



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

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

(11)



1-0024665

(51)<sup>7</sup> A61K 41/00; A61K 31/7008; A61P  
17/02; A61K 31/4166; A61K 31/728

(13) B

(21) 1-2011-01453

(22) 06/11/2009

(86) PCT/CA2009/001608 06/11/2009

(87) WO2010/051636A1 14/05/2010

(30) 61/112,235 07/11/2008 US

(45) 27/07/2020 388

(43) 27/02/2012 287A

(73) KLOX TECHNOLOGIES INC. (CA)

759 Square Victoria, Suite 224, Montreal, Quebec H2Y 2J7, Canada

(72) PIERGALLINI, Remigio (IT); LOUPIS, Nikolaos (GR); BELLINI, Francesco (CA).

(74) Công ty TNHH Sở hữu trí tuệ WINCO (WINCO CO., LTD.)

(54) CHẾ PHẨM LÀM LIỀN VẾT THƯƠNG CHỨA CHẤT OXY HÓA VÀ CHẤT QUANG HOẠT

(57) Sáng chế đề xuất chế phẩm làm liền vết thương chứa ít nhất một oxy hoá, ít nhất một chất quang hoạt có thể hoạt hoá chất oxy hoá, và ít nhất một yếu tố làm liền vết thương được chọn từ axit hyaluronic, glucosamin và allantoin, cùng với chất mang dược dụng.

### **Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập**

Sáng chế đề cập đến chế phẩm làm liền vết thương.

### **Tình trạng kỹ thuật của sáng chế**

Quá trình phục hồi vết thương chủ yếu là để khôi phục tính toàn vẹn và chức năng của mô sau khi phẫu thuật hoặc tổn thương do chấn thương. Sự liền vết thương bị chậm lại hoặc sự tách vết thương phẫu thuật là vấn đề đáng kể trong lâm sàng.

Liệu pháp quang động học để điều trị cho da bằng cách sử dụng thuốc nhuộm quang hoạt như erytrosin B, safranin O đã được sử dụng để diệt vi khuẩn, như được Albrecht và các đồng tác giả mô tả trong các Công bố đơn quốc tế số WO 05/032459 và WO 05/021094. Thuốc nhuộm quang hoạt được sử dụng để diệt trực tiếp vi khuẩn. Chế phẩm được mô tả trong các tài liệu này không chứa chất oxy hóa và chất làm liền vết thương, và chúng không được sử dụng để trực tiếp thúc đẩy quá trình làm liền vết thương.

Bằng độc quyền sáng chế Mỹ số US 6.056.548 của Neuberger và các đồng tác giả mô tả phương pháp tiêu diệt vi khuẩn trong khoang miệng và thúc đẩy vấn đề vệ sinh trong má bằng cách sử dụng thuốc nhuộm quang hoạt. Tài liệu này cũng mô tả việc sử dụng chất tẩy trắng là hydro peroxit để tẩy trắng quang và phân hủy thuốc nhuộm quang hoạt được sử dụng để diệt vi khuẩn. Tuy nhiên, các chế phẩm được sử dụng không đề cập đến các chất làm liền vết thương và chúng không được sử dụng để trực tiếp thúc đẩy quá trình liền vết thương.

Công bố đơn quốc tế số WO 08/013962 của Grafe và các đồng tác giả mô tả việc sử dụng chế phẩm chứa collagen và phân tử có thể hoạt hóa quang, temoporfin (mTHPC) để tăng cường liên kết ngang của collagen *in vivo* và làm ổn định cấu trúc vi mô của khung đỡ collagen. Tài liệu này cũng mô tả rằng chế phẩm có tác dụng kháng vi sinh vật, khử trùng vị trí điều trị và kìm hãm sự phát triển của vi sinh vật. Tuy nhiên, các chế phẩm này không chứa chất oxy hóa hoặc chất làm liền vết

thương và do đó thúc đẩy quá trình liền vết thương bằng cách tăng cường khung đỡ collagen được tạo ra và diệt vi khuẩn.

Công bố đơn quốc tế số WO 07/025244 của Houle và các đồng tác giả bộc lộ hệ thống làm sạch và phương pháp tiêu diệt tác nhân gây bệnh có hệ thống cung cấp chất lỏng, chế phẩm chứa chất gây mẫn cảm và dụng cụ chiếu ánh sáng. Dung dịch chứa chất gây mẫn cảm tạo ra các gốc hóa học có khả năng phản ứng, nồng độ của chúng được tăng lên bằng cách tăng áp suất riêng phần của khí oxy.

Mặc dù việc diệt vi khuẩn có mặt ở vị trí bị tổn thương là có lợi cho quá trình liền vết thương nhưng điều này không trực tiếp thúc đẩy sự phục hồi vết thương. Vì thế, rất cần tạo ra chế phẩm mới để làm liền các tổn thương da và vết thương trên da để không chỉ diệt vi khuẩn mà còn cải thiện và thúc đẩy quá trình liền vết thương sau khi bị tổn thương, chấn thương hoặc vết thương do bệnh lý.

### **Bản chất kỹ thuật của sáng chế**

Theo một phương án, sáng chế đề xuất chế phẩm làm liền vết thương chứa ít nhất một chất oxy hóa được chọn từ hydro peroxit, carbamit peroxit và benzoyl peroxit, ít nhất một chất quang hoạt có thể hoạt hóa chất oxy hóa, chất quang hoạt này là eosin; và ít nhất một chất làm liền vết thương được chọn từ axit hyaluronic, glucosamin và allantoin, cùng với chất mang dược dụng.

Chất oxy hóa có thể được chọn từ hydro peroxit, carbamit peroxit và benzoyl peroxit.

Chế phẩm làm liền vết thương có thể còn chứa ít nhất một chất gel hóa ưa nước.

Chất gel hóa ưa nước có thể được chọn từ glucoza, tinh bột biến tính, methyl xenluloza, carboxymethyl xenluloza, propyl xenluloza, hydroxypropyl xenluloza, polyme carbopol®, axit alginic, natri alginat, kali alginat, amoni alginat, canxi alginat, aga, caragenan, gôm đậu locust, pectin, gelatin.

Chất quang hoạt có thể được chọn từ thuốc nhuộm là dẫn xuất xanten, thuốc nhuộm azo, thuốc nhuộm sinh học, và carotenoit.

Thuốc nhuộm là dẫn xuất xanten có thể được chọn từ thuốc nhuộm floren, thuốc nhuộm floron, và thuốc nhuộm rodol.

Thuốc nhuộm floren có thể được chọn từ thuốc nhuộm pyronin và thuốc nhuộm rodamin.

Thuốc nhuộm pyronin có thể được chọn từ pyronin Y và pyronin B.

Thuốc nhuộm rodamin có thể được chọn từ rodamin B, rodamin G và rodamin WT.

Thuốc nhuộm floron có thể được chọn từ floresxein và dẫn xuất floresxein.

Dẫn xuất floresxein có thể được chọn từ phloxin B, thuốc nhuộm hồng bengal, và merbromin.

Dẫn xuất floresxein có thể được chọn từ eosin và erytrosin.

Thuốc nhuộm azo có thể được chọn từ thuốc nhuộm màu tím metyl, thuốc nhuộm màu đỏ trung tính, thuốc nhuộm màu đỏ para, amarant, carmoisin, thuốc nhuộm màu đỏ alura AC, tartrazin, thuốc nhuộm màu da cam Orange G, thuốc nhuộm màu đỏ Ponceau 4R, thuốc nhuộm màu đỏ metyl, và murexit-amoni purpurat.

Thuốc nhuộm sinh học có thể được chọn từ safranin O, bazơ fuchsin, axit fuschin, 3,3' dihexylocarboxyanin iodua, axit carminic, và thuốc nhuộm xanh lá cây indoxyanin.

Carotenoit có thể được chọn từ croxetin,  $\alpha$ -croxin (axit 8,8-diapo-8,8-carotenoic), zeaxantin, lycopene,  $\alpha$ -caroten,  $\beta$ -caroten, bixin, và fucoxantin.

Carotenoit có thể có mặt trong chế phẩm dưới dạng hỗn hợp được chọn từ bột nghệ đỏ, dịch chiết anato và dịch chiết tảo nâu.

Chế phẩm làm liền vết thương có thể còn chứa ít nhất một chất tạo chelat.

Chất tạo chelat có thể được chọn từ axit etylenđiamintetraaxetic (EDTA) và axit etylen glycol tetraaxetic (EGTA).

Chế phẩm làm liền vết thương có thể còn chứa ít nhất một chất kích thích tiêu mỡ.

Chất kích thích tiêu mỡ có thể được chọn từ cafein và paraxantin.

Theo một phương án, sáng chế đề xuất chế phẩm chứa ít nhất một chất oxy hóa được chọn từ hydro peroxit, carbamit peroxit và benzoyl peroxit và ít nhất một chất quang hoạt có thể hoạt hóa chất oxy hóa, chất quang hoạt này là eosin, trong đó chế phẩm này để sử dụng trong việc làm liền vết thương bằng phương pháp bao

gồm các bước: a) bôi chế phẩm nêu trên lên da của bệnh nhân; và b) xử lý da trong bước a) nêu trên bằng ánh sáng quang hóa trong thời gian đủ để chất quang hoạt làm hoạt hóa chất oxy hóa nêu trên.

Phương pháp làm liền vết thương có thể bao gồm bước cho da tiếp xúc với ánh sáng quang hóa trong khoảng thời gian từ 60 giây đến 5 phút.

Phương pháp làm liền vết thương có thể bao gồm bước cho da tiếp xúc với ánh sáng quang hóa trong khoảng thời gian từ 60 giây đến 5 phút cho  $1\text{cm}^2$  diện tích cần điều trị.

Phương pháp làm liền vết thương có thể bao gồm bước cho da tiếp xúc với nguồn ánh sáng quang hóa di chuyển liên tục trên vùng được điều trị.

Phương pháp làm liền vết thương có thể bao gồm bước cho da tiếp xúc với ánh sáng quang hóa có thể là ánh sáng nhìn thấy có bước sóng nằm trong khoảng từ 400nm đến 600nm.

Các thuật ngữ được định nghĩa dưới đây.

