



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 113164499 A

(43) 申请公布日 2021.07.23

(21) 申请号 201980081377.5

(74) 专利代理机构 北京市金杜律师事务所

(22) 申请日 2019.12.17

11256

(30) 优先权数据

2018-236717 2018.12.18 JP

代理人 杨宏军 焦成美

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2021.06.08

(51) Int.Cl.

A61K 31/575 (2006.01)

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/JP2019/049352 2019.12.17

A61P 27/02 (2006.01)

A61P 27/10 (2006.01)

A61K 9/06 (2006.01)

A61K 9/08 (2006.01)

(87) PCT国际申请的公布数据

W02020/129964 JA 2020.06.25

(71) 申请人 参天制药株式会社

地址 日本大阪府

(72) 发明人 加藤雅智 小田知子 木戸一貴

权利要求书1页 说明书18页

(54) 发明名称

含有熊去氧胆酸的老视的治疗或预防剂

(57) 摘要

本公开提供含有熊去氧胆酸或熊去氧胆酸的酰胺结合物、或它们的酯、或者它们的医药上允许的盐作为有效成分的老视等眼病的治疗或预防剂。

1. 老视的治疗或预防剂,其含有熊去氧胆酸或熊去氧胆酸的酰胺结合物、或它们的酯、或者它们的医药上允许的盐作为有效成分。
2. 伴随晶状体的弹性降低的眼病的治疗或预防剂,其含有熊去氧胆酸或熊去氧胆酸的酰胺结合物、或它们的酯、或者它们的医药上允许的盐作为有效成分。
3. 如权利要求2所述的治疗或预防剂,其中,该眼病是伴随眼的调节力降低的眼病。
4. 伴随眼的调节力降低的眼病的治疗或预防剂,其含有熊去氧胆酸或熊去氧胆酸的酰胺结合物、或它们的酯、或者它们的医药上允许的盐作为有效成分。
5. 如权利要求2~4中任一项所述的治疗或预防剂,其中,该眼病是老视。
6. 如权利要求1~5中任一项所述的治疗或预防剂,其被施予至眼。
7. 如权利要求1~6中任一项所述的治疗或预防剂,其为滴眼剂或眼软膏。
8. 如权利要求1~7中任一项所述的治疗或预防剂,其中,熊去氧胆酸或熊去氧胆酸的酰胺结合物、或它们的酯、或者它们的医药上允许的盐的含量为0.00001~10% (w/v)。
9. 如权利要求1~8中任一项所述的治疗或预防剂,其含有熊去氧胆酸、牛磺熊去氧胆酸、甘氨熊去氧胆酸、熊去氧胆酸甲酯、熊去氧胆酸乙酯、熊去氧胆酸正丙酯、熊去氧胆酸异丙酯、熊去氧胆酸正丁酯、熊去氧胆酸异丁酯、熊去氧胆酸仲丁酯、熊去氧胆酸叔丁酯、熊去氧胆酸正戊酯、熊去氧胆酸正己酯、或者它们的医药上允许的盐。
10. 如权利要求1~9中任一项所述的治疗或预防剂,其含有熊去氧胆酸、牛磺熊去氧胆酸、甘氨熊去氧胆酸、熊去氧胆酸甲酯、熊去氧胆酸乙酯、熊去氧胆酸正丙酯、熊去氧胆酸异丙酯、或者它们的医药上允许的盐。
11. 如权利要求1~10中任一项所述的治疗或预防剂,其含有熊去氧胆酸或其钠盐。
12. 如权利要求1~11中任一项所述的治疗或预防剂,其还含有水、以及从丙酮酸乙酯、磷酸氢钠一水合物、磷酸氢二钠、羟丙基甲基纤维素、NaCl、及其混合中选择的添加物。

## 含有熊去氧胆酸的老视的治疗或预防剂

### 技术领域

[0001] 本发明涉及含有熊去氧胆酸或熊去氧胆酸的酰胺结合物、或它们的酯、或者它们的医药上允许的盐作为有效成分的老视的治疗或预防剂。

### 背景技术

[0002] 老视是从40岁左右开始的眼睛的老化现象之一,也被俗称为老花眼,根据非专利文献1,定义为作为随着年龄增长而调节幅度减退的病态(Age-Related Loss of Accommodation)的疾病。为了看到近物、远物而进行对焦,进入眼睛的光通过晶状体时必须适当地折射,因此,眼睛具备使位于晶状体附近的睫状肌收缩等调节晶状体的厚度的功能。参与远近调节反应的眼球组织包括晶状体、睫状小带、晶状体囊以及睫状肌。但是,若因老化导致睫状肌的功能降低,或者晶状体的弹性(或粘弹性)降低,即晶状体发生硬化,则变得难以调节晶状体的厚度,在看物体时变得不能良好地对焦。该状态为老视。

[0003] 为了应对老视,迄今为止使用了老花镜,但是最近也有老视治疗剂的研究开发的报告。例如,在专利文献1中,公开了硫辛酸胆碱酯(又名EV06、UNR844)等硫辛酸衍生物对老视的治疗有用,含有硫辛酸胆碱酯的滴眼剂正在美国进行临床开发。除此之外,关于配合了AGN-199201和AGN-190584的滴眼剂、含有PRX-100的滴眼剂、以及含有PresbiDrops(CSF-1)的滴眼剂,也正在进行作为老视的治疗剂的临床开发。但是,老视患者的状态多种多样,为了可以与其对应地适当选择治疗剂,依然强烈期待眼病治疗剂的种类的增加。

[0004] 熊去氧胆酸是具有促进胆汁分泌的作用、抑制细胞因子・趋化因子产生的作用等的化合物,因此被用于肝病的治疗药(非专利文献2)。但是,并没有报告熊去氧胆酸和老视治疗的关系的文献。

[0005] 现有技术文献

[0006] 专利文献

[0007] 专利文献1:国际公开第2010/147957号说明书

[0008] 非专利文献1:新眼科(あたらしい眼科),Vol.28,No.7,985-988,2011

[0009] 非专利文献2:Urso(注册商标)片50mg、Urso(注册商标)片100mg附属文件

[0010] 在本说明书中引用的现有技术文献的公开内容全部通过参照而被援引到本说明书中。

### 发明内容

[0011] 发明要解决的课题

[0012] 发现老视的新治疗或预防手段是非常有兴趣的课题。

[0013] 用于解决课题的手段

[0014] 本申请的发明人为了解决上述课题而进行了深入研究,结果发现,熊去氧胆酸意外地显著提高晶状体的弹性,从而完成了本发明的发明。具体而言,本公开提供以下的发明方案。

