



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN) (11)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ



1-0026849

(51)⁸ A61K 31/198; A61Q 19/00; A61K 8/73; (13) B
A61P 17/00; A61K 31/728; A61K 45/06

(21) 1-2017-02047 (22) 03/12/2015
(86) PCT/IB2015/059330 03/12/2015 (87) WO2016/088078 09/06/2016
(30) MI2014A002084 04/12/2014 IT
(45) 25/12/2020 393 (43) 25/10/2017 355A
(73) PROFESSIONAL DIETETICS S.P.A. (IT)
Via Ciro Menotti, 1/A, 20129 Milano, Italy
(72) GIORGETTI, Paolo (IT).
(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)

(54) CHẾ PHẨM CHỨA HỖN HỢP GỒM CÁC AXIT AMIN ĐỂ PHỤC HỒI
FIBROELASTIN Ở CÁC MÔ LIÊN KẾT THUỘC DA

(57) Sáng chế đề cập đến chế phẩm chứa hỗn hợp gồm các axit amin có khả năng kích thích quá trình sinh tổng hợp elastin và collagen làm thành phần hoạt tính.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chế phẩm chứa hỗn hợp gồm các axit amin có khả năng kích thích quá trình sinh tổng hợp elastin và collagen làm thành phần hoạt tính.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Lớp hạ bì là vùng giữa của da thực hiện chức năng hỗ trợ và nuôi dưỡng và giúp cho da có tính bền, tính đàn hồi, tính cương và khả năng tồn tại nhờ trao đổi chất. Lớp hạ bì chứa các tế bào được gọi là nguyên bào sợi, nghĩa là các tế bào chuyên biệt có nguồn gốc trung mô, mà nó liên tục tạo ra chất nền bên trong chủ yếu chứa glycosaminoglycan (GAG) và proteoglycan (PG), các chất ưa nước có bản chất glycosit và glycopeptit tương ứng. Các phân tử lớn này giữ một lượng lớn nước, tạo thành mạng ưa nước ở dạng gel trong đó tất cả các protein dạng sợi mà mang lại độ bền và trương lực cho da được ngập trong nước này.

Các nguyên bào sợi cũng chịu trách nhiệm cho việc tổng hợp elastin, protein có tính đàn hồi giúp cho da và niêm mạc có đặc tính cơ bản thích nghi với những thay đổi về mặt hình thái học và cơ học mà chúng phải trải qua.

Elastin có khả năng giãn dài lên tới 7 lần chiều dài của chính nó và trở về mô-đun kích thước của nó mà không bị biến đổi phân tử một cách đáng kể, và có thể lặp lại về lý thuyết sự giãn dài này với số lần không giới hạn.

Các tình trạng được biết đến như là sự lão hóa da và lão hóa do ánh sáng là sự biểu hiện khách quan của các bệnh ngoài da của hiện tượng hóa sinh cực kỳ phức tạp liên quan đến tế bào, các cấu trúc mô bề mặt và, trên hết là các cấu trúc mô nằm sâu bên dưới.

Lão hóa do ánh sáng gây ra sự xuất hiện của những nếp nhăn với số lượng và độ sâu thay đổi trên bề mặt da, đặc biệt là ở nơi mà da được tiếp xúc với ánh sáng (mặt, cổ và thân mình), bệnh mô đàn hồi và các đốm sắc tố khuếch tán nhiều hoặc ít, biểu bì dày và tàn nhang. Các hợp phần đàn hồi của da, được biểu thị bằng mạng lưới

sợi elastin nằm ở phần ngoại biên của mô da (trung bì sâu), trải qua những thay đổi đáng kể do hiện tượng lão hóa do ánh sáng đã mô tả ở trên, dẫn đến sự hao hụt đáng kể tổng công suất đàn hồi của da. Ở mức độ vĩ mô, hiện tượng này làm cho mô liên kết của da giảm khả năng thích nghi với sự giãn dài cơ học, dẫn đến mô bị võng xuống và dẫn đến bệnh mô đàn hồi.

