



(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)



1-0042547

(51)^{2020.01} A61K 8/00; A61K 9/00

(13) B

(21) 1-2021-00780

(22) 15/07/2019

(86) PCT/IB2019/056003 15/07/2019

(87) WO 2020/016732 23/01/2020

(30) 102018000007291 18/07/2018 IT

(45) 27/01/2025 442

(43) 27/09/2021 402

(73) ATG 20 S.R.L. (IT)

Via G.B. Oliva, 6/8, 56121 Pisa, Italy

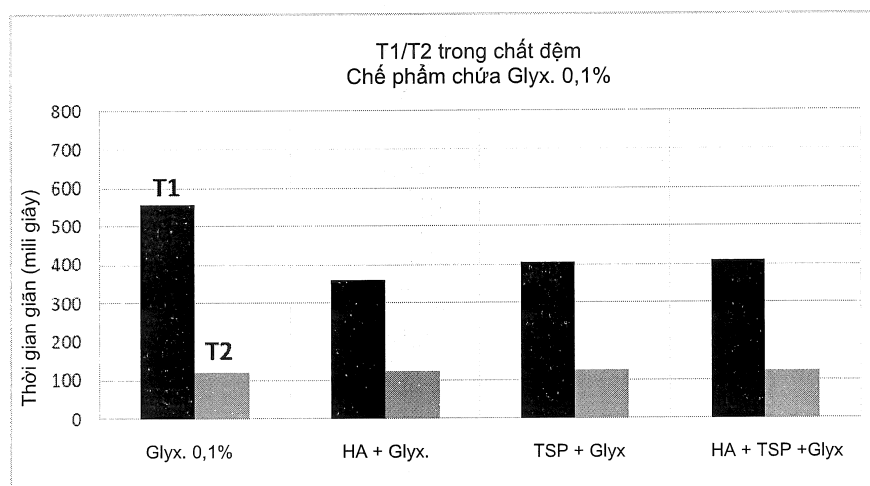
(72) SANSÒ, Marco Aldo (IT).

(74) Công ty Luật TNHH WINCO (WINCO LAW FIRM)

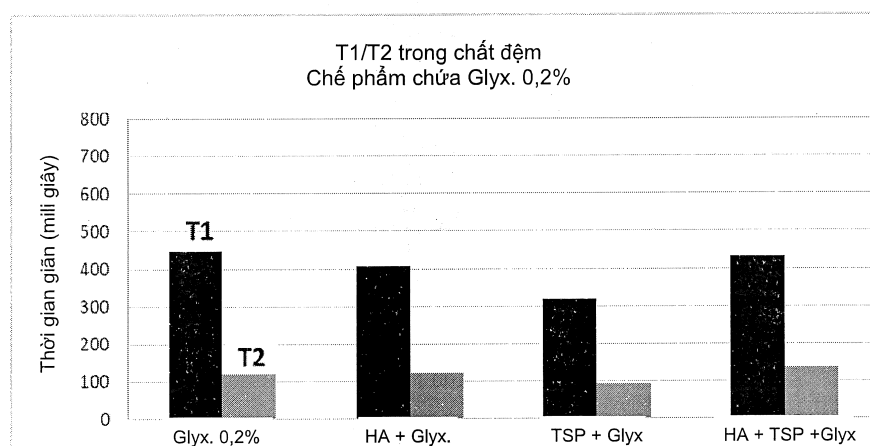
(54) CHẾ PHẨM CHỨA GLYXYRHIZIN VÀ SẢN PHẨM DÙNG CHO MẮT CHỨA
CHẾ PHẨM NÀY

(21) 1-2021-00780

(57) Sáng chế đề cập đến chế phẩm chứa glyxyrhizin, axit hyaluronic hoặc muối hoặc dẫn xuất của nó, và chất tạo nhót. Do đó, chế phẩm này có lợi trong tất cả các chỉ định mỹ phẩm và điều trị mà trong đó glyxyrhizin được sử dụng, do chế phẩm theo sáng chế cải thiện đáng kể độ sinh khả dụng của nó. Sáng chế còn đề cập đến sản phẩm dùng cho mắt chứa chế phẩm này.



(a)



(b)

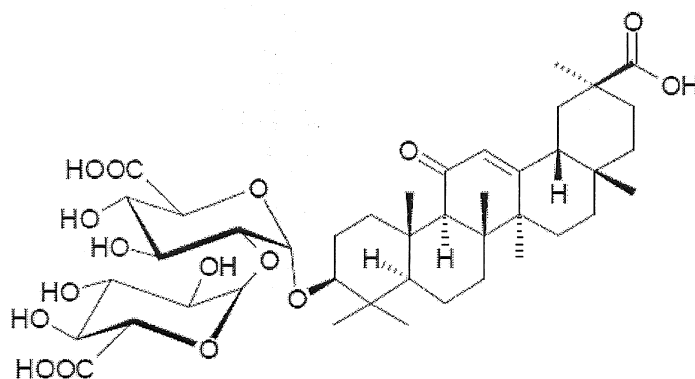
Fig.2

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

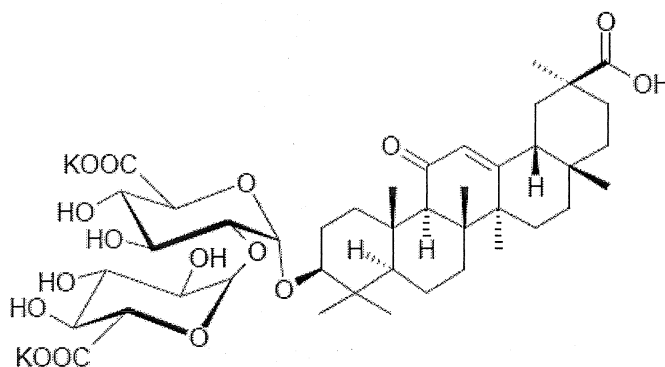
Sáng chế đề cập đến chế phẩm chứa glyxyrhizin, axit hyaluronic và chất tạo nhớt. Do đó, chế phẩm này có lợi trong tất cả các chỉ định mỹ phẩm và điều trị mà trong đó glyxyrhizin được sử dụng, do chế phẩm theo sáng chế cải thiện đáng kể độ sinh khả dụng của nó.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

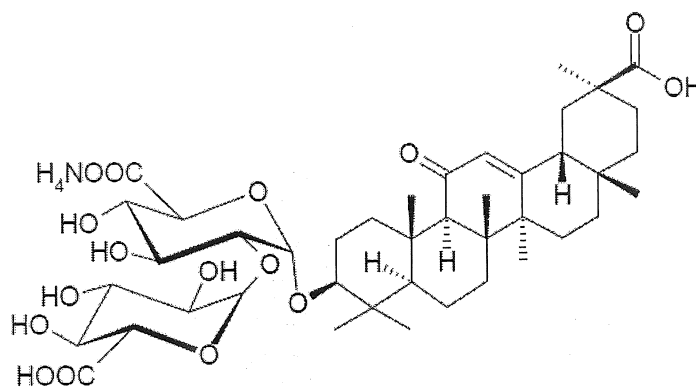
Glyxyrhizin (hoặc axit glyxyrhizic hoặc axit glyxyrhizinic) là triterpenoit saponin glycosit, thành phần hoạt tính của chất chiết từ cây cam thảo:



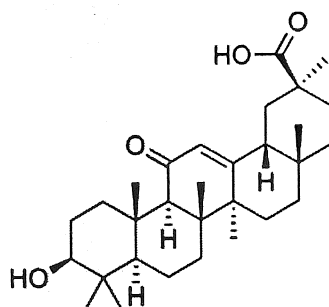
Glyxyrhizin cũng có sẵn ở dạng các muối, như dikali glyxyrhizat (hoặc dikali glyxyrhizinat) và (mono) amoni glyxyrhizat (hoặc (mono) amoni glyxyrhizinat hoặc GA). Ở dạng axit, nó đặc biệt không tan trong nước, tuy nhiên muối kali lại tan trong nước:



trong khi muối (mono)amoni hòa tan trong dung dịch axit hoặc bazơ loãng:



Khi glycyrrhizin được thủy phân, hợp chất aglycon tạo thành là axit 18 β -glycyrrhetic (hoặc axit glycyrrhetic), còn được gọi là enoxolon:



Trong lĩnh vực thực phẩm, glycyrrhizin được sử dụng làm chất tạo ngọt, do nó có độ ngọt cao hơn 50 lần so với sacaroza và so với sacaroza, vị ngọt được cảm nhận trong miệng chậm hơn nhưng kéo dài hơn.

Trong lĩnh vực dược lý, hợp chất này được sử dụng làm thuốc long đờm và làm chất bảo vệ dạ dày trong trường hợp loét dạ dày.

Ngoài ra, glycyrrhizin có tác dụng chống viêm và kháng viêm; thật vậy, đã xác định được rằng axit glycyrrhetic ức chế sự chuyển hóa cortisol thành cortison bằng enzym 11 beta hydroxysteroid dehydrogenaza và ức chế sự sản sinh các xytokin gây viêm như TNF- α và IL-1 β (Xiaoying Huang et al. *Anti-Inflammatory Effects of Monoammonium Glycyrrhizinate on Lipopolysaccharide-Induced Acute Lung Injury in Mice through Regulating Nuclear Factor-Kappa B Signaling Pathway. EvidBasedComplementAlternatMed.* 2015; 2015: 272474).

Gần đây, một cơ chế khác đã được xác định, là cơ chế chịu trách nhiệm về tác dụng kháng viêm của dược chất này, cụ thể là khả năng của glycyrrhizin trong việc ức chế sự sản sinh ra các gốc tự do, nhóm các chất gây viêm mạnh, bởi các bạch cầu trung tính. Tuy nhiên, phân tử này dường như không có khả năng ảnh hưởng đáng kể đến sự thực bào và hóa hướng động của các tế bào này.

Điều thú vị là các gốc tự do được sản sinh bởi bạch cầu là một trong những

nguyên nhân chính gây tổn thương biểu mô nang trong trường hợp bệnh trứng cá và bệnh trứng cá đỏ. Ngoài ra, hợp chất này được sử dụng trong lâm sàng để điều trị bệnh viêm gan mạn tính và các rối loạn dị ứng. Dạng thuốc tiêm chứa glyxyrhizin được sử dụng cho các bệnh nhân mắc bệnh viêm gan C mạn tính và việc sử dụng thuốc này trong thời gian dài có hiệu quả phòng ngừa sự phát triển của bệnh carcinom tế bào gan. Tuy nhiên, việc tiêm qua đường trong tĩnh mạch lặp lại gây đau làm giảm chất lượng cuộc sống của các bệnh nhân mắc bệnh viêm gan mạn tính. Liệu pháp tiêm cũng có nguy cơ gây nhiễm khuẩn cho nhân viên y tế. Vì thế, việc sử dụng qua đường miệng được áp dụng nhưng độ sinh khả dụng của glyxyrhizin đã được chứng minh là rất thấp.

Nhiều nỗ lực đã được tiến hành để cải thiện độ sinh khả dụng của glyxyrhizin; ví dụ, Sasaki và các đồng tác giả (*Improvement in the bioavailability of poorly absorbed glycyrrhizin via various non-vascular administration routes in rats*, Int J Pharm. 2003 Oct 20;265(1-2):95-102) so sánh các đường sử dụng glyxyrhizin khác nhau, kết luận rằng đường mũi và đường trực tràng, đặc biệt là khi có mặt các muối của axit béo, như chất kích thích sự thấm qua đường khu trú, là tốt hơn so với đường miệng.

Tuy nhiên, các đường sử dụng này đôi khi gây cảm giác khó chịu cho bệnh nhân và trong trường hợp bất kỳ, không thích hợp trong trường hợp điều trị khu trú, bất kể bên trong hay bên ngoài, nếu cần.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Do đó, mục đích của sáng chế là làm gia tăng độ sinh khả dụng của glyxyrhizin, cụ thể là khi được sử dụng qua đường khu trú bên ngoài.

Mục đích nêu trên đạt được bằng chế phẩm chứa glyxyrhizin, axit hyaluronic hoặc muối hoặc dẫn xuất của nó, và chất tạo nhót được chọn từ polysacarit từ hạt cây me, PVP, các polyme carboxyvinyl, gôm xanthan, carboxymetylxenluloza (CMC), hydroxyetyl xenluloza (HEC), hydroxypropyl metylxenluloza (HPMC), mucopolysacarit, xenluloza và các este của chúng, các gôm tự nhiên và este của chúng, pectin, polyacrylat, và các hỗn hợp của nó.