- [0015] (1)老视的治疗或预防剂,其含有熊去氧胆酸或熊去氧胆酸的酰胺结合物、或它们的酯、或者它们的医药上允许的盐作为有效成分。
- [0016] (2)伴随晶状体的弹性降低的眼病的治疗或预防剂,其含有熊去氧胆酸或熊去氧胆酸的酰胺结合物、或它们的酯、或者它们的医药上允许的盐作为有效成分。
- [0017] (3)如(2)所述的治疗或预防剂,其中,该眼病是伴随眼的调节力降低的眼病。
- [0018] (4)伴随眼的调节力降低的眼病的治疗或预防剂,其含有熊去氧胆酸或熊去氧胆酸的酰胺结合物、或它们的酯、或者它们的医药上允许的盐作为有效成分。
- [0019] (5)如(2)~(4)中任一项所述的治疗或预防剂,其中,该眼病是老视。
- [0020] (6)如(1)~(5)中任一项所述的治疗或预防剂,其被施予至眼。
- [0021] (7)如(1)~(6)中任一项所述的治疗或预防剂,其为滴眼剂或眼软膏。
- [0022] (8)如(1)~(7)中任一项所述的治疗或预防剂,其中,熊去氧胆酸或熊去氧胆酸的酰胺结合物、或它们的酯、或者它们的医药上允许的盐的含量为0.00001~10% (w/v)。
- [0023] (9)如(1)~(8)中任一项所述的治疗或预防剂,其含有熊去氧胆酸、牛磺熊去氧胆酸、甘氨熊去氧胆酸、熊去氧胆酸甲酯、熊去氧胆酸乙酯、熊去氧胆酸正丙酯、熊去氧胆酸异丙酯、熊去氧胆酸正丁酯、熊去氧胆酸异丁酯、熊去氧胆酸仲丁酯、熊去氧胆酸叔丁酯、熊去氧胆酸正戊酯、熊去氧胆酸正己酯、或者它们的医药上允许的盐。
- [0024] (10)如(1)~(9)中任一项所述的治疗或预防剂,其含有熊去氧胆酸、牛磺熊去氧胆酸、甘氨熊去氧胆酸、熊去氧胆酸甲酯、熊去氧胆酸乙酯、熊去氧胆酸正丙酯、熊去氧胆酸异丙酯、或者它们的医药上允许的盐。
- [0025] (11)如(1)~(10)中任一项所述的治疗或预防剂,其含有熊去氧胆酸或其钠盐。
- [0026] (12)如(1)~(11)中任一项所述的治疗或预防剂,其进一步含有水、以及从丙酮酸乙酯、磷酸氢钠一水合物、磷酸氢二钠、羟丙基甲基纤维素、NaCl、及其混合中选择的添加剂。
- [0027] (13)熊去氧胆酸或熊去氧胆酸的酰胺结合物、或它们的酯、或者它们的医药上允许的盐在老视、伴随晶状体的弹性降低的眼病、或者伴随眼的调节力降低的眼病的治疗或预防剂的制造中的用途。
- [0028] (14)用于老视、伴随晶状体的弹性降低的眼病、或者伴随眼的调节力降低的眼病的治疗或预防中的用途的熊去氧胆酸或熊去氧胆酸的酰胺结合物、或它们的酯、或者它们的医药上允许的盐。
- [0029] (15)用于治疗或预防老视、伴随晶状体的弹性降低的眼病、或者伴随眼的调节力降低的眼病的方法,其包括对需要该治疗或预防的对象施予有效量的熊去氧胆酸或熊去氧胆酸的酰胺结合物、或它们的酯、或者它们的医药上允许的盐的步骤。
- [0030] 上述(1)~(15)的各构成可以任意选择2个以上来组合。
- [0031] 发明的效果
- [0032] 本公开的治疗或预防剂能够提高对晶状体的厚度调节而言重要的晶状体的弹性,因此,对于老视等眼病的治疗或预防有用。

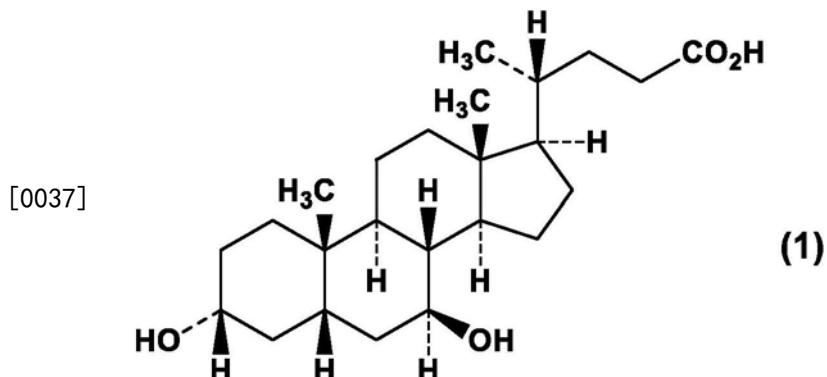
## 具体实施方式

- [0033] 以下对本发明的实施方式进行详细说明。

[0034] 本公开提供含有熊去氧胆酸或熊去氧胆酸的酰胺结合物、或它们的酯、或者它们的医药上允许的盐作为有效成分的老视的治疗或预防剂(以下有时也称为“本发明的药剂”)。本发明的药剂能用于提高晶状体的弹性。并且,本发明的药剂能用于提高眼的调节力。

[0035] 熊去氧胆酸是下述式(1)表示的化合物(CAS登记号:128-13-2),也被称为熊二醇、 $3\alpha,7\beta$ -二羟基- $5\beta$ -胆甾烷-24-酸( $3\alpha,7\beta$ -Dihydroxy- $5\beta$ -cholan-24-oic acid)。有时也简称为UDCA。

[0036] [化学式1]



[0038] 本发明的药剂中可含有的熊去氧胆酸的酰胺结合物是指熊去氧胆酸的羧基与氨基化合物的氨基进行脱水缩合而形成的具有-CO-NH-键的酰胺结合物。

[0039] 作为该氨基化合物的例子,可以举出:

[0040] 氨基酸:例如丙氨酸、亮氨酸、精氨酸、赖氨酸、天冬酰胺、甲硫氨酸、天冬氨酸、苯丙氨酸、半胱氨酸、谷氨酰胺、丝氨酸、谷氨酸、苏氨酸、甘氨酸、色氨酸、组氨酸、酪氨酸、异亮氨酸、以及缬氨酸;

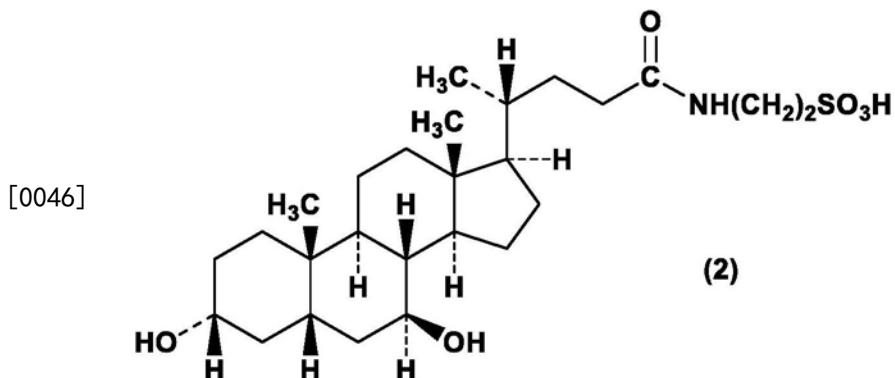
[0041] 2-氨基己二酸、3-氨基己二酸、2-氨基丁酸、4-氨基丁酸、2,4-二氨基丁酸、2-氨基己酸、6-氨基己酸、 $\beta$ -丙氨酸、2-氨基戊酸、2,3-二氨基丙酸、2-氨基庚二酸、2,6-二氨基庚二酸、磺基丙氨酸、2,4-二氨基丁酸、2,6-二氨基庚二酸、2,3-二氨基丙酸、4-羧基谷氨酸、高半胱氨酸、高丝氨酸、高丝氨酸内酯、高丝氨酸内酯、5-羟基赖氨酸、别羟赖氨酸、别异亮氨酸、正亮氨酸、正缬氨酸、鸟氨酸、别苏氨酸、甲状腺素;

[0042] 氨基酸类似物:例如牛磺酸。

[0043] 作为熊去氧胆酸的酰胺结合物的例子,可以列举出牛磺熊去氧胆酸和甘氨熊去氧胆酸。

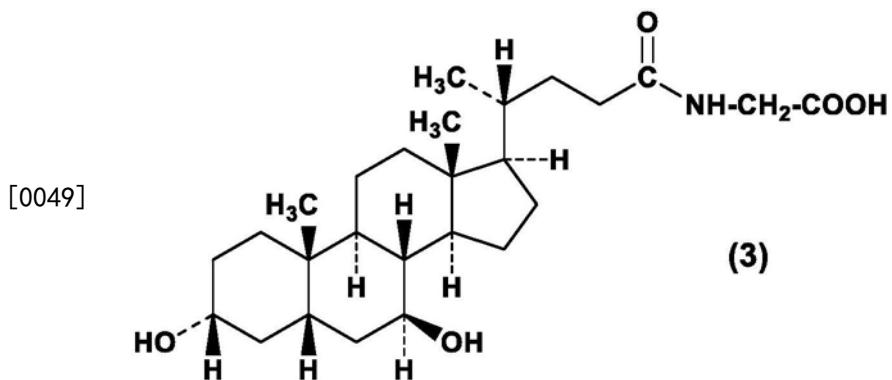
[0044] 牛磺熊去氧胆酸为下式(2)表示的化合物(CAS登记号:14605-22-2),也被称为 $3\alpha,7\beta$ -二羟基- $5\beta$ -胆甾烷-24-酸N-(2-磺基乙基)酰胺( $3\alpha,7\beta$ -Dihydroxy- $5\beta$ -cholan-24-oic Acid N-(2-Sulfoethyl) amide,有时也简称为TUDCA。