Gen mã hóa protein tropoelastin (ELN-gen), là tiền chất của elastin, là duy nhất; không có các gen khác nhau (siêu họ) mã hóa các dạng elastin khác nhau như trường hợp với collagen [1]. Gen này mã hóa các dạng tropoelastin khác nhau (vì vậy chắc chắn có một quy trình mã hóa tropoelastin khác đối với các mô khỏe mạnh và mới được tạo thành, chẳng hạn để đáp ứng lại các tổn thương về mặt vật lý như bong hoặc lão hóa do ánh sáng); gen này đã bắt đầu được biểu hiện ở giai đoạn bào thai, duy trì hoạt tính trong 5 năm đầu đời và sau đó giảm mạnh, cho đến khi nó ngừng hoạt động [1,2]. Nói cách khác, hợp phần đàn hồi của mô liên kết, và cụ thể là của chân bì, màng nhầy, mô sụn, bao màng trong mạch, mô liên kết thuộc phổi và van/vách tim, đã không còn được tổng hợp trong những năm đầu đời. Do vậy, hợp phần này thể hiện “nguồn có tính đàn hồi” của cơ thể và chưa bao giờ được dung nạp thêm trong suốt cuộc đời, ngoại trừ trường hợp thương tổn mô nghiêm trọng, như bong và lão hóa nghiêm trọng do ánh sáng. Trong những trường hợp mà có sự biểu hiện quá mức của gen LOX (lysine oxidase), mã hóa 5 enzym khác nhau mà xúc tác cho sự oxy hóa của gốc lysine trong phân tử tiền chất tropoelastin, một bước cần thiết để tổng hợp elastin chức năng và sự hợp nhất tiếp theo vào vi sợi bám dính vào bề mặt tế bào [3,4]. Cụ thể, quy trình phụ thuộc enzym này bao gồm oxy hóa lysine và sự tạo thành đồng thời bazơ Schiff giữa nhóm amino của L-LYS và aldose, để tạo ra liên kết ngang nội bào [5,6]. Elastin là protein mô liên kết duy nhất về cơ bản không được thay thế, và vẫn giữ nguyên trong 70 năm (thời gian bán hủy trung bình là 74 năm).

Trong trường hợp collagen, collagen loại IV đóng vai trò chủ chốt trong quá trình cấu tạo màng biểu bì da cơ sở và tổ chức siêu phân tử của nền ngoại bào (chất nền ngoại bào - ECM), đặc biệt liên quan đến sự định hướng tế bào trong nền này. Sự thiếu hụt collagen IV có tương quan mật thiết với sự hao hụt trophism và khả năng đàn hồi của da người, đặc biệt là ở hiện tượng thoái hóa da điển hình của sự lão hóa da và lão hóa do ánh sáng [7,8].

Đã biết là tổ hợp đặc hiệu gồm các axit amin và oligopeptit, nếu được mang và được dùng một cách thích hợp tại chỗ hoặc qua đường miệng, có tác dụng thúc đẩy sự biểu hiện gen mà nó dẫn đến sự tổng hợp protein mới trong mô liên kết biểu bì da, màng nhầy và khớp sụn, đặc biệt là tổng hợp collagen và tropoelastin [9,10,11,12].

Một trong những hiện tượng chính liên quan đến sự suy giảm dần dần chức năng đàn hồi của mô biểu bì da ở chứng lão hóa da và lão hóa do ánh sáng được biểu thị bởi sự mất dần dần hoạt tính sinh tổng hợp bởi nguyên bào sợi, tế bào chịu trách nhiệm cho sự phục hồi protein collagen và elastin và phục hồi nền ngoại bào của da (dermal chất nền ngoại bào - ECM). Do hiện tượng này, trong trường hợp sự tổng hợp protein da với cấu trúc mới và nền ngoại bào ưa nước là không đủ hoặc yếu, sự phân giải chúng bởi các enzym chuyển hóa đặc trưng được gọi là elastaza, metalloproteinaza, collagenaza và gelatinaza là gia tăng [13,14,15]. Các enzym này, được tổng hợp và siêu biểu hiện ở ty lạp thể của nguyên bào sợi lão hóa và đại thực bào, dịch chuyển cân bằng “tổng hợp-phá hủy” về phía phá hủy, dẫn đến sự hư hỏng chậm nhưng dần dần của mô, vì vậy mô trở nên kém rắn chắc, kém đàn hồi và kém hydrat hóa (thiếu hụt các hợp phần GAG, PG và fibroelastin). Để ức chế hoặc ít nhất là giới hạn hiện tượng đã nêu, mà nó một phần là do sinh lý nhưng bị trầm trọng thêm bởi các nguyên nhân di truyền và môi trường khác nhau, cần thúc đẩy sự biểu hiện của các gen gây ra sự tổng hợp protein cấu trúc trong nguyên bào sợi (tropoelastin và collagen) trong tất cả các vùng mà protein cấu trúc này có mặt, và đồng thời làm giảm sự biểu hiện của các gen chịu trách nhiệm cho việc mã hóa metalloproteinaza, đặc biệt là các gen mà chuyên gây thoái hóa collagen và elastin (collagenaza và elastaza).

