

[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int. Cl⁷

A61K 41/00

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 98802422.5

[43]公开日 2000年10月11日

[11]公开号 CN 1269729A

[22]申请日 1998.1.14 [21]申请号 98802422.5

[30]优先权

[32]1997.2.11 [33]US [31]08/797,963

[32]1997.10.2 [33]US [31]08/942,883

[86]国际申请 PCT/IB98/00181 1998.1.14

[87]国际公布 WO98/34644 英 1998.8.13

[85]进入国家阶段日期 1999.8.10

[71]申请人 QLT 光治疗股份有限公司

地址 加拿大不列颠哥伦比亚省

共同申请人 不列颠哥伦比亚省大学

汽巴视觉股份公司

[72]发明人 W·C·斯图尔特 M·法斯德尼

A·M·里克特 J·G·利维

C·A·A·哈里托 G·修伯

M·奥博奇

[74]专利代理机构 上海专利商标事务所

代理人 章鸣玉

权利要求书 2 页 说明书 27 页 附图页数 7 页

[54]发明名称 减轻炎症作用的组合物和制品

[57]摘要

减轻或预防损伤组织发生的炎症反应的方法,包括以下步骤:a.使损伤组织或损伤前组织与能渗透到组织中的光敏剂接触,在少于1小时内形成所需程度的生物分布;和b.将组织曝光,使其与具有能被光敏剂吸收的波长的光接触,接触时间以足以减轻或预防在曝光组织中的炎症反应,但不引起曝光组织坏死或红斑为限。用于减轻或预防损伤组织产生的炎症反应的药物组合物或制品。该组合物包括:a.约1 μ g/ml至约2mg/ml光敏剂,所述光敏剂能渗透到损伤组织或损伤前组织中,在少于1小时内形成所需程度的生物分布;和b).可药用载体。该制品包括:a).能渗透到损伤组织或损伤前组织中、在少于1小时内形成所需程度生物分布的光敏剂;和b).能吸收的涂药器。

ISSN 1008-4274



权 利 要 求 书

1. 减轻或预防损伤组织发生的炎症反应的方法，其特征在于包括以下步骤：
 - a. 使损伤组织或损伤前组织与能渗透到所述组织中的光敏剂接触，在少于 1 小时内形成所需程度的生物分布；和
 - b. 将组织曝光，使其与具有能被光敏剂吸收的波长的光进行所述的接触，接触时间以足以减轻或预防曝光组织的炎症反应，但不引起曝光组织坏死或红斑为限。
2. 如权利要求 1 所述的方法，其中损伤组织是眼组织。
3. 如权利要求 1 所述的方法，其中光敏剂包括一种或多种一氢化苯并卟啉化合物。
4. 如权利要求 1 所述的方法，其中光敏剂包括 BPD-MA。
5. 如权利要求 1 所述的方法，其中所述接触步骤 a 是通过局部施用光敏剂来完成的。
6. 如权利要求 5 所述的方法，其中光敏剂是浓度为 2mg/ml 或更低的溶液形式。
7. 如权利要求 5 所述的方法，其中通过浸药海绵使损伤组织与光敏剂接触。
8. 如权利要求 5 所述的方法，其中所述接触步骤 a 中使光敏剂与损伤组织接触少于 5 分钟。
9. 如权利要求 1 所述的方法，其中所述接触步骤 a 通过全身给药来完成。
10. 如权利要求 9 所述的方法，其中光敏剂的剂量少于 0.30 mg/kg。
11. 如权利要求 1 所述的方法，其中所述接触步骤 a 和所述曝光步骤 b 之间除去与损伤组织接触的过量光敏剂。
12. 如权利要求 11 所述的方法，其中所述除去是用灭菌盐水或平衡盐溶液冲洗掉光敏剂。
13. 如权利要求 1 所述的方法，其中光的波长至少某些是在电磁波的可见部分。
14. 如权利要求 1 所述的方法，其中所述曝光步骤 b 中光的剂量少于约 100 J/cm²。
15. 如权利要求 1 所述的方法，其中所述接触步骤 a 和所述曝光步骤 b 之间的时间约在 0-3 小时之间，并且所述曝光步骤 b 中光的剂量少于约 15 J/cm²。
16. 如权利要求 15 所述的方法，其中所述曝光步骤 b 中光的剂量约为 7-12



J/cm².

17. 如权利要求 1 所述的方法，其中所述接触步骤 a 和所述曝光步骤 b 之间的时间大于约 6 小时，并且所述曝光步骤 b 中光的剂量约为 15 -100 J/cm²。
18. 用于减轻或预防损伤组织发生的炎症反应的组合物，包括：
 - 5 a. 约 1 μ g/ml 至约 2mg/ml 光敏剂，所述光敏剂能渗透到损伤组织或损伤前组织中，在少于 1 小时内形成所需程度的生物分布；和
 - b. 可药用载体。
19. 如权利要求 18 所述的组合物，其中损伤组织是眼组织。
20. 如权利要求 18 所述的组合物，其中光敏剂包括一种或多种一氢化苯并吡啉化合物。
 - 10 21. 如权利要求 18 所述的组合物，其中光敏剂包括 BPD-MA 。
 22. 如权利要求 18 所述的组合物，其中所述组合物配制成局部施用的制剂。
 23. 如权利要求 22 所述的组合物，其中光敏剂是浓度为 2mg/ml 或更低的溶液形式。
- 15 24. 如权利要求 18 所述的组合物，其中所述组合物配制成全身给药的制剂。
25. 如权利要求 24 所述的组合物，其中光敏剂的剂量少于 0.50 mg/ml 。
26. 如权利要求 18 所述的组合物，其中光敏剂吸收的光至少某些波长位于电磁波可见部分。
27. 用于减轻或预防损伤组织发生的炎症作用的制品，所述制品包括：
 - 20 a. 能渗透到损伤组织或损伤前组织中的光敏剂，通过与能渗透到所述组织中的光敏剂接触，在少于 1 小时内形成所需程度生物分布；和
 - b. 能吸收的涂药器。
28. 如权利要求 27 所述的制品，其中所述能吸收的涂药器是浸药海绵。
29. 如权利要求 27 所述的制品，其中所述光敏剂包括一种或多种一氢化苯并吡啉化合物。
 - 25 30. 如权利要求 29 所述的制品，其中光敏剂包括 BPD-MA 。



说明书

减轻炎症作用的组合物和制品

5 技术领域

本发明一般涉及药物治疗学和采用光动力学治疗(“PDT”)的领域,以减轻或预防受损组织(无论是内部损伤如外科手术,或意外损伤如皮肤划破、关节和腱损伤)炎症反应及治疗烧伤患者。在优选实施方案中,本发明涉及使用“低剂量”PDT 治疗因眼组织处理而发生炎症的眼组织,特别是患者由必经过程恢复由炎症成为并发因素时。常见的应用包括炎症性眼病和各种类型的眼科手术或激光治疗,例如常用于治疗青光眼的移植术和眼科滤过手术。在特别优选的实施方案中,本发明涉及滤过泡存留(filtration bleb survival)的扩展以改善滤过手术的结果。

15 背景技术

炎症概述

通常与炎症相关的四个基本症状是:(1)红、(2)肿、(3)热和(4)痛,还可能有第五个基本症状,即受累部位的功能障碍。损伤触发一系列活动,大多数是同时发生并以各种方式相互作用,众所周知,小血管以重要的方式参与炎症的产生。事实上,炎症是机体有价值的防御机制之一,一般认为有3个期:变性期、血管期和愈合期。见 Klein,“活动的防御反应”,*Immunology, The Science of Self-Nonsel*

20 *discrimination*, 第14章, 577-84 (1982), 其内容纳入本文作为参考。

具体地说,在变性期,受累细胞(主要是上皮细胞和纤维细胞)变得肿胀,其胞质形成空泡,核增大、裂成碎片。受损血管中的一些血小板分裂,释放出

25 羟色胺和其它作用于交感神经末梢的介质。

血管期的特征是血管变化,所谓炎症细胞(粒细胞-特别是中性粒细胞、淋巴细胞、单核细胞和巨噬细胞)的广泛移行和活化,及变性细胞和细胞碎片的清除。在主动性充血中,毛细血管网和毛细血管后微静脉变得充盈、充血和肿胀。因为毛细血管的数目也增加,人们观察到炎症组织外观发红,有时称作“潮红”。增加的血流还引起炎症区域温度接近较温暖的主动脉血的温度,与周围正常组织相比,产生热的感觉。

30

受伤时,受损组织释放一些物质,已知它们与组织胺有关,称作H物质,是



由破碎组织肥大细胞释放的组织胺和 5-羟色胺的混合物。H 物质引起血管活性扩张，扩张的血管的内皮细胞互相分离，引起它们之间的间隙扩大。沿血管排列的内皮逐渐被白细胞覆盖，使一些液体渗出到周围组织中。渗出血管进入周围组织的富含蛋白质的液体引起组织肿胀。渗出液还包含中和细菌毒素和有助于炎症因子破坏的物质。

5 白细胞(特别是中心粒细胞和单核细胞)在血管壁上移行，直至找到合适的间隙，可通过该间隙迁移到血管周围结构和组织间隙中。白细胞攻击死亡的和濒死的细胞，通过吞噬作用在细胞内消化它们或通过其自身死亡后从其溶酶体释放的蛋白分解酶在细胞外消化它们。白细胞移行的刺激据信以趋化因子的形式来自受损组织。

10 血小板是深受组织损伤影响的另一细胞类型。损伤后不久，单个的或成团的血小板粘附到血管壁上。同时，纤维蛋白纤维开始出现，形成细网状结构，帮助捕获细胞。形成的凝块将受损组织的边缘拉到一起。

15 中心粒细胞和单核细胞对坏死组织的细胞内和细胞外消化产生一种液体，它与从血管挤出来的浆液状物质结合。如果形成脓肿，在感染细菌的伤口中，致热膜沿腔排列，阻止病原微生物播散到血液中并在其中繁殖。

20 在炎症过程的前两期中，外源体被摧毁(如当外源体是生物体时)或其周围的组织被松解(当它是碎片时)。在愈合期，炎症开始消退，各个血管和血管型重又恢复正常，伤口开始修复。修复过程中的三个主要变化是：(1)通过成纤维细胞增殖形成新的结缔组织；(2)上皮再生；和(3)新毛细血管过度生长。

25 甚至在炎症消退前，成纤维细胞就开始从周围正常组织移入受伤区域，在正常组织它们通常以休眠状态存在。它们通过阿米巴样运动沿纤维蛋白丝移行，将自己分布在整个愈合区。一旦在受伤组织固定到位，它们就开始合成胶原并分泌这种蛋白，该蛋白自行进入纤维。纤维自行定向，长轴取最大应力的方向。胶原蛋白束长牢后，成纤维细胞逐渐变性，紧紧地附着于(胶原蛋白)束，受伤区域转变为瘢痕组织。

瘢痕组织形成的同时，伤口周围未受损的上皮细胞开始增殖并成片地向受伤区域中心移动。由于炎症消退，对直接供血的要求增加，新血管开始长入伤口。

30 在分子基础上看炎症，人们知道，有很多活性化合物以复杂的方式相互作用。受伤损坏的细胞中有肥大细胞，它释放介质，触发血管扩张的早期相，伴有内皮细胞的分离和内皮下层的胶原纤维暴露。血管内形成的细胞间隙中的纤维捕获血小板，并触发介质从这些细胞的释放。



除了血小板外，暴露的胶原纤维也与通过扩张的血管壁的孔滤过的血浆蛋白(包括血凝级联反应的触发因子)相互作用。这些蛋白质还引发激肽-缓激肽级联反应，产生缓激肽，后者与血管扩张、血管通透性增加和趋化性有关。

5 第四种分子系统即补体级联反应可被几种刺激物激活：受伤血管，损伤细胞释放的蛋白分解酶，任何参与细菌的膜成分和抗原-抗体复合物。被激活的补体成分中有些作为趋化因子起作用，与白细胞流入炎症区域有关，另一些促进吞噬作用、参与细胞溶解。

