



(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)



1-0031891

(51)⁷ A61K 38/47; A61P 17/02

(13) B

(21) 1-2017-01702

(22) 08/10/2015

(86) PCT/US2015/054682 08/10/2015

(87) WO 2016/057788 A1 14/04/2016

(30) 14/511,912 10/10/2014 US

(45) 25/05/2022 410

(43) 25/09/2017 354A

(73) ROCHAL INDUSTRIES, LLC (US)

12719 Cranes Mill, San Antonio, TX 78230, United States of America

(72) SALAMONE, Joseph, Charles (US); LEUNG, Kelly, Xiaoyu-Chen (US);
SALAMONE, Ann, Beal (US); REILLY, Katelyn, Elizabeth (US).

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

(54) CHẾ PHẨM VÀ KIT ĐỂ MỞ Ổ BẰNG ENZYM

(57) Sáng chế đề cập đến chế phẩm để mở ổ bằng enzym, trong đó enzym này mở ổ mô hoại tử mà không phụ thuộc vào hoạt tính của enzym phân giải protein mà thay vào đó sử dụng họ enzym amylaza. Các enzym amylaza (α -, β -, γ -amylaza) được đề xuất để phân giải liên kết α -glycosit của polysacarit để thu được các mảnh đường/hydrat cacbon có trọng lượng phân tử thấp. Hiện nay, đã phát hiện được rằng enzym α -amylaza có hiệu quả trong việc mở ổ mô bị hoại tử. Ngoài ra sáng chế cũng đề cập đến kit để mở ổ bị hoại tử bằng enzym.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Nói chung, sáng chế đề cập đến chế phẩm mở ổ mô đã chết bằng cách sử dụng enzym, cụ thể là các enzym phân giải liên kết hydrat cacbon α -1,4-glycosit trong polysacarit, như các enzym của họ amylaza, trái ngược với sự phân giải liên kết peptit trong protein. Phương pháp mở ổ mô hoại tử bằng enzym trong các vết thương thường được sử dụng khi không thực hiện được hoặc không mong muốn thực hiện phương pháp mở ổ bằng cách phẫu thuật.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Quá trình làm liền vết thương bị ảnh hưởng do sự có mặt của mô hoại tử, mô này chứa các tế bào chết và mảnh vụn trong các vết bỏng (dạng vảy) độ hai (bỏng dày cục bộ sâu) và độ ba (bỏng dày toàn bộ) và các vết loét mạn tính (ví dụ, vết loét do đái tháo đường). Mô hoại tử là mô đã chết và sự tích tụ của nó có thể dẫn đến sự đáp ứng viêm kéo dài và làm nghẽn về mặt cơ học quá trình co vết thương với quá trình tái biểu mô hóa bị cản trở, ngăn không cho làm liền vết thương và, nếu cần, cản trở không cho ghép da vết thương. Mô hoại tử dễ bị nhiễm khuẩn, điều này cản trở thêm quá trình làm liền vết thương và có thể gây ra sự nhiễm khuẩn trong các trường hợp trầm trọng. Khi mô hoại tử có màu vàng hoặc màu nâu vàng và khối xơ xuất hiện, thường được gọi là mảng mô hoại tử, và khi mô này bị khô và tạo ra cấu trúc dày và tương tự da, được gọi là vảy. Việc mở ổ (loại bỏ) mô đã chết là cần thiết để làm gia tăng việc đóng kín vết thương. Do đó, chế phẩm mở ổ của sáng chế hữu ích để điều trị vết thương.

Việc loại bỏ mô hoại tử giúp khôi phục quá trình tuần hoàn ở vị trí vết thương do quá trình phân phối oxy thích hợp cho vết thương là yếu tố quan trọng để làm liền vết thương. Các phương pháp mở ổ mô hoại tử bao gồm phương pháp mở ổ bằng cách phẫu thuật, phương pháp mở ổ bằng enzym, phương pháp mở ổ bằng cách làm tự tiêu, phương pháp mở ổ bằng sinh học và phương pháp mở ổ bằng cơ học, với phương pháp mở ổ bằng cách phẫu thuật và enzym là phổ biến nhất. Phương pháp mở ổ bằng cách phẫu thuật là nhanh nhất và là phương pháp có hiệu quả nhất để mở ổ và được thực hiện bởi cán bộ/phẫu thuật viên y khoa lành nghề. Tuy nhiên, mô sống có thể vô

tình bị loại bỏ do không có sự phân ranh giới rõ ràng giữa mô hoại tử và mô sống, dẫn đến khu vực vết thương bị mở rộng và sự mất máu gia tăng. Phương pháp mở ổ bằng enzym được thực hiện bởi phẫu thuật viên ít lành nghề hơn và thường được thực hiện bởi nhân viên điều dưỡng/lâm sàng, thường cần phải có khoảng thời gian điều trị lâu hơn để loại bỏ mô hoại tử. Phương pháp mở ổ bằng enzym liên quan đến việc sử dụng các enzym thu được từ bên ngoài cơ thể để loại bỏ mô không còn sống. Các enzym mở ổ phân cắt (cắt, phân giải, thuỷ phân) các thành phần lớn của vật liệu sinh học, cụ thể là các đại phân tử sinh học thành các phân tử nhỏ hơn để có thể hoà tan và được loại bỏ. Phần lớn các enzym mở ổ có chức năng như proteaza bằng cách phân cắt các chuỗi polyme protein và nhiều proteaza đã được nghiên cứu về việc này. Các enzym mở ổ là các chất xúc tác có tác dụng nhanh để tạo ra mảng mô của mô hoại tử. Fibrinolysin là enzym huyết tương mà sau khi được hoạt hoá, sẽ tấn công các thành phần fibroin trong cục máu đông và dịch rỉ. Deoxyribonucleaza là enzym tuyến tụy tấn công đặc hiệu các thành phần nucleoprotein của dịch rỉ có mũ. Trypsin và chymotrypsin là các enzym tuyến tụy không đặc hiệu, nhưng có thể dùng làm khung chính protein ở các gốc axit amin đặc hiệu. Các enzym từ các động vật khác bao gồm krillaza, proteaza thu được từ loài *Antarctic krill*. Các thực vật ra quả nhiệt đới tạo ra nguồn lớn của enzym mở ổ. Bromelain là nhóm các enzym phân giải protein từ thân cây dứa, bao gồm ba enzym xystein proteaza. Papain là enzym xystein proteaza không đặc hiệu từ latec của đu đủ phân cắt nhiều chất trong mô hoại tử, bao gồm fibroin, collagen và elastin. Ficin là enzym xystein proteaza không đặc hiệu có các đặc điểm của độ pH xử lý tương tự và thu được từ latec thực vật của cây si (cây sung). Vi khuẩn cũng là một nguồn enzym mở ổ. Subtilisin thu được từ vi khuẩn *Bacillus subtilis*, là hỗn hợp của các enzym serin proteaza tan trong nước không đặc hiệu, phân huỷ mô hoại tử. Các enzym collagenaza là metalopeptidaza, là các enzym phân giải protein và phân huỷ collagen và thu được từ vi khuẩn *Clostridium histolyticum*. Vibriolysin là enzym metalopeptidaza tấn công collagen khác và thu được từ vi khuẩn *Vibrio proteolyticus*. Thermolysin là enzym mở ổ vi khuẩn từ *Bacillus thermoproteolyticus*, tác dụng theo cách không đặc hiệu với khả năng sinh sản vượt trội, thậm chí ở nhiệt độ cao. Streptokinaza, proteaza hoạt hoá fibrinogen từ vi khuẩn *Streptococcus spp.* và streptodornaza, deoxyribonucleaza từ vi khuẩn *streptococci* gây tan huyết cũng được sử dụng để mở ổ (đơn sáng chế Mỹ số US 2008/0044459).

Nhiều sản phẩm enzym phân giải protein cục bộ không được FDA quản lý có bán trên thị trường trước năm 2009 để mở ổ bằng enzym nhưng đã bị FDA cho dừng việc sản xuất và phân phối do có sự cố dị ứng bất lợi và/hoặc không có hiệu quả, bao gồm papain (papaya), trypsin và chymotrypsin (enzym tuyến tụy), và proteaza của vi khuẩn *Bacillus subtilis*. Hiện nay, có hai sản phẩm mở ổ bằng enzym phân giải protein sẵn có ở Mỹ, đã được FDA chấp thuận là thuốc mỡ Santyl® (Smith & Nephew), collagenaza thu được từ vi khuẩn *Clostridium histolyticum* phân giải chọn lọc collagen xoắn bậc ba và sử dụng 250 đơn vị collagenaza/g vazolin trắng và gel bôi Debrase® (NexoBrid), hỗn hợp của các enzym bromelain thu được từ *Ananas comosus* (quả dứa). Điều quan trọng là thuốc mỡ Santyl® có thể không được sử dụng kết hợp với thuốc kháng vi sinh vật chứa bạc và iot do chúng làm bất hoạt collagenaza. Sản phẩm Debrase® (MediWound Ltd.) gần đây đã được FDA cấp phép là thuốc mỡ bôi để mở ổ dạng vảy.

Bằng độc quyền sáng chế Mỹ số US 4.668.228 bộc lộ băng mở ổ bao gồm khối chất dính bám trên băng kín hoặc băng nửa kín tương hợp sinh học, không phải dạng gen, không thoái biến sinh học, trong đó lượng hữu hiệu của enzym phân giải protein mở ổ ở dạng bột khô được định vị trên bề mặt dính bám. Khi bột này được cho tiếp xúc với dịch rỉ vết thương, toàn bộ lượng enzym được giải phóng tức thì.

Bằng độc quyền sáng chế Mỹ số US 5.206.026 bộc lộ màng để phân phối tức thì enzym phân giải protein đến vết thương. Khi được cho tiếp xúc với dịch lỏng trong nước, màng này hoà tan một cách nhanh chóng, do đó giải phóng hàm lượng enzym của nó một cách đồng thời.

Đơn sáng chế Mỹ số US 2002/0114798 bộc lộ chất mở ổ của vết thương bằng enzym bằng cách sử dụng hỗn hợp của enzym phân giải protein và chất mang poloxame ưa nước dạng khan.

Bằng độc quyền sáng chế Mỹ số US 5.120.656 đề xuất quy trình mở ổ của xương có màng xương nguyên vẹn của nó, bao gồm bước cho màng xương tiếp xúc với dung dịch chứa enzym được chọn từ nhóm bao gồm enzym phân giải collagen phân giải protein và hỗn hợp của nó trong các điều kiện kích thích hoạt tính của enzym để làm cho màng xương long ra khỏi bề mặt xương dưới và loại bỏ màng xương bong ra này ra khỏi xương.

Bằng độc quyền sáng chế Mỹ số US 7.368.128 đề xuất băng gạc để mở ổ mô

hoại tử và không còn sống trong vết thương, trong đó băng gạc này chứa lượng hữu hiệu của một hoặc nhiều enzym phân giải protein được đưa vào vật liệu polyme thoái biến sinh học. Băng gạc theo sáng chế có tác dụng mở ổ hữu hiệu đối với các vết thương hoại tử trong khoảng thời gian kéo dài, do các enzym này có thể được giải phóng theo thời gian.

Trong công bố đơn quốc tế số WO 2012/155027, các chế phẩm mở ổ của vết thương chứa enzym phân giải protein seaproza (còn được gọi là Proteaza S, từ nấm *Aspergillus melleus*). Enzym chính trong seaproza là proteaza nửa kiềm có trọng lượng phân tử khoảng 31kDa. Chế phẩm này cũng có thể chứa các enzym khác như amylaza, enzym thủy phân phá vỡ hydrat cacbon.

Trong công bố đơn quốc tế số WO1984/002846, thuốc mỡ dùng khu trú cho các vết thương bề mặt da được mô tả chứa lượng có tác dụng làm liền vết thương của papain, bromelain, trypsin, chymotrypsin, pancreatin, lipaza, amylaza, chất chiết từ cây lô hội và chất hữu cơ làm se da được bào chế trong hỗn hợp chất mang của dầu làm mềm có tính thẩm thấu và không thẩm thấu và chất làm mềm chứa rượu đa chức, với nhiều proteaza. Thuốc mỡ này được thông báo là có tác dụng làm giảm mức độ viêm ở vị trí vết thương bề mặt da và làm gia tăng hoạt tính kháng viêm bình thường của cơ thể.

Bằng độc quyền sáng chế Mỹ số US 6.548.556 bộc lộ rằng enzym phân giải protein có khả năng thủy phân một phần hoặc toàn bộ các liên kết peptit amit và các enzym này cũng có thể có hoạt tính phân giải lipid và/hoặc phân giải tinh bột vốn có nhất định kết hợp với hoạt tính phân giải protein, với enzym phân giải protein được ưu tiên là papain. Các enzym phân giải protein thích hợp khác bao gồm trypsin, chymotrypsin, streptokinaza, streptodormaza, ficin, pepsin, carboxypeptidaza, aminopeptidaza, chymopapain, bromelain, cũng như các enzym thích hợp khác, như pancreatin, trypsin, collagenaza, keratinaza, carboxylaza, aminopeptidaza, elastaza và aspergillopeptidaza. Pancreatin chứa hỗn hợp của hydrolaza/proteaza peptit (trypsin, chymotrypsin, elastaza, carboxypeptidaza A, carboxypeptidaza B), các enzym phân giải lipid (lipaza, phospholipaza A2, phospholipaza B, cholinesteraza, cholesterol esterase), glycosidaza (α -amylaza, glucosidaza) và nucleaza (deoxyribonucleaza I, deoxyribonucleaza II, ribonucleaza).

Các enzym chứa tác nhân mở ổ hỗn hợp từ vi khuẩn *Bacillus subtilis* được mô

tả trong Bằng độc quyền sáng chế Mỹ số US 3.409.719. Sản phẩm enzyme này được thông báo là có hoạt tính phân giải protein đối với casein (phosphoprotein) và hoạt tính tương tự đối với hemoglobin (metaloprotein). Nó cũng có hoạt tính phân giải tinh bột đối với tinh bột được gelatin hoá. Nó có khả năng làm tan fibrin nhanh chóng, collagen biến tính, elastin và dịch rỉ, các thành phần này được cho là các thành phần protein mô chủ yếu trong vết thương. Các chế phẩm enzyme hỗn hợp được thể hiện trong bảng I của Bằng độc quyền sáng chế Mỹ số US 3.409.719 chứa lượng tối thiểu amylaza so với proteaza, lượng amylaza nằm trong khoảng từ 6,3% đến 18,2% và lượng proteaza nằm trong khoảng từ 93,7% đến 81,8%.

Các vết thương do bỏng nghiêm trọng cần phải được mở ổ bằng cách phẫu thuật để sử dụng các thuốc kháng vi sinh vật một cách nhanh chóng và băng lại để làm giảm nguy cơ nhiễm trùng (ví dụ, nhiễm vi khuẩn *Pseudomonas aeruginosa*, Bằng độc quyền sáng chế Mỹ số US 4.772.465) và để tạo ra mô nền làm liền vết thương hoặc sau đó là ghép da. Do khả năng chảy máu tăng lên từ việc loại bỏ mô sống, phương pháp mở ổ bằng enzyme có thể được ưu tiên để loại bỏ mô hoại tử. Việc làm liền vết thương cũng khó khăn đối với bệnh đái tháo đường do tình trạng suy tim mạch và bệnh thần kinh; do đó, việc mở rộng kích thước vết loét do đái tháo đường bằng phương pháp mở ổ bằng phẫu thuật có thể là không mong muốn và vẫn rất cần có phương pháp mở ổ đối với vết loét do đái tháo đường được cải thiện.

Công bố đơn quốc tế số WO1999046368 mô tả phương pháp điều trị vết thương bao gồm bước sử dụng lượng hữu hiệu của enzyme có hoạt tính hydrat cacbon, phương pháp này được thông báo là có tính đặc hiệu rộng để mở ổ vết bỏng và các vết thương khác. Do nồng độ glycosaminoglycan (glycosaminoglycan-GAG) trong da cao, ở các bệnh nhân bị bỏng, các enzyme phân huỷ glycosaminoglycan được cho là enzyme hỗ trợ hữu ích để mở ổ vết bỏng. Glycosaminoglycan là chuỗi đường gồm các polyme lặp lại của polysacarit axit, bao gồm các khối cấu trúc của các đường sau đây trong các hỗn hợp khác nhau: galactosa, glucoza, N-axetylglucosamin, N-axetylgalactosamin, axit glucuronic, axit galacturonic và axit iduronic. Đã biết rằng các hydrat cacbon có vai trò quan trọng trong việc thực hiện chức năng của các sinh vật sống. Ngoài vai trò chuyển hoá của chúng, các hydrat cacbon là thành phần cấu trúc của cơ thể người, được liên kết cộng hoá trị với nhiều thực thể khác như các protein (ví dụ như các glycoprotein). Do da người được thông báo là chứa 10% trọng

lượng glycosaminoglycan (chất này bao gồm heparin, heparan sulfat, chondroitin sulfat, axit hyaluronic (hyaluronan), dermatan sulfat và keratan sulfat, với chondroitin sulfat là glycosaminoglycan phổ biến nhất. Chondroitin sulfat cũng có các liên kết β -1,3- và β -1,4 giữa các đơn vị monome chiếm ưu thế. Thuật ngữ "enzym hoạt hoá hydrat cacbon" được sử dụng để bao gồm cụ thể các enzym khử hydrat cacbon, trong đó ví dụ về các enzym này bao gồm các enzym khử glycosaminoglycan như hyaluronidaza, chondroitinaza, dermatanaza, heparanaza, heparinaza và keratanaza, với các enzym hoạt hoá hydrat cacbon được ưu tiên là chondroitinaza và hyaluronidaza.

Việc kiểm soát sự nhiễm khuẩn cũng là nhu cầu đáng kể chưa được giải quyết trong quá trình mở ổ. Thông thường, vảy của vết bỏng là mô hoại tử khô nên không dễ bị nhiễm khuẩn, nhưng sự nhiễm khuẩn có thể xảy ra với vết bỏng độ hai và độ ba; do đó, việc có mặt các thuốc kháng vi sinh vật trong vảy và mô nền của vết thương trong giai đoạn loại bỏ vảy (mô hoại tử) sớm được mong muốn ở mức cao. Trái với vảy của vết bỏng, mô hoại tử của vết thương mạn tính (vết loét do đái tháo đường) xuất hiện sẽ kích thích quá trình tạo khuẩn lạc của vi khuẩn, quá trình này được trợ giúp bởi sự có mặt của nước và nguồn dinh dưỡng từ tế bào chết và mảnh vụn. Mô hoại tử trong vết thương có thể kết hợp với sự nhiễm khuẩn, trong khi phần lớn các vết thương mạn tính bị nhiễm màng sinh học vi sinh vật.

Việc khó sử dụng enzym phân giải protein để loại bỏ mô hoại tử là do khả năng tự phân giải của chúng trong dung dịch nước, ngoài các khó khăn tiềm tàng của chúng về các sự kiện dị ứng bất lợi, tính quá mặn và/hoặc không có hiệu quả. Do đó, cần xác định chế phẩm mở ổ có hiệu quả mở ổ cao đối với mô hoại tử, để sử dụng trong lâm sàng, có thời hạn sử dụng thích hợp và không gây dị ứng.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Theo một phương án, sáng chế đề xuất chế phẩm mở ổ chứa:

thành phần mở ổ bằng enzym không phân giải protein với lượng nằm trong khoảng từ 0,001 đến 60% trọng lượng, so với tổng trọng lượng của chế phẩm mở ổ,

trong đó thành phần mở ổ bằng enzym không phân giải protein này chứa amylaza với lượng ít nhất là 80% trọng lượng so với trọng lượng của thành phần mở ổ bằng enzym không phân giải protein, và

trong đó enzym amylaza nêu trên là α -amylaza hoặc β -amylaza.

Theo phương án khác, sáng chế đề cập đến kit để mở ổ mô đã chết bao gồm chế phẩm mở ổ nêu trên; và các hướng dẫn sử dụng chế phẩm này để mở ổ mô đã chết.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 là đồ thị thể hiện tần số so với môđun của gel collagen trước và sau khi điều trị bằng các enzym khác nhau.

Fig.2 là đồ thị thể hiện tần số so với môđun phức của gel collagen trước và sau khi điều trị bằng các enzym khác nhau.

Fig.3 là biểu đồ thể hiện tỷ lệ phần trăm trọng lượng của da lợn đã luộc được phân giải so với nồng độ α -amylaza sau một giờ ở nhiệt độ trong phòng.

Mô tả chi tiết sáng chế

Trong nghiên cứu này, chế phẩm và phương pháp mới để mở ổ bằng enzym được cho là sự phân cắt theo giả định của các liên kết glycosit trong và/hoặc giữa glycosaminoglycan polysacarit và sợi collagen và không phải là sự phân cắt của các liên kết peptit của collagen bởi proteaza, như đã được thực hiện với các sản phẩm mở ổ bằng enzym trước đây. Đã bất ngờ phát hiện được rằng amylaza, enzym được dùng để phân cắt các liên kết α -1,4-glycosit, như trong quá trình thủy phân tinh bột có xúc tác thành các đường có trọng lượng phân tử thấp, là hữu hiệu để mở ổ mô bị chết hoặc mô hoại tử. Các chế phẩm đặc biệt này cung cấp chế phẩm mở ổ bằng enzym hữu hiệu ở mức cao, với thời hạn sử dụng thích hợp mà không có các phản ứng dị ứng.

