

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2004-517844

(P2004-517844A)

(43) 公表日 平成16年6月17日(2004.6.17)

(51) Int. Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 38/43	A 6 1 K 37/48	4 C 0 8 3
A 6 1 K 7/00	A 6 1 K 7/00	C 4 C 0 8 4
A 6 1 K 7/48	A 6 1 K 7/00	D 4 C 0 8 6
A 6 1 K 31/164	A 6 1 K 7/00	F 4 C 2 0 6
A 6 1 K 31/198	A 6 1 K 7/00	H
審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 78 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2002-550935 (P2002-550935)	(71) 出願人	391008825
(86) (22) 出願日	平成13年12月11日 (2001.12.11)		ヘンケル・コマンドィットゲゼルシャフト
(85) 翻訳文提出日	平成15年6月20日 (2003.6.20)		・アウフ・アクチエン
(86) 国際出願番号	PCT/EP2001/014514		HENKEL KOMMANDITGES
(87) 国際公開番号	W02002/049593		ELLSCHAFT AUF AKTIE
(87) 国際公開日	平成14年6月27日 (2002.6.27)		N
(31) 優先権主張番号	100 63 433.8		ドイツ連邦共和国 デュッセルドルフ ヘ
(32) 優先日	平成12年12月20日 (2000.12.20)		ンケルシュトラッセ 67
(33) 優先権主張国	ドイツ (DE)		40191 Dusseldorf, He
(81) 指定国	EP (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR) , AU, CA, JP, NZ, US		nkellstrasse 67, Germ
			any
		(74) 代理人	100062144
			弁理士 青山 稔
		(74) 代理人	100083356
			弁理士 柴田 康夫
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 MMP 1 阻害剤としてのDNA修復酵素の使用

(57) 【要約】

本発明は、ヒト皮膚の光誘発老化を防止するために、化粧用または医薬用製剤中に MMP - 1 阻害物質としてフォトリアーゼ酵素および T 4 エンドヌクレアーゼ V を使用することに関する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

コラーゲンの光誘発分解を阻害するための化粧用局所皮膚処置組成物における DNA 修復酵素の使用。

【請求項 2】

マトリックス金属プロテイナーゼ MMP 1 の発現または活性を阻害するための化粧用局所皮膚処置組成物における DNA 修復酵素の使用。

【請求項 3】

コラーゲンの光誘発分解を阻害するための医薬用局所皮膚処置組成物を製造するための DNA 修復酵素の使用。

10

【請求項 4】

マトリックス金属プロテイナーゼ MMP 1 の発現または活性を阻害するための医薬用局所皮膚処置組成物を製造するための DNA 修復酵素の使用。

【請求項 5】

フォトリアーゼを DNA 修復酵素として使用する請求項 1 ~ 4 のいずれかに記載の使用。

【請求項 6】

T 4 エンドヌクレアーゼ V を DNA 修復酵素として使用する請求項 1 ~ 4 のいずれかに記載の使用。

【請求項 7】

フォトリアーゼと T 4 エンドヌクレアーゼ V との混合物を DNA 修復酵素として使用する請求項 1 ~ 4 のいずれかに記載の使用。

20

【請求項 8】

皮膚処置が予防的処置である請求項 1 ~ 7 のいずれかに記載の使用。

【請求項 9】

DNA 修復酵素を皮膚処置組成物全体に対して 1×10^{-6} ~ 5×10^{-2} 重量%の量で使用する請求項 1 ~ 8 のいずれかに記載の使用。

【請求項 10】

ビタミン B 群のビタミン、プロビタミンもしくはビタミン前駆体またはその誘導体および 2 - フラノンの誘導体から選択される少なくとも 1 つの物質を含む、フォトリアーゼおよび / または T 4 エンドヌクレアーゼ V を含む化粧用または医薬用皮膚処置組成物。

30

【請求項 11】

パンテノール、パントラクトン、ニコチン酸アミドおよびビオチンから選択される少なくとも 1 つの物質を含む、フォトリアーゼおよび / または T 4 エンドヌクレアーゼ V を含む化粧用または医薬用皮膚処置組成物。

【請求項 12】

少なくとも 1 つの植物抽出物を含む、フォトリアーゼおよび / または T 4 エンドヌクレアーゼ V を含む化粧用または医薬用皮膚処置組成物。

【請求項 13】

没食子酸プロピル、プレコセン類、6 - ヒドロキシ - 7 - メトキシ - 2 , 2 - ジメチル - 1 (2 H) - ベンゾピラン、3 , 4 - ジヒドロ - 6 - ヒドロキシ - 7 - メトキシ - 2 , 2 - ジメチル - 1 (2 H) - ベンゾピランおよびその混合物から選択される他の MMP 1 阻害物質を少なくとも 1 つは含む、フォトリアーゼおよび / または T 4 エンドヌクレアーゼ V を含む化粧用または医薬用皮膚処置組成物。

40

【請求項 14】

レチノール (ビタミン A₁) と C₂ ~ C₁₈ カルボン酸とのエステルを少なくとも 1 つは含む請求項 10 ~ 13 のいずれかに記載の組成物。

【請求項 15】

少なくとも 1 つのイオン性界面活性剤を含む請求項 10 ~ 14 のいずれかに記載の組成物。

【請求項 16】

50

8 またはそれ以下の H L B 値を持つ非イオン性界面活性剤を少なくとも 1 つは含む請求項 10 ~ 15 のいずれかに記載の組成物。

【請求項 17】

少なくとも 1 つの有機または無機もしくは改質無機 UV フィルタを含む請求項 10 ~ 16 のいずれかに記載の組成物。

【請求項 18】

少なくとも 1 つのタンパク質加水分解物および/またはその誘導体を含む請求項 10 ~ 17 のいずれかに記載の組成物。

【請求項 19】

グリシン、セリン、スレオニン、システイン、アスパラギン、グルタミン、ピログルタミン酸、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、トリプトファン、フェニルアラニン、メチオニン、アスパラギン酸、グルタミン酸、リジン、アルギニンおよびヒスチジン、ならびにこれらのアミノ酸の亜鉛塩および酸付加塩から選択される少なくとも 1 つのアミノ酸を含む請求項 10 ~ 18 のいずれかに記載の組成物。

10

【請求項 20】

少なくとも 1 つの単糖、オリゴ糖もしくは多糖および/またはその誘導体を含む請求項 10 ~ 19 のいずれかに記載の組成物。

【請求項 21】

少なくとも 1 つの薄膜形成性および/またはエマルジョン安定化および/または増粘性および/または接着性ポリマーを含む請求項 10 ~ 20 のいずれかに記載の組成物。

20

【請求項 22】

老化皮膚の弾性低下およびシワを減少させるための局所皮膚処置組成物または老化防止組成物としての請求項 10 ~ 21 のいずれかに記載の組成物の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、ヒト皮膚の老化、特に光誘発老化を防止するための化粧組成物または医薬組成物に、一定の DNA 修復酵素を、コラーゲン分解性マトリックスメタルプロテイナーゼ 1 (MMP1) の阻害剤として使用することに関する。

【背景技術】

30

【0002】

太陽光への曝露は皮膚の生化学的平衡に変化をもたらす。

真皮、特に真皮線維芽細胞では、UV 成分および赤外線(熱)が、結合組織のコラーゲン成分を分解する酵素である間質コラーゲナーゼ MMP1 の誘導を、様々な機序で引き起こす。本発明に関して、コラーゲナーゼ MMP1 の誘導とは、この酵素の増量およびその活性の増加またはその両方を意味すると解釈することができる。MMP1 は繊維状三重らせんコラーゲンをその分子の特定の位置で切断する。2 つの部分に分割された三重らせんは溶解し、他のコラーゲナーゼによる分解を受けることが可能になる。巨視的には、コラーゲン量の減少は皮膚の弾性の低下およびシワの形成に反映される。UV 線によるコラーゲナーゼ MMP1 の誘導は、巨視的な皮膚老化作用の主な原因であると考えられる。

40

【0003】

本発明に関して、MMP1 阻害剤とは、

(a) 酵素 MMP1 をコードする mRNA の産生を阻害し、よって同酵素の発現を減少させるかまたは防止し、そして/または、

(b) 酵素 MMP1 の活性化を減少させ、そして/または、

(c) 酵素 MMP1 の活性を減少させる

物質である。

【0004】

したがって MMP1 の合成および/または MMP1 活性を減少させることは、老化防止用皮膚化粧品、すなわち皮膚の老化を抑制する化粧製品の開発における重要な目標である。

50

理想的な老化防止物質はMMP1の発現を低濃度でも阻害する。さらにその物質は、細胞にとって無毒であると共に、化粧用製剤および医薬製剤中で安定であるべきである。

【0005】

皮膚にはMMP1の他にもマトリックス金属プロテナーゼが存在する。他のMMPは生理的に重要な機能を果たしているため、それらの合成または活性の減少は有利であるとは思われない。

【0006】

先行技術から知られている老化防止物質は前記条件を十分には満たさない。WO 98/55075は、皮膚の光誘発老化を抑制する、UV-A遮断剤、UV-B遮断剤およびMMP阻害剤の三剤併用を特許請求している。この組成物はUV光に曝露される7~48時間前に皮膚に適用しなければ有効でない。レチノイン酸(トレチノイン)およびレチノールは好ましいMMP阻害剤である。レチノイドは皮膚細胞の代謝に関与し、表皮角化細胞の増殖および分化を刺激する他、線維芽細胞によるコラーゲンの産生を増加させる。さらにレチノールはコラーゲン分解酵素の形成を減少させるとされている(New Scientist 2031, 42-46, 1996)。しかしレチノイン酸には催奇性があり、処方箋調剤薬でしか使用することができない。化粧用および医薬用局所製剤におけるレチノールの使用にはいくつかの理由で問題がある。例えばレチノールは比較的高い細胞毒性、特に光毒性を持つので、ヒトへの適用を意図する組成物には低濃度でしか使用できない。さらにレチノールは熱および/または光の作用下で酸化によって容易に分解され、化粧用製剤および医薬製剤中で安定化することが難しい。

10

20

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

本発明が取り組んだ課題は、先行技術の欠点を改善し、太陽光誘発皮膚老化の美容処置に、より適した製剤を提供することだった。本発明が取り込んだもう一つの課題は、太陽光誘発皮膚老化の医薬処置に適した組成物を提供することだった。

【課題を解決するための手段】

【0008】

驚くべきことに、酵素フォトリアーゼおよびT4エンドヌクレアーゼVは皮膚におけるMMP1のUV誘導発現を阻害することが、ここに見いだされた。

30

【0009】

フォトリアーゼおよびT4エンドヌクレアーゼV(以下「T4N5」と略記する)はいわゆるDNA修復酵素として先行技術では既に知られている。本発明に関してDNA修復とはDNAからのUV誘導ピリミジン二量体の切断または除去であると解釈される。

【0010】

「ピリミジン二量体」は、DNAの一定のピリミジン塩基から例えばUV-B線などによって光化学的に生成する二量体に対して、先行技術でよく使用されている名称である。ピリミジンそのものはDNA塩基ではないが、以下の説明では「ピリミジン塩基二量体」という正しい用語の代わりに「ピリミジン二量体」という用語を使用する。ピリミジン塩基チミンでの二量化は、一本のDNA鎖の隣接するチミン単位が二量化して三環式化合物を形成することによって起こる。二量化生成物cis-syn-シクロブタンジピリミジン単位は遺伝暗号の伝達にエラーを引き起こしうる。特に表皮角化細胞はピリミジン誘導体の形成による影響を受ける。

40

【0011】

フォトリアーゼは分類番号がEC4.1.99.3である酵素デオキシリボジピリミジンフォトリアーゼまたはDNAフォトリアーゼの略称である。フォトリアーゼは下等真核生物、例えば酵母に見いだされた。活性化状態になるには波長範囲350~500nmの光が必要である。この光はフォトリアーゼ分子中に存在する発色団によって吸収され、その発色団はさらに第2の発色団に電子を伝達する。さらなる電子伝達により、シクロブタンジピリミジン単位が分割され、元の2つのチミン塩基が再生される。特に効率のよいフォ

50

トリアーゼは光合成海洋微生物アナシスティス・ニデュランス (*Anacystis nidulans*) から得られる。また、アナシスティス・ニデュランス由来のフォトリアーゼは、大腸菌から、商業上有意義な量で得られている。

【0012】

酵素 T4 エンドヌクレアーゼ V はバクテリオファージ T4 の *denV* 遺伝子によって産生され、核酸の (5' - 3') 結合を加水分解するホスホジエステラーゼに属する。エンドヌクレアーゼとして T4 N5 は核酸鎖の内部を攻撃する。その際、この酵素は UV 誘導ピリミジン二量体による損傷を受けた DNA 領域を選択的に認識し、それらを除去する。相補鎖を鋳型としてポリメラーゼによって新たな正しい塩基が組み込まれ、リガーゼによって元の DNA 鎖に連結される。この除去修復機構は光活性化を必要としない暗反応である。T4 N5 は原核生物酵素であるが、この酵素はヒト細胞にも作用する。この酵素は *denV* 遺伝子を持つ大腸菌株から工業的に生産することができる。

10

【0013】

フォトリアーゼおよび T4 N5 による DNA 修復に関する重要な研究結果の概要は、D. Yarosh および E. Klein により、*Trends in Photochemistry & Photobiology* 3, 175 - 181, 1994 に記載されている。

【0014】

DNA 修復酵素は興味深い化粧組成物用活性物質である。先行技術において、好ましい化粧組成物は日焼け防止製剤および日焼け手入れ製品である。T4 N5 のリポソーム封入は Ceccoli らによって *J. Invest. Dermatol.* 93, 190 - 194, 1989 に記載されている。化粧製剤におけるリポソーム封入型 T4 N5 またはフォトリアーゼの使用は Yarosh (US 5, 190, 762; WO 94/14419 A1) および Gilchrest ら (WO 94/17781 A1) によって記載されている。Burmeister ら (EP 0 707 844 A2) は、DNA 修復酵素と、チロシン、チロシン誘導体、ビタミン群 A、C および E のビタミンまたはプロビタミン、銅、亜鉛またはマグネシウムの糖タンパク質複合体、フォルスコリン、環状アデノシンーリン酸 (c-AMP)、バイオフィラボノイドまたは 10 ~ 14 の HLB 値を持つ乳化剤とのリポソーム封入型複合剤を含有する組成物、ならびに日焼け用化粧製剤および皮膚ケア製品の製造方法を開示している。

20

30

【0015】

T4 N5 はメラニン形成の増加を促進するので、これを日焼け用製剤に使用することができるという事実は EP 0 707 844 A2、WO 94/14419 A1 および WO 94/17781 A1 に記載されている。フォトリアーゼはメラニン形成には影響しないので、皮膚美白製品に使用することができる (S. H. Lee, KR 97032828 A)。リポソーム封入型フォトリアーゼは例えば Photosome (商標) として、またリポソーム封入型 T4 N5 は例えば Ultrosome (商標) として、Applied Genetics (米国フリーポート) から市販されている。

【0016】

先行技術では、フォトリアーゼまたは T4 N5 はピリミジン二量体損傷 DNA の修復に関連して開示されているにすぎない。また、T4 N5 の場合はメラニン形成の増加に関する記載がある。既知の効果はとりわけ表皮に関係する効果である。とりわけ真皮に関係する MMP 1 阻害効果は、先行技術では知られていない。フォトリアーゼまたは T4 N5 の MMP 1 阻害効果に関する仮説を以下に提示する。DNA の UV 損傷が起こると、通常は、細胞内修復機構 - 転写共役修復 - が活性化される。この機構は表皮におけるインターロイキン IL - 1 および IL - 6 の合成を増加させる。インターロイキンは真皮に移動し、線維芽細胞の受容体に結合する。これに反応してコラーゲン分解性 MMP 1 が線維芽細胞によって合成される。驚くべきことに、また当業者にとっても予想外なことに、DNA 修復酵素フォトリアーゼおよび T4 N5 は、細胞内転写共役修復機構が活性化されて UV 誘導

40

50

MMP1合成の因果連鎖が始動する前にUV誘導DNA損傷を回復させる能力を、明らかに持っている。

【0017】

MMP1の発現を阻害することおよびコラーゲンの分解を遅延させることを目的とする本発明によるフォトリアーゼまたはT4N5の使用は新規である。これは、皮膚老化の美容処置に、既知の応用を超えた新しい応用を切り開く。MMP1阻害剤は、美容上望ましい効果がMMP1の阻害と関係する場合には、どの化粧品にも有効に使用することができる。したがって、例えばシワ防止クリーム剤、特に常に光に曝露されている顔、首または手の皮膚部分用のシワ防止クリーム剤に、フォトリアーゼまたはT4N5の使用が推奨される。MMP1阻害剤としてフォトリアーゼまたはT4N5を含有する濃厚クリーム剤、ローション剤、プラスター剤およびパッチ剤を、シワの局所処置用に製造することができる。T4N5は、通常はまれにしか光に曝露されない身体部分に対して、例えば全身用クリーム剤およびローション剤として、UV曝露後のシワ処置にも使用することができる。というのも、この酵素の活性化には、処置部分の光への曝露は必要ないからである。本発明によれば、DNA修復酵素は予防的美容処置に使用できると共に、皮膚老化、特にヒト皮膚の太陽光誘発老化の巨視的效果を遅延させるために使用することもできる。

10

【0018】

本発明の皮膚処置剤は、最小紅斑量(MED)未満の日光曝露の場合にも、MEDを超える曝露の場合にも、皮膚の太陽光誘発老化を防止するのに適している。したがって、これらの剤は、長期防止処置(日光への曝露がごくわずかな場合でも、毎日使用することにより皮膚が長期間にわたって保護される)にも、太陽光への大量曝露に対する防止にも適している。特に後者の場合は、MMP1阻害組成物を日光への曝露前に使用しても曝露後にも使用してもよい。すなわち、本発明が要求する皮膚への効果はどちらの場合にも達成される。太陽光に曝露される比較的直前に皮膚に局所適用した場合でも、本発明のMMP1阻害剤が皮膚の太陽光誘発老化を防止する点は、特に有利である。この場合、比較的直前とは、具体的には1~5時間前であると解釈される。

20

【0019】

したがって第1の態様として、本発明は、コラーゲンの光誘発分解を阻害するための化粧品用局所皮膚処置組成物におけるDNA修復酵素の使用に関する。

【0020】

また本発明は、マトリックス金属プロテイナーゼMMP1の発現または活性を阻害するための化粧品用局所皮膚処置組成物におけるDNA修復酵素の使用に関する。さらに本発明は、コラーゲンの光誘発分解を阻害する医薬用局所皮膚処置組成物を製造するためのDNA修復酵素の使用、およびマトリックス金属プロテイナーゼMMP1の発現または活性を阻害する医薬用局所皮膚処置組成物を製造するためのDNA修復酵素の使用に関する。

30

【0021】

もう一つの態様として、本発明は、老化皮膚の弾性低下およびシワを減少させるための局所皮膚処置組成物または老化防止組成物におけるDNA修復酵素の使用に関する。好ましい一態様では、本発明で使用されるDNA修復酵素はフォトリアーゼである。リポソーム封入型フォトリアーゼは特に好ましい。

40

【0022】

もう一つの態様では、本発明で使用されるDNA修復酵素はT4エンドヌクレアーゼVである。リポソーム封入型T4エンドヌクレアーゼVは特に好ましい。本発明によるフォトリアーゼとT4エンドヌクレアーゼVとの混合物(好ましくはリポソーム封入型のもの)の使用は特に好ましい。もう一つの好ましい態様では、本発明の使用は予防のための使用である。好ましい一態様では、本発明で使用されるDNA修復酵素の量は、皮膚処置組成物全体に対して、 $1 \times 10^{-6} \sim 5 \times 10^{-2}$ 重量%、より具体的には $1 \times 10^{-5} \sim 1 \times 10^{-2}$ 重量%である。

【0023】

また本発明は、フォトリアーゼおよび/またはT4エンドヌクレアーゼVを含むと共に、

50

ビタミンB群のビタミン、プロビタミンもしくはビタミン前駆体またはその誘導体および2-フラノンの誘導体から選択される少なくとも1つの物質を含む、化粧用または医薬用皮膚処置組成物に関する。

【0024】

ビタミンB群、別名ビタミンB複合体には、例えば以下に挙げる物質が含まれる。

・ビタミンB₁、慣用名チアミン、化学名3-[(4'-アミノ-2'-メチル-5'-ピリミジニル)メチル]-5-(2-ヒドロキシエチル)-4-メチルチアゾリウム塩化物。チアミン塩酸塩は、好ましくは、組成物全体に対して0.05~1重量%の量で使用される。

【0025】

・ビタミンB₂、慣用名リボフラビン、化学名7,8-ジメチル-10-(1-D-リビチル)ベンゾ[g]プテリジン-2,4(3H,10H)-ジオン。遊離型では、リボフラビンは例えば乳清に見いだされる。他のリボフラビン誘導体は細菌および酵母から単離することができる。本発明の目的に同様に適しているリボフラビンの立体異性体はリキソフラビンである。これは魚粉または肝臓から単離することができ、D-リビチルの代わりにD-アラビチル残基を持っている。リボフラビンまたはその誘導体は、好ましくは、組成物全体に対して0.05~1重量%の量で使用される。

10

【0026】

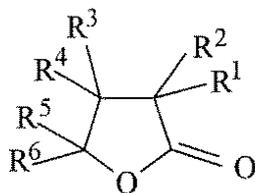
・ビタミンB₃。化合物ニコチン酸およびニコチン酸アミド(ナイアシンアミド)はしばしばこの名称で呼ばれる。ニコチン酸アミドは本発明の目的にとって好ましく、本発明の組成物中に好ましくは0.05~1重量%の量で存在する。

20

【0027】

・ビタミンB₅(パントテン酸およびパンテノール)。パンテノールの使用は好ましい。本発明での使用に適したパンテノールの誘導体は、特に、パンテノールのエステルおよびエーテル、ならびに陽イオンの誘導体化されたパンテノールである。本発明のもう一つの好ましい態様として、パントテン酸もしくはパンテノールに加えて、またはそれらの代わりに、以下の一般構造式を持つ2-フラノンの誘導体を使用してもよい。

【化学式1】



30

(I)

【0028】

好ましい2-フラノン誘導体は、置換基R¹~R⁶が互いに独立して水素原子、ヒドロキシル基、メチル、メトキシ、アミノメチルまたはヒドロキシメチル基、飽和または一もしくは二不飽和直鎖または分枝鎖C₂~C₄炭化水素基、飽和または一もしくは二不飽和分枝鎖または直鎖モノヒドロキシ-、ジヒドロキシ-またはトリヒドロキシ-C₂~C₄炭化水素基、あるいは飽和または一もしくは二不飽和分枝鎖または直鎖モノアミノ-、ジアミノ-またはトリアミノ-C₂~C₄炭化水素基を表す誘導体である。他の特に好ましい誘導体には、市販されている物質で、慣用名パントラクトンという慣用名を持つジヒドロ-3-ヒドロキシ-4,4-ジメチル-2(3H)-フラノン(Merck)、4-ヒドロキシメチル- -プチロラクトン(Merck)、3,3-ジメチル-2-ヒドロキシ- -プチロラクトン(Alldrich)および2,5-ジヒドロ-5-メトキシ-2-フラノン(Merck)があり、すべての立体異性体が明らかに包含される。本発明の目的に最も好ましい2-フラノン誘導体は、式(I)においてR¹がヒドロキシル基であり

40

50

、 R^2 が水素原子であり、 R^3 および R^4 がメチル基であり、 R^5 および R^6 が水素原子であるパントラクトン（ジヒドロ - 3 - ヒドロキシ - 4 , 4 - ジメチル - 2 (3 H) - フラノン）である。立体異性体（ R ） - パントラクトンはパントテン酸の分解時に生成する。

【 0 0 2 9 】

上述のビタミン B₅ 型化合物および 2 - フラノン誘導体は、好ましくは、本発明の組成物中に組成物全体に対して 0 . 0 5 ~ 1 0 重量 % の総量で存在する。0 . 1 ~ 5 重量 % の総量は特に好ましい。

【 0 0 3 0 】

・ビタミン B₆。これは単一の物質ではなく、ピリドキシン、ピリドキサミンおよびピリドキサルという慣用名で知られている 5 - ヒドロキシメチル - 2 - メチルピリジン - 3 - オールの誘導体である。ビタミン B₆ は、好ましくは、本発明の組成物中に 0 . 0 0 0 1 ~ 1 . 0 重量 % の量で、より具体的には 0 . 0 0 1 ~ 0 . 0 1 重量 % の量で存在する。

【 0 0 3 1 】

・ビタミン B₇（ビオチン）。ビタミン H または「皮膚ビタミン」とも呼ばれる。ビオチンは（ 3 a S , 4 S , 6 a R ） - 2 - オキソヘキサヒドロチエノール [3 , 4 - d] イミダゾール - 4 - 吉草酸である。ビオチンは、好ましくは、本発明の組成物中に 0 . 0 0 0 1 ~ 1 . 0 重量 % の量で、より具体的には 0 . 0 0 1 ~ 0 . 0 1 重量 % の量で存在する。