眼部炎症

10 青光眼是一种眼病，该病眼内压升高，引起患者视觉损害。正常的眼睛中，位于虹膜内侧周缘(向着眼球内侧)的睫状体的上皮细胞产生液体。这种液体的作用包括滋养眼睛的细胞和保持眼球内正压，这是维持成象所需的视觉部件处于正常空间位置所必须的，类似于照相机中相机体的支撑结构。

15 正常情况下，该液体通过圆周状位于眼睛前部虹膜和角膜间角内的环状体小梁网滤过而从眼中除去。典型地，该液体通过小梁网中的微孔流入三莱姆氏(Schlemm's)管，然后通过集液管将液体引入巩膜表层静脉，流至眼外。在青光眼病理学中，液体从眼睛流出减少，导致眼内压急剧升高，损坏眼内组织并最终使视力完全丧失。

20 治疗青光眼的治疗目的总是相同的，即通过减少液体产生或增加液体滤过或排出眼外来降低眼内压。虽然有很多方法达到此目的，但总是首先试用药物治疗。如果药物治疗不能成功地控制眼内压升高，则用其它创伤性技术，如激光处理或外科干预。

25 激光方法包括小梁成形术，用激光在小梁网上烧孔。外科技术包括：(1)小梁切开术，用金属探针或“小梁切开刀”在 Schlemm's 管和眼前房之间形成开口，约为正常流出角圆周的三分之一；(2)小梁切除术，涉及切穿小梁网；(3)虹膜切除术，涉及切除部分虹膜。巩膜切除术(巩膜造口术)涉及用激光或外科器械切穿巩膜。小梁切除术、虹膜切除术和巩膜切除术都伴有滤过泡形成，过量眼液被分流到此小泡中，加快排出眼睛。

30 青光眼滤过手术通常被推荐用于有进行性青光眼性损害的患者，按其目前眼压水平对疾病进展有显著危险。对于有严重损害的患者，当眼内压(“ IOP ”)可降至 20mm Hg 以下并维持低于此水平时，远期预后可改善。因此，对眼压在 18-20mm Hg 以上损害有进展的患者应竭力主张滤过性手术。



手术一般选以下两类之一：(1)全厚度手术(full thickness); 或(2)有防护的瘻管手术。典型的有防护的瘻管(guarded fistula)手术，涉及如下小梁切除步骤：

a. 牵开眼睑；

5 b. 穿刺(角膜)缘部(代表眼的不透明巩膜和透明的角膜之间的移行部位的半透明组织)，作一从眼前部外侧通向前房(以有色泽虹膜和覆盖虹膜的透明角膜为界)的开口；

c. 在虹膜下的一个点剪开并向后翻开球结膜，作一基底在角膜缘的三角形巩膜瓣；

d. 从三角形巩膜瓣的底部进入前房；

10 e. 切去小梁网的一部分，形成一个瘻管或连接通道；

f. 通过瘻管切去一小部分虹膜；

g. 用缝线闭合巩膜瓣；

h. 缝合结膜；和

15 i. 通过步骤 b 所完成的(角膜)缘部的切口将生理上可接受的液体，如平衡盐溶液(BSS)注入前房，以形成沿角膜缘隆起的滤过泡，确认瘻管未闭，并确认滤过泡无渗漏。

全厚度手术不同之处在于不形成巩膜瓣而直接作经(角膜)缘连接前房与结膜的一开口。当结膜外层被剪开并后翻后，用巩膜切除术(在角膜缘部剪去一条巩膜)、巩膜灼瘻术(在平行于(角膜)缘表面的巩膜上切开一个浅槽)、激光巩膜造瘻
20 术或环钻法建造瘻管来实现(Stewart, “滤过手术-技术和手术合并症”， Clinical Practice of Glaucoma, 第 10 章, 333-61 (1990)), 其内容纳入本文作为参考。

手术后，有规律地仔细观察滤过泡的情况。起先，滤过泡很好地隆起，高于巩膜。手术后第一天，很多眼睛在结膜上开始显示无血管区，通常围绕着瘻管部位。鉴定无血管区的方法是观察到毛细血管和微静脉的局部消失。但是，检查前
25 房时，可存在轻变充血或房水闪辉，表示有炎症。手术后第 1 周， IOP 常低于 5 mm Hg，范围可以是 6-10 mm Hg。在初步检查后，患者开始抗生素-类固醇合并用药(Stewart, “滤过手术的手术后合并症”， Clinical Practice of Glaucoma, 第 11 章, 363-90 (1990)), 其内容纳入本文作为参考。

手术后第 2-4 周，结膜和滤过泡炎症减轻，前房变得“安静”了，(房水)闪
30 辉减少。由于结疤，滤过泡通常也略变小。而且，滤过泡一般继续呈无血管区，其大小可增加。手术后第 2-4 周， IOP 通常升高至 10 mm Hg 或更高(Stewart, “滤过手术的手术后合并症”， Clinical Practice of Glaucoma, 第 11 章, 363-



90(1990))。

手术后无并发症时期的第 4 周，结膜通常少有炎症或无炎症，功能良好的滤过泡典型地保持无血管区，可局限地或很好隆起于巩膜。而且，这个时期，IOP 应当理想地稳定于 10-15 mm Hg。根据滤过泡和前房的炎症程度，慢慢地减小手术后类固醇的量。如果滤过泡持续充血和有炎症，常维持类固醇量，有时甚至加量，以加速解决前节炎症，从而限制瘢痕的形成(Stewart, “滤过手术的手术后合并症”， *Clinical Practice of Glaucoma*, 第 11 章, 363-90(1990))。

不幸的是，在滤过手术手术后早期，患者可能患各种不同的并发症，其中之一是不形成滤过泡，很多患者在手术后 1-6 周之间出现滤过泡消失，最后滤过泡完全不能控制眼压。临床上，功能差的滤过泡通常小、不隆起，至少部分血管化，IOP 又升高到正常范围以上(Stewart, “滤过手术的手术后合并症”， *Clinical Practice of Glaucoma*, 第 11 章, 363-90(1990))。

滤过手术的成功取决于手术后滤过泡功能维持多久。患者因滤管部位阻塞或结膜和巩膜界面瘢痕形成而发生滤过泡消失。如果滤管部位阻塞，可用一种激光治疗技术或常规的外科技术。但不幸，即使这样打通滤管，由于以前的滤过泡瘢痕形成到巩膜，液体流出可能受阻。如果这些方法失败，以最大限度的药物治疗患者的 IOP 仍未得到控制，可能必须在其它的部位进行另一次滤过手术。如果滤管维持开放，但滤过泡小，IOP 的升高可能起因于结膜和巩膜间的瘢痕形成，这是滤过泡消失的常见原因(Stewart, “滤过手术的手术后合并症”， *Clinical Practice of Glaucoma*, 第 11 章, 363-90(1990))。

滤过手术中对眼组织(特别是结膜)的操作必然引起炎症，最终引起瘢痕，一般来说，操作越多，滤过泡存在时间越短。对青光眼高危病人的滤过手术常因手术后瘢痕形成而导致失败，成纤维细胞在此过程中似乎起着重要作用(Katz 等, “高危青光眼滤过手术中丝裂霉素 C 对 5-氟尿嘧啶”， *Ophthalmology*, 102:9, 1263-68 (1995))。青光眼滤过手术失败的原因之一是结膜下组织中成纤维细胞的存在(Berlin 等, “青光眼手术中激光巩膜切除术的作用”， *Current Opinion in Ophthalmology*, 6:102-114 (1995))，手术失败常因在滤过部位有成纤维细胞增生和瘢痕形成(Mora 等, "Trabeculectomy with Intraoperative Sponge 5-fluorouracil", *Ophthalmology*, 103:963-70 (1996))。

在因纤维变性而滤过泡消失百分率高的所谓“高危”病人中，有时在手术同时采用延长滤过泡存在时间的处理是有助的。人们设计很多技术来减轻炎症和瘢痕形成，从而延长滤过手术中建造的滤过泡的作用时间，例如在手术后约 4 周的

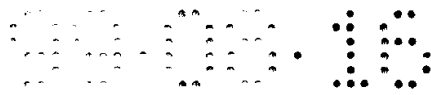
时间内对眼睛作简单的手指按摩。

也有人试验了通过抑制炎症反应和在胶原蛋白合成途径的特定步骤阻止其生成来限制瘢痕形成的药理学技术。常用皮质类固醇(局部滴剂或结膜下注入),通过抑制炎症反应和成纤维细胞增生来帮助防止瘢痕形成(Stewart, “滤过手术-技术和手术合并症”, *Clinical Practice of Glaucoma*, 第 10 章, 333-61 (1990))。通常, 连续局部使用类固醇以使瘢痕形成达到最低程度直至前部炎症得到解决(Stewart, “滤过手术的手术后合并症”, *Clinical Practice of Glaucoma*, 第 11 章, 363-90(1990))。一个典型的治疗计划可指示手术后局部使用, 每 3 小时一次, 20 天左右快速递减(Araujo 等, “对小梁切除术后皮质类固醇前瞻性、随机试验的 10 年随访”, *Ophthalmology*, 102:1753-59 (1995))。

5-氟尿嘧啶(“5-FU”)是氟化的嘧啶, 在发挥抗代谢活性(胸苷酸合成酶竞争性抑制剂)的同时, 还通过减少成纤维细胞增生发挥抗纤维化效应, 从而防止滤过泡的瘢痕形成。5-FU 有代表性地用于手术预后差的病例。2 年时 5-FU 对滤过手术的成功率为 60 % -70 %。5-FU 常通过连续结膜下注射给药。

但是, 除了频繁和反复的手术后注射的不方便和不舒服外, 还报道了结膜下注射 5-FU 的很多严重并发症, 包括上皮缺损、上皮下瘢痕形成、角膜溃疡、结膜伤口渗漏、滤过泡渗漏、脉络膜上腔出血、视网膜脱离和内眼炎。因此, 虽然 5-FU 可延长滤过泡寿命, 但由于此药的综合毒性, 角膜上皮缺损、瘢痕形成和血管化的发生率也是高的(Stewart, “滤过手术-技术和手术合并症”, *Clinical Practice of Glaucoma*, 第 10 章, 333-61 (1990))。还参见 Khaw 等, “用氟尿嘧啶、氟尿苷和丝裂霉素作 5 分钟治疗对人 Tenon's Capsule 成纤维细胞具有长期效应”, *Arch. Ophthalmol.*, 110:1150-54 (1992); Kupin 等, “Phakic 眼的基础小梁切除术中丝裂霉素的辅助使用”, *Am. J. Of Ophthalmology*, 119:30-39 (1995); 及 Katz 等, “在高危青光眼滤过手术中丝裂霉素 C 对 5-FU”, *Ophthalmology*, 102:9, 1263-69 (1995)。还参见 Kay 等, “作为滤过手术辅助治疗的抗成纤维细胞剂给药-第 II 部分: 胶原植入中 5-FU 和博来霉素的给药: 家兔小型试验”, *Ophthalmic Surg.*, 17:796-801 (1986); 及 Khaw 等, “手术中给予 5-FU 或丝裂霉素家兔青光眼滤过手术的效应”, *Ophthalmology*, 100:367-72 (1993)。

一些作者报告, 以常用的结膜下注射使用低浓度 5-FU(如 10 mg/ml , 0.5ml), 可预防因疏忽造成眼内暴露预期的角膜水肿(Chalfin 等, “继发于氟尿嘧啶针泡修复的角膜内皮毒性作用”, *Arch. Ophthalmol.*, 113:1093-94 (1993))。其它作者注意到, 手术中使用 5-FU, 使用浸有 50mg/ml 该化合物的海绵、将此海

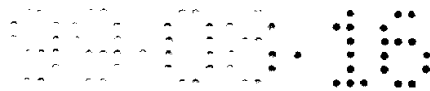


绵与滤过泡部位短间接接触，可使 5-FU 的使用较安全、较有效(Mora 等，“手术中使用 5-FU 海绵的小梁切除术”， *Ophthalmology*, 103:963-970 (1996))。但是，即使如此，某些病例需要补充手术后注射，它们的注射仍伴有不合要求的角膜上皮损伤的高发生率。

5 氟尿嘧啶的脱氧核糖苷，氟尿苷，在长时间抑制眼成纤维细胞上作用约为氟尿嘧啶的 100 倍，因此可单剂给药。但是，在引起细胞死亡上的差异比起抑制作用来相对较小。因此，氟尿苷的使用易产生将正常组织暴露于相对高剂量潜在细胞毒物质的危险(Khaw 等，“用氟尿嘧啶、氟尿苷和丝裂霉素作 5 分钟治疗对人 Tenon's Capsule 成纤维细胞具有长期效应”， *Arch. Ophthalmol.*, 110:1150-54
10 (1992))。

用丝裂霉素或丝裂霉素 C(“MMC”)观察到类似的效应。MMC 比 5-FU 强得多，因此还可单剂手术中施用，典型地是 1-5 分钟的接触时间，接着充分冲洗。MMC 是从特定链霉菌属的发酵滤液中分离出来的抗增殖烷化剂。它是一种抗纤维变性、抗瘤抗生素，通过抑制成纤维细胞的增生防止滤过泡的瘢痕形成。它通常有效地降低手术后结膜下纤维变性，因此有助于延长滤过泡的存留时间和降低 IOP。

但是，MMC 在高浓度时也是杀细胞的，在多达 1/3 的用其治疗的患者中产生不合要求的眼压过低(IOP 低于 5 或 6 mm Hg)。其它不合要求的副作用包括结膜伤口渗漏、脉络膜脱离和低压黄斑病(hypotony maculopathy)，可能有约 25 % 的迟发性滤过泡渗漏(参见 Khaw 等，“用氟尿嘧啶、氟尿苷和丝裂霉素作 5 分钟治疗对人 Tenon's Capsule 成纤维细胞具有长期效应”， *Arch. Ophthalmol.*, 110:1150-54 (1992); Zacharia 等“小梁切除术后用丝裂霉素 C 的眼低压” *Am. J. of Ophthalmology* 116:314-26 (1993); Kupin 等，“Phakic 眼的基础小梁切除术中丝裂霉素的辅助使用”， *Am. J. Of Ophthalmology*, 119:30-39 (1995);Katz 等，“在高危青光眼滤过手术中丝裂霉素 C 对 5-FU ”， *Ophthalmology*, 102:9, 1263-69
25 (1995); Shin 等，“青光眼三重治疗法中辅助结膜下丝裂霉素 C 给药”， *Ophthalmology*, 102:10, 1550-58 (1995); Nouri-Mahdavi 等，“基本开角型青光眼的小梁切除术结果”， *Ophthalmology*, 102:12, 1760-69 (1995); 及 Mora 等，“手术中使用 5-FU 海绵的小梁切除术”， *Ophthalmology*, 103:963-970 (1996))。一组
30 研究者甚至报告了在小梁切除术中局部用 MMC 处理后，巩膜炎的发生率提高，引起严重的疼痛和巩膜发红(Fourman, “用丝裂霉素 C 的青光眼滤过手术后的巩膜炎”， *Ophthalmology*, 102:10, 1569-71 (1995); 还参见 Liang 等，“丝裂霉素 C



和 5-氟尿嘧啶对家兔眼滤过手术成功的比较” , J. Glaucoma, 1:87-93 (1992)).

其它科学家报告了激光巩膜切除术合用 5-FU 或 MMC . Berlin 等描述了激光处理后用 5-FU 给药 2 周取得成功(“激光巩膜切除术在青光眼手术中的作用”, Current Opinion in Ophthalmology, 6:11, 102-114 (1995)). 该文建议, 激光处理的
5 同时通过各种不同的渠道(结膜下注射、结膜下凝胶泡沫、局部滴剂或吸收型海绵)给予 MMC , 可更有效. 但是, 也注意到了常见的并发症, 即角膜毒性、伤口渗漏、慢性低压、脉络膜脱离和低压黄斑病(hypotonous maculaopathy).

β -氨基丙腈(“BAPN”)和 D-青霉胺用来抑制胶原纤维的交联, 可有助于滤过手术后将胶原保持在未成熟状态, 继而限制滤过泡瘢痕形成. 手术后局部使用 BAPN 软膏的一个初步报告发现, 在 74 % 患者中 IOP 保持在 22 mm Hg 以下. 但是, 用 BAPN 和 D-青霉胺进行的动物研究仅显示有限的强度(Stewart, “滤过手术-技术和手术并发症”, Clinical Practice of Glaucoma, 第 10 章, 333-61 (1990)).

对于博来霉素的讨论, 见 Khaw 等, “手术中给予 5-FU 或丝裂霉素对家兔
15 青光眼滤过手术的效应”, Ophthalmology, 100:367-72 (1993). 对于浸渍胞嘧啶阿拉伯糖苷的聚合物的讨论, 见 Lee 等, “浸渍胞嘧啶阿拉伯糖苷的可生物侵蚀聚合物对家兔青光眼滤过手术的效应”, J. Glaucoma, 2:96-100 (1993).

光动力学治疗

20 光动力学治疗(“PDT”)作为一种获准的癌症治疗方法为人们所知, 它可用于很多目的, 例如治疗实体瘤(如美国专利 No. 4,932,934 和 5,283,255); 减少造血靶如白血病细胞、免疫反应细胞(待批专利申请 No. 07/889,707; 08/309,509; 08/374,158 和 08/174,211)和不想要的微生物(美国专利 No. 5,360,734); 预防再狭窄(美国专利 No. 5,422,362); 诊断和治疗某些新生血管性眼病(待批申请 No. 25 08/209,473, 08/390,591 和 08/613,420); 去除动脉粥样硬化斑块(待批申请 No. 08/663,890); 及防止移植物排斥反应(待批申请 No. 08/371,707).

PDT 涉及局部或全身使用选择性地聚集在靶组织内的吸收光的光敏剂(通常是卟啉衍生物). 用激活波长的可见光照射, 含有光敏剂的细胞中产生活性氧, 促进细胞死亡. 例如, 有人认为, 在肿瘤治疗中, 光致敏过程产生单个氧, 激活的
30 分子氧的衍生物, 它可与细胞和组织中一些特异部位发生氧化反应. 结果, 肿瘤细胞在亚细胞水平(特别是细胞膜和线粒体)受到不可逆损伤. 在体内试验中, 肿瘤损伤是多种因素复杂的相互作用的结果, 这些因素影响形态支撑肿瘤基质的结



缔组织骨架和滋养肿瘤的血管组织(Zhou, “光动力学治疗引起肿瘤坏死的机理”, J. of Photochem. And Photobiol., B:biology, 3, 299-318 (1989)).

显然, 光敏剂优先在肿瘤组织被摄取和聚集, 一些肿瘤基质细胞坏死是选择性地和直接地由 PDT 引起的。但是, PDT 引起的肿瘤坏死过程中还涉及血管损伤和相继的肿瘤细胞缺氧。特别在后一种情况, PDT 引起的肿瘤坏死被认为是血管壁中急性炎症反应所致物理化学变化的结果。迅速减少肿瘤中的血液供应及炎症水肿的发生, 导致光损伤的瘤的细胞的低氧或甚至缺氧, 最后发生坏死。肿瘤基质中被光损伤的肥大细胞和中性白细胞释放血管活性或溶组织物质(如组织胺、蛋白酶和酸性磷酸酶), 它们也与炎症过程相伴随, 从而使总的损伤过程倍增 (Zhou, “光动力学治疗引起肿瘤坏死的机理”, J. of Photochem. And Photobiol., B:biology, 3, 299-318 (1989)).

现已认识, 在获准的癌症肿瘤方案中由 PDT 常引起的急性炎症期是一把双刃剑。实验肿瘤模型的研究证明, 在进行 PDT 后, 一种富含蛋白质和中性脂的渗出物渗入细胞间隙, 积聚在粘附于坏死细胞“形骸”上的周围坏死的活细胞(“低氧细胞”)“壁”上。从积极的癌症治疗观点来看, 炎症渗出物可能有助于将结合于蛋白质的光敏剂输送到肿瘤的内部, 否则是难以达到的。另一方面, 炎症渗出物的这种流动也可输送氧和营养物质, 从而有助于滋养处于伤口修复过程的细胞。因此, 伴随 PDT 的炎症状态的出现已被认识到是常使癌性肿瘤治疗复杂化的生命现象(Freitas, “炎症和光动力学治疗”, J. Photochem. And Photobiol., B: Biology, 8:340-41 (1991)).

有人用本红紫素乙基锡(Tin ethyl etiopurpurin, "SnET2")作为光敏剂作了一些 PDT 工作, 达到与青光眼滤过手术有关的抗纤维变性效应。对接受结膜下注射 SnET2 的家兔进行滤过手术, 然后作手术后光辐照(Hill 等, “用本红紫素乙基锡作为青光眼滤过手术后的另一个抗纤维化治疗的光动力学治疗”, Photochem. Photobiol., 61 Suppl., 68S, TPM-E9 (1995); 和 Hill 等, “在家兔滤过手术模型上用于抗纤维变性的光动力学治疗 (PDT)”, Investigative Ophthalmology and Visual Science, 36:4, S877 (1995)). 但是, 在这一初步工作中, 作者未报告任何对照数据, 因此, 难以确定 Hill 等的处理真正延长了滤过泡(与未处理滤过泡相比)的多少存留时间。

此外, Hill 等公开了在外科手术前注射光敏剂后过了三个多小时进行辐照步骤, 这使光敏剂有足够的时间被有损伤的组织吸收, 但也使光敏剂扩散到眼的其它非靶区域。因为作者报道, 直至手术后整整 4 周内有大而短暂无血管结膜区产



生，此无血管区域并不限于滤过泡，显然，眼的不祈盼大面积受到了处理的影响。鉴于熟知的潜在危害性(PDT 在其它应用中的坏死作用)，有必要以药理活性的程度能可靠地加以控制的方式来减轻或预防炎症。

5 发明的揭示

现已十分惊人地发现，适当地选择能被损伤组织迅速吸收但在无光吸收时无毒性的光敏剂，PDT 可有预期的有益的抗炎效应，它甚至对脆弱的组织如眼部区域也是有用的。由于以前都认为 PDT 与实际上引起炎症反应有关而不是具有减轻或预防炎症反应的能力，因此，这是一个特别惊人的发现。

10 具体地说，现已发现低剂量 PDT 可减轻或预防损伤组织发生的炎症作用。本发明的减轻或预防这种炎症反应的方法具体有以下步骤：

a. 使损伤组织或损伤前组织与能渗透到组织中的光敏剂接触，在少于 1 小时内形成所需程度的生物分布；和

15 b. 将组织曝光，使其与具有能被光敏剂吸收的波长的光接触，接触时间长短以足以减轻或预防曝光组织的炎症但不引起曝光组织坏死或红斑为限。

当损伤组织对进一步损伤或炎症高度敏感(如眼部组织)时，本发明的方法特别有益，因为合适的光敏剂本身在效应上不是抗增生的或在无激活辐照时对脆弱组织无细胞毒性。此外，因为大多数光敏剂对人体组织无毒，除非被光激活，并且，因为本发明的光敏剂能相当快地渗透到损伤组织中，因此辐照时通过辐照程
20 度、与光敏剂物理接触的程度或光敏剂的浓度(如在血流中)两者，容易控制药理活性的程度。其结果，本发明的治疗效应比已知的药理学抗纤维变性技术更容易控制。

在另一个实施方案中，本发明涉及用于减轻或预防起因于损伤组织的炎症作用的组合物，包括：

25 a. 约 $1 \mu\text{g/ml}$ 至约 2mg/ml 光敏剂，所述光敏剂能渗透到损伤组织或损伤前组织中，在少于 1 小时内形成所需程度的生物分布；和

b. 可药用载体。

在另一个实施方案中，本发明涉及用于减轻或预防起因于损伤组织的炎症作用的制品，所述制品包括：

30 a. 能渗透到损伤组织或损伤前组织中、在少于 1 小时内形成所需程度生物分布的光敏剂；和

b. 能吸收的涂药器。



附图的简单说明

图 1A 为未处理的对照滤过泡，手术后 3 天有显著的血管形成(图 1-5 的实验组在本申请的工作实施例中作更详细的描述)。

5 图 1B 为经处理的滤过泡有很少血管形成，手术后 4 天血管形成，高度增长。

图 2 表示 4 组家兔中每组的滤过泡存留百分率。

图 3 表示手术后 12 天中每个实验日滤过泡程度的组间差异。

图 4 表示手术后 12 天中每个实验日滤过泡高度的组间差异。

图 5 表示手术后 12 天中每个实验日滤过泡上结膜红斑的组间差异。

10 图 6 表示用于本发明的方法、组合物和制品中的典型绿卟啉的结构式。

图 7 表示作为本发明中的光敏剂特别有用的 4 种 BPD 型化合物的结构。

发明的详细描述

15 本发明中的术语“炎症”指损伤后的活机体中出现的一系列变化，损伤可由物理因子(如过热或过冷、压力、紫外线或离子化照射、切割或磨损)、大量无机或有机化学物质或生物因子(如病毒、细菌和其它寄生虫)引起。

光敏剂

20 “光敏剂”是一种化合物，当其暴露于能被其吸收的波长的光下时则吸收光能，引起所需要的生理效应，例如受控制的抗炎效应。本发明的光敏剂以具有 350nm-1200nm 波长范围内的吸收谱为佳，该吸收谱可按本来已知的方式裁成所需要的穿透频率，较佳约为 400-900nm，最佳为 600-800nm。

25 本发明的实践中特别有意义的光敏剂的另一个性质，概括地说是在缺乏光敏剂效应时对细胞相对地无毒，在特定细胞和光敏剂之间缺乏靶特异性相互作用时从组织易于清除。

本发明的光敏剂可以是适合于光动力学治疗(“PDT”)的任何光敏剂，它能在不到 1 小时内渗透到受处理的损伤组织中，引起所需要程度的生物分布。潜在的光敏剂是否符合此标准可方便、快速地用如下简单试验加以确定：

1. 制备活的培养细胞(较佳从悬浮液生长培养物得到，任何细胞株均适合)；
- 30 2. 在 10 % 血清存在下，将受试光敏剂以 1-3 μ g/ml 浓度加到细胞中；
3. 在培养的不同时期(如 5、15、30 和 60 分钟)，离心除去过量培养液；
4. 用磷酸盐缓冲盐水洗涤细胞，用冻-融法将其溶解；

5. 用荧光法测定细胞溶解物中的受试光敏剂浓度(对应于合适的标准品)。

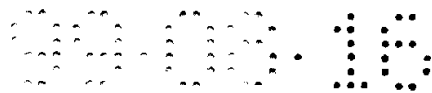
特别强的一组光敏剂包括绿叶啉，其详细说明可参见 1992 年 12 月 15 授权 Levy 等的美国专利 5,171,749，本文将将其纳为参考。术语“绿叶啉”指卟啉核与炔经为获得一氢苯并卟啉的 Diels-Alder 型反应而获得的卟啉衍生物。典型的是，
5 绿叶啉选自乙炔与原卟啉在一定条件下发生 Diels-Alder 反应而获得的一类卟啉衍生物，所述条件促进反应只发生于存在于原卟啉-IX 环系统中的两个可用的共轭、非芳香二烯结构(环 A 和环 B)之一。

图 6 显示了几种典型的绿叶啉的结构。Diels-Alder 反应先形成环己二烯-在此称为“氢化苯基”-与吡咯环 A 或 B 稠合，如图 6 的结构式 1 和 2 所示。环己二烯环内的 π 系统重排形成结构式 3 和 4 化合物，经还原产生结构式 5 和 6 化合物。但因实际的原因，进行前述 Diels-Alder 反应及将相应的烯炔取代为乙炔化合物，优先制成结构式 5 和 6 的化合物，从而产生还原性更强的卟啉环结构。这些化合物以结构式 1 至 6 表示，其中氢原子结合着内环氮原子。但是，应该理解的是，也可以使用其甲基化形式，其中阳离子置换了两个氢原子之一或全部。有关
15 本发明所用绿叶啉化合物的制备参见美国专利 5,095,030。

为方便起见，氢化单苯并卟啉衍生物-“BPD”-一般指图 6 中结构式 3 和 4 化合物。特别好的是结构式 3 和 4 化合物以及它们的混合物。

如图 6 所示， R^1 、 R^2 、 R^3 和 R^4 是非干扰性的取代基，它们对本发明方法和组合物中的化合物活性没有明显影响。更具体地，术语“非干扰性取代基”指
20 这样的取代基，它不损害绿叶啉作为光敏剂、能在 1 小时内被受损组织吸收发挥药理效应的能力。就图 6 和 7 中的化合物而言，一般说来， R^1 和 R^2 各自是吸电子取代基，或者是其它具备足够吸电子能力的活性取代基，使 Diels-Alder 反应的速率提高，该反应可在 A 环和 B 环同时进行，但较佳为只发生于一个环。合适的 R^1 和 R^2 取代基的例子包括烷酯基(2 至 6C)、烷基(1 至 6C)磺酰基或芳基(6 至 10C)
25 磺酰基、芳基(6 至 10C)、氰基和-CONR⁵CO-，其中的 R^5 是芳基(6 至 10C)或烷基(1 至 6C)。 R^1 和 R^2 之一也可以是氢原子，只要另一个是足以促进 Diels-Alder 反应的吸电子取代基。最常见的是， R^1 和 R^2 都是烷酯基，以甲酯基或乙酯基为佳。较好的化合物其 R^1 和 R^2 相同，都是烷酯基，特别是乙酯基。

在此，“羧基”根据常规定义是-COOH，“烷酯基”表示-COOR，R 是烷基。
30 基。“羧基烷基”指取代基-R'-COOH，其中 R' 是亚烷基。“烷酯基烷基”指-R'-COOR，其中 R' 是亚烷基，R 是烷基或链烷醇。“烷基”泛指具有 1 至 6 个碳原子的饱和直链或支链烃基，例如甲基、正己基、2-甲基戊基、叔丁基、正丙



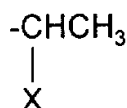
基等。“亚烷基”指二价而非单价的同一烷基。“芳基”表示芳环基，如苯基、萘基、吡啶基等。本发明的芳基可被 1 至 3 个取代基取代，取代基可各自选自卤素例如氟、氯、溴和碘；低级烷基(1 至 4C)；和低级烷氧基(1 至 4C)。“芳基磺酰基”或“烷基磺酰基”的结构式为-SO₂R，其中的 R 是以上所述的烷基或芳基。

5 R³各自为ω-羧基烷基(2 至 6C)或其盐、酰胺、酯或酰胺，或者是烷基(1 至 6C)。较好的是，R³是 2-羧基乙基或其烷酯或链烷醇酯，R⁴是乙烯基。但是，因为天然卟啉的可得性，这些实例中的大多数较好，无需考虑生物学效应。如图 6 所示，R¹-C≡C-R²与原卟啉-IX 环系统(其中 R³是 2-羧基乙基的保护形式，例如 2-甲酯基乙基或 2-乙酯基乙基，R⁴是-CH=CH₂)反应生成的加合产物是结构式 1 和 2 化合物。结构式 1 化合物来自与 A 环的加合，结构式 2 化合物来自与 B 环的加合。

10 适合本发明绿卟啉化合物的方便的起始物质包括天然存在的卟啉，其中 R³是-CH₂CH₂COOH、-CH₂CHRCONR₂或-CH₂CHRCOOR，其中 R 是烷基(1 至 6c)或链烷醇(1 至 6C)。但是，R³的确切特性一般与 Diels-Alder 反应的进程或所得产物的效果无关，除非它含有与环π键共轭的π键。所以，R³可以是多种基团中的任意一种，例如低级烷基(1 至 4C)；和ω-羧基烷基(2 至 6C)或其酯和酰胺。R³取代基还可以被羟基、卤素(如氟、氯、溴或碘)或其它非反应性取代基所取代。

20 已经发现，当 R³是-CH₂CHRCOOR 时，水解或部分水解酯化的羧基是有利的。典型的是，发生在 R³位置的水解作用通常比发生在 R¹或 R²酯基团位置的快得多。而且，所得化合物的溶解度和生物分布特性也较非水解形式的更好。水解产生二元酸或一元酸产物(或它们的盐)。

25 在结构式 1 和 2 化合物中，R⁴通常(至少最初)是-CH=CH₂，但是该乙烯取代基很容易通过与结构式 1 或 2 中环 B 或环 A 的乙烯基的加成或氧化而变成其它 R⁴。所以，R⁴可能是多种取代基中的任意一种，与易发生的加成反应所形成的相一致。例如，加成试剂可以是 HX 形式，其中的 H 与靠近环的碳原子加合，得到具有以下结构的 R⁴位：

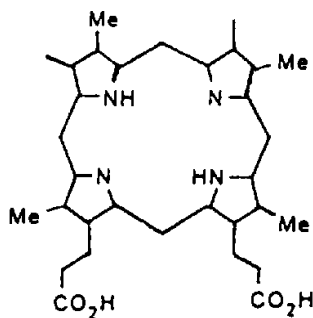


30 所以，在实施例之一中，所加取代基之一是氢，而另一个则选自氢原子；卤素(氟、氯、溴或碘)；羟基；低级烷氧基；氨基；酰胺；巯基；或有机硫化物。例如，与水的 Markovnikov 加成反应在相关环处形成结构类似血卟啉的取代基。作为 R⁴位取代基的乙烯基还可以被氧化成-CH₂OH、-CHO 或 COOH 或其盐或酯。

这些加成和氧化产物本身也可以被取代，如果所加的取代基是功能性离去基团。例如如果 Br 是取代基，它可以被 -OH、-OR(R 是如前所述的烷基(1 至 6C))、卤素、-NH₂、-NHR、-NR₂ 等取代。

这样，总的说来，R⁴ 代表这样的取代基，即易因裂解或加成而转化形成-CH=CH₂，并因离去基团与其它基团反应形成的进一步取代基。但较好的是，R⁴ 是乙烯基(-CH=CH₂)；-CHOR^{4'}，其中 R^{4'} 是氢或烷基(1 至 6C)，后者又可选性地被例如 CH₂OH 之类亲水性取代基所取代；-CHO；-COOR^{4'}，例如 COOH 或 COOCH₃；-CH(OR^{4'})CH₃，例如 -CH(OH)CH₃ 或 CH(OCH₃)CH₃；-CH(OR^{4'})CH₂OR^{4'}；-CH(OH)CH₂OH；-CH(SR^{4'})CH₃，例如 -CH(SCH₃)CH₃ 及其二硫化物；-CH(NR^{4'})CH₃；-CH(CN)CH₃；-CH(溴吡啶鎓)CH₃；-CH(COOR^{4'})CH₃；-CH(COOCR^{4'})CH₃；-CH₂(卤素)CH₃，例如 -CH₂BrCH₃；或 -CH(卤素)CH₂(卤素)。或者，R⁴ 可以是由乙烯基直接或间接衍生化得到的少于 12 个碳原子的有机基团。或者，R⁴ 可以是其它卟啉或卟啉相关性环系统，例如后文定义的具有结构式 -L-P 的含有 1 至 3 个含有四吡咯型核的基团。优选的是 R⁴ 是 -CH=CH₂，-CH(OH)CH₃，-CH(卤素)CH₃，或如后文定义的具有结构式 -L-P 的含有 1 至 3 个含有四吡咯型核的基团的化合物。

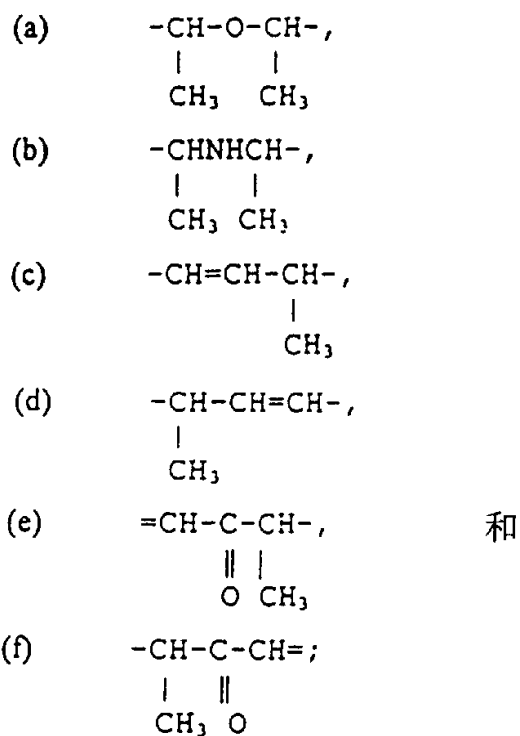
“四吡咯型核”在此指具有如下骨架的 4 环系统：



或其盐、酯、酰胺或酰肼，它是高度共轭的。它包括吡咯系统，它实际上是完全共轭的系统；二氢卟吩系统，它实际上是卟啉的二氢化形式；还原的二氢卟吩系统，它是共轭的卟啉系统的四氢化形式。当谈及“卟啉”时，所指的是完全共轭系统。绿卟啉实际上是卟啉系统的二氢形式。