Nhằm mục đích của sáng chế, thuật ngữ “glyxyrhizin” để chỉ axit glyxyrhizic, các muối của nó, tốt hơn nếu là các muối kali và amoni, các dạng thủy phân của chúng, tốt hơn nếu là axit glyxyrhetic, và các hỗn hợp của nó.

Theo khía cạnh khác, sáng chế mô tả việc sử dụng chế phẩm nêu trên để điều trị các bệnh về mắt.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến sản phẩm dùng cho mắt chứa chế phẩm nêu trên.

Theo khía cạnh khác, sáng chế mô tả việc sử dụng chế phẩm nêu trên trong việc điều trị khu trú đối với các bệnh về da, phụ khoa, tai-mũi-họng hoặc răng.

Theo khía cạnh khác nữa, sáng chế mô tả việc sử dụng chế phẩm nêu trên trong mỹ phẩm, cụ thể là làm chất làm mềm da trong các sản phẩm để sử dụng khu trú bên ngoài.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Các đặc điểm và ưu điểm của sáng chế sẽ trở nên rõ ràng trong phần mô tả chi tiết sau đây về các phương án được thể hiện bằng các ví dụ không làm giới hạn và được minh họa trong các hình vẽ kèm theo, trong đó:

Fig.1 thể hiện phổ ^1NMR của chế phẩm chứa GA 0,1% (hình a) và phổ ^1NMR của chế phẩm chứa GA 0,2% (hình b) so với phổ ^1NMR của GA ở trạng thái ổn định;

Fig.2 thể hiện kết quả so sánh giữa thời gian giãn T1 và T2 của phổ ^1NMR của các chế phẩm chứa GA 0,1% (hình a) và GA 0,2% (hình b), trong nước, và

Fig.3 thể hiện kết quả so sánh giữa thời gian giãn T1 và T2 của phổ ^1NMR của các chế phẩm chứa GA 0,1% (hình a) và GA 0,2% (hình b), trong chất đệm xitrat.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế đề cập đến chế phẩm chứa glyxyrhizin, axit hyaluronic hoặc muối hoặc dẫn xuất của nó, và chất tạo nhót được chọn từ polysacarit từ hạt cây me, PVP, các polyme carboxyvinyl, gồm xanthan, carboxymetyl xenluloza, hydroxyetyl xenluloza, hydroxypropyl metylxenluloza, mucopolysacarit, xenluloza và các este, các gom tự nhiên và este của chúng, pectin, polyacrylat, và các hỗn hợp của chúng.

Tốt hơn là glyxyrhizin có mặt với nồng độ tối đa 5,0% trọng lượng so với trọng lượng của chế phẩm.

Tốt hơn nữa nếu glyxyrhizin có mặt với nồng độ nằm trong khoảng từ 0,05 đến 3,0% trọng lượng so với trọng lượng của chế phẩm.

Thuật ngữ “muối của axit hyaluronic” để chỉ natri hyaluronat, kali hyaluronat,

sắt hyaluronat, canxi hyaluronat, magie hyaluronat, kẽm hyaluronat, coban hyaluronat, amoni hyaluronat, tetrabutylamoni hyaluronat, hoặc hỗn hợp của chúng.

Thuật ngữ “dẫn xuất của axit hyaluronic” để chỉ:

- các este của axit hyaluronic, trong đó một phần hoặc tất cả các nhóm carboxylic được este hóa bằng dây các rượu béo, thơm, aryl béo, vòng béo, dị vòng, như cũng được mô tả trong Bằng độc quyền sáng chế châu Âu số EP0216453B1,

- các este của axit hyaluronic tự tạo liên kết ngang, trong đó một phần hoặc tất cả các nhóm carboxylic được este hóa bằng các nhóm rượu từ chính chuỗi polysacarit hoặc các chuỗi khác, như cũng được mô tả trong Bằng độc quyền sáng chế châu Âu số EP0341745B1,

- các hợp chất axit hyaluronic được tạo liên kết ngang, trong đó một phần hoặc tất cả các nhóm carboxylic được este hóa bằng dây các rượu đa chức béo, thơm, aryl béo, vòng béo, hoặc dị vòng, tạo ra liên kết ngang bằng các chuỗi đệm, như cũng được mô tả trong Bằng độc quyền sáng chế châu Âu số EP0265116B1,

- các hemieste của axit succinic hoặc muối của kim loại nặng và axit succinic với axit hyaluronic hoặc với các este của axit hyaluronic một phần hoặc toàn phần, như cũng được mô tả trong Công bố đơn quốc tế số WO96/357207,

- các dẫn xuất O-sulfat hóa, như cũng được mô tả trong Công bố đơn quốc tế số WO95/25751, hoặc các dẫn xuất N-sulfat hóa, như cũng được mô tả trong Công bố đơn quốc tế số WO/1998/045335, và các hỗn hợp của nó.

Tốt hơn nếu trọng lượng phân tử trung bình khối lượng của axit hyaluronic nêu trên hoặc muối hoặc dẫn xuất của nó nằm trong khoảng từ 200 đến 1500 kDa, tốt hơn nữa là từ 600 đến 1000 kDa.

Tốt hơn nếu axit hyaluronic nêu trên hoặc muối hoặc dẫn xuất của nó có mặt với nồng độ tối đa 5,0% trọng lượng so với trọng lượng của chế phẩm.

Tốt hơn nữa nếu axit hyaluronic nêu trên hoặc muối hoặc dẫn xuất của nó có mặt với nồng độ nằm trong khoảng từ 0,01 đến 3,0% trọng lượng so với trọng lượng của chế phẩm.

Theo các phương án được ưu tiên, chế phẩm này chứa axit hyaluronic.

Theo các phương án được đặc biệt ưu tiên, axit hyaluronic có mặt với nồng độ nằm trong khoảng từ 0,1 đến 2,0% trọng lượng so với trọng lượng của chế phẩm.

Thuật ngữ "polysacarit từ hạt cây me" để chỉ gốc polysacarit có thể thu được từ

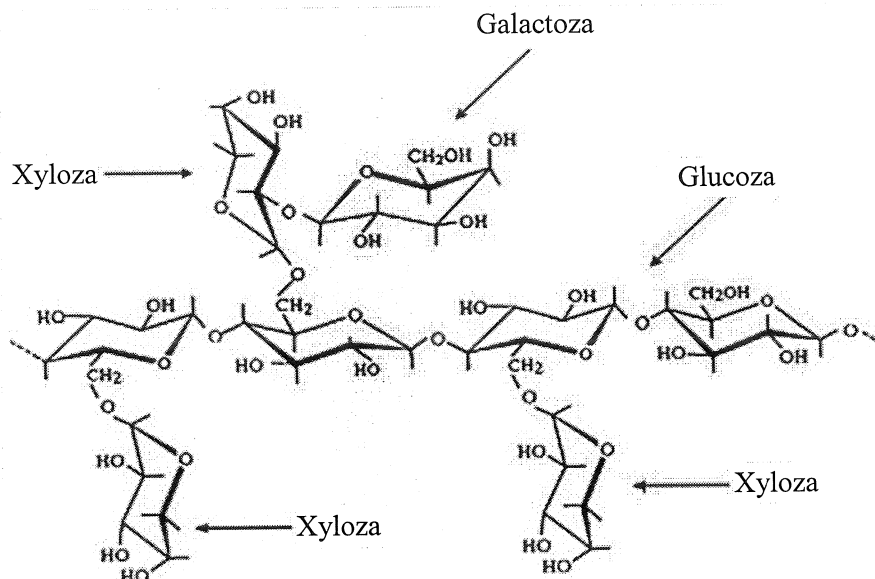
các hạt cây me *Tamarindus indica*, còn được gọi ngắn gọn sau đây là “TSP” (từ thuật ngữ tiếng Anh là "*Tamarindus indica Seed Polysaccharide*").

Đã biết rằng cây me rất phổ biến ở Ấn Độ, châu Phi, và khắp vùng Viễn Đông, ở đó nó được trồng chủ yếu để làm thực phẩm. Hạt me, ban đầu là sản phẩm phụ, đã được phát hiện sau đó là có nhiều công dụng khác nhau, đôi khi được nghiền thành sản phẩm bột (hiện nay được gọi là "gôm hạt me dạng thô hoặc “bột hạt me”), đặc biệt là trong ngành dệt và ngành giấy, mà ở đó nó được sử dụng tương ứng làm chất hồ cho sợi và làm chất dính, và trong ngành thực phẩm, nó được sử dụng làm chất làm đặc, chất gel hóa, chất ổn định và chất kết dính trong tất cả các loại sản phẩm, theo nhiều cách làm các sản phẩm polysaccharit khác, như alginat, pectin, gôm guar hoặc bột đậu locust. Gôm hạt me dạng thô (có bán trên thị trường, ví dụ, dưới dạng sản phẩm Glyloid® được sản xuất bởi công ty Dai-nippon Pharmaceutical Co. LTD, Osaka, Nhật Bản) thường chứa, ngoài polysaccharit với lượng nằm trong khoảng từ 65 đến 73% trọng lượng, protein với lượng nằm trong khoảng từ 15 đến 23%, dầu và chất béo với lượng nằm trong khoảng từ 3 đến 8% và tro với lượng nằm trong khoảng từ 2 đến 4%, cũng như lượng nhỏ chất xơ, tanin, và các tạp chất khác.

Một khía cạnh có lợi là ở chỗ các dung dịch TSP thích hợp để khử khuẩn bằng cách cho đi qua nồi hấp (ví dụ, trong 20 phút ở nhiệt độ 120°C) mà không bị thoái biến do nhiệt, không giống như trường hợp xảy ra, ví dụ, với axit hyaluronic. Khả năng khử khuẩn bằng chỉ một công đoạn trong nồi hấp làm cho chế phẩm trên cơ sở TSP đặc biệt thuận tiện theo quan điểm về khả năng sản xuất.

Ngoài ra, TSP có đặc tính tương tự muxin, bám dính niêm mạc, và bám dính sinh học đáng kể.

TSP là phân đoạn polysaccharit tan trong nước, trung tính, tinh khiết chứa phân tử polyme của galactoxyloglucan rất ưa nước và có đặc điểm cấu trúc phân nhánh: được gắn với mạch chính thẳng, được tạo ra từ các đơn vị lặp lại glucoza, là các đơn vị monosaccharit nhỏ của xyloza và các đơn vị disaccharit của xyloza-galactoza, trong trường hợp sau, galactoza nằm ở đầu của mạch bên. Ba monome này có mặt với tỷ lệ mol bằng 3:1:2 và chiếm khoảng 65% các thành phần của hạt:



Như có thể quan sát được trên đây, thuật ngữ cấu trúc phân tử “tương tự muxin” xác định đặc tính bám dính niêm mạc rất tốt của polysaccharit, có nguồn gốc từ sự tạo ra các liên kết với muxin nêu trên của các loại khác nhau.

TSP có thể được tách bằng các phương pháp hóa học và phương pháp enzym, bằng cách sử dụng proteaza hoặc tổ hợp của proteaza và siêu âm cường độ cao. Trong phương pháp hóa học, 20g bột hạt me được cho vào 200ml nước cất lạnh để tạo ra huyền phù, sau đó rót huyền phù này vào 800ml nước cất đun sôi. Dung dịch tạo thành được để sôi trong 20 phút và được khuấy liên tục; sau khi để yên một đêm, dung dịch nêu trên được ly tâm với tốc độ 5000 vòng/phút trong 20 phút. Dịch nổi bề mặt được tách ra và rót vào thể tích rượu tinh khiết với lượng gấp đôi lượng dịch nổi bề mặt nêu trên. Do đó, chất kết tủa thu được được rửa sau đó bằng etanol tinh khiết và làm khô trong không khí. Cuối cùng, polyme đã khô được nghiền nhỏ, rây, và bảo quản trong tủ sấy cho đến khi sử dụng. Trong phương pháp enzym, bột thu được từ các hạt me được trộn với etanol và sau đó được xử lý bằng proteaza; tiếp đó, bột nêu trên được ly tâm và etanol được bổ sung vào dịch nổi bề mặt để làm kết tủa. Cuối cùng, polyme được tách ra và làm khô.

Tốt hơn nếu trọng lượng phân tử trung bình khối lượng của TSP nằm trong khoảng từ 450 đến 750 kDa.

Tốt hơn nếu chất tạo nhót nêu trên có mặt với nồng độ tối đa 5,0% trọng lượng so với trọng lượng của chế phẩm.

Tốt hơn nữa nếu chất tạo nhót nêu trên có mặt với nồng độ nằm trong khoảng từ 0,01 đến 3,0% trọng lượng so với trọng lượng của chế phẩm.

Theo các phương án được ưu tiên, chất tạo nhót nêu trên là TSP, CMC, hoặc hỗn hợp của chúng, tốt hơn nữa là với nồng độ nằm trong khoảng từ 0,05 đến 2,0% trọng lượng so với trọng lượng của chế phẩm.

