

(12) **Österreichische Patentanmeldung**

(21) Anmeldenummer: **A 1627/2006** (51) Int. Cl.⁸: **A61K 38/44** (2006.01),
(22) Anmeldetag: **07.07.2004** **A61K 9/06** (2006.01),
(43) Veröffentlicht am: **15.07.2007** **A61K 47/00** (2006.01)

(62) Ausscheidung aus A 1150/04

(73) Patentanmelder:

MISSBICHLER ALBERT DR.
A-1210 WIEN (AT)

(72) Erfinder:

MISSBICHLER ALBERT DR.
WIEN (AT)
REICHL HERWIG MAG.
ILZ (AT)
GABOR FRANZ DR.
GERERSDORF (AT)

(54) **DIAMINOOXIDASE-HÄLTIGE ZUSAMMENSETZUNG**

(57) Die vorliegende Erfindung betrifft pharmazeutische Nahrungsergänzungsmittel und kosmetische Zusammensetzungen umfassend Diaminoxidase nicht-pflanzlichen Ursprungs und deren Verwendung.

010542

ZUSAMMENFASSUNG:

Die vorliegende Erfindung betrifft pharmazeutische Nahrungsergänzungsmittel und kosmetische Zusammensetzungen umfassend Diaminoxidase nicht-pflanzlichen Ursprungs und deren Verwendung.

Die vorliegende Erfindung betrifft Zusammensetzungen zur Behandlung bzw. zur Vorbeugung von Histamin-induzierten Krankheiten und Krankheitszuständen.

Histamin (1H-Imidazol-4-Ethylamin) entsteht durch enzymatische Decarboxylierung von Histidin und ist somit ein basisches biogenes Amin mit einem Molekulargewicht von 111 Da.

Im Organismus kommt Histamin praktisch ubiquitär vor. Es wird vom Menschen selbst produziert und in den metachromatischen Granula der Mastzellen und basophilen Leukozyten in inaktiver Form gespeichert, wo es zur sofortigen Freisetzung zur Verfügung steht. Die höchsten Histamin-Konzentrationen werden in der Lunge gemessen. Nach der Freisetzung ist Histamin ein äußerst potenter Mediator einer Vielzahl von physiologischen und pathophysiologischen Prozessen, oftmals auch über Wechselwirkung mit Zytokinen.

Darüber hinaus kann Histamin auch von außen in den Körper gelangen, einerseits durch Einatmen oder aber auf dem oralen Weg, beispielsweise durch die Aufnahme von histaminhaltigen Lebensmitteln, wie Käse, Wein, Fischkonserven und Sauerkraut.

Die wichtigsten Funktionen und Wirkungen von Histamin im menschlichen bzw. tierischen Körper sind:

- 1) Dilatation der Kapillaren, Erhöhung der Kapillarpermeabilität und Blutdruckabfall.
- 2) Kontraktionen der glatten Muskulatur, u.a. der Bronchialmuskeln in der Lunge.
- 3) Induktion einer erhöhten Magensäuresekretion.
- 4) Erhöhung der Herzfrequenz.
- 5) Histamin ist der Mediator der allergischen Soforttyp-Reaktion, es ist der wichtigste Mediator bei allergischen Erkrankungen, wie Rhinitis allergica (Heuschnupfen) und Asthma bronchiale.
- 6) Darüber hinaus ist Histamin der klassische Auslöser einer Urticaria (Nesselausschlag) und spielt bei Medikamenten-Allergien bzw. Unverträglichkeiten eine wichtige Rolle.

Hohe Konzentrationen von freiem zirkulierendem Histamin lösen unerwünschte Wirkungen aus wie Kopfschmerzen, verlegte bzw. rinnende Nase, Atemwegsobstruktionen, Tachykardie sowie Extrasystolen, weiters Magen- und Darmbeschwerden, die zu weichem Stuhl bis Durchfällen führen können, und Hypotonie. Oft werden auch Schwellungen der Augenlider, gelegentlich auch urticarielle Exantheme beschrieben. Des Weiteren können Hautrötungen, Blut-

druckabfall und Bronchospasmen auftreten. Folgende Tabelle zeigt die Symptome in Abhängigkeit von der Histaminkonzentration im Blut.

Histamin (ng/ml)	Körperreaktionen
0-1	keine
1-2	Verstärkte Magensaftsekretion
3-5	Tachykardie, Hautirritationen
6-8	Blutdruckabfall
7-12	Bronchospasmus
approx.100	Herzstillstand

Im Organismus von Säugetieren wird Histamin von zwei Enzymen abgebaut: Diaminoxidase (DAO, EC 1.4.3.6) und Histamin-N-Methyltransferase (NMT, EC 2.1.1.8) (Mizuguchi et al. 1994). DAO katalysiert die oxidative Deaminierung von Histamin zu Imidazolazetaldehyd; NMT katalysiert die N-methylierung zu N-Methylhistamin.

Beide Abbauwege sind für den Organismus essentiell: DAO entfernt Histamin, das beispielsweise über die Nahrung in den Gastrointestinaltrakt aufgenommen wurde, NMT steuert die histaminerge Signalübertragung im Nervensystem (Kitanaka et al. 2002).

Die Hauptaufgabe der DAO ist es zu verhindern, dass über die Nahrung aufgenommenes Histamin aus dem Darm in den Blutkreislauf gelangt. Versagt dieser Schutzmechanismus, kann es im Extremfall auch zu einem anaphylaktischen Schock kommen (Taylor 1986, Nilsson et al. 1996). DAO ist ein sekretorisches Protein und arbeitet daher extrazellulär, wohingegen N-Methyltransferase ausschließlich im Zytosol aktiv ist (Küfner et al. 2001).

Die native DAO, die neben Histamin weitere biogene Amine, wie beispielsweise Putrescin, Spermidin und Kadaverin, abbauen kann, und die beispielsweise aus Schweineniere gewonnen wird, ist ein homodimeres kupferhaltiges Glycoprotein, bei welchem die Untereinheiten über Disulfidbrücken verbunden sind. DAO hat ein Molekulargewicht von etwa 182 kDa (Kluetz and Schmidt 1997, Rinaldi et al. 1982) und einen Kohlenhydratanteil von etwa 11% (Shah and Ali 1988). Das Enzym gehört zur Klasse der kupferhaltigen Aminoxydasen, welche die oxidative Deaminierung von pri-

mären Aminen zu Aldehyden, Ammoniak und Wasserstoffperoxid nach dem folgenden allgemeinen Reaktionsschema katalysieren (Bachrach 1985): $\text{RCH}_2\text{NH}_2 + \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2 \Rightarrow \text{RCHO} + \text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$, wobei der Rest R eine Aminogruppe enthält.

Charakteristisch für die kupferhaltigen Aminoxygenasen ist ein Topachinon im aktiven Zentrum, das durch post-translationale Modifikation eines konservierten Tyrosin-Rests entsteht (James et al. 1990, James et al. 1992, Mu et al. 1992).

DAO ist hauptsächlich im Dünndarm, in der Leber, in den Nieren und im Blut in weißen Blutzellen zu finden. Bei Schwangeren wird DAO zusätzlich in der Plazenta gebildet. Schwangere haben etwa 500- bis 1000-mal höhere Blut-DAO-Spiegel als Nicht-Schwangere. DAO wird kontinuierlich produziert und in das Darmlumen ausgeschieden. Bei einem gesunden Menschen wird Histamin-reiche Nahrung daher bereits im Darm von Histamin weitgehend befreit. Das verbleibende Histamin wird beim Durchtritt durch die Darmschleimhaut von der dort befindlichen DAO abgebaut. Histamin wird zu Imidazolacetaldehyd und weiters zu Imidazol-acetessigsäure zerlegt. Die Co-Faktoren der DAO sind 6-Hydroxydopa und wahrscheinlich Pyridoxalphosphat, das Vitamin B6. DAO ist ein empfindliches Enzym, das von verschiedenen Substanzen, wie anderen biogenen Aminen, Alkohol und seinem Abbauprodukt Acetaldehyd und verschiedenen Medikamenten, gehemmt werden kann. In neuronalem Gewebe konnte bisher keine DAO-Aktivität nachgewiesen werden.

Wie bereits zuvor erwähnt kann über die Nahrung aufgenommenes, körperfremdes Histamin aber auch körpereigenes Histamin aufgrund von allergischen Reaktionen eine Vielfalt von Störungen auslösen. Hinsichtlich der klinischen Wertigkeit sind dabei mindestens drei Formen einer Histamin-Intoleranz auf der Basis einer verminderten DAO-Aktivität hervorzuheben:

- Wenige Menschen haben einen angeborenen DAO-Mangel und verlieren diesen auch nicht.
- Während eines Infektes der Darmschleimhaut kann ein vorübergehender DAO-Mangel auftreten. Nach Abheilen des Infektes normalisiert sich auch die DAO-Aktivität.
- Im Rahmen der Gabe verschiedener aktivitätshemmender Substanzen kann es exogen zu einer verminderten DAO-Aktivität kommen. Dazu gehören vorrangig Alkohol und sein Abbauprodukt Acetaldehyd, gewisse aminreiche Nahrungsmittel und

viele Medikamente.

