,但如果不及时治疗,MGD可引起或加重干眼症状和眼睑炎症。油腺由于分泌物变稠而堵塞。长期堵塞的腺体最终变得无法分泌油脂,这可能导致泪膜永久性变化和眼睛干涩。

[0046] 睑板腺功能障碍的症状包括干燥、灼痛、瘙痒、粘腻/结痂、流泪(watering)、光敏感、红眼、异物感、霰粒肿/麦粒肿或间歇性模糊视力。

[0047] 在本发明的优选实施方式中,如上所述的化合物及其组合物用于蒸发性干眼病和/或睑板腺功能障碍的局部眼治疗,并减轻与其相关的任何一种症状。

[0048] 在本发明的一个实施方式中,眼用组合物包含以通式 $\text{CF}_3-(\text{CF}_2)_n-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_m-\text{CH}_3$ 表征的半氟化化合物,其中n是选自3至5的整数,m是选自1至5的整数;或优选地,其中n是5且m是5(即式 $\text{CF}_3-(\text{CF}_2)_5-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}_3$),或者其中n是3且m是2(即式 $\text{CF}_3-(\text{CF}_2)_3-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_2-\text{CH}_3$),其用于治疗干眼病(干燥性角膜结膜炎)或与之相关的症状。在另一实施方式中,这种组合物可以用于治疗睑板腺功能障碍或与之相关的症状。

[0049] 在进一步的实施方式中,这些病症的治疗优选通过施用给有需要的患者有效量的组合物的方法来进行,所述组合物基本上由所述半氟化烷烃和任选的一种或多种亲脂性液体组分组成,所述亲脂性液体组分优选基本上是非水溶性和/或非水溶性赋形剂,例如油性赋形剂,如脂质、甘油三酯油和任何其它眼睛生理学耐受的油,或其他半氟化烷烃,如其属于通式 $\text{CF}_3(\text{CF}_2)_n(\text{CH}_2)_m\text{CH}_3$ 的类型,其中n和m独立地选自3至8的整数,例如 $\text{CF}_3(\text{CF}_2)_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$ 或 $\text{CF}_3(\text{CF}_2)_5(\text{CH}_2)_7\text{CH}_3$ 。

[0050] 在本发明进一步优选的实施方式中,如上所述的化合物及其组合物用于角膜损伤的局部眼治疗。因此,所述化合物和组合物正在积极支持角膜损伤(例如角膜糜烂)的角膜愈合过程。

[0051] 上述化合物在根据本发明使用的背景中的优点被认为涉及它们的特别适用于眼应用的性质。本发明化合物的折射率与水的折射率非常接近意味着在给药后对患者视力的影响会没有或最小,与基于油性载体的在给药时可能导致视力模糊的眼用组合物不同。这些化合物的通常低粘度和低表面张力以及尤其是它们的高润湿和铺展能力还确保了它们被迅速地容纳并适应于在眼睛表面上的给药。

[0052] 如下面的实施例中将更清楚地表明,发现这些化合物及其组合物是生物相容的并且不显示明显的细胞毒性作用。此外,已经证实,所述化合物及其组合物不仅在眼睛中具有良好的耐受性,而且还以缓解具有与干眼病和/或睑板腺功能障碍相关的轻度至中度症状的患者症状的形式在眼部润滑和泪膜稳定方面提供有益效果。患有干眼症和/或功能失调的睑板腺的患者经常表达不透明和较厚的睑板,这可能导致泪膜中的异常脂质层。不希望受理论束缚,相信本发明的化合物的物理化学属性可以在稳定泪膜的脂质层中起作用,例如通过溶解某些脂质组分或改善脂质层的流动性来实现。

[0053] 另一方面,本发明提供治疗干眼病和与其相关的任何症状或病症的方法,包括将本发明的组合物局部施用于泪囊,施用于下眼睑内,施用于眼睛表面或施用于眼部组织。优选地,所述组合物可以每天施用于眼或眼组织最多四次。

[0054] 此外,本发明提供了一种试剂盒,其包含如上所述的任何一种组合物和用于容纳所述组合物的容器。所述容器优选包括适于将组合物局部施用至眼囊,下眼睑至眼部或眼部组织的分配装置,如滴眼管。

[0055] 在进一步优选的实施方式中,分配装置包括一定尺寸的滴管,以便分配体积为约8 μL 至15 μL 的液滴,优选体积为约8 μL -12 μL ,更优选体积为约10 μL 的液滴。在小液滴体积的情况下,可以实现对眼睛的精确剂量给药,并且可以避免给药后从眼中过量排出所述组合物的大部分。

