



PCT
 WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
 Internationales Büro
 INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
 INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

<p>(51) Internationale Patentklassifikation 5 : A61K 9/127, 9/06, 7/48</p>	<p align="center">A1</p>	<p>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 91/11993 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 22. August 1991 (22.08.91)</p>
<p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP91/00229 (22) Internationales Anmeldedatum: 6. Februar 1991 (06.02.91) (30) Prioritätsdaten: P 40 03 782.7 8. Februar 1990 (08.02.90) DE P 40 03 783.5 8. Februar 1990 (08.02.90) DE (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): NAT-TERMANN. A & CIE. GMBH [DE/DE]; Nattermannallee 1, D-5000 Köln 30 (DE). (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US) : GHYCZY, Miklos [DE/DE]; Im Rapsfeld 23, D-5000 Köln 41 (DE). RÖDING, Joachim [DE/DE]; Sinthererstr. 7, D-5000 Köln 30 (DE). LAUTENSCHLÄGER, Hans [DE/DE]; Neusser Gasse 50, D-5024 Pulheim (DE). HAMEISTER, Walter [DE/DE]; Tomburgstr. 10, D-5024 Pulheim (DE). HAGER, Jörg [DE/DE]; Hermann-Joseph-Schmitt-Str. 48, D-5000 Köln 30 (DE).</p>	<p>(74) Anwälte: STERNAGEL, Hans-Günther usw. ; Sander Aue 30, D-5060 Bergisch Gladbach 2 (DE). (81) Bestimmungsstaaten: AT (europäisches Patent), BE (europäisches Patent), CA, CH (europäisches Patent), DE (europäisches Patent), DK (europäisches Patent), ES (europäisches Patent), FR (europäisches Patent), GB (europäisches Patent), GR (europäisches Patent), IT (europäisches Patent), JP, LU (europäisches Patent), NL (europäisches Patent), SE (europäisches Patent), US. Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i></p>	

(54) Title: ALCOHOLIC AQUEOUS GEL-TYPE PHOSPHOLIPID COMPOSITION, ITS USE AND TOPICAL PREPARATIONS CONTAINING IT

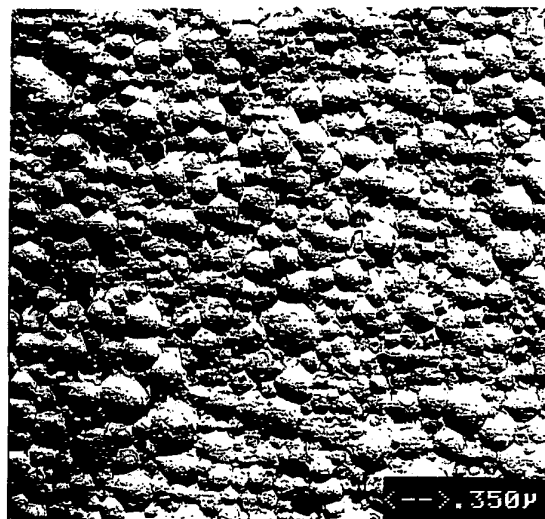
(54) Bezeichnung: ALKOHOL ENTHALTENDE WÄSSRIGE GELARTIGE PHOSPHOLIPIDZUSAMMENSETZUNG, IHRE VERWENDUNG UND TOPISCHE ZUBEREITUNGEN, DIE DIESE ENTHALTEN

(57) Abstract

An alcoholic aqueous gel-type phospholipid composition is disclosed. The alcohol is ethanol, 1-propanol or 2-propanol. The composition is an aqueous solution of a liposomal gel consisting of 15.00 to 30.00 parts by weight of a phospholipid concentrate, 14.00 to 20.00 parts by weight of alcohol, the remainder being 50 to 71.00 parts by weight of an aqueous solution. Also disclosed are the use of this phospholipid composition to prepare liposomal solutions by dilution with an aqueous solution, and topical preparations containing it.

(57) Zusammenfassung

Offenbart wird eine Alkohol enthaltende wässrige gelartige Phospholipidzusammensetzung, die als Alkohole Ethanol, 1-Propanol oder 2-Propanol enthält, die dadurch gekennzeichnet ist, daß diese Zusammensetzung ein liposomales Gel aus 15,00 bis 30,00 Gew. Tl. eines Phospholipidkonzentrats, 14,00 bis 20,00 Gew.Tl. Alkohol und 50 bis 71,00 Gew.Tl einer wässrigen Lösung als Rest ist. Weiter offenbart ist die Verwendung dieser Phospholipidzusammensetzung zur Herstellung von liposomalen Lösungen durch Verdünnen mit einer Wasser enthaltenden Lösung, sowie topisch applizierbare Zubereitungen, die diese enthalten.



LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Code, die zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AT	Österreich	ES	Spanien	ML	Mali
AU	Australien	FI	Finnland	MN	Mongolei
BB	Barbados	FR	Frankreich	MR	Mauritanien
BE	Belgien	GA	Gabon	MW	Malawi
BF	Burkina Faso	GB	Vereinigtes Königreich	NL	Niederlande
BG	Bulgarien	GN	Guinea	NO	Norwegen
BJ	Benin	GR	Griechenland	PL	Polen
BR	Brasilien	HU	Ungarn	RO	Rumänien
CA	Kanada	IT	Italien	SD	Sudan
CF	Zentrale Afrikanische Republik	JP	Japan	SE	Schweden
CG	Kongo	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SN	Senegal
CH	Schweiz	KR	Republik Korea	SU	Soviet Union
CI	Côte d'Ivoire	LI	Liechtenstein	TD	Tschad
CM	Kamerun	LK	Sri Lanka	TG	Togo
CS	Tschechoslowakei	LU	Luxemburg	US	Vereinigte Staaten von Amerika
DE	Deutschland	MC	Monaco		
DK	Dänemark	MG	Madagaskar		

5

10

15

20 Titel: Alkohol enthaltende wäBrige gelartige
Phospholipidzusammensetzung, ihre Verwendung
und topische Zubereitungen, die diese
enthalten

25

30

35

Die vorliegende Erfindung betrifft eine Alkohol enthaltende wäßrige gelartige Phospholipidzusammensetzung sowie ihre Verwendung. Die vorliegende Erfindung betrifft weiterhin topisch applizierbare Zubereitungen, die diese
5 enthalten.

Gele sind formbeständige, leicht deformierbare, an Flüssigkeiten reiche disperse Systeme aus mindestens zwei Komponenten. Die am meisten bekannten und weit verbreitetsten Gele sind die wäßrigen Gele, in denen Wasser als
10 stets vorhandene Hauptkomponente verwendet wird. Bekannt sind ferner die sogenannten Organogele, in denen die flüssige Hauptkomponente ein organisches Lösemittel ist und ein zugesetztes apolares Polymer, die Gelierung verursacht und ihre Stärke beeinflusst.
15

So beschreibt die WO 86/02264 ein System aus umgekehrten Micellen, das durch Zugabe von geeigneten Lösemitteln, wie beispielsweise Squalen, Miglyol[®] oder Pflanzenölen in
20 entsprechende Gele überführt werden kann.

