



SCHWEIZERISCHE Eidgenossenschaft
Eidgenössisches Institut für Geistiges Eigentum

(11) **CH** **697 532 B1**

(19)

Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein

Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

(51) Int. Cl.: **A61K 8/46** (2006.01)
A61K 8/92 (2006.01)
C11D 1/12 (2006.01)
A61Q 19/10 (2006.01)

(12) **PATENTCHRIFT**

(21) Anmeldenummer:	02034/06	(73) Inhaber:	Beiersdorf AG, Unnastrasse 48 20253 Hamburg (DE)
(22) Anmeldedatum:	03.05.2005	(72) Erfinder:	Albrecht Dörschner, 20146 Hamburg (DE) Andreas Schepky, 22459 Hamburg (DE) Stephan Ruppert, 20259 Hamburg (DE) Ursula Holtzmann, 22309 Hamburg (DE)
(24) Patent erteilt:	28.11.2008	(74) Vertreter:	Bovard AG Patentanwälte, Optingenstrasse 16 3000 Bern 25 (CH)
(45) Patentschrift veröffentlicht:	28.11.2008	(86) Internationale Anmeldung:	PCT/EP 2005/052029
		(87) Internationale Veröffentlichung:	WO 2005/065629

(54) **Wasserfreie und ölhaltige Tensidzubereitung mit verminderter Enzymschädigung.**

(57) Kosmetische Zubereitung enthaltend einen oberflächenaktiven Stoff mit einem HLB-Wert > 20 in Konzentrationen von 20 bis 55 Gew.-%, Öle gewählt aus der Gruppe natürlichen und synthetischen Öle in Konzentrationen von mindestens 40 Gew.-% und höchstens 90 Gew.-%, einem Wassergehalt von 0 bis 1 Gew.-%, und einer relativen Enzymschutzzahl von wenigstens 105 sowie einem Emulgatorgehalt von 0 bis 0,001 Gew.-%.

Beschreibung

[0001] Durch die Reinigung der Haut mit tensidhaltigen Formulierungen sollen Oberflächenlipide und Schmutz effektiv von der Hautoberfläche entfernt werden. Die Enzyme der Haut sollten durch diese Reinigung möglichst wenig geschädigt werden. Die üblicherweise verwendeten (anionischen) Tenside bzw. Tensidsysteme desaktivieren die Enzyme stark. Dadurch werden wichtige Stoffwechselphysiologische Prozesse (Desquamation u.a.) der Haut nachhaltig beeinträchtigt.

[0002] Hauteigene Enzyme im Sinne der vorliegenden Schrift sind Enzyme, die auf der Hautoberfläche oder nahe der Oberfläche in der Haut vorliegen. Solche Enzyme können sein: Hydrolasen, wie Proteasen, Esterasen, Lipasen, Phosphatasen, Sulfatasen und Transglutaminasen, insbesondere jedoch Proteasen wie das Stratum Comeum Tryptisches Enzym. In Tabelle 1 und 2 und im Folgenden sind die wichtigsten literaturbekanntesten Stratum Corneum Enzyme aufgezeigt.

Tabelle 1: Enzyme, die Desmosomen degradieren und zur Desquamation beitragen**[0003]**

Enzym	Wirkort	Reaktion (Barrierschaden)	Literatur
SCCE	SC (LB)	Spaltung von Proteinbindungen	Lundström, 1991 Suzuki, 1994 Sondell, 1995 Chang-Yi, 1997
Trypsin	SC	Spaltung von Proteinbindungen #	Suzuki, 1994 Chang-Yi, 1997
Cathepsine	SG	Filaggrinabbau Keratinisierungshilfe	Hara, 1993 Kawada, 1997
Thiol-Protease	SC		Yokozecki, 1987

Tabelle 2: Enzyme, die die Barriere aufbauen und zur Barrierehomöostase beitragen**[0004]**

