



(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)



1-0031310

(51)⁷ A61K 8/64; A61Q 19/00; A61K 8/98;
A61K 8/02

(13) B

(21) 1-2018-01960

(22) 13/10/2016

(86) PCT/KR2016/011468 13/10/2016

(87) WO2017/065508 20/04/2017

(30) 10-2015-0144297 15/10/2015 KR

(45) 25/03/2022 408

(43) 27/08/2018 365A

(73) PAEAN AESTHETICS INC (KR)

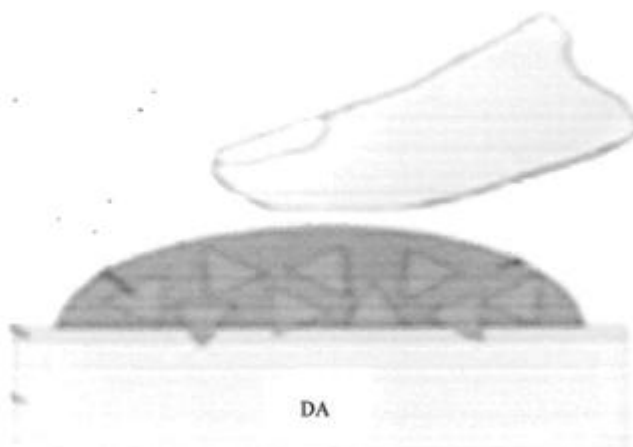
#401, #407 160, Techno 2-ro Yuseong-gu Daejeon 34028, Republic of Korea

(72) HAN, Kyuboem (KR); JEON, Seong Soo (KR); HA, Jongcheon (KR).

(74) Công ty TNHH Dịch vụ Sở hữu trí tuệ GREENIP (GREENIP CO., LTD)

(54) CHẾ PHẨM MỸ PHẨM CHỨA HẠT TẨY TẾ BÀO CHẾT TAN TRONG NƯỚC
CHỨA POLYPEPTIT VÀ/HOẶC THÀNH PHẦN NUÔI CÂY TẾ BÀO

(57) Sáng chế đề cập đến chế phẩm mỹ phẩm không chứa nước chứa hạt tẩy tế bào chết tan trong nước, trong đó hạt tẩy tế bào chết này chứa polypeptit hoặc thành phần nuôi cấy tế bào. Cụ thể hơn, sáng chế đề cập đến chế phẩm mỹ phẩm không chứa nước chứa hạt tẩy tế bào chết tan trong nước, rắn và được tạo góc với lượng nằm trong khoảng từ 0,01% trọng lượng đến 15% trọng lượng, trong đó hạt tẩy tế bào chết này chứa thành phần nuôi cấy tế bào hoặc các polypeptit khác nhau bao gồm peptit và oligopeptit. Sáng chế còn đề cập đến chế phẩm mỹ phẩm không chứa nước chứa hạt tẩy tế bào chết tan trong nước chứa polypeptit hoặc thành phần nuôi cấy tế bào, trong đó chế phẩm mỹ phẩm này còn chứa thêm hạt tẩy tế bào chết tá dược tan trong nước không chứa hoạt chất để duy trì hoặc cải thiện tác dụng tẩy tế bào chết và điều chỉnh độ nhớt hoặc thể tích.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chế phẩm mỹ phẩm chứa hạt tẩy tế bào chết tan trong nước chứa polypeptit và/hoặc thành phần nuôi cấy tế bào, và cụ thể hơn, sáng chế đề cập đến chế phẩm mỹ phẩm chứa hạt tẩy tế bào chết tan trong nước, rắn và có góc nhọn với lượng nằm trong khoảng từ 0,01% trọng lượng đến 15% trọng lượng, so với tổng lượng chế phẩm mỹ phẩm, trong đó hạt này chứa các thành phần có mặt trong môi trường nuôi cấy tế bào hoặc polyme, trong đó nhiều axit amin như polypeptit và oligopeptit được ngưng tụ.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Gần đây, trong xã hội, sự lão hóa da phát triển một cách nhanh chóng, nên mỹ phẩm chống lão hóa đã thu hút sự quan tâm, và mỹ phẩm sinh học chứa yếu tố sinh trưởng hoặc môi trường nuôi cấy tế bào gốc đã được phát triển.

Bằng sáng chế Hàn Quốc số 10-0433373, bằng sáng chế Hàn Quốc số 10-1289062, bằng sáng chế Hàn Quốc số 10-2013-0024316 và các tài liệu tương tự đã bộc lộ mỹ phẩm chứa yếu tố sinh trưởng.

Hơn nữa, bằng sáng chế Hàn Quốc số 10-1063299, bằng sáng chế Hàn Quốc số 10-1047873, bằng sáng chế Hàn Quốc số 10-2010-0098298, và các tài liệu tương tự đã bộc lộ mỹ phẩm chứa môi trường nuôi cấy tế bào gốc.

Tuy nhiên, yếu tố sinh trưởng tái tổ hợp hoặc các yếu tố sinh trưởng có mặt trong môi trường nuôi cấy tế bào gốc là protein, và các protein này không ổn định do các thay đổi môi trường vật lý hoặc hóa học, và dễ dàng bị thủy phân cụ thể là ở trạng thái trong đó nước có mặt. Do đó, nếu yếu tố sinh trưởng tái tổ hợp hoặc các yếu tố sinh trưởng có mặt trong môi trường nuôi cấy tế bào gốc được bổ sung vào mỹ phẩm, thì sẽ không dễ dàng duy trì được các hoạt tính sinh học của yếu tố sinh trưởng tái tổ hợp hoặc các yếu tố sinh trưởng có mặt trong môi trường nuôi cấy tế bào gốc.

Để duy trì hoạt tính của các peptit khác nhau trong một khoảng thời gian dài trong giai đoạn lưu giữ hoặc phân phối hoặc trong thời gian sử dụng bằng cách bảo vệ liên kết amit của các protein có thể dễ dàng bị thủy phân, người ta đã cố gắng thực hiện các phương pháp sấy khô nhiệt độ thấp protein cùng với chế phẩm chứa một polysacarit như manitol và chất tương tự để thúc đẩy sự ổn định của nó, hoặc các phương pháp tinh chế protein đến độ tinh khiết cao và bổ sung chất phụ gia vào protein đã tinh chế có trong pha lỏng để làm ổn định hoạt tính sinh học của protein. Tuy nhiên, các kỹ thuật này không được áp dụng một cách dễ dàng cho mỹ phẩm.

Cụ thể là, yếu tố sinh trưởng biểu bì (dưới đây được gọi là 'EGF' (epidermal growth factor)), rh-oligopeptit-1 hoặc sh-oligopeptit-1, bị giảm hoạt tính sinh học do các thay đổi vật lý và hóa học xảy ra khi yếu tố sinh trưởng biểu bì không chỉ được lưu giữ ở nhiệt độ trong phòng, mà còn được để trong tủ lạnh khi lưu giữ yếu tố sinh trưởng biểu bì trong một khoảng thời gian dài. Do đó, có nhiều vấn đề trong việc chuyển yếu tố sinh trưởng biểu bì thành chế phẩm để thương mại hóa, trong đó cần đến thời gian lưu giữ và phân phối.

Công bố đơn yêu cầu cấp bằng sáng chế Châu Âu số 205,051 bộc lộ chế phẩm chứa EGF, chất hoạt động bề mặt với lượng nằm trong khoảng từ 1 đến 10%, lipit với lượng nằm trong khoảng từ 5 đến 45%, và chất bảo quản với lượng nằm trong khoảng từ 0,3 đến 0,8% dưới dạng kem dưỡng da và kem dưỡng da vùng mắt để ngăn ngừa sự giảm hoạt tính của EGF.

Công bố đơn yêu cầu cấp bằng sáng chế Châu Âu số 267,015 và bằng sáng chế Mỹ số 4,717,717 bộc lộ chế phẩm ổn định chứa EGF, trong đó polyme xenluloza tan trong nước được bổ sung vào EGF. Ngoài ra, công bố đơn yêu cầu cấp bằng sáng chế Châu Âu số 398,619 bộc lộ chế phẩm ổn định chứa EGF, trong đó các cation kim loại như kẽm và các ion tương tự được bổ sung vào EGF.

Công bố đơn yêu cầu cấp bằng sáng chế Hàn quốc số 10-1996-0013439 bộc lộ chế phẩm EGF ổn định chứa một hoặc nhiều chất được chọn từ nhóm bao gồm phenol, polyetylen glycol, muối của axit béo, chất hoạt động bề mặt, sucroza, este của axit béo, natri sulfat, axit amin, taurin, manitol, gelatin, fibronectin, axit hyaluronic, và dung dịch đệm axit hữu cơ.

Các tài liệu sáng chế khác đề cập đến việc làm ổn định EGF bao gồm bằng sáng chế Hàn Quốc số 10-0570358 đã bộc lộ chế phẩm vector chứa EGF và selen, và mỹ phẩm sử dụng chế phẩm này, và bằng sáng chế Hàn Quốc số 10-0752990 bộc lộ chế phẩm để phòng ngừa hoặc điều trị các bệnh về da, trong đó chế phẩm này chứa nanoliposom và dịch chiết thiên nhiên.

Mặc dù các kỹ thuật thông thường được sử dụng, nhưng không dễ dàng duy trì hoạt tính của EGF trong mỹ phẩm khi nó ở điều kiện phân phối ở nhiệt độ trong phòng, điều kiện không vô khuẩn và điều kiện có nước. Cụ thể là, khi EGF được bổ sung vào mỹ phẩm ở mức nồng độ rất thấp được cho phép trong mỹ phẩm, thì hầu như không thể duy trì được hoạt tính của EGF trong khoảng thời gian cần thiết để lưu giữ, phân phối và sử dụng.

Hơn nữa, cho dù protein được bổ sung vào mỹ phẩm thì cũng khó đạt được tác dụng của protein vì protein không thấm tốt vào da do trọng lượng phân tử lớn của chúng. Do đó, các phương pháp sử dụng kỹ thuật hội tụ peptit có sử dụng vùng tải nạp protein (PTD: protein transduction domain), áp dụng kỹ thuật liposom để bao phủ yếu tố sinh trưởng bằng lipid để tăng tính thấm của da, hoặc kết hợp với hệ điều trị vi kim (MTS: microneedle therapy system) chủ yếu được sử dụng trong mỹ phẩm sinh học chứa yếu tố sinh trưởng.

Sáng chế có thể duy trì một cách ổn định hoạt tính của các peptit dễ bị thủy phân trong một khoảng thời gian dài bằng cách chứa hạt tủy tế bào chết tan trong nước được tạo ra ở dạng hạt rắn có góc nhọn chứa polypeptit và/hoặc thành phần nuôi cấy tế bào trong mỹ phẩm không chứa nước.

Hơn nữa, sáng chế đã được hoàn thành bằng cách thoa mỹ phẩm không chứa nước chứa hạt tủy tế bào chết tan trong nước lên da, và hòa tan hạt tủy tế bào chết bằng cách sử dụng mỹ phẩm trên cơ sở nước bao gồm cả sữa dưỡng da, bằng cách đó xác nhận sự thật là các hoạt chất của các yếu tố sinh trưởng peptit khác nhau hoặc thành phần nuôi cấy tế bào có mặt trong hạt tủy tế bào chết có tác dụng thấm sâu vào lớp lớp sừng hóa của da.

Thuật ngữ peptit trong bản mô tả này có nghĩa là nguyên liệu trong đó từ hai đến vài trăm nghìn axit amin được trùng ngưng, và chứa polypeptit tự nhiên, tái tổ

hợp hoặc được tổng hợp hóa học bao gồm tất cả các protein dipeptit, tripeptit, và oligopeptit và các chất tương tự.

Hơn nữa, tác giả sáng chế đã hoàn thành sáng chế bằng cách trộn hạt tủy tế bào chết tan trong nước không chứa các hoạt chất như polypeptit hoặc thành phần nuôi cấy tế bào cùng với hạt tủy tế bào chết tan trong nước chứa các hoạt chất và bổ sung hỗn hợp này vào mỹ phẩm không chứa nước, bằng cách đó điều chế được chế phẩm mỹ phẩm không chứa nước có khả năng kiểm soát hàm lượng của hạt tủy tế bào chết tan trong nước chứa polypeptit và/hoặc thành phần nuôi cấy tế bào mà không làm giảm tác dụng tủy tế bào chết.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Vấn đề kỹ thuật

Mục đích cơ bản của sáng chế là đề xuất chế phẩm mỹ phẩm chứa hạt tủy tế bào chết tan trong nước, rắn và có góc nhọn với lượng nằm trong khoảng từ 0,01% trọng lượng đến 15% trọng lượng, trong đó hạt tủy tế bào chết này chứa polypeptit.

Một mục đích khác của sáng chế là đề xuất chế phẩm mỹ phẩm chứa hạt tủy tế bào chết tan trong nước, rắn và có góc nhọn với lượng nằm trong khoảng từ 0,01% trọng lượng đến 15% trọng lượng, trong đó hạt tủy tế bào chết này chứa thành phần nuôi cấy tế bào.

Một mục đích khác của sáng chế là đề xuất chế phẩm mỹ phẩm chứa hạt tủy tế bào chết tan trong nước, rắn và có góc nhọn với lượng nằm trong khoảng từ 0,01% trọng lượng đến 15% trọng lượng, trong đó hạt tủy tế bào chết này chứa cả polypeptit và thành phần nuôi cấy tế bào.

Một mục đích khác của sáng chế là đề xuất chế phẩm mỹ phẩm không chứa nước chứa hạt tủy tế bào chết tan trong nước với lượng tổng cộng nằm trong khoảng từ 0,01% trọng lượng đến 15% trọng lượng, trong đó hạt tủy tế bào chết này chứa polypeptit và/hoặc thành phần nuôi cấy tế bào nêu trên, và hạt tủy tế bào chết đã được tan trong nước để điều chỉnh mức độ tăng thể tích hoặc độ nhớt không chứa polypeptit hoặc thành phần nuôi cấy tế bào.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 là sơ đồ khái niệm minh họa chế phẩm mỹ phẩm không chứa nước theo sáng chế chứa hạt tẩy tế bào chết tan trong nước đã tạo góc được đưa lên da.

Fig.2 là ảnh chụp hiển vi minh họa hạt tẩy tế bào chết tan trong nước đã tạo góc có kích thước hạt bằng 0,5mm chứa yếu tố sinh trưởng peptit được điều chế trong Ví dụ 1 theo sáng chế.

Fig.3 là ảnh chụp hiển vi của hạt tẩy tế bào chết tan trong nước đã tạo góc có kích thước hạt bằng 0,3mm chứa nguyên liệu nuôi cấy tế bào đã làm khô được điều chế trong Ví dụ 1 theo sáng chế.

Fig.4 là hình ảnh của hạt tẩy tế bào chết tan trong nước để làm tăng thể tích được điều chế trong Ví dụ 6 theo sáng chế.

Fig.5 là ảnh chụp hiển vi của chế phẩm mỹ phẩm không chứa nước chứa hạt tẩy tế bào chết để làm tăng thể tích cùng với hạt tẩy tế bào chết tan trong nước chứa các hoạt chất theo sáng chế.

Fig.6 là hình ảnh thu được bằng cách chà xát da của lợn bằng chế phẩm mỹ phẩm không chứa nước chứa hạt tẩy tế bào chết tan trong nước chứa peptit EGF, nhuộm màu bằng kháng thể EGF ở mức độ mà EGF được thấm vào da lợn, bằng cách đó chụp ảnh mặt cắt ngang của da lợn đã được thấm EGF.

Fig.7 thể hiện các kết quả thu được bằng cách xử lý thống kê và so sánh các tác dụng đối với các thay đổi về độ dày của da và mật độ da thu được bằng cách sử dụng chế phẩm mỹ phẩm không chứa nước chứa hạt tẩy tế bào chết tan trong nước chứa peptit EGF lên cơ thể người với các số liệu của nhóm đối chứng không được tẩy tế bào chết.

Fig.8 thể hiện các kết quả thu được bằng cách xử lý thống kê và so sánh tác dụng cải thiện nếp nhăn thu được bằng cách sử dụng chế phẩm mỹ phẩm không chứa nước chứa hạt tẩy tế bào chết tan trong nước chứa peptit EGF lên cơ thể người với các số liệu của nhóm đối chứng không được tẩy tế bào chết.

Fig.9 là kết quả đánh giá mức độ hài lòng của 20 đối tượng có sử dụng chế phẩm mỹ phẩm không chứa nước chứa hạt tẩy tế bào chết tan trong nước chứa

peptit EGF lên cơ thể người.

Mô tả chi tiết sáng chế

Giải pháp kỹ thuật

Mục đích cơ bản nêu trên của sáng chế có thể đạt được bằng cách tạo ra chế phẩm mỹ phẩm chứa hạt tẩy tế bào chết tan trong nước, rắn và có góc nhọn với lượng nằm trong khoảng từ 0,01% trọng lượng đến 15% trọng lượng, trong đó hạt tẩy tế bào chết này chứa polypeptit.

Hạt tẩy tế bào chết tan trong nước có thể chứa polypeptit với lượng nằm trong khoảng từ 0,0001% trọng lượng đến 0,1% trọng lượng. Polypeptit theo sáng chế là nguyên liệu trong đó từ hai đến hàng trăm nghìn axit amin được trùng ngưng, và số lượng axit amin thường nằm trong khoảng từ hai đến hàng trăm nghìn, tốt hơn là nằm trong khoảng từ 2 đến 1000, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 2 đến 100, và tốt nhất là nằm trong khoảng từ 2 đến 80. Hơn nữa, hạt tẩy tế bào chết tan trong nước này, tốt hơn là, được tạo ra ở dạng hạt rắn và có góc nhọn, và có thể có kích thước hạt nằm trong khoảng từ 0,01mm đến 2mm.

Hiểu rõ rằng tác dụng tẩy tế bào chết có thể bị giảm khi kích thước hạt nhỏ hơn 0,01mm, và sẽ không thích hợp nếu sử dụng hạt tẩy tế bào chết tan trong nước trên da vì cảm giác kích ứng bên ngoài trở nên trầm trọng khi kích thước hạt lớn hơn hoặc bằng 2mm. Tốt hơn nữa là, hạt tẩy tế bào chết có kích thước hạt nằm trong khoảng từ 0,1mm đến 1mm.

Hạt tẩy tế bào chết tan trong nước chứa polypeptit theo sáng chế có thể chứa thêm nhiều loại nguyên liệu peptit khác nhau. Peptit được sử dụng theo sáng chế có thể là các yếu tố sinh trưởng, và có thể là EGF trong số các yếu tố sinh trưởng.

Hơn nữa, chế phẩm mỹ phẩm chứa hạt tẩy tế bào chết tan trong nước chứa polypeptit theo sáng chế có thể còn chứa thêm hạt tẩy tế bào chết tan trong nước chứa polypeptit khác biệt với hạt tẩy tế bào chết tan trong nước chứa polypeptit theo sáng chế. Hơn nữa, chế phẩm mỹ phẩm chứa hạt tẩy tế bào chết tan trong nước chứa polypeptit theo sáng chế có thể còn chứa thêm hạt tẩy tế bào chết tan trong nước để

điều chỉnh mức độ tăng thể tích hoặc độ nhớt mà không chứa các hoạt chất như polypeptit và thành phần nuôi cấy tế bào.

Chế phẩm mỹ phẩm không chứa nước theo sáng chế chứa hạt tẩy tế bào chết tan trong nước chứa polypeptit và/hoặc thành phần nuôi cấy tế bào có thể được điều chế ở dạng trình bày tinh chất, kem dưỡng hoặc dung dịch dưỡng. Chế phẩm mỹ phẩm không chứa nước theo sáng chế chứa hạt tẩy tế bào chết tan trong nước chứa polypeptit có tác dụng tuyệt vời lên việc cải thiện nếp nhăn và các tác dụng tương tự.

