



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

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

(11)



1-0030439

(51)⁷ A61P 27/02

(13) B

(21) 1-2015-04120

(22) 05/05/2014

(86) PCT/US2014/036810 05/05/2014

(87) WO2014/182620 13/11/2014

(30) 61/819,709 06/05/2013 US

(45) 25/12/2021 405

(43) 25/05/2016 338A

(73) 1. KAOHSIUNG CHANG GUNG MEMORIAL HOSPITAL (TW)

No. 123, Dapi Rd. Niasong Dist, Kaohsiung City, 83301, Taiwan

2. PHILIP WU (US)

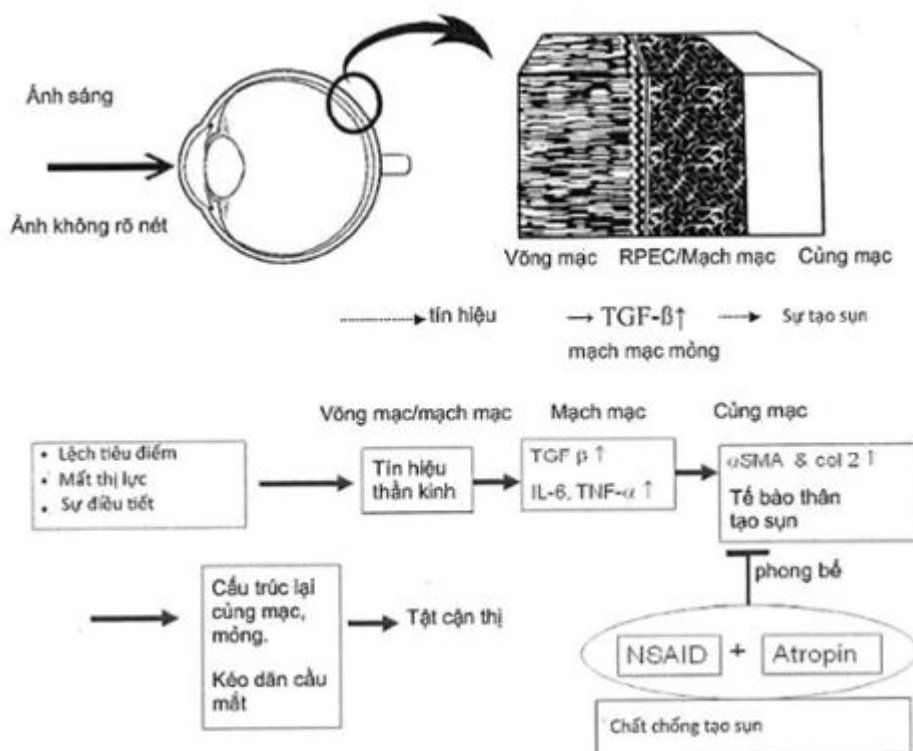
11701 Park Lane South Apt A6B, Richmond Hill, NY 11418, United States of America

(72) Pei-Chang Wu (TW); Chia-Ling Tsai (TW); Chueh-Tan Chen (TW).

(74) Công ty Luật TNHH T&G (TGVN)

(54) DƯỢC PHẨM CHỨA CHẤT CHỐNG TẠO SỤN

(57) Sáng chế đề cập đến dược phẩm chứa tổ hợp của chất chống tạo sụn để giảm sự tạo sụn củng mạc, làm giảm một hoặc nhiều protein tạo sụn cho mắt, làm giảm sự tạo sụn do chứng viêm gây ra và điều trị tật cận thị.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến được phẩm chứa chất chống tạo sụn và phương pháp điều trị tật cận thị, ức chế protein tạo sụn cho mắt, sự tạo sụn củng mạc và sự tạo sụn do chứng viêm gây ra.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Tật cận thị là do sự giãn dài tiến triển của mắt và sự kéo căng của mô mắt. Nó là vấn đề sức khỏe cộng đồng quan trọng, do nó tác động đến khoảng 25% dân số của Mỹ và cao ở mức 80% dân số ở một vài quốc gia châu Á. Bệnh điểm vàng của tật cận thị ở mức cao đã trở thành nguyên nhân hàng đầu gây bệnh đục thủy tinh thể, bệnh tăng nhãn áp, sự bong võng mạc, sự thoái hoá võng mạc cận thị, suy giảm tầm nhìn và sự mù không thể điều trị.

Các kỹ thuật hiệu chỉnh thị giác và phẫu thuật laze đã được sử dụng để làm thay đổi trạng thái khúc xạ của mắt cận thị. Tuy nhiên, các liệu pháp điều trị này không giải quyết được sự kéo giãn khác thường của mắt và do đó không điều trị các thay đổi bệnh lý của người bệnh mắc tật cận thị ở mức cao.

Vẫn có nhu cầu đối với việc điều trị hữu hiệu và an toàn hơn đối với tật cận thị. Sáng chế đã đáp ứng được nhu cầu này.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề xuất được phẩm bao gồm hai chất chống tạo sụn. Dược phẩm là hữu hiệu để điều trị tật cận thị, làm giảm một hoặc nhiều protein tạo sụn và làm giảm sự tạo sụn củng mạc.

Bản mô tả sáng chế cũng bộc lộ phương pháp điều trị tật cận thị, bao gồm việc cho đối tượng cần điều trị này dùng lượng hữu hiệu của chất kháng viêm không steroid (NSAID) theo đó để điều trị tật cận thị. Theo một phương án, phương pháp điều trị tật cận thị còn bao gồm việc dùng lượng hữu hiệu của chất kháng muscarin.

Bản mô tả sáng chế cũng bộc lộ phương pháp làm giảm một hoặc nhiều protein tạo sụn cho mắt, bao gồm việc cho đối tượng cần điều trị này dùng lượng

hữu hiệu của một hoặc nhiều chất chống tạo sụn để làm giảm một hoặc nhiều protein tạo sụn cho mắt.

Bản mô tả sáng chế cũng bộc lộ phương pháp làm giảm sự tạo sụn củng mạc, bao gồm việc cho đối tượng cần điều trị này dùng lượng hữu hiệu của một hoặc nhiều chất chống tạo sụn để làm giảm sự tạo sụn củng mạc.

Bản mô tả sáng chế cũng bộc lộ phương pháp làm giảm sự tạo sụn do chứng viêm gây ra, bao gồm việc cho đối tượng cần điều trị này dùng lượng hữu hiệu của một hoặc nhiều chất chống tạo sụn để làm giảm sự tạo sụn do chứng viêm gây ra ở đối tượng.

Sáng chế sẽ trở nên rõ ràng hơn khi đọc các hình vẽ kèm theo và phần mô tả chi tiết sau đây.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 minh hoạ theo sơ đồ cơ chế đối với tật cận thị.

Fig.2 là biểu đồ khối minh hoạ hàm lượng actin cơ trơn alpha (α -SMA) và ARN thông tin collagen typ 2 (Col2) được bình thường hoá với sự biểu hiện β -actin ở thân củng mạc/tế bào tổ tiên (SSPC) có hoặc không có điều trị yếu tố beta sinh trưởng biến đổi (TGF- β). Các dữ liệu được biểu diễn như lần thay đổi so với mẫu đối chứng như được xác định bằng phương pháp delta-delta Ct. Cột, SD. * là có ý nghĩa về mặt thống kê.

Fig.3 là nhóm hình ảnh minh hoạ sự biểu hiện của α -SMA và Col2 trong củng mạc của chuột mắc tật cận thị dạng thiếu hụt (FDM). Panen A là bức ảnh của thẩm tách western thể hiện mức biểu hiện Col2 và α -SMA củng mạc được gia tăng trong mắt FDM. Panen B là biểu đồ khối của phép phân tích mật độ quang hấp thụ thể hiện làm lượng Col2 củng mạc và α -SMA củng mạc trong mắt FDM là lớn hơn một cách đáng kể so với mắt đối chứng.

Fig.4 là biểu đồ khối thể hiện mức biểu hiện ARN thông tin TGF- β 1, TGF- β 2 và TGF- β 3 trong phức hệ RPE-mạch mạc của mắt FDM là lớn hơn một cách đáng kể so với mức biểu hiện của mắt đối chứng.

Fig.5A (phân tích thẩm tách western) và Fig.5B (biểu đồ khối) minh hoạ

profin biểu hiện của Col2 và α -SMA ở SSPC của người được điều trị bằng 10ng/ml TGF- β 2, có hoặc không có Atropin, Ketorolac và Diclofenac.

Fig.6 là biểu đồ khối minh hoạ tốc độ tiến triển tật cận thị (Diopter /năm) ở 11 đối tượng mắc tật cận thị được điều trị bằng giọt nhỏ mắt atropin và giọt nhỏ mắt atropin và ketolorac tổ hợp.

Fig.7 là biểu đồ khối minh hoạ tốc độ tiến triển tật cận thị của đối tượng mắc tật cận thị mà không có điều trị bất kỳ, tiếp theo 3 tháng điều trị ketorolac.

Fig.8A là biểu đồ khối minh hoạ hàm lượng ARN thông tin interleukin 6 (IL-6) được bình thường hoá đến sự biểu hiện GAPDH trong mạch mạc của chuột bị tật cận thị dạng thiếu hụt (FDM) là cao hơn so với mức của chuột đối chứng. Fig.8B là biểu đồ khối minh hoạ hàm lượng yếu tố-alpha gây chết hoại khối u (TNF- α) trong mạch mạc ở chuột FDM là cao hơn so với hàm lượng của chuột đối chứng. Sự biểu hiện của TNF- α được ngăn chặn bởi giọt nhỏ mắt ketorolac.

