

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6960399号
(P6960399)

(45) 発行日 令和3年11月5日(2021.11.5)

(24) 登録日 令和3年10月13日(2021.10.13)

(51) Int.Cl. F I
A 6 1 K 31/7034 (2006.01) A 6 1 K 31/7034
A 6 1 P 27/04 (2006.01) A 6 1 P 27/04
A 6 1 P 43/00 (2006.01) A 6 1 P 43/00 1 0 7

請求項の数 4 (全 9 頁)

(21) 出願番号	特願2018-517468 (P2018-517468)	(73) 特許権者	517439720 ウー・ロンーツン WU, Rong-Tsun 台湾112タイペイ・シティ、 Beitou・ ディストリクト、 ジョンシャン・ノース・ ロード、 セクション7、 レイン219、 ア レー3、 ナンバー65、 5フロア
(86) (22) 出願日	平成28年6月16日 (2016.6.16)	(74) 代理人	100100158 弁理士 鮫島 睦
(65) 公表番号	特表2018-517776 (P2018-517776A)	(74) 代理人	100150500 弁理士 森本 靖
(43) 公表日	平成30年7月5日 (2018.7.5)	(74) 代理人	100176474 弁理士 秋山 信彦
(86) 国際出願番号	PCT/CN2016/000309		
(87) 国際公開番号	W02016/201953		
(87) 国際公開日	平成28年12月22日 (2016.12.22)		
審査請求日	令和1年6月14日 (2019.6.14)		
(31) 優先権主張番号	62/180,450		
(32) 優先日	平成27年6月16日 (2015.6.16)		
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)		

最終頁に続く

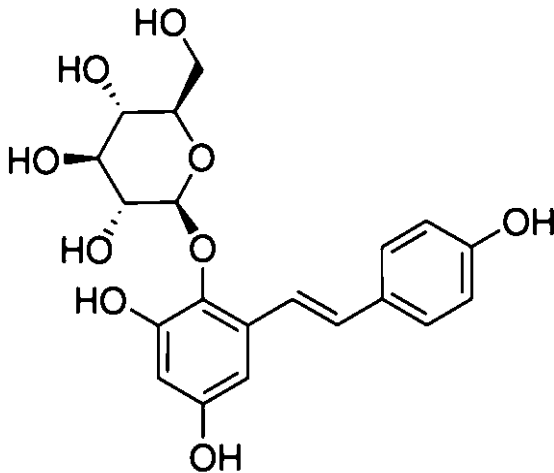
(54) 【発明の名称】 ドライアイを治療または防止する方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

被験者の目の涙液分泌または内因性NGF分泌を増加するための医薬の製造における、
式(I)：

【化1】



式 (I)

で表される化合物である、2,3,5,4'-テトラヒドロキシスチルベン2-O-β-D-グルコピラノシドの使用。

【請求項 2】

前記医薬が、被験者の目への局所投与用である、請求項 1 に記載の使用。

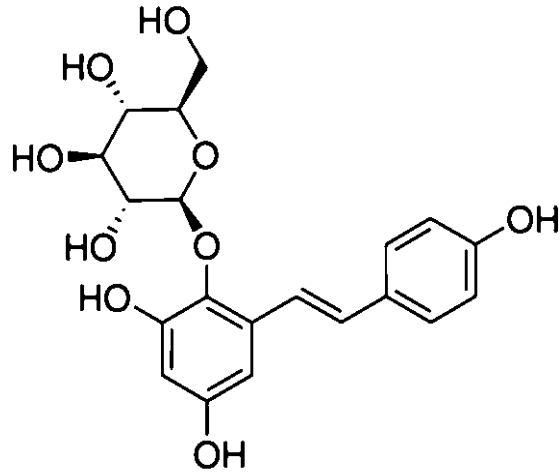
【請求項 3】

前記被験者が、ドライアイに罹患した被験者である、請求項 2 に記載の使用。

【請求項 4】

目の涙液分泌または内因性 N G F 分泌を増加するための局所的眼科用組成物であって、式 (I) :

