



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

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN) (11)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ



1-0036076

(51)^{2006.01} A61K 31/02; A61K 31/704; A61K (13) B
36/18; A61K 9/06; A61K 36/53; A61K
47/10; A61K 9/00; A61K 31/353; A61K
36/28

(21) 1-2019-00571

(22) 17/07/2017

(86) PCT/CN2017/093118 17/07/2017

(87) WO2018/014805 25/01/2018

(30) 62/363,284 17/07/2016 US

(45) 26/06/2023 423

(43) 25/09/2019 378A

(73) ONENESS BIOTECH CO., LTD (CN)

11F., No. 236, Sec. 4, Xinyi Rd., Da'an Dist. Taipei City 106, Taiwan, China

(72) CHEN, Jen-Wei (CN); LU, Kung-Ming (CN).

(74) Công ty Luật TNHH Phạm và Liên danh (PHAM & ASSOCIATES)

(54) CHẾ PHẨM BÔI TẠI CHỖ LÀM MAU LÀNH VẾT THƯƠNG

(57) Sáng chế đề xuất chế phẩm bôi tại chỗ có hoạt chất bao gồm salvigenin và tùy ý là asiaticoside để dùng cho việc làm mau lành vết thương.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề xuất chế phẩm bôi tại chỗ chứa hoạt chất bao gồm salvigenin và tùy ý asiaticoside để làm mau lành vết thương.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Cây húng chanh hay tần dày lá, rau thom lùn, rau thom lông, rau tần hay dương tử tô là cây thuộc họ hoa môi có tên khoa học là *Plectranthus amboinicus* (trước đây được biết đến hoặc được gọi là *Coleus amboinicus* Lour., *Coleus aromaticus* Benth., *Coleus aromaticus* auct., *Plectranthus aromaticus* Roxb., *Plectranthus aromaticus* Benth., và *Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng.), là cây lâu năm thuộc họ *Lamiaceae* (còn được biết đến là *Labiatae*) có nguồn gốc từ Đông và Nam Phi. *Plectranthus amboinicus* còn được gọi là hoắc hương, rau tần dày lá (Cuban oregano), lưu ly Ấn Độ, bạc hà Ấn Độ, bạc hà Mexico, tần dày lá Mexico, lưu ly đồng quê, và cỏ xạ hương Tây Ban Nha.

Cây rau má, tích huyết thảo hay liên tiền thảo có tên khoa học là *Centella asiatica* (trước đây được biết đến hoặc được gọi là *Centella asiatica* Urban, *Centella asiatica* (L.) Urban, *Hydrocotyle asiatica* L., và *Trisanthus cochinchinensis* Lour.) là cây lâu năm thuộc họ *Mackinlayaceae* hoặc phân họ *Mackinlayoideae* của họ *Apiaceae* (còn được biết đến là *Umbelliferae*) có nguồn gốc từ châu Á, châu Phi và Nam Mỹ. *Centella asiatica* còn được gọi là marvel nước châu Âu, gotu kola, Kola, rau má, rau má Ấn Độ, rau má lá sen, cỏ đồng tiền, nhân sâm Ấn Độ, cỏ móng ngựa, Pegaga, Mandookaparni, thảo dược Tiger herbal, Spadeleaf, hoặc Tono. Các chất chiết từ *Centella asiatica* thường chứa hai hợp chất chính: asiaticoside và axit madecassic.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến chế phẩm bôi tại chỗ có tác dụng trị liệu rất tốt chứa hỗn hợp gồm chất chiết từ húng chanh (*Plectranthus*

amboinicus và chất chiết từ rau má (*Centella asiatica*) như được mô tả ở đây, chứa salvigenin và/hoặc asiaticoside, làm mau lành vết thương ở, ví dụ, bệnh nhân đái tháo đường bị loét chân do đái tháo đường. Ví dụ, chế phẩm bôi tại chỗ này làm mau lành vết loét chân ở bệnh nhân đái tháo đường và có hiệu quả cao hơn nhiều so với Aquacel[®] được lấy làm chế phẩm đối chứng dương. Việc bôi cục bộ chế phẩm bôi tại chỗ này cũng đã cho thấy sự phân phối toàn thân bị hạn chế ít nhất là đối với các hoạt chất theo sáng chế (salvigenin và/hoặc asiaticoside) ở bệnh nhân bị loét chân do đái tháo đường (DFU: Diabetic Foot Ulcer), và được chỉ ra là an toàn đối với các bệnh nhân này.

Do đó, sáng chế đề xuất chế phẩm bôi tại chỗ, chứa: (i) hoạt chất bao gồm salvigenin với lượng nằm trong khoảng từ 0,0001% đến 0,5% (khối lượng/khối lượng) (ví dụ, nằm trong khoảng từ 0,0001% đến 0,1% khối lượng) và asiaticoside với lượng nằm trong khoảng từ 0,05% đến 5% (khối lượng/khối lượng) (ví dụ, nằm trong khoảng từ 0,05% đến 1% khối lượng); (ii) chất làm tăng độ nhớt với lượng nằm trong khoảng từ 1,0 đến 10% (khối lượng/khối lượng); (iii) chất nền mỡ với lượng nằm trong khoảng từ 5 đến 30% (khối lượng/khối lượng); (iv) chất bảo quản kháng khuẩn với lượng nằm trong khoảng từ 0,005 đến 0,2% (khối lượng/khối lượng); và (v) chất nhũ hoá với lượng nằm trong khoảng từ 0,5 đến 10% (khối lượng/khối lượng).

Theo một số phương án, hoạt chất là chất chiết từ húng chanh (PA), chất chiết từ rau má (CA), hoặc hỗn hợp gồm các chất chiết từ PA và CA này, chúng (ở dạng riêng biệt hoặc ở dạng hỗn hợp) bao gồm salvigenin và asiaticoside.

Theo một phương án, hoạt chất là hỗn hợp gồm chất chiết từ húng chanh và chất chiết từ rau má. Hoạt chất này có thể có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 30% (khối lượng/khối lượng) và chứa ít nhất là salvigenin và asiaticoside. Trong một số trường hợp, chế phẩm bôi tại chỗ này có thể chứa salvigenin với lượng nằm trong khoảng từ 0,0001% đến 0,5% (khối lượng/khối lượng), ví dụ, nằm trong khoảng từ 0,0001% đến 0,1% (khối lượng/khối lượng). Trong một số trường hợp, chế phẩm bôi tại chỗ này có thể chứa salvigenin với lượng nằm trong khoảng từ nằm trong khoảng từ 0,0001% đến 0,1% (khối lượng/khối lượng) và

asiaticoside với lượng nằm trong khoảng từ 0,05% đến 1% (khối lượng/khối lượng). Trong chế phẩm bôi ngoài da bất kỳ theo sáng chế, hoạt chất theo sáng chế có thể còn bao gồm cirsimaritin, madecassoside, hoặc hỗn hợp của chúng.

Chất chiết từ húng chanh có thể có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 5% (khối lượng/khối lượng) hoặc nằm trong khoảng từ 0,1 đến 1% (khối lượng/khối lượng) trong chế phẩm bôi tại chỗ. Theo một số phương án, chất chiết từ húng chanh chứa các flavonoid, tinh dầu, nhựa phenol, terpenoit, hoặc hỗn hợp của chúng.

Chất chiết từ húng chanh có thể tạo ra bằng cách cho toàn bộ cây húng chanh hoặc bộ phận của nó tiếp xúc với dung môi có độ phân cực thấp hơn 7 (ví dụ, nhỏ hơn 5) để tạo ra dung dịch và làm khô dung dịch này để tạo ra chất chiết từ húng chanh. Theo một phương án cụ thể, chất chiết từ húng chanh được tạo ra bởi quy trình bao gồm các bước: (i) cho toàn bộ cây húng chanh hoặc bộ phận của nó tiếp xúc với rượu (ví dụ, etanol) để tạo ra chất chiết từ húng chanh thô; (ii) cho chất chiết thô này tiếp xúc với nhựa hấp phụ không ion; (iii) rửa giải nhựa hấp phụ không ion này bằng dung môi có độ phân cực nhỏ hơn 7 (ví dụ, nhỏ hơn 5) để tạo ra dung dịch; và (iv) làm khô dung dịch này để tạo ra chất chiết từ húng chanh.

Theo cách khác hoặc ngoài ra, chất chiết từ rau má có thể chứa asiaticoside, madecassoside, hoặc cả hai. Theo một số phương án, chất chiết từ rau má có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 20% (khối lượng/khối lượng) hoặc nằm trong khoảng từ 0,5 đến 5% (khối lượng/khối lượng) trong chế phẩm bôi tại chỗ.

Theo một số phương án, tỷ lệ giữa chất chiết từ húng chanh và chất chiết từ rau má nằm trong khoảng từ 1:10 đến 10:1, ví dụ, nằm trong khoảng từ 1:5 đến 5:1.

Chế phẩm bôi tại chỗ này có thể chứa chất làm tăng độ nhớt với lượng nằm trong khoảng từ 1,0 đến 10% (khối lượng/khối lượng). Ví dụ về các chất làm tăng độ nhớt bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, rượu xetostearylic, cholesterol, rượu stearylic, cloresol, vaselin trắng, axit stearic, rượu xetylic, hoặc hỗn hợp của chúng.

Chế phẩm bôi tại chỗ này có thể chứa chất nền mỡ với lượng nằm trong khoảng từ 5 đến 30% (khối lượng/khối lượng) (ví dụ, nằm trong khoảng từ 10 đến 30% khối lượng). Trong một số trường hợp, chất nền mỡ có thể là chất nền kem. Ví dụ về chất nền mỡ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, một hoặc nhiều hợp chất vaselin (ví dụ, vaselin lỏng, vaselin trắng).

Chất bảo quản kháng khuẩn trong chế phẩm bôi tại chỗ theo sáng chế có thể có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 0,005 đến 0,2% (khối lượng/khối lượng) (ví dụ, nằm trong khoảng từ 0,01 đến 0,2% khối lượng). Nó có thể chứa một hoặc nhiều hợp chất paraben (ví dụ, metyl paraben và/hoặc propyl paraben).

Chất nhũ hoá (ví dụ, Span[®] 60 và/hoặc Tween[®] 60) trong chế phẩm bôi tại chỗ có thể có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 0,5 đến 10% (khối lượng/khối lượng) (ví dụ, nằm trong khoảng từ 0,5 đến 6% khối lượng).

Ví dụ, chế phẩm bôi tại chỗ theo sáng chế có thể chứa chất nền mỡ với lượng nằm trong khoảng từ 10 đến 30% (khối lượng/khối lượng), chất bảo quản kháng khuẩn với lượng nằm trong khoảng từ 0,01 đến 0,2% (khối lượng/khối lượng), và chất nhũ hoá với lượng nằm trong khoảng từ 0,5 đến 6% (khối lượng/khối lượng).

Chế phẩm bôi tại chỗ bất kỳ trong số các chế phẩm bôi tại chỗ theo sáng chế có thể tùy ý còn chứa một hoặc nhiều dung môi, ví dụ, propylen glycol.

Ví dụ, chế phẩm bôi tại chỗ theo sáng chế chứa hỗn hợp gồm chất chiết từ húng chanh và chất chiết từ rau má với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 30% (khối lượng/khối lượng), rượu xetostearylic với lượng nằm trong khoảng từ 1,0 đến 10% (khối lượng/khối lượng) (ví dụ, nằm trong khoảng từ 2 đến 8% hoặc nằm trong khoảng từ 3 đến 7%), hỗn hợp gồm vaselin trắng và vaselin lỏng với tổng khối lượng nằm trong khoảng từ 5 đến 30% (khối lượng/khối lượng) (ví dụ, nằm trong khoảng từ 5-25% hoặc khoảng 5-20%), hỗn hợp gồm metyl paraben và propyl paraben với tổng khối lượng nằm trong khoảng từ 0,005 đến 0,2% (khối lượng/khối lượng), và hỗn hợp gồm sorbitan monostearat và polysorbat 60 với tổng khối lượng nằm trong khoảng từ 0,5 đến 10% (khối lượng/khối lượng) (ví dụ, 0,5-8% hoặc 0,5-6%). Chế phẩm bôi tại chỗ này có thể còn chứa propylen glycol

với lượng nằm trong khoảng từ 2 đến 20% (khối lượng/khối lượng) (ví dụ, nằm trong khoảng từ 2 đến 10% hoặc nằm trong khoảng từ 4 đến 15%).

Theo một khía cạnh khác, sáng chế mô tả phương pháp làm lành vết thương, bao gồm việc bôi chế phẩm bôi tại chỗ theo sáng chế lên vị trí vết thương của đối tượng cần điều trị. Theo một phương án, chế phẩm bôi tại chỗ này có thể được dùng ít nhất một lần một ngày, ví dụ, hai lần mỗi ngày.

Ví dụ, đối tượng cần điều trị có thể là bệnh nhân đái tháo đường bị loét chân do đái tháo đường. Ví dụ, bệnh nhân đái tháo đường có thể có bệnh đái tháo đường typ I hoặc typ II. Theo một ví dụ khác, bệnh nhân là người bệnh có vết thương hở, ví dụ, hớt da, vết rách, vết rách, vết chọc, hoặc vết đâm. Theo một ví dụ khác, bệnh nhân là người bệnh có vết thương mãn tính, mà có thể là loét do phẫu thuật, loét do chấn thương, loét do tỳ đè, loét tĩnh mạch, loét do đái tháo đường, hoặc vết thương gây ra bởi ung thư biểu mô, bỏng, viêm da dị ứng, lở loét. Ví dụ, bệnh nhân là người người mắc bệnh trứng cá.

Cũng nằm trong phạm vi của sáng chế là (i) chế phẩm bôi tại chỗ theo sáng chế để dùng cho việc làm mau lành vết thương, và (ii) việc dùng chất chiết từ húng chanh, chất chiết từ rau má, hoặc hỗn hợp của chúng để bào chế thuốc để dùng cho việc làm mau lành vết thương, trong đó chất chiết từ húng chanh, chất chiết từ rau má, hoặc hỗn hợp của chúng được bào chế thành chế phẩm bôi tại chỗ theo sáng chế.

