



(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)



1-0029842

(51)⁷ A61L 27/42; A61L 24/00; A61L 27/58; (13) B
A61K 35/618; A61L 27/36

(21) 1-2017-05311

(22) 20/06/2016

(86) PCT/FR2016/051497 20/06/2016

(87) WO/2016/207525 29/12/2016

(30) 1555782 23/06/2015 FR

(45) 25/10/2021 403

(43) 26/03/2018 360A

(73) MBP (MAURITIUS) LTD (MU)

Suites 340-345, Barkly Wharf Le Caudan Waterfront P.O.Box 1070, Port Louis,
Mauritius

(72) CAMPRASSE, Georges (FR); CAMPRASSE, Serge (FR).

(74) Công ty TNHH Sở hữu công nghiệp Sao Bắc Đẩu (SAO BAC DAU IP CO.,LTD)

(54) VẬT LIỆU BÁN TỔNG HỢP DẠNG BỘT CÓ NGUỒN GỐC TỪ VẬT LIỆU
SINH HỌC Ở BIỂN TỰ NHIÊN VÀ PHƯƠNG PHÁP SẢN XUẤT VẬT LIỆU
NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến vật liệu bán tổng hợp dạng bột, có nguồn gốc từ vật liệu sinh học ở biển tự nhiên, cụ thể là lớp aragonit ở phía trong vỏ của các động vật thân mềm hai mảnh vỏ được chọn từ nhóm bao gồm các loài Pinctadines, tốt hơn là *Pinctada maxima*, *margaritifera*, và các loài Tridacnes, tốt hơn là *Tridacna gigas*, *maxima*, *derasa*, *tevaroa*, *squamosa*, *crocea*, *Hippopus hippopus*, *Hippopus porcelanus*, ở dạng bột, được bổ sung các polyme sinh học tan và không tan và canxi cacbonat được chuyển hóa bởi sự cacbonat hóa. Ngoài ra, sáng chế còn đề cập đến phương pháp sản xuất vật liệu này.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến vật liệu có khả năng hấp thụ sinh học bán tổng hợp dạng bột, thu được từ vật liệu sinh học ở biển tự nhiên có nguồn gốc từ vỏ của các động vật thân mềm hai mảnh vỏ như các loài Pinctadines (các loài hào) nói chung và tốt hơn là *Pinctada maxima*, *margaritifera*, và các loài Tridacnes (ốc tai tượng): *Tridacna gigas*, *maxima*, *derasa*, *tevaroa*, *squamosa*, *crocea*, *Hippopus hippopus*, *Hippopus porcelanus*.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

WO90141111 bộc lộ sản phẩm thay thế cho các cấu trúc tương tự như xương được tạo thành từ xà cừ lấy từ quá trình thử nghiệm động vật thân mềm dưới nước.

Nói chung các vật liệu được sử dụng để lấp đầy sự thiếu hụt chất xương bắt nguồn từ chấn thương, khối u, loạn dưỡng hoặc thoái hóa là các xi măng canxi phosphat, các copolyme sinh học, và các vật liệu có nguồn gốc từ động vật hoặc người.

Để hàn các bộ phận giả, chỉ có polymethylmetacrylat (PMMA) được sử dụng, tùy ý được kết hợp với các chất kháng sinh, chất khởi tạo, chất hoạt hóa, chất cản sáng hoặc chất màu. Các bộ phận giả đặt trong cơ thể thường được hàn bằng các xi măng PMMA, nhược điểm của các xi măng này cũng đã được biết đến, cụ thể là phản ứng tỏa nhiệt diễn ra trong quá trình polyme hóa xi măng, dẫn đến sự hoại tử tế bào xương, sự co ngót xi măng theo thời gian và sự lão hóa xi măng này, gây ra sự chuyển dịch của bộ phận giả và cần phải hàn lại bộ phận đó trong 10 đến 15 năm sau khi phẫu thuật, trong hầu hết các trường hợp.

Tất cả các vật liệu này có tính tương hợp sinh học, và một vài trong số đó, như xi măng canxi phosphat, yêu cầu tính dẫn tạo xương; một số ít trong số đó có hoạt tính sinh học, còn phần lớn trong số đó là trơ.

Các xi măng tiêm được chỉ chứa pha khoáng và pha lỏng, mà có thể là axit phosphoric, dung dịch nước hoặc gel của HPMC, lượng nước theo tỷ lệ là 0,1 mol, axit sulfuric, hoặc axit xitric.

Các vật liệu sinh học, tổng hợp hoặc có nguồn gốc từ bò, được sử dụng làm các chất thay thế xương, cần thiết phải có tính dẫn tạo xương và nói chung không hoàn toàn có khả năng hấp thụ sinh học.

Đối với một vài trong số đó, nhất là các polyme, đã phát hiện thấy rằng có sự giải phóng các sản phẩm thoái hóa, mà về lâu dài có thể ảnh hưởng có hại đến các mô bệnh xung quanh hoặc toàn thân. Sự hấp thụ sinh học này là tùy thuộc vào bệnh nhân.

Hơn nữa, gần như tất cả các chất thay thế xương đều không có hoạt tính sinh học; điều này đòi hỏi phải kết hợp chúng với collagen có nguồn gốc từ động vật, hoặc với các chất khác mà bị hấp thụ sinh học, gây ra phản ứng viêm chính ở người nhận, mạnh hơn và khác với phản ứng sinh lý.

Nhược điểm chính của các chất thay thế xương ở dạng bột hoặc hạt đó là trong quá trình sử dụng, dù với máu tự thân, dung dịch nước muối hoặc chất mang lỏng bất kỳ khác, chúng không tạo thành "khối đông tụ" có tính kết dính và dẻo mà thúc đẩy sự dính kết và duy trì của chúng trên và trong vị trí đó.

Đã biết rằng xương người chứa 43% các thành phần vô cơ, 32% các thành phần hữu cơ và 25% nước. Thành phần hữu cơ chứa 90% các protein collagen - bao gồm 97% là collagen là loại I, loại III, IV và V - cũng như 10% các protein không collagen được đại diện bởi osteocalcin, osteonectin, osteopontin, sialoprotein xương, các proteoglycan, fibronectin, các yếu tố sinh trưởng và các protein tạo hình thái. Các protein không collagen này đóng vai trò thiết yếu trong các quá trình tạo xương và sửa chữa các mô bị tổn hại.

Phần vô cơ chủ yếu chứa hydroxyapatit ở dạng các tinh thể của canxi phosphat; phần này cũng chứa cả các khoáng chất khác như natri, kali, đồng, kẽm, stronti, flo, nhôm, và silic với các lượng rất nhỏ. Tất cả các nguyên tố này đóng vai trò quan trọng trong sự trao đổi chất của tế bào cũng như trong việc chữa lành và tái tạo xương.

Nghiên cứu về cấu trúc và thành phần vỏ của các động vật thân mềm hai mảnh vỏ, như các loài Pinctadines nói chung và tốt hơn là *Pinctada maxima*, *margaritifera*, và các loài Tridacnes, tốt hơn là *Tridacna gigas*, *maxima*, *derasa*, *tevaroa*, *squamosa*, *crocea*, *Hippopus hippopus*, *Hippopus porcelanus*, đã cho thấy rằng vỏ này bao gồm lớp xà cừ ở phía trong, được tạo bởi 3 đến 5% phần hữu cơ, phần hữu cơ này chứa các protein collagen và các protein không collagen, các polyme sinh học tan và không tan thiết yếu. Lớp xà cừ ở phía trong còn chứa cả phần vô cơ mà chiếm từ 95 đến 97%, chủ yếu bao gồm canxi cacbonat, các khoáng chất và các ion kim loại, cũng như 3% nước. Nghiên cứu về cấu trúc vỏ của các động vật thân mềm mà sáng chế đề cập đến cũng cho thấy rằng vỏ này chứa lớp canxit ở phía ngoài, có cấu trúc khác với lớp aragonit ở phía trong, nhưng cũng chứa phần hữu cơ được tạo bởi các polyme sinh học tan và không tan.

Một vài công bố đã chứng minh rằng tính kích tạo xương và dẫn tạo xương của vật liệu sinh học tự nhiên có nguồn gốc từ lớp aragonit của các động vật thân mềm sống ở biển được đề cập trên đây.

Các tính chất này là do sự có mặt của các polyme sinh học chứa trong phần hữu cơ, trong đó các protein cấu trúc tương tự với các protein mà cấu thành cấu trúc của các cơ quan như răng, xương, da, cơ, màng nhầy, v.v., đã được xác định. Các protein chức năng tương tự với các protein mà tham gia vào các quá trình trao đổi chất và sinh hóa (enzym học, miễn dịch học, các thụ thể màng tế bào, các phân tử tín hiệu, v.v.) cũng có mặt. Các collagen được thể hiện một cách cụ thể giữa các protein cấu trúc này: do đó, các collagen loại I, II, III và các collagen liên quan đã được xác định.

Ngoài các axit amin tự do, sự có mặt của các proteoglycan (các cacbohydrat được liên kết với các peptit nhỏ), và của các glycoprotein (sự kết hợp của collagen và các cacbohydrat) bao gồm các glycoprotein có trọng lượng phân tử thấp, thường được coi là các yếu tố sinh trưởng liên quan đến BMP, TNF β , TGF β , PGF, v.v., đã được xác định.

Hơn nữa, đã biết rằng các phân tử không collagen nhất định có vai trò cơ bản trong quá trình phục hồi sinh lý và trong quá trình tái tạo mô và tế bào.

Các tính chất của quá trình phục hồi, tái tạo, tạo mạch và kích tạo xương của phức hợp hữu cơ-chất khoáng của lớp phía trong vỏ của các động vật thân mềm nêu trên, các tính chất có liên quan tới sự có mặt của các collagen khác nhau và các yếu tố sinh trưởng này, đã được chứng minh *in vitro* và *in vivo*.

Nếu so sánh thành phần hóa lý của mô xương và thành phần hóa lý của aragonit trong vỏ của các động vật thân mềm được đề cập, sẽ thấy sự tương đồng rất lớn của các thành phần hữu cơ có mặt với tỷ lệ bằng 32% trong mô xương và nằm trong khoảng từ 3 đến 5% trong aragonit. Các pha khoáng, chiếm 43% trong xương, mà chủ yếu là canxi phosphat, có mặt trong aragonit với lượng nằm trong khoảng từ 95 đến 97% ở dạng canxi cacbonat; các tỷ lệ của các khoáng chất khác là rất giống nhau.

Khi tính đến cả vai trò của các polyme sinh học chứa trong phần hữu cơ của vật liệu sinh học ở biển tự nhiên, các tác giả sáng chế đã thấy thích hợp để thay đổi thành phần của vật liệu này bằng cách tăng tỷ lệ của các polyme sinh học này trong thành phần của vật liệu sinh học lai bán tổng hợp mới.

Đã biết rằng phần hữu cơ của lớp aragonit ở phía trong và lớp canxit ở phía ngoài trong vỏ của các động vật thân mềm được đề cập chứa các phân tử tan, khuếch tán được, có tính chất tạo xương tham gia vào quá trình khoáng hóa và quá trình phát triển của các mô bị vôi hóa. Sự có mặt của các protein cấu trúc không tan trong các vỏ bọc của gian bản mỏng và bao quanh tinh thể của aragonit cũng được chứng minh.

Hơn nữa, các phân tử chứa trong phần hữu cơ của lớp canxit ở phía ngoài vỏ là giống với các phân tử chứa trong lớp aragonit ở phía trong vỏ của các động vật thân mềm mà sáng chế đề cập đến.

Đó là lý do dường như là thích hợp để chiết xuất và cô đặc không chỉ các phân tử hữu cơ được liên kết chặt chẽ với các tinh thể sinh học và với bản mỏng giữa các tinh thể mà cấu thành aragonit của các vỏ xà cừ, mà cả các phân tử hữu cơ chứa trong lớp canxit ở phía ngoài vỏ của các động vật thân mềm được đề cập.

Việc chiết xuất các polyme sinh học của các phần hữu cơ của vật liệu sinh học có mục đích tạo ra các phân tử tan và không tan. Mục tiêu của việc làm này là để có

thể tăng, bằng cách bổ sung các polyme sinh học được chiết xuất tan và không tan, tỷ lệ cấu trúc hữu cơ-vô cơ, để tối ưu các đặc tính tái tạo mô và tế bào, chữa lành, kích tạo xương, và tạo mạch của vật liệu sinh học thu được.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Do đó, các tác giả sáng chế đã nhận thấy rằng có thể, đi từ vỏ của động vật thân mềm được chọn từ nhóm bao gồm *Tridacna maxima*, *Tridacna gigas*, *Tridacna derasa*, *Tridacna tevaroa*, *Tridacna squamosa*, *Tridacna crocea*, *Hippopus hippopus*, *Hippopus porcelanus*, *Pinctada maxima*, *Pinctada margaritifera*, và các loài Pinctadines khác, để thu được vật liệu thỏa mãn các yêu cầu này bằng cách bổ sung vào nó cả các polyme sinh học tan và không tan và canxi cacbonat được chuyển hóa bởi sự cacbonat hóa.

Trên cơ sở đó đã tạo ra vật liệu có khả năng hấp thụ sinh học bán tổng hợp dạng bột mới theo sáng chế dự định được dùng để sản xuất, ví dụ, các chất thay thế xương, các xi măng tiêm được hoặc các xi măng để hàn các bộ phận giả đặt trong cơ thể, hoặc để tạo ra các cơ cấu kết hợp xương và các mảnh cấy được đúc có khả năng hấp thụ sinh học.

Do đó, theo khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề cập đến vật liệu bán tổng hợp dạng bột, có nguồn gốc từ vật liệu sinh học ở biển tự nhiên, được bổ sung các polyme sinh học tan và không tan và canxi cacbonat được chuyển hóa bởi sự cacbonat hóa.

Sáng chế cũng đề cập tới phương pháp sản xuất vật liệu bán tổng hợp này.

Sáng chế cũng đề cập tới chế phẩm bao gồm các polyme sinh học tan và không tan hoặc canxi cacbonat được chuyển hóa bởi sự cacbonat hóa được sử dụng trong vật liệu bán tổng hợp.

Cuối cùng, sáng chế liên quan đến việc sử dụng vật liệu bán tổng hợp hoặc chế phẩm để sản xuất, ví dụ, các chất thay thế xương, các xi măng tiêm được hoặc các xi măng để hàn các bộ phận giả đặt trong cơ thể, hoặc cũng như để tạo ra các cơ cấu kết hợp xương và các mảnh cấy được đúc có khả năng hấp thụ sinh học.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig. 1 và Fig. 2 là các ảnh chụp của các hỗn hợp:

- của bột xà cừ và canxi cacbonat với máu toàn phần (số 1) và

- của bột xà cừ và canxi cacbonat mà đã được cacbonat hóa với máu toàn phần (số 2) được chụp lần lượt trong 2 phút và sau đó trong 15 phút sau khi bổ sung máu toàn phần.

Mô tả chi tiết sáng chế

Theo khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề cập đến vật liệu bán tổng hợp dạng bột, có nguồn gốc từ vật liệu sinh học ở biển tự nhiên, được bổ sung các polyme sinh học tan và không tan và canxi cacbonat được chuyển hóa bởi sự cacbonat hóa.

Vật liệu theo sáng chế có nguồn gốc từ vật liệu sinh học ở biển tự nhiên, cụ thể là lớp aragonit ở phía trong vỏ của các động vật thân mềm hai mảnh vỏ được chọn từ nhóm bao gồm các loài Pinctadines, tốt hơn là *Pinctada maxima*, *margaritifera*, và các loài Tridacnes, tốt hơn là *Tridacna gigas*, *maxima*, *derasa*, *tevaroa*, *squamosa*, *crocea*, *Hippopus hippopus*, *Hippopus porcelanus*, lớp aragonit này ở dạng bột.

Vật liệu bán tổng hợp dạng bột theo sáng chế có khả năng hấp thụ sinh học.

Theo một phương án, kích cỡ hạt nằm trong khoảng từ 5nm đến 100µm, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 20nm đến 50µm, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 50nm đến 20µm.

Các polyme sinh học tan và không tan được chiết xuất từ lớp aragonit ở phía trong và/hoặc từ lớp canxit ở phía ngoài vỏ của các động vật thân mềm hai mảnh vỏ được chọn từ nhóm bao gồm các loài Pinctadines, tốt hơn là *Pinctada maxima*, *margaritifera*, và các loài Tridacnes, tốt hơn là *Tridacna gigas*, *maxima*, *derasa*, *tevaroa*, *squamosa*, *crocea*, *Hippopus hippopus*, *Hippopus porcelanus*.

Phương pháp chiết xuất các polyme này được mô tả dưới đây.

Theo một phương án cụ thể, các polyme sinh học được chiết xuất tan và các polyme sinh học được chiết xuất không tan được bổ sung theo tỷ lệ của các polyme sinh học tan với các polyme sinh học không tan tương ứng với tỷ lệ của chúng trong vật liệu sinh học ban đầu.

Canxi cacbonat được chuyển hóa bởi sự cacbonat hóa được sử dụng trong vật liệu bán tổng hợp theo sáng chế có nguồn gốc từ canxi cacbonat tự nhiên ở cạn, tự nhiên ở biển hoặc canxi cacbonat được kết tủa, hoặc từ phần vô cơ của lớp aragonit sau khi chiết xuất các polyme sinh học tan và không tan, mà được chuyển hóa bởi sự cacbonat hóa. Đã biết rằng canxi cacbonat, được kết tinh theo hệ trục thoi hoặc hệ mặt

thoi, khi được cho xử lý nhiệt giữa 800 và 1100°C, có, thông qua sự nhiệt phân và oxy hóa, các đặc tính mới được phản ánh ở khả năng dính đáng kể và tính dẻo mà cho phép thực hiện việc tạo mẫu một cách dễ dàng. Hiện tượng này là quá trình cacbonat hóa, theo phản ứng dưới đây:



Trong phản ứng này, trong khi nhiệt độ tăng lên và được duy trì trong thời gian từ 20 đến 40 phút, canxi cacbonat được chuyển hóa hóa học thành vôi, sau đó dưới sự tác động của CO₂ và hơi ẩm xung quanh nó trở thành canxi cacbonat vô định hình. Sự chuyển hóa hóa học này diễn ra trong vài ngày, tùy thuộc vào độ ẩm môi trường xung quanh.

Do đó, vật liệu bán tổng hợp dạng bột theo sáng chế bao gồm bột có nguồn gốc từ vật liệu biển tự nhiên mà phần hữu cơ của nó được bổ sung các polyme sinh học được chiết xuất tan và không tan, và phần khoáng được bổ sung canxi cacbonat có nguồn gốc trầm tích hoặc san hô ở biển, hoặc có nguồn gốc trầm tích hoặc kết tủa ở cạn, được chuyển hóa bởi quá trình cacbonat hóa.

Theo một phương án cụ thể, vật liệu bán tổng hợp dạng bột theo sáng chế bao gồm aragonit ở dạng bột có kích cỡ hạt nằm trong khoảng từ 5nm đến 100µm, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 20nm đến 50µm, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 50nm đến 20µm, các polyme sinh học được chiết xuất tan và không tan, và canxi cacbonat được chuyển hóa bởi sự cacbonat hóa.

Bằng cách bổ sung các polyme sinh học được chiết xuất tan và không tan, tỷ lệ của phần hữu cơ của vật liệu ban đầu được tăng trong khoảng giữa 1% và 10%, tốt hơn là tương ứng với các tỷ lệ giữa các polyme sinh học không tan và các polyme sinh học tan tồn tại trong vật liệu ban đầu. Bằng cách bổ sung canxi cacbonat được chuyển hóa bởi sự cacbonat hóa, tỷ lệ của phần khoáng trong vật liệu ban đầu được tăng trong khoảng giữa 1% và 10%, tùy thuộc vào các đặc tính hóa lý mong muốn.

Theo một phương án cụ thể, vật liệu bán tổng hợp theo sáng chế bao gồm:

khoảng 100g aragonit ở dạng bột có kích cỡ hạt nằm trong khoảng từ 5nm đến 100µm, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 20nm đến 50µm, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 50nm đến 20µm;

từ 1g đến 50g, tốt hơn là từ 5g đến 25g, tốt hơn nữa là từ 10g đến 15g các polyme sinh học được chiết xuất tan và không tan; và

từ 0,5g đến 50g, tốt hơn là từ 1g đến 25g, tốt hơn nữa là từ 2g đến 10g canxi cacbonat được chuyển hóa bởi sự cacbonat hóa.

Trong quá trình chiết xuất các polyme sinh học, các tác giả sáng chế đã chứng minh được rằng trong lớp aragonit ở phía trong và lớp canxit ở phía ngoài của các động vật thân mềm được sử dụng để thực hiện sáng chế, tỷ lệ của các polyme sinh học không tan nằm trong khoảng từ 2,6% đến 4,3% và tỷ lệ của các polyme sinh học tan nằm trong khoảng từ 0,4% đến 0,7% tổng trọng lượng. Các polyme sinh học được bổ sung vào vật liệu theo sáng chế theo cách sao cho tỷ lệ của các polyme sinh học tan với các polyme sinh học không tan là tương tự với tỷ lệ của chúng trong sản phẩm có nguồn gốc tự nhiên.

Sáng chế cũng đề cập đến phương pháp sản xuất vật liệu bán tổng hợp dạng bột, như được mô tả trên đây.

Trong phương pháp theo sáng chế, các thành phần cấu thành được chuẩn bị riêng rẽ và sau đó được trộn để thu được vật liệu theo sáng chế. Do đó, vật liệu dạng bột có nguồn gốc từ vật liệu sinh học ở biển tự nhiên, các polyme sinh học tan và không tan được chiết xuất từ vật liệu sinh học ở biển tự nhiên và canxi cacbonat được chuyển hóa bởi sự cacbonat hóa được chuẩn bị.

