



(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)



1-0032253

(51)⁸ A61K 38/13; A61P 27/02; A61K
31/7016

(13) B

(21) 1-2017-01843

(22) 19/10/2015

(86) PCT/KR2015/011048 19/10/2015

(87) WO 2016/060532 21/04/2016

(30) 10-2014-0141089 17/10/2014 KR

(45) 25/06/2022 411

(43) 25/09/2017 354A

(73) HUONS CO., LTD. (KR)

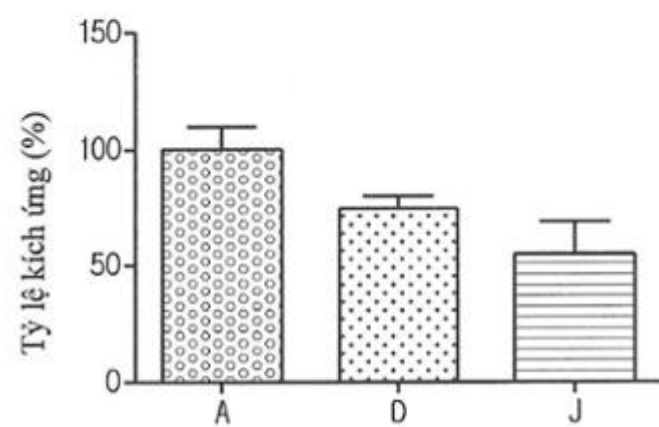
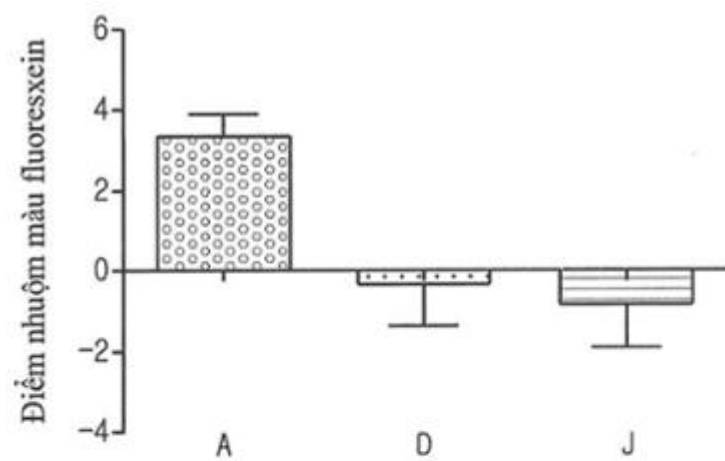
C-902, 253, Pangyo-ro, Bundang-gu, Seongnam-si, Gyeonggi-do 13486, Republic of Korea

(72) LIM, Jong Hwan (KR); HONG, Sung-Woon (KR); KO, Dae Woong (KR); KIM, Yeong-Mok (KR); UM, Key-An (KR); NAM, Seung Kwan (KR); AHN, Mi Sun (KR); HWANG, Deok-Kyu (KR).

(74) Công ty TNHH Tầm nhìn và Liên danh (VISION & ASSOCIATES CO.LTD.)

(54) CHẾ PHẨM DÙNG CHO MẮT CHỨA XYCLOSPORIN VÀ TREHALOZA

(57) Sáng chế đề cập đến chế phẩm dùng cho mắt chứa xyclosporin và trehaloza làm thành phần hiệu quả, phương pháp sản xuất chế phẩm này. Chế phẩm dùng cho mắt theo sáng chế có sự kết hợp các tác dụng vượt trội đối với chứng khô mắt, mà có thể do nhiều yếu tố khác nhau gây ra như không khí khô, viêm, chất bảo quản, v.v., và được đặt vào nhiều trạng thái hoặc tình trạng khác nhau.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chế phẩm dùng cho mắt, phương pháp bào chế chế phẩm này, và phương pháp ngăn ngừa hoặc điều trị các bệnh về mắt.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Nước mắt được tạo nên từ ba lớp, lớp dầu, lớp nước và lớp chất nhầy, và màng (phim) nước mắt có cấu tạo ba lớp này. Hội chứng khô mắt hay bệnh khô mắt (sau đây gọi là 'khô mắt') có rất nhiều khái niệm, và trong nhiều trường hợp, chưa rõ nguyên nhân, và do đó, thay vì là bệnh, khô mắt được định nghĩa là tình trạng bất thường của mắt do màng nước mắt không ổn định gây ra bởi việc giảm hoặc thay đổi số lượng hoặc chất lượng của nước mắt và màng nước mắt bị phá vỡ nhanh hơn bình thường.

Theo cách định nghĩa này, các phân loại về khô mắt bao gồm các bệnh như viêm kết-giác mạc khô, rối loạn biểu mô kết-giác mạc, tiết nước mắt giảm, hội chứng Stevens-Johnson, hội chứng khô mắt, hội chứng Sjögren, thiếu hụt nước mắt, sung huyết mắt, tính không ổn định của màng nước mắt, hoặc chứng phù mắt. Ngoài ra, các phân loại về khô mắt còn bao gồm viêm kết mạc dị ứng, viêm kết mạc do virus, hoặc khô mắt sau khi phẫu thuật đục thủy tinh thể. Ngoài ra, gần đây, với số lượng ngày càng tăng những người đeo kính áp tròng, thời gian tiêu tốn trong môi trường được kiểm soát bằng không khí nhân tạo, và tần suất nhìn vào các thiết bị đầu cuối hiển thị (visual display terminals-VDT) khi sử dụng nhiều TV và máy tính, các yếu tố đẩy nhanh tình trạng khô mắt tăng mạnh, và do đó, các phân loại về khô mắt sẽ bao gồm khô mắt liên quan đến việc đeo kính áp tròng hoặc khô mắt liên quan đến thao tác VDT.

Ngoài ra, trong nhiều trường hợp, những người bị khô mắt sẽ mắc rối loạn viêm kết-giác mạc khô. Cụ thể, khi bị thiếu hụt nước mắt trong lớp chất nhầy, sự tổn thương giác mạc sẽ là nghiêm trọng, gây ra rối loạn biểu mô kết-giác mạc, và các phân loại về rối loạn biểu mô kết-giác mạc bao gồm khô mắt, khiếm khuyết biểu mô giác mạc, khiếm khuyết biểu mô kết mạc, xước biểu mô giác mạc, độ dày giác mạc giảm, tình trạng thâm nhiễm giác mạc, thủng giác mạc hoặc tróc màng biểu mô giác mạc, và

rối loạn biểu mô kết-giác mạc dẫn đến loét giác mạc, viêm giác mạc, viêm kết mạc, bệnh giác mạc có đốm nông, viêm kết-giác mạc khô, viêm kết-giác mạc vùng rìa trên, viêm giác mạc sợi, loét giác mạc và các bệnh nhiễm trùng mắt ở biểu mô giác mạc và biểu mô kết mạc. Rối loạn biểu mô kết-giác mạc có thể do tổn thương ở mắt, vi phẫu hoặc việc đeo kính áp tròng cứng gây ra.

Việc điều trị tình trạng khô mắt tập trung vào việc cho phép duy trì ít nhất một lượng nước mắt định trước bằng phương pháp bảo toàn như bổ sung các giọt nước mắt nhân tạo hoặc chặn ống lệ tạm thời hoặc vĩnh viễn, nhưng gần đây, với sự mở rộng khái niệm điều trị, xu hướng điều trị tình trạng khô mắt thiên về điều trị tích cực sử dụng thuốc thúc đẩy sự tiết nước mắt ngay cả với khô mắt vừa, hơn là điều trị bị động nhằm mục đích làm nhẹ bớt hội chứng này. Phù hợp với xu hướng này, việc sử dụng chất ức chế miễn dịch để điều trị khô mắt trở nên phổ biến hơn. Chất ức chế miễn dịch bao gồm cyclosporin, sirolimus, tacrolimus và các dẫn xuất của chúng. Trong số đó, một trong số thuốc có bán trên thị trường là thuốc nhỏ mắt dạng nhũ tương cyclosporin A 0,05% (Restasis®). Thuốc này được biết là có hiệu quả trong việc điều trị hội chứng khô mắt và rối loạn biểu mô kết-giác mạc có liên quan của nó, nhưng đồng thời, nó cũng được biết là gây ra nhiều tác dụng phụ, và phản ứng bất thường phổ biến nhất là cảm giác bỏng rát trong mắt, và sung huyết kết mạc, ghèn mắt, tràn nước mắt, đau mắt, cảm giác có dị vật, bệnh ngứa, buồn, cảm giác nhói đau, suy giảm thị lực (thường là nhìn mờ) ở một số bệnh nhân đã được báo cáo. Theo bài tiểu luận của tác giả Ji Eun Lee et al., khi tiếp xúc với cyclosporin 0,05% trong 10 phút, quan sát thấy sự gây chết tế bào theo chương trình tăng và khả năng sống sót của tế bào giảm, và để sử dụng mà không gây ra tác dụng độc đối với các tế bào biểu mô giác mạc, thời gian tiếp xúc với cyclosporin 0,05% cần phải ít hơn 10 phút (J Korean Ophthalmol Soc 48(10):1399-1409, 2007), và khả năng sống sót của tế bào giảm đáng kể ở nồng độ cyclosporin 0,05% (5 µg/mL) hoặc cao hơn (Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol (2006) 244: 382-389).

Ngoài cyclosporin, việc sử dụng lượng dư chất ức chế miễn dịch gây ra các tác dụng phụ như thiếu máu, chứng giảm bạch cầu, chứng giảm tiểu cầu và rụng tóc. Tuy nhiên, phù hợp với xu hướng gần đây, để điều trị các tình trạng khô mắt nghiêm trọng cũng như các triệu chứng đau lâm sàng ngay cả ở các trường hợp nhẹ, chất ức chế miễn dịch được sử dụng chủ động để điều trị tình trạng khô mắt. Ngoài ra, nhìn chung,

bệnh nhân mắc tình trạng khô mắt thường dùng nhiều loại thuốc và liệu thường xuyên, và được biết rằng các yếu tố này làm giảm sự tuân thủ thuốc và tác dụng điều trị.

Mặt khác, trehaloza là disacarit trong đó hai phân tử glucoza được kết hợp với nhau ở gốc khử của chúng, và có ba chất đồng phân quang học, α , α -trehaloza, α , β -trehaloza và β , β -trehaloza. Trong thế giới tự nhiên, trehaloza có mặt nhiều trong vi khuẩn, thực vật, và động vật, và trong ngành công nghiệp thực phẩm, trehaloza có phạm vi ứng dụng rộng vì các đặc điểm vượt trội như độ ngọt tương đối thấp, tác dụng chống già hóa của tinh bột và ngăn ngừa sự phân hủy protein trong quá trình lạnh đông/sấy khô. Hơn nữa, đơn sáng chế Hàn Quốc số 10-2002-0021320 (công bố ngày 20/3/2002) bộc lộ trong đó chế phẩm chứa trehaloza làm thành phần hoạt tính duy nhất có tác dụng đối với việc điều trị hội chứng Sjögren.

