



(19)  
Bundesrepublik Deutschland  
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 696 28 296 T2** 2004.05.06

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 0 835 118 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **696 28 296.8**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/FR96/00991**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **96 924 019.1**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 97/001343**

(86) PCT-Anmeldetag: **25.06.1996**

(87) Veröffentlichungstag  
der PCT-Anmeldung: **16.01.1997**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **15.04.1998**

(97) Veröffentlichungstag  
der Patenterteilung beim EPA: **21.05.2003**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **06.05.2004**

(51) Int Cl.7: **A61K 31/70**  
**C11D 7/08**

(30) Unionspriorität:  
**9508085 28.06.1995 FR**

(73) Patentinhaber:  
**Sophor S.A., Rueil-Malmaison, FR**

(74) Vertreter:  
**Vonnemann, Kloiber & Kollegen, 80796 München**

(84) Benannte Vertragsstaaten:  
**DE, GB, IE, IT, NL, SE**

(72) Erfinder:  
**MAINGAULT, Martine, F-49260  
Saint-Macaire-du-Bois, FR**

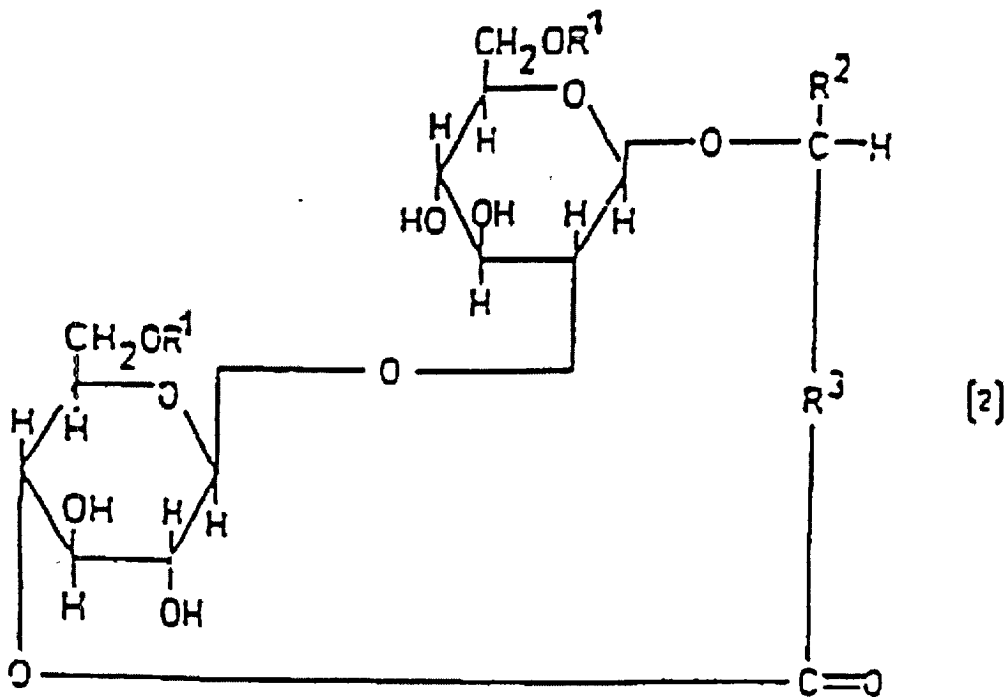
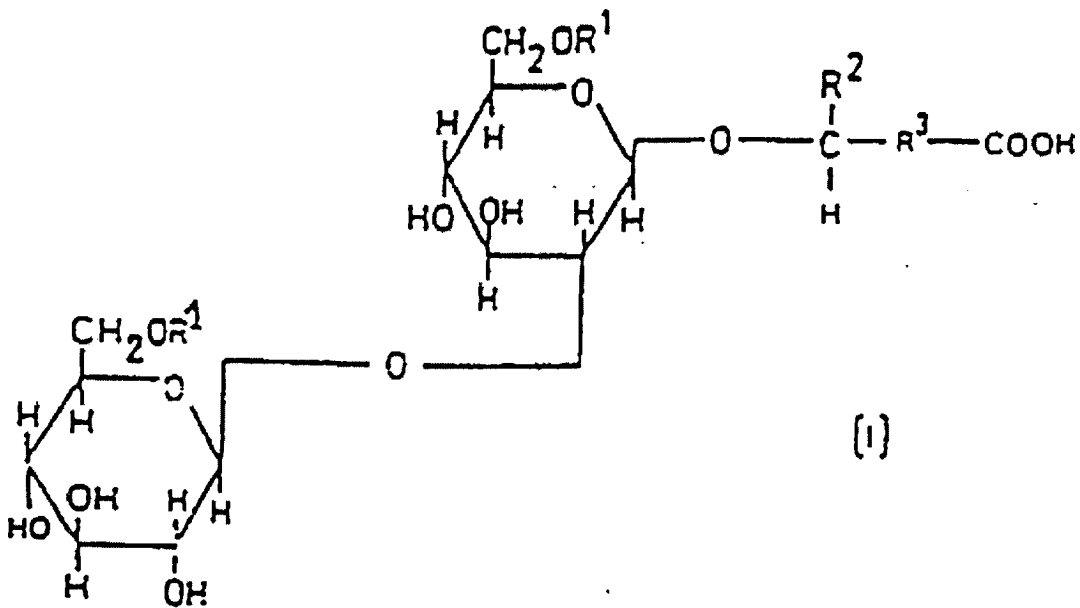
(54) Bezeichnung: **VERWENDUNG VON SOPHOROLIPIDEN ZUR HERSTELLUNG KOSMETISCHER PRODUKTE,  
INSBESONDERE ZUR BEHANDLUNG DER HAUT**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

