

[19] Patents Registry  
The Hong Kong Special Administrative Region  
香港特別行政區  
專利註冊處

[11] 1195259 B  
CN 103889397 B

[12]

**STANDARD PATENT SPECIFICATION**  
**標準專利說明書**

[21] Application No. 申請編號  
14108766.9

[51] Int.Cl.<sup>8</sup> A61K A61Q

[22] Date of filing 提交日期  
28.08.2014

[54] COSMETIC COMPOSITION CONTAINING GREEN TEA COMPONENT 含有綠茶成分的化妝品組合物

[30] Priority 優先權

24.08.2011 KR 10-2011-0084701

[43] Date of publication of application 申請發表日期

07.11.2014

[45] Publication of the grant of the patent 批予專利的發表日期

29.03.2018

CN Application No. & Date 中國專利申請編號及日期

CN 201280052360.5 20.08.2012

CN Publication No. & Date 中國專利申請發表編號及日期

CN 103889397 25.06.2014

Date of Grant in Designated Patent Office 指定專利當局批予專利日期

10.05.2017

[73] Proprietor 專利所有人

AMOREPACIFIC CORPORATION

181, 2-ka, Hangang-ro

Yongsan-gu

Seoul 140-777

KOREA, REPUBLIC OF/REPUBLIC OF KOREA

株式會社愛茉莉太平洋

大韓民國

[72] Inventor 發明人

KANG, Hyun Seo 姜顯瑞

KANG, Seung Hyun 姜承賢

KIM, Ji Hyun 金知賢

KIM, Ji Seong 金智晟

NA, Yong Joo 羅勇柱

CHAE, Byung Geun 蔡秉根

HAN, Sang Hoon 韓相勳

[74] Agent and / or address for service 代理人及/或送達地址

CHAN, TANG & KWOK

Rooms 2503-04, 25/F.

Shanghai Industrial Investment Building

48-62 Hennessy Road

Wanchai, HONG KONG



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 103889397 B

(45)授权公告日 2017.05.10

(21)申请号 201280052360.5

(22)申请日 2012.08.20

(65)同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 103889397 A

(43)申请公布日 2014.06.25

(30)优先权数据  
10-2011-0084701 2011.08.24 KR

(85)PCT国际申请进入国家阶段日  
2014.04.24

(86)PCT国际申请的申请数据  
PCT/KR2012/006594 2012.08.20

(87)PCT国际申请的公布数据  
W02013/027984 KO 2013.02.28

(73)专利权人 株式会社爱茉莉太平洋  
地址 韩国首尔

(72)发明人 姜显瑞 姜承贤 金知贤 金智晟  
罗勇柱 蔡秉根 韩相勳

(74)专利代理机构 广州华进联合专利商标代理  
有限公司 44224

代理人 黎艳 胡杰

(51)Int.Cl.  
A61K 8/9789(2017.01)  
A61K 8/60(2006.01)  
A61Q 19/00(2006.01)

(56)对比文件  
CN 1349792 A,2002.05.22,  
KR 10-2011-0023483 A,2011.03.08,  
KR 10-2011-0031801 A,2011.03.29,  
CN 1349792 A,2002.05.22,  
KR 10-2011-0023483 A,2011.03.08,  
CN 1349792 A,2002.05.22,  
KR 10-2011-0023483 A,2011.03.08,  
KR 10-2011-0031801 A,2011.03.29,  
KR 10-0659138 B1,2006.12.12,  
CN 101647762 A,2010.02.17,

审查员 张铮

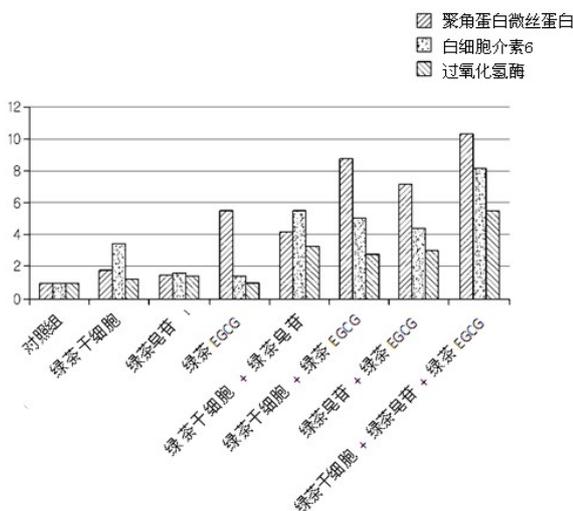
权利要求书1页 说明书12页 附图1页

(54)发明名称

含有绿茶成分的化妆品组合物

(57)摘要

本发明提供一种化妆品组合物,其包含作为活性成分的选自绿茶皂苷和绿茶多酚中的一种或多种物质。本发明的化妆品组合物对皮肤具有高安全性,而且能够大幅改善皮肤中的生物机制,从而可用作抗老化化妆品组合物。



1. 一种化妆品组合物,其包含作为活性成分的绿茶皂苷、从绿茶叶中提取的表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)和绿茶干细胞培养产物的混合物,

