



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I770106 B

(45)公告日：中華民國 111 (2022) 年 07 月 11 日

(21)申請案號：107101328

(22)申請日：中華民國 107 (2018) 年 01 月 12 日

(51)Int. Cl. : A61K31/737 (2006.01)

A61K38/14 (2006.01)

A61P27/02 (2006.01)

(30)優先權：2017/01/13 南韓

10-2017-0006118

(71)申請人：南韓商艾迪法有限公司(南韓)IMDPHARM INC. (KR)

南韓

(72)發明人：朴映準 PARK, YOUNG-JOON (KR)

(74)代理人：趙嘉文

(56)參考文獻：

CN 1972705A

期刊 Kwan Hyung Cho et al Development of a Sulglycotide-Loaded Oral Gel with Good Stability and Improved Gastric Ulcer Inhibition Drug Development Research Vol 73(6) Drug Development Research 2012 pages 325-331

審查人員：江盈盈

申請專利範圍項數：9 項 圖式數：6 共 25 頁

(54)名稱

用於預防或治療乾眼症之含硫糖肽或其藥學上可接受鹽類之藥用組合物

(57)摘要

本發明係提供一種用於預防或治療乾眼症之含作為一活性成份之硫糖肽或其藥學上可接受鹽類之藥用組合物。

The present invention provides a pharmaceutical composition for preventing or treating dry eye syndrome comprising sulglycotide or its pharmaceutically acceptable salt as an active ingredient.

指定代表圖：

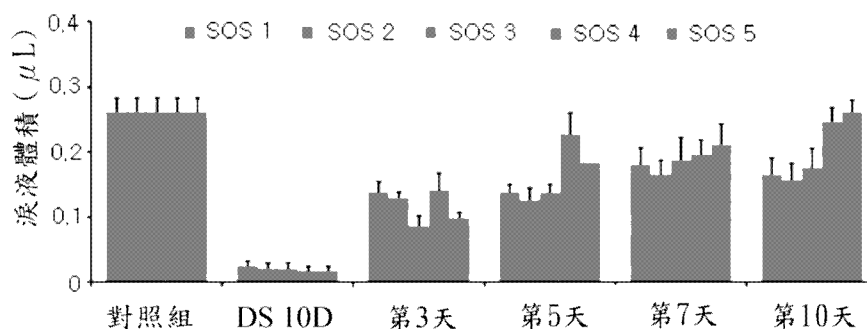


圖 1



I770106

【發明摘要】

【中文發明名稱】 用於預防或治療乾眼症之含硫糖肽或其藥學上可接受鹽類之藥用組合物

【英文發明名稱】 PHARMACEUTICAL COMPOSITION FOR PREVENTING OR TREATING DRY EYE SYNDROME COMPRISING SULGLYCOTIDE OR A PHARMACEUTICALLY ACCEPTABLE SALT THEREOF

【中文】

本發明係提供一種用於預防或治療乾眼症之含作為一活性成份之硫糖肽或其藥學上可接受鹽類之藥用組合物。

【英文】

The present invention provides a pharmaceutical composition for preventing or treating dry eye syndrome comprising sulglycotide or its pharmaceutically acceptable salt as an active ingredient.

【指定代表圖】 圖1

【代表圖之符號簡單說明】 無

【發明說明書】

【中文發明名稱】 用於預防或治療乾眼症之含硫糖肽或其藥學上可接受鹽類之藥用組合物

【英文發明名稱】 PHARMACEUTICAL COMPOSITION FOR PREVENTING OR TREATING DRY EYE SYNDROME COMPRISING SULGLYCOTIDE OR A PHARMACEUTICALLY ACCEPTABLE SALT THEREOF

【技術領域】

【0001】 本發明係關於一種用於預防或治療乾眼症之含硫糖肽或其藥學上可接受鹽類之藥用組合物。

【先前技術】

【0002】 乾眼症為一種稱為乾性角膜結膜炎 (keratoconjunctivitis sicca) 之眼科疾病，全球5.5%至15%之成人中患有此病。乾眼症，其經視為淚膜 (tear film) 與眼表面 (ocular surface) 中之多功能障礙，係因淚膜之不穩定性而造成不舒適感、視覺障礙甚至是眼表面損傷。淚膜之主要生理功能為眼表面與內眼瞼之潤滑作用。淚膜亦對眼表面提供營養物，對眼睛提供平滑之光學面並保護眼睛表面。淚膜係由黏液成分、水性成分與脂質所組成。淚液分泌之問題會導致乾眼症之發生。因淚液與眼睛表面 (角膜與結膜) 中之發炎反應，乾眼症不僅造成淚液不足，亦會導致眼部不便與淚液層之不穩定性，引起眼表損傷，進而帶來眼部疼痛、不規則角膜表面、角膜潰瘍與視力下降之結果。慢性乾眼症之角膜滲透性改變會導致發炎反應並增加淚液中間接引起發炎反應之細胞激素。根據

疾病之嚴重程度，患者常於眼部上皮中發展出可逆之鱗狀中期 (squamous metaphase) 與點狀潰爛。由乾眼症所引發之繼發性疾病包括真菌性角膜炎 (fungal keratitis)、細菌性角膜炎 (microbial keratitis)、角膜血管新生 (corneal angiogenesis) 與眼表角質化。

【0003】 現已嘗試數種方式進行乾眼症之治療。常用之方式為以含水溶性聚合物之緩衝等滲食鹽水溶液或人工淚液補充並穩定眼中之淚液層。人工淚液包含，例如羧甲基纖維素 (carboxymethyl cellulose) 及其鈉鹽 (CMC, carmellose)、聚乙烯醇 (polyvinyl alcohol)、羥丙基甲基纖維素 (HPMC, hypromellose)、玻尿酸或其鈉鹽、羥丙基瓜爾膠 (hydroxypropyl guar gum) 等。另一方法包括提供非人工淚液之一潤滑材料。例如，第4,818,537號美國專利揭露一種潤滑微脂體組合物之用途，以及第5,800,807號美國專利揭露一種用於治療乾眼症之含甘油與丙二醇之組合物。

【發明內容】

技術問題 (Technical Problem)

【0004】 本發明人係進行各種研究以研發能有效預防或治療乾眼症之治療劑 (therapeutic agent)。令人訝異地，本發明發現對一患乾眼症之動物模型施予硫糖肽 (其傳統上係作為胃潰瘍、胃食道逆流症等之治療劑) 可明顯增加淚液分泌量、改善角膜表面不規則性 (corneal surface irregularities)、增加結膜杯狀細胞 (conjunctival goblet cell) 密度，並減少眼表面與淚腺 (lacrimal gland) 中發炎細胞激素 (cytokines)，因此，硫糖肽可有效應用於治療乾眼症。

【0005】 因此，本發明之目標係提供一種用於預防或治療乾眼症之之藥用組合物，其含有作為一活性成分之硫糖肽或其藥學上可接受鹽類。

技術手段 (Technical Solution)

【0006】 根據本發明之一方面，於此提供一種用於預防或治療乾眼症之含作為一活性成分之硫糖肽或其藥學上可接受鹽類之藥用組合物。

【0007】 於本發明之藥用組合物中，硫糖肽或其藥學上可接受鹽類之濃度可介於0.01 w/v%至30 w/v%之間。該藥用組合物具有一點眼液 (eye drop) 製劑之劑形。該點眼液製劑可為水溶液或水懸浮液形式。

【0008】 本發明之藥用組合物於一水介質中，除了具有硫糖肽或其藥學上可接受鹽類外，更可包含至少一載體或賦形劑 (excipient)，其係選自由一緩衝劑、一黏度調節劑 (viscosity-adjusting agent)、一等滲劑 (isotonic agent)、一抗氧化劑、一螯合劑 (chelating agent) 與一酸鹼值調節劑所組成之群組。

