



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN) (11) CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ



1-0039451

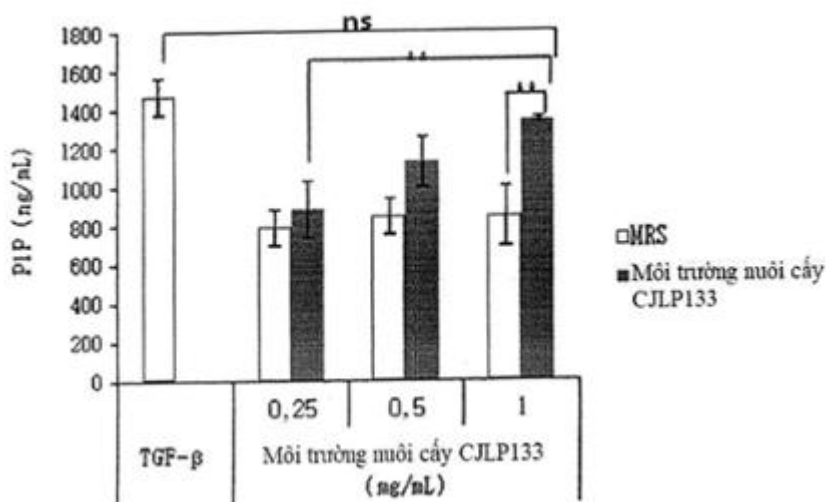
(51)<sup>2020.01</sup> A61K 8/99; A61Q 19/08

(13) B

(21) 1-2020-03480 (22) 16/11/2018  
(86) PCT/KR2018/014094 16/11/2018 (87) WO 2019/098751 23/05/2019  
(30) 10-2017- 0153343 16/11/2017 KR  
(45) 25/04/2024 433 (43) 25/03/2021 396  
(73) CJ CHEILJEDANG CORPORATION (KR)  
330, Dongho-ro, Jung-gu, Seoul 04560, Republic of Korea  
(72) PAEK, Sehee (KR); SHIN, Min Kyeong (KR); SEO, Yong Ki (KR).  
(74) Công ty TNHH Sáng chế ACTIP (ACTIP PATENT LIMITED)

(54) CHẾ PHẨM MỸ PHẨM ĐỂ CẢI THIỆN NẾP NHĂN TRÊN DA CHỨA MÔI TRƯỜNG NUÔI CÂY LACTOBACILLUS PLANTARUM

(57) Sáng chế chế đề cập đến chế phẩm mỹ phẩm để cải thiện nếp nhăn trên da chứa môi trường nuôi cấy *Lactobacillus plantarum*. Ngoài ra, sáng chế còn đề cập đến phương pháp thẩm mỹ để ngăn ngừa hoặc cải thiện nếp nhăn trên da.



### **Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập**

Sáng chế đề cập đến chế phẩm mỹ phẩm có tác dụng tổng hợp collagen chứa môi trường nuôi cấy axit lactic duy nhất, và cụ thể hơn là đề cập đến chế phẩm mỹ phẩm để thúc đẩy tổng hợp collagen để ngăn ngừa và cải thiện nếp nhăn trên da chứa môi trường nuôi cấy *Lactobacillus plantarum* CJLP133, và phương pháp thẩm mỹ để ngăn ngừa hoặc cải thiện nếp nhăn trên da.