**Beschreibung**

- [0001] Die vorliegende Erfindung betrifft eine neue Verwendung der Sophorolipide, die zur Gruppe der Glycolipide gehören.
- [0002] Die auch Sophoroside genannten Sophorolipide werden im Allgemeinen durch Fermentation eines Substrats mittels eines geeigneten Bakterienstammes erhalten. Herstellungsverfahren dieser Sophorolipide sind vor allem in dem Patent FR-A-2.399.438, der internationalen Patentanmeldung PCT/FR91/01027 oder den Patenten US-A-3.205.150 und US-A-3.312.684 und der Veröffentlichung JALS vol. 65, Nr. 9, 1988, 1460–1466, Asmer, H., Jetal; "Microbial production, structure elucidation and bioconversion of sophorose lipids" beschrieben. Diese Sophorolipide bestehen aus mehreren Klassen. Man unterscheidet insbesondere die Lactonformen, die ggf. in Position 6' und 6" der Sophorose acetyliert sind, und die Säureformen, die ggf. in Position 6' der Sophorose acetyliert sind. Die Fettkette variiert in sich in Abhängigkeit der Länge der sie bildenden Säureketten, der Anzahl und der Position der Unsättigungen und der Hydroxylierungsposition.
- [0003] Die Patentanmeldung WO 95/34282 beschreibt und bildet ein Beispiel für die Sophorolipide als Schutzreagens der Haare und der Haut und vor allem für deren Anti-Radikal-, Anti-Elastase- und Anti-Entzündungseigenschaften.
- [0004] Das Patent US 4 305 961 beschreibt eine kosmetologische Zusammensetzung, die als Befeuchtungsmittel Hydroxyalkylgruppen, welche an allen Sekundäralkoholfunktionen und an den Acetylgruppen von Sophorolipiden esterifiziert sind, umfassen. Schließlich beschreibt Inoue Proc World conf. Biotechnol. fats oil, ind, 1988, 206–9 "Bio-surfactants in cosmetic applications" die Sophorolipide als Befeuchtungsmittel der Haut.
- [0005] Die Sophorolipide sind bereits in der Kosmetik in Lactonform bei der Behandlung der Haare verwendet worden, um Schuppen zu bekämpfen wie in dem Patent EP-B-209.783 beschrieben und als bakteriostatisches Reagens in den Deodorierungsmitteln.
- [0006] Zusammenfassend beschreiben diese Dokumente kosmetologische Anwendungen der Sophorolipide.
- [0007] Das Ziel der vorliegenden Erfindung ist es, zu zeigen, dass die Sophorolipide außerdem hohe biologische Aktivitäten zeigen, die sich speziell für die Behandlung der Haut im allgemeinen und im speziellen für die Behandlung der Feinästhetik der Haut als interessant erweisen.
- [0008] Die Erfindung betrifft zu dieser Wirkung die Verwendung einer Sophorolipidverbindung, die den allgemeinen Formeln (1) oder (2) entspricht, in denen R1 den Wasserstoff oder eine Acetylgruppe und R2 den Wasserstoff oder einen Alkylrest mit 1 bis 9 Kohlenstoffatomen bedeutet, wenn R3 ein gesättigter Kohlenwasserstoffrest mit 7 bis 16 Kohlenstoffatomen ist, oder auch R2 den Wasserstoff oder eine Methylgruppe bedeutet, wenn R3 ein ungesättigter Kohlenwasserstoffrest mit 13 bis 17 Kohlenstoffatomen ist.
- [0009] Die Erfindung betrifft auch die Verwendung einer Sophorolipidverbindung der allgemeinen Formel (1), die wenigstens einer Deacetylierung und einer Esterifizierung der Carboxylgruppe unterlag.
- [0010] Die Erfindung betrifft speziell die Verwendung dieser Sophorolipidverbindung als aktive Substanz bei der kosmetischen Behandlung der Haut.