Thuật ngữ “yếu tố sinh trưởng” theo sáng chế được dùng để chỉ các peptit liên quan đến sự biệt hóa và sinh trưởng tế bào. Các yếu tố sinh trưởng, như protein với trọng lượng phân tử tương đối thấp, được tiết ra bởi các tế bào với mục đích thông tin lẫn nhau, thực hiện các chức năng sinh lý khác nhau, và một yếu tố sinh trưởng cụ thể đóng vai trò thúc đẩy sự biệt hóa của một tế bào cụ thể.

Yếu tố sinh trưởng được sử dụng theo sáng chế có thể là EGF. EGF, một yếu tố thúc đẩy sự biệt hóa tế bào mạnh của nhiều tế bào biểu mô khác nhau được tạo ra từ ngoại bì và trung bì, là peptit có trọng lượng phân tử bằng 6200Da được phân bố rộng rãi trong dịch cơ thể và có 53 gốc axit amin.

Chức năng của peptit EGF là chất thúc đẩy mạnh đối với quá trình tăng sinh tế bào biểu mô, tế bào nội mô và nguyên bào sợi, và thúc đẩy sự di chuyển và tăng sinh của tế bào biểu mô trong quá trình mất tế bào biểu mô. Do đó, peptit EGF được sử dụng làm nguyên liệu thô cho mỹ phẩm nhờ có tác dụng làm lành vết thương tuyệt vời và tác dụng cải thiện nếp nhăn.

Theo một phương án của sáng chế, EGF có thể là EGF được điều chế từ E. coli tái tổ hợp hoặc thực vật và được tinh chế đến độ tinh khiết lớn hơn hoặc bằng 90%. EGF có hoạt tính lớn hơn hoặc bằng một triệu đơn vị quốc tế (IU: international unit) mỗi mg khi hiệu chỉnh các giá trị hoạt tính đo được theo sản phẩm EGF chuẩn của Viện tiêu chuẩn và kiểm soát sinh học quốc gia của Vương quốc Anh (NIBSC: United Kingdom's National Institute for Biological Standards and Control) khi đo hoạt tính bằng cách sử dụng nguyên bào sợi 3T3.

EGF thường được sử dụng với một lượng nhỏ ngoại trừ đối với các chế phẩm mỹ phẩm đặc biệt do giới hạn pha trộn của EGF trong chế phẩm mỹ phẩm được quy định nội địa tới 10ppm (0,001% trọng lượng), và giá của EGF là tương đối đắt. Peptit EGF hầu như không thể hiện hoạt tính trong chế phẩm mỹ phẩm, trong đó peptit EGF được sử dụng ở lượng rất nhỏ do các đặc tính dễ bị thủy phân của nó.

Nếu giả định rằng hoạt tính của peptit EGF được duy trì sau khi peptit EGF được bổ sung vào chế phẩm mỹ phẩm, 100IU EGF có mặt trong 1g chế phẩm mỹ phẩm mặc dù 0,1mg (0,1ppm) EGF được bổ sung vào 1kg chế phẩm mỹ phẩm. Do đó, peptit EGF có thể có đủ hoạt tính ngay cả khi peptit EGF được sử dụng trên da ở cơ thể người.

Do đó, theo sáng chế, hạt tẩy tế bào chết tan trong nước chứa peptit EGF với lượng nằm trong khoảng từ 1 đến 10000ppm (tương ứng với lượng từ 0,0001 đến 1% trọng lượng) được sử dụng và % trọng lượng của chế phẩm mỹ phẩm chứa hạt tẩy tế bào chết tan trong nước chứa EGF có nồng độ nêu trên được điều chỉnh nằm trong khoảng từ 0,01% trọng lượng đến 15% trọng lượng, như vậy hàm lượng peptit EGF cuối cùng trong chế phẩm mỹ phẩm luôn luôn nhỏ hơn hoặc bằng 10ppm.

Hơn nữa, để ngăn không cho tác dụng tẩy tế bào chết bị giảm khi hạt tẩy tế bào chết tan trong nước chứa peptit EGF được sử dụng ít hơn, hạt tẩy tế bào chết tan trong nước không chứa các hoạt chất được thêm vào với mục đích duy trì tác dụng tẩy tế bào chết, điều chỉnh mức độ tăng thể tích và độ nhớt sao cho % trọng lượng của tổng lượng hạt tẩy tế bào chết tan trong nước trong chế phẩm mỹ phẩm nhỏ hơn hoặc bằng 15% trọng lượng.

Tốt hơn, nếu hạt tẩy tế bào chết tan trong nước theo bản mô tả này được tạo ra ở dạng hạt rắn và có góc nhọn. Hạt có góc nhọn theo sáng chế có thể ở dạng đa kim tự tháp. Hơn nữa, hạt tẩy tế bào chết được tạo góc này có thể là các vi kim được tạo ra ở dạng vi cấu trúc có hình dạng tứ diện hoặc kim tự tháp.

Hơn nữa, mỗi mặt của vi kim có thể phẳng, có thể có tính không đều hoặc có thể có lỗ rỗng. Hơn nữa, có thể có các khuyết tật kể cả sự đứt gãy một phần ở các góc hoặc đỉnh của vi kim và các khuyết tật tương tự. Ngoài ra, phần lõm có thể

được tạo ra trên một hoặc nhiều mặt của vi kim, và phần lõm này có thể có độ sâu tương ứng với không lớn hơn $1/2$ chiều cao của vi kim.

Mục đích khác nêu trên theo sáng chế có thể đạt được cũng bằng cách tạo ra chế phẩm mỹ phẩm không chứa nước chứa hạt tẩy tế bào chết tan trong nước với lượng nằm trong khoảng từ 0,01% trọng lượng đến 15% trọng lượng, trong đó hạt tẩy tế bào chết này chứa thành phần nuôi cấy tế bào.

Hạt tẩy tế bào chết tan trong nước có thể chứa nguyên liệu nuôi cấy tế bào đã làm khô với lượng nằm trong khoảng từ 0,0001% trọng lượng đến 10% trọng lượng. Hơn nữa, hạt tẩy tế bào chết tan trong nước có thể được tạo ra ở dạng hạt có góc nhọn, và có thể có kích thước hạt nằm trong khoảng từ 0,01mm đến 2mm. Hiểu rõ rằng tác dụng tẩy tế bào chết có thể bị giảm khi kích thước hạt nhỏ hơn 0,01mm, và cảm giác kích ứng có thể trở nên trầm trọng khi kích thước hạt lớn hơn hoặc bằng 2mm. Do đó, kích thước hạt nhỏ hơn 0,01mm và lớn hơn hoặc bằng 2mm là không được ưu tiên.

Tốt hơn nữa là, kích thước hạt nằm trong khoảng từ 0,1mm đến 1mm.

Hạt tẩy tế bào chết tan trong nước chứa nguyên liệu nuôi cấy tế bào đã làm khô có thể chứa thêm peptit. Peptit này có thể là yếu tố sinh trưởng, và có thể là EGF trong số các yếu tố sinh trưởng.

Hơn nữa, chế phẩm mỹ phẩm không chứa nước theo sáng chế chứa hạt tan trong nước chứa nguyên liệu nuôi cấy tế bào đã làm khô có thể còn chứa thêm hạt tẩy tế bào chết tan trong nước theo sáng chế chứa peptit. Peptit có thể là yếu tố sinh trưởng, và có thể là EGF trong số các yếu tố sinh trưởng.

Chế phẩm mỹ phẩm không chứa nước chứa hạt tẩy tế bào chết tan trong nước theo sáng chế chứa nguyên liệu nuôi cấy tế bào đã làm khô có thể được điều chế ở dạng trình bày tinh chất, kem dưỡng hoặc dung dịch dưỡng. Chế phẩm mỹ phẩm không chứa nước chứa hạt tẩy tế bào chết tan trong nước theo sáng chế chứa nguyên liệu nuôi cấy tế bào đã làm khô có tác dụng trong việc cải thiện nếp nhăn, làm trắng da, và các tác dụng tương tự.

Chế phẩm mỹ phẩm không chứa nước theo sáng chế chứa hạt tẩy tế bào chết tan trong nước chứa peptit hoặc nguyên liệu nuôi cấy tế bào đã làm khô có thể chứa thành phần pha dầu chứa rượu cao với lượng nằm trong khoảng từ 15% trọng lượng đến 25% trọng lượng, dầu với lượng nằm trong khoảng từ 40% trọng lượng đến 65% trọng lượng, sáp với lượng nằm trong khoảng từ 2% trọng lượng đến 3% trọng lượng, và tocopheryl axetat với lượng nằm trong khoảng từ 5% trọng lượng đến 20% trọng lượng. Rượu cao có thể là một hoặc nhiều rượu được chọn từ rượu xetylic, rượu xetostearylic, rượu isostearylic và rượu stearylic, hoặc hỗn hợp của chúng.

Dầu có thể là hỗn hợp chứa một hoặc nhiều dầu được chọn từ dầu thực vật tự nhiên như dầu Jojoba, dầu cọ hydro hóa, dầu quả bơ, dầu oliu, dầu hạnh nhân, dầu hạt macca, dầu Meadowfoam, dầu cọ, dầu dừa và dầu thầu dầu.

Ngoài ra, sáp có thể là sáp tổng hợp, sáp vi tinh thể, hoặc hỗn hợp của chúng.

Dễ dàng điền đầy chế phẩm mỹ phẩm đã điều chỉnh độ quán trong đồ chứa bằng cách tạo ra chế phẩm mỹ phẩm theo sáng chế chứa thành phần pha dầu với lượng nằm trong khoảng từ 85% trọng lượng đến 90% trọng lượng, tốt hơn là từ 87% trọng lượng đến 88% trọng lượng chứa rượu cao, dầu, sáp, và tocopheryl axetat, bằng cách đó điều chỉnh độ quán của chế phẩm mỹ phẩm.