Sự mô tả chi tiết về một hoặc nhiều phương án theo sáng chế được đưa ra trong phần mô tả ở dưới. Các dấu hiệu khác hoặc các ưu điểm của sáng chế sẽ trở nên rõ ràng hơn thông qua các hình vẽ và các phần mô tả chi tiết sáng chế sau đây đối với một vài phương án, và cả phần Yêu cầu bảo hộ kèm theo.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 là hình vẽ dạng sơ đồ thể hiện quy trình làm ví dụ để tạo ra chất chiết từ húng chanh.

Fig.2 là hình vẽ dạng sơ đồ thể hiện quy trình làm ví dụ để tạo ra chất chiết từ rau má.

Fig.3A và Fig.3B là các đồ thị thể hiện mức độ ảnh hưởng của chất chiết từ húng chanh (PA) và chất chiết từ rau má (CA) tới sự tăng sinh tế bào nội mô xác định được trong thử nghiệm MTT (3-[4,5-đimethylthiazol-2-yl]-2,5-điphenyl tetrazoli bromua) dựa trên thử nghiệm MTT (Fig.3A) và tới sự di trú tế bào nội mô xác định được trong thử nghiệm dị ứng da (Fig.3B).

Fig.4A và Fig.4B là các đồ thị thể hiện mức độ ảnh hưởng của chất chiết từ húng chanh (PA) và chất chiết từ rau má (CA) tới sự tăng sinh tế bào sừng xác định được trong thử nghiệm Sulforhodamine B (SRB) (Fig.4A) và tới sự di trú tế bào sừng xác định được trong thử nghiệm dị ứng da (Fig.4B).

Fig.5A và Fig.5B lần lượt là đồ thị thể hiện mức độ ảnh hưởng của salvigenin làm mau lành vết thương trong thử nghiệm tạo ống mao mạch *in vitro* và đồ thị thể hiện mức độ ảnh hưởng của asiaticoside đến việc thúc đẩy sự di trú của các tế bào sừng.

Fig.6 là đồ thị thể hiện mức độ ảnh hưởng của chất chiết từ húng chanh (PA) và chất chiết từ rau má (CA) tới sự làm lành vết thương bình thường trên mô hình động vật.

Mô tả chi tiết sáng chế

Vết loét chân là một biến chứng phổ biến liên quan đến bệnh đái tháo đường do hậu quả của việc mô da bị phá vỡ và lộ ra các lớp bên dưới. Tất cả các bệnh nhân đái tháo đường đều có nguy cơ bị loét chân. Khoảng 15 tới 20% số bệnh nhân đái tháo đường sẽ có thể bị loét chân. Trong số đó, khoảng 33% số bệnh nhân sẽ phải cắt cụt chi.

Các phương pháp điều trị hiện thời cho bệnh loét chân do đái tháo đường (DFU: Diabetic Foot Ulcer) bao gồm việc mang các dụng cụ bảo vệ, như giày dép dùng cho người bị đái tháo đường, băng bột, niềng răng, băng quấn ép, và lót giày để tránh bị mụn com và vết chai. Các dụng cụ ý tế như vậy là đắt tiền và thường gây ra sự bất tiện cho cho việc sinh hoạt hàng ngày của bệnh nhân. Theo cách khác, các biện pháp phẫu thuật có thể được thực hiện để loại bỏ các vết loét chân bằng cách bóc tách. Cho đến nay, Regranex[®] là loại thuốc duy nhất được Cục

quản lý thực phẩm và dược phẩm Mỹ (FDA: the Food and Drug Administration) phê duyệt để điều trị DFU. Vào tháng sáu năm 2008, FDA đã công bố một thay đổi ghi nhãn mới của Regranex[®] khuyến cáo rằng nguy cơ tử vong do ung thư tăng gấp năm lần ở nhóm bệnh nhân tiếp xúc với Regranex[®].

Theo ít nhất một khía cạnh, sáng chế đề cập đến việc phát triển chế phẩm bôi tại chỗ chứa hỗn hợp gồm chất chiết từ húng chanh và chất chiết từ rau má, có hiệu quả làm mau lành vết thương cao đáng kể và có tác dụng phụ thấp ở bệnh nhân DFU. Chế phẩm bôi tại chỗ này trên cơ sở chất nền kem và có hoạt chất salvigenin với lượng ít nhất là nằm trong khoảng từ 0,0001% đến 0,5% (khối lượng/khối lượng). Theo một số phương án, chế phẩm bôi tại chỗ này có thể còn chứa hoạt chất bổ sung là asiaticoside với lượng nằm trong khoảng từ 0,05% đến 5% (khối lượng/khối lượng). Chế phẩm bôi tại chỗ này còn chứa chất làm tăng độ nhớt với lượng nằm trong khoảng từ 1,0 đến 10% (khối lượng/khối lượng), chất nền mỡ với lượng nằm trong khoảng từ 5 đến 30% (khối lượng/khối lượng) (ví dụ chất nền kem), chất bảo quản kháng khuẩn với lượng nằm trong khoảng từ 0,005 đến 0,2% (khối lượng/khối lượng); và chất nhũ hoá với lượng nằm trong khoảng khoảng từ 0,5 đến 10% (khối lượng/khối lượng). Tất cả các hợp phần có thể được hòa tan trong một hoặc nhiều dung môi thích hợp như propylen glycol và nước.

Các nghiên cứu dược động học đối với chế phẩm kem bôi tại chỗ đã nêu trên cho thấy sự an toàn của nó ở bệnh nhân DFU. Quan trọng hơn, việc dùng tạo chỗ chế phẩm kem này dẫn đến sự phân phối toàn thân rất thấp của ít nhất là hai hoạt chất, salvigenin và asiaticoside, sau khi bôi tại chỗ lên các vị trí vết thương của bệnh nhân, và được chỉ ra là an toàn ở bệnh nhân đang được điều trị bằng chế phẩm bôi tại chỗ tại vị trí vết thương.

Ngoài ra, thử nghiệm lâm sàng giai đoạn III đã được tiến hành để đánh giá hiệu quả của chế phẩm bôi tại chỗ trên cơ sở chất nền kem cho việc điều trị bệnh loét chân do đái tháo đường mãn tính. Điều bất ngờ là, thuốc mỡ bôi tại chỗ thể hiện hiệu quả cao hơn đáng kể trong việc làm mau lành miệng vết loét ở bệnh nhân đái tháo đường, đặc biệt là ở những người có vết loét lớn hoặc các vết loét gan bàn chân; khi so sánh với sản phẩm đối chứng, Aquacel[®].

Do đó, sáng chế đề xuất chế phẩm bôi tại chỗ chứa một trong hai hoạt chất hoặc cả hai hoạt chất là chất chiết từ húng chanh và chất chiết từ rau má, và mô tả phương pháp sử dụng chúng làm mau lành vết thương ở bệnh nhân cần điều trị.

Chế phẩm bôi tại chỗ

Sáng chế này đề xuất chế phẩm bôi tại chỗ làm mau lành vết thương (ví dụ, chữa lành vết thương cho bệnh nhân đái tháo đường), bao gồm hoạt chất, mà có thể là chất chiết từ húng chanh chứa salvigenin, chất chiết từ rau má chứa asiaticoside, hoặc hỗn hợp gồm chất chiết từ húng chanh và chất chiết từ rau má. Chế phẩm bôi tại chỗ theo sáng chế có thể chứa salvigenin với lượng nằm trong khoảng từ 0,0001% đến 0,5% (khối lượng/khối lượng), và tùy ý là asiaticoside, mà có thể có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 0,05% đến 5% (khối lượng/khối lượng). Theo một số phương án, chế phẩm bôi tại chỗ này chứa chất chiết từ húng chanh, chất chiết từ rau má, hoặc cả hai hoạt chất này với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 30 % (khối lượng/khối lượng).

Chế phẩm bôi tại chỗ còn chứa một hoặc nhiều chất mang hoặc tá dược, bao gồm một hoặc nhiều chất làm tăng độ nhớt (ví dụ, với lượng nằm trong khoảng từ 1,0 đến 10%), một hoặc nhiều chất nền mỡ (ví dụ, một hoặc nhiều chất nền kem) có thể có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 5 đến 30%, một hoặc nhiều chất bảo quản kháng khuẩn (ví dụ, với lượng nằm trong khoảng từ 0,005 đến 0,2% khối lượng), một hoặc nhiều chất nhũ hoá (với lượng nằm trong khoảng từ 0,5 đến 10% khối lượng) hoặc hỗn hợp của chúng. Các hợp phần này có thể được hòa tan hoặc được dùng trong dung môi thích hợp.

(i) Các hoạt chất

Hoạt chất trong chế phẩm bôi tại chỗ theo sáng chế bao gồm salvigenin và tùy ý là asiaticoside. Theo một số phương án, hoạt chất này có thể là chất chiết từ húng chanh chứa duy nhất salvigenin hoặc là chất chiết từ rau má chứa duy nhất asiaticoside, hoặc hỗn hợp của chúng. Nồng độ của hoạt chất trong chế phẩm bôi tại chỗ này có thể nằm trong khoảng từ 0,1 đến 30% (khối lượng/khối lượng). Ví

dụ, hoạt chất có thể chiếm 0,1 tới 5%, 0,5 tới 3%, 1 tới 2%, 1 tới 3%, 2 tới 10%, 5 tới 10%, 5 tới 15%, 10 tới 15%, 15 tới 20%, 10 tới 20%, 20 tới 25%, 15 tới 30%, 20 tới 30%, 10 tới 30%, hoặc 25 tới 30% (khối lượng/khối lượng) của chế phẩm bôi tại chỗ. Nồng độ của hoạt chất trong chế phẩm bôi tại chỗ theo sáng chế được đưa ra theo hàm lượng phần trăm tổng khối lượng của hoạt chất ở dạng khô tính theo tổng khối lượng của toàn bộ chế phẩm bôi tại chỗ này.

Chế phẩm bôi tại chỗ theo sáng chế có thể chứa khoảng 0,0001% tới 0,5% (khối lượng/khối lượng) salvigenin, ví dụ, khoảng 0,001% tới 0,5% (khối lượng/khối lượng), khoảng 0,001% tới 0,3% (khối lượng/khối lượng), khoảng 0,001% tới 0,2% (khối lượng/khối lượng), khoảng 0,01% đến 0,1% (khối lượng/khối lượng), khoảng 0,002% tới 0,5% (khối lượng/khối lượng), khoảng 0,002% tới 0,4% (khối lượng/khối lượng), khoảng 0,002% tới 0,3% (khối lượng/khối lượng), khoảng 0,001% tới 0,1% (khối lượng/khối lượng), khoảng 0,005% tới 0,01% (khối lượng/khối lượng), khoảng 0,01% tới 0,5% (khối lượng/khối lượng), khoảng 0,02% tới 0,5% (khối lượng/khối lượng), và khoảng 0,1% tới 0,5% (khối lượng/khối lượng). Theo cách khác hoặc ngoài ra, chế phẩm bôi tại chỗ theo sáng chế có thể chứa asiaticoside với lượng nằm trong khoảng từ 0,05% đến 5% (khối lượng/khối lượng), ví dụ, nằm trong khoảng từ 0,1 đến 2,5% (khối lượng/khối lượng), nằm trong khoảng từ 0,1 đến 2% (khối lượng/khối lượng), khoảng 0,1 tới 1% (khối lượng/khối lượng), nằm trong khoảng từ 0,25 đến 2,5% (khối lượng/khối lượng), nằm trong khoảng từ 0,5 đến 5% (khối lượng/khối lượng), nằm trong khoảng từ 0,5 đến 2,5% (khối lượng/khối lượng), hoặc nằm trong khoảng từ 0,5 đến 1% (khối lượng/khối lượng).

Khi được sử dụng trong bản mô tả, thuật ngữ “khoảng” nhằm để chỉ một giới hạn số cố định đối với tham số được định rõ (bao gồm cả giới hạn trên lẫn giới hạn dưới). Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này có thể hiểu rõ được ý nghĩa về thuật ngữ “khoảng” kết hợp với một nội dung cụ thể. Trong một số trường hợp, thuật ngữ “khoảng” dùng để chỉ một trị số cụ thể +/- 5% (ví dụ, +/- 3% hoặc +/- 2%).

Theo một phương án, hoạt chất trong chế phẩm bôi tại chỗ là hỗn hợp gồm chất chiết từ húng chanh chứa salvigenin và chất chiết từ rau má chứa asiaticoside. Tỷ lệ giữa chất chiết từ húng chanh và chất chiết từ rau má có thể nằm trong khoảng từ 1:10 đến 10:1. Ví dụ, tỷ lệ giữa chất chiết từ húng chanh và chất chiết từ rau má trong chế phẩm bôi tại chỗ này có thể nằm trong khoảng từ 1:10 đến 1:1, từ 1:1 đến 10:1, từ 1:10 đến 1:5, từ 1:5 đến 1:1, từ 10:1 đến 5:1, từ 5:1 đến 1:1, từ 1:10 đến 1:4, từ 1:4 đến 1:1, từ 10:1 đến 4:1, hoặc từ 4:1 đến 1:1.

Chất chiết từ húng chanh dùng để chỉ chất chiết thu được từ cây húng chanh nhờ sử dụng một hoặc nhiều dung môi thích hợp. Trong một số trường hợp, ít nhất một trong số các dung môi này được sử dụng để tạo ra chất chiết có độ phân cực thấp hơn 7 (ví dụ, nhỏ hơn 5). Xem bảng 1 ở dưới. Khi được sử dụng trong bản mô tả, thuật ngữ "dung môi" dùng để chỉ chất hoặc hỗn hợp chất có khả năng hòa tan một chất khác để tạo ra dung dịch. Chất chiết từ húng chanh theo sáng chế có thể được tạo ra nhờ sử dụng một dung môi. Dung môi được sử dụng trong mỗi bước chiết để tạo ra các chất chiết theo sáng chế (bao gồm cả chất chiết từ húng chanh lẫn chất chiết từ rau má) có thể là một dung môi duy nhất. Theo cách khác, nó có thể là hỗn hợp gồm hai hoặc nhiều dung môi.

Chất chiết từ húng chanh theo sáng chế có thể chứa terpenoit (ví dụ, monoterpenoit, diterpenoit, triterpenoit, và/hoặc sesquiterpenoit), flavonoid, nhựa phenol, các tinh dầu, hoặc hỗn hợp của chúng. Chất chiết từ húng chanh có thể trình bày khi khu trú với nồng độ nằm trong khoảng từ 0,1 đến 5% (khối lượng/khối lượng). Ví dụ, chế phẩm bôi tại chỗ này có thể chứa khoảng 0,1 tới 0,5%, 0,5 tới 1%, 1 tới 1,5%, 1,5 tới 2%, 2 tới 2,5%, 2,5 tới 3%, 3 tới 3,5%, 3,5 tới 4%, 4 tới 4,5%, hoặc 4,5 tới 5% (khối lượng/khối lượng) chất chiết từ húng chanh. Theo cách khác, chế phẩm bôi tại chỗ này có thể chứa khoảng 0,1 tới 1%, 0,1 tới 2%, 0,1 tới 3%, 0,1 tới 4%, hoặc 0,1 tới 5% (khối lượng/khối lượng) chất chiết từ húng chanh. Theo một phương án cụ thể, chế phẩm bôi tại chỗ này chứa khoảng 0,1 tới 1% hoặc 0,1 tới 0,5% chất chiết từ húng chanh.

Chất chiết từ húng chanh theo sáng chế có thể được tạo ra bởi việc chiết toàn bộ cây húng chanh hoặc bộ phận của nó tiếp xúc với một hoặc nhiều dung

môi thích hợp để tạo ra dung dịch và sau đó làm khô dung dịch này để tạo ra chất chiết từ húng chanh. Do chất chiết từ húng chanh chứa flavonoid, terpenoit (ví dụ monoterpenoit, diterpenoit, triterpenoit, và/hoặc sesquiterpenoit), nhựa phenol, hoặc các tinh dầu, là các phân tử không phân cực, nên ít nhất một dung môi trong số các dung môi chiết này có thể có tính phân cực tương đối thấp (ví dụ, có độ phân cực thấp hơn 7) để tạo điều kiện thuận lợi cho việc hoà tan các phân tử không phân cực. Việc “chiết” có thể được thực hiện bằng cách cho nguyên liệu húng chanh tiếp xúc trực tiếp với dung môi thích hợp hoặc bằng cách rửa giải các hợp phần hoạt chất của húng chanh từ nhựa mà trên đó các hoạt chất này được gắn vào.

Bảng 1 sau đưa ra danh sách dung môi thường được sử dụng và độ phân cực của chúng (độ phân cực Snyder):

Bảng 1

Các dung môi được đưa ra làm ví dụ và độ phân cực của chúng

Dung môi	độ phân cực (Snyder)
xyclohexan	0
n-hexan	0
n-decane	0,3
i-octan	0,4
octan	0,4
butyl ete	1,7
cacbon tetraclohua	1,7
trietyl amin	1,8
i-propyl ete	2,2
toluen	2,3
xylen, p-	2,4
t-butyl metyl ete	2,9
benzen	3
benzyl ete	3,3
điclometan	3,4
metylen clorua	3,4
clorofom	3,4-4,4
đicloetan	3,7
etylen điclorua	3,7
butanol, 1-	3,9
rượu i-butylic	3,9

tetrahydrofuran	4,2
etyl axetat	4,3
propanol, 1-	4,3
propanol, 2-	4,3
metyl axetat	4,4
xyclohexanon	4,5
metyl etyl keton (MEK)	4,5
nitrobenzen	4,5
benzonitril	4,6
1,4-đioxan,	4,8
p-đioxan,	4,8
etanol	5,2
nitroetan	5,3
pyridin	5,3
axeton	5,4
benzyl rượu	5,5
2-metoxyetanol,	5,7
axetic axit	6,2
axetonitril	6,2
đimetyl formamit, N,N-	6,4
đimetyl sulfoxit	6,5
metanol	6,6
formamit	7,3
nước	9

Ví dụ, dung môi có độ phân cực thấp hơn 7 có thể được sử dụng để chiết các hoạt chất từ húng chanh để tạo ra chất chiết từ húng chanh. Dung môi như vậy có thể là etyl axetat, metyl axetat, propanol, butanol, hoặc clorofom. Theo cách khác, dung môi này có thể là hỗn hợp gồm một hoặc nhiều dung môi có độ phân cực khác nhau. Ví dụ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, hỗn hợp gồm etanol và etyl axetat, etyl axetat và butanol, etanol và propanol, metyl axetat và butanol.

Theo một số phương án, chất chiết từ húng chanh có thể được tạo ra bởi quy trình bao gồm việc sử dụng một dung môi, như dung môi có độ phân cực thấp hơn 7 (ví dụ, < khoảng 6,5, < khoảng 6,0; < khoảng 5,5, < khoảng 5,0, <4,9, <4,8, <4,7, <4,6, hoặc <4,5). Ví dụ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, metanol, etanol, axeton, etyl axetat, butanol, điclotetan, hoặc hỗn hợp của chúng.

Quy trình làm ví dụ để điều chế chất chiết từ húng chanh được đưa ra ở dưới. Xem Fig.1.

Các nguyên liệu húng chanh, mà có thể là toàn bộ cây húng chanh hoặc bộ phận của nó (ví dụ, các lá), có thể được chuẩn bị bởi phương pháp thông thường. Nguyên liệu húng chanh có thể là cây tươi hoặc bộ phận của nó. Theo cách khác, nguyên liệu húng chanh này có thể là ở dạng khô. Húng chanh này tùy ý có thể được làm khô để tạo ra bột, chúng có thể được sử dụng làm nguyên liệu húng chanh để tạo ra chất chiết từ húng chanh.

Nguyên liệu bất kỳ trong số các nguyên liệu húng chanh theo sáng chế có thể được chiết, một hoặc nhiều lần, bằng dung môi thích hợp để tạo ra chất chiết thô. Dung môi để dùng cho việc tạo ra chất chiết thô có thể là dung môi có độ phân cực cao, ví dụ, có độ phân cực cao hơn 5 và tốt hơn là dưới 7 (ví dụ, >5,2; >5,5, >5,8, >6 hoặc cao hơn và tốt hơn là dưới 7). Ví dụ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, etanol, axeton, metanol, nước, hoặc hỗn hợp của chúng. Nếu cần, chất chiết thô này có thể được cô bởi phương pháp thông thường để tạo ra chất chiết thô đã được cô đặc.

Sau đó, chất chiết thô này có thể được cho tiếp xúc với nhựa thích hợp (ví dụ, nhựa hấp thụ không ion) trong các điều kiện thích hợp để cho phép liên kết các hoạt chất trong chất chiết thô lên nhựa này. Nhựa làm ví dụ để dùng cho việc tạo ra chất chiết từ húng chanh bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, DIAION[®] HP20, DIAION[®] HP20SS, Sepabeads[®] SP207, Amberlite[™] XAD-2, hoặc Amberlite[™] XAD-4.

Sau đây, nhựa này có thể được rửa một hoặc nhiều lần và được rửa giải bằng dung môi thích hợp, ví dụ, dung môi có độ phân cực thấp hơn 7, để tạo ra chất chiết từ húng chanh, mà sau đó nó được làm khô bởi phương pháp thông thường (ví dụ, sấy lạnh, sấy phun, hoặc làm khô bằng cách cô) để tạo ra chất chiết từ húng chanh đã được làm khô, mà nó có thể là ở dạng nửa rắn hoặc dạng bột nhão.

Theo một số phương án, bước hấp thụ lên nhựa có thể được thực hiện bằng cách trộn chất chiết thô bằng nhựa trong thùng chứa. Theo các phương án khác, bước tách nhựa có thể được thực hiện bởi việc thiết lập chế độ cột sắc ký.

Thuật ngữ "chất chiết từ rau má" theo sáng chế dùng để chỉ chất chiết thu được từ toàn bộ cây rau má hoặc bộ phận của nó. Chất chiết từ rau má có thể chứa asiaticoside, axit madecassic, hoặc hỗn hợp của chúng.

Chất chiết từ rau má có thể trình bày khi khu trú với nồng độ nằm trong khoảng từ 0,1 đến 20% (khối lượng/khối lượng). Ví dụ, chế phẩm bôi tại chỗ này có thể chứa khoảng 0,1 tới 0,5%, 0,5 tới 1%, 1 tới 1,5%, 1,5 tới 2%, 2 tới 2,5%, 2,5 tới 3%, 3 tới 3,5%, 3,5 tới 4%, 4 tới 4,5%, 4,5 tới 5%, 5 tới 5,5%, 5,5 tới 6%, 6 tới 6,5%, 6,5 tới 7%, 7 tới 7,5%, 7,5 tới 8%, 8 tới 8,5%, 8,5 tới 9%, 9 tới 9,5%, 9,5 tới 10%, 10 tới 10,5%, 10,5 tới 11%, 11 tới 11,5%, 11,5 tới 12%, 12 tới 12,5%, 12,5 tới 13%, 13 tới 13,5%, 13,5 tới 14%, 14 tới 14,5%, 14,5 tới 15%, 15 tới 15,5%, 15,5 tới 16%, 16 tới 16,5%, 16,5 tới 17%, 17 tới 17,5%, 17,5 tới 18%, 18 tới 18,5%, 18,5 tới 19%, 19 tới 19,5%, hoặc 19,5 tới 20% (khối lượng/khối lượng) chất chiết từ rau má. Theo cách khác, chế phẩm bôi tại chỗ này có thể chứa khoảng 0,1 tới 5%, 0,1 tới 10%, 0,1 tới 15%, 0,1 tới 20%, 0,5 tới 5%, 0,5 tới 10%, 0,5 tới 15%, hoặc 0,5 tới 20% (khối lượng/khối lượng) chất chiết từ rau má. Cụ thể, chế phẩm bôi tại chỗ này có thể chứa khoảng 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, hoặc 20 phần trăm (khối lượng/khối lượng) chất chiết từ rau má.

Chất chiết từ rau má có thể được tạo ra theo phương pháp thông thường, ví dụ, các phương pháp đã được mô tả trong các Patent Mỹ số 5,834,437, 6,417,349, 6,475,536, và 6,267,996, CN 1313124, CN 1089497, và CN 1194154. Dưới đây là một ví dụ.

Các nguyên liệu rau má có thể được chuẩn bị theo các phương pháp thông thường. Các nguyên liệu như vậy có thể là cây rau má tươi hoặc bộ phận của nó, hoặc rau má khô. Các nguyên liệu rau má này có thể được chiết bằng dung môi thích hợp như nước, etanol, hoặc hỗn hợp của chúng, để tạo ra chất chiết thô. Chất chiết thô này, mà tùy ý có thể đã được cô, có thể đã được trộn với nhựa thích hợp

hoặc được nạp vào cột nhồi cùng với nhựa. Sau khi rửa một hoặc nhiều lần, nhựa này có thể được rửa giải bằng dung môi thích hợp. Dung môi rửa giải thu được có thể được cô để tạo ra dạng bột nhão, mà nó có thể được làm khô bởi phương pháp thông thường, ví dụ, chân không khô, để tạo ra bột chất chiết từ rau má. Nếu cần, bột rau má có thể được nghiền qua sàng (ví dụ, cỡ mắt sàng No.100). Xem trên Fig.2.

Ví dụ, chất chiết từ húng chanh có thể được tạo ra như sau. Phần nằm trên mặt đất của cây húng chanh (khoảng 1,5 g), bao gồm lá và/hoặc thân, có thể được thu gom và được chiết bằng dung môi có độ phân cực nhỏ hơn 7 (ví dụ metanol, etanol, axeton, etyl axetat, butanol, điclometan, hoặc hỗn hợp của chúng) ở nhiệt độ trong phòng trong khoảng thời gian 30 phút tới 6 giờ. Theo cách khác, quy trình chiết này có thể được thực hiện ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 50 đến 80°C. Chất chiết thô thu được có thể được nạp thẳng vào cột nhựa hấp phụ không ion và được rửa giải bằng dung môi có độ phân cực nhỏ hơn 6 (ví dụ, etanol, etyl axetat, butanol, điclometan, hexan, toluen, hoặc hỗn hợp của chúng). Các hợp phần đã được rửa giải có thể được thu gom và được tinh chế bằng cách chiết bằng dung môi có độ phân cực nhỏ hơn 6 (ví dụ, các dung môi theo sáng chế). Phần dịch lọc thu được có thể được thu gom để tạo ra chất chiết từ PA.

Chất chiết từ rau má có thể được tạo ra bởi quy trình giống hệt hoặc tương tự như quy trình nêu trên. Chất chiết từ PA và/hoặc chất chiết CA có thể được cô nhờ sử dụng thiết bị làm bay hơi kiểu quay giảm áp.

(ii) Chất mang và tá dược

Chế phẩm bôi tại chỗ này còn chứa một hoặc nhiều chất mang và tá dược, bao gồm chất làm tăng độ nhớt, chất nền mỡ (ví dụ, chất nền kem), chất bảo quản kháng khuẩn, chất nhũ hoá, và/hoặc dung môi.

“Chất làm tăng độ nhớt” là chất được sử dụng để làm đặc chế phẩm. Ví dụ về chất làm tăng độ nhớt có thể bao gồm, ví dụ, rượu xetostearylic, cholesterol, rượu stearylic, cloresol, vaselin trắng, axit stearic, rượu xetylic, hoặc hỗn hợp của chúng. Chất làm tăng độ nhớt này có thể trình bày khi tạo khu trú với nồng độ

nằm trong khoảng từ 1,0 đến 10% (khối lượng/khối lượng). Ví dụ, chế phẩm bôi tại chỗ này có thể chứa khoảng 1 tới 1,5%, 1,5 tới 2%, 2 tới 2,5%, 2,5 tới 3%, 3 tới 3,5%, 3,5 tới 4%, 4 tới 4,5%, 4,5 tới 5%, 5 tới 5,5%, 5,5 tới 6%, 6 tới 6,5%, 6,5 tới 7%, 7 tới 7,5%, 7,5 tới 8%, 8 tới 8,5%, 8,5 tới 9%, 9 tới 9,5%, hoặc 9,5 tới 10% (khối lượng/khối lượng) chất làm tăng độ nhớt. Theo cách khác, chế phẩm bôi tại chỗ này có thể chứa khoảng 1 tới 5%, 2,5 tới 7,5%, hoặc 5 tới 10% (khối lượng/khối lượng) chất làm tăng độ nhớt.

