



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109925307 A

(43)申请公布日 2019.06.25

(21)申请号 201811647597.3

(22)申请日 2018.12.29

(71)申请人 广东宏盈科技有限公司

地址 528500 广东省佛山市高明区荷城街  
道蓬山路29号

(72)发明人 吴绮峰

(74)专利代理机构 广州粤高专利商标代理有限  
公司 44102

代理人 任重

(51) Int. Cl.

A61K 31/352(2006.01)

A61K 31/728(2006.01)

A61P 27/02(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

权利要求书1页 说明书10页

(54)发明名称

一种异黄酮与玻璃酸钠药物组合物及其应  
用

(57)摘要

本发明公开了药物组合物,所述药物组合物含有大豆异黄酮和玻璃酸钠,所述大豆异黄酮与玻璃酸钠的质量比为1:3~500。本发明的药物组合物可进一步制备成眼用制品,包括眼用注射剂、滴眼剂、眼用凝胶、眼药膏等;该药物组合物对儿童眼部肿瘤如视网膜母细胞瘤、眼部新生血管病变如眼底黄斑病变具有显著的抑制功效,玻璃酸钠的使用可进一步强大豆异黄酮的治疗效果,在保证作用效果不变的情况下,可减少大豆异黄酮的使用量,具有较大的应用前景。

1. 一种异黄酮与玻璃酸钠药物组合物,其特征在于,含有大豆异黄酮和玻璃酸钠。
2. 根据权利要求1所述的药物组合物,其特征在于,所述大豆异黄酮与玻璃酸钠的质量比为1:3~500。
3. 权利要求1或2所述的药物组合物在制备眼用制品中的应用。
4. 根据权利要求3所述的应用,其特征在于,所述眼用制品为眼用注射剂、滴眼剂、眼用凝胶、眼药膏或药剂学上的任何一种适于眼局部外用的其他剂型。
5. 一种眼用制品,其特征在于,含有大豆异黄酮0.001%~0.015%(w/v)及玻璃酸钠0.05%~0.5%(w/v)。
6. 根据权利要求5所述的眼用制品,其特征在于,当剂型为滴眼液或眼用凝胶时,辅料包括抑菌剂、渗透压调节剂、pH调节剂和注射用水。
7. 权利要求1或2所述的药物组合物在制备治疗儿童眼部肿瘤和/或眼部新生血管病变药物中的应用。
8. 权利要求5或6所述的眼用制品在制备治疗儿童眼部肿瘤和/或眼部新生血管病变药物中的应用。
9. 根据权利要求7或8所述的应用,其特征在于,所述儿童眼部肿瘤为视网膜母细胞瘤。
10. 根据权利要求7或8所述的应用,其特征在于,所述眼部新生血管病变为眼底黄斑病。

## 一种异黄酮与玻璃酸钠药物组合物及其应用

### 技术领域

[0001] 本发明属于眼用制剂技术领域领域,更具体地,涉及一种异黄酮与玻璃酸钠药物组合物及其应用。

### 背景技术

[0002] 异黄酮,又名大豆异黄酮,是植物苯丙氨酸代谢过程中,由肉桂酰辅酶A侧链延长后环化形成以苯色酮环为基础的酚类化合物,其3-苯基衍生物即为异黄酮,属植物次生代谢产物。大豆异黄酮可预防更年期综合征,预防、改善骨质疏松,预防心血管疾病,预防早老性痴呆,美容、延缓衰老;研究发现,大豆异黄酮对乳腺癌、结肠癌、肺癌、前列腺癌和皮肤癌及白血病有明显的治疗作用,大豆异黄酮也可预防卵巢癌、结肠癌、胃癌和前列腺癌的发生。