Fig.9A là biểu đồ khối minh hoạ tác dụng ngăn chặn của atropin (A), ketorolac (X1) và dược phẩm bao gồm atropin và ketorolac đối với sự biểu hiện α -SMA ở SSPC với sự có mặt của TGF- β 2 (T2). Dược phẩm bao gồm atropin và ketorolac có tác dụng hiệp đồng đối với sự ngăn chặn α -SMA. Fig.9B là biểu đồ khối minh hoạ tác dụng ngăn chặn của atropin (A), ketorolac (X1) và dược phẩm bao gồm atropin và ketorolac đối với sự biểu hiện Col2 ở SSPC với sự có mặt của TGF- β 2 (T2). Dược phẩm bao gồm atropin và ketorolac có tác dụng hiệp đồng đối với sự ngăn chặn Col2.

Mô tả chi tiết sáng chế

Định nghĩa

Như được dùng trên đây và trong bản mô tả này, các thuật ngữ sau đây, trừ phi có chỉ định khác, sẽ được hiểu có các nghĩa sau đây.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, các dạng số ít “một” bao gồm sự tham khảo số nhiều trừ phi có chỉ định một cách rõ ràng khác.

Thuật ngữ “lượng hữu hiệu,” như được sử dụng trong bản mô tả này, bao gồm liều chất chống tạo sụn mà đủ để điều trị hoặc cải thiện ít nhất một triệu chứng

của tật cận thị hoặc làm giảm một hoặc nhiều protein tạo sụn cho mắt, sự tạo sụn củng mạc hoặc sự tạo sụn do chứng viêm gây ra.

Thuật ngữ “việc điều trị,” “được điều trị” hoặc “sự điều trị” như được sử dụng trong bản mô tả này đề cập đến việc sử dụng giảm nhẹ hoặc các kết quả và/hoặc làm chậm hoặc ức chế sự phát triển tiến triển tật cận thị và/hoặc chỉ số thay đổi tật cận thị.

Thuật ngữ “việc giảm” hoặc “giảm” bao gồm việc làm chậm sự hình thành protein tạo sụn cho mắt, sự tạo sụn củng mạc, sự tạo sụn do chứng viêm gây ra hoặc sự tiến triển tật cận thị hoặc sự thay đổi tật cận thị hoặc tháo rời protein tạo sụn cho mắt mà đã được tạo thành.

Muối được dùng của chất điều trị của sáng chế bao gồm các muối thu được từ bazơ thích hợp, như kim loại kiềm (ví dụ, natri và kali), kim loại kiềm thổ (ví dụ, canxi và magie), amoni và NX_4^+ (trong đó X là C_1 - C_4 alkyl). Muối được dùng của nhóm amino bao gồm các muối của axit carboxylic hữu cơ như axit tartaric, béo, vòng béo, thơm, dị vòng, carboxylic và các nhóm sulfonic của axit hữu cơ, như, ví dụ, formic, glucuronic, malic, maleic, fumaric, pyruvic, aspartic, glutamic, benzoic, anthranilic, mesylic, salixylic, hydroxybenzoic, phenylaxetic, mandelic, embonic (pamoic), metansulfonic, etansulfonic, benzensulfonic, pantothenic, toluensulfonic, 2-hydroxyetansulfonic, sulfanilic, stearic, algenic, hydroxybutyric, xyclohexylaminosulfonic, galactaric và axit galacturonic và tương tự, axit lactobionic, fumaric, và axit succinic; axit sulfonic hữu cơ, như axit metansulfonic, etansulfonic, isothionic, benzenesulfonic và axit p-toluensulfonic; và các axit vô cơ như axit clohydric, bromhydric, hydroiodic, nitric, carbonic, sulfuric, sulfamic và axit phosphoric và tương tự. Muối được dùng của hợp chất có nhóm hydroxy gồm có anion của hợp chất này trong tổ hợp với cation thích hợp như Na^+ , NH_4^+ hoặc NX_4^+ (trong đó X là, ví dụ, nhóm C_1 - C_4 alkyl), Ca^{++} , Li^+ , Mg^{++} , hoặc K^+ và kẽm hoặc muối hữu cơ được tạo thành từ các amin bậc một, bậc hai và bậc ba, amin mạch vòng, N,N' -dibenzyletylendiamin, cloprocain, cholin, diethanolamin, etylendiamin, meglumin (N-methylglucamin) và procain và tương tự. Tất cả các muối này có thể được tạo thành bằng các phương tiện thông thường từ hợp chất

tương ứng bằng cách cho, ví dụ, axit hoặc bazơ thích hợp phản ứng với hợp chất ở dạng tự do.

Thuật ngữ “tật cận thị” như được sử dụng trong bản mô tả này đề cập đến tình trạng bệnh kết hợp với sai số khúc xạ của một hoặc nhiều mắt, trong đó tia sáng đi vào trong mắt để hội tụ ở phía trước của võng mạc tốt hơn là một cách trực tiếp ở võng mạc. Thuật ngữ “tật cận thị” như được sử dụng trong bản mô tả này, bao gồm nhiều mức (tật cận thị nhẹ, từ 0 đến -3 diot; tật cận thị vừa phải từ -3 đến -5 diot; và tật cận thị ở mức cao từ -5 hoặc nhỏ hơn) và các loại và loại phụ của tật cận thị có nguyên nhân và nguyên nhân gây bệnh khác nhau, đã biết hoặc chưa được biết đến bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, tật cận thị đơn giản, tật cận thị thoái hoá và tật cận thị dạng thiếu hụt.

Thuật ngữ “diot” như được sử dụng trong bản mô tả này bao gồm phép đo cách mà thủy tinh thể hiệu chỉnh phải uốn ánh sáng để hội tụ ánh sáng vào võng mạc để làm bình thường hoá tầm nhìn. Thủy tinh thể mà có thể uốn tia sáng song song với tiêu điểm 1 mét được cho là có công suất 1 diot (1,00D). Thủy tinh thể 2 diot có thể làm hội tụ tia sáng ở điểm cách xa 0,5 mét.

Thuật ngữ “đối tượng” như được sử dụng trong bản mô tả này thường đề cập đến con người hoặc động vật được cho vào các phương pháp được mô tả trong bản mô tả này. Sẽ được hiểu rằng đối tượng có thể là người bệnh mắc rối loạn tật cận thị đã biết hoặc được cho là mắc rối loạn tật cận thị, nhưng các đối tượng không có rối loạn tật cận thị đã biết hoặc được cho là không mắc rối loạn tật cận thị, như các đối tượng nghiên cứu, cũng được bao gồm trong phạm vi của thuật ngữ “đối tượng.”

Tất cả các chữ số trong bản mô tả này có thể được hiểu như được cải biến bằng từ “khoảng.”

Dược phẩm

Dược phẩm để điều trị tật cận thị, làm giảm protein tạo sụn cho mắt, làm giảm sự tạo sụn củng mạc hoặc làm giảm sự tạo sụn do chứng viêm gây ra là được đề xuất trong bản mô tả này. Dược phẩm bao gồm tổ hợp của hai chất chống tạo sụn

tốt hơn là có tác dụng hiệp đồng có lợi của tổ hợp này.

Chất chống tạo sụn là chất bất kỳ mà làm giảm hoặc làm chậm quy trình tạo sụn. Theo một phương án, chất chống tạo sụn trong dược phẩm là NSAID. Theo phương án khác, chất chống tạo sụn trong dược phẩm là chất kháng muscarin. Các ví dụ không hạn chế về chất chống tạo sụn bao gồm ARN nhỏ mà điều hoà sự biểu hiện của yếu tố 1 gắn kết chất tăng cường dạng bạch huyết, như miR-449a (S Paik, et al., miR-449a điều hoà sự tạo sụn của tế bào thân trung mô của người thông qua việc tạo đích trực tiếp của yếu tố 1 gắn kết chất tăng cường dạng bạch huyết, *Stem Cells Dev*; 21(18):3298-308, 2012), chất ức chế histon deacetylaza như axit valproic (FH Paradis et al., sự phơi trần với axit valproic ức chế sự tạo sụn và sự tạo xương trong các chi của chuột có sự phát sinh cơ quan trung bình, *Toxicol Sci*; 131(1):234-41, 2013), Nicotine (Y Deng et al., sự trễ tạo sụn do nicotin gây ra qua việc điều hoà giảm con đường tạo tín hiệu IGF-1 để ức chế sự tổng hợp nền của tấm tế bào sụn sinh trưởng ở chuột bào thai, *Toxicol Appl Pharmacol*; 269(1):25-33, 2013), bFGF hoặc peptit tương tự hormon tuyến cận giáp (S Weiss et al., Sự tác động của yếu tố sinh trưởng và PTHrP đối với sự biệt hoá sụn sớm và trễ của tế bào thân trung mô của người, *J Cell Physiol*; 223(1):84-93, 2010), chất giới hạn Leuxin (MS Kim, sự giới hạn Leuxin ức chế sự tăng sinh tế bào sụn và sự biệt hoá qua các cơ chế phụ thuộc và độc lập của tạo tín hiệu mTOR, *Am J Physiol Endocrinol Metab*; 296(6):E1374-82, 2009), 17beta-Estradiol (S. Fushimi et al., 17beta-Estradiol ức chế sự tạo sụn trong sự phát triển sụn của phôi cá ngựa vằn, *Aquat Toxicol*; 95(4):292-8, 2009), versican (Y Yang et al., miền G3 của versican ức chế sự tạo sụn trung mô qua motif tương tự yếu tố sinh trưởng biểu bì, *J Biol Chem*; 273(49):33054-63, 1998), SB203580 (chất ức chế đặc hiệu của p38MAPK, D Kim et al., Các thay đổi về sự biểu hiện theo thời gian và chức năng của cadherin-7 ức chế sự di trú và ngưng tụ tế bào trong quá trình tạo sụn của tế bào trung mô của chi trẻ nhỏ in vitro, *J Cell Physiol*; 221(1):161-70, 2009), LiCl (chất ức chế của GSK-3beta, D Kim et al., 2009) hoặc tương tự.