[0056] 项1.一种眼用组合物,其包含由以下通式表征的化合物:

[0057] $\text{CF}_3-(\text{CF}_2)_n-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_m-\text{CH}_3$

[0058] 其中n是选自3至5的整数,且m是选自1至5的整数。

- [0059] 项2.根据项1所述的组合物,其中n为5且m为5,或其中n为3且m为2。
- [0060] 项3.根据项1或2中任一项所述的组合物,其为液体形式并且包含基于所述组合物总重量计至少1重量%的所述化合物,特别是1重量%至5重量%的所述化合物。
- [0061] 项4.根据前述项中任一项所述的组合物,其被配制为透明液体溶液。
- [0062] 项5.根据前述项中任一项所述的组合物,其基本上不含:
- [0063] (a) 聚合物,
- [0064] (b) 全氟化化合物,和/或
- [0065] (c) 不是半氟化烷烃的溶解的药理活性成分。
- [0066] 项6.根据前述项中任一项所述的组合物,其在环境温度和压强下的动态粘度不超过10mPa • s,并且优选不超过4mPa • s。
- [0067] 项7.根据前述项中任一项所述的组合物,其基本上由所述化合物和任选的一种或多种亲脂性液体组分组成。
- [0068] 项8.根据前述项中任一项所述的组合物,其用作药物。
- [0069] 项9.根据项8所述的组合物,其中所述组合物局部施用于泪囊内、下眼睑内、眼睛表面或眼组织。
- [0070] 项10.根据项8或9所述的组合物,其用于治疗干眼病(干燥性角膜结膜炎)和/或睑板腺功能障碍或与其相关的症状或病症。
- [0071] 项11.根据项8至10中任一项所述的组合物,其用于治疗角膜损伤。
- [0072] 项12.一种试剂盒,其包含根据项1至7中任一项所述的眼用组合物和用于容纳所述组合物的容器,其中所述容器包括适于将所述组合物局部施用至泪囊、下眼睑内、眼睛表面或眼组织的分配装置。
- [0073] 项13.根据项12所述的试剂盒,其中,所述分配装置包括滴管尺寸,以便分配体积为8μL至15μL的液滴。
- [0074] 实施例
- [0075] $\text{CF}_3 - (\text{CF}_2)_5 - \text{CH}(\text{CH}_3) - (\text{CH}_2)_5 - \text{CH}_3$ (2-全氟己基-辛烷, $\text{C}_{14}\text{F}_{13}\text{H}_{17}$) 的制备
- [0076] 化合物 $\text{CF}_3 - (\text{CF}_2)_5 - \text{CH}(\text{CH}_3) - (\text{CH}_2)_5 - \text{CH}_3$ 可以如下制备:在自由基引发剂的存在下,将全氟己基碘与1-辛烯进行自由基加成(本文将全氟己基碘与1-辛烯和为AIBN的自由基引发剂混合,并将得到的溶液在80℃下保持30分钟并冷却),然后用氢化物(即 LiAlH_4)或通过氢化(即在存在诸如Pd/C之类的催化剂的情况下的催化氢化)还原所得的碘加合物以形成2-全氟己基-辛烷,然后通过分馏纯化。如上文定义的式 $\text{CF}_3 - (\text{CF}_2)_n - \text{CH}(\text{CH}_3) - (\text{CH}_2)_m - \text{CH}_3$ 的其它化合物可以通过该一般方法类似地制备。
- [0077] $\text{CF}_3 - (\text{CF}_2)_5 - \text{CH}(\text{CH}_3) - (\text{CH}_2)_5 - \text{CH}_3$: $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400MHz): 2.17-2.33 (m, 1H, CH), 1.67-1.77 (m, 2H, CH_2), 1.25-1.40 (m, 8H, CH_2), 1.15 (d, 3H, CH_3), 0.90 (t, 3H, CH_3)。
- [0078] $\text{CF}_3 - (\text{CF}_2)_3 - \text{CH}(\text{CH}_3) - (\text{CH}_2)_2 - \text{CH}_3$ (2-全氟丁基戊烷, $\text{C}_9\text{F}_9\text{H}_{11}$) 的制备
- [0079] 化合物 $\text{CF}_3 - (\text{CF}_2)_3 - \text{CH}(\text{CH}_3) - (\text{CH}_2)_2 - \text{CH}_3$ 可以按照上述一般方法用全氟丁基碘和1-戊烯作为起始材料制备。
- [0080] $\text{CF}_3 - (\text{CF}_2)_3 - \text{CH}(\text{CH}_3) - (\text{CH}_2)_2 - \text{CH}_3$: $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 400MHz): 2.21-2.32 (m, 1H, CH), 1.68-1.74 (m, 2H, CH_2), 1.45-1.55 (m, 2H, CH_2), 1.12 (d, 3H, CH_3), 0.92 (t, 3H, CH_3)。
- [0081] 体外细胞毒性测定