“Chất nền mỡ” có thể là chế phẩm nửa rắn bất kỳ hoặc chất dẫn thuốc mà hoạt chất có thể được kết hợp vào nó. Ví dụ về chất nền mỡ bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, chất nền mỡ dạng dầu (ví dụ, vaselin trắng hoặc chất nền mỡ trắng), chất nền mỡ hấp thụ (ví dụ, vaselin ưa nước, lanolin khan, Aquabase™, Aquaphor®, và Polysorb®), chất nền mỡ nhũ tương nước/dầu (ví dụ, kem lạnh, lanolin khan, chất nền mỡ nước hoa hồng, Hydrocream™, Eucerin®, và Nivea®), chất nền mỡ nhũ tương dầu/nước (ví dụ, chất nền mỡ ưa nước, Dermabase™, Velvachol®, và Unibase®), và chất nền mỡ dễ trộn lẫn với nước (ví dụ, chất nền mỡ polyetylen glycol (PEG) và Polybase™). Chất nền mỡ có thể có tính trợ dược lý nhưng có khả năng bẫy nước để tạo ra màng bảo vệ mềm. Theo một phương án cụ thể, chất nền mỡ này có thể là hợp chất vaselin bất kỳ (ví dụ vaselin, vaselin trắng, parafin mềm trắng, vaselin lỏng, parafin lỏng). Theo một phương án cụ thể, chất nền mỡ là vaselin trắng (chỉ số CAS 8009-03-8). Chất nền mỡ này có thể trình bày khi tạo khu trú với nồng độ nằm trong khoảng từ 5 đến 30% (khối lượng/khối lượng), ví dụ, từ 10 đến 30% (khối lượng/khối lượng). Ví dụ, chế phẩm bôi tại chỗ này có thể chứa khoảng 5 tới 25%, 5 tới 20%, 5 tới 15%, 5 tới 15%, 10 tới 15%, 15 tới 20%, 20 tới 25%, hoặc 25 tới 30% (khối lượng/khối lượng) chất nền mỡ. Đặc biệt, chế phẩm bôi tại chỗ này có thể chứa khoảng 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, hoặc 30 phần trăm (khối lượng/khối lượng) chất nền mỡ.

Theo một số phương án, “chất nền mỡ” theo sáng chế chứa dưới 20% nước và các chất dễ bay hơi, và trên 50% hydrocacbon, sáp, hoặc rượu polyhydric làm chất dẫn thuốc.

Theo một số phương án, “chất nền mỡ” theo sáng chế là “chất nền kem,” có chứa trên 20% nước và các chất dễ bay hơi và/hoặc thông thường chứa dưới 50% các hydrocacbon, sáp, hoặc rượu polyhydric làm chất dẫn thuốc của chế phẩm. Chất nền kem này có thể là chế phẩm nhiều pha gồm pha ưa chất béo và pha nước. Trong một số trường hợp, chất nền kem này là chất nền kem ưa chất béo, có pha ưa chất béo làm pha liên tục. Một chất nền kem như vậy thường chứa chất nhũ hóa nước trong dầu như rượu gổ, sorbitan este và monoglyxerit. Theo các ví dụ khác, chất nền kem này là chất nền kem ưa nước, có pha nước là pha liên tục. Một chất nền kem như vậy thông thường chứa chất nhũ hoá dầu trong nước như xà phòng natri hoặc trolamin, rượu béo đã được sulfat hóa, polysorbat và axit béo polyoxyl và este rượu béo, nó có thể được kết hợp với chất nhũ hóa nước trong dầu, nếu cần.

“Chất bảo quản kháng khuẩn” có thể là hợp chất bất kỳ có khả năng tiêu diệt các vi khuẩn, ngăn ngừa sự nhân bội hoặc sự phát triển của các vi khuẩn, hoặc ngăn chặn tác động gây bệnh của các vi khuẩn. Ví dụ về chất bảo quản kháng khuẩn bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, hợp chất paraben (este của axit parahydroxybenzoic; ví dụ, paraben, metylparaben, etylparaben, propylparaben, butylparaben, heptylparaben, benzylparaben, isobutylparaben, isopropylparaben, benzylparaben, hoặc các muối natri của chúng), benzalkoni clorua, benzetoni clorua, rượu benzylic, axit boric, bronopol, xetrimin, xetylpyridini clorua, clorhexidin, clobutanol, cloresol, cloxylenol, cresol, rượu etylic, glyxerin, hexetidini, imidurea, phenol, phenoxyetanol, rượu phenyletylic, phenylmercuric nitrat, propylen glycol, và thimerosal. Chất bảo quản kháng khuẩn này có thể trình bày khi tạo khu trú với nồng độ nằm trong khoảng từ 0,005-0,2%, ví dụ, khoảng 0,01-0,2% (khối lượng/khối lượng). Ví dụ, chế phẩm bôi tại chỗ này có thể chứa khoảng 0,005 tới 0,01%, 0,01 tới 0,05%, 0,05 tới 0,1%, 0,1 tới 0,15%, hoặc 0,15 tới 0,2% (khối lượng/khối lượng) chất bảo quản kháng khuẩn. Đặc biệt, chế phẩm bôi tại chỗ này có thể chứa khoảng 0,005, 0,006, 0,007, 0,008, 0,009, 0,01, 0,02, 0,03, 0,04, 0,05, 0,06, 0,07, 0,08, 0,09, 0,1, 0,11, 0,12, 0,13, 0,14, 0,15, 0,16, 0,17,

0,18, 0,19, hoặc 0,2 phần trăm (khối lượng/khối lượng) chất bảo quản kháng khuẩn.

“Chất nhũ hoá” là hợp chất hoặc chất có tác động làm chất làm ổn định cho hỗn hợp gồm hai hoặc nhiều chất lỏng mà thường là không thể trộn lẫn được (khó trộn lẫn hoặc không thể trộn lẫn được). Ví dụ về chất nhũ hoá có thể bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, chất nhũ hoá tự nhiên (ví dụ, acacia, aga, axit alginic, natri alginat, tragacan, chondrux, cholesterol, xanthan, pectin, gelatin, lòng đỏ trứng, casein, chất béo gỗ, cholesterol, sáp, và lexitin), đất sét dạng keo (ví dụ, bentonit [nhôm silicat] và Veegum [magie nhôm silicat]), các dẫn xuất axit amin mạch dài, các rượu cao phân tử (ví dụ, rượu stearyllic, rượu xetylic, rượu oleylic, triacetin monostearat, etylen glycol distearat, glyxeryl monostearat, propylen glycol monostearat, và rượu polyvinyllic), các carbomer (ví dụ, carboxy polymetylen, axit polyacrylic, polyme axit acrylic, và polyme carboxyvinyl), carrageenan, dẫn xuất xenluloza (ví dụ, carboxymetylxenluloza natri, xenluloza dạng bột, hydroxymetyl xenluloza, hydroxypropyl xenluloza, hydroxypropyl metylxenluloza, và metylxenluloza), sorbitan este axit béo (ví dụ, polyoxyetylen sorbitan monolaurat [Tween[®] 20], polyoxyetylen sorbitan [Tween[®] 60], polyoxyetylen sorbitan monooleat [Tween[®] 80], sorbitan monopalmitate [Span[®] 40], sorbitan monostearat [Span[®] 60], sorbitan tristearat [Span[®] 65], glyxeryl monooleat, và sorbitan monooleat [Span[®] 80]), polyoxyetylen este (ví dụ, polyoxyetylen monostearat [Myrj[®] 45], dầu thầu dầu đã được hydro hóa bằng polyoxyetylen, dầu thầu dầu đã được polyetoxy hoá, polyoxymetylen stearat, và Solutol), sucroza este axit béo, polyetylen glycol este axit béo (ví dụ Cremophor[®]), polyoxyetylen ete (ví dụ, polyoxyetylen lauryl ete [Brij[®] 30]), và poly(vinyl-pyrrolidon), dietylen glycol monolaurat, trietanolamin oleat, natri oleat, kali oleat, etyl oleat, axit oleic, etyl laurat, natri lauryl sulfat, Pluronic F 68, Poloxamer 188, xetrimoni bromua, xetylpyridini clorua, benzalkoni clorua, và đocusat natri, và/hoặc các hỗn hợp của chúng. Chất nhũ hoá có thể trình bày khi tạo khu trú với nồng độ nằm trong khoảng từ 0,5 đến 10% (khối lượng/khối lượng), ví dụ, 0,5 tới 6% (khối lượng/khối lượng). Ví dụ, chế phẩm bôi tại chỗ này

có thể chứa khoảng 0,5 tới 1%, 1 tới 1,5%, 1,5 tới 2%, 2 tới 2,5%, 2,5 tới 3%, 3 tới 3,5%, 3,5 tới 4%, 4 tới 4,5%, 4,5 tới 5%, 5 tới 5,5%, 5,5 tới 6%, 5 tới 10%, 6 tới 10%, hoặc 8 tới 10% (khối lượng/khối lượng) chất nhũ hoá. Đặc biệt, chế phẩm bôi tại chỗ này có thể chứa khoảng 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 5,5, 6, 6,5, 7, 7,5, 8, 8,5, 9, 9,5, hoặc 10 phần trăm (khối lượng/khối lượng) chất nhũ hoá.

Chế phẩm bôi tại chỗ theo sáng chế có thể còn chứa một hoặc nhiều dung môi (ví dụ, dung môi không nước hoặc nước). Ví dụ về dung môi không nước có thể bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, dung môi đã biết bất kỳ bao gồm propylen glycol, glycol, và hoặc hỗn hợp của chúng. Dung môi không nước này có thể trình bày khi tạo khu trú với nồng độ nằm trong khoảng từ 2 đến 65% (khối lượng/khối lượng). Ví dụ, chế phẩm bôi tại chỗ này có thể chứa khoảng 2 tới 15%, 15 tới 30%, 30 tới 45%, hoặc 45 tới 65% (khối lượng/khối lượng) dung môi. Theo một số phương án, chế phẩm bôi tại chỗ theo sáng chế có thể còn chứa nước.

Theo một số phương án, chế phẩm bôi tại chỗ theo sáng chế có thể còn chứa một hoặc nhiều chất làm mềm, chất tạo hương, hoặc chất tạo màu. Chế phẩm bôi tại chỗ này có thể cũng được sử dụng kết hợp với băng vết thương. (ví dụ, băng keo, miếng dán thuốc và các loại băng tương tự). Ví dụ, xyclohexan, n-hexan, n-đecan, i-octan, octan, butyl ete, cacbon tetraclorea, trietyl amin, i-propyl ete, toluen, p-xylen, t-butyl metyl ete, benzen, benzyl ete, đicloetan, metylen clorua, clorofom, đicloetan, etylen điclorea, 1-butanol, rượu i-butylic, tetrahydrofuran, etyl axetat, 1-propanol, 2-propanol, metyl axetat, xyclohexanon, metyl etyl keton (MEK), nitrobenzen, benzonitril, 1.4-đioxan, hoặc p-đioxan)

Phương pháp làm mau lành vết thương

Chế phẩm bất kỳ trong số các chế phẩm bôi tại chỗ theo sáng chế có thể được sử dụng để làm mau lành vết thương ở bệnh nhân cần điều trị. Chế phẩm bôi tại chỗ này có thể được bôi vào vị trí vết thương với liều lượng và chế độ điều trị thích hợp. Liều lượng và chế độ điều trị cho phương pháp được mô tả sẽ phụ thuộc vào bản chất và tình trạng của vết thương được điều trị, độ tuổi và tình trạng

của bệnh nhân, và trị liệu trước đó hoặc đồng thời bất kỳ. Trong một số trường hợp, chế phẩm bôi tại chỗ này có thể được dùng một lần mỗi tuần, một lần mỗi ngày, một lần cách ngày, hai lần mỗi ngày, ba lần mỗi ngày, hoặc bốn lần mỗi ngày trong một khoảng thời gian thích hợp. Việc điều trị có thể được chấm dứt khi vết thương lành. Nếu cần, việc điều trị có thể tiếp tục, ví dụ, nếu vết thương tái phát.

Thuật ngữ “vết thương” dùng để chỉ tổn thương của mô sống do vết cắt, va đập, hoặc tác động khác (ví dụ, gây ra bởi tình trạng bệnh như chứng rối loạn da), điển hình là da bị cắt hoặc bị nứt. Vết thương có thể liên quan tới tình trạng bệnh, ví dụ, chứng rối loạn da. Thuật ngữ “làm lành vết thương” chỉ các quá trình động và phức hợp để thay thế các cấu trúc tế bào và/hoặc các lớp mô bị mất hoặc tổn thương. Thuật ngữ “việc làm mau lành vết thương” hoặc “làm mau lành vết thương” biểu thị mức độ gia tăng việc thay thế các cấu trúc tế bào và/hoặc các lớp mô bị mất hoặc tổn thương. Ví dụ, việc làm mau lành vết thương có thể được kiểm chứng bởi sự đóng miệng một phần hoặc hoàn toàn vết loét hoặc gia tăng tốc độ làm lành vết loét (bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, sự thay đổi nhanh hơn về kích thước, diện tích, hoặc mức độ nghiêm trọng của vết loét, sự kín miệng nhanh hơn của vết loét, và/hoặc gia tăng mức độ thay đổi về kích thước, diện tích hoặc mức độ trầm trọng khi so sánh với vết loét đối chứng được xử lý bằng giả dược).

