



(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)



1-0042033

(51)^{2020.01} C07J 9/00; A61P 27/12; A61K 31/573; (13) B
A61K 9/08

(21) 1-2021-00940

(22) 25/07/2019

(86) PCT/CN2019/097773 25/07/2019

(87) WO 2020/020306 30/01/2020

(30) 201810826425.6 25/07/2018 CN

(45) 25/12/2024 441

(43) 26/07/2021 400

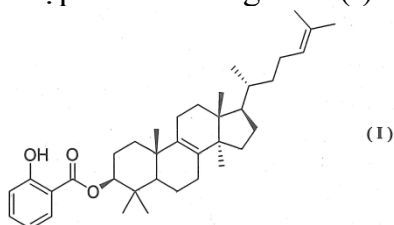
(73) GUANGZHOU OCUSUN OPHTHALMIC BIOTECHNOLOGY CO., LTD. (CN)
Room 1108, 11/F, Tower A, R&F Winner Plaza, No. 100 West Huangpu Road,
Tianhe District Guangzhou, Guangdong 510627, China

(72) Yizhi LIU (CN); Yandong WANG (CN); Xiaolin LI (CN); Zhi LUO (CN); Haiying
HE (CN); Jian LI (US); Shuhui CHEN (US).

(74) Công ty cổ phần tư vấn Trung Thực (TRUNG THUC.,JSC)

(54) HỢP CHẤT TIỀN DƯỢC CHẤT LANOSTEROL Ở DẠNG TINH THỂ

(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất có công thức (I) ở dạng tinh thể.



Đơn yêu cầu đăng ký sáng chế này yêu cầu hưởng quyền ưu tiên của:

[0001] Đơn đăng ký sáng chế Trung Quốc số CN201810826425.6, nộp ngày 25 tháng 7 năm 2018.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

[0002] Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I) ở dạng tinh thể.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

[0003] Bệnh đục thủy tinh thể là bệnh của mắt mà xảy ra ở thủy tinh thể trong nhãn cầu và hiện tượng đục của thủy tinh thể được gọi chung là bệnh đục thủy tinh thể. Lão hóa, di truyền, hiện tượng bất thường về chuyển hóa, chấn thương, bức xạ, chứng thiếu dinh dưỡng gây độc và tại chỗ có thể làm hỏng lớp bao thủy tinh thể khiến tăng độ thấm và mất chức năng rào cản, hoặc gây các rối loạn chuyển hóa ở thủy tinh thể khiến protein của thủy tinh thể bị biến tính và tạo đục. Nếu thủy tinh thể của nhãn cầu thay đổi từ trong suốt sang mờ đục và chịu tác động bởi ánh sáng mặt trời tiếp nhận ở mắt, thì nó sẽ ảnh hưởng đến thị lực của mắt. Khi độ đục của nhãn cầu là nhẹ, thì tác động đến khả năng nhìn là nhẹ hơn, nhưng khi độ đục sâu dần thêm, thì độ tinh mắt sẽ tăng, và các trường hợp nghiêm trọng sẽ dẫn đến mù. Bệnh đục thủy tinh thể là một trong số các bệnh phổ biến nhất ở mắt dẫn đến mù và nó là nguyên nhân chính gây mù. Do cơ chế của sự hình thành bệnh đục thủy tinh thể hiện vẫn chưa rõ ràng, chưa có đột phá nào được tạo ra trong việc điều trị bằng thuốc. Do đó, cách điều trị hiệu quả duy nhất hiện nay là điều trị bằng cách phẫu thuật.

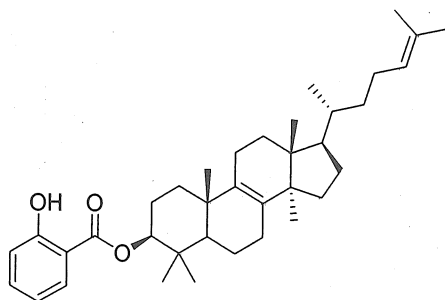
[0004] Mặc dù sự cải thiện liên tục về phẫu thuật đục thủy tinh thể đã trợ giúp rất nhiều cho việc điều trị bệnh đục thủy tinh thể, tỷ lệ chữa trị của cách điều trị bằng cách phẫu thuật vẫn thấp hơn nhiều so với tỷ lệ mắc bệnh, và có khả năng có các biến chứng nghiêm trọng. Mặt khác, chi phí của việc phẫu thuật điều trị bệnh đục thủy tinh thể là rất cao, và ở các nước phát triển, bệnh đục thủy tinh thể thậm chí trở thành gánh nặng đáng kể đối với hệ thống bảo hiểm y tế. Do đó, việc phòng ngừa và việc điều trị bệnh bằng thuốc đóng vai trò quyết định. Hiện nay, các thuốc điều trị sẵn có ở bệnh viện cho bệnh đục thủy tinh thể bao gồm: 1, các chất ức

chế aldoza reductaza, như cataline (Catalin, Kary Uni, Prifenoxinenatri), phacolysin, bendazac L-lysin, v.v.; 2, các thuốc chống phá hủy bởi oxy hóa, như glutathion, taurin, aspirin, v.v.; 3, các thuốc chuyển hóa dinh dưỡng, như vitamin, carotenit, v.v.; 4, chất thảo dược Trung Quốc bao gồm viên tròn Shihu Yeguang, viên tròn Qiju Dihuang, Shijueming San và các loại tương tự. Các thử nghiệm lâm sàng dài hạn đã khẳng định rằng khi dùng trong việc điều trị bệnh đục thủy tinh thể, các thuốc này chỉ có thể trì hoãn sự hư hại do bệnh đục thủy tinh thể, mà không thể đảo ngược tình trạng để điều trị bệnh đục thủy tinh thể. Trong khi đó, do Trung Quốc bắt đầu bước vào xã hội già hóa, số lượng bệnh nhân mắc bệnh đục thủy tinh thể tăng dần, và nhu cầu về thuốc cho bệnh đục thủy tinh thể sẽ trở nên cấp thiết hơn. Do đó, trong lâm sàng cần có các loại các thuốc mới điều trị bệnh đục thủy tinh thể dùng ngoài mắt có tính an toàn, tác dụng chữa trị tốt, khả năng thẩm vào trong mắt tốt và bản chất ổn định.

[0005] Lanosterol là phân tử ưa béo có nhiều ở thủy tinh thể. Nó được tổng hợp từ lanosterol synthaza (LSS) thông qua phản ứng đóng vòng then chốt của chu trình tổng hợp cholesterol. Lanosterol có thể làm giảm mức độ kết tụ bất thường của các protein ở thủy tinh thể và khiến chúng tái sắp xếp đều đặn để khôi phục tính trong của tinh thể. Các nghiên cứu đã cho thấy rằng lanosterol synthaza có thể được phát hiện ở thủy tinh thể. Hơn thế nữa, theo nghiên cứu về bệnh đục thủy tinh thể shumiya ở chuột, tổ hợp cụ thể gồm các đột biến đồng hợp tử của lanosterol synthaza và farnesyl diphosphat farnesyltransferaza 1 (FDFT1) có thể làm giảm nồng độ cholesterol ở thủy tinh thể và gây bệnh đục thủy tinh thể. Trong khi đó, các nghiên cứu gần đây của các tác giả sáng chế đã phát hiện thấy rằng lanosterol có thể làm giảm ở mức độ đáng kể khối kết tụ protein đã hình thành trước ở thủy tinh thể *in vitro* và ở mức độ tế bào. Đã khẳng định được rằng lanosterol có thể đảo ngược tình trạng của bệnh đục thủy tinh thể và đem lại sự sáng tỏ và trong suốt của thủy tinh thể *in vivo*. Kết quả này đã được công bố gần đây trong ấn phẩm *Nature* và thu hút sự chú ý trên toàn thế giới và nó là phân tử mới để phòng ngừa và điều trị bệnh đục thủy tinh thể.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

[0006] Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I) ở dạng tinh thể A, trong đó mẫu nhiễu xạ bột tia X (XPRD) của hợp chất có công thức (I) ở dạng tinh thể A chứa đỉnh nhiễu xạ đặc trưng ở các góc 2θ dưới đây: $8,60 \pm 0,2^\circ$, $15,06 \pm 0,2^\circ$ và $17,22 \pm 0,2^\circ$.



(I)

[0007] Theo một số phương án theo sáng chế, mẫu nhiễu xạ bột tia X của hợp chất có công thức (I) ở dạng tinh thể A chứa đỉnh nhiễu xạ đặc trưng ở các góc 2θ dưới đây: $8,60\pm 0,2^\circ$, $9,38\pm 0,2^\circ$, $10,57\pm 0,2^\circ$, $12,54\pm 0,2^\circ$, $14,43\pm 0,2^\circ$, $15,06\pm 0,2^\circ$, $17,22\pm 0,2^\circ$ và $25,18\pm 0,2^\circ$.

[0008] Theo một số phương án theo sáng chế, mẫu nhiễu xạ bột tia X của hợp chất có công thức (I) dạng tinh thể A chứa đỉnh nhiễu xạ đặc trưng ở các góc 2θ dưới đây: $4,350^\circ$, $8,598^\circ$, $9,383^\circ$, $10,566^\circ$, $12,542^\circ$, $13,448^\circ$, $14,428^\circ$, $14,591^\circ$, $15,063^\circ$, $15,453^\circ$, $15,820^\circ$, $16,803^\circ$, $17,216^\circ$, $20,985^\circ$, $21,181^\circ$, $22,225^\circ$, $22,601^\circ$, $22,856^\circ$, $23,726^\circ$, $24,039^\circ$, $24,534^\circ$, $25,185^\circ$, $25,514^\circ$, $25,935^\circ$, $26,570^\circ$, $27,867^\circ$, $28,125^\circ$, $28,416^\circ$, $29,114^\circ$, $29,445^\circ$, $31,914^\circ$, $33,710^\circ$, $34,297^\circ$, $34,329^\circ$, $36,014^\circ$, $36,108^\circ$ và $38,196^\circ$.