Chế phẩm mỹ phẩm không chứa nước theo sáng chế chứa hạt tẩy tế bào chết tan trong nước theo sáng chế chứa peptit và/hoặc thành phần nuôi cấy tế bào chứa axit hyaluronic với lượng nằm trong khoảng từ 0,5% trọng lượng đến 1,9% trọng lượng, monosacarit với lượng nằm trong khoảng từ 1,5% trọng lượng đến 10% trọng lượng, và trometamin với lượng nằm trong khoảng từ 0,0001% trọng lượng đến 0,01% trọng lượng. Tuy nhiên, chế phẩm mỹ phẩm không chứa nước theo sáng chế có thể còn chứa thêm hạt tẩy tế bào chết tan trong nước mà không chứa polypeptit hoặc thành phần nuôi cấy tế bào làm hạt để duy trì và cải thiện tác dụng tẩy tế bào chết hoặc điều chỉnh độ nhớt hoặc thể tích.

Axit hyaluronic có thể được chọn từ natri hyaluronat, axit hyaluronic đã thủy phân, và hỗn hợp của chúng.

Monosacarit có thể được chọn từ sorbitol, axit ascorbic, và hỗn hợp của chúng.

Hạt tẩy tế bào chết đã tạo dạng để duy trì hoặc cải thiện tác dụng tẩy tế bào chết và điều chỉnh độ nhớt hoặc thể tích của toàn bộ mỹ phẩm, nghĩa là, hạt tẩy tế bào chết tan trong nước không chứa polypeptit hoặc thành phần nuôi cấy tế bào đóng vai trò ngăn chặn sự trơn trượt quá mức của mỹ phẩm và điều chỉnh độ quánh của mỹ phẩm sao cho mỹ phẩm được điền đầy một cách thích hợp trong đồ chứa.

Một mục đích khác của sáng chế có thể đạt được bằng cách tạo ra chế phẩm mỹ phẩm không chứa nước trong đó hạt tẩy tế bào chết tan trong nước để tạo dạng, làm đặc hoặc làm tăng thể tích được trộn thêm với hạt tẩy tế bào chết chứa các hoạt chất theo sáng chế. Biện pháp kỹ thuật được tạo ra có khả năng duy trì tác dụng kích thích tẩy tế bào chết ở mức đã xác định trước trên da mặc dù hạt tẩy tế bào chết tan trong nước chứa peptit hoặc thành phần nuôi cấy tế bào được giảm từ khoảng % trọng lượng cao đến khoảng % trọng lượng thấp bằng cách sử dụng thêm hạt tẩy tế bào chết tan trong nước để làm tăng thể tích.

Do đó, một mục đích khác của sáng chế có thể đạt được bằng cách tạo ra chế phẩm mỹ phẩm không chứa nước chứa hỗn hợp chứa hạt tẩy tế bào chết tan trong nước chứa peptit hoặc thành phần nuôi cấy tế bào và hạt tẩy tế bào chết tan trong nước không chứa các hoạt chất, trong đó hỗn hợp này có mặt với lượng nằm trong khoảng từ 0,01% trọng lượng đến 15% trọng lượng.

Hạt tẩy tế bào chết tan trong nước để làm tăng thể tích có thể chứa axit hyaluronic hoặc monosacarit. Hạt tẩy tế bào chết tan trong nước để làm tăng thể tích theo sáng chế không chứa hạt tẩy tế bào chết tan trong nước để làm tăng thể tích có kích thước hạt lớn hơn hoặc bằng 2mm. Hạt tẩy tế bào chết tan trong nước để làm tăng thể tích có kích thước hạt lớn hơn hoặc bằng 2mm là không được ưu tiên do cảm giác kích ứng trở nên trầm trọng khi hạt tẩy tế bào chết tan trong nước để làm tăng thể tích có kích thước hạt lớn hơn hoặc bằng 2mm.

Lớp sừng hóa của da được loại bỏ bằng cách sử dụng chế phẩm mỹ phẩm không chứa nước chứa hạt tẩy tế bào chết tan trong nước chứa peptit hoặc nguyên liệu nuôi cấy tế bào đã làm khô theo sáng chế trên da, và vỗ nhẹ hoặc chà xát chế

phẩm mỹ phẩm không chứa nước này bằng tay, bằng cách đó cho phép các đỉnh, góc hoặc các phản tương tự của hạt tẩy tế bào chết tan trong nước đã được tạo ra ở dạng rắn và được tạo góc để đặt một lực vật lý lên da (xem Fig.1 và Fig.6). Sau đó, hạt tẩy tế bào chết tan trong nước đã tạo góc được sử dụng này được hòa tan bằng cách sử dụng chế phẩm mỹ phẩm trên cơ sở nước như sữa dưỡng da sao cho các hoạt chất chứa polypeptit hoặc thành phần nuôi cấy tế bào có mặt trong hạt tẩy tế bào chết tan trong nước theo sáng chế được hấp thụ vào trong da từ đó chất sừng được loại bỏ một phần.

Tác dụng có lợi

Chế phẩm mỹ phẩm theo sáng chế trong đó hạt tẩy tế bào chết tan trong nước chứa polypeptit và/hoặc các thành phần nuôi cấy tế bào và được tạo ra ở trạng thái hạt rắn và ở dạng hạt được tạo góc có mặt trong chế phẩm mỹ phẩm không chứa nước có thể duy trì một cách ổn định các hoạt tính của hoạt chất peptit dễ bị thủy phân hoặc các hoạt chất có mặt trong thành phần nuôi cấy tế bào ở nhiệt độ trong phòng trong thời gian lưu giữ và phân phối, hoặc cho đến khi chế phẩm mỹ phẩm được sử dụng.

Hơn nữa, hạt tẩy tế bào chết tan trong nước theo sáng chế được chà xát trên da, có tác dụng loại bỏ một phần lớp rào chắn trên da như chất sừng (xem Fig.6). Do đó, khi hạt tẩy tế bào chết tan trong nước được hòa tan bằng cách sử dụng mỹ phẩm trên cơ sở nước bao gồm sữa dưỡng da sau khi sử dụng mỹ phẩm không chứa nước chứa hạt tẩy tế bào chết tan trong nước chứa các hoạt chất trên da, mỹ phẩm không chứa nước này thể hiện tác dụng cải thiện da tuyệt vời bằng cách thâm nhập và phân phối các hoạt chất bao chứa yếu tố sinh trưởng peptit hoặc thành phần nuôi cấy tế bào có mặt trong hạt tẩy tế bào chết theo sáng chế vào trong da từ đó lớp sừng hóa được loại bỏ một phần (xem Fig.7, Fig.8, và Fig.9).

Ví dụ thực hiện sáng chế

Phương thức đối với sáng chế

Các Ví dụ hoặc các hình vẽ kèm theo sáng chế sẽ được mô tả chi tiết hơn dưới đây. Tuy nhiên, sáng chế có thể được trình bày dưới nhiều hình thức khác

nhau và không được hiểu là bị giới hạn ở các ví dụ hoặc các hình vẽ được nêu ở đây. Thay vào đó, các ví dụ hoặc hình vẽ này được cung cấp để việc bộc lộ này trở nên kỹ lưỡng và đầy đủ, và sẽ chuyển tải toàn bộ phạm vi của sáng chế cho người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này.

Ví dụ 1

Điều chế hạt tẩy tế bào chết tan trong nước chứa EGF hoặc thành phần nuôi cấy tế bào

Hạt tẩy tế bào chết tan trong nước có góc nhọn chứa EGF hoặc thành phần nuôi cấy tế bào được điều chế bằng cách cho dung dịch đã trộn thu được bằng cách trộn 2g axit hyaluronic, 4g nước và 200ug EGF hoặc dung dịch đã trộn thu được bằng cách trộn 2g axit hyaluronic và 4g thành phần nuôi cấy tế bào lên đĩa, trong đó hạt tẩy tế bào chết này có góc được tạo ra ở hình dạng kim tự tháp có góc nhọn, và trong đó các lỗ nhỏ được tạo ra, bằng cách đó làm khô dung dịch đã trộn được đưa lên đĩa (xem Fig.2 hoặc Fig.3). Thành phần nuôi cấy tế bào được sử dụng trong ví dụ này là thành phần nuôi cấy tế bào được mô tả trong công bố đơn sáng chế Hàn Quốc số 10-2010-0098298, chứa nhiều yếu tố sinh trưởng, và được sử dụng làm nguyên liệu thô cho mỹ phẩm nhờ vào tác dụng tái tạo da tuyệt vời.

Các Ví dụ từ 2 đến 5

Sau khi cân lần lượt các thành phần pha dầu, hạt tẩy tế bào chết tan trong nước chứa các hoạt chất như polypeptit và/hoặc thành phần nuôi cấy tế bào, hạt tẩy tế bào chết tá được hoặc các thành phần để làm đặc và làm tăng thể tích, các nguyên liệu đã cân được trộn từ từ và đồng nhất trong khoảng 5 giờ trong máy khuấy ở trạng thái mà các nguyên liệu đã cân này được gia nhiệt đến 60°C để điều chế hỗn hợp. Mỹ phẩm không chứa nước chứa hạt tẩy tế bào chết tan trong nước được tạo góc theo sáng chế được điều chế bằng cách làm nguội hỗn hợp này đến 30°C. Chế phẩm mỹ phẩm không chứa nước chứa hạt tẩy tế bào chết tan trong nước được tạo góc được điều chế từ chế phẩm của Ví dụ 4 nêu trong Bảng 1 được tạo ra ở dạng kem dầu mà từ đó hạt đã tạo góc với đầu nhọn được nhìn thấy khi quan sát chế phẩm mỹ phẩm không chứa nước này bởi kính hiển vi.

