



(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



1-0048955

(51)^{2021.01} **A61K 31/7028**; A61K 31/29; A61P 3/10; (13) **B**
A61P 17/02; A61K 31/045

(21) 1-2022-04115

(22) 29/09/2020

(86) PCT/CN2020/118933 29/09/2020

(87) WO2021/109704 10/06/2021

(30) 201911241631.1 06/12/2019 CN

(45) 25/07/2025 448

(43) 26/12/2022 417A

(76) LO, Hsu En (CN)

10F., No. 11, Ln. 30, Sec. 4, Chenggong Rd., Neihu Dist., Taipei City 114, Taiwan
(CN)

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

(54) DƯỢC PHẨM CHỮA LÀNH VẾT THƯƠNG MẠN TÍNH

(21) 1-2022-04115

(57) Sáng chế đề cập đến chế phẩm có hiệu quả cải thiện việc chữa lành vết thương mạn tính, đặc biệt là chữa lành vết thương do đái tháo đường, chủ yếu được chọn từ nhóm bao gồm sự kết hợp của ít nhất hai trong ba thành phần sau: (1) tác nhân chống viêm được chọn từ nhóm bao gồm acteosit, isoacteosit và hỗn hợp của chúng, (2) chất làm se được chọn từ nhóm bao gồm axit galic, axit subgalic, muối của chúng và hỗn hợp của chúng, và (3) tác nhân làm mát được chọn từ nhóm bao gồm borneol, menthol và hỗn hợp của chúng, và được tùy ý kết hợp với một hoặc nhiều chất mang dược dụng.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chế phẩm có tác dụng chữa lành vết thương mạn tính và các ứng dụng của nó.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Với sự già đi của dân số, các bệnh mạn tính đã trở thành một trọng tâm của chăm sóc sức khỏe, và chăm sóc các vết thương mạn tính là một phần rất quan trọng. Vết thương mạn tính là những vết thương không thể chữa lành vết thương bình thường về cấu trúc và bề ngoài sau khi được điều trị thích hợp trong một khoảng thời gian xác định trước và cho đến nay vẫn chưa có phương pháp điều trị hiệu quả nào. Các loại vết thương mạn tính bao gồm chứng thối loét do nằm liệt lâu ngày hoặc vết loét do tỳ đè gây ra do nằm trên giường kéo dài, vết loét ở bệnh nhân đái tháo đường, hoại tử chi do tắc nghẽn mạch máu ngoại vi, vết loét do tắc nghẽn động mạch hoặc tĩnh mạch, vết thương không lành ở bệnh nhân ung thư và chữa lành vết thương mạn tính do nhiễm trùng vết thương cấp tính, v.v.

Acteosit, một hoạt chất trong thuốc thảo dược Trung Quốc, có tác dụng ức chế lipaza và được biết là có hoạt tính kháng khuẩn, chống viêm, kháng vi-rút, chống oxy hóa và bảo vệ thần kinh.

Acteosit đã được báo cáo là thành phần kháng khuẩn mạnh và được biết là có hiệu quả kháng khuẩn tốt đối với *Staphylococcus aureus* (Guillermo et al., 1999, Journal of Ethnopharmacology 66(1):75-8). Acteosit cũng có tác dụng chống viêm tốt (Speranza et al., 2009, Journal of biological regulators và homeostatic agents 23(3):189-95). Ngoài ra, patent Trung Quốc số 103816169B cấp ngày 6 tháng 1 năm 2016 đã tiết lộ rằng acteosit có thể được sử dụng để điều chế và ngăn ngừa chứng sa sút trí tuệ mạch máu,

đồng thời có tác dụng bảo vệ và điều trị đối với chứng thiếu máu cục bộ tế bào và tình trạng thiếu oxy do glucoza thấp và tình trạng thiếu oxy. Đồng thời, đơn yêu cầu cấp patent Đài Loan số 201601739 được công bố vào ngày 16 tháng 1 năm 2016 đưa ra phương pháp chuẩn bị bào chế dịch chiết hoa osmanthus. Hoạt chất chính là acteosit có tác dụng chống oxy hóa, dưỡng da, chống vi khuẩn và chống viêm. Tuy nhiên, không có báo cáo nào cho thấy nó có thể được sử dụng trong việc chữa lành vết thương mạn tính.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề xuất chế phẩm mới có tác dụng thúc đẩy sự tăng sinh và di chuyển của tế bào, thúc đẩy sự biểu hiện collagen và cải thiện việc chữa lành vết thương mạn tính, chủ yếu được chọn từ nhóm bao gồm hỗn hợp của ít nhất hai trong số ba thành phần sau: (1) tác nhân chống viêm được chọn từ nhóm bao gồm an acteosit, an isoacteosit và hỗn hợp của chúng, (2) chất làm se được chọn từ nhóm bao gồm axit galic, axit subgalic, muối của chúng và hỗn hợp của chúng, và (3) tác nhân làm mát được chọn từ nhóm bao gồm borneol, menthol và hỗn hợp của chúng và được tùy ý kết hợp với một hoặc nhiều chất mang được dụng.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất việc sử dụng chế phẩm này trong việc bào chế thuốc để điều trị vết thương mạn tính.

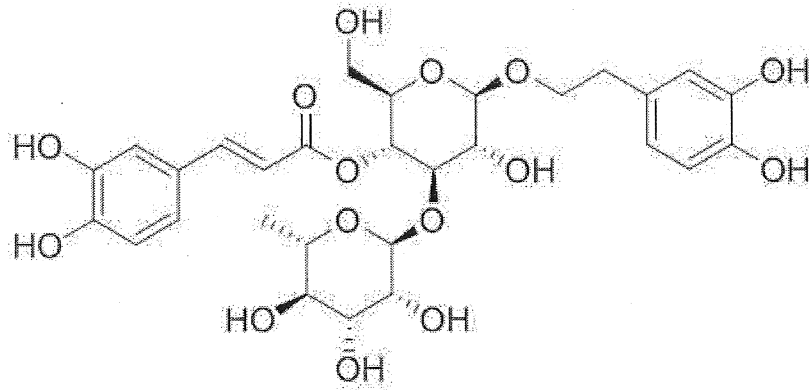
Theo một phương án của sáng chế, vết thương mạn tính là để chỉ vết thương do chấn thương đường.

Theo một phương án của sáng chế, tỷ lệ đương lượng của ba thành phần (1) tác nhân chống viêm: (2) chất làm se: (3) tác nhân làm mát là 1:0,1-10:0,1-10.

Theo một phương án được ưu tiên của sáng chế, tỷ lệ đương lượng của ba thành phần (1) tác nhân chống viêm: (2) chất làm se: (3) tác nhân làm mát là 1:0,5-5:0,5-5.

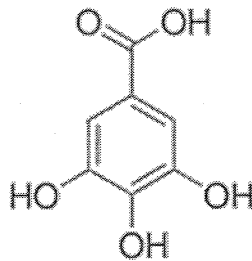
Theo một phương án cụ thể của sáng chế, tỷ lệ đương lượng của ba thành phần (1) tác nhân chống viêm: (2) chất làm se: (3) tác nhân làm mát là khoảng 1:1:1.