Cụ thể hơn, phương pháp sản xuất theo sáng chế bao gồm bước trộn vật liệu sinh học tự nhiên đã được nghiền, các polyme tan và không tan được chiết xuất từ lớp aragonit ở phía trong và/hoặc từ lớp canxit ở phía ngoài vỏ của các động vật thân mềm hai mảnh vỏ được chọn từ nhóm bao gồm các loài Pinctadines, tốt hơn là *Pinctada maxima*, *margaritifera*, và các loài Tridacnes, tốt hơn là *Tridacna gigas*, *maxima*, *derasa*, *tevaroa*, *squamosa*, *crocea*, *Hippopus hippopus*, *Hippopus porcelanus* và canxi cacbonat được chuyển hóa bởi sự cacbonat hóa.

Theo một phương án cụ thể, vật liệu sinh học tự nhiên đã được nghiền là lớp aragonit ở phía trong vỏ của các động vật thân mềm. Việc nghiền được thực hiện để thu được kích cỡ hạt trung bình nằm trong khoảng từ 20nm đến 50µm. Các hạt thu được có thể được làm tròn để nâng cao tính chảy và khả năng nén của bột.

Trong phương pháp theo sáng chế, các polyme sinh học tan và không tan được chiết xuất tương ứng bởi phương pháp siêu ly tâm và phương pháp siêu lọc theo dòng tiếp tuyến kết hợp với lọc thẩm thấu ngược sau khi thủy phân. Trước khi chiết xuất, lớp aragonit ở phía trong và/hoặc lớp canxit ở phía ngoài vỏ của các động vật thân mềm có thể được liên kết ngang. Để thuận tiện cho việc chiết xuất, lớp aragonit ở phía trong và/hoặc lớp canxit ở phía ngoài vỏ của các động vật thân mềm được nghiền và được sàng đến kích cỡ hạt giữa 250µm và 50µm.

Các bước này lần lượt được mô tả dưới đây.

Vật liệu sinh học ở biển tự nhiên được sử dụng làm nguyên liệu đầu được chọn từ nhóm bao gồm các loài Pinctadines, tốt hơn là *Pinctada maxima*, *margaritifera*, và các loài Tridacnes, tốt hơn là *Tridacna gigas*, *maxima*, *derasa*, *tevaroa*, *squamosa*, *crocea*, *Hippopus hippopus*, *Hippopus porcelanus*.

Mỗi trong số các thành phần này có thể có nguồn gốc từ cùng một vật liệu sinh học biển hoặc từ các vật liệu sinh học biển khác nhau.

Các vỏ được lựa chọn được làm sạch, loại bỏ tạp chất, tùy ý được liên kết ngang, và lớp canxit được tách khỏi lớp trong. Lớp trong được nghiền. Một phần của lớp trong đã nghiền tạo thành thành phần cơ bản của vật liệu theo sáng chế. Các polyme sinh học tan và không tan được chiết xuất từ lớp canxit và/hoặc từ lớp trong. Canxi cacbonat, mà có thể có nguồn gốc từ phần khoáng được thu hồi sau khi chiết xuất các polyme sinh học, được chuyển hóa bởi sự cacbonat hóa. Các polyme sinh học do đó được chiết xuất và canxi cacbonat được chuyển hóa bởi sự cacbonat hóa được bổ sung vào thành phần cơ bản thu được từ trước.

Phương án cụ thể của phương pháp theo sáng chế được mô tả chi tiết dưới đây. Tất nhiên, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực sẽ có thể thay đổi cho phù hợp các điều kiện của phương pháp này với các vật liệu sinh học ban đầu cụ thể và với mục đích sử dụng mong muốn cuối cùng.

I. CHUẨN BỊ CÁC THÀNH PHẦN:

Sau khi loại bỏ sinh vật bám dính bằng cách cạo, vỏ thu được từ vật liệu sinh học biển được lựa chọn trải qua các bước xử lý sau:

I.1) Loại bỏ tạp chất của vỏ:

Vỏ được loại bỏ tạp chất bằng cách nhúng trong bể nước máy mà đã được bổ sung dung dịch hypoclorit có nồng độ clo hoạt hóa bằng 2%.

I.2) Xử lý siêu âm vỏ:

Vỏ sau đó được rửa và được xử lý bằng siêu âm trong bể nước máy đã được kiểm tra về mặt vi sinh, ví dụ ở nhiệt độ 55°C, mà dung dịch làm sạch và khử trùng được bổ sung ở mức pha loãng 1 phần dung dịch với 127 phần nước. Thời gian xử lý là khoảng 30 phút ở tần số khoảng 40kHz.

I.3) Rửa và sấy vỏ:

Vỏ sau đó được rửa ví dụ trong 20 phút trong bể nước đã khử khoáng ở nhiệt độ 90°C, mà Calbenium® được bổ sung ở mức pha loãng 2%, trong 30 phút. Sau đó, chúng được sấy khô.

I.4) Liên kết ngang vỏ:

Theo phương án khác, để vật liệu sinh học có nguồn gốc tự nhiên có được các đặc tính sinh học được tăng cường, nhất là ở khía cạnh tối ưu hóa sự trao đổi chất của tế bào và gia cố các đặc tính kháng gốc, vỏ có thể được liên kết ngang như sau:

Trong vật chứa bằng nhựa hoặc thủy tinh trong mờ có dung tích thay đổi, hỗn hợp của nước máy được bổ sung 10% riboflavin được chuẩn bị; toàn bộ hỗn hợp được duy trì ở nhiệt độ cao hơn 20°C, và việc khuấy hỗn hợp này sinh ra dòng vuông góc với bức xạ UVA.

Vỏ được đặt thẳng đứng trong đó và cả hai mặt được chiếu xạ từ các đèn UVA với bước sóng bằng 365nm/giây, tại cường độ 2300 microjun trên mỗi cm² trong 180 phút. Toàn bộ hỗn hợp được duy trì độ chân không trong suốt quá trình xử lý.

Vỏ sau đó được rửa và được sấy trong dòng không khí nóng ở 40°C.

Phương pháp được mô tả trong đơn yêu cầu cấp patent FR số 14 50204 nộp ngày 10/01/2014 cũng có thể được sử dụng.

I.5) Loại bỏ lớp canxit ở phía ngoài:

Lớp canxit ở phía ngoài của vỏ được loại bỏ bằng cách nghiền, bằng con lăn nghiền hạt mịn.

Sản phẩm được để sang một bên và tạo thành "Mẻ nguyên liệu dùng để chiết xuất các polyme sinh học từ lớp canxit ở phía ngoài".

I.6) Làm đông lạnh các vỏ xà cừ được lộ ra sau khi nghiền:

Theo sáng chế, các vỏ xà cừ được làm đông lạnh ở nhiệt độ -18°C trong 120 phút.

I.7) Nghiền các vỏ xà cừ và thu hồi các nguyên liệu:

Sau khi việc nghiền các vỏ xà cừ được thực hiện ví dụ trong máy nghiền có các hàm bằng vonfram cacbua, có sự hút khí, để thu hồi các hạt lơ lửng, mà chứa cả các hạt cỡ nanomet.

Hoạt động nghiền được thực hiện lặp lại ít nhất 3 lần, và 2 mẻ nguyên liệu được để sang một bên sau khi sàng:

- Mẻ thứ nhất có kích cỡ hạt ngẫu nhiên nằm trong khoảng từ $20\mu\text{m}$ đến 50nm sẽ là phần được trộn aragonit của sản phẩm theo sáng chế, dưới đây được gọi là "mẻ nguyên liệu được trộn aragonit". "Mẻ nguyên liệu được trộn aragonit" có nghĩa là dạng bột thu được sau khi nghiền, bao gồm hai thành phần vô cơ và hữu cơ.

- Mẻ thứ hai có kích cỡ hạt nằm trong khoảng từ 250 đến $50\mu\text{m}$ được để sang một bên để chiết xuất các polyme sinh học tan và không tan. Mẻ này được gọi là "mẻ nguyên liệu dùng để chiết xuất các polyme sinh học từ lớp aragonit ở phía trong".

Máy đo kích cỡ hạt laze sẽ được sử dụng để xác định kích cỡ hạt và khoảng kích cỡ của các bột thu được.

I.8) Hình cầu hóa mẻ nguyên liệu được trộn aragonit:

Mẻ nguyên liệu được trộn aragonit được xử lý cơ học nhằm tạo ra các hạt đồng đều bằng cách làm tròn, mục đích của việc làm này là để làm tròn các góc và các cạnh của các hạt bằng sự mài mòn.

Việc xử lý này có hiệu quả nâng cao khả năng chảy và khả năng nén của bột thu được và do đó nâng cao khả năng lèn chặt và liên kết giữa các hạt khi sử dụng vật liệu theo sáng chế, tốt hơn là làm các chất thay thế xương, các xi măng hàn, các xi măng tiêm được, các cơ cấu kết hợp xương và các mảnh cấy được đúc có khả năng hấp thụ sinh học.

Quy trình sau đây có thể được thay đổi cho phù hợp với bước hình cầu hóa này: hỗn hợp gồm các phần bằng nhau của vật liệu dạng bột từ mề nguyên liệu được trộn aragonit và các mảnh vụn gỗ cứng cỡ một vài mm², ví dụ gỗ sồi, được tiệt trùng trong nồi hấp, được đặt trong vật chứa hình trụ được làm bằng thủy tinh hoặc zircon chẳng hạn, có trục quay nằm ngang, mà có các cánh thủy tinh với chiều rộng thay đổi được.

Vật chứa này được quay trong thời gian thay đổi và tại tốc độ thay đổi, tùy thuộc vào kích thước của vật chứa và lượng sản phẩm cần được xử lý.

Khi kết thúc quá trình hình cầu hóa, toàn bộ hỗn hợp, mề nguyên liệu được trộn aragonit và các vụn, được thu hồi trong vật chứa trơ được nạp một lượng nước thích hợp, mà được khuấy liên tục trong khoảng 15 phút. Sau khi để yên, các vụn gỗ nổi trên bề mặt được loại bỏ bằng cách hút.

Dung dịch sau đó được lọc trên bộ lọc nylon có lưới có đường kính 20µm, sau đó phần cặn được sấy trong Rotavapor® tại 40°C và được đóng gói.

Theo phương án khác, các phần bằng nhau của natri clorua ở dạng các hạt có các đường kính ngẫu nhiên nằm trong khoảng từ 1 đến 3mm cũng có thể được bổ sung vào mề nguyên liệu được trộn aragonit. Sau khi xử lý, natri clorua được loại bỏ bằng cách hòa tan với nước nóng tại 90°C và lọc trên bộ lọc nylon, sau đó được rửa bằng nước nóng tại 90°C và sấy trong dòng không khí nóng ở 40°C.

