



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103826642 B

(45) 授权公告日 2016. 02. 17

(21) 申请号 201280046826. 0

A61P 27/02(2006. 01)

(22) 申请日 2012. 09. 26

A61P 43/00(2006. 01)

(30) 优先权数据

C07H 19/207(2006. 01)

2011-210875 2011. 09. 27 JP

审查员 郑茹

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2014. 03. 26

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/JP2012/074662 2012. 09. 26

(87) PCT国际申请的公布数据

W02013/047567 JA 2013. 04. 04

(73) 专利权人 参天制药株式会社

地址 日本大阪府

(72) 发明人 阪元明日香 中村雅胤

(74) 专利代理机构 北京市金杜律师事务所

11256

代理人 杨宏军

(51) Int. Cl.

A61K 31/7084(2006. 01)

A61K 9/06(2006. 01)

A61K 9/08(2006. 01)

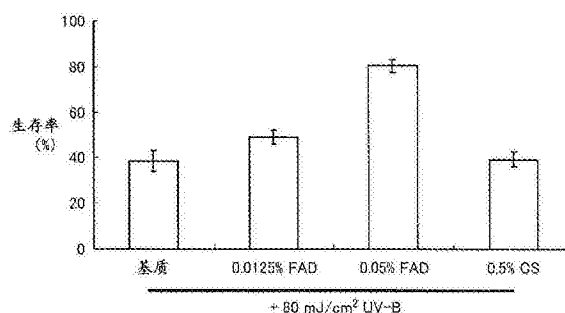
权利要求书1页 说明书7页 附图1页

(54) 发明名称

含有黄素腺嘌呤二核苷酸或其盐作为有效成分的角膜上皮细胞死亡的抑制剂

(57) 摘要

黄素腺嘌呤二核苷酸或其盐由于显著抑制通过紫外线照射诱导的角膜上皮细胞的活细胞数的降低,所以可以成为通过紫外线照射诱导的角膜上皮细胞死亡的抑制剂。



1. 黄素腺嘌呤二核苷酸或其盐用于制造角膜上皮细胞死亡的抑制剂的应用, 该角膜上皮细胞死亡是通过紫外线照射而被诱导的, 所述抑制剂的剂型为滴眼剂, 给予方式为滴眼给予。

2. 如权利要求 1 所述的应用, 其中, 紫外线为紫外线 B 波。

3. 如权利要求 1 或 2 所述的应用, 其中, 黄素腺嘌呤二核苷酸或其盐的浓度为 0.01 ~ 1% (w/v)。

4. 如权利要求 1 或 2 所述的应用, 其中, 黄素腺嘌呤二核苷酸或其盐的浓度为 0.05% (w/v)。

含有黄素腺嘌呤二核苷酸或其盐作为有效成分的角膜上皮细胞死亡的抑制剂

技术领域

[0001] 本发明涉及一种抑制剂,是含有黄素腺嘌呤二核苷酸(FAD:Flavin Adenine Dinucleotide)或其盐(以下,也将它们总称为“FAD等”)作为有效成分的角膜上皮细胞死亡的抑制剂,该角膜上皮细胞死亡是通过紫外线照射而被诱导的。本发明还涉及一种方法,是抑制角膜上皮细胞死亡的方法,包括向患者给予药学上有效量的FAD等的步骤,该角膜上皮细胞死亡是通过紫外线照射而被诱导的。另外,本发明涉及一种应用,是FAD等的用于抑制角膜上皮细胞死亡的应用,该角膜上皮细胞死亡是通过紫外线照射而被诱导的。进而,本发明还涉及一种应用,是FAD等的用于制造角膜上皮细胞死亡的抑制剂的应用,该角膜上皮细胞死亡是通过紫外线照射而被诱导的。

背景技术

[0002] 角膜是与外界直接接触的组织,经常暴露于各种刺激(stress)下。作为外界的刺激的一种的紫外线中,已知紫外线A波(波长:320nm以上且不足400nm)、紫外线B波(波长:290nm以上且不足320nm)、及紫外线C波(波长:200nm以上且不足290nm)3种。日本眼科纪要,57,734—738(2006)(非专利文献1)中记载了下述内容:紫外线B波(以下也称为“UV—B”)及紫外线C波(以下也称为“UV—C”)在角膜上皮被吸收,以及,由于UV—C在臭氧层中被吸收所以不会成为问题,另一方面,临床上成为问题的是UV—B。

[0003] 另外,Exp. Eye Res.,90(2),216—22(2010)(非专利文献2)中公开了角膜上皮细胞的凋亡(细胞死亡)通过UV—B而被诱导,实际上,上述非专利文献1中公开了UV—B导致角膜上皮损伤、角膜水肿·混浊等。

[0004] 另一方面,已知FAD为直接参与细胞的氧化还原的辅酶型维生素B₂,促进角膜的酶呼吸代谢。并且,Flavitan(注册商标)滴眼液0.05%所附文件(非专利文献3)中记载了FAD的二钠盐对于推定为维生素B₂欠缺或代谢障碍参与的角膜炎有用。

[0005] 但是,关于FAD对由紫外线诱导的角膜上皮细胞死亡的影响,完全不明确,反而在国际公开第99/43347号(专利文献1)中,作为诱导角膜上皮障碍的眼科用剂例示了含有FAD的二钠盐的Flavitan(注册商标)滴眼液。

[0006] 专利文献1:国际公开第99/43347号

[0007] 非专利文献1:日本眼科纪要,57,734—738(2006)

[0008] 非专利文献2:Exp. Eye Res.,90(2),216—22(2010)

[0009] 非专利文献3:Flavitan(注册商标)滴眼液0.05%所附文件

发明内容

[0010] 如上所述,探索抑制通过紫外线照射诱导的角膜上皮细胞死亡的药剂是很有意义的课题。

[0011] 本发明人等为了探索抑制通过紫外线照射诱导的角膜上皮细胞死亡的药物进行

了潜心研究,结果发现黄素腺嘌呤二核苷酸二钠盐(以下,也称为“本发明化合物”)具有显著的细胞死亡抑制效果,从而完成了本发明。

[0012] 即,本发明是一种抑制剂(以下也称为“本发明药剂”),是含有黄素腺嘌呤二核苷酸或其盐(FAD 等)作为有效成分的角膜上皮细胞死亡的抑制剂,该角膜上皮细胞死亡是通过紫外线照射而被诱导的。

[0013] 另外,本发明的其他方案是一种抑制剂,是含有 FAD 等作为有效成分的角膜上皮细胞死亡的抑制剂,该角膜上皮细胞死亡是通过紫外线 B 波照射而被诱导的。

[0014] 另外,本发明的其他方案是本发明药剂,其中,FAD 等的浓度为 0.01 ~ 1% (w/v)。

[0015] 另外,本发明的其他方案是本发明药剂,其中,FAD 等的浓度为 0.05% (w/v)。

[0016] 另外,本发明的其他方案是本发明药剂,其中,给予方式为滴眼给予。

[0017] 另外,本发明的其他方案是本发明药剂,其中,剂型为滴眼剂。

[0018] 本发明还提供一种方法(以下也称为“本发明方法”),是包括向患者给予药学上有效量的 FAD 等的步骤的抑制角膜上皮细胞死亡的方法,该角膜上皮细胞死亡是通过紫外线照射而被诱导的。

[0019] 另外,本发明的其他方案是一种方法,是包括向患者给予药学上有效量的 FAD 等的步骤的抑制角膜上皮细胞死亡的方法,该角膜上皮细胞死亡是通过紫外线 B 波照射而被诱导的。

[0020] 另外,本发明的其他方案是本发明方法,其中,FAD 等的浓度为 0.01 ~ 1% (w/v)。

[0021] 另外,本发明的其他方案是本发明方法,其中,FAD 等的浓度为 0.05% (w/v)。

[0022] 另外,本发明的其他方案是本发明方法,其中,给予方式为滴眼给予。

[0023] 另外,本发明的其他方案是本发明方法,其中,剂型为滴眼剂。

[0024] 本发明还提供一种应用(以下也称为“本发明第 1 应用”),是 FAD 等的用于抑制角膜上皮细胞死亡的应用,该角膜上皮细胞死亡是通过紫外线照射而被诱导的。

[0025] 另外,本发明的其他方案是一种应用,本发明是 FAD 等的用于抑制角膜上皮细胞死亡的应用,该角膜上皮细胞死亡是通过紫外线 B 波照射而被诱导的。

[0026] 另外,本发明的其他方案是本发明第 1 应用,其中,FAD 等的浓度为 0.01 ~ 1% (w/v)。

[0027] 另外,本发明的其他方案是本发明第 1 应用,其中,FAD 等的浓度为 0.05% (w/v)。

[0028] 另外,本发明的其他方案是本发明第 1 应用,其中,给予方式为滴眼给予。

[0029] 另外,本发明的其他方案是本发明第 1 应用,其中,剂型为滴眼剂。

[0030] 进而,本发明还提供一种应用(以下也称为“本发明第 2 应用”),是 FAD 等的用于制造角膜上皮细胞死亡的抑制剂的应用,该角膜上皮细胞死亡是通过紫外线照射而被诱导的。

[0031] 另外,本发明的其他方案还提供一种应用,是 FAD 等的用于制造角膜上皮细胞死亡的抑制剂的应用,该角膜上皮细胞死亡是通过紫外线 B 波照射而被诱导的。

[0032] 另外,本发明的其他方案是本发明第 2 应用,其中,FAD 等的浓度为 0.01 ~ 1% (w/v)。

[0033] 另外,本发明的其他方案是本发明第 2 应用,其中,FAD 等的浓度为 0.05% (w/v)。

[0034] 另外,本发明的其他方案是本发明第 2 应用,其中,给予方式为滴眼给予。

[0035] 另外,本发明的其他方案是本发明第 2 应用,其中,剂型为滴眼剂。

[0036] 如下所述,含有本发明化合物的 FAD 等由于显著抑制通过紫外线照射而诱导的角膜上皮细胞的活细胞数的降低,所以可以成为通过紫外线照射诱导的角膜上皮细胞死亡的抑制剂。另外,本发明还提供一种方法,是包括向患者给予药学上有效量的 FAD 等的步骤的抑制角膜上皮细胞死亡的方法,该角膜上皮细胞死亡是通过紫外线照射而被诱导的。另外,本发明还提供一种应用,是 FAD 等的用于抑制角膜上皮细胞死亡的应用,该角膜上皮细胞死亡是通过紫外线照射而被诱导的。进而,本发明还提供一种应用,是 FAD 等的用于制造角膜上皮细胞死亡的抑制剂的应用,该角膜上皮细胞死亡是通过紫外线照射而被诱导的。

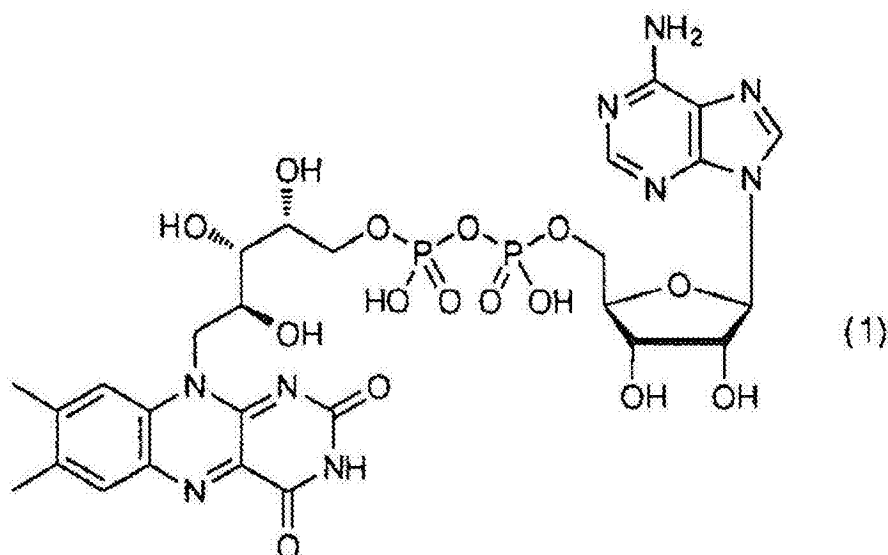
附图说明

[0037] [图 1] 是表示在 UV - B 照射前用本发明化合物处置角膜上皮细胞的情况下的生存率的图。

具体实施方式

[0038] 黄素腺嘌呤二核苷酸为下述式(1)表示的化合物。

[0039]

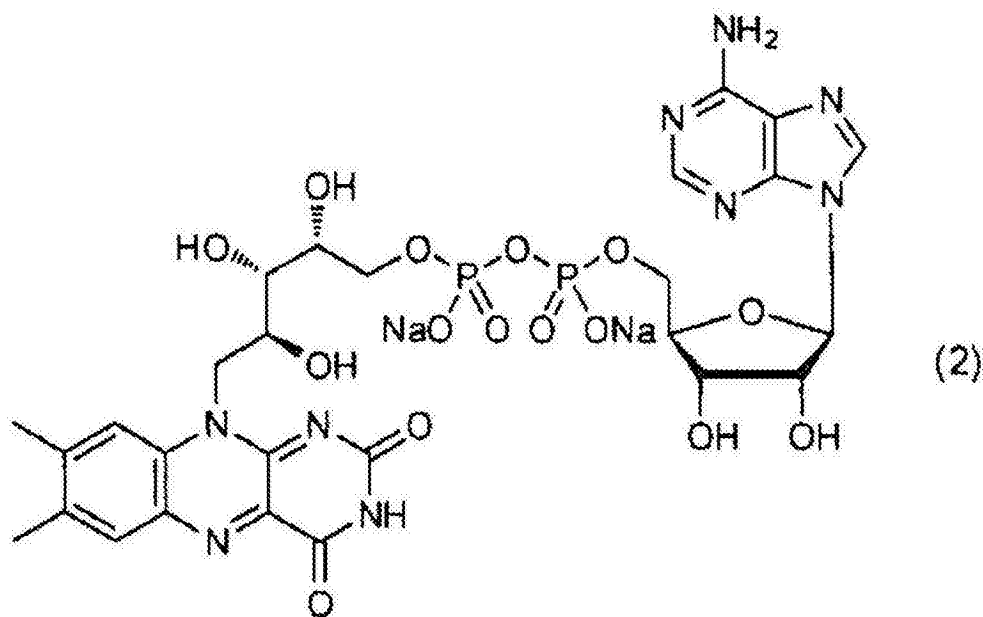


[0040] 作为黄素腺嘌呤二核苷酸的盐,只要是作为医药被允许的盐则没有特别限定,可以举出与盐酸、氢溴酸、氢碘酸、硝酸、硫酸、磷酸等无机酸形成的盐、与乙酸、富马酸、马来酸、琥珀酸、柠檬酸、酒石酸、己二酸、葡萄糖酸、葡庚糖酸、葡萄糖醛酸、对苯二甲酸、甲磺酸、乳酸、马尿酸、1,2-乙二磺酸、羟乙基磺酸、乳糖酸、油酸、双羟萘酸、多聚半乳糖醛酸、硬脂酸、鞣酸、三氟甲磺酸、苯磺酸、对甲苯磺酸、硫酸月桂酯、硫酸甲酯(methyl sulfate)、萘磺酸、磺基水杨酸等有机酸形成的盐;与溴代甲烷、碘代甲烷等的季铵盐;与溴离子、氯离子、碘离子等卤素离子形成的盐;与锂、钠、钾等碱金属形成的盐;与钙、镁等碱土金属形成的盐;与铁、锌等的金属盐;与氨形成的盐;与三亚乙基二胺、2-氨基乙醇、2,2-亚氨基双(乙醇)、1-脱氧-1-(甲基氨基)-2-D-山梨糖醇、2-氨基-2-(羟基甲基)-1,3-丙二醇、普鲁卡因、N,N-双(苯基甲基)-1,2-乙二胺等有机胺形成的盐等。

[0041] 作为黄素腺嘌呤二核苷酸的盐,优选钠盐,特别优选下述式(2)表示的黄素腺嘌呤

二核苷酸二钠盐。

[0042]



[0043] 另外,黄素腺嘌呤二核苷酸或其盐(FAD 等)可以采用水合物或溶剂合物的形态。

[0044] 黄素腺嘌呤二核苷酸中存在几何异构体或光学异构体的情况下,该异构体或其盐也包含在本发明的范围内。另外,黄素腺嘌呤二核苷酸中存在质子互变异构体的情况下,该互变异构体或其盐也包含在本发明的范围内。