Tuy nhiên, cho đến nay chưa có báo cáo nào về tác dụng của chế phẩm dùng cho mắt chứa hai thành phần, xyclosporin và trehaloza, đặc biệt là đối với việc ngăn ngừa, giảm, và điều trị thêm nhiều tình trạng khô mắt, và hơn nữa, chưa có đánh giá nào về tác dụng đồng vận của hai thành phần khi được kết hợp và khoảng tỷ lệ khối lượng hoặc % khối lượng thể hiện tác dụng đồng vận này.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là đề xuất chế phẩm dùng cho mắt tạo ra tác dụng tương đương hoặc vượt trội với lượng xyclosporin giảm, và có tác dụng kết hợp vượt trội đối với các tình trạng khô mắt có thể xảy ra qua nhiều con đường khác nhau và được đặt vào nhiều trạng thái hoặc tình trạng khác nhau, thay vì là một bệnh.

Để đạt được mục đích này, sáng chế đề xuất chế phẩm dùng cho mắt chứa xyclosporin và trehaloza, trong đó hai thành phần này được trộn ở khoảng tỷ lệ hoặc % khối lượng định trước. Các tác giả sáng chế thấy rằng chế phẩm dùng cho mắt này tạo ra tác dụng tương đương hoặc vượt trội với lượng xyclosporin giảm, và có tác dụng mà chế phẩm chứa một mình xyclosporin hoặc một mình trehaloza làm thành phần hoạt tính không có, ví dụ, tác dụng kết hợp vượt trội đối với tình trạng khô mắt có thể xảy ra qua nhiều con đường khác nhau như không khí khô, viêm mắt, hoặc chất bảo quản và được đặt vào nhiều trạng thái hoặc tình trạng khác nhau, và đạt được sáng chế bằng cách tạo ra nó dưới dạng phức xyclosporin-trehaloza.

Do đó, sáng chế đề xuất chế phẩm dùng cho mắt chứa xyclosporin và trehaloza

làm thành phần hoạt tính, phương pháp bào chế chế phẩm này, và phương pháp ngăn ngừa, làm giảm hoặc điều trị các bệnh về mắt (tốt hơn là tình trạng khô mắt) sử dụng chế phẩm này.

Cụ thể hơn, sáng chế đề xuất chế phẩm dùng cho mắt chứa xyclosporin và trehaloza làm thành phần hoạt tính, và tốt hơn là chế phẩm dùng cho mắt để ngăn ngừa, làm giảm hoặc điều trị tình trạng khô mắt.

Ngoài ra, sáng chế đề xuất phương pháp ngăn ngừa, làm giảm hoặc điều trị các bệnh về mắt (tốt hơn là tình trạng khô mắt) bằng cách cho động vật có vú (tốt hơn là người) sử dụng chế phẩm dùng cho mắt bao gồm lượng có hiệu quả dược lý của xyclosporin và trehaloza.

Ngoài ra, sáng chế đề xuất việc sử dụng xyclosporin và trehaloza để bào chế chế phẩm dùng cho mắt (tốt hơn là, chế phẩm dùng cho mắt để ngăn ngừa, làm giảm hoặc điều trị các tình trạng khô mắt).

Mô tả vắn tắt hình vẽ

FIG. 1 thể hiện các thay đổi về tác dụng ức chế tổn thương giác mạc ở mẫu khô mắt do không khí khô gây ra được điều trị bằng phức chất.

FIG. 2 thể hiện các thay đổi về tác dụng ức chế tiết nước mắt ở mẫu khô mắt do Concanavalin A gây ra được điều trị bằng phức chất.

FIG. 3 thể hiện các thay đổi về tác dụng làm nhẹ bớt tình trạng viêm giác mạc ở mẫu khô mắt do Concanavalin A gây ra được điều trị bằng phức chất.

FIG. 4 thể hiện các thay đổi ở thử nghiệm Schirmer (phía trên) và các thay đổi TBUT (phía dưới) ở mẫu khô mắt do benzalkoni clorua gây ra được điều trị bằng phức chất.

FIG. 5 thể hiện số lượng tế bào tiết hình ly ở mẫu khô mắt do benzalkoni clorua gây ra được điều trị bằng phức chất.

FIG. 6 thể hiện các thay đổi ở tình trạng viêm (phía trên) và mức độ kích ứng mắt (phía dưới) ở mẫu khô mắt do benzalkoni clorua gây ra được điều trị bằng phức chất.

FIG. 7 thể hiện khả năng sống sót của tế bào ở mẫu khô mắt được điều trị bằng phức chất.

Mô tả chi tiết sáng chế

Trong chế phẩm dùng cho mắt theo sáng chế, khi hai thành phần hoạt tính được trộn ở tỷ lệ định trước, tác dụng đồng vận được tạo ra và hơn nữa, được tối đa hóa, và tỷ lệ khối lượng cyclosporin:trehaloza tốt hơn là 1:20 - 200, 1:20 - 190, 1:20 - 180, 1:20 - 170, 1:20 - 160, 1:20 - 150, 1:20 - 140, 1:20 - 130, 1:20 - 120, 1:20 - 110, 1:20 - 100, 1:20 - 90, 1:20 - 80, 1:20 - 70, 1:20 - 60, 1:20 - 50, 1:20 - 40, 1:20 - 30, 1:20, 1:30 - 200, 1:30 - 190, 1:30 - 180, 1:30 - 170, 1:30 - 160, 1:30 - 150, 1:30 - 140, 1:30 - 130, 1:30 - 120, 1:30 - 110, 1:30 - 100, 1:30 - 90, 1:30 - 80, 1:30 - 70, 1:30 - 60, 1:30 - 50, 1:30 - 40, 1:30, 1:40 - 200, 1:40 - 190, 1:40 - 180, 1:40 - 170, 1:40 - 160, 1:40 - 150, 1:40 - 140, 1:40 - 130, 1:40 - 120, 1:40 - 110, 1:40 - 100, 1:40 - 90, 1:40 - 80, 1:40 - 70, 1:40 - 60, 1:40 - 50, 1:40, 1:50 - 200, 1:50 - 190, 1:50 - 180, 1:50 - 170, 1:50 - 160, 1:50 - 150. Khi tỷ lệ khối lượng này thấp hơn 1:20, tác dụng kết hợp đối với các tình trạng khô mắt được đặt vào nhiều trạng thái hoặc tình trạng khác nhau có thể không như mong đợi, và khi tỷ lệ khối lượng này vượt quá 1:200, không thể duy trì áp suất thẩm thấu hiệu quả (khoảng 230~320 mOsmol/kg) của thuốc nhỏ mắt, và duy trì nhũ tương dạng nano trong suốt.

Thêm vào đó, khi hai thành phần hoạt tính được trộn trong khoảng % khối lượng cụ thể, tác dụng đồng vận được tạo ra, và hơn nữa được tối ưu hóa, và cyclosporin có mặt ở nồng độ cao hơn 0,01% khối lượng theo tổng khối lượng của chế phẩm dùng cho mắt. Tuy nhiên, tốt hơn là cyclosporin có mặt ở nồng độ thấp hơn 0,1% khối lượng, và khi cyclosporin có mặt ở nồng độ cao hơn 0,1% khối lượng sẽ có các tác dụng phụ như cảm giác bỏng rát và nhìn mờ. Tốt hơn là, cyclosporin có mặt ở nồng độ cao hơn 0,01% khối lượng và thấp hơn hoặc bằng 0,05% khối lượng, cao hơn 0,01% khối lượng và thấp hơn hoặc bằng 0,05% khối lượng, cao hơn hoặc bằng 0,02% khối lượng và thấp hơn hoặc bằng 0,05% khối lượng, cao hơn hoặc bằng 0,02% khối lượng và thấp hơn hoặc bằng 0,05% khối lượng, cao hơn hoặc bằng 0,02% khối lượng và thấp hơn hoặc bằng 0,04% khối lượng, cao hơn hoặc bằng 0,02% khối lượng và thấp hơn hoặc bằng 0,04% khối lượng, cao hơn 0,01 % khối lượng và thấp hơn hoặc bằng 0,03% khối lượng, cao hơn hoặc bằng 0,02% khối lượng và thấp hơn hoặc bằng 0,03% khối lượng, hoặc 0,02% khối lượng, theo tổng khối lượng chế phẩm dùng cho mắt.

Ngoài ra, trehaloza có thể có mặt ở nồng độ cao hơn hoặc bằng 0,5% khối

lượng theo tổng khối lượng chế phẩm dùng cho mắt. Ví dụ, trehaloza có thể có mặt ở nồng độ bằng 0,5% khối lượng hoặc cao hơn, 0,6% khối lượng hoặc cao hơn, 0,7% khối lượng hoặc cao hơn, 0,8% khối lượng hoặc cao hơn, 0,9% khối lượng hoặc cao hơn, 1% khối lượng hoặc cao hơn, 1,1 % khối lượng hoặc cao hơn, 1,2% khối lượng hoặc cao hơn, 1,3% khối lượng hoặc cao hơn, 1,4% khối lượng hoặc cao hơn, 1,5% khối lượng hoặc cao hơn, 1,6% khối lượng hoặc cao hơn, 1,7% khối lượng hoặc cao hơn, 1,8% khối lượng hoặc cao hơn, 1,9% khối lượng hoặc cao hơn, 2% khối lượng hoặc cao hơn, 2,1% khối lượng hoặc cao hơn, 2,2% khối lượng hoặc cao hơn, 2,3% khối lượng hoặc cao hơn, 2,4% khối lượng hoặc cao hơn, 2,5% khối lượng hoặc cao hơn, 2,6% khối lượng hoặc cao hơn, 2,7% khối lượng hoặc cao hơn, 2,8% khối lượng hoặc cao hơn, 2,9% khối lượng hoặc cao hơn, 3% khối lượng hoặc cao hơn, 3,1% khối lượng hoặc cao hơn, 3,2% khối lượng hoặc cao hơn, 3,3% khối lượng hoặc cao hơn, 3,4% khối lượng hoặc cao hơn, 3,5% khối lượng hoặc cao hơn, 3,6% khối lượng hoặc cao hơn, 3,7% khối lượng hoặc cao hơn, 3,8% khối lượng hoặc cao hơn, 3,9% khối lượng hoặc cao hơn, 4% khối lượng hoặc cao hơn, 4,1% khối lượng hoặc cao hơn, 4,2% khối lượng hoặc cao hơn, 4,3% khối lượng hoặc cao hơn, 4,4% khối lượng hoặc cao hơn, 4,5% khối lượng hoặc cao hơn, 4,6% khối lượng hoặc cao hơn, 4,7% khối lượng hoặc cao hơn, 4,8% khối lượng hoặc cao hơn, 4,8% khối lượng hoặc cao hơn, 4,9% khối lượng hoặc cao hơn, 5% khối lượng hoặc cao hơn, 7,5% khối lượng hoặc thấp hơn, 0,5 - 7,5% khối lượng, 0,5 - 7% khối lượng, 0,5 - 6,5% khối lượng, 0,5 - 6% khối lượng, 0,5 - 5,5% khối lượng, 0,5 - 5% khối lượng, 0,5 - 4,5% khối lượng, 0,5 - 4% khối lượng, 0,5 - 3,5% khối lượng, 0,5 - 3% khối lượng, 0,6 - 7,5% khối lượng, 0,6 - 7% khối lượng, 0,6 - 6,5% khối lượng, 0,6 - 6% khối lượng, 0,6 - 5,5% khối lượng, 0,6 - 5% khối lượng, 0,6 - 4,5% khối lượng, 0,6 - 4% khối lượng, 0,6 - 3,5% khối lượng, 0,6 - 3% khối lượng, 0,7 - 7,5% khối lượng, 0,7 - 7% khối lượng, 0,7- 6,5% khối lượng, 0,7 - 6% khối lượng, 0,7 - 5,5% khối lượng, 0,7 - 5% khối lượng, 0,7 - 4,5% khối lượng, 0,7 - 4% khối lượng, 0,7 - 3,5% khối lượng, 0,7 - 3% khối lượng, 0,8 - 7,5% khối lượng, 0,8 - 7% khối lượng, 0,8 - 6,5% khối lượng, 0,8 - 6% khối lượng, 0,8 - 5,5% khối lượng, 0,8 - 5% khối lượng, 0,8 - 4,5% khối lượng, 0,8 - 4% khối lượng, 0,8 - 3,5% khối lượng, 0,8 - 3% khối lượng, 0,9 - 7,5% khối lượng, 0,9 - 7% khối lượng, 0,9 - 6,5% khối lượng, 0,9 - 6% khối lượng, 0,9 - 5,5% khối lượng, 0,9 - 5% khối lượng, 0,9 - 4,5% khối lượng, 0,9 - 4% khối lượng, 0,9 - 3,5% khối lượng, 0,9