[0009] Theo một số phương án theo sáng chế, mẫu nhiễu xạ bột tia X của hợp chất có công thức (I) ở dạng tinh thể A là như được thể hiện trên hình 1.

[0010] Theo một số phương án theo sáng chế, dữ liệu phân tích của mẫu nhiễu xạ bột tia X của hợp chất có công thức (I) ở dạng tinh thể A là như được thể hiện trong Bảng 1.

Bảng 1: Dữ liệu phân tích của mẫu XRPD của hợp chất có công thức (I) ở dạng tinh thể A

Số thứ tự	Góc 2θ ($^\circ$)	giãn cách d (Å)	Cường độ tương đối (%)	Số thứ tự	Góc 2θ ($^\circ$)	giãn cách d (Å)	Cường độ tương đối (%)
1	4,350	20,297	20,2	20	24,039	3,6989	4,6
2	8,598	10,2761	85,3	21	24,534	3,6255	4,8
3	9,383	9,4178	6,4	22	25,185	3,5331	16,8
4	10,566	8,366	8,4	23	25,514	3,4884	2,4
5	12,542	7,0517	11,2	24	25,935	3,4327	5,4
6	13,448	6,5785	3,4	25	26,570	3,352	4,8
7	14,428	6,1338	47	26	27,867	3,1989	2,9
8	14,591	6,0658	39,8	27	28,125	3,1701	1,7
9	15,063	5,8766	50,3	28	28,416	3,1384	2
10	15,453	5,7294	5,3	29	29,114	3,0646	3,4
11	15,820	5,5974	14	30	29,445	3,031	1,6
12	16,803	5,2721	78,4	31	31,914	2,8019	1,7

13	17,216	5,1464	100	32	33,710	2,6566	3,8
14	20,985	4,2298	4,7	33	34,297	2,6124	3,7
15	21,181	4,1912	12,5	34	34,329	2,6101	2
16	22,225	3,9965	3	35	36,014	2,4917	1,6
17	22,601	3,9309	3,5	36	36,108	2,4855	1,3
18	22,856	3,8876	2,4	37	38,196	2,3543	2,1
19	23,726	3,7469	4,7				

[0011] Theo một số phương án theo sáng chế, phân tích đo nhiệt lượng quét vi phân (DSC) mẫu hình của hợp chất có công thức (I) ở dạng tinh thể A có đỉnh thu nhiệt bắt đầu ở nhiệt độ $151,75 \pm 3^\circ\text{C}$.

[0012] Theo một số phương án theo sáng chế, mẫu DSC của hợp chất có công thức (I) ở dạng tinh thể A là như được thể hiện trên hình 2.

[0013] Theo một số phương án theo sáng chế, mẫu phân tích nhiệt trọng (TGA) của hợp chất có công thức (I) ở dạng tinh thể A có mức sụt trọng lượng 0,04540% xảy ra ở nhiệt độ $151,57 \pm 3^\circ\text{C}$.

[0014] Theo một số phương án theo sáng chế, mẫu TGA của hợp chất có công thức (I) ở dạng tinh thể A là như được thể hiện trên hình 3.

Hiệu quả kỹ thuật

[0015] Là tiền dược chất mới của lanosterol, hợp chất theo sáng chế có khả năng thấm tốt và được chuyển đổi một cách có hiệu quả thành lanosterol trong cơ thể, mà làm tăng nhiều tỷ lệ sử dụng thuốc của lanosterol; hợp chất ở dạng tinh thể của nó có tính ổn định tốt.

Định nghĩa và mô tả

[0016] Trừ khi có quy định cụ thể khác, các thuật ngữ và các cụm từ sau được dùng trong bản mô tả này được dự định có nghĩa dưới đây. Từ hoặc thuật ngữ cụ thể không nên được xem là không xác định hoặc không rõ khi không có định nghĩa cụ thể, mà nên được hiểu theo nghĩa thông thường. Khi tên thương mại xuất hiện trong bản mô tả này, nó được dùng để chỉ mặt hàng tương ứng hoặc thành phần có hoạt tính của nó.

[0017] Các chất trung gian theo sáng chế có thể được điều chế theo các phương pháp khác nhau tổng hợp mà người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này đã biết, kể cả các

phương án được mô tả dưới đây, các phương án tạo được bằng cách kết hợp các phương án được mô tả dưới đây với các phương pháp tổng hợp hóa học khác, và các phương án thay thế tương đương mà người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này đã biết. Các phương án được ưu tiên bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các phương án theo sáng chế.

[0018] Các phản ứng hóa học của các phương án theo sáng chế được thực hiện trong dung môi thích hợp, và dung môi nên là thích hợp với thay đổi hóa học, và các chất phản ứng và các nguyên liệu cần thiết cho chúng theo sáng chế. Để thu được các hợp chất theo sáng chế, đôi khi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này cần cải biến hoặc lựa chọn các bước tổng hợp hoặc các sơ đồ phản ứng trên cơ sở các phương án hiện có.

[0019] Bản mô tả này được mô tả một cách cụ thể bằng các phương án, nhưng phạm vi của bản mô tả này không bị giới hạn ở các phương án này.

[0020] Tất cả các dung môi được dùng trong bản mô tả này có thể mua được trên thị trường và có thể là một cách trực tiếp được sử dụng không cần tinh chế thêm.

[0021] Các dung môi được dùng trong bản mô tả này có thể mua được trên thị trường. bản mô tả này bằng cách sử dụng các chữ viết tắt sau: DCM thể hiện điclorometan; DMF thể hiện *N,N*-dimetylformamit; DMSO thể hiện dimetyl sulfoxit; EtOH thể hiện etanol; MeOH thể hiện metanol; TFA thể hiện axit trifloaxetic; TsOH thể hiện axit *p*-toluensulfonic; mp thể hiện nhiệt độ nóng chảy; EtSO₃H thể hiện axit etansulfonic; MeSO₃H thể hiện axit metansulfonic; ATP thể hiện adenosin triphosphat; HEPES thể hiện axit 4-hydroxyetylpipezazin etansulfonic; EGTA thể hiện etylen glycol axit bis(2-aminoetyl ete) tetraaxetic; MgCl₂ thể hiện magie điclorua; MnCl₂ thể hiện mangan điclorua; DTT thể hiện dithiothreitol; DCC thể hiện dicyclohexylcarbodiimide; DMAP thể hiện 4-dimetylaminopyridin; tiền dược chất lanosterol 026 thể hiện hợp chất có công thức (I) theo sáng chế.

[0022] **Thiết bị nhiễu xạ bột tia X, XRPD**

[0023] Khoảng 10mg đến 20mg mẫu được đưa đến bước phát hiện theo XRPD.

[0024] Các thông số XRPD chi tiết là như sau:

[0025] Ống nghiệm tia X: Cu, α , ($\lambda = 1,54056\text{\AA}$)

[0026] Hiệu điện thế ở ống nghiệm tia X: 40kV, cường độ dòng ở ống nghiệm tia X: 40mA

[0027] Khe phân kỳ: 0,60mm

[0028] Khe của thiết bị phát hiện: 10,50mm

[0029] Khe chống phân tán: 7,10mm

[0030] Khoảng quét: 4 độ đến 40 độ

[0031] Cỡ bước: 0,02 độ

[0032] Thời gian bước: 0,12 giây

[0033] Tốc độ quay của khay mẫu: 15 vòng/phút

[0034] **Hấp hơi động lực (DVS)**

[0035] Phương pháp phát hiện: các mẫu (10mg đến 20mg) được đặt trong khay mẫu DVS để thử nghiệm.

[0036] Nhiệt độ: 25°C

[0037] Cân bằng: dm/dt: 0,01%/phút: (ngắn nhất: 10 phút, dài nhất: 180 phút)

[0038] Sấy: độ ẩm tương đối 0%, 120 phút

[0039] gradient RH (%) để thử nghiệm: 10%

[0040] khoảng gradient RH (%) để thử nghiệm: 0% đến 90% đến 0%

[0041] Mức độ hút ẩm được đánh giá bằng cách sử dụng các thang đo dưới đây:

Thang độ hút ẩm	Mức tăng trọng lượng do hút ẩm*
Chảy rữa	Hấp thụ đủ nước để tạo ra chất lỏng
Độ hút ẩm cao	Mức tăng trọng lượng do hút ẩm $\geq 15\%$
Độ hút ẩm trung bình	$15\% > \text{Mức tăng trọng lượng do hút ẩm} \geq 2\%$
Độ hút ẩm nhẹ	$2\% > \text{Mức tăng trọng lượng do hút ẩm} \geq 0,2\%$
Không có hoặc hầu như không có tính hút ẩm	Mức tăng trọng lượng do hút ẩm $< 0,2\%$

*Mức tăng trọng lượng do hút ẩm ở nhiệt độ $25 \pm 1^\circ\text{C}$ và $80 \pm 2\%$ độ ẩm tương đối

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

[0042] Hình 1 là mẫu XRPD của hợp chất có công thức (I) ở dạng tinh thể A phát xạ bởi Cu-K α .

[0043] Hình 2 là mẫu DSC của hợp chất có công thức (I) ở dạng tinh thể A.

[0044] Hình 3 là mẫu TGA của hợp chất có công thức (I) ở dạng tinh thể A.

[0045] Hình 4 là đồ thị đẳng nhiệt DVS của hợp chất có công thức (I) ở dạng tinh thể A.