【 0 0 3 2 】

パンテノール、パントラクトン、ニコチン酸アミドおよびビオチンは本発明の目的には最も好ましい。

【 0 0 3 3 】

また本発明は、フトリアーゼおよび / または T 4 エンドヌクレアーゼ V を含むと共に少なくとも 1 つの植物抽出物を含む化粧用または医薬用皮膚処置組成物に関する。植物抽出物は通常は植物を丸ごと抽出することによって製造されるが、場合によっては花および / または葉および / または種子および / または他の植物部分だけから製造される。とりわけ分裂組織（すなわち植物の分裂可能な新細胞形成組織）の抽出物、および特別な植物、例えば緑茶、ハマメリス、カミツレ、マリゴールド、パンジー、シャクヤク、アロエベラ、セイヨウトチノキ、セージ、ヤナギ樹皮、シナモン、キク、オーク樹皮、イラクサ、ホップ、ゴボウ根、トクサ、サンザシ、ライム花、アーモンド、松葉、ビャクダン、ビャクシン、ココナツ、キーウィ、グアバ、ライム、マンゴ、アンズ、コムギ、メロン、オレンジ、グレープフルーツ、アボカド、ローズマリー、カバノキ、ブナ苗条、ゼニアオイ、ハナタネツケバナ、ヨウノコギリソウ、ヨウシュイブキジャコウソウ、タイム、セイヨウヤマハッカ、ハリモクシュク、ハイビスカス（タチアオイ）、ゼニアオイ（M a l v a s y l v e s t r i s）、スミレ、クロフサスグリ葉、セイヨウワサビ、キジムシロ、ヤクヨウニンジン、ショウガ根およびサツマイモなどの抽出物は、本発明の目的にとって好ましい。

【 0 0 3 4 】

藻類抽出物も有効に使用しうる。本発明で使用される藻類抽出物は緑藻類、褐藻類、紅藻類または藍藻類（シアノバクテリア）から得られる。抽出に使用される藻類は天然の藻類でもよいし、生物工学的方法によって得ることもでき、所望により、天然型に対して改変を加えてもよい。これらの生物は、選択した栄養素を強化した培地で生育または培養することにより、遺伝的に改変することができる。好ましい藻類抽出物は海藻、藍藻、緑藻イモセミル（C o d i u m t o m e n t o s u m）および褐藻コンブ（F u c u s v e s s i c u l o s u s）から得られる。特に好ましい藻類抽出物はマグネシウム強化培地で培養されたスピルリナ属の藍藻から得られる。

【 0 0 3 5 】

スピルリナ、緑茶、アロエベラ、分裂組織、ハマメリス、アンズ、マリゴールド、グアバ、サツマイモ、ライム、マンゴ、キーウィ、キュウリ、ゼニアオイ、ハイビスカスおよびスミレの抽出物は特に好ましい。本発明の組成物は、いくつかの、より具体的には 2 つの

10

20

30

40

50

、異なる植物抽出物の混合物を含んでもよい。

【0036】

上述した植物抽出物の製造に適した抽出剤は、例えば水、アルコール類およびその混合物などである。好ましいアルコール類はエタノールおよびイソプロパノールなどの低級アルコール、また特に、エチレングリコール、プロピレングリコールおよびブチレングリコールなどの多価アルコールであり、これらは単独で使用しても、水との混合物の形で使用してもよい。比率1:10~10:1の水/プロピレングリコールに基づく植物抽出物は、特に適切であることが判明した。本発明では蒸気蒸留は好ましい抽出方法の一つである。

【0037】

本発明では、植物抽出物は純粋な形態でも希釈された形態でも使用することができる。希釈された形態で使用する場合、通常はそれらは約2~80重量%の活性物質を含むと共に、溶媒として、それらの製造に使用された抽出剤または抽出剤混合物を含む。選択した抽出剤によっては、可溶化剤の添加によって植物抽出物を安定化することが有利な場合もある。適切な可溶化剤は、例えば所望により水添されていてもよい植物油および動物油のエトキシ化生成物である。好ましい可溶化剤は4~50個のエチレンオキシド単位を持つC₈~C₂₂脂肪酸のエトキシ化モノグリセリド、ジグリセリドおよびトリグリセリド、例えばエトキシ化水添ヒマシ油、オリーブ油エトキシレート、扁桃油エトキシレート、ミンク油エトキシレート、ポリオキシエチレングリコールカプリル/カプリン酸グリセリド、ポリオキシエチレングリコールモノラウレートおよびポリオキシエチレングリコールヤシ油脂肪酸グリセリドなどである。

【0038】

もう一つの好ましい態様では、いくつかの、より具体的には2つの、異なる植物抽出物の混合物を、本発明の組成物に使用する。

【0039】

本発明で使用することができる植物抽出物としては、例えば「Leitfaden zur Inhaltsstoffdeklaration kosmetischer Mittel」第3版(Industrieverband Koerperpflege- und Waschmittel e.V. (IKW)(フランクフルト)発行)の44頁から始まる表に列挙されている抽出物などを挙げるすることができる。

【0040】

また本発明は、フォトリアーゼおよび/またはT4エンドヌクレアーゼVと、没食子酸プロピル、プレコセン類、6-ヒドロキシ-7-メトキシ-2,2-ジメチル-1(2H)-ベンゾピラン、3,4-ジヒドロ-6-ヒドロキシ-7-メトキシ-2,2-ジメチル-1(2H)-ベンゾピラン(Lipotec S.A. から Lipochroman 6(登録商標)として市販されている)およびその混合物から選択される少なくとも1つの他のMMP1阻害物質とを含む化粧用または医薬用皮膚処置組成物に関する。プレコセン類は植物中に見いだされるクロメン誘導体であり、ホルモンとして知られている(「The Merck Index」第12版, Merck & Co. 1996)。これらの物質のMMP1阻害効果は DE 10016016 A1に記載されている。これらは、組成物全体に対して0.1~5重量%、好ましくは0.5~2重量%の量で使用される。

【0041】

特に好ましい一態様では、本発明の皮膚処置組成物はさらに、レチノール(ビタミンA₁)とC₂~C₁₈カルボン酸とのエステルを少なくとも1つは含む。好ましいレチノールエステルは酢酸レチニルおよびパルミチン酸レチニルである。パルミチン酸レチニルは特に好ましい。レチノールエステルは、組成物全体に対して0.1~5重量%の量で、また好ましくは0.5~2重量%の量で使用される。

【0042】

もう一つの好ましい態様では、本発明の皮膚処置組成物は、乳化剤または分散剤として少なくとも1つの界面活性剤を含む。乳化剤は、分散した液滴が融合するのを防いでエマル

10

20

30

40

50

ションを安定化する水安定性または油安定性吸着層の、相界面での形成を促進する。したがって、乳化剤は界面活性剤と同様に疎水性分子部分と親水性分子部分から構成される。親水性乳化剤はo/w型エマルションを優先的に形成し、疎水性乳化剤はw/o型エマルションを優先的に形成する。親水性乳化剤なしで安定化されたw/o型エマルションは DE 19816665 A1および DE 19801593 A1に開示されている。エマルションとは、界面活性剤によって安定化相界面を生成するのにエネルギーを使う、ある液体中の別の液体の液滴状分散物であると解釈される。これらの乳化界面活性剤または乳化剤の選択は分散させようとする物質、エマルションの外相および液滴粒径によって決定される。

【0043】

本発明で 사용할 ことができる乳化剤の例を以下に挙げる。

- ・直鎖 $C_8 \sim C_{22}$ 脂肪アルコール、 $C_{12} \sim C_{22}$ 脂肪酸および $C_8 \sim C_{15}$ アルキルフェノールにエチレンオキシド 4 ~ 30 モルおよび/またはプロピレンオキシド 0 ~ 5 モルが付加した生成物。
- ・ $C_3 \sim C_6$ ポリオール (より具体的にはグリセロール) にエチレンオキシド 1 ~ 30 モルが付加した生成物の $C_{12} \sim C_{22}$ 脂肪酸モノエステルおよびジエステル。
- ・メチルグルコシド/脂肪酸エステル、脂肪酸アルカノールアミドおよび脂肪酸グルカミドへのエチレンオキシドおよびポリグリセロール付加生成物。
- ・ $C_8 \sim C_{22}$ アルキルモノグリコシドおよびオリゴグリコシドならびにそのエトキシル化類似体。この場合、好ましいオリゴマー化度は 1.1 ~ 5、より具体的には 1.2 ~ 2.0 であり、糖成分としてはグルコースが好ましい。
- ・アルキル (オリゴ) グルコシドと脂肪アルコールとの混合物、例えば市販品 Montanov (登録商標) 68。

【0044】

- ・ヒマシ油および水添ヒマシ油へのエチレンオキシド 5 ~ 60 モルの付加生成物。
- ・3 ~ 6 個の炭素原子を含むポリオールの飽和 $C_8 \sim C_{22}$ 脂肪酸との部分エステル。
- ・ステロール類 (ステリン類)。ステロール類とは、ステロイド骨格の 3 位の炭素原子にヒドロキシル基を持ち、動物組織 (動物ステロール) から植物性脂肪 (植物ステロール) から単離されるステロイドの群であると解釈される。動物ステロールの例はコレステロールおよびラノステロールである。適切な植物ステロールの例は - シトステロール、スチグマステロール、カンベステロールおよびエルゴステロールである。ステロールは真菌および酵母からも単離される (いわゆる菌類ステロール)。

【0045】

- ・例えばレシチンまたはホスファチジルコリンなどとして卵黄や植物種子 (例えばダイズ) などから得られるリン脂質、とりわけグルコースリン脂質。
- ・糖および糖アルコール (例えばソルビトール) の脂肪酸エステル。
- ・ポリグリセロールおよびポリグリセロール誘導体、好ましくはポリグリセリル - 2 - ジポリヒドロキシステアレート (市販品 Dehymuls (登録商標) PGPH) およびポリグリセリル - 3 - ジイソステアレート (市販品 Lameform (登録商標) TGI)。
- ・直鎖および分枝鎖 $C_6 \sim C_{30}$ 脂肪酸ならびにその Na、K、アンモニウム、Ca、Mg および Zn 塩。

【0046】

本発明の組成物は、組成物全体に対して好ましくは 0.1 ~ 25 重量%、より具体的には 0.5 ~ 15 重量%の乳化剤を含有する。

【0047】

特に好ましい一態様では、8 またはそれ以下の HLB 値を持つ非イオン性乳化剤が少なくとも 1 つは存在する (HLB 値の定義については、J. Falbe、M. Regitz 編「Roempp-Lexikon Chemie」第 10 版、Georg Thieme Verlag、シュトゥットガルト/ニューヨーク (1997)、1764 頁を

10

20

30

40

50

参照されたい)。適切な乳化剤は、例えば、一般式： $R^1 - O - R^2$ に対応する化合物である〔式中、 R^1 は 20 ~ 30 個の炭素原子を含む 1 級直鎖アルキル、アルケニルまたはアシル基であり、 R^2 は水素、式： $-(C_n H_{2n} O)_x - H$ で表される基（式中、 $x = 1$ または 2 かつ $n = 2 \sim 4$ ）、または 4 ~ 6 個の炭素原子と 2 ~ 5 個のヒドロキシル基を含むポリヒドロキシアルキル基である〕。特に好ましい式： $R^1 - O - R^2$ の乳化剤は、 R^1 が 22 個の炭素原子を含む直鎖末端置換アルキル、アルケニルまたはアシル基であるベヘニルまたはエルシル誘導体である。

【0048】

その他、8 またはそれ以下の HLB 値を持つ特に適切な乳化剤には、ベヘニルアルコール、エルシルアルコール、アラキジルアルコール、さらにはベヘン酸またはエルカ酸へのエチレンオキシまたはプロピレンオキシド 1 または 2 モルの付加生成物がある。他の好ましい乳化剤には、例えばペンタエリトリール、トリメチロールプロパン、ジグリセロール、ソルビトール、グルコースおよびメチルグルコースなどのポリオールの $C_{16} \sim C_{30}$ 脂肪酸モノエステルがある。そのような生成物の例にはモノベヘン酸ソルピタンまたはモノエルカ酸ペンタエリトリールなどがある。

10

【0049】

もう一つの特に好ましい態様では、陰イオン性、双性イオン性、両性および陽イオン性乳化剤から選択される少なくとも 1 つのイオン性乳化剤が存在する。好ましい陰イオン性乳化剤は、アルキルサルフェート、アルキルポリグリコールエーテルサルフェートおよびエーテルカルボン酸（アルキル基中に 10 ~ 18 個の炭素原子を含みかつ分子中に最大 12 個のグリコールエーテル基を含む）、アルキル基中に 8 ~ 18 個の炭素原子を含むスルホコハク酸モノアルキルおよびジアルキルエステルならびにアルキル基中に 8 ~ 18 個の炭素原子を含みかつ 1 ~ 6 個のオキシエチル基を含むスルホコハク酸モノアルキルポリオキシエチルエステル、モノグリセリドサルフェート、アルキルおよびアルケニルエーテルホスフェート、ならびにタンパク質脂肪酸縮合物である。

20

【0050】

双性イオン性乳化剤はその分子中に少なくとも 1 つの 4 級アンモニウム基と、少なくとも 1 つの $-COO^-$ または $-SO_3^-$ 基とを持っている。特に適切な双性イオン性乳化剤はいわゆるベタイン類、例えばアルキル基またはアシル基中に 8 ~ 18 個の炭素原子を含む N - アルキル - N , N - ジメチルアンモニウムグリシネート、N - アシルアミノプロピル - N , N - ジメチルアンモニウムグリシネートおよび 2 - アルキル - 3 - カルボキシメチル - 3 - ヒドロキシエチルイミダゾリン、ならびにココアシルアミノエチルヒドロキシエチルカルボキシメチルグリシネートなどである。

30

【0051】

両性乳化剤は、 $C_8 \sim C_{24}$ アルキルまたはアシル基の他に、少なくとも 1 つの遊離アミノ基と少なくとも 1 つの $-COOH$ または $-SO_3H$ 基とをその分子中に含み、分子内塩を形成することができる。適切な両性乳化剤の例は、アルキル基中に 8 ~ 24 個程度の炭素原子を含む N - アルキルグリシン、N - アルキルアミノプロピオン酸、N - アルキルアミノ酪酸、N - アルキルイミノジプロピオン酸、N - ヒドロキシエチル - N - アルキルアミドプロピルグリシン、N - アルキルタウリン、N - アルキルサルコシン、2 - アルキルアミノプロピオン酸およびアルキルアミノ酢酸である。

40

【0052】

イオン性乳化剤は、組成物全体に対して 0.01 ~ 5 重量%の量、好ましくは 0.05 ~ 3 重量%の量、より具体的には 0.1 ~ 1 重量%の量で存在する。

【0053】

もう一つの好ましい態様では、本発明の皮膚処置組成物は、少なくとも 1 つの有機または無機もしくは改質無機光フィルタを含む。光フィルタは、室温で液体または結晶体であり、紫外線を吸収すると共に吸収したエネルギーをより長波長の放射線、例えば熱の形で放出する能力を持つ物質である。UVA フィルタと UVB フィルタがある。UVA フィルタと UVB フィルタは個別に使用してもよいし、混合物の形で使用してもよい。フィルタ混

50

合物の使用は本発明の目的には特に好ましい。

【0054】

本発明で使用される有機UVフィルタは、ジベンゾイルメタンの誘導体、ケイ皮酸エステル、ジフェニルアクリル酸エステル、ベンゾフェノン、カンファー、p-アミノ安息香酸エステル、o-アミノ安息香酸エステル、サリチル酸エステル、ベンゾイミダゾール類、1,3,5-トリアジン類、4,4-ジアリールブタジエンカルボン酸エステルおよびカルボン酸アミドモノマーおよびオリゴマー、ケトトリシクロ(5.2.1.0)デカン、ベンザルマロン酸エステル、ならびに前記成分の混合物から選択される。有機UVフィルタは油性であっても水溶性であってもよい。

【0055】

本発明によれば、特に好ましい油性UVフィルタは、1-(4-tert-ブチルフェニル)-3-(4'-メトキシフェニル)プロパン-1,3-ジオン(Parasol(登録商標)1789)、1-フェニル-3-(4'-イソプロピルフェニル)プロパン-1,3-ジオン、3-(4'-メチルベンジリデン)-D,L-カンファー、4-(ジメチルアミノ)安息香酸2-エチルヘキシルエステル、4-(ジメチルアミノ)安息香酸2-オクチルエステル、4-(ジメチルアミノ)安息香酸アミルエステル、4-メトキシケイ皮酸2-エチルヘキシルエステル、4-メトキシケイ皮酸プロピルエステル、4-メトキシケイ皮酸イソペンチルエステル、2-シアノ-3,3-フェニルケイ皮酸2-エチルヘキシルエステル(オクトクリレン)、サリチル酸2-エチルヘキシルエステル、サリチル酸4-イソプロピルベンジルエステル、サリチル酸ホモメンチルエステル(サリチル酸3,3,5-トリメチルシクロヘキシル)、2-ヒドロキシ-4-メトキシベンゾフェノン、2-ヒドロキシ-4-メトキシ-4'-メチルベンゾフェノン、2,2'-ジヒドロキシ-4-メトキシベンゾフェノン、4-メトキシベンズマロン酸ジ-2-エチルヘキシルエステル、2,4,6-トリアニリノ-(p-カルボ-2'-エチル-1'-ヘキシルオキシ)-1,3,5-トリアジン(オクチルトリアゾン)およびジオクチルブタミドトリアジン(Uvasorb(登録商標)HEB)ならびに前記化合物の混合物である。

【0056】

好ましい水性UVフィルタは、2-フェニルベンゾイミダゾール-5-スルホン酸ならびにそのアルカリ金属、アルカリ土類金属、アンモニウム、アルキルアンモニウム、アルカノールアンモニウムおよびグルカンモニウム塩、ベンゾフェノン類のスルホン酸誘導体、好ましくは2-ヒドロキシ-4-メトキシベンゾフェノン-5-スルホン酸およびその塩、3-ベンジリデンカンファーのスルホン酸誘導体、例えば4-(2-オキシ-3-ボルニリデンメチル)ベンゼンスルホン酸および2-メチル-5-(2-オキシ-3-ボルニリデン)スルホン酸ならびにそれらの塩である。

【0057】

本発明で好ましく使用される無機UV保護顔料は、微細分散金属酸化物および金属塩、例えば二酸化チタン、酸化亜鉛、酸化鉄、酸化アルミニウム、酸化セリウム、酸化ジルコニウム、ケイ酸塩(タルク)、硫酸バリウムおよびステアリン酸亜鉛などである。粒子は100nm未満、好ましくは5~50nm、より好ましくは15~30nmの平均直径を持つべきである。それらの形状は球形であってもよいが、楕円粒子または非球状粒子も使用することができる。顔料は表面処理すなわち親水化または疎水化されていてもよい。典型例は、例えばTitandioxid T805(Degussa)またはEusolex(登録商標)T2000(Merck)などの被覆二酸化チタンである。適切な疎水性被覆材料には、例えばシリコン、特にトリアルコキシオクチルシランまたはシメチコンなどがある。日焼け止め製品へのいわゆるマイクロ顔料またはナノ顔料の使用は好ましい。微粉化酸化亜鉛の使用は好ましい。

【0058】

さらに、少なくとも1つのタンパク質加水分解物またはその誘導体を含むことは、本発明の皮膚処置組成物にとって特に有利であることが判明した。本発明では植物性および動物性タンパク質加水分解物をどちらも使用することができる。動物性タンパク質加水分解物

10

20

30

40

50

は、例えばエラスチン、コラーゲン、ケラチン、シルクおよび乳タンパク質加水分解物などであり、これらは塩の形態でも存在しうる。植物性タンパク質加水分解物、例えばダイズ、コムギ、アーモンド、エンドウ、バレイショおよびコメタンパク質加水分解物などは、本発明の目的にとって好ましい。対応する市販品は、例えば Diamin (登録商標) (Diamalt)、Glucadin (登録商標) (Cognis)、Lexein (登録商標) (Inolex) および Crotein (登録商標) (Croda) である。

【0059】

タンパク質加水分解物の代わりに、一方ではアミノ酸混合物を、また他方では個々のアミノ酸および生理学的に適合するその塩を使用することもできる。本発明の目的にとって好ましいアミノ酸としては、グリシン、セリン、スレオニン、システイン、アスパラギン、グルタミン、ピログルタミン酸、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、トリプトファン、フェニルアラニン、メチオニン、アスパラギン酸、グルタミン酸、リジン、アルギニンおよびヒスチジン、ならびに前記アミノ酸の亜鉛塩および酸付加塩が挙げられる。

10

【0060】

タンパク質加水分解物の誘導体、例えばその脂肪酸縮合産物も、使用することができる。対応する市販品は、例えば Lamapon (登録商標) (Cognis)、Glucadin (登録商標) (Cognis)、Lexein (登録商標) (Inolex)、Crolastin (登録商標) または Crotein (登録商標) (Croda) などである。

20

【0061】

本発明では、植物もしくは海洋生物に由来するかまたは生物工学によって得られるタンパク質加水分解物を基礎とする、陽イオン化タンパク質加水分解物も使用することができる。基礎となるタンパク質成分が 100 ~ 25,000 ダルトン、好ましくは 250 ~ 5,000 ダルトンの分子量を持つ陽イオン性タンパク質加水分解物は好ましい。また、陽イオン性タンパク質加水分解物は、4級アミノ酸およびその混合物を含むとも解釈される。また、陽イオン性タンパク質加水分解物を、さらに誘導体化することもできる。

【0062】

本発明で使用される陽イオン性タンパク質加水分解物および誘導体の典型例には、「International Cosmetic Ingredient Dictionary and Handbook」(第7版、1997、米国化粧品工業会、ワシントン DC 20036-4702, スイート300, N.W., 17th ストリート1101) にINCI名で挙げられている市販の製品のいくつかが含まれる: ココジモニウムヒドロキシプロピル加水分解コラーゲン、ココジモニウムヒドロキシプロピル加水分解カゼイン、ステアルジモニウムヒドロキシプロピル加水分解コラーゲン、ステアルジモニウムヒドロキシプロピル加水分解毛髪ケラチン、ラウリルジモニウムヒドロキシプロピル加水分解ケラチン、ココジモニウムヒドロキシプロピル加水分解コメタンパク質、ココジモニウムヒドロキシプロピル加水分解シルク、ココジモニウムヒドロキシプロピル加水分解ダイズタンパク質、ココジモニウムヒドロキシプロピル加水分解コムギタンパク質、ココジモニウムヒドロキシプロピルシルクアミノ酸、ヒドロキシプロピルアルギニンラウリル/ミリスチルエーテルHCl、ヒドロキシプロピルトリモニウムゼラチン。植物原材料に基づく陽イオン性タンパク質加水分解物および誘導体は最も好ましい。

30

40

【0063】

タンパク質加水分解物およびその誘導体またはアミノ酸およびその誘導体は、本発明の組成物中に、組成物全体に対して 0.01 ~ 10 重量% の量で存在する。0.1 ~ 5 重量%、より具体的には 0.1 ~ 3 重量% の量は、特に好ましい。

【0064】

もう一つの有利な態様では、本発明の皮膚処置組成物は、少なくとも1つの単糖、オリゴ糖もしくは多糖またはその誘導体を含む。

【0065】

50

本発明の目的に適した単糖は、例えばグルコース、フルクトース、ガラクトース、アラビノース、リボース、キシロース、リキソース、アロース、アルトロース、マンノース、グロース、イドースおよびタロース、デオキシ糖であるフコースおよびラムノース、ならびに例えばグルコサミンまたはガラクトサミンなどのアミノ糖である。グルコース、フルクトース、ガラクトース、アラビノースおよびフコースは好ましく、グルコースは特に好ましい。

【0066】

本発明の目的に適したオリゴ糖は、例えばショ糖、乳糖またはトレハロースなどで、2～10個の単糖単位から構成される。特に好ましいオリゴ糖はショ糖である。主にグルコースとショ糖を含むハチミツの使用もとりわけ好ましい。

10

【0067】

本発明の目的に適した多糖は10個を超える単糖単位から構成される。好ましい多糖は-D-グルコース単位から構成されるデンプン、ならびにアミロース、アミロペクチンおよびデキストリンなどのデンプン分解産物である。本発明によれば、化工デンプンおよび/または熱変性デンプン、例えばヒドロキシプロピルデンプンリン酸、ジヒドロキシプロピルニデンプンリン酸または市販品 Dry Flo (登録商標)は特に有利である。デキストランおよびデキストラン誘導体、例えばデキストラン硫酸も好ましく、同様に、非イオン性セルロース誘導体、例えばメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロースまたはヒドロキシエチルセルロース、および陽イオン性セルロース誘導体、例えば市販品 Celquat (登録商標)および Polymer JR (登録商標)、好ましくは Celquat (登録商標) H 100、Celquat (登録商標) L 200 および Polymer JR (登録商標) 400 (ポリクオタニウム-10) およびポリクオタニウム-24なども好ましい。他の好ましい例には、フコース単位の多糖、例えば市販品 Fucogel (登録商標)がある。アミノ糖単位で構成された多糖、より具体的にはキチン、および脱アセチル化キチン誘導体、キトサン、およびムコ多糖は、特に好ましい。本発明の目的にとって好ましいムコ多糖には、ヒアルロン酸およびその誘導体、例えばヒアルロン酸ナトリウムおよびジメチルシラノールヒアルロネート、ならびにコンドロイチンおよびその誘導体、例えばコンドロイチン硫酸などがある。