- 3% khối lượng, 1 - 7,5% khối lượng, 1 - 7% khối lượng, 1 - 6,5% khối lượng, 1 - 6% khối lượng, 1 - 5,5% khối lượng, 1 - 5% khối lượng, 1 - 4,5% khối lượng, 1 - 4% khối lượng, 1 - 3,5% khối lượng, 1 - 3% khối lượng, theo tổng khối lượng chế phẩm dùng cho mắt. Khi trehaloza có mặt ở nồng độ thấp hơn 0,5% khối lượng, tác dụng kết hợp đối với tình trạng khô mắt được đặt vào nhiều trạng thái hoặc tình trạng khác nhau có thể không như mong đợi, và khi trehaloza có mặt ở nồng độ cao hơn 7,5% khối lượng, không thể duy trì áp suất thẩm thấu hiệu quả (khoảng 230~320 mOsmol/kg) của thuốc nhỏ mắt, cũng như duy trì nhũ tương dạng nano trong suốt.

Ví dụ, chế phẩm dùng cho mắt có thể bao gồm nhiều hơn 0,01% khối lượng và ít hơn 0,1% khối lượng xyclosporin và 0,5 - 7,5% khối lượng trehaloza, nhiều hơn 0,01% khối lượng - ít hơn 0,05% khối lượng xyclosporin và 0,5 - 5% khối lượng trehaloza, nhiều hơn 0,01% khối lượng - ít hơn 0,05% khối lượng xyclosporin và 0,5 - 3,5% khối lượng trehaloza, 0,02% khối lượng hoặc nhiều hơn - ít hơn 0,05% khối lượng xyclosporin và 0,5 - 5% khối lượng trehaloza, 0,02% khối lượng hoặc nhiều hơn - ít hơn 0,05% khối lượng xyclosporin và 0,5 - 3,5% khối lượng trehaloza, 0,02% khối lượng hoặc nhiều hơn - ít hơn 0,05% khối lượng xyclosporin và 1 - 3% khối lượng trehaloza, 0,02% khối lượng xyclosporin và 1 - 3% khối lượng trehaloza.

Tốt hơn là, đối với tác dụng đồng vận của xyclosporin và trehaloza, chế phẩm dùng cho mắt theo sáng chế tốt hơn là chứa xyclosporin và trehaloza trong khoảng tỷ lệ khối lượng hoặc/và % khối lượng đã nêu.

Theo sáng chế, dựa trên tiền đề là thành phần hoạt tính có cùng % theo % khối lượng tổng chế phẩm được bao gồm trong chế phẩm dùng cho mắt so với chế phẩm dùng cho mắt chứa một mình xyclosporin hoặc một mình trehaloza làm thành phần hoạt tính, thuật ngữ "tác dụng đồng vận" có thể bao gồm tác dụng được tăng cường hoặc được cải thiện đối với cùng một bệnh được tạo ra bởi chế phẩm dùng cho mắt chứa một mình xyclosporin hoặc một mình trehaloza làm thành phần hoạt tính, tác dụng đối với bệnh mà sẽ không được tạo ra bởi chế phẩm dùng cho mắt chứa một mình xyclosporin hoặc một mình trehaloza làm thành phần hoạt tính, hoặc tác dụng phụ hoặc bất lợi liên quan chế phẩm dùng cho mắt chứa một mình xyclosporin hoặc một mình trehaloza làm thành phần hoạt tính được giảm bớt. Ví dụ, tác dụng đồng vận có thể bao gồm tác dụng điều trị tăng đáng kể so với khi sử dụng một mình xyclosporin hoặc một mình trehaloza, tác dụng giảm tổn thương giác mạc, phục hồi

lượng tiết nước mắt, giảm chứng viêm mắt, cải thiện lượng nước mắt, giảm kích ứng mắt (ban đỏ, chứng phù và đùn ghèn kết mạc gia tăng), bảo vệ, làm trơn và làm ẩm màng nước mắt, và tác dụng làm tăng lượng tiết dịch nhầy do tế bào tiết hình ly làm tăng hoạt tính trong đó các tế bào tiết hình ly chịu trách nhiệm tiết dịch nhầy, ở tất cả các mẫu khô mắt do không khí khô gây ra, mẫu khô mắt do viêm gây ra, và khô mắt do chất bảo quản gây ra.

Theo sáng chế, "xyclosporin" hoặc "trehaloza" có thể được sử dụng không quan tâm đến phương pháp bào chế và nguồn gốc của nó, miễn là mục đích của sáng chế không bị cản trở.

Ngoài ra, xyclosporin có thể bao gồm, ở dạng hoạt chất của nó, xyclosporin A, dẫn xuất xyclosporin A, xyclosporin B, xyclosporin C, xyclosporin D và hỗn hợp của chúng, và tốt hơn là có thể bao gồm xyclosporin A. Trehaloza có thể bao gồm, ở dạng hoạt chất của nó, ba chất đồng phân quang học, α , α -trehaloza, α , β -trehaloza, β , β -trehaloza và hỗn hợp của chúng.

Ngoài ra, theo sáng chế, thuật ngữ "xyclosporin" hoặc "trehaloza" được định nghĩa là bao gồm các dẫn xuất dược dụng của chúng, và các dẫn xuất dược dụng này sẽ được nhận biết là có hoặc mang lại cùng một chức năng và/hoặc hoạt tính sinh học như xyclosporin hoặc trehaloza, và có thể bao gồm tiền dược chất của xyclosporin hoặc trehaloza, solvat của chúng và đồng tinh thể của chúng, miễn là mục đích của sáng chế không bị cản trở.

Thuật ngữ "tiền dược chất" chỉ xyclosporin hoặc trehaloza được tạo thành ở lượng mà có thể được phát hiện dựa vào thử nghiệm trong khoảng thời gian định trước qua cơ chế chuyển hóa sau khi sử dụng.

Thuật ngữ "solvat" chỉ hợp chất bao gồm thêm lượng hợp thức hoặc phi hợp thức của các dung môi được giữ bởi lực phân tử không cộng hóa trị. Trong trường hợp dung môi là nước, solvat là hydrat.

Thuật ngữ "đồng tinh thể" chỉ dạng kết tinh bao gồm ít nhất một hợp chất trong mạng tinh thể. Đồng tinh thể bao gồm phức phân tử kết tinh của ít nhất hai hợp chất không bay hơi được giữ cùng nhau trong mạng tinh thể thông qua tương tác phi ion. Theo sáng chế, đồng tinh thể bao gồm đồng tinh thể dược lý mà là phức phân tử kết tinh bao gồm xyclosporin hoặc trehaloza, và ít nhất một hợp chất không bay hơi khác (sau đây gọi là phân tử đối). Trong đồng tinh thể dược lý, phân tử đối có thể là phân tử

được dụng không độc như, ví dụ, phụ gia thực phẩm, chất bảo quản, tá dược y tế, hoặc các API khác. Theo một số phương án, đồng tinh thể được lý cải thiện một số tính chất vật lý của thuốc (ví dụ, tính tan, tốc độ phân ly, tính khả dụng/tính ổn định sinh học), trong khi không phá hủy tính nguyên vẹn cấu trúc hóa học của API.

Xyclosporin bao gồm các dẫn xuất được dụng của nó và trehaloza bao gồm các dẫn xuất được dụng của nó có thể được điều chế bằng nhiều phương pháp hóa học hoặc enzym khác nhau đã biết trong lĩnh vực này, hoặc có thể thu được từ các sản phẩm có bán trên thị trường.

Chế phẩm dùng cho mắt theo sáng chế có thể được điều chế bằng cách trộn các thành phần hoạt tính, xyclosporin và trehaloza.

Chế phẩm dùng cho mắt theo sáng chế có thể được bào chế ở dạng dược phẩm, chế phẩm thuốc không cần kê đơn (quasi-drug), và thực phẩm chăm sóc sức khỏe.

Chế phẩm dùng cho mắt theo sáng chế có thể bao gồm phụ gia như chất mang được dụng (hoặc được dưỡng), tá dược hoặc chất pha loãng, và các tính chất cần được xem xét đối với phụ gia bao gồm, nhưng không giới hạn ở, tính tương thích với xyclosporin và trehaloza, tính tương thích sinh học, và nhiệt độ xử lý.

Chế phẩm dùng cho mắt theo sáng chế có thể được bào chế ở dạng chế phẩm không dùng qua đường miệng như dung dịch dùng cho mắt mắt, thuốc mỡ tra mắt, thuốc phun và nước rửa mắt, hoặc chế phẩm dùng qua đường miệng như viên tròn, viên nang và hạt, và kiểu sử dụng được ưu tiên là dung dịch dùng cho mắt mắt, và kiểu sử dụng được ưu tiên nhất là thuốc nhỏ mắt.

