



(12) 发明专利申请



(10) 申请公布号 CN 118215476 A

(43) 申请公布日 2024.06.18

(21) 申请号 202280074409.0

(22) 申请日 2022.10.19

(30) 优先权数据

2021-181678 2021.11.08 JP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2024.05.08

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/JP2022/038850 2022.10.19

(87) PCT国际申请的公布数据

W02023/079954 JA 2023.05.11

(71) 申请人 三菱瓦斯化学株式会社

地址 日本

(72) 发明人 樋田匠 莪山真与

(74) 专利代理机构 北京尚诚知识产权代理有限公司 11322

专利代理师 龙淳 沈央

(51) Int.Cl.

A61K 31/4172 (2006.01)

A23L 33/10 (2006.01)

A23L 33/14 (2006.01)

A61K 36/06 (2006.01)

A61K 47/40 (2006.01)

A61P 27/16 (2006.01)

权利要求书2页 说明书9页

(54) 发明名称

用于抑制或预防内耳性耳聋的含有麦角硫因的组合物

(57) 摘要

本发明提供用于抑制或预防内耳性耳聋的组合物等,其中,所述组合物含有麦角硫因或其盐。

1. 一种用于抑制或预防内耳性耳聋的组合物,其中,所述组合物含有麦角硫因。
2. 如权利要求1所述的组合物,其中,每日以0.01mg/kg体重以上且低于100mg/kg体重的范围的量将麦角硫因进行给药。
3. 如权利要求2所述的组合物,其中,一日一次或多次进行给药。
4. 如权利要求2或3所述的组合物,其中,给药期至少在一周以上。
5. 如权利要求2~4中任一项所述的组合物,其中,给药包括经口给药。
6. 如权利要求1~5中任一项所述的组合物,其中,内耳性耳聋为老年性耳聋。
7. 如权利要求1~6中任一项所述的组合物,其中,内耳性耳聋不为药物中毒性耳聋。
8. 如权利要求1~7中任一项所述的组合物,其中,麦角硫因的给药对象是通过听性脑干反应(ABR)被诊断为老年性耳聋的对象。
9. 如权利要求1~8中任一项所述的组合物,其中,麦角硫因来自酵母。
10. 如权利要求9所述的组合物,其中,酵母为红酵母(Rhodotorula)属的不完全酵母。
11. 如权利要求8或9所述的组合物,其中,还含有酵母提取物。
12. 如权利要求11所述的组合物,其中,在酵母提取物中包含麦角硫因。
13. 如权利要求12所述的组合物,其中,在酵母提取物中以固体成分中的浓度计包含0.1~20%的麦角硫因。
14. 如权利要求11~13中任一项所述的组合物,其中,酵母提取物为粉末。
15. 如权利要求1~14中任一项所述的组合物,其中,还含有环糊精。
16. 如权利要求1~15中任一项所述的组合物,其中,组合物为医药、食品或补充剂的形态。
17. 如权利要求16所述的组合物,其中,每日一次以0.1mg以上且低于1000mg的范围的量将麦角硫因进行给药。
18. 一种用于抑制或预防对象发生的内耳性耳聋的方法,其中,所述方法包括将麦角硫因向对象进行给药。
19. 如权利要求18所述的方法,其中,一日一次或多次进行给药。
20. 如权利要求18或19所述的方法,其中,

给药期至少在一周以上。

21. 如权利要求18~20中任一项所述的方法,其中,  
给药包括经口给药。

## 用于抑制或预防内耳性耳聋的含有麦角硫因的组合物

### 技术领域

[0001] 本发明涉及麦角硫因的新型用途,特别是涉及用于抑制或预防内耳性耳聋的用途等。

### 背景技术

[0002] 已知作为氨基酸的一种的麦角硫因由于具有高抗氧化作用,但是由于是在人的体内无法合成的物质,因此,期待开发出配合有麦角硫因的化妆品、食品、医药、饲料等。然而,麦角硫因在人体内发挥的功能尚不明确。

[0003] 虽然有报告称麦角硫因的抗氧化作用优于谷胱甘肽等其它的抗氧化物质,但并非是所有抗氧化物质有助于治疗乃至预防由于体内的氧化导致的疾病,为了找到其功能、效果或医药用途,需要逐个研究。

[0004] 现有技术文献

[0005] 专利文献

[0006] 专利文献1:日本专利第5421366号公报

### 发明内容

[0007] 发明所要解决的课题

[0008] 大多数耳聋是由于构成耳朵的外耳、中耳、内耳中的任意处的功能存在障碍,依照其部位,能够大致分类为传音性耳聋(外耳、中耳)和感音性耳聋(内耳)的2类。这些耳聋还可以根据其原因进行更细分类,但已知老年性耳聋属于感音性耳聋中的一种。

[0009] 老年性耳聋正如其名,属于伴随老龄化而发展的耳聋,尚不存在其根本性的治疗方法。

[0010] 在日本专利第5421366号公报中公开了一种医药组合物,其特征在于,所述医药组合物为用于通过对于耳的鼓室内进行给药来处置耳疾病时使用的无菌的医药组合物,所述医药组合物含有热可逆性水性凝胶和耳结构体改性剂,其中,所述热可逆性水性凝胶含有聚氧丙烯和聚氧乙烯的共聚物,并且是耳能够容许的;所述耳结构体改性剂对耳的缓释能够持续至少3日,上述耳结构体改性剂为骨重塑的调节剂(权利要求1等)。

[0011] 在该公报中,作为上述组合物的对象疾病,列举了各种疾病,其中虽然包含耳聋、老年性耳聋,但实际上,并没有进行试验来确认上述医药组合物对于老年性耳聋等内耳性耳聋的预防等是否有效。

[0012] 耳聋的原因多种多样,不清楚对预防某种耳聋有效的物质是否一定能有效预防其它耳聋。

[0013] 用于解决课题的技术方案

[0014] 令人惊讶地,本发明人等发现,麦角硫因对于老年性耳聋等内耳性耳聋的预防等是有效的,至此完成本发明。

[0015] 即,本申请包括以下的发明。

- [0016] [1]一种用于抑制或预防内耳性耳聋的组合物,其中,
- [0017] 所述组合物含有麦角硫因。
- [0018] [2]如[1]所述的组合物,其中,
- [0019] 每日以0.01mg/kg体重以上且低于100mg/kg体重的范围的量将麦角硫因进行给药。
- [0020] [3]如[2]所述的组合物,其中,
- [0021] 一日一次或多次进行给药。
- [0022] [4]如[2]或[3]所述的组合物,其中,
- [0023] 给药期至少在一周以上。
- [0024] [5]如[2]~[4]中任一项所述的组合物,其中,
- [0025] 给药包括经口给药。
- [0026] [6]如[1]~[5]中任一项所述的组合物,其中,
- [0027] 内耳性耳聋为老年性耳聋。
- [0028] [7]如[1]~[6]中任一项所述的组合物,其中,
- [0029] 内耳性耳聋不为药物中毒性耳聋。
- [0030] [8]如[1]~[7]中任一项所述的组合物,其中,
- [0031] 麦角硫因的给药对象是通过听性脑干反应(ABR)被诊断为老年性耳聋的对象。
- [0032] [9]如[1]~[8]中任一项所述的组合物,其中,
- [0033] 麦角硫因来自酵母。
- [0034] [10]如[9]所述的组合物,其中,
- [0035] 酵母为红酵母(Rhodotorula)属的不完全酵母。
- [0036] [11]如[8]或[9]所述的组合物,其中,
- [0037] 还含有酵母提取物。
- [0038] [12]如[11]所述的组合物,其中,
- [0039] 在酵母提取物中包含麦角硫因。
- [0040] [13]如[12]所述的组合物,其中,
- [0041] 在酵母提取物中以固体成分中的浓度计包含0.1~20%的麦角硫因。
- [0042] [14]如[11]~[13]中任一项所述的组合物,其中,
- [0043] 酵母提取物为粉末。
- [0044] [15]如[1]~[14]中任一项所述的组合物,其中,
- [0045] 还含有环糊精。
- [0046] [16]如[1]~[15]中任一项所述的组合物,其中,
- [0047] 组合物为医药、食品或补充剂的形态。
- [0048] [17]如[16]所述的组合物,其中,
- [0049] 每日一次以0.1mg以上且低于1000mg的范围的量将麦角硫因进行给药。
- [0050] [18]一种用于抑制或预防对象发生的内耳性耳聋的方法,其中,所述方法包括将麦角硫因向对象进行给药。
- [0051] [19]如[18]所述的方法,其中,
- [0052] 一日一次或多次进行给药。

- [0053] [20]如[18]或[19]所述的方法,其中,
- [0054] 给药期至少在一周以上。
- [0055] [21]如[18]~[20]中任一项所述的方法,其中,
- [0056] 给药包括经口给药。
- [0057] 发明效果
- [0058] 由于麦角硫因在人体内的安全性被确认,因此利用本发明,通过在补充剂等中配合麦角硫因,能够期待预防内耳性耳聋。

### 具体实施方式

[0059] 以下,对于本发明的实施的方式(以下称为“本实施方式”)进行说明,但本发明的范围不限定解释为以下实施方式。

[0060] (组合物)

[0061] 在第一方式中,提供一种用于抑制或预防内耳性耳聋的组合物,其中,所述组合物含有麦角硫因或其盐。

[0062] 作为内耳性耳聋的原因,例如有先天性或后天性的。作为由被称为老人性耳聋的老年性耳聋是后天性的内耳性耳聋,被分类为感音性耳聋。为内耳性耳聋的情况下,优选为老年性耳聋。麦角硫因具有在听觉范围的低频区域(例如小鼠的情况时为1~40kHz,人类的情况时为2~20kHz),优选听觉范围的从低频区域侧起0%~90%的频段(例如小鼠的情况时为1~36.1kHz,人类的情况时为2~18.2kHz),更优选为0%~70%的频段(例如小鼠的情况时为1~28.3kHz,人类的情况时为2~14.6kHz)的耳聋抑制效果。需要说明的是,在本说明书中使用的情况下,“听觉范围的低频区域侧起0%~90%的频段”是指相当于[下限频率]+([上限频率]-[下限频率])的百分比乘以比例的值,例如,下限频率为1kHz且上限频率为40kHz的情况时,50%的频率为 $(1+(40-1)\times 0.5)$ ,结果成为20.5。

[0063] 作为其它的后天性的内耳性耳聋的原因,已知有遗传性疾病(例如联接蛋白26基因突变、瓦登伯革氏综合征、Usher综合征、彭德莱综合征)、噪音暴露、具有听力器官毒性的药剂(例如阿斯匹林、氨基糖苷系药剂、万古霉素、顺铂、呋塞米、依他尼酸、奎宁)、传染病(例如脑膜炎、化脓性中耳炎)、自身免疫疾病(例如类风湿关节炎、全身性红斑狼疮)、美尼尔氏综合征、气压外伤(伴随外淋巴瘘)、头部外伤(伴随颅底的骨折或耳蜗的振荡)、Auditory neuropathy(听觉神经障碍)导致的。这些后天性内耳性耳聋,特别是由于药剂诱导的耳聋与老年性耳聋能够明确地进行区分。

[0064] 作为先天性的内耳性耳聋,存在遗传性、特异性(原因不明的)畸形、先天性感染病(例如风疹、巨细胞病毒感染病、弓形体病、梅毒)、Rh式血液型不合、无氧症、母体摄取了具有听力器官毒性的药剂(例如应对结核或重度传染病的)、药剂性畸形(例如沙利度胺导致的)导致的耳聋。

[0065] 作为有效成分的麦角硫因是一种含硫氨基酸。通过摄取含有有效量的麦角硫因的组合物,能够达到抑制、预防或治疗内耳性耳聋。麦角硫因优选为L体。

[0066] 麦角硫因也可以是盐的形态。盐只要是药学上能够允许,其种类就没有特别限定,作为其例子,可以列举与盐酸、磷酸、硫酸、硝酸、硼酸等的盐(无机酸盐)或者与甲酸、乙酸、乳酸、富马酸、马来酸、酒石酸、柠檬酸等的盐(有机酸盐)。本说明书中使用的“麦角硫因”在

没有特别说明的情况下,也可以含有其药学上能够允许的盐。

[0067] 麦角硫因可以使用市售的,也可以使用合成的。作为麦角硫因的制造方法,可以列举例如化学合成法,培养能够产生麦角硫因的菌类(包括鸡腿菇、平菇、金顶侧耳、金针菇、杏鲍菇、香菇等蘑菇类)后,提取精制麦角硫因的方法、发酵法,从含有麦角硫因的动物血液等提取的方法等。

[0068] 作为产生麦角硫因的菌的例子,可以列举酵母。本说明书中使用的情况下,“酵母”只要是在培养条件下能够产生麦角硫因的话就没有特别限定。本说明书中的酵母优选出芽酵母,更优选不完全酵母类。

[0069] 作为不完全酵母的例子,可以列举红酵母(*Rhodotorula*)属,隐球酵母(*Cryptococcus*)属等酵母,这些中,优选红酵母属。红酵母属的酵母包括胶红酵母(*Rhodotorula mucilaginosa*)、粘红酵母(*Rhodotorula glutinis*)等。

[0070] 麦角硫因为来自酵母等菌的情况下,可以是以被包含于菌体的状态配合于组合物中,也可以在从菌中提取后,以提取物形式配合于组合物。麦角硫因可以在菌体中或提取物中以任意的浓度被含有。例如,提取物中,可以以固体成分中浓度计包含0.1~20%的麦角硫因。麦角硫因能够依照所期望的纯度进行适当的精制。精制方法能够使用公知的方法,能够适当组合例如使用了正相柱、反相柱、离子交换柱等的柱色谱法、结晶化、膜处理、活性炭处理等来进行。

[0071] 组合物可以是菌体的状态,或者,也可以与其它成分组合,以医药、食品或补充剂的形态存在。作为食品的例子,可以列举特定保健用食品、功能性表示食品或营养功能食品。组合物中,可以在不损害作为有效成分的麦角硫因的效果的范围内,含有用于抑制或预防内耳性耳聋的追加成分或者通常使用的载体,例如赋形剂、崩解剂、润滑剂、缓冲剂、粘合剂、乳化剂、悬浊剂、稳定剂、保存剂、防腐剂、生理盐水等。作为稳定剂的例子可以列举环糊精。环糊精能够使用 $\alpha$ -环糊精、 $\beta$ -环糊精、 $\gamma$ -环糊精或这些的组合,但从增加抑制或预防内耳性耳聋的效果的观点出发,优选 $\gamma$ -环糊精。在麦角硫因是来自菌的情况下,组合物可以含有菌体或其提取物,也可以含有精制后的麦角硫因。菌提取物也可以是粉末状的。

[0072] 组合物的给药对象不限于人类,也可以是非人类的动物,例如小鼠。将组合物向预料未来会发生内耳性耳聋的对象、已经发病的对象,例如被诊断为罹患内耳性耳聋的对象进行给药。内耳性耳聋的诊断方法没有特别限定,可以列举作为老年性耳聋的诊断方法的听性脑干反应(ABR)。

[0073] 关于组合物中的麦角硫因的量,能够依照组合物被给药的人类的症状、年龄、性别、给药频率等适当变更,但可以在每日0.01mg/kg体重以上且低于100mg/kg体重的范围内适当调节。在人类的情况下,优选以达到每日0.1mg~1000mg左右的方式将麦角硫因进行给药,更优选以达到0.2~800mg左右的方式将麦角硫因进行给药,特别优选以达到0.5~500mg左右的方式将麦角硫因进行给药。

[0074] 给药期、或给药次数依照对象的症状、或给药量而变动,但优选一日一次给药,至少1周以上,优选10周以上,例如13周以上。对于32kHz左右的高频段的耳聋,通过进行长期治疗,例如13周以上的治疗,能够增加耳聋抑制效果。

[0075] 作为组合物的剂型,可以列举片剂、散剂、微粒剂、颗粒剂、胶囊剂、糖浆剂、注射剂、外用剂、栓剂等。

[0076] 作为赋形剂,能够使用乳糖、淀粉、山梨糖醇、D-甘露糖醇等。作为崩解剂能够使用淀粉、羧甲基纤维素、碳酸钙等。作为缓冲剂,能够使用磷酸盐、柠檬酸盐、乙酸盐等。作为乳化剂,能够使用阿拉伯胶、海藻酸钠、黄芪胶等。作为粘合剂,能够使用支链淀粉、阿拉伯胶、明胶、淀粉等。作为润滑剂,能够使用硬脂酸镁、甲基纤维素、硅酸镁。作为悬浊剂,能够使用单硬脂酸甘油酯、单硬脂酸铝、甲基纤维素、羧甲基纤维素、羟甲基纤维素、月桂基硫酸钠等。作为稳定剂,能够使用丙二醇、二乙胺基亚硫酸盐(diethylin sulfite)、抗坏血酸等。作为保存剂,能够使用苯酚、苯扎氯铵、苯甲醇、氯丁醇、对羟基苯甲酸甲酯等。作为防腐剂,能够使用苯扎氯铵、对羟基苯甲酸、氯丁醇等。

[0077] 组合物的给药形态只要能够抑制或预防内耳性耳聋,就没有特别限定,可以列举例如经口给药,或静脉内、腹腔内、皮下或者经皮等非经口给药等。

[0078] (方法)

[0079] 第二方式提供一种用于抑制或预防对象发生的内耳性耳聋的方法,其中,所述方法包括将麦角硫因或其盐向对象进行给药。

[0080] 麦角硫因的给药对象是需要抑制或预防内耳性耳聋的对象。对象不限于人类,也可以是非人类动物,例如小鼠。

[0081] 麦角硫因能够与已知具有内耳性耳聋的抑制或预防效果的其它成分组合后给药,各成分的给药可以同时进行,也可以在不同的时机进行。

[0082] 麦角硫因的剂型、给药量、给药途径等如上所述。

[0083] 以下列举实施例来对本发明进行更具体说明,但本发明不限于这些。

[0084] 实施例

[0085] 实施例1:

[0086] 1.材料和方法

[0087] 1.1.麦角硫因和介质

[0088] 1.1.1.含有麦角硫因的酵母提取粉末的制造

[0089] 将胶红酵母(*Rhodotorula mucilaginosa*)在液体培养基中培养,从得到的培养液中通过离心处理(12,000×g,90分钟)来回收菌体。将得到的菌体用水洗涤后,重复2次离心处理(12,000×g,90分钟)。向菌体中加入水,在95℃下处理10分钟,提取菌体内的麦角硫因。之后,通过离心处理(12,000×g,90分钟)得到提取液,通过UF膜(截留分子量:6kDa,25℃)处理,得到粗精制液。利用蒸发器浓缩粗精制液后,在80℃下进行加热杀菌处理30分钟。将杀菌处理后的粗精制液通过喷雾干燥,得到酵母提取物的粉末。

[0090] 在本实施例中,使用了Asahipak NH2P-50柱通过HPLC测定麦角硫因含量。使用洗脱液A(0.1容量%三乙胺,50mM磷酸钠缓冲剂:pH7.3)和洗脱液B(100mM NaCl)的浓度梯度液洗脱麦角硫因。测定波长254nm的吸光度,在约5.7分钟确认到洗脱出麦角硫因。将酵母提取物10μg/ml浓度水溶液利用0.2μm过滤器进行膜过滤,对于过滤物进行HPLC测定,确认到含有麦角硫因75mg/g。

[0091] 1.1.2.介质

[0092] 注射用水(株式会社大冢制药制)

[0093] 1.2.麻醉剂

[0094] 将必要量的以下试剂混合后使用。

- [0095] • 盐酸氯胺酮 (KETALAR (注册商标) 肌肉注射用500mg, 第一三共PROPHARMA株式会社)
- [0096] • 盐酸赛拉嗪 (SELECTAR (注册商标) 2%注射液, BAYER药品株式会社)
- [0097] 1.3. 给药样品
- [0098] 1.3.1. 制备法
- [0099] 1.3.1.1. 含有麦角硫因的酵母提取粉末的制备
- [0100] 称量90mg酵母提取粉末后, 使用注射用水进行溶解, 以酵母提取粉末的浓度达到30mg/mL的方式进行制备。随用随制。
- [0101] 1.4.1.2. 混合麻醉剂
- [0102] 将KETALAR (注册商标) 肌肉注射用500mg以1.5mL、SELECTAR (注册商标) 2%注射液以0.5mL的配合比随用随取, 混合后使用。
- [0103] 2. 试验系
- [0104] 2.1. 动物种、系统
- [0105] 使用常规用于老年性耳聋模型的动物种, 并且确立其系统维持的动物种, 即以下的小鼠 (SPF) 系统。
- [0106] C57BL/6J (日本Charles River株式会社)
- [0107] 2.2. 动物的性别、月龄和获取只数
- [0108] 雄性, 10周龄, 20只
- [0109] 2.2. 预饲育
- [0110] 获取后, 设置了14日的预饲育期。在此期间, 进行3次体重测定, 进行ABR检查1次, 1日1次进行常规状态的观察, 对于在体重波动、ABR检查和常规状态未见异常的动物进行分组后使用。
- [0111] 2.3. 分组
- [0112] 排除在预饲育期间的ABR检查中, 对于24和32kHz的声压阈值高的动物3例 (如找到4例以上时, 则不排除), 使用计算机程序 (IBUKI, 株式会社日本BioResearch Center), 对体重分层后, 通过随机抽样法, 以使各组的体重的分散大致相等的方式进行分组。
- [0113] 2.4. 环境条件和饲育管理
- [0114] 在维持在以下环境的饲育室中饲育动物, 管理温度: 18 ~ 28°C, 管理湿度: 30 ~ 80%RH, 明暗各12小时 (照明: 6时 ~ 18时), 换气次数: 12次/小时 (通过过滤器的新鲜空气)。
- [0115] 3. 给药
- [0116] 3.1. 给药途径、给药方法、给药时刻、给药液量、给药期和给药次数
- [0117] 给药途径: 经口
- [0118] 给药方法: 使用安装有一次性的小鼠用灌胃针 (有限会社FUCHIGAMI器械) 的聚丙烯制一次性的注射器 (TERUMO株式会社) 进行经口给药。给药时使用磁力搅拌器进行搅拌后, 利用注射器抽吸后, 擦去附着在经口管的给药样品。
- [0119] 给药时刻: 从8时30分起至11时00分。
- [0120] 给药液量: 以与给药日最接近体重作为基准, 以10mL/kg算出。
- [0121] 给药期: 13周 (91日)。
- [0122] 给药次数: 1日1次。

[0123] 4. 组构成

[0124] 试验组为以下所示2组。各组的动物数为8只。

[0125] [表1]

组编号	组名称	给药量 (mg/kg)	动物数
1	对照	0 <sup>a)</sup>	8
2	酵母提取粉末	300	8

[0127] a) 将介质以10mL/kg进行给药。

[0128] 对于各组动物编号的末尾1~4的个体编为第1疗程,5~8的个体编为第2疗程。

[0129] 5. 观察和检查

[0130] 5.1. 常规状态的观察

[0131] 每日上午(给药后大约1小时)进行1次。

[0132] 5.2. 体重测定

[0133] 给药第1日(将初次给药日起算为第1日),之后在2周1次以及ABR检查日的常规状态的观察时进行测定。

[0134] 5.3. ABR(听性脑干反应)检查

[0135] ABR检查是在给药前(11周龄)和最终给药日的次日(25周龄)进行。对于动物,使用安装有27G注射针(TERUMO株式会社)的聚丙烯制一次性的注射器(TERUMO株式会社),将混合麻醉剂[盐酸氯胺酮(75mg/kg)与盐酸赛拉嗪(10mg/kg)]进行皮下给药(给药液量:2mL/kg)。麻醉后,分别将探查电极安装于检测耳(右耳)的外耳附近的皮下,将参照电极安装于头顶部皮下、接地电极安装于颈背部皮下。从电极将ABR的电位导出至生物电位放大器(Model:ER-1,Cygnus Technology Inc.),利用数据收集·解析系统(PowerLab,采样软件(Sampling soft):LabChart ver.8,ADInstruments)进行记录(记录条件:采样时间(Sampling time):10ms,采样率(Sampling rate):40kHz,带通滤波器(Bandpass filter):1-3000Hz,累积次数500次)。

[0136] 声音刺激是通过将耦合器式扬声器(Coupler type speaker,Model:ES1spc,BioResearch Center株式会社)插入右外耳道,通过TDT音响系统(ZBus for system3,Tucker-Davis Technologies Inc.)进行施加(声压范围:10-90dB,音的种类:24和32kHz的猝发音(Tone burst))。最初施加90dB的声音刺激并记录ABR。之后,适当变更声压,确认ABR波形消失时的最大声压和能够检出ABR波形的最小声压,每次调整5dB。将能够检出ABR波形的最小声压作为声压阈值(ABR thresholds;dB SPL)。需要说明的是,在利用90dB的声音刺激无法检出ABR波形的情况下,将声压阈值视为95dB SPL。测定后,将ABR波形数据保存在电子介质(CD-R)中。

[0137] 7. 结果

[0138] 如以下的表2(24kHz的ABR阈值的结果)和表3(32kHz的ABR阈值的结果)所示,在将含有麦角硫因的提取粉末以每1kg体重每日给药300mg(麦角硫因的含量为7.5%),给药13周后,小鼠平均ABR阈值的变化低于对照组。

[0139] [表2]

[0140]	组	对照	酵母提取粉末
	给药量 (mg/kg)	0	300
	动物数	8	8
	平均 ABR 阈值 (dB SPL) $\pm$ S.E.)		
	给药前	36 $\pm$ 2	35 $\pm$ 2
	从给药开始的 13 周	54 $\pm$ 6	44 $\pm$ 5

[0141] [表3]

[0142]	组	对照	酵母提取粉末
	给药量 (mg/kg)	0	300
	动物数	8	8
	平均 ABR 阈值 (dB SPL) $\pm$ S.E.)		
	给药前	54 $\pm$ 3	51 $\pm$ 4
	从给药开始的 13 周	76 $\pm$ 3	69 $\pm$ 2

[0143] 实施例2:

[0144] 喷雾干燥时,以使固体成分中含量达到20重量份的方式添加 $\gamma$ -环糊精,除此之外通过与实施例1同样的方法制备酵母提取粉末。对于得到的酵母提取粉末,通过与实施例1同样的方法进行HPLC测定,确认到该粉末含有麦角硫因58mg/g。其后的操作也与实施例1相同,含有麦角硫因的酵母提取粉末与实施例1的30mg/mL不同,以达到38.8mg/mL的浓度液的方式进行制备,但对于动物给药的麦角硫因的量与实施例1相同。

[0145] 使用动物模型的试验系与实施例1相同,使用10周龄的雄性,但将其数量增加至28只。另外,预饲育期设为15日。试验组设为以下所示2组。各组的动物数设为12只。

[0146] [表4]

[0147]	组编号	组名称	给药量 (mg/kg)	动物数
	3	对照	0 <sup>a)</sup>	12
	4	酵母提取粉末	388	12

[0148] a) 将介质以10mL/kg进行给药。

[0149] 对于给药后的动物,以与实施例1同样方式进行了观察和ABR (听性脑干反应) 检查。仅是在给药前 (11周龄)、给药8周 (20周龄) 和最终给药日的次日 (25周龄) 进行这点上与实施例1不同。算出各组在各时间点的声压阈值和体重的平均值和标准误差,对于得到的结果进行统计学上的解析。关于显著性差异检验,最初在对照组的11周龄 (Pre) 和25周龄 (post) 之间,对于24和32kHz的声压阈值,进行了Wilcoxon符号秩和检验,确认到由于老化而发生耳聋。接着,在对照组与被检测物质组之间,在各个时间点进行Wilcoxon秩和检验。将显著性水平设为5%时,将低于5% ( $p < 0.05$ ) 和低于1% ( $p < 0.01$ ) 分开标识。显著性差异检验使用了市售的统计程序 (SAS系统, SAS Institute Japan株式会社) 进行。

[0150] 作为其结果,如以下的表5 (24kHz的ABR阈值的结果) 和表6 (32kHz的ABR阈值的结果) 所示,将含有麦角硫因的提取粉末按照每1kg体重每日给药388mg (麦角硫因的含量为5.8%),连续给药13周后的小鼠的平均ABR阈值的变化低于对照组。

[0151] [表5]

	组	对照	酵母提取粉末
	给药量 (mg/kg)	0	388
	动物数	12	12
[0152]	给药前	39±2	38±2
	从给药开始的 8 周	53±3	40±4 ##
	从给药开始的 13 周	61±5 **	47±5 #

[0153] 各值与实施例1等同样地示出平均ABR阈值 (dB SPL) ± S.E.)。以下同样。

[0154] \*\* :p<0.01,与给药前相比具有显著性差异。

[0155] #:p<0.05,##:p<0.01,与对照组相比具有显著性差异。

[0156] [表6]

	组	对照	酵母提取粉末
	给药量 (mg/kg)	0	388
	动物数	12	12
[0157]	给药前	55±3	49±3
	从给药开始的 8 周	70±2	56±5 #
	从给药开始的 13 周	72±2 **	63±4

[0158] \*\* :p<0.01,与给药前相比具有显著性差异。

[0159] #:p<0.05,与对照组相比具有显著性差异。

[0160] 如表5和6所示,在全部的频率下,都确认到了麦角硫因对于耳聋的抑制效果,但在24kHz时尤其显著。耳聋的症状通常从高音域开始发病 (Exp Anim.2015;64 (3) :241-251),因此,在高频率 (32kHz) 处会含有偏差而难以确认抑制效果,但即使在高频率的情况下,通过延长给药期,能够增加耳聋抑制效果。

[0161] 上述结果可以理解为,利用麦角硫因使得耳聋的发展减缓,作为其结果,在测定的时期,麦角硫因给药组未检出在高频段的ABR波形,而检出了在低频段的ABR波形。换言之,在未给药麦角硫因的情况下,可听到的频率在短时间内减少,与此相对,在给药麦角硫因后,减少速度会变慢。