20

【0068】

特に有利な一態様では、本発明の皮膚処置組成物は、陽イオン性ポリマー、陰イオン性ポリマー、両性荷電ポリマーまたは非イオン性ポリマーのいずれであってもよい天然および合成ポリマーから選択される、少なくとも1つの薄膜形成性、エマルジョン安定化、増粘性または接着性ポリマーを含む。

30

【0069】

陽イオン性、陰イオン性および非イオン性ポリマーは本発明の目的にとって好ましい。陽イオン性ポリマーのなかでは、4級化された基を含むポリシロキサン、例えば市販品 Q 2-7224 (Dow Corning)、Dow Corning (登録商標) 929 Emulsion (アモジメチコン含有)、SM-2059 (General Electric)、SLM-55067 (Wacker) および Abil (登録商標) - Q uat 3270 および 3272 (Th. Goldschmidt) が好ましい。

40

【0070】

本発明で使用される活性物質の効果を補助することができる好ましい陰イオン性ポリマーはカルボキシレート基および/またはスルホネート基を含み、モノマーとして、例えばアクリル酸、メタクリル酸、クロトン酸、無水マレイン酸および2-アクリルアミド-2-メチルプロパンスルホン酸などを含む。酸性基はその全てまたは一部がナトリウム、カリウム、アンモニウム、モノまたはトリエタノールアンモニウム塩として存在しうる。好ましいモノマーは2-アクリルアミド-2-メチルプロパンスルホン酸およびアクリル酸である。最も好ましい陰イオン性ポリマーは唯一のモノマーまたはコモノマーとして2-アクリルアミド-2-メチルプロパンスルホン酸を含み、そのスルホン酸基は全てまたは一部が塩型で存在する。この態様では、少なくとも1つの陰イオン性モノマーと少なくとも

50

1つの非イオン性モノマーとのコポリマーを使用することが好ましい。陰イオン性モノマーとしては、上記の物質が挙げられる。好ましい非イオン性モノマーはアクリルアミド、メタクリルアミド、アクリレート、メタクリレート、ビニルピロリドン、ビニルエーテルおよびビニルエステルである。

【0071】

好ましい陰イオン性コポリマーは、アクリル酸/アクリルアミドコポリマー、そして特に、スルホン酸基を含むモノマーとのポリアクリルアミドコポリマーである。特に好ましい陰イオン性コポリマーは70~55モル%のアクリルアミドと30~45モル%の2-アクリルアミド-2-メチルプロパンスルホン酸とからなり、そのスルホン酸基は全てまたは一部がナトリウム、カリウム、アンモニウム、モノまたはトリエタノールアンモニウム塩として存在する。このコポリマーは架橋することもでき、好ましい架橋剤はオレフィン系ポリ不飽和化合物、例えばテトラアリルオキシエタン、アリルショ糖、アリルペンタエリトリールおよびメチレンビスアクリルアミドなどである。そのようなポリマーの一つはSEPPICの市販品Sepigel(登録商標)305に含まれている。この化合物の使用は、本発明の目的には特に有利であることが判明した。イソヘキサデカンおよびポリソルベート80との配合物の形でSimulgel(登録商標)600として販売されているアクリロイルジメチルタウリンナトリウムコポリマーは、本発明の目的にはとりわけ有効であることが判明した。

10

【0072】

特に好ましい他の陰イオン性ホモポリマーおよびコポリマーは無架橋および架橋ポリアクリル酸である。ペンタエリトリール、ショ糖およびプロピレンのアリルエーテルは好ましい架橋剤になりうる。このような化合物は例えば市販品Carbopol(登録商標)である。特に好ましい陰イオン性コポリマーの80~98%は、置換されていてもよい不飽和C₃~C₆カルボン酸またはカルボン酸無水物を、また2~20%は、飽和C₁₀~C₃₀カルボン酸の置換されていてもよいアクリレートを含み、このコポリマーは所望により上述の架橋剤で架橋されていてもよい。これに相当する市販品はPemulen(登録商標)ならびにCarbopol(登録商標)954、980、1342およびETD 2020タイプ(ex B.F. Goodrich)である。

20

【0073】

適切な非イオン性ポリマーは、例えば一部が鹸化されていてもよいポリビニルアルコール、例えば市販品Mowiol(登録商標)、ならびにビニルピロリドン/ビニルエーテルコポリマーおよびポリビニルピロリドン、例えば市販品Luviskol(登録商標)(BASF)である。

30

【0074】

本発明のもう一つの好ましい態様では、脂肪化合物によって本発明組成物の効果をさらに最適化することができる。適切な脂肪化合物の例を以下に挙げる。

- ・植物油、例えばヒマワリ油、オリーブ油、大豆油、菜種油、アーモンド油、ホホバ油、オレンジ油、麦芽油、桃仁油、およびヤシ油の液体画分。
- ・流動パラフィン油、イソパラフィン油および合成炭化水素、例えば1,3-ジ(2-エチルヘキシル)シクロヘキサン(Cetiol(登録商標)S)またはポリデセン。
- ・合計12~36個、より具体的には12~24個の炭素原子を含むジ-n-アルキルエーテル、例えばジ-n-オクチルエーテル(Cetiol(登録商標)OE)、ジ-n-ヘキシル-n-オクチルエーテルおよびn-オクチル-n-デシルエーテル。

40

【0075】

- ・脂肪酸、特に直鎖および/または分枝鎖飽和および/または不飽和C₈~C₃₀脂肪酸。C₁₀~C₂₂脂肪酸は好ましい。例としては、イソステアリン酸およびイソパルミチン酸、例えばEdenor(登録商標)という名称で販売されている脂肪酸などが挙げられる。このような脂肪酸の他の典型例は、カプロン酸、カプリル酸、2-エチルヘキサン酸、カプリン酸、ラウリン酸、イソトリデカン酸、ミリスチン酸、パルミチン酸、パルミトレイン酸、ステアリン酸、イソステアリン酸、オレイン酸、エライジン酸、ペトロセ

50

リン酸、リノール酸、リノレン酸、エレオステアリン酸、アラキドン酸、ガドレイン酸、ベヘン酸およびエルカ酸ならびにその工業用混合物である。通常、ヤシ油またはパーム油から得ることができる脂肪酸画分は特に好ましく、ステアリン酸の使用は特に好ましい。

【0076】

・脂肪アルコール、特に6～30個、好ましくは10～22個、より具体的には12～22個の炭素原子を含む飽和またはモノもしくはポリ不飽和分枝鎖または非分枝鎖脂肪アルコール。これに相当する本発明での使用に適した脂肪アルコールは、例えばデカノール、オクタノール、オクテノール、ドデセノール、デセノール、オクタジエノール、ドデカジエノール、デカジエノール、オレイルアルコール、エルシルアルコール、リシノリルアルコール、ステアリルアルコール、イソステアリルアルコール、セチルアルコール、ラウリルアルコール、ミリスチルアルコール、アラキジルアルコール、カプリルアルコール、カプリンアルコール、リノレイルアルコール、リノレニルアルコールおよびベヘニルアルコール、ならびにそのゲルベアルコール、例えば2-エチルヘキサノールであるが、これらは単なる代表例であって、限定を意図するものではない。

10

【0077】

・エステル油、すなわちC₆～C₃₀脂肪酸とC₂～C₃₀脂肪アルコールとのエステル。前記脂肪酸とC₂～C₂₄アルコールとのモノエステルは好ましい。エステル油のアルコール成分および酸成分は上に挙げた物質から選択してよい。ミリスチル酸イソプロピル、イソノナン酸C₁₆～C₁₈アルキルエステル、パルミチン酸2-エチルヘキシル、ステアリン酸2-エチルヘキシルエステル、オレイン酸セチル、トリカプリル酸グリセロール、カプリン酸/カプリル酸ヤシ油脂肪アルコール、n-ブチルステアレート、エルカ酸オレイル、パルミチン酸イソプロピル、オレイン酸オレイル、ラウリン酸ヘキシルエステル、アジピン酸ジ-n-ブチル、ミリスチン酸ミリスチル、イソノナン酸セテアリルおよびオレイン酸デシルエステルは、本発明の目的にとって特に好ましい。

20

【0078】

・ヒドロキシカルボン酸アルキルエステル、グリコール酸、乳酸、リンゴ酸、酒石酸またはクエン酸の完全エステルは好ましいが、-ヒドロキシプロピオン酸、タルトロン酸、D-グルコン酸、糖酸、粘液酸またはグルクロン酸のエステルも好適であり、C₁₂～C₁₅脂肪アルコールのエステル、例えば EniChem, Augusta Industrial の市販品 Cosmacol (登録商標) は特に好ましい。

30

【0079】

・ジカルボン酸エステル、例えばアジピン酸ジ-n-ブチル、アジピン酸ジ-(2-エチルヘキシル)、コハク酸ジ-(2-エチルヘキシル)およびアゼライン酸ジイソトリデシルなど、ならびにジオールエステル、例えばジオレイン酸エチレングリコール、ジイソトリデカン酸エチレングリコール、ジ(2-エチルヘキサノ酸)プロピレングリコール、ジイソステアリン酸プロピレングリコール、ジペラルゴン酸プロピレングリコール、ジイソステアリン酸ブタンジオール、ジカプリル酸ネオペンチルグリコールなど。

【0080】

・炭酸と脂肪アルコールとの対称、非対称または環状エステル、例えば炭酸グリセロールまたは炭酸ジカプリル(Cetiol (登録商標) CC)。

40

・飽和および/または不飽和直鎖および/または分枝鎖脂肪酸とグリセロールとのモノ、ジおよびトリ脂肪酸エステル、例えば Monomuls (登録商標) 90-O18、Monomuls (登録商標) 90-L12 または Cutina (登録商標) MD。

【0081】

・ロウ、特に密ロウおよびマルハナバチロウなどの昆虫ロウ、カンデリラロウおよびカルナウバロウなどの植物ロウ、果実ロウ、地ロウ、マイクロワックス、セレシン、パラフィン、ヒドロキシ化されていてもよい飽和C₁₆～C₃₀脂肪酸のトリグリセリド、例えば水素添加トリグリセリド脂肪(水添パーム油、水添ヤシ油、水添ヒマシ油)、トリベヘン酸グリセリルまたはトリ-12-ヒドロキシステアリン酸グリセリルなど、脂肪酸とグリコール(例えば Syncrowachs (登録商標)) またはC₂～C₆ポリオールと

50

の合成完全エステル、ヒドロキシ化されていてもよい $C_2 \sim C_4$ カルボン酸とラノリンアルコールおよび $C_{12} \sim C_{18}$ 脂肪アルコールとのエステル、 $C_{10} \sim C_{30}$ 脂肪酸のコレステロールまたはラノステロールエステル、エトキシ化 $C_{12} \sim C_{20}$ 脂肪酸グリコールエステル、 $C_{12} \sim C_{22}$ アシル基と $C_2 \sim C_4$ アルカノール基とを含む脂肪酸モノアルカノールアミド、合成脂肪酸/脂肪アルコールエステル、例えばステアリン酸ステアリルまたはパルミチン酸セチル、および天然脂肪酸と合成 $C_{20} \sim C_{40}$ 脂肪アルコールとのエステルロウ（INCI名： $C_{20} - 40$ アルキルステアレート）。

【0082】

・デカメチルシクロペンタシロキサン、ドデカメチルシクロヘキサシロキサンおよび架橋されていてもよいシリコーンポリマー、例えばポリジアルキルシロキサン、ポリアルキルアリールシロキサン、エトキシ化ポリジアルキルシロキサン、好ましくはジメチコンコポリオールというINCI名を持つ物質、およびアミンおよび/またはヒドロキシ基を持つポリジアルキルシロキサンから選択されるシリコーン化合物。

10

【0083】

脂肪化合物は、組成物全体に対して0.1～50重量%の量、好ましくは0.1～20重量%の量、より具体的には0.1～15重量%の量で使用される。

【0084】

本発明の組成物は、例えば以下に挙げるような他の活性物質、助剤および添加剤を含んでもよい。

・ビタミン群A、C、EおよびFから選択されるビタミン、プロビタミン、およびビタミン前駆体、より具体的には3,4-ジデヒドロレチノール（ビタミン A_2 ）、 β -カロテン（ビタミン A_1 のプロビタミン）、アスコルビン酸（ビタミンC）およびパルミチン酸エステル、アスコルビン酸のグルコシドまたはリン酸エステル、トコフェロール、より具体的には α -トコフェロールおよびそのエステル、例えば酢酸エステル、ニコチン酸エステル、リン酸エステルおよびコハク酸エステル、ならびにビタミンF、すなわち必須脂肪酸、具体的にはリノール酸、リノレン酸およびアラキドン酸。

20

・アラントイン。

・ピサポロール。

【0085】

・酸化防止剤、例えばイミダゾール類（例えばウロカニン酸）およびその誘導体、D,L-カルノシン、D-カルノシン、L-カルノシンおよびその誘導体（例えばアンセリン）などのペプチド、クロロゲン酸およびその誘導体、リポ酸およびその誘導体（例えばジヒドロリポ酸）、金チオグルコース、プロピルチオウラシルおよび他のチオール（例えばチオレドキシン、グルタチオン、システイン、シスチン、システアミン、およびそのグリコシル、N-アセチル、メチル、エチル、プロピル、アミル、ブチルおよびラウリル、パルミトイル、オレイル、 ω -リノレイル、コレステリルおよびグリセリルエステル）およびそれらの塩、ジラウリルチオジプロピオネート、ジステアリルチオジプロピオネート、チオジプロピオン酸およびその誘導体（エステル、エーテル、ペプチド、脂質、ヌクレオチド、ヌクレオシドおよび塩）、およびスルホキシミン化合物（例えばブチオニンスルホキシミン、ホモシステインスルホキシミン、ブチオニンスルホン、ペンタ-、ヘキサ-およびヘプタ-チオニンスルホキシミン）（極わずかな適合投与量（例えば $pmol$ ないし $\mu mol/kg$ ）で）、

30

40

【0086】

ならびに（金属）キレート剤（例えば α -ヒドロキシ脂肪酸、パルミチン酸、フィチン酸、ラクトフェリン）、フミン酸、胆汁酸、胆汁抽出物、ビリルビン、ビリベルジン、EDTA、EGTAおよびその誘導体、不飽和脂肪酸およびその誘導体（例えば ω -リノレン酸、リノール酸、オレイン酸）、葉酸およびその誘導体、ユビキノールおよびユビキノールならびにそれらの誘導体、ベンゾイン樹脂の安息香酸コニフェリル、ルチン酸およびその誘導体、 α -グリコシルルチン、フェルラ酸、フルフリリデングルシトール、カルノシン、ブチルヒドロキシルエン、ブチルヒドロキシアニソール、ノルジヒドログアヤク樹脂

50

酸、ノルジヒドログアヤレト酸、トリヒドロキシブチロフェノン、尿酸およびその誘導体、カタラーゼ、スーパーオキシドジスムターゼ、亜鉛および亜鉛誘導体（例えばZnO、ZnSO₄）、セレンおよびその誘導体（例えばセレンメチオニン）、スチルベンおよびその誘導体（例えばスチルベンオキシド、トランス-スチルベンオキシド）、ならびにこれらの活性物質の、酸化防止剤として適切な誘導体（塩、エステル、エーテル、糖、ヌクレオチド、ヌクレオシド、ペプチドおよび脂質）。

【0087】

- ・セラミドおよびブソイドセラミド。
- ・トリテルペン、より具体的にはトリテルペン酸、例えばウルソール酸、ロスマリン酸、ベツリン酸、ポスウェリア酸およびブリオノール酸。
- ・カテコール類モノマー、より具体的にはカテコールおよびエピカテコール、ロイコアントシアニジン、カテコールポリマー（カテコールタンニン）ならびにガロタンニン。
- ・増粘剤、例えばゼラチン、植物性ガム、例えば寒天、グアーガム、アルギネート、キサントガム、アラビアガム、カラヤガムまたはローカストビーンガム、天然および合成粘土ならびに層状ケイ酸塩、例えばベントナイト、ヘクトライト、モンモリロナイトまたはLaponite（登録商標）、例えばポリビニルアルコールなどの完全合成親水コロイド、ならびに脂肪酸のCa、MgまたはZnセッケン。
- ・植物グリコシド。
- ・マレイン酸および乳酸などの構造剤。
- ・ジメチルイソソルビド。
- ・ -、 - および - シクロデキストリン、特にレチノール安定化用。

10

20

【0088】

- ・溶剤、膨潤および浸透剤、例えばエタノール、イソプロパノール、エチレングリコール、プロピレングリコール、プロピレングリコールモノエチルエーテル、グリセロールおよびジエチレングリコール、カーボネート、水素カーボネート、グアニジン、尿素、ならびに第一、第二および第三ホスフェート。
- ・香油、組成物着色用の顔料および染料。
- ・pH調節剤、例えば - および - ヒドロキシカルボン酸。
- ・錯化剤、例えばEDTA、NTA、 - アラニン二酢酸およびホスホン酸。
- ・乳白剤、例えばラテックス、スチレン/PVPおよびスチレン/アシルアミドコポリマー。
- ・パール光沢付与剤、例えばモノステアリン酸およびジステアリン酸エチレングリコールならびにジステアリン酸PEG-3。
- ・噴射剤、例えばプロパン/ブタン混合物、N₂O、ジメチルエーテル、CO₂ および空気。

30

【0089】

本発明の皮膚処置組成物は、液体または固体の水中油型エマルション、油中水型エマルション、多重エマルション、マイクロエマルション、PITエマルションまたはピカリングエマルション、ヒドロゲル、リポゲル、単相または多相溶液、泡状物、粉末、または医薬接着剤として適切な少なくとも1つのポリマーを含む混合物の形をとると有利である。本組成物は、無水型で、例えばオイルまたは香膏として投与することもできる。この場合は、植物油、動物油、鉱油、合成油またはそのような油の混合物を担体に行うことができる。

40

【0090】

ある特定の態様では、本発明の組成物をマイクロエマルションとして製剤化する。本発明に関して、マイクロエマルションは、熱力学的に安定なマイクロエマルジョンだけでなく、いわゆるPITエマルションも包含すると解釈される。PITエマルションは水、油および乳化剤という三成分を含み、室温では水中油型エマルションとして存在する系である。加熱すると、これらの系は、一定の温度範囲（転相温度またはPITと呼ばれる）でマイクロエマルションを形成し、さらに加熱すると、油中水型（w/o）エマルションに変

50

化する。冷却すると o/w エマルションが再形成されるが、これは - 室温でさえ - マイクロエマルションとして、または超微粒子エマルションとして存在する(400nm未満の平均粒径、より具体的には100~300nmの範囲の平均粒径を持つ)。本発明の目的には約200nmの平均粒径を持つマイクロエマルションまたはPITエマルションが好ましい場合がある。これらPITエマルションの詳細は、例えば雑誌 *Angew. Chem.* 97, 655-669 (1985) などに見ることができる。

【0091】

以下、実施例によって本発明を例示するが、これらの実施例は決して本発明を限定するものではない。

【実施例】

10

【0092】

1. 多層皮膚モデルの研究

MMP1の阻害に関するリポソーム封入型DNA修復酵素の効果を、多層インビトロ皮膚モデルを使って調べた。この皮膚モデルは、線維芽細胞を含む真皮と角化細胞の表皮とからなるヒト皮膚等価物である。

【0093】

この多層構造は特別な培養方法で形成される。培養培地に懸濁したヒト包皮の線維芽細胞 2×10^5 個/cm² を、キトサン、コラーゲンおよびグリコサミノグリカンからなるマトリックス(Collombel, C.ら「コラーゲン、キトサンおよびグリコサミノグリカンを基礎とする生体材料、その製造方法およびヒト医学への応用(原題: Biomaterials with a base of collagen, chitosane and glycosaminoglycans, process for preparing them and their application in human medicine)」、米国特許第5,166,187号に記載のマトリックス)に、ピペットで移すことにより、まず真皮等価物(DE)を作製した。培養培地は、10%ウシ胎仔血清(FCS)、25 μ g/mlゲンタマイシン、100UI/mlペニシリン、1 μ g/mlアンフォテリシンB、50 μ g/mlアスコルビン酸ナトリウムおよび4mM L-グルタミンを添加したダルベッコ変法イーグル培地(DMEM)からなった。この培地中で、真皮等価物を、CO₂/空気雰囲気(5%/95%, v/v)下に37 $^{\circ}$ C、湿度90%で、培地を毎日新しくしながら、14日間培養した。

20

30

【0094】

皮膚等価物(SE)を得るために、14日齢のDE上にヒト包皮の角化細胞を200,000細胞/cm²の密度で播種し、25 μ g/mlゲンタマイシン、100UI/mlペニシリン、1 μ g/mlアンフォテリシンB、50 μ g/mlアスコルビン酸ナトリウム、4mM L-グルタミン、10ng/ml表皮成長因子(EGF)、0.4 μ g/mlヒドロコルチゾン、0.12UI/mlインスリン、 10^{-9} Mコレラ毒素、5ng/mlトランスフェリンおよび180 μ Mアデニンを添加した60%DMEM、30%HAM F12および10%FCSからなる培地に浸漬した条件で、さらに7日間培養した。次に、皮膚等価物を、改変角化細胞培地(0.4 μ g/mlヒドロコルチゾンおよび0.12UI/mlインスリンを添加したDMEM-HAM F12)中、気液界面で、さらに

40

【0095】

このモデルでは角化細胞と線維芽細胞とが互いに密接に接触していて、生体内と同様にシグナル物質を交換することができるので、通常使用される単層培養物と比較すると、このモデルの方が生体内の状況にはるかによく対応している。また、上側の皮膚層は例えばUVB線などに対してフィルター機能も果たす。

【0096】

2. リポソーム封入型フォトリアーゼによるMMP1阻害の検出

リポソーム封入型フォトリアーゼによるMMP1阻害を検出するために、まず皮膚モデルをUVB線に曝露して、ピリミジン二量体を生成させた。次に、それらをUVA線に曝露

50

することにより、この放射線が、角化細胞DNAの修復および線維芽細胞におけるMMP 1の阻害に対して効果を発揮することができるように、フォトリアーゼを活性化した。

【0097】

2.1 フォトリアーゼの活性化に必要なUVA量の決定

フォトリアーゼを活性化するには9 J UVA / cm²の線量で十分であることが文献からわかっていた。使用したUVAランプの出力は1.7 mW / cm²なので、フォトリアーゼ活性化線量を得るには90分の曝露時間が必要だった。

【0098】

2.2 組み合わせUVB/UVA照射後の細胞活性の評価

皮膚等価物の細胞が認容する高エネルギーUVB線の線量を決定するために、一連の予備試験をもう一つ行なった。そのために、皮膚モデルをまず様々な線量のUVB (100 mJ / cm²か

ら800 mJ / cm²まで変化、すなわち使用したUVBランプの出力1.2 mW / cm²で、曝露時間を83秒

から11.1分まで変化させた)に曝露し、次に9 J UVA / cm²の線量に曝露した。

【0099】

曝露後に、皮膚モデルを、栄養培地中、気液界面で標準条件(37、5体積%CO₂および湿度90%)で24時間培養した。

最後に、MTT試験(2.1.1で説明する方法)によって細胞の生存性を評価した。表1にこの生存性試験の結果を示す。無処置対照の生存性を基準(=100%)として使用し、他の全ての測定値をこれに関連づけた。

【0100】

【表1】

MTT試験によって測定した、

組み合わせUVB/UVA照射後の細胞生存性 (n=2)

照射したUVB線量 [mJ/cm ²]	非照射皮膚モデルに対する相対生存性 [%]
0	100
100	78
200	82
800	79

30

【0101】

上記の結果は、最高800 mJ / cm²のUVBに曝露した後でも、細胞の約80%はまだ生きていることを示している。ピリミジン二量体を生成させるためまたはMMP 1合成を活性化するための皮膚モデルのUVB照射には、MTT試験結果に基づいて、試験した線量の算術平均値に相当する線量360 mJ UVB / cm² (= UVBへの5分間の曝露)を選択した。

40

【0102】

2.2.1 生存性を評価するためのMTT試験

MTT試験は細胞増殖および細胞毒性に関する情報を与える。この試験では生細胞の代謝活性が測定される。テトラゾリウム塩である3-[4,5-ジメチルチアゾール-2-イル]-2,5-ジフェニルテトラゾリウムプロミド(MTT)は生細胞内で還元され、水不溶性のホルマザン塩に変換される。そのホルマザン塩を抽出し、光度測定法によって定量する。生成するホルマザン塩の量は、被験試料中の生細胞数の尺度である。詳しい試験操作は J. Immunol. Methods 65, 55, 1983 (T.