Trong trường hợp được bào chế ở dạng dung dịch dùng cho mắt, dung dịch dùng cho mắt này có thể được cung cấp theo kiểu sử dụng bất kỳ được dùng cho dung dịch dùng cho mắt, ví dụ, dung dịch dùng cho mắt chứa nước như dung dịch dùng cho mắt chứa nước, dung dịch dùng cho mắt dạng nhũ tương chứa nước, dung dịch dùng cho mắt có tính nhót và dung dịch dùng cho mắt hòa tan; hoặc dung dịch dùng cho mắt không chứa nước như dung dịch dùng cho mắt không chứa nước và dung dịch dùng cho mắt dạng nhũ tương không chứa nước.

Trong trường hợp được bào chế ở dạng dung dịch dùng cho mắt dạng nhũ tương chứa nước, dung dịch dùng cho mắt này có thể bao gồm nhiều phụ gia khác nhau đã biết trong lĩnh vực này, ví dụ, chất điều chỉnh trương lực, chất đệm, chất làm ổn định, chất điều chỉnh pH, chất làm đặc, chất bảo quản, chất chelat hóa, chất hòa tan

và dung môi, miễn là mục đích của sáng chế không bị cản trở. Chất đệm có thể được chọn từ nhóm gồm chất đệm phosphat, chất đệm borat, chất đệm xitrat, chất đệm tartrat, chất đệm axetat (ví dụ, natri axetat) trometamin và axit amin, nhưng không giới hạn ở các chất này. Tốt hơn nếu có thể sử dụng chất đệm phosphat. Chất điều chỉnh trương lực có thể được chọn từ nhóm gồm đường như sorbitol, glucoza, erythritol và manitol, các rượu đa chức như glyxerin, polyetylen glycol và polypropylen glycol, và các muối như natri clorua, nhưng không giới hạn ở các chất này. Chất bảo quản có thể được chọn từ nhóm gồm benzalkoni clorua, benzethoni clorua, alkyl paraoxybenzoat như metyl paraoxybenzoat và etyl paraoxybenzoat, rượu benzylic, rượu phenetylic, axit sorbic và muối của nó, thimerosal, polyquatarni, benzododecini bromua, phức oxyclozo và clorobutanol, nhưng không giới hạn ở các chất này. Chất làm ổn định có thể được chọn từ xyclodextrin và các dẫn xuất của nó, polyme tan trong nước như poly(vinylpyrrolidon), và chất hoạt động bề mặt như polysorbat 80 (tween 80®), polysorbat 20 và tyloxapol, nhưng không giới hạn ở các chất này. Chất điều chỉnh pH có thể được chọn từ nhóm gồm axit clohydric, axit axetic, axit phosphoric, axit sulfuric, natri hydroxit, kali hydroxit, monoetanolamin, nước amoniac và amoni hydroxit, nhưng không giới hạn ở các chất này. Chất làm đặc có thể được chọn từ nhóm gồm hydroxyetylxenluloza, hydroxypropylxenluloza, metylxenluloza, hydroxypropylmetylxenluloza và carboxymetylxenluloza, rượu polyvinyl, carbome, povidon, poloxame, polycarbophil và muối của nó, nhưng không giới hạn ở các chất này. Chất chelat hóa có thể được chọn từ nhóm gồm natri edetat, natri xitrat và natri phosphat ngưng tụ, nhưng không giới hạn ở các chất này. Chất hòa tan hoặc dung môi có thể được chọn từ glyxerin, DMSO, DMA, N-metylpyrrolidon, etanol, rượu benzylic, rượu isopropylic, các phân tử lượng khác nhau của polyetylenglycol hoặc propylen glycol, nhưng không giới hạn ở các chất này. Có thể có một vài sự chồng lấp giữa các chất có thể dùng cho dung môi hoặc chất hòa tan, và chất bất kỳ có thể được sử dụng cho dung môi và chất hòa tan bất kỳ trong số các dung môi và chất hòa tan nêu trên, sau đó nếu chất này đóng vai trò như dung môi trong chế phẩm, nó được xem là dung môi, và nếu chất này không đóng vai trò như dung môi, nó được xem là chất hòa tan. Theo cách khác, chất hòa tan có thể là chất hoạt động bề mặt theo các biến đổi nào đó. Các kết hợp chất hoạt động bề mặt bao gồm các loại chất hoạt động bề mặt khác nhau có thể được sử dụng. Ví dụ, chất hoạt động bề mặt phi ion, anion (nghĩa là, xà phòng,

sulfonat), cation (nghĩa là, CTAB), ion lưỡng tính (zwitterionic), polyme, chất lưỡng tính (amphoteric) có thể được sử dụng. Ví dụ, chất hoạt động bề mặt có bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các chất có HLB bằng 10, 11, 12, 13, hoặc 14 hoặc lớn hơn. Ví dụ về chất hoạt động bề mặt bao gồm sản phẩm polyoxyetylen của dầu thực vật hydro hóa, dầu thầu dầu polyetoxyl hóa hoặc dầu thầu dầu hydro hóa polyetoxyl hóa, dầu thầu dầu polyoxyl hoặc các dẫn xuất của nó, este của polyoxyetylen-sorbitan-axit béo, và các dẫn xuất dầu thầu dầu polyoxyetylen, nhưng không giới hạn ở các chất này. Theo phương án cụ thể, chế phẩm dùng cho mắt theo sáng chế có thể chứa xyclosporin với lượng nhiều hơn 0,01% khối lượng và ít hơn 0,1% khối lượng, trehaloza với lượng 0,5 – 7,5% khối lượng, chất hòa tan với lượng 1 - 10% khối lượng, dung môi với lượng 0,01 - 2% khối lượng, phần còn lại là chất đệm và chất điều chỉnh trương lực, theo tổng khối lượng chế phẩm.

Dung dịch dùng cho mắt dạng nhũ tương chứa nước có thể tốt hơn là được điều chế trong kiểu nhũ tương nano, và trong trường hợp này, có thể bao gồm nhiều phụ gia khác nhau đã biết trong lĩnh vực này, ví dụ, dầu và chất hoạt động bề mặt, miễn là mục đích của sáng chế không bị cản trở. Dầu bao gồm ít nhất một loại được chọn từ nhóm gồm propylen glycol monocaprylat, propylen glycol laurat, triglycerit mạch trung bình (C8~C10), glyxeryl-1,3-dioleat, glyxeryl monooleat, và glyxeryl linoleat. Chất hoạt động bề mặt bao gồm ít nhất một loại được chọn từ nhóm gồm oleoyl macrogolglyxerit, linoleoyl macrogolglyxerit, caprylocaproyl polyoxylglyxerit, dầu thầu dầu polyoxyl 35, dầu thầu dầu hydro hóa polyoxyl 35, dầu thầu dầu hydro hóa polyoxyl 40, dầu thầu dầu hydro hóa polyoxyl 40, sản phẩm ngưng tụ của etylen oxit với axit 12-hydroxystearic, và polysorbat 80 (Croda, Anh).

Tốt nhất là, dung dịch dùng cho mắt dạng nhũ tương chứa nước có thể được bào chế ở dạng thuốc nhỏ mắt loại nhũ tương nano trong suốt, và để bào chế dung dịch này, có thể tham khảo, ví dụ, patent Hàn Quốc số đăng bạ 10-0938500, nhưng không giới hạn ở phương pháp này.

Chế phẩm dùng cho mắt theo sáng chế có thể được sử dụng để làm giảm, ngăn ngừa hoặc điều trị các bệnh về mắt, và tốt hơn là làm giảm, ngăn ngừa hoặc điều trị rối loạn do khô mắt gây ra.

"Rối loạn do khô mắt gây ra" có thể bao gồm viêm kết-giác mạc khô, rối loạn biểu mô kết-giác mạc, giảm tiết nước mắt, hội chứng Stevens-Johnson, hội chứng khô

mắt, hội chứng Sjögren, thiếu hụt nước mắt, sung huyết mắt, tính không ổn định của màng nước mắt, hoặc chứng phù mắt; viêm kết mạc dị ứng, viêm kết mạc do virus, hoặc khô mắt sau phẫu thuật đục thủy tinh thể; và khô mắt liên quan đến việc đeo kính áp tròng hoặc khô mắt liên quan đến thao tác VDT.

Ngoài ra, "rối loạn biểu mô kết-giác mạc" có thể bao gồm khô mắt, khiếm khuyết biểu mô giác mạc, khiếm khuyết biểu mô kết mạc, xước biểu mô giác mạc, độ dày giác mạc giảm, tình trạng thâm nhiễm giác mạc, thủng giác mạc hoặc tróc màng biểu mô giác mạc; loét giác mạc, viêm giác mạc, viêm kết mạc, bệnh giác mạc có đốm nông, viêm kết-giác mạc khô, viêm kết-giác mạc vùng rìa trên, viêm giác mạc sợi, viêm giác mạc sợi, loét giác mạc, và các bệnh nhiễm trùng mắt ở biểu mô giác mạc và kết mạc; rối loạn biểu mô kết-giác mạc liên quan đến tổn thương ở mắt, vi phẫu hoặc đeo kính áp tròng cứng.

Để điều trị và/hoặc ngăn ngừa cho động vật có vú, cụ thể, người, liệu dùng chế phẩm dùng cho mắt theo sáng chế có thể được xác định chung bởi người làm việc trong ngành công nghiệp y tế hoặc những người có trình độ trung bình có liên quan. Ví dụ, khi chế phẩm theo sáng chế được sử dụng làm thuốc nhỏ mắt cho người bệnh là người trưởng thành bị khô mắt, liệu ưu tiên của chế phẩm dùng cho mắt chứa xyclosporin và trehaloza làm thành phần hoạt tính có thể là, ví dụ, sử dụng ở liều từ 1 đến 4 giọt (khoảng 0,025~0,1 mL) thuốc nhỏ mắt bao gồm 0,02% khối lượng xyclosporin và 1 - 3% khối lượng trehaloza, 1 đến 10 lần mỗi ngày, nhưng không giới hạn ở liều này, và người làm việc trong ngành công nghiệp y tế hoặc người có trình độ trung bình có liên quan có thể xác định liều thực sự tối ưu nhất dựa vào không chỉ tuổi tác, trọng lượng, giới tính và đáp ứng của bệnh nhân đối với việc điều trị, mà còn dựa vào tình trạng mong muốn nhờ việc điều trị này.

Chế phẩm dùng cho mắt theo sáng chế có thể được nạp và cấp vào vật chứa vô trùng, và có thể được cung cấp các hướng dẫn sử dụng, và các hướng dẫn này có thể được đính kèm bằng phương pháp cơ học vào vật chứa đã nạp chế phẩm dùng cho mắt hoặc vật chứa thứ hai bao gói vật chứa này, hoặc có thể được bao gói cùng nhau trong vật chứa thứ hai.

Tác dụng có lợi

Chế phẩm dùng cho mắt theo sáng chế chứa xyclosporin và trehaloza, trong đó hai thành phần được trộn ở tỷ lệ định trước và/hoặc lượng định trước, có tác dụng kết

hợp vượt trội đối với khô mắt xảy ra qua nhiều con đường khác nhau như do không khí khô, do viêm và do chất bảo quản, và được đặt vào nhiều trạng thái hoặc tình trạng khác nhau. Cụ thể hơn, chế phẩm dùng cho mắt tạo ra tác dụng tương đương hoặc vượt trội với lượng cyclosporin giảm. Ngoài ra, so với một mình cyclosporin hoặc một mình trehalose, chế phẩm dùng cho mắt tạo ra tác dụng điều trị đồng vận lớn hơn nhiều khi sử dụng, và có các tác dụng đối với việc làm giảm tổn thương giác mạc, khôi phục lượng tiết nước mắt, làm giảm chứng viêm mắt, cải thiện chất lượng nước mắt, làm giảm kích ứng mắt (ban đỏ, chứng phù, và ghen ở kết mạc tăng), và bảo vệ, làm trơn và làm ẩm màng nước mắt, và đặc biệt là, có tác dụng làm tăng lượng tiết chất nhầy do tế bào tiết hình ly tăng hoạt tính trong đó tế bào tiết hình ly này chịu trách nhiệm tiết chất nhầy.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả rõ hơn thông qua các ví dụ. Các ví dụ này nhằm mô tả sáng chế một cách chi tiết hơn và người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này hiểu rằng phạm vi của sáng chế không bị giới hạn ở phạm vi các bộc lộ trong các ví dụ này.

Ví dụ 1. Điều chế chất thử nghiệm

Theo từng tỷ lệ thành phần từ A đến J trong bảng 1 dưới đây (chế phẩm chứa cyclosporin A và trehalose ở các nồng độ khác nhau), cyclosporin được hòa tan bằng cách trộn nó với chất hòa tan dầu thau dầu polyoxyl 35. Glyxerin được trộn với dung dịch đệm phosphat có độ pH được thiết lập ở 7,2 theo từng tỷ lệ, và dung dịch cyclosporin hòa tan được phân tán để điều chế nhũ tương. Áp suất thẩm thấu được điều chỉnh đến khoảng 300 mOsmol/kg bằng cách sử dụng trehalose và chất điều chỉnh trương lực trong dung dịch nhũ tương cyclosporin đã điều chế.

[Bảng 1]

Thành phần	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
Xyclosporin A	0	0,01%	0,02%	0,05%	0	0	0,01%	0,02%	0,01%	0,02%
Trehaloza	0	0	0	0	1%	3%	1%	1%	3%	3%
Dầu thầu dầu polyoxyl 35	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%	3%
Etanol	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%
Glyxerin	0,8%	0,8%	0,8%	0,8%	0,8%	0,8%	0,8%	0,8%	0,8%	0,8%
Dung dịch đệm phosphat	Tối ưu	Tối ưu	Tối ưu	Tối ưu	Tối ưu	Tối ưu	Tối ưu	Tối ưu	Tối ưu	Tối ưu
Chất điều chỉnh trương lực	Tối ưu	Tối ưu	Tối ưu	Tối ưu	Tối ưu	Tối ưu	Tối ưu	Tối ưu	Tối ưu	Tối ưu

Ví dụ thử nghiệm 1. Tác dụng điều trị ở mẫu khô mắt do không khí khô gây ra

Chất thử nghiệm

Chế phẩm A, C, D, E, F, I, J được điều chế theo ví dụ 1 nêu trên được sử dụng làm chất thử nghiệm trong thử nghiệm này.

Động vật thử nghiệm

Động vật thử nghiệm, chuột cống Sprague-Dawley (SD) đực 6 tuần tuổi từ Dae Han Bio Link Co. Ltd. (Eumseong, Chungbuk), được nhốt trong lồng dành cho chuột cống, mỗi lồng chứa bốn con. Các con chuột được sử dụng trong thử nghiệm sau khi được cho thích nghi với môi trường trong khoảng 1 tuần. Môi trường thử nghiệm của các con chuột được kiểm soát ở nhiệt độ $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$, độ ẩm tương đối $55 \pm 10\%$, tần suất thông gió 12 lần/giờ, chu kỳ chiếu sáng 12 giờ, độ rọi sáng 150 - 300 Lux. Chế độ ăn thức ăn rắn trong khay đối với các con vật thử nghiệm từ Purina Rat Chow® Biopia Co., Ltd. (Gunpo, Gyeonggi) được cung cấp, và chuột được tự do uống nước tinh khiết tiệt trùng.

Kích thích khô mắt và điều trị bằng chất thử nghiệm

20 μl chất thử nghiệm được dùng cho mỗi mắt của động vật thử nghiệm 30 phút trước khi cho hứng gió từ máy thổi không khí. Trong 30 phút sau khi dùng cho mắt, 20 mg/kg atropin (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) được đưa vào qua ổ bụng để ức chế sự tiết nước mắt, và động vật được đặt vào tình trạng gây mê bằng cách tiêm Zoletil® (Virbac Korea, Seoul, Korea) vào cơ để duy trì tư thế đồng đều và kiểm soát sự chớp mắt. Con vật sau khi gây mê được giữ cố định ở trước máy thổi không khí để hai mắt hứng trực tiếp gió từ máy này, và khoảng cách được kiểm soát để mắt phơi ngoài không khí có độ ẩm tương đối 25-35% ở tốc độ gió 2 m/giây. Chất thử nghiệm được sử dụng lặp lại tổng cộng mười lần trong 3 giờ ở khoảng thời gian 20 phút từ thời điểm tiếp xúc với không khí khô (0 phút), và sau khi dùng cho mắt, mí mắt được đóng lại trong khoảng 10 giây để rải chất lên trên mắt, và sau đó, mắt được cho tiếp xúc với không khí. Trong quá trình thử nghiệm, động vật thử nghiệm được quan sát để ngăn chặn việc mất tư thế hoặc không cho chuột nhắm mắt, và tư thế của nó được điều chỉnh thường xuyên.

Đo mức độ tổn thương giác mạc

Mức độ tổn thương giác mạc được đánh giá bằng phương pháp của “Kim et al., (2010) Comparative effectiveness of distilled water and isotonic saline in a rat model

of dry eyes. Journal of Biomedical Research 11(4):211-218". 5 μ l fluorescein (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) được điều chế ở 1% trong dung dịch nước muối cân bằng (dung dịch natri cân bằng) được dùng cho túi kết mạc của con vật trong đó khô mắt được kích thích và được dùng chất thử nghiệm, và con vật được giữ cho mắt nhắm trong 1 giờ sử dụng dây băng. Thuốc nhuộm còn lại không bị thấm được rửa bằng dung dịch nước muối, và mắt được khoét nhân. Ở mắt đã khoét, vùng (diện tích) thẩm huỳnh quang xanh lá cây của fluorescein thấm vào giác mạc được quan sát dưới bóng đèn vonfram, và chụp lại hình ảnh của nó. Vùng thấm fluorescein được chỉ ra bằng số bằng cách phân tích ảnh sử dụng chương trình Image J 1.38xprogram. Để định lượng fluorescein thấm vào giác mạc, giác mạc sau khi cắt ra được đặt vào nước muối có đệm kali (1 ml) và được rửa giải trong 24 giờ, và sau đó, mức độ (cường độ) phát huỳnh quang xanh lá cây được đánh giá bằng cách đo sự phát huỳnh quang ở bước sóng kích thích 485 nm, bước sóng phát xạ 538 nm sử dụng máy đo huỳnh quang. Khi mức độ thấm giác mạc và mức độ phát fluorescein cao, nó báo hiệu rằng giác mạc đã mất chức năng rào cản, và do đó, khi sự thấm và mức độ phát xạ thấp hơn, tác dụng của chất thử nghiệm được xác định là cao hơn.

Thử nghiệm bệnh học

Sau khi kết thúc thử nghiệm, tất cả các động vật thử nghiệm bị giết bằng cách làm ngạt thở trong môi trường khí cacbon đioxit. Mắt đã khoét nhân được cố định trong dung dịch Davidson trong 7~24 giờ, và cố định trong formalin trung tính 10% trong ít nhất 24 giờ để tạo ra lát mô, sau đó nhuộm hematoxylin-eosin, và tổn thương biểu mô giác mạc và độ dày giác mạc được đo dưới kính hiển vi quang học có độ phóng đại 100 lần. Mô kết mạc đã cắt bỏ trên tử thi được cố định trong dung dịch formalin trung tính 10% để tạo ra lát mô, sau đó nhuộm axit Periodic-Schiff (sau đây gọi là nhuộm PAS), và đếm số tế bào tiết hình ly chứa hoặc tiết glycoprotein giống chất nhầy dưới kính hiển vi quang học có độ phóng đại 100 lần.

Kết quả

Theo điều kiện thử nghiệm này, khô mắt được kích thích bởi nguyên tắc tương tự như với khô mắt do máy điều hòa không khí hoặc không khí khô trong nhà gây ra. Đối với nhóm đối chứng, nhóm được điều trị bằng chế phẩm A được điều chế theo ví dụ 1 được sử dụng. Vùng (diện tích) thẩm (%) và mức (cường độ) độ phát xạ (%) của giác mạc được nhuộm huỳnh quang được tính là giá trị tương đối khi vùng (diện tích)

thấm (%) và mức (cường độ) độ phát xạ (%) của giác mạc nhuộm huỳnh quang của nhóm đối chứng mỗi loại được thiết lập ở 100%.

Vùng (diện tích) thấm (%) hoặc mức (cường độ) độ phát xạ (%) = $[1 - (\text{nhóm đối chứng} - \text{nhóm thử nghiệm}) / \text{nhóm đối chứng}] * 100$

Tỷ lệ ức chế tổn thương giác mạc (%) được tính bằng phương trình sau từ tổng các giá trị trung bình vùng (diện tích) thấm (%) của giác mạc và mức (cường độ) độ phát xạ (%).

Tỷ lệ ức chế tổn thương giác mạc (%) = $[(\text{nhóm đối chứng} - \text{nhóm thử nghiệm}) / \text{nhóm đối chứng}] * 100$

Tình trạng khô mắt do không khí khô gây ra trong 3 giờ làm tăng đáng kể cường độ phát huỳnh quang của bề mặt giác mạc, và sự thấm chất huỳnh quang được thấy là sâu. Kết quả được thể hiện trên FIG. 1, và có thể thấy rằng tỷ lệ ức chế tổn thương giác mạc (%) của chế phẩm J tương ứng với phức chất theo sáng chế lên đến khoảng 40%. Ngược lại, có thể thấy rằng chế phẩm (chế phẩm C và D) chứa một mình xyclosporin A làm thành phần hoạt tính gần như không có tác dụng điều trị tổn thương giác mạc, và chế phẩm D làm cho các tổn thương giác mạc xấu hơn. Ngoài ra, chế phẩm (chế phẩm E, F) chứa một mình trehaloza làm thành phần hoạt tính cho thấy tác dụng có hiệu quả đối với tổn thương giác mạc, nhưng thể hiện tác dụng ngăn ngừa đối với tổn thương giác mạc thấp hơn so với tác dụng này của chế phẩm J tương ứng với phức chất theo sáng chế. Ngoài ra, trong trường hợp chế phẩm I chứa cả xyclosporin A và trehaloza ở tỷ lệ khối lượng xyclosporin A:trehaloza là 1:300, tác dụng ngăn ngừa tổn thương giác mạc thấp hơn tác dụng này của chế phẩm chứa một mình trehaloza. Ngoài ra, theo kết quả của việc điều trị khô mắt do không khí khô gây ra bằng chất thử nghiệm được điều chế theo ví dụ 1, có thể thấy rằng nhóm được điều trị bằng phức chất (chế phẩm J) theo sáng chế có sự tăng đáng kể số lượng tế bào tiết hình ly chứa hoặc tiết glycoprotein giống chất nhầy.

Ví dụ thử nghiệm 2. Tác dụng điều trị ở mẫu khô mắt do Concanavalin A gây ra
Chất thử nghiệm

Chế phẩm A, B, C, D, E, F, G, H, J được điều chế theo ví dụ 1 nêu trên được dùng làm chất thử nghiệm trong thử nghiệm.

Động vật thử nghiệm

Động vật thử nghiệm, thỏ New Zealand White (NZW) cái, cân nặng 1,8-2,0 kg từ Samtako Bio Korea (Osan, Gyeonggi), được nhốt vào các lồng thỏ, mỗi lồng chứa một con thỏ. Các con vật được sử dụng trong thử nghiệm này sau khi được cho thích nghi với môi trường trong khoảng 1 tuần.

Môi trường phòng thí nghiệm của các con vật được kiểm soát ở nhiệt độ $23\pm 2^{\circ}\text{C}$, độ ẩm tương đối $55\pm 10\%$, tần suất thông gió 12 lần/giờ, chu kỳ chiếu sáng 12 giờ, và độ rọi sáng 150 - 300 Lux. Chế độ ăn thức ăn rắn trong khay cho các con thỏ NIH#32M từ Samtako Bio Korea được cung cấp, và thỏ được tự do uống nước tinh khiết tiệt trùng. Hai mắt của thỏ được kiểm tra 24 giờ trước khi bắt đầu thử nghiệm, và chỉ các con vật không có tổn thương ở mắt như tổn thương giác mạc được sử dụng.

Concanavalin A và điều trị bằng chất thử nghiệm

Sau khi gây mê động vật thử nghiệm bằng cách tiêm 50 mg/kg Zoletil® và 6 mg/kg xylazin vào cơ, 50µl Concanavalin A (sau đây gọi là Con A) được điều chế ở nồng độ 10 mg/ml trong dung dịch nước muối sinh lý được tiêm vào mỗi trong số tuyến lệ chính và tuyến lệ phụ của các mí mắt trên của hai mắt sử dụng ống tiêm insulin (kim cỡ 31). Trong 24 giờ sau khi tiêm Con A, mỗi chất thử nghiệm được sử dụng cho các mắt trong 3 ngày, 4 lần mỗi ngày, và sau khi sử dụng cho mắt, các mí mắt được đóng lại trong khoảng 10 giây sao cho chất phân tán đồng đều khắp mắt. Tiến hành quan sát các triệu chứng chung và chụp ảnh mắt một lần hằng ngày.

Đo lượng tiết nước mắt (thử nghiệm Schirmer)

Để đánh giá sự giảm lượng tiết nước mắt, một đầu góc của giấy coban clorua (giấy Schirmer) được đặt vào đuôi mắt của mí mắt dưới, làm nước mắt chảy xuống để giữ nó ở trạng thái ướt trong 30 giây. Khi lượng tiết nước mắt giảm, tình trạng khô mắt tăng cường, vì thế tác dụng của chất thử nghiệm được xác định là tăng với lượng tiết tăng. Nhóm được điều trị bằng chế phẩm A được điều chế theo ví dụ 1 được sử dụng làm nhóm đối chứng.

Tác dụng ức chế sự tiết nước mắt (%) = $[1 - (\text{nhóm thử nghiệm} - \text{nhóm đối chứng}) / \text{nhóm đối chứng}] \times 100$

Xác định mức độ nhuộm màu giác mạc và tình trạng viêm

Mức độ nhuộm màu giác mạc và tình trạng viêm được xác định bằng phương pháp của "Pauly et al., (2007) New tools for the evaluation of toxic ocular surface changes in the rat. Investigative Ophthalmology & Visual Science."

Phần giác mạc bị tổn thương được nhuộm màu bằng fluorescein vào ngày thứ tư sau khi cho mắt sử dụng chất thử nghiệm, và mức độ nhuộm màu fluorescein của từng trong số các phần trên, giữa và dưới của giác mạc được tính điểm theo tiêu chuẩn dưới đây, và giá trị trung bình của tổng được tính cho từng phần.

(Tiêu chuẩn xác định)

0: không bị nhuộm màu.

1: được nhuộm màu rải rác, từng chấm được nhuộm nằm cách nhau.

2: được nhuộm ở mật độ trung bình, một vài chấm được nhuộm nằm gần nhau.

3: được nhuộm màu dày đặc, từng chấm được nhuộm màu nằm gần nhau.

Nhóm được điều trị bằng chế phẩm A được điều chế theo ví dụ 1 được sử dụng làm nhóm đối chứng. Tác dụng làm nhẹ bớt tình trạng viêm giác mạc (%) được tính bằng cách thay thế giá trị trung bình của tổng của từng phần (phần trên, giữa và dưới của giác mạc) thu được theo tiêu chuẩn xác định theo phương trình sau:

Tác dụng làm nhẹ bớt tình trạng viêm giác mạc (%) = $(\text{nhóm đối chứng} - \text{nhóm thử nghiệm}) / \text{nhóm đối chứng} \times 100$

Thử nghiệm bệnh học

Vào ngày thứ 10 sau khi sử dụng chất thử nghiệm, thực hiện đánh giá tình trạng khô mắt và đánh giá tình trạng kích ứng mắt, và các con thỏ bị giết bằng cách làm cho ngạt trong môi trường khí cacbon dioxit. Mô giác mạc và kết mạc được cắt bỏ tại tử thi được cố định trong dung dịch formalin trung tính 10% để tạo ra lát mô, sau đó nhuộm màu PAS, và đếm số tế bào tiết hình ly chứa hoặc tiết glycoprotein giống chất nhầy dưới kính hiển vi quang học có độ phóng đại 100 lần.

Kết quả

Con A, chất gây viêm, được sử dụng cho tuyến lệ của thỏ, làm giảm lượng tiết nước mắt và tổn thương giác mạc do viêm, và viêm mắt như viêm tuyến lệ. Theo kết quả điều trị tình trạng viêm mắt do Con A gây ra bằng chất thử nghiệm được điều chế theo ví dụ 1, tác dụng ức chế sự tiết nước mắt (%) và giảm viêm giác mạc (%) lần lượt được thể hiện trên các FIG. 2 và 3.

So với nhóm được điều trị bằng một mình cyclosporin và nhóm được điều trị bằng một mình trehaloza (chế phẩm B, C, D, E, F), nhóm được điều trị bằng phức chất (chế phẩm G, H, J) được thấy là làm tăng đáng kể sự tiết nước mắt. Ngược với mẫu khô mắt do không khí khô gây ra, nhóm được điều trị bằng một mình trehaloza (chế

phẩm E, F) không thể hiện tác dụng ức chế sự giảm lượng nước mắt do viêm mắt gây ra, và không có tác dụng làm giảm chứng viêm giác mạc. Ngoài ra, nhóm được điều trị bằng một mình cyclosporin (chế phẩm B, C, D) có tác dụng làm giảm chứng viêm giác mạc, nhưng không cho thấy tác dụng ức chế sự giảm lượng nước mắt. Ngược lại, theo kết quả của việc điều trị bằng phức chất (chế phẩm G, H, J) theo sáng chế, có thể thấy rằng có tác dụng đồng vận trong việc làm giảm chứng viêm.

Ngoài ra, theo kết quả của việc điều trị chứng viêm mắt do Con A gây ra bằng chất thử nghiệm được điều chế theo ví dụ 1, có thể thấy rằng số tế bào tiết hình ly chứa hoặc tiết các glycoprotein giống chất nhầy tăng đáng kể trong nhóm được điều trị bằng phức chất theo sáng chế (chế phẩm G, H, J).

Ví dụ thử nghiệm 3. Tác dụng điều trị ở mẫu khô mắt do benzalkoni clorua gây ra
Chất thử nghiệm

Chế phẩm A, D, J được điều chế theo ví dụ 1 nêu trên được sử dụng làm chất thử nghiệm trong thử nghiệm này.

Động vật thử nghiệm

Động vật thử nghiệm, thỏ New Zealand White (NZW) cái, cân nặng 1,8-2,0 kg từ Samtako Bio Korea (Osan, Gyeonggi) được nhốt trong các lồng dành cho thỏ, mỗi lồng chứa một con thỏ. Các con vật được sử dụng trong thử nghiệm sau khi được làm cho thích nghi với môi trường trong khoảng 1 tuần.

Môi trường phòng thí nghiệm của các con vật được kiểm soát ở nhiệt độ $23\pm 2^{\circ}\text{C}$, độ ẩm tương đối $55\pm 10\%$, tần suất thông gió 12 lần/giờ, chu kỳ chiếu sáng 12 giờ, và độ rọi sáng 150 - 300 Lux. Chế độ ăn thức ăn rắn trong khay cho các con thỏ NIH#32M từ Samtako Bio Korea được cung cấp, và thỏ được tự do uống nước tinh khiết tiệt trùng. Hai mắt thỏ được kiểm tra 24 giờ trước khi bắt đầu thử nghiệm, và chỉ các con vật không có tổn thương ở mắt như tổn thương giác mạc được sử dụng.

Benzalkoni clorua và điều trị bằng chất thử nghiệm

Để kích thích khô mắt, 100 μl benzalkoni clorua 0,1% (sau đây gọi là BAK) được đưa vào túi kết mạc hai lần mỗi ngày (9 giờ sáng và 9 giờ tối) trong 15 ngày.

Vào ngày thứ 5 sau khi sử dụng BAK, khô mắt được kích thích hay không được xác định bằng cách kiểm tra thời gian phá vỡ màng nước mắt (sau đây gọi là TBUT), lượng tiết nước mắt, nhuộm màu huỳnh quang và mức độ kích ứng, và thỏ

được kích thích tình trạng khô mắt được chia nhóm ngẫu nhiên. Chất thử nghiệm được sử dụng hai lần mỗi ngày (9 giờ sáng và 9 giờ tối) trong 10 ngày từ ngày thứ 5 sau khi sử dụng BAK.

Quan sát các mắt đối với các triệu chứng tổng quát và phản ứng bất thường của mắt một lần mỗi ngày.

Đánh giá tình trạng khô mắt

Việc đánh giá tình trạng khô mắt (TBUT, lượng tiết nước mắt, nhuộm màu huỳnh quang) được thực hiện trước khi sử dụng chất thử nghiệm (ngày thứ 5 sau khi sử dụng BAK), và 5 ngày (tương ứng với ngày thứ 10 sau khi sử dụng BAK) và 10 ngày (tương ứng với ngày thứ 15 sau khi sử dụng BAK) sau khi sử dụng chất thử nghiệm.

Đối với TBUT, thời gian tại đó lớp phát huỳnh quang bởi fluorescein bắt đầu vỡ sau khi sử dụng 5 μ l fluorescein được điều chế ở 0,1% cho túi kết mạc được đo dưới kính hiển vi đèn khe. Đối với TBUT, giá trị trung bình thu được sau ba lần đo.

Đối với lượng tiết nước mắt, một đầu góc của giấy coban clorua (giấy Schirmer) được đặt vào khoe mắt (đuôi mắt) của mí mắt dưới, làm chảy nước mắt để giữ cho nó ướt trong 30 giây, và chiều dài được đo.

Trong phương pháp nhuộm màu huỳnh quang, mức độ tổn thương giác mạc được xác định bằng cách tính điểm mức độ nhuộm màu fluorescein theo các tiêu chuẩn sau đây với mỗi trong số các phần trên, giữa và dưới của giác mạc, và mức độ tổn thương giác mạc được tính từ giá trị trung bình của tổng các điểm của mỗi phần.

(Tiêu chuẩn xác định)

0: không bị nhuộm màu.

1: được nhuộm màu rải rác, từng chấm được nhuộm nằm cách nhau.

2: được nhuộm ở mật độ trung bình, một vài chấm được nhuộm nằm gần nhau.

3: được nhuộm màu dày đặc, từng chấm được nhuộm màu nằm gần nhau.

Đánh giá kích ứng mắt

Việc đánh giá tổn thương ở mắt bằng cách sử dụng chất thử nghiệm được thực hiện trước khi sử dụng chất thử nghiệm (5 ngày sau khi sử dụng BAK) và 5 ngày và 10 ngày sau khi sử dụng chất thử nghiệm, bằng cách xác định ban đỏ, chứng phù và ghen ở kết mạc như sau. Theo các tiêu chuẩn xác định sau đây, kết quả kích ứng mắt (ban đỏ, chứng phù kết mạc và ghen mắt) được tính điểm, và bằng cách sử dụng giá trị

trung bình của chúng, tỷ lệ kích ứng mắt (%) được tính. Tỷ lệ kích ứng mắt (%) được tính dựa trên điểm kích ứng mắt trung bình của chế phẩm A được đặt là 100%.

Tỷ lệ kích ứng mắt (%) = (kích ứng do chế phẩm A - kích ứng do chất thử nghiệm) / kích ứng do chế phẩm A * 100

- Ban đỏ (chỉ ở kết mạc mí mắt và kết mạc mắt)

0: mạch máu bình thường

1: một số mạch máu thể hiện dấu hiệu sung huyết mắt rõ ràng

2: màu đỏ thâm diện rộng, mạch máu tương ứng không quan sát được dễ dàng

3: màu đỏ nhạt

- Chứng phù kết mạc

0: không bị sung phòng

1: bị sung phòng nhiều hơn bình thường một chút (bao gồm màng nháy)

2: bị sung phòng đáng kể, đi kèm với sự dịch chuyển mí mắt một phần ra phía

ngoài

3: mí mắt bị sung phòng nhìn như mắt nhắm một nửa

4: mí mắt bị sung phòng nhìn như mắt nhắm hơn một nửa

- Ghèn mắt

0: không có ghèn

1: lượng ghèn rất nhỏ (ngoại trừ lượng nhỏ quan sát được ở góc trong của mắt)

2: lượng ghèn đủ lớn để làm ướt lông mi và mí mắt

3: lượng ghèn đủ lớn để làm ướt vùng xung quanh mắt, lông mi và mí mắt

Thử nghiệm bệnh học

Vào ngày thứ 10 sau khi sử dụng chất thử nghiệm, thực hiện đánh giá tình trạng khô mắt và đánh giá kích ứng mắt, và sau đó tất cả các con thỏ bị giết bằng cách làm cho ngạt trong môi trường khí cacbon dioxid. Mô giác mạc và kết mạc được cắt bỏ tại tử thi được cố định trong dung dịch formalin trung tính 10% để tạo ra lát mô, sau đó nhuộm màu PAS, và quan sát số tế bào tiết hình ly chứa hoặc tiết glycoprotein giống chất nhầy dưới kính hiển vi quang học có độ phóng đại 100 lần.

Kết quả

BAK là chất được sử dụng rộng rãi làm chất bảo quản và đang được dùng làm chất bảo quản cho thuốc nhỏ mắt dạng lỏng, nhưng là chất được biết là làm khô mắt khi dùng quá liều lượng. Nó được đặc trưng bởi tình trạng khô mắt xảy ra với cơ chế

tác dụng khác với mẫu khô mắt do Con A và không khí khô gây ra, và các tổn thương diễn ra trong thời gian tương đối dài. Không giống các mẫu khác, khi các triệu chứng tiến triển, tính bất ổn và sự phá vỡ sớm màng nước mắt xảy ra do lượng nước mắt tăng hoặc sự tiết glycoprotein giống chất nhầy giảm, và tổn thương tiềm ẩn của bề mặt giác mạc được đi kèm bởi yếu tố kết hợp của bề mặt nhãn cầu, thúc đẩy tình trạng khô mắt. Có thể thấy rằng nhóm được điều trị bằng phức chất (chế phẩm J) thể hiện tác dụng ức chế sự tiết nước mắt dư thừa do BAK gây ra so với nhóm được điều trị bằng một mình cyclosporin A (chế phẩm D) (hình phía trên ở FIG. 4), và tác dụng ức chế việc làm ngắn thời gian phá vỡ màng nước mắt. Đã biết rằng TBUT được làm ngắn là kết quả của việc giảm chất nhầy trong nước mắt và lượng tiết nước mắt (hình phía dưới ở FIG. 4). Tức là, trong thử nghiệm này, việc điều trị bằng phức chất được mong đợi là duy trì được áp suất thẩm thấu nước mắt thông qua việc ức chế sự tăng quá mức lượng nước mắt, và làm tăng lượng giải phóng chất nhầy (FIG. 5), dẫn đến TBUT tăng (hình phía dưới ở FIG. 4), kết quả là chất lượng nước mắt được cải thiện.

Ngoài ra, theo kết quả phát hiện mức độ tổn thương giác mạc bằng sự nhuộm màu huỳnh quang, có thể thấy rằng nhóm được điều trị bằng phức chất (chế phẩm J) cho hiệu quả rõ rệt trong việc làm lành tổn thương giác mạc so với nhóm được điều trị bằng một mình cyclosporin A (chế phẩm D) (hình phía trên ở FIG. 6).

Ngoài ra, phức chất này làm giảm tình trạng viêm gây ra bởi việc điều trị BAK, và có tác dụng đối với việc làm giảm kích ứng mắt (sung huyết kết mạc và chứng phù, ghen mắt tăng) xuất hiện do BAK (hình phía dưới ở FIG. 6).

Ví dụ 2 và ví dụ thử nghiệm 4. Tác dụng đối với các tế bào biểu mô giác mạc ở mẫu khô mắt

Chất thử nghiệm

Chế phẩm A, D, E, F, G, H, I, J được điều chế theo ví dụ 1 nêu trên được sử dụng làm chất thử nghiệm trong thử nghiệm này. Ngoài ra, chế phẩm bao gồm 0,05% cyclosporin và 1% hoặc 3% trehalosa được điều chế theo ví dụ 1 và được sử dụng trong thử nghiệm này.

Nuôi cấy tế bào và xử lý

Các tế bào biểu mô giác mạc được nuôi cấy trong môi trường nuôi cấy 37°C, và môi trường nuôi cấy tế bào có 10% huyết thanh thai bò, yếu tố tăng trưởng biểu bì,

và các thuốc kháng sinh được bổ sung vào môi trường Eagle cải biến Dulbecco (DMEM, GibcoBRL, USA) được thay với khoảng thời gian 2~3 ngày, và khi các tế bào biểu hiện sự tăng trưởng hợp dòng, môi trường nuôi cấy được loại bỏ hoàn toàn và được rửa bằng nước muối đệm phosphat (PBS) một lần, và sau đó được xử lý bằng 0,25% trypsin-EDTA để tách các tế bào, các tế bào này được sử dụng cho thử nghiệm.

Xác định khả năng sống sót tế bào

Để đánh giá khả năng sống sót tế bào của các tế bào biểu mô giác mạc trong môi trường khô, các tế bào biểu mô giác mạc này được rửa một lần bằng PBS và cho tiếp xúc với chất thử nghiệm trong 10 phút để loại bỏ thuốc, và các tế bào biểu mô giác mạc được để trong môi trường khô trong 15 phút. Sau quá trình dùng thuốc là quá trình nuôi cấy trong 18~24 giờ, và khả năng sống sót của tế bào được tính toán bằng phương pháp MTT. Khả năng sống sót của tế bào (%) = $\frac{\text{độ hấp thụ của mỗi giếng}}{\text{độ hấp thụ của giếng nhóm đối chứng}} \times 100$ được tiến hành ba lần với mỗi nồng độ.

Kết quả thử nghiệm

Tất cả các chất thử nghiệm mỗi loại được cho tiếp xúc với các tế bào biểu mô giác mạc trong 10 phút, và được phơi trong môi trường khô trong 15 phút.

Kết quả là, việc xử lý bằng xyclosporin và trehaloza cùng nhau mang lại kết quả vượt trội về khả năng sống sót của các tế bào sừng so với nhóm được điều trị bằng một mình trehaloza và nhóm được điều trị bằng một mình xyclosporin, và thể hiện xu hướng gia tăng rõ ràng dựa vào nồng độ xyclosporin. ($p < 0,05$)

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Chế phẩm dùng cho mắt chứa cyclosporin và trehaloza làm thành phần hoạt tính, trong đó tỷ lệ khối lượng cyclosporin:trehaloza nằm trong khoảng từ 1:50 đến 1:150, và cyclosporin có mặt với nồng độ cao hơn 0,01% khối lượng và thấp hơn 0,1% khối lượng, và trehaloza có mặt ở nồng độ từ 0,5 đến 7,5% khối lượng tính theo tổng chế phẩm.
2. Chế phẩm dùng cho mắt theo điểm 1, trong đó cyclosporin có mặt ở nồng độ từ 0,02 đến 0,05% khối lượng, và trehaloza có mặt ở nồng độ từ 1 đến 3% khối lượng.
3. Chế phẩm dùng cho mắt theo điểm 1, trong đó tỷ lệ khối lượng cyclosporin:trehaloza là 1:50 hoặc 1:150.
4. Chế phẩm dùng cho mắt theo điểm 1, trong đó chế phẩm dùng cho mắt này được bào chế theo công thức dưới dạng thuốc nhỏ mắt.
5. Chế phẩm dùng cho mắt theo điểm 4, trong đó chế phẩm dùng cho mắt này là thuốc nhỏ mắt dạng nhũ tương nano trong suốt.

