



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102065694 A

(43) 申请公布日 2011. 05. 18

(21) 申请号 200980121684. 8

A61K 31/555 (2006. 01)

(22) 申请日 2009. 04. 15

(30) 优先权数据

61/045, 257 2008. 04. 15 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2010. 12. 09

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2009/002388 2009. 04. 15

(87) PCT申请的公布数据

W02009/128933 EN 2009. 10. 22

(71) 申请人 萨可德公司

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 J·伯尼尔 T·盖德克

(74) 专利代理机构 北京市金杜律师事务所

11256

代理人 陈文平 尚继栋

(51) Int. Cl.

A01N 55/02 (2006. 01)

权利要求书 9 页 说明书 74 页 附图 27 页

(54) 发明名称

用于局部治疗免疫相关疾病的雾化的 LFA-1
拮抗剂

(57) 摘要

本发明提供适于雾化给药的特定配制的 LFA-1 拮抗剂或其药用可接受的盐。具体地, 所述 LFA-1 拮抗剂由于具有快速全身清除率而特别适用于局部治疗。本发明还包括使用本发明 LFA-1 雾化制剂治疗和预防免疫相关疾病的方法。

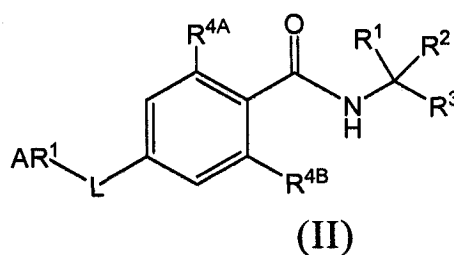
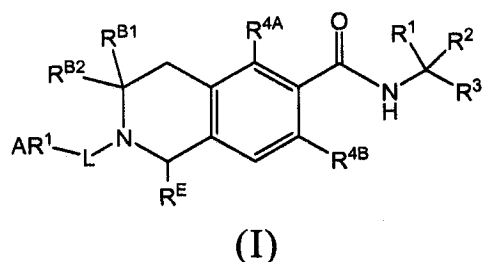
1. 含有 LFA-1 拮抗剂或其药用可接受的盐或酯以及气雾剂推进剂的药物制剂,其中当给药于受试者时,所述 LFA-1 拮抗剂的全身清除率大于约 2mL/min/kg。

2. 如权利要求 1 所述的制剂,其中当给药于受试者时,所述 LFA-1 拮抗剂在大约 30 分钟内达到大于约 1 μ M 的局部组织浓度。

3. 如权利要求 2 所述的制剂,其中当给药于受试者时,所述 LFA-1 拮抗剂的局部组织浓度在至少约 8 小时内保持在大于约 10nM 的浓度。

4. 如权利要求 1 所述的制剂,其中所述 LFA-1 拮抗剂是直接竞争性拮抗剂。

5. 如权利要求 1 所述的制剂,其中所述 LFA-1 拮抗剂含有式 I 或 II 的化合物和 / 或其药用可接受的盐或酯,具有以下结构:

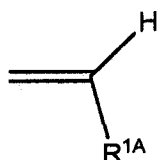


其中 R^1 和 R^2 各自独立为氢、氨基酸侧链、 $-(CH_2)_mOH$ 、 $-(CH_2)_m$ 芳基、 $-(CH_2)_m$ 杂芳基 - 其中 m 是 0-6、 $-CH(R^{1A})(OR^{1B})$ 、 $-CH(R^{1A})(NHR^{1B})$ 、U-T-Q, 或任选由 U-T-Q 取代的脂肪族、脂环族、杂脂肪族或杂脂环族部分,

其中 U 是不存在、 $-O-$ 、 $-S(O)_{0-2}-$ 、 $-SO_2N(R^{1A})-$ 、 $-N(R^{1A})-$ 、 $-N(R^{1A})C(=O)-$ 、 $-N(R^{1A})C(=O)-O-$ 、 $-N(R^{1A})C(=O)-N(R^{1B})-$ 、 $-N(R^{1A})-SO_2-$ 、 $-C(=O)-$ 、 $-C(=O)-O-$ 、 $-O-C(=O)-$ 、芳基、杂芳基、烷基芳基、烷基杂芳基、 $-C(=O)-N(R^{1A})-$ 、 $-OC(=O)N(R^{1A})-$ 、 $-C(=N-R^{1E})-$ 、 $-C(=N-R^{1E})-O-$ 、 $-C(=N-R^{1E})-N(R^{1A})-$ 、 $-O-C(=N-R^{1E})-N(R^{1A})-$ 、 $-N(R^{1A})C(=N-R^{1E})-$ 、 $-N(R^{1A})C(=N-R^{1E})-O-$ 、 $-N(R^{1A})C(=N-R^{1E})-N(R^{1B})-$ 、 $-P(=O)(OR^{1A})-O-$ 或 $-P(=O)(R^{1A})-O-$;

T 是不存在、脂肪族、杂脂肪族、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部分;以及

Q 是氢、卤素、氰基、异氰酸酯、 $-OR^{1B}$ 、 $-SR^{1B}$ 、 $-N(R^{1B})_2$ 、 $-NHC(=O)OR^{1B}$ 、 $-NHC(=O)N(R^{1B})_2$ 、 $-NHC(=O)R^{1B}$ 、 $-NHSO_2R^{1B}$ 、 $-NHSO_2N(R^{1B})_2$ 、 $-NHSO_2NHC(=O)OR^{1B}$ 、 $-NHC(=O)NHSO_2R^{1B}$ 、 $-C(=O)NHC(=O)OR^{1B}$ 、 $-C(=O)NHC(=O)R^{1B}$ 、 $-C(=O)NHC(=O)N(R^{1B})_2$ 、 $-C(=O)NHSO_2R^{1B}$ 、 $-C(=O)NHSO_2N(R^{1B})_2$ 、 $-C(=S)N(R^{1B})_2$ 、 $-SO_2R^{1B}$ 、 $-SO_2OR^{1B}$ 、 $-SO_2N(R^{1B})_2$ 、 $-SO_2-NHC(=O)OR^{1B}$ 、 $-OC(=O)-N(R^{1B})_2$ 、 $-OC(=O)R^{1B}$ 、 $-OC(=O)NHC(=O)R^{1B}$ 、 $-OC(=O)NHSO_2R^{1B}$ 、 $-OSO_2R^{1B}$ 或脂肪族、杂脂肪族、芳基或杂芳基部分,或其中 R^1 和 R^2 合起来是脂环族或杂环部分,或者合起来是



其中每次出现的 R^{1A} 和 R^{1B} 各自独立是氢、脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂环、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部分、 $-C(=O)R^{1C}$ 或 $-C(=O)NR^{1C}R^{1D}$;其中每次出现的 R^{1C} 和 R^{1D} 各自独立是氢、羟基、或脂肪族、杂脂肪族、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部分;以及 R^{1E} 是氢、脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂环、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部

分、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{OR}^{1\text{C}}$ 、 $-\text{NR}^{1\text{C}}\text{R}^{1\text{D}}$ 或 $-\text{SO}_2\text{R}^{1\text{C}}$;

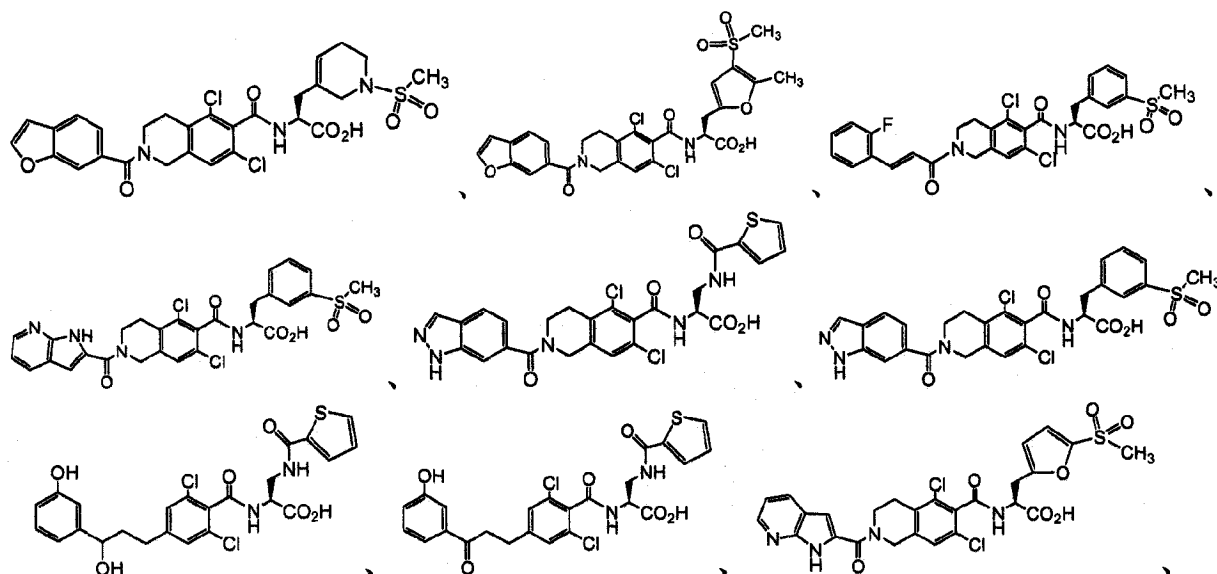
R^3 是 $-\text{C}(=\text{O})\text{OR}^{3\text{A}}$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{H}$ 、 $-\text{CH}_2\text{OR}^{3\text{A}}$ 、 $-\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})$ -烷基、 $-\text{C}(=\text{O})\text{NH}(\text{R}^{3\text{A}})$ 、 $-\text{CH}_2\text{X}^0$;
其中每次出现的 $\text{R}^{3\text{A}}$ 独立是氢、保护基、脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂脂环族、芳基、杂芳基、烷基芳基、烷基杂芳基、杂烷基芳基、杂烷基杂芳基部分,或其药用可接受的盐或酯,或者 $\text{R}^{3\text{A}}$ 和 R^1 与 R^2 合起来形成杂环部分;其中 X^0 是选自 F、Br 或 I 的卤素;

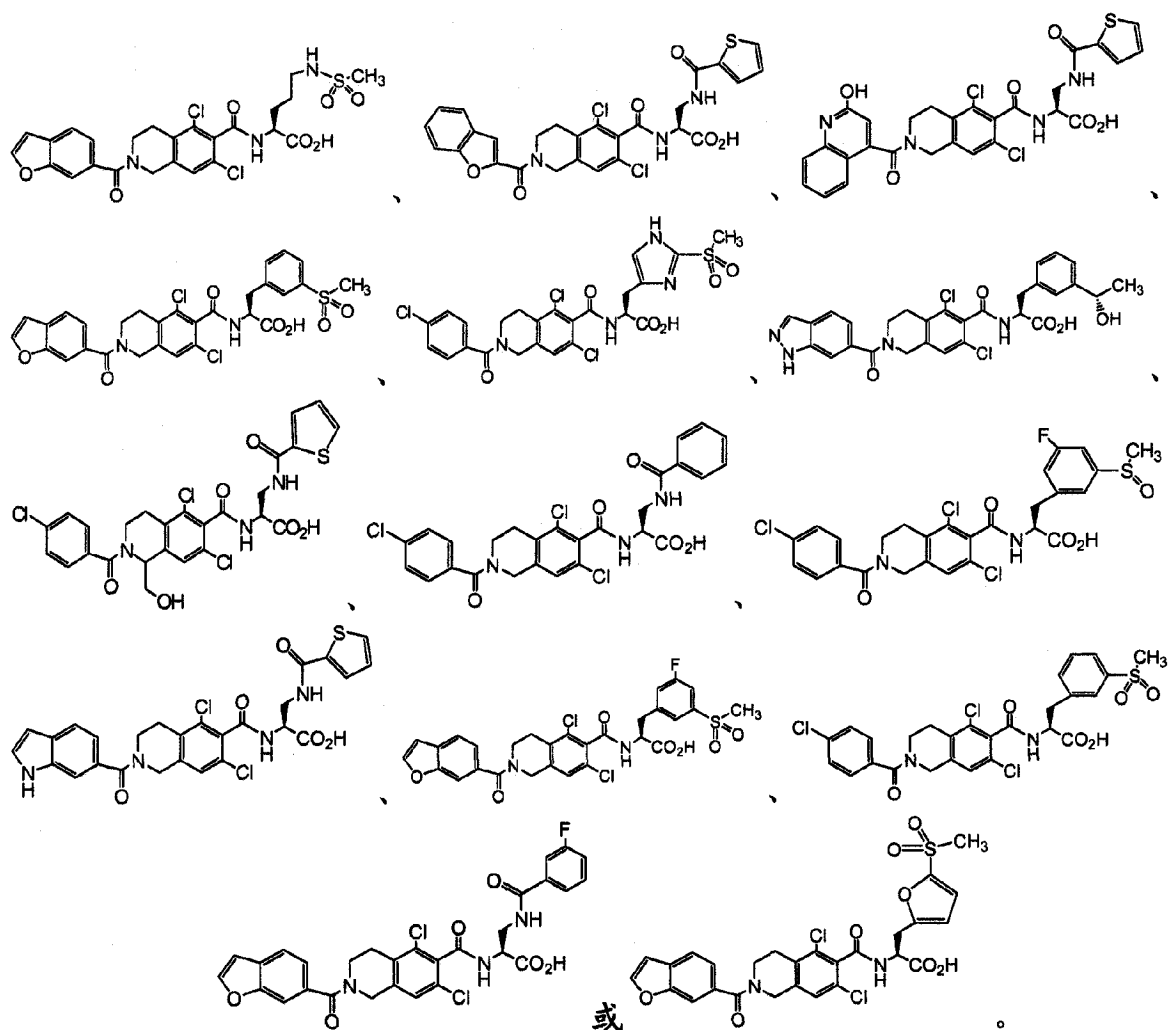
其中 $\text{R}^{4\text{A}}$ 和 $\text{R}^{4\text{B}}$ 独立代表选自 F、Cl、Br 或 I 的卤素;且 $\text{R}^{\text{B}1}$ 、 $\text{R}^{\text{B}2}$ 和 R^{F} 独立代表氢或取代或未取代的低级烷基;

AR^1 是单环或多环芳基、杂芳基、烷基芳基、烷基杂芳基、脂环族或杂环部分;以及

L 不存在或者是 V-W-X-Y-Z, 其中 V、W、X、Y 和 Z 各自独立代表不存在、 $\text{C}=\text{O}$ 、 $\text{NR}^{\text{L}1}$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{C}(\text{R}^{\text{L}1})=$ 、 $=\text{C}(\text{R}^{\text{L}1})-$ 、 $-\text{C}(\text{R}^{\text{L}1})(\text{R}^{\text{L}2})$ 、 $\text{C}(=\text{N}-\text{OR}^{\text{L}1})$ 、 $\text{C}(=\text{NR}^{\text{L}1})$ 、 $-\text{N}=\text{S}(\text{O})_{0-2}$;
取代或未取代的 C_{1-6} 亚烯基或 C_{2-6} 亚烯基链,其中最多达两个非相邻亚甲基单元任选独立被 $-\text{C}(=\text{O})-$ 、 $-\text{CO}_2-$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{C}(=\text{O})-$ 、 $-\text{C}(\text{C}(=\text{O})\text{NR}^{\text{L}3})-$ 、 $-\text{OC}(=\text{O})-$ 、 $-\text{OC}(=\text{O})\text{NR}^{\text{L}3}-$ 、 $-\text{NR}^{\text{L}3}\text{NR}^{\text{L}4}-$ 、 $-\text{NR}^{\text{L}3}\text{NR}^{\text{L}4}\text{C}(=\text{O})-$ 、 $-\text{NR}^{\text{L}3}\text{C}(=\text{O})-$ 、 $-\text{NR}^{\text{L}3}\text{CO}_2-$ 、 $\text{NR}^{\text{L}3}\text{C}(=\text{O})\text{NR}^{\text{L}4}-$ 、 $-\text{S}(=\text{O})-$ 、 $-\text{SO}_2-$ 、 $-\text{NR}^{\text{L}3}\text{SO}_2-$ 、 $-\text{SO}_2\text{NR}^{\text{L}3}$ 、 $-\text{NR}^{\text{L}3}\text{SO}_2\text{NR}^{\text{L}4}$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{S}-$ 或 $\text{NR}^{\text{L}3}-$ 代替,其中每次出现的 $\text{R}^{\text{L}3}$ 和 $\text{R}^{\text{L}4}$ 独立代表氢、烷基、杂烷基、芳基、杂芳基或酰基;或脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂脂环族、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部分;以及每次出现的 $\text{R}^{\text{L}1}$ 和 $\text{R}^{\text{L}2}$ 独立代表氢、羟基、保护羟基、氨基、保护氨基、硫代、保护硫代、卤素、氰基、异氰酸酯、羧基、羧基烷基、甲酰基、甲酰氧基、叠氮基、硝基、脲基、硫脲基、硫氰酸基、烷氧基、芳基氧基、巯基、亚磺酰氨基、苯甲酰氨基、甲磺酰基、或脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂脂环族、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部分,或其中一个或多个 $\text{R}^{\text{L}1}$ 和 $\text{R}^{\text{L}2}$ 合起来,或一个或多个 $\text{R}^{\text{L}1}$ 和 $\text{R}^{\text{L}2}$ 与 V、W、X、Y 或 Z 之一合起来形成脂环族或杂环部分或形成芳基或杂芳基部分。

6. 如权利要求 5 所述的制剂,其中所述 LFA-1 拮抗剂具有下式中的一种:





7. 如权利要求 5 或 6 所述的制剂,其中所述 LFA-1 拮抗剂是钠、钾、锂、镁、锌或钙盐。

8. 如权利要求 1 所述的制剂,其中所述 LFA-1 在浓度为约 100nM 时抑制大约 50% 或更多的 T 细胞向 ICAM-1 的粘附。

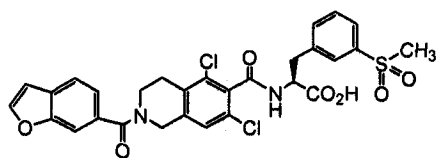
9. 如权利要求 1 所述的制剂,其中所述推进剂是氟碳化合物、烷烃气体、气态醚、含卤化物气体、稀有气体、压缩空气、惰性气体、干空气、标准空气或泡沫。

10. 如权利要求 9 的制剂,其中所述氟氯碳化合物是三氯单氟甲烷 (F11)、二氯二氟甲烷 (F12)、单氯三氟甲烷 (F13)、二氯单氟甲烷 (F21)、单氯二氟甲烷 (F22)、单氯单氟甲烷 (F31)、1,1,2-三氯-1,2,2-三氟乙烷 (F113)、1,2-二氯-1,1,2,2-四氟乙烷 (F114)、1-氯-1,1,2,2,2-五氟乙烷 (F115)、2,2-二氯-1,1,1-三氟乙烷 (F123)、1,2-二氯-1,1,2-三氟乙烷 (F123a)、2-氯-1,1,1,2-四氟乙烷 (F124)、2-氯-1,1,2,2-四氟乙烷 (F124a)、1,2-二氯-1,1-二氟乙烷 (132b)、1-氯-1,2,2-三氟乙烷 (F133)、2-氯-1,1,1-三氟乙烷 (F133a)、1,1-二氯-1-氟乙烷 (F141b) 或 1-氯-1,1-二氟乙烷 (F142b)。

11. 如权利要求 9 所述的制剂,其中所述烷烃是丙烷、丁烷、异丁烷、八氟丙烷 (F218)、二氟甲烷 (HFA32)、五氟乙烷 (HFA125)、1,1,2,2-四氟乙烷 (HFA134)、1,1,1,2-四氟乙烷 (HFA134a)、1,1,2-三氟乙烷 (HFA143)、1,1,1-三氟乙烷 (HFA143a)、二氟乙烷 (HFA152a) 或 1,1,1,2,3,3,3-七氟丙烷 (HFA227)。

12. 如权利要求 1 所述的制剂,其中所述推进剂存在的比例为 0.1 重量%到 50 重量%。

13. 如权利要求 1 所述的制剂,其中所述制剂的 pH 为 pH 4.5 到 pH7.5。
14. 如权利要求 1 所述的制剂,其还含有赋形剂。
15. 如权利要求 1 所述的制剂,其中所述赋形剂是水、缓冲水溶液、表面活性剂、挥发性液体、淀粉、多元醇、成粒剂、微晶纤维素、稀释剂、润滑剂、酸、碱、盐、乳剂、油、润湿剂、螯合剂、抗氧化剂、无菌溶液、络合剂或者崩解剂。
16. 如权利要求 15 所述的制剂,其中所述表面活性剂是油酸、氯化十六烷基吡啶、大豆卵磷脂、聚氧乙烯去水山梨醇单月桂酸酯、聚氧乙烯去水山梨醇单硬脂酸酯、聚氧乙烯去水山梨醇单油酸酯、聚氧乙烯硬脂酰醚、聚氧乙烯油基醚、聚氧乙烯-聚氧丙烯-乙二醇嵌段共聚物、聚氧丙烯-聚氧乙烯嵌段共聚物或蓖麻油乙氧基化物。
17. 如权利要求 15 所述的制剂,其中所述挥发性液体是乙醇、甲醇、异丙醇或其混合物。
18. 如权利要求 1 所述的制剂,其还含有局部渗透促进剂。
19. 如权利要求 18 所述的制剂,其中所述局部渗透促进剂是亚砷、醚、表面活性剂、醇、脂肪酸、脂肪酸酯、多元醇、酰胺、萜烯、烷酮或有机酸。
20. 如权利要求 1 所述的制剂,其中所述分散制剂的中值粒径为约 1.0 到约 5.0 μm 。
21. 如权利要求 1 所述的制剂,其还含有至少一种其他治疗剂。
22. 如权利要求 21 所述的制剂,其中所述其他治疗剂是抗氧化剂、抗炎药、抗微生物剂、抗血管生成剂、抗细胞凋亡剂、血管内皮生长因子抑制剂、抗病毒剂、钙调磷酸酶抑制剂、皮质类固醇或免疫调节剂。
23. 如权利要求 1 所述的制剂,其中该制剂是水溶液,含有约 0.4% w/w 对羟基苯甲酸甲酯;约 0.02% w/w 对羟基苯甲酸丙酯;和约 0.1% 到约 10% w/w 的 LFA-1 拮抗剂。
24. 如权利要求 6 所述的制剂,其中所述 LFA-1 拮抗剂是下式化合物:



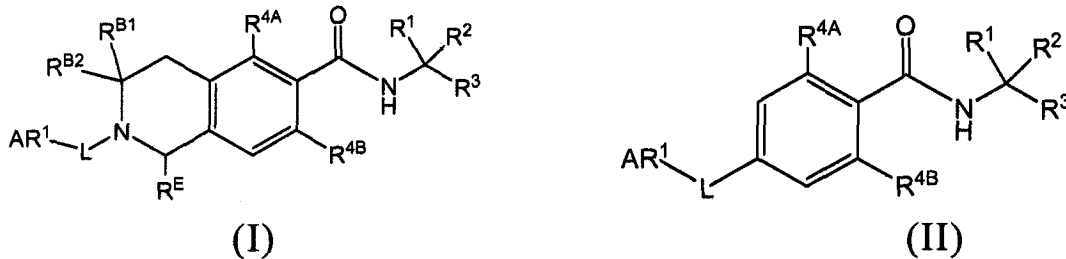
25. 如权利要求 24 所述的制剂,其中所述 LFA-1 拮抗剂是权利要求 24 所述化合物的 A 型、B 型、C 型、D 型、E 型、无定型中的任一种、或其组合。
26. 如权利要求 25 所述的制剂,其中所述 LFA-1 拮抗剂是权利要求 24 所述化合物的 A 型。
27. 用于治疗受试者的炎性或免疫相关疾病的方法,包括将含有 LFA-1 拮抗剂或其药用可接受的盐或酯和气雾剂推进剂的气雾剂给药于需要的受试者,其中当给药于受试者时,所述 LFA-1 拮抗剂的全身清除率大于约 2mL/min/kg。
28. 如权利要求 27 所述的方法,其中给药后,在给药后大约 30 分钟内,LFA-1 拮抗剂以治疗有效浓度存在于施用有该制剂的上皮表面的约 10mm 内,并且以低于治疗有效水平存在于血浆中。
29. 如权利要求 27 所述的方法,其中当给药于受试者时,所述 LFA-1 拮抗剂的局部组织浓度在给药约 30min 内大于约 10nM。
30. 如权利要求 27 所述的方法,其中当给药于受试者时,在给药后约 30min 之内,所述 LFA-1 拮抗剂的局部组织浓度大于约 1 μM ,且血浆中测得的全身浓度小于约 100nM。

31. 如权利要求 29 所述的方法, 其中当给药于受试者时, 所述 LFA-1 拮抗剂的局部组织浓度在至少大约 8 小时内保持在大于约 10nM。

32. 如权利要求 29 所述的方法, 其中所述 LFA-1 拮抗剂的局部组织浓度在施用有该制剂的上皮表面的约 10mm 内。

33. 如权利要求 27 所述的方法, 其中所述 LFA-1 拮抗剂是直接竞争性拮抗剂。

34. 如权利要求 27 所述的方法, 其中所述 LFA-1 拮抗剂是式 (I) 或 (II) 的化合物和 / 或其药用可接受的盐或酯, 具有以下结构:

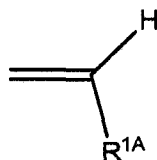


其中 R^1 和 R^2 各自独立为氢、氨基酸侧链、 $-(CH_2)_mOH$ 、 $-(CH_2)_m$ 芳基、 $-(CH_2)_m$ 杂芳基 - 其中 m 是 0-6、 $-CH(R^{1A})(OR^{1B})$ 、 $-CH(R^{1A})(NHR^{1B})$ 、U-T-Q, 或任选由 U-T-Q 取代的脂肪族、脂环族、杂脂肪族或杂脂环族部分,

其中 U 是不存在、 $-O-$ 、 $-S(O)_{0-2}-$ 、 $-SO_2N(R^{1A})-$ 、 $-N(R^{1A})-$ 、 $-N(R^{1A})C(=O)-$ 、 $-N(R^{1A})C(=O)-O-$ 、 $-N(R^{1A})C(=O)-N(R^{1B})-$ 、 $-N(R^{1A})-SO_2-$ 、 $-C(=O)-$ 、 $-C(=O)-O-$ 、 $-O-C(=O)-$ 、芳基、杂芳基、烷基芳基、烷基杂芳基、 $-C(=O)-N(R^{1A})-$ 、 $-OC(=O)N(R^{1A})-$ 、 $-C(=N-R^{1E})-$ 、 $-C(=N-R^{1E})-O-$ 、 $-C(=N-R^{1E})-N(R^{1A})-$ 、 $-O-C(=N-R^{1E})-N(R^{1A})-$ 、 $-N(R^{1A})C(=N-R^{1E})-$ 、 $-N(R^{1A})C(=N-R^{1E})-O-$ 、 $-N(R^{1A})C(=N-R^{1E})-N(R^{1B})-$ 、 $-P(=O)(OR^{1A})-O-$ 或 $-P(=O)(R^{1A})-O-$;

T 是不存在、脂肪族、杂脂肪族、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部分; 以及

Q 是氢、卤素、氰基、异氰酸酯、 $-OR^{1B}$ 、 $-SR^{1B}$ 、 $-N(R^{1B})_2$ 、 $-NHC(=O)OR^{1B}$ 、 $-NHC(=O)N(R^{1B})_2$ 、 $-NHC(=O)R^{1B}$ 、 $-NHSO_2R^{1B}$ 、 $-NHSO_2N(R^{1B})_2$ 、 $-NHSO_2NHC(=O)OR^{1B}$ 、 $-NHC(=O)NHSO_2R^{1B}$ 、 $-C(=O)NHC(=O)OR^{1B}$ 、 $-C(=O)NHC(=O)R^{1B}$ 、 $-C(=O)NHC(=O)N(R^{1B})_2$ 、 $-C(=O)NHSO_2R^{1B}$ 、 $-C(=O)NHSO_2N(R^{1B})_2$ 、 $-C(=S)N(R^{1B})_2$ 、 $-SO_2R^{1B}$ 、 $-SO_2OR^{1B}$ 、 $-SO_2N(R^{1B})_2$ 、 $-SO_2-NHC(=O)OR^{1B}$ 、 $-OC(=O)-N(R^{1B})_2$ 、 $-OC(=O)R^{1B}$ 、 $-OC(=O)NHC(=O)R^{1B}$ 、 $-OC(=O)NHSO_2R^{1B}$ 、 $-OSO_2R^{1B}$ 或脂肪族、杂脂肪族、芳基或杂芳基部分, 或其中 R^1 和 R^2 合起来是脂环族或杂环部分, 或者合起来是



其中每次出现的 R^{1A} 和 R^{1B} 各自独立是氢、脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂环、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部分、 $-C(=O)R^{1C}$ 或 $-C(=O)NR^{1C}R^{1D}$; 其中每次出现的 R^{1C} 和 R^{1D} 各自独立是氢、羟基、或脂肪族、杂脂肪族、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部分; 以及 R^{1E} 是氢、脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂环、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部分、 $-CN$ 、 $-OR^{1C}$ 、 $-NR^{1C}R^{1D}$ 或 $-SO_2R^{1C}$;

R^3 是 $-C(=O)OR^{3A}$ 、 $-C(=O)H$ 、 $-CH_2OR^{3A}$ 、 $-CH_2OC(=O)-$ 烷基、 $-C(=O)NH(R^{3A})$ 、 $-CH_2X^0$;

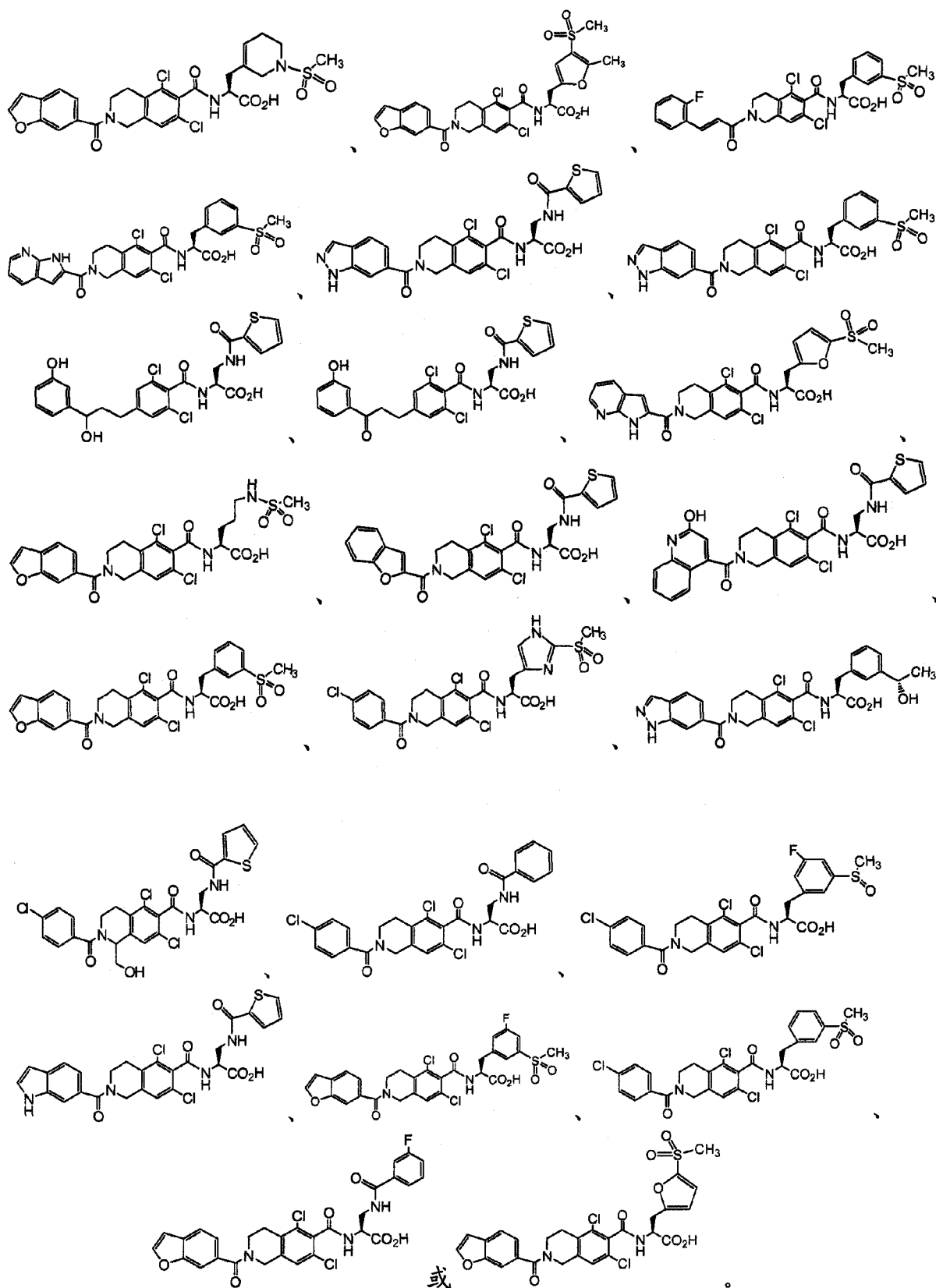
其中每次出现的 R^{3A} 独立是氢、保护基、脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂脂环族、芳基、杂芳基、烷基芳基、烷基杂芳基、杂烷基芳基、杂烷基杂芳基部分,或其药用可接受的盐或酯,或者 R^{3A} 和 R^1 与 R^2 合起来形成杂环部分;其中 X^0 是选自 F、Br 或 I 的卤素。

R^{4A} 和 R^{4B} 独立代表选自 F、Cl、Br 或 I 的卤素;且 R^{B1} 、 R^{B2} 和 R^F 独立代表氢或取代或未取代的低级烷基;

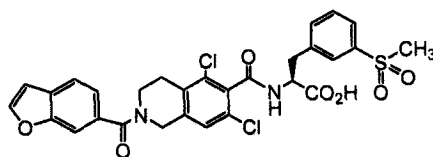
AR^1 是单环或多环芳基、杂芳基、烷基芳基、烷基杂芳基、脂环族或杂环部分;以及

L 不存在或者是 V-W-X-Y-Z, 其中 V、W、X、Y 和 Z 各自独立代表不存在、 $C=O$ 、 NR^{L1} 、 $-O-$ 、 $-C(R^{L1})=$ 、 $=C(R^{L1})-$ 、 $-C(R^{L1})(R^{L2})$ 、 $C(=N-OR^{L1})$ 、 $C(=NR^{L1})$ 、 $-N=$ 、 $S(O)_{0-2}$; 取代或未取代的 C_{1-6} 亚烯基或 C_{2-6} 亚烯基链,其中最多达两个非相邻亚甲基单元任选独立被 $-C(=O)-$ 、 $-CO_2-$ 、 $-C(=O)C(=O)-$ 、 $-C(C=O)NR^{L3}-$ 、 $-OC(=O)-$ 、 $-OC(=O)NR^{L3}-$ 、 $-NR^{L3}NR^{L4}-$ 、 $-NR^{L3}NR^{L4}C(=O)-$ 、 $-NR^{L3}C(=O)-$ 、 $-NR^{L3}CO_2-$ 、 $NR^{L3}C(=O)NR^{L4}-$ 、 $-S(=O)-$ 、 $-SO_2-$ 、 $-NR^{L3}SO_2-$ 、 $-SO_2NR^{L3}$ 、 $-NR^{L3}SO_2NR^{L4}$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 或 $NR^{L3}-$ 代替,其中每次出现的 R^{L3} 和 R^{L4} 独立代表氢、烷基、杂烷基、芳基、杂芳基或酰基;或脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂脂环族、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部分;以及每次出现的 R^{L1} 和 R^{L2} 独立代表氢、羟基、保护羟基、氨基、保护氨基、硫代、保护硫代、卤素、氰基、异氰酸酯、羧基、羧基烷基、甲酰基、甲酰氧基、叠氮基、硝基、脲基、硫脲基、硫氰酸基、烷氧基、芳基氧基、巯基、亚磺酰氨基、苯甲酰氨基、甲苯磺酰基、或脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂脂环族、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部分,或其中一个或多个 R^{L1} 和 R^{L2} 合起来,或一个或多个 R^{L1} 和 R^{L2} 与 V、W、X、Y 或 Z 之一合起来形成脂环族或杂环部分或形成芳基或杂芳基部分。

35. 如权利要求 34 所述的方法,其中所述 LFA-1 拮抗剂具有下式中的一种:



36. 如权利要求 35 所述的方法,其中所述 LFA-1 拮抗剂是下式化合物:



37. 如权利要求 36 所述的方法,其中所述 LFA-1 拮抗剂是权利要求 36 所述化合物的 A 型、型 B、C 型、D 型、E 型或无定型中的任一种。

38. 如权利要求 37 所述的方法,其中所述 LFA-1 拮抗剂是权利要求 37 所述化合物的 A 型。

39. 如权利要求 27 所述的方法,其中所述 LFA-1 在浓度为约 100nM 时抑制约 50% 或更多的 T 细胞向 ICAM-1 的粘附。

40. 如权利要求 27 所述的方法,其中所述分散制剂的中值粒径为约 1.0 到约 5.0 μm 。

41. 如权利要求 27 所述的方法,其中所述制剂施用于皮肤、眼、口、鼻、阴道粘膜或肛门粘膜。

42. 如权利要求 27 所述的方法,其中所述推进剂是氟碳化合物、烷烃气体、气态醚、含卤化物气体、稀有气体、压缩空气、惰性气体、干空气、标准空气或泡沫。

43. 如权利要求 42 所述的方法,其中所述氟氯碳化合物是三氯单氟甲烷 (F11)、二氯二氟甲烷 (F12)、单氯三氟甲烷 (F13)、二氯单氟甲烷 (F21)、单氯二氟甲烷 (F22)、单氯单氟甲烷 (F31)、1,1,2-三氯-1,2,2-三氟乙烷 (F113)、1,2-二氯-1,1,2,2-四氟乙烷 (F114)、1-氯-1,1,2,2,2-五氟乙烷 (F115)、2,2-二氯-1,1,1-三氟乙烷 (F123)、1,2-二氯-1,1,2-三氟乙烷 (F123a)、2-氯-1,1,1,2-四氟乙烷 (F124)、2-氯-1,1,2,2-四氟乙烷 (F124a)、1,2-二氯-1,1-二氟乙烷 (132b)、1-氯-1,2,2-三氟乙烷 (F133)、2-氯-1,1,1-三氟乙烷 (F133a)、1,1-二氯-1-氟乙烷 (F141b) 或 1-氯-1,1-二氟乙烷 (F142b)。

44. 如权利要求 42 所述的方法,其中所述烷烃是丙烷、丁烷、异丁烷、八氟丙烷 (F218)、二氟甲烷 (HFA32)、五氟乙烷 (HFA125)、1,1,2,2-四氟乙烷 (HFA134)、1,1,1,2-四氟乙烷 (HFA134a)、1,1,2-三氟乙烷 (HFA143)、1,1,1-三氟乙烷 (HFA143a)、二氟乙烷 (HFA152a) 或 1,1,1,2,3,3,3-七氟丙烷 (HFA227)。

45. 如权利要求 27 所述的方法,其中所述推进剂存在的比例为 0.1 重量%到 50 重量%。

46. 如权利要求 27 所述的方法,其还含有赋形剂。

47. 如权利要求 46 所述的方法,其中所述赋形剂是水、缓冲水溶液、表面活性剂、挥发性液体、淀粉、多元醇、成粒剂、微晶纤维素、稀释剂、润滑剂、酸、碱、盐、乳剂、油、润湿剂、螯合剂、抗氧化剂、无菌溶液、络合剂或者崩解剂。

48. 如权利要求 27 所述的方法,其中所述制剂含有表面活性剂,该表面活性剂是油酸、氯化十六烷基吡啶、大豆卵磷脂、聚氧乙烯去水山梨醇单月桂酸酯、聚氧乙烯去水山梨醇单硬脂酸酯、聚氧乙烯去水山梨醇单油酸酯、聚氧乙烯硬脂酰醚、聚氧乙烯油基醚、聚氧乙烯-聚氧丙烯-乙二胺嵌段共聚物、聚氧丙烯-聚氧乙烯嵌段共聚物或蓖麻油乙氧基化物。

49. 如权利要求 47 所述的方法,其中所述挥发性液体是乙醇、甲醇、异丙醇或其混合物。

50. 如权利要求 27 所述的方法,其中所述气雾剂还含有至少一种其他治疗剂。

51. 如权利要求 50 所述的方法,其中所述其他治疗剂是抗氧化剂、抗炎药、抗微生物

剂、抗血管生成剂、抗细胞凋亡剂、血管内皮生长因子抑制剂或抗病毒剂。

52. 如权利要求 27 所述的方法,其中所述制剂经由喷雾器给药。

53. 如权利要求 52 所述的方法,其中所述喷雾器是喷雾、喷射、超声波、电子或振动多孔板喷雾器。

54. 如权利要求 27 所述的方法,其中所述制剂经由加压的定量单位给药。

55. 如权利要求 27 所述的方法,其中所述炎性或免疫疾病是眼内炎症、眼周炎症、眼表面炎症、角膜结膜炎、干燥性角膜结膜炎(KCS,又名干眼症)、Sjogren 综合征患者的 KCS、变应性结膜炎、眼色素层炎、由佩戴接触透镜引起的眼部炎症、由佩戴接触透镜引起的角膜炎症、由佩戴接触透镜引起的眼周组织炎症、手术后眼部炎症、眼内炎症、视网膜炎、水肿、视网膜病、角膜炎症、Graves 疾病(Basedow 疾病)或者 Graves 眼病。

56. 如权利要求 27 所述的方法,其中所述炎性或免疫疾病是牛皮癣、刺激性接触性皮炎、湿疹性皮炎、脂溢性皮炎、免疫介导的紊乱的皮肤表现、脱发、斑秃、成人呼吸窘迫综合征、肺纤维化、硬肿病、瘢痕形成、慢性阻塞性肺病(COPD)、特应性皮炎、肾移植引起的炎症、哮喘、化脓性汗腺炎、类风湿性关节炎、牛皮癣关节炎、Sjogren 综合征、眼色素层炎、移植物抗宿主病(GVHD)、口扁平苔癣、关节痛或小岛细胞移植炎症。

57. 气雾剂装置,包括含有权利要求 1 所述的制剂的密封容器。

58. 如权利要求 57 所述的气雾剂装置,其中所述装置是定量吸入器。

59. 如权利要求 57 所述的气雾剂装置,其中所述装置是喷雾器。

60. 含有权利要求 1 所述的制剂的小瓶。

61. 含有权利要求 60 所述的小瓶的定量吸入器。

用于局部治疗免疫相关疾病的雾化的 LFA-1 拮抗剂

[0001] 引用

[0002] 本申请要求 2008 年 4 月 15 日申请的、序列号为 61/045, 257 的美国临时申请的权益, 该临时申请以引用方式并入本文。

[0003] 交叉引用

[0004] 交叉引用的文献有: 2008 年 10 月 17 日申请的序列号为 12/288, 330 的共同未决美国申请; 2009 年 4 月 15 日申请的代理人案号 WSGR32411-708. 201; 2009 年 4 月 15 日申请的代理人案号 WSGR-32411-710. 201; 以及 2009 年 4 月 15 日申请的代理人案号 WSGR32411-712. 201, 因此上述申请以引用方式全部合并入本文。

背景技术

[0005] (CD11/CD18) 粘附受体分子家族含有四种高度相关的细胞表面糖蛋白: LFA-1 (CD11a/CD18)、Mac-1 (CD11b/CD18)、p150. 95 (CD11c/CD18) 和 (CD11d/CD18)。(CD11/CD18) 家族在结构上和遗传学上与调节细胞粘附相互作用的较大整联蛋白家族受体有关, 所述相互作用包括: 胚形成、粘附至细胞外的底物、以及细胞分化 (Hynes, R. O., *Cell* 48: 549-554 (1987); Kishimoto et al., *Adv. Immunol.* 46: 149-182 (1989); Kishimoto et al., *Cell* 48: 681-690 (1987); Ruoslahti et al., *Science* 238: 491-497 (1987))。LFA-1 是一种异二聚体粘附分子, 其存在于除巨噬细胞子集外的所有成熟白细胞的表面上, 并被认为是主要的淋巴整联蛋白。Mac-1、p150. 95 和 CD11d/CD18 的表达主要限于骨髓谱系的细胞 (包括嗜中性粒细胞、单核细胞、巨噬细胞和肥大细胞)。已知 LFA-1 和 Mac-1 (CD11b/CD18) 对白细胞的功能尤为重要 (Li et al. (2006) *Am J Pathology* 169: 1590-1600)。LFA-1 特别与白细胞迁移至炎症部位有关 (Green et al. (2006) *Blood* 107: 2101-11)。

[0006] 功能研究提示, LFA-1 与几种配体相互作用, 包括 ICAM-1 (Rothlein et al., *J. Immunol.* 137: 1270-1274 (1986)、ICAM-2 (Staunton et al., *Nature* 339: 361-364 (1989))、ICAM-3 (Fawcett et al., *Nature* 360: 481-484 (1992); Vezeux et al., *Nature* 360: 485-488, (1992); de Fougères and Springer, *J. Exp. Med.* 175: 185-190 (1990)) 和 端 脑 蛋 白 (Telencephalin) (Tian et al., *J. Immunol.* 158: 928-936 (1997))。LFA-1 与 ICAM 的正常相互作用在肽-MHC 复合物中起到共刺激分子的作用 (Grakoui et al. (1999) *Science* 285: 221-7; Malissen (1999) *Science* 285: 207-8)。已知 ICAM 1-3 调节淋巴细胞和 T 细胞活化 (Perez et al. (2007) *BMC Immunol.* 8: 2)。ICAM-4 是红细胞特异性配体, 并且已知 ICAM-5 将白细胞补充到中枢神经系统中的神经元 (Ihanus et al. (2007) *Blood* 109: 802-10; Tian et al. (2000) *Eur J. Immunol.* 30: 810-8)。一旦结合, LFA-1 发生构象变化, 其导致较高亲和力结合和受体群集 (Hogg et al. (2003) *J Cell Sci.* 116: 4695-705; Takagi et al. (2002) *Cell* 110: 599-611)。

[0007] 在炎症反应期间, 外周血白细胞通过一系列特定的细胞相互作用被补充至炎症或损伤部位。淋巴细胞功能相关抗原-1 (LFA-1) 已被确定为主要的整联蛋白, 其介导引起正常免疫应答以及几种病理状态的淋巴细胞粘附和活化 (Springer, T. A., *Nature* 346:

425-434(1990))。LFA-1 与 ICAM 的结合介导一系列淋巴细胞功能,包括辅助 T 细胞响应抗原呈递细胞产生淋巴因子、T- 淋巴细胞介导的靶细胞裂解、自然杀死肿瘤细胞、和经由 T- 细胞-B 细胞相互作用产生免疫球蛋白。因此,淋巴细胞功能的许多方面涉及 LFA-1 整联蛋白和其 ICAM 配体的相互作用。这些 LFA-1 :ICAM 介导的相互作用直接涉及许多炎症性疾病状态,包括:移植排斥、皮炎、牛皮癣、哮喘和类风湿性关节炎。

发明内容

[0008] 一方面,提供一种药物制剂,含有 LFA-1 拮抗剂或其药用可接受的盐或酯,和气雾剂推进剂,其中当给药于受试者时,LFA-1 拮抗剂的全身清除率大于约 2mL/min/kg。在一种实施方式中,当给药于受试者时,LFA-1 拮抗剂在大约 30min 内达到大于约 1 μ M 的局部组织浓度。在一种实施方式中,当给药于受试者时,LFA-1 拮抗剂的局部组织浓度在至少约 8 小时内保持在大于约 10nM 的浓度。

[0009] 在另一方面,提供一种用于治疗受试者的炎性或免疫相关疾病的方法,包括将含有 LFA-1 拮抗剂或其药用可接受的盐或酯和气雾剂推进剂的气雾剂给药于需要的受试者,其中当给药于受试者时,LFA-1 拮抗剂的全身清除率大于约 2mL/min/kg。

[0010] 本方法的一种实施方式中,给药后,在给药后大约 30 分钟内,LFA-1 拮抗剂以治疗有效浓度存在于施用有该制剂的上皮表面的约 10mm 内,并且以低于治疗有效水平存在于血浆中。在另一个实施方式中,当给药于受试者时,LFA-1 拮抗剂的局部组织浓度在给药约 30min 内大于约 10nM。在其他的实施方式中,当给药于受试者时,在给药后约 30min 之内,LFA-1 拮抗剂的局部组织浓度大于约 1 μ M,且血浆中测得的全身浓度小于约 100nM。在一些其他的实施方式中,当给药于受试者时,LFA-1 拮抗剂的局部组织浓度在至少大约 8 小时内保持在大于约 10nM。在一种实施方式中,LFA-1 拮抗剂的局部组织浓度在施用有该制剂的上皮表面的约 10mm 内。

[0011] 在又一方面,提供一种气雾剂装置,其包括密封容器,该容器含有包含 LFA-1 拮抗剂或其药用可接受的盐或酯和气雾剂推进剂的药物制剂,其中当给药于受试者时,LFA-1 拮抗剂的全身清除率大于约 2mL/min/kg。在一种实施方式中,该装置可以是定量吸入器(metered dose inhaler)。在一种实施方式中,该装置是喷雾器。

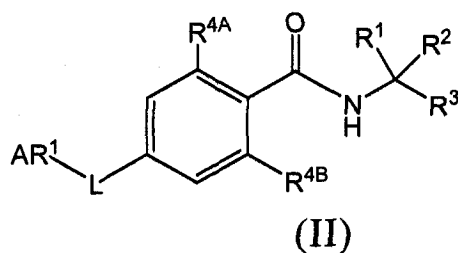
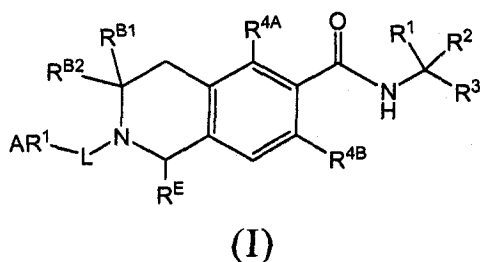
[0012] 在又一方面,提供一种小瓶,其含有药物制剂,所述药物制剂包含 LFA-1 拮抗剂或其药用可接受的盐或酯,和气雾剂推进剂,其中当给药于受试者时,LFA-1 拮抗剂的全身清除率大于约 2mL/min/kg。

[0013] 在另一方面,提供一种定量吸入器,其含有小瓶,所述小瓶含有药物制剂,所述药物制剂含有 LFA-1 拮抗剂或其药用可接受的盐或酯,和气雾剂推进剂,其中当给药于受试者时,LFA-1 拮抗剂的全身清除率大于约 2mL/min/kg。

[0014] 在一些实施方式中,LFA-1 拮抗剂是直接竞争性拮抗剂。在其他实施方式中,LFA-1 拮抗剂在约 100nM 的浓度时抑制大约 50%或以上的 T- 细胞向 ICAM-1 的粘附。

[0015] 在一种实施方式中,LFA-1 拮抗剂是式 I 或 II 的化合物和 / 或其药用可接受的盐或酯,具有以下结构:

[0016]



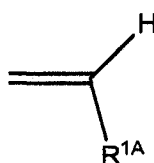
[0017] 其中 R^1 和 R^2 各自独立为氢、氨基酸侧链、 $-(CH_2)_mOH$ 、 $-(CH_2)_m$ 芳基、 $-(CH_2)_m$ 杂芳基 (其中 m 是 0-6)、 $-CH(R^{1A})(OR^{1B})$ 、 $-CH(R^{1A})(NHR^{1B})$ 、U-T-Q, 或任选由 U-T-Q 取代的脂肪族、脂环族、杂脂肪族或杂脂环族部分,

[0018] 其中 U 是不存在、 $-O-$ 、 $-S(O)_{0-2}-$ 、 $-SO_2N(R^{1A})-$ 、 $-N(R^{1A})-$ 、 $-N(R^{1A})C(=O)-$ 、 $-N(R^{1A})C(=O)-O-$ 、 $-N(R^{1A})C(=O)-N(R^{1B})-$ 、 $-N(R^{1A})-SO_2-$ 、 $-C(=O)-$ 、 $-C(=O)-O-$ 、 $-O-C(=O)-$ 、芳基、杂芳基、烷基芳基、烷基杂芳基、 $-C(=O)-N(R^{1A})-$ 、 $-OC(=O)N(R^{1A})-$ 、 $-C(=N-R^{1E})-$ 、 $-C(=N-R^{1E})-O-$ 、 $-C(=N-R^{1E})-N(R^{1A})-$ 、 $-O-C(=N-R^{1E})-N(R^{1A})-$ 、 $-N(R^{1A})C(=N-R^{1E})-$ 、 $-N(R^{1A})C(=N-R^{1E})-O-$ 、 $-N(R^{1A})C(=N-R^{1E})-N(R^{1B})-$ 、 $-P(=O)(OR^{1A})-O-$ 或 $-P(=O)(R^{1A})-O-$;