Es wurden auch Systeme untersucht, in denen Gele aus Lecithin oder allgemeinen Phospholipiden, einem Lösemittel, Wasser oder weiteren benötigten Hilfsstoffen gebildet
25 werden. Solche Gele dienen oft jedoch nur als Zwischenstufe, um daraus als gewünschtes Endprodukt Liposomendispersionen zu bilden.

Liposome sind kugelförmige Vesikel mit einer Hülle aus
30 einer oder mehreren Doppelschichten (Bilayer). Sie werden bevorzugt aus Lipiden natürlicher Herkunft erzeugt. In der pharmazeutischen Industrie und auf dem Gebiet der Kosmetik spielen besonders die Liposome aus Phospholipiden eine entscheidende Rolle. Die wichtigsten Phospholipidquellen sind die Sojabohne und andere phospholipidreiche Pflanzen, beispielsweise Raps oder Erdnuß, in geringerem Maße werden die Phospholipide auch aus dem Ei oder
35 von Tieren gewonnen.

Unter bestimmten Voraussetzungen sind Phospholipide in der Lage, in wäßriger Lösung Liposome zu bilden (Bangham, A.D., Horne, R.W., J. Mol. Biol. 8 (1964), S. 660 ff.). Seitdem ist auf zahlreiche Art und Weise versucht worden, stabile Liposome, die für eine breite Anwendung Möglichkeiten bieten, herzustellen. Die von Bangham (Bangham, A.D., et al., Meth. in Membrane Biol. 1 (1976), S. 1-68) vorgeschlagene Methode, Phospholipide in einem organischen Lösemittel aufzulösen, letzteres im Rotationsverdampfer zu entfernen, um auf der Kolbenwand einen Lipidfilm zu erhalten, der dann beim Dispergieren in Wasser oder wäßriger Lösung Liposome ausbildet, ist im technischen Maßstab nicht durchführbar. Die so hergestellten Liposome sind nur für einen kleinen Anwendungsbereich zu verwenden.

Liposome können durch die Beschallung von multilamellaren Liposomen, wie sie etwa nach der obigen Methode erhalten werden können, mittels Ultraschall in kleinere, unilamellare Vesikel umgesetzt werden (C. Huang, Biochemistry 8 (1969), S. 346-352).

Unilamellare Liposomen können ebenfalls mittels der "French Press" bei niederen Drucken hergestellt werden, indem auf übliche Weise hergestellte multilamellare Liposomenpräparate durch eine enge Öffnung gepreßt werden (Hamilton, R.L., et al., J. Lipid Res. 21 (1980), S. 981-992).

Eine andere Möglichkeit zur Erzeugung liposomaler Lösungen stellt die Ethanol-Injektionsmethode von Batzri und Korn dar (Batzri, S., Korn, E.D., Biochim. Biophys. Acta 298 (1976), S. 1015-1019). Hierbei wird das in Ethanol gelöste Lipid in eine wäßrige Pufferlösung injiziert, so daß sich Liposome bilden. Dieses Verfahren ist, genau wie die Filmmethode von Bangham, nicht in technischem Maßstab durchführbar. Bei beiden Methoden muß außerdem das orga-

nische - möglicherweise sogar toxische - Lösemittel aufwendig entfernt werden, um pharmazeutisch oder kosmetisch anwendbare Präparate zu erhalten.

- 5 Große unilamellare Liposome werden auch gebildet, wenn geladene Lipide in einem Puffer in Gegenwart von Calcium-Kationen suspendiert werden (Papahadjopoulos, D., Ann. N.Y. Acad. Sci. 308 (1978) S. 751). Nach Entfernung der Calcium-Kationen bilden sich dann große unilamellare
10 Liposomen.

Eine neuere Methode zur Bildung von Liposomen besteht darin, Phospholipide in einem kationischen Detergens in ein organisches Lösemittel zu geben und das Lipidgemisch auf
15 eine fein verteilte bzw. fein strukturierte Oberfläche wie Molekularsiebe, Quarz oder Zeolithe zu bringen (D.D. Lasic, J. of Coll. and Interface Sci. 124 82), (1988), S. 428-435) und anschließend das Lösungsmittel im Vakuum zu entfernen. Dabei entstehen direkt Phospholipid-Vesikel.

20

Eine allgemeine Übersicht über die gebräuchlichsten Methoden zur Liposomen-Herstellung geben z.B. die Artikel von Szoka, F. et al. in Ann. Rev. Biophys. Bioeng. 9 (1980), S. 467-508 und Lasic, D.D. in Biochem. J. 256
25 (1988), S. 1-11.

In der EP-A-0 160 266 wird eine Liposomenzusammensetzung beansprucht, die aus einem dreidimensionalen Netzwerk von Liposomen und einem Netzwerkmaterial besteht. Für das
30 Netzwerkmaterial werden bevorzugt Polysaccharide verwendet, in dem die Liposome eingebettet sind.

Nach der WO 85/03640 werden beladene Liposome in einer Gelmatrix aus Stärke oder modifizierter Stärke bean-
35 sprucht.

In der EP-A-0 069 307 wird eine Methode zur Darstellung eines Liposomengels beschrieben, wonach eine wäßrige oder lösemittelhaltige Lecithinlösung mit Ultraschall behandelt wird. Abhängig von der Beschallungsdauer und Beschallungsintensität bildet sich ein mehr oder weniger viskoses Gel aus. Durch Verlängerung der Beschallungszeit oder mittels mechanischer Rührwirkung erhält man als Endprodukt eine Liposomen enthaltende, wäßrige Lösung.

10 Ein sogenanntes Preliposomengel erhält man aus einem Gemisch von Phospholipiden, Fettsäuren und einem hydratisierenden Agens gemäß EP-A-0 211 647. Nach Zugabe von Wasser oder Pufferlösung bilden sich Liposome aus.

15 Ein phospholipidhaltiges, dünnflüssiges Gel wird in der WO 89/00077 für die Anwendung als Aerosol-Liposome beansprucht. Das System besteht aus Lecithin, einem organischen Lösemittel und wenig Wasser. Hier tritt eine weite Spanne von Liposomendurchmessern im Bereich von 100-2500
20 nm auf; für einen sinnvollen Anwendungsbereich muß ein hoher Lösungsmittelanteil gewählt werden.

Die US-A-2,090,537 betrifft ein Verfahren zur Herstellung von "wasserhaltigem" Lecithin (Lecithinhydrat), bestehend
25 aus einer homogenen Mischung von vorzugsweise 15-25% pflanzlichem Lecithin, vorzugsweise 8-25% Alkohol, insbesondere Ethanol oder Isopropanol, sowie 58-78% Wasser als Rest. Das wasserhaltige Lecithin wird erhalten, indem man Wasser und Alkohol vorzugsweise auf etwa 71°C (160°F) er-
30 hitzt, das Lecithin hinzufügt und umrührt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur kommt es zu einer Phasentrennung, bei der die unterste Phase der drei Phasen das Lecithinhydrat enthält. Diese Phase aus Lecithin, gesättigt mit Alkohol, Wasser und Öl, ist bereits als solche hin-
35 reichend stabil und kann weiter gereinigt werden durch Entfernung des Alkohols oder eines Teiles des Wassers im

Vakuum, wobei man das wasserhaltige Lecithin erhält. Alternativ kann man diese Phase durch Ansäuern auf PH4 bis PH6 als Gel erhalten.

5 Die EP-A-0 158 441 betrifft eine flüssige Zusammensetzung, enthaltend eine homogene Mischung von wenigstens einem Membranlipid, wenigstens einem wassermischbaren organischen Lösemittel, z.B. Ethanol oder Propylenglycol, das als Lösemittel für das Lipid dient und gegebenenfalls
10 eine Menge Wasser, die dadurch gekennzeichnet ist, daß diese Zusammensetzung bei Zugabe von zusätzlichem Wasser spontan Vesikel oder Liposome bildet, wobei das Gewichtsverhältnis Lipid:Lösemittel 40:1 bis 1:20 beträgt.

15 Die EP-A-0 240 346 beschreibt ein Herstellungsverfahren für Liposome mit vergrößertem Reservoir für Wirkstoffe mit folgenden Verfahrensschritten:

1. Herstellung eines Liposoms mit und ohne ein
20 Wirkstoffreservoir aus einem Phospholipid;
2. Dispergieren des Liposoms in einer wirkstoffhaltigen Flüssigkeit;
3. Hinzufügen eines leicht flüchtigen organischen Lösemittels zur Dispersion unter Gelbildung; und dann
25 4. Entfernen dieses organischen Lösemittels durch Abdampfen und Wiederherstellen der Liposome.

Die Liposome nach Verfahrensschritt 1 werden entweder als multilamellare Liposomen in an sich bekannter Weise oder
30 als unilamellare Liposomen durch Ultraschallbehandlung erhalten. Die Liposomen nach Verfahrensschritt 4 erhalten nach ihrer Aufarbeitung keine wesentlichen Anteile an organischen Lösemitteln mehr.

35 Der vorliegenden Anmeldung liegt die Aufgabe zugrunde, eine Alkohol enthaltende, wäßrige gelartige Phospholipidzusammensetzung zu schaffen, die selbstkonservierend, lagerfähig und transparent ist.

Diese Aufgabe wird dadurch gelöst, daß die gelartige Phospholipidzusammensetzung ein liposomales Gel ist, d.h. ein ausschließlich aus Liposomen aufgebautes System, das aus einem speziell zusammengesetzten Phospholipidkonzentrat, Alkohol und Wasser in speziellen Konzentrationen besteht und dessen wäßrige Phase praktisch ausschließlich innere Phase ist.

Die Erfindung betrifft somit eine Alkohol enthaltende wäßrige gelartige Phospholipidzusammensetzung, die als Alkohol Ethanol, 1-Propanol, 2-Propanol oder deren Mischungen enthält, die dadurch gekennzeichnet ist, daß die Phospholipidzusammensetzung ein liposomales Gel mit folgender Zusammensetzung ist:

15

- 15,00 - 30,00 Gew.Tl. eines Phospholipidkonzentrats, bestehend aus

70,00 - 80,00 Gew.Tl. Phosphatidylcholin,
15,00 - 5,00 Gew.Tl. sauren Phospholipiden,
5,00 - 25,00 Gew.Tl. sonstigen Phospholipiden,

wobei dieses Konzentrat pro 100 Gew.Tl. vorstehender Phospholipide weiterhin 1 - 15 Gew.Tl. phosphorfremde Begleitlipide enthält,

25

- 20,00 - 14,00 Gew.Tl. Alkohol und

- 50,00 - 71,00 Gew.Tl. einer wäßrigen Lösung.

30

Die erfindungsgemäße gelartige Phospholipidzusammensetzung weist eine transparente Struktur auf, die homogen ist und weitgehend frei von Agglomerationen und sonstigen Trübungen ist und eine mittlere Teilchengröße von 200 nm \pm 20% aufweist. (Elektronenmikroskopie, Gefrierbruch).

35

Die aus der gelartigen Phospholipidzusammensetzung durch Verdünnen mit wäßriger Lösung erhaltene liposomale Lösung weist vorzugsweise eine durchschnittliche Größe der Lipo-

somen von 200 nm \pm 20% (bestimmt nach der Laserlichtstreuungsmethode) auf und ist somit bevorzugt in topischen Zubereitungen, wie kosmetischen oder pharmazeutischen Zubereitungen, einzusetzen, die für Liposome einen
5 Teilchendurchmesser von 100 - 400 nm, vorzugsweise 100 - 200 nm, voraussetzen. Ein besonderer Vorteil ist, daß diese Liposome nicht nur im unbeladenen, sondern auch im beladenen Zustand wirkstoffabhängig transparent bleiben. Weiter sind sowohl das Gel wie auch die liposomale Lösung
10 steril und pyrogenfrei, nach DAB 9, herstellbar, so daß sie ohne zusätzliche, gegebenenfalls allergene Konservierungsstoffe zu kosmetischen und pharmazeutischen Zubereitungen formuliert werden können. Weiterhin ist es für den Fachmann überraschend gewesen, daß Alkohol in Konzentra-
15 tionen von 14 bis 20 Gew.% nicht zu einer Zerstörung der Liposomenlösung führt.

Schließlich kann aus der erfindungsgemäßen Phospholipidzusammensetzung (Liposomengel) eine liposomale Lösung in
20 technisch einfacher Weise erhalten werden, ohne technisch und energetisch aufwendige Verfahrensschritte durchführen zu müssen, also insbesondere ohne die Temperatur zu erhöhen oder Ultraschall einzusetzen.

25 Die Phospholipidkonzentrate als einer der Bestandteile der erfindungsgemäßen Phospholipidzusammensetzung werden aus natürlichen Phospholipidgemischen erhalten, beispielsweise aus Ölsaaten, wie Sojabohne, Raps, Sonnenblume usw.

