(19) **Bundesrepublik Deutschland**
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 600 19 979 T2** 2006.03.09

(12) # Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) **EP 1 286 679 B1**
(21) Deutsches Aktenzeichen: **600 19 979.7**
(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/FR00/01601**
(96) Europäisches Aktenzeichen: **00 940 480.7**
(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 01/093887**
(86) PCT-Anmeldetag: **09.06.2000**
(87) Veröffentlichungstag der PCT-Anmeldung: **13.12.2001**
(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **05.03.2003**
(97) Veröffentlichungstag der Patenterteilung beim EPA: **04.05.2005**
(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **09.03.2006**

(51) Int Cl.[8]: ***A61K 36/00*** (2006.01)
A61K 38/43 (2006.01)
A61P 17/00 (2006.01)

(73) Patentinhaber:
Life Science Investments Ltd., Tunbridge Wells, Kent, GB

(74) Vertreter:
BEETZ & PARTNER Patentanwälte, 80538 München

(84) Benannte Vertragsstaaten:
AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LI, LU, MC, NL, PT, SE

(72) Erfinder:
DIEHL, Christian, 5008 CORDOBA, AR

(54) Bezeichnung: **HAUTPFLEGEMITTEL**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

[0001] Die Erfindung bezieht sich auf ein neues Präparat, das auf die Haut aufgetragen werden soll. Es besteht aus einer Kombination von Trägersubstanzen und pflanzlichen Substanzen mit Enzymen und Arzneimittelträgern und ist dazu bestimmt, das Fortschreiten der sich im Verlauf der Evolutionsphasen von Vitiligo bildenden Entzündungsfront zu verhüten oder zu hemmen und gegebenenfalls eine eventuelle Repigmentierung zu ermöglichen.

[0002] Bekanntlich bezieht sich der Ausdruck Arzneimittelträger auf hohle Partikel von geringer Größe, welche ein Reservoir für Wirkstoffe bilden, die auf diese Weise geschützt werden und zum richtigen Zeitpunkt am geeigneten Ort freigesetzt oder abgegeben werden können (Bioverfügbarkeit). Die zum Beispiel in der Druckschrift FR-A-2 315 991, welches dem Dokument US-A-4 217 344 entspricht, beschriebenen Liposomen sind die bekanntesten unter diesen Vektoren.

Stand der Technik

[0003] Ausgehend von grundsätzlichen Untersuchungen sind durch die Arbeiten der Wissenschaftler seit Kurzem genauere Kenntnisse über Vitiligo verfügbar und es können neue Therapierichtungen angegeben werden.

[0004] Die autosomale Theorie des Vitiligo wurde in der folgenden Sequenz untersucht: Thioredoxin-Reduktase, ein in den Keratinocyten und menschlichen Melanocyten vorkommendes Thioenzym, reduziert die freien Radikale, sodass sie auf diese Weise möglicherweise die erste Verteidigungslinie gegen die Schäden auf der Haut bildet, die durch die von UV-Strahlung erzeugten freien Radikale verursacht werden.

[0005] Andererseits wurde festgestellt, dass das Superoxid-Radikal-Anion das wirkliche Substrat der Tyrosinase ist, vorzugsweise mit molekularem Sauerstoff.

[0006] Im Vergleich mit gesunden Patienten wurde ein geringer Katalase-Anteil sowohl in der läsionierten als auch nicht läsionierten Epidermis der von Vitiligo betroffenen Patienten festgestellt.

[0007] Daher ist es nahe liegend, dass diese geringen Katalase-Mengen zu einer höheren Konzentration von Wasserstoffperoxid bei diesen Patienten führen könnten.

[0008] Die Zunahme des H_2O_2-Gehalts könnte eine Depigmentierung induzieren und die Melanocyten zerstören und auch niedrige Niveaus der Katalase aufrechterhalten; H_2O_2 könnte dabei das hämatologische Zentrum der Katalase hemmen.