Theo phương án lấy làm ví dụ, dược phẩm bao gồm ít nhất một NSAID và ít nhất một chất kháng muscarin.

Theo một số phương án, NSAID để sử dụng trong sáng chế có thể là chất ức chế xyclooxygenaza không lựa chọn (COX), dẫn xuất của nó, muối và các chất tương tự cấu trúc, nghĩa là các hợp chất mà ức chế COX-1 và COX-2 protein. Các ví dụ không hạn chế về chất ức chế COX không lựa chọn bao gồm các dẫn xuất axit salicylic (ví dụ, aspirin, natri salicylat, cholin magie trisalicylat, salsalat, diflunisal, sulfasalazin và olsalazin), indol và axit inden axetic (ví dụ, indomethacin và sulindac), axit heteroaryl axetic (ví dụ, tolmetin, diclofenac và ketorolac), axit arylpropionic (ví dụ, ibuprofen, naproxen, flurbiprofen, ketoprofen, fenoprofen, và oxaprozin), axit anthranilic (fenamat) (ví dụ, axit mefenamic và axit meclofenamic), axit enolic (ví dụ, oxicam, piroxicam và meloxicam) và alkanon (ví dụ, nabumeton).

Theo một số phương án, NSAID để sử dụng trong sáng chế có thể là chất ức chế COX-2 lựa chọn, dẫn xuất của nó, muối và chất tương tự cấu trúc. Các ví dụ không hạn chế về COX lựa chọn của chất ức chế COX-2 lựa chọn bao gồm các furanon được thế diaryl (ví dụ, rofecoxib), pyrazol được thế diaryl (ví dụ, celecoxib), axit indol axetic (ví dụ, etodolac) và sulfonanilic (ví dụ, nimesulit). Các ví dụ khác về chất ức chế COX-2 lựa chọn được bộc lộ trong patent Mỹ số 6,440,963 và công bố đơn quốc tế số WO 2004/054560.

Các NSAID được ưu tiên để sử dụng trong sáng chế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, Ketorolac, Diclofenac, Indomethacin, Bromfenac, Nepafenac và Flurbiprofen.

Các ví dụ về chất kháng muscarin bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, Atropin, Homatropin, Scopolamine, dẫn xuất của nó, muối và chất tương tự cấu trúc.

Chất kháng muscarin có thể gây ra các tác dụng phụ về tầm nhìn không rõ nét và chứng sợ ánh sáng. Các tác dụng phụ này có thể khắc phục được bằng cách heo dùng liều thấp của chất kháng muscarin, trong tổ hợp với một hoặc nhiều chất chống tạo sụn, để đạt được tác dụng điều trị mong muốn. Tác dụng hiệp đồng được quan sát của dược phẩm bao gồm a tổ hợp của chất kháng muscarin (ví dụ atropin) và NSAID (ví dụ ketorolac) có thể tạo ra phép điều trị hữu hiệu của tật cận thị trong đó một hoặc thậm chí tất cả các liều thấp của chất chống tạo sụn sẽ là không đủ để

có tác dụng điều trị khi chất chống tạo sụn tương ứng được sử dụng trong liệu pháp điều trị đơn.

Dược phẩm sẽ được dùng theo các phương pháp của một số khía cạnh được đề xuất trong bản mô tả này có thể được bào chế một cách dễ dàng với, được tạo ra với hoặc được dùng với, chất mang dược dụng. Các dược phẩm này có thể được tạo ra bằng các kỹ thuật khác nhau. Các kỹ thuật này bao gồm việc đưa vào trong các hoạt chất kết hợp (như NSAID hoặc chất kháng muscarin) của dược phẩm và chất mang thích hợp. Theo một phương án, dược phẩm được tạo ra bằng cách đưa vào trong hoạt chất kết hợp của dược phẩm với chất mang dạng lỏng, với chất mang dạng rắn hoặc với cả hai.

Dược phẩm được dùng trong huyền phù trong nước, nhũ tương trong dầu, nhũ tương nước trong dầu và nhũ tương nước trong dầu trong nước và trong chất mang bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, kem, gel, liposom (trung tính, anion hoặc cation), hình cầu nano dạng lỏng hoặc vi hình cầu, hạt nano polyme trung tính, anion hoặc cation hoặc vi hạt, nhũ tương đặc hiệu vị trí, nhũ tương cư trú kéo dài, nhũ tương dính, vi nhũ tương, nhũ tương dạng nano, vi hình cầu, hình dầu dạng nano, hạt nano và bơm nhỏ và với các polyme tự nhiên hoặc tổng hợp khác nhau mà cho phép giải phóng duy trì của dược phẩm bao gồm polysaccharit anion, trung tính hoặc cation và polyme hoặc copolyme anion, trung tính, cation, bơm nhỏ hoặc polyme được ghép vào trong vùng lân cận mà ở đó việc phân phối dược phẩm được đòi hỏi.

Dược phẩm được đề xuất trong bản mô tả này tùy ý có thể bao gồm chất chống oxy hoá, chất tạo đệm, chất kìm hãm vi khuẩn, chất tạo huyền phù, chất gây lắng, chất bảo quản, đồng dung môi và chất tạo độ nhớt hoặc các thành phần điều trị khác. Chất mang và các thành phần điều trị khác phải là có thể chấp nhận được theo nghĩa là có thể tương thích với các thành phần khác của dược phẩm và không có hại cho người nhận nó. Chất bảo quản thích hợp dùng cho dược phẩm dùng cho mắt bao gồm: benzalkoni clorua, thimerosal, clobutanol, metyl paraben, propyl paraben, rượu phenyletylic, edetat dinatri, axit sorbic, Onamer M, hoặc các chất khác đã được biết đến đối với chuyên gia trong lĩnh vực này. Theo một phương án, chất bảo

quản được dùng ở nồng độ nằm trong khoảng từ 0,004% đến 0,02%.

Để dùng trong chất mang không chứa nước, các hoạt chất của dược phẩm được đề xuất trong bản mô tả này được tạo nhũ tương với dầu khoáng hoặc với dầu trung tính như, nhưng không chỉ giới hạn ở, diglyxerit, triglyxerit, phospholipit, lipid, dầu và hỗn hợp của chúng, trong đó dầu chứa hỗn hợp thích hợp của axit béo đa bất bão hoà và bão hoà. Các ví dụ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, dầu đậu tương, dầu canola, dầu cọ, dầu oliu và myglyol, trong đó số lượng cacbon của axit béo nằm trong khoảng từ 12 đến 22 và trong đó axit béo có thể là bão hoà hoặc không bão hoà. Tuy ý là, lipit hoặc phospholipit mang điện được tạo huyền phù trong dầu trung tính. Phospholipit thích hợp là, nhưng không chỉ giới hạn ở, phosphatidylserin, mà tạo đích các thụ thể trên đại thực bào. Dược phẩm được đề xuất trong bản mô tả này tùy ý được bào chế trong môi trường trong nước hoặc như nhũ tương bằng cách sử dụng các kỹ thuật đã biết.

Dược phẩm được dùng với lượng hữu hiệu để làm giảm protein tạo sụn cho mắt, làm giảm sự tạo sụn củng mạc, làm giảm sự tạo sụn do chứng viêm gây ra hoặc gây ra đáp ứng điều trị ở động vật, bao gồm con người mắc tật cận thị. Liều dược phẩm được dùng sẽ phụ thuộc vào mức trầm trọng của tình trạng bệnh được điều trị, dược phẩm cụ thể và các yếu tố lâm sàng khác như khối lượng và tình trạng bệnh chung của người nhận và đường dùng. Theo một phương án lấy làm ví dụ, lượng dược phẩm được dùng tương ứng với từ 0,001% đến 1% theo khối lượng atropin. Theo phương án lấy làm ví dụ khác, lượng dược phẩm tương ứng với khoảng 0,005%, 0,01%, 0,015%, 0,02%, 0,025%, 0,03%, 0,035%, 0,04%, 0,045%, 0,05%, 0,055%, 0,06%, 0,065%, 0,07%, 0,075%, 0,08%, 0,085%, 0,09%, 0,095%, 0,1% theo khối lượng atropin, hoặc % bất kỳ nằm trong khoảng từ 0,001% đến 1% với sự tăng 0,001%. Theo phương án lấy làm ví dụ khác, lượng dược phẩm tương ứng với khoảng từ 0,05% đến 1% theo khối lượng Ketorolac. Theo phương án lấy làm ví dụ khác, lượng dược phẩm tương ứng với khoảng 0,1%, 0,2%, 0,25%, 0,3%, 0,35%, 0,4%, 0,45%, 0,5%, 0,55%, 0,6%, 0,65%, 0,7%, 0,75%, 0,8%, 0,85%, 0,9%, 0,95% theo khối lượng Ketorolac, hoặc % bất kỳ nằm trong khoảng tăng 0,01%. Theo phương án lấy làm ví dụ khác, lượng dược phẩm tương ứng với khoảng 0,5% theo khối lượng Ketorolac. Theo phương án lấy làm ví dụ khác, lượng dược phẩm được

dùng tương ứng với khoảng từ 0,01%, 0,025%, 0,05%, 0,1%, 0,15% đến 0,2% Diclofenac theo khối lượng hoặc % bất kỳ nằm trong khoảng tăng 0,01%. Liều hữu ích của dược phẩm được đề xuất trong bản mô tả này được xác định bằng cách so sánh hoạt tính *in vitro* của chúng và hoạt tính *in vivo* trong các mô hình động vật. Các phương pháp ngoại suy liều hữu hiệu ở chuột và các động vật khác, đối với con người là đã được biết đến trong lĩnh vực này; ví dụ, patent Mỹ số 4,938,949.