Khi xem xét hoạt tính chuyển hóa tăng do sự siêu biểu hiện gen của các enzym phá hủy chất nền gây ra, đặc biệt là collagenaza và elastaza, việc sử dụng tại chỗ hoặc tiêm, trực tiếp vào mô biểu bì da, màng nhầy hoặc khớp, các chất với hoạt tính ức chế sự biểu hiện của enzym này, là đặc biệt có lợi. Cụ thể là, N-acetylxystein, dạng N-acetyl hóa của axit amin L-xystein được sulphurat hóa, thể hiện hoạt tính rõ rệt trong việc ức chế sự biểu hiện của metalloelastaza được gây ra bởi sự bức xạ ánh sáng [16]. Việc đưa đồng thời nó vào các hợp phần polyaminoaxit mà thực hiện hoạt tính elastogen và collagen có thể được sử dụng một cách có lợi để thúc đẩy sự phục hồi và duy trì hàm lượng elastin và collagen của mô liên kết.

Axit hyaluronic (HA) là GAG chính có mặt trong chất nền vô định hình trong khe của mô liên kết.

GAG (glycosaminoglycan) là các phân tử polysacarit bao gồm các đơn vị lặp mono- hoặc disacarit; axit hyaluronic là polyglucodime bao gồm N-axetyl glucosamin và axit glucuronic. HA là GAG duy nhất mà phân tử của nó không bao gồm nhóm sulphat, và là GAG duy nhất với cấu trúc mạch thẳng không phân nhánh. Các GAG khác có mặt trong chất nền vô định hình của mô liên kết, và các hợp phần của cấu trúc mô liên kết khác như dây chằng và sụn, là chondroitin sulphat, keratan sulphat, heparan sulphat, dermatan sulphat và heparin. HA thực hiện chức năng hydrat hóa chủ yếu trong ECM, thúc đẩy tính chuyển động của tế bào, trao đổi các chất dinh dưỡng và các yếu tố protein hòa tan, và điều biến hiện tượng hóa sinh nhằm phục hồi và tổ chức chất nền sợi-mô liên kết.

Hỗn hợp các axit amin để tiêm, dùng khu trú hoặc dùng qua đường miệng được bộc lộ trong EP 2 033 689, WO 2007/048522 và WO 2011/064297. Tuy nhiên, không chế phẩm nào trong số các chế phẩm được bộc lộ chứa hỗn hợp gồm glyxin, L-prolin, L-alanin, L-valin, L-leuxin và L-lysin hydroclorua ở tỷ lệ thích hợp, có khả năng kích thích tổng hợp cả collagen và elastin.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là đề xuất chế phẩm chứa hỗn hợp gồm các axit amin có khả năng kích thích quá trình sinh tổng hợp elastin và collagen làm thành phần hoạt tính.

Cụ thể, sáng chế đề cập đến chế phẩm chứa hỗn hợp gồm các axit amin mà khởi sự một cách chọn lọc sự biểu hiện của gen mã hóa tropoelastin (ELN), lysin oxidaza (LOXL-1) và collagen loại IV (COL4A1) và ức chế sự biểu hiện của các gen mã hóa metalloelastaza.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig. 1 thể hiện kết quả nghiên cứu sau phiên mã.

Fig 2 thể hiện kết quả của nghiên cứu nguyên bào sợi lớp đơn ở người được thực hiện dựa trên phương pháp phiên mã.

Mô tả chi tiết sáng chế

Hỗn hợp gồm các axit amin theo sáng chế bao gồm glyxin, L-prolin, L-alanin, L-valin, L-leuxin và L-lysin hydroclorua ở các tỷ lệ khối lượng như sau:

- Glyxin: 1;
- L-prolin: 0,7 đến 0,8;
- L-alanin: 0,47 đến 0,76;
- L-valin: 0,35 đến 0,56;
- L-leuxin: 0,13 đến 0,27;
- L-lysin hydroclorua: 0,10 đến 0,12.

L-xystein hoặc N-axetyl-L-xystein cũng có thể có mặt ở tỷ lệ phần trăm theo khối lượng nằm trong khoảng từ 1 đến 20% tổng lượng hỗn hợp axit amin.

Tỷ lệ khối lượng được ưu tiên là:

- Glyxin: 1;
- L-prolin: 0,75;
- L-alanin: 0,48 đến 0,51;
- L-valin: 0,35 đến 0,37;
- L-leuxin: 0,13 đến 0,15;
- L-lysin hydroclorua: 0,10 đến 0,11, hoặc

- Glyxin: 1;
- L-prolin: 0,75;
- L-alanin: 0,75 đến 0,76;
- L-valin: 0,54 đến 0,56;
- L-leuxin: 0,13 đến 0,14;
- L-Lysin hydroclorua: 0,10 đến 0,11, hoặc

- Glyxin: 1;

- L-prolin: 0,75;
- L-alanin: 0,49 đến 0,51;
- L-valin: 0,35 đến 0,36;
- L-leuxin: 0,26 đến 0,27;
- L-lysin hydroclorua: 0,10 đến 0,11.