Đối tượng cần điều trị bằng chế phẩm bôi tại chỗ này có thể là người hoặc động vật có vú không phải người. Theo một số phương án, bệnh nhân là người bệnh có vết thương hở, mà có thể là chấn thương hoặc tổn thương của các mô sống (ví dụ, da) phá vỡ tính liên tục thông thường của các cấu trúc sinh học. Vết thương hở có thể bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các chấn thương hớt da, vết rạch, vết rách, vết chọc, vết đâm, vết cắt, hoặc các chấn thương tương tự khác.

Theo các phương án khác, bệnh nhân là người bệnh có vết thương mãn tính, mà có thể là chấn thương hoặc tổn thương của các mô sống (ví dụ, da) phá vỡ tính liên tục thông thường của các cấu trúc sinh học và không lành với nhiều giai đoạn lặp lại và/hoặc trong một khoảng thời gian có thể dự đoán được. Vết thương mãn tính có thể bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở: loét do phẫu

thuật, loét do chấn thương, loét do tỳ đờ, loét tĩnh mạch, hoặc loét do đái tháo đường. Ví dụ khác về vết thương mãn tính là nó có thể liên quan đến bệnh hoặc chứng rối loạn, ví dụ, ung thư biểu mô, bỏng, lở loét, chứng rối loạn da như viêm da dị ứng.

Ví dụ, bệnh nhân là người bệnh có vết loét chân liên quan đến bệnh đái tháo đường (ví dụ, typ I hoặc typ II). Bệnh đái tháo đường (còn được biết đến là bệnh tiểu đường) là nhóm các bệnh chuyển hoá dẫn đến lượng đường trong máu cao trong một khoảng thời gian dài. Bệnh đái tháo đường có thể do tuyến tụy không sản xuất đủ insulin hoặc các tế bào của cơ thể không đáp ứng đúng cách với insulin được sản xuất. Ba nhóm chính của bệnh đái tháo đường gồm typ I (còn được biết đến là “bệnh đái tháo đường phụ thuộc insulin” (IDDM: Insulin-Dependent Diabetes Mellitus) hoặc “bệnh đái tháo đường vị thành niên”; do tuyến sản xuất không đủ insulin), typ 2 (còn được biết đến là “bệnh đái tháo đường không phụ thuộc insulin” (NIDDM: non-insulin-dependent diabetes mellitus) hoặc “bệnh đái tháo đường khởi phát ở người trưởng thành”; do việc các tế bào không đáp ứng với insulin đúng cách), và bệnh đái tháo đường thai kỳ (được thấy trong quá trình mang thai khi có lượng đường máu cao mà chưa từng có tiền sử của bệnh đái tháo đường). Nhiều biến chứng nghiêm trọng đã được nhận thấy ở bệnh nhân đái tháo đường bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các tổn thương mãn tính như loét chân do đái tháo đường (còn được biết đến là loét tiểu đường).

Theo một số phương án, đối tượng cần điều trị theo phương pháp của sáng chế bị vết thương nghiêm trọng, ví dụ, có vết loét với diện tích trên 2cm^2 (ví dụ, 3cm^2 , 4cm^2 hoặc 5cm^2). Ví dụ, các bệnh nhân bị một hoặc nhiều vết loét gan bàn chân.

Gói thuốc để dùng cho việc làm mau lành vết thương

Sáng chế cũng đề xuất gói thuốc để dùng cho việc làm mau lành vết thương. Gói thuốc này có thể bao gồm một hoặc nhiều túi chứa chế phẩm bôi tại chỗ theo sáng chế, đựng chất chiết từ húng chanh, chất chiết từ rau má, hoặc hỗn hợp gồm chất chiết từ húng chanh và chất chiết từ rau má.

Theo một số phương án, gói thuốc này có thể chứa các chỉ dẫn dùng thuốc để dùng tùy theo phương pháp của sáng chế. Các chỉ dẫn dùng thuốc này có thể mang phần mô tả cách thức sử dụng chế phẩm bôi tại chỗ này để làm mau lành vết thương tùy theo phương pháp bất kỳ trong số các phương pháp của sáng chế. Gói thuốc này có thể còn bao gồm sự mô tả việc lựa chọn cá thể thích hợp để điều trị dựa trên cơ sở nhận diện liệu rằng cá thể có hay không các tổn thương cần điều trị.

Các chỉ dẫn dùng thuốc liên quan đến việc sử dụng chế phẩm bôi tại chỗ nói chung bao gồm thông tin về liều lượng, biểu đồ dùng thuốc, và đường dùng thuốc cho việc điều trị dự định. Vật đựng có thể là các vật đựng liều lượng đơn vị, các gói số lượng lớn (ví dụ, các gói đựng đa liều) hoặc các liều lượng đơn vị đã phân nhỏ. Các chỉ dẫn dùng thuốc được cung cấp trong gói thuốc theo sáng chế thông thường là các chỉ dẫn dùng thuốc được viết bằng lời trên nhãn ghi hoặc trong giấy chèn (ví dụ, tờ giấy có trong gói thuốc này), mặc dù các chỉ dẫn dùng thuốc đọc trên máy (ví dụ, các chỉ dẫn dùng thuốc được ghi trên đĩa từ hoặc đĩa quang) cũng có thể được chấp nhận.

Nhãn ghi hoặc giấy chèn chỉ rõ chế phẩm được sử dụng để làm mau lành vết thương. Các chỉ dẫn dùng thuốc này có thể được dùng cho việc thực hiện phương pháp bất kỳ trong các phương pháp của sáng chế.

Gói thuốc theo sáng chế nằm trong bao gói thích hợp. Bao gói thích hợp này bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các lọ nhỏ, chai, bình, bao gói mềm (ví dụ, túi Mylar hoặc túi làm bằng chất dẻo hàn kín), và các bao gói tương tự. Ít nhất một hoạt chất trong chế phẩm này là hoạt chất được chọn từ nhóm bao gồm chất chiết từ húng chanh, chất chiết từ rau má, và hỗn hợp gồm chất chiết từ húng chanh và chất chiết từ rau má.

Gói thuốc này tùy ý có thể còn bao gồm các thành phần bổ sung như thông tin diễn giải. Thông thường, gói thuốc này bao gồm vật đựng và nhãn ghi hoặc giấy chèn nằm trong hoặc đi kèm với vật đựng. Theo một số phương án, sáng chế đề xuất sản phẩm bao gồm toàn bộ các dấu hiệu nêu trên của gói thuốc.

Không cần phải giải thích thêm, tin rằng người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này, dựa vào phần mô tả sáng chế này, có thể thực hiện

được sáng chế này đến mức tối đa của nó. Do đó, các phương án cụ thể dưới đây được đưa ra chỉ nhằm mục đích minh họa, và không nhằm giới hạn phạm vi của sáng chế theo cách hiểu bất kỳ. Tất cả các ấn phẩm được trích dẫn trong phần mô tả được đưa vào đây bằng cách viện dẫn.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1: mức độ ảnh hưởng của chất chiết từ húng chanh và chất chiết từ rau má tới sự di trú và tăng sinh tế bào nội mô

(i) Thử nghiệm MTT - Quá trình tăng sinh

Chất chiết từ húng chanh (PA) và chất chiết từ rau má (CA) được chuẩn bị theo các phương pháp của sáng chế. Dòng tế bào nội mô EA.hy926 được sử dụng cho nghiên cứu này. Các tế bào này được dàn mỏng trên đĩa với mật độ 4×10^4 tế bào/lỗ trong đĩa 96 lỗ trong một ngày và sau đó được xử lý bằng chất chiết từ PA hoặc CA trong môi trường không chứa huyết thanh trong 70 giờ. Sau khi xử lý, các tế bào này được nhuộm bằng thuốc nhuộm MTT trong 2 giờ.

Như được thể hiện trên Fig.3A, chất chiết từ PA thúc đẩy quá trình tăng sinh tế bào, trong khi mức độ ảnh hưởng của CA tới quá trình tăng sinh là không bằng chất chiết từ PA.

(ii) Thử nghiệm cạo - quá trình di trú

Các tế bào nội mô EA.hy926 được dàn mỏng trên đĩa với mật độ 8×10^4 tế bào/lỗ trong đĩa 48 lỗ trong 24 giờ. Đơn lớp tế bào hợp lưu đã tạo ra như vậy được cạo và được xử lý bằng chất chiết từ PA hoặc CA trong môi trường không chứa huyết thanh trong 72 giờ.

Các kết quả thu được từ nghiên cứu này cho thấy rằng chất chiết từ PA thúc đẩy một cách đáng kể quá trình di trú tế bào nội mô, rất cần thiết để làm lành vết thương. Các tế bào đã được xử lý bằng chất chiết CA cũng có các dấu hiệu của quá trình di trú, nhưng kết quả là không đáng kể như chất chiết từ PA. Fig.3B.

Ví dụ 2: Mức độ ảnh hưởng của chất chiết từ húng chanh và chất chiết từ rau má tới sự di trú và tăng sinh tế bào sừng

(i) Thử nghiệm SRB - Quá trình tăng sinh

Các tế bào HaCaT, dòng tế bào sừng, đã được sử dụng trong nghiên cứu này. Các tế bào này được dàn mỏng trên đĩa với mật độ 4×10^4 tế bào/mL trong đĩa 96 lỗ trong một ngày và sau đó được xử lý bằng chất chiết từ PA hoặc CA như được mô tả trong Ví dụ 1 ở trên trong 24 giờ. Sau khi xử lý, các tế bào này được cố định và được nhuộm bằng thuốc nhuộm SRB.

Như được thể hiện trên Fig.4A, cả PA lẫn CA thúc đẩy quá trình tăng sinh tế bào của các tế bào sừng.

(ii) Thử nghiệm cạo - quá trình di trú

Các tế bào sừng HaCaT được dàn mỏng trên đĩa với mật độ 8×10^4 tế bào/lỗ trong đĩa 48 lỗ trong một ngày. Đơn lớp tế bào hợp lưu đã tạo ra như vậy được cạo và được xử lý bằng chất chiết từ PA hoặc CA trong môi trường không chứa huyết thanh trong 24 giờ. Vùng vết thương được làm lành được định lượng.

Các kết quả thu được từ nghiên cứu này đã chứng tỏ rằng chất chiết từ PA gây ra sự di trú tế bào (tác dụng làm lành vết thương) ở các tế bào sừng theo cách thức phụ thuộc liều lượng. Chất chiết CA cũng thúc đẩy quá trình di trú tế bào sừng ở nồng độ tương đối cao (ví dụ, $30 \mu\text{g/mL}$).

Ví dụ 3: Tác dụng làm lành vết thương của Salvigenin và Asiaticoside

Thử nghiệm tạo ống mao mạch in vitro bằng cách sử dụng các tế bào tĩnh mạch rốn của người (HUVEC: Human Umbilical Vein Cell) được thực hiện để kiểm tra tác dụng làm lành vết thương của salvigenin, là một hoạt chất của chất chiết từ PA theo sáng chế.

Tóm tắt là, các đĩa Nunclon 96 lỗ được tráng bằng Matrigel ($50 \mu\text{L/lỗ}$) và được ủ ở 37°C trong 30 phút để thúc đẩy sự gel hoá. Các HUVEC được nuôi cấy trong môi trường M200 và các tế bào giữa các giai đoạn 2 và 4 được gieo (với mật

độ 3×10^5 tế bào trong $100\mu\text{L}$ môi trường) trong mỗi lỗ đã được tráng Matrigel. Dãy pha loãng của các hợp chất thử nghiệm, như được thể hiện trên Fig.5A (bao gồm yếu tố tăng trưởng biểu bì cơ bản (bFGF: basic fibroblast growth factor) làm đối chứng dương, và salvigenin), được bổ sung vào môi trường nuôi cấy để kiểm tra hiệu quả sinh học của chúng tới sự hình thành ống. Sau khi ủ trong 6 giờ ở 37°C trong môi trường ẩm $5\% \text{CO}_2$, các HUVEC được hút ra khỏi môi trường, được cố định, và mạng lưới ống mao dẫn hoàn chỉnh trong khu vực được chỉ định của trường phóng đại thấp (x10) được chụp ảnh và được đếm nhờ sự trợ giúp của phần mềm tạo ảnh trên máy tính, ImagePro Plus V.4.5. Các dữ liệu thử nghiệm được biểu hiện theo tỷ lệ phân trăm mức độ hình thành ống mao dẫn hoàn chỉnh so với các dịch nuôi cấy HUVEC đối chứng không được xử lý được ủ trong cùng một điều kiện.

Như được thể hiện trên Fig.5A, salvigenin làm tăng đáng kể sự hình thành ống bởi các tế bào HUVEC.

Để nghiên cứu tác dụng làm lành vết thương của asiaticoside, thử nghiệm cạo di trú được thực hiện như sau. Các tế bào sừng HaCaT được dàn mỏng trên đĩa với mật độ 8×10^4 tế bào/lỗ trong đĩa 48 lỗ trong một ngày. Đơn lớp tế bào hợp lưu đã tạo ra như vậy được cạo và được xử lý bằng asiaticoside trong 24 giờ. Vùng vết thương được làm lành được định lượng.

Các kết quả thu được từ nghiên cứu này đã chứng tỏ rằng asiaticoside gây ra sự di trú tế bào (tác dụng làm lành vết thương) ở các tế bào sừng.

Như được thể hiện trên Fig.5B, asiaticoside thúc đẩy một cách đáng kể quá trình di trú tế bào HaCaT, góp phần làm lành vết thương.

Ví dụ 4: Các chất chiết từ húng chanh làm mau lành vết thương thông thường

Nghiên cứu này được thực hiện để nghiên cứu mức độ ảnh hưởng của các chế phẩm bôi tại chỗ trên cơ sở chất nền kem khác nhau chứa chất chiết từ PA tới sự kín miệng vết thương thông thường trên mô hình động vật.

Các con chuột Sprague-Dawley được phân một cách ngẫu nhiên thành 4 nhóm. Sau đó, chuột được gây tê bằng pentobarbital và lông ở vùng phẫu thuật

được cạo sạch. Da trên các vùng sống lưng trong mỗi con chuột được bóc tách (hết độ dày) bằng cách sử dụng dao phẫu thuật (2cm x 2cm).

