



(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) 
1-0022413

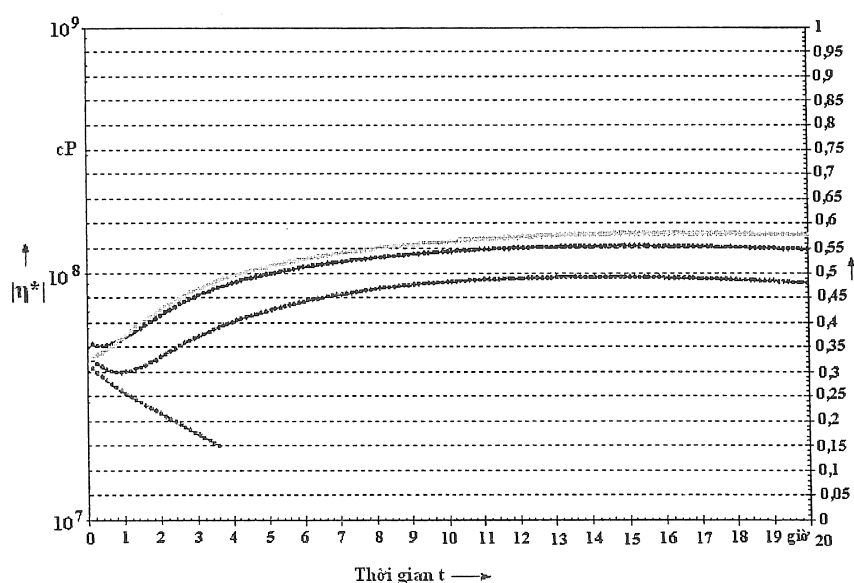
(51)⁷ C08B 37/08

(13) B

(21) 1-2013-03773 (22) 29.11.2013
(30) 10-2013-0032956 27.03.2013 KR
(45) 25.12.2019 381 (43) 27.10.2014 319
(73) LG LIFE SCIENCES LTD. (KR)
58, Saemunan-ro, Jongno-gu, Seoul 110-783, Republic of Korea
(72) LEE, Joon Ho (KR), LEE, Chung (KR), LEE, Han Seung (KR)
(74) Công ty Luật TNHH Phạm và Liên danh (PHAM & ASSOCIATES)

(54) NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP ĐỂ ĐIỀU CHẾ AXIT HYALURONIC DẠNG LIÊN KẾT CHÉO

(57) Sáng chế đề cập đến nguyên liệu để điều chế axit hyaluronic dạng liên kết chéo. Nguyên liệu này bao gồm dung dịch kiềm nước chứa axit hyaluronic với nồng độ nằm trong khoảng từ 15 % đến 25 % khối lượng và chất tạo liên kết chéo, trong đó nguyên liệu này có trị số Tan δ nằm trong khoảng từ 0,5 đến 1,5 ở tần số nằm trong khoảng từ 0,02 Hz đến 1 Hz. Ngoài ra, sáng chế còn đề cập đến phương pháp điều chế axit hyaluronic dạng liên kết chéo bằng cách sử dụng nguyên liệu này.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến nguyên liệu để điều chế axit hyaluronic dạng liên kết chéo. Nguyên liệu này bao gồm dung dịch kiềm nước chứa axit hyaluronic với nồng độ nằm trong khoảng từ 15 % đến 25 % khối lượng và chất tạo liên kết chéo, trong đó nguyên liệu này có trị số Tan δ nằm trong khoảng từ 0,5 đến 1,5 ở tần số nằm trong khoảng từ 0,02 Hz đến 1 Hz. Ngoài ra, sáng chế cũng đề cập đến phương pháp điều chế axit hyaluronic dạng liên kết chéo bằng cách sử dụng nguyên liệu này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Axit hyaluronic là hợp chất polyme sinh học được sử dụng phổ biến trong lĩnh vực y dược, chăm sóc sức khỏe và mỹ phẩm do có khả năng tương thích sinh học và tính chất đàn hồi nhớt. Tuy nhiên, axit hyaluronic rất dễ bị phân hủy trong điều kiện in vivo hoặc điều kiện axit hoặc kiềm, nên việc sử dụng hợp chất này bị hạn chế. Do đó, đã có nhiều nghiên cứu nhằm điều chế được dẫn xuất axit hyaluronic có cấu trúc ổn định hơn (Laurent, T.C. “The chemistry, biology and medical applications of hyaluronan and its derivatives”, Portland Press Ltd., London, 1998).