### **Tình trạng kỹ thuật của sáng chế**

Da người bảo vệ cơ thể khỏi các loại chất oxy hóa, ô nhiễm không khí, các kim loại nặng, bức xạ tia cực tím (UV), v.v., ngăn chặn vi khuẩn, nấm, virus, v.v. không xâm nhập vào da và có vai trò như hàng rào bảo vệ chống mất độ ẩm. Cấu trúc da phần lớn được chia thành ba lớp thượng bì, trung bì và mỡ dưới da và lớp hạ bì, 90% da bao gồm collagen, elastin, axit hyaluronic và glycoprotein. Collagen, thành phần chính của da là protein sợi quan trọng chiếm khoảng 25% tổng khối lượng protein trong cơ thể con người. Nó cấu thành hầu hết các mô liên kết và có vai trò quan trọng, chẳng hạn như chức năng làm chất nền gian bào, chức năng hỗ trợ cấu trúc, cảm ứng phân chia và biệt hóa tế bào, cung cấp độ bền kéo của da, v.v.. Như đã biết lão hóa, các tia UV, oxy độc hại, v.v. có thể làm giảm sản xuất collagen và làm hỏng cấu trúc của da, và do đó nó có liên quan chặt chẽ với sự hình thành của nếp nhăn trên da. Trong những năm gần đây, các yếu tố môi trường càng xấu đi (ví dụ, bụi mịn, v.v.) đang gây ra sự phá hủy hàng rào bảo vệ da, và do đó lão hóa da liên tục được thúc đẩy thông qua việc giảm tổng hợp và tăng phân hủy collagen.

Theo đó, vấn đề rất quan trọng trong mỹ phẩm là tối đa hóa tác dụng của từng thành phần và giảm thiểu tác dụng phụ của chúng để ngăn ngừa lão hóa da. Về vấn đề này, điều cần thiết là phát triển nguyên liệu hiệu quả về chi phí để thúc đẩy tổng hợp collagen và không có các tác dụng phụ, và mỹ phẩm để sử dụng có chứa nguyên liệu này.

Vi khuẩn axit lactic là vi khuẩn có vai trò có ích trong cơ thể con người để tạo ra axit lactic bằng cách lên men cacbohydrat hoặc chất xơ. Khoảng 400 loài vi khuẩn axit lactic đã được tìm thấy cho đến nay, và khoảng 18 giống đã được phát triển thành các

sản phẩm thương mại.

Khi vi khuẩn axit lactic xâm nhập vào ruột của cơ thể, chúng sẽ tiết ra các nguyên liệu đặc hiệu thông qua các hoạt động trao đổi chất của chính chúng. Vì các nguyên liệu này có tác dụng có ích cho cơ thể con người, nhiều nghiên cứu đã được thực hiện trên vi khuẩn axit lactic. Các tác dụng của vi khuẩn axit lactic đối với các hoạt động kháng khuẩn, chống oxy hóa và miễn dịch đã được báo cáo. Trong những năm gần đây, các nghiên cứu đã tập trung vào các tác dụng làm trắng và dưỡng ẩm của vi khuẩn axit lactic và khả năng sử dụng làm nguyên liệu mỹ phẩm ngày càng tăng. Trong số các vi khuẩn axit lactic, nhiều nghiên cứu đã được thực hiện liên quan đến tác dụng của *Lactobacillus*, và tăng cường khả năng miễn dịch, các tác dụng kháng khuẩn, làm trắng da, cải thiện viêm da dị ứng, v.v. đã được báo cáo.

Trong số các vi khuẩn axit lactic này, vi khuẩn axit lactic có nguồn gốc thực vật (POLAB) là vi khuẩn axit lactic phân lập từ các thực phẩm lên men của các nguyên liệu thực vật (ví dụ, dưa chua, kim chi, v.v.) và được phân biệt với vi khuẩn axit lactic có nguồn gốc từ sữa.

Vi khuẩn axit lactic có nguồn gốc thực vật không chỉ bao gồm ít nhất nhiều gấp 10 lần loại vi khuẩn so với vi khuẩn axit lactic động vật, mà chúng còn có khả năng thích nghi tốt với môi trường bên ngoài. Cụ thể, axit lactic thực vật được phân lập từ kim chi, có hàm lượng muối cao, độ pH thấp và hàm lượng các chất kháng khuẩn tự nhiên cao, có thể sinh trưởng trong môi trường khắc nghiệt và do đó vi khuẩn axit lactic có nguồn gốc thực vật có năng suất tối ưu của các loại nguyên liệu hoạt động sinh lý.