50

Mosmann)に開示されているので、参照されたい。

【0103】

MTT溶液を調製するために、2mlのMTT溶液(濃度はリン酸緩衝食塩水(=PBS)中、1mg MTT/ml)を24穴トレイの各ウェルにピペットで分注した。皮膚モデルをそのトレイに移し、CO₂/空気(5%/95%, v/v)雰囲気下に湿度90%、37℃で3時間インキュベートした。インキュベーションが完了したら、皮膚モデルを遠心管に移し、生成したホルマザン塩を、4mlの抽出剤(イソプロパノール292ml + 1M HCl 8ml)により、振とう機で1.5時間抽出した。試料200μlの540nmの波長での光学密度を96穴プレートで測定した(Titerek Multiscan MCC 340, Flow Laboratories)。

10

【0104】

2.3 MMP1阻害の解析

フォトリアーゼを含むクリーム製剤による被照射ヒト皮膚等価物の処置が、UVBへの曝露によって誘導されるMMP1の合成を、どの程度低下させることができるかを評価するための試験を行なった。そのために、ヒト多層皮膚モデルを360mJ/cm²のUVB線量に曝露した後、0.1重量% Photosome(商標)を含むクリーム剤で処置した。対照実験では、同時にUVB照射した皮膚モデルを(b) Photosome(商標)を含まないプラセボクリーム剤で処置するか、または(c)無処置のままにしておいた。そのために、本発明のクリーム剤およびプラセボクリーム剤5μl(3.8mg/cm²に相当)を適用し、軟らかい刷毛で注意深く広げた。

20

【0105】

もう一つの対照実験では、皮膚モデルを曝露せず、処置も行なわなかった。次に、活性成分が確実に浸透するように、全ての皮膚等価物を、CO₂/空気(5%/95%, v/v)雰囲気下に湿度90%、37℃(標準条件)で3時間インキュベートした後、9J/cm²のUVA線量に曝露してフォトリアーゼを活性化した。

【0106】

皮膚モデルを標準条件でさらに48時間インキュベートした。次に、F.M. Ausubelら編「Current Protocols in Molecular Biology」(John Wiley and Sons Inc.)の第4章、R.E. Kingstonら著「RNAの調製と解析(原題: Preparation and Analysis of RNA)」(1997)の方法によって、細胞のRNAを調製した。

30

【0107】

MMP1遺伝子の発現をノーザンブロット実験で解析した。MMP1のmRNAに特異的な放射性遺伝子プローブをこの目的に使用した。mRNAの産生はMMP1の合成における最初のそしてそれゆえに最も重要なステップである。したがってmRNA産生に影響を及ぼす物質は、MMP1のタンパク質量および酵素活性にも影響を及ぼす。

【0108】

18S-RNA用のプローブを使った対照実験により、匹敵する量のRNAを解析していることがわかった。ノーザンブロットシグナル強度を定量するために、オートラジオグラムをデンシトメトリーによって評価した。MMP1のシグナルを18S-RNAのシグナルに付随する値に対して標準化した。

40

【0109】

これらの解析方法は当業者には広く知られており、特に Brenneisen, P.ら(1996), Photochem. Photobiol. 64, 877-885および Poswig, A.ら(1999), J. Invest. Dermatol. 112, 13-18に詳述されているので、参照されたい。

【0110】

クリーム剤で処置しなかった被曝皮膚モデルの標準化MMP1シグナル値を基準(=100%)として使用し、他の皮膚モデルの値は全てこれに関連づけた(表3)。

50

以下の皮膚モデル試料のMMP1を評価した。

試料1：UVBに曝露、クリーム剤による処置なし

試料2：UVBに曝露+プラセボクリーム剤による処置

試料3：UVBに曝露+本発明のPhotosome(商標)クリーム剤による処置

試料4：UVBへの曝露なし、クリーム剤による処置なし

【0111】

【表2】

本発明の試験クリーム剤の組成

成分	ラメラクリーム、o/w型エマルジョン [重量%]
Cetiol (登録商標) OE	7.0
Cetiol (登録商標) V	7.0
Lanette (登録商標) 22	7.0
Lanette (登録商標) E	0.18
Baysilonoel M 350	0.5
酢酸ビタミンE	1.0
パルミチン酸レチニル	1.0
D-パンテノール	1.0
Photosome (商標)	0.1
グリセロール	5.0
ホルマリン溶液 (37%)	0.08
水	全体を100にする量

10

20

【0112】

【表3】

クリーム剤処置との関連としての、UVB誘導MMP1の量

	試料1のシグナルに対するMMP1のノーザンブロットシグナル [%]
1	100
2	41
3	22
4	5

30

40

【0113】

フォトリアーゼを含むクリーム製剤による皮膚モデルの処置(試料3)は、MMP1の発現を80%近く減少させた。

9 J/cm²の線量に相当するUVA光に対するヒト皮膚等価物の曝露は、MMP1の有意な誘導をもたらさなかったため、測定された効果はUVBによって誘導されたMMP1合成だけに帰することができた。

これらの解析の結果は、リポソーム封入型フォトリアーゼが、UVBによって誘導されるMMP1発現を効果的に減少させる能力を持つことを示している。

【0114】

3. 他の製剤例

50

【表 4】

成分	実施例3.1 o/w型PITエマルジョン [重量%]	実施例3.2 w/o型エマルジョン [重量%]
Cetiol（登録商標）OE	7.5	7.0
Cetiol（登録商標）V	7.5	7.0
Lanette（登録商標）O	4.0	-
パルミチン酸グリセリル	2.2	-
Eumulgin（登録商標）B2	2.1	-
Baysilonoel M 350	0.5	-
酢酸ビタミンE	1.0	-
パルミチン酸レチニル	1.0	1.0
ビオチン	0.005	-
ジヒドロ-3-ヒドロキシ-4,4-ジメチル-2(3H)-フラノン (パントラクトン)	1.0	1.0
藻類抽出物SPHM 3002	-	1.0
Photosome（商標）	0.1	0.1
グリセロール	5.0	5.0
MgSO ₄ ・H ₂ O	-	0.7
ホルマリン溶液（37%）	0.08	0.08
水	全体を100にする量	全体を100にする量

10

20

30

【 0 1 1 5 】

【表 5 - 1】

成分	実施例3.3 リポタンパク質 クリーム	実施例3.4 糖脂質 クリーム	実施例3.5
Montanov (登録商標) 202	-	-	4.0
アザミ油	3.0	-	-
月見草油	-	3.0	-
Myritol (登録商標) PC	3.5	3.5	-
Myritol (登録商標) 331	-	-	3.0
Myritol (登録商標) 318	-	-	2.0
Cetiol (登録商標) MM	-	2.5	-
Cetiol (登録商標) B	-	-	7.0
Cetiol (登録商標) SB45	-	-	0.5
Lanette (登録商標) 22	3.0	-	-
Cutina (登録商標) GMS-V	3.0	4.0	2.0
Lanette (登録商標) O	3.0	2.0	1.0
Edenor (登録商標) IPS	6.0	6.0	-
Cosmacol (登録商標) PLG	-	3.0	-
Baysilonoel M350	1.0	1.0	0.5
Eusolex (登録商標) 6300	0.6	0.6	3.0
Parsol (登録商標) 1789	0.1	0.1	2.0
Controx (登録商標) KS	0.05	0.05	0.05
pHBプロピルエステル	0.2	-	0.2
Photosome (商標)	0.1	0.1	0.1
パンテノール	1.0	1.0	1.0
Herbasol(登録商標),ゼニアオイ留出物	-	1.0	-
Herbasol(登録商標),ローズマリー抽出物	-	-	1.0
Dry Flo (登録商標) Plus	-	3.0	-
ヘキサン-1,6-ジオール	-	6.0	-
ジプロピレングリコール	-	5.0	-
グリセロール	5.0	-	-
DSC-H N	-	5.0	-
Vタンパク質液	9.0	-	-
Tioveil (登録商標) -AQ-N	2.0	-	-

10

20

30

40

【 0 1 1 6 】

【 表 5 - 2 】

クエン酸	0.1	-	-
Sepigel (登録商標) 305	3.0	0.4	-
Methocel (登録商標) E 4M	-	-	0.2
Herbasol (登録商標), 緑茶留出物	-	1.0	-
水	全体を100にする量	全体を100にする量	全体を100にする量

10

【 0 1 1 7 】

【 表 6 】

成分	実施例3.6 低刺激性洗浄ジェル
Eumulgin (登録商標) HRE 40	0.6
Eucarol (登録商標) AGE-ET	2.0
1,2-プロピレングリコール	10.0
Photosome (商標)	0.1
ビサボロール	0.1
D-パンテノール	0.5
pHBプロピルエステル	0.1
pHBメチルエステル	0.2
Carbopol (登録商標) ETD 2020 (0.5%)	50.0
水	全体を100にする量

20

【 0 1 1 8 】

【 表 7 】

30

成分	実施例3.7 マトリックス プラスター	実施例3.8 マトリックス プラスター
DURO-TAK (登録商標)	76	76
Photosome (商標)	0.1	-
Ultrasome (商標)	-	0.1
パンテノール	2	-
ジヒドロ-3-ヒドロキシ-4,4-ジメチル- 2 (3H) -フラノン (パントラクトン)	-	2
Herbasol (登録商標) , ハイビスカス留出物	1	-
Herbasol (登録商標) , 緑茶留出物	-	1
アロエベラゲル	1	1
Tioveil (登録商標) -AQ-N	2	-
Eusolex (登録商標) OCR	1	-
モノオレイン酸プロピレングリコール	5	5
Controx (登録商標) KS	0.05	0.05
水	全体を100 にする量	全体を100 にする量

10

20

【 0 1 1 9 】

【 表 8 】

活性物質レザバーの成分	実施例3.9 ゲルレザバー プラスター	実施例3.10 ゲルレザバー プラスター
Photosome (商標)	0.1	-
Ultrasome (商標)	-	0.1
パンテノール	1.0	-
パントラクトン		1.0
ピサボロール	1.0	1.0
Herbasol (登録商標), ハイビスカス留出物	-	1.0
エタノール	40	40
Mowiol (登録商標) 18-88	8.0	8.0
Luviskol (登録商標) K80	5.0	5.0
Controx (登録商標) KS	0.05	0.05
Brij (登録商標) -35	2.0	2.0
Cremophor (登録商標) CO-40	0.5	0.5
グリセロール	5.0	5.0
水	全体を100 にする量	全体を100 にする量

10

20

【 0 1 2 0 】

【 表 9 - 1 】

使用した原料

名称	INCI	
藻類抽出物SPHM 3002	水, 藻類 (リンネ)	
アロエベラゲル (Provital SA) : プロピレン グリコール/水中に0.85~1.55重量%の活性物質	アロエ・バルバデンシス (リンネ)	
Baysilonoel M 350	ポリジメチルシロキサン/ ジメチコン	
Brij (登録商標) -35	ラウレス-23	10
Carbopol (登録商標) ETD 2020 (0.5%)	アクリレート/アクリル酸アルキル (C10~30) クロスポリマー	
Eumulgin (登録商標) B2	セテアレス-20	
Cetiol (登録商標) B	アジピン酸ジブチル	
Cetiol (登録商標) MM	ミリスチン酸ミリスチル	
Cetiol (登録商標) SB 45	ブチロスパーマム・パーキー (リンネ)	
Controx (登録商標) KS :	トコフェロール、 クエン酸水添パームグリセリド	20
Cosmacol (登録商標) PLG	クエン酸トリアルキル (C12~13)	
Cremophor (登録商標) CO-40	PEG-40水添ヒマシ油	
Cutina (登録商標) GMS (C ₁₆ ~C ₁₈ 脂肪酸モノ/ジグリセリド)	ステアリン酸グリセリル	
Cetiol (登録商標) V	オレイン酸デシル	
Cetiol (登録商標) OE	ジカプリリルエーテル	30
Dry Flo (登録商標) Plus	オクテニルコハク酸デンブ アルミニウム	
DSC-H N (ex Exsymol)	ジメチルシラノール ヒアルロネート	
DURO-TAK (登録商標) (National Starch and Chemical) : 酒精/酢酸エチル/メタノール/ エタノール中に約50%アクリレートコポリマー	ポリアクリレートコポリマー	
Eucarol (登録商標) AGE-ET UP (水中に30%活性物質)	酒石酸ココポリグルコース ナトリウム	40
Eumulgin (登録商標) HRE 40	PEG-40水添ヒマシ油	

【 0 1 2 1 】

【 表 9 - 2 】

名称	INCI	
Eusolex (登録商標) 6300	4-メチルベンジリデンカンファー	
Eusolex (登録商標) OCR	オクトトクリレン	
Herbasol (登録商標), ハイビスカス留出物 (Cosmetochem)	水、変性アルコール、 アルテア・オフィシナリス	
Herbasol (登録商標), 緑茶留出物	水、カメリア・シネンシス抽出物	
Herbasol (登録商標), ゼニアオイ留出物 (Cosmetochem)	水、SDアルコール39-C、 マルバ・シルベストリス (リンネ)	10
Herbasol (登録商標), ローズマリー抽出物	水、プロピレングリコール、 ロスマリヌス・オフィシナリス	
Edenor (登録商標) IPS	ステアリン酸イソプロピル	
Lanette (登録商標) E	セテアリル硫酸ナトリウム	
Lanette (登録商標) O	セテアリルアルコール	
Lanette (登録商標) 22	ベヘニルアルコール	
Lifidrem (登録商標) PPST-GHK-4 (Coletica) : エンドウタンパク質抽出物/C ₁₆ ~C ₁₈ 脂肪酸 縮合物	エンドウ抽出物(ピスム・ サティブム(リンネ))、 ステアリン酸ナトリウム、 塩化ナトリウム	20
Methocel (登録商標) E 4M	ヒドロキシプロピルメチル セルロース	
Montanov (登録商標) 202	アラキジルアルコール、 ベヘニルアルコール、 アラキジルグルコシド	30
Myritol (登録商標) 318	カプリル酸/カプリン酸 トリグリセリド	
Myritol (登録商標) 331	ココグリセリド	
Myritol (登録商標) PC	ジカプリル酸/ジカプリン酸 プロピレングリコール	

【 0 1 2 2 】

【 表 9 - 3 】

40

名称	INCI
月見草油	月見草油エノテラ・ビエニス (リンネ)
Parsol (登録商標) 1789	ブチルメトキシジベンゾイル メタン
pHBプロピルエステル	プロピルパラベン
Photosome (商標)	プランクトン抽出物および レシチン
Mowiol (登録商標) 18-88	ポリビニルアルコール、 部分鹸化物
Luviskol (登録商標) K 80	ポリビニルピロリドン
Sepigel (登録商標) 305	ポリアクリルアミド、C13~14 イソパラフィン、ラウレス-7
Tioveil (登録商標) -AQ-N (Uniqema) : 二酸化チタン分散系	CI77891 (二酸化チタン)、 アルミナ、シリカ、 ポリアクリル酸ナトリウム
Ultrasome (商標)	マイクロコッカス溶解物
V-タンパク質液COS152/22A (Cosmetochem)	水、プロピレングリコール、 加水分解エンドウタンパク質 (ピスマ・サティブム)
酢酸ビタミンE	酢酸トコフェリル

10

20

【国際公開パンフレット】

(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
27. Juni 2002 (27.06.2002)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 02/49593 A2

(51) Internationale Patentklassifikation: A61K 7/42,
7/48, 38/54

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP01/14514

(22) Internationales Anmeldedatum:
11. Dezember 2001 (11.12.2001)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
100 63 433.8 20. Dezember 2000 (20.12.2000) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von
US): HENKEL KOMMANDITGESELLSCHAFT AUF
AKTIEN [DE/DE], Henkelstrasse 67, 40589 Düsseldorf
(DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): SCHLOTMANN,

Kordula [DE/DE], Christophstrasse 46, 40225 Düsseldorf
(DE). PETERSOHN, Dirk [DE/DE], Uferstrasse
48, 50996 Köln (DE). FÖRSTER, Thomas [DE/DE],
Adalbert-Stifter-Strasse 15, 40699 Erkrath (DE). WALD-
MANN-LAUÉ, Marianne [DE/DE], Mozartstrasse 25,
40789 Monheim (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): AU, CA, JP, NZ, US.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): europäisches Patent (AT,
BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC,
NL, PT, SE, TR).

Veröffentlicht:

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu
veröffentlichen nach Erhalt des Berichts

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.



WO 02/49593 A2

(54) Title: USE OF DNA REPAIR ENZYMES AS MMP-1 INHIBITORS

(54) Bezeichnung: VERWENDUNG VON DNA-REPARATUR-ENZYMEN ALS MMP-1-INHIBITOREN

(57) Abstract: The invention relates to the use of photolyase enzymes and T4 endonuclease V as substances that inhibit MMP-1 in
cosmetic or pharmaceutical preparations, for preventing the light-induced ageing of human skin.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft die Verwendung der Enzyme Photolyase sowie T4 Endonuclease V als MMP-1-
inhibierende Substanzen in kosmetischen oder pharmazeutischen Zubereitungen zur Vorbeugung gegen die lichtinduzierte Alterung
der menschlichen Haut.

“Verwendung von DNA-Reparatur-Enzymen als MMP-1-Inhibitoren”

Die Erfindung betrifft die Verwendung bestimmter DNA-Reparatur-Enzyme als Inhibitoren der Collagen abbauenden Matrix-Metall-Proteinase 1 (MMP-1) in kosmetischen oder pharmazeutischen Zusammensetzungen, um der Alterung, insbesondere der lichtinduzierten Alterung, der menschlichen Haut vorzubeugen.

Die Bestrahlung mit Sonnenlicht führt zu Veränderungen des biochemischen Gleichgewichts der Haut.

Der UV-Anteil ebenso wie die Infrarot-Strahlung (Wärme) führen in der Dermis, insbesondere in den dermalen Fibroblasten, über unterschiedliche Mechanismen zur Induktion der interstitiellen Collagenase MMP-1, einem Enzym, das die Collagen-Anteile des Bindegewebes abbaut. Im Sinne der vorliegenden Erfindung kann unter der Induktion der Collagenase MMP-1 sowohl eine Erhöhung der Menge dieses Enzyms als auch eine Steigerung seiner Aktivität sowie beides hiervon verstanden werden. MMP-1 trennt das fibrilläre, tripelhelicale Collagen an einer definierten Stelle des Moleküls. Die in zwei Teile gespaltene Tripelhelix löst sich auf und wird dem Abbau durch weitere Collagenasen zugänglich. Makroskopisch macht sich die Reduktion der Collagenmenge in einer Verminderung der Elastizität der Haut und in der Ausbildung von Falten bemerkbar. Die Induktion der Collagenase MMP-1 durch UV-Strahlung wird als Hauptgrund für die makroskopischen Effekte der Hautalterung angesehen.

Unter einem MMP-1-Inhibitor ist erfindungsgemäß ein Stoff zu verstehen, der

- (a) die Produktion der mRNA hemmt, die das Enzym MMP-1 codiert, und somit die Expression des Enzyms reduziert oder verhindert, und/oder
- (b) die Aktivierung des Enzyms MMP-1 vermindert, und/oder
- (c) die Aktivität des Enzyms MMP-1 vermindert.

Die Reduktion der MMP-1-Synthese und/oder der MMP-1-Aktivität ist somit ein wichtiges Ziel bei der Entwicklung von "Anti-age"-Hautkosmetika, also kosmetischen Produkten, die der Hautalterung entgegenwirken. Ein idealer "Anti-age"-Wirkstoff

inhibiert bereits in geringer Konzentration die Expression von MMP-1. Weiterhin darf die Substanz nicht zelltoxisch sein und muß in kosmetischen und pharmazeutischen Formulierungen stabil sein.

Neben der MMP-1 befinden sich in der Haut weitere Matrix-Metall-Proteinasen. Die Reduktion der Synthese oder der Aktivität der übrigen MMP wird als nicht vorteilhaft angesehen, da sie physiologisch bedeutsame Funktionen erfüllen.

Die aus dem Stand der Technik bekannten Anti-age-Wirkstoffe erfüllen diese Bedingungen nicht oder nur in unzureichendem Ausmaß. In der Anmeldung WO 98/55075 werden Dreifachkombinationen aus einem UV-A-Blocker, einem UV-B-Blocker sowie einem MMP-Inhibitor beansprucht, die der Lichtalterung der Haut entgegenwirken. Um wirksam zu sein, müssen die Zusammensetzungen 7 bis 48 Stunden vor der UV-Exposition auf die Haut aufgetragen werden. Als MMP-Inhibitor bevorzugt sind Retinoinsäure (Tretinoin) und Retinol. Retinoide greifen in den Metabolismus der Hautzellen ein und bewirken neben der Anregung der Proliferation und Differenzierung der epidermalen Keratinozyten, die Steigerung der Collagenproduktion durch Fibroblasten. Darüber hinaus soll Retinol die Bildung von Collagen verdauenden Enzymen reduzieren (New Scientist 2031, 42 - 46, 1996). Retinoinsäure besitzt jedoch teratogene Eigenschaften und darf nur in verschreibungspflichtigen Pharmaka eingesetzt werden. Der Einsatz von Retinol in kosmetischen und pharmazeutischen topischen Präparaten ist aus mehreren Gründen als problematisch zu betrachten. So weist Retinol eine relative hohe Zelltoxizität und insbesondere Phototoxizität auf und kann deshalb nur in geringen Konzentrationen in Zusammensetzungen zur Anwendung am Menschen eingesetzt werden. Darüber hinaus wird Retinol unter Einwirkung von Wärme und/oder Licht leicht oxidativ abgebaut und ist in kosmetischen und pharmazeutischen Formulierungen schwierig zu stabilisieren.

Aufgabe der Erfindung war es, den Mängeln des Stands der Technik abzuweichen und für die kosmetische Behandlung der sonnenlichtinduzierten Hautalterung besser geeignete Mittel bereitzustellen. Eine weitere Aufgabe der Erfindung war es, für die pharmazeutische Behandlung der sonnenlichtinduzierten Hautalterung geeignete Mittel bereitzustellen.

Überraschenderweise wurde nun gefunden, dass die Enzyme Photolyase und T4 Endonuclease V die UV-induzierte Expression von MMP-1 in der Haut hemmen.

Photolyase und T4 Endonuclease V, letztere im weiteren mit "T4N5" abgekürzt, sind im Stand der Technik bereits als sogenannte DNA-Reparatur-Enzyme bekannt. Unter DNA-Reparatur ist erfindungsgemäß die Spaltung bzw. Entfernung von UV-induzierten Pyrimidindimeren aus der DNA zu verstehen.

"Pyrimidindimer" ist die im Stand der Technik gebräuchliche Bezeichnung für Dimere, die photochemisch, z. B. durch UV B-Strahlen, aus bestimmten Pyrimidinbasen der DNA gebildet werden. Pyrimidin selbst ist keine DNA-Base, dennoch wird im folgenden der Begriff "Pyrimidindimer" anstatt des korrekten Terminus "Pyrimidinbasen-Dimer" verwendet. Die Dimerisierung an der Pyrimidinbase Thymin erfolgt, indem benachbarte Thymin-Einheiten eines DNA-Stranges zu einer tricyclischen Verbindung dimerisieren. Das Dimerisierungsprodukt, eine cis-syn-Cyclobutandipyrimidin-Einheit, kann Fehler bei der Übertragung des genetischen Codes auslösen. Von der Bildung der Pyrimidindimeren sind vor allem die epidermalen Keratinozyten betroffen.

Photolyase ist die Kurzbezeichnung für Desoxyribodipyrimidin-Photolyase bzw. DNA-Photolyase, ein Enzym mit der Klassifizierungsnummer EC 4.1.99.3. Photolyase wurde in niedrigen Eukaryonten, z. B. Hefen, nachgewiesen. Es benötigt Licht im Wellenlängenbereich von 350 bis 500 nm, um aktiviert zu werden. Dieses Licht wird von einer im Photolyase-Molekül enthaltenen Chromophoren-Gruppe absorbiert, das anschließend Elektronen auf ein zweites Chromophor überträgt. Durch weiteren Elektronentransfer auf die Cyclobutandipyrimidin-Einheit wird diese gespalten, und die beiden ursprünglichen Thymin-Basen werden wieder hergestellt. Eine besonders effiziente Photolyase stammt aus *Anacystis nidulans*, einem phototrophen marinen Mikroorganismus. Die Photolyase aus *A. nidulans* wird in technisch relevanten Mengen mittlerweile aus *E. coli* gewonnen.

Das Enzym T4 Endonuclease V wird vom *derV*-Gen der Bakteriophage T4 produziert und gehört zu den Phosphodiesterasen, die die Nucleinsäuren an der (5'-3')-Bindung hydrolytisch spalten. Als Endonuclease greift T4N5 innerhalb des Nucleinsäure-Stranges an. Hierbei erkennt es selektiv die DNA-Bereiche, die mit UV-induzierten Pyrimidindimeren geschädigt sind und schneidet sie heraus. Neue, korrekte Basen werden durch Polymerasen mit Hilfe des Komplementärstrangs als Matrize eingebaut

und von Ligasen mit dem ursprünglichen DNA-Strang verknüpft. Bei diesem Exzisions-Reparatur-Mechanismus handelt es sich um eine Dunkelreaktion, die keine Lichtaktivierung benötigt. T4N5 ist zwar ein Prokaryonten-Enzym, wirkt aber auch an menschlichen Zellen. Es kann aus *E. coli*-Stämmen, die das *denV*-Gen enthalten, großtechnisch hergestellt werden.

Eine Übersicht über wichtige Forschungsergebnisse zur DNA-Reparatur durch Photolyase und T4N5 geben D. Yarosh und E. Klein, Trends in Photochemistry & Photobiology 3, 175 - 181, 1994.

DNA-Reparatur-Enzyme stellen einen interessanten Wirkstoff für kosmetische Zusammensetzungen dar. Bei den im Stand der Technik bevorzugten kosmetischen Zusammensetzungen handelt es sich um Sonnenschutzmittel und After-Sun-Produkte. Die Liposomenverkapselung von T4N5 wird von Ceccoli et al., J. Invest. Dermatol. 93, 190 - 194, 1989, beschrieben. Den Einsatz von liposomenverkapselter T4N5 bzw. Photolyase in kosmetischen Mitteln beschreiben Yarosh (US 5,190,762; WO 94/14419 A1) und Gilchrist et al. (WO 94/17781 A1). Burmeister et al. (EP 0 707 844 A2) offenbaren Zusammensetzungen, die liposomenverkapselte Kombinationen von DNA-Reparatur-Enzymen mit Tyrosin, Tyrosinderivaten, Vitaminen oder Provitaminen der Vitamin-Gruppen A, C und E, Glycoprotein-Komplexen von Kupfer, Zink oder Magnesium, Forskolin, cyclischem Adenosinmonophosphat (c-AMP), Bioflavonoiden oder Emulgatoren mit einem HLB-Wert von 10 - 14 enthalten, sowie Verfahren zur Herstellung von kosmetischen Bräunungsmitteln und Haarpflegeprodukten.

Dass T4N5 eine erhöhte Melanogenese bewirkt und daher in Bräunungsmitteln eingesetzt werden kann, ist in den Offenlegungsschriften EP 0 707 844 A2, WO 94/14419 A1 und WO 94/17781 A1 beschrieben. Photolyase zeigt keinen Einfluß auf die Melanogenese und kann daher in Hautaufhellungsmitteln eingesetzt werden (S.H. Lee, KR 97032828 A). Liposomenverkapselte Photolyase ist im Handel z. B. unter der Produktbezeichnung Photosome™, liposomenverkapselte T4N5 z. B. unter der Bezeichnung Ultrasome™ von der Firma Applied Genetics, Freeport, USA, erhältlich.

Im Stand der Technik sind Photolyase oder T4N5 nur im Zusammenhang mit der Reparatur Pyrimidindimer-geschädigter DNA offenbart. Für T4N5 findet sich darüber hinaus der Hinweis auf eine Verstärkung der Melanogenese. Die bekannten Effekte betreffen

vor allem die Epidermis. Die MMP-1-inhibierende Wirkung, die sich vor allem auf die Dermis bezieht, ist im Stand der Technik nicht bekannt. Eine Hypothese für die MMP-1-inhibierende Wirkung der Photolyase oder der T4N5 wird im folgenden dargelegt. Im Falle einer UV-Schädigung der DNA setzt üblicherweise ein zelleigener Reparaturmechanismus ein, die "transkriptionsgekoppelte Reparatur". Dieser Mechanismus führt in der Epidermis zu einer vermehrten Synthese der Interleukine IL-1 und IL-6. Die Interleukine translozieren in die Dermis und binden an Rezeptoren auf den Fibroblasten. Als Antwort hierauf wird von den Fibroblasten Collagen abbauendes MMP-1 synthetisiert. Überraschenderweise und für den Fachmann nicht vorhersehbar sind die DNA-Reparaturenzyme Photolyase und T4N5 offenbar in der Lage, UV-induzierte DNA-Schäden zu heilen, noch bevor der zelleigene transkriptionsgekoppelte Reparaturmechanismus aktiviert und die Kausalkette für die UV-induzierte MMP-1-Synthese in Gang gesetzt wird.

Die erfindungsgemäße Verwendung von Photolyase oder T4N5 zur Inhibierung der MMP-1-Expression und zur Verzögerung des Collagenabbaus ist neu. Sie eröffnet neue Einsatzgebiete in der kosmetischen Behandlung der Hautalterung, die über die bekannten Anwendungsmöglichkeiten hinausgehen. MMP-1-Inhibitoren lassen sich in der Kosmetik vorteilhaft überall dort einsetzen, wo mit einer MMP-1-Inhibition kosmetisch erwünschte Effekte verbunden sind. Demnach empfiehlt sich beispielsweise die Verwendung von Photolyase oder T4N5 in Anti-Falten-Cremes, besonders für die ständig lichtexponierten Hautbereiche im Gesicht, am Hals oder an den Händen. Für die lokale Faltenbehandlung können konzentrierte Cremes, Lotionen, Pflaster und Patches mit Photolyase oder T4N5 als MMP-1-Inhibitoren hergestellt werden. T4N5 kann sogar zur Faltenbehandlung nach UV-Einwirkung auf normalerweise weniger lichtexponierte Körperstellen eingesetzt werden, z. B. in Cremes und Lotionen für den ganzen Körper, da dieses Enzym keine Lichtexposition der behandelten Regionen benötigt, um aktiviert zu werden. Die erfindungsgemäße Verwendung der DNA-Reparaturenzyme kann sowohl zur präventiven kosmetischen Behandlung als auch zur Verzögerung der makroskopischen Effekte der Hautalterung, besonders der sonnenlichtinduzierten Alterung der menschlichen Haut, erfolgen.

Die erfindungsgemäßen Hautbehandlungsmittel eignen sich zur Vorbeugung gegen die sonnenlichtinduzierte Hautalterung sowohl für den Fall einer Sonnenexposition unterhalb der minimalen erythemalen Dosis (MED) als auch für eine Exposition oberhalb der MED. Sie sind somit sowohl zur vorbeugenden Langzeitbehandlung geeignet, wobei ihre tägliche Anwendung die Haut langfristig auch bei geringer Sonnenexposition schützt, als auch zur Vorbeugung gegen eine hohe Sonnenlichtexposition. Insbesondere für den letzteren Fall kann die Anwendung der MMP-1-inhibierenden Mittel sowohl vor als auch nach der Sonnenlichtexposition erfolgen, d. h. in beiden Fällen wird der erfindungsgemäß gewünschte Effekt auf die Haut erreicht. Besonders vorteilhaft ist es, dass die erfindungsgemäßen MMP-1-inhibierenden Mittel einer sonnenlichtinduzierten Hautalterung bereits dann vorbeugen, wenn ihre Anwendung bei topischer Applikation auf die Haut erst relativ kurze Zeit vor einer Sonnenlichtexposition erfolgt. Unter einem relativ kurzen Zeitraum ist dabei insbesondere ein Zeitraum zwischen ein und fünf Stunden zu verstehen.

Ein erster Gegenstand der Erfindung ist daher die Verwendung von DNA-Reparatur-Enzymen in kosmetischen topischen Hautbehandlungsmitteln zur Inhibierung des lichtinduzierten Collagenabbaus.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist die Verwendung von DNA-Reparatur-Enzymen in kosmetischen topischen Hautbehandlungsmitteln zur Inhibierung der Expression oder der Aktivität der Matrix-Metall-Proteinase MMP-1. Weiterhin betrifft die Erfindung die Verwendung von DNA-Reparatur-Enzymen zur Herstellung pharmazeutischer topischer Hautbehandlungsmittel, die den lichtinduzierten Collagenabbau inhibieren. Gegenstand der Erfindung ist weiterhin die Verwendung von DNA-Reparatur-Enzymen zur Herstellung pharmazeutischer topischer Hautbehandlungsmittel, die die Expression oder die Aktivität der Matrix-Metall-Proteinase MMP-1 inhibieren.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist die Verwendung von DNA-Reparatur-Enzymen in topischen Hautbehandlungsmitteln oder Anti-age-Mitteln zur Verminderung des Elastizitätsverlustes und der Faltenbildung der alternden Haut. In einer bevorzugten Ausführungsform handelt es sich bei dem erfindungsgemäß verwendeten DNA-Reparatur-Enzym um Photolyase. Besonders bevorzugt ist liposomenverkapselte Photolyase.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform handelt es sich bei dem erfindungsgemäß verwendeten DNA-Reparatur-Enzym um T4 Endonuclease V. Besonders bevorzugt ist liposomenverkapselte T4 Endonuclease V. Ebenfalls bevorzugt ist die erfindungsgemäße Verwendung einer Mischung aus Photolyase und T4 Endonuclease V, besonders bevorzugt in liposomenverkapselter Form. In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform erfolgt die erfindungsgemäße Verwendung präventiv. In einer bevorzugten Ausführungsform beträgt die erfindungsgemäß verwendete Menge des DNA-Reparatur-Enzyms oder der DNA-Reparatur-Enzyme $1 \cdot 10^{-6}$ bis $5 \cdot 10^{-2}$ Gewichts-%, besonders bevorzugt $1 \cdot 10^{-6}$ bis $1 \cdot 10^{-2}$ Gewichts-%, jeweils bezogen auf das gesamte Hautbehandlungsmittel.

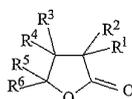
Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist ein kosmetisches oder pharmazeutisches Hautbehandlungsmittel, enthaltend Photolyase und/oder T4 Endonuclease V und weiterhin mindestens eine Substanz, ausgewählt aus den Vitaminen, Provitaminen oder Vitaminvorstufen der Vitamin B-Gruppe oder deren Derivaten sowie den Derivaten von 2-Furanon.

Zur **Vitamin B-Gruppe** oder zu dem Vitamin B-Komplex gehören unter anderem

- Vitamin B₁, Trivialname Thiamin, chemische Bezeichnung 3-[(4'-Amino-2'-methyl-5'-pyrimidinyl)-methyl]-5-(2-hydroxyethyl)-4-methylthiazoliumchlorid. Bevorzugt wird Thiaminhydrochlorid in Mengen von 0,05 bis 1 Gew.-%, bezogen auf das gesamte Mittel, eingesetzt.
- Vitamin B₂, Trivialname Riboflavin, chemische Bezeichnung 7,8-Dimethyl-10-(1-D-ribityl)-benzo[g]pteridin-2,4(3*H*,10*H*)-dion. In freier Form kommt Riboflavin z. B. in Molke vor, andere Riboflavin-Derivate lassen sich aus Bakterien und Hefen isolieren. Ein erfindungsgemäß ebenfalls geeignetes Stereoisomeres des Riboflavin ist das aus Fischmehl oder Leber isolierbare Lyxoflavin, das statt des D-Ribityl einen D-Arabitlyl-Rest trägt. Bevorzugt werden Riboflavin oder seine Derivate in Mengen von 0,05 bis 1 Gew.-%, bezogen auf das gesamte Mittel, eingesetzt.
- Vitamin B₃. Unter dieser Bezeichnung werden häufig die Verbindungen Nicotinsäure und Nicotinsäureamid (Niacinamid) geführt. Erfindungsgemäß bevorzugt ist das Nicotinsäureamid, das in den erfindungsgemäßen Mitteln

bevorzugt in Mengen von 0,05 bis 1 Gew.-%, bezogen auf das gesamte Mittel, enthalten ist.

- Vitamin B₅ (Pantothensäure und Panthenol). Bevorzugt wird Panthenol eingesetzt. Erfindungsgemäß einsetzbare Derivate des Panthenols sind insbesondere die Ester und Ether des Panthenols sowie kationisch derivatisierte Panthenole. In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der Erfindung können an Stelle von sowie zusätzlich zu Pantothensäure oder Panthenol auch Derivate des 2-Furanon mit der allgemeinen Strukturformel (I) eingesetzt werden.



(I)

Bevorzugt sind die 2-Furanon-Derivate, in denen die Substituenten R¹ bis R⁶ unabhängig voneinander ein Wasserstoffatom, einen Hydroxylrest, einen Methyl-, Methoxy-, Aminomethyl- oder Hydroxymethylrest, einen gesättigten oder ein- oder zweifach ungesättigten, linearen oder verzweigten C₂-C₄ - Kohlenwasserstoffrest, einen gesättigten oder ein- oder zweifach ungesättigten, verzweigten oder linearen Mono-, Di- oder Trihydroxy-C₂-C₄ - Kohlenwasserstoffrest oder einen gesättigten oder ein- oder zweifach ungesättigten, verzweigten oder linearen Mono-, Di- oder Triamino-C₂-C₄ - Kohlenwasserstoffrest darstellen. Besonders bevorzugte Derivate sind die auch im Handel erhältlichen Substanzen Dihydro-3-hydroxy-4,4-dimethyl-2(3H)-furanon mit dem Trivialnamen Pantolacton (Merck), 4-Hydroxymethyl-γ-butyrolacton (Merck), 3,3-Dimethyl-2-hydroxy-γ-butyrolacton (Aldrich) und 2,5-Dihydro-5-methoxy-2-furanon (Merck), wobei ausdrücklich alle Stereoisomeren eingeschlossen sind. Das erfindungsgemäß außerordentlich bevorzugte 2-Furanon-Derivat ist Pantolacton (Dihydro-3-hydroxy-4,4-dimethyl-2(3H)-furanon), wobei in Formel (I) R¹ für eine Hydroxylgruppe, R² für ein Wasserstoffatom, R³ und R⁴ für eine Methylgruppe und R⁵ und R⁶ für ein Wasserstoffatom stehen. Das Stereoisomer (R)-Pantolacton entsteht beim Abbau von Pantothensäure.

Die genannten Verbindungen des Vitamin B₅-Typs sowie die 2-Furanonderivate sind in den erfindungsgemäßen Mitteln bevorzugt in einer Gesamtmenge von 0,05 bis 10 Gew.-%, bezogen auf das gesamte Mittel, enthalten. Gesamtmengen von 0,1 bis 5 Gew.-% sind besonders bevorzugt.

- Vitamin B₆, wobei man hierunter keine einheitliche Substanz, sondern die unter den Trivialnamen Pyridoxin, Pyridoxamin und Pyridoxal bekannten Derivate des 5-Hydroxymethyl-2-methylpyridin-3-ols versteht. Vitamin B₆ ist in den erfindungsgemäßen Mitteln bevorzugt in Mengen von 0,0001 bis 1,0 Gew.-%, insbesondere in Mengen von 0,001 bis 0,01 Gew.-%, enthalten.
- Vitamin B₇ (Biotin), auch als Vitamin H oder "Hautvitamin" bezeichnet. Bei Biotin handelt es sich um (3aS,4S, 6aR)-2-Oxohexahydrothienol[3,4-c]-imidazol-4-valeriansäure. Biotin ist in den erfindungsgemäßen Mitteln bevorzugt in Mengen von 0,0001 bis 1,0 Gew.-%, insbesondere in Mengen von 0,001 bis 0,01 Gew.-% enthalten.

Panthenol, Pantolacton, Nicotinsäureamid sowie Biotin sind erfindungsgemäß ganz besonders bevorzugt.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist ein kosmetisches oder pharmazeutisches Hautbehandlungsmittel, enthaltend Photolyase und/oder T4 Endonuclease V und weiterhin mindestens einen Pflanzenextrakt. Pflanzenextrakte werden üblicherweise durch Extraktion der gesamten Pflanze, in einzelnen Fällen aber auch ausschließlich aus Blüten und/oder Blättern und/oder Samen und/oder anderen Pflanzenteilen, hergestellt. Erfindungsgemäß sind vor allem die Extrakte aus dem Meristem, also dem teilungsfähigen Bildungsgewebe der Pflanzen, und speziellen Pflanzen wie Grünem Tee, Hamamelis, Kamille, Ringelblume, Stiefmütterchen, Paeonie, Aloe Vera, Rosskastanie, Salbei, Weidenrinde, Zimtbaum (cinnamon tree), Chrysanthemen, Eichenrinde, Brennessel, Hopfen, Klettenwurzel, Schachtelhalm, Weißdorn, Lindenblüten, Mandeln, Fichtennadeln, Sandelholz, Wacholder, Kokosnuß, Kiwi, Guave, Limette, Mango, Aprikose, Weizen, Melone, Orange, Grapefruit, Avocado, Rosmarin, Birke, Buchensprossen, Malve, Wiesenschaumkraut, Schafgarbe, Quendel, Thymian, Melisse, Hauhechel, Eibisch (Althaea), Malve (Malva sylvestris), Veilchen, Blättern der Schwarzen Johannisbeere, Huflattich, Fünffingerkraut, Ginseng, Ingwerwurzel und Süßkartoffel bevorzugt. Vorteilhaft eingesetzt werden können auch Algenextrakte. Die

erfindungsgemäß verwendeten Algenextrakte stammen aus Grünalgen, Braunalgen, Rotalgen oder Blaualgen (Cyanobakterien). Die zur Extraktion eingesetzten Algen können sowohl natürlichen Ursprungs als auch durch biotechnologische Prozesse gewonnen und gewünschtenfalls gegenüber der natürlichen Form verändert sein. Die Veränderung der Organismen kann gentechnisch, durch Züchtung oder durch die Kultivierung in mit ausgewählten Nährstoffen angereicherten Medien erfolgen. Bevorzugte Algenextrakte stammen aus Seetang, Blaualgen, aus der Grünalge *Codium tomentosum* sowie aus der Braunalge *Fucus vesiculosus*. Ein besonders bevorzugter Algenextrakt stammt aus Blaualgen der Species *Spirulina*, die in einem Magnesium-angereicherten Medium kultiviert wurden.

Besonders bevorzugt sind die Extrakte aus *Spirulina*, Grünem Tee, Aloe Vera, Meristem, Hamamelis, Aprikose, Ringelblume, Guave, Süßkartoffel, Limette, Mango, Kiwi, Gurke, Malve, Eibisch und Veilchen. Die erfindungsgemäßen Mittel können auch Mischungen aus mehreren, insbesondere aus zwei, verschiedenen Pflanzenextrakten enthalten.

Als Extraktionsmittel zur Herstellung der genannten Pflanzenextrakte können u. a. Wasser, Alkohole sowie deren Mischungen verwendet werden. Unter den Alkoholen sind dabei niedere Alkohole wie Ethanol und Isopropanol, insbesondere aber mehrwertige Alkohole wie Ethylenglykol, Propylenglykol und Butylenglykol und zwar sowohl als alleiniges Extraktionsmittel als auch in Mischung mit Wasser, bevorzugt. Pflanzenextrakte auf Basis von Wasser/Propylenglykol im Verhältnis 1:10 bis 10:1 haben sich als besonders geeignet erwiesen. Die Wasserdampfdestillation fällt erfindungsgemäß unter die bevorzugten Extraktionsverfahren.

Die Pflanzenextrakte können erfindungsgemäß sowohl in reiner als auch in verdünnter Form eingesetzt werden. Sofern sie in verdünnter Form eingesetzt werden, enthalten sie üblicherweise ca. 2 - 80 Gew.-% Aktivsubstanz und als Lösungsmittel das bei ihrer Gewinnung eingesetzte Extraktionsmittel oder Extraktionsmittelgemisch. Je nach Wahl der Extraktionsmittel kann es bevorzugt sein, den Pflanzenextrakt durch Zugabe eines Lösungsvermittlers zu stabilisieren. Als Lösungsvermittler geeignet sind z. B. Ethoxylierungsprodukte von gegebenenfalls gehärteten pflanzlichen und tierischen Ölen. Bevorzugte Lösungsvermittler sind ethoxylierte Mono-, Di- und Triglyceride von C₈₋₂₂-Fettsäuren mit 4 bis 50 Ethylenoxid-Einheiten, z. B. hydriertes ethoxyliertes Castoröl, Olivenölethoxylat, Mandelölethoxylat, Nerzölethoxylat, Polyoxyethylenglykolcapryl-

/caprinsäureglyceride, Polyoxyethylenglycerinmonolaurat und Polyoxyethylenglykokokosfettsäureglyceride.

Weiterhin kann es bevorzugt sein, in den erfindungsgemäßen Mitteln Mischungen aus mehreren, insbesondere aus zwei, verschiedenen Pflanzenextrakten einzusetzen.

Hinsichtlich der erfindungsgemäß verwendbaren Pflanzenextrakte wird insbesondere auf die Extrakte hingewiesen, die in der auf Seite 44 der 3. Auflage des Leitfadens zur Inhaltsstoffdeklaration kosmetischer Mittel, herausgegeben vom Industrieverband Körperpflege- und Waschmittel e.V. (IKW), Frankfurt, beginnenden Tabelle aufgeführt sind.

Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist ein kosmetisches oder pharmazeutisches Hautbehandlungsmittel, enthaltend Photolyase und/oder T4 Endonuclease V und mindestens eine weitere MMP-1-inhibierende Substanz, ausgewählt aus Propylgallat, Precocenen, 6-Hydroxy-7-methoxy-2,2-dimethyl-1(2H)-benzopyran, 3,4-Dihydro-6-hydroxy-7-methoxy-2,2-dimethyl-1(2H)-benzopyran (als Handelsprodukt Lipochroman 6™ von der Firma Lipotec SA erhältlich) und deren Gemischen, enthalten. Precocene sind in Pflanzen vorkommende Chromen-Derivate, die als Hormone bekannt sind (The Merck Index, 12. Auflage, Merck & Co. 1996). Die MMP-1-inhibierende Wirkung dieser Substanzen ist in der deutschen Offenlegungsschrift DE 10016016 A1 beschrieben. Sie werden in Mengen von 0,1 bis 5, vorzugsweise von 0,5 bis 2 Gew.-%, jeweils bezogen auf das gesamte Mittel, eingesetzt.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform enthalten die erfindungsgemäßen Hautbehandlungsmittel zusätzlich mindestens einen Ester von Retinol (Vitamin A₁) mit einer C₂₋₁₈-Carbonsäure. Bevorzugte Retinolester sind Retinylacetat und Retinylpalmitat, besonders bevorzugt ist Retinylpalmitat. Die Retinolester werden in Mengen von 0,1 bis 5, vorzugsweise von 0,5 bis 2 Gew.-%, jeweils bezogen auf das gesamte Mittel, eingesetzt.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform enthalten die erfindungsgemäßen Hautbehandlungsmittel mindestens eine oberflächenaktive Substanz als Emulgator oder Dispergiemittel. Emulgatoren bewirken an der Phasengrenzfläche die Ausbildung von wasser- bzw. ölstabilen Adsorptionsschichten, die die dispergierten Tröpfchen gegen

Koaleszenz schützen und damit die Emulsion stabilisieren. Emulgatoren sind daher wie Tenside aus einem hydrophoben und einem hydrophilen Molekülteil aufgebaut. Hydrophile Emulgatoren bilden bevorzugt O/W – Emulsionen und hydrophobe Emulgatoren bilden bevorzugt W/O – Emulsionen. W/O-Emulsionen, die ohne hydrophile Emulgatoren stabilisiert sind, sind in den Offenlegungsschriften DE 19816665 A1 und DE 19801593 A1 offenbart. Unter einer Emulsion ist eine tröpfchenförmige Verteilung (Dispersion) einer Flüssigkeit in einer anderen Flüssigkeit unter Aufwand von Energie zur Schaffung von stabilisierenden Phasengrenzflächen mittels Tensiden zu verstehen. Die Auswahl dieser emulgierenden Tenside oder Emulgatoren richtet sich dabei nach den zu dispergierenden Stoffen und der jeweiligen äußeren Phase sowie der Feinteiligkeit der Emulsion.

Erfindungsgemäß verwendbare Emulgatoren sind beispielsweise

- Anlagerungsprodukte von 4 bis 30 Mol Ethylenoxid und/oder 0 bis 5 Mol Propylenoxid an lineare C₈-C₂₂-Fettalkohole, an C₁₂-C₂₂-Fettsäuren und an C₈-C₁₅-Alkylphenole,
- C₁₂-C₂₂-Fettsäuremono- und -diester von Anlagerungsprodukten von 1 bis 30 Mol Ethylenoxid an C₃-C₆-Polyole, insbesondere an Glycerin,
- Ethylenoxid- und Polyglycerin-Anlagerungsprodukte an Methylglucosid-Fettsäureester, Fettsäurealkanolamide und Fettsäureglucamide,
- C₈-C₂₂-Alkylmono- und -oligoglycoside und deren ethoxylierte Analoga, wobei Oligomerisierungsgrade von 1,1 bis 5, insbesondere 1,2 bis 2,0, und Glucose als Zuckerkomponente bevorzugt sind,
- Gemische aus Alkyl-(oligo)-glucosiden und Fettalkoholen, z. B. das im Handel erhältliche Produkt Montanov®68,
- Anlagerungsprodukte von 5 bis 60 Mol Ethylenoxid an Rizinusöl und gehärtetes Rizinusöl,
- Partialester von Polyolen mit 3-6 Kohlenstoffatomen mit gesättigten C₈-C₂₂-Fettsäuren,
- Sterole (Sterine). Als Sterole wird eine Gruppe von Steroiden verstanden, die am C-Atom 3 des Steroid-Gerüsts eine Hydroxylgruppe tragen und sowohl aus

tierischem Gewebe (Zoosterole) wie auch aus pflanzlichen Fetten (Phytosterole) isoliert werden. Beispiele für Zoosterole sind das Cholesterol und das Lanosterol. Beispiele geeigneter Phytosterole sind Beta-Sitosterol, Stigmasterol, Campesterol und Ergosterol. Auch aus Pilzen und Hefen werden Sterole, die sogenannten Mykosterole, isoliert.

