



(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) 
1-0021248

(51)⁷ **A61L 27/36, A61K 35/28, A61L 27/60,**
A61K 35/16, A61L 27/20, 27/38

(13) **B**

(21) 1-2012-00224

(22) 29.06.2010

(86) PCT/EP2010/059183 29.06.2010

(87) WO2011/000820 06.01.2011

(30) MI2009A 001171 02.07.2009 IT

(45) 25.07.2019 376

(43) 25.04.2012 289

(73) FIDIA FARMACEUTICI S.P.A. (IT)

Via Ponte della Fabbrica 3/A, I-35031 Abano Terme (PD), Italy

(72) CALLEGARO, Lanfranco (IT), ZANELATO, Anna Maria (IT)

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

(54) **HỖN HỢP SINH HỌC THÍCH HỢP ĐỂ ĐIỀU TRỊ BỆNH HƯ XƯƠNG KHỚP, TỔN THƯƠNG DÂY CHẰNG VÀ ĐỂ ĐIỀU TRỊ RỐI LOẠN KHỚP, VÀ ĐƯỢC PHẪM CHỨA HỖN HỢP SINH HỌC NÀY**

(57) **Sáng chế đề cập đến hỗn hợp sinh học bao gồm:**

a) chất mang lỏng bao gồm dung dịch nhót chứa ít nhất một polysacarit tự nhiên và/hoặc bán tổng hợp, và có độ nhót động lực đo ở nhiệt độ 20°C và ở tốc độ cắt $D=350 \text{ giây}^{-1}$, nằm trong khoảng từ 0,1 đến 0,25 Pa.giây (100 cPoise đến 250 cPoise) và/hoặc độ nhót động học nằm trong khoảng từ $0,99 \times 10^{-4}$ đến $2,48 \times 10^{-4} \text{ m}^2/\text{giây}$ (99 cSt đến 248 cSt) (được đo ở cùng điều kiện);

b) dịch nuôi cấy tế bào gốc trung mô, và/hoặc

c) dẫn xuất hemo giàu tiểu cầu.

Loại hỗn hợp này ở dạng lỏng nhót đặc biệt thích hợp để điều trị bệnh hư xương khớp, tổn thương dây chằng, đặc biệt là tổn thương gân và sụn) và có thể được dùng trong khớp, trong da hoặc được dùng trực tiếp in situ mà không làm thay đổi đặc tính của tế bào gốc trung mô và/hoặc tiểu cầu chứa trong đó.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến hỗn hợp sinh học ở dạng lỏng nhớt thích hợp để điều trị bệnh hư xương khớp, tổn thương gân, dây chằng, để điều trị rối loạn mô khớp và mô liên kết nói chung, và da bị tổn thương.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Sụn khớp đặc biệt phù hợp để chống lại lực nén, nó không có nguồn cung cấp máu cũng như lưu dẫn hệ bạch huyết và nó hoàn toàn không chứa các đầu mút thần kinh. Điều này cũng có nghĩa là nó không có khả năng tự tái sinh để làm lành tổn thương bề mặt, ngoại trừ lớp dưới sụn nằm bên dưới.

Do đó, nếu tổn thương sụn không sâu, thì sẽ không có đáp ứng tái sinh. Ngược lại, nếu tổn thương này sâu và xuyên vào xương dưới sụn, thì nó sẽ khơi mào quá trình tự làm lành, nhờ đó tế bào gốc tủy xương bắt đầu quá trình biệt hóa tế bào sụn nhằm bù lại một phần sụn bị tổn thương.

Các triệu chứng, như đau và sưng khớp (ví dụ, đầu gối), có thể là hậu quả tổn thương sụn và quá trình thoái hoá tiến triển của sụn tổn thương có thể phát triển thành viêm xương khớp.

Loại tổn thương này có thể xảy ra thường xuyên ở các vận động viên chuyên nghiệp (do họ dễ bị chấn thương), hoặc ở các bệnh nhân cao tuổi, do chấn thương khớp và mất cân bằng tư thế, hoặc do sự hao mòn thông thường của sụn liên quan đến tuổi của đối tượng.

Hiện nay, đối với các tổn thương sụn của khớp gối, các phương pháp

điều trị không dùng phẫu thuật, như vật lý trị liệu và dùng thuốc, không làm liền hoàn toàn lượng mất sụn như vẫn thường đạt được, với tỷ lệ phần trăm thành công cao, sau khi thực hiện các ca phẫu thuật cấy ghép trong khớp theo kỹ thuật hiện đại.

Các kỹ thuật chính để phục hồi sụn bằng phẫu thuật đã biết trong tình trạng kỹ thuật gồm:

1. Cấy ghép tế bào sụn tự thân qua lần lượt ít nhất hai quá trình phẫu thuật khác nhau: quá trình thứ nhất, ít xâm lấn gồm thu (bằng kính soi khớp) mô sụn thông thường của bệnh nhân từ vùng khớp không bị tổn thương khác, hoặc từ sụn không phải khớp. Mẫu thu được sau đó được đưa vào phòng thí nghiệm để làm tăng lượng tế bào in vitro. Khi tế bào sụn nhân lên, tiến hành các ca phẫu thuật thực tế gồm cấy ghép các tế bào sụn được tạo ra (được ngâm trong dung dịch nước muối) trực tiếp vào vị trí tổn thương có thể “được cố định in situ” với mô màng xương tự thân. Quá trình này là rất đắt do cần 2 ca phẫu thuật và quá trình sinh trưởng in vitro của tế bào sụn. Nó đòi hỏi bệnh nhân phải nhập viện hai lần, phải qua hai lần gây mê và hai lần điều trị được lý.

2. Phương pháp thứ hai đơn giản hơn gồm việc khoan trên bề mặt khớp đến mô dưới sụn vùng bị tổn thương và do vậy cho phép tạo thành cục máu trung mô có khả năng tiến đến bề mặt mất sụn, ở đó các tế bào này có thể biệt hóa một phần thành tế bào sụn. Tuy nhiên, mô sụn mới tạo thành chủ yếu là mô sợi và không trong suốt giống sụn ban đầu, và do đó, nó không có các đặc điểm vật lý và cơ học giống khớp bẩm sinh.

3. Để điều trị tổn thương xương sụn, đã biết cách lấp miếng cấy phẫu thuật hoặc giàn polyme chứa tế bào sụn và/hoặc tế bào gốc trung mô. Trong trường hợp này, nguyên liệu cấu thành giàn có thể là polysacarit bán tổng hợp ví dụ, dẫn xuất của axit hyaluronic⁽¹⁾, hoặc bao gồm trong chất nền collagen. Phương pháp này cũng rất đắt và bệnh nhân phải nhập viện hai lần và phẫu

thuật hai lần, như phương pháp nêu trên.

Một loại tổn thương và/hoặc chứng viêm mô liên kết rất phổ biến khác là tổn thương dây chằng hoặc gân, và đặc biệt là gân Achilles, nhất là ở các vận động viên chuyên nghiệp, thường được điều trị (ở các dạng nghiêm trọng nhất) bằng phẫu thuật do cần phải tái tạo một phần hoặc toàn bộ mô tổn thương. Đến nay, các kỹ thuật phẫu thuật được sử dụng để phục hồi dây chằng đều dựa trên việc ghép mô và thay bộ phận giả nhân tạo, tuy nhiên các kỹ thuật này chỉ có hiệu quả hạn chế theo thời gian. Các công bố khoa học gần đây đã chứng minh rằng tế bào gốc có khả năng tái tạo mô của các gân và dây chằng bị tổn thương: các tế bào trung mô lấy từ cùng tế bào gốc được đưa vào gân Achilles bị tổn thương trên thực tế đã chuyển hoá thành tế bào gân (tế bào bình thường của gân). Nhờ đó, gân được phục hồi do tăng quá trình sản xuất collagen làm dây chằng linh động và bền.