其中,所述绿茶皂苷和所述表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)的量分别占所述组合物总重量的0.001-1 wt%,

其中,所述干细胞培养产物的量占所述组合物总重量的0.01-10 wt%。

2. 根据权利要求1所述的化妆品组合物,其特征在于,所述绿茶皂苷为从绿茶籽皮中提取并去除糖残基的物质。

3. 根据权利要求1所述的化妆品组合物,其特征在于,所述干细胞为源自愈伤组织的干细胞。

4. 根据权利要求1所述的化妆品组合物,其特征在于,所述干细胞培养产物为选自干细胞株、其裂解物、其提取物及其培养溶液中的一种或多种物质。

5. 绿茶皂苷、从绿茶中提取的表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)和绿茶干细胞培养产物的混合物在制备用于抗皮肤老化的化妆品组合物中的用途,

其中,所述绿茶皂苷和所述表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)的量分别占所述组合物总重量的0.001-1 wt%,

其中,所述干细胞培养产物的量占所述组合物总重量的0.01-10 wt%。

6. 绿茶皂苷、从绿茶中提取的表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)和绿茶干细胞培养产物的混合物在制备用于保湿皮肤或增强皮肤屏障功能的化妆品组合物中的用途,

其中,所述绿茶皂苷和所述表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)的量分别占所述组合物总重量的0.001-1 wt%,

其中,所述干细胞培养产物的量占所述组合物总重量的0.01-10 wt%。

7. 根据权利要求6所述的用途,其特征在于,所述组合物能够激活聚角蛋白微丝蛋白基因。

8. 绿茶皂苷、从绿茶中提取的表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)和绿茶干细胞培养产物的混合物在制备用于美白皮肤或抑制皮肤色素沉着的化妆品组合物中的用途,

其中,所述绿茶皂苷和所述表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)的量分别占所述组合物总重量的0.001-1 wt%,

其中,所述干细胞培养产物的量占所述组合物总重量的0.01-10 wt%。

9. 根据权利要求8所述的用途,其特征在于,所述组合物能够激活白细胞介素6基因。

10. 绿茶皂苷、从绿茶中提取的表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)和绿茶干细胞培养产物的混合物在制备用于增强皮肤弹性或改善皮肤皱纹的化妆品组合物中的用途,

其中,所述绿茶皂苷和所述表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)的量分别占所述组合物总重量的0.001-1 wt%,

其中,所述干细胞培养产物的量占所述组合物总重量的0.01-10 wt%。

11. 根据权利要求10所述的用途,其特征在于,所述组合物能够激活过氧化氢酶基因。

## 含有绿茶成分的化妆品组合物

### 技术领域

[0001] 本发明涉及含有绿茶成分的化妆品组合物。

### 背景技术

[0002] 最近,随着利用植物全能性的植物细胞培养技术的蓬勃发展,对源自植物的机能性二次代谢产物的关注也随之大幅增多。已知,由于机能性二次代谢产物具有各种生理活性,从植物干细胞中提取的物质作为高功能性化妆品的新原料而备受瞩目。由于这种技术能够生产经济型的高功能性活性物质,该高功能性活性物质是天然形成的,但难以通过化学合成而获得,因此期待能够研发并应用从未用过的新成分。此外,还紧锣密鼓地进行着如利用通过应用酶处理的活性改造技术(the active transformation technology)的生物过程的材料研发。虽然最近对功能性化妆品的需求在日益增加,然而新的功能性材料或相关技术的开发仍无法满足这种需求。在此文章中,利用能够制备诸多新的功能性成分的植物干细胞技术或如酶处理的生物过程来制备的化妆品会因其具有的各种皮肤效果,尤其因其抗老化效果而备受瞩目。

### 发明内容

[0003] 技术问题

[0004] 本发明的发明人已研究研发出能够提供优异的抗老化及抗皱效果的、含有天然植物成分的化妆品,该天然植物成分不会引起皮肤不良反应,而且发现绿茶成分可提供这种效果。

[0005] 本发明涉及提供化妆品组合物,该化妆品组合物能通过使用植物来源成分来展示优秀的皮肤稳定性及优异的皮肤抗老化及抗皱效果。

[0006] 技术方案

[0007] 在总方面,本发明提供化妆品组合物,该化妆品组合物含有作为活性成分的选自绿茶皂甙和绿茶多酚中的一种或多种物质。

[0008] 在本发明的一个示例性实施例中,所述组合物可进一步包含绿茶干细胞培养产物。

[0009] 在本发明的一个示例性实施例中,所述绿茶皂甙可以为从绿茶籽皮中提取并除去糖残基的物质。

[0010] 在本发明的一个示例性实施例中,所述绿茶多酚可为从绿茶叶中提取的表没食子儿茶素没食子酸酯(Epigallocatechin gallate,EGCG)。