Enzym	Wirkort	Reaktion (Barrierschaden)	Literatur
Phospholipase A2	SG-SC; LB	Freisetzung von Fettsäuren und möglicherweise Cholesterin von Cholesterolestern	Mauro, 1998 Mao-Qiang, 1995 Elias, 1988 Menon, 1986
Saure Lipase	SC, LB	Freisetzung von Sterolen	Menon, 1986 Elias, 1988
Neutrale Lipase	SC, LB	Sterol- und Fettsäurefreisetzung, Regulation von Proteinkinasen (Different.)	Menon, 1986
Sphingomyelinase	SC, LB	Bereitstellung von Ceramiden	Menon, 1986
Ceramidase	SC	Keinen	Jin, 1994
#-Glucocerebrosidase	SC	Konversion von Glycoceramiden zu Ceramiden	Holleran, 1992 Mauro, 1998
Steroid Sulfatase	SC	Cholesterolfreisetzung aus Cholesterolsulfat	Elias, 1988
Sulfatasen	SC	Precursor-Spaltung	Baden, 1980

[0005] Ammonia-Lyase spielen eine wichtige Rolle beim Filaggrinabbau (Kuroda et al., 1979). Ebenso wie Transglutaminasen (Polakowska et al., 1991), die für die Bildung des «Comified Envelope» essentiell sind. Phosphatasen sind die Hydrolasen mit der höchsten Gesamtaktivität im Stratum Corneum.

[0006] Einfluss von Enzymen auf die Desquamation (siehe Schepky et al., 2004, Influence of cleansing on Stratum corneum tryptic enzyme (S CTE) in human volunteers, Int. Journal of Cosmetic Science, 26, 245–253)

[0007] Rieger schreibt 1994 in Cosmetic & Toiletries, dass die Organisation der Epidermis eine chemische Modifikation von Bestandteilen der Keratinozyten, u.a. in den Lamellar Bodies, benötigt. Elias hat auf die Notwendigkeit von hydroly-

tischen (katabolen) Enzymen in der Haut hingewiesen. Proteasen werden für die Entfernung desmosomaler Strukturen benötigt. Wenn an den Lokalisationen dieser Aktivitäten denaturierende Tenside eindringen und die Enzymaktivitäten stark beeinträchtigt werden, folgt daraus ein defektes Stratum Corneum.

[0008] Für den Erhalt einer konstanten Dicke des Stratum Corneums muss die Desquamationsrate und die de novo Produktion der Korneozyten exakt ausbalanciert sein. Egelrud hat den Beweis, dass die Proteolyse durch Proteasen das zentrale Ereignis im Desquamationsprozess ist, mit Hilfe eines Plantar Stratum Corneum Modells geführt. Die am besten charakterisierten Enzyme mit einer Funktion bei der Desquamation sind das Stratum Corneum Chymotryptische Enzym (SCCE) und Stratum Corneum Tryptisches Enzym (SCTE). SCCE hat einige Eigenschaften, die mit seiner Rolle bei der Desquamation in vivo gut korrelieren: das pH Profil seiner katalytischen Einheit, sein spezifisches Inhibitorprofil und seiner Lage im Gewebe. SCTE hat eine ähnliche Rolle bei der Desquamation wie SCCE, dürfte aber zusätzlich in der Lage sein, inaktives SCCE durch Hydrolyse zu aktivieren. Es wird vermutet, dass dieses Enzym sich autokatalytisch von der inaktiven in die aktive Form spaltet. Für beide Enzyme wurde gezeigt, dass eine topische Applikation von spezifischen Inhibitoren dieser Serinproteasen (Aprotinin und Leupeptin) zu mehr Hautschuppen in vivo führt. Sato et al. berichteten 1998, dass Cholesterol-3-sulfat durch kompetitive Inhibition sowohl die Aktivität von SCCE als auch von Trypsin erniedrigen. Dies geht einher mit reduzierter Desquamation. Weitere Proteasen (Cathepsin D) wurden im Stratum Corneum gefunden, sind aber wahrscheinlich hauptsächlich für die Feinjustierung des Abschilferns zuständig.

Wirkungen von Waschprodukten auf die Hautenzyme und Desquamation

[0009] Hautwaschprodukte enthalten anionische Tenside, z.B. Natrium dodecyl sulphate (SDS) oder Natrium lauryl ether sulphate (SLES). Solche anionische Tenside sind aufgrund ihrer starken Bindung an globuläre Proteinen auf und in die Haut durch elektrostatische Interaktion von ihrer geladenen Gruppe mit der entgegengesetzt geladenen Aminosäure-Gruppe der Proteine wohl bekannt. Ausserdem wirken die hydrophobe Alkylkette der Molekülen des Tensides auch auf die nichtpolare Zone der globulären Proteinen. Als Konsequenz dieser kooperativen Bindung induzieren Tensiden konformationale Änderungen der Proteinmoleküle, die normalerweise zum Verlust biologischer, d.h. enzymatischer Aktivität führen.

[0010] Für SDS ist dieser Effekt sogar als irreversibel bekannt. Somit können die Interaktion zwischen denaturierenden Tensiden und der für die Hautdesquamation wichtigen Enzymen eventuell zu einem schadhafte SC führen.

[0011] Dieser Effekt von Waschprodukten auf die Hautenzyme wurde bereits durch die Quantifizierung der Aktivität der sauren Phosphatase in Hautstripiopsien des menschlichem SC untersucht. Nach Behandlung der Probandenhaut mit verdünnten Lösungen mehrerer Tensiden unter realistische Behandlungsbedingungen hat die gemessene Abnahme der Aktivität der sauren Phosphatase im SC eine deutliche Korrelation mit der steigenden Trockenheit und Schuppigkeit der Haut gezeigt.

[0012] Schädigung hauteigener Enzyme im Sinne der vorliegenden Schrift meint jede Form von Inaktivierung dieser Enzyme durch Denaturierung, Inhibierung oder chemischen Abbau. Kommen Enzyme mit Tensiden in Kontakt, so kommt es sehr häufig zu einer Denaturierung. Prottey et al., 1984 quantifizierten den Effekt von Tensiden auf die saure Phosphatase des Stratum Corneums (erhalten durch Tapestripping) durch Messung der Phosphatase-Aktivität. Hierbei konnte eine Reduktion der Enzymaktivität durch Denaturierung des Enzyms festgestellt werden. Aufgrund weiterer Daten ist von einer Tensidempfindlichkeit der meisten oberflächenaktiven Hautenzyme auszugehen.

[0013] Folglich versteht man unter Enzymschutz im Sinne der vorliegenden Schrift eine verminderte Schädigung/Beeinträchtigung der beschriebenen Hautenzyme. Die bekannten Produkte enthalten beispielsweise Mischungen aus Lauryl ethersulfat und Alkylamidopropylbetain. Durch Anwendung solcher Produkte kommt es zu einer teilweisen Denaturierung der hauteigenen Enzyme und somit zu einer Schädigung der Haut, da diese Enzyme physiologisch eine wichtige Rolle innehaben.

[0014] Der Enzymschutz kann folgendermassen quantifiziert werden: zunächst wird eine ex vivo Bestimmung der Wirkung von Tensiden auf die Trypsin-Aktivität in menschlicher Oberhaut durchgeführt. Probanden waschen sich unter Aufsicht mehrere Male in 3 Tagen mit verschiedenen Produkten oder Wasser auf verschiedenen Arealen. 24 h später erfolgt eine Extraktion des oberen Stratum Corneums. Im Extrakt wird die Stratum corneum tryptic enzyme (SCTE) Aktivität gemessen. Parallel wird die Proteinkonzentration der Extrakte bestimmt um die spezifische Trypsinaktivität zu erhalten (Korrektur unterschiedlicher Extraktion der Areale).

[0015] EP 0 691 127 offenbart milde Duschprodukte mit anionischen Tensiden und MIPA-Laurethsulfat und Ölen.

[0016] EP 0 691 127 B1 offenbaren die Verwendung wasserfreier Öle in tensidischen Reinigungszubereitungen zur Verminderung der Bindung von bestimmten Tensiden an die Hautoberfläche.

[0017] Überraschend wurde gefunden, dass durch eine kosmetische Zubereitung enthaltend einen oberflächenaktiven Stoff mit einem HLB-Wert > 20 in Konzentrationen von 20 bis 55 Gew.-%, Öle gewählt aus der Gruppe natürlichen und synthetischen Öle in Konzentrationen von mindestens 40 Gew.-%, besonders bevorzugt mindestens 60 Gew.-% und höchstens 90 Gew.-%, besonders bevorzugt höchstens 65 Gew.-%, einem Wassergehalt von 0 bis 1 Gew.-%, bevorzugt mindestens 0,01 Gew.-%, besonders bevorzugt mindestens 0,1 Gew.-% und einer relativen Enzymschutzzahl von wenigstens 105, besonders bevorzugt wenigstens 135 sowie einem Emulgatorgehalt von 0 bis 0,001 Gew.-% den Nachteilen des Standes der Technik abgeholfen wird. Durch die Verwendung von Ölen wird die durch Anionentenside hervorgerufene Schädigung

der Hautenzyme verringert und ein effektiver Enzymschutz erzielt. Ursächlich ist eine verminderte Adsorption der Tenside auf die Haut. Dadurch können Enzyme ihren Aufgaben in der Haut besser nachkommen.

[0018] Darüber hinaus ist es bevorzugt, wenn eine solche Zubereitung zum Schutz von hauteigenen Enzymen, insbesondere vor der Schädigung durch die Körperreinigung verwendet wird. Darüber hinaus ist es bevorzugt, wenn der grenzflächenaktive Stoff ein anionisches Tensid, bevorzugt ein Sulfattensid, besonders bevorzugt MIPA-Laurethsulfat ist. Darüber hinaus ist es bevorzugt, wenn zusätzlich ein Puffersystem aus Zitronensäure und Zitrationen enthalten ist und der pH-Wert der Zubereitung auf den Wert 4 bis 7 eingestellt wird. Darüber hinaus ist es bevorzugt, wenn die Konzentration an anionische Tensiden 5 bis 15 Gew.-% beträgt.

[0019] Öle sind dadurch gekennzeichnet, dass sie die Adsorption des jeweiligen Aniontensids absenken. Dadurch können die Enzyme ihren essentiellen Aufgaben in der Haut besser nachkommen. Durch die Einstellung des Produktes auf einen hautneutralen Wert mit Zitronensäurepuffer kann dieser Effekt gesteigert werden.

[0020] Das Weglassen eines einzelnen Bestandteils beeinträchtigt die einzigartigen Eigenschaften der Gesamtzusammensetzung. Daher sind alle angegebenen Bestandteile der erfindungsgemässen Zubereitungen zwangsläufig erforderlich, um die Erfindung auszuführen.

[0021] Erfindungsgemässe Zubereitungen können weiterhin Tenside enthalten. Besonders bevorzugte Tenside sind nichtionische Tenside. Als nichtionische Tenside kommen in Frage:

- Alkanolamide, wie Cocamide MEA/DEA/MIPA,
- Ester, die durch Veresterung von Carbonsäuren mit Ethylenoxid, Glycerin, Sorbitan oder anderen Alkoholen entstehen,
- Ether, beispielsweise ethoxylierte Alkohole, ethoxylierte Ester, ethoxylierte Glycerinester
- Alkylpolyglycoside wie Laurylglucosid, Decylglycosid und Cocoglycosid.

[0022] Vorteilhaft können Fettalkohole wie Cetylalkohol enthalten sein. Weiterhin alle gradkettigen und verzweigten Fettalkohole mit 8–22 C-Atomen.

[0023] Weiterhin können in den kosmetischen Reinigungsmitteln Konditionierhilfsmittel enthalten sein, z.B. in Mengen von 0,001 bis 10 Gew.-%, bezogen auf das Gesamtgewicht der Zubereitungen.

[0024] In der Lebensmitteltechnologie zugelassene Konservierungsmittel, die mit ihrer E-Nummer nachfolgend aufgeführt sind, sind erfindungsgemäss vorteilhaft zu verwenden.

[0025] Es ist bei all diesem im Einzelfalle möglich, dass die vorgenannten Konzentrationsangaben leicht über- oder unterschritten werden und dennoch erfindungsgemässe Zubereitungen erhalten werden. Dies kommt angesichts der breit streuenden Vielfalt an geeigneten Komponenten derartiger Zubereitungen für den Fachmann nicht unerwartet, so dass er weiss, dass bei solchen Über- oder Unterschreitungen der Boden der vorliegenden Erfindung nicht verlassen wird.

[0026] Die nachfolgenden Beispiele sollen die vorliegende Erfindung verdeutlichen, ohne sie einzuschränken. Die Zahlenwerte in den Beispielen bedeuten Gewichtsprozente, bezogen auf das Gesamtgewicht der jeweiligen Zubereitungen.

Beispiele

1) Bestimmung ex vivo der Wirkung von Tensiden auf die Trypsin-Aktivität in menschlicher Oberhaut

[0027] Für die Standardisierung der Probandenhaut wurden die Probanden gebeten, zwei Wochen nur eine milde beim Waschen zu benutzen. Nach dieser Vorkonditionierung wurden die Unterarme jeweils in zwei Testarealen geteilt. Die Testareale wurden drei Tage nacheinander jeweils 3 mal täglich mit 1 ml Waschprodukt bzw. einer Leitungswasser-Kontrolle 45 s behandelt. Nach der Behandlung wurde das Testareal mit Leitungswasser 30 s abgespült und mit einem Einweg Papiertuch abgetrocknet. Am 1. und 2. Tag wurden die Areale drei Mal behandelt (morgens, mittags und nachmittags), am 3. Tag wurden sie zwei Mal behandelt (morgens und mittags). Bis zu drei Waschprodukte wurden gegeneinander und gegen Wasser getestet.

2) Extraktion der Haut Biopsie und Messung der SCTE-Aktivität

[0028] Am 4. Tag wurden SC-Proben aus den Arealen mittels eines mit Zuckerlösung beschichteten Objektträgers gestriipt. Später wurden die Korneozyten vom Objektträger mit PBS Puffer-Lösung abgelöst und die spezifische SCTE-Aktivität wurde bestimmt.

3) Stratum corneum tryptic enzyme (SCTE) activity assay

[0029] 100 µl Humanhautextrakt wurden 24h mit 150 µL N-t-BOC-Phe-Ser-Arg-7-amido-4-methylcoumarin (33 µM in PBS; Sigma, St. Louis, USA) bei 37°C inkubiert. Die SCTE-spezifische Freisetzung von fluoreszierendem 7-amino-4-methylcoumarin wurde mittels eines Fluoreszenzplattenreaders (Filter ex = 360 nm ± 40, em = 460 nm ± 40 nm, CytoFluor 4000, PerSeptive Biosystems, Framingham, USA) ermittelt.

4) Messung der Proteinkonzentration

[0030] Um die spezifische Trypsinaktivität der Extrakte auszurechnen, wurde der Proteingehalt mittels der Ninhydrin-Methode nach alkalischer Hydrolyse bestimmt. Die Korneozyten-Lösungen wurde zur Trockne eingengt und die Proteinen wurden 5 h bei 150°C mit 2 mL Natronlauge (6M) hydrolysiert. Die Lösung wurde mit 2 mL Salzsäure (6M) neutralisiert und 1 mL Natrium Propionsäure-Puffer (3,35 M, pH 5,5) wurde zugegeben. Danach wurden 50 µL des Lysats mit 450 µL Bidest.-Wasser verdünnt und 20 min bei 70°C mit 25 µL Ameisensäure (0,4% (v/v)) und 500 µL Ninhydrin-Lösung (2% (w/v) Ninhydrin in 3,35 M Natrium Propionsäure-Puffer mit 50% (v/v) Ethylenglykolmonomethylether (Sigma, St. Louis, USA) inkubiert. Nach Abkühlen wurden 5 mL Ethanol (50% (v/v) in bidest-Wasser) zugegeben. Die Absorption wurde bei einer Wellenlänge von 570 nm mit einem Spectrophotometer gemessen (UVICON 942, Kontron, Milano, Italy) und die entsprechende Proteinkonzentration wurde berechnet.

Beispiele

[0031]

	1	2	3	4	5	Kontrolle
Sojaöl	40,4%	–	–	40,2%	–	
Rizinusöl	15,0%	17,7%	8,8%	14,1%	13,3%	
Sonnenblumenöl	–	48,9%	–	–	51,3%	
Weizenkeimöl	–	–	16,2%	–	–	
Natriumlaurethsulfate	–	–	–	–	–	10
MIPA-Laureth Sulfate	20,1%	22,1%	25%	20,4%	25,6%	–
Mineralöl	–	–	20%	–	–	–
Laureth-4	12%	13,2%	15	12,2%	15,5%	–
Cocamide DEA	8%	8,9%	10%	8,1%	10,3%	–
Poloxamer 101	1%	2%	2%	2%	1,9%	–
Bisabolol	0,1%	–	–	0,15%	0,3%	–
Lanolin Alkohol	–	0,1%	0,2%	0,1%	–	–
Panthenol	0,05%	–	–	0,12%	0,1%	–
Zitronensäure	0,05%	0,04%	0,03%	0,06%	0,02%	1,2
Diammonium Citrat	0,05%	0,04%	0,03%	0,06%	0,02%	–
Parfüm, Antioxidantien, Konservierungsstoffe	q.S.	q.S.	q.S.	q.S.	q.S.	q.s.
Wasser	bis zu 1%	bis zu 1%	bis zu 1%	bis zu 1%	bis zu 1%	ad 100
pH-Wert	4,8	5,8	5,0	5,4	5,6	5,3
relative Enzymschutzzahl				144		100

Patentansprüche

1. Kosmetische Zubereitung enthaltend einen oberflächenaktiven Stoff mit einem HLB-Wert > 20 in einer Konzentration von 20 bis 55 Gew.-%, Öle gewählt aus der Gruppe natürlichen und synthetischen Öle in einer Konzentration von mindestens 40 Gew.-% und höchstens 90 Gew.-%, einem Wassergehalt von 0 bis 1 Gew.-%, welche Zubereitung eine relative Enzymschutzzahl von wenigstens 105 sowie einen Emulgatorgehalt von 0 bis 0,001 Gew.-% aufweist.
2. Zubereitung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass der oberflächenaktive Stoff ein anionisches Tensid, bevorzugt ein Sulfattensid, besonders bevorzugt MIPA-Laurethsulfat ist.
3. Zubereitung nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass zusätzlich ein Puffersystem aus Zitronensäure und Zitrationen enthalten ist und der pH-Wert der Zubereitung auf den Wert 4 bis 7 eingestellt ist.

CH 697 532 B1

4. Verwendung einer Zubereitung nach einem der vorangehenden Ansprüche zum Schutz von hauteigenen Enzymen, insbesondere vor der Schädigung durch die Körperreinigung.