Gần đây, cả trong phẫu thuật hàm-mặt và xương⁽²⁾ và nhất là trong phẫu thuật mô liên kết (và đặc biệt là trong tái tạo/tái sinh gân/dây chằng và da), việc sử dụng các dẫn xuất hemo giàu tiểu cầu đã trở nên ngày càng phổ biến, do loại hỗn hợp này giàu các yếu tố dinh dưỡng như AGF (yếu tố sinh trưởng tự thân cô đặc), và đặc biệt là PDGF-AB và TGFβ v.v. ^{(3),(4)}.

Các dẫn xuất hemo này thực tế được sử dụng để kích thích quá trình làm lành da bị tổn thương sau xuất hiện loét tĩnh mạch, chủ yếu là ở bệnh nhân bị đái tháo đường.

Sự kích thích thường được khởi đầu bằng các cách khác nhau, ví dụ:

- a) kích thích cơ học,
- b) dùng yếu tố sinh trưởng tại chỗ,
- c) dùng các sản phẩm của kỹ thuật mô tại chỗ.

Kích thích cơ học bao gồm việc cọ xát đáy và bờ tổn thương bằng gạc khô vô trùng hoặc bằng dao mổ cho chảy máu. Việc dùng tại chỗ yếu tố sinh

trường với tiểu cầu cô đặc được hoà tan trong huyết tương cho phép giải phóng PDGF (có tác dụng kích thích phân bào và tạo mạch), TGF-B (để kích thích nguyên bào sợi), EGF (để kích thích các tế bào biểu bì và trung mô) và IGF (làm chất thúc đẩy sự nhân đôi tế bào). Thử nghiệm này cho thấy có sự tăng phân bố mạch mô mặc dù các dẫn xuất hemo này khó vận dụng và thời gian tồn tại *in situ* của chúng rất ngắn.

Các sản phẩm của kỹ thuật mô mới hơn có dạng nguyên bào sợi khác loại và tế bào sừng trên giá tương hợp sinh học hoặc ở dạng nguyên bào sợi tự thân trên giá axit hyaluronic.

Điều này đòi hỏi phải sử dụng phẫu thuật để lấy tế bào từ bệnh nhân rồi nuôi cấy chúng *in vitro* trước khi nạp lên giá. Tài liệu WO 01/80865 A2 bộc lộ: hỗn hợp sinh học, thích hợp để tiêm, được dùng để phục hồi sụn chêm bao gồm: a- chất mang lỏng bao gồm dung dịch nhót chứa 4mg/ml natri hyaluronat có khối lượng phân tử cao; b- thành phần mới tạo thành chứa tế bào gốc trung mô.

Với tình trạng kỹ thuật đã được mô tả trên liên quan đến việc dùng thành phần tế bào trong khớp hoặc trong da và điều trị - bằng các sản phẩm tiểu cầu - các vùng gân/dây chằng hoặc da bị tổn thương (cả các thành phần tế bào và dẫn xuất hemo giàu tiểu cầu được dùng bằng xylanh đặc biệt), cần phải có “chất mang” đủ lỏng nhưng cũng có khả năng đảm bảo đồng thời:

- đặc tính vật lý/cơ học tốt, cho phép việc dùng này bảo vệ được khả năng sống, hình thái học của màng tế bào và, đồng thời, có khả năng tăng sinh và biệt hóa tế bào dẫn, nhưng, ngoài ra,

- cho phép duy trì các tế bào nêu trên ở vị trí tổn thương mà không cần cố định thêm bằng cách khâu và dùng thuốc sau đó.