Các chế phẩm mở ổ được mô tả trong bản mô tả này chứa các loại enzym amylaza khác nhau. Tốt hơn nếu các enzym amylaza (α -, β -, γ -amylaza) là họ enzym thủy phân các liên kết α -glycosit của polysacarit để tạo ra các mảnh đường/hydrat cacbon có trọng lượng phân tử thấp hơn. Theo một số phương án, enzym α -amylaza được sử dụng làm amylaza. Amylaza có trong tự nhiên ở người và các động vật có vú khác và cũng được tìm thấy ở thực vật, vi khuẩn và nấm.

Đặc tính vật lý của mô da được xác định chủ yếu bởi khuôn nền ngoại bào (extracellular matrix-ECM) rộng. ECM được tạo thành từ mạng lưới đan xen của các protein sợi và glycosaminoglycan (GAG). GAG là các polyme hydrat cacbon và

thường được gắn với protein ECM để tạo ra proteoglycan. Trong da, collagen typ I là thành phần protein chính của ECM và các thành phần proteoglycan chính là decorin và versican. Có thể là các protein lõi này gắn kết với bề mặt của các sợi collagen typ I để tạo độ bền cơ học cho da. Cần có sự gắn kết proteoglycan để lắp ráp thích hợp các sợi collagen trong ECM và ức chế sự phân cắt sợi collagen bởi các enzym metaloproteaza cơ chất. Proteoglycan được tạo thành từ lõi glycoprotein mà một hoặc vài chuỗi GAG được liên kết cộng hoá trị với. Bốn nhóm glycosaminoglycan khác nhau tồn tại ở động vật có xương sống là chondroitin sulfat, dermatan sulfat, keratan sulfat và heparan sulfat/heparin. Hyaluronan (axit hyaluronic) là một trong số các thành phần chính của khuôn nền ngoại bào và nó góp phần đáng kể vào sự tăng sinh và di trú của tế bào. Tuy nhiên, không giống như các glycosaminoglycan khác, hyaluronan không gắn với các protein để tạo ra các proteoglycan nhưng gắn kết và giữ lại các phân tử nước và làm đầy khe hở giữa các sợi collagen.

GAG được gắn vào gốc serin của protein lõi bằng cả liên kết glycosit β -1,4- (chủ yếu là bằng chondroitin sulfat, dermatan sulfat) và liên kết α -1,4- (chủ yếu là bằng heparan sulfat/heparin), với GAG chủ yếu là chondroitin sulfat. Đối với các liên kết bên trong, hyaluronan và chondroitin sulfat chủ yếu được tạo thành từ các liên kết β -1,3- và β -1,4-, dermatan sulfat chủ yếu có các liên kết α -1,3- và β -1,4- và heparin/heparan sulfat có hỗn hợp của các liên kết β -1,4- và α -1,4-, trong đó đơn vị lặp lại chủ yếu không chứa 3 liên kết α -1,4- hoặc nhiều hơn (glycosaminoglycan và proteoglycan, sigma.com/glycobiology), nếu cần, để phân cắt bằng α -amylaza.

Một nghiên cứu trước đây đã bàn luận về phương pháp điều trị vết thương bao gồm bước sử dụng lượng hữu hiệu của enzym có hoạt tính hydrat cacbon, trong đó tốt hơn nếu các enzym này là chondroitinaza, các enzym xúc tác quá trình thủy phân của chuỗi chondroitin trên proteoglycan chứa các liên kết (1-4)- β -D- và (1-3)- β -D và hyaluronidaza, các enzym phân cắt hyaluronan và chứa các liên kết β -1,4- và β -1,3-glycosit, với khả năng phân huỷ chondroitin và chondroitin sulfat hạn chế (công bố đơn quốc tế số WO1999046368).

Các chế phẩm và phương pháp được mô tả trong bản mô tả này liên quan đến việc sử dụng enzym không thủy phân proteaza để mở ổ mô hoại tử, trong đó đã bất ngờ phát hiện được rằng họ enzym amylaza, bao gồm α -amylaza, β -amylaza và γ -amylaza có khả năng phân giải và phân huỷ chất tương tự mô hoại tử: da lợn đã luộc

(Bằng độc quyền sáng chế Mỹ số US 8.119.124), cũng như da chuột mới được cắt ra.

Amylaza là enzym phân giải trợ giúp cho sự phân cắt các liên kết trong gốc đường của polysacarit. Đã phát hiện được hai dạng chính ở cơ thể người là amylaza từ nước bọt và amylaza từ tuyến tụy. Trong nước bọt, amylaza nước bọt chịu trách nhiệm phá vỡ tinh bột và glycogen thành glucoza, maltoza và dextrin. Amylaza tuyến tụy phân huỷ thêm tinh bột trong hệ tiêu hóa.

Theo một số phương án, thành phần không phân giải protein lớn hơn thành phần phân giải protein của chế phẩm mở ỏ. Theo một số phương án, tỷ lệ của các enzym không phân giải protein với enzym phân giải protein trong chế phẩm mở ỏ ít nhất là 4:1, ít nhất là 5:1 hoặc ít nhất là 10:1, ít nhất là 20:1, ít nhất là 40:1, ít nhất là 60:1, ít nhất là 80:1 hoặc ít nhất là 100:1. Trong đó lượng enzym phân giải protein bằng 0 và lượng enzym không phân giải protein lớn hơn 0, tỷ lệ là ∞ :1. Theo một số phương án, chế phẩm mở ỏ chứa enzym phân giải protein với lượng nhỏ hơn 0,01% trọng lượng hoặc chứa enzym phân giải protein với lượng nhỏ hơn 0,001% trọng lượng, so với tổng trọng lượng của chế phẩm mở ỏ. Theo một số phương án, chế phẩm mở ỏ chứa enzym phân giải protein với lượng tối đa 20% trọng lượng hoặc chứa enzym phân giải protein với lượng tối đa 15% trọng lượng hoặc chứa enzym phân giải protein với lượng tối đa 10% trọng lượng.

Liên quan đến ba dạng enzym amylaza, α -amylaza (còn được gọi là 1,4- α -D-glucan glucanohydrolaza) là enzym endoamylaza được tìm thấy trong tất cả các sinh vật sống. Nó thực hiện chức năng theo cách ngẫu nhiên bởi cơ chế đa điểm gắn trên tinh bột, glycogen và polysacarit liên quan và oligosacarit với các liên kết α -1,4-glycosit, cuối cùng tạo ra glucoza và maltoza, cũng như các oligosacarit lớn hơn, không có enzym nào trong số chúng có mặt trong da người. Enzym α -amylaza thủy phân các liên kết 1,4- α -D-glucosit trong polysacarit và chứa 3 đơn vị D-glucoza liên kết 1,4- α - hoặc nhiều hơn (Sigma Aldrich, <http://www.sigmaaldrich.com/life-science/metabolomics/enzyme-explorer/learning-center/cacbohydrate-analysis.html>). Tuy nhiên, α -amylaza có thể không thủy phân các liên kết α -1,6- trong glycogen và amylopectin.

Enzym β -amylaza (còn được gọi là 1,4- α -D-glucan maltohydrolaza) và γ -amylaza (còn được gọi là (amyloglucosidaza, glucan 1,4- α -glucosidaza và glucoamylaza) là các enzym exoamylaza chỉ được tìm thấy ở thực vật và vi sinh vật.

Tương tự α -amylaza, β -amylaza có thể không thuỷ phân các liên kết 1,6- α -. Enzym β -amylaza tác dụng trên cùng các cơ chất như α -amylaza, nhưng nó loại bỏ các đơn vị maltoza liên tiếp ra khỏi đầu không khử. Enzym γ -amylaza giải phóng liên tiếp β -D-glucosa từ đầu không khử của chuỗi polysacarit. Các dạng khác nhau của γ -amylaza có thể thuỷ phân liên kết 1,6- α -D-glucosit khi liên kết tiếp theo trong trình tự là liên kết ở vị trí 1,4 và một số chế phẩm có thể thuỷ phân các liên kết 1,6- và 1,3- α -D-glucosit trong các polysacarit khác. Hỗn hợp của các enzym amylaza được sử dụng trong các lĩnh vực khác nhau, như sản xuất thực phẩm, chất tạo ngọt, đường hoá tinh bột, các ngành công nghiệp rượu bia và chưng cất.

Các ion canxi và clorua là thiết yếu cho hoạt tính của α -amylaza. Một ion Ca^{2+} được liên kết chặt chẽ bởi mỗi phân tử enzym để tạo điều kiện thuận lợi cho sự hình thành chính xác hoạt tính thuỷ phân và các ion clorua được cho là các chất hoạt hoá tự nhiên của enzym. Lượng canxi quá mức làm ổn định α -amylaza đối với nhiệt. Hoạt tính xúc tác là tối ưu ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40°C đến 45°C và độ pH nằm trong khoảng từ 7,0 đến 7,5.

Trong nghiên cứu này, chế phẩm và phương pháp mới để mở ổ bằng enzym là amylaza được cho là sự phân cắt các liên kết glycosit trong và/hoặc giữa glycosaminoglycan polysacarit và sợi collagen và không phân cắt các liên kết peptit của collagen, như đã thực hiện với các sản phẩm mở ổ bằng enzym trước đây. Chế phẩm mở ổ chứa các loại enzym amylaza khác nhau. Tốt hơn nếu tất cả các enzym amylaza (α -, β -, γ -amylaza) là họ của các enzym thuỷ phân liên kết α -glycosit của polysacarit để tạo ra các mảnh đường/hydrat cacbon có trọng lượng phân tử thấp hơn. Enzym α -amylaza phân cắt ngẫu nhiên các liên kết 1,4- α -D-glycosit giữa các đơn vị glucosa liên kế trong chuỗi amyloza mạch thẳng của tinh bột. Lợi ích đáng kể của enzym α -amylaza là nó có trong tự nhiên ở người và các động vật có vú khác và nó cũng được tìm thấy ở thực vật, vi khuẩn và nấm. Theo một số phương án, amylaza bao gồm amylaza vi sinh vật. Các nguồn thực vật và động vật có thể chứa chất gây hại nhiều hơn so với các amylaza trên cơ sở vi sinh vật, bao gồm các hợp chất phenol (từ thực vật), các chất ức chế enzym nội sinh và proteaza.

Do amylaza không phân giải protein, nó không tự phân giải trong nước và có tính ổn định hơn so với các enzym phân giải protein trong các điều kiện chứa nước tương tự. Tính ổn định ở mức cao của amylaza tạo điều kiện thuận lợi cho việc bảo

quản nó trong chế phẩm ưa nước, chất này có thể được loại bỏ một cách dễ dàng ra khỏi vết thương hoại tử sau khi mở ổ, không giống như thuốc mỡ mở ổ phân giải protein trên cơ sở vazolin vàng.

Sự có mặt của amylaza trong phương pháp mở ổ bằng enzym phân giải protein đã được báo cáo chủ yếu ở lượng thấp hơn nhiều so với proteaza trong các quy trình này và thường là tạp chất trong các enzym phân giải protein trong tuyến tụy (Bằng độc quyền sáng chế Mỹ số US 3.409.719; Bằng độc quyền sáng chế Mỹ số US 8.540.983). Chế phẩm enzym có hoạt tính hydrat cacbon trên cơ sở các enzym chondroitinaza và hyaluronidaza đã được báo cáo là để mở ổ vết bỏng và các vết thương khác (công bố đơn quốc tế số WO1999046368). Dự định rằng các enzym này có thể sẽ có hoạt tính đối với proteoglycan liên quan đến collagen trong da, như proteoglycan chủ yếu của chondroitin sulfat. Không có báo cáo nào trình bày phương pháp mở ổ mô hoại tử bằng enzym trên cơ sở amylaza làm tác nhân mở ổ bằng enzym chính do amylaza được cho là chỉ phân huỷ các liên kết α -1,4-glycosit như trong tinh bột, hydrat cacbon không có trong khuôn nền ngoại bào.

Các phân tử tinh bột là các polyme glucoza được liên kết với nhau bởi các liên kết α -1,4- và α -1,6-glycosit, gồm các thành phần amyloza mạch thẳng và amylopectin mạch nhánh. Để sử dụng nguyên tử cacbon và năng lượng tích trữ trong tinh bột, amylaza, làm một phần của hệ tiêu hóa của người, phân cắt tinh bột ở nhiều điểm, chuyển hoá tinh bột thành các đường nhỏ hơn, cuối cùng được chuyển hoá thành các đơn vị glucoza. Do sự tồn tại của hai loại liên kết, các liên kết α -1,4- và α -1,6-glycosit, các cấu trúc khác nhau có thể xuất hiện đối với các phân tử tinh bột. Polyme chuỗi đơn không phân nhánh chỉ có các liên kết α -1,4-glucosit được gọi là amyloza. Mặt khác, sự có mặt của các liên kết α -1,6-glucosit tạo ra polyme glucoza mạch nhánh của amylopectin. Hợp chất có liên quan chặt chẽ khác có tác dụng làm nguồn dự trữ glucoza trong tế bào của người và động vật được gọi là glycogen. Glycogen có cấu trúc tương tự với cấu trúc của amylopectin, ngoại trừ việc các nhánh trong glycogen có xu hướng ngắn hơn và nhiều hơn. Không phải amyloza, cũng không phải amylopectin và glycogen được cho là có mặt trong da của người hoặc động vật làm thành phần làm ổn định hoặc tương tác với collagen của khuôn nền ngoại bào.

Tính đặc hiệu của liên kết được gắn bởi α -amylaza phụ thuộc vào nguồn enzym. Hiện nay, hai nhóm chính của α -amylaza được sản xuất thương mại bằng quá

trình lên men vi sinh vật. Dựa vào vị trí mà ở đó diễn ra sự phân cắt trong chuỗi polyme glucoza, bước đầu tiên trong quá trình khử polyme hoá ngẫu nhiên tinh bột là bước phân cắt các chuỗi lớn thành các mảnh có kích cỡ nhỏ hơn khác nhau. Việc phá vỡ các mảnh lớn làm giảm mạnh độ nhớt của dung dịch tinh bột được gelatin hoá, dẫn đến sự hoá lỏng do độ nhớt của dung dịch giảm đi. Giai đoạn cuối cùng của quá trình khử polyme hoá là quá trình đường hoá, quá trình này chủ yếu tạo ra monosacarit, disacarit, và trisacarit.

Do α -amylaza của vi khuẩn chỉ tấn công một cách ngẫu nhiên các liên kết α -1,4-, nó thuộc về loại enzym hoá lỏng. Mặt khác, α -amylaza của nấm thuộc về loại enzym đường hoá và tấn công liên kết thứ hai từ các đầu tận cùng không khử (nghĩa là, đầu C4) của mảnh mạch thẳng, dẫn đến sự phân cắt của hai đơn vị glucoza đồng thời để tạo ra disacarit maltoza. Do đó, việc phá vỡ liên kết trong quá trình đường hoá enzym đất liền hơn nhiều so với quá trình hoá lỏng enzym. Thật vậy, các chuỗi tinh bột được chia nhỏ thành các mảnh và miếng nhỏ. Cuối cùng, γ -amylaza tấn công chọn lọc liên kết cuối cùng trên các đầu tận cùng không khử và có thể có tác dụng đối với cả liên kết α -1,4- và α -1,6-glucosit với tỷ lệ tương đối bằng 1:20 để tạo ra sự phân cắt của các đơn vị glucoza đơn giản thành dung dịch. Các enzym α -amylaza và γ -amylaza có thể được sử dụng cùng nhau để chuyển hoá tinh bột thành các đường đơn.

Amylaza cũng được sử dụng trong sản phẩm làm sạch các bề mặt cứng và vải, như được mô tả trong công bố đơn quốc tế số WO 2007/144856, chế phẩm này chứa chất tẩy rửa đa năng hoặc "có tác dụng mạnh", đặc biệt là các sản phẩm giặt; các chất tẩy rửa đa năng dạng lỏng, gel hoặc bột nhão, đặc biệt là chất còn được gọi là chất lỏng tẩy rửa có tác dụng mạnh; nước giặt vải mịn; các sản phẩm dùng cho rửa bát bằng tay hoặc sản phẩm dùng cho rửa bát loại nhẹ, đặc biệt là các chất tạo bọt ở mức cao; sản phẩm dùng cho rửa bát bằng máy, bao gồm các dạng viên nén, hạt, dạng lỏng và các loại giúp tẩy rửa khác nhau để sử dụng cho hộ gia đình và cơ quan; các chất làm sạch và khử khuẩn dạng lỏng, bao gồm các dạng sản phẩm giặt bằng tay kháng vi sinh vật, các thanh giặt là, nước súc miệng, chất làm sạch răng, dầu rửa xe hơi hoặc giặt thảm, chất làm sạch nhà tắm; dầu gội đầu và dầu xả; gel tắm và bọt tắm và chất làm sạch kim loại; cũng như chất phụ trợ làm sạch như chất phụ gia tẩy trắng và dạng xử lý để "đánh vết bẩn" hoặc xử lý sơ bộ.

Amylaza là một trong số các enzym chủ yếu được sử dụng trong công nghiệp.

Amylaza có ứng dụng tiềm năng trong rất nhiều quy trình công nghiệp như ngành thực phẩm, lên men và dược phẩm. Mặc dù có thể thu được các enzym α -amylaza từ thực vật, động vật và vi sinh vật, các enzym có nguồn gốc từ nấm và vi khuẩn có ứng dụng vượt trội trong ngành công nghiệp, bao gồm vi sinh vật *Bacillus* spp. và *Aspergillus* spp., với phần lớn các enzym amylaza thương mại được sản sinh từ các nguồn vi khuẩn như *Bacillus licheniformis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus subtilis*, hoặc *Bacillus stearothermophilus*.

Các chế phẩm mở ỏ được mô tả trong bản mô tả này có thể được bào chế dưới dạng lỏng, gel, bột, bột nhão, thuốc mỡ, thuốc xức ngoài da, nhũ tương hoặc vi nhũ tương và có thể được phân phối cho mô hoại tử hoặc mô đã chết dưới dạng bột, phun, băng gạc, vải lưới, băng cuộn hoặc màng, trong đó màng có thể chứa polyme tạo màng, polyme bán thấm hoặc thấm hoặc chất nền thoái biến hoặc không thoái biến, như vật liệu dùng làm băng gạc, băng cuộn hoặc tạo bột. Chế phẩm mở ỏ có thể chứa một hoặc nhiều chất mang được dụng hoặc chấp nhận được trong mỹ phẩm tương hợp được với chế phẩm mở ỏ bằng enzym. Các ví dụ về các chất mang được dụng hoặc chấp nhận được trong mỹ phẩm bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, nước, nước muối sinh lý (nước muối đẳng trương), nước muối đệm phosphat của Dulbecco (Dulbecco's phosphate buffered saline-DPBS), nước muối đệm phosphat (phosphate buffered saline-PBS), dung dịch nước muối chứa canxi clorua bổ sung, dung dịch Ringer, glycerin, propylen glycol, etanol, isopropanol, butan-1,3-diol, các hợp chất poly(alkylen glycol) dạng lỏng (ví dụ, poly(etylen glycol), poly(etylen glycol) có đầu tận cùng metyl ete, poly(etylen glycol-khối-propylen glycol-khối-etylen glycol)), và silicon polyete dạng lỏng tan trong nước, môi trường không tan trong nước, như isopropyl myristat, isopropyl palmitat, dầu khoáng, dimethicon và vazolin vàng. Theo một số phương án, các tá dược có thể có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 0% đến 99,9% trọng lượng, so với trọng lượng của chế phẩm mở ỏ.

Chế phẩm mở ỏ cũng có thể chứa chất làm ướt, chất đệm, chất tạo gel, chất hoạt động bề mặt, chất tạo chelat và chất nhũ tương. Các tá dược khác có thể bao gồm các chất đệm trên cơ sở nước khác nhau có độ pH nằm trong khoảng từ 5,0 đến 7,5, silicon, copolyme polyete, các chất béo thực vật và dầu thực vật, tinh dầu, các rượu ưa nước và kỵ nước, các vitamin, monoglyxerit và các este làm gia tăng tính thấm như laurat este, myristat este, palmitat este và stearat este. Theo một số phương án, chế

phẩm mở ổ có thể ở dạng được chọn từ dạng lỏng, dạng gel, dạng bột nhão, dạng kem, dạng nhũ tương và các hỗn hợp của chúng và dạng tương tự.

Theo một số phương án, chế phẩm mở ổ bằng enzym được làm đông khô nhanh thành dạng bột khô. Chế phẩm mở ổ bằng enzym được đông khô nhanh này có thể được sử dụng ở dạng bột hoặc bột này có thể được xử lý thêm thành dung dịch, kem, thuốc xức ngoài da, gel, phun, bột, sol khí, màng hoặc các dạng bào chế khác.

Theo một số phương án, chất nhũ tương là chất hoạt động bề mặt có thể được sử dụng để tạo ra nhũ tương, để tạo điều kiện thuận lợi cho sự tương hợp với các dung môi hữu cơ. Ví dụ về các dung môi hữu cơ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các dung môi không gây đau nhói, như các dung môi silicon dễ bay hơi và hợp chất alkan dễ bay hơi để tạo ra các nhũ tương nước trong dầu hoặc dầu trong nước, các nhũ tương pha ngược, vi nhũ tương (nhũ tương nano), vi nhũ tương và vi nhũ tương pha ngược. Các dung môi silicon dễ bay hơi không gây đau nhói bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, polydimethylsiloxan có trọng lượng phân tử thấp, như hexamethyldisiloxan hoặc octamethyltrisiloxan; các siloxan dạng vòng có trọng lượng phân tử thấp, như hexamethylcyclotrisiloxan hoặc octamethylcyclotetrasiloxan; các alkan mạch thẳng, mạch nhánh hoặc mạch vòng, như propan, butan và isobutan (các sol khí dưới áp lực), pentan, hexan, heptan, octan, isooctan, và các chất đồng phân của nó, các sản phẩm chưng cất dầu mỏ và cyclohexan; và các hợp chất cloflocacbon như trichloromonofloetan, dichlorodifloetan, và dichlorotetrafloetan; các hợp chất flocacbon như tetrafloetan, heptaflopropan, 1,1-difloetan, pentaflopropan, perfloheptan, perflomethylcyclohexan; các hợp chất hydrofloalkan như các sol khí chứa 1,1,1,2-tetrafloetan và 1,1,1,2,3,3,3-heptaflopropan, các hỗn hợp của chúng và chất tương tự; và các khí dễ bay hơi dưới áp lực, như không khí, nitơ oxit và cacbon dioxit dạng lỏng; hoặc hỗn hợp của chúng. Cần hiểu rằng khi được bảo quản ở áp suất cao, cacbon dioxit có thể có mặt ở dạng lỏng ở nhiệt độ trong phòng. Theo một số phương án, dung môi dễ bay hơi có thể là hexamethyldisiloxan, isooctan và hỗn hợp của chúng. Theo một số phương án, dung môi dễ bay hơi có thể là hexamethyldisiloxan. Theo một số phương án, các dung môi có thể có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 0% đến 99,9% trọng lượng, so với trọng lượng của chế phẩm mở ổ.

Các chất tạo độ nhớt tan trong nước hữu ích trong bản mô tả này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, methylxenluloza, hydroxyethylxenluloza,

hydroxypropylxenluloza, hydroxypropylmetylxenluloza, carboxymetylxenluloza, gôm guar, hydroxyetylguar, hydroxypropylguar, hydroxypropylmetylguar, carboxymetylguar, carboxymetylchitosan, gôm đậu locust, caragenan, gôm xanthan, gôm gellan, gel lô hội, scleroglucan, schizophyllan, gôm arabic, gôm me, poly(rượu vinylic), poly(etylen oxit), poly(etylen glycol), poly(metyl vinyl ete), Carbome và các muối của nó, poly(axit acrylic) và các muối của nó, poly(axit metacrylic) và các muối của nó, natri poly(2-acrylamido-2-metylpropansulfonat), polyacrylamit, poly(N,N-dimetylacrylamit), poly(N-vinylaxetamit), poly(N-vinylformamit), poly(2-hydroxyetyl metacrylat), poly(glyxeryl metacrylat), poly(N-vinylpyrolidon), poly(N-isopropylacrylamit) và poly(N-vinylcaprolactam), hai chất sau cùng được hydrat hoá dưới nhiệt độ dung dịch tới hạn thấp hơn của chúng và chất tương tự và các hỗn hợp của chúng.

Theo một số phương án, các polyme tan trong nước có điện tích trung hoà và không phân huỷ về mặt enzym bởi amylaza có thể được sử dụng làm chất tạo độ nhót. Các ví dụ về chất tạo độ nhót này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, poly(etylen oxit), poly(etylen glycol), poly(rượu vinylic) và poly(N-vinylpyrolidon). Các chất tạo độ nhót khác hữu ích trong các chế phẩm mở ở được mô tả trong bản mô tả này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, polysacarit trung tính có các liên kết β giữa các đơn vị monosacarit, như trong metylxenluloza, hydroxyetylxenluloza, hydroxypropylxenluloza, hydroxypropylmetylxenluloza. Các chất tạo độ nhót khác nữa hữu ích trong chế phẩm mở ở được mô tả trong bản mô tả này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các chất mang điện tích anion, như carbome và các muối của nó, poly(axit acrylic) và các muối của nó và poly(axit metacrylic) và các muối của nó. Các chất tạo độ nhót khác nữa là polysacarit anion có các liên kết β giữa các đơn vị monosacarit, như trong carboxymetylxenluloza. Các chất tạo độ nhót này có thể được sử dụng với lượng nằm trong khoảng từ 0,01 đến 50,0% trọng lượng của chế phẩm mở ở để tạo ra gel nhót hoặc bột nhão. Các chất tạo độ nhót có thể có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 45% trọng lượng, từ 0,5 đến 25% trọng lượng hoặc từ 1,0 đến 10,0% trọng lượng.

Các tinh dầu cũng có thể được bổ sung vào chế phẩm dưới dạng chất có mùi thơm hoặc chất thơm và/hoặc dưới dạng các chất kháng vi sinh vật. Ví dụ về các tinh dầu hữu ích trong chế phẩm mở ở được mô tả trong bản mô tả này bao gồm, nhưng

không chỉ giới hạn ở, dầu bách lý hương, tinh dầu bạc hà, dầu đàn hương, long não, dầu sa nhân, dầu quế, dầu hoa nhài, dầu oải hương, dầu phong lữ, dầu bách xù, dầu bạc hà, dầu thông, dầu cam, dầu hoa hồng, dầu khuynh diệp, dầu đinh hương, dầu cam, dầu kinh giới, dầu bạc hà, dầu linalola, dầu bạc hà lục, dầu bạc hà cay, dầu cỏ chanh, tinh dầu chanh cam, dầu sả, dầu cây bách, dầu nhục đậu khấu, dầu cây vân sam, dầu cây chè, dầu cây lộc đề (metyl salixylat), dầu vani và các dầu tương tự. Theo một số phương án, các tinh dầu có thể được chọn từ nhóm gồm dầu bách lý hương, dầu đàn hương, dầu cây lộc đề, dầu bạch đàn, dầu thông và các hỗn hợp của chúng. Theo một số phương án, các tinh dầu có thể có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 0% đến 5% trọng lượng, so với trọng lượng của chế phẩm mở ỏ. Theo một số phương án, các tinh dầu có thể có mặt với lượng ít nhất là 0,1% trọng lượng, hoặc ít nhất là 0,25% trọng lượng, hoặc ít nhất là 0,5% trọng lượng, so với trọng lượng của chế phẩm mở ỏ.

Theo một số phương án, clorophyllin, dẫn xuất bán tổng hợp tan trong nước của clorophyll, cũng có thể được sử dụng để kiểm soát mùi của vết thương và để tạo ra các đặc tính kháng viêm. Theo một số phương án, clorophyllin có thể có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 0% đến 5% trọng lượng, so với trọng lượng của chế phẩm mở ỏ. Theo một số phương án, clorophyllin có thể có mặt với lượng ít nhất là 0,1% trọng lượng, hoặc ít nhất là 0,25% trọng lượng, hoặc ít nhất là 0,5% trọng lượng, so với trọng lượng của chế phẩm mở ỏ.

Chất làm tróc lớp sừng da cũng có thể được bổ sung vào chế phẩm mở ỏ để trợ giúp cho việc phân giải mô của vảy. Ví dụ, chất làm tróc lớp sừng da có thể thúc đẩy sự làm mềm và tróc biểu bì. Các chất làm tróc lớp sừng da hữu ích trong chế phẩm mở ỏ như được mô tả trong bản mô tả này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, ure, axit salixylic và axit α -hydroxy, như axit lactic, axit glycolic và axit xitric. Ví dụ, ure có thể được sử dụng để trợ giúp việc loại bỏ mô chết trong các vết thương hoại tử để giúp làm liền vết thương (Bằng độc quyền sáng chế Mỹ số US 8.754.045). Theo một số phương án, chất làm tróc lớp sừng da có thể có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 0% đến 15% trọng lượng, so với trọng lượng của chế phẩm mở ỏ. Theo một số phương án, các tinh dầu có thể có mặt với lượng ít nhất là 0,1% trọng lượng, hoặc ít nhất là 0,25% trọng lượng, hoặc ít nhất là 0,5% trọng lượng, so với trọng lượng của chế phẩm mở ỏ.

Theo một số phương án, tổng lượng enzym không phân giải protein trong chế phẩm mở ổ có khả năng mở ổ mô bị chết hoặc hoại tử có thể ít nhất là nằm trong khoảng từ 0,001% trọng lượng đến 60% trọng lượng, so với tổng trọng lượng của chế phẩm mở ổ. Theo một số phương án, tổng lượng enzym không phân giải protein có thể ít nhất là nằm trong khoảng từ 1% trọng lượng đến 50% trọng lượng, hoặc ít nhất là từ 2% trọng lượng đến 40% trọng lượng, hoặc ít nhất là từ 5% trọng lượng đến 35% trọng lượng, hoặc ít nhất là từ 10% trọng lượng đến 30% trọng lượng. Theo một số phương án, enzym không phân giải protein là amylaza. Theo một số phương án, enzym không phân giải protein là α -amylaza.

Theo một số phương án, lượng thành phần mở ổ bằng enzym không phân giải protein có khả năng mở ổ mô bị chết hoặc hoại tử trong chế phẩm mở ổ có thể là 100% trọng lượng, hoặc ít nhất là 99,5% trọng lượng, hoặc ít nhất là 99% trọng lượng, hoặc ít nhất là 95% trọng lượng, hoặc ít nhất là 90% trọng lượng, hoặc ít nhất là 85% trọng lượng, hoặc ít nhất là 80% trọng lượng. Theo một số phương án, lượng thành phần mở ổ bằng enzym không phân giải protein có khả năng mở ổ mô bị chết hoặc hoại tử trong chế phẩm mở ổ có thể tối đa là 100% trọng lượng, hoặc tối đa là 99,5% trọng lượng, hoặc tối đa là 99% trọng lượng, hoặc tối đa là 95% trọng lượng, hoặc tối đa là 90% trọng lượng, hoặc tối đa là 85% trọng lượng, hoặc tối đa là 80% trọng lượng. Theo một số phương án, lượng thành phần mở ổ bằng enzym không phân giải protein có khả năng mở ổ mô bị chết hoặc hoại tử trong chế phẩm mở ổ có thể ít nhất là 0,001% trọng lượng, hoặc ít nhất là 0,01% trọng lượng, hoặc ít nhất là 0,05% trọng lượng, hoặc ít nhất là 0,075% trọng lượng, hoặc ít nhất là 0,1% trọng lượng, hoặc ít nhất là 0,15% trọng lượng.

Theo một số phương án, lượng amylaza trong chế phẩm mở ổ có thể là 100% trọng lượng, ít nhất là 99,5% trọng lượng, ít nhất là 99% trọng lượng, ít nhất là 95% trọng lượng, ít nhất là 90% trọng lượng, ít nhất là 85% trọng lượng, hoặc ít nhất là 80% trọng lượng. Theo một số phương án, lượng amylaza trong thành phần mở ổ bằng enzym không phân giải protein có thể là 100% trọng lượng, ít nhất là 99,5% trọng lượng, ít nhất là 99% trọng lượng, ít nhất là 95% trọng lượng, ít nhất là 90% trọng lượng, ít nhất là 85% trọng lượng, hoặc ít nhất là 80% trọng lượng, với phần còn lại của thành phần mở ổ bằng enzym không phân giải protein là các enzym không phân giải protein khác. Lượng α -amylaza có thể ít nhất là 10% trọng lượng, ít nhất là

20% trọng lượng, ít nhất là 30% trọng lượng, ít nhất là 40% trọng lượng, ít nhất là 50% trọng lượng, ít nhất là 60% trọng lượng, ít nhất là 70% trọng lượng, ít nhất là 80% trọng lượng, ít nhất là 90% trọng lượng hoặc 100% trọng lượng của hàm lượng amylaza. Theo một số phương án, lượng còn lại của thành phần mở ổ bằng enzym không phân giải protein (nhỏ hơn hoặc bằng 20% trọng lượng, nhỏ hơn hoặc bằng 15% trọng lượng, nhỏ hơn hoặc bằng 10% trọng lượng, nhỏ hơn hoặc bằng 5% trọng lượng, nhỏ hơn hoặc bằng 1% trọng lượng, nhỏ hơn hoặc bằng 0,5% trọng lượng) có thể là, nhưng không chỉ giới hạn ở, các enzym thuỷ phân, làm tan và oxy hoá/khử bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các enzym thuỷ phân, làm tan và oxy hoá/khử được chọn từ nhóm bao gồm lipaza, hyaluronidaza, chondroitinaza, heparanaza, heparinaza, peroxidaza, xylanaza, nucleaza, phospholipaza, esteraza, phosphataza, isoamylaza, maltaza, glycosylaza, galactosidaza, cutinaza, lactaza, inulaza, pectinaza, mananaza, glucosidaza, invertaza, pectat lyaza, reductaza, oxidaza, phenoloxidaza, lipoxxygenaza, ligninaza, pullulanaza, tanaza, pentosanaza, glucanaza, arabinosidaza, sulfataza, xenluloza, hemixenluloza, laccaza, hỗn hợp của chúng và chất tương tự. Các ví dụ về enzym phân giải protein có thể có mặt trong chế phẩm mở ổ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, proteaza và keratinaza.

Chế phẩm mở ổ có thể chứa môi trường nước. Theo một số phương án, môi trường nước có thể có độ pH nằm trong khoảng từ 3,0 đến 10,0 hoặc từ 4,5 đến 8,0 hoặc từ 5,5 đến 7,5. Theo một số phương án, chế phẩm mở ổ có thể có nồng độ osmol/kg nước dung dịch nằm trong khoảng từ 10 đến 340mOsm/kg. Trong đó, chế phẩm mở ổ là dung dịch trên cơ sở nước, gel hoặc bột nhão, polyme tan trong nước có thể được bổ sung để làm tăng độ nhớt của dung dịch và để kéo dài thời gian duy trì của chế phẩm enzym trên mô hoại tử, trên bề mặt vết thương hoặc dưới da trong vết thương.

Chế phẩm mở ổ bằng enzym có thể được sử dụng cho mô đã chết, nếu cần, để hoà tan mảnh vụn hoại tử trong và xung quanh vết thương. Ví dụ, theo một số phương án, chế phẩm mở ổ bằng enzym có thể được cho tiếp xúc với mô đã chết trong khoảng thời gian từ 1 đến 48 giờ, từ 1 đến 24 giờ, từ 1 đến 12 giờ, từ 1 đến 8 giờ, từ 1 đến 4 giờ hoặc từ 1 đến 2 giờ trước khi loại bỏ.

Theo một số phương án, chế phẩm amylaza có thể được loại bỏ ra khỏi vết thương bằng cách lau hoặc bằng cách rửa bằng nước muối hoặc nước. Các bước này

có thể được lặp lại, nếu cần. Rất nhiều vết thương có thể được điều trị bằng các chế phẩm mở ổ được mô tả trong bản mô tả này, bao gồm các vết bỏng dày toàn bộ và cục bộ, vết loét do đái tháo đường, các tổn thương do loét, vết loét chủ yếu do áp lực (tư thế nằm), vết loét tĩnh mạch, vết loét do dinh dưỡng, các vết thương do phẫu thuật như các vết thương do thủ thuật cắt cụt, rách, chấn thương và sinh mủ, các vết thương bị nhiễm vi sinh vật, các vết thương ghép da thể cho và nhận, các vết thương ác tính, u nang, các vết thương do phóng xạ, cháy nắng và thương tổn do lạnh giá.

Theo một số phương án, chế phẩm mở ổ bằng enzym có thể được tiêm vào mô đã chết. Chất làm tăng độ thấm cũng có thể được sử dụng để làm gia tăng mức độ phân phối qua da của các dung dịch, gel, kem, thuốc xức ngoài da, sol khí và phun. Các chất làm tăng độ thấm có thể được sử dụng trong chế phẩm mở ổ được mô tả trong bản mô tả này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các axit béo như các axit no có từ 6 đến 18 nguyên tử cacbon mạch nhánh và mạch thẳng, các axit không no, như axit oleic có từ 14 đến 22 nguyên tử cacbon, axit cis-9-octadecenoic, axit linoleic, axit linolenic, các rượu béo, như terpen no có từ 8 đến 18 nguyên tử cacbon, như d-limonen, α -pinen, 3-carene, menthol, fenchon, pulegon, piperiton, eucalyptol, dầu rau muống, carvon, menthol, α -terpineol, terpinen-4-ol, carveol, limonen oxit, pinen oxit, xyclopentan oxit, triaxetin, xyclohexan oxit, ascaridol, 7-oxabicyclo[2,2,1]heptan, 1,8-xineol, glyxerol monoete, glyxerol monolaurat, glyxerol monooleat, isostearyl isostearat, isopropyl myristat, isopropyl palmitat, isopropyl lanolat, các hợp chất pyrrolidon, như N-metyl-2-pyrrolidon, 1-etyl-2-pyrrolidon, 5-metyl-2-pyrrolidon, 1,5-dimetyl-2-pyrrolidon, axit 2-pyrrolidon-5-carboxylic, N-hexyl-2-pyrrolidon, N-lauryl-2-pyrrolidon, 1-dodecylazaxycloheptan-2-on, 4-dexyloxazolidin-2-on, N-dodecylcaprolactam, và 1-metyl-3-dodecyl-2-pyrrolidon N-n-butyl-N-n-dodecylaxetamit, N,N-di-n-dodecylaxetamit, N-xycloheptyl-N-n-dodecylaxetamit và N,N-di-n-propyldodecanamit, ure, 1-dodecylure, 1,3-didodecylure, 1,3-diphenyl ure, dimetyl sulfoxit, dexylmetyl sulfoxit, tetradexylmetyl sulfoxit, xyclodextrin và các hỗn hợp của chúng. Ngoài ra, các chất làm tăng độ thấm hữu hiệu bao gồm 1-alkyl-2-piperidinon, 1-alkyl-2-azaxycloheptanon, như 1-dodecylazaxycloheptan-2-on, 1,2,3-alkanetriol, như 1,2,3-nonantriol, 1,2-alkandiol, n-, 2-(1-alkyl)-2-metyl-1,3-dioxolan, oxazolidinon, như 4-dexyloxazolidin-2-on, N,N-dimetylalkanamit, 1,2-dihydroxypropyl alkanoat, như 1,2-dihydroxypropyl decanoat, 1,2-dihydroxypropyl

octanoat, natri deoxycholat, *trans*-3-alken-1-ol, *cis*-3-alken-1-ol và *trans*-hydroxyprolin-N-alkanamit-C-etylmit, và các hỗn hợp của chúng. Theo một số phương án, chất làm tăng độ thấm có thể bao gồm các este kỵ nước isopropyl myristat, isopropyl palmitat hoặc hỗn hợp của chúng.

Do khả năng nhiễm khuẩn trong mô hoại tử đã chết, chế phẩm mở ổ có thể chứa chất sinh học với lượng đủ để cản trở hoặc tiêu diệt vi sinh vật. Các chất sinh học này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, thuốc kháng sinh, thuốc sát khuẩn, chất chống nhiễm khuẩn, chất kháng vi sinh vật, chất kháng vi khuẩn, chất chống nấm, chất kháng virus, chất kháng động vật nguyên sinh, chất diệt bào tử, chất kháng ký sinh trùng. Theo một số phương án, chất sinh học là chất thoái biến sinh học và không độc đối với tế bào của người và động vật. Các chất diệt sinh vật hữu ích bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, biguanit, như poly(hexametylen biguanit hydroclorua) (PHMB), polycation tổng hợp có trọng lượng phân tử thấp, clohexidin và các muối của nó, như clohexidin digluconat (CHG), và alexidin và các muối của nó, trong đó hai chất cuối là bis(biguanit).

Theo một số phương án, biguanit là PHMB do hoạt tính diệt sinh vật cao của nó đối với vi sinh vật, được kết hợp với sự thoái biến sinh học và tính độc tế bào của nó thấp. PHMB chủ yếu có hoạt tính đối với các vi khuẩn Gram âm và Gram dương, nấm và virus và cũng có tác dụng làm chất bảo quản. Trái ngược với các thuốc kháng sinh được cho là được phẩm điều hoà mà tính kháng thuốc của vi khuẩn mà có thể xuất hiện, tính kháng thuốc này không xuất hiện với PHMB. Nói chung, chất kháng vi sinh vật được định nghĩa là chất tiêu diệt vi sinh vật hoặc ức chế sự sinh trưởng hoặc sao chép của chúng, trong khi chất chống lây nhiễm được định nghĩa là chất chống lại sự lây nhiễm bằng cách tiêu diệt các tác nhân lây nhiễm, như các vi sinh vật hoặc ngăn không cho chúng lây lan. Thông thường, hai thuật ngữ này được sử dụng thay thế lẫn nhau. Khi được sử dụng trong bản mô tả này, PHMB được cho là chất kháng vi sinh vật.

Theo một số phương án, chế phẩm mở ổ là chế phẩm mở ổ trong nước. Theo một số phương án, chế phẩm mở ổ trong nước được mô tả trong bản mô tả này có thể chứa PHMB là chất diệt sinh vật với nồng độ nằm trong khoảng từ 0,01% trọng lượng (100ppm) đến 1% trọng lượng (10000ppm) hoặc nằm trong khoảng từ 0,05% trọng lượng (500ppm) đến 0,5% trọng lượng (5000ppm) hoặc nằm trong khoảng từ 0,1%

trọng lượng (1000ppm) đến 0,15% trọng lượng (1500ppm), so với tổng trọng lượng của chế phẩm mở ổ. Bis(biguanit), như alexidin và các muối của nó và clohexidin và các muối của nó, cũng có thể được bổ sung vào các chế phẩm kháng vi sinh vật với các nồng độ nằm trong khoảng từ 0,001% trọng lượng (10ppm) đến 4,0% trọng lượng (40000ppm).

Sự tương tác của polycation PHMB có trọng lượng phân tử thấp (trọng lượng phân tử ~2400Dalton) với amylaza có điện tích âm, amylaza có trọng lượng phân tử cao (trọng lượng phân tử bằng 55000Dalton) ở độ pH sinh lý có thể tạo ra phức chất protein-chất điện ly cao phân tử chứa PHMB được tương tác ion với amylaza. Trong vết thương, PHMB có thể được giải phóng ra khỏi phức chất protein-chất điện ly cao phân tử theo cách giải phóng liên tục theo hàm số của lượng cation có trọng lượng phân tử thấp trong dịch cơ thể (như các ion natri, kali, canxi và magie) để thay thế sự tương tác cation PHMB ion với các vị trí amylaza anion.

Liều dùng mà khi đó các chế phẩm điều trị chứa amylaza được sử dụng phụ thuộc vào nguồn amylaza, hoạt tính (nghĩa là số lượng đơn vị liên quan), kích thước của mô hoại tử, tuổi của bệnh nhân, khả năng tiến hành chăm sóc lâm sàng và tỷ lệ nhiễm khuẩn. Lượng amylaza điều trị có thể được sử dụng tối đa là hai lần mỗi ngày có thể từ việc sử dụng bột (với lượng 100% trọng lượng) đến dung dịch pha loãng (với lượng khoảng 0,001% trọng lượng). Theo một số phương án, hoạt tính của amylaza có thể nằm trong khoảng từ 250 đơn vị đến 250.000 đơn vị/g enzym trong 1g chế phẩm mở ổ.

Chế phẩm mở ổ đối với mô hoại tử có thể được thực hiện bởi bác sĩ lâm sàng sao cho bệnh nhân không gặp khó khăn về y tế khác bất kỳ. Phương pháp mở ổ bằng amylaza có thể được thực hiện kết hợp với các phương pháp mở ổ đã biết khác.

Khi được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “mở ổ” có nghĩa thông thường của nó và bao gồm việc loại bỏ mô rách, đã chết, chết, tổn thương, bị nhiễm khuẩn hoặc nhiễm bẩn, thể ngoại lai và mảnh vụn khác ra khỏi vết thương để lộ ra mô khoẻ mạnh. Mô không còn sống hoặc hoại tử có thể là vảy hoặc mảng mô hoại tử.

Khi được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “mô hoại tử” có nghĩa thông thường của nó và bao gồm mô chết chứa các tế bào chết và mảnh vụn, do sự phân đoạn của các tế bào khô. Màu của mô hoại tử thay đổi từ màu đỏ sang màu nâu hoặc màu đen hoặc màu tía, khi nó trở nên bị khử nước nhiều hơn, cuối cùng dẫn đến màu

đen, khô, dày và cấu trúc vảy như da, có thể xuất hiện trong nhiều dạng vết thương, bao gồm cả vết bỏng và tất cả các dạng vết thương mạn tính.

Khi được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “vảy” có nghĩa thông thường của nó và bao gồm các dạng mô hoại tử. Nó là lớp phủ giống như da trên vết thương ở bề mặt da và có thể là cứng hoặc mềm dẻo.

Khi được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “mảng mô hoại tử” có nghĩa thông thường của nó và bao gồm mô hoại tử chảy mủ. Dạng mô đã chết này mềm, chảy mủ và thường giống như sợi đặc và thường có màu vàng, màu trắng hoặc màu xám.

Khi được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “mô đã chết” có nghĩa thông thường của nó và bao gồm mô không có khả năng tồn tại hoặc sống, tức là mô chết.

Khi được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “enzym phân giải protein” có nghĩa thông thường của nó và bao gồm các enzym phân cắt theo cách độc lập (phân giải, phá vỡ, thủy phân) các phân tử polyme dạng mạch dài của protein thành các mảnh peptit ngắn hơn và cuối cùng, thành các thành phần axit amin bazơ của chúng.

Khi được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “cắt bỏ” có nghĩa thông thường của nó và bao gồm quy trình phẫu thuật cần phải rạch bằng cách sử dụng dao mổ hoặc thiết bị sắc khác qua hạ bì sâu (bao gồm cả các mô dưới da và sâu hơn).

Khi được sử dụng trong bản mô tả này, liên kết cộng hoá trị được tạo ra giữa phân tử hydrat cacbon và phân tử khác, cụ thể là giữa hai gốc monosacarit, là “gắn kết glycosit” hoặc “liên kết glycosit”.

Khi được sử dụng trong bản mô tả này, cụm từ “liên kết α -1,4-glycosit” là các liên kết thường được tạo ra giữa nguyên tử cacbon ở vị trí-1 trên một đường và nguyên tử cacbon ở vị trí-4 trên gốc đường khác trong polysacarit. Liên kết α -glycosit được tạo ra khi nhóm $-OH$ trên nguyên tử cacbon ở vị trí-1 nằm dưới mặt phẳng của vòng glucoza. Mặt khác, liên kết β -glycosit được tạo ra khi nó nằm trên mặt phẳng này. Ví dụ, xenluloza được tạo ra từ các gốc glucoza được liên kết bởi các liên kết 1-4 β -glycosit, trong khi tinh bột được tạo ra từ các liên kết 1-4 α -glycosit.

Khi được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “ α -amylaza” thường bao gồm các enzym α -amylaza có trong tự nhiên cũng như α -amylaza tái tổ hợp, trong đó α -amylaza tái tổ hợp có nghĩa là α -amylaza trong đó trình tự gen ADN mã hoá α -amylaza có trong tự nhiên được cải biến để tạo ra trình tự ADN thể đột biến để mã

hoá sự thay thế, sự chèn đoạn hoặc loại bỏ một hoặc nhiều axit amin trong trình tự α -amylaza so với α -amylaza có trong tự nhiên.

Khi được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “phân giải tinh bột” được đặc trưng bởi hoặc có khả năng phân giải tinh bột bằng enzym thành dextrin và đường, cụ thể là bằng amylaza.

Khi được sử dụng trong bản mô tả này, lượng enzym sử dụng được tính theo tỷ lệ phần trăm trọng lượng và hoạt tính của nó được thể hiện theo đơn vị hoạt tính/g, trong đó “đơn vị” được định nghĩa là lượng enzym xúc tác sự chuyển hoá 1 micromol cơ chất/phút.

Khi được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “chất hoạt động bề mặt” có nghĩa thông thường của nó và bao gồm các hợp chất làm giảm sức căng bề mặt (hoặc sức căng ở mặt phân cách) giữa hai chất lỏng hoặc giữa chất lỏng và chất rắn và bao gồm các chất nhũ hoá, chất nhũ tương, chất tẩy rửa, chất làm ướt và chất có hoạt tính bề mặt.

Khi được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “vi nhũ tương” có nghĩa thông thường của nó và bao gồm hỗn hợp ổn định về mặt nhiệt động lực gồm dầu, nước (và/hoặc hợp chất ưa nước) và chất hoạt động bề mặt. Các vi nhũ tương bao gồm ba dạng cơ bản: trực tiếp (dầu được phân tán trong nước, o/w), pha ngược (nước được phân tán trong dầu, w/o) và hai pha liên tục. Các vi nhũ tương trong suốt về mặt quang học do các mixen được phân tán có đường kính nhỏ hơn chiều dài bước sóng của ánh sáng trông thấy (ví dụ, nhỏ hơn 380 nanomet, nhỏ hơn 200 nanomet hoặc nhỏ hơn 100 nanomet). Khi không có mặt các chất làm mờ, các vi nhũ tương là chất lỏng đẳng hướng, trong suốt về mặt quang học.

Khi được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “vi nhũ tương pha ngược” có nghĩa thông thường của nó và bao gồm vi nhũ tương chứa pha ưa nước được tạo hỗn dịch trong pha dầu liên tục. Vi nhũ tương pha ngược có thể bao gồm các giọt nhỏ của pha ưa nước (ví dụ, nước, rượu hoặc hỗn hợp của chúng) được làm ổn định trong pha dầu bằng chất hoạt động bề mặt nhũ tương pha ngược. Trong các trường hợp này, chất có hoạt tính ưa nước có thể được hoà tan trong các giọt nhỏ. Tuy nhiên, trong các trường hợp khác, vi nhũ tương pha ngược có thể không chứa nước và/hoặc rượu và chất có hoạt tính ưa nước có thể được hoà tan trực tiếp trong pha dầu bằng chất hoạt động bề mặt nhũ tương pha ngược.

Khi được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “ưa nước” có nghĩa thông thường của nó và bao gồm các hợp chất có ái lực với nước và có thể là ion hoặc hợp chất trung tính hoặc có các nhóm phân cực trong cấu trúc của chúng hút nước. Ví dụ, các hợp chất ưa nước có thể trộn lẫn được, trương nở được hoặc hoà tan trong nước.

Khi được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ chế phẩm “trong nước” để chỉ phổ các dung dịch trên cơ sở nước bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các dung dịch đồng nhất trong nước với các thành phần được hoà tan, dung dịch nhũ hoá trong nước được làm ổn định bằng các chất hoạt động bề mặt hoặc polyme ưa nước và các dung dịch nhót hoặc đồng nhất được gel hóa hoặc nhũ hoá trong nước.

Khi được sử dụng trong bản mô tả này, enzym “hoà tan” hoặc “được hoà tan” nếu lượng enzym có mặt trong hệ dung môi được hoà tan trong hệ dung môi này mà không có enzym tạo ra chất kết tủa hoặc các hạt gel trương nở quan sát được bằng mắt thường trong dung dịch.

Khi được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “không gây đau nhói” có nghĩa là chế phẩm không gây ra cảm giác đau buốt, kích thích, nóng rát hoặc đau nhức do sự tiếp xúc với bề mặt sinh học.

Khi được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “dễ bay hơi” có nghĩa thông thường của nó, nghĩa là có thể bay hơi một cách nhanh chóng ở nhiệt độ và áp suất bình thường. Ví dụ, dung môi dễ bay hơi nếu một giọt dung môi (0,05ml) sẽ bay hơi hoàn toàn ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 20 đến 25°C trong 5 phút hoặc trong 4 phút hoặc trong 3 phút hoặc trong 2 phút hoặc trong 1 phút hoặc trong 30 giây hoặc trong 15 giây.

Khi được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “chất kháng vi sinh vật” được định nghĩa là chất tiêu diệt các vi sinh vật hoặc ức chế sự sinh trưởng hoặc sao chép của chúng, trong khi chất chống lây nhiễm được định nghĩa là chất chống lại sự lây nhiễm bằng cách tiêu diệt các tác nhân lây nhiễm, như vi sinh vật hoặc ngăn không cho chúng lây lan. Thông thường, hai thuật ngữ nay được sử dụng thay thế lẫn nhau. Các chất kháng sinh được cho là các chất mà ban đầu được sản sinh bởi vi sinh vật hoặc được tổng hợp với các đặc tính hoạt hoá để có thể tiêu diệt hoặc ngăn ngừa sự sinh trưởng của vi sinh vật khác. Thuật ngữ kháng sinh thường được dùng để chỉ phần lớn được chất được kê đơn bất kỳ để cố gắng loại bỏ sự lây nhiễm. Chất kháng vi sinh vật không gây ra sự kháng chất diệt sinh vật như có thể xuất hiện với các thuốc kháng

sinh, trong đó sự kháng thuốc kháng sinh có thể xảy ra với dược chất. Chất kháng vi sinh vật có phổ hoạt tính rộng đối với vi khuẩn, nấm, virus, động vật nguyên sinh và prion. Ví dụ về các chất kháng vi sinh vật bao gồm biguanit, như poly(hexametylen biguanit hydroclorua) (PHMB), clohexidin và các muối của nó, alexidin và các muối của nó, povidon/iot, cadexome iot, bạc sulfadiazin, bạc dạng tinh thể nano, bạc ion, mật ong, các tác nhân tẩy trắng pha loãng như natri hypoclorit và axit hypoclorơ, hydro peroxit, các peroxit hữu cơ như benzoyl peroxit, các rượu như etanol và isopropanol, anilit như triclocarban, bisphenol như triclosan, các hợp chất clo như clo dioxit và N-cloramin và các hợp chất amoni bậc bốn như benzalkoni clorua, benzethoni clorua, xetyltrimetylamoni clorua, xetylpyridini clorua và alkyltrimetylamoni bromua, cũng như miconazol, clotrimazol, ketoconazol, fluconazol, tinh thể dạng tím, amphotericin B, tinh dầu trà xanh và chất tương tự. Biguanit, như PHMB, là hữu ích trong các chế phẩm mở ở được mô tả trong bản mô tả này.

Biguanit polyme hữu ích trong các chế phẩm mở ở được mô tả trong bản mô tả này là poly(hexametylen biguanit), có bán trên thị trường từ công ty Arch Chemicals, Inc., Smyrna, GA với nhãn hiệu là Cosmocil™ CQ. Các polyme poly(hexametylen biguanit) còn được gọi là poly(hexametylen biguanit) (PHMB), poly(hexametylen bisbiguanit) (PHMB), poly(hexametylen guanit) (PHMB), poly(aminopropyl biguanit) (PAPB), poly[aminopropyl bis(biguanit)] (PAPB), polyhexanit và poly(iminoimidocarbonyl)iminohexametylen hydroclorua; tuy nhiên, PHMB là chữ viết tắt được ưu tiên. PHMB là chất kháng vi sinh vật phổ rộng và đã được sử dụng trong các dung dịch đa dụng dùng cho thấu kính tiếp xúc, dung dịch rửa vết thương, băng dùng cho vết thương, các sản phẩm làm sạch tiền phẫu thuật, nước súc miệng, chất khử khuẩn bề mặt, chất diệt khuẩn đồ ăn, các ứng dụng trong thú y, các chất bảo quản mỹ phẩm, các chất bảo quản giấy, các chất khử khuẩn để thu hồi dầu thứ cấp, các chất xử lý nước công nghiệp và trong các chất làm sạch bể bơi. Chất này thường thu được về mặt thương mại ở dạng hydroclorua trong nước. Các polyme kháng vi sinh vật khác cũng có thể được bổ sung, như polyquaternium 1, polyquaternium 6, polyquaternium 10, hợp chất guar cation và các dẫn xuất tan trong nước của chitosan.

Khi được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “thuốc kháng sinh” là thuốc hoặc dược chất, thường được kê đơn, như penixilin, streptomycin, cloramphenicol và

tetracyclin, thường được sản sinh bởi các vi sinh vật khác nhau, để ức chế sự sinh trưởng hoặc phá huỷ vi sinh vật, chủ yếu được sử dụng trong điều trị bệnh lây nhiễm. Các thuốc kháng sinh được cho là các chất mà ban đầu được sản sinh bởi vi sinh vật hoặc được tổng hợp với các đặc tính hoạt hoá liên quan để có thể tiêu diệt hoặc ngăn ngừa sự sinh trưởng của vi sinh vật khác. Thuật ngữ thuốc kháng sinh thường được sử dụng để chỉ phần lớn được chất được kê đơn bất kỳ để cố gắng loại bỏ sự lây nhiễm.

Khi được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “sự kháng thuốc kháng sinh” là khả năng của vi khuẩn và các vi sinh vật khác kháng lại các tác dụng của thuốc kháng sinh mà chúng từng miễn cảm trước đây.

Chế phẩm mở ở được mô tả trong bản mô tả này có thể chứa monoalkyl glycol diệt sinh vật, glyxerol alkyl ete và monoaxyl glyxerol với nồng độ kết hợp nằm trong khoảng từ 0,05% trọng lượng (500ppm) đến 4% trọng lượng (4000ppm) hoặc từ 0,1% trọng lượng (1000ppm) đến 1% trọng lượng (10000ppm) hoặc từ 0,4% trọng lượng (4000ppm) đến 0,6% trọng lượng (6000ppm), so với trọng lượng của chế phẩm mở ở. Monoalkyl glycol, glyxerol alkyl ete, và monoaxyl glyxerol có thể có tính kỵ nước.

Các ví dụ về monoalkyl glycol hữu ích trong chế phẩm mở ở được mô tả trong bản mô tả này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, 1,2-propandiol (propylen glycol), 1,2-butandiol, 1,2-pentandiol, 1,2-hexandiol, 1,2-heptandiol, 1,2-octandiol (caprylyl glycol), 1,2-nonandiol, 1,2-decandiol, 1,2-undecandiol, 1,2-dodecandiol, 1,2-tridecandiol, 1,2-tetradecandiol, 1,2-pentadecandiol, 1,2-hexadecandiol, 1,2-heptadecandiol và 1,2-octadecandiol. Các hợp chất glycol không kể cận cũng có thể được bổ sung để làm gia tăng hoạt tính diệt sinh vật. Các hợp chất glycol không kể cận làm ví dụ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, 2-metyl-2,4-pentandiol, 1,3-butandiol, dietylen glycol, trietylen glycol, và glycol bis(hydroxyetyl) ete.

Các ví dụ về hợp chất glyxerol alkyl ete hữu ích trong chế phẩm mở ở được mô tả trong bản mô tả này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, 1-O-heptylglyxerol, 1-O-octylglyxerol, 1-O-nonylglyxerol, 1-O-dexylglyxerol, 1-O-undexylglyxerol, 1-O-dodexylglyxerol, 1-O-tridexylglyxerol, 1-O-tetradexylglyxerol, 1-O-pentadexylglyxerol, 1-O-hexadexylglyxerol (rượu chimylic), 1-O-heptadexylglyxerol, 1-O-octadexylglyxerol (rượu batylic), 1-O-octadec-9-enyl glyxerol (rượu selachylic), glyxerol 1-(2-etylhexyl) ete (còn được gọi là octoxyglyxerin, 2-etylhexyl glyxerin, 3-(2-etylhexyloxy)propan-1,2-diol, và Sensiva® SC 50), glyxerol 1-heptyl ete, glyxerol

1-octyl ete, glyxerol 1-dexyl ete, và glyxerol 1-dodexyl ete, glyxerol 1-tridexyl ete, glyxerol 1-tetradexyl ete, glyxerol 1-pentadexyl ete, glyxerol 1-hexadexyl ete và glyxerol 1-octadexyl ete.

Các ví dụ về hợp chất monoaxyl glyxerol hữu ích trong chế phẩm mở ỏ được mô tả trong bản mô tả này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, 1-O-decanoylglyxerol (monocaprin), 1-O-undecanoylglyxerol, 1-O-undecenoylglyxerol, 1-O-dodecanoylglyxerol (monolaurin, còn được gọi là glyxerol monolaurat và Lauricidin®), 1-O-tridecanoylglyxerol, 1-O-tetradecanoylglyxerol (monomyristin), 1-O-pentadecanoylglyxerol, 1-O-hexadecanoylglyxerol, 1-O-heptadecanoylglyxerol, và 1-O-octanoylglyxerol (monocaprylin). Nói chung, các hợp chất glyxerol được thể ở vị trí 1-O- được ưu tiên hơn so với các hợp chất glyxerol được thể ở vị trí 2-O- hoặc được thể hai lần ở các vị trí 1-O và 2-O.

Khi được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “kỵ nước” để chỉ sự đẩy nước, không tan hoặc tương đối không tan trong nước và không có ái lực đối với nước. Các hợp chất kỵ nước với nhóm thể ưa nước, như các hợp chất diol kế cận, có thể tạo ra nhũ tương trong nước, có hoặc không có chất hoạt động bề mặt được bổ sung.

Khi được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “lưỡng tính” để chỉ hỗn hợp của các điện tích cation và anion trên một phân tử hoặc polyme trong đó tổng điện tích phụ thuộc vào độ pH theo cách cục bộ, trong khi thuật ngữ “lưỡng cực” có số lượng điện tích cation và anion bằng nhau trong khoảng độ pH rộng.

Khi được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “tá được” thường là chất trợ để tạo ra chất dẫn thuốc như chất lỏng, chất lưu hoặc gel, để hoà tan hoặc phân tán enzym hoặc các thành phần bổ sung khác. Các chế phẩm amylaza có thể bao gồm một hoặc nhiều chất hoạt động bề mặt bổ sung để tăng cường việc loại bỏ mô hoại tử. Các chất hoạt động bề mặt thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, chất hoạt động bề mặt cation, anion, không ion, lưỡng tính và lưỡng cực. Theo một số phương án, các chất hoạt động bề mặt là các chất hoạt động bề mặt không ion và lưỡng tính. Theo một số phương án, chất hoạt động bề mặt có thể có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 0% đến 10% trọng lượng, so với trọng lượng của chế phẩm mở ỏ. Theo một số phương án, chất hoạt động bề mặt có thể có mặt với lượng ít nhất là 0,01% trọng lượng, hoặc ít nhất là 0,1% trọng lượng, hoặc ít nhất là 0,25% trọng lượng, hoặc ít nhất là 0,5%

trọng lượng, hoặc ít nhất là 1% trọng lượng, so với trọng lượng của chế phẩm mở ỏ. Chất hoạt động bề mặt có thể có giá trị HLB (hệ số cân bằng ưa nước-ưa lipid) nằm trong khoảng từ 18 đến 30 để duy trì cấu trúc xúc tác của enzym trong dung dịch cũng như không cản trở hoạt tính diệt sinh vật của các chất kháng vi sinh vật bổ sung bất kỳ, trong khi tạo điều kiện thuận lợi cho dung dịch không có tính độc tế bào. Các giá trị của HLB cao thể hiện các chất hoạt động bề mặt có tính ưa nước cao hơn so với các chất có giá trị HLB thấp hơn.

Các chất hoạt động bề mặt không ion thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, copolyme khối etylen oxit/propylen oxit chứa poloxame, poloxame pha ngược, poloxamin và poloxamin pha ngược. Poloxame và poloxamin là được ưu tiên và poloxame được ưu tiên nhất. Poloxame và poloxamin là sản phẩm sẵn có của BASF Corp. với tên thương mại tương ứng là Pluronic® và Tetronic®. Các chất hoạt động bề mặt pluronic thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, Pluronic F38 có giá trị HLB bằng 31, Pluronic F68 có giá trị HLB bằng 29, Pluronic 68LF có giá trị HLB bằng 26, Pluronic F77 có giá trị HLB bằng 25, Pluronic F87 có giá trị HLB bằng 24, Pluronic F88 có giá trị HLB bằng 28, Pluronic F98 có giá trị HLB bằng 28, Pluronic F108 có giá trị HLB bằng 27, Pluronic F127 (còn được gọi là Poloxamer 407) có giá trị HLB nằm trong khoảng từ 18 đến 23 và Pluronic L35 có giá trị HLB bằng 19. Chất hoạt động bề mặt poloxamin làm ví dụ thuộc loại này là Tetronic 1107 (còn được gọi là Poloxamin 1107) có giá trị HLB bằng 24.

Ngoài các chất nêu trên, các chất hoạt động bề mặt trung tính khác có thể được bổ sung, ví dụ như este polyetylen glycol của các axit béo, ví dụ, dừa, polysorbat, polyoxyetylen hoặc polyoxypropylen ete của alkan bậc cao (có từ 12 đến 18 nguyên tử cacbon), polysorbat 20 có sẵn trên thị trường với tên thương mại là Tween 20, polyoxyetylen (23) lauryl ete có sẵn trên thị trường với tên thương mại là Brij 35, polyoxyetylen (40) stearat có sẵn trên thị trường với tên thương mại là Myrj 52, và polyoxyetylen (25) propylen glycol stearat có sẵn trên thị trường với tên thương mại là Atlas G 2612, tất cả các sản phẩm này đều là sản phẩm có sẵn của công ty Akzo Nobel, Chicago, IL. Các chất hoạt động bề mặt trung tính khác bao gồm các hợp chất nonylphenol etoxylat như nonylphenol etoxylat, Triton X-100, các chất hoạt động bề mặt Brij của ete béo trên cơ sở polyoxyetylen thực vật, Tween 80, dexyl glucosit và lauryl glucosit.

Các chất hoạt động bề mặt lưỡng tính thích hợp để sử dụng trong các chế phẩm kháng vi sinh vật theo sáng chế bao gồm các chất thuộc loại có bán trên thị trường với tên thương mại là Miranol (Rhodia). Nhóm chất hoạt động bề mặt lưỡng tính hữu ích khác được minh họa bởi betain, bao gồm cocoamidopropyl betain, undexylenamidoalkylbetain và lauramidoalkylbetain và natri cocoamphoaxetat. Các chất hoạt động bề mặt lưỡng tính là rất nhẹ và có các đặc tính ngoài da tuyệt vời, khiến cho chúng đặc biệt thích hợp để sử dụng trong các ứng dụng chăm sóc cơ thể.

Chế phẩm mở ổ còn có thể chứa chất tạo chelat với nồng độ nằm trong khoảng từ 0,01% trọng lượng đến 1% trọng lượng. Ví dụ, chất tạo chelat có thể có mặt với lượng ít nhất là 0,01% trọng lượng, hoặc ít nhất là 0,03% trọng lượng, hoặc ít nhất là 0,05% trọng lượng, hoặc ít nhất là 0,1% trọng lượng hoặc ít nhất là 0,50% trọng lượng, hoặc ít nhất là 0,75% trọng lượng, hoặc ít nhất là 1,0% trọng lượng. Chất tạo chelat có thể được chọn từ nhóm bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, axit etylenđiamintetraaxetic (EDTA), axit nitrilotriaxetic, axit nitrilotripropionic, axit dietylenetriaminpentaaxetic, axit 2-hydroxyetylenđiamintriaxetic, axit 1,6-diaminohexametylenetetraaxetic, axit 1,2-diaminoxyclohexantetraaxetic, axit O,O'-bis(2-aminoetyl)etyleneglycoltetraaxetic, axit 1,3-diaminopropanetetraaxetic, axit N,N'-bis(2-hydroxybenzyl)etylenđiamin-N,N'-diaxetic, axit etylenđiamin-N,N'-diaxetic, axit etylenđiamin-N,N'-dipropionic, axit trietylenetetraaminhexaaxetic, etylenđiamin-N,N'-bis(axit metylenphosphonic), axit iminodiaxetic, axit mononatri-N-lauryl- β -iminodipropionic (natri lauriminodipropionat, Deriphat® 160C), N,N-bis(2-hydroxyetyl)glyxin, axit 1,3-diamino-2-hydroxypropanetetraaxetic, axit 1,2-diaminopropanetetraaxetic, etylenđiamintetrakis(axit metylenphosphonic), axit N-(2-hydroxyetyl)iminodiaxetic, biphosphonat, editronat và các muối của nó.

Chế phẩm mở ổ cũng có thể chứa clorophyllin và các dẫn xuất tan trong nước của nó để làm giảm mức độ viêm cục bộ, thúc đẩy quá trình làm liền vết thương và kiểm soát mùi. Đã có báo cáo rằng trong khi điều trị vết thương cần phải mở ổ, một số sản phẩm cuối của quá trình phân giải protein là mucoprotein, chất này thường tạo ra tác dụng kích thích và các tác dụng gây hại khác đối với mô khi tiếp xúc với các sản phẩm cuối này. Để kiểm soát các tác dụng không mong muốn này, dẫn xuất clorophyll tan trong nước được kết hợp vào chế phẩm mở ổ phân giải protein, thường là với lượng nằm trong khoảng từ 0,05 đến 1% trọng lượng của toàn bộ chế phẩm và tốt hơn

là với lượng nằm trong khoảng từ 0,1% đến 0,5% (Bảng độc quyền sáng chế Mỹ số US 2.917.433). Các hợp chất clorophyl tan trong nước có thể được sử dụng cho mục đích nêu trên được minh họa bởi các chất được bộc lộ trong Bảng độc quyền sáng chế Mỹ số US 2.120.667, bao gồm cụ thể là natri hoặc kali đồng clorophyl, natri hoặc kali magie clorophylin và natri hoặc kali sắt clorophylinin. Hợp chất clorophyl tan trong nước được ưu tiên cho mục đích này là hỗn hợp của natri và kali đồng clorophylin, chủ yếu là muối kali.

Các ứng dụng khác về hợp chất clorophylin trong điều trị vết thương được minh họa bởi công bố đơn quốc tế số WO 2008/063229, trong đó chế phẩm mở ở bằng enzym proteaza là thuốc mỡ ưa nước, thuốc này còn chứa chất hỗ trợ để làm giảm đến mức tối thiểu mức độ tổn thương đối với tế bào bình thường khoẻ mạnh từ các hợp chất được giải phóng bởi các tế bào khô, trong đó chất tùy ý là natri đồng clorophylin, trong đó khoảng tỷ lệ theo hệ số tỷ lượng của số mol clorophylin được sử dụng với số mol enzym mở ở được sử dụng tùy ý nằm trong khoảng từ 0,1 đến 10,0, từ 0,3 đến 3,0 hoặc 1,0.

Natri đồng clorophylin cũng là chất tạo màu thực phẩm và được gọi là chất màu xanh lá cây tự nhiên 3. Sự bổ sung nó vào sản phẩm mở ở cũng làm gia tăng sự tạo màu, điều này hữu ích trong việc quan sát bằng mắt thường mức độ loại bỏ của chế phẩm mở ở.

Nếu cần giảm đau trong quá trình mở ở, chế phẩm có thể còn chứa các chất giảm đau, chất gây tê và chất giảm đau do nguyên nhân thần kinh, như lidocain, capsaicin, benzocain, tetracain, prilocain, bupivacain, levobupivacain, procain, carbocain, etidocain, mepivacain, nortriptylen, amitriptylin, pregabalin, diclofenac, fentanyl, gabapentin, chất kháng viêm không steroid, salixylat, các hỗn hợp của chúng và chất tương tự.

Trong khi α -amylaza xúc tác sự thủy phân của các liên kết α -(1-4) bên trong các polyme glucoza làm phản ứng chính của chúng, tuy nhiên, một số α -amylaza, cụ thể là enzym amylaza đường hoá, xúc tác các phản ứng chuyển nhóm, ngoài quá trình thủy phân (Bảng độc quyền sáng chế Mỹ số US 8.486.664; công bố đơn quốc tế số WO 2012/013646). Các enzym α -amylaza này có khả năng chuyển các gốc glycosit thành các rượu có trọng lượng phân tử thấp cũng như nước, đặc tính liên quan đến hoạt tính transferaza của glycosidaza. Vẫn không biết được rằng quá trình

transglycosyl hoá này có xảy ra trong quá trình mở ổ mô hoại tử như liên quan đến sáng chế này hay không.

Theo một số phương án, sáng chế đề cập đến kit bao gồm đồ chứa để đựng chế phẩm mở ổ theo phương án bất kỳ trong số các phương án được mô tả trong bản mô tả này, và các hướng dẫn sử dụng chế phẩm này để mở ổ mô đã chết. Các hướng dẫn có thể bao gồm việc cho chế phẩm mở ổ tiếp xúc với vùng da cần mở ổ. Các hướng dẫn có thể bao gồm việc lặp lại bước tiếp xúc ở khoảng thời gian định kỳ. Khoảng thời gian định kỳ có thể là ít nhất một lần mỗi ngày hoặc ít nhất hai lần mỗi ngày (mỗi 12 giờ) hoặc ít nhất ba lần mỗi ngày (mỗi 8 giờ). Các hướng dẫn có thể bao gồm việc trộn và hoặc pha loãng chế phẩm mở ổ trong dung môi hoặc chất mang dạng lỏng khác. Các hướng dẫn có thể bao gồm việc loại bỏ chế phẩm mở ổ đã xử lý mô hoại tử bằng cách lau chùi và bằng cách rửa bằng dung môi.

Phương pháp mở ổ mô đã chết cũng được mô tả. Phương pháp này có thể bao gồm bước cho chế phẩm mở ổ theo phương án bất kỳ trong số các phương án được mô tả trong bản mô tả này tiếp xúc với vùng da cần mở ổ, như ở dạng bột, dạng lỏng, dạng gel, dạng hydrogel, dạng bọt, dạng bột nhão, dạng phun hoặc dạng màng. Theo một số phương án, chế phẩm mở ổ được sử dụng cho băng vết thương, như gạc thấm, quần áo, sợi, alginat, keo nước, composit hoặc màng. Theo một số phương án, băng dùng cho vết thương được tạo thành từ các thành phần tự nhiên hoặc tổng hợp hoặc hỗn hợp của chúng. Phương pháp này cũng có thể bao gồm bước chà sát và/hoặc loại bỏ chế phẩm mở ổ sau một khoảng thời gian nhất định. Phương pháp này có thể bao gồm bước lặp lại bước tiếp xúc ở khoảng thời gian định kỳ. Theo một số phương án, khoảng thời gian định kỳ có thể là ít nhất một lần mỗi ngày hoặc ít nhất hai lần mỗi ngày (mỗi 12 giờ) hoặc ít nhất ba lần mỗi ngày (mỗi 8 giờ). Theo một số phương án, phương pháp này cũng bao gồm bước loại bỏ mô đã chết ra khỏi vùng da.

Một mục đích của sáng chế là đề xuất các chế phẩm, kit và phương pháp được mô tả trong bản mô tả này để mở ổ bằng enzym mảnh vụn và vảy hoại tử.

Một mục đích của sáng chế là đề xuất các chế phẩm, kit và phương pháp được mô tả trong bản mô tả này để điều trị mở ổ bằng enzym cho các vết thương mạn tính, vết thương cấp tính và các vết thương do bỏng.

Một mục đích khác của sáng chế là đề xuất chế phẩm, kit và phương pháp được mô tả trong bản mô tả này để mở ổ mô hoại tử bằng enzym gần như không dựa vào sự

phân cắt/thủy phân peptit bởi proteaza.

Một mục đích khác của sáng chế là đề xuất chế phẩm, kit và phương pháp được mô tả trong bản mô tả này để mở ổ bằng enzym, enzym này phân cắt các liên kết hydrat cacbon α -1,4-glycosit trong các liên kết polysacarit hoặc glycosit với protein.

Một mục đích khác của sáng chế là đề xuất chế phẩm, kit và phương pháp được mô tả trong bản mô tả này để mở ổ bằng enzym bằng cách sử dụng enzym trên cơ sở họ enzym amylaza để thủy phân hydrat cacbon.

Một mục đích khác của sáng chế là đề xuất chế phẩm, kit và phương pháp được mô tả trong bản mô tả này để điều trị các vết thương hoại tử bao gồm bước sử dụng lượng hữu hiệu của enzym amylaza.

Một mục đích khác của sáng chế là đề xuất chế phẩm, kit và phương pháp được mô tả trong bản mô tả này để mở ổ bằng enzym bằng cách sử dụng enzym trên cơ sở α -amylaza để thủy phân hydrat cacbon.

Một mục đích khác của sáng chế là đề xuất chế phẩm, kit và phương pháp được mô tả trong bản mô tả này để mở ổ bằng enzym bằng cách sử dụng enzym trên cơ sở β -amylaza để thủy phân hydrat cacbon.

Một mục đích khác của sáng chế là đề xuất chế phẩm, kit và phương pháp được mô tả trong bản mô tả này để mở ổ bằng enzym bằng cách sử dụng enzym trên cơ sở γ -amylaza kết hợp với α -amylaza và với β -amylaza để thủy phân hydrat cacbon.

Một mục đích khác của sáng chế là đề xuất chế phẩm, kit và phương pháp được mô tả trong bản mô tả này để mở ổ bằng enzym bằng cách sử dụng enzym trên cơ sở họ amylaza, được chọn từ hỗn hợp của α -amylaza, với β -amylaza và γ -amylaza để thủy phân hydrat cacbon.

Một mục đích khác của sáng chế là đề xuất chế phẩm, kit và phương pháp được mô tả trong bản mô tả này để mở ổ mô bằng enzym chủ yếu dựa vào α -amylaza, với lượng tối thiểu (nhỏ hơn hoặc bằng 20% trọng lượng) của các họ enzym khác.

Một mục đích khác của sáng chế là đề xuất chế phẩm, kit và phương pháp được mô tả trong bản mô tả này để mở ổ mô bằng enzym trong đó họ enzym phân cắt để thủy phân khác với enzym amylaza bao gồm proteaza, chondroitinaza, hyaluronidaza, lipaza, glycosidaza, heparanaza, dermatanaza, pullulanaza, N-axetylglucosaminidaza, lactaza, phospholipaza, transglycosylaza, esteraza, thioeste hydrolyaza, sulfataza, escharaza, nucleaza, phosphataza, phosphodiesteraza, mananaza, manosidaza,

isoamylaza, lyaza, inulinaza, keratinaza, tanaza, pentosanaza, glucanaza, arabinosidaza, pectinaza, xenluloza, chitinaza, xylanaza, cutinaza, pectat lyaza, hemixenluloza, hỗn hợp của chúng và chất tương tự với lượng nhỏ hơn hoặc bằng 20% trọng lượng.

Một mục đích khác của sáng chế là đề xuất chế phẩm, kit và phương pháp được mô tả trong bản mô tả này để mở mô bằng enzym, trong đó họ enzym khác với amylaza bao gồm oxidaza, peroxidaza, glucose oxidaza, catalaza, oxidoreductaza, phenoxidaza, laccaza, lipoxigenaza, isomeraza, ligninaza, hỗn hợp của chúng và chất tương tự với lượng nhỏ hơn hoặc bằng 20% trọng lượng.

Một mục đích khác của sáng chế là đề xuất chế phẩm, kit và phương pháp được mô tả trong bản mô tả này để mở ổ dựa vào enzym α -amylaza, trong đó α -amylaza được sử dụng dưới dạng bột, gel, bột nhão, dạng lỏng, thuốc mỡ, bột, băng, vải lưới hoặc băng gạc.

Một mục đích khác của sáng chế là đề xuất chế phẩm, kit và phương pháp được mô tả trong bản mô tả này để mở ổ dựa vào enzym α -amylaza được sử dụng qua đường khu trú hoặc dưới da.

Một mục đích khác của sáng chế là đề xuất chế phẩm, kit và phương pháp được mô tả trong bản mô tả này để mở ổ dựa vào enzym α -amylaza, trong đó α -amylaza được sử dụng trong môi trường ưa nước hoặc môi trường nước.

Một mục đích khác của sáng chế là đề xuất chế phẩm, kit và phương pháp được mô tả trong bản mô tả này để tạo hương thơm cho chế phẩm mở ổ.

Một mục đích khác của sáng chế là đề xuất chế phẩm, kit và phương pháp được mô tả trong bản mô tả này để sử dụng clorophyllin cho vết thương để làm giảm mức độ viêm cục bộ, thúc đẩy quá trình liền vết thương và kiểm soát mùi.

Một mục đích khác của sáng chế là đề xuất chế phẩm, kit và phương pháp được mô tả trong bản mô tả này để tạo ra băng gạc cho vết thương để điều trị bằng amylaza gồm có gạc băng, vải lưới, quần áo, sợi, bột hoặc màng.

Một mục đích khác của sáng chế là đề xuất chế phẩm, kit và phương pháp được mô tả trong bản mô tả này để tạo ra chế phẩm chứa amylaza được bảo quản.

Một mục đích khác của sáng chế là đề xuất chế phẩm, kit và phương pháp được mô tả trong bản mô tả này để tạo ra chế phẩm chứa amylaza kháng vi sinh vật.

Một mục đích khác của sáng chế là đề xuất chế phẩm, kit và phương pháp được

mô tả trong bản mô tả này để tạo ra chế phẩm chứa amylaza kháng vi sinh vật để làm giảm hoặc loại bỏ vi khuẩn Gram dương và Gram âm trong vết thương và các bề mặt sinh học.

Một mục đích khác của sáng chế là đề xuất chế phẩm, kit và phương pháp được mô tả trong bản mô tả này để tạo ra chế phẩm chứa amylaza kháng vi sinh vật để làm giảm hoặc loại bỏ nấm men trong vết thương và các bề mặt sinh học.

Mục đích khác của sáng chế là đề xuất chế phẩm, kit và phương pháp được mô tả trong bản mô tả này để tạo ra chế phẩm chứa amylaza kháng vi sinh vật có kết hợp các tinh dầu kháng vi sinh vật để làm gia tăng hoạt tính kháng vi sinh vật của chế phẩm này.

Một mục đích khác của sáng chế là đề xuất chế phẩm, kit và phương pháp được mô tả trong bản mô tả này để mở ỏ trên cơ sở enzym α -amylaza bằng chất hoạt động bề mặt có khả năng hoà tan, trương nở hoặc loại nước trong mô đã chết hoặc vảy.

Một mục đích khác của sáng chế là đề xuất chế phẩm, kit và phương pháp được mô tả trong bản mô tả này để mở ỏ trên cơ sở α -amylaza, polyme ưa nước có khả năng làm gia tăng độ nhớt hoặc gây ra sự gel hóa của chế phẩm.

Một mục đích khác của sáng chế là đề xuất chế phẩm, kit và phương pháp được mô tả trong bản mô tả này để tạo ra amylaza ở dạng kit để điều trị vết thương và mô hoại tử.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các thành phần sau đây và các chữ viết tắt của chúng được sử dụng trong bản mô tả này:

Enzym

α -Amylaza #1, từ tuyến tụy của lợn, 30U/mg, Sigma Aldrich, A3176-500KU, lô SLBF3831V.

α -Amylaza #2, từ tuyến tụy của lợn, (chứa 0,2% proteaza), 230U/mg, Lee BioSolutions, lô M60404.

α -Amylaza #3, từ tuyến tụy của lợn, (chứa 0,05% proteaza), 210U/mg, Lee BioSolutions, lô P70442.

α -Amylaza #4, từ nước bọt của người, 117,5U/mg, Sigma Aldrich, lô SLBB8953V.

α -Amylaza #5, từ vi khuẩn *Bacillus licheniformis*, 500-1500U/mg, Sigma Aldrich, lô SLBG8595V.

α -Amylaza #6, từ vi khuẩn *Bacillus subtilis* spp., dạng bột, 7278U/mg, Dyadic International, lô ADY4001.

α -Amylaza #7, từ vi khuẩn *Bacillus subtilis* spp., dạng dung dịch, 1269U/mg, Dyadic International, lô ASP3001.

β -Amylaza, từ lúa mạch, 41,6U/mg, Sigma Aldrich, lô SLBC2932V.

γ -Amylaza #1, từ nấm *Aspergillus niger*, 129,2U/mg, Sigma Aldrich, lô BCBD1453V.

γ -Amylaza #2, từ nấm *Rhizopus* spp., MyBiosource Inc., lô 22200303.

Bromelain, từ thân cây dứa, 3-7U/mg, Sigma Aldrich, lô SLBG2202V

Colagenaza, Typ I, từ vi khuẩn *Clostridium histolyticum*, 125U/mg, Sigma Aldrich, C0130-100UG, lô SLBH5757V.

Lipaza #1, từ tuyến tụy của lợn, 30-90U/mg, Sigma Aldrich, lô SLBH6427V.

Lipaza #2, từ tuyến tụy của lợn, (chứa <0,05% proteaza), 360U/mg, Lee BioSolutions, 400-10, lô R24160.

Các thành phần khác

AC, chế phẩm kháng vi sinh vật, chứa nước 95,5% trọng lượng, PHMB 0,1% trọng lượng, EDTA 0,065% trọng lượng, P407 2% trọng lượng, HPMC 2% trọng lượng, SC50 0,3% trọng lượng, SC10 0,1% trọng lượng, độ pH=5,5.

CHG, Clohexidin gluconat, Spectrum Chemicals, lô ZQ1023.

Colagen, typ I, từ đuôi chuột, Corning Inc., 354236, lô 3298599.

DC 193, PEG-12 Dimethicon, Dow Corning, lô 0002250697

Nước muối đệm phosphat của Dulbecco, DPBS, độ pH=7,1, Sigma Aldrich, D8537, lô RNBC1143.

EDTA, các muối di-, tri-natri của axit etylendiamintetraaxetic, Spectrum Chemicals, các lô 1AE0430, YL0044.

Glyxerin, Quality Choice, lô 519675.

Hydroxypropylmetylxenluloza (HPMC), Amerchol Corp., lô WF15012N01.

Dầu khoáng, CVS, lô 5BF0201.

PEG 400, Poly(etylen glycol), 400 M_n, Sigma-Aldrich, lô MKBD2642V.

Vazolin vàng, Vaseline, lô 02011HU00.

PHMB, Poly(hexametylen biguanit hydroclorua), Cosmocil™ CQ, Arch Chemical, lô 11RC116995.

P407, Poloxame 407, Pluronic F127, Spectrum Chemicals, lô 1AD0265.

Polyme JR-30M, Amerchol, lô XL2850GRXA.

SC10, Sensiva® SC 10, 1,2-Dihydroxyoctan), Schülke & Mayr, lô 1178933.

SC50, Sensiva® SC 50, Glyxerol 1-(2-etylhexyl) ete), Schülke & Mayr, lô 1179743.

Natri hydroxit, puritan 50% NaOH, UN1824, lô 011043.

Ure, Sigma Aldrich, lô SLBF4607V.

Nước đã loại ion, được điều chỉnh đến độ pH=7.

Phân giải gel collagen

Để xác định xem nếu α -amylaza chứa proteaza và do đó có khả năng phân cắt gel collagen (nghĩa là gel trên cơ sở protein), quá trình phân giải gel collagen được nghiên cứu theo phương pháp lưu biến học trong các điều kiện tần số thay đổi bằng cách sử dụng α -amylaza và collagenaza làm các enzym phân giải tiềm năng. Nếu α -amylaza không phân giải gel collagen, hoạt tính mở ổ mô của nó sẽ không được dựa vào sự nhiễm bẩn bất kỳ bởi proteaza và do đó không thuỷ phân các liên kết peptit của các chuỗi polyme collagen.

Các gel collagen được tạo ra ở nồng độ 2,0 mg/ml bằng cách sử dụng collagen typ I. Gel được tạo ra bằng cách trộn lẫn 500 μ l collagen (khoảng 4,1 mg/ml), 500 μ l nước muối đệm phosphat của Dulbecco (DPBS) và 10 μ l NaOH 1N (được pha loãng từ puritan 50% NaOH). Collagen hydrogel dạng rắn được tạo ra sau 30 phút trong thiết bị ủ ở nhiệt độ 37°C. Gel được ủ ở nhiệt độ 37°C trong 24 giờ với các enzym sau đây:

2mg (250U) collagenaza

8mg (250U) α -amylaza #1

Thử nghiệm lưu biến học được thực hiện trên lưu biến kế Anton Paar MCR 302 bằng cách sử dụng đĩa song song 25mm (đối với gel dạng rắn) và cốc nón và đĩa 25mm (để hoá lỏng hoàn toàn gel, nghĩa là gel collagen được xử lý bằng collagenaza). Tất cả các lần quét tần số được thực hiện ở nhiệt độ 37°C và ứng suất 1% (vùng đàn hồi nhớt tuyến tính như được xác định bởi biên độ quét ứng suất). Dữ liệu được thể hiện trên Fig.1 đối với môđun tích trữ và môđun tổn hao so với tần số và trên Fig.2, đối với môđun phức của gel collagen không xử lý, đối với gel collagen được xử lý bằng

amylaza và gel collagen được xử lý bằng collagenaza.

Trên Fig.1, môđun tích trữ (G') và môđun tổn hao (G'') so với tần số được thể hiện đối với các đối chứng gel collagen không được xử lý, gel collagen được xử lý bằng 250 đơn vị collagenaza và gel collagen được xử lý bằng 250 đơn vị α -amylaza #1. Môđun tích trữ thể hiện tính chất tương tự chất rắn và môđun tổn hao thể hiện tính chất tương tự chất lỏng của gel collagen đàn hồi nhớt. Không có sự khác biệt đáng kể giữa môđun tích trữ và môđun tổn hao của gel collagen không được xử lý và gel được xử lý bằng α -amylaza #1, điều này chứng tỏ không có sự phân giải gel collagen (protein) nào bởi α -amylaza. Proteaza collagenaza hoá lỏng hoàn toàn gel collagen, điều này được chứng minh bởi các môđun tích trữ và môđun tổn hao thấp hơn đáng kể.

Trên Fig.2, môđun phức (G^*) được vẽ đồ thị so với tần số của các đối chứng gel collagen không được xử lý, gel collagen được xử lý bằng 250 đơn vị collagenaza và gel collagen được xử lý bằng 250 đơn vị α -amylaza #1. Môđun phức có tính đến môđun tích trữ (trạng thái tương tự chất rắn) và môđun tổn hao (trạng thái tương tự chất lỏng), có tương quan với độ cứng của gel. Enzym α -amylaza #1 không phân giải gel collagen so với đối chứng gel collagen không được xử lý (sự khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê trong các môđun phức).

Các hình vẽ này chứng minh rằng collagenaza, proteaza, hoá lỏng hoàn toàn gel collagen trong 24 giờ, trong khi α -amylaza #1, enzym protein được lưu ý để phân cắt polysacarit liên kết α , như các enzym trong tinh bột và glycogen, không phân giải gel collagen so với đối chứng gel collagen không được xử lý (sự khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê trong các môđun tích trữ, môđun tổn hao hoặc môđun phức). Từ các hình vẽ này, quan sát sự tăng môđun theo tần số do tính chất nhớt đàn hồi của polyme (collagen) được thử nghiệm. Ở tần số cao, các chuỗi polyme collagen không có thời gian giãn ra, dẫn đến quan sát được trạng thái nhớt đàn hồi cứng hơn. Dữ liệu của gel collagen được xử lý bằng collagenaza xuất hiện nhiều do tính chất tương tự chất lỏng của quá trình phân giải gel collagen tạo thành. Collagenaza phân huỷ và hoá lỏng hoàn toàn gel collagen, và dung dịch phân huỷ bằng enzym tạo thành cần được đánh giá bằng cách sử dụng hình học dạng nón và tấm trên lưu biến kế. Trong khi gel được hoá lỏng hoàn toàn, dung dịch tạo thành vẫn có độ nhớt đàn hồi do tính chất của collagen và peptit còn trong dung dịch.

Số liệu về tính lưu biến chứng minh hoạt tính mở ổ trên mô đã chết bởi α -amylaza do không phụ thuộc vào sự nhiễm bẩn bởi proteaza.

Phương pháp đánh giá hiệu quả phân giải của các enzym khác nhau *ex vivo*

Trong Bằng độc quyền sáng chế Mỹ số US 8.119.124, mô hình vết thương do bỏng *in vivo* (*ex vivo*) được báo cáo bằng cách sử dụng da của lợn con do tính tương tự của nó với da của người. Trong nghiên cứu này, vài mẫu da lợn đông lạnh thu được từ chợ Culebra Meat Market, San Antonio, TX, và được sử dụng làm mẫu tương tự mở ổ. Đối với mỗi thử nghiệm phân giải, da lợn được luộc trong nước trong 1 phút và sau đó được cắt thành các miếng nhỏ hình vuông. Da lợn đã luộc được cân trọng lượng ngay trước khi sử dụng chế phẩm mở ổ. Tiếp theo, 1g của mỗi chế phẩm mở ổ trong 16 giờ ở nhiệt độ 34°C trong nước ở độ pH = 7 và lau nhẹ bằng mẫu khăn giấy để loại bỏ mô phân giải bất kỳ. Sau đó, mô còn lại được cân trọng lượng. Để làm đối chứng, da lợn đã luộc được xử lý mà không có enzym hoạt tính bằng cùng quy trình. Tỷ lệ phần trăm da lợn phân giải được tính toán bằng cách sử dụng công thức sau:

$$\% \text{ da lợn phân giải} = \frac{W_2 \text{ enz}}{W_1 \text{ enz} * \frac{W_2 \text{ veh}}{W_1 \text{ veh}}} * 100\%$$

trong đó

$W_1 \text{ enz}$ là trọng lượng da lợn trước khi phân giải trong chế phẩm chứa một hoặc nhiều enzym hoạt tính.

$W_1 \text{ veh}$ là trọng lượng da lợn trước khi phân giải trong cùng chế phẩm ngoại trừ việc không có enzym hoạt tính bất kỳ.

$W_2 \text{ enz}$ là trọng lượng da lợn sau khi phân giải trong chế phẩm chứa một hoặc nhiều enzym hoạt tính.

$W_2 \text{ veh}$: trọng lượng của da lợn sau khi phân giải trong cùng chế phẩm, ngoại trừ việc không có các enzym hoạt tính bất kỳ.

Kết quả phân giải da lợn

Amylaza từ các nguồn khác nhau hoặc ở mức hoạt tính khác nhau được thể hiện theo đơn vị (U), có mức độ hoạt tính mở ổ *ex vivo* khác nhau (Bảng 1). Enzym α -amylaza từ tuyến tụy của lợn, sản phẩm của cả công ty Sigma Aldrich (α -amylaza #1) và Lee BioSolutions (α -amylaza #2, α -amylaza #3) có hiệu quả mở ổ cao, trong đó 1g

chế phẩm chứa 250U enzym. Bất ngờ là α -amylaza (Lee BioSolutions, proteaza 0,2%) chứa lượng tạp chất proteaza cao hơn (α -amylaza #2) có hiệu quả mở ổ thấp hơn không đáng kể so với α -amylaza chứa lượng tạp chất proteaza thấp hơn (Lee BioSolutions, proteaza 0,05%) (α -amylaza #3), điều này chứng minh thêm cho việc kết luận rằng hoạt tính mở ổ của amylaza không phải là kết quả của sự nhiễm bẩn proteaza. Enzym α -amylaza từ nước bọt của người (α -amylaza #4) không có hiệu quả trong việc phân giải da lợn ở nồng độ được nghiên cứu. Hiệu quả của enzym α -amylaza thu được từ vi khuẩn có thể thay đổi ở mức cao, tùy thuộc vào chủng vi khuẩn và nhà cung cấp. Enzym α -amylaza từ vi khuẩn *Bacillus licheniformis* (α -amylaza #5) có hiệu quả mở ổ rất yếu, trong khi enzym α -amylaza từ vi khuẩn *Bacillus subtilis spp.* có hiệu quả mở ổ cao (α -amylaza #6, α -amylaza #7), cụ thể là với hoạt tính 250000 đơn vị enzym trong 1g chế phẩm. Enzym β -amylaza có hoạt tính nhất định để phân giải da lợn trên cơ sở khả năng tác dụng của nó trên cùng cơ chất như α -amylaza nhưng với cơ chế xúc tác khác nhau, trong khi enzym γ -amylaza #1 và #2 không có hiệu quả trong mô hình mở ổ này.

Bảng 1. Hiệu quả mở ổ *ex vivo* bằng amylaza từ các nguồn khác nhau trên da lợn đã luộc trong nước

Chế phẩm	Tỷ lệ thành phần (% trọng lượng)	Chế phẩm (đơn vị)	Tỷ lệ % phân giải
H ₂ O/ α -amylaza #1	99,2/0,8	1g/250U	96,30%
H ₂ O/ α -amylaza #2	99,891/0,109	1g/250U	96,60%
H ₂ O/ α -amylaza #3	99,88/0,12	1g/250U	97,90%
H ₂ O/ α -amylaza #4	99,8/0,2	1g/250U	4,30%
H ₂ O/ α -amylaza #5	99,95g/0,05	1g/250U	0%
H ₂ O/ α -amylaza #5	99,9/0,1	1g/500U	13,50%
H ₂ O/ α -amylaza #6	99,9966/0,0033	1g/250U	17,50%
H ₂ O/ α -amylaza #6	99,966/0,034	1g/2,500U	70,80%
H ₂ O/ α -amylaza #6	96,6/3,4	1g/250,000U	100%
H ₂ O/ α -amylaza #7	99,9803/0,0197	1g/250U	15,00%
H ₂ O/ α -amylaza #7	99,803/0,197	1g/2,500U	77,60%
H ₂ O/ α -amylaza #7	80,3/19,7	1g/250,000U	100%

H ₂ O/ β -amylaza	99,4/0,6	1g/250U	18,60%
H ₂ O/ β -amylaza	94/6	1g/2500U	38,90%
H ₂ O/ γ -amylaza #1	99,8/0,2	1g/250U	0%
H ₂ O/ γ -amylaza #1	99/1	1g/1,250U	0%
H ₂ O/ γ -amylaza #1	98/2	1g/2,500U	0%
H ₂ O/ γ -amylaza #2	99,4/0,6	1g/250U	0%

Bảng 2 liệt kê tác dụng của các chất phụ gia và tá dược khác nhau đối với hiệu quả mở ổ của α -amylaza #1 với da lợn đã luộc. Dung dịch chất đệm DPBS được bổ sung, chế phẩm trong dầu khoáng, chế phẩm chứa polyme ưa nước làm tăng độ nhớt, HPMC, trong DPBS và chế phẩm có polyme cation làm tăng độ nhớt, Polyme JR (hydroxyetyl xenluloza cation). Các kết quả được so sánh với α -amylaza #1 trong nước ở độ pH=7. Mỗi chế phẩm chứa cùng lượng α -amylaza #1, cụ thể là 250 đơn vị. Đã quan sát được rằng độ đồng nhất của chế phẩm làm ảnh hưởng đến hiệu quả mở ổ của amylaza. Việc bổ sung chất đệm DPBS làm gia tăng hiệu quả mở ổ so với α -amylaza trong nước, trong khi dầu khoáng làm giảm đáng kể hiệu quả mở ổ, có thể là do không có nước để tạo ra hoạt tính và độ tan của enzym; polyme tan trong nước được bổ sung chứa HPMC trên cơ sở xenluloza trung tính trong DPBS và polyme JR trên cơ sở xenluloza cation trong nước làm giảm hiệu quả mở ổ ở mức độ nhất định, điều này có thể là do hàm lượng nước trong các chế phẩm của chúng là thấp so với chính α -amylaza #1 trong nước.

Bảng 2. Hiệu quả mở ổ *ex vivo* bằng enzym α -amylaza #1 trong các chế phẩm khác nhau đối với da lợn đã luộc

Chế phẩm	Tỷ lệ thành phần (% trọng lượng)	Chế phẩm (đơn vị)	Tỷ lệ % phân giải
H ₂ O/ α -amylaza #1	99,2/0,8	1g/250U	96,30%
DPBS/ α -amylaza #1	99,2/0,8	1g/250U	100%
Dầu khoáng/ α -amylaza #1	99,2/0,8	1g/250U	62,90%
HPMC/DPBS/ α -amylaza #1	5/94,2g/0,8	0,05g/0,95g/250U	80,10%
Polyme JR-30M/H ₂ O/ α -amylaza #1	5/94,2g/0,8	0,05g/0,95g/250U	84,30%

Bảng 3 mô tả hỗn hợp của α -amylaza và β -amylaza bằng cách sử dụng α -amylaza của vi khuẩn từ *Bacillus subtilis* (α -amylaza #6) kết hợp với β -amylaza có nguồn gốc từ thực vật. Trong mô hình này, lượng β -amylaza lớn hơn làm cản trở quá trình phân giải chung của da lợn đã luộc.

Bảng 3. Hiệu quả mở ổ da lợn đã luộc *ex vivo* bằng α -amylaza #6 với β -amylaza trong nước

Chế phẩm	Tỷ lệ thành phần (% trọng lượng)	Chế phẩm (đơn vị)	Tỷ lệ % phân giải
H ₂ O/ α -amylaza #6	99,66/0,34	1g/250U	79,20%
H ₂ O/ α -amylaza #6/ β -amylaza	96,6/0,34/3,16	1g/250U/131U	53,70%
H ₂ O/ α -amylaza #6/ β -amylaza	99,32/0,34/0,34	1g/250U/14U	72,30%

Trong Bảng 4, việc bổ sung enzyme thủy phân không phân giải protein khác là lipaza vào α -amylaza #3 để phân giải da lợn đã luộc được thể hiện, bằng cách sử dụng hàm lượng amylaza là 100% trọng lượng, 90% trọng lượng, và 80% trọng lượng đối với lipaza. Cần lưu ý rằng lipaza có khả năng xúc tác quá trình thủy phân của các liên kết este trong lipid (triglycerit, chất béo và dầu). Có nhiều nguồn lipaza do nó được tạo ra bởi tuyến tụy, gan, ruột, lưỡi, dạ dày và nhiều tế bào khác, cũng như hạt của thực vật. Việc bổ sung lipaza vào α -amylaza có thể là enzyme hỗ trợ chính trong quá trình mở ổ mà trong đó mô chất béo có liên quan. Trong mô hình lợn được nghiên cứu, tỷ lệ % da lợn đã luộc được phân giải là tương đối ổn định đối với ba mẫu được nghiên cứu, bằng cách sử dụng tổng nồng độ enzyme là 0,2% trọng lượng, ngay cả khi lượng amylaza #3 được giảm đi khi hàm lượng lipaza tăng lên, điều này cho thấy rằng cả hai enzyme không phân giải protein góp phần vào sự phân giải da lợn đã luộc.

Bảng 4. Hiệu quả mở ổ da lợn luộc *ex vivo* bằng α -amylaza #3 với lipaza #2 trong nước

Chế phẩm	Tỷ lệ thành phần (% trọng lượng)	Chế phẩm (đơn vị)	Tỷ lệ % phân giải
H ₂ O/ α -amylaza #3	99,8/0,2	1g/420U	83,90%
H ₂ O/ α -amylaza #3/lipaza #2	99,8/0,18/0,02	1g/378U/72U	84,10%
H ₂ O/ α -amylaza #3/lipaza #2	99,8/0,16/0,04	1g/336U/144U	81,20%

Bảng 5 thể hiện kết quả của da lợn được phân giải bằng α -amylaza #1 trong nước với chất làm tróc lớp sừng da là ure, với clorophylin để làm giảm mức độ viêm cục bộ, thúc đẩy quá trình làm liền vết thương và kiểm soát mùi và với hỗn hợp của ure và clorophylin. Tất cả các dung dịch chứa clorophylin đều có màu xanh lục. Đã quan sát được rằng nguồn da lợn khác nhau, được so sánh với nguồn nêu trong Bảng 1, được thực hiện trong các điều kiện tương tự, có mức độ phân giải giảm. Việc bổ sung ure làm gia tăng hiệu quả phân giải bởi α -amylaza, trong khi việc bổ sung hai nồng độ của clorophylin làm giảm hiệu quả của amylaza. Hỗn hợp của ba thành phần tạo ra hiệu quả phân giải cao hơn so với clorophylin và α -amylaza và hiệu quả thấp hơn hiệu quả của ure và amylaza hoặc chính α -amylaza.

Bảng 5. Hiệu quả mở ổ *ex vivo* của da lợn đã luộc bằng α -amylaza #1 với ure và clorophylin trong nước

Chế phẩm	Tỷ lệ thành phần (% trọng lượng)	Chế phẩm (đơn vị)	Tỷ lệ % phân giải
H ₂ O/ α -amylaza #1	99,2/0,8	1g/250U	78,60%
H ₂ O/ure/ α -amylaza #1	89,2/10/0,8	1g/250U	84,90%
H ₂ O/clorophylin/ α -amylaza #1	98,7/0,5/0,8	1g/250U	54,80%
H ₂ O/clorophylin/ α -amylaza #1	98,2/1/0,8	1g/250U	59,30%
H ₂ O/ure/clorophylin/ α -amylaza #1	88,7/10/0,5/0,8	1g/250U	67,20%

Mô hoại tử dễ bị nhiễm khuẩn và còn cản trở quá trình làm liền vết thương và có thể gây nhiễm trùng trong các trường hợp trầm trọng. Do khả năng nhiễm khuẩn trong các vết thương hoại tử và mô bị tổn thương và kích ứng, việc bổ sung chất sinh học làm cản trở hoặc tiêu diệt vi sinh vật là điều mong muốn. Về mặt này, các tác giả sáng chế đã nghiên cứu hai hợp chất biguanit kháng vi sinh vật được sử dụng trong quá trình chăm sóc vết thương là poly(hexametylen biguanit hydroclorua) (PHMB) và clohexidin digluconat (CHG). Bảng 6 thể hiện kết quả so sánh của ba chế phẩm dạng dung dịch nước chứa PHMB với α -amylaza #6 và CHG với α -amylaza #6, tất cả các chế phẩm này chứa cùng tỷ lệ % trọng lượng của α -amylaza #6. Đối với các dung dịch trên cơ sở PHMB, các hoạt tính này là tương tự hoặc lớn hơn không đáng kể so với hoạt tính của chính α -amylaza, mặc dù nồng độ PHMB cao hơn 0,15% trọng lượng (1500ppm) có thể làm giảm một chút hoạt tính của amylaza. Tuy nhiên, việc sử dụng

CHG làm giảm rõ ràng khả năng phân giải của amylaza.

Bảng 6. Phương pháp mở ổ da lợn *ex vivo* bằng α -amylaza #6 với PHMB và CHG trong nước

Chế phẩm	Tỷ lệ thành phần (% trọng lượng)	Chế phẩm (đơn vị)	Tỷ lệ % phân giải
H ₂ O/ α -amylaza #6	99,66/0,34	1g/25,000U	83,90%
H ₂ O/PHMB/ α -amylaza #6	99,51/0,15/0,34	1g/25,000U	81,30%
H ₂ O/PHMB/ α -amylaza #6	99,56/0,1/0,34	1g/25,000U	84,90%
H ₂ O/PHMB/ α -amylaza #6	99,61/0,05/0,34	1g/25,000U	86,80%
H ₂ O/CHG/ α -amylaza #6	97,66/2/0,34	1g/25,000U	60,50%

Kết quả phân giải da chuột

Mô da chuột mới được cắt ra thu được từ hai con chuột trưởng thành 9 và 11 tháng tuổi từ Trung tâm tài nguyên động vật dùng cho phòng thí nghiệm của Trường đại học Texas ở San Antonio, San Antonio, TX, theo quy trình đã được chấp thuận của IACUC. Miếng da lớn được lấy từ lưng của mỗi con chuột đực Sprague-Dawley. Cắt đôi miếng da này và luộc trong nước trong 60 giây. Cắt cả miếng da đã luộc và miếng da không được luộc thành các miếng nhỏ hơn và cắt nhỏ bớt sao cho mỗi miếng nhỏ này có trọng lượng nằm trong khoảng từ 0,23g đến 0,25g. Một miếng da nhỏ được ngâm trong 1g của mỗi chế phẩm mở ổ và ủ ở nhiệt độ 34°C để mở ổ trong 24 giờ. Sau khi ủ 24 giờ, lấy miếng da ra khỏi chế phẩm mở ổ. Lau nhẹ miếng da đã mở ổ (mô mềm và xốp) bằng khăn giấy và cân trọng lượng phần da không mở ổ còn lại. Sau đó, tính tỷ lệ phần trăm trọng lượng của miếng da mở ổ trước và sau quá trình mở ổ.

Bảng 7 và Bảng 8 thể hiện kết quả mở ổ của da chuột mới được cắt ra để được mở ổ trong điều kiện không được luộc và được luộc tương ứng bằng cách sử dụng enzym phân giải tinh bột α -amylaza #1 và α -amylaza #6 cũng như enzym proteaza chứa bromelain và collagenaza, tất cả các enzym này đều trong nước ở độ pH=7. Đối với da chuột không được luộc (Bảng 7), đã quan sát được rằng hai enzym proteaza có hiệu quả hơn so với amylaza, với collagenaza có hiệu quả nhất với tỷ lệ phân giải da chuột ở mức 79%. Tuy nhiên, đối với da chuột đã luộc (Bảng 8), thu được kết quả tương tự hơn đối với mô hoại tử, đã chết, các enzym phân giải tinh bột có khả năng

phân giải da chuột ở mức tương đương với enzym phân giải protein.

Bảng 7. Kết quả mở ổ da chuột không được luộc *ex vivo* bằng α -amylaza, bromelain và collagenaza trong nước

Chế phẩm	Tỷ lệ thành phần (% trọng lượng)	Chế phẩm (đơn vị)	Tỷ lệ % phân giải
H ₂ O/ α -amylaza #1	99,2/0,8	1g/250U	31,80%
H ₂ O/ α -amylaza #6	99,66/0,34	1g/25,000U	29,80%
H ₂ O/bromelain	90/10	1g/250U	51,90%
H ₂ O/collagenaza	99,8/0,2	1g/250U	79%

Bảng 8. Kết quả mở ổ da chuột đã luộc *ex vivo* bằng α -amylaza, bromelain và collagenaza trong nước

Chế phẩm	Tỷ lệ thành phần (% trọng lượng)	Chế phẩm (đơn vị)	Tỷ lệ % phân giải
H ₂ O/ α -amylaza #1	99,2/0,8	1g/250U	86,80%
H ₂ O/ α -amylaza #6	99,66/0,34	1g/25,000U	90,40%
H ₂ O/bromelain	90/10	1g/250U	92,90%
H ₂ O/collagenaza	99,8/0,2	1g/250U	86%

Nếu mô hoại tử bị nhiễm màng sinh học chứa vi sinh vật, có thể phủ thêm mô hoại tử này bằng polysacarit bổ sung (thành phần của cơ chất polyme ngoại bào, đôi khi được gọi là chất nhầy) phát tán ra từ các vi sinh vật trên màng sinh học, có thể có nguồn gốc từ vi khuẩn, việc loại bỏ hoặc khử màng sinh học này có thể thúc đẩy việc loại bỏ mô hoại tử hoặc đã chết. Bảng 9 và Bảng 10 thể hiện kết quả sử dụng chế phẩm kháng vi sinh vật (antimicrobial composition: AC) trong nước ở độ pH=5,5 đã chứng minh hiệu quả trong việc khử màng sinh học (Bằng độc quyền sáng chế Mỹ số US 8.829.053). Chế phẩm kháng vi sinh vật chứa chất kháng vi sinh vật biguanit polyme của PHMB, EDTA làm chất tạo chelat và chất làm ổn định độ pH, HPMC làm polyme làm gia tăng độ nhớt, chất hoạt động bề mặt trung tính P407 để làm sạch và hỗn hợp của 2-ethylhexyl glycerin và 1,2-octandiol để làm mềm và kháng vi sinh vật. Với da chuột trong điều kiện không được luộc trong chế phẩm kháng vi sinh vật (Bảng 9), cả α -amylaza #1 và α -amylaza #6 đều không có hiệu quả trong quá trình

phân giải so với hiệu quả được thể hiện bởi cùng enzym đối với da chuột không luộc trong nước (Bảng 7). Mặc dù bromelain trong chế phẩm kháng vi sinh vật có hiệu quả hơn so với amylaza và da chuột không được luộc (Bảng 9), hiệu quả phân giải của nó kém hơn so với hiệu quả được chứng minh đối với sự phân giải da chuột trong nước (Bảng 7). Trong khi collagenaza rất có hiệu quả đối với cả sự phân giải da chuột không được luộc và được luộc trong nước (Bảng 7 và Bảng 8), đối với da chuột không được luộc với sự có mặt của chế phẩm kháng vi sinh vật trong nước, hiệu quả của nó trong quá trình phân giải là không đáng kể (Bảng 9). Hiệu quả này cũng xảy ra đối với collagenaza với da chuột được luộc trong chế phẩm kháng vi sinh vật (Bảng 10), trong khi α -amylaza #1, α -amylaza #6, và bromelain có hiệu quả ở mức cao (Bảng 10). Do chế phẩm kháng vi sinh vật chứa chất tạo chelat ion kim loại EDTA, chất này có thể làm bất hoạt collagenaza là metaloproteinaza (kẽm endopeptidaza). Phức hợp canxi chứa amylaza không bị ảnh hưởng bởi sự chelat hóa EDTA và chế phẩm kháng vi sinh vật chứa α -amylaza sẽ xử lý mô hoại tử bị nhiễm màng sinh học vi sinh vật mà không phân giải protein có hiệu quả. Hiệu quả mở ổ thấp của α -amylaza #1 và α -amylaza #6 đối với da chuột mới được cắt ra, không được luộc trong chế phẩm kháng vi sinh vật (Bảng 9) cũng chứng minh chế phẩm mở ổ phân giải tinh bột đặc hiệu ở mức cao đối với mô đã chết và không đặc hiệu đối với mô sống xung quanh.

Bảng 9. Kết quả mở ổ da chuột không được luộc *ex vivo* bằng α -amylaza, bromelain, và collagenaza trong chế phẩm kháng vi sinh vật

Chế phẩm	Tỷ lệ thành phần (% trọng lượng)	Chế phẩm (đơn vị)	Tỷ lệ % phân giải
AC/ α -amylaza #1	99,2/0,8	1g/250U	6,00%
AC/ α -amylaza #6	99,66/0,34	1g/250U	0%
AC/Bromelain	90/10	1g/250U	18,20%
AC/collagenaza	99,8/0,2	1g/250U	4,70%

Bảng 10. Kết quả mở ổ da chuột đã luộc *ex vivo* bằng α -amylaza, bromelain, và collagenaza trong chế phẩm kháng vi sinh vật

Chế phẩm	Tỷ lệ thành phần (% trọng lượng)	Chế phẩm (đơn vị)	Tỷ lệ % phân giải
AC/ α -amylaza #1	99,2/0,8	1g/250U	96,50%

AC/ α -amylaza #6	99,66/0,34	1g/250U	100%
AC/bromelain	90/10	1g/250U	100%
AC/colagenaza	99,8/0,2	1g/250U	0%

Tá dược

Ngoài nước và dung dịch đệm (Bảng 2), cũng như được sử dụng ở dạng bột, các amylaza có thể được trộn lẫn với vài tá dược, bao gồm các hydrocacbon kỵ nước của vazolin vàng và dầu khoáng, rượu chứa nhóm –OH ưa nước của glycerin và PEG 400, và PEG-12 dimethicon dạng lỏng amphiphil, silicon polyete. Trong mỗi trường hợp, α -amylaza #1 có thể được phân tán trong tá dược (Bảng 11). Các tá dược khác có thể bao gồm các dung dịch đệm trên cơ sở nước khác nhau có độ pH nằm trong khoảng từ 5,0 đến 7,5, chất hoạt động bề mặt, silicon, copolyme polyete, polyoxyetylen ete, chất béo thực vật và dầu thực vật, các tinh dầu, các rượu ưa nước và kỵ nước, các vitamin, monoglyxerit, laurat este, myristat este, palmitat este và stearat este, tốt hơn ở dạng lỏng, gel hoặc bột nhão, các hỗn hợp của chúng và dạng tương tự. Theo một số phương án, các tá dược có thể có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 0% đến 99,9% trọng lượng, so với trọng lượng của chế phẩm mở ỏ.

Bảng 11. Tá dược đối với α -amylaza #1

Chế phẩm	Tỷ lệ thành phần (% trọng lượng)	Chế phẩm (đơn vị)
Vazolin vàng/ α -amylaza #1	99,2/0,8	1g/250U
Dầu khoáng/ α -amylaza #1	99,2/0,8	1g/250U
Glycerin/ α -amylaza #1	99,2/0,8	1g/250U
PEG 400/ α -amylaza #1	99,2/0,8	1g/250U
DC 193/ α -amylaza #1	99,2/0,8	1g/250U

Nồng độ α -amylaza có hiệu quả

Để xác định lượng α -amylaza cần thiết để mở ỏ mô hoại tử, nghiên cứu được tiến hành để xác định hiệu quả mở ỏ (ví dụ, tỷ lệ % trọng lượng được phân giải) so với nồng độ α -amylaza. Các kết quả trên Fig.3 thể hiện nồng độ của α -amylaza #6 so với tỷ lệ phần trăm theo trọng lượng của da lợn đã lược được phân giải trong một giờ ở nhiệt độ trong phòng. Đường cong hình chuông cho thấy rằng hoạt tính mở ỏ xuất hiện với nồng độ amylaza tối đa nằm trong khoảng từ 13,6 đến 27,2% trọng lượng,

mặc dù hiệu quả lớn hơn hoặc bằng 10% trong toàn bộ khoảng nồng độ của α -amylaza nằm trong khoảng từ 3,4% đến 54,5%.

Các phương án cụ thể

Phương án cụ thể thứ nhất đề cập đến chế phẩm mở ổ chứa thành phần mở ổ bằng enzym không phân giải protein với lượng nằm trong khoảng từ 0,001 đến 60% trọng lượng, so với tổng trọng lượng của chế phẩm mở ổ, trong đó thành phần mở ổ bằng enzym không phân giải protein này chứa amylaza với lượng ít nhất là 80% trọng lượng so với trọng lượng của thành phần mở ổ bằng enzym không phân giải protein nêu trên.

Phương án cụ thể thứ hai đề cập đến chế phẩm mở ổ theo phương án cụ thể thứ nhất, trong đó chế phẩm này chứa amylaza được chọn từ người, động vật, vi khuẩn, thực vật, nấm và enzym thu được bằng phương pháp tái tổ hợp di truyền.

Phương án cụ thể thứ ba đề cập đến chế phẩm mở ổ theo phương án bất kỳ trong số các phương án cụ thể nêu trên, trong đó amylaza chứa α -amylaza với lượng ít nhất là 80% trọng lượng.

Phương án cụ thể thứ tư đề cập đến chế phẩm mở ổ theo phương án cụ thể thứ ba, trong đó amylaza chứa amylaza được chọn từ β -amylaza, γ -amylaza, và các hỗn hợp của chúng với lượng tối đa 20% trọng lượng.

Phương án cụ thể thứ năm đề cập đến chế phẩm mở ổ theo phương án bất kỳ trong số các phương án cụ thể nêu trên, trong đó chế phẩm này chứa chất mang hoặc tá dược được dùng.

Phương án cụ thể thứ sáu đề cập đến chế phẩm mở ổ theo phương án bất kỳ trong số các phương án cụ thể nêu trên, trong đó thành phần mở ổ bằng enzym không phân giải protein chứa các enzym thuỷ phân khác được chọn từ proteaza, chondroitinaza, hyaluronidaza, lipaza, glycosidaza, heparanaza, dermatanaza, pullulanaza, N-acetylglucosaminidaza, lactaza, phospholipaza, transglycosylaza, esteraza, thioeste hydrolyaza, sulfataza, escharaza, nucleaza, phosphataza, phosphodiesteraza, mananaza, manosidaza, isoamylaza, lyaza, inulinaza, keratinaza, tanaza, pentosanaza, glucanaza, arabinosidaza, pectinaza, xenluloza, chitinaza, xylanaza, cutinaza, pectat lyaza, hemixenluloza và các hỗn hợp của chúng với lượng tối đa là 20% trọng lượng.

Phương án cụ thể thứ bảy đề cập đến chế phẩm mở ổ theo phương án bất kỳ

trong số các phương án cụ thể nêu trên, trong đó chế phẩm này chứa α -amylaza từ nguồn được chọn từ tuyển tủy của người, tuyển tủy của động vật, và vi khuẩn.

Phương án cụ thể thứ tám đề cập đến chế phẩm mở ỏ theo phương án bất kỳ trong số các phương án cụ thể nêu trên, trong đó thành phần mở ỏ bằng enzym không phân giải protein chứa enzym được chọn từ oxidaza, peroxidaza, glucoza oxidaza, catalaza, oxidoreductaza, phenoloxidaza, laccaza, lipoxygenaza, isomeraza, và ligninaza với lượng tối đa là 20% trọng lượng.

Phương án cụ thể thứ chín đề cập đến chế phẩm mở ỏ theo phương án bất kỳ trong số các phương án cụ thể nêu trên, trong đó chế phẩm này còn chứa ít nhất một hợp chất biguanit polyme với lượng ít nhất là nằm trong khoảng từ 0,01% trọng lượng (100ppm) đến 1,0% trọng lượng (10000ppm), so với trọng lượng của chế phẩm mở ỏ.

Phương án cụ thể thứ mười đề cập đến chế phẩm mở ỏ theo phương án cụ thể thứ chín, trong đó biguanit polyme bao gồm poly(hexametylen biguanit) và các muối của nó.

Phương án cụ thể thứ mười một đề cập đến chế phẩm mở ỏ theo phương án bất kỳ trong số các phương án cụ thể nêu trên, trong đó chế phẩm này còn chứa polyme tan trong nước với nồng độ nằm trong khoảng từ 0,01% trọng lượng đến 50% trọng lượng, so với trọng lượng của chế phẩm mở ỏ, trong đó polyme tan trong nước được chọn từ nhóm bao gồm metylxenluloza, hydroxyetylxenluloza, hydroxypropylxenluloza, hydroxypropylmetylxenluloza, carboxymetylxenluloza, gồm guar, hydroxyetylguar, hydroxypropylguar, hydroxypropylmetylguar, carboxymetylguar, carboxymetylchitosan, gồm đậu locust, caragenan, gồm xanthan, gồm gellan, gel lô hội, scleroglucan, schizophyllan, gồm arabic, gồm me, poly(rượu vinylic), poly(etylen oxit), poly(etylen glycol), poly(metyl vinyl ete), carbome và các muối của nó, poly(axit acrylic) và các muối của nó, poly(axit metacrylic) và các muối của nó, natri poly(2-acrylamido-2-metylpropansulfonat), polyacrylmit, poly(N,N-dimetylacrylmit), poly(N-vinylaxetamit), poly(N-vinylformamit), poly(2-hydroxyetyl metacrylat), poly(glyxeryl metacrylat), poly(N-vinylpyrrolidon), poly(N-isopropylacrylmit) và poly(N-vinylcaprolactam), và các hỗn hợp của chúng.

Phương án cụ thể thứ mười hai đề cập đến chế phẩm mở ỏ theo phương án bất kỳ trong số các phương án cụ thể nêu trên, trong đó chế phẩm này còn chứa chất tạo chelat với nồng độ nằm trong khoảng từ 0,01% trọng lượng đến 1% trọng lượng, so

với trọng lượng của chế phẩm mở ỏ, trong đó chất tạo chelat được chọn từ nhóm bao gồm axit etylendiamintetraaxetic (EDTA), axit nitrilotriaxetic, axit nitrilotripropionic, axit dietylentriaminpentaaxetic, axit 2-hydroxyetyletylendiamintriaxetic, axit 1,6-diaminohexametylentetraaxetic, axit 1,2-diaminoxyclohexantetraaxetic, axit O,O'-bis(2-aminoetyl)etylglycoltetraaxetic, axit 1,3-diaminopropanetetraaxetic, axit N,N'-bis(2-hydroxybenzyl)etylendiamin-N,N'-diaxetic, axit etylendiamin-N,N'-diaxetic, axit etylendiamin-N,N'-dipropionic, axit trietylentetraaminhexaaxetic, etylendiamin-N,N'-bis(axit metylenphosphonic), axit iminodixetic, axit mononatri-N-lauryl- β -iminodipropionic, natri lauriminodipropionat, N,N-bis(2-hydroxyetyl)glyxin, axit 1,3-diamino-2-hydroxypropanetetraaxetic, axit 1,2-diaminopropanetetraaxetic, etylendiamintetrakis(axit metylenphosphonic), axit N-(2-hydroxyetyl)iminodixetic, biphosphonat, editronat và các muối của nó.

Phương án cụ thể thứ mười ba đề cập đến chế phẩm mở ỏ theo phương án bất kỳ trong số các phương án cụ thể nêu trên, trong đó chế phẩm này còn chứa monoalkyl glycol được chọn từ nhóm bao gồm 1,2-propandiol (propylen glycol), 1,2-butandiol, 1,2-pentandiol, 1,2-hexandiol, 1,2-heptandiol, 1,2-octandiol (caprylyl glycol), 1,2-nonandiol, 1,2-decandiol, 1,2-undecandiol, 1,2-dodecandiol, 1,2-tridecandiol, 1,2-tetradecandiol, 1,2-pentadecandiol, 1,2-hexadecandiol, 1,2-heptadecandiol, 1,2-octadecandiol, 2-metyl-2,4-pentandiol, 1,3-butandiol, dietylen glycol, trietylen glycol, glycol bis(hydroxyetyl) ete, và các hỗn hợp của chúng.

Phương án cụ thể thứ mười bốn đề cập đến chế phẩm mở ỏ theo phương án bất kỳ trong số các phương án cụ thể nêu trên, trong đó chế phẩm này còn chứa glyxerol alkyl ete được chọn từ nhóm bao gồm 1-O-heptylglyxerol, 1-O-octylglyxerol, 1-O-nonylglyxerol, 1-O-dexylglyxerol, 1-O-undexylglyxerol, 1-O-dodexylglyxerol, 1-O-tridexylglyxerol, 1-O-tetradexylglyxerol, 1-O-pentadexylglyxerol, 1-O-hexadexylglyxerol (rượu chimylic), 1-O-heptadexylglyxerol, 1-O-octadexylglyxerol (rượu batylic), 1-O-octadec-9-enyl glyxerol (rượu selachylic), glyxerol 1-(2-etylhexyl) ete, 2-etylhexyl glyxerin, glyxerol 1-heptyl ete, glyxerol 1-octyl ete, glyxerol 1-dexyl ete, và glyxerol 1-dodexyl ete, glyxerol 1-tridexyl ete, glyxerol 1-tetradexyl ete, glyxerol 1-pentadexyl ete, glyxerol 1-hexadexyl ete, glyxerol 1-octadexyl ete, và các hỗn hợp của chúng.

Phương án cụ thể thứ mười lăm đề cập đến chế phẩm mở ỏ theo phương án bất

kỳ trong số các phương án cụ thể nêu trên, trong đó chế phẩm này còn chứa: ít nhất một hợp chất biguanit polyme với lượng ít nhất là 0,01% trọng lượng, chất tạo chelat với nồng độ nằm trong khoảng từ 0,01% trọng lượng đến 1% trọng lượng, và thành phần diol kế cận bao gồm hợp chất được chọn từ monoalkyl glycol và monoalkyl glyxerol với nồng độ nằm trong khoảng từ 0,05% trọng lượng đến 4% trọng lượng, so với trọng lượng của chế phẩm mở ỏ.

Phương án cụ thể thứ mười sáu đề cập đến chế phẩm mở ỏ theo phương án bất kỳ trong số các phương án cụ thể nêu trên, trong đó chế phẩm này còn chứa ít nhất một chất giảm đau, chất gây tê, chất giảm đau do nguyên nhân thần kinh hoặc hỗn hợp của chúng.

Phương án cụ thể thứ mười bảy đề cập đến chế phẩm mở ỏ theo phương án cụ thể thứ mười sáu, trong đó ít nhất một chất giảm đau, chất gây tê hoặc chất giảm đau do nguyên nhân thần kinh được chọn từ nhóm bao gồm lidocain, capsaicin, benzocain, tetracain, prilocain, bupivacain, levobupivacain, procain, carbocain, etidocain, mepivacain, nortripylen, amitriptylin, pregabalin, diclofenac, fentanyl, gabapentin, chất kháng viêm không steroid, salixylat và các hỗn hợp của chúng.

Phương án cụ thể thứ mười tám đề cập đến chế phẩm mở ỏ theo phương án bất kỳ trong số các phương án cụ thể nêu trên, trong đó chế phẩm mở ỏ này ở dạng được chọn từ nhóm bao gồm bột, dung dịch nước, dung dịch chất lỏng hữu cơ, silicon, gel, kem, màng, latec, sol khí, hỗn dịch đặc, bột nhão, thuốc mỡ và dạng bột.

Phương án cụ thể thứ mười chín đề cập đến chế phẩm mở ỏ theo phương án bất kỳ trong số các phương án cụ thể nêu trên, trong đó chế phẩm mở ỏ được hấp phụ trên hoặc vào băng gạc hoặc sợi tự nhiên hoặc tổng hợp, vải lưới, keo nước, alginat, hydrogel, màng bán thấm, màng thấm hoặc polyme tự nhiên hoặc tổng hợp.

Phương án cụ thể thứ hai mươi đề cập đến chế phẩm mở ỏ theo phương án bất kỳ trong số các phương án cụ thể nêu trên, trong đó chế phẩm này còn chứa chất đệm.

Phương án cụ thể thứ hai mươi một đề cập đến kit bao gồm chế phẩm mở ỏ theo phương án bất kỳ trong số các phương án cụ thể nêu trên; và các hướng dẫn sử dụng chế phẩm này để mở ỏ mô đã chết.

Phương án cụ thể thứ hai mươi hai đề cập đến kit theo phương án cụ thể thứ hai mươi một, trong đó các hướng dẫn bao gồm việc cho chế phẩm mở ỏ tiếp xúc với vùng da cần mở ỏ.

Phương án cụ thể thứ hai mươi ba đề cập đến phương pháp mở ổ mô đã chết, trong đó phương pháp này bao gồm các bước: cho chế phẩm mở ổ theo phương án bất kỳ trong số các phương án cụ thể từ thứ nhất đến thứ hai mươi tiếp xúc với vùng da cần mở ổ.

Phương án cụ thể thứ hai mươi tư đề cập đến phương pháp theo phương án cụ thể thứ hai mươi ba, trong đó bước tiếp xúc được lặp lại ít nhất một lần một ngày.

Phương án cụ thể thứ hai mươi lăm đề cập đến phương pháp theo phương án thứ hai mươi ba hoặc thứ hai mươi tư, trong đó phương pháp này còn bao gồm bước loại bỏ mô đã chết ra khỏi vùng da này.

Mặc dù phần mô tả trên đây chứa nhiều phương án cụ thể, các phương án này không được hiểu là làm giới hạn phạm vi bảo hộ của sáng chế mà đúng hơn là làm các ví dụ của các phương án được ưu tiên. Có thể tiến hành nhiều thay đổi khác nhau. Do đó, phạm vi bảo hộ của sáng chế không chỉ được xác định bởi các phương án được minh họa mà được xác định bởi các điểm yêu cầu bảo hộ kèm theo và các dạng tương đương về mặt pháp lý của chúng.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Chế phẩm mở ổ chứa:

thành phần mở ổ bằng enzym không phân giải protein với lượng nằm trong khoảng từ 0,001 đến 60% trọng lượng, so với tổng trọng lượng của chế phẩm mở ổ, trong đó thành phần mở ổ bằng enzym không phân giải protein này chứa amylaza với lượng ít nhất là 80% trọng lượng so với trọng lượng của thành phần mở ổ bằng enzym không phân giải protein, và trong đó enzym amylaza nêu trên là α -amylaza hoặc β -amylaza.

2. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó chế phẩm này chứa các enzym amylaza được chọn từ người, động vật, vi khuẩn, thực vật, nấm và enzym thu được bằng phương pháp tái tổ hợp di truyền.

3. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó enzym amylaza nêu trên chứa α -amylaza với lượng ít nhất là 80% trọng lượng.

4. Chế phẩm theo điểm 3, trong đó enzym amylaza nêu trên chứa amylaza được chọn từ β -amylaza, γ -amylaza và hỗn hợp của chúng với lượng tối đa là 20% trọng lượng.

5. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó chế phẩm này chứa chất mang hoặc tá dược được dụng.

6. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó thành phần mở ổ bằng enzym không phân giải protein chứa các enzym thuỷ phân khác được chọn từ chondroitinaza, hyaluronidaza, lipaza, glycosidaza, heparanaza, dermatanaza, pullulanaza, N-axetylglucosaminidaza, lactaza, phospholipaza, transglycosylaza, esteraza, thioeste hydrolyaza, sulfataza, escharaza, nucleaza, phosphataza, phosphodiesteraza, mananaza, manosidaza, isoamylaza, lyaza, inulinaza, keratinaza, tanaza, pentosanaza, glucanaza, arabinosidaza, pectinaza, xenlulaza, chitinaza, xylanaza, cutinaza, pectat lyaza, hemixenlulaza và hỗn hợp của chúng với lượng tối đa là 20% trọng lượng.

7. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó chế phẩm này chứa α -amylaza từ nguồn được chọn từ tuyến tụy của người, tuyến tụy của động vật và vi khuẩn.

8. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó thành phần mở ỏ bằng enzym không phân giải protein nêu trên chứa các enzym được chọn từ oxidaza, peroxidaza, glucoza oxidaza, catalaza, oxidoreductaza, phenoloxidaza, laccaza, lipoxigenaza, isomeraza và ligninaza với lượng tối đa là 20% trọng lượng.
9. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó chế phẩm này còn chứa ít nhất một hợp chất biguanit polyme với lượng ít nhất là nằm trong khoảng từ 0,01% trọng lượng (100 phần triệu (ppm)) đến 1,0% trọng lượng (10000ppm), so với trọng lượng của chế phẩm mở ỏ.
10. Chế phẩm theo điểm 9, trong đó hợp chất biguanit polyme bao gồm poly(hexametylen biguanit) và các muối của nó.
11. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó chế phẩm này còn chứa polyme tan trong nước với nồng độ nằm trong khoảng từ 0,01% trọng lượng đến 50% trọng lượng so với trọng lượng của chế phẩm mở ỏ, trong đó polyme tan trong nước này được chọn từ nhóm bao gồm metylxenluloza, hydroxyetylxenluloza, hydroxypropylxenluloza, hydroxypropylmetylxenluloza, carboxymetylxenluloza, gồm guar, hydroxyetylguar, hydroxypropylguar, hydroxypropylmetylguar, carboxymetylguar, carboxymetylchitosan, gồm đậu locust, caragenan, gồm xanthan, gồm gellan, gel lô hội, scleroglucan, schizophyllan, gồm arabic, gồm me, poly(rượu vinylic), poly(etylen oxit), poly(etylen glycol), poly(metyl vinyl ete), carbome và các muối của nó, poly(axit acrylic) và các muối của nó, poly(axit metacrylic) và các muối của nó, natri poly(2-acrylamido-2-metylpropansulfonat), polyacrylamit, poly(N,N-dimetylacrylamit), poly(N-vinylaxetamit), poly(N-vinylformamit), poly(2-hydroxyetyl metacrylat), poly(glyxeryl metacrylat), poly(N-vinylpyrrolidon), poly(N-isopropylacrylamit) và poly(N-vinylcaprolactam) và các hỗn hợp của chúng.
12. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó chế phẩm này còn chứa chất tạo chelat với nồng độ nằm trong khoảng từ 0,01% trọng lượng đến 1% trọng lượng so với trọng lượng của chế phẩm mở ỏ, trong đó chất tạo chelat được chọn từ nhóm bao gồm axit etylenđiamintetraaxetic (EDTA), axit nitrilotriaxetic, axit nitrilotripropionic, axit dietylntriaminpentaaxetic, axit 2-hydroxyetyletylenđiamintriaxetic, axit 1,6-

diaminohexametylentetraaxetic, axit 1,2-diaminoxyclohexantetraaxetic, axit O,O'-bis(2-aminoetyl)etylenglycoltetraaxetic, axit 1,3-diaminopropanetetraaxetic, axit N,N'-bis(2-hydroxybenzyl)etylendiamin-N,N'-diaxetic, axit etylendiamin-N,N'-diaxetic, axit etylendiamin-N,N'-dipropionic, axit trietylentetraaminhexaaxetic, etylendiamin-N,N'-bis(axit metylenphosphonic), axit iminodioxetic, axit mononatri-N-lauryl- β -iminodipropionic, natri lauriminodipropionat, N,N-bis(2-hydroxyetyl)glyxin, axit 1,3-diamino-2-hydroxypropanetetraaxetic, axit 1,2-diaminopropanetetraaxetic, etylendiamintetrakis(axit metylenphosphonic), axit N-(2-hydroxyetyl)iminodioxetic, biphosphonat, editronat và các muối của chúng.

13. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó chế phẩm này còn chứa monoalkyl glycol được chọn từ nhóm bao gồm 1,2-propandiol (propylen glycol), 1,2-butandiol, 1,2-pentandiol, 1,2-hexandiol, 1,2-heptandiol, 1,2-octandiol (caprylyl glycol), 1,2-nonandiol, 1,2-decandiol, 1,2-undecandiol, 1,2-dodecandiol, 1,2-tridecandiol, 1,2-tetradecandiol, 1,2-pentadecandiol, 1,2-hexadecandiol, 1,2-heptadecandiol, 1,2-octadecandiol, 2-metyl-2,4-pentandiol, 1,3-butandiol, dietylen glycol, trietylen glycol, glycol bis(hydroxyetyl) ete và các hỗn hợp của chúng.

14. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó chế phẩm này còn chứa glyxerol alkyl ete được chọn từ nhóm bao gồm 1-O-heptylglyxerol, 1-O-octylglyxerol, 1-O-nonylglyxerol, 1-O-dexylglyxerol, 1-O-undexylglyxerol, 1-O-dodexylglyxerol, 1-O-tridexylglyxerol, 1-O-tetradexylglyxerol, 1-O-pentadexylglyxerol, 1-O-hexadexylglyxerol (rượu chimylic), 1-O-heptadexylglyxerol, 1-O-octadexylglyxerol (rượu batylic), 1-O-octadec-9-enyl glyxerol (rượu selachylic), glyxerol 1-(2-etylhexyl) ete, 2-etylhexyl glyxerin, glyxerol 1-heptyl ete, glyxerol 1-octyl ete, glyxerol 1-dexyl ete, và glyxerol 1-dodexyl ete, glyxerol 1-tridexyl ete, glyxerol 1-tetradexyl ete, glyxerol 1-pentadexyl ete, glyxerol 1-hexadexyl ete, glyxerol 1-octadexyl ete và các hỗn hợp của chúng.

15. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó chế phẩm này còn chứa
ít nhất một hợp chất biguanit polyme với lượng ít nhất là 0,01% trọng lượng,
chất tạo chelat với nồng độ nằm trong khoảng từ 0,01% trọng lượng đến 1% trọng lượng,
và thành phần diol kế cận chứa hợp chất được chọn từ monoalkyl glycol và

monoalkyl glyxerol với nồng độ nằm trong khoảng từ 0,05% trọng lượng đến 4% trọng lượng, so với trọng lượng của chế phẩm mở ỏ.

16. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó chế phẩm này còn chứa ít nhất một chất giảm đau, chất gây tê, chất giảm đau do nguyên nhân thần kinh hoặc hỗn hợp của chúng.
17. Chế phẩm theo điểm 16, trong đó ít nhất một chất giảm đau, chất gây tê hoặc chất giảm đau do nguyên nhân thần kinh được chọn từ nhóm bao gồm lidocaine, capsaicin, benzocaine, tetracaine, prilocaine, bupivacaine, levobupivacaine, procaine, carbocaine, etidocaine, mepivacaine, nortriptylene, amitriptyline, pregabalin, diclofenac, fentanyl, gabapentin, chất kháng viêm không steroid, hợp chất salixylat và các hỗn hợp của chúng.
18. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó chế phẩm mở ỏ ở dạng được chọn từ nhóm bao gồm dạng bột, dung dịch nước, dung dịch chất lỏng hữu cơ, silicon, gel, kem, màng, latec, sol khí, hỗn dịch đặc, bột nhão, thuốc mỡ và bột.
19. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó chế phẩm mở ỏ được hấp phụ trên hoặc trong băng gạc hoặc sợi tự nhiên hoặc tổng hợp, vải lưới, keo nước, alginat, hydrogel, màng bán thấm, màng thấm hoặc polyme tự nhiên hoặc tổng hợp.
20. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó chế phẩm này còn chứa chất đệm.
21. Kit để mở ỏ mô đã chết bao gồm:
 chế phẩm mở ỏ theo điểm 1; và
 các hướng dẫn sử dụng chế phẩm này để mở ỏ mô đã chết.
22. Kit để mở ỏ mô đã chết theo điểm 21, trong đó các hướng dẫn bao gồm việc cho chế phẩm mở ỏ tiếp xúc với vùng da cần mở ỏ.
23. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó enzym amylaza nêu trên từ nguồn được chọn từ tuyến tụy của lợn hoặc vi khuẩn *Bacillus subtilis*.

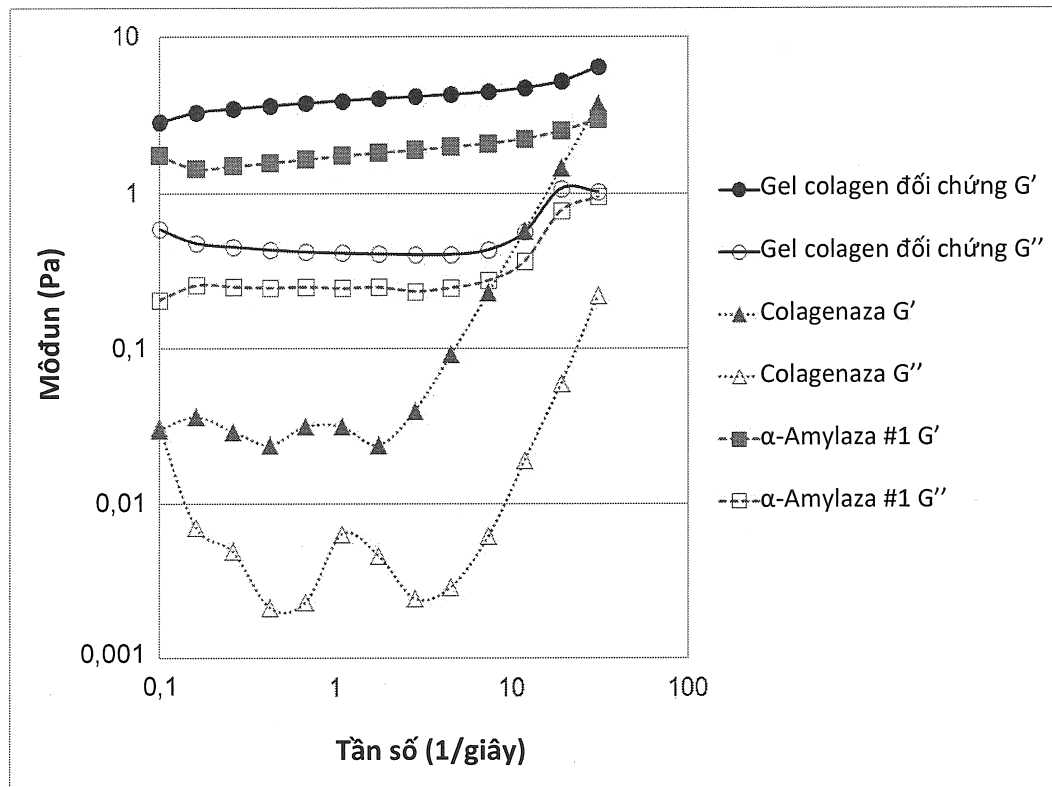


Fig.1

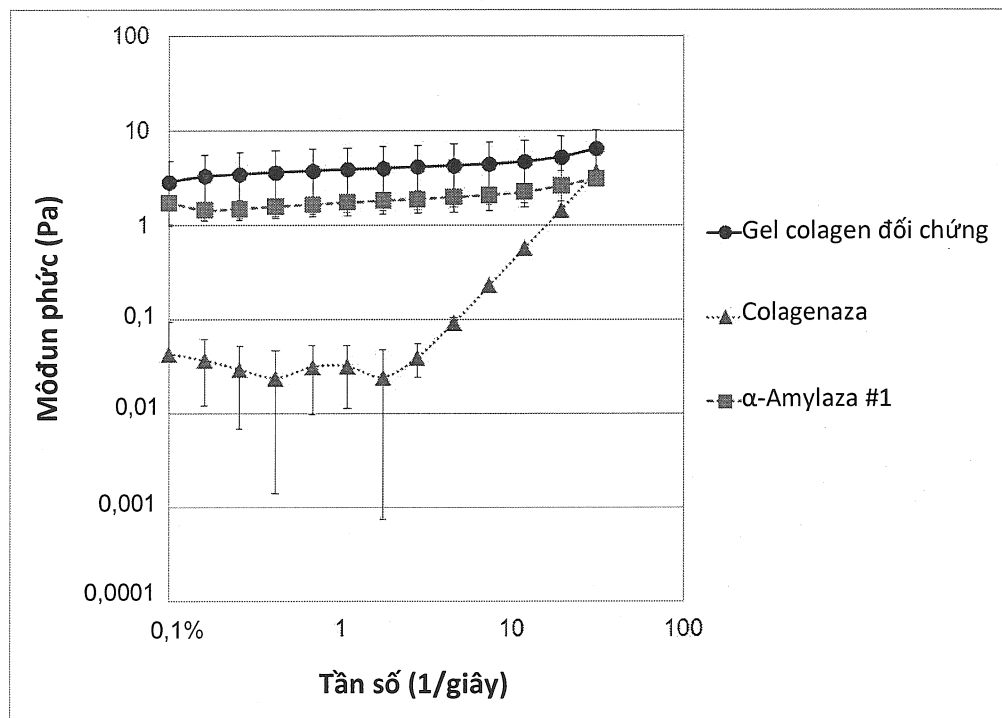


Fig.2

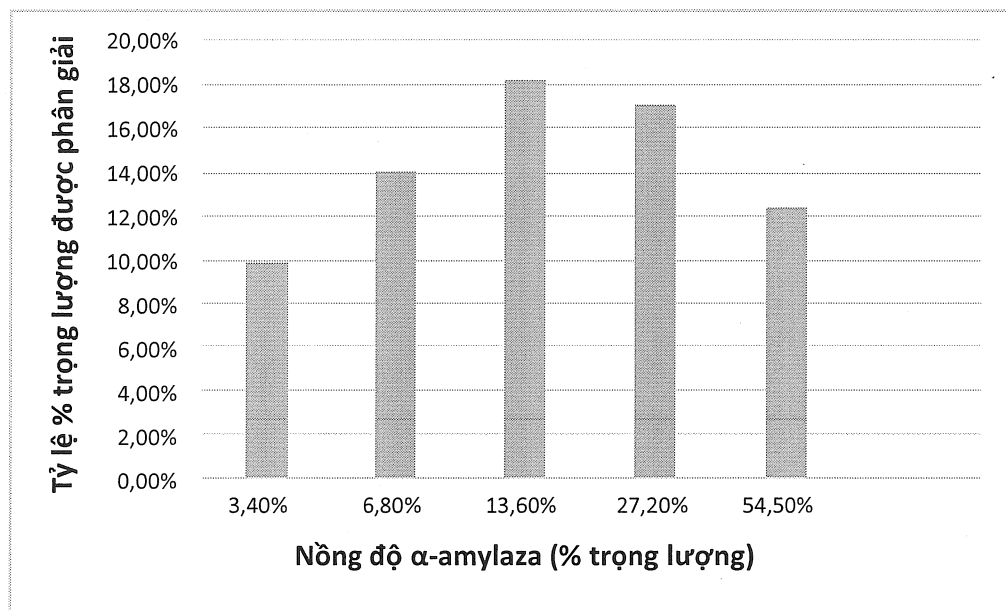


Fig.3