Theo các phương án được ưu tiên hơn, chất tạo nhót nêu trên chứa TSP, tốt hơn là với nồng độ nằm trong khoảng từ 0,05 đến 2,0% trọng lượng, so với trọng lượng của chế phẩm. Theo cách khác, chất tạo nhót nêu trên chứa hỗn hợp của TSP với một hoặc nhiều chất sau đây: PVP, các polyme carboxyvinyl, gồm xanthan, carboxymethylxenluloza, hydroxyetyl xenluloza, hydroxypropyl metylxenluloza, mucopolysacarit, xenluloza và các este của chúng, các gồm tự nhiên và este của chúng, pectin, và polyacrylat.

Đặc biệt được ưu tiên là các chế phẩm trong đó chất tạo nhót là TSP, tốt hơn là với nồng độ nằm trong khoảng từ 0,05 đến 2,0% trọng lượng, so với trọng lượng của chế phẩm. Tốt hơn nếu glyxyrhizin và axit hyaluronic hoặc muối hoặc dẫn xuất của nó có mặt với tỷ lệ trọng lượng nằm trong khoảng từ 1:1 đến 1:20, tốt hơn nữa là từ 1:1 đến 1:10.

Theo các phương án được ưu tiên, glyxyrhizin và axit hyaluronic hoặc muối hoặc dẫn xuất của nó có mặt với tỷ lệ trọng lượng nằm trong khoảng từ 1:1 đến 1:5.

Tốt hơn nếu glyxyrhizin và chất tạo nhót có mặt với tỷ lệ trọng lượng nằm trong khoảng từ 5:1 đến 1:15, tốt hơn nữa là từ 3:1 đến 1:10.

Theo các phương án được ưu tiên, glyxyrhizin và chất tạo nhót có mặt với tỷ lệ trọng lượng nằm trong khoảng từ 2:1 đến 1:5.

Tốt hơn nếu axit hyaluronic hoặc muối hoặc dẫn xuất của nó và chất tạo nhót có mặt với tỷ lệ trọng lượng nằm trong khoảng từ 1:2 đến 10:1, tốt hơn nữa là từ 1:1 đến 5:1.

Theo các phương án được ưu tiên, axit hyaluronic hoặc muối hoặc dẫn xuất của nó và chất tạo nhót có mặt với tỷ lệ trọng lượng nằm trong khoảng từ 1:1 đến 3:1.

Tốt hơn nếu chế phẩm của sáng chế có độ pH nằm trong khoảng từ 4 đến 7.

Tốt hơn nữa nếu chế phẩm của sáng chế có độ pH nằm trong khoảng từ 5,5 đến 6,5.

Theo các phương án được ưu tiên, chế phẩm của sáng chế chứa chất đệm để duy trì độ pH đã chọn.

Tốt hơn nếu chất đệm có mặt với nồng độ tối đa 5% trọng lượng so với trọng

lượng của chế phẩm.

Tốt hơn nữa nếu chất đệm có mặt với nồng độ nằm trong khoảng từ 2,0 đến 4,0% trọng lượng so với trọng lượng của chế phẩm.

Theo các phương án được đặc biệt ưu tiên, chất đệm có mặt với nồng độ nằm trong khoảng từ 1,5 đến 2,5% trọng lượng so với trọng lượng của chế phẩm.

Tốt hơn nếu chất đệm nêu trên được chọn từ axit xitric-natri xitrat, axit axetic-natri axetat, axit boric-natri borat, axit xitric-dinatri hydro phosphat (còn được gọi là ‘chất đệm McIlvaine’), axit xitric-monokali phosphat-axit boric-axit diethylbarbituric, TRIS-borat, và các hỗn hợp của chúng.

Theo các phương án được ưu tiên, chất đệm là axit xitric-natri xitrat.

Theo các phương án được đặc biệt ưu tiên, độ pH bằng khoảng 6 và chất đệm là axit xitric-natri xitrat.

Theo các phương án khác, chế phẩm của sáng chế có khả năng dẫn điện, khi được xác định ở nhiệt độ 25°C, nằm trong khoảng từ 0,1 đến 2,0 mS/cm, tốt hơn là từ 0,2 đến 1,5 mS/cm. Như được thể hiện trong các ví dụ sau đây, đã quan sát được rằng khả năng dẫn điện càng cao, tác dụng khử polyme hóa của hyaluronidaza càng cao, trong khi khả năng dẫn điện càng thấp, tác dụng khử polyme hóa của hyaluronidaza càng thấp. Điều này có nghĩa là tùy theo yêu cầu, khả năng dẫn điện có thể được điều chỉnh theo các giá trị gần bằng giới hạn dưới của khoảng giá trị đã nêu trên đây đối với các lĩnh vực như mỹ phẩm, sản phẩm thảo dược, thiết bị y tế hoặc dược phẩm, mà trong đó cần giới hạn liều dùng của sản phẩm, hoặc theo giá trị gần bằng giới hạn trên đối với các lĩnh vực trong đó việc sử dụng thường xuyên các dạng sản phẩm mỹ phẩm hoặc dược phẩm là cần thiết.

Khi chế phẩm của sáng chế chứa chất đệm, khả năng dẫn điện có thể được điều chỉnh bằng cách thay đổi tỷ lệ trọng lượng giữa hợp chất axit và hợp chất muối có mặt trong đó. Ví dụ, khi chất đệm là axit xitric-natri xitrat, tỷ lệ trọng lượng giữa axit xitric và natri xitrat được thay đổi: bằng cách tăng lượng axit xitric, khả năng dẫn điện bị giảm đi; bằng cách tăng lượng natri xitrat, khả năng dẫn điện được tăng lên.

Theo các phương án được ưu tiên khác của chế phẩm theo sáng chế, nước là dung môi duy nhất có mặt trong chế phẩm này.

Theo các phương án được ưu tiên khác, chế phẩm của sáng chế không chứa chất bảo quản hoặc chất tạo màu.

Các chế phẩm được ưu tiên có độ pH nằm trong khoảng từ 4 đến 7 và bao gồm:

- glyxyrhizin với lượng tối đa 5,0% trọng lượng,
 - axit hyaluronic hoặc muối hoặc dẫn xuất của nó với lượng tối đa 5,0% trọng lượng,
 - chất tạo nhót với lượng tối đa 5,0% trọng lượng, và
 - nước,
- so với trọng lượng của chế phẩm này.

Được ưu tiên hơn nữa là các chế phẩm có độ pH nằm trong khoảng từ 5,5 đến 6,5 và chứa:

- glyxyrhizin với lượng nằm trong khoảng từ 0,05 đến 3,0% trọng lượng,
 - axit hyaluronic hoặc muối hoặc dẫn xuất của nó với lượng nằm trong khoảng từ 0,01 đến 3,0% trọng lượng,
 - chất tạo nhót với lượng nằm trong khoảng từ 0,01 đến 3,0% trọng lượng,
 - chất đệm với lượng tối đa 5% trọng lượng, và
 - nước,
- so với trọng lượng của chế phẩm này.

Vẫn được ưu tiên hơn nữa là các chế phẩm có độ pH nằm trong khoảng từ 5,5 đến 6,5 và chứa:

- glyxyrhizin với lượng nằm trong khoảng từ 0,05 đến 3,0% trọng lượng,
 - axit hyaluronic với lượng nằm trong khoảng từ 0,01 đến 3,0% trọng lượng,
 - TSP, CMC, hoặc hỗn hợp của chúng với lượng nằm trong khoảng từ 0,01 đến 3,0% trọng lượng,
 - chất đệm axit xitric-natri xitrat với lượng nằm trong khoảng từ 2,0 đến 4,0% trọng lượng, và
 - nước,
- so với trọng lượng của chế phẩm này.

Đặc biệt được ưu tiên hơn nữa là các chế phẩm có độ pH nằm trong khoảng từ 5,5 đến 6,5 và chứa:

- glyxyrhizin với lượng nằm trong khoảng từ 0,05 đến 3,0% trọng lượng,
- axit hyaluronic với lượng nằm trong khoảng từ 0,01 đến 3,0% trọng lượng,
- TSP với lượng nằm trong khoảng từ 0,01 đến 3,0% trọng lượng,
- chất đệm axit xitric-natri xitrat với lượng nằm trong khoảng từ 2,0 đến 4,0%

trọng lượng, và

- nước,

so với trọng lượng của chế phẩm này.

Theo một số phương án, chế phẩm của sáng chế chủ yếu bao gồm glyxyrhizin, axit hyaluronic, hoặc muối hoặc dẫn xuất của nó, và chất tạo nhót được chọn từ polysacarit từ hạt cây me, PVP, các polyme carboxyvinyl, gồm xanthan, carboxymetylxenluloza, hydroxyetyl xenluloza, hydroxypropyl metylxenluloza, mucopolysacarit, xenluloza và các este, các gồm tự nhiên và este của chúng, pectin, polyacrylat, và các hỗn hợp của chúng. Cụm từ “chủ yếu bao gồm” để chỉ ba thành phần đã liệt kê trên đây là các thành phần hoạt tính duy nhất có mặt trong chế phẩm của sáng chế, trong khi các thành phần hoặc tá dược khác bất kỳ không làm ảnh hưởng đến tác dụng của chúng, trộn lẫn được với nước và tan trong nước.

Theo các phương án khác, chế phẩm của sáng chế gồm glyxyrhizin, axit hyaluronic hoặc muối hoặc dẫn xuất của nó, và chất tạo nhót được chọn từ polysacarit từ hạt cây me, PVP, các polyme carboxyvinyl, gồm xanthan, carboxymetylxenluloza, hydroxyetyl xenluloza, hydroxypropyl metylxenluloza, mucopolysacarit, xenluloza và các este, các gồm tự nhiên và este của chúng, các hợp chất pectin, polyacrylat, và các hỗn hợp của chúng.

Chế phẩm của sáng chế có thể được điều chế bằng cách sử dụng các phương pháp thông thường đã biết. Thật vậy, ví dụ, các thành phần này có thể được trộn lẫn với nhau như vậy hoặc với một hoặc nhiều tá dược, được cho thêm lần lượt trong khi khuấy.

Theo một số phương án, các chế phẩm của sáng chế được khử khuẩn trước khi sử dụng theo các phương pháp thông thường đã biết, ví dụ, được xử lý bằng tia gama. Theo khía cạnh khác, sáng chế mô tả việc sử dụng chế phẩm nêu trên để điều trị các bệnh về mắt.

Thuật ngữ “bệnh về mắt” để chỉ tình trạng viêm ảnh hưởng đến bề mặt của mắt, như hội chứng mắt khô, hội chứng Sjögren, bệnh viêm màng mạch nhỏ, bệnh viêm kết mạc, bệnh viêm giác mạc, bệnh viêm giác-kết mạc, bệnh viêm giác-kết mạc mùa xuân, bệnh loét giác mạc, bệnh viêm giác-kết mạc dị ứng, bệnh viêm kết mạc tạo sẹo, bệnh viêm bờ mi, bệnh viêm giác mạc, chứng hở mi, bệnh viêm nội nhãn, bệnh viêm thượng củng mạc và bệnh viêm củng mạc.

Theo khía cạnh khác nữa, sáng chế đề cập đến sản phẩm dùng cho mắt chứa chế phẩm nêu trên.

Sản phẩm dùng cho mắt nêu trên có thể là chất thay thế nước mắt, thuốc nhỏ mắt, hỗn dịch, thuốc xịt mắt, thuốc bột, khăn ướt, miếng dán khí dung, hoặc dạng kết hợp của chúng.

Theo các phương án được ưu tiên, sản phẩm dùng cho mắt nêu trên là sản phẩm thay thế nước mắt.

Như quan sát được trong các ví dụ được thể hiện dưới đây, chế phẩm của sáng chế có nhiều ưu điểm không chỉ theo quan điểm về vật lý-hóa học và lưu biến học mà nói chung, theo quan điểm về hiệu quả thu được từ tác dụng hiệp đồng của các thành phần của nó. Thật vậy, ưu điểm thứ nhất của chế phẩm theo sáng chế là làm tăng độ sinh khả dụng của glyxyrhizin, và ưu điểm thứ hai là sự có mặt đồng thời của glyxyrhizin và chất tạo nhót làm ức chế tác dụng của hyaluronidaza, enzym thường có mặt trên bề mặt của mắt và làm thoái biến axit hyaluronic, do đó làm tăng tác dụng kéo dài và hiệu quả của axit này, do đó làm giảm nhu cầu sử dụng sản phẩm lặp lại.