[0082] 通过细胞生长抑制试验评估包含1.3重量% $\text{CF}_3-(\text{CF}_2)_5-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}_3$ 和95.8重量% $\text{CF}_3(\text{CF}_2)_5(\text{CH}_2)_7\text{CH}_3$ 的组合物的细胞毒性,所述细胞生长抑制试验预测与动物实验和高灵敏度具有良好的相关性的细胞毒性或坏死效应。

[0083] 在搅拌下通过细胞培养基(补充有10%FBS的DMEM)提取组合物约24小时。然后将所得提取物与小鼠细胞系L929细胞温育68-72小时,然后使用BCA(二辛可宁酸)测试分析蛋白质含量作为细胞毒性的量度。未观察到细胞生长或细胞裂解的抑制。

[0084] 对包含约23.7重量%的 $\text{CF}_3-(\text{CF}_2)_5-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}_3$ 和约75.6重量%F6H8的组合物进行类似的体外细胞毒性测定。

[0085] 泪膜分析研究

[0086] 在对患有轻度至中度蒸发性干眼症的患者的一项观察性研究中测试了包含98.3重量%的 $\text{CF}_3(\text{CF}_2)_5(\text{CH}_2)_7\text{CH}_3$ 和1.2重量%的 $\text{CF}_3-(\text{CF}_2)_5-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}_3$ 的组合物。将透明无色液体组合物提供于装有滴管的5ml瓶中,滴管的尺寸被设置为将每滴约10 μl 的液滴分配到眼囊中。研究排除戴隐形眼镜的患者。在获得知情同意后,建议患者每日双眼都滴入3-4滴,转换后是每日剂量为30 μl -40 μl 。随访5至7周后患者返回。在基线和5-7周的随访中收集29位患者的临床数据。

[0087] a) 泪膜分析

[0088] 在研究期间泪膜液和泪膜稳定性得到改善,这可以从Schirmer I和TFBUT的增加中看出。回顾性统计分析加强了这一观察,因为基线和随访时TFBUT的差异非常显著(配对的双侧t检验: $p=0.0026$ (右眼)和 $p=0.0006$ (左眼))。泪液渗透压没有检测到变化。

[0089] 主观干眼问卷(眼睛表面疾病指数,OSDI)显示在使用包含98.3重量%的 $\text{CF}_3(\text{CF}_2)_5(\text{CH}_2)_7\text{CH}_3$ 和1.2重量%的 $\text{CF}_3-(\text{CF}_2)_5-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}_3$ 的组合物5-7周的时间后患者的主观症状严重程度降低,这可以在随访和回顾性统计分析中的较低分数看出(配对的双侧t检验: $p<0.0001$)。

[0090]	参数	基线	随访
	Schirmer I (mm/5min) / 右眼	10.7 \pm 3.7	16.3 \pm 8.9
	TFBUT (sec)	右眼: 5.7 \pm 2.6 左眼: 5.7 \pm 2.6	右眼: 7.9 \pm 5.1 左眼: 8.6 \pm 6.0
	渗透压	315.7 \pm 12.8	311.4 \pm 14.7
	OSDI	53.9 \pm 22.5	35.8 \pm 22.9

[0091] b) 角膜染色(牛津分级方案)

[0092] 角膜荧光素染色是角膜损伤(细胞与细胞连接损失)的指标。数据显示治疗5-7周后角膜损伤减少,这可以从基线时被诊断为1或2级的患者的数量至随访时为0级的患者的数量转变中看到。与初始损害程度的这种差异具有统计学意义,如Wilcoxon符号秩检验所显示: $p=0.0013$ (右眼)和 $p=0.0041$ (左眼)。

[0093]		基线(n=29)			随访(n=28)		
		级 0	级 1	级 2	级 0	级 1	级 2
	右眼(n)	8 (1)	16	4	25	2	1
	左眼(n)	8 (1)	16	4	19	9	0