Theo các phương pháp được bộc lộ trong bản mô tả này, dược phẩm được phân phối bằng bất kỳ trong số nhiều đường bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, tiêm (ví dụ, dưới da, trong cơ, trong tĩnh mạch, trong động mạch, trong màng bụng, trong da, trong dịch kính); qua da; qua bì; qua da; qua đường miệng (ví dụ, viên nén, viên thuốc dẹt, thuốc dạng lỏng, dải màng có thể ăn được); bơm thẩm thấu cầu dưới da; viên thuốc đạn, phun sol khí, dùng khu trú, trong khớp, qua mắt, xông mũi, xông phổi, ấn vào trong da và bắn điện. Theo một phương án, dược phẩm của sáng chế có thể được dùng như dung dịch trong tá dược dạng lỏng dùng cho mắt thích hợp.

Trong khi bào chế dược phẩm để dùng khu trú cho mắt, tổ hợp bao gồm từ 0,001% đến 0,005% theo khối lượng atropin và từ 0,1% đến 0,5% theo khối lượng dung dịch Ketorolac trong nước ở độ pH từ 4,5 đến 8,0, ví dụ khoảng 6,9. Đã được khuyến cáo rằng dung dịch thường được áp dụng bằng cách đặt một giọt vào trong mắt bị ảnh hưởng một lần một ngày.

Dược phẩm có thể được dùng trong điều trị liều đơn hoặc trong điều trị đa liều, trong khoảng thời gian thích hợp đối với tình trạng bệnh được điều trị. Dược phẩm có thể được dùng theo cách tiện lợi ở khoảng thời gian thích hợp, ví dụ, một lần một ngày, hai lần một ngày, ba lần một ngày, một lần hàng ngày thứ hai, một lần hàng ba ngày hoặc một lần hàng tuần, trong khoảng thời gian ít nhất 3 tháng, ít nhất 1 năm hoặc cho đến khi các triệu chứng và dấu hiệu của tật cận thị được tiêu tan.

Phương pháp làm giảm sự tạo sụn củng mạc

Sự điều chỉnh giảm của protein tạo sụn cho mắt và/hoặc chỉ thị viêm mắt làm giảm sự tạo sụn củng mạc.

Theo một khía cạnh, việc sử dụng lượng hữu hiệu của một hoặc nhiều chất chống tạo sụn hoặc được phẩm được mô tả trong bản mô tả này có thể làm thay đổi hoặc làm giảm lượng một hoặc nhiều protein tạo sụn cho mắt ở đối tượng cần điều trị này.

Một ví dụ về protein tạo sụn cho mắt là TGF- β . Theo một phương án, TGF- β protein được chọn từ nhóm gồm có TGF- β 1, TGF- β 2 và TGF- β 3, tất cả trong số chúng chủ yếu được định vị vào mạch mạc. Ví dụ khác về protein tạo sụn cho mắt là α -SMA. Ví dụ khác về protein tạo sụn cho mắt là Col2. α -SMA và Col2 chủ yếu được định vị trong củng mạc.

Theo khía cạnh khác, bản mô tả sáng chế bộc lộ việc sử dụng lượng hữu hiệu của một hoặc nhiều chất chống tạo sụn hoặc được phẩm được mô tả trong bản mô tả này để làm giảm sự tạo sụn do chứng viêm gây ra ở đối tượng cần làm giảm này. Chỉ thị viêm đáp ứng để gây ra sự tạo sụn củng mạc bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, IL-6 và TNF- α .

Theo khía cạnh khác, bản mô tả sáng chế bộc lộ việc sử dụng lượng hữu hiệu của một hoặc nhiều chất chống tạo sụn hoặc được phẩm được mô tả trong bản mô tả này để làm giảm sự tạo sụn củng mạc ở đối tượng cần làm giảm này.

Chất chống tạo sụn có thể được dùng theo cách đồng thời hoặc không đồng thời.

Phương pháp điều trị hoặc làm giảm mức trầm trọng của tật cận thị

Không muốn bị giới hạn bởi lý thuyết cụ thể bất kỳ, các tác giả sáng chế cho rằng profin biểu hiện của chỉ thị viêm mắt và protein tạo sụn cho mắt, như TGF- β , α -SMA và Col2, có tương quan với sự tạo sụn củng mạc và tật cận thị. Fig.1, ví dụ và không hạn chế, minh họa cơ chế phát triển tật cận thị, trong đó hàm lượng gia tăng của TGF- β s và chỉ thị viêm (như IL-6 và TNF- α) trong mạch mạc dẫn đến sự hình thành α -SMA và Col2 trong củng mạc và sự tạo sụn củng mạc. Sau đó, củng mạc trải qua việc tạo mẫu lại và kéo giãn, tiếp theo phát triển tật cận thị.

Bản mô tả sáng chế bộc lộ phương pháp điều trị hoặc làm giảm mức trầm trọng của tật cận thị, bằng cách cho đối tượng cận thị cần điều trị tật cận thị dùng

một hoặc nhiều chất chống tạo sụn với lượng hữu hiệu hoặc được phẩm được mô tả trong bản mô tả này. Chất kháng tạo sụn có thể được dùng một cách đồng thời hoặc không đồng thời. Phương pháp cũng bao gồm phương pháp nguyên cứu và sử dụng, bao gồm các phương pháp *in vitro* và *in vivo* để điều trị hoặc ức chế sự tiến triển tật cận thị ở đối tượng.

Theo một khía cạnh, phương pháp điều trị tật cận thị bao gồm việc nhận dạng đối tượng cận thị mà thể hiện tác dụng phụ đối với chất kháng muscarin, và điều trị đối tượng bằng lượng hữu hiệu của NSAID, mà không phải chất kháng muscarin hoặc bằng liều thấp của chất kháng muscarin (ví dụ 0,05% atropin).

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các phương án của sáng chế được minh hoạ bằng các ví dụ sau đây, mà không được hiểu theo cách bất kỳ làm giới hạn phạm vi của sáng chế. Trong khoảng thời gian nghiên cứu được mô tả trong các ví dụ sau đây, các quy trình thông thường được tiếp theo, trừ phi có chỉ định khác. Một vài quy trình được mô tả dưới đây đối với mục đích minh hoạ.

Mô tả vật liệu và phương pháp được sử dụng trong các ví dụ

Chuột: Chuột C57BL/6 kiểu hoang đại giống đực (Jackson Labs) được sử dụng trong các ví dụ. Tất cả các quy trình được thực hiện theo quy trình được chấp thuận của cơ quan IACUC cũng như ARVO Statement để sử dụng động vật trong nghiên cứu về mắt và tầm nhìn.

Phân lập và nuôi cấy tế bào thân củng mạc/tổ tiên (SSPC): SSPC được phân lập và được nuôi cấy như được mô tả trước đây bởi CL Tsai et al. (Identification of multipotent stem/progenitor cells in murine sclera. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 52:5481-5487, 2011). Tóm lại, củng mạc từ chuột thu được và được cắt một cách cẩn thận ra khỏi điểm vàng và đĩa thị giác dưới kính hiển vi được cắt. Sau đó, loại bỏ mô võng mạc và mạch mạc, mô củng mạc được cắt thành các mẫu nhỏ và được tiêu hoá bằng 1,5mg/ml collagenase typ I (Worthington Biochemical, Lakewood, USA) và 2mg/ml dispase (Roche, Basel, Switzerland) trong PBS trong 1 giờ ở 37°C để giải phóng tế bào riêng rẽ. Các tế bào riêng rẽ

được nuôi cấy trong α -MEM (Invitrogen, Carlsbad, USA), được bổ sung với 20% FBS lựa chọn dây (Equitech-Bio, Kerrville, USA), glutamin, penicilin/streptomycin và 100mM 2-mercaptoetanol (Invitrogen) trong từ 8 đến 10 ngày ở 5% CO₂, 37°C.

Điều trị TGF- β : Các nồng độ khác nhau của TGF- β 2 được bổ sung vào 12 giếng của SSPC. Sau 24 giờ, hình ảnh của hình thái học SSPC được ghi chép. Tổng ARN được chiết để phân tích tiếp. Việc nuôi cấy bản kính dương của buồng dùng cho nghiên cứu miễn dịch huỳnh quang được thực hiện trong cùng điều kiện.