Chế phẩm đã nêu có thể ở dạng thích hợp để dùng qua đường miệng, như dung dịch, hạt, bột có thể phân tán, viên nén hoặc viên nang.

Chế phẩm theo sáng chế cũng có thể chứa axit hyaluronic hoặc muối của nó, cụ thể là natri hyaluronat, với phân tử lượng trung bình nằm trong khoảng từ 500,000 đến 3.000,000 Da, với tỷ lệ phần trăm nằm trong khoảng từ 0,01 đến 3% khối lượng của tổng chế phẩm. Chế phẩm đã nêu chứa hỗn hợp gồm các axit amin được mô tả ở trên và axit hyaluronic là thích hợp để dùng khu trú hoặc tiêm. Ví dụ về dạng bào chế có thể sử dụng bao gồm gel, thuốc mỡ, nhũ tương, miếng dán qua da, dung dịch vô trùng và bột axit amin vô trùng được bào chế để hoàn nguyên với dung dịch nước hyaluronat vô trùng.

Trong trường hợp các dạng bào chế để dùng qua đường miệng, liều đơn vị của glyxin nằm trong khoảng từ 100 đến 1500 mg.

Trong trường hợp các dạng bào chế dùng để tiêm, liều đơn vị của glyxin nằm trong khoảng từ 10 đến 50 mg, và liều đơn vị của axit hyaluronic hoặc muối natri của nó nằm trong khoảng từ 10 đến 100 mg.

Trong trường hợp chế phẩm dùng khu trú, hàm lượng glyxin có thể thay đổi từ 0,1 đến 2% mg/ml.

Chế phẩm theo sáng chế là hữu hiệu để điều trị bệnh mô đàn hồi và teo biểu bì da do sự lão hóa do ánh sáng, các rối loạn thuộc da do sự teo da hoặc do sử dụng thuốc [17], bỏng (bao gồm cả bỏng chiếu xạ), vết thương ở da, loét theo tư thế nằm, chứng ngừng triển da do thuốc gây ra (các thuốc chống retrovirus, thuốc chống HIV, corticosteroit hoặc do hóa trị liệu), các thương tổn ở dây chằng và khớp.

Bằng cách sử dụng phương pháp phiên mã và phân tích protein in vitro, đã phát hiện ra rằng hỗn hợp gồm các axit amin gây ra sự gia tăng biểu hiện của các gen mã

hóa tropoelastin (ELN) và collagen loại IV (COLIV) sau khi ủ nguyên bào sợi người trong 120 giờ. Bất ngờ là, tác dụng này không còn tồn tại nữa ngay cả khi một trong số các axit amin bị loại bỏ hoặc tỷ lệ khối lượng của nó được thay đổi.

Sự phân phối các axit amin ở dạng dung dịch nước được tạo gel với axit hyaluronic ở dạng muối natri giúp phục hồi độ đàn hồi cho nền da và đảm bảo sự duy trì axit amin trong vùng biểu bì da trong khoảng thời gian đủ để gây ra tác dụng sinh học mong muốn.

Dạng bào chế có thể tiêm được có thể được bào chế bằng cách hòa tan axit amin ở dạng bột vô trùng trong dung dịch muối natri của axit hyaluronic vô trùng bằng cách đưa gel axit hyaluronic (muối natri) trực tiếp (nghĩa là với một xyranh tiêm dưới da) vào một lọ nhỏ chứa bột này. Khi hòa tan hoàn toàn, dung dịch gel thu được được tiêm vào vùng biểu bì da.

Dung dịch nước vô trùng chứa muối natri của axit hyaluronic có thể chứa chất đệm hiệu chỉnh độ pH (chẳng hạn chất đệm phosphat) hoặc chất hiệu chỉnh nồng độ mol (chẳng hạn natri clorua) và các chất bổ trợ dùng trong kỹ thuật có khả năng đảm bảo các đặc tính hóa lý và tính tương hợp mô cần thiết cho dạng dược phẩm tiêm vô trùng. Sáng chế được minh họa cụ thể trong các ví dụ sau.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1

Dung dịch natri hyaluronat vô trùng

Pha	Nguyên liệu thô	mg/ 3 ml
A	Natri hyaluronat (MW= 1.000.000 Dalton)	30.000
A	Đệm phosphat	Lượng vừa đủ để đạt độ pH=7,2
D	Natri clorua	Lượng vừa đủ 250<Nồng độ mol<300
D	Nước để tiêm	Lượng vừa đủ 3 ml

Bột axit amin vô trùng

Pha	Nguyên liệu thô	mg/ 3 ml
A	Glyxin	30,200
A	L-leuxin	4,200
A	L-valin	16,800
A	L-prolin	22,700
A	L-alanin	22,800
A	L-lysin HCl (hydroclorua)	3,300

Ví dụ 2

Dung dịch natri hyaluronat vô trùng

Pha	Nguyên liệu thô	mg/ 3 ml
A	Natri hyaluronat (MW=1.000.000 Dalton)	30.000
A	Đệm phosphat	Lượng vừa đủ để đạt độ pH=7,2
D	Natri clorua	Lượng vừa đủ 250<Nồng độ mol<300
D	Nước để tiêm	Lượng vừa đủ 3 ml

Bột axit amin vô trùng

Pha	Nguyên liệu thô	mg/ 3 ml
A	L-prolin	25,100
A	L-lysin hydroclorua	3,700
A	L-valin	12,300
A	L-alanin	16,800
A	Glyxin	33,400
A	L-leuxin	8,700

Ví dụ 3

Dung dịch natri hyaluronat vô trùng

Pha	Nguyên liệu thô	mg/ 3 ml
A	Natri hyaluronat (MW=1.000.000 Dalton)	30.000
A	Đệm phosphat	Lượng vừa đủ để đạt độ pH=7,2
D	Natri clorua	Lượng vừa đủ $250 < \text{Nồng độ mol} < 300$
D	Nước để tiêm	Lượng vừa đủ 3 ml

Bột axit amin vô trùng

Pha	Nguyên liệu thô	mg/ 3 ml
A	L-prolin	25,100
A	L-lysin hydroclorua	3,700
A	L-valin	12,300
A	L-alanin	16,800
A	Glyxin	33,400
A	L-leuxin	8,700
A	N-axetylzystein	12,500

Ví dụ 4

Hydrogel trên cơ sở axit amin và natri hyaluronat để dùng khu trú

Pha	Nguyên liệu thô	mg/ 3 ml
A	Glyxerin	3,000
A	Nước	Lượng vừa đủ 100 g

A	Glyxin	0,915
A	L-prolin	0,688
A	L-alanin	0,691
A	L-leuxin	0,127
A	L-valin	0,509
A	L-lysin hydroclorua	0,100
A	N-axetyl-xystein	0,600
B	Natri sorbat	0,200
B	Natri benzoat	0,200
B	Natri hyaluronat (phân tử lượng = 3.000.000 d) từ Streptococcus equi	1,200
		100,00000

Ví dụ 5

Túi (gói nhỏ dạng que) để dùng làm dung dịch uống

	Gói nhỏ dạng que mg/20 ml
Glyxin	1208 mg
L-prolin	908 mg
L-leuxin	168 mg
L-lysin HCl	132 mg
L-valin	672 mg
L-alanin	912 mg
Tá dược: chất bảo quản: natri benzoat, kali sorbat; chất điều chỉnh độ axit: axit xitric, natri xitrat.	

Thử nghiệm hiệu quả

Hiệu quả của hỗn hợp gồm các axit amin theo sáng chế được đánh giá bằng cách so sánh với hỗn hợp đối chứng và hỗn hợp axit hyaluronic trong việc kích thích sản sinh các thành phần cấu tạo của chất nền ngoại bào, đặc biệt là sự tổng hợp mới đối với elastin, và tạo điều kiện cho việc lắng đọng các sợi elastin (sản sinh elastin) hữu hiệu hơn, đồng thời duy trì sự kích thích collagen.

Việc nuôi cấy sơ cấp nguyên bào sợi người đã chuẩn hóa đã được sử dụng. Thiết kế thử nghiệm đã được định rõ để đánh giá sự biểu hiện gen của elastin và collagen. Sự biểu hiện gen được đánh giá bằng RT-qPCR ở các thời điểm sau: 24, 72 và 120 h. Việc sản xuất protein nền đã nêu được đánh giá bởi kỹ thuật Western Blot ở 120 h.

Đánh giá sơ bộ tính độc tế bào của hỗn hợp gồm axit amin và axit hyaluronic được thực hiện để xác định nồng độ thử nghiệm tối đa mà không gây độc tế bào. Nồng độ 1000 µg/ml được lựa chọn dựa trên dữ liệu thu được.

Kết quả của nghiên cứu phiên mã

Nghiên cứu này bao gồm mẫu đối chứng âm tính (negative control - NC), tương ứng với nguyên bào sợi chưa được xử lý (đáp ứng sinh lý). Hỗn hợp A, chỉ chứa các axit amin cấu thành collagen (Gly, L-Pro, L-Lys, L-Leu), không gây ra sự biểu hiện gen đáng kể. Ngược lại, hai hỗn hợp chứa sáu axit amin thử nghiệm, C và D, bao gồm các axit amin được biểu hiện hầu hết ở cả collagen và elastin (Gly, L-Pro, L-Lys, L-Leu, L-Ala và L-Val), gây ra sự điều biến đáng kể các gen ELN (elastin) và COLIV (collagen IV) sau 120 h.

