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

(10) **DE 601 32 102 T2** 2008.10.23

(12) # Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) **EP 1 330 999 B1**
(21) Deutsches Aktenzeichen: **601 32 102.2**
(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/JP01/08892**
(96) Europäisches Aktenzeichen: **01 974 762.5**
(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 2002/030366**
(86) PCT-Anmeldetag: **10.10.2001**
(87) Veröffentlichungstag der PCT-Anmeldung: **18.04.2002**
(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **30.07.2003**
(97) Veröffentlichungstag der Patenterteilung beim EPA: **26.12.2007**
(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **23.10.2008**

(51) Int Cl.[8]: ***A61K 8/63*** (2006.01)
***A61Q 19/02*** (2006.01)
***A61K 31/58*** (2006.01)

(30) Unionspriorität:
**2000310290 11.10.2000 JP**

(73) Patentinhaber:
**Sakamoto Bio Co. Ltd., Akita, q, JP**

(74) Vertreter:
**Witte, Weller & Partner, 70178 Stuttgart**

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

(72) Erfinder:
**SAKAMOTO, Kenji, Kawabe-gun, Akita 010-1233, JP; HATA, Keishi, Akita-shi, Akita 010-0973, JP**

(54) Bezeichnung: **MELANOGENESE-HEMMER UND AUFHELLUNGSMITTEL MIT EINEM ERGOSTEROL-DERIVAT UND EIN ERGOSTEROL-DERIVAT ENTHALTENDE ZUSAMMENSETZUNGEN**

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**

## GEBIET DER ERFINDUNG

**[0001]** Die vorliegende Erfindung betrifft Melanogenese-Hemmer und Aufhellungsmittel mit einem Ergosterol-Derivat, insbesondere bei Anwendungen als Kosmetika, Arzneimittel, dermatologischen Produkten und Nahrungsmittel. Die Erfindung betrifft weiterhin Melanogenese-Hemmer und Aufhellungsmittel, insbesondere in Kosmetika, Arzneimitteln, dermatologischen Produkten und Nahrungsmitteln, welche die Fähigkeit haben, die Melanogenese in den Melanozyten zu hemmen, die sonnenverbrannte Haut nach dem Aussetzen ultravioletten Lichtes aufzuhellen und die Hautpigmentierung, wie z. B. Flecken, Sommersprossen, Leberflecken und dergleichen, die durch Sonnenbrand oder Ähnliches verursacht werden, zu vermeiden, zu bessern und zu behandeln.

## HINTERGRUND DER ERFINDUNG

**[0002]** Hautpigmentierungen, wie z. B. Flecken, Sommersprossen und Leberflecken, verursacht durch Sonnenbrand und dergleichen, nehmen mit dem Alter zu bzw. verschwinden langsamer, ein Problem, welches Menschen mittleren Alters und Ältere plagt. Solche Pigmentierungen, für die der Mechanismus noch ermittelt werden muss, werden vermutlich durch Entzündungen der Haut verursacht, die durch Sonnenlicht (insbesondere durch ultraviolette Strahlung) oder dergleichen induziert werden, wobei durch die melaninproduzierenden Körnchen, die Melanosome genannt werden, in den Melanozyten, die in den epidermalen Zellen vorkommen, Melaninpigment produziert wird, welches in die angrenzenden Zellen transportiert wird.

**[0003]** Das zuvor genannte Problem hat die Entwicklung einer Substanz veranlasst, die die Fähigkeit hat, solche Pigmentierungen zu modifizieren und wieder eine normale Hautfarbe herzustellen, was in vielen kommerziellen Produkten resultierte. JP-A-2000-319192, JP-A-7-316035, JP-A-2-49710 und JP-A-58-113118 beschreiben Zusammensetzungen, die einen Extrakt aus Ganoderma lucidum und Grifola frondosa beinhalten und eine melaninbildungsunterbindende und hautaufhellende Wirkung zeigen. Andere wohlbekannte Beispiele kommerzieller Produkte beinhalten L-Ascorbinsäure, Kojisäure, Hydrochinon und dergleichen.

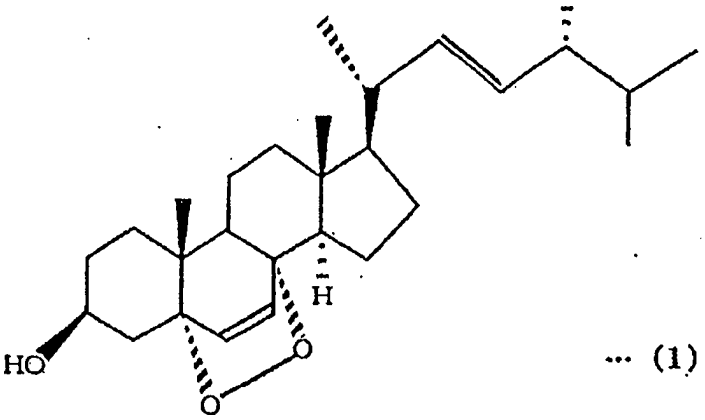
**[0004]** Allerdings hat L-Ascorbinsäure eine unzureichende Stabilität und Kojisäure ist dafür bekannt, wirksam zu sein, aber eine schwache Aktivität in der Depigmentierung zu haben. Obwohl Hydrochinon eine gute Depigmentierungsaktivität zeigt, ist es problematisch bei der Verwendung in pharmazeutischen Produkten, aufgrund seiner Tendenz Hautirritationen und allergische Reaktionen zu verursachen. Dementsprechend gibt es zur Zeit kein bekanntes Mittel, welches hoch wirksam ist, Pigmentierungen zu verhindern und das Problem zu lindern.

