



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

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

(11)



1-0028465

(51)⁸ A61M 37/00

(13) B

(21) 1-2017-03424

(22) 15/02/2016

(86) PCT/KR2016/001463 15/02/2016

(87) WO 2016/129967 18/08/2016

(30) 10-2015-0022300 13/02/2015 KR

(45) 25/05/2021 398

(43) 25/01/2018 358A

(73) ENDODERMA CO., LTD. (KR)

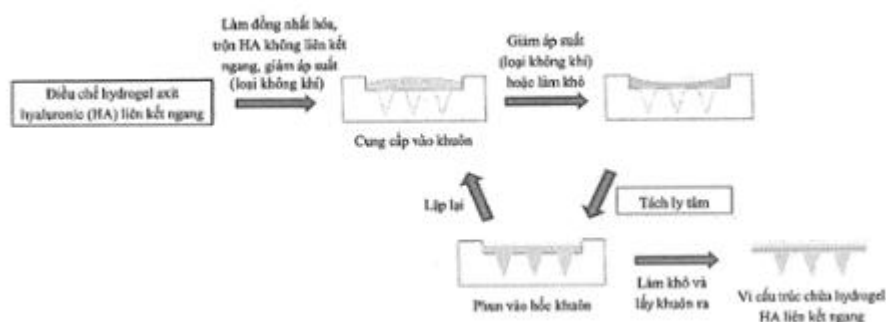
3F, 20, Osongsaengmyeong 2-ro, Osong-eup, Heungdeok-gu, Cheongju-si,
Chungcheongbuk-do 28162, Republic of Korea

(72) KWON, Soon Chang (KR); PARK, Sang Jin (KR); KIM, Jae Soo (KR).

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

(54) VI CẤU TRÚC TẠO RA TỪ HYDROGEL AXIT HYALURONIC LIÊN KẾT
NGANG VÀ PHƯƠNG PHÁP SẢN XUẤT VI CẤU TRÚC NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến vi cấu trúc tạo ra từ hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang và phương pháp sản xuất vi cấu trúc này. Phương pháp theo sáng chế tạo ra các vi cấu trúc bằng cách sử dụng hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang cho phép thu được vi cấu trúc có hình dạng đồng đều và mức độ biến dạng nhỏ nhất. Ngoài ra, vi cấu trúc chứa hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang theo sáng chế có thể cải thiện tình trạng lão hóa da, ví dụ, các nếp nhăn, dưỡng ẩm, dễ hấp thụ dịch cơ thể do tính năng trương nở tốt của nó, làm cho thời gian duy trì trong cơ thể được kéo dài do tính bền của nó đối với enzym thủy phân axit hyaluronic, cho phép giải phóng an toàn thành phần hữu ích trong cơ thể.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến vi cấu trúc dễ thoái biến sinh học tạo ra từ hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang và phương pháp sản xuất cấu trúc này. Cụ thể hơn, sáng chế đề cập đến vi cấu trúc dễ thoái biến sinh học chứa hydrogel được tạo ra bằng cách tạo liên kết ngang của axit hyaluronic, nghĩa là dẫn xuất axit hyaluronic.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Hệ giải phóng dược chất (drug delivery system: DDS) là công nghệ giải phóng dược chất đến các vị trí đích như tế bào và mô để làm gia tăng hiệu quả của dược chất và làm giảm tác dụng phụ bằng cách kiểm soát sự hấp thu và giải phóng dược chất.

Các hệ giải phóng dược chất bao gồm hệ giải phóng qua da, cho phép sử dụng dược chất qua đường khu trú, cũng như sử dụng qua đường miệng thông thường. Các nghiên cứu liên tục được tiến hành để tìm ra cách sử dụng hợp chất có tác dụng dược lý như dược chất có cả hiệu quả và độ an toàn. Một trong số các cách này là phương pháp tiêm, cách này có thể gây khó chịu và làm đau tùy theo từng bệnh nhân và có nhược điểm về sự kiểm soát dược chất, bên cạnh việc tiêm dược chất tạm thời.

Để khắc phục các nhược điểm của phương pháp tiêm, nghiên cứu đã được tiến hành đối với vi cấu trúc (vi kim), có kích thước nhỏ hơn nhiều và gây đau ít hơn so với bơm tiêm thông thường. Các nghiên cứu cũng được tiến hành ở một số vùng giải phóng dược chất, lấy mẫu máu, dụng cụ cảm biến sinh học và dưỡng da.

Các phương pháp sản xuất vi kim thông thường đã được bộc lộ trong Bằng độc quyền sáng chế Mỹ số 6334856 “Microneedle devices and methods of manufacture and use thereof” và Bằng độc quyền sáng chế Hàn Quốc số 10-0793615 “Biodegradable solid microneedle and methods for preparing the same”.

Các tài liệu nêu trên đề cập đến i) phương pháp sản xuất vi kim bằng cách phun chất nhót dễ thoái biến sinh học vào vi khuôn được làm từ polyme rắn nhiệt, làm khô và lấy chất này ra khỏi khuôn (quá trình đúc) và ii) phương pháp sản xuất vi kim bao gồm các bước: phủ chất nhót dễ thoái biến sinh học để tạo ra vi kim dạng rắn dễ thoái biến sinh học, kéo chất nhót dễ thoái biến sinh học đã phủ bằng khung đã được tạo

hình làm trụ, làm khô và cắt chất nhót dễ thoái biến sinh học đã kéo (quá trình kéo).

Tuy nhiên, vi cấu trúc polyme dễ thoái biến sinh học được sản xuất bằng cách sử dụng các phương pháp thông thường này có một số nhược điểm như bị cong và biến dạng trong khi thấm qua da do độ bền cơ học của chúng tương đối thấp.

Cụ thể, khi các dẫn xuất của polyme có độ đàn hồi cao được sử dụng làm nguyên liệu, có hạn chế đối với việc sản xuất vi cấu trúc bằng cách sử dụng quá trình đúc hoặc kéo như không thể thu được hình dạng đồng đều mong muốn, cũng như có nhược điểm là khó đạt được độ bền cơ học cần thiết của vi cấu trúc để thấm qua da.

Khi được sử dụng trong bản mô tả này, axit hyaluronic là polyme dễ thoái biến sinh học chứa các đơn vị lặp lại của disacarit bao gồm N-acetyl glucosamin và axit gluconic.

Các vi cấu trúc được sản xuất bằng cách sử dụng axit hyaluronic dễ dàng được tạo ra với độ nhót thấp nếu trọng lượng phân tử trung bình của axit hyaluronic thấp; trọng lượng phân tử của HA càng cao, các tính chất cơ học và độ nhót của vi cấu trúc càng cao. Các đặc tính này dẫn đến việc sử dụng axit hyaluronic có trọng lượng phân tử thấp làm nguyên liệu phổ biến cho vi cấu trúc, trong khi vi cấu trúc được sản xuất bằng cách sử dụng axit hyaluronic có trọng lượng phân tử thấp dễ bị phá vỡ hoặc cong trong khi thấm qua da.

Các tác giả sáng chế đã phát triển hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang và phương pháp sản xuất vi cấu trúc bằng cách sử dụng hydrogel này làm nguyên liệu chính để sản xuất vi cấu trúc chứa axit hyaluronic có trọng lượng thấp, tạo ra các tính chất cơ học thích hợp cho sự thấm qua da, và thích hợp cho việc giải phóng dược chất và dưỡng da do chúng dễ dàng hòa tan hoặc trương nở trong da.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Các tác giả sáng chế đã nỗ lực tiến hành nghiên cứu để giải quyết các vấn đề của công nghệ thông thường đã mô tả trên đây. Kết quả là các tác giả sáng chế đã khẳng định được rằng có thể sản xuất vi cấu trúc có hình dạng đồng đều và mức độ biến dạng nhỏ nhất bằng cách sử dụng nguyên liệu chính là hydrogel được tạo bởi axit hyaluronic, là dẫn xuất axit hyaluronic và thành phần dưỡng da, và vi cấu trúc này có độ cứng cao và do đó làm gia tăng hiệu quả của sự giải phóng thành phần hữu ích. Các tác giả sáng chế cũng khẳng định được rằng độ nhót đàn hồi cao của axit

hyaluronic liên kết ngang được sử dụng trong vi cấu trúc giúp cải thiện sự lão hóa của mô da, ví dụ, nếp nhăn, và dưỡng ẩm. Sáng chế được hoàn thành bằng việc khẳng định thêm rằng vi cấu trúc theo sáng chế có tính năng trương nở tốt và do đó dễ dàng hấp thu dịch cơ thể, độ bền của vi cấu trúc đối với enzym thủy phân axit hyaluronic làm cho thời gian duy trì vi cấu trúc trong cơ thể được kéo dài và do đó có thể giải phóng ổn định thành phần hữu ích được tải trên vi cấu trúc này vào cơ thể.

Do đó, theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất vi cấu trúc chứa hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp sản xuất vi cấu trúc bằng cách sử dụng hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hệ giải phóng thành phần hữu ích.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1a là hình vẽ sơ đồ thể hiện vi cấu trúc được tạo ra bằng cách sử dụng hydrogel axit hyaluronic (hyaluronic acid: HA) liên kết ngang và phương pháp sản xuất vi cấu trúc này theo sáng chế.

Fig.1b thể hiện ảnh hiển vi của các vi cấu trúc được tạo ra theo phương án 3-1 của sáng chế. Độ dày của nền thứ hai của vi cấu trúc được điều chỉnh bằng cách cho thêm HA không liên kết ngang.

Fig.2 là hình vẽ sơ đồ thể hiện phương pháp sản xuất vi cấu trúc theo sáng chế. Fig.2a là hình vẽ sơ đồ đại diện của phương pháp sản xuất vi cấu trúc theo sáng chế, trong khi Fig.2b là sơ đồ cụ thể của phương án 3-2 theo sáng chế.

Fig.3a thể hiện ảnh hiển vi (Nikon Eclipse 80i; độ phóng đại 100 lần) của các vi cấu trúc được tạo ra bằng cách sử dụng hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang theo phương án 2-3 của sáng chế.

Fig.3b và Fig.3c thể hiện ảnh hiển vi điện tử (SEM, JEOL JSM-7500F; độ phóng đại 70 lần) của các vi cấu trúc được tạo ra bằng cách sử dụng hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang theo phương án 3-2 của sáng chế.

Fig.4 thể hiện ảnh hiển vi (Nikon Eclipse 80i; độ phóng đại 40 lần) của các hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang khi chúng được chứa trong vi cấu trúc với hàm lượng lớn hơn khoảng hàm lượng tối đa.

Fig.5 thể hiện ảnh quan sát bằng kính hiển vi của các vi cấu trúc được tạo ra

khi hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang có độ nhớt lớn hơn khoảng độ nhớt tối đa (Nikon Eclipse 80i, độ phóng đại 80 lần).

Fig.6 thể hiện gel trương nở của các vi cấu trúc được tạo ra bằng cách sử dụng axit hyaluronic không được cải biến (HA không liên kết ngang) và các vi cấu trúc được tạo ra bằng cách trộn hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang và axit hyaluronic không được cải biến (HA không liên kết ngang).

Fig.7a và Fig.7b thể hiện kết quả của thử nghiệm độ bền cơ học của các vi cấu trúc được tạo ra bằng cách sử dụng hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang thu được theo phương pháp của sáng chế.

Fig.8 thể hiện ảnh hiển vi (Nikon Eclipse 80i; độ phóng đại 40 lần) của các vi cấu trúc khi hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang điều chế được theo sáng chế được phun với lực ly tâm không đủ trong khi tạo ra vi cấu trúc.

Fig.9 thể hiện ảnh hiển vi (Nikon Eclipse 80i; độ phóng đại 40 lần) của các vi cấu trúc khi hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang điều chế được theo sáng chế được phun trong điều kiện giảm áp suất không thỏa đáng trong khi tạo ra vi cấu trúc.

Fig.10 thể hiện ảnh hiển vi (Nikon Eclipse 80i; độ phóng đại 40 lần (Fig.10a); độ phóng đại 80 lần (Fig.10b)) của các vi cấu trúc khi hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang điều chế được theo sáng chế không được làm khô thích hợp bằng quá trình làm khô bổ sung trong khi tạo ra vi cấu trúc.

Mô tả chi tiết sáng chế

Các mục đích và ưu điểm khác của sáng chế sẽ trở nên rõ ràng hơn cùng với phần mô tả chi tiết sáng chế, yêu cầu bảo hộ, và hình vẽ sau đây.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất vi cấu trúc tạo ra từ hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang.

Các tác giả sáng chế đã nỗ lực tiến hành nghiên cứu để giải quyết các vấn đề của công nghệ thông thường đã mô tả trên đây. Kết quả là các tác giả sáng chế đã khẳng định được rằng có thể sản xuất vi cấu trúc có hình dạng đồng đều và mức độ biến dạng nhỏ nhất bằng cách sử dụng nguyên liệu chính là hydrogel được tạo bởi axit hyaluronic, là dẫn xuất axit hyaluronic và thành phần dưỡng da, và vi cấu trúc này có độ cứng cao và do đó làm gia tăng hiệu quả của sự giải phóng thành phần hữu ích. Các tác giả sáng chế cũng khẳng định được rằng độ nhớt đàn hồi cao của axit

hyaluronic liên kết ngang được sử dụng trong vi cấu trúc giúp cải thiện sự lão hóa của mô da, ví dụ, nếp nhăn, và dưỡng ẩm. Đã khẳng định thêm được rằng vi cấu trúc theo sáng chế có tính năng trương nở tốt và do đó dễ dàng hấp thu dịch cơ thể, độ bền của vi cấu trúc đối với enzym thủy phân axit hyaluronic làm cho thời gian duy trì vi cấu trúc trong cơ thể được kéo dài và do đó có thể giải phóng ổn định thành phần hữu ích được tải trên vi cấu trúc này vào cơ thể.

Khi được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “axit hyaluronic” bao gồm cả các muối của axit hyaluronic, như muối natri của axit hyaluronic, muối kali của axit hyaluronic, muối magie của axit hyaluronic, và muối canxi của axit hyaluronic, và các hỗn hợp của chúng, cũng như axit hyaluronic.

Khi được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “hydrogel” để chỉ polyme ưa nước ba chiều duy trì độ ẩm thích hợp. Theo mục đích của sáng chế, điều này có nghĩa là hydrogel được tạo ra giữa các hợp chất hyaluronan liên kết ngang.

Sáng chế có thể tạo ra nhiều dạng vi cấu trúc khác nhau bao gồm vi kim, vi lưới, vi lưới dao, vi sợi, vi đỉnh nhọn, vi đầu dò, vi ngành, vi mảng, và vi điện cực. Theo một phương án, vi cấu trúc theo sáng chế để chỉ vi kim.

Theo một phương án, hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang theo sáng chế có mật độ liên kết ngang (tỷ lệ liên kết ngang) nằm trong khoảng từ 1 đến 50%. Theo phương án khác, hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang theo sáng chế có mật độ liên kết ngang sau đây: từ 1 đến 40%, từ 2 đến 40%, từ 5 đến 40%, từ 7 đến 40%, từ 10 đến 40%, từ 15 đến 40%, từ 18 đến 40%, từ 20 đến 40%, từ 22 đến 40%, từ 25 đến 40%, từ 28 đến 40%, từ 30 đến 40%, từ 1 đến 35%, từ 2 đến 35%, từ 5 đến 35%, từ 7 đến 35%, từ 10 đến 35%, từ 15 đến 35%, từ 18 đến 35%, từ 20 đến 35%, từ 22 đến 35%, từ 25 đến 35%, từ 28 đến 35%, từ 1 đến 30%, từ 2 đến 30%, từ 5 đến 30%, từ 7 đến 30%, từ 10 đến 30%, từ 15 đến 30%, từ 18 đến 30%, từ 20 đến 30%, từ 22 đến 30%, từ 25 đến 30%, từ 28 đến 30%, từ 1 đến 25%, từ 2 đến 25%, từ 5 đến 25%, từ 7 đến 25%, từ 10 đến 25%, từ 15 đến 25%, từ 18 đến 25%, từ 20 đến 25%, từ 22 đến 25%, từ 1 đến 20%, từ 2 đến 20%, từ 5 đến 20%, từ 7 đến 20%, từ 10 đến 20%, từ 15 đến 20%, từ 18 đến 20%, từ 1 đến 15%, từ 2 đến 15%, từ 5 đến 15%, từ 7 đến 15%, từ 10 đến 15%, từ 1 đến 10%, từ 2 đến 10%, từ 5 đến 10%, từ 7 đến 10%, từ 1 đến 5%, từ 2 đến 5%, từ 1 đến 3%, và từ 2 đến 3%. Như được chứng minh trong phương án 6, do enzyme thủy phân axit hyaluronic trong cơ thể ức chế sự thoái biến sinh học của

hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang, các hydrogel axit hyaluronic làm cho khoảng thời gian duy trì trong da được kéo dài hơn so với axit hyaluronic không liên kết ngang.

Theo một phương án, vi cấu trúc theo sáng chế có thời gian bán hủy nằm trong khoảng từ 20 đến 850 giờ. Khi được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “thời gian bán hủy” để chỉ thời gian cần thiết để hyaluronidaza, enzym hòa tan axit hyaluronic, phá vỡ 50% axit hyaluronic liên kết ngang khi enzyme này phá vỡ axit hyaluronic không liên kết ngang 100%. Như được chứng minh trong phương án 7, vi cấu trúc theo sáng chế chứa hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang có thời gian bán hủy dài cho phép giải phóng an toàn thành phần hữu ích trong cơ thể. Nếu các thành phần hữu ích này là thành phần dưỡng da, vi cấu trúc có thể tạo ra các lợi ích dưỡng da gia tăng.

Theo một phương án, hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang theo sáng chế được chứa trong vi cấu trúc theo sáng chế với hàm lượng nhỏ hơn hoặc bằng 15% (trọng lượng/thể tích). Theo một phương án, hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang theo sáng chế được chứa trong vi cấu trúc theo sáng chế với hàm lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 15% (trọng lượng/thể tích). Theo phương án khác, hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang theo sáng chế được chứa trong vi cấu trúc theo sáng chế với hàm lượng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 12%, từ 0,1 đến 10%, từ 0,1 đến 7,5%, từ 0,5 đến 12%, từ 0,5 đến 10%, từ 0,5 đến 7,5%, từ 1 đến 12%, từ 1 đến 10% hoặc từ 1 đến 7,5% (trọng lượng/thể tích).