II. CHIẾT XUẤT CÁC POLYME SINH HỌC

II.1 Chiết xuất các polyme sinh học không tan:

Theo sáng chế, một lượng bột thích hợp từ mề nguyên liệu dùng để chiết xuất các polyme sinh học từ lớp aragonit ở phía trong thu được ở bước I.5) được trộn với một lượng nước đã khử khoáng thích hợp, được bơm vào trong thiết bị thủy phân, mà một lượng xác định axit xitric 25% được bổ sung vào đó; toàn bộ hỗn hợp được làm

mát ở nhiệt độ dao động giữa 4 và 5°C, khuấy liên tục. Các tác giả sáng chế đã ưu tiên sử dụng axit xitric do nó có các đặc tính làm giảm độ pH và sức căng bề mặt.

Độ pH, được theo dõi bằng máy đo độ pH, được duy trì trên 4,5 bằng cách bổ sung natri hydroxit 2,5N để ngăn chặn sự phân hủy của các polyme sinh học; sau đó độ pH của hỗn hợp được nâng trở lại 7 lúc cuối của bước này bằng cách bổ sung 0,1 lít natri hydroxit 5N cho mỗi 100 lít dịch thủy phân.

Khi bột đã tan hoàn toàn, dịch thủy phân được chuyển sang bể lưu trữ, vẫn khuấy liên tục, và sau đó được chuyển sang thiết bị tách ly tâm, tại đó dịch bị tác dụng lực nằm trong khoảng từ 18 đến 20 000G trong xyclon.

Hoạt động này được lặp lại nếu cần sau khi kiểm tra dung dịch bằng phép đo độ đục và hiệu chỉnh bằng axit xitric nếu cần, trong khi duy trì nhiệt độ giữa 4 và 5°C.

Tùy thuộc vào các kết quả của phép đo độ đục, dịch thủy phân có thể được siêu ly tâm lại.

Tại mỗi chu kỳ siêu ly tâm, phần cặn của các polyme sinh học không tan được thu gom để rửa và được để sang một bên. Nước từ quá trình rửa phần cặn này được xử lý bằng axit oxalic để kiểm tra sự có mặt hoặc không có mặt của canxi.

Kết thúc lần siêu ly tâm cuối cùng, cặn thu được do đó chứa tất cả các polyme sinh học không tan, ở dạng bánh ướt màu nâu, mà được sấy bởi quá trình đông khô nhanh, hoặc Zeodratation (quá trình hydrat sử dụng các zeolit); cuối quá trình xử lý, thu được các viên hình cầu xám có đường kính nằm trong khoảng từ 2 đến 3mm, là kết quả của việc cuộn các protein dưới tác dụng của lực ly tâm.

Các polyme sinh học được chiết xuất không tan được nghiền ví dụ trong máy nghiền hành tinh cho đến khi thu được bột có kích cỡ hạt ngẫu nhiên nằm trong khoảng từ 5 µm đến 100 nm, được thu hồi sau khi sàng.

II.2 Chiết xuất các polyme sinh học tan:

Phần thấm qua và nước rửa được khử muối trong thiết bị siêu lọc theo dòng tiếp tuyến, ví dụ có các catxet có điểm ngưỡng bằng 1kD.

Một lượng thích hợp axit sulfuric có nồng độ 2,0mol/L được bổ sung vào phần thấm qua, để gây kết tủa các muối canxi sulphat.

Dung dịch này được lọc, và phần thấm qua được cô đặc trong Rotavapor® trong điều kiện chân không tại điểm sôi bằng 33°C để loại bỏ axit xitric ở dạng các tinh thể.

Phần cặn chứa các protein có trọng lượng phân tử thấp cũng như các ion một và nhiều hóa trị được làm giãn nở.

Do điểm ngưng của các catxet không giữ lại tất cả các protein và nhất là các protein có trọng lượng phân tử thấp, nên phần cặn tiếp tục được lọc bằng thấm thấu ngược.

Phần cặn được xử lý tách pha lỏng bằng cách thấm tách qua các màng bán lựa chọn ví dụ có đường kính lỗ 0,0001 μ m, dưới tác dụng của gradien áp suất nằm trong khoảng từ 40 đến 80 bar (4 đến 8MPa).

Phần cặn được dẫn qua để giữ lại tất cả các ion một và nhiều hóa trị như sắt, magie, kẽm, v.v..

Phần giữ lại được thu hồi trên các màng thấm thấu ngược được thu gom và được làm phòng nở bằng nước không chứa pyrogen, sau đó được cô đặc ví dụ trong Rotavapor®, dưới điều kiện chân không, ở nhiệt độ 40°C, và sau đó được làm đông khô nhanh bởi Zeodratation hoặc sấy thăng hoa.

Bột xám-trắng rất mịn thu được, mà được để sang một bên, và sau đó được nghiền, ví dụ, trong máy nghiền hành tinh để thu được, sau khi sàng, bột có kích cỡ hạt ngẫu nhiên nằm trong khoảng từ 5 μ m đến 100nm.

Phần thấm qua được kiểm tra sự có mặt hoặc không có mặt của các protein bằng cách lấy lượng nhất định của dung dịch, mà được xử lý bởi phương pháp so màu của Bradford.

II.3 Chiết xuất các polyme sinh học từ mẻ nguyên liệu dùng để chiết xuất các polyme sinh học từ lớp canxit ở phía ngoài

Theo phương án khác, việc chiết xuất các polyme sinh học từ lớp canxit ở phía ngoài được thực hiện giống như việc chiết xuất các polyme sinh học từ lớp aragonit ở phía trong.

III. CACBONAT HÓA CANXI CACBONAT:

Đã biết rằng canxi cacbonat, được kết tinh theo hệ trục thoi hoặc hệ mặt thoi, khi được cho xử lý nhiệt giữa 800 và 1100°C, cho các tính chất mới thông qua sự nhiệt phân và oxy hóa, mà được phản ánh ở khả năng kết dính đáng kể và tính dẻo mà cho phép việc tạo mẫu được thực hiện một cách dễ dàng. Hiện tượng này là sự cacbonat hóa, theo phản ứng dưới đây:



Trong phản ứng này, trong quá trình nhiệt độ tăng lên và được duy trì trong thời gian nằm trong khoảng từ 20 đến 40 phút, canxi cacbonat được chuyển hóa hóa học, trở thành vôi, và sau đó dưới sự tác động của CO₂ và hơi ẩm xung quanh, nó trở thành canxi cacbonat vô định hình. Sự chuyển hóa hóa học này diễn ra trong vài ngày, tùy thuộc vào độ ẩm môi trường xung quanh.

Theo các phương án khác, tất cả các muối canxi, ngoài canxi cacbonat, có thể, bằng các phản ứng kết tủa hóa học, tạo ra canxi cacbonat, mà có thể được chuyển hóa bởi sự cacbonat hóa. Do đó, có thể, ví dụ, thu được canxi cacbonat đã cacbonat hóa bắt đầu từ canxi hydroxit, canxi axetat, canxi oxalat, canxi sulphat, hoặc canxi xitrat; điều này nằm trong khả năng của người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực để thực hiện các quy trình hóa học đã biết cho các quá trình kết tủa này.

Canxi cacbonat cũng có thể có nguồn gốc từ vỏ aragonit ở phía trong của các động vật thân mềm hai mảnh vỏ như các loài *Pinctadines* nói chung và nhất là *Pinctada maxima*, *margaritifera*, và các loài *Tridacnes*, *Tridacna gigas*, *maxima*, *derasa*, *tevaroa*, *squamosa*, *crocea*, *Hippopus hippopus*, *Hippopus porcelanus*, sau khi chiết xuất các polyme sinh học. Nó có thể cũng có nguồn gốc từ san hô tảng.

IV. TẠO RA HỖN HỢP BẮT NGUỒN TỪ MẸ NGUYÊN LIỆU ĐƯỢC TRỘN ARAGONIT, CÁC POLYME SINH HỌC ĐƯỢC CHIẾT XUẤT TAN VÀ KHÔNG TAN, VÀ CANXI CACBONAT ĐƯỢC CHUYỂN HÓA BỞI SỰ CACBONAT HÓA

Một lượng các polyme sinh học tan và không tan, được chiết xuất từ hai mẹ aragonit ở phía trong và canxit ở phía ngoài, được xác định theo tỷ lệ mong muốn của phần hữu cơ, và lượng xác định của canxi cacbonat được chuyển hóa bởi sự cacbonat hóa, được trộn với lượng xác định của mẹ nguyên liệu được trộn aragonit để tạo thành chế phẩm của sản phẩm theo sáng chế.

Việc trộn được thực hiện ví dụ trong máy trộn bằng lưới cắt cho đến khi thu được bột đồng nhất, mà sau đó được bao gói.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến việc sử dụng vật liệu theo sáng chế làm chất thay thế xương cho hỗn hợp dùng ngay, để chữa lành và tái tạo chất bị tổn thất, để điều trị bỏng, vết thương, vết loét, hoặc các tổn thương da ban đỏ hoặc trong việc sản xuất các cơ cấu hoặc các mảnh cấy được đúc.

Vật liệu bán tổng hợp dạng bột theo sáng chế cũng có thể được sử dụng trong việc sản xuất các cơ cấu hoặc các mảnh cấy được đúc có sự hấp thụ sinh học được kiểm soát bao gồm các chỉ khâu có sự hấp thụ sinh học xen kẽ theo thời gian.

Vật liệu theo sáng chế cũng có thể được sử dụng để tạo ra các chế phẩm dùng cho các chất thay thế xương để sử dụng ngay, các chất thay thế xương với giá đỡ collagen xốp, các chất thay thế xương có cấu trúc khoáng vật có nguồn gốc từ động vật hoặc người, các cơ cấu kết hợp xương và các mảnh cấy được đúc có khả năng hấp thụ sinh học, các cơ cấu có sự hấp thụ sinh học được kiểm soát, các xi măng để hàn các bộ phận giả đặt trong cơ thể, các xi măng tiêm được dùng cho phẫu thuật xâm lấn tối thiểu trong quá trình bơm xi măng sinh học không dùng bóng, bơm xi măng sinh học dùng bóng và phẫu thuật u xương.

Theo phương án khác, sản phẩm theo sáng chế có thể được kết hợp với giá đỡ collagen xốp như bột biển mà đã được xử lý cơ học và nhiệt hóa học nhằm để khử khuẩn và virus, để loại bỏ các chất màu bất kỳ, và để trung hòa tính gây miễn dịch. Đã biết rằng bột biển được tạo bởi chất xốp, chứa các vòng sợi của nhóm protein cứng đã được cacbonat hóa có liên quan đến collagen. Protein này có độ tan thấp và đóng vai

trò bảo vệ và đỡ tất cả các mô: mô liên kết, các gân, các mô xương, các sợi cơ, da, tóc và móng. Chất xốp là protein collagen cấu trúc và lưu trữ; đó là vật liệu kỵ nước, trơ, không tan trong nước và không dễ bị biến tính. Vật liệu này tạo thành giá đỡ xốp, phù hợp cho sự dẫn tạo xương. Do đó, nó cũng có thể được sử dụng kết hợp với vật liệu theo sáng chế để tạo ra các chất thay thế xương.