30

Ein Anreicherungsverfahren zur Herstellung derartiger Phospholipidkonzentrate ist in der EP-A-0 069 770 beschrieben. Derartige Phospholipidkonzentrate bestehen aus Phospholipiden (Phosphatidylcholin, sauren Phospholipiden
35 und sonstigen Phospholipiden) sowie phosphorfreien Begleitlipiden. Zu den sauren Phospholipiden zählt das Phosphatidylethanolamin, die Phosphatidsäure sowie das N-Acyl-Phosphatidylethanolamin. Zu den sonstigen Phospho-

lipiden zählt das Lyso-Phosphatidylcholin und das Phosphatidylinosit. Zu den phosphorfreien Begleitlipiden zählen u. a. die Glycolipide und die Phytolipide. Die phosphorfreien Begleitlipide liegen in den Phospholipidkonzentrat, bezogen auf 100 Gew.Tl. Phospholipide, in 1-15 Gew.Tl., vorzugsweise 1-9 Gew.Tl., besonders bevorzugt 1-5 Gew.Tl., vor.

Das vorstehend beschriebene Phospholipidkonzentrat weist somit folgende Zusammensetzung auf:

60,87 - 79,21 Gew.-% Phosphatidylcholin
14,85 - 4,35 Gew.-% saure Phospholipide
4,95 - 21,74 Gew.-% sonstige Phospholipide und
15 0,99 - 13,04 Gew.-% phosphorfreie Begleitlipide.

Eine weitere bevorzugte Ausführungsform des Phospholipidkonzentrats als Bestandteil der erfindungsgemäßen Phospholipidzusammensetzung ist eine Mischung aus 80 Gew.Tl. Phosphatidylcholin, 5-15 Gew.Tl. sauren Phospholipiden, und 15-5 Gew.Tl. sonstigen Phospholipiden, wobei dieses Konzentrat pro 100 Gew.Tl. vorstehender Phospholipide weiterhin 1-9 Gew.Tl. phosphorfreie Begleitlipide enthält. Ein derartiges bevorzugtes Phospholipidkonzentrat weist somit folgende Zusammensetzung auf:

73,39 - 79,21 Gew.% Phosphatidylcholin,
4,95 - 13,76 Gew.% saure Phospholipide,
14,85 - 4,59 Gew.% sonstige Phospholipide und
30 0,99 - 8,26 Gew.% phosphorfreie Begleitlipide.

Das Phospholipidkonzentrat wird in Mengen von 15,00 - 30,00 Gew.Tl., vorzugsweise 20,20 - 30,00 Gew.Tl./100 Gew.Tl. der erfindungsgemäßen Phospholipidzusammensetzung eingesetzt.

Der Alkohol wird in Mengen von 14 - 20 Gew.Tl., vorzugsweise etwa 16 Gew.Tl. pro 100 Gew.Tl. der erfindungsgemäßen Phospholipidzusammensetzung eingesetzt.

- 5 Die wäßrige Lösung wird in Mengen von 50 - 71,00 Gew.Tl., vorzugsweise 54,00 - 63,80 Gew.Tl., pro 100 Gew.Tl. der Phospholipidzusammensetzung eingesetzt. Unter wäßriger Lösung im Sinne der vorliegenden Erfindung wird einmal destilliertes Wasser, Leitungswasser, gereinigtes Wasser
- 10 DAB 9, entmineralisiertes Wasser, wie auch Pufferlösungen, wie etwa Phosphatpuffer oder eine physiologische Kochsalzlösung verstanden.

Bei der durch Verdünnen der Phospholipidzusammensetzung

15 unter Rühren erhaltene liposomale Lösung liegen die Bestandteile in folgenden Konzentrationen vor:

Das Phospholipidkonzentrat liegt in der liposomalen Lösung in Mengen von 10,10 - 20,20 Gew.Tl., bevorzugt 10,10

20 Gew.Tl., bezogen auf 100 Gew.Tl. der gesamtliposomalen Lösung vor. Der Alkohol liegt in der liposomalen Lösung in Mengen von etwa 16 Gew.Tl., bezogen auf 100 Gew.Tl. der gesamtliposomalen Lösung vor. Die wäßrige Lösung liegt in der liposomalen Lösung in Mengen von 63,80 -

25 73,90 Gew.Tl., bezogen auf 100 Gew.Tl. der gesamtliposomalen Lösung vor. Nach einer bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung kann dem liposomalen Gel wenigstens ein biologisch aktiver Wirkstoff zugemischt werden. Beispiele für derartige Wirkstoffe sind Antiphlogistika wie Ketoprofen, Bisabolol usw., Anticoagulantika

30 wie Heparin, Hirudin usw., Antimykotika, sowie Spasmolytika oder durchblutungsfördernde Mittel wie Papaverin.

Die vorliegende Erfindung betrifft weiterhin topisch applizierbare Zubereitungen, die wenigstens eine der vorstehend beschriebenen Phospholipidzusammensetzungen in Kombination mit wenigstens einem biologisch aktiven Wirkstoff und üblichen Hilfs- und Zusatzstoffen enthält. Bio-

35

logisch aktive Wirkstoffe, die im Zusammenhang mit Gelen verabreicht werden sollen, sind beispielsweise vorstehend beschriebene Wirkstoffe.

- 5 Die vorliegende Erfindung betrifft weiterhin pharmazeuti-
sche Zubereitungen, die wenigstens eine Phospholipidzu-
sammensetzung der vorstehend beschriebenen Art in Kombi-
nation mit wenigstens einem biologisch aktiven Wirkstoff
enthalten, vorzugsweise zur Behandlung der vorstehend be-
10 schriebenen Indikationen.

Die vorliegende Erfindung betrifft schließlich kosmeti-
sche Zubereitungen, die wenigstens eine vorstehend be-
schriebene Phospholipidzusammensetzung in Kombination mit
15 wenigstens einem kosmetischen Wirkstoff zur Haut- und
Haarpflege enthält, wobei es sich vorzugsweise um ein in
die Hornhaut penetrierendes pflegendes Mittel, wie bei-
spielsweise Harnstoff, Elastin usw., handelt.

- 20 Eine besonders bevorzugte Ausführungsform der vorliegen-
den Erfindung ist ein Gel, das aus 20 % Phospholipid (mit
einem Gehalt von 80 % Phosphatidylcholin) und 16 % Etha-
nol besteht und welches durch folgende Parameter bestimmt
wird:

25

- | | |
|--|------------------------------------|
| - Aussehen | gold-braunes, leicht trübes
Gel |
| - Transmission
(c= 0,5 % in Wasser, 660 nm) | mind. 50% (DAB 9, V.6.19) |
| 30 - Viskosität
(gem. bei 20°C) | 5000 ± 2000 mPa.s |

Die elektronenmikroskopische Untersuchung nach der Metho-
de von Müller, T. et al., Seifen Öle Fette Wachse 3, 88-
35 89 (1989), zeigt nach Anwendung der Gefrierbruchtechnik
die liposomale Struktur des Gels (Fig. 1).

Der Nachweis der Liposome erfolgte nach der von Zellmann et al., ZEISS Application EM 902 Cryo, 1989, beschriebenen Methode (Fig. 2).

- 5 Die vorliegende Erfindung wird nachfolgend anhand von 2 Figuren, die bevorzugte Ausführungsformen der Erfindung zeigen, näher erläutert.

Es zeigen:

10

Fig. 1: Gezeigt werden die Liposomen der nach der Gefrierbruchtechnik präparierten Probe des erfindungsgemäß hergestellten Gels in Form einer elektronenmikroskopischen Aufnahme. Die Liposomen bilden ein vesikuläres Gel. Sie haben engen Kontakt untereinander und es kann kein zusätzliches Wasser gesehen werden. (1 Maßeinheit entspricht 350 nm).

15

- 20 Fig. 2: Die kryoelektronenmikroskopische Aufnahme einer 3%-igen Dispersion des erfindungsgemäß hergestellten Gels in Wasser zeigt, daß eine solche Präparation ausschließlich multilamellare Liposomen enthält. (1 Maßeinheit entspricht 350 nm).

25

Die Herstellung der gelartigen Phospholipidzusammensetzung erfolgt in technisch besonders einfacher Art und Weise, indem man das Phospholipidkonzentrat bestimmter Zusammensetzung mit einer bestimmten Menge an Alkohol kurze Zeit rührt und durch Wasserzugabe und weiteres Rühren Gelbildung veranlaßt. Das Durchrühren kann mit jedem handelsüblichen Rührer durchgeführt werden.

Allerdings muß dieser eine genügend große Drehzahl besitzen, so daß in kurzer Zeit eine starke Durchmischung erreicht wird. Hierbei ist von einer Phospholipidzusammensetzung auszugehen, die im allgemeinen einen pH-Wert im Bereich von 5 bis 8, vorzugsweise 6,5 bis 7,5 aufweist.

35

Die Erfindung wird nun anhand von Ausführungsbeispielen näher erläutert, wobei folgende Phospholipidkonzentratzusammensetzung verwendet wird:

- 5 Die Phospholipidanteile dieser Zusammensetzung bestehen aus:
- Phosphatidylcholin 80 %;
 - saure Phospholipide 15 %;
 - sonstige Phospholipide 5 %.
- 10 Die phosphorfreen Begleitlipide liegen bei 5 Gew.Tl. bezogen auf 100 Gew.Tl. Phospholipide, d.h. es sind 4,76 Gew.% phosphorfreen Begleitlipide enthalten.

Beispiel 1

- 15 10,48 g des Phospholipidkonzentrates (mit 10 g Phospholipiden) werden in 8 g Ethanol unter Rühren aufgelöst. Die Lösung besitzt eine Viskosität von 806 mPa.s (bei 25°C) und ist homogen. Die Lösung wird mit 31,52 g entmineralisiertem Wasser während 3 Min. homogenisiert, wobei ein
- 20 handelsüblicher schnellaufender Laborrührer verwendet wird. Man erhält ein transparentes Gel mit 20,96 Gew.% Phospholipidkonzentrat (20 Gew.-% Phospholipiden).

Beispiel 2

- 25 Analog Beispiel 1 werden 15,72 g des Phospholipidkonzentrates (mit 15 g Phospholipid) in 8 g Ethanol gelöst. Die Lösung wird mit 26,28 g entmineralisiertem Wasser 3 Min. gerührt, bis ein homogenes, transparentes Gel entsteht. Das Gel enthält 31,4 Gew.% Phospholipidkonzentrat (30
- 30 Gew.% Phospholipide).

Beispiel 3

- Analog Beispiel 1 werden 15,72 g des Phospholipidkonzentrates (mit 15 g Phospholipid) in 8 g 2-Propanol gelöst.
- 35 Es werden 26,28 g entmineralisiertes Wasser zugegeben und noch 3 Min. gerührt. Es entsteht ein transparentes Gel, das 31,40 Gew.% Phospholipidkonzentrat (30,00 Gew.Tl. Phospholipide) enthält.

Beispiel 4

Wie in Beispiel 1 werden 10,48 g des Phospholipidkonzentrates (mit 10 g Phospholipiden) in 8 g 2-Propanol gelöst. Nach Zugabe von 36,52 g entmineralisiertem Wasser wird 3 Min. gerührt und man erhält ein transparentes Gel mit 19,05 Gew.% Phospholipidkonzentrat (18,18 Gew.% Phospholipiden).

Die nachfolgenden Beispiele zeigen, wie durch einfache Verfahrensschritte aus dem phospholipidhaltigen liposomalen Gel liposomale Lösungen erhalten werden.

Beispiel 5

Die gesamte Menge des in Beispiel 1 erhaltenen Phospholipidgels (50 g) wird mit 42 g 0,2 molarer Phosphat-Pufferlösung pH 7,4 versetzt und 4 Min. gerührt. Die entstehende dünnflüssige Dispersion wird mit 8 g Ethanol versetzt und noch eine Minute bis zum fertigen Endprodukt weitergerührt. Die Verhältnisse Phospholipidkonzentrat: Ethanol:wäßriger Lösung betragen 20,96:16:73,04 (Phospholipid:Ethanol:Wasser betragen 10:16:74). Die mittlere Teilchengröße, gemessen nach der Laserstreulichtmethode, beträgt 204 nm ($\pm 20\%$).

Beispiel 6

Die gesamte Menge des in Beispiel 2 erhaltenen Phospholipidgels (50 g) wird mit 84 g Leitungswasser versetzt, 4 Min. verrührt und dann 16 g Ethanol zugegeben. Nach einer weiteren Rührzeit von 1 Min. erhält man als Endprodukt eine liposomale Lösung mit einem Ethanolgehalt von 16 Gew.% und 10,48 Gew.% Phospholipidkonzentrat (entsprechend 10 Gew.% Phospholipiden) und einer mittleren Teilchengröße von 194 nm ($\pm 20\%$). Trotz der Verwendung von Leitungswasser, das üblicherweise mit Mikroorganismen und Salzen verunreinigt ist, erhält das Produkt weniger als 100 Keime pro Gramm.

Beispiel 7

Analog Beispiel 6 werden der gesamten Gelmenge aus Beispiel 4 111 g physiologische Kochsalzlösung (0,9 Gew.% Natriumchlorid) zugegeben. Nach 4 Min. Rühren gibt man
5 noch 24 g 2-Propanol hinzu und rührt eine weitere Minute. Die mittlere Teilchengröße der Vesikel in der liposomalen Lösung beträgt 200 nm (\pm 20%).

Beispiel 8

10 Das in Beispiel 4 erhaltene Phospholipidgel wird unter Rühren mit 37 g 0.2 molarer Phosphatpufferlösung versetzt, 4 Min. gerührt, 8 g 2-Propanol hinzugegeben und noch 1 Min. weitergerührt. Die mittlere Teilchengröße der
15 Vesikel in der liposomalen Lösung beträgt 187 nm (\pm 20%).

Die Keimzahl der erfindungsgemäßen gelartigen Phospholipidzusammensetzungen gemäß Beispielen 1 bis 4 sowie der erfindungsgemäßen hieraus erhaltenen liposomalen Lösungen nach Beispielen 5 bis 8 wurde nach den Anforderungen des
20 DAB 9 für Arzneimittel der Kategorie 2, Zubereitungen zur topischen oder andersartigen lokalen Anwendung bestimmt. In allen Fällen lag die Keimzahl unter 100 Keimen/g der Zubereitung und entspricht damit den DAB 9 Anforderungen.

25

Zubereitungen mit biologisch aktiven Wirkstoffen

Die Liposomen, die im erfindungsgemäß hergestellten Gel vorhanden sind (Fig. 1), können mit verschiedenen Wirk-
30 substanz beladen werden. Überraschenderweise kann die Beladung sowohl mit lipophilen (z.B. Bisabolol) als auch mit hydrophilen (z.B. Papaverin x HCl) Substanzen vorgenommen werden.

35 Zubereitung 1:

97,0 g erfindungsgemäß hergestelltes Gel gemäß Beispiel 1 werden mit 3,0 g Bisabolol mittels eines Propellerrührers 10 Min bei 50°C gerührt. 15,0 g dieses Gemisches werden

mit 85,00 g entmineralisiertem Wasser verdünnt. Die mittlere Teilchengröße einer mit entmineralisiertem Wasser auf 0,01% Phospholipid verdünnten Lösung betrug 215 nm (Laserlichtstreuung).

5

Zubereitung 2:

4,0 g Papaverin *HCl werden in 36,0 g Ethanol gelöst und mit 360,0 g erfindungsgemäß hergestelltem Gel gemäß Beispiel 1 in einem schnell rührenden Mixer homogenisiert.

10 Die mittlere Teilchengröße betrug 175 nm (Laserlichtstreuung).

Zubereitung 3:

1,43 g Hirudin (100.000 ATE/100 g) werden mit 98,57 g des 15 erfindungsgemäß hergestellten Gels gemäß Beispiel 1 in einer Fantaschale verrührt und in einem schnell rührenden Mixer homogenisiert. Die mittlere Teilchengröße betrug 151 nm (Laserlichtstreuung), der pH-Wert 6,9.

20 Zubereitung 4:

1,98 g Heparin-Na werden in 40,0 g Ethanol, 204,33 g entmineralisiertem Wasser und 3,7 g NaCl mittels eines Magnetrührers gelöst. Diese Lösung wird mit 250,0 g erfindungsgemäß hergestellten Gels gemäß Beispiel 1 mit einem 25 schnell rührenden Mixer homogenisiert. Die mittlere Teilchengröße einer mit entmineralisiertem Wasser auf 0,01% Phospholipid verdünnten Lösung betrug 231 nm, der pH-Wert 6,5.

30 Zubereitung 5:

1,0 g Ketoprofen werden mit 1,60 g Ethanol, 90,0 g erfindungsgemäß hergestelltem Gel gemäß Beispiel 1, 8,4 g entmineralisiertem Wasser und 0,60 g 10 %-iger wäßriger Natriumhydroxidlösung in einer Fantaschale verrührt. Die 35 mittlere Teilchengröße einer mit entmineralisiertem Wasser auf 0,01 % Phospholipid verdünnten Lösung betrug 216 nm.

Zubereitung 6:

5 g Harnstoff werden mit 20 g des gemäß Beispiel 1 hergestellten Gels verrührt und anschließend mit entmineralisiertem Wasser auf 3% Phospholipid verdünnt. Es entstehen 5 Liposomen mit einer mittleren Teilchengröße von 175 nm.

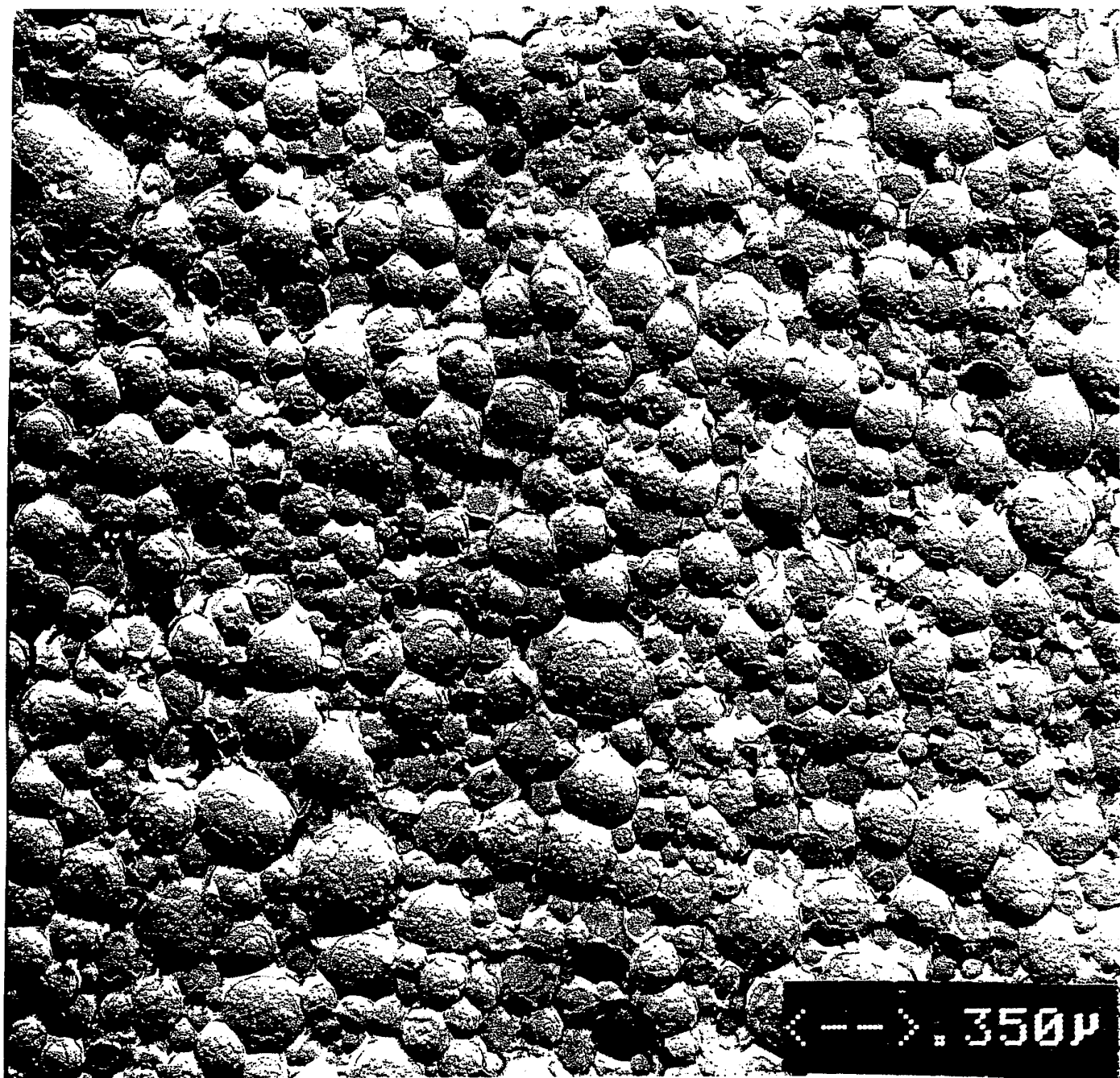
Zubereitung 7:

5 g Elastin werden mit 20 g des gemäß Beispiel 1 hergestellten Gels verrührt und anschließend mit entmineralisiertem Wasser auf 3% Phospholipid verdünnt. Es entstehen 10 Liposomen mit einer mittleren Teilchengröße von 171 nm.