Trong các phương pháp điều chế axit hyaluronic dạng liên kết chéo thông thường, Công bố đơn patent Mỹ số 2003/0148995 đề cập đến phương pháp điều chế thể gel bằng cách cho axit hyaluronic ở nồng độ 12,8 % phản ứng với lượng dư tương đối chất tạo liên kết chéo epoxit đa chức khi có mặt chất kiềm.

Ngoài ra, Công bố đơn patent Hàn Quốc số 10-2009-0085102 đề cập đến chế phẩm có tác dụng ức chế sự biểu hiện MMP và phục hồi mô sử dụng theo đường tiêm trong da hoặc tiêm dưới da bằng cách bổ sung chất chống oxy hóa manitol vào hỗn hợp chứa axit hyaluronic dạng liên kết chéo và axit hyaluronic tự do. Trong trường hợp này, mặc dù sinh khả dụng có thể được cải thiện bằng cách trộn thêm axit hyaluronic tự do với axit hyaluronic dạng liên kết chéo để ức chế sự biểu hiện MMP, nhưng vai trò của axit hyaluronic tự do trong việc phục hồi và cân bằng mô khó có thể phát huy được do axit hyaluronic tự do rất dễ bị phân hủy bởi phản ứng enzym.

Trong số các phương pháp đã biết để điều chế axit hyaluronic dạng liên kết chéo

bằng cách sử dụng nhiều loại chất tạo liên kết chéo hoặc thông qua các quy trình điều chế khác nhau, không có phương pháp nào có thể điều chế được axit hyaluronic dạng liên kết chéo có cả các tính chất đàn hồi, nhớt và kháng enzym. Ngoài ra, nhiều phương pháp điều chế axit hyaluronic dạng liên kết chéo hiện nay không thích hợp cho sản xuất quy mô lớn.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Để khắc phục các vấn đề nêu trên, các tác giả sáng chế đã nghiên cứu thành công nguyên liệu để điều chế axit hyaluronic dạng liên kết chéo có tính chất đàn hồi nhớt dưới dạng hỗn hợp bao gồm dung dịch kiềm nước chứa axit hyaluronic với nồng độ nằm trong khoảng từ 15 % đến 25 % khối lượng và chất tạo liên kết chéo, nguyên liệu này có trị số Tan δ nằm trong khoảng từ 0,5 đến 1,5 ở tần số nằm trong khoảng từ 0,02 Hz đến 1 Hz, trước khi thực hiện phản ứng tạo liên kết chéo và có thể điều chế được axit hyaluronic dạng liên kết chéo có cả tính chất đàn hồi và nhớt bằng cách tạo liên kết chéo cho nguyên liệu này.

Theo một mục đích, sáng chế đề xuất nguyên liệu để điều chế axit hyaluronic dạng liên kết chéo có tính chất đàn hồi nhớt.

Ngoài ra, axit hyaluronic dạng liên kết chéo có tính chất đàn hồi nhớt có cấu trúc cả một pha lẫn hai pha thu được từ nguyên liệu nêu trên cũng được mô tả trong sáng chế.

Theo một mục đích khác, sáng chế đề xuất phương pháp điều chế axit hyaluronic dạng liên kết chéo có tính chất đàn hồi nhớt có cấu trúc cả một pha lẫn hai pha bằng cách sử dụng nguyên liệu nêu trên.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 thể hiện kết quả của phép đo tính chất lưu biến theo thời gian phản ứng của các nguyên liệu để điều chế axit hyaluronic dạng liên kết chéo bằng lưu biến kế. Trên Fig.1, các chấm màu đỏ thể hiện nguyên liệu điều chế được theo ví dụ 1, các chấm màu xanh dương thể hiện nguyên liệu điều chế được theo ví dụ 2, các chấm màu vàng thể hiện nguyên liệu điều chế được theo ví dụ 3, và chấm màu xanh lá cây thể hiện nhóm đối chứng.

Fig.2 thể hiện kết quả của phép đo sự biến đổi độ đàn hồi nhớt trong quá trình phân hủy axit hyaluronic dạng liên kết chéo điều chế được theo ví dụ 5 và ví dụ so sánh 1

bởi hyaluronidaza. Trên Fig.2, các chấm màu xanh dương thể hiện axit hyaluronic dạng liên kết chéo điều chế được theo ví dụ 5, và các chấm màu đỏ thể hiện axit hyaluronic dạng liên kết chéo điều chế được theo ví dụ so sánh 1.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế đề xuất nguyên liệu để điều chế axit hyaluronic dạng liên kết chéo có tính chất đàn hồi nhớt bao gồm dung dịch kiềm nước chứa axit hyaluronic với nồng độ nằm trong khoảng từ 15 % đến 25 % khối lượng và chất tạo liên kết chéo, trong đó nguyên liệu này có trị số Tan δ nằm trong khoảng từ 0,5 đến 1,5 ở tần số nằm trong khoảng từ 0,02 Hz đến 1 Hz.

Trị số Tan δ là trị số phản ánh độ đàn hồi nhớt của nguyên liệu, trong đó trị số Tan δ được tính toán theo công thức: Trị số Tan $\delta = G''/G'$, và G' là độ đàn hồi và G'' là độ nhớt.

Điểm khác biệt của nguyên liệu theo sáng chế là nguyên liệu này có thể được điều chế ở dạng hỗn hợp bao gồm dung dịch kiềm nước chứa axit hyaluronic với nồng độ nằm trong khoảng từ 15 % đến 25 % khối lượng và chất tạo liên kết chéo, nguyên liệu này có trị số Tan δ nằm trong khoảng từ 0,5 đến 1,5 ở tần số nằm trong khoảng từ 0,02 Hz đến 1 Hz trước khi thực hiện phản ứng tạo liên kết chéo.

Tốt hơn nếu, nguyên liệu này có trị số Tan δ nằm trong khoảng từ 0,5 đến 1,5 ở tần số bằng 0,02Hz.

Theo sáng chế, có thể điều chế được axit hyaluronic dạng liên kết chéo có cả tính chất đàn hồi và nhớt, bằng cách sử dụng nguyên liệu có trị số Tan δ nằm trong khoảng từ 0,5 đến 1,5 ở tần số nằm trong khoảng từ 0,02 Hz đến 1 Hz nêu trên.

Theo các ví dụ từ 1 đến 3 và Fig.1, sau khi điều chế nguyên liệu có trị số Tan δ bằng 0,7, 0,97 hoặc 1,39 ở tần số bằng 0,02 Hz, các tính chất lưu biến của nguyên liệu này đã được kiểm chứng theo thời gian, và kết quả kiểm chứng cho thấy nguyên liệu này có độ đàn hồi nhớt rất cao.

Ngoài ra, khi sử dụng nguyên liệu này có thể điều chế được axit hyaluronic dạng liên kết chéo có tính chất đàn hồi nhớt có khả năng kháng enzym, độ khả dụng phục hồi mô rất cao và thời hạn sử dụng dài.

Thuật ngữ “axit hyaluronic” được sử dụng trong sáng chế để chỉ axit hyaluronic tự

do, muối của nó, hoặc hỗn hợp của chúng. Muối của axit hyaluronic bao gồm muối vô cơ như natri hyaluronat, kali hyaluronat, canxi hyaluronat, magiê hyaluronat, kẽm hyaluronat, coban hyaluronat và muối hữu cơ như tetrabutylamoni hyaluronat. Theo sáng chế, axit hyaluronic có thể được sử dụng dưới dạng axit hyaluronic tự do hoặc muối của nó; hoặc axit hyaluronic hoặc muối của nó có thể được sử dụng kết hợp với hai hoặc nhiều axit hyaluronic tự do hoặc muối của nó.

Theo sáng chế, khối lượng phân tử của axit hyaluronic có thể nằm trong khoảng từ 100.000 đến 5.000.000 Dalton.

Theo sáng chế, dung dịch kiềm nước có thể là dung dịch NaOH, nhưng không chỉ giới hạn ở dung dịch này. Theo đó, dung dịch NaOH có thể được sử dụng ở nồng độ nằm trong khoảng từ 0,25 N đến 5 N.

Theo sáng chế, chất tạo liên kết chéo có thể là 1,4-butanediol diglycidyl ete, nhưng không chỉ giới hạn ở hợp chất này.

Ngoài ra, axit hyaluronic dạng liên kết chéo thu được bằng cách tạo liên kết chéo cho nguyên liệu để điều chế axit hyaluronic dạng liên kết chéo bao gồm dung dịch kiềm nước chứa axit hyaluronic với nồng độ nằm trong khoảng từ 15 % đến 25 % khối lượng và chất tạo liên kết chéo, nguyên liệu này có trị số Tan δ nằm trong khoảng từ 0,5 đến 1,5 ở tần số nằm trong khoảng từ 0,02 Hz đến 1 Hz cũng được mô tả trong sáng chế.

Theo sáng chế, có thể điều chế được axit hyaluronic dạng liên kết chéo có cấu trúc cả một pha lẫn hai pha sau khi tạo liên kết chéo cho nguyên liệu có khoảng trị số Tan δ đặc hiệu ở khoảng tần số đặc hiệu nêu trên.

Nói cách khác, axit hyaluronic dạng liên kết chéo thành phẩm theo sáng chế có cấu trúc cả một pha lẫn hai pha. Hơn nữa, axit hyaluronic dạng liên kết chéo thành phẩm theo sáng chế có khả năng kháng enzym, độ khả dụng phục hồi mô rất cao và thời hạn sử dụng dài.

Theo phần Ví dụ thực hiện sáng chế, kết quả thử nghiệm đánh giá khả năng kháng enzym cho thấy axit hyaluronic dạng liên kết chéo điều chế được bằng cách tạo liên kết chéo cho hỗn hợp có trị số Tan δ bằng 0,97 có khả năng kháng hyaluronidaza rất mạnh.

Ngoài ra, sáng chế cũng đề xuất phương pháp điều chế axit hyaluronic dạng liên kết chéo, phương pháp này bao gồm các bước:

1) Điều chế axit hyaluronic dạng liên kết chéo bằng cách tạo liên kết chéo cho nguyên liệu bao gồm dung dịch kiềm nước chứa axit hyaluronic với nồng độ nằm trong khoảng từ 15 % đến 25 % khối lượng và chất tạo liên kết chéo, trong đó nguyên liệu này có trị số Tan δ nằm trong khoảng từ 0,5 đến 1,5 ở tần số nằm trong khoảng từ 0,02 Hz đến 1 Hz.

Tốt hơn nữa, sau khi kết thúc bước 1) nêu trên, phương pháp theo sáng chế còn bao gồm bước 2) điều chế huyền phù đặc chứa axit hyaluronic dạng liên kết chéo bằng cách nghiền thô axit hyaluronic dạng liên kết chéo, làm sạch bằng nước muối, gây trương nở, sau đó nghiền mịn.

Bằng cách tạo liên kết chéo cho nguyên liệu bao gồm dung dịch kiềm nước chứa axit hyaluronic với nồng độ nằm trong khoảng từ 15 % đến 25 % khối lượng và chất tạo liên kết chéo, có trị số Tan δ đặc hiệu nằm trong khoảng từ 0,5 đến 1,5 ở tần số đặc hiệu nằm trong khoảng từ 0,02 Hz đến 1 Hz theo bước 1), sẽ điều chế được axit hyaluronic dạng liên kết chéo có tính chất đàn hồi nhớt bán thành phẩm theo sáng chế.

Theo phương pháp của sáng chế, có thể điều chế được axit hyaluronic dạng liên kết chéo có nhiều tính chất nổi bật bằng phản ứng ghép thay vì bằng phản ứng tạo liên kết chéo, tức là bằng cách tạo ra phản ứng phân hủy axit hyaluronic trong một phần nào đó và phản ứng tạo liên kết chéo trong một phần khác trong quá trình khuấy trộn nguyên liệu, phản ứng này là một trong những quá trình quan trọng nhất theo sáng chế.

Để thực hiện được phản ứng nêu trên, nồng độ của axit hyaluronic và khoảng trị số Tan δ của nguyên liệu theo sáng chế là những yếu tố rất quan trọng.

Trước hết, dung dịch kiềm nước sử dụng trong phản ứng tạo liên kết chéo phải chứa axit hyaluronic với nồng độ nằm trong khoảng từ 15 đến 25% khối lượng. Nếu dung dịch kiềm nước này chứa axit hyaluronic với nồng độ nhỏ hơn 10% khối lượng, thì mức độ tự do của chuỗi phân tử axit hyaluronic sẽ tăng và tạo ra hợp chất được tạo liên kết chéo chỉ có tính nhớt, và nếu dung dịch kiềm nước này chứa axit hyaluronic với nồng độ lớn hơn 25% khối lượng, thì thu được hợp chất được tạo liên kết chéo có độ đàn hồi nhớt cao nhưng có độ tương hợp sinh học thấp vì thế có thể gây ra các tác dụng không mong muốn trên cơ thể người.