【0009】 於一實施例中，該黏度調節劑係為選自由聚乙烯醇 (polyvinyl alcohol)、聚乙烯吡咯烷酮 (polyvinylpyrrolidone)、甲基纖維素 (methyl cellulose)、羥丙基甲基纖維素 (hydroxypropyl methylcellulose)、羥乙基纖維素 (hydroxyethyl cellulose)、羧甲基纖維素 (carboxymethyl cellulose) 與羥丙基纖維素 (hydroxypropyl cellulose) 所組成之群組中之至少一者，較佳者為聚乙烯吡咯烷酮或羥丙基甲基纖維素。

有益效果 (Advantageous Effects)

【0010】 本發明已發現，對一乾眼症之動物模型施予硫糖肽可明顯增加淚液分泌、改善角膜表面不規則性、增加結膜杯狀細胞密度，並減少眼表面與淚腺中發炎細胞激素。因此，根據本發明之藥用組合物可有效應用於預防或治療乾眼症。

【圖式簡單說明】

【0011】

圖1顯示含硫糖肽點眼液溶液對乾眼症動物模型淚液分泌之影響。

圖2顯示含硫糖肽點眼液溶液對乾眼症動物模型角膜表面不規則性之影響。

圖3顯示含硫糖肽點眼液溶液對乾眼症動物模型角膜螢光染色之影響。

圖4顯示含硫糖肽點眼液溶液對乾眼症動物模型角膜上皮細胞分離之影響。

圖5顯示含硫糖肽點眼液溶液對乾眼症動物模型結膜杯狀細胞密度之影響。

圖6顯示含硫糖肽點眼液溶液對乾眼症動物模型發炎反應之影響。

【實施方式】

【0012】 本發明提供一種用於預防或治療乾眼症之含作為一活性成份之硫糖肽或其藥學上可接受鹽類之藥用組合物。

【0013】 硫糖肽係指醣肽之硫酸聚酯物質，其係透過萃取豬隻胃部或十二指腸（duodenum）之黏膜層（mucosal membrane）所取得。作為胃部保護劑與抗潰瘍劑使用之硫糖肽係無法由胃腸道所吸收，且已知其僅於胃腔（gastric lumen）內產生作用。硫糖肽常作為胃部保護劑施打於胃壁受到如阿司匹林與牛膽酸（taurocholic acid）或非類固醇抗發炎藥（non-steroidal anti-inflammatory

drugs , NSAID) 藥物傷害之一目標上。本發明係發現，對患有乾眼症之動物模型投藥會明顯增加淚液分泌量、改善角膜表面不規則性 (corneal surface irregularities) 、增加結膜杯狀細胞 (conjunctival goblet cell) 密度，並減少眼表面與淚腺中之發炎細胞激素 (inflammatory cytokines) 。

【0014】 於本發明之藥用組合物中，硫糖肽可以非鹽類形式使用。再者，該硫糖肽可以其藥學上可接受鹽類形式使用，其係可由本發明所屬技術領域通常知識者適當製備。

【0015】 於本發明之藥用組合物中，硫糖肽或其藥學上可接受鹽類之劑量可依據年齡、體重、性別、劑型、健康狀況或疾病嚴重度進行改變。例如，根據體重為70公斤之成人患者，該劑量範圍可為0.1至300毫克/天 (mg/day) ，較佳者為0.5至100毫克/天，更佳者為1至60毫克/天。該投藥根據醫師或藥劑師指示可以一適當時間間隔，例如以每日一劑或多劑方式進行。於一實施例中，硫糖肽或其藥學上可接受鹽類之濃度可介於0.01 w/v%至30 w/v%之間，較佳者為0.1 w/v%至10 w/v%之間，但不以此為限。

【0016】 較佳地，該藥用組合物可為一點眼液製劑之劑型。該點眼液製劑可為水溶液或水懸浮液形式。

【0017】 本發明之藥用組合物可進一步包含傳統上用於點眼液製劑領域中之載體 (carrier) 或賦形劑 (excipient) 。例如，本發明之藥用組合物於一水介質中，除硫糖肽或其藥學上可接受鹽類之外，更可包含至少一載體或賦形劑，其係選自由一緩衝劑、一黏度調節 (viscosity-adjusting) 劑、一等滲 (isotonic) 劑、一抗氧化劑、一螯合 (chelating) 劑與一酸鹼值調節 (pH-adjusting) 劑所組成之群組。

【0018】 緩衝劑之範例包括傳統上用於點眼液製劑領域之緩衝劑，例如磷酸或其鹽類、硼酸或其鹽類、碳酸或其鹽類、檸檬酸或其鹽類、乙酸或其鹽類、順丁烯二酸（maleic acid）或其鹽類、丁二酸（succinic acid）或其鹽類、酒石酸（tartaric acid）或其鹽類等。再者，緩衝劑可為一緩衝溶液形式，例如一磷酸/磷酸鹽緩衝劑（磷酸緩衝溶液）、一硼酸/硼酸鹽緩衝劑（硼酸緩衝溶液）等。

【0019】 黏度調節劑之範例可為選自由聚乙烯醇（polyvinyl alcohol）、聚乙烯吡咯烷酮（polyvinylpyrrolidone）、甲基纖維素（methyl cellulose）、羥丙基甲基纖維素（hydroxypropyl methylcellulose）、羥乙基纖維素（hydroxyethyl cellulose）、羧甲基纖維素（carboxymethyl cellulose）與羥丙基纖維素（hydroxypropyl cellulose）所組成之群組中之至少一者。該黏度調節劑較佳者為聚乙烯吡咯烷酮或羥丙基甲基纖維素，更佳者為羥丙基甲基纖維素。

【0020】 等滲劑之範例包括氯化鈉、氯化鉀、氯化鈣、山梨醇（sorbitol）與甘露醇（mannitol）等。

【0021】 抗氧化劑之範例包括抗壞血酸或其酯類、亞硫酸氫鈉（sodium bisulfite）、二丁基羥基甲苯（butylated hydroxytoluene）、丁基羥基甲氧苯（butylated hydroxyanisole）與生育酚（tocopherol）等。

【0022】 螯合劑之範例包括乙二胺四乙酸（ethylenediaminetetraacetic acid，EDTA）與乙二胺（ethylenediamine）等。

【0023】 酸鹼值調節劑包括鹽酸、胺基酸、鹼金屬氫氧化物與鹼土金屬氫氧化物等。

【0024】 本發明之藥用組合物除上述載體或賦形劑外，可包含傳統上用於點眼液製劑領域之一保濕劑、一甜味劑、一調味劑、一乳化劑（emulsifier）、

一懸浮劑與一防腐劑等。以點眼液製劑形式之本發明藥用組合物可透過例如，於攪拌下將硫糖肽或其藥學上可接受鹽類溶解於一水介質（例如水或緩衝溶液）中，並額外將載體或賦形劑溶解或懸浮於其中。通常，所得之溶液或懸浮液係經無菌過濾（sterile filtration）以製得一點眼液製劑。

【0025】本發明將進一步搭配以下範例與實驗範例詳細描述。該些範例與實驗範例僅為例示之目的，並非用以限制本發明之範圍。

範例1

【0026】於50rpm攪拌下將磷酸（0.0425g）、磷酸氫二鈉（4.43g）與磷酸二氫鉀（0.29g）溶解於純淨水（400mL）後，再將硫糖肽（5g）溶解於其中。氯化鈉（2.6g）係溶解於所得之溶液中。於所得之溶液中加入純淨水，以將其最終體積調整至500毫升。以0.22 μ m聚偏二氟乙烯（PVDF）針筒過濾器對該所得之溶液進行無菌過濾，以製備1w/v%點眼液製劑。

範例2

【0027】於50rpm攪拌下將磷酸（0.0425g）、磷酸氫二鈉（4.43g）與磷酸二氫鉀（0.29g）溶解於純淨水（400mL）後，再將硫糖肽（10g）溶解於其中。氯化鈉（2.4g）係溶解於所得之溶液中。於所得之溶液中加入純淨水，以將其最終體積調整至500毫升。以0.22 μ m聚偏二氟乙烯針筒過濾器對該所得之溶液進行無菌過濾，以製備2w/v%點眼液製劑。

範例3

【0028】於50rpm攪拌下將磷酸（0.0425g）、磷酸氫二鈉（4.43g）與磷酸二氫鉀（0.29g）溶解於純淨水（400mL）後，再將硫糖肽（15g）溶解於其中。氯化鈉（2.2g）係溶解於所得之溶液中。於所得之溶液中加入純淨水，以將其最終體積調整至500毫升。以0.22 μ m聚偏二氟乙烯針筒過濾器對該所得之溶液進行無菌過濾，以製備3w/v%點眼液製劑。

範例4

【0029】於50rpm攪拌下將磷酸（0.0425g）、磷酸氫二鈉（4.43g）與磷酸二氫鉀（0.29g）溶解於純淨水（400mL）後，再將硫糖肽（20g）溶解於其中。氯化鈉（2.0g）係溶解於所得之溶液中。氯化鈉（2.0g）係溶解於所得之溶液中。於所得之溶液中加入純淨水，以將其最終體積調整至500毫升。以0.22 μ m聚偏二氟乙烯針筒過濾器對該所得之溶液進行無菌過濾，以製備4w/v%點眼液製劑。

範例5

【0030】於50rpm攪拌下將磷酸（0.0425g）、磷酸氫二鈉（4.43g）與磷酸二氫鉀（0.29g）溶解於純淨水（400mL）後，再將硫糖肽（10g）溶解於其中。羥丙基甲基纖維素（1g）與氯化鈉（2.4g）係溶解於所得之溶液中。於所得之溶液中加入純淨水，以將其最終體積調整至500毫升。以0.22 μ m聚偏二氟乙烯針筒過濾器對該所得之溶液進行無菌過濾，以製備2w/v%點眼液製劑。

範例6至範例15

【0031】該點眼液製劑係根據表1中所示之組成與含量所製備。於50rpm攪拌下將緩衝劑溶解於純淨水（800ml）後，硫糖肽係溶解於其中。將該等滲劑、該黏度調節劑（範例9與14），與該抗氧化劑（範例10與15）溶解於該所得之溶液中。以該pH值調節劑將該所得之溶液之pH值調整至pH7後，於該所得之溶液中加入純淨水以將其最終體積調整至1000毫升。以0.22 μ m聚偏二氟乙烯針筒過濾器對該所得之溶液進行無菌過濾，以製備點眼液製劑。

【0032】表1

	組成	範例									
		6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
活性成份	硫糖肽（g）	0.1	1	5	25	70	100	200	300	40	20
緩衝劑	磷酸（g）	0.09			0.09	0.09	0.09		0.09	0.09	0.09
	磷酸氫二鈉（g）	8.86			8.86	8.86	8.86		8.86	8.86	8.86
	硼酸（g）		0.2	0.2				0.2			
	硼酸鈉（g）		9.9	9.9				9.9			
等滲劑	氯化鈉（g）	4.8	4.8			4	4	4	4		
	山梨醇（g）			10	10					10	10
黏度調節劑	聚乙烯吡咯烷酮（g）									5	
	羥丙基甲基纖維素（g）				5						
抗氧化劑	二丁基羥基甲苯（g）					1					1
pH值調節劑	氫氧化鈉	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.
	鹽酸	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.
溶劑	純淨水（最終體積，ml）	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000

實驗性範例

1.方法

【0033】 (1) 乾眼症小鼠模型與實驗流程

【0034】 自傑克森實驗室 (Jackson Laboratory) (巴爾港, 緬因州, 美國) 購得NOD.B10.H2^b小鼠。將12至16週齡之雄性NOD.B10.H2^b小鼠暴露於由位於環境濕度為30至40%之風扇所形成之通風環境中, 經歷每日18小時並持續10天之乾燥逆境 (desiccation stress), 並以每日四次交替注射 (上午8點、上午11點、下午2點與下午5點) 方式, 以0.2ml之0.5mg / 0.2mL 萘苄鹼氫溴酸鹽 (Sigma-Aldrich, St.Louis, MO) 進行皮下注射, 以誘發乾眼症。於實驗期間, 並未對該動物之行為以及食物與水之攝取進行限制。於誘發乾眼症後, 透過停止萘苄鹼之注射並將小鼠放置於具正常濕度與溫度之環境中以移除乾燥逆境。

【0035】 將未經處理之正常NOD.B10.H2^b小鼠分配至對照組 (控制, n = 3)。如下表2所示, 各SOS 1至SOS 5組分別區分為乾眼症誘發組與點眼液投藥組。於各SOS 1至SOS 5組之點眼液投藥組中, 於移除乾燥逆境後, 將範例1至範例5 (5 μ L/各眼) 之點眼液製劑分別於兩側每日滴注四次 (上午8點、上午11點、下午2點與下午5點) 並持續10天。

【0036】 表2

	乾眼症誘發組 (DS 10D, n=3)	點眼液投藥組 (n=3)
SOS 1	乾眼症誘發小鼠	以範例 1 之點眼液溶液滴注小鼠
SOS 2	乾眼症誘發小鼠	以範例 2 之點眼液溶液滴注小鼠
SOS 3	乾眼症誘發小鼠	以範例 3 之點眼液溶液滴注小鼠
SOS 4	乾眼症誘發小鼠	以範例 4 之點眼液溶液滴注小鼠
SOS 5	乾眼症誘發小鼠	以範例 5 之點眼液溶液滴注小鼠

【0037】 (2) 淚液分泌量之測量

【0038】 如先前文獻所述 (Oh HN, Kim CE, Lee JH, Yang JW。槲皮素對實驗性乾眼症小鼠模型之影響。角膜。2015; 34: 1130-6), 以酚紅浸漬之棉線測量淚液分泌量。以金工鑷子夾持該酚紅浸漬之棉線 (Zone-quick, Oasis, Glendora, CA) 並將其放置於外眼角 (lateral canthus) 中20秒。於顯微鏡 (SZX7; 奧林巴斯股份有限公司, 日本, 東京) 下測量, 淚液體積係表示為因淚液而變為紅色之濕線之毫米數。以毫米為單位測量淚液吸收量, 並與一標準曲線進行比較, 該標準曲線係由於20秒內由具已知吸收體積之儲備鹼性溶液 (1500mL 之 0.9% 鹽水與5mL之5N 氫氧化鈉) 並處於鼠淚液 (Villareal AL, Farley W, Pflugfelder SC。局部眼用依匹斯汀 (epinastine) 與奧洛他定 (olopatadine) 對小鼠淚液體積之影響。眼睛與隱形眼鏡。2006; 32: 272-6; Chen Z, Li Z, Basti S, Farley WJ, Pflugfelder SC。改變蛋白激酶C α 基因剔除小鼠淚腺功能單元之形態與功能。Invest Ophthalmol Vis Sci。2010; 51: 5592-600) 預期範圍內之棉線所製備。對雙眼測量淚液分泌量, 並分析雙眼之平均值。

【0039】 (3) 角膜平滑度 (corneal smoothness) 之評估

【0040】 於安樂死 (euthanasia) 後立即取得立體變焦顯微鏡之光纖環形照明器之白環之反射像。如前所述 (De Paiva CS, Corrales RM, Villarreal AL, Farley W, Li DQ, Stern ME, Pflugfelder SC。以甲基培尼皮質醇與多西環素消除實驗性鼠類乾眼症中之頂角膜障壁破壞。Invest Ophthalmol Vis Sci。2006; 47: 2847-56), 透過兩名盲測員評估角膜平滑度, 其等係將白環之扭曲分級為數位影像中角膜上皮之反射。係對雙眼測量角膜平滑度, 並分析雙眼之平均值。利

用五點量表（five-point scale）計算角膜不規則性之嚴重程度分數，該量表根據反射環中扭曲四分之一之數量，其分級如下：0，無扭曲；1，四分之一扭曲；2，一半扭曲；3，四分之三扭曲；4，全部扭曲；以及5，扭曲係過於嚴重以致該環無任何部分可經辨認。

【0041】 （4）角膜螢光素染色之測量

【0042】 如Rashid等人所述（Rashid S，Jin Y，Ecoiffier T，Barabino S，Schaumberg DA，Dana MR。外用omega-3與omega-6脂肪酸治療乾眼症。Arch Ophthalmol。2008；126：219-25）執行角膜螢光素染色。於麻醉下將螢光素鈉（1%）1 μ L施加至小鼠之角膜。於三分鐘後，以磷酸鹽緩衝液（PBS）沖洗眼部以去除多餘螢光素，並利用鈷藍光以狹縫燈生物顯微鏡（SL-D7；Topcon，東京，日本）評估並拍攝角膜染色情形。利用標準化國家眼科研究所分級系統，以0至3對角膜之五個區域中之每一者記錄點狀染色（Lemp MA。國家眼科研究所/研討會對於乾眼症之臨床報告。Clao J。1995；21：221-32）。

【0043】 （5）組織學

【0044】 以手術切除各組之眼部與附件（adnexa），以10%福馬林固定並以石蠟包埋。以H&E（蘇木精與伊紅）與PAS（過碘酸雪夫染色法）對6微米切片進行染色。針對結膜，係透過H&E染色計算0.1 mm²面積中經分離之上皮細胞數量。針對結膜組織，透過PAS染色評估以0.1 mm²面積為單位於結膜下穹窿中杯狀細胞之數量。透過對來自每隻小鼠與每組3或4隻小鼠其三個非連續橫切片之數據進行平均，以測量分離之角膜上皮細胞之數量與結膜杯狀細胞之數量。利用虛擬顯微鏡（NanoZoomer 2.0 RS，Hamamatsu，日本）檢查各組之切片並對其進行成像。

【0045】 (6) 免疫組織化學 (Immunohistochemistry)

【0046】 以手術切除各眼部與附件，以石蠟包埋並於液態氮中快速冷凍。以低溫恆溫器 (cryostat) 切割6微米之切片。將該等切片以預冷之丙酮固定5分鐘，並施加TNF- α (Abcam Inc. , Cambridge , MA) 、MMP-2 (Abcam Inc. , Cambridge , MA) 、MMP-9 (Lifespan Biosciences Inc. , Seattle , WA) 、ICAM-1 (Bioss Inc. , Woburn , MA) 與VCAM-1 (Bioss Inc. , Woburn , MA) 之一級抗體，並於室溫下培育1小時。洗滌後，將該等切片與二級抗體 (DAKO Corp , Glostrup , 丹麥) 培育30分鐘。免疫反應係以二胺基聯苯胺色原質呈色，並將該等切以梅爾氏蘇木精 (Sigma) 於室溫下複染30秒。以虛擬顯微鏡 (NanoZoomer 2.0 RS , Hamamatsu , 日本) 拍攝該等切片之影像。

【0047】 (7) 統計分析

【0048】 以第18.0版之SPSS (SPSS , 芝加哥 , 伊利諾州 , 美國) 分析資料，並以平均值 \pm 標準差表示。群組間之差異係利用二因子變異數分析 (以杜凱氏測驗 (Tukey's test) 進行變異數分析) 進行分析，且統計顯著性 (statistical significance) 係定義為 $P < 0.05$ 。

2.結果

【0049】 (1) 含硫糖肽之點眼液溶液對淚液分泌量改變之影響

【0050】 如圖1所示，與DS 10D組 ($0.025 \pm 0.008 \mu\text{L}$) ($P < 0.05$) 相比，SOS 1組於10天後增加為6.7倍 ($0.165 \pm 0.027 \mu\text{L}$)；與DS 10D組 ($0.021 \pm 0.009 \mu\text{L}$) ($P < 0.05$) 相比，SOS 2組於10天後增加為7.6倍 ($0.157 \pm 0.027 \mu\text{L}$)；與DS 10D組 ($0.021 \pm 0.009 \mu\text{L}$) ($P < 0.05$) 相比，SOS 3組於10天後增加為8.5倍

($0.176 \pm 0.030 \mu\text{L}$)；與DS 10D組($0.017 \pm 0.008 \mu\text{L}$) ($P < 0.05$) 相比，SOS 4組於10天後增加為14.6倍($0.246 \pm 0.022 \mu\text{L}$)；以及與DS 10D組($0.017 \pm 0.008 \mu\text{L}$) ($P < 0.05$) 相比，SOS 5組於10天後增加為15.5倍($0.262 \pm 0.018 \mu\text{L}$)。與DS 10D組相比，於移除乾燥逆境後，滴注含硫糖肽之點眼液溶液可使淚液體積逐漸改善。具體而言，所觀察之淚液體積係增加至SOS 4與SOS 5組之控制程度。

【0051】 (2) 含硫糖肽之點眼液溶液對角膜表面不規則性之影響

【0052】 如圖2所示，DS 10D組之角膜不規則性分數(3.375 ± 0.479 分)與對照組(0.250 ± 0.289 分) 相比增加為13.5倍，並於第10天係觀察到SOS 1組減少7.4% (3.125 ± 0.250 分) ($P < 0.05$)。此外，與DS 10D組 ($P < 0.05$) 相比，於第10天SOS 2組與SOS 3組中所觀察之角膜表面不規則性係分別減少8%與20.7% (2.875 ± 0.250 分與 2.875 ± 0.250 分)。與DS 10D組 ($P < 0.05$) 相比，於第10天SOS 4與SOS 5組中之不規則性係分別減少83.3%與87.9% (0.625 ± 0.479 分與 0.500 ± 0.408 分)。特別地，SOS 4與SOS 5組中白環之扭曲係改善至於第10天所觀察到之對照組程度。

【0053】 (3) 含硫糖肽點眼液溶液對角膜螢光素染色之影響

【0054】 如圖3所示，對照組之角膜並未顯示出對螢光染料之任何攝取，其指示一完整上皮障壁。然而，DS 10D組之角膜顯示一斑狀染色圖案，其表現一受損之角膜上皮障壁。與對照組(0.333 ± 0.577 分) 相比，該DS 10D組之角膜螢光素分數係增加為28倍(9.333 ± 1.155 分)，且於第10天時SOS 1組之分數並未降低(9.333 ± 0.577 分) ($P < 0.05$)。然而，與DS 10D組 ($P < 0.05$) 相比，SOS 2與SOS 3組中於第10天所觀察之角膜螢光素分數係分別降低3.4%與10% (9.333 ± 0.577 及 9.0 ± 0 分)。此外，與DS 10D組 ($P < 0.05$) 相比，SOS 4與SOS 5組中

於第10天所觀察之角膜螢光素分數係分別降低（原文使用decreased to，有誤，應改為by）72.4%與83.3%（ 2.667 ± 0.577 及 1.667 ± 0.577 分）。特別地，於第10天SOS 4與SOS 5組中之受損角膜上皮障壁係改善至對照組程度。

【0055】（4）含硫糖肽點眼液溶液對角膜上皮細胞分離之影響

【0056】如圖4所示，與對照組（ 0.190 ± 0.165 cells/ 0.1 mm^2 ）（ $P < 0.05$ ）相比，於DS 10D組中分離之角膜上皮細胞數量係增加為8.5倍（ 1.619 ± 0.165 cells/ 0.1 mm^2 ）。與DS 10D組（ $P < 0.05$ ）相比，SOS 1組中之分離角膜上皮細胞數量係增加為1.1倍（ 1.810 ± 0.165 cells/ 0.1 mm^2 ）。相反地，與DS 10D組（ $P < 0.05$ ）相比，於SOS 2與SOS 3組中所觀察之分離角膜上皮細胞數量係分別減少23.5%與23.5%（ 1.238 ± 0.165 與 1.238 ± 0.165 cells/ 0.1 mm^2 ）。此外，與DS 10D組（ $P < 0.05$ ）相比，於SOS 4與SOS 5組中所觀察之分離角膜上皮細胞數量係分別減少70.6%與76.5%（ 0.476 ± 0.165 與 0.381 ± 0.165 cells/ 0.1 mm^2 ）。

【0057】（5）含硫糖肽點眼液製劑對結膜杯狀細胞之影響

【0058】如圖5所示，與對照組（ 17.333 ± 0.873 cells/ 0.1 mm^2 ）相比，DS 10D組中結膜杯狀細胞之數量係減少57.7%（ 7.333 ± 1.288 cells/ 0.1 mm^2 ），但與DS 10D組相比（ $P < 0.05$ ），於SOS 1組中係增加為1.1倍（ 8.095 ± 0.165 cells/ 0.1 mm^2 ）。與DS 10D組（ $P < 0.05$ ）相比，於SOS 2與SOS 3組中結膜杯狀細胞之數量係分別增加為1.2倍與1.4倍（ 8.762 ± 0.825 與 10.381 ± 0.436 cells/ 0.1 mm^2 ）。此外，與DS 10D組相比（ $P < 0.05$ ），SOS 4與SOS 5組係分別恢復為1.9倍與2.4倍（ 14.286 ± 1.143 與 17.714 ± 2.268 cells/ 0.1 mm^2 ）。

【0059】（6）含硫糖肽點眼液溶液於乾眼症小鼠模型中之抗發炎效果

【0060】 如圖6所示，針對TNF- α 、MMP-2、MMP-9、ICAM-1與VCAM-1對淚腺切片進行免疫染色。移除乾燥逆境後，發炎標記TNF- α 於淚腺中係顯著過度表現。然而，於SOS 4與SOS 5組中TNF- α 之表現減少。此外，針對MMP-2與MMP-9之免疫染色亦於淚腺中產生強烈染色，但於SOS 4與SOS 5組中該染色係顯著減少。針對ICAM-1與VCAM-1之染色係高度限制於DS 10D組中之淚腺。與DS 10D組相比，於SOS 4與SOS 5組中該些淚腺之陽性標記係受抑制。

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種用於預防或治療乾眼症之點眼液製劑，其含作為一活性成分之硫糖肽或其藥學上可接受鹽類。

【請求項2】 如請求項1所述之用於預防或治療乾眼症之點眼液製劑，其中，該硫糖肽或其藥學上可接受鹽類之濃度係介於0.01 w/v%至30 w/v%之間。

【請求項3】 如請求項1所述之用於預防或治療乾眼症之點眼液製劑，其為一水溶液或一水懸浮液形式。

【請求項4】 如請求項1至3中任一項所述之用於預防或治療乾眼症之點眼液製劑，於一水介質中，除硫糖肽或其藥學上可接受鹽類之外，更包含至少一載體或賦形劑，其係選自由一緩衝劑、一黏度調節劑、一等滲劑、一抗氧化劑、一螯合劑與一酸鹼值調節劑所組成之群組。

【請求項5】 如請求項4所述之用於預防或治療乾眼症之點眼液製劑，其中，該黏度調節劑係為選自由聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮、甲基纖維素、羥丙基甲基纖維素、羥乙基纖維素、羧甲基纖維素與羥丙基纖維素所組成之群組中之至少一者。