[0011] Gemäß einer der bevorzugten Ausführungsformen der Erfindung kann diese Sophorolipidverbindung als die Abschuppung begünstigendes Reagenz aufgrund seiner Wirkung auf die Kohäsion der Corneocyten oder auch als Depigmentierungsreagenz oder auch als partieller Inhibitor der Melanogenese zur Behandlung der braunen Flecken verwendet werden.

[0012] Die Erfindung betrifft auch pharmazeutische Zusammensetzungen, dadurch gekennzeichnet, dass sie einen pharmazeutisch inerten Wirkstoffträger einschließen und als Wirkstoff wenigstens eine Verbindung, die durch die Formeln (1) oder (2), die hiernach angezeigt sind, dargestellt ist, ein Salz wenigstens einer Verbindung einer oben angegebenen Formel (1) oder einer deacetylierten Verbindung einer Formel (1), deren Carboxylgruppe esterifiziert ist.

[0013] Die Erfindung betrifft schließlich die Verwendung einer durch die oben angegebenen Formeln (1) oder (2) dargestellten Verbindung, eines Salzes einer Verbindung einer Formel (1) oder einer Verbindung einer Formel (1), die deacetyliert ist und deren Carboxylgruppe esterifiziert ist, zum Erhalt einer kosmetischen Zusammensetzung, die darauf ausgerichtet ist, die Desquamation oder Depigmentierung der Haut zu begünstigen oder die braunen Flecken auf der Hautoberfläche zu behandeln.

[0014] Die Erfindung wird beim Lesen der nachfolgenden Beschreibung von Ausführungsbeispielen in Bezug auf die anliegenden Tabellen besser verstanden werden, in denen:

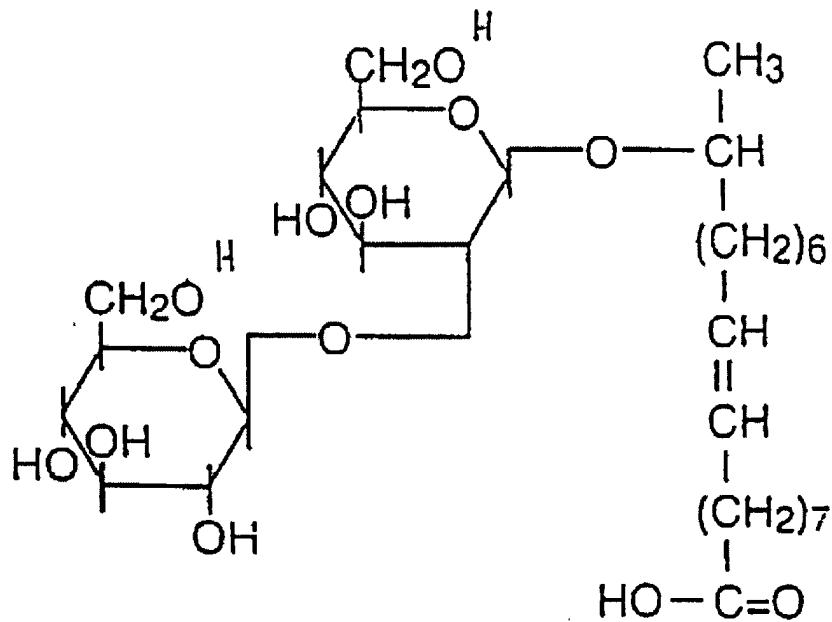
Die Tabelle 1 die Ergebnisse eines Desquamationstests zeigt und die Tabelle 2 die Ergebnisse eines Melanindosierungstests in Melanozyten zeigt, die in Kontakt mit den Produkten der Erfindung platziert worden sind.

[0015] Wie die entwickelten Formeln (1) und (2) oben zeigen, kann der Lipidteil der Sophorolipide variieren. Diese Sophorolipide liegen im übrigen in Form eines Gemisches verschiedener Sophorolipide vor. Dennoch ist die häufigste Hydroxysäure 17-Hydroxyoctadec-9-ensäure, auch 17-Hydroxyölsäure genannt. Folglich werden alle unten genannten Tests mit einem Sophorolipid in Säureform durchgeführt, das durch die Formel (a) dargestellt ist, oder mit einem Sophorolipid in Lactonform, das durch die Formel (b) dargestellt ist.

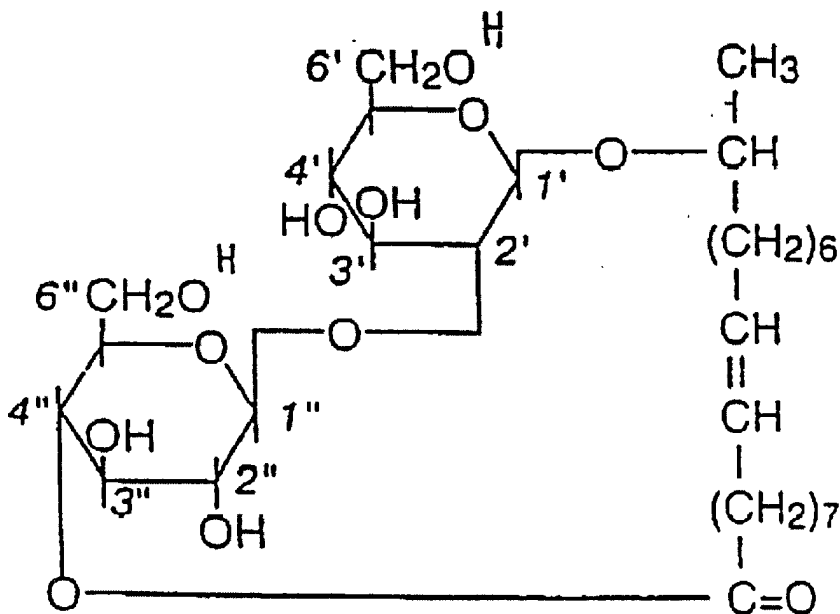
[0016] Das Sophorolipid (a) hätte gleichermaßen in Form eines Salzes oder Esters verwendet werden können: Daher kann eine Esterifizierung, die wenigstens teilweise ist, auf den H<sup>+</sup>-Resten der Carboxylgruppe eines desacetylierten Sophorolipids einer Formel (1) durch Alkohole wie Methanol erhalten werden, was zum Erhalt von Methylestern der vollständig desacetylierten Säureform führt. In Abhängigkeit der Natur der Verbindungen des Gemischs kann diese Esterifizierung einer Desacetylierung und einer im wesentlichen vollständigen Delatconisierung der Sophorolipide durch Verseifung, gefolgt von einer Neutralisierung nachgestellt sein.

[0017] Das Sophorolipid kann auch in Form eines Alkalimetall- oder Erdalkalimetallsalzes vorliegen wie von Na, Ca oder Mg.

(a)



(b)



[0018] Der Erfinder der vorliegenden Erfindung hat bemerkt, dass die Sophorolipide die physiologische Desquamation aktivieren, indem sie auf das Loslösen der Corneozyten wirken. Es wird erinnert, dass die Desquamierungswirkung eines Produkts darin besteht, den Oberflächenteil der Epidermis Schutzschicht (stratum corneum) zu entfernen. Diese Schutzschicht besteht aus Keratinozyten im Endstadium der Differenzierung, genannt Corneozyten. Es war bereits bekannt, dass die Hydroxysäuren wie Milchsäure, keine Desaggregation der Corneozyten der Oberflächenlagen des stratum corneum mit sich zogen, wie es die keratolytischen Reagenzien machen. In Wirklichkeit vermindern sie die Dicke der Corneumlage durch eine Wirkung auf die corne-

ozytäre Kohäsion auf dem Niveau der neu gebildeten unteren Lagen. Diese Rolle ist auch für die Sophorolipide mit folgenden Experimenten gezeigt worden. Als zelluläres Modell für die Untersuchung ist eine Keratinozytenkultur gewählt worden, die unter Bedingungen angeordnet wurde, die die Differenzierung der Zellen begünstigen. Die Wirkungen der Säureform Sophorolipide A, der Lactonform Sophorolipide B und der Milchsäure auf das Loslösen der Corneozyten des Zellmodells, das gewählt wurde, sind parallel in vitro getestet worden. Die Ergebnisse werden in der Tabelle 1 angegeben. In jedem Experiment ist die mittlere T60–T0-Differenz (Corneozyten/ml) bestimmt worden sowie der Gehalt von enthafteten Corneozyten, ausgedrückt in Prozent zum Verhältnis an Negativkontrolle (%/TN). Die statistische Signifikanz (Studententest t) der Unterschiede zwischen den Proben und der Negativkontrolle wird durch p ausgedrückt, welcher unter 0,001 für alle durchgeführten Versuche liegt. Der Variationskoeffizient CV wird wie folgt erhalten:

$$CV = \frac{\text{Typendifferenz}}{\text{Mittel}} \times 100$$

[0019] Die Zellebensfähigkeit, gemessen durch den Toluylennrot- bzw. Neutralrottest wird im Verhältnis zur Negativkontrolle (%) ausgedrückt. Wenn eine Antwortdosis verwirklicht ist, kann die Aktivität des Produkts durch die T200-Konzentration definiert werden. Die T200 ist die Konzentration, welche eine Freisetzung der Corneozyten mit sich zieht, welche doppelt zu jener mit der Negativkontrolle beobachtet ist. Die Tabelle 4 zeigt, dass für Milchsäure die T200 im Wesentlichen der Konzentration von  $10^{-3}$  M entspricht, während sie einer Konzentration von  $10^{-4}$  M für die Sophorolipide entspricht. Die Sophorolipide sind daher zehnmal aktiver als Milchsäure. Diese Wirkung auf intercorenozytäre Kohäsion der Sophorolipide ist begleitet von einer Wirkung auf die Flexibilität der Corneumlage und einer Hydrataktionswirkung der Epidermis. Diese Sophorolipide werden daher in der Dermatologie in zahlreichen Indikationen eingesetzt werden können: Ichtyose, Akne, Xerose, Abschälung, aber auch in der Kosmetik als Abschälungsmittel oder als Antifaltenprodukt oder als Regenerierungsprodukt. Daher implizieren die therapeutischen Anwendungen beiläufig kosmetische Anwendungen. Diese kosmetischen Anwendungen sind besonders überraschend im Hinblick auf die kosmetische Anwendung gewesen, die in dem Patent EP-B 209.783 beschrieben worden ist. Tatsächlich verwendete man in diesem Dokument die Sophorolipide, um Schuppen zu bekämpfen. Dort verwendet man im allgemeinen kein desquamierendes Produkt, um Schuppen zu bekämpfen, da eine gegenteilige Wirkung zu der erwarteten Wirkung erhalten werden wird. Diese neue Anwendung der Sophorolipide in der Kosmetik führt von deren Verwendung in der Therapeutik weg und ist daher nicht offensichtlich im Hinblick auf die bereits bekannte kosmetische Anwendung.

[0020] Die galenischen Formen der pharmazeutischen oder kosmetischen Zusammensetzungen, um die Desquamation zu begünstigen, sind verschiedentlich. Als Beispiele wird nachfolgend eine kosmetische Zusammensetzung angegeben, die die Desquamation der Haut begünstigt, verwendet als Antifaltenregenerierungscreme:

Glycerylstearat SE	12%
Cetareth – 12	1%
Octyldodecanol	10%
Sophorolipidsäure	0,01 bis 5%
Isopropylmyristat	6%
Kornöl	4
Passionsblumenöl	3
Glycerin	5%
Wasser	qsp 100

[0021] Parallel zu dieser desquamierenden Wirkung ist es auch gefunden worden, dass die Sophorolipidverbindungen der Erfindung als partieller Inhibitor der Melanogenese verwendet werden können und insbesondere als Depigmentierungsreagenz oder für die Behandlung der braunen Flecken in der Kosmetik. Man bemerkt, dass das Hautaltern eine Verzögerung der Epidermisfunktionen mit sich zieht: das Melanin kommt nicht mehr in homogener Weise an die Hautoberfläche, konzentriert sich in bestimmten Zellen und braune Flecken treten hauptsächlich auf den Händen, den Unterarmen und dem Nacken bzw. Ausschnitt auf. Die Sophorolipide, in dem sie auf die Melanogenese wirken, insbesondere unter Verminderung der Melaninproduktion, können die fortschreitende Entfernung dieser Pigmentierung ermöglichen. Diese Depigmentierungswirkung wird durch die Wirkung der Sophorolipide auf das Loslösen der Oberflächenzellen aufgrund von deren Desquamierungsrolle verstärkt. Um diese Wirkung der Sophorolipide zu zeigen, ist wie folgt vorgegangen worden: man platziert Melanozyten A J7 und J14 in Kultur, die Melanozyten werden gewonnen, gewaschen (Phosphat Salzpuffer: PBS) und zentrifugiert (20.000 Umdrehungen pro Minute, 20 Minuten, +4°C). Die Rückstände werden in PBSTfriton X-100 (1% v/v) aufgenommen und für 30 Sekunden beschallt. Das Zellysate wird ultrazentrifugiert (105.000 Umdrehungen pro Minute, 40 Minuten, +4°C). Der erhaltene Rückstand wird dann wieder in 1 ml PBS aufge-

nommen. Der Proteingehalt wird durch kalorimetrische Methode (Biorad) bestimmt und dann auf 1,5 mg/ml eingestellt. Der Melaningehalt wird dann nach Hydrolyse durch 1 N Soda für 4 Stunden bei 90°C durch spektrophotometrisches Auslesen bei 420 nm gegen einen mit Synthesemelanin durchgeführten Eichmaßstab [Sigma] bestimmt.

[0022] Diese Ergebnisse sind in% TN angegeben, d.h. in Prozent einer Syntheseerhöhung von Melanin, die wie folgt berechnet wird:

100-(Melaningehalt des getesteten Produkts x 100/Melaningehalt TN)

TN entspricht der Negativkontrolle.

[0023] Das getestete Produkt ist entweder Linolensäure, polyungesättigte Fettsäure oder Sophorolipidsäure A. Die Tabelle 2 zeigt, dass entgegengesetzt zu Linolensäure die Säureformsophorolipide eine Verminderung der Melaninsynthese verursachen. Außer den Anwendungen bei der Behandlung der braunen Flecken und der Depigmentierung der Haut können mehrere therapeutische oder kosmetische Anwendungen in Betracht kommen. Aufgrund dieser Tatsache sind die galenischen Formen erneut verschieden. Es wird dennoch nachfolgend ein Beispiel einer Antifleckencreme für die Hände angegeben, das unterschiedslos in der Kosmetik oder in der Therapeutik verwendet wird:

Ceteareth 30	13%
PEG 7 Glyceryloctoat	20%
Paraffinöl	5%
Glycerin	20%
Wasser	qsp 100

[0024] Alle vorgenannten Verwendungen der Sophorolipide sind nur in Bezug mit einer lokalen Anwendung eingesetzt worden. Man bemerkt gleichermaßen, dass die pharmazeutischen und kosmetischen Zubereitungen sehr ähnliche, wenn nicht identische Formen in bestimmten Anwendungsfällen haben können.

[0025] Im Rahmen der kosmetischen Anwendungen kann die Konzentration an Sophorolipidverbindungen gemäß der Erfindung 0,01 bis 35 Gew.-% Trockenmasse erreichen.

Tabelle 1

Produkte	Kontrolle	Sophorolipid Säureform			Milch- säure	Sophorolipid Säureform		
		10-4M	10-5M	10-6M	10-3M	10-4M	10-5M	10-6M
T60-T0	1167	2278	1944	1556	2500	2389	1833	1528
CV%	14,29	4,22	4,95	12,37	6,67	4,03	9,09	3,15
% TN	100	195	167	133	214	205	157	131
%Lebens- fähigkeit	100,00	98,71	99,75	99,57	99,54	99,14	100,55	98,77

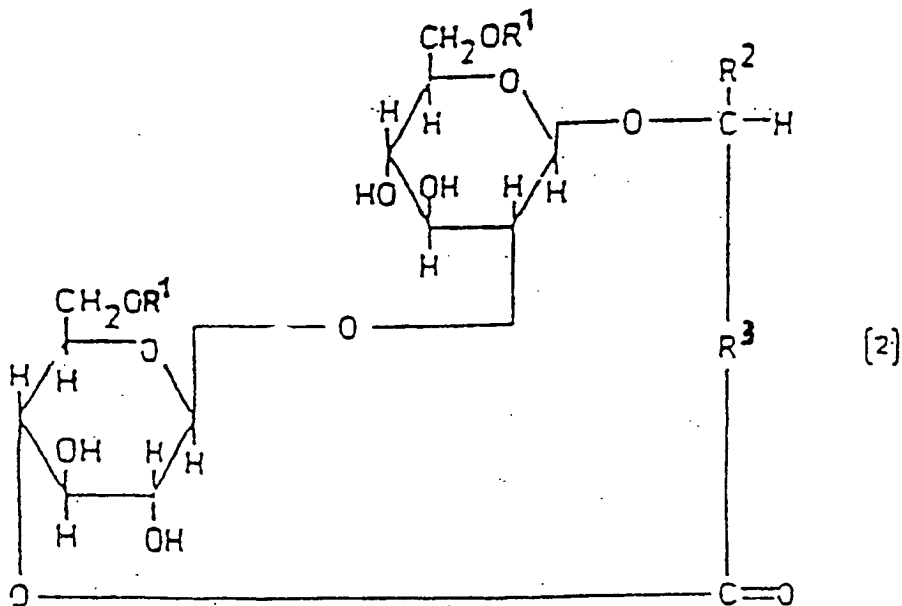
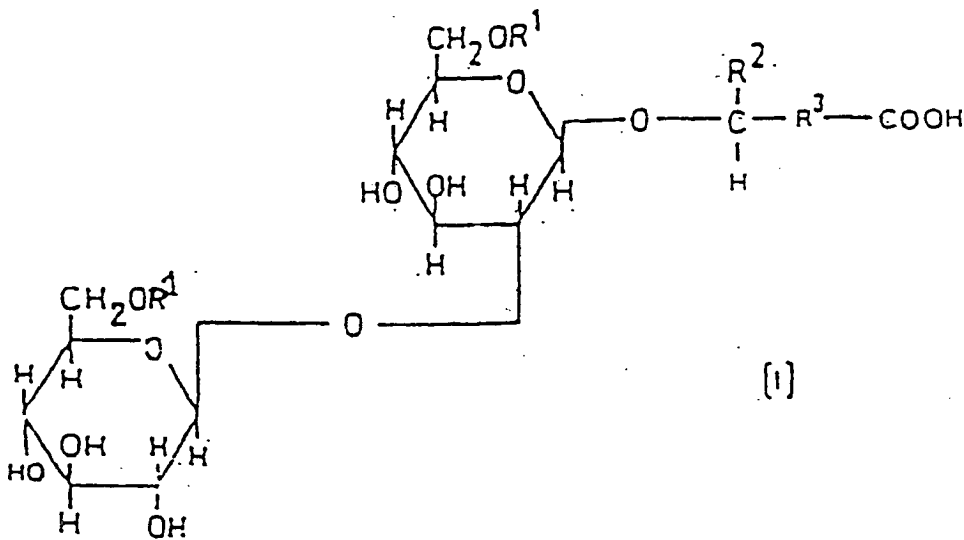
Tabelle 2

Melanindosierung in Melanocyten nach 7 und 14 Tagen				
Säureformsophorolipid	7 Tage		14 Tage	
	%/TN	% TN	% TN	% TN
Negativkontrolle	100	100	100	100
10-4M	56,2	56,8	109,75	113,6
10-5M	65,8	86,4		
10-6M	93,6	95,4		
	à J7	à J14	à J7	à J14

%TN = 100 – (Melaningehalt des getesteten Produkts x 100 / Melaningehalt der Negativkontrolle)

#### Patentansprüche

1. Verwendung wenigstens einer Verbindung, dargestellt durch die Formeln (1) oder (2)



in denen R1 den Wasserstoff oder eine Acetylgruppe und R2 den Wasserstoff oder einen Alkylrest mit 1 bis 9 Kohlenstoffatomen bedeutet, wenn R3 ein gesättigter Kohlenwasserstoffrest mit 7 bis 16 Kohlenstoffatomen ist, oder auch R2 den Wasserstoff oder eine Methylgruppe bedeutet, wenn R3 ein ungesättigter Kohlenwasserstoffrest mit 13 bis 17 Kohlenstoffatomen ist, wenigstens eines Salzes der Verbindung der Formel (1) oder wenigstens einer Verbindung der Formel (1), die deacetyliert ist und deren Carboxylgruppe esterifiziert ist, um eine kosmetische Verbindung zu erhalten, die dazu bestimmt ist, die Desquamation bzw. Abschuppung der Haut zu begünstigen.

2. Verwendung wenigstens einer durch die in Anspruch 1 angegebenen Formeln (1) oder (2) dargestellten Verbindung, wenigstens eines Salzes der Verbindung der Formel (1), angegeben in Anspruch 1, oder wenigstens einer Verbindung der Formel (1), angegeben in Anspruch 1, die deacetyliert ist und deren Carboxylgruppe esterifiziert ist, um eine kosmetische Verbindung zu erhalten, die dazu bestimmt ist, die Depigmentierung der Haut zu begünstigen.

3. Verwendung gemäß einem der Ansprüche 1 und 2, bei der diese Verbindungen zur Behandlung brauner Flecken an der Hautoberfläche bestimmt sind.

4. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, bei der die Konzentration an sophorolipiden Verbindungen zwischen 0,01 bis 35 Gew.-% Trockenmasse beträgt.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen