



SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT
EIDGENÖSSISCHES INSTITUT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

(11) **CH**

697 230 B1

(19)

Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein

Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

(51) Int. Cl.: **A61K 8/67** (2006.01)
A61K 8/34 (2006.01)
A61K 8/36 (2006.01)
A61K 8/42 (2006.01)
A61Q 17/00 (2006.01)

(12) **PATENTSCHRIFT**

(21) Anmeldenummer:	01870/06	(73) Inhaber:	Beiersdorf AG, Unnastrasse 48 20253 Hamburg (DE)
(22) Anmeldedatum:	24.03.2005	(72) Erfinder:	Ute Breitenbach, 22299 Hamburg (DE) Andreas Schepky, 22459 Hamburg (DE) Ursula Holtzmann, 22309 Hamburg (DE) Alexander Filbry, 22309 Hamburg (DE)
(24) Patent erteilt:	31.07.2008	(74) Vertreter:	Bovard AG Patentanwälte, Optingenstrasse 16 3000 Bern 25 (CH)
(45) Patentschrift veröffentlicht:	31.07.2008	(86) Internationale Anmeldung:	PCT/EP 2005/051394
		(87) Internationale Veröffentlichung:	WO 2005/063173

(54) **Verwendung von Zubereitungen zum Schutz hauteigener Enzyme.**

(57) Kosmetische Zubereitung, enthaltend einen Wirkkomplex, bestehend aus Panthenol, Glycerin, Citrat, dadurch gekennzeichnet, dass der SCTE-Wert der Zubereitung zwischen 120 und 170 liegt, die Zubereitung einen pH-Wert von 4,6 bis 5,4 hat und das Massenverhältnis Panthenol zu Citrat 25:1 bis 5:1 beträgt, bezogen auf das Citrat-Anion.

Beschreibung

[0001] Durch äussere Einflüsse wie Umweltverschmutzung, Irritantien und Reinigung können die Haut und ihre Bestandteile wie z.B. Enzyme geschädigt und in ihrer Funktion eingeschränkt werden. 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 deaktivieren die Enzyme stark. Dadurch werden wichtige stoffwechselphysiologische Prozesse (Desquamation u.Ä.) 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 Corneum Tryptisches Enzym. In Tabelle 1 und 2 und im Folgenden sind die wichtigsten literaturbekannten Stratum Corneum Enzyme aufgezeigt.

Tabelle 1: Enzyme, die Desmosomen degradieren und zur Desquamation beitragen

[0003]

Enzym	Wirkort	Reaktion (Barriereschaden)	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		Yokozeki, 1987

Tabelle 2: Enzyme, die Barriere aufbauen und zur Barrierehomöostase beitragen

[0004]

Enzym	Wirkort	Reaktion (Barriereschaden)	Literatur
Phospholipase A ₂	SG-SC; LB	Freisetzung von Fettsäuren und möglicherweise Cholesterol 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 (Differenzierung)	Menon, 1986
Sphingomyelinase	SC, LB	Bereitstellung von Ceramiden	Menon, 1986
Ceramidase	SC	Bereitstellung von Ceramiden	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-Lyasen spielen eine wichtige Rolle beim Filaggrinabbau (Kuroda et al., 1979). Ebenso wie Transglutaminasen (Polakowska et al., 1991), die für die Bildung des «Cornified 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 (SCTE) 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 hydrolytischen (katabolen) Enzymen in der Haut hingewiesen. Proteasen werden für die Entfernung desmosomaler Strukturen benötigt. Wenn dort 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 Chymotrypsische 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 SCTE erniedrigt. 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.

[0009] Die vorliegende Erfindung betrifft einen kosmetischen Wirkkomplex zum Schutz von hauteigenen Enzymen gegen die nachteiligen Wirkungen von Reinigungsprodukten.

[0010] Folglich versteht man unter Enzymschutz im Sinne der vorliegenden Schrift eine signifikante Verminderung/Verminderung der durch Reinigung hervorgerufenen Schädigung/Beeinträchtigung der beschriebenen Hautenzyme. Dies wird erfindungsgemäss erreicht durch Pflege der Haut mit Formulierungen, die Panthenol, Glycerin, Citrat (Wirkkomplex) bei pH 5 enthalten. Im Vergleich zu einem Placebo, welches den Wirkkomplex nicht enthält, wurde die Wirkung nachgewiesen.

[0011] 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 cremen sich drei Wochen entweder mit Placebo bzw. Verum ein und waschen sich dann ohne Pflege unter Aufsicht mehrere Male in 3 Tagen mit einem Standardduschprodukt 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).

[0012] Überraschend wurde gefunden, dass eine kosmetische Zubereitung, enthaltend einen Wirkkomplex, bestehend aus Panthenol, Glycerin, Citrat, dadurch gekennzeichnet, dass der SCTE-Wert der Zubereitung zwischen 120 und 170 liegt und die Zubereitung einen pH-Wert von 4,6 bis 5,4 hat und das Massenverhältnis Panthenol zu Citrat 25:1 bis 5:1 beträgt, bezogen auf das Citrat-Anion, den Nachteilen des Standes der Technik abhilft. Durch solche Zubereitungen lässt sich die durch Reinigung hervorgerufene Schädigung der Hautenzyme verringern.

[0013] Weiterhin ist es erfindungsgemäss bevorzugt, wenn das Massenverhältnis Panthenol zu Glycerin mindestens 1:1 bis 1:4 beträgt.

[0014] Weiterhin ist es erfindungsgemäss bevorzugt, wenn das Massenverhältnis Citrat zu Glycerin 60:1 bis 10:1 beträgt, bezogen auf das Citrat-Anion. Die Erfindung umfasst auch die Verwendung des beschriebenen Wirkkomplexes in einer auf den pH-Wert 5 eingestellten Reinigungszubereitung zum Schutz hauteigener Enzyme vor durch Reinigung hervorgerufene Schädigungen.

[0015] Ebenso umfasst die Erfindung auch die Verwendung des beschriebenen Wirkkomplexes in einer auf den pH-Wert 5 eingestellten Hautpflegezubereitung zum Schutz hauteigener Enzyme vor durch spätere Reinigung hervorgerufene Schädigungen.

[0016] Auch ein Verfahren zur kosmetischen Behandlung der Haut, umfassend zumindest die Schritte a) topische Applikation einer Zubereitung, die den beschriebenen Wirkkomplex enthält, b) Reinigung der Haut mit einer Tenside, bevorzugt 5 bis 10% Lauryl- oder Myrethethersulfat und 2 bis 8% Cocoamidopropylbetain enthaltenden Zubereitung ist Bestandteil dieser Erfindung.

[0017] Ebenso ist ein Verfahren zur kosmetischen Behandlung der Haut, umfassend zumindest die Schritte a) topische Applikation einer Zubereitung, die den beschriebenen Wirkkomplex enthält, b) Reinigung der Haut mit einer Tenside, bevorzugt 5 bis 10% Lauryl- oder Myrethethersulfat, 2 bis 8% Cocoamidopropylbetain und 1 bis 5% eines weiteren Cotensides enthaltenden Zubereitung Bestandteil dieser Erfindung.

[0018] Darüber hinaus können erfindungsgemässe Zubereitungen ausserdem Substanzen enthalten, die UV-Strahlung im UVB-Bereich absorbieren, wobei die Gesamtmenge der Filtersubstanzen z.B. 0,1 Gew.-% bis 30 Gew.-%, vorzugsweise

0,5 bis 10 Gew.-%, insbesondere 1,0 bis 6,0 Gew.-%, beträgt, bezogen auf das Gesamtgewicht der Zubereitungen, um kosmetische Zubereitungen zur Verfügung zu stellen, die das Haar bzw. die Haut vor dem gesamten Bereich der ultravioletten Strahlung schützen. Sie können auch als Sonnenschutzmittel fürs Haar dienen.

[0019] Vorteilhafte UV-A-Filtersubstanzen im Sinne der vorliegenden Erfindung sind Dibenzoylmethanderivate, insbesondere das 4-(tert.-Butyl)-4'-methoxydibenzoylmethan (CAS-Nr. 70 356-09-1), welches von Givaudan unter der Marke Parsol® 1789 und von Merck unter der Handelsbezeichnung Eusolex® 9020 verkauft wird.

[0020] Vorteilhafte weitere UV-Filtersubstanzen im Sinne der vorliegenden Erfindung sind sulfonierte, wasserlösliche UV-Filter, wie z.B.:

[0021] Phenyl-1,4-bis-(2-benzimidazolyl)-3,3'-5,5'-tetrasulfonsäure und ihre Salze, besonders die entsprechenden Natrium-, Kalium- oder Triethanolammonium-Salze, insbesondere das Phenyl-1,4-bis-(2-benzimidazolyl)-3,3'-5,5'-tetrasulfonsäure-bis-natriumsalz mit der INCI-Bezeichnung Bisimidazylate (CAS-Nr.: 180 898-37-7), welches beispielsweise unter der Handelsbezeichnung Neo Heliopan AP bei Haarmann & Reimer erhältlich ist;

[0022] Salze der 2-Phenylbenzimidazol-5-sulfonsäure, wie ihr Natrium-, Kalium- oder ihr Triethanolammonium-Salz sowie die Sulfonsäure selbst mit der INCI-Bezeichnung Phenylbenzimidazole Sulfonsäure (CAS.-Nr. 27 503-81-7), welches beispielsweise unter der Handelsbezeichnung Eusolex 232 bei Merck oder unter Neo Heliopan Hydro bei Haarmann & Reimer erhältlich ist;

[0023] Vorteilhafte UV-Filtersubstanzen im Sinne der vorliegenden Erfindung sind ferner sogenannte Breitbandfilter, d.h. Filtersubstanzen, die sowohl UV-A- als auch UV-B-Strahlung absorbieren.

[0024] Vorteilhafte Breitbandfilter oder UV-B-Filtersubstanzen sind beispielsweise Triazinderivate, wie z.B. 2,4-Bis-[[4-(2-Ethyl-hexyloxy)-2-hydroxy]-phenyl]-6-(4-methoxyphenyl)-1,3,5-triazin (INCI: Aniso Triazin), welches unter der Handelsbezeichnung Tinosorb® S bei der CIBA-Chemikalien GmbH erhältlich ist;

4,4',4''-(1,3,5-Triazin-2,4,6-triyltriimino)-tris-benzoesäure-tris(2-ethyl-hexylester), auch: 2,4,6-Tris-[anilino-(p-carbo-2'-ethyl-1'-hexyloxy)]-1,3,5-triazin (INCI: Ethylhexyl Triazone), welches von der BASF Aktiengesellschaft unter der Warenbezeichnung UVINUL® T 150 vertrieben wird.

[0025] Die weiteren UV-Filtersubstanzen können öllöslich oder wasserlöslich sein.

[0026] Vorteilhafte öllösliche UV-B- und/oder Breitband-Filtersubstanzen im Sinne der vorliegenden Erfindung sind z.B.: Zimtsäurederivate, vorzugsweise 2-Ethylhexylmethoxycinnamate (CAS-Nr.: 5466-77-3), welches unter der Handelsbezeichnung Parsol MCX bei der Firma Givaudan erhältlich ist.

[0027] Die Liste der genannten UV-Filter, die im Sinne der vorliegenden Erfindung eingesetzt werden können, soll selbstverständlich nicht limitierend sein.

[0028] Vorteilhaft enthalten die erfindungsgemässen Zubereitungen die Substanzen, die UV-Strahlung im UV-A- und/oder UV-B-Bereich absorbieren, in einer Gesamtmenge von z.B. 0,1 Gew.-% bis 30 Gew.-%, vorzugsweise 0,5 bis 20 Gew.-%, insbesondere 1,0 bis 15,0 Gew.-%, jeweils bezogen auf das Gesamtgewicht der Zubereitungen, um kosmetische Zubereitungen zur Verfügung zu stellen, die das Haar bzw. die Haut vor dem gesamten Bereich der ultravioletten Strahlung schützen.

Beispiele

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

[0029] Für die Standardisierung der Probandenhaut wurden die Probanden gebeten, drei Wochen nur ein mildes Duschgel (6% Natrium Myrethsulfat, 8% Natrium Cocoamphoacetat) beim Waschen zu benutzen. Parallel cremten sich die Probanden zwei Mal täglich drei Wochen einen Unterarm mit Beispiel 1 versus den anderen Unterarm mit Beispielen 2, 3, 4 oder 5 ein. Die Unterarme wurden jeweils in zwei Testarealen geteilt. Die Pflege wurde direkt vor Beginn des Waschprozesses beendet. Die Testareale wurden drei Tage nacheinander jeweils 3 Mal täglich mit 1 mL Waschprodukt 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).

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

[0030] Am 4. Tag wurden SC-Proben aus den Arealen mittels eines mit Zuckerlösung beschichteten Objektträgers gestrikt. 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

[0031] 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-methyl-

coumarin wurde mittels eines Fluoreszenzplattenreaders (Filter ex = 360 nm $\pm$ 40, em = 460 nm $\pm$ 40 nm, CytoFluor 4000, PerSeptive Biosystems, Framingham, USA) ermittelt.

4) Messung der Proteinkonzentration

[0032] Um die spezifische Trypsinaktivität der Extrakte auszurechnen, wurde der Proteingehalt mittels der Ninhydrin-Methode nach alkalischer Hydrolyse bestimmt. Die Korneozyten-Lösungen wurde zur Trockne eingeeengt und die Proteine 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.

5) Formeln

[0033]

Beispiel Nr.	1 Placebo	3	3	4	5
Cetearyl Alcohol + PEG-40 Castor Oil + Sodium Cetearyl Sulfate			2	1	
Ceteth-20 + Glyceryl Stearate			1,3		
Lanolin Alcohol			0,2		
Polyglyceryl-2 Dipolyhydroxystearate					3
Polyglyceryl-3 Diisostearate					2
Polyglyceryl-3 Methylglucose Distearate	5	5			
Sorbitan Stearate	2	2	1	2	
Diazolidinyl Urea	0,25	0,25			
Phenoxyethanol + Methylparaben + Ethylparaben + Butylparaben + Isobutylparaben + Propylparaben	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Cera Microcristallina			5		
Paraffinum Liquidum				8	10
Glycerin		5	5	12	10
Cetearyl Ethylhexanoate			0,8		
Isopropyl Myristate			5		
Isopropyl Stearate					9
Parfum	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Citric Acid		0,1	0,1	0,1	0,1
Diammonium Citrate			0,25		
Sodium Citrate		0,174		0,174	0,174
Magnesium Sulfate					0,6
Cyclomethicone	5	5		3	
Carbomer				0,25	
Sodium Hydroxide				0,03	
Cetearyl Alcohol	2	2			

CH 697 230 B1

Beispiel Nr.	1 Placebo	3	3	4	5
Cetyl Alcohol			2,5	3	
Cetyl Palmitate			10	10	
PEG-150 Distearate	1	1			
Panthenol		3	3	5	3
Aqua	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100
pH-Wert	7	5	5	5	5
SCTE-Wert normiert auf Placebo = 100	100	155	156	148	125

Patentansprüche

1. Kosmetische Zubereitung enthaltend einen Wirkkomplex, bestehend aus Panthenol, Glycerin, Citrat, dadurch gekennzeichnet, dass der SCTE-Wert der Zubereitung zwischen 120 und 170 liegt, die Zubereitung 5 einen pH-Wert von 4,6 bis 5,4 hat und das Massenverhältnis Panthenol zu Citrat 25:1 bis 5:1 beträgt, bezogen auf das Citrat-Anion.
2. Zubereitung nach Patentanspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das Massenverhältnis Panthenol zu Glycerin mindestens 1:1 bis 1:4 beträgt.
3. Zubereitung nach einem der vorangehenden Patentansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass das Massenverhältnis Citrat zu Glycerin 60:1 bis 10:1 beträgt, bezogen auf das Citrat-Anion.
4. Verwendung der Zubereitung nach einem der vorangehenden Patentansprüche in einer auf den pH-Wert 5 eingestellten Reinigungszubereitung zum Schutz hauteigener Enzyme vor durch Reinigung hervorgerufene Schädigungen.
5. Verwendung der Zubereitung nach einem der Patentansprüche 1 bis 3 in einer auf den pH-Wert 5 eingestellten Hautpflegezubereitung zum Schutz hauteigener Enzyme vor durch spätere Reinigung hervorgerufene Schädigungen.
6. Verfahren zur kosmetischen Behandlung der Haut umfassend zumindest die Schritte
 - a) topische Applikation einer Zubereitung, die den Wirkkomplex gemäss einem der Patentansprüche 1 bis 3 enthält,
 - b) Reinigung der Haut mit einer Tenside, insbesondere mit einer 5 bis 10% Lauryl- oder Myrethethersulfat und 2 bis 8% Cocoamidopropylbetain enthaltenden Zubereitung.
7. Verfahren zur kosmetischen Behandlung der Haut, umfassend zumindest die Schritte
 - a) topische Applikation einer Zubereitung, die den Wirkkomplex gemäss einem der Patentansprüche 1 bis 3 enthält,
 - b) Reinigung der Haut mit einer Tenside, insbesondere mit einer 5 bis 10% Lauryl- oder Myrethethersulfat und 2 bis 8% Cocoamidopropylbetain 1 bis 5% eines weiteren Cotensides enthaltenden Zubereitung.