Vật liệu theo sáng chế có thể được kết hợp với các muối canxi như canxi sulphat loại nước hoặc nửa hydrat, canxit, canxi hydroxyphosphat khan, β -TCP, và canxi hydroxit. Vật liệu theo sáng chế có thể được kết hợp với các cấu trúc khoáng vật của các mô xương có nguồn gốc từ động vật hoặc người.

Vật liệu này cũng có thể được kết hợp với các polyme có khả năng hấp thụ sinh học như collagen, axit hyaluronic, chitosan, tinh bột, alginat hoặc với các polyme tổng hợp hấp thụ được như polyglycolide, poly(DL-lactide-co-glycolide), poly(L-lactide) hoặc với các polyme acrylic như polyhydroxyetyl, metylmetacrylat, polymetylmetacrylat, cũng như với các chất dược liệu ở dạng bột, như các thuốc chống viêm không steroid, các chất kháng sinh, các chất chống phân bào hoặc chất bất kỳ khác có mục đích điều trị bệnh.

Xem xét các nhược điểm liên quan đến việc sử dụng các xi măng hàn metylmetacrylat, các tác giả sáng chế đề xuất các xi măng hàn được sản xuất bằng sản phẩm theo sáng chế, mà không thấu xạ một cách tự nhiên, thực hiện hãm cơ học sơ bộ bộ phận giả đặt trong cơ thể nhờ tính kết dính của nó, tiếp theo là kết hợp mô do các đặc tính giống tế bào xương, kích tạo xương, dẫn tạo xương, và hoạt tính sinh học của nó, được gây bởi sự có mặt của các phân tử tín hiệu, các chất khởi đầu của quá trình khoáng hóa sinh học.

Các phân tử tín hiệu này kích thích các yếu tố nội sinh cục bộ của quá trình khoáng hóa sinh học in situ, dẫn đến sự hình thành của xương dị sản.

Theo mục đích khác, sáng chế đề cập đến việc sử dụng canxi cacbonat mà đã được cacbonat hóa khi được sử dụng trong vật liệu theo sáng chế hoặc khi được chuẩn bị theo bước III của phương pháp được mô tả trên đây trong các chế phẩm bao gồm các muối canxi, các polyme tự nhiên hoặc tổng hợp, collagen, các cấu trúc khoáng vật của các mô xương có nguồn gốc từ động vật hoặc người.

Nó cũng có thể được kết hợp với các polyme có khả năng hấp thụ sinh học như collagen, axit hyaluronic, chitosan, tinh bột, alginat hoặc với các polyme tổng hợp hấp thụ được như polyglycolide, poly(DL-lactide-co-glycolide), poly(L-lactide) hoặc với các polyme acrylic như polyhydroxyetyl, metylmetacrylat, polymetylmetacrylat, cũng như với các chất dược liệu ở dạng bột, như các thuốc chống viêm không steroid, các chất kháng sinh, các chất chống phân bào hoặc chất bất kỳ khác có mục đích điều trị bệnh.

Đã biết rằng các polyme sinh học tan và không tan chứa trong phần hữu cơ của các lớp aragonit và canxit có các đặc tính chữa lành và tái sinh, cả các mô cứng như xương và sụn, và các mô mềm như da, cơ và màng nhầy. Một số polyme sinh học không collagen này, nhất là các glycoprotein có trọng lượng phân tử thấp, có thể được so sánh với các yếu tố sinh trưởng như BMP, TNF β , EGPF, TGF β , IGF, FGF, v.v., cũng như các xytokin, các chất trung gian gây viêm.

Sáng chế cũng liên quan đến việc sử dụng các polyme sinh học tan và không tan được sử dụng trong vật liệu theo sáng chế hoặc như được chiết xuất theo bước II của phương pháp được mô tả trên đây làm các chất phụ gia dùng cho các chế phẩm dạng bột bao gồm các muối canxi, các polyme tự nhiên hoặc tổng hợp, collagen, các cấu trúc khoáng vật của các mô xương có nguồn gốc từ động vật hoặc người. Chúng cũng có thể được kết hợp với các polyme có khả năng hấp thụ sinh học như collagen, axit hyaluronic, chitosan, tinh bột, alginat hoặc với các polyme tổng hợp hấp thụ được như polyglycolide, poly(DL-lactide-co-glycolide), poly(L-lactide) hoặc với các polyme acrylic như polyhydroxyetyl, metylmetacrylat, polymetylmetacrylat, cũng như với các chất dược liệu ở dạng bột, như các thuốc chống viêm không steroid, các chất kháng sinh, các chất chống phân bào hoặc chất bất kỳ khác có mục đích điều trị bệnh. Chúng cũng có thể được kết hợp với canxi cacbonat được chuyển hóa bởi sự cacbonat hóa.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả chi tiết hơn có dựa vào các ví dụ, được đưa ra nhằm mục đích minh họa, và các hình vẽ kèm theo.

Để khẳng định các đặc tính dược lý của sản phẩm theo sáng chế, các tác giả sáng chế đã tạo ra các chế phẩm có mục đích điều trị bệnh và đã sử dụng chúng để ghi lại các quan sát lâm sàng.

Ví dụ 1:

Vật liệu bán tổng hợp dạng bột theo sáng chế được chuẩn bị như sau:

I. CHUẨN BỊ CÁC THÀNH PHẦN:

Sau khi loại bỏ sinh vật bám dính bằng cách cạo, vỏ trải qua các bước xử lý sau:

I.1) Loại bỏ tạp chất của vỏ:

Vỏ được loại bỏ tạp chất bằng cách nhúng trong bể nước máy mà đã được bổ sung dung dịch hypoclorit có nồng độ clo hoạt hóa bằng 2%.

I.2) Xử lý siêu âm vỏ:

Vỏ sau đó được rửa và được xử lý bằng siêu âm trong bể nước máy đã được kiểm tra về mặt vi sinh, ở nhiệt độ 55°C, mà dung dịch làm sạch và khử trùng được bổ sung ở mức pha loãng 1 phần dung dịch với 127 phần nước. Thời gian xử lý là 30 phút ở tần số 40kHz.

I.3) Rửa và sấy vỏ:

Vỏ sau đó được rửa trong 20 phút trong bể nước đã khử khoáng ở nhiệt độ 90°C, với Calbenium® được bổ sung ở mức pha loãng 2%, trong 30 phút. Vỏ sau đó được rửa và được sấy.

I.4) Loại bỏ lớp canxit ở phía ngoài:

Lớp canxit ở phía ngoài của vỏ được loại bỏ bằng cách nghiền, bằng con lăn nghiền hạt mịn.

Sản phẩm được để sang một bên và tạo thành "mẻ nguyên liệu dùng để chiết xuất các polyme sinh học từ lớp canxit ở phía ngoài".

I.5) Làm đông lạnh các vỏ xà cừ được lộ ra sau khi mài:

Các vỏ xà cừ thu được ở bước I.4) được làm đông lạnh ở nhiệt độ -18°C trong 120 phút.

I.6) Nghiền các vỏ xà cừ và thu hồi các nguyên liệu:

Sau đó, các vỏ xà cừ được nghiền trong máy nghiền có các hàm bằng vonfram cacbua, thuộc kiểu ESSA®, có sự hút khí, để thu hồi các hạt lơ lửng, cũng chứa các hạt nano.

Hoạt động nghiền được thực hiện lặp lại ít nhất 3 lần và 2 mẻ được để sang một bên sau khi sàng:

- Mẻ thứ nhất có kích cỡ hạt ngẫu nhiên nằm trong khoảng từ 20 μ m đến 50nm sẽ là phần được trộn aragonit của sản phẩm theo sáng chế dưới đây được gọi là "mẻ nguyên liệu được trộn aragonit". "Mẻ nguyên liệu được trộn aragonit" có nghĩa là dạng bột thu được sau khi nghiền, bao gồm hai thành phần vô cơ và hữu cơ.

- Mẻ thứ hai có kích cỡ hạt nằm trong khoảng từ 250 đến 50 μ m được để sang một bên để chiết xuất các polyme sinh học tan và không tan. Mẻ này sẽ được gọi là "mẻ nguyên liệu dùng để chiết xuất các polyme sinh học từ lớp aragonit ở phía trong".

Kích cỡ hạt và khoảng kích thước của bột thu được được xác định bằng cách sử dụng máy đo kích cỡ hạt laze.

I.7) Hình cầu hóa mẻ nguyên liệu được trộn aragonit:

Mẻ nguyên liệu được trộn aragonit được xử lý cơ học mà được dự định để làm cho các hạt đồng đều bằng bước làm tròn, mục đích của việc làm này là để làm tròn các góc và các cạnh của các hạt bằng sự mài mòn.

Hỗn hợp gồm các phần bằng nhau của vật liệu dạng bột từ mẻ nguyên liệu được trộn aragonit và các mẫu vụn gỗ cứng 5mm², ví dụ gỗ sồi, được thanh trùng trong nồi hấp, được đặt trong vật chứa hình trụ làm bằng ziricon, có trục quay nằm ngang, mà có các cánh thủy tinh với chiều rộng thay đổi được.

Vật chứa này được quay trong thời gian thay đổi và tại tốc độ thay đổi, tùy thuộc vào kích thước của vật chứa và lượng sản phẩm cần được xử lý.

Khi kết thúc quá trình hình cầu hóa, toàn bộ hỗn hợp, mẻ nguyên liệu được trộn aragonit và các vụn, được thu hồi trong vật chứa trở được nạp một lượng nước thích hợp, mà được khuấy liên tục trong 15 phút. Sau khi để yên 30 phút, các vụn gỗ nổi trên bề mặt được loại bỏ bằng cách hút.

Dung dịch sau đó được lọc trên bộ lọc nylon với lưới có đường kính 20 μ m, sau đó phần cặn được sấy trong Rotavapor® tại 40°C và được đóng gói.

II. CHIẾT XUẤT CÁC POLYME SINH HỌC

II.1 Chiết xuất các polyme sinh học không tan:

Một lượng bột thích hợp từ mẻ nguyên liệu dùng để chiết xuất các polyme sinh học từ lớp aragonit ở phía trong được trộn, bằng cách hút trong thùng nguyên liệu ở vùng I, với một lượng nước đã khử khoáng thích hợp, để được bơm ở vùng II vào trong thiết bị thủy phân, mà một lượng xác định axit xitric 25% được bổ sung; toàn bộ

hỗn hợp được làm mát ở nhiệt độ dao động giữa 4 và 5°C, khuấy liên tục. Độ pH, được theo dõi bằng máy đo độ pH, được duy trì trên 4,5 bằng cách bổ sung natri hydroxit 2,5N để ngăn chặn sự phân hủy của các polyme sinh học; sau đó độ pH của hỗn hợp được nâng trở lại 7 lúc cuối của bước này bằng cách bổ sung 0,1 lít natri hydroxit 5N cho mỗi 100 lít dịch thủy phân.

Khi bột đã tan hoàn toàn, dịch thủy phân được chuyển sang bể lưu trữ, vẫn khuấy liên tục, sau đó được chuyển sang thiết bị tách ly tâm, mà tại đó nó chịu tác động của lực nằm trong khoảng từ 18 đến 20 000G trong xyclon.

Hoạt động này được lặp lại nếu cần sau khi kiểm tra dung dịch bằng phép đo độ đục và hiệu chỉnh bằng axit xitric nếu cần, nhiệt độ được duy trì giữa 4 và 5°C.

Tùy thuộc vào các kết quả kiểm tra độ đục, dịch thủy phân được siêu ly tâm lại.

Trong mỗi chu kỳ siêu ly tâm, phần cặn của các polyme sinh học không tan được thu gom để rửa và được để sang một bên. Nước từ quá trình rửa phần cặn này được xử lý bằng axit oxalic để kiểm tra sự có mặt hoặc không có mặt của canxi.

Kết thúc lần siêu ly tâm cuối cùng, cặn thu được do đó chứa tất cả các polyme sinh học không tan, ở dạng bánh ướt màu nâu, mà được sấy bởi quá trình đông khô nhanh, và cuối quá trình xử lý thu được các viên hình cầu màu xám có đường kính nằm trong khoảng từ 2 đến 3mm, là kết quả của việc cuộn các protein dưới tác dụng của lực ly tâm.

Các polyme sinh học được chiết xuất không tan được nghiền trong máy nghiền hành tinh cho đến khi thu được bột có kích cỡ hạt ngẫu nhiên nằm trong khoảng từ 5µm đến 100nm, mà được thu hồi sau khi sàng.

II.2 Chiết xuất các polyme sinh học tan:

Phần thấm qua và nước rửa được khử muối trong cơ cấu dùng cho cụm các catxet siêu lọc theo dòng tiếp tuyến, Millipore®, mỗi catxet có điểm ngưỡng bằng 1kDa, được lắp nối tiếp để tạo ra diện tích bề mặt bằng 15m², tại áp suất bằng 5 bar (0,5MPa) và lưu lượng nằm trong khoảng từ 10 đến 15 lít mỗi giờ, ở nhiệt độ 40°C.

Một lượng thích hợp axit sulfuric có nồng độ 2,0mol/L được bổ sung vào phần thấm qua, để gây kết tủa các muối canxi sulphat.

Dung dịch này được lọc, phần thấm qua được cô đặc trong Rotavapor® trong điều kiện chân không tại điểm sôi bằng 33°C để loại bỏ axit xitric ở dạng các tinh thể.

Phần cặn chứa các protein có trọng lượng phân tử thấp cũng như các ion một và nhiều hóa trị được làm giãn nở.

Do điểm ngưng của các catxet không giữ lại tất cả các protein và nhất là các protein có trọng lượng phân tử thấp, nên phần cặn tiếp tục được lọc thấm thấu ngược.

Phần cặn sau đó được xử lý tách pha lỏng bởi quá trình thấm qua các màng bán lựa chọn có đường kính mao quản của màng bằng 0,0001µm, dưới tác dụng của gradien áp suất nằm trong khoảng từ 40 đến 80 bar (4 đến 8MPa).

Phần cặn được dẫn qua để giữ lại tất cả các ion một và nhiều hóa trị như sắt, magie, kẽm, v.v..

Phần giữ lại được thu hồi trên các màng thấm thấu ngược được thu gom và được làm phồng nở bằng nước không chứa pyrogen, sau đó được cô đặc trong Rotavapor®, dưới điều kiện chân không, ở nhiệt độ 40°C, và sau đó được làm đông khô nhanh bởi quá trình Zeodratation.

Bột xám-trắng rất mịn thu được, mà được để sang một bên, và sau đó được nghiền trong máy nghiền hành tinh, thu được, sau khi sàng, bột có kích cỡ hạt ngẫu nhiên nằm trong khoảng từ 5µm đến 100nm.

Sự có mặt hoặc không có mặt của các protein trong phần thấm qua được kiểm tra bằng cách lấy lượng nhất định của dung dịch, mà được xử lý bởi phương pháp so màu của Bradford.

III. CACBONAT HÓA CANXI CACBONAT:

Canxi cacbonat được thu hồi sau khi chiết xuất các polyme sinh học nêu trên được xử lý nhiệt giữa 800 và 1100°C, duy trì trong 20 đến 40 phút, sau đó được làm mát từ từ trong môi trường không khí. Hiện tượng này là sự cacbonat hóa, theo phản ứng dưới đây:



Trong phản ứng này, canxi cacbonat được chuyển hóa hóa học, trở thành vôi, và sau đó dưới sự tác động của CO_2 và hơi ẩm nó trở thành canxi cacbonat vô định hình lại. Sự chuyển hóa hóa học này diễn ra trong vài ngày, tùy thuộc vào độ ẩm môi trường xung quanh.

IV. TẠO RA HỖN HỢP BẮT NGUỒN TỪ MẸ NGUYÊN LIỆU ĐƯỢC TRỘN ARAGONIT, CÁC POLYME SINH HỌC ĐƯỢC CHIẾT XUẤT TAN VÀ KHÔNG TAN, VÀ CANXI CACBONAT ĐƯỢC CHUYỂN HÓA BỞI SỰ CACBONAT HÓA

Trong quá trình chiết xuất các polyme sinh học, đã chứng minh được rằng trong lớp aragonit ở phía trong và lớp canxit ở phía ngoài của vỏ được sử dụng, tỷ lệ của các polyme sinh học không tan nằm trong khoảng từ 2,6% đến 4,3% và tỷ lệ của các polyme sinh học tan nằm trong khoảng từ 0,4% đến 0,7%.

Vật liệu theo sáng chế được chuẩn bị bằng cách trộn mẹ nguyên liệu được trộn aragonit, các polyme không tan thu được ở bước II.1, các polyme tan thu được ở bước II.2 và canxi cacbonat mà đã được cacbonat hóa thu được ở bước III nêu trên. Các lượng cụ thể của các thành phần này được cụ thể hóa trong mỗi ví dụ thực hiện được đưa ra dưới đây.

Bước trộn được thực hiện trong máy trộn bằng lưỡi cắt cho đến khi thu được bột đồng nhất, mà sau đó được bao gói.

Ví dụ 2:

Thực hiện như quy trình nêu trong ví dụ 1 trên đây, ngoại trừ bước liên kết ngang được mô tả dưới đây được bổ sung ở lúc cuối của bước I.3.

Hỗn hợp của nước máy với 10% riboflavin được bổ sung được chuẩn bị trong vật chứa bằng thủy tinh hoặc nhựa trong mờ; toàn bộ hỗn hợp được duy trì ở nhiệt độ cao hơn 20°C , và việc khuấy hỗn hợp này sinh ra dòng vuông góc với bức xạ UVA.

Vỏ được đặt thẳng đứng trong đó và được chiếu xạ trên cả hai mặt bằng các đèn UVA với bước sóng bằng 365nm/giây, tại cường độ 2300 microjun trên mỗi cm^2 trong 180 phút. Toàn bộ hỗn hợp được duy trì độ chân không trong suốt quá trình xử lý.

Vỏ sau đó được rửa và được sấy trong dòng không khí nóng ở 40°C .

Ví dụ 3:

Các đặc tính kết dính và cố kết của canxi cacbonat đã được cacbonat hóa được xác thực như sau:

Bổ sung vào hai cốc Dappen, được đánh dấu tương ứng là Dappen số 1 và số 2, mỗi cốc chứa 1g bột xà cừ thu được ở lúc cuối của bước I.7 của quy trình trong ví dụ 1, các thành phần sau:

- 0,1g canxi cacbonat tự nhiên (Dappen số 1),
- 0,1g canxi cacbonat tự nhiên mà đã được cacbonat hóa, thu được từ bước III của quy trình trong ví dụ 1 (Dappen số 2).

Sau khi trộn, các thành phần có trong mỗi cốc Dappen được trộn với 2 cc máu toàn phần.

Ảnh chụp của mỗi cốc Dappen được chụp 2 phút (Fig. 1) và sau đó 15 phút (Fig. 2) sau khi trộn với máu toàn phần.

Như được minh họa trên Fig. 1(1), hỗn hợp trong cốc Dappen số 1 duy trì ở dạng bột đỏ; không có khối đông tụ được tạo ra. Sau 15 phút, không có khối đông tụ được tạo ra (Fig. 2(1)).

Như được minh họa trên Fig. 1(2), hỗn hợp trong cốc Dappen số 2 nhanh chóng tạo ra khối đông tụ và từ từ thay đổi màu sắc từ đỏ sang nâu, nó đóng bánh, có thể được tạo mẫu, trở nên dính và cứng sau 15 phút (Fig. 2(2)).

Ví dụ 4: Hỗn hợp dùng cho chất thay thế xương dùng ngay

Trường hợp lâm sàng trầm trọng là vết nứt xiên của xương cẳng của ngựa cái non 1 năm tuổi, được xử lý bằng quá trình kết hợp xương. Sau khi kết hợp xương thất bại, được phản ánh ở việc làm vỡ 4 vít, khớp giả bị nhiễm trùng, tiếp đó là vết nứt vụn thứ hai với các mảnh nhỏ, để gây chết động vật một cách nhẹ nhàng như lựa chọn duy nhất, tác giả đã quyết định sử dụng vật liệu theo sáng chế có công thức sau:

- 40g mẻ nguyên liệu được trộn aragonit có kích cỡ hạt nằm trong khoảng từ 50 nm đến 20 μ m, tạo ra từ bước I.8 của ví dụ 1;

- 0,070g các polyme sinh học được chiết xuất không tan thu được ở bước II.2 của ví dụ 1;
- 0,010g các polyme sinh học được chiết xuất tan thu được ở bước II.1 của ví dụ 1;
- 2g canxi cacbonat đã được cacbonat hóa tạo ra từ bước III của quy trình trong ví dụ 1;
- 10ml máu tĩnh mạch cùng nguồn để tạo ra khối đông tụ, được tạo mẫu theo hình trụ có chiều dài 10cm và đường kính 2cm, được đặt vào chỗ thiếu hụt chất sau khi cắt bỏ các mảnh xương mục.

Chi, được bảo vệ bằng cách ép, được đặt trong thạch cao. Ảnh chụp bằng tia X hậu phẫu cho thấy sự có mặt và sự kết dính của chất thay thế xương theo sáng chế, sau đó gia cố tại 4 tháng, mà sau đó ngựa cái non có thể chạy và nhảy qua các chướng ngại vật. Các ảnh chụp tia X sau đó cho thấy sự phục hồi hoàn toàn của thân xương với sự kết cấu lại của ống tủy.

Hỗn hợp tương tự cũng được sử dụng, tạo ra khối đông tụ một cách ngẫu nhiên với 2,5ml nước để tiêm (WFI) ở nhiệt độ phòng.

Ví dụ 5: Hỗn hợp của kem chữa lành da

Chế phẩm của sản phẩm theo sáng chế được tạo ra bởi các thành phần có tỷ lệ như sau:

- 10g mẻ nguyên liệu được trộn aragonit có kích cỡ hạt nằm trong khoảng từ 50nm đến 20 μ m thu được theo ví dụ 2;
- 0,035g các polyme sinh học được chiết xuất không tan thu được ở bước II.2 của ví dụ 1;
- 0,005g các polyme sinh học được chiết xuất tan thu được ở bước II.1 của ví dụ 1;
- 0,5g canxi cacbonat đã được cacbonat hóa; và
- 15 giọt phức hợp của các tinh dầu bao gồm, để tạo ra 100ml:

Bông oải hương (*Lavandula spica*): 1ml

Cây hoa xôan (*Salvia officinalis*): 2ml

Tầm xuân (*Rosa rubiginosa*): 10ml

Hoa bất tử (*Helichrysum italicum*): 1,5ml

Dầu thực vật mầm lúa mì: 50ml

Dầu cây anh thảo: 10ml

Dầu hạnh nhân ngọt: 20ml, và

Nhũ tương dầu trong nước (O/W), lượng vừa đủ 100g

Chế phẩm này được áp dụng trên bệnh hoại tử da của yếm xương ức của ngựa, từ phần cổ đến khuỷu chân sau của ngựa, với chiều cao 32cm và chiều rộng 18cm. Sự quan sát lâm sàng đã cho thấy khả năng chữa lành đặc biệt đối với 1cm chiều cao và chiều rộng mỗi ngày với sự kết cấu lại của mặt phẳng mô gân, dưới da và da, và sự tái sinh trưởng đồng thời của tóc mà không bị biến màu, với sự chữa lành hoàn toàn các màng bọc này trong 28 ngày.

Ví dụ 6: Hỗn hợp dùng cho chế phẩm dùng ngoài da để điều trị bệnh vẩy nến

Như đã biết, bệnh vẩy nến là chứng rối loạn viêm của da, được đặc trưng bởi sự đổi mới tế bào nhanh, mà không gây chết tế bào theo chương trình, mà dẫn đến sự hình thành các vảy dày như các mảng. Ngoài điều trị corticosteroid và chữa cục bộ dựa trên điều trị bằng nhựa than đá và PUVA, các kết quả điều trị là rất khác nhau và đáng thất vọng, có các biện pháp điều trị mạnh hơn với các phản ứng phụ nguy hiểm cho bệnh nhân.

Chế phẩm của sản phẩm theo sáng chế được tạo ra bởi các thành phần có tỷ lệ như sau:

- 3g các polyme sinh học được chiết xuất không tan thu được ở bước II.2 của ví dụ 1;
- 0,45g các polyme sinh học được chiết xuất tan thu được ở bước II.1 của ví dụ 1;
- 0,5g canxi cacbonat đã được cacbonat hóa thu được ở bước III của ví dụ 1; và
- 10 giọt phức hợp của các tinh dầu chứa, để tạo ra 100ml:

Bông oải hương (*Lavandula spica*): 1ml

Cây hoa xôan (*Salvia officinalis*): 2ml

Tầm xuân (*Rosa rubiginosa*): 10ml

Hoa bất tử (*Helichrysum italicum*): 1,5ml

Dầu thực vật mầm lúa mì: 50ml

Dầu cây anh thảo: 10ml

Dầu hạnh nhân ngọt: 20ml, và

Nhũ tương O/W, lượng vừa đủ 100g

Nhũ tương này được ứng dụng hằng ngày trên các tổn thương của bệnh vảy nến trầm trọng ở mặt của thân, lưng, tay và chân. Sau ba lần sử dụng, sự biến mất của các sắc đỏ được quan sát, mà biểu thị sự giảm bớt hiện tượng viêm, các vảy da, và sự giảm bớt bệnh ngứa và các bệnh lây nhiễm thêm khác với sự cải thiện đáng kể ở vẻ bên ngoài. Sự cải thiện các dấu hiệu lâm sàng này phản ánh các đặc tính phú dưỡng, chống viêm và tái sinh của các polyme sinh học tan và không tan.

Ví dụ 7: Hỗn hợp bôi da chữa bỏng

Các đặc tính đặc biệt của sự tái sinh mô mềm của các polyme sinh học tan và không tan được chiết xuất theo bước II của ví dụ 1 được chứng minh trong trường hợp của các vết bỏng sâu độ hai và độ ba sau khi thất bại trong việc ghép tế bào sừng, có các thành phần sau:

Trong 100g có:

- 50g mẻ nguyên liệu được trộn aragonit có kích cỡ hạt nằm trong khoảng từ 50 nm đến 20 μ m thu được theo ví dụ 2;
- 0,174g các polyme sinh học được chiết xuất không tan thu được ở bước II.2 của ví dụ 1;
- 0,026g các polyme sinh học được chiết xuất tan thu được ở bước II.1 của ví dụ 1; và
- Cérat de Galien (sáp của Galen) có nước cây nguyệt quế anh đào lượng vừa đủ 100g.

Chế phẩm này được ứng dụng trên tất cả diện tích bị bỏng trong điều kiện đắp kín, và lặp lại việc làm này sau mỗi 72 giờ.

Các kiểm tra lâm sàng lặp lại đã cho thấy sự giảm hiện tượng rỉ nước, có sự tạo mạch đáng kể, giảm đau, có sự tái tạo biểu mô của các vùng được thấm máu và giảm đáng kể sức căng của sợi dẻo.

Ví dụ 8: Hỗn hợp dùng cho chất thay thế xương được đúc có khả năng hấp thụ sinh học

Vật liệu theo sáng chế có thể được sử dụng để tạo ra các cơ cấu kết hợp xương và các mảnh cấy được đúc có khả năng hấp thụ sinh học.

Theo sáng chế, các thành phần sau được chuẩn bị, để tạo thành 100g:

- 80g mẻ nguyên liệu được trộn aragonit có kích cỡ hạt nằm trong khoảng từ 50nm đến 20 μ m thu được ở bước I.8 của ví dụ 1;
- 0,139g các polyme sinh học được chiết xuất không tan thu được ở bước II.2 của ví dụ 1;
- 0,021g các polyme sinh học được chiết xuất tan thu được ở bước II.1 của ví dụ 1;
- 20g macrogol 400; và
- 4g canxi cacbonat đã được cacbonat hóa thu được ở bước III của ví dụ 1.

Toàn bộ hỗn hợp được trộn trong máy trộn trong 10 phút ở nhiệt độ phòng cho đến khi thu được bột nhão dẻo đồng nhất mà ép đùn được và đúc được.

Các khoang đúc có hình dạng thích hợp được tạo ra bằng cách tạo mẫu bằng phương pháp số giải phẫu học của các vùng thích hợp để chèn các cơ cấu và/hoặc các miếng cấy kết hợp xương.

Một lượng thích hợp bột nhão thu được từ trước được bơm vào trong khoang ép của khuôn đúc bao gồm một hoặc nhiều khoang đúc.

Toàn bộ chúng sau đó được ép ở áp lực tăng dần nằm trong khoảng từ 100 đến 220N; áp lực này được duy trì trong thời gian thay đổi, giảm dần đến 0.

Cơ cấu này, được tháo một lần khỏi khuôn và được sấy khô ở 40°C, và được đóng trong bao gói hai lớp, được khử trùng bằng chiếu xạ ion hóa tại 25kGy.

Ví dụ 9: Chế phẩm dùng cho chất thay thế xương có tính hấp thụ sinh học được kiểm soát

Đã phát hiện ra rằng sự hấp thụ sinh học của chất thay thế xương, hoặc của cơ cấu có khả năng hấp thụ sinh học, liên quan trực tiếp đến các đường kính của các lỗ liên kết với nhau, mà phải thay đổi từ 5 đến 100 μ m, để nó được chiếm giữ bởi sự phân bố mạch mới và các tế bào có tham gia vào việc tái tạo xương.

Đây là lý do tại sao các tác giả sáng chế đề xuất việc tạo ra các chất thay thế xương hoặc các mảnh cấy được đúc với lỗ rỗng được liên kết với nhau được kiểm soát.

Với mục đích này, chế phẩm sau được chuẩn bị, để có được 100g:

- 80g mẻ nguyên liệu được trộn aragonit có kích cỡ hạt nằm trong khoảng từ 50nm đến 20 μ m thu được trong ví dụ 2;
- 0,139g các polyme sinh học được chiết xuất không tan thu được ở bước II.2 của ví dụ 1;
- 0,021g các polyme sinh học được chiết xuất tan thu được ở bước II.1 của ví dụ 1;
- 20ml dung dịch hydroxypropylmethylxenluloza (HPMC) 50%; và
- 20mm³ các dải của các chỉ khâu một sợi tổng hợp hấp thụ được, có chiều dài 5mm, đường kính nằm trong khoảng từ 5/0 đến 12/0.

Các chỉ hấp thụ được này là các polyme như axit glycolic, copolyme glycolic, ϵ -caprolacton polyglactin (Vicryl Rapide hoặc được chiếu xạ), chitosan. Các chỉ này hiển thị sự hấp thụ xen kẽ từ 12 đến 90 ngày.

Như được nêu trong ví dụ trên đây, bột nhão được bơm vào trong các khoang của khuôn đúc, và sau đó được ép. Các cơ cấu và các mảnh cấy này sau đó được tháo khỏi khuôn đúc, được sấy khô, đóng gói trong bao gói hai lớp và được khử trùng như đã nêu tại 25kGy.

Ví dụ 10: Chế phẩm dùng cho chất thay thế xương bơm được và xi măng hàn bộ phận giả đặt trong cơ thể

Các xi măng được chuẩn bị bằng chế phẩm sau, để có được 100g:

- 80g vật liệu theo sáng chế, bao gồm:
- 73g mẻ nguyên liệu được trộn aragonit có kích cỡ hạt nằm trong khoảng từ 50nm đến 20 μ m thu được ở lúc cuối của bước I.8;
- 2,702g các polyme sinh học được chiết xuất không tan thu được ở bước II.2 của ví dụ 1;
- 0,405g các polyme sinh học được chiết xuất tan thu được ở bước II.1 của ví dụ 1;
- 3,699g canxi cacbonat đã được cacbonat hóa tạo ra từ bước III của ví dụ 1; và
- 20g HPMC trong dung dịch nước có độ nhớt cao có nồng độ 50%.

Sản phẩm thu được được đóng gói trong chân không hoặc trong môi trường có kiểm soát trong các bơm tiêm có dung tích thay đổi, từ $0,5\text{cm}^3$ đến 1cm^3 chẳng hạn, có các đầu thẳng hoặc có dạng góc, được bảo quản lạnh ở nhiệt độ khoảng 4°C .

Chế phẩm này, cũng có thể được sử dụng làm xi măng hàn, khiến cho có thể tránh sự di chuyển của sản phẩm hàn vào trong hệ thống tuần hoàn, ví dụ trong quá trình hàn đoạn đuôi của bộ phận giả trong ống tủy.

Hơn nữa, nhờ các thành phần của chế phẩm, không gây ra sự giải phóng các chất dễ bay hơi có nguy cơ tác động đến hệ thống phổi.

Chế phẩm như vậy cũng được đề xuất để dùng trong quá trình bơm xi măng sinh học không dùng bóng và bơm xi măng sinh học dùng bóng trong phẫu thuật xâm lấn tối thiểu.

Ví dụ 11: Chế phẩm dùng cho chất thay thế xương có giá đỡ collagen

Các chất thay thế xương được tạo ra bằng chế phẩm sau:

Chuẩn bị 100g gồm:

- 50g mẻ nguyên liệu được trộn aragonit có kích cỡ hạt nằm trong khoảng từ 50nm đến $20\mu\text{m}$ thu được ở bước I.8 của ví dụ 1;
- 0,087g các polyme sinh học được chiết xuất không tan thu được ở bước II.2 của ví dụ 1;
- 0,013g các polyme sinh học được chiết xuất tan thu được ở bước II.1 của ví dụ 1;
- 2,5g canxi cacbonat đã được cacbonat hóa thu được ở bước III của ví dụ 1; và
- 50g macrogol 400.

Toàn bộ các thành phần được trộn với nhau cho đến khi thu được gel có độ nhớt khoảng 10Pa-s.

30g bột biển được làm nhỏ thành các mảnh có kích thước bằng 2mm được bổ sung vào gel này.

Toàn bộ chúng được trộn với nhau cho đến khi thu được bột nhão đồng nhất có độ nhớt khoảng 10^8 Pa-s. Toàn bộ bột nhão này được bơm vào khuôn đúc bao gồm các khoang khuôn đúc dùng cho các cơ cấu hoặc mảnh cấy kết hợp xương. Sau khi

tháo khuôn, các cơ cấu hoặc các mảnh cấy này được sấy khô dưới dòng không khí nóng ở 40°C, được đóng gói trong bao gói hai lớp và được khử trùng theo quy trình hiện tại.

Ví dụ 12: Chế phẩm dùng cho chất thay thế xương

Theo phương án khác, các polyme sinh học được chiết xuất từ riêng phần aragonit và/hoặc từ phần canxit có thể được bổ sung vào vật liệu sinh học bất kỳ khác có nguồn gốc tổng hợp hoặc tự nhiên để tối ưu hóa hoặc gây các đặc tính nhất định, nhất là các đặc tính kích tạo xương hoặc giống tế bào xương mà chúng đang thiếu.

Do đó, các chất thay thế dẫn tạo xương, như các muối canxi nhất định, được bổ sung các polyme sinh học được chiết xuất từ lớp aragonit, theo công thức sau để thu được 100g:

- 95g hạt β TCP, có kích thước hạt nằm trong khoảng từ 50 đến 250 μ m;
- 4,4g các polyme sinh học được chiết xuất không tan thu được ở bước II.2 của ví dụ 1; và
- 0,6g các polyme sinh học được chiết xuất tan thu được ở bước II.1 của ví dụ 1.

Chế phẩm này, được trộn với máu tự thân, được chèn vào trong chỗ khiếm khuyết của xương hình thành do sự xuất hiện của u nang ở chòm của răng cửa ở chính giữa.

Đồng thời, chỉ có mỗi β TCP được nén chặt vào chỗ thiếu hụt chất hình thành do sự xuất hiện của u hạt quanh đỉnh của răng nanh trên.

Sự kiểm tra phóng xạ được thực hiện tại 2 tuần đã cho thấy sự làm đặc xương nhanh hơn và mạnh hơn trong các khoang u nang được điều trị bằng hỗn hợp β TCP + các polyme sinh học được chiết xuất tan và không tan so với trong khoang thứ hai, mà các hạt β TCP là thấy rõ trong đó, nơi chỉ có sự dẫn tạo xương được biểu hiện, trái lại với trong khoang u nang, sự kích tạo xương là đồng thời với sự dẫn tạo xương, mà chỉ ra rằng β TCP đã có được đặc tính mới.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Vật liệu bán tổng hợp dạng bột, có nguồn gốc từ vật liệu sinh học ở biển tự nhiên, được bổ sung các polyme sinh học tan và không tan và canxi cacbonat được chuyển hóa bởi sự cacbonat hóa, vật liệu bán tổng hợp này là có khả năng hấp thụ sinh học và vật liệu sinh học ở biển tự nhiên là lớp aragonit ở phía trong vỏ của các động vật thân mềm hai mảnh vỏ.
2. Vật liệu bán tổng hợp theo điểm 1, khác biệt ở chỗ, các động vật thân mềm hai mảnh vỏ được chọn từ nhóm bao gồm các loài Pinctadines, tốt hơn là *Pinctada maxima*, *margaritifera*, và các loài Tridacnes, tốt hơn là *Tridacna gigas*, *maxima*, *derasa*, *tevaroa*, *squamosa*, *crocea*, *Hippopus hippopus*, *Hippopus porcelanus*, lớp aragonit này ở dạng bột.
3. Vật liệu bán tổng hợp theo điểm 1 hoặc 2, khác biệt ở chỗ, vật liệu sinh học tự nhiên dạng bột có kích cỡ hạt nằm trong khoảng từ 5nm đến 100µm, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 20nm đến 50µm, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 50nm đến 20µm.
4. Vật liệu bán tổng hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, khác biệt ở chỗ, các polyme sinh học tan và không tan được chiết xuất từ lớp aragonit ở phía trong và/hoặc từ lớp canxit ở phía ngoài vỏ của các động vật thân mềm hai mảnh vỏ được chọn từ nhóm bao gồm các loài Pinctadines, tốt hơn là *Pinctada maxima*, *margaritifera*, và các loài Tridacnes, tốt hơn là *Tridacna gigas*, *maxima*, *derasa*, *tevaroa*, *squamosa*, *crocea*, *Hippopus hippopus*, *Hippopus porcelanus*.
5. Vật liệu bán tổng hợp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, khác biệt ở chỗ, canxi cacbonat được chuyển hóa bởi sự cacbonat hóa có nguồn gốc từ canxi cacbonat tự nhiên ở cạn, canxi cacbonat tự nhiên ở biển hoặc canxi cacbonat được kết tủa, hoặc từ phần vô cơ của lớp aragonit sau khi chiết xuất các polyme sinh học tan và không tan.

6. Phương pháp sản xuất vật liệu theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, trong đó phương pháp này bao gồm bước trộn vật liệu sinh học tự nhiên đã được nghiền, các polyme tan và không tan được chiết xuất từ lớp aragonit ở phía trong và/hoặc từ lớp canxit ở phía ngoài vỏ của các động vật thân mềm hai mảnh vỏ được chọn từ nhóm bao gồm các loài Pinctadines, tốt hơn là *Pinctada maxima*, *margaritifera*, và các loài Tridacnes, tốt hơn là *Tridacna gigas*, *maxima*, *derasa*, *tevaroa*, *squamosa*, *crocea*, *Hippopus hippopus*, *Hippopus porcelanus*, và canxi cacbonat được chuyển hóa bởi sự cacbonat hóa.

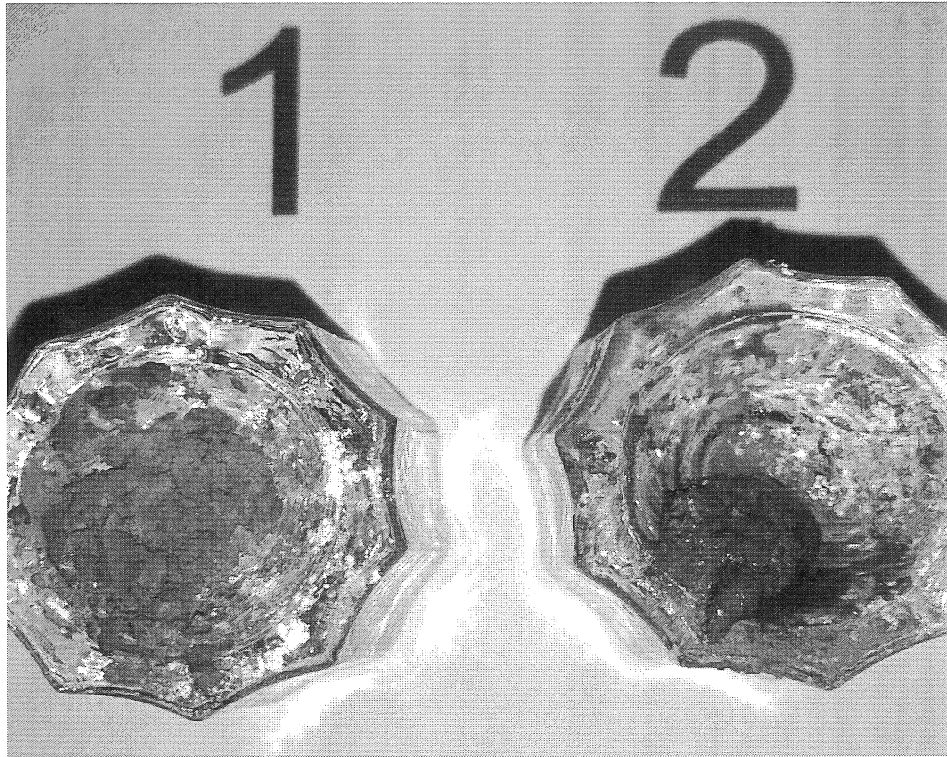
7. Phương pháp sản xuất theo điểm 6, khác biệt ở chỗ, vật liệu sinh học tự nhiên đã được nghiền thu được bằng cách nghiền lớp aragonit ở phía trong vỏ của các động vật thân mềm hai mảnh vỏ được chọn từ nhóm bao gồm các loài Pinctadines, tốt hơn là *Pinctada maxima*, *margaritifera*, và các loài Tridacnes, tốt hơn là *Tridacna gigas*, *maxima*, *derasa*, *tevaroa*, *squamosa*, *crocea*, *Hippopus hippopus*, *Hippopus porcelanus*.

8. Phương pháp sản xuất theo điểm 6 hoặc 7, khác biệt ở chỗ, phương pháp này bao gồm bước hình cầu hóa sau bước nghiền.

9. Phương pháp theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 6 đến 8, khác biệt ở chỗ, các polyme sinh học tan và không tan được chiết xuất tương ứng bởi phương pháp siêu ly tâm, và phương pháp siêu lọc theo dòng tiếp tuyến kết hợp với lọc thẩm thấu ngược sau khi thủy phân.

10. Phương pháp theo điểm 9, khác biệt ở chỗ, lớp aragonit ở phía trong và/hoặc lớp canxit ở phía ngoài vỏ của các động vật thân mềm được liên kết ngang trước khi chiết xuất.

11. Phương pháp theo điểm 9 hoặc 10, khác biệt ở chỗ, lớp aragonit ở phía trong và/hoặc lớp canxit ở phía ngoài vỏ của các động vật thân mềm được nghiền và được sàng đến kích cỡ hạt giữa 250 μ m và 50 μ m trước khi chiết xuất.

**Fig. 1****Fig. 2**