Theo một phương án của sáng chế, tác nhân chống viêm là acteosit có cấu trúc là Công thức I dưới đây hoặc chất đồng phân của nó:



Công thức I.

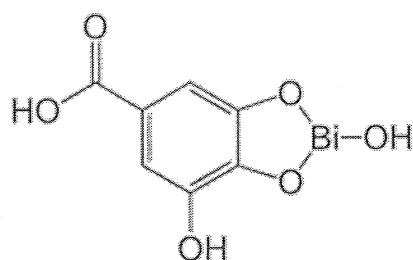
Theo một phương án của sáng chế, chất làm se là axit galic có cấu trúc là Công thức II dưới đây:



Công thức II

Theo một phương án của sáng chế, chất làm se là muối của axit galic hoặc axit subgalic, tốt hơn là muối bismut.

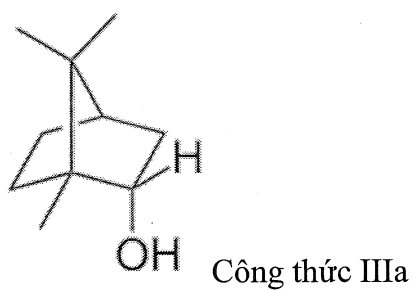
Theo một phương án tốt nhất của sáng chế, chất làm se là bismut subgalat có cấu trúc là Công thức IIa dưới đây:



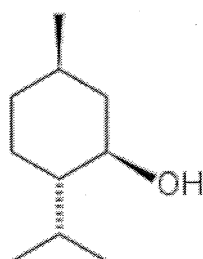
Công thức IIa.

Theo một phương án của sáng chế, tác nhân làm mát là chất sinh ra có cấu trúc theo Công thức IIIa dưới đây:

Theo một phương án của sáng chế, tác nhân làm mát là borneol có cấu trúc là Công thức IIIa dưới đây:



Theo một phương án của sáng chế, tác nhân làm mát là menthol có cấu trúc là Công thức IIIb dưới đây:



Công thức IIIb

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất được phẩm có tác dụng chữa lành vết thương mạn tính, chủ yếu bao gồm ba thành phần sau: (1) acteosit, (2) bismut subgalat, và (3) borneal, và được tùy ý kết hợp với một hoặc nhiều chất mang được dụng.

Theo sáng chế, tỷ lệ đương lượng của ba thành phần (1) acteosit: (2) bismut subgalat: (3) borneal trong được phẩm là 1:0,1-10:0,1-10; tốt hơn là 1:0,5-5:0,5-5.

Theo một phương án của sáng chế, tỷ lệ đương lượng của ba thành phần (1) acteosit: (2) bismut subgalat: (3) borneal trong được phẩm là khoảng 1:1:1.

Theo sáng chế, được phẩm chứa (1) 0,05%-10% acteosit, (2) 0,05%-10% bismut subgalat, (3) 0,02%-5% borneal tính theo trọng lượng và chất mang được dụng.

Theo một phương án của sáng chế, được phẩm chủ yếu là chứa (1) 0,05%-10% acteosit và (2) 0,05%-10% bismut subgalat tính theo trọng lượng và chứa chất mang được dụng.

Theo một phương án của sáng chế, được phẩm chủ yếu là chứa (1) 0,05%-10% acteosit và (3) 0,02%-5% borneal tính theo trọng lượng và chứa chất mang được dụng.

Theo một phương án của sáng chế, được phẩm chủ yếu là chứa (2) 0,05%-10% bismut subgalat và (3) 0,02%-5% borneal tính theo trọng lượng và chứa chất mang được dụng.

Những khía cạnh này và các khía cạnh khác của sáng chế sẽ trở nên rõ ràng hơn từ mô tả và hình vẽ sau đây của các phương án được ưu tiên. Mặc dù có thể có những thay đổi hoặc sửa đổi trong đó, chúng không rời khỏi tinh thần và phạm vi của các khái niệm mới được trình bày trong sáng chế.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Mô tả ở trên và các phương án có thể được minh họa rõ hơn bằng các hình vẽ kèm theo. Để nâng cao mô tả của sáng chế, các hình vẽ phù hợp của các phương án được liệt kê ở đây.

FIG. 1 thể hiện kết quả của việc thúc đẩy sự tăng sinh tế bào của các tế bào HaCaT được nuôi cấy trong môi trường glucoza cao (20mM) trong 48 giờ bằng chế phẩm theo sáng chế (Con: nhóm đối chứng; A 16,0 μ M; BO 18,8 μ M; BSG 14,2 μ M; BO 18,8 μ M + A 16,0 μ M; BSG 14,2 μ M + A 16,0 μ M; BO 18,8 μ M + BSG 14,2 μ M; Tất cả (A 16,0 μ M + BO 18,8 μ M + BSG 14,2 μ M); * thể hiện sự khác biệt đáng kể, $p < 0,05$).

FIG. 2 thể hiện sự so sánh giữa chế phẩm theo sáng chế (Tất cả, A 16,0 μ M + BO 18,8 μ M + BSG 14,2 μ M) chống lại sự tăng sinh tế bào của các tế bào HaCaT được nuôi cấy trong môi trường glucoza thấp (5mM) và glucoza cao (25mM) trong 48 giờ, * thể hiện sự khác biệt đáng kể, $p < 0,05$ (5: 5mM glucoza; 25: 25mM glucoza; 5+Tất cả: 5mM glucoza kết hợp thêm chế phẩm theo sáng chế (A 16,0 μ M + BO 18,8 μ M + BSG 14,2 μ M); 25+Tất cả: 25mM glucoza kết hợp thêm chế phẩm theo sáng chế (A 16,0 μ M + BO 18,8 μ M + BSG 14,2 μ M)).

FIG. 3A thể hiện hình ảnh di chuyển tế bào của tế bào HaCaT được nuôi cấy trong môi trường glucoza cao (25mM) với chế phẩm theo sáng chế (Tất cả) và nhóm đối chứng trong 48 giờ (Con: nhóm đối chứng; BO 18,8 μ M; BSG 14,2 μ M; BO 18,8 μ M + A 16,0 μ M ; BSG 14,2 μ M + A 16,0 μ M; BO 18,8 μ M + BSG 14,2 μ M; Tất cả (A 16,0 μ M + BO 18,8 μ M + BSG 14,2 μ M)).

FIG. 3B thể hiện sự so sánh giữa chế phẩm theo sáng chế (Tất cả) và nhóm đối chứng khi các tế bào HaCaT được nuôi cấy trong môi trường glucoza cao (25mM) trong 48 giờ, và tỷ lệ tăng sinh tế bào của nhóm đối chứng là 1,0 so với các nhóm thử nghiệm khác (Con: nhóm đối chứng; A 16,0 μ M; BO 18,8 μ M; BSG 14,2 μ M; BO 18,8 μ M + A 16,0 μ M; BSG 14,2 μ M + A 16,0 μ M; BO 18,8 μ M + BSG 14,2 μ M; Tất cả (A 16,0 μ M + BO 18,8 μ M + BSG 14,2 μ M)).

FIG. 4 thể hiện sự so sánh giữa chế phẩm theo sáng chế và nhóm đối chứng trên tế bào HDF được xử lý bằng IL-1 β để xác định sự thay đổi nồng độ của protein Collagen III, MMP-1, Collagen I và TFG- β .

FIG. 5 thể hiện quá trình lành vết thương của ca 1 (bệnh nhân đái tháo đường và đột quỵ, nam, 77 tuổi), kích thước vết thương là 4 cm x 3 cm x 0,5 cm vào ngày 0 (A), vết thương bắt đầu liền lại vào ngày 18, (B), vào ngày 33 vết thương có kích thước 1,5 cm x 0,5 cm x 0,2 cm (C), và vết thương lành hoàn toàn vào ngày 79 (D).

FIG. 6 thể hiện quá trình lành vết thương của ca 2 (bệnh nhân đái tháo đường và đột quỵ, nam, 77 tuổi), kích thước vết thương là 15cm x 11cm x 2 cm vào ngày 0 (A), kích thước vết thương ngày 75 là 5,5cm x 11cm x 1 cm (B), vết thương là 3 cm x 2 cm x 0,5 cm vào ngày 103 (C), và vết thương đã hoàn toàn lành vào ngày 140 (D).

FIG. 7 thể hiện trường hợp 3 (bệnh nhân đái tháo đường và ung thư phổi, nữ, 82 tuổi), kích thước vết thương là 2,5cm x 1cm x 0,5 cm vào ngày 0 (A), kích thước vết thương vào ngày 17 là 1,5cm x 1cm x 0,2 cm (B), và vết thương đã lành hoàn toàn vào ngày 90 (C).

Mô tả chi tiết sáng chế

Các thuật ngữ được sử dụng trong mô tả của sáng chế nói chung có nghĩa gốc của chúng trong lĩnh vực kỹ thuật, trong phần tóm tắt của sáng chế và trong ngữ cảnh cụ thể mà mỗi thuật ngữ được sử dụng.

Thuật ngữ "a" được sử dụng ở đây, trừ khi có quy định khác, dùng để chỉ số lượng của ít nhất một (một hoặc nhiều).

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "vết thương mạn tính" dùng để chỉ vết thương không thể chữa lành vết thương bình thường về cấu trúc và hình dạng sau khi được điều trị thích hợp trong một khoảng thời gian xác định trước. Các loại vết thương mạn tính bao gồm vết thương lòng bàn chân hoặc vết loét do tì đè do nằm lâu trên giường, vết loét do

đái tháo đường, hoại tử chi do tắc nghẽn mạch máu ngoại vi, vết loét do tắc nghẽn động mạch hoặc tĩnh mạch, vết thương không lành ở bệnh nhân ung thư và vết thương khó lành mạn tính gây ra bởi vết thương nhiễm trùng cấp tính. Theo sáng chế, thành phần của sáng chế được chứng minh là có tác dụng chữa lành vết thương ngoài da của các vết thương mạn tính, đặc biệt là vết thương do đái tháo đường.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "điều trị" bao gồm ý nghĩa "điều trị" hoặc "thúc đẩy" và có nghĩa là cải thiện các triệu chứng.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "bệnh nhân" bao gồm người và động vật, đặc biệt là động vật có vú.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "chất mang được dụng" dùng để chỉ chất pha loãng, tá dược và các chất tương tự thường được sử dụng trong sản xuất dược phẩm bằng các kỹ thuật thường được sử dụng trong y tế. Theo sáng chế, nó có thể được bào chế thành dạng thuốc, mỹ phẩm hoặc vật liệu y tế. Theo sáng chế, nó có thể được áp dụng ở dạng bôi ngoài da, ví dụ, ở dạng xịt. Dạng xịt bao gồm dạng xịt và dạng lỏng; hoặc dạng bán rắn hoặc dạng rắn, tốt nhất là dạng rắn có độ nhớt động lực học lớn hơn độ nhớt của nước. Các chế phẩm thích hợp bao gồm, nhưng không giới hạn ở, hỗn dịch, nhũ tương, kem, thuốc mỡ, thuốc bôi và các loại tương tự. Tốt hơn là nó ở dạng thuốc mỡ. Bất kể dạng nào, dược phẩm theo sáng chế cũng có thể chứa chất làm mềm, chất tạo hương hoặc chất màu để nâng cao khả năng chấp nhận của chúng cho các mục đích sử dụng khác nhau.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "lượng có hiệu quả điều trị" có nghĩa là lượng có hiệu quả để điều trị vết thương trong việc kiểm soát các triệu chứng. Liều lượng thích hợp có thể được sử dụng theo nhu cầu của bệnh nhân hoặc vết thương, theo các kỹ thuật thường dùng hoặc kiến thức lâm sàng trong y học, và có thể được điều chỉnh theo chế độ dùng thuốc và tình hình điều trị, bao gồm tuổi, cân nặng, triệu chứng, hiệu quả điều trị, chế độ quản lý và thời gian điều trị.

Sáng chế đề xuất chế phẩm có hiệu quả chữa lành vết thương mạn tính, chủ yếu được chọn từ nhóm bao gồm hỗn hợp của ít nhất hai trong số ba thành phần sau: (1) tác nhân chống viêm được chọn từ nhóm bao gồm acteosit, isoacteosit và hỗn hợp của chúng, (2) chất làm se được chọn từ nhóm bao gồm axit galic, axit subgalic, muối của chúng và hỗn hợp của chúng, và (3) tác nhân làm mát được chọn từ nhóm bao gồm borneal, menthol và hỗn hợp của chúng, và được tùy ý kết hợp với một hoặc nhiều chất mang được dụng. Sáng chế cũng đề xuất việc sử dụng chế phẩm này trong việc bào chế thuốc để điều trị vết thương mạn tính, đặc biệt là vết thương do đái tháo đường.

Theo phương án của sáng chế, chế phẩm theo sáng chế có tác dụng tăng cường đáng kể đối với sự tăng sinh và di chuyển tế bào trong môi trường nuôi cấy glucoza cao, nhưng một thành phần đơn lẻ hoặc bất kỳ sự kết hợp nào của cả hai đều không có tác dụng. Đặc biệt, chế phẩm theo sáng chế tương đối không hiệu quả đối với việc nuôi cấy trong môi trường glucoza thấp, điều này cho thấy tác dụng đặc biệt của chế phẩm theo sáng chế đối với việc chữa lành vết thương do đái tháo đường và có thể hỗ trợ thêm tác dụng của nó đối với việc chữa lành vết thương mạn tính.

Theo sáng chế, chế phẩm với hàm lượng thích hợp có thể được bào chế theo các kỹ thuật thông thường chung, trong đó các ví dụ có thể bao gồm một phạm vi tương đương của mỗi thành phần:

- (1) tác nhân chống viêm: 1;
- (2) chất làm se: 0,1-10; tốt nhất là 0,5-5;
- (3) tác nhân làm mát: 0,1-10; tốt nhất là 0,5-5.

Theo một phương án cụ thể của sáng chế, tỷ lệ đương lượng của ba thành phần of (1) tác nhân chống viêm: (2) chất làm se: (3) tác nhân làm mát là khoảng 1:1:1.

Đối tượng của sáng chế là tạo ra được phẩm có tác dụng chữa lành vết thương mạn tính, chủ yếu được chọn từ nhóm bao gồm hỗn hợp của ít nhất hai trong số ba thành phần sau: (1) acteosit, (2) bismut subgalat, và (3) borneal, và được tùy ý kết hợp với một

hoặc nhiều chất mang được dụng, chẳng hạn như sản phẩm có nhãn hiệu NuDFC7TM, chưa có sẵn trên thị trường.

Theo sáng chế, tỷ lệ đương lượng của ba thành phần (1) tác nhân chống viêm: (2) bismut subgalat: (3) borneal trong được phẩm là 1:0,1-10:0,1-10; tốt hơn là 1:0,5-5:0,5-5, trong đó phương án cụ thể là khoảng 1:1:1.

Theo sáng chế, được phẩm chứa (1) 0,05%-10% acteosit, (2) 0,05%-10% bismut subgalat, (3) 0,02%-5% borneal tính theo trọng lượng và chất mang được dụng.

Theo một phương án của sáng chế, được phẩm chứa (1) 0,1%-5% acteosit, (2) 0,06%-6% bismut subgalat, (3) 0,03%-3% borneal tính theo trọng lượng và chất mang được dụng.

Theo một phương án được ưu tiên của sáng chế, được phẩm chứa (1) 0,3%-5% acteosit, (2) 0,5%-5% bismut subgalat, (3) 0,5%-1% borneal và chất mang được dụng.

Theo sáng chế, chế phẩm này có thể chứa tá dược thích hợp để bào chế chế phẩm với dạng được phẩm dùng ngoài, dạng mỹ phẩm hoặc dạng được liệu.

Theo sáng chế, chế phẩm có thể bao gồm thêm tác nhân điều trị, chẳng hạn như tác nhân chống viêm khác, tác nhân kháng khuẩn hoặc tác nhân điều trị khác.

Phần mô tả ở trên của sáng chế và các ví dụ sau đây minh họa cho sáng chế này, nhưng không nhằm giới hạn phạm vi của sáng chế.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Chuẩn bị y tế:

(1) Acteosit (với A làm mã): được mua từ Sigma-Aldrich, United States, USA (St. Louis, MO, USA).

(2) Bismut subgalat (với BSG làm mã): Sigma-Aldrich, United States (St. Louis, MO, USA).

(3) Borneal (với BO làm mã): Sigma-Aldrich, United States (St. Louis, MO, USA).

Theo sáng chế, các chế phẩm có thể được điều chế với các thành phần sau

Chế phẩm	Tác nhân chống viêm	Chất làm se	Tác nhân làm mát
Khoảng tỷ lệ đương lượng	1	0,1-10	0,1-10
Thành phần cụ thể	Acteosit	Bismut subgalat	Borneal
Khoảng phần trăm trọng lượng	0,05%-10%	0,05%-10%	0,02%-5%
Ví dụ bào chế chế phẩm 1 (phần trăm trọng lượng)	0,05%	0,025%	0,02%
Ví dụ bào chế chế phẩm 2 (phần trăm trọng lượng)	0,3%	0,5%	0,5%
Ví dụ bào chế chế phẩm 3 (phần trăm trọng lượng)	5%	5%	1%
Ví dụ bào chế chế phẩm 4 (phần trăm trọng lượng)	1%	4%	0,1%
Ví dụ bào chế chế phẩm 5 (phần trăm trọng lượng)	10%	1%	0,05%

Hàm lượng của mỗi thành phần của chế phẩm theo sáng chế cho các thử nghiệm tế bào sau đây là:

(1) Acteosit (A) 16,0 μ M (0,01 μ g/ μ l), tức là 0,1%;

(2) Bismut subgalat (BSG) 14,2 μ M (0,0056 μ g/ μ l), tức là 0,056%; và

(3) Borneal (BO) 18,8 μ M (0,0029 μ g/ μ l), tức là 0,029%.

Nuôi cấy tế bào:

Nguyên bào sợi ở da người (tế bào HDF: *Human dermal fibroblast*) hoặc tế bào sừng của người (tế bào HuCaT) được nuôi cấy trong tủ ẩm ẩm ở 37°C trong môi trường 5% cacbon dioxit và 95% oxy và được đặt trong môi trường Đại bàng biến tính Dulbecco (*Dulbecco modified Eagle's medium*: DMEM) có bổ sung glucoza, 10% huyết thanh bò thai, 100 IU/ml penixillin, 100 μ g/ml streptomycin, 2mM natri pyruvat và 1% axit amin không cần thiết (*nonessential amino acid*: NEAA). Môi trường được thay đổi hai ngày một lần. Đối với nuôi cấy phụ, tế bào được thu hoạch và nuôi cấy lại ở độ pha loãng 1:10 sau khi tiếp xúc với hỗn hợp 0,1% Trypsin-EDTA. Các tế bào được sử dụng trong nghiên cứu dao động từ 12 đến 40 đoạn. 24 giờ trước khi xử lý bằng thuốc, tế bào được gieo mầm kết tinh và để trong 24 giờ. Nhóm đối chứng được duy trì ở mức trung bình và bổ sung được chất. Trong điều kiện nuôi cấy này, sự tăng trưởng và biệt hóa của tế bào không bị ảnh hưởng.

Ví dụ 1: Thử nghiệm tăng sinh tế bào

Tế bào HaCaT được nuôi cấy ở 3×10^5 với việc bổ sung tiêu chuẩn 25mM glucoza trong đĩa nuôi cấy 12 giếng trong 48 giờ. Sự tăng trưởng và khả năng sống của tế bào được phân tích bằng bộ kit thuốc thử CCK-8 (*Dojindo Molecular Technologies, Kumamoto, Japan*). 5 μ l dung dịch CCK-8 được thêm vào mỗi giếng và ủ ở 37°C trong một giờ, sau đó đo độ hấp thụ ở bước sóng 450nm bằng máy đo quang phổ Microplate reader (*SpectraMax, Molecular Device, USA*). Kết quả thử nghiệm được phân tích bằng cách so sánh giá trị của các mẫu với của nhóm đối chứng. Các nhóm thử nghiệm được kiểm tra bao gồm:

(1) Con: nhóm đối chứng;

(2) A 16,0 μ M;

- (3) BO 18,8 μ M;
- (4) BSG 14,2 μ M;
- (5) BO 18,8 μ M + A 16,0 μ M;
- (6) BSG 14,2 μ M + A 16,0 μ M;
- (7) BO 18,8 μ M + BSG 14,2 μ M;
- (8) Tất cả (A 16,0 μ M + BO 18,8 μ M + BSG 14,2 μ M).

Kết quả tăng sinh tế bào sau 48 giờ nuôi cấy được thể hiện trên Fig. 1, cho thấy rằng chế phẩm theo sáng chế (Tất cả; A 16,0 μ M + BO 18,8 μ M + BSG 14,2 μ M) là tốt nhất, mang lại hiệu quả đáng kể ngoài mong đợi trong việc thúc đẩy tăng sinh tế bào ($p < 0,05$), nhưng một thành phần duy nhất là không hiệu quả, hoặc hỗn hợp của hai thành phần bất kỳ sẽ kém hiệu quả hơn sự kết hợp của cả ba.

Ví dụ 2: So sánh phân tích nuôi cấy tế bào trong môi trường glucoza thấp và glucoza cao (So sánh trong thử nghiệm tăng sinh tế bào)

Tế bào HaCaT được nuôi cấy ở 3×10^5 với việc bổ sung 5mM và 25mM glucoza trong đĩa nuôi cấy 12 giếng trong 48 giờ, và sự tăng sinh tế bào được quan sát khi bổ sung thành phần theo sáng chế (Tất cả: A 16,0 μ M + BO 18,8 μ M + BSG 14,2 μ M).

Kết quả tăng sinh tế bào sau 48 giờ nuôi cấy được thể hiện trên Fig. 2, cho thấy rằng chế phẩm theo sáng chế (A 16,0 μ M + BO 18,8 μ M + BSG 14,2 μ M) có tác dụng hiệp đồng đáng kể đối với sự phát triển của tế bào trong môi trường nuôi cấy glucoza cao (25mM), nhưng không có tác động đáng kể đến sự tăng sinh tế bào ở mức thấp nuôi cấy glucoza (5mM).

Ví dụ 3: Thử nghiệm di chuyển tế bào

Tế bào HaCaT được nuôi cấy ở 1×10^5 với việc bổ sung 25mM glucoza trong đĩa nuôi cấy 24 giếng trong 48 giờ, và các loại thuốc sau được thêm vào để quan sát trạng thái di chuyển của tế bào:

Con: nhóm đối chứng;

BO 18,8 μ M + A 16,0 μ M;

BSG 14,2 μ M + A 16,0 μ M;

BO 18,8 μ M + BSG 14,2 μ M;

Tất cả: A 16,0 μ M + BO 18,8 μ M + BSG 14,2 μ M.

Hình ảnh kết quả di chuyển tế bào của mỗi nhóm sau 48 giờ nuôi cấy được thể hiện trên Fig. 3A. Kết quả của nhóm đối chứng được lấy là 1 để so sánh với các nhóm khác trong Fig. 3B, cho thấy chế phẩm theo sáng chế (A 16,0 μ M + BO 18,8 μ M + BSG 14,2 μ M) có tác dụng thúc đẩy sự di chuyển của tế bào trong môi trường nuôi cấy glucoza cao (25mM), nhưng BO 18,8 μ M, BSG 14,2 μ M, hoặc hỗn hợp của hai thành phần bất kỳ trong số ba thành phần không có tác dụng thúc đẩy. Có thể suy ra rằng chế phẩm theo sáng chế có tác dụng điều trị bất ngờ đối với việc chữa lành vết thương do đái tháo đường, hỗ trợ thêm cho tác dụng của nó đối với việc chữa lành vết thương mạn tính.

Ví dụ 4: Phân tích thực nghiệm về đáp ứng viêm

Phân tích sự ức chế đáp ứng viêm do IL-1 β gây ra

Tế bào HDF được nuôi cấy (1×10^5 /giếng) được bổ sung yếu tố gây viêm tế bào IL-1 β (10ng/ml) để đánh giá sự ức chế viêm do IL-1 β do các thuốc này gây ra. Tế bào được nuôi cấy trong đĩa nuôi cấy 24 giếng trong 48 giờ và các loại được chất sau đây được thêm vào đồng thời để quan sát cách tế bào ở trạng thái viêm ảnh hưởng đến sự biểu hiện của protein, bao gồm cả metaloproteinaza nền (chẳng hạn như MMP-1 hoặc MMP-9) được điều hòa tăng bởi chứng viêm; và sự biểu hiện của collagen (collagen I hoặc

Colagen 9) được kiểm soát bởi yếu tố TGF- β , được điều hòa giảm bởi quá trình viêm và con đường tín hiệu xuôi dòng của nó:

Con: nhóm đối chứng (không điều trị IL-1 β);

Con: nhóm đối chứng (điều trị IL-1 β);

BO : 18,8 μ M;

BSG: 14,2 μ M;

A: 16,0 μ M;

BO +A: BO 18,8 μ M + A 16,0 μ M;

BSG +A: BSG 14,2 μ M + A 16,0 μ M;

BO +BSG: BO 18,8 μ M + BSG 14,2 μ M;

Tất cả: BO 18,8 μ M + BSG 14,2 μ M +16,0 μ M.

Các kết quả được hiển thị trong FIG. 4, cho thấy tác động của từng thành phần và sự kết hợp của nó đối với lượng tiết protein dưới đáp ứng viêm gây ra bằng cách thêm IL-1 β . Nó chứng minh rằng, sự kết hợp của ba thành phần có tác dụng thúc đẩy rõ ràng đối với yếu tố TGF- β và collagen xuôi dòng của nó (Collgen I và Collgen III), và có tác dụng ức chế rõ ràng MMP-1 do viêm gây ra, cho thấy rằng sự kết hợp ba thành phần có hiệu quả hơn nhiều trong việc chữa lành vết thương so với một trong hai thành phần hoặc sự kết hợp hai thành phần của nó.

Ví dụ 5: Kết quả lâm sàng trên người

Chế phẩm theo sáng chế (A 16,0 μ M + BO 18,8 μ M + BSG 14,2 μ M) được sử dụng hàng ngày cho các bệnh nhân khác nhau để quan sát quá trình lành vết thương. Kết quả

chữa lành vết thương của ba bệnh nhân được thể hiện trên Fig. 5, 6 và 7 và được đối chiếu như sau.

(1) Trường hợp 1

Bệnh nhân đái tháo đường và đột quỵ, nam, 77 tuổi. Sau khi điều trị, các bức ảnh trong quá trình chữa lành vết thương ở gót chân trái được hiển thị trong FIG. 5. Vào ngày 0, kích thước vết thương ban đầu là 4cm x 3cm x 0,5cm (A). Sau khi điều trị, vết thương bắt đầu liền lại vào ngày 18 (B), vết thương giảm xuống 1,5 cm x 0,5 cm x 0,2 cm vào ngày 33 (C), và vết thương hoàn toàn lành vào ngày 79 (D), cho thấy rằng chế phẩm theo sáng chế có tác dụng điều trị rõ ràng đối với vết thương do đái tháo đường.

(2) Trường hợp 2

Bệnh nhân đái tháo đường, nam, 77 tuổi. Sau khi điều trị, các bức ảnh trong quá trình chữa lành vết thương ở gót chân phải được hiển thị trong hình. 6, Kích thước vết thương ban đầu là 15cm x 11cm x 2 cm vào ngày 0 (A), vết thương giảm xuống còn 5,5cm x 11cm x 1 cm vào ngày 75 sau khi điều trị (B), vào ngày thứ 103 vết thương đã lành và kích của vết thương có kích thước 3cm x 2cm x 0,5 cm (C), và vết thương đã lành hoàn toàn vào ngày 140 (D), cho thấy chế phẩm theo sáng chế có tác dụng điều trị rõ ràng đối với vết thương do đái tháo đường và việc điều trị đang được tiến hành.

(3) Trường hợp 2

Bệnh nhân đái tháo đường và ung thư phổi, nữ, 82 tuổi, nằm liệt giường lâu năm. Sau khi điều trị, các bức ảnh trong quá trình chữa lành vết thương được hiển thị trong hình. 7, Vào ngày 0, kích thước vết thương ban đầu là 2,5cm x 1cm x 0,5 cm (A), vào ngày thứ 17 sau khi điều trị, vết thương bắt đầu liền lại rõ ràng và vết thương giảm xuống còn 1,5cm x 1cm x 0,2 cm (B) , và vết thương đã được chữa lành hoàn toàn vào ngày 90 (C), cho thấy rằng chế phẩm theo sáng chế có tác dụng điều trị đáng kể đối với vết loét.

Mặc dù sáng chế được bộc lộ ở trên với các phương án được ưu tiên, nhưng nó không nhằm hạn chế sáng chế. Người có trình độ trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này đều có thể thực hiện các thay đổi và sửa đổi mà không đi lệch khỏi tinh thần và phạm vi của sáng chế, những phạm vi này thuộc phạm vi bảo hộ được xác định theo yêu cầu của sáng chế.

Yêu cầu bảo hộ

1. Dược phẩm để chữa lành vết thương mạn tính, chứa ba thành phần sau: (1) tác nhân chống viêm là acteosit, (2) chất làm se là bismuth subgalat, và (3) tác nhân làm mát là borneol, và được tùy ý kết hợp với một hoặc nhiều chất mang dược dụng; trong đó tỷ lệ đương lượng mol của ba thành phần (1) tác nhân chống viêm: (2) chất làm se: (3) tác nhân làm mát là 1:0,1-10:0,1-10, trong đó vết thương mạn tính là vết thương do đái tháo đường. .
2. Dược phẩm theo điểm 1, trong đó tỷ lệ đương lượng mol của ba thành phần (1) tác nhân chống viêm: (2) chất làm se: (3) tác nhân làm mát là 1:0,5-5:0,5-5.
3. Dược phẩm theo điểm 1, chứa (1) 0,05%-10% acteosit, (2) 0,05%-10% bismut subgalat, (3) 0,02%-5% borneol tính theo trọng lượng và chất mang dược dụng.
4. Dược phẩm theo điểm 3, chứa (1) 0,1%-5% acteosit, (2) 0,06%-6% bismut subgalat, (3) 0,03%-3% borneol tính theo trọng lượng và chất mang dược dụng.
5. Dược phẩm theo điểm 4, chứa (1) 0,3%-5% acteosit, (2) 0,5%-5% bismut subgalat, (3) 0,5%-1% borneol tính theo trọng lượng và chất mang dược dụng.
6. Dược phẩm theo điểm 1, còn chứa tá dược thích hợp để bào chế dạng dược phẩm dùng bên ngoài, dạng mỹ phẩm hoặc dạng dược liệu.

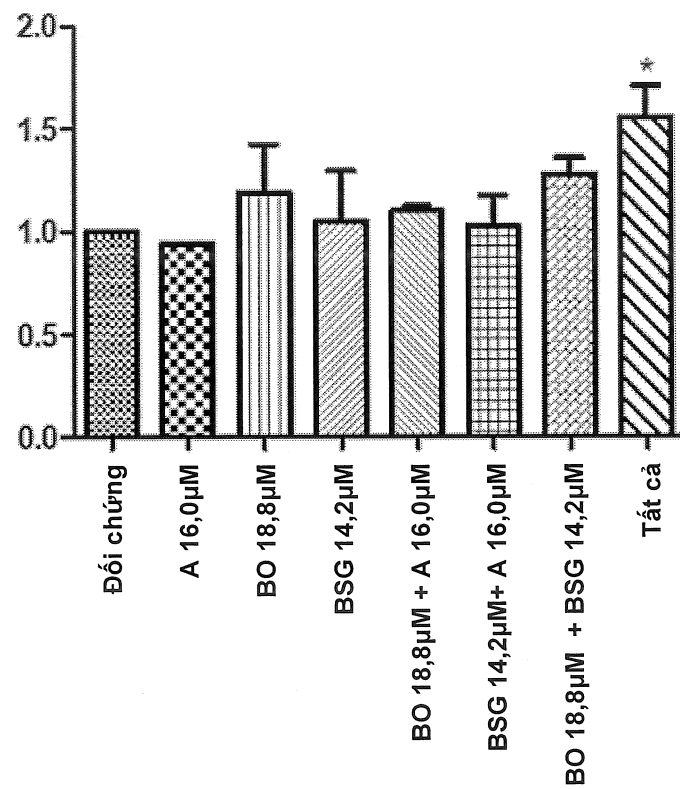


FIG.1

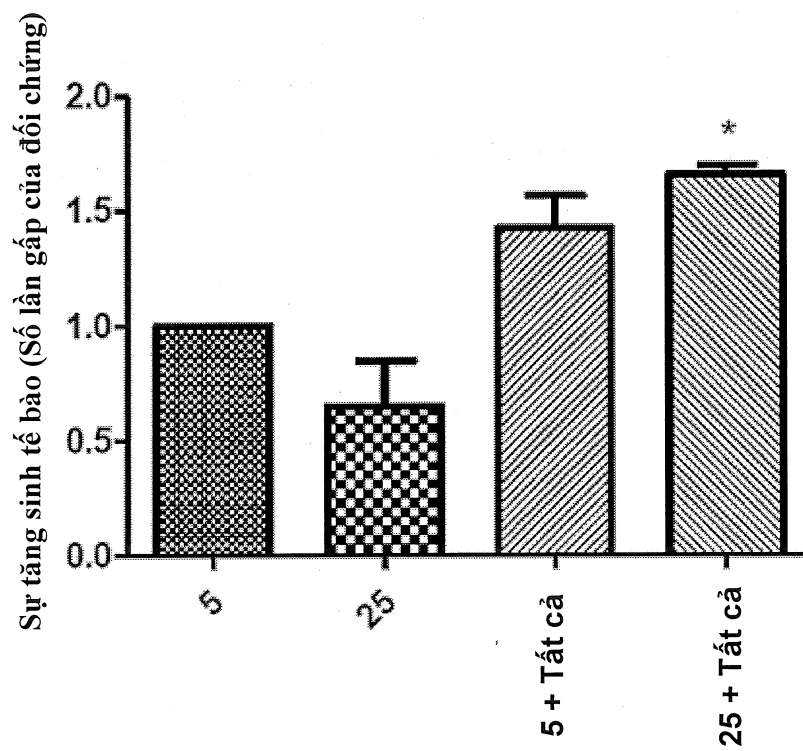


FIG.2

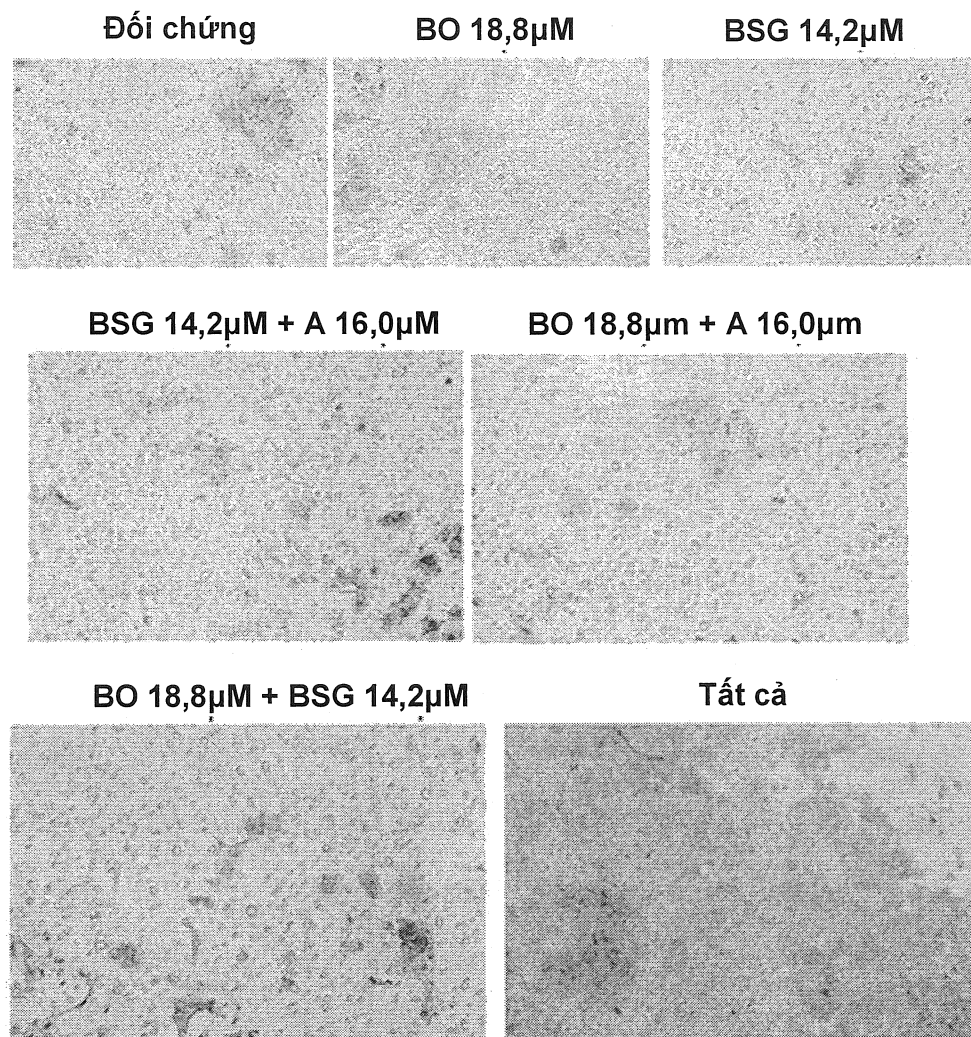


FIG.3A

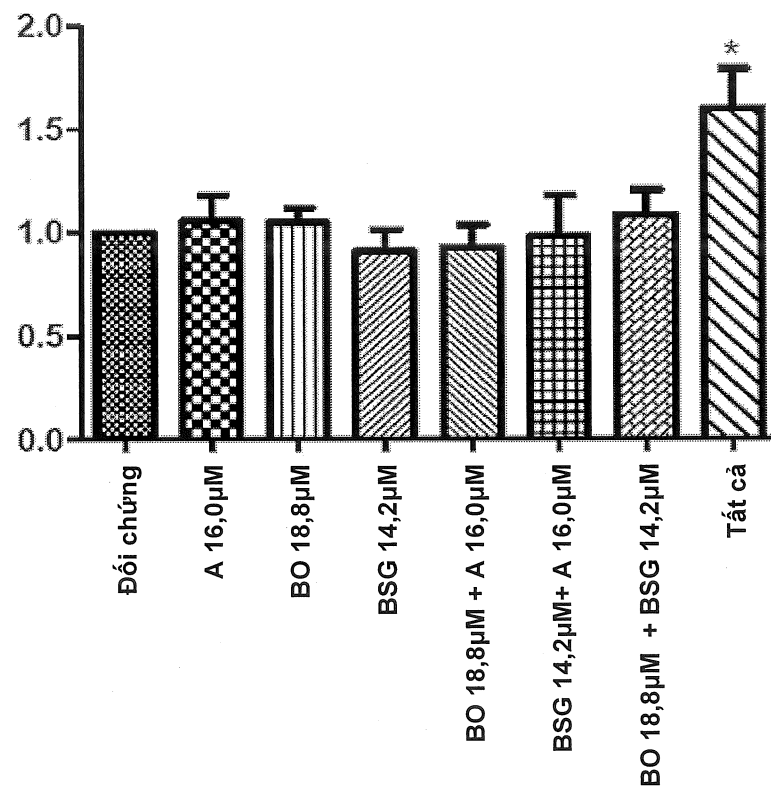


FIG.3B

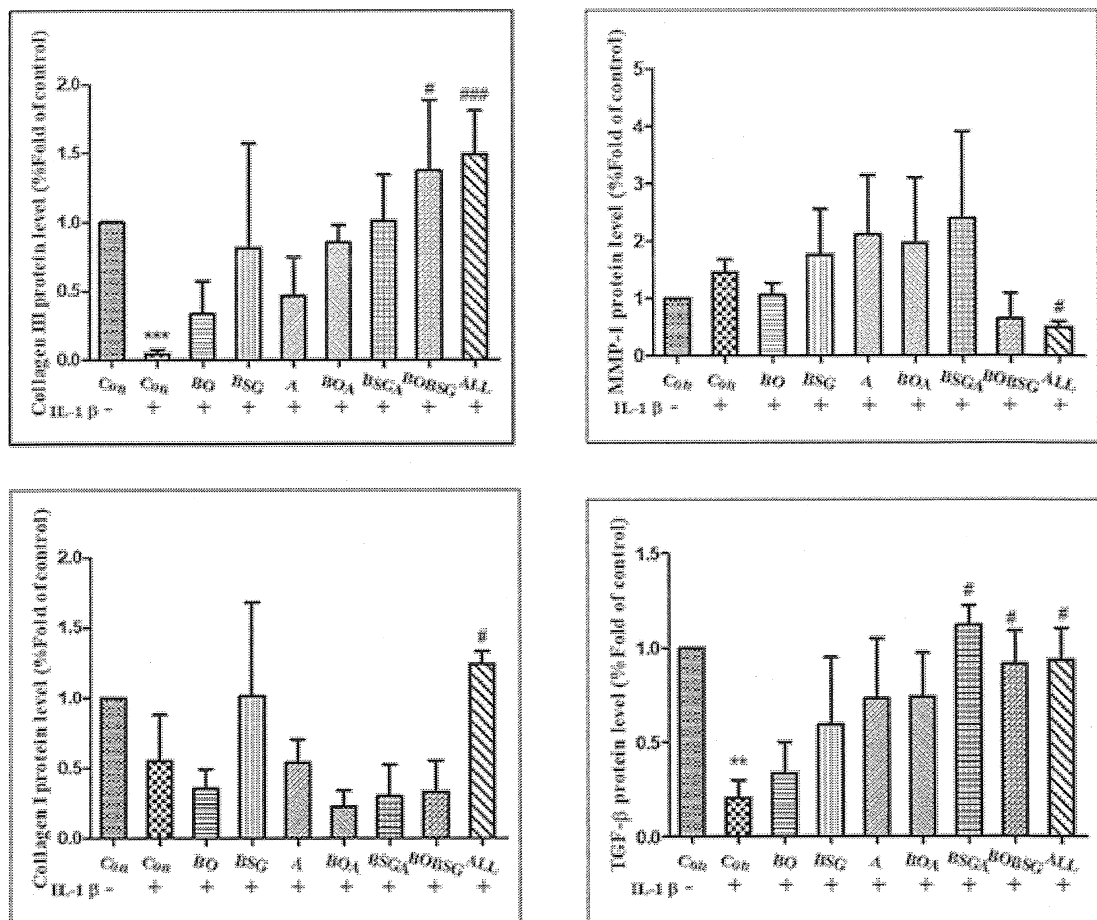
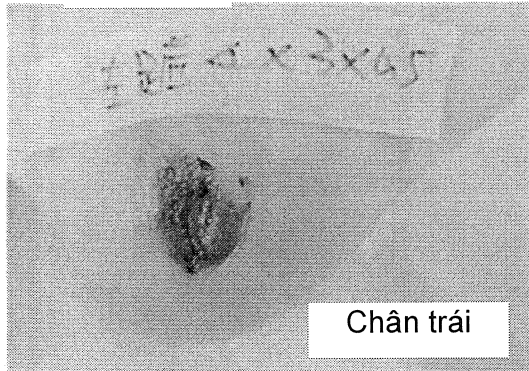


FIG.4

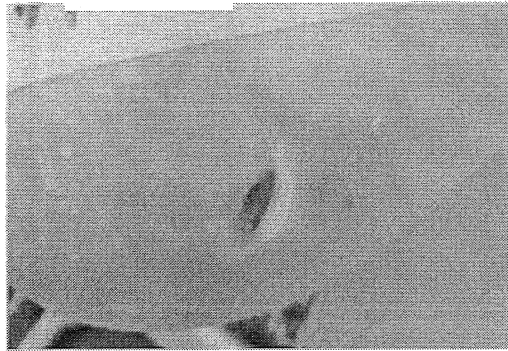
(A) Ngày 0



(B) Ngày 18



(C) Ngày 33



(D) Ngày 79

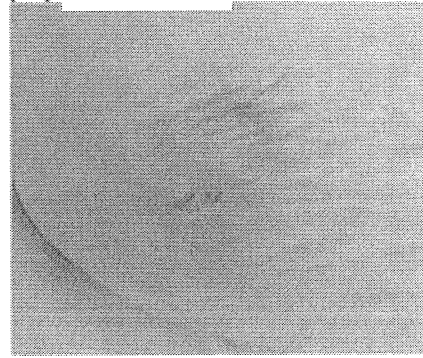


FIG.5

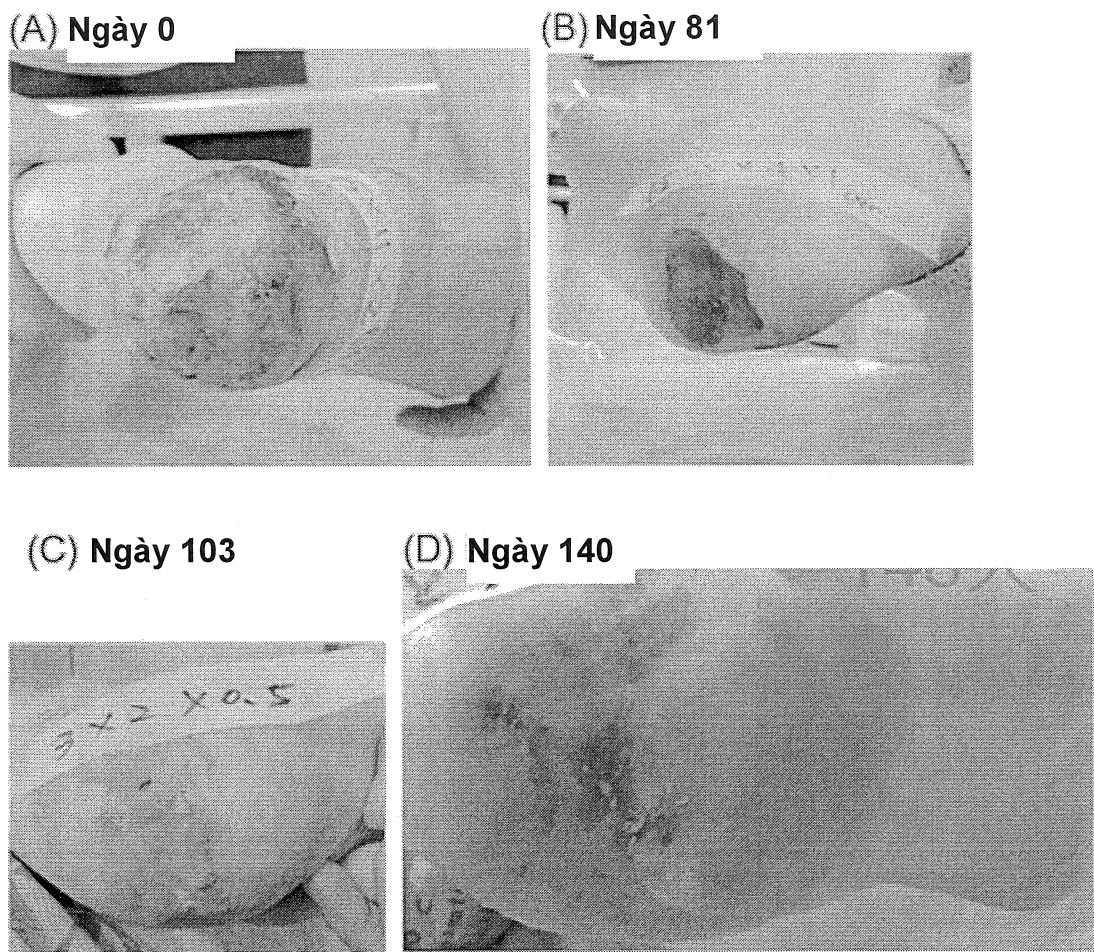
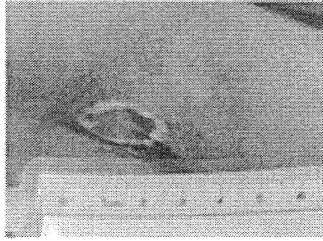
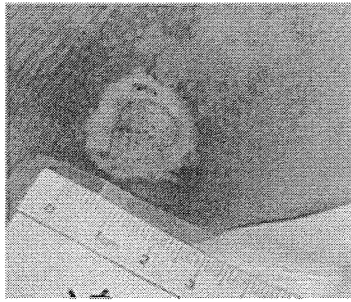
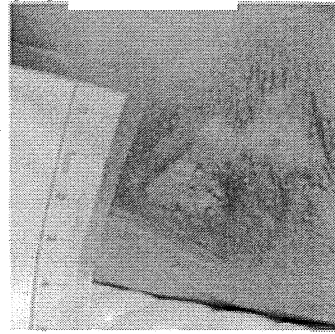


FIG.6

(A) Ngày 0**(B) Ngày 17****(C) Ngày 90****FIG.7**