【化 2】



10

20

で表される化合物である、2,3,5,4'-テトラヒドロキシスチルベン2-O-β-D-グルコピラノシドと、薬学的に許容可能な担体を含む、目の涙液分泌または内因性 N G F 分泌を増加するための局所的眼科用組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、2,3,5,4'-テトラヒドロキシスチルベン2-O-β-D-グルコピラノシドである化合物でドライアイを治療及び防止する方法に関する。

30

【背景技術】

【0002】

眼球乾燥症は一般に乾性角結膜炎として知られている。毎年数百万の人々がこの一般的な目の病気を患っている。眼球乾燥症のリスクに影響する可能性がある要因は数多くある。電子製品の急速な発展は今日の眼球乾燥症を引き起こしている最も一般的な理由である。スマートフォンやタブレット、ノートパソコンなどの増加によって眼球乾燥症患者の数が大幅に増加している。従って、眼球乾燥症の治療及び防止方法の開発は重要な研究テーマである。

40

【0003】

米国眼科学会の発表によれば、眼球乾燥症とは、平常の涙液膜に(1)涙の産生減少または(2)涙液蒸発過多のいずれか、つまり一般に涙液層に見られる粘液または脂質産生の異常がある疾患であると定義される。また、眼球乾燥症は症状と重篤度に基づき異なるレベルに区分することができる。ドライアイには、目の乾燥、かゆみ、炎症、眠そうな目、涙液過多、ヒリヒリおよびチクチクする痛み、異物感、光がまぶしい、視界がぼやける、といった症状が含まれる。症状が重篤化すると、目が腫れたり、うっ血したり、視力障害を発生したりする。

【0004】

ドライアイに罹患する具体的なリスク要因には、加齢、閉経後の女性における男性ホル

50

モン分泌不足、栄養不足、アルコール依存症、感染または化学火傷により引き起こされた角膜損傷、甲状腺機能亢進症の眼球突出、顔面または三叉神経けいれん、長期的なコンタクトレンズ装着、およびシェーグレン症候群や全身性エリテマトーデス、多形性紅斑、リウマチ性関節炎などの自己免疫疾患が含まれる。

【0005】

眼球乾燥症の標準的治療には、人工涙液、外科手術による涙点プラグの除去、コルチコステロイド点眼が含まれる。さらに、2003年に炎症とアンドロゲン欠損誘発眼球乾燥症の治療向けに0.05%シクロスポリンがFDAより認可されている。これらの治療は目に湿潤を保ち、涙液の蒸発を防止して、眼表面の乾燥を緩和することができるが、これら薬剤を頻繁に使用すると、毒性作用と刺激のリスクが増加するだけでなく、薬剤耐性感
10
感染症の増加にもつながる恐れがある。その結果、ステロイドの代わりに非ステロイド性抗炎症薬(NSAID)がドライアイの治療に使用されることが増えている。

【0006】

1950年代に発見された神経成長因子(NGF)は、特定の標的神経(神経細胞)の成長、維持、生存に重要である。それらはシグナル伝達物質としても機能している。NGFにはTrk Aとp75NTRの2つの受容体がある。NGFとその受容体は、ラットの涙腺組織によって発現されることも実証されており、またヒトの涙液でも定量化されている(Lee, H.K., et al., Am J Ophthalmol, 2005.139(6):p.965-71)。さらに、NGFは生体外で、および眼表面の維持と角膜創傷治療で重要な役割を果たす涙液膜と角膜上皮において、角膜上皮細胞の増殖
20
と分化を誘発することが示されている(Lambiase, A., et al., Invest Ophthalmol Vis Sci, 2009.50(10):p.4622-30)。NGF点眼剤は犬のドライアイモデルで涙液の分泌と結膜杯細胞密度を増加できることが分かっている(Coassin, M., et al., Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol, 2005.243(2):p.151-5)。臨床において、ドライアイ患者は涙液中のNGF発現が増加しており、これはドライアイ患者が眼表面の正常な機能を維持するための代償機序である(Lambiase, A., et al., Arch Ophthalmol, 2011.129(8):p.981-6)。さらに、NGFは眼表面を保護するためのムチンを分泌する能力を有する杯細胞への結膜上皮細胞の分化を誘発できる(Lambiase, A., et al., Invest Ophthalmol Vis Sci, 2009.50(10):p.4622-30; Lambiase, A., et al., Proc Natl Acad Sci U S A, 2009.106(32):p.13469-74)。しかしながら、これらの結果はNGFの調整がドライアイの治療と眼の保護の重要な要因であることを示唆している。
30

【0007】

ドライアイのより安全で、より効果的な治療法がまだ必要とされている。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0008】

【非特許文献1】Lee, H.K., et al., Am J Ophthalmol, 2005.139(6):p.965-71

【非特許文献2】Lambiase, A., et al., Invest Ophthalmol Vis Sci, 2009.50(10):p.4622-30

【非特許文献3】Coassin, M., et al., Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol, 2005.243(2):p.151-5

【非特許文献4】Lambiase, A., et al., Arch Ophthalmol, 2011.129(8):p.981-6

【非特許文献5】Lambiase, A., et al., Invest Oph
50

10

20

30

40

50

thalmol Vis Sci, 2009.50(10):p.4622-30;
 【非特許文献6】Lambiase, A., et al., Proc Natl Acad Sci U S A, 2009.106(32):p.13469-74

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0009】

本発明の目的は、2,3,5,4'-テトラヒドロキシスチルベン2-O-D-グルコピラノシドである化合物でドライアイを治療及び防止する方法を提供することにある。

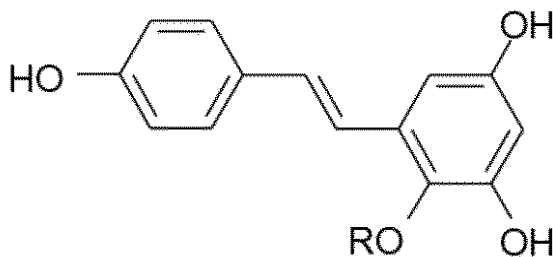
【課題を解決するための手段】

10

【0010】

本発明のドライアイを治療または防止する方法は、必要とする被験者に対し、一般式(I)で表される化合物の有効量を投与する工程を含み、

【化1】



20

式(I)、
 ここで、Rはグルコースである。

【0011】

本発明の特定の実施態様において、前記式(I)の化合物は、被験者の涙液分泌を増加するために有効な量で投与される。

【0012】

本発明の特定の実施態様において、前記式(I)の化合物は、被験者の涙管組織(lacrimal tissue)の内因性NGF分泌を増加するために有効な量で投与される。

30

【0013】

前述の概要の説明と、以下の詳細な説明は、本発明を限定するものではなく、例示と説明のみを目的としていると理解されるべきである。

【0014】

本発明の前述の概要、及び以下の詳細な説明は、添付の図面を参照しながら読むことにより理解されるであろう。本発明の例示を目的として、現時点で好ましい実施形態が図面に記載されている。

【図面の簡単な説明】

40

【0015】

【図1】HCE細胞におけるBAC誘発損傷に対する式(I)の化合物の効果を示すグラフである。

【図2】BAC誘発ドライアイマウスモデル(1)における式(I)の化合物の涙液分泌改善を示すグラフである。

【図3】BAC誘発ドライアイマウスモデル(2)における式(I)の化合物の涙液分泌改善を示すグラフである。

【図4】BAC誘発ドライアイマウスにおける涙液NGFタンパク質発現に対する式(I)の化合物の効果を示すグラフである。

【発明を実施するための形態】

50

【0016】

本明細書で使用される用語は、本発明との関係の範囲内で、かつ各用語が使用されている特定の文脈において、全般に該当分野で一般的な意味を持つ。本発明を説明するために使用される特定の用語については、以下で、または本明細書の他所で、本発明の説明に関して実施者に追加のガイダンスを提供するために説明されている。本明細書のあらゆる部分での例の使用は、ここで説明されるあらゆる用語の例を含め、例示のみを目的としており、いかなる方法でも本発明、またはあらゆる例示された用語の要旨と意味を限定するものではない。同様に、本発明は本明細書に示された多様な実施態様に限定されない。

【0017】

別途定義されている場合を除き、ここで使用されるすべての技術的および科学的用語は、当業者により一般的に理解されるものと同じ意味を持つ。矛盾がある場合、定義を含め、本文書に準じる。

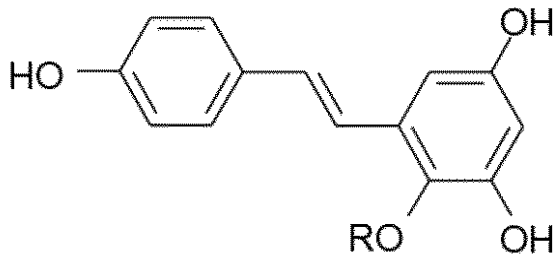
【0018】

本明細書で使用される、「大体」、「約」、または「およそ」は、一般に、示された値または範囲の20パーセント以内、好ましくは10パーセント以内、より好ましくは5パーセント以内を意味する。本明細書に示された数量はおよそであり、つまり「大体」、「約」、または「およそ」という用語が明示的に記載されていなくても暗示され得る。

【0019】

一態様において、本発明はドライアイを治療または防止する方法を提供する。本発明の方法は、必要とする被験者に対し、一般式(I)で表される化合物の有効量を投与する工程を含み、

【化2】



式(I)、

ここで、Rはグルコースである。

【0020】

式(I)の化合物は、当該分野で知られる方法によって作製でき、例えば、米国特許第20100160243 A1号で開示される方法があり、当該特許の全体が本明細書に参考として組み込まれる。

【0021】

本明細書で使用される「有効量」という用語は、式(I)の化合物の所望される治療または防止効果、または特定種類の反応の誘導を提供するに足る量を指す。必要とされる有効量は、被験者の疾患の状態、身体状態、年齢、性別、人種、体重などに応じて、被験者によって異なる。しかしながら、適切な有効量は通常の実験のみを使用して当業者が判断することが可能であろう。本発明の特定の実施態様において、前記有効量は、被験者の涙液分泌を増加するために有効な量である。本発明の特定の実施態様において、前記有効量は、被験者の涙管組織(lacrimal tissue)(または涙腺(lacrimal gland))の内因性NGF分泌を増加するために有効な量である。

【0022】

式(I)の化合物は被験者に対して1日1~10回、1回1~10滴量、好ましくは1日1~4回、1回1~5滴量を点眼投与することができる。例えば、被験者は式(I)の化合物を含む製剤を毎回3滴、1日3回使用することができる。眼局所投与の場合、1~

10

20

30

40

50

20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度の式 (I) の化合物を使用することができ、好ましくは、2 ~ 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度の式 (I) の化合物を使用することができる。

【 0 0 2 3 】

好ましくは、式 (I) の化合物は被験者の眼に局所的に投与される。

【 0 0 2 4 】

別の一態様において、本発明は式 (I) の化合物と、薬学的に許容可能な担体を含む、ドライアイを治療または防止するための局所的眼科用組成物を提供する。

【 0 0 2 5 】

本発明の組成物は、1つ以上の薬学的に許容可能な担体を用いて従来既知の方法で製造することができる。本明細書で使用される用語「薬学的に許容可能な担体」とは、任意の標準的な薬学的担体を指す。そのような担体は、生理食塩水、緩衝食塩水、デキストロース、水、グリセロール、エタノール、プロピレングリコール、クレモフォール、ナノ粒子、リポソーム、重合体、およびそれらの組み合わせを含むことができるが、これらに限らない。

10

【 0 0 2 6 】

さらに別の一態様において、本発明はドライアイの治療または防止のための薬剤製造における式 (I) の化合物の使用を提供する。

【 0 0 2 7 】

以下、限定ではなく例示を目的として提供される次の実施例により、本発明についてさらに説明する。

20

【 0 0 2 8 】

実施例

塩化ベンザルコニウム (B A C) は点眼剤で最も一般的に使用される防腐剤の1つである。しかし、この防腐剤は眼球乾燥症の潜在的リスクと認識されている。従って、多くの眼球乾燥症の体外及び体内モデルが B A C によって成功裏に開発されている。

【 0 0 2 9 】

これらのモデルに基づいて、式 (I) の化合物が眼球乾燥症に対して有効な点眼薬であることを証明する強力な実験的証拠がある。まず塩化ベンザルコニウムを使用してヒト角膜上皮細胞を損傷させてから、式 (I) の化合物で処理し、式 (I) の化合物が損傷後の細胞生存率を高めることを発見した。さらに、マウスモデルで塩化ベンザルコニウムをドライアイ誘発剤として使用した。一週間の損傷後、式 (I) の化合物を 2、5 または 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 含有する点眼剤でマウスを 1 日 3 回治療し、その治療が涙液分泌を回復させ、N G F 遺伝子発現レベルを増加したことを発見した。結果によれば、式 (I) の化合物が涙腺の N G F を活性化させ、涙液分泌を増加して眼表面の損傷を修復できることが示された。

30

【 実施例 1 】

【 0 0 3 0 】

H C E 細胞における B A C 誘発損傷に対する式 (I) の化合物の効果

【 0 0 3 1 】

塩化ベンザルコニウム細胞損傷モデル

40

【 0 0 3 2 】

ヒト角膜上皮細胞 (H C E) 細胞が 6 ウェルプレートに 5×10^5 細胞、10% F C S 含有 D M E M / F 1 2 培地で 24 時間播種された。細胞接着後、培地が除去され、0.0005% 塩化ベンザルコニウムに移されて 24 時間後、P B S で洗浄され、0.4、2、10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の異なる濃度の式 (I) の化合物 (化合物 A) で 48 時間処理された。最後に細胞がトリプシン処理され、1000 r p m で 5 分間遠心分離された後、上清が除去され、1 m l の D M E M / F 1 2 培地を添加して細胞が再懸濁された。続いて 0.4% のトリパンブルーと培地が 1 : 3 で希釈され、顕微鏡で細胞数を数えて異なる濃度の処理による生存性が観察された。結果を図 1 に示す。* P < 0.05、** P < 0.01、0 g / m l 化合物の A 群と比較、スチューデント T 検定。データは平均 \pm S D (n = 3) で示され

50

ている。

【実施例 2】

【0033】

式 (I) の化合物が B A C 誘発ドライアイマウスにおける涙液分泌を改善する

【0034】

塩化ベンザルコニウム誘発ドライアイマウスモデル (1)

【0035】

オス B A L B / c マウス (6 週齢) が 1 日 3 回 (9 : 0 0、1 3 : 3 0、1 8 : 0 0) 右目に 5 μ l の 0.3 % B A C の局所投与で治療された。マウスは 1 日目から 7 日目まで対照群として P B S で治療された。そして 1 日 3 回 (9 : 0 0、1 3 : 3 0、1 8 : 0 0) 右目に化合物 A (2、5、1 0 μ g / m l) 5 μ l の局所投与が行われ、対照群は 8 日目から 1 9 日目まで P B S で治療された。

10

【0036】

フェノールレッド綿糸涙液検査法が使用された。綿糸は黄色 (酸性) で、涙液に接触すると薄い赤色に変わる。鉗子を使用して下瞼の外眼角から 1 / 3 の距離で綿糸の折り曲げた部分が眼の眼瞼結膜に挿入された。1 5 秒後、綿糸が取り除かれ、濡れた部分 (赤) 全体が測定された。フェノールレッド綿糸涙液検査は 7、1 1、1 5、1 9 日目に実施された。結果を図 2 に示す。* P < 0.0 5、** P < 0.0 1、対照群と比較、スチューデント T 検定。データは平均 \pm S D (n = 5 ~ 6) で示されている。

【0037】

塩化ベンザルコニウム誘発ドライアイマウスモデル (2)

【0038】

オス B A L B / c マウス (9 週齢) が 1 日 3 回 (9 : 0 0、1 3 : 3 0、1 8 : 0 0) 右目に 5 μ l の 0.3 % B A C の局所投与で治療された。マウスは 1 日目から 7 日目まで対照群として P B S で治療された。そして 1 日 3 回 (9 : 0 0、1 3 : 3 0、1 8 : 0 0) 右目に化合物 A (5、1 0 μ g / m l) 5 μ l の局所投与が行われ、対照群は 1 5 日目から 1 9 日目まで P B S で治療された。

20

【0039】

フェノールレッド綿糸涙液検査法が使用された。綿糸は黄色 (酸性) で、涙液に接触すると薄い赤色に変わる。鉗子を使用して下瞼の外眼角から 1 / 3 の距離で綿糸の折り曲げた部分が眼の眼瞼結膜に挿入された。1 5 秒後、綿糸が取り除かれ、濡れた部分 (赤) 全体が測定された。フェノールレッド綿糸涙液検査は 1 4、1 8、2 0 日目に実施された。結果を図 3 に示す。* P < 0.0 5、** P < 0.0 1、対照群と比較、スチューデント T 検定。データは平均 \pm S D (n = 5 ~ 6) で示されている。

30

【実施例 3】

【0040】

B A C 誘発ドライアイマウスにおける涙液 N G F タンパク質発現に対する式 (I) の化合物の効果

【0041】

B A C 誘発ドライアイマウスの右目から 1 0 μ l の P B S 洗浄により涙液が採取された。マウスは P B S (対照群) と異なる濃度の化合物 A の点眼剤で 1 0 日間治療された。N G F タンパク質は陽性対照であった。5 μ l の涙液量がウェスタンブロットで使用された。

40

【0042】

総タンパク濃度が 1 \times B r a f o r d アッセイで測定された。変性のため、ローディングバッファー (7 m l の 0.5 M T r i s p H 6.8、3 m l のグリセロール、1 g の 1 0 % S D S、0.9 3 g の D T T、0.5 m g の 0.0 5 % プロモフェノールブルー、1 0 m l) を使用し、混合物を 9 5 ~ 1 0 0 で 5 分間煮沸させた。電気泳動のため総タンパクがミニゲル (1 2 % S D S ポリアクリルアミドゲル) ウェル当たり 2 0 ~ 4 0 μ g ロードされた。その後タンパクがポリビニリデンジフロライド (P V D F) 膜に転写され、膜が T T B S 中で 5 ~ 1 0 % 無脂肪ミルクパウダーでブロッキングされた。膜は一次抗体

50

と4 で一晚振とうによりインキュベートされ、TTBSで複数回洗浄し、残留する一次抗体が除去された後、二次抗体と室温で2時間インキュベートされた。

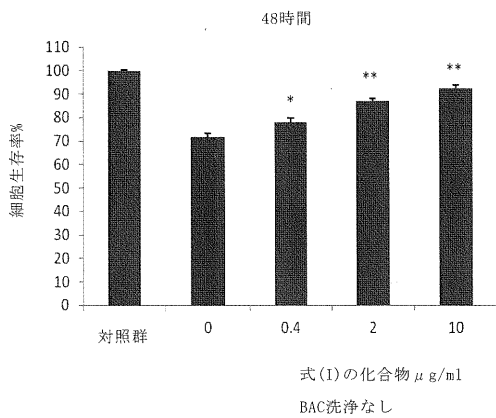
【0043】

タンパクレベルが化学発光検出システムにより測定され、Imagequantソフトウェアで解析された。結果を図4に示す。*P<0.05、**P<0.01、***P<0.001、対照群と比較、スチューデントT検定。データは平均±SD(n=4)で示されている。

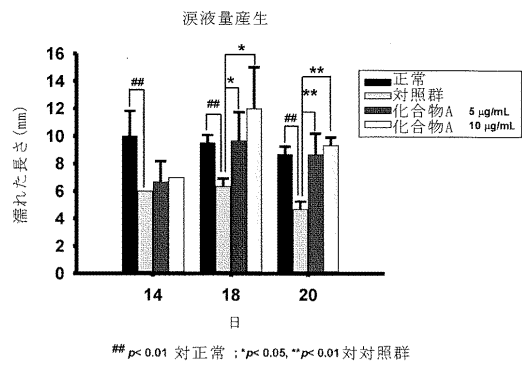
【0044】

本発明の広範な概念を逸脱することなく上述した実施態様に変更を加えることが可能であることは、当業者には明らかであろう。従って、本発明は開示された具体的な実施態様に限定されず、添付の特許請求の範囲により定義される本発明の要旨と範囲内の変更は、本発明に含まれると理解される。

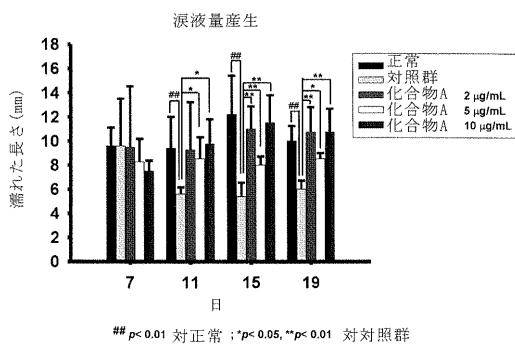
【図1】



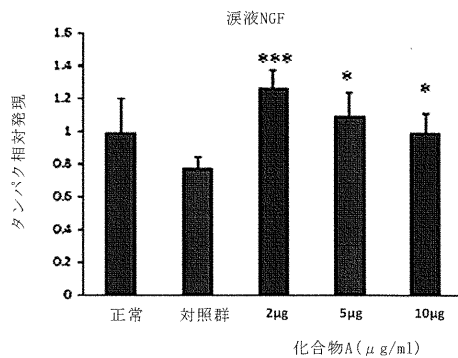
【図3】



【図2】



【図4】



フロントページの続き

(72)発明者 ウー・ロン・ツン

台湾112タイペイ・シティ、 Beitou・ディストリクト、 ジョンシャン・ノース・ロード、 セク
ション7、 レイン219、 アレー3、 ナンバー65、 5フロア

(72)発明者 ホーン・リン・イア

台湾111タイペイ・シティ、 シーリン・ディストリクト、 ティアンムー・イースト・ロード、 レ
イン105、 ナンバー59、 4フロア

審査官 星 功介

- (56)参考文献 Investigative Ophthalmology & visual science , April 2015, Vol.56, No.4 , pp.2709-2719
Journal of Agricultural and Food Chemistry , 2010, Vol.58, No.4 , pp.2239-2245
BioMed Research International , 2015, Article ID 814068 , pp.1-22, 特にp.7
Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology , 2005, Vol.243, No.2 , pp.
151-155
Journal of Central South University (Medical sciences) , 2010, Vol.35, No.4 , pp.321-328
Saudi Journal of Ophthalmology , 2014, Vol.28, No.3 , pp.173-181

(58)調査した分野(Int.Cl. , DB名)

A61K 31/00 - 31/80

JSTPlus / JMEDPlus / JST7580 (JDreamIII)

CAplus / REGISTRY / MEDLINE / EMBASE / BIOSIS (STN)