



(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

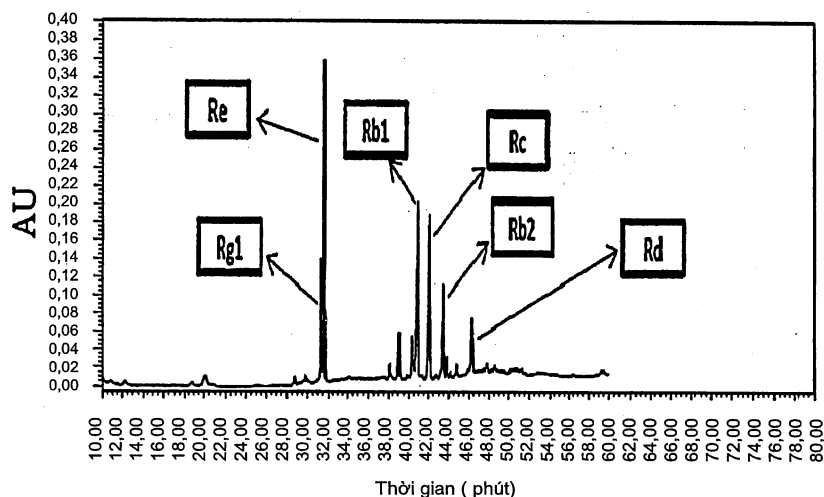
(11) 
1-0020664

(51)⁷ **A61K 36/258, 8/97, A61P 17/14, A61Q 7/00** (13) **B**

- (21) 1-2016-00191 (22) 10.07.2014
(86) PCT/KR2014/006208 10.07.2014 (87) WO2015/005700 15.01.2015
(30) 10-2013-0081694 11.07.2013 KR
10-2014-0086251 09.07.2014 KR
(45) 25.03.2019 372 (43) 25.05.2016 338
(73) AMOREPACIFIC CORPORATION (KR)
106, Hangang-daero, Yongsan-gu, Seoul 140-777, Republic of Korea
(72) HONG, Yong Deog (KR), KIM, Su Na (KR), SEO, Jung A (KR), KIM, Se Hyun (KR), CHUNG, Hyun Jung (KR), KANG, Byung Ha (KR), BAE, Woo Ri (KR), SHIN, Song Seok (KR), PARK, Young Ho (KR)
(74) Công ty Luật TNHH AMBYS Hà Nội (AMBYS HANOI)

(54) **PHẦN CHIẾT THU ĐƯỢC TỪ NHÂN SÂM, PHƯƠNG PHÁP ĐIỀU CHẾ VÀ CHẾ PHẨM THỨC ĐẨY MỌC TÓC VÀ SINH TRƯỞNG TÓC**

(57) Sáng chế đề cập đến phần chiết thu được từ nhân sâm và chế phẩm thúc đẩy mọc tóc và sinh trưởng tóc chứa hàm lượng ginsenosit Rb2, Rc, và Rg1 cao hơn và do đó có thể cung cấp hiệu quả thúc đẩy mọc tóc và sinh trưởng tóc tốt hơn so với các chất thúc đẩy sinh trưởng tóc được sản xuất bằng các kỹ thuật hiện có. Ngoài ra, chế phẩm được sản xuất rất an toàn bằng cách sử dụng các sản phẩm tự nhiên có nguồn gốc thực vật và do đó có thể được sử dụng như chế phẩm dùng cho da để sử dụng bên ngoài để thúc đẩy mọc tóc và sinh trưởng tóc, và có thể được sử dụng một cách rộng rãi trong chế phẩm mỹ phẩm, dược phẩm và đồ ăn, trong số các lĩnh vực khác.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chế phẩm thúc đẩy mọc tóc và sinh trưởng tóc, chế phẩm này chứa phân chiết thu được từ nhân sâm có hàm lượng ginsenosit gia tăng và thúc đẩy sự sinh trưởng của tóc bằng cách thúc đẩy quá trình chuyển tiếp từ giai đoạn nghỉ sang giai đoạn tăng trưởng.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Gần đây, do áp lực xã hội gia tăng, ô nhiễm môi trường, thói quen ăn đồ ăn phương Tây như đồ ăn tiện dụng, uốn tóc và nhuộm tóc thường xuyên, v.v, làm cho ngày càng có nhiều người bị rụng tóc. Tóc sinh trưởng theo chu trình gồm các giai đoạn khác nhau: giai đoạn tăng trưởng là giai đoạn sinh trưởng tóc; giai đoạn chuyển tiếp là giai đoạn trong đó sự sinh trưởng tóc dừng và mầm tóc bị co lại; giai đoạn nghỉ là giai đoạn trong đó nhú bì dừng thực hiện chức năng và tóc vẫn còn ở trên da đầu; và giai đoạn tạo hình là giai đoạn trong đó nhú bì bắt đầu thực hiện chức năng hoặc tạo thành tóc mới và làm rụng tóc cũ.

Giai đoạn tăng trưởng (từ 2 đến 7 năm) trong đó sự sinh trưởng tóc được chia thành giai đoạn mà sự sinh trưởng tóc từ mầm tóc thành nang tóc và giai đoạn trong đó keratin cứng được tạo thành bên trong nang tóc. Tóc tiếp tục sinh trưởng cho đến giai đoạn chuyển tiếp. Giai đoạn chuyển tiếp (từ 2 đến 3 tuần) là giai đoạn trong đó giai đoạn tăng trưởng kết thúc và hình dạng của tóc được duy trì do quy trình chuyển hoá chậm lại. Keratin không được tạo ra trong giai đoạn này. Khoảng 1% của toàn bộ tóc là trong giai đoạn chuyển tiếp. Trong giai đoạn này, mầm tóc bị co lại và phân chia để tạo thành nhú bì. Nó được chuyển dịch về phía trên sẽ được bao xung quanh bởi nang tóc và sự phân chia tế bào dừng. Trong giai đoạn nghỉ (3 tháng), nhú bì bị co lại và nang tóc bị co ngót một cách từ từ. Tóc bị rụng xuống do chân tóc chuyển dịch về phía trên. Giai đoạn này kéo dài khoảng từ 3 đến 4 tháng cho đến khi giai đoạn tăng trưởng tiếp theo bắt đầu.

Trong khi người bình thường có nhiều tóc ở giai đoạn tăng trưởng, những người mà bị rụng tóc (bị hói) có nhiều tóc ở giai đoạn nghỉ. Khi sự rụng tóc xảy ra, giai đoạn tăng trưởng ngắn và tóc trở nên ngắn hơn. Do đó, để điều trị rụng tóc, điều quan trọng là phải thúc đẩy quá trình chuyển tiếp nang tóc trong giai đoạn nghỉ sang giai đoạn tăng trưởng và kéo dài giai đoạn tăng trưởng.

Rụng tóc ở nam giới xảy ra do hormon nam giới được gọi là testosterone. Testosterone được thay đổi thành dihydrotestosterone (dihydrotestosterone-DHT), mà là hormon có hiệu lực hơn, bởi enzym được gọi là 5 α -reductaza. Hormon này tác động lên nang tóc, làm cho nang tóc chuyển tiếp từ giai đoạn tăng trưởng sang giai đoạn chuyển tiếp, do đó dẫn đến sự rụng tóc. Do đó, việc ức chế tổng hợp DHT bởi 5 α -reductaza là mục đích chính trong việc điều trị sự rụng tóc ở nam giới.

Rụng tóc ở nữ giới chủ yếu xảy ra sau khi mãn kinh do giảm estrogen. Để điều trị rụng tóc ở nữ giới, minoxidil hoặc estrogen được sử dụng một cách thường xuyên.

Chứng rụng tóc từng vùng là bệnh tự miễn dịch do sự căng thẳng tâm lý hoặc các nhân tố di truyền gây ra. Chứng rụng tóc từng vùng về cơ bản có nguyên nhân khác với sự rụng tóc do hormon nam và phương pháp điều trị cũng khác nhau. Liệu pháp điều trị hormon vô tuyến thượng thận, việc áp dụng minoxidil ở vùng bị tác động hoặc sự kích thích nhân tạo của vùng bị tác động được sử dụng.

Các dược chất mà thúc đẩy tuần hoàn máu, ức chế tác dụng của hormon nam giới, làm khỏe chân tóc, v.v có bán sẵn trên thị trường nhằm mục đích làm giảm rụng tóc. Tuy nhiên, không có dược chất nào thể hiện tác dụng rõ ràng và một vài dược chất có tác dụng phụ không mong muốn. Ví dụ, minoxidil thì nhót và được báo cáo là nguyên nhân gây ra sự kích ứng da. Finasteride, mà hiện nay sẵn có để dùng qua đường miệng, được báo cáo là có tác dụng phụ như rối loạn chức năng giới tính. Ngoài ra, sẽ không thuận tiện để sử dụng bởi vì nó phải được dùng qua đường miệng.

Tài liệu sáng chế

Công bố đơn yêu cầu cấp patent Hàn quốc số 10-2011-0000433.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế đề cập đến phần chiết thu được từ nhân sâm có hàm lượng ginsenosit gia tăng và chế phẩm thúc đẩy mọc tóc và sinh trưởng tóc với độ an toàn đã được chứng minh, mà chứa phần chiết này và thúc đẩy sự sinh trưởng của tóc bằng cách làm thúc đẩy sự chuyển hóa từ giai đoạn nghỉ sang giai đoạn tăng trưởng.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất phần chiết thu được từ nhân sâm chứa ginsenosit Rb₂ với lượng lớn hơn hoặc bằng 2,5% theo trọng lượng, ginsenosit Rc với lượng lớn hơn hoặc bằng 3% theo trọng lượng và ginsenosit Rg₁ với lượng lớn hơn hoặc bằng 2% theo trọng lượng dựa trên tổng trọng lượng của phần chiết thu được từ nhân sâm.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phần chiết thu được từ nhân sâm mà còn chứa ginsenosit Re với lượng lớn hơn hoặc bằng 6% theo trọng lượng.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp điều chế phần chiết thu được từ nhân sâm, phương pháp này bao gồm các bước:

chiết nhân sâm bằng cách bổ sung nước, dung môi hữu cơ hoặc hỗn hợp gồm nước và dung môi hữu cơ và đặt áp suất lặp lại và sau đó giảm áp suất; và

điều chế phần chiết thu được từ nhân sâm bằng cách hòa tan phần chiết thu được từ nhân sâm trong nước, chiết bằng dung môi hữu cơ, loại bỏ lớp dung môi hữu cơ và sau đó chiết lớp chứa nước một lần nữa bằng dung môi hữu cơ.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất chế phẩm thúc đẩy mọc tóc và sinh trưởng tóc, chế phẩm này chứa phần chiết thu được từ nhân sâm có hàm lượng ginsenosit gia tăng.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 là hình thể hiện cấu trúc hoá học của ginsenosit theo phương án ví dụ của sáng chế.

Fig.2 là hình thể hiện kết quả của phép phân tích HPLC của ginsenosit được chứa trong phần chiết thu được từ nhân sâm theo phương án ví dụ của sáng chế.

Fig.3 là hình thể hiện kết quả của phép phân tích HPLC của ginsenosit được chứa trong phần chiết thu được từ nhân sâm thông thường như ví dụ so sánh.

Fig.4 là biểu đồ biểu hiện gia tăng của nhân tố sinh trưởng nội mô mạch (vascular endothelial growth factor-VEGF) như nhân tố sinh trưởng tóc trong tế bào nhú bì nhờ phần chiết thu được từ nhân sâm theo phương án ví dụ của sáng chế (Ví dụ 1) và phần chiết thu được từ nhân sâm thông thường như ví dụ so sánh (Ví dụ so sánh 1).

Fig.5 là biểu đồ thể hiện hiệu quả của phần chiết thu được từ nhân sâm theo phương án ví dụ của sáng chế (Ví dụ 1) và phần chiết thu được từ nhân sâm thông thường như ví dụ so sánh (Ví dụ so sánh 1) đối với sự tăng sinh của tế bào nhú bì (dermal papilla cells-hDPc).