[0019] T 是不存在、脂肪族、杂脂肪族、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部分; 以及

[0020] Q 是氢、卤素、氰基、异氰酸酯、 $-OR^{1B}$ 、 $-SR^{1B}$ 、 $-N(R^{1B})_2$ 、 $-NHC(=O)OR^{1B}$ 、 $-NHC(=O)N(R^{1B})_2$ 、 $-NHC(=O)R^{1B}$ 、 $-NHSO_2R^{1B}$ 、 $-NHSO_2N(R^{1B})_2$ 、 $-NHSO_2NHC(=O)OR^{1B}$ 、 $-NHC(=O)NHSO_2R^{1B}$ 、 $-C(=O)NHC(=O)OR^{1B}$ 、 $C(=O)NHC(=O)R^{1B}$ 、 $-C(=O)NHC(=O)N(R^{1B})_2$ 、 $-C(=O)NHSO_2R^{1B}$ 、 $-C(=O)NHSO_2N(R^{1B})_2$ 、 $C(=S)N(R^{1B})_2$ 、 $-SO_2R^{1B}$ 、 $-SO_2OR^{1B}$ 、 $-SO_2N(R^{1B})_2$ 、 $-SO_2-NHC(=O)OR^{1B}$ 、 $-OC(=O)-N(R^{1B})_2$ 、 $-OC(=O)R^{1B}$ 、 $-OC(=O)NHC(=O)R^{1B}$ 、 $-OC(=O)NHSO_2R^{1B}$ 、 $-OSO_2R^{1B}$ 或脂肪族、杂脂肪族、芳基或杂芳基部分, 或其中 R^1 和 R^2 合起来可以是脂环族或杂环部分, 或者合起来是

[0021]



[0022] 其中每次出现的 R^{1A} 和 R^{1B} 各自独立是氢、脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂环、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部分、 $-C(=O)R^{1C}$ 或 $-C(=O)NR^{1C}R^{1D}$; 其中每次出现的 R^{1C} 和 R^{1D} 各自独立是氢、羟基、或脂肪族、杂脂肪族、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部分; 以及 R^{1E} 是氢、脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂环、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部分、 $-CN$ 、 $-OR^{1C}$ 、 $-NR^{1C}R^{1D}$ 或 $-SO_2R^{1C}$;

[0023] R^3 是 $-C(=O)OR^{3A}$ 、 $-C(=O)H$ 、 $-CH_2OR^{3A}$ 、 $-CH_2OC(=O)-$ 烷基、 $-C(=O)NH(R^{3A})$ 、 $-CH_2X^0$; 其中每次出现的 R^{3A} 独立是氢、保护基、脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂脂环族、芳基、杂芳基、烷基芳基、烷基杂芳基、杂烷基芳基、杂烷基杂芳基部分, 或其药用可接受的盐或酯, 或者 R^{3A} 和 R^1 与 R^2 合起来形成杂环部分; 其中 X^0 是选自 F、Br 或 I 的卤素。

[0024] 其中 R^{4A} 和 R^{4B} 独立代表选自 F、Cl、Br 或 I 的卤素; 且 R^{B1} 、 R^{B2} 和 R^E 独立为氢或取

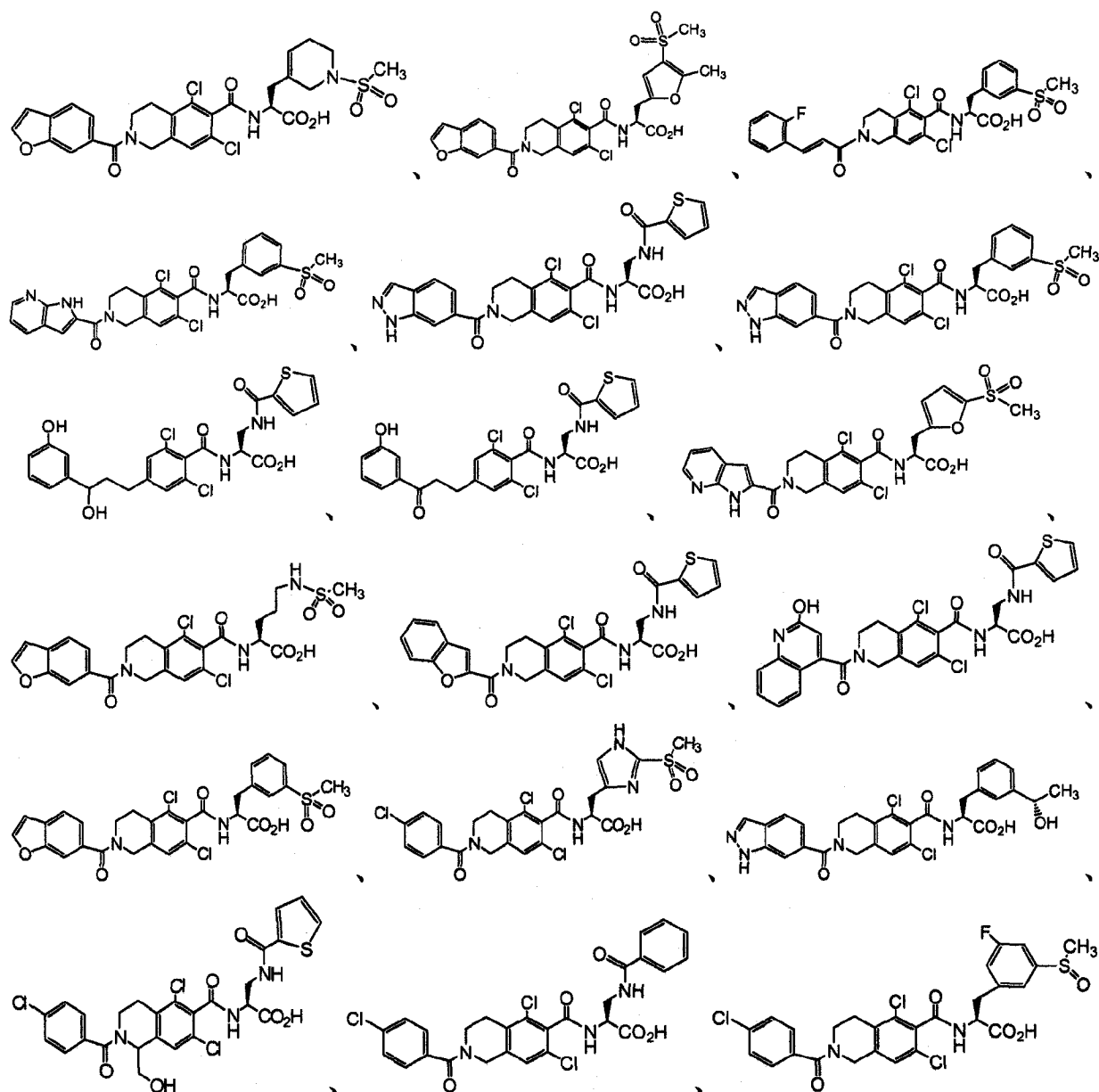
代或未取代的低级烷基；

[0025] AR^1 是单环或多环芳基、杂芳基、烷基芳基、烷基杂芳基、脂环族或杂环部分；以及

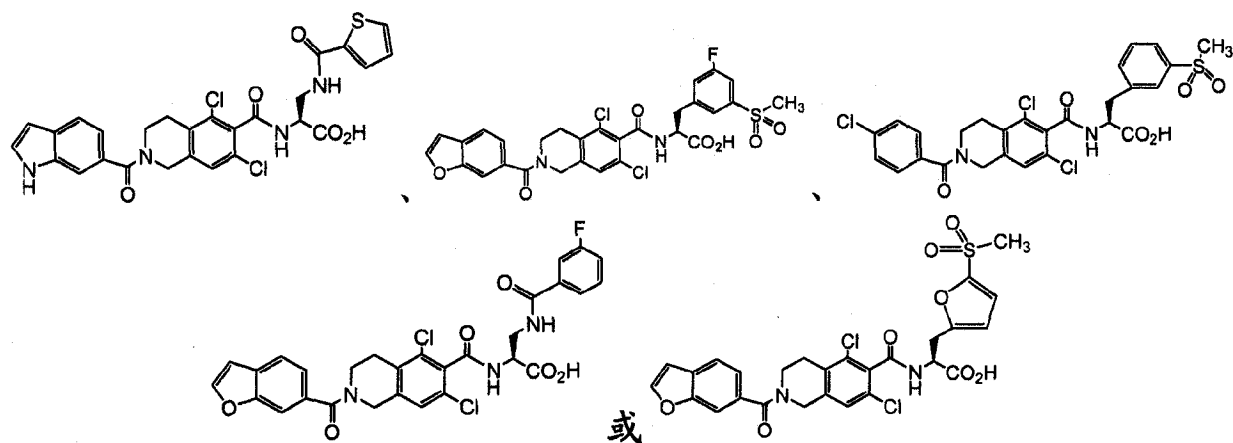
[0026] L 不存在或者是 V-W-X-Y-Z，其中每次出现的 V、W、X、Y 和 Z 独立代表不存在、 $C=O$ 、 NR^{L1} 、 $-O-$ 、 $-C(R^{L1})=$ 、 $=C(R^{L1})-$ 、 $-C(R^{L1})(R^{L2})$ 、 $C(=N-OR^{L1})$ 、 $C(=NR^{L1})$ 、 $-N=$ 、 $S(O)_{0-2}$ ；取代或未取代的 C_{1-6} 亚烯基或 C_{2-6} 亚烯基 (alkenylidene) 链，其中最多达两个非相邻亚甲基单元任选独立被 $-C(=O)-$ 、 $-CO_2-$ 、 $-C(=O)C(=O)-$ 、 $-C(C=O)NR^{L3}-$ 、 $-OC(=O)-$ 、 $-OC(=O)NR^{L3}-$ 、 $-NR^{L3}NR^{L4}-$ 、 $-NR^{L3}NR^{L4}C(=O)-$ 、 $-NR^{L3}C(=O)-$ 、 $-NR^{L3}CO_2-$ 、 $NR^{L3}C(=O)NR^{L4}-$ 、 $-S(=O)-$ 、 $-SO_2-$ 、 $-NR^{L3}SO_2-$ 、 $-SO_2NR^{L3}$ 、 $-NR^{L3}SO_2NR^{L4}$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 或 $NR^{L3}-$ 代替，其中每次出现的 R^{L3} 和 R^{L4} 独立代表氢、烷基、杂烷基、芳基、杂芳基或酰基；或脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂脂环族、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部分；以及每次出现的 R^{L1} 和 R^{L2} 独立代表氢、羟基、保护羟基、氨基、保护氨基、硫代、保护硫代、卤素、氰基、异氰酸酯、羧基、羧基烷基、甲酰基、甲酰氧基、叠氮基、硝基、脲基、硫脲基、硫氰酸基、烷氧基、芳基氧基、巯基、亚磺酰氨基、苯酰胺基、甲苯磺酰基、或脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂脂环族、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部分，或其中一个或多个 R^{L1} 和 R^{L2} 合起来，或一个或多个 R^{L1} 和 R^{L2} 与 V、W、X、Y 或 Z 之一合起来形成脂环族或杂环部分或形成芳基或杂芳基部分。

[0027] 在多种实施方式中，LFA-1 拮抗剂具有下式之一：

[0028]



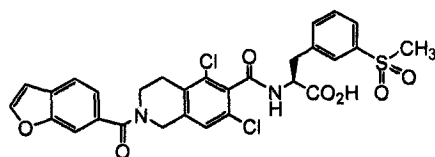
[0029]



[0030] 和 / 或其药用可接受的盐或酯。

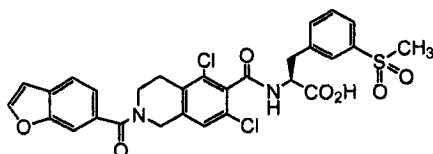
[0031] 在一些实施方式中, LFA-1 拮抗剂是下式化合物:

[0032]



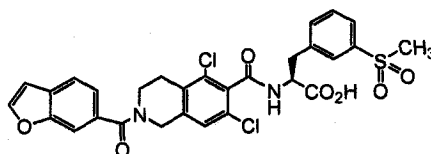
[0033] 在其他实施方式中, LFA-1 拮抗剂是下式化合物的 A 型、B 型、C 型、D 型、E 型、无定型中的任一种、或其组合:

[0034]



[0035] 在其他实施方式中, LFA-1 拮抗剂是下式化合物的 A 型:

[0036]



[0037] 在一种实施方式中, LFA-1 拮抗剂是钠、钾、锂、镁、锌或钙盐。

[0038] 在一些实施方式中, 该制剂包含推进剂, 其中该推进剂是氟碳化合物、烷烃气体、气态醚、含卤化物气体、稀有气体、压缩空气、惰性气体、干空气、标准空气或泡沫。在其他实施方式中, 氟碳化合物是三氯单氟甲烷 (F11)、二氯二氟甲烷 (F12)、单氯三氟甲烷 (F13)、二氯单氟甲烷 (F21)、单氯二氟甲烷 (F22)、单氯单氟甲烷 (F31)、1,1,2-三氯-1,2,2-三氟乙烷 (F113)、1,2-二氯-1,1,2,2-四氟乙烷 (F114)、1-氯-1,1,2,2,2-五氟乙烷 (F115)、2,2-二氯-1,1,1-三氟乙烷 (F123)、1,2-二氯-1,1,2-三氟乙烷 (F123a)、2-氯-1,1,1,2-四氟乙烷 (F124)、2-氯-1,1,2,2-四氟乙烷 (F124a)、1,2-二氯-1,1-二氟乙烷 (132b)、1-氯-1,2,2-三氟乙烷 (F133)、2-氯-1,1,1-三氟乙烷 (F133a)、1,1-二氯-1-氟乙烷 (F141b) 或 1-氯-1,1-二氟乙烷 (F142b)。在又一种实施方式中, 烷烃是丙烷、丁烷、异丁烷、八氟丙烷 (F218)、二氟甲烷 (HFA32)、五氟乙烷 (HFA125)、1,1,2,2-四氟乙烷 (HFA134)、1,1,1,2-四氟乙烷 (HFA134a)、1,1,2-三氟乙烷 (HFA143)、1,1,1-三氟乙烷 (HFA143a)、二氟乙烷 (HFA152a) 或 1,1,1,2,3,3,3-五氟丙烷 (HFA227)。在一些实施方式中, 推进剂存在的比例为 0.1 重量%到 50 重量%。

[0039] 在其他实施方式中, 该分散制剂的中值粒径为约 1.0 到约 5.0 μm 。

[0040] 在一些实施方式中, 该制剂的 pH 为约 pH 4.5 到 pH 7.5。

[0041] 在其他实施方式中, 该制剂包含赋形剂。在一些实施方式中, 该赋形剂是水、缓冲水溶液、表面活性剂、挥发性液体、淀粉、多元醇、成粒剂、微晶纤维素、稀释剂、润滑剂、酸、碱、盐、乳剂、油、润湿剂、螯合剂、抗氧化剂、无菌溶液、络合剂或者崩解剂。在其他实施方式中, 该表面活性剂是油酸、氯化十六烷基吡啶、大豆卵磷脂、聚氧乙烯去水山梨醇单月桂酸酯、聚氧乙烯去水山梨醇单硬脂酸酯、聚氧乙烯去水山梨醇单油酸酯、聚氧乙烯硬脂酰乙

醚、聚氧乙烯油基醚、聚氧乙烯-聚氧丙烯-乙二胺嵌段共聚物、聚氧丙烯-聚氧乙烯嵌段共聚物或蓖麻油乙氧基化物。在其他实施方式中,该挥发性液体是乙醇、甲醇、异丙醇或其混合物。在另一个实施方式中,该制剂还包含局部渗透促进剂。在一些实施方式中,该局部渗透促进剂是亚砷、乙醚、表面活性剂、醇、脂肪酸、脂肪酸酯、多元醇、酰胺、萜烯、酮或有机酸。

[0042] 另外,该制剂还可以包含至少一种其他治疗剂。在一种实施方式中,该其他治疗剂是抗氧化剂、抗炎药、抗微生物剂、抗血管生成剂、抗细胞凋亡剂、血管内皮生长因子抑制剂、抗病毒剂、钙调磷酸酶抑制剂、皮质类固醇或免疫调节剂。

[0043] 在一个实施方式中,该制剂是水溶液,含有约 0.4% w/w 对羟基苯甲酸甲酯;约 0.02% w/w 对羟基苯甲酸丙酯;和约 0.1% 到约 10% w/w 的 LFA-1 拮抗剂。

[0044] 在多个实施方式中,该制剂施用于皮肤、眼、口、鼻、阴道粘膜或肛门粘膜。

[0045] 在一些实施方式中,该制剂经由喷雾器给药。在其他实施方式中,该喷雾器是喷雾、喷射、超声波、电子或振动多孔板喷雾器。

[0046] 在其他的实施方式中,该制剂可以经由加压的定量单位给药。

[0047] 在多个实施方式中,炎性或免疫疾病是眼内炎症、眼周炎症、眼表面炎症、角膜结膜炎、干燥性角膜结膜炎(KCS,又名干眼症)、Sjogren 综合征患者的 KCS、变应性结膜炎、眼色素层炎、由佩戴接触透镜引起的眼睛炎症、由佩戴接触透镜引起的角膜炎症、由佩戴接触透镜引起的眼周组织炎症、手术后眼炎症、眼内炎症、视网膜炎、水肿、视网膜病、角膜炎症、Graves 疾病(Basedow 疾病)或者 Graves 眼病。

[0048] 在其他实施方式中,炎性或免疫疾病是牛皮癣、刺激性接触性皮炎、湿疹性皮炎、脂溢性皮炎、免疫介导的紊乱的皮肤表现、脱发、斑秃、成人呼吸窘迫综合征、肺纤维化、硬肿病、瘢痕形成、慢性阻塞性肺病(COPD)、特应性皮炎、源自肾移植的炎症、哮喘、化脓性汗腺炎、类风湿性关节炎、牛皮癣关节炎、Sjogren 综合征、眼色素层炎、移植物抗宿主疾病(GVHD)、口扁平苔癣、关节痛或小岛细胞移植炎症。

[0049] 以引用方式合并

[0050] 所有本说明书提到的出版物和专利申请通过相同程度的引用方式合并入本发明,如同特定且独立地指定各单个出版物或者专利申请以引用方式合并。

附图说明

[0051] 本发明的新特征在附加的权利要求书中特别列出。通过参考以下阐述举例性的具体实施方式的详细说明和附图,将更好地理解本发明的特征与优点,所述具体实施方式利用了本发明的原理,其附图为:

[0052] 图 1 显示淋巴细胞粘附抑制试验和 IL-2 释放试验的结果。对于抑制试验,对 Jurkat T 细胞和固定 ICAM-1 之间的结合的抑制计算 EC50 值。对于 IL-2 释放试验,对添加葡萄球菌肠毒素 B 抗原后外周血单核细胞产生 IL-2 的抑制计算 EC50 值。该试验在存在 10% 人血清下进行。

[0053] 图 2 是用化合物 12 处理狗眼前后获得的活检组织的组织病理学评价的图示。

[0054] 图 3 说明了用化合物 12 处理狗眼的第 2、4、8 和 12 周 Schirmer 试验得分的平均变化。

[0055] 图 4 说明了用 1% 化合物 12 的制剂 (TID ; 每天三次) 处理第 2、4、8 和 12 周 Schirmer 试验得分大于 10mm 的狗眼百分数。

[0056] 图 5 说明了用 1% 化合物 12 的制剂 (TID) 治疗受试者的第 2、4、12、16 和 26 周, 与用 2% CsA (BID ; 每天两次) 治疗的文献结果相比, Schirmer 试验得分提高大于 4mm 的眼睛百分数。

[0057] 图 6 说明用 5% 化合物 12 治疗 (人) 的化合物 12 平均血浆水平的变化过程。

[0058] 图 7 说明用 1% 化合物 12QD (一天一次) 治疗人受试者的泪液 $C_{\min}$ 水平。

[0059] 图 8 说明给药于人的化合物 12 (QD 和 TID) 的剂量 / 药物 $C_{\max}$ 泪液水平关系。

[0060] 图 9 说明用化合物 12QD 治疗人受试者的剂量 / AUC 和剂量 / 平均 $C_{\max}$ 泪液水平关系。

[0061] 图 10 是以 $[^{14}\text{C}]$ -化合物 12 (1mg/ 眼睛) 单次局部眼睛给药至雄性 Sprague Dawley 动物 0.5 小时后的全身放射自显影照片图示。

[0062] 图 11 是以 $[^{14}\text{C}]$ -化合物 12 (1mg/ 眼睛) 单次局部眼睛给药至雄性 Sprague Dawley 动物 2 小时后的全身放射自显影照片图示。

[0063] 图 12 是以 $[^{14}\text{C}]$ -化合物 12 (1mg/ 眼睛) 单次局部眼睛给药至雄性 Sprague Dawley 动物 8 小时后的全身放射自显影照片图示。

[0064] 图 13 是以 $[^{14}\text{C}]$ -化合物 12 (1mg/ 眼睛) 单次局部眼睛给药至雄性 Sprague Dawley 动物 12 小时后的全身放射自显影照片图示。

[0065] 图 14 是以 $[^{14}\text{C}]$ -化合物 12 (1mg/ 眼睛) 单次局部眼睛给药至雄性 Sprague Dawley 动物 24 小时后的全身放射自显影照片图示。

[0066] 图 15 说明 $[^{14}\text{C}]$ -化合物 12 的大鼠眼睛的药代动力学。

[0067] 图 16 说明 $[^{14}\text{C}]$ -化合物 12 的狗眼睛的药代动力学。

[0068] 图 17 是化合物 12 单次 IV 剂量给药于大鼠后的血浆药物水平的变化过程的图示。

[0069] 图 18 是化合物 12 单次 IV 剂量给药于狗后的血浆药物水平的变化过程的图示。

[0070] 图 19 说明给药于狗的化合物 12 的剂量 / 药物 AUC (泪液中) 关系。

[0071] 图 20 说明化合物 12TID 眼睛给药于兔子后 13 周测得的泪液药物浓度分布。

[0072] 图 21 说明化合物 12TID 剂量眼睛给药于狗后 13 周测得的泪液药物浓度分布。

[0073] 图 22 说明化合物 12 单次剂量局部滴注给药后, 兔子左右眼内的平均泪液药物浓度。

[0074] 图 23 说明化合物 12 多次局部施用后, 大鼠的血浆药物水平。

[0075] 发明详述

[0076] 本发明显示并描述了优选实施方式, 本领域技术人员将理解这样的实施方式仅以举例形式提供。本领域技术人员将在不背离本发明的前提下想到众多变化、改变和替换。应该理解, 本发明描述的多种替换可以使用于本发明中。附加的权利要求书限定了本发明的范围, 这些权利要求范围内的方法和结构以及他们的等同物都因此覆盖在本发明中。

[0077] 除非另有说明, 本文使用的所有技术和科学术语具有与本发明领域技术人员通常

理解相同的意思。本发明引用的所有专利和出版物通过引用方式合并在此。

[0078] 如同用于说明书和权利要求书中,单数形式“一”、“一个”或“该”包括复数形式,除非上下文另有明确说明。

[0079] 本发明使用的“剂”或“生物活性剂”指生物、药物或化学化合物或者其他部分。非限定性例子包括简单或复合有机或无机分子、肽、蛋白质、寡核苷酸、抗体、抗体衍生物、抗体片段、维生素衍生物、碳水化合物、毒素或化学治疗用化合物。各种化合物可以被合成,例如,小分子和低聚物(例如,寡肽和寡核苷酸),和基于各种核心结构的合成的有机化合物。另外,各种天然源可以提供化合物用于筛选,例如植物或动物提取物等。熟练技术人员可以容易地意识到本发明试剂的结构性质没有限制。

[0080] 本发明使用的术语“激动剂”指能够启动或者增强靶蛋白的生物功能的化合物,不管是通过抑制靶蛋白的活性还是表达。因此,术语“激动剂”在靶多肽的生物学作用的上下文中定义。尽管本发明优选的激动剂特异性地与靶标相互作用(例如结合),但是通过与信号转导途径的其他成员(靶多肽是该信号转导途径的一个成员)相互作用从而启动或增强靶多肽的生物活性的化合物也特别包括在该定义中。

[0081] 术语“拮抗剂”和“抑制剂”可互换使用,它们指能够抑制靶蛋白的生物功能的化合物,不管是通过抑制靶蛋白的活性还是表达。因此,术语“拮抗剂”和“抑制剂”在靶蛋白的生物学作用的上下文中定义。尽管本发明优选的拮抗剂特异性地与靶标相互作用(例如结合),但是通过与信号转导途径的其他成员(靶多肽是该信号转导途径的一个成员)相互作用从而抑制靶蛋白的生物活性的化合物也特别包括在该定义中。被 LFA-1 拮抗剂抑制的优选的生物活性例如与分别如炎症或者自身免疫性疾病中表现的不想要的炎症或者免疫应答有关。

[0082] “直接竞争性抑制剂”或“直接竞争性拮抗剂”指一种配体,其包括生物分子、肽以及合成的有机小分子,其直接与生物靶分子的活性位点结合,并直接阻止底物与其结合。例如, LFA-1 和 ICAM-1 的相互作用的直接竞争性抑制剂结合至 LFA-1 上的 ICAM-1 结合位点,因此直接阻止 ICAM-1 结合。

[0083] 本发明使用的“变构抑制剂”指一种配体,其包括生物分子、肽、以及合成的有机小分子,其结合至生物靶分子上除被抑制的相互作用结合位点以外的位点上。所述相互作用改变了生物靶分子的形状,从而破坏了生物靶分子和其底物之间的常规复合物。这导致这种复合物形成的正常活性的抑制。例如, LFA-1 和 ICAM-1 的相互作用的变构抑制剂结合在 LFA-1 上除了 ICAM-1 结合位点以外的位点上,但它破坏了 ICAM-1 的结合部位,从而减少 LFA-1 和 ICAM-1 的相互作用。

[0084] 应用于生物活性剂的术语“选择性抑制”指与脱靶信号活性相比而言,试剂经由直接或间接与靶标相互作用从而选择性降低靶信号活性的通力。

[0085] 本发明使用的“Th1”和“Th2”指在两个截然不同的细胞类型 -Th1 和 Th2 中发现的辅助 T 细胞,以它们产生和响应的细胞因子以及它们涉及的免疫应答而区分。Th1 细胞产生促炎性的细胞因子如 IFN- γ 、TNF- β 和 IL-2,而 Th2 细胞产生细胞因子 IL-4、IL-5、IL-6 和 IL-13。

[0086] “抗癌剂”、“抗肿瘤剂”或“化疗剂”指用于治疗肿瘤病症的任何试剂。一类抗癌剂包括化疗剂。“化疗”指通过各种方法给药于癌症患者一种或多种化疗药物和 / 或其他药

剂,包括静脉内、口服、肌内、腹膜内、膀胱内、皮下、透皮、口腔或者吸入或以栓剂形式。

[0087] 术语“细胞增殖”指由于分裂引起的细胞数目变化的现象。该术语也包括导致与增殖信号一致的细胞形态的变化(例如,尺寸增加)的细胞生长。

[0088] 本发明使用的术语“联合给药”、“共同给药”及其语法上的等同物,包括给药于动物两种或更多种试剂从而两种试剂和/或其代谢物同时存在于动物内。共同给药包括在单独的组合物中同时给药,在单独的组合物中在不同时间给药,或者在存在两种试剂的一种组合物中给药。

[0089] 术语“有效量”或者“治疗有效量”指足以实现预定应用的本发明描述的化合物的量,包括但不限于疾病治疗,如同下文所定义。治疗有效量可以根据预定应用(体外或者体内)、或要治疗的受试者和疾病症状,例如受试者的体重和年龄、疾病症状的严重性、给药方式等而变化,本领域技术人员可以容易地决定。该术语也应用于将诱导靶细胞的特定反应例如血小板粘附和/或细胞迁移的减少的剂量。特定剂量将根据所选的特定化合物、要遵循的给药方案、是否是与其他化合物联合给药,给药时间、给药组织、以及携带它的物理输送系统而变化。

[0090] 如本发明所使用,“治疗”或“缓和”或“改善”可在本发明互换使用。这些术语指的是获得有益的或者需要的结果的方法,包括但不限于治疗学益处和/或预防性益处。对于治疗学益处,指的是所治疗的基础疾病的根除或改善。治疗学益处也以一种或多种生理学症状的根除或改善而实现,所述生理学病症与基础疾病有联系,以至于在患者中观察到改善,尽管该患者可能仍然受基础疾病的折磨。对于预防性益处,可能将组合物给药于有发展特定疾病风险的患者,或者给药于报告有疾病的一种或多种生理学症状的患者,即使可能还没有诊断为该疾病。治疗包括将本发明制剂给药于受试者,以预防生理学症状的发展或者预防基础疾病的发展。

[0091] 本发明使用的术语“治疗学效果”包括如上面描述的治疗学益处和/或预防性益处。预防性效果包括延迟或消除疾病或病症的出现,延迟或消除疾病或病症的症状发作,减缓、停止或逆转疾病或病症的发展,或其任何组合。

[0092] 本发明使用的术语“药用可接受的盐”指的是那些适于药用的盐,优选用于人和低等动物的组织,无过度刺激、变态反应等的盐。化合物的胺、羧酸及其他类型的药用可接受的盐是本领域所熟知的。例如, S. M. Berge 等人在 J Pharmaceutical Sciences, 66: 1-19 (1977) 中详细描述了药用可接受的盐,该文献以引用方式合并在此。盐可以在本发明化合物最后的分离与提纯期间就地制备,或者单独使游离碱或游离酸官能团与适当的试剂(如同下文描述)反应而制备。例如,游离碱官能团可以与适当的酸反应。而且,当本发明化合物携带酸式部分时,其合适的药用可接受盐可以包括金属盐例如碱金属盐,如钠或钾盐;和碱土金属盐,如钙或镁盐。药用可接受的、无毒的酸加成盐的例子是氨基与无机酸或与有机酸形成的盐,所述无机酸例如盐酸、氢溴酸、磷酸、硫酸和高氯酸,所述有机酸例如乙酸、草酸、马来酸、酒石酸、柠檬酸、琥珀酸或丙二酸,或者使用本领域使用的其他方法例如离子交换作用形成的盐。其他药用可接受的盐包括己二酸盐、海藻酸盐、抗坏血酸盐、天冬氨酸盐、苯甲酸盐、硫酸氢盐、硼酸盐、丁酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、柠檬酸盐、环戊烷丙酸盐、二葡萄糖酸盐、十二烷基硫酸盐、甲酸盐、富马酸盐、葡庚糖酸盐、甘油磷酸盐、葡萄糖酸盐、半硫酸盐、庚酸盐、己酸盐、氢碘酸盐、2-羟基-乙烷磺酸盐、乳糖醛酸盐、乳酸盐、月

桂酸盐、月桂基硫酸盐、苹果酸盐、顺丁烯二酸盐、丙二酸盐、甲烷磺酸盐、烟酸盐、硝酸盐、油酸盐、草酸盐、棕榈酸盐、果胶酸盐、过硫酸盐、3- 苯基丙酸盐、磷酸盐、苦味酸盐、新戊酸酯、丙酸盐、硬脂酸盐、琥珀酸盐、硫酸盐、酒石酸盐、硫氰酸盐、对甲苯磺酸盐、十一酸盐、戊酸盐等等。典型的碱金属或碱土金属盐包括钠、锂、钾、钙、镁盐等等。其他药用可接受的盐包括,适当的无毒的铵盐、季铵盐、通过与药物羧酸直接反应或通过使用反离子例如卤素、氢氧根、羧酸根、硫酸根、磷酸根、硝酸根、磺酸根和芳基磺酸根形成的胺阳离子。

[0093] “药用可接受的载体”或者“药用可接受的赋形剂”包括任何和所有溶剂、分散介质、包衣、抗菌剂和抗真菌剂、等渗和延迟吸收剂等。将这种介质和试剂用于药学活性物质是本领域所熟知的。除了与活性成分不相容的传统介质和试剂,其用于本发明治疗组合物中是可预期的。也可将补充的活性成分加入组合物中。

[0094] “前药”指的是可以在生理条件下或通过溶剂分解作用转换成本发明描述的生物学活性物质的化合物。因此,术语“前药”指的是药用可接受的生物学活性物质的前体。当给药于受试者时,前药可能是无活性的,即酯,但是在体内转换成活性物质,例如,水解成游离羧酸。前药化合物通常在哺乳动物有机体中具有可溶性、组织兼容性或者延迟释放的优点(参考例如 Bundgard, H., *Design of Prodrugs* (1985), pp. 7-9, 21-24 (Elsevier, Amsterdam)。Higuchi, T., 等人的 " *Pro-drugs as Novel Delivery Systems*, " A. C. S. Symposium Series, Vol. 14, 和 *Bioreversible Carriers in Drug Design*, ed. Edward B. Roche, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987 提供了前药的讨论,两者均以引用方式全文合并在此。术语“前药”也包括任何共价结合的载体,当这种前药给药于哺乳动物受试者时,其在体内释放活性物质。如本发明描述的活性化合物的前药可以通过修饰存在于活性化合物中的官能团来制备,如此使所述修饰在常规处理中或在体内切割,成为母体活性化合物。前药包括其中羟基、氨基或巯基键合至任何基团上的化合物,当活性化合物的前药给药于哺乳动物受试者时,所述基团分别切割以形成游离羟基、游离氨基或游离巯基。前药的例子包括但不限于:活性化合物的醇或乙酰胺的醋酸盐、甲酸盐和苯甲酸盐衍生物;胺官能团的甲酰胺和苯甲酰胺衍生物等。

[0095] 本发明使用的“局部治疗”指的是免疫或炎症疾病的治疗,其中药物是局部递送,而不是经由全身性输送而递送。这可以包括例如胃肠道内的许多不同的局部区域或一些不同的局部区域,药物从胃肠道的腔递送至胃肠道粘膜。另一个例子是皮肤的治疗,其中药物可以施用于皮肤上的许多不同位置或者几个不同位置,并且其中药物是通过皮肤吸收被递送至皮肤内和与皮肤相邻的组织。或者,药物可以经由栓剂递送至肛门粘膜以及通过上皮表面吸收至下胃肠道粘膜内和与下胃肠道粘膜相邻的组织。

[0096] 本发明使用的“局部递送”指的是药物化合物被携带至治疗应用部位。它包括,例如,将制剂直接施用在需要治疗的皮肤区域、将制剂喷在需要治疗的皮肤区域、将制剂喷在或者吸入鼻内以将药物给药至鼻部通道、或将滴眼剂滴到眼睛中以治疗眼睛。在本发明中,“局部递送”也包括经口或经鼻给药制剂,所述制剂被携带至胃肠道,其中药物与胃肠道粘膜接触,药物被吸收入周围组织并发挥治疗学效果,而没有直接从血液循环系统递送至该部位。

[0097] 本发明使用的“局部组织浓度”指的是 LFA-1 拮抗剂在组织区域内的浓度, LFA-1 拮抗剂递送至该区域并被吸收。

[0098] “受试者”指的是动物,例如哺乳动物,例如人类。本发明描述的方法可以用于治疗人类和兽医学应用。在一些实施方式中,患者是哺乳动物,在一些实施方式中,患者是人类。

[0099] 术语“体内”指的是事件发生在受试者的身体内。

[0100] 术语“体外”指的是事件发生在受试者的身体外。例如,体外试验包括任何在受试者身体外进行的试验。体外试验包括基于细胞的试验,其中使用生存或死亡的细胞。体外试验也包括无细胞试验,其中不使用完整细胞。

[0101] 除非另有说明,本发明描写的结构也包括仅在存在一个或多个同位素富集原子方面不同的化合物。例如,具有本发明结构的化合物,除了由氘或氚代替氢,或者由 ^{13}C - 或 ^{14}C - 富集的碳代替碳,均在本发明的范围之内。

[0102] 本发明化合物也可以在一个或多个组成这种化合物的原子上包含反常比例的原子同位素。例如,该化合物可以用放射性同位素放射标记的,例如氚 (^3H)、碘-125 (^{125}I) 或碳-14 (^{14}C)。本发明化合物所有的同位素变化,不管是否是有放射活性的,均包含在本发明范围内。

[0103] 当本发明对物理性质例如分子量或者化学性质例如化学通式使用范围时,应包括范围的所有组合和亚组合以及具体的实施方式。术语“约”当指数量或数值范围时,意思是所指数量或者数值范围是试验变异性内(或统计学实验误差内)的近似值,因此该数量或者数值范围可以在所述数量或数值范围的例如 1% 至 15% 之间变化。术语“包含”(以及相关术语例如“含有”或“含”或“具有”或“包括”)包括那些具体实施方式,例如,物质、组合、方法或过程等的任何组成的具体实施方式,其“由所描述的特征组成”或者“基本上由所描述的特征组成”。

[0104] 本发明使用的缩写具有在化学和生物学领域的通常含义。

[0105] 本发明使用的术语“脂肪族”包括饱和或不饱和的、直链(无支链的)或者支链的脂肪族烃,其任选被一种或多种官能团取代。如本领域技术人员所理解的,“脂肪族”在本发明中旨在包括但不限于:烷基、烯基、炔基部分。因此,如本发明所使用,术语“烷基”包括直链和支链烷基。类似的惯例适用于其他通用术语例如“烯基”、“炔基”等等。

[0106] 而且,如本发明所使用,术语“烷基”、“烯基”、“炔基”等包括取代与未取代的基团两者。在某些实施方式中,如本发明所使用,“低级烷基”用于指代那些含有大约 1-6 个碳原子的烷基(取代、未取代、支链或无支链)。

[0107] 在某些实施方式中,用于本发明的烷基、烯基和炔基包含大约 1-20 个脂肪族碳原子。在某些其他实施方式中,用于本发明的烷基、烯基和炔基包含大约 1-10 个脂肪族碳原子。在其他实施方式中,用于本发明的烷基、烯基和炔基包含大约 1-8 个脂肪族碳原子。在其他实施方式中,用于本发明的烷基、烯基和炔基包含大约 1-6 个脂肪族碳原子。在其他实施方式中,用于本发明的烷基、烯基和炔基包含大约 1-4 个碳原子。因此举例性的脂肪族基团包括但不限于,例如,甲基、乙基、正丙基、异丙基、烯丙基、正丁基、仲丁基、异丁基、叔丁基、正戊基、仲戊基、异戊基、叔戊基、正己基、仲己基部分等等,其也可以携带一个或多个取代基。

[0108] 烯基包括但不限于,例如,乙烯基、丙烯基、丁烯基等等。典型的炔基包括但不限于乙炔基、2-丙炔基等等。

[0109] 本发明所使用的术语“低级亚烷基”指的是将两个其他基团连接在一起的烃链,即

在任一端键合至另一个基团,例如亚甲基、亚乙基、亚丁基等等。这样的取代基优选含有 1 到 10 个碳,更优选含有 1 到 5 个碳。这样的基团可以被取代,优选被氨基、乙酰氨基(经由氮原子键合的低级烷基羰基)、或环低级烷基取代。对于后者,指的是饱和烃环,优选总共带有 3 到 10 个亚甲基(包括连接碳在内),更优选 3 到 6 个。

[0110] 本发明所使用的术语“脂环族”指的是结合脂肪族和环状化合物的性质的化合物,包括但不限于单环或多环脂肪族烃以及桥连的环烷基化合物,其任选用一个或多个官能团取代。

[0111] 如本领域技术人员所了解的,“脂环族”在本发明中旨在包括但不限于:环烷基、环烯基和环炔基部分,其任选由一个或多个官能团取代。

[0112] 因此举例性的脂环基包括但不限于,例如,环丙基、 $-\text{CH}_2-$ 环丙基、环丁基、 $-\text{CH}_2-$ 环丁基、环戊基、 $-\text{CH}_2-$ 环戊基、环己基、 $-\text{CH}_2-$ 环己基、环己烯基、环己烷基、降冰片基部分等等,其也可以携带一个或多个取代基。

[0113] 本发明所使用的术语“烷氧基”或“烷基氧基”指的是通过氧原子的饱和或不饱和母体分子部分。在某些实施方式中,烷基包含约 1-20 个脂肪族碳原子。在某些其他实施方式中,烷基包含约 1-10 个脂肪族碳原子。在其他实施方式中,本发明使用的烷基包含约 1-8 个脂肪族碳原子。在其他实施方式中,烷基包含约 1-6 个脂肪族碳原子。在其他实施方式中,烷基包含约 1-4 个脂肪族碳原子。烷氧基的例子包括但不限于,甲氧基、乙氧基、异丙氧基、正丁氧基、异丁氧基、仲丁氧基、叔丁氧基、新戊氧基、正己氧基等等。

[0114] 本发明使用的术语“低级烷氧基”指的是通过氧和另一个基团(即烷基醚)键合的如上定义的低级烷基,其可以是同样如上定义的支链或无支链的。

[0115] 术语“烷基氨基”指的是具有结构 $-\text{NHR}'$ 的基团,其中 R' 是如本发明所定义的烷基。术语“氨基烷基”指的是具有结构 $\text{NH}_2\text{R}'$ 的基团,其中 R' 如本发明定义。在某些实施方式中,烷基含有约 1-20 个脂肪族碳原子。在某些其他实施方式中,烷基含有约 1-10 个脂肪族碳原子。在其他实施方式中,用于本发明的烷基含有约个脂肪族碳原子。在其他实施方式中,烷基含有约 1-6 个脂肪族碳原子。在其他实施方式中,烷基含有约 1-4 个脂肪族碳原子。烷基氨基的例子包括但不限于:甲基氨基等。

[0116] 本发明化合物的以上所述的脂肪族(及其他)部分的一些取代基例子包括但不限于:脂肪族;脂环族;杂脂肪族;杂环;芳香族;杂芳香族;芳基;杂芳基;烷基芳基;杂烷基芳基;烷基杂芳基;杂烷基杂芳基;烷氧基;芳氧基;杂烷氧基;杂芳氧基;烷基硫基;芳基硫基;杂烷基硫基; R_x 独立地包括但不限于:脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂环、芳基、杂芳基、烷基芳基、烷基杂芳基、杂烷基芳基或杂烷基杂芳基,其中上文和这里描述的任何脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂环、烷基芳基或烷基杂芳基取代基可以是取代的或未取代的、支链或无支链的、饱和或不饱和的、且其中上文和此处描述的任何芳基或杂芳基取代基可以是取代或未取代的。通常可应用的取代基的其他例子由此处描述的实施例中的具体实施方式说明。

[0117] 通常,此处使用的术语“芳香族部分”指的是稳定的单环或者多环不饱和部分,其优选含有 3-14 个碳原子,每个碳原子可以被取代或未取代。在某些实施方式中,术语“芳香族部分”指在每个环原子上具有垂直于环平面的 p- 轨道并且满足 Hückel 规则(其中环中的 π 电子数为 $(4n+2)$,其中 n 为整数)的平面环。不满足这些芳香性标准的一个或全部的

单环或多环、不饱和部分在此处被定义为“非芳香族”，并由术语“脂环族”包括。

[0118] 通常，本发明所使用的术语“杂芳香族部分”指的是稳定的单环或多环的不饱和基团，其优选含有 3-14 个碳原子，每个碳原子可以被取代或未取代；且环中含有至少一个选自 O、S 和 N 的杂原子代替环碳原子。在某些实施方式中，术语“杂芳香族部分”指包括至少一个杂原子、在每个环原子上具有垂直于环平面的 p- 轨道并且满足 Hückel 规则（其中环中的 π 电子数为 $(4n+2)$ ，其中 n 为整数）的平面环。

[0119] 还将理解，本文定义的芳香族和杂芳香族部分可以经由烷基或杂烷基部分连接，因此也包括 -(烷基) 芳香族、-(杂烷基) 芳香族、-(杂烷基) 杂芳香族和 -(杂烷基) 杂芳香族部分。因此，如本发明所使用，短语“芳香族或杂芳香族部分”与“芳香族、(杂烷基) 芳香族、-(杂烷基) 杂芳香族、和 (杂烷基) 杂芳香族”是可互换的。取代基包括但不限于前文提到的任何取代基，例如，脂肪族部分中所列举的取代基，或用于本文公开的其他基团的取代基，导致形成稳定化合物。

[0120] 本文使用的术语“芳基”与本领域中该术语的公认含义没有明显的差别，指的是不饱和和环部分，其含有至少一个芳环。在某些实施方式中，“芳基”指的是具有一个或两个芳环的单环或二环的碳环体系，包括但不限于：苯基、萘基、四氢萘基、茚满基、茚基等。

[0121] 本文使用的术语“杂芳基”与本领域中该术语的公认含义没有明显的差别，指的是含有五到十个环原子的环状芳基，其中一个环原子选自 S 和 N；零、一或两个环原子是独立地选自 S 和 N 的其他杂原子；剩下的环原子是碳，该基团通过任何环原子连接到分子的其余部分上，例如，吡啶基、吡嗪基、嘧啶基、吡咯基、吡唑基、咪唑基、噻唑基、噁唑基、异噁唑基、噻二唑基、噁二唑基、苯硫基、呋喃基、喹啉基、异喹啉基等。

[0122] 将理解，芳基和杂芳基（包括二环的芳基）可以是未取代的或是取代的，其中取代包括一个或多个氢原子独立地被任何一个或多个以下基团替换，包括但不限于：脂肪族；脂环；杂脂肪族；杂环；芳香族；杂芳香族；芳基；杂芳基；烷基芳基；杂烷基芳基；烷基杂芳基；杂烷基杂芳基；烷氧基；芳氧基；杂烷氧基；杂芳氧基；烷基硫基；芳基硫基；杂烷基硫基；杂芳基硫基；F；Cl；Br；I；-OH；-NO₂；-CN；-CF₃；-CH₂CF₃；-CHCl₂；-CH₂OH；-CH₂CH₂OH；-CH₂NH₂；-CH₂SO₂CH₃；-C(=O)R_x；-C(=O)N(R_x)₂；-OC(=O)R_x；-OCO₂R_x；-OC(=O)N(R_x)₂；-N(R_x)₂；-S(O)₂R_x；-NR_x(CO)R_x；其中每个 R_x 独立地包括但不限于：脂肪族、脂环、杂脂肪族、杂环、芳香族、杂芳香族、芳基、杂芳基、烷基芳基、烷基杂芳基、杂烷基芳基或杂烷基杂芳基，其中上文和此处描述的任何脂肪族、脂环、杂脂肪族、杂环、烷基芳基或烷基杂芳基取代基可以是取代或未取代的、支链或无支链的、饱和或不饱和的，且上文和此处描述的任何芳香族、杂芳香族、芳基、杂芳基、-(烷基) 芳基或 -(烷基) 杂芳基取代基可以是取代的或未取代的。另外，将理解，任何合在一起的两个相邻基团可以表示 4、5、6 或 7- 元取代或未取代脂环或杂环基团。通常可应用的取代基的其他例子由本文描述的实施例显示的具体实施方式说明。

[0123] 本文描述的术语“环烷基”特别指含有三到七个、优选三到十个碳原子的基团。合适的环烷基包括但不限于：环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基等，在脂肪族、脂环、杂脂肪族或杂环基团的情况下，所述环烷基可以任选由取代基取代，所述取代基包括但不限于：脂肪族；脂环；杂脂肪族；杂环；芳香族；杂芳香族；芳基；杂芳基；烷基芳基；杂烷基芳基；烷基杂芳基；杂烷基杂芳基；烷氧基；芳氧基；杂烷氧基；杂芳氧基；

烷基硫基；杂芳基硫基；F；Cl；Br；I；-OH；-NO₂；-CN；-CF₃；-CH₂CF₃；-CHCl₂；-CH₂OH；-CH₂CH₂OH；-CH₂NH₂；-CH₂SO₂CH₃；-C(=O)R_x；-C(=O)N(R_x)₂；-OC(=O)R_x；-OCO₂R_x；-OC(=O)N(R_x)₂；-N(R_x)₂；-S(O)₂R_x；-NR_x(CO)R_x；其中每个 R_x 独立地包括但不限于：脂肪族、脂环、杂脂肪族、杂环、芳香族、杂芳香族、芳基、杂芳基、烷基芳基、烷基杂芳基、杂烷基芳基或杂烷基杂芳基，其中上文和此处描述的任何脂肪族、脂环、杂脂肪族、杂环、烷基芳基或烷基杂芳基取代基可以是取代或未取代的、支链或无支链的、饱和或不饱和的，且上文和此处描述的任何芳香族、杂芳香族、芳基、杂芳基取代基可以是取代的或未取代的。通常可应用的取代基的其他例子由本文描述的实施例显示的具体实施方式说明。

[0124] 本文使用的术语“杂脂肪族”指的是主链上的一个或多个碳原子被杂原子取代的脂肪族基团。因此，杂脂肪族基团指的是例如含有一个或多个氧、硫、氮、磷或硅原子代替碳原子的脂肪链。杂脂肪族基团可以是直链或支链的、饱和或不饱和的。在某些实施方式中，杂脂肪族基团通过其上的一个或多个氢原子被以下一个或多个基团独立替换而取代，所述基团包括但不限于：脂肪族；脂环；杂脂肪族；杂环；芳香族；杂芳香族；芳基；杂芳基；烷基芳基；烷基杂芳基；烷氧基；芳氧基；杂烷氧基；杂芳氧基；烷基硫基；芳基硫基；杂芳基硫基；F；Cl；Br；I；-OH；-NO₂；-CN；-CF₃；-CH₂CF₃；-CHCl₂；-CH₂OH；-CH₂CH₂OH；-CH₂NH₂；-CH₂SO₂CH₃；-C(=O)R_x；-C(=O)N(R_x)₂；-OC(=O)R_x；-OCO₂R_x；-OC(=O)N(R_x)₂；-N(R_x)₂；-S(O)₂R_x；-NR_x(CO)R_x；其中每个 R_x 独立地包括但不限于：脂肪族、脂环、杂脂肪族、杂环、芳香族、杂芳香族、芳基、杂芳基、烷基芳基、烷基杂芳基、杂烷基芳基或杂烷基杂芳基，其中上文和此处描述的任何脂肪族、脂环、杂脂肪族、杂环、烷基芳基或烷基杂芳基取代基可以是取代或未取代的、支链或无支链的、饱和或不饱和的，且上文和此处描述的任何芳香族、杂芳香族、芳基、或杂芳基取代基可以是取代的或未取代的。通常可应用的取代基的其他例子由本文描述的实施例显示的具体实施方式说明。

[0125] 本文所使用的“杂环烷基”、“杂环”或“杂环的”指的是结合了杂脂肪族和环状化合物的性质的化合物，其包括但不限于饱和和不饱和的、单环或多环的环状体系，含有 5-16 个原子，其中至少一个环原子是选自 S 和 N 的杂原子（其中氮和硫杂原子可任选被氧化），其中该环体系任选被一个或多个如本文所述的官能团取代。在某些实施方式中，术语“杂环烷基”、“杂环”或“杂环的”指的是非芳香族 5-、6- 或 7- 元环或多环基团，其中至少一个环原子杂原子选自 S 和 N（其中氮和硫杂原子可任选被氧化），包括但不限于：二或三环基团，包括具有 1-3 个独立地选自氧、硫和氮的杂原子的稠合六元环，其中 (i) 每个 5- 元环具有 0 到 2 个双键，每个 6- 元环具有 0 到 2 个双键以及每个 7- 元环具有 0 到 3 个双键，(ii) 氮和硫杂原子可以任选被氧化，(iii) 氮杂原子可以任选被季铵化，以及 (iv) 以上所述任何杂环可以与芳基或杂芳基环稠合。典型的杂环包括但不限于：杂环例如呋喃基、吡喃基、吡咯基、噻吩基、吡咯烷基、吡唑基、吡唑烷基、咪唑基、咪唑烷基、哌啶基、哌嗪基、噁唑基、噁唑烷基、异噁唑基、异噁唑烷基、二噁唑基、噻二唑基、噁二唑基、四唑基、三唑基、噻三唑基、噻二唑基、噁二唑基、吗啉基、噻唑基、噻唑烷基、异噻唑基、异噻唑烷基、二噻唑基、二噻唑烷基、四氢呋喃基、及其苯并稠合的衍生物。在某些实施方式中，本文使用的“取代杂环或杂环烷基或杂环”基团指的是如上定义的杂环、或杂环烷基或杂环基团，其通过独立地用以下基团替换其上的一个、两个或三个氢原子而被取代，该基团包括但不限于：脂肪族；脂环；杂脂肪族；杂环；芳香族；杂芳香族；芳基；杂芳基；烷基芳基；杂烷基芳