Cảm ứng sự biệt hoá tạo sụn. Tại nửa hợp dòng, SSPC được trypsin hoá và đếm để tạo ra phân ước 2×10^5 tế bào trong 2ml môi trường sinh trưởng mà được quay xuống ở 500g trong 10 phút để thu được viên. Ủ viên ở 37°C, trong 5% CO₂. Trong từ 12 đến 24 giờ ủ, tế bào tạo thành chủ yếu là khối kết tụ hình cầu mà không dính bám vào thành ống. Môi trường nuôi cấy được bổ sung với 10ng/ml TGF- β 2 và thay đổi môi trường ở khoảng thời gian từ 2 đến 3 ngày. Sau đó, thu gom viên ở 4 tuần. Tiếp theo, rửa viên hai lần trong PBS, cố định trong 4% paraformaldehyt trong 3 giờ ở nhiệt độ trong phòng và được tạo ra để gắn parafin. Thu được 8µm phần cắt dày dùng cho mô hoá học miễn dịch.

Nghiên cứu mô hoá học miễn dịch và huỳnh quang miễn dịch: Các nghiên cứu mô hoá học miễn dịch và huỳnh quang miễn dịch được thực hiện để chứng minh sự có mặt của α -SMA protein và Col2 trong quá trình tạo sụn. Đối với mô hoá học miễn dịch, các phần parafin được xử lý bằng 20% huyết thanh dê phong bế trong 30 phút, sau đó ủ bằng kháng thể thứ cấp mà là mAb IgG thô kháng SMA ở nồng độ pha loãng 1:200 (Abcam, Temecula, CA) và collagen mAb IgG2a chuột kháng typ II ở nồng độ pha loãng 1:100 (Abcam, Temecula, CA) ở 4°C qua đêm. Sau đó, xử lý phần cắt bằng kháng thể thứ cấp tiếp hợp horseradish peroxidaza (HRP) ở 1:200 (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA) trong 1 giờ. Thuốc thử DAB (diaminobenzidin tetrahydroclorua) tiếp theo được sử dụng để phát hiện hoạt tính miễn dịch. Đối với huỳnh quang miễn dịch, phần cắt thiết bị rãnh và phần cắt parafin được hydrat hoá lại được xử lý bằng huyết thanh phong bế, ủ bằng kháng thể sơ cấp, được cho phản ứng với kháng thể thứ cấp tiếp hợp fluorescein-isothioxyanat tương ứng và cuối cùng được đánh giá bằng kính hiển vi huỳnh quang.

PCR thời gian thực: Tổng ARN từ SSPC hoặc mô mạch mạc trong mỗi mắt được phân lập bằng cách sử dụng Trizol (Invitrogen, Carlsbad, CA) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Phép phân tích qRT-PCR được thực hiện bằng cách sử dụng kit RT-PCR một bước iScript với SYBR Green (Bio-Rad, Hercules, USA) trên hệ phát hiện trình tự ABI PRISM 7900 HT (Applied Biosystems, Foster City, USA), theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Các đoạn mồi được sử dụng cho thử nghiệm là: *α -SMA* (Đoạn mồi thuận: 5'-ATGCCTCTGGACGTACAAGT-3', Đoạn mồi ngược: 5'-CGGCAGTAGTCACGAAGGAAT-3'), *Col2* (Đoạn mồi thuận: 5'-GTCCTTCTGGCCCTAGAGGT-3', Đoạn mồi ngược: 5'-TGTTTCTCCTGAGCGTCCA-3'), *β -actin* (Đoạn mồi thuận: 5'-CATTGCTGACAGGATGCAGA-3', Đoạn mồi ngược: 5'-CTGATCCACATCTGCTGGAA-3'), và glyxeraldehyt 3-phosphat dehydrogenaza (*GAPDH*) (Đoạn mồi thuận: 5'-AACTTTGGCATTGTGGAAGG-3', Đoạn mồi ngược: 5'-ACACATTGGGGGTAGGAACA-3'). *GAPDH* và *β -actin* có tác dụng làm oddois chứng. Các trị số Ct của gen đối chứng được trừ đi khỏi các trị số của *α -SMA* và *Col2* để tạo ra phép phân tích bán định lượng và lần thay đổi so với không xử lý được đánh giá.

Tật cận thị thiếu hụt của chuột. Vào ngày thử nghiệm (ngày sau sinh đẻ [P] 21 đến 24), chuột C57BL/6J được gây mê bằng việc tiêm trong màng bụng ketamin (90mg/kg) và xylazin (10mg/kg), và miếng đắp mắt khuếch tán được khâu vào da xung quanh mắt bên phải trong khi mắt bên trái có tác dụng làm đối chứng. Miếng đắp mắt khuếch tán bằng chất dẻo có hình bán cầu được tạo thành từ kích cỡ 0,5mL ống chất dẻo PCR. Chuột được cho phục hồi và kiểm tra đối với đệm bông gòn cho đến khi chúng di chuyển một cách hoàn toàn. Chuột mắc tật cận thị thiếu hụt được nhốt vào lồng bằng chất dẻo trong suốt trong 12 giờ chiếu sáng (độ rọi ngang 200 ± 15 lux) và 12 giờ bóng tối trong 21 ngày. Chụp X quang cổ kết quang học miền phổ được sử dụng cho phép đo sinh trắc học mắt trước và sau khi cảm ứng tật cận thị dạng thiếu hụt.

Phân tích thấm tách Western: Tổng protein từ củng mạc được chiết bằng cách sử dụng chất đệm chiết RIPA protein. Sau khi làm đồng nhất mô củng mạc, ly tâm mẫu và gom dịch nổi. Nồng độ protein của mỗi mẫu được đo bằng cách sử dụng kit thử

nghiệm BCATM protein (Bio-Rad). Mẫu protein cũng được tiêu chuẩn hoá và điện di trên 10% SDS-PAGE gel, sau đó chuyển vào màng chuyển polyvinyliden florua (Immun-Blot PVDF Membrane, BIO-RAD) ở 21 V trong 1 giờ. Phong bế màng trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng bằng 5% sữa khô trong PBS với 0,1% Tween và ủ ở 4°C qua đêm bằng kháng thể sơ cấp. Rửa màng và ủ bằng 1:10.000 kháng thể IgG dê kháng chuột hoặc kháng thỏ được tiếp hợp với horseradish peroxidaza (Santa Cruz) trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng và rửa lại lần nữa. Phát triển màng bằng phát quang hoá học bằng thuốc thử Lumigen TMA-6 (GE Healthcare UK limited, Buckinghamshire, UK) và bắt giữ hình ảnh bằng hệ tạo hình ảnh LAS-4000 (Fujifilm, Tokyo, Japan). Dải protein được định lượng bằng cách sử dụng phần mềm ImageJ.

Phân tích thống kê:

Đối với các nghiên cứu *in vitro*, ý nghĩa thống kê được tính toán bằng thử nghiệm ANOVA bằng thử nghiệm Bonferroni post hoc. Đối với các nghiên cứu *in vivo*, ý nghĩa thống kê được tính toán bằng phép phân tích dao động (thử nghiệm t tạo cặp). Ý nghĩa thống kê được xác định là trị số *p* nhỏ hơn 0,05.

Ví dụ 1: Sự thay đổi hình thái học SSPC sau khi xử lý TGF- β

Nghiên cứu *in vitro* về sự thay đổi hình thái học SSPC sau khi xử lý TGF- β được thực hiện. SSPC được ủ bằng việc xử lý TGF- β 2 (từ 0,1 đến 10ng/ml) trong 24 giờ như được mô tả trên đây. Nghiên cứu kính hiển vi thể hiện mà không cần phải xử lý TGF- β 2 hoặc ở nồng độ xử lý TGF- β 2 thấp (0,1ng/ml), nhiều SSPC có dạng trục quay mỏng và thể hiện kiểu hình mở rộng. Ngoài ra, sợi khung tế bào của SSPC là không rõ rệt. Sau khi phơi trần với nồng độ TGF- β 2 cao hơn (từ 1 đến 10ng/ml), SSPC trở nên rộng với sợi khung tế bào rõ rệt. Kính hiển vi huỳnh quang miễn dịch thể hiện số lượng gia tăng của SSPC dương tính α -SMA (với việc nhuộm sợi α -SMA nội bào rõ rệt) sau khi xử lý bằng 10ng/ml TGF- β 2.

Ví dụ 2: Tác dụng của việc xử lý TGF- β đối với sự biểu hiện α -SMA và Col2

Nghiên cứu *in vitro* về tác dụng của việc xử lý TGF- β đối với sự biểu hiện α -SMA và Col2 được thực hiện bằng cách sử dụng viên SSPC và 3-D của SSPC. Viên

SSPC và 3-D của SSPC được xử lý bằng các nồng độ khác nhau của TGF- β 2, như được mô tả trên đây.

Tổng ARN thông tin được phân tích để xác định nếu có sự thay đổi bất kỳ về sự biểu hiện gen α -SMA và *Col2* sau xử lý từ 0,1 đến 10ng/ml TGF- β 2 trong 24 giờ. Fig.2 thể hiện có sự gia tăng đáng kể về mặt thống kê về sự biểu hiện gen α -SMA và *Col2* sau xử lý TGF- β 2 bằng cách sử dụng phép phân tích PCR thời gian thực định lượng, theo cách phụ thuộc liều ($p < 0,0001$ và $= 0,011$, theo cách tương ứng).

