

【發明說明書】

【中文發明名稱】 抗壞血酸用於製備保護角膜內皮細胞的眼用組成物的用途

【英文發明名稱】 Use of Ascorbic Acid for Manufacturing Corneal Endothelial Cells Protective Ophthalmic Composition

【技術領域】

【0001】 本發明係有關於一種抗壞血酸用於製備保護角膜內皮細胞眼用組成物的用途，尤指一種抗壞血酸用於製備降低眼部手術導致的角膜內皮細胞傷害的眼用組成物的用途。

【先前技術】

【0002】 白內障是造成年長者視力模糊最常見的原因之一，當水晶體中的可溶性蛋白質逐漸轉變為不可溶蛋白質時會而形成混濁，則導致白內障。根據台灣健保屬統計，60歲以上有80%的人口罹患有白內障，也因此白內障超音波乳化手術高居所有醫療手術數量的前茅，一年有17萬例。雖然目前白內障超音波手術不論是儀器設備或技術上都有長足的進步，仍然有一定數目的病人可能會發生併發症，例如角膜水腫、高眼壓、發炎、出血等。

【0003】 白內障超音波乳化手術已知會使得角膜內皮細胞受到氧化壓力的傷害，可能會造成角膜內皮細胞的流失，而人類角膜內皮細胞在體內的再生能力極微，一旦內皮細胞密度過低時，內皮層的排水功能將無法

發揮，容易導致角膜水腫、混濁等，因而損害視力。尤其對於角膜內皮細胞密度較為低下的患者而言，白內障超音波手術造成的氧化壓力將導致內皮細胞凋亡或細胞自噬，最後失去代償作用而致盲。

【0004】 為了預防或治療手術的角膜內皮併發症，目前常會使用含有類固醇的眼藥水，然類固醇本身副作用也不勝枚舉。而手術中使用的人工玻璃體，或許可減少角膜內皮細胞的流失，但也僅止於手術中，若殘留於前房之中，將會造成更嚴重的青光眼等併發症。

【0005】 因此，目前亟需一種可減緩或避免白內障超音波乳化手術引發的角膜內皮層的氧化壓力，提高手術的成功率外，更有效的避免手術併發症的產生。

【發明內容】

【0006】 為達到上述的目的，本發明提供了一種抗壞血酸用於製備保護角膜內皮細胞的眼用組成物的用途。於眼部手術前，如白內障超音波乳化手術，連續施點本發明的眼用組成物於眼部以使得前房液內含有足夠濃度的抗壞血酸，抗壞血酸可抑制氧化壓力所導致的細胞凋亡以及細胞自噬等細胞病理現象，進而達到保護手術前後角膜細胞以避免角膜細胞流失造成的併發症。

【0007】 本發明所提供的一種抗壞血酸用於製備眼用組成物的用途，其係於一眼部手術之前連續施點一眼用組成物於患者眼部至少五天，用以降低眼部手術導致的角膜內皮細胞的傷害，其中，該眼用組成物包括一抗壞血酸以及一藥學上可接受的眼用載劑。

【0008】於一較佳實施態樣中，該抗壞血酸於該眼用組成物中的濃度可為10 mg/cc至60 mg/cc，其中又以20 mg/cc至50 mg/cc為更佳。

【0009】該抗壞血酸於該眼用組成物中的濃度可視連續施點該眼用組成物於眼部的持續天數以及每日施點的次數而調整。即，若該抗壞血酸的濃度較低，可配合連續施點較長天數以及每日施點較多次數以達到相同效果，反之，若該抗壞血酸的濃度較高，則可減少連續施點的天數，以及每日施點的次數，可依本領域專業人士而調整。而於一較佳實施態樣中，該眼用組成物係於連續施點於眼部至少二十八天，每天至少四次，以達到更好的角膜內皮細胞保護功效。

【0010】舉例而言，眼用組成物中的抗壞血酸的濃度為50 mg/cc時，可每日施點四次，連續二十八天，而若眼用組成物中抗壞血酸的濃度為20 mg/cc時，可每日施點十二次，連續二十八天，可依需求調整，並無特別的限制。

【0011】於一較佳實施態樣中，該眼部手術為白內障超音波乳化手術。白內障超音波乳化手術是一種小切口手術，利用超音波將混濁的水晶體乳化後吸除，後續可再植入人工水晶體，使患者重見光明。而本發明的眼用組成物可用以減少白內障超音波乳化手術導致的氧化壓力而造成角膜內皮細胞的傷害，例如避免因氧化壓力造成的細胞凋亡或細胞自噬現象。