Fig.6 là biểu đồ thể hiện hiệu quả của ginsenosit được chứa trong phần chiết thu được từ nhân sâm theo phương án ví dụ của sáng chế đối với sự tăng sinh của tế bào nhú bì (hDPc).

Fig.7 là hình thể hiện hiệu quả của phần chiết thu được từ nhân sâm theo phương án ví dụ của sáng chế (Ví dụ 1) và phần chiết thu được từ nhân sâm thông thường như ví dụ so sánh (Ví dụ so sánh 1) đối với việc thúc đẩy sinh trưởng tóc ở nang tóc của người.

Fig.8 là biểu đồ thể hiện hiệu quả của phần chiết thu được từ nhân sâm theo phương án ví dụ của sáng chế (Ví dụ 1), phần chiết thu được từ nhân sâm thông thường như ví dụ so sánh (Ví dụ so sánh 1) và ginsenosit Rb1, Rb2, Rc, Rd, Re và Rg1 đối với việc thúc đẩy sinh trưởng tóc ở nang tóc của người.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả chi tiết.

Theo phương án ví dụ, sáng chế đề xuất phần chiết thu được từ nhân sâm chứa ginsenosit Rb2 với lượng lớn hơn hoặc bằng 2,5% theo trọng lượng, ginsenosit Rc với lượng lớn hơn hoặc bằng 3% theo trọng lượng và ginsenosit Rg1 với lượng lớn hơn hoặc bằng 2% theo trọng lượng dựa trên tổng trọng lượng của phần chiết thu được từ nhân sâm.

Theo phương án ví dụ, sáng chế đề xuất phần chiết thu được từ nhân sâm còn chứa ginsenosit Re với lượng lớn hơn hoặc bằng 6% theo trọng lượng.

Ginsenosit là nhóm glycosit được gọi là saponin và có nguồn gốc từ rễ, thân, lá, vỏ quả, hạt, v.v., của cây nhân sâm. Có các loại ginsenosit khác nhau, ví dụ, ginsenosit Rb1, Rb2, Rc, Rd, Re, Rg1, v.v.. Các loại và hàm lượng của ginsenosit tồn tại trong cây là khác nhau phụ thuộc vào loại cây nhân sâm, điều kiện trồng trọt, điều kiện xử lý, phương pháp chiết, phần của cây nhân sâm, v.v.. Cấu trúc hoá học của các ginsenosit khác nhau được thể hiện trên Fig.1.

Các ginsenosit có thể được phân loại thành PPT (Re, Rg1) và PPD (Rb1, Rb2, Rc, Rd) dựa trên cấu trúc của chúng. Các ginsenosit Rb1, Rb2, Rc, Rd, Re và Rg1 là các ginsenosit tồn tại trong nhân sâm thô, mà không cần phải có các quy trình xử lý thành hồng sâm và là các chất có cực có thể hoà tan trong nước.

Theo phương án ví dụ khác, sáng chế đề xuất phần chiết thu được từ nhân sâm thu được từ rễ của nhân sâm. Cụ thể là, sáng chế đề xuất phần chiết thu được từ nhân sâm thu được từ rễ con của cây nhân sâm, mà chứa các ginsenosit nêu trên với nồng độ cao.

Theo phương án ví dụ, sáng chế đề xuất phần chiết thu được từ nhân sâm, mà chứa ginsenosit Rb2 với lượng lớn hơn hoặc bằng 2,5% theo trọng lượng, ginsenosit Rc với lượng lớn hơn hoặc bằng 3% theo trọng lượng, ginsenosit Re với lượng lớn hơn hoặc bằng 6% theo trọng lượng và ginsenosit Rg1 với lượng lớn hơn hoặc bằng 2%

theo trọng lượng dựa trên tổng trọng lượng của phần chiết thu được từ nhân sâm. Cụ thể hơn là, phần chiết thu được từ nhân sâm có thể chứa ginsenosit Rb2 với lượng nằm trong khoảng từ 2,5 đến 4,5% theo trọng lượng, ginsenosit Rc với lượng nằm trong khoảng từ 3 đến 7,5% theo trọng lượng, ginsenosit Re với lượng nằm trong khoảng từ 6 đến 20% theo trọng lượng và ginsenosit Rg1 với lượng nằm trong khoảng từ 2 đến 5% theo trọng lượng.

Theo phương án ví dụ của sáng chế, phần chiết thu được từ nhân sâm chứa ginsenosit Rb2 với lượng lớn hơn hoặc bằng 2,5% theo trọng lượng, ginsenosit Rc với lượng lớn hơn hoặc bằng 3% theo trọng lượng, ginsenosit Re với lượng lớn hơn hoặc bằng 6% theo trọng lượng và ginsenosit Rg1 với lượng lớn hơn hoặc bằng 2% theo trọng lượng dựa trên tổng trọng lượng của phần chiết thu được từ nhân sâm có thể được điều chế bằng phương pháp bất kỳ mà cho phép chiết các ginsenosit hoặc các hoạt chất khác từ nhân sâm. Ví dụ, phần chiết này có thể được điều chế bằng cách áp dụng luân phiên việc chiết chuyển đổi áp suất và sau đó giảm áp suất, phân đoạn dung môi, v.v. hoặc tổ hợp của chúng theo trình tự. Cụ thể là, việc chiết chuyển đổi áp suất có thể được thực hiện bằng cách bổ sung nước, dung môi hữu cơ hoặc hỗn hợp của chúng vào nhân sâm và đặt áp suất và sau đó giảm áp suất trong khoảng thời gian định trước.

Cụ thể hơn là, theo phương án ví dụ của sáng chế, phần chiết thu được từ nhân sâm chứa ginsenosit Rb2, Rc và Rg1 có các nồng độ cao có thể được điều chế như sau.

Phần chiết thu được từ nhân sâm có thể được điều chế bằng phương pháp bao gồm các bước:

chiết nhân sâm bằng cách bổ sung nước, dung môi hữu cơ hoặc hỗn hợp gồm nước và dung môi hữu cơ và đặt áp suất lặp lại và sau đó giảm áp suất; và

điều chế phần chiết thu được từ nhân sâm bằng cách hòa tan phần chiết thu được từ nhân sâm trong nước, chiết bằng dung môi hữu cơ, loại bỏ lớp dung môi hữu cơ và sau đó chiết lớp chứa nước một lần nữa bằng dung môi hữu cơ.

Dung môi mà có thể được sử dụng theo phương án ví dụ của sáng chế là không

bị hạn chế một cách cụ thể. Ví dụ, dung môi có thể là nước, dung môi hữu cơ hoặc hỗn hợp gồm nước và dung môi hữu cơ. Ví dụ, dung môi hữu cơ có thể là một hoặc nhiều dung môi được chọn từ nhóm gồm có etanol, metanol, butanol, ete, etyl axetat và cloroform. Ví dụ, trong hỗn hợp dung môi gồm nước và dung môi hữu cơ, tỷ lệ của dung môi hữu cơ có thể nằm trong khoảng từ 10 đến 90% (thể tích/thể tích). Cụ thể hơn là, phần chiết có thể thu được bằng cách sử dụng etanol với lượng từ 10 đến 90% (thể tích/thể tích), cụ thể hơn etanol với lượng 70% (thể tích/thể tích), làm dung môi.

Theo phương án ví dụ của sáng chế, việc chiết chuyển đổi áp suất có thể được thực hiện bằng cách đặt áp suất lặp lại và sau đó giảm áp suất bằng cách sử dụng thiết bị chiết chuyển đổi áp suất trong từ 20 đến 40 phút mỗi lần, trong tổng từ 1,5 đến 2,5 giờ. Theo phương án ví dụ của sáng chế, áp suất khi đặt áp suất có thể nằm trong khoảng từ 1 đến 3kgf/cm² (98,066 đến 294.200 kPa); và áp suất khi giảm áp suất có thể nằm trong khoảng từ 550 đến 650mmHg (73315 đến 86645Pa). Nhiệt độ chiết có thể nằm trong khoảng từ 65 đến 85°C.

Khi nhân sâm được chiết bằng việc đặt áp suất lặp lại và sau đó giảm áp suất như được mô tả trên đây, sự biến chất nhân sâm do nhiệt có thể được giảm thiểu và do đó giảm biến chất ginsenosit, ví dụ, sự thủy phân glucoza của ginsenosit Rb1 thành Rg3, có thể được giảm thiểu. Kết quả là, hiệu suất chiết có thể được cải thiện từ 25 đến 30% so với khi việc chiết được thực hiện bằng cách sử dụng thiết bị chiết đơn giản hiện có mà không cần phải lặp lại. Ngoài ra, bằng cách loại bỏ các chất không có cực bằng cách sử dụng dung môi hữu cơ như etyl axetat và sau đó chiết lớp chứa nước bằng cách sử dụng dung môi hữu cơ như butanol, hàm lượng của ginsenosit có thể được tối đa. Cụ thể là, theo phương pháp phân đoạn dung môi này, tổng hàm lượng của ginsenosit trong phần chiết thu được từ nhân sâm có thể được cải thiện từ 1,5 đến 2% theo trọng lượng đến 10 lần hoặc nhiều hơn, cụ thể là từ 15 đến 25% theo trọng lượng.

Theo phương án ví dụ, sáng chế đề xuất chế phẩm thúc đẩy mọc tóc và sinh trưởng tóc, mà chứa phần chiết thu được từ nhân sâm. Chế phẩm thể hiện hiệu quả thúc đẩy sự sinh trưởng của tóc tốt hơn một cách đáng kể so với chế phẩm chứa phần

chiết thu được từ nhân sâm thông thường bằng cách làm thúc đẩy sự chuyển tiếp từ giai đoạn nghỉ thành giai đoạn tăng trưởng trong chu trình sinh trưởng tóc. Do đó, có thể đạt được hiệu quả thúc đẩy mọc tóc và sinh trưởng tóc rõ rệt ngoài mong đợi.

Theo phương án ví dụ, sáng chế đề xuất việc sử dụng phần chiết thu được từ nhân sâm theo sáng chế để thúc đẩy mọc tóc và sinh trưởng tóc hoặc sử dụng chế phẩm chứa phần chiết thu được từ nhân sâm để thúc đẩy mọc tóc và sinh trưởng tóc.

Theo phương án ví dụ khác, sáng chế đề xuất phương pháp thúc đẩy mọc tóc và sinh trưởng tóc, phương pháp này bao gồm việc cho chủ thể dùng phần chiết thu được từ nhân sâm theo sáng chế với lượng hữu hiệu làm hoạt chất. Phần chiết thu được từ nhân sâm có thể được dùng được chứa trong chế phẩm.

Theo phương án ví dụ khác, sáng chế đề xuất phần chiết thu được từ nhân sâm theo sáng chế để sử dụng trong việc thúc đẩy mọc tóc và sinh trưởng tóc. Phần chiết thu được từ nhân sâm có thể được sử dụng được chứa trong chế phẩm.

Theo phương án ví dụ của sáng chế, lượng phần chiết thu được từ nhân sâm chứa ginsenosit Rb2, Rc và Rg1 được chứa trong chế phẩm là không bị hạn chế một cách cụ thể. Ví dụ, phần chiết có thể được chứa với lượng lớn hơn hoặc bằng 2% theo trọng lượng, ví dụ từ 2 đến 20% theo trọng lượng, dựa trên tổng trọng lượng của chế phẩm. Khi phần chiết thu được từ nhân sâm được chứa với lượng nhỏ hơn 2% theo trọng lượng, có thể không đạt được hiệu quả đủ để thúc đẩy sự sinh trưởng tóc. Và khi phần chiết thu được từ nhân sâm được chứa với lượng vượt quá 20% theo trọng lượng, có thể sẽ gặp khó khăn khi xét đến tính an toàn hoặc điều chế.

Ví dụ, chế phẩm theo phương án ví dụ của sáng chế có thể là dược phẩm, mỹ phẩm hoặc thực phẩm tốt cho sức khỏe.

Dược phẩm thúc đẩy mọc tóc và sinh trưởng tóc theo phương án ví dụ của sáng chế còn có thể chứa tá dược như chất khử trùng, chất làm ổn định, chất làm ướt, chất nhũ tương, muối và/hoặc chất đệm để kiểm soát áp suất thẩm thấu, v.v hoặc chất hữu ích trong trị liệu khác và có thể được bào chế thành các công thức khác nhau để dùng qua đường miệng hoặc ngoài đường tiêu hoá.

Dạng bào chế để dùng qua đường miệng bao gồm, ví dụ viên nén, viên thuốc tròn, viên nang cứng hoặc mềm, dạng lỏng, huyền phù, nhũ tương, xi-rô, bột, bụi, hạt mịn, hạt, viên, v.v và còn có thể chứa, ngoài hoạt chất, chất hoạt động bề mặt, chất pha loãng (ví dụ, lactoza, dextroza, sucroza, manitol, sorbitol, xenluloza và glyxin) hoặc chất bôi trơn (ví dụ, silic oxit, bột talc, axit stearic và muối magie hoặc canxi của chúng và polyetylen glycol). Viên nén còn có thể chứa chất kết dính như magie nhôm silicat, bột nhão tinh bột, gelatin, tragacan, metyl xenluloza, natri cacboxymetyl xenluloza và polyvinylpyrrolidon và còn có thể chứa, nếu cần, chất phụ gia dùng trong dược phẩm như chất phân rã, ví dụ, tinh bột, thạch trắng, axit alginic hoặc muối natri của chúng, chất giữ độ ẩm, chất tạo màu, chất tạo hương, chất tạo ngọt, v.v.. Viên nén có thể được điều chế bằng phương pháp trộn, tạo hạt hoặc bao ngoài được dùng theo cách thông thường. Và, dạng bào chế để dùng ngoài đường tiêu hoá có thể là dạng bào chế để dùng qua da. Ví dụ, dạng bào chế có thể dùng bằng cách tiêm, nhỏ giọt, thuốc mỡ, thuốc xức ngoài da, gel, kem, dạng phun, huyền phù, nhũ tương, viên thuốc đạn, miếng đắp, v.v., mặc dù không bị hạn chế ở các đường dùng này.

Dược phẩm theo phương án ví dụ của sáng chế có thể được dùng ngoài đường tiêu hoá, ví dụ, qua trực tràng, tại chỗ, qua da, dưới da, v.v.. Ví dụ, dược phẩm theo phương án ví dụ của sáng chế có thể được dùng tại chỗ trên da đầu.

Việc xác định liều dùng của hoạt chất là nằm trong trình độ của chuyên gia trong lĩnh vực này. Các liều dùng hàng ngày thay đổi phụ thuộc vào các nhân tố khác nhau như mức trầm trọng của tình trạng bệnh liên quan, sự tiến triển của tình trạng bệnh, tuổi, tình trạng cơ thể, sự có mặt của (các) biến chứng. Đối với người trưởng thành, chế phẩm có thể được dùng ở liều nằm trong khoảng từ 1 $\mu\text{g/kg}$ đến 200 mg/kg, cụ thể là từ 50 $\mu\text{g/kg}$ đến 50mg/kg, từ 1 đến 3 lần một ngày. Tuy nhiên, liều dùng không làm giới hạn phạm vi của sáng chế theo cách bất kỳ.

Chế phẩm thúc đẩy mọc tóc và sinh trưởng tóc theo phương án ví dụ của sáng chế có thể là mỹ phẩm. Mỹ phẩm chứa môi trường hoặc gốc có thể chấp nhận được về mặt mỹ phẩm hoặc dùng ngoài da. Chế phẩm có thể được cung cấp ở dạng bào chế có thể dùng tại chỗ bất kỳ, ví dụ, dung dịch, gel, chất rắn, bột nhão khan, nhũ tương dầu

trong nước, huyền phù, vi nhũ tương, vi nang, vi hạt, thể phân tán dạng túi ion (liposom) hoặc không ion, kem, thuốc xức ngoài da, bột, thuốc mỡ, dạng phun hoặc miếng dán kín. Chế phẩm có thể được điều chế theo phương pháp được dùng theo cách thông thường trong lĩnh vực này. Chế phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng ở dạng chế phẩm dạng bột hoặc chế phẩm dạng sol khí còn chứa chất nổ đẩy được nén.

Mỹ phẩm theo phương án ví dụ của sáng chế là không bị hạn chế một cách cụ thể về các dạng bào chế. Ví dụ, nó có thể được điều chế ở bào chế mỹ phẩm như thuốc xức ngoài da làm mềm, thuốc xức ngoài da làm se, thuốc xức ngoài da dưỡng da, kem dưỡng, kem xoa bóp, tinh chất, kem dùng cho mắt, tinh chất dùng cho mắt, kem tẩy trang, bột tẩy trang, nước tẩy trang, gói, bột, thuốc xức ngoài da dùng toàn thân, kem dùng toàn thân, dầu dùng toàn thân, tinh chất dùng toàn thân, v.v..

Khi dạng bào chế mỹ phẩm theo sáng chế là dạng bột nhão, kem hoặc gel thì dầu động vật, dầu thực vật, sáp, parafin, tinh bột, tragacan, dẫn xuất xenluloza, polyetylen glycol, silicon, bentonit, silic oxit, bột talc, kẽm oxit, v.v. có thể được sử dụng làm chất mang.

Khi dạng bào chế mỹ phẩm theo sáng chế là dạng bột hoặc dạng phun thì lactoza, bột talc, silic oxit, nhôm hydroxit, canxi silicat hoặc bột polyamit có thể được sử dụng làm chất mang. Đặc biệt là, dạng phun còn có thể chứa chất nổ đẩy như cloflohydrocacbon, propan/butan hoặc dimetyl ete.

Khi dạng bào chế mỹ phẩm theo sáng chế là dạng dung dịch hoặc nhũ tương thì dung môi, chất hoà tan hoặc chất nhũ tương có thể được sử dụng làm chất mang. Các ví dụ bao gồm nước, etanol, isopropanol, etyl cacbonat, etyl axetat, rượu benzylic, benzyl benzoat, propylen glycol, 1,3-butylen glycol, este béo glyxerol, polyetylen glycol hoặc este của axit béo sorbitan.

Khi dạng bào chế mỹ phẩm theo sáng chế là dạng huyền phù, thì chất pha loãng dạng lỏng như nước, etanol hoặc propylen glycol, chất tạo huyền phù như rượu isostearylic được etoxyl hoá, este polyoxyetylen sorbitol và este polyoxyetylen sorbitan, xenluloza dạng vi tinh thể, nhôm metahydroxit, bentonit, thạch, tragacan, v.v.

có thể được sử dụng làm chất mang.

Khi dạng bào chế mỹ phẩm theo sáng chế là chất tẩy rửa chứa chất hoạt động bề mặt thì sulfat rượu béo, ete sulfat rượu béo, monoeste của axit sulfosuxinic, isethionat, dẫn xuất imidazolini, metyl taurat, sarcosinat, amit ete sulfat của axit béo, alkyl amidobetain, rượu béo, glyxerit của axit béo, dietanolamit của axit béo, dầu thực vật, dẫn xuất lanolin, este của axit béo glyxerol được etoxyl hoá, v.v. có thể được sử dụng làm chất mang.

Theo phương án ví dụ của sáng chế, hàm lượng của hoạt chất là không bị hạn chế một cách cụ thể. Chế phẩm có thể chứa từ 0,001 đến 20% theo trọng lượng phần chiết làm hoạt chất dựa trên tổng trọng lượng của chế phẩm. Hiệu quả tốt hơn có thể đạt được mà không có các tác dụng phụ khi hàm lượng trên đây được thoả mãn.

Mỹ phẩm theo phương án ví dụ của sáng chế còn có thể bao gồm, ngoài phần chiết làm hoạt chất, chất phụ gia chức năng và hoạt chất thường được chứa trong mỹ phẩm. Chất phụ gia chức năng có thể bao gồm hoạt chất được chọn từ nhóm gồm có vitamin có thể hoà tan trong nước, vitamin có thể hoà tan trong dầu, polypeptit, polysacarit, sphingolipit và phần chiết từ tảo biển.

Nếu cần, mỹ phẩm theo khía cạnh của sáng chế còn có thể chứa hoạt chất thường được chứa trong mỹ phẩm cùng với chất phụ gia chức năng. Hoạt chất này có thể bao gồm dầu, chất béo, chất giữ độ ẩm, chất làm mềm, chất hoạt động bề mặt, sắc tố hữu cơ hoặc vô cơ, bột hữu cơ, chất hấp thụ tia cực tím, chất khử trùng, chất chống oxy hoá, phần chiết thực vật, chất điều chỉnh độ pH, rượu, chất tạo màu, chất tạo hương, chất kích thích tuần hoàn máu, chất làm mát, chất chống chảy nhiều mồ hôi, nước tinh khiết, v.v..

Ngoài ra, chế phẩm theo phương án ví dụ của sáng chế để thúc đẩy mọc tóc và sinh trưởng tóc có thể là chế phẩm dùng ngoài da. Chế phẩm dùng ngoài da là thuật ngữ chung bao gồm tác nhân bất kỳ mà có thể được dùng cho da từ phía ngoài. Mỹ phẩm và dược chất ở các dạng bào chế khác nhau có thể được bao gồm trong đó.

Ngoài ra, chế phẩm thúc đẩy mọc tóc và sinh trưởng tóc theo phương án ví dụ

của sáng chế có thể là thực phẩm tốt cho sức khỏe. Cụ thể là, thực phẩm tốt cho sức khỏe của sáng chế có thể chứa phần chiết thu được từ nhân sâm chứa ginsenosit Rb2, Rc, Re và Rg1 làm hoạt chất với lượng nằm trong khoảng từ 0,001 đến 20% theo trọng lượng dựa trên tổng trọng lượng của chế phẩm. Khi hàm lượng của phần chiết nhỏ hơn 0,001% theo trọng lượng, tác dụng mong muốn có thể không đạt được một cách đầy đủ. Và khi nó vượt quá 20% theo trọng lượng, hiệu quả cộng hợp của hoạt chất có thể bị giảm.

Thực phẩm tốt cho sức khỏe theo phương án ví dụ của sáng chế có thể được điều chế thành dạng lỏng hoặc dạng rắn như viên nén, viên nang, viên nang mềm, viên thuốc tròn, hạt, đồ uống, thanh khẩu phần ăn, sôcôla, caramen, bánh kẹo, v.v, nhưng không bị hạn chế một cách cụ thể trong chế phẩm. Thực phẩm tốt cho sức khỏe của sáng chế còn có thể chứa, ngoài hoạt chất, tá dược, đường, chất tạo hương, chất tạo màu, dầu, chất béo, protein, v.v, nếu cần.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả chi tiết qua các ví dụ và ví dụ thử nghiệm. Tuy nhiên, các ví dụ và ví dụ thử nghiệm sau đây chỉ nhằm mục đích minh họa và phạm vi của sáng chế không bị giới hạn bởi các ví dụ này.

Ngoài ra, sẽ rõ ràng đối với người có hiểu biết trong lĩnh vực này mà các thay đổi và biến đổi khác nhau có thể được tạo ra mà không tách rời phạm vi của sáng chế được xác định trong các điểm yêu cầu bảo hộ kèm theo.

Ví dụ 1. Điều chế phần chiết thu được từ nhân sâm chứa CÁC ginsenosit Rb2, Rc, Rg1 và Re có các nồng độ gia tăng.

Rửa nhân sâm (Geumsan ginseng, thu được từ Geumsaninsam Nonghyup) bằng nước tinh khiết, làm khô và sau đó nghiền thành bột mịn. Bỏ sung 2g bột nhân sâm thu được vào 20mL etanol nồng độ 50% và sau đó chiết trong tổng cộng 2 giờ bằng việc đặt áp suất lặp lại và sau đó giảm áp suất bằng cách sử dụng thiết bị chiết chuyển đổi áp suất trong 30 phút mỗi lần bằng cách sử dụng thiết bị chiết chuyển đổi áp suất. Áp suất khi đặt áp suất bằng 2kgf/cm^2 và áp suất khi giảm áp bằng $600 \pm$

50mmHg ($79980 \pm 6665\text{Pa}$). Nhiệt độ chiết được thiết lập đến 75°C . Lọc phần chiết thu được từ nhân sâm thu được từ quy trình chiết chuyển đổi áp suất và làm khô dịch nổi dưới áp suất giảm. Hoà tan sản phẩm khô thu được (trọng lượng khô = 0,57g) trong nước và chiết bằng etyl axetat. Sau khi loại bỏ lớp etyl axetat, chiết lớp chứa nước bằng butanol và sau đó làm khô dưới áp suất giảm (trọng lượng khô = 2,7g).

Phân tích ginsenosit được chứa trong phần chiết thu được từ nhân sâm của Ví dụ 1 bằng HPLC sử dụng dụng cụ phân tích và điều kiện phân tích sau đây. Dựa trên kết quả này, hàm lượng của mỗi hoạt chất ginsenosit được chứa trong phần chiết được tính toán theo đơn vị % theo trọng lượng. Kết quả được thể hiện trong bảng 2 và Fig.2.

Dụng cụ phân tích và điều kiện phân tích HPLC

Dụng cụ: bộ phát hiện Waters 2998 PDA, bơm 1525, bộ lấy mẫu tự động 2707.

Cột: Sun fire C18 305 μm , 4,6 x 150mm.

Bộ phát hiện: tia cực tím 203nm.

Tốc độ dòng: 1mL/phút.

Thể tích tiêm: 20 μL .

Điều kiện: gradient (A: nước, B: axetonitril).

Bảng 1

Thời gian (phút)	A (nước)	B (axetonitril)
0	82	18
22	82	18
32	70	30
60	50	50

Bảng 2

Phần chiết thu được từ nhân sâm (Ví dụ 1)	Hàm lượng (%)					
	Rg1	Re	Rb1	Rc	Rb2	Rd
	2,1	6,23	3,52	3,14	2,91	1,58

Như được thấy từ bảng 2 và Fig.2, phần chiết thu được từ nhân sâm của Ví dụ

1 theo sáng chế chứa ginsenosit Rb2 với lượng 2,91% theo trọng lượng (nghĩa là, lớn hơn hoặc bằng 2,5% theo trọng lượng), ginsenosit Rc với lượng 3,14% theo trọng lượng (nghĩa là, lớn hơn hoặc bằng 3% theo trọng lượng), ginsenosit Re với lượng 6,23% theo trọng lượng (nghĩa là, lớn hơn hoặc bằng 6% theo trọng lượng) và ginsenosit Rg1 với lượng 2,1% theo trọng lượng (nghĩa là, lớn hơn hoặc bằng 2,0% theo trọng lượng).

Ví dụ so sánh 1. Điều chế phần chiết thu được từ nhân sâm thông thường

Rửa nhân sâm (Geumsan ginseng, thu được từ Geumsaninsam Nonghyup) bằng nước tinh khiết, làm khô và sau đó nghiền nhỏ thành bột mịn. Chiết 2g bột nhân sâm thu được bằng 100mL etanol nồng độ 50% ở 75°C trong 2 giờ. Sau khi lọc, làm khô dịch nổi dưới áp suất giảm (trọng lượng khô = 0,30g).

Ginsenosit được chứa trong phần chiết thu được từ nhân sâm của ví dụ so sánh 1 được phân tích bằng HPLC sử dụng cùng dụng cụ phân tích và điều kiện phân tích như trong ví dụ 1. Dựa trên kết quả này, hàm lượng của mỗi hoạt chất ginsenosit được chứa trong phần chiết được tính toán theo đơn vị % theo trọng lượng. Kết quả được thể hiện trong bảng 3 và Fig.3.

Bảng 3

Phần chiết thu được từ nhân sâm (Ví dụ so sánh 1)	Hàm lượng (%)					
	Rg1	Re	Rb1	Rc	Rb2	Rd
	0,14	0,16	0,67	0,55	0,33	0,13

Như được thấy từ bảng 3 và Fig.3, phần chiết thu được từ nhân sâm của ví dụ so sánh 1 chứa ginsenosit Rb2 với lượng 0,33% theo trọng lượng, ginsenosit Rc với lượng 0,55% theo trọng lượng, ginsenosit Re với lượng 0,16% theo trọng lượng và ginsenosit Rg1 với lượng 0,14% theo trọng lượng. Do đó, các tác giả sáng chế đã xác nhận rằng phần chiết thu được từ nhân sâm của ví dụ 1 theo sáng chế chứa nhiều hơn từ 5 đến 15 lần mỗi ginsenosit so với phần chiết thu được từ nhân sâm thông thường. Ngoài ra, các tác giả sáng chế đã xác nhận rằng tổng trọng lượng ginsenosit được chứa trong phần chiết thu được từ nhân sâm của ví dụ 1 theo sáng chế lớn hơn nhiều so với

ví dụ so sánh 1.

Ví dụ thử nghiệm 1. Đánh giá sự biểu hiện của tác nhân sinh trưởng tóc VEGF trong tế bào nhú bì

Sự biểu hiện của nhân tố sinh trưởng nội mô mạch (vascular endothelial growth factor-VEGF) mà là nhân tố sinh trưởng cần thiết đối với sự hình thành mạch máu để chuyển tiếp sang giai đoạn tăng trưởng của chu kỳ tóc được đánh giá sau khi áp dụng phần chiết thu được từ nhân sâm bằng cách sử dụng hệ in-vitro.

Tạo hạt tế bào nhú bì mật độ 4×10^5 (DPC) (P.11) của nam giới trưởng thành 47 tuổi trên đĩa 12 giếng và nuôi cấy qua đêm trong môi trường Eagle biến đổi Dulbecco (Dulbecco's modified Eagle's medium-DMEM) chứa 10% huyết thanh nhau thai bò (fetal bovine serum-FBS). Sau đó, xử lý tế bào bằng phần chiết thu được từ nhân sâm nồng độ 20ppm của ví dụ 1 hoặc ví dụ so sánh 1. DMSO được sử dụng làm nhóm đối chứng âm tính. Sau 24 giờ, canh trường tế bào được xử lý với phần chiết của ví dụ 1 hoặc ví dụ so sánh 1 được gom lại và nghiên cứu mức biểu hiện của VEGF sử dụng kit VEGF ELISA (thử nghiệm hấp thụ miễn dịch liên kết enzym nhân tố sinh trưởng nội mô mạch; R&D Biosystems). Các kết quả được thể hiện trên Fig.4.

Như được thấy trên Fig.4, phần chiết thu được từ nhân sâm thông thường của ví dụ so sánh 1 thể hiện sự khác nhau không đáng kể với nhóm đối chứng không được xử lý bằng phần chiết thu được từ nhân sâm. Ngược lại, phần chiết thu được từ nhân sâm của ví dụ 1 theo sáng chế gia tăng sự biểu hiện của nhân tố sinh trưởng tóc VEGF trong tế bào nhú bì khoảng 3 lần ở cùng nồng độ của phần chiết thu được từ nhân sâm của ví dụ so sánh 1. Tức là có thể nói rằng, phần chiết thu được từ nhân sâm của Ví dụ 1 mà chứa ginsenosit Rb2, Rc, Rg1, v.v., với lượng lớn hơn so với phần chiết thu được từ nhân sâm thông thường của Ví dụ so sánh 1 gia tăng một cách hữu hiệu sự biểu hiện của nhân tố sinh trưởng tóc VEGF trong tế bào nhú bì. Do đó, các tác giả sáng chế đã xác nhận rằng phần chiết thu được từ nhân sâm theo sáng chế có tác dụng thúc đẩy sự mọc tóc tốt hơn.

Ví dụ thử nghiệm 2. Đánh giá sự tăng sinh của tế bào nhú bì

Protein keratin mà cấu thành tóc được tạo ra bởi tế bào keratin ở chân tóc và tế bào keratin được biệt hoá từ tế bào nhú bì. Do đó, nếu phân chiết thu được từ nhân sâm theo sáng chế có thể thúc đẩy hoạt tính của tế bào nhú bì, thì sẽ có khả năng thúc đẩy hoạt tính của tế bào keratin được biệt hoá từ đó và có thể thúc đẩy mọc tóc.

Do đó, hiệu quả của phân chiết thu được từ nhân sâm đối với sự thúc đẩy hoạt động của tế bào nhú bì được tính toán như sau.

Dòng tế bào nhú bì của người được sử dụng cho thử nghiệm. Dòng tế bào được nuôi cấy trong môi trường Eagle cải biến Dulbecco (DMEM; Gibco BRL, Gaithersburg, MD, USA) chứa 10% huyết thanh bào thai bò (FBS) trong 24 giờ trong thiết bị ủ được duy trì ở điều kiện CO₂ 5% và nhiệt độ 37°C và sau đó xử lý bằng phân chiết thu được từ nhân sâm của ví dụ 1 ở 10 phần triệu (part-per million ppm) hoặc 20ppm hoặc bằng phân chiết thu được từ nhân sâm của ví dụ so sánh 1 ở 20ppm. DMSO được sử dụng làm nhóm đối chứng âm tính. Sau 24 giờ xử lý bằng chất thử nghiệm, sự tăng sinh tế bào (%) được đo bằng cách sử dụng kit WST-1 (Roche). Các kết quả được thể hiện trên Fig.5.

Như thấy từ Fig.5, phân chiết thu được từ nhân sâm của ví dụ 1 theo sáng chế gia tăng một cách đáng kể sự tăng sinh của tế bào ở 10ppm và 20ppm. Cụ thể là, sự tăng sinh của tế bào nhú bì được gia tăng khoảng 1,5 lần khi chúng được xử lý bằng phân chiết thu được từ nhân sâm của ví dụ 1 ở 10ppm so với khi tế bào được xử lý bằng phân chiết thu được từ nhân sâm thông thường của ví dụ so sánh 1 ở 20ppm. Thực tế rằng phân chiết thu được từ nhân sâm theo sáng chế có thể thúc đẩy sự tăng sinh của tế bào nhú bì tốt hơn so với phân chiết thu được từ nhân sâm thông thường đang tồn tại, điều này có nghĩa rằng phân chiết thu được từ nhân sâm theo sáng chế có thể thúc đẩy một cách hữu hiệu hoạt động của tế bào keratin và sự mọc tóc.

Ví dụ thử nghiệm 3. Đánh giá hiệu quả thúc đẩy sinh trưởng tóc bằng cách sử dụng nang tóc của người

Hiệu quả thúc đẩy sinh trưởng tóc của phân chiết thu được từ nhân sâm của sáng chế được đánh giá bằng cách sử dụng nang tóc của người.

Đầu tiên, tế bào nhú bì được xử lý bằng mỗi ginsenosit Rb1, Rb2, Rc, Rd, Re và Rg1, mà là hoạt chất chính của phần chiết thu được từ nhân sâm, ở 0,1 μ M hoặc 1 μ M theo cách tương tự như trong ví dụ thử nghiệm 2. Sau 24 giờ, sự tăng sinh tế bào (%) được đo bằng cách sử dụng kit WST-1 (Roche). Các kết quả được thể hiện trên Fig.6.

Tiếp theo, các nang tóc được tách biệt với nhau ra khỏi mô da đầu ở vùng cằm của nam giới trưởng thành 55 tuổi và nuôi cấy trong môi trường William (L-glutamin 2mM, insulin 10 μ g/mL, hydrocortison 40ng/mL, thuốc kháng sinh 1%, chất kháng nấm 1%). Sau 3 ngày, cắt mô nang tóc mà đã được sinh trưởng tới kích cỡ 3mm và sau đó xử lý bằng giả thuốc (đối chứng), bằng phần chiết thu được từ nhân sâm của ví dụ 1 ở 2ppm hoặc 5ppm hoặc bằng phần chiết thu được từ nhân sâm của ví dụ so sánh 1 ở 5ppm. Sau 8 ngày xử lý, đo mô nang tóc và chụp ảnh. Ngoài ra, theo cách tương tự như được mô tả trên đây, xử lý mô nang tóc bằng mỗi ginsenosit Rb1, Rb2, Rc, Rd, Re và Rg1, phần chiết thu được từ nhân sâm của ví dụ so sánh 1 và phần chiết thu được từ nhân sâm của ví dụ 1 ở 5ppm. Các kết quả được thể hiện trên các hình vẽ Fig.7 và Fig.8.

Như được thấy trên Fig.6, ginsenosit Rb1, Rc và Rg1 thể hiện hiệu quả thúc đẩy sinh trưởng tóc rõ rệt và đáng kể về mặt thống kê trong số các ginsenosit.

Ngoài ra, như được thấy trên Fig.7, mô nang tóc được xử lý bằng phần chiết thu được từ nhân sâm của ví dụ 1 ở 5ppm thể hiện hiệu quả thúc đẩy sinh trưởng tóc tốt hơn về chiều dài tóc gia tăng so với phần chiết thu được từ nhân sâm của ví dụ so sánh 1 hoặc đối chứng. Cụ thể là, ví dụ so sánh 1 thể hiện chiều dài sinh trưởng trung bình nhỏ hơn so với nhóm đối chứng. Như thấy trên Fig.8, mặc dù ginsenosit Rb1, Rb2, Rc, Rd, Re và Rg1 cũng có chiều dài sinh trưởng trung bình lớn hơn so với ví dụ so sánh 1, ví dụ 1 thể hiện chiều dài sinh trưởng trung bình lớn nhất.

Do đó, dựa vào các kết quả của các Fig.6, Fig.7 và Fig.8, có thể thấy được rằng phần chiết thu được từ nhân sâm theo sáng chế có hiệu quả thúc đẩy sinh trưởng tóc trong nang tóc tốt hơn bởi vì nó chứa ginsenosit Rb1, Rc và Rg1 có hiệu quả thúc đẩy sinh trưởng tóc ở các nồng độ gia tăng khi so với phần chiết thu được từ nhân sâm

thông thường đang tồn tại.

Ví dụ thử nghiệm 4. Thử nghiệm lâm sàng đối với người bệnh bị rụng tóc

Nữ giới trưởng thành có độ tuổi nằm trong khoảng từ 20 đến 60 bị rụng tóc được chia thành nhóm thử nghiệm (ví dụ 1) và nhóm đối chứng, với 23 người mỗi nhóm. Mỗi nhóm được yêu cầu bôi tinh chất dành cho da đầu chứa 2% phần chiết thu được từ nhân sâm của ví dụ 1 hoặc nhóm đối chứng bôi tinh chất dành cho da đầu đối chứng không chứa phần chiết vào vùng rụng tóc một lần một ngày vào buổi tối. Trong 16 tuần, hiệu quả ngăn ngừa rụng tóc và thúc đẩy sinh trưởng tóc được đánh giá theo chủ đích bởi các đối tượng thử nghiệm, theo cách khách quan bởi nhà nghiên cứu dựa vào ảnh chụp và sử dụng phương pháp không xâm lấn làm phương pháp đánh giá tóc không xâm lấn với mật độ tóc, độ dày tóc, tốc độ sinh trưởng tóc và số lượng tóc bị rụng do các biến đổi sinh học. Thử nghiệm được thiết kế như nghiên cứu lâm sàng so sánh ngẫu nhiên, mù đôi. Các kết quả được thể hiện trong các bảng từ 4 đến 8.

Mật độ tóc của ví dụ 1 và nhóm đối chứng được so sánh trong bảng 4. Ví dụ 1, mật độ tóc gia tăng một cách đáng kể bằng 5,485% và 7,409% lần lượt ở 8 và 16 tuần. Tỷ lệ các đối tượng được thử nghiệm đã cải thiện là 86,364% và 86,364% lần lượt ở 8 và 16 tuần. Ngược lại, đối với nhóm đối chứng, mật độ tóc tăng 1,615% và 1,334% lần lượt ở 8 và 16 tuần.

Tốc độ sinh trưởng tóc của ví dụ 1 và nhóm đối chứng được so sánh trong bảng 4. Ví dụ 1, tốc độ sinh trưởng tóc gia tăng một cách đáng kể bằng 3,218% và 8,783% lần lượt ở 8 và 16 tuần. Tỷ lệ đối tượng được thử nghiệm đã cải thiện là 68,182% và 81,818% lần lượt ở 8 và 16 tuần. Ngược lại, đối với nhóm đối chứng, tốc độ sinh trưởng tóc gia tăng 2,480% và giảm 1,142% lần lượt ở 8 và 16 tuần.

Bảng 4

	Trung bình $\pm$ STDEV	Cải thiện (%)	Tỷ lệ đối tượng được thử nghiệm đã cải thiện (%)	Sự khác biệt đáng kể so với trước khi sử dụng (trị số p)	Sự khác biệt đáng kể so với đối chứng (trị số p)

Ví dụ 1	Trước	8 tuần	16 tuần	8 tuần	16 tuần	8 tuần	16 tuần	8 tuần	16 tuần	8 tuần	16 tuần
Mật độ (n/cm ²)	111,045 ± 20,285	117,136 ± 19,833	119,273 ± 19,452	5,485	7,409	86,364	86,364	0,000*	0,000*	0,008 #	0,001 #
Tốc độ sinh trưởng (µm/ngày)	0,292 ± 0,056	0,301 ± 0,080	0,318 ± 0,044	3,218	8,783	68,182	81,818	0,098	0,004*	0,496	0,025**
Đối chứng	Trước	8 tuần	16 tuần	8 tuần	16 tuần	8 tuần	16 tuần	8 tuần	16 tuần	8 tuần	16 tuần
Mật độ (n/cm ²)	123,826 ± 18,968	125,826 ± 23,796	125,478 ± 25,293	1,615	1,334	47,826	43,478	0,267	0,444	N.A	N.A
Tốc độ sinh trưởng (µm/ngày)	0,289 ± 0,047	0,297 ± 0,042	0,286 ± 0,046	2,480	-1,142	50,000	45,455	0,471	0,732	N.A	N.A

*: Thử nghiệm t mẫu ghép cặp, $p < 0,05$.

** : Thử nghiệm t mẫu độc lập, $p < 0,05$.

: Thử nghiệm Mann-Whitney U, $p < 0,05$.

Độ dày của tóc của ví dụ 1 và nhóm đối chứng được so sánh trong bảng 5. Ví dụ 1, độ dày của tóc gia tăng một cách đáng kể bằng 1,526%, 2,611%, 4,782% và 7,178% lần lượt ở 2, 4, 8 và 16 tuần. Tỷ lệ đối tượng được thử nghiệm đã cải thiện là 72,727%, 81,818%, 95,455% và 95,455% lần lượt ở 2, 4, 8 và 16 tuần. Ngược lại, đối với nhóm đối chứng, độ dày của tóc giảm 0,903%, 0,765%, 0,595% và 1,084% lần lượt ở 2, 4, 8 và 16 tuần.

Bảng 5

	Trung bình ± STDEV		Sự cải thiện (%)		Tỷ lệ đối tượng được thử nghiệm đã cải thiện (%)		Sự khác nhau đáng kể so với trước khi sử dụng (trị số p)		Sự khác nhau đáng kể so với đối
Độ dày	Ví dụ 1	Đối	Ví dụ 1	Đối	Ví dụ 1	Đối	Ví dụ 1	Đối	

(μm)		chứng		chứng		chứng		chứng	chứng (trị số p)
Trước	$0,080 \pm 0,010$	$0,082 \pm 0,011$	N.A	N.A	N.A	N.A	N.A	N.A	N.A
2 tuần	$0,082 \pm 0,011$	$0,081 \pm 0,011$	1,526	-0,903	72,727	34,783	0,021†	0,084	0,002 #
4 tuần	$0,083 \pm 0,011$	$0,081 \pm 0,010$	2,611	-0,765	81,818	52,174	0,001†	0,235	0,001 #
8 tuần	$0,084 \pm 0,012$	$0,081 \pm 0,011$	4,782	-0,595	95,455	43,478	0,000†	0,134	0,000 #
16 tuần	$0,086 \pm 0,012$	$0,081 \pm 0,010$	7,178	-1,084	95,455	52,174	0,000*	0,218	0,000 #

*: Thử nghiệm t mẫu ghép cặp, $p < 0,05$.

†: Thử nghiệm khoảng dấu hiệu Wilcoxon, $p < 0,05$.

#: Thử nghiệm Mann-Whitney U, $p < 0,05$.

Số lượng tóc bị rụng của ví dụ 1 và nhóm đối chứng được so sánh trong bảng 6. Với ví dụ 1, số lượng tóc bị rụng gia tăng 1,589% ở 4 tuần, giảm 4,849% ở 8 tuần và giảm 33,278% ở 16 tuần. Việc giảm ở 16 tuần là đáng kể. Tỷ lệ đối tượng được thử nghiệm đã cải thiện là 50,000%, 54,545% và 72,727% lần lượt ở 4, 8 và 16 tuần. Ngược lại, đối với nhóm đối chứng, số lượng tóc bị rụng gia tăng 26,721% ở 4 tuần, giảm 1,953% ở 8 tuần và gia tăng 2,364% ở 16 tuần.

Bảng 6

	Trung bình $\pm$ STDEV		Sự cải thiện (%)		Tỷ lệ đối tượng được thử nghiệm đã cải thiện (%)		Sự khác nhau đáng kể so với trước khi sử dụng (trị số p)		Sự khác nhau đáng kể so với đối chứng (trị số p)
Số lượng tóc bị rụng (ea)	Ví dụ 1	Đối chứng	Ví dụ 1	Đối chứng	Ví dụ 1	Đối chứng	Ví dụ 1	Đối chứng	
Trước	54,364 $\pm$ 29,589	42,304 $\pm$ 20,328	N.A	N.A	N.A	N.A	N.A	N.A	N.A
4 tuần	55,227 $\pm$ 28,846	53,609 $\pm$ 38,577	1,589	26,721	50,000	43,478	0,903	0,102	0,452
8 tuần	51,727 $\pm$ 36,482	41,478 $\pm$ 25,472	-4,849	-1,953	54,545	43,478	0,733	0,870	0,776
16 tuần	36,273 $\pm$ 23,511	43,304 $\pm$ 34,189	-33,278	2,364	72,727	52,174	0,006*	0,833	0,047**

*: Thử nghiệm t mẫu ghép cặp, $p < 0,05$.

** : Thử nghiệm t mẫu độc lập, $p < 0,05$.

Kết quả của việc đánh giá bằng mắt thường về cải thiện rụng tóc của ví dụ 1 và nhóm đối chứng được so sánh trong bảng 7. Với ví dụ 1, điểm số cải thiện sự rụng tóc gia tăng 0,045, 0,318 và 0,364 lần lượt ở 4, 8 và 16 tuần. Sự cải thiện ở 8 và 16 tuần là đáng kể. Tỷ lệ đối tượng được thử nghiệm đã cải thiện là 9,091%, 22,727% và 36,364% lần lượt ở 4, 8 và 16 tuần. Ngược lại, đối với nhóm đối chứng, điểm số cải thiện sự rụng tóc giảm 0,130, gia tăng 0,087 và giảm 0,087 lần lượt ở 4, 8 và 16 tuần. Tỷ lệ đối tượng được thử nghiệm đã cải thiện là 0,000%, 17,391% và 17,39% lần lượt ở 4, 8 và 16 tuần.

