



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101511357 B

(45) 授权公告日 2011. 11. 02

(21) 申请号 200780026775. 4

(22) 申请日 2007. 05. 18

(30) 优先权数据

60/802, 208 2006. 05. 19 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2009. 01. 14

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2007/011919 2007. 05. 18

(87) PCT申请的公布数据

WO2007/136759 EN 2007. 11. 29

(73) 专利权人 西尼克斯公司

地址 美国北卡罗来纳州

(72) 发明人 大卫·兰威克·霍克

(74) 专利代理机构 北京安信方达知识产权代理

有限公司 11262

代理人 武晶晶 郑霞

(51) Int. Cl.

A61K 31/395 (2006. 01)

A61P 27/02 (2006. 01)

(56) 对比文件

WO 0061168 A1, 2000. 10. 19, 参见权利要求 1-9, 说明书第 7-9 页、例 III.

WO 9965933 A1, 1999. 12. 23, 参见说明书第 8 页第 1 段、第 28-29 页.

WO 2006039668 A2, 2006. 04. 13, 参见权利要求 1-17.

WO 2006039668 A2, 2006. 04. 13, 参见权利要求 1-17.

WO 2006039163 A2, 2006. 04. 13, 参见说明书第 [0009]-[0011]、[0036] 段.

US 2005277584 A1, 2005. 12. 15, 参见说明书摘要, 第 [0001]、[0028] 段.

US 4649047 A1, 1987. 03. 10, 参见说明书第 3 栏第 5-17 行、第 6 栏第 52-60 行.

审查员 韩征

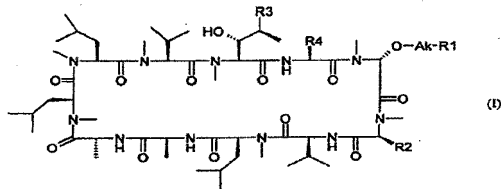
权利要求书 1 页 说明书 25 页

(54) 发明名称

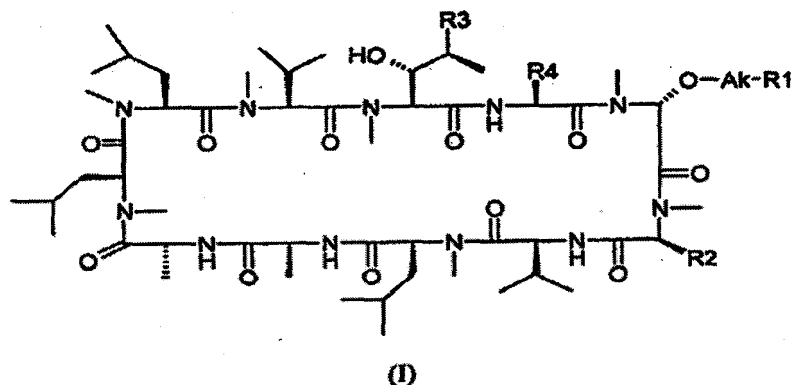
环孢菌素类化合物及其组合物在制备治疗和预防眼部疾病的药物中的应用

(57) 摘要

本发明提供治疗眼部疾病的方法。该方法包括施用通式 (I) 的化合物: 其中 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 和 Ak 如说明书中所定义。



1. 通式 (I) 化合物, 或者其药学上可接受的盐在制备治疗或预防眼部疾病的药物中的用途, 其中所述疾病选自干眼症、葡萄膜炎和晶状体过敏性眼内炎组成的一组疾病,



其中:

Ak 是亚烷基;

R¹ 是哌啶-1-基、吗啉-4-基、N-2,6-二甲基吗啉-4-基、(4-二甲基氨基)哌啶-1-基或 4-羟基哌啶-1-基;

R² 是异丁基;

R³ 是 (E)-2-丁烯基-1 或正丁基; 和

R⁴ 是乙基、1-羟乙基、异丙基或正丙基。

2. 权利要求 1 的用途, 其中 Ak 是 $-(CH_2)_p-$, 其中 p 是 1、2、3 或 4。

3. 权利要求 1 的用途, 其中 R³ 是 (E)-2-丁烯基-1, R⁴ 是乙基。

4. 权利要求 1 的用途, 其中通式 (I) 化合物是 3-[2-(哌啶-1-基)乙氧基]环孢菌素; 3-[2-(吗啉-4-基)乙氧基]环孢菌素; 3-[2-(2,6-二甲基吗啉-4-基)乙氧基]环孢菌素; 3-[2-[(4-二甲基氨基)哌啶-1-基]乙氧基]环孢菌素; 或 3-[2-(4-羟基哌啶-1-基)乙氧基]环孢菌素; 或其药学上可接受的盐。

5. 如权利要求 1 所定义通式 (I) 的化合物或其药学上可接受的盐, 和能有效治疗或预防眼部疾病的第二药剂在制备治疗或预防眼部疾病的药物中的用途, 其中所述疾病选自干眼症、葡萄膜炎和晶状体过敏性眼内炎组成的一组疾病。

环孢菌素类化合物及其组合物在制备治疗和预防眼部疾病的药物中的应用

[0001] 本申请要求 David Houck 于 2007 年 5 月 19 日提交的, 名称为“治疗和预防眼部疾病的方法”的第 60/802, 208 号美国临时申请的优先权。上述引用申请的公开内容并入本文作为参考。

1. 技术领域

[0002] 本发明提供的是应用环孢菌素化合物和组合物治疗或预防眼部疾病和病症例如水缺乏的干眼状态、葡萄膜炎和晶状体过敏性眼内炎的方法。在特定方面, 本发明提供的方法中所使用化合物是 3- 烷基氨基烷基取代的环孢菌素化合物、3- 二烷基氨基烷基取代的环孢菌素化合物或 3- 杂环烷基取代的环孢菌素化合物。在一些实施方案中, 该方法包括向有需要的患者施用有效量的本发明提供的化合物来治疗或预防眼部疾病和病症, 例如水缺乏的干眼状态、葡萄膜炎和晶状体过敏性眼内炎。

2. 背景技术

[0003] 干眼状态可以在广泛的个体上发生, 但是其更常见于妇女、老人以及患有结缔组织疾病 (例如类风湿性关节炎、**Sjögren's** 综合症) 的人群。干眼症患者通常会抱怨眼部刺激或不适。正如该名称所暗示的, 干燥是最常被提及的问题, 患者会进一步报告瘙痒、烧灼感或者“沙 / 沙砾样”异物感。空气质量差、湿度低或极热会加重症状, 并且在一天中的较晚时刻是更明显的。偶尔, 患者会报告伴有不适的过度流泪或泪溢。

[0004] 葡萄膜炎, 葡萄膜的炎症, 在美国导致大约 10% 的视力缺损。眼部的葡萄膜包括虹膜、睫状体和脉络膜。覆盖视网膜的炎症, 称作视网膜炎, 或者视神经的炎症, 称作视神经炎, 可以伴随或不伴随葡萄膜炎发生。

[0005] 葡萄膜炎在解剖学上最常被分类为前部的、中部的、后部的或弥散的。前葡萄膜炎主要定位于眼睛的前段, 包括虹膜炎和虹膜睫状体炎。中葡萄膜炎, 也称作周边葡萄膜炎, 集中位于虹膜和晶状体之后的区域, 在睫状体和睫状环区域中, 因此也使用另外的术语“睫状体炎”和“睫状环炎”。后葡萄膜炎指代视网膜炎、脉络膜炎或视神经炎形式中的任意类型。弥散葡萄膜炎表示涉及眼睛的所有部分, 包括前部、中部和后部结构的炎症。

[0006] 晶状体过敏性眼内炎是人类自身免疫性疾病。它是在晶状体囊破裂后继发的炎性眼部疾病, 无论是外伤性的还是医源性的, 都称作品状体导致的葡萄膜炎。晶体过敏症是葡萄膜炎的严重形式, 其中晶状体是诱因抗原。晶状体蛋白通常自出生前就被晶状体囊隔开。当这些蛋白由于外伤或手术或偶然的在白内障发展过程中被释放入眼睛, 它们会具有强烈的抗原性并会引发自身免疫反应。如果反应是中度的, 则表现为慢性葡萄膜炎。如果发展的非常快, 眼睛的所有部分会严重发炎。后者的反应被称作品体过敏症。

[0007] 人们对于发展新的且有效的化合物来治疗眼部疾病和病症, 例如干眼症、葡萄膜炎和晶状体过敏性眼内炎具有持续需求。

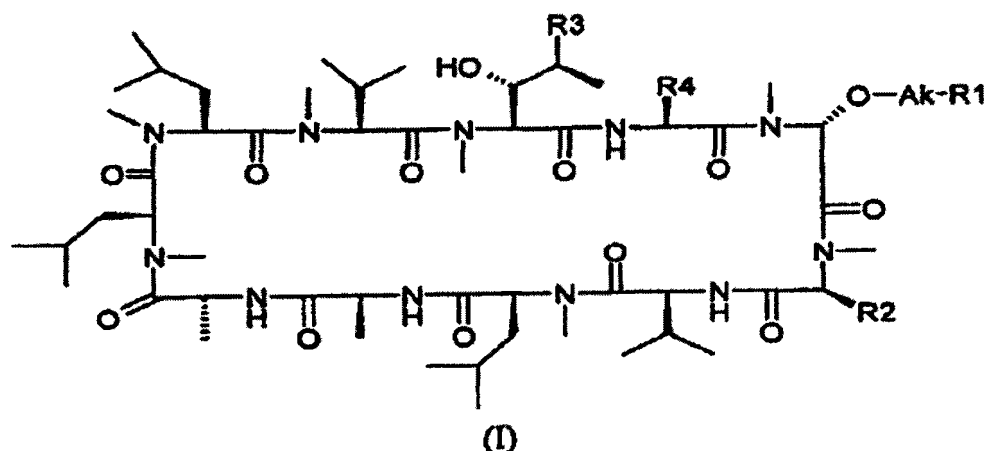
[0008] 环孢菌素是一组非极性环状寡肽, 具有免疫抑制、抗炎和抗寄生虫的性质。环孢菌

素 A 是一种以用于治疗干眼症的局部用眼部乳剂制剂形式市售的、商标名为 Restasis 的环孢菌素。在这些化合物的制剂中,环孢菌素 的非水溶性是一个有待解决的问题。一方面,本发明寻求提供与环孢菌素 A 相比具有改善的水溶性,同时保持治疗眼部疾病的有利性质的环孢菌素衍生物。

[0009] 3. 发明概述

[0010] 本发明提供治疗或预防眼部疾病的方法,包括向有需要的患者施用治疗有效量的通式 (I) 化合物:

[0011]



[0012] 其中:

[0013] Ak 是亚烷基;

[0014] R^1 是 $-NR^5R^6$, 其中 R^5 和 R^6 各自独立的为氢或包含 1 至 6 个碳原子的直链或支链烷基;或者 R^5 和 R^6 与和它们相连的氮原子一起形成包含 4 至 6 个环原子的饱和或不饱和杂环,该环任选地包含另一个选自氮、氧和硫的杂原子,并且可以任选地被 1 至 4 个相同或不同的选自烷基、羟基、氨基、N-烷基氨基和 N,N-二烷基氨基的基团取代;

[0015] R^2 是异丁基;

[0016] R^3 是 (E)-2-丁烯基-1 或正丁基;

[0017] R^4 是乙基、1-羟乙基、异丙基或正丙基;

[0018] 或者其药学上可接受的盐或者溶剂化物。

[0019] 4. 发明详述

[0020] 本发明提供对有需要的患者进行治疗、预防或改善眼部疾病或病症的方法。在一具体实施方案中,本发明提供上述定义的通式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐或溶剂化物,用于制备治疗或预防眼部疾病的药物。在下面的部分将详述所述方法和组合物。

[0021] 4.1 定义

[0022] 当提及本发明提供的化合物和复合物时,下列术语具有下述含义,除非另有说明。

[0023] “环孢菌素”指本领域技术人员已知的任何环孢菌素化合物。参见 Ruegger 等人, 1976, *Helv. Chim. Acta.* 59:1075-92; Borel 等人, 1977, *Immunology* 32:1017-25; 其全部内容在此引入作为参考。在本发明提供的方法中使用的示例性化合物是环孢菌素衍生物。除非另有说明,本文描述环孢菌素是环孢菌素 A, 本文描述环孢菌素衍生物是环孢菌素 A 的衍生物。

[0024] “烷基”指单价饱和脂肪族烃基,尤其是具有最多约 11 个碳原子,更优选为 1-8 个碳原子的较低级的烷基,更加优选 1-6 个碳原子。烃链可以是直链或支链的。该术语示范性例子为,例如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、正己基、正辛基、叔辛基和类似基团。术语“较低级的烷基”指具有 1-6 个碳原子的烷基基团。

[0025] “亚烷基”指二价饱和脂肪族烃基基团,尤其是具有最多约 11 个碳原子,更优选具有 1-6 个碳原子,其可以是直链或支链的。该术语示范性例子为,例如亚甲基 ($-\text{CH}_2-$)、亚乙基 ($-\text{CH}_2\text{CH}_2-$)、亚丙基异构体 (例如 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 和 $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$) 和类似基团。

[0026] “氨基”指基团 $-\text{NH}_2$ 。

[0027] 当用于描述化合物或化合物上的基团时,“杂”指化合物或基团中的一个或多个碳原子被氮、氧或硫杂原子取代。“杂”可以应用于上述任一烃基基团,例如烷基,如杂烷基,芳基,如杂芳基,和具有 1-5 个尤其是 1-3 个杂原子的类似基团。

[0028] “杂环”指本领域技术人员已知的任意杂环。在本文中,杂环可以是本领域技术人员公知的杂芳基或环杂烷基。在一些实施方案中,杂环基指在环中包含一个或多个杂原子的 4、5 或 6 元饱和杂环。

[0029] “二烷基氨基”指基团 $-\text{NRR}'$,其中 R 和 R' 独立的代表如本文所定义的烷基、取代的烷基、芳基、取代的芳基、环烷基、取代的环烷基、环杂烷基、取代的环杂烷基、杂芳基或取代的杂芳基。

[0030] “卤素”指氯、溴、氟或碘。

[0031] “药学上可接受的盐”指本发明提供的化合物的任意盐,该盐保留了其生物学性质、无毒且不具有不符合药学用途的其它性质。这些盐可以来自多种本领域公知的有机和无机反离子。这些盐包括:(1) 与有机酸或无机酸,例如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸、磺酸、醋酸、三氟醋酸、三氯醋酸、丙酸、己酸、环戊基丙酸、羟乙酸、戊二酸、丙酮酸、乳酸、丙二酸、琥珀酸、山梨酸、抗坏血酸、苹果酸、马来酸、富马酸、酒石酸、柠檬酸、苯甲酸、3-(4-羟基苯甲酰基)苯甲酸、苦味酸、肉桂酸、扁桃酸、酞酸、月桂酸、甲磺酸、乙磺酸、1,2-乙烷-二磺酸、2-羟基乙磺酸、苯磺酸、4-氯苯磺酸、2-萘磺酸、4-甲苯磺酸、樟脑酸、樟脑磺酸、4-甲基二环 [2.2.2]-辛-2-烯-1-羧酸、葡庚糖酸、3-苯基丙酸、三甲基乙酸、叔丁基乙酸、月桂基磺酸、葡萄糖酸、苯甲酸、谷氨酸、羟萘甲酸、水杨酸、硬脂酸、环己基磺酸、奎尼酸、粘康酸和类似酸形成的酸加成盐;或者(2) 当存在于母体化合物中的酸性质子(a)被金属离子,例如碱金属离子,碱土金属离子或者铝离子,或者碱金属或碱土金属氢氧化物,例如钠、钾、钙、镁、铝、锂、锌和钡的氢氧化物,氮取代,或(b)与有机碱,例如脂肪族、脂环族或芳香族有机胺,例如氨、甲胺、二甲胺、二乙胺、甲基吡啶、乙醇胺、二乙醇胺、三乙醇胺、乙二胺、赖氨酸、精氨酸、鸟氨酸、胆碱、N,N'-二苄基乙二胺、氯普鲁卡因、二乙醇胺、普鲁卡因、N-苄基苯乙胺、N-甲基葡萄糖胺吡嗪、三(羟甲基)-氨基甲烷、四甲基铵氢氧化物和类似物配合形成的盐。

[0032] 仅通过举例方式说明,盐进一步包括,钠盐、钾盐、钙盐、镁盐、铵盐、四烷基铵盐以及类似盐,以及当化合物包含基本功能时,包括非毒性有机酸盐或无机酸盐,例如氢卤酸盐,如盐酸盐和氢溴酸盐、硫酸盐、磷酸盐、磺酸盐、硝酸盐、醋酸盐、三氟醋酸盐、三氯醋酸盐、丙酸盐、己酸盐、环戊基丙酸盐、羟乙酸盐、戊二酸盐、丙酮酸盐、乳酸盐、丙二酸盐、琥珀酸盐、山梨酸盐、抗坏血酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、富马酸盐、酒石酸盐、柠檬酸盐、苯甲酸

盐、3-(4-羟基苯甲酰基)苯甲酸盐、苦味酸盐、肉桂酸盐、扁桃酸盐、酞酸盐、月桂酸盐、甲磺酸盐、乙磺酸盐、1,2-乙烷-二磺酸盐、2-羟基乙磺酸盐、苯磺酸盐、4-氯苯磺酸盐、2-萘磺酸盐、4-甲苯磺酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、4-甲基二环[2.2.2]-辛-2-烯-1-羧酸盐、葡庚糖酸盐、3-苯基丙酸盐、三甲基乙酸盐、叔丁基乙酸盐、月桂基磺酸盐、葡糖酸盐、苯甲酸盐、谷氨酸盐、羟萘甲酸盐、水杨酸盐、硬脂酸盐、环己基磺酸盐、奎尼酸盐、粘康酸盐和类似盐。

[0033] 应当理解,当本说明书中提到通式化合物时,也包括了所述通式(I)化合物的溶剂化物、水合物或与药学上可接受的酸或碱形成的盐。

[0034] “肌氨酸”指N-甲基甘氨酸($\text{CH}_3\text{NHCH}_2\text{CO}_2\text{H}$)。

[0035] “溶剂化物”是指本发明提供的化合物或其盐,其进一步包括通过非共价分子间力结合的化学计算或非化学计算量的溶剂。其中当溶剂是水时,所述溶剂化物为水合物。

[0036] 应当理解,具有相同分子式但是性质或其原子的结合顺序或其原子的空间排列不同的化合物称作“异构体”。其原子空间排列不同的异构体称作“立体异构体”。

[0037] 彼此不是镜像的立体异构体称作“非对映体”,那些各自为不重叠的镜像立体异构体称作“对映体”。当化合物具有一个不对称中心时,例如当其连接4个不同的基团时,可能有一对对映体。对映体可采用其不对称中心的绝对构型来表征,并按照Cahn和Prelog规则命名为(R)或(S)(Cahn等人,1966,Angew. Chem. 78:413-447,Angew. Chem., Int. Ed. Engl. 5:385-414(勘误表:Angew. Chem., Int. Ed. Engl. 5:511);Prelog和Helmchen,1982,Angew. Chem. 94:614-631,Angew. Chem. Internat. Ed. Eng. 21:567-583;Mata和Lobo,1993,Tetrahedron:Asymmetry 4:657-668)或者可以通过分子旋转偏振光的平面的方式来表征,命名为右旋或左旋(即分别为(+)-或(-)-异构体)。手性化合物能够以单独的对映体或其混合物存在。包含相等比例对映体的混合物称作“外消旋混合物”。

[0038] 在一些实施方案中,在本发明提供的方法中使用的化合物可以具有一个或多个不对称中心;这种化合物因此能够以单独的(R)-或(S)-对映体或以其混合物产生。除非另外指明,例如指定分子式任意位置的立体化学结构,在本说明书和权利要求书中的特定化合物的说明或命名意图包括单独的对映体和其混合物、外消旋混合物或其它。立体化学结构的测定和立体异构体的分离方法是本领域公知的。在特定的实施方案中,本发明提供的是用碱处理过的上述化合物的立体异构体。

[0039] 在一些实施方案中,本发明提供的方法中使用的化合物是“立体化学纯的”。立体化学纯的化合物或具有立体化学纯度水平的化合物被本领域技术人员认为是“纯的”。当然,该纯度水平将小于100%。在一些实施方案中,“立体化学纯的”是指化合物基本上不含另外的异构体。在特定实施方案中,化合物是85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%的不含其它异构体。

[0040] 在本文中,术语“患者”和“病人”可互换使用。术语“患者”指动物,例如哺乳动物,包括非灵长类(例如牛、猪、马、猫、狗、大鼠和小鼠)和灵长类(例如猴子如短尾猴、黑猩猩和人),包括人。在另一具体实施方案中,患者是家畜(例如马、牛、猪等)或宠物(例如狗或猫)。在一些实施方案中,患者是人。

[0041] 在本文中,术语“治疗剂”是指能够被用于治疗或预防病症或一种或多种症状的任何药剂。在一些实施方案中,术语“治疗剂”指本发明提供的化合物。在一些其它实施方案

中,所指的术语“治疗剂”不是指本发明提供的化合物。治疗剂是已知能够用于,或已经用于或目前正在用于治疗或预防病症或其一种或多种症状的药剂。

[0042] “治疗有效量”指当向患者施用来治疗疾病时,足以有效治疗疾病的化合物或复合物或其组合物的量。“治疗有效量”尤其可以随着化合物、疾病及其严重程度、被治疗的患者的年龄、体重等发生变化。

[0043] 对任意疾病或病症的“治疗”,在一具体实施方案中,是指改善患者中存在的疾病或病症。在另一具体实施方案中,“治疗”指改善至少一种生理参数,其可以是患者难以辨别的。在另一具体实施方案中,“治疗”指调节疾病或病症,可以是物理上的(例如稳定可辨别的症状)或生理上的(例如稳定生理参数)或者是两者。在另一具体实施方案中,“治疗”指延迟疾病或病症的发生。

[0044] 在本文中,术语“预防剂”是指能够被用于预防病症或其一种或多种症状的任意药剂。在一些实施方案中,术语“预防剂”指本发明提供的化合物。在一些其他实施方案中,术语“预防剂”不是指本发明提供的化合物。在一些实施方案中,预防剂是已知能够用于、已经用于或者目前正在用于预防或阻碍病症的发生、发展、进展和/或严重度的药剂。

[0045] 在本文中,术语“预防”指通过进行治疗(例如施用预防剂或治疗剂)或者进行联合治疗(例如施用预防剂或治疗剂的组合)而产生的对患者病症的一种或多种症状复发、发生或发展的预防。

[0046] 在本文中,短语“预防有效量”指足以产生预防与病症有关的一种或多种症状发展、复发或发生的治疗(例如预防药剂)或者促进或改善另一治疗(例如另一种预防剂)的预防效果的量。

[0047] 在本文中,术语“联合”指使用多于一种治疗(例如一种或多种预防和/或治疗剂)。术语“联合”的应用不限制向患病患者施用治疗(例如预防和/或治疗剂)的顺序。对于患病患者的第一治疗(例如预防或治疗剂如本发明提供的化合物)的施用可以在施用第二治疗之前(例如5分钟、15分钟、30分钟、45分钟、1小时、2小时、4小时、6小时、12小时、24小时、48小时、72小时、96小时、1星期、2星期、3星期、4星期、5星期、6星期、8星期或12星期前)、同时或之后(例如5分钟、15分钟、30分钟、45分钟、1小时、2小时、4小时、6小时、12小时、24小时、48小时、72小时、96小时、1星期、2星期、3星期、4星期、5星期、6星期、8星期或12星期后)。

[0048] 在本文中,术语“协同”指已经被用于或正在被用于预防、管理或治疗病症的本发明提供的化合物和另一种治疗(例如预防剂或治疗剂)的联合比这些治疗的叠加效果更加有效。联合治疗(例如预防或治疗剂的组合)的协同作用允许向患病患者施用较低量的一种或多种治疗剂量和/或减少所述治疗的施用频率。使用较低量的治疗(例如预防剂或治疗剂)的能力和/或减少所述治疗施用频率的能力将减少与向患者施用所述治疗相关的毒性,但不降低所述治疗的预防或治疗病症的有效性。此外,协同作用可以导致药剂在预防或治疗病症中的疗效改善。最后,联合治疗(例如预防或治疗剂的组合)的协同作用可以避免或减少与任一疗法单独使用相关的不利或不需要的副作用。

[0049] 4.2 本发明的具体实施方案

[0050] 本发明提供治疗、预防或改善眼部疾病和病症例如缺水性干眼状态、葡萄膜炎和晶状体过敏性眼内炎的方法,其包括向有需要的患者施用式 I 的化合物。

[0051] 不希望受任何特定工作理论的限制,我们认为,在一些实施方案中,所述化合物以增强或恢复泪腺泪液生成的方式作用以提供需要的治疗效果。

[0052] 4.2.1 用于本发明方法的化合物

[0053] 除非另外指明,本文使用的术语“环孢菌素”指本领域技术人员已知的化合物环孢菌素 A。例如参见 Ruegger 等人,1976,Helv. Chim. Acta. 59:1075-92;Borel 等人,1977,Immunology 32:1017-25;其内容在此全部引入作为参考。术语“环孢菌素化合物”指本文描述的具有抵抗眼部疾病活性的任意环孢菌素化合物,无论该化合物是天然的、合成的或是半合成的。

[0054] 在一些实施方案中,Ak 是 $-(CH_2)_p-$,其中 p 是 1、2、3 或 4;和 / 或 R^1 是 $-NR^5R^6$ 且 R^5 和 R^6 选自如下:a) R^5 和 R^6 各自独立的为包含 1 至 6 个碳原子的直链或支链烷基,或 b) R^5 和 R^6 与它们连接的氮原子一起形成包含 5 至 6 个环原子的饱和或不饱和杂环,该环可以任选地包含选自氮、氧和硫的另一杂原子。在一些实施方案中,Ak 是 $-CH_2CH_2-$ 。

[0055] 在一些实施方案中, R^1 是 $-NR^5R^6$,其中 R^5 和 R^6 各自独立的为氢或包含 1 至 6 个碳原子的直链或支链烷基;或 R^5 和 R^6 与它们连接的氮原子一起形成包含 5 至 6 个环原子的饱和或不饱和杂环,该环可以任选地包含选自氮、氧和硫的另一杂原子,并且可以任选地被相同或不同的 1 至 4 个烷基基团取代。

[0056] 在一些实施方案中, R^5 和 R^6 都是甲基。在一些实施方案中, R^5 和 R^6 与它们连接的氮原子一起形成包含 6 个环原子的饱和杂环,该环可以任选地包含选自氮、氧和硫的另一杂原子。在进一步的具体实施方案中, R^5 和 R^6 与它们连接的氮原子一起形成氮杂环丁烷环。在进一步的具体实施方案中, R^5 和 R^6 与它们连接的氮原子一起形成吡咯烷环。在一些实施方案中, R^5 和 R^6 与它们连接的氮原子一起形成哌啶环。在一些实施方案中, R^5 和 R^6 与它们连接的氮原子一起形成 N-甲基哌啶环。在一些实施方案中, R^5 和 R^6 与它们连接的氮原子一起形成吗啉环。在一些实施方案中, R^5 和 R^6 与它们连接的氮原子一起形成 2,6-二甲基吗啉环。

[0057] 在一些实施方案中,所述环孢菌化合物与环孢菌素 A 在本领域技术人员公知的第三位点,即 N-甲基甘氨酸位点处不同。在一些实施方案中,所述环孢菌素化合物包含 3-烷基氨基烷基,3-N,N-二烷基氨基烷基或 3-杂环烷基基团。环孢菌素化合物可以进一步包含本领域技术人员已知的其它环孢菌素变体。

[0058] 在一些实施方案中,本发明提供的方法包括向患者施用治疗或预防有效量的上述通式 (I) 的环孢菌素化合物或其药学可接受的盐或溶剂化物,其中 B、X、 R^1 、 R^2 和 R^3 如上所定义。

[0059] 在一些实施方案中, R^3 是 (E)-2-丁烯基-1。在一些实施方案中 R^3 是正丁基。

[0060] 在一些实施方案中, R^4 是乙基。

[0061] 在进一步的具体实施方案中,Ak 是 $(CH_2)_p$,p 为 2 或 3; R^1 是 $-NR^5R^6$; R^5 和 R^6 可以是相同或不同的,为氢或 C_{1-3} 烷基;或者 R^5 和 R^6 与它们连接的氮原子一起形成包含 4 至 6 个环原子的饱和或不饱和杂环,该环可以任选地包含选自氮和氧的另一杂原子,并且可以任选地被可以是相同或不同的选自甲基、羟基和二甲基氨基的 1 或 2 个基团取代; R^2 是异丁基; R^3 是 (E)-2-丁烯基-1;且 R^4 是乙基。

[0062] 用于本发明提供的方法的化合物是如下所列的环孢菌素化合物:

- [0063] A 3-[2-(N,N-二甲基氨基)乙氧基]环孢菌素。
- [0064] B 3-[2-(氮杂环丁烷-1-基)乙氧基]环孢菌素。
- [0065] C 3-[2-(吡咯烷-1-基)乙氧基]环孢菌素。
- [0066] D 3-[2-(哌啶-1-基)乙氧基]环孢菌素。
- [0067] E 3-[2-(4-甲基哌嗪-1-基)乙氧基]环孢菌素。
- [0068] F 3-[2-(吗啉-4-基)乙氧基]环孢菌素。
- [0069] G 3-[2-(2,6-二甲基吗啉-4-基)乙氧基]环孢菌素。
- [0070] H 3-[2-(3-羟基吡咯烷-1-基)乙氧基]环孢菌素。
- [0071] I 3-{2-[(4-二甲基氨基)哌啶-1-基]乙氧基}环孢菌素。
- [0072] J 3-[2-(4-羟基哌啶-1-基)乙氧基]环孢菌素。
- [0073] K 3-[2-(咪唑-1-基)乙氧基]环孢菌素。
- [0074] L 3-[2-(N-甲基氨基)乙氧基]环孢菌素。
- [0075] M 3-[2-(N-异丙基-N-甲基氨基)乙氧基]环孢菌素。
- [0076] N 3-[2-(氨基丙氧基)]环孢菌素。

[0077] 化合物字母编号 A-N 将在下文中使用。

[0078] 式 (I) 化合物的盐是新的,因此形成本发明的进一步的特征。在一具体实施方案中,所述盐选自盐酸盐、硫酸盐、磷酸盐、碳酸盐、醋酸盐、酒石酸盐、柠檬酸盐、马来酸盐、琥珀酸盐、乳酸盐、硬脂酸盐、丙酸盐、苯甲酸盐、延胡索酸盐、马尿酸盐、葡萄糖酸盐、抗坏血酸盐、己二酸盐、谷氨酸盐、甲磺酸盐、甲苯磺酸盐、油酸盐、十二烷基硫酸盐、氢溴酸盐和硝酸盐。

[0079] 在一些实施方案中,本发明提供的环孢菌素衍生物具有最佳的免疫抑制效价。与环孢菌素 A 有关的免疫调节效价可以用混合淋巴细胞反应 (MLR) 试验来测定。该试验是本领域技术人员已知的,例如,参见 US6,946,465。该试验可采用来自大鼠、小鼠或人的淋巴细胞。在一些实施方案中,本发明提供的环孢菌素衍生物与环孢菌素 A 在 MLR 试验中等效。在一些实施方案中,本发明提供的环孢菌素衍生物比环孢菌素 A 的效价低约 1 至约 5000、约 10 至约 3000、约 50 至约 2000、约 70 至约 1000、约 100 至约 500、约 150 至约 300 倍。在一些实施方案中,本发明提供的环孢菌素衍生物比环孢菌素 A 的效价低约 10 至约 100,或约 100 至约 5000 倍。在一些实施方案中,本发明提供的环孢菌素衍生物比环孢菌素 A 的效价低约 2 至约 100、约 2 至约 80、约 2 至约 65、约 2 至约 50、约 2 至约 30、约 2 至约 20、约 2 至约 10、约 2 至约 9、约 2 至约 7 或约 2 至约 5 倍。在一些实施方案中,本发明提供的环孢菌素衍生物比环孢菌素 A 的效价低约 1、5、10、15、25、50、100、150、200、250、300、350、400、450、500 或 1000 倍。

[0080] 其它基于细胞的试验也可以被用来测定抗特定致炎细胞因子产物的活性,所述特定致炎细胞因子产物包括 IL-1、IL-2、IL-4、IL-6、TNF- α 、干扰素和 TGF- β 。在一些实施方案中,本文的环孢菌素衍生物在通过下调细胞因子在干眼症或葡萄膜炎的治疗中提供临床有益效果。

[0081] 在一些实施方案中,本发明提供的环孢菌素衍生物具有有助于产生在眼内传递和释放化合物的最佳制剂的溶解度。在一些实施方案中,本发明提供的环孢菌素衍生物具有比环孢菌素 A 改善的溶解度。在一些实施方案中,环孢菌素衍生物具有约 0.001 至约 5mM、

约 0.005 至约 3mM、约 0.007 至约 1mM、约 0.01 至约 0.5mM、约 0.02 至约 0.3mM、约 0.05 至约 0.1mM、约 0.06 至约 0.6mM、约 0.08 至约 0.5mM 或约 0.1 至约 1mM 的水溶解度。

[0082] 在一些实施方案中,本发明提供的环孢菌素衍生物与环孢菌素相比具有改善的安全性。安全性可以通过包括急性和慢性动物毒理模型在内的各种试验模型来测定。对人类的潜在毒性也可以利用称作细胞毒性试验的基于人类细胞的试验来测定。细胞毒性可以采用多种指标和报告在各种细胞类型中进行评价,参见 Guidance Document on Using In Vitro Data to Estimate In Vivo Starting Doses for Acute Toxicity, (NIH Publication No. 01-4500)。在一些实施方案中,在细胞毒性试验中,用于本发明提供的方法的化合物比环孢菌素的活性低约 2 至约 10、约 3 至约 8、约 2 至约 6、约 2 至约 5、约 2 至约 3 倍。

[0083] 在一些实施方案中,所述化合物是纯的形式。纯度可以是本领域技术人员已知的任何纯度,例如绝对纯、立体化学纯或者两者都是。在一些实施方案中,所述化合物至少为 80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98% 或 99% 的纯度。在一些实施方案中,所述化合物至少为 90% 的纯度。在进一步的实施方案中,该化合物至少为 98% 的纯度。纯化这些化合物的方法如下所述。

[0084] 式 (I) 化合物或其药学上可接受的盐是文献中已知的或者可以通过采用已知方法来制备,例如如 US 专利 6,583,265 或国际专利 WO 99/65933、WO 99/67280 中所描述的,其内容在此引入作为参考。

[0085] 4.2.2 药物组合物和施用方法

[0086] 用于本发明提供的方法的环孢菌素化合物是用于治疗眼部疾病的。

[0087] 本发明提供的方法采用包含至少一种通式 (I) 化合物的药物组合物,如果合适可以为盐形式,所述化合物可以单独使用或者与一种或多种相容的且药学上可接受的载体如稀释剂或佐剂联合,或者所述化合物可以与其它活性成分联合的形式使用。在临床实践中,用于本发明提供的方法的环孢菌素化合物可以通过任何常规途径施用,包括但不限于局部、口服、肠胃外或吸入(例如以气雾剂的形式)施用。在一具体实施方案中,用于本发明提供的方法的环孢菌素化合物是口服施用。

[0088] 可以用片剂、丸剂、硬胶囊、粉剂或颗粒剂作为固体组合物用于口服施用来使用。在这些组合物中,本发明提供的活性产物与一种或多种惰性稀释剂或佐剂,例如蔗糖、乳糖或淀粉混合。

[0089] 这些组合物可以包含除稀释剂之外的物质,例如润滑剂,如硬脂酸镁,或者用于控制释放的包膜。

[0090] 可以用包含惰性稀释剂如水或液态石蜡的药学上可接受的溶液、悬浮液、乳剂、糖浆和酞剂作为液体组合物用于口服施用来使用。这些组合物也可以包含除稀释剂以外的其它物质,例如润湿、增甜或调味产品。

[0091] 用于肠胃外施用的组合物可以是乳剂或无菌溶液。可以用丙二醇、聚乙二醇、植物油尤其是橄榄油、或可注射有机酯例如油酸乙酯作为溶剂或介质来使用。这些组合物也可以包含佐剂,尤其是润湿剂、等渗剂、乳化剂、分散剂和稳定剂。灭菌能够以多种方式进行,例如采用细菌过滤器,通过辐射或加热。它们也可以被制成无菌固体组合物形式,其能够在使用时溶解于无菌水或任何其它可注射无菌介质中。

[0092] 所述组合物也可以是气雾剂。以液体气雾剂的形式使用,组合物可以是稳定的无菌溶液或在使用时溶解于无热源无菌水、生理盐水或任何其它 药学上可接受的介质中的固体组合物。由于以可直接吸入的干气雾剂形式使用,所述活性成分进行细微分散并与水溶性固体稀释剂或介质,例如右旋糖苷、甘露醇或乳糖结合。

[0093] 在一些实施方案中,本发明提供的组合物是药物组合物或者是单一剂量形式。本发明提供的药物组合物和单一剂量形式包含预防或治疗有效量的一种或多种预防剂或治疗剂(例如,本发明提供的化合物,或者其它预防剂或治疗剂),以及通常一种或多种药学上可接受的载体或赋形剂。在特定实施方案和本文上下文中,术语“药学上可接受的”是指被联邦或州政府管理机构批准的,或列在美国药典中的或其它通常被药典认为可用于动物,更尤其是人。术语“载体”是指随治疗剂一起施用的稀释剂、佐剂(例如弗氏佐剂(完全的和不完全的))、赋形剂或介质。这些药物载体可以是无菌液体,例如水和油,包括那些石油、动物油、植物油或合成来源的,如花生油、大豆油、矿物油、芝麻油等。在一些实施方案中,水是当药物组合物是静脉内施用时的载体。生理盐水溶液、葡萄糖水溶液和甘油溶液也可以被用作液体载体,尤其是可注射溶液。合适的药用载体的例子见 E. W. Martin 著的“Remington's Pharmaceutical Sciences”中的描述。

[0094] 通常药物组合物和剂型包含一种或多种赋形剂。合适的赋形剂是药学领域技术人员公知的,合适的赋形剂的非限制性实例包括淀粉、葡萄糖、乳糖、蔗糖、明胶、麦芽、米、面、白垩、硅胶、硬脂酸钠、单硬脂酸甘油酯、滑石、氯化钠、脱脂奶粉、甘油、丙烯、丙二醇、水、乙醇等。特定的赋形剂是适于加入药物组合物还是加入剂型取决于本领域公知的多种因素,包括但不限于,剂型将被施用给患者的方式和剂型中的具体活性成分。如果需要,组合物或单一剂量单元也可以包含微量润湿剂或乳化剂或 pH 缓冲剂。

[0095] 本发明提供的无乳糖组合物可以包含本领域公知的和例如在美国药典(USP) SP(XXI)/NF(XVI) 中列出的赋形剂。一般而言,无乳糖组合物包含活性成分,药学上相容的和药学上可接受量的结合剂/填充剂和润滑剂。示例性的无乳糖剂型包含活性成分、微晶纤维素、预糊化淀粉和硬脂酸镁。

[0096] 本发明进一步提供包含活性成分的无水药物组合物和剂型,因为水会促进一些化合物的降解。例如,加入水(例如 5%)是药学领域广泛接受的模拟长期储存的手段,以便测定例如货架期或制剂随时间的稳定性的性质。例如参见 Jens T. Carstensen, Drug Stability: Principles & Practice, 2d. Ed., Marcel Dekker, NY, NY, 1995, pp. 379-80。实际上,水和热可加速一些化合物的降解。因此,水对制剂的作用可具有重要意义,因为水分和/或湿度在制剂的生产、处理、包装、储存、运输中是常常会遇到的。

[0097] 本发明提供的无水药物组合物和制剂可以采用无水或低水分成分并且在低水分和低湿度条件下制备。如果预期在生产、包装和/或储存中会有水分和/或湿度有实质性接触,包含乳糖和包含伯胺或仲胺的至少一种活性成分的药物组合物在一些实施方案中是无水的。

[0098] 无水药物组合物在制备和储存中应维持其无水性质。相应的,在一些实施方案中,无水组合物用已知能防水的材料包装,因此它们可以被包含在合适的试剂盒中。合适的包装的例子包括但不限于密封箔材、塑料、单剂量包装(例如小药瓶)、泡罩板和条状板。

[0099] 本发明进一步提供包含一种或多种降低活性成分降解速率的化合物的药物组

合物和剂型。这种化合物在本文中被称为“稳定剂”，包括但不限于抗氧化剂例如抗坏血酸、pH 缓冲剂或盐缓冲剂。

[0100] 药物组合物和单一剂量形式可以是溶液、悬浮液、乳剂、片剂、丸剂、胶囊、粉剂、持续释放制剂等形式。口服制剂可以包含标准载体例如药用等级的甘露醇、乳糖、淀粉、硬脂酸镁、糖精钠、纤维素、碳酸镁等。在一些实施方案中，这种组合物和剂型将包含预防或治疗有效量的纯的形式的预防或治疗剂以及合适量的载体，以便提供适于向患者施用的形式。剂型应当适应于施用模式。在一具体实施方案中，药物组合物或单一剂量形式是无菌的并且是适于向患者施用的形式，例如动物患者，或哺乳动物患者，例如人类患者。

[0101] 本发明提供的药物组合物被配制成与其施用途径相适应。施用途径的例子包括但不限于，肠胃外，例如静脉内、皮内、皮下、肌内、皮下，口服、颊内、舌下、吸入、鼻内、透皮、局部、跨粘膜、肿瘤内和滑膜腔内施用。在一些实施方案中，组合物被配制成与常规操作相适应，如药物组合物适用于静脉内、皮下、肌内、口服、鼻内或局部给人施用。在一具体实施方案中，药物组合物被配制成与对人皮下施用的常规操作相适应。通常，用于静脉内施用的组合物是在无菌等渗含水缓冲液中的溶液。当必要时，组合物也可以包含助溶剂和局部麻醉剂，例如 lignocaine 来缓解注射部位的疼痛。

[0102] 剂型的例子包括但不限于：片剂；胶囊药片；胶囊，例如软弹性明胶胶囊；扁胶囊；含片；锭剂；分散剂；栓剂；软膏剂；泥敷剂；糊剂；粉剂；敷料；乳膏剂；硬膏剂；溶液、贴剂；气雾剂（例如鼻喷雾或吸入剂）；凝胶剂；适用于向患者经口服或粘膜施用的液体制剂，包括悬浮剂（例如含水或不含水的液体悬浮剂、水包油乳剂或油包水液体乳剂）、溶液剂和酏剂；适用于肠胃外向患者施用的液体剂型；和无菌固体（例如结晶或无定性固体），其能够被重组来提供适于向患者肠胃外施用的液体剂型。

[0103] 本发明提供的组合物、制剂的形状和类型通常随其用途变化。例如，用于初次治疗眼部疾病的制剂可以包含比用于维持治疗疾病的剂型更大量的一种或多种活性成分。类似的，肠胃外剂型可以包含与用于治疗相同疾病或病症的口服剂型相比较少量的一种或多种活性成分。本文包含的具体剂型的这些和其它方式彼此变化，其对于本领域技术人员是显而易见的。例如参见 Remington's Pharmaceutical Sciences, 第 20 版, Mack Publishing, Easton PA (2000)。

[0104] 通常，本发明提供的组合物的成分在单剂量形式中是单独提供的或者是混合在一起的，例如，在密封容器例如指明活性成分量的安瓿或小袋中的冻干粉或无水浓缩物。当组合物是输液施用时，它可以被分装在含有无菌药用等级的水或生理盐水的输液瓶中。当组合物是注射施用时，可以提供用于注射的无菌水安瓿或生理盐水，使成分在注射前可以被混合。

[0105] 本发明提供的典型剂型包含本发明提供的化合物，或其药学上可接受的盐、溶剂化物或水合物，其范围是约 0.1mg 至约 1000mg 每天，在早上以每天一次的单次剂量施用或者随着食物以全天分散剂量施用。本发明提供的特定剂型含有大约 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、1.0、2.0、2.5、5.0、10.0、15.0、20.0、25.0、50.0、100、200、250、500 或 1000mg 的活性环孢菌素。

[0106] 4.2.2.1 透皮、局部和粘膜剂型

[0107] 在一些实施方案中，本发明提供的是透皮、局部和粘膜剂型。本发明提供的透

皮、局部和粘膜剂型包括但不限于眼用溶液、喷雾剂、气雾剂、乳膏剂、洗剂、软膏剂、凝胶剂、溶液、乳液、悬浮液或本领域技术人员已知的其它剂型。例如参见 Remington's Pharmaceutical Sciences, 第 20 版, Mack Publishing, Easton PA (2000) ; 和 Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms, 第 4 版, Lea & Febiger, Philadelphia (1985)。适用于治疗口腔内粘膜组织的剂型可以被制成漱口剂或口用凝胶。此外, 透皮剂型包括“储库型”或“基质型”贴片, 它可以被施用于皮肤并保持特定长的时间以允许需要量的活性成分渗入。

[0108] 可以被用于提供本发明透皮、局部和粘膜制剂的合适赋形剂 (例如载体和稀释剂) 和其它物质是药学领域的技术人员公知的, 取决于特定的药物组合物或剂型将要被施用的特定组织。考虑到这种情况, 典型的赋形剂包括但不限于水、丙酮、乙醇、乙二醇、丙二醇、丁-1,3-二醇、肉豆蔻酸异丙酯、棕榈酸异丙酯、矿物油及其混合物来形成洗剂、酏剂、乳膏剂、乳剂、凝胶剂或软膏剂, 它们是无毒的并且上药上可接受的。如果需要, 保湿剂或润湿剂也可以被加入药物组合物和剂型中。这种另外的成分的例子是本领域公知的。例如参见 Remington's Pharmaceutical Sciences, 第 20 版, Mack Publishing, Easton PA (2000)。

[0109] 取决于被治疗的具体组织, 在用本发明提供的活性成分治疗之前、同时或之后可以使用其它成分。例如, 可以使用渗透促进剂帮助递送活性成分至组织。合适的渗透促进剂包括但不限于: 丙酮; 各种醇类, 例如乙醇、油醇和四氢呋喃醇; 烷基亚砷, 例如二甲基亚砷; 二甲基乙酰胺; 二甲基甲酰胺; 聚乙二醇; 吡咯烷酮, 例如聚乙烯吡咯烷酮; 聚乙烯吡咯烷酮级 (聚维酮, 聚乙烯吡咯烷酮); 尿素和各种水溶性或水不溶性糖酯, 例如吐温 80 (聚山梨醇酯 80) 和司盘 60 (山梨醇酐单硬脂酸酯)。

[0110] 药物组合物或剂型的 pH 值或者施用药物组合物或剂型的组织的 pH 值也可以被调整以改善一种或多种活性成分的递送。类似的, 也可以调整溶剂载体的极性, 它的离子强度或者张力以改善递送。化合物例如硬脂酸酯也可以被加入药物组合物或剂型从而有利地改变一种或多种活性成分的亲水性或亲脂性以便改善递送。在这点上, 硬脂酸酯可以作为脂质介质用于制剂, 其可作为乳化剂或表面活性剂, 作为递送促进剂或渗透促进剂。活性成分的不同的盐、水合物或溶剂化物可被用于进一步调整获得的组合物的性质。

[0111] 4.2.2.2 用于眼部施用的药物组合物

[0112] 本发明提供的方法采用包含至少一种通式 (I) 化合物的药物组合物, 如果合适为盐形式, 所述化合物可以单独使用或者与一种或多种相容的且药学上可接受的载体如稀释剂或佐剂组合使用, 或者与其它活性成分例如另一种用于治疗眼部疾病的药剂组合使用。在临床实践中, 用于本发明提供的方法的包含环孢菌素化合物的药物组合物可以以任何适用于眼部药物给药的方式进行施用, 例如溶液、悬浮液、软膏剂、凝胶剂、脂质分散体、胶状微粒悬浮液、注射液例如眼内注射液或结膜下注射液等, 或是眼部植入物, 例如任选地生物可降解控制释放聚合物基质。在一些实施方案中, 所述组合物被制成水溶液。在其它具体实施方案中, 所述组合物是悬浮液、粘性或半粘性凝胶, 或者其它类型的固体或半固体组合物。

[0113] 可以被用于所述制剂的多种载体包括但不限于水, 水和易溶于水的溶剂的混合物例如 C₁-C₇- 烷醇, 包含 0.5 至 5% 无毒水溶性聚合物的植物油或矿物油, 天然产物, 例如明胶、海藻酸盐、果胶、黄蓍胶、刺梧桐树胶、黄原胶、角叉菜胶、琼脂和阿拉伯胶, 淀粉衍生物,

例如醋酸淀粉和羟丙基淀粉,以及其它合成产物,例如聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮、聚乙烯甲醚、聚环氧乙烷、交联聚丙烯酸,例如中性卡波普,或那些聚合物的混合物。所述载体的浓度通常是所述活性成分浓度的 1 至 10000 倍。

[0114] 可以被包含在制剂中的其它成分包括张力增强剂、防腐剂、增溶剂、无毒赋形剂、缓和剂、掩蔽剂、pH 调节剂、共溶剂和增粘剂。

[0115] 在一些实施方案中,为了调节 pH,例如调整为生理 pH 值,可以使用缓冲剂。pH 值通常维持在约 4.0 至 8.0、约 4.0 至 6.0 或约 6.5 至 7.5 范围内。在一些实施方案中,pH 值维持在约 6.3、6.5、6.7、7.0、7.2 或 7.5。可以加入合适的缓冲剂,例如醋酸盐、抗坏血酸盐、硼酸、硼酸钠、柠檬酸钾、柠檬酸、碳酸氢钠、葡萄糖酸盐、乳酸盐、磷酸盐、丙酸盐、TRIS 以及各种混合的磷酸盐缓冲液(包括 Na_2HPO_4 , NaH_2PO_4 和 KH_2PO_4 的组合)和其混合物。加入的缓冲物质的量,例如必须确保和维持生理上可接受的 pH 值范围。通常,缓冲液的使用量为约 0.05 至 3% 重量、约 0.07 至 2.5% 重量、约 0.1 至 2% 重量、约 0.5 至 2% 重量或约 1 至 2% 重量。在一些实施方案中,缓冲液的量为制剂的约 0.05、0.1、0.5、1、1.5、2、2.3 或 3% 重量。

[0116] 在一些实施方案中,组合物包含张力增强剂,选自离子和非离子化合物。本发明使用的离子化合物包括但不限于碱金属或碱土金属卤化物,例如 CaCl_2 、 KBr 、 KCl 、 LiCl 、 NaI 、 NaBr 、 NaCl 或硼酸。非离子张力增强剂例如是尿素、甘油、山梨醇、甘露醇、丙二醇或右旋糖。本发明提供的组合物包括,例如足够的张力增强剂来形成即用型眼部组合物,渗透压约为约 50 至 1000mOsmol、约 100 至 500mOsmol、约 200 至 400mOsmol、约 280 至 350mOsmol 或者约 230 至 320mOsmol。

[0117] 在一些实施方案中,本发明提供的组合物包含防腐剂。防腐剂的例子有季铵盐,例如溴棕三甲铵、苯扎氯铵或苯佐氯铵,硫代水杨酸的烷基-汞盐,例如硫柳汞、硝酸苯汞、醋酸苯汞或硼酸苯汞、对羟基苯甲酸酯,例如对羟基苯甲酸甲酯或对羟基苯甲酸丙酯,乙醇,例如氯丁醇、苯甲醇或苯乙醇,胍衍生物,例如氯己啶或聚己亚甲基双胍,过硼酸钠, Germal® II 或山梨酸。在一些实施方案中,防腐剂是溴棕三甲铵、苯扎氯铵或苯佐氯铵或对羟基苯甲酸酯。如果合适,向眼用组合物中加入足够量的防腐剂以确保在使用期间避免细菌和真菌的二次污染。

[0118] 在另一具体实施方案中,本发明提供的局部制剂不包括防腐剂。这种制剂可以用于佩戴隐形眼镜的患者,或者那些使用多种局部滴眼剂和/或那些眼表面缺乏抵抗力可能更需要限制接触防腐剂的患者。

[0119] 本发明提供的局部制剂可以进一步包含增溶剂。适用于该组合物的增溶剂选自泰洛沙泊、脂肪酸、聚乙二醇甘油酯、聚乙二醇脂肪酸酯、聚乙二醇、甘油醚、环糊精(例如 α -、 β -或 γ -环糊精,例如烷基化的、羟基烷基化的、羧基烷基化的或烷氧基羰基-烷基化的衍生物,或单-或二糖基- α -、 β -或 γ -环糊精,单-或二-麦芽糖基- α -、 β -或 γ -环糊精或 panosyl-环糊精)、聚山梨酯 20、聚山梨酯 80、橄榄油、蓖麻油、花生油、矿物油或这些化合物的混合物。在一些实施方案中,增溶剂是蓖麻油和环氧乙烷的反应产物,例如商业产品 Cremophor® EL 或 Cremophor RH40®。蓖麻油和环氧乙烷的反应产物已知是能被眼睛良好耐受的特别好的增溶剂。在其它具体实施方案中,增溶剂选自泰洛沙泊和环糊精。本文使用的增溶剂的浓度尤其取决于活性成分的浓度。加入的量通常足以增溶活

性成分。例如,增溶剂的浓度是活性成分浓度的 0.1 至 5000 倍。

[0120] 所述制剂可以进一步包含无毒赋形剂,例如凡士林油、二甲基亚砷、Miglyol 182(可从 Dynamit Nobel Kay-Fries Chemical Company, Mont Vale, N. J. 购买)、醇(例如乙醇、正丙醇或异丙醇)、脂质体或脂质体样产品或硅酮液体、乳化剂、润湿剂或填充剂,例如聚乙二醇 200、300、400 和 600,或 Carbowax 1000、1500、4000、6000 和 10000。如果需要,可以使用其它下列赋形剂,但是它们不试图以任何方式限制可能的赋形剂的范围。它们是络合剂,例如 EDTA 二钠或 EDTA,抗氧化剂例如抗坏血酸、乙酰半胱氨酸、半胱氨酸、亚硫酸氢钠、丁基-羟基苯甲醚、丁基羟基甲苯或 α -生育酚醋酸酯;稳定剂,例如环糊精、硫脲、硫代山梨醇、二辛基磺基琥珀酸钠或单硫代甘油,维生素 E 和维生素 E 衍生物,例如维生素 E 生育酚聚乙二醇 1000 琥珀酸酯 (TPGS);或其它赋形剂,例如月桂酸山梨醇酯、油酸三乙醇胺盐或棕榈酸酯。在一些实施方案中,赋形剂是络合剂例如 EDTA 二钠和稳定剂例如环糊精。添加的赋形剂的量和类型与特定需要相适应,通常为约 0.0001 至约 90% 重量。

[0121] 其它化合物也可以被加入本发明提供的组合物中来增加载体的粘度。粘度增加剂的例子包括但不限于:纤维素聚合物,例如甲基纤维素 (MC)、羟乙基纤维素 (HEC)、羟丙基纤维素 (HPC)、羟丙甲基纤维素 (HPMC) 和羧甲基纤维素钠 (NaCMC),以及其它可溶胀的亲水性聚合物,例如聚乙烯醇 (PVA)、透明质酸及其盐(例如透明质酸钠)、硫酸软骨素及其盐、右旋糖和通常称作“卡波姆”的交联丙烯酸聚合物(可购自 B. F. Goodrich, 名称为 Carbopol® 聚合物)。在一些实施方案中,任何增稠剂的量都是在提供约 15cps 至 25cps 的范围的粘度,具有前述范围粘度的溶液通常被认为是最佳的适于制剂在眼中的舒适度和保留度。

[0122] 在一些实施方案中,本发明提供的组合物包含本发明提供的化合物,在作为润滑剂的纯化水中的羧甲基纤维素钠(纯化水作为润滑剂)、低渗物质、硼酸盐缓冲液、氯化钠、氯化钾、碳酸氢钠、氯化钙、氯化镁和磷酸钠。在一些实施方案中,本发明提供的组合物包含本发明提供的化合物、矿物油和羊毛脂。在一些实施方案中,本发明提供的组合物包含本发明提供的化合物、缓冲溶液、等渗水溶液、柠檬酸缓冲液、氯化钠、乙二胺四乙酸二钠和聚四聚季铵盐。在一些实施方案中,本发明提供的组合物包含本发明提供的化合物、氯化钠、硼酸、氯化钾、氯化钙、氯化镁、纯化水和稳定的氧氯复合物。

[0123] 4.2.3 治疗方法

[0124] 本发明提供的是对于需要此治疗的患者治疗或预防眼部疾病的方法,例如干眼症、葡萄膜炎和晶状体过敏性眼内炎。

[0125] 尽管干眼症可能起因于多种不相关的致病因素,所有并发症都表现共同的效果,就是眼前泪膜的损坏,导致暴露的外表面脱水和许多下面列出的症状。在一些实施方案中,干眼的症状包括感觉干燥,持续的刺激例如通常由存在于眼皮和眼表面之间的小物体引起。在严重的病例中,视觉可能有实质性损伤。干眼疾病包括但不限于干性角膜结膜炎 (KCS)、与年龄相关的干眼症、Stevens-Johnson 综合症、Sjogren's 综合症、眼疤痕性类天疱疮、眼睑炎、角膜损伤、感染、Riley-Day 综合症、先天性泪缺乏、营养失调或缺乏(包括维生素)、药物副作用、眼压和腺体和组织损伤、暴露于雾、烟、过度干燥的空气、空气中颗粒的环境、自身免疫和其它免疫缺陷病症。本发明提供的方法可治疗或预防一种或多种干眼疾病。

[0126] 在一些实施方案中,本发明提供治疗或预防葡萄膜炎的方法。在一些实施方案中,

葡萄膜炎前部的、中部的、后部的或弥散的葡萄膜炎。前葡萄膜炎主要定位于眼睛的前段，包括虹膜炎和虹膜睫状体炎。中葡萄膜炎，也称作周边葡萄膜炎，位于虹膜和晶状体之后的区域中心，在睫状体和睫状环区域中。后葡萄膜炎指代多种类型的视网膜炎、脉络膜炎或视神经炎中的任意形式。弥散葡萄膜炎表示炎症波及眼睛的所有部分，包括前部、中部和后部结构。葡萄膜炎的症状可以随着葡萄膜炎的位置而变化：急性和严重症状在前葡萄膜炎中通常是更常见的，可能包括眼疼、眼红、畏光、视力模糊、视力下降和失明。其它症状包括“漂浮物”，其是小的斑点或云状物在视野内移动，眼内长期闪光，带状角膜病变，继发性青光眼和后部囊下白内障。

[0127] 在一些实施方案中，本发明提供治疗或预防晶状体过敏性眼内炎的方法。在一些实施方案中，本发明提供治疗或预防晶体过敏症的方法，它是葡萄膜炎的严重形式。

[0128] 4.2.4 剂量和单位剂量形式

[0129] 在人类治疗中，医生将决定剂量方案，该方案是他认为按照具体被治疗患者的年龄、体重、病程阶段和其它因素以及按照预防或治愈性治疗最合适的。在一些实施方案中，剂量比例是一个成人每天大约 0.001 至约 1000mg。在一些实施方案中，剂量是一个成人每天大约 1 至约 1000mg，或者每天约 5 至约 250mg 或者每天约 10 至 50mg。在一些实施方案中，剂量是每天约 5 至约 400mg，每天约 25 至 200mg，每天约 50 至约 500mg。在一些实施方案中，剂量是一个成人每天约 0.001 至约 500mg、每天约 0.001 至约 100mg、每天约 0.005 至约 50mg、每天约 0.01 至 10mg、每天约 0.03 至 1mg、每天约 0.05 至 1mg、每天约 0.06 至 1mg、每天约 0.08 至 1mg 或约 0.1 至 1mg。在一些实施方案中，剂量是每人每天约 0.001mg、0.005mg、0.01mg、0.02mg、0.03mg、0.04mg、0.05mg、0.06mg、0.07mg、0.08mg、0.09mg、0.1mg、0.3mg、0.5mg、1mg、5mg、10mg、15mg、20mg、25mg、30mg、35mg、40mg、45mg、50mg、60mg、70mg、80mg 或 100mg。

[0130] 能够有效预防或治疗病症或一种或多种疾病症状的本发明提供的化合物或组合物的量，将随着疾病或状况的性质和严重程度以及活性成分的施用途径而变化。频率和剂量也将随着每个患者的具体因素变化，取决于给予的具体治疗（例如治疗剂或预防剂）、病症、疾病或状况的严重程度、施用途径、以及患者的年龄、身体、体重、反应和医疗历史。有效量可以从体内或动物模型试验系统的剂量 - 反应曲线外推得到。

[0131] 组合物的示例性剂量包括每千克患者体重或样本重量活性化合物的毫克或微克量（例如约每千克 0.1 微克至约每千克 50 毫克、每千克约 0.5 微克至每千克约 25 毫克、每千克约 0.1 微克至每千克约 10 毫克、每千克约 1 微克至每千克约 5 毫克、每千克约 10 微克至每千克约 5 毫克、每千克约 100 微克至每千克约 2.5 毫克，或每千克约 100 微克至每千克约 1 毫克）。在一些实施方案中，每患者体重或样本重量剂量为每千克约 10 微克至每千克约 50 毫克、每千克约 100 微克至每千克约 25 毫克、或每千克约 100 微克至每千克约 10 毫克。对于提供的组合物，以活性化合物的重量计算，对患者的施用剂量通常占患者体重 0.140mg/kg 至 3mg/kg。在一些具体实施方案中，对患者的施用剂量占患者体重介于 0.20mg/kg 至 2.00mg/kg、或介于 0.30mg/kg 至 1.50mg/kg 之间。在一些实施方案中，对于本发明提供的组合物，以活性化合物的重量计算，对患者的施用剂量占患者体重约 0.0001mg/kg 至 0.01mg/kg。在一些实施方案中，以活性化合物的重量计算，对患者的施用剂量占患者体重约 0.0005mg/kg 至 0.01mg/kg。在一些实施方案中，对于本发明提供的组合物，以活性

化合物的重量计算,对患者的施用剂量占患者体重约 0.140mg/kg 至 3mg/kg。在一些实施方案中,对患者的施用剂量占患者体重约 0.0001mg/kg 至约 0.01mg/kg、约 0.0005mg/kg 至约 0.001mg/kg、约 0.001mg/kg 至约 0.01mg/kg、约 0.20mg/kg 至 2.00mg/kg、或介于 0.30mg/kg 至 1.50mg/kg。在一些实施方案中,对患者的施用剂量为约 0.001mg/kg,当患者重约 60kg 时,式 I 化合物的施用剂量为约 0.006mg 每剂量。

[0132] 在一些实施方案中,用于本文描述的状况的本发明提供的组合物的推荐日剂量范围在每天约 0.0005mg 至约 0.1mg,或每天约 0.1mg 至约 1000mg 范围内,以一天一次的单剂量施用或以贯穿全天的间隔剂量施用。在一具体实施方案中,日剂量是以均等间隔的剂量每天施用两次。在一具体实施方案中,日剂量范围是每天约 10mg 至约 200mg、每天约 10mg 至约 150mg、或者每天约 25 至约 100mg。在另一具体实施方案中,日剂量是每天约 0.0001mg 至约 0.01mg,在另一具体实施方案中,日剂量是每天约 0.0005mg 至约 0.005mg,或者在另一具体实施方案中日剂量是每天约 0.001mg 至约 0.05mg。在某些情况下,可能需要使用超出上文公开的范围的活性成分剂量,这一点对于本领域技术人员来说是显而易见的。此外,应当指出,临床医生或治疗医生根据患者的反应会知道如何和何时中断、调整或结束治疗。

[0133] 对于不同的疾病和状况可以采用不同的治疗有效量,这一点对于本领域普通技术人员来说是容易知道的。类似的,足以预防、处理、治疗或改善这种病症,但是不足以引起或足以降低与本发明提供的组合物相关的副作用的量也包括在上述剂量和施用频率计划内。此外,当向患者进行多剂量施用本发明提供的组合物时,不是所有的剂量都必须相同。例如,对患者的施用剂量可以增加以改善组合物的预防或治疗效果或者它可以减少来降低特定患者经历的一种或多种副作用。

[0134] 在特定实施方案中,基于活性化合物的重量向患者施用所述组合物剂量以预防、治疗、控制或改善病症或其一种或多种症状,本发明提供的组合物的剂量占患者体重约 0.0001mg/kg、0.0005mg/kg、0.0007mg/kg、0.0009mg/kg、0.001mg/kg、0.0012mg/kg、0.0015mg/kg、0.0017mg/kg、0.002mg/kg、0.0025mg/kg、0.003mg/kg、0.0035mg/kg、0.004mg/kg、0.005mg/kg、0.01mg/kg、0.1mg/kg、1mg/kg 或更多。在另一具体实施方案中,为预防、治疗、控制或改善病症或其一种或多种症状而向患者施用的本发明提供的组合物的剂量是约 0.0001mg 至约 100mg、0.0005mg 至 50mg、0.0008mg 至 25mg、0.001mg 至 10mg、0.0013mg 至 10mg、0.0015mg 至 10mg、0.0018mg 至 10mg、0.002mg 至 10mg、0.005mg 至 10mg、0.015mg 至 10mg、0.01mg 至 1mg 或 0.1mg 至 1mg 剂量单位。

[0135] 在一些实施方案中,可重复施用本发明提供的相同组合物,并且所述施用可以间隔至少 1 天、2 天、3 天、5 天、10 天、15 天、30 天、45 天、2 月、75 天、3 个月或 6 个月。在另一具体实施方案中,可以重复施用相同预防或治疗剂,并且施用可以间隔至少 1 天、2 天、3 天、5 天、10 天、15 天、30 天、45 天、2 个月、75 天、3 个月或 6 个月。

[0136] 在一些方面,本发明提供的单位剂量以适于施用的形式包含本发明提供的化合物或其药学上可接受的盐。这种剂型在前面已经进行了详细描述。在特定具体实施方案中,单位剂量包含大约 0.001、0.005、0.006、0.007、0.008、0.009、0.01、0.015、0.02、0.025、0.03、0.05、0.1、1、5、10、25、50 或 100mg 活性成分。这种单位剂量可以按照本领域技术人员熟知的技术来制备。

[0137] 4.2.5 联合治疗

[0138] 在一些实施方案中,本发明提供的治疗或预防的方法包括向有需要的患者施用能有效治疗或预防眼部疾病和病症(例如缺水性干眼状态、葡萄膜炎或晶状体过敏性眼内炎)的第二药剂。所述第二药剂可以是本领域技术人员已知能够有效治疗或预防干眼症、葡萄膜炎或晶状体过敏性眼内炎的任意药剂。所述第二药剂可以是目前本领域技术人员已知的第二药剂,或者所述第二药剂可以是今后开发的用于治疗或预防干眼症、葡萄膜炎和/或晶状体过敏性眼内炎的第二药剂。在一些实施方案中,所述第二药剂目前已经被批准用于治疗或预防干眼症、葡萄膜炎和/或晶状体过敏性眼内炎。

[0139] 在一些实施方案中,所述第二治疗活性剂可以是可被用于治疗干眼症、葡萄膜炎和/或晶状体过敏性眼内炎的症状或其任意潜在起因的任意药剂。此外,所述第二治疗活性剂可以是能用于预防或治疗任何可能与干眼症、葡萄膜炎和晶状体过敏性眼内炎同时发生的疾病的任意药剂,无论该疾病是否相关。在一些实施方案中,所述第二治疗活性剂可以是在局部眼用组合物中使用的药物,其中所述局部眼用组合物可能会导致、有助于或加剧眼部疾病,在这里被视为伴随应用的副作用。在这方面,本发明提供的方法可用于减少或根除所述副作用。

[0140] 用于本发明提供的治疗眼部疾病的一类有用的第二治疗活性剂是核苷酸嘌呤受体激动剂,例如尿苷5'-三磷酸盐、二核苷酸、胞苷5'-二磷酸盐、腺苷5'-二磷酸盐、 P^1 -(胞苷5'-)-P-(尿苷5'-)四磷酸盐、 P^1 , P^4 -二(尿苷5')-四磷酸盐,或其治疗有效类似物或衍生物,它们可以影响眼泪分泌,尤其是粘膜层的眼泪,因此可能具有治疗干眼疾病的潜力。这些化合物在下述专利中有所描述,所有这些被全文引入作为参考:U.S. 6,555,675; U.S. 6,548,658; U.S. 6,436,910; U.S. 6,348,589; U.S. 6,331,529; U.S. 6,323,187; U.S. 6,319,908; 和 U.S. 5,900,407。

[0141] 作为第二治疗活性剂用于本发明提供的治疗眼部疾病的方法的另一类有用的化合物是烟碱性受体激动剂,例如烟碱及其类似物、反式位变异购烟碱及其类似物、地棘蛙素及其类似物、吡啶酚衍生物、哌啶生物碱例如洛贝林及其类似物、特定对-烷基硫苯酚衍生物,和吡虫啉及其类似物。这些化合物被认为能通过粘膜杯状细胞刺激粘蛋白分泌,因此可以用于治疗干眼,如US6,277,855中的描述,其在此引入作为参考。

[0142] 在本发明提供的用于治疗眼部疾病的方法中的另一类第二治疗活性剂是四环素、四环素的衍生物或类似物,或化学改性的四环素。这些化合物被认为具有纠正延迟的眼泪清除的潜能,如U.S. 6,455,583 B1中的描述,其在此引入作为参考,它与某些干眼病例相关。

[0143] 作为第二治疗活性剂用于本发明提供的治疗眼部疾病的方法的另一类化合物是皮质激素,例如甲氢泼尼松琥珀酸钠、醋酸氢化泼尼松、氢化泼尼松磷酸钠、氟米龙、醋酸氟米龙、地塞米松磷酸钠、羟甲基孕酮、利美索龙、布地奈德和替可的松 pivalatein,它们被认为能用于治疗干眼症,如U.S. 6,153,607所描述,其在此引入作为参考。

[0144] 作为第二治疗活性剂用于本发明提供的治疗眼部疾病的方法的另一类化合物是人泪腺腺泡上皮产物例如生长因子或细胞因子,包括转化生长因子 β (TGF β),其在U.S. 5,652,209中被公开用于治疗干眼症,其在此引入作为参考。

[0145] 用于本发明提供的治疗眼部疾病的方法中的另一类有用的第二治疗活性剂是雄激素或雄激素类似物,例如17 α -甲基-17 β -羟基-2-氧杂-5 α -雄甾烷-3-酮、睾酮或

甾酮衍生物、4,5 α -二氢甾酮或衍生物、17 β -羟基-5 α -雄甾烷和衍生物、19-去甲甾酮或衍生物和氮取代的雄激素,它们在下列专利中被教导用于治疗干眼疾病,这些专利在此引入作为参考,U.S. 6,107,289;U.S. 5,958,912;U.S. 5,688,765 和 U.S. 5,620,921。

[0146] 在一些实施方案中,用于本发明提供的治疗眼部疾病的方法的第二治疗活性剂是局部用皮质激素,包括但不限于:泼尼松和曲安奈德;睫状肌麻痹剂例如环喷托酯和氢溴酸后马托品,以及免疫抑制剂例如甲氨蝶呤、环孢菌素 A、环磷酰胺和苯丁酸氮芥。

[0147] 用于本发明提供的治疗眼部疾病的方法的另一类第二治疗活性剂是抗生素,包括但不限于大环内酯类(例如雷帕霉素、妥布霉素、子囊霉素、氮杂内酯类例如阿奇霉素);唑烷酮类(例如利奈唑胺、依哌唑胺);喹诺酮类(例如氧氟沙星、诺氟沙星、环丙沙星、洛美沙星)、庆大霉素和毛果芸香碱。

[0148] 用于本发明提供的治疗眼部疾病的方法的其他有用的第二治疗活性剂是环孢菌素 A、环孢菌素 B、环孢菌素 C、环孢菌素 D 和环孢菌素 G。

[0149] 在一些实施方案中,所述第二药剂可以与本发明提供的环孢菌素衍生物一起制剂或包装。当然,只有根据本领域技术人员的判断,所述第二药剂的这种共同制剂不影响各自药剂活性或施用方式时,才能与本发明提供的环孢菌素衍生物一起制剂。在一些实施方案中,本发明提供的环孢菌素衍生物和第二药剂被分离地制剂。它们可以被包装在一起或分别包装,以本领域技术人员的方便为准。

[0150] 在这里提供用于本发明提供的联合治疗的所述第二药剂的剂量。在一些实施方案中,低于目前已经或正在被用于预防或治疗本文所述疾病的剂量被用于本发明提供的联合治疗。本领域技术人员能够从其知识中获得第二药剂的推荐剂量。对于被批准用于临床应用的那些第二药剂,推荐剂量例如见 Hardman 等人., eds., 1996, Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis Of Basis Of Therapeutics 第 9 版, Mc-Graw-Hill, New York; Physician's Desk Reference (PDR) 第 57 版, 2003, Medical Economics Co., Inc., Montvale, NJ 中的描述,其在此全文引入作为参考。

[0151] 在各种具体实施方案中,治疗(例如本发明提供的环孢菌素衍生物和第二药剂)的施用小于 5 分钟间隔、小于 30 分钟间隔、小于 1 小时间隔、在约 1 小时间隔、在约 1 至约 2 小时间隔、在约 2 小时至约 3 小时间隔、在约 3 小时至约 4 小时间隔、在约 4 小时至约 5 小时间隔、在约 5 小时至约 6 小时间隔、在约 6 小时至约 7 小时间隔、在约 7 小时至约 8 小时间隔、在约 8 小时至约 9 小时间隔、在约 9 小时至约 10 小时间隔、在约 10 小时至约 11 小时间隔、在约 11 小时至约 12 小时间隔、在约 12 小时至 18 小时间隔、18 小时至 24 小时间隔、24 小时至 36 小时间隔、36 小时至 48 小时间隔、48 小时至 52 小时间隔、52 小时至 60 小时间隔、60 小时至 72 小时间隔、72 小时至 84 小时间隔、84 小时至 96 小时间隔、或 96 小时至 120 小时间隔。在一些实施方案中,两种或多种疗法是在同一巡诊中给予。

[0152] 在一些实施方案中,循环施用本发明提供的环孢菌素衍生物和第二药剂。循环治疗包括给予第一治疗(例如第一预防或治疗剂)一段时间,然后给予第二治疗(例如第二预防或治疗剂)一段时间,然后给予第三治疗(例如第三预防或治疗剂)一段时间等等,并且重复该顺序施用,也就是说,所述循环是为了减少对一种药剂的抗药性的发展,避免或减少一种药剂的副作用,和/或改善治疗的有效性。

[0153] 在一些实施方案中,相同药剂可以重复施用,并且所述施用可以间隔至少 1 天、2

天、3 天、5 天、10 天、15 天、30 天、45 天、2 个月、75 天、3 个月、或 6 个月。在另一具体实施方案中,相同药剂的施用可以重复,并且所述施用可以间隔至少 1 天、2 天、3 天、5 天、10 天、15 天、30 天、45 天、2 个月、75 天、3 个月或 6 个月。

[0154] 在一些实施方案中,本发明提供的环孢菌素衍生物和第二药剂被按顺序并在一定的时间间隔内施用给患者例如哺乳动物包括人,使得环孢菌素衍生物与其它药剂一起发生作用以提供比它们以其他方式施用更多的益处。例如,所述第二活性剂可以在相同的时间施用或者以任意顺序在不同时间点施用;不过,如果不在相同时间施用,其施用在时间上应当足够近以便提供需要的治疗或预防效果。在一具体实施方案中,环孢菌素衍生物和第二活性剂在重叠的时间发挥其药效。每个第二活性剂可以任意合适的方式、通过任何适合的途径进行单独施用。在其它具体实施方案中,环孢菌素衍生物在第二活性剂施用之前、同时或之后施用。

[0155] 在各个具体实施方案中,环孢菌素衍生物和第二药剂的施用为小于约 1 小时间隔、在约 1 小时间隔、在约 1 小时至约 2 小时间隔、在约 2 小时至约 3 小时间隔、在约 3 小时至约 4 小时间隔、在约 4 小时至约 5 小时间隔、在约 5 小时至约 6 小时间隔、在约 6 小时至约 7 小时间隔、在约 7 小时至约 8 小时间隔、在约 8 小时至约 9 小时间隔、在约 9 小时至约 10 小时间隔、在约 10 小时至约 11 小时间隔、在约 11 小时至约 12 小时间隔、不超过 24 小时间隔或不超过 48 小时间隔。在其它具体实施方案中,环孢菌素衍生物和第二药剂同时施用。

[0156] 在其它具体实施方案中,环孢菌素衍生物和第二药剂的施用为约 2 至 4 天间隔、在约 4 至 6 天间隔、在约 1 星期间隔、在约 1 至 2 星期间隔、或超过 2 星期间隔。

[0157] 在一些实施方案中,环孢菌素衍生物和第二药剂被循环施用给患者。循环治疗包括施用第一药剂一段时间,然后施用第二药剂一段时间和 / 或第三药剂一段时间,并重复该施用顺序。循环治疗可以降低对一种或多种治疗的抗药性的发展,避免或减少一种疗法的副作用,和 / 或改善治疗的有效性。

[0158] 在一些实施方案中,环孢菌素衍生物和第二活性剂的施用为一小于约 3 星期的循环,约每两星期一次,约每 10 天一次或约每周一次。一个循环可以包括每个循环经大约 90 分钟、每个循环经大约 1 小时、每个循环经大约 45 分钟通过输液施用环孢菌素衍生物和第二药剂。每个循环可包括至少 1 星期休整、至少 2 星期休整、至少 3 星期休整。施用循环的数目为约 1 至约 12 个循环,更通常为约 2 至约 10 个循环,更通常为约 2 至约 8 个循环。

[0159] 在其它具体实施方案中,治疗过程为同时向患者施用,即在时间周期内单独施用单剂量的第二药剂,这样环孢菌素衍生物可以与第二活性剂一起作用。例如,一种成分每星期施用一次,并与每两星期或每三星期施用一次的其它成分联合施用。换句话说,即使治疗不是同时给予或者在同一天给予,也可以同时执行施用方案。

[0160] 第二药剂可以另外或与环孢菌素衍生物协同起效。在一具体实施方案中,环孢菌素衍生物与在同一药物组合物中的一种或多种第二药剂同时施用。在另一具体实施方案中,环孢菌素衍生物与在不同药物组合物中的一种或多种第二药剂同时施用。在另一具体实施方案中,环孢菌素衍生物在第二药剂施用之前或之后施用。也包括通过相同或不同的施用途径施用环孢菌素衍生物和第二药剂,例如口服和肠胃外。在一些实施方案中,当环孢菌素衍生物与潜在产生副作用(包括但不限于毒性)的第二药剂同时施用时,所述第二活

性剂可以有利地以低于引发副作用阈值的剂量施用。

[0161] 4.2.6 试剂盒

[0162] 在一些实施方案中,提供用于治疗或预防眼部疾病的试剂盒。试剂盒可以包括本发明提供的药物化合物或组合物以及向医疗提供者提供关于治疗或预防眼部疾病的用法的信息说明书。说明书可以印刷形式,或电子媒介形式例如软盘、CD 或 DVD,或可以获得说明的网址的形式来提供。本发明提供的化合物或组合物的单位剂量可包括当向患者施用时可治疗或预防有效的血浆水平的化合物或组合物在患者体内维持至少一天的剂量。在某些具体实施方案中,本发明提供的化合物或组合物可以无菌含水药物 组合物或干粉(例如冻干的)组合物的形式被包括在试剂盒中。在一具体实施方案中,所述化合物为式(I)化合物。

[0163] 在某些具体实施方案中,提供合适的包装。在本文中,“包装”指固体基质或材料,其通常能用于系统并且能够在一定范围内保持本发明提供的化合物或组合物,从而适于向患者施用。这种材料包括玻璃和塑料(例如聚乙烯、聚丙烯和聚碳酸酯)、瓶子、小瓶、纸、塑料和塑料-箔薄板封套等。如果采用电子光束灭菌技术,所述包装应当具有足够低的密度以允许内容物被灭菌。

[0164] 除本发明提供的化合物或组合物以外,本发明提供的试剂盒还包括与如上述方法所述的化合物或组合物一起使用的第二药剂或包含第二药剂的组合物。

[0165] 下述实施例说明了在本发明方法中使用的组合物的制备。具体记录了从环孢菌素 A 到 3-[2-(吡咯烷-1-基)乙氧基]环孢菌素(化合物 C)的 7 个合成步骤。也显示了化合物 C 磷酸盐的合成。化合物 A、B、D、E、F 和 G 与其磷酸盐一起,可以相似的方式采用不同的胺在倒数第二个还原胺化反应步骤中合成。

[0166] 根据本文的教导下,所要求保护的主体可以有多种改变和变化,因此,它们也在要求保护的主体范围内。

[0167] 5 实施例

[0168] 实施例 E1

[0169] 向 [3'-乙酰氧基-N-甲基-Bmt]¹[(R)-2'-(2-吡咯烷-1-基)乙氧基-Sar]³环孢菌素 A(150mg)的甲醇(10mL)溶液中加入 25wt% 甲氧基钠的甲醇(0.04mL)溶液,在氮气下在室温搅拌所得混合物 24 小时。减压除去甲醇,用乙酸乙酯稀释残留物,用饱和氯化铵、盐水洗涤,经无水硫酸钠干燥。在除去溶剂后,利用制备型液相色谱纯化残留物,得到 33mg 的 3-[2-(吡咯烷-1-基)乙氧基]环孢菌素(化合物 C)。¹H NMR 峰在 5.89, 7.10, 7.15, 7.64 和 7.96ppm。LCMS(ESI): 计算为 C₆₈H₁₂₂N₁₂O₁₃: 1314, 实测为 1315.2 (M+H)⁺。

[0170] 按照相同的方法也制备得到了下述化合物:

[0171]

化合物	¹ H NMR
A	6.00, 7.16, 7.23, 7.71, 7.97; 磷酸盐: 5.97, 7.18 (2H), 7.70, 8.05
B	5.97, 7.15, 7.23, 7.69, 7.95; 磷酸盐: 5.94, 7.17 (2H), 7.68, 8.05
D	5.94, 7.09, 7.16, 7.66, 7.90; 磷酸盐: 5.99, 7.18 (2H), 7.69, 8.05
E	6.04, 7.15, 7.22, 7.73, 7.92
F	6.05, 7.16, 7.21, 7.71, 7.96; 磷酸盐: 5.98, 7.18 (2H), 7.70, 8.05
G	6.04, 7.16, 7.21, 7.69, 7.99
H (与对应异构体 混合物)	5.91 (0.5H), 5.93 (0.5H), 7.10 (2H), 7.63, 7.99; 磷酸盐: 5.90 (0.5H), 5.93 (0.5H), 7.12 (2H), 7.63, 8.05
I	6.03, 7.15, 7.21, 7.73, 7.94
J	6.07, 7.15, 7.22, 7.73, 7.93
K	5.75, 6.99, 7.08, 7.67, 7.86
L	5.89, 7.09, 7.15, 7.67, 7.91
M	5.90, 7.09, 7.15, 7.68, 7.91
N	5.93, 7.16, 7.24, 7.72, 7.96

[0172] 化合物 C 的五价磷盐的按如下制备: 将化合物 C (50mg) 溶解在乙腈 (1mL) 和水 (1.0mL) 的溶剂混合物中, 向该溶液中加入 H₃PO₄ 的水溶液 (0.1M, 0.38mL)。彻底混合得到的混合物, 然后冻干 28 小时, 得到 50mg 相应的五价磷盐。¹H NMR 峰在 5.92, 7.11, 7.63 和 8.01ppm。

[0173] 参考实施例 1

[0174] 将乙醛、[3'-乙酰氧基-N-甲基-Bmt]¹[(R)-2'-甲酰甲氧基-Sar]³ 环孢菌素 A (290mg) 溶解在甲醇 (15mL) 中, 向此溶液中加入乙酸 (30 μL)、吡咯烷 (50 μL) 和氰基硼氢化钠 (30mg)。将得到的混合物在室温搅拌过夜。除去溶剂, 用硅胶色谱柱纯化残留物得到 154mg 的 [3'-乙酰氧基-N-甲基-Bmt]¹[(R)-2'-(2-吡咯烷-1-基)乙氧基-Sar]³ 环孢菌素 A。¹H NMR 峰在 5.95, 7.08, 7.16, 7.60 和 7.90ppm。

[0175] 参考实施例 2

[0176] 向 Dess-Martin periodinane (300mg) 的二氯甲烷 (30mL) 悬浮液中加入 [3'-乙酰氧基-N-甲基-Bmt]¹[(R)-2'-羟基甲基甲氧基-Sar]³ 环孢菌素 A (600mg) 的二氯甲烷 (15mL) 溶液, 在室温搅拌得到的混合物 1 小时。用 MTBE (100mL) 稀释反应混合物, 用 1:1 (体积/体积) 的 10% Na₂S₂O₃ 和饱和 NaHCO₃ (2×50mL) 混合物、饱和盐水溶液洗涤, 经无水硫酸钠干燥。在除去溶剂后, 获得 580mg 的 [3'-乙酰氧基-N-甲基-Bmt]¹[(R)-2'-甲酰甲氧基-Sar]³ 环孢菌素 A。

[0177] 参考实施例 3

[0178] 将樟脑磺酸 (1.0g) 加入 $[3' - \text{乙酰氧基} - \text{N} - \text{甲基} - \text{Bmt}]^1 [2' - \text{乙酰氧基} - \text{Sar}]^3$ 环孢菌素 A (5.14g) 在 THF (10mL) 与干乙二醇 (100mL) 的溶剂混合物中的溶液中, 在 50°C 搅拌得到的混合物 5 小时。用饱和的 NaHCO_3 (150mL)、水 (200mL) 稀释反应混合物, 并用乙酸乙酯 (3×150mL) 萃取。将合并的有机萃取物用水 (150mL)、饱和氯化钠溶液 (150mL) 洗涤, 并经无水硫酸钠干燥。在除去溶剂后, 获得 2.66g 的 $[3' - \text{乙酰氧基} - \text{N} - \text{甲基} - \text{Bmt}]^1 [(R) - 2' - \text{羟基甲基甲氧基} - \text{Sar}]^3$ 环孢菌素 A。 ^1H NMR 峰在 5.90, 7.26, 7.46, 8.03 和 8.55ppm。

[0179] 参考实施例 4

[0180] 将醋酸汞 (4.4g) 加入 $[3' - \text{乙酰氧基} - \text{N} - \text{甲基} - \text{Bmt}]^1 [(R) - 2' - \text{硫代苯} - \text{Sar}]^3$ 环孢菌素 A (4.4g) 在冰醋酸 (90mL) 的溶液中, 在 50°C 搅拌得到的混合物 3 小时。然后除去溶剂, 将残留物溶解在乙酸乙酯 (300mL) 中, 用碳酸氢钠的饱和溶液 (150mL) 洗涤, 然后用盐水 (150mL) 洗涤, 经无水硫酸钠干燥。在除去溶剂后, 利用硅胶色谱柱纯化粗产物得到 5.14g 的 $[3' - \text{乙酰氧基} - \text{N} - \text{甲基} - \text{Bmt}]^1 [2' - \text{乙酰氧基} - \text{Sar}]^3$ 环孢菌素 A。

[0181] 参考实施例 5

[0182] 将 N, N-二甲基氨基吡啶 (1.23g)、三乙胺 (1.39mL) 和醋酸酐 (0.63mL) 加入到 $[(R) - 2' - \text{硫代苯基} - \text{Sar}]^3$ 环孢菌素 A (4.36g) 的干二氯甲烷 (60mL) 溶液中。将得到的混合物在室温搅拌约 2.5 天。然后用乙酸乙酯稀释反应混合物, 用水和盐水洗涤并浓缩。通过硅胶柱利用色谱法来纯化粗产物, 用乙酸乙酯和己烷的混合物洗脱得到 $[3' - \text{乙酰氧基} - \text{N} - \text{甲基} - \text{Bmt}]^1 [(R) - 2' - \text{硫代苯基} - \text{Sar}]^3$ 环孢菌素 A。

[0183] 参考实施例 6

[0184] 在 -33°C 在惰性气氛下将环孢菌素 A (8.0g) 在干叔丁基甲基醚 (TBME, 50mL) 的溶液加入氨基钠 (7.0g) 在液氮 (200mL) 中的悬浮液中。在惰性气氛下在 -33°C 搅拌反应混合物 90 分钟。然后加入二硫二苯 (25g), 在惰性气氛下在 -33°C 再搅拌 2 小时。然后用固体氯化铵 (17.5g) 终止反应, 并蒸发氨。用 TBME (250mL) 和水 (250mL) 稀释反应混合物, 彻底混合, 分层。用盐水 (250mL) 洗涤有机层, 然后浓缩。使用硅胶柱通过色谱法纯化残留物, 先用乙酸乙酯和庚烷的混合物洗脱, 然后用甲醇和乙酸乙酯的混合物洗脱, 得到 4.36g 的 $[(R) - 2' - \text{硫代苯基} - \text{Sar}]^3$ 环孢菌素 A。

[0185] 5.1 实施例 1: 口服剂型 - 口服胶囊剂型

[0186] 用于本发明提供的方法的一种或多种化合物可以被制成胶囊。这种胶囊可以包含 10 至 100mg 所述化合物以及一种或多种赋形剂, 所述赋形剂选自: 微晶纤维素、预糊化淀粉、乳糖、羟基乙酸淀粉钠、交联聚维酮、聚维酮、羟丙基纤维素、硬脂酸镁和二氧化硅。得到的组合物可以用一种或多种胶囊化组合物例如明胶或增塑剂制成胶囊。

[0187] 5.2 实施例 2: 口服液体制剂

[0188] 用于本发明提供的方法的一种或多种化合物可以被制成在糖浆或酞剂中的盐。所述化合物的总浓度可以为 5 至 50mg/mL。糖浆或酞剂可以进一步包含聚乙二醇、丙而醇、聚乙二醇混合物、PEG 400、环氧乙烷和环氧丙烷的嵌段共聚物 (例如, 泊洛沙姆 407)、聚山梨酯 20、乙醇、糖、柠檬酸和 / 或调味剂。

[0189] 5.3 实施例 3: 眼用乳剂制剂

[0190] 用于本发明提供的方法的化合物可以被制成眼用乳剂。这种乳剂每毫升可以包含

0.05%的本发明提供的化合物和一种或多种赋形剂,所述赋形剂选自:甘油、蓖麻油、聚山梨酯 80、卡波姆 1342、用来调节 pH 值的纯化水以及氢氧化钠。得到的制剂可以具有 230 至 320mOsmol/kg 的渗透压和 6.5-8.0 的 pH 值。

[0191] 5.4 实施例 4:滴眼液制剂

[0192] 用于本发明提供的方法的化合物可以被制成滴眼剂。这种滴眼剂可以包含一种或多种用于本发明提供的方法的化合物和一种或多种赋形剂,所述赋形剂选自:作为润滑剂的纯化水、无菌低渗硼酸盐缓冲溶液、在天然泪液中发现的电解质、氯化钠、氯化钾、氯化钠、碳酸氢钠、氯化钙、氯化镁、磷酸钠、高朋酸钠和磷酸稳定剂。

[0193] 用于本发明提供的方法的化合物可以被制成滴眼剂。这种滴眼剂可以包含一种或多种用于本发明提供的方法的化合物和一种或多种赋形剂,所述赋形剂选自作为润滑剂的纯化水、无菌低渗硼酸盐缓冲溶液、在天然泪液中发现的电解质、氯化钠、氯化钾、氯化钠、碳酸氢钠、氯化钙、氯化镁、磷酸钠、高朋酸钠和磷酸稳定剂。

[0194] 本发明的眼用制剂被方便地包装成适于定量使用的形式,例如在配有滴管的容器中,以方便施用于眼睛。适于滴加使用的容器通常由合适的惰性、无毒塑料材料制成,通常包含约 0.5 至约 20ml 溶液。一个包装可以包含一个或多个单位剂量。尤其是无防腐剂溶液通常被制备在不能重复密封的容器中,其包含高至约十二个,优选高至约五个单位剂量,其中通常的单位剂量是一至约八滴,优选一至约三滴。一滴的量大约是 20-40 μ L。

[0195] 6. 生物活性

[0196] 鼠混合淋巴细胞反应 (MLR) 试验:这一试验通过测定掺入小鼠脾分离 T-细胞 DNA 中的氘化胸苷来监测 T-细胞增殖;T-细胞的增殖与掺入 DNA 的氘直接成比例。混合的脾细胞制备自两种小鼠,每种三只:三只 C57BL/6 小鼠和三只 BALB/c 小鼠。在 MLR 中, C57BL/6 小鼠被作为应答者 (R) 使用, BALB 小鼠被作为刺激者 (S) 使用。完全培养基包括含有 25 mM HEPES 的 RPMI 1640、10% 的热灭活低背景的胎牛血清、50 μ M 2-巯基乙醇、2mM L-谷氨酸和抗生素。

[0197] 在 Bevill 辐射器中在 3000 伦琴用 γ 射线辐射 BALB/c 脾细胞,用培养基洗涤一次,用作 S 细胞;S 细胞以 1.6×10^6 /mL 在完全培养基中培养。R 细胞以 8×10^5 /mL 在完全培养基中培养。最终细胞密度为在 96 孔微量滴定板中每个试验孔 2×10^5 R 和 4×10^5 S。将 DMSO 储存溶液中的 10mM 化合物稀释加入培养基;在 0.001 至 30 μ M (三倍稀释液) 的 10 个浓度下检测化合物。

[0198] 背景对照孔包含 150 μ L 培养基 /0.3% DMSO 和 50 μ L R 细胞 (2×10^5 /孔)。所有其它孔包含 100 μ L 培养基 /0.3% DMSO 或化合物 (也含于 0.3% DMSO 中)、50 μ L R 细胞 (2×10^5 /孔) 和 50 μ L S 细胞 (4×10^5 /孔)。将板在 37°C 在 5% CO₂ 中孵育 5 天,随后加入 1 μ Ci/孔的 ³H-胸苷振动 6-18 小时。收集细胞,利用闪烁计数器测定氘的结合。

[0199] 在体外抑制 T-淋巴细胞活化

[0200] 淋巴细胞浸润是干眼症和葡萄膜炎的主要机制之一。因此,抑制 T-细胞活化提供了治疗这些疾病的基础。使用人类细胞的试验被用来测定化合物是否 1) 抑制 T-细胞活化 (利用细胞因子释放作为生物标记),和 2) 减少或预防细胞因子诱导的病理状况。

[0201] 将化合物与被刺激的人类 T-淋巴细胞一起在设计成能测定细胞因子生成的体外系统中温育;细胞因子的生成表明 T-细胞活化和随后细胞因子在体内诱导的损伤。从两

个人的炎症部位分离人 T- 淋巴细胞 (Yssel 等人, J. Immunol. Meth, 74 :219), 标记为 P23 和 P26。将细胞一式三份的用细胞培养基中的化合物或介质 (DMSO) 在 37℃ 处理 2 小时。然后用 5 μ L 抗 -CD3/ 抗 -CD28 ExpandBeads (DynaBeads, Invitrogen 111.31) 刺激细胞并孵育 24 小时。在 0.02、0.2 和 2 μ M 三个浓度检测化合物。为每个细胞因子标记设置未处理的对照。下述细胞因子是利用特定的 ELISA 试剂盒, 按照生产商的说明来定量测定的: IL2 (Eli-pair, Diaclone)、IL4 (ImmunoTools 313.300.49)、肿瘤坏死因子 α (TNF α , ImmunoTools 313.33.0.1) 和干扰素 γ (IFN- γ) (Eli-pair, Diaclone)。

[0202] 表 1. 对人 T- 淋巴细胞和鼠混合淋巴细胞反应 (MLR) 中的细胞因子生成的抑制。

[0203]

	细胞因子产物的大约 IC ₅₀ (μ M) *				IC ₅₀ (μ M)
Cmpd	TNF- α	IL4	IL2	IFN- γ	MLR
A	2	2	0.02	2	0.2
D	2	2	1	1	0.2
F	0.2	0.2	0.02	0.2	0.5

[0204] * 来自两位供者培养物的试验结果的平均值。

[0205] 上述表 1 中列出的化合物抑制来自被刺激的人淋巴细胞和鼠 MLR 淋巴细胞的细胞因子生成; 在所有检测浓度都没有观察到细胞毒性。

[0206] 利用浊度滴定法 (Schote, 等人., 2002. J Pharm Sciences 91(3) :856) 测定化合物在人工泪液制剂中的溶解度。不同的泪液制剂是缓冲的并且包含各种生理电解质包括钠、钾、磷和氯。所述制剂的不同之处主要在于提供润滑性和粘度的“活性”成分。在包含如下主要类别活性剂的各种人工泪液制剂中测试化合物的溶解度: 0.5% 羧甲基纤维素、0.95% 丙二醇、0.5% 羧甲基纤维素钠、1% 聚乙二醇 400、加 1% 聚乙烯醇, 和 0.1% 右旋糖酐 70 以及 0.3% 羟丙甲基纤维素。在各种人工泪液中测定的 N- 取代的类似物的溶解度为 100 至 2000 μ M (见下述实施例)。

[0207] 表 2. 化合物 A 在人工泪液制剂中的溶解度

[0208]

pH	最小溶解度(μ M)	其它成分(%)
6.8	130	羧甲基纤维素钠(0.5)
7.3	117	丙二醇(0.95), 甘油(0.3)
6.2	151	聚乙二醇 400(1), 聚乙烯醇(1)
7.4	141	右旋糖酐 70(0.1), 羟丙甲基纤维素 2910(0.3)
6.7**	350	右旋糖酐 70(0.1), 羟丙甲基纤维素 2910(0.3)

[0209] **pH 值用 HCl 调整至 7.4 至 6.7。

[0210] 应用 HET-CAM 试验评价眼刺激可能性

[0211] 在体外试验中评价本发明化合物对眼睛不造成刺激的可能性, 这一能够用于预测其性质的试验被称作 HET-CAM 试验 (Steiling 等人, 1999. Toxicology in Vitro 13(2) :

375)。在这一试验中,将已受精鸡蛋的绒毛尿囊膜 (CAM) 暴露在试验物质的无菌水溶液中。在大约 5 分钟的温育期间,通过视觉检验 CAM 血管网络的出血、溶解和 / 或凝结来评价刺激度。对每种结果的出现时间和现象用数字评分,将分数相加得到单一数值,获得若干鸡蛋的平均数值分数。基于与历史对照物质和介质的比较,获得刺激可能性的分类 (Luepke, 1985. Food Chem. Toxicol. 23 :287)。本发明化合物的刺激可能性汇总如下:

[0212] 表 3. 应用 HET-CAM 试验得到的刺激可能性

[0213]

试验物质	溶解	出血	凝结	总分	分类
介质*	3	0	0	3.0	轻微刺激
A	3.5	0	0	3.5	轻微刺激
D	3	0	0	3.0	轻微刺激
F	3	0	0	3.0	轻微刺激
J	3	0	0	3.0	轻微刺激

[0214] *1% (v/v) DMSO 溶于无菌水。

[0215] 用兔评价眼耐受性

[0216] 经三天试验周期通过在兔眼中滴注来评价本发明化合物的耐受性。兔子在 20 分钟内接受五次滴注五十微升溶于介质的受试物质的溶液,滴在右眼中,第 1 天 1 次,第 2 天 2 次,第 3 天 4 次。利用 Draize scale (Draize 等人. J. Pharmacol. Exp. Ther. 1944. 82 :377) 进行眼刺激度的评价。在这一评价中,化合物 A (0.05% (w/w) 在人工泪液制剂中) 有非常好的耐受性,仅引发轻微角膜红,与仅用介质处理的实验组没有显著区别。

[0217] 本发明化合物的溶解度和抗炎性质在干眼症和葡萄膜炎的局部治疗中都显示出有益效果。

[0218] 在兔中 LPS 诱导的葡萄膜炎

[0219] 基于 Allen JB 等人., Exp. Eye Res. 1996 Jan ;62(1) :21-8 中描述的方法,用 12 只兔子进行研究,以评价化合物在兔子中对内毒素诱导的急性葡萄膜炎的效果。为引发急性前葡萄膜炎,将肠道沙门氏菌脂多糖内毒素 (LPS) 经玻璃腔体内注射入兔子右眼。对化合物 (右眼) 或对照 (左眼) 的两只眼睛进行局部治疗,每 6 小时一次,在经玻璃腔体注射 10ng LPS 或介质后立即给予 6 只兔子最佳剂量例如为 0.1% w/v (见下表)。四只眼睛的组包括仅接受介质的阴性对照 (组 1),不用药物治疗的阳性 - 葡萄膜炎对照 (组 2),用药物治疗的葡萄膜炎眼睛 (组 3),治疗每只眼睛并持续 7 天。对眼睛进行临床刺激评分 (显微镜眼检查)、荧光素染色试验、视网膜电图 (视网膜毒性的电诊断方法)、房水蛋白浓度和细胞计数以及完整的眼组织病理学。在 7 天后,发现良好的应答,在第 1 组和第 3 组之间没有临床上的显著差异。

[0220] 采用犬干性角结膜炎 (KCS) 作为模型,试验对于干眼症的局部治疗

[0221] 犬 KCS 的典型临床表现包括进展性结膜炎、表面结膜炎、眼排泄粘液、眼睑痉挛、最终的角膜疤痕和会导致失明的色素角膜炎。该疾病是双边且几乎是对称的。KCS 的诊断是基于典型临床特征的出现和 Schirmer 泪液试验 (STT) 值小于 10mm 润湿 / 分钟 (正常是 15-30mm/min)。

[0222] 选择经兽医眼科学家诊断患有慢性 (持续长于 3 个月) 免疫介导的 KCS 狗来进行治疗。研究是开放标记的,单一组有效性研究,采用一天两次在每只受感染的眼睛中施用 50 μ l (1 滴) 的 0.1% 化合物。基于泪液产生来评价药物的有效性 (通过 STT 测定),临床

观察角膜的反应,狗的主人和参加的眼科学家全面评价有效性。在试验期间(12 星期)每 2 星期进行生理和眼科检查(活组织显微镜检查,间接检眼睛检查)。这些检查包括进行 STT 和评价眼睛炎症的严重性。在临床试验前和期间,经活组织显微镜检查在每次检查期间对每只狗的角膜发炎量进行主观评分。对 3 个参数在 0 至 4 范围内记录分数(0 = 正常;4 = 最严重):角膜血管形成面积(0,1-25%,26-50%,51-75%,和 > 75%);透明度丧失的严重性(角膜云斑 - 正常,轻微,中等,严重丧失透明度和不透明),角膜云斑的面积(0,1-25%,26-50%,51-75%,和 > 75%)。采用 Tukey-Kramer 多重比较程序的 ANOVA、Kruskal-Wallis 检验、学生 t 检验和 / 或计算 Pearson 相关系数(r) 的统计分析来证实结果。所有结果和可能性由计算机统计软件生成(SAS, Inc, Cary, NC), $P < 0.05$ 的值被认为具有显著性。

[0223] 在 STT 的增加 $\geq 5\text{mm/min}$ 和在临床表现上取得实质性改善(例如粘液排泄、眼睑痉挛、结膜充血等的减少)被视为对化合物的有效应答,其由眼科学家在 6 个星期内观察到的。

[0224] 本说明书中引用的所有出版物和专利申请都被纳入作为参考,如同每个单独的出版物或专利申请被具体和个别引入作为参考一样。虽然本发明已采用各种优选的具体实施方案进行了描述,但是本领域技术人员应理解可以做出不偏离本发明精神的各种改变、替代、省略和变化。相应的,要求保护的题目的范围不仅限于下述权利要求的范围,也包括其等同方案。