## ZUSAMMENFASSENDE DARSTELLUNG DER ERFINDUNG

**[0005]** Ein Ziel der vorliegenden Erfindung, welche das zuvor genannte Problem adressiert, ist es, eine Substanz bereitzustellen, die wirksam bei der Aufhellung sonnenverbrannter Haut nach dem Aussetzen ultravioletter Strahlung und bei einem Verhindern, Bessern und Behandeln von Hautpigmentierungen, wie z. B. Flecken, Sommersprossen und Leberflecken, die durch Sonnenbrand oder dergleichen verursacht werden, ist.

**[0006]** Die vorliegenden Erfinder untersuchten einen Weg, das zuvor genannte Problem zu lösen und stellten fest, dass ein Extrakt des geweihförmigen [Fruchtkörpers] von Ganoderma lucidum wirksam bei der Hemmung von Melanogenese ist, und dass ein Ergosterol-Derivat, welches eine spezifische Struktur hat und aus dem genannten Extrakt mittels Trennung und Reinigung isoliert wurde, hoch wirksam bei der Melanogenese-Hemmung und der Hautaufhellung ist und damit das zuvor genannte Problem löst, welches zu der vorliegenden Erfindung geführt hat.

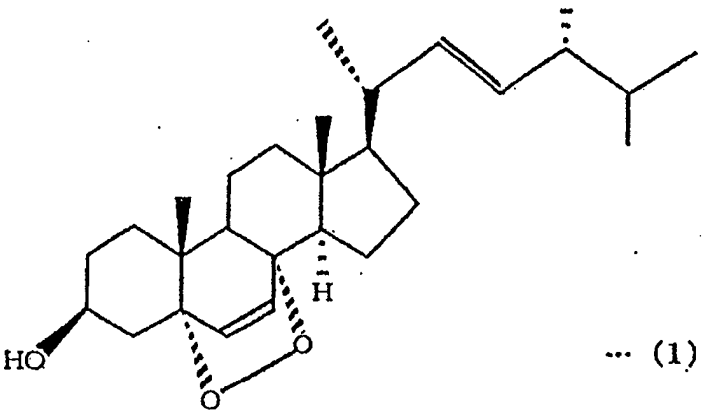
**[0007]** Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung von Melanogenese-Hemmern und Aufhellungsmitteln mit einem Ergosterol-Derivat entsprechend der folgenden Formel (1):




... (1)

DETAILLIERTE BESCHREIBUNG DER BEVORZUGTEN AUSFÜHRUNG

**[0008]** Die vorliegende Erfindung wird nachfolgend näher beschrieben. Das Ergosterol-Derivat, dargestellt durch Formel (1), welches in dieser Erfindung verwendet wird,




... (1)

ist eine bekannte Substanz, welche vordem bekannt dafür war, aus einem Pilz, gewöhnlich bezeichnet als „Maitake" isolierbar zu sein (Takaaki Ishizuka, et al. Chem. Pharm. Bull. 45(11)1756–1760(1997)). Allerdings war es nicht bekannt, dass das Ergosterol-Derivat, dargestellt durch Formel (1) (im Folgenden als Formel (1) bezeichnet) bei der Melanogenese-Hemmung und Hautaufhellung wirksam ist.

**[0009]** Formel (1), welches aus Pilzen isoliert werden kann, wird durch jeden Pilz zur Verfügung gestellt, der Formel (1) enthält, vorzugsweise durch den geweihförmigen Fruchtkörper von Ganoderma lucidum. Alternativ kann Formel (1) chemisch synthetisiert werden. Formel (1) kann, wie nachfolgend beschrieben, aus jedem Pilz, der Formel (1) enthält, isoliert werden. Teile des Fruchtkörpers oder des Myzeliums, der Sporen oder dergleichen des Pilzes werden vorzugsweise zerhackt, in ein Extraktionslösungsmittel getaucht oder in diesem zum Rückfluss erhitzt und unlösliche Stoffe werden abfiltriert oder abzentrifugiert, was in einer Extraktionslösung resultiert, welche optional konzentriert und bekannten Trennungs- und Reinigungsverfahren zur Isolation unterzogen werden kann.

**[0010]** Es können auch Lösungsmittel, die üblicherweise für Extraktionen benutzt werden, verwendet werden, was organische Lösungsmittel wie Alkohole, z. B. Methanol, Ethanol und dergleichen, Aceton, Essigester und dergleichen, genauso wie Wasser alleine oder in Kombination einschließt. Eine gewöhnliche Extraktionsprozedur kann verwendet werden, die im Allgemeinen eine Extraktion bei einer Temperatur im Bereich von 0 bis 100°C, vorzugsweise von 40 bis 70°C, für eine Dauer im Bereich von 1 bis 168 Stunden, vorzugsweise 24 bis 72 Stunden, erfordert. Die Extraktionslösung wird einem Isolationsprozess unterzogen, welcher chromatographische Prozesse, wie z. B. Reverse-Phase-Chromatographie, Gelfiltrationssäulenchromatographie, Flüssigphasenchromatographie und dergleichen, beinhalten kann.