Thành phần của các hỗn hợp thử nghiệm được chỉ ra trong bảng dưới đây.

	Hỗn hợp A	Hỗn hợp C	Hỗn hợp D
Glyxin	50,0	33,4	30,2
L-Prolin	37,5	25,1	22,7
L-Leuxin	7,0	8,7	4,2
L-lysin HCl	5,5	3,7	3,3
L-valin	-	12,3	16,8
L-alanin	-	16,8	22,8

Sự biểu hiện gen của elastin (ELN) và collagen IV (COLIV) được định lượng bằng cách so sánh với mẫu đối chứng.

	NC	A	C	D
ELN	1	1,478	2,121	2,164
COLIV	1	1,484	2,464	3,197

Fig. 1 thể hiện kết quả nghiên cứu sau phiên mã.

Như được chỉ ra trên đồ thị, hỗn hợp A chỉ gây ra sự gia tăng sản sinh collagen, trong khi các hỗn hợp C và D điều biến đáng kể sự sản sinh cả elastin và collagen IV.

Định lượng tương đối các protein collagen IV và elastin bằng cách sử dụng NC làm mẫu tham chiếu.

	NC	A	C	D
Elastin	1	0,805	2,403	2,00
Collagen IV	1	1,685	2,547	2,278

Thảo luận

Đồ thị trên Fig 2 chỉ ra kết quả của nghiên cứu nguyên bào sợi lớp đơn ở người được thực hiện dựa trên phương pháp phiên mã, chứng tỏ rằng chỉ có một số hỗn hợp axit amin nhất định, tùy ý kết hợp với axit hyaluronic, có thể điều biến quá trình sinh tổng hợp các protein nền ngoại bào, và đặc biệt là thúc đẩy sự sản sinh elastin. Chỉ những hỗn hợp gồm các axit amin được kết hợp theo các tỷ lệ được bộc lộ trong sáng chế này làm gia tăng sự biểu hiện gen và protein của elastin cũng như là thúc đẩy sự kích thích collagen (đặc biệt là collagen IV).

Cần lưu ý rằng tính nguyên vẹn và chất lượng của chất nền không chỉ giới hạn ở collagen, mà còn giới hạn ở sự sản sinh và tương tác sinh lý của tất cả các protein cấu trúc được sản sinh bởi nguyên bào sợi, đặc biệt là elastin.

Trên thực tế, collagen và elastin duy trì tính không đẳng hướng trong chất nền, nghĩa là khả năng sợi tạo ra có được lực căng, đặc tính mà bị mất đi khi lão hóa.

Cũng đã chứng minh được rằng hỗn hợp gồm các axit amin được nói đến gây ra cảm ứng gen elastin sinh lý với động học rất khác với đáp ứng với sự chiếu xạ UV, trong đó sự xuất hiện của elastin là nhanh chóng, không theo trật tự và, bằng cách cảm ứng elastaza, thậm chí gây ra sự phá hủy.

Kết luận

Kết quả của nghiên cứu này chứng minh rằng chỉ có những hỗn hợp theo sáng chế là thúc đẩy sự sản sinh đáng kể hai protein này. Vì vậy, đã chứng minh được rằng không chỉ tồn tại cơ chế cảm ứng, mà ARNtt được tạo ra sẽ mã hóa protein chức năng.

Tài liệu tham khảo

1. Bashir, MM et al. (1989), J Biol Chem 264, 8887-8891.
2. Chen, Z et al., (2009), Exp Dermatol 18, 378-386.
3. Indik Z et al., (1989), Am J Med Genet 34, 81-90.
4. Cenizo V et al., (2006), Exp Dermatol 15, 574-581.
5. Maki et al., (2005), Am J Pathol 167, 927-936.
6. Noblesse et al., (2004), J Invest Dermatol 122, 621-630.
7. Abreu-Velez AM et al., N Am J Med Sci. 2012 Jan;4(1):1-8.
8. Vázquez F et al., Maturitas. 1996 Nov;25(3):209-15.
9. Lupo MP et al., (2007). Cosmeceutical peptides. Dermatol Ther 20, 343-349.
10. Reddy B et al., Bioactive oligopeptides in dermatology: Part I. Exp Dermatol. 2012 Aug;21(8):563-8. doi: 10.1111/j.1600-đến 0625.2012.01528.x. Epub 2012 Jun 4.
11. Proksch E et al., Skin Pharmacol Physiol. 2014;27(3):113-9.
12. Dioguardi FS, (2008) Nov-Cec;26(6):636-40.
13. Fisher GJ et al., J Invest Dermatol. 2001 Aug;117(2):219-26.
14. Rijken F et al., J Investig Dermatol Symp Proc. 2009 Aug;14(1):67-72. doi: 10.1038/jidsymp.2009.15.
15. Quan T et al., J Investig Dermatol Symp Proc. 2009 Aug;14(1):20-4. doi: 10.1038/jidsymp.2009.8.
16. Chung JH et al., J Invest Dermatol. 2002 Aug;119(2):507-12.
17. Schoepe S et al., Exp Dermatol. 2006 Jun;15(6):406-20.

Yêu cầu bảo hộ

1. Chế phẩm chứa hỗn hợp gồm các axit amin bao gồm glyxin, L-prolin, L-alanin, L-valin, L-leuxin và L-lysin hydroclorua ở các tỷ lệ khối lượng như sau:

- Glyxin: 1;
- L-prolin: 0,7 đến 0,8;
- L-alanin: 0,47 đến 0,76;
- L-valin: 0,35 đến 0,56;
- L-leuxin: 0,13 đến 0,27;
- L-lysin hydroclorua: 0,10 đến 0,12

làm thành phần hoạt tính.

2. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó chế phẩm này còn chứa L-xystein N-axetyl-L-xystein theo tỷ lệ phần trăm khối lượng nằm trong khoảng từ 1% đến 20% tổng lượng hỗn hợp axit amin.

3. Chế phẩm theo điểm 1 hoặc 2, trong đó tỷ lệ khối lượng của các axit amin là:

- Glyxin: 1;
- L-prolin: 0,75;
- L-alanin: 0,48 đến 0,51;
- L-valin: 0,35 đến 0,37;
- L-leuxin: 0,13 đến 0,15;
- L-lysin hydroclorua: 0,10 đến 0,11.

4. Chế phẩm theo điểm 1 hoặc 2, trong đó tỷ lệ khối lượng của các axit amin là:

- Glyxin: 1;
- L-prolin: 0,75;
- L-alanin: 0,75 đến 0,76;
- L-valin: 0,54 đến 0,56;

- L-leuxin: 0,13 đến 0,14;
- L-lysin hydroclorua: 0,10 đến 0,11.

5. Chế phẩm theo điểm 1 hoặc 2, trong đó tỷ lệ khối lượng của các axit amin là:

- Glyxin: 1;
- L-prolin: 0,75;
- L-alanin: 0,49 đến 0,51;
- L-valin: 0,35 đến 0,36;
- L-leuxin: 0,26 đến 0,27;
- L-lysin hydroclorua: 0,10 đến 0,11.

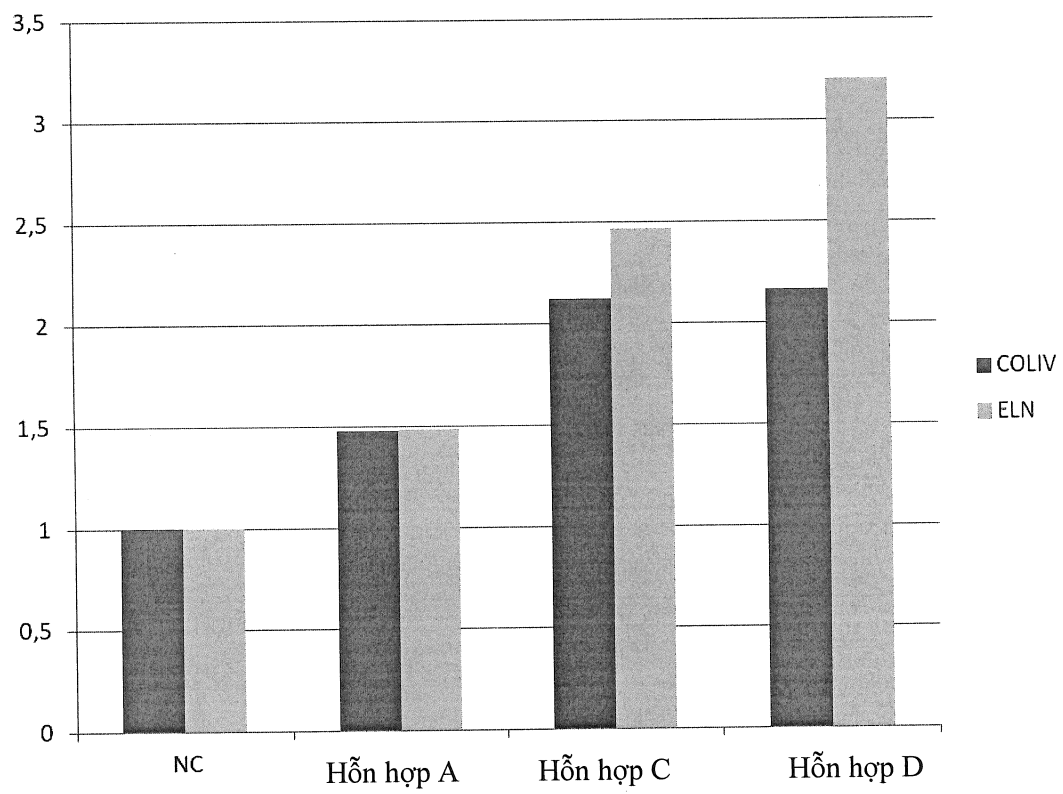
6. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm nêu trên, trong đó chế phẩm này được bào chế để dùng qua đường miệng.