Bảng 7

	Trung bình $\pm$ STDEV		Tỷ lệ đối tượng được thử nghiệm đã cải thiện (%)		Sự khác nhau đáng kể so với trước khi sử dụng (trị số p)		Sự khác nhau đáng kể so với đối chứng (trị số p)
Cải thiện sự rụng tóc (điểm số)	Ví dụ 1	Đối chứng	Ví dụ 1	Đối chứng	Ví dụ 1	Đối chứng	
Trước	0,000 $\pm$ 0,000	0,000 $\pm$ 0,000	N.A	N.A	N.A	N.A	N.A
4 tuần	0,045 $\pm$ 0,375	-0,130 $\pm$ 0,344	9,091	0,000	0,564	0,083	0,110
8 tuần	0,318 $\pm$ 0,646	0,087 $\pm$ 0,515	22,727	17,391	0,038†	0,414	0,297
16 tuần	0,364 $\pm$ 0,790	-0,087 $\pm$ 0,848	36,364	17,391	0,046†	0,627	0,070

†: Thử nghiệm khoảng dấu hiệu Wilcoxon, $p < 0,05$.

✖ Đánh giá bằng mắt thường của việc cải thiện sự rụng tóc: cải thiện rất lớn (3), cải thiện (2), cải thiện không đáng kể (1), không có sự khác biệt (0), kém không đáng kể (-1), kém (-2), rất kém (-3).

✖ Tốc độ cải thiện có thể không được tính toán bởi vì điểm số cải thiện sự rụng tóc trước khi sử dụng bằng 0. Do đó, tỷ lệ đối tượng được thử nghiệm đã cải thiện được đánh giá tốt hơn so với tốc độ cải thiện.

Kết quả đánh giá đối tượng về sự cải thiện bởi các đối tượng của ví dụ 1 và nhóm đối chứng được so sánh trong bảng 8. Ví dụ 1, 40,9% và 63,6% đối tượng đáp ứng tích cực lần lượt ở 8 và 16 tuần và chỉ có 0,0% và 4,4% đáp ứng tiêu cực lần lượt ở 8 và 16 tuần. Đối với nhóm đối chứng, 52,1% và 39,1% đối tượng đáp ứng tích cực lần lượt ở 8 và 16 tuần và 0,0% và 8,7% đáp ứng tiêu cực lần lượt ở 8 và 16 tuần.

Bảng 8

	Trung bình $\pm$ STDEV		Đáp ứng tích cực (%)		Đáp ứng tiêu cực (%)		Sự khác nhau đáng kể so với đối chứng (trị số p)	
Ví dụ 1	8 tuần	16 tuần	8 tuần	16 tuần	8 tuần	16 tuần	8 tuần	16 tuần
Cải thiện sự rụng tóc (điểm số)	2,455 $\pm$ 0,596	2,727 $\pm$ 0,767	40,909	63,636	0,000	4,545	0,486	0,087
Đối chứng	8 tuần	16 tuần	8 tuần	16 tuần	8 tuần	16 tuần	8 tuần	16 tuần
Cải thiện sự rụng tóc (điểm số)	2,565 $\pm$ 0,590	2,348 $\pm$ 0,714	52,174	39,130	0,000	8,696	N.A	N.A

※ Đánh giá đối tượng về sự cải thiện bởi đối tượng: rất tốt (4), tốt (3), vừa phải (2), kém (1), rất kém (0).

※ Đáp ứng tích cực (%): tỷ lệ của đối tượng mà đáp ứng rất tốt (4) hoặc tốt (3).

※ Đáp ứng tiêu cực (%): tỷ lệ của đối tượng mà đáp ứng kém (1) hoặc rất kém (0).

Để kết luận, phần chiết thu được từ nhân sâm của ví dụ 1 theo sáng chế thể hiện tác dụng ngăn ngừa rụng tóc và thúc đẩy sinh trưởng tóc ưu việt bằng cách chỉ sử dụng một lần một ngày.

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả chi tiết thông qua các ví dụ bào chế. Tuy nhiên, các ví dụ sau đây chỉ nhằm mục đích minh họa và phạm vi của sáng chế không bị giới hạn ở các ví dụ này.

Ví dụ bào chế 1. Dầu gội đầu ở dạng bào chế dùng ngoài da

Dầu gội đầu được điều chế theo phương pháp được dùng thông thường với chế phẩm được mô tả trong bảng 9.

Bảng 9

Thành phần	Hàm lượng (% theo trọng lượng)
Phần chiết của Ví dụ 1	2,00
Natri lauryl sulfat	10,00
Cocamidopropyl betain	3,00
Cacboxyvinyl polyme	0,30
Polyquaternium-10	0,20
Xetyl trimetyl amoni clorua	0,10
Nước tinh khiết	cân bằng
Tổng cộng	100,00

Ví dụ bào chế 2. Dung dịch chăm sóc tóc như dạng bào chế dùng ngoài da

Dung dịch chăm sóc tóc được tạo ra theo phương pháp được dùng thông thường với chế phẩm được mô tả trong bảng 10.

Bảng 10

Thành phần	Hàm lượng (% theo trọng lượng)
Phần chiết của ví dụ 1	2,00
Rượu xetylic	2,00
Rượu stearylic	2,50
Rượu behenylic	0,50
Nhũ tương silic	0,40
Xyclomethicon	1,00
Dimetyl stearyl amoni clorua	0,10
Nước tinh khiết	cân bằng
Tổng cộng	100,00

Ví dụ bào chế 3. Thuốc mỡ như dạng bào chế dùng ngoài da

Thuốc mỡ được điều chế theo phương pháp được dùng thông thường với chế phẩm được mô tả trong bảng 11.

Bảng 11

Thành phần	Hàm lượng (% theo trọng lượng)
Phần chiết của Ví dụ 1	2,00
Glyxerin	8,00
Butylen glycol	4,00
Parafin dạng lỏng	15,00
β -Glucan	7,00
Carbome	0,10
Triglyxerit của caprylic/capric	3,00
Squalan	1,00
Xetearyl glucosit	1,50
Sorbitan stearat	0,40
Tụ hợp xetearyllic	1,00
Sáp ong	4,00
Nước tinh khiết	cân bằng
Tổng cộng	100,00

Ví dụ bào chế 4. Thuốc xức ngoài da

Thuốc xức ngoài da được điều chế theo phương pháp được dùng thông thường với chế phẩm được mô tả trong bảng 12.

Bảng 12

Thành phần	Hàm lượng (% theo trọng lượng)
Phần chiết của Ví dụ 1	2,00
Muối 2-phosphat magie của axit L-ascorbic	1,00
Colagen có thể hoà tan trong nước (1% dung dịch trong nước)	1,00
Natri xitrat	0,10
Axit xitric	0,05
Phần chiết cam thảo	0,20
1,3-Butylen glycol	3,00
Nước tinh khiết	cân bằng
Tổng cộng	100,00

Ví dụ bào chế 5. Kem

Kem được điều chế theo phương pháp được dùng thông thường với chế phẩm được mô tả trong bảng 13.

Bảng 13

Thành phần	Hàm lượng (% theo trọng lượng)
Phần chiết của Ví dụ 1	2,00
Polyetylen glycol monostearat	2,00
Glyxeryl monostearat tự tạo nhũ tương	5,00
Rượu xetylic	4,00
Squalan	6,00
Glyxeryl tri(2-etylhexanoat)	6,00
Sphingoglycolipit	1,00

1,3-Butylen glycol	7,00
Nước tinh khiết	cân bằng
Tổng cộng	100,00

Ví dụ bào chế 6. Gói

Gói được điều chế theo phương pháp được dùng thông thường với chế phẩm được mô tả trong bảng 14.

Bảng 14

Thành phần	Hàm lượng (% theo trọng lượng)
Phần chiết của Ví dụ 1	2,00
Rượu polyvinyllic	13,00
Muối 2-phosphat magie của axit L-ascorbic	1,00
Lauroyl hydroxyprolin	1,00
Colagen có thể hoà tan trong nước (1% dung dịch trong nước)	2,00
1,3-Butylen glycol	3,00
Etanol	5,00
Nước tinh khiết	cân bằng
Tổng cộng	100,00

Ví dụ bào chế 7. Dung dịch chăm sóc sắc đẹp

Dung dịch chăm sóc sắc đẹp được điều chế theo phương pháp được dùng thông thường với chế phẩm được mô tả trong bảng 15.

Bảng 15

Thành phần	Hàm lượng (% theo trọng lượng)
Phần chiết của Ví dụ 1	2,00
Hydroxyetylen xenluloza (2% dung dịch trong nước)	12,00
Gom xanthan (2% dung dịch trong nước)	2,00
1,3-Butylen glycol	6,00
Glyxerin đặc	4,00
Natri hyaluronat (1% dung dịch trong nước) 5,00	5,00
Nước tinh khiết	cân bằng
Tổng cộng	100,00

Ví dụ bào chế 8. Viên nang mềm

Viên nang mềm được điều chế theo phương pháp được dùng thông thường bằng cách trộn phần chiết của ví dụ 1 với lượng 50mg, L-carnitin với lượng từ 80 đến 140mg, dầu đậu tương với lượng 180mg, dầu cọ với lượng 2mg, dầu thực vật được hydro hoá với lượng 8mg, sáp ong vàng với lượng 4mg và lexithin với lượng 6mg và làm đầy 400mg hỗn hợp vào viên nang.

Ví dụ bào chế 9. Viên nén

Trộn phần chiết của ví dụ 1 với lượng 50mg, galactooligosacarit với lượng 200mg, lactoza với lượng 60mg và maltoza với lượng 140mg và tạo hạt bằng cách sử dụng máy sấy tầng sôi. Sau khi bổ sung đường este với lượng 6mg vào, hạt được tạo ra thành viên nén bằng cách sử dụng máy tạo viên nén.

Ví dụ bào chế 10. Hạt

Trộn phần chiết của ví dụ 1 với lượng 50mg, glucoza dạng tinh thể khan với lượng 250mg và tinh bột với lượng 550mg và tạo hạt bằng cách sử dụng máy sấy tầng sôi. Làm đầy hạt thu được vào túi nhỏ.

Ví dụ bào chế 11. Đồ uống

Trộn phần chiết của ví dụ 1 với lượng 50mg, glucoza với lượng 10g, axit xitric với lượng 0,6g và xi-rô oligosacarit với lượng 25g. Sau khi bổ sung nước tinh khiết với lượng 300mL vào, đổ 200mL hỗn hợp vào chai. Vô trùng đồ uống thu được ở 130°C trong từ 4 đến 5 giây.

Hiệu quả đạt được của sáng chế

Chế phẩm thúc đẩy mọc tóc và sinh trưởng tóc theo sáng chế, chế phẩm này chứa ginsenosit Rb2, Rc và Rg1 hoặc Rb2, Rc, Rg1 và Re có các nồng độ gia tăng, có thể có tác dụng thúc đẩy sự mọc tóc và sinh trưởng tóc tốt hơn so với tác dụng của chất kích thích sinh trưởng tóc đang tồn tại.

Ngoài ra, chế phẩm theo sáng chế có độ an toàn tốt hơn bởi vì chế phẩm này sử dụng sản phẩm tự nhiên có nguồn gốc thực vật và do đó có thể được sử dụng như chế phẩm dùng ngoài da để thúc đẩy mọc tóc và sinh trưởng tóc. Ngoài ra, chế phẩm theo sáng chế có thể được sử dụng một cách rộng rãi làm mỹ phẩm, dược phẩm, đồ ăn, v.v..

YÊU CẦU BẢO HỘ

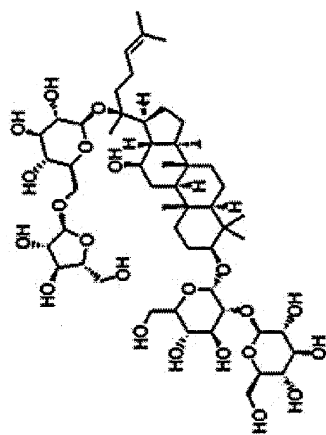
1. Phần chiết thu được từ nhân sâm chứa ginsenosit Rb2 với lượng lớn hơn hoặc bằng 2,5% theo trọng lượng và nhỏ hơn hoặc bằng 4,5% theo trọng lượng, ginsenosit Rc với lượng lớn hơn hoặc bằng 3% theo trọng lượng và nhỏ hơn hoặc bằng 7,5% theo trọng lượng và ginsenosit Rg1 với lượng lớn hơn hoặc bằng 2% theo trọng lượng và nhỏ hơn hoặc bằng 5% theo trọng lượng dựa trên tổng trọng lượng của phần chiết thu được từ nhân sâm.
2. Phần chiết thu được từ nhân sâm theo điểm 1, trong đó phần chiết thu được từ nhân sâm còn chứa ginsenosit Re với lượng lớn hơn hoặc bằng 6% theo trọng lượng và nhỏ hơn hoặc bằng 20% theo trọng lượng dựa trên tổng trọng lượng của phần chiết thu được từ nhân sâm.
3. Phần chiết thu được từ nhân sâm theo điểm 1, trong đó phần chiết thu được từ nhân sâm là phần chiết thu được từ rễ của cây nhân sâm.
4. Phần chiết thu được từ nhân sâm theo điểm 1, trong đó phần chiết thu được từ nhân sâm là phần chiết thu được từ rễ con của cây nhân sâm.
5. Phương pháp điều chế phần chiết thu được từ nhân sâm theo điểm 1, trong đó phương pháp này bao gồm các bước:

chiết nhân sâm bằng cách bổ sung hỗn hợp gồm nước và dung môi hữu cơ với tỉ lệ của dung môi hữu cơ là từ 10 đến 90% (v/v) và đặt áp suất lặp lại và sau đó giảm áp suất; mà trong đó ít nhất một dung môi hữu cơ được chọn từ nhóm bao gồm etanol, metanol, butanol, ete, etyl axetat và clorofom; áp suất trong lúc đặt áp suất là 1 đến 3 kgf/cm² (98,066 đến 294.200 kPa); áp suất trong lúc giảm áp suất là 600±50mmHg (79,993± 6,6 kPa); và nhiệt độ chiết xuất là 65 °C đến 85 °C; và

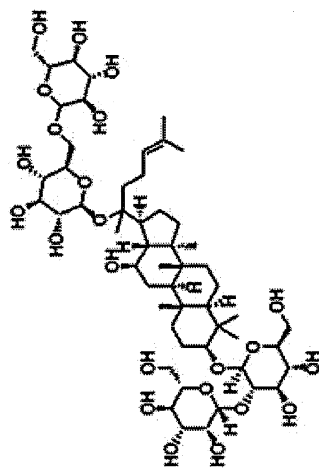
điều chế phần chiết thu được từ nhân sâm bằng cách hòa tan phần chiết thu được từ nhân sâm thu được trong nước, chiết bằng etyl axetat, loại bỏ lớp dung môi hữu cơ và sau đó chiết lớp chứa nước một lần nữa bằng butanol.

6. Phần chiết thu được từ nhân sâm được điều chế bằng phương pháp theo điểm 5.
7. Chế phẩm thúc đẩy mọc tóc và sinh trưởng tóc, trong đó chế phẩm này chứa phần chiết thu được từ nhân sâm theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4 làm hoạt chất.
8. Chế phẩm thúc đẩy mọc tóc và sinh trưởng tóc theo điểm 7, trong đó chế phẩm này chứa phần chiết thu được từ nhân sâm với lượng lớn hơn hoặc bằng 2% theo trọng lượng và nhỏ hơn hoặc bằng 20% theo trọng lượng dựa trên tổng trọng lượng của chế phẩm.
9. Chế phẩm thúc đẩy mọc tóc và sinh trưởng tóc theo điểm 7, trong đó các ginsenosit được chứa trong phần chiết thu được từ nhân sâm thúc đẩy sự chuyển tiếp từ giai đoạn nghỉ sang giai đoạn tăng trưởng trong chu trình sinh trưởng tóc.
10. Chế phẩm thúc đẩy mọc tóc và sinh trưởng tóc theo điểm 7, trong đó chế phẩm này là dược phẩm.
11. Chế phẩm thúc đẩy mọc tóc và sinh trưởng tóc theo điểm 7, trong đó chế phẩm này là mỹ phẩm.
12. Chế phẩm thúc đẩy mọc tóc và sinh trưởng tóc theo điểm 7, trong đó chế phẩm này là chế phẩm dùng ngoài da.
13. Chế phẩm thúc đẩy mọc tóc và sinh trưởng tóc theo điểm 7, trong đó chế phẩm này là đồ ăn.