**[0011]** Spezifische Beispiele für die Extraktion aus Pilzen und die Isolierung von Formel (1) sind im Folgenden beschrieben:

Beispiel für die Isolation

**[0012]** Proben des unverwechselbar geweihförmigen Fruchtkörpers von Ganoderma lucidum, welche von seinem künstlich kultivierten Stamm gesammelt wurden, wurden zerhackt und zur Extraktion für 72 Stunden bei 40°C in Ethanol getaucht. Nach Entfernen der unlöslichen Stoffe durch Filtration und Konzentrieren der erhaltenen Extraktionslösung, wurde das rohe Produkt mittels Reverse-Phase-Chromatographie gereinigt. Die Struktur der isolierten Substanz wurde mittels GC/MS (Massenspektrometrie) und NMR bestimmt. Die Substanz wurde als 5α,8α-Epidioxy-(22E,24R)-orgosta-6,22-dien-3β-ol identifiziert, wie durch Formel (1) dargestellt ist.

**[0013]** Formel (1) dieser Erfindung ist, wie dies später beschrieben wird, wirksam bei der Melanogenese-Hemmung und bei der Hautaufhellung. Folglich ist eine Zusammensetzung, die die Formel (1) enthält, wie in dieser Erfindung spezifiziert, anwendbar bei Kosmetika, pharmazeutischen Produkten und Nahrungsmitteln, welche die Funktion der Verhinderung und der Behandlung von Symptomen, die mit der Melanogenese-Hemmung und der Hautaufhellung verbunden sind, besitzen.

**[0014]** Die Zusammensetzung, die beim erfindungsgemäßen Verfahren verwendet wird, kann entweder oral (intern) oder lokal (extern) verabreicht werden. Die Zusammensetzung, die oral verabreicht werden soll, verlangt eine Darstellung in Form von z. B. pharmazeutischen Produkten oder Lebensmitteln. Die Zusammensetzung, die topisch verabreicht werden soll, verlangt nach einer Darstellung in Form von Kosmetika, medizinischen Kosmetika, Arzneimitteln, dermatologischen Produkten und dergleichen.

**[0015]** Wenngleich es als eine generelle Richtlinie höchst bevorzugt sein wird, eine isolierte Form der Formel (1) für die Herstellung der Zusammensetzung dieser Erfindung zu verwenden, kann diese jedoch auch in der Form eines Extraktes aus Formel (1) enthaltenden Pflanzen, Pilzen und dergleichen hergestellt werden.

Pharmazeutika

**[0016]** Die Formel (1) enthaltenden Zusammensetzungen, die in der vorliegenden Erfindung verwendet werden, sind im Folgenden bezüglich ihrer Verwendung näher spezifiziert.

**[0017]** Kosmetika, einschließlich medizinischer Kosmetika, wie dermatologische Präparate, die eine erste Anwendung der vorliegenden Erfindung darstellen, sind als solche breit anwendbar; als Beispiele seien Salben, Lösungen, Cremes, Emulsionen, Wässer, Lotionen, Gele, Essenzen, Grundierungen, Packungen, Lippenstifte, Stifte, Badezusätze und dergleichen aufgeführt.

**[0018]** Die kosmetische Form kann einen weiten Bereich von Formulierungstypen, wie Lösungen, solubilisierte Formulierungen, Puder, Puderdispersionen, ölhaltige Lösungen, Gele, Salben, Aerosole, Wasser-in-Öl, Wasser-in-Öl-in-Feststofftypen und dergleichen umfassen.

**[0019]** Formel (1) kann in den Zusammensetzungen, die in dieser Erfindung verwendet werden, vorzugsweise in einem Mengenbereich von 0,001 bis 20 Gew.-%, mehr bevorzugt von 0,01 bis 16 Gew.-% und noch mehr bevorzugt von 0,1 bis 12 Gew.-%, im Verhältnis zur Gesamtmenge der Zusammensetzung, vorhanden sein.

**[0020]** Arzneimittel, die zweite Anwendung der vorliegenden Erfindung, können oral oder topisch in Formulierungsformen verabreicht werden, die für die spezifischen Anwendungen geeignet sind, was flüssige Formen, wie Flüssigkeiten, Injektionen, Sprays, Emulsionen und dergleichen; feste Formen, wie Tabletten, Puder, Körnchen, Kapseln, Sprays und dergleichen; dermatologische Präparate, wie Salben und lokal angewendete Wirkstoffe, wie Zäpfchen und dergleichen, einschließt.

**[0021]** Formel (1) kann in dem Medikament, das entsprechend der Erfindung hergestellt wird, in einem Mengenbereich von 0,001 bis 30 Gew.-%, vorzugsweise von 0,01 bis 20 Gew.-% und noch mehr bevorzugt von 0,1 bis 10 Gew.-%, im Verhältnis zur Gesamtmenge der Zusammensetzung, vorhanden sein. Die Dosierung wird geeigneterweise in Abhängigkeit vom Alter und Gewicht des Patienten, den Verabreichungswegen, dem Grad der Erkrankung und der laufenden Behandlungsmethode variiert und kann daher nicht spezifiziert werden, aber das verabreichte Level kann, wenngleich nicht darauf eingeschraubt, im Allgemeinen bei 4 bis 40 ml pro Tag in Gaben von 1 oder 2 bis 3 mal pro Tag liegen.

**[0022]** Die Zusammensetzungen, die in dieser Erfindung verwendet werden, können auch aus Formel (1) zusammen mit anderen herkömmlichen Zusätzen, die in Kosmetika, Arzneimitteln, Nahrungsmitteln und derglei-

chen eingesetzt werden, in einer Menge, die die vorliegende Erfindung nicht nachteilig beeinflusst, formuliert sein.

**[0023]** Für die Kosmetika beinhalten diese Zusätze z. B. ölhaltige Substanzen, Puder, Tenside, Befeuchtungsmittel, Viskositätsmodifizierer, niedere Alkohole, Filmbildner, UV-Absorbierer, metallchelatisierende Verbindungen, organische Aminderivate, pH-einstellende Verbindungen, medizinisch-wirksame Inhaltsstoffe, Polysaccharide, Konservierungsmittel, Vitamine, andere Aufhellungsmittel, Antioxidantien, Aromazusätze, Wasser und dergleichen.

**[0024]** Die ölhaltigen Bestandteile beinhalten z. B. natürliche Öle und Fette, wie Jojobaöl, Olivenöl, Avocadoöl, Rizinusöl, Palmöl, Rindertalk, gehärtete Öle und dergleichen, sowie Derivate von diesen; Wachse, wie Carnaubawachs, Bienenwachs, Lanolin und dergleichen; Kohlenwasserstoffe, wie flüssiges Paraffin, mikrokristallines Wachs, Squalan und dergleichen; höhere Fettsäuren, wie Stearinsäure und dergleichen; höhere Fettalkohole, wie Cetylalkohol, Stearylalkohol und dergleichen; Ester, wie Glyceryltrioctanoat, Isopropylmyristat, Diisostearylmalat, Glyceryl-di-2-heptylundecanoat, Trimethylolpropan-tri-2-ethylhexanoat, Di-2-ethylbexylsebacat und dergleichen; ätherische Öle, wie Minzöl, Rosenöl, Citronellal und dergleichen; Silikone, wie Dimethylpolysiloxan, Decamethylcyclopentasiloxan und dergleichen.

**[0025]** Diese ölhaltigen Bestandteile können in den Kosmetika in einem Anteil, der geeigneterweise in Abhängigkeit von der Form, der Formulierungsart und dergleichen darin gewählt wird, gewöhnlich in einem Anteil von 0,1 bis 95%, bezogen auf die Gesamtmenge des Kosmetikums beinhaltet sein.

**[0026]** Die typischen verwendeten Puder enthalten z. B. Talk, Glimmer, Kaolin, Siliciumdioxid, Zinkoxid, titanhaltiges Glimmer, Titanoxid, Eisenoxid, Nylonpulver und dergleichen.

**[0027]** Die Tenside beinhalten z. B. nicht-ionische Tenside, wie Polyoxyethylen-Alkylether, Polyoxyethylen-Fettsäureester, Polyoxyethylen-Sorbitanfettsäureester, Glyceryl-Fettsäureester, Polyoxyethylen-gehärtetes Rizinusöl, Polyoxyethylen-Sorbitolfettsäureester und dergleichen; anionische Tenside, wie Natriumpalmitat und dergleichen; kationische Tenside, wie Stearyltrimethylammoniumchlorid und dergleichen; amphoterische Tenside, wie Sulfobetaine und dergleichen.

**[0028]** Die Befeuchtungsmittel beinhalten z. B. Glycerin, 1,3-Butylenglycol, Polyethylenglycol und dergleichen.

**[0029]** Die Viskositätsmodifizierer beinhalten z. B. wasserlösliche Polymere, wie Carboxyvinylpolymere, Carboxymethylcellulosen, Polyvinylalkohole und dergleichen; und Tonmineralien, wie Bentonit und dergleichen.

**[0030]** Die UV-Absorbierer beinhalten z. B. p-Aminobenzoesäure (im Folgenden PABA genannt), Glyceryl-p-aminobenzoat, Ethyldihydroxypropyl-p-aminobenzoat, Octylmethoxycinnamat, 2-Ethoxyethyl-p-methoxycinnamat, 2,4-Dihydroxybenzophenon, 2-Hydroxy-4-methoxybenzophenon, 2-Hydroxy-4-methoxy-4-methylbenzophenon, 2-Hydroxy-4-methoxy-4-methylbenzophenon-5-sulfonat, Ethylurocanat, 2-Phenyl-5-methylbenzoxazol, 4-Methoxy-4-t-butyldibenzoylmethan, Ethylhexyl-p-methoxycinnamat und dergleichen.

**[0031]** Die chelatisierenden Verbindungen beinhalten z. B. Tetranatrium-EDTA, Zitronensäure und dergleichen. Die niederen Alkohole beinhalten z. B. Ethanol und dergleichen. Die Amine beinhalten z. B. Monoethanolamin, Triethanolamin und dergleichen. Die pH-einstellenden Verbindungen beinhalten z. B. Pufferreagenzien, wie Milchsäure-Natriumlactat, Zitronensäure-Natriumcitrat und dergleichen.

**[0032]** Die medizinisch-wirksamen Inhaltsstoffe beinhalten z. B. Pantothenylethylether, Glycyrrhizinatsalze und dergleichen. Die Vitamine beinhalten z. B. Vitamin C und seine Derivate, Vitamin E und seine Derivate und dergleichen. Die Antioxidantien beinhalten z. B. Tocopherole, Dibutylhydroxytoluol, Propylgallat und dergleichen.

**[0033]** Die Polysaccharide beinhalten z. B. Erythritol, Sucrose, Hyaluronsäure und dergleichen. Die Konservierungsstoffe beinhalten z. B. Ethylparaben (Ethyl-p-hydroxybenzoat), Butylparaben (n-Butyl-p-hydroxybenzoat), Natriumbenzoat und dergleichen. Die Aufhellungsmittel beinhalten z. B. Ascorbinsäure und ihre Derivate, Kojisäure und ihre Derivate, Süßholzextrakt, Hydrochinon und seine Derivate, Glutathion und dergleichen.

**[0034]** Die Arzneimittel können ferner verschiedene Zusätze enthalten, wie z. B. Arzneimittelträger, Stabilisatoren, Befeuchtungsmittel, Emulgatoren, Absorptionsinduzierer, pH-einstellende Verbindungen, Tenside, Ver-

dünnungsmittel, Trägersubstanzen und dergleichen. Die Zusätze beinhalten z. B. Polysaccharide, wie Stärke und Laktose; Magnesiumsulfat, Talk, Gelatine, Cellulosederivate, wie Hydroxypropylcellulose, Pflanzenöle, wie Sojaöl und Sesamöl, tierische Öle, synthetische Öle, Gummi, wässrige Lösungen, wie physiologische Kochsalzlösung, Alkohole, wie Ethanol, 1,3-Butylenglycol, Polyalkylenglycole und dergleichen, sowie weiterhin ausgewählte Bestandteile, die an anderen Stellen beschrieben werden und die in der Kosmetik formuliert werden können.

**[0035]** Die vorhergehenden Zusammensetzungen, die in der vorliegenden Erfindung verwendet werden, können durch ein konventionelles Verfahren in jeder gewünschten Form und Formulierungsart, durch Verschneiden der entscheidenden Komponente [Formel (1)] mit einem oder mehreren der zuvor genannten Formulierungsinhaltsstoffe hergestellt werden.

## Beispiele

**[0036]** Die Erfindung wird durch folgende Beispiele näher erläutert werden; die Mengen der Bestandteile werden in Gew.-% der Gesamtmenge einer gegebenen Zusammensetzung angegeben, sofern nichts anderes erwähnt wird.

### Beispiel 1 Melanogenese-hemmender Effekt

### Melanogenese-hemmender Effekt an B16 Melanomzellen

**[0037]** Die melanogenese-hemmende Aktivität wurde unter Verwendung von B16 IOF7 Melanomzellen (erhalten von dem Akita Research Institute of Food and Brewing, Japan), welche melanogenetische Zellen von Mauszellen sind, ermittelt, und zwar durch Anwenden einer isolierten Form der zuvor beschriebenen Formel (1) in einer Lösung, die mit dem Kulturmedium verdünnt war, auf die Zellen, wobei die Produktion von Melanin beobachtet wurde. Die B16-Zellen, die bis zu einer Konfluenzrate von 70% in einem Kolben kultiviert wurden, wurden mit PBS gewaschen und dann zur Isolierung der Zellen mit Trypsinlösung behandelt. Dasselbe Volumen eines Serum-enthaltenden Kulturmediums (E-HEM, 10% PBS), wie das des Trypsins, wurde in den Kolben gegeben, gefolgt vom Sammeln der Zellen und Abzentrifugieren (800 upm, 5 min). Nach dieser Phase des Prozesses wurde die Anzahl der Zellen bestimmt und auf ungefähr $10^4$ Zellen/ml in dem Kulturmedium (E-HEM, 10% PBS) eingestellt. Eine verdünnte Lösung von Formel (1) wurde hergestellt, indem 20 µl steriler PBS auf einer Zellkulturplatte (eine Variante für adhärente Zellen) zusammen mit 20 µl einer Lösung von Formel (1) aufgebracht wurden, so dass die Verdünnung verdoppelt wurde (eine endgültige Konzentration von 100 µg/ml bis 0,0012 µg/ml in dem Kulturmedium). Die Kontrolle Arbutin (eine endgültige Konzentration von 140 µg/ml bis 0,22 µg/ml in dem Kulturmedium) in Methanol wurde auf ähnliche Weise verdünnt.

**[0038]** Dann wurden 80 µl der Zellsuspension zu der verdünnten Probenlösung (20 µl) auf die Platte gegeben und das Gemisch für 72 Stunden in einem $CO_2$-Inkubator bei 37°C kultiviert. In den Zellen wurde unter dem Mikroskop die Melanogenese beobachtet. In den Fällen, bei denen Melanogenese mikroskopisch bestätigt wurde, wurde das Kulturmedium entfernt und die Zellschicht mit 300 µl einer 1N NaOH behandelt, um das Melanin zu lösen, wobei die Konzentration des gebildeten Melanins durch Messung der Absorption bei 470 nm bestimmt wurde. Der Anteil der verwendeten Formel (1) und des Arbutins wurden variiert, um deren Konzentrationsminimum, welches für die Hemmung der Melanogenese nötig war, gegenüber dem Wert der methanolbehandelten Kontrolle als 100%, zu bestimmen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 gezeigt. Eine mikroskopische Beobachtung für Formel (1) weist außerdem darauf hin, dass die Melanogenese in den B16-Zellen erheblicher durch Formel (1) als durch Arbutin gehemmt wurde.

Tabelle 1

| | Arbutin | Formel (1) |
|---|---|---|
| Konzentrationsminimum für die Melanogenese-Hemmung | 0,88 µg/ml | 0,045 µg/ml |

**[0039]** Tabelle 1 zeigt deutlich, dass Formel (1) eine bessere Verbindung zur Melanogenese-Hemmung in B16 Melanomzellen, verglichen mit dem Arbutinmelanogenese-Hemmer, ist.

Beispiele 2 und 3, Vergleichsbeispiele 1 und 2 Messung des Aufhellungseffekts

| Bestandteil | Gehalt %, w/w |
|---|---|
| (Alkoholphase) | |
| Ethanol | 25,0 |
| Polyoxyethylen (25 mol) gehärtetes Rizinusöl | 2,0 |
| Antioxidans | geringe Menge |
| Konservierungsmittel | geringe Menge |
| Parfüm | geringe Menge |
| Testverbindung (siehe Tabelle 2) | Mengen in Tabelle 2 angegeben |
| (Wasserphase) | |
| Glycerin | 5,0 |
| Natriumhexamethaphosphat | geringe Menge |
| Destilliertes Wasser | Rest |

**[0040]** Herstellung Die Alkohol- und die Wasserphase werden hergestellt, gemischt und gelöst.

Testverfahren

**[0041]** Eine Testgruppe, bestehend aus 20 Menschen, wurde im Sommer dem Sonnenlicht für vier Stunden pro Tag, von 11.00 bis 13.00 Uhr, zwei Tage lang ausgesetzt. Fünf Tage nach der Sonnenlichtaussetzung, wurde die zuvor beschriebene Lotion bei der Gruppe auf der Oberarmhaut zweimal täglich, jeweils einmal am Morgen und einmal am Abend, für eine Dauer von fünf Wochen, angewendet.

Bewertungsmethode

**[0042]** Die Testergebnisse nach Beendigung der Anwendung wurden nach den folgenden Standards bewertet:

Kriteriumstandards

Hochwirksam: Pigmentablagerung kaum sichtbar
Wirksam: Pigmentablagerung deutlich schwächer
Ein wenig wirksam: Pigmentablagerung schwächer
Unwirksam: Keine Veränderung

**[0043]**

Entscheidungskriterium

| | |
|---|---|
| A: | 16 oder mehr aus der Gruppe wurden „wirksam" oder „hochwirksam" bewertet. |
| B: | 11 bis 15 aus der Gruppe wurden „wirksam" oder „hochwirksam" bewertet. |
| C: | 6 bis 10 aus der Gruppe wurden „wirksam" oder „hochwirksam" bewertet. |
| D: | 5 oder weniger aus der Gruppe wurden „wirksam" oder „hochwirksam," bewertet. |

**[0044]** Die Bewertungsergebnisse sind in Tabelle 2 gezeigt.

Tabelle 2

| | Testbestandteil | Gehalt %, w/w | Entscheidung |
|---|---|---|---|
| Beispiel 2 | Formel (1) | 0,2 | B |
| Beispiel 3 | Formel (1) | 1,0 | A |
| Vergleichsbeispiel 1 | keine Zugabe | - | D |
| Vergleichsbeispiel 2 | Hydrochinon | 1,0 | C |

**[0045]** Tabelle 2 zeigt deutlich, dass die Lotionen, die Formel (1) enthalten, eine Pigmentablagerung verhin-

dern und einen Aufhellungseffekt liefern. Auf der anderen Seite waren weder Vergleichsbeispiel 1 (keine Zugabe), noch Vergleichsbeispiel 2 (Hydrochinon) wirksam.

**[0046]** Beispiele dieser Erfindung sind im Folgenden für die verschiedenen Formulierungen, die durch das übliche Verfahren hergestellt wurden, gegeben. Alle Beispiele zeigen außergewöhnliche Melanogenese-Hemmung und Aufhellungseffekte.

Beispiel 4 Creme

| Bestandteile | Gehalt %, w/w |
|---|---|
| Stearinsäure | 6,0 |
| Glycerylmonostearat | 2,0 |
| Polyoxyethylen (20 mol) Sorbitanmonostearat | 2,0 |
| 1,3-Butylenglycol | 10,0 |
| Formel (1) | 5,0 |
| Isopropylmyristat | 12,0 |
| Squalan | 5,0 |
| Flüssiges Petrolatum | 3,0 |
| Vitamin E | 0,05 |
| Natriumbisulfit | geringe Menge |
| Konservierungsstoff | geringe Menge |
| Parfüm | geringe Menge |
| Destilliertes Wasser | Rest |

Beispiel 5 Emulsion

| Bestandteile | Gehalt %, w/w |
|---|---|
| Stearylalkohol | 2,0 |
| Squalan | 5,0 |
| Flüssiges Lanolin | 3,0 |
| Trimethylolpropantrioctanoat | 2,0 |
| Glyceryltrioctanoat | 5,0 |
| Bestandteile | Gehalt %, w/w |
| Glycerylmonooleat | 2,0 |
| Polyoxyethylen (20 mol) Sorbitanmonostearat | 1,0 |
| Vitamin C | 0,1 |
| Konservierungsstoff | geringe Menge |
| Formel (1) | 8,0 |
| p-Aminobenzoesäure | 0,1 |
| Parfüm | geringe Menge |
| Natriumbisulfit | geringe Menge |
| Glycerin | 5,0 |
| Carboxyvinylpolymer | 0,2 |
| Triethanolamin | 1,0 |
| Destilliertes Wasser | Rest |

Beispiel 6 Gel

| Bestandteile | Gehalt %, w/w |
|---|---|
| Dipropylenglycol | 10,0 |
| Polyethylenglycol 1500 | 5,0 |
| Carboxyvinylpolymer | 1,0 |
| Ethanol | 2,0 |
| Polyoxyethylen (50 mol) Oleylether | 1,0 |

| | |
|---|---|
| Kaliumhydroxid | 0,15 |
| Formel (1) | 1,0 |
| Natrium-2-hydroxy-4-methoxybenzophenonsulfonat | 0,05 |
| Konservierungsstoff | geringe Menge |
| Trinatrium-EDTA | geringe Menge |
| Parfüm | geringe Menge |
| Destilliertes Wasser | Rest |

Beispiel 7 Essenz

| Bestandteile | Gehalt %, w/w |
|---|---|
| Glycerin | 5,0 |
| Dipropylenglycol | 10,0 |
| Ethanol | 10,0 |
| Carboxyvinylpolymer | 0,2 |
| Natriumhyaluronat | 0,5 |
| Kaliumhydroxid | 0,1 |
| Polyoxyethylen (20 mol) Sorbitanmonooleat | 0,5 |
| Polyoxyethylen (20 mol) Octyldodecanol | 1,0 |
| Olivenöl | 0,15 |
| Plazentaextrakt | 0,1 |
| Formel (1) | 3,0 |
| Natriumbisulfit | geringe Menge |
| Konservierungsstoff | geringe Menge |
| Trinatrium-EDTA | geringe Menge |
| Parfüm | geringe Menge |
| Destilliertes Wasser | Rest |

Beispiel 8 Packung

| Bestandteile | Gehalt %, w/w |
|---|---|
| Polyvinylacetatemulsion | 15,0 |
| Polyvinylalkohol | 10,0 |
| Dipropylenglycol | 5,0 |
| Sorbitol | 5,0 |
| Tocopherylacetat | 0,2 |
| Olivenöl | 1,0 |
| Squalan | 3,0 |
| Polyoxyethylen (20 mol) Sorbitanmonooleat | 1,5 |
| Titandioxid | 5,0 |
| Talk | 10,0 |
| Ethanol | 7,0 |
| Bestandteile | Gehalt %, w/w |
| Formel (1) | 3,0 |
| Konservierungsstoff | geringe Menge |
| Parfüm | geringe Menge |
| Destilliertes Wasser | Rest |

Beispiel 9 Lösung

| Bestandteile | Gehalt %, w/w |
|---|---|
| 1,3-Butylenglycol | 6,0 |
| Glycerin | 5,0 |
| Natriumhyaluronat | 0,3 |
| Polyoxyethylen (20 mol) Sorbitanmonostearat | 1,5 |
| Polyoxyethylen (20 mol) Octyldodecanol | 0,5 |
| Ethanol | 15,0 |
| Formel (1) | 4,0 |
| Konservierungsstoff | geringe Menge |
| Parfüm | geringe Menge |
| Destilliertes Wasser | Rest |

Beispiel 10 Salbe

| Bestandteile | Gehalt %, w/w |
|---|---|
| Polyoxyethylen (30) gehärtetes Rizinusöl | 2,0 |
| Glycerylmonostearat | 10,0 |
| Squalan | 10,0 |
| Petrolatum | 40,0 |
| Cetanol | 6,0 |
| Formel (1) | 5,0 |
| 1,3-Butylenglycol | 10,0 |
| Destilliertes Wasser | Rest |
| Konservierungsstoff | geringe Menge |
| Parfüm | geringe Menge |

Beispiel 11 Grundierung

| Bestandteile | Gehalt %, w/w |
|---|---|
| Talk | 3,0 |
| Titandioxid | 5,0 |
| Rotes Eisenoxid | 0,5 |
| Gelbes Eisenoxid | 1,5 |
| Schwarzes Eisenoxid | 0,1 |
| Bentonit | 0,5 |
| Polyoxyethylen (20) Sorbitanmonostearat | 1,0 |
| Triethanolamin | 1,0 |
| Glycerin | 5,0 |
| Propylenglycol | 5,0 |
| Stearinsäure | 2,0 |
| Glycerylmonostearat | 10,0 |
| Flüssiges Petrolatum | 10,0 |
| Dimethylpolysiloxan | 5,0 |
| Polyoxyalkylen-Polysiloxancopolymer | 3,0 |
| Formel (1) | 3,0 |
| Destilliertes Wasser | Rest |
| Konservierungsstoff | geringe Menge |
| Parfüm | geringe Menge |

Beispiel 12 „Gesundheitsdrink"

| Bestandteile | Mengen (in 30 ml) |
|---|---|
| Formel (1) | 0,085 mg |
| Ginsengextrakt | 50 mg |
| Cordyceps-Extrakt | 100 mg |
| Ingwerextrakt | 300 mg |
| Honig | 150 mg |
| Zyklische Oligosaccharide | 300 mg |
| Süßungsmittel | geringe Menge |
| Säuerungsmittel | geringe Menge |
| Bestandteile | Mengen (in 30 ml) |
| Stabilisator | geringe Menge |
| Aromazusatz | geringe Menge |

Beispiel 13 „Gesundheitsdrink"

| Bestandteile | Mengen (in 30 ml) |
|---|---|
| Formel (1) | 0,5 mg |
| Ginsengextrakt | 50 mg |
| Cordyceps-Extrakt | 100 mg |
| Ingwerextrakt | 300 mg |
| Honig | 150 mg |
| Zyklische Oligosaccharide | 300 mg |
| Süßungsmittel | geringe Menge |
| Säuerungsmittel | geringe Menge |
| Stabilisatoren | geringe Menge |
| Aromazusatz | geringe Menge |

Beispiel 14 „Gesundheitsnahrung" (Tablettenform)

| Bestandteile | Mengen (in 300 mg) |
|---|---|
| Formel (1) | 0,025 mg |
| Maltit | 87,8 mg |
| Trehalose | 41,2 mg |
| Laktose | 16,5 mg |
| Fettsäureester der Sukrose | 6,2 mg |
| Dextrin | 148,275 mg |

Beispiel 15 „Gesundheitsnahrung" (Tablettenform)

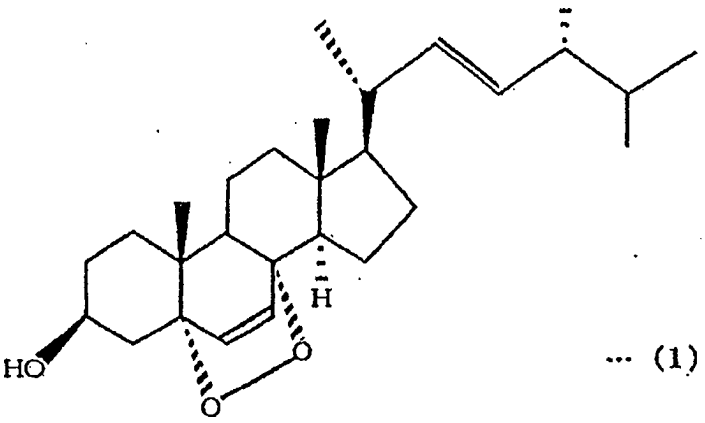
| Bestandteile | Mengen (in 300 mg) |
|---|---|
| Formel (1) | 0,5 mg |
| Maltit | 87,8 mg |
| Trehalose | 41,2 mg |
| Laktose | 16,5 mg |
| Bestandteile | Mengen (in 300 mg) |
| Fettsäureester der Sukrose | 6,2 mg |
| Dextrin | 147,8 mg |

## POTENTIELLE GEWERBLICHE ANWENDBARKEIT

**[0047]** Wie zuvor beschrieben, kann die vorliegende Erfindung eine Substanz bereitstellen, die in der Melanogenese-Hemmung und der Aufhellung wirksam ist. Sie beschreibt außerdem die Verwendung solcher Substanzen für die Verhinderung, die Besserung und die Behandlung von Hautpigmentierungen, wie Flecken, Sommersprossen und Leberflecken, die durch Sonnenbrand und dergleichen verursacht werden.

**Patentansprüche**

1. Verwendung eines durch die folgende Formel (1) dargestellten Ergosterolderivats




... (1)

bei der Herstellung eines Medikaments für die Prävention, Behandlung oder Besserung der Hautpigmentierung.

2. Kosmetisches Verfahren zum Aufhellen der Haut, das Folgendes aufweist, nämlich Anwenden einer Zusammensetzung, die ein durch die Formel (1) dargestelltes Ergosterolderivat aufweist, auf die aufzuhellende Haut.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen