



(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



1-0040194

(51)⁷ A61K 8/34; A61K 31/702; A61Q 19/10; (13) B
A61K 9/00; A61Q 17/00; A61Q 19/00;
A61K 31/047; A61K 8/60

(21) 1-2019-07173 (22) 27/06/2018
(86) PCT/EP2018/067337 27/06/2018 (87) WO/2019/002421 03/01/2019
(30) 62/525,489 27/06/2017 US
(45) 25/06/2024 435 (43) 27/07/2020 388
(73) ROTTAPHARM SPA (IT)
Via Valosa di Sopra 9, 20900 Monza, Italy
(72) ZANARDI, Andrea (IT); CERACI, Alessandra (IT); MONTALDO, Ivan (IT).
(74) Công ty TNHH Sở hữu trí tuệ Thảo Thọ Quyển (INVENCO.,LTD)

(54) CHẾ PHẨM DÙNG KHU TRÚ CHỨA GALACTOOLIGOSACARIT VÀ XYLITOL

(57) Sáng chế đề cập đến chế phẩm dùng khu trú chứa:

- galactooligosacarit;
- xylitol với lượng nằm trong khoảng từ 0,01% đến 10% theo trọng lượng; và
- chất mang được chấp nhận về mặt dược phẩm hoặc mỹ phẩm.

Sáng chế còn mô tả việc sử dụng các chế phẩm này, và đề cập đến phương pháp điều chế chúng.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chế phẩm dùng khu trú chứa galactooligosacarit và xylitol và sử dụng chế phẩm này trong trị liệu bằng cách sử dụng khu trú.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Cơ quan lớn nhất của cơ thể người là da, đóng vai trò quan trọng trong việc bảo vệ vật chủ khỏi bị nhiễm tác nhân gây bệnh và sự xâm nhập của tác nhân gây hại. Trước khi được sinh ra, da hoàn toàn vô khuẩn nhưng sau khi được sinh ra, các vi sinh vật trong môi trường ở trạng thái cân bằng tự nhiên với vật chủ mà chúng khu trú. Ngoài ra, sau khi sinh con qua đường âm đạo, các vi khuẩn trong phân và âm đạo của hệ vi khuẩn ở người mẹ cũng khu trú trên da của trẻ nhỏ. Quần xã vi sinh vật sống trên da của người được gọi là khu hệ vi sinh vật trên da, và được tạo thành bởi trên 100 loài vi khuẩn khác nhau. Da là bề mặt phân cách của cơ thể với thế giới bên ngoài, và nó chứa các quần thể vi sinh vật hội sinh, không gây bệnh, có chức năng quan trọng đối với bệnh và sức khỏe của da.

Da của người chứa khoảng 10^6 vi khuẩn/cm² để tạo thành hệ vi khuẩn trên da. Một khu hệ sinh vật trên da cân bằng khỏe mạnh là lá chắn vi sinh vật chống lại các vi sinh vật gây bệnh và có thể ngăn ngừa tình trạng da bị khô và cải thiện sức khỏe của da.

Sự biến đổi trong hệ vi sinh vật trên da là thành phần quan trọng của sinh bệnh học của chứng viêm da dị ứng. Da bị chứng viêm da dị ứng thường có vi khuẩn *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) khu trú, cụ thể là trong một đợt bùng phát bệnh, trong khi độ phong phú của các vi khuẩn hội sinh khác bị giảm đi rõ rệt. Sự thay đổi này trong hệ vi sinh vật trên da làm ảnh hưởng tiêu cực đến hàng rào biểu bì và khơi mào hiện tượng viêm. Khi các vi khuẩn như *S. aureus* bám vào bề mặt da, chúng tạo ra màng sinh học có tác dụng làm khung cho sự phát triển của vi khuẩn sau đó. Các chất kháng sinh không phải là phương pháp điều trị tối ưu để loại bỏ vi khuẩn ra khỏi da của bệnh nhân mắc chứng viêm da dị ứng do các vấn đề như sự kích ứng da và sự

kháng thuốc của vi khuẩn.

Mục đích của sáng chế là đề xuất chế phẩm dùng khu trú để điều trị bệnh hoặc rối loạn trên da, ví dụ, chứng viêm da dị ứng.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Theo khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề xuất chế phẩm dùng khu trú chứa:

- galactooligosacarit;
- xylitol với lượng nằm trong khoảng từ 0,01% đến 10% theo trọng lượng; và
- chất mang được chấp nhận về mặt dược phẩm hoặc mỹ phẩm.

Theo khía cạnh thứ hai, sáng chế đề xuất chế phẩm như được xác định theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế để sử dụng trong việc trị liệu.

Theo khía cạnh thứ ba, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa:

- galactooligosacarit,
- xylitol, và
- chất mang được chấp nhận về mặt dược phẩm hoặc mỹ phẩm để sử dụng trong việc trị liệu bằng cách sử dụng khu trú.

Theo khía cạnh thứ tư, sáng chế đề xuất chế phẩm như được xác định theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế để sử dụng làm mỹ phẩm.