Bảng 1

Chế phẩm (% trọng lượng)			Ví dụ			
			2	3	4	5
Các thành phần pha dầu	Rượu cao	Rượu stearyllic	12	13	14	13
		Rượu xetylic	13	3	1	3
	Dầu	Dầu Jojoba	20	0	55	30
		Dầu oliu	20	55	0	35
	Sáp	Sáp vi tinh thể	2	1	1	1
		Sáp tổng hợp	1	1	1	1
	Tocopheryl axetat		20	15	15	15
Hạt tẩy tế bào chết chứa hoạt chất (chứa peptit hoặc thành phần nuôi cấy tế bào)			0,1	1	5	10
Hạt tẩy tế bào chết tá dược không chứa hoạt chất	Axit hyaluronic	Natri hyaluronat	1	1	1	0,5
		Axit hyaluronic đã thủy phân	0,89	0	0	0
	Monosacarit	Sorbitol	9,5	0,5	4,499	1
		Axit ascorbic	0,5	9,499	0,5	0,49
	trometamin		0,01	0,001	0,001	0,01

Ví dụ thực nghiệm 1

Đánh giá khả năng sử dụng trên da/mức độ kích ứng da/độ đàn hồi của da

Sau khi sử dụng thử nghiệm trên các chế phẩm mỹ phẩm của các Ví dụ từ 2 đến 5, kết quả thử nghiệm được thể hiện trong Bảng 2. Sau khi thực hiện quá trình rửa mặt ở 10 phụ nữ, mẫu chế phẩm mỹ phẩm của các Ví dụ được mát-xa đều trên mặt của các phụ nữ này, sữa dưỡng da trên cơ sở nước được thoa lên da mặt đã được mát-xa của họ, và sau đó khả năng sử dụng trên da, mức độ kích ứng da và độ đàn hồi của da có thể được đánh giá trên da mặt đã được thoa sữa dưỡng da trên cơ sở nước của những người phụ nữ này bằng cách sử dụng thang 5 điểm để thu được các giá trị trung bình.

Thang 5 điểm là như sau:

- 1 điểm: rất không hài lòng
- 2 điểm: không hài lòng
- 3 điểm: bình thường
- 4 điểm: hài lòng
- 5 điểm: rất hài lòng

Bảng 2

Mục đánh giá	Ví dụ 2	Ví dụ 3	Ví dụ 4	Ví dụ 5
Khả năng sử dụng trên da	3,5	4,1	4,0	3,8
Mức độ kích ứng da	4,0	3,9	3,7	3,5
Độ đàn hồi của da	3,7	3,9	4,2	3,8

Theo Bảng 2, tất cả các chế phẩm mỹ phẩm được điều chế trong các Ví dụ từ 2 đến 5 theo sáng chế đều thể hiện mức độ hài lòng bình thường hoặc cao hơn ở các mục tương ứng. Phản ứng với kích ứng trên da của các hạt tẩy tế bào chết được tạo gúc thể hiện các khuynh hướng khác nhau theo hàm lượng của hạt tẩy tế bào chết.

Ví dụ thực nghiệm 2

Đánh giá độ ổn định theo thời gian

Để đánh giá độ ổn định theo thời gian của chế phẩm được điều chế trong các Ví dụ từ 2 đến 5, mỗi chế phẩm trong số các chế phẩm này được đựng trong ống tiêm bằng nhựa đục, các chế phẩm trong ống tiêm bằng nhựa đục này được để một mình ở nhiệt độ thấp (4°C), nhiệt độ trong phòng (25°C) và nhiệt độ cao (55°C) trong 3 tháng, các chế phẩm được ép ra khỏi ống tiêm nhựa đục để đánh giá độ ổn định theo thời gian của chúng, và kết quả độ ổn định theo thời gian của các chế phẩm này được thể hiện trong Bảng 3.

Bảng 3

Điều kiện nhiệt độ	Ví dụ 2	Ví dụ 3	Ví dụ 4	Ví dụ 5
Nhiệt độ thấp (4°C)	Không tách pha, xác nhận có cảm giác của hạt tẩy tế bào chết, không có sự thay đổi về màu sắc	Không tách pha, duy trì các hạt tẩy tế bào chết, không có sự thay đổi về màu sắc	Không tách pha, duy trì các hạt tẩy tế bào chết, không có sự thay đổi về màu sắc	Không tách pha, duy trì các hạt tẩy tế bào chết, không có sự thay đổi về màu sắc
Nhiệt độ trong phòng (25°C)	Không tách pha, xác nhận có cảm giác của hạt tẩy tế bào chết, không có sự thay đổi về màu sắc	Không tách pha, duy trì các hạt tẩy tế bào chết, không có sự thay đổi về màu sắc	Không tách pha, duy trì các hạt tẩy tế bào chết, không có sự thay đổi về màu sắc	Không tách pha, duy trì các hạt tẩy tế bào chết, không có sự thay đổi về màu sắc
Nhiệt độ cao (55°C)	Không tách pha, giảm cảm giác về hạt tẩy tế bào chết, chuyển thành màu vàng	Không tách pha, duy trì các hạt tẩy tế bào chết, chuyển thành màu vàng	Không tách pha, duy trì các hạt tẩy tế bào chết, chuyển thành màu vàng nhạt	Xảy ra sự tách pha nhẹ, duy trì các hạt tẩy tế bào chết, chuyển thành màu vàng nhạt

Như thể hiện trong bảng 3, mặc dù các chế phẩm mỹ phẩm theo sáng chế có độ ổn định tuyệt vời theo thời gian, các chế phẩm mỹ phẩm theo sáng chế có sự thay đổi màu sắc do axit ascorbic gây ra ở nhiệt độ cao và sự phân tách pha nhẹ xảy ra ở nhiệt độ cao ở chế phẩm của Ví dụ 5 chứa một lượng lớn các chất tẩy tế bào chết tan trong nước.

Ví dụ thực nghiệm 3

Đánh giá độ ổn định hoạt tính

Quy trình đánh giá độ ổn định hoạt tính của EGF bằng cách sử dụng chế phẩm được điều chế của Ví dụ 4 được thực hiện. Để đánh giá độ ổn định, chế phẩm này được đựng trong bơm tiêm nhựa đục, chế phẩm có mặt trong bơm tiêm nhựa đục này được để một mình ở nhiệt độ trong phòng (25°C) và nhiệt độ cao (55°C) trong 3 tháng, và hoạt tính của EGF được xác định từ hàm lượng theo phương pháp sau. Một hỗn hợp thu được bằng cách đưa hạt tẩy tế bào chết tan trong nước đã tạo góc cùng với cùng một lượng như chế phẩm của Ví dụ 4 vào trong sữa dưỡng da là chế phẩm mỹ phẩm trên cơ sở nước được sử dụng làm nhóm đối chứng của thử nghiệm để đo hoạt tính.

Nguyên liệu thử nghiệm

Để đo hoạt tính tăng sinh tế bào của EGF, dòng tế bào nguyên bào sợi Balb/c 3T3 (ATCC #CCL-163) được sử dụng, môi trường DMEM chứa 10% huyết thanh bò được sử dụng làm môi trường nuôi cấy để cấy chuyển dòng tế bào, và môi trường UltraMEM không chứa huyết thanh được sử dụng làm môi trường để phân tích. hEGF (Yếu tố sinh trưởng biểu bì ở người (Epidermal Growth Factor Human), thu được từ ADN tái tổ hợp, 91/530, 4000 IU/4ug/ml) được mua từ NIBSC của Vương quốc Anh là sản phẩm chuẩn để đo hoạt tính EGF để sử dụng hEGF trong phép đo hoạt tính EGF. Chất phản ứng MTS được sử dụng để đo mức tăng sinh tế bào nhờ EGF.

Phương pháp đo hoạt tính

Sau khoảng thời gian 3 tháng kể từ khi được sản xuất, trọng lượng của chế phẩm mỹ phẩm theo sáng chế được xác định, chế phẩm mỹ phẩm đã được xác định trọng lượng được cho vào môi trường UltraMEM không chứa huyết thanh là môi trường nuôi cấy để đo hoạt tính của EGF (chế phẩm mỹ phẩm đã được xác định trọng lượng được kiểm soát sao cho nồng độ cuối cùng của EGF được tính từ hàm lượng của hạt tẩy tế bào chết bằng 1ug/ml), mỹ phẩm đã xác định trọng lượng trong môi trường UltraMEM không chứa huyết thanh được khuấy rất mạnh để thu được

dung dịch nước bằng cách ly tâm, và dung dịch nước này được sử dụng trong phép phân tích hoạt tính. Sau khi làm loãng liên tục hai lần, dịch chiết để đo hoạt tính và sản phẩm chuẩn hoạt tính EGF trong đĩa 96 lỗ sao cho dịch chiết loãng để đo hoạt tính và sản phẩm chuẩn hoạt tính EGF được bơm vào mỗi trong số các lỗ với lượng 100ul, 3×10^3 nguyên bào sợi Balb/c 3T3 được bơm vào mỗi trong số các lỗ để thu được hỗn hợp, và hỗn hợp này nuôi cấy trong môi trường nuôi cấy 5% CO₂ ở 37°C trong 72 giờ. Sau đó, 40ul chất phản ứng MTS được bơm vào mỗi trong số các lỗ để thu được hỗn hợp, hỗn hợp này được ủ trong môi trường nuôi cấy 5% CO₂ ở 37°C trong 4 giờ, độ hấp thụ của nguyên liệu đã ủ được đo ở 490nm bằng thiết bị đọc vi phim, và các giá trị của sản phẩm chuẩn EGF và dịch chiết được so sánh bằng thử nghiệm dòng song song bằng cách sử dụng chương trình PLA 2.0 để tính hoạt tính EGF của dịch chiết và tính hoạt tính EGF mỗi 1g mỹ phẩm chứa hạt tẩy tế bào chết tan trong nước, coi tỷ lệ thu hồi dịch chiết bằng 60%.