【請求項6】 如請求項5所述之用於預防或治療乾眼症之點眼液製劑，其中，該黏度調節劑係為聚乙烯吡咯烷酮或羥丙基甲基纖維素。

【請求項7】 一種含作為一活性成分之硫糖肽或其藥學上可接受鹽類之藥物組合物之用途，其係用於製備預防或治療乾眼症之藥物。

【請求項8】 如請求項7所述之用途，其中，該硫糖肽或其藥學上可接受鹽類之濃度係介於0.01 w/v%至30 w/v%之間。

【請求項9】 如請求項7所述之用途，其中，該藥用組合物具有一點眼液製劑之劑型。

【發明圖式】

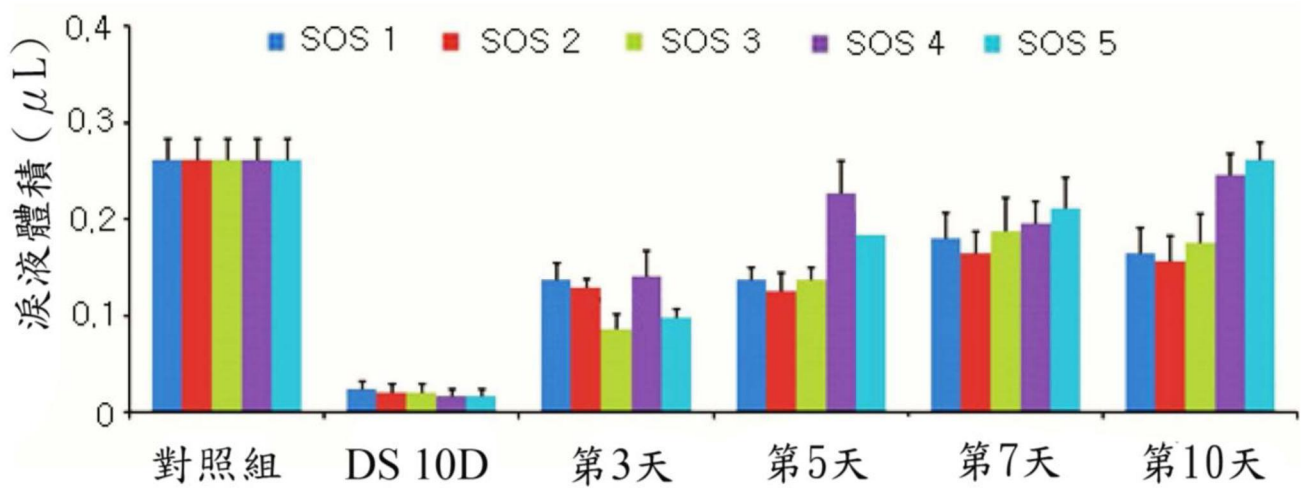


圖 1

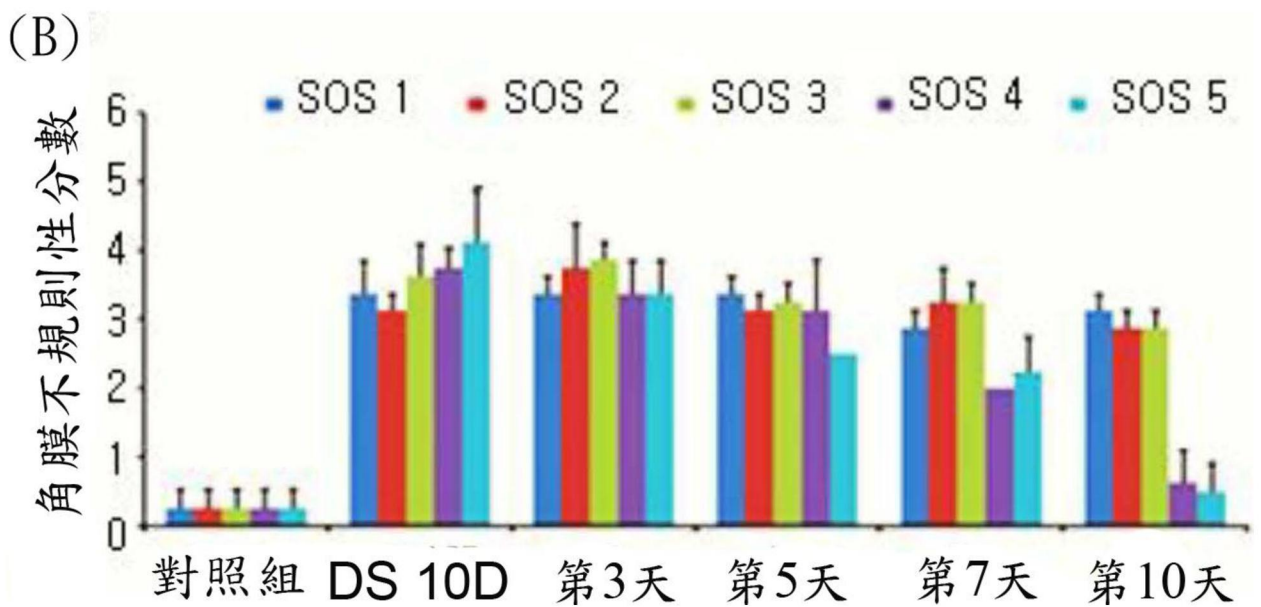
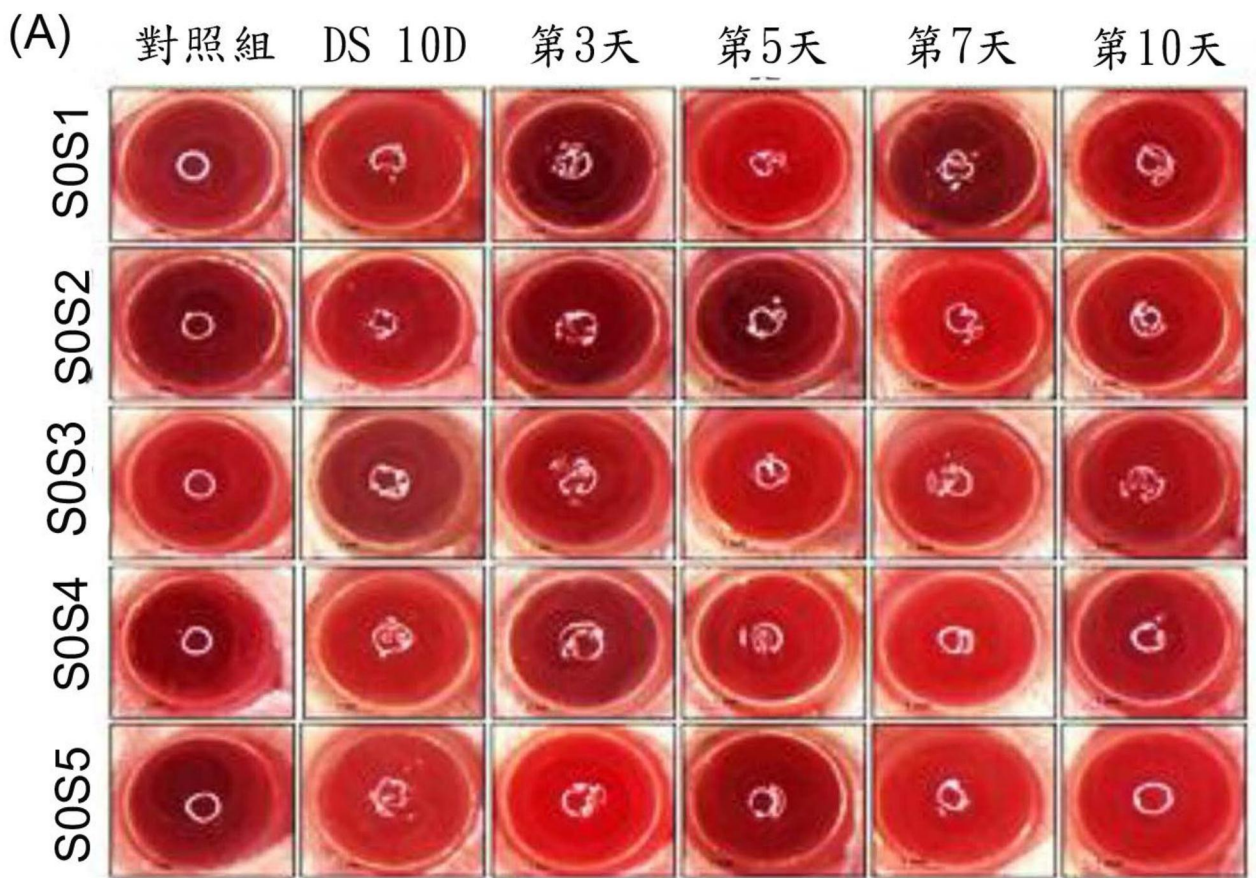


圖 2

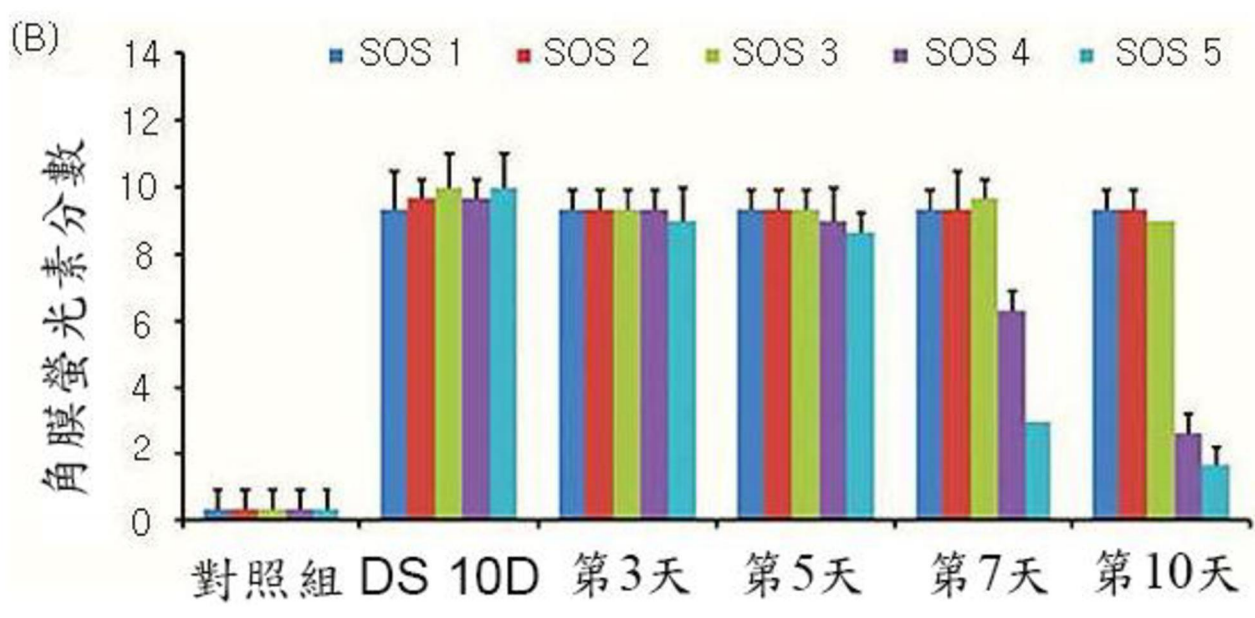
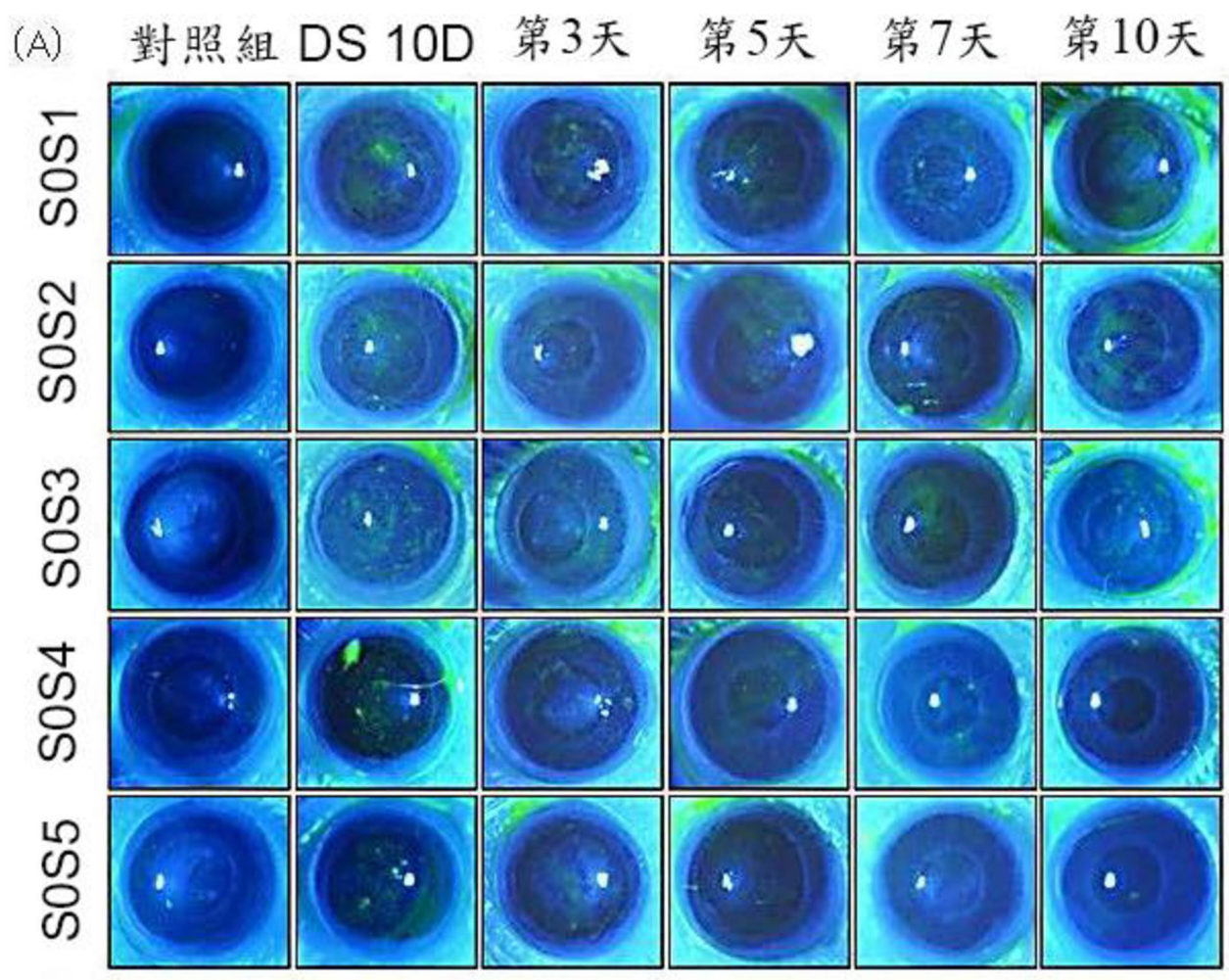