7. Chế phẩm theo điểm 6, trong đó chế phẩm này được bào chế ở dạng dung dịch, hạt, bột có khả năng phân tán, viên nén hoặc viên nang.

8. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, trong đó chế phẩm này còn chứa axit hyaluronic hoặc muối của nó, cụ thể là natri hyaluronat, với phân tử lượng trung bình nằm trong khoảng từ 500.000 đến 3.000.000 Da, với tỷ lệ phần trăm nằm trong khoảng từ 0,01% đến 3% khối lượng của tổng chế phẩm.

9. Chế phẩm theo điểm 8, trong đó chế phẩm này được bào chế để dùng khu trú hoặc tiêm.

10. Chế phẩm theo điểm 9, trong đó chế phẩm này được bào chế ở dạng gel, thuốc mỡ, nhũ tương, miếng dán qua da, dung dịch vô trùng hoặc bột axit amin vô trùng được bào chế để hoàn nguyên với dung dịch nước hyaluronat vô trùng.

**Fig. 1**

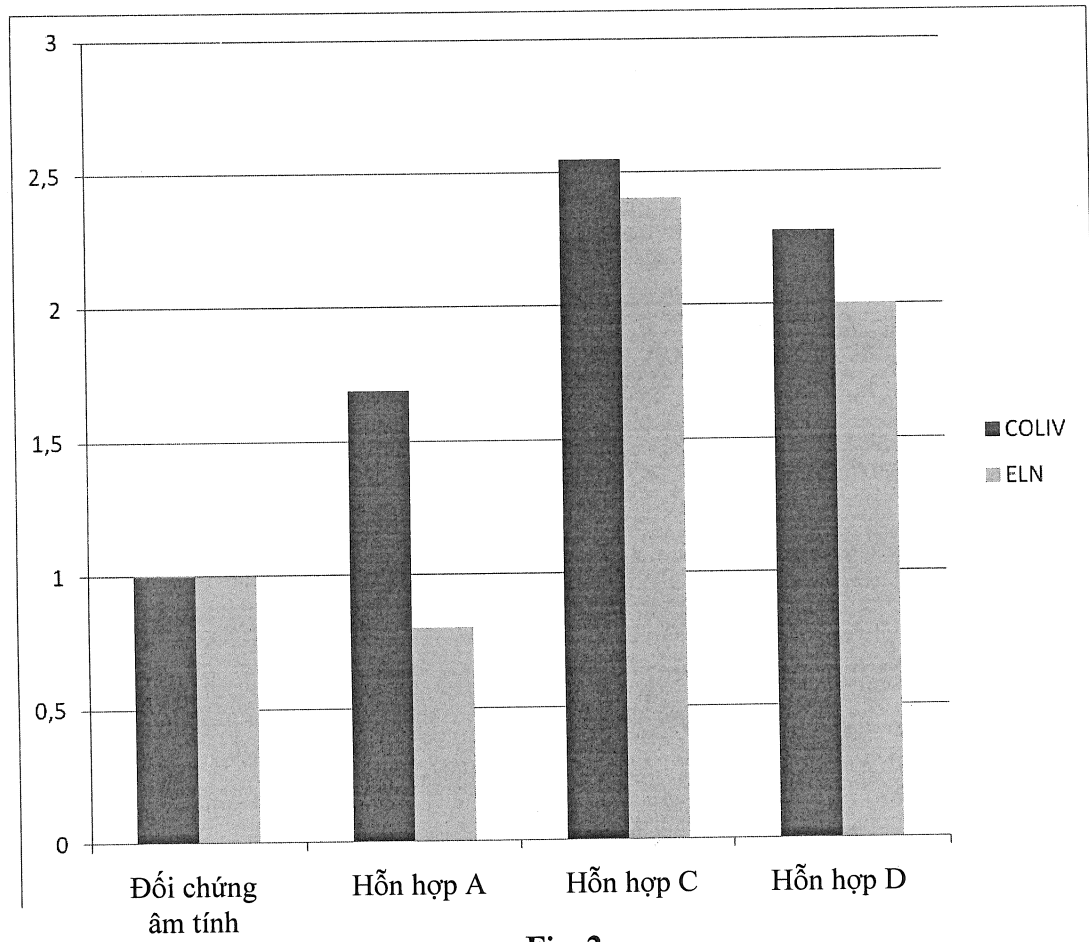


Fig. 2