- Phospholipide, vor allem die Glucose-Phospholipide, die z. B. als Lecithine bzw. Phosphatidylcholine aus z. B. Eidotter oder Pflanzensamen (z. B. Sojabohnen) gewonnen werden,
- Fettsäureester von Zuckern und Zuckeralkoholen wie Sorbit,
- Polyglycerine und Polyglycinderivate, bevorzugt Polyglyceryl-2-dipolyhydroxystearat (Handelsprodukt Dehymuls® PGPH) und Polyglyceryl-3-diisostearat (Handelsprodukt Lameform® TGI),
- Lineare und verzweigte C₈-C₃₀-Fettsäuren und deren Na-, K-, Ammonium-, Ca-, Mg- und Zn - Salze.

Die erfindungsgemäßen Mittel enthalten die Emulgatoren bevorzugt in Mengen von 0,1 bis 25 Gew.-%, insbesondere 0,5 - 15 Gew.-%, bezogen auf das gesamte Mittel.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform ist mindestens ein nichtionischer Emulgator mit einem HLB-Wert von 8 und darunter, gemäß den im Römp-Lexikon Chemie (Eds.: J. Falbe, M. Regitz), 10. Auflage, Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York, (1997), Seite 1764, aufgeführten Definitionen des HLB-Wertes, enthalten. Derart geeignete Emulgatoren sind beispielsweise Verbindungen der allgemeinen Formel R¹ - O - R², in der R¹ eine primäre lineare Alkyl-, Alkenyl- oder Acylgruppe mit 20 - 30 C-Atomen und R² Wasserstoff, eine Gruppe mit der Formel -(C_nH_{2n}O)_x-H mit x = 1 oder 2 und n = 2 - 4 oder eine Polyhydroxyalkylgruppe mit 4 - 6 C-Atomen und 2 - 5 Hydroxylgruppen ist. Als Emulgator der Formel R¹ - O - R² besonders bevorzugt ist ein Behen- oder Erucylderivat, in welchem R¹ eine lineare, endständig substituierte Alkyl-, Alkenyl- oder Acylgruppe mit 22 C-Atomen darstellt.

Weitere bevorzugt geeignete Emulgatoren mit einem HLB-Wert von 8 und darunter sind die Anlagerungsprodukte von 1 oder 2 Mol Ethylenoxid oder Propylenoxid an Behenylalkohol, Erucylalkohol, Arachidylalkohol oder auch an Behensäure oder Erucasäure. Bevorzugt eignen sich auch die Monoester von C₁₆-C₃₀-Fettsäuren mit

Polyolen wie z. B. Pentaerythrit, Trimethylolpropan, Diglycerin, Sorbit, Glucose oder Methylglucose. Beispiele für solche Produkte sind z. B. Sorbitan-monobenat oder Pentaerythrit-monoerucat.

In einer anderen, ebenfalls besonders bevorzugten Ausführungsform ist mindestens ein ionischer Emulgator, ausgewählt aus anionischen, zwitterionischen, ampholytischen und kationischen Emulgatoren, enthalten. Bevorzugte anionische Emulgatoren sind Alkylsulfate, Alkylpolyglycoethersulfate und Ethercarbonsäuren mit 10 bis 18 C-Atomen in der Alkylgruppe und bis zu 12 Glycoethergruppen im Molekül, Sulfobernsteinsäuremono- und -dialkylester mit 8 bis 18 C-Atomen in der Alkylgruppe und Sulfobernsteinsäuremono-alkylpolyoxyethylester mit 8 bis 18 C-Atomen in der Alkylgruppe und 1 bis 6 Oxyethylgruppen, Monoglyceridsulfate, Alkyl- und Alkenyletherphosphate sowie Eiweiß-fettsäurekondensate. Zwitterionische Emulgatoren tragen im Molekül mindestens eine quartäre Ammoniumgruppe und mindestens eine $-\text{COO}^-$ - oder $-\text{SO}_3^-$ -Gruppe. Besonders geeignete zwitterionische Emulgatoren sind die sogenannten Betaine wie die N-Alkyl-N,N-dimethylammonium-glycinate, N-Acyl-aminopropyl-N,N-dimethylammoniumglycinate und 2-Alkyl-3-carboxymethyl-3-hydroxyethyl-imidazoline mit jeweils 8 bis 18 C-Atomen in der Alkyl- oder Acylgruppe sowie das Kokosacylaminoethyl-hydroxyethylcarboxymethylglycinat.

Ampholytische Emulgatoren enthalten außer einer C_8 - C_{24} -Alkyl- oder -Acylgruppe mindestens eine freie Aminogruppe und mindestens eine $-\text{COOH}$ - oder $-\text{SO}_3\text{H}$ -Gruppe im Molekül und können innere Salze ausbilden. Beispiele für geeignete ampholytische Emulgatoren sind N-Alkylglycine, N-Alkylaminopropionsäuren, N-Alkylaminobuttersäuren, N-Alkyliminodipropionsäuren, N-Hydroxyethyl-N-alkylamidopropylglycine, N-Alkyltaurine, N-Alkylsarcosine, 2-Alkylaminopropionsäuren und Alkylaminoessigsäuren mit jeweils etwa 8 bis 24 C-Atomen in der Alkylgruppe.

Die ionischen Emulgatoren sind in einer Menge von 0,01 bis 5 Gew.-%, bevorzugt von 0,05 bis 3 Gew.-% und besonders bevorzugt von 0,1 bis 1 Gew.-%, bezogen auf das gesamte Mittel, enthalten.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform enthalten die erfindungsgemäßen Hautbehandlungsmittel mindestens einen organischen oder mineralischen oder modifizierten mineralischen Lichtschutzfilter. Bei den Lichtschutzfiltern handelt es sich

um bei Raumtemperatur flüssig oder kristallin vorliegende Substanzen, die in der Lage sind, ultraviolette Strahlen zu absorbieren und die aufgenommene Energie in Form längerwelliger Strahlung, z. B. Wärme wieder abzugeben. Man unterscheidet UVA-Filter und UVB-Filter. Die UVA- und UVB-Filter können sowohl einzeln als auch in Mischungen eingesetzt werden. Der Einsatz von Filter-Mischungen ist erfindungsgemäß bevorzugt.

Die erfindungsgemäß verwendeten organischen UV-Filter sind ausgewählt aus den Derivaten von Dibenzoylmethan, Zimtsäureestern, Diphenylacrylsäureestern, Benzophenon, Campher, p-Aminobenzoesäureestern, o-Aminobenzoesäureestern, Salicylsäureestern, Benzimidazolen, 1,3,5-Triazinen, monomeren und oligomeren 4,4-Diarylbutadiencarbonsäureestern und -carbonsäureamiden, Ketotricyclo(5.2.1.0)decan, Benzalmalonsäureestern sowie beliebigen Mischungen der genannten Komponenten. Die organischen UV-Filter können öllöslich oder wasserlöslich sein. Erfindungsgemäß besonders bevorzugte öllösliche UV-Filter sind 1-(4-tert.-Butylphenyl)-3-(4'-methoxyphenyl)propan-1,3-dion (Parsol® 1789), 1-Phenyl-3-(4'-isopropylphenyl)propan-1,3-dion, 3-(4'-Methylbenzyliden)-D,L-campher, 4-(Dimethylamino)-benzoesäure-2-ethylhexylester, 4-(Dimethylamino)benzoesäure-2-octylester, 4-(Dimethylamino)-benzoesäureamylester, 4-Methoxyzimtsäure-2-ethylhexylester, 4-Methoxyzimtsäurepropylester, 4-Methoxyzimtsäureisopentylester, 2-Cyano-3,3-phenylzimtsäure-2-ethylhexylester (Octocrylene), Salicylsäure-2-ethylhexylester, Salicylsäure-4-isopropylbenzylester, Salicylsäurehomomenthylester (3,3,5-Trimethyl-cyclohexylsalicylat), 2-Hydroxy-4-methoxybenzophenon, 2-Hydroxy-4-methoxy-4'-methylbenzophenon, 2,2'-Dihydroxy-4-methoxybenzophenon, 4-Methoxybenzmalonsäuredi-2-ethylhexylester, 2,4,6-Triamino-(p-carbo-2'-ethyl-1'-hexyloxy)-1,3,5-triazin (Octyl Triazone) und Dioctyl Butamido Triazone (Uvasorb® HEB) sowie beliebige Mischungen der genannten Komponenten.

Bevorzugte wasserlösliche UV-Filter sind 2-Phenylbenzimidazol-5-sulfonsäure und deren Alkali-, Erdalkali-, Ammonium-, Alkylammonium-, Alkanolammonium- und Glucammoniumsalze, Sulfonsäurederivate von Benzophenonen, vorzugsweise 2-Hydroxy-4-methoxybenzophenon-5-sulfonsäure und ihre Salze, Sulfonsäurederivate des 3-Benzylidencamphers, wie z. B. 4-(2-Oxo-3-borylidenmethyl) benzolsulfonsäure und 2-Methyl-5-(2-oxo-3-boryliden)sulfonsäure und deren Salze.

Bei den erfindungsgemäß bevorzugten anorganischen Lichtschutzpigmenten handelt es sich um feindisperse Metalloxide und Metallsalze, beispielsweise Titandioxid, Zinkoxid, Eisenoxid, Aluminiumoxid, Ceroxid, Zirkoniumoxid, Silicate (Talk), Bariumsulfat und Zinkstearat. Die Partikel sollten dabei einen mittleren Durchmesser von weniger als 100 nm, vorzugsweise zwischen 5 und 50 nm und insbesondere zwischen 15 und 30 nm aufweisen. Sie können eine sphärische Form aufweisen, es können jedoch auch solche Partikel zum Einsatz kommen, die eine ellipsoide oder in sonstiger Weise von der sphärischen Gestalt abweichende Form besitzen. Die Pigmente können auch oberflächenbehandelt, d.h. hydrophilisiert oder hydrophobiert vorliegen. Typische Beispiele sind gecoatete Titandioxide, wie z. B. Titandioxid T 805 (Degussa) oder Eusolex® T2000 (Merck). Als hydrophobe Coatingmittel kommen dabei vor allem Silicone und dabei speziell Trialkoxyoctylsilane oder Dimethicone in Frage. In Sonnenschutzmitteln werden bevorzugt sogenannte Mikro- oder Nanopigmente eingesetzt. Vorzugsweise wird mikronisiertes Zinkoxid verwendet.

Weiterhin hat es sich als besonders vorteilhaft erwiesen, dass die erfindungsgemäßen Hautbehandlungsmittel mindestens ein Proteinhydrolysat oder dessen Derivat enthalten. Erfindungsgemäß können sowohl pflanzliche als auch tierische Proteinhydrolysate eingesetzt werden. Tierische Proteinhydrolysate sind z. B. Elastin-, Collagen-, Keratin-, Seiden- und Milcheiweiß-Proteinhydrolysate, die auch in Form von Salzen vorliegen können. Erfindungsgemäß bevorzugt sind pflanzliche Proteinhydrolysate, z. B. Soja-, Weizen-, Mandel-, Erbsen-, Kartoffel- und Reisproteinhydrolysate. Entsprechende Handelsprodukte sind z. B. DiaMin® (Diamalt), Gluadin® (Cognis), Lexein® (Inolex) und Crotein® (Croda).

An Stelle der Proteinhydrolysate können zum einen anderweitig erhaltene Aminosäuregemische, zum anderen auch einzelne Aminosäuren sowie deren physiologisch verträgliche Salze eingesetzt werden. Zu den erfindungsgemäß bevorzugten Aminosäuren gehören Glycin, Serin, Threonin, Cystein, Asparagin, Glutamin, Pyroglutaminsäure, Alanin, Valin, Leucin, Isoleucin, Prolin, Tryptophan, Phenylalanin, Methionin, Asparaginsäure, Glutaminsäure, Lysin, Arginin und Histidin sowie die Zinksalze und die Säureadditionssalze der genannten Aminosäuren.

Ebenfalls möglich ist der Einsatz von Derivaten der Proteinhydrolysate, z. B. in Form ihrer Fettsäure-Kondensationsprodukte. Entsprechende Handelsprodukte sind z. B.

Lamepon® (Cognis), Gluadin® (Cognis), Lexein® (Inolex), Crolastin® oder Crotein® (Croda).

Erfindungsgemäß einsetzbar sind auch kationisierte Proteinhydrolysate, wobei das zugrunde liegende Proteinhydrolysat vom Tier, von der Pflanze, von marinen Lebensformen oder von biotechnologisch gewonnenen Proteinhydrolysaten, stammen kann. Bevorzugt sind kationische Proteinhydrolysate, deren zugrunde liegender Proteinanteil ein Molekulargewicht von 100 bis zu 25000 Dalton, bevorzugt 250 bis 5000 Dalton aufweist. Weiterhin sind unter kationischen Proteinhydrolysaten quaternierte Aminosäuren und deren Gemische zu verstehen. Weiterhin können die kationischen Proteinhydrolysate auch noch weiter derivatisiert sein. Als typische Beispiele für erfindungsgemäß verwendete kationische Proteinhydrolysate und -derivate seien einige der unter den INCI - Bezeichnungen im "International Cosmetic Ingredient Dictionary and Handbook", (seventh edition 1997, The Cosmetic, Toiletry, and Fragrance Association 1101 17th Street, N.W., Suite 300, Washington, DC 20036-4702) genannten und im Handel erhältlichen Produkte aufgeführt: Cocodimonium Hydroxypropyl Hydrolyzed Collagen, Cocodimonium Hydroxypropyl Hydrolyzed Casein, Steardimonium Hydroxypropyl Hydrolyzed Collagen, Steardimonium Hydroxypropyl Hydrolyzed Hair Keratin, Lauryldimonium Hydroxypropyl Hydrolyzed Keratin, Cocodimonium Hydroxypropyl Hydrolyzed Rice Protein, Cocodimonium Hydroxypropyl Hydrolyzed Silk, Cocodimonium Hydroxypropyl Hydrolyzed Soy Protein, Cocodimonium Hydroxypropyl Hydrolyzed Wheat Protein, Cocodimonium Hydroxypropyl Silk Amino Acids, Hydroxypropyl Arginine Lauryl/Myristyl Ether HCl, Hydroxypropyltrimonium Gelatin. Ganz besonders bevorzugt sind die kationischen Proteinhydrolysate und -derivate auf pflanzlicher Basis.

In den erfindungsgemäßen Mitteln sind die Proteinhydrolysate und deren Derivate beziehungsweise die Aminosäuren und deren Derivate in Mengen von 0,01 - 10 Gew.-%, bezogen auf das gesamte Mittel enthalten. Mengen von 0,1 bis 5 Gew.%, insbesondere 0,1 bis 3 Gew.-%, sind besonders bevorzugt.

Weiterhin hat es sich als vorteilhaft erwiesen, dass die erfindungsgemäßen Hautbehandlungsmittel mindestens ein Mono-, Oligo- oder Polysaccharid oder deren Derivate enthalten.

Erfindungsgemäß geeignete Monosaccharide sind z. B. Glucose, Fructose, Galactose, Arabinose, Ribose, Xylose, Lyxose, Allose, Altrose, Mannose, Gulose, Idose und Talose, die Desoxyzucker Fucose und Rhamnose sowie Aminozucker wie z. B. Glucosamin oder Galactosamin. Bevorzugt sind Glucose, Fructose, Galactose, Arabinose und Fucose; Glucose ist besonders bevorzugt.

Erfindungsgemäß geeignete Oligosaccharide sind aus zwei bis zehn Monosaccharideinheiten zusammengesetzt, z. B. Saccharose, Lactose oder Trehalose. Ein besonders bevorzugtes Oligosaccharid ist Saccharose. Ebenfalls besonders bevorzugt ist die Verwendung von Honig, der überwiegend Glucose und Saccharose enthält.

Erfindungsgemäß geeignete Polysaccharide sind aus mehr als zehn Monosaccharideinheiten zusammengesetzt. Bevorzugte Polysaccharide sind die aus α -D-Glucose-Einheiten aufgebauten Stärken sowie Stärkeabbauprodukte wie Amylose, Amylopektin und Dextrine. Erfindungsgemäß besonders vorteilhaft sind chemisch und/oder thermisch modifizierte Stärken, z. B. Hydroxypropylstärkephosphat, Dihydroxypropylstärkephosphat oder die Handelsprodukte Dry Flo[®]. Weiterhin bevorzugt sind Dextrane sowie ihre Derivate, z. B. Dextransulfat. Ebenfalls bevorzugt sind nichtionische Cellulose-Derivate, wie Methylcellulose, Hydroxypropylcellulose oder Hydroxyethylcellulose, sowie kationische Cellulose-Derivate, z. B. die Handelsprodukte Celquat[®] und Polymer JR[®], und bevorzugt Celquat[®] H 100, Celquat[®] L 200 und Polymer JR[®] 400 (Polyquaternium-10) sowie Polyquaternium-24. Weitere bevorzugte Beispiele sind Polysaccharide aus Fucose-Einheiten, z. B. das Handelsprodukt Fucogel[®]. Besonders bevorzugt sind die aus Aminozuckereinheiten aufgebauten Polysaccharide, insbesondere Chitine und ihre deacetylierten Derivate, die Chitosane, und Mucopolysaccharide. Zu den erfindungsgemäß bevorzugten Mucopolysacchariden gehören Hyaluronsäure und ihre Derivate, z. B. Natriumhyaluronat oder Dimethylsilanolhyaluronat, sowie Chondroitin und seine Derivate, z. B. Chondroitinsulfat.

In einer besonders vorteilhaften Ausführungsform enthalten die erfindungsgemäßen Hautbehandlungsmittel mindestens ein filmbildendes, emulsionsstabilisierendes, verdickendes oder adhäsives Polymer, ausgewählt aus natürlichen und synthetischen Polymeren, die kationisch, anionisch, amphoter geladen oder nichtionisch sein können.

Erfindungsgemäß bevorzugt sind kationische, anionische sowie nichtionische Polymere.

Unter den kationischen Polymeren bevorzugt sind Polysiloxane mit quaternären Gruppen, z. B. die Handelsprodukte Q2-7224 (Dow Corning), Dow Corning® 929 Emulsion (mit Amodimethicone), SM-2059 (General Electric), SLM-55067 (Wacker) sowie Abil®-Quat 3270 und 3272 (Th. Goldschmidt).

Bevorzugte anionische Polymere, die die Wirkung des erfindungsgemäß verwendeten Wirkstoffs unterstützen können, enthalten Carboxylat- und/oder Sulfonatgruppen und als Monomere zum Beispiel Acrylsäure, Methacrylsäure, Crotonsäure, Maleinsäureanhydrid und 2-Acrylamido-2-methylpropan sulfonsäure. Dabei können die sauren Gruppen ganz oder teilweise als Natrium-, Kalium-, Ammonium-, Mono- oder Triethanolammonium-Salz vorliegen. Bevorzugte Monomere sind 2-Acrylamido-2-methylpropan sulfonsäure und Acrylsäure. Ganz besonders bevorzugte anionische Polymere enthalten als alleiniges Monomer oder als Comonomer 2-Acrylamido-2-methylpropan sulfonsäure, wobei die Sulfonsäuregruppe ganz oder teilweise in Salzform vorliegen kann. Innerhalb dieser Ausführungsform ist es bevorzugt, Copolymere aus mindestens einem anionischen Monomer und mindestens einem nichtionischen Monomer einzusetzen. Bezüglich der anionischen Monomere wird auf die oben aufgeführten Substanzen verwiesen. Bevorzugte nichtionogene Monomere sind Acrylamid, Methacrylamid, Acrylsäureester, Methacrylsäureester, Vinylpyrrolidon, Vinylether und Vinylester. Bevorzugte anionische Copolymere sind Acrylsäure-Acrylamid-Copolymere sowie insbesondere Polyacrylamid-copolymere mit Sulfonsäuregruppen-haltigen Monomeren. Ein besonders bevorzugtes anionisches Copolymer besteht aus 70 bis 55 Mol-% Acrylamid und 30 bis 45 Mol-% 2-Acrylamido-2-methylpropan sulfonsäure, wobei die Sulfonsäuregruppen ganz oder teilweise als Natrium-, Kalium-, Ammonium-, Mono- oder Triethanolammonium-Salz vorliegen. Dieses Copolymer kann auch vernetzt vorliegen, wobei als Vernetzungsagentien bevorzugt polyolefinisch ungesättigte Verbindungen wie Tetraallyloxyethan, Allylsucrose, Allylpentaerythrit und Methylen-bisacrylamid zum Einsatz kommen. Ein solches Polymer ist in dem Handelsprodukt Sepigel®305 der Firma SEPPIC enthalten. Die Verwendung dieses Compounds hat sich im Rahmen der erfindungsgemäßen Lehre als besonders vorteilhaft erwiesen. Auch die unter der Bezeichnung Simulgel®600 als Compound mit Isohexadecan und Polysorbat-80 vertriebenen Natrium-acryloyldimethyltaurat-Copolymere haben sich als erfindungsgemäß besonders wirksam erwiesen.

Weitere besonders bevorzugte anionische Homo- und Copolymere sind unvernetzte und vernetzte Polyacrylsäuren. Dabei können Allylether von Pentaerythrit, von Sucrose und von Propylen bevorzugte Vernetzungsagentien sein. Solche Verbindungen sind zum Beispiel die Handelsprodukte Carbopol®. Ein besonders bevorzugtes anionisches Copolymer enthält als Monomer zu 80 - 98 % eine ungesättigte, gewünschtenfalls substituierte C₃₋₆-Carbonsäure oder ihr Anhydrid sowie zu 2 - 20 % gewünschtenfalls substituierte Acrylsäureester von gesättigten C₁₀₋₃₀-Carbonsäuren, wobei das Copolymer mit den vorgenannten Vernetzungsagentien vernetzt sein kann. Entsprechende Handelsprodukte sind Pemulen® und die Carbopol®-Typen 954, 980, 1342 und ETD 2020 (ex B.F. Goodrich).

Geeignete nichtionische Polymere sind beispielsweise Polyvinylalkohole, die teilweise seifig sein können, z. B. die Handelsprodukte Mowiol® sowie Vinylpyrrolidon/Vinylester-Copolymere und Polyvinylpyrrolidone, die z. B. unter dem Warenzeichen Luviskol® (BASF) vertrieben werden.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der Erfindung kann die Wirkung der erfindungsgemäßen Mittel durch Fettstoffe weiter optimiert werden. Geeignete Fettstoffe sind zum Beispiel:

- pflanzliche Öle, wie Sonnenblumenöl, Olivenöl, Sojaöl, Rapsöl, Mandelöl, Jojobaöl, Orangenöl, Weizenkeimöl, Pfirsichkernöl und die flüssigen Anteile des Kokosöls,
- flüssige Paraffinöle, Isoparaffinöle und synthetische Kohlenwasserstoffe, z. B. 1,3-Di-(2-ethyl-hexyl)-cyclohexan (Cetiol® S) oder Polydecen,
- Di-n-alkylether mit insgesamt 12 bis 36, insbesondere 12 bis 24 C-Atomen, z. B. Di-n-octylether (Cetiol® OE), Di-n- n-Hexyl-n-octylether und n-Octyl-n-decylether.
- Fettsäuren, besonders lineare und/oder verzweigte, gesättigte und/oder ungesättigte C₈₋₃₀-Fettsäuren. Bevorzugt sind C₁₀₋₂₂-Fettsäuren. Beispiele sind die Isostearinsäuren und Isopalmitinsäuren wie die unter der Handelsbezeichnung Edenor® vertriebenen Fettsäuren. Weitere typische Beispiele für solche Fettsäuren sind Capronsäure, Caprylsäure, 2-Ethylhexansäure, Caprinsäure, Laurinsäure, Isotridecansäure, Myristinsäure, Palmitinsäure, Palmitoleinsäure, Stearinsäure, Isostearinsäure, Ölsäure, Elaidinsäure, Petroselinäure, Linolsäure,

Linolensäure, Elaeostearinsäure, Arachidonsäure, Gadoleinsäure, Behensäure und Erucasäure sowie deren technische Mischungen. Besonders bevorzugt sind üblicherweise die Fettsäureschnitte, die aus Cocosöl oder Palmöl erhältlich sind; insbesondere bevorzugt ist der Einsatz von Stearinsäure.