In allen Fällen treten die eingangs beschriebenen Symptome mehr oder weniger massiv auf und lassen sich in den meisten Fällen nicht einfach zuordnen. Eine schnelle Abklärung der funktionellen Aktivität des Enzyms erlaubt eine rasche und einfache Therapie und die Erstellung eines entsprechenden Diätplans.

Ein häufiger Grund für das Auftreten von Histamin-Intoleranz ist die Sensibilität des Enzyms gegenüber einer Vielzahl von chemischen Substanzen. Viele davon kommen in verschiedenen Arzneimitteln vor. Die wichtigsten DAO-Inhibitoren sind Acriflavine, Diazepam, N-Methyl-N-Formylhydrazin, b-Aminopropionitrile, Dimaprit, O-Methylhydroxylamin, Agmantine, Ethanol (10%), Pargylin, Aldomet, Furosemid, Phenamil, Amilorid, Guanabenz, Phenelzin, Aminoguanidin, Guanfacin, Phenformin, Amitryptilin, Guanidin, Phenyprazin, Amodiaquin, Haloperidol, Promethiazin, Anserin, Hyamin 1622, Propranolol, Aziridinyllalkylamine, Hydroxychloroquin, Putrescin, B1 Pyrimidin, Hydroxylamin, Quinacrin, Burimamid, Impromidin, Semicarbazid, Cadaverin, Imidazolderivate, Thiamin, Carnosin, Iproniazid, Thioridazin, Chlorothiazid, Isocarboxazid, Tranylcypramin, Chlorpromazin, Isoniazid, Trime-thoprim, Cimetidin, Metiamid, Tryptamin, Clonidin, Metronidazol, Tyramin, Cyanid, Nazlinin (Alkaloid), Diamine (auch Histamin) und Nt-Methylhistamin.

In der GB 479 487 A ist die Herstellung von Histaminase-hältigen Produkten aus Darmschleimhaut beschrieben. Die dadurch hergestellten therapeutischen Produkte können einem Individuum oral oder parenteral zugeführt werden, wobei diese Zuführung zum Abbau von Histamin im Körper des Individuums führt.

In der US 4 725 540 A wird ein Verfahren zur Herstellung von Histaminase bzw. Histaminase umfassenden Mitteln offenbart. Bei diesem Verfahren wird ein Histaminase-produzierender Mikroorganismus zunächst kultiviert, bei einer bestimmten Zellzahl bzw. Zelldichte isoliert und mit einem beliebigen Verfahren lysiert. Dabei haben sich vor allem *Lactobacillus bulgaricus* und *Candida crusei* als geeignet erwiesen. Die Histaminasen, die gemäß diesem Verfahren hergestellt wurden, können in Lebensmitteln, Getränken und Futtermitteln zur Reduktion von Histamin eingesetzt werden.

Die US 3 639 579 A betrifft eine pharmazeutische Zubereitung, die unter anderem Diaminoxidase enthalten kann, zur Behandlung von Hämorrhoiden. Die dabei verwendete Diaminoxidase

wird aus Schweinenieren gewonnen.

In der FR 210 095 A ist eine pharmazeutische Zubereitung zur Behandlung von Krankheiten, die durch Hyperhistaminämie bewirkt sind, geoffenbart. Eine derartige Zusammensetzung umfasst Diaminooxidase, welche aus der humanen Plazenta gewonnen wird und in der Lage ist Histamin, Putrescin und Cadaverin nicht aber Phenylethylamin und Tyramin zu oxidieren.

Die DE 102 390 29 A1 betrifft kosmetische oder dermatologische Zubereitungen, die unter anderem auch Diaminooxidase enthalten können. Diese kosmetischen Zubereitungen können zur Aufhellung von Haut herangezogen werden oder um den Hautbräunungsprozess zu beeinflussen.

In der WO 02/43745 wird die systemische Verwendung von DAO pflanzlichen Ursprungs zur Behandlung von Histamin-vermittelten Erkrankungen offenbart. Die Verabreichung von DAO oder von Enzymen allgemein, die aus Pflanzen direkt isoliert werden, ist aufgrund des häufigen Vorkommens von Allergenen in Pflanzen sehr problematisch, vor allem in Anbetracht der Tatsache, dass die in der WO 02/43745 offenbarten Hülsenfrüchte ein starkes allergenes Potential aufweisen.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es, Zusammensetzungen zur Behandlung und zur Prävention von Histamin-induzierten Krankheiten und Krankheitszuständen zur Verfügung zu stellen, die die Nebenwirkungen der am Markt befindlichen Produkte, die vorwiegend Cortison umfassen, nicht aufweisen und die Nachteile des oben angeführten Standes der Technik beseitigen.

Daher betrifft die vorliegende Erfindung pharmazeutische und kosmetische Zusammensetzungen mit Diaminooxidase nicht-pflanzlichen Ursprungs als aktivem Reagenz, wobei die Zusammensetzung als Hydrogel vorliegt.

Die Verwendung von DAO nicht-pflanzlichen Ursprungs in pharmazeutischen und kosmetischen Zusammensetzungen ~~sowie Nahrungs-
ergänzungsmitteln~~ hat den Vorteil, dass in Pflanzen vorkommende Allergene die Verabreichung von DAO nicht negativ beeinflusst, da Allergene die körpereigene Histaminausschüttung wesentlich fördern. Es ist bekannt, dass vor allem Pflanzenstoffe für Histamin-induzierte Krankheiten verantwortlich sind. Die vollständige Entfernung allergieauslösender Inhaltstoffe aus einer DAO-Präparation pflanzlichen Ursprungs ist nur mit hohem präparativen Aufwand möglich, hingegen ist die erfindungsgemäße DAO, wel-

che einen nicht-pflanzlichen Ursprung aufweist gänzlich frei von derartigen pflanzlichen Allergenen.

Gemäß der vorliegenden Erfindung werden unter „nicht-pflanzlichen Ursprung“ alle DAO umfasst, die nicht aus Pflanzen sondern aus tierischen Organismen oder sonstigen nicht-pflanzlichen Organismen gewonnen werden. Des Weiteren fallen erfindungsgemäß unter diese Definition alle DAO, die rekombinant in Zellkulturen (tierischen, bakteriellen, Hefen und dgl.) bzw. in nicht-pflanzlichen Organismen jeglicher Art hergestellt werden, wobei die DNA für die rekombinant hergestellte DAO von pflanzlichen und/oder tierischen Organismen mittels im Stand der Technik bekannten Methoden isoliert und in Expressionssysteme kloniert und exprimiert wird.

Die pharmazeutische Zusammensetzung weist eine Darreichungsform auf, die eine epidermale Verabreichung ermöglicht. Die epidermale Verabreichung von DAO ist vor allem bei Histamin-induzierten Krankheiten bzw. Krankheitszuständen an der Hautoberfläche bzw. an den äußersten Schichten der Haut von Vorteil, denn dadurch können beispielsweise allergische Reaktionen resultierend aus einem Kontakt der Haut mit einem Allergen erfolgreich behandelt werden. Ebenso wird Juckreiz, der bei verschiedenen Krankheiten, wie Urticaria, atopisches Ekzem und dgl. durch Histamin-Freisetzung ausgelöst wird, unterbunden. ~~Durch die orale~~ und perorale Verabreichung der erfindungsgemäßen Zusammensetzung ist es möglich DAO in den Magen-Darm-Trakt eines Individuums zu bringen und dort Histamin-induzierte Krankheiten durch Abbau von Histamin erfolgreich zu unterbinden bzw. zu behandeln. Der Wirkungsbereich der DAO beschränkt sich dabei vorwiegend auf den Darm-Trakt, da der hohe Säuregehalt im Magen sich negativ auf die Aktivität von DAO auswirkt. Daher ist es erforderlich bei oraler bzw. peroraler Verabreichung DAO bis zum Erreichen des Darm-Traktes vor Magensäure zu schützen. Eine weitere Anwendungsmöglichkeit von DAO besteht in der intravenösen Verabreichung des selbigen. Dadurch wird ermöglicht, DAO direkt in das Blut zu überführen und über die Blutbahn zu den zu behandelnden Körperregionen zu transportieren bzw. eine Überdosis an Histamin in der Blutbahn zu verhindern. Durch eine subcutane Verabreichung von DAO wird erreicht, dass das Enzym einerseits von Patienten in einfacher Weise selbst verabreicht werden kann und andererseits wird ermöglicht, dass DAO langsam in die Blutbahn ab-

gegeben wird. Wird DAO hingegen sublingual verabreicht, wird das Enzym im Mund von der Mundschleimhaut rasch aufgenommen und in die Blutbahn abgegeben. Dadurch ist es möglich, DAO schnell und einfach in die Blutbahn zu überführen, ohne dass das Enzym intravenös bzw. unversehrt durch den Magen zum Darm transportiert werden muss, was ein rasches Eintreten der Enzymwirkung verzögert.