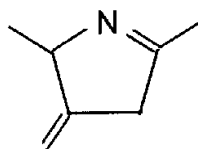
在实施例之一中，取代基 R⁴ 包括至少一个附加的四吡咯型核。本发明所得的化合物是二聚体或寡聚体，其中至少四吡咯型环系统之一是绿卟啉。绿卟啉部分在 R⁴ 位与附加的四吡咯型环系统之间的连接可以是醚、胺或乙烯基连接。卟啉环系统有两个与 R⁴ 相应的可用的取代基位置(在 A 环和 B 环中)可被进一步衍生化，如以下所解说的。

当 R⁴ 是 “-L-P” 时，-L-选自：



P 是卟啉结构或图 6 结构式 1 至 6 所示的第二绿卟啉结构，所不同的是，任何第二 R⁴ 基团都被以上 L 所取代。

5 (而且，可以理解的是，当-L-是上述结构式(e)或(f)时，双键所连接的环系统应包含如下共振系统，



如上所示。)

10 由前述 Diels-Alder 反应直接得到氢化一苯并卟啉还可以异构化成图 6 结构式 3 和 4 所示的化合物。图 6 结构式 3 和 4 所示没有显示环外甲基(结构式 3 的 A 环和结构式 4 的 B 环)与 R² 取代基的相对位置。两种异构体都可以获得。本发明方法和组合物中特别优选的是结构式 3 和结构式 4 所示的化合物。

15 此外，Diels-Alder 产物可以在钨碳之类催化剂存在下经氢气处理选择性还原成图 6 中结构式 5 和 6 所示饱和的环类似物，它们分别对应于 A 环和 B 环的 Diels-Alder 产物。但是，如上所述，较常见的实践是用烯烃起始物料代替常用的乙炔起始物料来开始 Diels-Alder 反应，得到还原性较强形式的卟啉环系统。以上有关结构式 1 和 2 化合物的说明，即涉及保留的乙烯取代基(R⁴)的转化衍生化和 R³ 的多样性，同样适用于结构式 3、4、5 和 6 所示的化合物。



本发明较好的绿叶啉实例是：Diels-Alder 产物发生了重排并被部分水解。更好的是，结构式 3 和 4 化合物(BPD 类)，其中 R^3 位置的烷酯基也被水解或部分水解。本发明含有-COOH 的化合物可以被制备成游离酸，或其与有机碱或无机碱的盐形式。

5 图 7 显示了结构式 3 和 4 所代表的特别为本发明所优选的 4 种化合物，总称为苯并呋啉衍生物，即，BPD-DA、BPD-DB、BPD-MA 和 BPD-MB。这些是结构式 3 和 4 重排产物的水解或部分水解形式，其中两个被保护的 R^3 的羧基之一或都被水解。 R^1 和 R^2 位上酯基的水解较慢，所以，向图 7 所示形式的转化很容易。在这些绿叶啉中最好的是 BPD-MA。

10 在图 7 中， R^3 是 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOR}^{3'}$ ，其中的 $R^{3'}$ 随各化合物而异。具体地说，在 BPD-DA 中， R^1 和 R^2 是烷酯基， R^3 是氢，衍生化发生在环 A。BPD-DB 是 B 环衍生化的相应化合物。BPD-MA 代表 BPD-DA 的部分水解形式，BPD-MB 代表 BPD-DB 的部分水解形式。所以，在后两种化合物中， R^1 和 R^2 是烷酯基， $R^{3'}$ 之一是氢原子，另一个是烷基(1 至 6 碳)。

15 结构式 BPD-MA 和 BPD-MB 化合物可以是均一性的，即只有 C 环烷酯基乙基或 D 环烷酯基乙基被水解，或者是 C 环和 D 环取代基水解物的混合物。此外，本发明方法和组合物可以使用 BPD-MA, -MB, -DA 和 -DB 中两种或更多种的混合物。

需要指出的是，图 6 中的许多化合物含有至少一个手性中心，所以可能以光学异构体形式存在。本发明方法可以使用具有手性碳两种构型的化合物，不论化合物是以一种立构分离体形式使用，还是以对映体和/或非对映体的混合物形式使用。可以用任意一种常规方法来分离非对映体的混合物。可以用任意一种常规技术来拆分对映体混合物，例如，令它们与光学活性制剂反应，然后拆分所得的非对映体。

25 还必须指出的是，反应产物可以是 A 环和 B 环加成的未分离的混合物，如结构式 1 和 2、或 3 和 4、或 5 和 6 的混合物。本发明方法和组合物可以使用各种分离形式，即纯结构式 3 或纯结构式 4 化合物，或它们任意比例的混合物。

而且，可以使用绿叶啉二聚体和绿叶啉/呋啉组合的二聚体或多聚体形式，以达到每摩尔基质吸收更多的光。本发明的二聚体和寡聚体化合物可以用与呋啉自身二聚或寡聚类似的反应来制备。可以将多个绿叶啉或绿叶啉/呋啉直接连接，或者，可以偶合呋啉，然后经末端呋啉之一或两者的 Diels-Alder 反应将其转化为相应的绿叶啉。



药物组合物

典型地，本发明的光敏剂配制成药物组合物，即将光敏剂在室温、合适的 pH 和所需要的纯度下与一种或多种生理学上可接受的载体(即在所采用的剂量和浓度下对接受者无毒的载体)混合。合适的组合物包括那些适合于全身或局部给药的组合物，包括注射用、经粘膜或经皮给药的制剂。

本发明的组合物较佳包含约 1 μ g/mL 至约 2 μ g/mL 的光敏剂，主要根据给药方式而定。局部给药以用约 0.1-0.2mg/ml 为佳。全身给药(如静脉注射)，光敏剂的浓度较佳约为 0.3-0.5mg/ml。

光敏剂以液体、凝胶或凝胶状固体药物组合物的形式给药为佳，可单独与水同服，或与其它药学上可接受的赋形剂合用，如 Remington's Pharmaceutical Sciences. Mack Publishing co., Easton Pennsylvania (Gennaro, ed. 1990)中所描述的赋形剂，该文纳入本文作为参考。作为液体，含光敏剂的药物组合物可以是悬浮液或乳剂。脂质体或亲脂性制剂常常是特别合乎需要的。本发明的光敏剂可以包括在脂质体中、附着在其表面或两者兼有。制备脂质体的合适方法是本领域熟知的。这样的制剂中包含绿卟啉化合物在例如下面的文献中有所描述：1993 年 5 月 25 日授予 Allison 等的美国专利 No. 05,214,036 和 Desai 等于 1995 年 6 月 13 日提交的待批申请 No. 08/489,850，这两篇文献均纳入本文作为参考。如果使用悬浮液或乳剂，合适的赋形剂包括水、盐水、右旋糖、甘油等。这些药物组合物还可包含微量无毒的辅助物质，如湿润剂或乳化剂、抗氧化剂、pH 缓冲剂等。

制剂的 pH 主要决定于特定的用途和光敏剂的浓度，但以约为 3-8 为佳，光敏剂保持在中性 pH(如约 6.5-7.5)以防止附着于所放置的容器，就象在接近生理水平的 pH 值下，从而保证光敏剂的活性。因此，在含平衡盐缓冲剂但不含胎牛血清("FBS")的 pH6.5 的电解质溶液中的光敏剂制剂是一个合适的实施例。省去胎牛血清的原因是因为它含有可加剧炎症反应的抗原成分。如果光敏剂附着在放置含光敏剂的药物组合物的容器上，可以任选地加入合适的非抗原成分，如人血清白蛋白，所加入的量不干扰附着在受处理的损伤组织上的光敏剂。

光敏剂可与一种或多种免疫抑制剂合用，以增强对损伤组织的抗炎作用。本文所用的术语“免疫抑制剂”指抑制或遮蔽 T 淋巴细胞反应的物质，包括抑制细胞因子产生、下调或抑制自身抗原表达或遮蔽 MHC 抗原的物质。

这些因子的例子包括 2-氨基-6-芳基-5 取代嘧啶化合物：硫唑嘌呤或环磷酰胺；溴隐亭；戊二醛；抗 MHC 抗原独特型抗体；环孢菌素 A；一种或多种类固醇，优选皮质类固醇和糖皮质类固醇，如泼尼松、甲基泼尼松龙和地塞米松；抗



γ -干扰素抗体；抗 α -肿瘤坏死因子抗体；抗 β -肿瘤坏死因子抗体；抗白介素-2抗体；抗细胞因子受体抗体，如抗IL-2受体抗体；异种抗淋巴细胞球蛋白；pan-T抗体，优选OKT-3单克隆抗体；抗CD4抗体；链激酶；链球菌DNA酶；或来自宿主的RNA或DNA。

5 这种免疫抑制剂可以光敏剂同样的剂量或减少的剂量补充或合并使用，可同时或分别、全身或局部使用。这些其它物质的有效量易受很多治疗处理的影响，取决于制剂中存在的光敏剂的量、损伤的类型、免疫抑制剂的类型、释药部位、给药方式、给药计划、上面讨论的其它因素和实施者知道的其它因素。但是，适用于本发明的免疫抑制剂的量典型地低于类似损伤组织治疗正常所推荐的量。

10 使用免疫抑制剂时，可用任何合适的方法给药，包括胃肠外给药，及如果需要局部免疫抑制治疗可从损伤部位内给药，即局部施用于损伤组织。胃肠外注射包括肌肉内、静脉内、动脉内、腹腔内、皮下和结膜下给药。

如果局部施用本发明的药物组合物，例如，如果涂到损伤组织上，可优选使用粘稠溶液(如凝胶)而不是非粘稠溶液。通过例如将所需要的光敏剂溶液与胶凝剂(如多糖)混合可制得凝胶，多糖以水溶性多糖为佳，例如透明质酸，淀粉和纤维素衍生物(如甲基纤维素、羟乙基纤维素和羧甲基纤维素)。凝胶制剂中存在多糖时，其量通常在凝胶重量的约1-90%范围内，较佳为约1-20%。为此目的其它合适的多糖的例子及多糖的溶解度测定见1988年5月11日公开的EP 267,017,其内容纳入本文作为参考。

20 合适的表面活性剂的例子包括poloxamer表面活性剂，它代表环氧乙烯和环氧丙烯嵌段共聚物一系列分子，单独或与磷脂(如卵磷脂)合用。可从Green Cross购得的乳剂的另一个例子是Fluosol-DA 20%，它包含以poloxamer表面活性剂Pluronic F-68乳化的全氟萘烷和全氟三丙胺。全氟化合物乳剂及其对哺乳动物的作用在Bollands et al., J.Pharm. Pharmacol., 39:1021-24 (1987)中作了更全面的描述，其内容纳入本文作为参考。

25 本发明的药物组合物以无菌的为佳。可通过0.2微米膜的除菌过滤容易地进行无菌化。一旦配制和除菌，组合物对氧化变性可能不稳定。但是，用于复原再配的冷冻干燥制剂(例如含有BPD的制剂)适于储存。

30 使组织与光敏剂接触的方式

按照本发明的减轻或预防炎症是用相当简单的方法进行的，即将受损组织(或将受伤或已受伤的组织)在能使光敏剂和靶组织之间形成强缔合的条件下与光敏



剂接触，而光敏剂的浓度达到最低限度，只要足以可定位于受伤靶组织的区域。

当免受炎症伤害的受保护细胞包含在活的整体动物中时，可局部或全身给予光敏剂。光敏剂可注射给药，只要特定的注射方式使光敏剂可从机体快速清除即可。例如，静脉注射是合适的。或者，光敏剂可局部或肠内施用，如涂敷或喷洒到受处理组织的表面，或经膏药或植入物，它们在预定的光敏剂接触时间结束时可除去。

当免受炎症伤害的受保护靶组织是眼组织时，以局部外用为佳，因为局部给药可达到与眼接触的局限的实质，导致较大的安全余地。在一个特别好的实施方案中，本发明的光敏剂是用本发明的制品施用的，该制品包括光敏剂和可吸收施药器。可吸收施药器包括任何除菌的或可除菌的可吸收材料，它在与受损组织接触时易于释放光敏剂，并且不与光敏剂发生化学反应。可吸收材料最好也是不贵的和可处置的。合适的可吸收施药器例子包括浸药海绵和不起绒的柔软织物。浸药海绵(如 Weck Cell)是较好的可吸收施药器。使用这样的施药器时，最好饱含本发明的药物组合物，并在损伤出现时或出现后短时间内(如外科手术中)局部施用于靶组织。

接触步骤可以在很宽的温度范围内进行，只避免过高引起变性或对受损组织有害作用的温度和过低使光敏剂的细胞摄取降低到极限的温度。接触步骤宜在约 5-40 °C 的温度下进行，更好为约 15-37 °C，最好为室温。

20

用药

在本发明的方法中，以一个或几个剂量对受试者授予一定量的光敏剂或光敏剂组合物。以符合有效的医学实践的方式给予本发明的光敏剂，要考虑到被预防和减轻的炎症的性质、受试者的人种和医学情况、受试者体内任何其它药物的存在、光敏剂的纯度和化学类型、给药方式、期望的吸收速度和程度，及实践者已知的其它因素。光敏剂的治疗有效量是这样的量，暴露于光下时，该量有效地显著减轻纤维细胞的增生，从而减轻炎症反应和已知可伴随炎症的不良反应，如增加血管形成和/或瘢痕组织形成。

光敏剂的剂量因靶组织而异，如果是静脉内或全身给药，则会受动物的体重和最适血水平的限制。合适的每剂全身用药量典型地少于约 1.0mg/kg 体重，较佳约为每剂在约 0.25-0.75mg/kg 范围，最佳为每剂约 0.15-0.50mg/kg。BPD 作为光敏剂的全身用药剂量只在异常情况下超过 0.3mg/kg。这些剂量范围指建议性的，而不应认为是限制性的，因为特定受试者的个体反应也会不同。



根据光敏剂及给药方式，可确立相当的最适全身血水平，但难以做到，因为光敏剂清除得很快。因此，在注射时血流中光敏剂的浓度与照光治疗时的浓度之间可以有惊人的差异。例如，静脉注射时 BPD 的浓度约为 1-10mg/ml，而在照光时可以仅为 0.5-0.05 μ g/ml。如果局部给药，血液中典型地根本不可检出光敏剂。

5 当局部或全身给药时，依据组合物的浓度和与靶组织接触的时间长度对剂量要作最好的描述。光敏剂一般的有效浓度范围约为 0.1-10mg/ml，较佳约为 0.1-5mg/ml，最佳约为 0.25-2.0mg/ml。合适的接触是对受损组织的一个或几个表面使用本发明的药物组合物。与光敏剂的局部接触一般发生至少一分钟，较佳为 5 分钟以下，更佳为约 1-2 分钟。接触时间取决于组合物中光敏剂的浓度、受处理的组织和组合物的特定类型这些因素。

10 与光敏剂预定的接触时间后，最好从处理区域除去过量的光敏剂。如果全身给予光敏剂，则选择不但具有快速动力学特征、而且对快速从机体清除有敏感性的光敏剂。如果光敏剂是局部给药的，则最好用生理上可接受的化学惰性液体(如标准盐水或 BSS(碱性盐溶液))或用水或一些其它溶剂灌洗或冲洗去掉过量的光敏剂。又，鉴于方案设计用药上允许的变化大，因此这些方案并不意味着是限制性的。

15 使受损组织或受损前组织与含本发明的光敏剂混合物接触的步骤后，使组织暴露于具有被光敏剂吸收的波长的光，导致炎症的减轻或预防。本申请中的术语“低剂量 PDT”指不引起明显的细胞损伤、坏死或红斑而仅显示抗炎效应的剂量。因为 PDT 总剂量取决于光敏剂剂量和辐照剂量的结合，因此可将低剂量 PDT 给予，可以相对高的光敏剂剂量和低的光剂量组合，或将相对低的光敏剂剂量和高的光剂量组合。后一种低的光敏剂/高的光组合也可通过给相对高剂量光敏剂、然后在以光辐照前经异常长“培育”时间来达到。因此，总的说来产生相对低剂量 PDT 的各种各样情况都适合于本发明。

20 同样，光敏剂剂量、接触时间和给药方式的各种不同组合也是合适的。但是，下面的粗略方针可能是有用的。与局部使用的高剂量光敏剂(如 2mg/ml)短间接接触(少于 1 小时)一般相当于静脉注射低剂量光敏剂(如 0.15mg/kg)。然而，即使在静脉注射高剂量光敏剂后，延迟一段时间(如给予光敏剂后 3 小时以上)以光辐照也可导致低剂量 PDT，因为如果光敏剂能快速清除的话，3 小时后仍然存在于组织中的光敏剂极少。

“低剂量 PDT”的特殊例子包括：

- 局部施用或局部注射低于 2mg/ml 的苯并卟啉衍生物(“BPD”)光敏剂，



使其与靶组织接触少于 10 分钟;

- 静脉注射低于 0.15mg/kg 的 BPD, 在注射 BPD 后任何时间进行辐照;
- 静脉注射 0.15-0.50mg/kg BPD, 在注射 BPD 6 小时后进行辐照;

与如下条件下的辐照相结合:

- 5
- 给予光敏剂后 0-3 小时内施加低于 $15\text{J}/\text{cm}^2$ 的辐照; 或
 - 给予光敏剂 6 小时后施加 $\leq 100\text{J}/\text{cm}^2$ 的辐照。

10 在辐照步骤中, 光敏剂吸收的和适用于受损组织的任何光均可使用, 例如, 根据光敏剂和所需穿透的组织深度, 从约 380nm 至约 850nm, 以约 400nm 至约 700nm 为佳。对于一般的抗炎应用, 在电磁波可见部分的光(如红光、蓝光或甚至长波紫外线(UVA)光)均可使用。由于 UVA 光的潜在损害作用, 故波长短于 400nm 的光可用但不是较好的。由于难以看见, 故波长长于 700nm 的光可用但不是特别好的。对于眼科应用来说, 以红光为佳, 因为排除了蓝光和 UVA 光谱范围对眼的敏感视网膜的任何潜在有害作用。

滤过手术中所用特别好的方法的例子如下:

- 15
1. 用 2mg/ml 脂质体 BPD 的水悬浮液饱和浸药海绵;
 2. 将饱和了 BPD 的海绵与拟处理的组织接触 2 分钟;
 3. 用大量灭菌盐水或平衡盐溶液除去过量 BPD; 及
 4. 将 BPD 处理过的组织暴露于 $7-12\text{J}/\text{cm}^2$ 光下。

20 这时, 没有任何单一的方案看来是对所有情况均能满意的。但是, 典型的方案包括单次处理或初次处理后接着任选地再加 1-4 次处理。局部给予光敏剂进行局部处理可每 3 或 4 天重复。但是, 全身给予光敏剂, 则重复处理一般间隔约 1 周或更长, 以避免过量光敏剂积聚所致的任何不合要求的作用。

下面的实施例旨在阐述而非限制本发明。

25 实施例

实施例 1 光辐照

对 6 只正常家兔进行单眼滤过手术。用光敏剂苯并卟啉衍生物单酸 A 环 (BPD-MA, 也称作 “BPD-verteporfin”) 的 2mg/ml 水溶液将 Weck Cell 海绵饱和。手术时, 用饱和的 Weck Cell 对手术野的巩膜和结膜局部施加 BPD-MA 2 分钟。
30 用 BSS 洗去过量药物后, 将巩膜和结膜均暴露于波长为 690nm 的红光下, 该红光由置于受辐照组织 1cm 处的发光二极管 (“LED”) 产生。本试验中所用的 6 只家兔均接受不同剂量的光(具体为 0、3、6、12、18 和 $24\text{J}/\text{cm}^2$)30 秒-4 分钟



的时间。受处理的家兔手术后 11-12 天测定滤过泡高度、滤过泡血管形成(炎症的指针)和眼内压(“ IOP ”)的下降。第 5 天和第 11 天得到的数据分别列入表 1A 和 1B。

5 表 1A 手术后第 5 天试验性的 BPD-MA 对光剂量的结果

家兔编号	辐照时间	IOP 降低 (mm Hg)	滤过泡高度	滤过泡 血管形成
1	0(无 BPD)	2-3	中等	血管
2	30 秒	最小	小	血管
3	1 分钟	>20	最大	无血管
4	2 分钟	20	最大	无血管
5	3 分钟	2.5	小	血管
6	4 分钟	0-4	小到中等	血管

表 1B 手术后第 11 天试验性的 BPD-MA 对光剂量的结果

家兔编号	辐照时间	IOP 降低 (mm Hg)	滤过泡高度	滤过泡 血管形成
1	0(无 BPD)	3-4	中等	血管
2	30 秒	2.3	最小	血管
3	1 分钟	>20	最大	无血管
4	2 分钟	>20	最大	无血管
5	3 分钟	3-4	低	血管
6	4 分钟	死亡-滤过泡衰退		

10 结果表明，用中间剂量范围的光(即相对低剂量药物和光(“低剂量 PDT”))处理的眼中滤过泡的存留时间最长。数据表明，预定水平的 PDT 是需要的，但较高剂量一般比较低剂量作用差。短时间 BPD 孵养和低剂量光照(12 J/cm^2)合用预期不会对受处理细胞造成过多的损害。然而，这种处理的药理作用有限。滤过泡存留与无炎症相伴随，其标志是无血管形成和灰白色滤过泡。

15 另一方面，过低或过高剂量光辐照，滤过泡高度和眼内压降低的量均减少。滤过泡衰败与炎症相伴随。

相应的滤过泡见图 1。



实施例 2 PDT 给药时间

实施例中所用的光敏剂制备如下：配制成脂质体的光敏剂苯并卟啉衍生物单酸 A 环(BPD-MA，也称作“BPD-verteporfin”)是以冻干粉的形式由 QLT 光治疗股份有限公司提供的，在使用前短时间内用灭菌蒸馏水重配。重配成 1.98 mg/ml 的 BPD 用来饱和分成(cut end)3 mm 的 Well Cell。对照组 Well Cell 用标准盐溶液 (“BSS”)饱和。

48 只家兔分成 4 组，每组 12 只，在随机选择的一个眼睛上进行全厚度滤过手术。每只家兔未处理的另一个眼睛作为对照。滤过方法按如下进行：每只动物用氯胺酮和赛拉嗪混合麻醉。用金属丝开张器分开眼睑。在鼻上或眶上 (superiornasal or superior temporal)象限建立穹隆基结膜瓣。穹隆基结膜瓣建立后，将饱和了 BPD-MA(或 BSS 安慰剂)的 Well Cell 放置在巩膜后至将造瘘管的缘部。将结膜披盖在 Well Cell 上。从而，Well Cell 置于结膜和巩膜之间，与巩膜外层和 Tenon's 囊接触 2 分钟。然后除去 Well Cell，用 BSS 冲洗该区域。仪器和手套在进入眼前也进行冲洗，用 1.0 mm 的环钻进入前房。

然后将结膜瓣用 7-0 vicryl 缝线固定在缘部。手术后立即用实施例 1(Quantum Devices, Inc.)所用的光源(放在眼的 1cm 处)将每只家兔在波长 690 nm 的光下暴露 2 分钟、光源的最大输出为 100 W/cm，提供总剂量约为 7.2 J。

手术后将一滴妥布霉素放进每只眼中。手术后每天 4 次在两个眼中滴入妥布霉素和醋酸泼尼松龙，共 1 周。

对照眼结膜下接受与手术眼同样的光敏剂和辐照，但不造瘘管。用对照眼试验毒性和作为检测手术眼 IOP 降低的基准。施用 BPD-MA 的时间作如下变化：

第 1 组：手术时，安慰剂处理；手术后 48 小时，安慰剂处理；

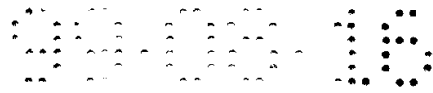
第 2 组：手术时，BPD 处理；手术后 48 小时，安慰剂处理；

第 3 组：手术时，安慰剂处理；手术后 48 小时，BPD 处理；

第 4 组：手术时，BPD 处理；手术后 48 小时，BPD 处理。

手术后 48 小时的 BPD 处理由以下步骤组成：将以 2mg/ml BPD-MA(或安慰剂)水溶液饱和的切成 3 mm 的 Well cell 放在滤过泡上的结膜上 2 分钟，然后洗去过量光敏剂。在波长 688 nm 的红色 LED 光下暴露 1 分钟。

手术后第 0 天和每 2 天，用裂隙灯活体显微镜检查家兔，评估滤过泡伸展程度、滤过泡高度、滤过泡上结膜红斑、前房室闪辉及前房深度。在局部麻醉下用压平眼压测量法测量 IOP。并且，按照如下所示计分法确定动物的安逸和饮食习惯来进行受试者眼部不舒服的评估：



- 0: 正常行为;
- 1: 摇头、歪头、眯眼;
- 2: 用爪抓眼;
- 3: 造成损害/自残(用爪).