[0003] 视网膜母细胞瘤(Retinoblastoma,Rb)和黄斑病变是目前常见的眼部疾病,目前针对这两种疾病的主要治疗方法均为物理治疗方法,费用昂贵且操作复杂,用药方面,全身用药难以精准地作用于眼底,由于视网膜处的微血管管径非常细,且在体内血液循环系统较为末端的位置。因此,亟需一种眼部外用,可直接作用于眼部的有效药物来治疗视网膜母细胞瘤、眼底黄斑病变的药剂。于此同时,还未见有将大豆异黄酮制成滴眼剂用于治疗视网膜母细胞瘤和/或黄斑病变的报道。

[0004] 钠玻璃酸钠(Sodium Hyaluronate)又名透明质酸钠,是由N-乙酰葡萄糖醛酸反复交替而形成的一种高分子多糖体生物材料。玻璃酸钠为关节滑液的主要成分,是软骨基质的成分之一。在关节腔内起润滑作用,可覆盖和保护关节软骨,改善关节挛缩,抑制软骨变性变化表面,改善病理性关节液,增加滴滑功能。玻璃酸钠具有显著的亲水能力和润滑作用,因此,可明显缓解眼干燥症的疼痛、痒、烧灼感、异物感等临床症状,明显延长泪膜破裂时间。目前,关于异黄酮与玻璃酸钠搭配使用的药物组合物还未见报道。

### 发明内容

[0005] 本发明要解决的技术问题是针对技术的缺陷和不足,提供一种异黄酮与玻璃酸钠药物组合物,该药物组合物对儿童眼部肿瘤如视网膜母细胞瘤、眼部新生血管病变如眼底黄斑病变具有显著的抑制功效,玻璃酸钠的使用可进一步强大豆异黄酮的治疗效果,在保证作用效果不变的情况下,减少大豆异黄酮的使用量,具有较大的应用前景。

[0006] 本发明的第一个目的是提供一种异黄酮与玻璃酸钠药物组合物。

[0007] 本发明的第二个目的是提供所述异黄酮与玻璃酸钠药物组合物的应用。

[0008] 本发明的第三个目的是提供包含所述异黄酮与玻璃酸钠药物组合物的眼用制剂。

[0009] 本发明的上述目的是通过以下技术方案给予实现的:

[0010] 一种异黄酮与玻璃酸钠药物组合物,含有大豆异黄酮和玻璃酸钠。

[0011] 本发明发现玻璃酸钠不仅可以作为一种增稠剂,提高大豆异黄酮在眼部的作用时间,提高眼内生物利用度,从而提高药效;另外一方面,一定浓度的玻璃酸钠本身还可以提

高大豆异黄酮对视网膜母细胞瘤和眼底黄斑病变的治疗效果。

[0012] 优选地,所述大豆异黄酮与玻璃酸钠的质量比为1:3~500。

[0013] 优选地,所述大豆异黄酮与玻璃酸钠的质量比为1:20~200。

[0014] 更优选地,所述大豆异黄酮与玻璃酸钠的质量比为1:50~100。

[0015] 本发明还请求保护上述任一所述药物组合物在制备眼用制品中的应用。

[0016] 优选地,所述眼用制品为眼用注射剂、滴眼剂、眼用凝胶、眼药膏或药剂学上的任何一种适于眼局部外用的其他剂型。

[0017] 本发明还提供一种眼用制品,所述眼用制品含有大豆异黄酮0.001%~0.015% (w/v) 及玻璃酸钠0.05%~0.5% (w/v)。

[0018] 优选地,所述大豆异黄酮含量为0.005%~0.010%,玻璃酸钠含量为0.1%~0.3%。

[0019] 优选地,当剂型为眼用注射剂或滴眼液时,辅料包括、抗菌剂、渗透压调节剂、pH调节剂和注射用水;pH调节剂为氢氧化钠、盐酸、硼酸、硼砂中的任何一种或多种,使用pH调节剂调节成品药剂的pH值为5.0~7.0;渗透压调节剂为氯化钠、氯化钾、葡萄糖、硼酸、硼砂、甘油、甘露醇中的一种或多种,使用渗透压调节剂调节成品药剂渗透压至280~330mOsm/L。

[0020] 优选地,当剂型为眼用注射剂或滴眼液时,辅料还包括助溶剂,其含量为0.1~1% (w/v)。

[0021] 优选地,所述抗菌剂的含量为0.001%~0.1% (w/v)。

[0022] 更优选地,所述抗菌剂为自羟苯乙酯、羟苯甲酯、羟苯丙酯、醋酸苯汞、三氯叔丁醇、硫柳汞、苯扎氯铵和苯扎溴铵中的一种或多种。

[0023] 优选地,当剂型为眼用凝胶时,辅料包括眼用凝胶基质,所述眼用凝胶基质选自卡波姆、羟丙基纤维素、黄原胶中的至少一种,优选卡波姆。其用量为1%~10%。

[0024] 更优选地,还含有渗透压调节剂、pH调节剂、抗菌剂及剂和注射用水;所述pH调节剂为氢氧化钠、盐酸、硼酸、硼砂中的任何一种或多种,使用pH调节剂调节成品药剂的pH值为5.0~7.0;所述渗透压调节剂为氯化钠、氯化钾、葡萄糖、硼酸、硼砂、甘油、甘露醇中的一种或多种,使用渗透压调节剂调节成品药剂渗透压至280~330mOsm/L;所述抗菌剂为自羟苯乙酯、羟苯甲酯、羟苯丙酯、醋酸苯汞、三氯叔丁醇、硫柳汞、苯扎氯铵和苯扎溴铵中的一种或多种,其含量为0.001%~0.1% (w/v)。

[0025] 优选地,当剂型为眼药膏时,辅料包括羊毛脂、黄凡士林、液体石蜡、抗菌剂等。

[0026] 同时,上述药物组合物在制备治疗儿童眼部肿瘤和/或眼部新生血管病变药物中的应用,眼用制品在制备治疗儿童眼部肿瘤和/或眼部新生血管病变药物中的应用也在本发明保护范围内。

[0027] 优选地,所述儿童眼部肿瘤为视网膜母细胞瘤。具体地,所述视网膜母细胞瘤为人视网膜母细胞瘤细胞系RB44或Y79细胞。

[0028] 优选地,所述眼部新生血管病变为眼底黄斑病。

[0029] 与现有技术相比,本发明具有以下有益效果:

[0030] 本发明提供了一种大豆异黄酮与玻璃酸钠的药物组合物。所述药物组合物可进一步制备成眼用制品,包括眼用注射剂、滴眼剂、眼用凝胶、眼药膏等;该药物组合物对儿童眼部肿瘤如视网膜母细胞瘤、眼部新生血管病变如眼底黄斑病变具有显著的抑制功效,玻璃

酸钠的使用可进一步强大豆异黄酮对视网膜母细胞瘤和眼底黄斑病变的治疗效果,在保证作用效果不变的情况下,可减少大豆异黄酮的使用量,具有较大的应用前景。

### 具体实施方式

[0031] 以下结合具体实施例来进一步说明本发明,但实施例并不对本发明做任何形式的限定。除非特别说明,本发明采用的试剂、方法和设备为本技术领域常规试剂、方法和设备。