Bất ngờ là tác giả sáng chế đã phát hiện được rằng chế phẩm chứa galactooligosacarit và xylitol có hiệu quả có lợi đối với hệ vi sinh vật trên da và do đó thích hợp để điều trị bệnh và rối loạn trên da và sử dụng trong mỹ phẩm để cải thiện vẻ bề ngoài của da.

Theo khía cạnh thứ năm, sáng chế đề xuất chế phẩm dùng khu trú chứa galactooligosacarit để sử dụng trong việc điều trị chứng viêm da dị ứng bằng cách sử dụng khu trú.

Các khía cạnh bổ sung của sáng chế được mô tả đầy đủ hơn trong phần mô tả chi tiết sau đây của các phương án khác nhau.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế đề xuất chế phẩm dùng khu trú chứa:

- galactooligosacarit;

- xylitol với lượng nằm trong khoảng từ 0,01% đến 10% theo trọng lượng; và
- chất mang được chấp nhận về mặt dược phẩm hoặc mỹ phẩm.

Chế phẩm dùng khu trú chứa galactooligosacarit. Để tránh hiểu nhầm, thuật ngữ galactooligosacarit bao gồm các hỗn hợp (nghĩa là một hoặc nhiều) galactooligosacarit, và các chế phẩm chứa hỗn hợp của galactooligosacarit được bộc lộ bởi sáng chế.

Galactooligosacarit thuộc về nhóm các prebiotic, là các thành phần của thực phẩm không tiêu hóa được nhưng ảnh hưởng có lợi đến vật chủ bằng cách kích thích sự phát triển và/hoặc hoạt tính của các vi khuẩn có lợi. Galactooligosacarit có mặt trong các sản phẩm có bán trên thị trường như thực phẩm dùng cho cả trẻ nhỏ và người trưởng thành. Galactooligosacarit được tạo ra bằng cách chuyển hóa lactoza bằng enzym hoặc từ nguồn thực vật, và hỗn hợp của nó chứa tỷ lệ galactooligosacarit thay đổi theo chiều dài mạch và loại liên kết giữa các đơn vị monome.

Các galactooligosacarit là oligome hoặc polyme của các phân tử galactoza kết thúc chủ yếu bằng glucoza hoặc đôi khi kết thúc bằng phân tử glucoza và có mức độ polyme hóa thay đổi và loại liên kết thay đổi. Theo một phương án, galactooligosacarit bao gồm các phân tử galactoza và glucoza. Theo phương án khác, galactooligosacarit chỉ bao gồm các phân tử galactoza. Theo phương án khác, galactooligosacarit là oligosacarit chứa galactoza ở dạng $[\beta\text{-D-Gal-(1-6)}]_n\text{-}\beta\text{-D-Gal-(1-4)-D-Glc}$ trong đó n nằm trong khoảng từ 2 đến 20. Theo phương án khác, galactooligosacarit là oligosacarit chứa galactoza ở dạng $\text{Glc-}\alpha\text{-1-4-}[\beta\text{-Gal1-6}]_n$ trong đó n nằm trong khoảng từ 2 đến 20. Theo phương án khác, galactooligosacarit ở dạng $\alpha\text{-D-Glc(1-4)-}[\beta\text{-D-Gal-(1-6)}]_n$, trong đó n nằm trong khoảng từ 2 đến 20. Gal là đơn vị galactopyranoza và Glc (hoặc Glu) là đơn vị glucopyranoza.

Galactooligosacarit được tìm thấy trong sữa bò và sữa của người. Galactooligosacarit có thể được tạo ra từ sirô lactoza bằng cách sử dụng hoạt tính transgalactosylaza của enzym β -galactosidaza (Crittenden, (1999) Probiotics: A Critical Review. Tannock, G. (ed) Horizon Scientific Press, Wymondham, pp. 141-156). β -D-galactosidaza đã được biết là có tác dụng xúc tác không chỉ quá trình thủy phân liên kết β -D-galactosit của lactoza để tạo ra D-glucoza và D-galactoza mà còn tiến hành các phản ứng transgalactosyl hóa trong đó nhóm D-galactosyl của β -D-

galactosit được chuyển lên trên chất nhận được hydroxyl hóa. Ví dụ, khi β -D-galactosit như lactoza hoặc hydrat cacbon khác có mặt, có thể thu được liên kết glycosit mới giữa đơn vị D-galactoza và chất nhận này. Galactosit ban đầu như lactoza cũng có thể có mặt trong hỗn hợp galactooligosacarit sau phản ứng transgalactosyl hóa.

Khi được sử dụng trong bản mô tả này, galactooligosacarit bao gồm một hoặc nhiều sacarit được tạo ra từ glycosit và phản ứng transgalactosyl hóa của β -galactosidaza. Do đó, các galactooligosacarit bao gồm các sacarit như oligosacarit được transgalactosyl hóa (nghĩa là transgalacto-oligosacarit) hoặc disacarit transgalactosylat hóa. Mức độ polyme hóa (degrees of polymerization: DP) của oligosacarit tạo thành có thể thay đổi, thường nằm trong khoảng từ 2 đến 20, tùy thuộc vào nguồn enzym. Theo một phương án, chế phẩm galactooligosacarit là hỗn hợp của một hoặc nhiều sacarit có mức độ DP nằm trong khoảng từ 2 đến 6 (nghĩa là từ di-sacarit đến hexasacarit).