[0046] Hình 5 thể hiện tác động của lanosterol và tiền dược chất của nó thuộc nhóm 026

(hợp chất có công thức (I)) đối với mẫu bệnh đục thủy tinh thể do natri selenit gây ra ở thỏ Niu-di-lân mới sinh quan sát được bởi đèn khe. NC: nhóm đối chứng bình thường; MC: nhóm đối chứng mẫu; PC: nhóm đối chứng tích cực; LT: nhóm điều trị bằng thuốc nhỏ mắt lanosterol; 026: nhóm điều trị bằng thuốc nhỏ mắt tiền được chất lanosterol 026.

[0047] Hình 6 thể hiện sự so sánh mức độ trong suốt của thủy tinh thể của mẫu bệnh đục thủy tinh thể do natri selenit gây ra ở thỏ Niu-di-lân mới sinh ở mỗi nhóm *in vitro* sau 42 ngày dùng. NC: nhóm đối chứng bình thường; MC: nhóm đối chứng mẫu; PC: nhóm đối chứng tích cực; LT: nhóm điều trị bằng thuốc nhỏ mắt lanosterol; 026: nhóm điều trị bằng thuốc nhỏ mắt tiền được chất lanosterol 026. Ô bằng 2,12×2,12mm.

[0048] Hình 7 là sự so sánh hoạt tính glutathion peroxidaza (GSH-PX) ở thủy tinh thể của mẫu bệnh đục thủy tinh thể do natri selenit gây ra ở thỏ Niu-di-lân mới sinh sau 42 ngày dùng. NC: nhóm đối chứng bình thường; MC: nhóm đối chứng mẫu; PC: nhóm đối chứng tích cực; LT: nhóm điều trị bằng thuốc nhỏ mắt lanosterol; 026: nhóm điều trị bằng thuốc nhỏ mắt tiền được chất lanosterol 026. V.S NC: ** có nghĩa là $p < 0,01$, * có nghĩa là $p < 0,05$; V.S MC: ## có nghĩa là $p < 0,01$, # có nghĩa là $p < 0,05$; V.S PC: ++ có nghĩa là $p < 0,01$, + có nghĩa là $p < 0,05$.

[0049] Hình 8 thể hiện tác động của lanosterol và thuốc nhỏ mắt tiền được chất của nó 026 đối với mẫu bệnh đục thủy tinh thể do tia cực tím gây ra ở thỏ Niu-di-lân quan sát được bởi đèn khe. NC: nhóm đối chứng bình thường; MC: nhóm đối chứng mẫu; PC: nhóm đối chứng tích cực; LT: nhóm điều trị bằng thuốc nhỏ mắt lanosterol; 026: nhóm điều trị bằng thuốc nhỏ mắt tiền được chất lanosterol 026.

[0050] Hình 9 thể hiện sự so sánh mức độ trong suốt của thủy tinh thể của bệnh đục thủy tinh thể do tia cực tím gây ra ở thỏ Niu-di-lân ở mỗi nhóm *in vitro* sau 42 ngày dùng. NC: nhóm đối chứng bình thường; MC: nhóm đối chứng mẫu; PC: nhóm đối chứng tích cực; LT: nhóm điều trị bằng thuốc nhỏ mắt lanosterol; 026: nhóm điều trị bằng thuốc nhỏ mắt tiền được chất lanosterol 026. Ô bằng 2,12×2,12mm.

[0051] Hình 10 thể hiện sự so sánh hoạt tính glutathion peroxidaza (GSH-PX) ở thủy tinh thể của bệnh đục thủy tinh thể do tia cực tím gây ra ở thỏ Niu-di-lân mới sinh ở mỗi nhóm sau 42 ngày dùng. NC: nhóm đối chứng bình thường; MC: nhóm đối chứng mẫu; PC: nhóm đối chứng tích cực; LT: nhóm điều trị bằng thuốc nhỏ mắt lanosterol; 026: nhóm điều trị bằng thuốc nhỏ

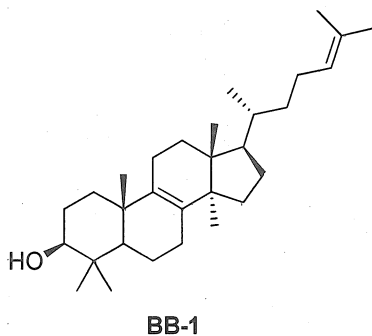
mất tiền được chất lanosterol 026. V.S NC: ** có nghĩa là $p < 0,01$, * có nghĩa là $p < 0,05$; V.S MC: ## có nghĩa là $p < 0,01$, # có nghĩa là $p < 0,05$; V.S PC: ++ có nghĩa là $p < 0,01$, + có nghĩa là $p < 0,05$.

Mô tả chi tiết sáng chế của phương án

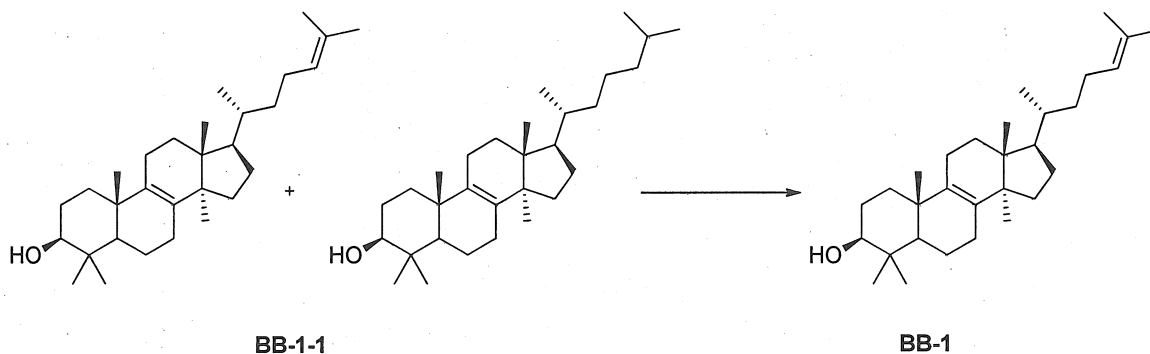
[0052] Để hiểu rõ hơn về nội dung bản mô tả này, bản mô tả này được bộc lộ một cách chi tiết thông qua các phương án, mà không nhằm để giới hạn phạm vi của bản mô tả này.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ tham chiếu 1: Phân đoạn BB-1



[0053] Quy trình tổng hợp:

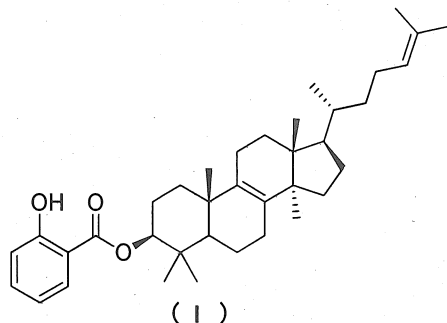


[0054] Bước 1: Tổng hợp hợp chất BB-1.

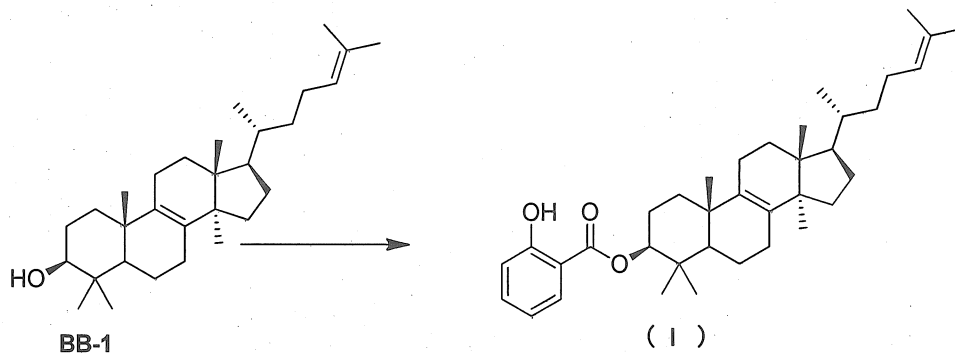
[0055] Hỗn hợp BB-1-1 được đưa đến bước sắc ký lỏng siêu tới hạn (các điều kiện tách: cột: Chiralpak AD-3 150 × 4,6mm đường kính trong, 3μm; pha động: A: CO₂, B: etanol (0,05% dietanolamin); gradien: B từ 5% đến 40% trong thời gian 5 phút, còn lại 40% B trong 2,5 phút, sau đó còn lại 5% B trong 2,5 phút; lưu tốc: 2,5ml/phút; nhiệt độ cột: 35°C; bước sóng: 220nm) để tạo ra hợp chất BB-1. ¹H NMR (CDCl₃ 400MHz): δ = 5,06-5,15 (m, 1H), 5,10 (br t, $J=7,2$ Hz, 1H), 3,20-3,22 (m, 1H), 3,24 (dd, $J=11,5, 4,5$ Hz, 1H), 1,64-2,09 (m, 15H), 0,77-1,57 (m,

29H), 0,65-0,72ppm (m, 3H).

Ví dụ 1: Điều chế hợp chất có công thức (I)



[0056] Quy trình tổng hợp:



[0057] Bước 1: tổng hợp hợp chất có công thức (I).

[0058] 35,2g hợp chất **BB-1** được hòa tan trong 550ml diclometan khan, 22,8g axit salixylic được bổ sung vào, tiếp đó 39,2g DCC được bổ sung vào, và cuối cùng 23,2g DMAP được bổ sung vào, tạo ra huyền phù trắng, mà được nâng nhiệt độ lên đến 35°C và phản ứng được để xảy ra trong thời gian 96 giờ. Phân tích sắc ký lớp mỏng cho thấy rằng còn một lượng ít nguyên liệu thô, và phản ứng được dừng. Hỗn hợp phản ứng này được lọc, cặn lọc này được rửa bằng 150ml diclometan, và dịch lọc được kết hợp và cô đến khô để tạo ra cặn thô. 500ml metanol được bổ sung vào cặn thô và hồi lưu trong thời gian 16 giờ để tạo ra huyền phù trắng, nhiệt độ được giảm đến 15°C, và hỗn hợp này được lọc để tạo ra chất rắn màu trắng, mà được xác nhận là dạng tinh thể A của hợp chất có công thức (I) sau thử nghiệm XRPD.