[0032] 除非特别说明,以下实施例所用试剂和材料均为市购。

[0033] 实施例1大豆异黄酮及玻璃酸钠对视网膜母细胞瘤的体外抑制试验

[0034] 1、试验方法

[0035] 分别取对数生长期人视网膜母细胞瘤细胞系RB44和Y79细胞,稀释至 $1 \times 10^7$ /mL的细胞悬液,以每孔200 $\mu$ L接种于96孔板;设置以下试验组:(1) 40 $\mu$ g/mL大豆异黄酮;(2) 40 $\mu$ g/mL大豆异黄酮+4mg/mL玻璃酸钠;(3) 40 $\mu$ g/mL大豆异黄酮+4mg/mL卡波姆;(4) 40 $\mu$ g/mL大豆异黄酮+甲基纤维素;(5) 4mg/mL玻璃酸钠;(6) 4mg/mL卡波姆;(7) 40 $\mu$ g/mL大豆异黄酮+甲基纤维素;所述卡波姆、甲基纤维素均为常用的增稠剂;(8) 80 $\mu$ g/mL大豆异黄酮;另外设置(9)对照组,为不加药,每个浓度设5个平行孔,将上述试验组计入相应孔板中,置37 $^{\circ}$ C中培养12h,24h,36h,48h,每孔加入浓度为5mg/mL的MTT 20 $\mu$ L,37 $^{\circ}$ C孵育4h,弃去培养液,加入150 $\mu$ L DMSO,轻微振荡溶解结晶。用培养基加DMSO调零,用酶标仪在450nm处测吸光度(A)值,按如下公式计算细胞生长抑制率:细胞生长抑制率(%) = (1-试验组吸光度/对照组吸光度)  $\times$  100%,3次重复,取平均值分析。

[0036] 2、结果

[0037] (1) 异黄酮+玻璃酸钠对视网膜母细胞瘤细胞系RB44的细胞生长抑制率结果如表1所示,可见,相同条件下,异黄酮+玻璃酸钠联用对视网膜母细胞瘤细胞系RB44具有更好的抑制效果。

[0038] 表1异黄酮+玻璃酸钠对视网膜母细胞瘤细胞系RB44增生的影响

[0039]

试验组	生长抑制率 (%)			
	12h	24h	36h	48h
40 $\mu$ g/mL 大豆异黄酮	19.35 $\pm$ 0.46	34.77 $\pm$ 1.22	53.35 $\pm$ 0.53	70.84 $\pm$ 0.87
40 $\mu$ g/mL 大豆异黄酮+4mg/mL 玻璃酸钠	25.65 $\pm$ 0.36	45.26 $\pm$ 1.28	67.35 $\pm$ 0.63	81.36 $\pm$ 1.35
40 $\mu$ g/mL 大豆异黄酮+4mg/mL 卡波姆	21.35 $\pm$ 0.54	36.24 $\pm$ 0.66	56.62 $\pm$ 0.64	73.54 $\pm$ 1.24
40 $\mu$ g/mL 大豆异黄酮+甲基纤维素	20.43 $\pm$ 0.67	34.26 $\pm$ 0.59	56.23 $\pm$ 0.68	72.46 $\pm$ 0.84

[0040]

4mg /mL 玻璃酸钠	-	-	-	-
4mg /mL 卡波姆	-	-	-	-
4mg /mL 甲基纤维素	-	-	-	-
80 $\mu$ g/mL 大豆异黄酮	32.45 $\pm$ 0.24	43.78 $\pm$ 0.37	61.57 $\pm$ 1.25	82.37 $\pm$ 1.75
对照	-	-	-	-

[0041] (2) 异黄酮+玻璃酸钠对视网膜母细胞瘤细胞系Y79的细胞生长抑制率结果如表2所示,可见,相同条件下,异黄酮+玻璃酸钠联用对视网膜母细胞瘤细胞系Y79具有更好的抑制效果。

[0042] 表2异黄酮+玻璃酸钠对视网膜母细胞瘤细胞系Y79增生的影响

[0043]

试验组	生长抑制率 (%)			
	12h	24h	36h	48h
40 $\mu$ g/mL 大豆异黄酮	16.89 $\pm$ 0.25	34.75 $\pm$ 0.24	53.46 $\pm$ 0.17	71.34 $\pm$ 1.14
40 $\mu$ g/mL 大豆异黄酮+4mg /mL 玻璃酸钠	23.56 $\pm$ 0.57	45.22 $\pm$ 0.35	66.27 $\pm$ 1.45	80.21 $\pm$ 0.89
40 $\mu$ g/mL 大豆异黄酮+4mg /mL 卡波姆	18.64 $\pm$ 0.65	36.48 $\pm$ 0.95	56.43 $\pm$ 0.85	74.56 $\pm$ 0.89
40 $\mu$ g/mL 大豆异黄酮+甲 基纤维素	18.41 $\pm$ 0.54	35.98 $\pm$ 0.67	57.12 $\pm$ 0.56	73.95 $\pm$ 0.75
4mg /mL 玻璃酸钠	-	-	-	-
4mg /mL 卡波姆	-	-	-	-
4mg /mL 甲基纤维素	-	-	-	-
80 $\mu$ g/mL 大豆异黄酮	34.25 $\pm$ 0.53	47.78 $\pm$ 0.68	63.77 $\pm$ 1.21	80.24 $\pm$ 1.05
对照	-	-	-	-

[0044] 由上述结果可以看出,当玻璃酸钠、卡波姆、甲基纤维素单独作用视网膜母细胞瘤细胞时,不存在抑制作用,说明玻璃酸钠、卡波姆、甲基纤维素本身对视网膜母细胞瘤细胞物无抑制作用,主要是通过增加大豆异黄酮的药效来提高对肿瘤细胞的抑制率,其中尤其是玻璃酸钠增效最明显,猜想可能是因为玻璃酸钠在可以作为增稠剂之外还有其它的作用途径来提高大豆异黄酮药物的生物利用度。40 $\mu$ g/mL大豆异黄酮+4mg/mL玻璃酸钠试验组在48h时对视网膜母细胞瘤的抑制率与80 $\mu$ g/mL大豆异黄酮相当,这也表明,一定程度可以通过大豆异黄酮+玻璃酸钠联用来降低大豆异黄酮的使用量。

[0045] 实施例2~4

[0046] 制备不同组分含量的异黄酮+玻璃酸钠滴眼液,如表3所示:

[0047] 表3实施例2~4滴眼液配方

[0048]

	原料品种	实施例 2	实施例 3	实施例 4
活性组分	大豆异黄酮	0.005g	0.008g	0.010g
增效剂	玻璃酸钠	1g	1.2g	0.5g
助溶剂	聚乙烯醇		0.4g	
	聚乙烯吡咯烷酮			0.6g
	羧甲基纤维素钠	0.3g		
抗菌剂	苯扎氯铵	0.004g		
	羟苯甲酯		0.010g	
	硫柳汞			0.009g
渗透压调节剂	氯化钠	0.9g		
	氯化钾			1.5g
	葡萄糖		8g	
pH 调节剂	硼酸		0.2g	
	氢氧化钠	0.25g		
	柠檬酸			0.3g
注射用水		加至 100mL	加至 100mL	加至 100mL
药剂规格		0.005%异黄酮 滴眼液	0.008% 异黄 酮滴眼液	0.010% 异黄 酮滴眼液

[0049] 按本发明技术方案,配制异黄酮滴眼液可选用的辅料品种不限于上表所列品种,还可以有以下多种选择:

[0050] 所述抗菌剂为自羟苯乙酯、羟苯甲酯、羟苯丙酯、醋酸苯汞、三氯叔丁醇、硫柳汞、苯扎氯铵和苯扎溴铵中的一种或多种。

[0051] 使用渗透压调节剂调节成品滴眼液的渗透压摩尔浓度为280~330mOsmol/kg;渗透压调节剂为氯化钠、氯化钾、葡萄糖、硼酸、硼砂、甘油、甘露醇中的一种或多种。

[0052] 使用pH调节剂调节成品滴眼液的pH值为5.0~7.0;所述pH调节剂为磷酸氢二钠-磷酸二氢钠缓冲液、磷酸二氢钾-磷酸氢二钾缓冲液、硼酸-硼砂缓冲液、氢氧化钠、碳酸氢钠、柠檬酸、柠檬酸钠和醋酸中的一种或多种。