圖 3

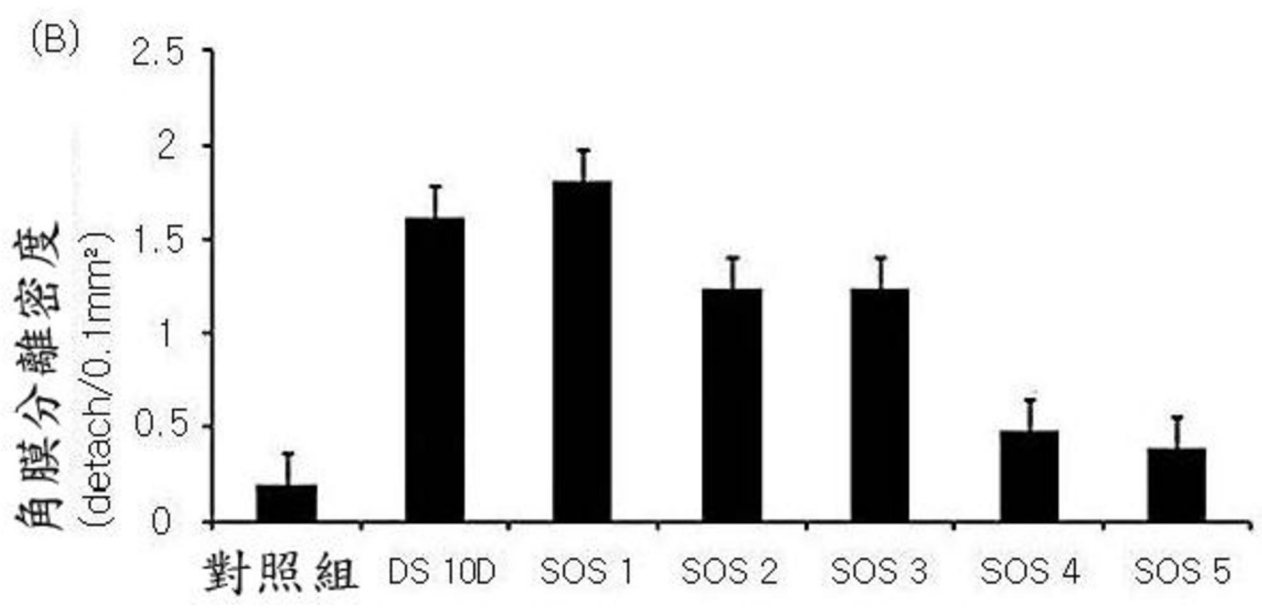
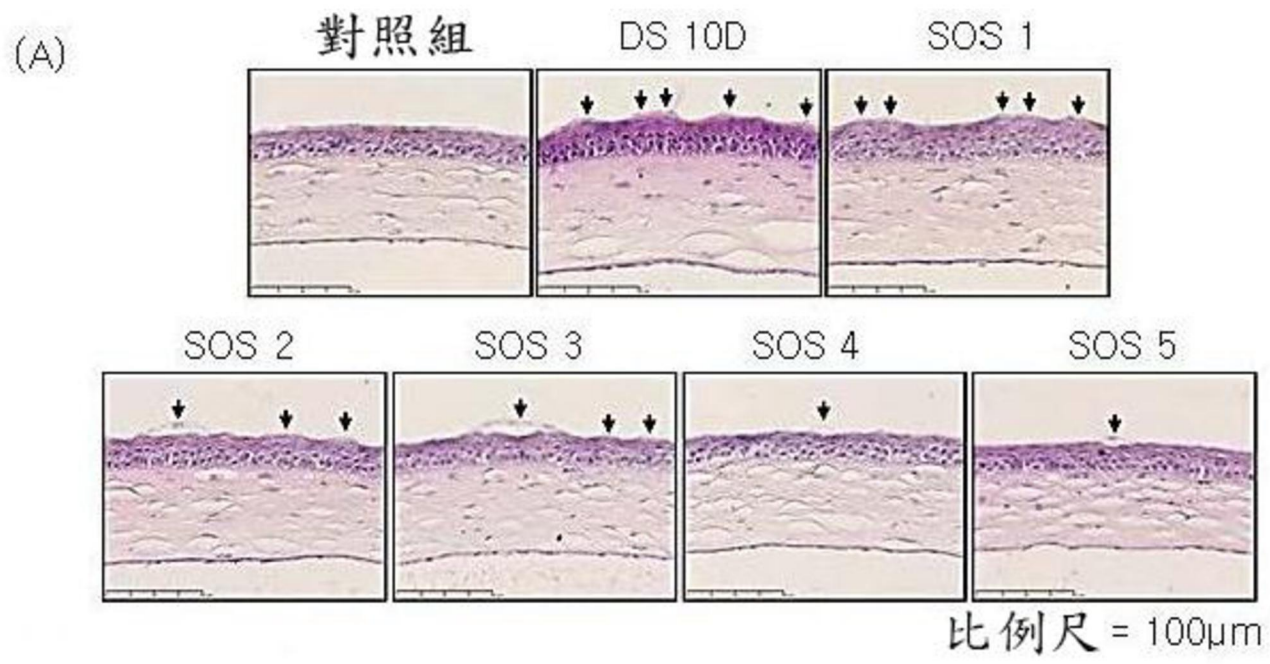


圖 4

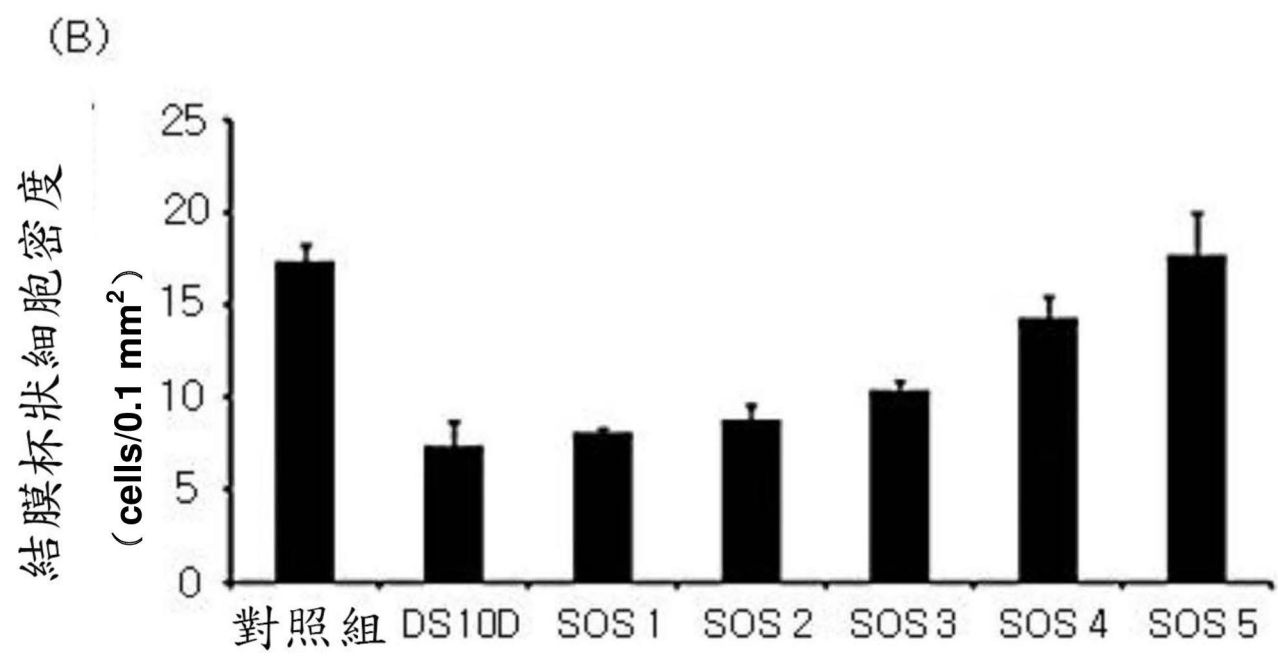
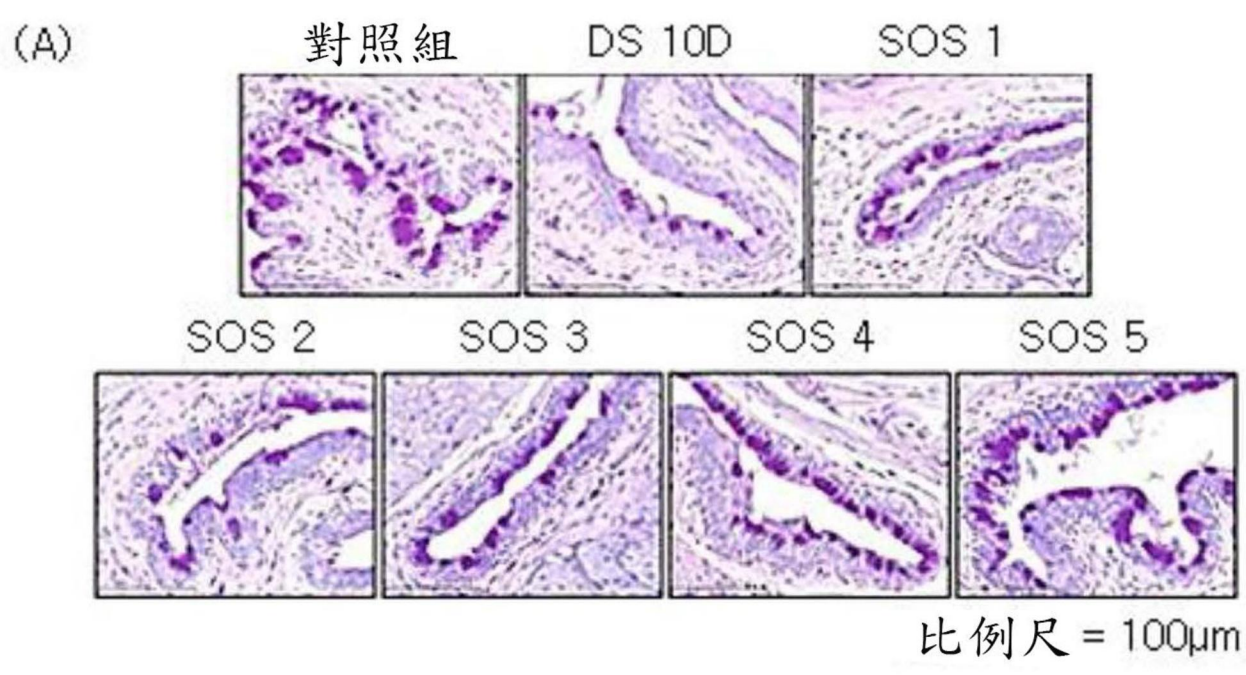


圖 5

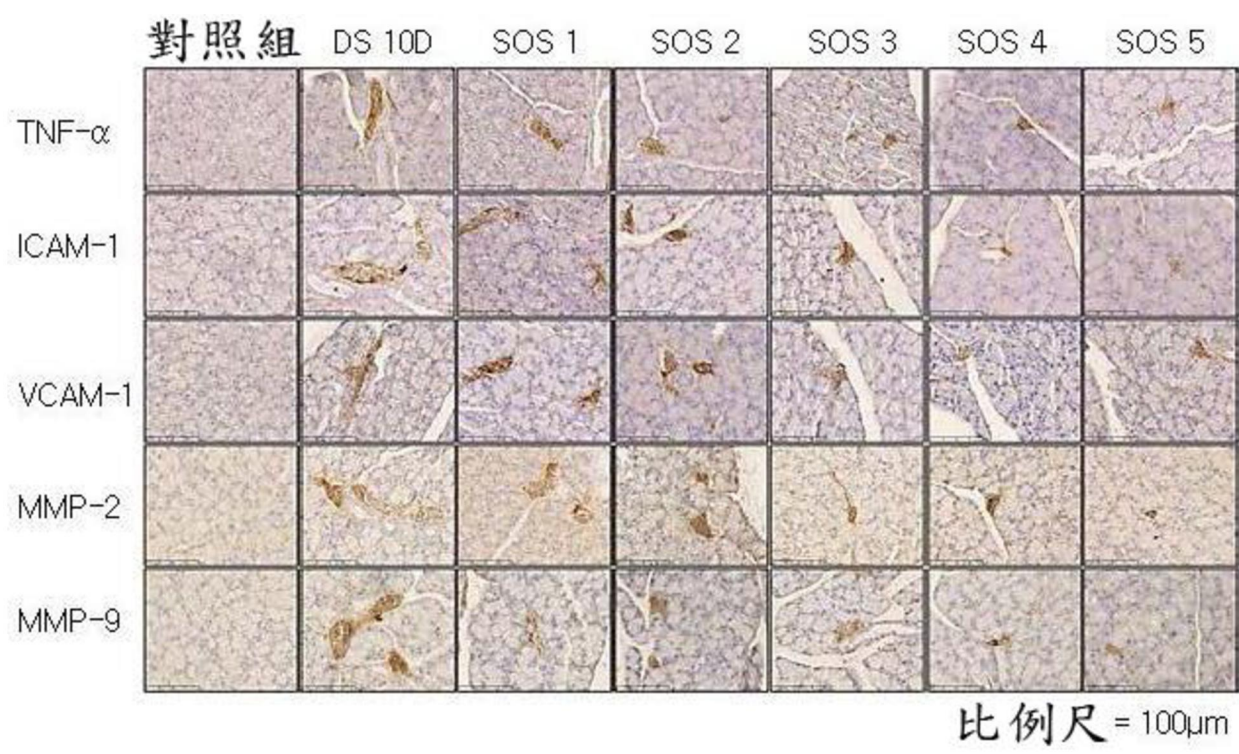


圖 6