Ngoài ra, phản ứng nêu trên có thể được thực hiện bằng cách trộn và phản ứng ở điều kiện không đồng nhất trong quá trình trộn nguyên liệu. Quá trình trộn nguyên liệu

không đồng nhất có thể được thực hiện bằng cách bổ sung chất tạo liên kết chéo sau khi đã trộn dung dịch kiềm nước với axit hyaluronic. Do khi trị số Tan δ gần bằng một sẽ biểu thị trạng thái dung dịch và khi trị số Tan δ gần bằng 0 sẽ biểu thị trạng thái đàn hồi, nên độ đồng nhất của hỗn hợp này có thể được đánh giá thông qua trị số Tan δ của dịch lỏng đàn hồi nhớt thu được và mức độ hòa tan có thể được kiểm chứng bằng cách kiểm soát trị số Tan δ .

Theo sáng chế, axit hyaluronic dạng liên kết chéo có cả tính chất đàn hồi và nhớt có thể được điều chế bằng cách sử dụng nguyên liệu để điều chế axit hyaluronic dạng liên kết chéo trong đó trị số Tan δ được điều chỉnh để nằm trong khoảng từ 0,5 đến 1,5 ở tần số nằm trong khoảng từ 0,02 Hz đến 1 Hz. Axit hyaluronic dạng liên kết chéo theo sáng chế có thể sử dụng được theo đường tiêm do hợp chất này có tính chất đàn hồi nhớt, độ ổn định, độ khả dụng phục hồi mô rất cao và không chứa polyme bổ sung.

Ngoài ra, theo sáng chế, quá trình phân hủy axit hyaluronic khi tiếp xúc với dung dịch kiềm có thể được giảm thiểu bằng cách kiểm soát sự tăng nhiệt độ gây ra bởi nhiệt ma sát xuất hiện trong quá trình trộn dung dịch kiềm nước với axit hyaluronic. Do đó, tốt hơn nếu nhiệt độ phối trộn nằm trong khoảng từ 10 đến 50°C, tốt hơn nữa nếu nhiệt độ phối trộn nằm trong khoảng từ 20 đến 40°C, và tốt nhất nếu nhiệt độ phối trộn nằm trong khoảng từ 25 đến 35°C.

Bằng cách nghiền mịn sau khi làm sạch bằng nước muối, gây trương nở axit hyaluronic dạng liên kết chéo đã được nghiền thô theo bước 2) sẽ thu được axit hyaluronic dạng liên kết chéo thành phẩm theo sáng chế.

Theo sáng chế, axit hyaluronic dạng liên kết chéo thành phẩm nêu trên có cấu trúc cả một pha lẫn hai pha. Ngoài ra, axit hyaluronic dạng liên kết chéo thành phẩm này có khả năng kháng enzym, độ khả dụng phục hồi mô rất cao và thời hạn sử dụng dài.

Theo sáng chế, có thể điều chế được axit hyaluronic dạng liên kết chéo có tính chất đàn hồi nhớt có cả tính chất đàn hồi và nhớt, bằng cách dùng nguyên liệu có trị số Tan δ nằm trong khoảng từ 0,5 đến 1,5 ở tần số nằm trong khoảng từ 0,02 Hz đến 1 Hz. Ngoài ra đặc điểm nổi bật của sáng chế là axit hyaluronic dạng liên kết chéo có tính chất đàn hồi nhớt này có khả năng kháng enzym, độ khả dụng phục hồi mô rất cao và thời hạn sử dụng dài.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sáng chế sẽ được mô tả chi tiết hơn thông qua các ví dụ dưới đây. Tuy nhiên, các ví dụ này chỉ minh họa chứ không giới hạn phạm vi yêu cầu bảo hộ của sáng chế.

Ví dụ từ 1 đến 3

Nguyên liệu để điều chế axit hyaluronic dạng liên kết chéo và kiểm chứng các tính chất lưu biến theo thời gian phản ứng

Hòa tan 1 g axit hyaluronic (khối lượng phân tử khoảng 3 triệu Dalton, nhà sản xuất: LG Life Sciences) vào dung dịch NaOH 0,25 N ở nồng độ bằng 20 % khối lượng, và khuấy trộn sơ bộ để bột axit hyaluronic không trào ra ngoài. Phun chất màu để xác định mức độ khuấy trộn, sau đó bổ sung chất tạo liên kết chéo 1,4-butanediol diglycidyl ete vào hỗn hợp đã được khuấy trộn đồng nhất này ở cùng điều kiện, do đó điều chế được nguyên liệu có trị số Tan δ ở trạng thái khuấy trộn bằng 0,7 (ví dụ 1), 0,97 (ví dụ 2) hoặc 1,39 (ví dụ 3) ở tần số bằng 0,02 Hz. Quan sát các tính chất lưu biến của nguyên liệu này theo thời gian phản ứng bằng cách sử dụng lưu biến kế (MCR301, Anton paar). Để so sánh, hỗn hợp chưa được phản ứng trước khi bổ sung chất tạo liên kết chéo được sử dụng làm nhóm đối chứng.

