



(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)



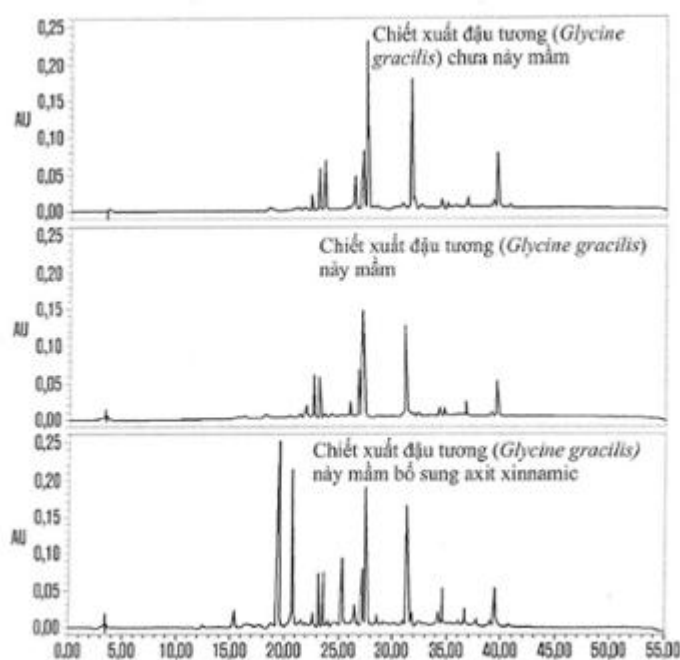
1-0033583

(51)⁸ A61K 8/97; A61Q 19/08; A61Q 19/00; (13) B
A61K 8/36

(21) 1-2018-02825 (22) 13/09/2016
(86) PCT/KR2016/010362 13/09/2016 (87) WO 2018/052152 22/03/2018
(45) 25/10/2022 415 (43) 25/09/2019 378A
(73) AMOREPACIFIC CORPORATION (KR)
100, Hangang-daero, Yongsan-gu, Seoul, 04386, Republic of Korea
(72) Young Gyu KANG (KR); Myo Yeon KIM (KR); Jun Seong PARK (KR).
(74) Văn phòng Luật sư Ân Nam (ANNAM IP & LAW)

(54) CHẾ PHẨM BẢO CHẾ SỬ DỤNG BÊN NGOÀI DA ĐỂ CHỐNG LÃO HÓA
CHỨA CHIẾT XUẤT ĐẬU TƯƠNG (GLYCINE GRACILIS) LÀM THÀNH
PHẦN HOẠT TÍNH

(57) Sáng chế đề cập đến chế phẩm bảo chế sử dụng bên ngoài da để chống lão hóa chứa chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm làm thành phần hoạt tính. Cụ thể hơn, sáng chế đề cập đến chế phẩm bảo chế sử dụng bên ngoài da có các tác dụng chống lão hóa vượt trội do chứa chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) thu được từ đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm trong môi trường nuôi cấy mà được bổ sung axit xinnamic. Việc sử dụng chế phẩm bảo chế sử dụng bên ngoài da theo sáng chế làm tăng biểu hiện của nhân tố sinh trưởng nguyên bào sợi của collagen tổng hợp nguyên bào sợi da, ức chế biểu hiện và hoạt tính của collagenaza, và nhờ đó có các hiệu quả chống lão hóa vượt trội trong việc tăng cường tính đàn hồi của da và cải thiện nếp nhăn.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chế phẩm bào chế sử dụng bên ngoài da để chống lão hóa chứa chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm làm thành phần hoạt tính. Cụ thể hơn, sáng chế đề cập đến chế phẩm bào chế sử dụng bên ngoài da có các tác dụng chống lão hóa vượt trội do chứa chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) thu được từ đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm trong môi trường nuôi cấy mà được bổ sung axit xinnamic.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Da là lớp màng chắn bảo vệ chính của cơ thể người, thực hiện chức năng bảo vệ các cơ quan khác nhau trong cơ thể khỏi những thay đổi về nhiệt độ và độ ẩm và các kích thích môi trường bên ngoài như là tia UV và các chất ô nhiễm, và đóng vai trò quan trọng trong việc duy trì sự cân bằng nội mô *in vivo*. Tuy nhiên, các kích thích vật lý và hóa học quá mức từ môi trường bên ngoài, áp lực, thiếu hụt dinh dưỡng và các yếu tố tương tự làm suy giảm chức năng bình thường của da và gia tăng hiện tượng lão hóa da như là giảm tính đàn hồi, keratin hóa và hình thành nếp nhăn và hiện tượng tương tự.

Để ngăn ngừa các hiện tượng này và giữ cho da đàn hồi hơn và khỏe mạnh hơn, có các nỗ lực để sản xuất các mỹ phẩm chứa các cơ chất có hoạt tính sinh lý học thu được từ các loài thực vật, vi sinh vật và sinh vật khác, để duy trì chức năng bên trong của da và kích hoạt các tế bào da, do đó ngăn sự lão hóa da hiệu quả. Tuy nhiên, hầu hết các nguyên liệu thô làm mỹ phẩm hiện tại có các vấn đề khác nhau như thể hiện hiệu quả không đủ hoặc gây ra các tác dụng phụ lên da.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, đậu tương (Chiết xuất đậu tương có nguồn gốc từ gốc từ “có hình dạng phẳng”, và có nhiều cách gọi khác nhau như hạt đậu nap-ddae-gi, hạt đậu nap-jjo-re-gi (Cheongsong), hạt đậu nap-deu-re (Young il), hạt đậu nap-jak (Gyeonggi province) và các cách gọi khác. Không giống với đậu nành, là loại đậu phổ biến nhất, nó có dạng hình elip và có hình dạng phẳng và thon. Khi các

hạt đậu nap-ddae-gi được trồng trước Chobok (một trong những ngày nóng nhất vào mùa hè), các dây leo kéo dài mở rộng ra bên ngoài, nhưng khi các hạt đậu này được trồng sau Chobok, chúng phát triển thành cuống ngắn, và cành hoàn toàn được chờ các hạt sao cho thậm chí không phải chỉ gốc đâm vào phần đáy của đầu hạt đậu nap-ddae-gi. Các lá của hạt đậu nap-ddae-gi khá là hẹp và nhỏ và ra hoa màu xanh. Khi các hạt đậu nap-ddae-gi phát triển như giá đỗ, sự phát triển diễn ra nhanh chóng, phần đầu thon, nhỏ và mềm, và chúng có vị rất ngon.

Dựa vào các đặc điểm mà các hạt đậu giàu các thành phần chống lão hóa và chất chống oxi hóa, các tác giả đã phát hiện sáng chế có công bố đơn ban đầu Hàn Quốc số 2013-0107123 về chế phẩm chứa chiết xuất của đậu nap-ddae-gi (*Glycine gracilis*) có hiệu quả chống oxi hóa, chống lão hóa, làm trắng hoặc giữ ẩm tốt.

Khi mở rộng nghiên cứu về hiệu quả chống lão hóa của chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) này, các tác giả đã thực hiện nhiều nỗ lực để gia tăng hiệu quả của chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) cải thiện nếp nhăn da và thúc đẩy sự đàn hồi da, và kết quả, đã phát hiện rằng chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) này mềm, đặc biệt là, chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) này mềm từ môi trường nuôi cấy được bổ sung axit xinnamic, còn tăng cường sự biểu hiện của nhân tố sinh trưởng nguyên bào sợi da và còn ức chế biểu hiện của collagenaza, do đó thể hiện hiệu quả ức chế sự lão hóa vượt trội so với chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) không nảy mầm hoặc chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm mà không được bổ sung axit xinnamic, nhờ đó hoàn thành sáng chế.

Tài liệu kỹ thuật trước

Tài liệu bằng sáng chế

Công bố đơn ban đầu Hàn Quốc số 2013-0107123 (ngày 01/10/2013).

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Mục đích của sáng chế là đề xuất chế phẩm bào chế sử dụng bên ngoài da chứa chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm làm thành phần hoạt tính, nhờ đó có được các hiệu quả chống lão hóa vượt trội.

Để đạt được mục đích nêu trên, sáng chế đề xuất chế phẩm bào chế sử dụng bên ngoài da để chống lão hóa chứa chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm làm

thành phần hoạt tính, trong đó chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) thu được từ đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm trong môi trường nuôi cấy được bổ sung axit xinnamic.

Sáng chế cũng đề xuất chế phẩm bào chế sử dụng bên ngoài da để cải thiện nếp nhăn da chứa chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm làm thành phần hoạt tính, trong đó chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) thu được từ đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm trong môi trường nuôi cấy được bổ sung axit xinnamic.

Ngoài ra, sáng chế đề xuất chế phẩm bào chế sử dụng bên ngoài da để cải thiện tính đàn hồi da chứa chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm làm thành phần hoạt tính, trong đó chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) thu được từ đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm trong môi trường nuôi cấy được bổ sung axit xinnamic.

Ngoài ra, sáng chế đề xuất chế phẩm chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm làm tác nhân để cải thiện nếp nhăn da trong chế phẩm của chế phẩm bào chế sử dụng bên ngoài da (cụ thể, thành phần mỹ phẩm hoặc chế phẩm dược dụng).

Ngoài ra, sáng chế đề xuất chế phẩm chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm làm tác nhân để cải thiện tính đàn hồi da trong chế phẩm của chế phẩm bào chế sử dụng bên ngoài da (cụ thể, thành phần mỹ phẩm hoặc chế phẩm dược dụng).

Ưu điểm của sáng chế

Việc sử dụng chế phẩm bào chế sử dụng bên ngoài da theo sáng chế làm tăng sự biểu hiện của nhân tố sinh trưởng nguyên bào sợi của collagen tổng hợp nguyên bào sợi da, ức chế biểu hiện và hoạt tính của collagenaza, và nhờ đó có các hiệu quả chống lão hóa vượt trội trong việc tăng cường tính đàn hồi của da và cải thiện nếp nhăn.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

FIG.1 minh họa kết quả phân tích các thành phần của mỗi chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) chưa nảy mầm (ví dụ so sánh 1), chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm (ví dụ so sánh 2), và chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm bổ sung axit xinnamic (ví dụ 1) sử dụng phương pháp HPLC (phương pháp sắc ký lỏng hiệu suất cao).

Mô tả chi tiết sáng chế

Trừ khi được chỉ ra theo cách khác, tất cả các thuật ngữ khoa học và kỹ thuật được sử dụng trong bản mô tả này có cùng nghĩa như thường được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực của sáng chế. Nhìn chung, các danh pháp được sử dụng trong phần mô tả này đã được biết đến phổ biến và có nghĩa thông thường trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Như được sử dụng trong bản mô tả này, “chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm bổ sung axit xinnamic” có nghĩa là chất được chiết xuất từ đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm trong môi trường nuôi cấy được bổ sung axit xinnamic và “chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm” không có tiền tố “axit xinnamic” có nghĩa là chất được chiết xuất từ đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm trong môi trường nuôi cấy thông thường không bổ sung axit xinnamic.

Ngoài ra, như được sử dụng trong bản mô tả này, “enzym phân hủy collagen” và “collagenaza” được sử dụng có nghĩa giống nhau.

Theo một phương án của sáng chế, các biểu hiện của các nhân tố sinh trưởng nguyên bào sợi da và collagenaza của mỗi chiết xuất thu được đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm từ dung dịch axit xinnamic chứa nước, chiết xuất thu được từ đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm mà không chứa dung dịch axit xinnamic chứa nước, và chiết xuất thu được từ đậu tương (*Glycine gracilis*) chưa nảy mầm được đo và so sánh. Kết quả là, phát hiện được chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm từ dung dịch axit xinnamic chứa nước tăng cường thêm sự biểu hiện của nhân tố sinh trưởng nguyên bào sợi da, ức chế sự biểu hiện và hoạt tính collagenaza, và nhờ đó có hiệu quả cải thiện nếp nhăn và hiệu quả tăng tính đàn hồi da.

Do đó, theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến chế phẩm bào chế sử dụng bên ngoài da để chống lão hóa chứa chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm làm thành phần hoạt tính, trong đó chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) thu được từ đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm trong môi trường nuôi cấy được bổ sung axit xinnamic.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến chế phẩm bào chế sử dụng bên ngoài da để cải thiện nếp nhăn da hoặc cải thiện tính đàn hồi da chứa chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm làm thành phần hoạt tính, trong đó chiết xuất đậu tương

(*Glycine gracilis*) thu được từ đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm trong môi trường nuôi cấy được bổ sung axit xinnamic.

Theo sáng chế, thành phần có đặc điểm trong đó thành phần này thể hiện các hiệu quả chống lão hóa, đặc biệt là hiệu quả cải thiện tính đàn hồi da và hiệu quả cải thiện nếp nhăn da, bằng cách tăng cường biểu hiện của collagen tổng hợp nhân tố sinh trưởng nguyên bào sợi da, là thành phần chính của mô da, hoặc ức chế sự biểu hiện của collagenaza.

Tên khoa học đặt cho các hạt đậu Nap-jak được sử dụng trong tài liệu này là (*Glycine gracilis*), mà còn được gọi khác nhau là hạt đậu nap-ddae-gi, hạt đậu nap-dae-gi, hạt đậu nap-jjo-re-gi, hạt đậu nap-deu-re, hạt đậu nap-jap và các tên gọi khác ở Hàn Quốc. Thuật ngữ “sự nảy mầm” đề cập đến hiện tượng trong đó mầm/chồi/nụ hình thành trên hạt, bào tử, phần hoa và cành hoặc rễ, và các bộ phận tương tự của thực vật bắt đầu phát triển hoặc mọc lên, và thuật ngữ “đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm” có nghĩa là đậu tương (*Glycine gracilis*) có mầm/chồi/nụ bắt đầu phát triển. Theo sáng chế, đậu tương (*Glycine gracilis*) có mầm/chồi/nụ khoảng 20 mm đến 60 mm được gọi là “đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm”.

Ngoài ra, theo sáng chế, axit xinnamic được sử dụng để nảy mầm đậu tương (*Glycine gracilis*) còn được gọi là sinnamisan (ở Hàn Quốc), yukgyesan (ở Hàn Quốc), axit β -phenylacrylic, và một trong các axit cacboxylic không no thơm thông thường. Có nhiều trong các chiết xuất rau/thực vật như dầu quế, nhựa thơm Peru và dầu gỗ gôm phương đông, và có thể được tổng hợp nhân tạo. Theo sáng chế, giả sử rằng axit xinnamic được bổ sung vào môi trường nuôi cấy có chức năng tương tự như chức năng của hoocmon thực vật, nhờ đó kích thích hệ thống báo hiệu trong thực vật sản sinh các chất liên quan đến sự chống lão hóa nhiều hơn. Tốt nhất là axit xinnamic được bổ sung vào môi trường nuôi cấy, nhưng axit jasmonic hoặc axit p-coumaric có thể được sử dụng thay thế.

Theo sáng chế, môi trường nuôi cấy bổ sung axit xinnamic sử dụng cho quá trình nảy mầm của đậu tương (*Glycine gracilis*) có thể gọi là dung dịch axit xinnamic chứa nước, hoặc có thể còn chứa các thành phần phụ thông thường có thể được bổ sung vào môi trường nuôi cấy của dung dịch axit xinnamic chứa nước. Tốt hơn là, nồng độ của axit xinnamic trong môi trường nuôi cấy được bổ sung axit xinnamic có

thể nằm trong khoảng từ 0,50 mM đến 1,00 mM, tốt hơn nữa là 0,75 mM.

Theo sáng chế, chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) có thể được điều chế theo quy trình bao gồm các bước:

- a) nảy mầm đậu tương (*Glycine gracilis*) sử dụng môi trường nuôi cấy được bổ sung axit xinnamic;
- b) sấy khô đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm trong bước a), và sau đó tán thành bột;
- c) thực hiện quá trình chiết sơ cấp bột đậu tương (*Glycine gracilis*) đã được tán trong bước b) bằng việc đun sôi sau khi trộn với dung môi phân cực;
- d) lọc phần chiết sơ cấp thu được trong bước c);
- e) thực hiện quá trình chiết thứ cấp phần chiết xuất được lọc trong bước d) bằng dung môi phân cực thấp hoặc không phân cực; và
- f) cô đặc phần chiết xuất cuối cùng thu được trong bước e) dưới áp suất giảm.

Chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm bổ sung axit xinnamic chứa trong thành phần theo sáng chế được điều chế cụ thể bằng sự chiết xuất tuần tự bằng cách thay đổi sự phân cực. Thực hiện quá trình chiết sơ cấp phần chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm bổ sung axit xinnamic bằng dung môi phân cực như là dạng khan hoặc rượu nhóm chức thấp (có từ 1 đến 3 nguyên tử cacbon), axeton hoặc các dung môi tương tự, tốt hơn là etanol, sau đó là quá trình chiết thứ cấp bằng dung môi phân cực thấp hoặc không phân cực như là etyl axetat, dietyl ete, benzen, cloroform, hexan hoặc các dung môi tương tự, tốt hơn là etyl axetat, để tối đa hóa hàm lượng các thành phần hoạt tính và loại bỏ tạp chất, nhờ đó điều chế được phần chiết có tính ổn định được cải thiện và hiệu quả đạt được tối đa hóa. Sau đó, thành phần này có thể được sử dụng bằng cách bổ sung nó vào chế phẩm sử dụng bên ngoài da, bao gồm nước mỹ phẩm làm mềm sử dụng kỹ thuật hòa tan, nước thơm dưỡng, kem dưỡng, nước hoa hoặc chế phẩm tương tự sử dụng kỹ thuật nhũ tương hóa.

Ngoài ra, phần chiết có thể được tinh chế hiệu quả bằng cách thực hiện quá trình lọc hai lần giữa quá trình chiết sơ cấp sử dụng dung môi phân cực và quá trình chiết thứ cấp. Tốt hơn là, quá trình chiết sơ cấp được thực hiện bằng vải lọc có từ 200 đến 300 lỗ, và phần lọc thu được từ quá trình lọc sơ cấp được cho phép hóa già ở 4°C

đến 15°C, sau đó thực hiện quá trình lọc thứ cấp bằng giấy lọc.

Ngoài ra, theo sáng chế, chế phẩm chứa chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) này mầm bổ sung axit xinnamic lượng nằm trong khoảng từ 0,01% đến 10% khối lượng trên tổng khối lượng của chế phẩm. Nếu hàm lượng của phần chiết nhỏ hơn 0,01% khối lượng, hiệu quả có thể không như được mong đợi. Nếu hàm lượng vượt quá 10% khối lượng, sự gia tăng hiệu quả có thể không còn rõ ràng.

Khi chế phẩm bào chế sử dụng bên ngoài da theo sáng chế được bào chế theo dạng mỹ phẩm, chế phẩm này có thể được bào chế theo dạng nước mỹ phẩm làm mềm da, nước mỹ phẩm làm se da, nước mỹ phẩm dưỡng da, kem mắt, kem dưỡng, kem mát xa, kem tẩy trang, bột tẩy trang, nước tẩy trang, bột, nước hoa hoặc kem thoa mặt và dạng tương tự của nó không bị giới hạn cụ thể. Chế phẩm theo sáng chế có thể chứa các chất phụ gia thường được sử dụng trong lĩnh vực mỹ phẩm hoặc lĩnh vực khoa học da bao gồm các chất béo, dung môi hữu cơ, chất hòa tan, chất làm đặc, chất tạo keo hóa, chất làm mềm, thành phần hương thơm, chất có hoạt tính bề mặt, nước, chất nhũ tương hóa ion hoặc chất nhũ tương hóa không ion, chất độn, chất cô lập, chất tạo chelat, chất bảo quản, vitamin, chất chẹn, chất làm ẩm, tinh dầu, thuốc nhuộm, chất tạo màu, chất hoạt hóa ưa nước hoặc chất hoạt hóa kỵ nước, túi lipid hoặc các thành phần khác thường được sử dụng trong mỹ phẩm. Các chất phụ gia này được thêm vào với lượng phù hợp thường được sử dụng trong lĩnh vực mỹ phẩm hoặc lĩnh vực khoa học da. Ngoài ra, chế phẩm theo sáng chế có thể chứa chất tăng cường hấp thụ da để tăng hiệu quả cải thiện da.

Ngoài các chất được đề cập ở trên, chế phẩm theo sáng chế có thể chứa các thành phần khác nằm trong khoảng mà không làm giảm hiệu quả chính, tốt hơn là có thể sử dụng tăng cường hiệu quả của tác dụng chính. Chế phẩm bào chế sử dụng bên ngoài da theo sáng chế còn bao gồm các chất làm ẩm, chất làm mềm, chất hấp thụ tia cực tím, chất bảo quản, chất tẩy uế, chất chống oxy hóa, chất điều chỉnh pH, thuốc nhuộm hữu cơ hoặc vô cơ, chất tạo hương, chất làm lạnh hoặc chất chống chảy nhiều mồ hôi. Lượng trộn của các thành phần ở trên có thể dễ dàng được chọn bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này trong phạm vi không ảnh hưởng đến mục đích và hiệu quả của sáng chế, và lượng trộn có thể nằm trong khoảng từ 0,01% đến 5% khối lượng, cụ thể, nằm trong khoảng từ 0,01% đến 3% khối lượng trên tổng khối lượng của chế phẩm.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả chi tiết bằng các ví dụ cụ thể. Tuy nhiên, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ hiểu được rằng các ví dụ được đưa ra chỉ với mục đích minh họa, và không làm giới hạn phạm vi của sáng chế. Do đó, phạm vi của sáng chế sẽ được xác định bằng phần yêu cầu bảo hộ kèm theo.

Ví dụ 1: Điều chế chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm bổ sung axit xinnamic

100g đậu tương (*Glycine gracilis*) được cho nảy mầm trong 48 giờ trong thùng ủ giữ ở nhiệt độ 25°C sử dụng nước bổ sung axit xinnamic với nồng độ 0,75 mM. Chiều dài trung bình của mầm đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm trong 48 giờ là 25 mm.

Sau đó, rửa đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm bằng nước tinh khiết, sấy khô và tán thành bột thu được 100g bột đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm bổ sung axit xinnamic. Bổ sung 100g bột đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm bổ sung axit xinnamic vào trong 1 lít dung dịch ethanol chứa nước 70%, và hỗn hợp được chiết bằng cách đun sôi trong 12 giờ trong thiết bị chiết xuất có bình ngưng làm lạnh, và sau đó được lọc qua vải lọc 300 lỗ. Sau đó, phần lọc thu được làm già bằng cách cho giữ ở 4°C đến 15°C trong 7 ngày và lọc lại lần nữa bằng giấy lọc Whatman #2. Sau đó, phần chiết được rót vào trong phễu chiết dịch, và bổ sung 1 lít etyl axetat vào đó. Sau đó, lắc và trộn kỹ hỗn hợp, và khi hai lớp được tách biệt hoàn toàn, thu lớp phía trên (lớp etyl axetat). Lớp phía dưới (lớp nước) được chiết bằng cách lặp lại quy trình ở trên hai lần sử dụng phễu chiết dịch. Các lớp phía trên được phân tách trong mỗi quy trình chiết xuất được kết hợp, và sau đó cô đặc dưới áp suất giảm ở 50°C sử dụng thiết bị chưng cất có trang bị bình ngưng làm lạnh và sấy khô thu được chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm bổ sung axit xinnamic (khối lượng khô là 13,54g).

Ví dụ so sánh 1: Điều chế chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) chưa nảy mầm

Rửa đậu tương (*Glycine gracilis*) chưa nảy mầm bằng nước tinh khiết, sấy khô và tán thành bột thu được 100g bột (*Glycine gracilis*). Bổ sung 100g bột đậu tương (*Glycine gracilis*) vào trong 1 lít dung dịch ethanol chứa nước 70%, và hỗn hợp được chiết bằng cách đun sôi trong 12 giờ trong thiết bị chiết xuất có bình ngưng làm lạnh,

và sau đó được lọc qua vải lọc 300 lỗ. Sau đó, phần lọc thu được làm già bằng cách cho giữ ở 4°C đến 15°C trong 7 ngày và lọc lại lần nữa bằng giấy lọc Whatman #2. Sau đó, phần chiết được rót vào trong phễu chiết dịch, và bổ sung 1 lít etyl axetat vào đó. Sau đó, lắc và trộn kỹ hỗn hợp, và khi hai lớp được tách biệt hoàn toàn, thu lớp phía trên (lớp etyl axetat). Lớp phía dưới (lớp nước) được chiết bằng cách lặp lại quy trình ở trên hai lần sử dụng phễu chiết dịch. Các lớp phía trên được phân tách trong mỗi quy trình chiết xuất được kết hợp, và sau đó cô đặc dưới áp suất giảm ở 50°C sử dụng thiết bị chung chất có trang bị bình ngưng làm lạnh và sấy khô thu được chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) chưa nảy mầm (khối lượng khô là 15,18 g).

Ví dụ so sánh 2: Điều chế chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm

Đầu tiên, 100g đậu tương (*Glycine gracilis*) được cho nảy mầm trong 48 giờ trong thùng ủ duy trì ở nhiệt độ là 25°C sử dụng nước được chung cất sơ cấp. Chiều dài trung bình của mầm đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm trong 48 giờ là 55 mm. Nguyên nhân vì sao chiều dài trung bình của mầm đậu tương (*Glycine gracilis*) dài hơn so với chiều dài mầm mọc sử dụng axit xinnamic trong ví dụ 1 là do axit xinnamic ức chế chiều dài sinh trưởng của rễ đậu nành (xem, <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0069105>).

Sau đó, rửa đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm bằng nước tinh khiết, sấy khô và tán thành bột thu được 100g bột (*Glycine gracilis*) nảy mầm. Bổ sung 100g bột đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm vào trong 1 lít dung dịch etanol chứa nước 70%, và hỗn hợp được chiết bằng cách đun sôi trong 12 giờ trong thiết bị chiết xuất có bình ngưng làm lạnh, và sau đó được lọc qua vải lọc 300 lỗ. Sau đó, phần lọc thu được làm già bằng cách cho giữ ở 4°C đến 15°C trong 7 ngày và lọc lại lần nữa bằng giấy lọc Whatman #2. Sau đó, phần chiết được rót vào trong phễu chiết dịch, và bổ sung 1 lít etyl axetat vào đó. Sau đó, lắc và trộn kỹ hỗn hợp, và khi hai lớp được tách biệt hoàn toàn, thu lớp phía trên (lớp etyl axetat). Lớp phía dưới (lớp nước) được chiết bằng cách lặp lại quy trình ở trên hai lần sử dụng phễu chiết dịch. Các lớp phía trên được phân tách trong mỗi quy trình chiết xuất được kết hợp, và sau đó cô đặc dưới áp suất giảm ở 50°C sử dụng thiết bị chung chất có trang bị bình ngưng làm lạnh và sấy khô thu được chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm (khối lượng khô là 14,16g).

Ví dụ thử nghiệm 1: Phân tích so sánh các thành phần chiết xuất

Mỗi thành phần của chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm bổ sung axit xinnamic theo ví dụ 1, chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) chưa nảy mầm theo ví dụ so sánh 1, và chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm theo ví dụ so sánh 2 được phân tích. Mỗi phần chiết xuất được hòa tan vào trong 70% etanol tạo thành dung dịch có nồng độ 10.000 ppm, và các thành phần được phân tích (máy dò 2996 PDA, được sản xuất bởi Waters) sử dụng phương pháp HPLC (mẫu 2696, được sản xuất bởi Waters). Sử dụng cột Mightysil RP-18 GP 250-4.6 (5µm) được sản xuất bởi Kanto Chemical làm pha ổn định, và tỷ lệ thành phần được minh họa trong bảng 1 dưới đây sử dụng là pha di động.

Bảng 1

Thời gian (phút)	A: Nước	B: Axetonitril
0	95	5
35	65	35
45	5	95
50	95	5
55	95	5

Kết quả, như được minh họa trong FIG.1, chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm bổ sung axit xinnamic, quan sát được đỉnh mới là đỉnh mà không thấy trong chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) chưa nảy mầm và chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm, xác nhận sự có mặt của thành phần mới. Do đó, có thể dự đoán rằng chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm bổ sung axit xinnamic có hiệu quả chống lão hóa vượt trội so với chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) chưa nảy mầm và chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm.

Ví dụ thử nghiệm 2: Thí nghiệm đo sự biểu hiện của nhân tố sinh trưởng nguyên bào sợi da

Mức độ biểu hiện của nhân tố sinh trưởng nguyên bào sợi da trong mỗi chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm bổ sung axit xinnamic theo ví dụ 1, chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) chưa nảy mầm theo ví dụ so sánh 1, và chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm theo ví dụ so sánh 2 được đo bằng cách so sánh với môi trường DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Media) chứa 2,5% khối lượng

huyết thanh bào thai bò.

Nguyên bào sợi người (được sản xuất bởi Cascade Biologics) (Portland, OR, USA) được gieo với 5.000 tế bào/giếng trong đĩa chuẩn micro 96 giếng chứa môi trường DMEM chứa 2,5% khối lượng huyết thanh bào thai bò, và nuôi cấy cho đến khi phát triển đến khoảng 90%. Sau đó, các tế bào được nuôi cấy trong DMEM không có huyết thanh trong 24 giờ, và sau đó được xử lý với mỗi một trong các chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm bổ sung axit xinnamic theo ví dụ 1, chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) chưa nảy mầm theo ví dụ so sánh 1, và chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm theo ví dụ so sánh 2 hòa tan trong DMEM không có huyết thanh với nồng độ 50 ppm trong 24 giờ. Đối với nhóm đối chứng dương, DMEM không có huyết thanh được thay thế bằng môi trường DMEM chứa 2,5% khối lượng huyết thanh bào thai bò, và các tế bào được nuôi cấy trong 24 giờ, sau đó thu môi trường nuôi cấy tế bào.

Kết quả là, đo mức độ biểu hiện của nhân tố sinh trưởng nguyên bào sợi da trong môi trường nuôi cấy tế bào sử dụng thiết bị đo nhân tố sinh trưởng nguyên bào sợi da (R&D Systems, USA). Đầu tiên, bổ sung môi trường nuôi cấy tế bào vào đĩa 96 giếng phủ đồng đều các kháng thể sơ cấp đối với nhân tố sinh trưởng nguyên bào sợi da, và thực hiện phản ứng kháng thể-kháng nguyên trong máy điều nhiệt (36°C) trong 3 giờ.

Sau 3 giờ, các kháng thể thứ cấp đối với nhân tố sinh trưởng nguyên bào sợi da liên kết với chromophore được bổ sung vào đĩa 96 giếng và phản ứng trong 15 phút. Sau 15 phút, bổ sung chất cảm ứng hiện màu để thực hiện hiện màu tại nhiệt độ phòng trong 15 phút, và khi bổ sung 1M axit sulfuric lần nữa để dừng phản ứng (sự hiện màu), màu của dung dịch phản ứng xuất hiện là màu vàng, và chúng nhận rằng mức độ màu xanh là khác phụ thuộc vào tiến trình phản ứng.

Sự hấp thụ của đĩa 96 giếng xuất hiện là màu xanh được đo ở 450 nm sử dụng máy đo hấp thụ, và tính toán mức độ biểu hiện của nhân tố sinh trưởng nguyên bào sợi da bằng phương trình tính toán 1 dưới đây. Ở đây, độ hấp thụ phản ứng của môi trường nuôi cấy tế bào thu được từ nhóm trong đó không có thành phần được xử lý được sử dụng làm đối chứng. Tức là, mức độ biểu hiện của nhân tố sinh trưởng nguyên bào sợi da trong nhóm không được xử lý được đặt là 100, và mức độ biểu hiện của

nhân tố sinh trưởng nguyên bào sợi da trong các nhóm được xử lý bằng các chất thử nghiệm được xác định tương đối. Các kết quả được minh họa trong bảng 2 dưới đây.

Phương trình tính toán 1

$$\text{Mức độ biểu hiện của nhân tố sinh trưởng nguyên bào sợi da} = \frac{\text{Sự hấp thụ của nhóm tế bào xử lý chất thử nghiệm}}{\text{Sự hấp thụ của nhóm đối chứng}} \times 100$$

Bảng 2

Các chất thử nghiệm	Mức độ biểu hiện của nhân tố sinh trưởng nguyên bào sợi da (%)
Nhóm không được xử lý	100
Môi trường DMEM chứa 2,5% khối lượng của huyết thanh bào thai bò	196
Chiết xuất đậu tương (<i>Glycine gracilis</i>) nảy mầm bổ sung axit xinnamic (ví dụ 1)	189
Chiết xuất đậu tương (<i>Glycine gracilis</i>) chưa nảy mầm (ví dụ so sánh 1)	124
Chiết xuất đậu tương (<i>Glycine gracilis</i>) nảy mầm (ví dụ so sánh 2)	129

Như được minh họa trong bảng 2, người ta phát hiện rằng chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm bổ sung axit xinnamic theo ví dụ 1 gia tăng hiệu quả biểu hiện của nhân tố sinh trưởng nguyên bào sợi da *in vivo* so với chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) chưa nảy mầm theo ví dụ so sánh 1 và chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm theo ví dụ so sánh 2. Theo đó, xác nhận rằng chiết xuất theo sáng chế hoặc chế phẩm chứa chiết xuất theo sáng chế thể hiện hiệu quả chống lão hóa vượt trội, tức là hiệu quả cải thiện nếp nhăn da và hiệu quả cải thiện tính đàn hồi da.

Ví dụ thử nghiệm 3: Thử nghiệm hiệu quả chống lão hóa

Khả năng ức chế của chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm bổ sung axit xinnamic theo ví dụ 1, chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) chưa nảy mầm theo ví dụ so sánh 1, và chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm theo ví dụ so sánh 2 về sản lượng collagenaza được đo bằng cách so sánh với tocopherol và EGCG.

Tocopherol và EGCG là các chất đã được biết đến là có chức năng ngăn sự lão hóa của da bằng cách tái sinh các tế bào biểu bì của da.

Nguyên bào sợi người (được sản xuất bởi Cascade Biologics) (Portland, OR, USA) được gieo với 5.000 tế bào/giếng trong đĩa chuẩn micro 96 giếng chứa môi trường DMEM chứa 2,5% khối lượng huyết thanh bào thai bò, và nuôi cấy cho đến khi phát triển đến khoảng 90%. Sau đó, các tế bào được nuôi cấy trong DMEM không có huyết thanh trong 24 giờ, và sau đó được xử lý với mỗi một trong các chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm bổ sung axit xinnamic theo ví dụ 1, chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) chưa nảy mầm theo ví dụ so sánh 1, và chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm theo ví dụ so sánh 2 hòa tan trong DMEM không có huyết thanh với nồng độ 50 ppm và trong 24 giờ và được xử lý bằng tocopherol và EGCG (sản xuất bởi Sigma Aldrich) với nồng độ là 50 μ M trong 24 giờ. Và, sau đó thu môi trường nuôi cấy tế bào.

Kết quả, đo mức sản lượng của collagenaza trong môi trường nuôi cấy tế bào được thu bằng cách sử dụng thiết bị đo collagenaza (Amersham Pharmacia, USA). Đầu tiên, bổ sung môi trường nuôi cấy tế bào vào đĩa 96 giếng phủ đồng đều các kháng thể sơ cấp, và thực hiện phản ứng kháng thể-kháng nguyên trong máy điều nhiệt (36°C) trong 3 giờ.

Sau 3 giờ, các kháng thể thứ cấp liên kết với chromophore được bổ sung vào đĩa 96 giếng và phản ứng trong 15 phút. Sau 15 phút, bổ sung chất cảm ứng hiện màu để thực hiện hiện màu tại nhiệt độ phòng trong 15 phút, và khi bổ sung 1M axit sulfuric lần nữa để dừng phản ứng (sự hiện màu), màu của dung dịch phản ứng xuất hiện là màu vàng, và xác nhận rằng mức độ màu vàng là khác phụ thuộc vào tiến trình phản ứng.

Sự hấp thụ của đĩa 96 giếng xuất hiện là màu vàng được đo ở 450 nm sử dụng máy đo hấp thụ, và tính toán mức độ tổng hợp collagenaza bằng phương trình tính toán 2 dưới đây. Ở đây, độ hấp thụ phản ứng của môi trường nuôi cấy tế bào thu được từ nhóm trong đó không có thành phần được xử lý được sử dụng làm đối chứng. Tức là, mức độ biểu hiện của collagenaza trong nhóm không được xử lý được đặt là 100, và mức độ biểu hiện của collagenaza trong các nhóm được xử lý bằng các chất thử nghiệm được xác định tương đối. Các kết quả được minh họa trong bảng 3 dưới đây.

Phương trình tính toán 2

$$\text{Mức độ biểu hiện của collagenaza (\%)} = \frac{\text{Sự hấp thụ của nhóm tế bào hấp thụ chất thử nghiệm}}{\text{Sự hấp thụ của nhóm đối chứng}} \times 100$$

Bảng 3

Các chất thử nghiệm	Mức độ biểu hiện của collagenaza (%)
Nhóm không được xử lý	100
Tocopherol	75
EGCG	61
Chiết xuất đậu tương (<i>Glycine gracilis</i>) nảy mầm bổ sung axit xinnamic (ví dụ 1)	58
Chiết xuất đậu tương (<i>Glycine gracilis</i>) chưa nảy mầm (ví dụ so sánh 1)	79
Chiết xuất đậu tương (<i>Glycine gracilis</i>) nảy mầm (ví dụ so sánh 2)	76

Như được minh họa trong bảng 3, phát hiện rằng chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm bổ sung axit xinnamic theo ví dụ 1 ức chế hiệu quả sự biểu hiện của collagenaza *in vivo* hơn so với chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) chưa nảy mầm theo ví dụ so sánh 1 và chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm theo ví dụ so sánh 2 và tức là có khả năng ức chế tốt đối với sự biểu hiện của collagenaza so với tocopherol và EGCG đã được biết đến là các chất chống lão hóa. Theo đó, người ta xác nhận rằng chiết xuất theo sáng chế hoặc chế phẩm chứa chiết xuất theo sáng chế thể hiện hiệu quả chống lão hóa vượt trội, tức là hiệu quả cải thiện nếp nhăn da và hiệu quả cải thiện tính đàn hồi da.

Mặc dù các phần cụ thể của sáng chế đã được mô tả chi tiết, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này sẽ hiểu rằng các kỹ thuật cụ thể chỉ đơn thuần là các phương án cụ thể và không làm giới hạn phạm vi bảo hộ của sáng chế. Do đó, phạm vi của sáng chế sẽ được xác định bằng phần yêu cầu bảo hộ kèm theo.

Ngoài ra, ví dụ chế phẩm của các chế phẩm bào chế sử dụng bên ngoài da chứa thành phần theo sáng chế sẽ được mô tả cụ thể hơn dưới đây. Tuy nhiên, cần phải hiểu rằng phạm vi bảo hộ của sáng chế không bị giới hạn bởi các ví dụ này.

Ví dụ chế phẩm 1: Nước mỹ phẩm dưỡng da

Điều chế nước mỹ phẩm dưỡng da theo phương thức thông thường có thành phần được minh họa trong bảng 4 dưới đây (đơn vị: % khối lượng).

Bảng 4

Các thành phần	Lượng
Nước tinh khiết	Lượng dư
Glyxerin	8,0
Butylen glycol	4,0
Chiết xuất axit hyaluronic	5,0
Beta glucan	7,0
Cacbome	0,1
Chiết xuất đậu tương (<i>Glycine gracilis</i>) nảy mầm bổ sung axit xinnamic (ví dụ 1)	0,05
Caprylic/capric triglyxerit	8,0
Squalen	5,0
Xetearyl glucosit	1,5
Sorbitan stearat	0,4
Xetearyl rượu	1,0
Trietanolamin	0,1

Ví dụ chế phẩm 2: Kem dưỡng da

Điều chế kem dưỡng da theo phương thức thông thường có thành phần được minh họa trong bảng 5 dưới đây (đơn vị: % khối lượng).

Bảng 5

Các thành phần	Lượng
Nước tinh khiết	Lượng dư
Glyxerin	3,0

Butylen glycol	3,0
Parafin lỏng	7,0
Beta glucan	7,0
Cacbome	0,1
Chiết xuất đậu tương (<i>Glycine gracilis</i>) nảy mầm bổ sung axit xinnamic (ví dụ 1)	3,0
Caprylic/capric triglyxerit	3,0
Squalen	5,0
Xetearyl glucosit	1,5
Sorbitan stearat	0,4
Polysorbat 60	1,2
Trietanolamin	0,1

Ví dụ chế phẩm 3: Kem mát xa

Điều chế kem mát xa theo phương thức thông thường có thành phần được minh họa trong bảng 6 dưới đây (đơn vị: % khối lượng).

Bảng 6

Các thành phần	Lượng
Nước tinh khiết	Lượng dư
Glyxerin	8,0
Butylen glycol	4,0
Parafin lỏng	45,0
Beta glucan	7,0
Cacbome	0,1
Chiết xuất đậu tương (<i>Glycine gracilis</i>) nảy mầm bổ sung axit xinnamic (ví dụ 1)	1,0
Caprylic/capric triglyxerit	3,0
Sáp ong	4,0
Xetearyl glucosit	1,5
Sorbitan Sesquioleat	0,9
Vaselin	3,0
Parafin	1,5

Ví dụ chế phẩm 4: Kem thoa mặt

Điều chế kem thoa mặt theo phương thức thông thường có thành phần được

minh họa trong bảng 7 dưới đây (đơn vị: % khối lượng).

Bảng 7

Các thành phần	Lượng
Nước tinh khiết	Lượng dư
Glyxerin	4,0
Polyvinyl rượu	15,0
Chiết xuất axit hyaluronic	5,0
Beta glucan	7,0
Allantoin	0,1
Chiết xuất đậu tương (<i>Glycine gracilis</i>) nảy mầm bổ sung axit xinnamic (ví dụ 1)	0,5
Nonylphenyl ete	0,4
Polysorbat 60	1,2
Etanol	6,0

Ví dụ chế phẩm 5: Thuốc mỡ trong chế phẩm bào chế sử dụng bên ngoài da

Điều chế thuốc mỡ theo phương thức thông thường có thành phần được minh họa trong bảng 8 dưới đây (đơn vị: % khối lượng).

Bảng 8

Các thành phần	Lượng
Nước tinh khiết	Lượng dư
Glyxerin	8,0
Butylen glycol	4,0
Parafin lỏng	15,0
Beta glucan	7,0
Cacbome	0,1
Chiết xuất đậu tương (<i>Glycine gracilis</i>) nảy mầm bổ sung axit xinnamic (ví dụ 1)	1,0
Caprylic/capric triglyxerit	3,0
Squalen	1,0
Xetearyl glucosit	1,5
Sorbitan stearat	0,4
Xetearyl rượu	1,0
Sáp ong	4,0

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Chế phẩm bào chế sử dụng bên ngoài da để chống lão hóa chứa chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm làm thành phần hoạt tính, trong đó chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) thu được từ đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm trong môi trường nuôi cấy được bổ sung axit xinnamic.
2. Chế phẩm bào chế sử dụng bên ngoài da để cải thiện nếp nhăn da chứa chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm làm thành phần hoạt tính, trong đó chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) thu được từ đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm trong môi trường nuôi cấy được bổ sung axit xinnamic.
3. Chế phẩm bào chế sử dụng bên ngoài da để cải thiện tính đàn hồi da chứa chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm làm thành phần hoạt tính, trong đó chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) thu được từ đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm trong môi trường nuôi cấy được bổ sung axit xinnamic.
4. Chế phẩm bào chế sử dụng bên ngoài da theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) được điều chế bằng quy trình bao gồm các bước:
 - a) làm nảy mầm đậu tương (*Glycine gracilis*) sử dụng môi trường nuôi cấy được bổ sung axit xinnamic;
 - b) sấy khô đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm trong bước a), và sau đó tán thành bột;
 - c) thực hiện quá trình chiết sơ cấp bột đậu tương (*Glycine gracilis*) đã được tán trong bước b) bằng việc đun sôi sau khi trộn với dung môi phân cực;
 - d) lọc phần chiết sơ cấp thu được trong bước c);
 - e) thực hiện quá trình chiết thứ cấp phần chiết xuất được lọc trong bước d) bằng dung môi phân cực thấp hoặc không phân cực; và
 - f) cô đặc phần chiết xuất cuối cùng thu được trong bước e) dưới áp suất giảm.
5. Chế phẩm bào chế sử dụng bên ngoài da theo điểm 4, trong đó nồng độ của axit xinnamic trong môi trường nuôi cấy bổ sung axit xinnamic trong bước a) nằm trong khoảng từ 0,50 nM đến 1,00 mM.

6. Chế phẩm bào chế sử dụng bên ngoài da theo điểm 4, trong đó dung môi phân cực trong bước c) là rượu có từ 1 đến 3 nguyên tử cacbon, và dung môi không phân cực hoặc phân cực thấp trong bước e) là etyl axetat.
7. Chế phẩm bào chế sử dụng bên ngoài da theo điểm 4, trong đó quá trình lọc trong bước d) bao gồm quá trình lọc sơ cấp bằng vải lọc, làm già phần lọc thu được từ quá trình lọc sơ cấp ở 4°C đến 15°C, và quá trình lọc thứ cấp bằng giấy lọc.
8. Chế phẩm bào chế sử dụng bên ngoài da theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 3, trong đó chế phẩm này chứa chiết xuất đậu tương (*Glycine gracilis*) nảy mầm có lượng nằm trong khoảng từ 0,01% đến 10% khối lượng trên tổng khối lượng của chế phẩm.

HÌNH VẼ

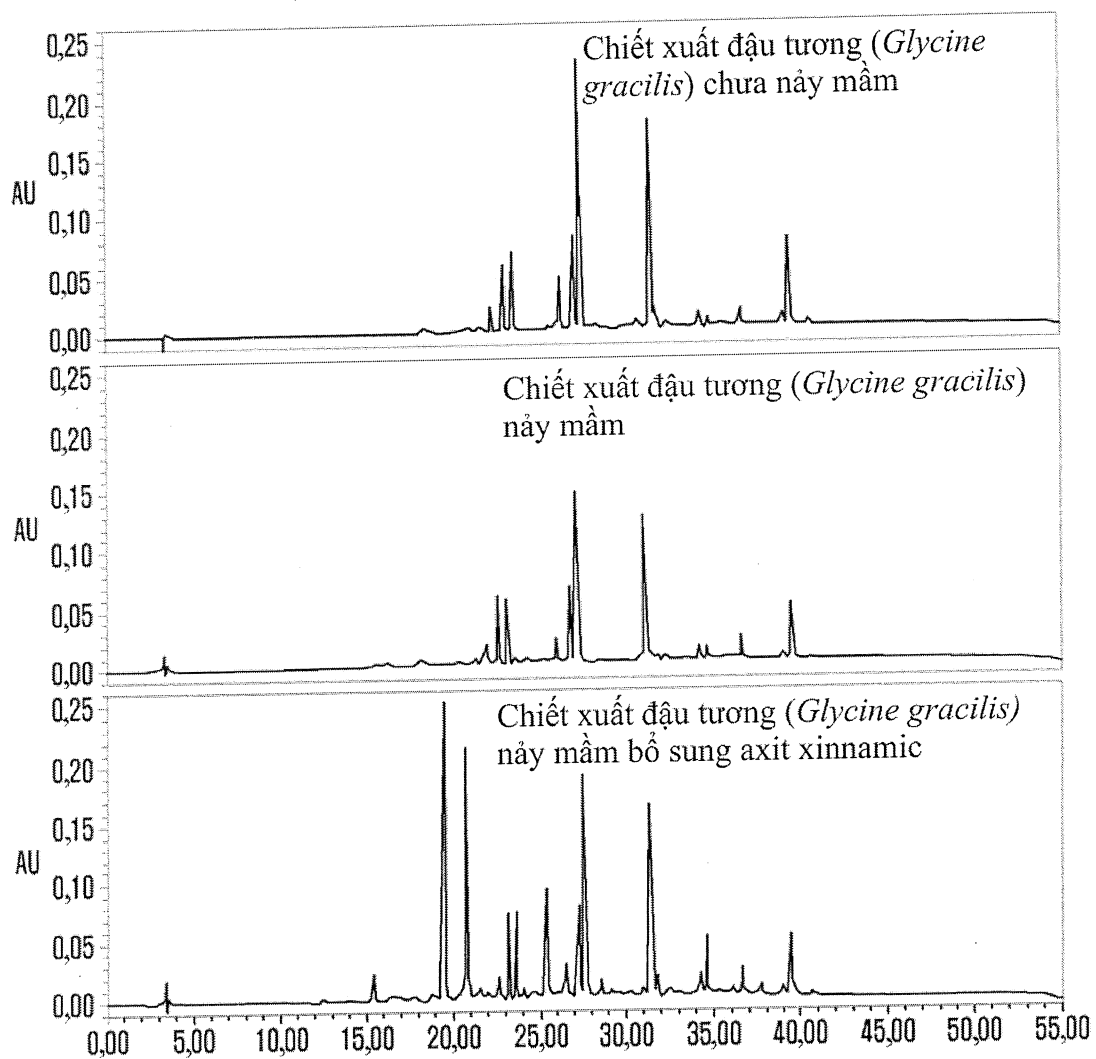


FIG.1