Theo các phương án được ưu tiên của sản phẩm dùng cho mắt chứa chế phẩm của sáng chế, chất tạo nhót là TSP, CMC hoặc hỗn hợp của chúng, tốt hơn nữa là với nồng độ nằm trong khoảng từ 0,05 đến 2,0% trọng lượng so với trọng lượng của chế phẩm.

Theo các phương án được ưu tiên hơn, chất tạo nhót nêu trên chứa TSP, tốt hơn là với nồng độ nằm trong khoảng từ 0,05 đến 2,0% trọng lượng so với trọng lượng của chế phẩm.

Theo cách khác, chất tạo nhót nêu trên chứa hỗn hợp của TSP với một hoặc nhiều chất sau đây: PVP, các polyme carboxyvinyl, gồm xanthan, carboxymetylxenluloza, hydroxyetyl xenluloza, hydroxypropyl metylxenluloza, mucopolysacarit, xenluloza và các este của chúng, các gồm tự nhiên và este của chúng, các hợp chất pectin, và polyacrylat.

Đặc biệt được ưu tiên là các chế phẩm trong đó chất tạo nhót nêu trên là TSP, tốt hơn là với nồng độ nằm trong khoảng từ 0,05 đến 2,0% trọng lượng so với trọng lượng của chế phẩm. Sản phẩm dùng cho mắt theo sáng chế cũng ở dạng liều đơn vị, có thể chứa thêm các tá dược chấp nhận được trong nhãn khoa. Thuật ngữ “tá dược chấp nhận được trong nhãn khoa” để chỉ hợp chất hoặc hỗn hợp thích hợp để sử dụng

trong chế phẩm dùng cho bề mặt bên ngoài của mắt. Ví dụ, tá dược thuộc loại này thường không gây ra phản ứng bất lợi cho người dùng cũng như không ức chế đáng kể tác dụng của các hoạt chất đối với bề mặt của mắt.

Các tá dược thích hợp là chất chống oxy hóa, chất gel hóa, chất chelat hóa, chất kết dính, chất làm trơn, chất làm đặc, chất điều chỉnh độ đẳng trương, chất tạo màng, và các hỗn hợp của chúng.

Theo đó, các chất chống oxy hóa thích hợp là natri metabisulfit, natri thiosulfat, axit ascorbic, natri ascorbat, glucoza, xystein, và các hỗn hợp của chúng.

Các chất chelat hóa thích hợp là EDTA và các muối mononatri, dinatri, và kali của chúng, axit dietylen triamin penta metylen phosphonic, axit hexametylen diamine tetrametyl phosphonic, axit etylen diamine tetrametyl phosphonic, amino trimetylen phosphonat và các hỗn hợp của chúng.

Tốt hơn nếu các chất chelat hóa là EDTA, các muối mononatri, dinatri, và kali của chúng, và các hỗn hợp của chúng.

Các chất điều chỉnh độ đẳng trương thích hợp là các muối vô cơ, như natri clorua, kali clorua, magie clorua, và canxi clorua, hoặc các hợp chất polyol hoặc đường, như glyxerol, propylen glycol, erythritol, manitol, sorbitol, và trehaloza, hoặc các axit amin, như carnitin và betain.

Theo khía cạnh khác, sáng chế mô tả việc sử dụng chế phẩm nêu trên trong việc điều trị khu khú đối với các bệnh về da, phụ khoa, tai-mũi-họng hoặc răng.

Theo khía cạnh khác nữa, sáng chế mô tả việc sử dụng chế phẩm nêu trên trong mỹ phẩm, cụ thể là làm chất làm mềm da trong các sản phẩm để sử dụng khu trú bên ngoài.

Glyxyrhizin có mặt trong chế phẩm của sáng chế có thể thực sự hữu ích trong các sản phẩm được dùng để điều trị và bảo vệ da mẫn cảm và nhạy cảm, do nó có tác dụng làm chất làm mềm da, ví dụ, trong các sản phẩm dùng cho trẻ em, sản phẩm nước xoa sau khi cạo râu và sản phẩm chống nắng, trong các sản phẩm dùng cho da bị viêm, ửng đỏ, hoặc dễ bị viêm da dị ứng hoặc viêm da tiết bã nhờn và kích ứng nói chung. Nó có tác dụng ngay cả với liều dùng nhỏ (nằm trong khoảng từ 0,5 đến 1%), ở mức liều dùng này, nó không có tác dụng phụ bất kỳ. Do đó, điều này khắc phục được nhược điểm của việc sử dụng chất chiết cam thảo trước đây chứa tỷ lệ % axit 18 β -glyxyrhetic thấp và chất này có thể làm cho sản phẩm cuối có màu tối trở nên kém hấp

dẫn.

Khi chế phẩm được hoặc mỹ phẩm cần được sử dụng qua đường khu trú bên ngoài hoặc bên trong, tốt hơn nếu chế phẩm nêu trên ở dạng dung dịch, nước xúc, nhũ tương, hỗn dịch, gel, thuốc mỡ, kem, bột nhão, dung dịch phun, miếng dán qua da, miếng dán dạng khí dung, dạng bột hoặc khăn ướt, trong đó tốt hơn nếu chế phẩm này là hỗn dịch hoặc được hòa tan trong một hoặc nhiều tá dược thích hợp.

Ví dụ về các tá dược thích hợp cho các dạng sử dụng này là dầu khoáng, parafin lỏng, vaselin trắng, propylen glycol, polyoxyetylen, polyoxypropylen, sáp nhũ hóa, rượu stearyl, rượu isostearyl, rượu xetylstearyl, axit stearic, glyxeryl stearat, natri lauryl sarcosinat, glyxerin, dietylen glycol monoetyl ete, polyetylen glycol, polyetylen glycol stearat, tinh bột, carbopol, carbome, metyl paraben, poloxame 407, macrogol 400, bentonit tinh khiết, propyl paraben, myristyl propionat, dimethicon, titan dioxit, chất hoạt động bề mặt anion, chất hoạt động bề mặt cation và chất hoạt động bề mặt không ion, nước, và các hỗn hợp của chúng.

Tốt hơn nếu chế phẩm được hoặc mỹ phẩm theo sáng chế được sử dụng qua đường khu trú bên ngoài.

Cũng cần hiểu rằng tất cả các tổ hợp của các khía cạnh được ưu tiên của các thành phần của chế phẩm, cũng như của các sản phẩm chứa chế phẩm này, phương pháp điều chế và sử dụng chúng, như được thể hiện trên đây, được cho là đã được bộc lộ và cũng được ưu tiên.

Cũng cần hiểu rằng tất cả các tổ hợp của các khía cạnh được ưu tiên của chế phẩm theo sáng chế, các quy trình điều chế và sử dụng đã được bộc lộ trên đây cần được hiểu như được mô tả ở đây.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các ví dụ thực hiện sáng chế sau đây được đưa ra nhằm mục đích minh họa.

Nguyên liệu

Hợp chất	Nhà sản xuất	Chữ viết tắt	Trạng thái vật lý
Axit hyaluronic	Altergon HD	HAS	Bột
Chất chiết từ quả me	Indena Group	TSP	Bột
Amoni glyxyrhizinat	Indena Group	GA hoặc Glyx.	Bột

Carboxymethylxenluloza	Ashland	CMC	Bột
Axit xitric monohidrat	Sigma Aldrich	Axit xitric	Bột
Natri xitrat dihydrat ba lần	Sigma Aldrich	Natri xitrat	Bột
Manitol	Sigma Aldrich	-	Bột
Nước đã khử ion bằng hệ thống khử ion Culligan	-	d-H ₂ O	Lỏng
Nước đoteri hóa có mức độ đoteri hóa 99,9%	Cortecnet	D ₂ O	Lỏng
Natri nitrat	Sigma Aldrich	NaNO ₃	Bột
Natri azit	Sigma Aldrich	NaN ₃	Bột
Hyaluronidaza của tinh hoàn bò loại I-S, số đơn vị enzym 400-1000 đơn vị/mg chất rắn	Sigma Aldrich	Hya	Bột

Điều chế chế phẩm chứa HAS, TSP, và GA

Các chế phẩm được điều chế trong d-H₂O và trong chất đệm xitrat với hàm lượng cuối (tính theo tỷ lệ % trọng lượng/thể tích) là HAS 0,4% và TSP 0,2%; trong khi đó GA được thêm vào với nồng độ khác nhau (0,05%, 0,1%, và 0,2% trọng lượng/thể tích).

Bước 1: hòa tan khoảng 400mg HAS trong 30ml d-H₂O trong bình có dung tích 100ml, sau đó khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 24 giờ để đảm bảo sự hòa tan hoàn toàn của nó.

Bước 2: cân các thành phần gồm chất đệm xitrat (2,8g manitol, 0,8g natri xitrat, 0,01g axit xitric) và hòa tan trong 30ml d-H₂O ở nhiệt độ trong phòng; sau đó, 200mg TSP được thêm vào trong khi khuấy từ, duy trì ở cùng nhiệt độ. Khi quá trình hòa tan kết thúc, dung dịch thu được từ Bước 2, Bước 1 được thêm vào. Đối với các chế phẩm trong H₂O, chỉ hòa tan 200mg TSP trong d-H₂O.

Bước 3: dung dịch gốc được điều chế với GA 2% trọng lượng/thể tích, bằng cách cân khoảng 400mg vào bình đáy tròn có dung tích 50ml, sau đó chất này được hòa tan trong 20ml d-H₂O ấm (50°C bằng bể dầu); khi dung dịch này đã được làm nguội, lấy các mẫu sau đây, sau đó cho các mẫu này vào dung dịch thu được từ Bước 2:

- 10ml đối với các chế phẩm chứa GA 0,2%;

- 5ml đối với các chế phẩm chứa GA 0,1%;
- 2,5ml đối với các chế phẩm chứa GA 0,05%.

Sau các lần cho thêm, các chế phẩm được tạo thể tích tối đa (100ml) trong d-H₂O và, khi kết thúc quá trình điều chế, xác định độ pH, thu được độ pH bằng khoảng 6,5 đối với các chế phẩm trong chất đệm xitrat và bằng khoảng 5 đối với các chế phẩm trong nước.

Ví dụ 1: chế phẩm chứa HAS, TSP và GA 0,1% trong chất đệm xitrat

Bước 1: cân 0,4003g HAS và hòa tan trong 30ml d-H₂O ở nhiệt độ trong phòng.

Bước 2: cân các thành phần của chất đệm xitrat (2,8003g manitol, 0,8002g natri xitrat, 0,0103g axit xitric) và hòa tan trong 30ml d-H₂O ở nhiệt độ trong phòng; sau đó 0,2004g TSP được thêm vào và khi hòa tan hoàn toàn, dung dịch thu được từ Bước 1 được thêm vào.

Bước 3: cân 0,4004g GA và hòa tan trong 20ml d-H₂O bằng cách gia nhiệt đến nhiệt độ 50°C bằng bể dầu.

Khi quá trình hòa tan kết thúc và sau khi để nguội dung dịch gốc, 5ml dung dịch thu được từ Bước 3 được cho thêm vào dung dịch thu được từ Bước 2.

Cuối cùng, dung dịch này được tạo thể tích tối đa (100ml) trong d-H₂O. Độ pH cuối = 6,97.

Ví dụ 2: chế phẩm chứa HAS, TSP và GA 0,1% trong nước

Bước 1: Cân 0,4005g HAS và hòa tan trong 30ml d-H₂O ở nhiệt độ trong phòng.

Bước 2: Cân 0,2002g TSP và hòa tan trong 30ml d-H₂O ở nhiệt độ trong phòng. Khi quá trình hòa tan kết thúc, dung dịch thu được từ Bước 1 được thêm vào.

Bước 3: Cân 0,4002g GA và hòa tan trong 20ml H₂O bằng cách gia nhiệt đến nhiệt độ 50°C bằng bể dầu.

Khi quá trình hòa tan kết thúc, và sau khi để nguội dung dịch gốc, 5ml dung dịch thu được từ Bước 3 được cho thêm vào dung dịch thu được từ Bước 2. Cuối cùng, dung dịch này được tạo thể tích tối đa (100ml) trong d-H₂O. Độ pH cuối = 5,70.

Phương pháp điều chế chế phẩm chứa HAS, CMC, và GA

Các chế phẩm được điều chế trong d-H₂O và trong chất đệm xitrat với hàm lượng cuối (tính theo tỷ lệ % trọng lượng/thể tích) là HAS 0,4% và CMC 0,2%; trong

khi đó GA được thêm vào với nồng độ khác nhau (0,05%, 0,1% và 0,2% trọng lượng/thể tích).

Bước 1: hòa tan khoảng 400mg HAS trong 30ml d-H₂O trong bình có dung tích 100ml, sau đó khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 24 giờ để đảm bảo sự hòa tan hoàn toàn của nó.