[0011] 在本发明的一个示例性实施例中,所述绿茶皂苷或绿茶多酚的量可分别占所述组合物总重量的0.001-1 wt%。

[0012] 在本发明的一个示例性实施例中,所述干细胞可以为源自愈伤组织(callus)的干细胞。

[0013] 在本发明的一个示例性实施例中,所述干细胞培养产物可以为选自干细胞株、其

裂解物、其提取物及其培养溶液中的一种或多种物质。

[0014] 在本发明的一个示例性实施例中,所述干细胞培养产物的量可以占所述组合物总重量的0.01-10 wt%。

[0015] 在本发明的一个示例性实施例中,所述组合物可以为抗老化组合物。

[0016] 在本发明的一个示例性实施例中,所述组合物可以为用于保湿皮肤或增强皮肤屏障功能的组合物。

[0017] 在本发明的一个示例性实施例中,所述组合物可激活聚角蛋白微丝蛋白基因(filaggrin gene)。

[0018] 在本发明的一个示例性实施例中,所述组合物可以为用于美白皮肤或抑制皮肤色素沉着的组合物。

[0019] 在本发明的一个示例性实施例中,所述组合物可激活白细胞介素6(IL-6)基因。

[0020] 在本发明的一个示例性实施例中,所述组合物可以为用于增强皮肤弹性或改善皮肤皱纹的组合物。

[0021] 在本发明的一个示例性实施例中,所述组合物可激活过氧化氢酶基因。

[0022] 有益效果

[0023] 本发明的化妆品组合物可被用作抗老化化妆品组合物,因为所述组合物能够展示出优秀的皮肤稳定性及提供优异的皮肤改善生物机制,如激活基因。此外,由于本发明的绿茶成分可再度促进因老化而下降的基因活性,以浓度方式提高胶原蛋白的生物合成,所述绿茶成分可从根本上改善老化的皮肤,而且通过提供胶原蛋白而给失去弹性及光泽的皮肤带来活力,其不仅具有预防皮肤老化的效果,还具有改善皮肤弹性的效果。

## 发明内容

[0024] 下面,将详细说明本发明。

[0025] 除非另有定义,本发明中所使用的技术及科学术语都具有与本领域的普通技术人员通常所理解的意思相同的意思。

[0026] 本发明提供化妆品组合物,该化妆品组合物含有作为活性成分的选自绿茶皂苷和绿茶多酚中的一种或多种物质。所述组合物可进一步包含绿茶(茶树)干细胞培养产物。

[0027] 本发明的绿茶皂苷可以为从绿茶籽皮中提取大分子量的粗皂苷并用酶去除糖残基的物质,从而可易于被皮肤吸收并展示高效性。

[0028] 本发明的绿茶多酚可以为表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG),其富含于绿茶中,是通过用温水提取绿茶叶并将产物固化而成的粉末。

[0029] 所述绿茶皂苷或绿茶多酚可分别占所述组合物总重量的0.001-1 wt%,优选0.01-0.5 wt%。如果每种成分的含量低于0.001 wt%,将无法期待会有皮肤细胞再生及抗氧化效果。进一步,如果所述含量超过1.0 wt%,由于所述效果没有得到进一步的提升,从而成分的有效性会降低。此外,为了将难溶性绿茶皂苷和多酚稳定地包含在剂型中而要结合各种溶剂,从而降低了作为化妆品组合物的价值。

[0030] 所述绿茶干细胞可以通过利用近起受重视的植物干细胞培养技术来获得。通过固体细胞培养来培养源自绿茶的籽、叶、茎、根等的全能性愈伤组织而建立干细胞株,通过悬浮细胞培养从中大量生产活性成分,而后进行提取。

[0031] 所述培养产物可以为选自所诱导的干细胞株本身、其裂解物、其提取物及其培养溶液。所述提取物不受提取方法的特别限制,可通过如培养源自植物的组织块的细胞株的方法来进行提取获得。在本发明的制备实施例1中,可使用从源自叶子的愈伤组织所得的干细胞培养溶液及该干细胞株的裂解物。然而,通过培养源自绿茶的胚胎、形成层或前形成层的愈伤组织而得的干细胞株、其裂解物、提取物或培养溶液也能获得与本发明相同的结果。

[0032] 所述培养产物可以包含,如作为活性成分从绿茶中分离/提纯的氨基酸。本发明的提取物可通过再度增加随着皮肤老化而降低的主要基因的活性来从根本上对抗皮肤老化。进一步,提供增加皮肤内的胶原蛋白合成来增加真皮中的弹性纤维而改善或降低皱纹的效果。此外,还能消除作为皮肤老化主因的活性氧簇。因此,通过解决作为皮肤老化根本原因的基因活性的降低并隔离氧化应激而展示出优良的抗老化效果。

[0033] 所述干细胞培养产物的量占所述组合物总重量的0.01-10 wt%,优选0.1-5 wt%。如果所述含量低于0.01 wt%,将无法期待会有通过基因重新激化的抗老化效果。进一步吗如果所述含量超过10 wt%,由于所述效果没有进一步得到提高而成分的有效性将下降。

[0034] 本发明的化妆品组合物可以为抗老化组合物。

[0035] 进一步,本发明的化妆品组合物可以为用于保湿皮肤、增强皮肤屏障功能、美白皮肤、抑制皮肤色素沉着、增强皮肤弹性、抗氧化或改善皮肤皱纹的组合物。

[0036] 人皮肤包含三种类型的细胞。它们是组成大部分表皮的角质形成细胞、生成黑色素的黑色素细胞及组成大部分真皮的成纤维细胞。角质形成细胞与通过预防水分流失的保湿及从有害因素中保护皮肤的屏障功能有关。黑色素细胞能够决定皮肤颜色和色调,同时也是雀斑和瑕疵的起因。成纤维细胞能够生成弹性纤维,如胶原蛋白,而且与皮肤弹性和皮肤皱纹有关联。根据对皮肤遗传学的研究,随着年量增加,在所述三种细胞中活性的降低最明显的是:角质形成细胞的聚角蛋白微丝蛋白基因、黑色素细胞的白细胞介素6(IL-6)基因及成纤维细胞中的过氧化氢酶基因。亦即,这三种基因与皮肤老化有着密切联系。

[0037] 聚角蛋白微丝蛋白为角质形成细胞的分化标记,而且以天然保湿因子的前体而被知晓。白细胞介素6为低黑素生成因子,而且以抑制黑色素细胞的黑色素生成而被知晓。过氧化氢酶是一种能够催化细胞内所生成的过氧化物的分解的酶。

[0038] 本发明期待通过激活这三种基因给老化皮肤带来回春效果。

[0039] 本发明的组合物能够激活所述聚角蛋白微丝蛋白基因。如果激活所述聚角蛋白微丝蛋白基因,抑制从皮肤上水分蒸发的保湿效果会得到提高,而且用于从外界有害因素中保护皮肤的皮肤屏障效果也能得到增强。

[0040] 本发明的组合物能够激活白细胞介素6(IL-6)基因。如果激活IL-6基因,由于提亮皮肤颜色和色调,皮肤美白效果得到提高,而且由于雀斑和瑕疵均有减少,皮肤色素沉着也能得到抑制。

[0041] 本发明的组合物能够激活过氧化氢酶基因。如果激活过氧化氢酶基因,可提高胶原蛋白的合成,然而皮肤弹性和皮肤皱纹能够得到改善。

[0042] 本发明的组合物不受剂型的特别限制。例如,其可以为基础化妆品、彩妆、护发化妆品、身体护理化妆品等,而且可根据目的适当选取。

[0043] 所述化妆品组合物可以被制成,例如,溶液、悬浮液、乳液、浆糊、凝胶、面霜、洗剂、粉、皂、含表面活性剂的清洁剂、油、粉状粉底、乳液粉底、蜡状粉底、喷雾等,但不限于此。更

为优选地,可被制成基础化妆品,如柔肤化妆水、滋养化妆水、乳液、身体乳液、营养霜、按摩霜、保湿霜、护手霜、精华液、眼霜、洁面霜、洁面泡沫、洁面水、面膜、凝胶、贴剂、水包油(O/W)乳液、油包水(W/O)乳液等,彩妆如口红、妆前乳、粉底等,清洗剂如洗发乳、护发素、沐浴乳、牙膏、漱口剂等,或护发化妆品如养发剂,头发定型剂如凝胶或摩丝、生发促进剂、染发剂等。

[0044] 所述化妆品组合物可包含化妆品上可接受的介质或基质,可提供任一局部给药剂型,如溶液、凝胶、无水固体或浆糊、水包油乳化液、悬浮液、微乳液、微胶囊、微粒或离子(脂质体)型和/或非离子型囊泡分散液、乳膏、化妆水、乳液、粉、油膏、喷雾剂或遮瑕棒。这些组合物可根据本领域常用的方法来制备。

[0045] 当本发明的剂型为溶液或乳液时,作为载体可使用溶剂、溶解剂或乳化剂。例如,可使用水、乙醇、异丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、苧醇、苯甲酸苧酯、丙二醇、1,3-丁二醇、甘油脂肪酸酯、聚乙二醇或山梨聚糖的脂肪酸酯。

[0046] 当本发明的剂型为悬浮液时,作为载体可使用液体稀释剂如水、乙醇或丙二醇、悬浮剂如乙氧基化异硬脂醇、聚氧乙烯山梨糖醇酯和聚氧乙烯山梨糖醇酯、微晶纤维素、偏铝酸、膨润土、琼脂或西黄芪胶。

[0047] 当本发明的剂型为浆糊时,作为载体可使用霜或凝胶、动物油、植物油、蜡、石蜡、淀粉、黄芪胶、纤维素衍生物、聚乙二醇、硅酮、膨润土、硅石、滑石或氧化锌等。

[0048] 当本发明的剂型为粉或喷雾剂时,作为载体可使用乳糖、滑石、二氧化硅、氢氧化铝、硅酸钙或聚酰胺粉。具体地,当所述剂型为喷雾剂时,其可进一步包含推进剂,如氟氯烃(chlorofluorohydrocarbon)、丙烷/丁烷或二甲醚。

[0049] 当本发明的剂型为含表面活性剂时,作为载体可使用脂肪醇硫酸盐、脂肪醇醚硫酸盐、磺基琥珀酸单酯、羟乙基磺酸盐、咪唑啉衍生物、甲基牛磺酸、肌氨酸盐、脂肪酸酰胺醚硫酸盐、烷基酰胺甜菜碱、脂肪醇、脂肪酸甘油酯、脂肪酸二乙醇酰胺、植物油、羊毛脂衍生物或乙氧基化甘油脂肪酸酯等。

[0050] 本发明的化妆品组合物可进一步包含增稠剂。本发明的化妆品组合物中所含的增稠剂可以为甲基纤维素、羧甲基纤维素、羧甲基羟基鸟嘌呤、羟甲基纤维素、羟乙基纤维素、聚羧乙烯、聚季铵盐、鲸蜡硬脂醇、硬脂酸、卡拉胶(carrageenan)等。优选地,可使用选自羧甲基纤维素、聚羧乙烯和聚季铵盐中的一种或多种增稠剂。更优选地,可使用聚羧乙烯。

[0051] 在本发明的一个示例性实施例中,所述化妆品组合物可根据需要包含适当的各种基体和添加剂,而本领域的技术人员可容易地决定其种类和含量。所述化妆品组合物可包含可接受的添加剂,如本领域内常用的防腐剂、着色剂、添加剂等。优选地,所述防腐剂可使用苯氧基乙醇、1,2-己二醇等,而且可使用合成香料。

[0052] 进一步,本发明的化妆品组合物可以包含选自水溶性维生素、油溶性维生素、多肽、多糖、鞘脂和海藻提取物中的物质。此外,其可进一步包含油、脂肪、保湿剂、润肤剂、表面活性剂、有机或无机颜料、有机粉末、紫外线吸收剂、防腐剂、杀菌剂、抗氧化剂、植物提取物、pH调节剂、醇、着色剂、香料、血液循环刺激剂、冷却剂、止汗剂、纯化水等。

[0053] 然而,含于所述化妆品组合物的成分可不限于此。而且,所述成分的含量可在不影响本发明的目的和效果的范围之内进行决定。

[0054] 下面,将通过实施例详细说明本发明。然而,以下实施例仅用作说明为目的,其不

会限制本发明的范围,这对于本领域的普通技术人员来说是显而易见的。

[0055] 【制备实施例1】活性成分的提取

[0056] 通过剪切绿茶叶并在诱导愈伤组织培养基(表1)内进行培养来诱导愈伤组织。15天后开始诱导出愈伤组织,而30天后开始分离出愈伤组织层。分离出所述愈伤组织层后,每21天用与所述诱导培养基相同的新培养基再度培养呈现出良好生长率的白色柔软部位。所述愈伤组织诱导培养基的组合物请见表1。在所述培养基内加入作为生长调节剂的、浓度为1-3 mg/L的生长素。在恒温 $25\pm 1$  °C的暗室内进行所述培养。

【表1】

	组合物	含量 (mg/L)
无机盐	KNO <sub>3</sub>	1011.1
	MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	121.56
	MnSO <sub>4</sub> ·4H <sub>2</sub> O	10
	ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	2
	CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0.025
	CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	113.23
	KI	0.75
	CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.025
	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	130.44
	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	3
	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.25
	FeNaEDTA	36.7
维生素	肌醇	450
	硫胺素·HCl	20
	烟酸	2
	吡哆醇·HCl	2
	l-抗坏血酸	100
	柠檬酸	150
植物激素	生长素	1-3
	赤霉酸	0.5
氨基酸	酪蛋白水解物	500
蔗糖		30,000
活性炭		100
固化剂 (Gelrite)		4,000

[0057] [0058] 在固体培养基(Guchefa)上培养所述愈伤组织,然后从中选取生长稳定的干细胞株。本发明所用的固体培养基为MS培养基,与其他培养基相比具有高含量的NO<sub>3</sub>-N、NH<sub>4</sub>-N和K。所述固体培养基的组合物请见表2。

【表2】

	组合物	含量 (mg/L)
[0059] 无机盐	$\text{NH}_4\text{NO}_3$	1650
	$\text{H}_3\text{BO}_3$	6.2
	$\text{CaCl}_2$	332.2
	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.025
	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.025
	Na 2-EDTA	37.26
	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27.8
	$\text{MgSO}_4$	180.7
	$\text{MnSO}_4(\text{H}_2\text{O})$	16.9
	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.25
	KI	0.83
	$\text{KNO}_3$	1900
	$\text{KH}_2\text{PO}_4$	170
	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8.6
维生素	肌醇	100
	硫胺素·HCl	0.5
	烟酸	0.5
	吡哆醇·HCl	0.1
氨基酸	甘氨酸	2

[0060] 在含有糖和生长激素的悬浮培养基(表3)内培养所选取的干细胞株。用于培养所述干细胞株的悬浮培养基的组合物请见表3。

【表3】

	组合物	含量 (mg/L)
[0061] 无机盐	KNO <sub>3</sub>	1011.1
	MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	121.56
	MnSO <sub>4</sub> ·4H <sub>2</sub> O	10
	ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	2
	CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0.025
	CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	113.23
	KI	0.75
	CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.025
	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	130.44
	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	3
	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.25
	FeNaEDTA	36.7
	维生素	肌醇
硫胺素·HCl		20
烟酸		2
吡哆醇·HCl		2
L-抗坏血酸		100
柠檬酸		150
植物激素	生长素	1-3
	赤霉素	0.1
氨基酸	天门冬氨酸	133
	精氨酸	175
	脯氨酸	115
	甘氨酸	75
蔗糖		20,000

[0062] 从所述悬浮培养基内所培养的细胞中,获取各种活性成分的混合物。此外,所培养的细胞的细胞壁破坏而进一步获得从中释放出的成分。

[0063] 通过提取绿茶的籽皮而获得绿茶皂苷,然后用酶处理。重复用温水提取绿茶叶的过程而获得绿茶多酚,然后进行浓缩。最终,获得高纯度的EGCG。

[0064] 【测试实施例1】促进胶原蛋白合成的效果

[0065] 在24孔板中培养人成纤维细胞,然后分别用浓度为10 ppm(参照实施例1)、5 ppm(参照实施例2)、1 ppm(参照实施例3)或0 ppm(对比实施例1)的含有提取自所述绿茶干细胞的提取混合物的培养基进行替换。到第三天,向每孔加入0.5 mL含10%胎牛血清的DMEM培养基(Dulbecco's modified Eagle's medium)后,加入10  $\mu$ Ci 的1-[2,3,4,5-<sup>3</sup>H]-脯氨酸。待24小时后,从每孔中收集所述培养基和细胞并用5%三氯乙酸(TCA)溶液清洗。在4℃下保存对比实施例1的试管,而含不同浓度的苯丙素(phenylpropanoid)的参照实施例和实施例,在其中待加入1 unit/ $\mu$ L I型胶原酶后在37℃下培养90分钟。随后,在所有所述试管内加入0.05 mL的50%三氯乙酸后,在4℃下静置20分钟,然后在12,000 rpm下离心分离10分钟。用液体闪烁计数器(LSC)为每份上清液和沉淀物测定每分钟计数(CPM),然后根据方程式1计算参照实施例和对比实施例1的相对胶原蛋白生物合成(RCB)值。其结果请见表4。

[0066] 【方程式1】

[0067]  $RCB (\%) = (\text{胶原蛋白CPM}) / [(\text{总胶原蛋白CPM} - \text{胶原蛋白CPM}) \times 5.4 + \text{胶原}$

蛋白CPM] x 100

【表4】

	绿茶干细胞提取物 (ppm)	相对胶原蛋白生物合成 (RCB) (%)
[0068] 参照实施例1	10	180
参照实施例2	5	149
参照实施例3	1	122
对比实施例1	0	100

[0069] 如表4可知,从绿茶干细胞中提取的提取物混合物以浓度依赖方式提高了成纤维细胞的胶原蛋白生物合成。

[0070] 表5展示了测定绿茶皂苷(实施例1)、绿茶多酚(实施例2)、绿茶干细胞和绿茶皂苷的混合物(实施例3)、绿茶干细胞和绿茶多酚的混合物(实施例4)、绿茶皂苷和绿茶多酚的混合物(实施例5)及绿茶干细胞、绿茶皂苷和绿茶多酚的混合物(实施例6)的相对胶原蛋白生物合成(RCB)的结果。

【表5】

	绿茶成分提取物 (ppm)	相对胶原蛋白生物合成 (RCB) (%)
[0071] 对比实施例1	0 (none)	100
参照实施例1	绿茶干细胞(10 ppm)	180
实施例1	绿茶皂苷 (1 ppm)	140
实施例2	绿茶EGCG(10 ppm)	135
实施例3	绿茶干细胞 + 绿茶皂苷	235
实施例4	绿茶干细胞 + 绿茶EGCG	215
实施例5	绿茶皂苷 + 绿茶EGCG	190
实施例6	绿茶干细胞 + 绿茶皂苷+ 绿茶EGCG	270

[0072] 【测试实施例2】激活基因效果

[0073] 为分析皮肤细胞中绿茶干细胞、绿茶皂苷和绿茶多酚的效果,可使用普通人角质形成细胞(NHK)和普通人成纤维细胞(NHF)。所述成纤维细胞可采用从通过重复次培养(sub-culturing)而诱导出细胞老化的复制衰老模型中取得的成纤维细胞。

[0074] 为进行检测基因,角质形成细胞可选择聚角蛋白微丝蛋白和白细胞介素6,而成纤维细胞可选择过氧化氢酶。

[0075] 对每孔进行细胞毒性测试后,在以下能够展示80%或以上细胞存活率的浓度下检测绿茶干细胞、绿茶皂苷和绿茶多酚。用绿茶干细胞、绿茶皂苷和绿茶多酚进行处理,待24小时收集所述细胞并用10 mL磷酸盐缓冲盐水(PBS)清洗两次。然后,从所述细胞中用TRIzol试剂(Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)分离出整个RNA。用Qiagen RNeasy试剂盒(Qiagen, Valencia, CA)再次提纯所分离的RNA,而后用标逆转录酶(RT) II试剂盒(Invitrogen, Carlsbad, CA)从中合成cDNA。然后,通过实时逆转录聚合酶链反应(Q-RT-PCR)定量分析聚角蛋白微丝蛋白、白细胞介素6和过氧化氢酶基因的表达变化。通过使用TaqMan®基因表达检测试剂盒来评估所述基因表达模式的变化。所用的引物为:聚角蛋白微丝蛋白为Hs00856927\_g1;白细胞介素6为Hs00174360\_m1;以及过氧化氢酶为

Hs00156308\_m1。表6展示了通过实时PCR分析的所述细胞的聚角蛋白微丝蛋白、白细胞介素6和过氧化氢酶的表达量。

**【表6】**

		聚角蛋白 微丝蛋白	白细胞 介素6	过氧化氢 酶
[0076] 对比实施例2	对照组 (none)	1	1	1
实施例4	绿茶干细胞 (100ppm)	1.8	3.5	1.2
实施例5	绿茶皂苷 (1 ppm)	1.5	1.6	1.4
实施例6	绿茶EGCG (10 ppm)	5.5	1.4	1.0
实施例7	绿茶干细胞 + 绿茶皂苷	4.2	5.5	3.3
实施例8	绿茶干细胞 + 绿茶EGCG	8.8	5.1	2.8
实施例9	绿茶皂苷 + 绿茶EGCG	7.2	4.4	3.0
实施例10	绿茶干细胞 + 绿茶皂苷 + 绿茶EGCG	10.3	8.2	5.5

[0077] 如表6中所示,绿茶干细胞培养产物(实施例4)、绿茶皂苷(实施例5)和绿茶EGCG(实施例6)提高了所述基因的表达量。特别地,所述绿茶干细胞提高了所述白细胞介素6基因的表达量,所述绿茶皂苷提高了所述过氧化氢酶基因的表达量,而且所述绿茶EGCG能够有效地提高了所述聚角蛋白微丝蛋白基因的表达量。当这些成分被结合使用时(实施例7-10),即结合两种或多种成分时能够获得协同效应,而且当同时结合这三种成分时能够在基因水平上获得最佳抗老化效果(实施例10)。图1中用图表展示了表6所述的表达水平。

[0078] **【测试实施例3】皮肤稳定性测试**

[0079] 为了评估本发明的抗老化化妆品组合物,测量剂型实施例2对皮肤的刺激程度。

[0080] 所述测试是在忠北大学的皮肤科医院完成的。将剂型实施例2的化妆品组合物在30名平均年龄在33.2岁的健康成人的背部上涂抹48小时,并且24小时监控皮肤反应。根据CTFA指南(1981)及Frosch & Kligman评估标准来评估皮肤刺激程度。

[0081] 涂抹了本发明的化妆品组合物(剂型实施例2)的30名成人都没有出现皮肤刺激现象。由此可知,本发明的化妆品组合物具有非常好的皮肤稳定性。

[0082] 下面,将通过剂型实施例详细说明本发明。然而,以下剂型实施例仅用作说明为目的,不会限制本发明的范围,这对本领域的普通技术人员来说的显而易见的。

[0083] **【剂型实施例1】柔肤化妆水(润肤露)**

[0084] 根据常用方法,用表7中所述的组合物制备柔肤化妆水。

【表7】

成分	含量 (wt%)
绿茶干细胞培养产物	1.0
绿茶皂苷	0.1
绿茶多酚	0.1
甘油	3.5
油醇	1.5
乙醇	5.5
聚山梨酯80	3.2
聚羧乙烯	1.0
丁二醇	2.0
丙二醇	2.0
防腐剂和香料	适量
纯净水	余量
总共	100

[0085]

[0086] 【剂型实施例2】滋养化妆水(乳液)

[0087] 根据常用方法,用表8中所述的组合物制备滋养化妆水。

【表8】

成分	含量 (wt%)
绿茶干细胞培养产物	1.0
绿茶皂苷	0.1
绿茶多酚	0.1
甘油	3.0
丁二醇	3.0
丙二醇	3.0
聚羧乙烯	0.1
蜂蜡	4.0
聚山梨酯60	1.5
辛酸/癸酸甘油三酯	5.0
角鲨烷	5.0
失水山梨醇倍半油酸酯	1.5
棕榈醇	1.0
三乙醇胺	0.2
防腐剂和香料	适量
纯净水	余量
总共	100

[0088]

[0089] 【剂型实施例3】营养霜

[0090] 根据常用方法,用表9中所述的组合物制备营养霜。

【表9】

成分	含量 (wt%)
绿茶干细胞培养产物	1.0
绿茶皂苷	0.1
绿茶多酚	0.1
甘油	3.5
丁二醇	3.0
液体石蜡	7.0
$\beta$ -葡聚糖	7.0
卡波姆 (Carbomer)	0.1
辛酸/癸酸甘油三酯	3.0
角鲨烷	5.0
鲸蜡硬脂基葡糖苷	1.5
山梨坦硬脂酸酯	0.4
聚山梨酯60	1.2
三乙醇胺	0.1
防腐剂和香料	适量
纯净水	余量
总共	100

[0091]

[0092] 【剂型实施例4】按摩霜

[0093] 根据常用方法,用表10中所述的组合物制备按摩霜。

【表10】

成分	含量 (wt%)
绿茶干细胞培养产物	1.0
绿茶皂苷	0.1
绿茶多酚	0.1
甘油	8.0
丁二醇	3.0
液体石蜡	45.0
$\beta$ -葡聚糖	7.0
卡波姆 (Carbomer)	0.1
辛酸/癸酸甘油三酯	3.0
角鲨烷	4.0
鲸蜡硬脂基葡糖苷	1.5
山梨坦硬脂酸酯	0.9
石蜡	1.5
防腐剂、着色剂和香料	适量
纯净水	余量
总共	100

[0094]

[0095] 【剂型实施例5】面膜

[0096] 根据常用方法,用表11中所述的组合物制备面膜。

【表11】

成分	含量 (wt%)
绿茶干细胞培养产物	1.0
绿茶皂苷	0.1
绿茶多酚	0.1
甘油	4.0
聚乙烯醇	15.0
透明质酸提取物	5.0
$\beta$ -葡聚糖	7.0
尿囊素	0.1
壬基苯基醚	0.4
聚山梨酯60	1.2
乙醇	适量
防腐剂和香料	适量
纯净水	余量
总共	100

[0097]

[0098] 上述中展示并说明了示例性实施例,本发明的技术人员可在不脱离所附权利要求中所限定的本发明的精神和范围之内对形式和细节进行多种变化。

[0099] 此外,在不脱离本发明所教导的基本范围内进行诸多修改来适应具体情况或物质。因此,本发明不应仅限于所公开的作为实施本发明而展现的最佳实施方式的具体示例性实施例内,而应包括落入所附权利要求范围内的所有实施例。

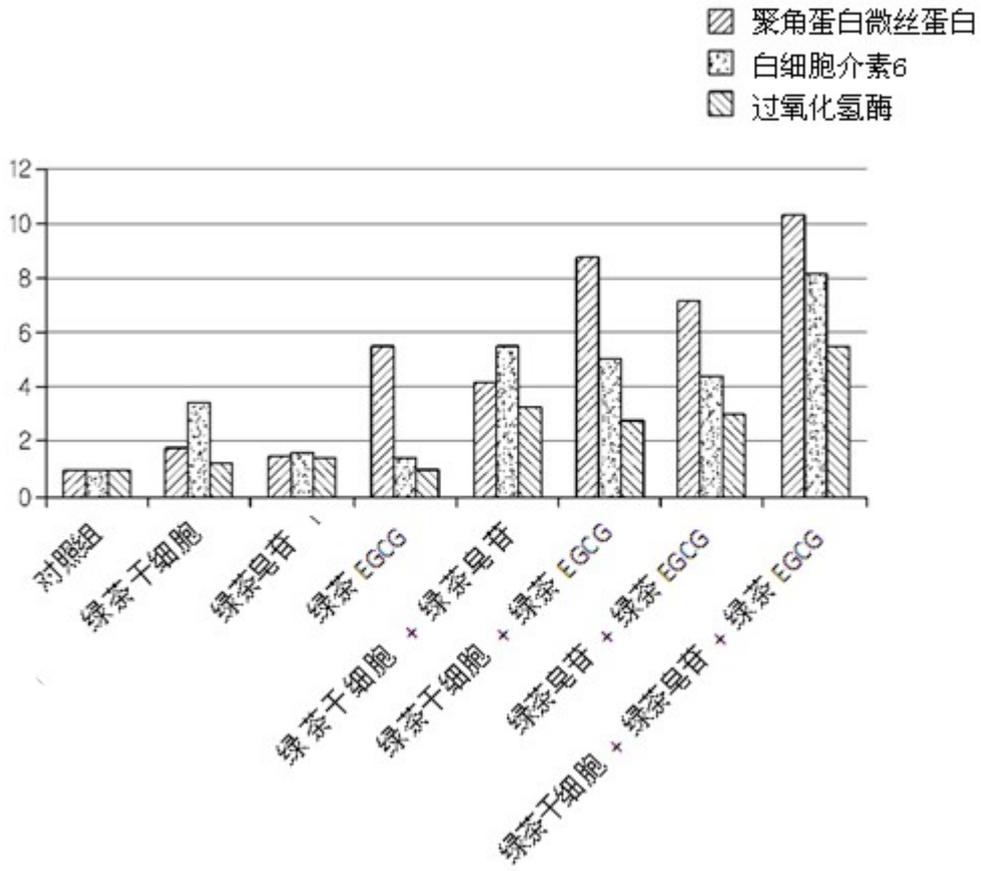


图1