Theo phương án khác, chế phẩm galactooligosacarit là hỗn hợp của một hoặc nhiều sacarit có mức độ DP nằm trong khoảng từ 2 đến 8 (nghĩa là từ di-sacarit đến octa-sacarit). Theo phương án khác, chế phẩm galactooligosacarit là hỗn hợp của một hoặc nhiều sacarit có mức độ DP lớn hơn 8. Theo phương án khác nữa, chế phẩm galactooligosacarit là hỗn hợp của một hoặc nhiều sacarit có mức độ DP nằm trong khoảng từ 9 đến 15. Theo phương án khác, chế phẩm galactooligosacarit là hỗn hợp của một hoặc nhiều sacarit có mức độ DP bằng 1, mức độ DP nằm trong khoảng từ 2 đến 6, mức độ DP nằm trong khoảng từ 6 đến 8, và mức độ DP lớn hơn 8.

Theo một phương án, chế phẩm dùng khu trú chứa galactooligosacarit với lượng nằm trong khoảng từ 0,01% đến 10% theo trọng lượng, ví dụ, chứa galactooligosacarit với lượng nằm trong khoảng từ 0,01% đến 5% theo trọng lượng. Theo cách khác, chế phẩm này chứa galactooligosacarit với lượng nằm trong khoảng từ 0,1% đến 5% theo trọng lượng hoặc chứa galactooligosacarit với lượng nằm trong khoảng từ 0,5% đến 5% theo trọng lượng.

Theo phương án được ưu tiên, chế phẩm dùng khu trú chứa galactooligosacarit với lượng nằm trong khoảng từ 0,01% đến 5% theo trọng lượng.

Chế phẩm dùng khu trú chứa xylitol với lượng nằm trong khoảng từ 0,01% đến

10% theo trọng lượng. Xylitol là rượu đường có trong tự nhiên được sử dụng làm chất làm ngọt. Chất này được tìm thấy với hàm lượng thấp trong các sợi của nhiều loại quả và rau và có thể được chiết từ các loại quả mọng, yến mạch và nấm khác nhau, cũng như chất xơ như vỏ bắp ngô và bã mía.

Theo một phương án, chế phẩm dùng khu trú chứa xylitol với lượng nằm trong khoảng từ 0,01% đến 5% theo trọng lượng. Theo cách khác, chế phẩm này chứa xylitol với lượng nằm trong khoảng từ 0,1% đến 5% theo trọng lượng hoặc chứa xylitol với lượng nằm trong khoảng từ 0,5% đến 5% theo trọng lượng.

Theo phương án được ưu tiên, chế phẩm dùng khu trú chứa xylitol với lượng nằm trong khoảng từ 0,01% đến 5% theo trọng lượng.

Theo một phương án, chế phẩm dùng khu trú chứa tỷ lệ theo trọng lượng của galactooligosacarit:xylitol nằm trong khoảng từ 10:1 đến 1:10, từ 8:1 đến 1:8, từ 5:1 đến 1:5, hoặc từ 3:1 đến 1:3.

Theo phương án được ưu tiên, chế phẩm dùng khu trú chứa tỷ lệ theo trọng lượng của galactooligosacarit:xylitol nằm trong khoảng từ 2:1 đến 1:2.

Các chế phẩm dùng khu trú để sử dụng trong việc trị liệu, cụ thể là bằng cách sử dụng khu trú.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất chế phẩm dùng khu trú chứa:

- galactooligosacarit;
 - xylitol; và
 - chất mang được chấp nhận về mặt dược phẩm hoặc mỹ phẩm;
- để sử dụng trong việc trị liệu bằng cách sử dụng khu trú.

Theo một phương án khác, sáng chế đề xuất chế phẩm dùng khu trú chứa galactooligosacarit để sử dụng trong việc điều trị chứng viêm da dị ứng bằng cách sử dụng khu trú.

Theo một phương án, các chế phẩm để sử dụng trong việc điều trị bệnh hoặc rối loạn trên da.

Theo một phương án, sáng chế mô tả phương pháp điều trị bệnh hoặc rối loạn trên da bao gồm bước cho bệnh nhân cần điều trị sử dụng qua đường khu trú lượng hữu hiệu chế phẩm dùng khu trú theo sáng chế.

Theo phương án khác, sáng chế mô tả việc sử dụng galactooligosacarit và

xylitol để sản xuất thuốc dùng trong phương pháp điều trị bệnh hoặc rối loạn trên da.

Theo một phương án, các chế phẩm dùng khu trú để sử dụng trong việc điều trị bệnh hoặc rối loạn trên da liên quan đến vi khuẩn *S. aureus*. Bệnh hoặc rối loạn trên da liên quan đến vi khuẩn *S. aureus* là bệnh hoặc rối loạn do vi khuẩn *S. aureus* gây ra hoặc được xúc tiến bởi vi khuẩn này.

S. aureus là chủng gram-dương gây ra nhiều bệnh khác nhau, từ tình trạng viêm lâm sàng đến nhiễm khuẩn mức độ nặng gây bệnh viêm phổi, viêm màng trong tim và nhiễm khuẩn huyết. *S. aureus* là một trong số các vi khuẩn quan trọng nhất trong các bệnh ở người. *S. aureus* có liên quan đặc biệt với chứng viêm da dị ứng, bệnh viêm da mạn tính phổ biến được đặc trưng bởi ban đỏ do các tổn thương eczema cấp tính. Chứng ngứa cũng là hiện tượng nổi bật và dai dẳng, và do đó có ảnh hưởng đến chất lượng cuộc sống. Chứng viêm da dị ứng ảnh hưởng đến từ 10 đến 30% trẻ em và từ 2 đến 3% người trưởng thành ở các nước công nghiệp. *S. aureus* cũng là yếu tố gây bệnh hoặc thành phần trong sinh bệnh học của các bệnh nhiễm khuẩn trên da mức độ nhỏ như mụn nhọt, chốc lở, viêm mô tế bào và viêm nang, và trong các bệnh xâm lấn và ở mức độ nặng hơn như viêm phổi, viêm âm đạo, viêm màng não, viêm xương tủy, hội chứng sốc do độc tố, vi khuẩn-huyết, và nhiễm khuẩn.

Theo một phương án, bệnh hoặc rối loạn trên da là chứng viêm da dị ứng (nghĩa là eczema dị ứng), và cụ thể là chứng viêm da dị ứng liên quan đến vi khuẩn *S. aureus*.

Không bị ràng buộc về mặt lý thuyết, chế phẩm dùng khu trú theo sáng chế được cho là kích thích sự phát triển của *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*), loài vi khuẩn được phân lập trên da phổ biến nhất ở da khỏe mạnh chiếm tới 90% hệ thực vật ưa khí. *S. epidermidis* làm cân bằng đáp ứng viêm sau khi có tổn thương da và sản sinh ra các phân tử kháng vi sinh vật ức chế chọn lọc tác nhân gây bệnh trên da. Sự phát triển của vi khuẩn *S. epidermidis* được cho là ức chế sự phát triển của vi khuẩn *S. aureus*.

Theo đó, sáng chế mô tả việc sử dụng chế phẩm dùng khu trú của sáng chế để phòng ngừa sự phát triển của vi khuẩn *S. aureus*, cụ thể là trên da của người hoặc động vật.

Cũng không bị ràng buộc về mặt lý thuyết, chế phẩm dùng khu trú theo sáng

chế được cho là có tác dụng ngăn ngừa sự tạo ra màng sinh học của *S. aureus* hoặc loại bỏ màng sinh học khi màng này được tạo ra, cụ thể là trên da của người hoặc động vật.

Theo đó, sáng chế mô tả việc sử dụng chế phẩm dùng khu trú theo sáng chế để ngăn ngừa sự tạo ra màng sinh học của *S. aureus* hoặc loại bỏ màng sinh học khi màng này được tạo ra, cụ thể là trên da của người hoặc động vật.

Theo phương án khác, sáng chế mô tả việc sử dụng chế phẩm dùng khu trú làm mỹ phẩm. Trong việc sử dụng làm mỹ phẩm của sáng chế, chế phẩm dùng khu trú không được sử dụng trong việc trị liệu. Đúng hơn là chế phẩm này được sử dụng để cải thiện vẻ bề ngoài của bề mặt, ví dụ, da mà chế phẩm được sử dụng khu trú trên đó.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp bào chế chế phẩm dùng khu trú chứa galactooligosacarit. Theo một phương án, phương pháp này bao gồm bước trộn lẫn galactooligosacarit, xylitol và chất mang chấp nhận được về mặt dược phẩm hoặc mỹ phẩm, và sau đó thu được chế phẩm dùng khu trú.

Chế phẩm dùng khu trú này để sử dụng khu trú. Chế phẩm dùng khu trú này có thể là chế phẩm sử dụng trên da.

Tốt hơn, nếu chế phẩm dùng khu trú được sử dụng cho da. Theo đó, chế phẩm dùng khu trú thường ở dạng lỏng hoặc bán rắn, ví dụ, dưới dạng nhũ tương (ví dụ, nhũ tương dầu trong nước hoặc nhũ tương nước trong dầu), chất làm mềm da, thuốc nhão, kem, thuốc mỡ, gel, dầu gội đầu hoặc khăn giấy.

Theo đó, chế phẩm này còn chứa chất mang được chấp nhận về mặt dược phẩm hoặc mỹ phẩm thuộc loại thích hợp cho ứng dụng được dự định để sử dụng khu trú.

Tốt hơn, nếu chế phẩm dùng khu trú là nhũ tương dầu trong nước chứa dầu, ít nhất một chất hoạt động bề mặt-chất nhũ hóa, galactooligosacarit, xylitol, và nước.

