

(12)

# PATENTSCHRIFT

(21) Anmeldenummer: 343/92

(51) Int.C1.<sup>6</sup> : A61K 7/06

(22) Anmeldetag: 24. 2.1992

(42) Beginn der Patentdauer: 15. 9.1998

(45) Ausgabetag: 26. 4.1999

(30) Priorität:

29.11.1991 JP 316110/1991 beansprucht.

(73) Patentinhaber:

KABUSHIKI-KAISHA TANISAKE  
IBI-GUN (JP).

(56) Entgegenhaltungen:

EP 0115408A2 EP 0177087A1  
PATENT ABSTRACTS OF JAPAN, VOL. 13 NR. 315(C-619), 1989  
JP 1-102015A  
PATENT ABSTRACTS OF JAPAN, VOL. 13 NR. 379(C-628), 1989  
JP 1-128912A

## (54) VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG EINES HAARNÄHRMITTELS

(57) Verfahren zur Herstellung eines Haarnährmittels umfassend die Stufen der Aufbringung eines Enzyms auf ein Substrat, Fermentation des Substrats und Abfiltrieren eines fermentierten Produktes von diesem, wobei als Substrat Reiskleie und als Enzym ein solches der Gruppe Lipase und Proteinase, gegebenenfalls in Kombination mit Amylase, eingesetzt wird.

AT 405 016 B

Die Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren zur Herstellung eines Haarnährmittels umfassend die Stufen der Aufbringung eines Enzmays auf ein Substrat, Fermentation des Substrats und Abfiltrieren eines fermentierten Produktes von diesem.

Der eigentliche Mechanismus des Haarausfalls und -wachstums muß noch entdeckt werden. Hauptursachen für den Haarausfall sind jedoch nach allgemeiner Annahme Störung der Blutzirkulation, niedriger Stoffwechsel, Übermaß an männlichem Hormon, Entzündung der Haut und Allergien.

Ein Haar besteht aus dem aus der Haut hervorstehenden Teil und aus dem Teil unter der Haut. Der Haarbulbus an der Haarwurzel besteht aus einem Gewebe, welches Papillarzellen genannt wird. Zahlreiche Kapillaren umgeben einen Haarbulbus und die Kapillarzellen nehmen Nahrung aus dem in den Kapillaren strömenden Blut auf, wobei sie Zellteilungen wiederholen und das Haar zum Wachsen bringen.

Falls das Blut jedoch nicht in ausreichendem Maße den Zellen zugeführt wird, verlangsamt sich die Zellteilungsaktivität, was zu einer Hemmung im Haarwachstum führt. Demgemäß wird oft behauptet, daß es für das Haarwachstum unerlässlich ist, den Blutkreislauf in der Haut zu fördern und die Zellfunktionen zu aktivieren.

Das Haarfollikel, das ein Haar umgibt, enthält das Enzym 5  $\alpha$ -Reduktase das in Verbindung mit dem männlichen Hormon 5  $\alpha$ -Dihydrotestosteron durch Kombination umgewandelt wird, welches sodann über Blutgefäße zu den Papillarzellen transportiert wird und bei diesen die Aktivität der Adenylyklase verlangsamt und zu einer Verlangsamung der Zellteilungen führt. Als Ergebnis atrophiert das Haarfollikel nach und nach und das Haar wird geschwächt, was zur Entstehung von Kahlheit führt.

Wie oben als Beispiel angeführt, gibt es eine Vielzahl von Ansichten über den Mechanismus des Haarausfalls und das Haarwachstum, obgleich keine von diesen bewiesen ist. Gegenwärtig werden sehr viele Arten von Haarwuchsmitteln am Markt angeboten, die für sich beanspruchen, Substanzen zu enthalten, von welchen die Händler gemäß ihrem Verständnis des Mechanismus, beispielsweise die Blutzirkulation in der Kopfhaut zu fördern und/oder die Papillarzellen zu aktivieren, annehmen, daß sie wirksam seien.

Es wurde auch bereits die Herstellung von Haarnährmittel beschrieben, wobei ein Enzym auf ein Substrat aufgebracht und von diesem ein fermentiertes Produkt abfiltriert wird.

So beschreibt die JP 1 102 015 A die Zersetzung von Sojabohnen unter Verwendung von Rhizopus, der den Phytomyzeten angehört. Die JP 1 128 912 A offenbart die natürliche Fermentation von Cerealien oder Getreide und Filtration des Produktes. Schließlich ist der EP 0 115 408 A2 die Zersetzung von pflanzlichem oder tierischem Lipid oder Öl durch Staphylococcus capitis zu entnehmen.

Im Unterschied zu den letztgenannten Verfahren besteht das erfindungsgemäße Verfahren darin, daß als Substrat Reiskleie und als Enzym ein solches der Gruppe Lipase und Proteinase, gegebenenfalls in Kombination mit Amylase, eingesetzt wird.

Die nach dem erfindungsgemäßen Verfahren hergestellten Haarnährmittel sind für den menschlichen Körper harmlos und zeigen ausgezeichnete Wirkungen, das Haar vor Ausfall zu schützen, als auch für das Haarwachstum.

Der Vorteil der Verwendung von Reiskleie liegt in der bedeutenden Vereinfachung des Verfahrens und damit verbundenen wirtschaftlichen Vorteils. Überdies mußte bisher Reiskleie größtenteils umweltbelastend entsorgt werden, so daß das anmeldungsgemäße Verfahren durch die Verwendung von Reiskleie auch ökologische Vorteile mit sich bringt.

Wie bereits ausgeführt wurde, wird erfindungsgemäß als Substrat Reiskleie verwendet.  
Die Enzyme, welche in der vorliegenden Erfindung zur Fermentation verwendet werden, müssen die Fähigkeit besitzen, sowohl pflanzliches Eiweiß als auch pflanzliches Lipid in dem Substrat abzubauen. Sie können Lipasen oder Proteinasen sein, es können aber auch Amylasen zusätzlich verwendet werden.

Die in der vorliegenden Erfindung zu verwendende Lipase kann eine im sauren Bereich verwendete Spermatolipase, welche in einer Reihe von Schimmelpilzen, Hefen, Mikroorganismen, Körperflüssigkeiten enthalten ist oder aus inneren Organen gewonnene Enzyme sein. Insbesondere können Pankreaslipase, Leberlipase, Tuberkelbakterienlipase und aus der Himapflanze gewonnene Lipase verwendet werden.

Der pH-Bereich für den Einsatz der in der vorliegenden Erfindung zu verwendenden Proteinase soll vorzugsweise sauer sein. Dementsprechend können Pepsin, Trypsin oder Chymotrypsin, welche keine besondere aktive Base außer dem Aminosäurerest des Enzyms selbst besitzen und kein besonderes Reagenz für die enzymatischen Aktivitäten benötigen, verwendet werden. Es kann aber auch der Großteil der in pflanzlichen Enzymen und tierischen Zellen aufgefundenen Enzyme oder Kathepsine, wie Papain oder Ficin, die durch ein Reduktionsmittel, wie Hydrocyanat, Ascorbinsäure, Cystein oder Glutathion, aktivierbar sind, verwendet werden. Insbesondere können Chymotrypsin, Trypsin, Pepsin, Carboxypeptidase, Kathepsin A, Kathepsin B, Kathepsin C', Kathepsin III, Kathepsin IV, Nierenacylase I, Nierenacylase II, Leucinaminopeptidase, Aminotripeptidase, Glycylglycindipeptidase, Prolitase, Prolinase, Plasmin, Thrombin, Papain, Ficin, Streptococcus Proteinase, Histolyse-Protease oder Peptidase verwendet werden.

Fermentierte Produkte können durch Aufbringen der Enzyme auf das Substrat erhalten werden. Mit HPLC wurden Analysen an den fermentierten Produkten gemacht und die folgenden Ergebnisse erhalten. Diese Analysen wurden unter Verwendung eines Detektors (LC-9A, Shimadzu Seisakusho, Co., Ltd) und von Säulen (3 m Länge) gemacht. Als Elutionsschicht wurde das Lösungsmittel Acetonitril verwendet und die 5 Säulentemperatur wurde bei etwa 30 °C gehalten und die Fließgeschwindigkeit war etwa 10 ml/min.

Es wurde gefunden, daß die fermentierten Produkte Fettsäuren, wie Myristinsäure, Palmitinsäure, Stearinsäure, Arachinsäure, Behensäure, Lignocerinsäure, Dodecensäure, Tetradecensäure, Tetradecadien-säure, Pentadecensäure, Hexadecensäure, Ölsäure, Linolsäure, Linolensäure, Eicosiensäure, Eicosadien-säure, Arachidonsäure, Eicosatriensäure, Docosensäure und Docosahexansäure enthalten. Es wurde gefun-10 den, daß die fermentierten Produkte auch Aminosäuren, wie Leucin, Isoleucin, Lysin, Methionin, Cystein, Phenylalanin, Tyrosin, Threonin, Tryptophan, Valin, Histidin, Arginin, Asparaginsäure, Alanin, Glutaminsäure, Glycin, Prolin und Serin enthalten.

Wie aus den Analysenergebnissen klar hervorgeht, enthalten die gemäß der vorliegenden Erfindung erhaltenen fermentierten Produkte verschiedene Arten von Aminosäuren und Fettsäuren. Die Funktion der 15 Aminosäuren wird angenommen, ist Nahrung an die Papillarzellen abzugeben und die Funktion der Fettsäuren wird angenommen, ist, die kapillaren Blutgefäße zu aktivieren und zu erweitern, das Haar mit Feuchtigkeit zu versorgen, um ein glänzendes Aussehen zu verleihen, weiters auch die im Haarfollikel enthaltene 5α-Reduktase zu inaktivieren, um ein Weichwerden des Haares zu verhindern. Es wird angenom-20 men, daß die Komponenten, einzeln oder in Kombination, auch das Haarwachstum fördern. Es ist zu beachten, daß die fermentierten Produkte auch Aminosäuren, ebenso wie Schwefel und ungesättigte Fettsäuren enthalten, von welchen beiden letzteren angenommen wird, daß sie ausgezeichnete Auswirkungen auf das Haarwachstum besitzen.

Zum Haltbarmachen der erfindungsgemäßen Haarnährmittel können diese gefroren oder pasteurisiert werden, wobei jedoch keine funktionelle Veränderung oder Verminderung der Wirkungen der Haarnährmittel 25 erfolgt.

Es folgt die Beschreibung des Verfahrens zur Herstellung des erfindungsgemäßen Haarnährmittels. Das Verfahren umfaßt die Stufen des Aufbringens des Enzyms auf das aus Reiskleie bestehende Substrat und das Filtrieren der so erhaltenen fermentierten Produkte.

Die Fermentation wird unter wässrigen Bedingungen durchgeführt. Lipase und Proteinase und gegebenenfalls Amylase werden als Enzyme verwendet. Die Lipase und die Proteinase können getrennt oder gemeinsam in Form eines Gemisches aufgebracht werden. Das Gemisch kann Amylase enthalten, um die Abbaufunktion zu fördern und um andere Komponenten im Substrat abzubauen. Vorzugsweise wird 0,1 Gew.-% eines jeden Enzyms in dem Gemisch auf das Substrat, bezogen auf 100 Gew.-% desselben, aufgebracht.

35 Die Fermentationstemperatur soll vorzugsweise Raumtemperatur oder 35 °C bis 45 °C sein und als Pufferlösung kann bei pH 6 bis pH 11 Salzsäure-Kollidin, primäres Kaliumphosphat-sekundäres Kaliumphosphat, Salzsäure-Natriumbarbital, Salzsäure-Triaminomethan, Salzsäure-Borax, Borsäure-Natriumcarbonat, Salzsäure-Natriomethylpropandiol, Ammoniumchlorid-Ammoniak, Glycin-Natriumhydroxid, Borsäure-Natriumhydroxid, Salzsäure-Natriumdimethylglycinat, Natriumbicarbonat-Natriumcarbonat, Borax-Natriumhydroxid, Borax-Natriumcarbonat, Salzsäure-Natriumcarbonat, sekundäres Natriumphosphat-Natriumhydroxid oder dergleichen verwendet werden. Es kann auch eine beliebige Kombination oder Kombinationen dieser Substanzen in der Form eines Gemisches verwendet werden.

40 Die Reaktionszeit für die Fermentation ist vorzugsweise 5 bis 10 Stunden unter Rühren. Die Vollständigkeit der Reaktion kann, für Lipase, durch Zugabe einer festgelegten färbenden Substanz als Indikator und Prüfen der Menge an freigesetzten Fettsäuren, welche durch die Esterhydrolyse gebildet wurden oder durch elektrische Titration unter Verwendung von Alkali erkannt werden. Falls Obiges nicht leicht durchführbar ist, wende man die Colorimetrie für den in der Hydrolyse freigesetzten Alkohol an. Für Proteinase wende man die Ninhydrin-Colorimetrie an, welche die Colorimetrie zum Nachweis von Aminosäuren durch beim Erhitzen von Ninhydrin entstehende Blaufärbung ist. Falls das nicht leicht durchführbar ist, ist es möglich, die Formoltitration nach Sörensen anzuwenden. Diese Methode ist eine Anwendung des Phänomens der Divergenz der Titrationskurve für einen α-Aminorestoder -Imidorest in Anwesenheit von Formaldehyd. Zur Sterilisation wird die Autoclav-Sterilisation bevorzugt.

45 Ein erfindungsgemäß hergestelltes Haarnährmittel wird durch Zugabe von Wasser oder Alkohol zu den fermentierten Produkten erhalten, nachdem die fermentierten Produkte filtriert wurden. Das so erhaltene Haarnährmittel kann so, wie es ist, verwendet werden oder einer Haarlotion, Haarcreme, einem Haarwasser, Haartonicum, einer Pomade, einem Shampoo oder einer Spülung beigemischt werden.

50 Es ist möglich, dem erfindungsgemäß Haarnährmittel einige Komponenten beizumischen, welche oft in den üblichen Haarwuchsmitteln verwendet werden, wie ein durchblutungsförderndes Mittel, ein den

Stoffwechsel förderndes Mittel, ein männliches Antihormon, ein entzündungshemmendes Mittel, ein Antiallergicum, ein Befeuchtungsmittel, ein antibakterielles Mittel und/oder ein Kühlmittel. Das sind beispielsweise Tocopherolacetat, Caproniumchlorid, Kohlendioxid, m-Isopropyl-Tropolon, Pantonylethyletherbenzoinat, Glyceridpentadecanat, Vitamin H, Ethynilöstradiol, Glythyricinsäure, Diphenylhydraminchlorid, Hyaluronsäure, 5 Mononitroguaiacol, Guinea-Pfefferextraktinktur, Tinktur aus Shouhyo-Pflanzenextrakt, Hydrocortison, Diphenhydraminchlorid, D-Pantothenylalkohol, Salicylsäure, Milchsäure, Natriumlactat, Menthol und dergleichen.

Beispiel:

10

Reiskleie wurde als Substrat verwendet. Warmes Wasser, 1.000 ml wurde zu der Reiskleie, 500 g, hinzugesetzt und beides gut gemischt. Das Gemisch wurde sodann in einen geeigneten Behälter, wie einen Glasbehälter oder Plastikbehälter, eingebracht und Lipase oder Proteinase, 0,5 g, wurde zu dem Gemisch hinzugefügt, Natriumbicarbonat, 3g, wurde ebenfalls, als Puffer zur pH-Kontrolle, hinzugesetzt. Der Behälter wurde durch eine Heizeinrichtung auf etwa 45°C erwärmt und konstant bei dieser Temperatur gehalten. Das Gemisch wurde unter gelegentlichem Rühren einen ganzen Tag lang stehen gelassen. Das Gemisch wurde pastös und diese pastöse Flüssigkeit im Behälter wurde durch ein Tuch filtriert, wobei eine semitransparente Haarnährflüssigkeit von etwa 1.000 ml erhalten wurde.

15 Die gemäß dem Beispiel erhaltene Haarnährflüssigkeit wurde mit Ethanol verdünnt und die Mischung an Menschen und Mäusen täglich einmal morgens und einmal abends aufgetragen. Nach 30-tägiger Anwendung zeigte sich in beiden Fällen eine ausgezeichnete Wirkung im Haarwachstum. Insbesondere im Falle der Mäuse war die Wirkung auf das Haarwachstum enorm.

20

#### **Patentansprüche**

25

1. Verfahren zur Herstellung eines Haarnährmittels umfassend die Stufen der Aufbringung eines Enzyms auf ein Substrat, Fermentation des Substrats und Abfiltrieren eines fermentierten Produktes von diesem, dadurch gekennzeichnet, daß als Substrat Reiskleie und als Enzym ein solches der Gruppe Lipase und Proteinase, gegebenenfalls in Kombination mit Amylase, eingesetzt wird

30

35

40

45

50

55