[0009] Wasserstoffperoxid kann als reversibler Inhibitor der Tyrosinase wirken. Es induziert eine photochemische Reduktion, wobei hochreaktive Hydroxyl-Ionen und Radikale gebildet werden.

[0010] Diese sind befähigt, das physiologische Melanin zu entfärben und die Lyse der Melanocytenmembran zu induzieren.

[0011] Die gleichen Forscher haben auch eine Zunahme von TNF-α, GTP, 6-BH4 und PAH in der Epidermis nach UV-Exposition nachgewiesen.

[0012] Mit Hilfe der Anwendung der Raman-Spektroskopie war es kürzlich zum ersten Mal möglich, den hohen Gehalt von H_2O_2 in der Epidermis der von Vitiligo betroffenen Patienten zu zeigen.

[0013] Ganz neue Studien, die an Zellenkulturen von menschlichen Melanocyten betroffener Patienten durchgeführt werden, die mit einem Pflanzenextrakt mit einem hohen Gehalt an Reduktase, Katalase und Superoxid-Dismutase behandelt wurden, haben unbestreitbar die Verringerung des Anteils von Wasserstoffperoxid in den behandelten Zellen sowie den Rückgang des mit Vitiligo verbundenen Entzündungs-Phänomens gezeigt.

[0014] Diese Untersuchungen führen zu der Annahme, dass ein Haut-Präparat aus diesen Pflanzenextrakten, die in Arzneimittelträgern eingeschlossen sind, welche deren Schutz gewährleisten und ihre Freisetzung vorzugsweise bei den Keratinocyten und Melanocyten sicherstellen, das mit Vitiligo verbundene entzündliche Profil auf zufrieden stellende Weise reduzieren würde und somit auch die Haut-Depigmentierung nicht nur begrenzen, sondern stoppen müsste.

Aufgabenstellung

[0015] Die Aufgabe der Erfindung besteht daher darin, ein verbessertes Präparat der in Frage stehender Art zu entwickeln, welches die bestmöglichen Resultate bezüglich der Begrenzung oder sogar der Beendigung der Depigmentierung der Haut bietet, einfach herzustellen, stabil und ökonomisch ist und die Wirkstoffe nicht zum falschen Zeitpunkt freisetzt.

[0016] Dieses Präparat zum Auftragen auf die Haut, das Trägerstoffe und einen Arzneimittelträger umfasst, welcher einen Pflanzenextrakt mit einem hohen Gehalt an Reduktase, Katalase und Superoxid-Dismutase einkapselt, ist dadurch gekennzeichnet, dass:

– der Arzneimittelträger, der aus Nanosphären besteht, die einen Pflanzenextrakt mit einem hohen Gehalt an Reduktase, Katalase und Supero-

xid-Dismutase einkapseln, 1% bis 20% des Gewichts des Präparats ausmacht;
– der verwendete Pflanzenextrakt einen hohen Gehalt an Reduktase, Katalase und Superoxid-Dismutase aufweist.

[0017] Als Nanosphären werden Arzneimittelträger bezeichnet, die aus Partikeln bestehen, welche im Allgemeinen sphärisch oder ovoid sind, eine Größe im Nanometerbereich aufweisen und eine bestimmte Substanz einkapseln, in diesem Fall einen Pflanzenextrakt mit einem hohen Gehalt an Reduktase, Katalase und Superoxid-Dismutase. Diese Vektoren sind in der Literatur ausführlich beschrieben worden.

[0018] Die Erfindung beruht mit anderen Worten auf einer doppelten Auswahl, d.h. zunächst der Wahl eines speziellen Vektors, d.h. von Nanosphären, die einen speziellen Wirkstoff einkapseln, nämlich einen Pflanzenextrakt mit einem hohen Gehalt an Reduktase, Katalase und Superoxid-Dismutase. Der Gedanke, dass es diese doppelte Auswahl erlauben würde, das aufgeworfene Problem mit Erfolg zu lösen, war natürlich nicht nahe liegend, d.h., dass aufgrund der reduzierten Größe der Nanosphären eine bessere Penetration zu den Keratinocyten und Melanocyten und dadurch eine bessere Bioverfügbarkeit der Wirkstoffe in diesem Stadium und andererseits aufgrund der Auswahl eines Pflanzenextrakts, dessen Inhalt in Bezug auf die Reduktase, Katalase und Superoxid-Dismutase ausgewogen ist, eine zufrieden stellende Wirkung in Bezug auf die Begrenzung oder noch besser die Beendigung der Haut-Depigmentierung erreicht würde.

[0019] In der Praxis sind die folgenden Punkte vorteilhaft:
– Die Nanosphären sind Hohlkugeln mit einer Membran aus Collagen und Glykosaminoglykanen, z.B. die Produkte, die von COLETICA unter der Marke NANOTHALASPHERES und NANOCOLLASPHERES vertrieben werden; diese Nanosphären werden in der Druckschrift FR-A-8901221 beschrieben; dieser Vektortyp hat den Vorteil, dass in Kombination mit Trägersubstanzen Hautpräparate erhalten werden können, die weniger reizend, biologisch vollständig abbaubar und biokompatibel sind und eine kontrollierte Freisetzung ermöglichen.
– Die Nanosphären, welche einen Pflanzenextrakt mit einem hohen Gehalt an Reduktase, Katalase und Superoxid-Dismutase aufweisen, machen 1% bis 20% des Gewichts des Präparats aus, vorzugsweise 3% bis 12%; es hat sich nämlich herausgestellt, dass, wenn der Anteil der Nanosphären unter 1 % liegt, die Depigmentierung praktisch nicht eingeschränkt wird; wenn dagegen dieser Anteil größer als 20% ist, ist die Freisetzung übermäßig und es besteht die Gefahr, dass die normalen physiologischen Mechanismen der Haut beeinträchtigt werden.
– Der Mengenanteil des Pflanzenextrakts in den Nanosphären beträgt 5% bis 15% ihres Gewichts; es hat sich nämlich herausgestellt, dass Mengen unter 5% in Bezug auf die Begrenzung der Haut-Depigmentierung und die mögliche Neupigmentierung keine konstanten Ergebnisse ergeben, wohingegen eine Menge größer 15% technisch im Hinblick auf die Herstellung der Nanosphären nicht annehmbar ist. Mit einem Mengenanteil von ungefähr 10% werden die besten Resultate erzielt.
– Der gewählte Pflanzenextrakt sollte die folgenden enzymatischen Konzentrationen enthalten:
– Reduktase: 100 bis 1000 IE
– Katalase: 100 bis 1000 IE
– Superoxid-Dismutase: 500 bis 5000 IE

[0020] Enzymatische Konzentrationen unter 100 IE für die Reduktase und die Katalase und 500 IE für die Superoxid-Dismutase sind nämlich nicht effizient genug und Konzentrationen über 1000 IE für die Reduktase und Katalase und 5000 IE für die Superoxid-Dismutase sind nicht kompatibel mit den physiologischen Vorgaben für die menschliche Haut; die besten Resultate wurden mit den folgenden enzymatischen Konzentrationen erzielt:
- Reduktase: 500 IE
- Katalase: 500 IE
- Superoxid-Dismutase: 1000 IE

[0021] Das Präparat enthält auch Trägersubstanzen (Vehikel), die gewöhnlich für Anwendungen dieser Art auf der Haut benutzt werden.

[0022] Die Vehikel dürfen die Stabilität der Nanopartikeln nicht beeinträchtigen und weder mit diesen noch untereinander wechselwirken. Es ist vorzuziehen, dass der Mengenanteil an Fettsubstanzen so klein wie möglich ist, und insbesondere weniger als die Hälfte oder weniger als ein Drittel ausmacht.