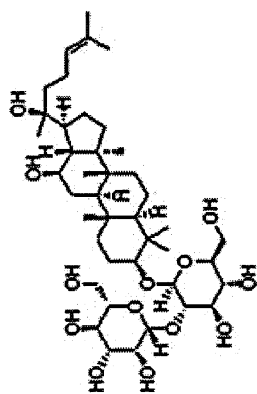
Fig.1



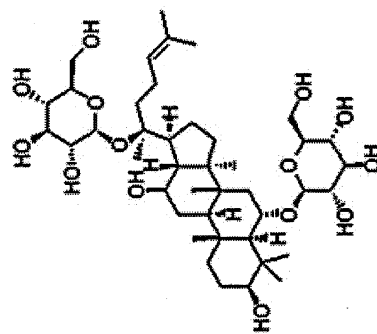
Ginsenosit Rb1



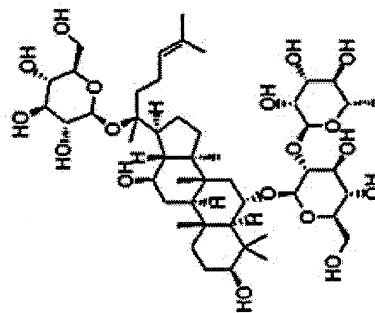
Ginsenosit Rb2



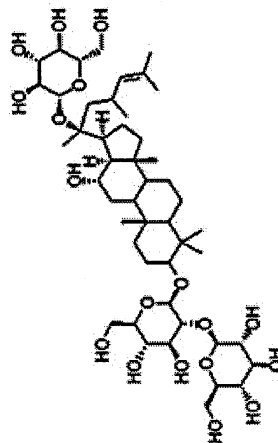
Ginsenosit Rb1



Ginsenosit Rg1



Ginsenosit Re



Ginsenosit Rd

Fig.2

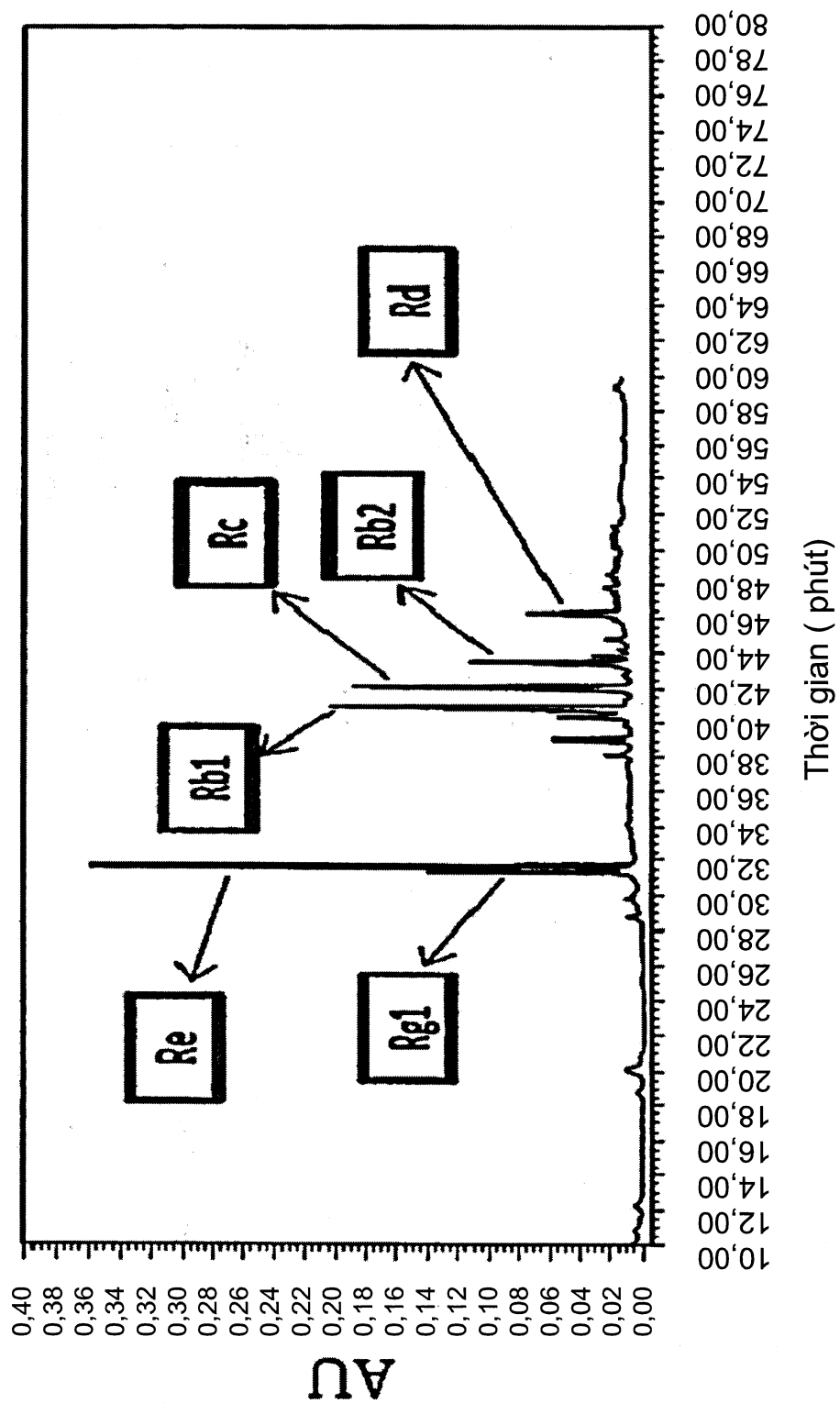


Fig.3

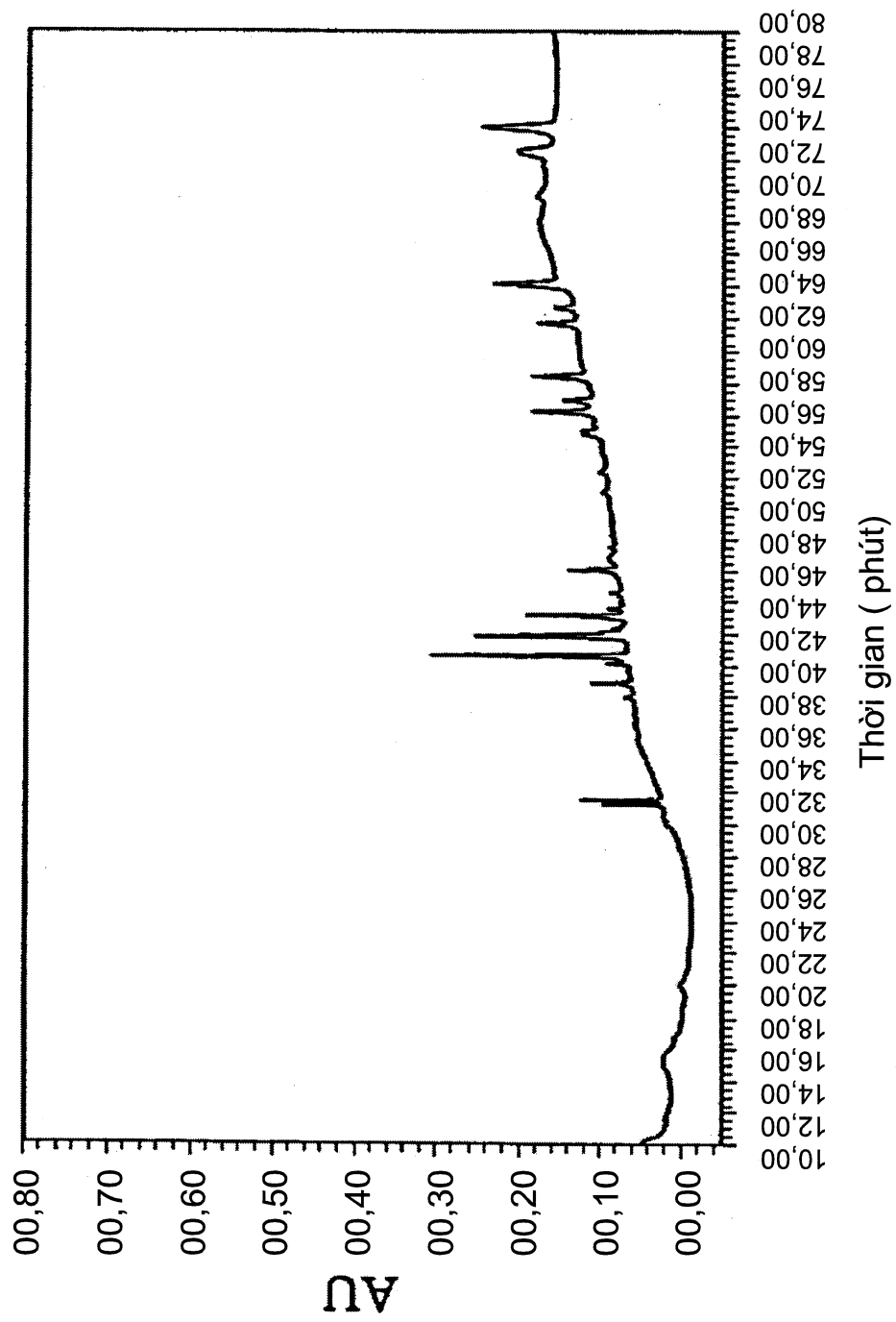


Fig.4

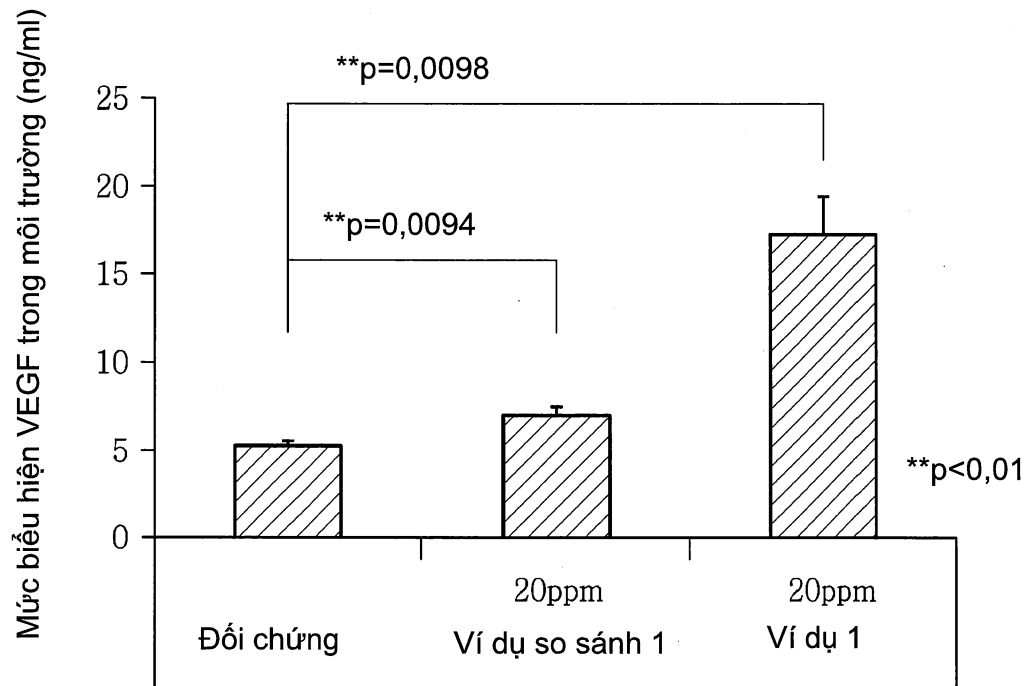


Fig.5

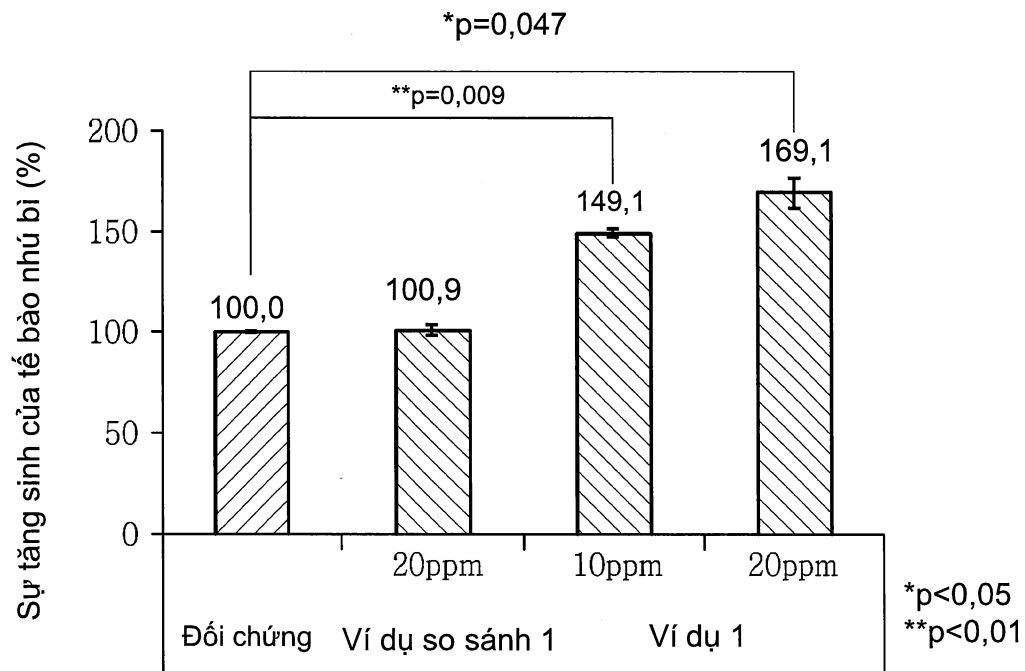


Fig.6

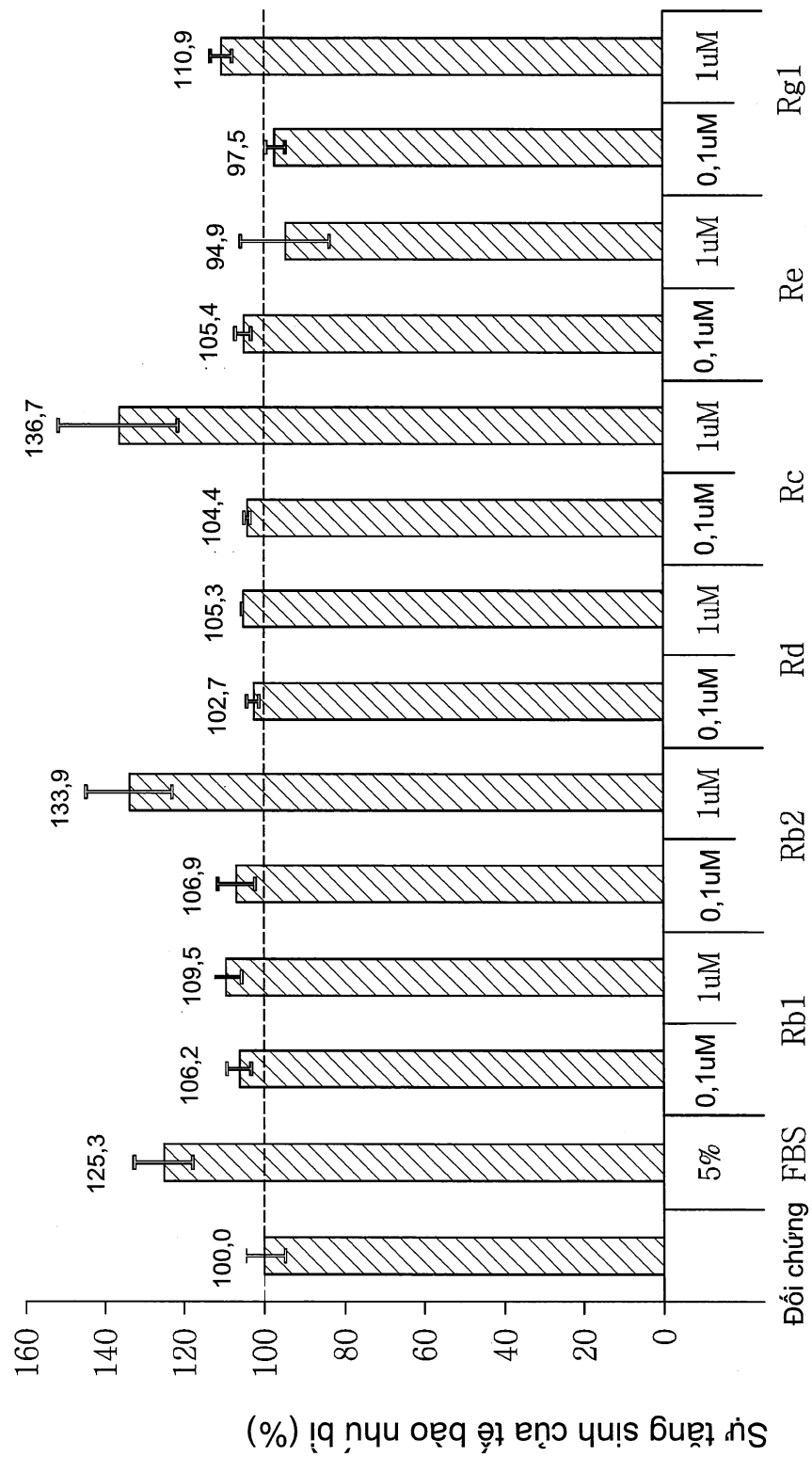
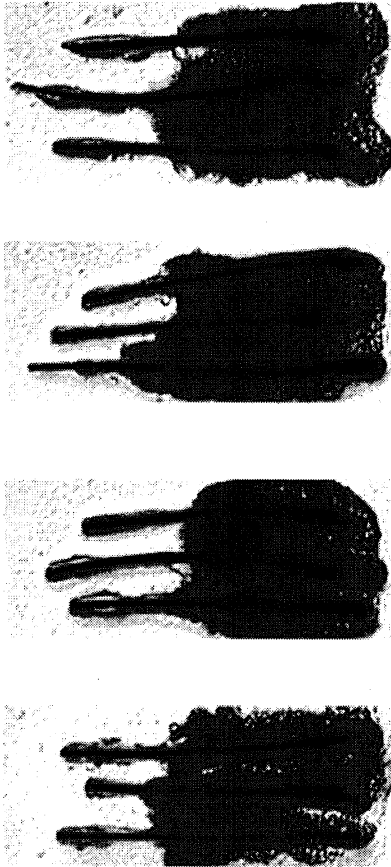


Fig.7



	Đối chứng	Ví dụ so sánh 1			Ví dụ 1	
		5 ppm	2 ppm	5 ppm		
Chiều dài sinh trưởng trung bình	1,88	1,82	1,86			2,02

Fig.8