Kết quả thử nghiệm được thể hiện trên Fig.1.

Kết quả thử nghiệm trên Fig.1 cho thấy khi nguyên liệu có trị số Tan δ bằng 0,7, 0,97 hoặc 1,39 ở tần số bằng 0,02 Hz, thì độ nhớt của nguyên liệu này biến đổi theo thời gian và nằm trong khoảng từ 40.000.000 đến 150.000.000 cP, quá trình phân hủy và liên kết chéo của các hợp chất trong nguyên liệu tăng theo thời gian phản ứng.

Ví dụ so sánh 1

Quy trình điều chế axit hyaluronic dạng liên kết chéo có cấu trúc một pha

Hòa tan axit hyaluronic (khối lượng phân tử khoảng 3 triệu Dalton, nhà sản xuất: LG Life Sciences) vào dung dịch NaOH 0,25 N ở nồng độ bằng 10% khối lượng, bổ sung chất tạo liên kết chéo 1,4-butanediol diglycidyl ete, và sau đó khuấy trộn. Sau khi khuấy trộn xong hoàn toàn, đặt hỗn hợp này vào bể nước ổn nhiệt để thu được khối gel bằng phản ứng tạo liên kết chéo, sau đó làm sạch khối gel này bằng dung dịch đệm và gây trương nở.

Ví dụ từ 4 đến 6

Quy trình điều chế axit hyaluronic dạng liên kết chéo có cấu trúc cả một pha lẫn hai pha

Điều chế axit hyaluronic dạng liên kết chéo bằng cách tạo liên kết chéo cho nguyên liệu thu được theo các ví dụ từ 1 đến 3, nghiền thô đến kích cỡ thích hợp, làm sạch bằng nước muối, gây trương nở, sau đó nghiền mịn bằng máy nghiền để thu được axit hyaluronic dạng liên kết chéo mong muốn.

Ví dụ thử nghiệm 1

Kiểm chứng độ đàn hồi nhớt của axit hyaluronic dạng liên kết chéo có cấu trúc cả một pha lẫn hai pha theo sáng chế

Sau khi khử trùng, định lượng độ đàn hồi nhớt ở tần số bằng 0,02 Hz của axit hyaluronic dạng liên kết chéo điều chế được theo ví dụ so sánh 1 và các ví dụ từ 4 đến 6, sau đó định lượng trị số Tan δ .

Kết quả thử nghiệm được thể hiện trong Bảng 1.

Bảng 1

Độ đàn hồi nhớt sau khi khử trùng	Tan δ	Độ kết dính %	Độ đàn hồi %	Cấu trúc pha
Ví dụ 4	0,34	108,8	74,7	Hai pha
Ví dụ 5	0,20	116,9	83,1	Hai pha
Ví dụ 6	0,27	113,6	78,8	Hai pha
Ví dụ so sánh 1	0,40	101,78	71,1	Một pha

Kết quả thử nghiệm trên Bảng 1 cho thấy so với axit hyaluronic dạng liên kết chéo điều chế được theo ví dụ so sánh 1 thì axit hyaluronic dạng liên kết chéo theo sáng chế có độ kết dính, độ nhớt và độ đàn hồi rất cao, tức là có độ đàn hồi nhớt rất cao. Hơn nữa, trong khi axit hyaluronic dạng liên kết chéo điều chế được theo ví dụ so sánh 1 chỉ có cấu trúc một pha, thì axit hyaluronic dạng liên kết chéo theo sáng chế có cấu trúc cả một pha lẫn hai pha.

Ví dụ thử nghiệm 2

Kiểm chứng khả năng kháng enzym hyaluronidaza của axit hyaluronic dạng liên kết chéo theo sáng chế

Sau khi nghiền thô, nạp 0,6 g axit hyaluronic dạng liên kết chéo điều chế được theo ví dụ 5 và ví dụ so sánh 1 đã được khử trùng vào ống Eppendorf, bổ sung 6 μ L hyaluronidaza có hoạt độ bằng 500 U/mL, khuấy trộn đồng nhất, sau đó định lượng độ đàn hồi nhớt của hỗn hợp phản ứng bằng lưu biến kế.

Kết quả thử nghiệm được thể hiện trên Fig.2.

Kết quả thử nghiệm trên Fig.2 cho thấy so với axit hyaluronic dạng liên kết chéo điều chế theo được ví dụ so sánh 1, thì axit hyaluronic dạng liên kết chéo theo sáng chế có độ đàn hồi nhớt rất cao thậm chí ngay cả khi được xử lý bằng hyaluronidaza, và axit hyaluronic dạng liên kết chéo này có khả năng kháng enzym hyaluronidaza rất mạnh.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Nguyên liệu để điều chế axit hyaluronic dạng liên kết chéo, trong đó nguyên liệu này bao gồm dung dịch kiềm nước chứa axit hyaluronic với nồng độ nằm trong khoảng từ 15 % đến 25 % khối lượng và chất tạo liên kết chéo, trong đó nguyên liệu này có trị số Tan δ nằm trong khoảng từ 0,5 đến 1,5 ở tần số nằm trong khoảng từ 0,02 Hz đến 1Hz.
2. Nguyên liệu để điều chế axit hyaluronic dạng liên kết chéo theo điểm 1, trong đó nguyên liệu này có trị số Tan δ nằm trong khoảng từ 0,5 đến 1,5 ở tần số bằng 0,02 Hz
3. Nguyên liệu để điều chế axit hyaluronic dạng liên kết chéo theo điểm 1, trong đó khối lượng phân tử của axit hyaluronic nằm trong khoảng từ 100.000 đến 5.000.000 Dalton.
4. Nguyên liệu để điều chế axit hyaluronic dạng liên kết chéo theo điểm 1, trong đó dung dịch kiềm nước là dung dịch NaOH.
5. Nguyên liệu để điều chế axit hyaluronic dạng liên kết chéo theo điểm 1, trong đó chất tạo liên kết chéo là 1,4-butanediol diglycidyl ete.
6. Phương pháp điều chế axit hyaluronic dạng liên kết chéo, trong đó phương pháp này bao gồm các bước: 1) điều chế axit hyaluronic bằng cách tạo liên kết chéo cho nguyên liệu để điều chế axit hyaluronic dạng liên kết chéo theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5; và 2) điều chế huyền phù đặc chứa axit hyaluronic dạng liên kết chéo bằng cách nghiền thô axit hyaluronic dạng liên kết chéo, làm sạch bằng nước muối, gây trương nở, và nghiền mịn axit hyaluronic dạng liên kết chéo.

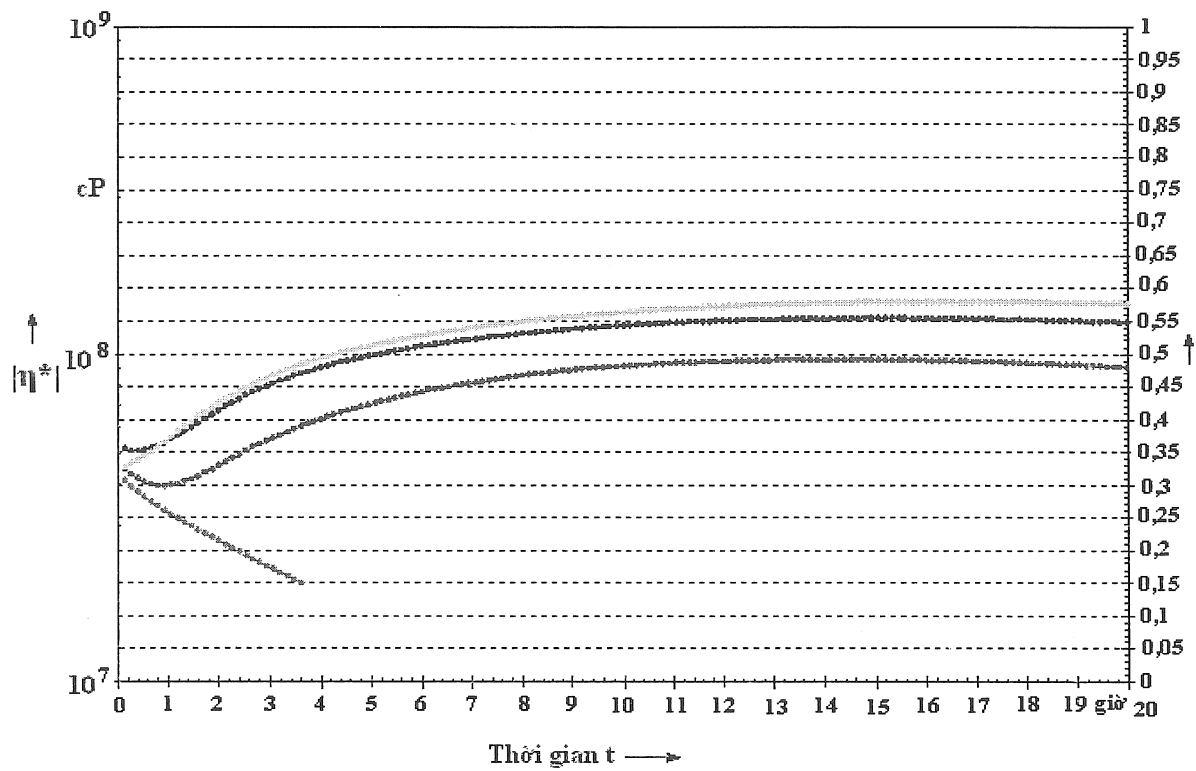
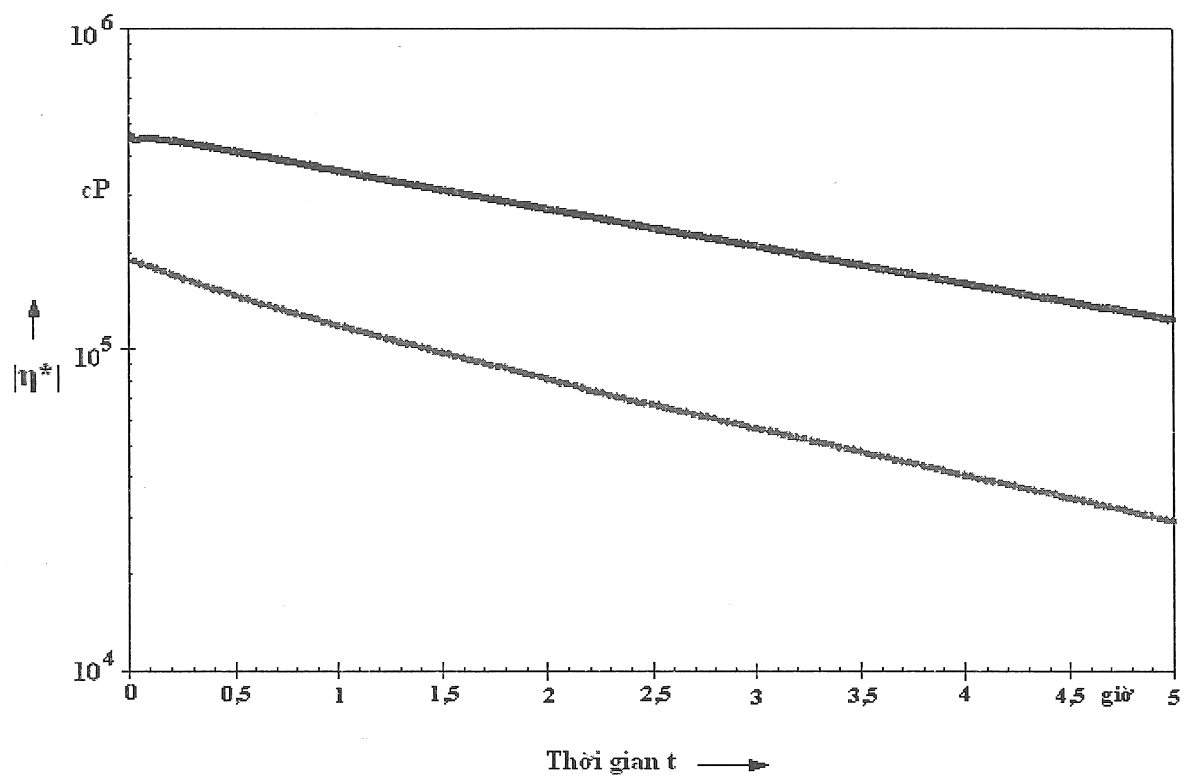


Fig.1

**Fig.2**