Bước 2: cân các thành phần của chất đệm xitrat (2,8g manitol, 0,8g natri xitrat, 0,01g axit xitric) và hòa tan trong d-H₂O; sau đó cho thêm 200mg CMC trong khi khuấy từ và ở nhiệt độ trong phòng. Khi quá trình hòa tan kết thúc, dung dịch thu được từ Bước 1 được cho thêm vào dung dịch thu được từ Bước 2. Đối với các chế phẩm trong H₂O, chỉ hòa tan 200mg CMC trong d-H₂O.

Bước 3: dung dịch gốc được điều chế với GA 2% trọng lượng/thể tích bằng cách cân khoảng 400mg vào bình đáy tròn có dung tích 50ml, sau đó chất này được hòa tan trong 20ml d-H₂O ấm (50°C bằng bể dầu); khi dung dịch đã được làm nguội, lấy các mẫu sau đây và sau đó bổ sung vào dung dịch thu được từ Bước 2:

- 10ml đối với các chế phẩm chứa GA 0,2%;
- 5ml đối với các chế phẩm chứa GA 0,1%;
- 2,5ml đối với các chế phẩm chứa GA 0,05%.

Sau các lần cho thêm, các chế phẩm được tạo thể tích tối đa (100ml) trong d-H₂O. Khi kết thúc quá trình điều chế, độ pH được xác định, thu được độ pH bằng khoảng 6,5 đối với các chế phẩm trong chất đệm xitrat và bằng khoảng 5 đối với các chế phẩm trong nước.

Ví dụ 3: chế phẩm chứa HAS, CMC và GA 0,1% trong chất đệm xitrat

Bước 1: cân 0,4007g HAS và hòa tan trong 30ml d-H₂O ở nhiệt độ trong phòng.

Bước 2: cân các thành phần của chất đệm xitrat (2,8001g manitol, 0,8008g natri xitrat, 0,0107g axit xitric) và hòa tan ở nhiệt độ trong phòng trong 30ml d-H₂O. Sau đó, 0,2004g CMC được cho thêm vào và khi quá trình hòa tan kết thúc, dung dịch thu được từ Bước 1 được thêm vào.

Bước 3: cân 0,4004g GA và hòa tan trong 20ml d-H₂O bằng cách gia nhiệt đến nhiệt độ 50°C bằng bể dầu.

Khi quá trình hòa tan kết thúc và sau khi để nguội dung dịch gốc, 5ml dung dịch thu được từ Bước 3 được cho thêm vào dung dịch thu được từ Bước 2. Cuối cùng, dung dịch này được tạo thể tích tối đa (100ml) trong d-H₂O. Độ pH cuối = 6,63.

Ví dụ 4: chế phẩm chứa HAS, CMC, và GA0,1% trong nước

Bước 1: cân 0,4006g HAS và hòa tan trong 30ml d-H₂O ở nhiệt độ trong phòng.

Bước 2: cân 0,2009g CMC và hòa tan trong 30ml d-H₂O ở nhiệt độ trong phòng. Khi quá trình hòa tan kết thúc, dung dịch thu được từ Bước 1 được thêm vào.

Bước 3: cân 0,4004g GA và hòa tan trong 20ml d-H₂O bằng cách gia nhiệt đến nhiệt độ 50°C bằng bể dầu.

Khi quá trình hòa tan kết thúc và sau khi để nguội dung dịch gốc, 5ml dung dịch thu được từ Bước 2 được cho thêm vào dung dịch thu được từ Bước 1. Cuối cùng, dung dịch này được tạo thể tích tối đa (100ml) trong d-H₂O. Độ pH cuối = 5,05.

Đánh giá sự thay đổi chất đệm

Các chế phẩm được điều chế trong đó nồng độ của natri xitrat được thay đổi, với hàm lượng cuối (tính theo tỷ lệ % trọng lượng/thể tích) là HAS 0,4% và TSP 0,2%; trong khi đó GA được thêm vào với nồng độ khác nhau (0,05%, 0,1%, và 0,2% trọng lượng/thể tích).

Bước 1: hòa tan khoảng 400mg HAS trong 30ml d-H₂O trong bình có dung tích 100ml, sau đó khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 24 giờ để đảm bảo sự hòa tan hoàn toàn của nó.

Bước 2: cân các thành phần của chất đệm xitrat (2,8g manitol, 0,2g natri xitrat, 0,01g axit xitric) và hòa tan trong d-H₂O; sau đó 200mg TSP được thêm vào trong khi khuấy từ và ở nhiệt độ trong phòng. Khi quá trình hòa tan kết thúc, dung dịch thu được từ Bước 2 được cho thêm vào dung dịch thu được từ Bước 1. Đối với các chế phẩm trong H₂O, chỉ 200mg TSP được hòa tan trong d-H₂O.

Bước 3: dung dịch gốc được điều chế với GA 2% trọng lượng/thể tích bằng cách cân khoảng 400mg vào bình đáy tròn có dung tích 50ml, sau đó chất này được hòa tan trong 20ml d-H₂O ấm (50°C bằng bể dầu); khi dung dịch đã được làm nguội, lấy các mẫu sau đây và sau đó cho các mẫu này vào dung dịch thu được từ Bước 2:

- 10ml đối với các chế phẩm chứa GA 0,2%;
- 5ml đối với các chế phẩm chứa GA 0,1%;
- 2,5ml đối với các chế phẩm chứa GA 0,05%.

Sau các lần cho thêm, các chế phẩm được tạo thể tích tối đa (100ml) trong d-H₂O. Khi kết thúc quá trình điều chế, độ pH được xác định, thu được độ pH bằng

khoảng 6,5 đối với các chế phẩm trong chất đệm xitrat và bằng khoảng 5 đối với các chế phẩm trong nước.

Ví dụ 5: chế phẩm chứa HAS, TSP và GA 0,1% trong chất đệm xitrat được cải biến

Bước 1: cân 0,4004g HAS và hòa tan trong 30ml d-H₂O ở nhiệt độ trong phòng.

Bước 2: cân các thành phần của chất đệm xitrat (2,8009g manitol, 0,2009g natri xitrat ba lần, 0,0108g axit xitric) và hòa tan trong 30ml d-H₂O ở nhiệt độ trong phòng. Sau đó, 0,2007g TSP được thêm vào và khi quá trình hòa tan kết thúc, dung dịch thu được từ Bước 1 được thêm vào.

Bước 3: cân 0,4004g GA và hòa tan trong 20ml d-H₂O bằng cách gia nhiệt đến nhiệt độ 50°C bằng bể dầu.

Khi quá trình hòa tan kết thúc, và sau khi để nguội dung dịch gốc, 5ml dung dịch thu được từ Bước 3 được cho thêm vào dung dịch thu được từ Bước 2. Cuối cùng, dung dịch này được tạo thể tích tối đa (100ml) trong d-H₂O. Độ pH cuối = 6,02.

Xác định tính chất

Phương pháp sắc ký loại trừ theo kích cỡ

Việc xác định tính chất của sự phân bố trọng lượng phân tử của HAS, TSP, GA, CMC, của các chế phẩm, và cuối cùng là của các sản phẩm phân giải bằng enzym, được thực hiện bằng phương pháp sắc ký loại trừ theo kích cỡ kết hợp với hệ thống đa thiết bị phát hiện trong các điều kiện sắc ký sau đây:

- Thiết bị: Hệ thống mniSEC (Malvern Panalytical Instruments, Vương Quốc Anh);
 - Thiết bị phát hiện: chỉ số khúc xạ, góc tán xạ ánh sáng (90° và 7°) và nhớt kế;
 - Cột: 2 cột TSKGMPWXL được bố trí nối tiếp (ID 7mm x L 30cm, cỡ hạt 13μm);
 - Pha động: NaNO₃ 0,1M + NaN₃ 0,05%;
 - Nhiệt độ: 40°C;
 - Tốc độ dòng: 0,6ml/phút;
 - Thể tích bơm mẫu: 100μl;
 - Khoảng thời gian tiến hành sắc ký: 60 phút;

Thu được số liệu và xử lý số liệu này bằng cách sử dụng phần mềm OmniSEC v 10.31 và thiết lập các giá trị dn/dc như sau: 0,155 đối với HAS, 0,164 đối với TSP, 0,16 đối với CMC và 0,159 đối với các chế phẩm.

Thiết bị được hiệu chỉnh bằng trọng lượng phân tử của chất chuẩn và mức độ đa phân tán và độ nhớt thực đã biết (PolyCAL-Pul57k, MalvernPanalytical Instruments, Vương Quốc Anh).

Chuẩn bị mẫu

Các mẫu HAS, TSP, và CMC được cân và hòa tan trong pha động với nồng độ tương ứng bằng khoảng 4 mg/ml, 2 mg/ml, và 2 mg/ml; trước khi bơm mẫu, khoảng 0,5 mg/ml được pha loãng trong pha động. Các chế phẩm và sản phẩm phân giải bằng enzyme được pha loãng trong pha động đến nồng độ cuối nằm trong khoảng từ 0,8 đến 0,6 mg/ml.

Khả năng dẫn điện, mức độ tán xạ ánh sáng động (dynamic light scattering: DLS), và điện thế zeta

Các phép đo kích thước (R_h , nm), và phép đo tải trọng bề mặt (điện thế zeta, Z_p , mV) của HAS, TSP, GA, CMC, và các chế phẩm được tiến hành với thiết bị Zetasizer (MalvernPanalytical) trong các điều kiện của thiết bị sau đây:

Các phép đo kích thước

- Chất dẫn thuốc: manitol 0,15 (Nhiệt độ: 25,0°C; RI 1,334; Độ nhớt: 0,9639 mPa·s) và manitol 0,015 (Nhiệt độ: 25,0°C; RI 1,330; Độ nhớt: 0,8975 mPa·s)
- Nhiệt độ: 25°C
- Chậu polystyren dùng một lần, với thể tích tối thiểu là 1ml
- Góc đo: tán xạ ngược 173°C (giá trị mặc định theo NIBS)
- Số lần đo: 5
- Phần mềm: phần mềm Zetasizer v 7.12

Kết quả đo điện thế zeta

- Chất dẫn thuốc: manitol 0,15 (Nhiệt độ: 25,0°C; RI 1,334; Độ nhớt: 0,9639 mPa·s; Hằng số điện môi: 78,5) và manitol 0,015 (Nhiệt độ: 25,0°C; RI 1,330; Độ nhớt: 0,8975 mPa·s; Hằng số điện môi: 78,5)
- Model của thiết bị đo: Smoluchowski (giá trị $F(ka)$: 1,50)
- Nhiệt độ: 25°C
- Chậu dùng một lần để xác định điện thế zeta, thích hợp với phương pháp màng ngăn khuếch tán và với thiết bị chuẩn độ tự động MPT-2

- Số lần đo: 5
- Phần mềm: phần mềm Zetasizer 7.12

Chuẩn bị mẫu

Các chế phẩm được phân tích ở trạng thái ổn định và được pha loãng theo tỷ lệ 1:10 trong nước đã khử ion. Các mẫu HAS, TSP, và CMC được cân và hòa tan trong chất đệm xitrat, thu được nồng độ khoảng 4mg/ml, 2mg/ml, và 2mg/ml, và khuấy trong 2 giờ để phân tích các chế phẩm ở trạng thái ổn định và sau đó các chế phẩm được pha loãng theo tỷ lệ 1:10 trong H₂O.

Phương pháp cộng hưởng từ hạt nhân (nuclear magnetic resonance: NMR)

¹H-NMR

Phổ ¹H-NMR của dung dịch được xác định bằng phổ kế Avance, vận hành ở tần số 500 MHz (¹H) và được trang bị đầu dò Cryo 5mm TCI, trong các điều kiện sau đây:

- Trình tự xung: zgcprr
- Nhiệt độ: 300°K (26,85°C)
- Số lần quét: 16
- Thời gian của chu trình lặp (D1): 12 giây
- Góc xung (P1): 90°C
- Dung môi: D₂O
- Thiết bị tự động Abs
- Tham chiếu thiết bị: TSP được hiệu chỉnh đến 0 ppm
- Kích thước để chuyển dạng Fourier: 132 K
- Phần mềm xử lý: Bruker TOPSPIN 4.02

Tất cả các phổ được xử lý bằng hàm số EM (hàm mũ) và với LB 0,3 Hz để trừ đi mức nhiễu nền.

T1-NMR

Phổ ¹H-NMR để tính toán thời gian T1 được ghi bằng phổ kế vận hành ở tần số 500 MHz (¹H) trong các điều kiện sau:

- Trình tự xung: cpmg (Carr-Purcell-Meiboom-Gill)
- Nhiệt độ: 300°K (26,85°C)
- Số lần quét: 20
- Thời gian của chu trình lặp (D1): 30 giây
- Thời gian tín hiệu dội (D₂0): 2 mili giây

- Các góc xung (P1): 90° và 180°
 - Dung môi: D_2O
 - Tham chiếu thiết bị: TSP được hiệu chỉnh đến 0 ppm
- Để xử lý lại số liệu, Bruker TOPSPIN 4.02 được sử dụng làm phần mềm, với quy trình tính toán T1T2 hoặc với tâm động học.

T2-NMR

Phổ 1H -NMR để tính toán thời gian T2 được ghi bằng phổ kế vận hành ở tần số 500 MHz (1H) được trang bị đầu dò Cryo TCI 5mm và với phổ kế vận hành ở tần số 500 MHz (1H) trong các điều kiện sau:

- Trình tự xung: T1IR
- Nhiệt độ: $300^\circ K$ ($26,85^\circ C$)
- Số lần quét: 10
- Thời gian của chu trình lặp (D1): 30 giây
- Góc xung (P1): 180°
- Dung môi: D_2O
- Tham chiếu thiết bị: TSP được hiệu chỉnh đến 0 ppm

Để xử lý lại số liệu, Bruker TOPSPIN 4.02 được sử dụng làm phần mềm, với quy trình tính toán T1T2 hoặc với tâm động học.

Chuẩn bị mẫu cho phổ 1H , T1 và T2

Cân 4mg (HAS) và 2mg (TSP và CMC) và hòa tan trong 1ml D_2O hoặc trong 1ml chất đệm xitrat; sau đó, mẫu được đông khô nhanh và hòa tan một lần nữa trong 1ml D_2O . Tiếp đó, dung dịch gốc GA 4 mg/ml được điều chế và được pha loãng trong cả D_2O và trong chất đệm, thu được nồng độ 2 mg/ml, 1 mg/ml, và 0,5 mg/ml. Để chuẩn bị mẫu của các chế phẩm, mỗi mẫu lấy 1ml, sau đó làm đông khô nhanh và hòa tan trong 1ml D_2O .

Cuối cùng, mỗi mẫu lấy 0,6ml, sau đó chuyển vào ống NMR 5mm.

Kết quả

Phương pháp sắc ký loại trừ theo kích cỡ

Mẫu	Mw (kDa)	Mn (kDa)	Mw/Mn	[h] (dl/g)	Rh (nm)
HAS	~ 750	~ 600	~ 1,3	~ 14	~ 55
TSP	~ 700	~ 500	~ 1,5	~ 6	~ 40

CMC	~ 220	~ 62	~ 3,6	~ 6	~ 25
HAS + TSP	~ 730	~ 500	~ 1,5	~ 12	~ 50
HAS + CMC	~ 600	~ 190	~ 3,0	~ 12	~ 46
HAS + TSP + GA 0,05%	~ 700	~ 490	~ 1,5	~ 12	~ 50
HAS + TSP + GA 0,1%	~ 700	~ 500	~ 1,5	~ 12	~ 50
HAS + TSP + GA 0,2%	~ 750	~ 500	~ 1,5	~ 12	~ 50
HAS + CMC + GA 0,1%	~ 570	~ 190	~ 3,0	~ 12	~ 44

Như có thể quan sát được từ các số liệu phổ đã thể hiện trên đây, sự có mặt của GA với nồng độ được sử dụng trong thử nghiệm không làm thay đổi các tính chất hóa lý học như trọng lượng phân tử và độ nhớt của phức chất HAS + TSP hoặc phức chất HAS + CMC.

Mức độ tán xạ ánh sáng động (DLS) và điện thế zeta

Mẫu	Z-trung bình (nm)	Zp (mV)
HAS	51	-32
TSP	46	-5
HAS + TSP	50	-16
HAS + CMC		
HAS + TSP + GA 0,05%	52	-18
HAS + TSP + GA 0,1%	43	-21
HAS + TSP + GA 0,2%	41	-22

Từ các số liệu được thể hiện trên đây, có thể thấy rằng sự có mặt của GA làm thay đổi đáng kể cấu dạng của chất nền polyme so với các chế phẩm chỉ chứa HAS và TSP: khi nồng độ của GA tăng lên, cả bán kính thủy động và tải trọng bề mặt đều giảm đi.

Phương pháp cộng hưởng từ hạt nhân (NMR)

Kết quả ^1H NMR

Đã quan sát được rằng với nồng độ cao hơn 0,05%, GA có phổ thích hợp với gel hơn là với dung dịch.

Với sự có mặt của HAS (0,4%) và TSP (0,2%), profin NMR của GA thay đổi,

điều này gợi ý rằng hai polysacarit tạo ra hệ phân tán của nó dễ hơn, đặc biệt là trong nước, và tốt hơn là với nồng độ cao hơn 0,05%.

NMR cũng đã được chứng minh là phương pháp phân tích tốt để xác định tính chất và định lượng sản phẩm. Thật vậy, như có thể thấy trên Fig.1, có thể quan sát được sự mở rộng của tín hiệu GA khi thay đổi nồng độ từ 0,1% (hình a) đến 0,2% (hình b), điều này được cho là do độ tan và mức độ hòa tan của phân tử trong dung dịch tốt hơn khi có mặt HAS và TSP.

Các kết quả T1 và T2

Theo Fig.2 và Fig.3, với sự có mặt của HAS (0,4%) và TSP (0,2%), đã quan sát được rằng:

1) Giá trị T2 trung bình của tín hiệu GA tăng lên trong cả nước và chất đệm xitrat, khi cho thêm chỉ HAS hoặc chỉ TSP, thu được các giá trị lớn hơn đối với hỗn hợp HAS + TSP. Sự tăng lên này được cho là do tính linh động của phân tử GA lớn hơn và khả năng phân tán trong dung dịch tốt hơn khi có mặt HAS+TSP.

2) Trong nước (Fig.2), giá trị T2 lớn hơn giá trị T1 cho thấy sự thích hợp với đặc tính của gel là cao hơn so với chất lỏng.

3) Trong nước (Fig.2), giá trị T1 trung bình của tín hiệu GA trong các dạng sản phẩm chứa HAS+TSP+GA là nhỏ hơn so với GA ở trạng thái ổn định. Kết quả này khẳng định đặc tính thích hợp với tốc độ di chuyển của chất rắn/gel hơn là dạng dung dịch.

4) Trong chất đệm xitrat (Fig.3), các giá trị T1 và T2 trung bình của các tín hiệu GA là tương đương, trong các dạng sản phẩm khác nhau, với GA ở trạng thái ổn định.

5) Giá trị của T2 trong chất đệm (Fig.3) là cao hơn giá trị của T2 trong nước (Fig.2) cho thấy khả năng phân tán của các phân tử GA là tốt hơn khi thay đổi lực ion.

6) Trong chất đệm (Fig.3), phát hiện được sự khác biệt trong nước (Fig.2) là ít hơn đáng kể.

Phương pháp phân giải bằng enzym

Các thử nghiệm phân giải bằng enzym được thực hiện đối với các chế phẩm trong cả d-H₂O và chất đệm xitrat, được điều chế theo các phương pháp đã mô tả trên đây.

Cân 20mg Hya và hòa tan trong 2ml nước ở nhiệt độ trong phòng; sau đó, lấy 0,1ml dung dịch này và cho vào 50ml mẫu chế phẩm (tỷ lệ HAS/Hya theo trọng lượng

là 10/0,1). Quá trình phân giải được tiến hành ở nhiệt độ 38°C trong khoảng thời gian 24 giờ, theo dõi sự giảm trọng lượng phân tử bằng cách lấy 1ml mẫu ở thời điểm 15 và 30 phút, tiếp đó lấy mẫu mỗi giờ trong 6 giờ đầu tiên và lấy mẫu một lần ở thời điểm sau 24 giờ). Sau mỗi lần lấy mẫu, enzym bị làm biến chất, để dung dịch mẫu ở nhiệt độ 100°C trong khi khuấy trong 5 phút và sau đó được lọc để loại bỏ chất kết tủa enzym (bộ lọc: bộ lọc kiểu bơm tiêm LLG, cỡ lỗ CA 0,20µm, Ø 13mm).

Tính tỷ lệ % giảm trọng lượng phân tử theo thời gian:

$$\frac{Mw_{t0} - Mw_{tn}}{Mw_{t0}} \times 100$$

Kết quả

Sự phân giải của HAS

Thời gian (giờ)	HAS trong H ₂ O	HAS trong chất đệm xitrat
0,25	6%	72%
0,5	6%	87%
1	9%	-
2	9%	96%
3	11%	-
4	11%	97%
5	-	97%
6	-	-
22	86%	99%

Sự phân giải của HAS+TPS

Thời gian (giờ)	HAS+TSP trong H ₂ O	HAS+TSP trong chất đệm xitrat
0,25	5%	1%
0,5	-	26%
1	8%	61%
2	6%	66%
3	9%	66%
4	8%	67%
5	11%	68%
6	17%	68%
22	69%	98%

Sự phân giải của HAS+TPS+GA 0,1%

Thời gian (giờ)	HAS+TSP+GA 0,1% trong H ₂ O	HAS+TSP+GA 0,1% trong chất đệm xitrat
0,25	4%	39%
0,5	4%	60%
1	4%	65%
2	4%	66%
3	3%	67%
4	-	68%
5	4%	-
6	2%	-
22	4%	98%

Sự phân giải của HAS+TPS+GA 0,2%

Thời gian (giờ)	HAS+TSP+GA 0,2% trong H ₂ O	HAS+TSP+GA 0,2% trong chất đệm xitrat
0,25	5%	7%
0,5	5%	25%
1	-	53%
2	5%	61%

3	5%	63%
4	5%	65%
5	-	66%
6	5%	-
22	5%	-

Dựa vào các kết quả được thể hiện trên đây, quan sát được mức độ giảm theo tỷ lệ % của các chế phẩm khác nhau được so sánh dưới đây:

- trong H₂O

Thời gian (giờ)	HAS	HAS+TSP	HAS+TSP+GA 0,1%	HAS+TSP+GA 0,2%
0,25	6%	5%	4%	5%
0,5	6%	-	4%	5%
1	9%	8%	4%	-
2	9%	6%	4%	5%
3	11%	9%	3%	5%
4	11%	8%	-	5%
5	-	11%	-	-
6	-	17%	4%	5%
7	-	-	2%	5%
22	86%	69%	4%	4%

- trong chất đệm xitrat

Thời gian (giờ)	HAS	HAS+TSP	HAS+TSP+GA 0,1%	HAS+TSP+GA 0,2%
0,25	72%	1%	39%	7%
0,5	87%	26%	60%	25%
1	-	61%	65%	53%
2	96%	66%	66%	61%
3	-	66%	67%	63%
4	97%	67%	68%	65%
5	97%	68%	-	66%
6	-	68%	-	-
7	-	-	-	-
22	99%	98%	98%	97%

Sự phân giải của HAS+CMC

Thời gian (giờ)	HAS+CMC trong H ₂ O	HAS+CMC trong chất đậm xitrat
0,25	4%	32%
0,5	-	63%
1	4%	77%
2	4%	81%
3	7%	82%
4	6%	83%
5	-	84%
6	10%	83%
22	12%	98%

Sự phân giải của HAS+CMC+GA 0,1%

Thời gian (giờ)	HAS+CMC+GA 0,1% trong H ₂ O	HAS+CMC+GA 0,1% trong chất đậm xitrat
0,25	4%	5%
0,5	5%	42%
1	4%	73%
2	5%	80%
3	6%	82%
4	6%	83%
5	5%	83%
6	7%	83%
22	6%	98%

Dựa vào các kết quả được thể hiện trên đây, mức giảm theo tỷ lệ % quan sát được đối với các chế phẩm khác nhau được so sánh dưới đây:

- trong H₂O

Thời gian (giờ)	HAS	HAS+CMC	HAS+CMC+GA 0,1%
0,25	6%	4%	4%
0,5	6%	-	5%
1	9%	4%	4%

2	9%	4%	5%
3	11%	7%	6%
4	11%	6%	6%
5	-	-	5%
6	-	10%	7%
7	86%	12%	6%
22	6%	4%	4%

- trong chất đậm xitrat

Thời gian (giờ)	HAS	HAS+TSP	HAS+CMC+GA 0,1%
0,25	72%	32%	5%
0,5	87%	63%	42%
1	-	77%	73%
2	96%	81%	80%
3	-	82%	82%
4	97%	83%	83%
5	97%	84%	83%
6	-	83%	83%
7	99%	98%	98%
22	72%	32%	5%

Sự phân giải của HAS trong chất đậm xitrat được cải biến

Thời gian (giờ)	HAS trong chất đậm xitrat	HAS trong chất đậm xitrat được cải biến
0,25	72%	1%
0,5	87%	4%
1	-	16%
2	96%	32%
3	-	43%
4	97%	54%
5	97%	62%
6	-	69%
22	99%	97%

Sự phân giải của HAS+TPS trong chất đệm xitrat được cải biến

Thời gian (giờ)	HAS+TSP trong chất đệm xitrat	HAS+TSP trong chất đệm xitrat được cải biến
0,25	1 %	1 %
0,5	26 %	2 %
1	61 %	5 %
2	66 %	9 %
3	66 %	15 %
4	67 %	21 %
5	68 %	27 %
6	68 %	32 %
22	98 %	57 %

Sự phân giải của HAS+TPS+GA 0,1% trong chất đệm xitrat được cải biến

Thời gian (giờ)	HAS+TSP+GA 0,1% trong chất đệm xitrat	HAS+TSP+GA 0,1% trong chất đệm xitrat được cải biến
0,25	39 %	1 %
0,5	60 %	2 %
1	65 %	5 %
2	66 %	9 %
3	67 %	15 %
4	68 %	21 %
5	-	27 %
6	-	32 %
22	98 %	57 %

Từ các số liệu được thể hiện trên đây, đã quan sát được rằng sự thay đổi nồng độ của chất đệm xitrat có tác dụng làm giảm đáng kể mức độ khử polyme hóa của HAS; cụ thể, trong sản phẩm chứa HAS + TSP + GA 0,1%, sau 22 giờ, sự giảm trọng lượng phân tử chỉ bằng 57%.