【0012】再者，於一較佳實施態樣中，該藥學上可接受的眼用載劑較佳係選自由一水溶液、一水凝膠、一軟膏、以及一微脂體所組成的群組。

【0013】另外，本發明之眼用組成物可選擇性地包括以下成分：緩衝劑、抗微生物劑、黏度劑、濕潤劑、表面活性劑、或其他添加劑。舉例而

言，可添加緩衝劑以調節眼用組成物於一適當的pH值範圍內，可選用磷酸鹽緩衝劑、硼酸鹽緩衝劑、乙酸鹽緩衝劑、檸檬酸鹽緩衝劑、或其他本領域中習知的緩衝劑；添加抗微生物劑可以避免細菌滋生，可選用青黴素類、林可醯胺類、多肽抗生素、四環素類、磺醯胺類、抗病毒藥、或其他本領域中習知的抗微生物劑等；黏度劑的添加可調整該眼用組成物的黏度，以利施點的方便性，可選用羧甲基纖維素鈉、甲基纖維素、羥丙基甲基纖維素、聚乙烯醇、葡聚糖、聚丙烯酸、或其他本領域習知的黏度劑；添加濕潤劑可延長眼用組成物存在於眼中的時間，可選用羧甲基纖維素鈉、羥丙基甲基纖維素、羥乙基纖維素、甲基纖維素、聚乙烯醇、聚維酮、甘油、丙二醇、或其他本領域中習知的濕潤劑；而添加表面活性劑可減少眼用組成物的表面張力，使得眼用組成物與眼球可充分接觸，可選用氯化鈉、氯化鉀、甘油、甘露醇、山梨醇、硼酸鈉、或其他本領域中習知的表面活性劑。

【圖式簡單說明】

【0014】

圖1係本發明實施例之細胞實驗的測試結果圖。

圖2係本發明實施例之另一細胞實驗的測試結果圖。

圖3係本發明實施例之氧化壓力測試結果圖。

圖4係本發明實施例之安全性測試結果圖。

【實施方式】

【0015】 [細胞實驗]

【0016】 本實施例係利用視網膜色素上皮細胞株(ARPE19)以及角膜內皮細胞株(B4G12)進行細胞測試。其中，B4G12 細胞培養於B4G12細胞培養液(成份包含Human Endothelial –SFM (無血清基礎人類內皮細胞生長培養基)；2% FBS (胎牛血清)；10 ng/ml bFGF(鹼性成纖維細胞生長因子))，且每兩天換一次培養液。ARPE19 細胞培養於ARPE19細胞培養液(成份包含DMEM-F12 (杜氏改良/F12營養混合培養基)；10% FBS(胎牛血清)；0.5% Ampicillin(氨苄青黴素)；0.125% Gentamycin(慶大黴素))，且細胞每兩天換一次培養液。

【0017】 添加2 mM的巴拉刈(paraquat)於上述細胞ARPE19的培養液中，以及添加0.2 mM的巴拉刈於上述角膜內皮細胞(B4G12)的培養液中，以誘發細胞凋亡，並分別添加0.1、0.5、1.0、及2.0 mM的抗壞血酸以培養五天，其細胞型態圖係如圖1所示。由圖1所示的實驗結果可得知，添加0.1 mM或0.5 mM抗壞血酸的細胞呈現凋亡以及形成囊泡，而添加1.0 mM以及2.0 mM抗壞血酸有保護細胞的效果，故以下實驗中，抗壞血酸的最低有效濃度為1.0 mM。

【0018】 接著，將ARPE19及B4G12各自分成四組，包括未添加抗壞血酸或巴拉刈的控制組1、添加抗壞血酸而未添加巴拉刈的控制組2、未添加抗壞血酸而添加巴拉刈的比較組、以及添加抗壞血酸及巴拉刈的治療組，其中，抗壞血酸的添加量為1 mM，而添加於ARPE19的比較組及治療組中的巴拉刈濃度為2 mM，添加於B4G12的比較組及治療組中的巴拉刈濃度為0.2 mM。

【0019】 由圖2所示的實驗結果可得知，未添加巴拉刈的ARPE19以及B4G12細胞的組別中，有添加或未添加抗壞血酸的細胞型態並未有明顯的細胞凋亡現象，僅有B4G12於培養第三天後有囊泡產生。而添加有2 mM及0.2 mM巴拉刈的ARPE19及B4G12細胞有明顯的細胞凋亡現象，而有額外添加1 mM抗壞血酸的組別中，其細胞凋亡其形成囊泡的現象較不明顯，顯示抗壞血酸有保護細胞的功效。

【0020】 [氧化壓力測試]

【0021】 當ARPE19以及B4G12細胞中分別添加2 mM及0.2 mM的巴拉刈，並培養五天後，利用氧化壓力檢測套組(Deep Red Fluorescence, ab186029)來檢測細胞所產生的氧化壓力(ROS)，實驗組別同上述控制組1、控制組2、比較組、以及治療組。其檢測結果如圖3所示，紅色螢光處顯示有氧化壓力產生。由圖3可得知，未添加巴拉刈的ARPE19以及B4G12細胞中，無論是否添加抗壞血酸，其氧化壓力並未明顯增加。然而，當添加2 mM的巴拉刈於ARPE19細胞，以及添加0.2 mM的巴拉刈B4G12細胞的組別中，氧化壓力明顯提高，而抗壞血酸有效地降低因添加巴拉刈所造成的氧化壓力。

【0022】 [安全性測試]

【0023】 安全性測試係以包含抗壞血酸(50 mg/cc)的眼用組成物每日一次施點於紐西蘭大白兔雙眼，連續十八天，並在第四天以及第十八天觀察大白兔雙眼的外觀，其結果係如圖4所示。由圖4中可觀察到，連續施點濃度為50 mg/cc的抗壞血酸(高濃度)，兔子的雙眼均無明顯的創傷，顯示本發明的眼用組成物對眼睛並無安全性上的疑慮。

【0024】 [白內障超音波乳化手術]

【0025】 請參照以下表1，共列出13位病患的年齡、性別、角膜內皮細胞低下的原因、進行白內障超音波乳化手術的能量以及持續時間、手術前後的細胞密度、以及細胞流失的百分比。以下有施點包含抗壞血酸的眼用組成物的病例係於術前連續28天每日施點4次本發明之眼用組成物。

【0026】 表1

	抗壞血酸的濃度 (mg/cc)	年齡/性別	角膜內皮細胞低下的原因	能量/時間 (mJ/sec)	術前/術後角膜內皮細胞密度 (cells/mm ²)	細胞流失率
病例 1 右眼	無	45/男	福斯氏角膜內皮失養症 (Fuchs dystrophy)	21.3/48.5	1481/failed	--
病例 2 左眼	20	45/男	福斯氏角膜內皮失養症	24.2 / 41.4	1365 / 1239	9.3 %
病例 3 右眼	20	54/男	角膜內皮細胞炎 (Endotheliitis)	14.5 / 27.4	1039 / 981	5.6 %
病例 4 右眼	50	73/男	福斯氏角膜內皮失養症	31.6 / 57.1	1406 / 1355	3.6 %
病例 5 右眼	50	70/女	福斯氏角膜內皮失養症	28.3 / 35.9	1037 / 983	5.3 %
病例 6 左眼	50	72/男	角膜內皮細胞炎	37.9 / 59.8	1354 / 1238	8.6 %
病例 7 右眼	50	70/女	福斯氏角膜內皮失養症	29.4 / 44.6	1216 / 1119	8.0 %
病例 8 左眼	50	79/女	福斯氏角膜內皮失養症	42.5 / 63.3	1351 / 1249	7.6 %
病例 9 右眼	50	58/女	福斯氏角膜內皮失養症	15.7 / 38.4	1259 / 1181	6.2 %
病例 10 右眼	50	73/女	雷射虹膜穿孔術 (Laser iridectomy)	38.9 / 32.7	1824 / 1724	5.5 %

病例 11 右眼	50	72/男	角膜內皮細胞炎	41.2 / 37.6	1194 / 1112	6.9 %
病例 12 左眼	50	63/女	雷射虹膜穿孔術	27.3/49.5	1738/1649	5.1%
病例 13 左眼	50	78/男	福斯氏角膜內皮 失養症	32.6/54.5	887/838	5.5%

【0027】由表1所示之手術結果可得知，病例1於術前並未施點包含抗壞血酸的眼用組成物，其於術後角膜內皮細胞大量流失，而無法測得其密度，然而，病例2至病例13皆於術前28天連續施點含抗壞血酸的眼用組成物，而比較術前與術後的角膜內皮細胞密度可發現，手術僅造成少量的細胞流失，更可將術前/術後角膜內皮細胞流失的平均百分比降到 $6.2 \pm 1.9\%$ 。

【0028】另外，根據Yamazoe et al.(Yamazoe K, Yamaguchi T, Hotta K, Satake Y, Konomi K, Den S, Shimazaki J (2011) Outcomes of cataract surgery in eyes with a low corneal endothelial cell density. J Cataract Refract Surg Dec 37(12):2130-6.)的研究結果，在角膜內皮細胞密度低下經歷標準程序的白內障超音波乳化手術後，術前術後的角膜內皮細胞流失的平均比率為 $11.5 \pm 23.4\%$ 。相較於本發明於術前連續施點包含抗壞血酸的眼用組成物，可將角膜內皮細胞流失平均比率大幅降低至 $6.2 \pm 1.9\%$ ，具有於保護內皮細胞的顯著功效。

【0029】綜合以上實驗結果，本發明提供的包含抗壞血酸的眼用組成物可有效地保護角膜內皮細胞，減少因眼部手術產生的氧化壓力而導致細胞凋亡的現象，降低因眼部手術的導致角膜內皮細胞流失乃至角膜水腫等併發症的發生率。



申請日：106/10/03

IPC分類：A61K 31/375 (2006.01)
A61P 27/02 (2006.01)

I645850

【發明摘要】

【中文發明名稱】 抗壞血酸用於製備保護角膜內皮細胞的眼用組成物的用途

【英文發明名稱】 Use of Ascorbic Acid for Manufacturing Corneal Endothelial Cells Protective Ophthalmic Composition

【中文】本發明揭露了一種抗壞血酸用於製備保護角膜內皮細胞的眼用組成物的用途，其係於一眼部手術之前連續施點一眼用組成物於患者眼部至少五天，用以降低眼部手術導致的角膜內皮細胞的傷害，其中，該眼用組成物包括一抗壞血酸以及一藥學上可接受的眼用載劑。

【英文】A use of ascorbic acid for manufacturing corneal endothelial cells protective ophthalmic composition is disclosed. The ophthalmic composition is applied to a patient's eye continuously for at least five days before an eye surgery for reducing the impact to the corneal endothelial cells caused by the eye surgery. The ophthalmic composition comprises an ascorbic acid and a pharmaceutically acceptable ophthalmic carrier.

【指定代表圖】 圖1

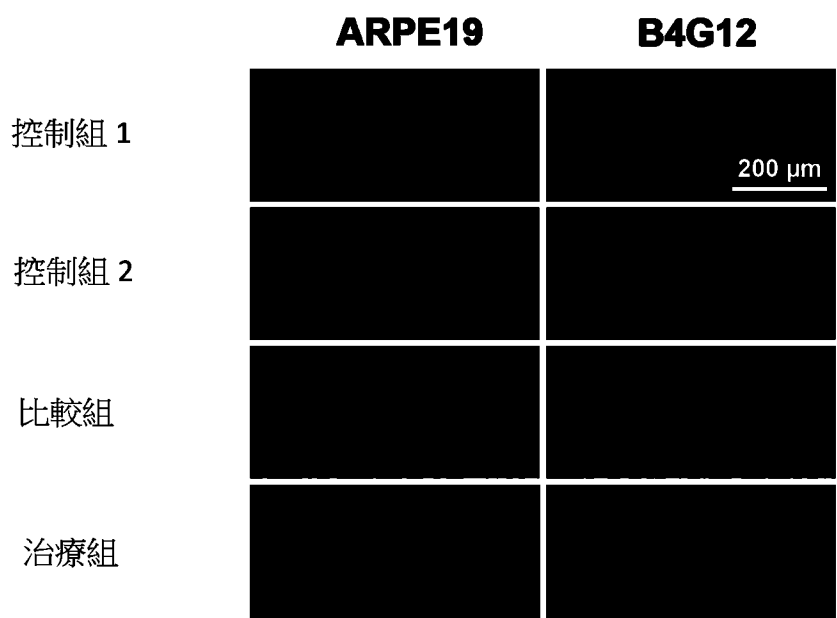


圖 3

【發明申請專利範圍】

【第1項】 一種抗壞血酸用於製備保護角膜內皮細胞的眼用組成物的用途，其係於一眼部手術之前連續施點一眼用組成物於患者眼部至少五天，用以降低眼部手術導致的角膜內皮細胞的傷害，其中，該眼用組成物包括一抗壞血酸以及一藥學上可接受的眼用載劑，且該抗壞血酸之濃度不低於1.0 mM。

【第2項】 如申請專利範圍第1項所述之用途，其中，該抗壞血酸於該眼用組成物中的濃度為10 mg/cc~60 mg/cc。

【第3項】 如申請專利範圍第2項所述之用途，其中，該抗壞血酸於該眼用組成物中的濃度為20 mg/cc~50 mg/cc。

【第4項】 如申請專利範圍第1項所述之用途，其中，係連續施點該眼用組成物至少二十八天，每天至少四次。

【第5項】 如申請專利範圍第1項所述之用途，其中，該眼部手術為白內障超音波乳化手術。

【第6項】 如申請專利範圍第1項所述之用途，其中，該眼用組成物係用以減少眼部手術導致的氧化壓力而造成角膜內皮細胞的傷害。

【第7項】 如申請專利範圍第6項所述之用途，其中，該眼用組成物係用以抑制氧化壓力而導致角膜內皮細胞凋亡以及細胞自噬現象。

【第8項】 如申請專利範圍第1項所述之用途，其中，該藥學上可接受的眼用載劑係選自由水溶液、水凝膠、軟膏、及微脂體所組成的群組。

【第9項】 如申請專利範圍第1項所述之用途，其中，該保護角膜內皮細胞係用以保護福斯氏角膜內皮失養症患者之角膜內皮細胞。