[0053] 制备方法为取适量注射用水加入助溶剂,再溶解大豆异黄酮和玻璃酸钠得到液体

A;然后再用适量注射用水溶解其它滴眼液辅料,得到溶液B;然后将溶液A和溶液B混匀,加入其余注射用水,使用渗透压调节剂调节成品滴眼液的渗透压摩尔浓度为260~340mOsmol/kg;使用pH调节剂调节成品滴眼液的pH值为5.0~7.0,过滤,分装,即得。所用制备器具及包装容器均须灭菌。

[0054] 实施例5~7

[0055] 制备不同组分含量的异黄酮+玻璃酸钠眼用凝胶,如表4所示:

[0056] 表4实施例5~7眼用凝胶配方

[0057]

	原料品种	实施例 5	实施例 6	实施例 7
活性组分	大豆异黄酮	0.012g	0.015g	0.001g
增效剂	玻璃酸钠	1.2g	1.5g	0.2g
凝胶基质	卡波姆		5g	
	羟丙基纤维素	2g		
	黄原胶			4g
抗菌剂	羟苯乙酯			0.006g
	羟苯甲酯	0.010g		
	苯扎溴铵		0.002g	
渗透压调节剂	氯化钠			1g
	氯化钾		2g	
	甘露醇	6g		
pH 调节剂	硼酸	0.2g		
	氢氧化钠		0.4g	
	柠檬酸			0.5g
注射用水		加至 100mL	加至 100mL	加至 100mL
药剂规格		0.012%异黄酮	0.015% 异黄	0.001% 异黄

[0058]

		眼用凝胶	酮眼用凝胶	酮眼用凝胶

[0059] 所述用的抗菌剂、渗透压调节剂、pH调节剂、凝胶基质的配方不限于上述实施例;

[0060] 所述抗菌剂为自羟苯乙酯、羟苯甲酯、羟苯丙酯、醋酸苯汞、三氯叔丁醇、硫柳汞、苯扎氯铵和苯扎溴铵中的一种或多种。

[0061] 使用渗透压调节剂调节成品滴眼液的渗透压摩尔浓度为280~330mOsmol/kg;渗透压调节剂为氯化钠、氯化钾、葡萄糖、硼酸、硼砂、甘油、甘露醇中的一种或多种。

[0062] 使用pH调节剂调节成品滴眼液的pH值为5.0~7.0;所述pH调节剂为磷酸氢二钠-磷酸二氢钠缓冲液、磷酸二氢钾-磷酸氢二钾缓冲液、硼酸-硼砂缓冲液、氢氧化钠、碳酸氢钠、柠檬酸、柠檬酸钠和醋酸中的一种或多种。

[0063] 所述异黄酮眼用凝胶的制备方法为取适量注射用水加入凝胶基质,再溶解大豆异黄酮和玻璃酸钠得到液体A;然后再用适量注射用水溶解其它滴眼液辅料,得到溶液B;然后将溶液A和溶液B混匀,加入其余注射用水,使用渗透压调节剂调节成品滴眼液的渗透压摩尔浓度为260~340mOsmol/kg;使用pH调节剂调节成品滴眼液的pH值为5.0~7.0,过滤,分装,即得。所用制备器具及包装容器均须灭菌。

[0064] 实施例8~10

[0065] 制备不同组分含量的异黄酮+玻璃酸钠眼药膏,如表5所示:

[0066] 表5实施例8~10眼用凝胶配方

[0067]

原料品种	实施例 8	实施例 9	实施例 10
大豆异黄酮	0.005g	0.008g	0.012g
玻璃酸钠	1.5g	1.6g	2.4g
抗菌剂	0.01g	0.005g	0.08g
羊毛脂	10g	15g	8g
液体石蜡	3g	6g	9g
黄凡士林	补充至 100g	补充至 100g	补充至 100g
药剂规格	0.005% 异黄酮眼药膏	0.008% 异黄酮眼药膏	0.012% 异黄酮眼药膏

[0068] 所述抗菌剂为自羟苯乙酯、羟苯甲酯、羟苯丙酯、醋酸苯汞、三氯叔丁醇、硫柳汞、苯扎氯铵和苯扎溴铵中的一种或多种。

[0069] 所述异黄酮眼药膏的制备方法:取大豆异黄酮和玻璃酸钠与无菌研钵中,加入少量灭菌液状石蜡,充分研磨后;将;分次加入由羊毛脂、剩余液体石蜡、黄凡士林混合做成的眼药膏基质,随加随研匀,即得。

[0070] 对比例1

[0071] 一种异黄酮滴眼液,配方与实施例3基本相同,不同之处在于,不含有玻璃酸钠。制备方法同实施例3相同。

[0072] 对比例2

[0073] 一种异黄酮滴眼液,配方与实施例3基本相同,不同之处在于,将玻璃酸钠替换成卡波姆;制备方法同实施例3相同。

[0074] 对比例3

[0075] 一种异黄酮滴眼液,配方与实施例3基本相同,不同之处在于,将玻璃酸钠替换成甲基纤维素;制备方法同实施例3相同。

[0076] 测试例1异黄酮+玻璃酸钠滴眼液对视网膜母细胞瘤的生长抑制试验

[0077] 采用本发明实施例2~4、对比例1~3制备得到的0.005%、0.008%、0.01%异黄酮滴眼液做眼部应用的药效学研究试验,同时以0.9%氯化钠注射液做阴性对照;

[0078] 取RB小鼠96只,随机分为8组,每组12只,分别为正常组、模型对照组、实施例2~4组,对比例1~3组;模型对照组、实施例组和对比例组造模:将RB44细胞分别以4 $\mu$ L/只注射至小鼠的眼睛玻璃体腔内,浓度 $1 \times 10^7$ /mL;造模成功后,正常组及模型对照组用0.9%氯化钠注射液,一天3次,每次2滴;实施例1~3各眼用滴眼液滴眼一天3次,每次2滴。

[0079] 小鼠进行正常的饲养,10天,20天,30天,60天后观察小鼠肿瘤生长情况。并通过外科手术摘取肿瘤,根据公式进行肿瘤体积的计算:最大肿瘤的直径 $2x$ 第二大肿瘤的直径 $x0.5$ ,重复三次,结果如表6所示:

[0080] 表6视网膜母细胞瘤RB44细胞的肿瘤体积比较

[0081]

组别	体积 (mm <sup>3</sup> )			
	10d	20d	30d	60d

[0082]

正常组	0	0	0	0
模型对照组	157.49 $\pm$ 0.65	312.69 $\pm$ 0.68	402.64 $\pm$ 0.68	654.67 $\pm$ 0.43
实施例 2	75.67 $\pm$ 0.34	105.46 $\pm$ 1.64	131.68 $\pm$ 1.34	185.14 $\pm$ 0.33
实施例 3	69.87 $\pm$ 0.94	89.59 $\pm$ 1.36	115.43 $\pm$ 1.65	145.95 $\pm$ 0.43
实施例 4	54.69 $\pm$ 1.68	74.45 $\pm$ 0.34	97.59 $\pm$ 0.36	121.51 $\pm$ 0.67
对比例 1	80.54 $\pm$ 0.65	120.16 $\pm$ 1.26	135.34 $\pm$ 0.64	179.32 $\pm$ 0.56
对比例 2	75.65 $\pm$ 1.35	115.19 $\pm$ 1.05	128.25 $\pm$ 0.65	174.35 $\pm$ 0.83
对比例 3	76.36 $\pm$ 1.59	116.94 $\pm$ 0.67	127.75 $\pm$ 0.67	172.68 $\pm$ 0.67

[0083] 同时,选用Y79细胞,采取上述相同的方法进行异黄酮滴眼液对视网膜母细胞瘤的生长抑制试验,其结果如表7所示:

[0084] 表7视网膜母细胞瘤Y79细胞的肿瘤体积比较

[0085]

组别	体积 (mm <sup>3</sup> )			
	10d	20d	30d	60d
正常组	0	0	0	0
模型对照组	105.56±1.56	175.51±0.78	237.64±0.78	668.61±0.45
实施例 2	65.43±0.53	95.64±1.36	121.32±0.31	312.32±0.46
实施例 3	43.84±1.41	56.78±1.84	79.58±1.14	186.74±0.13
实施例 4	35.26±0.69	45.46±0.76	65.69±0.38	124.51±0.57
对比例 1	64.54±0.35	73.35±1.53	102.57±0.78	208.64±0.35
对比例 2	59.98±1.35	68.52±1.20	95.64±0.37	186.68±0.41
对比例 3	58.64±1.59	67.46±0.57	96.68±0.67	190.47±0.38

[0086] 以上结果表明,本发明制备的异黄酮+玻璃酸钠滴眼液对人视网膜母细胞瘤RB44细胞和Y79细胞有显著的生长抑制作用,相比于不使用玻璃酸钠或其他增稠剂的异黄酮滴眼液,具有更好的视网膜母细胞瘤生长抑制效果。

[0087] 测试例2异黄酮+玻璃酸钠滴眼液对脉络膜新血管形成(CNV)的抑制作用

[0088] 采用本发明实施例2~4、对比例1~3制备得到的0.005%、0.008%、0.01%异黄酮滴眼液做眼部应用的药效学研究试验,同时以0.9%氯化钠注射液做阴性对照;以新生血管有关的各类眼疾的预防或治疗的典型的治疗剂-康柏西普眼用注射剂为阳性对照。

[0089] 选取健康有色家兔,雌雄不限,体重2~3kg,40只,随机分为8组,每组5只,分别为正常组、模型对照组、实施例2~4组,对比例1~3组;模型对照组、实施例组和对比例组造模:以波长514.5nm的氩绿激光(光斑直径50μm,功率0.7W,时间0.1s),在距视盘2~3个视盘直径的颞侧髓线上下视网膜处密集照射20个点。造模成功后,正常组及模型对照组用0.9%氯化钠注射液,一天3次,每次2滴;实施例1~3各眼用滴眼液滴眼一天3次,每次2滴。阳性对照组每天注射0.05mL,即0.5mg康柏西普;在小鼠造模成功后的第7天、14天、21天用血管荧光造影(FFA)和光学相干断层扫描法(OCT)测定脉络膜血管的情况。FFA结果结合OCT法结果量化之后进行t检验比较。其结果如表7所示:

[0090] 表7黄酮滴眼液处理后脉络膜新血管形成面积比较

[0091]

组别	面积 (mm <sup>2</sup> )		
	7d	14d	21d
正常组	0	0	0
模型对照组	36.42±0.65	76.51±1.05	95.64±0.87
实施例 2	14.22±0.35	39.83±0.36	47.32±0.75
实施例 3	11.57±0.67	30.37±0.75	36.53±1.34
实施例 4	9.46±0.84	25.58±1.37	30.36±0.84
对比例 1	14.36±0.36	40.36±0.36	48.62±0.48
对比例 2	13.35±0.65	38.54±0.98	48.21±0.68
对比例 3	12.95±0.94	36.54±1.04	45.36±0.37
阳性对照	4.25±0.56	5.54±0.36	8.16±0.48

[0092] 以上结果表明,本发明制备的异黄酮+玻璃酸钠滴眼液对脉络膜新血管形成具有显著的生长抑制作用,相比于不使用玻璃酸钠或其他增稠剂的异黄酮滴眼液,对脉络膜新血管形成具有更好的生长抑制效果。

[0093] 对本领域的技术人员来说,可根据以上描述的技术方案以及构思,做出其它各种相应的改变以及形变,而所有的这些改变以及形变都应该属于本发明权利要求的保护范围之内。