Sau đó, các thử nghiệm được tiến hành với các chất đệm khác nhau để đánh giá mức độ tác động đối với chế phẩm của sáng chế.

Các chất đệm sau đây được điều chế và sử dụng:

Chất đệm 1: manitol 2,8%, natri xitrat 0,8%, axit xitric 0,01%

Chất đệm 2: manitol 2,8%, natri xitrat 0,2%, axit xitric 0,01%

Chất đệm 3: manitol 2,8%, natri xitrat 0,2%, axit xitric 0,0025%

Chất đệm 4: manitol 2,8%, natri xitrat 0,4%, axit xitric 0,005%

Chất đệm 5: manitol 2,8%, natri xitrat 0,266 %, axit xitric 0,0033%

Chất đệm	độ pH	Khả năng dẫn điện ở trạng thái ổn định (mS/cm)	Khả năng dẫn điện sau khi pha loãng theo tỷ lệ 1:10 trong nước (mS/cm)
1	6,996	5,99	0,91
2	6,641	2,04	0,24
3	7,09	2,12	0,25
4	7,09	4,17	0,47
5	7,06	2,79	0,32

Sau đó, các chế phẩm chứa HAS, TSP, GA được điều chế với các chất đệm khác nhau đã nêu trên đây.

Kết quả của các thử nghiệm này được thể hiện trong bảng dưới đây:

	Kích thước	Zp	Khả năng dẫn điện (mS/cm)
Chất đệm 1			0,91
+ HAS	51	-32	1,02
+ HAS+ TSP	50	-16	1,13
+ HAS + TSP + GA 0,05%	52	-18	1,13
+ HAS + TSP + GA 0,1%	43	-21	1,36
+ HAS + TSP + GA 0,2%	41	-22	1,33
Chất đệm 2			0,24
+ HAS	ND	-39	0,352
+ HAS+TSP	67	-21	0,357
+ HAS + TSP + GA 0,05%	66	-26	0,318
+ HAS + TSP + GA 0,1%	70	-23	0,418

+ HAS + TSP + GA 0,2%	68	-28	0,350
Chất đệm 3			0,25
+ HAS + TSP + GA 0,1%	68	-30	0,318
+ HAS + TSP + GA 0,2%	56	-40	0,314
Chất đệm 4			0,47
+ HAS + TSP + GA 0,1%	55	-20	0,594
+ HAS + TSP + GA 0,2%	45	-25	0,575
Chất đệm 5			0,32
+ HAS + TSP + GA 0,1%	40	-23	0,336
+ HAS + TSP + GA 0,2%	48	-26	0,606

Đã quan sát được rằng khả năng dẫn điện tăng lên khi có mặt polysacarit và GA nói chung, ngoại trừ khi nó có mặt với lượng 0,2%, làm giảm khả năng này. Khi giảm lượng natri axetat, khả năng dẫn điện giảm đi trong khi không quan sát được hiệu quả đối với axit xitric.

Các chế phẩm chứa HAS+TSP+GA 0,2% được thử nghiệm thêm để đánh giá xu hướng của trọng lượng phân tử trung bình theo thời gian khi có mặt các chất đệm khác nhau:

	HAS+TSP+GA 0,2%				
t (giờ)	+H ₂ O	+Chất đệm 1	+Chất đệm 2	+Chất đệm 4	+Chất đệm 5
	Tỷ lệ giảm (%)				
0,25	5	7	1	5	2
0,5	5	25		1	4
1		53	3	25	9
2	5	61	6	49	19
3	5	63	6	57	28
4	5	65	8	62	35
5		66	7	63	39
6	5		8	63	40
22	4	97	16	67	47

Từ các số liệu đã nêu trên đây, quan sát được rằng sự có mặt của GA và TSP làm giảm mức độ khử polyme hóa của HAS bằng hyaluronidaza trong khoảng thời gian 6 giờ phân giải đầu tiên trong chất đệm xitrat; tuy nhiên, sau 22 giờ, quá trình khử polyme hóa kết thúc.

Hiệu quả kết hợp của GA và TSP trong các dạng sản phẩm trong nước, trong khi đó tác dụng của hyaluronidaza gần như được bảo vệ hoàn toàn, do không quan sát thấy sự giảm trọng lượng phân tử của HAS.

Do đó, tùy theo nhu cầu, có thể điều chỉnh cả độ pH và lực ion, và sự có mặt hoặc không có mặt của chất đệm, để từ đó điều chỉnh độ sinh khả dụng của GA, ngoài tác dụng của hyaluronidaza đối với HAS.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Chế phẩm chủ yếu bao gồm glyxyrhizin, axit hyaluronic hoặc muối hoặc dẫn xuất của nó, và chất tạo nhót được chọn từ polysacarit từ hạt cây me, polyvinylpyrrolidon, các polyme carboxyvinyl, gồm xanthan, carboxymetylxenluloza, hydroxyetyl xenluloza, hydroxypropyl metylxenluloza, mucopolysacarit, xenluloza và các este, các gồm tự nhiên và este của chúng, pectin, polyacrylat, và các hỗn hợp của chúng, trong đó dẫn xuất của axit hyaluronic nêu trên được chọn từ các este của axit hyaluronic, các este của axit hyaluronic tự tạo liên kết ngang, các hemieste của axit succinic hoặc muối của kim loại nặng và axit succinic với axit hyaluronic hoặc với các este của axit hyaluronic một phần hoặc toàn phần, axit hyaluronic O-sulfat hóa, axit hyaluronic N-sulfat hóa và các hỗn hợp của chúng.

2. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó glyxyrhizin nêu trên có mặt với nồng độ tối đa 5,0% trọng lượng so với trọng lượng của chế phẩm.

3. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó axit hyaluronic nêu trên hoặc muối hoặc dẫn xuất của nó có mặt với nồng độ tối đa 5,0% trọng lượng so với trọng lượng của chế phẩm.

4. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó chất tạo nhót nêu trên có mặt với nồng độ tối đa 5,0% trọng lượng so với trọng lượng của chế phẩm.

5. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó chất tạo nhót nêu trên là polysacarit từ hạt cây me, carboxymetylxenluloza, hoặc hỗn hợp của chúng, với nồng độ nằm trong khoảng từ 0,05 đến 2,0% trọng lượng so với trọng lượng của chế phẩm.

6. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó glyxyrhizin và axit hyaluronic hoặc muối hoặc dẫn xuất của nó có mặt với tỷ lệ trọng lượng nằm trong khoảng từ 1:1 đến 1:20.

7. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó glyxyrhizin và chất tạo nhót có mặt với tỷ lệ trọng lượng nằm trong khoảng từ 5:1 đến 1:15.

8. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó axit hyaluronic hoặc muối hoặc dẫn xuất của nó và chất tạo nhót có mặt với tỷ lệ trọng lượng nằm trong khoảng từ 1:2 đến 10:1.

9. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó chế phẩm này có độ pH nằm trong khoảng từ 4 đến 7.

10. Chế phẩm chủ yếu bao gồm

glyxyrhizin,

axit hyaluronic hoặc muối hoặc dẫn xuất của nó,

chất tạo nhót được chọn từ polysacarit từ hạt cây me, polyvinylpyrrolidon, các polyme carboxyvinyl, gồm xanthan, carboxymethylxenluloza, hydroxyetyl xenluloza, hydroxypropyl metylxenluloza, mucopolysacarit, xenluloza và các este, các gồm tự nhiên và este của chúng, pectin, polyacrylat, và các hỗn hợp của chúng, trong đó dẫn xuất của axit hyaluronic nêu trên được chọn từ các este của axit hyaluronic, các este của axit hyaluronic tự tạo liên kết ngang, các hemieste của axit succinic hoặc muối của kim loại nặng và axit succinic với axit hyaluronic hoặc với các este của axit hyaluronic một phần hoặc toàn phần, axit hyaluronic O-sulfat hóa, axit hyaluronic N-sulfat hóa và các hỗn hợp của chúng, và

chất đệm, chất đệm này được chọn từ axit xitric-natri xitrat, axit axetic-natri axetat, axit boric-natri borat, axit xitric-dinatri hydro phosphat, axit xitric-monokali phosphat-axit boric-axit diethylbarbituric, TRIS-borat, và các hỗn hợp của chúng.

11. Sản phẩm dùng cho mắt chủ yếu bao gồm

glyxyrhizin,

axit hyaluronic hoặc muối hoặc dẫn xuất của nó,

chất tạo nhót được chọn từ polysacarit từ hạt cây me, polyvinylpyrrolidon, các polyme carboxyvinyl, gồm xanthan, carboxymethylxenluloza, hydroxyetyl xenluloza, hydroxypropyl metylxenluloza, mucopolysacarit, xenluloza và các este, các gồm tự nhiên và este của chúng, pectin, polyacrylat, và các hỗn hợp của chúng, trong đó dẫn xuất của axit hyaluronic được chọn từ các este của axit hyaluronic, các este của axit hyaluronic tự tạo liên kết ngang, các hemieste của axit succinic hoặc muối của kim loại nặng và axit succinic với axit hyaluronic hoặc với các este của axit hyaluronic một

phần hoặc toàn phần, axit hyaluronic O-sulfat hóa, axit hyaluronic N-sulfat hóa và các hỗn hợp của chúng, và

các tá dược chấp nhận được trong nhãn khoa.

12. Sản phẩm dùng cho mắt theo điểm 11, trong đó sản phẩm này là chất thay thế nước mắt, thuốc nhỏ mắt, hỗn dịch, thuốc xịt mắt, thuốc bột, khăn ướt, miếng dán, hoặc dạng kết hợp của chúng.

13. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó glyxyrhizin nêu trên có mặt với nồng độ nằm trong khoảng từ 0,05 đến 3,0% trọng lượng so với trọng lượng của chế phẩm.

14. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó axit hyaluronic nêu trên hoặc muối hoặc dẫn xuất của nó có mặt với nồng độ nằm trong khoảng từ 0,01 đến 3,0% trọng lượng so với trọng lượng của chế phẩm.

15. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó chất tạo nhót nêu trên có mặt với nồng độ nằm trong khoảng từ 0,01 đến 3,0% trọng lượng so với trọng lượng của chế phẩm.

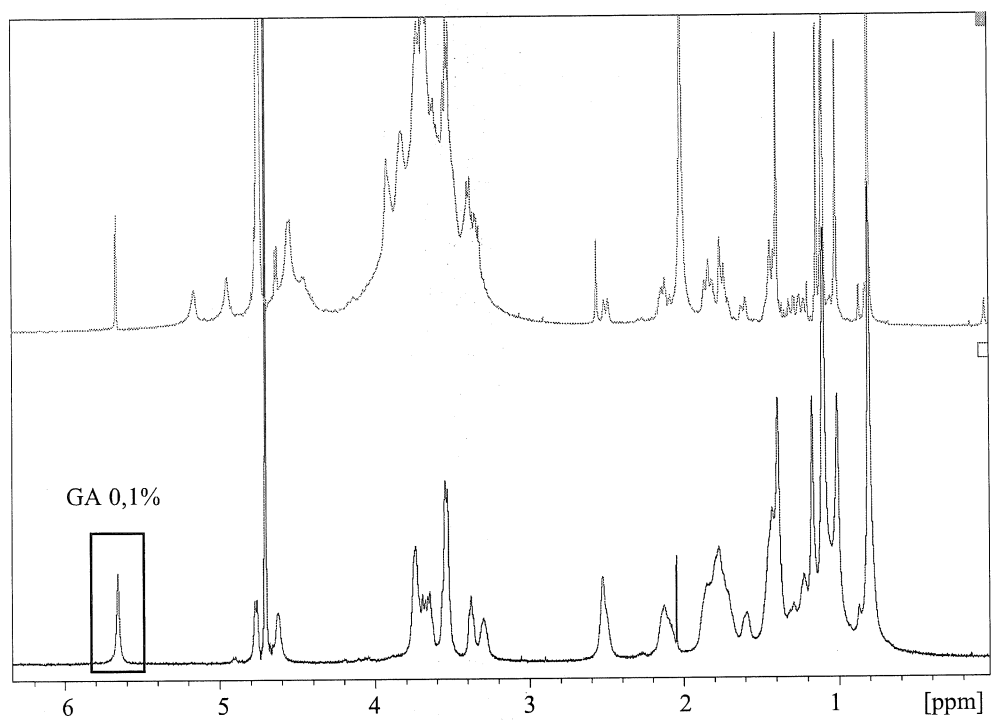
16. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó glyxyrhizin và axit hyaluronic hoặc muối hoặc dẫn xuất của nó có mặt với tỷ lệ trọng lượng nằm trong khoảng từ 1:1 đến 1:5.

17. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó glyxyrhizin và chất tạo nhót có mặt với tỷ lệ trọng lượng nằm trong khoảng từ 2:1 đến 1:5.

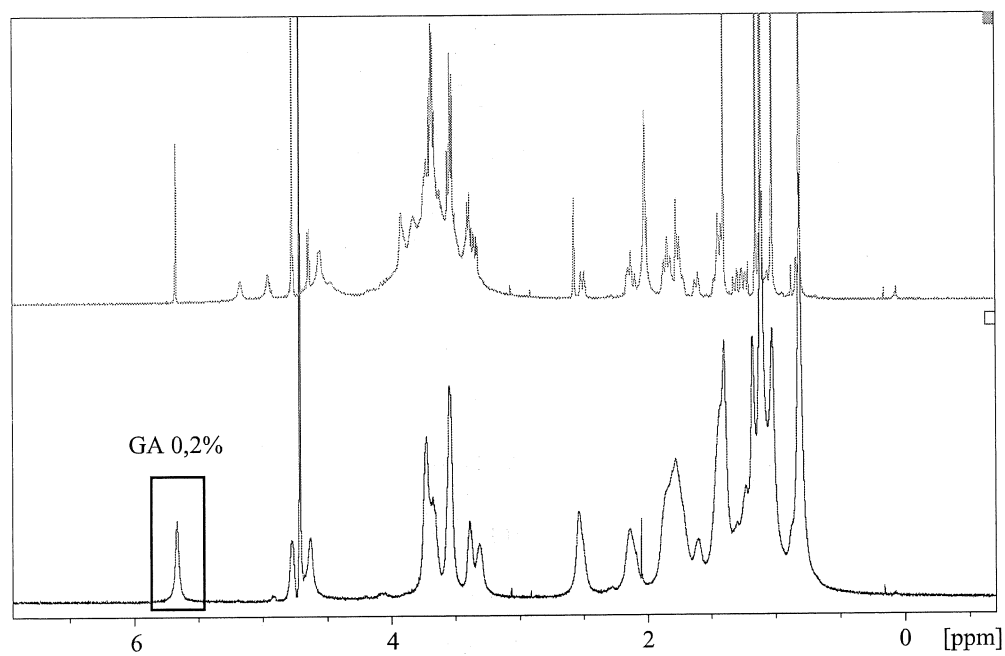
18. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó axit hyaluronic hoặc muối hoặc dẫn xuất của nó và chất tạo nhót có mặt với tỷ lệ trọng lượng nằm trong khoảng từ 1:1 đến 3:1.

19. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó chế phẩm này có độ pH nằm trong khoảng từ 5,5 đến 6,5.

1/3



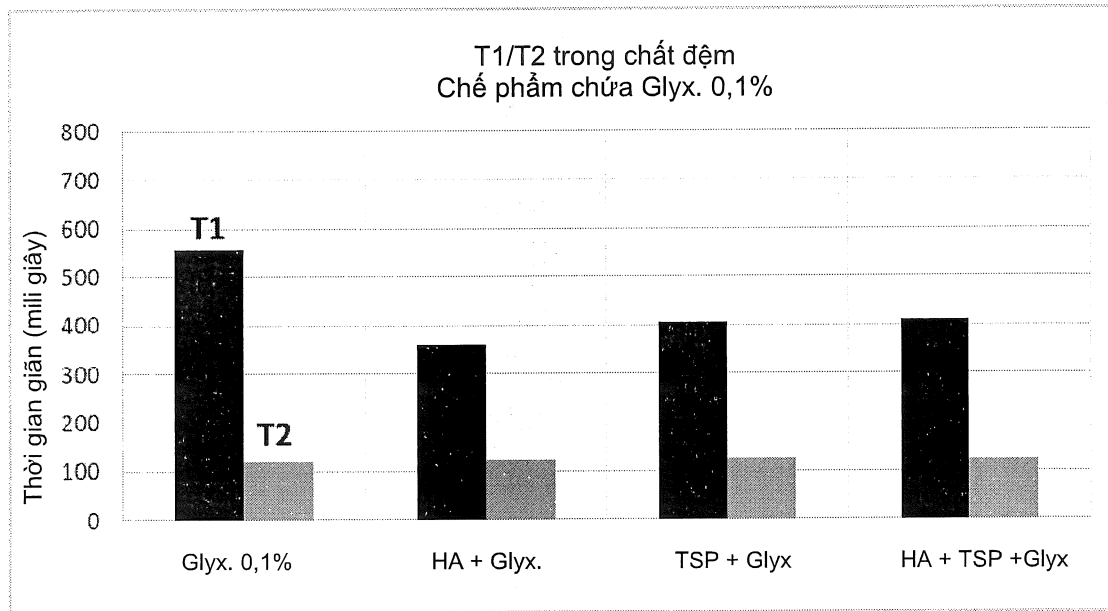
(a)



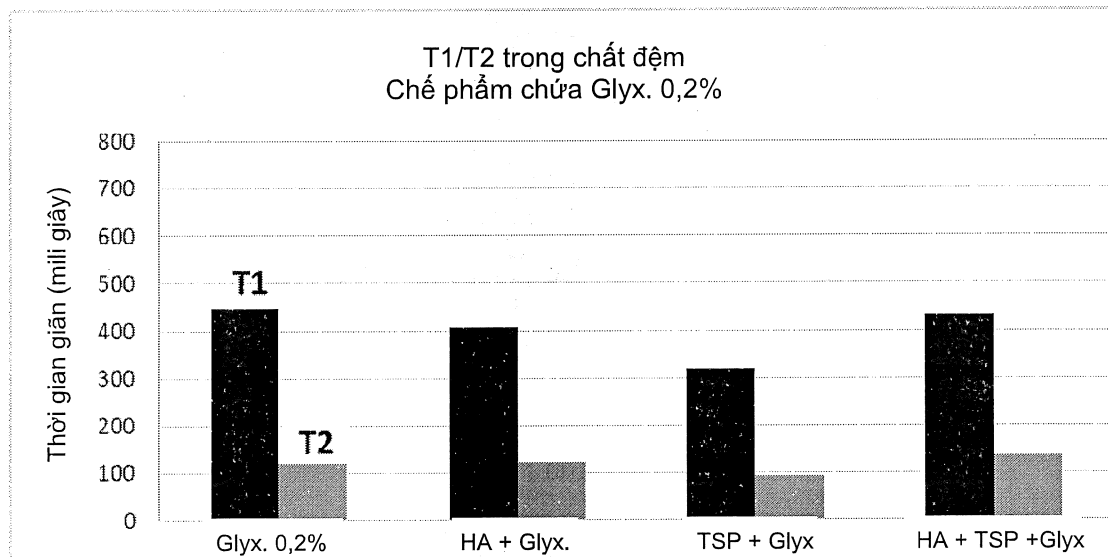
(b)

Fig.1

2/3



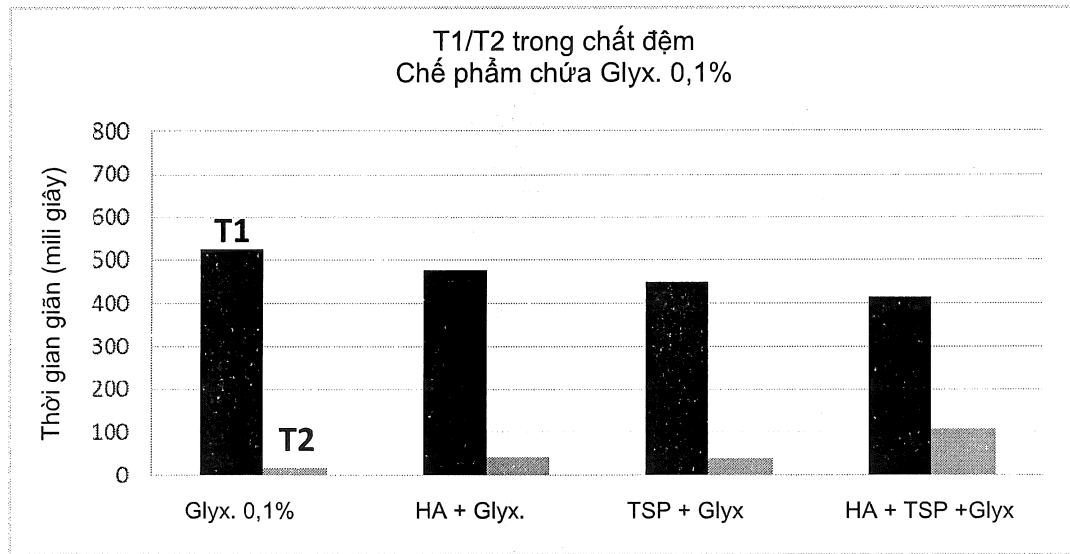
(a)



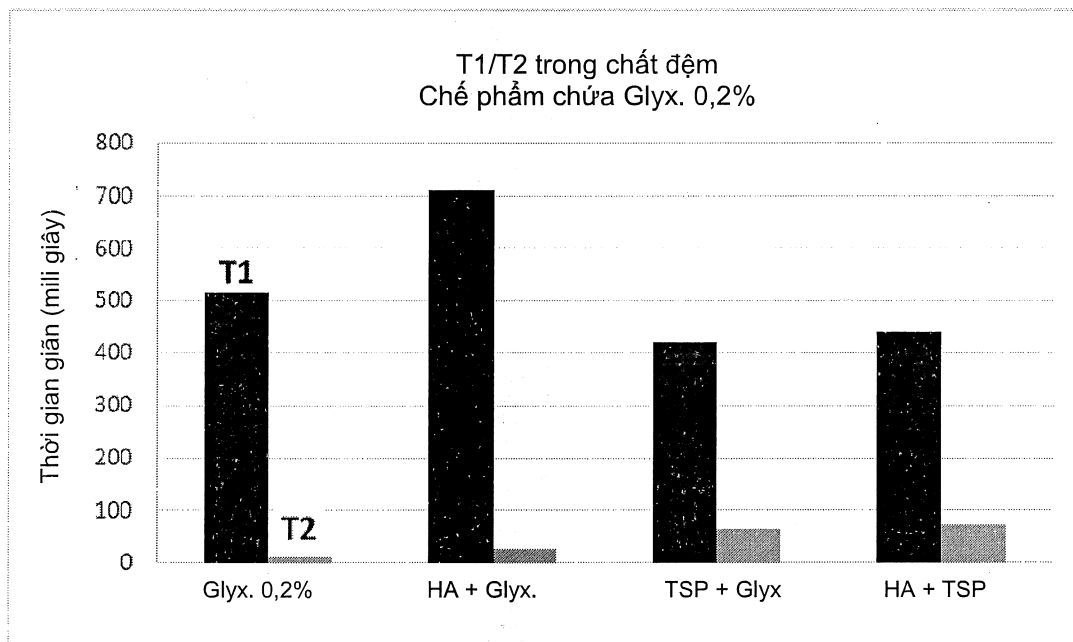
(b)

Fig.2

3/3



(a)



(b)

Fig.3