[0094] c) 医生的症状评估

[0095] 在基线和随访时医生询问患者是否目前都患有典型的干眼症状。如下表可以看出,治疗5-7周后报道了较少数量的DED相关症状。

[0096]		基线	随访
	红眼	25	9
	瘙痒	21	10
	凝结的眼睛	9	2
	粘稠粘液 (Stringy mucous)	4	1
	头疼	2	1

[0097] d) 睑脂分泌分析

[0098] 在健康的眼睛中,睑脂是从睑板腺分泌出来的透明液体。更不透明和更稠的睑脂是睑板腺功能障碍的指标。在基线和随访期间对患者的睑脂进行描述性检查。根据所获得的数据,许多情况下睑脂质量有所改善。在七个病例中,治疗诱导了可表达睑脂的减少(从透明睑脂变为无)。

[0099]		基线	随访
	透明	20	17
	发白	6	3
	稠	1	0
[0100]	无	2	9

[0101] e) 安全参数

[0102] 没有观察到视力或眼内压的变化,这表明使用包含98.3重量%的 $\text{CF}_3(\text{CF}_2)_5(\text{CH}_2)_7\text{CH}_3$ 和1.2重量%的 $\text{CF}_3-(\text{CF}_2)_5-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}_3$ 的组合物是安全的,并且不会干扰这些眼科参数。

[0103]		基线	随访
	视力	0.8 (0.7-1.0)	0.9 (0.8-1.0)
	眼内压 (mm HG)	14.9 ± 2.6	14.6 ± 3.2

[0104] 差示扫描量热法

[0105] 差示扫描量热法(DSC 1,Mettler Toledo,Greifensee,瑞士)用于表征 $\text{CF}_3(\text{CF}_2)_5-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}_3$ 和 $\text{CF}_3(\text{CF}_2)_5(\text{CH}_2)_7\text{CH}_3$ 的混合物的结构和相态特性。使用DSC通过以 $1^\circ\text{C}/\text{min}$ 的加热速率进行的升温扫描来获得关于转变的数据。使用密封的标准铝坩埚(40 μl ,Mettler Toledo)。

	重量% $\text{CF}_3\text{-(CF}_2)_5\text{-CH(CH}_3\text{)-(CH}_2)_5\text{-CH}_3$	熔化转变			
		ΔH (J/g)	开始 (°C)	峰值 (°C)	结束 (°C)
[0106]	0	-36.57	-6.33	-4.53	-2.14
	5.91	-33.36	-10.32	-7.99	-7.24
	12.03	-29.42	-13.74	-10.44	-9.58
	23.74	-24.09	-21.56	-15.38	-14.17
	重量% $\text{CF}_3\text{(CF}_2)_5\text{-CH(CH}_3\text{)-(CH}_2)_5\text{-CH}_3$	低温转变			
		ΔH (J/g)	开始(°C)	峰值(°C)	结束(°C)
[0107]	0	-0.69	-45.47	-40.37	-38.32
	5.91	-0.56	-50.61	-45.77	-42.93
	12.03	-0.44	-55.18	-48.58	-45.53
	23.74	-0.19	-60.75	-54.39	-52

[0108] 在 $\text{CF}_3(\text{CF}_2)_5-(\text{CH}_2)_7-\text{CH}_3$ (F6H8) 的混合物中存在 $\text{CF}_3(\text{CF}_2)_5-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}_3$ 导致熔融温度显著降低。熔化焓也降低,这表明该半氟化烷烃不结晶。这种差异对于将该化合物作为眼泪替代品或润滑剂应用于眼睛将具有有益效果;例如就其与泪膜脂质层混合和调节泪膜脂质层的能力而言。此外,通过改变加入到眼用组合物中的化合物的量可以有利地调节这种效果。

[0109] 还进行了23.74wt%的 $\text{F}_3(\text{CF}_2)_5-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}_3$ 和 $\text{CF}_3(\text{CF}_2)_5(\text{CH}_2)_7\text{CH}_3$ 与十四烷(C14)的一系列混合物的DSC测量。利用升温扫描(加热速率0.2°C/min、0.5°C/min和1°C/min)获得转换数据。使用外推到0°C/分钟的加热速率来确定结束温度,而使用来自三次测量的平均值来确定开始温度。与十四烷和纯 $\text{CF}_3(\text{CF}_2)_5(\text{CH}_2)_7\text{CH}_3$ 的混合物相比,观察到熔化焓降低,这表明一些十四烷溶解在 $\text{CF}_3(\text{CF}_2)_5-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}_3$ 的液体部分中,并且该化合物与 $\text{CF}_3(\text{CF}_2)_5(\text{CH}_2)_7\text{CH}_3$ 相比具有更强的增溶能力。