[0059] $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ 10,89 (s, 1H), 7,77 (dd, $J=1,76, 8,03$ Hz, 1H), 7,38 (ddd, $J=1,76, 7,09, 8,47$ Hz, 1H), 6,91 (dd, $J=0,88, 8,41$ Hz, 1H), 6,78-6,85 (m, 1H), 5,00-5,07 (m, 1H), 4,68-4,74 (m, 1H), 1,64-2,04 (m, 12H), 1,62 (s, 3H), 1,57 (br s, 2H), 1,54 (s, 3H), 1,04-1,51 (m, 9H), 0,98 (s, 3H), 0,98 (s, 3H), 0,89 (s, 3H), 0,85 (d, $J=6,27$ Hz, 3H), 0,82 (s, 3H),

0,63 (s, 3H).

Ví dụ 2: Nghiên cứu về tính hút ẩm của hợp chất có công thức (I) ở dạng tinh thể A

[0060] Nguyên liệu thử nghiệm:

[0061] Hệ thống hấp thu hơi động học SMS DVS Advantage

[0062] Phương pháp thử nghiệm:

[0063] 10mg đến 15mg hợp chất có công thức (I) ở dạng tinh thể A được đặt trong khay mẫu DVS để thử nghiệm.

[0064] Kết quả thử nghiệm:

[0065] Mẫu hình DVS của hợp chất có công thức (I) ở dạng tinh thể A được thể hiện trên hình 4, $\Delta W = 0,747\%$.

[0066] Kết luận thử nghiệm:

[0067] Mức tăng trọng lượng do hút ẩm của hợp chất có công thức (I) ở dạng tinh thể A ở nhiệt độ 25°C và độ ẩm tương đối 80% bằng 0,747%, mà là hút ẩm nhẹ.

Ví dụ 3: Thử nghiệm về tính ổn định sơ bộ của hợp chất có công thức (I) ở dạng tinh thể A

[0068] Hợp chất có công thức (I) ở dạng tinh thể A được đặt ở 3 điều kiện dưới đây và thử nghiệm về hình thức bên ngoài, XRPD, hàm lượng và các chất có liên quan tại các thời điểm khác nhau. Các điều kiện nghiên cứu và các mục thử nghiệm được thể hiện trong Bảng 2.

Bảng 2: Các điều kiện nghiên cứu và các mục thử nghiệm

Mục thử nghiệm	Điều kiện	Ngày 0	Ngày 5	Ngày 10
Các yếu tố ảnh hưởng	Nhiệt độ cao (60°C, mở)	X*	X	X
	Độ ẩm cao (độ ẩm tương đối 92,5%, mở)		X	X
	Ánh sáng (tổng mức rọi sáng = $1,2 \times 10^6$ Lux•giờ/tia cực tím gần = 200 w•giờ/m ² , mở)		X (1 ICH)	

Lưu ý:

*Mục thử nghiệm X bao gồm: hình thức bên ngoài, XRPD, hàm lượng và các chất có liên quan.

Thử nghiệm được tiếp tục trong 10 ngày;

ICH biểu thị mức ổn định theo hướng dẫn về việc thử nghiệm tính ổn định đối với ánh sáng.

[0069] Các bước thử nghiệm:

[0070] 10mg hợp chất có công thức (I) ở dạng tinh thể A được cân một cách chính xác và đặt trong chai mẫu, và tiếp đó được dàn để tạo ra lớp mỏng. Các mẫu được đặt ở điều kiện nhiệt độ 60°C, độ ẩm tương đối 92,5%, miệng của lọ được bọc một cách trực tiếp bằng lá nhôm mà được chọc để có vài lỗ nhỏ để đảm bảo rằng mẫu hoàn toàn có thể tiếp xúc với không khí của môi trường xung quanh. Các mẫu được đặt lần lượt trong hộp khô và bình thủy tinh chứa dung dịch kali nitrat bão hòa. Mẫu đã được rọi sáng (mở, không được phủ bằng lá nhôm) và mẫu đối chứng đã được rọi sáng (mở, chai mẫu được phủ hoàn toàn bằng lá nhôm) được đặt trong hộp sáng. 2 phần của mẫu được cân tại từng thời điểm làm mẫu thử nghiệm chính thức. Ngoài ra, khoảng 5mg hợp chất có công thức (I) ở dạng tinh thể A được cân để thử nghiệm XRPD; chai mẫu được bọc bằng lá nhôm mà được chọc để có vài lỗ nhỏ; các mẫu còn được đặt trong hộp làm khô tương ứng và bình thủy tinh chứa dung dịch kali nitrat bão hòa.

[0071] Phương pháp phân tích dung lượng:

[0072] Cột mẫu: Ultimate XB-C18 3,0*50mm, 3 μ m; pha động: 0,5ml TFA trong 1 lít nước (dung môi A) và 0,4ml TFA trong 1 lít axetonitril (dung môi B), giải hấp: gradien giải hấp 95% đến 100% (dung môi B) trong thời gian dài hơn 2 phút và tiếp đó 100% trong thời gian 13 phút. Lưu tốc là 1,5ml/phút; nhiệt độ cột: 30°C.

[0073] Các kết quả thử nghiệm và các kết luận: hợp chất ở dạng tinh thể không thay đổi sau khi thử nghiệm, và tính ổn định của nó là tốt.

Thử nghiệm hoạt tính sinh học

Ví dụ thử nghiệm 1: Nghiên cứu về tính thấm của các loại thuốc mắt trong cơ thể và bước chuyển hóa các thuốc thành lanosterol

[0074] Theo thử nghiệm này, thỏ trắng Niu-di-lân (trọng lượng nặng hơn 2kg, nhiều hơn 12 tuần tuổi) được dùng làm động vật thử nghiệm. Từng hợp chất được thử nghiệm ở hai con thỏ trắng Niu-di-lân. Mỗi con thỏ được truyền 50 μ l thuốc nhỏ mắt vào mỗi mắt, ba mắt được dùng để gom các mẫu thể dịch trong nước và một mắt được dùng làm bản sao dự trữ. Thành phần của thuốc nhỏ mắt bao gồm 1,2% hydroxypropyl methylxenluloza (cỡ E5), 20,5% poloxame (cỡ P407), 1,6% poloxame (cỡ P188), nồng độ của hợp chất là 5mM, và thuốc nhỏ mắt là các loại huyền phù đồng nhất. Sau khi thuốc nhỏ mắt được nhỏ vào mắt của con thỏ, dịch thể nước

trước được gom sau khi dùng 0,5 giờ, 2 giờ, 4 giờ và 6 giờ. Thể tích của từng mẫu không nhiều hơn 50 μ l. Từng con vật được gây tê nhẹ trước khi gom mẫu. Ba mẫu được gom tại mỗi thời điểm. Các mẫu thể dịch trong nước gom được được bảo quản trong nước đá khô ngay sau khi gom hoặc được bảo quản trong tủ lạnh ở nhiệt độ $-80 \pm 10^{\circ}\text{C}$. Sau khi gom mẫu, con vật được cho chết không đau. Nồng độ của hợp chất trong từng mẫu được xác định bằng cách sử dụng quang phổ kế khối lượng tứ cực chấp ba (API 4000). Bảng 3 và bảng 4 thể hiện các điều kiện xác định DMPK *in vivo*; bảng 5 và bảng 6 thể hiện nồng độ thuốc trong dịch thể trong nước sau khi hợp chất lanosterol (được chất gốc) và tiền dược chất được nhỏ vào mắt (mỗi mắt 250nM).

[0075] Các kết quả thử nghiệm và các kết luận: cả lanosterol và tiền dược chất của nó theo sáng chế có khả năng thấm vào thể dịch trong nước từ giác mạc hoặc thông qua các đường khác; và tiền dược chất này có khả năng chuyển hóa vào thuốc gốc lanosterol trong quá trình thâm nhiễm và thể hiện nồng độ cao hơn và mức độ tiếp xúc lanosterol trong thể dịch trong nước.

Bảng 3: Phương pháp phân tích và xác định DMPK *in vivo*

Tên hợp chất	Hợp chất có công thức (I) và lanosterol			
Phương pháp sắc ký lỏng				
Pha động A	Dung dịch chứa nước và axetonitril (tỷ lệ thể tích là 95:5) chứa 0,025% axit formic, 1mmol dung dịch đệm muối amoni axetat			
Pha động B	Dung dịch chứa axetonitril và nước (tỷ lệ thể tích 95:5) chứa 0,025% axit formic, 1mmol dung dịch đệm muối amoni axetat			
Cột sắc ký	ACQUITY UPLC® protein BEH 300A C4 1,7 μm 2,1 × 50mm			
Gradient	Lưu tốc (μl/phút)	A (%)	B (%)	
	500 đến 600	2 đến 80	98 đến 20	
Phương pháp phổ khối				
Nguồn ion	APCI hoặc ESI			
Mô hình quét	Theo dõi ion đa cực			
Phân cực	Ion có điện tích dương			
Tên hợp chất	Cặp ion	Thời gian lưu (phút)	Hiệu điện thế phân nhóm (eV)	Năng lượng va chạm (eV)
Hợp chất có công thức (I)	409,3/109,1	2,05	50	38
Lanosterol	409,4/149,1	1,48	50	38

Bảng 4: Gradient của sắc ký lỏng phương pháp để thực hiện thử nghiệm DMPK đối với lanosterol và hợp chất có công thức (I) *in vivo*

Lưu tốc	Gradient		
	Thời gian (phút)	A (%)	B (%)
500 μ l/phút	Bắt đầu	80,0	20,0
	0,30	70,0	30,0
	1,20	20,0	80,0
	2,00	2,0	98,0
	2,30	2,0	98,0
	2,31	80,0	20,0
	2,40	80,0	20,0

Bảng 5: Nồng độ trung bình của mẫu trong dịch thể trong nước (nM) sau khi 250nmol lanosterol được nhỏ vào từng mắt của thử trắng Niu-di-lân

Thuốc nhỏ mắt hợp chất tên	Lanosterol (dược chất gốc)
Hợp chất thử nghiệm tên	Lanosterol (dược chất gốc)
Thời gian (giờ)	Nồng độ trung bình (nM)
0,5	106*
2	496
4	300
6	225
AUC (nM.giờ)	1779

* BQL: thấp hơn giới hạn định lượng, AUC: lượng tiếp cận.