基 ; 烷基杂芳基 ; 杂烷基杂芳基 ; 烷氧基 ; 芳氧基 ; 杂烷氧基 ; 杂芳氧基 ; 烷基硫基 ; 芳基硫基 ; 杂烷基硫基 ; 杂芳基硫基 ; F ; Cl ; Br ; I ; -OH ; -NO₂ ; -CN ; -CF₃ ; -CH₂CF₃ ; -CHCl₂ ; -CH₂OH ; -CH₂CH₂OH ; -CH₂NH₂ ; -CH₂SO₂CH₃ ; -C(=O)R_x ; -C(=O)N(R_x)₂ ; -OC(=O)R_x ; -OCO₂R_x ; -OC(=O)N(R_x)₂ ; -N(R_x)₂ ; -S(O)₂R_x ; -NR_x(CO)R_x ; 其中每个 R_x 独立地包括但不限于 : 脂肪族、脂环、杂脂肪族、杂环、芳香族、杂芳香族、芳基、杂芳基、烷基芳基、烷基杂芳基、杂烷基芳基或杂烷基杂芳基, 其中上文和此处描述的任何脂肪族、脂环、杂脂肪族、杂环、烷基芳基或烷基杂芳基取代基可以是取代或未取代的、支链或无支链的、饱和或不饱和的, 且上文和此处描述的任何芳香族、杂芳香族、芳基、杂芳基可以是取代的或未取代的。另外, 将理解, 上文或此处描述的任何脂环或杂环基团可以包含与其稠合的芳基或杂芳基基团。

[0126] 本文所使用的术语“卤代”和“卤素”指的是选自氟、氯、溴和碘的原子。

[0127] 术语“卤代烷基”表示含有一、二或三个与之连接的卤素原子的如上定义的烷基, 这种基团的例子如氯甲基、溴乙基、三氟甲基等。

[0128] 本文使用的术语“氨基”指的是伯胺(-NH₂)、仲胺(-NHR_x)、叔胺(-NR_xR_y)或季胺(-N⁺R_xR_yR_z), 其中 R_y 和 R_z 独立代表此处定义的脂肪族、脂环、杂脂肪族、杂环、芳香族或杂原子基团。氨基的例子包括但不限于 : 甲基氨基、二甲基氨基、乙基氨基、二乙基氨基、二乙基氨基羰基, 异丙基氨基、哌啶基、三甲基氨基和丙基氨基。

[0129] 本文使用的术语“酰基”指的是具有通式 -C(=O)R 的基团, 其中 R 是如本文定义的脂肪族、脂环、杂脂肪族、杂环、芳香族或杂芳香族基团。

[0130] 本文使用的术语“磺酰胺基”指的是具有通式 -SO₂NR_xR_y 的基团, 其中 R_x 和 R_y 独立代表如本文定义的氢、或脂肪族、脂环、杂脂肪族、杂环、芳香族、杂芳香族或酰基基团。

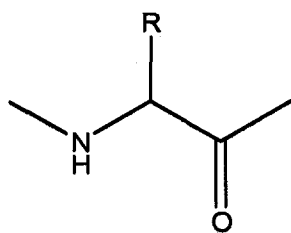
[0131] 本文使用的术语“苯酰胺基”指的是具有通式 PhNR_x 的基团, 其中 R_x 是如本文定义的氢、或脂肪族、脂环、杂脂肪族、杂环、芳香族、杂芳香族或酰基基团。

[0132] 本文使用的术语“脂肪族”、“杂脂肪族”、“烷基”、“烯基”、“炔基”、“杂烷基”、“杂烯基”、“杂炔基”等包括取代和未取代的、饱和和不饱和的、直链和支链基团。类似地, 术语“脂环”、“杂环”、“杂环烷基”等包括取代和未取代的、饱和和不饱和的基团。另外, 术语“环烷基”、“环烯基”、“环炔基”、“杂环烷基”、“杂环烯基”、“杂环炔基”、“芳香族”、“杂芳香族”、“芳基”、“杂芳基”等包括取代和未取代的基团两者。

[0133] 本文使用的术语“天然氨基酸”指的是在自然存在的蛋白质中发现的任何一种普遍的、自然存在的 L- 氨基酸 : 甘氨酸 (Gly)、丙氨酸 (Ala)、缬氨酸 (Val)、亮氨酸 (Leu)、异亮氨酸 (Ile)、赖氨酸 (Lys)、精氨酸 (Arg)、组氨酸 (His)、脯氨酸 (Pro)、丝氨酸 (Ser)、苏氨酸 (Thr)、苯丙氨酸 (Phe)、酪氨酸 (Tyr)、色氨酸 (Trp)、天冬氨酸 (Asp)、谷氨酸 (Glu)、天冬酰胺 (Asn)、谷氨酰胺 (Gln)、半胱氨酸 (Cys) 和甲硫氨酸 (Met)。

[0134] 本文使用的术语“非天然氨基酸”指的是不是天然氨基酸的所有氨基酸。例如, 其包括 α-、β-、D-、L- 氨基酸残基, 和如下通式的化合物 :

[0135]



[0136] 其中侧链 R 不是天然存在的氨基酸侧链。

[0137] 更具体地,本文使用的术语“氨基酸”包括天然氨基酸和非天然氨基酸。

[0138] 本发明提供配制的 LFA-1 拮抗剂或其药用可接受的盐,其可以以雾化形式递送。特别是,该 LFA-1 拮抗剂因其具有快速的全身清除率而尤其适合局部治疗。本发明也包括使用本发明 LFA-1 气雾剂治疗和预防免疫相关疾病的方法。由气雾剂给药局部递送 LFA-1 拮抗剂的治疗的优点包括将较高浓度的活性化合物递送至所需部位,快速递送活性化合物并由于较低全身循环水平而减少全身效应。

[0139] 下文各段进一步详细描述本发明各个方面。

[0140] 用于局部气雾剂治疗的 LFA-1 拮抗剂组合物

[0141] 本发明包括用于局部治疗免疫相关疾病的制剂。该制剂在适于以气雾剂递送至受试者的组合物中包含 LFA-1 拮抗剂。适于雾化给药的组合物包括 LFA-1 拮抗剂和推进剂(例如在定量吸入器中)或适合与喷雾器一起使用的溶液的组合。该制剂还可以包含其他组分,例如促进活性化合物递送、提高治疗效果、具有次级效应或最小化副作用的组分。以下详细描述本发明制剂。

[0142] 本发明的气雾剂包含 LFA-1 拮抗剂作为治疗剂。在本发明的一些实施方式中,本发明 LFA-1 拮抗剂具有快速的全身清除率。LFA-1 与 ICAM 的相互作用在全身发挥各种全身效应。由于 LFA-1 拮抗剂在不需要的部位(例如除了给药位点以外的位点)的活性,使用 LFA-1 拮抗剂治疗疾病可能导致不需要的效果。本发明利用从系统循环中快速清除的 LFA-1 拮抗剂。通过使用雾化递送至炎性或免疫疾病部位,将最小化不需要的全身效应,而仍然允许局部治疗。本发明 LFA-1 拮抗剂典型地具有最小的全身 LFA-1 拮抗剂活性。在一些实施方式中,本发明 LFA-1 拮抗剂可能具有不可检测的全身 LFA-1 拮抗剂活性。

[0143] 全身清除率可以通过本领域已知的各种方法计算。例如,可以通过分析药物浓度时间图中制剂给药后(例如在单次静脉注射后)药物从血浆中消失的速率来计算药物清除率。本领域的技术人员可以使用各种方法计算并确定全身清除率。例如,消失率可以通过分析放射性标记的药物形式的吸收、分布、代谢和排泄来测量,或通过其他测量药物在血浆中的水平的方法来测量,所述方法例如气相色谱法(Sapirstein et al., 1955, Am. Jour. Physiol., Vol. 181, pp. 330; 美国专利 No. 4, 908, 202)、液相色谱-质谱分析法(LCMS)或 HPLC 法。作为另一个例子,可以通过将制剂引入受试者来计算清除率,所述制剂通过连续静脉注入直到达到平衡,这时物质的血浆水平(由分析血浆样品测定)是稳定的,在该点注入率等于血浆清除率(Earle et al., 1946, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., Vol. 62, pp. 262ff.)。

[0144] 快速的全身清除可能通过肝脏、肾脏或其他器官清除或代谢。图 1 给出了大鼠肝脏对所选化合物的清除率数据(参见实施例 11)。当清除发生在特定器官中时,该清除率与流到所述特定器官的血流量有关。通过了解特定物种清除化合物的机制,其他动物的清除率可以通过异速生长缩放来计算。例如,本发明的化合物,化合物 12, 已知通过大鼠肝脏清

除。基于在大鼠中计算得到的清除率,该化合物在各种动物中的清除率可以根据已知的大鼠血流量与其他动物相比较从而按比例缩放(参见 Davies and Morris,“Physiological Parameters in Laboratory Animals and Humans”Pharmaceutical Research(1993)10:1093-5)。当对人按比例缩放时,本发明的 LFA-1 拮抗剂的全身清除率接近心排血量、肝血流量或肾血流量。该缩放可以基于心排血量、肝血流量或肾血流量的百分比。例如,100%大鼠肝血流量约为 55mL/min/Kg,而 100%人肝血流量约为 20mL/min/kg。在一些实施方式中,本发明组合物的清除率为肝血流量的至少 5%。对于人,这意味着清除率为 1mL/min/kg。在其他实施方式中,LFA-1 拮抗剂的清除率为人肝血流速率的至少大约 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或 100%(人肝脏清除率是 20mL/min/kg)。在其他实施方式中,LFA-1 拮抗剂的清除率为人肝血流速率的至少大约 110%、120%、130%、140%、150%、175%、200%、220%、240%、260%、280%、300%、320%、340%、360%、380%、400%、420%、440%、460%、480%或 500%。

[0145] 本发明的清除率可以包括对人按比例缩放的清除率,为约 1-500mL/min/kg。在一些实施方式中,LFA-1 拮抗剂的全身清除率可以是约 1mL/min/kg 或更大。在其他实施方式中,LFA-1 拮抗剂的全身清除率可以是约 2mL/min/kg 或更大。在其他实施方式中,LFA-1 拮抗剂的全身清除率可以是约 3mL/min/kg 或更大。在其他实施方式中,LFA-1 拮抗剂的全身清除率可以是约 5mL/min/kg 或更大。在其他实施方式中,LFA-1 拮抗剂的全身清除率可以是约 7mL/min/kg 或更大。在一些实施方式中,LFA-1 拮抗剂的全身清除率可以是约 10mL/min/kg 或更大。在其他实施方式中,LFA-1 拮抗剂的全身清除率可以是约 15mL/min/kg 或更大。在其他实施方式中,LFA-1 拮抗剂的全身清除率可以是约 20mL/min/kg 或更大。在其他实施方式中,LFA-1 拮抗剂的全身清除率可以是约 25mL/min/kg 或更大。在其他实施方式中,LFA-1 拮抗剂的全身清除率可以是约 30mL/min/kg 或更大。在其他实施方式中,LFA-1 拮抗剂的全身清除率可以是约 40mL/min/kg 或更大。在其他实施方式中,LFA-1 拮抗剂的全身清除率可以是约 50mL/min/kg 或更大。在其他实施方式中,LFA-1 拮抗剂的全身清除率可以是至少约 60、65、70、75、80、85、90、95、或 100mL/min/kg。

[0146] 在本发明的另一个方面,本发明 LFA-1 拮抗剂对于 LFA-1 结合至 ICAM-1 具有抑制效果。本发明 LFA-1 拮抗剂的抑制效果可以使用本领域任何各种已知的结合试验来测试,包括直接将细胞结合至包被有 ICAM-1 的平板、酶联免疫吸附测定(ELISA)、放射免疫测定(RIA)或使用生物传感器。典型地,药物的抑制效果作为 IC50 值来测量,所述 IC50 值测量抑制 50%的生物过程需要多少化合物。或者,抑制效果可作为 EC50 值计算,所述 EC50 值测量药物能达到 50%的预期效果所需的有效浓度。例如,可以测量 EC50 值来计算表达 LFA-1 的 T 细胞与 ICAM-1 的结合的抑制。例如,可以用已知表达 LFA-1 的 T 细胞系通过抑制与包被有 ICAM-1 的平板的结合来计算 IC50 值。作为举例,T 细胞系 HuT78(ATCC TIB-161)可以在浓度增加的 LFA-1 拮抗剂的存在下与包被有 ICAM-1 的平板结合(参见实施例 1)。在一些实施方式中,LFA-1 拮抗剂是 LFA-1 和 ICAM-1 之间的相互作用的直接竞争性抑制剂。现有技术描述了用于 LFA-1 拮抗剂的竞争性结合实验的例子,例如,美国专利申请 No. 2005/0148588 和美国临时申请 No. 60/999,571;Gadek et al. Science 295,1086-1089,2002,和 Keating et al Protein Science,15,290-303,2006;这些文献的内容通过引用方式清楚地合并在此。EC50 或 IC50 可用于如下所述的实施方式中。这些试验可用于鉴定作为直接竞争性抑

制剂的抑制剂。

[0147] 在一些实施方式中, LFA-1 拮抗剂抑制 HuT78 细胞结合至包被有 ICAM-1 的平板上, 其 EC₅₀ 为 10 μ M 或更低。在其他实施方式中, LFA-1 拮抗剂抑制 HuT78 或 Jurkat 细胞结合至包被有 ICAM-1 的平板上, 其 EC₅₀ 为 1 μ M 或更低。或者, LFA-1 拮抗剂抑制 HuT78 或 Jurkat 细胞结合至包被有 ICAM-1 的平板上, 其 EC₅₀ 为 100nM 或更低。在一些其他实施方式中, LFA-1 拮抗剂抑制 HuT78 或 Jurkat 细胞结合至包被有 ICAM-1 的平板上, 其 EC₅₀ 为 10、5 或 1nM 或更低。通式 I 和通式 II 的选定的 LFA-1 拮抗剂抑制 HuT78 细胞结合至 ICAM-1 的数据在图 1 中显示。

[0148] 本发明 LFA-1 拮抗剂的抑制效果也可以使用 LFA-1 结合至 ICAM-1 后的已知下游事件来测定。例如, 已知用超抗原葡萄球菌肠毒素 B (SEB) 或其他炎性刺激物刺激后, 初级培养物中的人 T 细胞释放 IL-2。

[0149] 在一个实施方式中, LFA-1 拮抗剂抑制用 SEB 刺激的初级培养物中的外周血单核细胞 (PBMCs) 释放 IL-2, 其 IC₅₀ 或 EC₅₀ 为 10mM 或更小。在另一个实施方式中, LFA-1 拮抗剂抑制用 SEB 刺激的初级培养物中的外周血单核细胞 (PBMCs) 释放 IL-2, 其 IC₅₀ 或 EC₅₀ 为 1mM 或更小。在其他实施方式中, LFA-1 拮抗剂抑制用 SEB 刺激的初级培养物中的外周血单核细胞 (PBMCs) 释放 IL-2, 其 IC₅₀ 或 EC₅₀ 为 100 μ M 或更小。在一些实施方式中, LFA-1 拮抗剂抑制用 SEB 刺激的初级培养物中的外周血单核细胞 (PBMCs) 释放 IL-2, 其 IC₅₀ 或 EC₅₀ 为 10 μ M 或更小。本发明提供其他实施方式, 其中 LFA-1 拮抗剂抑制用 SEB 刺激的初级培养物中的外周血单核细胞 (PBMCs) 释放 IL-2, 其 IC₅₀ 或 EC₅₀ 为 1 μ M、100nM、10nM 或 1nM 或更小。在一些实施方式中, 当 PBMC 用 SEB 刺激时, LFA-1 拮抗剂同时抑制两种或更多种炎性细胞因子释放, 其 IC₅₀ 或 EC₅₀ 为 1 μ M 或更小。当 PBMC 用 SEB 刺激时, LFA-1 拮抗剂可以同时抑制两种或更多种细胞因子释放, 其 IC₅₀ 或 EC₅₀ 为 100nM 或更小。在另一个实施方式中, 当 PBMC 用 SEB 刺激时, LFA-1 拮抗剂同时抑制 IL-2 和 IL-4 释放, 其 IC₅₀ 或 EC₅₀ 为 500nM 或更小。这个尤其重要, 因为 IL-2 和 IL-4 的释放在 Th1 和 Th2 淋巴细胞介导的炎症疾病中起重要作用。在另一个实施方式中, 当 PBMC 用 SEB 刺激时, LFA-1 拮抗剂同时抑制 IL-1(α)、IL-1(β)、IL-2、IL-4、IL-5、IL-10、IL-13、干扰素 γ 、MIP1(α)、MCP-1、TNF(α) 和 GM-CSF 的释放, 其 IC₅₀ 或 EC₅₀ 为 1 μ M 或更小。

[0150] 递送 LFA-1 拮抗剂以使达到局部治疗的有效浓度。例如, LFA-1 的局部组织浓度为大于约 1nM 时, 可以达到治疗有效浓度。在另一个实施方式中, LFA-1 的局部组织浓度为大于约 10nM 时, 可以达到局部治疗的有效浓度。在一些其他实施方式中, LFA-1 的局部组织浓度为大于约 100nM 时, 可以达到局部治疗的有效浓度。在其他实施方式中, LFA-1 的局部组织浓度为大于约 1 μ M 时, 可以达到局部治疗的有效浓度。在其他实施方式中, LFA-1 的局部组织浓度为大于约 10 μ M 时, 可以达到局部治疗的有效浓度。在另一个实施方式中, 当保持低的全身水平时, 可达到局部治疗的有效浓度。例如, 在一些实施方式中, 当保持全身药物浓度小于 1 μ M 时, 达到局部治疗的有效浓度 - 约 1nM、约 10nM、约 100nM、约 1 μ M、或约 10 μ M。在其他实施方式中, 当保持全身药物浓度小于 100nM 时, 达到局部治疗的有效浓度 - 约 1nM、约 10nM、约 100nM、约 1 μ M、或约 10 μ M。在其他实施方式中, 当保持全身药物浓度小于 10nM 时, 达到局部治疗的有效浓度 - 约 1nM、约 10nM、约 100nM、约 1 μ M、或约 10 μ M。本发明提供其他实施方式, 其中当保持全身药物浓度小于 1nM 时, 达到局部治疗的有效浓

度 - 约 1nM、约 10nM、约 100nM、约 1 μ M、或约 10 μ M。全身药物浓度可以由本领域已知以及上文公开的任何各种方法通过血浆浓度来测量。

[0151] 在本发明的另一方面,使 LFA-1 拮抗剂的局部组织浓度在一段延长的时间内保持在治疗有效水平。在一些实施方式中,人们希望的是,LFA-1 拮抗剂的局部组织浓度在一定量时间或剂量之间保持在治疗有效水平。通过选择可以在延长时间内保持局部治疗有效水平的 LFA-1 拮抗剂,受试者能达到治疗学效果,而无需每天多剂量给药。例如,当以 1% 雾化溶液递送至眼睛时,本发明的 LFA-1 拮抗剂可以在给药后约 16 小时、约 17 小时、约 18 小时、约 19 小时、约 20 小时、约 21 小时、约 22 小时、约 23 小时或约 24 小时内以高于 1 μ M 的局部组织浓度存在,所述时间段被认为足以要求眼科用药每天一次给药。当本发明 LFA-1 拮抗剂以约 1% 雾化溶液局部给药至皮肤时,可以在给药后约 16 小时、约 17 小时、约 18 小时、约 19 小时、约 20 小时、约 21 小时、约 22 小时、约 23 小时或约 24 小时内提供表皮和真皮内的局部组织浓度水平为大于约 1 μ M。当本发明的 LFA-1 拮抗剂以约 0.1%、约 1%、约 2%、约 3%、约 4%、约 5%、约 6%、约 7%、约 8%、约 9% 或约 10% 的雾化溶液局部给药至肺时,可以在给药后约 16 小时、约 17 小时、约 18 小时、约 19 小时、约 20 小时、约 21 小时、约 22 小时、约 23 小时或约 24 小时内提供肺中局部组织浓度水平为大于 1 μ M。局部组织浓度水平可以通过任何本领域已知的各种方法测量,例如放射性标记分析。

[0152] 在一些实施方式中,LFA-1 拮抗剂的局部组织浓度在给药于受试者后的至少 2 小时内大于 1 μ M。在另一个实施方式中,LFA-1 拮抗剂的局部组织浓度在给药于受试者后的至少 4 小时内大于 1 μ M。在又一个实施方式中,LFA-1 拮抗剂的局部组织浓度在给药于受试者后的至少 6 小时内大于 1 μ M。在一些实施方式中,LFA-1 拮抗剂的局部组织浓度在给药于受试者后的至少 8 小时内大于 1 μ M。在一些其他实施方式中,LFA-1 拮抗剂的局部组织浓度在给药于受试者后的至少 10、12、14、16、18、20、22 或 24 小时内大于 1 μ M。

[0153] 在一些实施方式中,LFA-1 拮抗剂的局部组织浓度在给药于受试者后的至少大约 2 小时、大约 4 小时、大约 6 小时、大约 8 小时、大约 10 小时、大约 12 小时、大约 14 小时、大约 16 小时、大约 18 小时、大约 20 小时、大约 22 小时或大约 24 小时内大于约 1 μ M。

[0154] 在其他实施方式中,LFA-1 拮抗剂的局部组织浓度在给药于受试者后的至少大约 2 小时、大约 4 小时、大约 6 小时、大约 8 小时、大约 10 小时、大约 12 小时、大约 14 小时、大约 16 小时、大约 18 小时、大约 20 小时、大约 22 小时或大约 24 小时内大于约 100nM。

[0155] 在其他实施方式中,LFA-1 拮抗剂的局部组织浓度在给药于受试者后的至少大约 2 小时、大约 4 小时、大约 6 小时、大约 8 小时、大约 10 小时、大约 12 小时、大约 14 小时、大约 16 小时、大约 18 小时、大约 20 小时、大约 22 小时或大约 24 小时内大于约 10nM。在其他实施方式中,LFA-1 拮抗剂的局部组织浓度水平在直到大约 3 小时、大约 4 小时、大约 5 小时、大约 6 小时、大约 7 小时、大约 8 小时、大约 9 小时、大约 10 小时、大约 11 小时、大约 12 小时、大约 13 小时、大约 14 小时、大约 15 小时、大约 16 小时、大约 17 小时、大约 18 小时、大约 19 小时、大约 20 小时、大约 21 小时、大约 22 小时、大约 23 小时或大约 24 小时保持大于约 10nM。

[0156] 本发明还提供实施方式,其中 LFA-1 拮抗剂的局部组织浓度在给药于受试者后的至少大约 2 小时、大约 4 小时、大约 6 小时、大约 8 小时、大约 10 小时、大约 12 小时、大约 14 小时、大约 16 小时、大约 18 小时、大约 20 小时、大约 22 小时或大约 24 小时内大于约 1nM。

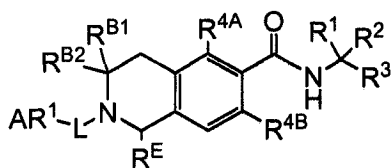
[0157] LFA-1 拮抗剂化合物

[0158] 具体的 LFA-1 拮抗剂化合物已在现有技术中描述并可能用于本发明。例如, LFA-1 拮抗剂在美国专利 No. 7, 314, 938、美国专利申请公开号 No. 2006/0281739、美国申请序列号 No. 12/288, 330 和共同未决美国申请 WSGR 案号 32411-712. 201、32411-708. 201 和 32411-710. 201 中描述; 每篇文献的内容以引用方式清楚地合并在此。该化合物可以通过这些文献描述的方法合成。

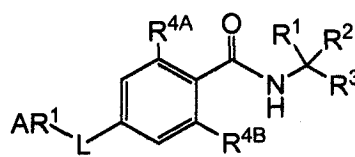
[0159] 在一些实施方式中, LFA-1 拮抗剂是 LFA-1 和 ICAM-1 之间的相互作用的直接竞争性抑制剂。

[0160] 在一些实施方式中, 本发明 LFA-1 拮抗剂具有通式 (I) 或 (II) 结构:

[0161]



(I)



(II)

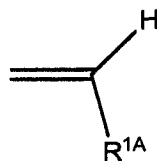
[0162] 其中 R^1 和 R^2 各自独立为氢、氨基酸侧链、 $-(CH_2)_mOH$ 、 $-(CH_2)_m$ 芳基、 $-(CH_2)_m$ 杂芳基 (其中 m 是 0-6)、 $-CH(R^{1A})(OR^{1B})$ 、 $-CH(R^{1A})(NHR^{1B})$ 、U-T-Q, 或任选由 U-T-Q 取代的脂肪族、脂环族、杂脂肪族或杂脂环族部分,

[0163] 其中 U 是不存在、 $-O-$ 、 $-S(O)_{0-2}-$ 、 $-SO_2N(R^{1A})-$ 、 $-N(R^{1A})-$ 、 $-N(R^{1A})C(=O)-$ 、 $-N(R^{1A})C(=O)-O-$ 、 $-N(R^{1A})C(=O)-N(R^{1B})-$ 、 $-N(R^{1A})-SO_2-$ 、 $-C(=O)-$ 、 $-C(=O)-O-$ 、 $-O-C(=O)-$ 、芳基、杂芳基、烷基芳基、烷基杂芳基、 $-C(=O)-N(R^{1A})-$ 、 $-OC(=O)N(R^{1A})-$ 、 $-C(=N-R^{1E})-$ 、 $-C(=N-R^{1E})-O-$ 、 $-C(=N-R^{1E})-N(R^{1A})-$ 、 $-O-C(=N-R^{1E})-N(R^{1A})-$ 、 $-N(R^{1A})C(=N-R^{1E})-$ 、 $-N(R^{1A})C(=N-R^{1E})-O-$ 、 $-N(R^{1A})C(=N-R^{1E})-N(R^{1B})-$ 、 $-P(=O)(OR^{1A})-O-$ 或 $-P(=O)(R^{1A})-O-$;

[0164] T 是不存在、脂肪族、杂脂肪族、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部分; 以及

[0165] Q 是氢、卤素、氰基、异氰酸酯、 $-OR^{1B}$ 、 $-SR^{1B}$ 、 $-N(R^{1B})_2$ 、 $-NHC(=O)OR^{1B}$ 、 $-NHC(=O)N(R^{1B})_2$ 、 $-NHC(=O)R^{1B}$ 、 $-NHSO_2R^{1B}$ 、 $-NHSO_2N(R^{1B})_2$ 、 $-NHSO_2NHC(=O)OR^{1B}$ 、 $-NHC(=O)NHSO_2R^{1B}$ 、 $-C(=O)NHC(=O)OR^{1B}$ 、 $C(=O)NHC(=O)R^{1B}$ 、 $-C(=O)NHC(=O)N(R^{1B})_2$ 、 $-C(=O)NHSO_2R^{1B}$ 、 $-C(=O)NHSO_2N(R^{1B})_2$ 、 $C(=S)N(R^{1B})_2$ 、 $-SO_2R^{1B}$ 、 $-SO_2OR^{1B}$ 、 $-SO_2N(R^{1B})_2$ 、 $-SO_2-NHC(=O)OR^{1B}$ 、 $-OC(=O)-N(R^{1B})_2$ 、 $-OC(=O)R^{1B}$ 、 $-OC(=O)NHC(=O)R^{1B}$ 、 $-OC(=O)NHSO_2R^{1B}$ 、 $-OSO_2R^{1B}$ 或脂肪族、杂脂肪族、芳基或杂芳基部分, 或其中 R^1 和 R^2 合起来是脂环族或杂环部分, 或者合起来是

[0166]



[0167] 其中每次出现的 R^{1A} 和 R^{1B} 独立是氢、脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂环、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部分、 $-C(=O)R^{1C}$ 或 $-C(=O)NR^{1C}R^{1D}$; 其中每次出现的 R^{1C} 和 R^{1D} 独立是氢、羟基、或脂肪族、杂脂肪族、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部分;

以及 R^{1E} 是氢、脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂环、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部分、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{OR}^{1C}$ 、 $-\text{NR}^{1C}\text{R}^{1D}$ 或 $-\text{SO}_2\text{R}^{1C}$ ；

[0168] R^3 是 $-\text{C}(=\text{O})\text{OR}^{3A}$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{H}$ 、 $-\text{CH}_2\text{OR}^{3A}$ 、 $-\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})-$ 烷基、 $-\text{C}(=\text{O})\text{NH}(\text{R}^{3A})$ 、 $-\text{CH}_2\text{X}^0$ ；其中每次出现的 R^{3A} 独立是氢、保护基、脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂脂环族、芳基、杂芳基、烷基芳基、烷基杂芳基、杂烷基芳基、杂烷基杂芳基部分，或其药用可接受的盐或酯，或者 R^{3A} 和 R^1 与 R^2 合起来形成杂环部分；其中 X^0 是选自 F、Br 或 I 的卤素。

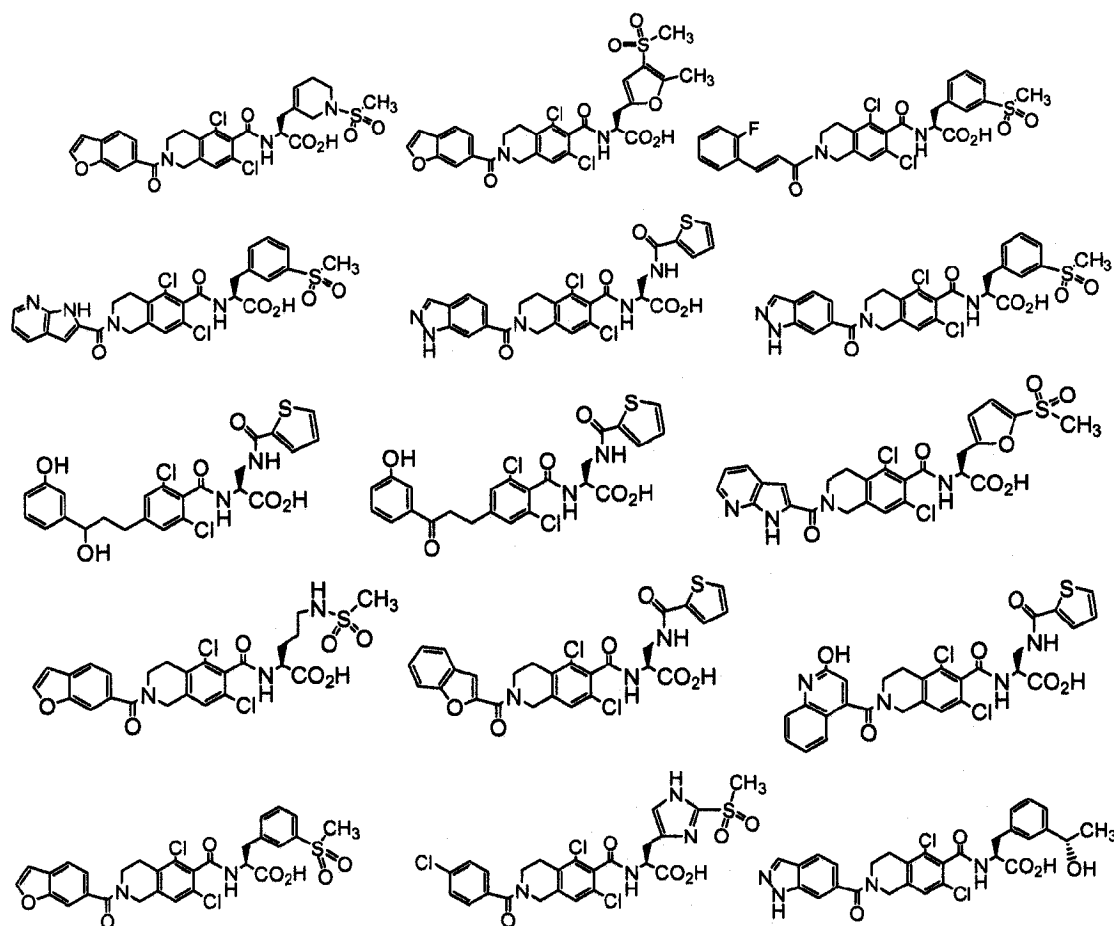
[0169] R^{4A} 和 R^{4B} 独立代表选自 F、Cl、Br 或 I 的卤素；且 R^{B1} 、 R^{B2} 和 R^E 独立代表卤素或取代或未取代的低级烷基；

[0170] AR^1 是单环或多环芳基、杂芳基、烷基芳基、烷基杂芳基、脂环族或杂环部分；以及

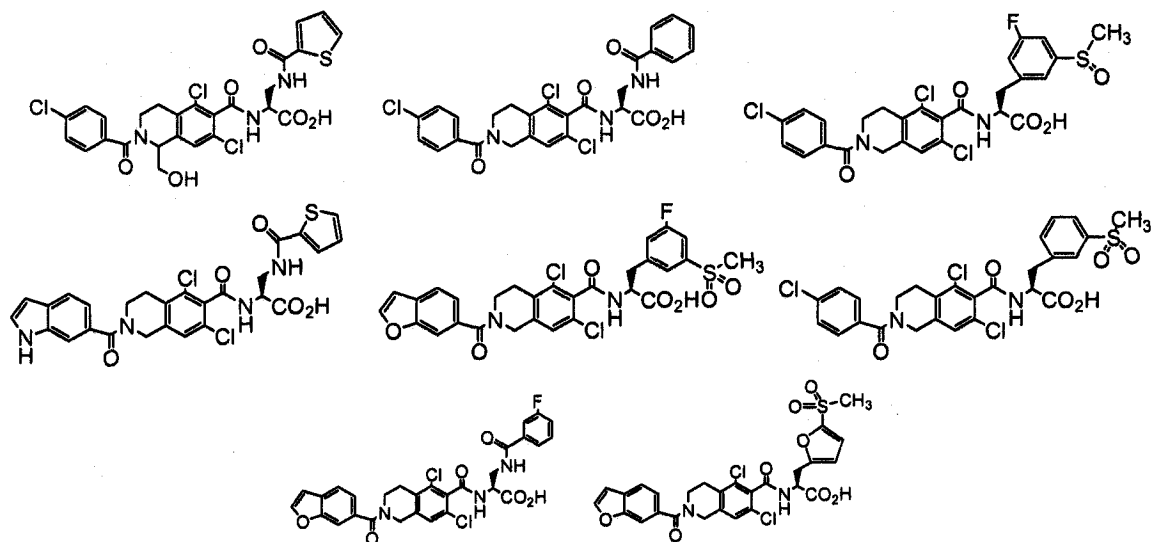
[0171] L 不存在或者是 V-W-X-Y-Z，其中 V、W、X、Y 和 Z 各自独立代表不存在、 $\text{C}=\text{O}$ 、 NR^{L1} 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{C}(\text{R}^{L1})=$ 、 $=\text{C}(\text{R}^{L1})-$ 、 $-\text{C}(\text{R}^{L1})(\text{R}^{L2})$ 、 $\text{C}(=\text{N}-\text{OR}^{L1})$ 、 $\text{C}(=\text{NR}^{L1})$ 、 $-\text{N}=\text{S}(\text{O})_{0-2}$ ；取代或未取代的 C_{1-6} 亚烯基或 C_{2-6} 亚烯基链，其中最多达两个非相邻亚甲基单元任选独立被 $-\text{C}(=\text{O})-$ 、 $-\text{CO}_2-$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{C}(=\text{O})-$ 、 $-\text{C}(\text{C}=\text{O})\text{NR}^{L3}-$ 、 $-\text{OC}(=\text{O})-$ 、 $-\text{OC}(=\text{O})\text{NR}^{L3}-$ 、 $-\text{NR}^{L3}\text{NR}^{L4}-$ 、 $-\text{NR}^{L3}\text{NR}^{L4}\text{C}(=\text{O})-$ 、 $-\text{NR}^{L3}\text{C}(=\text{O})-$ 、 $-\text{NR}^{L3}\text{CO}_2-$ 、 $\text{NR}^{L3}\text{C}(=\text{O})\text{NR}^{L4}-$ 、 $-\text{S}(=\text{O})-$ 、 $-\text{SO}_2-$ 、 $-\text{NR}^{L3}\text{SO}_2-$ 、 $-\text{SO}_2\text{NR}^{L3}$ 、 $-\text{NR}^{L3}\text{SO}_2\text{NR}^{L4}$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{S}-$ 或 $\text{NR}^{L3}-$ 代替，其中每次出现的 R^{L3} 和 R^{L4} 独立代表氢、烷基、杂烷基、芳基、杂芳基或酰基；或脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂脂环族、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部分；以及每次出现的 R^{L1} 和 R^{L2} 独立代表氢、羟基、保护羟基、氨基、保护氨基、硫代、保护硫代、卤素、氰基、异氰酸酯、羧基、羧基烷基、甲酰基、甲酰氧基、叠氮基、硝基、脒基、硫脒基、硫氰酸基、烷氧基、芳基氧基、巯基、亚磺酰氨基、苯酰胺基、甲苯磺酰基、或脂肪族、脂环族、杂脂肪族、杂脂环族、芳基、杂芳基、烷基芳基或烷基杂芳基部分，或其中一个或多个 R^{L1} 和 R^{L2} 合起来，或一个或多个 R^{L1} 和 R^{L2} 与 V、W、X、Y 或 Z 之一合起来形成脂环族或杂环部分或形成芳基或杂芳基部分，或其药用可接受的盐或酯。

[0172] 本发明化合物包括：

[0173]



[0174]



[0175] 和其药用可接受的盐和酯。

[0176] 可以另外预期, LFA-1 拮抗剂可以无定型使用, 或 LFA-1 拮抗剂可以是在共同未决申请案号 32411-712. 101 中描述的任何结晶形式。在本发明的一些实施方式中, 通式 (I) 化合物是化合物 12 的 A 型, 其具有如下的 X-射线粉末衍射图, 在约 18.2、21.4 和 22.7 度的反射角 2θ 有特征峰; 化合物 12 的 B 型, 其具有如下的 X-射线粉末衍射图, 在约 12.1、17.1

和 18.5 度的反射角 2θ 有特征峰；化合物 12 的 C 型，其具有如下的 X-射线粉末衍射图，在约 4.8、17.8 和 21.5 度的反射角 2θ 有特征峰；化合物 12 的 D 型，其具有如下的 X-射线粉末衍射图，在约 17.6、21.7 和 24.8 度的反射角 2θ 有特征峰；化合物 12 的 E 型，其具有如下的 X-射线粉末衍射图，在约 5.12、8.26 和 17.8 度的反射角 2θ 有特征峰；化合物 12 的无定型，其纯度大于 90%；或它们的任意组合。

[0177] 在一些实施方式中，通式 I 或通式 II 的 LFA-1 拮抗剂是盐。典型的碱金属或碱土金属盐包括但不限于钠、锂、钾、钙和镁盐。其他药用可接受的盐包括，适当的无毒的铵、季铵盐、通过与药物羧酸直接反应或通过使用反离子例如卤素、氢氧根、羧酸根、硫酸根、磷酸根、硝酸根、磺酸根和芳基磺酸根形成的胺阳离子。在一些实施方式中，在本发明方法中使用作为羧酸的钠盐的 LFA-1 拮抗剂。

[0178] 特异结合至 LFA-1 的抗体可能用于本发明。通过针对这些分子之一或两个的抗体阻断 CAM（例如 ICAM-1）或白细胞整联蛋白（例如 LFA-1）可以抑制炎症应答，所述抗体直接阻止。先前的研究调查了抗-CD11a MAbs 在体外对许多 T 细胞依赖的免疫功能和在体内对许多免疫应答的效果。在体外，抗-CD11a MAbs 抑制 T 细胞活化（参见 Kuypers T. W., Roos D. 1989 "Leukocyte membrane adhesion proteins LFA-1, CR3 and p150,95: a review of functional and regulatory aspects" Res. Immunol., 140:461-465; Fischer A, Durandy A, Sterkers G, Griscelli C-1986 "Role of the LFA-1 molecule in cellular interactions required for antibody production in humans" J. Immunol., 136, 3198）、细胞毒性 T 淋巴细胞对靶细胞的裂解（Krensky et al., 同上）、免疫偶联物的形成（Sanders VM, Snyder JM, Uhr JW, Vitetta ES., "Characterization of the physical interaction between antigen-specific B and T cells". J. Immunol., 137:2395 (1986); Mentzer SJ, Gromkowski SH, Krensky AM, Burakoff SJ, Martz E. 1985 "LFA-1 membrane molecule in the regulation of homotypic adhesions of human B lymphocytes" J. Immunol., 135:9），以及 T 细胞粘附至血管内皮（Lo SK, Van Seventer GA, Levin SM, Wright SD., Two leukocyte receptors (CD11a/CD18 and CD11b/CD18) mediate transient adhesion to endothelium by binding to different ligands., J. Immunol., 143:3325 (1989)）。两种抗-CD11a MAbs, HI 111 和 G43-25B, 可从 Pharmingen/BD Biosciences 获得。已经在人类疾病和疗法的大鼠模型中研究了抗鼠单克隆抗体 M17 对 LFA-1 介导的疾病的治疗（美国专利 No. 5,622,700）。另外，包括 F8.8、CBR LFA 1/9、BL5、May. 035、TS1/11、TS1/12、TS1/22、TS2/14、25-3-1、MHM2 和依法珠单抗 (efalizumab) 的研究评估了这些抗体在阻断 ICAM 与白细胞功能结合时占据的 LFA-1 上结合位点的范围。参见 Lu, C; Shimaoka, M.; Salas, A.; Springer, T. A. 2004, "The Binding Sites for Competitive Antagonistic, Allosteric Antagonistic, and Agonistic Antibodies to the I Domain of Integrin LFA-1" J. Immun. 173:3972-3978 及其参考文献。特别是，已经表明 >90% 的 LFA-1 被依法珠单抗占据导致临床试验中 PASI 得分的大于 50% 的临床改善，证明了依法珠单抗的效果（参见 D. L. Mortenson et al. J Clin Pharmacol 2005; 45:286-298. "Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Multiple Weekly Subcutaneous Efalizumab Doses in Patients With Plaque Psoriasis"）。

[0179] 也研究了肽在减少 LFA-1 和 ICAM-1 之间的相互作用中的应用，肽可能用于本发

明。不含有 IgG 的 Fc 区域的多肽在美国专利 No. 5,747,035 中描述,其可用于治疗 LFA-1 介导的疾病,特别是糖尿病性视网膜病。美国专利 No. 5,843,885 描述了使用双肽,第一个是 ICAM-1 的调节剂,第二个是具有从 LFA-1 获得的序列的阻断肽,以减少 LFA-1 和 ICAM-1 之间的相互作用。美国专利 No. 6,630,447 描述了环肽作为 LFA-1:ICAM-1 相互作用的抑制剂。

[0180] 小分子拮抗剂可以用于本发明,例如,与 LFA-1 的 CD11a 域结合的抑制素 (statins)。参见 Kallen, J., Welzenbach, K., Ramage, P., Geyl, D., Kriwacki, R., Legge, G., Cottens, S., Weitz-Schmidt, G., and Hommel, U. 1999. “Structural basis for LFA-1 inhibition upon lovastatin binding to the CD11a I-domain”, *J. Mol. Biol.*, 292:1-9; 和 Weitz-Schmidt, G., Welzenbach, K., Brinkmann, V., Kamata, T., Kallen, J., Bruns, C., Cottens, S., Takada, Y., and Hommel, U. 2001. Statins selectively inhibit leukocyte function antigen-1 by binding to a novel regulatory integrin site, *Nature Med.*, 7:687-692; 和 Frenette, P. S. 2001. “Locking a leukocyte integrin with statins”, *N. Engl. J. Med.*, 345:1419-1421。来源于洛伐他汀 (mevinolin)/美伐他汀 (compactin) 基序的分子也显示抗 LFA-1 的活性。参见 Welzenbach, K., Hommel, U., and Weitz-Schmidt, G. 2002. “Small molecule inhibitors induce conformational changes in the I domain and the I-like domain of Lymphocyte Function-Associated Antigen-1”, *J. Biol. Chem.*, 277:10590-10598, 和美国专利 No. 6,630,492。

[0181] 另外,其他本领域已知的 LFA-1 拮抗剂可以用于本发明。例如,基于乙内酰胺的抑制剂家族可用作 LFA-1 拮抗剂。参见 Kelly, T. A., Jeanfavre, D. D., McNeil, D. W., Woska, J. R. Jr., Reilly, P. L., Mainolfi, E. A., Kishimoto, K. M., Nabozny, G. H., Zinter, R., Bormann, B.-J., and Rothlein, R. 1999. “Cutting edge: a small molecule antagonist of LFA-1-mediated cell adhesion”, *J. Immunol.*, 163:5173-5177。这些化合物被认为是 LFA-1 的变构抑制剂。作为另一个例子,新型对芳基硫基肉桂酰胺家族可以作为 LFA-1 的拮抗剂。参见 Liu, G.; Link, J. T.; Pei, Z.; Reilly, E. B.; Nguyen, B.; Marsh, K. C.; Okasinski, G. F.; von Geldern, T. W.; Ormes, M.; Fowler, K.; Gallatin, M. 2000 “Discovery of novel p-arylthiocinnamides as antagonists of leukocyte function-associated antigen-1/intracellular adhesion molecule-1 interaction. 1. Identification of an additional binding pocket based on an anilino diaryl sulfide lead.” *J. Med. Chem.* 43, 4015-4030。

[0182] 其他家族的小分子抑制剂公开在出版物 (参见 Gadek, T. R., Burdick, D. J., McDowell, R. S., Stanley, M. S., Marsters, J. C. Jr., Paris, K. J., Oare, D. A., Reynolds, M. E., Ladner, C., Zioncheck, K. A., Lee, W. P., Gribbling, P., Dennis, M. S., Skelton, N. J., Tumas, D. B., Clark, K. R., Keating, S. M., Beresini, M. H., Tilley, J. W., Presta, L. G., and Bodary, S. C. 2002. “Generation of an LFA-1 antagonist by the transfer of the ICAM-1 immunoregulatory epitope to a small molecule” *Science*, 295:1086-1089 和在线补充材料) 以及专利中,包括美国专利 No. 6,872,735, 美国专利 No. 6,667,318, 美国专利 No. 6,803,384, 美国专利 No. 6,515,124, 美国专利 No. 6,331,640, 以及专利申请中,包括: U. S. 20020119994, U. S. 20040058968, U. S. 20050080119, W099/49856, W000/21920,

W001/58853, W002/59114, W005/044817 及其他。所有引用文献的内容以引用方式全部合并。

[0183] LFA-1 拮抗剂的气雾化

[0184] 本发明可用于免疫相关疾病的局部治疗。该制剂在适于雾化递送至受试者的组合物中包含 LFA-1 拮抗剂。可以与推进剂（例如在定量吸入器中）结合，通过与任何各种喷雾器一起使用，或者通过干粉吸入器，实现 LFA-1 拮抗剂制剂的气雾化。该制剂还可以包括其他组分，例如促进活性化合物递送、提高治疗学效果、具有次级效应或者最小化副作用的组分。这样的制剂可将 LFA-1 拮抗剂有效递送至给药部位，例如然而并非局限于眼睛、咽喉、肺、皮肤、阴道粘膜和肛门粘膜。

[0185] 在另一方面，本发明 LFA-1 拮抗剂化合物可以与推进剂结合用于雾化递送。将活性药物与推进剂结合典型地为装在加压的定量吸入器（MDI）中，其又名推进剂定量吸入器。该气雾剂可以包装在本领域已知的 MDI 中。（例如参见 Stein SW et al., "Reinventing Metered Dose Inhalers: From Poorly Efficient CFC MDIs to Highly Efficient HFAMDI s," Drug Delivery Technology 2003, 3:46-51）。合适的加压定量吸入器包括但不限于可以从 3M 药物递送系统（3M Drug Delivery Systems）中获得的那些。当打开阀门，允许液体推进剂从容器中喷出时，气雾剂形成了。药物容纳在小微粒中，可以悬浮在推进剂中也可以溶解在推进剂中。典型地，在离开装置后，该推进剂将蒸发。

[0186] 定量吸入器（MDI）制剂是本领域所熟知的。它们一般由活性物质在推进剂或推进剂混合物中的悬浮液或溶液组成，并包含其他任选组分，例如溶剂和表面活性剂和防腐剂。MDI 制剂在适当的增压容器中贮存，所述增压容器装备有阀门，以允许活性物质一经要求立即递送。和所有的药物产品一样，在上市供人类使用之前，它们须进行关于其安全性和有效性的管理部门审查。然而，不同于一般包含单一剂型的经口或可注射产品，在 MDI 中使用的气雾剂可以包含多剂量，例如在单一容器中的几十或甚至几百剂量，且这些中的每个必须以均匀的递送剂量和可靠的粒径一致性递送。而且，甚至在模拟患者使用情况的所有方式的温度和湿度的苛刻条件下经过长期的存储期例如 2 到 3 年之后，MDI 制剂必须能够均匀递送剂量。

[0187] 根据本发明的制剂可以装载入小罐中以形成用于 MDI 装置的高度稳定的悬浮液。制剂基本上不显示悬浮粒子的颗粒生长或形态变化。也没有或基本上没有悬浮粒子在小罐或阀表面上沉积的问题，因此该制剂可以从适当的 MDI 装置中以高递送剂量一致性喷射。本发明制剂满足 Compendial 中关于如何例如美国药典所列的递送剂量一致性的要求。例如，本发明制剂满足 USP26-NF21 "Delivered dose Uniformity" 一章所列的要求。

[0188] 在另一个方面，本发明 LFA-1 拮抗剂化合物可以与喷雾器结合用于雾化递送。喷雾器使溶液或者悬浮液产生细雾，其由患者吸入。例如，Lloyd 等人的美国专利 No. 5,709,202 中存在并描述了各种类型的喷雾器，因此该专利全部合并在此。如果可以实现主要为 1 到 5 μm 的质量中间平均直径的 LFA-1 拮抗剂气雾剂的形成，则喷雾器适用于本发明方法和制剂。因此所选喷雾器必须能够有效地雾化该制剂，所述制剂已经调节了盐度、渗透强度和 pH 以允许生成治疗有效的和患者能耐受的 LFA-1 拮抗剂气雾剂。该喷雾器必须能够操纵具有最小可能的可雾化体积的制剂，而且还能将有效剂量的 LFA-1 拮抗剂递送至感染部位。另外，雾化制剂不能削弱气道的功能性且必须最小化不受欢迎的副作用，例如不适当的递送至舌头或口、刺激肺或支气管通道或诱发支气管痉挛。

[0189] 喷射喷雾器使用压缩空气源以喷射气流通过含药容器,产生可吸入小滴。电子喷雾器通过机械振动平板或网孔产生小滴,因此比喷射喷雾器更加紧密。超声喷雾器利用压电晶体对水性 LFA-1 拮抗剂溶液的剪切。适当的喷雾器包括但不限于 Resironics i-**Neb**[®]、Pari e-**Flow**[®]、OmronMicroAir 和 Aerogen **Aeroneb**[®]。

[0190] 适于本发明的推进剂的例子包括但不限于:氯氟烃(CFCs)、烷烃气体例如氢氟烷烃(HFAs)、气态醚、含卤化物气体、稀有气体、压缩空气、惰性气体例如氮或氧、干空气、标准空气(例如大气)、泡沫、或其组合。CFC 实际上已经被淘汰,因为它们会损耗臭氧层。然而,CFC 和非 CFC 气雾剂推进剂都可以与本发明组合物和方法一起使用。

[0191] 用于本发明气雾剂的适当的推进剂可以是通常可在定量气雾剂中使用的任何压力-液化的推进剂,例如氟氯碳如三氯-单氟甲烷(F11)、二氯二氟甲烷(F12)、单氯三氟甲烷(F13)、二氯单氟甲烷(F21)、单氯二氟甲烷(F22)、单氯单氟甲烷(F31)、1,1,2-三氯-1,2,2-三氟乙烷(F113)、1,2-二氯-1,1,2,2-四氟乙烷(F114)、1-氯-1,1,2,2,2-五氟乙烷(F115)、2,2-二氯-1,1,1-三氟乙烷(F123)、1,2-二氯-1,1,2-三氟乙烷(F123a)、2-氯-1,1,1,2-四氟乙烷(F124)、2-氯-1,1,2,2-四氟乙烷(F124a)、1,2-二氯-1,1-二氟乙烷(132b)、1-氯-1,2,2-三氟乙烷(F133)、2-氯-1,1,1-三氟乙烷(F133a)、1,1-二氯-1-氟乙烷(F141b)或1-氯-1,1-二氟乙烷(F142b)、烷烃例如丙烷、丁烷和异丁烷、氟化烷烃例如八氟丙烷(氟218)和特别是氢氟烷烃例如二氟甲烷(HFA32)、五氟乙烷(HFA125)、1,1,2,2-四氟乙烷(HFA134)、1,1,1,2-四氟乙烷(HFA134a)、1,1,2-三氟乙烷(HFA143)、1,1,1-三氟乙烷(HFA143a)、二氟乙烷(HFA152a)、1,1,1,2,3,3,3-七氟丙烷(HFA227)等。

[0192] 按重量百分比计算,气体推进剂可以以相对于组合物总重量的0.1%到50%的比例存在。按重量百分比计算,气体推进剂可以以相对于组合物总重量的约0.5%到30%、1%到20%、1.5%到10%、2%到9%、2.5%到8%、3%到7%、或约4%到6%的比例存在。气体推进剂的重量可以使用本领域已知的方法测量,包括称重容器和测量容器内部压力(例如,以PSI或大气表示)。