[0110] 折射率和蒸发时间。

[0111] 评估了半氟化烷烃 $\text{CF}_3(\text{CF}_2)_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$ (F4H5) 和 $\text{CF}_3-(\text{CF}_2)_3-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_2-\text{CH}_3$ 的混合物的蒸发时间。室温下将每种混合物10 μL 体积的液滴置于玻璃表面上。通过视频监测记录直到蒸发的时间。

样 本	$\text{CF}_3(\text{CF}_2)_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$ / %	$\text{CF}_3\text{-(CF}_2)_3\text{-CH(CH}_3\text{)-(CH}_2)_2\text{-CH}_3$ / %	蒸发时间/s	相对蒸发时间
[0112]	1	99.95	304	1.00
	2	96.85	302	0.998
	3	0.00	322	1.064

[0113] 观察到增加量的化合物 $\text{CF}_3-(\text{CF}_2)_3-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_2-\text{CH}_3$ 似乎增加了混合物的蒸发时间(参见图1)。

[0114] 类似地评估半氟化烷烃 $\text{CF}_3(\text{CF}_2)_5(\text{CH}_2)_7\text{CH}_3$ (F6H8) 和 $\text{CF}_3(\text{CF}_2)_5-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}_3$ 的混合物的蒸发时间。

样 本	$\text{CF}_3(\text{CF}_2)_5(\text{CH}_2)_7\text{CH}_3$ / %	$\text{CF}_3(\text{CF}_2)_5-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}_3$ / %	蒸发时间/s	相对蒸发时间
1	99.84	0.16	13260	1
2	96.53	3.05	12960	0.97
3	26.3	64.1	9960	0.75

[0116] 相比而言,出乎意料地观察到半氟化烷烃 $\text{CF}_3(\text{CF}_2)_5-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}_3$ 的百分比增加显著降低了混合物的蒸发时间(参见图1)。

[0117] 因此,取决于由通式 $\text{CF}_3-(\text{CF}_2)_n-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_m-\text{CH}_3$ 表征的化合物,其中n是选自3至5的整数,m是选自1至5的整数,以及存在于混合物中的量,可以将组合物调整并微调至预期的眼用途的要求,例如延长或减少组合物在眼睛表面上的停留时间。

[0118] 还测定了混合物的折射率。对于局部施用的眼用组合物,所述组合物的折射率应该优选类似于或者调整至眼睛或晶状体的折射率,例如尽可能接近生理性泪液的折射率。如果组合物的折射率不相似,则当施用于眼睛表面时,患者可能会出现模糊或视力受损。观察到化合物 $\text{CF}_3(\text{CF}_2)_5-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}_3$ 的量或对折射率有影响。图2描绘了随着2-全氟己基辛烷在与1-全氟己基辛烷的混合物中的含量的增加,折射率值增大。图3同样描绘了随着2-全氟丁基戊烷在与1-全氟丁基戊烷的混合物中的含量增加,折射率值增大。

[0119] 通过改变在混合物中的这些化合物的量,例如以通式 $\text{CF}_3-(\text{CF}_2)_n-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_m-\text{CH}_3$ 表征的化合物的量,其中n是选自3至5的整数,m是选自1至5,将组合物调整至预期的眼用途的要求也是可行的,例如调整至由于眼睛状况和/或年龄而具有改变了泪液组成和折射率的患者。

[0120] 离体眼刺激试验 (EVEIT)

[0121] 对于包含 $\text{CF}_3(\text{CF}_2)_5(\text{CH}_2)_7\text{CH}_3$ 的两种组合物,即由半氟化烷烃 $\text{CF}_3(\text{CF}_2)_5(\text{CH}_2)_7\text{CH}_3$ 和 $\text{CF}_3(\text{CF}_2)_5-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}_3$ 的混合物组成的组合物(具有0.17重量%的 $\text{CF}_3(\text{CF}_2)_5-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}_3$ 的组合物A和具有64重量%的 $\text{CF}_3(\text{CF}_2)_5-\text{CH}(\text{CH}_3)-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}_3$ 的组合物B),使用透明质酸(HYLO-COMOD®)作为参比物,使用0.01%BAC(苯扎氯铵)作为阳性对照,使用与在M.Frentz et al, Altern.to Lab. Anim., 2008 (36) p 25-32; 和N.Schrage et al, Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 2012 (250), 1330-1340)中所描述的类似的离体眼刺激试验(EVEIT)比较角膜愈合过程。

[0122] 方法。获得兔角膜并置于人造眼前房中,其被轻轻地充满含Earle's盐和营养用HEPES缓冲液的无血清最小必需培养介质(Eagle's MEM)。该介质由微型泵持续补充以模仿眼睛的生理状况。将培养室保持在32°C的正常空气中,没有补充的 CO_2 和>95%的相对湿度。除了测试两个角膜(n=2)的阳性对照外,使用五个角膜(n=5)/测试物质。

[0123] 在培养室中稳定12小时后,通过显微镜评估角膜,并选择具有完整上皮并且没有混浊的角膜。用角膜钻在选定的角膜的表面上施加四个小的擦伤(2.3-4.3mm²)。通过荧光素钠染色(0.17%水溶液)和显微镜监测所有缺陷。

[0124] 在诱导角膜糜烂后1小时施用测试物质,并且每天施用六次到角膜的顶端(每四小时30-50μL)。在培养室内角膜巩膜区域的最下部放置进行连续抽吸的软顶套管以除去任何

多余的流体。应用3天后终止实验。使用相差显微镜集成照相机 (KY-F1030U, JVC, (Bad Vilbel, DE) 安装在Z16 APO显微镜 (Wetzlar, DE) 上) 每日拍摄角膜的生物显微图像以记录角膜愈合过程。通过荧光素钠染色 (0.17%水溶液) 监测所有缺陷, 黄绿色荧光表示上皮缺陷的区域。使用显微镜 (DISKUS) 的软件工具确定糜烂尺寸。在3天结束时, 终止实验并将所有角膜固定在3.7%甲醛中并用苏木精-伊红染料染色以用于显微评估。为了监测角膜的代谢活性, 在来自所述人造前房的流出介质中对葡萄糖和乳酸盐浓度进行光度定量。

[0125] 结果。与标准参比物透明质酸组合物(HYLO-COMOD®)相比, 在诱导角膜糜烂后, 观察到两种半氟化烷烃混合物 (如上所述的组合物A和B) 在角膜治疗过程方面具有相似的正面作用。

[0126] 角膜糜烂尺寸测量值/平均 mm^2 (SD)

组合物	第 0 天	第 1 天	第 2 天	第 3 天
A (n=5)	12.8 (0.98)	3.018 (0.89)	0 (0)	0(0)
B (n=5)	12.23 (1.46)	3.59 (0.53)	0 (0)	0(0)
HYLO COMOD®	12.13 (1.29)	3.11 (0.76)	0.01(0.02)	0(0)
0.01% BAC	11.57 (0.86)	5.91 (0.28)	8.74 (7.6)	17.46 (6.43)

[0128] 第3天组织学观察

组合物	
A (n=5)	-所有角膜中的多层上皮和致密基质。 -角膜细胞形成良好并排列整齐, 除非从初始糜烂区域消失。 -后弹力膜 (Descemet membrane) 完整, 内皮细胞存在。
B (n=5)	-具有封闭的多层上皮细胞的治愈的上皮层。 -致密基质和规则形成的角膜细胞, 但在初始糜烂区域

	下通常减少。 -后弹力膜和内皮层存在, 没有结构缺陷
Hylo Comod® (参 比)	-除了其中角膜细胞在上基质完全丧失的初始糜烂区 外, 层状上皮和致密基质具有规则排列并形成的角膜细胞。 -后弹力膜和内皮层存在, 结构没有任何缺陷。
0.01% BAC (阳性对 照)	-表面角膜严重改变, 全角膜结构解体; 观察到明显的水肿 -背景物质的染色减少, 表明胶原蛋白发生化学变化 -角膜细胞的数量减少严重, 这些细胞也呈现圆形并且是固缩的 (pycnotic)。 -后弹力膜存在, 具有完整的内皮

[0131] 在包含占所述组合物总重量64重量%的半氟化烷烃 $\text{CF}_3(\text{CF}_2)_5\text{-CH}(\text{CH}_3)\text{-(CH}_2)_5\text{-}$