5 与对照眼比较滤过泡的伸展程度和高度和 IOP，评估滤过泡的存留情况。用滤过泡上的红斑确定炎症反应的程度，按 0-3 分打分。当观察到滤过泡衰败时，即手术眼的眼内压等于对照眼的眼内压、滤过泡扁平时，终止家兔试验。

图 2 显示本研究评估的 4 组中每一组家兔的滤过泡存留百分率。平均(\pm SD)存活时间为:

- 10 第 1 组: 10.3 ± 8 天;
- 第 2 组: 23.8 ± 12 天;
- 第 3 组: 10.1 ± 9 天; 和
- 第 4 组: 23.2 ± 8 天。

15 大多数组间观察到统计学差异($p < 0.001$), 但第 2 组和第 4 组之间无差异($p < 0.05$)。手术时用 BPD 和光处理(第 2 和 4 组), 与安慰剂对照(第 1 组)或手术后仅 48 小时处理(第 3 组)相比, 滤过泡存留时间延长。在 48 小时时用 BPD 和光作第 2 次处理(第 4 组)并未显示任何额外的效应。用 Kruskal-Wallis 试验作非参数分析来评估组间滤过泡存留时间的差异。

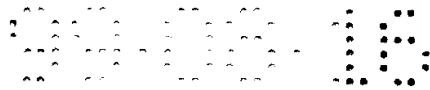
20 用 ANOVA 试验评估 IOP，手术中给予 BPD 时，观察到 IOP 降低的趋势($p = 0.057$)。当时，由于用来测家兔 IOP 的眼压计的问题，最可靠的参数是滤过泡的伸展程度(图 3)和高度(图 4)，它们均表明手术时低剂量 PDT 的有效性。滤过泡上红斑的测定(图 5)表明第 1 组和第 3 组中炎症反应较剧，其中滤过泡在手术后早期就衰败。图 3、4 和 5 中，观察到组间统计学差异($p < 0.001$)。滤过泡高度和伸展程度及其它裂隙灯特性用卡方测验来进行分析。不良反应也用卡方测验来进
25 行分析。每个实验日，用 Cox Proportional Hazard Model 来评估最精确预示滤过泡存留的参数。

如下表 2 所示，与以前小梁切除术辅助医药的家兔研究相比，结果显示 BPD 比正常对照(Ara-A 和 5-氟尿嘧啶)延长滤过泡的存留时间。



表 2

抗纤维 变性治疗	滤过泡存留 (平均天数±SD[范围])	文 献
无药物	12.06±6.2 (6-23.2)	Kay 等, "抗成纤维细胞剂给药作为滤过手术辅助剂-第 II 部分: 5-氟尿嘧啶和博来霉素在胶原植入中的给药, 家兔试验性研究", <i>Ophthalmic Surg.</i> , 17:796-801 (1986); Khaw 等, "手术中 5-氟尿嘧啶或丝裂霉素 C 对家兔青光眼滤过手术的效应", <i>Ophthalmology</i> , 100:367-72 (1993); Bergstrom 等, "结膜下丝裂霉素 C 对家兔青光眼滤过手术的效应", <i>Arch. Ophthalmol.</i> , 109:1725-30 (1991); 和 Liang 等, "丝裂霉素 C 和 5-氟尿嘧啶对家兔眼滤过手术成功的比较", <i>J. Glaucoma</i> . 1:87-93 (1992).
5-氟尿嘧啶	19.5±5.5 (14 -25)	Kay 等, "抗成纤维细胞剂作为滤过手术辅助剂-第 II 部分: 5-氟尿嘧啶和博来霉素在胶原植入中的给药, 家兔试验性研究", <i>Ophthalmic Surg.</i> , 17:796-801 (1986); Khaw 等, "手术中 5-氟尿嘧啶或丝裂霉素 C 对家兔青光眼滤过手术的效应", <i>Ophthalmology</i> , 100:367-72 (1993).
博来霉素	25.5±14.5 (21-50)	Khaw 等, "手术中 5-氟尿嘧啶或丝裂霉素 C 对家兔青光眼滤过手术的效应", <i>Ophthalmology</i> , 100:367-72 (1993).
丝裂霉素-C	34.8±28.8 (6-23.2)	Khaw 等, "手术中 5-氟尿嘧啶或丝裂霉素 C 对家兔青光眼滤过手术的效应", <i>Ophthalmology</i> , 100:367-72 (1993); Liang 等, "丝裂霉素 C 和 5-氟尿嘧啶对家兔眼滤过手术成功的比较", <i>J. Glaucoma</i> , 1:87-93 (1992).



Ara-A 15.2±1.8

Lee 等,"浸渍阿糖胞苷的生物可侵蚀聚合物对家兔青光眼滤过手术所效应", *J. Glaucoma*, 2:96-100 (1993).

结果还表明, BPD 延长家兔滤过泡的寿命使其长于接受丝裂霉素 C 的一些家兔。用丝裂霉素 C 所作研究的平均存留时间较长, 这与 PDT 比丝裂霉素 C 临床上引起超滤过少但同样使用方便、安全性又大的假设相符合。

5 数据清楚地表明, 较长的滤过泡存留时间与无红斑或只有最少红斑相关, 因此, 与炎症反应的减轻有关。数据还提示, 用 BPD 和光处理在相当低的剂量范围内即预防炎症的产生, 特别是当手术中使用。

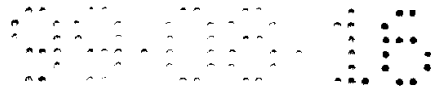
不良作用极少, 且非特定与光敏剂的使用相关。最初 4 天内在 6 只家兔上观察到纤维蛋白凝块, 其中 3 只第 2 组, 3 只第 3 组。第 1 周末, 每一例上纤维蛋白均消散, 无后遗症。一只家兔在第 0 天死亡, 认为是麻醉合并症。未报告其它不良事件。

15 第 7 天, 从每组取一只家兔, 在滤过泡衰败后从每组取 2 只家兔, 处死, 进行组织学和透射电子显微镜(“TEM”)分析。首先用 10% 缓冲的中性福尔马林固定尸体的眼睛后进行组织学评估。将眼睛处理、切片和用苏木精和曙红及 Masson's Trichrome 染色。用盲法, 由互不干扰的观察者检查样本。

用以含 7% 蔗糖的 0.1M 卡可基酸盐缓冲的 2.5% 戊二醛固定组织样本, 进行透射电子显微镜检查。将组织用 2% 四氧化锇作 1 小时后固定, 并经梯度醇浓度至 100% 的乙醇脱水。然后用催化的环氧树脂将 2 × 5 mm 组织块进行浸润。切成厚切片(0.5 μ m), 用甲苯胺蓝染色, 用光学显微镜检查适当的区域。然后切成薄切片(80nm), 捞在铜网上, 用乙酸双氧铀和柠檬酸铅染色, 用于 TEM 评估。用日立 H7000 透射电子显微镜检测这些切片。

在手术时接受 BPD 而不是安慰剂的滤过泡中, 手术后第 7 天的光学显微镜检查显示, 在第 0 天和第 2 天接受安慰剂的家兔存在成纤维细胞和轻度淋巴细胞反应。另外, 第 7 天, 证明这些眼睛有一些血管增生和新的胶原沉积。

25 相反, 接受 BPD 的家兔仅在第 2 天(第 3 组)除了成纤维细胞外还有淋巴管增加, 但无血管增生。在手术时接受 BPD 的两只眼睛上, 注意到滤过泡有轻度淋巴细胞反应。但是, 未见成纤维细胞、血管增加或淋巴管增加。研究结束时(手术后 3 周), 在接受 BPD 的眼瘻管中, 在瘻管中只见少量淋巴细胞, 而无血管增生。



第 2 组和第 4 组中，在第 7 天和处死时，观察到增厚的上皮。但是，相对于 PDT 处理的毒性作用而言，这被认为是滤过泡升高和随之而来的泪液充填故障所致。

5 在对照眼睛上，前节眼检查未见安慰剂和 BPD 处理的眼之间存在差异，表明本发明的方法和组合物在临床上无毒性($p > 0.05$)。另外，无论在手术眼或对照眼上，组织学和透射电子显微镜分析均未显示除滤过部位外的毒性或炎症。因此，临床、组织学或透射电子显微镜均未观察到 BPD 毒性。

说明书附图

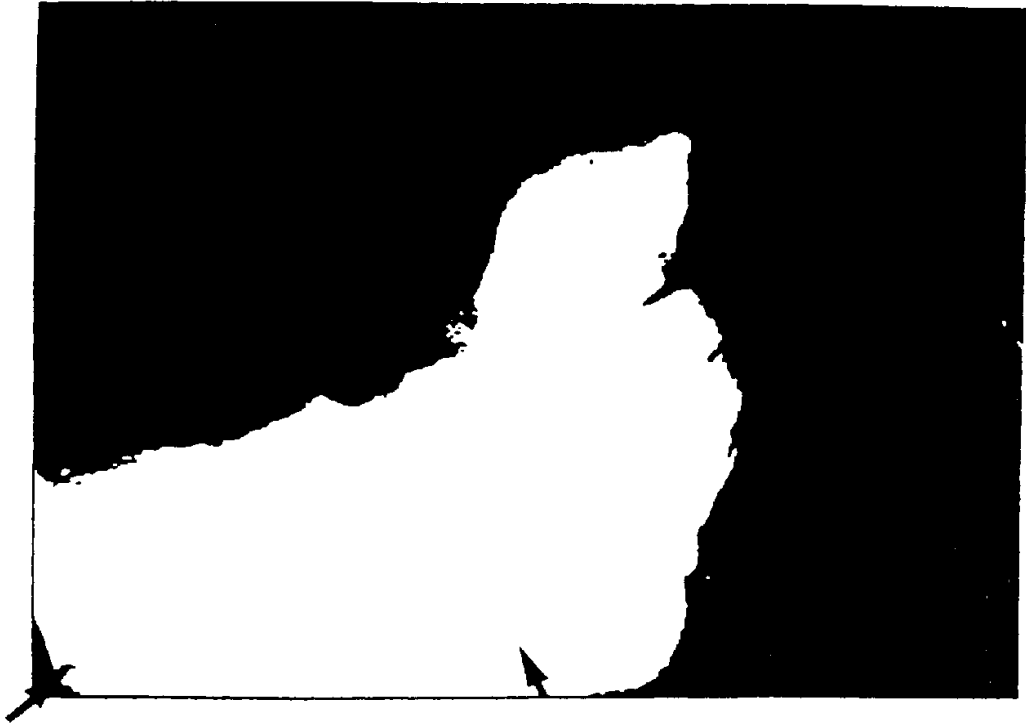


图 1B



图 1A

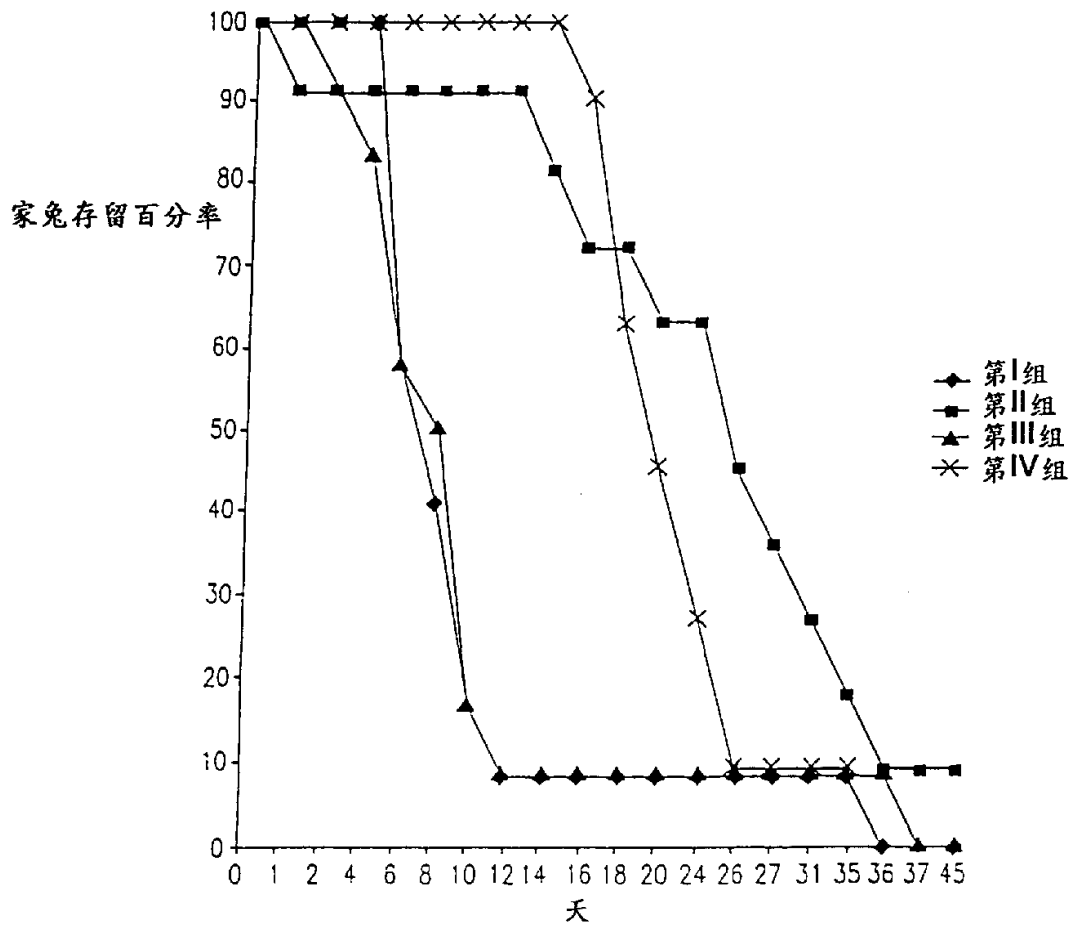


图 2

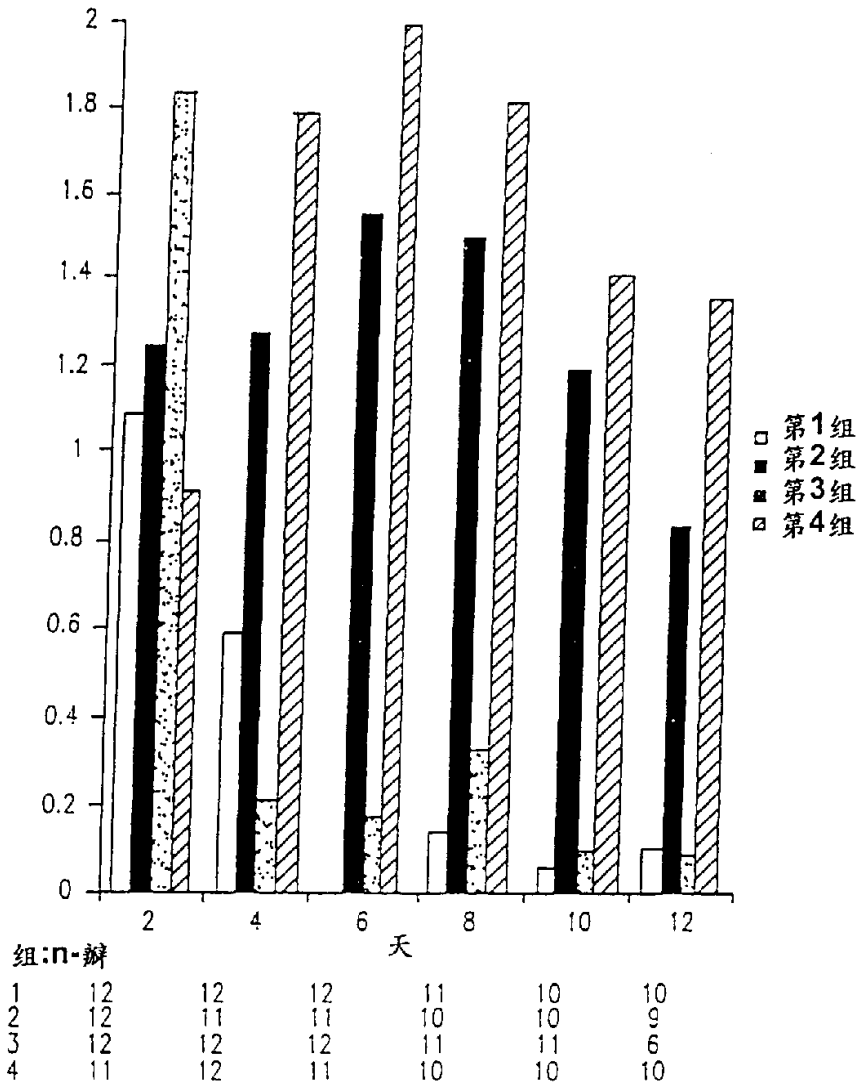


图 3

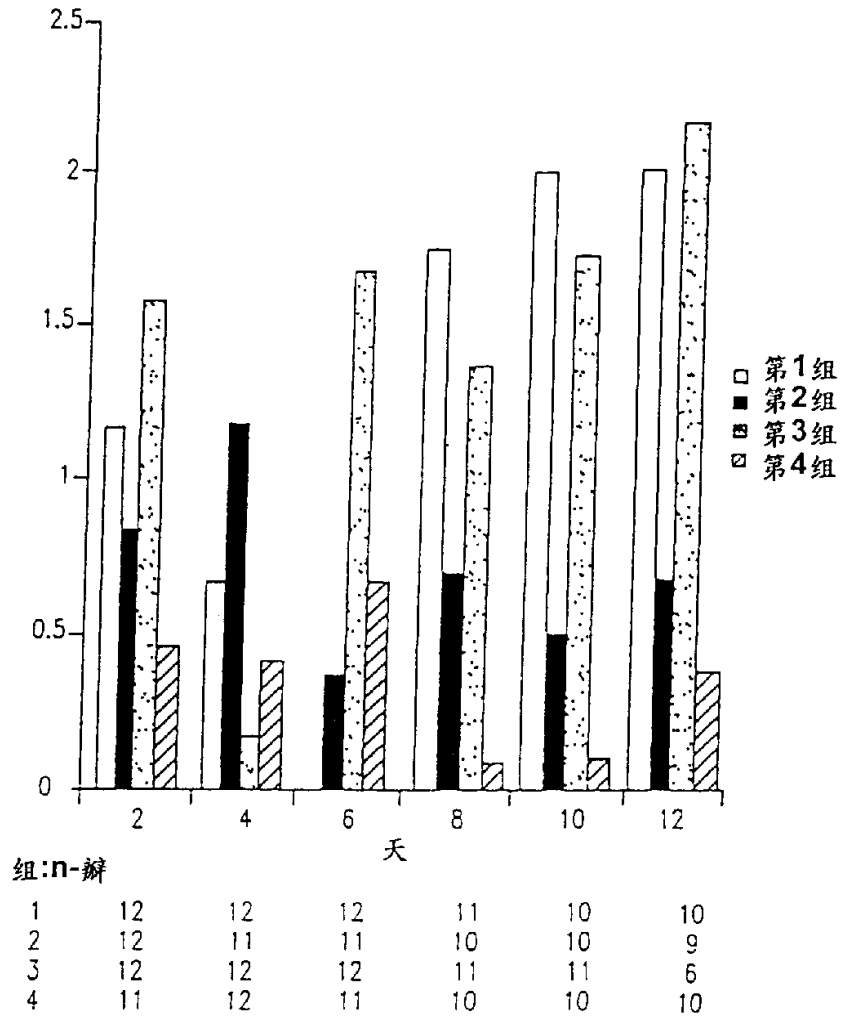
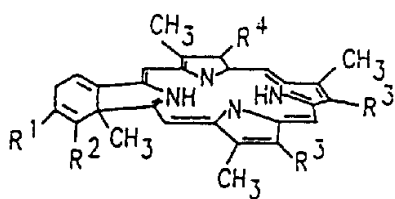
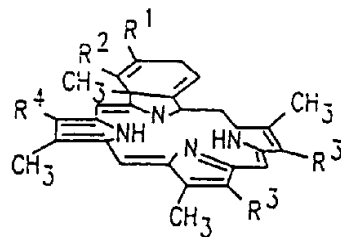


图 5

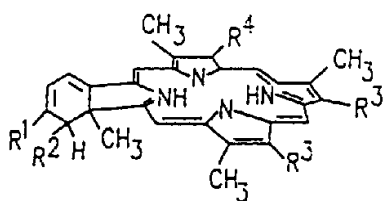
式1



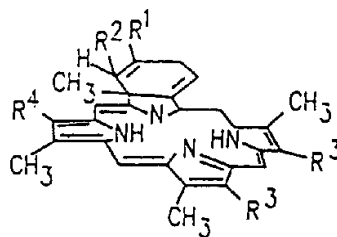
式2



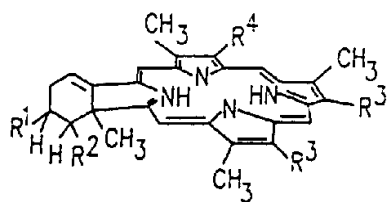
式3



式4



式5



式6

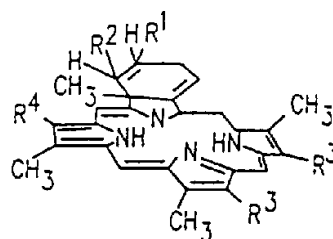


图 6

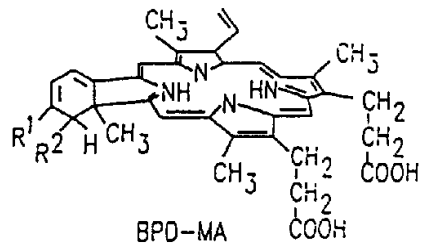


图 7A

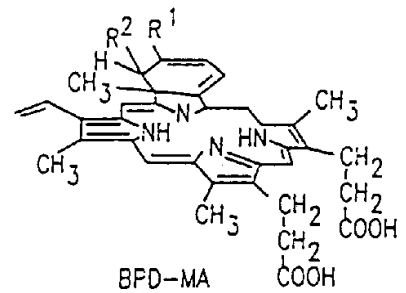


图 7B

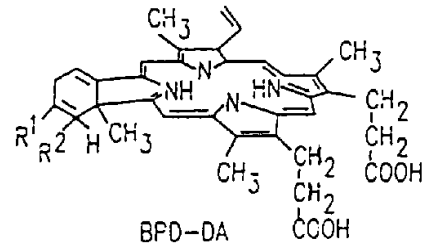


图 7C

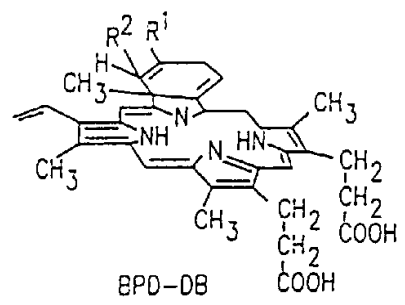


图 7D