Thuật ngữ "chất gel hóa ưa nước" được dùng để chỉ chất làm đặc và làm ổn định dung dịch lỏng, nhũ tương và hỗn dịch. Chất gel hóa ưa nước hòa tan trong chất lỏng và tạo ra cấu trúc làm cho gel thu được có vẻ bề ngoài của chất rắn, trong khi chủ yếu bao gồm chất lỏng. Chất gel hóa ưa nước rất giống với chất làm đặc.

Thuật ngữ "ánh sáng quang hóa" được dùng để chỉ năng lượng ánh sáng phát ra từ nguồn ánh sáng cụ thể (đèn, điốt phát quang (Light Emitting Diode: LED), hoặc laze) và có thể được hấp thụ bởi vật chất (ví dụ, chất quang hoạt được định nghĩa dưới đây) và tạo ra sự thay đổi có thể nhận biết và xác định được khi ánh sáng này tương tác với vật chất; sự thay đổi có thể nhận biết trên lâm sàng có thể là sự thay đổi màu của chất quang hoạt được sử dụng (ví dụ, chuyển từ màu đỏ thành trong suốt).

Thuật ngữ "chất quang hoạt" được dùng để chỉ hợp chất hóa học có thể hấp thụ ánh sáng quang hóa. Chất quang hoạt dễ dàng được kích thích quang và sau đó truyền năng lượng của nó cho các phân tử khác, do đó làm tăng hoặc thúc đẩy sự tán xạ ánh sáng, và hoạt hóa chất oxy hóa có mặt trong hỗn hợp phản ứng.

Thuật ngữ "chất oxy hóa" được dùng để chỉ hợp chất hóa học dễ dàng

chuyển nguyên tử oxy và oxy hóa hợp chất khác, hoặc chất nhận electron trong phản ứng oxy hóa khử.

Thuật ngữ "chất tạo chelat" được dùng để chỉ chất loại bỏ các ion kim loại, như sắt, và giữ các ion này trong dung dịch.

Thuật ngữ "chất làm liền vết thương" được dùng để chỉ hợp chất có tác dụng thúc đẩy hoặc tăng cường quá trình làm liền hoặc tái tạo mô.

Thuật ngữ "tiêu mỡ" được dùng để chỉ quá trình trong đó lipit bị phân hủy thành các axit béo thành phần của nó.

Thuật ngữ "thời gian tiếp xúc với ánh sáng quang hóa" được dùng để chỉ thời gian mà mô, da hoặc vết thương tiếp xúc với ánh sáng quang hóa cho mỗi lần sử dụng ánh sáng quang hóa.

Thuật ngữ "tổng thời gian tiếp xúc với ánh sáng quang hóa" được dùng để chỉ tổng thời gian mô, da hoặc vết thương tiếp xúc với ánh sáng quang hóa sau một số lần sử dụng ánh sáng quang hóa.

Thuật ngữ "chất mang được dụng" được dùng để chỉ dung dịch chất bảo quản, dung dịch nước muối, dung dịch nước muối đẳng trương (khoảng 0,9%), hoặc dung dịch, hỗn dịch albumin 5%, nước vô khuẩn, dung dịch nước muối đậm phosphat, và dung dịch tương tự. Chất đậm, chất phân tán và chất trợ không độc khác thích hợp để sử dụng cho bệnh nhân có thể được đưa vào chế phẩm theo sáng chế. Chế phẩm này có thể là dung dịch, hỗn dịch hoặc dạng thích hợp bất kỳ thích hợp để sử dụng, và thường là vô khuẩn và không chứa chất dạng hạt không mong muốn. Chế phẩm này có thể được tiệt trùng bằng kỹ thuật tiệt trùng thông thường.

Các dấu hiệu và ưu điểm của sáng chế sẽ trở nên rõ ràng hơn dựa vào phần mô tả chi tiết các phương án lựa chọn sau đây. Các hình vẽ và phần mô tả được cho là để minh họa sáng chế và không làm giới hạn sáng chế, và phạm vi đầy đủ của sáng chế được đưa ra trong yêu cầu bảo hộ.

### **Mô tả vắn tắt các hình vẽ**

Fig.1 thể hiện eosin Y không làm ảnh hưởng đến khả năng sống của tế bào. Các tế bào Hep G2 được xử lý trong 24 giờ bằng eosin Y với nồng độ tăng dần (từ

0,001 đến 100 $\mu$ M), hoặc không được xử lý (đối chứng CTL). Staurosporin (STS) được sử dụng làm đối chứng dương để gây chết tế bào. Không thể thử nghiệm eosin Y với nồng độ cao hơn (0,5 và 1mM) do thuốc nhuộm này gây cản trở việc thử nghiệm.

Fig.2 thể hiện erytrosin B không làm ảnh hưởng đến khả năng sống của tế bào. Các tế bào Hep G2 được xử lý trong 24 giờ bằng erytrosin B với nồng độ tăng dần (từ 0,001 đến 100 $\mu$ M), hoặc không được xử lý (đối chứng CTL). Staurosporin (STS) được sử dụng làm đối chứng dương để gây chết tế bào. Không thể thử nghiệm erytrosin B với nồng độ cao hơn (0,5 và 1mM) do thuốc nhuộm này gây cản trở việc thử nghiệm.

Fig.3 thể hiện sự đóng vết thương ban đầu được cải thiện sau khi bôi chế phẩm làm liền vết thương. Số chuột (n=2 con/nhóm) có vết thương do cắt bỏ da được điều trị hoặc không được điều trị bằng chế phẩm làm liền vết thương chứa chất oxy hóa (carbamiit peroxit) và hỗn hợp chất quang hoạt (eosin Y, erytrosin B và bột nghệ đỏ). Ký hiệu hình thoi: chuột được điều trị; hình tròn: chuột không được điều trị (đối chứng).

Fig.4 thể hiện sự đóng vết thương được cải thiện sau khi bôi chế phẩm làm liền vết thương. Số chuột (n=2 con/nhóm) có vết thương do cắt bỏ da được điều trị hoặc không được điều trị bằng chế phẩm làm liền vết thương (A) chứa chất oxy hóa (carbamiit peroxit) và hỗn hợp chất quang hoạt (eosin Y, erytrosin B), chế phẩm làm liền vết thương (B) chứa chất oxy hóa (carbamiit peroxit) và hỗn hợp chất quang hoạt (eosin Y, erytrosin B và bột nghệ đỏ) hoặc chế phẩm làm liền vết thương (C) chứa chất oxy hóa (carbamiit peroxit) và hỗn hợp chất quang hoạt (eosin Y, erytrosin B, bột nghệ đỏ và thuốc nhuộm màu xanh lá cây indoxyanin).

Fig.5 thể hiện sự đóng vết thương được cải thiện sau khi bôi chế phẩm làm liền vết thương. Số chuột (n=2 con/nhóm) có vết thương do cắt bỏ da được điều trị hoặc không được điều trị bằng chế phẩm làm liền vết thương chứa chất oxy hóa (carbamiit peroxit) và hỗn hợp chất quang hoạt (eosin Y, erytrosin B). Ký hiệu hình thoi: chuột được điều trị; hình tam giác: chuột không được điều trị (đối chứng).

Fig.6 thể hiện sự đóng vết thương được cải thiện sau khi bôi chế phẩm làm liền vết thương.

Fig.7 thể hiện quá trình liền vết thương được cải thiện sau khi bôi chế phẩm làm liền vết thương.

### Mô tả chi tiết sáng chế

Theo một phương án, sáng chế đề xuất chế phẩm làm liền vết thương để sử dụng trên da hoặc vết thương của bệnh nhân. Chế phẩm này có tác dụng thúc đẩy quá trình liền da và phục hồi vết thương.

Theo phương án khác, sáng chế đề xuất chế phẩm để sử dụng trong phương pháp quang động, nhờ đó chế phẩm này được hoạt hóa bởi ánh sáng để tạo ra tác dụng có lợi trên da hoặc vết thương và thúc đẩy quá trình liền vết thương.

Chế phẩm này có thể được sử dụng để điều trị tổn thương của các lớp da khác nhau, bao gồm các vết rạch, vết rách, chỗ da bị hót, vết trích thuốc, vết thương xuyên, vết thương súng bắn, vết thâm tím, khối tụ máu và các tổn thương nghiền nát. Các tổn thương đối với niêm mạc cũng có thể được điều trị bằng chế phẩm theo sáng chế, chế phẩm này có thể được sử dụng, ví dụ để điều trị các tổn thương bệnh lý của niêm mạc miệng như viêm nha chu, các vết loét và ecpet môi (ecpet miệng-mặt).

Chế phẩm theo sáng chế chứa nhiều hoạt chất được chọn từ nhóm gồm các thành phần có thể sử dụng. Mỗi hoạt chất khác nhau này có cơ chế tác dụng riêng của chúng.

### Chất oxy hóa

Chế phẩm theo sáng chế chứa chất oxy hóa làm nguồn cung cấp gốc oxy. Hợp chất peroxit là chất oxy hóa chứa nhóm peroxy ( $R-O-O-R$ ), đây là cấu trúc mạch chứa hai nguyên tử oxy, mỗi nguyên tử được liên kết với nguyên tử còn lại và gốc hoặc nguyên tố nào đó. Chất oxy hóa thích hợp để điều chế môi trường hoạt tính bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở:

Hydro peroxit ( $H_2O_2$ ) là chất ban đầu để điều chế peroxit hữu cơ.  $H_2O_2$  là chất oxy hóa mạnh, và đặc tính đáng chú ý của hydro peroxit là nó phân hủy thành nước và oxy và không tạo thành hợp chất dư có độc tính dai dẳng bất kỳ. Hydro peroxit để sử dụng trong chế phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng ở dạng gel,



ví dụ chứa 6% hydro peroxit. Khoảng nồng độ thích hợp của hydro peroxit có thể được sử dụng trong chế phẩm theo sáng chế là từ 3,5% đến 6%.

Ure hydro peroxit (còn được gọi là ure peroxit, carbamit peroxit hoặc percarbamit) là chất dễ tan trong nước và chứa khoảng 35% hydro peroxit. Carbamit peroxit để sử dụng trong chế phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng dưới dạng gel, ví dụ với 16% carbamit peroxit là 5,6% hydro peroxit. Khoảng nồng độ thích hợp của ure peroxit có thể được sử dụng trong chế phẩm theo sáng chế là từ 10% đến 16%. Ure peroxit phân hủy thành ure và hydro peroxit theo cách giải phóng chậm, quá trình phân hủy này có thể được tăng tốc bằng nhiệt hoặc phản ứng quang hóa. Ure giải phóng ra [carbamit,  $(\text{NH}_2)\text{CO}_2$ ] rất dễ tan trong nước và là chất làm biến chất protein mạnh. Nó làm tăng độ tan của một số protein và làm tăng sự tái hydrat hóa của da và/hoặc niêm mạc.

Benzoyl peroxit bao gồm hai nhóm benzoyl (axit benzoic có nguyên tử H của axit carboxylic được loại bỏ) được liên kết bởi nhóm peroxit. Nó được phát hiện để điều trị bệnh trứng cá với nồng độ nằm trong khoảng từ 2,5% đến 10%. Nhóm peroxit giải phóng ra có tác dụng diệt vi khuẩn. Benzoyl peroxit cũng thúc đẩy quá trình thay thế da và xóa lỗ chân lông, điều này cũng góp phần làm giảm lượng vi khuẩn và giảm tình trạng trứng cá. Benzoyl peroxit phân hủy thành axit benzoic và oxy khi tiếp xúc với da, không chất nào trong số này là chất độc. Khoảng nồng độ thích hợp của benzoyl peroxit có thể được sử dụng trong chế phẩm theo sáng chế là từ 2,5% đến 5%.

Không nên đưa các loại peroxit khác (ví dụ, peroxit hữu cơ hoặc vô cơ) vào chế phẩm theo sáng chế do độc tính cao của chúng và khả năng phản ứng không đoán trước được của chúng cùng với sự truyền năng lượng quang động.

#### Chất quang hoạt

Chất quang hoạt truyền năng lượng ánh sáng cho chất oxy hóa. Chất quang hoạt thích hợp có thể là thuốc nhuộm huỳnh quang, mặc dù các loại thuốc nhuộm khác (thuốc nhuộm sinh học và thuốc nhuộm mô, chất màu thực phẩm, carotenoid) cũng có thể được sử dụng. Việc kết hợp các chất quang hoạt có thể làm tăng khả năng hấp thụ quang của các phân tử thuốc nhuộm được kết hợp và tăng khả năng

hấp thụ và độ chọn lọc điều biến quang-sinh học. Điều này tạo ra nhiều khả năng điều chế hỗn hợp chất quang hoạt nhạy quang và/hoặc chọn lọc quang mới.

Đặc điểm có lợi của chất quang hoạt là làm gia tăng sự phát huỳnh quang. Theo sáng chế, sự phát xạ lại ánh sáng trong phổ từ màu xanh lá cây đến màu vàng sẽ có lợi, do đây là khoảng bước sóng có khả năng thẩm thấu sâu, với khả năng hấp thụ sâu bởi máu. Điều này làm tăng mạnh lưu lượng máu, hiện tượng giãn mạch và mạch động học. Cách chất quang hoạt thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở:

#### Dẫn xuất xanten

Thuốc nhuộm là dẫn xuất xanten đã được sử dụng và thử nghiệm trong thời gian dài trên thế giới. Chúng có độc tính thấp và mức phát huỳnh quang cao. Nhóm xanten bao gồm 3 phân nhóm là: a) floren; b) floron; và c) rodol.

Nhóm floren bao gồm pyronin (ví dụ, pyronin Y và B) và rodamin (ví dụ, rodamin B, G và WT). Tùy thuộc vào nồng độ được sử dụng, cả pyronin và rodamin có thể đều có độc tính và sự tương tác của chúng với ánh sáng có thể làm tăng tính độc. Tác động tương tự được biết là xảy ra với nhóm thuốc nhuộm rodol.

Nhóm floron bao gồm thuốc nhuộm floresxein và dẫn xuất floresxein.

Floresxein là chất huỳnh quang thường được sử dụng trong phương pháp soi kính hiển vi có bước sóng hấp thụ tối đa bằng 494nm và bước sóng phát xạ tối đa bằng 521nm. Muối dinatri của floresxein được gọi là thuốc nhuộm màu vàng D&C Yellow 8. Nó có mức độ phát huỳnh quang rất cao nhưng lại phân hủy quang nhanh. Trong chế phẩm theo sáng chế, hỗn hợp của floresxein với các chất quang hoạt khác như thuốc nhuộm màu xanh lá cây indoxyanin và/hoặc bột nghệ đỏ sẽ làm tăng khả năng hấp thụ quang cho các hợp chất khác này.

Nhóm eosin bao gồm eosin Y (tetrabromofloresxein, thuốc nhuộm axit Red 87, D&C Red 22) có bước sóng hấp thụ tối đa 514-518 nm, sẽ nhuộm màu đỏ đậm bào tương, collagen, sợi cơ và tế bào hồng cầu; và eosin B (thuốc nhuộm axit Red 91, eosin scarlet, dibromo-dinitrofloresxein) có đặc trưng nhuộm màu giống eosin Y. Eosin Y, eosin B, hoặc hỗn hợp hai eosin này có thể được sử dụng do chúng nhạy với phổ ánh sáng được sử dụng: ánh sáng màu xanh da trời phổ rộng, ánh

sáng có màu từ xanh da trời đến xanh lá cây và ánh sáng màu xanh lá cây. Đặc tính nhuộm mô và màng sinh học của chúng và độc tính thấp của chúng cũng có lợi. Cả eosin Y và eosin B đều nhuộm màu tế bào hồng cầu và do đó làm cho chế phẩm theo sáng chế có đặc tính cầm máu (kiểm soát dòng máu hoặc làm ngừng dòng máu) cũng như tăng sự hướng đích chọn lọc của ánh sáng vào mô mềm của tổn thương hoặc vết thương trong quá trình sử dụng chế phẩm này.

Phloxin B (2,4,5,7 tetrabromo 4,5,6,7,tetraclofloresxein, D&C Red 28, axit Red 92) là dẫn xuất thuốc nhuộm màu đỏ của floresxein được sử dụng để khử trùng và khử độc nước thải thông qua quá trình quang oxy hóa. Nó có bước sóng hấp thụ tối đa bằng 535-548 nm. Nó còn được sử dụng làm hợp chất trung gian để điều chế thuốc nhuộm và dược chất nhạy quang.

Erytrosin B (axit red 51, tetraiodofloresxein) là thuốc nhuộm thực phẩm florin có màu hồng anh đào trên cơ sở than đá được sử dụng làm thuốc nhuộm sinh học, và màng sinh học và chất phát hiện mảng bám răng, có bước sóng hấp thụ tối đa bằng 524-530 nm trong dung dịch nước. Chất này bị phân hủy quang. Erytrosin còn được sử dụng trong một số phương án do tính nhạy sáng của nó với phổ ánh sáng được sử dụng và khả năng nhuộm màng sinh học của nó. Việc đưa erytrosin vào chế phẩm là có lợi khi sử dụng chế phẩm này trong các túi mô bị nhiễm trùng hoặc nhiễm khuẩn sâu, như túi viêm nha chu trong điều trị bệnh nha chu.

Thuốc nhuộm màu hồng bengal (4,5,6,7 tetraclo 2,4,5,7 tetraiodofloresxein, axit red 94) là thuốc nhuộm sinh học màu hồng hơi xanh sáng có bước sóng hấp thụ tối đa bằng 544-549 nm, đã được sử dụng làm thuốc nhuộm, thuốc nhuộm sinh học và chất hỗ trợ chẩn đoán. Chất này cũng được sử dụng trong ngành hóa tổng hợp để tạo oxy mức đơn từ oxy mức ba.

Merbromin (thuốc đỏ) là muối hữu cơ-thủy ngân dinatri của floresxein có bước sóng hấp thụ tối đa bằng 508 nm. Chất này được sử dụng làm chất sát trùng.

#### Thuốc nhuộm azo

Thuốc nhuộm azo (hoặc diazo) đều có nhóm N-N, được gọi là nhóm azo. Chúng được sử dụng chủ yếu trong ngành hóa phân tích hoặc sử dụng làm chất màu thực phẩm và không phát huỳnh quang. Thuốc nhuộm azo thích hợp bao gồm:

thuốc nhuộm màu tím metyl, thuốc nhuộm màu đỏ trung tính, thuốc nhuộm màu đỏ para (pigment red 1), amaranth (Azorubine S), Carmoisin (azorubine, food red 3, axit red 14), thuốc nhuộm màu đỏ alura AC (FD&C 40), tartrazin (FD&C Yellow 5), thuốc nhuộm màu da cam Orange G (axit orange 10), thuốc nhuộm màu đỏ Ponceau 4R (food red 7), thuốc nhuộm màu đỏ metyl (axit red 2), murexit-amoni purpurat.

### Thuốc nhuộm sinh học

Phân tử thuốc nhuộm thường được sử dụng trong các quy trình nhuộm vật liệu sinh học cũng có thể được sử dụng làm chất quang hoạt. Thuốc nhuộm sinh học thích hợp bao gồm:

Safranin (Safranin O, thuốc nhuộm bazơ red 2) cũng là thuốc nhuộm azo và được sử dụng trong lĩnh vực mô học và tế bào học. Đây là một thuốc nhuộm thông thường trong quy trình nhuộm Gram.

Fuchsin (bazơ hoặc axit) (rosanilin hydroclorua) là thuốc nhuộm sinh học màu đỏ tươi có thể nhuộm vi khuẩn và đã được sử dụng làm chất sát trùng. Nó có bước sóng hấp thụ cực đại 540-555 nm.

3,3'-Dihexylocarboxyanin iodua (DiOC6) là thuốc nhuộm huỳnh quang được sử dụng để nhuộm lưới nội bào tương, túi màng và ty thể. Nó có tính độc quang động; khi tiếp xúc với ánh sáng màu xanh da trời, nó phát huỳnh quang màu xanh lá cây.

Axit carminic (thuốc nhuộm màu đỏ axit red 4, thuốc nhuộm màu đỏ tự nhiên red 4) là thuốc nhuộm màu đỏ glucosit hydroxyantrapurin thu được trong tự nhiên từ rệp son.