Bảng 6: Nồng độ trung bình của mẫu trong dịch thể trong nước (nM) sau khi 250nmol hợp chất có công thức (I) được nhỏ vào từng mắt của thử trắng Niu-di-lân

Tên hợp chất của thuốc nhỏ mắt	Hợp chất có công thức (I) (tiền dược chất)	
Hợp chất thử nghiệm tên	Hợp chất có công thức (I)	Lanosterol
Thời gian (giờ)	Nồng độ trung bình (nM)	Nồng độ trung bình (nM)
0,5	41,0	471
2	33,3	478
4	25,5	403
6	BQL	586
AUC (nM.giờ)	124	2700

* BQL: thấp hơn giới hạn định lượng, AUC: lượng tiếp cận.

Ví dụ thử nghiệm 2: Nghiên cứu về dược lực học của thuốc nhỏ mắt lanosterol và tiền

được chất của nó đến mẫu bệnh đục thủy tinh thể do natri selenit gây ra ở thỏ Niu-di-lân mới sinh

[0076] 1. Động vật thử nghiệm

[0077] Thỏ Niu-di-lân mới sinh 7 ngày tuổi, loại bình thường, và 5 thỏ bé mỗi lit được cho bú với thỏ mẹ.

[0078] 2. Chia nhóm và xử lý

[0079] Thỏ bé thử nghiệm được chia một cách ngẫu nhiên thành 5 nhóm mỗi nhóm 5 con thỏ.

[0080] 1) Nhóm đối chứng bình thường (NC): vào ngày 10 sau khi sinh, thỏ bé được tiêm dưới da 0,25ml nước muối sinh lý từ cổ, và không được dùng sau ngày 15 sau khi sinh.

[0081] 2) Nhóm đối chứng mẫu (MC): vào ngày 10 sau khi sinh, thỏ bé được tiêm dưới da dung dịch natri selenit (trong nước muối sinh lý) với liều 20 μ mol/kg thể trọng, và sau ngày 15 sau khi sinh, thuốc nhỏ mắt không chứa thuốc được nhỏ vào mắt phải 3 lần hằng ngày trong thời gian 42 ngày.

[0082] 3) Nhóm đối chứng tích cực (PC): vào ngày 10 sau khi sinh, thỏ bé được tiêm dưới da dung dịch natri selenit (trong nước muối sinh lý) với liều 20 μ mol/kg thể trọng, và sau ngày 15 sau khi sinh, thuốc nhỏ mắt Kary Uni (do Santen Pharmaceutical Co., Ltd ở Nhật Bản cung cấp) được nhỏ vào mắt phải 3 lần hằng ngày trong thời gian 42 ngày.

[0083] 4) Nhóm điều trị bằng thuốc nhỏ mắt Lanosterol (LT): vào ngày 10 sau khi sinh, thỏ bé được tiêm dưới da dung dịch natri selenit (trong nước muối sinh lý) với liều 20 μ mol/kg thể trọng, và sau ngày 15 sau khi sinh, thuốc nhỏ mắt lanosterol được nhỏ vào mắt phải 3 lần hằng ngày trong thời gian 42 ngày.

[0084] 5) Nhóm điều trị bằng thuốc nhỏ mắt tiền được chất lanosterol 026 (026, hợp chất có công thức (I)): vào ngày 10 sau khi sinh, thỏ bé được tiêm dưới da dung dịch natri selenit (trong nước muối sinh lý) với liều 20 μ mol/kg thể trọng, và sau ngày 15 sau khi sinh, thuốc nhỏ mắt tiền được chất lanosterol 026 được nhỏ vào mắt phải 3 lần hằng ngày trong thời gian 42 ngày.

[0085] 3. Xét nghiệm thử

[0086] 1) Chụp ảnh qua khe sáng: thỏ Niu-di-lân mới sinh mắc bệnh do natri selenit gây ra ở mỗi nhóm được quan sát nhờ khe sáng lần lượt trước khi dùng thuốc, và 7 ngày, 14 ngày, 21 ngày và 42 ngày sau khi dùng;

[0087] 2) Xét nghiệm mức độ trong suốt của thủy tinh thể *in vitro*: vào ngày cuối cùng, nhãn

cầu của con vật được giải phẫu, thủy tinh thể chứa viên nang được tách hoàn toàn, và thủy tinh thể được đặt trên giấy kẻ ô ($2,12 \times 2,12\text{mm}$). Ảnh chụp thể hiện độ sắc nét của ô kẻ chụp được thông qua thủy tinh thể.

[0088] 3) Thử nghiệm về hoạt tính glutathion peroxidaza (GSH-PX): hoạt tính GSH-PX của thủy tinh thể đã phân lập được từ thỏ ở mỗi nhóm được xác định theo phương pháp nêu trong bản mô tả này về kit phát hiện hoạt tính GSH-PX (do Nanjing Jiancheng Bioengineering Institute cung cấp). Các dữ liệu thử nghiệm được phân tích theo phương pháp ANOVA một chiều nhờ phần mềm thống kê SPSS. Phương pháp LSD được áp dụng để so sánh các nhóm, và mức khác biệt thống kê là $p < 0,05$.

[0089] 4. Các kết quả thử nghiệm

[0090] 1) Quan sát khe sáng: Hình 5 cho thấy rằng natri selenit có thể gây bệnh đục thủy tinh thể ở thủy tinh thể của thỏ Niu-di-lân mới sinh. Quan sát khe sáng cho thấy các triệu chứng của bệnh đục thủy tinh thể giảm đáng kể sau khi thuốc nhỏ mắt tiền được chất lanosterol 026 được dùng trong thời gian 42 ngày (hình 5-I) so với các triệu chứng trước khi dùng (hình 5-J). Các triệu chứng của bệnh đục thủy tinh thể không thể hiện thay đổi rõ ràng trước và sau khi dùng thuốc nhỏ mắt Kary Uni (hình 5-E, 5-F) và thuốc nhỏ mắt lanosterol (hình 5-G, 5-H).

[0091] 2) Xét nghiệm mức độ trong suốt của thủy tinh thể *in vitro*: Hình 6 thể hiện mức độ trong suốt của thủy tinh thể của thỏ Niu-di-lân mới sinh mắc bệnh đục thủy tinh thể do natri selenit gây ra ở mỗi nhóm sau 42 ngày dùng thuốc. Ở phía bên trái của từng ảnh chụp là thủy tinh thể của mắt trái (mắt trái không được dùng làm tự đối chứng), và ở phía bên phải là thủy tinh thể của mắt phải (mắt phải được dùng theo phân chia nhóm). Sau 42 ngày dùng thuốc nhỏ mắt tiền được chất lanosterol 026, mức độ trong suốt của thủy tinh thể của mắt phải là cao hơn ở mức độ đáng kể so với của mắt trái, và cũng cao hơn ở mức độ đáng kể so với nhóm MC, nhưng vẫn là thấp hơn so với nhóm NC. Không có thay đổi đáng kể về mức độ trong suốt của thủy tinh thể sau khi dùng thuốc cho mắt phải ở nhóm LT.

[0092] 3) Thử nghiệm về hoạt tính GSH-PX: sau 42 ngày dùng thuốc, kết quả về hoạt tính GSH-PX ở thủy tinh thể ở mỗi nhóm thể hiện (xem hình 7) rằng sau khi tiêm natri selenit dưới da, hoạt tính của GSH-PX ở thủy tinh thể ở mắt thỏ bị giảm đáng kể và có khác biệt thống kê ($p < 0,01$) so với nhóm NC. Thuốc nhỏ mắt tiền được chất lanosterol 026 và thuốc đối chứng tích cực là thuốc nhỏ mắt Kary Uni có khả năng làm tăng hoạt tính GSH-PX ở thủy tinh thể,

và có khác biệt thống kê so với nhóm MC ($p < 0,01$), và tác động cải thiện của 026 là tốt hơn so với Kary Uni ($p < 0,01$). Tác động của thuốc nhỏ mắt lanosterol đến hoạt tính của GSH-PX ở thủy tinh thể là thấp hơn đáng kể so với 026 và Kary Uni, và không có khác biệt đáng kể về mặt thống kê so với nhóm MC ($p > 0,05$).

[0093] 5. Kết luận

[0094] Các kết quả nêu trên biểu thị rằng thuốc nhỏ mắt tiền dược chất lanosterol 026 có khả năng làm giảm các triệu chứng của bệnh đục thủy tinh thể do natri selenit gây ra ở thỏ Niu-di-lân mới sinh và cải thiện mức độ trong suốt của thủy tinh thể và hoạt tính GSH-PX ở thủy tinh thể.

Ví dụ thử nghiệm 3: nghiên cứu dược lực học của thuốc nhỏ mắt lanosterol và tiền dược chất của nó đối với mẫu bệnh đục thủy tinh thể do tia cực tím gây ra ở thỏ Niu-di-lân mới sinh

[0095] 1. Động vật thử nghiệm

[0096] Thỏ Niu-di-lân trưởng thành nặng 2,0kg đến 2,5kg, loại bình thường, đực và cái, tổng cộng 25 con.

[0097] Chia nhóm và xử lý

[0098] Thỏ thử nghiệm được chia một cách ngẫu nhiên thành 5 nhóm mỗi nhóm 5 con thỏ.

[0099] 1) Nhóm đối chứng bình thường (NC): cho ăn bình thường, không dùng thuốc.

[0100] 2) Nhóm đối chứng mẫu (MC): chiếu tia UV ở bước sóng 313nm trong thời gian 24 giờ để tạo ra mẫu, tiếp đó thuốc nhỏ mắt không chứa thuốc được nhỏ vào mắt phải 3 lần hằng ngày trong thời gian 42 ngày.

[0101] 3) Nhóm đối chứng tích cực (PC): chiếu tia UV ở bước sóng 313nm trong thời gian 24 giờ để tạo ra mẫu, tiếp đó thuốc nhỏ mắt Kary Uni (do Santen Pharmaceutical Co., Ltd ở Nhật Bản cung cấp) được nhỏ vào mắt phải 3 lần hằng ngày trong thời gian 42 ngày.

[0102] 4) Nhóm điều trị bằng thuốc nhỏ mắt lanosterol (LT): chiếu tia UV ở bước sóng 313nm trong thời gian 24 giờ để tạo ra mẫu, tiếp đó thuốc nhỏ mắt lanosterol được nhỏ vào mắt phải 3 lần hằng ngày trong thời gian 42 ngày.

[0103] 5) Nhóm điều trị bằng thuốc nhỏ mắt tiền dược chất lanosterol 026 (026): chiếu tia UV ở bước sóng 313nm trong thời gian 24 giờ để tạo ra mẫu, tiếp đó thuốc nhỏ mắt tiền dược

chất lanosterol 026 được nhỏ vào mắt phải 3 lần hằng ngày trong thời gian 42 ngày.

[0104] 3. Xét nghiệm thử

[0105] 1) Chụp ảnh qua khe sáng: động vật ở mỗi nhóm được quan sát nhờ khe sáng lần lượt trước khi dùng thuốc, và 7 ngày, 14 ngày, 21 ngày và 42 ngày sau khi dùng thuốc;

[0106] 2) Thử nghiệm về mức độ trong suốt của thủy tinh thể *in vitro*: vào ngày cuối cùng, nhãn cầu của con vật được giải phẫu, thủy tinh thể chứa viên nang được tách hoàn toàn, và thủy tinh thể được đặt trên giấy kẻ ô ($2,12 \times 2,12\text{mm}$). Ảnh chụp thể hiện độ sắc nét của ô chụp được qua thủy tinh thể.

[0107] 3) Thử nghiệm về hoạt tính glutathion peroxidaza (GSH-PX): hoạt tính GSH-PX ở thủy tinh thể đã được phân lập từ thỏ ở mỗi nhóm được xác định theo phương pháp nêu trong bản mô tả này về kit phát hiện hoạt tính GSH-PX (do Nanjing Jiancheng Bioengineering Institute cung cấp). Các dữ liệu thử nghiệm được phân tích theo phương pháp ANOVA một chiều nhờ phần mềm thống kê SPSS. Phương pháp LSD được áp dụng để so sánh các nhóm, và mức khác biệt thống kê là $p < 0,05$.

[0108] 4. Các kết quả thử nghiệm

[0109] 1) Quan sát khe sáng: Hình 8 cho thấy rằng cực tím gây ra bệnh đục thủy tinh thể ở thủy tinh thể của thỏ Niu-di-lân. Quan sát khe sáng thể hiện các triệu chứng của bệnh đục thủy tinh thể giảm đáng kể sau khi thuốc nhỏ mắt tiền được chất lanosterol 026 được dùng trong thời gian 42 ngày (hình 8-I) so với các triệu chứng trước khi dùng thuốc (hình 8-J). Các triệu chứng của bệnh đục thủy tinh thể thể hiện không có thay đổi trước và sau khi dùng thuốc nhỏ mắt Kary Uni (hình 8-E, 8-F) và thuốc nhỏ mắt lanosterol (hình 8-G, 8-H).

[0110] 2) Xét nghiệm mức độ trong suốt của thủy tinh thể *in vitro*: Hình 9 thể hiện mức độ trong suốt của thủy tinh thể của thỏ Niu-di-lân mắc bệnh đục thủy tinh thể gây ra bởi cực tím ở mỗi nhóm sau 42 ngày dùng thuốc. Ở phía bên trái của từng ảnh chụp là thủy tinh thể của mắt trái (mắt trái không được dùng làm tự đối chứng), và ở phía bên phải là thủy tinh thể của mắt phải (mắt phải được dùng thuốc theo phân chia nhóm). Sau 42 ngày dùng thuốc nhỏ mắt tiền được chất lanosterol 026, mức độ trong suốt của thủy tinh thể ở mắt phải là cao hơn ở mức độ đáng kể so với mắt trái, và cũng cao hơn ở mức độ đáng kể so với nhóm MC, nhưng vẫn là thấp hơn so với nhóm NC. Không có thay đổi đáng kể về mức độ trong suốt của thủy tinh thể sau khi thuốc dùng cho mắt phải ở nhóm LT.

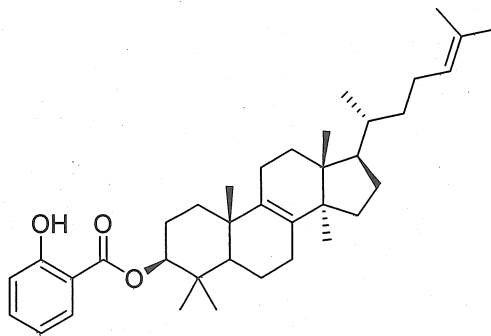
[0111] 3) Thử nghiệm về hoạt tính GSH-PX: sau 42 ngày dùng thuốc, hoạt tính GSH-PX ở thủy tinh thể ở mỗi nhóm thể hiện (xem Hình 10) rằng sau khi chiếu tia UV, hoạt tính của GSH-PX ở thủy tinh thể của mắt thỏ bị giảm đáng kể và có khác biệt thống kê so với nhóm NC ($p < 0,01$ hoặc $p < 0,05$). Thuốc nhỏ mắt tiền dược chất lanosterol 026 và thuốc đối chứng tích cực thuốc nhỏ mắt Kary Uni có khả năng làm tăng hoạt tính GSH-PX ở thủy tinh thể, và có khác biệt thống kê so với nhóm MC ($p < 0,01$), và tác động cải thiện của 026 là tốt hơn so với Kary Uni ($p < 0,05$). Tác động của thuốc nhỏ mắt lanosterol đối với hoạt tính GSH-PX ở thủy tinh thể là thấp hơn đáng kể so với 026 và Kary Uni, và không có khác biệt đáng kể về mặt thống kê so với nhóm MC ($p > 0,05$).

[0112] 5. Kết luận

[0113] Các kết quả nêu trên biểu thị rằng thuốc nhỏ mắt tiền dược chất lanosterol 026 có khả năng làm giảm các triệu chứng của bệnh đục thủy tinh thể do chiếu tia UV gây ra ở thỏ Niu-di-lân, và cải thiện mức độ trong suốt của thủy tinh thể và hoạt tính GSH-PX ở thủy tinh thể.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức (I) ở dạng tinh thể A, trong đó mẫu nhiễu xạ bột tia X (XPRD) của hợp chất có công thức (I) ở dạng tinh thể A chứa đỉnh nhiễu xạ đặc trưng ở các góc 2θ dưới đây: $8,60\pm 0,2^\circ$, $15,06\pm 0,2^\circ$ và $17,22\pm 0,2^\circ$;



(I)

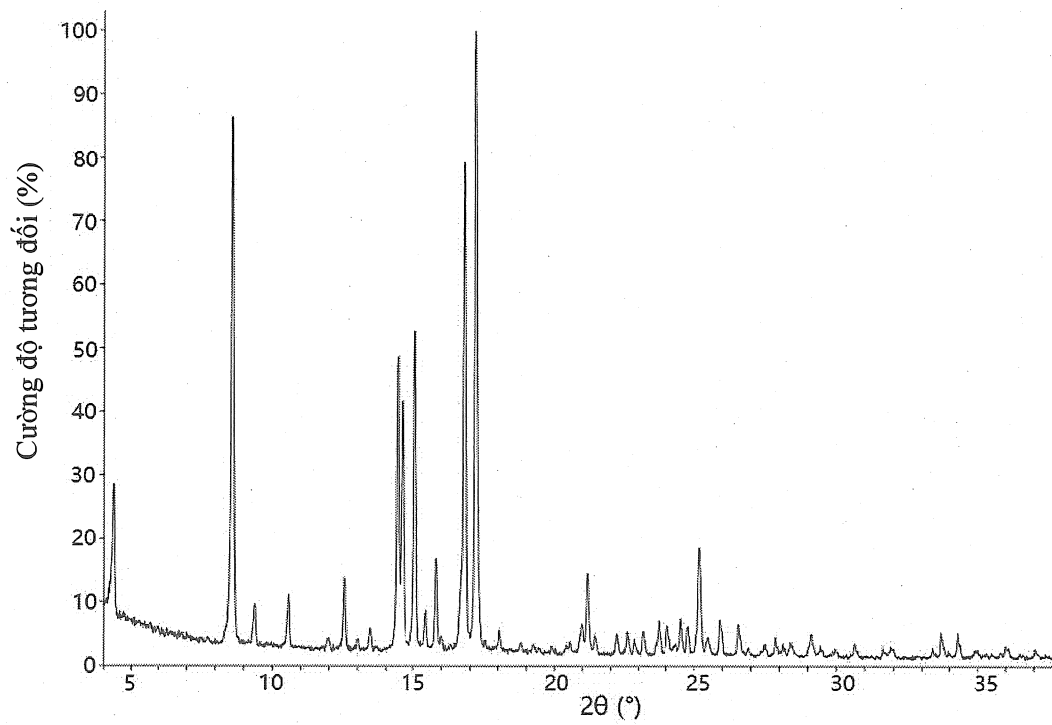
2. Hợp chất có công thức (I) ở dạng tinh thể A theo điểm 1, trong đó mẫu nhiễu xạ bột tia X của hợp chất có công thức (I) ở dạng tinh thể A chứa đỉnh nhiễu xạ đặc trưng ở các góc 2θ dưới đây: $8,60\pm 0,2^\circ$, $9,38\pm 0,2^\circ$, $10,57\pm 0,2^\circ$, $12,54\pm 0,2^\circ$, $14,43\pm 0,2^\circ$, $15,06\pm 0,2^\circ$, $17,22\pm 0,2^\circ$ và $25,18\pm 0,2^\circ$.

3. Hợp chất có công thức (I) ở dạng tinh thể A theo điểm 2, trong đó mẫu nhiễu xạ bột tia X của hợp chất có công thức (I) ở dạng tinh thể A chứa đỉnh nhiễu xạ đặc trưng ở các góc 2θ dưới đây: $4,350^\circ$, $8,598^\circ$, $9,383^\circ$, $10,566^\circ$, $12,542^\circ$, $13,448^\circ$, $14,428^\circ$, $14,591^\circ$, $15,063^\circ$, $15,453^\circ$, $15,820^\circ$, $16,803^\circ$, $17,216^\circ$, $20,985^\circ$, $21,181^\circ$, $22,225^\circ$, $22,601^\circ$, $22,856^\circ$, $23,726^\circ$, $24,039^\circ$, $24,534^\circ$, $25,185^\circ$, $25,514^\circ$, $25,935^\circ$, $26,570^\circ$, $27,867^\circ$, $28,125^\circ$, $28,416^\circ$, $29,114^\circ$, $29,445^\circ$, $31,914^\circ$, $33,710^\circ$, $34,297^\circ$, $34,329^\circ$, $36,014^\circ$, $36,108^\circ$ và $38,196^\circ$.

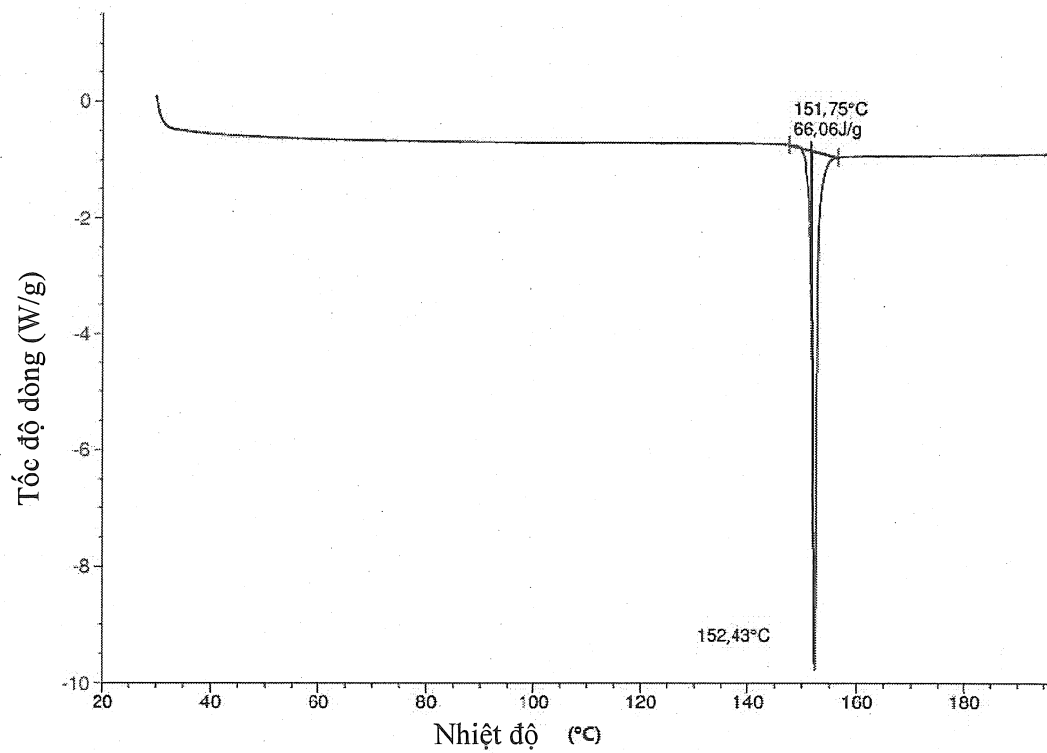
4. Hợp chất có công thức (I) ở dạng tinh thể A theo điểm 3, trong đó mẫu nhiễu xạ bột tia X của hợp chất có công thức (I) ở dạng tinh thể A là như được thể hiện trên hình 1.

5. Hợp chất có công thức (I) ở dạng tinh thể A theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó mẫu hình phân tích đo nhiệt lượng quét vi phân (DSC) của hợp chất có công thức (I) ở dạng tinh thể A có đỉnh thu nhiệt bắt đầu ở nhiệt độ $151,75\pm 3^\circ\text{C}$.

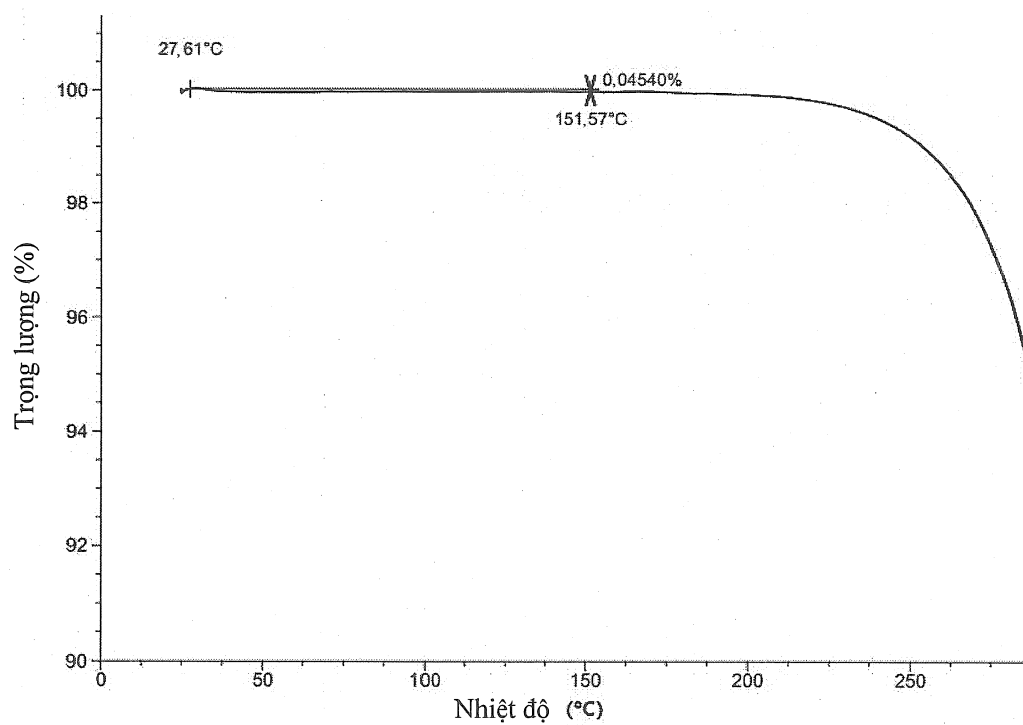
6. Hợp chất có công thức (I) ở dạng tinh thể A theo điểm 5, trong đó mẫu hình DSC của dạng tinh thể A là như được thể hiện trên hình 2.
7. Hợp chất có công thức (I) ở dạng tinh thể A như được xác định theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó mẫu hình phân tích nhiệt trọng (TGA) của hợp chất có công thức (I) ở dạng tinh thể A có mức sụt trọng lượng 0,04540% xảy ra ở nhiệt độ $151,57 \pm 3^\circ\text{C}$.
8. Hợp chất có công thức (I) ở dạng tinh thể A theo điểm 7, trong đó mẫu hình TGA của hợp chất có công thức (I) ở dạng tinh thể A là như được thể hiện trên hình 3.



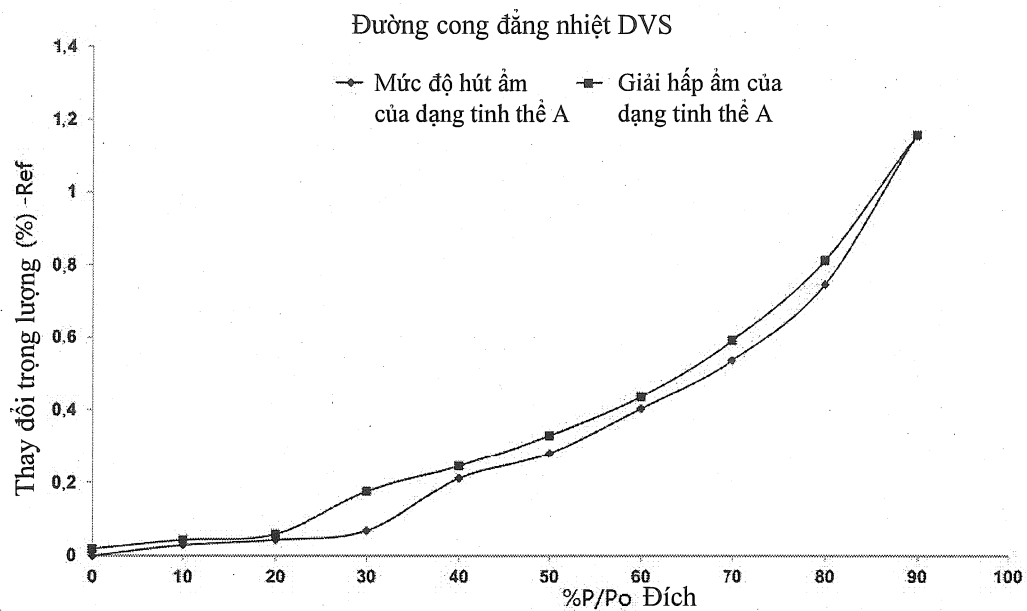
Hình 1



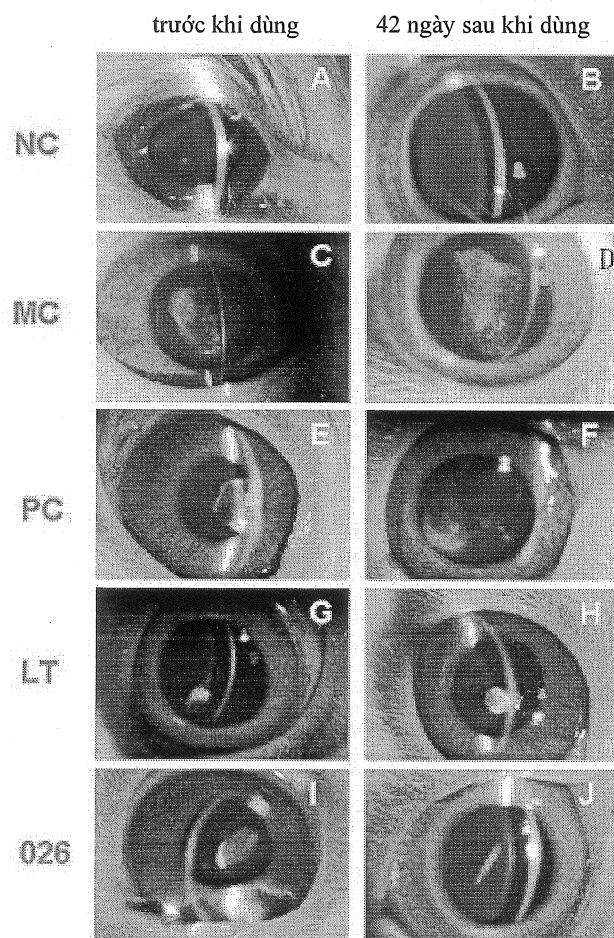
Hình 2



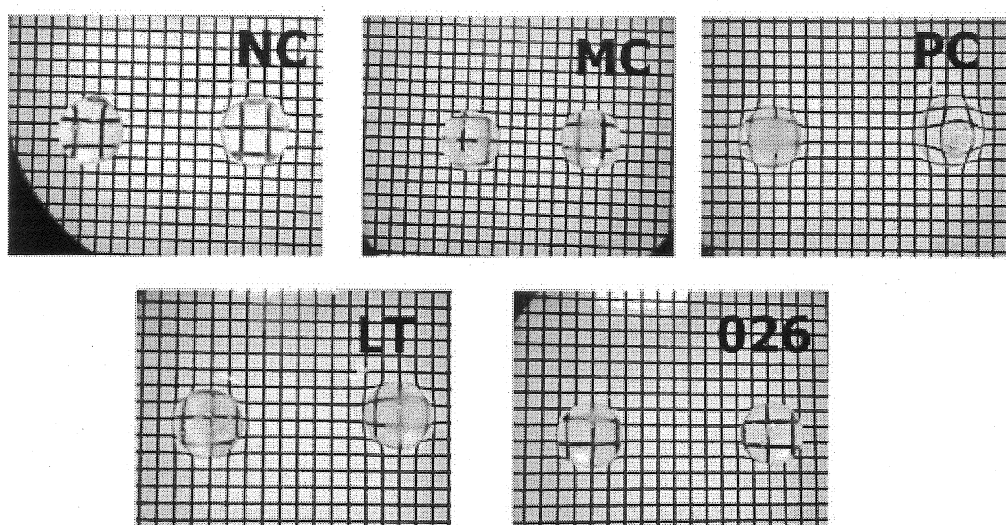
Hình 3



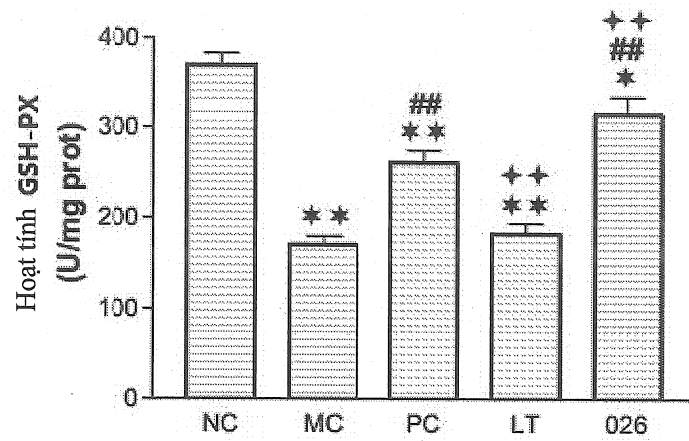
Hình 4



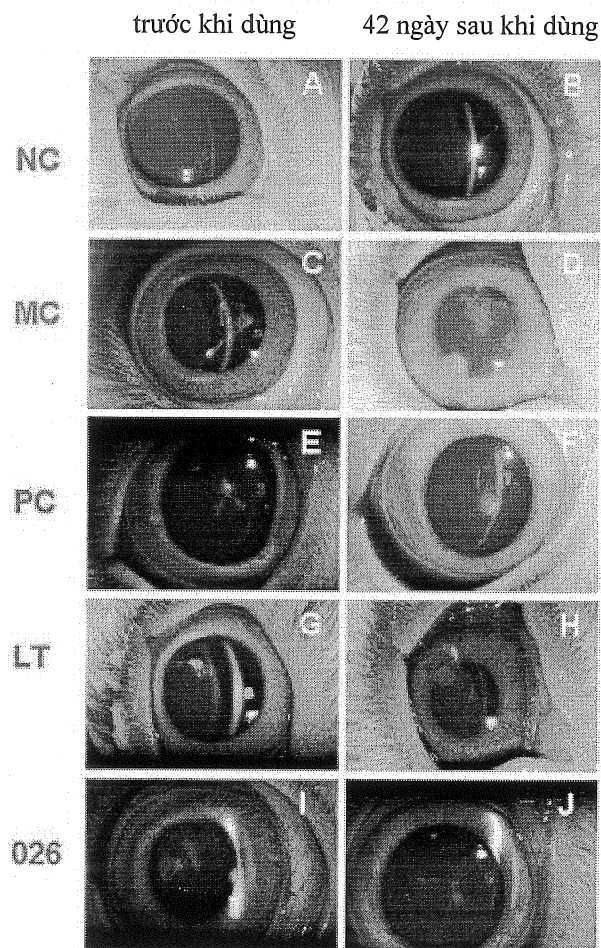
Hình 5



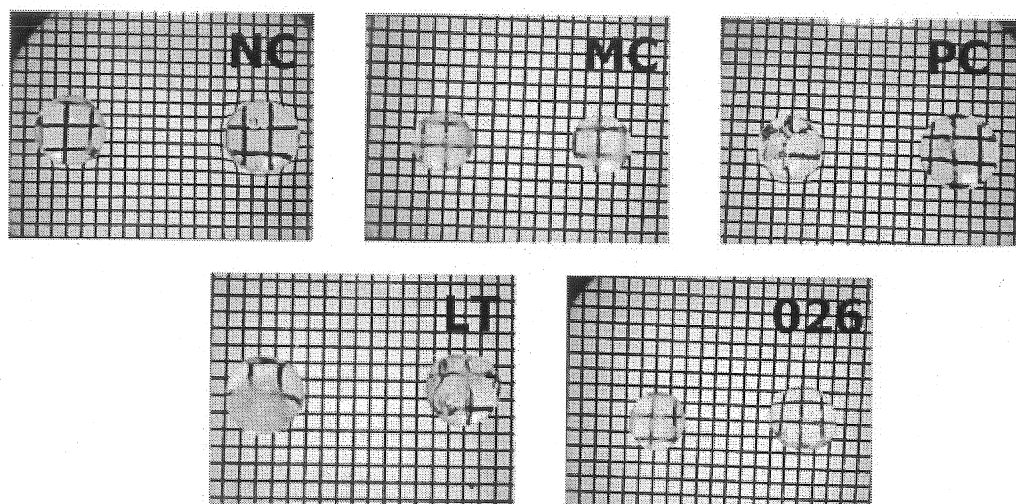
Hình 6



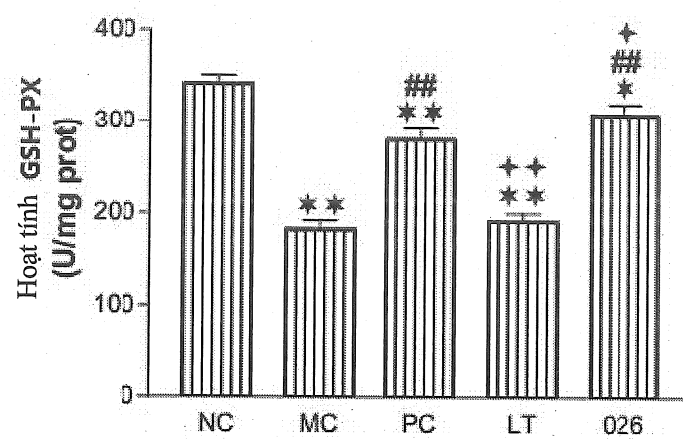
Hình 7



Hình 8



Hình 9



Hình 10