[0045] 黄素腺嘌呤二核苷酸或其盐(包括采用水合物或溶剂合物的形态的情况)中存在多晶型及多晶型组(多晶型系统)的情况下,这些多晶型体及多晶型组(多晶型系统)也包含在本发明的范围内。此处,所谓多晶型组(多晶型系统),表示根据这些结晶的制造、结晶、保存等的条件及状态(需要说明的是,本状态中也包括经制剂化的状态),晶形变化时的各阶段中的各晶形及其整个过程。

[0046] 黄素腺嘌呤二核苷酸或其盐可以通过有机合成化学领域中通常的方法制造。另外,也可以使用 Sigma 公司等在市场上销售的物质。

[0047] 本发明中,所谓“抑制通过紫外线照射诱导的角膜上皮细胞死亡”,不仅表示抑制通过紫外线照射诱导的角膜上皮细胞的活细胞数的降低,还表示预防或治疗伴随该活细胞数的降低(即,角膜上皮细胞死亡)的角膜上皮损伤、角膜水肿・混浊等。

[0048] 本发明中,所谓“紫外线”,表示紫外线 A 波(波长:320nm 以上且不足 400nm)、紫外线 B 波(波长:290nm 以上且不足 320nm)及紫外线 C 波(波长:200nm 以上且不足 290nm)3 种。如背景技术项中说明的那样,已知作为诱导角膜上皮细胞死亡的紫外线在临床上成为问题的是“紫外线 B 波(UV-B)”。

[0049] 对于本发明药剂来说,可以在 FAD 等中混合其他有效成分及作为医药被允许的添加剂,采用通用技术作为配合眼科用剂进行制剂化,另外,也可以在 FAD 等中加入作为医药被允许的添加剂,采用通用技术作为单独眼科用剂进行制剂化。需要说明的是,在日本,含有浓度 0.05% (w/v)的本发明化合物作为有效成分的“Flavitan (注册商标)滴眼液 0.05%”等滴眼液正在市场上销售。

[0050] 本发明中,可以举出本发明药剂被给予至眼局部。作为本发明药剂的给予方式,例

如,可举出滴眼给予(将眼软膏的点入也包括在内)、结膜下给予、结膜囊内给予、眼球囊下给予等,特别优选滴眼给予。

[0051] 本发明药剂的剂型只要能够用于眼局部给予则没有特别限定,例如,可以举出滴眼剂、眼软膏、注射剂、贴剂、凝胶、插入剂等,其中优选滴眼剂。需要说明的是,它们可以采用在该领域中通用的常规技术进行制备。进而,除了上述制剂以外,本治疗剂也可以制成眼内植入用制剂、微球体等经 DDS (药物传递系统) 化的制剂。

[0052] 关于滴眼剂,可以根据需要从氯化钠、氯化钾、浓甘油等等渗剂(日语:等張剂);磷酸钠、乙酸钠、 ϵ -氨基己酸等缓冲剂;聚氧乙烯山梨糖醇酐单油酸酯、聚氧乙烯-40-硬脂酸酯、聚氧乙烯氢化蓖麻油等表面活性剂;柠檬酸钠、依地酸钠等稳定剂;苯扎氯铵、对羟基苯甲酸酯等防腐剂等中选择使用进行制备,关于 pH,只要在眼科制剂允许的范围内即可,通常优选在 4~8 的范围内。

[0053] 眼软膏可以使用白凡士林、液体石蜡等通用的基质进行制备。

[0054] 注射剂可以根据需要从下述物质中选择使用进行制备,所述物质为:氯化钠等等渗剂;磷酸钠等缓冲剂;聚氧乙烯山梨糖醇酐单油酸酯等表面活性剂;甲基纤维素等增稠剂等。

[0055] 关于插入剂,可以将生物可降解性聚合物、例如羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羧基乙烯聚合物、聚丙烯酸等生物可降解性聚合物与本发明化合物一并粉碎混合,将该粉末压缩成型,由此进行制备,根据需要可以使用赋形剂、粘合剂、稳定剂、pH 调节剂等。

[0056] 关于眼内植入用制剂,可以使用生物可降解性聚合物,例如,聚乳酸、聚乙醇酸、乳酸·乙醇酸共聚物、羟丙基纤维素等生物可降解性聚合物,进行制备。

[0057] 本发明药剂的用量可以根据剂型、需要给予的患者的症状的轻重、年龄、体重、医生的判断等适当改变,例如,选择滴眼剂的情况下,将含有 0.005~5% (w/v)、优选 0.01~1% (w/v)、较优选 0.02~0.5% (w/v)、更优选 0.05% (w/v) 的浓度的 FAD 等的本发明药剂按照一次 1~2 滴向眼中滴入。

[0058] 需要说明的是,上述 FAD 等的浓度可以为黄素腺嘌呤二核苷酸(游离体)的浓度,也可以为黄素腺嘌呤二核苷酸的盐的浓度。

[0059] 本发明药剂的用法可以根据剂型、需要给予的患者的症状的轻重、年龄、体重、医生的判断等适当改变,例如,作为剂型选择滴眼剂的情况下,可以按照 1 日 1~10 次、优选 1 日 2~8 次、较优选 1 日 3~6 次分次给予至眼局部。

[0060] 进而,根据本发明还提供下述方案:一种方法(本发明方法),是包括向患者给予药理学上有效量的 FAD 等的步骤的抑制角膜上皮细胞死亡的方法,该角膜上皮细胞死亡是通过紫外线照射而被诱导的;一种应用(本发明第 1 应用),是 FAD 等的用于抑制角膜上皮细胞死亡的应用,该角膜上皮细胞死亡是通过紫外线照射而被诱导的;以及一种应用(本发明第 2 应用),是 FAD 等的用于制造角膜上皮细胞死亡的抑制剂的应用,该角膜上皮细胞死亡是通过紫外线照射而被诱导的。上述发明中的各术语的定义也如上所述,关于优选方案也与上述相同。

[0061] 以下示出药理试验及制剂例的结果,但是这些例子用于更好地理解本发明,并不限定本发明的范围。

[0062] 实施例

[0063] [药理试验]

[0064] 在紫外线(UV - B)照射前,用 FAD 处置角膜上皮细胞,在该情况下,评价紫外线照射导致的活细胞数的降低是否被抑制。

[0065] (试验方法)

[0066] 将 SV40 永生化人角膜上皮细胞(HCE - T :理化学研究所、BioResource Center、Cell No. :RCB2280)接种于 96 孔板(1×10⁴ 个 / 孔),用含有 10%FBS 的 DMEM/F - 12 培养基培养 1 天。第二天,将上述含有 10%FBS 的 DMEM/F - 12 培养基替换为含有 0.0125% (w/v) 或者 0.05% (w/v) 黄素腺嘌呤二核苷酸二钠盐的 PBS、含有 0.5% (w/v) 硫酸软骨素钠(Sodium chondroitin sulfate ester)的 PBS、或 PBS 后,于 37℃ 培养 60 分钟(以下,也分别称为“0.0125%FAD 组”、“0.05%FAD 组”、“0.5%CS 组”或“基质组”)。之后,对角膜上皮细胞进行 UV - B 照射(80mJ/cm²)约 1 分钟。将各组的培养基再次替换为含有 10%FBS 的 DMEM/F - 12 培养基后,于 37℃ 培养 24 小时,之后,使用 CellTiter96(注册商标)Aqueous 单溶液细胞增殖检测试剂盒(Aqueous One Solution Cell Proliferation Assay)(Promega 公司制、商品目录号 :G3580)测定活细胞数,按照下述式 1 算出生存率。需要说明的是,本试验中使用的黄素腺嘌呤二核苷酸二钠盐及硫酸软骨素钠分别购自 KYOWA HAKKO BIO CO., LTD. 及 Maruha NichiroFoods, Inc.。

[0067] [式 1]

[0068] 生存率(%) = (各组的活细胞数 / UV - B 非照射组的活细胞数) × 100

[0069] (结果)

[0070] 试验结果示于图 1。需要说明的是,图 1 中,值表示平均值 ± 标准误差(N = 3)。

[0071] (讨论)

[0072] 由图 1 可以明确,在 UV - B 照射前用本发明化合物预先对角膜上皮细胞进行了前处置的情况下,确认到浓度依赖性的抑制角膜上皮细胞死亡的作用。另一方面,关于用已知保护暴露于紫外线后的角膜表面的硫酸软骨素钠(参见 Visine (注册商标)UV 所附文件)进行了处置的组,未确认到相同作用。即,显示 FAD 抑制通过紫外线照射诱导的角膜上皮细胞死亡。

[0073] [制剂例]

[0074] 给出制剂例更具体地说明本发明的药剂,但本发明不限于这些制剂例。

[0075] (处方例 1)

[0076]	滴眼剂(FAD 浓度 :0.05% (w/v))	100ml 中
[0077]	黄素腺嘌呤二核苷酸二钠盐	0.05g
[0078]	氯化钠	0.9g
[0079]	磷酸氢钠水合物	适量
[0080]	灭菌纯化水	适量

[0081] 在灭菌纯化水中加入黄素腺嘌呤二核苷酸二钠盐及其以外的上述成分,将它们充分混合,制备滴眼剂。改变黄素腺嘌呤二核苷酸二钠盐的添加量,由此能够制备 FAD 浓度为 0.005% (w/v)、0.01% (w/v) 或 0.1% (w/v) 的滴眼剂。

[0082] (处方例 2)

[0083]	眼软膏(FAD 浓度 :0.05% (w/w))	100g 中
--------	--------------------------	--------

[0084]	黄素腺嘌呤二核苷酸二钠盐	0.05g
[0085]	液体石蜡	10mg
[0086]	白凡士林	适量

[0087] 在均匀地熔融了的白凡士林及液体石蜡中加入黄素腺嘌呤二核苷酸二钠盐,将它们充分混合后缓慢冷却,由此制备眼软膏。改变黄素腺嘌呤二核苷酸二钠盐的添加量,由此能够制备 FAD 浓度为 0.005% (w/w)、0.01% (w/w) 或 0.1% (w/w) 的眼软膏。

[0088] 产业上的可利用性

[0089] 黄素腺嘌呤二核苷酸或其盐由于显著抑制通过紫外线照射诱导的角膜上皮细胞的活细胞数的降低,因此可以期待用作通过紫外线照射诱导的角膜上皮细胞死亡的抑制剂。

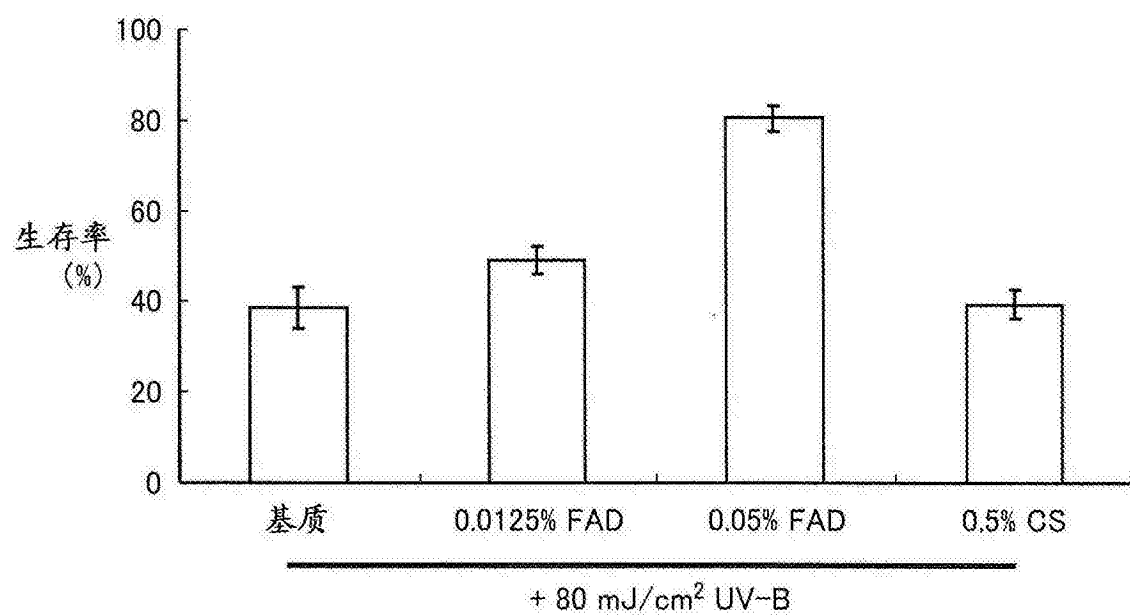


图 1