[0045] [化学式2]



[0047] 甘氨熊去氧胆酸为下述式(3)表示的化合物(CAS登记号:64480-66-6,也被称为N-(3 $\alpha$ ,7 $\beta$ -二羟基-5 $\beta$ -胆甾烷-24-酸)甘氨酸(N-(3 $\alpha$ ,7 $\beta$ -Dihydroxy-5 $\beta$ -cholan-24-oyl)glycine),有时也简称为GUDCA。

[0048] [化学式3]



[0050] 作为本发明的药剂中可含有的熊去氧胆酸的酯,例如可以列举熊去氧胆酸的羧基与碳原子数1~6(优选碳原子数1~4、更优选碳原子数1~3)的一元醇进行脱水缩合而形成的酯。

[0051] 作为本发明的药剂中可含有的熊去氧胆酸的酰胺结合物的酯,例如,在该氨基化合物部分具有羧基及/或磺酸基的情况下,可以举出该羧基及/或该磺酸基与碳原子数1~6(优选碳原子数1~4、更优选碳原子数1~3)的一元醇进行脱水缩合而形成的酯。

[0052] 作为具体的熊去氧胆酸或熊去氧胆酸的酰胺结合物的酯的例子,可以举出甲酯、乙酯、正丙酯、异丙酯、正丁酯、异丁酯、仲丁酯、叔丁酯、正戊酯或正己酯。作为优选的酯的例子,可以举出甲酯、乙酯、正丙酯、异丙酯。

[0053] 另外,作为其他例子,可以列举使熊去氧胆酸或熊去氧胆酸的酰胺结合物的至少的一个羟基与碳原子数1~6(优选碳原子数1~4、更优选碳原子数2~3)的羧酸进行脱水缩合而形成的羧酸酯。作为具体的羧酸酯的例子,可举出甲酸酯、乙酸酯、丙酸酯、异丙酸酯、丁酸酯、异丁酸酯、特戊酸酯、戊酸酯、或异戊酸酯。作为优选的羧酸酯的例子,可以举出乙酸酯。

[0054] 本发明的药剂中可含有的熊去氧胆酸的盐、熊去氧胆酸的酰胺结合物的盐、熊去氧胆酸的酯的盐、以及熊去氧胆酸的酰胺结合物的酯的盐,只要是医药上允许的盐即可,没有特别限制。例如可以列举出盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、硝酸盐、硫酸盐、磷酸盐等无机酸盐;乙酸盐、三氟乙酸盐、苯甲酸盐、草酸盐、丙二酸盐、琥珀酸盐、马来酸盐、富马酸盐、酒

石酸盐、柠檬酸盐、甲磺酸盐、乙磺酸盐、三氟甲磺酸盐、苯磺酸盐、对甲苯磺酸盐、谷氨酸盐、天冬氨酸盐等有机酸盐；钠盐、钾盐、钙盐、镁盐等金属盐；铵盐等无机盐；以及三乙胺盐、胍盐等有机胺盐等，可以优选举出钠盐、钾盐。

[0055] 本发明的药剂中，熊去氧胆酸或熊去氧胆酸的酰胺结合物、或它们的酯、或者它们的医药上允许的盐可以采用水合物或溶剂合物的形态。

[0056] 本发明的药剂中的熊去氧胆酸或熊去氧胆酸的酰胺的结合物、或它们的酯、或者它们的医药上允许的盐的含量没有特别限制，可以根据施予方式等从宽范围中选择。

[0057] 例如，本发明的药剂中的熊去氧胆酸或熊去氧胆酸的酰胺结合物、或它们的酯、或者它们的医药上允许的盐的含量为0.00001～10% (w/v)，优选为0.0001～5% (w/v)，更优选为0.001～3% (w/v)，进一步优选为0.01～2% (w/v)，特别优选为0.15～1.5% (w/v)。作为该含量的下限值的例子，可以举出0.00001% (w/v)，作为优选的例子，可以举出0.0001% (w/v)，作为更优选的例子，可以举出0.001% (w/v)，作为进一步优选的例子，可以举出0.01% (w/v)，作为特别优选的例子，可以举出0.1% (w/v)，作为进一步特别优选的例子，可以举出0.15% (w/v)。作为该含量的上限值的例子，可以举出10% (w/v)，作为优选的例子，可以举出5% (w/v)，作为更优选的例子，可以举出3% (w/v)，作为特别优选的例子，可以举出2% (w/v)，作为进一步特别优选的例子，可以举出1.5% (w/v)。该含量的优选范围可以通过上述的下限值的例子和上限值的例子的组合来表示。

[0058] 进而，例如，本发明的药剂中的熊去氧胆酸或熊去氧胆酸的酰胺结合物、或它们的酯、或者它们的医药上允许的盐的含量为0.00001～10% (w/w)，优选为0.0001～5% (w/w)，更优选为0.001～3% (w/w)，进一步优选为0.01～2% (w/w)，特别优选为0.15～1.5% (w/w)。作为该含量的下限值的例子，可以举出0.00001% (w/w)，作为优选的例子，可以举出0.0001% (w/w)，作为更优选的例子，可以举出0.001% (w/w)，作为进一步优选的例子，可以举出0.01% (w/w)，作为特别优选的例子，可以举出0.1% (w/w)，作为进一步特别优选的例子，可以举出0.15% (w/w)。作为该含量的上限值的例子，可以举出10% (w/w)，作为优选的例子，可以举出5% (w/w)，作为更优选的例子，可以举出3% (w/w)，作为特别优选的例子，可以举出2% (w/w)，作为进一步特别优选的例子，可以举出1.5% (w/w)。该含量的优选范围可以通过上述的下限值的例子和上限值的例子的组合来表示。

[0059] 在一个实施方式中，本发明的药剂中的熊去氧胆酸或熊去氧胆酸的酰胺结合物、或它们的酯、或者它们的医药上允许的盐的含量可以是0.3～10% (w/w) (例如0.4～5% (w/w)、0.5～3% (w/w)、0.6～1.5% (w/w)、0.8～1.3% (w/w))。

[0060] 在本公开中，“% (w/v)”是药剂100mL中含有的有效成分(熊去氧胆酸和熊去氧胆酸的酰胺结合物、及它们的酯、以及它们的医药上允许的盐)、添加物(表面活性剂等)的质量(g)。例如，所谓熊去氧胆酸0.01% (w/v)，是指药剂100mL中所含的熊去氧胆酸为0.01g。

[0061] 在本公开中，“% (w/w)”是药剂100g中含有的有效成分(熊去氧胆酸和熊去氧胆酸的酰胺结合物、以及它们的酯、以及它们的医药上允许的盐)、添加物(表面活性剂等)的质量(g)。例如，所谓熊去氧胆酸0.01% (w/w)，是指药剂100g中所含的熊去氧胆酸为0.01g。

[0062] 在熊去氧胆酸、熊去氧胆酸的酰胺结合物、熊去氧胆酸的酯、或者熊去氧胆酸的酰胺结合物的酯为盐或者水合物或溶剂合物(包含盐的水合物或溶剂合物)的形态时，药剂中的熊去氧胆酸或熊去氧胆酸的酰胺结合物、或它们的酯、或者它们的医药上允许的盐的含