[0193] 在又一个方面,本发明的LFA-1拮抗剂化合物可以以干粉形式雾化。干粉制剂一般包含干燥(通常是冻干)形式的制剂,用于沉积在肺的肺泡区域内的粒径优选范围一般为约0.5 μm到5 μm。可以通过各种常规方法制备优选粒径范围内的制剂的可呼吸粉末,例如喷射-碾磨、喷雾-干燥、溶剂析出等。该治疗药物制备成小粉粒的粉末形式并使用干粉吸入器(DPI)吸入。DPI装置的例子包括但不限于**Aerolizer**[®]、**Diskus**[®]、**Accuhaler**[®]、**Handihaler**[®]、**Rotahaler**[®]、**Turbohaler**[®]和**Twisthaler**[®]。

[0194] 吸入药物或其药用可接受盐可以通过例如微粉化、喷雾干燥、超临界流体技术等制备成微粒,例如,通过常规的喷射研磨微粉化到不大于大约100微米直径,因为较大粒子可能阻塞容器的阀门或孔口。在一些实施方式中,粒径小于约25微米。因为生理学理由,精细分离的固体粉末的粒径应小于约25微米且小于约10微米。因为吸入疗法的粉末粒径大概为约2到10微米范围。粒径没有下限,除非被所制备气雾剂可以付诸的用途所规定。当粉末是固体药物时,粒径下限是容易被机体组织吸收并保持的那些。当直径小于约1.5微米的微粒通过吸入给药时,它们倾向于被患者呼出。

[0195] 赋形剂

[0196] 该药物组合物还包括一种或多种惰性赋形剂,其包括水、缓冲水溶液、表面活性剂、挥发性液体、淀粉、多元醇、成粒剂、微晶纤维素、稀释剂、润滑剂、酸、碱、盐、乳剂例如油/水乳剂、油例如矿物油和植物油、润湿剂、螯合剂、抗氧化剂、无菌溶液、络合剂、崩解剂等。缓冲溶液一般是生理学 pH,更优选的,一般被缓冲至靶组织的 pH。

[0197] 一些赋形剂是:水、磷酸缓冲盐溶液、可以商品名 Miglyol 840(从 Huls America, Inc. Piscataway, N. J.) 买到的中链脂肪酸的丙二醇二酯、可以商品名 Miglyol 812(从 Huls) 买到的中链脂肪酸的甘油三酯;可以商品名 Vertrel 245(从 E. I. DuPont de Nemours and Co. Inc. Wilmington, Del.) 买到的全氟二甲基环丁烷;可以商品名八氟环丁烷(从 PCR Gainesville, Fla.) 买到的全氟环丁烷;可以商品名 EG 400(从 BASF Parsippany, N. J.) 买到的聚乙二醇;(来自 Pluess-Stauffer International Stanford, Conn.) 的薄荷醇;可以商品名 lauroglycol(从 Gattefosse Elmsford, N. Y.) 买到的丙二醇单月桂酸酯;可以商品名 Transcutol(从 Gattefosse) 买到的二甘醇一乙醚;可以商品名 Labrafac Hydro WL 1219(从 Gattefosse) 买到的中链脂肪酸的聚糖基化 (polyglycolized) 甘油酯;醇,例如乙醇、甲醇和异丙醇;可(从 Pluses-Stauffer International) 买到的桉叶油;及其混合物。

[0198] 本发明化合物包括氨基酸衍生物。一种表面活性剂可以是该化合物的钠盐形成,其可以包括一钠盐形式。适当的钠盐表面活性剂可以基于需要的性质选择,包括高速聚合、适于递送的小的生成粒子大小、良好的聚合收率、稳定性,包括冻融和储藏期稳定性、改善的表面张力性质和润滑性。

[0199] 在一个实施方式中,本发明使用足够量乙醇与推进剂一起溶解该制剂。可能需要某最低水平的乙醇,以使药物从计量分配器中提供一致和可预测的递送。该最低水平是总制剂的约 1 重量%,这导致临界可接受的药物递送。增加乙醇的量一般改善药物递送特征。然而,为了阻止制剂中的药物晶体生长,限制乙醇浓度也许是需要。

[0200] CTFA Cosmetic Ingredient Handbook,第七版,1997 和第八版,2000,其以引用方式全部合并,描述了各种各样的通常用于皮肤护理组合物的化妆品和药品成分,其适于用在本发明组合物中。公开在该文献的这些功能性类别的例子包括:吸收剂、研磨剂、抗结块剂、消泡剂、抗微生物剂、抗氧化剂、粘合剂、生物添加剂、缓冲剂、填充剂、螯合剂、化学添加剂、着色剂、化妆品收敛剂、化妆品杀生物剂、变性剂、药物收敛剂、外部止痛剂、成膜剂、芳香成分、保湿剂、遮光剂、pH 调节剂、增塑剂、防腐剂、还原剂、皮肤漂白剂、皮肤调节剂(润肤剂、湿润剂、混杂的和闭塞的)、护肤剂、溶剂、发泡剂、助水溶剂、增溶剂、甾体抗炎剂、表面活性剂/乳化剂、悬浮剂(非表面活性剂)、防晒剂、局部止痛剂、紫外线吸收剂、SPF 增强剂、增稠剂、防水剂和增粘剂(水性的和非水性的)。

[0201] 可用于组成本发明药物组合物和剂型的表面活性剂包括但不限于亲水性表面活性剂、亲脂性表面活性剂、及其混合物。即,可以使用亲水性表面活性剂的混合物、亲脂性表面活性剂的混合物或至少一种亲水性表面活性剂和至少一种亲脂性表面活性剂的混合物。

[0202] 在一个实施方式中,该气雾剂还包含药用适合的表面活性剂,用于例如协助保持药物的稳定悬浮并润滑计量阀目的。本发明制剂不需要用于保持易于分散性的表面活性剂。因此,任选可添加表面活性剂以降低药物和推进剂之间的表面和界面张力。可用于组成本发明药物组合物和剂型的表面活性剂包括但不限于:亲水性表面活性剂、亲脂性表

面活性剂,及其混合物。即,可以使用亲水性表面活性剂的混合物、亲脂性表面活性剂的混合物、或至少一种亲水性表面活性剂和至少一种亲脂性表面活性剂的混合物。

[0203] 表面活性剂可以是任何合适的、无毒的化合物,其不与药物反应,显著降低药物、赋形剂和推进剂之间的表面张力,和/或作为阀门润滑剂。一些表面活性剂是:可以商品名 Emersol 6322 和 Emersol 6321(从 Cognis Corp., Cincinnati, Ohio) 买到的油酸;(来自 Arrow Chemical, Inc. Westwood, N. J. 的) 氯化十六烷吡啶;可以商品名 Epikuron 200(从 Lucas Meyer Decatur, Ill.) 买到的大豆卵磷脂;可以商品名 Tween 20(从 ICISpecialty Chemicals, Wilmington, Del.) 买到的聚氧乙烯(20) 去水山梨糖醇单月桂酸酯;可以商品名 Tween 60(从 ICI) 买到的聚氧乙烯(20) 去水山梨糖醇单硬脂酸酯;可以商品名 Tween 80(从 ICI) 买到的聚氧乙烯(20) 去水山梨糖醇单油酸酯;可以商品名 Brij 76(从 ICI) 买到的聚氧乙烯(10) 硬脂酰醚;可以商品名 Brij 92(从 ICI) 买到的聚氧乙烯(2) 油基醚;可以商品名 Tetronic 150 R1(从 BASF) 买到的聚氧乙烯-聚氧丙烯-乙二胺嵌段共聚物;可以商品名 Pluronic L-92、Pluronic L-121 和 Pluronic F 68(从 BASF) 买到的聚氧丙烯-聚氧乙烯嵌段共聚物;可以商品名 Alkasurf CO-40(从 Rhone-Poulenc Mississauga Ontario, Canada) 买到的蓖麻油乙氧基化物;及其混合物。

[0204] 合适的亲水性表面活性剂的 HLB 值一般可以是至少 10, 合适的亲脂性表面活性剂的 HLB 值一般可以是约 10 或小于约 10。用于表征非离子的两性化合物的相对亲水性和疏水性的经验参数是亲水性-亲脂性平衡(“HLB”值)。HLB 值较小的表面活性剂亲脂性或疏水性更强,并在油中有较大的溶解度,而 HLB 值较大的表面活性剂亲水性更强,并在水溶液中有较大的溶解度。亲水性表面活性剂一般被认为是 HLB 值大于约 10 的化合物,以及 HLB 标准通常不适用的阴离子、阳离子或两性离子化合物。类似地,亲脂性(即疏水性的)表面活性剂是 HLB 值等于或者小于约 10 的化合物。然而,表面活性剂的 HLB 值仅仅是一般用于制备工业、药品和化妆品乳剂的粗略指导。

[0205] 亲水性表面活性剂可以是离子型或非离子型。合适的离子型表面活性剂包括但不限于:烷基铵盐;羧链孢酸盐;氨基酸、寡肽和多肽的脂肪酸衍生物;氨基酸、寡肽和多肽的甘油酯衍生物;卵磷脂和氢化卵磷脂;溶血卵磷脂和氢化溶血卵磷脂;磷脂及其衍生物;溶血磷脂及其衍生物;肉碱脂肪酸酯盐;烷基硫酸酯的盐;脂肪酸盐;多库酯钠;酰基乳酸酯;单和二甘油酯的单和二乙酰化酒石酸酯;琥珀酰化单和二甘油酯;单和二甘油酯的柠檬酸酯;及其混合物。

[0206] 在上述组中,离子型表面活性剂包括例如:卵磷脂、溶血卵磷脂、磷脂、溶血磷脂及其衍生物;肉碱脂肪酸酯盐;烷基硫酸酯的盐;脂肪酸盐;多库酯钠;酰基乳酸酯,单和二甘油酯的单和二乙酰化酒石酸酯;琥珀酰化单和二甘油酯;单和二甘油酯的柠檬酸酯;及其混合物。

[0207] 离子型表面活性剂可以为卵磷脂、溶血卵磷脂、磷脂酰胆碱、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰甘油、磷脂酸、磷脂酰丝氨酸、溶血磷脂酰胆碱、溶血磷脂酰乙醇胺、溶血磷脂酰甘油、溶血磷脂酸、溶血磷脂酰丝氨酸、PEG- 磷脂酰乙醇胺、聚乙烯吡咯烷酮-磷脂酰乙醇胺、脂肪酸的乳酸酯、硬脂酰-2- 乳酸酯、硬脂酰乳酸酯、琥珀酸单甘油酯、单/二甘油酯的单/二乙酰化酒石酸酯、单/二甘油酯的柠檬酸酯、肌氨胆酸酯、己酸酯、辛酸酯、癸酸酯、月桂酸酯、十四烷酸酯、棕榈酸酯、油酸酯、蓖麻酸酯、亚油酸酯、亚麻酸酯、硬脂酸酯、月桂基硫酸酯、

四乙酰基硫酸酯、多库酸酯、月桂酰肉碱、棕榈酰肉碱、十四酰肉碱，及其盐和混合物。

[0208] 亲水性非离子型表面活性剂可以包括但不限于烷基糖苷；烷基麦芽糖苷；烷基硫代糖苷；月桂基聚乙二醇甘油酯；聚氧化烯烷基醚，例如聚乙二醇烷基醚；聚氧化烯烷基酚，例如聚乙二醇烷基酚；聚氧化烯烷基酚脂肪酸酯，例如聚乙二醇脂肪酸单酯和聚乙二醇脂肪酸二酯；聚乙二醇脂肪酸甘油酯；聚甘油脂肪酸酯；聚氧化烯去水山梨醇脂肪酸酯，例如聚乙二醇去水山梨醇脂肪酸酯；多元醇与至少一个下组物质的亲水性酯交换产物：甘油酯、植物油、氢化植物油、脂肪酸和甾醇；聚氧乙烯甾醇，其衍生物和类似物；聚氧乙烯化维生素及其衍生物；聚氧乙烯-聚氧丙烯嵌段共聚物；及其混合物；聚乙二醇去水山梨醇脂肪酸酯，和多元醇与至少一个下组物质的亲水性酯交换产物：甘油三酸酯、植物油和氢化植物油。多元醇可以为甘油、乙二醇、聚乙二醇、山梨糖醇、丙二醇、季戊四醇或糖类。

[0209] 其他亲水性非离子型表面活性剂包括但不限于：PEG-10 月桂酸酯、PEG-12 月桂酸酯、PEG-20 月桂酸酯、PEG-32 月桂酸酯、PEG-32 二月桂酸酯、PEG-12 油酸酯、PEG-15 油酸酯、PEG-20 油酸酯、PEG-20 二油酸酯、PEG-32 油酸酯、PEG-200 油酸酯、PEG-400 油酸酯、PEG-15 硬脂酸酯、PEG-32 二硬脂酸酯、PEG-40 硬脂酸酯、PEG-100 硬脂酸酯、PEG-20 二月桂酸酯、PEG-25 三油酸甘油酯、PEG-32 二油酸酯、PEG-20 甘油基月桂酸酯、PEG-30 甘油基月桂酸酯、PEG-20 甘油基硬脂酸酯、PEG-20 甘油基油酸酯、PEG-30 甘油基油酸酯、PEG-30 甘油基月桂酸酯、PEG-40 甘油基月桂酸酯、PEG-40 棕榈仁油、PEG-50 氢化蓖麻油、PEG-40 蓖麻油、PEG-35 蓖麻油、PEG-60 蓖麻油、PEG-40 氢化蓖麻油、PEG-60 氢化蓖麻油、PEG-60 玉米油、PEG-6 癸酸 / 辛酸甘油酯、PEG-8 癸酸 / 辛酸甘油酯、聚甘油基-10 月桂酸酯、PEG-30 胆固醇、PEG-25 植物固醇、PEG-30 大豆固醇、PEG-20 三油酸酯、PEG-40 去水山梨糖醇油酸酯、PEG-80 去水山梨糖醇月桂酸酯、聚山梨醇酯 20、聚山梨醇酯 80、POE-9 月桂基醚、POE-23 月桂基醚、POE-10 油基醚、POE-20 油基醚、POE-20 硬脂酰醚、生育酚 PEG-100 琥珀酸酯、PEG-24 胆固醇、聚甘油基-10 油酸酯、吐温 40、吐温 60、蔗糖单硬脂酸酯、蔗糖单月桂酸酯、蔗糖单棕榈酸酯、PEG10-100 壬基酚系列、PEG15-100 辛基酚系列和泊洛沙姆。

[0210] 仅作为举例的形式，适当的亲脂性表面活性剂包括：脂肪醇；脂肪酸甘油酯；乙酰基化甘油脂肪酸酯；低级醇脂肪酸酯；丙二醇脂肪酸酯；去水山梨醇脂肪酸酯；聚乙二醇去水山梨醇脂肪酸酯；甾醇和甾醇衍生物；聚氧乙烯化甾醇和甾醇衍生物；聚乙二醇烷基醚；糖酯；糖醚；单和二甘油酯的乳酸衍生物；多元醇与至少一个下组物质的疏水性酯交换产物：甘油酯、植物油、氢化植物油、脂肪酸和甾醇；油溶性维生素 / 维生素衍生物；及其混合物。在该组中，亲脂性表面活性剂包括脂肪酸甘油酯、脂肪酸丙二醇酯及其混合物，或者为多元醇与至少一个下组物质的疏水性酯交换产物：植物油、氢化植物油和甘油三酯。

[0211] 表面活性剂可以用于本发明的任何制剂，只要它的使用不会产生矛盾。在本发明的一些实施方式中，可能希望不使用表面活性剂或使用有限种类的表面活性剂。本发明气雾剂可以不包含或基本上不含表面活性剂，即含有小于约 0.0001wt% 的表面活性剂。如果使用上述的 cromone，则尤其是如此。然而，如果需要，该制剂可以包含通常用于气雾剂的表面活性剂，例如油酸、卵磷脂、去水山梨糖醇三油酸酯、氯化十六烷吡啶、苯扎氯铵、聚氧乙烯 (20) 去水山梨醇单月桂酸酯、聚氧乙烯 (20) 去水山梨醇单硬脂酸酯、聚氧乙烯 (20) 去水山梨醇单油酸酯、聚氧丙烯 / 聚氧乙烯嵌段共聚物、聚氧丙烯 / 聚氧乙烯 / 乙二胺嵌段共聚物、乙氧基化蓖麻油等，其中如果存在表面活性剂，其比例可以是基于总制剂的约 0.0001

到 1wt%，优选约 0.001 到 0.1wt%。其他合适的表面活性剂 / 乳化剂是本领域技术人员熟知并列于 CTFA International Cosmetic Ingredient Dictionary and Handbook, Vol. 2, 7th Edition(1997) 中。

[0212] 其他合适的水性载体包括但不限于：Ringer 溶液和等渗氯化钠。水性悬浮液可以包括悬浮剂，例如纤维素衍生物、海藻酸钠、聚乙烯 - 吡咯烷酮和黄耆胶，以及润湿剂，例如卵磷脂。用于水性悬浮液的合适的防腐剂包括对羟基苯酸乙酯和正丙酯。

[0213] 可用于组成本发明药物组合物和剂型的螯合剂包括但不限于：乙二胺四乙酸 (EDTA)、EDTA 二钠、依地酸二钠钙、EDTA 三钠、白蛋白、转铁蛋白、去铁敏 (desferoxamine)、甲磺酸去铁铵、甲磺酸去铁敏、EDTA 四钠和 EDTA 二钾、偏硅酸钠或任何这些物质的组合。

[0214] 可用于形成本发明药物组合物和剂型的防腐剂包括但不限于：黄铁矿、过氧化物、过硼酸盐、咪唑烷基脲、重氮咪唑烷基脲、苯氧乙醇、氯化烃铵 (alkonium chloride) - 包括苯扎氯铵、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸乙酯和对羟基苯甲酸丙酯。

[0215] 可用于形成本发明药物组合物和剂型的润滑剂包括但不限于：硬脂酸钙、硬脂酸镁、矿物油、轻质矿物油、甘油、山梨糖醇、甘露糖醇、聚乙二醇、其他二醇、硬脂酸、十二烷基硫酸钠、滑石、氢化植物油（例如花生油、棉子油、向日葵油、芝麻油、橄榄油、玉米油和豆油）、硬脂酸锌、油酸乙酯、月桂酸乙酯、琼脂或其混合物。

[0216] 可用于形成本发明药物组合物和剂型的增稠剂包括但不限于：十四烷酸异丙酯、棕榈酸异丙酯、新戊酸异癸酯、角鲨烯、矿物油、C₁₂-C₁₅ 苯甲酸酯和氢化聚异丁烯。在一些实施方式中，可以使用不破坏最终产品的其他化合物的试剂，例如非离子增稠剂。其他增稠剂的选择是本领域技术人员熟知的。

[0217] 皮肤调节剂可以是软化剂、保湿剂和补湿剂。保湿剂是由于其吸湿性可促进保水的润湿剂。合适的皮肤调节剂包括脲；胍；芦荟汁；乙醇酸和乙醇酸盐，例如铵和烷基季铵；乳酸和乳酸盐例如乳酸钠、乳酸铵和烷基季铵乳酸盐；多羟基醇例如山梨糖醇、甘油、甘露糖醇、木糖醇、己三醇、丙二醇、丁二醇、己二醇、聚合二醇类例如聚乙二醇和聚丙二醇；碳水化合物例如烷氧基化葡萄糖；淀粉；淀粉衍生物；甘油；吡咯烷酮羧酸 (PCA)；乳酰胺单乙醇胺；乙酰胺单乙醇胺；挥发性硅油；非挥发性硅油；及其混合物。合适的硅油可以是含有 3 到 9 个硅原子的聚二氨基硅氧烷、聚二芳基硅氧烷、聚烷芳基硅氧烷和环甲基硅氧烷。

[0218] 软化剂是油质或油性物质，其帮助使皮肤光滑和软化，并可以减少其粗糙、开裂或刺激。典型的合适软化剂包括粘度范围为 50 到 500 厘泊 (cps) 的矿物油、羊毛脂油、椰子油、可可脂、橄榄油、杏仁油、澳洲坚果油、芦荟提取物例如芦荟汁脂醌、合成荷荷芭油、天然索诺拉雷暴荷荷芭油、红花油、玉米油、液体羊毛脂、棉子油和花生油。在一些实施方式中，软化剂是可可油甘油酯，其是可可油的单、二和三酸甘油酯混合物，其以商品名 Myritol 331 由 Henkel KGaA 销售，或以商品名 Cetiol OE 由 Henkel KGaA 销售的二辛酰醚，或以商品名 Finsolv TN 由 Finetex 销售的 C₁₂-C₁₅ 烷基苯甲酸酯。另一种合适的软化剂是 DC 200 Fluid 350，一种硅酮液体，可从 Dow Corning Corp 买到。

[0219] 其他合适的软化剂包括角鲨烷、蓖麻油、聚丁烯、甜杏仁油、鳄梨油、琼崖海棠油、蓖麻油、维生素 E 乙酸酯、橄榄油、硅油例如二甲基聚硅氧烷和环甲基硅氧烷、亚麻醇、油醇、谷物胚芽油，例如小麦胚芽油、棕榈酸异丙酯、棕榈酸辛酯、十四烷酸异丙酯、硬脂酸十六烷酯、硬脂酸丁酯、油酸癸酯、乙酰基甘油酯、(C₁₂-C₁₅) 醇的辛酸酯和苯甲酸酯、醇与多

元醇的辛酸酯和癸酸酯,例如乙二醇与甘油基的辛酸酯和癸酸酯,蓖麻酸酯例如己二酸异丙酯、月桂酸己酯和十二酸辛酯、马来酸二辛酯、氢化植物油、苯基三甲基聚硅氧烷、荷荷芭油和芦荟汁提取物。

[0220] 可以使用在环境温度下为固体或半固体的其他合适的软化剂。这种固体或半固体化妆品软化剂包括二月桂酸甘油酯、氢化羊毛脂、羟基化羊毛脂、乙酰化羊毛脂、矿脂、羊毛脂酸异丙酯、肉豆蔻酸丁酯、鲸蜡醇豆蔻酸酯、豆蔻酸肉豆蔻酯、乳酸肉豆蔻酯、鲸蜡醇、异硬脂醇和异鲸蜡醇羊毛脂酸酯。制剂内可任选加入一种或多种软化剂。

[0221] 可用于形成本发明药物组合物和剂型的抗氧化剂包括但不限于:没食子酸丙酯、没食子酸辛酯和没食子酸月桂酯、丁基羟基苯甲醚(BHA,通常以邻位和间位异构体的混合物购买)、绿茶提取物、尿酸、半胱氨酸、丙酮酸酯、去甲二氢愈创木酸、抗坏血酸、抗坏血酸盐例如抗坏血酰棕榈酸酯和抗坏血酸钠、抗坏血酸基葡萄糖胺、维生素E(即生育酚例如 α -生育酚)、维生素E衍生物(例如醋酸生育酚)、类维生素A例如维甲酸、视黄醇、反视黄醇、顺视黄醇、反视黄醇和顺视黄醇的混合物、3-脱氢视网膜醇和维生素A衍生物(例如乙酸视黄酯、视黄醛和棕榈酸视黄酯,又名视黄醇棕榈酸酯)、柠檬酸钠、亚硫酸钠、番茄红素、花色素、生物类黄酮(例如橙皮素、柚皮苷、芦丁和栲精)、超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶、丁基羟基甲苯(BHT)、吡啶-3-甲醇、碧罗芷、褪黑素、萝卜硫素、孕烯醇酮、硫辛酸和4-羟基-5-甲基-3[2H]-呋喃酮。

[0222] 皮肤保护剂是保护皮肤不受化学刺激物和/或物理刺激物例如紫外线刺激的试剂,包括遮光剂、抗粉刺添加剂、抗皱纹和抗皮肤萎缩剂。作为皮肤保护剂的合适的遮光剂包括对甲氧基肉桂酸2-乙基己基酯、N,N-二甲基-对-氨基苯甲酸2-乙基己基酯、对-氨基苯甲酸、2-苯基苯并咪唑-5-磺酸、氰双苯丙烯酸辛酯(octocrylene)、氧苯酮、水杨酸三甲环己酯、水杨酸辛酯、4,4'-甲氧基-叔-丁基二苯甲酰甲烷、4-异丙基二苯甲酰甲烷、3-苯亚甲基樟脑、3-(4-甲基苯亚甲基)樟脑、胺苯甲酸酯、超细二氧化钛、氧化锌、氧化铁、二氧化硅、2,4-二羟基苯并苯基酮的4-N,N-(2-乙基己基)甲基氨基苯甲酸酯、4-羟基二苯甲酰基甲烷的4-N,N-(2-乙基己基)甲基氨基苯甲酸酯、2-羟基-4-(2-羟基乙氧基)二苯甲酮的4-N,N-(2-乙基己基)甲基氨基苯甲酸酯、和4-(2-羟基乙氧基)二苯甲酰甲烷的4-N,N-(2-乙基己基)-甲基氨基苯甲酸酯。合适的抗粉刺试剂包括水杨酸;5-辛酰水杨酸;间苯二酚;类视黄醇例如维甲酸及其衍生物;除了半胱氨酸的含硫D和L氨基酸;硫辛酸;抗生素和抗微生物剂例如过氧化苯甲酰、羟甲辛吡酮、四环素、2,4,4'-三氯-2'-羟基二苯基醚、3,4,4'-三氯苯胺、壬二酸、苯氧乙醇、苯氧丙醇、苯氧异丙醇、乙酸乙酯、氯林可霉素与甲氯环素;黄酮类;以及胆汁盐例如鲨胆甾醇硫酸酯、去氧胆酸酯和胆酸酯。抗皱纹和抗皮肤萎缩试剂的例子是维甲酸及其衍生物、视黄醇、视黄酯、水杨酸及其衍生物、除半胱氨酸之外的含硫D和L氨基酸、 α -羟酸(例如羟基乙酸与乳酸)、植酸、硫辛酸和溶血磷脂酸。

[0223] 该制剂还可以包含刺激减轻添加剂以减少或消除组合物的渗透促进基质或其他成分引起的可能的皮肤刺激或皮肤损害。合适的刺激减轻添加剂包括例如:-生育酚;单胺氧化酶抑制剂;尤其是苯基醇例如2-苯基-1-乙醇;甘油;水杨酸和水杨酸盐;抗坏血酸和抗坏血酸盐;离子载体例如莫能星;两性分子胺;氯化铵;N-乙酰半胱氨酸;顺尿刊酸;辣椒素;和氯喹。如果存在刺激物减轻添加剂,其可以有效减轻刺激或皮肤损害的浓度加入本

制剂,典型的浓度是不超过组合物的约 20wt.%,更优选地不超过组合物的约 5wt.%。

[0224] 干感改良剂是当加入到乳剂中时,当乳剂干燥时,给予皮肤“干感”的试剂。干感改良剂可以包括滑石、高岭土、白垩、氧化锌、硅氧烷液体、无机盐例如硫酸钡、表面处理的二氧化硅、沉淀的二氧化硅、煅制二氧化硅例如可从 Degussa Inc. of New York, N. Y. U. S. A 买到的 Aerosil。另一种干感改良剂是美国专利 No. 6, 488, 916 中公开的类型表氯醇交联甘油淀粉。

[0225] 用于制备 LFA-1 拮抗剂气雾剂的溶液或稀释剂的限制 pH 范围为 pH4.5 到 pH7.5, 或为 pH5.5 到 pH7.0。该制剂的 pH 对于雾化 LFA-1 拮抗剂的递送而言是非常重要的特征, 因为其可能导致不需要的副作用。例如, 当酸性或碱性的本发明气雾剂给药至肺时, 其可能引起支气管痉挛或者咳嗽。虽然 pH 的安全范围是相对的, 且一些患者可能耐受温和的酸性气雾剂, 但其他患者, 特别是那些患有囊性纤维化或其他基础疾病的患者可能出现支气管痉挛。pH 小于 4.5 的任何气雾剂可能引起支气管痉挛。pH 为 4.5 到 5.5 的气雾剂有时候可能引起支气管痉挛。pH 大于 7.5 的任何气雾剂可能是不需要的, 因为机体组织不能很好地适应于缓冲碱性气雾剂。控制 pH 低于大约 pH4.5 和超过大约 pH7.5 的气雾剂导致肺刺激, 并伴有严重的支气管痉挛、咳嗽和炎症反应。因为这些理由以及为了避免患者的支气管痉挛、咳嗽或炎症, 气雾剂的最适 pH 可以为大约 pH5.5 到大约 pH7.0。

[0226] 随后将 LFA-1 拮抗剂气雾剂的 pH 调节至 4.5 到 7.5, 优选 pH 范围为大约 pH5.5 到大约 pH7.0, 或者, 为大约 pH5.5 到大约 pH6.5。

[0227] 在鼻内给药的情况下, 这种溶液或悬浮液相对于鼻分泌物而言可以是等渗的, 且 pH 大致相同, 例如, 为大约 pH4.0 到大约 pH7.4, 或者, 为 pH6.0 到 pH7.0。缓冲液应该是生理兼容的并包括 (仅举例) 磷酸盐缓冲液。例如, 典型的鼻解充血药被描述为缓冲到 pH 大约 6.2 (Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Ed. Arthur Osol, page 1445 (1980))。本领域技术人员可以容易地确定用于鼻和 / 或上呼吸道给药的无害水溶液的合适的盐水含量和 pH。鼻内给药的合适制剂的例子是用磷酸二氢钠缓冲到 pH 大约 6.0 到大约 8.0 的水溶液, 含有大约 1% W/V 的 LFA-1 拮抗剂、最多约 0.1% W/V 的 EDTA, 和任选的最多大约 0.4% w/w 的对羟基苯甲酸甲酯和最多大约 0.02% w/w 的对羟基苯甲酸丙酯。

[0228] 也可添加其他试剂, 例如抗微生物剂, 以阻止贮存期间的腐坏, 即, 抑制微生物例如酵母和霉菌的生长。合适的抗微生物剂一般选自对羟基苯甲酸的甲酯和丙酯 (即, 对羟基苯甲酸甲酯和对羟基苯甲酸丙酯)、苯甲酸钠、山梨酸、咪唑烷脒、黄铁矿、过氧化物、过硼酸酯及其组合。

[0229] 该制剂还可以包含美学剂 (aesthetic agent)。美学剂的例子包括香精、颜料、着色剂、精油、皮肤感觉和收敛剂、合适的美学剂包括丁香油、薄荷醇、樟脑、桉叶油、丁子香酚、乳酸甲酯、没药醇、金缕梅蒸馏物和绿茶提取物。

[0230] 香精是芳香族物质, 其可以给予遮光剂组合物感官上令人愉悦的芳香。典型的香精包括从植物来源 (即, 玫瑰花瓣、梔子花、茉莉花等) 提取的芳香材料, 其可单独使用或组合使用以产生精油。或者, 可以制备乙醇提取物用于混合香精。然而, 由于从天然物质中获得香精的成本比较高, 现代人倾向于使用合成香精, 特别是在大体积产品中。可以在遮光剂组合物中任选加入一种或多种香精, 其量为大约 0.001 到大约 5wt%, 大约 0.01 到大约 0.5wt%。如果需要, 也可以使用额外的防腐剂, 其包括熟知的防腐剂成分例如苯甲醇、苯乙

醇和苯甲酸、尿素醛 (diazolydiny1)、脲、氯酚醚、碘丙炔基和丁基氨基甲酸酯。

[0231] 局部渗透促进剂

[0232] 药物局部递送至皮肤提供许多优点。对于患者,这是舒适、方便和非侵入性的。避免了口服治疗中遇到的变化的吸收和代谢速率,并且消除了其他固有的不便(例如,胃肠刺激,有时需要与食物一起给药或在其它情况下不能进食)。这样的局部治疗避免了引起高的全身药物水平以及随后的毒性或其他副作用。

[0233] 然而,药物局部递送进入皮肤通常是具有挑战的。皮肤是结构上复杂的、相对较厚的膜。从环境中通过完好皮肤进入的分子首先必须穿透角质层和其表面的任何物质。角质层是覆盖身体大部分的大约 10-15 微米厚的层,其由致密的、高度角质化的细胞组成。这些细胞的高度角质化作用及其致密充填被认为是在大多数情况下产生基本上不渗透药物的阻挡层的最主要的因素。对于许多药物,在不使用某些增强皮肤通透性的手段的情况下,通过皮肤的渗透速率极低。因为许多炎性皮肤病的角质层通常比正常皮肤厚,药物局部渗透入患病皮肤区域尤其难以完成。

[0234] 为了提高药物穿透皮肤的程度和速率,已经使用多种方法,每种方法包括使用化学渗透促进剂或物理渗透促进剂。皮肤渗透的物理促进包括例如,电泳技术例如离子电渗疗法。还研究了利用超声(或者“声透疗法”)作为物理渗透促进剂。通常更多地使用化学渗透促进剂。这些是与药物(或者,有时在药物给药前)一起局部给药的化合物,以增加角质层的渗透性,从而增强药物通过皮肤的渗透。理想地,这种化学渗透促进剂(或“渗透增强剂”,如本文引用的化合物)是无害的化合物,其仅用于促进药物通过角质层的扩散。

[0235] 用于增强皮肤渗透性的各种化合物是本领域已知的并描述在相关的文章和文献中。用于增强皮肤渗透性的化合物包括:亚砷,例如二甲亚砷(DMSO)和癸基甲基亚砷($C_{10}MSO$);醚类,例如二乙二醇单乙醚(市场上可以作为**Transcutol[®]**买到)和二乙二醇单甲醚;表面活性剂,例如月桂酸钠、十二烷基硫酸钠、十六烷基三甲基溴化铵、苯扎氯铵、泊洛沙姆(231、182、184)、吐温(20、40、60、80)和卵磷脂(美国专利 No. 4, 783, 450); 1-取代的氮杂环庚烷-2-酮,特别是 1-正-十二烷基环氮杂环庚烷-2-酮(可以商品名 Azone.RTM. 从 Nelson Research & Development Co., Irvine, Calif 买到,参见美国专利 Nos. 3, 989, 816, 4, 316, 893, 4, 405, 616 和 4, 557, 934);醇,例如乙醇、丙醇、辛醇、苯甲醇等;脂肪酸,例如月桂酸、油酸和戊酸;脂肪酸酯,例如十四烷酸异丙酯、棕榈酸异丙酯、丙酸甲酯和油酸乙酯;多元醇及其酯,例如丙二醇、乙二醇、甘油、丁二醇、聚乙二醇和聚乙二醇单月桂酸酯(PEGML;例如参考美国专利 No. 4, 568, 343);酰胺,及其他含氮化合物,例如脲、二甲基乙酰胺(DMA)、二甲基甲酰胺(DMF)、2-吡咯烷酮、1-甲基-2-吡咯烷酮、乙醇胺、二乙醇胺和三乙醇胺;萜烯;酮;和有机酸,特别是水杨酸和水杨酸盐、柠檬酸和琥珀酸。书本 Percutaneous Penetration Enhancers (Smith et al., editors, CRC Press, 1995) 提供了该领域优秀的综述和许多化学和物理促进剂的其他背景资料。

[0236] 一直以来认为,强碱例如 NaOH 不适合作为渗透促进剂,因为他们会损害皮肤。现在发现,通过使皮肤接触皮肤接触制剂或贴剂中的碱或碱性溶液,在不引起皮肤损害的情况下能增强各种药物的皮肤渗透性。可以使用各种碱或碱浓度获得用于皮肤的溶液所需的 pH。因此,选择 pH 使其充分低,以不引起皮肤损害,但又要足够高以增强各种活性剂的皮肤渗透。因此,重要的是优化任何贴剂或制剂中碱的量,以增加药物通过机体表面的量,同时

最小化任何可能的皮肤损害。通常,这意味着与本发明制剂或药物递送系统接触的机体表面 pH 为大约 8.0-13.0、大约 8.0-11.5、大约 8.5 到 11.5、或大约 8.5-10.5。在一些实施方式中,pH 为大约 9.5 到 11.5,或者大约 10.0 到 11.5。

[0237] 在一个实施方式中,皮肤表面的 pH 是主要的设计考虑因素,即设计组合物或体系以在皮肤表面提供所需 pH。无水制剂和透皮体系可以不具有可测量的 pH,可以设计制剂或体系以在皮肤表面提供目标 pH。从机体表面出来的水分可以移入制剂或体系中,溶解碱从而将碱释放入溶液中,然后将在机体表面提供所需目标 pH。在这种情况下,优选亲水性组合物。另外,当使用水性制剂时,该制剂的 pH 可能在施用至皮肤后随着时间变化。例如,凝胶、溶液、油膏等可能在施用至机体表面后经历水分净损失,即,失去的水量大于从机体表面接收的水量。在那种情况下,该制剂的 pH 可以不同于其制备时的 pH。通过设计水性制剂以在机体表面提供目标 pH,从而可以容易地改善该问题。

[0238] 在本发明的其他实施方式中,包含在递送系统中的制剂或药物组合物的 pH 可以是大约 8.0 到 13.0、大约 8.0 到 11.5、大约 8.5 到 11.5、或大约 8.5 到 10.5。在一些实施方式中,pH 范围为大约 9.5 到 11.5、或者大约 10.0 到 11.5。在本发明的一个实施方式中,该制剂的 pH 高于机体表面的 pH。例如,如果使用水性制剂,从机体表面出来的水分可以稀释该制剂,因此在机体表面造成不同的 pH,这一般比制剂本身的 pH 更低。

[0239] 在一个实施方式中,机体表面在一段充分的时间内接触碱或碱性溶液,以在皮肤表面提供高 pH,因此在皮肤或者粘膜中产生了用于药物通过的通道。据预期,药物的通量与溶液的强度和接触时间成正比。然而,需要平衡药物通量的最大化和皮肤损害的最小化。这可以以许多方法实现。例如,可以通过选择较低的 pH 在 8.0 到 13.0 范围内,通过使皮肤在较短的时间内和制剂或体系接触,或通过添加至少一种刺激减轻添加剂来最小化皮肤损害。或者,可以建议患者改变各种后续给药的施用部位。

[0240] 某些量列于下文,应理解,对于所有此处描述的无机和有机碱,任何这种碱的最优量将取决于碱的强弱度和其分子量,和其他因素例如给药的活性剂的可离子化位点的数目,以及制剂或贴剂中是否存在任何酸性种类。本领域技术人员可以容易地确定任意特定碱的最优量,从而在最佳化增强程度的同时,消除或者至少基本上最小化机体表面损害的可能性。

[0241] 示范性的无机碱是无机氢氧化物、无机氧化物、弱酸的无机盐、及其组合。一些无机碱包括其水性溶液具有高 pH 以及可接受为食品或药品添加剂的那些。这样的无机碱的例子包括氢氧化铵、氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化钙、氢氧化镁、氧化镁、氧化钙、 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 、乙酸钠、硼酸钠、偏硼酸钠、碳酸钠、碳酸氢钠、磷酸钠、碳酸钾、碳酸氢钾、柠檬酸钾、乙酸钾、磷酸钾和磷酸铵、及其组合。

[0242] 无机氢氧化物包括例如,氢氧化铵,碱金属氢氧化物和碱土金属氢氧化物,及其混合物。无机氢氧化物包括氢氧化铵;一价碱金属氢氧化物例如氢氧化钠和氢氧化钾;二价碱土金属氢氧化物例如氢氧化钙和氢氧化镁;及其组合。

[0243] 本发明组合物和体系中包括的无机氢氧化物的量典型地占局部施用制剂或药物递送系统的药物贮库或贴剂的大约 0.3-7.0wt%、大约 0.5-4.0wt%、大约 0.5-3.0wt% 或大约 0.75-2.0wt%。

[0244] 无机氧化物包括例如,氧化镁、氧化钙等。

[0245] 本发明组合物和体系中的无机氧化物的量可以显著高于上述无机氢氧化物的量,可以高达 20wt%,有时高达 25wt%或更高,但是一般在大约 2-20wt%的范围之内。可以考虑任何碱可中和种类的存在来调节这些量。

[0246] 弱酸的无机盐包括,磷酸氢二铵;弱酸的碱金属盐例如乙酸钠、硼酸钠、偏硼酸钠、碳酸钠、碳酸氢钠、磷酸三钠、磷酸氢二钠、碳酸钾、碳酸氢钾、柠檬酸钾、乙酸钾、磷酸钾、磷酸三钾;弱酸的碱土金属盐例如磷酸镁和磷酸钙;等等,及其组合。

[0247] 适合用于本发明的有机碱是含有氨基、酰胺基、脞、氰基、芳香或非芳香含氮杂环、脲基及其组合的化合物。更具体地,合适的有机碱的例子是含氮碱,其包括但不限于:伯胺、仲胺、叔胺、脞、胍、羟胺、氰基胍、氰基脞、脞、含氰基($-\text{CN}$)基团、芳香和非芳香含氮杂环、脲、及其混合物。一些有机碱是伯胺、仲胺、叔胺、芳香和非芳香含氮杂环,及其混合物。

[0248] 对于此处所有的渗透促进碱,任何特定试剂的最优量将取决于碱的强弱度、碱的分子量、及其他因素,例如在给药剂物中的可离子化位点数目和在该制剂或贴剂中的任何其他酸性种类。通过确保制剂在施用制剂时在皮肤表面有效提供大约 7.5 到大约 13.0、大约 8.0 到大约 11.5、或大约 8.5 到大约 10.5 的 pH,本领域技术人员可以容易地确定任何特定试剂的最优量。在一些实施方式中, pH 为大约 9.5 到 11.5、或者大约 10.0 到 11.5。这又确保了在治疗程度最大化的同时消除或至少显著最小化机体表面损害的可能性。

[0249] 在鼻内给药的情况下,这种溶液或悬浮液相对于鼻分泌物而言可以是等渗的,且 pH 几乎相同,例如,范围为大约 pH4.0 到大约 pH7.4,或者,为 pH6.0 到 pH7.0。缓冲液应该是生理兼容的,包括(仅举例)磷酸盐缓冲液。例如,典型的鼻解充血药被描述为被缓冲到 pH 为大约 6.2 (Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Ed. Arthur Osol, page 1445 (1980))。本领域技术人员可以容易地确定用于鼻和/或上呼吸道给药的无害水溶液的合适的盐含量和 pH。

[0250] 局部递送药物的其他渗透促进剂是本领域技术人员熟知的,和/或描述在相关的文章和文献中,例如参见 Percutaneous Penetration Enhancers, Smith et al., eds. (CRC Press, 1995)。

[0251] LFA-1 拮抗剂和其他活性剂

[0252] 在一个实施方式中,本发明方法包括给药一种或多种其他的药物来治疗免疫相关疾病。试剂的组合可用于治疗 LFA-1 介导的疾病或调整组合中一种或多种试剂的副作用。在一些情况下,该疾病状态的病理事件的特点是削弱的自身调节、细胞程序死亡、局部缺血、新血管形成和炎性刺激的组合来标记,可能需要将本发明 LFA-1 拮抗剂和其他治疗剂联合给药,以额外或协同地干预。在一些实施方式中,第二治疗剂是抗氧化剂、抗炎剂、抗微生物药,包括抗细菌剂、抗组胺剂、肥大细胞稳定剂、抗病毒剂和抗真菌剂、抗血管生成剂、和/或抗细胞凋亡剂。在本发明的一些实施方式中,除给药能直接竞争结合到 LFA-1 的化合物之外,还可以给药其他的治疗剂,该治疗剂是变构的,但非直接竞争的如上讨论的 LFA-1 拮抗剂,潜在导致协同效应。这样的异构拮抗剂的例子是 LFA-1 的乙内酰脲抑制剂类。(例如参见 Keating et al., Protein Science, 15, 290-303, (2006))。

[0253] 一种或多种活性剂和赋形剂的特定组合可在很大程度上由化学相容性决定。这就是说,各活性剂可以在局部药物制剂中与碱以及任何其他活性剂共存,不会彼此或与制剂中的其他组分以能够削弱治疗效果或增加毒性或其他副作用可能性的方式反应或互相

作用。因此,例如,应该避免强无机碱例如氢氧化钾和酸例如水杨酸之间的直接接触,因为这些化合物可以有有害方式互相反应。然而,例如,如果活性剂被保护(例如活性剂包含在脂质体、胶束、微球或类似的结构中),从而它在渗透入皮肤之后以及碱充分消散以避免与活性剂进行明显反应之后释放,则甚至化合物的这种反应对也可以组合在有效的局部制剂中。

[0254] 也可以研磨 LFA-1 拮抗剂的任何形式,以为制剂提供更合适的性质。研磨可以提供较小的粒径和较大的表面暴露面积,其可以提供体内或配制过程中更快的溶解。或者,研磨到较小的粒径可以提供在没有初始溶解的情况下直接穿透生物障碍如皮肤或肠壁的能力,允许作为固体在制剂中使用,其可以提供温度稳定性、储藏寿命、容易输送和容易被受试者使用的额外好处。而且,本领域的技术人员能够确定哪种形式的 LFA-1 拮抗剂或其形式的组合可以可释放地粘附到生物相容的聚合物从而用于持续释放制剂。来自生物相容的聚合物的控制释放也可以和水溶性聚合物一起使用,以形成可滴注的制剂。可以使用任何合适的可生物降解的和生物相容的聚合物。

[0255] 可以用于和本发明 LFA-1 拮抗剂联合给药(之前、之后或同时)的一类治疗剂是抑制血管内皮生长因子的一组药物,因此,其可以靶向启动新血管形成的另一条路线。任何 VEGF 抑制剂可以用于本发明的组合物,例如:1) 中和抗 VEGF 或其受体的单克隆抗体,2) VEGF 受体的小分子酪氨酸激酶抑制剂,3) 可溶的 VEGF 受体,其作为 VEGF 的诱饵受体,和 4) 特异性针对 VEGF 的核酶。具有抗 VEGF 活性的抗体的一些例子是,例如,Lucentis(兰尼单抗)和 Avastin(贝伐单抗)。寡核苷酸药物的例子是,例如,Macugen(派加他尼钠注射剂)。小分子酪氨酸激酶抑制剂包括,例如,帕唑帕尼、索拉非尼、舒尼替尼等。

[0256] 炎症由白细胞粘附和新血管形成的过程诱导。因此,其他抗炎剂可以和本发明 LFA-1 拮抗剂联合给药(之前、之后或同时)。抗炎剂可以选自皮质类固醇相关药物,包括但不限于:地塞米松、氟米龙、甲羟孕酮、倍他米松、去炎松、去炎松丙酮化合物、强的松、泼尼松龙、氢化可的松、双甲丙酰龙和其药用可接受盐,泼尼卡酯、地夫可特、卤米松、替可的松、泼尼立定、强的松龙戊酸酯、泼拉米松、甲强的松龙、甲基强的松、马泼尼酮、异氟泼尼龙、醋酸卤泼尼松、哈西缩松、福莫可他、氟氢缩松、氟泼尼松龙、醋酸氟泼尼定、醋酸氟培龙、氟考龙、氟考丁酯、氟轻松醋酸酯、肤轻松、氟尼缩松、氟米松、氟氢化可的松、氟卡尼、甘草次酸、二氟泼尼酯、双氟米松、双醋酸双氟拉松、去羟米松(去氧米松)、地奈德、地西龙、可的伐唑、皮质脂酮、可的松、氯泼尼醇、氯可托龙、去氢氯氟美松、氯倍他索、氯强的松、咖啡醇、布地缩松、倍氯米松、安西奈德、别孕烷丙酮化合物、阿氯米松、21-乙烷基孕烯醇酮、曲洛奈德、醋酸双氟拉松、脱酰可的发唑、RU-26988、布地奈德、脱酰可的发唑等。其他的抗炎剂包括 5-氨基水杨酸酯(5-ASA)化合物,例如柳氮磺胺吡啶(Azulfidine)、奥沙拉嗪(Dipentum)和美沙拉秦(例子包括 Pentasa、Asacol、Dipentum、Colazal、Rowasa 灌肠剂和 Canasa 栓剂)。类似地,抗炎剂可以选自环孢霉素相关的药物(例如钙调磷酸酶拮抗剂),包括但不限于环孢霉素家族成员及其他相关的钙调磷酸酶拮抗剂,包括西罗莫司、他克莫司和吡美莫司。或者,抗炎剂可以选自 NSAID 组,包括但不限于扑热息痛、阿西美辛、醋氯芬酸、阿明洛芬、萘芬酸、苡达酸、苯恶洛芬、溴芬酸、布氯酸、布替布芬、卡洛芬、塞来考昔、桂美辛、氯吡酸、双氯芬酸、依托度酸、艾托考昔、联苯乙酸、芬克洛酸、芬布芬、非诺洛芬、芬替酸、氟诺洛芬、氟比洛芬、异丁芬酸、布洛芬、吲哚美辛、三苯唑酸、伊索昔康、伊索克

酸、吡唑洛芬、酮洛芬、氯那唑酸、氯索洛芬、甲芬那酸、甲氯灭酸、美洛昔康、甲吩噻嗪乙酸、莫苯唑酸、咪洛芬、萘普生、尼氟酸、噁丙嗪、吡拉唑酸 (pirozolac)、吡洛芬、普拉洛芬、丙替嗪酸、罗非考昔、水杨酸及其衍生物（即例如阿司匹林）、舒林酸、舒洛芬、琥布宗、噻洛芬酸 (triaprofenic acid)、托美丁、伐地考昔、联苯丁酸、希莫洛芬、扎托洛芬、佐美酸、阿司匹林、阿西美辛、丁丙二苯肼、卡洛芬 (carprofenac)、环氯茛酸、二氟苯水杨酸、苯乙氨茴酸、芬度柳、氟芬那酸、氟尼辛、龙胆酸、酮咯酸 (ketorolac)、美沙拉秦、其前药,等等。另外,可以使用免疫调节剂例如 6- 巯基嘌呤 (6-MP)、硫唑嘌呤 (Imuran)、氨甲喋呤 (Rheumatrex, Trexall)、英夫利昔单抗 (Remicade) 和阿达木单抗 (Humira)。

[0257] 可用于和本发明 LFA-1 拮抗剂联合用药（之前、之后或同时）的一类治疗剂是抗组胺剂,包括烷基胺、乙醇胺和吩噻嗪类,例如,扑尔敏、丹宁酸氯苯那敏、盐酸苯海拉明、盐酸异丙嗪、阿伐斯汀、马来酸哌吡庚啉、盐酸氮卓斯汀、马来酸溴苯吡胺、马来酸氯苯吡醇胺、盐酸西替立嗪、富马酸氯马斯汀、盐酸塞庚啉、地氯雷他定、马来酸右溴苯那敏、马来酸右氯苯那敏、茶苯海明 (dimenhydrinate)、盐酸苯海拉明、二富马酸依美斯汀、盐酸非索那定、盐酸羟嗪、富马酸酮替芬、氯雷他定、盐酸美克洛嗪、盐酸奥罗他定、酒石酸芬宁胺、喹硫平、柠檬酸曲吡那敏、盐酸曲吡那敏和盐酸曲普利啉。

[0258] 可用于和本发明 LFA-1 拮抗剂联合用药（之前、之后或同时）的一类治疗剂是肥大细胞稳定剂例如色甘酸钠和萘多罗米。

[0259] 由 LFA-1 介导的免疫疾病诱导的自身调节和局部缺血过程削弱的细胞内可能诱导氧化应激。因此,抗氧化剂可用于和本发明 LFA-1 拮抗剂联合用药（之前、之后或同时）。用于本发明方法的合适的抗氧化剂的例子包括但不限于:抗坏血酸、生育酚、生育三烯酚、类胡萝卜素、谷胱甘肽、 α -硫辛酸、泛醇、生物类黄酮、肉碱和超氧化物歧化酶模拟物,例如,2,2,6,6-四甲基-1-哌啉氧化物 (TEMPO)、DOXYL、PROXYL 硝基氧化合物;4-羟基-2,2,6,6-四甲基-1-哌啉氧化物 (Tempol)、M-40401、M-40403、M-40407、M-40419、M-40484、M-40587、M-40588 等。

[0260] 在本发明的一些实施方式中,提供抗细胞凋亡治疗剂可与本发明 LFA-1 拮抗剂联合用药（之前、之后或同时）的方法。合适的抗细胞凋亡剂的例子是例如胱天蛋白酶、组织蛋白酶和 TNF- α 的抑制剂。

[0261] 可用于和本发明 LFA-1 拮抗剂联合用药（之前、之后或同时）的另一类治疗剂是抗微生物剂。合适的抗微生物化合物包括但不限于青霉素,例如阿莫西林、氨苄青霉素、阿洛西林、羧苄青霉素、氯唑西林、双氯西林、氟氯西林、美洛西林、萘夫西林、青霉素、哌拉西林、替卡西林等; β -内酰胺酶抑制剂;碳青霉烯类,例如厄他培南 (ertapenem)、亚胺培南、美罗培南等;头孢菌素类,例如头孢克洛、头孢孟多、头孢西丁、头孢罗齐、头孢氨苄、头孢克肟、头孢地尼、头孢托仑、头孢哌酮、头孢噻肟、头孢泊肟、头孢羟氨苄、头孢他啶、头孢布烯、头孢唑肟、头孢三嗪 (ceffirioxone)、头孢唑啉、头孢克肟、头孢力新、头孢吡肟等;喹诺酮类,例如环丙沙星、依诺沙星、加替沙星、左氟沙星、洛米沙星、莫西沙星 (morfloxacin)、诺氟沙星、氧氟沙星、曲伐沙星等;大环内酯类,例如阿奇霉素、克拉霉素、地红霉素、红霉素、密比霉素、醋竹桃霉素等;单环 β -内酰胺类 (monobactams),例如 LFA-1 拮抗剂等;四环素类,例如地美环素、强力霉素、米诺环素、氧四环素、四环素、等;氨基糖苷类,例如阿米卡星、庆大霉素、卡那霉素、新霉素、奈替米星、巴龙霉素、链霉素、托普霉素等;

碳头孢烯,例如氯拉卡比等;链霉素阳菌素;磺胺类,例如甲磺灭脓(mefanide)、百浪多息、磺醋酰胺、磺胺甲基硫二噻、磺胺、柳氮磺胺吡啶、磺胺异噻唑、甲氧苄啶、甲氧苄啶-磺胺甲噻唑等;其他抗微生物剂例如灭滴灵;以及复方药物例如磺胺甲噻唑和甲氧苄啶等。

[0262] 其他抗微生物剂包括抗病毒剂类。抗病毒剂包括但不限于治疗剂例如进入抑制剂、逆转录酶抑制剂、核苷或者核苷酸类似物、蛋白酶抑制剂和从宿主细胞释放病毒的抑制剂。一些说明性的这类治疗剂包括但不限于:阿巴卡韦、阿昔洛韦、阿德福韦、金刚胺、安普那韦、阿比朵尔、阿扎那韦、atrilpa、溴夫定、西多福韦、可比韦、地瑞拉韦、地拉韦啶、去羟肌苷、二十二醇、依度尿苷、依非韦伦、恩曲他滨、恩夫韦地、恩替卡韦、泛西洛维、福米韦生、麟甲酸、磷乙酸、更昔洛韦、加德西、伊巴他滨、异丙肌苷、碘苷、咪喹莫特、茆地那韦、肌甙、III 型干扰素、II 型干扰素、I 型干扰素、干扰素、拉米夫定、洛匹那韦、洛韦胺、马拉维若、吗啉胍、奈非那韦、奈维拉平、nexavir、奥塞米韦、喷昔洛韦、帕拉米韦、普来可那立、鬼臼毒素、雷特格韦、利巴韦林、金刚烷乙胺、利托那韦、沙奎那韦、司他夫定、替诺福韦、替诺福韦双索、替拉那韦、三氟尿苷、三协唯、醋胺金刚烷、truvada、缬昔洛韦、缬更昔洛韦、vicriviroc、阿糖腺苷、长春米定(viramidine)、扎西他滨、扎那米韦、齐多夫定等。

[0263] 气雾剂组合物的制备

[0264] 本发明气雾剂的制备利用传统的气雾剂制备技术。例如,称重药物和/或表面活性剂,或称量或按量配给到合适的转运容器中,或直接加到定量容器或加到压力定量容器的其他口。一旦所需量的推进剂放入容器(按照成批记录)中,引入(例如,通过用必要量的推进剂冲洗)表面活性剂,并任选地通过其他口将其他赋形剂加入压力容器中,所述容器搅拌足够时间以允许溶解。然后,均化推进剂/表面活性剂/药物悬浮液一段时间以形成均匀的悬浮液制剂。一旦制成悬浮液,将产品在压力下通过阀填充入产品小罐中,所述小罐能承受推进剂的蒸气压,并预先配备有计量阀。在使用前,用力摇动完成的 MDI 以形成均匀悬浮液。

[0265] 或者,也可以通过将药物、表面活性剂和液化的推进剂(在其沸点以下冷却)添加到定量容器,搅拌并均化适当的时间,然后精确地转移入小罐中来制备 MDI,所述容器配备有计量阀。通常这种方法称为“冷填”法。然后使完成的 MDI 恢复到室温,并在使用前用力摇动,以在使用前重新形成均匀的悬浮液。

[0266] 使用雾化 LFA-1 拮抗剂的治疗方法

[0267] 本发明化合物可以用来治疗由 LFA-1 活性介导的疾病或病症。因此,一个方面,提供治疗受试者的炎性或免疫相关疾病的方法,包括给药含有 LFA-1 拮抗剂或其药用可接受盐或酯和气雾剂推进剂的气雾剂,其中当给药于受试者时,LFA-1 拮抗剂的全身清除率大于约 2mL/min/kg。

[0268] 气雾剂给药的优点包括治疗剂的局部递送,以及因为低的全身生物利用率而最小化的全身副作用。例如,本发明气雾剂可以直接给药于皮肤、眼、口、鼻、肺、阴道粘膜或肛门粘膜。尤其是,本发明的递送气雾剂的方法非常适合该制剂的局部给药。本文以及 Remington "The Science and Practice of Pharmacy" (20th Ed., Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore MD), Gonda, I. "Aerosols for delivery of therapeutic and diagnostic agents to the respiratory tract," in Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 6:273-313, 1990; 和 in Moren, "Aerosol dosage forms and

formulations, " in: *Aerosols in Medicine, Principles, Diagnosis and Therapy*, Moren, 等人., Eds. Elsevier, Amsterdam, 1985 讨论了合适的制剂、附加载体和递送系统, 这些文献的教导以引用方式全部合并在此。雾化递送的方法在本领域是公知的, 包括使用推进剂、喷雾器和干粉制剂。

[0269] 本发明治疗用组合物的一个优点是气雾剂的应用特别便于治疗和预防各种皮肤病症。治疗用组合物可以非侵害地直接施用于所需部位, 包括皮肤、阴道粘膜或肛门粘膜。通过气雾剂给药方便地解决的其他疾病包括鼻通道、眼和口腔的变应性疾病。可通过使气雾剂喷入眼睛或泪液中实现 LFA-1 拮抗剂局部递送至眼睛。然后药物经由眼周软组织分散或通过巩膜或越过角膜上皮分散。气雾剂递送至肺也可以局部治疗变应性、炎性和免疫疾病。

[0270] 该制剂可以在药学上适用于气雾剂给药的水性溶液中给药, 例如, 局部给药至呼吸系统或眼睛。例如, 鼻内给药的粒径大于 $5\mu\text{m}$ 的气雾剂趋于沉积在鼻腔内。2 到 $10\mu\text{m}$ 的微粒可以保留在肺中, 小于 $1\mu\text{m}$ 的微粒一般会被呼出。本领域技术人员能够根据递送路径和方法选择合适的粒径。例如, 为呼吸系统递送优化的雾化粒径可能不同于为眼睛递送优化的粒径。另外, 可以优化粒径和涂层以防止气雾剂递送装置的阻塞。

[0271] 在用于递送至肺的实施方式中, 通过吸入例如液体微粒和 / 或固体微粒的形式给药该化合物。合适的例子包括但不限于: 气雾剂、喷雾剂、烟雾剂和雾化样品。可以用来给药于人的典型装置包括计量吸入器 (MDI)、喷雾器和滴注技术。该制剂以有效治疗、预防或诊断免疫相关疾病的一种或多种症状或表现形式例如炎症的量给药。

[0272] 在一些实施方式中, 本发明治疗剂具有使得全身吸收的任何药物被快速清除的快速全身清除率。在一些实施方式中, LFA-1 拮抗剂的全身清除率大于约 $1\text{mL}/\text{min}/\text{kg}$, 约 $2\text{mL}/\text{min}/\text{kg}$, 约 $3\text{mL}/\text{min}/\text{kg}$, 约 $4\text{mL}/\text{min}/\text{kg}$, 约 $5\text{mL}/\text{min}/\text{kg}$, 约 $6\text{mL}/\text{min}/\text{kg}$, 约 $7\text{mL}/\text{min}/\text{kg}$, 约 $8\text{mL}/\text{min}/\text{kg}$, 约 $9\text{mL}/\text{min}/\text{kg}$, 约 $10\text{mL}/\text{min}/\text{kg}$, 约 $11\text{mL}/\text{min}/\text{kg}$, 约 $12\text{mL}/\text{min}/\text{kg}$, 约 $13\text{mL}/\text{min}/\text{kg}$, 约 $14\text{mL}/\text{min}/\text{kg}$, 约 $15\text{mL}/\text{min}/\text{kg}$, 约 $16\text{mL}/\text{min}/\text{kg}$, 约 $17\text{mL}/\text{min}/\text{kg}$, 约 $18\text{mL}/\text{min}/\text{kg}$, 约 $19\text{mL}/\text{min}/\text{kg}$, 约 $20\text{mL}/\text{min}/\text{kg}$, 约 $25\text{mL}/\text{min}/\text{kg}$, 约 $30\text{mL}/\text{min}/\text{kg}$, 约 $35\text{mL}/\text{min}/\text{kg}$, 约 $40\text{mL}/\text{min}/\text{kg}$, 约 $45\text{mL}/\text{min}/\text{kg}$, 约 $50\text{mL}/\text{min}/\text{kg}$, 约 $60\text{mL}/\text{min}/\text{kg}$, 约 $65\text{mL}/\text{min}/\text{kg}$, 约 $70\text{mL}/\text{min}/\text{kg}$, 约 $75\text{mL}/\text{min}/\text{kg}$, 约 $80\text{mL}/\text{min}/\text{kg}$, 约 $85\text{mL}/\text{min}/\text{kg}$, 约 $90\text{mL}/\text{min}/\text{kg}$, 约 $95\text{mL}/\text{min}/\text{kg}$, 或约 $100\text{mL}/\text{min}/\text{kg}$ 。

[0273] 已知 LFA-1 与可以导致几种不需要的副作用的几种配体相互作用。因此在一些实施方式中, 治疗剂的局部浓度为全身浓度的约 2 倍、3 倍、4 倍、5 倍、10 倍、25 倍、50 倍或 100 倍。在本发明另一个实施方式中, LFA-1 拮抗剂的局部浓度为全身浓度的约 1000 倍。在一个实施方式中, 在同一个时间点, 局部浓度为全身浓度的大约 10,000 倍或更大。可以使用本领域任何已知方法测量治疗剂的浓度。例如, 可以使用放射性标记的治疗药物, 以及从局部给药部位进行测定与全身水平 (例如血浆水平浓度) 对比。

[0274] 该组合物以导致递送有效剂量的 LFA-1 拮抗剂的药代动力学曲线递送。药物的实际有效量可以根据所使用的特定的药物或其组合、配制的特定组合物、给药方式、患者的年龄、体重、病症以及所治疗的症状或病症的严重性而改变。本领域的技术人员可以使用通常的考虑 (例如借助于合适的、惯用的药理学规程) 来决定用于特定患者的剂量。

[0275] 一些实施方式中, LFA-1 拮抗剂在给药于受试者后的约 4 小时内达到大于约 $1\mu\text{M}$

的局部组织浓度。在其他实施方式中, LFA-1 拮抗剂在给药于受试者后的约 3 小时内达到大于约 $1\mu\text{M}$ 的局部组织浓度。在其他实施方式中, LFA-1 拮抗剂在给药于受试者后的约 2 小时内达到大于约 $1\mu\text{M}$ 的局部组织浓度。在其他实施方式中, LFA-1 拮抗剂在给药于受试者后的约 1 小时内达到大于约 $1\mu\text{M}$ 的局部组织浓度。在其他实施方式中, LFA-1 拮抗剂在给药于受试者后的约 50 分钟、约 40 分钟、约 30 分钟、约 20 分钟、约 10 分钟、约 5 分钟或约 3 分钟内达到大于约 $1\mu\text{M}$ 的局部组织浓度。在一些实施方式中, LFA-1 拮抗剂在给药于受试者后的约 4 小时内达到大于约 $1\mu\text{M}$ 的皮肤内局部组织浓度。在其他实施方式中, 在将气雾剂给药于受试者后的约 6 小时、约 5.5 小时、约 5 小时、约 4.5 小时、约 4 小时、约 3.5 小时、约 3.0 小时、或约 2.5 小时内, LFA-1 拮抗剂达到大于约 $1\mu\text{M}$ 的皮肤内局部组织浓度。在一些实施方式中, 在将气雾剂给药于受试者的眼睛后的约 180 分钟、约 170 分钟、约 160 分钟、约 150 分钟、约 140 分钟、约 130 分钟、约 120 分钟、约 110 分钟、约 100 分钟、约 90 分钟、约 80 分钟、约 70 分钟、约 60 分钟、约 50 分钟、约 40 分钟、约 30 分钟、或约 20 分钟内, LFA-1 拮抗剂达到大于约 $1\mu\text{M}$ 的局部视网膜和 / 或眼内组织浓度。在一些实施方式中, LFA-1 拮抗剂给药至眼睛表面以将 LFA-1 拮抗剂递送至视网膜和 / 或眼内组织。在其他实施方式中, LFA-1 拮抗剂在给药于受试者后的约 60 分钟、约 50 分钟、约 40 分钟、约 30 分钟、约 20 分钟、约 19 分钟、约 18 分钟、约 17 分钟、约 16 分钟、约 15 分钟、约 14 分钟、约 13 分钟、约 12 分钟、约 11 分钟、约 10 分钟、约 9 分钟、约 8 分钟、约 7 分钟、约 6 分钟、约 5 分钟、约 4 分钟、约 3 分钟、约 2 分钟或约 1 分钟内达到大于约 $1\mu\text{M}$ 的局部泪液和 / 或角膜表面浓度。在一些实施方式中, LFA-1 拮抗剂给药至眼睛, 以将 LFA-1 拮抗剂递送至泪液和 / 或角膜表面。在一些实施方式中, 在将气雾剂给药于受试者后的约 180 分钟、约 170 分钟、约 160 分钟、约 150 分钟、约 140 分钟、约 130 分钟、约 120 分钟、约 110 分钟、约 100 分钟、约 90 分钟、约 80 分钟、约 70 分钟、约 60 分钟、约 50 分钟、约 40 分钟、约 30 分钟、约 20 分钟、或约 10 分钟内, LFA-1 拮抗剂达到大于约 $1\mu\text{M}$ 的局部肺组织浓度。

[0276] 在以如上所述的气雾剂给药本发明制剂后, LFA-1 拮抗剂分散到局部组织并以治疗有效浓度存在于施用有该制剂的上皮表面的约 1mm 内。在该制剂以气雾剂给药的一些实施方式中, LFA-1 拮抗剂以治疗有效浓度存在于施用有该制剂的上皮表面的约 2mm、约 3mm、约 4mm、约 5mm、约 6mm、约 7mm、约 8mm、约 9mm、约 10mm、约 12mm、约 14mm、约 16mm、约 18mm、约 20mm、约 30mm、约 40mm、或约 50mm 内。在以气雾剂给药本发明制剂的实施方式中, LFA-1 拮抗剂递送到肺并以治疗有效浓度存在于递送有该 LFA-1 拮抗剂的肺的上皮表面的约 10mm 内。在以气雾剂给药本发明制剂的一些其他实施方式中, LFA-1 拮抗剂递送到肺并以治疗有效浓度存在于递送有该 LFA-1 拮抗剂的肺的上皮表面的约 2mm、约 3mm、约 4mm、约 5mm、约 6mm、约 7mm、约 8mm、约 9mm、约 10mm、约 12mm、约 14mm、约 16mm、约 18mm、约 20mm、约 30mm、约 40mm、或约 50mm 内。

[0277] 在一些实施方式中, LFA-1 拮抗剂在给药于受试者后的约 4 小时内的局部组织浓度大于约 10nM。在其他实施方式中, LFA-1 拮抗剂在给药于受试者的约 4 小时内的局部组织浓度大于约 20nM、约 30nM、约 40nM、约 50nM、约 75nM、约 100nM、约 150nM、约 200nM、约 150nM、约 300nM、约 400nM、约 500nM、约 600nM、约 700nM、约 800nM、约 900nM、约 $1\mu\text{M}$ 、约 $2\mu\text{M}$ 、约 $3\mu\text{M}$ 、约 $4\mu\text{M}$ 、约 $5\mu\text{M}$ 、约 $6\mu\text{M}$ 、约 $7\mu\text{M}$ 、约 $8\mu\text{M}$ 、约 $9\mu\text{M}$ 或约 $10\mu\text{M}$ 。在其他实施方式中, LFA-1 拮抗剂在给药于受试者后的约 5 小时内的局部组织浓度大于约 10nM、约 20nM、约

30nM、约 40nM、约 50nM、约 75nM、约 100nM、约 150nM、约 200nM、约 300nM、约 400nM、约 500nM、约 600nM、约 700nM、约 800nM、约 900nM、约 μM 、约 $2\mu\text{M}$ 、约 $3\mu\text{M}$ 、约 $4\mu\text{M}$ 、约 $5\mu\text{M}$ 、约 $6\mu\text{M}$ 、约 $7\mu\text{M}$ 、约 $8\mu\text{M}$ 、约 $9\mu\text{M}$ 或约 $10\mu\text{M}$ 。本发明也提供以下方法，其中 LFA-1 拮抗剂在给药于受试者后的约 3 小时内的局部组织浓度大于约 10nM、约 20nM、约 30nM、约 40nM、约 50nM、约 75nM、约 100nM、约 150nM、约 200nM、约 300nM、约 400nM、约 500nM、约 600nM、约 700nM、约 800nM、约 900nM、约 $1\mu\text{M}$ 、约 $2\mu\text{M}$ 、约 $3\mu\text{M}$ 、约 $4\mu\text{M}$ 、约 $5\mu\text{M}$ 、约 $6\mu\text{M}$ 、约 $7\mu\text{M}$ 、约 $8\mu\text{M}$ 、约 $9\mu\text{M}$ 或约 $10\mu\text{M}$ 。LFA-1 拮抗剂在给药于受试者后的约 2 小时内的局部组织浓度也可以大于约 10nM、约 20nM、约 30nM、约 40nM、约 50nM、约 75nM、约 100nM、约 150nM、约 200nM、约 300nM、约 400nM、约 500nM、约 600nM、约 700nM、约 800nM、约 900nM、约 $1\mu\text{M}$ 、约 $2\mu\text{M}$ 、约 $3\mu\text{M}$ 、约 $4\mu\text{M}$ 、约 $5\mu\text{M}$ 、约 $6\mu\text{M}$ 、约 $7\mu\text{M}$ 、约 $8\mu\text{M}$ 、约 $9\mu\text{M}$ 或约 $10\mu\text{M}$ 。在其他实施方式中，LFA-1 拮抗剂在给药于受试者后的约 1 小时内的局部组织浓度大于约 10nM、约 20nM、约 30nM、约 40nM、约 50nM、约 75nM、约 100nM、约 150nM、约 200nM、约 300nM、约 400nM、约 500nM、约 600nM、约 700nM、约 800nM、约 900nM、约 $1\mu\text{M}$ 、约 $2\mu\text{M}$ 、约 $3\mu\text{M}$ 、约 $4\mu\text{M}$ 、约 $5\mu\text{M}$ 、约 $6\mu\text{M}$ 、约 $7\mu\text{M}$ 、约 $8\mu\text{M}$ 、约 $9\mu\text{M}$ 或约 $10\mu\text{M}$ 。

[0278] 在其他实施方式中，LFA-1 拮抗剂在给药于受试者后的约 30 分钟内的局部组织浓度大于约 10nM、约 20nM、约 30nM、约 40nM、约 50nM、约 75nM、约 100nM、约 150nM、约 200nM、约 300nM、约 400nM、约 500nM、约 600nM、约 700nM、约 800nM、约 900nM、约 $1\mu\text{M}$ 、约 $2\mu\text{M}$ 、约 $3\mu\text{M}$ 、约 $4\mu\text{M}$ 、约 $5\mu\text{M}$ 、约 $6\mu\text{M}$ 、约 $7\mu\text{M}$ 、约 $8\mu\text{M}$ 、约 $9\mu\text{M}$ 或约 $10\mu\text{M}$ 。在其他实施方式中，LFA-1 拮抗剂在给药于受试者后的约 50 分钟、约 40 分钟、约 20 分钟、约 10 分钟或约 5 分钟内的局部组织浓度大于约 10nM、约 20nM、约 30nM、约 40nM、约 50nM、约 75nM、约 100nM、约 150nM、约 200nM、约 300nM、约 400nM、约 500nM、约 600nM、约 700nM、约 800nM、约 900nM、约 $1\mu\text{M}$ 、约 $2\mu\text{M}$ 、约 $3\mu\text{M}$ 、约 $4\mu\text{M}$ 、约 $5\mu\text{M}$ 、约 $6\mu\text{M}$ 、约 $7\mu\text{M}$ 、约 $8\mu\text{M}$ 、约 $9\mu\text{M}$ 或约 $10\mu\text{M}$ 。

[0279] 在其他一些实施方式中，LFA-1 拮抗剂在给药于受试者后的约 50 分钟、约 40 分钟、约 30 分钟、约 20 分钟、约 10 分钟、约 9 分钟、约 8 分钟、约 7 分钟、约 6 分钟、约 5 分钟、约 4 分钟、约 3 分钟、约 2 分钟或约 1 分钟内的局部组织浓度大于约 10nM、约 20nM、约 30nM、约 40nM、约 50nM、约 75nM、约 100nM、约 150nM、约 200nM、约 300nM、约 400nM、约 500nM、约 600nM、约 700nM、约 800nM、约 900nM、约 $1\mu\text{M}$ 、约 $2\mu\text{M}$ 、约 $3\mu\text{M}$ 、约 $4\mu\text{M}$ 、约 $5\mu\text{M}$ 、约 $6\mu\text{M}$ 、约 $7\mu\text{M}$ 、约 $8\mu\text{M}$ 、约 $9\mu\text{M}$ 或约 $10\mu\text{M}$ 。

[0280] 在本发明一些方法中，LFA-1 拮抗剂在给药后的至少约 8 小时内保持局部组织浓度大于约 10nM。在其他实施方式中，LFA-1 拮抗剂在给药后的至少约 8 小时内保持局部组织浓度大于约 10nM、约 20nM、约 30nM、约 40nM、约 50nM、约 75nM、约 100nM、约 150nM、约 200nM、约 300nM、约 400nM、约 500nM、约 600nM、约 700nM、约 800nM、约 900nM 或约 $1\mu\text{M}$ 。在其他实施方式中，LFA-1 拮抗剂在给药后的至少约 10 小时、约 9 小时、约 8 小时、约 7 小时、约 6 小时、约 5 小时、约 4 小时、约 3 小时、约 2 小时或约 1 小时内保持局部组织浓度大于约 10nM、约 20nM、约 30nM、约 40nM、约 50nM、约 75nM、约 100nM、约 150nM、约 200nM、约 300nM、约 400nM、约 500nM、约 600nM、约 700nM、约 800nM、约 900nM 或约 $1\mu\text{M}$ 。

[0281] 在本发明的一些方法中，LFA-1 拮抗剂在给药后的约 4 小时内的局部组织浓度大于约 $1\mu\text{M}$ 并且在血浆中测量得到的全身浓度小于约 100nM。在其他实施方式中，LFA-1 拮

抗剂在给药后的约 4 小时、约 3 小时、约 2 小时、约 1 小时、约 50 分钟、约 40 分钟、约 30 分钟、约 20 分钟、约 10 分钟或约 5 分钟内的局部组织浓度大于约 $1\mu\text{M}$ 并且在血浆中测量得到的全身浓度小于约 80nM、约 70nM、约 60 或约 50nM。

[0282] 在一些其他的实施方式中, LFA-1 拮抗剂在给药后的约 30 分钟内以治疗有效浓度存在于该气雾剂递送的肺的上皮表面的约 10mm 内, 并以低于治疗有效水平的浓度存在于血浆中。在其他实施方式中, LFA-1 拮抗剂在给药后的约 30 分钟内以治疗有效浓度存在于该气雾剂递送的肺的上皮表面的约 1mm、2mm、约 3mm、约 4mm、约 5mm、约 6mm、约 7mm、约 8mm、约 9mm、约 10mm、约 12mm、约 14mm、约 16mm、约 18mm、约 20mm、约 30mm、约 40mm 或约 50mm 内, 并以低于治疗有效水平的浓度存在于血浆中。或者, LFA-1 拮抗剂可以在给药后的约 6 小时、约 5 小时、约 3 小时、约 2 小时、约 1 小时、约 50 分钟、约 40 分钟、约 30 分钟、约 20 分钟、约 10 分钟或约 5 分钟内以治疗有效浓度存在于该气雾剂递送的肺的上皮表面的约 10mm 内, 并以低于治疗有效水平的浓度存在于血浆中。

[0283] 另外, 在本发明的一些方法中, LFA-1 拮抗剂在给药后的约 4 小时内以治疗有效浓度存在于施用有该气雾剂的上皮表面的约 1mm 内, 并以低于治疗有效水平的浓度存在于血浆中。在其他实施方式中, LFA-1 拮抗剂在给药后的约 4 小时内以治疗有效浓度存在于施用有该气雾剂的上皮表面的约 2mm、约 3mm、约 4mm、约 5mm、约 6mm、约 7mm、约 8mm、约 9mm、约 10mm、约 12mm、约 14mm、约 16mm、约 18mm、约 20mm、约 30mm、约 40mm 或约 50mm 内, 并以低于治疗有效水平的浓度存在于血浆中。或者, LFA-1 拮抗剂在给药后的约 3 小时、约 2 小时、约 1 小时、约 50 分钟、约 40 分钟、约 30 分钟、约 20 分钟、约 10 分钟或约 5 分钟内可以以治疗有效浓度存在于施用有该气雾剂的上皮表面的约 1mm、约 2mm、约 3mm、约 4mm、约 5mm、约 10mm、约 15mm、约 20mm、约 25mm、约 30mm、约 35mm、约 40mm、约 45mm 或约 50mm 内, 并以低于治疗有效水平的浓度存在于血浆中。

[0284] 本发明的用途

[0285] 本文描述的方法特别用于治疗白细胞介导的炎症。本发明制剂是 LFA-1 的有效抑制剂, 并抑制由 Th1T 细胞和 Th2T 细胞释放的细胞因子。白细胞介导的炎症在引发和加重选定疾病的炎症中起作用, 例如 T 细胞炎症反应。该方法一般包括给药一种或多种用于治疗一种或多种疾病的药物。试剂的联合可用于治疗一种疾病或多种疾病或调节联合药物中的一种或多种试剂的副作用。

[0286] 此处描述的化合物可用于与其他试剂例如治疗免疫相关疾病的试剂联合使用。本发明化合物也可用于与其他药物合用, 以对抗某些作用, 例如 LFA-1 拮抗剂可以与引起干眼病为副作用的药物一起给药。

[0287] 本发明 LFA-1 拮抗剂可用来治疗多种免疫相关紊乱。LFA-1 与多种免疫相关疾病有关。本发明描述的方法特别可用于治疗白细胞介导的炎症。白细胞介导的炎症在引发和加重选定疾病的炎症中起作用, 例如 T 细胞炎症反应。LFA-1 拮抗剂局部给药可能在已证明全身给药抗 LFA-1 单克隆抗体具有效果的疾病状态中特别有效 (参见 www.clinicaltrials.gov 上的 Raptiva 临床试验。已证明 Raptiva 在牛皮癣、湿疹、肾移植和胰岛细胞移植中有效)。

[0288] 涉及 LFA-1 的免疫相关疾病包括眼睛疾病, 例如眼内、眼周和眼表面炎症: 角膜结膜炎、干燥性角膜结膜炎 (KCS, 又名干眼症)、Sjogren 综合征患者的 KCS、变应性结膜

炎、眼色素层炎；由佩戴接触透镜引起的眼睛、角膜和眼周组织炎症；包括 lasik 的手术后眼炎症；眼内炎症包括视网膜和眼睛的前段和后段炎症、睑板腺炎症、睑板腺功能障碍、年龄相关的黄斑变性（AMD）、眼色素层炎、水肿和视网膜病变，包括糖尿病性黄斑水肿和糖尿病性视网膜病；角膜炎症，包括角膜移植排斥、Graves 眼病、年龄相关的干眼病、Stevens-Johnson 综合征、先天性无泪（alacrima）、药理学副作用、感染、Riley-Day 综合征、结膜纤维化、眼应激（eye stress）、腺体和组织破坏、眼瘢痕性类天疱疮、睑缘炎、自身免疫病及其他免疫缺陷疾病、变态反应、糖尿病、泪腺缺陷、狼疮、帕金森疾病、类风湿性关节炎、红斑痤疮、与过度干燥空气、气载粒子、烟雾环境接触、以及不能眨眼及其他。其他免疫相关疾病包括变应性疾病例如变应性哮喘、皮炎例如特应性皮炎、湿疹，过敏性鼻炎、变应性结膜炎、食品超敏性和变应性接触性皮炎。其他免疫相关疾病包括炎症性疾病例如炎症肠病、Crohn 疾病或溃疡性结肠炎、内源性哮喘、炎性肺损伤、炎性肝损伤、炎性肾小球损伤、动脉粥样硬化和骨关节炎、其他免疫相关疾病包括皮肤过敏反应（包括毒常春藤和毒栎）、皮肤炎性疾病例如湿疹、特应性皮炎、牛皮癣、大疱性皮肤病、刺激性接触性皮炎和湿疹性皮炎、脂溢性皮炎和免疫介导疾病的皮肤表现。其他免疫相关疾病包括自身免疫病，例如 Sjogren 综合征，包括干眼病、干口病及其他与 Sjogren 综合征有关的局部炎症、类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮、桥本甲状腺炎、多发性硬化、重症肌无力、I 型糖尿病或 II 型糖尿病以及与其相关的疾病。其他免疫相关疾病包括移植相关疾病，例如细胞、组织或器官同种或异种移植的急性或慢性排斥反应或迟发移植功能、移植物抗宿主疾病。细胞、组织或实体器官移植的例子包括，例如胰岛、干细胞、骨髓、角膜组织、神经元组织、心、肺、心-肺结合、肾、肝、肠、胰腺、气管或者食管。其他免疫相关疾病包括但不限于，手术后肠梗阻、肥胖、脉管炎、恶性贫血、斑秃、糖尿病性视网膜病、手术后眼睛炎症、心肌炎或肝炎、缺血 / 再灌注损伤，例如心肌梗死、中风、内脏缺血、肾衰竭或出血性休克、外伤性休克、T 细胞淋巴瘤或 T 细胞白血病、传染病，例如中毒性休克（例如超抗原诱导的）、慢性阻塞性肺病（COPD）、特应性皮炎、源自肾移植的炎症、哮喘、化脓性汗腺炎、类风湿性关节炎、牛皮癣关节炎、Sjogren 综合征、眼色素层炎、移植物抗宿主疾病（GVHD）、口扁平苔癣、关节痛或胰岛细胞移植炎症、脓毒性休克、成人呼吸窘迫综合征或病毒感染，例如 AIDS、病毒性肝炎、慢性细菌性感染或老年性痴呆。

[0289] 本发明的一个优选实施方式是用于治疗眼睛疾病。本发明的雾化制剂可以直接给药到眼睛。例如，本发明方法可用于治疗眼内、眼周和眼表面炎症；角膜结膜炎、干燥性角膜结膜炎（KCS，又名干眼症）、Sjogren 综合征患者的 KCS、变应性结膜炎、眼色素层炎；由佩戴接触透镜引起的眼睛、角膜和眼周组织炎症；包括 lasik 的手术后眼炎症；眼内炎症，包括视网膜和眼睛的前段和后段炎症、睑板腺炎症、睑板腺功能障碍、年龄相关的黄斑变性（AMD）、眼色素层炎、水肿和视网膜病变，包括糖尿病性黄斑水肿和糖尿病性视网膜病；角膜炎症，包括角膜移植排斥、Graves 眼病、年龄相关的干眼病、Stevens-Johnson 综合征、先天性无泪、药理学副作用、感染、Riley-Day 综合征、结膜纤维化、眼应激、腺体和组织破坏、眼瘢痕性类天疱疮、睑缘炎、自身免疫病及其他免疫缺陷疾病、变态反应、糖尿病、泪腺缺陷、狼疮、帕金森疾病、类风湿性关节炎、红斑痤疮、与过度干燥空气、气载粒子、烟雾环境接触、以及不能眨眼及其他。

[0290] 糖尿病影响了接近全世界 2 亿人口和 2 千万美国人。糖尿病性视网膜病 - 糖尿病

的微血管并发症 - 是美国工作年龄人口失明的主要原因。DR 的发病率随着疾病的持续时间而升高。20 年后, 大约 100% 的 I 型患者发展成 DR 且大约 60% 的 II 型患者发展成 DR。DR 可分为 2 个阶段: 非增生阶段和增生阶段。糖尿病性黄斑水肿 (DME)-DR 的一种表现形式 - 可以在任何阶段发生, 并且是丧失视力的主要原因。DME 的特征在于增加的血管通透性和硬的分泌物。

[0291] 另一个实施方式是治疗变应性疾病。本发明的雾化制剂可以通过气雾剂递送直接给药至眼、鼻、口、喉、皮肤、阴道粘膜、肛门粘膜或可以被吸入用于治疗肺和呼吸道。例如, 本发明方法可以用于治疗变应性结膜炎、变应性哮喘、春季结膜炎、特应性皮炎、湿疹、过敏性鼻炎、变应性结膜炎和变应性接触性皮炎。

[0292] 变应性结膜炎主要是年轻成年人的疾病, 其特征不在于眼睛痒、红、结膜水肿、眼睑肿胀和从眼和鼻通道中的水性排出物。虽然没有视力威胁, 患有变应性结膜炎的患者趋于具有受损的社会职能和情感健康, 以及增加保健资源的利用 (Blais, 2006, Allergy Asthma Proc.)。估计眼过敏症影响了大约 20% 的美国人口并且发生率越来越高 (Abelson, 2003, Ocul Surf)。

[0293] 结膜是高度暴露于环境过敏原的粘膜表面并经常是特应性个体中首先与气载变应原的第一个接触部位。抗原暴露后, 结膜肥大细胞脱颗粒, 并由细胞表面的 IgE 抗体的抗原交联触发 (Bielory, 2005, Drugs)。肥大细胞释放新形成的和预先存在的炎症介质。组胺是主要的预先形成的介质, 其对典型的早期反应 (EPR) 负责, 所述早期反应触发痒 (眼瘙痒)、血管舒张和导致眼睛充血的血管渗漏、结膜水肿和睑缘炎。EPR 在暴露于变应原后的几分钟到几小时内发生。肥大细胞也合成并释放细胞因子 IL-4、IL-5、PAF 和 TNF α 。细胞因子、趋化因子和生长因子的释放引发一连串炎症事件, 包括 ICAM-1 在上皮细胞表面上的表达增加、导致后期反应 (LPR), 其中 LFA-1/ICAM-1- 巨噬细胞进入结膜组织 (Ciprandi, 1993, J Allergy Clin Immunol), (Bacon, 2000, J Allergy Clin Immunol)。过敏性受试者 (并非正常受试者) 在变应原攻击后的 30 分钟内在结膜上皮上表达 ICAM-1, 其在前 24 小时内增加 3 倍。

[0294] 最近批准的用于眼过敏症的治疗 (例如, 抗组胺, MCS) 主要集中在减少 EPR 的体征或症状, 有证据表明, 许多患者显示持续的 LPR 的临床迹象 (Choi, 2008, Curr Opin Allergy Clin Immunol)。LPR 的表现形式发生在变应原暴露后的约 6-24 小时, 且其特征不在于眼睛体征和症状的延长, 以及急性炎症细胞特别是嗜酸性粒细胞在组织上流入结膜。局部类固醇已用于控制慢性眼睛炎症和不能用抗组胺 /MCS 充分控制的难治疗疾病。然而, 由于潜在的副作用风险提高, 仅能使用短疗程的类固醇治疗。

[0295] 化合物 12 可能有助于阻断 LFA-1/ICAM-1 相互作用, 并提供用于减轻眼睛炎症、治疗 LPR 和避免与局部类固醇给药有关的安全问题的替代疗法。在鼠结膜变应原激发模型中, 已经证实当动物接受以系统地给药抗 ICAM-1 和 / 或抗 LFA-1 抗体进行的预防性治疗时, 临床体征和嗜酸性粒细胞 / 嗜中性粒细胞渗透入结膜均明显减少 (Whitcup, 1999, Clin Immunol)。此外, 肥大细胞的脱粒似乎需要 LFA-1/ICAM-1 介导的与活化的 T 细胞的接触。体外研究表明, 当 T 细胞用抗 LFA-1 抗体预处理时, 活化的 T 细胞与肥大细胞粘附的程度降低 (Mekori, 1999, J Allergy Clin Immunol), (Brill, 2004, Clin Exp Allergy)。

[0296] 另一个实施方式是治疗炎性肺损伤。可以吸入本发明雾化制剂以治疗肺和呼吸

道。

[0297] 另一个实施方式是治疗皮肤炎性疾病。可以经由气雾剂递送将本发明雾化制剂直接给药至例如皮肤、眼、口、鼻、阴道粘膜或肛门粘膜。例如，本发明方法可用于治疗湿疹、特应性皮炎、牛皮癣、刺激性接触性皮炎和湿疹性皮炎、脂溢性皮炎和免疫介导疾病的皮肤表现形式。

[0298] 另一个实施方式是治疗自身免疫性疾病。可以将本发明雾化制剂通过气雾剂递送直接给药至例如眼、鼻、口、喉、皮肤、阴道粘膜、肛门粘膜或可被吸入以治疗肺和呼吸道。例如，本发明方法可用于治疗 Sjogren 综合征，包括干眼症、干口症及其他与 Sjogren 综合征相关的局部炎症。

[0299] 并非意图限制作用机理，本发明的方法包括通过抑制 LFA-1 和 ICAM-1 之间的相互作用来抑制与炎症有关的疾病的开始和发展。LFA-1 和 ICAM-1 为带有胞外受体域的分子，其参与淋巴细胞 / 白细胞的迁移和增殖过程，导致炎症反应级联。在优选实施方案中，这种方法提供体外和体内的抗炎作用，例如如以下详述，而且其可以用于治疗炎症介导的疾病，例如哮喘、湿疹或干眼病。

[0300] 人血包含白细胞（白血球），其进一步分类为嗜中性粒细胞、淋巴细胞（B 和 T 型）、单核细胞、嗜酸性粒细胞和嗜碱性细胞。这些类型中的几种白细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性细胞和淋巴细胞与炎性疾病有关。LFA-1 是表达于大部分白细胞上的一组白细胞整联蛋白中的一种，而且其被认为是与许多作为配体的 ICAM 发生相互作用的淋巴整联蛋白。干扰这些相互作用并因此干扰免疫 / 炎症反应能够用于减轻炎症，例如，哮喘、湿疹或眼睛炎症。

[0301] 例如，ICAM-1 (CD54) 是免疫球蛋白超家族中的 ICAM 粘附受体家族 (ICAM-1、ICAM-2、ICAM-3、ICAM-4) 中的一员，而且其表达于被激活的白细胞、皮肤成纤维细胞和内皮细胞上。参见，Krensky, A. M. ; Sanchez-Madrid, F. ; Robbins, E. ; Nagy, J. A. ; Springer, T. A. Burakoff, S.J. “The functional significance, distribution, and structure of LFA-1, LFA-2, and LFA-3: cell surface antigens associated with CTL-target interactions.” 1983 J. Immunol. 131, 611-616。其正常情况下在衬于脉管系统内的内皮细胞上进行表达，而且在免疫 / 炎症开始时经暴露于细胞因子或诱导细胞因子例如 IL-1、LPS、SEB 和 TNF 释放的化合物而得到正调节。

[0302] 近十年来所作的研究有助于说明参与免疫系统中细胞运动和活化作用的分子事件，其集中于级联反应中的细胞 - 细胞间引发性相互作用。参见 Springer, T. A. “Adhesion receptors of the immune system.” Nature, 1990, 346, 425-434。细胞间粘附分子 (ICAMs) 和白细胞整联蛋白之间的相互作用在免疫系统的功能中起到一定作用。人们相信免疫过程，例如抗原呈递、T- 细胞介导的细胞毒性和白细胞跨内皮迁移（血细胞渗出），需要由 ICAMs 与白细胞整联蛋白相互作用而介导的细胞粘附。参见 Kishimoto, T. K. ; Rothlein ; R. R. “Integrins, ICAMs, and selectins: role and regulation of adhesion molecules in neutrophil recruitment to inflammatory sites.” Adv. Pharmacol. 1994, 25, 117-138 和 Diamond, M. ; Springer, T. A. “The dynamic regulation of integrin adhesiveness.” Current Biology, 1994, 4, 506-532。

[0303] 已经显示，ICAM-1 和 LFA-1（还称作 $\alpha_L \beta_2$ 和 CD11a/CD18）的相互作用参与粘附

过程、白细胞跨内皮迁移、向损伤部位的迁移、淋巴细胞在激活的目标位置的增殖。例如,目前认为在白细胞跨内皮迁移之前,炎症反应的成分,细胞因子 / 趋化因子的存在将激活在白细胞上组成型表达的整联蛋白。血管内皮细胞也响应相同细胞因子 / 趋化因子的存在而正调节 ICAM-1。当滚动的白细胞接近被激活的内皮细胞时,其前进首先被这些正调节的 ICAM-1 受体延缓。之后被表达在血管内皮细胞表面上的 LFA-1 和 ICAM-1 之间的配体 / 受体相互作用延缓,其阻止淋巴细胞的进一步滚动。然后淋巴细胞变平,从而发生渗透作用(transvasation)。该过程对于淋巴细胞穿过血管内皮的迁移以及淋巴细胞由外周血行至淋巴结而言都是很重要的。

[0304] LFA-1 在产生和维持免疫突触中具有作用,免疫突触可以被定义为 T 细胞与抗原呈递细胞 (APCs) 的相互作用表面的物理结构。LFA-1 使 T- 细胞与 APC 的啮合稳定化,从而激活 T 细胞。LFA-1 与 ICAM-1 的相互作用似乎还向静止 T 细胞提供共刺激信号。CD4+T- 细胞的增殖和细胞因子的合成由作为炎症反应一部分的该相互作用来介导。

[0305] 假设 ICAM-1 与 LFA-1 的相互作用在免疫 / 炎性反应中具有作用,则希望对这些相互作用进行调节,以获得希望的治疗结果 (例如,在过度活化的炎症反应情况下对该相互作用进行抑制)。已经证实,ICAMs 和白细胞整联蛋白之间的相互作用的拮抗可以用针对组分的试剂,特别是用单克隆抗体来实现。

[0306] 而且,由于 LFA-1 具有多个属于 ICAM 族 (ICAM-1、ICAM-2 和 ICAM-3) 并涉及多个信号通道的配体配偶体 (ligand partners),因此在一些实施方案中,希望选择性调节这些相互作用。

[0307] 本文中描述的方法和组合物可以调节本文中描述的通道中的一种或多种成分。除了抑制 LFA-1 和 ICAM-1 之间的相互作用之外,本发明的方法和组合物还可以干预炎性过程中的早期和晚期部分。例如,可以在粘连和跨内皮迁移之前,通过本文中描述的方法和组合物来调节内皮细胞或白细胞上的 ICAM-1 或 LFA-1 的正调节 (活化)。本发明可以用于调节在白细胞通行过程中激活 ICAM-1 和 LFA-1 的细胞因子或趋化因子的表达、调节细胞因子或趋化因子的运输,防止停滞白细胞的渗透作用、调节通过涉及白细胞在损伤或炎症部位进行增殖的其它机理的信号传导等。

[0308] 给药

[0309] 递送药物活性组合物的方法可以改变,但是必须包括将本发明制剂施用到被炎性皮肤病影响的皮肤、角膜、鼻上皮表面、肺上皮表面和 / 或喉或支气管上皮表面区域。可以将气雾剂施用到患处。

[0310] 给药方案将取决于许多可能容易决定的因素,例如患处的大小、皮肤病的严重性和需要治疗的炎性皮肤病的反应性,但是一般为每天一次或多次,治疗过程持续几天到几个月,或直到治愈,或达到炎性皮肤病的大小和 / 或严重性显著减少。快速从体循环中清除的 LFA-1 拮抗剂的局部给药对患有影响大面积的炎性疾病的患者而言具有特别的好处。在这种情况下,患者也许能在没有全身给药引起的显著免疫抑制和副作用风险的情况下治疗大面积。本领域的技术人员可以容易地决定最优剂量、给药方法和重复频率。通常,可预期,本制剂可以每天一到四次给药。对于皮肤贴剂,该装置一般在整个药物递送周期内,一般为约 8 到 72 小时,保持在机体表面的适当位置,并根据需要替换。

[0311] 在一些实施方式中, LFA-1 拮抗剂存在的量足以发挥治疗效果以减少平均至少约

5、10、15、20、25、30、40、50、60、70、80、90、大于 90% 的免疫相关疾病症状,或基本上消除免疫相关疾病症状。对于许多炎性疾病,有被认可的治疗效果的临床评价(例如,用于牛皮癣的 PASI 评分,和用于湿疹的 EASI 评分)。

[0312] 在一些实施方式中, LFA-1 拮抗剂存在的量足以减少被治疗个体的平均至少约 5、10、15、20、25、30、40、50、60、70、80、90、大于 90% 的新血管形成和红斑,或者基本上消除新血管形成和红斑。

[0313] 在一些实施方式中, LFA-1 拮抗剂存在的量足以减少个体的平均至少约 5、10、15、20、25、30、40、50、60、70、80、90、大于 90% 的纤维血管生长,或者基本上消除纤维血管生长。

[0314] 在一些实施方式中, LFA-1 拮抗剂的有效量是约 1×10^{-11} 、 1×10^{-10} 、 1×10^{-9} 、 1×10^{-8} 、 1×10^{-7} 、 1×10^{-6} 、 1×10^{-5} 、 1×10^{-4} 、 1×10^{-3} 、 1×10^{-2} 、 1×10^{-1} 、1、 1×10^1 或 1×10^2 克的剂量。

[0315] 用于治疗免疫系统疾病的方法包括以雾化形式给药本发明制剂,不管是通过推进剂、喷雾法还是以干粉吸入。

[0316] 预期用于本发明的药物的总每日剂量,以及在各组合中药物的重量浓度,可以广泛地改变,但是在常规开业医生的典型通力范围之内。

[0317] 在一些实施方式中, LFA-1 拮抗剂以单剂量给药。单剂量 LFA-1 拮抗剂也可以用于与其他物质(例如,止痛剂)联合给药,用于治疗急性病症。

[0318] 在一些实施方式中, LFA-1 拮抗剂(单独或与其他药物组合)以多剂量给药。给药可以是每天约一次、两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、十次或大于十次。给药可以是约一年一次、一年两次、每六个月一次、每四个月一次、每三个月一次、每 60 天一次、一月一次、两周一次、一周一次或隔天一次。在一个实施方式中,药物是止痛剂。在另一个实施方式中, LFA-1 拮抗剂和另一种治疗性物质一起给药,约每天一次到约每天十次。在另一个实施方式中, LFA-1 拮抗剂和另一个治疗性物质一起给药,持续小于约 7 天。在又一个实施方式中,共同给药持续大于约 6、10、14、28 天、两个月、六个月或一年。在一些情况下,只要必要,则保持共同给药剂量,例如,用于慢性炎症的给药。在其他实施方式中, LFA-1 拮抗剂和另一种治疗性物质不在同一个组合中,其中该另一种治疗性物质的给药和 LFA-1 拮抗剂的给药同时、在之前或之后。

[0319] 只要必要,本发明组合物的给药可以持续。在一些实施方式中,本发明组合物给药超过 1、2、3、4、5、6、7、14、或者 28 天。在一些实施方式中,本发明组合物给药小于 28、14、7、6、5、4、3、2 或者 1 天。在一些实施方式中,本发明组合物在进行的基础上长期给药,例如,用于治疗慢性疼痛。

[0320] 本发明方法中的 LFA-1 拮抗剂的剂量可以由常规试验建立。每日剂量可以为约 1×10^{-7} g 到 5000mg。每日剂量范围可以取决于 LFA-1 拮抗剂的形式,例如,本文所描述的所使用的酯或盐,和 / 或给药途径。例如,对于全身给药,典型的每日剂量范围是,例如约 1-5000mg,或约 1-3000mg,或约 1-2000mg,或约 1-1000mg,或约 1-500mg,或约 1-100mg,或约 10-5000mg,或约 10-3000mg,或约 10-2000mg,或约 10-1000mg,或约 10-500mg,或约 10-200mg,或约 10-100mg,或约 20-2000mg 或约 20-1500mg 或约 20-1000mg 或约 20-500mg,或约 20-100mg,或约 50-5000mg,或约 50-4000mg,或约 50-3000mg,或约 50-2000mg,或约 50-1000mg,或约 50-500mg,或约 50-100mg,约 100-5000mg,或约 100-4000mg,或约 100-3000mg,或约 100-2000mg,或约 100-1000mg,或约 100-500mg。在一些实施方式中,

LFA-1 拮抗剂的每日剂量为约 100、200、300、400、500、600、700、800、900 或 1000mg。在一些实施方式中, LFA-1 拮抗剂的每日剂量为 0.1mg。在一些实施方式中, LFA-1 拮抗剂的每日剂量为 1.0mg。在一些实施方式中, LFA-1 拮抗剂的每日剂量为 10mg。在一些实施方式中, LFA-1 拮抗剂的每日剂量为 100mg。在一些实施方式中, LFA-1 拮抗剂的每日剂量为 500mg。在一些实施方式中, LFA-1 拮抗剂的每日剂量为 1000mg。

[0321] 典型的每日剂量范围为, 例如约 1×10^{-7} g 到 5.0g, 或约 1×10^{-7} g 到 2.5g, 或约 1×10^{-7} g 到 1.00g, 或约 1×10^{-7} g 到 0.5g, 或约 1×10^{-7} g 到 0.25g, 或约 1×10^{-7} g 到 0.1g, 或约 1×10^{-7} g 到 0.05g, 或约 1×10^{-7} g 到 0.025g, 或约 1×10^{-7} g 到 1×10^{-2} g, 或约 1×10^{-7} g 到 5×10^{-3} g, 或约 1×10^{-7} g 到 2.5×10^{-3} g, 或约 1×10^{-7} g 到 1×10^{-3} g, 或约 1×10^{-7} g 到 5×10^{-4} g, 或约 1×10^{-6} g 到 5.0g, 或约 1×10^{-6} g 到 2.5g, 或约 1×10^{-6} g 到 1g, 或约 1×10^{-6} g 到 0.5g, 或约 1×10^{-6} g 到 0.25g, 或约 1×10^{-6} g 到 0.1g, 或约 1×10^{-6} g 到 5×10^{-2} g, 或约 1×10^{-6} g 到 5×10^{-2} g, 或约 1×10^{-6} g 到 2.5×10^{-2} g, 或约 1×10^{-6} g 到 1×10^{-2} g, 或约 1×10^{-6} g 到 5×10^{-3} g, 或约 1×10^{-6} g 到 2.5×10^{-3} g, 或约 1×10^{-6} g 到 1×10^{-3} g, 或约 1×10^{-6} g 到 5×10^{-4} g, 或约 1×10^{-5} g 到 5g, 或约 1×10^{-5} g 到 2.5g, 或约 1×10^{-5} g 到 1g, 或约 1×10^{-5} g 到 0.5g, 或约 1×10^{-5} g 到 0.25g, 或约 1×10^{-5} g 到 0.1g, 或约 1×10^{-5} g 到 0.05g, 或约 1×10^{-5} g 到 2.5×10^{-2} g, 或约 1×10^{-5} g 到 1×10^{-2} g, 或约 1×10^{-5} g 到 5×10^{-3} g, 或约 1×10^{-5} g 到 2.5×10^{-3} g, 或约 1×10^{-5} g 到 1×10^{-3} g, 或约 1×10^{-5} g 到 5×10^{-4} g。在一些实施方式中, LFA-1 拮抗剂的每日剂量为约 1×10^{-7} 、 1×10^{-6} 、 1×10^{-5} 、 1×10^{-4} 、 1×10^{-3} g、 1×10^{-2} g、 1×10^1 g 或 1g。在一些实施方式中, LFA-1 拮抗剂的每日剂量为约 1×10^{-7} g。在一些实施方式中, LFA-1 拮抗剂的每日剂量为约 1×10^{-5} g。在一些实施方式中, LFA-1 拮抗剂的每日剂量为约 1×10^{-3} g。在一些实施方式中, LFA-1 拮抗剂的每日剂量为约 1×10^{-2} g。在一些实施方式中, LFA-1 拮抗剂的剂量范围为约 1×10^{-7} g 到 5.0g, 或约 1×10^{-7} g 到 2.5g, 或约 1×10^{-7} g 到 1.00g, 或约 1×10^{-7} g 到 0.5g, 或约 1×10^{-7} g 到 0.25g, 或约 1×10^{-7} g 到 0.1g, 或约 1×10^{-7} g 到 0.05g, 或约 1×10^{-7} g 到 0.025g, 或约 1×10^{-7} g 到 1×10^{-2} g, 或约 1×10^{-7} g 到 5×10^{-3} g, 或约 1×10^{-7} g 到 2.5×10^{-3} g, 或约 1×10^{-7} g 到 1×10^{-3} g, 或约 1×10^{-7} g 到 5×10^{-4} g, 或约 1×10^{-6} g 到 5.0g, 或约 1×10^{-6} g 到 2.5g, 或约 1×10^{-6} g 到 1g, 或约 1×10^{-6} g 到 0.5g, 或约 1×10^{-6} g 到 0.25g, 或约 1×10^{-6} g 到 0.1g, 或约 1×10^{-6} g 到 5×10^{-2} g, 或约 1×10^{-6} g 到 5×10^{-2} g, 或约 1×10^{-6} g 到 2.5×10^{-2} g, 或约 1×10^{-6} g 到 1×10^{-2} g, 或约 1×10^{-6} g 到 5×10^{-3} g, 或约 1×10^{-6} g 到 2.5×10^{-3} g, 或约 1×10^{-6} g 到 1×10^{-3} g, 或约 1×10^{-6} g 到 5×10^{-4} g, 或约 1×10^{-5} g 到 5g, 或约 1×10^{-5} g 到 2.5g, 或约 1×10^{-5} g 到 1g, 或约 1×10^{-5} g 到 0.5g, 或约 1×10^{-5} g 到 0.25g, 或约 1×10^{-5} g 到 0.1g, 或约 1×10^{-5} g 到 0.05g, 或约 1×10^{-5} g 到 2.5×10^{-2} g, 或约 1×10^{-5} g 到 1×10^{-2} g, 或约 1×10^{-5} g 到 5×10^{-3} g, 或约 1×10^{-5} g 到 2.5×10^{-3} g, 或约 1×10^{-5} g 到 1×10^{-3} g, 或约 1×10^{-5} g 到 5×10^{-4} g。在一些实施方式中, 如上所述的各剂量每天重复 1、2、3、4、5、6、7、8、9、或者 10 次。

[0322] 本发明组合物可以以多剂量形式包装。可优选防腐剂以在使用期间阻止微生物污染。本发明组合物可以配制成不含防腐剂的无菌单位剂型。或者, 可以使用防腐剂。合适的防腐剂包括: 苯扎氯铵、黄铁矿、过氧化物、过硼酸盐、硫柳汞、三氯叔丁醇、对羟苯甲酸甲酯、对羟苯甲酸丙酯、苯乙醇、依地酸二钠、山梨酸、Onamer M, 或本领域技术人员已知的其他试剂。在用于眼科产品的现有技术中, 这样的防腐剂可以 0.004% 到 0.02% 的水平使用。在本申请组合物中, 防腐剂苯扎氯铵, 可以约 0.001% 到小于约 0.01%, 例如约 0.001% 到约 0.008% 或约 0.005wt% 的水平使用。已经发现, 浓度为 0.005% 的苯扎氯铵可以足够保

护本发明组合物免受微生物攻击。本领域技术人员可以确定成分的适当浓度以及用于生成适当的雾化制剂的多种成分的联合。例如,眼科递送可以使用 0.02% 的对羟苯甲酸甲酯和 0.04% 的对羟苯甲酸丙酯的混合物。

[0323] 用于本发明的活性成分的给药量和给药次数根据患者的性别、年龄、体重、所治疗的病症、所需的治疗效果、给药途径和疗程而改变。对于给药至成年人的眼睛,含本发明化合物的制剂的浓度可以为约 0.0001 到 10.0W/V%, 约 0.005 到 10.0W/V%, 约 0.01 到 10.0W/V%, 约 0.05 到 10.0W/V%, 约 0.1 到 10.0W/V%, 约 0.5 到 10.0W/V%, 约 1.0 到 10.0W/V%, 约 20 到 10.0W/V%, 约 3.0 到 10.0W/V%, 约 4.0 到 10.0W/V%, 或约 5.0 到 10.0W/V%。本发明的一个实施方式中,制剂中的本发明化合物为约 1.0 到 10.0W/V%。本发明的一个实施方式中,制剂中的本发明化合物为约 0.01 到 10.0W/V%。本发明的一个实施方式中,制剂中的本发明化合物为约 5.0 到 10.0W/V%。可以每天每个眼睛给药若干次,一次到十次,一次到四次或一天一次。

[0324] 当用于上述组合物时,治疗有效量的本发明药物可以纯净形式使用,其中这种形式以药用可接受的盐、酯或前药形式存在。快速从体循环清除的 LFA-1 拮抗剂的局部给药在局部与全身接触比在 10 到 10,000 倍或以上的情况下可能特别有利。在狗和大鼠中,化合物 12 的 1% 滴眼剂的全身生物利用度测量为 6-30%,然而泪液中的药物水平大于血浆水平的 1000 倍。然而,将理解,本发明药物和组合物的总每日用法将由主治医师在正确的医学判断范围内决定。对于任何特定患者和药物,特定治疗有效剂量水平将取决于多种因素,包括所治疗的疾病和疾病的严重性;所使用的特定化合物的活性;所使用的特定组合;患者的年龄、体重、总体健康、性别和饮食;给药时间,给药途径,和所使用的特定药物的排泄率;治疗持续时间;用于和所使用特定化合物联合或同时用药的药物;以及医学领域已知的其他因素。例如,本领域技术人员知道以低于达到所需治疗效果的水平开始剂量,然后逐渐增加剂量直到达到预期效果。

实施例

[0325] 实施例 1:人 T 细胞粘附试验

[0326] 使用人类 T 淋巴细胞系 HuT 78(ATCC TIB-161) 进行 T- 细胞粘附试验。在 PBS 中将山羊抗-HuIgG(Fc) 稀释至 2 μ g/ml,并在 37°C 下将 96 孔板以 50 μ l/孔包被 1 小时。用 PBS 洗板并在室温下用溶于 PBS 的 1% BSA 封闭 1 小时。在 PBS 中将 5 结构域的 ICAM-Ig 稀释至 100ng/ml,并在 4°C 下以 50 μ l/孔的量将其加入到板 O/N 中。以 100g 对 HuT 78 细胞进行离心,并在 37°C 下于 5% CO₂ 培养箱中用 5mMEDTA 处理细胞沉淀约 5 分钟。在 0.14M NaCl, 0.02M Hepes, 0.2% 葡萄糖和 0.1mM MnCl₂(测定缓冲液)中洗涤细胞并离心。将细胞重新悬浮在测定缓冲液中,达到 3.0 $\times$ 10⁶c. ml。在测定缓冲液中将抑制剂稀释至 2 $\times$ 终浓度,并在室温下与 HuT78 细胞预温育 30 分钟。将 100 μ l/孔的细胞和抑制剂加入到板中并在室温下培养 1 小时。加入 100 μ l/孔的 PBS 并将板密封,以 100g 倒置离心 5 分钟。将未粘附的细胞从板中轻轻弹出,并将过量的 PBS 印迹在纸巾上。将 60 μ l/孔的对硝基苯基 N-乙酰基- β -D-氨基葡萄糖苷(0.257g 加至 100ml 柠檬酸盐缓冲液)加入到板中,并在 37°C 下温育 1.5 小时。用 90 μ l/孔的 50mM 甘氨酸/5mM EDTA 终止酶反应,并在读板器上读取 405nm 处的读数。使用 Langegren U. (1984). J. Immunol. Methods 57,379-388 的对硝基苯

基 n-乙酰基- β -D-氨基葡萄糖苷法测量 5dICAM-Ig 上的 HUT 78 细胞粘附,结果显示在图 1 中。

[0327] 实施例 2:使用正向形式试验的 LFA-1:ICAM-1 受体结合试验

[0328] 通过添加已知量的抑制剂来测定 LFA-1:ICAM-1 相互作用的竞争性抑制。

[0329] 将纯化的全长重组人 LFA-1 蛋白在 0.02M Hepes、0.15M NaCl 和 1mM MnCl_2 中稀释到 2.5 $\mu\text{g/ml}$, 96-孔平板 (50 μl /孔) 在 4°C 下包被过夜。该平板用洗涤缓冲液 (0.05% Tween 的 PBS 溶液) 洗涤并在室温用 1% BSA 的 0.02M Hepes、0.15M NaCl 和 1mM MnCl_2 溶液封闭 1 小时。洗涤平板。加入在测定缓冲液 (1% BSA 的 0.02M Hepes、0.15M NaCl 和 1mM MnCl_2 溶液) 中适当稀释的 50 μl /孔抑制剂, 至 2X 最终浓度, 并在室温温育 1 小时。加入在测定缓冲液中稀释至 50ng/ml 的 50 μl /孔纯化重组人 5 结构域 ICAM-Ig 并在室温温育 2 小时。洗涤平板, 在室温用山羊抗 HuIgG (Fc)-HRP 检测结合的 ICAM-Ig 1 小时。洗涤平板, 并在室温用 100 μl /孔 TMB 底物显色 10-30'。用 100 μl /孔 1M H_2PO_4 中止显色, 并在平板读取器上于 405nm 读数。

[0330] 实施例 3:抗原刺激细胞因子从人外周血单核细胞 (PBMC) 中释放的体外抑制

[0331] 评价一种形式的通式 I 的 LFA-1 拮抗剂-化合物 12-抑制经葡萄球菌肠毒素 B (SEB) 刺激的人单核细胞 (PBMC) 中炎性细胞因子释放的能力。在培养液中制备化合物 12、瑞巴派特 (Rebamipide) (一种粘膜防护剂) 和环孢霉素 A (CsA) 的贮存液, 并通过添加培养液以达到所需浓度来制备稀释液。不使用 SEB 刺激以制备阴性对照。载体 (0.25% DMSO/培养液) 的 SEB 刺激用作阳性对照。

[0332] 解冻在低温贮藏培养基中冷冻的人 PBMC, 用在生长液中含有 10% FBS 的 RPMI 培养液洗涤, 并以 20,000 细胞/孔 (含 180 μl 培养液) 接种在 96 孔平板上。在用 SEB 刺激之前, 在存在化合物 12、瑞巴派特或 CsA 下在 37°C 温育细胞 1 小时。以 1ng/ml 添加 SEB 并在 6、16 和 48 小时收获细胞上清液。用 Luminex 多元试验测定试验上清液中的细胞因子水平。

[0333] 随着剂量增加, 化合物 12 显示有效抑制炎性细胞因子的释放, 特别是 T 细胞调节细胞因子 IL-2 和 IL-4。该结果在表 1、2 和 3 中显示。另外, 图 1 显示各种 LFA-1 拮抗剂体外抑制 IL-2 的释放。由化合物 12 抑制超过 50% 的细胞因子释放图类似于与 CsA 对比所见。这种相似性的例外包括 IL-3、IL-6 和 IL-12p40。

[0334] 表 1、IL-2、IFN γ 、MIP-1 α 和 TNF- α 抑制的 EC50 浓度

	EC50 μM 细胞因子释放			
	IL-2	IFN γ	MIP-1 α	TNF- α
[0335] 化合物 12	0.0018	0.0016	0.020	0.076
瑞巴派特	>1000	>1000	>1000	>1000
环孢霉素 A	0.00094	0.00050	0.0011	0.00049

[0336] 表 2、IL-4、IL-10、IP-10、GM-CSF 和 MCP-1 抑制的 EC50 浓度

[0337]

	EC50 μ M 细胞因子释放				
	IL-4	IL-10	IP-10	GM-CSF	MCP-1
化合物 12	0.143	0.147	1.158	0.545	0.0050
瑞巴派特	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000
环孢霉素 A	0.0063	0.0292	0.167	0.0202	0.0926

[0338] 表 3、IL-1 α 、IL-1 β 、IL-3、IL-5、IL-6、IL-12p40 和 IL-13 抑制的 EC50 浓度

[0339]

	EC50 μ M 细胞因子释放						
	IL-1 α	IL-1 β	IL-3	IL-5	IL-6	IL-12p40	IL-13
化合物 12	0.24	0.36	52.23	0.11	43.51	>1000	0.36
瑞巴派特	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000	>1000
环孢霉素 A	0.002	0.003	0.002	0.073	0.001	0.002	0.074

[0340] 实施例 4 :LFA-1 拮抗剂制剂

[0341] 一种通式 I 化合物（化合物 12）配制在几种组合物中，用于作为凝胶、洗剂、软膏和溶液给药，以通过改变给药途径给药，包括但不限于局部、经由滴注、气雾剂、透皮贴剂、经由插入、或者口服。

[0342] 表 4、化合物 12 的凝胶制剂 1 和 2

[0343]

制剂 1 (% w/w)	制剂 2 (% w/w)
1% 化合物 12 的 A 型	1% 化合物 12 的 A 型
15% 二甲基异山梨醇	15% 二甲基异山梨醇
25% Transcutol	25% Transcutol
12% 己二醇	12% 己二醇
5% 丙二醇	5% 丙二醇
0.15% 对羟基苯甲酸甲酯	0.15% 对羟基苯甲酸甲酯
0.05% 对羟基苯甲酸丙酯	0.05% 对羟基苯甲酸丙酯
0.01% EDTA	0.01% EDTA
0.5% Penmulen TR-1	1% 羟乙基纤维素
适量 25% 三乙醇胺至 pH 6.0	适量 25% 三乙醇胺至 pH 4.5

适量 100 水	适量 100 水
----------	----------

[0344] 表 5、化合物 12 的洗剂 3 和 4

[0345]

制剂 3(% w/w)	制剂 4(% w/w)
1% A 型	1% A 型
13%二甲基异山梨醇	13%二甲基异山梨醇
20% Transcutol	20% Transcutol
10% 己二醇	10% 己二醇
4% 丙二醇	4% 丙二醇
0.15% 对羟基苯甲酸甲酯	0.15% 对羟基苯甲酸甲酯
0.05% 对羟基苯甲酸丙酯	0.05% 对羟基苯甲酸丙酯
0.01% EDTA	0.01% EDTA
0.5% 卡波普 Ultrez 10	0.3% 卡波普 Ultrez 10
0.2% Penmullen TR-1	0.2% Penmullen TR-1
3% 肉豆蔻酸异丙酯	2% 鲸蜡醇
5% 油醇	5.5% 轻质矿物油
5% 白矿脂	5% 油酸
0.02% 丁基化羟基甲苯	0.02% 丁基化羟基甲苯
适量 pH 6.025% 三乙醇胺	适量 pH 6.025% 三乙醇胺
适量 100 水	适量 100 水

[0346] 表 6、化合物 12 的软膏剂 5 和 6

[0347]

制剂 5(% w/w)	制剂 6(% w/w)
1% A 型	1% A 型
15% PEG 400	10% 二甲基异山梨醇

0.02%丁基化羟基甲苯	0.02%丁基化羟基甲苯
2% Span 80	2% Span 80
10%白蜡	10%白蜡
71.98%白矿脂	76.98%白矿脂

[0348] 表 7、化合物 12 的溶液剂 7、8 和 9

[0349]

制剂 7(% w/w)	制剂 8(% w/w)	制剂 9(% w/w)
1% A 型	1% A 型	1% A 型
15%二甲基异山梨醇	15%二甲基异山梨醇	99%二甲亚砜
25% Transcutol	25% Transcutol	
12% 己二醇	12% 己二醇	
5% 丙二醇	5% 丙二醇	
适量 25%三乙醇胺至 pH 4.5	适量 25%三乙醇胺至 pH 6.0	
适量 100 水	适量 100 水	

[0350] 表 8、化合物 12 的溶液剂 10、11、12、13 和 14

[0351]

W/W%	制剂 10	制剂 11	制剂 12	制剂 13	制剂 14
形式 A	0.1%	0.3%	1%	3%	5%
碳酸氢钠	0.015%	0.046%	0.15%	0.46%	0.77%
	0.1% EDTA				
	0.12% 磷酸二氢钠				
	0.4% 对羟基苯甲酸甲酯				
	0.02% 对羟基苯甲酸丙酯				
	适量氯化钠至渗透压 270				
	适量 1% 氢氧化钠至 pH 7.0				
	适量 1% HCl 至 pH 7.0				
	适量水				

[0352] 表 9、化合物 12 的溶液剂 15

[0353]

制剂
1ml 10% W/W 化合物 12 水溶液,加 0.158mmol 碳酸氢钠
9ml PBS

[0354] 可以以含有 0.1%、1.0%、和 5.0% (w/w) 的活性药物成分 (API) 浓度 (pH7.0) 的无菌、透明、无色液体溶液提供化合物 12。每 mL 1% 溶液含有 10mg 活性成分。除化合物 12, 药物产品溶液的其他成分, 它们的功能和它们的药典级可以包括对羟基苯甲酸丙酯 (防腐剂; 国家处方集 (NF))、对羟基苯甲酸甲酯 (防腐剂, NF)、EDTA (抗氧化剂, 美国药典 (USP))、碳酸氢钠 (缓冲剂, USP)、磷酸二氢钠 (缓冲剂, USP)、磷酸氢二钠 (缓冲剂, USP) 和无菌水 (稀释剂, USP)。所有赋形剂可以是药典级和非人或者非动物来源的。

[0355] 配制的药物产品溶液可以在无菌条件下包装到配备有滴嘴和保护帽的无菌 7.0ml 高密度聚乙烯 (HDPE) 瓶中, 所述滴嘴以每滴体积约 0.35 μ L 递送。滴瓶的可以具有 40 μ L 的滴嘴。可以将非防腐的研究药物 (制剂中没有对羟苯甲酸甲酯或者对羟苯甲酸丙酯) 以 0.5ml 单位剂量在使用吹瓶-灌装-封口法制备的低密度聚乙烯 (LDPE) 容器中提供, 并贮存在铝箔小袋中。

[0356] 药物溶液可以在冷藏 (2-8°C) 贮藏。药物在 5°C 和 25°C 下的稳定性可以为 9 个月或更长。

[0357] 实施例 5: 通式 I 化合物局部施用后的体外经皮吸收

[0358] 使用体内经皮吸收试验法、使用自 Skelly 等人, Pharmaceutical Research 19874(3):265-276, "FDA and AAPS Report of the Workshop on Principles and Practices of In-Vitro Percutaneous Penetration Studies: Relevance to Bioavailability and Bioequivalence" 改变的方法评价体内局部施用后的生物利用度。

[0359] 制剂 1-9 以单一临床相应剂量 5mg/cm² 应用于用皮刀从单个供体切除下来的人皮肤组织, 所述剂量等于 30-35 μ g 剂量。组织厚度范围为 0.023 到 0.039 英寸 (0.584 到 0.991mm), 厚度的平均值 $\pm$ 标准差为 0.030 $\pm$ 0.004 英寸 (0.773 $\pm$ 0.111mm), 变异系数为 14.4%。将组织样品在 Bronaugh 流过扩散池中固定。使用循环水浴使扩散池保持在 32°C 恒温。扩散池的标称扩散面积为 0.64cm²。使用含有 0.1% 叠氮钠和 4% 牛血清白蛋白的 pH7.4 的 PBS 作为固定组织下的受体相。新鲜的受体相以标称 1.0ml/hr 的流速在组织下持续泵送, 并以 6 小时间隔收集。收集受体相用于分析。

[0360] 组织样品与制剂 1-9 接触 24 小时。通过用 CuDerm D-Squame 剥离盘粘带剥离除去在该时间点留在角质层上的过量制剂。丢弃剥离带。通过钝器解剖分离表皮和真皮。分析表皮、真皮和受体相的化合物 12 含量。结果列于表 10 中。

[0361] 除了制剂 9 (其包含 99% DMSO), 所有制剂的化合物 12 的组织渗透水平 (受体相) 低于定量极限——0.54ng/ml (等于施用剂量的 0.013%)。相反, 制剂 9 提供施用剂量的 1.4%, 在 24 小时的接触期间内渗透穿过所有的皮肤组织层。

[0362] 化合物 12 在 24 小时的接触时期内的表皮沉积非常高, 与大部分保持在表皮上层的施用剂量一致。记录在表 10 中的水平是从小体积样品中获得的, 其不能重复测定, 因此

被认为是低估了存在于表皮中的药物量。

[0363] 真皮的分析数据落入为化合物 12 建立的线性范围,并且是定量的。接触 24 小时后化合物 12 的真皮沉积为施用剂量的 0.66% (制剂 6, $0.258 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) 到 4.4% (制剂 7, $34.3 \mu\text{g}/\text{cm}^2$)。因此计算得到制剂 1 到 9 中化合物 12 在真皮中的浓度 (633.5g/ 摩尔) 为 $6.7 \mu\text{M}$ (制剂 6) 或更大 (即,制剂 7 提供真皮中浓度为 $54.1 \mu\text{M}$)。这些浓度大大超过化合物 12 抑制炎性细胞因子释放的半数最大效果的体外 EC50 浓度 (如实施例 3 所示)。因此这些结果预示着含有 1% W/W 化合物 12 的多种制剂提供在体内抑制细胞因子释放的治疗有效水平的能力。

[0364] 表 10、局部接触 24 小时后,化合物 12 的累积的受体相和组织水平

[0365]

制剂#		24 小时的受体 相含量		表皮		真皮		
		g/cm ²	%施用 剂量	g/cm ²	%施用 剂量	g/cm ²	g/ml	%施用 剂量
1	平均值	<定量极限		3.93	7.48	1.14	18.8	2.15
	SD ¹			2.92	5.50	0.91	14.9	1.73
	% CV ²			74	74	80	80	80
	平均值	<定量极限		6.03	11.9	0.750	12.3	1.49
	SD			2.56	5.1	0.304	5.0	0.63
	%CV			43	42	40	40	42
	平均值	<定量极限		6.03	12.1	1.40	23.0	2.74
	SD			2.97	6.4	0.27	4.4	0.47
	%CV			49	53	19	19	17
	平均值	<定量极限		7.92	17.0	0.975	16.0	2.10
	SD			3.41	7.2	0.350	5.8	0.75
	%CV			43	42	36	36	36
	平均值	<定量极限		5.71	14.6	0.670	11.0	1.71
	SD			1.73	4.2	0.351	5.8	0.87
	%CV			30	29	52	52	51
	平均值	<定量极限		6.47	16.8	0.258	4.25	0.657
	SD			1.07	2.7	0.158	2.6	0.394
	%CV			17	16	61	61	60
	平均值	<定量极限		7.22	15.0	2.08	34.3	4.35
	SD			2.15	4.5	0.84	13.7	1.83
	%CV			30	30	40	40	42
	平均值	<定量极限		8.58	18.0	1.48	24.3	3.09
	SD			3.53	7.7	0.99	16.2	2.07
	%CV			41	43	67	67	67
	平均值	0.660	1.43	5.78	13.2	1.19	19.6	2.63
	SD	0.253	0.49	3.18	8.3	0.49	8.1	1.15
	%CV	38	34	55	63	41	41	44

[0366] 1、标准差

[0367] 2、变异系数百分比

[0368] 实施例 6 : 化合物 12 用于治疗干燥性角膜结膜炎 (KCS) 的药理学活性

[0369] 满足如下标准的狗加入该研究：大于一岁、Schirmer 泪液试验 (STT) 小于 10mm 润湿 / 分钟、双侧累及、和至少一种以下临床征象：眼睑痉挛、结膜炎充血、暴露性角膜病（不规则表面）、角膜色素沉着、角膜新血管形成或旧脓性粘液溢、无先天性 KCS、无外伤性 KCS、毒性 KCS、以及无面神经麻痹。如果狗在之前六个月内用局部 CsA 或藤霉素治疗，则它们不参与。

[0370] 将一滴 35 μ l 的化合物 12 的 1% 溶液（制剂 15, 0.35mg/ 眼）给药于狗，每只患眼每天三次，每日剂量之间间隔约 4 小时（ $\pm$ 1 小时），给药 12 周。在第 12 周停止给药化合物 12 后，再通过一天三次给药商业可得的 0.2% 软膏来给药 CsA，共四周。

[0371] 在初诊期间，以及在研究十六周内的五次诊视期间（第 2、4、8、12 和 16 周），对动物进行一次眼睛检查。最后一次 OE 在化合物 12 的最后剂量给药后的约 4 周以及 CsA 治疗的一个月后。用间接检眼镜检查双眼的附件和前面部分。当需要时，用瞳孔放大剂扩大眼睛，以评估晶状体和眼底，包括视网膜。用改良的 McDonald-Shaddock 打分系统进行评估，连同各间隔的裂隙灯眼睛检查。

[0372] 在初诊期间和在第 2、4、8、12 和 16 周的五次随访期间用 STT 带测量泪液。在各间隔每只眼睛使用一条 STT 带纸。在各收集间隔，折叠 STT 纸并将其置于下方盲管（inferior cul de sac）中 60 秒。记录该纸的凹口下的润湿长度（mm）。

[0373] 在初诊和随后的每次检查中进行荧光素和玫瑰红染色。使用 Tono-Pet **Vet®** 连同每次 OEs 进行眼内压测量 (IOPs)。在每次 OE 期间在染色（用荧光素和玫瑰红）前后获取数字眼睛图象。

[0374] 在初始（预治疗）观察时和第 12 周进行结膜活组织检查。第二次活检组织比初始活检组织更侧向（约 1mm）。适当准备后，从各眼睛的腹侧穹窿取出小的结膜活组织。

[0375] 七只狗完成了研究；其中两只狗仅研究了一只眼睛。结果列于表 11 和 12 中。总的说来，在用化合物 12 治疗期间，观察到 OD（右眼）STT 平均提高 3.3mm 和 OS（左眼）STT 平均提高 4.5mm。所有 12 只眼睛的结果显示平均提高 4mm。使用 1-12 周内每只狗的每只眼睛的 STT 值的最大变化进行最大值 - 最小值分析，如表 13 所示。该计算产生全部眼睛 STT 的最大改变总数为 72mm，其被 12 除（分析中 KCS 眼睛数），得到 6.0mm 的平均提高。一些狗的其他临床征象得到改善，例如减少的脓性粘液溢或结膜红斑。给药化合物 12 之前和之后采集的活检组织的组织病理学评估显示淋巴细胞累积的减少。图 2 说明了取自狗 #1 的样品中的该现象。CsA 给药的随后四周，没有观察到明显的额外优点。

[0376] 表 11、Schirmer 泪液试验结果 (OD)

[0377]

狗 ID	第 1 周	第 2 周	第 4 周	第 8 周	第 12 周	第 16 周
1	15	18	12	16	13	12
2	0	2	0	8	8	8
3	6	11	5	7	7	8
4	5	11	10	7	13	8

5	8	11	10	11	9	22**
6	8	10	15	17	16	18
7	6	2	2	1	0	12
平均值 *	5.5	7.8	7.0	8.5	8.8	11.7

[0378] * 狗 #1 不包括在 OD 的平均值或最大值 - 最小值分析中, 因为该动物的眼睛中没有 KCS。

[0379] ** 狗 #5 的数据在该天是反常的, 因此不包括在平均值或最大值 - 最小值分析中。

[0380] 表 12、Schirmer 泪液试验结果 (OS)

[0381]

狗 ID	第 1 周	第 2 周	第 4 周	第 8 周	第 12 周	第 16 周
1	0	0	0	0	3	3
2	0	0	0	2	7	5
3	9	14	7	17	15	16
4	0	3	5	6	4	7
5	7	8	14	8	8	19
6	9	4	14	8	8	17
7	18	NA	NA	19	18	18
平均 *	4.2	4.8	6.7	6.5	8.7	11.0

[0382] * 狗 #7 不包括在 OS 的平均或最大 - 最小分析中, 因为该动物的眼睛中没有 KCS。

[0383] 表 13、化合物 12 给药第 1-12 周的最大值 - 最小值分析

[0384]

OD	OS	总 OD 加总 OS: 72
NA	3	
8	7	
5	10	总计/合格眼睛 数目: 平均提高 6.0 mm
8	6	
3	7	
8	11	
-4	NA	
总数= 28	总数= 44	

[0385] 图 3 说明第 2、4、8 和 12 周 Schirmer 试验得分的平均变化。在第 12 周观察到相对于预治疗的 Schirmer 试验得分的显著提高。

[0386] 图 4 说明了用 1% 化合物 12 (TID) 治疗的第 2、4、8 和 12 周 Schirmer 试验得分大于 10mm 的眼睛的百分比。化合物 12 犬 KCS 研究结果超过人 CsA 数据。丽眼达 (restasis) 批准的依据是将 Schirmer 试验得分提高至大于 10mm。丽眼达治疗导致 15% 的眼睛的 Schirmer 试验得分大于 10mm。

[0387] 图 5 说明了用 1% 化合物 12 (tid) 或 2% CsA (bid) 治疗的第 2、4、12、16 和 26 周 Schirmer 试验得分提高大于 4mm 的眼睛的百分比 (使用历史 CsA 数据; Morgan et al., J. Am. Vet. Med. Assoc., 199, 1043-1046 (1991))。化合物 12 时间过程与历史 CsA 数据类似。

[0388] 总之, 犬 KCS 研究显示化合物 12 给药导致在 2-8 周内 Schirmer 试验得分迅速提高、组织学改善和快速的抗炎效果。

[0389] 实施例 7 : T 细胞增殖试验 :

[0390] 该试验为由激活作用导致的淋巴细胞增殖的体外模型, 其由与抗原呈递细胞相互作用后, T 细胞受体和 LFA-1 的缔合而被诱发 (Springer, Nature 346 :425 (1990))。

[0391] 在 4℃ 下用溶于无菌 PBS 中的 50 μ l 的 2 μ g/ml 山羊抗人 Fc (Caltag H10700) 和 50 μ l 的 0.07 μ g/ml 抗 CD3 单克隆抗体 (Immunotech 0178) 预包被微量滴定板 (经认证的 Nunc 96 孔 ELISA) 过夜。第二天吸出包被溶液。然后用 PBS 洗板 2 次, 在 37℃ 下加入 100 μ l 的 17ng/ml 5d-ICAM-Ig 并保持 4 小时。在加入 CD4+T 细胞之前用 PBS 洗板 2 次。从取自健康献血者的肝素化全血中分离外周血淋巴细胞。一种可选方法是通过白细胞分离法 (leukopheresis) 从健康的献血者获得全血。用盐水将血液 1 : 1 稀释、分层并在 LSM (每 100ml 中含有 6.2g Ficoll 和 9.4g 泛影葡胺钠) (Organon Technica, NJ) 上以 2500 $\times$ g 离心 30 分钟。使用骨髓细胞消耗试剂法消耗单核细胞 (Myeloclear, Labs, Hornby, Ontario, Canada)。将 PBL 重新悬浮在 90% 的热灭活胎牛血清和 10% 的 DMSO 中, 等分试样并贮存在液氮中。融化后, 将细胞重新悬浮在 RPMI 1640 培养基中 (Gibco, Grand Island, NY), 所述培养基中补充了 10% 的热灭活胎牛血清 (Intergen, Purchase, NY)、1mM 丙酮酸钠、3mM L-谷氨酰胺、1mM 非必需氨基酸、500 μ g/ml 青霉素、50 μ g/ml 链霉素、50 μ g/ml 庆大霉素 (Gibco)。

[0392] 通过负选择法对 CD4+T 细胞进行纯化 (人 CD4 细胞回收柱试剂盒 #CL110-5 精确

的)。37℃和5% CO₂下在100ml补充了10%的热灭活FBS(Intergen)、0.1mM非必需氨基酸、1mM丙酮酸钠、100单位/ml青霉素、100 μg/ml链霉素、50 μg/ml庆大霉素、10mM Hepes和2mM谷氨酰胺的培养基(RPMI 1640(Gibco))中对100,000个纯化的CD4⁺T细胞(90%纯度)/微量滴定板孔进行72小时培养。在培养开始时将抑制剂加入到板中。在收集细胞之前的最后6小时内加入1 μCi/孔滴定的胸苷,用以测量这些培养物的增殖响应。通过液体闪烁计数来测量放射性标记的掺入(Packard 96孔收集器和计数器)。结果用计数/分钟(cpm)表达。

[0393] 实施例8:体外混合淋巴细胞培养模型

[0394] 混合淋巴细胞培养模型为体外移植模型(A. J. Cunningham, "Understanding Immunology, Transplantation Immunology" 157-159页(1978)),用其考察各种LFA-1拮抗剂在人类混合淋巴细胞反应的增殖和效应方面的影响。

[0395] 细胞的分离:从取自健康献血者的肝素化全血中分离出外周血单核细胞(PBMC)。用盐水将血液1:1稀释、分层并在LSM(每100ml中含有6.2g Ficoll和9.4g泛影葡胺钠)(Organon Technica, NJ)上以×2500g离心30分钟。一种可选方法是通过白细胞分离法从健康的献血者获得全血。按照上述方式分离PBMC,将其重新悬浮在90%的热灭活胎牛血清和10%的DMSO中,等分试样并贮存在液氮中。融化后,将细胞重新悬浮在RPMI 1640培养基中(Gibco, Grand Island, NY),所述培养基中补充了10%的热灭活胎牛血清(Intergen, Purchase, NY)、1mM的丙酮酸钠、3mM的L-谷氨酰胺、1mM的非必需氨基酸、500 μg/ml青霉素、50 μg/ml链霉素、50 μg/ml庆大霉素(Gibco)。

[0396] 混合淋巴细胞反应(MLR):在96孔平底微量滴定板内建立单向人混合淋巴细胞培养。在200 μl的完全培养基中,1.5×10⁵个响应PBMC和等数量的辐射的(3000拉得,3分钟,52秒)同种异体刺激PBMS进行共培养。在培养开始时加入LFA-1拮抗剂。在37℃下,在5%的CO₂中将培养物培养6天,然后用1 μCi/孔的³H-胸苷(6.7Ci/mmol, NEN, Boston, MA)脉冲6小时。在Packard细胞收集器(Packard, Canberra, 加拿大)中收集培养物。用液体闪烁计数法测量 [³H]TdR 的掺入。结果表示为每分钟的计数(cpm)。

[0397] 实施例9:使用Jurkat细胞的T细胞粘附试验

[0398] 该研究的目的是评价化合物12对于体外接触后Jurkat细胞粘附到ICAM-1上的抗粘附性能。

[0399] 在DMSO/水(1:1)中制备化合物12和阳性对照的原液,并稀释至试验培养基中,通过添加试验培养基以达到所需浓度制得随后的稀释液。一种报导的LFA-1拮抗剂用作阳性对照。

[0400] 在室温下用8 μM的生长培养基中的BCECF-AM(2',7'-二(2-羧基乙基)-5-(和-6)-羧基荧光素)溶液标记Jurkat细胞15分钟。70 μL的试验培养基中的化合物12或阳性对照与标记的细胞在37℃下在96孔平板每孔70 μL的试验培养基中温育30分钟,每孔中有500,000个细胞。在96孔平板的孔中存在化合物12或阳性对照的情况下在37℃下静置100 μL这种荧光标记的Jurkat细胞悬液1小时,所述平板用表达为Fc嵌合体的重组人ICAM-1包被。通过洗涤和在100g离心1分钟除去非粘附细胞。在荧光读板器上确定粘附细胞的粘附荧光单位。该试验品,化合物12,随着剂量增加显示抑制Jurkat细胞的粘附。该试验中化合物12的剂量反应曲线和IC₅₀与已知的直接竞争性LFA-1拮抗

剂相当。这证明了化合物 12 是 LFA-1/ICAM-1 结合的拮抗剂。

[0401] 实施例 10 :鼠假单胞菌角膜炎

[0402] 角膜通常是澄清的和无白细胞的。细菌感染诱导补体介导的白细胞向角膜内的募集和炎症。已经开发了嗜中性粒细胞角膜炎的鼠模型,其将规定量的妥布霉素杀死的假单胞菌插入角膜的手术切口中。在 24 小时对嗜中性粒细胞流入量和角膜浑浊进行打分。该系统提供嗜中性粒细胞在脉管系统中粘附并迁移入组织的药效学模型。该系统在 Sun Y. and Pearlman E. (2009) Invest Ophthalmol Vis Sci. 50 :1247-54 中有描述。

[0403] 实施例 11 :临床前和临床安全性和耐受性 :pk 和全身的和局部分布结果

[0404] A :人类中的效果

[0405] 1、1 期临床试验化合物 12

[0406] 在 4 个组 (0.1%、0.3%、1% 和 5% 化合物 12 剂量强度) 中,在 28 个健康成年人 (每组 7 个受试者 :5 个接受化合物 12 眼用溶液,2 个接受安慰剂溶液) 中进行逐步升高局部化合物 12 眼用溶液的剂量的 1 期单中心随机化、预期的、双盲的、安慰剂控制的研究。该试验的目的是测量安全性和耐受性,以及泪液和血浆中的药代动力学。给药日程 (OU :每眼 (Oculus Uterque) (每眼或两眼)) 被分成 3 个周期,每个周期由 72 个小时冲洗间隔分隔 :一次 / 天 $\times$ 1 天 (一只眼睛用药物 ;另一只眼睛用安慰剂),两次 / 天 $\times$ 10 天,和三次 / 天 $\times$ 10 天,14 天观察。筛选时以及在各周期的开始和结束时评价眼睛的裂隙灯检查、BCVA (最佳矫正视敏度)、STTs (Schirmer 泪液试验)、TBUT (泪液破裂时间)、IOP (眼内压)。对每一组,由安全委员会审查双盲安全性数据,之后才允许下一组中剂量逐步升级。在 1148 个总课题研究天数 (41 研究天 / 受试者) 内总共对 56 只眼睛给予 2856 个剂量 (102 滴 / 受试者)。所有组中的所有受试者完成了该研究,且没有遗漏研究药物剂量。

[0407] 在任何剂量强度或任何剂量方案都没有发生被认为与化合物 12 眼用溶液给药有关的死亡、中止、严重或者重度的眼睛或非眼睛 AE (副作用)。

[0408] 血压、心率、呼吸率、体温、体重和 EKG 结果在整个试验中处于正常范围内。

[0409] 在整个研究期间、剂量强度或日程内,所有血液学结果以及除了一项血清化学之外的所有血清化学结果在正常范围之内,没有测量到可观察到的与研究药物相关的倾向。总淋巴细胞计数、CD3、CD4 和 CD8 细胞计数在正常范围之内,没有抑制淋巴细胞或嗜中性粒细胞的证据。整个试验中的尿分析结果不显著。

[0410] 在整个研究期间、剂量强度或日程内,血清化学结果在正常范围之内,没有测量到可观察到的与研究药物相关的倾向。

[0411] 在研究期间没有发生严重或重度的眼睛或非眼睛副作用 :分别有 38 个眼睛的 (N = 11 个受试者) 和 21 个非眼睛的 (N = 11 受试者) 副作用。当按照剂量组分析或按照研究周期分析时,没有频繁眼睛副作用的倾向。在 BCVA、裂隙灯活组织显微镜检查、STT、TBUT、或 IOP 评价中没有发现明显的安全性倾向,也不存在眼睛感染或局部免疫抑制的证据。没有局部眼睛刺激或者感染的证据。

[0412] 当按照剂量组或按照研究周期分析时,没有频繁非眼睛副作用的倾向。在生命指征、EKG、实验室研究 (化学、肝功能、血检查) 上没有发现明显的安全性倾向 ;不存在 CD3、CD4 或 CD8T 细胞抑制、骨髓抑制的证据,或感染增加的临床证据。

[0413] 2、泪液和血浆中的药代动力学

[0414] 在各给药期的基线和预定的间隔内得到血浆和泪液样品,以表征眼睛给药后化合物 12 眼用溶液的药代动力学 (PK)。

[0415] a. 血浆 PK 分析

[0416] 在第 1、5、14、18 和 27 天的给药前、给药后的 5 和 30 分钟、以及给药后 1、4、8、24 小时得到用于血浆化合物 12 分析的样品。也在第 1、14 和 27 天的给药后 48 小时得到样品,在研究结束时的随访中收集单一血样。使用验证的 LC/MS/MS (液相色谱串联质谱法) 法测定化合物 12 的血浆浓度, LLOQ (定量下限) 为 0.500ng/mL。

[0417] b. 血浆 PK 结果

[0418] 在单剂量和多剂量给药 0.1% 和 0.3 化合物 12 剂量强度后的所有时间点、以及在接受 1% 化合物 12 剂量强度的 5 个受试者中的 3 个中, 化合物 12 血浆浓度是 BLOQ (低于定量极限, < 0.500ng/mL)。在接受 1% 化合物 12 的一个受试者的血浆中在第 14 和 27 天的最早时间点 (给药后 5 分钟) 观察到可测量的化合物 12 水平,但在随后的时间点是 BLOQ。在整个试验中给药 5% 剂量强度后更频繁地观察到可测量水平,虽然该水平非常低 (< 3ng/mL),且在给药后的第一个小时内一般检测不到 (图 6)。已经观察到 IC₅₀ 值为 2nM 的体外细胞试验 (细胞粘附和 SEB IL-2 释放) 中的 LFA-1 水平为约 0.1nM。血中 LFA-1 水平为约 10nM。化合物 12 抑制 SEB 刺激的人全血中 IL-2 释放的 IC₅₀ 是 69nM。需要化合物 12 水平大于 LFA-1 水平,以抑制白细胞功能。因此,预期化合物 12 眼用滴液不明显抑制全身白细胞。

[0419] 在以任何剂量强度任何研究周期内给药化合物 12 眼用溶液后,血浆化合物 12 半衰期或接触参数不能精确评价,因为化合物 12 血浆浓度在剂量后 1 到 4 小时内不可检测或迅速衰减 BLOQ。

[0420] c. 泪液 PK 分析

[0421] 在 1 期研究的第 1、5、14、18 和 27 天的给药前、给药后的 30 分钟、以及给药后 1、4、8 和 24 小时,用 Schirmer 泪液试纸条收集化合物 12 的泪液样品。在第 1、14 和 27 天后得到给药后 48 小时样品。使用验证的 LC/MS/MS 法测定泪液化合物 12 浓度, LLOQ 为 0.5ng/mL。

[0422] d. 泪液 PK 结果

[0423] 在给药第一天观察到泪液 AUC (浓度 - 时间曲线下面积) 和 C_{max} (观察到的最大血浆浓度) 值的剂量相关增加,其一般在整个试验的评价的时间点内保持。BID (一天两次) 和 TID (一天三次) 给药相对于单一剂量产生较高的 C_{max} 和 AUC 值,但是 BID 和 TID 剂量日程之间没有显著的接触差异。有明显的证据证明化合物 12 接触处于预期治疗剂量范围内,且多次眼睛剂量给药后没有明显的蓄积证据。

[0424] 图 7 说明 1% 化合物 12 的泪液 C_{min} 水平。图 8 说明剂量与化合物 12 的 C_{max} 泪液水平成正比。图 9 说明剂量与化合物 12 QD AUC 和泪液中的 C_{max} 成正比。

[0425] 总的说来,通过局部眼睛滴注以直到 5% TID 的剂量强度将化合物 12 眼用溶液给药于健康成年人受试者似乎是安全和良好耐受的,且适合于进一步观察患有变应性结膜炎或干眼症继发的眼睛炎症的受试者。

[0426] B. 非临床研究,化合物 12 探索性新药研究 (IND) 非临床程序 (安全药理学和毒理学研究)

[0427] 1. 临床前毒理学制剂

[0428] 表 14

[0429]

磷酸盐缓冲液 pH 7 290 mOsM/l
化合物 12 钠盐 4 剂量水平 (0.1% 到 3%)
EDTA
对羟基苯甲酸酯类防腐剂 0.02% 对羟基苯甲酸甲脂 0.04% 对羟基苯甲酸丙脂
多剂量滴瓶

[0430] 2. 安全性药理学

[0431] 在稳定转染的肾 HEK293 细胞中进行评价化合物 12 对 hERG 通道电流 (I_{Kr} 的替代, 快速活化、延迟的整流心脏钾电流) 的影响的体外研究。化合物 12 的单剂量是 20 μ M、100 μ M、200 μ M 和 600 μ M。化合物 12 对电流的影响是微弱的 (IC_{50} 为 478 μ M), 指示局部眼睛给药后观察到低的全身接触, I_{Kr} 通道抑制的风险最小。

[0432] 经由静脉内团注给药化合物 12 后, 评价其在装有遥测仪器的有意识的狗 (比格犬) 中的心血管效果。没有观察到对心电图或血液动力学参数的影响。

[0433] 当经由静脉内团注给药单剂量化合物 12 后, 评价其在大鼠中对 CNS 的影响。对于给予 10.0mg/kg 的动物, 在给药后的 1 分钟到 6 小时内的各时间点在 6 个动物中的 2 个中观察到短暂的瞳孔缩小。没有观察到对任何其他参数的影响。

[0434] 单剂静脉内团注给药化合物 12 后, 使用头外置体积描记术 (head-outplethysmograph) 评价大鼠的呼吸机能 (潮气量、呼吸率和分钟通气量)。在任何剂量都没有观察到呼吸机能或副作用的不利变化。

[0435] 3. 基因毒性研究: 化合物 12 在体外 Ames 染色体畸变试验或体内大鼠小核研究中显示无影响。

[0436] a. 体外 Ames 细菌性回复突变试验

[0437] 在 Ames 试验中, 化合物 12 在存在或不存在微粒体 (S9) 酶的情况下不引起任何试验菌株的每平板回复子平均数量增加。因此, 判断化合物 12 不引起突变。

[0438] b. 体外 CHO 细胞中的染色体畸变试验

[0439] 在 20 小时共培养后, 在有和没有外来代谢活化的情况下, 在培养的中国仓鼠卵巢 (CHO) 细胞中评价化合物 12 诱导染色体畸变的能力。认为化合物 12 对于在有和没有代谢活化的情况下诱导 CHO 细胞的结构性染色体畸变是阴性的, 除非在无代谢活化的情况下给药单一毒性剂量 (3 小时治疗; 3500 μ g/mL)。由于细胞毒性, 该反应的生物相关性是不明确的。

[0440] c. 体内小鼠骨髓小核试验

[0441] 在 CD-1® (ICR)BR 小鼠中通过评价它们的骨髓来评估重复静脉内给药化合物 12 诱导体内致染色体断裂活性和 / 或破坏有丝分裂器的能力,所述评估通过检测多染性红细胞 (PCE) 中的小核进行。基于该研究的结果,认为化合物 12 在小鼠骨髓小核试验中是阴性的。

[0442] 4. 急性毒性研究:对于大鼠的单剂量静脉内注射,没有可观察到的副作用的水平 (NOAEL) 是 10mg/kg IV。对于狗中逐步升高的单剂量静脉内注射和具有 TK (毒性动力学) 的 7 天重复剂量, NOAEL 是 10mg/kg IV。对于兔子的单剂量眼睛耐受性, NOAEL 是 3.5mg/眼睛 / 每天 3 次 (10%)。

[0443] 5. 重复剂量毒性研究:在具有 2 周恢复的狗的 4 周静脉内毒性研究中, NOAEL 是 10mg/kg。在具有 4 周恢复的大鼠的 13 周静脉内毒性研究中, NOAEL 是 30mg/kg。在具有 4 周恢复的兔子的 13 周眼毒性研究中, NOAEL 是 1.05mg/眼睛 / 每天 3 次 (3%)。在具有 4 周恢复的狗的 13 周眼毒性研究中, NOAEL 是 1.05mg/眼睛 / 每天 3 次 (3%)。

[0444] 6. ADME 研究

[0445] 化合物 12 的吸收、分布、代谢和排泄 (ADME) 通过在大鼠、兔子和狗中进行的研究进行表征,使用两种给药途径:静脉内和局部眼睛给药,临床给药途径。也进行体外肝细胞研究。

[0446] 通过串联质谱法评价化合物 12 在血浆、泪液和玻璃体液样品中的水平。一些体内试验使用 [¹⁴C]-化合物 12 来测定 [¹⁴C]-化合物 12- 衍生的放射活性的 PK 和吸收、分布和排泄程度。另外,在血浆、尿和粪便中测定 [¹⁴C]-化合物 12 的代谢物的代谢曲线和确认。

[0447] 使用 [¹⁴C]-化合物 12 在有色的 (Long-Evans 系) 和白化的 (Sprague Dawley 系) 大鼠中进行单剂量眼睛和 IV 剂量给药 ADME 研究。进行定量的整体放射线照相术评价。

[0448] 雄性和雌性大鼠接受单剂量 1mg/眼睛或 10mg/kg IV 的 [¹⁴C]-化合物 12。眼睛或 IV 给药后的主要排泄途径是粪便,在给药后 0 到 168 小时内占到给药的放射性的约 60% (眼睛给药) 和 95% (IV 给药)。尿排泄占到高达给药放射性的 2%。在眼睛或 IV 给药后的胃肠道组织中测得 [¹⁴C]-化合物 12 的最高组织水平。对于眼睛给药,也在眼睛组织和排泄物中测得 [¹⁴C]-化合物 12,指示给药的剂量从眼睛经过鼻甲骨,进入食管并最后通过胃肠道排泄。这些数据显示经眼、鼻或者口服给药化合物 12 将导致最后通过胃肠道排泄。作为滴眼剂给药的大部分药物剂量局部分布至眼周区域,并且更有意思的是经鼻甲骨进入胃肠道。观察到药物首先积累在胃肠道的上皮中,然后经由门静脉进入肝脏,其中药物被排除出肝脏,并重新递送回到下胃肠道。在全身分布中几乎没有或没有观察到药物。因此,通式 I 化合物经由气雾剂或滴剂给药至鼻、或经由口服可以通过肝脏清除提供类似的直接局部递送至上胃肠道上皮中,和局部递送至下胃肠道。在这两种情况下,几乎没有或没有药物的全身递送。

[0449] 局部眼睛给药 [¹⁴C]-化合物 12 到雄性 Sprague Dawley (白化病) 大鼠后,放射性向组织内的分配在第一时间点 (给药后 0.5 小时) 受限,其通常和胃肠道、代谢相关组织和眼睛有关。图 10 是 [¹⁴C]-化合物 12 (1mg/眼) 单次局部眼睛给药 0.5 小时后雄性 Sprague Dawley 动物的全身放射自显影照片。最高浓度的放射性在该时间点食道内容物、鼻甲骨和小肠内容物中确定,浓度分别为 399000、352000 和 349000ng 当量的 [¹⁴C]-化合物 12/g。然而,应该注意到,这些组织中的测量值超过量化的上限,因此应该慎重说明。高水平的放

放射性也在食道和胃内含物中确定。在该时间点检测眼睛中的放射性,浓度 18100ng 当量的 $[^{14}\text{C}]$ -化合物 12/g。低水平的放射性也与肝 (272ng 当量的 $[^{14}\text{C}]$ -化合物 12/g)、肾 (151ng 当量的 $[^{14}\text{C}]$ -化合物 12/g) 和葡萄膜 (9330ng 当量的 $[^{14}\text{C}]$ -化合物 12/g) 有关。

[0450] 眼睛和晶状体中的放射性浓度在给药后 2 小时大大下降;在晶状体中的水平为 BLQ。食道和食道内容物中的放射性浓度也在给药后 2 小时下降约 50 和 100 倍。图 11 是 $[^{14}\text{C}]$ -化合物 12 (1mg/眼) 单次局部眼睛给药 2 小时后雄性 Sprague Dawley 动物的全身放射自显影照片。给药后 8 小时,所有组织中的放射性水平下降;然而,高浓度与大肠内容物 (133000ng 当量的 $[^{14}\text{C}]$ -化合物 12/g) 和盲肠内容物 (57600ng 当量的 $[^{14}\text{C}]$ -化合物 12/g) 有关,指示放射性通过胃肠道。图 12 是 $[^{14}\text{C}]$ -化合物 12 (1mg/眼) 单次局部眼睛给药 8 小时后雄性 Sprague Dawley 动物的全身放射自显影照片。

[0451] 给药后 12 小时放射性浓度进一步减少,最大浓度与盲肠和大肠的内容物有关。葡萄膜中测定的浓度在该时间点增加至 610ng 当量的 $[^{14}\text{C}]$ -化合物 12/g。图 13 是 $[^{14}\text{C}]$ -化合物 12 (1mg/眼睛) 单次局部眼睛给药 13 小时后雄性 Sprague Dawley 动物的全身放射自显影照片。

[0452] 给药后 24 小时盲肠内容物中 (5870ng 当量的 $[^{14}\text{C}]$ -化合物 12/g) 和大肠内容物中 (18000ng 当量的 $[^{14}\text{C}]$ -化合物 12/g) 的放射性浓度最大;小肠和胃内容物中也存在低水平。图 14 是 $[^{14}\text{C}]$ -化合物 12 (1mg/眼睛) 单次局部眼睛给药 24 小时后雄性 Sprague Dawley 动物的全身放射自显影照片。除了非着色皮肤和肝,所有其他组织中不能检测到放射性。

[0453] 在眼睛给药后的所有时间点以及直到 IV 剂量后 2 小时,在玻璃体液中检测到低水平的 $[^{14}\text{C}]$ -化合物 12 (大鼠眼睛给药参见示意性图 15 以及表 15)。

[0454] 表 15、化合物 12 浓度, ng 当量的 $[^{14}\text{C}]$ -化合物 12/g 组织。

[0455]

身体区域	给药后 0.5 小时	给药后 4.0 小时
眼房水	1770	116
结膜 (眼球)	31500	4480
结膜 (眼睑)	26300	21830
角膜	17150	1346
虹膜睫状体	17550	500
晶状体	38.8	9.69
视神经	796	0
视网膜和脉络膜 (含有 RPE)	510	46.7

巩膜	2750	387
玻璃体液	1330	183

[0456] 有色和白化病大鼠中的 [^{14}C]-化合物 12 的组织分布是相当的,显示化合物 12 没有优先与黑色素结合。雌性和雄性大鼠的结果没有明显差异。而且,在局部眼睛或 IV 剂量给药 [^{14}C]-化合物 12 后直到 168 小时,在红细胞中没有观察到源于 [^{14}C]-化合物 12 的放射性的优先分布,也没有从所收集的混合血浆、尿和粪便匀浆中分离出代谢物。

[0457] 用 [^{14}C]-化合物 12 使用相同给药途径在雌性和雄性狗中进行类似的单剂量研究 (3mg 眼或 3mg/狗),显示与大鼠相似的排泄、分布和代谢图。眼睛给药后,在眼前组织中检测到 [^{14}C]-化合物 12 的最高平均水平 (参见图 16)。在眼后组织中检测到低水平,指示发生了向眼睛内的吸收。混合血浆、尿和粪便匀浆样品的代谢图与在大鼠中观察到的代谢图相似,直到给药后 168 小时,没有检测到代谢物。雌性和雄性狗的结果没有观察到差异。

[0458] 16 小时中,结膜/角膜中的化合物 12 水平大于 1 微摩尔/100 纳摩尔 (狗/大鼠)。

[0459] a. 单次和重复 IV 给药后化合物 12 的药代动力学

[0460] 大鼠和狗的单次 IV 给药后随时间变化的化合物 12 血浆浓度分别显示于图 17 和 18。在两种动物中单次 IV 团注给药后化合物 12 的血浆浓度以预期的指数方式下降。

[0461] 在化合物 12 以 0.2 至 30.0mg/kg 剂量单次 IV 剂量给药至大鼠后,或以最高 30mg/kg 的单一剂量以及 3 或 10mg/kg 的 7 个每天剂量给药至狗后,使用标准无房室法测得的血浆 PK 参数显示于表 16 中 (大鼠)。两种动物的 PK 结果显示化合物 12 的极高的清除率 (大鼠和狗的肝血流量分别为 $\sim 3.3\text{L/hr/kg}$ 和 1.9L/hr/kg ; (Davies, 1993, PharmRes)。单次 IV 剂量后,大鼠 PK 数据显示高分布体积,和中等的半衰期,而 IV 给药至狗后,观察到低分布体积和较短的药物半衰期。每日给药化合物 12,给药 7 天后在血浆中没有化合物 12 的明显积聚,因为研究第 1 天测得的血浆化合物 12 的 C_{max} 和 AUC_{0-n} 值接近于研究第 7 天测得的那些值。

[0462] 表 16、单次 IV 团注给药化合物 12 后大鼠的血浆 PK 参数概要³

[0463]

剂量	CL L/hr/kg	Vss L/kg	T _{1/2} hr	MRT hr	C _{max} ng/mL ¹	AUC _{0-n} hr x ng/mL ²
10.0 mg/kg	10.4	9.56	3.76	0.920	1056	728
30.0 mg/kg ⁴	-	-	-	-	5117.3	2345.5

[0464] ¹ 观察到的化合物 12 最大血浆浓度,其由平均浓度对时间的曲线估计。

[0465] ² 剂量间隔期间的血浆化合物 12 AUC_{0-n} ,其由平均浓度对时间的曲线估计。

[0466] ³ 由化合物 12 平均血浆浓度对时间的曲线估计。

[0467] ⁴ 来自大鼠安全性药理学研究。

[0468] 在较长期的重复剂量研究中,狗和大鼠接受每天 IV 团注剂量 3、10 或 30mg/kg/天,分别给药 4 和 13 周。如 7 天狗研究所见,化合物 12 血浆浓度以预期的、指数方式下降,没有化合物 12 在血浆中积聚的证据。在 3mg/kg 到 30mg/kg 的剂量范围内,化合物 12 在狗

中的血浆清除率、分布容积和半衰期是剂量依赖的。在大鼠中,血浆化合物 12 接触数据提示每天 10 到 30mg/kg 的 IV 剂量给药后化合物 12 的非线性分布,且在第 13 周意外积聚(表 17)。

[0469] 表 17:每日 IV 团注剂量 13 周后大鼠中的血浆化合物 12 接触参数³

[0470]

	剂量= 3 mg/kg		剂量= 10 mg/kg		剂量= 30 mg/kg	
	C _{max} ng/mL ¹	AUC _{0-n} hr x ng/mL ²	C _{max} ng/mL ¹	AUC _{0-n} hr x ng/mL ²	C _{max} ng/mL ¹	AUC _{0-n} hr x ng/mL ²
第1天	305.2	148.3	1045.3	535.6	5117.3	2345.5
第13周	377.5	241.4	1691.5	907.1	16932.8	7471.5

[0471] ¹ 剂量间隔期间观察到的化合物 12 最大血浆浓度。

[0472] ² 剂量间隔期间化合物 12 的血浆 AUC_{0-n}。

[0473] ³ 由化合物 12 平均血浆浓度对时间的曲线估计,每一时间点 n = 6 只大鼠(3 雄 3 雌)。

[0474] b. 单次和重复眼睛给药后化合物 12 的药代动力学

[0475] 单次局部眼睛滴注 0.1、1.0 或 3.0% 剂量强度的化合物 12 眼用溶液(分别为 0.105、0.35 和 1.05mg/眼)后,化合物 12 的平均泪液浓度以剂量相关方式上升,在给药后的 30 分钟内达到最大值,并在 4 小时后返回基线。通常化合物 12 的泪液 C_{max} 和 AUC_{0-n} 随着剂量的增加而增加。图 19 说明化合物 12 的剂量与狗泪液中的 PK(AUC) 成正比。例如,分别以 0.105、0.35 和 1.05mg/眼给药的兔子右眼的平均泪液 C_{max} 值是 34,014ng/mL、21460ng/mL 和 313,906ng/mL。对于相同剂量组,右眼中的平均泪液 AUC 分别是 18864hrxng/mL、18931hrxng/mL 和 182978hrxng/mL。

[0476] 局部眼睛滴注后,化合物 12 血浆浓度升高,因为药物从眼睛施用位置移入血浆循环。局部眼睛给药后 30 分钟,在狗和兔子的血浆中检测到剂量相关量的化合物 12。化合物 12 的血浆浓度在约 4 小时内从给药后约 0.25 小时测得的最大值迅速下降至基线水平,这可能由于如 IV 给药研究中所见的化合物 12 的高血浆清除率。在 0.105、0.35 和 1.05mg/眼/剂量组中,血浆 C_{max}(平均值 ± SD) 值分别是 11.7 ± 8.80ng/mL、13.1 ± 2.12ng/mL 和 38.9 ± 19.7ng/mL,以及 AUC_{0-n}(平均值 ± SD) 值分别是 5.19 ± 5.39hrxng/mL、7.35 ± 1.52hrxng/mL 和 22.9 ± 10.1hrxng/mL。

[0477] 在兔子和狗中进行的重复剂量研究中,以与 13 周单剂量研究相同的剂量通过两侧眼睛滴注 TID 施用化合物 12 眼用溶液。在狗的实验性研究中,以 3.5mg/眼(10%剂量强度)给药 3 天。在兔子和狗中,化合物 12 在泪液样品中的 C_{max} 和 AUC_{0-n} 随着升高的剂量而如期升高。C_{max} 和 AUC_{0-n} 数据显示,在 TID 滴注期间,化合物 12 在狗泪液中积聚,但其后没有持续的积聚。兔子研究中观察到类似的模式。在兔子和狗中 TID 眼睛给药后 13 周测得的典型泪液浓度对时间的曲线分别显示在图 20 和 21(左眼、TID,间隔约 4 小时)。TK(毒性动力学)分析显示当眼睛与足够的化合物 12 接触,整天内泪液水平超过 1 μM(600ng/mL)。图 22 是单剂量局部滴注后,兔子左右眼内的化合物 12 的平均泪液浓度。

[0478] 在 13 周兔子和狗研究中,在处死动物(末期和恢复期处死)获得的样品的玻璃状液中没有检测到化合物 12。在以 3.5mg/眼(10%)以及从 BLOQ 到 18ng/mL 范围 TID 给药三天后,在狗的玻璃状液中观察到可变水平的化合物 12。

[0479] 非临床研究显示,大约 6.9 到 32% 的化合物 12 眼睛剂量从局部眼睛滴注位置吸收入体循环中,但该全身可利用性评价以有限的可用数据为基础,其包括为静脉内剂量的 1/100 的眼睛剂量。在眼睛滴注后,在动物内观察到低的与药物的全身血浆接触。重要的是,化合物 12 在这些物种中的血浆清除率高,这指示被吸收的化合物 12 有效地从体循环中除去,因此有助于最小化全身接触。

[0480] 来自所有非临床物种的 PK 曲线支持高达每天三次、持续至少 13 周的临床剂量局部眼睛滴注方案。

[0481] c. 在狗 -PK 中局部给药的化合物 12 的实验性眼睛耐受性

[0482] 进行在狗 -PK 中局部给药的化合物 12 的实验性眼睛耐受性。用 35 μ L 的化合物 12 TID(0、4、8 小时)给药于动物。在第 1-14 天给药 1% 溶液;在第 17-21 天给药 3% 溶液,以及在第 24-27 天给药 10% 溶液。泪液/眼周组织中的化合物 12 谷水平比 T 细胞粘附/IL-2 释放的 IC₅₀ 高 1000 倍。化合物 12 在高达 10% 强度给药 3 剂/天时是安全的和良好耐受的。眼睛滴注后在泪液(30 分钟-16 小时)和血浆(30 分钟)中检测到化合物 12 浓度的剂量依赖性增加。化合物 12 的玻璃体浓度大于低浓度的 1000 倍。

[0483] C. 皮肤

[0484] 1. 化合物 12 临床前皮肤研究

[0485] 化合物 12 在水/乙二醇/卡必醇(transcutol)溶液中的溶解度为 2% (w/w),在乙醇/乙二醇/卡必醇溶液中的溶解度为 10% (w/w)。溶解度研究提示乳剂制剂。已经开发原型,并以 1% (w/w) 的浓度在来自任选外科切下的人皮肤上试验。形式包括凝胶、软膏或者洗液。所有制剂显示稳定性和相容性。用 LC/MS/MS 分析进行的皮肤输送研究显示表皮和真皮中具有高化合物 12 水平以及在接收者中具有低水平。用 2-4% 剂量渗透,真皮中可以有大于 10 微摩尔的化合物 12,如使用 [¹⁴C]-化合物 12 测得。实验性大鼠和微型猪研究显示低的全身接触,这指示药物渗透入皮肤的血管化水平(即真皮)。

[0486] 2. 非临床皮肤程序

[0487] 豚鼠中的皮肤敏化研究:Buehler 试验

[0488] 使用健康年轻成年(4 到 6 周)、任意繁殖的白化病豚鼠(种 Cr1:(Ha)BR)的 Buehler 试验用于测定化合物 12 诱导超敏性的可能性。饮食由经证明的任意的豚鼠饮食(#5026, PMI Nutrition International LLC)组成。任意给予水。室温是 18 到 26°C,相对湿度是 30 到 70%,使用 12 小时光/12 小时暗循环。动物适应至少 5 天。

[0489] 试验设计:将 34 只适应的动物分为 4 只豚鼠的刺激筛选组、10 只豚鼠的试验组(第 1 组)、5 只豚鼠的原始(naive)对照组(第 2 组)、10 只阳性对照豚鼠(第 3 组)和 5 只阳性原始对照豚鼠(第 4 组)。

[0490] 刺激筛选:将 4 只动物的背部毛发剪去,每只动物选择四处施用位置。用 0.4mL 的 0.1%、1% 或 10% w/v 的化合物 12 和 0.4g 剂量的通式 I 化合物处理每处位置。选择合适的化合物 12 浓度,用于诱导接触(最高,以引起轻到中度皮肤刺激)和激发接触(最高非刺激剂量)。

[0491] 确定阶段：在试验前，使用电动剪毛机将第 1 组动物的毛发除去。由含有在刺激筛选中确定的某浓度的通式 I 化合物的 0.4mL 载体溶液浸透封闭贴剂体系 (Hi11 Top **Chamber®**, 直径 25-mm)。将该封闭贴剂施用于第 1 组豚鼠的胁腹 6 小时。使用约束以保持贴剂上的均匀压力。在初次接触后的第 6-8 天和 13-15 天重复该程序。将阳性对照材料, HCA (α -己基肉桂醛) 的 2.5% w/v 的乙醇溶液, 以类似方式施用于第 3 组豚鼠。原始对照动物 (第 2 和 4 组) 在诱导期不经处理。

[0492] 最后一次诱导贴剂的两周后, 用由非刺激浓度的化合物 12 渗透的贴剂激发动动物, 施用于背侧的前右四分之一, 并沿着背侧前左四分之一施用激发量的水。用电动剪毛机剃去第 2 组动物 (原始对照) 的毛发并用化合物 12 处理背侧前右四分之一, 并沿着前左四分之一用载体处理。HCA 以 5.0% 和 7.0% w/v 的丙酮溶液以和诱导期相同的方法 (0.4mL 剂量体积) 给药至第 3 组每只动物的沿着右侧的两个相应的激发位置。用两种激发应用的阳性对照物质以和第 3 组相同的方法处理第 4 组动物。

[0493] 6 小时后, 除去贴剂并为该区域脱毛 (通过使用 **Nair®**)。在除去贴剂的 24 和 48 小时后目测评价试验位置。发生红斑反应的动物被认为是敏化的 (如果刺激对照动物没有反应)。计算阳性反应的数目和反应的平均强度。对激发剂量的反应决定敏化。假如观察到原始对照动物对该相同材料的等级小于 1 级, 则试验动物对各自材料的 1 级或更大等级指示敏化证据。如果原始对照动物中观察到 1 级或更大等级, 则超过最严重的原始对照反应的试验动物的反应被认为是敏化反应。

[0494] 3. 化合物 12 实验性大鼠皮肤研究

[0495] 在 TID 给药连续七天的大鼠内评价原型皮肤制剂 (1% 洗液、软膏和凝胶) 的安全性和耐受性 - 大约为 6cm² 施用 10mg/cm²。给出 1% DMSO 作为高生物利用度对照。图 23 说明化合物 12 在血清中可检测到。

[0496] 4. 化合物 12 实验性微型猪皮肤研究

[0497] 将这些制剂作为多次皮肤剂量 TID 给药于微型猪 7 天, 来评价各种化合物 12 制剂 (DMSO、凝胶、软膏、1% 洗液) 的耐受性和全身接触, 大约为 50cm² 施用 10mg/cm²。使用一种猪 / 剂量制剂。完成生命内 PK 分析。任何制剂均没有报导毒性。血浆 PK 显示所有组中化合物 12 的低水平, 低于 0.5ng/ml 的 LLOQ。

[0498] 大鼠和微型猪试验性研究显示, PK 结果与凝胶和软膏相似, 而且作为凝胶或软膏制剂, 评价化合物 12 在人体中是安全的。

[0499] 已经开发了原型 1% 局部皮肤制剂 (洗液、凝胶和软膏)。在人皮肤 Franz 细胞中化合物 12 到表皮和真皮的递送是良好的。洗液、凝胶和软膏的实验性毒理学研究显示 PK 说明良好的生物利用度。

[0500] 实施例 12 : 2 期试验变应性结膜炎

[0501] 将变应原给药到结膜以诱导眼睛痒和结膜发红来激发在过去 24 个月内具有眼睛过敏症的阳性病史以及对猫毛发、猫毛屑、狗毛屑、草、豚草属、树、尘螨和 / 或蟑螂的阳性皮试反应 (如通过阳性皮试显示) 的受试者。用防腐和非防腐的化合物 12 滴眼剂处理受试者。非防腐药物将作为无菌单位剂量在含有在 PBS 中配制的化合物 12 的单次使用的吹瓶 - 灌装 - 封口容器中提供。防腐药物将作为含有化合物 12 的无菌多次使用容器提供, 其中所述化合物 12 在含有防腐剂的 PBS 中配制。用防腐或非防腐制剂的不同剂量强度的化

合物 12 或安慰剂以 QD、BID 或 TID 治疗各组试验受试者。由各受试者自己将药物单滴给药至每只眼睛,按照指示,一天一次、两次或三次。给药剂量强度包括安慰剂 (PBS 载体)、0.1%、0.3%、1%和 5%的化合物 12 溶液。

[0502] 在登记时,用结膜刺激试验 (也称为“结膜变应原激发试验”)评价受试者对变应原的敏感性。提供药物给有发痒和变红反应至少 2.0[0-4 点尺度,0.5 点增量]的患者,并要求患者在患者日记中记录各药物剂量的给药。在登记后 6、7 天和 / 或 13、14 天在进行后续激发的随访中评价患者对变应原的反应 (发痒和变红)。这些随访中的激发发生在他们最后化合物 12 剂量后的可变时间内 (约 15 分钟、8 小时或 24 小时)。相反,患者用变应原激发,然后在激发后的可变时间 (5 分钟、10 分钟、20 分钟、40 分钟或 1 小时)用化合物 12 治疗。患者检查包括安全性、视敏度评价、裂隙灯检查、扩大的眼底检查。当在变应原激发后的前 10 分钟内评价时,比较化合物 12 和载体,眼发痒和充血的至少 1.0 点 [0-4 点尺度,0.5 点增量]的平均差异被认为是具有临床意义的。

[0503] 客观效果测度 (医师报导)包括:1) 结膜充血,2) 巩膜充血,3) 抱轮红赤和 4) 球结膜水肿。

[0504] 主观效果测度 (患者报导)包括:1) 眼睛痒,2) 眼睑炎,3) 鼻液溢,4) 鼻塞和 5) 鼻瘙痒。

[0505] 对于季节性过敏症,在对普通草和树花粉过敏的过敏症高发季节期间,每天以 QD、BID 或 TID 剂量治疗受试者,最多连续 8 周 (也称为“环境研究”)。评价客观和主观效果测定的相似的测度。

[0506] 对于环境或结膜刺激研究,在正常成年人和小儿患者中进行至少 6 个月的安全性试验。

[0507] 该试验的结果将支持以下控制要求:治疗或预防变应性结膜炎 (季节性和长期性两者)的体征和症状;变应性结膜炎的类固醇保守治疗 - 没有类固醇安全性事件 (青光眼、白内障);化合物 12 可与肥大细胞稳定剂和抗组胺剂联合使用以提高或延长有效性;过敏症的眼和鼻体征和症状的治疗。

[0508] 实施例 13:对于干眼症的 2 期试验

[0509] 以防腐或非防腐的化合物 12 滴眼剂在 12 周 (有效性试验)和直到 1 年 (安全性试验)内治疗患有中度或严重干眼症的受试者。非防腐药物将作为无菌单位剂量在含有化合物 12 的单次使用的吹瓶 - 灌装 - 封口容器中提供,其中所述化合物 12 在 PBS 中配制。防腐药物将作为含有化合物 12 的无菌多次使用容器提供,其中所述化合物 12 在含有防腐剂的 PBS 中配制。用防腐或非防腐制剂中的不同剂量强度的化合物 12 或安慰剂以 QD 或 BID 治疗各组试验受试者。由各受试者自己将药物单滴给药至每只眼睛,一天一次或两次。给药的剂量强度包括安慰剂 (PBS 载体)、0.1%、0.3%、1%和 5%的化合物 12 溶液。

[0510] 在登记时,将评价受试者的干眼症体征和症状。提供给患者药物并要求患者在患者日记中记录各药物剂量的给药。将在第 2 周、第 4 周、第 6 周、第 8 周和 / 或第 12 周结束时的随访中评价患者的干眼症体征和症状。患者检查包括安全性、视敏度评价、裂隙灯检查、扩大的眼底检查。将在正常办公室条件 (称为“环境”条件)的门诊部和在长时间暴露于受控环境 (即受控湿度、温度、气流和目视工作;也称为“受控周围环境”)期间和 / 或之后立即测量终点。

[0511] 客观临床效果测度包括：1) 用荧光素染色角膜，2) 用丽丝胺绿染色结膜，3) 用荧光素的泪液膜破裂时间，4) 有和没有麻醉的 Schirmer 泪液试验，5) 结膜印迹细胞学 (ICAM-1)，6) 泪液渗透压，7) 眨眼率，8) 眼充血，9) Cochet Bonnet 角膜敏感度，10) 泪液荧光光度测定法，和 11) 眼睛保护指数。

[0512] 主观临床效果测度包括：1) 眼表面疾病指数，2) 患者总体自我评定（自我记分的 eye不适），3) 视觉模拟尺度，和 4) 舒适性下降（耐受性评定）。

[0513] 该试验的结果将支持在伴随使用或不使用润滑滴眼剂的情况下治疗或预防干燥性角膜结膜炎（干眼症）的体征和症状的控制要求。

[0514] 实施例 14：糖尿病性视网膜病 (DR) 和糖尿病性黄斑水肿 (DME)

[0515] DR 和 DME 是白细胞介导的疾病。白细胞粘附到毛细血管上皮细胞在局部缺血再灌注机制中似乎是决定性的。

[0516] 人体研究

[0517] 用化合物 12 的防腐和非防腐滴眼剂治疗患有 I 型或 II 型糖尿病的受试者，直至 3 年。非防腐药物将作为无菌单位剂量在含有化合物 12 的单次使用的吹瓶 - 灌装 - 封口容器中提供，其中所述化合物 12 在 PBS 中配制。防腐药物将作为含有化合物 12 的无菌多次使用容器提供，其中所述化合物 12 在含有防腐剂的 PBS 中配制。用防腐或非防腐制剂中的不同剂量强度的化合物 12 或安慰剂以 QD、BID 或 TID 治疗各组试验受试者。由各受试者自己将药物单滴给药至每只眼睛，一天一次、两次或三次。给药的剂量强度包括安慰剂 (PBS 载体)、0.1%、0.3%、1% 和 5% 的化合物 12 溶液。为提高患者顺从性，化合物 12 可以缓释剂型给药，该缓释剂型在研究过程中将药物递送至视网膜。

[0518] 在登记时，患者必须已经诊断为 I 型或 II 型糖尿病和非增生性糖尿病性视网膜病。患者也可以伴随有糖尿病性黄斑水肿。提供给患者药物，并要求患者在患者日记中记录各药物剂量的给药。在整个研究期间，每 2 个月评价患者。各患者检查包括安全性、视敏度评价、裂隙灯检查、扩大的眼底检查。

[0519] 客观效果测度包括：1) 使用糖尿病性视网膜病的早期治疗 (ETDRS) 法在 4 米处最好的矫正视力，2) 由光学相干层析成像 (OCT) 测量视网膜厚度减少，和 3) 糖尿病性视网膜病的发展。

[0520] 主观临床效果测度包括：1) 改善 NEI-VFQ 25 及其他有效的患者报导的输出仪器。

[0521] 化合物 12 预期显示保持或改善视敏度；预防、治疗和 / 或减少黄斑水肿。该试验的结果将支持以下控制要求：在 4、8 周、1、2 和 3 年内预防糖尿病性视网膜病发展，并使用化合物 12 与焦点和栅格激光、玻璃体内类固醇、光动力学疗法和 / 或抗 VEGF 疗法结合。

[0522] 糖尿病性黄斑水肿 (DME) 大鼠 STZ 模型的实验性研究。抗 ICAM 抗体在 DME 的大鼠 STZ 模型中显示有效。在大鼠中的化合物 12 放射性标记分布研究证实递送至视网膜。STZ (链脲霉素) 用于产生 1 型糖尿病的动物模型。使用化合物 12 的最终 STZ 大鼠研究将包括 5 组共 18 只动物。第 1 组是正常的 SD 大鼠，其不接受治疗。第 2 组是 STZ 大鼠，其接受载体滴剂 BID/2 个月。第 3 组是 STZ 大鼠，其接受 1% 化合物 12 滴剂 BID/2 个月。第 4 组是 STZ 大鼠，其接受 5% 化合物 12 滴剂 BID/2 个月。第 5 组是 STZ 大鼠，其接受塞来考昔阳性对照。该研究的终点包括：视网膜 FITC- 葡聚糖渗漏、玻璃状 - 血浆蛋白质比率、髓过氧化物酶试验和视网膜白细胞停滞 (leukostasis)。

[0523] 如美国专利申请 No. 20080019977 所述,使用吲哚橙白细胞荧光照像术 (AOLF) 和荧光素血管造影术研究白细胞停滞。用 AOLF 研究视网膜中的白细胞动力学 (Miyamoto, K., et al., Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 39 :2190-2194(1998) ;Nishiwaki, H., et al., Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 37 :1341-1347(1996) ;Miyamoto, K., et al., Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 37 :2708-2715(1996))。静脉注射吲哚橙通过使分子非共价结合到双链核酸引起白细胞和内皮细胞发荧光。当使用激光扫描眼底镜时,血管中的视网膜白细胞可以在体内显现。注射吲哚橙后二十分钟,可以观察到毛细血管床中的静态白细胞。观察并记录静态白细胞后立即进行荧光素血管造影术,以研究静态白细胞和视网膜脉管系统之间的关系。

[0524] 进行 AOLF 和荧光素血管造影术前二十四小时,所有大鼠具有肝素锁导管,其手术植入右颈静脉用于给药吲哚橙或荧光素钠染料。该导管皮下固定在颈的背部。该过程中用盐酸甲苯噻嗪 (4mg/kg) 和盐酸氯胺酮 (25mg/kg) 麻醉大鼠。AOLF 之前,再次麻醉大鼠,用 1% 托吡卡胺扩大左眼瞳孔以观察白细胞动力学。用激光扫描眼底镜 (SLO) 获得左眼视乳头周基底的聚焦图像。将吲哚橙溶解在无菌盐水 (1.0mg/ml) 中,并通过颈静脉导管以 1ml/分的速度注入 3mg/kg。用 SLO 观察基底,使用氩蓝色激光作为照明源,标准荧光素血管造影术滤光片在 40° 空间设置 1 分钟。二十分钟后,再次观察基底,以评价视网膜中的白细胞停滞。评价视网膜白细胞停滞,立即将 20 μ l 的 1% 荧光素钠染料注入颈静脉导管。以 30 帧 / 秒的速度在录像带上记录影像。在配备有视频数字化仪的电脑上分析视频记录,所述视频数字化仪用 256 级的强度分辨率实时 (30 帧 / 秒) 将视频图像数字化为 640X480 像素。为了评价视网膜白细胞停滞,通过绘制由相邻主要视网膜血管围绕的多边形,来确定测量十个盘直径的围绕视神经盘的观察区域。以像素测量该面积,通过将捕获的白细胞 (识别为荧光点) 的数目除以观察区域的面积来计算捕获白细胞的密度。一般在八个视乳头周观察面积中计算白细胞密度,并平均所述八个密度值获得平均密度。

[0525] 化合物 12 预期减少 STZ 处理大鼠的白细胞停滞和血液 - 视网膜屏障渗漏。

[0526] 实施例 15 :年龄相关的黄斑变性 (AMD)

[0527] 用化合物 12 滴眼剂的防腐和非防腐制剂治疗患有湿或干 AMD 的受试者,长达 3 年。非防腐药物将作为无菌单位剂量在含有化合物 12 的单次使用的吹瓶 - 灌装 - 封口容器中提供,其中所述化合物 12 在 PBS 中配制。防腐药物将作为含有化合物 12 的无菌多次使用容器提供,其中所述化合物 12 在含有防腐剂的 PBS 中配制。用防腐或非防腐制剂的不同剂量强度的化合物 12 或安慰剂以 QD、BID 或 TID 治疗各组试验受试者。由各受试者自己将药物单滴给药至每只眼睛,一天一次、两次或三次。给药剂量强度包括安慰剂 (PBS 载体)、0.1%、0.3%、1% 和 5% 的化合物 12 溶液。为提高患者顺从性,化合物 12 可以缓释剂型给药,该缓释剂型在研究过程中递送至视网膜。

[0528] 在登记时,患者必须已经诊断为湿或干 AMD。患者也可以伴随有糖尿病性黄斑水肿。提供给患者药物,并要求患者在患者日记中记录各药物剂量的给药。在整个研究期间,每 2 个月评价患者。各患者检查包括安全性、视敏度评价、裂隙灯检查、扩大的眼底检查。

[0529] 客观测度包括 :最佳矫正视力 ;预防地图状萎缩的发展 ;和预防转化为新生血管 (湿 AMD)。

[0530] 该试验的结果将支持以下控制要求 :预防与干 AMD 有关的地图状萎缩 ;可以与遗

传生物标志物或其他类型的预测高风险受试者的诊断研究联合应用；并可与抗氧化剂和/或抗新生血管剂或抗 VEGF 试剂联合应用。

[0531] 实施例 16 :2 期试验特应性皮炎

[0532] 用化合物 12 治疗患有特应性皮炎的受试者,最长直到 12 个月。以含有化合物 12 的适于局部施用的皮肤病制剂(霜剂、洗液、凝胶或软膏)提供药物。用制剂中不同剂量强度的化合物 12 滴眼剂或安慰剂以 QD、BID 或 TID 治疗各组试验受试者。由各受试者通过将药物轻柔擦拭在患处自己给药。给药的剂量强度包括安慰剂(载体)、0.1%、0.3%、1%和 2%的化合物 12 制剂。为提高效果,可以用封闭敷料覆盖在治疗区域上。为改善患者顺从性,药物可作为缓释药物-浸渍贴剂给药。

[0533] 在登记时,患者必须已经诊断为特应性皮炎。提供给患者药物,并要求患者在患者日记中记录各药物剂量的给药。在整个研究期间,每 2 个星期评价患者。各患者检查包括安全性和耐受性评价。效果测定包括医师的总体评价、病变体表面积的增加或瘙痒分数的减少。

[0534] 该试验的结果支持治疗特应性皮炎的控制要求。

[0535] 实施例 17 :Crohn 病、溃疡性结肠炎或 IBD

[0536] 用化合物 12 治疗患有 Crohn 病、溃疡性结肠炎或 IBD 的受试者,最长直至 12 个月。以含有化合物 12 的适于口服的制剂(溶液、药丸或胶囊)提供药物。典型的口服溶液剂型包括溶解于 PBS 中的化合物 12,其 pH 调节至 7。用制剂中的不同剂量强度的化合物 12 或安慰剂制剂以 QD、BID 或 TID 治疗各组试验受试者。由各受试者自己口服药物。给药剂量强度包括安慰剂(载体)、制剂中的 1mg/剂、5mg/剂、10mg/剂和高达 100mg/剂的化合物 12。

[0537] 在登记时,患者必须已经诊断为 Crohn 病、溃疡性结肠炎或 IBD。提供给患者药物,并要求患者在患者日记中记录各药物剂量的给药。化合物 12 可以和现有的抗炎剂(例如,水杨酸盐)和免疫抑制剂(氨甲喋呤、类固醇、抗体)联合使用。

[0538] 在整个研究期间,每 2 个星期评价患者。各患者检查包括安全性和耐受性评价。效果测定包括 Crohn 病活性指数(CDAI);溃疡性结肠炎疾病活性指数或类似指标。

[0539] 该试验的结果将支持缓解 Crohn 病、溃疡性结肠炎和/或 IBD 的治疗和维持的控制要求。

[0540] 此处显示并描述了本发明的优选实施方案,对于本领域技术人员而言,很明显这样的实施方式仅是举例。本领域技术人员可以在不离开本发明的基础上对本发明进行许多变动、改变和替换。将理解,此处描述的本发明实施方式的各种替换可以用于实施本发明。意欲使以下权利要求限定本发明范围,并因此覆盖这些权利要求范围内的方法和结构及其等价物。

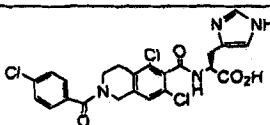
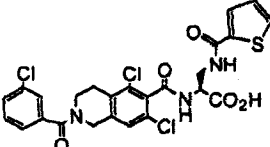
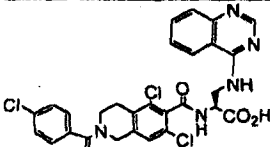
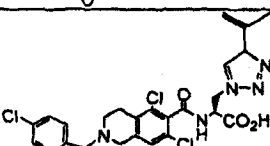
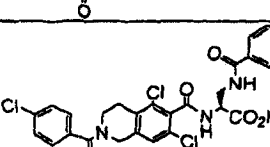
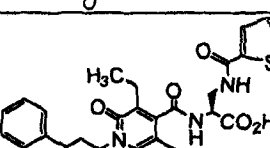
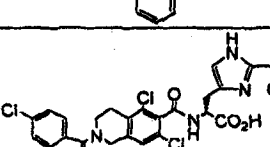
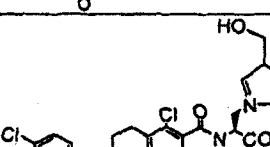
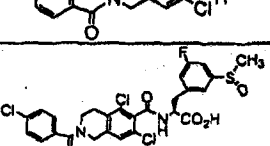
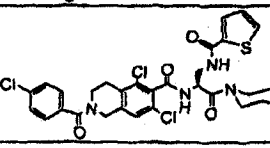
No.	结构	Hut78 EC50 (μ M)	SEB 10% HS EC50 (μ M)	MDCK AB (cm/sec)	MDCK BA (cm/sec)	大鼠 IV CI (mL/min/kg)
1		**				##
2		****	++	//	/	##
3		****	+	//	//	##
4		***		//	//	##
5		****	+			##
6		****		///	///	##
7		****		/	//	##
8		***		//	///	##
9		****	+++			##
10				//	///	##

图 1

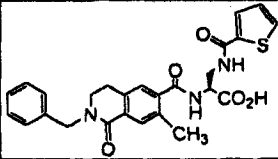
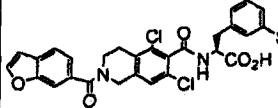
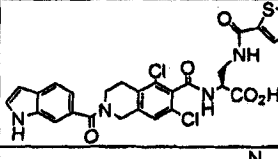
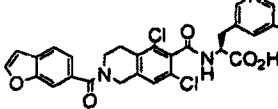
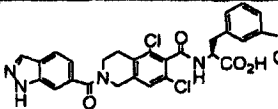
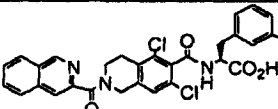
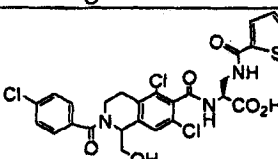
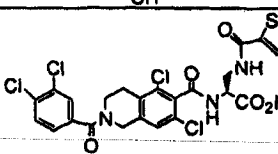
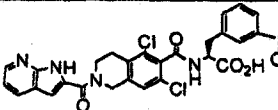
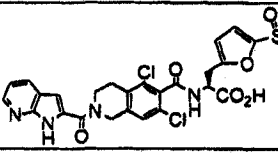
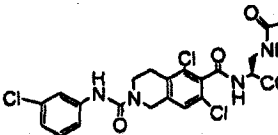
No.	结构	Hut78 EC50 (μ M)	SEB 10% HS EC50 (μ M)	MDCK AB (cm/sec)	MDCK BA (cm/sec)	大鼠 IV CI (mL/min/kg)
11		*		//	//	##
12		****	++++			##
13		****	+	//	//	##
14		****	++++			##
15		****	++++			##
16		****	+++			##
17		****		//	///	##
18		****	+			#
19		****	+++			#
20		****	++++			#
21		****		//	//	#

图1(续)

No.	结构	Hut78 EC50 (μ M)	SEB 10% HS EC50 (μ M)	MDCK AB (cm/sec)	MDCK BA (cm/sec)	大鼠 IV Cl (mL/min/kg)
22		****	+++			#
23		****	++++			#
24		****	+	//	///	#
25		****	+++			#
26		****				#
27		****	+++			#
28		****	+++			#
29		*		//	/	#
30		****	++++			#
31		****	+			#
32		****	+++			#

图1(续)

No.	结构	Hut78 EC50 (μ M)	SEB 10% HS EC50 (μ M)	MDCK AB (cm/sec)	MDCK BA (cm/sec)	大鼠 IV CI (mL/min/kg)
33		****	++++			#
34		****	+	//	//	#
35		****				#
36		****	+++			#
37		***	+++			#
38		****	+	///	//	#
39		****		///	///	#
40		**				#
41		****	++++			#
42		*	++			#
43		****	++++			#

图1(续)

No.	结构	Hut78 EC ₅₀ (μ M)	SEB 10% HS EC ₅₀ (μ M)	MDCK AB (cm/sec)	MDCK BA (cm/sec)	大鼠 IV Cl (mL/min/kg)
44		****	++++			#
45		****	+	//	//	#
46		***	++			#
47		****		/	/	#
48		****		/	/	#
49		***	+++	//	//	#

Hut78 EC₅₀ 列中的符号表示以下 EC₅₀ 值:

*	3 μ M 或更低
**	300 nM 或更低
***	100 nM 或更低
****	50 nM 或更低

SEB10%HSEC₅₀ (μ M) 中的符号表示以下 EC₅₀ 值:

+	15 μ M 或更低
++	1.5 μ M 或更低
+++	500 nM 或更低
++++	150 nM 或更低

MDCK AB 和 BA 的得分范围

/	最高 0.2 cm/sec
//	0.2 至 1 cm/sec
///	大于 1 cm/sec

大鼠 IV Cl 的得分范围

#	最高 100 mL/min/kg
##	大于 100 mL/min/kg

图 1(续)

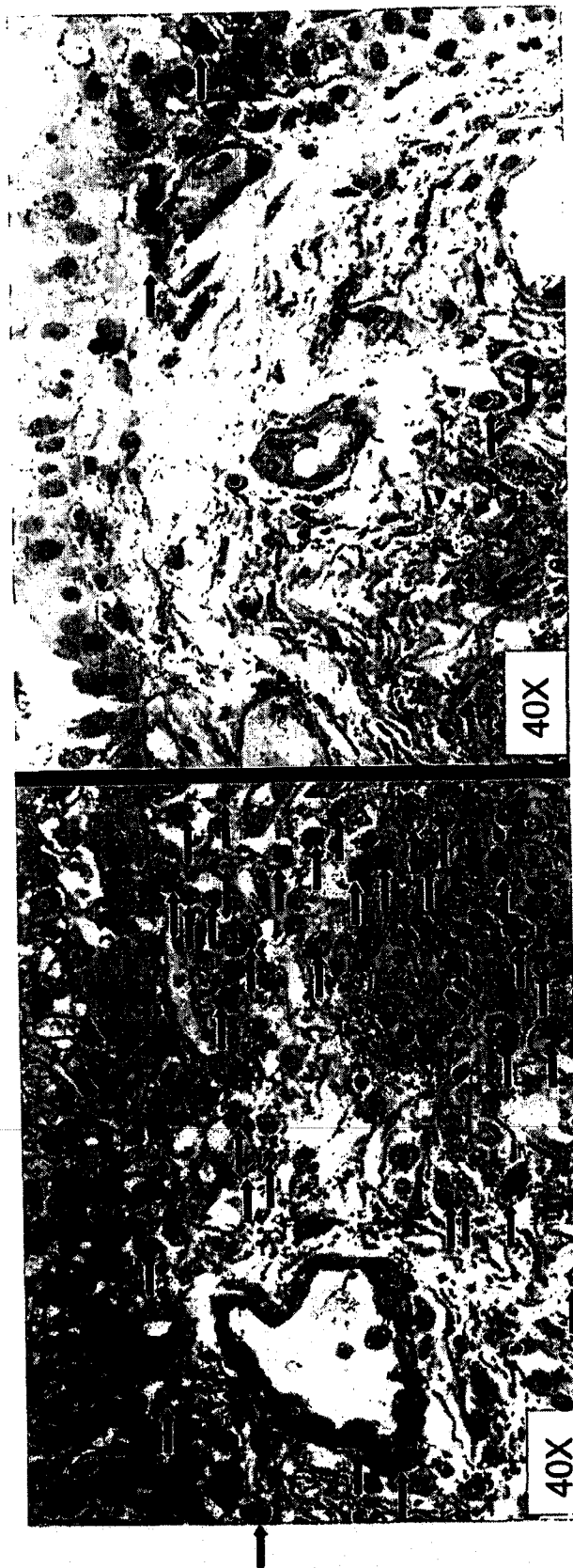


图 2

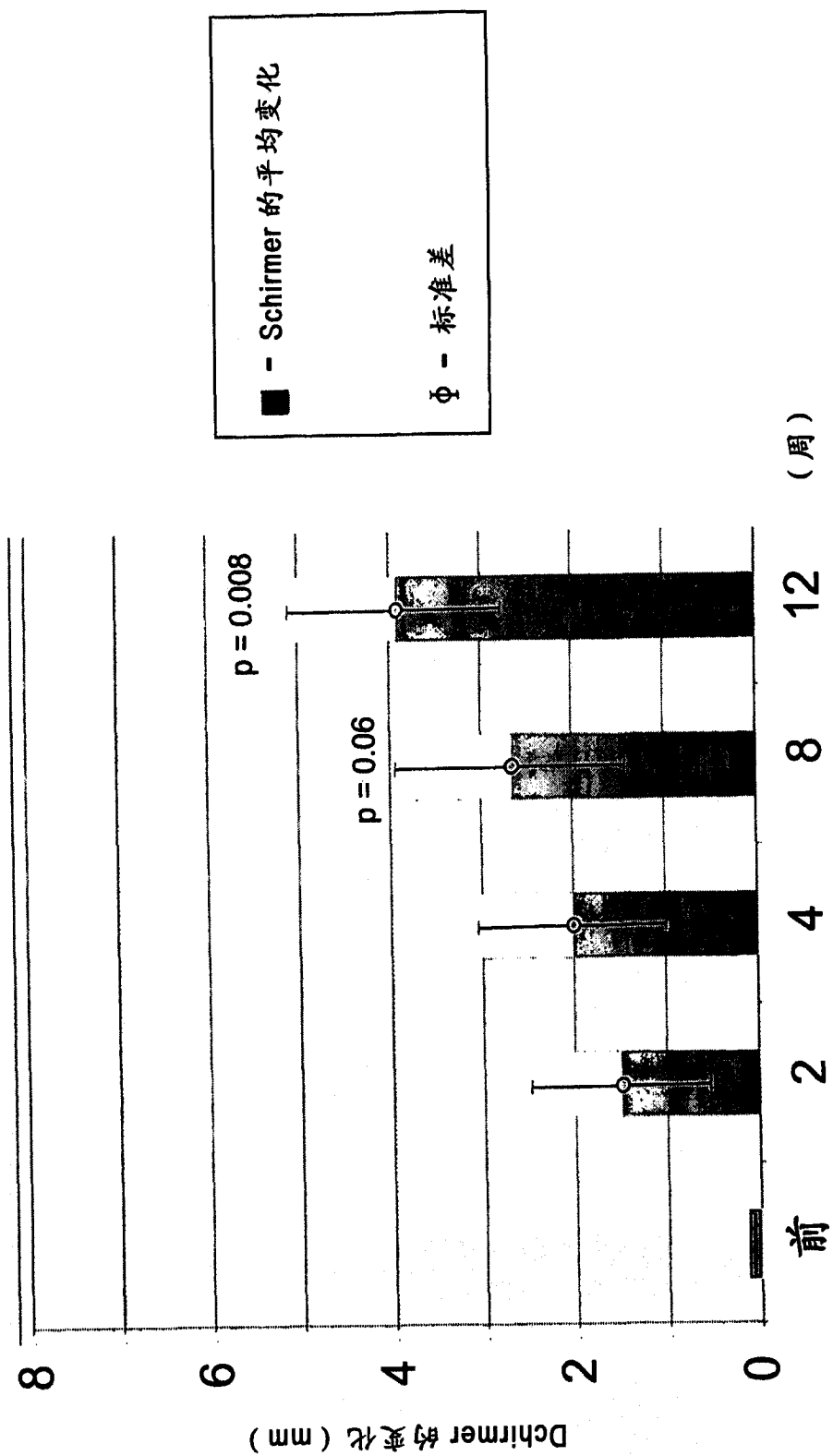


图 3

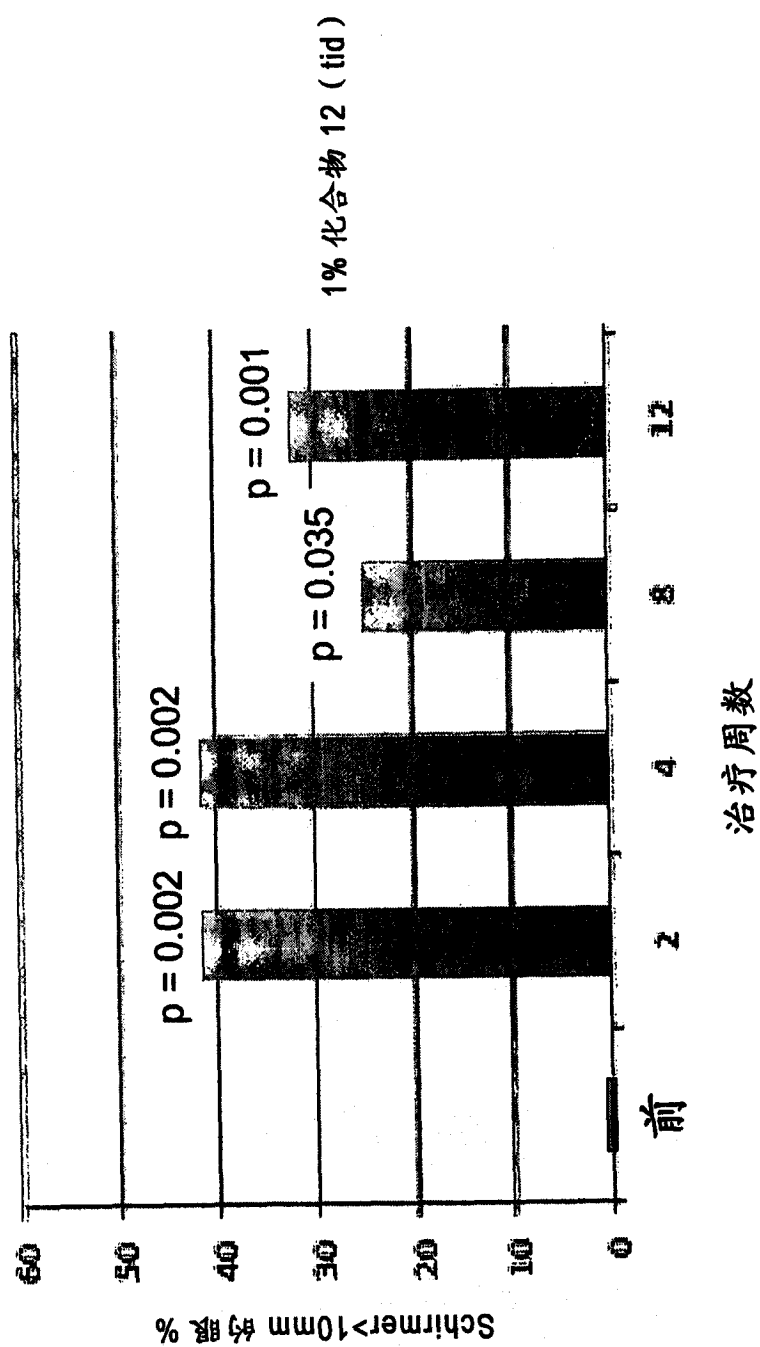
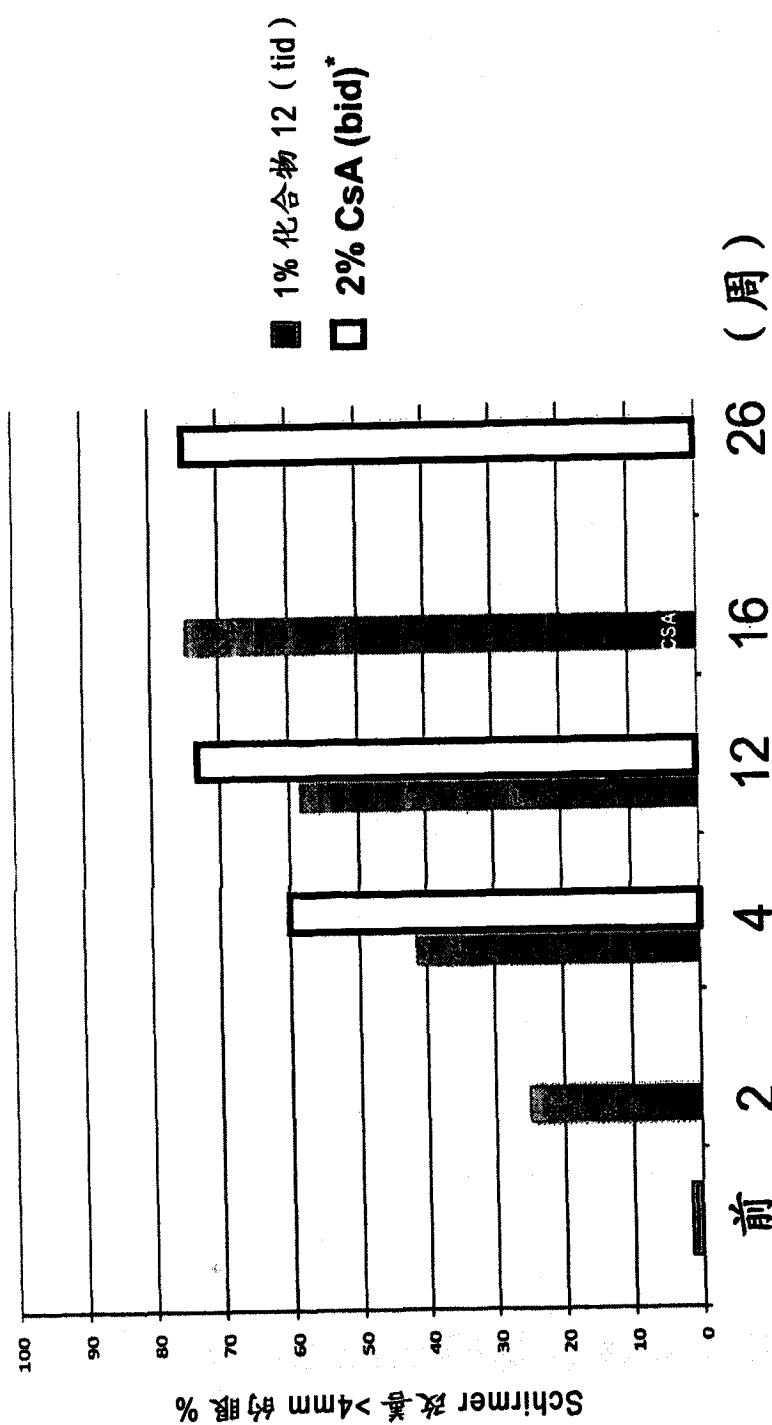


图 4



* Morgan et al., J. Am. Vet. Med. Assoc., 199, 1043-1046 (1991)

图 5

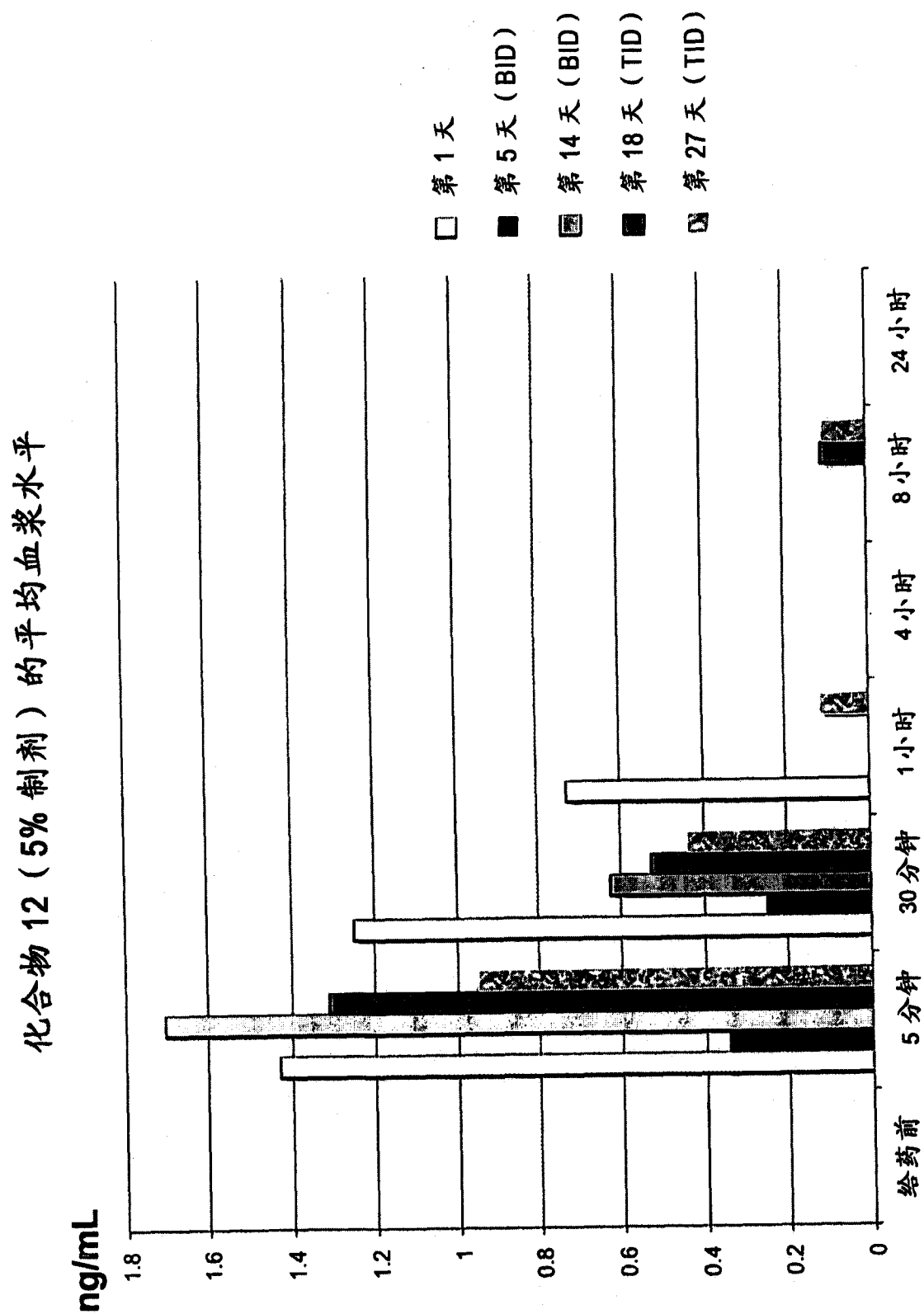


图 6

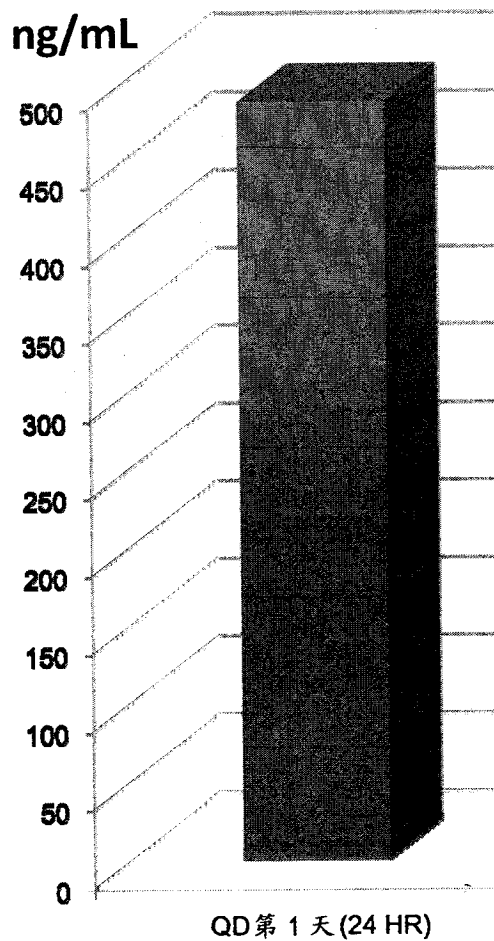
化合物 12 (1% 制剂) 的泪液 $C_{\min}$ 水平

图 7

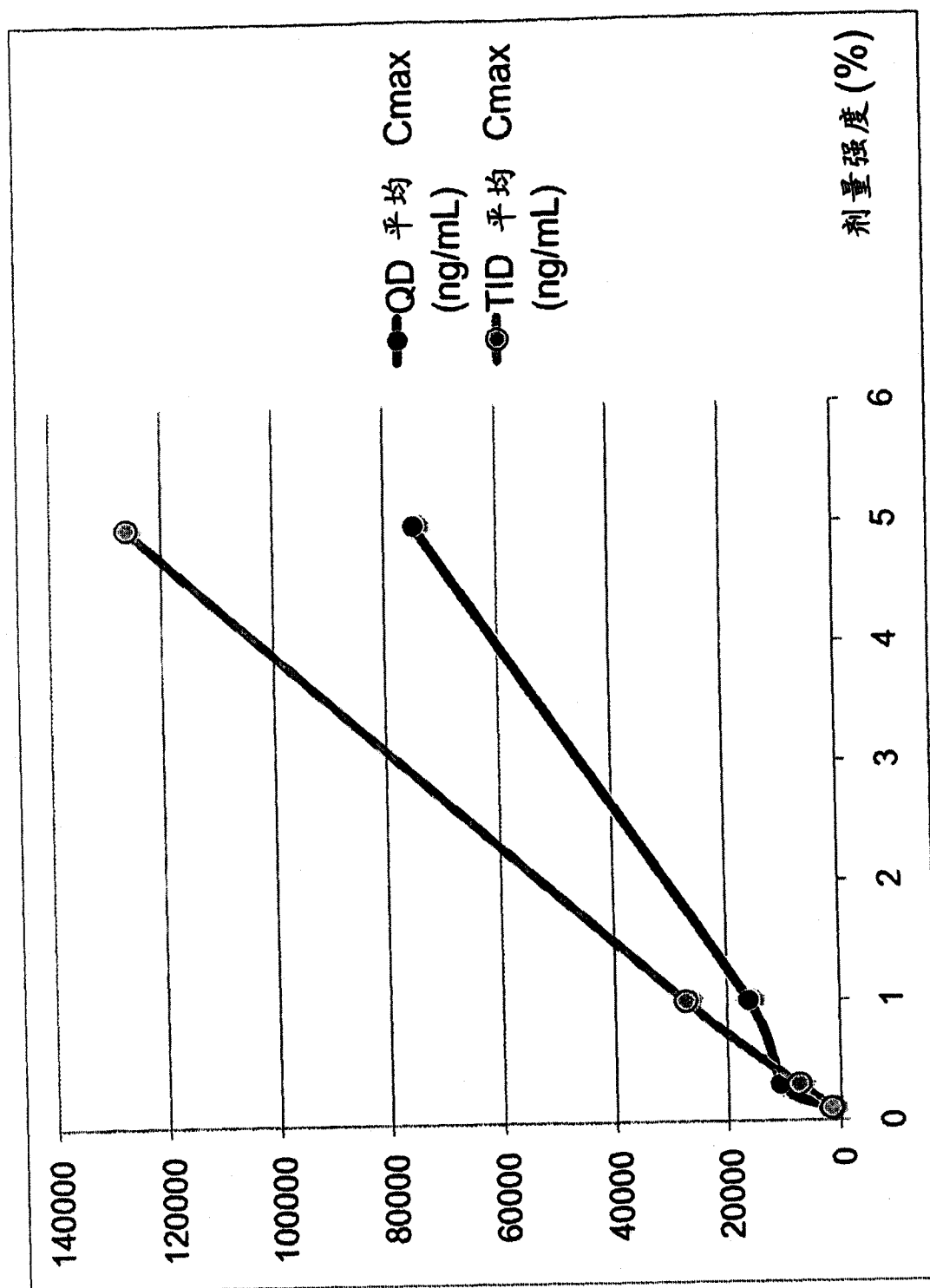


图 8

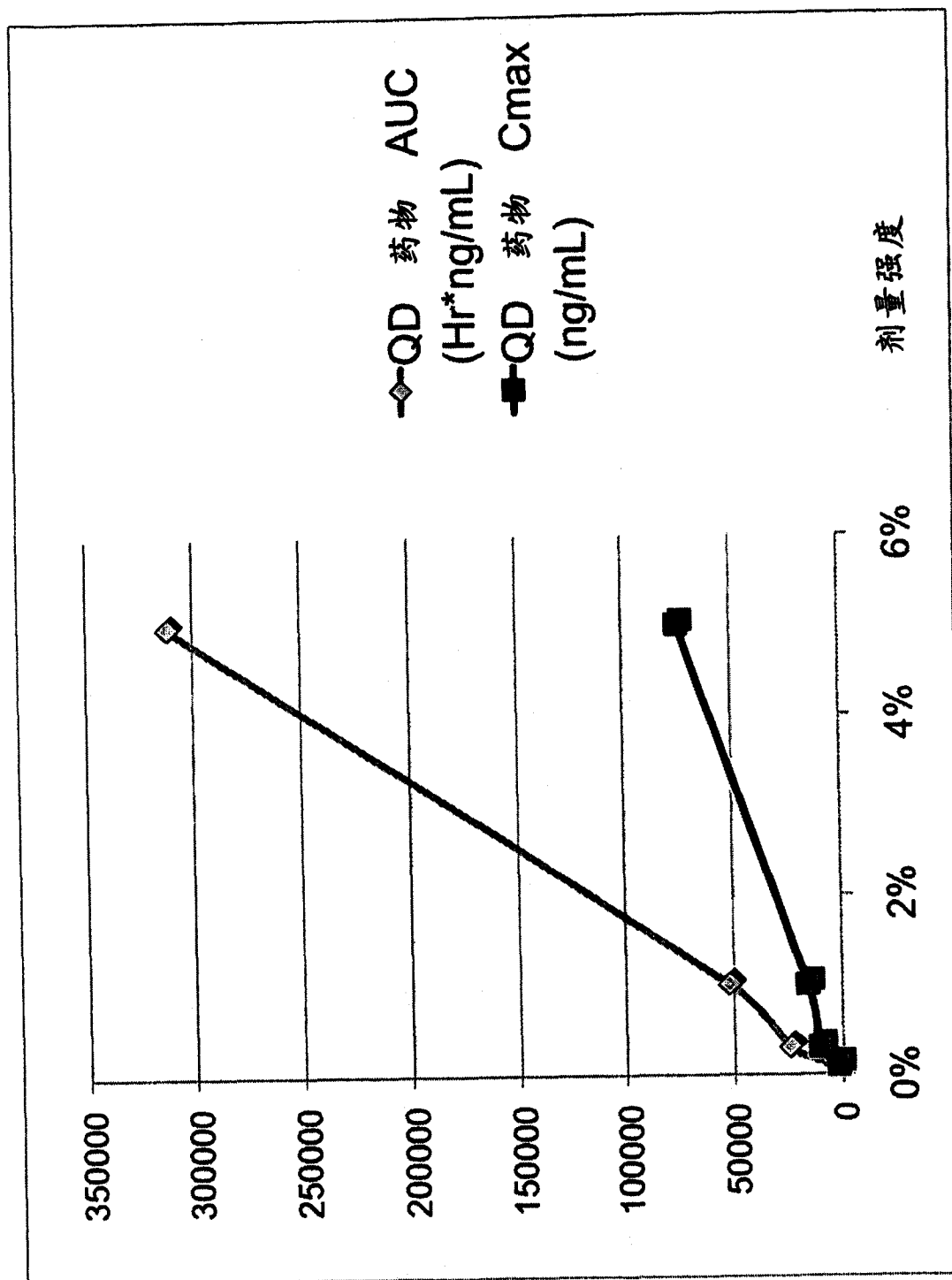


图 9

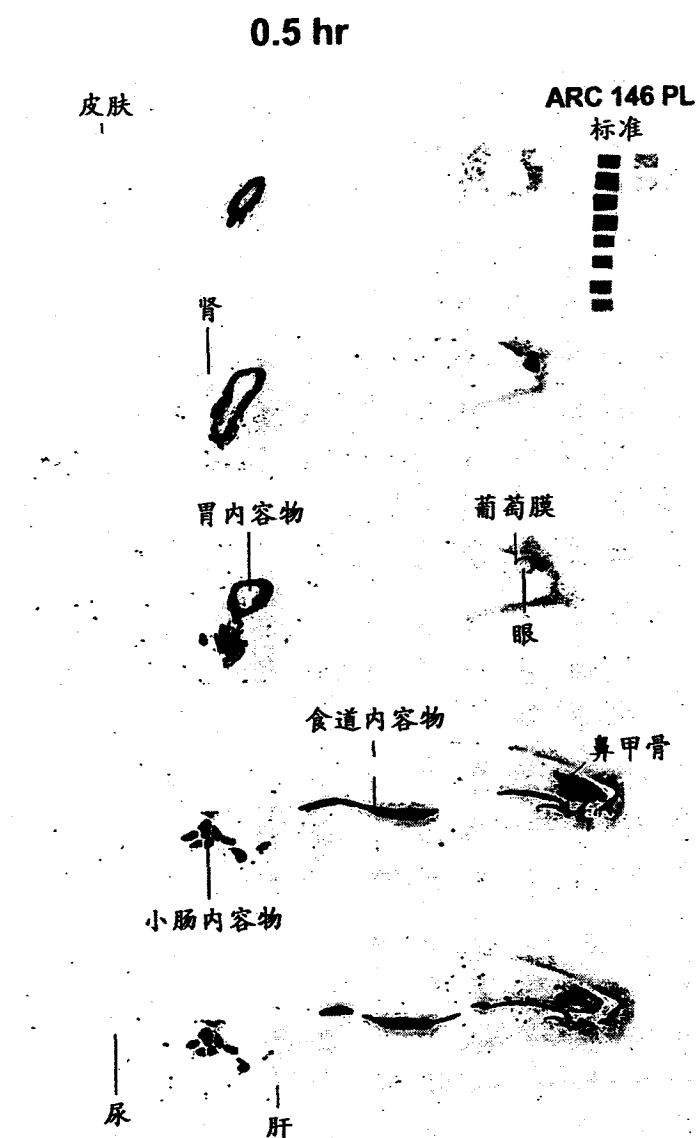


图 10

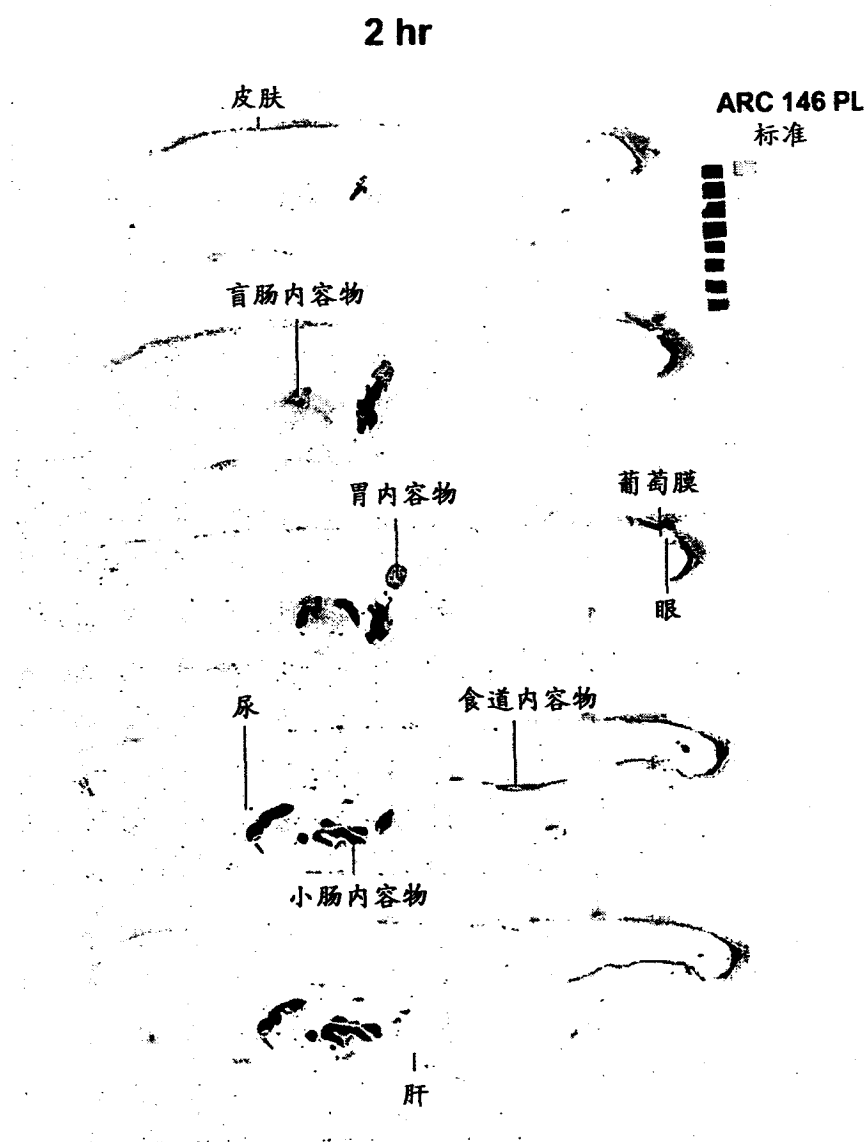


图 11

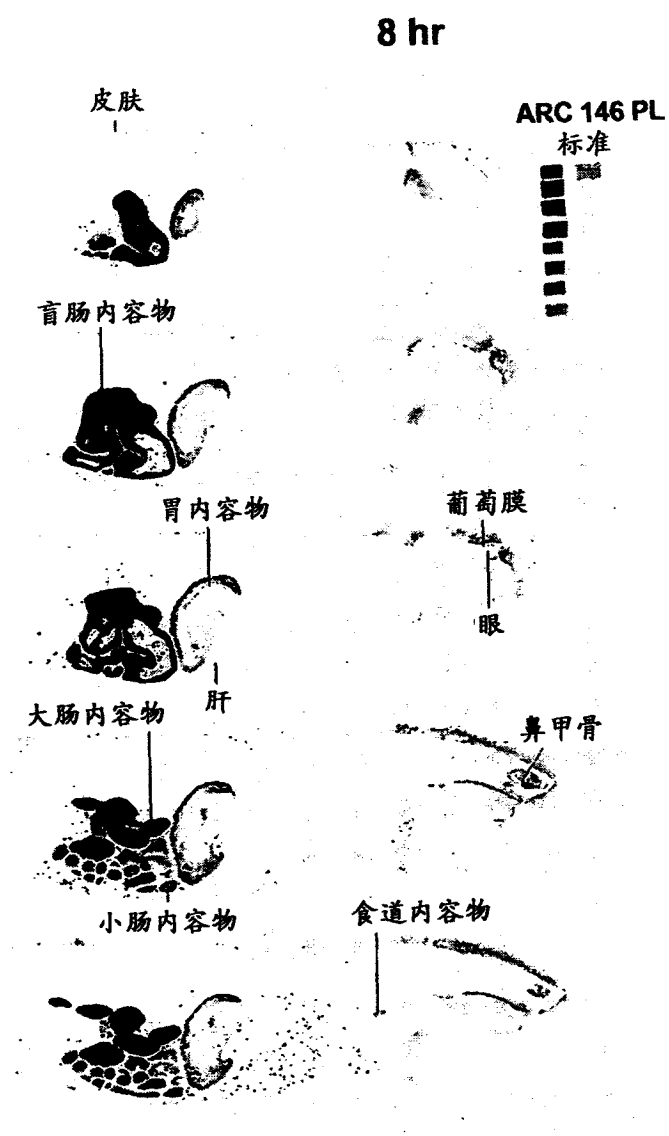


图 12

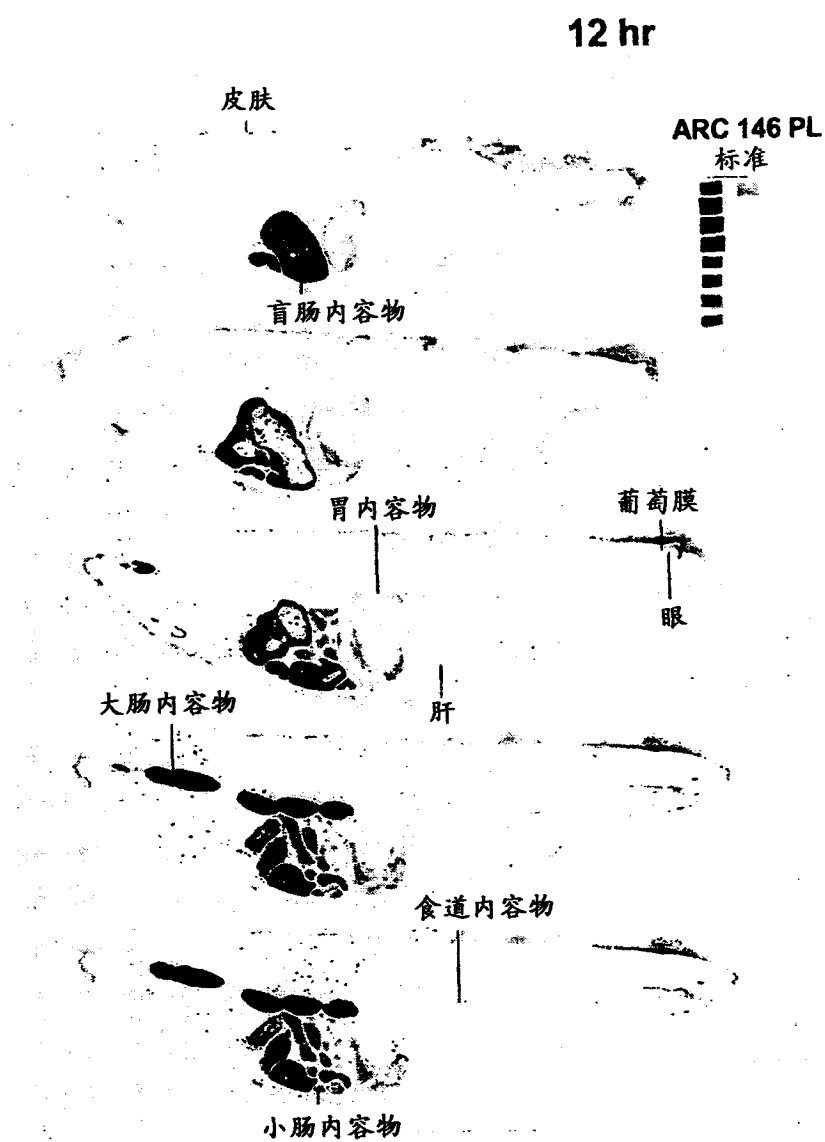


图 13

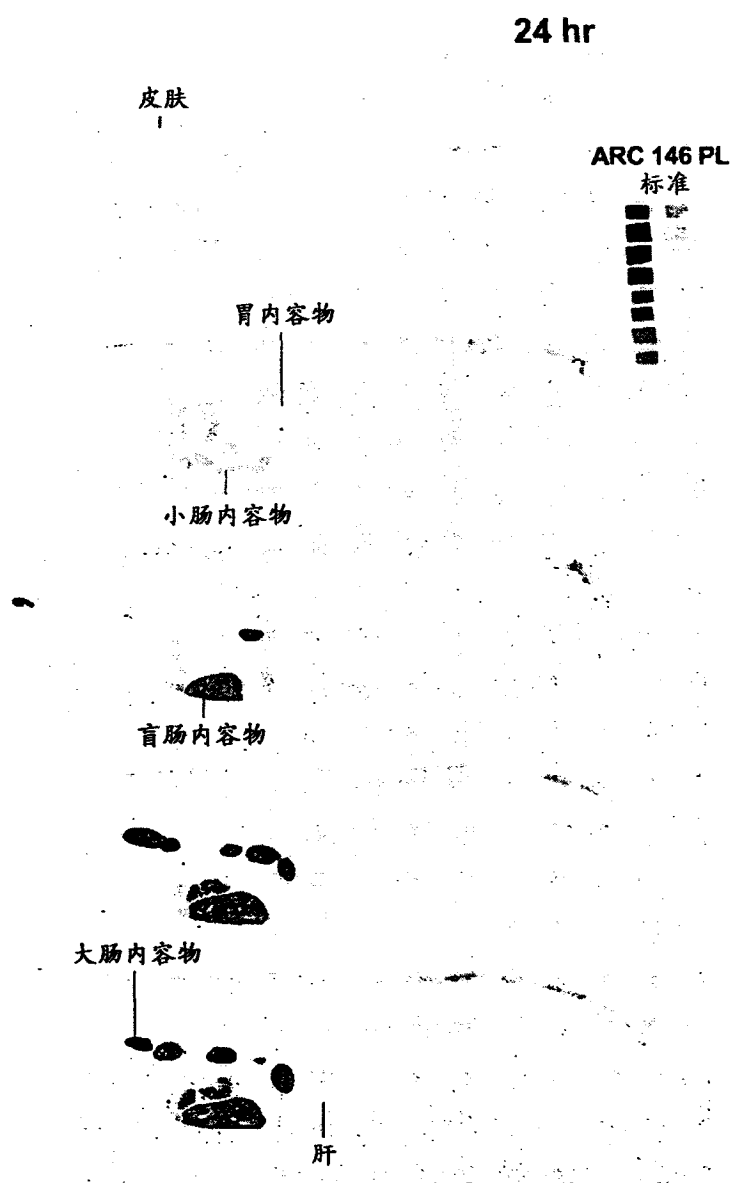
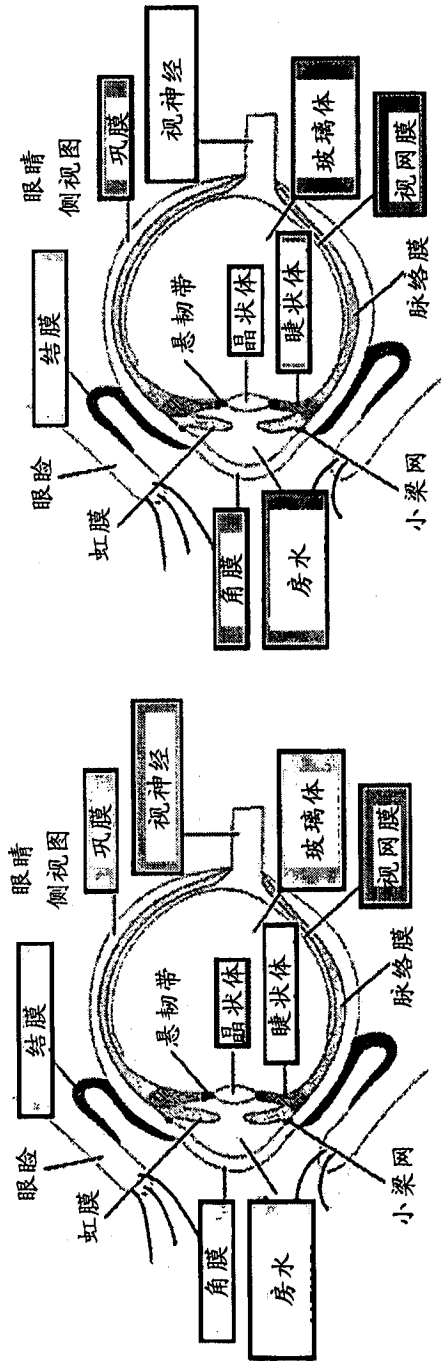


图 14

大鼠眼药代动力学

30 分钟 4 小时



[¹⁴C]-化合物 12 的浓度

图 15

狗眼药代动力学

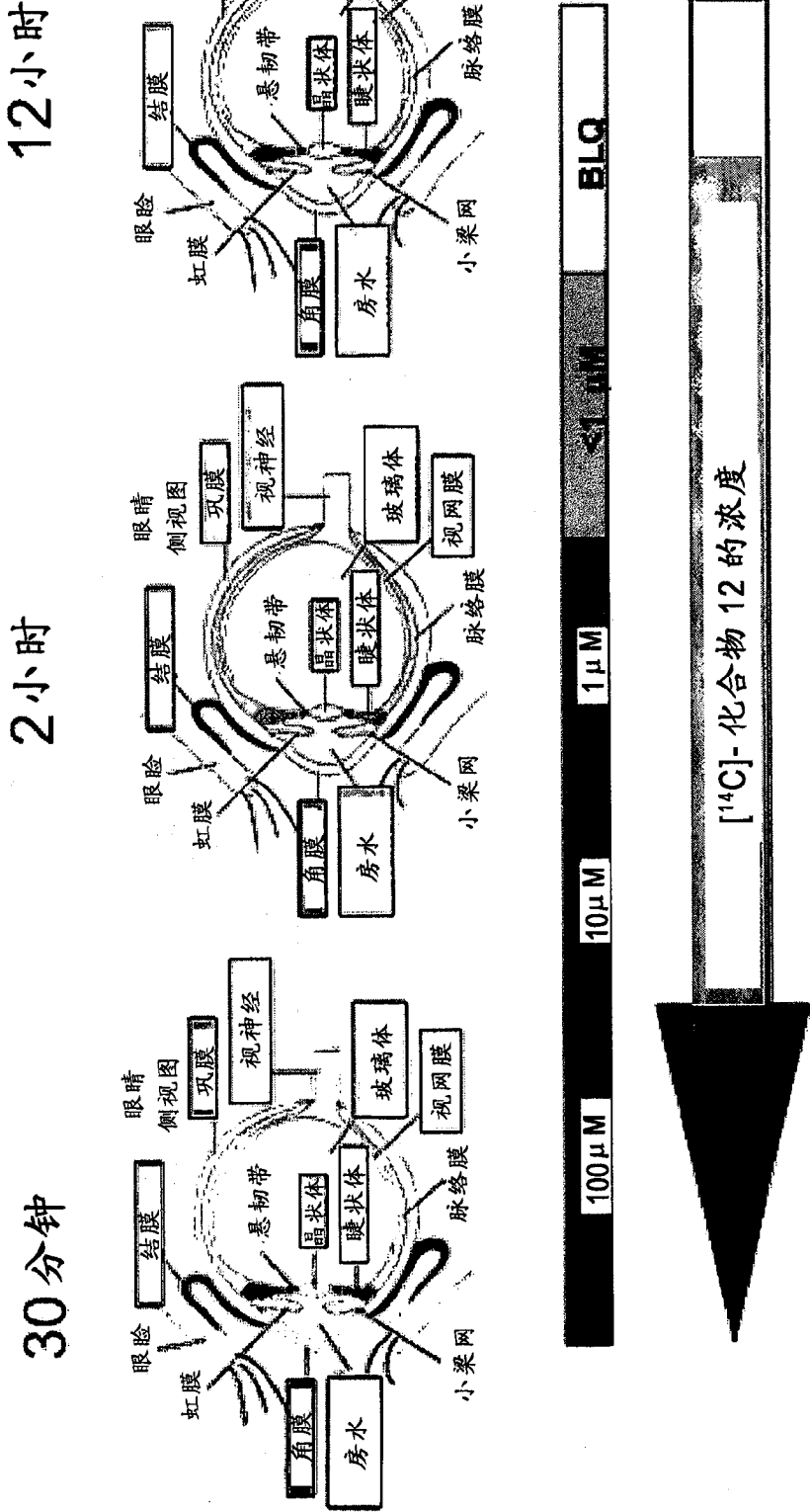
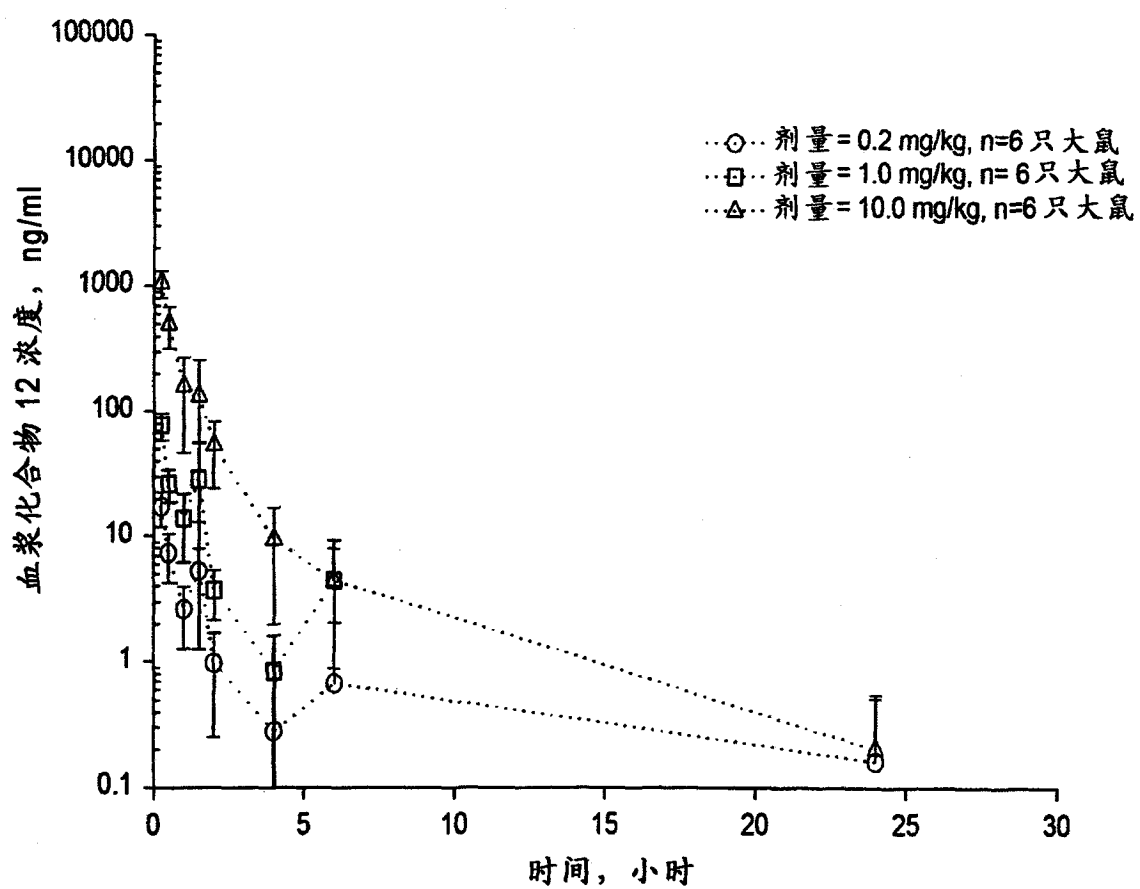
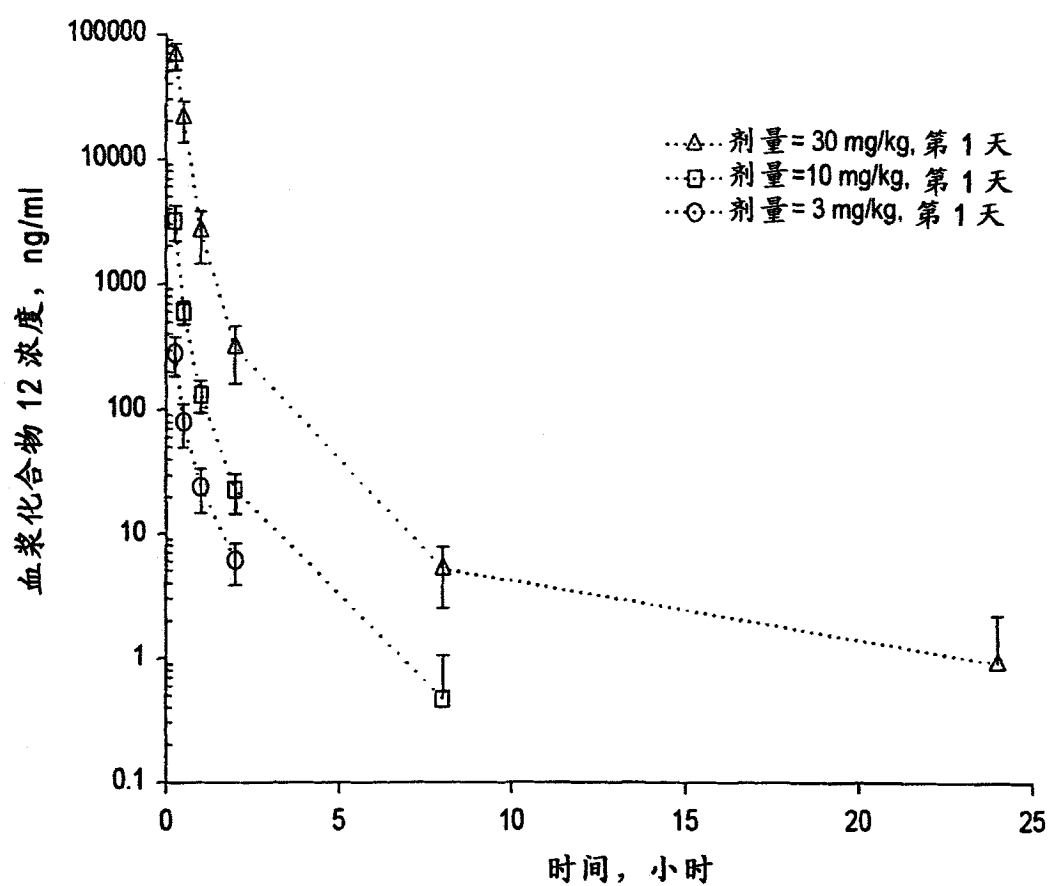


图 16



第 1 天静脉注射测试物后化合物 12
的平均 (SD) 血浆浓度

图 17



第 1 天单次静脉内给药 3,10 或 30mg/kg 测试物后
雄性和雌性狗 (n=6-10) 中的平均 (SD)
血浆化合物 12 浓度

图 18

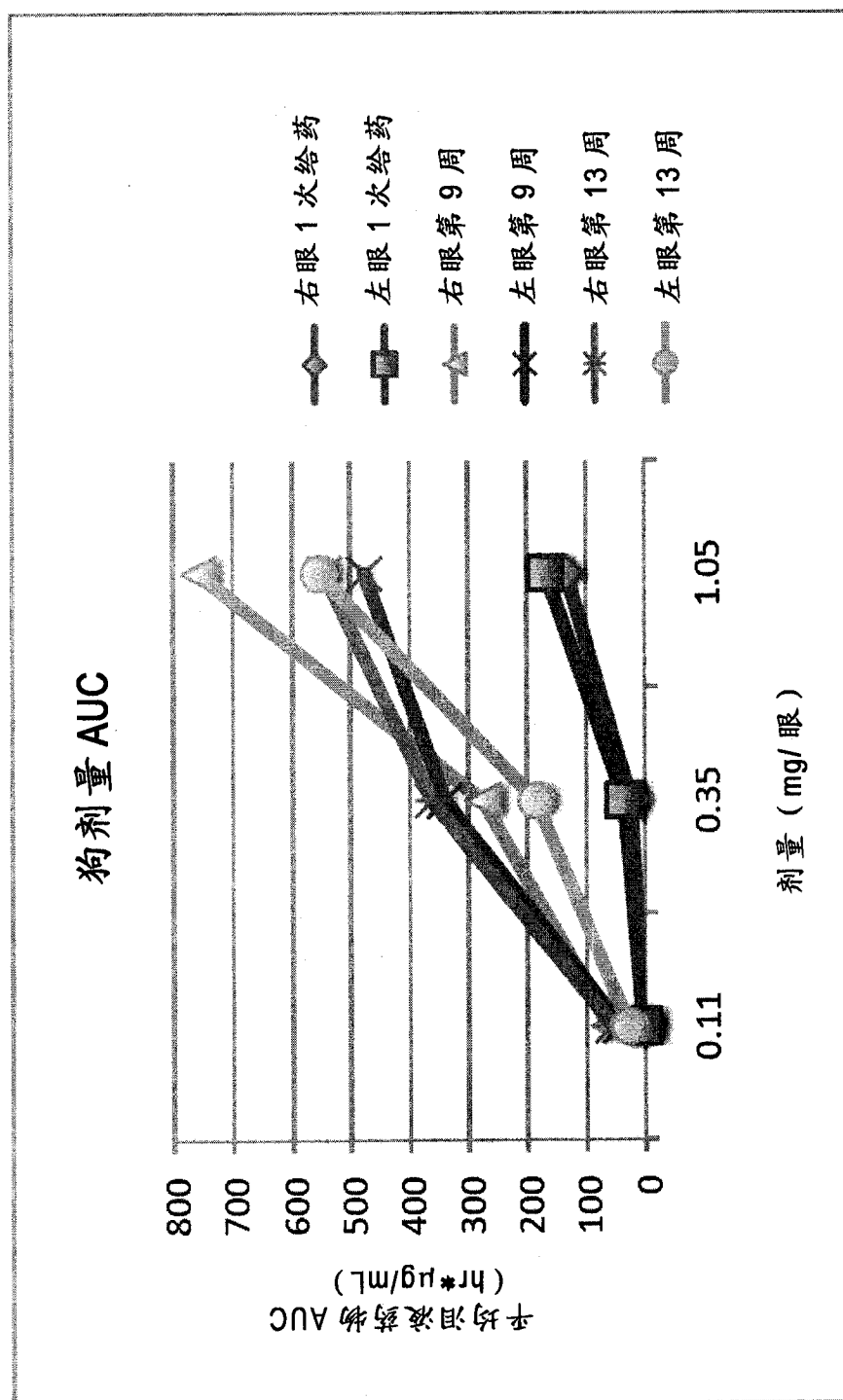


图 19

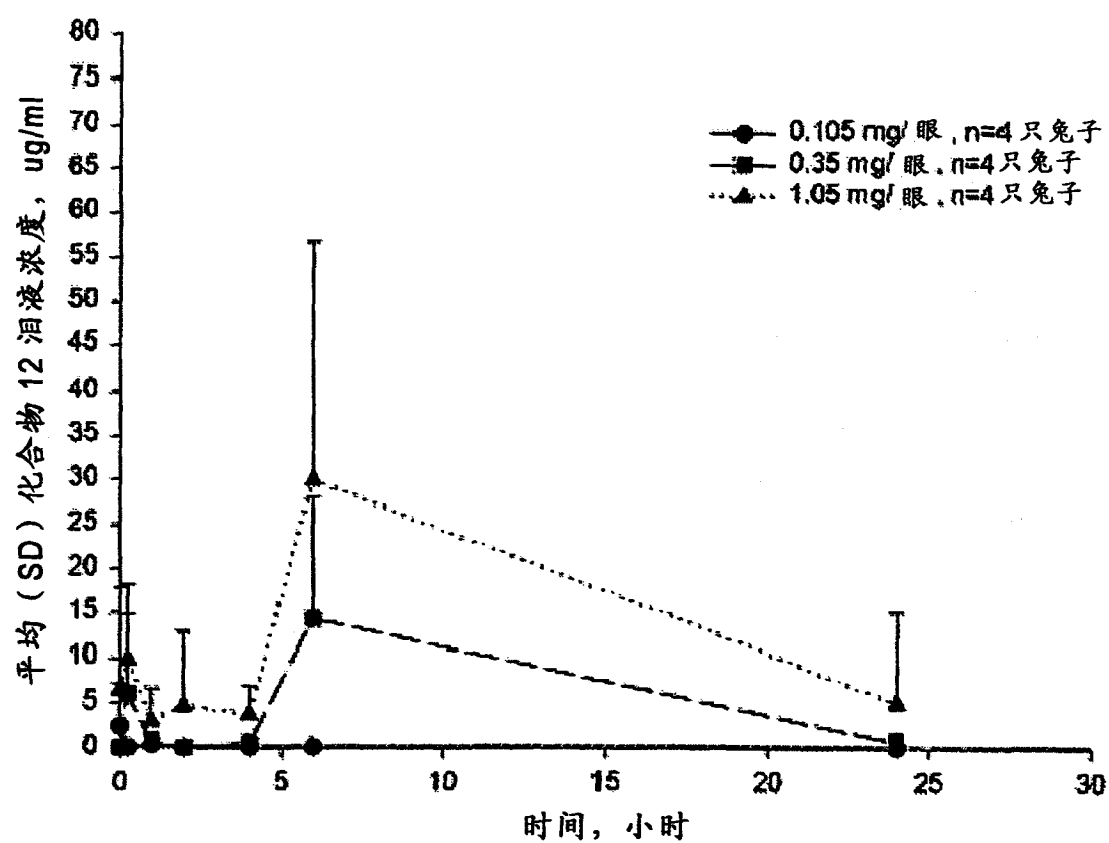


图 20

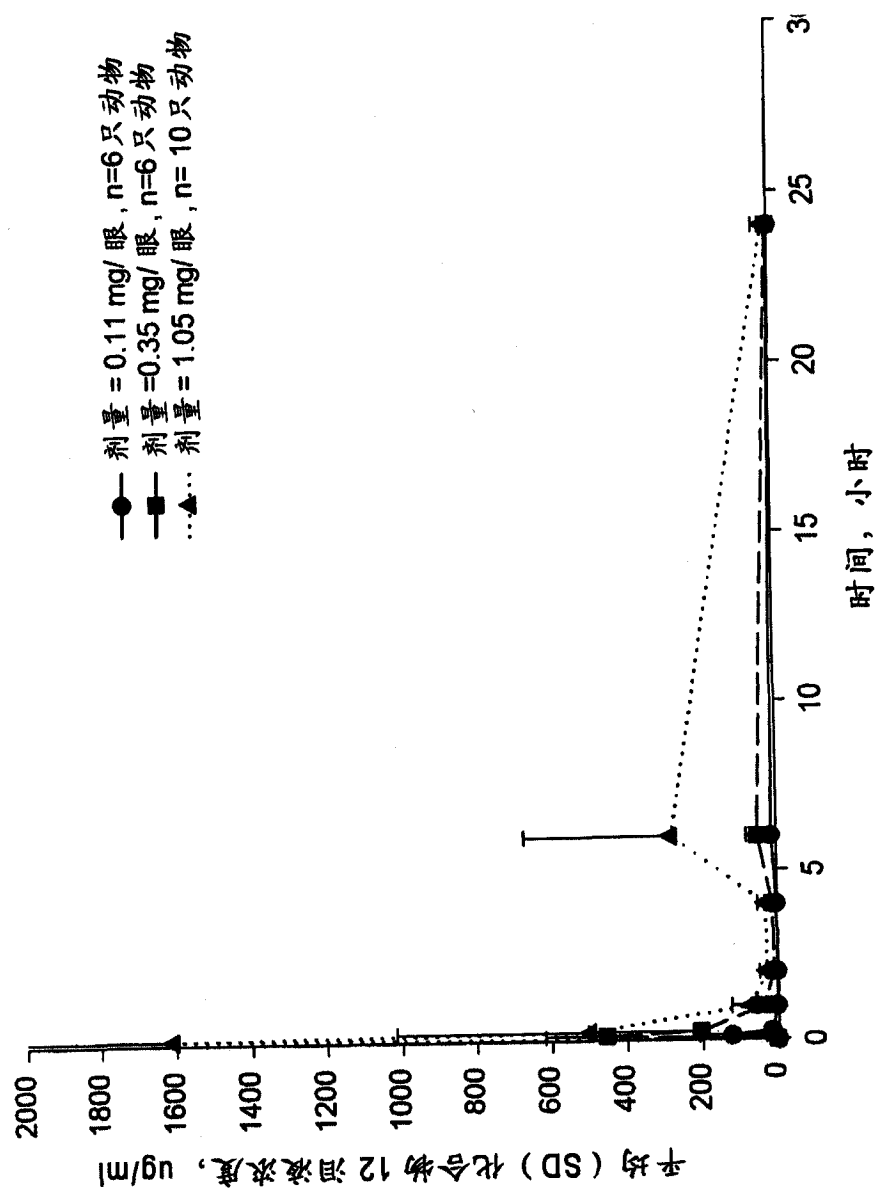


图 21

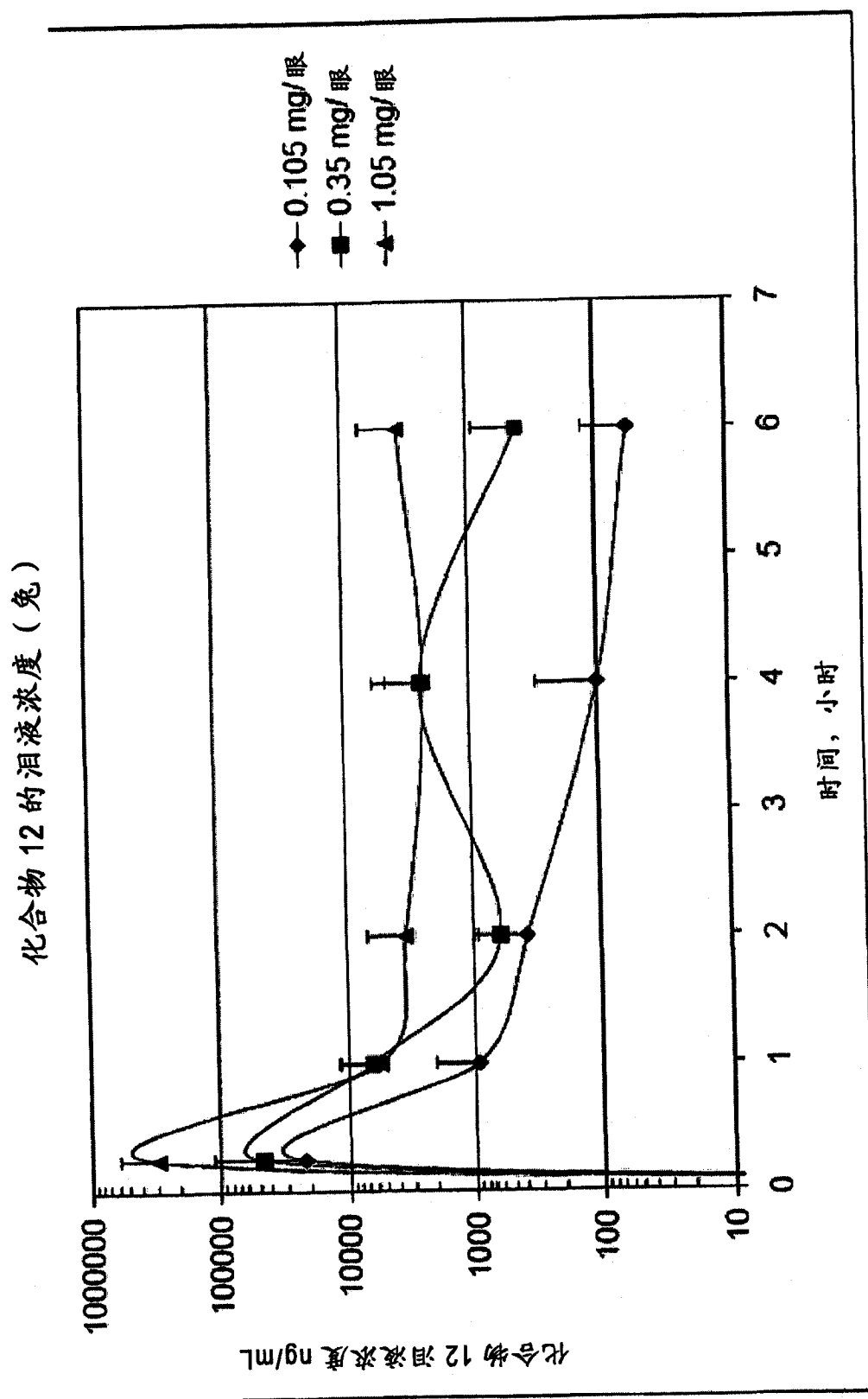


图 22

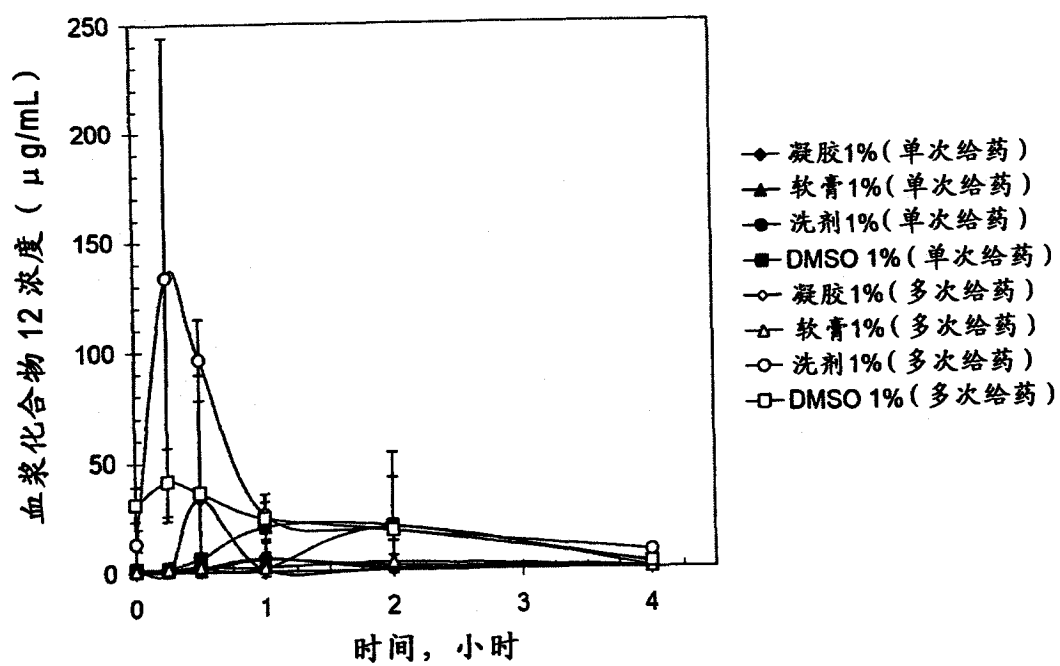


图 23