Dầu này thường là dầu khoáng. Nhũ tương chứa các thành phần khác là các thành phần thường có mặt trong nhũ tương dầu trong nước. Ví dụ, chế phẩm theo sáng chế có thể tùy ý chứa chất giữ ẩm, như glyxerin. Chế phẩm này cũng có thể chứa rượu của axit béo, ví dụ, rượu stearyllic, rượu palmityllic, rượu maleic hoặc rượu xetyllic. Chế phẩm theo sáng chế còn chứa môi trường nước, ví dụ, thường là nước tinh khiết.

Axit béo có thể có tối đa từ 16 đến 18 nguyên tử cacbon, ví dụ, stearat và palmitat, ngoài các axit béo khác. Các chất tăng cường tùy ý có thể được đưa vào, ví

dụ, xitrat, axit maleic, axit etylendiamintetraaxetic, các axit amin tự do và carbopol, gồm xanthan, caragenan, và các polyme bậc bốn có tác dụng dưỡng da.

Ngoài ra, cũng cần cho thêm một lượng nhỏ chất bảo quản vào chế phẩm của sáng chế để có thể bảo quản chế phẩm này trong điều kiện tốt. Các chất bảo quản như methyl và propyl paraben có thể được sử dụng, cũng như các chất bảo quản đã biết khác như phenoxyetanol, natri benzoat, và kali sorbat. Các chế phẩm cũng có thể được bảo quản bằng cách sử dụng pentylen glycol, dexylen glycol, 1,2-octandiol, 1,2-hexandiol, và o-xymen-5-ol.

Ngoài ra, cần cho thêm các chất hoạt động bề mặt vào chế phẩm theo sáng chế. Chế phẩm này có thể chứa natri laureth sulphat, natri myreth sulphat, dinatri laureth sulfosuccinat, natri cocoamphoaxetat, và natri cocoamphoaxetat.

Tùy thuộc vào chế phẩm cụ thể của sáng chế, các thành phần hoặc tá dược còn lại sẽ thay đổi về chức năng và khối lượng của chúng. Ví dụ, ngoài galactooligosacarit và xylitol, sữa tắm, sữa dưỡng thể, chất làm mềm da và công thức thành phần của sữa tắm thường chứa lượng của các tá dược sau đây.

Sữa tắm (lượng % theo trọng lượng)	
Nước	75-90
Chất hoạt động bề mặt	5-10
Chất làm ẩm	0,1-5
Chất dưỡng da	0,1-5
Chất tạo mùi thơm	0,1-2
Chất làm mềm da	0,1-2
Chất gel hóa	0,1-2
Chất bảo quản	0,1-2
Chất đệm	0,1-2

Sữa dưỡng thể (lượng % theo trọng lượng)	
Nước	55-70
Chất làm mềm da	5-20
Chất dưỡng da	5-10
Chất làm ẩm	0,1-10
Chất hoạt động bề mặt	0,1-3
Chất tạo mùi thơm	0,1-2
Chất chống oxy hóa	0,1-2
Chất ổn định	0,1-5
Chất điều chỉnh độ nhớt	0,1-2
Chất gel hóa	0,1-2
Chất nhũ hóa	0,1-2
Chất hấp thụ	0,1-2
Chất đệm	0,01-0,5

Dầu gội đầu (lượng theo tỷ lệ % theo trọng lượng)	
Nước	80-95
Chất hoạt động bề mặt	5-12
Chất làm ẩm	0,1-5
Chất dưỡng da	0,1-2
Chất tạo mùi thơm	0,1-2
Chất làm mềm da	0,1-2
Chất chống oxy hóa	0,1-2
Chất kháng vi sinh vật	0,1-2
Chất đệm	0,1-2
Chất chelat hóa	0,01-0,5

Chất làm mềm da (lượng theo tỷ lệ % theo trọng lượng)	
Nước	50-70
Chất làm mềm da	5-15
Chất làm ẩm	5-15
Chất dưỡng da	5-15
Chất nhũ hóa	1-10
Chất ổn định	0,1-5
Chất chống oxy hóa	0,1-2
Chất gel hóa	0,1-2
Chất chelat hóa	0,1-2
Chất che mùi	0,1-2
Chất đệm	0,01-0,5

Các chế phẩm theo sáng chế ổn định, và có tính ổn định lý học và hóa học tốt theo thời gian, thậm chí ở nhiệt độ cao hơn nhiệt độ môi trường.

Theo phương án khác, chế phẩm dùng khu trú được cung cấp trên khăn giấy. Theo phương án này, người dùng có thể sử dụng khu trú chế phẩm bằng cách sử dụng khăn giấy.

Các ví dụ sau đây mô tả sự ức chế thành công vi khuẩn *S. aureus* bằng các chế phẩm theo sáng chế, và do đó cho thấy rằng các chế phẩm dùng khu trú này sẽ hữu ích để điều trị các bệnh và rối loạn trên da, cụ thể là chứng viêm da dị ứng.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1

Chế phẩm dùng khu trú sau đây là sản phẩm làm sạch da.

	% theo trọng lượng
Kali Glyxyrhizinat	0,1-0,5
Niixinamit	0,1-1
Xylitol	5
Galactooligosacarit	0,5
Gôm xanthan	0,1-0,5
Caprylic/capric triglycerit	4
Sterol glyxin đậu tương (đậu nành)	0,1-1
Glycosphingolipit, phospholipit, cholesterol	0,1-0,5
BHT	0,05-1
Polyglyxeryl-6 distearat (và) các este jojoba (và) sáp ong polyglyxeryl-3 (và) rượu xetylic	3-5
Isoamyl laurat	1-3
Kali xetyl phosphat, glyxerit dầu cọ được hydro hóa	0,4-1
Laureth-9	1-3
Glyxeryl laurat	1-3
Rượu xetearyl	1-3
Bơ hạt mỡ (Butyrospermum parkii)	5-10
Lexitin được hydro hóa	0,1-3
Stearyl glyxyrhetinat	0,1-05
Dầu hạt lanh (Linum usitatissimum)	2-5
Tocopheryl axetat	1-4
Polyme liên kết ngang acrylat/C10-30 alkyl acrylat	0,1-2
Metylpropandiol, caprylyl glycol, phenylpropanol	1-4
Arginin	1-3
Nước	với lượng cho đủ 100

Ví dụ 2

Chế phẩm dùng khu trú sau đây là chất làm mềm da:

	% theo trọng lượng
Xylitol	5
Dinatri laureth sulfosuccinat	5-15
Laureth-9	1-3
Natri cocoamphoaxetat	1-15
Hydroxypropyl guar hydroxypropyltrimoni clorua	0,5-4
Axit lactic	
Caprylyl glycol	0,5-3
Natri lauryl sulfoaxetat	1-5
Propylen glycol	1-5
Niixinamit	0,1-3
Galactooligosacarit	0,5
Dikali glyxyrhizat	0,1-1
Chất chiết từ hoa/lá/thân cây cẩm quỳ (<i>Malva sylvestris</i>)	1-3
Aqua/nước	với lượng cho đủ 100

Khoảng 1×10^4 cfu của hai chủng vi khuẩn *S. aureus* khác nhau (ATCC 29213 và 815) được cho vào chế phẩm của các Ví dụ 1 và 2. Các kết quả được thể hiện theo tỷ lệ % mức độ ức chế sự phát triển và sự khu trú tạo ra màng sinh học ở thời điểm 3 giờ.

Bảng 1

	Ví dụ 1		Ví dụ 2	
<i>S. aureus</i>	ATCC 29213	815	ATCC 29213	815
Mức độ ức chế sự phát triển	99,99% ở thời điểm 3 giờ	99,99% ở thời điểm 3 giờ	99,99% ở thời điểm 3 giờ	100% ở thời điểm 3 giờ
Mức độ ức chế sự tạo ra màng sinh học	99,99% ở thời điểm 3 giờ	99,99% ở thời điểm 3 giờ	99,99% ở thời điểm 3 giờ	99,99% ở thời điểm 3 giờ

Tất cả các chế phẩm đều ức chế nhanh chóng sự phát triển của cả hai chủng *S. aureus* trong vòng 3 giờ và ức chế sự tạo ra các màng sinh học. Các kết quả này chứng minh khả năng ức chế hệ vi khuẩn trên da gây bệnh trong các rối loạn trên da bằng cách sử dụng các chế phẩm chứa probiotic và không chứa chất bảo quản.

Ví dụ 3

Bảng 2 thể hiện các lượng cụ thể của galactooligosacarit (GOS) và xylitol (theo trọng lượng) của chế phẩm, cụ thể là các loại chế phẩm.

Chế phẩm	Tỷ lệ % GOS theo trọng lượng	Tỷ lệ % xylitol theo trọng lượng
Làm sạch	0,01-3, ví dụ, 0,5	1-10, ví dụ, 5
Làm mềm da	0,01-3, ví dụ, 0,5	1-10, ví dụ, 5
Sữa tắm	0,01-3, ví dụ, 0,5	0,01-3, ví dụ, 0,5
Kem trị hăm tã	0,5-2,5, ví dụ, 1	0,1-3, ví dụ, 1
Kem giữ ẩm	0,1-3, ví dụ, 1	0,1-3, ví dụ, 1
Khăn giấy ướt	0,01-3, ví dụ, 0,1	0,01-3, ví dụ, 0,1
Bọt dùng để tắm	0,01-3, ví dụ, 0,1	0,01-3, ví dụ, 0,1
Dầu gội đầu	0,01-3, ví dụ, 0,1	0,01-3, ví dụ, 0,1
Sữa dưỡng thể	0,1-3, ví dụ, 1	0,1-3, ví dụ, 1

Ví dụ 4

Galactooligosacarit và xylitol được đánh giá một mình và khi kết hợp với nồng độ khác nhau (nồng độ: 0, 1, 2,5 và 5%) làm ảnh hưởng đến sự tạo ra dạng trôi nổi của vi khuẩn và khả năng tạo ra màng sinh học của giống nuôi cấy *S. aureus* 815 (chủng lâm sàng) và *S. epidermidis* 317 (chủng lâm sàng) trong môi trường canh thang chuẩn hóa được đánh giá.

Dạng trôi nổi của vi khuẩn được đặc trưng bởi các tế bào tách ra nổi lên độc lập hoặc tồn tại dưới dạng huyền phù trong môi trường lỏng. Dạng màng sinh học (hoặc kết tụ/bám chặt) được đặc trưng bởi trạng thái trong đó các tế bào bị ràng buộc chặt chẽ và được gắn kết chặt chẽ với nhau. Thông thường, dạng màng sinh học có liên quan đến tình trạng viêm lâm sàng và nhiễm khuẩn ở người.

Ví dụ 4.1 – Pha trôi nổi

Các nồng độ khác nhau của galactooligosacarit, xylitol và hỗn hợp của chúng, được cho vào đĩa có 96 lỗ để đánh giá hiệu quả *in vitro* của chúng đối với quần thể trôi nổi của vi khuẩn *S. aureus* và *S. epidermidis*. Nguyên liệu cấy vi khuẩn qua đêm được chuẩn bị trong môi trường canh thang tryptic đậu tương (tryptic soy broth: TSB), được làm mới trong cùng môi trường này và được điều chỉnh đến $OD_{600} = 0,12$ (khoảng 5×10^6 CFU/ml) đối với mỗi thử nghiệm. Để làm mẫu đối chứng, galactooligosacarit và xylitol cũng được thử nghiệm một mình. Các đĩa được ủ trong thời gian $t = 3$, và 6 giờ ở nhiệt độ 37°C trong điều kiện ưa khí. Mỗi bước xác định được thực hiện hai lần trong ba thử nghiệm độc lập và khối sinh vật được đánh giá bằng cách sử dụng phương pháp nhuộm safranin.

Sau mỗi khoảng thời gian ủ, mức độ giảm của OD_{600} được đánh giá so với các mẫu đối chứng và đơn vị tạo khuẩn lạc (colony forming unit: CFU)/ml ở thời điểm 0 giờ và 24 giờ được phát hiện. Mỗi bước xác định được thực hiện hai lần trong ba thử nghiệm độc lập và khối sinh vật được đánh giá bằng cách sử dụng phương pháp nhuộm safranin.

Bảng 3 thể hiện mức giảm sự phát triển theo tỷ lệ % của vi khuẩn *S. aureus* 815 và *S. epidermidis* 317 trong pha trôi nổi với sự có mặt của galactooligosacarit, xylitol và hỗn hợp của chúng ở các nồng độ khác nhau (OD_{600}) sau 3 giờ và 6 giờ.

3 giờ – *S. aureus* 815

		Xylitol (%)			
		0	1	2,5	5
GOS (%)	0	0	14,38	23,93	26,70
	1	13,88	22,47	27,94	30,23
	2,5	18,78	26,80	32,24	34,96
	5	29,52	34,26	38,88	40,66

6 giờ – *S. aureus* 815

		Xylitol (%)			
		0	1	2,5	5
GOS (%)	0	0	15,86	27,80	35,13
	1	22,59	34,54	41,18	43,60
	2,5	22,35	31,44	37,39	46,42
	5	32,26	41,88	51,35	55,50

3 giờ – *S. epidermidis* 317

		Xylitol (%)			
		0	1	2,5	5
GOS (%)	0	0	13,40	19,36	27,13
	1	10,89	19,94	27,10	32,94
	2,5	20,94	32,16	34,57	38,81
	5	31,35	33,38	38,70	45,34

6 giờ – *S. epidermidis* 317

		Xylitol (%)			
		0	1	2,5	5
GOS (%)	0	0	22,11	28,57	29,99
	1	15,92	27,86	37,78	42,89
	2,5	26,63	34,75	40,18	45,87
	5	36,67	40,41	45,70	51,06

Galactooligosacarit và xylitol được sử dụng liều một mình hoặc kết hợp làm giảm mức độ phát triển trôi nổi của cả vi khuẩn *S. aureus* 815 và *S. epidermidis* 317.

Ví dụ 4.2 – Pha màng sinh học

Huyền phù vi khuẩn được sinh trưởng trong môi trường canh thang TSB được bổ sung glucoza 0,5% (theo thể tích) ở pha logarit, được ủ trên các đĩa vi chuẩn dạng đáy phẳng có 96 lỗ với sự có mặt của galactooligosacarit hoặc xylitol hoặc hỗn hợp của chúng với các nồng độ khác nhau hoặc TSB (đối chứng). Sau khi ủ trong 3 giờ và

24 giờ ở nhiệt độ 37°C, mỗi lỗ được rửa hai lần bằng PBS vô khuẩn, được làm khô trong không khí, nhuộm trong 1 phút bằng safranin 0,1%, và rửa bằng PBS. Màng sinh học đã nhuộm được tái tạo huyền phù trong 200µl etanol (95% theo thể tích), và giá trị OD₄₉₂ được xác định bằng phương pháp phổ quang kế bằng cách sử dụng thiết bị đọc ELISA.

Bảng 4 thể hiện mức giảm theo tỷ lệ % sự tạo ra màng sinh học (chống bám dính (3 giờ) và chống tạo màng sinh học (24 giờ)) của vi khuẩn *S. aureus* 815 và *S. epidermidis* 317 với sự có mặt của galactooligosacarit, xylitol và các hỗn hợp của chúng với nồng độ khác nhau.

3 giờ – *S. aureus* 815

		Xylitol (%)			
		0	1	2,5	5
GOS (%)	0	0	21,61	28,81	36,98
	1	16,66	29,44	33,15	38,45
	2,5	21,02	25,62	31,47	35,36
	5	28,16	29,97	35,89	39,60

24 giờ – *S. aureus* 815

		Xylitol (%)			
		0	1	2,5	5
GOS (%)	0	0	51,68	47,8	56,02
	1	38,59	35,94	48,94	51,53
	2,5	40,88	33,76	39,79	61,13
	5	32,14	33,93	36,07	50,03

3 giờ – *S. epidermidis* 317

		Xylitol (%)			
		0	1	2,5	5
GOS (%)	0	0	1,00	10,64	14,16
	1	2,56	2,50	11,73	11,16
	2,5	1,20	2,84	13,83	14,86
	5	1,00	3,45	18,65	19,77

24 giờ – *S. epidermidis* 317

		Xylitol (%)			
		0	1	2,5	5
GOS (%)	0	0	22,81	22,18	5,67
	1	4,70	8,34	18,02	11,50
	2,5	8,13	4,64	1,33	21,05
	5	8,76	8,30	12,49	13,69

Galactooligosacarit và xylitol được sử dụng liều một mình và kết hợp làm giảm sự tạo ra màng sinh học ở chủng *S. aureus* 815 lên đến 40% sau 3 giờ điều trị (hiệu quả chống bám dính) và lên đến 60% sau 24 giờ (hiệu quả chống tạo màng sinh học). Không quan sát được hiệu quả này đối với chủng *S. epidermidis* 317.

Sáng chế còn bao gồm các phương án sau:

1. Phương pháp cải thiện hiệu quả kháng khuẩn kháng vi khuẩn *S. Aureus* bao gồm bước sử dụng khu trú chế phẩm dùng cho da chứa galactooligosacarit.
2. Phương pháp trong đó chế phẩm này còn chứa xylitol.
3. Phương pháp trong đó chế phẩm dùng cho da được bào chế dưới dạng chất làm mềm da, thuốc rửa, thuốc nhão, hoặc gel.
4. Phương pháp trong đó galactooligosacarit có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 0% đến 5% theo trọng lượng của chế phẩm.
5. Phương pháp trong đó xylitol có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 0% đến 5% theo trọng lượng của chế phẩm.
6. Phương pháp cải thiện hiệu quả kháng khuẩn kháng vi khuẩn *S. Aureus* bao

gồm bước sử dụng khu trú chế phẩm dùng cho da, chế phẩm này chứa galactooligosacarit với lượng nằm trong khoảng từ 0% đến 5% theo trọng lượng của chế phẩm và xylitol với lượng nằm trong khoảng từ 0% đến 5% theo trọng lượng của chế phẩm.

7. Chế phẩm dùng cho da chứa galactooligosacarit với lượng nằm trong khoảng từ 0% đến 5% theo trọng lượng của chế phẩm và xylitol với lượng nằm trong khoảng từ 0% đến 5% theo trọng lượng của chế phẩm.

8. Phương pháp điều trị chứng viêm da dị ứng, bao gồm bước sử dụng chế phẩm dùng khu trú chứa lượng hữu hiệu galactooligosacarit qua đường khu trú trên da của đối tượng cần điều trị.

9. Phương pháp trong đó chế phẩm được bào chế dưới dạng nhũ tương.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Chế phẩm dùng khu trú chứa:

- galactooligosacarit;
- xylitol với lượng nằm trong khoảng từ 0,01% đến 10% theo trọng lượng; và
- chất mang được chấp nhận về mặt dược phẩm hoặc mỹ phẩm;

trong đó tỷ lệ theo trọng lượng của galactooligosacarit:xylitol là nằm trong khoảng từ 10:1 đến 1:10, và

trong đó tỷ lệ theo trọng lượng thu được bằng cách ưu tiên là làm giảm màng sinh học của *Staphylococcus aureus* so với *Staphylococcus epidermidis*.

2. Chế phẩm dùng khu trú theo điểm 1, trong đó thành phần xylitol có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 0,01% đến 5% theo trọng lượng.

3. Chế phẩm dùng khu trú theo điểm 1, trong đó thành phần galactooligosacarit có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 0,01% đến 10% theo trọng lượng.

4. Chế phẩm dùng khu trú theo điểm 1, trong đó thành phần galactooligosacarit có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 0,01% đến 5% theo trọng lượng.

5. Chế phẩm dùng khu trú theo điểm 1, trong đó tỷ lệ theo trọng lượng của galactooligosacarit:xylitol nằm trong khoảng từ 2:1 đến 1:2.

6. Chế phẩm dùng khu trú theo điểm 1, trong đó chế phẩm này là nhũ tương, chất làm mềm da, thuốc nhão, kem, thuốc mỡ hoặc gel.