



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 602 18 125 T2** 2007.11.22

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 325 738 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **602 18 125.9**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **02 028 448.5**

(96) Europäischer Anmeldetag: **19.12.2002**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **09.07.2003**

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: **14.02.2007**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **22.11.2007**

(51) Int Cl.⁸: **A61K 8/97** (2006.01)

A61Q 7/00 (2006.01)

A61K 36/889 (2006.01)

A61P 17/14 (2006.01)

(30) Unionspriorität:

34186 28.12.2001 US

(73) Patentinhaber:

AVON PRODUCTS, INC., New York, N.Y., US

(74) Vertreter:

Dr. Weitzel & Partner, 89522 Heidenheim

(84) Benannte Vertragsstaaten:

DE, FR, GB, IT

(72) Erfinder:

**Mahalingam, Harish, Ledgewood, New Jersey
07852, US; Jones, Brian, Warwick, New York
10990, US; Menon, Gopinathan K., Wayne, New
York 07470, US; Kyrou, Christos D., Goshen, New
York 10924, US; Traudt, Michael, Brookfield,
Connecticut 06804, US**

(54) Bezeichnung: **Nicht therapeutisches Verfahren sowie therapeutische Anwendungen zur Hautdepigmentierung**

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**HINTERGRUND DER ERFINDUNG****1. Gebiet der Erfindung**

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft eine Aufhellung von Haut, Haaren, Nägeln und/oder Lippen. Die vorliegende Erfindung betrifft des weiteren medizinische Anwendungen und nicht-therapeutische Verfahren zur Aufhellung von Haut, Haaren, Nägeln und/oder Lippen.

2. Stand der Technik

[0002] Die Konsumenten, insbesondere jene in Asien, versuchen, ihre Haut aufzuhellen und eine ungleichmäßige Pigmentierung derselben zu reduzieren. Allgemein behandelte Hautbefunde sind Sommersprossen, Altersflecken, dunkle Flecken, Hyperpigmentierung, Verfärbungen, Melasmen, Vergilben und dunkle Ringe unter den Augen.

[0003] Zahlreiche Substanzen wurden auf die Haut aufgetragen, um diese aufzuhellen. Dazu gehören Hydrochinon, Kojisäure, Lakritzensaft und/oder dessen Derivate, Ascorbinsäure/Ascorbinsäurederivate, Arbutin, Bärentraube, Glycyrrhiza glabra und deren Derivate, Chlorella-vulgaris-Extrakt, Perillaextrakt und Kokosfruchtextrakt. Perillaextrakt ist als Weißungsmittel in U.S.-Patent Nr. 5,980,904 und in den Japanischen Publikationen 07025742, 07187989, 10265322, 2001163759 und 2001181173 offenbart. Kokosfruchtextrakt ist als Weißungsmittel im Japanischen Patent Nr. 2896815 und in JP 06 072838 A, WO-A-0076458 offenbart. Ein Extrakt einer schwammigen Masse aus Kokosnussgewebe wird in einer bräunenden Sonnenschutzzusammensetzung in U.S.-Patent Nr. 5,756,099 offenbart. Ein weiteres Hautweißungsmittel ist in US 5,993,835 offenbart.

[0004] Die Pigmentierung von Haut und Haaren wird von dem Ausmaß des Melanins in der Epidermis bzw. in der Haarfaser bestimmt. In der Epidermis sind beispielsweise drei unterschiedliche Melanintypen vorhanden: DHI-Melanin, DHICA-Melanin und Pheomelanin. Die unterschiedlichen Melanintypen variieren in Farbe oder Schattierung. DHI-Melanin ist am dunkelsten und von schwärzlicher Farbe. DHICA-Melanin ist von bräunlicher Farbe. Pheomelanin ist am hellsten und hat einen rötlichen Farbton.

[0005] Melanin wird in spezialisierten Organellen, den sogenannten Melanosomen, in den pigmentproduzierenden Zellen (Melanocyten) synthetisiert. Die Melanocyten reagieren auf Stimuli zur Regulierung der Melaninsynthese.

[0006] Die meisten herkömmlichen topischen Aufhellungsmittel wirken durch einen Eingriff in die Wirkweise der Tyrosinase, des Enzyms, das die Umwandlung der Aminosäure Tyrosin zu DOPACHinon katalysiert. Früher war unbekannt, dass eine Hypopigmentierung durch Hemmung der Enzyme erreicht werden kann, die der Tyrosinase in der Melaninsynthesebahn "nachgelagert" ist. Es hat sich nun herausgestellt, dass der Einsatz eines die Melaninsynthese regulierenden Mittels, das die DOPACHrome-Tautomerase und/oder die DHICA-Polymerase hemmt, eine Zusammensetzung mit ausgezeichneter Aufhellung ergibt, insbesondere was die Hautaufhellung betrifft.

[0007] Es wäre wünschenswert, eine topische Zusammensetzung zu haben, die ein höheres Maß an Aufhellung, Bleichung, Hypopigmentierung, Weißung und/oder Depigmentierung erbringt (nachstehend zusammenfassend als "Aufhellung" bzw. "aufhellen" bezeichnet). Es wäre des weiteren wünschenswert, eine topische Zusammensetzung zu haben, die Aufhellungsmittel enthält, die in die Umwandlung von DOPACHrom zu DHI-Melanin und DHICA-Melanin eingreifen. Es wäre ebenfalls wünschenswert, eine topische Zusammensetzung zu haben, die Aufhellungsmittel enthält, die die Übertragung (Aufnahme) von Melanin von den Melanocyten zu den Keratinocyten hemmt oder verhindert. Es wäre ebenfalls wünschenswert, Verfahren zur Aufhellung von Haut, Haaren, Nägeln und/oder Lippen zu haben, welche die Zusammensetzungen der vorliegenden Erfindung anwenden.

ZUSAMMENFASSUNG DER ERFINDUNG

[0008] Es ist ein Ziel der vorliegenden Erfindung, ein nicht-therapeutisches Verfahren und medizinische Anwendungen gemäß den Ansprüchen 1 bis 12 zu schaffen.

[0009] Dieses Ziel der vorliegenden Erfindung wird durch eine topische Zusammensetzung zur Aufhellung er-

reicht, die ein die Melaninsynthese regulierendes Mittel und eine Trägersubstanz enthält. Das die Melaninsynthese regulierende Mittel ist in einer Menge vorhanden, die geeignet ist, die DOPAchrom-Tautomerase, die DHICA³-Polymerase oder beide zu hemmen, und ist ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Kokosmilch und einem Konzentrat derselben. Das die Melaninsynthese regulierende Mittel ist in der topischen Zusammensetzung zur Aufhellung in einer Menge von 0,001 bis 20 Gewichtsprozent vorhanden.

KURZE BESCHREIBUNG DER ZEICHNUNG

[0010] In [Fig. 1](#) sind die Ergebnisse des Melaninaufnahme-Assays in den Beispielen illustriert.

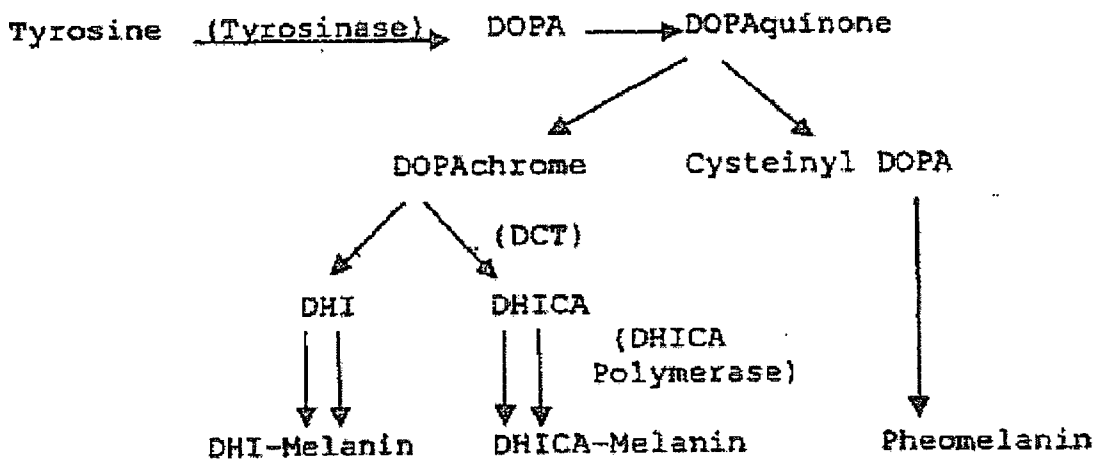
DETAILLIERTE BESCHREIBUNG DER ERFINDUNG

[0011] Es hat sich überraschender und unerwarteter Weise herausgestellt, dass es topische Aufhellungszusammensetzungen gibt, die eine erhöhte, bisher nicht mögliche Leistungsfähigkeit haben. Es erwies sich als möglich, die Aufhellung durch die Hemmung von anderen Enzymen als Tyrosinase zu fördern, insbesondere durch die DOPAchrom-Tautomerase (DCT) und/oder 5,6-Dihydroxyindol-2-Carbonsäure-Polymerase (DHICA-Polymerase). Es stellte sich zudem als möglich heraus, die Aufhellung durch Hemmung und/oder Verhinderung der Melaninaufnahme durch Keratinocyten beispielsweise in der Epidermis zu fördern.

[0012] In ihren weitest gefassten Aspekten ist die Erfindung nicht durch eine spezifische Charakterisierung der physiologischen und/oder chemischen Wirkungen topischer Aufhellungsmittel beschränkt.

[0013] Allerdings hellen die topischen Aufhellungsmittel, die in den Anwendungen und Verfahren der vorliegenden Erfindung verwendbar sind, die Haut durch eine Regulierung der Melaninproduktion und eine Hemmung der Melaninaufnahme in Haut, Haaren, Lippen, und/oder Nägeln auf.

[0014] Ein Ausführungsbeispiel der vorliegenden Erfindung ist der Einsatz eines die Melaninsynthese regulierenden Mittels entweder allein oder in Kombination mit einem die Melaninaufnahme hemmenden Mittel. Wenn das die Melaninsynthese regulierende Mittel in einer Menge vorhanden ist, die zur Hemmung der DCT und/oder DHICA-Polymerase geeignet ist, kann eine ausgezeichnete Aufhellungs-Zusammensetzung erreicht werden. Es war bisher in der Fachwelt nicht bekannt, dass ein Eingreifen in diesen Teil der Melaninsynthesebahn eine Aufhellung von Haut, Haaren, Lippen, und/oder Nägeln erbringen könne. Nachstehend ist ein Fließdiagramm der Melaninsynthesebahn dargestellt:



[0015] Der Einsatz eines zusätzlichen Mittels, das die Übertragung (die Aufnahme) von Melanin von den Melanocyten auf die Keratinocyten hemmt, steigert die Aufhellungswirkung der vorliegenden Erfindung noch zusätzlich.

[0016] Beispiele von die Melaninsynthese regulierenden Mitteln umfassen Kokosmilch, Kokoswasser, Palmwasser, Palmnussmilch, Pecanusmilch, Mandelmilch, Cashewnussmilch, Walnussmilch sowie Konzentrate oder Kombination jedes der Voranstehenden.

[0017] In der vorliegenden Erfindung ist als die Melaninsynthese regulierendes Mittel die Verwendung von Kokosmilch oder eines Konzentrats derselben (insbesondere durch Gefriertrocknen) vorgesehen.

[0018] Beispiele für Mittel zur Hemmung der Melaninaufnahme sind Extrakte oder Öle von der gesamten oder

von Teilen der Perillapflanze, z.B. den Blättern, Samen, Stängel und Wurzel. Ein bevorzugtes Mittel ist das Extrakt des Perillablattes.

[0019] Ein weiteres Ausführungsbeispiel der vorliegenden Erfindung ist die Anwendung des Perillablattextrakts in den Anwendungen und Verfahren gemäß Anspruch 1 bis 12 einzeln oder in Kombination mit einem anderen Aufhellungsmittel. Das Perillablattextrakt schafft eine unerwartete Verbesserung des topischen Aufhellungseffekts im Vergleich mit Extrakten, Konzentraten oder Ölen anderer Teile der Perillapflanze, also der Samen, des Stängels und der Wurzel. Neben der erhöhten Wirksamkeit kann das Perillablattextrakt eine topische Aufhellungswirkung bei geringeren Mengen im Vergleich mit den Extrakten anderer Teile der Perillapflanze erbringen.

[0020] Topische Aufhellungsmittel sind in der Zusammensetzung der vorliegenden Erfindung in einer Menge vorhanden, die ausreicht, den gewünschten Aufhellungseffekt zu erzielen. Die Menge variiert in Abhängigkeit von der Art des Mittels und der Art bzw. dem Ausmaß des gewünschten Effekts. Das Aufhellungsmittel ist typischer Weise in einem Anteil von etwa 0,001 bis etwa 20 Gewichtsprozent, bevorzugt von etwa 0,01 bis etwa 5 Gewichtsprozent und meistbevorzugt von etwa 0,1 bis etwa 2,5 Gewichtsprozent vorhanden, basierend auf dem Gesamtgewicht der Zusammensetzung.

[0021] Die Zusammensetzungen der vorliegenden Erfindung umfassen vorzugsweise mindestens eine, bevorzugt mindestens zwei und meistbevorzugt mindestens drei der folgenden Ingredienzien: Aloe barbadensis oder ein Extrakt davon, hydrolysiertes Sojaprotein, n-Glucosamin, Gamma-Aminobuttersäure, einen kompetitiven Hemmer des Melanocyten-stimulierenden Hormons (MSH) (z.B. Hexapeptid-2), Clintonia borealis (Maidblumenwurzel) oder ein Extrakt davon, Milchproteine, hydrolysierte Milchproteine, Sanguisorba officinalis (Großer Wiesenknopf), ein Glutathionreduktase-Hemmer (z.B. Weizenkeim) oder Extrakte davon.

[0022] Die Anwendungen und therapeutischen Verfahren der vorliegenden Erfindung können zur wirksamen Aufhellung von Haut, Haaren, Lippen und Nägeln verwendet werden, indem die Zusammensetzungen mit einer wirksamen Menge des topischen Aufhellungsmittels topisch aufgetragen werden. Um die Farbe oder Schattierung von Haaren aufzuhellen, müssen die vorliegenden Zusammensetzungen vorzugsweise auf die/in die Kopfhaut eingerieben werden, so dass die Zusammensetzung in die Haarwurzeln oder Wurzelschäfte eindringen kann und während des Melaninproduktionsprozesses in den Haaren absorbiert ist.

[0023] Die topischen Zusammensetzungen, die in den nicht-therapeutischen Verfahren und den medizinischen Anwendungen der vorliegenden Erfindung verwendet werden, können zur Behandlung unterschiedlicher Hautbedingungen eingesetzt werden, darunter Sommersprossen, Altersflecken, Hyperpigmentierung, entzündungsbedingte Hyperpigmentierung (z.B. Post-Akne-Hyperpigmentierung), Verfärbungen, Melasma, Vergilben und dunkle Ringe unter den Augen.

[0024] Die in den Verfahren und Anwendungen gemäß den Ansprüchen 1 bis 12 verwendeten Zusammensetzungen können jede in der Fachwelt bekannte Trägersubstanz enthalten. Geeignete Trägersubstanzen sind – ohne darauf beschränkt zu sein – Wasser; eines oder mehrere Pflanzenöle; Ester, wie beispielsweise Octylpalmitat, Isopropylmyristat und Isopropylpalmitat; Ether, wie beispielsweise Dicaprylether und Dimethylisosorbid; Alkohole, wie Ethanol und Isopropanol; Fettalkohole, wie beispielsweise Cetylalkohol, Stearylalkohol und Behenylalkohol; Isoparaffine, wie Isooctan, Isododecan und Isohexadecan; Silikonöle, wie Dimethicone und Polysiloxane; Kohlenwasserstofföle, wie Mineralöl, Petrolat, Isoeicosan und Polyisobuten; Polyole, wie Propylenglycol, Glycerin, Butylenglykol, Pentylenglykol und Hexylenglykol; oder Kombinationen hiervon.

[0025] Die in den Verfahren und Anwendungen gemäß der Ansprüche 1 bis 12 verwendeten Zusammensetzungen können ferner zusätzliche Hautweißungsmittel enthalten, die in der Fachwelt bekannt sind. Beispiele solcher anwendbaren Mittel sind: Hydrochinon, Kojisäure, Lakritzensaft und/oder dessen Derivate, Ascorbinsäure/Ascorbinsäurederivate, Arbutin, Bärentraube, Glycyrrhiza glabra und deren Derivate und Chlorella-vulgaris-Extrakt. Andere Weißungsmittel sind in U.S.-Patent Nr. 5,980,904 offenbart, das dieser Schrift durch Bezugnahme einverleibt sei.

[0026] Optional können die in den Verfahren und Anwendungen gemäß den Ansprüche 1 bis 12 verwendeten Zusammensetzungen zusätzlich eine mehrere der nachstehenden Ingredienzien umfassen: Anästhetika, Antiallergika, Antimykotika, antimikrobielle Mittel, entzündungshemmende Mittel, Antiseptika, Chelatbildner, Farbstoffe, Weichmacher, Exfoliationsmittel, Filmbilder, Duftstoffe, Feuchthaltemittel, Insektenschutzmittel, Schmierstoffe, Befeuchter, pharmazeutische Mittel, Konservierungsmittel, Hautschutzmittel, Hautpenetrationsverstärker, Stabilisatoren, oberflächenaktive Mittel, Verdickungsmittel, Viskositätsmodifikatoren oder Vitamine.

[0027] Die die in den Verfahren und Anwendungen gemäß den Ansprüche 1 bis 12 verwendeten Zusammensetzungen können in jeder geeigneten Produktform hergestellt werden. Dazu gehören, ohne darauf beschränkt zu sein, Creme, Lotion, Salbe, Gel, Schaum, Pomade, Aerosolspray, Pumpspray, Stift, Tuch oder Pflaster.

BEISPIELE

[0028] Die Auswirkungen von Kokosmilch (gefriergetrocknetes Konzentrat) auf die Melaninsynthesebahn wurde mit unterschiedlichen Assays unter Anwendung von Mausmelanomzellen aus der Zelllinie S91 (nachstehend "Zellen") demonstriert. Die Zellen wurden in einer 1:1 Mischung von Ham F10 + 10% Pferdeserum und DMEM + 10% fötalem Rinderserum kultiviert. Alle Zellexperimente wurden in einem befeuchteten 5% CO₂ Inkubator bei 37 Grad Celsius durchgeführt. Die Zellen wurden mit 0,02 bzw. 0,05 Vol.-Gewichtsprozent Kokosmilchkonzentration (gefriergetrocknetes Konzentrat) über 24 Stunden behandelt. Zellextrakte werden nach 24 Stunden gewonnen, und die folgenden Assays wurden durchgeführt: DOPAchrom-Tautomerase (Beispiel 1) und DHICA-Polymerase (Beispiel 2).

Beispiel 1 – DOPAchrom-Tautomerase-Assay (Kokosmilch)

[0029] Die Wirkung der DOPAchrom-Tautomerase (DCT) wurde nach dem Verfahren geprüft, das in Chakraborty et al., 1998, Effect of arbutin on melanogenic proteins in human melanocytes, Pigment Cell Res. 11: 206–212, offenbart wurde. Im einzelnen wurde eiskaltes DOPA (0,5 mg pro ml von 0,1 M Natriumphosphatpuffer, pH 6,8) mit Ag₂O (30 mg Ag₂O: 1 mg DOPA) etwa 1 Minute lang gemischt und durch ein 0,22 µm Millipore-Filter gefiltert. DCT wurde spektralphotometrisch durch Zugabe von bis zu 0,1 ml Zellextrakt zu 0,5 ml einer Lösung aus frisch zubereitetem DOPAchrom (~0,5 mg/ml) geprüft. Die Reaktionen wurden bei Raumtemperatur in Kunststoffküvetten durchgeführt, und das Verschwinden der Absorption bei 475 nm wurde verfolgt. Phenylthioharnstoff (1 mM) wurde zu der Reaktionsmischung hinzugefügt, weil die Anwesenheit von Tyrosinase im Zellextrakt den Assay zu stören vermag. Der Anteil der Umwandlung von DOPAchrom wurde pro mg Proteinextrakt berechnet und zur Kontrolle normalisiert. Es wurde nachgewiesen, dass 0,02 Vol.-Gewichtsprozent Kokosmilch (gefriergetrocknet) eine durchschnittliche Verringerung der DOPAchrom-Wandlung von 50% (42/58) im Vergleich zur Kontrolle bewirkte.

Beispiel 2 – DHICA-Polymerase-Assay (Kokosmilch)

[0030] Ein DHICA-Polymerase-Assay wurde gemäß dem Verfahren durchgeführt, das in Chakraborty et al., 1996, Polymerization of 5,6-dihydroxyindole-2-Carboxylic acid to melanin by the pm117/silver locus protein, Eur. J. Biochem., 236: 180–188 offenbart ist. Insbesondere wurde das Zellextrakt (0,5 ml, 150–200 µg Protein) durch eine Weizenkeimagglutininssäule (1 ml Bettvolumen) geführt, die mit einem Lysepuffer equilibriert war. Das gebundene Material wurde mit 0,5 ml 1 M N-Acetylglukosamin eluiert, das rohen DHICA-Polymerisationsfaktor und andere Melanogenproteine enthält. Eine Reaktionsmischung von 0,5 ml enthielt entweder die zu messende Enzymzubereitung (20 µg Protein aus Weizenkeimagglutinin-Eluaten) oder den geeigneten Blindpuffer, DHICA (0,5 mM) und 100 mM Natriumphosphatpuffer pH 7,0. Phenylthioharnstoff wurde ebenfalls zugegeben, um die endogene Tyrosinaseaktivität in der Zubereitung zu hemmen.

[0031] Der Spektralphotometriewert der Absorbanz der Reaktionsmischung wurde zu den Zeitpunkten T = 0 und T = 4 Stunden mit 400 nm genommen. Es hat sich gezeigt, dass DHICA-Melanin, doch nicht DHICA selbst das Licht bei diesen Wellenlängen absorbiert (Orlow et al., 1992, Synthesis and characterization of melanins from dihydroxyindole-2-carboxylic acid and dihydroxyndole, Pigment Cell Res. 5: 113–121). Eine Zunahme der Absorbanz im Vergleich zu den Blindröhren wurde als spezifische DHICA-Polymerisierungsfaktorwirkung definiert. Es wurde gezeigt, dass 0,02 Vol.-Gewichtsprozent Kokosmilch (gefriergetrocknet) durchschnittlich 52,5% (55%/50%) Abnahme der DOPAchrom-Wandlung im Vergleich mit der Kontrolle schaffte. Bei 0,05 Vol.-Gewichtsprozent schaffte die Kokosmilch (gefriergetrocknet) eine durchschnittliche Abnahme von 75% (74/76) an DOPAchrom-Wandlung im Vergleich zur Kontrolle.

Beispiel 3 – Melanosomaufnahme-Assay (Perillablattextrakt) Melanosom-Isolierung

[0032] Konfluente Kulturen von B16 Melanocyten produzieren moderate Melanosomspiegel. Um eine erhöhte Melanosomproduktion in dieser Zelllinie auszulösen, wurden jedoch semikonfluente (60%) Kulturen von B16 Zellen annähernd 36 Stunden lang mit normalem Wachstumsmedium behandelt, ergänzt durch 10 mM Ammoniumchlorid (Endkonzentr.). Das Medium wurde dann aspiriert, und die hypermelanotischen Zellen wurden mit destilliertem Wasser gewaschen (2 × 2 ml), um den Zellen eine hypotonische Belastung zu verschaffen. Ein Aliquot (2 ml) einer hypotonischen Lyselösung (0,02% NP-40 in Wasser) wurde zu jeder Platte hinzugefügt,

und die Platten wurden etwa 5 Minuten lang bei Raumtemperatur inkubiert. Nach der Verifizierung der Zelllyse unter dem Lichtmikroskop wurde das Zellmaterial von drei (3) Kulturplatten in einer konischen 15 ml Röhre gepoolt und annähernd 5 Minuten lang geschleudert ($200 \times g$), um Zellabfall zu entfernen. Der Melanosome enthaltende resultierende Überstand wurde in eine saubere, konische 15 ml Röhre übertragen und 20 Minuten lang geschleudert ($850 \times g$). Das resultierende Pellet mit den isolierten Melanosomen wurde in 1 ml phosphatgepufferter Saline (PBS) resuspendiert und bis zur Verwendung bei 4°C gelagert.

Behandlung von Keratinocyten mit Melanosomen

[0033] Die normalen menschlichen epidermalen Keratinocyten (NHEKs) (erhältlich bei Clonetics, Inc.) wurden in den Wells von 24-Well-Platten in einer Dichte von 200.000 Zellen/Well abgelegt. Etwa 24 Stunden später wurde das Wachstumsmedium mit oder ohne weitere Behandlungsbedingungen mit 1 ml des geeigneten Wachstumsmediums (d.h. DMEM/KGM-2) ersetzt, das die Melanosom-Zubereitung enthielt. Die Zellen wurden mit unterschiedlichen Konzentrationen von Perillablattextrakt (Pulverform oder wässrige Form) behandelt. Die Zellen wurden dann etwa 1,5 Stunden in den Inkubator zurück gegeben. Für diese Untersuchungen wurde jedes Keratinocyten-Well mit der Menge Melanosome behandelt, das von einer einzigen Platte B16 Zellen isoliert wurde.

[0034] In einigen Experimenten wurden die 24-Well-Platten behandelter Keratinocyten 15 Minuten lang mit 1.000 UpM geschleudert, um die Ablagerung der Melanosome auf die Oberflächenmembranen der Keratinocyten zu ermöglichen. Die Platten wurden dann 1,25 Stunden in den Inkubator zurück gegeben.

Analyse der Melanosomaufnahme

[0035] Zu Analyse Zwecken wurden die Zellen in den einzelnen Keratinocyten-Wells mit PBS gespült (3×1 ml), von der Platte mittels Trypsin/EDTA entfernt und mit PBS gewaschen. Zur Analyse der Melanosomaufnahme durch die Keratinocyten wurde das internalisierte Melanin nach einem modifizierten Verfahren von Bessou-Touya, S., et al. (Chimeric human epidermal reconstructs to study the role of melanocytes and keratinocytes in pigmentation and photoprotection. J. Invest. Dermatol., 111: 1103–1108, 1998) von den Zellen extrahiert und spektralphotometrisch durch Bestimmung der melaninspezifischen Absorbanz bei 405 nm quantifiziert.

Ergebnisse

[0036] Melanocyten synthetisieren Melanin und Ablagerungen auf Melanosomen. Die visuelle Manifestierung der Hautfarbe ist auf die Anwesenheit von Melanin/Melanosomen in Keratinocyten zurück zu führen. Melanosome werden von den Keratinocyten aufgenommen, und die Geschwindigkeit der Aufnahme, die Zurückbehaltung und Verarbeitung der Melanosome in den Keratinocyten ist eine Schlüsseldeterminante der Hautfarbe. Folglich reflektiert der Wert des internalisierten Melanins die Menge der Melanin/Melanosom-Aufnahme und Rückhaltung durch die Keratinocyten. Folglich zeigen niedrigere internalisierte Melaninwerte, insbesondere Werte des internalisierten Melanins, die unter der Kontrolle mit Melanin liegen, dass die Melaninaufnahme durch die Keratinocyten gehemmt worden ist. Wie in [Fig. 1](#) dargestellt, waren die Werte des internalisierten Melanins bei Perillablattextrakt niedriger als die Werte des internalisierten Melanins bei der Kontrolle mit Melanin.

Patentansprüche

1. Nichttherapeutisches Verfahren zur Aufhellung von Haut, Haar, Lippen und/oder Nägeln, umfassend das Aufbringen einer Zusammensetzung mit

a) einem topischen Aufhellungsmittel, das ein die Melaninsynthese regulierendes Mittel in einer Menge aufweist, die wirksam ist, um DOPachrom-Tautomerase, DHICA-Polymerase oder beide zu hemmen, wobei das topische Aufhellungsmittel von 0,001 Gew.-% bis 20 Gew.-% vorliegt und wobei das die Melaninsynthese regulierende Mittel aus der Gruppe ausgewählt ist, die aus Kokosnussmilch und einem Konzentrat davon besteht; und

b) einem Vehikel

topisch auf die Haut, das Haar, die Lippen und/oder das Haar*.

2. Verwendung einer Zusammensetzung mit

a) einem topischen Aufhellungsmittel, das ein die Melaninsynthese regulierendes Mittel in einer Menge aufweist, die wirksam ist, um DOPachrom-Tautomerase, DHICA-Polymerase oder beide zu hemmen, wobei das

topische Aufhellungsmittel von 0,001 Gew.-% bis 20 Gew.-% vorliegt und wobei das die Melaninsynthese regulierende Mittel aus der Gruppe ausgewählt ist, die aus Kokosnussmilch und einem Konzentrat davon besteht; und

b) einem Vehikel

zur Herstellung eines Medikaments zur Aufhellung von Haut, Haar, Lippen und/oder Nägeln.

3. Verfahren und Verwendung nach Anspruch 1 oder 2, wobei das die Melaninsynthese regulierende Mittel ein Konzentrat von Kokosnussmilch ist.

4. Verfahren und Verwendung nach Anspruch 1 oder 2, wobei das topische Aufhellungsmittel zudem ein die Melaninaufnahme hemmendes Mittel in einer Menge aufweist, die wirksam ist, um den Übertritt von Melanin von Melanozyten in Keratinozyten zu hemmen.

5. Verfahren und Verwendung nach Anspruch 4, wobei das die Melaninaufnahme hemmende Mittel ein Extrakt von Perilla ist.

6. Verfahren und Verwendung nach Anspruch 4, wobei das die Melaninaufnahme hemmende Mittel ein Extrakt ist, der aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus Perilla-Blatt, Perilla-Samen, Perilla-Stängel und Perilla-Wurzel.

7. Verfahren und Verwendung nach Anspruch 4, wobei das die Melaninsynthese regulierende Mittel ein Konzentrat von Kokosnussmilch ist und das die Melaninaufnahme hemmende Mittel ein Perilla-Blattextrakt ist.

8. Verfahren und Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei das topische Aufhellungsmittel in einer Menge von 0,01 bis 5 Gew.-%, bezogen auf das Gesamtgewicht der Zusammensetzung, vorliegt.

9. Verfahren und Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei das topische Aufhellungsmittel in einer Menge von 0,1 bis 2,5 Gew.-%, bezogen auf das Gesamtgewicht der Zusammensetzung, vorliegt.

10. Verfahren und Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei die Zusammensetzung eine Produktform hat, die aus der Gruppe ausgewählt ist, die aus einer Creme, einer Lotion, einem Einreibemittel, einem Gel, einem Schaum, einer Pomade, einem Aerosolspray, einem Pumpspray, einem Stift, einem Tuch und einem Pflaster besteht.

11. Verfahren und Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei die Zusammensetzung topisch auf die Haut aufgebracht wird.

12. Verfahren und Verwendung nach Anspruch 1, wobei die Zusammensetzung topisch aufgebracht wird, um einen Hautzustand zu behandeln, der aus der Gruppe ausgewählt ist, die aus Sommersprossen, dunklen Flecken, Hyperpigmentierung, Hyperpigmentierung nach Entzündung, Verfärbung, Melasma, Vergilbung, dunklen Ringen unter den Augen und jeder Kombination davon besteht.

Es folgt ein Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

Fig. 1