FIG. 1

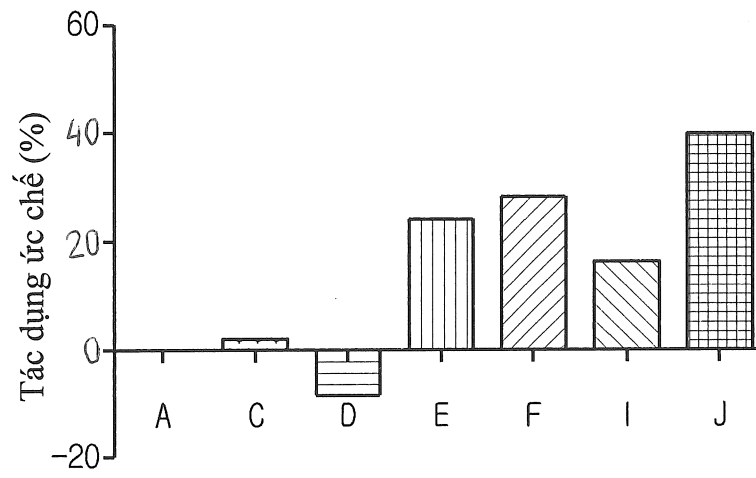


FIG. 2

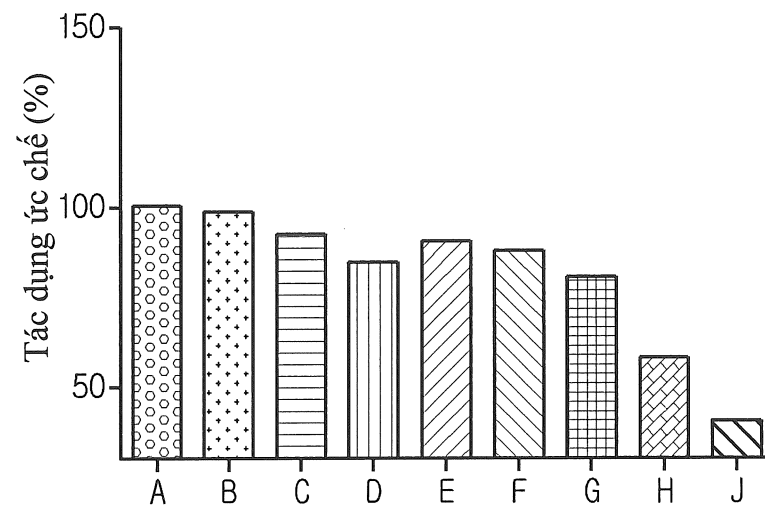


FIG. 3

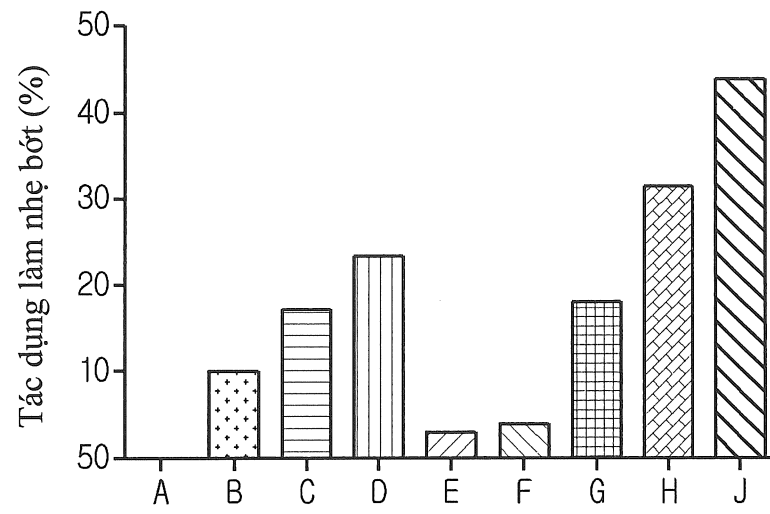


FIG. 4

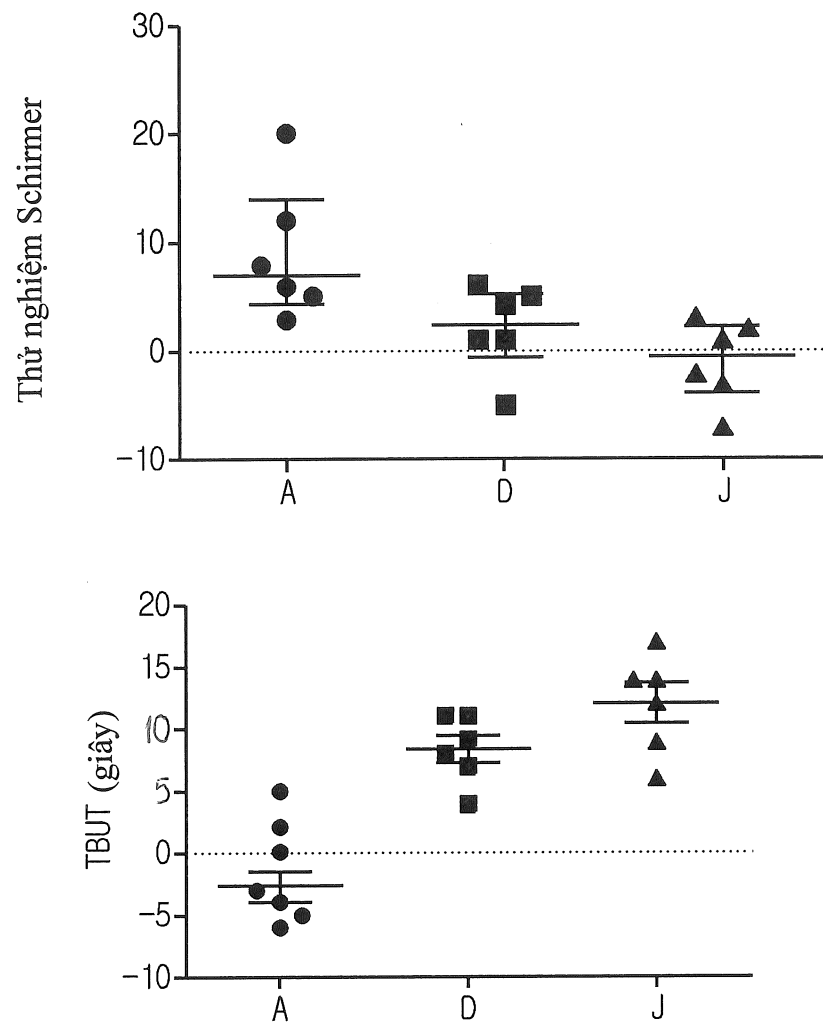


FIG. 5

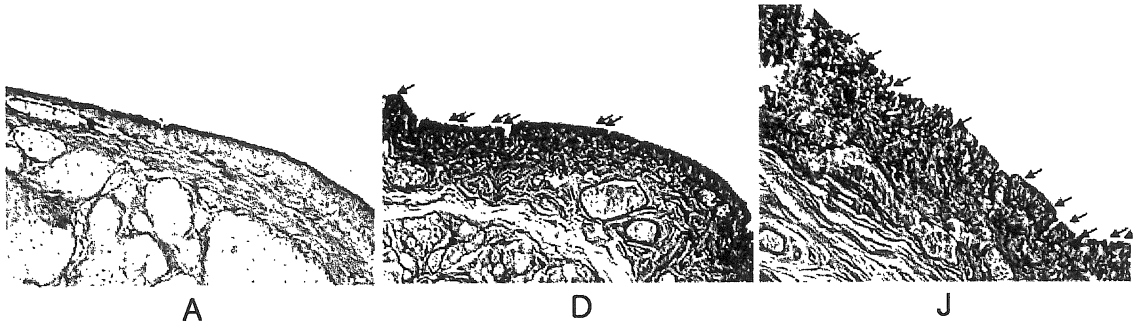


FIG. 6

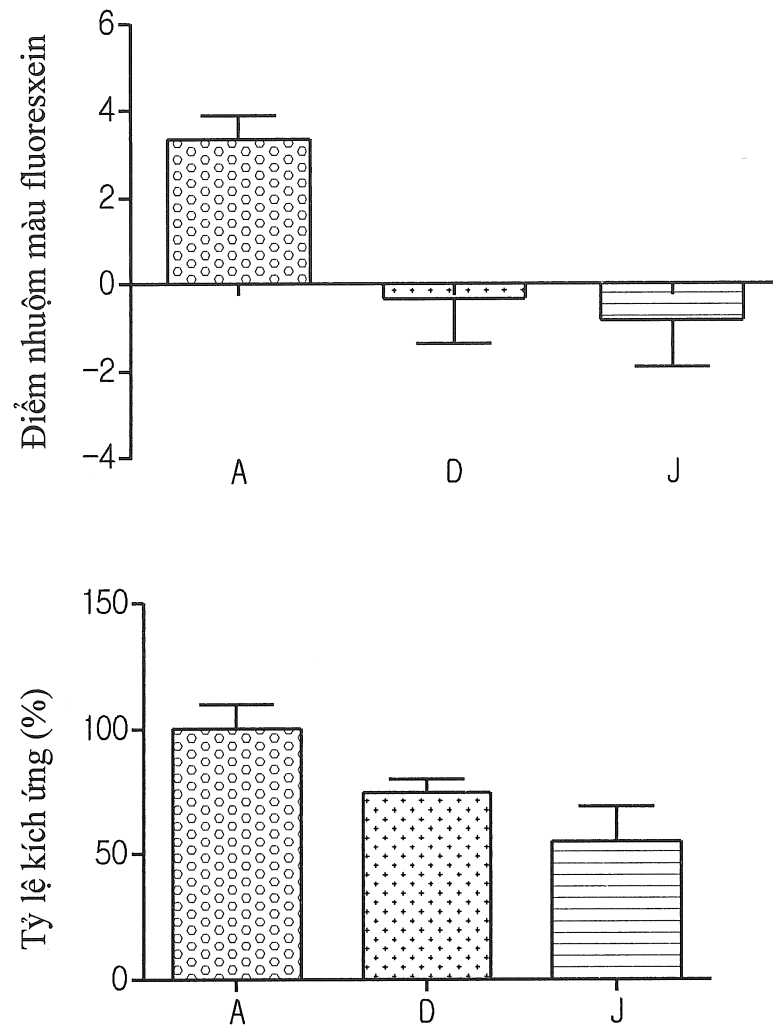


FIG. 7