Các nguyên liệu hoạt động sinh lý điển hình có thể bao gồm các peptit kháng khuẩn, các chất kích thích miễn dịch, axit amin-*gamma* butyric (GABA), thể hiện các chức năng sinh lý khác nhau bao gồm các tác dụng chống viêm và ức chế miễn dịch, v.v.. Ngoài ra, vi khuẩn axit lactic là các peptit bền nhiệt và sản sinh các chất diệt khuẩn, hoạt động như các chất kháng vi sinh vật. Các chất diệt khuẩn là các protein kháng vi sinh vật tự nhiên hoặc các nguyên liệu protein được sản xuất bởi các loại vi sinh vật, thường đề cập đến các nguyên liệu có cơ chế khử trùng chống lại các chủng vi khuẩn có hình thái và phả hệ giống với các vi sinh vật sản sinh các chất diệt khuẩn. Theo đó, sự phát triển của các nguyên liệu mỹ phẩm sử dụng nuôi cấy vi khuẩn axit lactic có chứa các nguyên liệu này, hoặc các chiết xuất thực vật lên men vi khuẩn axit lactic, v.v. đang

được tích cực tiến hành, và tiến trình này phù hợp với xu hướng hiện nay ưu tiên các nguyên liệu an toàn và thân thiện với môi trường.

Ngày nay, người tiêu dùng không chỉ mong đợi các tác dụng chăm sóc thông thường trong mỹ phẩm, mà còn yêu cầu các loại chức năng khác nhau (ví dụ, chống lão hóa, cải thiện nếp nhăn, chống kích ứng, chống viêm, làm trắng da, v.v.).

Trong những năm gần đây, các loại chiết xuất thực vật khác nhau đã được sử dụng cho mục đích của các loại mỹ phẩm này và ngày càng có nhiều kỳ vọng cho sản phẩm dựa trên khái niệm mới cho thấy một loạt các đặc tính hiệu suất được cải thiện bằng cách kết hợp các loại đặc tính khác nhau.

Các tài liệu của kỹ thuật hiện có

Tài liệu Patent

(Tài liệu Patent1) KR 10-1486999 B1 (2015.01.21)

### **Bản chất kỹ thuật của sáng chế**

Để đáp ứng với thời đại thân thiện với môi trường, các tác giả của sáng chế đã nỗ lực nghiên cứu các tác dụng của mỹ phẩm từ môi trường nuôi cấy của vi khuẩn axit lactic có nguồn gốc từ kim chi là an toàn cho da mà không có bất kỳ tác dụng phụ nào và có thể được sử dụng hiệu quả để ngăn ngừa lão hóa, cải thiện độ đàn hồi của da, bằng cách tăng sinh tổng hợp collagen, và ngoài ra, khảo sát khả năng phát triển của nó trong công nghiệp hóa trong nước. Do đó, đã xác nhận rằng môi trường nuôi cấy *Lactobacillus plantarum* CJLP133 có hoạt tính cải thiện nếp nhăn trên da, từ đó hoàn thành sáng chế.

Mục đích của sáng chế là đề xuất chế phẩm mỹ phẩm để cải thiện nếp nhăn trên da chứa môi trường nuôi cấy *Lactobacillus plantarum* trong đó các xác vi khuẩn được loại bỏ.

Mục đích khác của sáng chế là đề xuất phương pháp thẩm mỹ để ngăn ngừa hoặc cải thiện nếp nhăn trên da bao gồm sử dụng cho đối tượng, môi trường nuôi cấy *Lactobacillus plantarum* trong đó các xác vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* được loại bỏ.

Mục đích khác nữa của sáng chế là đề xuất sử dụng chế phẩm để điều chế mỹ phẩm, để cải thiện nếp nhăn trên da, chứa môi trường nuôi cấy *Lactobacillus plantarum* trong đó các xác vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* được loại bỏ.

Hiệu quả đạt được của sáng chế

Sáng chế đề xuất phương pháp điều chế môi trường nuôi cấy *Lactobacillus plantarum* là an toàn cho da mà không có bất kỳ các tác dụng phụ nào, sử dụng chủng *Lactobacillus plantarum* (tức là, vi khuẩn có lợi cho da), và cũng đề xuất chế phẩm mỹ phẩm để cải thiện nếp nhăn trên da chứa môi trường nuôi cấy *Lactobacillus plantarum*.

### Mô tả vắn tắt hình vẽ

Fig.1 là đồ thị minh họa các kết quả thử nghiệm của khả năng tổng hợp collagen của môi trường nuôi cấy *Lactobacillus plantarum* CJLP133.

### Mô tả chi tiết sáng chế

Để đạt được các mục đích trên, khía cạnh của sáng chế đề xuất chế phẩm mỹ phẩm để cải thiện nếp nhăn trên da chứa môi trường nuôi cấy *Lactobacillus plantarum* trong đó các xác vi khuẩn được loại bỏ.

Sau đây, chế phẩm mỹ phẩm cải thiện nếp nhăn trên da chứa môi trường nuôi cấy *Lactobacillus plantarum* của sáng chế được giải thích chi tiết.

Như được sử dụng trong sáng chế, thuật ngữ “*Lactobacillus plantarum*” đề cập đến một trong các vi sinh vật thuộc chi *Lactobacillus*, là vi khuẩn gram-âm có khả năng sản sinh axit lactic. Nó đã được tìm thấy trong các thực phẩm lên men như dưa cải bắp, dưa chua, kim chi, v.v..

Chủng *Lactobacillus plantarum* cụ thể có thể là chủng *Lactobacillus plantarum* CJLP133, và đây có thể là một chủng được lưu giữ dưới Số đăng ký KCTC 11403BP.

Cụ thể, chủng *Lactobacillus plantarum* CJLP133 được lưu giữ vào ngày 16 tháng 10 năm 2008, tại Bảo tàng giống chuẩn vi sinh vật Hàn Quốc (KCTC) của Viện nghiên cứu Khoa học sinh học và Công nghệ sinh học Hàn Quốc (KRIBB), cơ quan lưu giữ quốc tế theo Hiệp ước Budapest, và được đăng ký với Số đăng ký KCTC 11403BP.

Như được sử dụng trong sáng chế, thuật ngữ “môi trường nuôi cấy” đề cập đến môi trường chứa sản phẩm phụ được sản xuất bằng cách nuôi cấy chủng vi sinh vật trong môi trường ở đó chủng được cho ăn và chuyển hóa các chất dinh dưỡng được chứa trong môi trường. Thuật ngữ “môi trường nuôi cấy” bao gồm toàn bộ các công thức có thể được hình thành bằng cách sử dụng môi trường (ví dụ, pha loãng hoặc cô đặc môi trường, sản phẩm được sấy khô thu được bằng cách sấy khô môi trường, chế phẩm thô hoặc sản

phẩm tinh khiết của môi trường, hỗn hợp của chúng, v.v.).

Cụ thể, môi trường nuôi cấy có thể là một trong các môi trường nuôi cấy chủng *Lactobacillus plantarum*, hoặc có thể là một trong các môi trường nuôi cấy chủng trong đó các xác vi khuẩn được loại bỏ sau khi nuôi cấy. Tức là, môi trường nuôi cấy trong đó các xác vi khuẩn được loại bỏ có thể được sử dụng như là môi trường nuôi cấy.

Cụ thể hơn, môi trường nuôi cấy có thể được thu được bằng phương pháp bao gồm: (a) nuôi cấy chủng *Lactobacillus plantarum* bằng cách cấy chuyên vào môi trường; (b) ly tâm sản phẩm thu được ở bước (a); và (c) thu hồi phần nổi phía trên từ sản phẩm thu được ở bước (b).

Trong bước (a) môi trường có thể là bất kỳ môi trường nào được sử dụng trong kỹ thuật, miễn là môi trường có thể nuôi cấy chủng và thu hồi môi trường nuôi cấy sau khi nuôi cấy, cụ thể là môi trường lỏng, và cụ thể hơn là môi trường lỏng MRS.

Bước (a) để thu chủng phân lập thuần khiết còn có thể bao gồm bước cấy trải chủng *Lactobacillus plantarum* trên môi trường rắn, nuôi cấy và thu thập các khuẩn lạc được xác nhận là các chủng được phân lập thuần khiết trước bước (a).

Trong bước (b), ly tâm có thể được thực hiện bằng cách sử dụng ly tâm tốc độ cao ở nhiệt độ 1°C đến 7°C, cụ thể là ở nhiệt độ 2°C đến 6°C, và cụ thể hơn là ở nhiệt độ 3°C đến 5°C, với tốc độ quay 1.500 vòng/phút đến 3.500 vòng/phút, tốt hơn là, 2.000 vòng/phút đến 3.000 vòng/phút, và tốt nhất là, 2.200 vòng/phút đến 2.800 vòng/phút, trong 10 đến 30 phút, tốt hơn là, 15 đến 25 phút, và tốt nhất là, 17 đến 23 phút.

Bước (c) còn có thể bao gồm bước lọc phần nổi phía trên. Ngoài ra, bước (c) còn có thể bao gồm bước nghiền phần nổi được lọc bằng cách sử dụng chất đông khô.

Như được sử dụng trong sáng chế, thuật ngữ “nếp nhăn” đề cập đến các nếp nhăn được tạo ra bởi lão hóa da, và các nếp nhăn có thể được gây ra bởi các gen, giảm mức độ collagen có trong lớp trung bì, môi trường bên ngoài, v.v..

Theo sáng chế, chế phẩm có thể cải thiện nếp nhăn trên da bằng phương pháp tăng cường mức tổng hợp collagen, do đó ngăn ngừa giảm collagen.

Collagen là protein sợi quan trọng cấu thành khoảng 25% tổng khối lượng protein của cơ thể con người. Nó chiếm phần lớn mô liên kết và có vai trò của ma trận giữa các tế bào, hỗ trợ cấu trúc, tạo ra sự phân chia và biệt hóa tế bào, cung cấp độ bền kéo của

da, v.v..

Như được sử dụng trong sáng chế, thuật ngữ “cải thiện” đề cập đến sự ngăn chặn hoặc ức chế các dấu hiệu của nếp nhăn trên da, hoặc làm giảm bớt các dấu hiệu của nếp nhăn trên da đã xuất hiện trên da bằng cách sử dụng chế phẩm của sáng chế.

Theo sáng chế, chế phẩm mỹ phẩm có thể được bào chế dưới dạng dung dịch, thuốc mỡ để sử dụng bên ngoài, kem, bột, chất làm mềm dinh dưỡng, chất làm mềm, khăn, nước mềm, sữa dưỡng, kem lót trang điểm, tinh chất, xà phòng, chất tẩy rửa, sữa tắm, kem chống nắng, kem chống nắng chứa dầu, huyền phù, nhũ tương, hồ bột, gel, kem dưỡng, bột, chất tẩy rửa chứa chất hoạt động bề mặt, dầu, phấn nền, lớp nền dạng nhũ, sáp nền, miếng đắp, và xịt, nhưng công thức bào chế không bị giới hạn ở đây.

Theo sáng chế, chế phẩm mỹ phẩm còn có thể chứa ít nhất một loại chất mang được chấp nhận trong mỹ phẩm để kết hợp vào mỹ phẩm dành cho da thông thường. Thành phần phổ biến của chất mang được chấp nhận trong ngành mỹ phẩm, ví dụ, dầu, nước, chất hoạt động bề mặt, chất giữ ẩm, rượu bậc thấp, chất làm đặc, chất tạo chelat, chất tạo màu, chất bảo quản, hương liệu, v.v. có thể được trộn thích hợp, nhưng thành phần không bị giới hạn ở đây.

Chất mang được chấp nhận trong mỹ phẩm để kết hợp vào thành phần mỹ phẩm của sáng chế có thể thay đổi tùy theo các công thức bào chế của chế phẩm mỹ phẩm.

Khi công thức bào chế của sáng chế là thuốc mỡ, hồ bột, kem, hoặc gel, thành phần chất mang như là, dầu động vật, dầu thực vật, sáp, paraffin, tinh bột, nhựa tragacan, dẫn xuất xenluloza, polyetylen glycol, silicon, bentonit, silica, talc, kẽm oxit, v.v. có thể được sử dụng, nhưng thành phần chất mang không được giới hạn ở đây. Các thành phần mang này có thể được sử dụng riêng lẻ hoặc kết hợp của hai hoặc nhiều thành phần.

