



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102036675 B

(45) 授权公告日 2012. 05. 30

(21) 申请号 200980112689. 4

A61K 9/08 (2006. 01)

(22) 申请日 2009. 02. 20

(56) 对比文件

(30) 优先权数据

CN 101062116 A, 2007. 10. 31,

12/036, 565 2008. 02. 25 US

审查员 司庆阳

(85) PCT申请进入国家阶段日

2010. 10. 13

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2009/034712 2009. 02. 20

(87) PCT申请的公布数据

W02009/108577 EN 2009. 09. 03

(73) 专利权人 吴荣灿

地址 中国台湾台北市

(72) 发明人 吴荣灿

(74) 专利代理机构 北京连和连知识产权代理有

限公司 11278

代理人 贺小明

(51) Int. Cl.

A61K 36/48 (2006. 01)

A61P 27/02 (2006. 01)

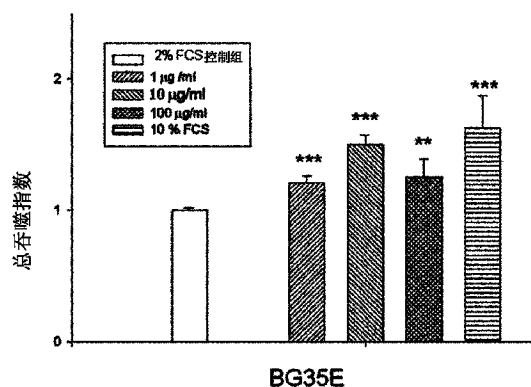
权利要求书 1 页 说明书 7 页 附图 6 页

(54) 发明名称

黑豆用于治疗眼疾的用途

(57) 摘要

本发明提供一种用于治疗与视网膜色素上皮细胞 (RPE) 障碍相关的疾病或病症的方法, 其包含对需要该治疗的人类投以有效量的黑豆 (Glycinemax (L.) Merr) 产物, 其中该黑豆产物是黑豆的种皮, 或是黑豆或其种皮的醇类萃取物。



1. 一种由黑豆 (*Glycine max* (L.) Merr) 制备的黑豆产物在制备用于治疗与视网膜色素上皮细胞 (RPE) 障碍相关的疾病或病症的药物中的用途。

2. 根据权利要求 1 所述的用途,其特征是该与视网膜色素上皮细胞障碍相关的疾病或病症是与 RPE 功能障碍相关。

3. 根据权利要求 1 所述的用途,其特征是该与视网膜色素上皮细胞障碍相关的疾病或病症是视网膜剥离、视觉功能丧失、或血 - 视网膜屏障渗漏。

4. 根据权利要求 1 所述的用途,其特征是该与视网膜色素上皮细胞障碍相关的疾病或病症是增生性玻璃体视网膜病变、老年性黄斑病变、色素性视网膜炎、糖尿病视网膜病变、黄斑失养症、或脉络膜新生血管疾病。

5. 根据权利要求 1 所述的用途,其特征是该黑豆产物是为液体形式。

6. 根据权利要求 1 所述的用途,其特征是该黑豆产物是为干燥形式。

7. 根据权利要求 1 所述的用途,其特征是该黑豆产物是黑豆的种皮,或是黑豆或其种皮的醇类萃取物。

8. 根据权利要求 7 所述的用途,其特征是该黑豆产物是黑豆的种皮。

9. 根据权利要求 7 所述的用途,其特征是该黑豆产物是黑豆或其种皮的醇类萃取物。

10. 根据权利要求 9 所述的用途,其特征是该醇类萃取物是黑豆或其种皮的乙醇萃取物。

11. 根据权利要求 10 所述的用途,其特征是该乙醇萃取物是以含有至少 10% (v/v) 的乙醇溶于水的溶剂萃取黑豆而制备。

12. 根据权利要求 11 所述的用途,其特征是该溶剂含有 35% (v/v) 的乙醇溶于水。

13. 根据权利要求 1 所述的用途,其特征是该黑豆产物是经口投药。

14. 一种由黑豆 (*Glycine max* (L.) Merr) 制备的黑豆产物在制备用于增加视网膜色素上皮细胞 (RPE) 细胞的吞噬作用的药物中的用途。

15. 根据权利要求 14 所述的用途,其特征是该黑豆产物是黑豆的种皮,或是黑豆或其种皮的醇类萃取物。

16. 根据权利要求 15 所述的用途,其特征是该黑豆产物是黑豆或其种皮的醇类萃取物。

17. 根据权利要求 16 所述的用途,其特征是该醇类萃取物是黑豆或其种皮的乙醇萃取物。

18. 根据权利要求 17 所述的用途,其特征是该乙醇萃取物是以含有至少 10% (v/v) 的乙醇溶于水的溶剂萃取黑豆而制备。

19. 根据权利要求 18 所述的用途,其特征是该溶剂含有 35% (v/v) 的乙醇溶于水。

黑豆用于治疗眼疾的用途

技术领域

[0001] 本发明是关于一种用于治疗与视网膜色素上皮细胞 (RPE) 障碍相关疾病或病症的方法,进一步地说,是关于对需要该治疗的对象投以有效量的黑豆 (*Glycine max* (L.) Merr) 产物,其中该黑豆产物是黑豆的种皮,或是黑豆或其种皮的醇类萃取物。

背景技术

[0002] 黑豆 (*Glycine max* (L.) Merr), 为具有黑色种皮的一类型的大豆,长久以来已在中国传统医药中作为健康食品及草药,且其医药作用因此已受到多年的研究。部分中药药典已揭示,黑豆可提供作为解毒剂、抗炎药物、以及血液营养素。

[0003] 特定言的,黑豆植化素 (phytochemicals) 可在小鼠体内抑制可移植性人类膀胱癌的生长以及肿瘤血管新生 (Zhou JR et al., *Cancer Res.* 58(22):5231-81999, 1998); 且展现抗氧化剂活性的黑豆可减少低密度脂蛋白的氧化,此可能在氧化相关性疾病的预防中扮演重要角色 (Takahashi. Ret al., *J Agric Food Chem.*, 53(11):4578-82, 2005)。

[0004] 视网膜色素上皮细胞 (RPE) 是视网膜表层的一种单层细胞,其是位于布氏膜 (Bruch's membrane) 及光受器的间。突出于 RPE 顶部的绒毛连结光受器的外节,而 RPE 底部的基底内褶则经由布氏膜连结脉络膜。由于 RPE 可有效地除去或运输脉络膜及视网膜的毒性物质及代谢物, RPE 形成了一种血液-视网膜屏障。此外, RPE 具有诸多功能,诸如,接收光线、吞噬因光刺激而由视杆细胞及视锥细胞分离的外节、分解代谢吞噬体、合成胞外基质及黑色素、解毒药物、提供用以再生光受器外节的必须材料、贮存及运输维生素 A、合成视紫质、以及形成视网膜的附着力 (Wenzel et al., *Progress in Retinal and Eye Research* 24:275-306, 2005)。

[0005] 根据统计,一个大鼠的 RPE 可在一天的内移除 25000 个因光刺激而由视杆细胞及视锥细胞分离的外节,此显著显示经常性的吞噬性代谢作用的重要性 (Mayerson and Hall, *The Journal of Cell Biology*, 103:299-308, 1986)。RPE 的正常吞噬作用对于维持视网膜中光受器的健康扮演了极重要的角色。一旦 RPE 的吞噬能力降低,其将会造成光受器的退化 (Wenzel et al., *Progress in Retinal and Eye Research* 24:275-306, 2005)。因此,维持 RPE 的功能对于视觉是统而言相当重要。至今,对于与 RPE 障碍相关疾病或病症并无良好的治疗对策。

发明内容

[0006] 本发明是基于发现黑豆 (*Glycine max* (L.) Merr) 产物对于增加 RPE 功能而言,诸如其吞噬能力,具有无法预期的功效。

[0007] 因此,本发明的一态样是关于一种用于治疗与视网膜色素上皮细胞 (RPE) 障碍相关疾病或病症的方法,其包含对需要该治疗的人投以有效量的黑豆产物。在本发明的一具体实例中,该黑豆产物是黑豆的种皮,或是黑豆或其种皮的醇类萃取物。

[0008] 本发明的另一态样是关于一种用于增加 RPE 的吞噬能力的方法,其是以有效量的

如前文所提及的黑豆产物处理该等细胞。

[0009] 本发明一或多个具体实例的细节示于下文的叙述。本发明的其它特征或优点将可由下文中数个具体实例的详细叙述以及附呈的申请专利范围而得悉。

附图说明

[0010] 前述的发明内容,以及前述的实施方式,将可在结合附呈的图式阅读时更为明了。就说明本发明的目的,在图式中显示目前为较佳的具体实例。然而,咸应明了,本发明并不限于所示的特定安排及手段。

[0011] 在图式中:

[0012] 图 1A 及图 1B 是图示黑豆萃取物对于 RPE 吞噬作用。该萃取物 (BG35E) 是由 35% (v/v) 乙醇萃取黑豆全豆而制备。* 表示 $P < 0.05$; ** 表示 $p < 0.01$; 而 *** 表示 $p < 0.001$ 。

[0013] 图 2A 及图 2B 是图示黑豆萃取物对于 RPE 吞噬作用。该萃取物 (BGSC35E) 是由 35% (v/v) 乙醇萃取黑豆种皮而制备。* 表示 $p < 0.05$; ** 表示 $p < 0.01$; 而 *** 表示 $p < 0.001$ 。

[0014] 图 3A 及图 3B 是分别显示经黑豆萃取物 (BGSC35E) 处理的眼部缺陷小鼠的 a 波和 b 波图。该 a 波和 b 波是以视网膜电图 (ERG) 测量。* 表示 $p < 0.05$; ** 表示 $p < 0.01$; 而 *** 表示 $p < 0.001$ 。

[0015] 图 4A 及图 4B 是分别显示经不同剂量的黑豆产物 (BGSC) 处理的眼部缺陷小鼠的 b 波图,其中该黑豆产物是由黑豆种皮制备。该 b 波是以 ERG 测量。* 表示 $p < 0.05$; ** 表示 $p < 0.01$; 而 *** 表示 $p < 0.001$ 。

具体实施方式

[0016] 在本文中,下列的名辞可用以对申请专利范围及说明书进行较佳的阐述。

[0017] 在本文中,冠词「一」是指一个或一个以上(亦即,至少一个)该冠词语法上的受体。举例而言,「一组件」意谓一个组件或一个以上的组件。

[0018] 在本文中,名辞「黑豆的醇类萃取物」是指借着以含醇的溶剂(如,含有 10-100% (v/v) 浓度的乙醇或甲醇的溶剂)萃取黑豆或其种皮而制备的萃取物。

[0019] 在本文中,名辞「视网膜色素上皮细胞 (RPE)」是指紧临于视网膜神经感觉层外侧的色素细胞层,其为视网膜视细胞提供养分,并稳固连附于其下的脉络膜以及其上的视网膜视细胞。RPE 是由单层的六角形细胞构成,其密集充满色素颗粒,并负责以每天约 30-100 个视盘的代谢率进行废弃视盘的吞噬及消化。

[0020] 在本文中,名辞「与视网膜色素上皮细胞障碍相关疾病或病症」是指与 RPE 功能障碍相关的疾病或病症,诸如, RPE 吞噬能力的降低或是反式视黄醛的异构化。当 RPE 功能降低或丧失时,视网膜细胞可能会产生自噬并自其下的支持组织层脱离,因此造成视力丧失、眼盲、视网膜剥离、或是血-视网膜屏障渗漏 (Martin L. Katz, Arch Gerontol Geriatr., 34(3):359-70, 2002)。与视网膜色素上皮细胞障碍相关的疾病或病症包括但不限于视网膜剥离(诸如视网膜色素上皮细胞剥离 (Tabandeh et al., Retina., 26(9):1063-9, 2006; Zayit-Soudry et al., Survey of Ophthalmology, 52(3):227-43, 2007))、

视觉功能丧失、以及血-视网膜屏障渗漏。此外,RPE 的障碍可能造成各种疾病,其包括但不限于,增生性玻璃体视网膜病变 (Lee J. J. et al., *Investigative Ophthalmology&Visual Science*, 43(9) :3117-24, 2002)、老年性黄斑病变 (AMD) (Zarbin M. A., *Archives of Ophthalmology*, 122(4) :598-614, 2004 ;Feher J. et al., *Neurobiology of Aging*, 27(7) : 983-93, 2006)、色素性视网膜炎、糖尿病视网膜病变、黄斑失养症、及脉络膜新生血管疾病 (Imamura Y. et al., *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(30) :11282-7, 2006 ;Tabandeh H., et al., *Retina*, 26(9) : 1063-9, 2006)。