Viên SSPC được nuôi cấy trong môi trường đối chứng và môi trường chứa 10ng/ml TGF- β 2 (viên TM) trong 4 tuần. Phép phân tích mô học thể hiện rằng hầu hết SSPC được định vị trong vùng giữa ngoại vi và ngoại vi mà bao quanh mô nền trung tâm trong viên TM. Phép phân tích mô hoá học miễn dịch thể hiện *Col2* được biểu hiện trong vùng khu trú, giữa ngoại vi của viên TM trong khi sự biểu hiện α -SMA là nhiều hơn trong viên TM, đặc biệt là trong vùng giữa ngoại vi và vùng ngoại vi. Ngược lại, sự biểu hiện của *Col2* và α -SMA là ít hơn ở nhóm đối chứng.

Ví dụ 3: Sự biểu hiện của *Col2* và α -SMA trong củng mạc của chuột FDM

Nghiên cứu in vivo đánh giá sự biểu hiện của *Col2* và α -SMA trong củng mạc được đánh giá bằng cách sử dụng chuột FDM. FDM được cảm ứng ở mắt bên phải của chuột như được mô tả trên đây và mắt bên trái có tác dụng làm đối chứng. Sự khác nhau giữa hai mắt của mỗi chuột theo chiều dài trục là không đáng kể khi bắt đầu ($p = 0,378$). Vào ngày 21, mắt dạng thiếu hụt có tật cận thị với chiều dài trục $3055 \pm 39 \mu\text{m}$ mà dài hơn một cách đáng kể so với mắt đối chứng đối bên ($3015 \pm 40 \mu\text{m}$, $p < 0,001$)

Fig.3 thể hiện sau 21 ngày thiếu hụt tầm nhìn, sự biểu hiện của *Col2* và α -SMA là cao hơn trong củng mạc của mắt FDM bằng cách sử dụng phép phân tích thấm tách western. Các hình vẽ Fig.3A và Fig.3B thể hiện sự biểu hiện của *Col2* và α -SMA ở mắt FDM là cao hơn một cách đáng kể so với mắt đối chứng đối bên ở củng chuột ($P = 0,021$ đối với *Col2* và ($p = 0,042$ đối với α -SMA)). Việc nhuộm miễn dịch thể hiện sự biểu hiện của *Col2* là cao hơn ở vùng củng mạc của mắt FDM so với ở mắt đối chứng, trong khi sự biểu hiện α -SMA là lớn hơn ở củng mạc (gần với phía mạch mạc) và vùng mạch mạc của mắt FDM so với mắt đối chứng.

Ví dụ 4: Sự biểu hiện của hàm lượng ARN thông tin TGF- β trong mạch mạc của chuột FDM

Nghiên cứu in vivo đánh giá sự biểu hiện của TGF- β ở mạch mạc được thực hiện bằng cách sử dụng chuột FDM. FDM được cảm ứng ở chuột như được mô tả trên đây.

Sự biểu hiện tương đối của ARN thông tin TGF- β 1, TGF- β 2 và TGF- β 3 trong mạch mạc của chuột FDM là cao hơn một cách đáng kể so với mạch mạc đối chứng đối bên (2,98, 4,44 và 3,86 lần thay đổi, $p=0,042$, $0,045$ và $0,041$, một cách tương ứng, Fig.4).

Ví dụ 5: Tác dụng của chất kháng muscarin và NSAID đối với sự biểu hiện Col2 và α -SMA

Nghiên cứu in vitro kiểm tra tác dụng của chất kháng muscarin và NSAID đối với sự biểu hiện Col2 và α -SMA được thực hiện bằng cách sử dụng SSPC của người. SSPC được xử lý bằng 1mM atropin, 5mM ketorolac và 1mM diclofenac với sự có mặt của TGF- β 2 (10ng/ml), như được mô tả trên đây.

Các hình vẽ Fig.5A và Fig.5B thể hiện sự biểu hiện của Col2 và α -SMA được ngăn chặn bởi atropin, ketorolac và diclofenac, với sự có mặt của TGF- β 2.

Ví dụ 6: Điều trị đối tượng mắc tật cận thị bằng được phẩm bao gồm chất kháng muscarin và NSAID

Nghiên cứu lâm sàng của 11 đối tượng mắc tật cận thị bằng cách sử dụng atropin và được phẩm bao gồm atropin và ketorolac được thực hiện.

11 đối tượng cận thị nhận điều trị atropin trong ít nhất một năm, với liều atropin nằm trong khoảng từ 0,005% đến 1% khối lượng atropin/đơn vị liều (khoảng từ 0,05 đến 0,5ml). Mỗi mắt bị ảnh hưởng được dùng một giọt (từ 0,05 đến 0,5ml) dung dịch dùng cho mắt atropin vào ban đêm. Trong quá trình điều trị atropin, tốc độ tiến triển tật cận thị trung bình đối với 11 đối tượng mắc bệnh cận thị bằng -0,9 Diot/ năm.

Tiếp theo, 11 đối tượng cận thị này nhận được phẩm bao gồm atropin và ketorolac trong ít nhất 3 tháng. Liều atropin nằm trong khoảng từ 0,005% đến 1%

khối lượng atropin/liều đơn vị (từ 0,05 đến 0,5ml) và liều ketorolac nằm trong khoảng từ 0,25% đến 0,5% khối lượng ketorolac/liều đơn vị (0,5ml). Mỗi mắt bị ảnh hưởng được dùng một giọt (từ 0,05 đến 0,5ml) atropin tổ hợp với dung dịch dùng cho mắt ketorolac vào ban đêm. Trong quá trình điều trị atropin tổ hợp với ketorolac, tốc độ tiến triển tật cận thị trung bình đối với 11 đối tượng mắc tật cận thị được giảm đến -0,38 Diot/ năm (Fig. 6).

Ví dụ 7: Điều trị đối tượng mắc tật cận thị bằng NSAID

Đối tượng mắc tật cận thị có thể không dung nạp tác dụng phụ của atropin và được dùng NSAID để điều trị tật cận thị. Liều ketorolac bằng khoảng 0,5% khối lượng ketorolac/liều đơn vị (từ 0,05 đến 0,5ml) và mắt bị ảnh hưởng được dùng một giọt (từ 0,05 đến 0,5ml) dung dịch dùng cho mắt ketorolac vào ban đêm.

Tốc độ tiến triển tật cận thị trung bình đối với đối tượng mắc bệnh này bằng -0,78 Diot/năm ở mắt bên phải và -0,91 Diot/năm ở mắt bên trái mà không cần phải điều trị bất kỳ. Sau ba tháng điều trị NSAID, không có sự tiến triển về tật cận thị ở cả hai mắt (Fig.7).

Ví dụ 8: Sự biểu hiện của chỉ thị viêm ở mạch mạc của chuột FDM

Nghiên cứu in vivo đánh giá sự biểu hiện của chỉ thị viêm trong mạch mạc được đánh giá bằng cách sử dụng chuột FDM. FDM được cảm ứng ở mắt bên phải của chuột như được mô tả trên đây và mắt bên trái có tác dụng làm đối chứng.

Fig.8A thể hiện hàm lượng IL-6 bằng PCR thời gian thực trong mạch mạc của mắt FDM là cao hơn so với hàm lượng của mắt đối chứng. Fig.8b thể hiện hàm lượng của TNF- α bằng PCR thời gian thực trong mạch mạc của mắt FDM là cao hơn so với hàm lượng của mắt đối chứng. Hàm lượng TNF- α được ngăn chặn bằng cách cho dùng một giọt nhỏ mắt ketorolac một lần một ngày vào mắt FDM.

Ví dụ 9: Điều trị SSPC bằng dược phẩm bao gồm Atropin và Ketorolac giảm α -SMA và Col2

Nghiên cứu in vitro về tác dụng của dược phẩm bao gồm Atropin và Ketorolac đối với sự biểu hiện của α -SMA và Col2 được thực hiện bằng cách sử dụng SSPC. SSPC được điều trị bằng 10ng/ml TGF- β 2, như được mô tả trên đây.

Fig.9A thể hiện sự biểu hiện của α -SMA gia tăng với sự có mặt của TGF- β 2 (T2) nhưng giảm với 0,5mM atropin (A), 0,25mM Ketorolac (X1), và được phẩm bao gồm Atropin và Ketorolac, với sự có mặt của TGF- β 2.

Fig.9B thể hiện sự biểu hiện của Col2 gia tăng với sự có mặt của TGF- β 2 (T2) nhưng giảm với 0,5mM atropin (A), 0,25mM Ketorolac (X1), và được phẩm bao gồm Atropin và Ketorolac, với sự có mặt của TGF- β 2.

Các kết quả thể hiện rằng được phẩm bao gồm Atropin và Ketorolac có tác dụng hiệp đồng trong việc giảm α -SMA và Col2.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Dược phẩm chứa:

khoảng 0,001 % đến khoảng 1% khối lượng atropin; và

khoảng 0,01 % đến khoảng 1% khối lượng dược chất kháng viêm không steroid (nonsteroidal anti-inflammatory drug - NSAID), trong đó NSAID này được chọn từ Ketorolac, Diclofenac, Indomethacin, Bromfenac, Nepafenac, Flurbiprofen hoặc tổ hợp của chúng.

2. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó atropin là từ khoảng 0,005% đến khoảng 0,05% theo khối lượng.

3. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó NSAID là từ khoảng 0,05% đến khoảng 1% theo khối lượng Ketorolac.

4. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó NSAID là từ khoảng 0,01% đến khoảng 0,2% theo khối lượng diclofenac.

Fig 1.

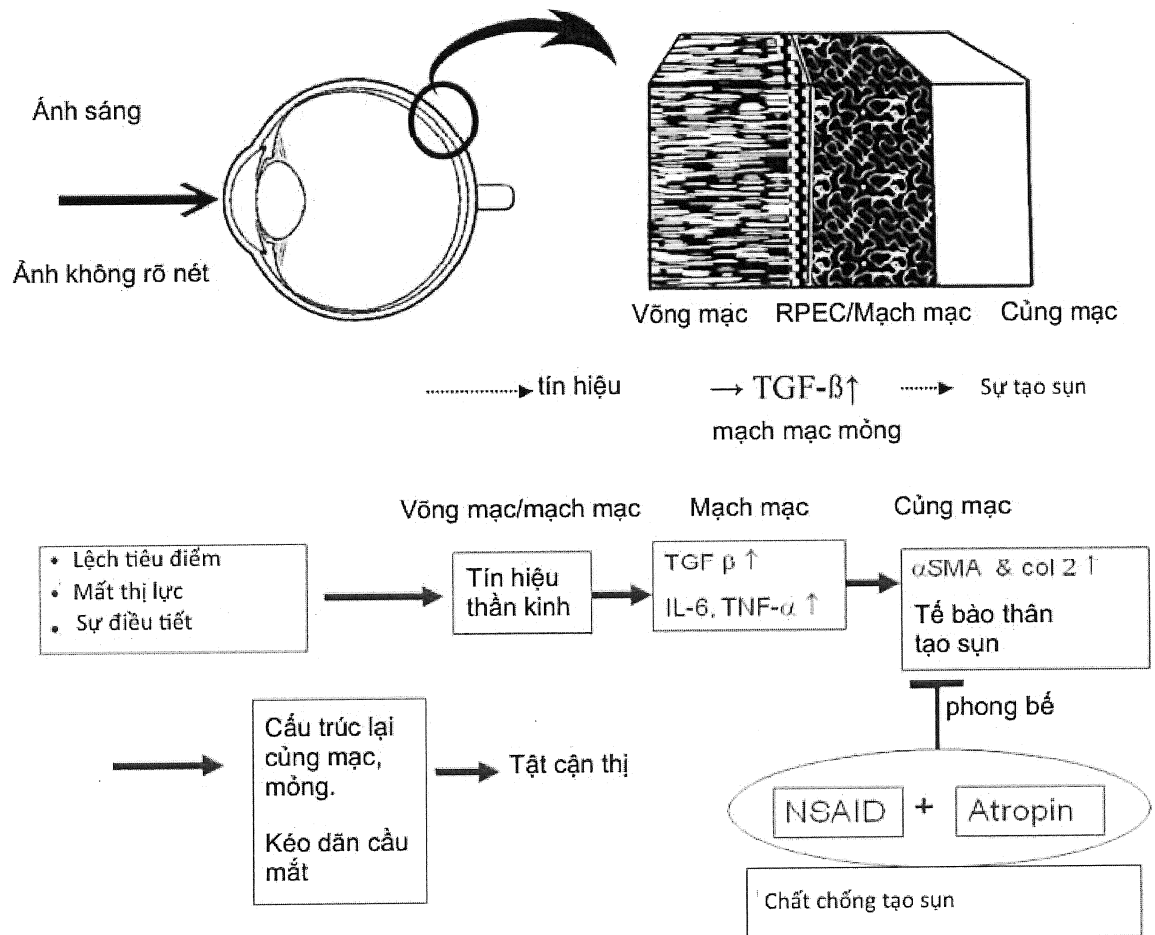


Fig 2.

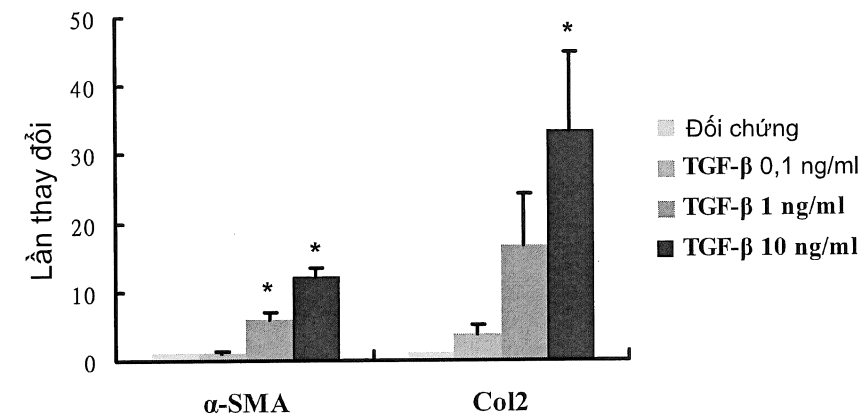


Fig 3.

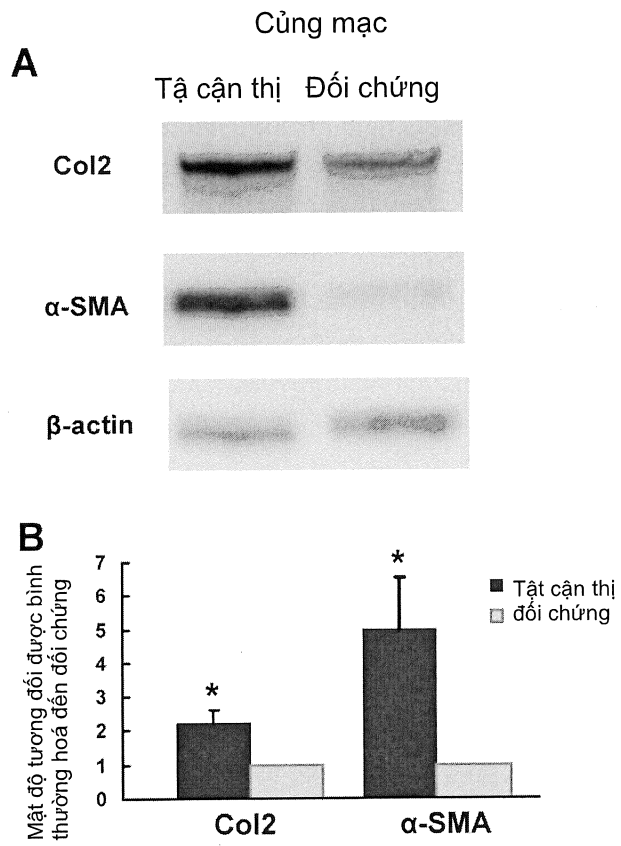


Fig 4.

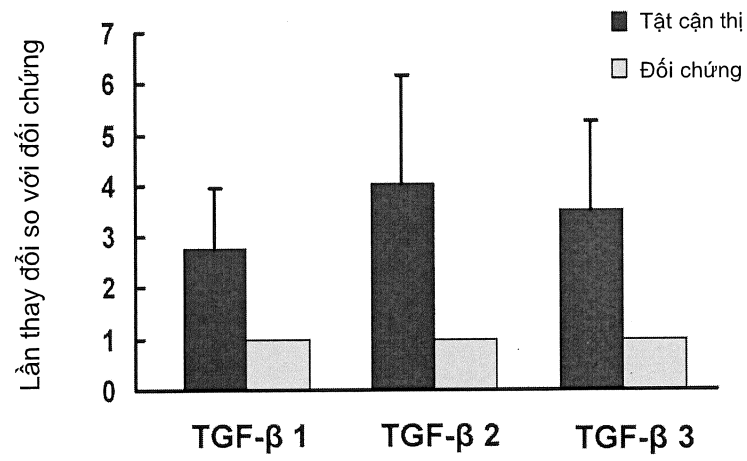
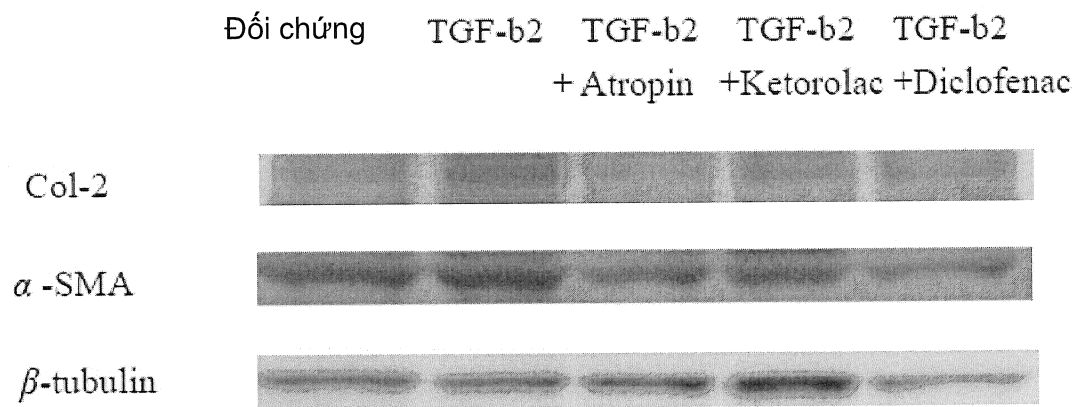