Theo phương án khác, hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang theo sáng chế được chứa trong vi cấu trúc theo sáng chế với hàm lượng nhỏ hơn hoặc bằng 15% (trọng lượng/thể tích) nếu mô đun đàn hồi nằm trong khoảng từ 0,5 đến 5Pa ở tần số 1Hz, 12% (trọng lượng/thể tích) nếu mô đun đàn hồi nằm trong khoảng từ 5 đến 50Pa, 10% (trọng lượng/thể tích) nếu mô đun đàn hồi nằm trong khoảng từ 50 đến 200Pa, và 7,5% (trọng lượng/thể tích) nếu mô đun đàn hồi nằm trong khoảng từ 200 đến 1000Pa. Theo phương án khác, hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang theo sáng chế được chứa trong vi cấu trúc theo sáng chế với hàm lượng nhỏ hơn hoặc bằng 15% (trọng lượng/thể tích) nếu mô đun đàn hồi nằm trong khoảng từ 0,5 đến 3Pa ở tần số 1Hz, nằm trong khoảng từ 0,5 đến 2Pa, từ 1 đến 5Pa, từ 1 đến 3Pa, hoặc từ 1 đến 2Pa. Theo phương án khác, hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang theo sáng chế được chứa

trong vi cấu trúc theo sáng chế với hàm lượng nhỏ hơn hoặc bằng 12% (trọng lượng/thể tích) nếu môđun đàn hồi nằm trong khoảng từ 5 đến 30Pa ở tần số 1Hz, nằm trong khoảng từ 8 đến 30Pa, từ 10 đến 30Pa, từ 5 đến 25Pa, từ 8 đến 25Pa, từ 10 đến 25Pa, từ 5 đến 20Pa, từ 8 đến 15Pa, từ 20 đến 30Pa, hoặc từ 22 đến 26Pa. Theo phương án khác, hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang theo sáng chế được chứa trong vi cấu trúc theo sáng chế với hàm lượng nhỏ hơn hoặc bằng 10% (trọng lượng/thể tích) nếu môđun đàn hồi nằm trong khoảng từ 50 đến 150Pa ở tần số 1Hz, nằm trong khoảng từ 50 đến 130Pa, từ 50 đến 70Pa, từ 100 đến 150Pa, từ 100 đến 140Pa, hoặc từ 100 đến 130Pa. Theo phương án khác, hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang theo sáng chế được chứa trong vi cấu trúc theo sáng chế với hàm lượng nhỏ hơn hoặc bằng 7,5% (trọng lượng/thể tích) nếu môđun đàn hồi nằm trong khoảng từ 200 đến 900Pa ở tần số 1Hz, nằm trong khoảng từ 200 đến 500Pa, từ 200 đến 300Pa, từ 300 đến 900Pa, từ 400 đến 900Pa, từ 400 đến 500Pa, hoặc từ 800 đến 900Pa.

Hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang theo sáng chế có thể được tạo liên kết ngang theo cách bất kỳ của axit hyaluronic liên kết ngang như được thực hiện trong công nghiệp. Theo một phương án, hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang theo sáng chế là hydrogel axit hyaluronic được liên kết ngang bằng cách sử dụng chất liên kết ngang. Theo phương án khác, chất liên kết ngang để chỉ chất liên kết ngang ete. Theo một phương án, chất liên kết ngang ete để chỉ một hoặc nhiều chất được chọn trong số ete etylen glycol diglycidyl (ethylene glycol diglycidyl ether: EGDGE), 1,4-butandiol diglycidyl ete (1,4-butandiol diglycidyl ether: BDDE), ete 1,6-hexandiol diglycidyl, ete propylen glycol diglycidyl, ete polypropylen glycol diglycidyl, ete diglyxerolpolyglycidyl và EDC (1-etyl-3-(3-dimetylaminopropyl)carbodiimide). Theo một phương án cụ thể của sáng chế, chất liên kết ngang ete để chỉ 1,4-butandiol diglycidyl ete.

Theo một phương án, hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang theo sáng chế có độ nhớt phức hợp nằm trong khoảng từ 3 đến 5000Pa·s ở tần số 0,02Hz. Theo phương án khác, độ nhớt phức hợp nằm trong các khoảng sau: từ 3 đến 4500, từ 3 đến 4300, từ 3 đến 4200, từ 3 đến 2000, từ 3 đến 1500, từ 3 đến 1000, từ 3 đến 700, từ 3 đến 650, từ 3 đến 600, từ 3 đến 400, từ 3 đến 200, từ 3 đến 150, từ 3 đến 100, từ 3 đến 70, từ 3 đến 50, từ 3 đến 20, từ 3 đến 10, từ 3 đến 8, từ 5 đến 4500, từ 5 đến 4300, từ 5 đến 4200, từ 5 đến 2000, từ 5 đến 1500, từ 5 đến 1000, từ 5 đến 700, từ 5 đến 650, từ 5

đến 600, từ 5 đến 400, từ 5 đến 200, từ 5 đến 150, từ 5 đến 100, từ 5 đến 70, từ 5 đến 50, từ 5 đến 20, từ 5 đến 10, từ 50 đến 4500, từ 50 đến 4300, từ 50 đến 4200, từ 50 đến 2000, từ 50 đến 1500, từ 50 đến 1000, từ 50 đến 700, từ 50 đến 650, từ 50 đến 600, từ 50 đến 400, từ 50 đến 200, từ 50 đến 150, từ 50 đến 100, từ 50 đến 70, từ 100 đến 4500, từ 100 đến 4300, từ 100 đến 4200, từ 100 đến 2000, từ 100 đến 1500, từ 100 đến 1000, từ 100 đến 700, từ 100 đến 650, từ 100 đến 600, từ 100 đến 400, từ 100 đến 200, từ 100 đến 150, từ 300 đến 4500, từ 300 đến 4300, từ 300 đến 4200, từ 300 đến 2000, từ 300 đến 1500, từ 300 đến 1000, từ 300 đến 700, từ 300 đến 650, từ 300 đến 600, từ 300 đến 400, từ 500 đến 4500, từ 500 đến 4300, từ 500 đến 4200, từ 500 đến 2000, từ 500 đến 1500, từ 500 đến 1000, từ 500 đến 700, từ 500 đến 650, từ 500 đến 600, từ 600 đến 4500, từ 600 đến 4300, từ 600 đến 4200, từ 600 đến 2000, từ 600 đến 1500, từ 600 đến 1000, từ 600 đến 700, từ 600 đến 650, từ 650 đến 4500, từ 650 đến 4300, từ 650 đến 4200, từ 650 đến 2000, từ 650 đến 1500, từ 650 đến 1000, từ 650 đến 700, từ 650 đến 650, từ 650 đến 600, từ 650 đến 400, từ 650 đến 200, từ 650 đến 150, từ 650 đến 100, từ 650 đến 70, từ 650 đến 50, từ 650 đến 20, từ 650 đến 10, từ 1000 đến 2000, từ 1000 đến 1500, từ 1000 đến 4500, từ 1000 đến 4300, từ 1000 đến 4200, từ 1000 đến 2000, từ 1000 đến 1500, từ 1300 đến 4500, từ 1300 đến 4300, từ 1300 đến 4200, từ 1300 đến 2000, từ 1300 đến 1500, từ 1500 đến 4500, từ 1500 đến 4300, từ 1500 đến 4200, từ 1500 đến 2000, từ 4000 đến 4500 hoặc từ 4000 đến 4300Pa.s.

Theo một phương án, hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang theo sáng chế có môđun đàn hồi nằm trong khoảng từ 1 đến 1000Pa ở tần số 1Hz. Theo phương án khác, môđun đàn hồi nằm trong khoảng từ 1 đến 900Pa, từ 1 đến 870Pa hoặc từ 1,5 đến 870Pa. Theo một phương án của sáng chế, môđun đàn hồi nằm trong các khoảng sau: từ 1 đến 500, từ 1 đến 450, từ 1 đến 300, từ 1 đến 250, từ 1 đến 150, từ 1 đến 130, từ 1 đến 100, từ 1 đến 70, từ 1 đến 10, từ 1 đến 5, từ 1 đến 3, từ 8 đến 900, từ 8 đến 500, từ 8 đến 450, từ 8 đến 300, từ 8 đến 250, từ 8 đến 150, từ 8 đến 130, từ 8 đến 100, từ 8 đến 70, từ 8 đến 10, từ 10 đến 900, từ 10 đến 500, từ 10 đến 450, từ 10 đến 300, từ 10 đến 250, từ 10 đến 150, từ 10 đến 130, từ 10 đến 100, từ 10 đến 70, từ 20 đến 900, từ 20 đến 500, từ 20 đến 450, từ 20 đến 300, từ 20 đến 250, từ 20 đến 150, từ 20 đến 130, từ 20 đến 100, từ 20 đến 70, từ 50 đến 900, từ 50 đến 500, từ 50 đến 450, từ 50 đến 300, từ 50 đến 250, từ 50 đến 150, từ 50 đến 130, từ 50 đến 100, từ 50 đến 70,

từ 100 đến 900, từ 100 đến 500, từ 100 đến 450, từ 100 đến 300, từ 100 đến 250, từ 100 đến 150, từ 100 đến 130, từ 110 đến 900, từ 110 đến 500, từ 110 đến 450, từ 110 đến 300, từ 110 đến 250, từ 110 đến 150, từ 110 đến 130, từ 120 đến 900, từ 120 đến 500, từ 120 đến 450, từ 120 đến 300, từ 120 đến 250, từ 120 đến 150, từ 120 đến 130, từ 400 đến 900, từ 400 đến 500, từ 400 đến 450 hoặc từ 800 đến 900Pa.

Theo một phương án, hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang theo sáng chế có hệ số độ nhớt nằm trong khoảng từ 0,5 đến 500Pa ở tần số 1Hz. Theo phương án khác, hệ số độ nhớt nằm trong các khoảng sau: từ 0,5 đến 400Pa, từ 0,5 đến 300Pa, từ 0,5 đến 250Pa hoặc từ 0,7 đến 250Pa. Theo một phương án, hệ số độ nhớt nằm trong các khoảng sau: từ 0,5 đến 300, từ 0,5 đến 150, từ 0,5 đến 120, từ 0,5 đến 70, từ 0,5 đến 50, từ 0,5 đến 10, từ 0,5 đến 5, từ 0,5 đến 3, từ 0,5 đến 2, từ 0,5 đến 1, từ 1 đến 300, từ 1 đến 150, từ 1 đến 120, từ 1 đến 70, từ 1 đến 50, từ 1 đến 10, từ 1 đến 5, từ 1 đến 3, từ 1 đến 2, từ 1 đến 1, từ 3 đến 300, từ 3 đến 150, từ 3 đến 120, từ 3 đến 70, từ 3 đến 50, từ 3 đến 10, từ 3 đến 5, từ 5 đến 300, từ 5 đến 150, từ 5 đến 120, từ 5 đến 70, từ 5 đến 50, từ 5 đến 10, từ 6 đến 300, từ 6 đến 150, từ 6 đến 120, từ 6 đến 70, từ 6 đến 50, từ 6 đến 10, từ 7 đến 500, từ 7 đến 300, từ 7 đến 150, từ 7 đến 120, từ 7 đến 70, từ 7 đến 50, từ 7 đến 10, từ 10 đến 500, từ 10 đến 300, từ 10 đến 150, từ 10 đến 120, từ 10 đến 70, từ 10 đến 50, từ 15 đến 500, từ 15 đến 300, từ 15 đến 150, từ 15 đến 120, từ 15 đến 70, từ 15 đến 50, từ 30 đến 500, từ 30 đến 300, từ 30 đến 150, từ 30 đến 120, từ 30 đến 70, từ 30 đến 50, từ 40 đến 500, từ 40 đến 300, từ 40 đến 150, từ 40 đến 120, từ 40 đến 70, từ 40 đến 50, từ 80 đến 500, từ 80 đến 300, từ 80 đến 150, từ 80 đến 120, từ 90 đến 500, từ 90 đến 300, từ 90 đến 150, từ 90 đến 120, từ 100 đến 500, từ 100 đến 300, từ 100 đến 150, từ 100 đến 120, từ 200 đến 500, từ 200 đến 300, từ 230 đến 500, từ 230 đến 300 hoặc từ 230 đến 250Pa.

Theo một phương án, hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang theo sáng chế có độ nhớt nằm trong khoảng từ 100 đến 1000000 cP (từ 100 đến 1000000 mPa·s). Theo phương án khác, độ nhớt nằm trong các khoảng: từ 100 đến 500000 cP (từ 100 đến 500000 mPa·s), từ 100 đến 200000 cP (từ 100 đến 200000 mPa·s), từ 100 đến 160000 cP (từ 100 đến 160000 mPa·s), từ 100 đến 130000 cP (từ 100 đến 130000 mPa·s), từ 100 đến 120000 cP (từ 100 đến 120000 mPa·s), từ 100 đến 110000 cP (từ 100 đến 110000 mPa·s), từ 100 đến 100000 cP (từ 100 đến 100000 mPa·s), từ 100 đến 90000 cP (từ 100 đến 90000 mPa·s), từ 100 đến 85000 cP (từ 100 đến 85000 mPa·s), từ 100

đến 80000 cP (từ 100 đến 80000 mPa·s), từ 100 đến 75000 cP (từ 100 đến 75000 mPa·s), từ 100 đến 70000 cP (từ 100 đến 70000 mPa·s), từ 100 đến 60000 cP (từ 100 đến 60000 mPa·s), từ 100 đến 55000 cP (từ 100 đến 55000 mPa·s), từ 100 đến 50000 cP (từ 100 đến 50000 mPa·s), từ 100 đến 40000 cP (từ 100 đến 40000 mPa·s), từ 100 đến 35000 cP (từ 100 đến 35000 mPa·s), từ 100 đến 30000 cP (từ 100 đến 30000 mPa·s), từ 100 đến 25000 cP (từ 100 đến 25000 mPa·s), từ 100 đến 20000 cP (từ 100 đến 20000 mPa·s), từ 100 đến 15000 cP (từ 100 đến 15000 mPa·s), từ 100 đến 5000 cP (từ 100 đến 5000 mPa·s), từ 100 đến 2000 cP (từ 100 đến 2000 mPa·s), từ 100 đến 1200 cP (từ 100 đến 1200 mPa·s), từ 100 đến 500 cP (từ 100 đến 500 mPa·s), từ 100 đến 400 cP (từ 100 đến 400 mPa·s), từ 150 đến 1000000 cP (từ 150 đến 1000000 mPa·s), từ 150 đến 500000 cP (từ 150 đến 500000 mPa·s), từ 150 đến 200000 cP (từ 150 đến 200000 mPa·s), từ 150 đến 160000 cP (từ 150 đến 160000 mPa·s), từ 150 đến 130000 cP (từ 150 đến 130000 mPa·s), từ 150 đến 120000 cP (từ 150 đến 120000 mPa·s), từ 150 đến 110000 cP (từ 150 đến 110000 mPa·s), từ 150 đến 100000 cP (từ 150 đến 100000 mPa·s), từ 150 đến 90000 cP (từ 150 đến 90000 mPa·s), từ 150 đến 85000 cP (từ 150 đến 85000 mPa·s), từ 150 đến 80000 cP (từ 150 đến 80000 mPa·s), từ 150 đến 75000 cP (từ 150 đến 75000 mPa·s), từ 150 đến 70000 cP (từ 150 đến 70000 mPa·s), từ 150 đến 60000 cP (từ 150 đến 60000 mPa·s), từ 150 đến 55000 cP (từ 150 đến 55000 mPa·s), từ 150 đến 50000 cP (từ 150 đến 50000 mPa·s), từ 150 đến 40000 cP (từ 150 đến 40000 mPa·s), từ 150 đến 35000 cP (từ 150 đến 35000 mPa·s), từ 150 đến 30000 cP (từ 150 đến 30000 mPa·s), từ 150 đến 25000 cP (từ 150 đến 25000 mPa·s), từ 150 đến 20000 cP (từ 150 đến 20000 mPa·s), từ 150 đến 15000 cP (từ 150 đến 15000 mPa·s), từ 150 đến 5000 cP (từ 150 đến 5000 mPa·s), từ 150 đến 2000 cP (từ 150 đến 2000 mPa·s), từ 150 đến 1200 cP (từ 150 đến 1200 mPa·s), từ 150 đến 500 cP (từ 150 đến 500 mPa·s), từ 150 đến 400 cP (từ 150 đến 400 mPa·s), từ 500 đến 1000000 cP (từ 500 đến 1000000 mPa·s), từ 500 đến 500000 cP (từ 500 đến 500000 mPa·s), từ 500 đến 200000 cP (từ 500 đến 200000 mPa·s), từ 500 đến 160000 cP (từ 500 đến 160000 mPa·s), từ 500 đến 130000 cP (từ 500 đến 130000 mPa·s), từ 500 đến 120000 cP (từ 500 đến 120000 mPa·s), từ 500 đến 110000 cP (từ 500 đến 110000 mPa·s), từ 500 đến 100000 cP (từ 500 đến 100000 mPa·s), từ 500 đến 90000 cP (từ 500 đến 90000 mPa·s), từ 500 đến 85000 cP (từ 500 đến 85000 mPa·s), từ 500 đến 80000 cP (từ 500 đến 80000 mPa·s), từ 500 đến 75000 cP (từ 500 đến 75000 mPa·s)

mPa·s), từ 500 đến 70000 cP (từ 500 đến 70000 mPa·s), từ 500 đến 60000 cP (từ 500 đến 60000 mPa·s), từ 500 đến 55000 cP (từ 500 đến 55000 mPa·s), từ 500 đến 50000 cP (từ 500 đến 50000 mPa·s), từ 500 đến 40000 cP (từ 500 đến 40000 mPa·s), từ 500 đến 35000 cP (từ 500 đến 35000 mPa·s), từ 500 đến 30000 cP (từ 500 đến 30000 mPa·s), từ 500 đến 25000 cP (từ 500 đến 25000 mPa·s), từ 500 đến 20000 cP (từ 500 đến 20000 mPa·s), từ 500 đến 15000 cP (từ 500 đến 15000 mPa·s), từ 500 đến 5000 cP (từ 500 đến 5000 mPa·s), từ 500 đến 2000 cP (từ 500 đến 2000 mPa·s), từ 500 đến 1200 cP (từ 500 đến 1200 mPa·s), từ 600 đến 1000000 cP (từ 600 đến 1000000 mPa·s), từ 600 đến 500000 cP (từ 600 đến 500000 mPa·s), từ 600 đến 200000 cP (từ 600 đến 200000 mPa·s), từ 600 đến 160000 cP (từ 600 đến 160000 mPa·s), từ 600 đến 130000 cP (từ 600 đến 130000 mPa·s), từ 600 đến 120000 cP (từ 600 đến 120000 mPa·s), từ 600 đến 110000 cP (từ 600 đến 110000 mPa·s), từ 600 đến 100000 cP (từ 600 đến 100000 mPa·s), từ 600 đến 90000 cP (từ 600 đến 90000 mPa·s), từ 600 đến 85000 cP (từ 600 đến 85000 mPa·s), từ 600 đến 80000 cP (từ 600 đến 80000 mPa·s), từ 600 đến 75000 cP (từ 600 đến 75000 mPa·s), từ 600 đến 70000 cP (từ 600 đến 70000 mPa·s), từ 600 đến 60000 cP (từ 600 đến 60000 mPa·s), từ 600 đến 55000 cP (từ 600 đến 55000 mPa·s), từ 600 đến 50000 cP (từ 600 đến 50000 mPa·s), từ 600 đến 40000 cP (từ 600 đến 40000 mPa·s), từ 600 đến 35000 cP (từ 600 đến 35000 mPa·s), từ 600 đến 30000 cP (từ 600 đến 30000 mPa·s), từ 600 đến 25000 cP (từ 600 đến 25000 mPa·s), từ 600 đến 20000 cP (từ 600 đến 20000 mPa·s), từ 600 đến 15000 cP (từ 600 đến 15000 mPa·s), từ 600 đến 5000 cP (từ 600 đến 5000 mPa·s), từ 600 đến 2000 cP (từ 600 đến 2000 mPa·s), từ 600 đến 1200 cP (từ 600 đến 1200 mPa·s), từ 800 đến 1000000 cP (từ 800 đến 1000000 mPa·s), từ 800 đến 500000 cP (từ 800 đến 500000 mPa·s), từ 800 đến 200000 cP (từ 800 đến 200000 mPa·s), từ 800 đến 160000 cP (từ 800 đến 160000 mPa·s), từ 800 đến 130000 cP (từ 800 đến 130000 mPa·s), từ 800 đến 120000 cP (từ 800 đến 120000 mPa·s), từ 800 đến 110000 cP (từ 800 đến 110000 mPa·s), từ 800 đến 100000 cP (từ 800 đến 100000 mPa·s), từ 800 đến 90000 cP (từ 800 đến 90000 mPa·s), từ 800 đến 85000 cP (từ 800 đến 85000 mPa·s), từ 800 đến 80000 cP (từ 800 đến 80000 mPa·s), từ 800 đến 75000 cP (từ 800 đến 75000 mPa·s), từ 800 đến 70000 cP (từ 800 đến 70000 mPa·s), từ 800 đến 60000 cP (từ 800 đến 60000 mPa·s), từ 800 đến 55000 cP (từ 800 đến 55000 mPa·s), từ 800 đến 50000 cP (từ 800 đến 50000 mPa·s), từ 800 đến 40000 cP (từ 800 đến 40000 mPa·s), từ 800

đến 35000 cP (từ 800 đến 35000 mPa·s), từ 800 đến 30000 cP (từ 800 đến 30000 mPa·s), từ 800 đến 25000 cP (từ 800 đến 25000 mPa·s), từ 800 đến 20000 cP (từ 800 đến 20000 mPa·s), từ 800 đến 15000 cP (từ 800 đến 15000 mPa·s), từ 800 đến 5000 cP (từ 800 đến 5000 mPa·s), từ 800 đến 2000 cP (từ 800 đến 2000 mPa·s), từ 800 đến 1200 cP (từ 800 đến 1200 mPa·s), từ 10000 đến 1000000 cP (từ 10000 đến 1000000 mPa·s), từ 10000 đến 500000 cP (từ 10000 đến 500000 mPa·s), từ 10000 đến 200000 cP (từ 10000 đến 200000 mPa·s), từ 10000 đến 160000 cP (từ 10000 đến 160000 mPa·s), từ 10000 đến 130000 cP (từ 10000 đến 130000 mPa·s), từ 10000 đến 120000 cP (từ 10000 đến 120000 mPa·s), từ 10000 đến 110000 cP (từ 10000 đến 110000 mPa·s), từ 10000 đến 100000 cP (từ 10000 đến 100000 mPa·s), từ 10000 đến 90000 cP (từ 10000 đến 90000 mPa·s), từ 10000 đến 85000 cP (từ 10000 đến 85000 mPa·s), từ 10000 đến 80000 cP (từ 10000 đến 80000 mPa·s), từ 10000 đến 75000 cP (từ 10000 đến 75000 mPa·s), từ 10000 đến 70000 cP (từ 10000 đến 70000 mPa·s), từ 10000 đến 60000 cP (từ 10000 đến 60000 mPa·s), từ 10000 đến 55000 cP (từ 10000 đến 55000 mPa·s), từ 10000 đến 50000 cP (từ 10000 đến 50000 mPa·s), từ 10000 đến 40000 cP (từ 10000 đến 40000 mPa·s), từ 10000 đến 35000 cP (từ 10000 đến 35000 mPa·s), từ 10000 đến 30000 cP (từ 10000 đến 30000 mPa·s), từ 10000 đến 25000 cP (từ 10000 đến 25000 mPa·s), từ 10000 đến 20000 cP (từ 10000 đến 20000 mPa·s), từ 10000 đến 15000 cP (từ 10000 đến 15000 mPa·s), từ 25000 đến 1000000 cP (từ 25000 đến 1000000 mPa·s), từ 25000 đến 500000 cP (từ 25000 đến 500000 mPa·s), từ 25000 đến 200000 cP (từ 25000 đến 200000 mPa·s), từ 25000 đến 160000 cP (từ 25000 đến 160000 mPa·s), từ 25000 đến 130000 cP (từ 25000 đến 130000 mPa·s), từ 25000 đến 120000 cP (từ 25000 đến 120000 mPa·s), từ 25000 đến 110000 cP (từ 25000 đến 110000 mPa·s), từ 25000 đến 100000 cP (từ 25000 đến 100000 mPa·s), từ 25000 đến 90000 cP (từ 25000 đến 90000 mPa·s), từ 25000 đến 85000 cP (từ 25000 đến 85000 mPa·s), từ 25000 đến 80000 cP (từ 25000 đến 80000 mPa·s), từ 25000 đến 75000 cP (từ 25000 đến 75000 mPa·s), từ 25000 đến 70000 cP (từ 25000 đến 70000 mPa·s), từ 25000 đến 60000 cP (từ 25000 đến 60000 mPa·s), từ 25000 đến 55000 cP (từ 25000 đến 55000 mPa·s), từ 25000 đến 50000 cP (từ 25000 đến 50000 mPa·s), từ 25000 đến 40000 cP (từ 25000 đến 40000 mPa·s), từ 25000 đến 35000 cP (từ 25000 đến 35000 mPa·s), từ 25000 đến 30000 cP (từ 25000 đến 30000 mPa·s), từ 40000 đến 1000000 cP (từ 40000 đến 1000000 mPa·s), từ 40000 đến 500000 cP (từ 40000 đến

[illegible]

130000 mPa·s), từ 60000 đến 120000 cP (từ 60000 đến 120000 mPa·s), từ 60000 đến 110000 cP (từ 60000 đến 110000 mPa·s), từ 60000 đến 100000 cP (từ 60000 đến 100000 mPa·s), từ 60000 đến 90000 cP (từ 60000 đến 90000 mPa·s), từ 60000 đến 85000 cP (từ 60000 đến 85000 mPa·s), từ 60000 đến 80000 cP (từ 60000 đến 80000 mPa·s), từ 60000 đến 75000 cP (từ 60000 đến 75000 mPa·s), từ 60000 đến 70000 cP (từ 60000 đến 70000 mPa·s), từ 70000 đến 1000000 cP (từ 70000 đến 1000000 mPa·s), từ 70000 đến 500000 cP (từ 70000 đến 500000 mPa·s), từ 70000 đến 200000 cP (từ 70000 đến 200000 mPa·s), từ 70000 đến 160000 cP (từ 70000 đến 160000 mPa·s), từ 70000 đến 130000 cP (từ 70000 đến 130000 mPa·s), từ 70000 đến 120000 cP (từ 70000 đến 120000 mPa·s), từ 70000 đến 110000 cP (từ 70000 đến 110000 mPa·s), từ 70000 đến 100000 cP (từ 70000 đến 100000 mPa·s), từ 70000 đến 90000 cP (từ 70000 đến 90000 mPa·s), từ 70000 đến 85000 cP (từ 70000 đến 85000 mPa·s), từ 70000 đến 80000 cP (từ 70000 đến 80000 mPa·s), từ 70000 đến 75000 cP (từ 70000 đến 75000 mPa·s), từ 100000 đến 1000000 cP (từ 100000 đến 1000000 mPa·s), từ 100000 đến 500000 cP (từ 100000 đến 500000 mPa·s), từ 100000 đến 200000 cP (từ 100000 đến 200000 mPa·s), từ 100000 đến 160000 cP (từ 100000 đến 160000 mPa·s), từ 100000 đến 130000 cP (từ 100000 đến 130000 mPa·s), từ 100000 đến 120000 cP (từ 100000 đến 120000 mPa·s), từ 100000 đến 110000 cP (từ 100000 đến 110000 mPa·s), từ 110000 đến 1000000 cP (từ 110000 đến 1000000 mPa·s), từ 110000 đến 500000 cP (từ 110000 đến 500000 mPa·s), từ 110000 đến 200000 cP (từ 110000 đến 200000 mPa·s), từ 110000 đến 160000 cP (từ 110000 đến 160000 mPa·s), từ 110000 đến 130000 cP (từ 110000 đến 130000 mPa·s), từ 110000 đến 120000 cP (từ 110000 đến 120000 mPa·s), từ 130000 đến 1000000 cP (từ 130000 đến 1000000 mPa·s), từ 130000 đến 500000 cP (từ 130000 đến 500000 mPa·s), từ 130000 đến 200000 cP (từ 130000 đến 200000 mPa·s), từ 130000 đến 160000 cP (từ 130000 đến 160000 mPa·s), từ 140000 đến 1000000 cP (từ 140000 đến 1000000 mPa·s), từ 140000 đến 500000 cP (từ 140000 đến 500000 mPa·s), từ 140000 đến 200000 cP (từ 140000 đến 200000 mPa·s), từ 140000 đến 160000 cP (từ 140000 đến 160000 mPa·s), từ 350000 đến 1000000 cP (từ 350000 đến 1000000 mPa·s), từ 350000 đến 500000 cP (từ 350000 đến 500000 mPa·s), từ 370000 đến 1000000 cP (từ 370000 đến 1000000 mPa·s), từ 370000 đến 500000 cP (từ 370000 đến 500000 mPa·s) hoặc từ 370000 đến 450000 cP (từ 370000 đến 450000 mPa·s).

Theo một phương án, vi cấu trúc theo sáng chế có mức độ trương nở nằm trong khoảng 2000 đến 80000%. Theo phương án khác, vi cấu trúc theo sáng chế có mức độ trương nở nằm trong các khoảng sau: từ 2000 đến 75000, từ 2000 đến 70000, từ 2000 đến 60000, từ 2000 đến 45000, từ 2000 đến 40000, từ 2000 đến 35000, từ 2000 đến 30000, từ 2000 đến 25000, từ 2000 đến 15000, từ 2000 đến 12000, từ 2000 đến 5000, từ 2000 đến 3000, từ 2000 đến 2500, từ 2500 đến 75000, từ 2500 đến 70000, từ 2500 đến 60000, từ 2500 đến 45000, từ 2500 đến 40000, từ 2500 đến 35000, từ 2500 đến 30000, từ 2500 đến 25000, từ 2500 đến 15000, từ 2500 đến 12000, từ 2500 đến 5000, từ 2500 đến 3000, từ 3000 đến 75000, từ 3000 đến 70000, từ 3000 đến 60000, từ 3000 đến 45000, từ 3000 đến 40000, từ 3000 đến 35000, từ 3000 đến 30000, từ 3000 đến 25000, từ 3000 đến 15000, từ 3000 đến 12000, từ 3000 đến 5000, từ 4000 đến 75000, từ 4000 đến 70000, từ 4000 đến 60000, từ 4000 đến 45000, từ 4000 đến 40000, từ 4000 đến 35000, từ 4000 đến 30000, từ 4000 đến 25000, từ 4000 đến 15000, từ 4000 đến 12000, từ 4000 đến 5000, từ 10000 đến 75000, từ 10000 đến 70000, từ 10000 đến 60000, từ 10000 đến 45000, từ 10000 đến 40000, từ 10000 đến 35000, từ 10000 đến 30000, từ 10000 đến 25000, từ 10000 đến 15000, từ 10000 đến 12000, từ 20000 đến 75000, từ 20000 đến 70000, từ 20000 đến 60000, từ 20000 đến 45000, từ 20000 đến 40000, từ 20000 đến 35000, từ 20000 đến 30000, từ 20000 đến 25000, từ 25000 đến 75000, từ 25000 đến 70000, từ 25000 đến 60000, từ 25000 đến 45000, từ 25000 đến 40000, từ 25000 đến 35000, từ 25000 đến 30000, từ 30000 đến 75000, từ 30000 đến 70000, từ 30000 đến 60000, từ 30000 đến 45000, từ 30000 đến 40000, từ 30000 đến 35000, từ 35000 đến 75000, từ 35000 đến 70000, từ 35000 đến 60000, từ 35000 đến 45000, từ 35000 đến 40000, từ 40000 đến 75000, từ 40000 đến 70000, từ 40000 đến 60000, từ 40000 đến 45000, từ 55000 đến 75000, từ 55000 đến 70000, từ 55000 đến 60000, từ 65000 đến 75000, từ 65000 đến 70000, từ 70000 đến 75000 hoặc từ 70000 đến 72000%. Hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang theo sáng chế có mức độ trương nở cao khi nước được thêm vào sau quá trình làm khô. Bằng cách giới hạn mức độ trương nở trong khi sản xuất vi cấu trúc, thời gian hấp thụ và tỷ lệ giải phóng dược chất của vi cấu trúc trong cơ thể có thể được điều chỉnh. Cụ thể, khi hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang theo sáng chế được sử dụng trong vi cấu trúc dùng để thẩm qua da, chúng tạo ra hiệu quả dưỡng da rất tốt do đặc tính trương nở và khả năng hấp thụ trong cơ thể của chúng rất tốt.

Theo một phương án, vi cấu trúc theo sáng chế còn chứa axit hyaluronic không liên kết ngang. Theo một phương án của sáng chế, axit hyaluronic không liên kết ngang được bổ sung có tỷ lệ nằm trong khoảng từ 5 đến 2000 phần trọng lượng so với 100 phần trọng lượng của hydrogel axit hyaluronic. Theo một phương án của sáng chế, axit hyaluronic không liên kết ngang được bổ sung có tỷ lệ nằm trong khoảng từ 7 đến 1500, từ 9 đến 1100, từ 10 đến 1000, từ 20 đến 500, từ 50 đến 200, từ 5 đến 20, từ 5 đến 15 hoặc từ 8 đến 12 phần trọng lượng so với 100 phần trọng lượng của hydrogel axit hyaluronic. Như được chứng minh trong phương án 6, mức độ trương nở của hydrogel HA có thể được điều chỉnh bằng cách trộn lẫn HA không liên kết ngang và hydrogel HA liên kết ngang theo sáng chế theo tỷ lệ nhất định trong quá trình sản xuất vi cấu trúc.

Theo một phương án, vi cấu trúc theo sáng chế chứa các thành phần hữu ích bổ sung. Theo phương án khác, các thành phần hữu ích là dược chất, thành phần dưỡng da, hoặc hỗn hợp của hai thành phần này. Nhờ chứa các thành phần hữu ích, vi cấu trúc theo sáng chế có thể giải phóng hữu hiệu thành phần hữu ích vào da.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp sản xuất vi cấu trúc bao gồm các bước: (a) cung cấp hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang vào vi khuôn; (b) phun hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang vào các hốc của vi khuôn; và (c) tách vi khuôn và hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang để thu được vi cấu trúc.

Các bước chi tiết của phương pháp sản xuất theo sáng chế là như sau:

Bước (a): cung cấp hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang vào vi khuôn:

Theo sáng chế, trước tiên, hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang được cung cấp vào vi khuôn.

Khi được sử dụng trong sáng chế, vi khuôn có thể được tạo ra bằng cách sử dụng phương pháp sản xuất vi khuôn bất kỳ như được thực hiện trong công nghiệp. Ví dụ, các phương pháp sản xuất vi khuôn được sử dụng trong sáng chế bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở: phương pháp hệ vi cơ điện tử (Micro-Electro Mechanical System: MEMS), in ảnh litô, vi kim polyme dễ thoái biến sinh học: cách tạo ra, đặc tính cơ học và hệ giải phóng dược chất qua da (Journal of Controlled Release 104, 51-66, 2005), và phương pháp in litô mềm. Trong số chúng, phương pháp in litô mềm có thể được sử dụng để sản xuất các khuôn đàn hồi như polydimethylsiloxan (polydimethylsiloxane: PDMS) và poly(metyl metacrylat) (poly(methyl methacrylate):

PMMA) để sản xuất vi cấu trúc. Công nghệ sản xuất khuôn PDMS là một loại công nghệ sản xuất chất dẻo được sử dụng để đạt được cấu trúc khuôn mong muốn theo nhiều cách khác nhau như đúc, phun, và đập nổi nóng. Ví dụ, khi chất nhạy với ánh sáng được phủ lên trên chất nền như phiên silic và thủy tinh và mẫu được chuyển bằng cách sử dụng màn chắn quang học, cuối cùng, chi tiết chính được tạo ra. Tiếp đó, PDMS được đúc bằng cách sử dụng mẫu này làm khuôn và được nung để thu được khuôn PDMS dùng để đập khuôn.

Theo một phương án, hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang theo sáng chế có mật độ liên kết ngang nằm trong khoảng từ 1 đến 50%. Do vi cấu trúc theo sáng chế và hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang của nó có chung phương pháp để tạo ra vi cấu trúc, các chi tiết bất kỳ chung cho cả hai loại này được bỏ qua để tránh làm phức tạp không cần thiết trong bản mô tả này.

Bước (b): Phun hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang vào các hốc của vi khuôn

Tiếp theo, hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang được phun vào các hốc của vi khuôn.

Theo một phương án, bước phun theo sáng chế được tiến hành bằng cách tác dụng ngoại lực vào hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang. Theo phương án khác của sáng chế, ngoại lực này là lực ly tâm.

Theo phương án khác, bước phun theo sáng chế được tiến hành ở áp suất thấp hơn áp suất khí quyển. Theo một phương án của sáng chế, bước phun được tiến hành ở áp suất nằm trong khoảng từ 100 đến 750mmHg (từ 13,3 đến 100,0kPa). Theo phương án khác, bước phun được tiến hành ở áp suất nằm trong khoảng từ 100 đến 750mmHg (từ 13,3 đến 100,0kPa), từ 200 đến 750mmHg (từ 26,7 đến 100,0kPa), từ 300 đến 750mmHg (từ 40,0 đến 100,0kPa), từ 400 đến 750mmHg (từ 53,3 đến 100,0kPa), từ 500 đến 750mmHg (từ 66,7 đến 100,0kPa), từ 600 đến 750mmHg (từ 80,0 đến 100,0kPa), từ 100 đến 700mmHg (từ 13,3 đến 93,3kPa), từ 200 đến 700mmHg (từ 26,7 đến 93,3kPa), từ 300 đến 700mmHg (từ 40,0 đến 93,3kPa), từ 400 đến 700mmHg (từ 53,3 đến 93,3kPa), từ 500 đến 700mmHg (từ 66,7 đến 93,3kPa) hoặc từ 600 đến 700mmHg (từ 80,0 đến 93,3kPa). Theo phương án khác, bước phun được tiến hành ở áp suất thấp hơn áp suất khí quyển trong thời gian 5 phút hoặc lâu hơn, từ 5 đến 180 phút, từ 5 đến 120 phút, từ 5 đến 60 phút, từ 5 đến 30 phút, từ 5 đến

20 phút, từ 10 đến 180 phút, từ 10 đến 120 phút, từ 10 đến 60 phút, từ 10 đến 30 phút, từ 10 đến 20 phút, từ 13 đến 180 phút, từ 13 đến 120 phút, từ 13 đến 60 phút, từ 13 đến 30 phút, từ 13 đến 20 phút hoặc từ 13 đến 17 phút.

Theo một phương án, có thêm bước được bổ sung sau bước (b), trong đó hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang theo sáng chế được cung cấp cho vi khuôn và nền thứ nhất có độ dày nhất định được tạo ra (Fig.1). Trong trường hợp này, nền có cùng thành phần với thành phần của vi cấu trúc có thể được tạo ra và độ dày của nền thứ nhất làm giảm đến mức tối thiểu độ biến dạng nằm trong khoảng từ 10 μ m đến 200 μ m hoặc từ 30 μ m đến 100 μ m.

Theo phương án khác, có thêm bước được bổ sung sau bước tạo ra nền thứ nhất của sáng chế, trong đó polyme khác với hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang theo sáng chế được cung cấp cho vi khuôn và nền thứ hai có độ dày nhất định được tạo ra (Fig.1). Theo một phương án, nền thứ hai theo sáng chế chứa polyme hoặc chất kết dính có thể tương hợp sinh học. Theo một phương án, nền thứ hai theo sáng chế chứa polyme hoặc chất kết dính có thể tương hợp sinh học. Theo một số phương án của sáng chế, polyme có thể tương hợp sinh học để chỉ một hoặc nhiều polyme được chọn trong số axit hyaluronic không liên kết ngang (Fig.1b), axit alginic, pectin, caragenan, chondroitin (sulfat), dextran (sulfat), chitosan, polylysin, collagen, gelatin, carboxymetyl chitin, fibrin, agarosa, pululanpolylactit, poly(glycolit (PGA), copolyme polylactit-glycolit (PLGA), axit hyaluronic, axit alginic, pectin, caragenan, chondroitin (sulfat), dextran (sulfat), chitosan, polylysin, collagen, gelatin, carboxymetyl chitin, fibrin, agarosa, polyanhydrit, polyorthoeste, polyeteeste, polycaprolacton, polyesteramit, poly(axit butyric), poly(axit valeric), polyuretan, polyacrylat, polyme etylen vinyl axetat, acrylic xenluloza axetat, polyuretan không dễ thoái biến, polystyren, polyvinylclorua, polyvinyl florua, poly(vinylimidazol), closulphonatpolyolefin, polyetylen oxit, polyvinyl pyrrolidon (polyvinyl pyrrolidone: PVP), polyetylen glycol (polyethylene glycol: PEG), polymetyl metacrylat, hydroxy propyl methyl xenluloza (hydroxy propyl methyl cellulose: HPMC), etyl xenluloza (ethyl cellulose: EC), hydroxypropyl xenluloza (hydroxypropyl cellulose: HPC), carboxymetylxenluloza, xyclodextrin, copolyme gồm các monome tạo ra polyme này, và xenluloza. Theo một số phương án, chất kết dính để chỉ một hoặc nhiều chất kết dính được chọn trong số silic, polyuretan, axit hyaluronic, chất kết dính vật lý (Gecko),

polyacryl, etyl xenluloza, hydroxy metyl xenluloza, etylen vinyl axetat, và polyisobutylen.

Bước (c): tách vi khuôn và hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang để thu được vi cấu trúc.

Sau khi bước (b) kết thúc, lấy hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang ra khỏi vi khuôn để thu được vi cấu trúc.

Theo một phương án, sau bước (a), bước làm khô hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang được tiến hành. Theo phương án khác, bước làm khô sau bước (a) được tiến hành trong khoảng thời gian từ 10 phút đến 60 giờ ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 15 đến 90°C, trong khoảng thời gian từ 1 đến 60 giờ ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 20 đến 80°C, hoặc trong khoảng thời gian từ 1 đến 50 giờ ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 20 đến 80°C. Theo một số phương án, bước làm khô sau bước (a) được tiến hành ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 10 đến 30°C, trong khoảng thời gian từ 12 đến 60 giờ, từ 18 đến 52 giờ, từ 24 đến 48 giờ, từ 18 đến 30 giờ, hoặc từ 42 đến 54 giờ; ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C, trong khoảng thời gian từ 1 đến 8 giờ, từ 2 đến 8 giờ, từ 2 đến 6 giờ, từ 2,5 đến 6 giờ, từ 2 đến 3 giờ, từ 4 đến 8 giờ, từ 4 đến 6 giờ, từ 5 đến 7 giờ hoặc từ 3 đến 5 giờ; hoặc ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 60 đến 90°C hoặc từ 60 đến 80°C trong khoảng thời gian từ 1 đến 5 giờ, từ 1 đến 3 giờ, từ 1,5 đến 5 giờ, từ 1,5 đến 3 giờ, từ 1,5 đến 2,5 giờ, từ 2 đến 4 giờ, từ 2 đến 3 giờ hoặc từ 1 đến 2 giờ.

Theo một phương án, sau bước (b), bước làm khô hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang được tiến hành. Theo phương án khác, bước làm khô sau bước (b) được tiến hành trong khoảng thời gian từ 10 phút đến 60 giờ ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 15 đến 90°C, từ 10 phút đến 10 giờ ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 20 đến 90°C, từ 10 phút đến 5 giờ ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 30 đến 80°C, từ 10 phút đến 3 giờ ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 80°C, hoặc từ 20 phút đến 2 giờ ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 80°C. Theo một số phương án, bước làm khô sau bước (b) được tiến hành ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 10 đến 30°C, trong khoảng thời gian từ 36 đến 60 giờ hoặc từ 42 đến 54 giờ; ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C, trong khoảng thời gian từ 0,5 đến 7 giờ, từ 5 đến 7 giờ, từ 0,5 đến 2 giờ hoặc từ 0,5 đến 1,5 giờ; ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 60 đến 90°C hoặc từ 60 đến 80°C trong khoảng thời gian từ 0,2 đến 4 giờ, từ 2 đến 4 giờ, từ 0,2 đến 1 giờ, hoặc từ 0,2 đến 0,6 giờ. Quá trình làm khô sau bước (b) làm gia tăng độ bền cơ học của vi cấu trúc và độ

phẳng của lớp nền.

Theo một phương án, trước bước (a), bước làm khô hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang được tiến hành. Theo phương án khác, bước làm khô trước bước (a) được tiến hành trong khoảng thời gian từ 10 phút đến 60 giờ ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 15 đến 90°C, từ 1 đến 30 giờ ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 20 đến 90°C, từ 1 đến 25 giờ ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 20 đến 80°C, từ 1,5 đến 22 giờ ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 20 đến 80°C. Theo một số phương án, bước làm khô trước bước (a) được tiến hành trong khoảng thời gian từ 10 phút đến 60 giờ ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 15 đến 90°C, từ 10 đến 30 giờ ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 15 đến 30°C, từ 2 đến 6 giờ ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 40 đến 60°C, hoặc từ 1 đến 3 giờ ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 60 đến 80°C. Bước làm khô hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang được tiến hành trước bước (a) làm giảm thể tích của hydrogel HA liên kết từ 3/100 đến 1/50.

Theo phương án khác, bước làm khô hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang sau bước (a) được tiến hành ở áp suất thấp hơn áp suất khí quyển. Nếu bước làm khô hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang sau bước (a) được tiến hành ở áp suất khí quyển bằng 1 (760mmHg (101,3kPa)), thời gian làm khô có thể được giảm trung bình 40%, cuối cùng là làm gia tăng độ an toàn của thành phần hữu ích khi các thành phần này (chẳng hạn, dược chất hoặc thành phần dưỡng da) được tải lên vi cấu trúc của sáng chế. Theo một số phương án, bước làm khô hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang sau bước (a) được tiến hành ở áp suất nằm trong khoảng từ 100 đến 750mmHg (từ 13,3 đến 100,0kPa). Theo phương án khác, bước làm khô hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang sau bước (a) được tiến hành ở áp suất nằm trong khoảng từ 100 đến 750mmHg (từ 13,3 đến 100,0kPa), từ 200 đến 750mmHg (từ 26,7 đến 100,0kPa), từ 300 đến 750mmHg (từ 40,0 đến 100,0kPa), từ 400 đến 750mmHg (từ 53,3 đến 100,0kPa), từ 500 đến 750mmHg (từ 66,7 đến 100,0kPa), từ 600 đến 750mmHg (từ 80,0 đến 100,0kPa), từ 100 đến 700mmHg (từ 13,3 đến 93,3kPa), từ 200 đến 700mmHg (từ 26,7 đến 93,3kPa), từ 300 đến 700mmHg (từ 40,0 đến 93,3kPa), từ 400 đến 700mmHg (từ 53,3 đến 93,3kPa), từ 500 đến 700mmHg (từ 66,7 đến 93,3kPa) hoặc từ 600 đến 700mmHg (từ 80,0 đến 93,3kPa). Theo một số phương án, bước làm khô hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang sau bước (a) được tiến hành ở áp suất thấp hơn áp suất khí quyển trong khoảng thời gian trên 5 phút, từ 5 đến 180 phút, từ 5

đến 120 phút, từ 5 đến 60 phút, từ 5 đến 30 phút, từ 5 đến 20 phút, từ 10 đến 180 phút, từ 10 đến 120 phút, từ 10 đến 60 phút, từ 10 đến 30 phút, từ 10 đến 20 phút, từ 13 đến 180 phút, từ 13 đến 120 phút, từ 13 đến 60 phút, từ 13 đến 30 phút, từ 13 đến 20 phút hoặc từ 13 đến 17 phút.

Theo một phương án, bước làm đồng nhất hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang được tiến hành trước bước (a). Khi được sử dụng trong bản mô tả này, thuật ngữ “làm đồng nhất” để chỉ việc làm cho hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang thành cỡ hạt đồng đều. Khi bước làm đồng nhất được tiến hành theo sáng chế, có thể thu được hydrogel với sự phân bố cỡ hạt nhỏ hơn và áp lực ép đùn thấp và điều chỉnh kích thước của hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang sao cho nó không lớn hơn kích thước hốc của khuôn vi cấu trúc.

Theo một phương án, phương pháp theo sáng chế bao gồm các bước bổ sung (trước bước a) để điều chế hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang, bao gồm bước (i) là bước cho thêm bazơ vào axit hyaluronic trước bước (a) và bước (ii) là bước cho thêm chất tạo liên kết ngang vào sản phẩm thu được từ bước (i) để tạo ra phản ứng liên kết ngang.

Theo phương án khác, trọng lượng phân tử trung bình của axit hyaluronic theo sáng chế nằm trong khoảng từ 100 đến 5000kDa. Theo một số phương án, trọng lượng phân tử trung bình của axit hyaluronic theo sáng chế nằm trong khoảng từ 100 đến 4500kDa, từ 150 đến 4500kDa, từ 200 đến 4200kDa, từ 220 đến 4200kDa, từ 220 đến 1500kDa, từ 300 đến 1500kDa, từ 350 đến 1500kDa, từ 220 đến 550kDa, từ 240 đến 490kDa, từ 3000 đến 3500kDa, từ 1000 đến 1800kDa, từ 1200 đến 1500kDa, hoặc từ 300 đến 400kDa.

Theo phương án khác, sản phẩm thu được từ bước (i) theo sáng chế có nồng độ nằm trong khoảng từ 5 đến 50% (trọng lượng/thể tích). Theo một số phương án, sản phẩm thu được từ bước (i) theo sáng chế có nồng độ nằm trong khoảng từ 5 đến 40%, từ 5 đến 35%, từ 5 đến 30%, từ 5 đến 25%, từ 5 đến 20%, từ 5 đến 15%, từ 5 đến 13%, từ 8 đến 40%, từ 8 đến 35%, từ 8 đến 30%, từ 8 đến 25%, từ 8 đến 20%, từ 8 đến 15%, từ 8 đến 13%, từ 10 đến 40%, từ 10 đến 35%, từ 10 đến 30%, từ 10 đến 25%, từ 10 đến 20%, từ 13 đến 40%, từ 13 đến 35%, từ 13 đến 30%, từ 13 đến 25%, từ 13 đến 20%, từ 13 đến 15%, từ 15 đến 40%, từ 15 đến 35%, từ 15 đến 30%, từ 15 đến 25%, từ 15 đến 20%, từ 18 đến 40%, từ 18 đến 35%, từ 18 đến 30%, từ 18 đến 25%, từ 18

đến 20%, từ 28 đến 40%, từ 28 đến 35%, từ 28 đến 32%, hoặc từ 28 đến 30% (trọng lượng/thể tích).

Theo phương án khác, sản phẩm thu được từ bước (i) theo sáng chế có độ pH nằm trong khoảng từ 11 đến 13 hoặc từ 12 đến 13.

Theo phương án khác, chất tạo liên kết ngang được sử dụng theo sáng chế là chất tạo liên kết ngang ete. Theo một số phương án, chất tạo liên kết ngang là ete 1,4-1,4- butandiol diglycidyl. Theo một số phương án, chất tạo liên kết ngang được thêm vào với lượng nằm trong khoảng từ 0,5 đến 50% mol tính theo đơn vị lặp lại của axit hyaluronic. Bằng cách điều chỉnh nồng độ của chất tạo liên kết ngang, mật độ liên kết ngang của axit hyaluronic có thể được điều chỉnh.

Theo phương án khác, phản ứng liên kết ngang theo sáng chế xảy ra trong khoảng thời gian từ 10 đến 36 giờ ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 20 đến 50°C. Theo một số phương án, phản ứng liên kết ngang theo sáng chế xảy ra trong khoảng thời gian từ 12 đến 36 giờ ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 20 đến 30°C, từ 18 đến 30 giờ ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 20 đến 30°C, hoặc từ 21 đến 27 giờ ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 20 đến 30°C. Theo một số phương án, phản ứng liên kết ngang theo sáng chế xảy ra trong khoảng thời gian từ 10 đến 30 giờ ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 25 đến 35°C, từ 15 đến 25 giờ ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 25 đến 35°C, hoặc từ 18 đến 22 giờ ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 25 đến 35°C.

Hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang được tạo ra sau khi phản ứng liên kết ngang xảy ra có thể được rửa bằng dung dịch nước muối hoặc dung dịch natri clorua (NaCl) để loại bỏ BDDE hoặc NaOH còn dư bất kỳ trong khi đồng thời quá trình làm trương nở có thể được tiến hành. Nếu dung dịch ethanol (chẳng hạn, dung dịch ethanol 80%) được thêm vào, các hạt hydrogel được tạo ra bằng cách làm kết tủa trong khi các hợp chất không có khả năng phản ứng bất kỳ có thể được loại bỏ dễ dàng.

Theo phương án khác, vi cấu trúc theo sáng chế chứa axit hyaluronic không liên kết ngang được bổ sung. Theo một số phương án, axit hyaluronic không liên kết ngang được bổ sung có tỷ lệ nằm trong khoảng từ 5 đến 2000 phần trọng lượng so với 100 phần trọng lượng của hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang. Theo một số phương án, axit hyaluronic không liên kết ngang được bổ sung có tỷ lệ nằm trong khoảng từ 10 đến 1000, từ 7 đến 1500, từ 9 đến 1100, từ 20 đến 500, từ 50 đến 200, từ 5 đến 20, từ 5 đến 15 hoặc từ 8 đến 12 phần trọng lượng so với 100 phần trọng lượng

của hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang.

Theo phương án khác, các bazơ theo sáng chế bao gồm và không chỉ giới hạn ở các bazơ thông thường (chẳng hạn, NaOH) như được sử dụng trong thương mại. Theo một số phương án, bazơ để chỉ dung dịch NaOH. Theo một số phương án, bazơ để chỉ dung dịch NaOH 0,25N-5N.

Do vi cấu trúc theo sáng chế và hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang của nó có chung phương pháp để tạo ra vi cấu trúc, chi tiết chung bất kỳ của cả hai loại này được bỏ qua để tránh làm phức tạp không cần thiết trong bản mô tả này.

Hiệu quả đạt được của sáng chế

Phần sau đây tóm tắt các dấu hiệu và ưu điểm của sáng chế:

(a) Sáng chế đề xuất vi cấu trúc chứa hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang và phương pháp sản xuất vi cấu trúc này.

(b) Phương pháp theo sáng chế tạo ra vi cấu trúc bằng cách sử dụng hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang cho phép tạo ra vi cấu trúc có hình dạng đồng đều và mức độ biến dạng tối thiểu.

(c) Ngoài ra, vi cấu trúc được tạo ra bằng cách sử dụng hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang theo sáng chế có thể cải thiện tình trạng lão hóa da, ví dụ, các nếp nhăn, dưỡng ẩm, dễ hấp thụ dịch cơ thể do tính năng trương nở tốt của nó, làm cho khoảng thời gian duy trì trong cơ thể được kéo dài do độ an toàn của nó đối với enzym hòa tan axit hyaluronic, cho phép giải phóng an toàn thành phần hữu ích trong cơ thể.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Phần sau đây thể hiện sự mô tả chi tiết sáng chế qua các ví dụ. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ hiểu rằng các ví dụ được ưu tiên này chỉ nhằm mục đích minh họa và phần yêu cầu bảo hộ của sáng chế không bị giới hạn bởi các ví dụ này.

Ví dụ 1: Điều chế hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang

Ví dụ 1-1: Sử dụng axit hyaluronic 10% (trọng lượng phân tử trung bình 360kDa)

Ví dụ 1-1-1

Hòa tan hoàn toàn axit hyaluronic (Bloomage Freda Biotechnology Co., Ltd.,

Trung Quốc) có trọng lượng phân tử trung bình 360kDa (trọng lượng phân tử nằm trong khoảng từ 240 đến 490kDa) trong dung dịch kiềm (NaOH 0,25N) ở nồng độ 10% (trọng lượng/thể tích) và ete 1,4-butandiol diglycidyl (BDDE) được thêm vào để phản ứng liên kết ngang với nhóm hydroxyl. Cho thêm BDDE với lượng 10% mol tính theo đơn vị lặp lại của HA. Để phản ứng liên kết ngang hoàn toàn, phản ứng này xảy ra trong 24 giờ ở nhiệt độ 25°C hoặc trong 20 giờ ở nhiệt độ 30°C. Dung dịch axit hyaluronic có độ pH = 12. Rửa hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang bằng nước cất hoặc dung dịch nước muối để loại bỏ BDDE và NaOH còn dư. Mật độ liên kết ngang của hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang được xác định được bằng cách sử dụng phương pháp phân tích $^1\text{H-NMR}$ (phổ cộng hưởng từ hạt nhân) và mật độ liên kết ngang bằng 19,75%.

Ví dụ 1-1-2

Điều chế hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang bằng cách sử dụng phương pháp giống như phương pháp trong Ví dụ 1-1-1, chỉ khác là cho thêm BDDE với lượng 12% mol tính theo đơn vị lặp lại của HA. Mật độ liên kết ngang của hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang bằng 25,5%.

Ví dụ 1-1-3

Điều chế hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang bằng cách sử dụng phương pháp giống như phương pháp trong Ví dụ 1-1-1, chỉ khác là cho thêm BDDE với lượng 15% mol tính theo đơn vị lặp lại của HA. Mật độ liên kết ngang của hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang bằng 20,5%.

Ví dụ 1-1-4

Điều chế hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang bằng cách sử dụng phương pháp giống như phương pháp trong Ví dụ 1-1-1, chỉ khác là cho thêm BDDE với lượng 30% mol tính theo đơn vị lặp lại của HA. Mật độ liên kết ngang của hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang bằng 30,5%.

Ví dụ 1-1- 5

Điều chế hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang bằng cách sử dụng phương pháp giống như phương pháp trong Ví dụ 1-1-1, chỉ khác là cho thêm BDDE với lượng 40% mol tính theo đơn vị lặp lại của HA. Mật độ liên kết ngang của hydrogel

axit hyaluronic liên kết ngang bằng 31,75%.

Ví dụ 1-2: Sử dụng axit hyaluronic 15% (trọng lượng phân tử trung bình 360kDa)

Ví dụ 1-2-1

Hòa tan hoàn toàn axit hyaluronic (Bloomage Freda Biotechnology Co., Ltd., Trung Quốc) có trọng lượng phân tử trung bình 360kDa (trọng lượng phân tử nằm trong khoảng từ 240 đến 490kDa) trong dung dịch kiềm (NaOH 0,25N) với nồng độ 15% (trọng lượng/thể tích) và cho thêm BDDE vào để tạo ra phản ứng liên kết ngang với nhóm hydroxyl. Để phản ứng liên kết ngang hoàn toàn, phản ứng này xảy ra trong 24 giờ ở nhiệt độ 25°C hoặc trong 20 giờ ở nhiệt độ 30°C. Dung dịch axit hyaluronic có độ pH = 12. Rửa hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang bằng nước cất hoặc dung dịch nước muối để loại bỏ BDDE và NaOH còn dư. Mật độ liên kết ngang của hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang bằng 9,25%.

Ví dụ 1-2- 2

Điều chế hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang bằng cách sử dụng phương pháp giống như phương pháp trong Ví dụ 1-2-1, chỉ khác là cho thêm BDDE với lượng 7,5% mol tính theo đơn vị lặp lại của HA. Mật độ liên kết ngang của hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang bằng 19,75%.

Ví dụ 1-3: Sử dụng axit hyaluronic 20% (trọng lượng phân tử trung bình 360kDa)

Hòa tan hoàn toàn axit hyaluronic (Bloomage Freda Biotechnology Co., Ltd., Trung Quốc) có trọng lượng phân tử trung bình 360kDa (trọng lượng phân tử nằm trong khoảng từ 240 đến 490kDa) trong dung dịch kiềm (NaOH 0,25N) ở nồng độ 20% (trọng lượng/thể tích) và cho thêm BDDE vào để tạo ra phản ứng liên kết ngang với nhóm hydroxyl. Cho thêm BDDE với lượng 3% mol tính theo đơn vị lặp lại của HA. Để phản ứng liên kết ngang hoàn toàn, phản ứng này xảy ra trong 24 giờ ở nhiệt độ 25°C hoặc trong 20 giờ ở nhiệt độ 30°C. Dung dịch axit hyaluronic có độ pH = 12. Rửa hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang bằng nước cất hoặc dung dịch nước muối để loại bỏ BDDE và NaOH còn dư. Mật độ liên kết ngang của hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang bằng 6,25%.

Ví dụ 1-4: Sử dụng axit hyaluronic 30% (trọng lượng phân tử trung bình 360kDa)

Hòa tan hoàn toàn axit hyaluronic (Bloomage Freda Biotechnology Co., Ltd., Trung Quốc) có trọng lượng phân tử trung bình 360kDa (trọng lượng phân tử nằm trong khoảng từ 240 đến 490kDa) trong dung dịch kiềm (NaOH 0,25N) ở nồng độ 30% (trọng lượng/thể tích) và cho thêm BDDE vào để tạo ra phản ứng liên kết ngang với nhóm hydroxyl. Cho thêm BDDE với lượng 1% mol tính theo đơn vị lặp lại của HA. Để phản ứng liên kết ngang hoàn toàn, phản ứng này xảy ra trong 24 giờ ở nhiệt độ 25°C hoặc trong 20 giờ ở nhiệt độ 30°C. Dung dịch axit hyaluronic có độ pH = 12. Rửa hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang bằng nước cất hoặc dung dịch nước muối để loại bỏ BDDE và NaOH còn dư. Mật độ liên kết ngang của hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang bằng 2,25%.

Ví dụ 1-5: Sử dụng axit hyaluronic 10% (trọng lượng phân tử trung bình 1400kDa)

Ví dụ 1-5-1

Hòa tan hoàn toàn axit hyaluronic (Bloomage Freda Biotechnology Co., Ltd., Trung Quốc) có trọng lượng phân tử trung bình 1400kDa (trọng lượng phân tử nằm trong khoảng từ 1000 đến 1800kDa) trong dung dịch kiềm (NaOH 0,25N) ở nồng độ 10% (trọng lượng/thể tích) và cho thêm BDDE vào để tạo ra phản ứng liên kết ngang với nhóm hydroxyl. Cho thêm BDDE với lượng 12% mol tính theo đơn vị lặp lại của HA. Để phản ứng liên kết ngang hoàn toàn, phản ứng này xảy ra trong 24 giờ ở nhiệt độ 25°C hoặc trong 20 giờ ở nhiệt độ 30°C. Dung dịch axit hyaluronic có độ pH = 12. Rửa hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang bằng nước cất hoặc dung dịch nước muối để loại bỏ BDDE và NaOH còn dư. Mật độ liên kết ngang của hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang bằng 21,25%.

Ví dụ 1-5-2

Điều chế hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang bằng cách sử dụng phương pháp giống như phương pháp trong Ví dụ 1-5-1, chỉ khác là cho thêm BDDE với lượng 20% mol tính theo đơn vị lặp lại của HA. Mật độ liên kết ngang của hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang bằng 26,75%.

Ví dụ 1-6: Sử dụng axit hyaluronic 20% (trọng lượng phân tử trung bình 3200kDa)

Hòa tan hoàn toàn axit hyaluronic (Bloomage Freda Biotechnology Co., Ltd., Trung Quốc) có trọng lượng phân tử trung bình 3200kDa (trọng lượng phân tử nằm

trong khoảng từ 2400 đến 4000kDa, CPN, Cộng hòa Séc) trong dung dịch kiềm (NaOH 0,25N) ở nồng độ 20% (trọng lượng/thể tích) và cho thêm BDDE vào để tạo ra phản ứng liên kết ngang với nhóm hydroxyl. Cho thêm BDDE với lượng 5% mol tính theo đơn vị lặp lại của HA. Để phản ứng liên kết ngang hoàn toàn, phản ứng này xảy ra trong 24 giờ ở nhiệt độ 25°C hoặc trong 20 giờ ở nhiệt độ 30°C. Dung dịch axit hyaluronic có độ pH = 12. Rửa hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang bằng nước cất hoặc dung dịch nước muối để loại bỏ BDDE và NaOH còn dư. Mật độ liên kết ngang của hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang bằng 7,75%.

Ví dụ 1-7: Sử dụng axit hyaluronic 30% (trọng lượng phân tử trung bình 3200kDa)

Hòa tan hoàn toàn axit hyaluronic có trọng lượng phân tử trung bình 3200kDa (trọng lượng phân tử nằm trong khoảng từ 2400 đến 4000kDa) trong dung dịch kiềm (NaOH 0,25N) ở nồng độ 30% (trọng lượng/thể tích) và cho thêm BDDE vào để tạo ra phản ứng liên kết ngang với nhóm hydroxyl. Cho thêm BDDE với lượng 1% mol tính theo đơn vị lặp lại của HA. Để phản ứng liên kết ngang hoàn toàn, phản ứng này xảy ra trong 24 giờ ở nhiệt độ 25°C hoặc trong 20 giờ ở nhiệt độ 30°C. Dung dịch axit hyaluronic có độ pH = 12. Rửa hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang bằng nước cất hoặc dung dịch nước muối để loại bỏ BDDE và NaOH còn dư. Mật độ liên kết ngang của hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang bằng 2,25%.

Ví dụ 2: Tạo ra vi cấu trúc bằng cách sử dụng hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang theo sáng chế

Tạo ra vi khuôn PDMS

Khuôn dương được sản xuất trên phiến silic bằng cách sử dụng quy trình của hệ vi điện cơ (MEMS) và sau đó silicon rắn nhiệt (polydimethylsiloxan; PDMS) được sử dụng để sản xuất khuôn âm từ khuôn dương.

Ví dụ 2-1

Cung cấp hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang điều chế được bằng cách sử dụng phương pháp của Ví dụ 1 vào vi khuôn PDMS và làm khô trong 48 giờ ở nhiệt độ trong phòng (25°C), 6 giờ ở nhiệt độ 50°C, hoặc 3 giờ ở nhiệt độ 70°C. Sau đó phun hydrogel này vào các hốc của khuôn và lấy khuôn ra để thu được vi cấu trúc hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang.

Ví dụ 2-2

Hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang điều chế được bằng cách sử dụng phương pháp của Ví dụ 1 được cung cấp vào vi khuôn PDMS và được phun vào các hốc của khuôn trong điều kiện giảm áp suất (650mmHg (86,7kPa), 15 phút). Sau đó, khuôn này được làm khô trong 48 giờ ở nhiệt độ trong phòng (25°C), 6 giờ ở nhiệt độ 50°C, hoặc 3 giờ ở nhiệt độ 70°C, và lấy khuôn ra để thu được vi cấu trúc hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang.

Ví dụ 2-3

Hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang điều chế được bằng cách sử dụng phương pháp của Ví dụ 1 được cung cấp vào vi khuôn PDMS và được phun vào các hốc của khuôn bằng cách sử dụng máy ly tâm với tốc độ 900 x g (9000 m/s²) trong 15 phút. Sau đó, khuôn này được làm khô trong 48 giờ ở nhiệt độ trong phòng (25°C), trong 6 giờ ở nhiệt độ 50°C, hoặc 3 giờ ở nhiệt độ 70°C, và lấy khuôn ra để thu được vi cấu trúc hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang.

Ví dụ 2-4

100ml hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang điều chế được bằng cách sử dụng phương pháp của Ví dụ 1 được làm khô trong 20 giờ ở nhiệt độ trong phòng, 4 giờ ở nhiệt độ 50°C, hoặc 2 giờ ở nhiệt độ 70°C, cho đến khi hydrogel này còn lại 3ml hoặc 10ml. Sau đó hydrogel được cung cấp vào vi khuôn PDMS và được phun vào các hốc của khuôn bằng cách sử dụng máy ly tâm với tốc độ 900 x g (9000 m/s²) trong 60 phút. Tiếp đó, lấy khuôn ra để thu được vi cấu trúc hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang.

Ví dụ 2-5

Hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang điều chế được bằng cách sử dụng phương pháp của Ví dụ 1 được cung cấp vào vi khuôn PDMS sau khi được làm đồng nhất bằng cách sử dụng thiết bị làm đồng nhất (Primix Corporation, Nhật Bản) ở tốc độ 8000 vòng/phút trong 10 phút. Sau đó, khuôn này được làm khô trong 24 giờ ở nhiệt độ trong phòng, 5 giờ ở nhiệt độ 50°C, hoặc 2,5 giờ ở nhiệt độ 70°C, và được phun đều vào các hốc của khuôn bằng cách sử dụng máy ly tâm với với tốc độ 900 x g

(9000 m/s²) trong 20 phút. Tiếp đó, lấy khuôn ra để thu được vi cấu trúc hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang. Quá trình làm khô trung gian giúp làm gia tăng độ bền cơ học của vi cấu trúc và độ phẳng của lớp nền.

Ví dụ 2-6

Hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang điều chế được bằng cách sử dụng phương pháp của Ví dụ 1 được cung cấp vào vi khuôn PDMS sau khi được làm đồng nhất bằng cách sử dụng thiết bị làm đồng nhất với tốc độ 8000 vòng/phút trong 10 phút. Sau đó, khuôn này được làm khô trong 12 giờ ở nhiệt độ 37°C, 4 giờ ở nhiệt độ 50°C, hoặc 2,5 giờ ở nhiệt độ 70°C, và được phun đều vào các hốc của khuôn bằng cách sử dụng máy ly tâm với tốc độ 900 x g (9000 m/s²) trong 20 phút. Khuôn này được làm khô tiếp trong 1 giờ ở nhiệt độ 50°C hoặc 30 phút ở nhiệt độ 70°C. Tiếp đó, lấy khuôn ra để thu được vi cấu trúc hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang. Quá trình làm khô bổ sung làm gia tăng độ bền cơ học của vi cấu trúc bằng cách loại bỏ thêm hơi ẩm còn lại.

Ví dụ 2-7

Hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang điều chế được bằng cách sử dụng phương pháp của Ví dụ 1 được cung cấp vào vi khuôn sau khi được làm đồng nhất bằng cách sử dụng thiết bị làm đồng nhất với tốc độ 8000 vòng/phút trong 10 phút. Sau đó, khuôn này được làm khô trong 7 giờ ở nhiệt độ 37°C, 2,5 giờ ở nhiệt độ 50°C, hoặc 1,5 giờ ở nhiệt độ 70°C trong điều kiện giảm áp suất (684mmHg (91,2kPa)), và được phun đều vào các hốc của khuôn bằng cách sử dụng máy ly tâm với tốc độ 900 x g (9000 m/s²) trong 20 phút. Khuôn này được làm khô tiếp trong 1 giờ ở nhiệt độ 50°C hoặc 30 phút ở nhiệt độ 70°C. Sau đó, lấy khuôn ra để thu được vi cấu trúc hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang. Quá trình làm khô trong khi giảm áp suất tạo điều kiện thuận lợi cho việc phun chất dẫn xuất vào khuôn, rút ngắn thời gian làm khô trung gian (trung bình là 40%), và làm gia tăng tính ổn định khi được chất được tải lên vi cấu trúc.

Ví dụ so sánh 1: tạo ra vi cấu trúc bằng cách chỉ sử dụng axit hyaluronic không được cải biến (không liên kết ngang)

Axit hyaluronic không liên kết ngang 30% (trọng lượng/thể tích) được cung

cấp vào vi khuôn PDMS và được phun vào các hốc của khuôn bằng cách sử dụng máy ly tâm trong 15 phút với tốc độ $900 \times g$ (9000 m/s^2). Sau đó, khuôn này được làm khô trong 30 phút ở nhiệt độ trong phòng (25°C) và lấy khuôn ra để thu được vi cấu trúc.

Ví dụ 3: Tạo ra vi cấu trúc bằng cách sử dụng hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang và hydrogel axit hyaluronic không được cải biến (không liên kết ngang)

Ví dụ 3-1

Hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang thu được trong Ví dụ 1 được làm đồng nhất bằng cách sử dụng thiết bị làm đồng nhất với tốc độ 8000 vòng/phút trong 10 phút. Sau đó, trộn hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang với axit hyaluronic không liên kết ngang với tỷ lệ trọng lượng 1:1, 1:5, 1:10, hoặc 5:1. Các bọt khí được loại bỏ hoàn toàn bằng quá trình loại không khí bằng cách sử dụng bơm chân không (750mmHg ($100,0\text{kPa}$)) trước khi hydrogel được cung cấp vào vi khuôn. Phun hydrogel vào các hốc của khuôn trong điều kiện giảm áp suất (650mmHg ($86,7\text{kPa}$), 15 phút), khuôn được làm khô trong 48 giờ ở nhiệt độ trong phòng (25°C), 6 giờ ở nhiệt độ 50°C hoặc 3 giờ ở nhiệt độ 70°C . Sau đó, lấy khuôn ra để thu được vi cấu trúc bằng cách sử dụng hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang và axit hyaluronic không liên kết ngang.

Ví dụ 3-2

Hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang trong Ví dụ 1 được làm đồng nhất bằng cách sử dụng thiết bị làm đồng nhất với tốc độ 8000 vòng/phút trong 10 phút. Tiếp đó, trộn hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang với axit hyaluronic không liên kết ngang với tỷ lệ trọng lượng 1:1, 1:5, 1:10, hoặc 5:1. Hydrogel này được cung cấp vào vi khuôn trong điều kiện giảm áp suất (250mmHg ($33,3\text{kPa}$), các bọt khí được loại bỏ) và các bọt khí được loại bỏ hoàn toàn bằng quá trình loại không khí bổ sung bằng cách sử dụng bơm chân không (750mmHg ($100,0\text{kPa}$), 15 phút). Hydrogel được làm khô trong 12 giờ ở nhiệt độ 37°C , 4 giờ ở nhiệt độ 50°C hoặc 2,5 giờ ở nhiệt độ 70°C và được phun đều vào các hốc của khuôn bằng cách sử dụng máy ly tâm trong 20 phút ở tốc độ $900 \times g$ (9000 m/s^2). Sau đó, khuôn này được làm khô tiếp trong 1 giờ ở nhiệt độ 50°C hoặc 30 phút ở nhiệt độ 70°C . Tiếp đó, lấy khuôn ra để thu được vi cấu trúc bằng cách sử dụng hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang và axit

hyaluronic không liên kết ngang.

Ví dụ 4: Độ nhớt đàn hồi của hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang

Hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang có độ nhớt đàn hồi khác nhau, tùy theo phương pháp liên kết ngang và lượng chất tạo liên kết ngang được thêm vào. Nếu hydrogel có độ nhớt quá cao (cao hơn 2500000 cP (2500000 mPa·s)) hoặc mô đun đàn hồi quá cao (cao hơn 100kPa khi được xác định ở tần số 1Hz), không thể tạo ra vi cấu trúc với hình dạng và độ cứng mong muốn.

Phương án này được thực hiện để đánh giá các điều kiện tạo ra vi cấu trúc theo độ nhớt đàn hồi của hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang theo sáng chế. Trong khi tạo ra vi cấu trúc theo độ nhớt đàn hồi của hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang, thời gian làm khô và các điều kiện ly tâm có thể được điều chỉnh. Nếu mô đun đàn hồi được xác định ở tần số 1Hz là cao hơn 100Pa hoặc cỡ hạt trung bình của gel là lớn hơn 200 μ m hoặc không đồng nhất, cần có bước làm đồng nhất các hạt hydrogel này.

Để đánh giá độ nhớt đàn hồi của hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang điều chế được theo sáng chế, độ nhớt phức hợp ($|n^*|$, Pa.s), mô đun đàn hồi (G' , Pa) và hệ số độ nhớt (G'' , Pa) của các sản phẩm thu được theo các phương án từ 1-1 đến 1-5 được xác định.

Bằng cách sử dụng lưu biến kế AR 2000EX (T.A Instruments Ltd., Mỹ), 4-cm, hình côn 2° và hình học phẳng, các phép đo được thực hiện với tỷ lệ biến dạng 1% và chế độ dao động nằm trong khoảng từ 0,02 đến 1Hz. Bảng 1 thể hiện độ nhớt phức hợp xác định được ở tần số 0,02Hz và mô đun đàn hồi và hệ số độ nhớt được xác định ở tần số 1Hz. Sai số của thiết bị là $\pm 10\%$, và thử nghiệm được thực hiện ở nhiệt độ 25°C.

Bảng 1

	Trọng lượng phân tử HA (kDa)	Lượng chất tạo liên kết ngang được thêm vào (% mol tính theo đơn vị lặp lại của HA)	Độ nhớt phức hợp ($ n^* $) (Pa.s ở 0,02Hz)	Mô đun đàn hồi (G') (Pa ở 1Hz)	Hệ số độ nhớt (G'') (Pa ở 1Hz)	Hàm lượng tối đa của hydrogel HA liên kết ngang có thể được chứa trong vi cấu trúc (% trọng lượng/thể tích)
--	------------------------------	---	--	------------------------------------	------------------------------------	---

Ví dụ 1-1-1	360	10	6,91	1,58	0,85	15%
Ví dụ 1-1-2	360	12	67,00	10,54	5,18	12%
Ví dụ 1-1-3	360	15	64,39	12,02	1,52	12%
Ví dụ 1-1-4	360	30	1754,33	435,50	100,16	7,5%
Ví dụ 1-1-5	360	40	4154,67	860,47	246,53	7,5%
Ví dụ 1-2-1	360	5	570,01	119,50	4,72	10%
Ví dụ 1-2-2	360	7,5	389,26	61,50	6,09	10%
Ví dụ 1-3	360	3	678,80	119,76	17,66	10%
Ví dụ 1-4	360	1	600,05	129,56	112	10%
Ví dụ 1-5-1	1400	12	138,47	24,16	7,52	12%
Ví dụ 1-5-2	1400	20	1469,67	227,35	45,95	7,5%

Như được thể hiện trong Bảng 1, độ nhớt phức hợp và môđun đàn hồi của hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang bị ảnh hưởng bởi trọng lượng phân tử của HA và tỷ lệ của chất tạo liên kết ngang.

Đã khẳng định được rằng khi nồng độ ban đầu của axit hyaluronic có khả năng phản ứng là 10% (trọng lượng/thể tích), độ nhớt phức hợp và môđun đàn hồi của hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang tăng lên khi lượng chất tạo liên kết ngang được thêm vào tăng lên. Trong khi đó, nếu nồng độ ban đầu của HA có khả năng phản ứng tăng lên, ngay cả khi lượng chất tạo liên kết ngang được thêm vào là nhỏ, nó vẫn

có độ nhớt phức hợp và mô đun đàn hồi tương đối cao.

Ngoài ra, sau khi sản phẩm thu được từ các Ví dụ từ 1-1 đến 1-5 được làm khô trước khi được cung cấp vào khuôn như được mô tả trong Ví dụ 2-4, các tác giả sáng chế đã xác định được nồng độ tối đa của hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang có thể được chứa ở mức sao cho có thể tạo ra vi cấu trúc bằng cách thay đổi nồng độ. Bảng 1 thể hiện kết quả thu được. Đã khẳng định được rằng khi một mình lượng hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang lớn hơn hàm lượng tối đa trong khi tạo ra vi cấu trúc, độ đàn hồi (hoặc lực phục hồi) cao làm cho khó phun vào khuôn. Cụ thể hơn, nếu hàm lượng chất rắn trong hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang trong Ví dụ 1-1-2 được điều chỉnh đến 15% và được điều chế như được mô tả trong Ví dụ 2-4, vi cấu trúc được làm khô với hình dạng không đồng nhất và lượng được phun vào khuôn thay đổi theo cấu trúc, dẫn đến sự tạo ra vi cấu trúc có độ dài không đồng nhất (Fig.4).

Ví dụ 5: Xác định khoảng độ nhớt của hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang được làm đồng nhất

Để đánh giá khoảng độ nhớt của hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang điều chế được trong Ví dụ 1, sản phẩm thu được từ các Ví dụ 1-1 đến 1-5 được làm đồng nhất bằng cách sử dụng máy nghiền (máy làm đồng nhất hoặc máy nghiền kiểu trụ) và độ nhớt của chúng được xác định bằng cách sử dụng nhớt kế (Brookfield DV- I prime).

Hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang đã làm đồng nhất được chuyển cẩn thận đến cốc có mỏ để tránh tạo ra bọt khí. Chúng được để yên ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian từ 2 đến 3 giờ cho đến khi nhiệt độ của toàn bộ mẫu trở nên đồng đều. Sau đó, cổ định cốc có mỏ trên nền phẳng, tốc độ vòng/phút được điều chỉnh bằng cách sử dụng trục LV62 hoặc 64 cho đến khi mômen đạt đến mức nằm trong khoảng từ 10 đến 100%. Ba phút sau khi bắt đầu xác định, độ nhớt đã ổn định được đọc kết quả và độ nhớt của hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang đã làm đồng nhất được xác định. Bảng 2 thể hiện khoảng độ nhớt.

Bảng 2

	Lượng chất tạo liên kết ngang được thêm vào (% mol tính theo đơn vị lặp lại của HA)	Trục số	Vòng/phút	Mômen (%)	Độ nhớt (cP)
Ví dụ 1-1-1	10	63	1,0	90 - 100	112000 - 120000
		64	5,0	30 - 40	380000 - 445000
Ví dụ 1-1-2	12	63	60,0	10 - 20	300 - 450
		63	100,0	15 - 25	180 - 300
Ví dụ 1-1-3	15	63	60,0	30 - 40	300 - 450
		63	100,0	15 - 25	700 - 1150
Ví dụ 1-1-4	30	63	2,0	80 - 90	50000 - 53000
		63	2,5	90 - 100	45000 - 51000
Ví dụ 1-1-5	40	63	1,0	90 - 100	110000 - 120000
		64	5,0	50 - 60	63000 - 72000
Ví dụ 1-2-1	5	63	1,0	60 - 70	101000 - 107000
		64	5,0	60 - 70	72000 - 82000
Ví dụ 1-2-2	7,5	63	2,5	70 - 80	37000 - 38000
		63	5,0	90 - 100	27000 - 33000
Ví dụ 1-3	3	63	1,5	65 - 75	48000 - 66000
		63	6,0	71 - 93	14000 - 19000
Ví dụ 1-4	1	62	1,5	60 - 70	12000 - 18000
		63	5,0	60 - 70	14000 - 21000
Ví dụ 1-5-1	12	63	5,0	60 - 65	140000 - 155000
		63	10	80 - 90	9100 - 11000
Ví dụ 1-5-2	20	63	0,5	50 - 60	112000 - 152000
		64	5,0	35 - 45	43000 - 53000

Đã khẳng định được rằng khi hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang theo Ví dụ 1-1-1 được điều chế với độ nhớt khoảng 2500000 cP (2500000 mPa·s) theo Ví dụ 2-4, hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang không thể được phun đều vào khuôn, làm cho vi cấu trúc có phần bên trong rỗng hoặc phần giữa bị cắt đứt (Fig.5).

Ví dụ 6: Đánh giá sự thoái biến *in-vitro* của hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang (thử nghiệm hyaluronidaza)

Để đánh giá mức độ ức chế sự thoái biến *in-vitro* theo quy trình điều chế hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang của sáng chế, thử nghiệm thoái biến được thực hiện bằng cách sử dụng enzym thủy phân axit hyaluronic đối với sản phẩm thu được từ các Ví dụ 1-1 đến 1-7.

Các tác giả sáng chế đã cải biến phương pháp của Reissig và các đồng tác giả (a modified colorimetric method for the estimation of N-acetylamino sugar, J. Biol. Chem. 1955, 217:959-966) để tiến hành thử nghiệm thoái biến *in-vitro* bằng enzym hòa tan axit hyaluronic (thử nghiệm hyaluronidaza). Hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang thu được từ các Ví dụ từ 1-1 đến 1-7 được chuyển vào các ống với lượng bằng nhau. Sau đó, PBS 0,2M (độ pH = 7,4) chứa enzym thủy phân axit hyaluronic 500U/ml (hyaluronidaza, Bovine Testes, Sigma-Aldrich, Mỹ) được thêm vào. Các hỗn hợp này được cho phản ứng ở nhiệt độ 37°C lần lượt trong 6 giờ và trong 48 giờ. Khi phản ứng enzym ngừng, cho thêm kali borat 0,8M (độ pH = 9,1) vào để chuyển hóa N-acetyl glucosamin (NAG) đã thoái biến bằng phản ứng enzym thành hợp chất trung gian, cụ thể là glucoxazolin, và sau đó gia nhiệt hỗn hợp này trong 5 phút ở nhiệt độ 100°C. Để xác định lượng N-acetyl glucosamin được tạo ra từ quá trình thoái biến, chất tạo màu p-dimetylaminobenzaldehyt (DMAB) được cho thêm vào ống và phản ứng này xảy ra trong 30 phút ở nhiệt độ 37°C. Tiếp đó, trong số các sản phẩm liên kết ngang bị thoái biến bằng cách sử dụng chất hoạt động bề mặt sau khi tiến hành tách ly tâm (3000 vòng/phút, 10 phút), lượng NAG được xác định bằng cách sử dụng tia tử ngoại (UV) với hệ số hấp thụ ở bước sóng 585nm. Bảng 3 thể hiện tác dụng ức chế tương đối sự thoái biến sinh học ở các sản phẩm thu được từ các Ví dụ từ 1-1 đến 1-7 do enzym hòa tan axit hyaluronic gây ra khi tỷ lệ thoái biến của axit hyaluronic không liên kết ngang được thiết lập ở mức 100%.

Bảng 3

	Trọng lượng phân tử của HA (kDa)	Lượng chất tạo liên kết ngang được thêm vào (% mol tính theo đơn vị lặp lại của HA)	Tỷ lệ liên kết ngang (%)	Hiệu quả ức chế sự thoái biến sinh học (%)	
				6 giờ	48 giờ
Ví dụ so sánh (HA không liên kết ngang)	360	-	-	0	0
Ví dụ 1-1-1	360	10	19,75	8,97	12,92
Ví dụ 1-1-2	360	12	25,5	23,21	30,18
Ví dụ 1-1-3	360	15	20,5	32,48	33,42
Ví dụ 1-1-4	360	30	30,5	32,08	32,80
Ví dụ 1-1-5	360	40	31,75	33,52	34,97
Ví dụ 1-2-1	360	5	9,25	24,19	36,90
Ví dụ 1-2-2	360	7,5	19,75	35,80	46,17
Ví dụ 1-3	360	3	6,25	29,70	29,95
Ví dụ 1-4	360	1	2,25	32,48	43,14
Ví dụ 1-5-1	1400	12	21,25	10,52	11,44
Ví dụ 1-5-2	1400	20	26,75	32,26	33,60
Ví dụ 1-6	3200	5	7,75	71,34	73,44
Ví dụ 1-7	3200	1	2,25	45,42	48,55

Như được thể hiện trong Bảng 3, hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang thu được từ các Ví dụ từ 1-1 đến 1-7 có tác dụng ức chế enzyme hòa tan axit hyaluronic có mặt trong cơ thể và nhờ đó làm cho thời gian duy trì trên da được kéo dài hơn so với HA không liên kết ngang. Do đó, các vi cấu trúc được tạo ra bằng cách sử dụng

hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang tạo ra khoảng thời gian duy trì trong cơ thể kéo dài và làm gia tăng lợi ích dưỡng da và cho phép giải phóng an toàn thành phần hữu ích trong cơ thể.

Ví dụ 7: Đánh giá tỷ lệ thoái biến enzym *in-vitro* (thời gian bán hủy) của vi cấu trúc được tạo ra bằng cách sử dụng hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang

Để đánh giá sự khác nhau về tỷ lệ thoái biến do enzym *in-vitro* theo phương pháp tạo ra các vi cấu trúc bằng cách sử dụng hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang, các vi cấu trúc được tạo ra bằng cách sử dụng sản phẩm thu được từ các Ví dụ từ 1-1 đến 1-7 và phương pháp theo Ví dụ 2-2. Cắt các vi cấu trúc thành kích thước nhất định và tiến hành thử nghiệm hyaluronidaza. Tiếp đó, so sánh thời gian cần thiết để phá vỡ 50% vi cấu trúc.

Các vi cấu trúc đã cắt thành kích thước nhất định được chuyển vào các ống tương ứng và sau đó cho thêm PBS 0,2M (độ pH = 7,4) chứa 16 đơn vị/ml enzym hòa tan axit hyaluronic (hyaluronidaza, Bovine Testes, Sigma-Aldrich, Mỹ) vào. Các hỗn hợp này được để phản ứng ở nhiệt độ 37°C trong 24 giờ, 40 giờ, 48 giờ, 72 giờ, 120 giờ, 216 giờ, và 360 giờ tương ứng. Phản ứng enzym ngừng lại khi thời gian phản ứng tương ứng kết thúc, cho thêm kali borat 0,8M (độ pH = 9,1) vào để chuyển hóa N-axetyl glucosamin (NAG) đã thoái biến bằng phản ứng enzym thành hợp chất trung gian, cụ thể là glucosaxolin, và sau đó gia nhiệt hỗn hợp trong 5 phút ở nhiệt độ 100°C. Để xác định lượng N-axetylglucosamin được tạo ra từ quá trình thoái biến, chất tạo màu p-dimetylaminobenzaldehyt (DMAB) được cho thêm vào ống và để phản ứng này xảy ra trong 30 phút ở nhiệt độ 37°C. Tiếp đó, trong số các sản phẩm liên kết ngang bị thoái biến bằng cách sử dụng chất hoạt động bề mặt sau khi tiến hành tách ly tâm (3000 vòng/phút, 10 phút), lượng NAG được xác định bằng cách sử dụng tia UV với hệ số hấp thụ ở bước sóng 585nm. Tỷ lệ thoái biến của axit hyaluronic không liên kết ngang được thiết lập ở mức 100% và tỷ lệ thoái biến ở mỗi thời điểm bằng dẫn xuất được tính để tìm ra thời gian cần thiết cho vật liệu thoái biến 50% (thời gian bán hủy). Bảng 4 thể hiện tỷ lệ thoái biến sinh học tương đối trong các vi cấu trúc được tạo ra bằng cách sử dụng sản phẩm thu được từ các Ví dụ từ 1-1 đến 1-7 do enzym hòa tan axit hyaluronic gây ra, khi tỷ lệ thoái biến của axit hyaluronic không liên kết ngang được thiết lập ở mức 100%.

Bảng 4

Quy trình sản xuất vi cấu trúc	Hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang	Lượng chất tạo liên kết ngang được thêm vào (% mol tính theo đơn vị lặp lại của HA)	Mật độ liên kết ngang (%)	Tỷ lệ thoái biến do enzyme của vi cấu trúc
				Thời gian bán hủy (thời gian)
Ví dụ 2-2	Ví dụ so sánh (HA không liên kết ngang)	-	-	-
	Ví dụ 1-1-1	10	19,75	124±13,0
	Ví dụ 1-1-2	12	25,5	56±9,0
	Ví dụ 1-1-3	15	20,5	90±10,0
	Ví dụ 1-1-4	30	30,5	291±65,6
	Ví dụ 1-1-5	40	31,75	358±14,3
	Ví dụ 1-2-1	5	9,25	78±16,9
	Ví dụ 1-2-2	7,5	19,75	119±14,6
	Ví dụ 1-3	3	6,25	97±18
	Ví dụ 1-4	1	2,25	40±10,0
	Ví dụ 1-5-1	12	21,25	90±7,5
	Ví dụ 1-5-2	20	26,75	99±4,7
	Ví dụ 1-6	5	7,75	760±33,2
	Ví dụ 1-7	1	2,25	363±15,5

Ví dụ 8: Thử nghiệm mức độ trương nở của vi cấu trúc được tạo ra bằng cách sử dụng hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang

Khi nước được cho thêm lại sau khi hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang được làm khô, các hydrogel này có mức độ trương nở cao. Bằng cách giới hạn khoảng

mức độ trương nở trong khi tạo ra vi cấu trúc, thời gian hấp thụ và tốc độ giải phóng được chất trong cơ thể có thể được điều chỉnh.

Cụ thể, việc sử dụng các vi cấu trúc để thẩm qua da bằng cách sử dụng nguyên liệu có tính hấp thụ và mức độ trương nở trong cơ thể cao có thể tạo ra kết quả dưỡng da rất tốt.

Các hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang được làm khô hoàn toàn trong hơn 6 giờ ở nhiệt độ 70°C bằng máy sấy trong Ví dụ 1 và các vi cấu trúc được làm khô bằng cách sử dụng phương pháp theo Ví dụ 2-1, các Ví dụ từ 2-4 đến 2-7, và Ví dụ 3-2 được cắt thành kích thước nhất định, được làm chìm trong nước, sau đó duy trì ở nhiệt độ trong phòng trong 24 giờ sao cho các vi cấu trúc có thể đạt đến trạng thái cân bằng hoàn toàn. Các hydrogel HA liên kết ngang đã trương nở và các cấu trúc được loại bỏ và không có nước trên bề mặt được cho vào máy sấy sau khi trọng lượng của chúng được xác định. Tiếp đó, sau khi độ ẩm được loại bỏ hoàn toàn, trọng lượng của các hydrogel HA liên kết ngang và vi cấu trúc đã khô được xác định để tính mức độ trương nở của cấu trúc bằng cách sử dụng công thức sau:

$$\text{Mức độ trương nở (\%)} = \frac{W_s - W_d}{W_d} \times 100(\%)$$

Ws: trọng lượng của vi cấu trúc đã trương nở, Wd: trọng lượng của vi cấu trúc đã khô

Bảng 5

Quy trình sản xuất vi cấu trúc	Hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang	Mật độ liên kết ngang (%)	Được làm đồng nhất hoặc không làm đồng nhất	Tỷ lệ trộn (hydrogel HA liên kết ngang: HA không liên kết ngang)	Mức độ trương nở (%)
-	Ví dụ 1-1-1	19,75	-	-	23250
-	Ví dụ 1-1-2	25,5	-	-	66670
-	Ví dụ 1-1-3	20,5	-	-	33210
-	Ví dụ 1-1-4	30,5	-	-	58820
-	Ví dụ 1-1-5	31,75	-	-	35710
-	Ví dụ 1-2-1	9,25	-	-	13510

-	Ví dụ 1-2-2	19,75	-	-	41660
-	Ví dụ 1-3	6,25	-	-	39720
-	Ví dụ 1-4	2,25	-	-	43210
-	Ví dụ 1-5-1	21,25	-	-	29410
-	Ví dụ 1-5-2	26,75	-	-	34480
Ví dụ 2-1	Ví dụ 1-3	6,25	-	-	37560
Ví dụ 2-4	Ví dụ 1-3	6,25	-	-	40200
Ví dụ 2-5	Ví dụ 1-3	6,25	+	-	69540
Ví dụ 2-6	Ví dụ 1-3	6,25	+	-	70110
Ví dụ 2-7	Ví dụ 1-1-1	19,75	+	-	3300
	Ví dụ 1-1-2	25,5	+	-	3050
	Ví dụ 1-1-3	20,5	+	-	2900
	Ví dụ 1-1-4	30,5	+	-	2370
	Ví dụ 1-1-5	31,75	+	-	2200
	Ví dụ 1-2-1	9,25	+	-	2330
	Ví dụ 1-2-2	19,75	+	-	2910
	Ví dụ 1-3	6,25	+	-	3730
	Ví dụ 1-4	2,25	+	-	4800
	Ví dụ 1-5-1	21,25	+	-	3710
	Ví dụ 1-5-2	26,75	+	-	3280
Ví dụ 3-2	Ví dụ 1-3	6,25	+	5 : 1	57840
				1 : 1	38230
				1 : 5	26220
				1 : 10	11040

Như được thể hiện trong Bảng 5, hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang và vi cấu trúc theo sáng chế trương nở từ 20 đến 400 lần. Sau quá trình làm đồng nhất hóa, chúng thậm chí có thể trương nở gấp 700 lần. Ngoài ra, khi axit hyaluronic không liên kết ngang được trộn theo tỷ lệ nhất định trong khi tạo ra vi cấu trúc, mức độ trương nở có thể được điều chỉnh.

Ví dụ 9: Thử nghiệm duy trì mức độ trương nở của vi cấu trúc được tạo ra bằng cách sử dụng hydrogel HA liên kết ngang và HA không được cải biến (không liên kết ngang) trong khoảng thời gian dài (7 ngày)

Sau khi hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang trong Ví dụ 1 được làm đồng nhất và hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang và HA không liên kết ngang được trộn theo tỷ lệ trọng lượng 1:10 và các vi cấu trúc được tạo ra bằng cách sử dụng phương pháp theo Ví dụ 3-1. Tiếp đó, so sánh mức độ duy trì độ trương nở trong thời gian từ 1 đến 7 ngày.

Để thử nghiệm mức độ trương nở, các vi cấu trúc được tạo ra bằng cách sử dụng phương pháp trong Ví dụ trên đây được cắt thành miếng có trọng lượng nằm trong khoảng từ 10 đến 20 mg/cm². Tiếp đó, để phẳng gác bông hoặc khăn không dệt trên bình và cho thêm dung dịch nước muối chứa PBS hoặc xanh metylen 0,003% vào để ngâm gác hoặc khăn hoàn toàn. Sau đó, các mẫu vi cấu trúc được cắt thành miếng có trọng lượng bằng nhau bằng 0,01g và đặt lên gác hoặc khăn không dệt ướt. Đặt nắp bình để giữ cho gác hoặc khăn lau không bị khô và bảo quản trong tủ áp ở nhiệt độ 37°C. Các vi cấu trúc đã trương nở được cân vào các ngày thứ nhất, thứ hai, thứ ba, thứ sáu và thứ bảy để quan sát sự thay đổi về mức độ trương nở.

Mức độ trương nở được tính bằng cách sử dụng công thức được thể hiện trong Ví dụ 8 và Bảng 6 thể hiện kết quả.

Bảng 6

Hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang	Tỷ lệ trộn (hydrogel HA liên kết ngang: HA không liên kết ngang)	Quy trình sản xuất vi cấu trúc	Mức độ trương nở (%)				
			Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3	Ngày 6	Ngày 7

Ví dụ so sánh (hydrogel HA không liên kết ngang)	-	Ví dụ 2-2	-	-	-	-	-
Ví dụ 1-1-1	1:10	Ví dụ 3 - 1	9515	10592	8735	9518	9038
Ví dụ 1-2-1	1:10		4936	5821	5403	4433	5062
Ví dụ 1-3	1:10		6738	8192	6128	5638	6085

Như được thể hiện trong Bảng 6, vi cấu trúc được tạo ra bằng cách chỉ sử dụng axit hyaluronic không liên kết ngang không có sự trương nở bất kỳ trong dung dịch nước muối, trong khi vi cấu trúc được tạo ra theo Ví dụ 3-1 sau khi trộn hydrogel HA điều chế được theo Ví dụ 1 với HA không liên kết ngang có mức độ trương nở đáng kể và vẫn trương nở trong 7 ngày mà không có sự thay đổi lớn bất kỳ.

Quan sát hình dạng của các vi cấu trúc, đã phát hiện được rằng vi cấu trúc được tạo ra bằng cách chỉ sử dụng HA không liên kết ngang không có sự trương nở bất kỳ trong dung dịch nước muối và được hòa tan hoàn toàn mà không có hình dạng, trong khi vi cấu trúc được tạo ra theo Ví dụ 3-1 sau khi trộn hydrogel HA điều chế được theo Ví dụ 1 với HA không liên kết ngang có mức độ trương nở đáng kể và vẫn trương nở trong 7 ngày mà không có sự thay đổi lớn bất kỳ (Fig. 6).

Ví dụ 10: Thử nghiệm đánh giá mức độ thấm qua của vi cấu trúc (độ bền cơ học của vi cấu trúc) được tạo ra bằng cách sử dụng hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang

Để đánh giá sự thay đổi bất kỳ về độ bền cơ học của các vi kim sản xuất được trong các Ví dụ 2-4 và 2-5 bằng cách sử dụng hydrogel HA liên kết ngang của Ví dụ 1-1-3 và 1-4, các vi cấu trúc chứa hydrogel HA liên kết ngang được phủ lên da lợn, nhuộm màu trong thuốc nhuộm xanh trypan, và được kiểm tra để xác định xem chúng có được tạo lỗ thành công trong da hay không. Kết quả là các vi kim được tạo lỗ thành công trong da lợn (Fig.7a và Fig.7b). Theo đó, do vi cấu trúc chứa hydrogel HA liên

kết ngang tạo ra đủ độ bền cơ học để thấm qua da, có thể kết luận rằng chúng có thể giải phóng hữu hiệu thành phần hữu ích vào trong da.

Ví dụ so sánh 2: tác dụng lực ly tâm không đủ khi tạo ra vi cấu trúc bằng cách sử dụng phương pháp của Ví dụ 2-3

Nếu hydrogel HA liên kết ngang của Ví dụ 1-1-4 được điều chế bằng cách sử dụng phương pháp của Ví dụ 2-3 trong khi tác dụng lực ly tâm không đủ (tách ly tâm trong 5 phút ở tốc độ $500 \times g$ (5000 m/s^2)), việc tác dụng lực ly tâm không đủ làm cho không thể cung cấp đủ hydrogel HA liên kết ngang vào khuôn, dẫn đến làm cho vi cấu trúc có các mép bị tù và hình dạng không đồng nhất (Fig.8).

Ví dụ so sánh 3: phun ở áp lực thấp - không đủ khi tạo ra vi cấu trúc bằng cách sử dụng phương pháp của Ví dụ 3-1

Khi các vi cấu trúc được tạo ra bằng cách sử dụng phương pháp của Ví dụ 3-1 sử dụng hỗn hợp của hydrogel HA liên kết ngang thu được từ Ví dụ 1-1-5 và HA không liên kết ngang (1:10), nếu hydrogel được phun trong khi không duy trì áp lực đủ thấp (650mmHg (86,7kPa), phun ở áp lực thấp trong 3 phút), hỗn hợp này không được cung cấp đủ, làm cho các vi cấu trúc có mép tù và độ dài không đồng nhất (Fig.9).

Ví dụ so sánh 4: không có bước làm khô bổ sung khi tạo ra vi cấu trúc bằng cách sử dụng phương pháp của Ví dụ 3-2

Khi vi cấu trúc được tạo ra bằng cách sử dụng phương pháp của Ví dụ 3-2 bằng cách sử dụng hỗn hợp của hydrogel HA liên kết ngang thu được từ Ví dụ 1-1-2 và HA không liên kết ngang (1:10), nếu không có bước làm khô thêm (làm khô bổ sung trong 5 phút ở nhiệt độ 50°C), hỗn hợp này không khô hoàn toàn, dẫn đến tạo ra các vi cấu trúc có mép cong (Fig.10).

Mặc dù sáng chế đã được mô tả chi tiết cùng với các dấu hiệu cụ thể, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này sẽ hiểu rằng phần mô tả này chỉ mô tả phương án được ưu tiên và không làm giới hạn phạm vi của sáng chế. Do đó, phạm vi cơ bản của sáng chế sẽ được xác định trong phần yêu cầu bảo hộ kèm theo và các phương án tương đương của nó.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Vi cấu trúc được tạo ra từ hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang và axit hyaluronic không liên kết ngang:

trong đó vi cấu trúc này tạo ra tính chất cơ học thích hợp để thẩm qua da và được chọn từ nhóm bao gồm vi kim, vi lưỡi dao, vi dao, vi đỉnh nhọn, vi đầu dò, vi ngành, vi mảng, và vi điện cực, và

trong đó tỷ lệ trọng lượng của axit hyaluronic không liên kết ngang với hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang nằm trong khoảng từ 1:1 đến 10:1 và hàm lượng chất rắn của hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang trong vi cấu trúc là nhỏ hơn hoặc bằng 15% (trọng lượng/thể tích).

2. Vi cấu trúc theo điểm 1, trong đó hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang có tỷ lệ liên kết ngang nằm trong khoảng từ 1 đến 50%.
3. Phương pháp sản xuất vi cấu trúc được tạo ra từ hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang và axit hyaluronic không liên kết ngang, trong đó phương pháp này bao gồm các bước sau:

(a) cung cấp hỗn hợp của hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang và axit hyaluronic không liên kết ngang vào vi khuôn;

(b) tiêm hỗn hợp này vào các hốc của vi khuôn; và

(c) tách vi khuôn và hỗn hợp để thu được vi cấu trúc,

trong đó vi cấu trúc này tạo ra tính chất cơ học thích hợp để thẩm qua da và được chọn từ nhóm bao gồm vi kim, vi lưỡi dao, vi dao, vi đỉnh nhọn, vi đầu dò, vi ngành, vi mảng, và vi điện cực, và

trong đó tỷ lệ trọng lượng của axit hyaluronic không liên kết ngang với hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang nằm là từ 1:1 đến 10:1 và hàm lượng chất rắn của hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang trong vi cấu trúc là bằng hoặc nhỏ hơn 15% (trọng lượng/thể tích).

4. Phương pháp theo điểm 3, trong đó hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang có mật độ liên kết ngang nằm trong khoảng từ 1 đến 50%.
5. Phương pháp theo điểm 3, trong đó bước tiêm được tiến hành bằng cách tác dụng ngoại lực lên hỗn hợp.
6. Phương pháp theo điểm 5, trong đó ngoại lực là lực ly tâm.

7. Phương pháp theo điểm 3, trong đó bước tiêm được tiến hành tại điều kiện áp suất thấp hơn áp suất khí quyển.
8. Phương pháp theo điểm 7, trong đó áp suất thấp hơn áp suất khí quyển là áp suất nằm trong khoảng từ 100 đến 750mmHg (từ 13,3 đến 100,0kPa).
9. Phương pháp theo điểm 3, trong đó phương pháp này còn bao gồm bước làm khô hỗn hợp sau bước (a).
10. Phương pháp theo điểm 3, trong đó phương pháp này còn bao gồm bước làm khô hỗn hợp sau bước (b).
11. Phương pháp theo điểm 3, trong đó phương pháp này còn bao gồm bước làm khô hỗn hợp trước bước (a).
12. Phương pháp theo điểm 9, trong đó bước làm khô được tiến hành trong thời gian từ 10 phút đến 60 giờ tại nhiệt độ từ 15 đến 90°C.
13. Phương pháp theo điểm 9, trong đó bước làm khô được tiến hành ở áp suất thấp hơn áp suất khí quyển.
14. Phương pháp theo điểm 3, trong đó phương pháp này còn bao gồm bước làm đồng nhất hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang trước bước (a).
15. Phương pháp theo điểm 3, trong đó hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang được tạo liên kết ngang bằng chất tạo liên kết ngang etc.
16. Phương pháp theo điểm 3, trong đó hydrogel axit hyaluronic liên kết ngang được tạo liên kết ngang bằng 1,4-butandiol diglycidyl etc.

Fig.1a

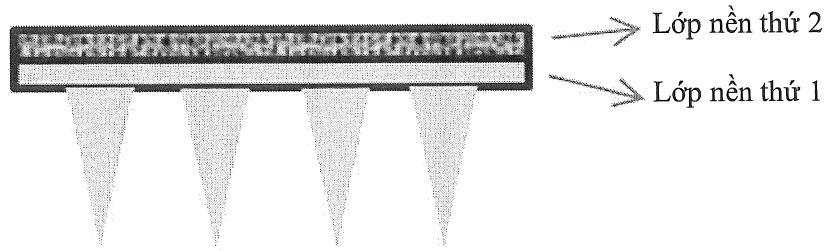


Fig.1b

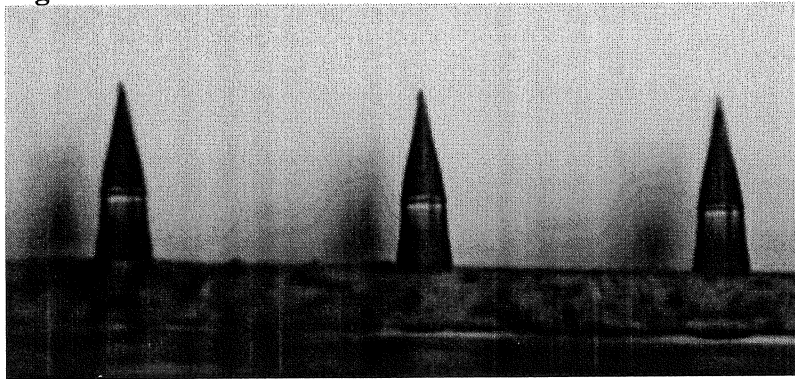


Fig.2a

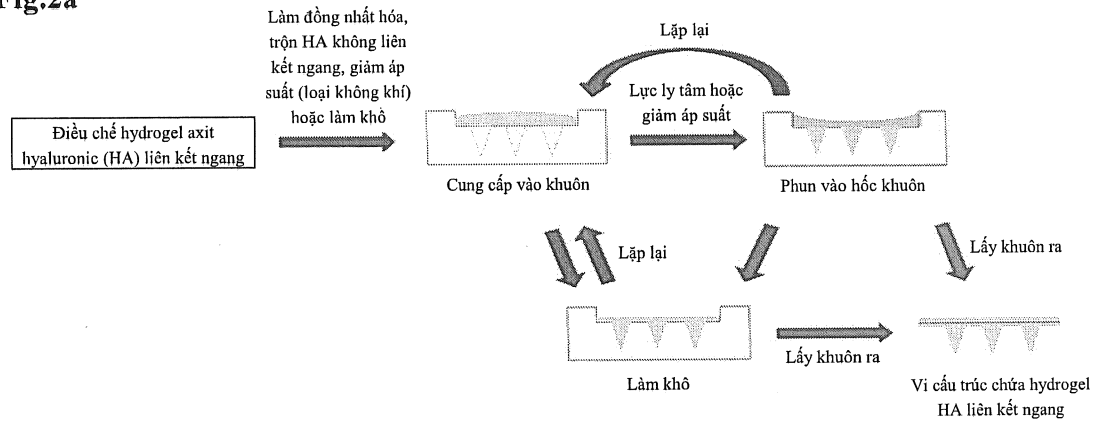


Fig.2b

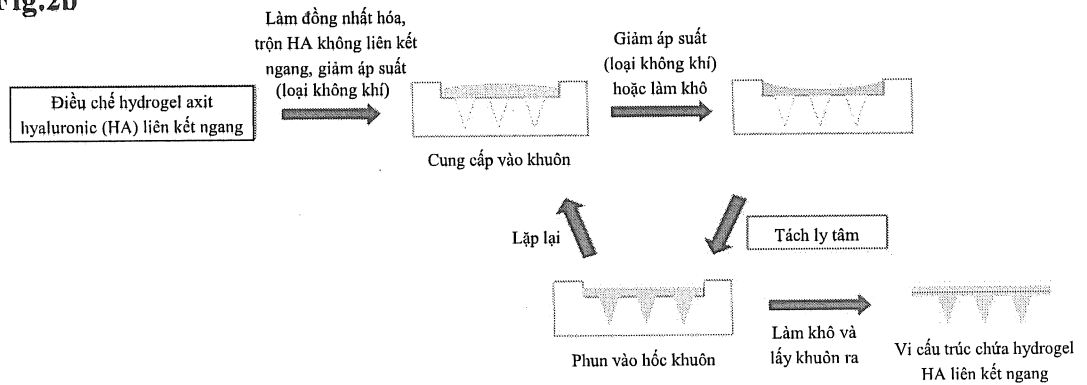


Fig.3a

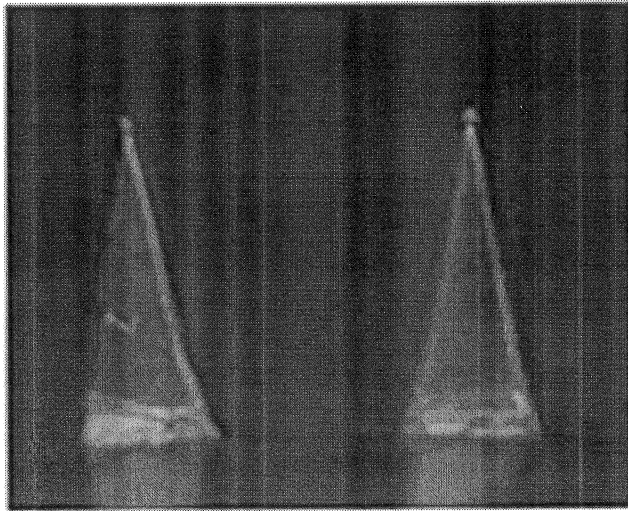


Fig.3b

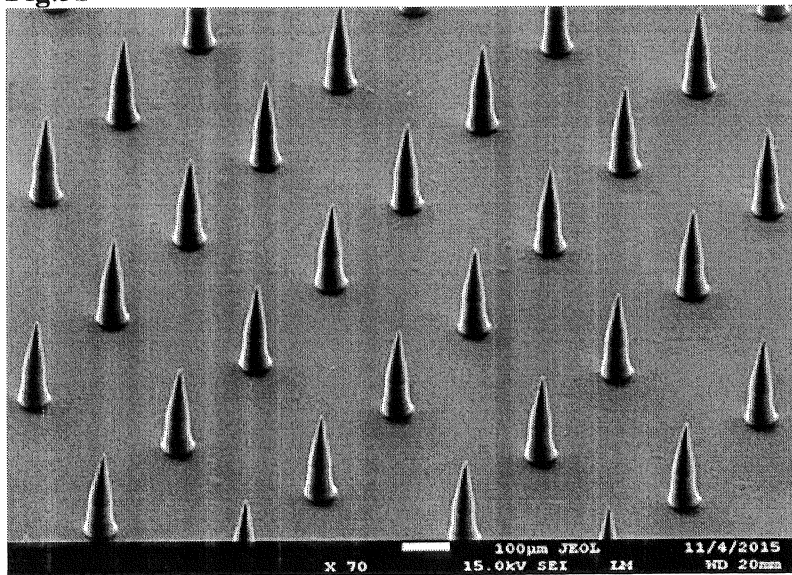


Fig.3c

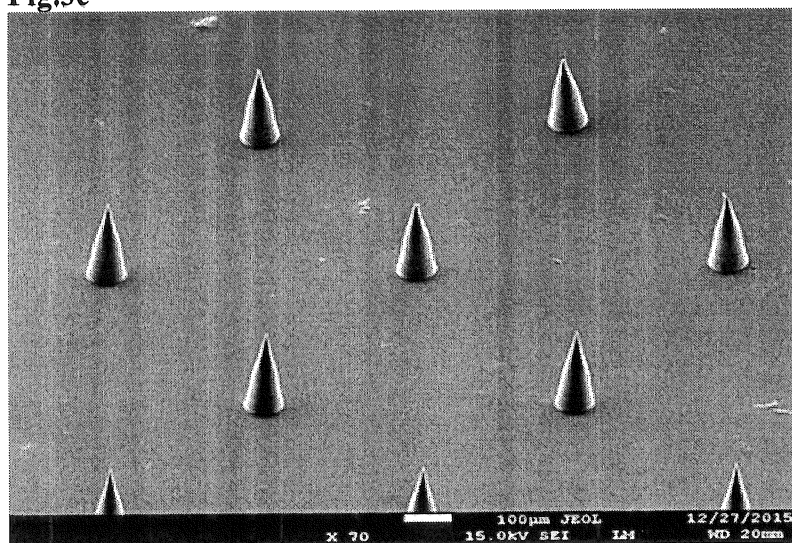


Fig.4

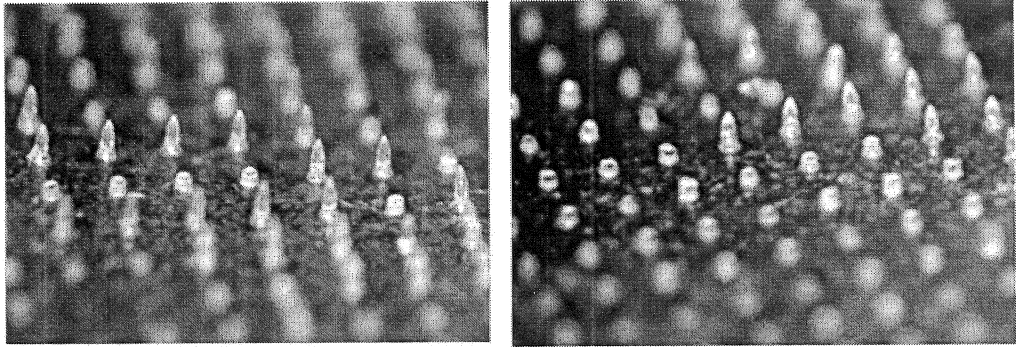


Fig.5a

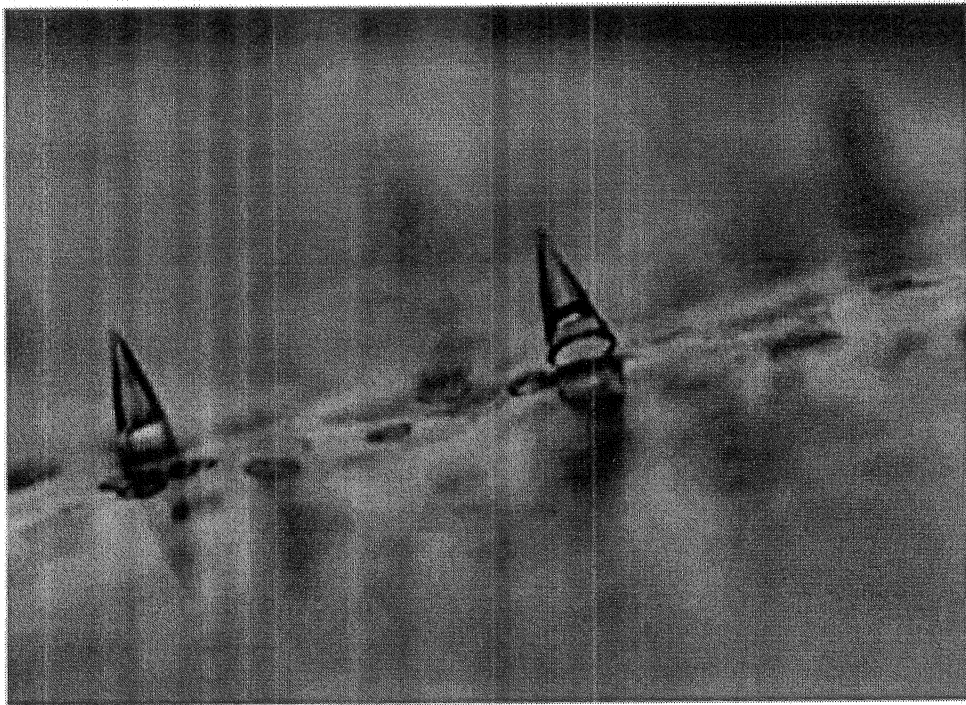


Fig.5b

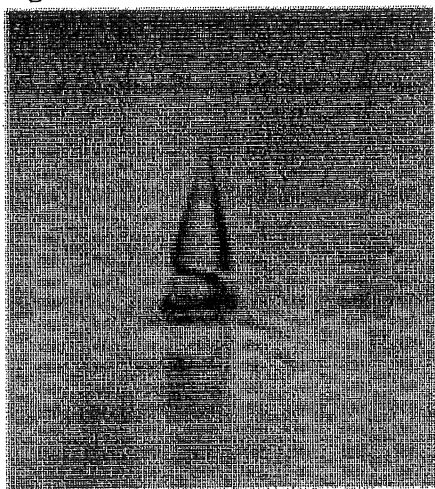


Fig.6

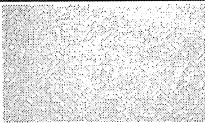
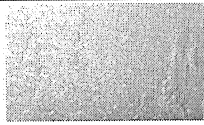
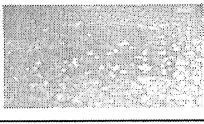
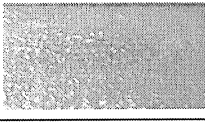
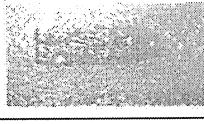
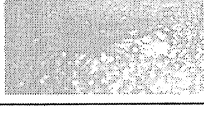
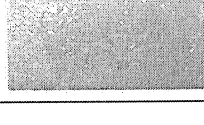
Hydrogel HA liên kết ngang	Tỷ lệ trộn (hydrogel HA liên kết ngang: HA không liên kết ngang)	Gel trương nở		
		Ngày 1	Ngày 3	Ngày 7
Ví dụ so sánh (HA không liên kết ngang)	-			
Ví dụ 1-1-1	1 : 10			
Ví dụ 1-2-1	1 : 10			
Ví dụ 1-3	1 : 10			

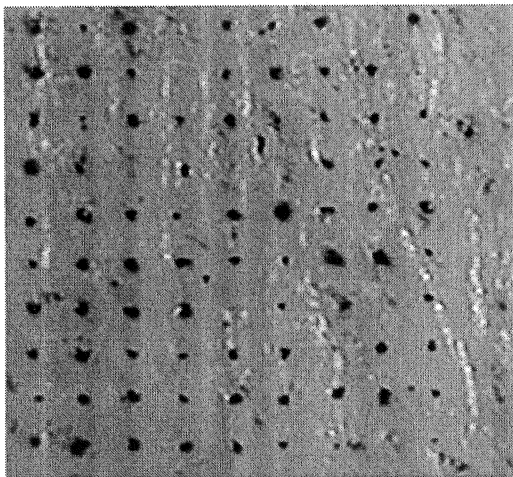
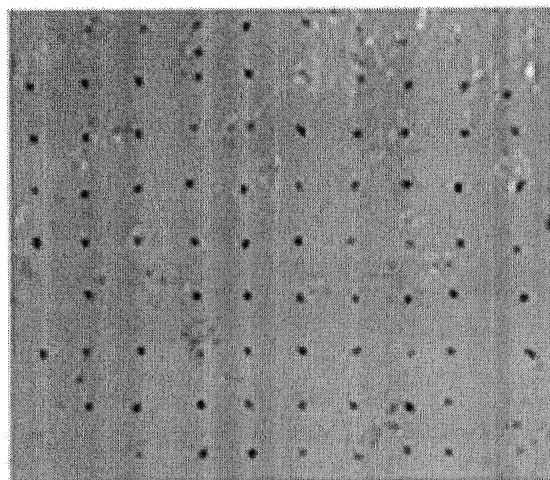
Fig.7a**Fig.7b**

Fig.8

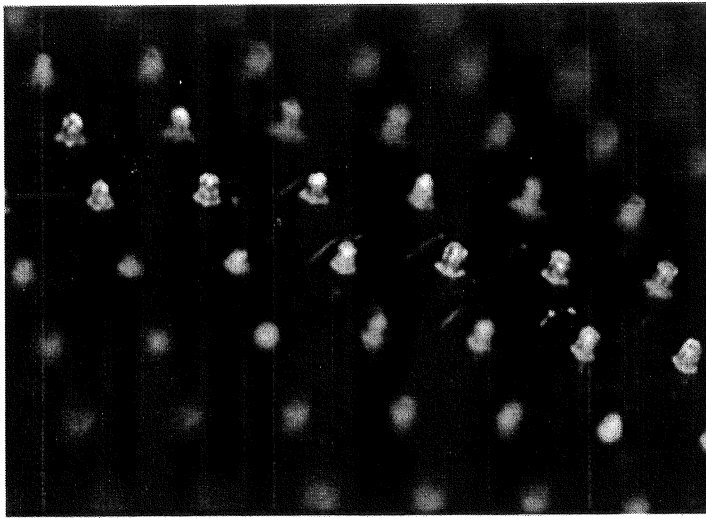


Fig.9

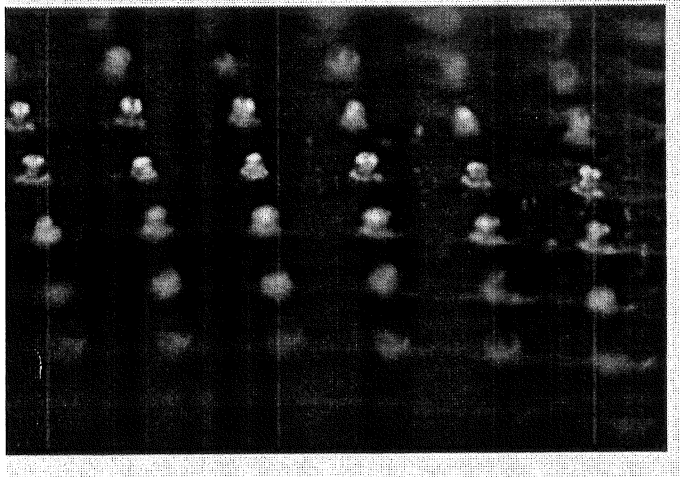


Fig.10a

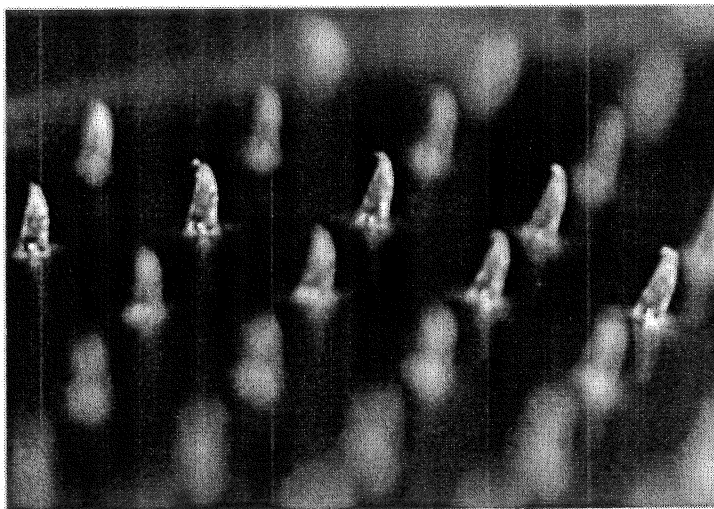


Fig.10b