CH₃的组合物B和组合物A之间没有观察到积极的角膜愈合方面的显著差异。对于这两种组合物,与参比组合物一样,发现机械诱导的上皮糜烂显著减少并且在治疗的第2天后基本不存在。图3描绘了EVEIT实验0-3天的测试组合物、参比物和阳性对照的角膜糜烂大小测量结果。

[0132] 如上表所示,在第3天实验结束后角膜的横切面的显微组织学检查显示在用组合物A、B和参比物 **HYLO-COMOD®** 处理的角膜中没有显著的剩余缺陷或差异。

[0133] 此外,对于这些组合物,没有观察到基于葡萄糖/乳酸盐测量所指示的代谢活性的角膜毒性。

[0134] 形成鲜明对比的是,在实验的三天过程中,观察到包含0.01%防腐剂BAC的阳性对照,诱导的上皮损伤逐渐增加。

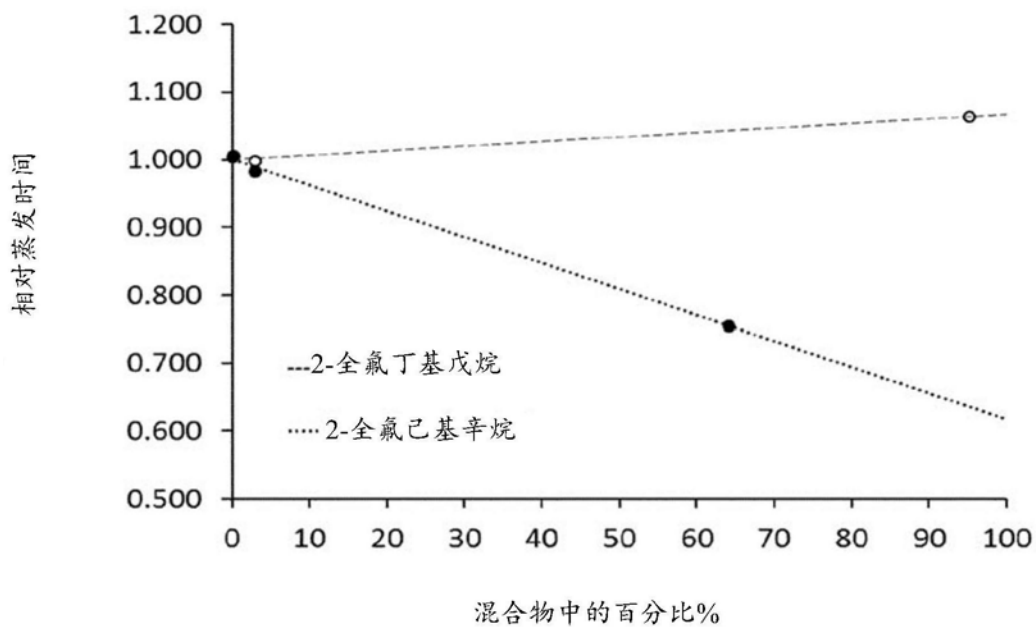


图1

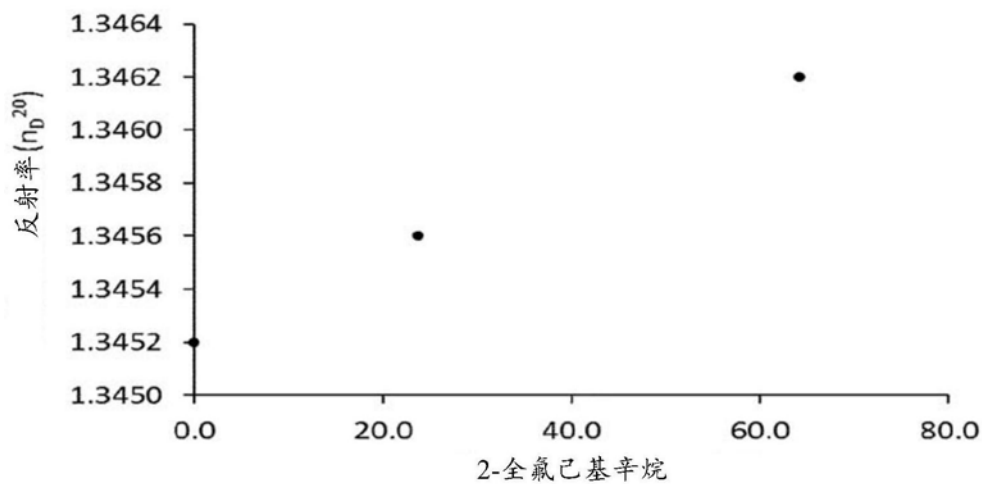


图2

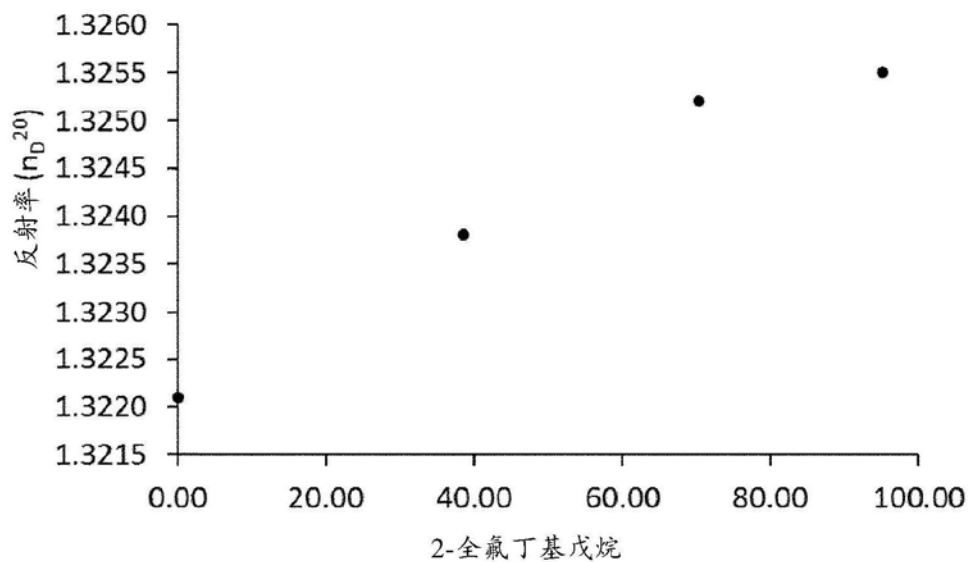


图3

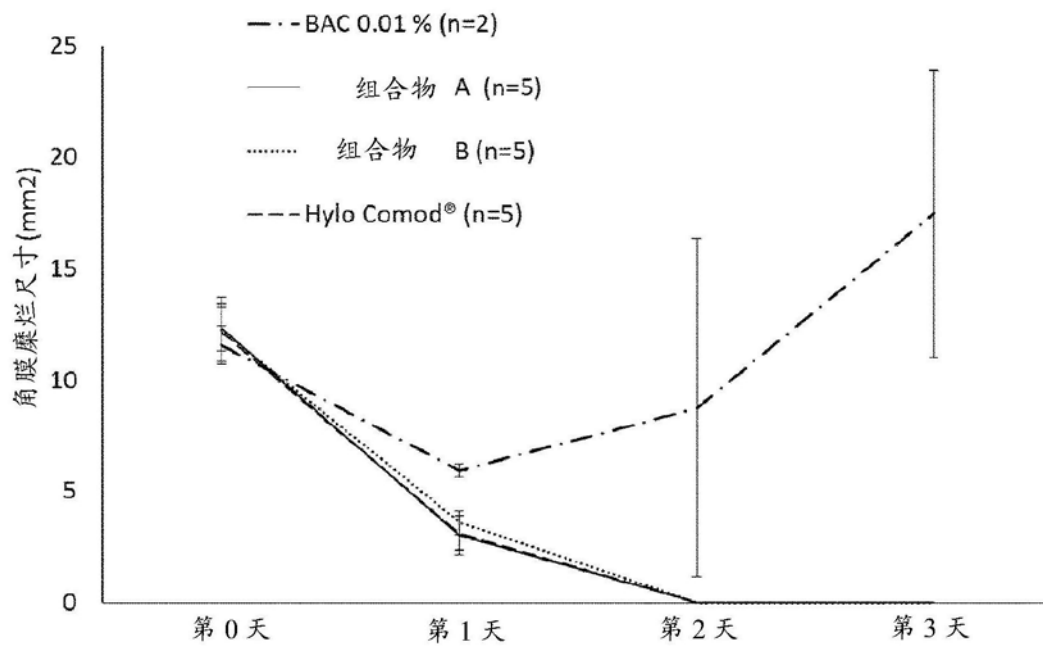


图4