Bảng 4

Nhiệt độ	Ví dụ 4	Nhóm đối chứng
Nhiệt độ trong phòng (25°C)	$3,60 \times 10^3 \text{IU/g}$	0IU/g
Nhiệt độ cao (55°C)	$2,05 \times 10^3 \text{IU/g}$	0IU/g

Như được thể hiện trong Bảng 4, hoạt tính của EGF ổn định hơn rất nhiều khi hạt tẩy tế bào chết tan trong nước được bổ sung vào chế phẩm mỹ phẩm không chứa nước của Ví dụ 4 so với khi với khi hạt tẩy tế bào chết tan trong nước được bổ sung vào chế phẩm mỹ phẩm trên cơ sở nước (nhóm đối chứng). Ở nhiệt độ trong phòng, hạt tẩy tế bào chết tan trong nước được thêm vào chế phẩm mỹ phẩm không chứa nước duy trì được hoạt tính bằng khoảng 72% của $5,0 \times 10^3 \text{IU/g}$ mà là giá trị hoạt tính trung bình của EGF ban đầu của chế phẩm mỹ phẩm của Ví dụ 4. Ngay cả ở nhiệt độ cao, hạt tẩy tế bào chết tan trong nước được thêm vào chế phẩm mỹ phẩm không chứa nước duy trì được hoạt tính bằng khoảng 41%. Do đó, có thể nhận thấy rằng chế phẩm mỹ phẩm theo sáng chế có độ ổn định hoạt tính của EGF rất tuyệt vời.

Ví dụ 6

Điều chế hạt tủy tế bào chết tan trong nước để làm tăng thể tích

Sau khi đưa một lớp mỏng dung dịch đã trộn trong đó axit hyaluronic và nước được trộn ở tỷ lệ 1:2 lên đĩa hoặc khay phẳng và làm khô dung dịch đã trộn được đưa lên đĩa hoặc khay này, dung dịch đã trộn đã được làm khô trên đĩa hoặc khay được nghiền thành hạt có kích thước tương tự như kích thước của hạt tủy tế bào chết tan trong nước được tạo góc bằng cách sử dụng máy nghiền. Sau đó, nguyên liệu đã nghiền này được rây bằng sàng hoặc rây để thu được hạt tủy tế bào chết đã được tan trong nước để làm tăng thể tích có kích thước hạt nhỏ hơn hoặc bằng 2mm không chứa yếu tố sinh trưởng peptit hoặc nguyên liệu nuôi cấy tế bào đã làm khô.

Dung dịch đã trộn đã được làm khô chứa axit ascorbic được nghiền thành hạt có kích thước tương tự với kích thước của hạt tủy tế bào chết được tạo góc bằng cách sử dụng máy nghiền. Nguyên liệu đã nghiền được rây bằng sàng hoặc rây để thu được hạt tủy tế bào chết tan trong nước để làm tăng thể tích có kích thước hạt nhỏ hơn hoặc bằng 2mm không chứa polypeptit, yếu tố sinh trưởng, hoặc thành phần nuôi cấy tế bào.

Ví dụ 7

Điều chế chế phẩm mỹ phẩm không chứa nước

Như được thể hiện trong Bảng 5 dưới đây, các thành phần của tất cả các chế phẩm ngoại trừ hạt tủy tế bào chết tan trong nước được tạo góc và hạt tủy tế bào chết đã được tan trong nước để làm tăng thể tích theo sáng chế chứa các hoạt chất được điều chế theo Ví dụ 4.

Bảng 5

Chế phẩm (% trọng lượng)	Ví dụ				
	7	8	9	10	11
Hạt tủy tế bào chết chứa các hoạt chất	5	3,75	2,5	2,25	0
Hạt tủy tế bào chết để làm tăng thể tích	0	2,25	2,5	3,75	5

Ví dụ thực nghiệm 1

Thử nghiệm so sánh mức độ kích ứng da theo tỷ lệ trộn hạt tẩy tế bào chết tan trong nước chứa các hoạt chất như polypeptit, EGF, hoặc thành phần nuôi cấy tế bào và hạt tẩy tế bào chết tá được tan trong nước không chứa các hoạt chất được thực hiện trên chế phẩm mỹ phẩm của các Ví dụ từ 7 đến 11, và các kết quả thử nghiệm được thể hiện trong Bảng 6. Thử nghiệm so sánh mức độ kích ứng da được dự định để đánh giá sự khác biệt giữa mức độ kích ứng da của chế phẩm mỹ phẩm được bổ sung hạt tẩy tế bào chết tan trong nước chứa các hoạt chất và hạt tẩy tế bào chết tá được tan trong nước không chứa các hoạt chất, dựa trên phán đoán. Sau khi thực hiện quy trình rửa mặt trên 10 phụ nữ, mẫu của các Ví dụ được mát-xa đều trên mặt của họ, sữa dưỡng da trên cơ sở nước được thoa lên da mặt sau khi đã mát-xa bằng mẫu, và sau đó mức độ kích ứng da có thể được đánh giá trên da mặt của người phụ nữ sau khi đã được thoa sữa dưỡng da trên cơ sở nước bằng cách sử dụng thang 5 điểm để thu được các giá trị trung bình.

Thang 5 điểm là như sau.

- 1 điểm: Có sự khác biệt rất lớn
- 2 điểm: Có sự khác biệt
- 3 điểm: Không thể cho biết ý kiến
- 4 điểm: Không có sự khác biệt
- 5 điểm: Có sự khác biệt rất nhỏ

Quá trình đánh giá được thực hiện bởi thử nghiệm mù, mức độ kích ứng da giữa chế phẩm mỹ phẩm không chứa nước chứa hạt tẩy tế bào chết tan trong nước chứa các hoạt chất làm nhóm đối chứng và chế phẩm mỹ phẩm không chứa nước chứa hạt tẩy tế bào chết tá được tan trong nước không chứa các hoạt chất làm nhóm thử nghiệm được so sánh.

Bảng 6

Mục đánh giá	Ví dụ 7 và 8	Ví dụ 7 và 9	Ví dụ 7 và 10	Ví dụ 7 và 11
Mức độ kích	4,2	4,2	4,2	4,1

ứng da				
--------	--	--	--	--

Như được thể hiện trong bảng 6, kết quả là có thể không phân biệt được sự khác biệt xác định giữa mức độ kích ứng da của nhóm đối chứng và nhóm thử nghiệm. Kết quả này cho thấy rằng sáng chế có thể tạo ra chế phẩm mỹ phẩm không chứa nước chứa hạt tan trong nước chứa yếu tố sinh trưởng peptit hoặc nguyên liệu nuôi cấy tế bào đã làm khô với các nồng độ khác nhau mà không làm giảm tác dụng của hạt tẩy tế bào chết tan trong nước được tạo góc chứa các hoạt chất bằng cách kiểm soát % trọng lượng của hạt tẩy tế bào chết tá được tan trong nước không chứa các hoạt chất.

Ví dụ 12

Thử nghiệm mức thấm sâu trên da lợn

Thử nghiệm mức thấm sâu trên da lợn được thực hiện trên nhóm thử nghiệm và nhóm đối chứng bằng cách sử dụng chế phẩm mỹ phẩm không chứa nước chứa hạt tẩy tế bào chết tan trong nước theo sáng chế chứa EGF làm nhóm thử nghiệm và bằng cách sử dụng chế phẩm mỹ phẩm EGF có cùng hàm lượng và lượng làm mỹ phẩm không chứa nước nhưng không sử dụng hạt tẩy tế bào chết tan trong nước làm nhóm đối chứng, trong đó thử nghiệm mức thấm sâu trên da lợn được thực hiện trên nhóm đối chứng và nhóm thử nghiệm với các chế phẩm và điều kiện như nhau, ngoại trừ 60% nước cất được sử dụng trong nhóm đối chứng được thêm vào nhóm thử nghiệm để hạt tẩy tế bào chết được hòa tan bởi nước cất.

0,1g mỹ phẩm nhóm thử nghiệm được lấy ra và thoa lên bề mặt của da lợn, mỹ phẩm nhóm thử nghiệm được thoa lên bề mặt da lợn được chà xát, và 0,06g nước cất được thêm vào để làm tan chảy hạt tẩy tế bào chết sao cho hạt tẩy tế bào chết đã chảy được thoa thêm nữa lên bề mặt của da lợn. 0,16g mỹ phẩm nhóm đối chứng (EGF được làm tan chảy bằng cách bổ sung nước cất) được lấy ra và thoa lên bề mặt của da lợn.

Sau khi thoa lên da lợn, da lợn đã được thoa mỹ phẩm được nuôi cấy ở 4°C trong 12 giờ, da lợn đã nuôi cấy được cố định bằng cách sử dụng dung dịch cố định

10% sao cho khối parafin được sinh ra để tạo ra một miếng có độ dày 4mm. Sau khi gắn mô lên lam kính, loại bỏ parafin ra khỏi mô và chuyển mô đã loại parafin sang quá trình hydrat hóa, quá trình phong bế được thực hiện trên mảnh mô trong 30 phút. Mô trải qua quá trình phong bế được xử lý bằng kháng thể kháng EGF để làm cho mô phản ứng với kháng thể kháng EGF ở 4°C trong 18 giờ. Ngày tiếp theo, mô đã phản ứng với kháng thể kháng EGF được rửa bằng PBS, mô đã rửa bằng PBS được xử lý bằng kháng thể thứ hai để làm cho mô phản ứng với kháng thể thứ hai bằng chất phản ứng DAB để thu được sản phẩm phản ứng, và sản phẩm phản ứng được quan sát bằng kính hiển vi.

Như được thể hiện trên Fig.6, tác dụng loại bỏ chất sừng bằng cách chà xát bằng mỹ phẩm của nhóm thử nghiệm (Fig.6C) so với mỹ phẩm thuộc nhóm đối chứng (Fig.6B) có thể được xác nhận. Hơn nữa, tác dụng của sáng chế cho phép chà xát để thẩm yếu tố sinh trưởng peptit EGF sâu hơn vào trong phần da so với nhóm đối chứng có thể được xác nhận.

Ví dụ 13

Thử nghiệm lâm sàng

Thử nghiệm lâm sàng về sự cải thiện nếp nhăn trên da được thực hiện trên 20 nam và nữ trưởng thành khỏe mạnh không mắc các bệnh về da, và cụ thể hơn là, các thử nghiệm lâm sàng này được thực hiện ở vùng da có nếp nhăn xung quanh mắt ở 20 nam và nữ trưởng thành. Vùng da xung quanh mắt trái được thoa mỹ phẩm của nhóm đối chứng, và vùng da xung quanh mắt phải được thoa mỹ phẩm của nhóm thử nghiệm. Mỹ phẩm nhóm đối chứng nhận được bằng cách bổ sung 60% nước cất vào mỹ phẩm nhóm thử nghiệm để làm tan chảy hạt tẩy tế bào chết tan trong nước của mỹ phẩm nhóm thử nghiệm bằng cách sử dụng nước cất trước khi sử dụng mỹ phẩm nhóm đối chứng. Thử nghiệm lâm sàng được thực hiện bằng cách thoa mẫu tương ứng lên vùng da xung quanh mắt một lần mỗi ngày, và quan sát và đo mẫu được thoa lên da xung quanh mắt trong 8 tuần. Trong trường hợp của nhóm đối chứng, 0,16g chất đối chứng được thoa lên vùng thử nghiệm đã được làm sạch trong khoảng 40 giây sau khi làm sạch vùng thử nghiệm. Trong trường hợp của nhóm thử nghiệm, 0,1g chất thử nghiệm được thoa lên vùng thử nghiệm đã làm

sạch sau khi làm sạch vùng thử nghiệm. Sau khi thoa chất đối chứng và chất thử nghiệm lên vùng thử nghiệm, chất đối chứng và chất thử nghiệm đã thoa trên vùng thử nghiệm được chà xát trong khoảng 20 giây, khoảng 60ul nước cất được thêm vào chất đối chứng và chất thử nghiệm đã chà xát trên vùng thử nghiệm, và chất đối chứng và chất thử nghiệm đã chà xát trên vùng thử nghiệm được chà xát thêm trong khoảng 20 giây bằng cách sử dụng nước cất. Quá trình đo được thực hiện bằng cách quan sát và đo chất đối chứng và chất thử nghiệm trên vùng thử nghiệm trong 1 tuần, 2 tuần, 3 tuần, 4 tuần, và 8 tuần sau khi thoa chất thử nghiệm.

Thiết bị chẩn đoán da mặt A-One Pro, thiết bị siêu âm da Ultrascan UC22, hệ đánh giá toàn bộ bởi nhà nghiên cứu (IGA: investigator global assessment), và hệ đánh giá toàn bộ bởi bệnh nhân (PGA: patient global assessment) được sử dụng làm chỉ tiêu đánh giá lâm sàng. IGA được số hóa bằng cách cho điểm mức nhăn nhờ việc đánh giá bằng mắt thường bởi hai bác sỹ da liễu dựa trên thang đánh giá mức độ nghiêm trọng của vết nhăn (WSRS: wrinkle severity rating scale) là thang 5 điểm. PGA được thể hiện bằng cách số hóa sự hài lòng của đối tượng theo các giá trị trên thang 4 điểm.

Nhờ kết quả của thử nghiệm lâm sàng, xác nhận rằng độ dày và mật độ của lớp hạ bì được tăng lên trong nhóm thử nghiệm so với nhóm đối chứng (xem Fig.7), và tác dụng cải thiện nếp nhăn của da bằng cách chà xát hạt chứa peptit EGF được xác nhận (xem Fig.8). Hơn nữa, được xác nhận từ kết quả khảo sát mức độ hài lòng của các đối tượng rằng các đối tượng này tỏ ra ít ác cảm hơn với việc tẩy tế bào chết bằng cách cho thấy mức độ hài lòng cao là 70% đối với nhóm thử nghiệm so với mức độ hài lòng 50% của nhóm đối chứng (xem Fig.9).

YÊU CẦU BẢO HỘ**1. Chế phẩm mỹ phẩm chứa:**

pha dầu với lượng nằm trong khoảng từ 85% trọng lượng đến 90% trọng lượng so với tổng trọng lượng chế phẩm mỹ phẩm; và

các hạt tẩy tế bào chết tan trong nước được tạo góc có kích thước hạt nằm trong khoảng từ 0,01mm đến 2mm với lượng nằm trong khoảng từ 0,01% trọng lượng đến 15 % trọng lượng so với tổng trọng lượng chế phẩm mỹ phẩm,

trong đó các hạt tẩy tế bào chết tan trong nước được tạo góc bao gồm các hạt thứ nhất và các hạt thứ hai,

trong đó các hạt thứ nhất chứa nguyên liệu tan trong nước và ít nhất một polypeptit sao cho, khi tiếp xúc với nước, nguyên liệu tan trong nước này sẽ hòa tan và ít nhất một polypeptit này được giải phóng, trong khi các hạt thứ hai chứa nguyên liệu tan trong nước nhưng không chứa polypeptit.

2. Chế phẩm mỹ phẩm theo điểm 1, trong đó các hạt thứ nhất của hạt tẩy tế bào chết tan trong nước được tạo góc chứa ít nhất một polypeptit với lượng nằm trong khoảng từ 0,001% trọng lượng đến 1% trọng lượng so với tổng trọng lượng chế phẩm mỹ phẩm.

3. Chế phẩm mỹ phẩm theo điểm 1, trong đó nguyên liệu tan trong nước chứa ít nhất một chất được chọn từ nhóm gồm axit hyaluronic và monosacarit.

Fig.1

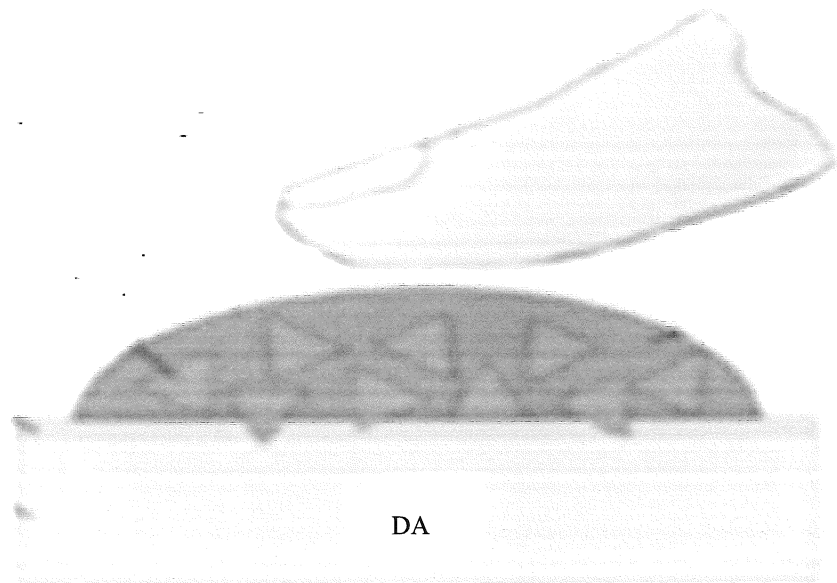


Fig. 2

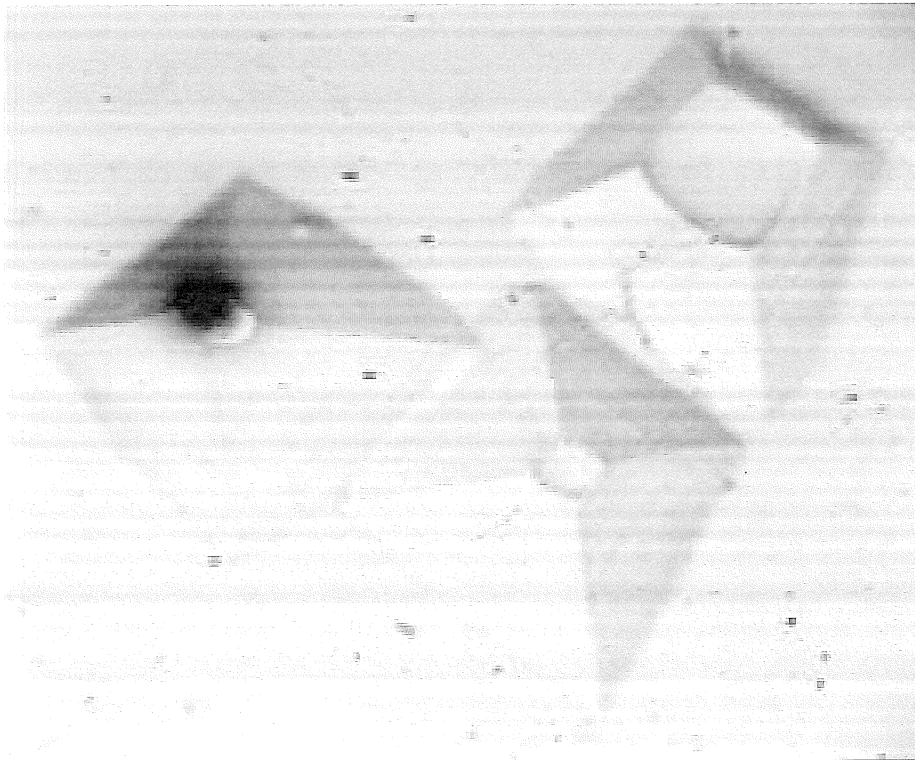


Fig. 3

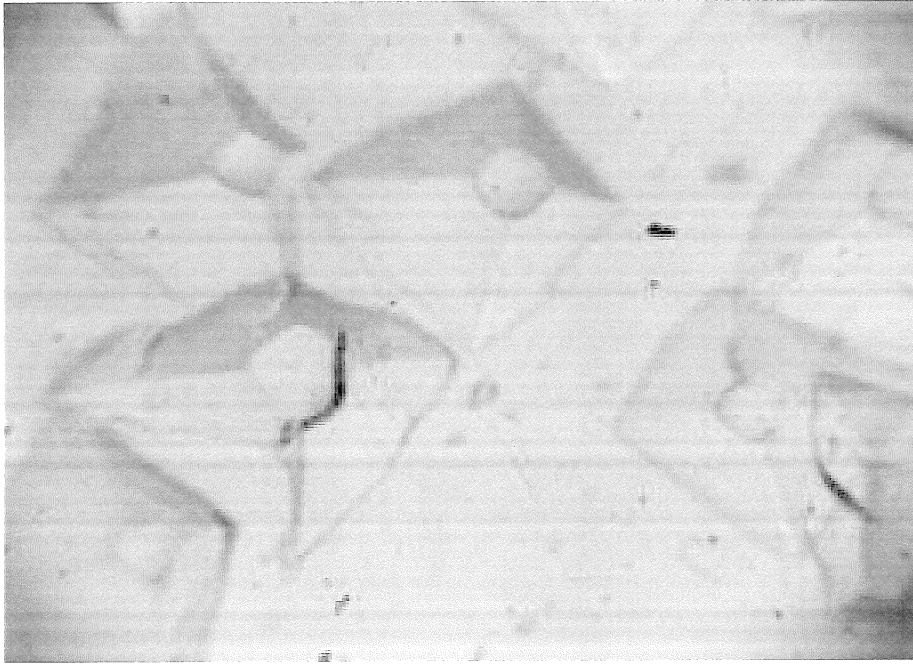


Fig. 4



Fig. 5

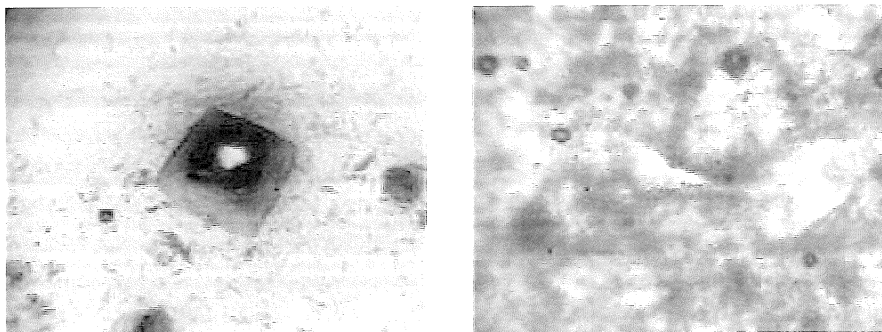


Fig. 6

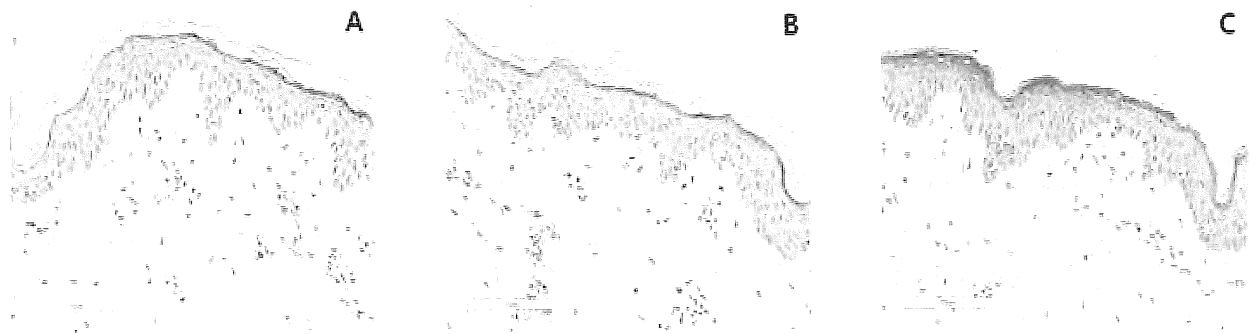


Fig. 7

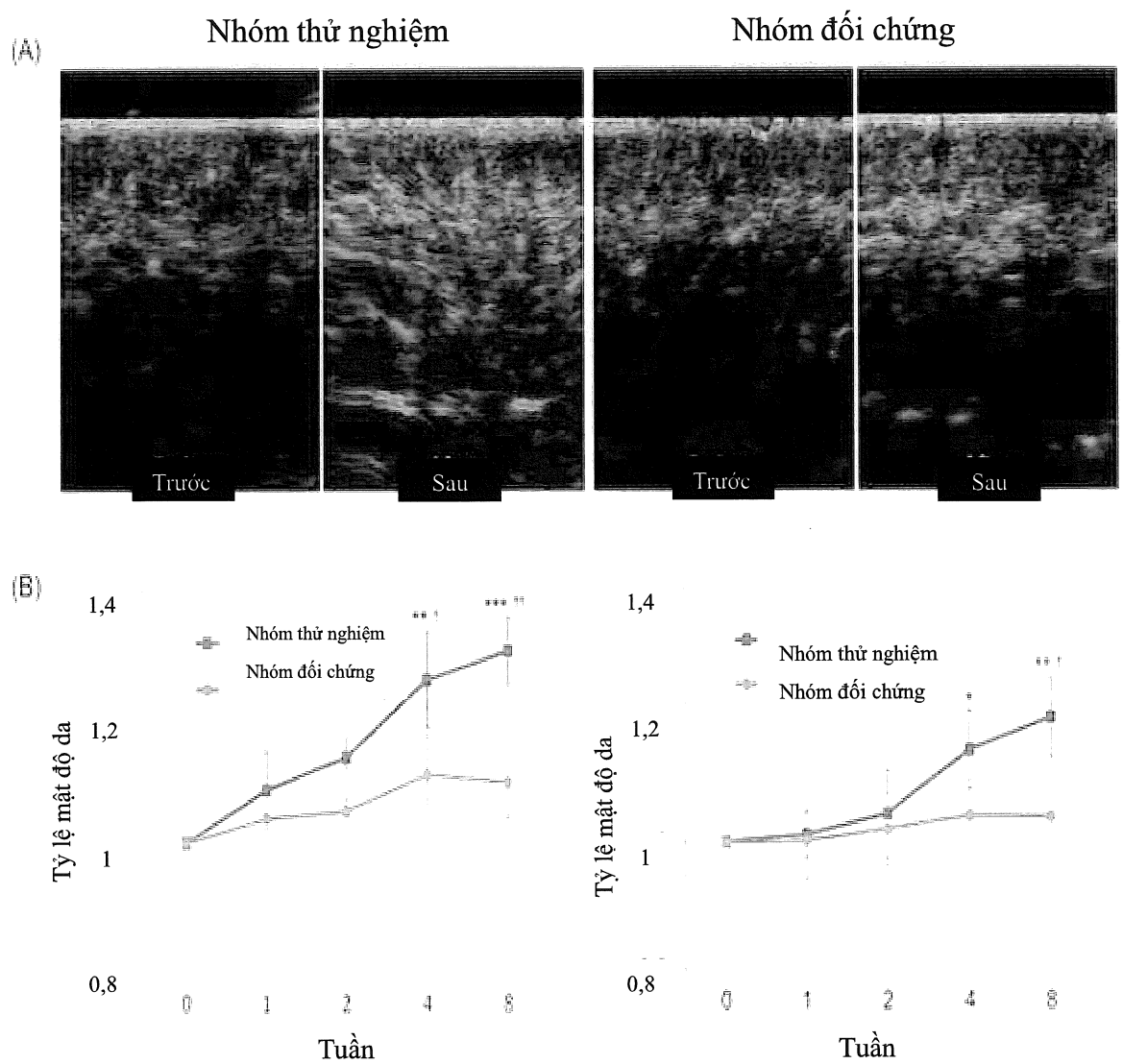


Fig.8

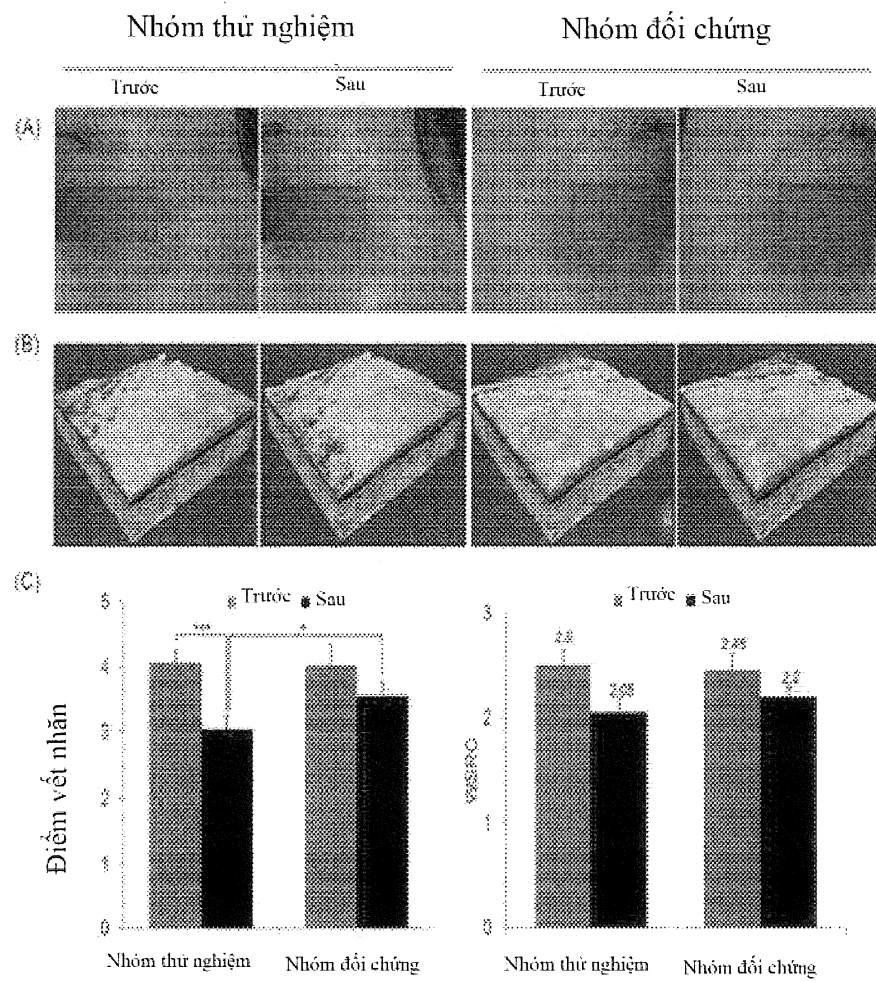


Fig. 9

