



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201105362 A1

(43)公開日：中華民國 100 (2011) 年 02 月 16 日

---

(21)申請案號：099120421

(22)申請日：中華民國 99 (2010) 年 06 月 23 日

(51)Int. Cl. :                    *A61K8/98 (2006.01)*                    *A61K8/65 (2006.01)*  
   *A61Q19/00 (2006.01)*                    *A61Q19/08 (2006.01)*

(30)優先權：2009/06/23            日本                                    2009-148754

(71)申請人：康貝股份有限公司 (日本) COMBI CORPORATION    (JP)  
   日本

(72)發明人：武川和琴 BUKAWA, WAKOTO (JP) ；渡邊卓巳 WATANABE, TAKUMI (JP)

(74)代理人：憚軼群；陳文郎

申請實體審查：無    申請專利範圍項數：22 項    圖式數：5            共 26 頁

---

(54)名稱

膠原蛋白產生促進劑、含有其之皮膚外用組成物及化妝品

(57)摘要

本發明之膠原蛋白產生促進劑係以燕窩之酵素分解物作為有效成分。依據本發明，即可有效率地生產，並提供安全性較高之優異 I 型膠原蛋白之產生促進劑，以及包含該促進劑之外用劑及化粧品。



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201105362 A1

(43)公開日：中華民國 100 (2011) 年 02 月 16 日

---

(21)申請案號：099120421

(22)申請日：中華民國 99 (2010) 年 06 月 23 日

(51)Int. Cl. :                    *A61K8/98 (2006.01)*                    *A61K8/65 (2006.01)*  
   *A61Q19/00 (2006.01)*                    *A61Q19/08 (2006.01)*

(30)優先權：2009/06/23            日本    2009-148754

(71)申請人：康貝股份有限公司 (日本) COMBI CORPORATION    (JP)  
   日本

(72)發明人：武川和琴 BUKAWA, WAKOTO (JP) ；渡邊卓巳 WATANABE, TAKUMI (JP)

(74)代理人：憚軼群；陳文郎

申請實體審查：無    申請專利範圍項數：22 項    圖式數：5            共 26 頁

---

(54)名稱

膠原蛋白產生促進劑、含有其之皮膚外用組成物及化妝品

(57)摘要

本發明之膠原蛋白產生促進劑係以燕窩之酵素分解物作為有效成分。依據本發明，即可有效率地生產，並提供安全性較高之優異 I 型膠原蛋白之產生促進劑，以及包含該促進劑之外用劑及化粧品。

## 六、發明說明：

### 【發明所屬之技術領域】

相關申請案之交互參照

本申請案係以已先行於日本提申之專利申請案特願2009-148754號(申請日：2009年6月23日)為基礎，並主張其優先權之利益，且其整體揭露內容係藉由交互參照而納入於此。。

技術領域

本發明係有關於一種以燕窩之酵素分解物作為有效成分之膠原蛋白產生促進劑。更詳而言之，本發明係有關於一種可促進皮膚真皮纖維母細胞之I型膠原蛋白之產生之膠原蛋白產生促進劑。進而，本發明係有關於一種包含前述有效成分之燕窩之酵素分解物之皮膚外用組成物及化粧品。

### 【先前技術】

背景技術

肌膚乾燥、皺紋、肌膚鬆弛、彈性不佳等肌膚問題，尤其受到女性重視與關心。該等肌膚問題通常被認為係由環境因素、老化等增齡之因素、甚至壓力等心理因素等所導致。尤其，近年紫外線增加及空調之泛用等所伴隨之生活環境之乾燥化等所導致對肌膚造成不良影響之環境因素可謂正逐漸增加。

皮膚組織係由表皮、真皮、皮下組織所構成。真皮含有多量膠原蛋白及玻尿酸，而與皮膚之保水性及彈力息息

相關。膠原蛋白及玻尿酸已知係由存在真皮中之真皮纖維母細胞所產生。

據稱膠原蛋白約占人體內存在之蛋白質之30%，其中70%存在於真皮中。存在真皮中之膠原蛋白雖包含I型膠原蛋白及III型膠原蛋白，但主要則為I型膠原蛋白。以往，為提昇肌膚彈性及光澤、皺紋之預防改善之目的，多採用以外用方式使用添加有膠原蛋白之化粧品，而對皮膚直接補充膠原蛋白之方法。然而，以外用方式補充膠原蛋白時，不易使皮膚真皮之膠原蛋白增加，故難謂絕對充分可使肌膚之彈性及光澤提昇、預防改善皺紋。

皮膚若曝曬於包含紫外線之光線下，已知占真皮之細胞外基質之大半之膠原蛋白將顯著減少，並使其纖維束排列不規則。因此，真皮之膠原蛋白量增加有助於皺紋之改善及預防等(文獻1「用於機能性化粧品材料之開發之實驗法」(芋皮玄爾 監修)，2007年發行，CMC出版，第45~47頁)。又，其中亦揭露中波紫外線(UVB)之照射將使真皮纖維母細胞之膠原蛋白合成大幅減少。其中，I型膠原蛋白合成促進劑係例示為維他命C誘導體、乳清成分等。

另，文獻2(Akiko Kojima-Yuasa, et al., *Fragrance Journal*, April, 2009, No. 346 (Vol.37, No. 4), pp. 103-)中則揭露了膠原蛋白產生能力之降低之抑制有助於QOL之提昇改善，皮膚之膠原蛋白量之降低則為皺紋及鬆弛等之成因。

I型膠原蛋白之產生促進劑迄今已有著眼於特定之植物來源成分而加以利用之多數報告(諸如特開2008-105984

號公報及WO2004/085429)。

燕窩係金絲燕以自己的唾液構成絲狀而築成之巢，已知其成分包含多量之醣蛋白質，而幾乎不含脂質。燕窩迄今使用於中菜作為食材，亦為中藥之原料等。近年，亦已開發以燕窩為原料之健康食品等，至於外用劑及化粧品等外用用途之應用例則尚少為人知。

特開2003-95961號公報中已揭露使用燕窩之酵素分解物之口服用之美肌促進劑。然而，其中僅揭露口服用途，而未就外用用途之利用可能性作任何揭露及暗示。又，其效果係肌膚保濕感之提昇及肌理細緻肌膚之實現，並未就可提昇肌膚彈性及光澤並改善皺紋之I型膠原蛋白之產生促進能力作任何揭露。

WO99/022709中，已揭露包含燕窩之含水溶劑萃取物，特別是熱水萃取物之化粧品。該化粧品可使用於皮膚保養用途，係使用於外用用途者。又，其中亦揭露燕窩之含水萃取物具有皮膚細胞之膠原蛋白合成促進效果。然而，其使用之萃取物係就燕窩加以熱水萃取而去除固態部分而成者，與就燕窩整體進行酵素處理而加以直接使用之燕窩酵素分解物顯然不同。又，關於其效果，依本發明人等之考量認為仍有改善之空間。

## 【發明內容】

### 發明概要

本發明人此次發現了燕窩之酵素分解物具有皮膚真皮纖維母細胞之I型膠原蛋白之優良產生促進效果。其效果較

燕窩之熱水萃取物之效果更為顯著，又，酵素分解程度較高之酵素分解物之上述效果則更為明顯。本發明即以該等發現為依據。

因此，本發明之目的在提供可有效率地生產且安全性較高之優良I型膠原蛋白之產生促進劑及包含前者之外用劑與化粧品。

本發明之膠原蛋白產生促進劑係以燕窩之酵素分解物作為有效成分。

依據本發明之一較佳態樣，前述酵素分解物係蛋白酶之分解物。

依據本發明之一更佳態樣，前述酵素分解物之分子量為70~200,000。

依據本發明之一最佳態樣，前述酵素分解物之平均分子量為300~15,000。

依據本發明之較佳態樣，本發明之膠原蛋白產生促進劑可促進皮膚真皮纖維母細胞之I型膠原蛋白產生。

依據本發明之其它態樣，可提供一種皮膚外用組成物，其包含本發明之膠原蛋白產生促進劑。該組成物宜使用於皮膚保養，更宜使用於提昇肌膚之彈性與光澤，以及預防或改善皺紋。

依據本發明之其它更佳態樣，本發明之皮膚外用組成物係化粧品。

依據本發明之其它態樣，可提供一種燕窩之酵素分解物之用途，其係用於製造涵括人類在內之哺乳動物之皮膚

之膠原蛋白產生促進劑。依據本發明之另一態樣，可提供一種燕窩之酵素分解物之用途，其係用於製造皮膚保養用之皮膚外用組成物。

進而，依據本發明之其它態樣，可提供一種皮膚之膠原蛋白之產生促進方法，包含：將有效量之本發明有效成分之酵素分解物應用於涵括人類在內之哺乳動物之皮膚。依據本發明之另一態樣，可提供一種皮膚保養方法，包含：將有效量之本發明有效成分應用於涵括人類在內之哺乳動物之皮膚上。同樣地，亦可提供一種方法，包含：將有效量之本發明有效成分應用於涵括人類在內之哺乳動物之皮膚上；其可提昇肌膚之彈性與光澤，並預防或改善皺紋。

依據本發明，使用燕窩之酵素分解物作為有效成分，可較以往更為顯著地促進人類皮膚真皮纖維母細胞之膠原蛋白之產生。又，基於上述真皮纖維母細胞之膠原蛋白之產生促進能力，而將酵素分解物使用於皮膚外用用途或化粧品用途，則可提昇肌膚之彈性(彈力)，並增加肌膚光澤，進而預防或減少皺紋。進而，可使日曬後肌膚在膠原蛋白合成減少之狀態下促進增生膠原蛋白，而提昇肌膚之彈性及光澤，並進行皺紋之改善。如此，依據本發明，可實現消費者之QOL之提昇。又，所使用之酵素分解物係使用亦公知為食材之燕窩，故安全性較高，消費者接受度亦較高。進而，酵素分解物可直接就燕窩進行酵素處理而取得，故可有效率進行製造，且降低製造成本。

圖式簡單說明

第1圖係顯示燕窩樣本中之涎酸量之測定結果之圖表。

第2圖係顯示燕窩樣本中之蛋白質量之測定結果之圖表。

第3圖係顯示採GPC-HPLC之燕窩酵素分解物1之測定結果之圖表。

第4圖係顯示採GPC-HPLC之燕窩酵素分解物2之測定結果之圖表。

第5圖係顯示膠原蛋白之產生促進能力之測定結果之圖表。

### 【實施方式】

發明之具體說明

有效成分

本發明之膠原蛋白產生促進劑一如前述，係以燕窩之酵素分解物作為有效成分。

酵素分解物之原料燕窩係金絲燕將自己的唾液構成絲狀而築成之巢，其成分包含多量之醣蛋白質，幾乎不含有脂質。在此，金絲燕係指兩燕科(Apodidae)之金絲燕屬(Collocalia)下之燕類，可例舉諸如小灰腰金絲燕(Apodidae Collocalia francica)、苔巢金絲燕(Apodidae Collocalia salanga)、爪哇金絲燕(Apodidae Collocalia fuciphaga)、印度食用巢金絲燕(Apodidae Collocalia inexpectat)、褐腰金絲燕(Apodidae Collocalia vestita)、白腹金絲燕(Apodidae Collocalia esculent)、大金絲燕(Apodidae Collocalia maximus)等。

本發明中，燕窩可使用市售品。一般市售之燕窩從僅去除燕毛及糞便等污垢而經清洗者，至收集燕窩之碎屑而反覆進行漂白與清洗而成形者，涵括多種各類，但本發明所使用之燕窩則宜使用未在前置處理時經過度清洗及漂白等之燕窩。

燕窩之酵素分解物係指就燕窩進行酵素反應加以分解所得者，可使用蛋白酶或含有蛋白酶之複合酵素等分解燕窩或其處理物而製得。在此，分解處理所使用之酵素宜為蛋白酶，使用胰酶則更佳。

燕窩之酵素分解物通常可先經加熱殺菌處理，然後於水中進行酵素處理。殺菌處理之條件可適當參考慣用之加熱殺菌條件而設定，酵素處理之條件亦可對應所使用之酵素之種類及燕窩之狀態而適當加以設定。

更具體之例，則可依以下程序調製燕窩之酵素分解物。

舉例言之，對已磨碎之燕窩加入其質量之10~50倍之水而使其膨脹後，在60~130°C下進行加熱殺菌處理5秒至30分鐘。然後，直接添加適量之酵素，而在酵素之最佳pH、最佳溫度下進行酵素反應0.5~48小時。酵素反應結束後，藉加熱處理等使酵素不活性化，並過濾反應液而去除不溶物，即可製得燕窩之酵素分解物。又，上述酵素分解物亦可視需要而乾燥成粉狀。另，上述各程序中，亦可適當進行pH調整、脫色、脫臭等操作。

他例則在就燕窩之處理物加以酵素分解時，就對粒徑2mm以下、150 $\mu$ m以下更佳之已磨碎之燕窩加入其質量之

10~100倍之水，並在1~60°C下予以靜置或攪拌0.5~48小時而使其膨脹後，在60~130°C下進行加熱殺菌處理5秒~30分鐘，並視需要進行過濾而製得溶液，再與上述同樣施以酵素處理，而可製得燕窩之酵素分解物。

酵素分解物之調製法係酵素反應之時間愈長，蛋白質之分解程度愈高，而可獲致包含更低分子之蛋白質之酵素分解物。本發明中，酵素反應時間為0.5~48小時，而3~36小時更佳，約24小時程度最佳，並宜使用酵素反應較充分進行後之酵素分解物。

如此製得之燕窩之酵素分解物之分子量宜為70~200,000，70~180,000則更佳。分子量為70~150,000則極佳，70~120,000則最佳。

又，燕窩之酵素分解物之平均分子量(重量平均分子量)宜為300~100,000，而以300~70,000為更佳。平均分子量300~50,000則甚佳，300~30,000為極佳，300~20,000再更佳，300~15,000則最佳。

#### 皮膚外用組成物

本發明之膠原蛋白產生促進劑雖可單獨直接使用，但亦可內含於化粧品、醫藥品、準藥物等各種皮膚外用組成物中作為添加劑，而製得具有膠原蛋白產生促進效果之組成物。所製得之組成物可有效使用於皮膚保養，更宜用於提昇肌膚之彈性與光澤及預防或改善皺紋。

本發明之有效成分之燕窩之酵素分解物具有人類皮膚真皮纖維母細胞之I型膠原蛋白之產生促進活性(後述實施

例之測試結果)。

因此，本發明中，所謂膠原蛋白之產生促進活性意指促進或改善人類皮膚真皮纖維母細胞之I型膠原蛋白之產生能力之作用，意在藉此可增加人類皮膚真皮中之膠原蛋白量。增加真皮之膠原蛋白量，即可獲致皺紋改善及預防效果，並可提昇肌膚彈性(彈力)且增加肌膚之光澤，本業之技術人員尤已周知(諸如前述之文獻(「用於機能性化粧品材料之開發之實驗法」(芋皮玄爾 監修)，2007年發行，CMC出版，第45~47頁(非專利文獻1))及文獻(Akiko Kojima-Yuasa, et al., Fragrance Journal, April, 2009, No. 346 (Vol.37, No. 4), pp. 103- (非專利文獻2))等中均已明示此點)。因此，本發明之有效成分已確認具有真皮之膠原蛋白產生促進活性，故本發明之有效成分明顯有助於皮膚保養，更有助於提昇肌膚之彈性與光澤及皺紋之預防或改善。

另，本說明書中，所謂肌膚之彈性與光澤、皺紋等肌膚或皮膚之狀態之「預防或改善」，包含其狀態之調節、惡化之延緩、減輕、發作預防、復發預防、抑制等在內之意義。

故而，一如前述，依據本發明之其它態樣，可提供構成含有本發明之膠原蛋白產生促進劑之皮膚外用組成物。皮膚外用組成物宜提供作為醫藥品、準藥物或化粧品，而更宜提供作為化粧品。

本發明之皮膚外用組成物(尤其化粧品)中，有效成分之燕窩之酵素分解物之含量(乾物換算)並無特別之限制，依組

成物形態而不同，但一般作為固態部分而為0.001~20重量百分比，而以0.005~5重量百分比之範圍為佳，可對應組成物之形態而適當加以變更。

或，本發明之皮膚外用組成物之燕窩之酵素分解物之含量(乾物換算)宜為可實現每日於每平方公分之皮膚上使用0.01mg以上，而以0.01mg~2mg為佳之量。

在本發明之皮膚外用組成物包含有效成分，且無損膠原蛋白之產生促進效果之限度內，本發明之促進劑可進而包含其它任意成分。上述之任意成分可為諸如皮膚外用劑、化粧品慣用之各種成分，可例舉諸如保濕劑、低級醇、多價醇、醣類、界面活性劑、緩衝劑、乳化劑、安定劑、增黏劑、抗氧化劑、防腐抗菌劑、螯合劑、pH調整劑、香料、色素、紫外線吸收劑、紫外線散射劑、維他命類、胺基酸類、抗炎劑、水、胜肽、糖醇類、酵素類、植物萃取類、抗氧化物質類、滑石粉、黏土、花粉、珍珠粉等。

在此，保濕劑可例舉諸如聚乙二醇、聚丙二醇、丙三醇、丙二醇、山梨糖醇、玻尿酸及硫酸軟骨素等酸性黏多糖類、胺基酸、膠原蛋白、彈力蛋白等。

低級醇可例舉諸如乙醇、丙醇、異丙醇等。

多價醇可例舉諸如丙三醇、異戊四醇、雙異戊四醇、乙二醇、丙二醇、聚丙二醇、1,3-丁二醇等。

醣類則可例舉諸如葡萄糖、麥芽糖、乳糖、D-葡萄糖醛酸、蔗糖、D-山梨糖醇、山梨醇酐、纖維素、澱粉等醣類、寡糖類、多醣類及其等之誘導體。

本發明之皮膚外用組成物可採用公知之方法適當調配包含燕窩酵素分解物之膠原蛋白產生促進劑及上述之任意成分，而構成洗劑、乳液、乳霜、保濕液、敷面劑、化粧水、洗面乳、身體乳、身體霜等各種化粧品之慣用產品形態。本發明之皮膚外用組成物亦可進而提供作為粉底類、脣膏、眼影、腮紅等彩粧化粧品及防曬用產品、防臭化粧品等藥用化粧品、洗髮精及潤絲精、造型品等髮粧品、皮膚清潔劑及入浴劑之浴用化粧品等之使用用途。

依據本發明之其它態樣，一如前述，可提供燕窩之酵素分解物之使用，目的在製造涵括人類在內之哺乳動物之皮膚之膠原蛋白產生促進劑。在此，皮膚之膠原蛋白產生促進宜為皮膚真皮纖維母細胞之I型膠原蛋白產生之促進。

依據本發明之另一態樣，一如前述，可提供燕窩之酵素分解物之使用，目的在製造皮膚保養用之皮膚外用組成物。在此，皮膚外用組成物宜使用於肌膚之彈性與光澤之提昇以及皺紋之預防或改善。又，皮膚外用組成物宜為化粧品。

依據本發明之另一態樣，一如前述，可提供皮膚之膠原蛋白產生促進方法，包含對涵括人類在內之哺乳動物之皮膚使用本發明之有效成分之酵素分解物之有效量之程序。另，在此所謂「有效量」係指因使用而可於體內之預定領域內發揮膠原蛋白之產生促進活性之充足量。又，此之所謂皮膚之膠原蛋白之產生促進宜為皮膚真皮纖維母細胞之I型膠原蛋白產生之促進。

進而，依據本發明之另一其它態樣，可提供一種皮膚保養方法，包含對涵括人類在內之哺乳動物之皮膚使用本發明之有效成分之有效量之程序。同樣地，亦可提供包含對涵括人類在內之哺乳動物之皮膚使用本發明之有效成分之有效量之程序，而可提昇肌膚之彈性與光澤，並預防或改善皺紋之方法。另，此之所謂「有效量」係指獲致所欲之效果所需之充足量。

另，本說明書中，使用「約」及「程度」之用語之值，包含在達成設定其值之目的之前提下，本業之技術人員所可容許之值之變動之意義。舉例言之，意指可容許預定值或範圍之20%以內之變動，而以10%以內為佳，5%以內為更佳。

#### 實施例

參照以下之例具體說明本發明，但本發明並不受限於以下之例。

#### (1) 燕窩樣本之調製

##### (1-1) 燕窩酵素分解物 1

藉碾磨機磨碎市售之未漂白之燕窩，而製得100篩目大小(粒徑150 $\mu$ m以下)之燕窩粉末，再對該燕窩粉末加入約50倍量(質量)之水而在5 $^{\circ}$ C下使其膨脹20小時後，在121 $^{\circ}$ C下進行加熱殺菌處理15分鐘。

在製得之處理液冷卻後，調整pH，並對燕窩粉末添加2質量百分比之量之含蛋白酶酵素(商品名「Pancreatin F」，天野製藥株式會社出品)，而在45 $^{\circ}$ C下進行反應3小時。

將上述酵素反應液調整成pH7.0後，在90°C下加熱5分鐘而使酵素不活性化，再加以過濾並回收濾液。濃縮上述濾液後，予以凍結乾燥而製得「燕窩酵素分解物1」

#### (1-2)燕窩酵素分解物

除酵素反應之時間改為24小時以外，製程均與前述(1-1)之酵素分解物1相同，而製得「燕窩酵素分解物2」。

#### (1-3)燕窩熱水萃取物(比較例)

藉碾磨機磨碎市售之未漂白之燕窩(乾燥物)，並將其磨碎物加入1000ml之蒸餾水中，再藉加熱迴流進行2小時之萃取處理。加熱迴流後，再予靜置，然後分取上澄液加以過濾，而回收濾液。殘渣則進而與前述相同，予以加入1000ml之蒸餾水中，藉加熱迴流而進行再萃取處理後，過濾固態物殘渣而加以去除，並回收濾液。所得之濾液(萃取液)則一同在減壓環境下加以濃縮，所得之濃縮物則予以凍結乾燥，而製得黃白色之「燕窩熱水萃取物」(比較例)。

#### (2)燕窩樣本之分析

製得之各燕窩樣本(燕窩酵素分解物1、燕窩酵素分解物2及燕窩熱水萃取物)中之涎酸量與蛋白質量已測定如下。

涎酸之量係在各試料之酸性水解後藉高速液體層析法而測定游離N-乙醯神經氨酸所得。

蛋白質之量則使用基於Bradford法之Bio Rad公司之Protein Assay Kit而加以測定。

結果則如第1及第2圖所示。

其次，為測定燕窩酵素分解物1及燕窩酵素分解物2所含之蛋白質之分子量及其分布，而在以下條件下，進行了GPC之分析。

[HPLC之測定條件]

- 管柱：Shodex Asahipak GS320HQ( $\phi$  7.6×300mm)
- 管柱溫度：35°C
- 移動相：50mM CH<sub>3</sub>COONH<sub>3</sub> pH6.7
- 流速：0.4ml/min
- 試料注入量：10 $\mu$ l
- 偵測器：紫外分光偵測器(UV220nm之測定)

[使用之分子量標示器]

- BSA MW66,000
- 甘胺醯甘胺酸(Gly-gly) MW132.1
- 三胜肽(Gly-gly-gly) MW189.17
- L-天冬胺酸(L-Asparaginic acid) MW133.1
- DL-天冬胺酸(DL-Asparaginic acid) MW150.1
- N-乙醯神經氨酸(N-Acetylneuraminic acid) MW309.3

測定結果則如第3及第4圖所示。

已就燕窩酵素分解物所含之蛋白質之分子量，使用西方墨點法而加以評價。具體而言，係先依循前述之測定法而確認燕窩酵素分解物中之蛋白質之量。就燕窩酵素分解物來源之蛋白質(100 $\mu$ g)使用SDS-PAGE而藉10~15%之聚丙醯胺加以分離。將已分散於膠體中之蛋白質轉印至Immunoblot PVDF膜(聚偏二氟乙烯(Polyvinylidene

difluoride)，取自Bio-Lad Lab公司)。再於包含3%之脫脂乳與0.1%之Tween-20之PBS中對PVDF膜進行阻隔1小時，再加以進行視覺上之判定。

另，評價蛋白質之分子量時，亦已參考公知文獻(Guo, C. T., Suzuki Y., et al., Antiviral Res. 70, pp.140-146 (2006))所揭露之資料。

由上述結果可知，燕窩酵素分解物中所含之蛋白質分子量存在約70~120,000程度(另，視評價條件之不同，上限值可達200,000程度)之範圍內。

進而，由所得結果可知，燕窩酵素分解物1之蛋白質之平均分子量約為55,000。又，可知燕窩酵素分解物2之蛋白質之平均分子量約為33,000。

### (3) 膠原蛋白之產生促進能力之測定

已使用含有0.5%幼牛血清(FBS)之DMEM培養基(取自SIGMA)於96孔板上按 $2 \times 10^4$  cells之細胞密度種植正常人類皮膚真皮纖維母細胞(KF-4109，取自KURABO公司)。種植24小時後，更換為內含含有預定濃度之各燕窩樣本之0.5%FBS之DMEM培養基，再進行培養24小時。

且，已使用左旋C磷酸鎂(VC-PMg)作為正控制(P. C.)。

培養後，回收培養基上澄液，並藉ELISA法測定上澄液中之I型膠原蛋白量。另，ELISA法係使用Anti-Human Collagen Type 1抗體(Rabbit)作為一次抗體，並使用Histofine PO(Rabbit)作為二次抗體，進而發色劑則使用2,2'-連氮基-雙-(3-乙基苯並二氫噻唑啉-6-磺酸)(ABTS)，而藉微量盤判讀

儀測定了405nm之吸光度。

培養基中之I型膠原蛋白量已藉培養基中之I型膠原蛋白量除以全部細胞之蛋白質量而算出各單位蛋白質量之I型膠原蛋白產生量。

結果則如第5圖所示。

由結果可知，燕窩之酵素分解物可積極使人類皮膚真皮纖維母細胞之I型膠原蛋白增生。

### 【圖式簡單說明】

第1圖係顯示燕窩樣本中之涎酸量之測定結果之圖表。

第2圖係顯示燕窩樣本中之蛋白質量之測定結果之圖表。

第3圖係顯示採GPC-HPLC之燕窩酵素分解物1之測定結果之圖表。

第4圖係顯示採GPC-HPLC之燕窩酵素分解物2之測定結果之圖表。

第5圖係顯示膠原蛋白之產生促進能力之測定結果之圖表。

### 【主要元件符號說明】

(無)

# 發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：99120421

※申請日：99.6.23

※IPC分類：

A61K8/98 (2006.01)

A61K8/65 (2006.01)

A61Q19/00 (2006.01)

A61Q19/68 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

膠原蛋白產生促進劑、含有其之皮膚外用組成物及化妝品

二、中文發明摘要：

○ 本發明之膠原蛋白產生促進劑係以燕窩之酵素分解物作為有效成分。依據本發明，即可有效率地生產，並提供安全性較高之優異I型膠原蛋白之產生促進劑，以及包含該促進劑之外用劑及化粧品。

○ 三、英文發明摘要：

## 七、申請專利範圍：

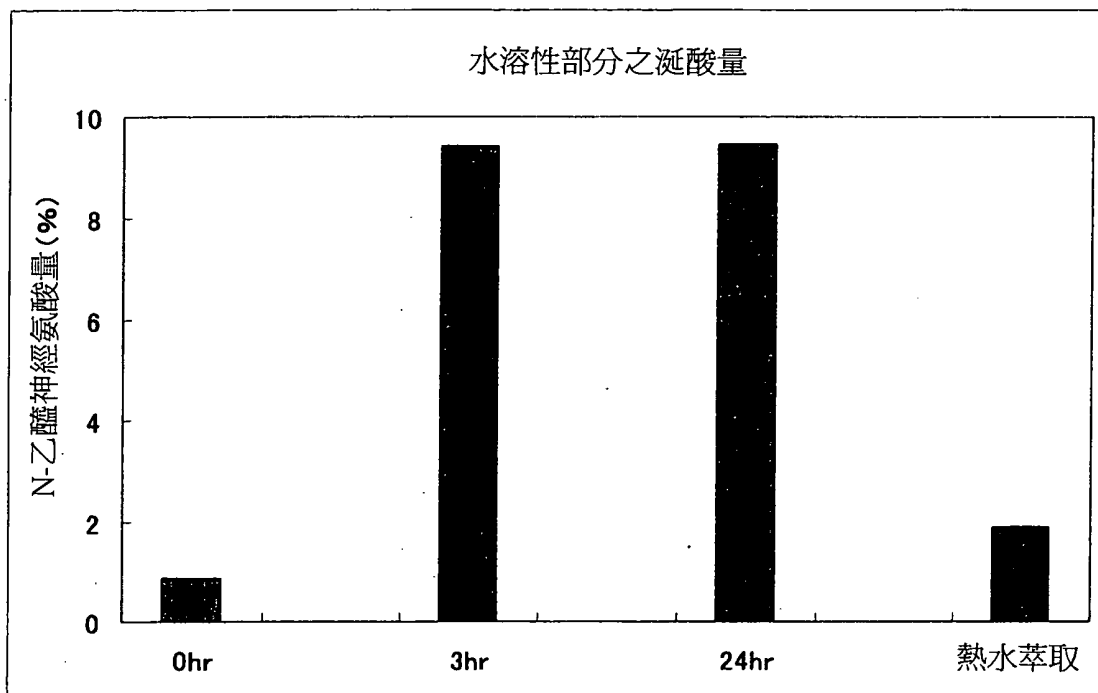
1. 一種膠原蛋白產生促進劑，係以燕窩之酵素分解物作為有效成分。
2. 如申請專利範圍第1項之膠原蛋白產生促進劑，其中前述酵素分解物係蛋白酶之分解物。
3. 如申請專利範圍第1或2項之膠原蛋白產生促進劑，其中前述酵素分解物之分子量為70~200,000。
4. 如申請專利範圍第1至3項中任一項之膠原蛋白產生促進劑，其中前述酵素分解物之平均分子量為300~15,000。
5. 如申請專利範圍第1至4項中任一項之膠原蛋白產生促進劑，其係用以促進皮膚真皮纖維母細胞之I型膠原蛋白產生。
6. 一種皮膚外用組成物，包含如申請專利範圍第1至5項中任一項之膠原蛋白產生促進劑。
7. 如申請專利範圍第6項之組成物，其係使用於皮膚保養。
8. 如申請專利範圍第6或7項之組成物，其係使用於提昇肌膚之彈性與光澤，以及預防或改善皺紋。
9. 如申請專利範圍第6至8項中任一項之組成物，其係化粧品。
10. 一種燕窩之酵素分解物之用途，係將燕窩之酵素分解物用於製造涵括人類在內之哺乳動物之皮膚之膠原蛋白產生促進劑。
11. 如申請專利範圍第10項之用途，其中前述皮膚之膠原蛋

- 白之產生促進係皮膚真皮纖維母細胞之I型膠原蛋白產生之促進。
12. 一種燕窩之酵素分解物之用途，係將燕窩之酵素分解物用於製造皮膚保養用之皮膚外用組成物。
  13. 如申請專利範圍第12項之用途，其中前述皮膚外用組成物係使用於提昇肌膚之彈性與光澤，以及預防或改善皺紋。
  14. 如申請專利範圍第10至13項中任一項之用途，其中前述酵素分解物係蛋白酶之分解物。
  15. 如申請專利範圍第10至14項中任一項之用途，其中前述酵素分解物之分子量為70~200,000。
  16. 如申請專利範圍第10至15項中任一項之用途，其中前述酵素分解物之平均分子量為300~15,000。
  17. 如申請專利範圍第10至16項之用途，其中前述皮膚外用組成物係化粧品。
  18. 一種皮膚之膠原蛋白之產生促進方法，包含：將有效量之燕窩之酵素分解物應用在涵括人類在內之哺乳動物之皮膚上。
  19. 如申請專利範圍第18項之方法，其中前述皮膚之膠原蛋白之產生促進係皮膚真皮纖維母細胞之I型膠原蛋白產生之促進。
  20. 一種皮膚保養方法，包含：將有效量之燕窩之酵素分解物應用在涵括人類在內之哺乳動物之皮膚上。
  21. 一種提昇肌膚之彈性與光澤以及預防或改善皺紋的方

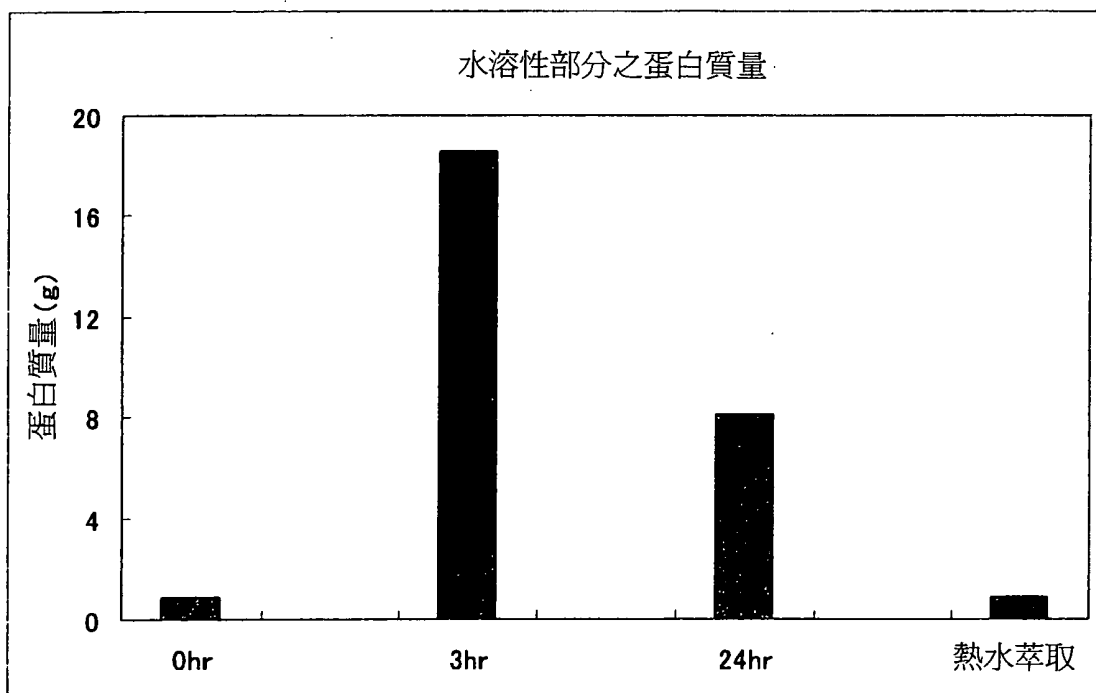
法，包含：將有效量之燕窩之酵素分解物應用在涵括人類在內之哺乳動物之皮膚上。

22. 如申請專利範圍第18至21項中任一項之方法，其中前述酵素分解物係蛋白酶之分解物。

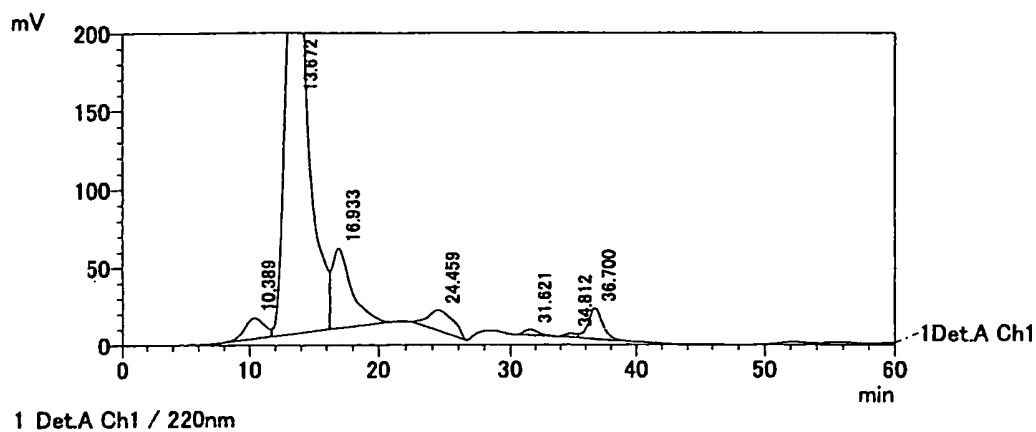
第 1 圖



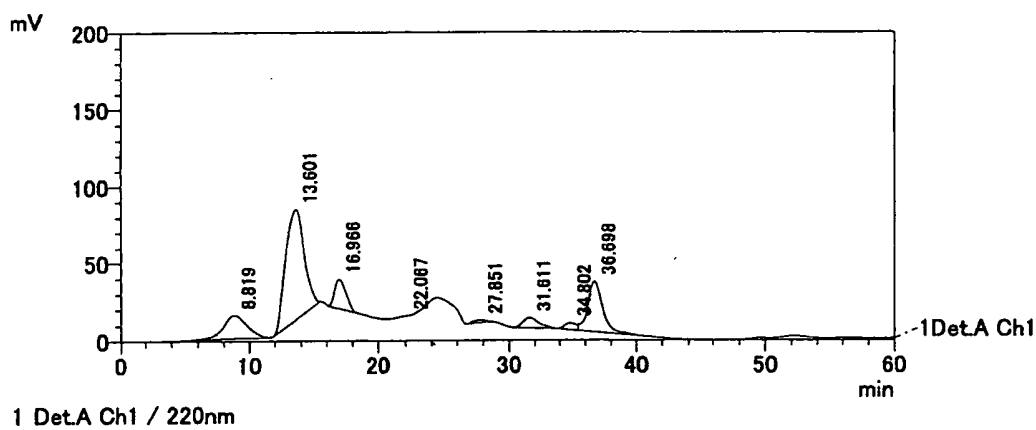
第 2 圖



第 3 圖

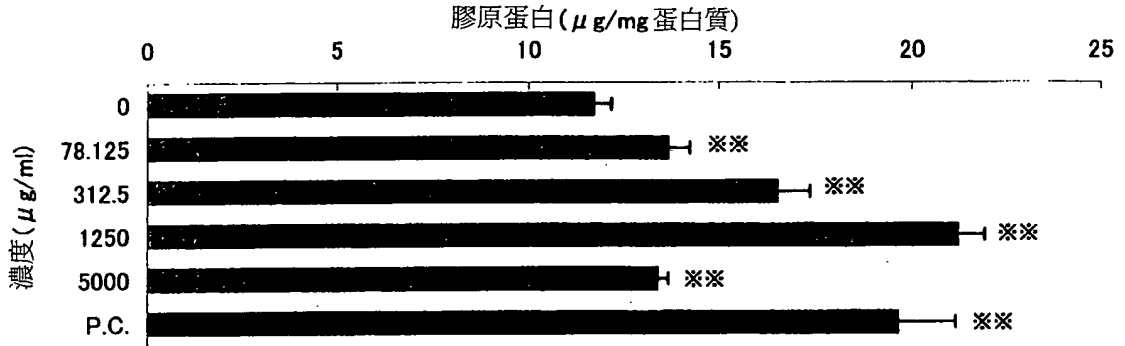


第 4 圖

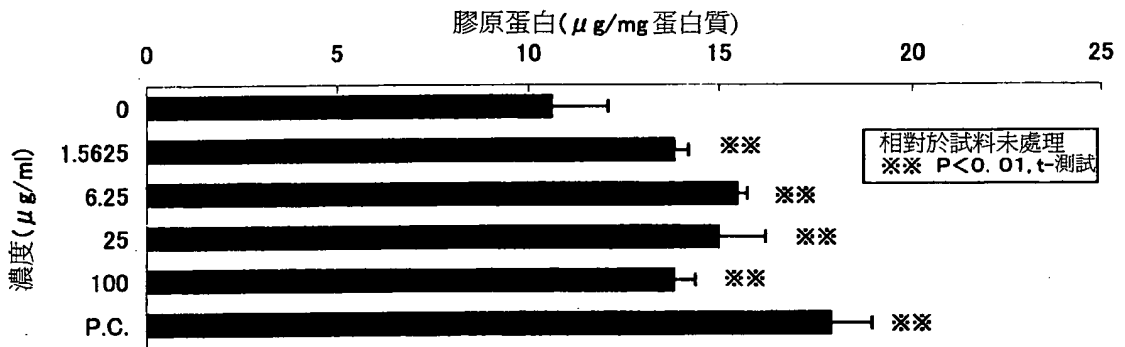


第 5 圖

燕窩酵素分解物 2:



燕窩熱水萃取物:



四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第( )圖。(無)

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

(無)