P A T E N T A N S P R Ü C H E

1. Alkohol enthaltende wäßrige gelartige Phospholipidzusammensetzung, die als Alkohole Ethanol, 1-Propanol,
5 2-Propanol oder deren Mischungen enthält,
d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t,
daß diese Zusammensetzung ein liposomales Gel mit
folgenden Bestandteilen ist:
- 10 - 15,00 - 30,00 Gew.Tl. eines Phospholipidkonzentrats,
bestehend aus
70,00 - 80,00 Gew.Tl. Phosphatidylcholin,
15,00 - 5,00 Gew.Tl. sauren Phospholipiden,
5,00 - 25,00 Gew.Tl. sonstigen Phospholipiden,
15 wobei dieses Konzentrat pro 100 Gew.Tl. vorstehender
Phospholipide weiterhin 1-15 Gew.Tl. phosphorfremde
Begleitlipide enthält,
- 20,00 - 14,00 Gew.Tl. Alkohol sowie
- 50,00 - 71,00 Gew.Tl. einer wäßrigen Lösung.
- 20
2. Phospholipidzusammensetzung nach Anspruch 1,
d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t,
daß das Phospholipidkonzentrat aus
80 Gew.Tl. Phosphatidylcholin,
25 5 - 15 Gew.Tl. sauren Phospholipiden,
15 - 5 Gew.Tl. sonstigen Phospholipiden
besteht,
wobei dieses Konzentrat pro 100 Gew.Tl. vorstehender
Phospholipide weiterhin 1 - 9 Gew.Tl. phosphorfremde
30 Begleitlipide enthält.
3. Phospholipidzusammensetzung nach Anspruch 1 und 2,
d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t,
daß das liposomale Gel einen Alkoholgehalt in der Endfor-
35 mulierung von etwa 16 Gew.% aufweist.

4. Verwendung der Phospholipidzusammensetzung nach Ansprüchen 1 bis 3, zur Herstellung von liposomalen Lösungen durch Verdünnen mit einer Wasser enthaltenden Lösung.
- 5 5. Verwendung nach Anspruch 4,
d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t,
daß die Wasser enthaltende Lösung weiterhin wenigstens einen biologisch aktiven Wirkstoff enthält.
- 10 6. Verwendung nach Anspruch 5,
d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t,
daß der Wirkstoff ein Antiphlogistikum, ein Anticoagulan-
z, ein Antimykotikum, ein Spasmolytikum oder ein
durchblutungsförderndes Mittel oder ein in die Hornhaut
15 penetrierendes pflegendes Mittel ist.
7. Topisch applizierbare pharmazeutische oder kosmetische Zubereitungen, enthaltend wenigstens eine Phospholipidzusammensetzung nach Ansprüchen 1 bis 3 in Kombination mit
20 wenigstens einem biologisch aktiven Wirkstoff und üblichen Hilfs- und Zusatzstoffen.
8. Zubereitungen nach Anspruch 7,
d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t,
25 daß der Wirkstoff ein Antiphlogistikum, ein Anticoagulan-
z, ein Antimykotikum, ein Spasmolytikum, ein durchblutungsförderndes Mittel oder ein in die Hornhaut penetrierendes pflegendes Mittel ist.



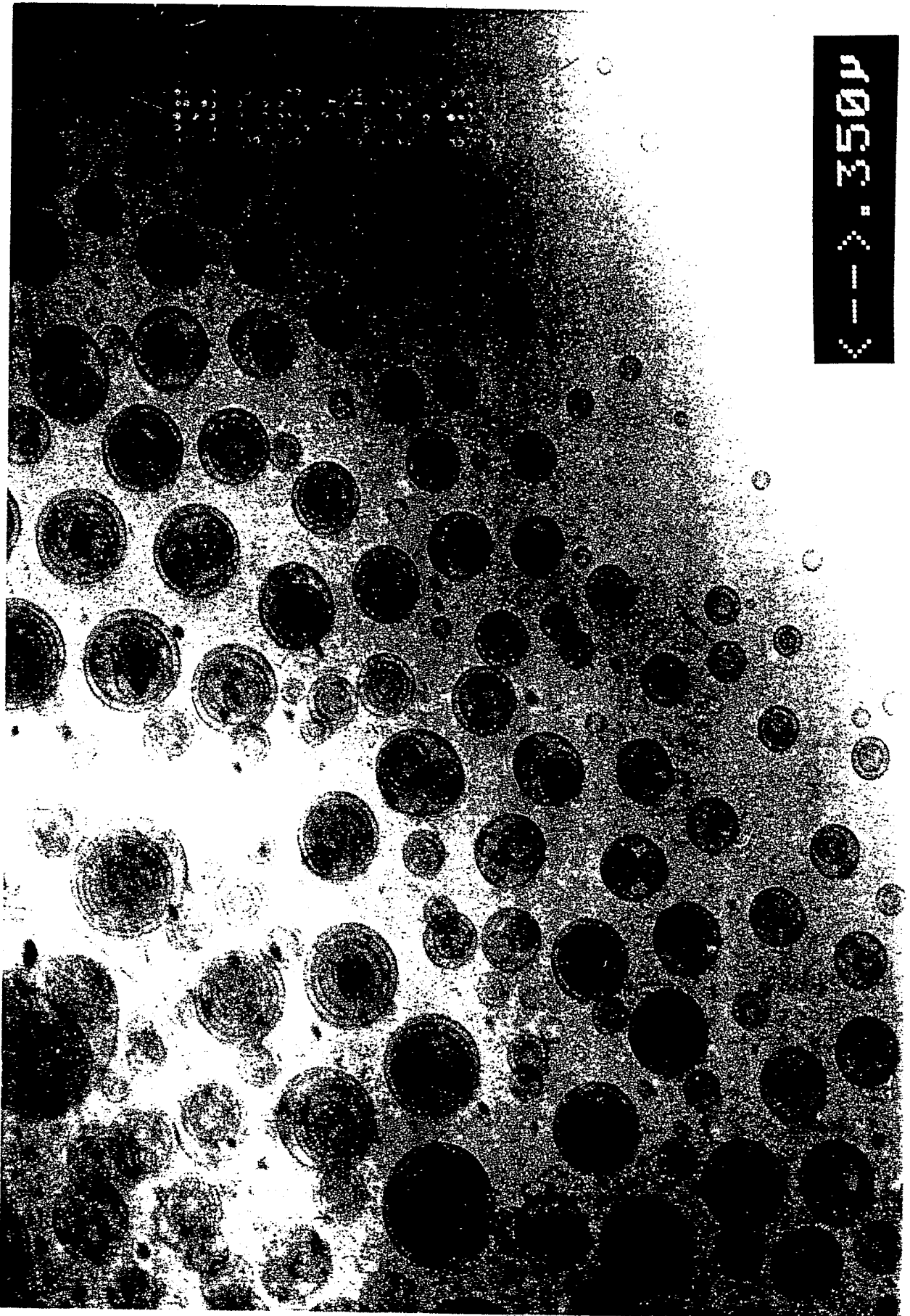


Fig. 2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No PCT/EP91/00229

I. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER (If several classification symbols apply, indicate all) ⁶		
According to International Patent Classification (IPC) or to both National Classification and IPC		
Int.Cl ⁵ : A61K 9/127, 9/06, 7/48		
II. FIELDS SEARCHED		
Minimum Documentation Searched ⁷		
Classification System	Classification Symbols	
Int.Cl ⁵	A61K	
Documentation Searched other than Minimum Documentation to the Extent that such Documents are Included in the Fields Searched ⁸		
III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT ⁹		
Category ⁹	Citation of Document, ¹¹ with indication, where appropriate, of the relevant passages ¹²	Relevant to Claim No. ¹³
A	EP, A3, 0100459 (EISAI CO.) 15 February 1984, see page 4, line 25 - page 7, line 26 claims	1-8
A	EP, A3, 0069307 (F. HOFFMANN-LA ROCHE & CO.) 12 January 1983, see claims, (cited in the application)	1-8
X	EP, A1, 0051833 (EXTRAKTA STRAUSS GMBH) 19 May 1982, see page 1, line 1 - page 5, line 34 examples and claims	1-8
P,A	WO, A1, 9009782 (LIPOSOME TECHNOLOGY, INC.) 7 September 1990, see page 4, line 15 - page 6, line 20 example 7; claims	1-8

<p>⁹ Special categories of cited documents: ¹⁰</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"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)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> <p>"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</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step</p> <p>"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.</p> <p>"&" document member of the same patent family</p>		
IV. CERTIFICATION		
Date of the Actual Completion of the International Search	Date of Mailing of this International Search Report	
17 April 1991 (17.04.91)	22 May 1991 (22.05.91)	
International Searching Authority	Signature of Authorized Officer	
European Patent Office		

**ANNEX TO THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT
ON INTERNATIONAL PATENT APPLICATION NO.PCT/EP 91/00229**

SA 44030

This annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report.
The members are as contained in the European Patent Office EDP file on 23/03/91
The European Patent office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP-A3- 0100459	15/02/84	CA-A- 1209908 JP-A- 59010511	19/08/86 20/01/84
EP-A3- 0069307	12/01/83	JP-A- 58008019	18/01/83
EP-A1- 0051833	19/05/82	DE-A-C- 3042365 JP-A- 57108021	03/06/82 05/07/82
WO-A1- 9009782	07/09/90	AU-D- 5182590 US-A- 4944948	26/09/90 31/07/90

For more details about this annex : see Official Journal of the European patent Office, No. 12/82

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP 91/00229

I. KLASSIFIKATION DES ANMELDUNGSGENSTANDS (bei mehreren Klassifikationssymbolen sind alle anzugeben) ⁵		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC		
Int.Cl.5 A 61 K 9/127, 9/06, 7/48		
II. RECHERCHIERTE SACHGEBIETE		
Recherchierter Mindestprüfstoff ⁷		
Klassifikationssystem	Klassifikationssymbole	
Int.Cl.5	A 61 K	
Recherchierte nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Sachgebiete fallen ⁸		
III. EINSCHLÄGIGE VERÖFFENTLICHUNGEN ⁹		
Art *	Kenzeichnung der Veröffentlichung ¹¹ , soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile ¹²	Betr. Anspruch Nr. ¹³
A	EP, A3, 0100459 (EISAI CO.) 15 Februar 1984, siehe Seite 4, Zeile 25 - Seite 7, Zeile 26 Ansprüche --	1-8
A	EP, A3, 0069307 (F. HOFFMANN-LA ROCHE & CO.) 12 Januar 1983, siehe Ansprüche; in der Anmeldung erwähnt --	1-8
X	EP, A1, 0051833 (EXTRAKTA STRAUSS GMBH) 19 Mai 1982, siehe Seite 1, Zeile 1 - Seite 5, Zeile 34 Beispiele und Ansprüche --	1-8
<p>* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen¹⁰:</p> <p>"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist</p> <p>"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist</p> <p>"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)</p> <p>"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht</p> <p>"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist</p> <p>"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</p> <p>"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden</p> <p>"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</p> <p>"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist</p>		
IV. BESCHEINIGUNG		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche	Absenddatum des internationalen Recherchenberichts	
17. April 1991	22 NOV 1991	
Internationale Recherchenbehörde	Unterschrift des bevollmächtigten Bediensteten	
Europäisches Patentamt	MISS D. S. KOWALCZYK	

III. EINSCHLÄGIGE VERÖFFENTLICHUNGEN (Fortsetzung von Blatt 2)		
Art *	Kenzeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile	Betr. Anspruch Nr.
P,A	WO, A1, 9009782 (LIPOSOME TECHNOLOGY, INC.) 7 September 1990, siehe Seite 4, Zeile 15 - Seite 6, Zeile 20 Beispiel 7; Ansprüche -- -----	1-8

**ANHANG ZUM INTERNATIONALEN RECHERCHENBERICHT
 ÜBER DIE INTERNATIONALE PATENTANMELDUNG NR.PCT/EP 91/00229**

SA 44030

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten internationalen Recherchenbericht angeführten Patentedokumente angegeben.
 Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am 23/03/91
 Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

Im Recherchenbericht angeführtes Patentedokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP-A3- 0100459	15/02/84	CA-A- 1209908	19/08/86
		JP-A- 59010511	20/01/84
EP-A3- 0069307	12/01/83	JP-A- 58008019	18/01/83
EP-A1- 0051833	19/05/82	DE-A-C- 3042365	03/06/82
		JP-A- 57108021	05/07/82
WO-A1- 9009782	07/09/90	AU-D- 5182590	26/09/90
		US-A- 4944948	31/07/90

Für nähere Einzelheiten zu diesem Anhang : siehe Amtsblatt des Europäischen Patentamts, Nr.12/82