[0021] 在本文中,名辞「治疗与 RPE 障碍相关的疾病或病症」或是「与 RPE 障碍相关的疾病或病症的治疗」是指对一对象施用或投以本文所述的黑豆产物,该对象具有与 RPE 障碍相关的疾病/病症、该疾病/病症的症状、或是有引发该疾病/病症的倾向,其目的在于治愈、治疗、缓和、减轻、改变、矫正、改善、改进、或影响该疾病/病症、该疾病/病症的症状、或是有引发该疾病/病症的倾向。

[0022] 在本文中,名辞「有效量」是指各活性剂在与一或多种其它活性剂共同投药至需要该治疗的对象体内时,对该对象产生治疗作用所需的量。如熟习技艺者所知,有效量会根据投药途径、赋形剂的使用、以及其它活性剂的共同使用而有所不同。根据本发明,有效量是指可有效增进视网膜色素上皮细胞功能的量。

[0023] 本发明提供一种用于治疗与视网膜色素上皮细胞 (RPE) 障碍相关的疾病或病症的方法,其包含对需要该治疗的人类投以有效量的黑豆 (*Glycine max* (L.) Merr) 产物。根据本发明,该黑豆产物是黑豆的种皮,或是黑豆或其种皮的醇类萃取物。该黑豆产物可以技艺中所熟知或常用的任何方法而制备。

[0024] 在本发明的一实例中,该黑豆产物可为黑豆的种皮,例如,以脱壳机自黑豆直接脱壳,并切碎成为小片的种皮。

[0025] 根据本发明的一实例,该黑豆产物可为黑豆或其种皮的醇类萃取物。该醇类萃取物可以熟习技艺者的任何标准或常用方法取得。举例而言,该萃取物可借着以含醇的溶剂(如,含有 10-100% (v/v) 浓度的乙醇或甲醇的溶剂)萃取黑豆或其种皮而制备。在一特定实例中,该黑豆萃取物是借着在适当的温度下将黑豆浸泡在含醇的溶剂中一段足够的时间,接着再借着例如过滤而除去不溶的豆类物质,以产生液体形式的黑豆萃取物。视需要,该产物可借着脱水例如蒸发而进一步干燥,以取得干燥形式的产物。该含醇的溶剂可为含有 10-100% (v/v) 的醇以及一或多种其它适当溶剂(如,水、乙醇、或甲醇)。在本发明的一实例中,该含醇的溶剂是在水中含有乙醇的溶剂。更佳者,该溶剂是至少 10% (v/v) 的乙醇溶于水,且最佳是 35% (v/v) 的乙醇溶于水。在本发明的一特定实例中,该萃取物是借着包含下列步骤的方法而制备:(1) 提供黑豆全豆或其种皮,(2) 以含有 35% (v/v) 的乙醇溶于水的溶剂萃取该全豆或其种皮,(3) 收集如此形成的可溶部分,并选择性地(4) 干燥所收集的可溶部分。

[0026] 根据本发明,其不可预期的发现,该黑豆产物可有效增进视网膜色素上皮细胞的功能,此可由技艺中常用或已为熟知的方法或模式确认,诸如,如实例 2 所示的 RPE 吞噬能力的增加 (Mayerson and Hall, *The Journal of Cell Biology*, 103 :299-308, 1986),以及如实例 3 及 4 所示的在具有眼部缺陷的小鼠模式中恢复 b 波的能力 (Thom W. Mittag et

al., Exp Eye Res., 69 :677-683, 1999)。因此, 本发明提供一种用于治疗与 RPE 障碍相关疾病或病症的方法, 其包含对需要该治疗的对象投以有效量的如前文所提及的黑豆产物。

[0027] 根据本发明的黑豆产物可为食物、膳食组合物、或医药组合物的形式。在一实例中, 该黑豆产物可与医药可接受的载剂或赋形剂混合, 并选择性地与另一治疗活性剂混合, 以形成医药组合物。适用于医药组合物的载剂或赋形剂必须为「可接受」, 意谓其可与该组合物的活性成分相容 (且较佳者, 可安定该活性成分), 并不会对欲治疗的对象有害。载剂的实例包括胶态二氧化硅、硬脂酸镁、纤维素、十二烷基硫酸钠、药品与化妆品用黄色 10 号、微晶纤维素、甘露糖醇、葡萄糖、脱脂奶粉、聚乙烯吡咯烷酮、以及淀粉, 或是其组合。该医药组合物可为各种形式, 诸如, 锭剂、胶囊、粉末、或液体。

[0028] 根据本发明, 上文提及的组合物可经由适当途径而投药, 如, 口服投药。口服投药用的固体调配物可含有适当的载剂或赋形剂, 诸如, 玉米淀粉、明胶、乳糖、阿拉伯胶、蔗糖、微晶纤维素、高岭土、甘露糖醇、磷酸二钙、碳酸钙、氯化钠、或藻酸。此种固体调配物可经设计以在肠中释放。举例而言, 该组合物是限制于固体次单元或胶囊隔间中, 其分别具有包含肠溶性聚合物的基质或壁或封壁, 其在小肠或大肠的 pH 下会溶解或分散, 以在肠中释放该药物物质。

[0029] 在另一实例中, 本文所述的黑豆产物是一种食品产物的组成份或食品添加物 (如, 营养补给或草药产物)。此等食品产物可以食品产业中任何标准或常用的方法制备。

[0030] 在不须进一步详尽阐述的情形下, 咸信熟习技艺者可根据上文的叙述而将本发明使用至其最完全的程度。因此, 下述的特定具体实例仅被视为说明, 且不得以任何方式限制本揭示内容的其它部分。所有本文所引述的刊物以其全文并入本文作为参考。

[0031] 实例 1: 黑豆产物的制备

[0032] 第一种的黑豆产物是借着以脱壳机使黑豆全豆脱壳, 并切碎成为小片, 以取得黑豆的种皮而制备 (BGSC)。

[0033] 第二种的黑豆产物是自黑豆全豆制备, 借着以 20L 含有 35% (v/v) 乙醇的水萃取 2kg 的黑豆全豆, 以取得 104.15g 的乙醇萃取物 (BG35E)。

[0034] 第三类型的黑豆产物是自黑豆的种皮制备, 借着以迷你脱壳机除去黑豆的种皮, 收集该种皮 (1.05kg 的量), 以含有 35% (v/v) 乙醇的水萃取所得的种皮, 以取得 117.25g 的粗制萃取物 (BGSC35E)。

[0035] 实例 2: 黑豆萃取物 (BG35E 及 BGSC35E) 对于 RPE 吞噬作用的效应

[0036] RPE 的制备

[0037] 自屠宰场在屠宰后的 2-3hr 内收集新鲜的牛眼。以碘酊消毒该等牛眼的表面, 接着以 PBS (磷酸缓冲盐水) 缓冲溶液清洗两次。在解剖该等牛眼并顺序切除水晶体、玻璃体、及视网膜后, 以 0.01% EDTA (乙二胺四醋酸, Sigma, USA) 处理该等经解剖的牛眼 40min, 接着以 5% 胰蛋白酶 (Merck, Germany) 处理 15min。接着, 在以圆头的镊子轻压该等眼并进行吸液数次后取得单一细胞的 RPE。将该经吸液处理的溶液置于含有 10% FCS (胎牛血清, GIBCO (Gaithersburg, USA)) 的 DMEM (杜氏改良伊氏培养基 (Dulbecco's Modified Eagle Media), Gibco (Gaithersburg, USA)) 中, 接着在具有含 5% CO₂ 湿润大气的培育箱中, 在 37°C 进行培育。每 5-6 天更换培养基一次, 直到该等细胞生长至铺满为止。以含有 0.05% 胰蛋白酶及 0.02% EDTA 的培养基对该等细胞进行次代培养。用于进行生物活性试验的主

要细胞是该等细胞的第五及第六代。

[0038] 视杆细胞外节 (ROS) 的制备

[0039] 在自屠宰场取得新鲜牛眼后,将其置于冰上并暴露在光下 30 分钟。以碘酊消毒该等牛眼的表面,接着以汉克氏 (Hank) 缓冲溶液清洗两次。在解剖该等牛眼并顺序切除水晶体及玻璃体后,取出视网膜并将其切碎成为小片,接着以含有 20% 蔗糖的 20mM Tris-HCl 进行处理。在 4℃ 下搅拌该细胞溶液 3hrs,接着分别以 300、220、110、74、53、及 10 筛目孔径大小的滤器 (Small Parts, Miami, USA) 进行过滤。在计算 ROS 的数目后,以每小瓶 1×10^8 个 ROS 的数目分装 ROS,并将该等小瓶贮存在 -20℃ 下。

[0040] 异硫氰酸荧光素-ROS (HTC-ROS) 的制备

[0041] 解冻贮存的 ROS 溶液,并除去悬浮液。将如此产生的溶液与 700 μ l 含有 10% 蔗糖的硼酸缓冲液 (pH 8.0) 混合,接着加入 1/1,000 ROS 重量的比例 的 FITC 粉末 (Invitrogen, USA)。在 4℃ 下搅拌该溶液 1.5hrs。以含有 20% 蔗糖的 20mM Tris-醋酸 (pH 7.2) 清洗来除去未连附于 ROS 上的未连结 FITC。接着以 10,000rpm 对该 ROS 溶液进行离心 10 分钟。重复上述的相关步骤数次,以取得 FITC-ROS 的沉淀物。最后,将该沉淀物溶于含有 2.5% 蔗糖的 DMEM 中。

[0042] 试验试管内的 RPE 吞噬能力

[0043] 将 RPE 设定为 1×10^4 细胞 / 毫升的浓度,并将其培育至含有 10% FCS 的 DMEM 的 96 孔试验盘中。在 48 小时的培育后,以含有 2% FCS 的 DMEM 置换培养基,接着在各孔中分别添加 0.1、1、10、或 100 μ g/ml 浓度的 20 μ l BG35E 或 BGSC35E。此外,在一孔中加入 10% FCS 作为阳性控制组,并使用一空白孔 (添加 2% FCS) 作为控制组。在一天的培育后,在各孔中加入 20 μ l 的 FITC-ROS 溶液,并进行培育 4 小时。在培育后,除去各孔的上清液以取得沉淀物。以 2.5% 蔗糖 /PBS 清洗各孔的沉淀物数次。接着,以细胞荧光测量仪 (Cyto-Fluorometer) (Ex 滤镜 :485/20nm, Em 滤镜 530/25nm) 计算总 (外部及内部) ROS。此外,加入 FluoroQuench Dye 除去外部连附的 FITC- 标记性 ROS,接着测定被吞噬的 ROS (摄入吞噬作用)。

[0044] 结果

[0045] 参见图 1A,相较于作为控制组的经 2% FCS 处理的 ROS-FITC,经 100 μ g/ml BG35E 处理的 ROS-FITC 的总吞噬指数较高,其为控制组的 1.25 倍。同时,相较于作为控制组的经 2% FCS 处理的 ROS-FITC,经 10 μ g/ml BG35E 处理的 ROS-FITC 的总吞噬指数较高,其为控制组的 1.5 倍。如图 1B 所示,相较于作为控制组的经 2% FCS 处理者,经 1 μ g/ml BG35E 处理的 ROS-FITC 的摄入吞噬指数较高,其为控制组的 1.24 倍。相较于作为控制组的经 2% FCS 处理者,经 0.1 μ g/ml BG35E 处理的 ROS-FITC 的摄入吞噬指数较高。

[0046] 参见图 2A,在将 ROS-FITC 与黑豆种皮萃取物 (BGSC35E) 共同进行培育时,发现类似的结果。相较于经 2% FCS 处理者,经 10 μ g/ml BGSC35E 处理的 ROS-FITC 的总吞噬指数较高,其为控制组的 1.37 倍。同时,相较于作为控制组的经 2% FCS 处理者,经 1 μ g/ml BGSC35E 处理的 ROS-FITC 的总吞噬指数较高,其为 1.55 倍。参见图 2B,相较于作为控制组的经 2% FCS 处理者,经 10 μ g/ml BGSC35E 处理的 ROS-FITC 的摄入吞噬指数较高,其为 1.26 倍,且相较于作为控制组的经 2% FCS 处理者,经 1 μ g/ml BGSC35E 处理的 ROS-FITC 的摄入吞噬指数较高,其为 1.55 倍。因此,在图 1 及 2 中发现,在与黑豆 (BG35E) 或黑豆种

皮萃取物 (BGSC35E) 共同进行培育后, RPE 的吞噬能力获得增强。

[0047] 实例 3: 黑豆萃取物 (BGSC35E) 在具有眼部缺陷小鼠模式中的效应

[0048] 小鼠视网膜电图 (electroretinogram, ERG) 模式

[0049] 将 10 周龄的 BALB/c 雄性小鼠随机分组为正常组 (健康小鼠)、控制组 (经光损伤而无 BGSC35E 处理)、经 10mg/kg 体重剂量 BGSC35E 处理的组 (BGSC35E 10mg/kg)、经 40mg/kg 体重剂量 BGSC35E 处理的组 (BGSC35E 40mg/kg)、或经 160mg/kg 体重剂量 BGSC35E 处理的组 (BGSC35E 160mg/kg)。各组含有五只小鼠, 并提供足够的饲料及水。将 BGSC35E 处理的第一天定义为第 0 天。在第 -1、1、7、13、及 19 天, 以 ERG 测量 a 波和 b 波的振幅。

[0050] 在第 -5 天, 选择对光正常反应的小鼠进行测试。在第 -1 天, 将小鼠置于黑暗中 24 小时。在以腹腔注射阿佛丁 (Avertin) (400mg/kg 体重) 麻醉后, 将该等小鼠置于保暖垫上以维持体温。瞳孔以 1% 塞可潘安 (cyclopentolate) 扩大, 并以 1% 爱尔卡因 (proparacaine) 麻醉。将一金线圈电极置于角膜上, 并将一金线差分电极置于各小鼠的舌上。将一参考电极连接于头上。使该等小鼠的眼暴露在 6Volt 的 LED 光下, 该光具有 500-575nm 的波长, 强度每 1msec 为 5,000lux。在正常条件及在光下暴露 2 小时后, 以 ERG 测量该等小鼠的 a 波和 b 波振幅并记录。

[0051] 结果

[0052] 参见图 3A, 发现经 40mg/kg 剂量 BGSC35E 处理的小鼠以及经 160mg/kg 剂量处理者具有恢复 a 波的能力。其发现, 经 40mg/kg 或 160mg/kg 剂量 BGSC35E 处理的小鼠在第 13 天的 a 波强度值相较于其本身在第 1 天者增加超过 50%。亦发现, 经 160mg/kg 剂量 BGSC35E 处理的小鼠在第 19 天的 a 波强度值相较于其本身在第 1 天者增加超过 50%。

[0053] 参见图 3B, 发现控制组以及经 40mg/kg 剂量 BGSC35E 处理的小鼠以及经 160mg/kg 剂量处理者具有恢复 b 波的能力。其发现, 控制组以及经 40mg/kg 或 160mg/kg 剂量 BGSC35E 处理的小鼠在第 13 及 19 天的 b 波强度值相较于其本身在第 1 天者有增加的情形。亦发现, 经 40mg/kg 剂量 BGSC35E 处理的小鼠在第 7 天的 b 波强度值相较于其本身在第 1 天者有显著性增加的情形 ($p < 0.001$)。由上述者可知, 经 BGSC35E 处理的小鼠具有恢复异常 ERG 组态的能力, 其指出 BGSC35E 可提供增进 RPE 功能的功效, 并可用于治疗眼部病况。

[0054] 实例 4: 黑豆种皮 (BGSC) 在具有眼部缺陷小鼠模式中的效应

[0055] 小鼠视网膜电图 (ERG) 模式

[0056] 将 10 周龄的 BALB/c 雄性小鼠随机分组为正常组 (健康小鼠)、控制组 (经光损伤而无 BGSC 处理)、经 80mg/kg 体重剂量 BGSC 处理的组 (BGSC 80mg/kg)、或经 250mg/kg 体重剂量 BGSC 处理的组 (BGSC 250mg/kg)。各组含有五只小鼠, 并提供足够的饲料及水。将 BGSC 处理的第一天定义为第 0 天。在第 -5、0、及 15 天, 以 ERG 测量 b 波的振幅。

[0057] 在第 -5 天, 选择对光正常反应的小鼠进行测试。在第 -1 天, 将小鼠置于黑暗中 24 小时。在以腹腔注射阿佛丁 (400mg/kg 体重) 麻醉后, 将该等小鼠置于保暖垫上以维持体温。瞳孔以 1% 塞可潘安扩大, 并以 1% 爱尔卡因麻醉。将一金线圈电极置于角膜上, 并将一金线差分电极置于各小鼠的舌上。将一参考电极连接于头上。使该等小鼠的眼暴露在 6Volt 的 LED 光下, 该光具有 500-575nm 的波长, 强度每 1msec 为 5,000lux。在正常条件及在暴露于光下 2 小时后, 以 ERG 测量该等小鼠的 b 波振幅并记录。

[0058] 根据相同操作流程, 试验经 40、160、或 640mg/kg 体重剂量 BGSC 处理的小鼠、正常

组、以及控制组。在第 -4、2、9、及 16 天,以 ERG 测量该等小鼠的 b 波振幅。

[0059] 结果

[0060] 参见图 4A,发现经 80mg/kg 剂量 BGSC 处理的小鼠以及经 250mg/kg 剂量处理者具有恢复 b 波的能力。其发现,经 80mg/kg 剂量 BGSC 处理的小鼠,在第 15 天的 b 波强度值相较于其本身在第 0 天者有显著性的增加 ($p < 0.05$)。

[0061] 参见图 4B,发现经 40mg/kg、160mg/kg、或 640mg/kg 剂量 BGSC 处理的小鼠具有恢复 b 波的能力。其发现,经 160mg/kg 或 640mg/kg 剂量 BGSC 处理小鼠在第 9 及 16 天的 b 波强度值相较于其本身在第 2 天者有增加的情形。由上述者可知,经 BGSC 处理的小鼠具有恢复异常 ERG 组态的能力,其指出 BGSC 可提供增进 RPE 功能的功效,并可用于治疗眼部病况。

[0062] 其它具体实例

[0063] 所有揭示于此说明书中的特征可以任何方式组合。各个揭示于此说明书中的特征可以另一提供相同、相当、或类似目的的替代手段取代。因此,除非另有明示,各例示的特征仅是一总括是列的相当或类似特征中的一例。

[0064] 由上文的叙述,所属技术领域的技术人员可轻易确认本发明的必要特征,且在不偏离本发明精神及范围的情形下,所属技术领域的技术人员可实施本发明的各种不同变化及修饰,以使其适用于各种用途及条件。因此,其它具体实例亦涵括于权利要求范围中。

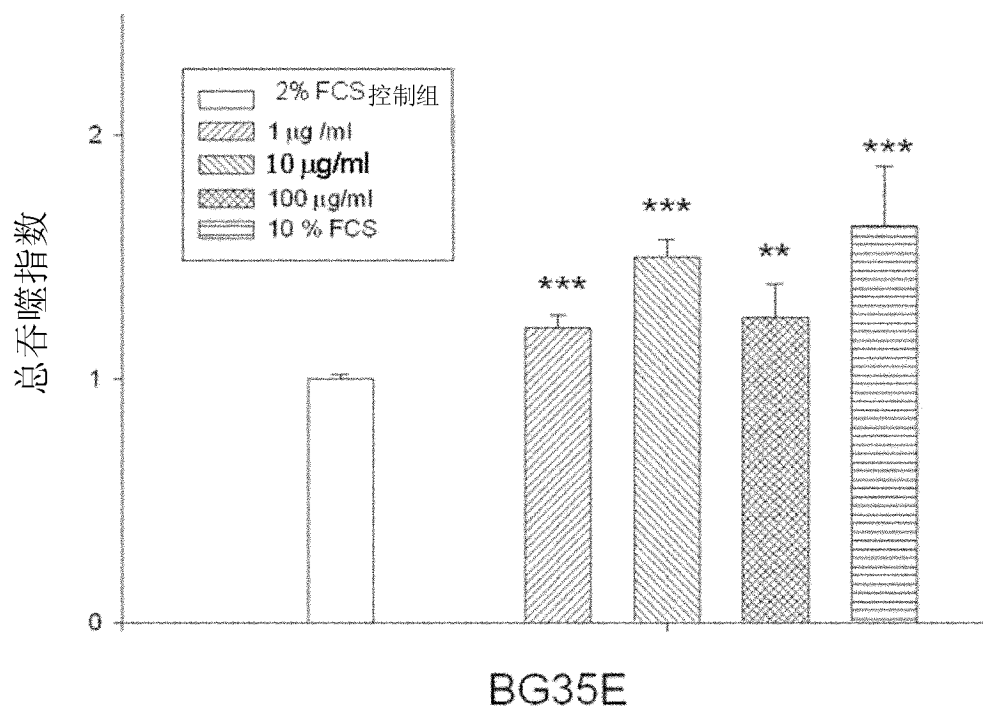


图 1A

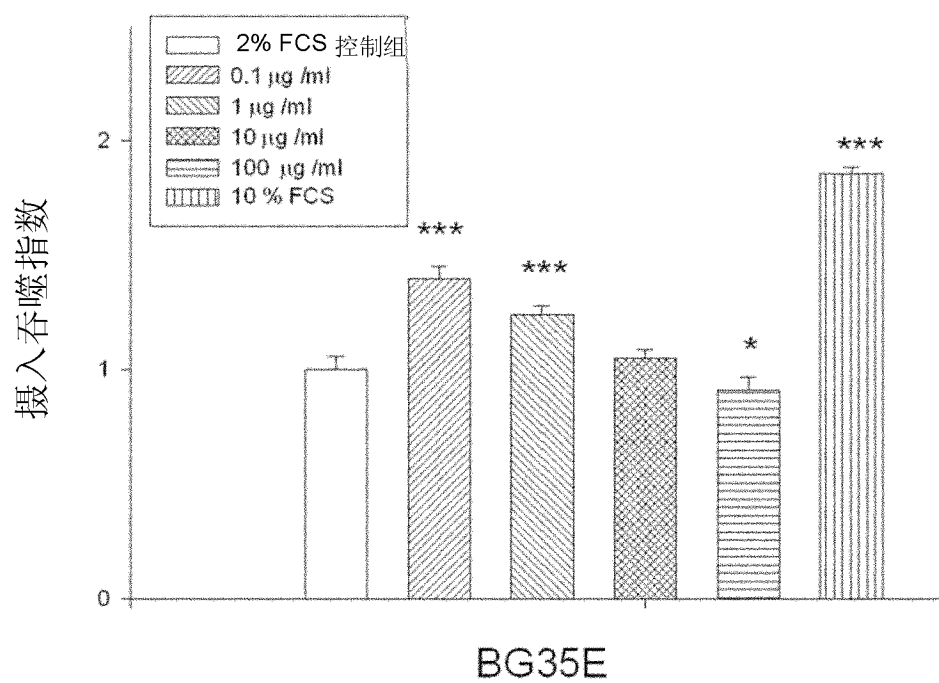


图 1B

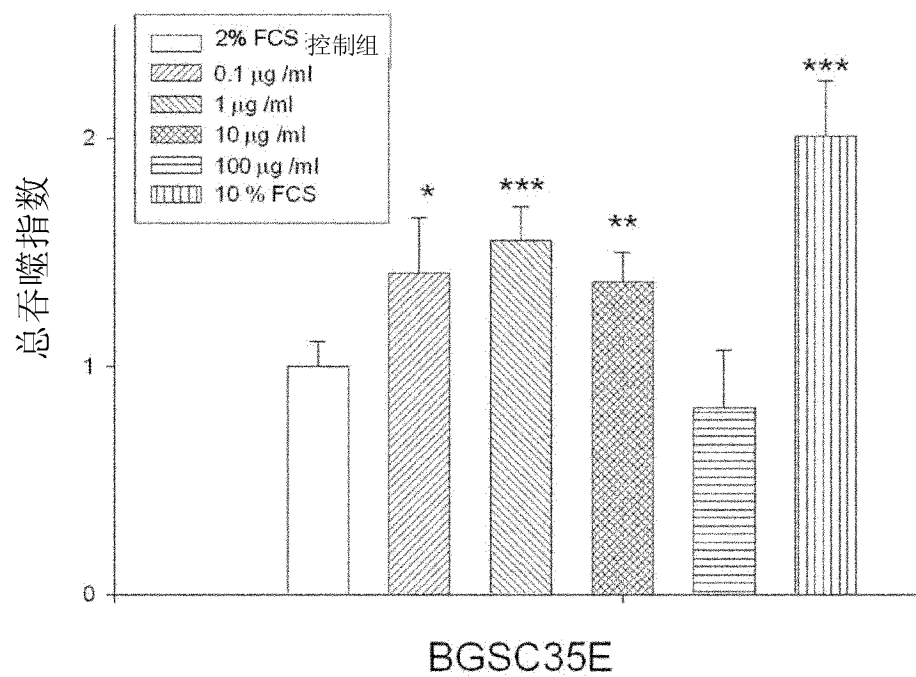


图 2A

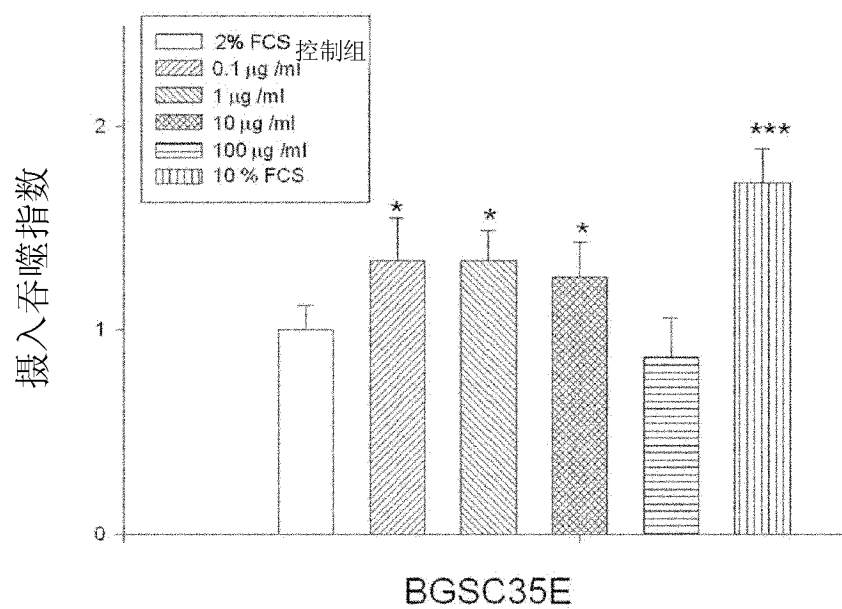


图 2B

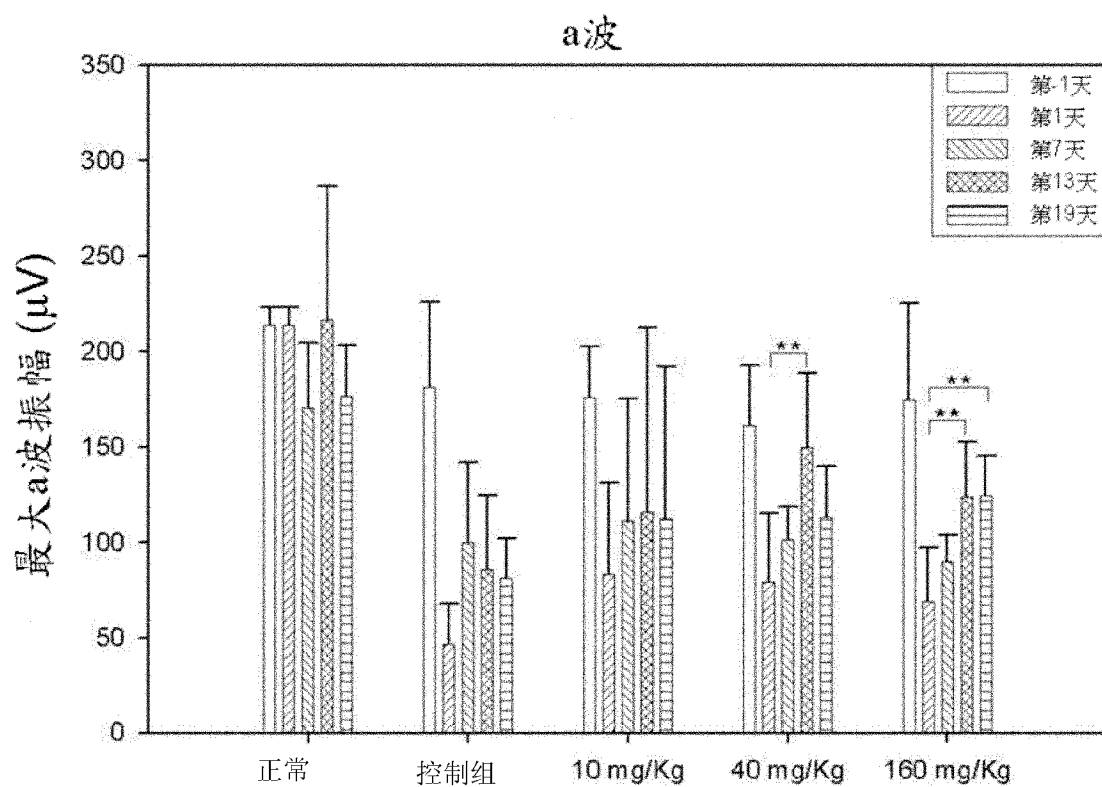


图 3A

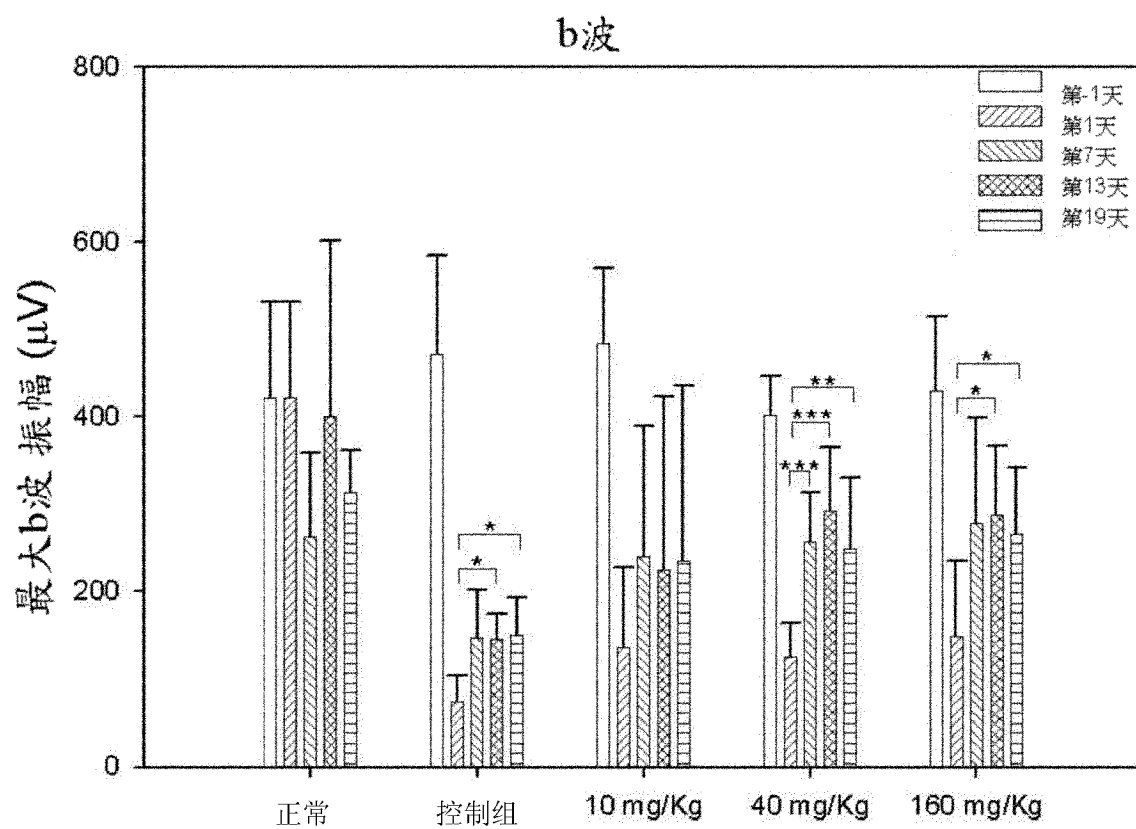


图 3B

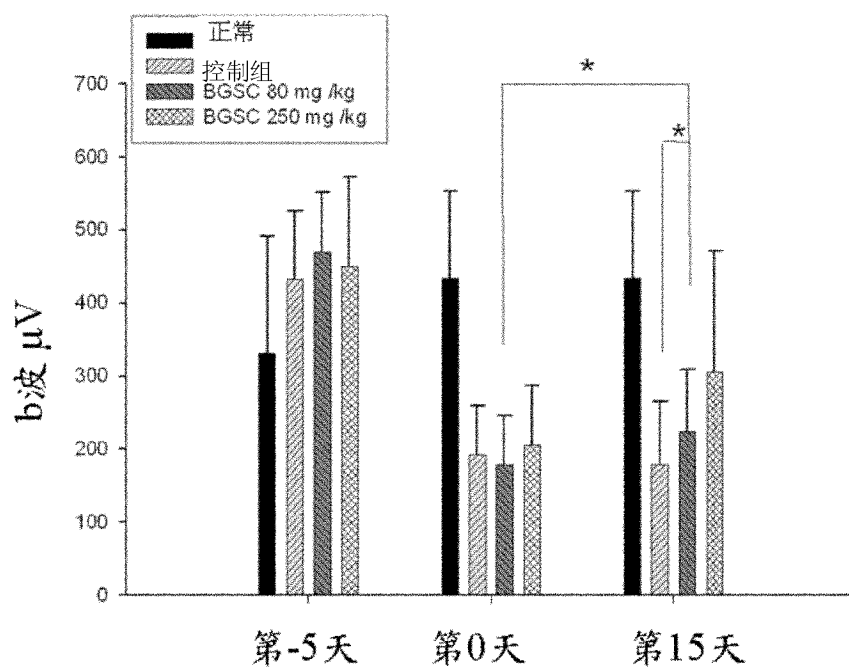


图 4A

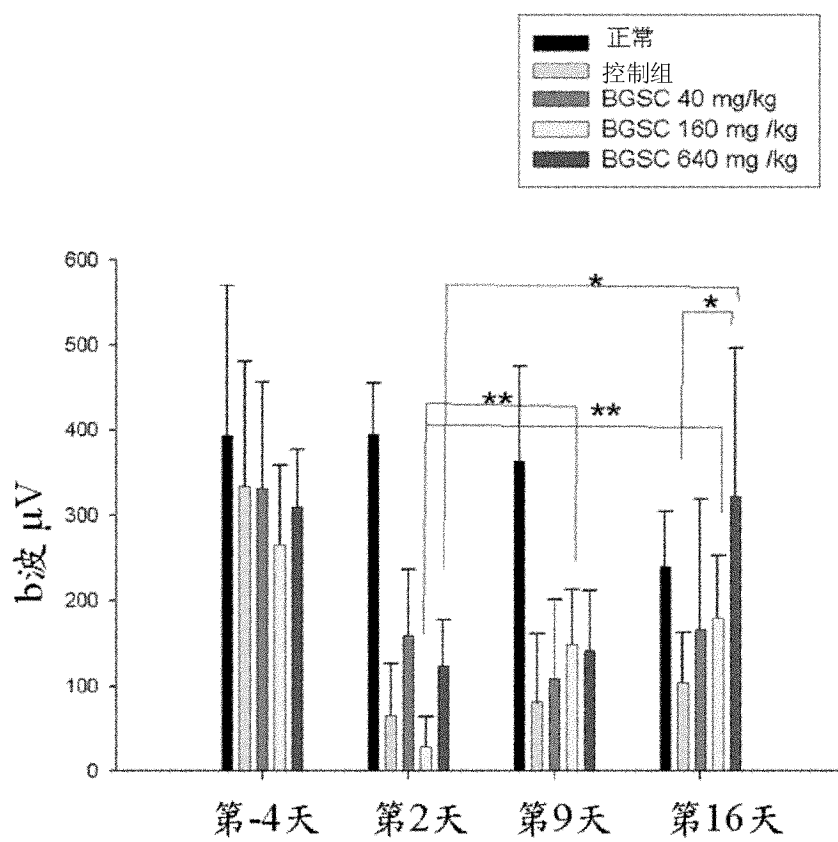


图 4B