Vì lý do tương tự, cần phải tạo ra “chất mang” có khả năng bảo vệ trạng thái nguyên vẹn của các dẫn xuất hemo tiểu cầu được sử dụng, để đảm bảo tất

cả các đặc tính sinh hóa và enzym của protein (tức là các yếu tố dinh dưỡng nêu trên) chứa trong đó và, hơn hết, cho phép duy trì hoạt chất được dùng ở vị trí tổn thương.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Các tác giả sáng chế đã phát hiện ra rằng có thể khắc phục được các hạn chế nêu trên của tình trạng kỹ thuật đã biết bằng hỗn hợp sinh học theo sáng chế.

Cụ thể, hỗn hợp sinh học theo sáng chế bao gồm:

a) chất mang lỏng bao gồm dung dịch nhớt chứa ít nhất một polysacarit tự nhiên và/hoặc bán tổng hợp, và có độ nhớt động lực đo ở nhiệt độ 20°C và ở tốc độ cắt $D=350 \text{ giây}^{-1}$, nằm trong khoảng từ 0,1 đến 0,25 Pa.giây (từ 100 đến 250 cPoise) và/hoặc độ nhớt động học nằm trong khoảng từ $0,99 \times 10^{-4}$ đến $2,48 \times 10^{-4} \text{ m}^2/\text{giây}$ (từ 99 đến 248 cSt) được đo ở cùng điều kiện;

b) dịch nuôi cấy hoặc thành phần mới tạo thành chứa tế bào gốc trung mô, và/hoặc

c) dẫn xuất hemo giàu tiểu cầu,

trong đó dung dịch nhớt chứa thành phần (a) đã nêu được chọn từ nhóm bao gồm:

I) dung dịch nước chứa axit hyaluronic hoặc muối được dụng của nó, tốt hơn là muối natri, có khối lượng phân tử trung bình nằm trong khoảng từ 450 đến 730 kDa, ở nồng độ nằm trong khoảng từ 5 đến 15 mg/ml,

II) dung dịch nước chứa axit hyaluronic hoặc muối được dụng của nó, tốt hơn là muối natri, có khối lượng phân tử trung bình nằm trong khoảng từ 1000 đến 1800 kDa đo được sau khi tiệt trùng, ở nồng độ nằm trong khoảng từ 2 đến 12 mg/ml;

III) dung dịch nước chứa octylamit của axit hyaluronic, có khối lượng phân tử trung bình nằm trong khoảng từ 450 đến 730 kDa, ở nồng độ nằm trong khoảng từ 1 đến 10 mg/ml;

IV) dung dịch nước chứa hexadexylamit của axit hyaluronic, có khối lượng phân tử trung bình nằm trong khoảng từ 450 đến 730 kDa, ở nồng độ nằm trong khoảng từ 0,2 đến 1,5 mg/ml.

Loại hỗn hợp này là thích hợp để điều trị bệnh hư xương khớp, tổn thương sụn, tổn thương gân (đặc biệt là tổn thương gân Achilles), dây chằng và, rối loạn mô khớp và mô liên kết nói chung và da bị tổn thương.

Ngoài ra, sáng chế còn đề cập đến dược phẩm chứa hỗn hợp sinh học theo sáng chế, đặc biệt là thích hợp để dùng trong khớp, trong da, nhưng cũng để dùng trực tiếp ở vị trí tổn thương.

Mô tả chi tiết sáng chế

Theo sáng chế, thuật ngữ dung dịch nhớt được sử dụng trong bản mô tả này để chỉ hỗn hợp đồng nhất gồm hai hoặc nhiều thành phần trong đó có chứa chất hòa tan, tức là polysacarit tự nhiên và/hoặc bán tổng hợp được hoà tan hoàn toàn trong dung môi thường là nước, trong đó thuật ngữ “nước” được sử dụng để chỉ nước dùng cho các chế phẩm để tiêm, dung dịch nước muối, v.v.