Các con chuột ở bốn nhóm này được xử lý bằng các chế phẩm kem dưới, chúng được tạo ra theo các phương pháp của sáng chế:

- G1: kem là đối chứng trắng,
- G2: thuốc mỡ Winsolve-b (của hãng Yungshin Pharma, Co. LTD, Taiwan) làm đối chứng tham chiếu,
- G3: Chế phẩm I (1,25% chất chiết từ PA), và
- G4: Chế phẩm II (0,25% chất chiết từ PA).

Các chế phẩm được bôi lên vị trí vết thương hai lần mỗi ngày và các vết thương này được đậy bằng vải thưa. Các áo trùm được đeo trên cổ của các con chuột Sprague-Dawley này (n = 6; 12 tuần tuổi) để tránh các tổn thương cào xước động vật. Để đánh giá mức độ kín miệng vết thương, các ảnh chụp vết thương được lấy ở các ngày 4, 6, 8, 10, 12, 14 và 16. Khi lấy ảnh, thước chuẩn được đặt bên cạnh các vết thương. Trước khi phân tích các vết thương bằng phần mềm Image pro (Media cybernetics), độ dài được hiệu chuẩn theo thước chuẩn trên ảnh để loại bỏ các sai số do việc chụp ảnh ở các khoảng cách khác nhau.

Các kết quả thu được từ nghiên cứu này cho thấy rằng cả hai chế phẩm I và chế phẩm II đều có hiệu quả khả quan để thúc đẩy sự đóng miệng vết thương ở chuột. Xem Bảng 2 và Fig. 6.

Bảng 2. Các hiệu quả đóng miệng vết thương

Nhóm	CT50 (ngày)*
G1 (đối chứng kem)	10
G2 (đối chứng tham chiếu)	9,9
G3 (Chế phẩm I)	7,7
G4 (Chế phẩm II)	8,3

* CT50: khoảng thời gian (ngày) để đóng miệng vết thương 50%

Ví dụ 5: Nghiên cứu dược động học In vivo đối với kem bôi tại chỗ gồm chất chiết từ húng chanh và chất chiết từ rau má

Các tính chất dược động học của chế phẩm bôi tại chỗ chứa các chất chiết từ húng chanh và *Centella asiatica* (tổng cộng 1,25%, bao gồm 0,0001% tới 0,1% khối lượng salvigenin và 0,05% tới 1% khối lượng asiaticoside) được đánh giá ở người bệnh có bệnh loét chân do đái tháo đường mãn tính (DFU). Các chất chiết từ PA và CA trong chế phẩm bôi tại chỗ này được tạo ra theo các phương pháp của sáng chế. Chế phẩm bôi tại chỗ có nền kem và còn bao gồm rượu xetostearylic (khoảng 1,0 tới 10% khối lượng, ví dụ, khoảng 3,5 tới 6,5% khối lượng), vaselin trắng và vaselin lỏng 350cp (tổng cộng khoảng 5% tới 30% khối lượng, ví dụ, tổng cộng khoảng 5 tới 15% khối lượng), methyl paraben và propyl paraben (tổng cộng khoảng 0,005% tới 0,2% khối lượng, ví dụ, tổng cộng 0,005 tới 0,2% khối lượng), chất nhũ hoá như Span[®] 60 và Tween[®] 60 (tổng cộng khoảng 0,5 tới 10% khối lượng, ví dụ, tổng cộng khoảng 0,5 tới 5% khối lượng), và một hoặc nhiều dung môi như propylen glycol (khoảng 2 tới 20% khối lượng, ví dụ, khoảng 4 tới 10% khối lượng). Các chất chiết này được bào chế ở dạng chế phẩm bôi tại chỗ nền kem có chứa thêm vaselin lỏng, propylen glycol, rượu xetylic stearylic, vaselin trắng, Span[®] 60, Tween[®] 60, propyl paraben, methyl paraben, và nước.

Tổng cộng có 12 bệnh nhân hoàn thành nghiên cứu này. Mỗi người được cho dùng một liều dùng chế phẩm kem vào ngày 1 trước khi được lấy mẫu máu, sau đó hai lần mỗi ngày từ ngày 2 tới ngày 13, và việc lấy mẫu máu tiếp theo được thực hiện vào ngày 14 sau khi dùng liều cuối cùng. Các mẫu máu được phân tích để đo nồng độ trong huyết tương của Salvigenin và Asiaticoside, là hai hoạt chất của chế phẩm kem này, bằng phương pháp LC/MS/MS đã được phê chuẩn. Các kết quả thu được từ ngày 1 cho thấy rằng trong số 12 bệnh nhân, 2 bệnh nhân có nồng độ có thể phát hiện được của salvigenin trong huyết tương = 12,403 pg/mL; và 5 bệnh nhân có nồng độ có thể phát hiện được của asiaticoside trong huyết tương = 9,276 ng/mL.

Các kết quả thu được từ ngày 14 cho thấy rằng 4 trong số 12 bệnh nhân có nồng độ có thể phát hiện được của salvigenin trong huyết tương = 16,972 pg/mL; và 5 trong số 12 bệnh nhân có nồng độ có thể phát hiện được của asiaticoside trong huyết tương = 6,154 ng/mL.

Nhìn chung, các kết quả thu được từ nghiên cứu này cho thấy rằng chế phẩm bôi tại chỗ được sử dụng trong nghiên cứu lâm sàng này có sự phân phối toàn thân bị hạn chế đối với cả salvigenin lẫn asiaticoside.

Tổng cộng có 6 sự kiện bất lợi (AE: Adverse Event) được báo cáo bởi 3 bệnh nhân. Tất cả các AE dường như là ở mức độ nhẹ, và các AE này dường như là “không liên quan” hoặc “khó có thể liên quan” tới nghiên cứu này. Khi hoàn thành, 4 AE được cải thiện và 2 AE không thay đổi. Không có báo cáo về các AE đáng kể, tử vong, hoặc AE trầm trọng.

Kết luận: Nghiên cứu kéo dài 14 ngày này cho thấy rằng việc bôi khu trú chế phẩm bôi tại chỗ được sử dụng trong nghiên cứu này có sự phân phối toàn thân bị hạn chế của ít nhất là các hoạt chất salvigenin và asiaticoside và an toàn ở bệnh nhân DFU.

Ví dụ 6: thử nghiệm lâm sàng giai đoạn III bằng cách sử dụng kem bôi tại chỗ chứa chất chiết từ húng chanh và chất chiết từ rau má

Ban đầu, tổng cộng 124 bệnh nhân mắc DFU được chọn ngẫu nhiên trong thử nghiệm đa trung tâm để đánh giá tác dụng làm lành vết thương của chế phẩm kem bôi tại chỗ đã được mô tả trong Ví dụ 5 ở trên. Các tiêu chí tham gia và loại trừ đối với các bệnh nhân tham gia thử nghiệm này được liệt kê ở dưới. Băng Aquacel® Hydrofiber® (ConvaTec, Princeton, NJ, USA) được sử dụng làm điều trị đối chứng.

Tiêu chí lựa chọn

Tiêu chí cho phép bệnh nhân tham gia thử nghiệm

Các bệnh nhân đủ điều kiện tham gia phải đáp ứng tất cả các tiêu chí sau:

1. đã ký vào văn bản đồng ý tham gia thử nghiệm trước khi đánh giá thử nghiệm đầu tiên;
2. ít nhất là 20 tuổi và dưới 80 tuổi;
3. mắc bệnh đái tháo đường (typ 1 hoặc typ 2) có HbA1c < 12,0% đo được khi thăm tra hoặc trong vòng ba tháng trước khi được chọn ngẫu nhiên;

4. chỉ số cổ chân trên chân nghiên cứu ít nhất là 0,8 đo được khi thăm tra hoặc trong vòng ba tháng trước khi được chọn ngẫu nhiên;
5. Vết loét nghiên cứu có các dấu hiệu sau:
 - a. loại 1 hoặc 2 theo hệ thống phân loại vết loét Wagner;
 - b. không nằm cao hơn mắt cá chân;
 - c. không có hiện tượng nhiễm khuẩn;
 - d. diện tích mặt cắt ngang nằm trong khoảng từ 1 đến 25 cm² sau ổ loét; và
 - e. xuất hiện ít nhất là 4 tuần trước khi được chọn ngẫu nhiên;
6. những người có khả năng mang thai có kết quả thử thai âm tính và không ở giai đoạn cho con bú khi đi thăm tra; và
7. có thể và sẵn sàng có mặt theo lịch trình và tuân thủ các phương pháp nghiên cứu.

Tiêu trí loại trừ

Bệnh nhân bị loại trừ ra khỏi nghiên cứu khi không đáp ứng một tiêu chí bất kỳ trong số các tiêu chí sau:

1. xuất hiện hoại tử, mưng mủ hoặc dải xoang không thể loại bỏ được bằng cách mở ổ;
2. bệnh lý thần kinh cấp tính Charcot xác định được bởi việc khám lâm sàng và/hoặc chụp X quang;
3. đã phẫu thuật can thiệp tái thông mạch nhằm mục đích tăng lưu lượng máu ở chi đích điều trị trong vòng 4 tuần trước khi chọn ngẫu nhiên;
4. tình trạng suy dinh dưỡng đã được xác định là albumin < 2,5 g/dL;
5. AST và/hoặc ALT vượt quá 3 lần so với giới hạn trên bình thường;
6. creatinin huyết thanh vượt quá 2 lần so với giới hạn trên bình thường;
7. đã điều trị bằng thuốc ức chế miễn dịch hoặc hoá trị liệu, xạ trị liệu hoặc corticosteroid toàn thân trong vòng 4 tuần trước khi chọn ngẫu nhiên;
8. đã dùng thuốc hoặc áp dụng trị liệu khảo sát trong vòng 4 tuần trước khi chọn ngẫu nhiên;

9. tình trạng bệnh tâm thần (ví dụ, ý định tự tử), vấn đề lạm dụng rượu hoặc ma túy hiện tại hoặc mãn tính được xem là bất lợi cho việc tuân thủ; hoặc
10. được đánh giá bởi điều tra viên là không phù hợp với nghiên cứu bởi lý do bất kỳ.

Tiêu chí ngừng điều trị cho từng bệnh nhân

Bệnh nhân được tự do rút ra khỏi nghiên cứu vì bất kỳ lý do nào và ở thời điểm bất kỳ mà không cần phải đưa ra lời giải thích vì sao phải làm như vậy và không bị phạt hay chế tài.

Ngoài ra, bệnh nhân không được tiếp tục nghiên cứu nếu phạm phải vấn đề bất kỳ trong số dưới đây:

1. vi phạm và/hoặc làm sai lệch đáng kể quy trình nghiên cứu;
2. không có tác dụng thoa đáng (được xác định là làm xấu đi cấp độ Wagner tới mức độ of 3);
3. lo ngại về sự an toàn;
4. mất theo dõi;
5. rút lại sự đồng ý;
6. nếu được xem là mối quan tâm nhất của người bệnh; hoặc
7. sự chấm dứt nghiên cứu bởi nhà tài trợ.

Mục đích và kết quả nghiên cứu

Mục đích chính của nghiên cứu này là để đánh giá việc sử dụng chế phẩm bôi tại chỗ trên cơ sở chất nền kem để làm lành vết thương ở bệnh nhân mắc bệnh DFU.

Biến số chính là số lượng vết loét nghiên cứu đã lành ở mỗi nhóm trong vòng 16 tuần. Các kết quả hiệu quả chính là so sánh tỷ lệ làm lành hoàn toàn vết loét nghiên cứu giữa hai nhóm điều trị khi kết thúc điều trị.

Nhằm mục đích nghiên cứu này, việc làm lành hoàn toàn được xác định là sự biểu mô hoá hoàn toàn được duy trì không có dịch rỉ trong ít nhất là 2 tuần và được xác nhận bởi một chuyên gia đánh giá mù.

Các kết quả hiệu quả thứ cấp là: khoảng thời gian làm lành hoàn toàn vết loét (thời gian làm lành ban đầu được lấy làm thời gian làm lành); tỷ lệ phần trăm thay đổi diện tích bề mặt của vết loét so với diện tích cơ bản; tỷ lệ phần trăm đối tượng có diện tích bề mặt vết loét giảm 50%; và tỷ lệ nhiễm trùng của vết loét nghiên cứu.

Các kết quả an toàn bao gồm đánh giá tỷ lệ mắc phải các tác dụng phụ do việc điều trị, các giá trị thử nghiệm lâm sàng, và các dấu hiệu sinh tồn.

Mục đích nghiên cứu sau cùng là đánh giá sự tái phát của vết loét nghiên cứu trong giai đoạn theo dõi ở những đối tượng đã được xác nhận là vết thương lành hoàn toàn khi kết thúc giai đoạn so sánh.

Các kết quả

Hiệu quả làm lành vết thương của bệnh nhân đái tháo đường được điều trị bằng chế phẩm kem bôi tại chỗ đã được mô tả trong Ví dụ 5 hoặc Aquacel[®], được phân tích trong bộ phân tích tổng thể (FAS) và nhóm phân tích điều trị có chủ ý được cải biến (mITT). Ở nhóm FAS tổng thể và nhóm mITT, các kết quả được thể hiện trong Bảng 3 cho thấy rằng tỷ lệ bệnh nhân được điều trị bằng chế phẩm bôi tại chỗ có sự lành vết loét hoàn toàn cao hơn so với tỷ lệ bệnh nhân được điều trị bằng Aquacel[®]. Kết quả này cho thấy rằng chế phẩm bôi tại chỗ được sử dụng trong nghiên cứu này ưu việt hơn so với Aquacel[®], là một sản phẩm hiện có để điều trị làm lành vết thương, ít nhất là làm lành vết loét hoàn toàn, là mục đích chính của nghiên cứu này.