- Fettalkohole, besonders gesättigte, ein- oder mehrfach ungesättigte, verzweigte oder unverzweigte Fettalkohole mit 6 - 30, bevorzugt 10 - 22 und ganz besonders bevorzugt 12 - 22 Kohlenstoffatomen. Einsetzbar im Sinne der Erfindung sind z. B. Decanol, Octanol, Octenol, Dodecenol, Decenol, Octadienol, Dodecadienol, Decadienol, Oleylalkohol, Erucaalkohol, Ricinolalkohol, Stearylalkohol, Isostearylalkohol, Cetylalkohol, Laurylalkohol, Myristylalkohol, Arachidylalkohol, Caprylalkohol, Caprinalalkohol, Linoleylalkohol, Linolenylalkohol und Behenylalkohol, sowie deren Guerbetalkohole, z. B. 2-Ethylhexanol, wobei diese Aufzählung beispielhaften und nicht limitierenden Charakter haben soll.
- Esteröle, das heißt, Ester von C₆₋₃₀-Fettsäuren mit C₂₋₃₀-Fettalkoholen. Bevorzugt sind die Monoester der Fettsäuren mit Alkoholen mit 2 bis 24 C-Atomen. Als Alkohol- und Säurekomponenten der Esteröle können die vorstehend genannten Substanzen verwendet werden. Erfindungsgemäß besonders bevorzugt sind Isopropylmyristat, Isononansäure-C₁₆₋₁₈-alkylester, 2-Ethylhexylpalmitat, Stearinsäure-2-ethylhexylester, Cetyloleat, Glycerintricaprylat, Kokosfettalkoholcaprinate/caprylate, n-Butylstearat, Oleylerucat, Isopropylpalmitat, Oleyloleat, Laurinsäurehexylester, Di-n-butyladipat, Myristylmyristat, Cetearyl Isononanoate und Ölsäuredecylester.
- Hydroxycarbonsäurealkylester, wobei die Vollester der Glycolsäure, Milchsäure, Äpfelsäure, Weinsäure oder Citronensäure bevorzugt sind, aber auch Ester der β-Hydroxypropionsäure, der Tartronsäure, der D-Gluconsäure, Zuckersäure, Schleimsäure oder Glucuronsäure geeignet sind und besonders bevorzugt die Ester von C₁₂-C₁₅-Fettalkoholen, z. B. die Handelsprodukte Cosmacol® der EniChem, Augusta Industriale, sind,
- Dicarbonsäureester wie Di-n-butyladipat, Di-(2-ethylhexyl)-adipat, Di-(2-ethylhexyl)-succinat und Di-isotridecylacelaat sowie Diolester wie Ethylenglykoldioleat, Ethylenglykol-di-isotridecanoat, Propylenglykoldi(2-ethylhexanoat), Propylenglykol-di-isostearat, Propylenglykol-di-pelargonat, Butandiol-di-isostearat, Neopentylglykoldicaprylat,

- symmetrische, unsymmetrische oder cyclische Ester der Kohlensäure mit Fettalkoholen, z. B. Glycerincarboxylat oder Dicaprylylcarbonat (Cetiol® CC),
- Mono-, Di- und Trifettsäureester von gesättigten und/oder ungesättigten linearen und/oder verzweigten Fettsäuren mit Glycerin, z. B. Monomuls® 90-O18, Monomuls® 90-L12 oder Cutina® MD,
- Wachse, insbesondere Insektenwachs wie Bienenwachs und Hummelwachs, Pflanzenwachs wie Candellillawachs und Carnaubawachs, Fruchtwachs, Ozokerit, Mikrowachs, Ceresin, Paraffin, Triglyceride gesättigter und gegebenenfalls hydroxylierter C₁₆₋₃₀-Fettsäuren, wie z. B. gehärtete Triglyceridfette (hydriertes Palmöl, hydriertes Kokosöl, hydriertes Rizinusöl), Glyceryltribehenat oder Glyceryltri-12-hydroxystearat, synthetische Vollester aus Fettsäuren und Glykolen (z. B. Syncrowachs®) oder Polyolen mit 2 – 6 C-Atomen, Ester von gegebenenfalls hydroxylierten C₂₋₄-Carbonsäuren mit Lanolinalkoholen und C₁₂₋₁₈-Fettalkoholen, Cholesterol- oder Lanosterolester von C₁₀₋₃₀-Fettsäuren, ethoxylierte C₁₂₋₂₀-Fettsäureglykolester, Fettsäuremonoalkanolamide mit einem C₁₂₋₂₂-Acylrest und einem C₂₋₄-Alkanolrest, synthetische Fettsäure-Fettalkoholester, z. B. Stearylstearat oder Cetylpalmitat sowie Esterwachs aus natürlichen Fettsäuren und synthetischen C₂₀₋₄₀-Fettalkoholen (INCI-Bezeichnung C20-40 Alkyl Stearate),
- Siliconverbindungen, ausgewählt aus Decamethylcyclopentasiloxan, Dodecamethylcyclohexasiloxan und Siliconpolymeren, die gewünschtenfalls quervernetzt sein können, z. B. Polydialkylsiloxane, Polyalkylarylsiloxane, ethoxylierte Polydialkylsiloxane, bevorzugt die Substanzen mit der INCI-Bezeichnung Dimethicone Copolyol, sowie Polydialkylsiloxane, die Amin- und/oder Hydroxy-Gruppen enthalten.

Die Einsatzmenge der Fettstoffe beträgt 0,1 – 50 Gew.%, bevorzugt 0,1 – 20 Gew.% und besonders bevorzugt 0,1 – 15 Gew.%, jeweils bezogen auf das gesamte Mittel.

Die erfindungsgemäßen Mittel können weitere Wirk-, Hilfs- und Zusatzstoffe enthalten, beispielsweise:

- Vitamine, Provitamine und Vitaminvorstufen aus den Gruppen A, C, E und F, insbesondere 3,4-Didehydroretinol (Vitamin A₂), β-Carotin (Provitamin des

Vitamin A₁), Ascorbinsäure (Vitamin C), sowie die Palmitinsäureester, Glucoside oder Phosphate der Ascorbinsäure, Tocopherole, insbesondere α -Tocopherol sowie seine Ester, z. B. das Acetat, das Nicotinat, das Phosphat und das Succinat; weiterhin Vitamin F, worunter essentielle Fettsäuren, besonders Linolsäure, Linolensäure und Arachidonsäure, verstanden werden;

- Allantoin,
- Bisabolol,
- Antioxidantien, zum Beispiel Imidazole (z. B. Urocaninsäure) und deren Derivate, Peptide wie D,L-Carnosin, D-Carnosin, L-Carnosin und deren Derivate (z. B. Anserin), Chlorogensäure und deren Derivate, Liponsäure und deren Derivate (z. B. Dihydroliponsäure), Aurothioglucose, Propylthiouracil und andere Thiole (z. B. Thioredoxin, Glutathion, Cystein, Cystin, Cystamin und deren Glycosyl-, N-Acetyl-, Methyl-, Ethyl-, Propyl-, Amyl-, Butyl- und Lauryl-, Palmitoyl-, Oleyl-, γ -Linoleyl-, Cholesteryl- und Glycerylester) sowie deren Salze, Dilaurylthiodipropionat, Distearylthiodipropionat, Thiodipropionsäure und deren Derivate (Ester, Ether, Peptide, Lipide, Nucleotide, Nucleoside und Salze) sowie Sulfoximinverbindungen (z. B. Buthioninsulfoximine, Homocysteinsulfoximin, Buthioninsulfone, Penta-, Hexa-, Heptathioninsulfoximin) in sehr geringen verträglichen Dosierungen (z. B. pmol bis μ mol/kg), ferner (Metall)-Chelatoren (z. B. α -Hydroxyfettsäuren, Palmitinsäure, Phytinsäure, Lactoferrin), Huminsäure, Gallensäure, Gallenextrakte, Bilirubin, Biliverdin, EDTA, EGTA und deren Derivate, ungesättigte Fettsäuren und deren Derivate (z. B. γ -Linolensäure, Linolsäure, Ölsäure), Folsäure und deren Derivate, Ubichinon und Ubichinol und deren Derivate, das Koniferylbenzoat des Benzoeharzes, Rutinsäure und deren Derivate, α -Glycosylrutin, Ferulasäure, Furfurylidenglucitol, Carnosin, Butylhydroxytoluol, Butylhydroxyanisol, Nordihydroguajakharzsäure, Nordihydroguajaretsäure, Trihydroxybutyrophenon, Harnsäure und deren Derivate, Katalase, Superoxid-Dismutase, Zink und dessen Derivate (z. B. ZnO, ZnSO₄), Selen und dessen Derivate (z. B. Selen-Methionin), Stilbene und deren Derivate (z. B. Stilbenoxid, trans-Stilbenoxid) und die als Antioxidans geeigneten Derivate (Salze, Ester, Ether, Zucker, Nucleotide, Nucleoside, Peptide und Lipide) dieser Wirkstoffe,
- Ceramide und Pseudoceramide,

- Triterpene, insbesondere Triterpensäuren wie Ursolsäure, Rosmarinsäure, Betulinsäure, Boswelliasäure und Bryonolsäure,
- Monomere Catechine, besonders Catechin und Epicatechin, Leukoanthocyanidine, Catechinpolymere (Catechin-Gerbstoffe) sowie Gallotannine,
- Verdickungsmittel, z. B. Gelatine, Pflanzengumme wie Agar-Agar, Guar-Gum, Alginate, Xanthan-Gum, Gummi arabicum, Karaya-Gummi oder Johannisbrotkernmehl, natürliche und synthetische Tone und Schichtsilikate, z. B. Bentonit, Hectorit, Montmorillonit oder Laponite[®], vollsynthetische Hydrokolloide wie z. B. Polyvinylalkohol, und außerdem Ca-, Mg- oder Zn-Seifen von Fettsäuren,
- Pflanzenglycoside,
- Strukturanten wie Maleinsäure und Milchsäure,
- Dimethylisoborbid,
- Alpha-, beta- sowie gamma-Cyclodextrine, insbesondere zur Stabilisierung von Retinol,
- Lösungsmittel, Quell- und Penetrationsstoffe wie Ethanol, Isopropanol, Ethylenglykol, Propylenglykol, Propylenglykolmonoethylether, Glycerin und Diethylenglykol, Carbonate, Hydrogencarbonate, Guanidine, Harnstoffe sowie primäre, sekundäre und tertiäre Phosphate
- Parfümöle, Pigmente sowie Farbstoffe zum Anfärben des Mittels,
- Substanzen zur Einstellung des pH-Wertes, z. B. α - und β -Hydroxycarbonsäuren,
- Komplexbildner wie EDTA, NTA, β -Alanindiessigsäure und Phosphonsäuren,
- Trübungsmittel wie Latex, Styrol/PVP- und Styrol/Acrylamid-Copolymere,
- Perglänzmittel wie Ethylenglykolmono- und -distearat sowie PEG-3-distearat,
- Treibmittel wie Propan-Butan-Gemische, N_2O , Dimethylether, CO_2 und Luft.

Vorteilhafterweise liegen die erfindungsgemäßen Hautbehandlungsmittel in Form einer flüssigen oder festen Öl-in-Wasser-Emulsion, Wasser-in-Öl-Emulsion, Mehrfach-Emulsion, Mikroemulsion, PIT-Emulsion oder Pickering-Emulsion, eines Hydrogels, eines Lipogels, einer ein- oder mehrphasigen Lösung, eines Schaumes, eines Puders oder einer Mischung mit mindestens einem als medizinischen Klebstoff geeigneten

Polymer vor. Die Mittel können auch in wasserfreier Form, wie beispielsweise einem Öl oder einem Balsam, dargereicht werden. Hierbei kann der Träger ein pflanzliches oder tierisches Öl, ein Mineralöl, ein synthetisches Öl oder eine Mischung solcher Öle sein.

In einer besonderen Ausführungsform der erfindungsgemäßen Mittel liegen die Mittel als Mikroemulsion vor. Unter Mikroemulsionen werden im Rahmen der Erfindung neben den thermodynamisch stabilen Mikroemulsionen auch die sogenannten "PIT"-Emulsionen verstanden. Bei diesen Emulsionen handelt es sich um Systeme mit den 3 Komponenten Wasser, Öl und Emulgator, die bei Raumtemperatur als Öl-in-Wasser-Emulsion vorliegen. Beim Erwärmen dieser Systeme bilden sich in einem bestimmten Temperaturbereich (als Phaseninversiontemperatur oder "PIT" bezeichnet) Mikroemulsionen aus, die sich bei weiterer Erwärmung in Wasser-in-Öl(W/O)-Emulsionen umwandeln. Bei anschließendem Abkühlen werden wieder O/W-Emulsionen gebildet, die aber auch bei Raumtemperatur als Mikroemulsionen oder als sehr feinteilige Emulsionen mit einem mittleren Teilchendurchmesser unter 400 nm und insbesondere von etwa 100-300 nm, vorliegen. Erfindungsgemäß können solche Mikro- oder "PIT"-Emulsionen bevorzugt sein, die einen mittleren Teilchendurchmesser von etwa 200 nm aufweisen. Einzelheiten bezüglich dieser "PIT-Emulsionen" z. B. der Druckschrift Angew. Chem. 97, 655 - 669 (1985) zu entnehmen.

Die folgenden Beispiele sollen die vorliegende Erfindung verdeutlichen, ohne sie hierauf zu beschränken.

Beispiele

1. Untersuchungen an Mehrschicht-Hautmodellen

Die Wirkung liposomenverkapselter DNA-Repair-Enzyme auf die Inhibierung von MMP-1 wurde an einem mehrschichtigen in-vitro-Hautmodell untersucht. Das Hautmodell ist ein humanes Hautäquivalent, das aus einer Dermis mit Fibroblasten und einer Epidermis aus Keratinozyten besteht.

Diese Mehrschicht-Struktur entsteht in einem speziellen Kultivierungsverfahren. Es wurden zunächst dermale Äquivalente (DE) produziert, indem eine Suspension von $2 \times 10^5/\text{cm}^2$ Fibroblasten aus humaner Vorhaut in einem Kulturmedium auf eine aus Chitosan, Collagen und Glycosaminoglycanen bestehende Matrix aufpipettiert wurde (Matrix beschrieben bei Collombel, C. et al.: Biomaterials with a base of collagen, chitosane and glycosaminoglycans, process for preparing them and their application in human medicine, US Patent 5166187). Das Kulturmedium bestand aus Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM), supplementiert mit 10% fetalem Kälberserum (FCS), 25 µg/ml Gentamycin, 100 UI/ml Penicillin, 1 µg/ml Amphotericin B, 50 µg/ml Natriumascorbat und 4 mM L-Glutamin. Die dermalen Äquivalente wurden 14 Tage in diesem Medium bei 37°C in einer Atmosphäre CO_2/Luft (5%/95%, v/v) und 90% Luftfeuchtigkeit inkubiert, wobei das Medium jeden Tag erneuert wurde. Für die Hautäquivalente (SE) wurden Keratinozyten aus humaner Vorhaut in einer Dichte von 200.000 Zellen/cm² auf die 14 Tage alten DEs ausgesät und unter submersen Bedingungen in einem Medium, bestehend aus 60 % DMEM, 30 % HAM F12 und 10% FCS, supplementiert mit 25 µg/ml Gentamycin, 100 UI/ml Penicillin, 1 µg/ml Amphotericin B, 50 µg/ml Natriumascorbat, 4 mM L-Glutamin, 10 ng/ml Epidermalem Wachstumsfaktor (EGF), 0,4µg/ml Hydrocortison, 0,12UI/ml Insulin, 10^{-9} M Cholera toxin, 5 ng/ml Transferrin und 180 µM Adenin, für weitere 7 Tage inkubiert. Die Hautäquivalente wurden dann an der Luft-Flüssigkeitsgrenze (Air-Liquid-Interface) für weitere 14 Tage in modifiziertem Keratinozytenmedium (DMEM-HAM F12, supplementiert mit 0,4 µg/ml Hydrocortison und 0,12 UI/ml Insulin) kultiviert.

Im Vergleich zu üblicherweise verwendeten Monolayer-Kulturen entspricht dieses Modell sehr viel besser der in-vivo-Situation, da Keratinozyten und Fibroblasten in engem Kontakt zueinander stehen und, wie in vivo, Signalstoffe austauschen können.

Außerdem üben die oberen Hautschichten eine Filterfunktion, z.B. für UVB-Strahlen, aus.

2. Nachweis der MMP-1-Inhibierung durch liposomenverkapselte Photolyase

Für den Nachweis der MMP-1-Inhibierung durch liposomenverkapselte Photolyase wurden die Hautmodelle zunächst mit UVB-Strahlung bestrahlt, um die Pyrimidindimere zu generieren. Anschließend erfolgte eine Bestrahlung mit UVA-Strahlung, um die Photolyase zu aktivieren, damit diese Bestrahlung ihre Wirkung auf die Reparatur der Keratinozyten-DNA und auf die Inhibierung der MMP-1 in den Fibroblasten entfalten konnte.

2.1 Festlegung der zur Aktivierung der Photolyase benötigten UVA-Dosis

Aus der Literatur war bekannt, dass eine Dosis von 9 J UVA/cm² zur Aktivierung der Photolyase ausreicht. Die verwendete UVA-Lampe besaß eine Leistung von 1,7 mW/cm², so dass zur Erzielung der Photolyase-Aktivierungsdosis eine Bestrahlungsdauer von 90 Minuten notwendig war.

2.2 Bestimmung der Zellvitalität nach kombinierter UVB/UVA-Bestrahlung

In einer weiteren Vorversuchsreihe wurde bestimmt, welche Dosis der energiereichen UVB-Strahlung von den Zellen der Hautäquivalente toleriert wird. Dazu wurden Hautmodelle zuerst mit unterschiedlichen Dosen UVB (varrierend von 100 bis 800 mJ/cm²; das heißt, bei einer Leistung der verwendeten UVB-Lampe von 1,2 mW/cm² wurde die Bestrahlungsdauer von 83 Sekunden bis 11,1 Minuten variiert) und anschließend mit einer Dosis von 9 J UVA/cm² bestrahlt.

Nach der Bestrahlung wurden die Hautmodelle für 24 Stunden unter Standardbedingungen (37°C, 5 Vol.-% CO₂ und 90 % Luftfeuchtigkeit) im Nährmedium des Air-Liquid-Interphase inkubiert.

Abschließend wurde die Vitalität der Zellen mit Hilfe des MTT-Tests bestimmt (Durchführung unter 2.1.1 erläutert). Tabelle 1 zeigt die Ergebnisse dieser Vitalitätstests. Die Vitalität der unbehandelten Kontrolle wurde als Referenz (= 100%) verwendet und alle weiteren Meßwerte darauf bezogen.

Tabelle 1: Zellvitalität nach kombinierter UVB/UVA-Bestrahlung, gemessen mit dem MTT-Test (n = 2)

Eingestrahlte UVB-Dosis [mJ/cm ²]	Relative Vitalität, bezogen auf nicht bestrahlte Hautmodelle [%]
0	100
100	78
200	82
800	79

Die Resultate zeigen, dass nach Bestrahlung mit bis zu 800 mJ/cm² UVB noch ca. 80% der Zellen vital sind. Für die UVB-Bestrahlung der Hautmodelle zur Erzeugung von Pyrimidindimeren beziehungsweise zur Aktivierung der MMP-1-Synthese wurde anhand dieser MTT-Testergebnisse, entsprechend dem arithmetischen Mittelwert der getesteten Dosen, eine Dosis von 360 mJ UVB/cm² (= 5 Minuten UVB-Bestrahlungsdauer) ausgewählt.

2.2.1 Durchführung des MTT-Tests zur Vitalitätsbestimmung

Der MTT-Test liefert Informationen über die Zellproliferation und Zytotoxizität. Im Test wird die metabolische Aktivität lebender Zellen bestimmt. Das Tetrazoliumsalz 3-[4,5-Dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazoliumbromid (MTT) wird in lebenden Zellen reduziert und in ein wasserunlösliches Formazansalz umgewandelt. Das Formazansalz wird extrahiert und photometrisch quantifiziert. Die Menge an gebildetem Formazansalz ist ein Maß für die Anzahl lebender Zellen in der untersuchten Probe. Die exakte Durchführung des Tests ist in J. Immunol. Methods 65, 55, 1983 (T. Mosmann) offenbart, worauf hier explizit Bezug genommen wird.

Zur Herstellung der MTT-Lösung wurden 2 ml einer MTT-Lösung (Konz. 1 mg MTT/ml in phosphate buffered saline = PBS) in jedes Well einer 24-Well-Schale pipettiert. Die Hautmodelle wurden in die Schale überführt und 3 Stunden lang bei 37°C in einer Atmosphäre CO₂/Luft (5%/95%, v/v) und 90 % Luftfeuchtigkeit inkubiert. Nach beendeter Inkubation wurden die Hautmodelle in Zentrifugenröhrchen überführt und das gebildete Formazansalz mit je 4 ml Extraktionsmittel (292 ml Isopropanol + 8 ml 1M HCl) 1,5 Stunden auf dem Schüttler extrahiert. Die optische Dichte eines Aliquots von 200 µl

wurde in einer 96-Well-Platte bei einer Wellenlänge von 540 nm gemessen (Titertek Multiscan MCC 340, Fa. Flow Laboratories).

2.3 Analyse der MMP-1-Inhibierung

Es wurde geprüft, inwieweit die Behandlung bestrahlter humaner Hautäquivalente mit einer Cremeformulierung, die Photolyase enthält, die durch UVB-Strahlung induzierte Synthese von MMP-1 reduzieren kann. Dazu wurden humane Mehrschicht-Hautmodelle mit einer UVB-Dosis von 360 mJ/cm² bestrahlt und anschließend mit einer 0,1 Gew.-% Photosome™ enthaltenden Creme behandelt. Als Kontrolle wurden parallel UVB-bestrahlte Hautmodelle (b) mit einer Placebo-Creme ohne Photosome™ behandelt, oder (c) verblieben unbehandelt. Dazu wurden jeweils 5 µl erfindungsgemäße Creme bzw. Placebo-Creme (entsprechend ca. 3,8 mg/cm²) appliziert und mit einem weichen Pinsel vorsichtig verteilt.

In einem weiteren Kontrollexperiment verblieben die Hautmodelle unbestrahlt und unbehandelt. Danach wurden alle Hautäquivalente 3 Stunden lang bei 37°C in einer Atmosphäre CO₂/Luft (5%/95%, v/v) und 90 % Luftfeuchtigkeit (Standardbedingungen) inkubiert, um gegebenenfalls eine Permeation des Wirkstoffs zu gewährleisten und dann mit einer UVA-Dosis von 9 J/cm² bestrahlt, um die Photolyase zu aktivieren.

Die Hautmodelle wurden für weitere 48 Stunden unter Standardbedingungen inkubiert. Dann wurde die RNA der Zellen gemäß dem Verfahren nach R.E. Kingston et al. (1997), Preparation and Analysis of RNA in "Current Protocols in Molecular Biology", eds. F.M. Ausubel et al., John Wiley and Sons Inc., Chapter 4, präpariert.

Die Expression des MMP-1-Gens wurde in einem Northern-Blot-Experiment analysiert. Dazu wurde eine radioaktive, für die mRNA der MMP-1 spezifische Gensonde verwendet. Die Produktion der mRNA ist der erste und damit wichtigste Schritt der MMP-1 Synthese. Substanzen, die einen Effekt auf die mRNA-Produktion zeigen, haben somit automatisch auch einen Effekt auf die Proteinmenge und die Enzymaktivität der MMP-1.

Kontrollexperimente mit einer Sonde für die 18S-RNA zeigten, dass vergleichbare Mengen RNA untersucht wurden. Zur Quantifizierung der Northern-Blot-Signalintensitäten wurden die Autoradiogramme densitometrisch vermessen. Die Signale für MMP-1 wurden auf die dazugehörigen Werte der Signale der 18S-RNA normalisiert.

Diese Analysenverfahren gehören zum gängigen Fachwissen und sind insbesondere dokumentiert bei Brenneisen, P. et al. (1996), Photochem. Photobiol. 64, 877-885 und bei Poswig A. et al. (1999), J. Invest. Dermatol. 112, 13-18, worauf hier explizit Bezug genommen wird.

Die normalisierten MMP-1-Signalwerte für die bestrahlten, nicht mit Creme behandelten Hautmodelle wurden als Referenz (= 100%) gesetzt und die Werte der übrigen Hautmodelle darauf bezogen (Tabelle 3).

In folgenden Hautmodell-Proben wurden MMP-1 bestimmt:

Probe Nr. 1: UVB-Bestrahlung, keine Cremebehandlung

Probe Nr. 2: UVB-Bestrahlung + Cremebehandlung mit Placebo-Creme

Probe Nr. 3: UVB-Bestrahlung + erfindungsgemäße Cremebehandlung mit Photosome™-Creme

Probe Nr. 4: keine UVB-Bestrahlung, keine Cremebehandlung

Tabelle 2: Zusammensetzung der erfindungsgemäßen Test-Creme

Bestandteil	Lamellare Creme, O/W-Emulsion [Gew.-%]
Cetiol® OE	7,0
Cetiol® V	7,0
Lanette® 22	7,0
Lanette® E	0,18
Baysilonöl M 350	0,5
Vitamin E-acetat	1,0
Retinylpalmitat	1,0
D-Panthenol	1,0
Photosome™	0,1
Glycerol	5,0
Formalin-Lösung (37 %ig)	0,08
Wasser	ad 100

Tabelle 3: Menge an UVB-induzierter MMP-1 in Abhängigkeit von der Creme-Behandlung

	Northern Blot-Signale für MMP-1, bezogen auf das Signal für Probe 1 [%]
1	100
2	41
3	22
4	5

Die Behandlung der Hautmodelle mit einer Cremeformulierung, die Photolyase enthielt (Probe Nr. 3), reduzierte die MMP-1-Expression um nahezu 80%.

Die Bestrahlung der humanen Hautäquivalente mit UVA-Licht entsprechend einer Dosis von 9 J/cm² führte zu keiner signifikanten Induktion von MMP-1, sodass die gemessenen Effekte ausschließlich auf die UVB-induzierte Synthese von MMP-1 zurückzuführen waren.

Die Ergebnisse dieser Analysen belegen, dass liposomenverkapselte Photolyase in der Lage ist, die UVB-Strahlung induzierte Expression von MMP-1 effektiv zu verringern.

3. Weitere Rezepturbeispiele

Bestandteil	Beispiel 3.1 O/W-PIT- Emulsion [Gew.-%]	Beispiel 3.2 W/O-Emulsion [Gew.-%]
Cetiol® OE	7,5	7,0
Cetiol® V	7,5	7,0
Lanette® O	4,0	-
Glycerylpalmitat	2,2	-
Eumulgin® B 2	2,1	-
Baysilonöl M 350	0,5	-
Vitamin E-acetat	1,0	-
Retinylpalmitat	1,0	1,0

WO 02/49593

PCT/EP01/14514

- 32 -

Biotin	0,005	-
Dihydro-3-hydroxy-4,4-dimethyl-2(3H)-furanon (Pantolacton)	1,0	1,0
Algenextrakt SPHM 3002	-	1,0
Photosome™	0,1	0,1
Glycerol	5,0	5,0
MgSO ₄ · H ₂ O	-	0,7
Formalin-Lösung (37 %ig)	0,08	0,08
Wasser	ad 100	ad 100

Bestandteil	Beispiel 3.3 Lipoprotein- Creme	Beispiel 3.4 Glycolipid-Creme	Beispiel 3.5
Montanov® 202	-	-	4,0
Distelöl	3,0	-	-
Nachtkerzenöl	-	3,0	-
Myritol® PC	3,5	3,5	-
Myritol® 331	-	-	3,0
Myritol® 318	-	-	2,0
Cetiol® MM	-	2,5	-
Cetiol® B	-	-	7,0
Cetiol® SB 45	-	-	0,5
Lanette® 22	3,0	-	-
Cutina® GMS-V	3,0	4,0	2,0
Lanette® O	3,0	2,0	1,0
Edenor® IPS	6,0	6,0	-
Cosmacol® PLG	-	3,0	-
Baysilonöl M350	1,0	1,0	0,5
Eusolex® 6300	0,6	0,6	3,0
Parsof® 1789	0,1	0,1	2,0
Controx® KS	0,05	0,05	0,05
pHB-Propylester	0,2	-	0,2

WO 02/49593

- 33 -

PCT/EP01/14514

Photosome™	0,1	0,1	0,1
Panthenol	1,0	1,0	1,0
Herbasol® Destillat Malve	-	1,0	-
Herbasol® Extrakt Rosmarin	-	-	1,0
Dry Flo® Plus	-	3,0	-
Hexandiol-1,6	-	6,0	-
Dipropylenglycol	-	5,0	-
Glycerol	5,0	-	-
DSC-H N	-	5,0	-
V- Protein flüssig	9,0	-	-
Tioveil®-AQ-N	2,0	-	-
Citronensäure	0,1	-	-
Sepigel® 305	3,0	0,4	-
Methocel® E 4M	-	-	0,2
Herbasol® Destillat Grüner Tee	-	1,0	-
Wasser	ad 100	ad 100	ad 100

Bestandteil	Beispiel 3.6 Mildes Reinigungsgel
Eumulgin® HRE 40	0,6
Eucarol® AGE-ET	2,0
1,2-Propylenglycol	10,0
Photosome™	0,1
Bisabolol	0,1
D-Panthenol	0,5
pHB- Propylester	0,1
pHB- Methylester	0,2
Carbopol® ETD 2020 (0,5%ig)	50,0
Wasser	ad 100

Bestandteil	Beispiel 3.7 Matrixpflaster	Beispiel 3.8 Matrixpflaster
DURO-TAK®	76	76
Photosome™	0,1	-
Ultrasome™	-	0,1
Panthenol	2	-
Dihydro-3-hydroxy-4,4-dimethyl-2(3H)-furanon (Pantolacton)	-	2
Herbasol® Destillat Eibisch	1	-
Herbasol® Destillat Grüner Tee	-	1
Aloe Vera Gel	1	1
Tiovei®-AQ-N	2	-
Eusolex® OCR	1	-
Propylenglycolmonooleat	5	5
Controx® KS	0,05	0,05
Wasser	ad 100	ad 100

Bestandteile des Wirkstoffreservoirs	Beispiel 3.9 Gel- Reservoirpflaster	Beispiel 3.10 Gel- Reservoirpflaster
Photosome™	0,1	-
Ultrasome™	-	0,1
Panthenol	1,0	-
Pantolacton	-	1,0
Bisabolol	1,0	1,0
Herbasol® Destillat Eibisch	-	1,0
Ethanol	40	40
Mowiol® 18-88	8,0	8,0
Luviskol® K 80	5,0	5,0
Controx® KS	0,05	0,05
Brij®-35	2,0	2,0
Cremonophor® CO-40	0,5	0,5
Glycerol	5,0	5,0
Wasser	ad 100	ad 100

Verwendete Rohstoffe:

Name	INCI
Algenextrakt SPHM 3002	Aqua, Algae (Linne)
Aloe Vera Gel (Provital SA): 0,85 - 1,55 Gew.-% Aktivsubstanz in Propylenglykol / Wasser	Aloe Barbadosensis (Linne)
Baysilondl M 350	Polydimethylsiloxan/Dimethicone
Brij®-35	Laureth-23
Carbopol® ETD 2020 (0,5%ig)	Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer
Eumulgin® B 2	Ceteareth-20
Cetio® B	Dibutyl Adipate
Cetio® MM	Myristyl Myristate
Cetio® SB 45	Butyrospermum Parkii (Linne)
Controx® KS:	Tocopherol, Hydrogenated Palm Glycerides Citrate
Cosmacol® PLG	Tri-C12-13 Alkyl Citrate
Cremophor® CO-40	PEG-40 Hydrogenated Castor Oil
Cutina® GMS (C16-18-Fettsäure-mono-di- glycerid)	Glyceryl Stearate
Cetio® V	Decyl Oleate
Cetio® OE	Dicaprylylether
Dry Flo® Plus	Aluminium Starch Octenylsuccinate
DSC-H N (ex Exsymol)	Dimethylsilanol Hyaluronate
DURO-TAK® (National Starch and Chemical): ca. 50 % Acrylat-Copolymer in Benzin/Ethylacetat/Methanol/Ethanol	Polyacrylate Copolymer
Eucarol® AGE-ET UP (30% Aktivsubstanz in Wasser)	Sodium Cocopolyglucose Tartrate
Eumulgin® HRE 40	PEG-40 Hydrogenated Castor Oil
Eusolex® 6300	4-Methylbenzylidene Camphor
Eusolex® OCR:	Octocrylene
Herbasol® Destillat Eibisch (Cosmetochem)	Water, Alcohol denat., Althea officinalis
Herbasol® Destillat Grüner Tee	Water, Camellia sinensis extract
Herbasol® Destillat Malve (Cosmetochem)	Aqua, SD Alcohol 39-C, Malva Sylvestris (Linne)

Herbasol® Extrakt Rosmarin	Water, Propylene Glycol, Rosmarinus officinalis
Edenor® IPS	Isopropyl Stearate
Lanette® E	Sodium Cetearyl Sulfate
Lanette® O	Cetearyl Alcohol
Lanette® 22	Behenyl Alcohol
Lifidrem® PPST-GHK-4 (Coletica): Erbsenprotein-Extrakt/C ₁₆₋₁₈ -Fettsäure-Kondensat	Pea Extract (Pisum Sativum (Linne)), Sodium Stearate, Sodium Chloride
Methocel® E 4M	Hydroxypropyl Methylcellulose
Montanov® 202	Arachidyl Alcohol, Behenyl Alcohol, Arachidyl Glucoside
Myritol® 318	Caprylic/Capric Triglyceride
Myritol® 331	Cocoglycerides
Myritol® PC	Propylene Glycol Dicaprylate/Dicaprate
Nachtkerzenöl	Evening Primrose Oil Oenothera Biennis (Linne)
Parsof® 1789	Butyl Methoxydibenzoylmethane
pHB-Propylester	Propylparaben
Photosome™	Plankton Extract and Lecithin
Mowiol® 18-88	Polyvinylalkohol, teilverseift
Luviskol® K 80	Polyvinylpyrrolidon
Sepigel® 305	Polyacrylamide, C13-14 Isoparaffin, Laureth-7
Tioveil®-AQ-N (Uniqema): Titandioxid-Dispersion	CI 77891 (Titanium Dioxide), Alumina, Silica, Sodium Polyacrylate
Ultrasome™	Micrococcus lysate
V-Protein flüssig COS 152/22 A (Cosmetochem)	Aqua, Propylene Glycol, Hydrolyzed Pea Protein (Pisum Sativum)
Vitamin E-acetat	Tocopheryl Acetate

Patentansprüche

1. Verwendung von DNA-Reparatur-Enzymen in kosmetischen topischen Hautbehandlungsmitteln zur Inhibierung des lichtinduzierten Collagenabbaus.
2. Verwendung von DNA-Reparatur-Enzymen in kosmetischen topischen Hautbehandlungsmitteln zur Inhibierung der Expression oder der Aktivität der Matrix-Metall-Proteinase MMP-1.
3. Verwendung von DNA-Reparatur-Enzymen zur Herstellung pharmazeutischer topischer Hautbehandlungsmittel zur Inhibierung des lichtinduzierten Collagenabbaus.
4. Verwendung von DNA-Reparatur-Enzymen zur Herstellung pharmazeutischer topischer Hautbehandlungsmittel zur Inhibierung der Expression oder der Aktivität der Matrix-Metall-Proteinase MMP-1.
5. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass als DNA-Reparatur-Enzym Photolyase eingesetzt wird.
6. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass als DNA-Reparatur-Enzym T4 Endonuclease V eingesetzt wird.
7. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass als DNA-Reparatur-Enzym eine Mischung aus Photolyase und T4 Endonuclease V eingesetzt wird.
8. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass die Hautbehandlung präventiv erfolgt.
9. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass das DNA-Reparatur-Enzym oder die DNA-Reparatur-Enzyme in einer Menge von $1 \cdot 10^{-6}$ bis $5 \cdot 10^{-2}$ Gew.-%, bezogen auf das gesamte Hautbehandlungsmittel, enthalten sind.
10. Kosmetisches oder pharmazeutisches Hautbehandlungsmittel, enthaltend Photolyase und/oder T4 Endonuclease V, dadurch gekennzeichnet, dass es mindestens eine Substanz, ausgewählt aus den Vitaminen, Provitaminen oder

Vitaminvorstufen der Vitamin B-Gruppe oder deren Derivaten sowie den Derivaten von 2-Furanon, enthält.

11. Kosmetisches oder pharmazeutisches Hautbehandlungsmittel, enthaltend Photolyase und/oder T4 Endonuclease V, dadurch gekennzeichnet, dass es mindestens eine Substanz, ausgewählt aus Panthenol, Pantolacton, Nicotinsäureamid und Biotin, enthält.
12. Kosmetisches oder pharmazeutisches Hautbehandlungsmittel, enthaltend Photolyase und/oder T4 Endonuclease V, dadurch gekennzeichnet, dass es mindestens einen Pflanzenextrakt enthält.
13. Kosmetisches oder pharmazeutisches Hautbehandlungsmittel, enthaltend Photolyase und/oder T4 Endonuclease V, dadurch gekennzeichnet, dass es mindestens eine weitere MMP-1-inhibierende Substanz, ausgewählt aus Propylgallat, Precocenen, 6-Hydroxy-7-methoxy-2,2-dimethyl-1(2H)-benzopyran, 3,4-Dihydro-6-hydroxy-7-methoxy-2,2-dimethyl-1(2H)-benzopyran und deren Gemischen, enthält.
14. Mittel gemäß einem der Ansprüche 10 bis 13, dadurch gekennzeichnet, dass es mindestens einen Ester von Retinol (Vitamin A₁) mit einer C₂₋₁₈-Carbonsäure enthält.
15. Mittel gemäß einem der Ansprüche 10 bis 14, dadurch gekennzeichnet, dass es mindestens eine ionische oberflächenaktive Substanz enthält.
16. Mittel gemäß einem der Ansprüche 10 bis 15, dadurch gekennzeichnet, dass es mindestens eine nichtionische oberflächenaktive Substanz mit einem HLB-Wert von 8 und darunter enthält.
17. Mittel gemäß einem der Ansprüche 10 bis 16, dadurch gekennzeichnet, dass es mindestens einen organischen oder mineralischen oder modifizierten mineralischen Lichtschutzfilter enthält.
18. Mittel gemäß einem der Ansprüche 10 bis 17, dadurch gekennzeichnet, dass es mindestens ein Proteinhydrolysat und/oder dessen Derivat enthält.
19. Mittel gemäß einem der Ansprüche 10 bis 18, dadurch gekennzeichnet, dass es mindestens eine Aminosäure, ausgewählt aus Glycin, Serin, Threonin, Cystein, Asparagin, Glutamin, Pyroglutaminsäure, Alanin, Valin, Leucin, Isoleucin, Prolin,

Tryptophan, Phenylalanin, Methionin, Asparaginsäure, Glutaminsäure, Lysin, Arginin und Histidin sowie den Zinksalzen und den Säureadditionssalzen dieser Aminosäuren, enthält.

20. Mittel gemäß einem der Ansprüche 10 bis 19, dadurch gekennzeichnet, dass es mindestens ein Mono-, Oligo- oder Polysaccharid und/oder deren Derivate enthält.
21. Mittel gemäß einem der Ansprüche 10 bis 20, dadurch gekennzeichnet, dass es mindestens ein filmbildendes und/oder emulsionsstabilisierendes und/oder verdickendes und/oder adhäsives Polymer enthält.
22. Verwendung eines Mittels gemäß einem der Ansprüche 10 bis 21 als topisches Hautbehandlungsmittel oder Anti-age-Mittel zur Verminderung des Elastizitätsverlustes und der Faltenbildung der alternden Haut.

【 国際公開パンフレット (コレクション) 】

(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
27. Juni 2002 (27.06.2002)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 02/049593 A3

- (51) Internationale Patentklassifikation: A61K 7/42, 7/48, 38/54 48, 50996 Köln (DE). FÖRSTER, Thomas [DE/DE]; Adalbert-Stifter-Strasse 15, 40699 Erkrath (DE). WALDMANN-LAUE, Marianne [DU/DU]; Mozartstrasse 25, 40789 Monheim (DE).
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP01/14514
- (22) Internationales Anmeldedatum: 11. Dezember 2001 (11.12.2001)
- (25) Einreichungssprache: Deutsch
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (30) Angaben zur Priorität: 100 63 433.8 20. Dezember 2000 (20.12.2000) DE
- (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): HENKEL KOMMANDITGESELLSCHAFT AUF AKTIEN [DE/DE]; Henkelstrasse 67, 40589 Düsseldorf (DE).
- (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): SCHLOTMANN, Kordula [DE/DE]; Christophstrasse 46, 40225 Düsseldorf (DE); PETERSOHN, Dirk [DE/DE]; Uferstrasse
- (81) Bestimmungsstaaten (national): AU, CA, JP, NZ, US.
- (84) Bestimmungsstaaten (regional): europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IT, LI, MC, NL, PT, SE, TR).
- Veröffentlicht:
— mit internationalem Recherchenbericht
— vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eintrifften
- (88) Veröffentlichungsdatum des internationalen Recherchenberichts: 27. Dezember 2002
- 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.



WO 02/049593 A3

(54) Title: USE OF DNA REPAIR ENZYMES AS MMP-1 INHIBITORS

(54) Bezeichnung: VERWENDUNG VON DNA-REPARATUR-ENZYMEN ALS MMP-1-INHIBITOREN

(57) Abstract: The invention relates to the use of photolyase enzymes and T4 endonuclease V as substances that inhibit MMP-1 in cosmetic or pharmaceutical preparations, for preventing the light-induced ageing of human skin.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft die Verwendung der Enzyme Photolyase sowie T4 Endonuclease V als MMP-1-inhibierende Substanzen in kosmetischen oder pharmazeutischen Zubereitungen zur Vorbeugung gegen die lichtinduzierte Alterung der menschlichen Haut.

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International Application No. PCT/JP 01/14514
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 A61K7/42 A61K7/48 A61K38/54		
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 A61Q		
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) EPO-Internal, WPI Data, PAJ, FSTA, INSPEC, COMPENDEX		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 94 17781 A (UNIV BOSTON) 18 August 1994 (1994-08-18) page 2, line 5 - line 26 page 4, line 14 -page 5, line 29 claims 1-46 ---	1-22
X	WO 99 03979 A (SMITH & NEPHEW ;WOLOWACZ SORREL (GB); SHERIDAN JULIE MARIE (GB); W) 28 January 1999 (1999-01-28) page 4, line 5 -page 5, line 23 page 7, line 17 -page 8, line 15 ---	1-22
X	US 5 302 389 A (KRIPKE MARGARET L ET AL) 12 April 1994 (1994-04-12) column 2, line 11 - line 36 column 2, line 52 -column 3, line 57 column 11, line 5 - line 17 ---	1-22
-/--		
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> 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 claims) 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 *Z* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report	
21 October 2002	29/10/2002	
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2250 HV Rijswijk Tel: (+31-70) 340-3300, Tx: 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Menidjel, R	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International Application No. PCT/EP 01/14514
C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 5 352 458 A (YAROSH DANIEL B) 4 October 1994 (1994-10-04) column 1, line 35 - line 64 column 3, line 4 - line 53 example 7 claims 1-23 -----	1-22
P,X	DE 100 20 447 A (HENKEL KGAA) 11 October 2001 (2001-10-11) page 2, line 61 -page 3, line 44 page 3, line 57 -page 4, line 30 examples 1-3 claims 1-14 -----	1-22

INTERNATIONAL SEARCH REPORT						International Application No. PCT/EP 01/14514	
Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)		Publication date		
WO 9417781	A	18-08-1994	WO 9417781 A1		18-08-1994		
WO 9903979	A	28-01-1999	AU 8451498 A WO 9903979 A1		10-02-1999 28-01-1999		
US 5302389	A	12-04-1994	NONE				
US 5352458	A	04-10-1994	AU 5957894 A WO 9414419 A1		19-07-1994 07-07-1994		
DE 10020447	A	11-10-2001	DE 10020447 A1 AU 4250201 A WO 0174320 A2		11-10-2001 15-10-2001 11-10-2001		

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT		nationale Aktenzeichen PGI/EP 01/14514
A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES IPK 7 A61K7/42 A61K7/48 A61K38/54		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK		
B. RECHERCHIERTE GEBIETE Findestreiter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole) IPK 7 A61K A61Q		
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) EPO-Internal, WPI Data, PAJ, FSTA, INSPEC, COMPENDEX		
C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 94 17781 A (UNIV BOSTON) 18. August 1994 (1994-08-18) Seite 2, Zeile 5 - Zeile 26 Seite 4, Zeile 14 - Seite 5, Zeile 29 Ansprüche 1-46	1-22
X	WO 99 03979 A (SMITH & NEPHEW; WOLOWACZ SORREL (GB); SHERIDAN JULIE MARIE (GB); W) 28. Januar 1999 (1999-01-28) Seite 4, Zeile 5 - Seite 5, Zeile 23 Seite 7, Zeile 17 - Seite 8, Zeile 15	1-22
X	US 5 302 389 A (KRIPKE MARGARET L ET AL) 12. April 1994 (1994-04-12) Spalte 2, Zeile 11 - Zeile 36 Spalte 2, Zeile 52 - Spalte 3, Zeile 57 Spalte 11, Zeile 5 - Zeile 17	1-22
-/-		
<input checked="" type="checkbox"/>	Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen	<input checked="" type="checkbox"/>
* 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 zweifelsfrei 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 angegeben) *C* 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 beigetragen ist *X* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfindertischer Tätigkeit beruht betrachtet werden *Y* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfindertischer 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 *Z* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist		
Datum des Abschlusses der Internationalen Recherche		Abschließdatum des Internationalen Recherchenberichts
21. Oktober 2002		29/10/2002
Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 8118 Patentlaan 2 NL - 2260 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2940, Tx. 31 651 cpo nl Fax: (+31-70) 340-3016		Bevollmächtigter Bediensteter Menidjel, R

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT		Internationales Abkürzungszeichen PCT/EP 01/14514
C. (Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Bezt. Anspruch Nr.
X	US 5 352 458 A (YAROSH DANIEL B) 4. Oktober 1994 (1994-10-04) Spalte 1, Zeile 35 - Zeile 64 Spalte 3, Zeile 4 - Zeile 53 Beispiel 7 Ansprüche 1-23	1-22
P, X	DE 100 20 447 A (HENKEL KGAA) 11. Oktober 2001 (2001-10-11) Seite 2, Zeile 61 - Seite 3, Zeile 44 Seite 3, Zeile 57 - Seite 4, Zeile 30 Beispiele 1-3 Ansprüche 1-14	1-22

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT				Internationales Artenkennzeichen PCT/EP 01/14514	
Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung	
WO 9417781	A	18-08-1994	WO 9417781 A1	18-08-1994	
WO 9903979	A	28-01-1999	AU 8451498 A WO 9903979 A1	10-02-1999 28-01-1999	
US 5302389	A	12-04-1994	KEINE		
US 5352458	A	04-10-1994	AU 5957894 A WO 9414419 A1	19-07-1994 07-07-1994	
DE 10020447	A	11-10-2001	DE 10020447 A1 AU 4250201 A WO 0174320 A2	11-10-2001 15-10-2001 11-10-2001	

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 31/22	A 6 1 K 7/00	K
A 6 1 K 31/235	A 6 1 K 7/48	
A 6 1 K 31/353	A 6 1 K 31/164	
A 6 1 K 31/365	A 6 1 K 31/198	
A 6 1 K 31/4188	A 6 1 K 31/22	
A 6 1 K 31/455	A 6 1 K 31/235	
A 6 1 K 31/7004	A 6 1 K 31/353	
A 6 1 K 31/702	A 6 1 K 31/365	
A 6 1 K 31/715	A 6 1 K 31/4188	
A 6 1 K 38/46	A 6 1 K 31/455	
A 6 1 K 38/51	A 6 1 K 31/7004	
A 6 1 P 17/16	A 6 1 K 31/702	
A 6 1 P 43/00	A 6 1 K 31/715	
	A 6 1 P 17/16	
	A 6 1 P 43/00	1 1 1
	A 6 1 K 37/56	
	A 6 1 K 37/54	

(74)代理人 100104592

弁理士 森住 憲一

(74)代理人 100122345

弁理士 高山 繁久

(72)発明者 コルドゥラ・シュロットマン

ドイツ連邦共和国デー - 4 0 6 2 7デュッセルドルフ、アム・ヒルシュグラベン7番

(72)発明者 ディルク・ペーターゾーン

ドイツ連邦共和国デー - 5 0 9 9 6ケルン、ウファーシュトラッセ48番

(72)発明者 トーマス・フェルスター

ドイツ連邦共和国デー - 4 0 6 9 9エルクラート、アーダルベルト - シュティフター - シュトラッセ15番

(72)発明者 マリアンネ・ヴァルトマン - ラウエ

ドイツ連邦共和国デー - 4 0 7 8 9モンハイム、モーツアルトシュトラッセ25番

Fターム(参考) 4C083 AA032 AA072 AA112 AA122 AB172 AB222 AB242 AB362 AC072 AC112

AC122 AC172 AC182 AC212 AC352 AC372 AC392 AC422 AC482 AC581

AC642 AC812 AC842 AC862 AD042 AD072 AD092 AD112 AD152 AD201

AD211 AD242 AD282 AD392 AD411 AD412 AD471 AD532 AD572 AD621

AD622 AD631 AD662 BB01 BB04 BB46 CC02 CC23 DD31 DD33

DD41 EE12

4C084 AA02 DC01 DC26 DC32 NA14 ZA89 ZC20

4C086 AA01 AA02 BA08 BA17 BA19 BC19 CB28 EA01 EA20 MA03

MA05 MA63 ZA89 ZC20

4C206 AA02 DB17 FA53 GA05 JA27 MA03 MA05 MA83 NA14 ZA89

ZC20