量,可以是在药剂中配合的该盐或者水合物或溶剂合物(包含盐的水合物或溶剂合物)的质量,也可以是换算成熊去氧胆酸、熊去氧胆酸的酰胺结合物、或者它们的酯的游离体的质量,优选换算成熊去氧胆酸、熊去氧胆酸的酰胺结合物、或者它们的酯的游离体的质量。

[0063] 在本公开中,所谓“老视”,是指基于医生或专家所使用的通常的基准而判断为老视的症状/疾病。例如,作为老视的诊断基准,可列举:“在双眼检查中具有近看视力降低作为自觉症状,并且在双眼生活视力(在与日常生活相同的条件下测定的双眼远看视力)下,40cm视力低于0.4”(临床老视)及/或“与自觉症状的有无无关,单眼完全矫正下(单眼的矫正视力(小数视力)为1.0以上)、调节力低于2.5屈光度(医学老视)”。其中,在不具有眼调节测量仪(accommodometer)等的情况下,作为简便法,可以使用40cm视力低于0.4。

[0064] 在本公开中,所谓“伴随晶状体的弹性降低的眼病”在眼科领域中是指认为伴随晶状体的弹性降低的眼病,例如可以列举:老视(例如因年龄增长而导致的老视)及因药剂等诱发的晶状体硬化。

[0065] 在本公开中,所谓“眼的调节力”,是指在远看时及/或近看时自动地对焦的眼的功能。“伴随眼的调节力降低的眼病”在眼科领域中是指认为伴随眼的调节力降低的眼病,例如可以举出:老视(例如因年龄增长而导致的老视)、因药剂等诱发的晶状体硬化、及因长时间的近距离观看所诱发的调节力降低。

[0066] 本发明的药剂的效果例如可以作为“眼的调节力”的提高来进行评价。

[0067] 眼的调节力可以作为屈光度(D)进行测定,通过下式(1)求出。

[0068] 屈光度(D)=1/近点距离(m) (式1)

[0069] 通常,眼的调节力在10岁时为10屈光度以上,但其后逐渐降低,在约45岁时降低到约3屈光度,在约60岁时几乎消失。如果降低到约3屈光度,则在日常生活中在近距离(约30cm)变得难以对焦,因而出现老视的自觉症状。

[0070] 本发明的药剂的效果例如可以作为“视力”的提高进行评价。

[0071] 视力可作为近看视力(裸眼、远看矫正下、矫正)进行测定,能够由小数视力、分数视力、logMAR求出。

[0072] 通常,近看视力规定为约40cm,若降低至低于0.4时,则在看近处物体时造成困难,出现老视的自觉症状。本发明的药剂可以用于改善近看视力(例如远看矫正下近看视力)。

[0073] 本发明的药剂可在处置后、1年以内、优选6个月以内、更优选1个月以内、进一步优选1周以内、最优选1天以内发挥效果。另外,一旦发挥效果后,可持续发挥效果至1天后、优选1周后、更优选1个月后、进一步优选6个月后、特别优选1年后、最优选3年后。

[0074] 本发明的药剂例如可以使眼的调节力增加至少约0.5屈光度(优选至少约1屈光度、较优选至少约1.5屈光度、更优选至少约2屈光度、进一步优选至少约3屈光度、更进一步优选至少约4屈光度、特别优选至少约5屈光度、进一步特别优选至少约10屈光度)的方式进行施予。

[0075] 本发明的药剂例如可以使远看矫正下近看视力(distance-corrected near visual acuities (DCNVA))改善至少0.5logMAR左右(优选至少1.0logMAR左右,较优选至少1.5logMAR左右,更优选2.0logMAR左右,进一步优选3.0logMAR左右,更进一步优选4.0logMAR左右,特别优选5.0logMAR,进一步特别优选6.0logMAR左右)的方式进行施予。远看矫正下近看视力是指,通常将远看视力矫正为≤0.01logMAR(小数视力1.0以上)而测定的

近看视力。

[0076] 对于本发明的药剂例如可以以使眼的调节力恢复至至少约0.5屈光度(优选至少约1屈光度、较优选至少约1.5屈光度、更优选至少约2屈光度、进一步优选至少约3屈光度、更进一步优选至少约4屈光度、特别优选至少约5屈光度、进一步特别优选至少约10屈光度)的方式进行施予。

[0077] 本发明的药剂例如可以以使远看矫正下近看视力(distance-corrected near visual acuities(DCNVA)恢复至至少0.5logMAR左右(优选至少1.0logMAR左右、较优选至少1.5logMAR左右、更优选2.0logMAR左右、进一步优选3.0logMAR左右、更进一步优选4.0logMAR左右、特别优选5.0logMAR左右、进一步特别优选6.0logMAR左右)的方式进行施予。

[0078] 在本公开中,老视的治疗或预防包括提高晶状体的弹性、改善晶状体的厚度的调节功能、及/或改善眼的调节力。

[0079] 如上所述,虽然通常出现老视的自觉症状为约45岁,但因年龄增长而导致的眼的调节力降低从十几岁开始就进行。本发明的药剂可以在出现老视的自觉症状后使用,也可以在出现老视的自觉症状之前为了防止及/或延缓老视的进行而使用。

[0080] 本发明的药剂的施予对象为包含牛和猪等家畜、兔、猴、狗、猫以及人类的哺乳类,优选为人类。

[0081] 在本公开中,“治疗”和“预防”除了治疗疾病以及预防疾病之外,还可以包含缓和疾病的症状、延缓疾病的进展、抑制疾病的症状、以及诱发疾病的症状的改善。

[0082] 本发明的药剂的施予途径可以是经口,也可以是非经口(例如眼、鼻、皮肤、粘膜、注射等)。本发明的药剂可将有效成分与例如1种以上的医药上允许的添加物进行混合,利用该技术领域的通常的方法制备为例如片剂、胶囊剂、颗粒剂、散剂、锭剂(troche)、糖浆剂、乳剂、悬浮剂等经口剂、或者滴眼剂、眼软膏、注射剂、栓剂、经鼻剂等非经口剂的形态。从本发明的药剂的效果更优异的观点出发,作为本发明的药剂的优选的剂型,可以列举出滴眼剂(例如悬浮剂的滴眼剂)和眼软膏。

[0083] 本发明的药剂中可含有的医药上允许的添加物并没有特别限定,可以根据施予途径、剂型等适当选择。作为该医药上允许的添加物的例子,例如可以举出表面活性剂、缓冲剂、等渗剂、稳定剂、防腐剂、抗氧化剂、增稠剂、增溶剂、悬浮剂、基质、溶剂、pH调节剂、赋形剂、崩解剂、结合剂、流化剂、润滑剂、保存剂、抗氧化剂、着色剂、甜味剂等。

[0084] 在本发明的药剂是滴眼剂的情况下,作为可使用的添加物的例子,可以举出表面活性剂、缓冲剂、等渗剂、稳定剂、防腐剂、抗氧化剂、增稠剂、溶剂、pH调节剂等。

[0085] 作为表面活性剂的例子,可以举出阳离子性表面活性剂、阴离子性表面活性剂、非离子性表面活性剂等。

[0086] 在本发明的药剂中配合表面活性剂的情况下表面活性剂的含量可以根据表面活性剂的种类等适当调整,例如优选为0.01~1% (w/v)。

[0087] 作为缓冲剂的例子,可以举出磷酸或其盐等,也可以是它们的水合物或溶剂合物。

[0088] 作为磷酸或其盐,可以举出磷酸、磷酸三钠、磷酸二氢钠、磷酸氢钠(磷酸氢二钠)等,也可以是它们的水合物。

[0089] 在本发明的药剂中配合缓冲剂时的缓冲剂的含量可以根据缓冲剂的种类等适当

调整,例如优选0.001~10% (w/v),更优选0.01~5% (w/v)。也可以将两种以上的缓冲剂一起使用。

[0090] 作为等渗剂的例子,可以举出离子性等渗剂、非离子性等渗剂等。作为离子性等渗剂,可以举出氯化钠等。

[0091] 在本发明的药剂中配合等渗剂的情况下等渗剂的含量可以根据等渗剂的种类等适当调整,例如优选0.001~10% (w/v),更优选0.01%~5% (w/v)。