Ngoài ra, việc phân tích phụ được thực hiện ở một nhóm bệnh nhân có diện tích vết loét cơ bản > 5cm² và các vết loét gan bàn chân. Đã biết trong lĩnh vực kỹ thuật này là loại vết loét này là khó lành. Các kết quả trong bảng 3 cho thấy rằng tỷ lệ bệnh nhân được chữa lành được điều trị bằng chế phẩm bôi tại chỗ là cao hơn so với tỷ lệ bệnh nhân được chữa lành hoàn toàn được điều trị bằng Aquacel[®].

Bảng 3: Mục đích chính: Tỷ lệ chữa lành hoàn toàn

Thể loại	Chế phẩm kem	Aquacel [®] Hydrofiber [®]	Trị số P*
----------	--------------	--	-----------

		Tỷ lệ chữa lành hoàn toàn	Tỷ lệ chữa lành hoàn toàn	
Toàn phần	FAS	60,3%	34,4%	0,004
Toàn phần	mITT	62,7%	32,2%	<0,001
Nhóm bệnh nhân có diện tích vết loét cơ bản > 5cm ²	mITT	57,1%	5,9%	0,003
Nhóm bệnh nhân có vết loét gan bàn chân	mITT	63,6%	24,1%	0,002

*: Thử nghiệm chi bình phương

Do vậy, các kết quả sơ bộ từ thử nghiệm lâm sàng giai đoạn III đã cho thấy rằng chế phẩm kem bôi tại chỗ được thử nghiệm, chứa cả chất chiết từ PA lẫn chất chiết CA, đều có tác dụng điều trị siêu việt để làm mau lành vết thương ở bệnh nhân mắc DFU so với chế phẩm đối chứng Aquacel[®] Hydrofiber[®].

Tất cả các dấu hiệu đã được mô tả trong phần mô tả có thể được kết hợp với nhau theo cách bất kỳ. Mỗi dấu hiệu đã được mô tả trong phần mô tả có thể được thay thế bằng một dấu hiệu thay thế phục vụ cho cùng một mục đích, tương đương hoặc tương tự. Do vậy, trừ khi có quy định khác, mỗi dấu hiệu đã được mô tả chỉ là một ví dụ của một loạt các dấu hiệu tương đương hoặc tương tự.

Từ phần mô tả trên, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này có thể dễ dàng xác định được các đặc điểm thiết yếu của sáng chế, và không nằm ngoài tinh thần và phạm vi của sáng chế, có thể tạo ra các biến đổi và các biến thể khác nhau của sáng chế để thích ứng với các cách sử dụng và các điều kiện khác nhau. Do vậy, các phương án khác cũng nằm trong phạm vi của các điểm yêu cầu bảo hộ.

Trong phần yêu cầu bảo hộ, các mạo từ đứng trước (tiếng Anh là “a,” “an,” và “the”) có thể dùng để chỉ cho dạng số ít hoặc số nhiều của cụm từ đứng sau trừ khi được chỉ ra trước lại hoặc được chỉ rõ cụ thể. Các điểm yêu cầu bảo hộ hoặc phần mô tả bao gồm từ “hoặc” giữa một hoặc nhiều thành viên của một nhóm được xem là thoả mãn nếu một, nhiều hơn một, hoặc tất cả các thành viên của nhóm có mặt, được sử dụng, hoặc liên quan đến một sản phẩm hoặc quy trình nhất định trừ khi có quy định khác hoặc là sự hiển nhiên từ bối cảnh cụ thể. Sáng chế

bao gồm các phương án trong đó chính xác một thành viên của nhóm có mặt, được sử dụng, hoặc liên quan đến một sản phẩm hoặc quy trình nhất định. Sáng chế bao gồm các phương án trong đó nhiều thành viên của nhóm có mặt, được sử dụng, hoặc liên quan đến một sản phẩm hoặc quy trình nhất định.

Hơn thế nữa, sáng chế bao hàm tất cả các biến thể, sự kết hợp, và sự hoá đổi trong đó một hoặc nhiều giới hạn, nguyên tố, mệnh đề, và các thuật ngữ mô tả từ một một hoặc nhiều điểm yêu cầu bảo hộ được đưa vào một điểm yêu cầu bảo hộ khác. Ví dụ, một điểm yêu cầu bảo hộ phụ thuộc vào một điểm yêu cầu bảo hộ khác có thể được cải biến để bao gồm một hoặc nhiều giới hạn đã được chỉ ra trong điểm yêu cầu bảo hộ khác bất kỳ mà phụ thuộc vào cùng một điểm yêu cầu bảo hộ. Khi các nguyên tố được liệt kê dưới dạng danh sách, ví dụ, kiểu nhóm Markush, thì mỗi nhóm con của các nguyên tố này cũng được đề xuất, và các nguyên tố bất kỳ có thể được loại ra khỏi nhóm này. Cần hiểu rằng, nói chung, khi sáng chế, hoặc các khía cạnh của sáng chế được mô tả bao gồm các nguyên tố và/hoặc các dấu hiệu cụ thể, thì một vài phương án của sáng chế hoặc khía cạnh của sáng chế sẽ gồm, hoặc chủ yếu gồm các nguyên tố và/hoặc các dấu hiệu như vậy. Nhằm mục đích đơn giản, các phương án đó không được nêu một cách cụ thể như vậy sáng. Cũng lưu ý rằng thuật ngữ “bao gồm” và “chứa” có nghĩa mở và cho phép cộng hợp các nguyên tố hoặc bước bổ sung. Khi một khoảng được đưa ra, thì các trị số đầu mút của nó cũng được bao gồm. Hơn thế nữa, trừ khi có quy định khác hoặc điều hiển nhiên từ bối cảnh cụ thể và trong phạm vi hiểu biết thông thường của người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này, các trị số được thể hiện dưới dạng các khoảng có thể xác định trị số cụ thể bất kỳ hoặc khoảng con nằm trong các khoảng này ở các phương án khác nhau của sáng chế, tới giá trị một phần mười của đơn vị của giới hạn dưới của khoảng này, trừ khi có quy định khác.

Phần mô tả trích dẫn đến các sáng chế, các đơn yêu cầu bằng độc quyền sáng chế, tất cả chúng đều được kết hợp vào đây bằng cách tham khảo. Nếu có sự khác biệt giữa các tài liệu viện dẫn và phần mô tả sáng chế, thì phần mô tả sáng chế sẽ kiểm soát. Ngoài ra, bất kỳ phương án cụ thể nào của sáng chế mà thuộc

tình trạng kỹ thuật có thể được loại trừ ra khỏi các phương án được xác định trong các điểm yêu cầu bảo hộ. Vì các phương án như vậy dường như là đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này, chúng có thể được loại trừ ngay cả khi việc loại trừ không được nêu cụ thể ở đây. Phương án cụ thể của sáng chế có thể được loại trừ ra khỏi yêu cầu bảo hộ, vì lý do bất kỳ, có liên quan đến giải pháp đã biết.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ thừa nhận hoặc có khả năng nhận biết được bằng cách chỉ sử dụng các thử nghiệm thông thường tương đương với các phương án cụ thể của sáng chế. Phạm vi của các phương án theo sáng chế không chỉ là giới hạn ở phần mô tả, mà cả ở các điểm yêu cầu bảo hộ. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ biết rằng cải biến và các biến đổi khác nhau có thể được tạo ra mà không nằm ngoài tinh thần hoặc phạm vi của sáng chế, như được xác định trong các điểm yêu cầu bảo hộ.

Yêu cầu bảo hộ

1. Chế phẩm bôi tại chỗ chứa:

(i) hoạt chất bao gồm salvigenin với lượng nằm trong khoảng từ 0,0001% đến 0,5% (khối lượng/khối lượng) và asiaticoside với lượng nằm trong khoảng từ 0,05% đến 5% (khối lượng/khối lượng);

(ii) chất làm tăng độ nhớt với lượng nằm trong khoảng từ 1,0 đến 10% (khối lượng/khối lượng);

(iii) chất nền mỡ với lượng nằm trong khoảng từ 5 đến 30% (khối lượng/khối lượng);

(iv) chất bảo quản kháng khuẩn với lượng nằm trong khoảng từ 0,005 đến 0,2% (khối lượng/khối lượng); và

(v) chất nhũ hoá với lượng nằm trong khoảng từ 0,5 đến 10% (khối lượng/khối lượng);

trong đó chất làm tăng độ nhớt chứa rượu xetostearylic với lượng khoảng từ 3 đến 7% (khối lượng/khối lượng);

trong đó chất nền mỡ chứa vaselin lỏng và vaselin trắng với tổng khối lượng nằm trong khoảng từ 15 đến 25% (khối lượng/khối lượng); và

trong đó chất nhũ hóa chứa monostearat và polysorbat 60 với tổng khối lượng nằm trong khoảng từ 2 đến 4% (khối lượng/khối lượng).

2. Chế phẩm bôi tại chỗ theo điểm 1, trong đó hoạt chất là chất chiết từ húng chanh (*Plectranthus amboinicus*), chất chiết từ rau má (*Centella asiatica*), hoặc hỗn hợp của chúng, và trong đó chất chiết từ húng chanh, chất chiết từ rau má, hoặc hỗn hợp của chúng chứa salvigenin và/hoặc asiaticoside.

3. Chế phẩm bôi tại chỗ theo điểm 2, trong đó chất chiết từ húng chanh (*Plectranthus amboinicus*), chất chiết từ rau má (*Centella asiatica*), hoặc hỗn hợp của chúng có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 30% (khối lượng/khối lượng) trong chế phẩm bôi tại chỗ.

4. Chế phẩm bôi tại chỗ theo điểm 1, trong đó chế phẩm bôi tại chỗ này chứa salvigenin với lượng nằm trong khoảng từ 0,0001% đến 0,1% (khối lượng/khối lượng), và/hoặc trong đó chế phẩm bôi tại chỗ này chứa asiaticoside với lượng nằm trong khoảng từ 0,05% đến 1% (khối lượng/khối lượng).
5. Chế phẩm bôi tại chỗ theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 tới 4, trong đó hoạt chất còn bao gồm cirsimaritin, madecassoside, hoặc hỗn hợp của chúng.
6. Chế phẩm bôi tại chỗ theo điểm 2, trong đó chất chiết từ húng chanh được tạo ra bằng cách cho toàn bộ cây húng chanh hoặc bộ phận của nó tiếp xúc với dung môi có độ phân cực thấp hơn 7 để tạo ra dung dịch và làm khô dung dịch này để tạo ra chất chiết từ húng chanh.
7. Chế phẩm bôi tại chỗ theo điểm 2, trong đó chế phẩm bôi tại chỗ này chứa cả chất chiết từ húng chanh lẫn chất chiết từ rau má với tỷ lệ khối lượng nằm trong khoảng từ 1:10 đến 10:1.
8. Chế phẩm bôi tại chỗ theo điểm 1, trong đó chất làm tăng độ nhớt còn là cholesterol, rượu stearyllic, cloresol, vaselin trắng, axit stearic, rượu xetylic, hoặc hỗn hợp của chúng, và trong đó chất bảo quản kháng khuẩn là một hoặc nhiều hợp chất paraben.
9. Chế phẩm bôi tại chỗ theo điểm 1, trong đó chất nền mỡ là chất nền kem.
10. Chế phẩm bôi tại chỗ theo điểm 1, trong đó chế phẩm còn chứa một hoặc nhiều dung môi.
11. Chế phẩm bôi tại chỗ theo điểm 10, trong đó một hoặc nhiều dung môi là propylen glycol.

12. Chế phẩm bôi tại chỗ theo điểm 2, trong đó chế phẩm bôi tại chỗ này chứa hỗn hợp gồm chất chiết từ húng chanh và chất chiết từ rau má với lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 30% (khối lượng/khối lượng), rượu xetostearylic với lượng nằm trong khoảng từ 5 đến 7% (khối lượng/khối lượng), hỗn hợp gồm vaselin trắng và vaselin lỏng với tổng khối lượng khoảng 20% (khối lượng/khối lượng), hỗn hợp gồm methyl paraben và propyl paraben với tổng khối lượng nằm trong khoảng từ 0,005 đến 0,2% (khối lượng/khối lượng), và hỗn hợp gồm sorbitan monostearat và polysorbat 60 với tổng khối lượng khoảng 3% (khối lượng/khối lượng).

13. Chế phẩm bôi tại chỗ theo điểm 12, trong đó chế phẩm này còn chứa propylen glycol với lượng nằm trong khoảng từ 2 đến 20% (khối lượng/khối lượng).

Fig.1

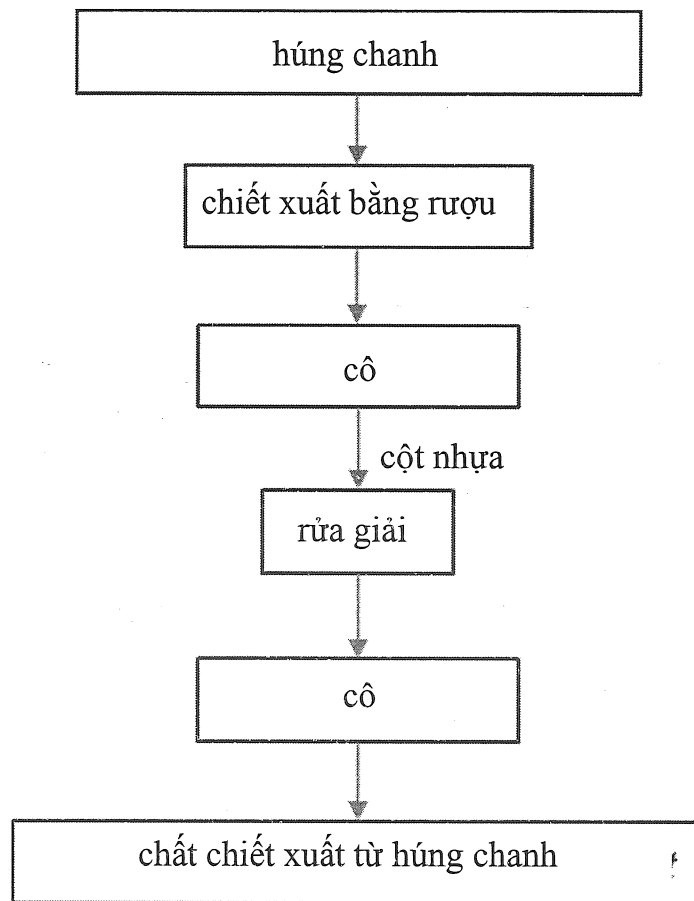


Fig.2

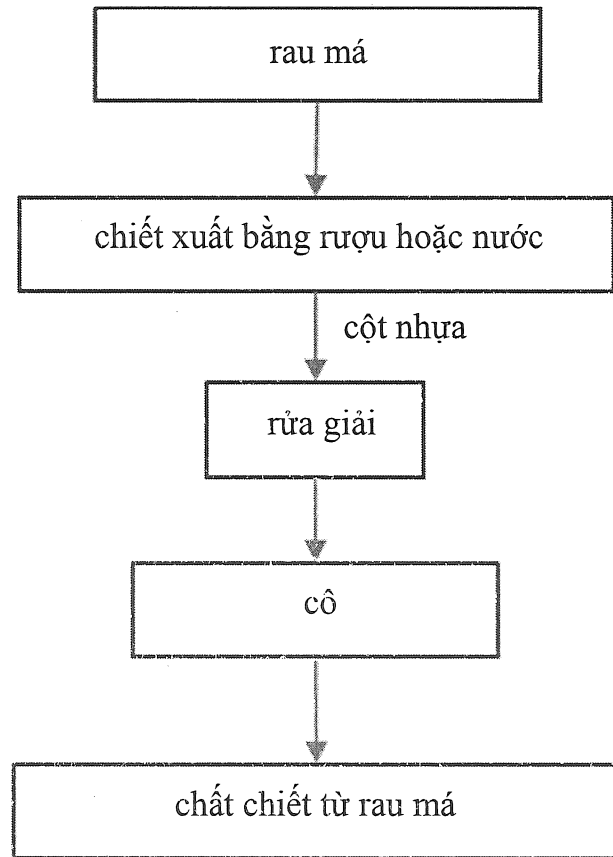


Fig.3A

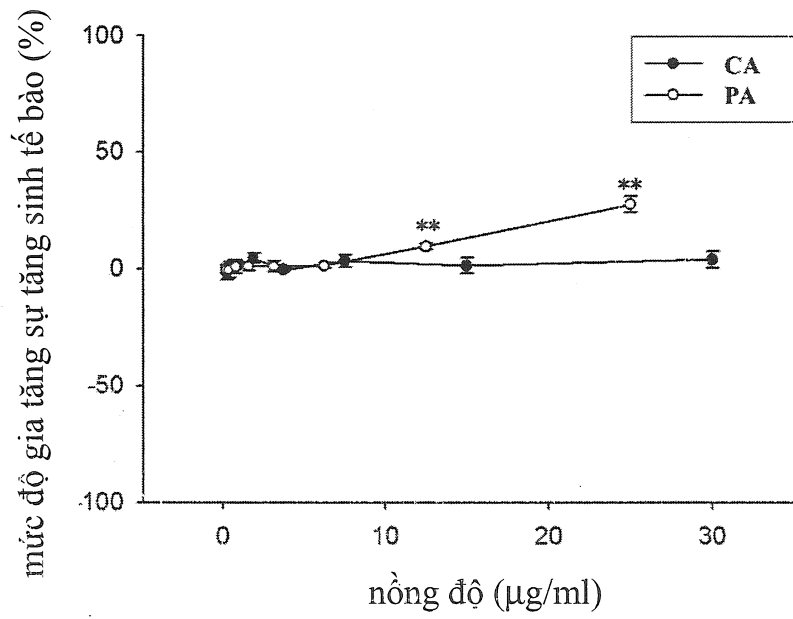


Fig.3B

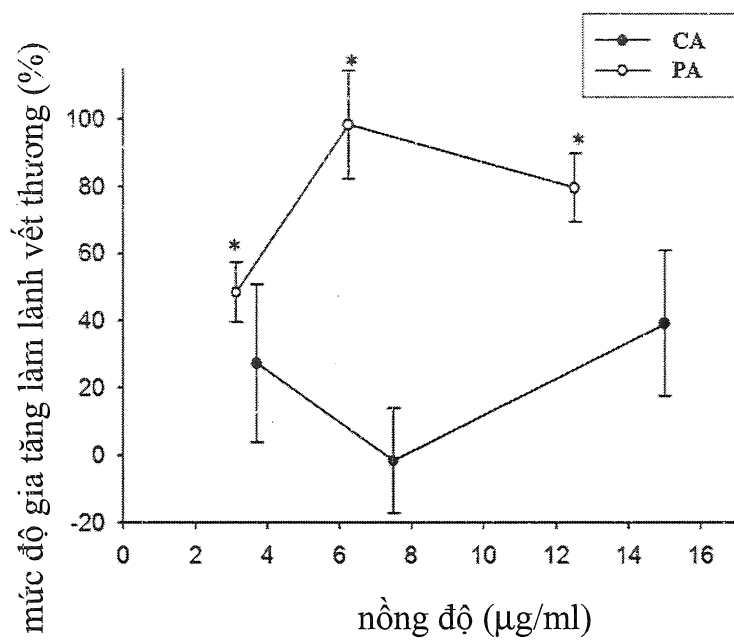


Fig.4A

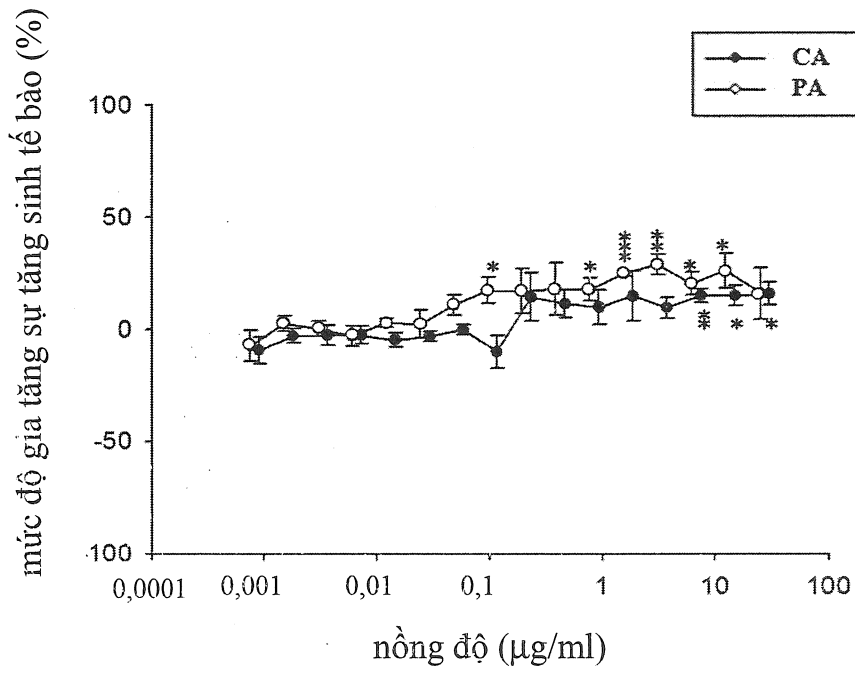


Fig.4B

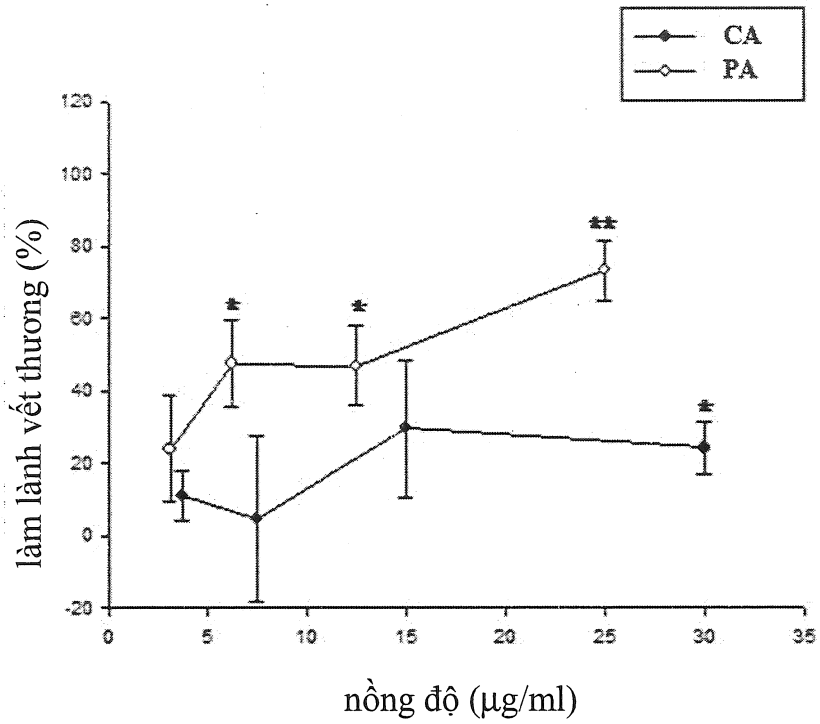


Fig.5A

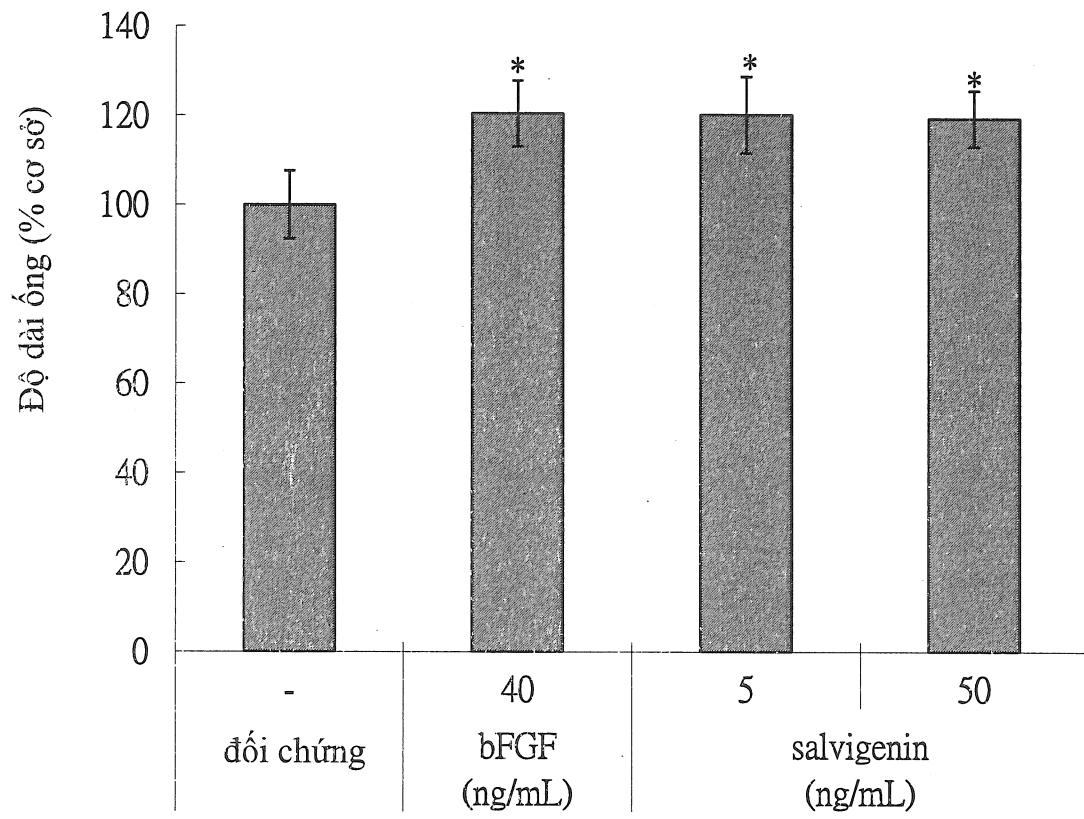


Fig.5B

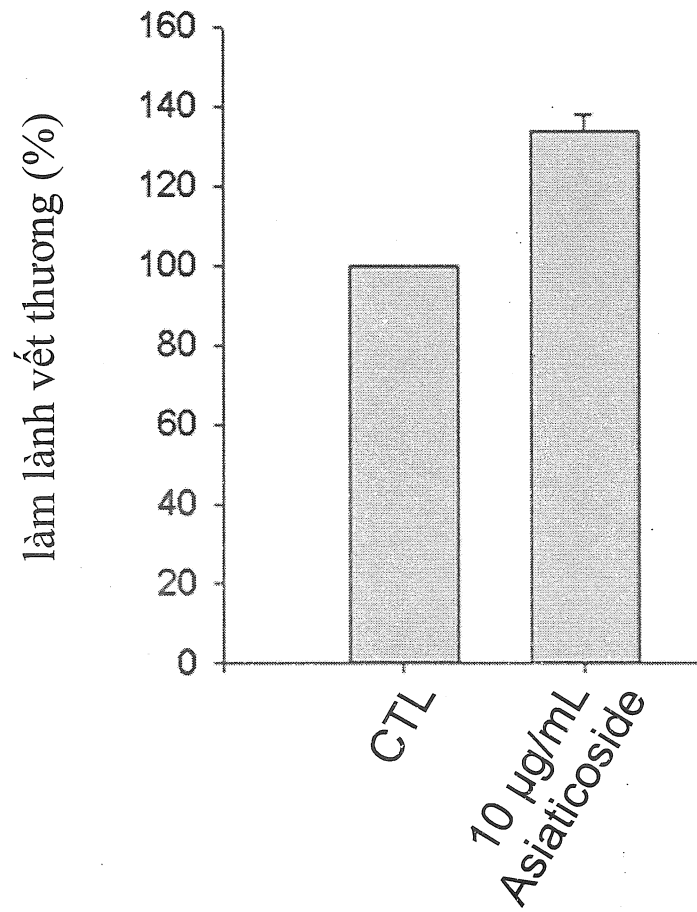


Fig.6