Fig. 5

(A)



(B)

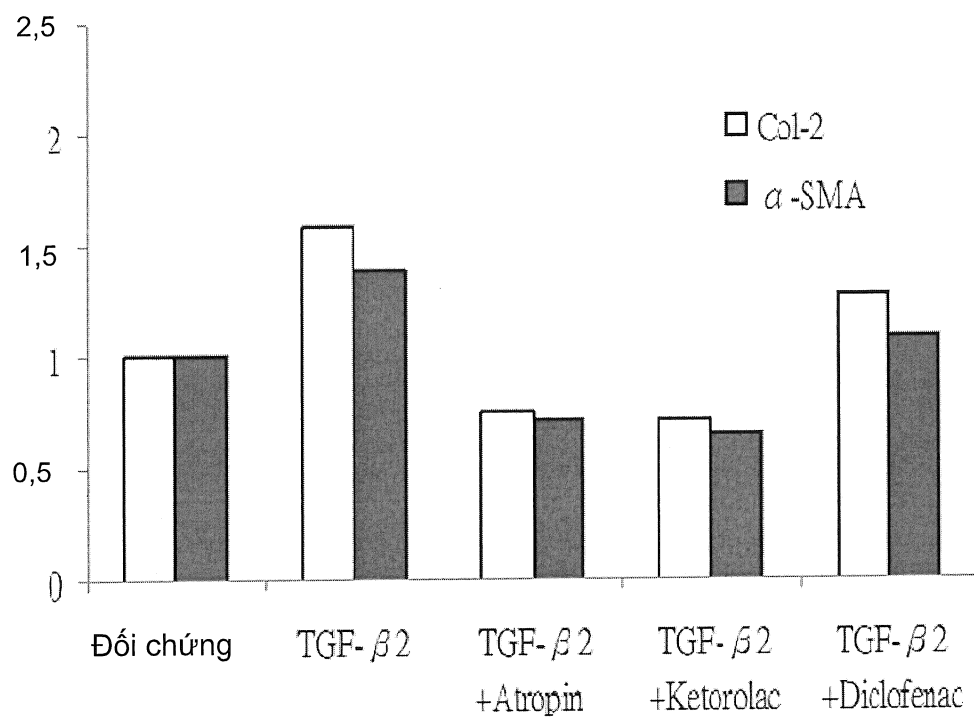


Fig. 6

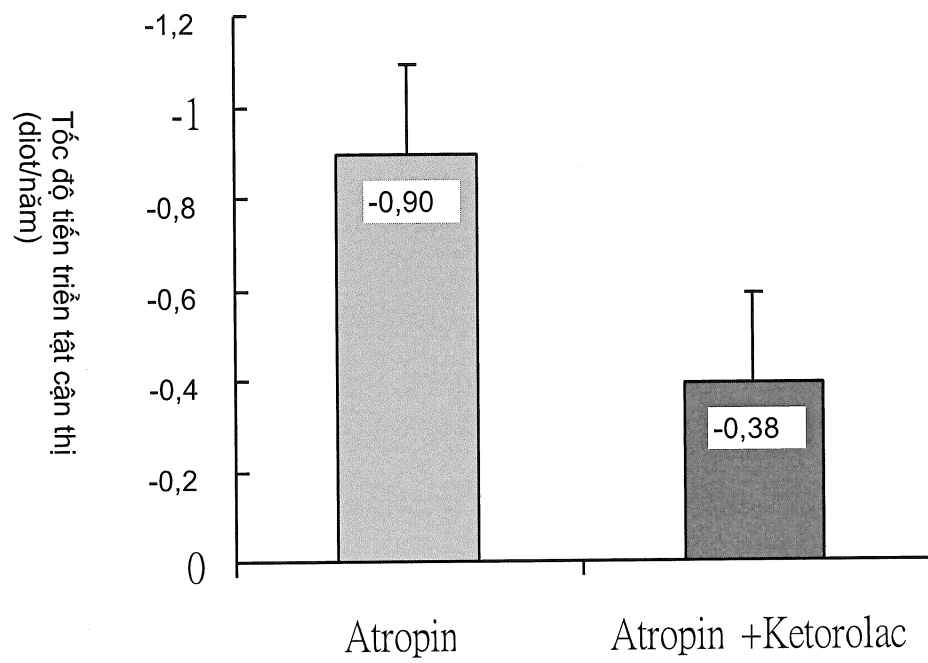


Fig. 7

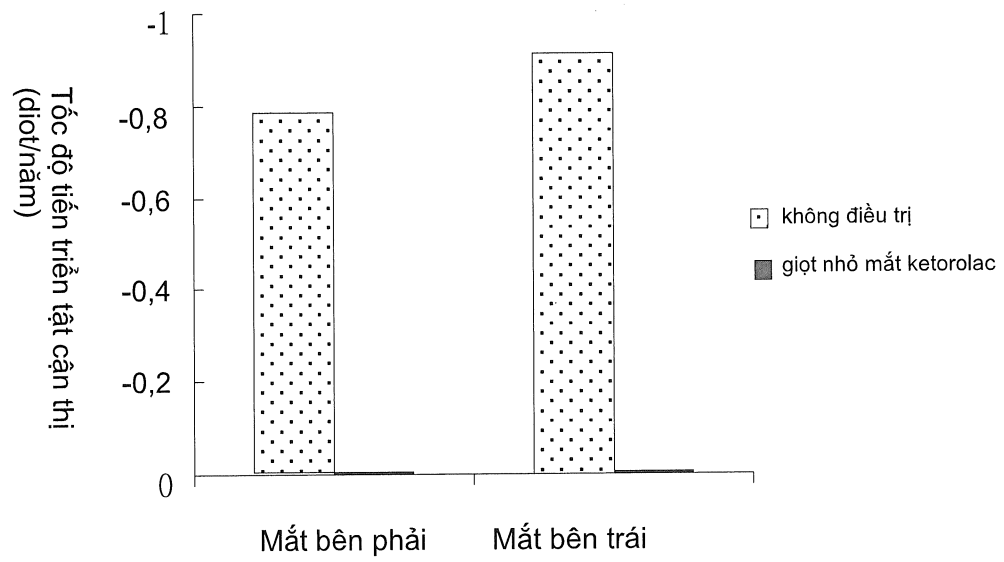


Fig. 8(A)

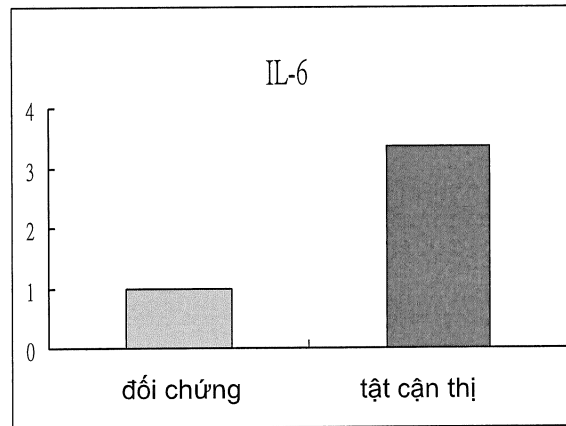


Fig. 8(B)

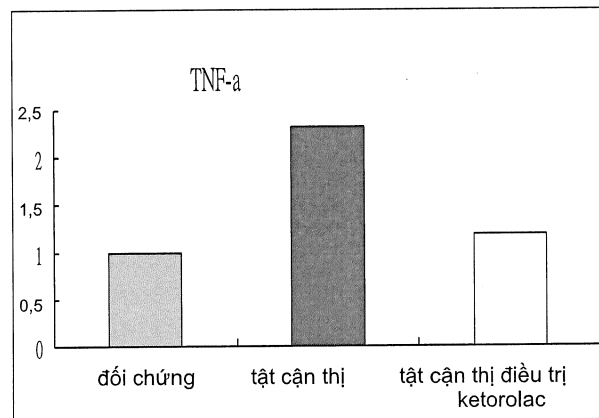


Fig. 9(A)

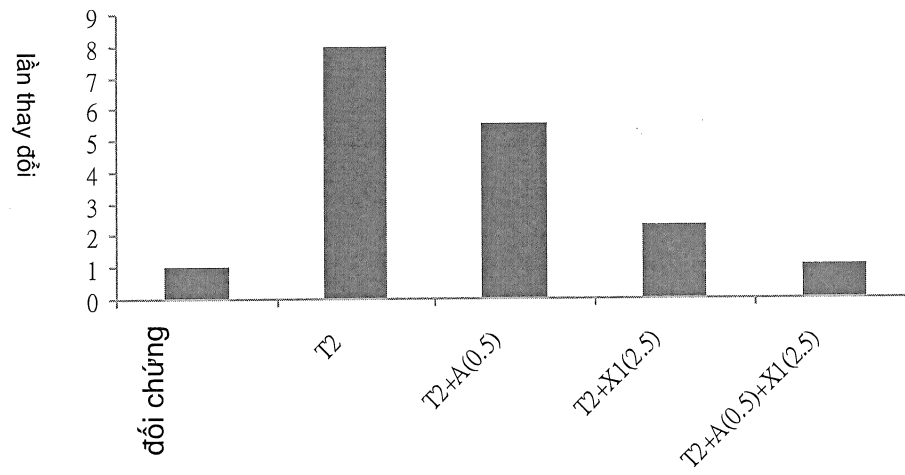


Fig. 9(B)