Thuốc nhuộm màu xanh lá cây indoxyanin (ICG) được sử dụng làm chất hỗ trợ chẩn đoán để xác định thể tích máu, lưu lượng máu qua tim, hoặc chức năng gan. ICG liên kết mạnh với tế bào hồng cầu và khi được sử dụng kết hợp với florescein, nó làm tăng sự hấp thụ của ánh sáng trong phổ từ xanh da trời đến xanh lá cây.

### Carotenoit

Thuốc nhuộm carotenoit cũng có thể có tác dụng làm chất quang hoạt.

Bột nghệ đỏ là hợp chất chứa carotenoit tự nhiên. Nghệ là một gia vị thu được từ cây nghệ tây. Nó đặc trưng bởi vị đắng và mùi thơm giống cỏ khô hoặc iodofom; mùi và vị này là do các hợp chất picrocroxin và safranal. Nó còn chứa croxin là thuốc nhuộm carotenoit tạo màu vàng đỏ đặc trưng.

Nghệ chứa trên 150 hợp chất khác nhau, nhiều hợp chất trong số chúng là carotenoit: mangicroxin, reaxantin, lycopene, và các  $\alpha$ - và  $\beta$ -caroten khác nhau, có khả năng hấp thụ ánh sáng tốt và có hoạt tính sinh học có lợi. Nghệ có thể có tác dụng như chất truyền photon và chất làm liền vết thương. Màu của nghệ chủ yếu là do  $\alpha$ -croxin (axit 8,8 diapo-8,8- carotenoit). Bột nghệ đỏ khô rất nhạy với sự thay đổi của độ pH và phân hủy hóa học nhanh với sự có mặt của ánh sáng và chất oxy hóa. Nó bền với nhiệt hơn. Dữ liệu cho thấy rằng nghệ có đặc tính chống ung thư, điều biến miễn dịch và chống oxy hóa. Mức độ hấp thụ được xác định với bước sóng photon đặc trưng của croxin là 440 nm (ánh sáng màu xanh da trời). Nó có màu đỏ thẫm và tạo ra tinh thể có điểm nóng chảy bằng 186°C. Khi hòa tan trong nước, nó tạo ra dung dịch màu da cam.

Croxetin là một hợp chất khác của nghệ được phát hiện là có tác dụng chống tăng lipid huyết và tăng sự thẩm oxy trong các mô khác nhau. Cụ thể hơn, đã quan sát được mức độ oxy hóa tăng của tế bào nội mô mao mạch. Sự tăng mức độ oxy hóa cơ và vỏ não được quan sát và dẫn tới làm tăng tỷ lệ sống sót ở chuột thử nghiệm bị sốc do xuất huyết hoặc tràn khí.

Anato là gia vị có thành phần chính là carotenoit bixin (70-80%) có đặc tính chống oxy hóa thích hợp.

$\beta$ -Caroten cũng có các đặc tính thích hợp.

Fucoxantin là một thành phần của tảo nâu có khả năng cảm quang các phản ứng oxy hóa khử.

#### Chất làm liền vết thương

Chất làm liền vết thương bao gồm các hợp chất có tác dụng thúc đẩy hoặc làm tăng quá trình làm liền vết thương hoặc tái sinh mô ở vị trí bôi chế phẩm theo sáng chế. Trong quá trình hoạt hóa quang chế phẩm này, có sự tăng khả năng hấp thụ của các phân tử ở vị trí da hoặc niêm mạc được điều trị. Sự tăng dòng máu ở vị

trí điều trị được quan sát trong khoảng thời gian nhất định. Sự tăng mức độ dẫn lưu bạch huyết và sự thay đổi cân bằng thẩm thấu có thể xảy ra do tương tác động học giữa các tầng gốc tự do có thể được gia tăng hoặc thậm chí mạnh lên khi đưa chất làm liền vết thương vào chế phẩm. Các chất làm liền vết thương thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở:

Axit hyaluronic (hyaluronan, hyaluronat): là glycosaminoglycan không sulfat hóa được phân bố rộng rãi trong các mô liên kết, biểu mô và mô thần kinh. Đây là một trong các thành phần chính của chất nền ngoại bào, và góp phần đáng kể vào quá trình tăng sinh và di cư tế bào. Hyaluronan là thành phần chính của da, nó tham gia vào quá trình hồi phục mô. Mặc dù có nhiều trong chất nền ngoại bào, nó góp phần vào quá trình thủy động lực học của mô, sự di chuyển và tăng sinh của tế bào và tham gia vào rất nhiều quá trình tương tác của thụ thể bề mặt tế bào, đặc biệt là các tương tác chứa thụ thể sơ cấp CD44. Enzym hyaluronidaza làm phân hủy hyaluronan. Có ít nhất bảy loại enzym tương tự hyaluronidaza ở người, một số enzym trong số chúng là chất ức chế khối u. Sản phẩm phân hủy axit hyaluronic là oligosacarit và axit hyaluronic có trọng lượng phân tử rất thấp, có đặc tính thúc đẩy sự tạo mạch. Ngoài ra, các nghiên cứu gần đây cho thấy rằng các mảnh hyaluronan, chứ không phải hyaluronan tự nhiên có trọng lượng phân tử cao, có thể gây phản ứng viêm trong các đại thực bào và tế bào đuôi gai trong tổn thương mô. Axit hyaluronic là rất thích hợp trong các ứng dụng đối với da. Do có tính tương hợp sinh học tốt, nó được sử dụng để kích thích tái tạo mô. Các thử nghiệm hiện nay cho thấy axit hyaluronic xuất hiện trong các giai đoạn đầu của quá trình liền vết thương giúp cho các tế bào bạch cầu làm trung gian cho phản ứng miễn dịch. Nó được sử dụng để tạo khung đỡ sinh học cho các ứng dụng làm liền vết thương và điều trị nếp nhăn.

Glucosamin là một trong số các monosacarit có nhiều nhất trong mô người và là tiền chất trong quá trình tổng hợp sinh học protein glycosyl hóa và lipit. Nó thường được sử dụng để điều trị bệnh viêm xương-khớp. Dạng thường được sử dụng của glucosamin là muối sulfat của nó. Glucosamin có nhiều tác dụng bao gồm hoạt tính chống viêm, kích thích quá trình tổng hợp proteoglycan và tổng hợp enzym thủy phân protein. Khoảng nồng độ thích hợp của glucosamin có thể được

sử dụng trong chế phẩm theo sáng chế là từ 1% đến 3%.

Alantoin là diureit của axit glycolic. Nó có tác dụng làm tróc lớp sừng da, làm tăng lượng nước của chất nền ngoại bào, làm tăng sự tróc vảy của các lớp ngoài cùng của tế bào da chết (chết theo chương trình), và thúc đẩy quá trình tăng sinh của da và liền vết thương.

Ngoài ra, nghệ có thể có tác dụng cả như chất truyền photon lẫn chất làm liền vết thương.

#### Chất tạo chelat

Chất tạo chelat có thể được đưa vào chế phẩm để giúp loại bỏ lớp bẩn trong các túi nhiễm trùng kín và tổn thương khó tiếp cận; có tác dụng như chất khóa ion kim loại và chất đệm. Các chất tạo chelat thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở:

Axit etylenđiaminotetraaxetic (EDTA): đây là axit amin được sử dụng để chelat hóa ion kim loại hóa trị hai và ba. EDTA liên kết với kim loại qua nhóm carboxylat ở vị trí 4 và nhóm amin ở vị trí 2. EDTA tạo phức chất rất mạnh với Mn(III), Fe(III), Cu(III), Co(III), có tác dụng ngăn ngừa sự kết tụ tiểu cầu và tạo cục máu đông. Axit này được sử dụng trong điều trị nội nha để làm chất loại bỏ lớp mủn ngà trong quá trình cấy răng. Axit này được sử dụng cho dung dịch đệm.

Axit etylen glycol tetraaxetic (EGTA) có liên quan đến EDTA, nhưng có ái lực đối với ion canxi cao hơn nhiều so với ion magie. Nó có thể dùng để điều chế dung dịch đệm giống với môi trường bên trong tế bào sống và thường được sử dụng trong nha khoa, cụ thể hơn là nội nha để loại bỏ lớp mủn ngà.

#### Chất kích thích tiêu mỡ

Chất kích thích tiêu mỡ có thể được đưa vào để sử dụng chế phẩm này trong các ứng dụng mỹ phẩm, như điều trị nếp nhăn.

Cafein, và dẫn xuất chuyển hóa paraxantin của cafein có thể làm tăng quá trình tiêu mỡ để giải phóng glyxerol và axit béo vào dòng máu.

#### Chất gel hóa ưa nước

Chế phẩm làm liền vết thương cũng có thể chứa một hoặc nhiều chất gel hóa

ura nước. Chất gel hóa ura nước làm tăng tính đồng nhất của chế phẩm và giúp dễ dàng sử dụng chế phẩm này cho da hoặc vùng bị tổn thương. Ngoài ra, khi được sử dụng cùng với hydro peroxit ( $H_2O_2$ ), chất này có thể góp phần làm chậm quá trình giải phóng  $H_2O_2$ , và tạo phản ứng tức thì hơn do  $H_2O_2$  tinh khiết có thể được sử dụng trực tiếp. Chất gel hóa ura nước thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, glucoza, tinh bột biến tính, metyl xenluloza, carboxymetyl xenluloza, propyl xenluloza, hydroxypropyl xenluloza, polyme carbopol®, axit alginic, natri alginat, kali alginat, amoni alginat, canxi alginat, aga, caragenan, gôm đậu Carob, pectin, và gelatin.

#### Sử dụng chế phẩm

Việc đưa hợp chất nhạy quang thích hợp vào chế phẩm và hoạt hóa bằng nguồn ánh sáng có bước sóng thích hợp dẫn tới làm tăng quá trình phân hủy nguồn peroxit (chất oxy hóa) và các phản ứng khác xảy ra thông qua hiện tượng quang động. Thuốc nhuộm chứa trong chế phẩm được chiếu bằng photon có bước sóng nhất định và được kích thích tới trạng thái năng lượng cao hơn. Khi các electron được kích thích của chất quang hoạt trở về trạng thái năng lượng thấp hơn, chúng sẽ phát ra photon có mức năng lượng thấp hơn, do đó gây ra hiện tượng phát xạ ánh sáng có bước sóng dài hơn (hiện tượng dịch chuyển Stokes). Trong môi trường thích hợp, phần lớn sự chuyển năng lượng này được truyền cho oxy hoặc hydro peroxit có khả năng phản ứng và tạo thành gốc oxy, như oxy mức đơn.