Loại dung dịch này không được nhầm với loại gọi là gel hoặc hydrogel, tức là sản phẩm bán rắn, mà các thành phần của nó không hoà tan trong dung môi, nhưng vẫn tạo được hỗn dịch trong đó và nó được tạo ra nhờ liên kết ba chiều (gọi là liên kết chéo) kiểu đồng hoá trị hoá học, liên kết hydro hoặc liên kết Van der Waals giữa các thành phần khác nhau của gel và/hoặc dung môi.

Theo sáng chế, cụm từ “cơ bản bao gồm” được sử dụng để chỉ rằng thành phần thứ ba có thể có mặt ở nồng độ nằm trong khoảng từ 0,9% đến

0,001% tổng khối lượng dung dịch nhót.

Polysacarit có nguồn gốc bán tổng hợp được chọn từ các dẫn xuất axit hyaluronic đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này, octyl của nó, và hexadexyl amit (EP1095064). Trong trường hợp bất kỳ, các polysacarit tự nhiên và bán tổng hợp này phải có khối lượng phân tử sao cho độ nhót của nó nằm trong các khoảng nêu trên, ngoài ra chúng phải có các đặc tính phân tử/hóa lý để tạo ra dung dịch nhót chứ không phải gel.

Chỉ loại độ nhót này cho phép thu được chế phẩm thích hợp để

- tiêm trong khớp hoặc vào vị trí tổn thương gồm gân và/hoặc dây chằng,
- dùng trong da trong trường hợp tổn thương dưới da,

có thể đảm bảo tỷ lệ sống cao nhất cho các tế bào chứa trong đó, cũng như duy trì nguyên vẹn tất cả các đặc tính sinh hóa và enzym của các yếu tố dinh dưỡng được chứa trong các dẫn xuất hemo giàu tiểu cầu, có thể có mặt.

Theo một phương án đặc biệt ưu tiên của sáng chế, có thể sử dụng:

- Axit hyaluronic hoặc muối được dụng của nó, tốt hơn là muối natri, có khối lượng phân tử trung bình nằm trong khoảng từ 450 đến 730 kDa (HA có khối lượng phân tử (MW) trung bình); nồng độ nằm trong khoảng từ 5 đến 15 mg/ml, tốt hơn là bằng 10 mg/ml.

- Axit hyaluronic hoặc muối được dụng của nó, tốt hơn là muối natri, có khối lượng phân tử trung bình nằm trong khoảng từ 1000 đến 1800 KDa đo được sau khi tiệt trùng (HA có khối lượng phân tử (MW) cao); nồng độ nằm trong khoảng từ 2 đến 12 mg/ml, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 6 đến 8 mg/ml.

- Octylamit của axit hyaluronic, tốt hơn là có khối lượng phân tử (MW) trung bình, do đó axit hyaluronic có khối lượng phân tử trung bình nằm trong

khoảng từ 450 đến 730 kDa nêu trên; nồng độ của amit này nằm trong khoảng từ 1 đến 10 mg/ml, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 2 đến 3 mg/ml.

- Hexadexylamit của axit hyaluronic, tốt hơn là có khối lượng phân tử (MW) trung bình do đó axit hyaluronic có khối lượng phân tử trung bình nằm trong khoảng từ 450 đến 730 kDa nêu trên; nồng độ của amit này nằm trong khoảng từ 0,2 đến 1,5 mg/ml, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 0,5 đến 1 mg/ml.

Tế bào gốc trung mô có thể là loại tự thân và khác loại và tốt hơn là chúng được lấy từ tủy xương, máu ngoại biên, màng xương, dây rốn hoặc mô mỡ.

Trong phạm vi của sáng chế, cụm từ “dẫn xuất hemo giàu tiểu cầu” được sử dụng để chỉ tất cả các dẫn xuất hemo giàu tiểu cầu, ví dụ, huyết tương giàu tiểu cầu (platelet-rich plasma - PRP), tức là dịch nổi lỏng từ quá trình ly tâm máu tĩnh mạch, tiểu cầu cô đặc (platelet concentrate - PC), tức là pha lỏng nặng hơn từ quá trình ly tâm huyết tương giàu tiểu cầu, và cuối cùng là tiểu cầu dạng gel, tức là tiểu cầu cô đặc - do hoạt động của các chất kết tủa (ví dụ như thrombin) - được chuyển thành gel⁽⁵⁾.

Tùy vào mục đích sử dụng và loại tổn thương mà có thể chọn loại dẫn xuất hemo giàu tiểu cầu. Thực tế là, cả ba sản phẩm này đều giàu các yếu tố dinh dưỡng đã nêu trên.

Hỗn hợp sinh học theo sáng chế chứa các thành phần (a) và (b) hoặc (a) và (c), hoặc ba thành phần (a), (b) và (c).

Ngoài ra, ưu tiên bổ sung thành phần tự thân (c) vào hỗn hợp sinh học chứa thành phần (a) và (b): dẫn xuất hemo giàu tiểu cầu nêu trên lấy từ cùng bệnh nhân và sản phẩm này có thể được tạo ra ngay trước khi bệnh nhân được tiêm trong khớp hoặc dùng trong da như nêu trên, hoặc trước khi hỗn hợp trên được dùng trực tiếp lên vị trí tổn thương.

Do đó, dược phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng trong khoa chỉnh hình để điều trị (gần như tức thì) tổn thương sụn và xương (kể cả sử dụng cục bộ trong nha khoa để tạo điều kiện cho việc gắn và cố định răng) và có thể được tiêm trực tiếp vào vị trí tổn thương của gân và/hoặc dây chằng bị tổn thương hoặc có thể được sử dụng trong khoa da làm chế phẩm để tiêm dùng trong da hoặc sử dụng tại chỗ để điều trị cục bộ loét/tổn thương da khó liền/hồi phục.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1

Điều chế dung dịch nhót chứa HA khối lượng phân tử trung bình

Giai đoạn thứ nhất: hydrat hoá

Cân một lượng muối natri HA polysaccharit (MW bằng 500-730 KDa) tương đương với 100 mg để điều chế dung dịch nhót có nồng độ cuối bằng 10 mg/ml. Bột này được hydrat hóa bằng 50% thể tích cuối cần thiết (5 ml) bằng cách sử dụng dung dịch nước muối 0,9% gồm natri clorua, đệm phosphat hoặc nước để tiêm, để thu được nồng độ cuối mong muốn.

Giai đoạn thứ hai: hoà tan

Sản phẩm thu được như đã được mô tả trong giai đoạn 1, được đem khuấy từ ở nhiệt độ môi trường trong ít nhất 1 giờ.

Sau đó bổ sung thể tích còn lại (5 ml) để đạt được nồng độ cuối đã định, và khuấy tiếp trong ít nhất 2 giờ đến khi hoà tan hoàn toàn bột.

Sau đó, dung dịch thu được được đem tiệt trùng bằng nồi hấp hoặc bức xạ cực tím (UV) và, sau đó, đem đo độ nhót động lực bằng lưu biến kế HAAKE RS150, ở nhiệt độ 20°C, tốc độ cắt $D=350 \text{ giây}^{-1}$.

Độ nhót động lực thu được bằng 0,155 Pa.giây (155 cP), do đó sản

phẩm này có độ nhớt động học bằng $1,536 \times 10^{-4} \text{ m}^2/\text{giây}$ (153,6 cSt).

Ví dụ 2

Điều chế dung dịch nhớt chứa HA khối lượng phân tử cao

Quy trình này được thực hiện giống như trong ví dụ 1 bắt đầu từ bột HA khối lượng phân tử cao để điều chế hai dung dịch nhớt có nồng độ cuối bằng 6 mg/ml và 8 mg/ml trong nước cấp độ để tiêm.

Dung dịch thu được được tiệt trùng và sau đó được đem đo độ nhớt động lực bằng lưu biến kế HAAKE RS150, ở nhiệt độ 20°C, tốc độ cắt $D=350 \text{ giây}^{-1}$.

Độ nhớt động lực thu được lần lượt bằng: 0,158 Pa.giây và 0,246 Pa.giây (158 cP và 246 cP).

Ví dụ đối chiếu 3

Điều chế dung dịch nhớt chứa gellan

Quy trình này được thực hiện giống như trong ví dụ 1 bắt đầu từ bột gellan để điều chế dung dịch nhớt có nồng độ cuối bằng 4 mg/ml trong dung dịch nước muối.

Dung dịch thu được được tiệt trùng và sau đó được đem đo độ nhớt động lực bằng lưu biến kế HAAKE RS150, ở nhiệt độ 20°C, tốc độ cắt $D=350 \text{ giây}^{-1}$.

Độ nhớt động lực thu được bằng 0,110 Pa.giây (110 cP).

Ví dụ 4

Điều chế đối chiếu dung dịch nhớt chứa CMC

Quy trình này được thực hiện giống như trong ví dụ 1 bắt đầu từ bột CMC để điều chế dung dịch nhớt có nồng độ cuối bằng 25 mg/ml trong dung dịch đệm phosphat.

Dung dịch thu được được tiệt trùng và sau đó được đem đo độ nhớt động lực bằng lưu biến kế HAAKE RS150, ở nhiệt độ 20°C, tốc độ cắt $D=350$ giây⁻¹.

Độ nhớt động lực thu được bằng 0,220 Pa.giây (220 cP).

Ví dụ 5

Điều chế dung dịch nhớt chứa octylamit hoặc hexadexylamit của HA có khối lượng phân tử (MW) trung bình

Quy trình này được thực hiện giống như trong ví dụ 1 bắt đầu từ bột octylamit (hoặc từ hexadexylamit) của HA có khối lượng phân tử trung bình, để điều chế hai dung dịch nhớt có nồng độ cuối bằng 2 mg/ml và 3 mg/ml, (hoặc bằng 0,5 mg/ml và 1 mg/ml đối với hexadexylamit) trong dung dịch nước muối natri clorua 0,9%.

Dung dịch thu được (sau khi tiệt trùng) được đem đo độ nhớt động lực bằng lưu biến kế HAAKE RS150, ở nhiệt độ 20°C, tốc độ cắt $D=350$ giây⁻¹.

Độ nhớt động lực thu được lần lượt bằng: 0,143 Pa.giây và 0,220 Pa.giây (143 cP và 220 cP) đối với octylamit, và 0,160 Pa.giây và 0,230 Pa.giây (160 cP và 230 cP) đối với hexadexylamit của HA.

Mục lục tham khảo được trích dẫn:

⁽¹⁾EP 0863776;

⁽²⁾"Fattori di crescita autologhi nella chirurgia ossea ricostruttiva dopo infezione" Carlo R. Romanòn et al, Unità operativa Chirurgia delle Complicanze Osteoarticolari Settiche (C.O.S., Istituto Ortopedico Gaetano Pini).

⁽³⁾"Different preparation methods to obtain components as a source of growth factors for local applications" R. Zimmermann et al., Transfusion 2001;41:1217-1224.

⁽⁴⁾"Platelet-rich plasma preparation using three devices: Implications for platelet growth factor release" P.A.M. Everts et al., Growth Factors, September 2006; 24(3):165-171.

⁽⁵⁾US 6,841,170

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hỗn hợp sinh học, bao gồm:

a) chất mang lỏng bao gồm dung dịch nhót chứa ít nhất một polysacarit tự nhiên và/hoặc bán tổng hợp, và có độ nhót động lực đo ở nhiệt độ 20°C và ở tốc độ cắt $D=350 \text{ giây}^{-1}$, nằm trong khoảng từ 0,1 đến 0,25 Pa.giây (từ 100 đến 250 cPoise) và/hoặc độ nhót động học nằm trong khoảng từ $0,99 \times 10^{-4}$ đến $2,48 \times 10^{-4} \text{ m}^2/\text{giây}$ (từ 99 đến 248 cSt) được đo ở cùng điều kiện;

b) dịch nuôi cấy hoặc thành phần mới tạo thành chứa tế bào gốc trung mô, và/hoặc

c) dẫn xuất hemo giàu tiểu cầu,

trong đó dung dịch nhót chứa thành phần (a) đã nêu được chọn từ nhóm bao gồm:

I) dung dịch nước chứa axit hyaluronic hoặc muối dược dụng của nó, tốt hơn là muối natri, có khối lượng phân tử trung bình nằm trong khoảng từ 450 đến 730 kDa, ở nồng độ nằm trong khoảng từ 5 đến 15 mg/ml;

II) dung dịch nước chứa axit hyaluronic hoặc muối dược dụng của nó, tốt hơn là muối natri, có khối lượng phân tử trung bình nằm trong khoảng từ 1000 đến 1800 kDa đo được sau khi tiệt trùng, ở nồng độ nằm trong khoảng từ 2 đến 12 mg/ml;

III) dung dịch nước chứa octylamit của axit hyaluronic, có khối lượng phân tử trung bình nằm trong khoảng từ 450 đến 730 kDa, ở nồng độ nằm trong khoảng từ 1 đến 10 mg/ml;

IV) dung dịch nước chứa hexadexylamit của axit hyaluronic, có khối lượng phân tử trung bình nằm trong khoảng từ 450 đến 730 kDa, ở nồng độ nằm trong khoảng từ 0,2 đến 1,5 mg/ml.

2. Hỗn hợp sinh học theo điểm 1, trong đó khi dung dịch nước được chọn là dung dịch nhóm (I) thì nồng độ của axit hyaluronic bằng 10 mg/ml.
3. Hỗn hợp sinh học theo điểm 1, trong đó khi dung dịch nước được chọn là dung dịch nhóm (II) thì nồng độ của axit hyaluronic nằm trong khoảng từ 6 mg/ml đến 8 mg/ml.
4. Hỗn hợp sinh học theo điểm 1, trong đó khi dung dịch nước được chọn là dung dịch nhóm (III) thì nồng độ của octylamit của axit hyaluronic nằm trong khoảng từ 2 mg/ml đến 3 mg/ml.
5. Hỗn hợp sinh học theo điểm 1, trong đó khi dung dịch nước được chọn là dung dịch nhóm (IV) thì nồng độ của hexadexylamit của axit hyaluronic nằm trong khoảng từ 0,5 mg/ml đến 1 mg/ml.
6. Hỗn hợp sinh học theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, trong đó tế bào gốc trung mô là loại tự thân và chúng được chọn từ nhóm bao gồm tế bào gốc trung mô tủy xương, tế bào gốc trung mô máu ngoại biên, tế bào gốc trung mô màng xương, tế bào gốc trung mô dây rốn hoặc các tế bào của mô mỡ.
7. Hỗn hợp sinh học theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 6, trong đó các dẫn xuất hemo giàu tiểu cầu được chọn trong số huyết tương giàu tiểu cầu, tiểu cầu cô đặc, và tiểu cầu dạng gel.
8. Hỗn hợp sinh học theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7, được chọn từ nhóm bao gồm:

hỗn hợp sinh học chứa thành phần (a) và (b), hỗn hợp sinh học chứa thành phần (a) và (c), hỗn hợp sinh học chứa ba thành phần (a), (b) và (c).

9. Dược phẩm thích hợp để dùng trong khớp, dùng trong da, hoặc dùng trực tiếp vào vị trí tổn thương chứa hỗn hợp sinh học theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 6.

10. Dược phẩm theo điểm 9, trong đó dẫn xuất hemo giàu tiểu cầu và/hoặc tế bào gốc trung mô là loại tự thân.