Khi công thức của sáng chế là dạng bột hoặc dạng xịt, thành phần chất mang như lactoza, talc, silica, nhôm hydroxit, canxi silicat, bột polyamit, v.v. có thể được sử dụng, và cụ thể, trong trường hợp là dạng xịt, công thức bào chế còn có thể chứa chất đẩy như clorflorhydrocacbon, propan/butan, và dimetyl ete, nhưng thành phần chất mang không được giới hạn ở đây. Các thành phần chất mang này có thể được sử dụng riêng lẻ hoặc kết hợp của hai hoặc nhiều thành phần.

Khi công thức bào chế của sáng chế là dạng dung dịch hoặc nhũ tương, thành phần

chất mang như dung môi, chất hòa tan, hoặc chất nhũ hóa (ví dụ, nước, etanol, isopropanol, etyl cacbonat, etyl axetat, rượu benzyl, benzyl benzoat, propylen glycol, dầu 1,3-butyl glycol, v.v.) có thể được sử dụng, và cụ thể dầu hạt bông, dầu đậu phộng, dầu hạt ngô, dầu oliu, dầu thầu dầu, dầu mè, glyxerol este béo, và polyetylen glycol hoặc este axit béo của sorbitan có thể được sử dụng, nhưng thành phần chất mang không được giới hạn ở đây. Các thành phần chất mang này có thể được sử dụng riêng lẻ hoặc kết hợp của hai hoặc nhiều thành phần.

Khi công thức bào chế của sáng chế là dạng huyền phù, thành phần chất mang như chất lỏng pha loãng (ví dụ, nước, etanol, hoặc propylen glycol), chất huyền phù (ví dụ, rượu isostearyl ethoxyl hóa, polyoxyetylen sorbitol este, và polyoxyetylen sorbitan este), xenluloza vi tinh thể, nhôm metahydroxit, bentonit, thạch, tragacanth, v.v. có thể được sử dụng, nhưng thành phần chất mang không được giới hạn ở đây. Các thành phần chất mang này có thể được sử dụng riêng lẻ hoặc kết hợp của hai hoặc nhiều thành phần.

Khi công thức bào chế của sáng chế là dạng xà phòng, thành phần chất mang như muối kim loại kiềm của axit béo, muối hemieste của axit béo, protein axit béo thủy phân, isethionat, dẫn xuất lanolin, rượu béo, dầu thực vật, glyxerol, sacarit, v.v. có thể được sử dụng, nhưng thành phần chất mang không được giới hạn ở đây. Các thành phần chất mang này có thể được sử dụng riêng lẻ hoặc kết hợp của hai hoặc nhiều thành phần.

Khía cạnh khác của sáng chế đề xuất phương pháp thẩm mỹ để ngăn ngừa hoặc cải thiện nếp nhăn trên da bao gồm sử dụng môi trường nuôi cấy *Lactobacillus plantarum* trong đó xác vi khuẩn được loại bỏ cho đối tượng.

Phương pháp thẩm mỹ để cải thiện nếp nhăn trên da có thể là phương pháp bao gồm sử dụng chế phẩm mỹ phẩm chứa môi trường nuôi cấy *Lactobacillus plantarum*, và ngoài ra, chất mang có thể được chấp nhận trong ngành mỹ phẩm cho đối tượng cần cải thiện nếp nhăn trên da. Chất mang có thể được chấp nhận trong ngành mỹ phẩm là giống như mô tả ở trên.

Đối tượng có thể hoặc không bao gồm con người. Cụ thể, đối tượng có thể là động vật có vú bao gồm cả gia súc, lợn, cừu, gà, chó, người, v.v., chim, v.v., và có thể bao gồm bất kỳ đối tượng nào mà nếp nhăn trên da có thể được cải thiện bằng cách sử dụng chế phẩm trên nhưng không bị giới hạn ở đây.

Khía cạnh khác nữa của sáng chế đề xuất sử dụng thành phần để điều chế mỹ phẩm



để cải thiện nếp nhăn trên da chứa môi trường nuôi cấy *Lactobacillus plantarum* trong đó xác vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* được loại bỏ.

### Các ví dụ của sáng chế

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả chi tiết thông qua các phương án ưu tiên. Tuy nhiên, những người có hiểu biết trung bình trong cùng lĩnh vực kỹ thuật của sáng chế hiểu rõ rằng các phương án được ưu tiên này chỉ nhằm mục đích minh họa và không nhằm mục đích giới hạn phạm vi của sáng chế.

#### Ví dụ 1: Điều chế môi trường nuôi cấy *Lactobacillus plantarum* CJLP133

Chủng *Lactobacillus plantarum* CJLP133 được lưu giữ dưới số đăng ký KCTC 11403BP được cấy trên môi trường MRS rắn (BD Difco, thạch Lactobacilli MRS) và được nuôi cấy ở nhiệt độ 37°C trong khoảng 18 giờ. Các khuẩn lạc phân lập thuần khiết, sau khi xác nhận, đã được thu thập và được cấy chuyển vào trong môi trường MRS lỏng (BD Difco, Canh Lactobacilli MRS) bằng cách sử dụng lấy vòng khuẩn lạc bằng que cấy bạch kim và được nuôi cấy ở nhiệt độ 37°C trong khoảng 18 giờ. Sau khi hoàn thành nuôi cấy, môi trường nuôi cấy có nồng độ  $1,0 \times 10^9$  CFU/mL. Để tách xác vi khuẩn khỏi môi trường nuôi cấy, môi trường nuôi cấy phải được ly tâm trong các điều kiện ở nhiệt độ 4°C và tốc độ 2.500 vòng/phút trong 20 phút bằng cách sử dụng máy ly tâm tốc độ cao (LABOGENE 1248R). Sau khi lọc phần nổi của môi trường nuôi cấy, phần nổi đã lọc được nghiền thành bột bằng cách sử dụng chất đông khô (HETO PL90000). Môi trường nuôi cấy được điều chế theo cách này được gọi là “môi trường nuôi cấy *Lactobacillus plantarum* CJLP133”.

Ví dụ 2: Xác nhận khả năng tổng hợp collagen của môi trường nuôi cấy *Lactobacillus plantarum* CJLP133.

Để xác nhận các hiệu quả tổng hợp collagen của môi trường nuôi cấy *Lactobacillus plantarum* CJLP133 được điều chế trong ví dụ 1, lượng biểu hiện collagen trong các nguyên bào sợi của da đã được đo.

Các nguyên bào sợi ở trẻ sơ sinh (NHDF) ( $5 \times 10^4$  tế bào/đĩa) được thêm vào trong môi trường Dulbecco's modified eagle (DMEM, Gibco) chứa 10% huyết thanh thai bò trong đĩa 24 lỗ và được nuôi cấy ở nhiệt độ 37°C trong 48 giờ. DMEM không chứa huyết thanh được xử lý với TGF- $\beta$  (10 ng/mL) cho nhóm đối chứng dương, và cho nhóm

thử nghiệm, từng môi trường MRS và môi trường nuôi cấy *Lactobacillus plantarum* CJLP133 được xử lý ở nồng độ 0,25 mg/mL, 0,5 mg/mL, và 1,0 mg/mL và được nuôi cấy trong 48 giờ. Sau đó, từng môi trường nuôi cấy được thu thập và khả năng tổng hợp collagen được đo ở bước sóng 450 nm bằng cách sử dụng máy quang phổ kế với bộ PICP EIA kit (Procollagen Type I C-Peptide Enzyme ImmunoAssay KIT, Takara Bio Inc., Nhật Bản).