Die pharmazeutische Zusammensetzung wird in einer Darreichungsform als Hydrogel dargereicht. Gemäß der vorliegenden Erfindung ist es möglich, DAO durch entsprechend den im Stand der Technik bekannten Aufbereitungsmethoden in pharmazeutischen Darreichungsformen zu überführen. Daher enthalten pharmazeutische Zusammensetzungen, die DAO beinhalten, auch weitere Inhaltsstoffe, die verwendet werden, um einerseits das Enzym zu stabilisieren und andererseits das Enzym in die entsprechende galenische Form zu bringen. DAO kann natürlich auch mit anderen pharmazeutisch aktiven Wirkstoffen gemeinsam in einer einzigen Darreichungsform oder getrennt verabreicht werden, sofern das Enzym nicht durch einen dieser Wirkstoffe dermaßen inhibiert wird, dass eine Aktivität des Enzyms nicht die gewünschte Wirkung entfaltet.

—Die orale Verabreichung von DAO mittels eines Nahrungsmittels bzw. Nahrungsergänzungsmittels setzt voraus, dass dieses Enzym in jenen Bereich des Körpers gelangt, in dem es seine Wirkung entfalten soll. Da Histamine im Darm-Trakt eine bedeutende Rolle spielen, ist es notwendig, dass DAO in der Weise adaptiert wird, dass es unbeeinträchtigt den stark säurehaltigen Magen passieren kann. Vorzugsweise ist dabei die DAO als magensaftresistentes Pellet aufgearbeitet.

Die kosmetische Zusammensetzung, umfassend Diaminooxidase liegt als Hydrogel vor. Bei erhöhter Histaminausschüttung bzw. bei Kontakt mit allergenen Stoffen (z.B. bei Kontaktallergien oder Neurodermitis) kann es zu Körperreaktionen an sichtbaren Stellen des Körpers kommen, die durch die Verabreichung von DAO in kosmetischen Zusammensetzungen unterdrückt werden können. Kosmetische Zusammensetzungen, enthaltend DAO, können weiters andere im Stand der Technik bekannte Inhaltsstoffe aufweisen, die in der Herstellung von kosmetischen Produkten verwendet werden.

Vorzugsweise umfassen alle in der vorliegenden Erfindung of-

fenbarten Zusammensetzungen Diaminoxidase tierischen Ursprungs. Durch die Verwendung von tierischem DAO ist es möglich, dem menschlichen bzw. tierischen Körper ein Enzym zuzuführen, das dem von diesen Individuen selbst hergestellten Enzym bezüglich Glykosilierung, Aktivität und Spezifität der vom diesen Individuum selbst produzierten DAO sehr nahe kommt. Weiters ist es möglich pflanzliche Allergene zur Gänze von der Herstellung von DAO auszuschließen.

Vorzugsweise wird die Diaminoxidase aus Schweinenieren gewonnen. Schweinenieren zeichnen sich vor allem durch ihren hohen Gehalt an DAO aus. Aus Schweineniere kann das Enzym in einfacher Weise mit den im Stand der Technik bekannten Methoden isoliert werden.

Gemäß einer weiteren bevorzugten Ausführungsform umfassen die erfindungsgemäßen Zusammensetzungen Diaminoxidase rekombinanten Ursprungs. Durch die rekombinante Herstellung von DAO ist es möglich, große Mengen an Enzym herzustellen und dieses Enzym in einer hohen Ausbeute zu reinigen.

Vorzugsweise wird die rekombinante Diaminoxidase in prokaryotischen, vorzugsweise in bakteriellen, oder eukaryotischen, vorzugsweise in tierischen oder Hefe-, Zellkulturen exprimiert und aus den oben genannten Expressionssystemen isoliert. Die Aufreinigung mittels dieser Expressionssysteme hergestellten DAO, die entweder in den Zellen exprimiert oder aus den Zellen während der Expression ausgeschleust wird, erfolgt durch die im Stand der Technik bekannten Methoden. Dabei ist es auch möglich die DAO mit einer Peptid- (z.B. His-Tag), Polypeptid- oder Proteinsequenz (z.B. GST-Tag) zu versehen um die Aufreinigung zu vereinfachen.

Ein weiterer Aspekt der vorliegenden Erfindung betrifft die Verwendung der erfindungsgemäßen Diaminoxidase nicht-pflanzlichen Ursprungs zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Histamin-induzierten Krankheitsbildern. DAO ist bekannterweise für den Abbau von Histamin im menschlichen und tierischen Körper verantwortlich. Da Histamin-induzierte Krankheiten durch einen Überschuss von Histamin, das aufgrund eines Mangels an Diaminoxidase, durch Inhibition von DAO oder durch einen Histaminüberschuss, der in der Regel durch Nahrungsmittel, aber auch durch weitere extrinsische Faktoren, wie z.B. Kontakt mit Allergenen, hervorgerufen werden, eignet sich die Verabreichung

von DAO nicht-pflanzlichen Ursprungs zur Behandlung dieser Krankheiten bzw. Krankheitsbilder.

Diaminooxidase nicht-pflanzlichen Ursprungs kann auch zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung bzw. zur Prävention von Krebs, insbesondere Dickdarmkrebs verwendet werden. DAO greift in den Regelkreis der Zellproliferation ein, indem es die Konzentration von Putrescin, dem Vorläufermolekül von Spermidin kontrolliert. Speziell bei Darmkrebs gibt es Hinweise auf eine entscheidende Rolle der DAO (Kusche et al. 1988, Kusche et al. 1988, Bartholomew et al. 1990). In einem Rattenmodell konnte gezeigt werden, dass durch Inhibition der DAO deutlich größere Tumore entstehen. Die enge Relation zwischen dem Metabolismus von Polyaminen und epidermaler Zellproliferation wurde bereits in mehreren Studien festgehalten (Mennigen et al. 1989, Keskinene et al. 2001). Putrescin reguliert als Vorläufer von Spermidin und Spermin durch seine physiologische Konzentration die Synthese dieser Polyamine. Da DAO über seine Aktivität auch die Putrescinkonzentration reguliert, greift die DAO über diesen Regelmechanismus in die Zellwachstumsrelation ein.

Ein weiterer Aspekt der vorliegenden Erfindung betrifft die Verwendung der erfindungsgemäßen Zusammensetzung umfassend Diaminooxidase zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Urticaria, insbesondere von chronischer und akuter Urticaria. Bei Urticaria kommt es bei Freisetzung von Histamin zu einer Erweiterung von Venolen und zur überhöhten Durchlässigkeit der Kapillaren mit daraus resultierendem Ödem. Durch die Verabreichung von DAO an den betroffenen Hautzonen ist es möglich, das Histamin an betroffenen Stellen abzubauen und dadurch den Juckreiz der Urticaria zu unterbinden.

Ein weiterer Aspekt der vorliegenden Erfindung betrifft die Verwendung der erfindungsgemäßen Zusammensetzung umfassend Diaminooxidase nicht-pflanzlichen Ursprungs zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Kontaktallergie. Kontaktallergien werden durch Substanzen (Allergene), die durch Eindringen in die Haut allergische Reaktionen auslösen, hervorgerufen. Um die durch diesen Kontakt ausgeschütteten Histamine abzubauen und somit die Histamin-induzierenden Krankheitserscheinungen zu unterbinden bzw. zu lindern, wird DAO verabreicht.

Gemäß einem weiteren Aspekt der vorliegenden Erfindung wird die erfindungsgemäße Zusammensetzung umfassend Diaminooxidase

nicht-pflanzlichen Ursprungs zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von atopischer Dermatitis verwendet. Atopische Dermatitis, auch bekannt unter dem Namen Neurodermitis, ist eine häufige Hauterkrankung mit starkem Juckreiz zumeist bei Kindern und jugendlichen Erwachsenen. Ursache dieses Juckreizes ist die übermäßige Ausschüttung von Histaminen an den betreffenden Hautstellen. Auch in diesem Fall kann DAO zur Reduktion der Histamine in diesen Bereichen beitragen und somit die Symptome von atopischer Dermatitis lindern bzw. verhindern.

Diaminooxidase nicht-pflanzlichen Ursprungs kann ferner zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Scombrotismus verwendet werden. Scombrotismus ist eine Histaminvergiftung nach Genuss von Makrelenarten, z.B. von Thunfisch. Bei Unterbrechung der Kühlkette bzw. bei Verzögerung der Zubereitung bilden sich bei Scombriden sogenannte Scombrottoxine, die zu einer Histaminanreicherung führen. Folge dieser Histaminvergiftung sind unter anderem Fieber, Übelkeit, Erbrechen, Bauchschmerzen und Urticaria. DAO kann in diesem Fall als Detoxikationsmittel verwendet werden.

Diaminooxidase nicht-pflanzlichen Ursprungs kann als Nahrungsmittelergänzung verwendet werden. Durch den Zusatz von DAO zu Nahrungsmitteln bzw. bei der Einnahme von DAO-hältigen Nahrungsergänzungen kann die in den Lebensmitteln vorhandene Histaminkonzentrationen reduziert bzw. die Symptome einer etwaigen Histaminbelastung unterbunden werden.

Die Erfindung wird weiters durch folgende Beispiele erläutert, ohne jedoch auf diese beschränkt zu sein.

BEISPIELE:

Beispiel 1

DAO wurde in einem Pellet auf Carbopol-Basis aktiv stabilisiert und das Pellet wurde mit einer magensaft-resistenten Schicht überzogen. Im Dissoolutionstest konnte gezeigt werden, dass mehr als 70% der Aktivität innerhalb der ersten Stunde in die Umgebung freigesetzt wird.

Beispiel 2

Weiters wurde das Enzym in einem Hydrogel stabilisiert. Lagerung bei Raumtemperatur und 37°C zeigten keinen Abfall der Aktivität innerhalb von 4 Monaten. Auftretende Bläschen und Juckreiz an der Haut nach Stimulation mit Histamin verschwanden wenige Minuten nach Applikation des Hydrogels.

Beispiel 3

Die in Hydrogel stabilisierte DAO wurde insgesamt an 13 Personen getestet. Anhand eines Fragebogens wurde unterschieden zwischen Belastung durch Kontakallergie (n=5), Neurodermitis/Dermatosen (n=6) und Insektenstichen (n=2). Bei allen Kontaktallergikern und Neurodermitis-Patienten wurde eine positive Wirkung attestiert, bei Insektenstichen konnten 50% der Probanden von einer positiven Wirkung berichten.

Belastung	Positive Wirkung/Anzahl Probanden
Neurodermitis/Dermatose	6/6
Kontaktallergie	5/5
Insektenstich	1/2

Die Wirkung des Hydrogels trat innerhalb der ersten 10 Minuten ein, wobei die Wirkung durchschnittlich länger als eine Stunde anhielt.

	0-10 min	10-30 min	30-60 min	> 1h	> 3h
Wirkungsbeginn	11	1			
Wirkungsdauer		3	1	2	6

Kein Proband meldete unangenehme Effekte bei wiederholter Anwendung.

Zwei Neurodermitis-Patienten gaben an, dass das erfindungsgemäße Hydrogel besser als eine aktuell eingesetzte Cortison-Salbe wirkt.

LITERATUR:

- Bachrach U., in: B. Mondovi (Ed) (1985), Structure and Functions of Amine Oxidase, CRC Press, Boca Raton, pp 5-20x
- Bartholomew M.J. et al (1990), Cancer 66:1539-1543
- James S.M., Palcic M.M., Scaman C.H., Smith A.J., Brown D.E., Dooley D.M., Mure M., Klinman J.P. (1992), Biochemistry 31:12147-12154
- James S.M., Mu D., Wemmer D., Smith A.J., Kaur S., Maltby D., Burlingame A.L., Klinman J.P. (1990), Science 248:981-987
- Keskinege A., Elgun S., Yilmaz E. (2001), Biochim Biophys Acta 25:76
- Kitanaka J., Kitanaka N., Tsujimura T., Terada N., Takemura M. (2002), European Journal of Pharmacology 437:179-185
- Kluetz M.D., Schmidt P.G. (1977), Biochem. Biophys. Res. Comm. 76:40-45
- Küfner M.A., Ulrich P., Raithel M., Schwelberger H.G. (2001), Inflamm. res. 50, Supplement 2, 96-97
- Kusche J., Menningen R., Leisten L., Krakamp B. (1988), Adv. Exp. Med. Biol. 250:745-52
- Kusche J., Bieganski T., Hesterberg R., Stahlknecht C.D., Feussner K.D., Stahlenberg I., Lorenz W. (1980), Agents Actions 10:110-3
- Mennigen R, Bieganski T, Elbers A, Kusche J (1989), J Chromatogr B Biomed Sci Appl 27:221
- Mizuguchi H., Imamura I., Takemura M., Fukui H. (1994), J. Biochem 116:631-635
- Mu D., James S. M., Smith A.J., Brown D.E., Dooley D.M., Klinman J.P. (1992), J. Biol. Chem. 267:7979-7982
- Nilsson B.O., Kockum I., Rosengren E. (1996), Inflammation Res. 45:513-518
- Rinaldi A., Vecchini P., Floris G. (1982), Prep. Biochem. 12:11-28
- Shah M. A., Ali R. (1988), Biochem. J. 253:103-107
- Taylor S.L. (1986), Crit. Rev. Toxicol. 17:91-128

010542

Patentansprüche:

1. Kosmetische oder pharmazeutische Zusammensetzung, umfassend Diaminoxidase nicht-pflanzlichen Ursprungs, dadurch gekennzeichnet, dass die Zusammensetzung als Hydrogel vorliegt.
2. Zusammensetzung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Zusammensetzung Diaminoxidase tierischen Ursprungs umfasst.
3. Zusammensetzung nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass die Diaminoxidase aus Schweineniere stammt.
4. Zusammensetzung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Zusammensetzung Diaminoxidase rekombinanten Ursprungs umfasst.
5. Zusammensetzung nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass die Zusammensetzung rekombinante Diaminoxidase gewonnen aus prokaryotischen, vorzugsweise aus bakteriellen, oder aus eukaryotischen, vorzugsweise aus tierischen oder Hefe-, Zellkulturen umfasst.
6. Verwendung von Diaminoxidase nicht-pflanzlichen Ursprungs zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 5 zur Behandlung von Histamin-induzierten Krankheitsbildern.
7. Verwendung von Diaminoxidase nicht-pflanzlichen Ursprungs zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 5 zur Behandlung von Urticaria, insbesondere von chronischer und akuter Urticaria.
8. Verwendung von Diaminoxidase nicht-pflanzlichen Ursprungs zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 5 zur Behandlung von Kontaktallergie.
9. Verwendung von Diaminoxidase nicht-pflanzlichen Ursprungs zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 5 zur Behandlung von atopischer Dermatitis."

Patentansprüche:

1. Kosmetische oder pharmazeutische Zusammensetzung, umfassend Diaminoxidase nicht-pflanzlichen Ursprungs, dadurch gekennzeichnet, dass die Zusammensetzung als Hydrogel vorliegt.
2. Zusammensetzung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Zusammensetzung Diaminoxidase tierischen Ursprungs umfasst.
3. Zusammensetzung nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass die Diaminoxidase aus Schweineniere stammt.
4. Zusammensetzung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Zusammensetzung Diaminoxidase rekombinanten Ursprungs umfasst.
5. Zusammensetzung nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass die Zusammensetzung rekombinante Diaminoxidase gewonnen aus prokaryotischen, vorzugsweise aus bakteriellen, oder aus eukaryotischen, vorzugsweise aus tierischen oder Hefe-, Zellkulturen umfasst.
6. Verwendung von Diaminoxidase nicht-pflanzlichen Ursprungs zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 5 zur Behandlung von Urticaria, insbesondere von chronischer und akuter Urticaria.
7. Verwendung von Diaminoxidase nicht-pflanzlichen Ursprungs zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 5 zur Behandlung von Kontaktallergie.
8. Verwendung von Diaminoxidase nicht-pflanzlichen Ursprungs zur Herstellung einer pharmazeutischen Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 5 zur Behandlung von atopischer Dermatitis.



Klassifikation des Anmeldungsgegenstands gemäß IPC^a:
A61K 38/44 (2006.01); **A61K 9/06** (2006.01); **A61K 47/00** (2006.01)

Klassifikation des Anmeldungsgegenstands gemäß ECLA:
A61K38/44; A61K9/00M3; A61K9/06; A61K47/00

Recherchierter Prüfstoff (Klassifikation):
A61K

Konsultierte Online-Datenbank:
WPI, PAJ, TXTE, TXTG, medline, HCAplus

Dieser Recherchenbericht wurde zu den am 29. September 2006 eingereichten Ansprüchen 1-9 erstellt.

Kategorie ^b	Bezeichnung der Veröffentlichung: Ländercode, Veröffentlichungsnummer, Dokumentart (Anmelder), Veröffentlichungsdatum, Textstelle oder Figur soweit erforderlich	Betreffend Anspruch
A	US 3639579 A (URBIN M.C.) 1. Februar 1972 (01.02.1972) <i>gesamtes Dokument</i> --	1-9
A	DE 10239029 A1 (COTY B.V.) 4. März 2004 (04.03.2004) <i>gesamtes Dokument</i> --	1-9
A	US 2004/0115189 A1 (MONDOVI et al.) 17. Juni 2004 (17.06.2004) <i>gesamtes Dokument</i> ---	1-9

Datum der Beendigung der Recherche:
4. Jänner 2007

☐ Fortsetzung siehe Folgeblatt

Prüfer(in):
Dr. KRENN

^b Kategorien der angeführten Dokumente:

- X Veröffentlichung von **besonderer Bedeutung**: der Anmeldungsgegenstand kann allein aufgrund dieser Druckschrift nicht als neu bzw. auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden.
- Y Veröffentlichung von **Bedeutung**: der Anmeldungsgegenstand kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren weiteren Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist.

- A Veröffentlichung, die den **allgemeinen Stand der Technik** definiert.
- P Dokument, das **von Bedeutung** ist (Kategorien X oder Y), jedoch **nach dem Prioritätstag** der Anmeldung veröffentlicht wurde.
- E Dokument, das **von besonderer Bedeutung** ist (Kategorie X), aus dem ein **älteres Recht** hervorgehen könnte (früheres Anmeldedatum, jedoch nachveröffentlicht, Schutz ist in Österreich möglich, würde Neuheit in Frage stellen).
- & Veröffentlichung, die Mitglied der selben **Patentfamilie** ist.