

申請日期	85 年 10 月 2 日
案 號	85112022
類 別	C67D ²¹⁵ /227, A61K ³¹ /435

A4
C4

446702

(以上各欄由本局填註)

發 明 專 利 說 明 書 (修正本)

新 型

一、發明 新型名稱	中 文	治療眼疾之藥劑
	英 文	An agent for curing ophthalmological diseases
二、發明人 創作	姓 名	(1) 浦島博樹 (2) 竹治康広 (3) 篠原久司
	國 籍	(1) 日本 (2) 日本 (3) 日本
	住、居所	(1) 日本國兵庫縣赤穂市塩屋二七一五-三 (2) 日本國兵庫縣赤穂市坂越三一五〇 (3) 日本國岐阜縣岐阜市大宮町一丁目一三番地の
三、申請人	姓 名 (名稱)	(1) 大塚製藥股份有限公司 大塚製藥株式会社
	國 籍	(1) 日本
	住、居所 (事務所)	(1) 日本國東京都千代田區神田司町二ノ九
	代 表 人 姓 名	(1) 大塚明彦

裝 訂 線

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

446702

申請日期	85 年 10 月 2 日
案 號	85112022
類 別	

A4
C4

(以上各欄由本局填註)

發 明 專 利 說 明 書

一、發明 新 型	中 文	
	英 文	
二、發明 創 作 人	姓 名	(4) 藤澤茂樹
	國 籍	(4) 日本 (4) 日本國兵庫縣高砂市米田町島七二-五
三、申請人	住、居所	
	姓 名 (名稱)	
	國 籍	
	住、居所 (事務所)	
	代 表 人 名 姓 名	

裝 訂 線

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

446702

(由本局填寫)

承辦人代碼：
大類：
IPC分類：

A6
B6

本案已向：

國(地區) 申請專利, 申請日期: 案號: , 有 無主張優先權

日本	1995年10月12日	7-263896	<input checked="" type="checkbox"/> 無主張優先權
日本	1996年3月14日	8-057337	<input checked="" type="checkbox"/> 有主張優先權

有關微生物已寄存於: , 寄存日期: , 寄存號碼:

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

裝

訂

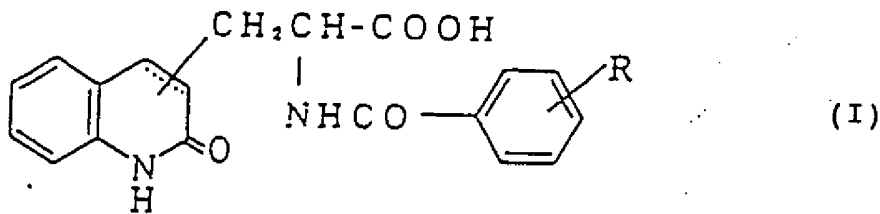
線

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

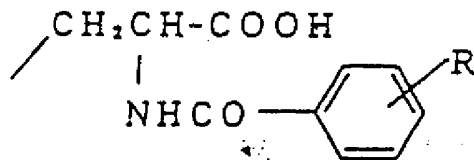
五、發明說明()
1

發明領域

本發明是關於一種治療眼疾的藥劑，其包含一種喹諾酮衍生物或該其鹽類的有效成份。最特別地，本發明是關於治療眼疾，特別是乾眼徵候群的藥劑。該藥劑含有一種喹諾酮衍生物或其鹽類的有效成份，其一般化學式如(I)所示：



(其中R是鹵素原子，下式所示之基團的側鏈的取代位置是在喹諾酮結構的第3或4位置，



並且在喹諾酮結構的第3-和4-位置之間的碳-碳鍵是一單鍵或一雙鍵)，較適宜的是2-(4-氯苯甲醯胺)-3-(2-喹諾酮-4-基)丙酸或其鹽類。

技藝背景資料

如化學式(I)所示的喹諾酮衍生物和其製備方法係刊載於日本專利No. 63-35623，喹諾酮衍生物可有效做為抗胃潰瘍藥劑的資料是刊載於日本專利公開公報No. 3-74329，和具有光學活性的喹諾酮衍生物

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明()
2

物的製造過程係刊載於日本專利公開公報 No. 3 - 145468。

本發明的睦諾酮衍生物對於活性氧代謝物的抑制作用的資料刊載於 Japan, J Pharmacol., Vol 49, pp.441-448(1969), 和本發明的睦諾酮衍生物對於胃黏膜的保護作用研究係刊載於 Folia Pharmawl. Japan., Vol. 97, pp. 371-380(1991)。

而睦諾酮衍生物可做為糖尿病治療藥劑的專利案為 International Publication No. WO 92 / 21342, 睦諾酮衍生物可做為有效預防腸黏膜受損的藥劑的專利案為 International Publication No. WO 94 / 12182, 和睦諾酮衍生物可做為有效抑制生長素抑制素分泌量降低的藥劑的專利案為 International Publication No. WO 93 / 23043。

乾眼症是由於眼淚量不足，以致於無法維持眼球表面正常狀況的一種眼睛病理狀態。而且不僅是由於眼淚量的不足造成眼球表面的黏膜（角膜和結膜上皮細胞）的不正常，也是由於眼淚本質的異常造成 [CF. DORAI-AI(dry eye), page 11, by Kazuo TSUBOTA, published from NIPPON-HYÔRONSHA]。除了以上所提及，在 sjögren's 徵候群的例子中，由於其眼淚處於異常狀況（含量和本質），因此也可觀察到乾眼症。而且，我們已知在 Stevens-Johnson 徵候群的末期會出現乾眼症，並且可觀察到角膜

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明()

3

和結膜受損的情形。

淚液是一種非常薄的液體層，其厚度為 $7 \mu m$ 。它覆蓋於眼球前房的最外層，並且是由脂肪層，水樣液層和黏液層所構成的三層結構。存在於淚液最外表層的脂肪層是一種油狀薄膜，它主要是由位於眼瞼周圍的臉板腺所製造分泌，並且覆蓋水樣液層。脂肪層的功能係防止水樣液層中的水份蒸發。水樣液層是所謂眼淚的一部份，它佔了淚液的大部份厚度，而其中 98% 是水份。此水樣液層含量減少的病理狀態即是所謂的乾眼症。黏液層覆蓋角膜上皮細胞的忌水表面，此黏液層會改變角膜上及細胞的忌水性成為親水性，以維持並延伸淚液中的水樣液層，因此水樣液層能維持於角膜的上皮組織表面。關於製造該黏液層的細胞是位於結膜中的杯狀細胞。

如上解釋可知，直接造成乾眼症的淚液是由各種組織細胞所負責製造。而且“乾眼症”的概念是非常複雜，因此普通的眼藥水只可提供短暫的醫療措施，在現階段對於乾眼症的根本醫藥治療法並未發現。因此我們對於治療乾眼症的新方法和新藥物有極高的期盼。

圖片的簡述

第一圖顯示本發明的睦諾酮衍生物對於覆蓋在正常兔子結膜的黏液物質含量的影響。黏液物質含量的測量係使用 Alcian blue 結合方法。

第二圖顯示本發明的睦諾酮衍生物對於正常兔子的杯

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明（ ）

4

狀細胞數目的影響。

第三圖顯示本發明的喹諾酮衍生物對於正常兔子淚液分泌含量的影響。

第四圖顯示本發明的喹諾酮衍生物對於正常兔子角膜上皮細胞增生作用的影響。

第五圖顯示本發明的喹諾酮衍生物對於正常兔子黏液樣被膜炎的影響。而黏液樣被膜炎的測定係利用 Rose Bengal 分數方法。

第六圖顯示本發明的喹諾酮衍生物對於正常兔子因防止眨眼造成角膜上皮組織受損的影響。

第七圖顯示本發明的喹諾酮衍生物對於覆蓋於正常兔子結膜的黏液物質含量增加的影響。將黏液層去除並測定黏液物質的方法係利用 Alcian blue 結合方法。

本發明的說明

經過廣泛研究工作的結果本發明者發現如化學式（ I ）表示的喹諾酮衍生物，特別是 2 - （ 4 - 氯苯甲醯胺 ） - 3 - （ 2 - 喹諾酮 - 4 - 基 ） 丙酸或其鹽類，具有增加杯狀細胞數目，增加眼球前房黏液分泌，加速角膜上皮細胞增生作用和增加淚液分泌的效果，因此該喹諾酮衍生物可做為有效治療乾眼症的藥劑，並且最終使本發明完成。

如化學式（ I ）所示的喹諾酮衍生物，特別是 2 - （ 4 - 氯苯甲醯胺 ） - 3 - （ 2 - 喹諾酮 - 4 - 基 ） 丙酸或其鹽類，係藉由增加杯狀細胞數目而增加眼黏蛋白的製造

五、發明說明()

5

，因此該化合物可防止乾眼症中黏蛋白含量的減少，而本發明的該化合物可增加眼睛黏液的含量，以致於可維持淚液中的水樣液層。而且本發明化合物具有增加淚液量的作用，因此本發明化合物可做為治療乾眼症的有效藥劑。此外，本發明化合物不僅可做為治療顯示出乾眼症的 Sjögren's 徵候群和 Stevens-Johnson 徵候群之藥劑，也可做為預防和／或治療因乾眼症或杯狀細胞數目減少和黏液量減低造成各種眼疾的續發性疾病。在乾眼症例子中，由於眼球表面非常乾燥，因此眼睛對於傷害非常敏感。就此而論，本發明的化合物可做為治療眼球表面受傷的有效藥劑中的一種活性成份，特別是因為此化合物可加速角膜上皮細胞增生作用，因此它適宜做為治療角膜上皮細胞受傷或眼內灌流和眼科手術（包括白內障，玻璃液和青光眼手術）清洗的藥劑。

如化學式（I）所示的睦諾酮衍生物或其鹽類可做為各種型式治療眼疾藥劑的有效成份。我們可將睦諾酮衍生物和稀釋劑或賦形劑如：填充劑、延伸劑、結合劑、溼潤劑、分解劑、界面活性劑、潤滑劑和其他類似物共同組合使用以製備成各種製劑。

依照治療目的不同，我們可將製劑製備成不同形狀，而一般眼科可接受的製藥型式如眼藥水和眼膏和其他相似物。

除了眼藥水和眼膏，製藥可以是呈錠劑、藥丸、粉末、藥水、懸浮液、乳化劑、顆粒、膠囊、栓劑、注射劑（

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

訂

五、發明說明()

6

液體、懸浮液和相似物)、噴霧劑、糖漿、外用藥等型式。而且，我們也可利用適當的樹脂配方製備持續性釋放藥劑。

在製作眼藥水、眼膏和相似物的藥劑時，我們可使用一般眼科製藥可接受的賦形劑(稀釋劑)，根據一般的方法來製備。因此，我們將此有效成份與適當的稀釋劑混合，然後將此混合物消毒即可製成。

例如，以製備眼膏為例，我們可使用本領域中各種廣泛運用的基本材料，如乳劑種類的軟膏，水溶性種類的軟膏，懸浮液種類的軟膏和其他類似物。這些基本材料的典型例子如：凡士林、精製羊毛脂、液體石臘和類似物。以眼藥水為例，消毒過的蒸餾水可做為稀釋劑。

基於眼科醫療目的，如果有必要，我們可在藥劑中添加溶解性添加物、緩衝液、抗氧化劑、保存劑、等張液、酸鹼控制劑和其他類似物。溶解性添加物如羧甲基纖維鈉；聚氧乙烯二醇醚，如聚氧乙烯月桂醚，聚氧乙烯油醚和類似物；聚乙二醇高級脂肪酸酯，如聚乙二醇單月桂酸酯，聚乙二醇單油酸酯和類似物；聚氧乙烯山梨聚糖單月桂酸酯；聚氧乙烯脂肪酸酯和類似物。緩衝液如磷酸鈉、磷酸氫鈉、磷酸氫鉀、硝酸、硝酸鈉、檸檬酸、檸檬酸鈉、酒石酸、酒石酸鈉、醋酸、醋酸鈉、 ϵ -胺己酸、穀胺酸鈉和類似物。抗氧化劑如亞硫酸鈉、焦亞硫酸鈉、亞硫酸氫鈉、硫代硫酸鈉、抗壞血酸和類似物。保存劑如

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明()

7

氯丁醇、氯化苄烷銨、氯化苄乙烷銨、苯汞鹽類、硫柳汞、苯乙醇、甲基對苯、丙基對苯和類似物。等張液如氯化鈉、葡萄糖、D-甘露醇、甘油和類似物。溶解劑如N-甲基還原葡萄糖胺。酸鹼控制劑如氫氧化鈉、氫氯酸和類似物。

爲了製備錠劑，我們可使用此領域中廣泛被使用的任何已知載體，例如，賦形物如乳糖、白糖、氯化鈉、葡萄糖、尿素、澱粉、碳酸鈣、高嶺土、結晶纖維素、矽酸和類似物；結合劑如水、乙醇、丙醇、糖漿、葡萄糖溶液、澱粉溶液、明膠溶液、羧甲基纖維素、紫膠、甲基纖維素、磷酸鉀、聚乙烯吡咯酮和類似物；分解劑如乾燥澱粉、藻酸鈉、洋菜粉、昆布多醣粉、碳酸氫鈉、碳酸鈣、聚氧乙烯山梨聚糖脂肪酸酯、月桂硫酸鈉、硬脂酸之單酸甘油酯、澱粉、乳糖和類似物；分解抑制劑如白糖、甘油、可可奶油、氫化油和類似物；加速吸收劑如四級銨鹽、月桂基硫酸鈉和相似物；保溼劑如甘油、澱粉和相似物；吸附劑如澱粉、乳糖、高嶺土、皂土、膠態矽酸和相似物；潤滑劑如精製滑石、硬脂酸鹽、硼酸粉、聚乙烯二醇和相似物。如果有需要，錠劑可製備成一般包衣型式錠劑，例如：糖衣錠劑、明膠薄膜包衣錠劑、腸薄膜包衣錠劑、薄膜包衣錠劑、或雙層錠劑、多層錠劑形式和相類似物。

爲了製備成藥丸形式，廣泛運用於此領域任何已知的載體都可應用，例如：賦形劑如葡萄糖、乳糖、澱粉、可可奶油、氫化植物油、高嶺土、滑石和相似物；結合劑如

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明()

8

阿拉伯膠粉、黃耆膠粉、明膠、乙醇和相似物；和分解劑如昆布多醣、瓊脂—瓊脂和相似物。

爲了製備成栓劑形式，我們可使用此領域中廣泛被使用的任何已知載體，例如：聚乙烯二醇、可可奶油、高級醇、高級醇酯類、明膠、半合成甘油酯和其他類似物。

爲了製備成注射藥劑，它們可製成溶液，乳劑或懸浮液。一般它們經過消毒步驟並且宜製成與血液等張。在製備如溶液、乳劑或懸浮液形式的注射藥劑時，我們可使用此領域中廣泛被使用的任何已知稀釋劑。例如：水、乙醇、丙烯二醇、乙氧化異硬脂醇，聚氧化異硬脂醇，聚氧乙烯山梨聚糖的脂肪酸酯類和相似物。在製備與血液等張的注射藥劑例子中，足夠量的氯化鈉、葡萄糖和甘油可包含其中。此外，溶解性佐劑、緩衝溶液、鎮痛劑和類似物都可包含在內。如果有需要，色素、保存劑、香水、增味劑、甜味劑和其他藥物都可包含在內。

外用藥一般製成外部使用的藥劑。做爲外部使用的一般藥劑包括：藥水、藥油、乳液、軟膏、油性軟膏、乳劑形式軟膏，如油／水種類親水性軟膏和水／油種類水吸附軟膏，水溶性軟膏、糊膏、硬膏劑、乳劑和類似物，以及不在此範圍之內但做爲外用藥的藥劑。每一種做爲外用藥的藥劑，都可利用一般方法製備。

爲了製備這些外用藥，我們可使用此領域中廣泛被使用的各種基礎材料。例如，單獨使用至少一種油性基礎材料，或使用二或更多種這種材料混合物，或單獨使用至少

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

五、發明說明()

9

一種水性軟膏基礎材料，或使用二或更多種這種材料混合物。這些具體實施例軟膏基礎材料是脂肪和油，如：花生油、芝麻油、黃豆油、葵花油、酪梨油、紅花籽油、玉米油、菜油、棉花子油、蓖麻油、山茶花油、椰子油、橄欖油、罌粟子油、可可奶油、牛肉脂、豬油、羊毛脂肪和相似物；將這些脂肪和油經過化學反應如氫化作用而得到的修飾型基礎材料；礦物油如石油、石蠟、矽酮油、鯊烷和相似物；高級脂肪酸酯類如肉豆蔻酸異丙醇酯，肉豆蔻酸正丁醇酯，亞麻酸異丙醇酯、蓖麻油酸乙醯醇酯、蓖麻油酸異丙醇酯、蓖麻油酸異丁醇酯、蓖麻油酸庚醇酯、癸二酸二乙醇酯和己二酸二異丙醇酯；高級脂肪族醇如鯨蠟醇和硬脂醇；蠟如：漂白蜂蠟、鯨蠟、日本蠟、羊毛脂、棕櫚蠟、紫膠蠟和相似物；高級脂肪酸如硬脂酸、油酸、棕櫚酸和相似物；具有12-18個碳原子的飽或不飽和脂肪酸的單，二和三酸甘油酯混合物；多羥基醇如乙烯二醇、聚乙烯二醇、丙烯二醇、聚丙烯二醇、甘油、鯊肝醇、季戊四醇、山梨糖醇、甘露醇和相似物；膠狀物質如：阿拉伯膠、苯用酸膠、愈創木膠、黃耆膠和相似物；水溶性天然高分子化合物如：明膠、澱粉、酪蛋白、糊精、果膠、果膠酸鈉、藻酸鈉、甲基纖維素、乙基纖維素、羧甲基纖維基、羥乙基纖維素、羥丙基纖維素、硝纖維素、結晶纖維素和相似物；水溶性合成高分子化合物如：聚乙醇醇、聚(乙烯甲基醚)，聚乙醇吡咯酮、聚丙酸鈉、羧乙烯聚合物、聚乙醇亞胺和相似物；非離子性，陰離子、

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明()

10

陰離子和兩性界面活性劑；乙醇、異丙醇和水都可使用。

對於外用藥劑而言，一般都有加入添加物如：膠凝劑、防腐劑、抗氧化劑、緩衝液、酸鹼控制劑、溼潤劑、消毒劑、色素、香料、著色劑、濃化劑、金屬螯合劑和相似物。

噴霧式藥劑一般的製備係調配如化學式(I)的噁諾酮衍生物的滅菌過溶液或懸浮液和氣體推進物。在製備溶液或懸浮液時，我們可使用在此領域已知的任何一種稀釋劑，因此注射藥劑所舉例的稀釋劑都可使用。至於噴霧管中所壓縮的氣體推進物，我們可使用在此領域中已知的任何一種氣體推氣物，因此，液化氣體推進物如：氯氟碳像二氯二氟甲烷或三氟二氯乙烷；壓縮氣體推進物如：氮氣、二氧化碳和相似物都可使用。噴氣或藥劑可進一步含有溶液性佐劑，緩衝液和相似物，如果有需要，著色劑、防腐劑、香水、香料、甜味劑都可加入。

本發明治療眼疾藥劑所含有的有效成分含量無嚴格限制，可選自廣泛的範圍如0.005-5%（重量），宜為0.01-3%（重量）。

本發明藥劑投予的方式並無嚴格限制。因此，此藥劑給予的方式相似於一般眼科用藥的方式。其投予方式取決於藥劑形式、病人年齡、性別和其他條件、病人疾病嚴重性。

至於本發明藥劑的典型換予方式是，例如，將眼膏覆蓋於眼睛。眼藥水的投予方式則類似一般眼藥水，例如：

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明 ()
11

將 1 或 2 滴眼藥水滴入眼睛。進一步，眼藥水投予方式可利用噴霧器具。

本發明藥劑投予的其他方式，例如：錠劑、藥丸、藥水劑、懸浮液、乳劑、顆粒、糖漿和膠囊為口服。注射液給予方式可單獨或與一般輔助液如葡萄糖液和 / 或胺基酸液共同使用，經由靜脈注射法。如果有需要，注射液可單獨以肌肉，皮內、皮下或腹腔注射法注入。栓劑以直腸內投予法給予。

本發明藥劑的劑量取決於給予的方法，病人年齡、性別、和其他條件、以及病人疾病嚴重性和其他相關因素和眼科可接受的藥劑，例如眼藥水或眼膏給予劑量是一天 1 - 15 次，宜為一天 1 ~ 10 天。

實施例

本發明治療眼疾藥劑的藥劑製備和藥理實驗將利用以下列的實施例予以說明。

藥學製劑 1

2 - (4 - 氯苯甲醯胺) - 3	0 . 2 0 g
- (2 - 喹諾酮 - 4 - 基) 丙 酸	
氯化苄烷銨	0 . 0 1 g
磷酸二氫鈉	0 . 5 6 g
磷酸二氫鉀	0 . 5 8 g
蒸餾水	適量

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

表

訂

五、發明說明()

12

共 100.00 ml

將上述提及的每一成份溶於蒸餾水，然後將此混合液滅菌並利用適當過濾紙過濾，以製備本發明的眼藥水。

藥理試驗 1

(1) 試驗液體

利用本發明的 2 - (4 - 氯苯甲醯胺) - 3 - (2 - 噁諾酮 - 4 - 基) 丙酸 (此後本化合物即稱為本發明化合物) 做為治療眼疾藥劑中的有效成份，然後製備以下的溶解液和懸浮液，並利用它們做為試驗液。

a) 3 % 溶解液

本發明化合物	3.00 g
Meglumine (N - 甲基還原葡萄糖胺)	2.64 g
濃縮甘油	1.80 g
氫氯酸	適量
10 % 苄烷銨	0.10 ml
水 (加入適當量使總體為)	100 ml

P H 值 8.3 - 9.3

b) 3 % 懸浮液

本發明化合物	3.00 g
--------	--------

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

五、發明說明()

13

磷酸二氫鈉	0 . 4 0 g
磷酸氫二鈉	0 . 4 7 g
氯化鈉	0 . 5 0 g
羧甲基纖維鈉	0 . 2 0 g
聚花楸酸	0 . 1 6 g
1 0 % 氯化苄烷銨	0 . 1 0 m l
水 (加入適當量使總體積為)	1 0 0 m l

P H 值 6 . 5 - 7 . 5

另一方面以生理鹽水取代試驗液做為對照組。

(2) 實驗方法和結果

將上述提及的試驗液以眼藥水方式滴入 3 隻正常兔子的雙眼，其滴入其為 5 0 m l / 單眼 / 每次滴入。試驗組和對照組都各含有 3 隻兔子，因此每一組內有 6 隻眼睛。每天使用眼藥水 4 次，然後持續使用 2 週。當服用時間結束後，將兔子犧牲，然後進行下列 3 項實驗。

(i) 覆蓋於結膜表面的黏液物質含量測定 (使用 Alcian Blue 結合方法)

將上述提及的正常兔子犧牲，然後把兔子完整的結膜取下。然後以冰冷的 0 . 2 5 M 葡萄糖溶液沖洗取下的結膜，並稱量每一個結膜組織。

將結膜以 1 0 m l 的 0 . 1 % Alcian Blue 溶液於室

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明 ()

14

溫反應 1.5 小時，然後以 0.25 M 葡萄糖溶液清洗結膜 15 分鐘，再以相同溶液清洗結膜 45 分鐘。將清洗過的結膜以 10 ml 0.5 H M g C l₂ 溶液浸漬 2 小時以萃取與結膜黏液質結合的染料。以 10 ml 二乙醚清洗獲得的萃取物，並測量水層於 605 nm 的吸光值，然後計算每克組織的吸光值 (O. D. 單位 / 每克組織)。結果顯示於第一圖 (平均值 ± 標準偏差，個數 = 4 隻眼睛)。

從第一圖可知，以 3% 溶解液和 3% 懸浮液 (二者分別含有本發明的化合物) 的眼藥水投予正常兔子後，與覆蓋於結膜的黏液物質結合的染料 (Alcian blue) 含量明顯高於對照組。因此，本發明化合物顯示具有增加覆蓋於結膜表面黏液物質含量的效果。

(ii) 結膜中杯狀細胞數目的測定 (利用蓋印細胞學方法測定)

將經過上述試驗液處理的兔子眼睛上部接近於鼻淚管的延髓性結膜部份輕微乾燥，然後將一張微孔濾紙置於其上並蓋印以收集結膜的上皮細胞和杯狀細胞。以 70% 酒精固定收集到的細胞，並使用過碘酸一席夫反應 (periodic acid-Schiff reaction, P A S) 和蘇木色素染色，然後將染過色的微孔濾紙經過二甲苯作用使其呈透明狀，並密封於試管內，然後照像，以計算每單位面積 (0.09 mm²) 所具有的杯狀細胞數目 (平均值 ± 標準偏差，個數 = 4 隻眼睛)。結果顯示於第二圖。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明()

15

由第二圖可知，以3%溶解液和3%懸浮液（二者分別含有本發明的化合物）的眼藥水投予正常兔子後，所測量得到的細胞數目高於對照組。因此，本發明化合物具有增加黏液物質含量和淚液含量的效果。

(i i i) 淚液量的測定（利用Schirmer試驗工的修飾方法測定）

將經過上述試驗液處理過的正常兔子，在進行下列測量淚液量的試驗前5分鐘，以眼藥水方式投予30mℓ的Benoxil（一種眼藥水，含有0.4%氧普魯卡氣化氫溶液的商品名，由Santen Pharmaceutical Co., Ltd. 製造）。經過4分鐘後，將眼睛表面的淚液拭去。然後1分鐘後，將一片Schirmer試驗紙置於眼瞼下方裏面和眼睛表面之間的位置，開始測量淚液量。經過5分鐘後，測量Schirmer試驗紙被淚液浸潤的長度（mm）（平均值±標準偏差，個數=4隻眼睛）。結果顯示於第三圖。

由第三圖可知，以3%溶解液和3%懸浮液（二者分別含有本發明化合物）的眼藥水投予正常兔子後，所測量得到的淚液量高於對照組。因此，本發明化合物具有增加淚液量的效果。

藥理試驗 2

(1) 實驗方式

從紐西蘭白色雌性兔子身上取下眼球，然後製備鞏角

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

訂

五、發明說明()

16

膜樣品。利用實體鏡顯微鏡的觀察，將該樣品上的 Descemet's 膜和內皮細胞剝除，然後以磷酸鹽緩衝生理鹽水清洗鞏角膜 4 至 5 次使該樣品為無菌狀態。然後將鞏角膜浸漬於 Dulbecco's modified Eagle's 培養基和 F 1 2 培養以 1 : 1 方式組合成的培養基 (D M E / F 1 2) 內，利用刀片將樣品切成每邊 2 - 3 m m 的小正方形樣品。將 7 - 8 片小的角膜樣品置於直徑為 6 0 m m 的組織培養皿，使樣品的下方附著於培養皿的底部此保持角膜上皮組織朝上方，然後以含 1 0 % F C S 和 1 0 n g / m l h E G F 的 D M E / F 1 2 (1 : 1) ，於 5 % C O ₂ - 9 5 % 空氣，3 7 ° C 下培養 2 天，之後更換培養基。

經過 4 - 5 天持續培養 (培養基更換 1 - 3 次) ，將培養去除，利用磷酸鹽緩衝液沖洗角膜上皮組織樣品，再利用 0 . 1 % 胰蛋白酶 - 0 . 0 2 % E D T A 溶液使細胞浮起，並懸浮於含 1 0 % F C S 的 D M E / F 1 2 (1 : 1) 培養基內，接著將懸浮液接種於含有 1 2 孔的培養皿內，每一孔含有的細胞量為 1×10^4 。經過 1 2 小時細胞培養，將培養基更換為含有 1 % F C S 的 D M E / F 1 2 ，並將如藥理試驗 1 所使用的本發明化合物溶解於 D M S O ，添加至培養內使其濃度為 $10^{-4} - 10^{-6} M$ 。

本發明化合物加入後的 4 8 小時，將含有本發明化合物的培養基更換。本發明化合物接入後的 9 6 小時，利用 0 . 1 % 胰蛋白酶 - 0 . 0 2 % E D T A 溶液將細胞浮起

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明()

17

，使用細胞計數器計算細胞數目（平均值±標準偏差，個數=6隻眼睛）。

在參考試驗組則以透明質酸鈉（1mg/ml）取代本發明化合物，對照試驗組則使用不含本發明化合物的DMSO。

(2) 試驗結果

結果顯示於第四圖。從第四圖可知，與以透明質酸鈉處理的參考試驗組相比，本發明化合物可明顯增加角膜上皮組織的增生作用。而透明質酸鈉已被認為具有增加角膜上皮組織增生的活性。在第四圖中，`*`符號表示與對照組相比 $P < 0.05$ ；`**`符號表示與對照組相比 $P < 0.01$ 。

藥理試驗3（利用強迫性風吹製造的乾眼症模型以進行試驗）

(1) 試驗液

使用2-(4-氯苯甲醯胺)-3-(2-噁諾酮-4-基)丙酸（以後即意指本發明化合物）依照下列方法製成1%眼藥水，並使用它做為試驗液以證實它可做為治療眼疾藥劑中的有效成份。

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

訂

五、發明說明 ()

18

1 % 眼藥水

本發明化合物	0 . 5 0 g
Meglumine (N - 甲基還原葡糖胺)	0 . 3 2 g
濃縮甘油	0 . 4 5 g
1 0 % 苄烷銨	5 0 μ l
生理鹽水 (加入適當量使總體積為)	5 0 m l

P H 8 . 8 - 9 . 3

滲透壓 2 9 0 - 3 0 0 m O s m

對照組的眼藥水不含本發明化合物。

(2) 乾眼症模型製造法 (黏液樣被膜炎和角膜上及組織損傷)

本試驗使用紐西蘭白色雌兔進行實驗，在試驗進行前將兔子的瞬膜去除。

利用肌肉注射 2 0 0 m g / 體重的 Ketamin 氯化氫進行麻醉，並在每隻眼滴入 2 滴的 4 % 氧普魯卡氯化氫溶液。

將乾燥器距離角膜前方 1 0 c m，然後將乾燥器吹出的風對準角膜吹 1 0 分鐘。由於眼淚被蒸發，角膜表面乾燥，因此會誘發造成黏液樣被膜炎和角膜上皮組織損傷。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

五、發明說明 ()

19

(3) 試驗化合物的投予

在進行強迫性乾燥器風吹試驗前 2 星期給予 1 % 眼藥水，乾眼模型製造後，也給予 1 % 眼藥水 2 星期。其 1 % 眼藥水給予的次數都是每天 4 次。

(4) 評估方法和結果

試驗結果是根據下列二個項目來評定。評定的日期是給予 1 % 眼藥水前；風吹實驗進行前；和風吹實驗後的 1，4，7，10 和 14 天。

(i) 利用 Rose Bengal 染料的活體染色法進行受損角膜分數評估

未覆蓋黏液物質的角膜細胞利用 Rose Begal 染料活體染色法進行染色。試驗組兔子角膜的黏液樣被膜炎係根據角膜染色程度進行分數評估 (平均值 ± 標準偏差，個數 = 10 隻眼睛)。

分數評估 (完整分數：3 點)

0 分：角膜未染色

1 分：低於 1 / 3 區域的角膜呈均等染色或低於 2 / 3 區域的角膜呈點狀染色。

2 分：1 / 3 - 2 / 3 區域的角膜呈均等染色，或大於 2 / 3 區域的角膜呈點狀染色；或低於

1 / 3 區域的角膜呈均等染色且觀察到點狀染

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明()

20
色

3分：大於2 / 3區域的角膜呈均等染色，或1 / 3 - 2 / 3區域的角膜呈均等染色且觀察到點狀染色。

結果顯示於第五圖。由第五圖可知，投予1%眼藥水的紐西蘭白試驗組的角膜，其以Rose Bengal染色活體染色法得到的分數低於對照組。因此，本發明化合物明顯抑制和治療因風吹法引起的黏液樣被膜炎。

(i i) 利用螢光素 - 鈉染料的活體染色法進行受損角膜分數評估

細胞缺損部份和細胞間隙不正常部分利用螢光素 - 鈉染色的活體染色法進行染色，試驗組兔子的黏液樣被膜炎的評估分數係根據如上述以Rose Bengal染料進行的活體染色法相似的角膜染色程度（平均值±標準偏差，個數 = 10個眼睛）。

比較經過風吹後的第一天，對照組的螢光素分數是2或更大，而試驗組紐西蘭白兔（投予1%眼藥水）的分數幾乎為1。因此，本發明化合物可明顯抑制和治療因風吹法引起的黏液樣被膜炎。

藥理試驗4（利用防止眨眼製作的乾眼症模型以進行試驗）

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

訂

五、發明說明 ()

21

(1) 試驗液

如藥理試驗3所使用的1%眼藥水(眼藥水含有1%本發明化合物)做為本次的試驗液。

對照組試驗係使用不含本發明化合物的溶解試驗眼藥水。

(2) 乾眼症模型的製造方法

本試驗使用紐西蘭雌兔，進行試驗前將兔子二眼的瞬膜去除。

從腹腔注入2g/體重的尿烷進行麻醉，利用開瞼器使兔子眼瞼強迫張開，於25℃維持2小時。眼淚被蒸發並且角膜表面變乾燥，因而製備出受損角膜上皮組織做為乾眼症模型。

(3) 試驗化合物的給予

在防止眨眼試驗前2星期，每天給予1%眼藥水4次，每次間隔2.5小時。最後一次給予的眼藥水是在防止眨眼試驗進行前5分鐘。

對照組給予不含本發明化合物眼藥水的方式同試驗組。

(4) 評估方法和結果

完成防止眨眼試驗後，以滴眼藥水方式給予試驗組兔子50μl 1%甲烯藍溶液，然後再以生理鹽水沖洗眼睛。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明 ()

22

然後以靜脈注射過量戊基巴比特魯注射液使兔子犧牲，再取下角膜。利用丙酮：硫酸鈉飽和水層 = 7 : 3 的混合物漏泡取下的角膜隔夜，以萃取甲烯藍。測量萃取物於 660 nm 的吸收值，然後計算染色在角膜上皮組織受損部分的甲烯藍（平均值 ± 標準偏差，個數 = 8 個眼睛）。

結果顯示於第六圖。從第六圖得知，本發明化合物可抑制因防止眨眼引起的角膜上皮組織受損。

藥理試驗 5（利用熱除結膜的黏液層製造的乾眼症模型以進行試驗）

(1) 試驗液

如藥理試驗 3 所使用的 1% 眼藥水（眼藥水含有 1% 本發明化合物）做為本次的試驗液。

對照組試驗係使用不含本發明化合物的溶解試驗眼藥水。

(2) 乾眼症模型的製造方法

乾眼症模型的製備係利用在一天之內點滴 6 次 10% 的 N-乙醯半胱胺酸，每次間隔 2 小時，使紐西蘭雌兔的結膜的黏液層溶解並去除。

(3) 試驗化合物的給予

1% 眼藥水每天給予 4 次，每次間隔 2.5 小時，然

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

訂

五、發明說明 ()

23

後持續 2 星期。

對照組試驗方式同試驗組。

(4) 評估方法和結果

給予 1% 眼藥水 2 星期後，利用靜脈注射過量的戊基巴比特魯注射液使兔子犧牲，然後取下角膜。覆蓋於結膜的黏液物質含量測量係使用藥理試驗 1 (2) (i) 的 Alcian Blue 結合方法 (平均值 ± 標準偏差，個數 = 6 隻眼睛)。

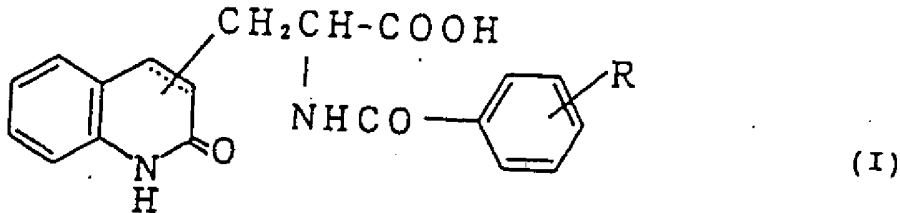
結果顯示於第七圖。由第七圖結果可知：投予 1% 眼藥水的紐西蘭白兔試驗組，其覆蓋於結膜上與染料結合的黏液物質含量高於對照組。因此，本發明化合物可增加覆蓋於結膜上的黏液物質含量，而其量幾乎達到正常狀態眼睛表面的黏液層。

在第七圖，符號“#”表示與正常狀態眼睛相比 $P < 0.05$ (t-試驗)；和符號“**”表示與對照組眼睛相比 $P < 0.01$ (t-試驗)。

四、中文發明摘要(發明之名稱：

治療眼疾之藥劑

本發明提供一種治療眼疾之藥劑，其含有一種陸諾酮衍生物或其鹽類的活性成份。該化合物的一般化學式如(I)所示：



(其中 R 是鹵素原子)

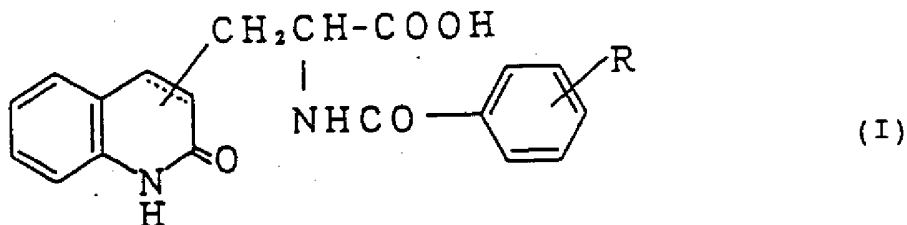
本發明最特別的是提供一種有效治療乾眼徵候群的藥劑。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

裝

英文發明摘要(發明之名稱： An agent for curing ophthalmological diseases)

The present invention provides an agent for curing ophthalmological diseases which contains, as the active ingredient, a carbostyryl derivative or salt thereof represented by the general formula (I),



(wherein R is a halogen atom)

particularly, the invention provides effective agent for curing xerophthalmia (dry eye) syndrome.

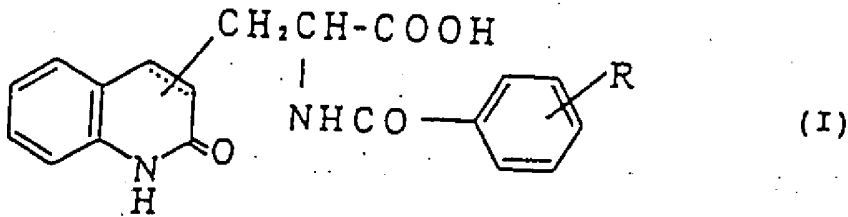
訂

線

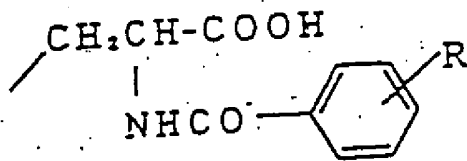
經濟部中央標準局員工消費合作社印製

六、申請專利範圍

1. 一種用於加速眼睛杯狀細胞增生作用之藥劑，其含有做為活性成份的喹諾酮衍生物或其鹽類，該化合物一般化學式如 (I) 所示：



(其中 R 是鹵素原子，下式所示之基團的側鏈的取代位置是在喹諾酮結構的第 3 或 4 位置，



並且在喹諾酮結構的第 3 - 和 4 - 位置之間的碳 - 碳鍵是一單鍵或一雙鍵) 。

2. 一種用於增加眼睛黏樣性物質分泌之藥劑，其含有作為活性成份之如申請專利範圍第 1 項所定義之式 (I) 的喹諾酮衍生物。

3. 一種用於增加眼睛淚液分泌量之藥劑，其含有作為活性成份之如申請專利範圍第 1 項所定義之式 (I) 的喹諾酮衍生物。

4. 一種用於治療乾眼症之藥劑，其含有作為活性成份之如申請專利範圍第 1 項所定義之式 (I) 的喹諾酮衍

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

表
訂
線

六、申請專利範圍

生物。

5. 一種用於治療眼睛受損之藥劑，其含有作為活性成份之如申請專利範圍第1項所定義之式(I)的噁諾酮衍生物。

6. 如申請專利範圍第5項之用於治療眼睛受損的藥劑，其中眼睛的受損是一種角膜上皮組織受損。

7. 如申請專利範圍第1至6項中任一項之藥劑，其中作為有效成份之式(I)的噁諾酮衍生物是2-(4-氯苯甲醯胺基)-3-(2-噁諾酮-4-基)丙酸或其鹽類。

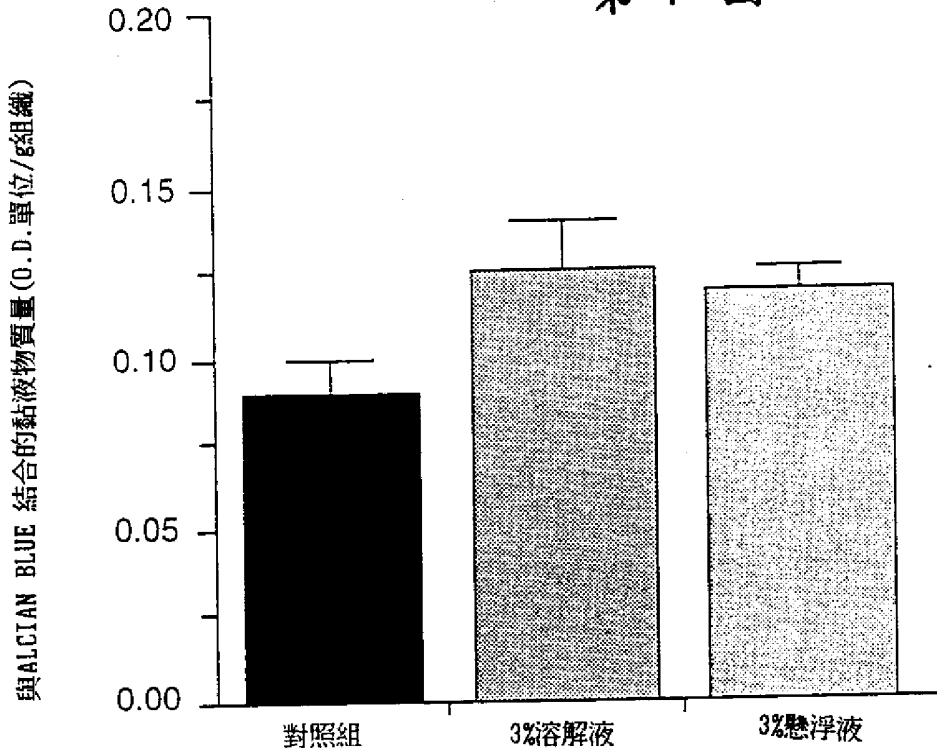
8. 如申請專利範圍第1至6項中任一項之藥劑，其中藥劑的型式是適用於眼科用途。

9. 如申請專利範圍第8項之藥劑，其中藥劑中式(I)所示之噁諾酮衍生物的含量係為0.005至5重量%。

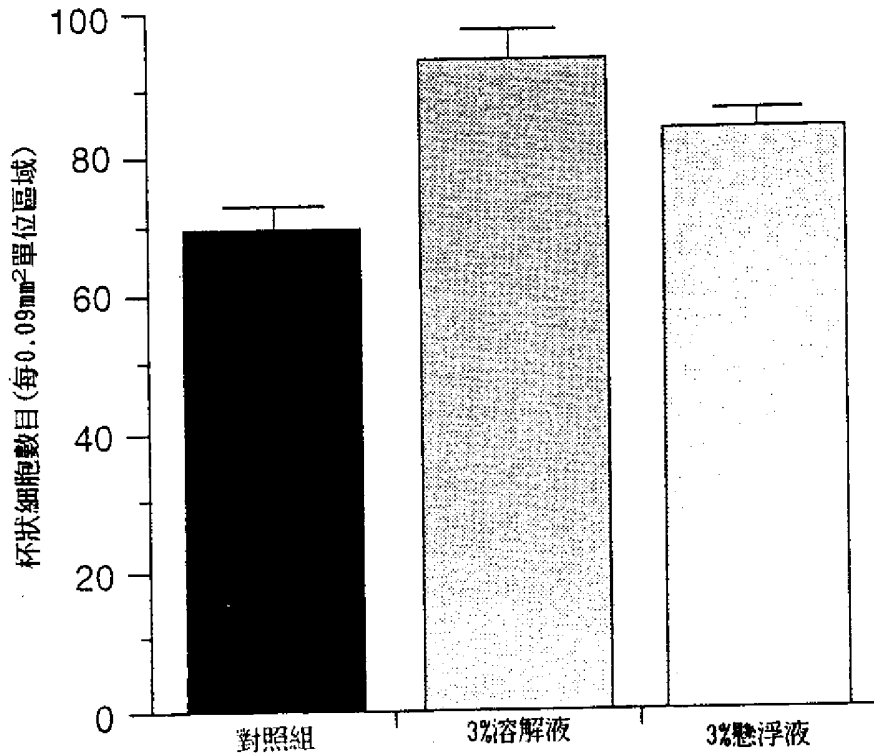
10. 如申請專利範圍第8項之藥劑，其中藥劑中式(I)所示之噁諾酮衍生物的含量係為0.01至3重量%。

11. 一種用於製備眼科藥物的藥劑，其係含有2-(4-氯苯甲醯胺基)-3-(2-噁諾酮-4-基)丙酸或其鹽類，以及供製備眼科藥物的藥劑中習用之藥學上可接受的載體（稀釋劑或賦形劑）。

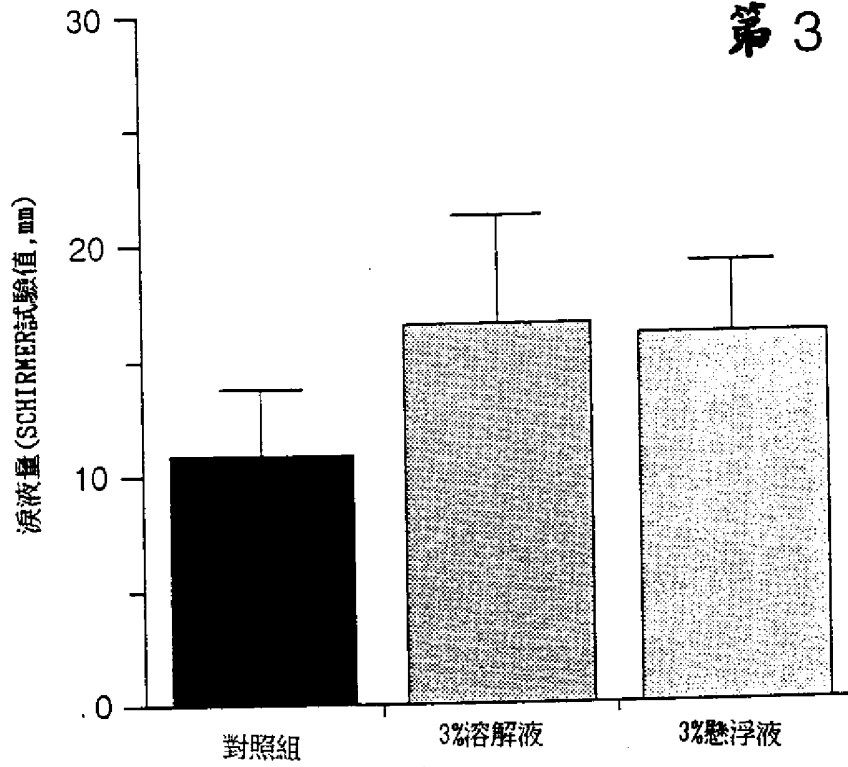
第 1 圖



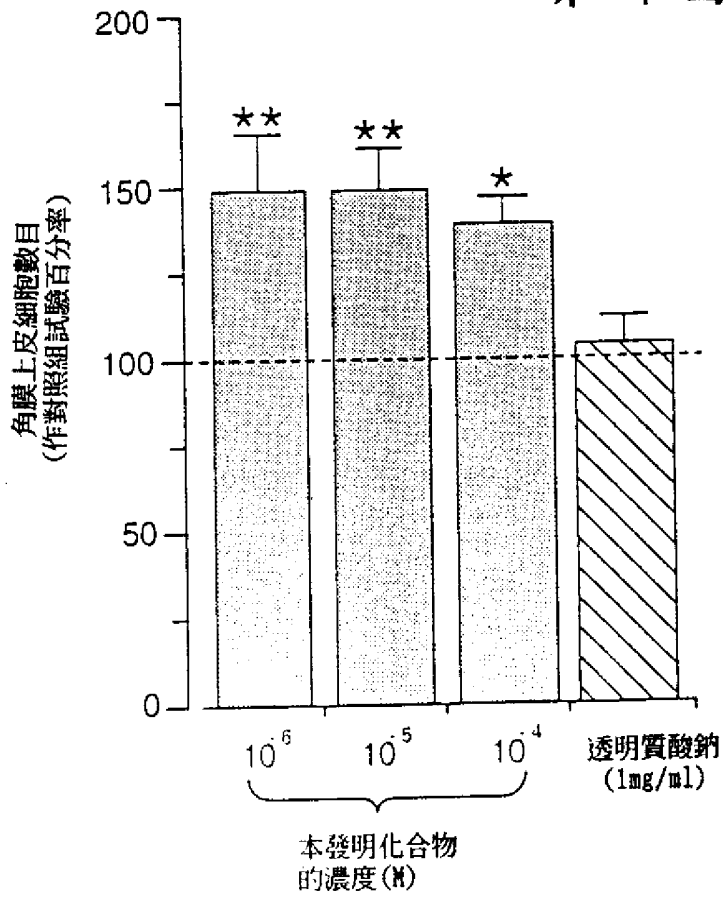
第 2 圖



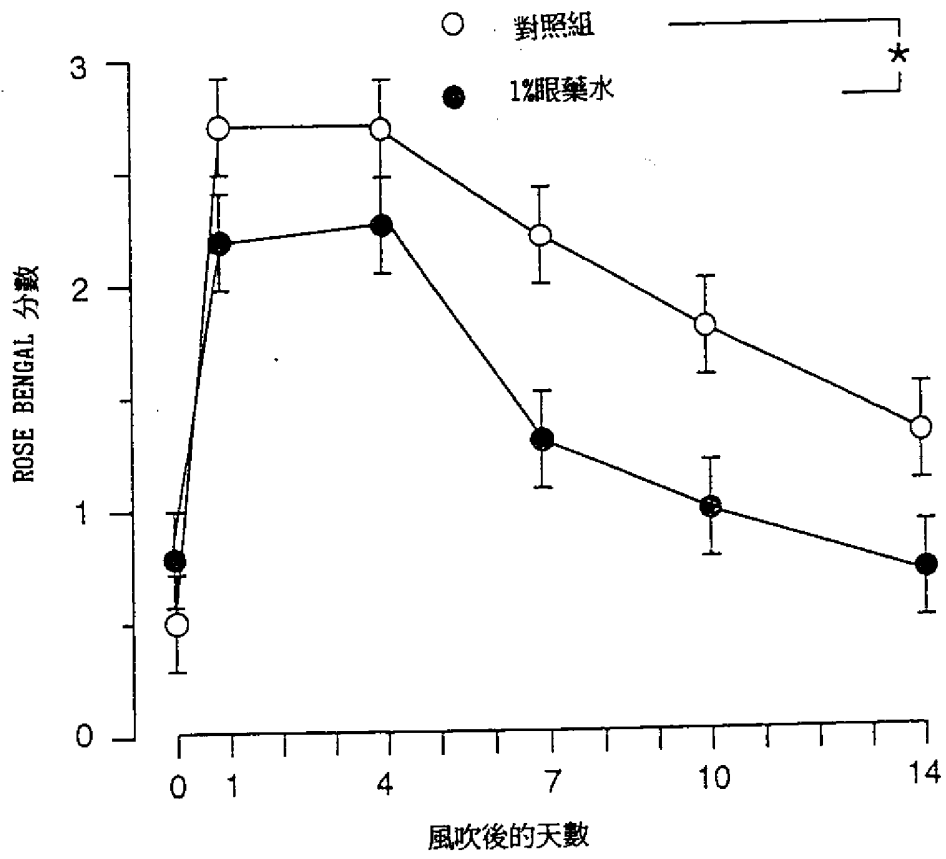
第 3 圖



第 4 圖

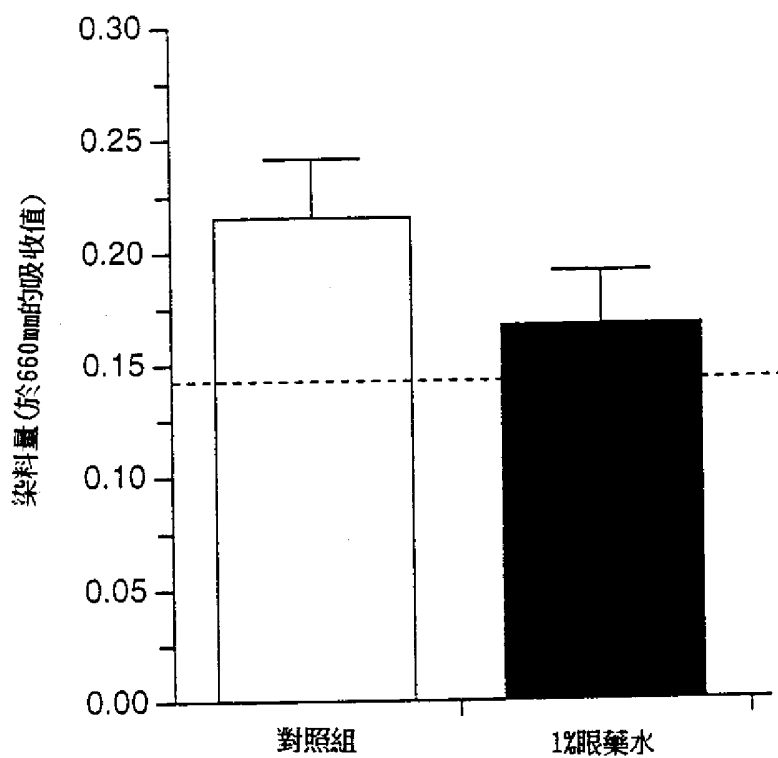


第 5 圖

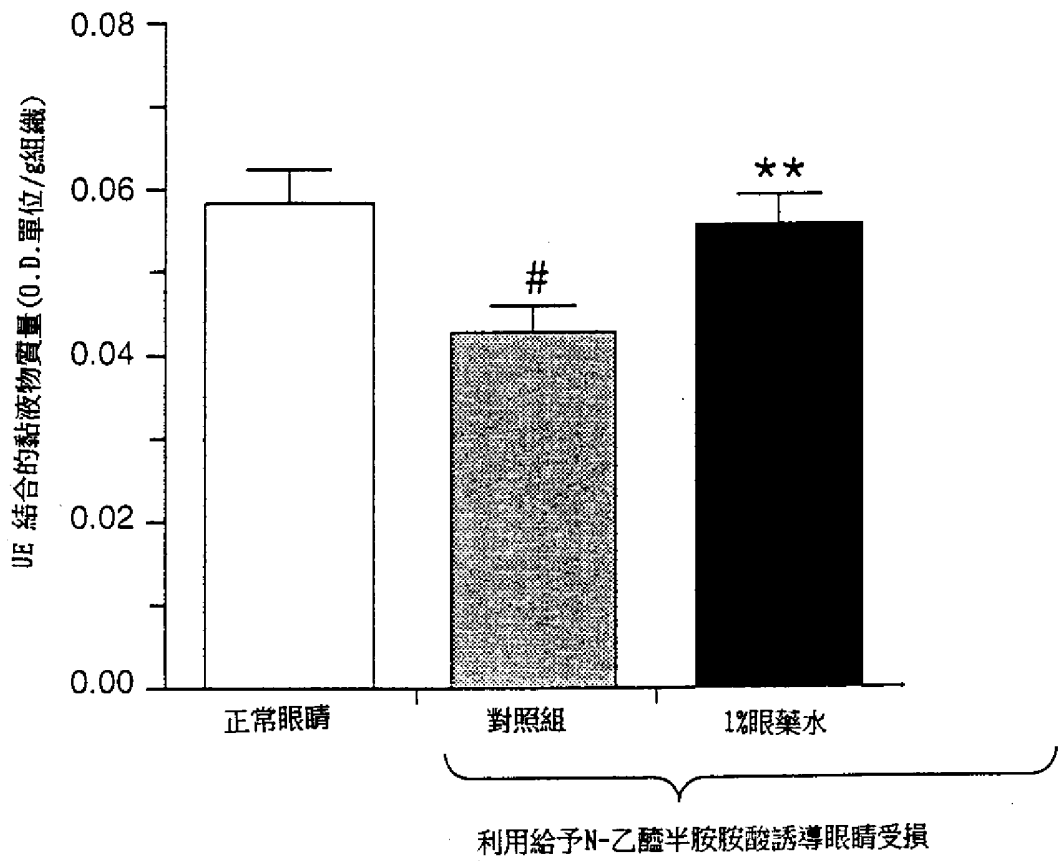


*表與對照組相比 $P < 0.05$
(重複測量所獲得的資料
的變異數分析)

第 6 圖



第 7 圖



申請日期	85 年 10 月 2 日
案 號	85112022
類 別	C67D ²¹⁵ /227, A61K ³¹ /435

A4
C4

446702

(以上各欄由本局填註)

發 明 專 利 說 明 書 (修正本)

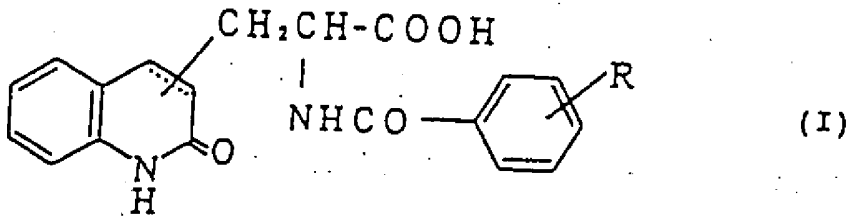
一、發明 新型名稱	中 文	治療眼疾之藥劑
	英 文	An agent for curing ophthalmological diseases
二、發明人 創作	姓 名	(1) 浦島博樹 (2) 竹治康広 (3) 篠原久司
	國 籍	(1) 日本 (2) 日本 (3) 日本
	住、居所	(1) 日本國兵庫縣赤穂市塩屋二七一五-三 (2) 日本國兵庫縣赤穂市坂越三一五〇 (3) 日本國岐阜縣岐阜市大宮町一丁目一三番地の
三、申請人	姓 名 (名稱)	(1) 大塚製藥股份有限公司 大塚製藥株式会社
	國 籍	(1) 日本
	住、居所 (事務所)	(1) 日本國東京都千代田區神田司町二ノ九
	代 表 人 姓 名	(1) 大塚明彦

裝 訂 線

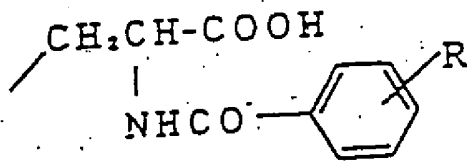
經濟部智慧財產局員工消費合作社印製

六、申請專利範圍

1. 一種用於加速眼睛杯狀細胞增生作用之藥劑，其含有做為活性成份的喹諾酮衍生物或其鹽類，該化合物一般化學式如 (I) 所示：



(其中 R 是鹵素原子，下式所示之基團的側鏈的取代位置是在喹諾酮結構的第 3 或 4 位置，



並且在喹諾酮結構的第 3 - 和 4 - 位置之間的碳 - 碳鍵是一單鍵或一雙鍵) 。

2. 一種用於增加眼睛黏樣性物質分泌之藥劑，其含有作為活性成份之如申請專利範圍第 1 項所定義之式 (I) 的喹諾酮衍生物。

3. 一種用於增加眼睛淚液分泌量之藥劑，其含有作為活性成份之如申請專利範圍第 1 項所定義之式 (I) 的喹諾酮衍生物。

4. 一種用於治療乾眼症之藥劑，其含有作為活性成份之如申請專利範圍第 1 項所定義之式 (I) 的喹諾酮衍

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

表
訂
線