Kết quả là, đã xác nhận rằng lượng biểu hiện collagen được tăng lên trong nhóm được xử lý với môi trường nuôi cấy *Lactobacillus plantarum* CJLP133 tùy theo nồng độ. Cụ thể, khi được xử lý ở nồng độ 3 (1,0 mg/mL), lượng biểu hiện collagen được tăng lên trong nhóm thử nghiệm được xử lý với môi trường nuôi cấy *Lactobacillus plantarum* CJLP133 khoảng 1,6 lần so với nhóm thử nghiệm được xử lý với môi trường MRS. Sự tăng lên ở trên tương đương với kết quả đạt được trong nhóm đối chứng dương (TGF- $\beta$ ), và do đó đã xác nhận rằng môi trường nuôi cấy *Lactobacillus plantarum* CJLP133 có khả năng tổng hợp collagen vượt trội đối với nguyên bào sợi da. Các kết quả thử nghiệm được thể hiện trong bảng 1 và Fig.1.

Bảng 1

	Nhóm đối chứng dương (TGF- $\beta$ )	Nhóm đối chứng âm (môi trường MRS)			Môi trường nuôi cấy <i>Lactobacillus plantarum</i> CJLP133		
	10 ng/mL	Nồng độ 1 (0,25 mg/mL)	Nồng độ 2 (0,5 mg/mL)	Nồng độ 3 (1 mg/mL)	Nồng độ 1 (0,25 mg/mL)	Nồng độ 2 (0,5 mg/mL)	Nồng độ 3 (1 mg/mL)
PIP (ng/mL)	1473,09 ±94,26	793,82 ±93,89	847,07 ±90,69	846,80 ±155,19	886,28 ±142,64	1130,88 ±131,26	1344,93 ±17,49

Từ các kết quả trên, đã xác nhận được rằng môi trường nuôi cấy *Lactobacillus plantarum* CJLP133 của sáng chế có thể tăng tổng hợp collagen, được biết là có vai trò chính trong các cơ chế lão hóa da, trong đó các nếp nhăn được hình thành bằng cách giảm các protein cơ chất cấu thành da hoặc tăng enzym phân hủy các protein cơ chất, và do đó có hiệu quả trong cải thiện nếp nhăn trên da.

Từ những phần mô tả bên trên, người có hiểu biết trung bình trong cùng lĩnh vực kỹ thuật mà sáng chế đề cập có thể hiểu rằng sáng chế có thể được thể hiện dưới các hình thức cụ thể khác mà không làm thay đổi các nguyên lý kỹ thuật hoặc các đặc điểm

kỹ thuật cơ bản của sáng chế. Về vấn đề này, các phương án ưu tiên được bộc lộ ở đây chỉ nhằm mục đích minh họa và không nên được hiểu là giới hạn phạm vi của sáng chế. Ngược lại, sáng chế không chỉ bao gồm các phương án ưu tiên mà còn bao gồm nhiều phương án, các sửa đổi, tương đương, và các phương án khác có thể được bao gồm trong nguyên lý kỹ thuật và phạm vi của sáng chế như được xác định bởi các yêu cầu bảo hộ kèm theo.

Số đăng ký

Tên cơ quan lưu giữ: Viện nghiên cứu Khoa học sinh học và Công nghệ sinh học  
Hàn Quốc (KRIBB)

Số đăng ký: KCTC 11403BP

Ngày lưu giữ: 9 tháng 10 năm 2008

**YÊU CẦU BẢO HỘ**

1. Chế phẩm mỹ phẩm để cải thiện nếp nhăn trên da chứa môi trường nuôi cấy *Lactobacillus plantarum* trong đó các xác vi khuẩn *Lactobacillus plantarum* được loại bỏ,

trong đó chủng *Lactobacillus plantarum* là chủng *Lactobacillus plantarum* CJLP133 được lưu giữ dưới số đăng ký KCTC 11403BP, và

trong đó việc cải thiện nếp nhăn trên da là cải thiện các dấu hiệu của nếp nhăn trên da đã xuất hiện trên da.

2. Chế phẩm mỹ phẩm theo điểm 1, trong đó môi trường nuôi cấy thu được bằng phương pháp bao gồm:

(a) nuôi cấy chủng *Lactobacillus plantarum* bằng cách cấy chuyên vào môi trường;

(b) ly tâm sản phẩm thu được ở bước (a); và

(c) thu phần nổi phía trên từ sản phẩm thu được ở bước (b).

FIG. 1