[0092] 作为增稠剂的例子,可以举出羟丙基甲基纤维素等。

[0093] 在本发明的药剂中配合增稠剂时的增稠剂的含量可以根据增稠剂的种类等适当调整,例如优选0.001~5% (w/v),更优选0.01%~3% (w/v)。

[0094] 在本发明的药剂为水性制剂(例如滴眼剂)的情况下,其pH优选为4~8,更优选为5~7。

[0095] 作为溶剂的例子,例如可以举出水、生理盐水等。

[0096] 作为本发明的药剂为水性制剂(例如滴眼剂)的情况的例子,可以举出含有熊去氧胆酸或熊去氧胆酸的酰胺结合物、或它们的酯、或者它们的医药上允许的盐、水、以及从丙酮酸乙酯、磷酸氢钠一水合物( $\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{H}_2\text{O}$ )、磷酸氢二钠( $\text{Na}_2\text{HPo}_4$ )、羟丙基甲基纤维素、 $\text{NaCl}$ 、及其混合中选择的添加物的水性制剂。上述“其混合”是指该示例的特定的添加物的任意组合。

[0097] 在本申请中,“有效量”是为了提供疾病症状中的患者利益所需要的有效成分的量。

[0098] 本发明的药剂的用法·用量只要足以发挥所希望的药效的用法·用量即可,没有特别限制,可以根据疾病的症状、患者的年龄、体重、药剂的剂型等适当选择。

[0099] 例如,在滴眼剂的情况下,可以按照1次量1~5滴、优选为1~3滴、更优选为1~2滴、特别优选1滴,并按照1天1~4次、优选为1天1~3次、更优选为1天1~2次、特别优选为1天1次,每天~每1周进行滴眼施予。此处,1滴通常为约0.01~约0.1mL,优选为约0.015~约0.07mL,更优选为约0.02~约0.05mL,特别优选为约0.03mL。

[0100] 在一个实施方式中,本发明的药剂可对老视、伴随晶状体的弹性降低的眼病、或伴随眼的调节力降低的眼病(例如与EV06相比)为速效性。本发明的药剂的施予时间可以由医生或专家决定,在一个实施方式中,本发明的药剂是滴眼剂(例如悬浮剂)和眼软膏等眼施予剂,且可连续使用至少2天、至少3天、至少7天、至少10天。在一个实施方式中,本发明的药剂可以1天施予至少1次(例如至少2次、至少3次)。

[0101] 在一个实施方式中,本发明的药剂在施予至眼时具有针对老视、伴随晶状体的弹性降低的眼病、或伴随眼的调节力降低的眼病的效果,并且还可以是低眼刺激性。

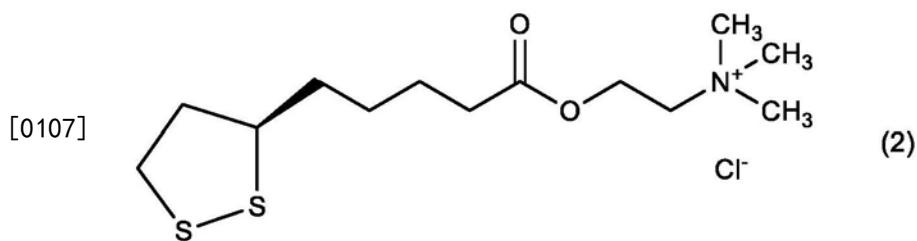
[0102] 实施例

[0103] 以下示出药理试验的结果,但这些结果是为了更好地理解本发明,并不限定本发明的范围。

[0104] [药理试验1]

[0105] 确认到由硫辛酸胆碱酯(EV06)对晶状体的弹性的作用。参考Investophthalmol Vis Sci、57、2851-2863、2016中记载的方法进行评价试验。EV06为下式(2)表示的化合物。

[0106] [化学式4]



[0108] (受试试样的制备)

[0109] 1) 基质的制备

[0110] 制备含有0.1% (w/v) 丙酮酸乙酯、0.269% (w/v) 磷酸氢钠一水合物 ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ )、0.433% (w/v) 磷酸氢二钠 ( $\text{Na}_2\text{HPo}_4$ )、0.2% (w/v) 羟丙基甲基纤维素、0.5% (w/v)  $\text{NaCl}$  的基质。

[0111] 2) EV06试样的制备

[0112] 在EV06中加入基质并进行超声波处理,制备5% (w/v) 的悬浮液。将制备的5% (w/v) 悬浮液用基质进行稀释,制备1.5% (w/v) 溶液。进一步,将制备的1.5% (w/v) 溶液用基质进行稀释,制备0.5% (w/v) 溶液。分别于使用时制备1天的量。

[0113] (试验方法)

[0114] 1) 针对8个月龄的C57BL/6J小鼠,将各受试试样以1天3次(以9:00、13:00、17:00为标准)、15~17天、2.5 $\mu\text{L}$ /眼,使用自动移液器对右眼进行滴眼。

[0115] 2) 在最终滴眼后,使小鼠吸入二氧化碳而使其安乐死,摘出眼球,利用Hank' s平衡盐溶液 (HBSS) 进行冲洗。

[0116] 3) 用剃刀将视神经附近的巩膜切开,从切开部摘出晶状体,将摘出的晶状体浸泡在HBSS中。

[0117] 4) 将晶状体放置于载玻片上,使用一体化荧光显微镜BZ-9000 (KEYENCE) 来获取晶状体的图像(图像a)。

[0118] 5) 接着,在晶状体上放置1片盖玻片 (Corning<sup>注册商标</sup> 22×22mm见方),同样地获取晶状体的厚度因重量发生变动的图像(图像b)。

[0119] 6) 从图像b的晶状体直径减去图像a的晶状体直径,由下述计算式1算出晶状体直径的变化量。然后,由下述计算式2算出与基质组相比较的各试样组的晶状体弹性提高量。另外,关于平均值,基质组为6例的平均,各EV06试样组为12例的平均。

[0120] (计算式1)

[0121] 晶状体直径的变化量=各受试试样的图像b的晶状体直径-各受试试样的图像a的晶状体直径(计算式2)

[0122] 各试样组的晶状体弹性提高量=各EV06试样组的晶状体直径的变化量的平均值-基质组的晶状体直径的变化量的平均值(结果)

[0123] 将结果示于表1。

[0124] [表1]

[0125]

	晶状体弹性提高量 ( $\mu\text{m}$ )
0.5%EV06试样	28.8
1.5%EV06试样	47.3

5%EV06试样	48.7
----------	------

[0126] 由表1可知, EV06试样组在0.5%、1.5%、5%的任一者中,与基质组相比,均使晶状体直径增加,确认到EV06显示弹性提高作用。

[0127] [药理试验2]

[0128] 研究熊去氧胆酸钠对晶状体的弹性的作用。

[0129] (受试试样的制备)

[0130] 1) 基质的制备

[0131] 制备含有0.1% (w/v) 丙酮酸乙酯、0.269% (w/v) 磷酸氢钠一水合物 ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ )、0.433% (w/v) 磷酸氢二钠 ( $\text{Na}_2\text{HPo}_4$ )、0.2% (w/v) 羟丙基甲基纤维素、0.5% (w/v)  $\text{NaCl}$  的基质。

[0132] 2) 熊去氧胆酸钠试样的制备

[0133] 将基质加入到熊去氧胆酸钠中进行超声波处理,制备1.5% (w/v) 的悬浮液。将所制备的1.5% (w/v) 的悬浮液用基质稀释,制备0.5% (w/v) 悬浮液。然后,将制备的0.5% (w/v) 悬浮液用基质稀释,制备0.15% (w/v) 悬浮液。分别于使用时制备1天的量。

[0134] 3) EV06试样的制备

[0135] 在EV06中加入基质进行超声波处理,制备1.5% (w/v) 溶液(于使用时制备1天的量)。

[0136] (试验方法)

[0137] 1) 针对8个月龄的C57BL/6J小鼠,将各受试试样以1天3次(以9:00、13:00、17:00为标准)、12~15天、2.5 $\mu\text{L}$ /眼,使用自动移液器对右眼进行滴眼。

[0138] 2) 最终滴眼后,使小鼠吸入二氧化碳而使其安乐死,摘出眼球,用Hank' s平衡盐溶液(HBSS)进行冲洗。

[0139] 3) 用剃刀切开视神经附近的巩膜,从切开部摘出晶状体,将摘出的晶状体浸泡在HBSS中。

[0140] 4) 将晶状体放置于载玻片上,使用一体化荧光显微镜BZ-9000 (KEYENCE) 获取晶状体的图像(图像a)。

[0141] 5) 接着,在晶状体上载置1片盖玻片(Corning<sup>注册商标</sup> 22×22mm见方),同样地获取晶状体的厚度因重量而发生变动的图像(图像b)。

[0142] 6) 从图像b的晶状体直径减去图像a的晶状体直径,由下述计算式1算出晶状体直径的变化量。然后,由下述计算式2算出与基质组相比的各试样组的晶状体弹性提高量。需要说明的是,关于平均值,基质组为5例的平均,各熊去氧胆酸钠试样组和EV06试样组为10例的平均。

[0143] (计算式1)

[0144] 晶状体直径的变化量=各受试试样的图像b的晶状体直径-各受试试样的图像a的晶状体直径(计算式2)

[0145] 各试样组的晶状体弹性提高量=各受试试样组的晶状体直径的变化量的平均值-基质组的晶状体直径的变化量的平均值(结果)

[0146] 结果示于表2。

[0147] [表2]

[0148]

	晶状体弹性提高量(μm)
0.15%熊去氧胆酸钠试样	26.5
0.5%熊去氧胆酸钠试样	34.8
1.5%熊去氧胆酸钠试样	44.7
1.5%EV06试样	38.2

[0149] 由表2可知,熊去氧胆酸钠试样组在0.15%、0.5%、1.5%的任何一者中,均显示较强的晶状体弹性改善作用,在1.5%中显示比相同浓度的EV06强的晶状体弹性提高作用。

[0150] [药理试验3]

[0151] 研究熊去氧胆酸(游离体)对晶状体的弹性的作用。

[0152] (受试试样的制备)

[0153] 1)基质的制备

[0154] 制备含有0.1% (w/v) 丙酮酸乙酯、0.269% (w/v) 磷酸氢钠一水合物( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ )、0.433% (w/v) 磷酸氢二钠( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ )、0.2% (w/v) 羟丙基甲基纤维素、0.5% (w/v)  $\text{NaCl}$ 的基质。

[0155] 2)熊去氧胆酸试样的制备

[0156] 将基质加入到熊去氧胆酸中进行超声波处理,制备1.5% (w/v) 的悬浮液。将制备的1.5% (w/v) 悬浮液用基质稀释,制备0.5% (w/v) 悬浮液。然后,将制备的0.5% (w/v) 悬浮液用基质稀释,制备0.15% (w/v) 悬浮液。分别于使用时制备1天的量。

[0157] 3)EV06试样的制备

[0158] 在EV06中加入基质,进行超声波处理,制备1.5% (w/v) 溶液(于使用时制备1天的量)。

[0159] (试验方法)

[0160] 1)针对8个月龄的C57BL/6J小鼠,将各受试试样以1天3次(以9:00、13:00、17:00为标准)、12~15天、2.5 $\mu\text{L}$ /眼,使用自动移液器对右眼进行滴眼。

[0161] 2)最终滴眼后,使小鼠吸入二氧化碳使其安乐死,摘出眼球,用Hank's平衡盐溶液(HBSS)进行冲洗。

[0162] 3)用刮刀将视神经附近的巩膜切开,从切开部摘出晶状体,将摘出的晶状体浸泡在HBSS中。

[0163] 4)将晶状体放置在载玻片上,使用一体化荧光显微镜BZ-9000(KEYENCE)来获取晶状体的图像(图像a)。

[0164] 5)接着,在晶状体上放置1张盖玻片(Corning<sup>注册商示</sup> 22×22mm见方),同样地获取晶状体的厚度因重量而发生变动的图像(图像b)。

[0165] 6)从图像b的晶状体直径减去图像a的晶状体直径,由下述计算式1算出晶状体直径的变化量。然后,由下述计算式2算出与基质组相比较的各试样组的晶状体弹性提高量。需要说明的是,关于平均值,基质组为5例的平均,各熊去氧胆酸试样组和EV06试样组为10例的平均。

[0166] (计算式1)

[0167] 晶状体直径的变化量=各受试试样的图像b的晶状体直径-各受试试样的图像a的晶状体直径

[0168] (计算式2)

[0169] 各试样组的晶状体弹性提高量=各受试试样组的晶状体直径的变化量的平均值-基质组的晶状体直径的变化量的平均值

[0170] (结果)

[0171] 结果示于表3。

[0172] [表3]

	晶状体弹性提高量(μm)
0.15%熊去氧胆酸试样	31.8
0.5%熊去氧胆酸试样	39.4
1.5%熊去氧胆酸试样	59.9
1.5%EV06试样	42.5

[0173] [0174] 由表3可知,熊去氧胆酸试样组在0.15%、0.5%、1.5%的任一者中,均显示较强的晶状体弹性改善作用,在1.5%中显示比相同浓度的EV06强的晶状体弹性提高作用。

[0175] [药理试验4]

[0176] 研究熊去氧胆酸的1天1次、2周滴眼对晶状体的弹性的作用。

[0177] (受试试样的制备)

[0178] 1) 基质的制备

[0179] 制备含有0.1% (w/v) 丙酮酸乙酯、0.269% (w/v) 磷酸氢钠一水合物 ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{H}_2\text{O}$ ) 、0.433% (w/v) 磷酸氢二钠 ( $\text{Na}_2\text{HPo}_4$ ) 、0.2% (w/v) 羟丙基甲基纤维素、0.5% (w/v) 的NaCl的基质。

[0180] 2) 熊去氧胆酸试样的制备

[0181] 将基质加入到熊去氧胆酸中进行超声波处理,制备3.0% (w/v) 的悬浮液。将制备的3.0% (w/v) 悬浮液用基质稀释,制备1.0% (w/v) 悬浮液。然后,将制备的1.0% (w/v) 悬浮液用基质稀释,制备0.3% (w/v) 悬浮液。分别于使用时制备1天的量。

[0182] 3) EV06试样的制备

[0183] 在EV06中加入基质进行超声波处理,制备1.5% (w/v) 溶液(于使用时制备1天的量)。

[0184] (试验方法)

[0185] 1) 针对8个月龄的C57BL/6J小鼠,将各受试试样以1天1次(QD)、2次(BID)或3次(TID)(1次以9:00为标准,2次以9:00、17:00为标准,3次以9:00、13:00、17:00为标准)、14天、2.5μL/眼,使用自动移液器对右眼进行滴眼。

[0186] 2) 最终滴眼后,使小鼠吸入二氧化碳使其安乐死,摘出眼球,用Hank's平衡盐溶液(HBSS)进行冲洗。

[0187] 3) 用刮刀将视神经附近的巩膜切开,从切开部摘出晶状体,将摘出的晶状体浸泡在HBSS中。

[0188] 4) 将晶状体放置于载玻片上,使用一体化荧光显微镜BZ-9000(KEYENCE)获得晶状体的图像(图像a)。

[0189] 5) 接着,在晶状体上载置1片盖玻片(Corning<sup>注册商标</sup> 22×22mm见方),同样地获取晶状体的厚度因重量而发生变动的图像(图像b)。

[0190] 6) 从图像b的晶状体直径减去图像a的晶状体直径,由下述计算式1算出晶状体直径的变化量。然后,由下述计算式2算出与基质组相比较的各试样组的晶状体弹性提高量。需要说明的是,关于平均值,基质组为5例的平均,各熊去氧胆酸试样组和EV06试样组为10例的平均。

[0191] (计算式1)

[0192] 晶状体直径的变化量=各受试试样的图像b的晶状体直径-各受试试样的图像a的晶状体直径

[0193] (计算式2)

[0194] 各试样组的晶状体弹性提高量=各受试试样组的晶状体直径的变化量的平均值-基质组的晶状体直径的变化量的平均值

[0195] (结果)

[0196] 结果示于表4。

[0197] [表4]

	晶状体弹性提高量(μm)
0.3%熊去氧胆酸试样(QD)	2.8
1%熊去氧胆酸试样(QD)	28.1
3%熊去氧胆酸试样(QD)	30.4
1.5%EV06试样(QD)	-3.6
1.5%EV06试样(BID)	15.7
1.5%EV06试样(TID)	29.5

[0199] 由表4可知,熊去氧胆酸试验组即使1天1次滴眼,在1%、3%中的任一者中也均显示较强的晶状体弹性改善作用,1.5%EV06的1次滴眼未显示效果,因此显示比EV06明显强的晶状体弹性提高作用。

[0200] [药理试验5]

[0201] 研究1%熊去氧胆酸的1天1次滴眼1天、3天、7天、10天或14天时对于晶状体弹性的作用。

[0202] (受试试样的制备)

[0203] 1) 基质的制备

[0204] 制备含有0.1% (w/v) 丙酮酸乙酯、0.269% (w/v) 磷酸氢钠一水合物( $\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{H}_2\text{O}$ )、0.433% (w/v) 磷酸氢二钠( $\text{Na}_2\text{HPo}_4$ )、0.2% (w/v) 羟丙基甲基纤维素、0.5% (w/v)  $\text{NaCl}$ 的基质。

[0205] 2) 1%熊去氧胆酸试样的制备

[0206] 将基质加入到熊去氧胆酸中进行超声波处理,制备1.0% (w/v) 的悬浮液。分别于使用时制备1天的量。

[0207] (试验方法)

[0208] 1) 针对8个月龄的C57BL/6J小鼠,将各受试试样以1天1次(以13:30为标准)以每次2.5 $\mu\text{L}$ /眼用自动移液器对两眼进行滴眼1天、3天、7天、10天或14天。

[0209] 2) 在最终滴眼24小时后,使小鼠吸入二氧化碳而使其安乐死,摘出眼球,用Hank' s平衡盐溶液(HBSS)进行冲洗。

[0210] 3) 用刮刀将视神经附近的巩膜切开,从切开部摘出晶状体,将摘出的晶状体浸泡在HBSS中。

[0211] 4) 将晶状体放置在载玻片上,使用一体化荧光显微镜BZ-9000 (KEYENCE) 来获取晶状体的图像(图像a)。

[0212] 5) 接着,在晶状体上放置1片盖玻片(Corning<sup>注册商标</sup> 22x22mm见方),同样地获取晶状体的厚度因重量发生变动的图像(图像b)。

[0213] 6) 从图像b的晶状体直径减去图像a的晶状体直径,由下述计算式1算出晶状体直径的变化量。然后,由下述计算式2算出与基质组相比较的各试样组的晶状体弹性提高量。需要说明的是,关于平均值,无处置组以及各熊去氧胆酸试样组为9或10例的平均。

[0214] (计算式1)

[0215] 晶状体直径的变化量=各受试试样的图像b的晶状体直径-各受试试样的图像a的晶状体直径

[0216] (计算式2)

[0217] 各试样组的晶状体弹性提高量=各受试试样组的晶状体直径的变化量的平均值-无处置组的晶状体直径的变化量的平均值

[0218] (结果)

[0219] 将结果示于表5。

[0220] [表5]

	晶状体弹性提高量(μm)
1%熊去氧胆酸试样(1天)	9.6
1%熊去氧胆酸试样(3天)	21.1
1%熊去氧胆酸试样(7天)	27.4
1%熊去氧胆酸试样(10天)	38.1
1%熊去氧胆酸试样(14天)	34.2

[0221] 由表5可知,1%熊去氧胆酸试样组在1天1次滴眼中,随着滴眼天数的增加而显示晶状体弹性改善作用,从滴眼3天显示明显的晶状体弹性改善作用,暗示了早期发挥作用的可能性。

[0223] [药理试验6]

[0224] 研究熊去氧胆酸甲酯的1天1次滴眼7天对晶状体的弹性的作用。

[0225] (受试试样的制备)

[0226] 1) 基质的制备

[0227] 制备含有0.1% (w/v) 丙酮酸乙酯、0.269% (w/v) 磷酸氢钠一水合物( $\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{H}_2\text{O}$ )、0.433% (w/v) 磷酸氢二钠( $\text{Na}_2\text{HPo}_4$ )、0.2% (w/v) 羟丙基甲基纤维素、0.5% (w/v)  $\text{NaCl}$ 的基质。

[0228] 2) 熊去氧胆酸甲酯试样的制备

[0229] 将基质加入到熊去氧胆酸甲酯中,进行超声波处理,制备0.3% (w/v) 悬浮液、1.0% (w/v) 悬浮液和3.0% (w/v) 悬浮液。分别于使用时制备1天的量。

[0230] (试验方法)

[0231] 1) 针对7个月龄的C57BL/6J小鼠,将各受试试样以1天1次(以13:30为标准)、2.5μ

L/眼使用自动移液器对两眼滴眼7天。

[0232] 2) 在最终滴眼24小时后,使小鼠吸入二氧化碳使其安乐死,摘出眼球,用Hank' s平衡盐溶液(HBSS)进行冲洗。

[0233] 3) 用刮刀将视神经附近的巩膜切开,从切开部摘出晶状体,将摘出的晶状体浸泡在HBSS中。

[0234] 4) 将晶状体放置在载玻片上,使用一体化荧光显微镜BZ-9000(KEYENCE)来获取晶状体的图像(图像a)。

[0235] 5) 接着,在晶状体上放置1片盖玻片(Corning<sup>注册商标</sup> 22×22mm见方),同样地获取晶状体的厚度因重量发生变动的图像(图像b)。

[0236] 6) 从图像b的晶状体直径减去图像a的晶状体直径,由下述计算式1算出晶状体直径的变化量。然后,由下述计算式2算出与基质组相比较的各试样组的晶状体弹性提高量。需要说明的是,关于平均值,基质组以及各熊去氧胆酸甲酯试样组为9或10例的平均。

[0237] (计算式1)

[0238] 晶状体直径的变化量=各受试试样的图像b的晶状体直径-各受试试样的图像a的晶状体直径

[0239] (计算式2)

[0240] 各试样组的晶状体弹性提高量=各受试试样组的晶状体直径的变化量的平均值-基质组的晶状体直径的变化量的平均值

[0241] (结果)

[0242] 结果示于表6。

[0243] [表6]

	晶状体弹性提高量(μm)
0.3%熊去氧胆酸甲酯试样	13.2
1%熊去氧胆酸甲酯试样	33.0
3%熊去氧胆酸甲酯试样	46.5

[0246] 由表6可知,熊去氧胆酸甲酯试样组即使1天1次滴眼,在1%、3%的任一者中也均显示较强的晶状体弹性改善作用,暗示了熊去氧胆酸甲酯也显示比1.5%EV06强的晶状体弹性提高作用的可能性。

[0247] [药理试验7]

[0248] 研究牛磺熊去氧胆酸的1天1次、滴眼7天对晶状体的弹性的作用。

[0249] (受试试样的制备)

[0250] 1) 基质的制备

[0251] 制备含有0.1% (w/v)丙酮酸乙酯、0.269% (w/v)磷酸氢钠一水合物(NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>H<sub>2</sub>O)、0.433% (w/v)磷酸氢二钠(Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>)、0.2% (w/v)羟丙基甲基纤维素、0.5% (w/v)NaCl的基质。

[0252] 2) 牛磺熊去氧胆酸试样的制备

[0253] 将基质加入到牛磺熊去氧胆酸中并进行溶解,制备1.0% (w/v)溶液。分别于使用

时制备1天的量。

[0254] (试验方法)

[0255] 1) 针对7个月龄的C57BL/6J小鼠, 将各受试试样以1天1次(以13:30为标准)、 $2.5\mu L$ /眼使用自动移液器对两眼滴眼7天。

[0256] 2) 在最终滴眼24小时后, 使小鼠吸入二氧化碳使其安乐死, 摘出眼球, 用Hank' s平衡盐溶液(HBSS)进行冲洗。

[0257] 3) 用刮刀将视神经附近的巩膜切开, 从切开部摘出晶状体, 将摘出的晶状体浸泡在HBSS中。

[0258] 4) 将晶状体放置在载玻片上, 使用一体化荧光显微镜BZ-9000(KEYENCE)来获取晶状体的图像(图像a)。

[0259] 5) 接着, 在晶状体上放置1片盖玻片(Corning<sup>注册商标</sup> 22x22mm见方), 同样地获取晶状体的厚度因重量发生变动的图像(图像b)。

[0260] 6) 从图像b的晶状体直径减去图像a的晶状体直径, 由下述计算式1算出晶状体直径的变化量。然后, 由下述计算式2算出与基质组相比较的各试样组的晶状体弹性提高量。需要说明的是, 关于平均值, 基质组和牛磺熊去氧胆酸试样组为10例的平均。

[0261] (计算式1)

[0262] 晶状体直径的变化量=各受试试样的图像b的晶状体直径-各受试试样的图像a的晶状体直径

[0263] (计算式2)

[0264] 各试样组的晶状体弹性提高量=各受试试样组的晶状体直径的变化量的平均值-基质组的晶状体直径的变化量的平均值

[0265] (结果)

[0266] 将结果示于表7。

[0267] [表7]

	晶状体弹性提高量( $\mu m$ )
1%牛磺熊去氧胆酸试样	29.7

[0269] 由表7可知, 1%牛磺熊去氧胆酸试样组中, 以1天1次滴眼也显示较强的晶状体弹性改善作用, 如表4所示, 1.5%EV06的1天1次滴眼在滴眼14天也没有显示效果, 因此暗示了显示比EV06明显强的晶状体弹性提高作用的可能性。

[0270] [药理试验8]

[0271] 研究甘氨熊去氧胆酸的1天1次、滴眼7天对晶状体的弹性的作用。

[0272] (受试试样的制备)

[0273] 1) 基质的制备

[0274] 制备含有0.1% (w/v)丙酮酸乙酯、0.269% (w/v)磷酸氢钠一水合物( $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$ )、0.433% (w/v)磷酸氢二钠( $Na_2HPo_4$ )、0.2% (w/v)羟丙基甲基纤维素、0.5% (w/v)NaCl的基质。

[0275] 2) 甘氨熊去氧胆酸试样的制备

[0276] 将基质加入甘氨熊去氧胆酸中并进行超声波处理, 制备1.0% (w/v)悬浮液。分别于使用时制备1天的量。

[0277] (试验方法)

[0278] 1) 针对8个月龄的C57BL/6J小鼠, 将各受试试样以1天1次(以13:30为标准)、 $2.5\mu L$ /眼使用自动移液器对两眼滴眼7天。

[0279] 2) 在最终滴眼24小时后, 使小鼠吸入二氧化碳而使其安乐死, 摘出眼球, 用Hank's平衡盐溶液(HBSS)进行冲洗。

[0280] 3) 用刮刀将视神经附近的巩膜切开, 从切开部摘出晶状体, 将摘出的晶状体浸泡在HBSS中。

[0281] 4) 在载玻片上放置晶状体, 使用一体化荧光显微镜BZ-9000(KEYENCE)来获得晶状体的图像(图像a)。

[0282] 5) 接着, 在晶状体上载置1片盖玻片(Corning<sup>注册商标</sup> 22x22mm见方), 同样地获取晶状体的厚度因重量发生变动的图像(图像b)。

[0283] 6) 从图像b的晶状体直径减去图像a的晶状体直径, 由下述计算式1算出晶状体直径的变化量。然后, 由下述计算式2算出与基质组相比较的各试样组的晶状体弹性提高量。需要说明, 关于平均值, 基质组及甘氨熊去氧胆酸试样组为9-10例的平均。

[0284] (计算式1)

[0285] 晶状体直径的变化量=各受试试样的图像b的晶状体直径-各受试试样的图像a的晶状体直径

[0286] (计算式2)

[0287] 各试样组的晶状体弹性提高量=各受试试样组的晶状体直径的变化量的平均值-基质组的晶状体直径的变化量的平均值

[0288] (结果)

[0289] 结果示于表8。

[0290] [表8]

	晶状体弹性提高量( $\mu m$ )
1%甘氨熊去氧胆酸试样	20.1

[0291] 由表8可知, 1%甘氨熊去氧胆酸试样组中, 1天1次滴眼也显示较强的晶状体弹性改善作用, 如表4所示, 1.5%EV06的1天1次滴眼在滴眼14天也没有显示效果, 因此暗示了比EV06明显强的晶状体弹性提高作用的可能性。

[0293] [眼刺激性试验]

[0294] (试样制备)

[0295] 制备含有0.1% (w/v)丙酮酸乙酯、0.269% (w/v)磷酸二氢钠·一水合物( $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$ )、0.433% (w/v)磷酸氢二钠( $Na_2HPo_4$ )、0.2% (w/v)羟丙基甲基纤维素、0.5% (w/v)NaCl的基质(水溶液)。

[0296] (试验方法)

[0297] 熊去氧胆酸滴眼液的滴眼组

[0298] 将通过与上述药理试验相同的方法制备的1% (w/v)、3% (w/v)和10% (w/v)熊去氧胆酸滴眼液(悬浮液)、及基质利用移液器对日本白色种兔的左眼以6小时间隔、2次的方式反复滴眼(50 $\mu L$ /眼/次)2周, 实施最终滴眼后1小时的前眼部刺激症状观察(McDonald-Shadduck法)和晶状体的观察。另外, 对侧眼为无处置。

[0299] 前眼部刺激症状观察通过以下基准而打分。

[0300] +1: 轻度, +2: 中等度, +3: 重度(试验结果)

[0301] 将试验结果示于表9。在2周的反复滴眼后,实施熊去氧胆酸滴眼液的眼中,在前眼部刺激症状观察及晶状体观察中,未确认到任何异常所见。在眼局部的病理组织学检查中,也未确认到异常所见。

[0302] [表9]

滴眼液		基质	1% 熊去氧胆酸	3% 熊去氧胆酸	10% 熊去氧胆酸
动物数		3	3	3	3
前眼部刺激 症状观察 <sup>1)</sup>	结膜充血	-	-	-	-
	眼睑结膜浮肿	-	-	-	-
	分泌物	-	-	-	-
	角膜混浊	-	-	-	-
	角膜上皮障碍	-	-	-	-
	晶状体观察	-	-	-	-
病理组织学检查		-	-	-	-
-: 不存在应特别记载的内容, 1) 记载最终滴眼后 1 小时的实施滴眼的眼(左眼)的得分、例数					

[0304] (讨论)

[0305] 显示熊去氧胆酸滴眼液的安全性高。

[0306] 产业上的可利用性

[0307] 本发明的药剂对老视等眼病的治疗或预防有用。