[0023] Gewöhnlich kann das Gemisch von Trägersubstoffen auch Antioxidantien und/oder Konservierungsmittel enthalten, die für solche Präparate gewöhnlich verwendet werden.

[0024] Gemäß einer in der Praxis umgesetzten Ausführungsform enthält das erfindungsgemäße Präparat:
– 10% Nanosphären, welche den pflanzlichen Wirkstoff einkapseln;
– 1 % Konservierungsmittel;

wobei der für 100% erforderliche Rest aus entmineralisiertem Wasser und einem Gemisch von Trägersubstanzen besteht, welche gewöhnlich zum Auftragen auf die Haut benutzt werden.

[0025] Selbstverständlich ist es unerlässlich, dass

in dem erfindungsgemäßen Präparat die Nanosphären, die den Pflanzenextrakt einkapseln, und die Trägersubstanzen nicht miteinander wechselwirken.

[0026] Im Allgemeinen ist das fertige Präparat von sehr heller Farbe, sogar von hellem Beige, je nach der Qualität der verwendeten Fettsubstanzen. Das Präparat ist cremig und glatt, lässt sich leicht verteilen, kann einfach bei Umgebungstemperatur aufbewahrt werden und ist insbesondere in einer Tube unter Luftabschluss länger als ein Jahr haltbar.

[0027] Dieses Hautpräparat kann leicht mit der Hand aufgetragen werden und dringt durch sanfte Massage schnell in die Haut ein.

[0028] Durch ein zweimaliges Auftragen pro Tag ein bis fünf Monate lang oder sogar kontinuierlich werden gute Resultate erreicht.

[0029] Nachdem das Präparat auf die Haut aufgetragen wurde, dringen die Nanosphären, welche den Pflanzenextrakt einkapseln, in das Stratum corneum ein und treten mit den Keratinocyten und Melanocyten in Kontakt. Die beiden Membranen verschmelzen und der Pflanzenextrakt dringt dadurch in das Zytoplasma der Keratinocyten und Melanocyten ein und bringt die enthaltene Reduktase, Katalase und Superoxid-Dismutase dorthin.

[0030] Es folgt eine chemische Reduktion des Wasserstoffperoxids, das in einer zu großen Menge vorhanden ist, und der Verlust an Melanin wird reduziert oder sogar verhindert. Daraus folgt eine Begrenzung und sogar die Beendigung der mit Vitiligo verbundenen Depigmentierung und eine mögliche Neupigmentierung. Daraus ergibt sich auch eine Verminderung und sogar ein Verschwinden der häufig mit den Depigmentierungen verbundenen entzündlichen Front, Phänomene, die bis zu diesem Zeitpunkt nicht erreicht werden konnten. Die Art der Durchführung der Erfindung und die Vorteile, die sie bietet, gehen noch besser aus den folgenden Ausführungsbeispielen hervor.

Ausführungsbeispiel

Beispiel 1

[0031] Bei Umgebungstemperatur und unter mäßigem Rühren werden in 220 Gramm (g) (22%) entmineralisiertem Wasser vermischt:

- 3 g (0,30%) Gelbildner auf der Basis einer modifizierten Cellulose, die von GOODRICH unter der Marke 'CARBOPOL 934' vertrieben wird;
- 30 g (3%) Nanosphären, welche einen Pflanzenextrakt mit einem hohen Gehalt an Reduktase, Katalase und Superoxid-Dismutase einkapseln, und in Form einer wässerigen Suspension vorliegen und von COLETICA unter der Marke 'NANOTHALASPHERES' vertrieben werden; ihre Membran besteht aus Collagen und Glykosaminoglykanen. Diese Nanosphären liegen als Mikrokapseln mit einem Durchmesser unter einem (1) Mikrometer vor, und sie sind dadurch gekennzeichnet, dass sie eine Wand aus marinem Collagen oder Atelocollagen und vernetzten Glykosaminoglykanen besitzen, wobei das Verhältnis von Glykosaminoglykanen und marinem Collagen oder Atelocollagen im Bereich von 15 bis 50 Gew.-% liegen kann. Die Glykosaminoglykanen sind unter Chondroitin-4-sulfat, Chondroitin-6-sulfat, Dermatansulfat, Heparinsulfat, Keratansulfat und Heparin und seinen Derivaten ausgewählt.
- 10 g (1%) eines flüssigen Konservierungsmittels auf der Basis von Propylenglykol, Diazolidinylharnstoff, Methylparaben und Propylparaben, das von SUTTON unter der Marke 'GERMABEN II' im Handel ist;
- 1 g (0,1 %) Chelatbildner, der unter dem Namen Dinatrium-EDTA bekannt ist.

[0032] Es wird bei Umgebungstemperatur mäßig gerührt, bis ein homogenes Gemisch erhalten wird.

[0033] Getrennt davon werden unter kräftigem Rühren (1000 Umdrehungen/Minute) und bei 80°C in dieser Reihenfolge vermischt:

- 10 g (1%) eines Trägerstoffs auf der Basis von Cetylalkohol;
- 90 g (9%) eines weiteren Trägerstoffs auf der Basis von 2-Octyldodecyl-myristat;
- 80 g (8%) eines Trägerstoffs auf der Basis eines nichtionischen Derivats von weißem Bienenwachs, der von GATTEFOSSE unter der Marke 'APIFIL' im Handel erhältlich ist;
- 80 g (8%) eines Trägerstoffs auf der Basis von Isostearylisostearat.

[0034] Es wird bis zur vollständigen Homogenisierung kräftig gerührt. Dann wird zu diesem Gemisch auf 82°C erwärmtes, entmineralisiertes Wasser in einer Menge von 456,5 g (45,65%) gegeben. Um mit dem Emulgieren zu beginnen, wird kräftig gerührt, wobei das Wasser in das Gemisch eingearbeitet wird.

[0035] Nach Bildung der Emulsion und Absinken der Temperatur auf 30–35°C gibt man die erste Phase zu, welche die Nanosphären mit dem pflanzlichen Wirkstoff enthält, anschließend 6 g (0,6%) einer 50 %-igen Triethanolamin-Lösung zur Einstellung des pH-Werts, dann 3 g (0,3%) eines Parfums und zum Schluss 0,5 g (0,05%) eines Antioxidationsmittels, das von GATTEFOSSE unter der Referenz 'WL774' im Handel ist.

[0036] Das Ganze wird langsam bei 30–35°C vermischt.

[0037] Das fertige Präparat ist eine Emulsion vom Öl-in-Wasser-Typ von weiß-hellbeiger Farbe (je nach Qualität der verwendeten Fettsubstanzen); es ist glatt, cremig, halbflüssig, und sein pH-Wert liegt im Bereich von 5 bis 7,5. Sein Geruch sui generis hängt von dem verwendeten Parfum ab.

[0038] Dieses zeitlich stabile Präparat (kein vorzeitiges Freisetzen der Wirkstoffe nach einem Jahr Aufbewahrung) kann unbegrenzte Zeit 2× täglich auf die Haut aufgetragen werden.

[0039] Gelegentlich erhält man ab der dritten Woche, jedoch im Allgemeinen innerhalb von 5 Monaten nach Beginn der Behandlung eine Begrenzung und sogar die Beendigung der mit Vitiligo verbundenen Haut-Depigmentierung und gegebenenfalls eine Neupigmentierung.

[0040] Außerdem scheint das Aufbringen der Emulsion neuerlicher Depigmentierung vorzubeugen.

Beispiel 2

[0041] Das Beispiel 1 wird wiederholt, aber ohne die Nanosphären, welche den Pflanzenextrakt einkapseln. Es ist kein Effekt zu verzeichnen.

Beispiel 3

[0042] Es wird das Beispiel 1 wiederholt, wobei die Nanosphären durch im Handel erhältliche Liposomen ersetzt werden, welche den Pflanzenextrakt einkapseln.

[0043] Es wird eine Emulsion ähnlichen Aussehens und mit den gleichen physikalischen Eigenschaften wie in Beispiel 1 erhalten. Es wird jedoch eine langsamere Einschränkung der Depigmentierung und sporadischer als in Beispiel 1 beobachtet.

Beispiel 4

[0044] Es wird das Beispiel 1 wiederholt, dabei wird der gewählte Pflanzenextrakt durch einen anderen Pflanzenextrakt ersetzt, der weder eine Reduktase noch Katalase oder Superoxid-Dismutase enthält. Es wird kein Resultat wahrgenommen.

[0045] Diese Beispiele zeigen deutlich die synergistische Wirkung, welche sich aus der Kombination der Nanosphären, welche einen Pflanzenextrakt mit einem hohen Gehalt an Reduktase, Katalase und Superoxid-Dismutase einkapseln, bezüglich der Begrenzung der Depigmentierung und Verminderung der entzündlichen Front im Laufe des Entwicklungsprozesses von Vitiligo und einer möglichen Neupigmentierung ergibt.

[0046] Daher können diese Hautpräparate erfolgreich bei Patienten angewandt werden, welche eine fortschreitende Vitiligo-Erkrankung aufweisen.

Patentansprüche

1. Präparat für die Anwendung auf die Haut, welches Trägerstoffe und einen Arzneimittelträger enthält, der einen Pflanzenextrakt mit einem hohen Gehalt an Reduktase, Katalase und Superoxid-Dismutase einkapselt, **dadurch gekennzeichnet**, dass:
– der Arzneimittelträger, der aus Nanosphären gebildet wird, die einen Pflanzenextrakt mit einem hohen Gehalt an Reduktase, Katalase und Superoxid-Dismutase einkapseln, 1% bis 20% des Gewichts des Präparats ausmacht; und
– der verwendete Pflanzenextrakt einen hohen Gehalt an Reduktase, Katalase und Superoxid-Dismutase aufweist.

2. Präparat für die Anwendung auf die Haut nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Nanosphären in Form von sphärischen Partikeln, die den Pflanzenextrakt einkapseln, eine Membran aus Collagen und Glykosaminoglykanen besitzen.

3. Präparat für die Anwendung auf die Haut nach einem der Ansprüche 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, dass der Mengenanteil des Pflanzenextrakts in den Nanosphären 5 % bis 15 % ihres Gewichts ausmacht.

4. Präparat für die Anwendung auf die Haut nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass der Pflanzenextrakt folgende enzymatische Konzentrationen enthalten muss:
• Reduktase: 100 bis 1000 IE
• Katalase: 100 bis 1000 IE
• Superoxid-Dismutase: 500 bis 5000 IE.

5. Präparat für die Anwendung auf die Haut nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass die Trägerstoffe ein Gemisch von Ölen und Fettsäuren, Antioxidantien und Konservierungsmittel enthalten.

6. Präparat für die Anwendung auf die Haut, das Trägerstoffe und Arzneimittelträger enthält, die einen Pflanzenextrakt mit einem hohen Gehalt an Reduktase, Katalase und Superoxid-Dismutase einkapseln, dadurch gekennzeichnet, dass es auf 100 Teile enthält:
– 1 % bis 20%, vorzugsweise 3% Nanosphären, die einen Pflanzenextrakt mit einem hohen Gehalt an Reduktase, Katalase und Superoxid-Dismutase einkapseln;
– 1% Konservierungsmittel;
– 0,1 % Chelatbildner;
– 0,3% Gelbildner auf der Basis einer modifizierten Cellulose;
– 0,6 % eines Stoffs zur Einstellung des pH-Werts;

wobei der für 100 % erforderliche Rest aus entmineralisiertem Wasser und einem Gemisch von Trägerstoffen besteht, die gewöhnlich zur Anwendung auf die Haut benutzt werden.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen