

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
1. Februar 2001 (01.02.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 01/07005 A1**

(51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: A61K 7/48, 7/06

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP00/07007

(22) Internationales Anmeldedatum:  
21. Juli 2000 (21.07.2000)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:  
99/09766 26. Juli 1999 (26.07.1999) FR

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): LABORATOIRES SEROBIOLOGIQUES [FR/FR]; F-54425 Pulnoy (FR).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): PAULY, Gilles [FR/FR]; 5, rue des Bégonias, F-54000 Nancy (FR). MOSER, Philippe [FR/FR]; 4, rue Pasteur, F-54270 Essey les Nancy (FR). GILLON, Véronique [FR/FR]; 73 bis, rue Roger Bérin, F-54270 Essey les Nancy (FR).

(74) Anwalt: CABINET NUSS; 10, rue Jacques Kablé, F-67080 Strasbourg Cedex (FR).

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

**Veröffentlicht:**

- Mit internationalem Recherchenbericht.
- Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eintreffen.

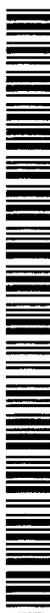
Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: USE OF A PROTEIN FRACTION OF THE SEED OF THE VIGNA TRILOBATA-PLANT IN A COSMETIC OR DERMOPHARMACEUTICAL COMPOSITION

(54) Bezeichnung: VERWENDUNG EINER PROTEINFRAKTION DES KORNS DER VIGNA TRILOBATA-PFLANZE IN EINER KOSMETISCHEN ODER DERMOPHARMAZEUTISCHEN ZUSAMMENSETZUNG

(57) Abstract: The invention relates to the use of at least one soluble protein fraction extracted from the seed of the vigna trilobata plant as an active substance in a cosmetic or dermatopharmaceutical composition for local application on the skin, epithelial appendages and/or mucous membranes.

(57) Zusammenfassung: Die Zielsetzung der vorliegenden Erfindung besteht in der Verwendung als Wirkstoff in einer kosmetischen oder dermatopharmazeutischen Zusammensetzung für die örtlich wirkende Anwendung auf der Haut, den Epithelanhanggebilden und/oder den Schleimhäuten von mindestens einer löslichen Proteinfraction, die aus dem Korn der Vigna trilobata-Pflanze extrahiert wurde.



**WO 01/07005 A1**

Verwendung einer Proteinfraction des Kornes der Vigna trilobata-Pflanze in einer kosmetischen oder dermopharmazeutischen Zusammensetzung

5

Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf das Gebiet der Kosmetik und der Dermopharmakologie und ihre Zielsetzung besteht in der Verwendung von mindestens einem Proteinextrakt des Kornes der Vigna trilobata-Pflanze, sowie einem kosmetischen Erzeugnis, das einen derartigen Extrakt enthält.

10

In Entwicklungsländern besteht eines der Hauptziele der für die Ernährung und Nahrungsaufnahme verantwortlichen, öffentlichen Behörden in der Suche nach neuen Nahrungsquellen und besonders nach preiswerten und guten Proteinen.

15

Aus diesem Grund widmen sie der Suche nach neuen Nahrungsquellen in der Gattung anbaubarer Gemüsepflanzen oder wilder Pflanzen ihre Aufmerksamkeit.

20

Im südlichen Teil Indiens werden bekanntlich reife Vigna trilobata-Körner geröstet und von der "Stammesekte" Kurumba verzehrt : sie werden ebenfalls von den ärmsten Bewohnern dieser Regionen gegessen.

25

Diese Pflanze wird in verschiedenen althergebrachten Artikeln unter der Bezeichnung Phaseolus trilobus Ait erwähnt (siehe besonders G.C. Toms : J. Pharmacy & Pharmacol, Band 30, 79 P, 1978) und ihre chemische Zusammensetzung, sowie ihr Nahrungspotential wurden von S. Siddhuraju, K. Vijayakumari und K. Janardanan beschrieben ("Nutritional and chemical evaluation of raw seeds of the tribal pulse Vigna trilobata" (L.) Verdc. International journal of food sciences and nutrition (1992), 43, n° 2, 97-103).

30

Die chemische Zusammensetzung (g/100 g des aus Körnern gewonnenen Mehls) der Vigna trilobata-Körner ist nach diesem Artikel die folgende :

35

- Feuchtigkeit : 5,19 %
- Proteine (N x 6,25) : 20,31 %
- Fasern (Ballaststoffe) : 8,81 %

- Fett : 5,54 %
- Asche : 2,71 %

mit einer Energie von 1594 kJ/100 g trockener Materie.

5

Die mineralische Zusammensetzung dieser Körner weist einen reichen Kalium- (1397 mg/100 g Mehl), Kalzium- (464 mg/100 g Mehl), Magnesiumgehalt (291 mg/100 g Mehl) auf.

- 10 In ernährungswissenschaftlicher Hinsicht gibt die Zusammensetzung an Aminosäuren an, dass die schwefelhaltigen Aminosäuren (Zystin und Methionin), Threonin und Isoleuzin in begrenzten Mengen vorzufinden sind, wohingegen Valin, Leuzin, Tyrosin, Phenylalanin und Lysin in ausreichender Menge vorhanden sind.
- 15 Man behauptet die Globulinfraktion der Proteine habe eine blutgerinnende Aktivität für die Gruppen A, B, O.

Aber die Erfinder haben auf unerwartete und erstaunliche Weise festgestellt, dass die Proteinextrakte der *Vigna trilobata*-Körner ausser ihrer nährreichen

20 Eigenschaften, ebenfalls in örtlich wirkender Anwendung auf der Haut, den Epithelanhänggebilden und den Schleimhäuten besondere biologische Wirkungen hervorrufen und über eine sehr gute Toleranz verfügen und dass die Verwendung als Wirkstoff, alleine oder in Verbindung mit mindestens einem anderen Wirkstoff, von mindestens einer lösbaren, aus *Vigna trilobata* extrahierten Proteinfraction in

25 einer Zusammensetzung oder einem kosmetischen oder dermopharmazeutischen Erzeugnis ermöglicht, spezifische, identifizierbare und quantitativ messbare Eigenschaften bei örtlich wirkender Anwendung auf der Haut, den Epithelanhänggebilden und/oder den Schleimhäuten zu erreichen.

- 30 So wurden besonders durch biophysikalisches Messen weichmachende, biofilmogene, sowie bestätigte, straffende Wirkungen konditionie-renden und korrigierende Wirkungen, sowie Anti-Reizwirkungen, lindernde, sowie Wirkungen gegen empfindliche Hauttypen festgestellt. (vorbeugende und heilende Behandlung empfindlicher Hauttypen).

Es wurde ebenfalls festgestellt, dass diese Extrakte das Kämmen trockenen und feuchten Epithelanhanggebildens erleichtern und die Weichheit und Geschmeidigkeit unbeschädigten Epithelanhanggebildens verbessern.

5 Die von den Erfindern vorgenommenen Tests haben ausserdem folgende zusätzliche Eigenschaften hervorgehoben :

- ein ausgeprägtes Zellnährungsvermögen,
- Stimulationswirkungen des Zellenwachstums und -metabolismus
- 10 (energiespendende, stimulierende, Anti-Älterungs-Aktivität),
- eine Aktivierung und Stimulation des Kollagennetzes und des Ausscheidens von Glukosaminoglykanen (vernarbende, straffende, stärkende Wirkung, Reduzierung der Zusammenziehen (Atrophie) der Lederhaut),
- eine starke Anti-Apoptose-Wirkung,
- 15 - eine hohe zytphotoschützende Aktivität gegen oxydativen Stress, der durch UV-A-Strahlen hervorgerufen wird,
- eine Verminderung der durch UV-B-Strahlen ausgelösten Entzündung,
- eine Anti-Protease-Aktivität, die zu einer Anti-Elastase-Aktivität führen kann.

20 Im nachfolgenden Text werden verschiedene Beispiele für Vorgänge zur Gewinnung der vorab erwähnten Extrakte beschrieben und danach die vorgenommenen Tests zur Kennzeichnung und Auswertung der Eigenschaften der besagten Extrakte, die von den Erfindern entdeckt wurden.

25

#### I) ZUBEREITUNG DER PROTEINEXTRAKTE DER VIGNA TRILOBATA-KÖRNER

Die Zubereitung der Proteine wird durch die herkömmlichen Techniken zur Extraktion von Pflanzenproteinen, der Zubereitung von Konzentratgehalt oder

30 Proteinisolaten oder durch Reinigung (Ultrafiltrieren, Ionenaustausch-Chromatographie, Affinitätschromatographie, Ausfällung, Adsorption) vorgenommen, die dem Fachmann auf dem Gebiet bekannt sind.

Aber vorzugsweise erfolgt die Extraktion mit Wasser oder einer wässrigen Lösung

35 bei einem gegebenen pH-Wert, eventuell durch einen Ultraschallerzeuger.

Als Beispiele zur Veranschaulichung, aber nicht zur Einschränkung werden nachstehend verschiedene Vorgänge zur Gewinnung und Zubereitung von Proteinextrakten ausgehend von zwei verschiedenen, abgeteilten Vigna trilobata-Körnermengen indischen Ursprungs beschrieben.

5

Der Proteingehalt (N x 6,25) der beiden, jeweils A und B genannten Körnermengen beträgt 20,75 % und 20,92 %.

### BEISPIEL 1

10

In 1,25 Liter destilliertes Wasser werden 125 g Mehl gegeben, das durch Zerquetschen trockener Vigna trilobata-Körner gewonnen wurde.

15

Nach 15-minütigem Rühren wird der pH der Lösung dem pH von 7,5 mit Natronlauge angepasst .

Die Extraktion wird 2 Stunden lang bei Raumtemperatur vorgenommen, indem der Extraktions-pH-Wert bei 7,5 gehalten wird.

20

Nach 10-minütigem Zentrifugieren bei 5000 g wird der auf der Oberfläche schwimmende beige Stoff aufgefangen und danach auf 0,5 µm filtriert.

Der Extrakt kann durch herkömmliche Techniken, wie zum Beispiel Zerstäubung, Gefriertrocknen oder dergleichen entwässert werden.

25

Nach dem Zerstäuben weist das pulverartige gewonnene Erzeugnis einen Proteingehalt (N x 6,25) von 42,5 % (Extrakt 1a) auf.

30

Ein zweiter, unter den gleichen Voraussetzungen präparierter Extrakt von einer anderen Körnermenge ermöglicht einen Extrakt zu gewinnen, der einen Proteingehalt (N x 6,25) von 46,4 % (Extrakt 1b) enthält.

### BEISPIEL 2

35

In 2,5 Liter destilliertes Wasser werden 250 g Mehl gegeben, das durch Zerquetschen von Vigna trilobata-Körnern gewonnen wurde und die Lösung wird wie im Beispiel 1 verarbeitet.

Man gewinnt 2,15 Liter beige Lösung.

Der pH-Wert der Lösung wird mit Schwefelsäure auf pH 4,5 angeglichen und 30 Minuten unter Rühren gelassen.

5

Die Lösung wird danach 15 Minuten bei 5000 g zentrifugiert: der Niederschlag und die an der Oberfläche schwimmende Materie werden aufgefangen.

10 Der Niederschlag wird als Lösung in ein Wasservolumen gegeben, das 20 % des Volumens vor dem Niederschlag entspricht. Der pH-Wert der Lösung wird mit NaOH angeglichen, bis er sich bei 7,5 stabilisiert.

15 Die Lösung wird wieder zentrifugiert, um die unlöslichen Stoffe abzusondern. Man gewinnt 600 ml Lösung eines 3,5 %igen trockenen Extrakts, der durch Zerstäubung entwässert wird.

Nach der Zerstäubung weist das gewonnene pulverartige Erzeugnis einen Proteingehalt (N x 6,25) von 80,6 % (Extrakt 2a) auf.

20 Ein zweiter Extrakt wird unter den gleichen Voraussetzungen aus einer anderen Körnermenge zubereitet, er ermöglicht einen Extrakt zu gewinnen, der eine Proteingehalt (N x 6,25) von 80,7 % (Extrakt 2b) aufweist.

25 Aus Experimenten mit Ausfällungen, die bei verschiedenen pH-Werten fraktioniert wurden, gehen folgende Ergebnisse hervor :

Art der Fraktion	Proteingehalt (%)
Niederschlag pH 6,5	65,3
Niederschlag pH 6,0	83,1
30 Niederschlag pH 5,5	85,0
Niederschlag pH 5,0	84,8

### BEISPIEL 3

35 Die an der Oberfläche schwimmenden, nach dem Niederschlag der Proteine bei pH 4,5 nach dem Beispiel 2 gewonnenen Stoffe werden auf 0,5 µm und dann auf

0,22  $\mu\text{m}$  gefiltert : die klaren, gewonnenen Lösungen werden durch Zerstäubung entwässert.

Das gewonnene Pulver weist einen Proteingehalt von 15 % bis 20 % auf und eine  
5 Hemmungsaktivität des Trypsins, die durch die Kakade-Technik mit 8,4 TUI/mg bis 13,3 TUI/mg bestimmt wurde.

Diese Fraktionen können deshalb als Grundlage für die Reinigung von  
Proteasehemmern dienen (im Hinblick auf die Verwendung eines Extrakts, der aus  
10 einer mit Proteasehemmern angereicherten Fraktion besteht).

#### BEISPIEL 4

200 ml roher Extrakt (pH 7,5), der nach Beispiel 1 zubereitet wurde, werden in eine  
15 Ultrafiltrationszelle des Typs Amicon 8200 gegeben, die mit einer 100 000 Da-  
Ultrafiltrationsmembran (Ref. YM100, Durchmesser 6 cm) versehen ist.

Die Lösung wird bis auf 50 ml konzentriert (Druck der Druckluft 3 bar).  
Permeat P1 und Retentat R1 werden aufgefangen.

20

Dem Retentat werden 150 ml destilliertes Wasser hinzugefügt und die Lösung wird  
noch einmal bis auf 50 ml konzentriert (Retentat R2).

Retentat R2 wird durch Gefriertrocknung entwässert : man gewinnt eine Fraktion mit  
25 einem 80,7 %igen Proteingehalt (N x 6,25).

#### BEISPIEL 5

Ein Proteinkonzentrat wird nach Beispiel 2 ausgehend von 350 g Körnern zubereitet,  
30 wobei die anfängliche Extraktion in einem Verhältnis Mehl/Lösungsmittel von 1/15  
vorgenommen wurde.

Der Niederschlag wird bei pH 7,5 in 1,5 Liter destilliertem Wasser aufgelöst.

35 Man gewinnt am Ende 500 ml Proteinkonzentratlösung mit 57,53 g/l an Proteinen (N  
x 6,25).

Die Proteine werden bei pH zwischen 7,5 und 8,5 mit einer Alkalinprotease hydrolysiert (2,5 % im Verhältnis zu den Proteinen der Lösung).

- 5 Die Hydrolyse wird 2 Stunden lang bei optimierter Temperatur und optimiertem pH-Wert des verwendeten Enzyms vorgenommen, die optimierten Werte sind dem Fachmann bekannt.

10 Das Enzym wird durch Erhitzen auf 100° C während mindestens 10 Minuten inaktiviert.

Nach der Abkühlung auf Raumtemperatur wird die Lösung zentrifugiert und dann bis auf 0,22 µm gefiltert.

- 15 Man gewinnt 460 ml dunkles, reines Filtrat bei 6,39 % Trockenextrakt (Proteine 45,2 g/l).

Nach der Zerstäubung weist das gewonnene Pulver einen Proteingehalt von 70,75 % auf (Extrakt 3a) auf.

20

Die Analyse durch Gelpermeation auf einer Säule des Typs Superose 12 HR der durch diese verschiedenen Methoden extrahierten Fraktionen ermöglicht mindestens 10 Proteinfractionen zu kennzeichnen, die je nach den Extrakten mehr oder weniger gross und sichtbar sind, als Beispiele auf Figur 1 (Verteilung der Proteinverbindungen des Extrakts 1b) und auf Figur 2 (Verteilung der Proteinverbindungen des gewonnenen Extrakts im Beispiel 4), das heisst:

25

- eine Fraktion (mit F1 bezeichnet) mit sehr hohem Molekulargewicht (über 500 000 Da und nahe 1000 000 Da der Eichung der Säule nach),

30 - eine Fraktion F2 deren Molekulargewicht zwischen 250 000 Da und 300 000 Da (295 000 Da) liegt,

- eine Fraktion F3 deren Molekulargewicht zwischen 100 000 Da und 150 000 Da (138 000 Da) liegt,

35 - vier mit F4, F5, F6 und F7 bezeichnete Fraktionen deren Molekulargewichte zwischen 5 000 Da und 70 000 Da liegen,

- drei mit F8, F9 und F10 bezeichnete Fraktionen deren Molekulargewichte zwischen 500 Da und 3 000 Da liegen.

Die Bestandteile des Hydrolysats, das nach dem vorhergegangenen Beispiel 5 ausgeführt wurde, weisen ein durchschnittliches Molekulargewicht von 3 000 Da auf (siehe Figur 3: Kurve des gleichen Typs wie die der Figuren 1 und 2).

5 Die durch die beschriebenen Verfahrensbeispiele gewonnenen Extrakte sind direkt in flüssiger Form verwendbar oder nach dem Trocknen nach den herkömmlichen Entwässerungstechniken (Zerstäubung, Gefrier-trocknung).

10 Die gewonnenen Proteinfractionen können entweder in ihrer ursprünglichen Form, ohne eine Veränderung der Strukturen oder in der Form einer oder mehrerer natürlichen Verbindung/en von mindestens zwei oder allen extrahierten Fraktionen unterschiedlichen sichtbaren Molekulargewichte verwendet werden, die verschiedenen Chromatogrammpicks entsprechen, die auf den beiliegenden Zeichnungen dargestellt sind und die sich auf natürliche Weise in den Körnern  
15 (totaler oder teilweiser Proteinextrakt) oder in isolierter Form befinden.

Die Proteinfractionen können in Zusammensetzungen in ihrer durch irgendeine der folgenden Bearbeitungen veränderten oder funktionalisierten Form verwendet werden :

20

- die Polymerisation der ursprünglichen Proteine ;  
- die chemische Hydrolyse der ursprünglichen Proteine ;  
- die enzymatische Hydrolyse der ursprünglichen Proteine durch Proteasen tierischen, pflanzlichen, mikrobiellen oder fungischen Ursprungs : Pepsin, Trypsin,  
25 Chymotrypsin, Papain, Pronase, Bromelaine, Endoproteinase, Thermitase, Proteasen des Bacillus subtilis, Aspergillus niger, Aspergillus aryzae (Subtilisin, Alkalase, Neutrase) ;

30

- mikrobische Veränderung mit der Verwendung von Proteinen von Vigna trilobata als Fermentationssubstrat durch verschiedene Mikroorganismen, wie zum Beispiel Hefesorten (Saccharomyces - Hefepilze), Schimmelpilze (Aspergillus), Bakterien, (Bazillus und dergleichen) ;

- chemische oder enzymatische Funktionalisierung durch Verfahren wie zum Beispiel der Entzug des Stärkemehls, Succinilisierung oder Phosphorylisierung ;

- Quaternisierung ;

35

- Pfropfung der saccharidischen oder lipidischen Moleküle oder jegliche andere chemische Veränderung durch Pfropfung.

Die Extrakte oder lösbaren Proteinfractionen nach der Erfindung können auch in jeden anderen zutreffenden kosmetischen Vektor hinzugefügt oder mit ihm verbunden werden, zum Beispiel filmbildende Mittel, Liposome, Zyklodextrine, Micellen, Makro-, Mikro- und Nanopartikel, sowie Makro-, Mikro und Nanokapseln oder sie können absorbiert oder auf organische Polymere oder mineralische Träger verpflanzt werden.

## 10 II) NACHWEIS DER EIGENSCHAFTEN DER PROTEINEXTRAKTE VON VIGNA TRIBOLATA

Die biologischen Eigenschaften und Aktivitäten der Proteinextrakte von Vigna trilobata konnten durch Tests bestimmt und gemessen werden, die dem Fachmann auf dem Gebiet bekannt sind, ihre Ergebnisse werden nachstehend aufgeführt :

15

### 1) WIRKUNGEN AUF DAS ZELLENWACHSTUM

Menschliche Fibroblaste werden in ein Optimum-Medium (mit SVF) geimpft und 24 Stunden lang bei 37° C inkubiert.

20

Das Wachstumsmedium wird danach durch ein Sub-Optimum-Medium (ohne SVF) ersetzt, das verschiedene Konzentrationen von Extrakten nach der Beschreibung der Erfindung enthält. Nach einer 3tägigen Inkubation wurde das Wachstum durch eine Zählung der haftenden Zellen durch einen automatischen Partikelzähler und durch die Dosierung der intrazellularen ATP-Gehalt ausgewertet.

25

Die Versuche wurden in dreifacher Ausführung vorgenommen und zwei- oder dreimal wiederholt.

30 Die Ergebnisse werden im Verhältnis zu einer Prüfmasskala berechnet und danach in einem Prozentsatz im Verhältnis zum unbehandelten Kontrollmittel angegeben und schliesslich als Durchschnittswert mit SEM (Fehlertyp des Durchschnitts) erstellt.

35 Die Ergebnisse der Figur 4 zeigen, dass die Extrakte 1a und 2a bei Dosen, die zwischen 0,003 % und 0,03 % (Gew./Vol. - Gewicht-Volumen) liegen, die Anzahl der Zellen und die ATP-Gehalt in den menschlichen Fibroblasten in in vitro-Wachstum

deutlich steigern (die Figuren 4A und 4B stellen jeweils die nach drei Tagen gezählten Zellen und die ATP-Gehalt nach drei Tagen für verschiedene Konzentrationen mit 1a- und 2a-Extrakten) dar.

## 5 2) WIRKUNGEN AUF DAS ÜBERLEBEN

Der Test wird auf Fibroblasten nach dem gleichen Protokoll wie das Wachstum vorgenommen, wobei die Inkubationsdauer 72 Stunden beträgt.

10 Das Überleben wurde durch die Dosierung der folgenden Gehaltn ausgewertet :

- von Proteinen,

- von Adenosin-Triphosphat (ATP), einer energiereichen Verbindung, die hauptsächlich durch Mitochondrien erzeugt wird und für die Aktivität der zahlreichen  
15 Enzyme des Zellenaufbaus erforderlich ist,

- von Glutathion (GSH), ein direkt von der Zelle erzeugtes Peptid, zur Bekämpfung von oxydativem Stress oder von verschiedenen Schmutzstoffen, wie zum Beispiel Schwermetalle. Seine Synthese erfordert ATP als Energiequelle.

20 Die Art der Angabe der Ergebnisse ist identisch mit der des Wachstumstests. Die Figuren 5A und 5B stellen jeweils die Proteingehalt und die GSH-Gehalt dar, die nach drei Tagen für verschiedene Konzentrationen mit 2a-, 2b und 3-Extrakten gemessen wurden.

25 Die Ergebnisse der Figuren 5A und 5B (Figur 5) geben an, dass die Proteinextrakte von *Vigna trilobata* nach dem Beispiel 2 bei 0,05 % (Gew./Vol.) die Gehalt der Proteine und des Glutathion in den menschlichen Fibroblasten im in vitro-Überleben deutlich steigern.

30 Der Extrakt nach dem Beispiel 3 bei 0,01 % Gew./Vol.) steigert ebenfalls leicht die Gehalt der Proteine und des Glutathion in menschlichen Fibroblasten im in vitro Überleben.

Diese Ergebnisse geben an, dass die ursprünglichen oder hydrolysierten  
35 Proteinextrakte von *Vigna trilobata* nach der Erfindung hohe Fähigkeiten zur Verbesserung des Wachstums und des Metabolismus (Synthese von ATP, der Proteine und des Glutathion) durch die menschlichen Fibroblaste aufweisen, was

deutlich eine energispendende, stimulierende und "Anti-Älterungs"- Aktivität dieser Extrakte angibt.

### 3) NACHWEIS DER AKTIVIERUNG DES ZUSAMMENZIEHEN DES 5 KOLLAGENNETZES

#### a) Prinzip

Das Zusammenziehen des Kollagenetzes ergibt sich aus einer Serie biologischer Funktionen, die durch Fibroblaste ausgelöst werden, sie ermöglicht in vivo die  
10 Vernarbung von Wunden und ebenfalls das Beibehalten einer guten Lederhaut.

Daher bildet das Zusammenziehen des Kollagenetzes in vitro ein gutes Modell für die Auswertung der Fähigkeiten einer Substanz die Vernarbung zu aktivieren oder die Zusammenziehen der Lederhaut einer alten Person zu reduzieren.

15

#### b) Ausführungsart

- Suspensierung der menschlichen Fibroblaste durch Trypsinisierung,
- Vermischung der menschlichen Fibroblaste mit einem Nährboden, der Extrakte nach der Erfindung und eine Lösung von Kollagen des Typs I enthält,
- 20 - 14tägige Inkubation bei 37° C, CO<sub>2</sub> = 5 %,
- Messen der beiden orthogonalen Durchmesser alle 2 bis 3 Tage und Berechnung der Oberfläche in cm<sup>2</sup>,
- Färbung der GAG mit Alzianblau und Mengenbestimmung der Intensität der Färbung der Lichthülle (Aureole), die die Fibroblaste umgibt, durch einen  
25 Bildanalytiker.

Die Figuren 6 und 7 der Zeichnungen im Anhang stellen jeweils die Oberflächen der Stäbchen in cm<sup>2</sup> und die abgesonderten GAG-Gehalten (in perizellulärer Färbungsintensität) am 14. Tag der Inkubation mit verschiedenen Konzentrationen  
30 der Extrakte 2a und 2b dar.

Im allgemeinen findet in einem Nährboden ohne Kalbsfötenserum (SVF) kein Zusammenziehen des Kollagenetzes statt.

35 Die Geschwindigkeit und die Intensität des Zusammenziehens des Netzes variieren beachtlich von einem Versuch zum anderen, aber beim Vergleichen der Ergebnisse innerhalb des gleichen Versuchs kann man behaupten dass :

- SVF das Zusammenziehen des Kollagennetzes durch die menschlichen Fibroblaste ermöglicht hat,
- die Proteinextrakte von *Vigna trilobata* nach Beispiel 2 alleine das Zusammenziehen des Netzes genau so gut oder besser als SVF erreichen und diese
- 5 Wirkung wird bei Vorhandensein von 2 %igem SVF wieder gefunden,
- ausserdem wird die von den Fibroblasten abgesonderte GAG-Gehalt bei Vorhandensein des Extrakts 2b gesteigert.

10 Diese Ergebnisse zeigen eine straffende und erfrischende Aktivität der Extrakte nach der Erfindung an, sowie eine Fähigkeit die Zusammenziehen der Lederhaut bei alten Personen zu reduzieren.

#### 4) NACHWEIS EINER ANTI-APOPTOSE-AKTIVITÄT

##### 15 a) Prinzip

Die Apoptose ist ein biologischer, aktiver Vorgang, der von lebenden Organismen verwendet wird, um gewisse Zellen ihrer Gewebe durch Autolyse zu beseitigen, insbesondere eine Zerstörung der Proteine und des nuklearen ADN in kleine Fragmente, die in das Zytoplasma ausgesalzen werden.

20

Diese kleinen ADN-Fragmente werden als Parameter für die Auswertung der Apoptosegehalt genommen, die bei den Keratinozyten im in vitro-Nährboden induziert wurde.

25 Die Apoptose kann auch durch einen oxydativen Stress (UV-R, Entzündung), durch eine Entbehrung von Wachstumsfaktoren oder durch giftige Substanzen (Schadstoffe, genotoxische Stoffe ...) induziert werden.

30 Das Prinzip des Tests besteht im Nachweis der Fähigkeiten der Extrakte nach der Erfindung die Apoptosegehalt zu reduzieren, die in einen Nährboden mit Zellen induziert wurde, die einen Mangel an Wachstumsfaktoren aufweisen.

##### b) Zubereitung der menschlichen Zellen

35 Die menschlichen Keratinozyten werden in einen kompletten Nährboden geimpft (mit Kalbsfötenserum oder SVF), der einen ADN-Markierer enthält : Bromodesoxy-Uridin oder BrdU.

Die Zellen erhalten dann einen Nährboden ohne Serum, der verschiedene Konzentrationen der zu testenden Substanzen enthält und die 1 oder 2 Tage lang bei 37° C inkubiert werden. Nach der Inkubation werden die Zellen durch Trypsinierung zurückgewonnen und danach analysiert.

5

c) Mengenbestimmung der Gehalt der apoptotischen Zellen

In dieser Methode werden die Zellen lysiert und die Gehalt der apoptotischen Zellen wird durch einen ELISA-Test mengenbestimmt, der BrdU offenbart, das in die zytoplasmischen ADN-Fragmente eingebaut wurde.

10

Die Ergebnisse werden in einem Prozentsatz im Verhältnis zum Kontrollmittel (Henseleit U, Rosenbach T, Kolde G : "Induction of apoptosis in human HaCaT keratinocytes."; Archiv. Dermatol. Res. (288) 11, 676-683, 1996) angegeben.

15

d) Schlussfolgerungen

Die Figuren 8A und 8D stellen die Zählung der Zellen und die Apoptosegehalt (Gehalt der ADN-Fragmente) für die Extrakte 1a, 1b, 2a und 2b für verschiedene Konzentrationen dar.

20

Die Ergebnisse der Figur 8 zeigen dass :

- in Keratinozyten, die mit den 0,01 %igen Extrakten 1a und 1b % und 0,03 % (Gew./Vol.) behandelt wurden, die Apoptosegehalt im Verhältnis zur Kontrollmittelmenge, die in einem Nährboden ohne SVF behandelt wurde, stark sinkt,

25

- in den Keratinozyten, die mit den Extrakten 2a und 2b in Dosen zwischen 0,01 % und 0,02 % (Gew./Vol.) behandelt wurden, die Apoptosegehalt im Verhältnis zur Kontrollmittelmenge, die in einem Nährboden ohne SVF behandelt wurde, stark sinkt.

30

Die Extrakte nach der Erfindung haben beachtliche Fähigkeiten aufgewiesen die Gehalt der Apoptosen zu reduzieren, die in einen Nährboden menschlicher Zellen induziert wurden, die einen Wachstums-faktor entbehren, was die hohen Fähigkeiten dieser Extrakte erklärt das Altern von Gewebe durch eine "growth-factor-like"-Wirkung (Typ Wachstumsfaktor) zu bekämpfen.

## 5) NACHWEIS DER FÄHIGKEITEN DER ZYTOSCHUTZES GEGEN OXYDATIVEN STRESS

### a) Prinzip

- 5 Die Zielsetzung dieses Tests besteht in der Auswertung der Anti-oxydativen Stress-Fähigkeiten der Proteinextrakte von *Vigna trilobata* nach der Erfindung durch einen Test auf menschlichen Fibroblasten in einer *in vitro*-Kultur.

10 Dieser *in vitro*-Test wertet die Fähigkeiten der Zytphotoschutz der menschlichen Fibroblaste gegen UV-A aus. Die UV-A werden als Studienmodell ausgewählt, weil sie bis in die Lederhaut dringen und einen oxydativen Stress in die Haut induzieren, der besonders eine Lipoperoxydation der zytoplasmischen Membrane und eine Senkung der Aktivität zahlreicher Enzyme darunter die der Katalase offenbart. Die gebildeten Lipoperoxyde spalten sich in Malonaldialdehyd, das für die Retikulation  
15 zahlreicher biologischer Moleküle, wie zum Beispiel Proteine (Enzymhemmung) und nukleische Basen (Mutagenese) verantwortlich ist.

Ausserdem wurde bewiesen, dass die Katalasehemmung die Fibroblaste sehr empfindlich gegen Hydrogen-Peroxyd ( $H_2O_2$ ) macht, das durch die UV-B oder UV-A induziert wird.

20

Denn  $H_2O_2$  muss schnell beseitigt werden, weil es sonst beim Vorhandensein von Eisen sehr giftige hydroxyle Radikale ( $HO^\bullet$ ) bildet.

### b) Zytphotoschutz-Test

- 25 Fibroblaste werden in einen Nährboden geimpft, der mit Kalbsföten-serum definiert wird (SVF).

Die *Vigna trilobata*-Extrakte nach der Erfindung wurden 2 bis 3 Tage nach dem Einimpfen hinzugefügt.

30

Nach einer 1- bis 2tägigen Inkubation bei  $37^\circ C$  und  $CO_2 = 5\%$ , wird der Nährboden durch eine Salzlösung ersetzt und die Fibroblaste werden mit einer UV-A-Dosis (3 bis  $15 J/cm^2$ ) bestrahlt.

35

Nach dem Ende der Bestrahlung wird die MDA-Gehalt (Malonaldialdehyd) in einer an der Oberfläche schwimmenden Salzlösung dosiert und die Gehalt der Proteine,

des reduzierten Glutathion (GSH) und der aktiven Katalase werden in den Fibroblasten gemessen.

5 MDA wird durch die Reaktion auf Thiobarbituratsäure und die Proteine nach der sogenannten Bradford-Methode dosiert, wohingegen GSH durch eine fluoreszierende Sonde dosiert wird. Die Gehalt der aktiven Katalase wird nach einer spektrophotometrischen Methode dosiert und die Aktivität der Katalase wird auf die Proteingehalt bezogen, die in den Fibroblasten gemessen wurde.

10 c) Schlussfolgerung

Die Figuren 9A und 9B stellen die gemessenen Gehalt von MDA, der Proteine, von GSH und der Katalase dar, die die verhältnismässige zytophotoschützende Aktivität (% im Verhältnis zu den Kontrollmitteln) der Extrakte 1a und 2a darstellt.

15 Die Ergebnisse der Figur 9 zeigen, dass die Vigna trilobata-Extrakte nach der Erfindung beachtliche Fähigkeiten zur Reduzierung des Gehalts der induzierten Lipoperoxyde und der Katalase, die durch die UV-A gehemmt wurde, welche auf einem Nährboden von menschlichen Fibroblasten im in vitro-Überleben angewendet wurden, aufweisen.

20

Sie könnten wenigstens teilweise durch eine Aktivierung der Glutathionsynthese in den Fibroblasten wirken.

25 Diese Ergebnisse deuten also auf hohe Fähigkeiten der Vigna trilobata-Extrakte die schädlichen Auswirkungen von oxydativem Stress auf der Haut zu reduzieren.

## 6) NACHWEIS DER ANTI-ENTZÜNDUNGSEIGENSCHAFTEN IN VITRO

### a) Prinzip

30 Die Zielsetzung dieser Tests besteht im Nachweis der Anti-Entzündungseigenschaften der Vigna trilobata-Extrakte auf einem Nährboden mit menschlichen Keratinozyten im in vitro Überleben.

35 UV-B wurde als Induziermittel ausgewählt, weil sie eine kutane Entzündung (Erythem, Ödem) durch die Aktivierung von Enzymen hervorrufen, wie zum Beispiel die Phospholipase A2 (PLA2), die arachidonische Säure (ungesättigte Fettsäure) freigibt, die in den biologischen Membranen vorhanden ist. Dies führt einerseits zu

einer Beschädigung der Membrane und der Synthese der Entzündungs-Übertragungstoffe (Mediator), denn die arachidonische Säure wird unter der Wirkung der sogenannten "Zyklo-Oxygenase"-Enzyme in Prostaglandinen (PG), wie PGE<sub>2</sub> umgewandelt. Die PGE<sub>2</sub> werden ausserhalb der Zelle freigegeben und sie werden durch Fixierung auf spezifischen Empfängern ein Erythem und ein Ödem induzieren.

Ausserdem induzieren die UV-B Lesionen des ADN in die Keratinozyten, die direkt sein können, wie Thymidin-Dimere oder indirekt, wie im Fall der Apoptose (die durch die UV eingeleitet wurde) wo das ADN fragmentiert wird und dann im Zytoplasma in der Form kleiner Fragmente ausgesalzt wird.

#### b) Ausführungsweise

Alle Wirkungen der UV-B wurden auf in vitro Kulturen von Keratinozyten ausgewertet.

#### \* Zubereitung der Keratinozyten

- Einimpfen in einen kompletten Nährboden, der ggfs. BrdU (Bromodesoxyuridin) enthält für die Dosierung der zytoplasmischen ADN-Fragmente.
- 20 - 3tägige Inkubation bei 37° C,
- Einsetzen der Wirkstoffe in einer Glukose-Salzlösung,
- Bestrahlung durch UV-B mit einer Dosis von 50 mJ/cm<sup>2</sup>,
- 1tägige Inkubation bei 37° C

#### \* Dosierungen

- 25 Zurückgewinnung des an der Oberfläche schwimmenden Mediums zur :
  - Dosierung des aktiven LDH, zur Auswertung der Schäden von UV-B auf die Membranen,
  - Dosierung des PGE<sub>2</sub>-Gehalts (ELISA-Test)

- 30 Zurückgewinnung der haftenden Keratinozyten durch Trypsinisierung zur:
  - Zählung durch einen automatischen Partikelzähler,
  - Dosierung der Gehalt der zytoplasmischen ADN-Fragmente (ELISA-Test) zur Auswertung der schädlichen Wirkungen der UV-B auf das ADN.

- 35 Die Ergebnisse werden im Verhältnis zu einer Prüfmasskala berechnet und dann auf die Anzahl der Zellen bezogen und in % im Verhältnis zum nicht behandelten und bestrahlten Kontrollmittel angegeben.

c- Schlussfolgerung

Die Figuren 10A und 10B der beiliegenden Zeichnungen stellen die verhältnismässigen Aktivitäten im Bezug auf die Anti-Entzündungs-Eigenschaften der Extrakte 1a, 1b, 2a und 2b dar.

5

Die Ergebnisse der Figur 10 geben an, dass die verschiedenen Extrakte von Vigna trilobata nach der Erfindung (zu 0,01 % oder 0,02 %) die Wirkungen der UV-B auf die Anzahl der Keratinozyten, auf die Gehalt der freigelegten LDH und PGE2 und auf die Gehalt der Fragmente des zytoplasmischen ADN erheblich reduziert haben.

10

Diese Vigna trilobata-Extrakte nach der Erfindung weisen also hohe Fähigkeiten auf, durch UV-B auf die biologischen Membranen und auf das ADN eingeführte Lesionen zu reduzieren und den durch die UV-B auf den menschlichen Keratinozyten induzierten Entzündungsprozess zu reduzieren.

15

7) NACHWEIS EINER ANTI-EMPFINDLICHEN HAUT-EIGENSCHAFT DURCH EINEN TEST MIT CAPSAIZIN

a) Prinzip des Versuchs

20

Der Versuch besteht in einer empfindungsgemässen Auswertung der erzeugten Wirkungen nach einer standardisierten Anwendung von Capsaizin zu 0,075 % in vivo auf dem Menschen : Reiz, Brennen, Schmerz und Erythem. Der Versuch wird von einem fachkundigen Assistenten unter standardisierten Voraussetzungen hinsichtlich der Temperatur und der relativen Feuchtigkeit auf einer Testperson vorgenommen, die sehr empfindlich gegen Capsaizin im Gesicht ist ; beide Personen sind auf die empfindungsgemässe Beschreibung der während des Tests beobachteten Wirkungen trainiert worden.

25

b) Nachweis der Anti-empfindliche Haut-Wirkung

30

Auf einer auf die Wange begrenzte kutane Zone wird der Extrakt 2a, der mit 1,5 % in eine H/E-Emulsion eingeführt wurde, angewandt. 30 Minuten nach dem Trocknen wurde eine mit 0,075 % Capsaizin dosierte Creme ebenfalls angewandt. Während der 30 darauffolgenden Minuten werden die von Capsaizin erzeugten Wirkungen auf einer halb-quantitativen Messkala mit 4 Punkten (von 0 = keine bis 3 = schwere) ausgewertet :

35

- durch die Testperson: Reiz, Brennen, Schmerz nach ihrer Empfindung,
- durch den fachkundigen Assistenten : Erythem.

Der Versuch wurde gegen ein Placebo (nur H/E-Emulsion) und gegen ein  
5 Kontrollmittel (nicht im voraus behandelte Haut, auf die nur Capsaicincreme  
angewendet wird) vorgenommen.

Unter diesen Voraussetzungen verbessert der 2a-Extrakt die Parameter für den  
Schmerz und den Reiz um 83 % (25 % für Placebo) und den Parameter für Erythem  
10 um 22 % (14 % für Placebo), wodurch seine lindernde, Anti-Reiz und Anti-  
empfindliche Haut-Wirkung bewiesen wird.

8) NACHWEIS EINER STRAFFENDEN WIRKUNG DURCH EINE QUANTITATIVE  
IN VIVO MESSUNG BEIM MENSCHEN, DURCH EINE HORIZONTALE  
15 AUSDEHNUNGSMESS-TECHNIK

#### a) Prinzip des Versuchs

Der Versuch besteht im Messen der Verschiebung der Haut nach einer  
sinusförmigen, konstanten Kraft, die parallel zu ihrer Oberfläche ausgeübt wird. Die  
20 Messvorgänge finden nach einer Vorrichtung des Typs statt, auf die sich die  
französische Patentanmeldung N° 98 12125 auf den Namen des Antragstellers  
bezieht.

Die Bearbeitung der Signale der Kraft und Ausdehnung durch eine Hysterese-  
25 Ellipse ermöglicht die Berechnung der dynamischen Anstrengung oder DSR  
(Dynamic Spring Gehalt). Die Anwendung eines straffenden Erzeugnisses auf der  
Oberfläche der Haut äussert sich durch eine Zunahme des DSR, eine Konsequenz  
bei konstanter Kraft, einer Verminderung der Ausdehnung der Haut während der  
Beanspruchung. Die Apparatur wird vollständig computergesteuert. Die Versuche  
30 werden unter standardisierten Voraussetzungen hinsichtlich der Temperatur und der  
relativen Feuchtigkeit vorgenommen.

#### b) Nachweis der Aktivität

Auf einer kutanen Zone auf dem Handrücken der Testperson wird ein Patch mit  
35 Superkleber geklebt. Fünf horizontale Extensiometer-Messungen werden dann auf  
der nicht behandelten Kontrollmittel-Haut ausgeführt. Danach wird der Placebo-

Beförderer angewendet. Nach 5 minutigem Trocknen dienen fünf Messvorgänge zur Kontrolle der Wirkung des Beförderers.

Danach wird die Haut wieder mit dem Wirkstoff behandelt, dessen straffende Wirkung durch fünf letzte Messvorgänge nach 5minutigem Warten gemessen wird. Während jeder Etappe wird der Durchschnittswert der fünf Messungen ermittelt. Die Endergebnisse werden in prozentualer Angabe der DSR-Veränderung zwischen einerseits dem durch den Placebo-Beförderer (Wasser) und andererseits durch die Aktivität des Wirkstoffs erstellt.

Unter diesen Voraussetzungen hat der 2a-Extrakt, der auf einer gesunden, weiblichen Testperson in einer wässrigen Lösung bei einer 1,5 %igen Konzentration getestet wurde, den DSR um 76 % erhöht, wodurch seine straffende kutane Wirkung bewiesen wurde.

#### 9) NACHWEIS EINER WEICHMACHENDEN WIRKUNG DURCH EINE QUANTITATIVE IN VIVO-MESSUNG BEIM MENSCHEN MIT EINER FRIKTIOMETRIE-TECHNIK

##### a) Prinzip des Versuchs

Der Versuch besteht in der Anwendung einer konstanten Kraft auf der Haut mittels eines Gleitschuhs, der bei kontrollierter Geschwindigkeit und kontrolliertem Druck rotiert wird. Das Reibungsmoment wird gemessen. Es ermöglicht die Berechnung des Reibungskoeffizienten des Gleitschuhs auf der Haut. Der Reibungskoeffizient hängt vom Zustand der Hautoberfläche ab, besonders von ihrer Feuchtigkeit und ihrer Weichheit. Je hydratierter und weicher die Haut anzufassen ist, desto mehr steigert sich der Reibungskoeffizient. Die Apparatur wird vollständig computergesteuert. Die Versuche werden unter standardisierten Voraussetzungen hinsichtlich der Temperatur und der relativen Feuchtigkeit vorgenommen.

##### b) Nachweis der Aktivität

Auf einer kutanen, 9 cm<sup>2</sup> grossen Zone auf der Innenfläche des Vorderarms der Testperson wird eine Friktiometrie-Messung auf der Haut ohne Behandlung (TO) vorgenommen. Dann wird der Wirkstoff angewendet. Nach 15minutigem Trocknen dient eine Friktiometrie-Messung zur Kontrolle der Wirksamkeit des Wirkstoffs (T15). Gleichzeitig wird eine benachbarte kutane Kontrollmittel-Zone unter den gleichen Voraussetzungen gemessen. Das Ergebnis wird im prozentualen Unterschied der

Veränderung zwischen T0 und T15 der behandelten Zone im Verhältnis zur Kontrollmittel-Zone angegeben.

5 Unter diesen Voraussetzungen steigert der auf einer gesunden, weiblichen Testperson getestete 2a-Extrakt als wässrige Lösung mit einer 1,5%igen Konzentration den Reibungskoeffizienten um 20,9 %, wodurch seine Wirksamkeit zur Verbesserung der kutanen Weichheit und Feuchtigkeit bewiesen wird.

10 Die Zielsetzung der vorliegenden Erfindung besteht ebenfalls in einer kosmetischen oder dermopharmazeutischen Zusammensetzung, für die örtlich wirkende Anwendung auf der Haut, den Epithelanhänggebilden und/oder den Schleimhäuten, die als Wirkstoff alleine oder in Verbindung mit mindestens einem anderen Wirkstoff, mindestens eine Proteinfraction enthält, die aus *Vigna trilobata*-Körnern extrahiert wurde.

15 Diese kosmetische Zusammensetzung kann als einzigen Wirkstoff oder mit mindestens einem anderen Wirkstoff verbunden, mindestens einen Extrakt des vorab genannten Typs enthalten, der verwendet wird, um mindestens eine der besonderen biologischen Wirkungen zu erzeugen, die vorab beschrieben wurden oder sogar 20 mehrere dieser Wirkungen als Kombination.

Die kosmetische oder dermopharmazeutische Zusammensetzung nach der Erfindung kann auf vorteilhafte Weise zwischen 0,001 % und 50 % im Gewicht Proteinfraction/en enthalten, die aus *Vigna trilobata*-Körnern extrahiert wurde/n (die 25 Extrakte wurden durch eines der vorab erwähnten Verfahren gewonnen), die eventuell in geeignete kosmetische Vektoren, wie zum Beispiel Liposome, Makro-, Mikro- und Nanokapseln, Makro-, Mikro und Nanopartikel und andere analoge und bekannte Formen eingliedert werden.

30 Die vorab erwähnten Extrakte können nicht nur für Anwendungen zur Pflege und Hygiene der Haut verwendet werden (Erzeugnisse für Gesicht und Körper, Tag- oder Nachtkosmetika, Sonnenschutzmittel, kräftigende, regenerierende Erzeugnisse, Anti-Faltenkosmetika, Schlankheitskuren-mittel, Mittel gegen Alterungsprozesse), aber auch im Bereich der Epithelanhänggebildenpflege und -hygiene in der Form von 35 verschiedenen fertigen Erzeugnissen, wie zum Beispiel Lotionen oder Shampoos, Cremes, Schaummittel, Seifen, Stäbchen, Gele, Hydrogele, Sprühmittel, Emulsionen,

Schutzmittel, reparierende, weichmachende, filmbildende und photoschützende Mittel ; Erzeugnisse für Dauerwellen und zur Haarfärbung.

5 Als nicht einschränkende Beispiele werden nachstehend verschiedene Beispiele für die praktische Ausführung kosmetischer Zusammensetzungen nach der Erfindung beschrieben, sowie die Hauptetappen ihrer Herstellungsverfahren.

#### BEISPIEL 1

10 Ein kosmetisches Erzeugnis in Form einer Creme zum Nähren, Straffen, Erfrischen und Energiespenden, die bestimmt ist, besonders das kutane Altern, die Zusammenziehen der Lederhaut und den Verlust der Elastizität der Haut zu bekämpfen, kann aus folgenden Phasen bestehen :

	Fette Phase	
15	Ceteareth 25	2,00
	Ceteareth 6 und Stearylalkohol	1,00
	Cetylalkohol	4,00
	Glykolstearat	4,00
	Petrolatum	5,00
20	kapische/kaprylische Triglyzeride	5,00
	Wässrige Phase	
	Glyzerin	10,00
	Vigna-Proteine nach Beispiel 1 des Verfahrens	5,00
25	destilliertes Wasser	8,50
	Elestab 4112 Konservierungsmittel (Laboratoires Sérobiol.)	0,40
	Parfum	0,30
	destilliertes Wasser qsp (ausreichende Menge für)	100,00

30 Das Zubereitungsverfahren der vorab erwähnten Creme besteht im wesentlichen darin, die fette Phase auf 80° C zu erhitzen, die wässrige Phase ebenfalls auf 80° C zu erhitzen und Elestab 4112 darin aufzulösen, separat die Mutterlösung des Vigna-Extrakts vorzubereiten, die fette Phase in die wässrige Phase unter Turbinenrühren zu geben, danach bei ungefähr 50° C die Mutterlösung des Vigna-Extrakts  
35 hinzuzufügen und schliesslich mit dem Rühren bis zur Abkühlung fortzufahren.

BEISPIEL 2

Ein kosmetisches Erzeugnis in Form einer Creme zum Weichmachen, Biofilmbilden, Lindern, Vernarben, die besonders zur Bekämpfung von Aggressionen durch Sonnenbestrahlung und durch die Umweltverschmutzung bestimmt ist, sowie zur  
5 Pflege empfindlicher Hauttypen (Anti-Reiz, zur Verminderung von Entzündungen) kann aus den folgenden Phasen bestehen :

	Fette Phase	
	Glykolstereat	14,00
10	Octyl-Dodecanol	6,00
	Dibutyl-Adipat	6,00
	Cetareth 12	1,50
	Cetareth 20	1,50
15	Wässrige Phase	
	PVP (Polyvinylpyrrolidon)	0,50
	Glyzerin	4,00
	Elestab 388 (Laboratoires Sérobiologiques)	2,00
	Vigna-Proteine nach Beispiel 2 (2a-Extrakt)	5,00
20	destilliertes Wasser	9,00
	Parfum	0,20
	destilliertes Wasser qsp (ausreichende Menge für)	100,00

Das Zubereitungsverfahren der vorab erwähnten Creme besteht hauptsächlich darin,  
25 die fette Phase auf 80° C zu erhitzen, die wässrige Phase ebenfalls auf 80° C zu erhitzen, darin Elestab 388 und PVP aufzulösen, die fette Phase in die wässrige Phase unter Turbinenrühren bei 80° C zu schütten, danach bei Rühren allmählich abkühlen zu lassen, danach bei ungefähr 50° C die Mutterdispersion des Vigna-  
30 Extrakts hinzuzufügen und schliesslich mit dem Rühren bis zur Abkühlung fortzufahren.

BEISPIEL 3

Ein kosmetisches Erzeugnis in Form eines konditionierenden, nicht ausgespülten und biofilmbildenden Haarwassers, das besonders dazu bestimmt ist, das Kämmen  
35 des Epithelanhanggebildens zu erleichtern und dessen Weichheit und Geschmeidigkeit zu verbessern, kann folgende Zusammensetzung aufweisen :

	Vigna-Proteine nach Beispiel 1 (1a-Extrakt)	2,00
	destilliertes Wasser	9,50
	Hydroxyäthylzellulose	0,50
	Elestab 305 (Laboratoires Sérobiologiques)	0,50
5	Parfum	0,10
	Cremophor RH 410	0,30
	destilliertes Wasser qsp (ausreichende Menge für)	100,00

10 Das Zubereitungsverfahren der nicht ausgespülten Lotion besteht hauptsächlich im Auflösen von Elestab 305 und Hydroxyäthylzellulose in Wasser, das auf ungefähr 50° C erhitzt wurde, in der Verteilung des Parfums und Cremophors RH 410 darin, danach in der Abkühlung des Gemischs auf Raumtemperatur, danach in der Auflösung des Vigna-Extrakts darin und schliesslich in der Ausführung eines Filte

15

Selbstverständlich ist die Erfindung nicht auf die beschriebenen Ausführungsarten begrenzt. Veränderungen bleiben möglich, besonders hinsichtlich der Beschaffenheit der verschiedenen Elemente oder durch den Ersatz durch technische Äquivalente, ohne deshalb aus dem Schutzbereich der Erfindung zu treten.

### PATENTANSPRÜCHE

1. Verwendung als Wirkstoff in einer kosmetischen oder dermopharmazeutischen Zusammensetzung für die örtlich wirkende Anwendung auf der Haut, den  
5 Epithelanhanggebilden und/oder den Schleimhäuten von mindestens einer lösbaren Proteinfraktion, die aus dem Korn der Vigna trilobata-Pflanze extrahiert wurde.
2. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass der Extrakt aus den  
10 Vigna trilobata-Körnern als Wirkstoff eingesetzt wird, der Aktivitäten der Stimulation des Wachstums und des zellularen Metabolismus, der Stimulation des Zusammenziehen des Kollagennetzes, der Stimulation der Ausscheidung von Glykolaminoglykanen, der Anti-Apoptose-Aktivitäten, der Anti-Entzündungs-Aktivitäten und/oder der zytophotoschützenden Aktivitäten aufweist.
- 15 3. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, dass die Proteinfraktion/en durch Wasser oder eine Salzlösung bei einem gegebenen pH-Wert extrahiert wurde/n.
- 20 4. Verwendung nach irgendeinem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass die Protein-Fraktion/en als wässrige Lösung durch einen Ultraschallgenerator extrahiert wurde/n.
- 25 5. Verwendung nach einem der Ansprüche 3 und 4, dadurch gekennzeichnet, dass die Protein-Fraktion/en durch einen Vorgang gereinigt wird/werden, der in der von Ausfällen, Adsorption, Ionenaustausch-Chromatographie, Affinitäts-Chromatographie und Ultrafiltration gebildeten Gruppe ausgewählt wird.
- 30 6. Verwendung nach irgendeinem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass die extrahierte Fraktion aus einer mit Proteasenhemmern angereicherten Fraktion besteht.
- 35 7. Verwendung nach irgendeinem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass die Proteinfraktion/en einen Wirkstoff bildet/n, der aus einem chemischen oder enzymatischen Hydrolysat besteht, das ausgehend von ursprünglichen Proteinen zubereitet wurde.

8. Verwendung nach irgendeinem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass die End-Proteinfraktion/en durch Polymerisation der ursprünglichen Proteine gewonnen wurde/n.
- 5 9. Verwendung nach irgendeinem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass die extrahierte/n Proteinfraktion/en chemisch durch Pfropfung verändert worden ist/sind.
- 10 10. Verwendung nach irgendeinem der Patentansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, dass die extrahierten Fraktionen die den Wirkstoff bilden, mindestens zwei Proteinfraktionen enthalten, deren sichtbare Molekulargewichte verschieden sind.
- 15 11. Verwendung nach irgendeinem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass der Extrakt aus einem totalen Extrakt besteht, der durch die gesamten extrahierbaren Proteinfraktionen gebildet wird, die von Natur aus in den Körnern vorhanden sind.
- 20 12. Eine kosmetische oder dermopharmazeutische Zusammensetzung für die örtlich wirkende Anwendung auf der Haut, den Epithelanhanggebilden und/oder den Schleimhäuten, dadurch gekennzeichnet, dass sie als Wirkstoff, alleine oder in Verbindung mit mindestens einem anderen Wirkstoff, mindestens eine Proteinfraktion enthält, die aus *Vigna trilobata*-Körnern extrahiert wurde.
- 25 13. Kosmetische oder dermopharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, dass sie als Wirkstoff, der das Wachstum und den zellularen Metabolismus stimuliert, mindestens eine lösliche Proteinfraktion enthält, die aus *Vigna trilobata*-Körnern extrahiert wurde.
- 30 14. Kosmetische oder dermopharmazeutische Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 12 und 13, dadurch gekennzeichnet, dass sie als Wirkstoff, der das Zusammenziehen des Kollagennetzes stimuliert, mindestens eine lösliche Proteinfraktion enthält, die aus *Vigna trilobata*-Körnern extrahiert wurde.
- 35 15. Kosmetische oder dermopharmazeutische Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 12 bis 14, dadurch gekennzeichnet, dass sie als Wirkstoff, der die

Ausscheidung von Glykosaminoglykanen stimuliert mindestens eine lösliche Proteinfraction enthält, die aus *Vigna trilobata*-Körnern extrahiert wurde.

5 16. Kosmetische oder dermatopharmazeutische Zusammensetzung nach irgendeinem der Ansprüche 12 bis 15, dadurch gekennzeichnet, dass sie als Anti-Apoptose-Wirkstoff mindestens eine lösliche Proteinfraction enthält, die aus *Vigna trilobata*-Körnern extrahiert wurde.

10 17. Kosmetische oder dermatopharmazeutische Zusammensetzung nach irgendeinem der Ansprüche 12 bis 16, dadurch gekennzeichnet, dass sie als zytphotoschützenden Wirkstoff gegen UV-A-Effekte mindestens eine lösliche Proteinfraction enthält, die aus *Vigna trilobata*-Körnern extrahiert wurde.

15 18. Kosmetische oder dermatopharmazeutische Zusammensetzung nach irgendeinem der Ansprüche 12 bis 17, dadurch gekennzeichnet, dass sie als Wirkstoff zum Schutz gegen von UV-B induzierten Entzündungen mindestens eine lösliche Proteinfraction enthält, die aus *Vigna trilobata*-Körnern extrahiert wurde.

20 19. Kosmetische oder dermatopharmazeutische Zusammensetzung nach irgendeinem der Ansprüche 12 bis 18, dadurch gekennzeichnet, dass sie als Wirkstoff zur vorbeugenden und heilenden Behandlung empfindlicher Hauttypen mindestens eine lösliche Proteinfraction enthält, die aus *Vigna trilobata*-Körnern extrahiert wurde.

25 20. Kosmetische oder dermatopharmazeutische Zusammensetzung nach irgendeinem der Ansprüche 12 bis 19, dadurch gekennzeichnet, dass sie als straffenden Wirkstoff für die Haut und/oder die Schleimhäute mindestens eine lösliche Proteinfraction enthält, die aus *Vigna trilobata*-Körnern extrahiert wurde.

30 21. Kosmetische oder dermatopharmazeutische Zusammensetzung nach irgendeinem der Ansprüche 12 bis 20, dadurch gekennzeichnet, dass sie als weichmachenden Wirkstoff für die Haut und/oder die Schleimhäute mindestens eine lösliche Proteinfraction enthält, die aus *Vigna trilobata*-Körnern extrahiert wurde.

35 22. Kosmetische oder dermatopharmazeutische Zusammensetzung nach irgendeinem der Ansprüche 12 bis 19, dadurch gekennzeichnet, dass sie als Wirkstoff für das Haar, der das Kämmen von trockenem oder nassem Haar erleichtert und die

Weichheit und Geschmeidigkeit von unbeschädigtem Haar verbessert, mindestens eine lösliche Proteinfraction enthält, die aus *Vigna trilobata*-Körnern extrahiert wurde.

- 5 23. Kosmetische oder dermopharmazeutische Zusammensetzung nach irgendeinem der Ansprüche 12 bis 22, dadurch gekennzeichnet, dass sie zwischen 0,001 % und 50 % im Gewicht an Proteinfractionen enthält, die aus *Vigna trilobata*-Körnern extrahiert wurde/n, die eventuell in kosmetische geeignete Überträger (Vektoren) eingeleitet wurden.

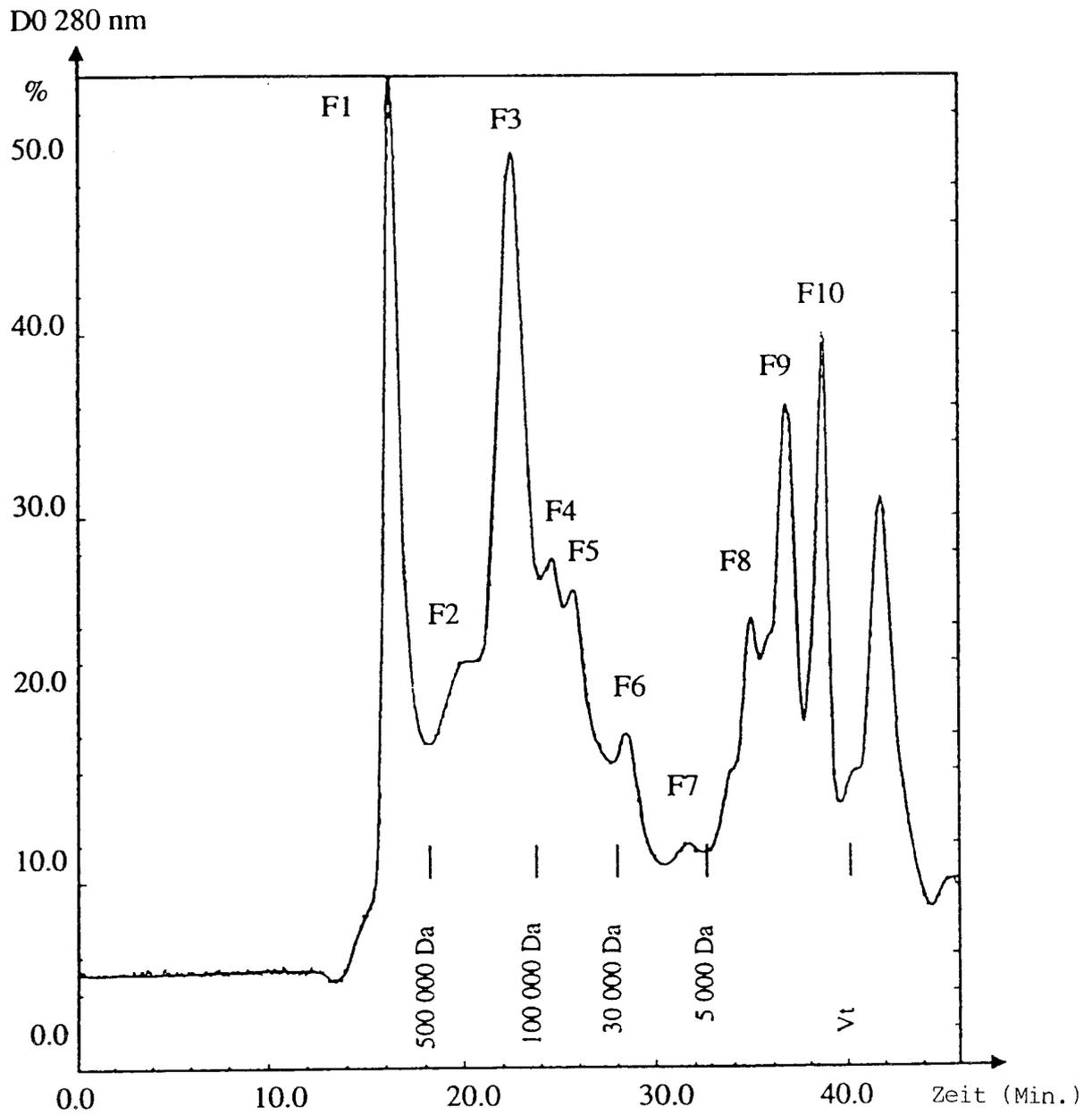


Fig 1

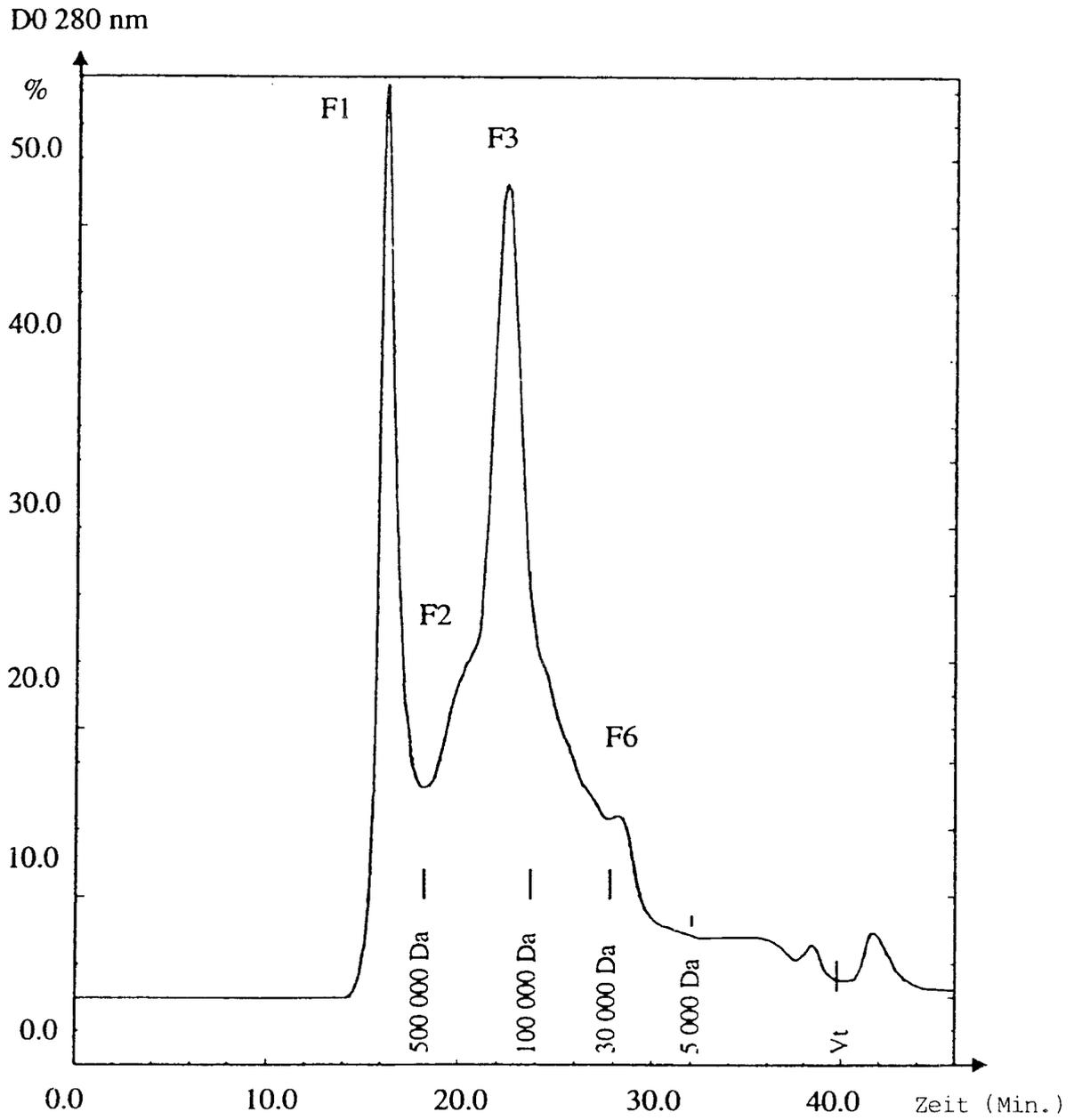


Fig 2

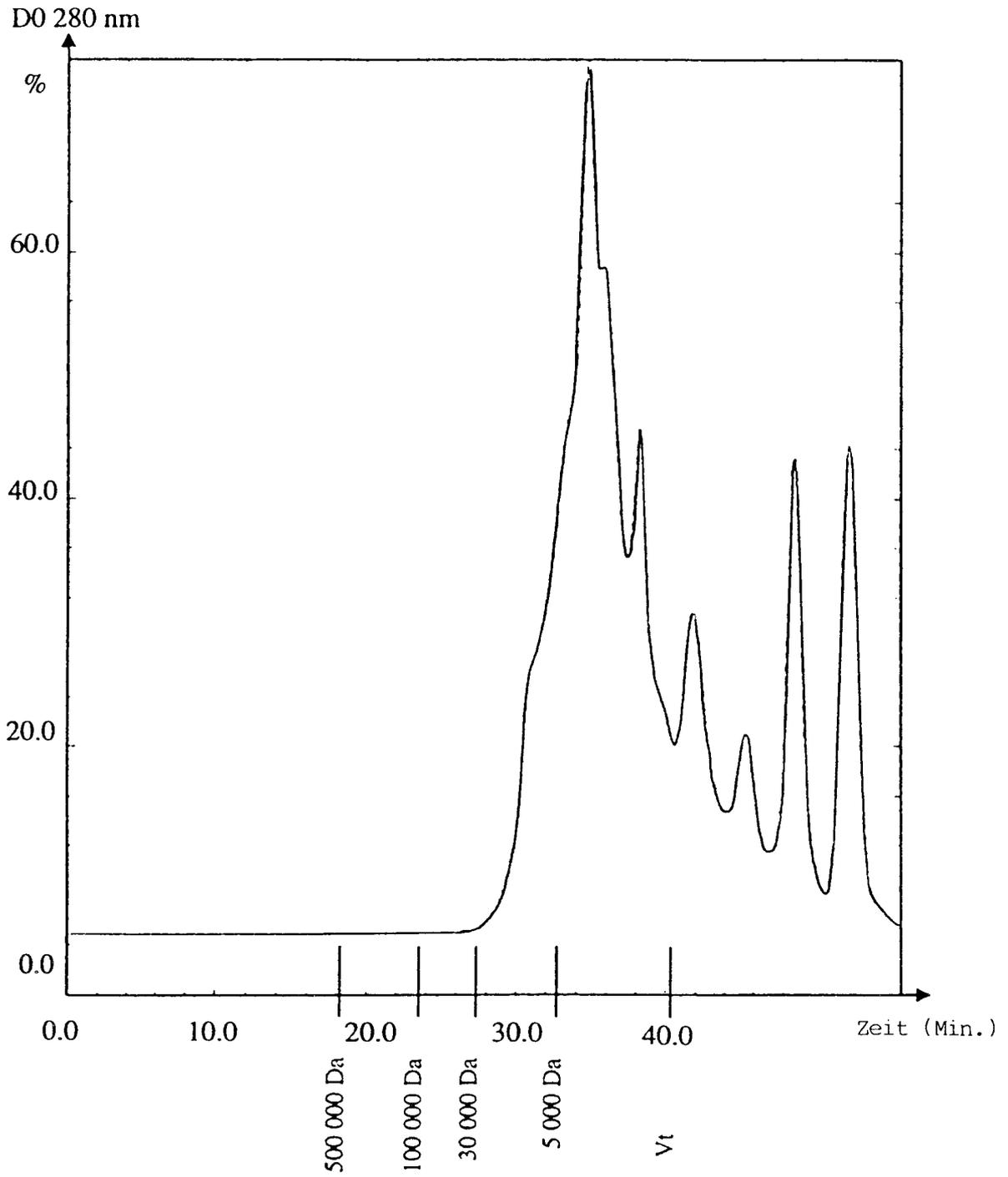


Fig 3

Zählung nach 3 Tagen

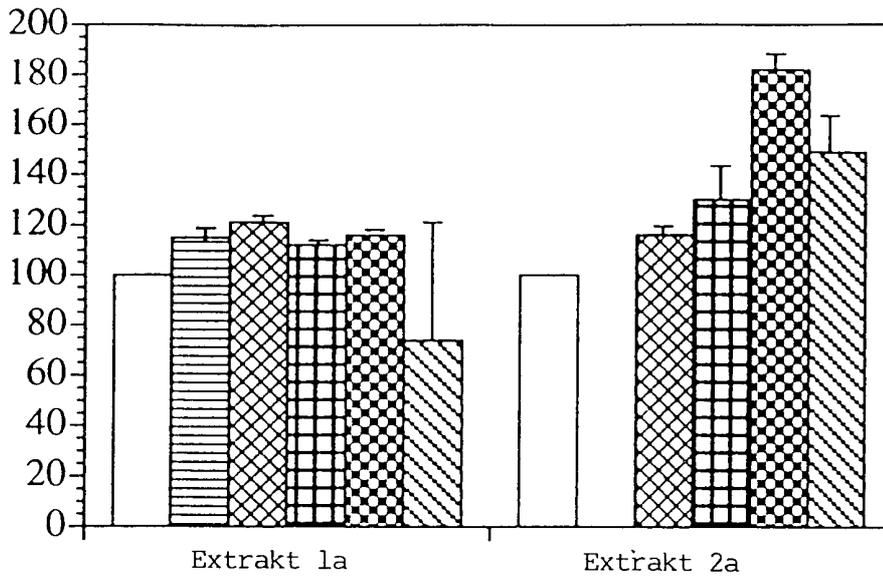
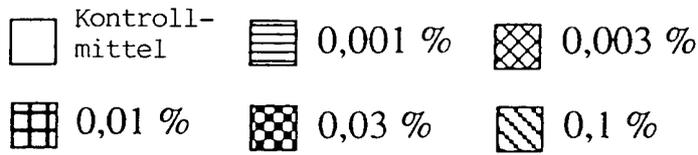


Fig 4A

Extrakt-Konzentration in % Gew./Vol.



ATP-Gehalt nach 3 Tagen

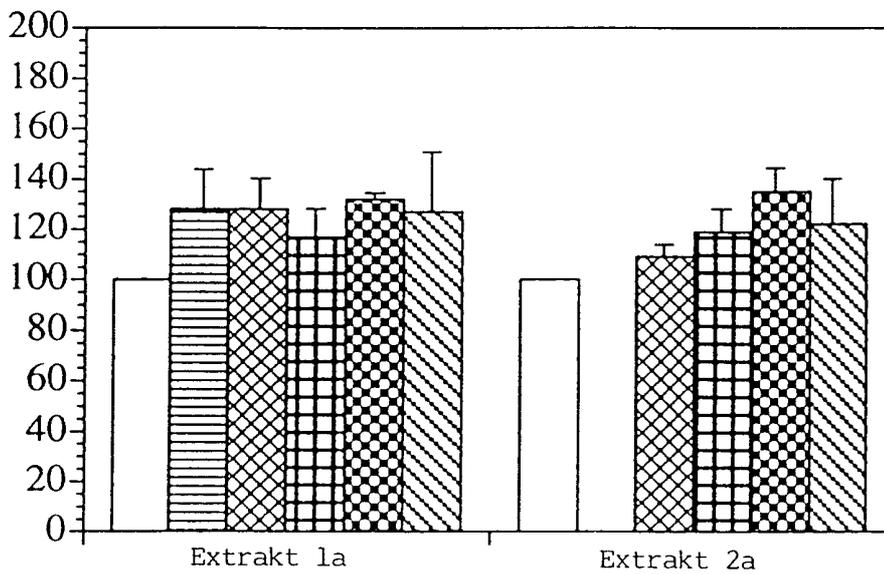
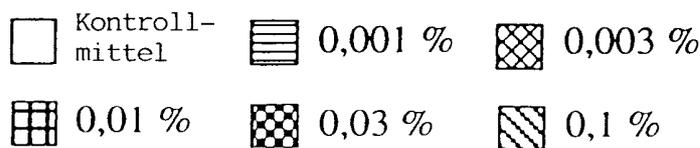


Fig 4B

Extrakt-Konzentration in % Gew./Vol.



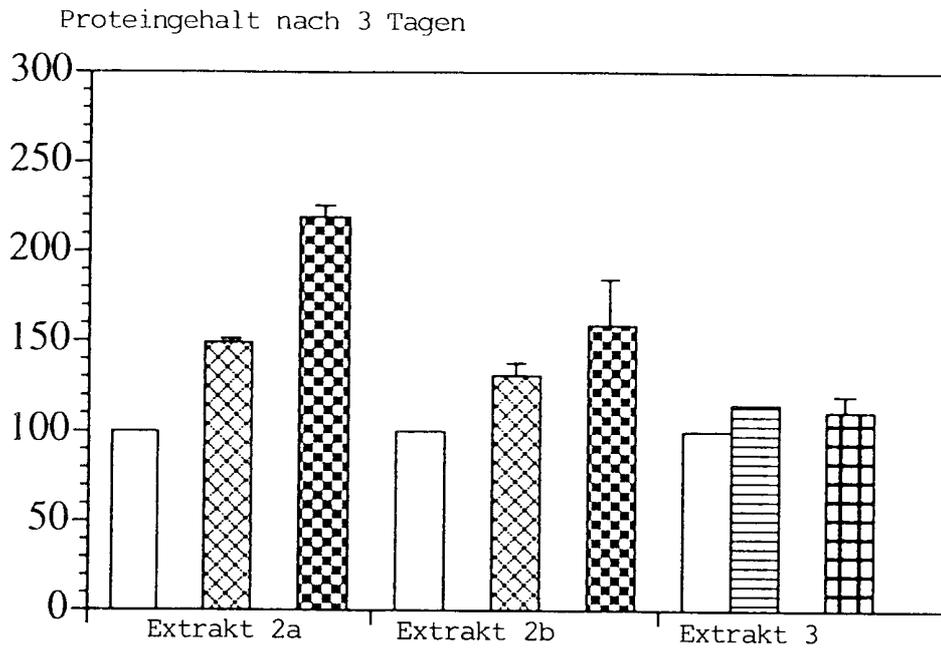


Fig 5A

Extrakt-Konzentration in % Gew./Vol.  
 □ Kontrollmittel    ▨ 0,01 %    ▩ 0,02 %    ▧ 0,03 %    ▣ 0,05 %

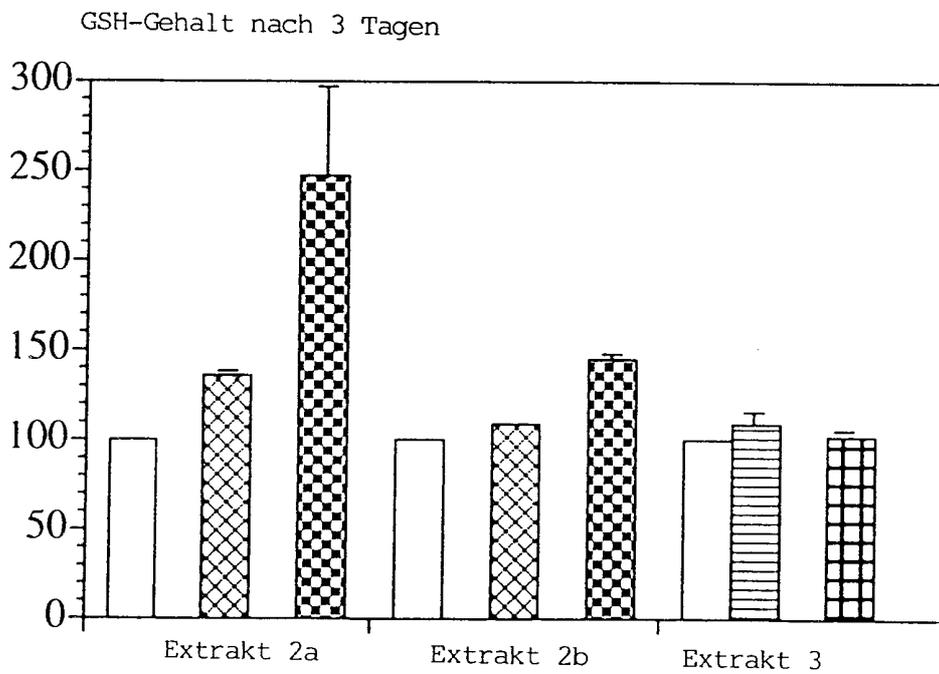
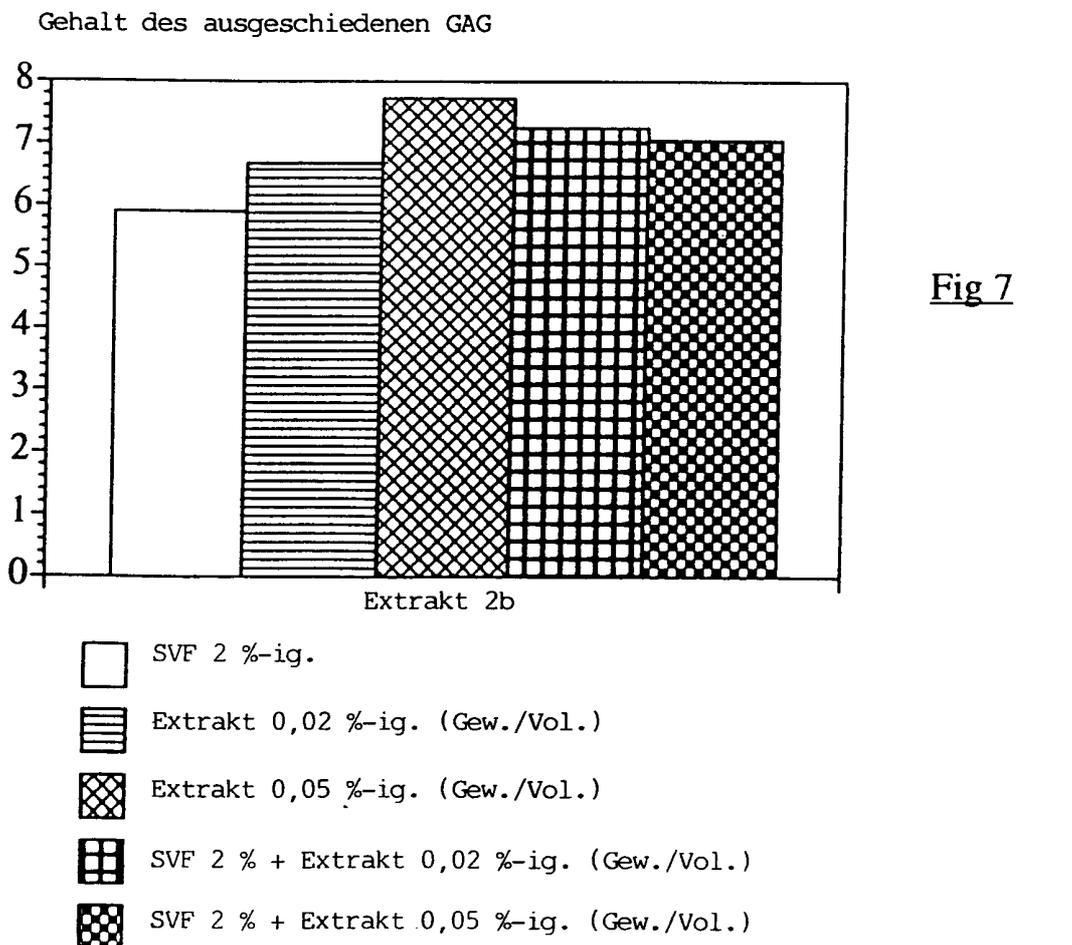
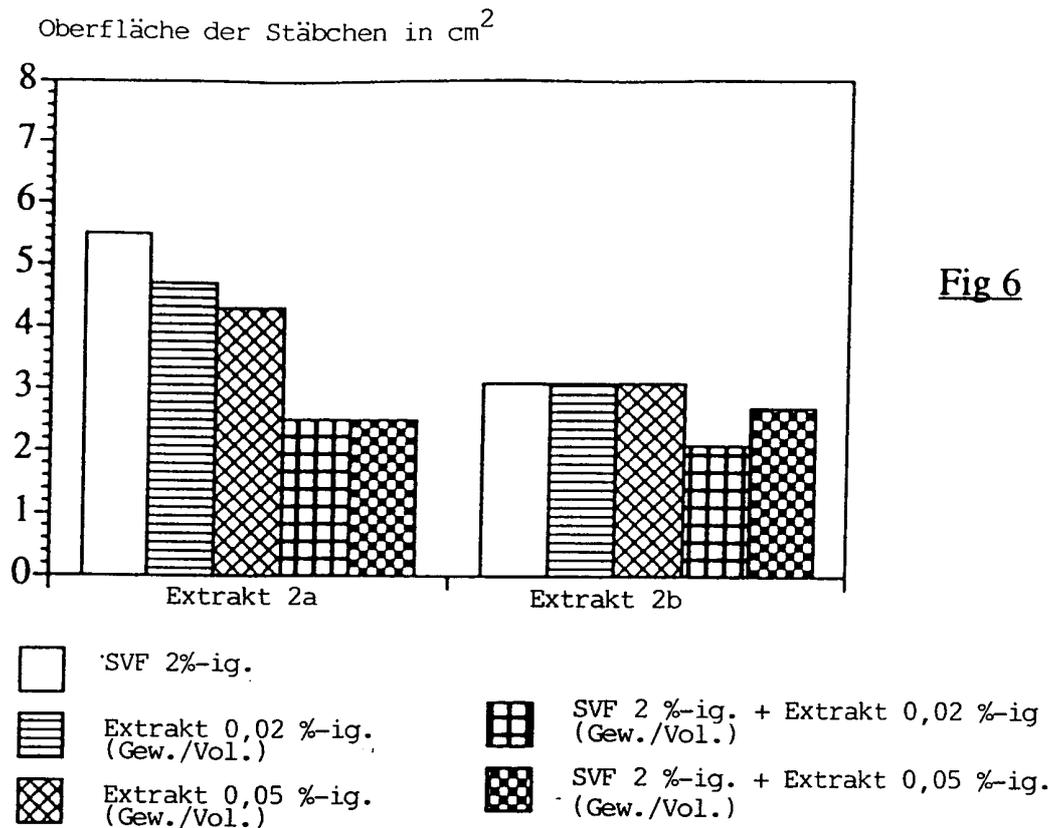


Fig 5B

Extrakt-Konzentration in % Gew./Vol.  
 □ Kontrollmittel    ▨ 0,01 %    ▩ 0,02 %    ▧ 0,03 %    ▣ 0,05 %



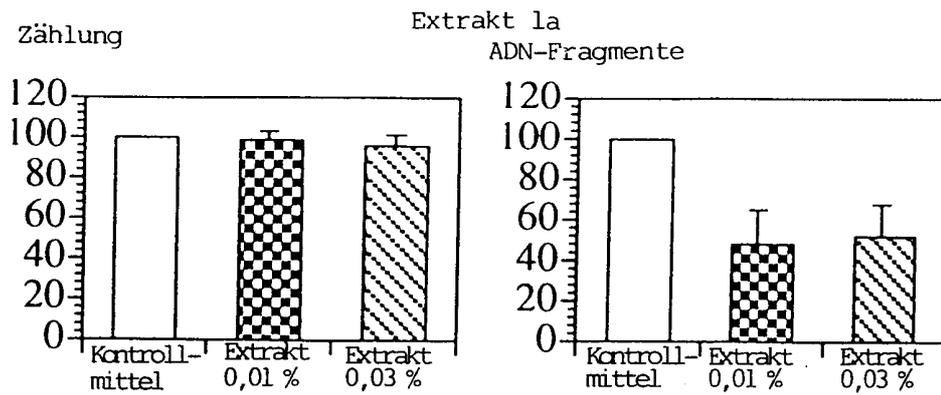


Fig 8A

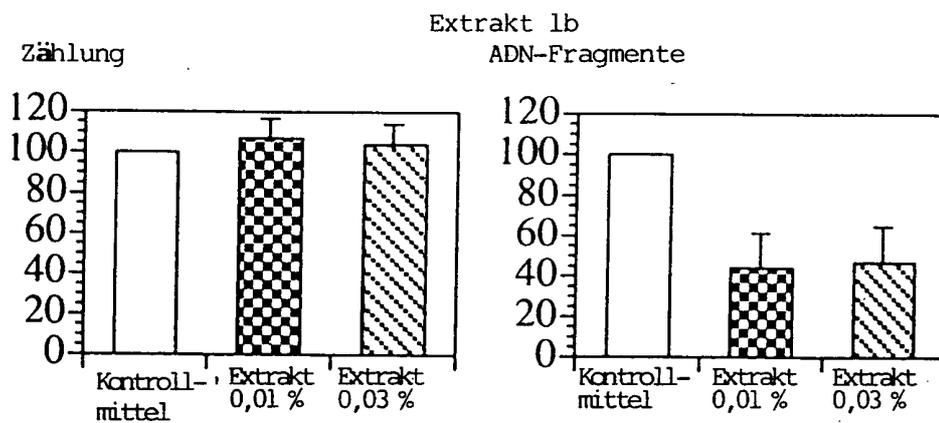


Fig 8B

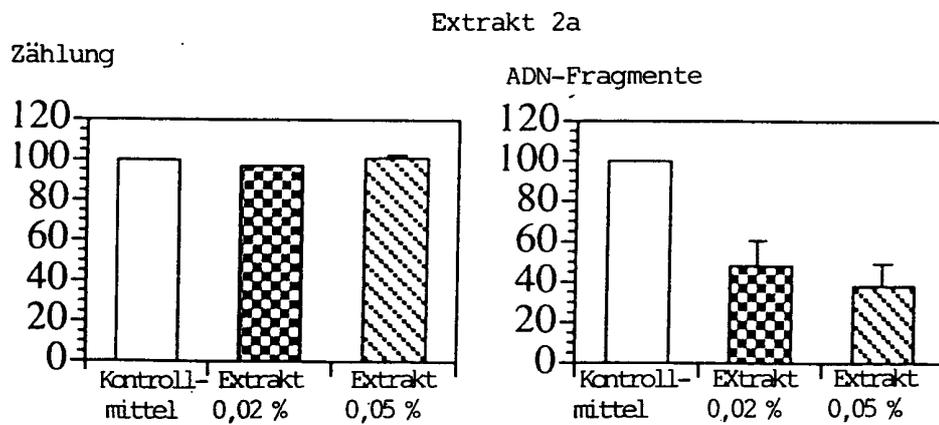


Fig 8C

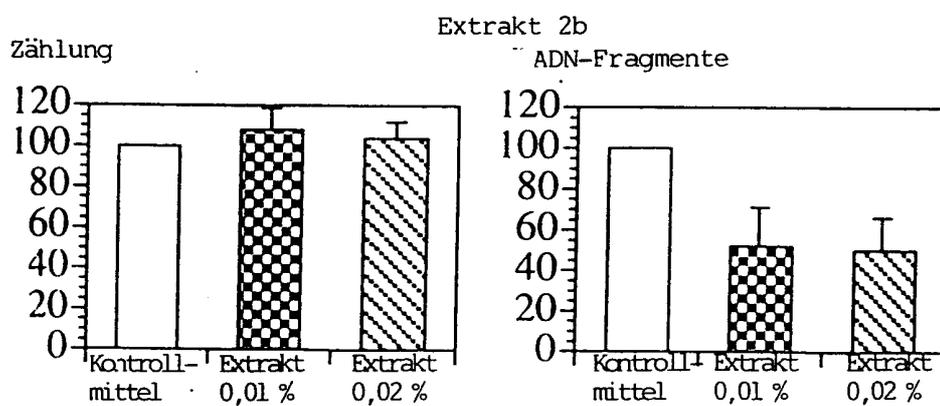


Fig 8D

Extrakt 1a

relative Aktivität (%)  
im Verhältnis zum Kontrollmittel

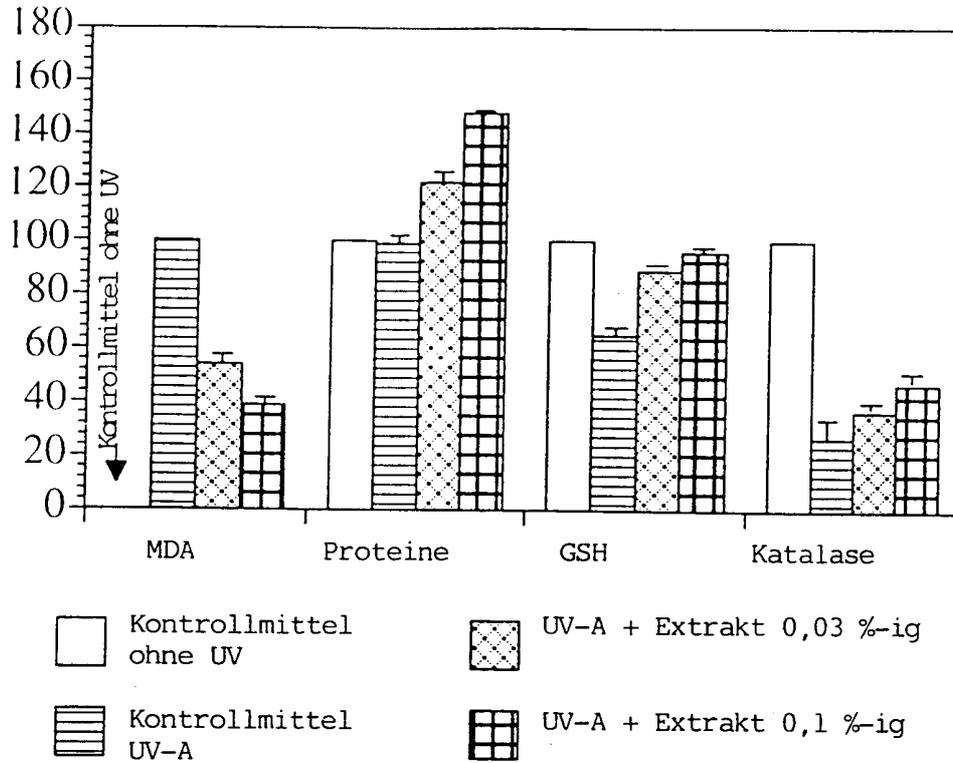


Fig 9A

Extrakt 2a

relative Aktivität (%)  
im Verhältnis zum Kontrollmittel

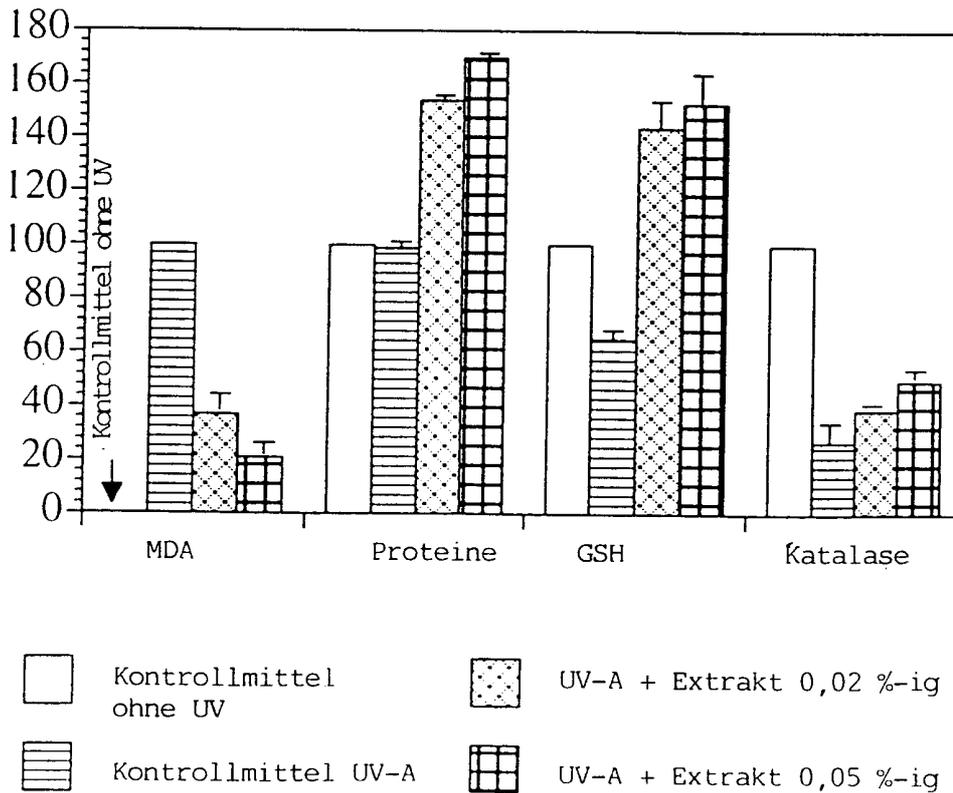


Fig 9B

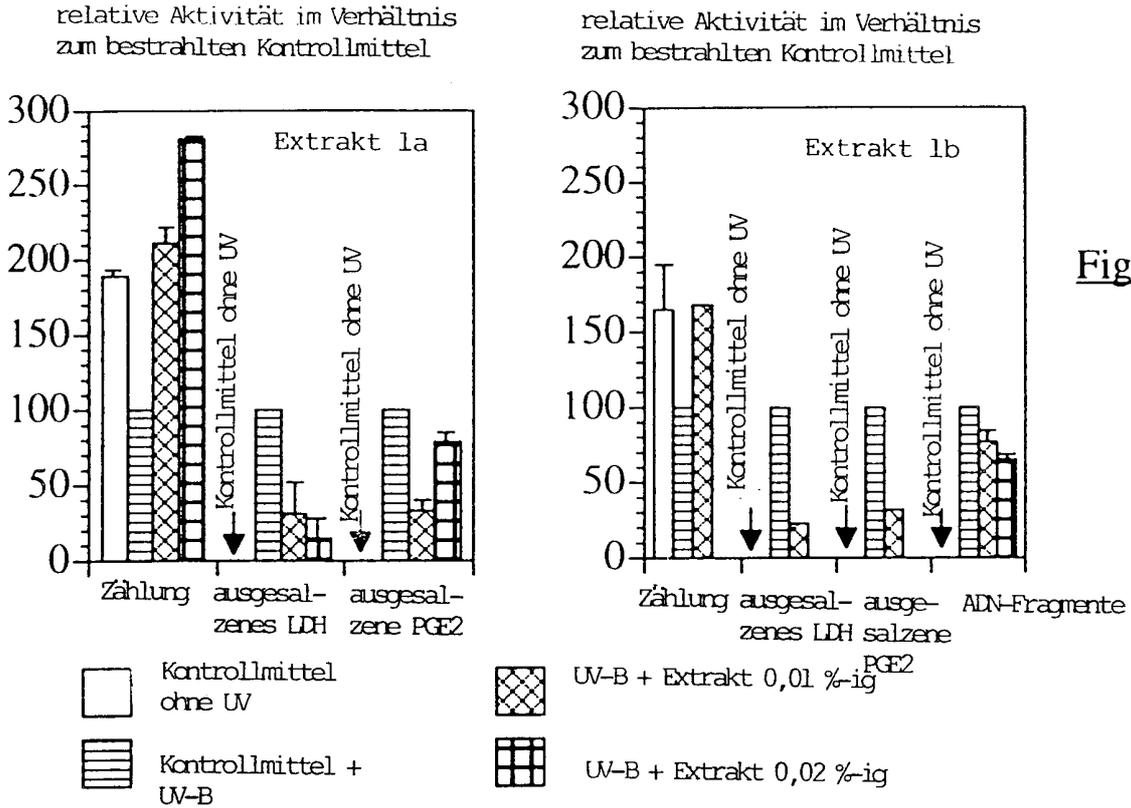


Fig 10A

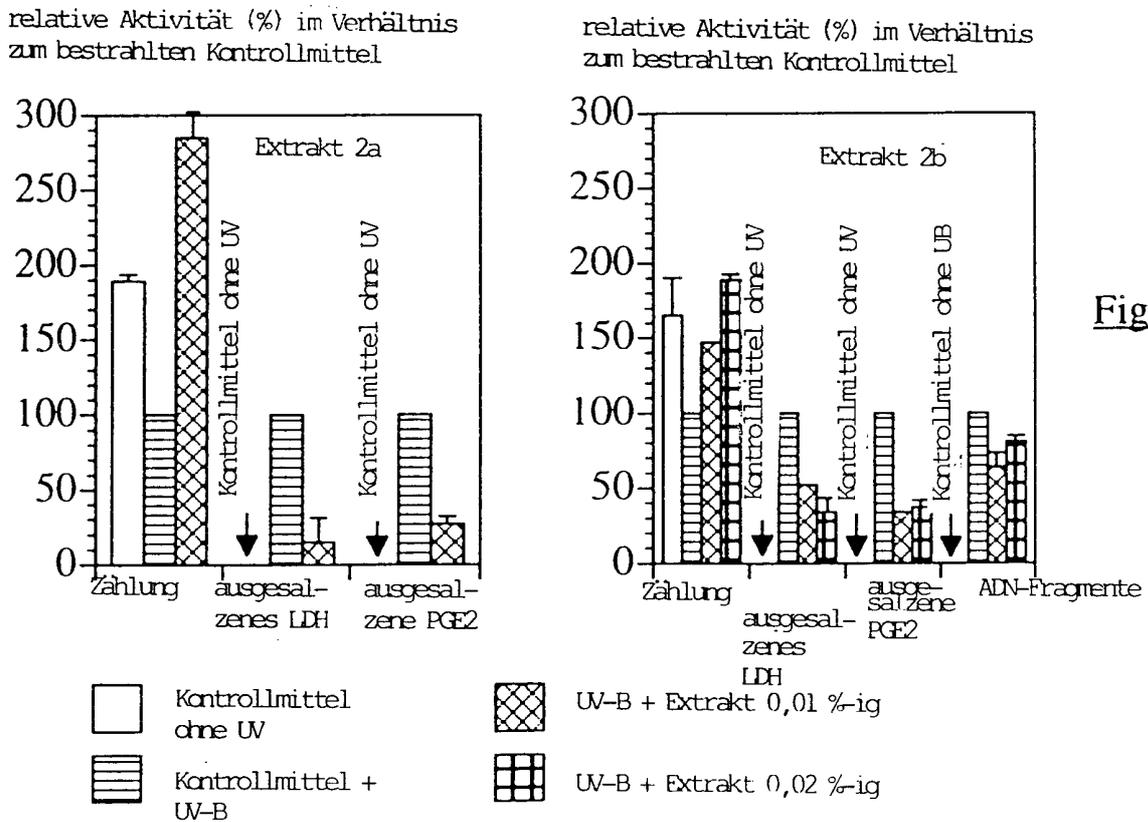


Fig 10B

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int'l Application No  
PCT/EP 00/07007

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**  
IPC 7 A61K7/48 A61K7/06

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

**B. FIELDS SEARCHED**

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
IPC 7 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

CHEM ABS Data, WPI Data, EPO-Internal, BIOSIS

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 5 322 839 A (R. VOEGELI ET AL) 21 June 1994 (1994-06-21) column 2, line 45 - line 48; claims 1,11 ---	1,12
A	DATABASE WPI Week 199728 Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 1997-306545 XP002137218 "External preparation for skin treatment - comprise dried and pulverised seeds of e.g. Vigna mungo" & JP 09 118612 A (POLA CHEM), 6 May 1997 (1997-05-06) abstract ----- -/--	1,12

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

\* Special categories of cited documents :

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- \*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- \*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- \*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- \*&\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

10 November 2000

Date of mailing of the international search report

22/11/2000

Name and mailing address of the ISA  
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Voyiazoglou, D

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 00/07007

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 122, no. 21, 22 May 1995 (1995-05-22) Columbus, Ohio, US; abstract no. 260997q, P. GOMATHINAYAGAM ET AL: "Seed protein pattern of cowpea ( <i>Vigna unguiculata</i> L.) and its distant species" page 640; XP002137217 abstract & J. PLANT BIOCHEM. BIOTECHNOL., vol. 3, no. 2, 1994, pages 149-151, ---	1,12
A	P. SIDDHURAJU ET AL: "Nutritional and chemical evaluation of raw seeds of the tribal pulse <i>Vigna trilobata</i> (L.) Verdc." INTERNATIONAL JOURNAL OF FOOD SCIENCES AND NUTRITION, vol. 43, 1992, pages 97-103, XP002137216 cited in the application the whole document ---	1,12
A	DATABASE WPI Week 199618 Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 1996-175673 XP002137237 "Histamine release inhibitor, for cosmetics and food - comprises plant extracts e.g. <i>Jambosa vulgaris</i> " & JP 08 053360 A (SUNTORY), 27 February 1996 (1996-02-27) abstract ---	1,12
P,A	WO 99 62480 A (PARFUMS CHRISTIAN) 9 December 1999 (1999-12-09) claims 1,2,15 -----	1,12

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 00/07007

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5322839 A	21-06-1994	EP 0532465 A JP 5230100 A	17-03-1993 07-09-1993
JP 9118612 A	06-05-1997	NONE	
JP 8053360 A	27-02-1996	NONE	
WO 9962480 A	09-12-1999	FR 2779058 A	03-12-1999

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Int. Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/07007

<b>A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES</b> IPK 7 A61K7/48 A61K7/06		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK		
<b>B. RECHERCHIERTE GEBIETE</b>		
Recherchiertes Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole) IPK 7 A61K		
Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen		
Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe) CHEM ABS Data, WPI Data, EPO-Internal, BIOSIS		
<b>C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN</b>		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	US 5 322 839 A (R. VOGELI ET AL) 21. Juni 1994 (1994-06-21) Spalte 2, Zeile 45 - Zeile 48; Ansprüche 1,11	1,12
A	--- DATABASE WPI Week 199728 Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 1997-306545 XP002137218 "External preparation for skin treatment - comprise dried and pulverised seeds of e.g. Vigna mungo" & JP 09 118612 A (POLA CHEM), 6. Mai 1997 (1997-05-06) Zusammenfassung --- -/--	1,12
<input checked="" type="checkbox"/> Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen <input checked="" type="checkbox"/> Siehe Anhang Patentfamilie		
* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen : *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist *E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist *L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt) *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist *T* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist *X* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden *Y* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist *&* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche		Absenddatum des internationalen Recherchenberichts
10. November 2000		22/11/2000
Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Bevollmächtigter Bediensteter  Voyiazoglou, D

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 122, no. 21, 22. Mai 1995 (1995-05-22) Columbus, Ohio, US; abstract no. 260997q, P. GOMATHINAYAGAM ET AL: "Seed protein pattern of cowpea (Vigna unguiculata L.) and its distant species" Seite 640; XP002137217 Zusammenfassung & J. PLANT BIOCHEM. BIOTECHNOL., Bd. 3, Nr. 2, 1994, Seiten 149-151, -----	1,12
A	P. SIDDHURAJU ET AL: "Nutritional and chemical evaluation of raw seeds of the tribal pulse Vigna trilobata (L.) Verdc." INTERNATIONAL JOURNAL OF FOOD SCIENCES AND NUTRITION, Bd. 43, 1992, Seiten 97-103, XP002137216 in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument -----	1,12
A	DATABASE WPI Week 199618 Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 1996-175673 XP002137237 "Histamine release inhibitor, for cosmetics and food - comprises plant extracts e.g. Jambosa vulgaris" & JP 08 053360 A (SUNTORY), 27. Februar 1996 (1996-02-27) Zusammenfassung -----	1,12
P,A	WO 99 62480 A (PARFUMS CHRISTIAN) 9. Dezember 1999 (1999-12-09) Ansprüche 1,2,15 -----	1,12

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/07007

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
US 5322839	A	21-06-1994	EP	0532465 A	17-03-1993
			JP	5230100 A	07-09-1993
JP 9118612	A	06-05-1997	KEINE		
JP 8053360	A	27-02-1996	KEINE		
WO 9962480	A	09-12-1999	FR	2779058 A	03-12-1999