Oxy mức đơn và các loại oxy có khả năng phản ứng khác được tạo ra bằng cách hoạt hóa chế phẩm này được cho hoạt động theo kiểu hiệu ứng kích thích của chất độc. Tức là tác dụng có lợi cho sức khỏe được mang lại bởi sự tiếp xúc với sự kích thích độc thông thường ở mức thấp (ví dụ, oxy có khả năng phản ứng) bằng cách kích thích và điều biến con đường đáp ứng stress trong tế bào của mô đích. Phản ứng nội sinh đối với các gốc tự do ngoại sinh (gốc oxy có khả năng phản ứng) được điều biến với khả năng bảo vệ cao chống lại các gốc tự do ngoại sinh và thúc đẩy quá trình liền vết thương và tái tạo mô. Ngoài ra, việc hoạt hóa chế phẩm này cũng sẽ tạo ra tác dụng kháng khuẩn. Tính rất mẫn cảm của vi khuẩn khi tiếp xúc với gốc tự do làm cho chế phẩm theo sáng chế trên thực tế là một chế phẩm diệt



khuẩn.

Cơ chế tác dụng có thể xảy ra là hiện tượng truyền tín hiệu oxy hóa khử được tăng cường dẫn đến làm tăng quá trình truyền tín hiệu trong đó tế bào biến đổi một loại tín hiệu thành tín hiệu khác; "các thông tin thứ cấp" được hoạt hóa sẽ tạo ra "dòng thác tín hiệu" bắt đầu với các kích thích tương đối nhỏ để tạo ra đáp ứng lớn thông qua việc khuếch đại các tín hiệu này bằng cơ chế sinh học. Cơ chế phức tạp này có thể liên quan đến hiện tượng tạo mạch thông qua việc hoạt hóa yếu tố sinh trưởng.

Phương pháp này có thể được mô tả dưới dạng liệu pháp điều trị quang động. Tuy nhiên, khác với các kỹ thuật quang động khác trong đó chất hoạt hóa quang được đưa vào cấu trúc mô, trong phương pháp này, chất hoạt hóa quang chỉ đơn giản là tiếp xúc với mô và có tác dụng khi được hoạt hóa bởi ánh sáng, như "thiết bị quang động" tương tác hóa học với mô. Ngoài ra, ánh sáng quang hóa thấm vào mô, và ánh sáng phát xạ bởi chất quang hoạt (ánh sáng có bước sóng dài hơn) cũng được hấp thụ bởi mô.

Nguồn ánh sáng quang hóa bất kỳ có thể được sử dụng. Loại đèn halogen, đèn LED hoặc đèn plasma hồ quang, hoặc laze có thể là thích hợp. Đặc trưng chủ yếu của nguồn ánh sáng quang hóa thích hợp là chúng phát ra ánh sáng ở bước sóng (hoặc các bước sóng) thích hợp để hoạt hóa một hoặc nhiều chất quang hoạt có mặt trong chế phẩm. Theo một phương án, laze argon được sử dụng. Theo một phương án khác, laze kali-titanyl phosphat (KTP) (ví dụ, laze GreenLight™) được sử dụng. Theo một phương án khác nữa, thiết bị hóa rắn quang LED là nguồn ánh sáng quang hóa. Theo một phương án khác nữa, nguồn ánh sáng quang hóa là nguồn ánh sáng nhìn thấy có bước sóng nằm trong khoảng từ 400 đến 600 nm. Ngoài ra, nguồn ánh sáng quang hóa phải có mật độ công suất thích hợp. Mật độ công suất thích hợp của nguồn sáng không chuẩn trực (đèn LED, đèn halogen hoặc plasma) nằm trong khoảng từ 900 mW/cm<sup>2</sup> đến 2000 mW/cm<sup>2</sup>. Mật độ công suất thích hợp của nguồn ánh sáng laze nằm trong khoảng từ 0,5 mW/cm<sup>2</sup> đến 0,8 mW/cm<sup>2</sup>.

Thời gian tiếp xúc với ánh sáng quang hóa sẽ phụ thuộc vào bề mặt của vùng được điều trị và vào loại tổn thương, chấn thương hoặc vết thương được điều

trị. Sự hoạt hóa quang chế phẩm này có thể xảy ra trong vài giây hoặc thậm chí một phần giây, nhưng thời gian tiếp xúc kéo dài là có lợi để khai thác tác dụng hiệp đồng của ánh sáng hấp thụ, phản xạ và phát xạ lại trên chế phẩm theo sáng chế và sự tương tác của nó với mô được điều trị. Theo một phương án, thời gian tiếp xúc với ánh sáng quang hóa của mô, da hoặc vết thương mà trên đó chế phẩm làm liền vết thương được sử dụng nằm trong khoảng từ 60 giây đến 5 phút. Theo một phương án khác, thời gian tiếp xúc với ánh sáng quang hóa của mô, da hoặc vết thương mà trên đó chế phẩm làm liền vết thương được sử dụng nằm trong khoảng từ 60 giây đến 5 phút cho  $1\text{cm}^2$  diện tích cần điều trị, nên tổng thời gian tiếp xúc của  $10\text{cm}^2$  sẽ nằm trong khoảng từ 10 phút đến 50 phút. Theo một phương án khác nữa, nguồn ánh sáng quang hóa di chuyển liên tục trên vùng được điều trị trong thời gian tiếp xúc thích hợp. Theo một phương án khác nữa, tiến hành sử dụng nhiều lần chế phẩm làm liền vết thương và ánh sáng quang hóa. Theo một số phương án, mô, da hoặc vết thương tiếp xúc với ánh sáng quang hóa ít nhất hai, ba, bốn, năm hoặc sáu lần. Theo một số phương án, chế phẩm làm liền vết thương được bôi mới trước khi tiếp xúc với ánh sáng quang hóa.

### Ví dụ thực hiện sáng chế

#### Ví dụ I

Chế phẩm làm liền vết thương làm ví dụ được bào chế bằng cách trộn các thành phần sau:

| Chất oxy hóa           | Chất quang hoạt                                              | Chất làm liền vết thương                       |
|------------------------|--------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|
| Carbamit peroxit (16%) | Erytrosin B (0,5%)<br>Eosin B (0,25%)<br>Bột nghệ đỏ (0,25%) | Glucosamin sulfat (3%)<br>Axit hyaluronic (3%) |

Chất oxy hóa (4ml) và chất làm liền vết thương (1,5ml) được trộn và kết hợp với chất quang hoạt (1ml). Chế phẩm thu được được bôi cho da của bệnh nhân có vết thương và hoạt hóa bằng ánh sáng quang hóa được cung cấp bởi thiết bị hóa rắn quang sử dụng công nghệ LED (ánh sáng màu xanh da trời). Chế phẩm này được

loại bỏ sau khi điều trị.

#### Ví dụ II

Chế phẩm làm liền vết thương làm ví dụ thứ hai được bào chế bằng cách trộn các thành phần sau:

| Chất oxy hóa            | Chất quang hoạt                                                             | Chất làm liền vết thương                       |
|-------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|
| Carbarnit peroxit (16%) | Floresxein<br>Thuốc nhuộm màu xanh lá cây indoxyanin<br>Bột nghệ đỏ (0,25%) | Glucosamin sulfat (3%)<br>Axit hyaluronic (3%) |

Chất oxy hóa (4ml) và chất làm liền vết thương (1,5ml) được trộn và kết hợp với chất quang hoạt (1ml). Chế phẩm thu được được bôi cho da của bệnh nhân có vết thương, và hoạt hóa bằng ánh sáng quang hóa được cung cấp bởi thiết bị hóa rắn quang sử dụng công nghệ LED (ánh sáng màu xanh da trời). Chế phẩm này được loại bỏ sau khi điều trị.

Chế phẩm thứ hai này sử dụng thuốc nhuộm floresxein làm chất quang hoạt cho các thuốc nhuộm khác (thuốc nhuộm màu xanh lá cây indoxyanin và bột nghệ đỏ) có mặt trong chế phẩm. Việc bổ sung một lượng nhỏ floresxein vào dung dịch thuốc nhuộm màu xanh lá cây indoxyanin và bột nghệ đỏ gây phát xạ lại ánh sáng ở các bước sóng làm hoạt hóa các thuốc nhuộm khác và cải thiện hiệu quả điều trị bằng cách tăng mức hấp thụ/phát xạ lại trên lâm sàng.

Thuốc nhuộm màu xanh lá cây indoxyanin liên kết rất tốt với hemoglobin và giúp mô hấp thụ năng lượng chọn lọc và còn giúp các tầng gốc tự do tạo ra hướng vào các mô này. Ngoài ra, hỗn hợp chất quang hoạt này có thể làm cho thuốc nhuộm là nghệ đỏ phát huỳnh quang, điều này lại làm cải thiện cả hiện tượng quang động và kích thích sinh học.

#### Ví dụ III

Độc tính của chất quang hoạt eosin Y và erytrosin B được đánh giá bằng cách xác định tính độc tế bào của các hợp chất này trên tế bào của người. Tế bào caxinom gan người Hep G2 có hình thái học biểu mô được xử lý trong 24 giờ bằng

eosin Y hoặc erytrosin B với nồng độ tăng dần (từ 0,001 đến 100 $\mu$ M), và tỷ lệ sống sót của tế bào được đánh giá. Nồng độ tăng dần của eosin Y (Fig.1) hoặc erytrosin B (Fig.2) không làm ảnh hưởng đến khả năng sống của tế bào so với tế bào không được xử lý. Staurosporin (STS) được sử dụng làm đối chứng dương để gây chết tế bào và gây ra tác dụng phụ thuộc liều dùng (Fig.1 và Fig.2). Kết quả tương tự thu được bằng cách xác định sự chết tế bào bằng mức độ giải phóng lactat dehydrogenaza (LDH). Do đó, cả eosin Y lẫn erytrosin B đều không làm tăng tỷ lệ chết tế bào.

#### Ví dụ IV

Mô hình vết thương do cắt bỏ da ở chuột

Các vạt da ghép ngẫu nhiên ở chuột được sử dụng để thử nghiệm quá trình liền vết thương, để đánh giá lợi ích của phương pháp tiên thích nghi về mặt thiếu máu cục bộ và được lý đối với tỷ lệ sống sót của vạt da ghép, sử dụng công nghệ đánh giá lưu lượng máu đối với vạt da, chứng minh hiệu quả của sun mạch và thử nghiệm về khả năng sống của vạt da ghép. Mô hình vạt da ghép ngẫu nhiên được sử dụng để thử nghiệm hiệu quả của chế phẩm theo sáng chế đối với tỷ lệ sống sót của vạt da ghép và khả năng thích ứng liên quan góp phần vào quá trình liền vết thương.

Vết cắt bỏ da rộng 1cm và dài 2cm được cắt ở phần lưng trên đường giữa lưng, dưới góc dưới của xương vai 2cm. Da được cắt bằng dao phẫu thuật, mô mỡ dưới da và lớp mô mỡ dưới da dày 0,5cm tính từ bờ vết thương được cắt bỏ. Tiếp đó, vết thương được chụp ảnh phần đánh dấu có kích thước 8 mm x 8 mm. 1g chế phẩm làm liền vết thương được bôi lên vết thương (0,5 g/cm<sup>2</sup>) và vết thương này được chiếu ánh sáng LED màu xanh da trời trong 3 phút.

#### Ví dụ V

Tiến hành tạo vết cắt bỏ da trên chuột (n=2 con/nhóm) như đã mô tả trên đây trong Ví dụ IV và các vết thương này được điều trị hoặc không được điều trị bằng cách chỉ bôi 1g chế phẩm làm liền vết thương chứa chất oxy hóa (carbamid peroxit) và hỗn hợp chất quang hoạt chứa eosin Y, erytrosin B và bột nghệ đỏ. Các vết thương được chiếu ánh sáng LED (ánh sáng màu xanh da trời) trong 3 phút. Tỷ lệ

% đóng vết thương được đánh giá (Fig.3) trong khoảng thời gian 10 ngày sau khi điều trị. Các con chuột được điều trị bằng chế phẩm nêu trên có sự liền vết thương nhanh hơn trong khoảng thời gian ba ngày đầu tiên sau khi điều trị.

#### Ví dụ VI

Tiến hành tạo vết cắt bỏ da trên chuột (n=2 con/nhóm) như đã mô tả trong Ví dụ IV, và các vết thương này được điều trị hoặc không được điều trị bằng cách chỉ bôi 1g chế phẩm làm liền vết thương chứa: (A) chất oxy hóa (carbamid peroxit) và hỗn hợp chất quang hoạt chứa eosin Y, và erytrosin B; (B) chất oxy hóa (carbamid peroxit) và hỗn hợp chất quang hoạt chứa eosin Y, erytrosin B và bột nghệ đỏ; hoặc (C) chất oxy hóa (carbamid peroxit) và hỗn hợp chất quang hoạt chứa eosin Y, erytrosin B, bột nghệ đỏ và thuốc nhuộm xanh lá cây indoxyanin. Các vết thương được chiếu ánh sáng LED (ánh sáng màu xanh da trời) trong 3 phút. Tỷ lệ % đóng vết thương được đánh giá hàng ngày trong 4 ngày (Fig.4). Các con chuột được điều trị bằng chế phẩm (A) và (B) có sự đóng vết thương được cải thiện trong thời gian 4 ngày sau khi điều trị. Việc cho thêm thuốc nhuộm xanh lá cây indoxyanin vào chế phẩm (C) ức chế hiệu quả làm liền vết thương quan sát được đối với các chế phẩm (A) và (B).

#### Ví dụ VII

Tiến hành tạo vết cắt bỏ da trên chuột (n=2 con/nhóm) như đã mô tả trong Ví dụ IV, và các vết thương này được điều trị hoặc không được điều trị chỉ bằng cách bôi 1g chế phẩm làm liền vết thương chứa chất oxy hóa (carbamid peroxit) và hỗn hợp chất quang hoạt chứa eosin Y và erytrosin B. Các vết thương được chiếu ánh sáng LED (ánh sáng màu xanh da trời) trong 3 phút. Tỷ lệ % đóng vết thương được đánh giá (Fig.5) trong khoảng thời gian 12 ngày. Các con chuột được điều trị bằng chế phẩm có sự đóng vết thương nhanh hơn trong thời gian 7 ngày đầu sau khi điều trị.

#### Ví dụ VIII

Sử dụng khuôn bằng thủy tinh nhựa dẻo có kích thước 3cm x 9cm (3x9), vật da được đánh dấu trên da lưng bằng bút đánh dấu dùng trong phẫu thuật, lấy các

góc dưới của xương vai và xương trên khung chậu làm giới hạn. Vạt da có hình dạng hoàn toàn ngẫu nhiên với đáy sọ được cắt bằng cách sử dụng kỹ thuật vô khuẩn và đưa lên qua mạc sâu, bao gồm mạc nông, mô mỡ dưới da, mô dưới da và da. Để giảm đến mức tối thiểu sự co vết thương và mô phỏng tình trạng của bệnh nhân, lớp mô mỡ dưới da dày 0,5cm tính từ bờ vết thương được loại bỏ. Trong 1 giờ, màng ngăn không thấm (ví dụ, tấm silicon) được đặt giữa vạt da và vị trí lấy vạt da để loại trừ khả năng nuôi dưỡng lớp đáy của vết thương. Sau đó, tấm này được lấy đi, vạt da được đưa trở lại vị trí ban đầu của nó và các mép của vạt da được khâu kín bằng cách sử dụng chỉ ni lông 4/0 theo kiểu khâu mũi rời. Ngay sau khi khâu kín vạt da, vết thương hình vạt da này được bôi 13,5g chế phẩm gel ( $0,5 \text{ g/cm}^2$ ) và chiếu ánh sáng. Mẫu đối chứng không được xử lý bất kỳ. Chú ý bôi đều pomat trên toàn bộ vạt da. Chế phẩm gel được bào chế vào ngày thử nghiệm. Đối với nhóm sử dụng gel + ánh sáng, chuột được điều trị bằng chế phẩm gel, vạt da được chiếu đèn LED trong 3 phút

#### Ví dụ IX

Tiến hành tạo vết cắt bỏ da trên chuột ( $n=2$  con/nhóm) như đã mô tả trên đây. Các vết thương này được điều trị hoặc không được điều trị bằng chế phẩm dạng gel và được chiếu ánh sáng LED (ánh sáng màu xanh da trời) như đã mô tả trong Ví dụ VIII.

Các kết quả cho thấy mối tương quan trực tiếp của sự hoại tử do việc tiêm florescein và sự quan sát trực tiếp bằng mắt thường. Các mẫu sinh thiết được đánh giá về sự thay đổi mô học. Dữ liệu thu được từ nhóm được điều trị cho thấy sự giảm mức độ hoại tử 1,5 lần có ý nghĩa trên lâm sàng, (tỷ lệ % hoại tử, giá trị trung bình, độ lệch chuẩn (standard deviation: SD) 45,7 ( $\pm 17,36$ ) so với 30,42 ( $\pm 20,18$ ), tương ứng ở nhóm đối chứng và nhóm điều trị). Fig.7A thể hiện sự đánh giá mức độ hoại tử trên lâm sàng sau khi phẫu thuật vạt da ở nhóm đối chứng và nhóm điều trị cho thấy rằng mức độ hoại tử quan sát được đối với nhóm đối chứng cao hơn so với nhóm điều trị.

Việc nhuộm màu bằng hematoxylin và eosin đối với các mẫu sinh thiết thu được từ nhóm đối chứng và nhóm điều trị (Fig.7B) cho thấy rằng sự phục hồi mạch diễn ra ở nhóm được điều trị là lớn hơn (xem các mũi tên màu đen trên hình vẽ).

Việc nhuộm màu bằng Masson Tricrome để đánh giá sự lắng đọng sợi collagen (Fig.7C) với độ phóng đại 40 lần cho thấy rằng sự lắng đọng collagen mới diễn ra ở nhóm điều trị so với nhóm đối chứng. Việc điều trị quang động bằng cách sử dụng chất quang hoạt và ánh sáng có bước sóng cụ thể nhằm làm tăng khả năng sống của vật da ghép bằng cách kích thích sự phục hồi các nhánh phụ của mạch trong vật da để cải thiện tình trạng yếu tố vùng của vết thương mới, kể cả sự tạo collagen mới ở đó.

Các phương án và ví dụ được thể hiện ở đây chỉ là để minh họa bản chất chung của đối tượng yêu cầu bảo hộ và không làm giới hạn phạm vi của sáng chế.

## YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Chế phẩm làm liền vết thương chứa:

ít nhất một chất oxy hóa được chọn từ hydro peroxit, carbamit peroxit và benzoyl peroxit;

ít nhất một chất quang hoạt có thể hoạt hóa chất oxy hóa, chất quang hoạt này là eosin; và

ít nhất một chất làm liền vết thương được chọn từ axit hyaluronic, glucosamin và allantoin;

cùng với chất mang được dụng.

2. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó chất oxy hóa là carbamit peroxit.

3. Chế phẩm theo điểm 1 hoặc điểm 2, trong đó chế phẩm này còn chứa ít nhất một chất gel hóa ưa nước như glucoza, tinh bột biến tính, metyl xenluloza, carboxymetyl xenluloza, propyl xenluloza, hydroxypropyl xenluloza, polyme carbopol®, axit alginic, natri alginat, kali alginat, amoni alginat, canxi alginat, aga, caragenan, gồm đậu locust, pectin, hoặc gelatin.

4. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó eosin bao gồm eosin Y, eosin B, hoặc hỗn hợp của chúng.

5. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó eosin là eosin Y.

6. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, trong đó chế phẩm này còn chứa ít nhất một chất tạo chelat được chọn từ axit etylendiamintetraaxetic (EDTA) và axit etylen glycol tetraaxetic (EGTA).

7. Chế phẩm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 6, trong đó chế phẩm này còn chứa ít nhất một chất kích thích tiêu mỡ được chọn từ cafein và paraxantin.



8. Chế phẩm chứa ít nhất một chất oxy hóa được chọn từ hydro peroxit, carbamit peroxit và benzoyl peroxit và ít nhất một chất quang hoạt có thể hoạt hóa chất oxy hóa, chất quang hoạt này là eosin, trong đó chế phẩm này dùng để làm liền vết thương bằng phương pháp bao gồm các bước: a) bôi chế phẩm nêu trên lên da của bệnh nhân; và b) xử lý da trong bước a) nêu trên bằng ánh sáng quang hóa trong thời gian đủ để chất quang hoạt làm hoạt hóa chất oxy hóa nêu trên.

Fig. 1

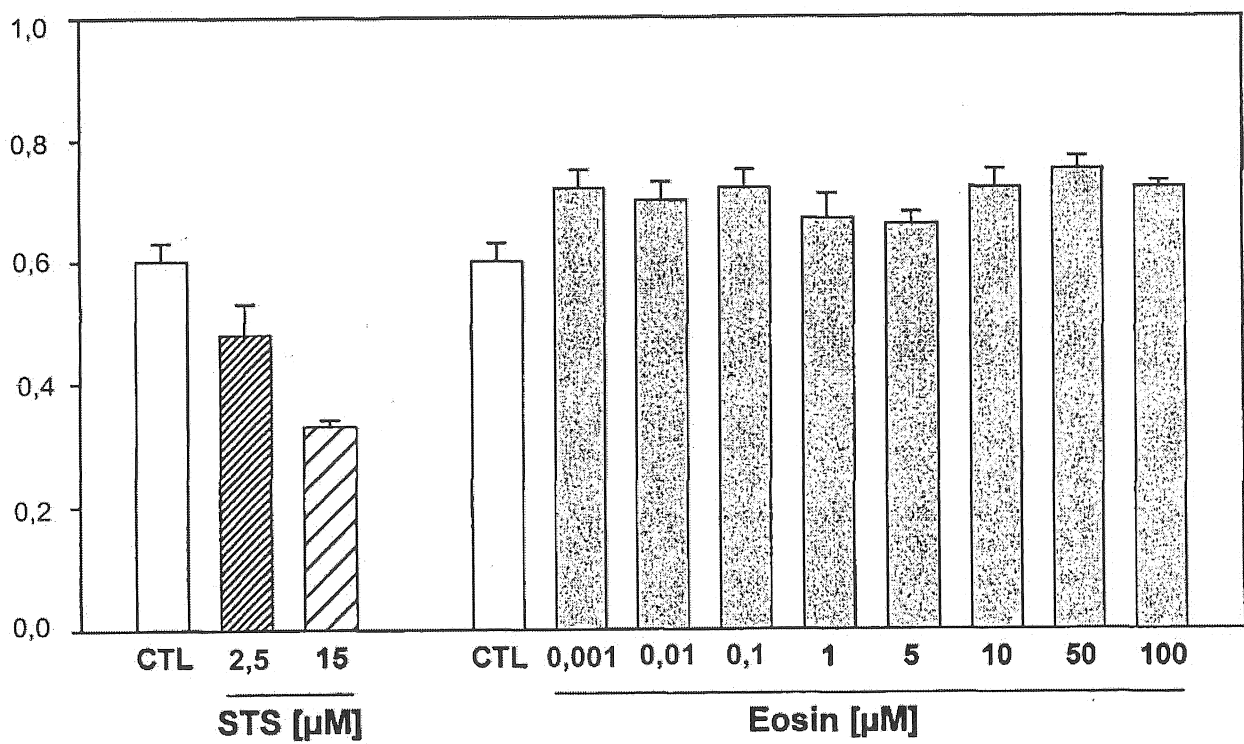


Fig. 2

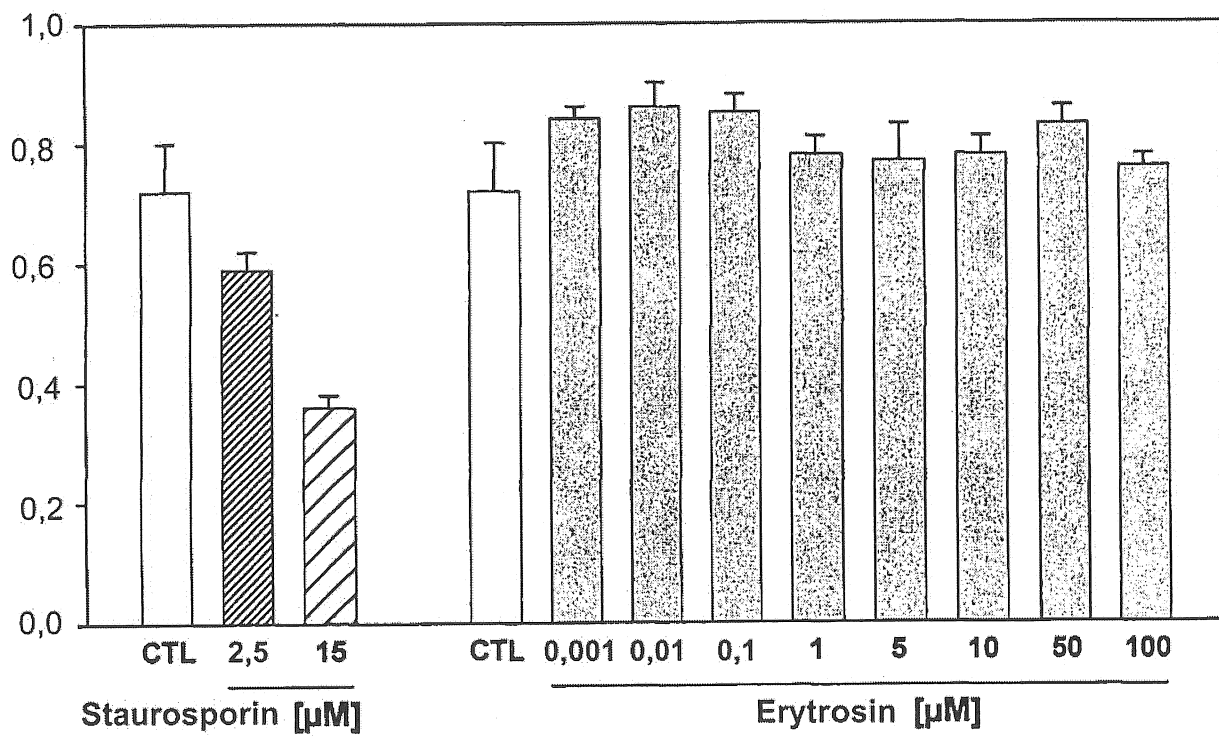


Fig. 3

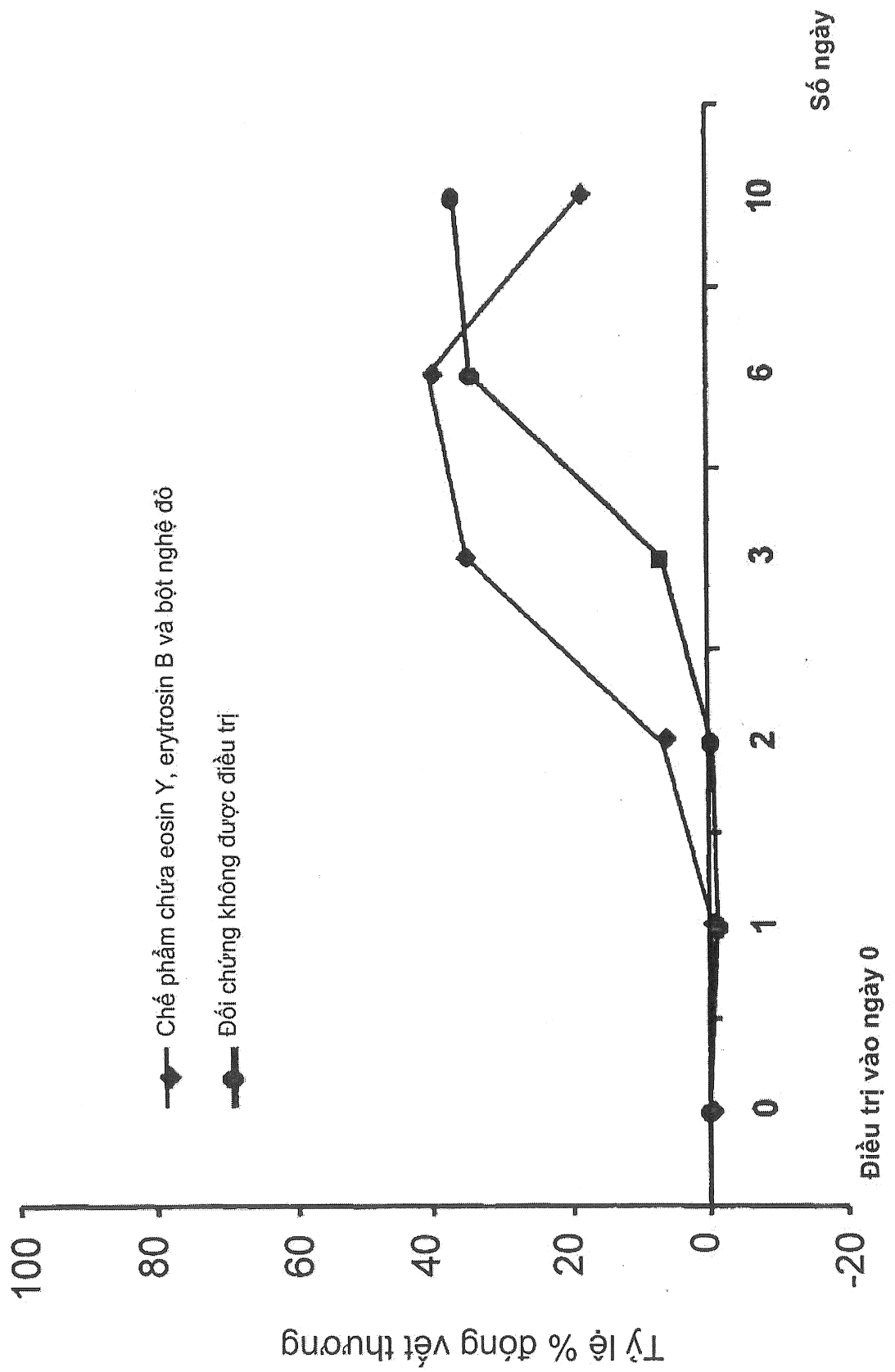


Fig. 4

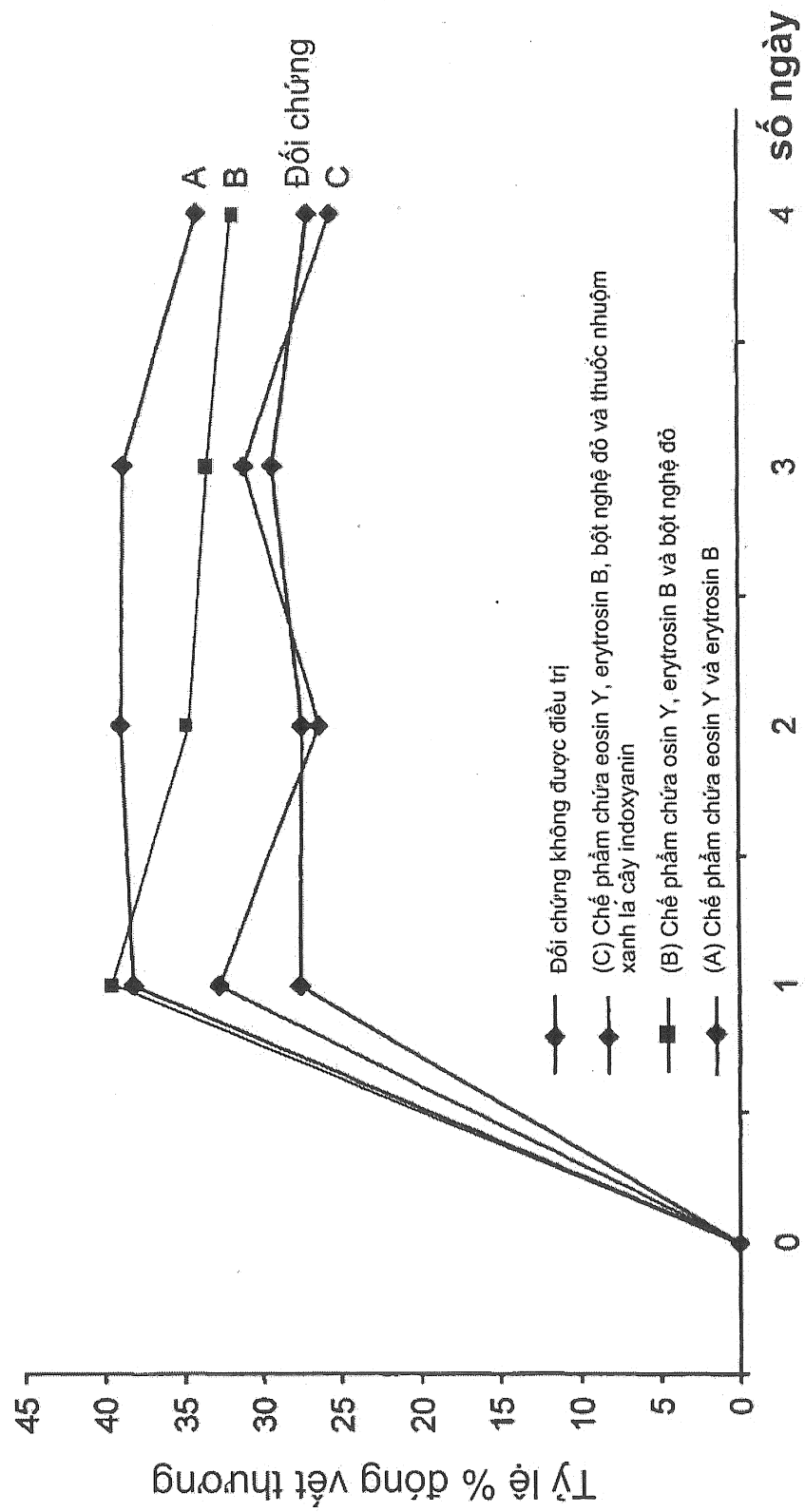


Fig. 5

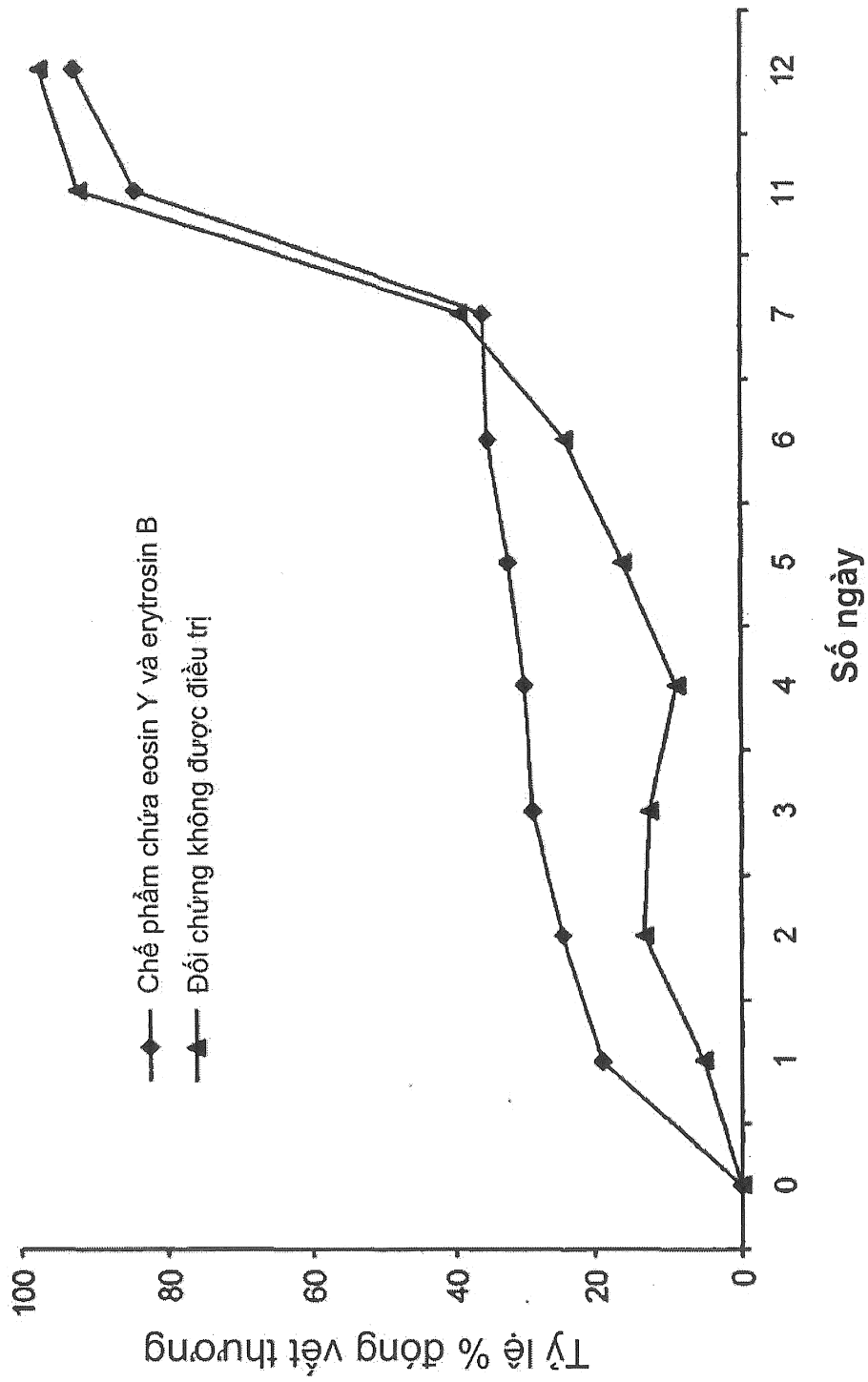
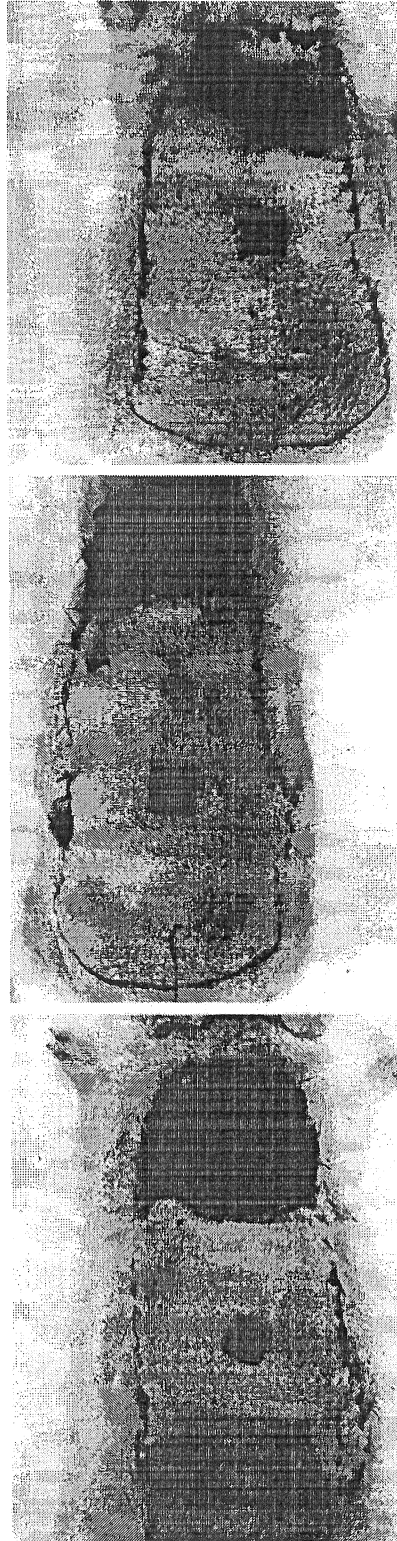


Fig. 6



Đối chứng

Chỉ sử dụng gel

Gel + ánh sáng

Fig. 7

Đối chứng      Điều trị bằng KLOX

