



(10) **DE 20 2021 004 246 U1** 2023.06.01

(12)

## Gebrauchsmusterschrift

(21) Aktenzeichen: **20 2021 004 246.6**

(22) Anmeldetag: **11.06.2021**

(47) Eintragungstag: **25.04.2023**

(45) Bekanntmachungstag im Patentblatt: **01.06.2023**

(51) Int Cl.: **A61K 8/67 (2006.01)**

**A61Q 19/02 (2006.01)**

**A61Q 19/00 (2006.01)**

**A61K 8/97 (2017.01)**

**A61K 8/23 (2006.01)**

**A61K 8/55 (2006.01)**

**A61K 8/60 (2006.01)**

(30) Unionspriorität:

**63/038,499                      12.06.2020      US**

(74) Name und Wohnsitz des Vertreters:

**Uexküll & Stolberg Partnerschaft von Patent- und  
Rechtsanwälten mbB, 22607 Hamburg, DE**

(73) Name und Wohnsitz des Inhabers:

**Mary Kay Inc., Addison, TX, US**

**Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen.**

(54) Bezeichnung: **Topische Zusammensetzung**

(57) Hauptanspruch: Verwendung einer Zusammensetzung, die eine effektive Menge Niacinamid, Phytinsäure, Rosmarinus officinalis-Blattextrakt, Chondrus crispus-Extrakt, Saxifraga sarmentosa-Extrakt, Carica papaya (Papaya)-Fruchtextrakt, Psidium guajava-Fruchtextrakt umfasst, zur Reduktion von dunklen Flecken, Altersflecken und/oder ungewollter Pigmentierung der Haut, wobei die Verwendung topisches Auftragen der Hautpflegezusammensetzung auf dunkle Flecken, Altersflecken und/oder ungewollte Pigmentierung der Haut umfasst.

**Beschreibung**

## QUERVERWEIS AUF VERWANDTE ANMELDUNGEN

**[0001]** Diese Anmeldung beansprucht den Vorteil der Priorität aus der vorläufigen US-Patentanmeldung mit der Seriennummer 63/038,499, eingereicht am 12. Juni 2020, die hier durch Bezugnahme in vollem Umfang aufgenommen ist.

## HINTERGRUND DER ERFINDUNG

## A. Gebiet der Erfindung

**[0002]** Die vorliegende Erfindung betrifft allgemein verschiedene Hautformulierungen, die in einer solchen Weise strukturiert sind, dass vielerlei Hautzustände behandelt werden können, die mit ungewollter Pigmentierung der alternden Haut zusammenhängen. Die Formulierungen können für sich oder kombiniert in einem Behandlungsschema verwendet werden.

## B. Beschreibung des Standes der Technik

**[0003]** Die Farbe der menschlichen Haut wird durch das Pigment Melanin bewirkt. Melanogenese ist der Prozess, nach dem spezielle dendritische Zellen, Melanozyten, Melanin produzieren. Melanozyten finden sich unter oder zwischen den Basalzellen der Epidermis der Haut. Viele Individuen weisen übermäßige Melaninpigmentierung oder einen Hyperpigmentierungsfleck in der Haut auf, der zu Pigmentvariation oder anormaler Pigmentierung der Haut führen kann. Dies kann zu unerwünschten Sommersprossen oder dunklen Flecken führen, wie senilem Lentigo, Leberflecken, Melasma, braunen oder Altersflecken, Vitiligo, sonnenbedingter Pigmentierung, Hyperpigmentierung nach Entzündung infolge von Abrasion, Verbrennungen, Wunden oder Dermatitis, phototoxischer Reaktion oder anderen ähnlichen kleinen fixierten pigmentierten Läsionen.

**[0004]** Es ist oft erwünscht, diese Bereiche aufzuhellen oder das Erscheinungsbild von unregelmäßig pigmentierten Bereichen der Haut zu egalisieren, indem ein gleichmäßiger aussehender Hautton/eine gleichmäßigere aussehende Hautfarbe bereitgestellt werden. Einzelne möchten eventuell auch eine Steigerung der Helligkeit oder Reduktion des Gesamtpigmentierungsniveaus der Haut. Die Hyperpigmentierung wird in jedem Fall üblicherweise als kosmetisch ungewollt angesehen, und Individuen möchten oft die Haut heller machen.

**[0005]** Viele Faktoren tragen zu erhöhter Pigmentierung der Haut bei, wie das tatsächliche Alter einer Person, wie stark sie Umweltfaktoren (z. B. Sonnenlicht, Umweltverschmutzung, Chemikalien, Rauch, usw.) ausgesetzt war, und wie gut eine Person ihre Haut gepflegt hat. Erhöhte Pigmentierung der Haut betrifft insbesondere zwei Prozesse - intrinsische Alterung, die mit dem natürlichen Alterungsprozess und genetischen Einflüssen zusammenhängt, und extrinsische oder akkumulierte Schädigung durch Umweltfaktoren, wie Einwirkung von Sonnenlicht.

**[0006]** Extrinsische Faktoren können bewirken, dass Keratinozyten (die am weitesten außen liegenden Zellen der Haut) Signalisierungsmoleküle freisetzen, wie  $\alpha$ -Melanozyten stimulierendes Hormon ( $\alpha$ -MSH) und entzündliche (inflammatorische) Zytokine, von denen jedes zu ungewollter Hautpigmentierung und/oder Hautentzündung (z. B. geröteter und/oder erythemischer Haut) führen kann. Extrinsische Faktoren können auch Hochregulierung des Gens für Tyrosinase bewirken, das bekanntermaßen zwei Stufen in der mehrstufigen Biosynthese von Melaninpigmenten katalysiert. Zudem können Peroxisom- Proliferator-Aktivierte Rezeptor Gamma (PPAR- $\gamma$ )-Agonisten erhöht werden. PPAR- $\gamma$  erhöht bekanntermaßen die Melaninproduktion durch Stimulieren der Tyrosinaseaktivität und -expression. PPAR- $\gamma$ -Agonisten stimulieren bekanntermaßen auch Migration von Melanozyten in Haut.

**[0007]** Die Kombination von intrinsischen, Alterungs- und extrinsischen Faktoren kann nicht nur die Pigmentierung der Haut erhöhen, sondern kann schließlich auch zu sichtbaren Anzeichen der Hautalterung führen. Die frühen Zeichen der Hautalterung schließen den Beginn von ungleichmäßigem Hautton ein. Dies tritt in der Regel im Altersbereich von etwa 25 bis 35 Jahren auf. Die moderaten Anzeichen der Hautalterung schließen das Erscheinen signifikanter Altersflecken und Bereiche mit Hyperpigmentierung ein. Dies tritt in der Regel im Altersbereich von etwa 35 bis 50 Jahren auf. Die fortgeschrittenen Anzeichen der Hautalterung schließen prominentere dunkle Flecken ein, deren Größe zunehmen kann, und die sich gruppieren können,

wodurch die Haut ein gesprenkeltes oder fleckigeres Erscheinungsbild erhält. Dies tritt in der Regel im Altersbereich von über 50 Jahren auf.

**[0008]** Verschiedene Hautaufhellungsbestandteile sind bekannt, welche Melanogenese inhibieren, um Dunklerwerden der Haut zu verhindern und dunkle Flecken im Zusammenhang mit Alterung aufzuhellen. Die Verwendung eines Hautaufhellungsbestandteils ist bei Individuen mit signifikanter Hyperpigmentierung, Sommersprossen oder Altersflecken in einigen Fällen beispielsweise eventuell nicht effektiv. Viele frühere Versuche zur Kombination verschiedener Hautaufhellungsbestandteile waren zudem ineffektiv und haben in einigen Fällen zu negativen Ergebnissen geführt, wie zur Verschlimmerung der Produktion inflammatorischer Zytokine. Bestimmte Hautaufhellungsbestandteile, wie Hydrochinon, erhöhen zudem bekanntermaßen Hyperpigmentierung bei dunkleren Hauttönen.

#### ZUSAMMENFASSUNG DER ERFINDUNG

**[0009]** Die Erfinder haben eine Lösung für mindestens einige der Probleme im Zusammenhang mit ungewollter Hautpigmentierung identifiziert. Die Erfinder haben in einigen Fällen einen einzigartigen Satz von Bestandteilen gefunden, der zur Behandlung von unerwünschter Pigmentierung der Haut verwendet werden kann, insbesondere von dunklen Flecken und/oder Altersflecken. Die Bestandteile und Formulierungen davon sind schließlich so effektiv wie oder effektiver als andere bekannte Hautaufhellungsbestandteile (z. B. Kojisäure oder Hydrochinon). Die Lösung basiert auf einem Fund einer Kombination von Bestandteilen, die zusammenarbeiten können, um bestimmte biochemische Wege in der Haut zu modifizieren, um Pigmentierung zu reduzieren. Ohne sich auf eine Theorie festlegen zu wollen, wird angenommen, dass diese Kombination von Bestandteilen PPAR- $\gamma$  und/oder Tyrosinase inhibiert, wodurch die Melanogenese inhibiert wird. Diese Kombination kann eine effektive Menge von Niacinamid, Ferulasäure, Tetrahexyldecylascorbat, Phytinsäure, Rosmarinus officinalis-Blattextrakt, Schinus terebinthifolius-Samenextrakt, Chondrus crispus-Extrakt, Saxifraga sarmentosa-Extrakt, Carica papaya (Papaya)-Fruchtextrakt, Psidium guajava-Fruchtextrakt, Undecylenoylphenylalanin, Pfaffia paniculata-Wurzelextrakt, Ptychopetalum olacoides-Rinde/Stamextrakt und/oder Trichilia catigua-Extrakt einschließen, um die Aktivität von PPAR- $\gamma$  und/oder Tyrosinase zu inhibieren, dunkle Flecken zu reduzieren, Altersflecken zu reduzieren und/oder ungewollte Pigmentierung zu reduzieren.

**[0010]** Es wurde insbesondere gefunden, dass diese Kombination von Bestandteilen die Fähigkeit zum Reduzieren dunkler Flecken, Altersflecken und/oder ungewollter Pigmentierung der Haut hat. Es wurde in bestimmten Aspekten gefunden, dass diese Kombination von Bestandteilen die Fähigkeit hat, das gesamte Melaninniveau der Haut zu reduzieren. Diese Kombination hat in bestimmten Aspekten die Fähigkeit zum Reduzieren des gesamten Melaninniveaus in der Haut um mindestens 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 % oder mehr. Diese Kombination hat in bestimmten Aspekten die Fähigkeit, das gesamte Melaninniveau bei dunkler Haut zu reduzieren. Diese Kombination hat in bestimmten Aspekten die Fähigkeit zum Reduzieren des gesamten Melaninniveaugehalts in dunkler Haut um mindestens 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 % oder mehr. Die Haut ist in bestimmten Aspekten diejenige von einer Person mit braunem oder schwarzem Teint. Die Haut ist in bestimmten Aspekten diejenige von einer Person mit schwarzem Teint.

**[0011]** In einigen Aspekten wird eine topische Hautzusammensetzung offenbart. In einigen Fällen wird eine topische Hautzusammensetzung offenbart, die eine effektive Menge von Niacinamid, Ferulasäure, Tetrahexyldecylascorbat, Phytinsäure, Rosmarinus officinalis-Blattextrakt, Schinus terebinthifolius-Samenextrakt, Chondrus crispus-Extrakt, Saxifraga sarmentosa-Extrakt, Carica papaya (Papaya)-Fruchtextrakt, Psidium guajava-Fruchtextrakt, Undecylenoylphenylalanin, Pfaffia paniculata-Wurzelextrakt, Ptychopetalum olacoides-Rinde/Stammextrakt und/oder Trichilia catigua-Extrakt einschließt, um dunkle Flecken, Altersflecken und/oder ungewollte Pigmentierung zu reduzieren.

**[0012]** Die topische Hautzusammensetzung schließt in bestimmten Aspekten eine Kombination aus Saxifraga sarmentosa-Extrakt, Carica papaya (Papaya)-Fruchtextrakt und Psidium guajava-Fruchtextrakt ein. In bestimmten Aspekten kann die Kombination aus Saxifraga sarmentosa-Extrakt, Carica papaya (Papaya)-Fruchtextrakt und Psidium guajava-Fruchtextrakt des Weiteren Natriumsulfit und Natriummetabisulfit einschließen. In bestimmten Aspekten kann die Kombination aus Saxifraga sarmentosa-Extrakt, Carica papaya (Papaya)-Fruchtextrakt und Psidium guajava-Fruchtextrakt des Weiteren eine effektive Menge an Natriumsulfit und Natriummetabisulfit einschließen, um dunkle Flecken, Altersflecken und/oder ungewollte Pigmentierung zu reduzieren.

**[0013]** In bestimmten Aspekten schließt die topische Hautpflegezusammensetzung eine Kombination aus Saxifraga sarmentosa-Extrakt, Carica papaya (Papaya)-Fruchtextrakt und Psidium guajava-Fruchtextrakt,

Pfaffia paniculata-Wurzelextrakt, Ptychopetalum olacoides-Rinde/Stammextrakt und Trichilia catigua-Extrakt ein. In bestimmten Aspekten kann die Kombination aus Saxifraga sarmentosa-Extrakt, Carica papaya (Papaya)-Fruchtextrakt und Psidium guajava-Fruchtextrakt, Pfaffia paniculata-Wurzelextrakt, Ptychopetalum olacoides-Rinde/Stammextrakt und Trichilia catigua-Extrakt des Weiteren Glycerin und Caprylyl-/Caprylglucosid einschließen. In bestimmten Aspekten wird die Kombination aus Saxifraga sarmentosa-Extrakt, Carica papaya (Papaya)-Fruchtextrakt und Psidium guajava-Fruchtextrakt, Pfaffia paniculata-Wurzelextrakt, Ptychopetalum olacoides-Rinde/Stammextrakt, Trichilia catigua-Extrakt, Glycerin und Caprylyl-/Caprylglucosid in einer Menge von 0,1 bis 5 % Gew./Gew. bereitgestellt. In weiteren Aspekten wird die Kombination aus Pfaffia paniculata-Wurzelextrakt, Ptychopetalum olacoides-Rinde/Stammextrakt, Trichilia catigua-Extrakt, Glycerin und Caprylyl-/Caprylglucosid in einer Menge von 0,5 % Gew./Gew. bereitgestellt.

**[0014]** Die topische Hautzusammensetzung hat in einigen Aspekten die Fähigkeit zum Inhibieren der Aktivität von Tyrosinase und/oder PPAR- $\gamma$ . Der Rosmarinus officinalis-Blattextrakt hat in einigen Aspekten die Fähigkeit zur Inhibierung der Aktivität von Tyrosinase und/oder PPAR- $\gamma$ . Die topische Hautzusammensetzung ist in einigen Aspekten effektiv zur Reduktion dunkler Flecken, Altersflecken und/oder ungewollter Pigmentierung der Haut. Die topische Hautzusammensetzung ist in einigen Aspekten effektiv zum Reduzieren des gesamten Melaninniveaus in der Haut. Die topische Hautzusammensetzung ist in einigen Fällen effektiv zum Reduzieren des gesamten Melaninniveaus in der Haut um mindestens 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 % oder mehr. Die topische Hautzusammensetzung hat in bestimmten Aspekten die Fähigkeit, das gesamte Melaninniveau bei dunkler Haut zu reduzieren. Die topische Hautzusammensetzung hat in bestimmten Aspekten die Fähigkeit zum Reduzieren des gesamten Melaninniveaus in dunkler Haut um mindestens 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 % oder mehr. Die Haut ist in bestimmten Aspekten diejenige von einer Person mit braunem oder schwarzem Teint. Die Haut ist in bestimmten Aspekten diejenige von einer Person mit schwarzem Teint.

**[0015]** In einigen Fällen schließt die topische Zusammensetzung 0,1 bis 10 % Gew./Gew. Niacinamid, 0,01 bis 1 % Gew./Gew. Ferulasäure, 0,1 bis 5 % Gew./Gew. Tetrahexyldecylascorbat, 0,01 bis 3 % Gew./Gew. Phytinsäure, 0,1 bis 5 % Gew./Gew. Rosmarinus officinalis-Blattextrakt, 0,01 bis 3 % Gew./Gew. Schinus terebinthifolius-Samenextrakt, 0,1 bis 5 % Gew./Gew. Chondrus crispus-Extrakt, 0,1 bis 5 % Gew./Gew. einer Kombination von Saxifraga sarmentosa-Extrakt, Carica papaya (Papaya)-Fruchtextrakt und Psidium guajava-Fruchtextrakt und 0,1 bis 5 % Gew./Gew. Undecylenoylphenylalanin ein. In einigen Fällen schließt die topische Zusammensetzung 0,1 bis 5 % Gew./Gew. einer Kombination von Pfaffia paniculata-Wurzelextrakt, Ptychopetalum olacoides-Rinde/Stammextrakt, Trichilia catigua-Extrakt, Glycerin und Caprylyl-/Caprylglucosid ein.

**[0016]** In einigen Fällen ist der Rosmarinus officinalis-Blattextrakt ein Extrakt von tiefem eutektischem Lösungsmittel, das Milchsäure, Betain und Wasser umfasst. In einigen Fällen ist der Schinus terebinthifolius-Samenextrakt ein Extrakt mit überkritischem CO<sub>2</sub>. In einigen Fällen ist der Chondrus crispus-Extrakt ein wässriger Extrakt. In einigen Fällen sind die Saxifraga sarmentosa-, Carica papaya (Papaya)-Frucht- und Psidium guajava-Fruchtextrakte hydroglykolyische Extrakte.

**[0017]** Es ist vorgesehen, dass jedwede in dieser Beschreibung erörterte Ausführungsform in Bezug auf jedwedes Verfahren oder jedwede Zusammensetzung der Erfindung implementiert werden kann, und anders herum. Zusammensetzungen der Erfindung können ferner verwendet werden, um Verfahren der Erfindung zu erreichen.

**[0018]** Im Kontext der vorliegenden Erfindung werden mindestens die folgenden 21 Aspekte beschrieben. Aspekt 1 schließt ein Verfahren zum Reduzieren dunkler Flecken, Altersflecken und/oder ungewollter Pigmentierung der Haut ein. Das Verfahren umfasst topisches Auftragen einer Hautpflegezusammensetzung auf dunkle Flecken, Altersflecken und/oder ungewollte Pigmentierung, welche eine effektive Menge an Niacinamid, Ferulasäure, Tetrahexyldecylascorbat, Phytinsäure, Rosmarinus officinalis-Blattextrakt, Schinus terebinthifolius-Samenextrakt, Chondrus crispus-Extrakt, Saxifraga sarmentosa-Extrakt, Carica papaya (Papaya)-Fruchtextrakt, Psidium guajava-Fruchtextrakt und Undecylenoylphenylalanin umfasst, um dunkle Flecken, Altersflecken und/oder ungewollte Pigmentierung der Haut zu reduzieren. Aspekt 2 hängt von Aspekt 1 ab, bei dem die Hautpflegezusammensetzung des Weiteren Natriumsulfit und Natriummetabisulfit umfasst. Aspekt 3 hängt von Aspekt 2 ab, bei dem die Hautpflegezusammensetzung eine effektive Menge Natriumsulfit und Natriummetabisulfit umfasst, um dunkle Flecken, Altersflecken und/oder ungewollte Pigmentierung der Haut zu reduzieren. Aspekt 4 hängt von beliebigen der Aspekte 1 bis 3 ab, bei dem die Hautpflegezusammensetzung 0,1 bis 10 Gew.% Niacinamid, 0,01 bis 1 Gew.% Ferulasäure, 0,1 bis 5 Gew.% Tetrahexyldecylascorbat, 0,01 bis 3 Gew.% Phytinsäure, 0,1 bis 5 Gew.% Rosmarinus officinalis-Blattextrakt,

0,01 bis 3 Gew.% Schinus terebinthifolius-Samenextrakt, 0,1 bis 5 Gew.% Chondrus crispus-Extrakt, 0,1 bis 5 % Gew./Gew. einer Kombination von Saxifraga sarmentosa-Extrakt, Carica papaya (Papaya) -Fruchtextrakt und Psidium guajava-Fruchtextrakt und 0,1 bis 5 Gew.% Undecylenoylphenylalanin umfasst. Aspekt 5 hängt von beliebigen der Aspekte 1 bis 4 ab, bei dem der Rosmarinus officinalis-Blattextrakt ein Extrakt von tiefem eutektischem Lösungsmittel ist, welches Milchsäure, Betain und Wasser umfasst, der Schinus terebinthifolius-Samenextrakt ein Extrakt mit überkritischem CO<sub>2</sub> ist, der Chondrus crispus-Extrakt ein wässriger Extrakt ist, der Saxifraga sarmentosa ein hydroglykolyischer Extrakt ist, Carica papaya (Papaya)-Frucht ein hydroglykolyischer Extrakt ist, und/oder Psidium guajava-Fruchtextrakt ein hydroglykolyischer Extrakt ist. Aspekt 6 hängt von beliebigen der Aspekte 1 bis 5 ab, bei dem topische Auftragung der Zusammensetzung das Gesamtmelaninniveau der Haut reduziert. Aspekt 7 hängt von beliebigen der Aspekte 1 bis 6 ab, bei dem topische Auftragung der Zusammensetzung das Gesamtmelaninniveau der Haut um mindestens 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 % oder 30 % reduziert. Aspekt 8 hängt von beliebigen der Aspekte 1 bis 7 ab, bei dem topische Auftragung der Zusammensetzung das Gesamtmelaninniveau von dunkler Haut um mindestens 30 % reduziert. Aspekt 9 hängt von beliebigen der Aspekte 1 bis 8 ab, bei dem die Haut diejenige von einer Person mit braunem oder schwarzem Teint ist. Aspekt 10 hängt von Aspekt 9 ab, bei dem die Haut diejenige von einer Person mit schwarzem Teint ist. Aspekt 11 hängt von beliebigen der Aspekte 1 bis 10 ab, bei dem topische Auftragung der Zusammensetzung die Aktivität von Tyrosinase und/oder Peroxisom-Proliferator-aktiviertem Rezeptor Gamma (PPAR-γ) der Haut inhibiert. Aspekt 12 schließt eine Hautpflegezusammensetzung ein, die eine effektive Menge an Niacinamid, Ferulasäure, Tetrahexyldecylascorbat, Phytinsäure, Rosmarinus officinalis-Blattextrakt, Schinus terebinthifolius-Samenextrakt, Chondrus crispus-Extrakt, Saxifraga sarmentosa-Extrakt, Carica papaya (Papaya)-Fruchtextrakt, Psidium guajava-Fruchtextrakt und Undecylenoylphenylalanin umfasst, um dunkle Flecken, Altersflecken und/oder ungewollte Pigmentierung der Haut zu reduzieren. Aspekt 13 hängt von Aspekt 12 ab, bei dem die Hautpflegezusammensetzung des Weiteren Natriumsulfit und Natriummetabisulfit umfasst. Aspekt 14 hängt von Aspekt 13 ab, bei dem die Hautpflegezusammensetzung eine effektive Menge Natriumsulfit und Natriummetabisulfit umfasst, um dunkle Flecken, Altersflecken und/oder ungewollte Pigmentierung der Haut zu reduzieren. Aspekt 15 hängt von beliebigen der Aspekte 12 bis 14 ab, bei dem die Zusammensetzung 0,1 bis 10 Gew.% Niacinamid, 0,01 bis 1 Gew.% Ferulasäure, 0,1 bis 5 Gew.% Tetrahexyldecylascorbat, 0,01 bis 3 Gew.% Phytinsäure, 0,1 bis 5 Gew.% Rosmarinus officinalis-Blattextrakt, 0,01 bis 3 Gew.% Schinus terebinthifolius-Samenextrakt, 0,1 bis 5 Gew.% Chondrus crispus-Extrakt, 0,1 bis 5 % Gew./Gew. einer Kombination von Saxifraga sarmentosa-Extrakt, Carica papaya (Papaya)-Fruchtextrakt und Psidium guajava-Fruchtextrakt und 0,1 bis 5 Gew.% Undecylenoylphenylalanin umfasst. Aspekt 16 hängt von beliebigen der Aspekte 12 bis 15 ab, bei dem der Rosmarinus officinalis-Blattextrakt ein Extrakt von tiefem eutektischem Lösungsmittel ist, welches Milchsäure, Betain und Wasser umfasst, der Schinus terebinthifolius-Samenextrakt ein Extrakt mit überkritischem CO<sub>2</sub> ist, der Chondrus crispus-Extrakt ein wässriger Extrakt ist, der Saxifraga sarmentosa ein hydroglykolyischer Extrakt ist, der Carica papaya (Papaya)-Frucht ein hydroglykolyischer Extrakt ist, und der Psidium guajava-Fruchtextrakt ein hydroglykolyischer Extrakt ist. Aspekt 17 hängt von beliebigen der Aspekte 12 bis 16 ab, bei dem die Zusammensetzung effektiv ist, um das Gesamtmelaninniveau der Haut zu reduzieren. Aspekt 18 hängt von beliebigen der Aspekte 12 bis 17 ab, bei dem die Zusammensetzung effektiv ist, um das Gesamtmelaninniveau der Haut um mindestens 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 % oder 30 % zu reduzieren. Aspekt 19 hängt von beliebigen der Aspekte 12 bis 18 ab, bei dem die Zusammensetzung effektiv ist, um das Gesamtmelaninniveau von dunkler Haut um mindestens 30 % zu reduzieren. Aspekt 20 hängt von beliebigen der Aspekte 12 bis 19 ab, bei dem die Haut diejenige von einer Person mit braunem oder schwarzem Teint ist. Aspekt 21 hängt von Aspekt 20 ab, bei dem die Haut diejenige von einer Person mit schwarzem Teint ist.

**[0019]** Die topische Hautzusammensetzung wird in einigen Fällen in einem Verfahren zum Reduzieren der Pigmentierung verwendet. Die topische Hautzusammensetzung wird in einigen Fällen zur Inhibierung von Tyrosinase verwendet. Die topische Hautzusammensetzung wird in einigen Fällen zur Inhibierung der PPAR-γ -Aktivität verwendet. Die topische Hautzusammensetzung wird in einigen Fällen zur Reduktion dunkler Flecken, Altersflecken und/oder ungewollter Pigmentierung der Haut verwendet. Die topische Hautzusammensetzung wird in einigen Fällen zum Reduzieren des gesamten Melaninniveaus in der Haut um mindestens 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 % oder mehr verwendet. Die topische Hautzusammensetzung wird in einigen Fällen zum Reduzieren des gesamten Melaninniveaus in dunkler Haut verwendet. Die topische Hautzusammensetzung wird in einigen Fällen zum Reduzieren des gesamten Melaninniveaus in dunkler Haut um mindestens 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 % oder mehr verwendet. Die Haut ist in bestimmten Aspekten diejenige von einer Person mit braunem oder schwarzem Teint. Die Haut ist in bestimmten Aspekten diejenige von einer Person mit schwarzem Teint.

**[0020]** Kits, die die erfindungsgemäßen Zusammensetzungen einschließen, sind auch vorgesehen. In bestimmten Ausführungsformen ist die Zusammensetzung in einem Behälter enthalten. Der Behälter kann

eine Flasche, ein Spender oder eine Packung sein. Der Behälter kann eine festgelegte Menge der Zusammensetzung enthalten. Die Zusammensetzungen werden in bestimmten Aspekten als Spray, Nebel, Klecks oder Flüssigkeit abgegeben. Der Behälter kann Zeichen auf seiner Oberfläche aufweisen. Die Zeichen können ein Wort, eine Abkürzung, ein Bild oder ein Symbol sein.

**[0021]** In einigen Ausführungsformen können Zusammensetzungen der vorliegenden Erfindung pharmazeutisch oder kosmetisch hochwertig sein oder angenehme taktile Eigenschaften aufweisen. „Pharmazeutisch hochwertig“, „kosmetisch hochwertig“ und/oder „taktile angenehme Eigenschaften“ beschreibt eine Zusammensetzung mit besonderen taktilen Eigenschaften, die sich auf der Haut angenehm anfühlen (z. B. Zusammensetzungen, die nicht zu wässrig oder schmierig sind, Zusammensetzungen mit seidiger Textur, Zusammensetzungen, die nicht haftend oder klebrig sind, usw.). Pharmazeutisch oder kosmetisch hochwertig kann sich auch auf die Cremigkeit oder Schmierfähigkeitseigenschaften der Zusammensetzung oder die Feuchthalteeigenschaften der Zusammensetzung beziehen.

**[0022]** Es ist auch ein Produkt vorgesehen, das eine Zusammensetzung der vorliegenden Erfindung umfasst. Das Produkt kann in nicht-einschränkenden Aspekten ein Kosmetikprodukt sein. Das Kosmetikprodukt kann solche sein, die in anderen Abschnitten dieser Beschreibung beschrieben oder Fachleuten bekannt sind. Nicht-einschränkende Beispiele für Produkte beinhalten ein Befeuchtungsprodukt, eine Creme, eine Lotion, ein Produkt, um die Haut geschmeidig zu machen, ein Serum, ein Gel, ein Waschpräparat, eine Körperbutter, ein Peelingpräparat, eine Grundierung, eine Nachtcreme, einen Lippenstift, einen Reiniger, ein Tonisierungsmittel, ein Sonnenschutzmittel, eine Maske, ein gegen Alterung wirkendes Produkt (Anti-Aging-Produkt), ein Deodorant, ein Antiperspirant, ein Parfüm, ein Eau de Cologne, usw.

**[0023]** „Topische Auftragung“ bedeutet, eine Zusammensetzung auf die Oberfläche von Lippen oder keratinösem Gewebe aufzutragen oder auszubreiten. „Topische Hautzusammensetzung“ schließt Zusammensetzungen ein, die für die topische Auftragung auf Haut und/oder keratinöses Gewebe geeignet sind. Derartige Zusammensetzungen sind typischerweise dermatologisch annehmbar, als dass sie keine ungeeignete Toxizität, Unverträglichkeit, Instabilität, allergische Reaktion und dergleichen aufweisen, wenn sie auf die Haut und/oder keratinöses Gewebe aufgetragen werden. Topische Hautpflegezusammensetzungen der vorliegenden Erfindung können eine ausgewählte Viskosität aufweisen, um signifikantes Tropfen oder Zusammenfließen („Pooling“) nach Auftragung auf die Haut und/oder das keratinöse Gewebe zu vermeiden.

**[0024]** „Keratinöses Gewebe“ schließt Keratin enthaltende Schichten ein, die als die äußerste Schutzschicht von Säugern angeordnet sind, wozu ohne Einschränkungen Lippen, Haut, Haar und Nägel gehören.

**[0025]** Der Begriff „etwa“ oder „ungefähr“ ist als nahe an einer Angabe liegend definiert, wie es ein Fachmann verstehen würde. In einer nicht-einschränkenden Ausführungsform sind die Begriffe als innerhalb von 10 %, vorzugsweise innerhalb von 5 %, bevorzugter innerhalb von 1 % und am meisten bevorzugt innerhalb von 0,5 % liegend definiert.

**[0026]** Der Begriff „im Wesentlichen“ und seine Varianten beziehen sich auf Bereiche innerhalb von 10 %, innerhalb von 5 %, innerhalb von 1 % oder innerhalb von 0,5 %.

**[0027]** Die Begriffe „Inhibieren“ oder „Reduzieren“ oder jegliche Variation dieser Begriffe schließt jede messbare Abnahme oder vollständige Inhibierung ein, um ein gewünschtes Ergebnis zu erreichen. Die Begriffe „Fördern“ oder „Erhöhen“ oder jede Variante dieser Begriffe können einen beliebigen messbaren Anstieg, wie einen messbaren Anstieg eines Proteins oder Moleküls einschließen (z. B. Matrixproteine, wie Fibronectin, Laminin, Kollagen oder Elastin, oder von Molekülen, wie Hyaluronsäure), um ein gewünschtes Ergebnis zu erreichen.

**[0028]** Der Begriff „wirksam“ oder „effektiv“ bedeutet in dem Sinne, wie der Begriff in der Beschreibung und/oder den Ansprüchen verwendet wird, angemessen, um ein gewünschtes, erwartetes oder geplantes Ergebnis zu erhalten.

**[0029]** Die Verwendung des Worts „ein“ oder „eine/eines/einer“ im Zusammenhang mit den Begriffen „umfassend“, „einschließend“, „aufweisend“ oder „enthaltend“ oder jeglicher Variante dieser Begriffe in den Ansprüchen und/oder der Beschreibung kann „ein (1)“ bedeuten, ist jedoch auch konsistent mit der Bedeutung von „einem oder mehreren“, „mindestens eins“ und „ein oder mehr als ein“.

**[0030]** Die Worte „umfassend“ (und jegliche Formen davon, wie „umfassen“, und „umfasst“), „aufweisend“ (und jegliche Form davon, wie „aufweisen“ oder „aufweist“), „einschließlich“ (und jegliche Form davon, wie „einschließen“ oder „einschließt“) oder „enthaltend“ (und jegliche Form davon, wie „enthalten“ und „enthält“) sind in dieser Beschreibung und den Ansprüchen einschließlich oder offen und schließen zusätzliche, nicht genannte Elemente oder Verfahrensschritte nicht aus.

**[0031]** Die Zusammensetzungen und Verfahren zu deren Verwendung können beliebige der in der Beschreibung offenbarten Bestandteile oder Stufen „umfassen“, „im Wesentlichen daraus bestehen“ oder „daraus bestehen“. In Bezug auf die Formulierung „im Wesentlichen bestehend aus“ wird erwartet, dass eine grundlegende und neue Eigenschaft der Zusammensetzungen und Verfahren der vorliegenden Erfindung die Fähigkeit zum Reduzieren dunkler Flecken, Altersflecken und/oder ungewollter Pigmentierung der Haut und/oder der Inhibierung der Aktivität von Tyrosinase und/oder PPAR- $\gamma$  in Haut sein wird. Andere Aufgaben, Merkmale und Vorteile der vorliegenden Erfindung ergeben sich aus der folgenden detaillierten Beschreibung. Es sei jedoch darauf hingewiesen, dass die detaillierte Beschreibung und die Beispiele, obgleich sie spezielle Ausführungsformen der Erfindung darstellen, nur zur Veranschaulichung gegeben werden. Es ist darüber hinaus vorgesehen, dass sich dem Fachmann aus dieser detaillierten Beschreibung Änderungen und Modifikationen innerhalb der Idee und des Umfangs der Erfindung ergeben.

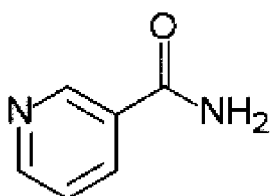
## BESCHREIBUNG BEISPIELHAFTER AUSFÜHRUNGSFORMEN

**[0032]** Die vorliegende Erfindung stellt, wie bereits gesagt, eine Lösung für die Probleme im Zusammenhang mit aktuellen kosmetischen Produkten bereit. Die Zusammensetzung schließt in einigen Ausführungsformen eine effektive Menge von einem beliebigen von, einer beliebigen Kombination von oder allen von Niacinamid, Ferulasäure, Tetrahexyldecylascorbat, Phytinsäure, Rosmarinus officinalis-Blattextrakt, Schinus terebinthifolius-Samenextrakt, Chondrus crispus-Extrakt, Saxifraga sarmentosa-Extrakt, Carica papaya (Papaya)-Fruchtextrakt, Psidium guajava-Fruchtextrakt und Undecylenoylphenylalanin ein, um dunkle Flecken, Altersflecken und/oder ungewollte Pigmentierung der Haut zu reduzieren und/oder die Aktivität von Tyrosinase und/oder PPAR- $\gamma$  zu inhibieren. Diese Kombination von Bestandteilen ist in bestimmten Aspekten effektiv zum Reduzieren des gesamten Melaninniveaus in der Haut. Diese Kombination ist in bestimmten Aspekten effektiv zum Reduzieren des gesamten Melaninniveaus in der Haut um mindestens 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 % oder mehr. Diese Kombination ist in bestimmten Aspekten effektiv, um das gesamte Melaninniveau bei dunkler Haut zu reduzieren. Diese Kombination ist in bestimmten Aspekten effektiv zum Reduzieren des gesamten Melaninniveaugehalts in dunkler Haut um mindestens 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 % oder mehr.

### A. Aktive Bestandteile

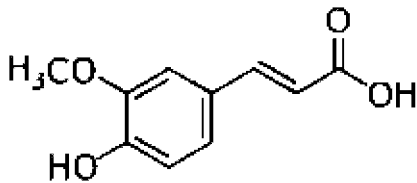
**[0033]** Die Kombination von Bestandteilen kann in unterschiedlichen Produktformen verwendet werden, um verschiedene Hautzustände zu behandeln. Die Kombination von Bestandteilen kann als nicht-einschränkende Beispiele zu einer Ampulle, einer Emulsion (z. B. Öl in Wasser, Wasser in Öl), einem Gel, einem Serum, einer Gelemulsion, einem Gelserum, einer Lotion, einer Maske, einem Peeling, einem Waschpräparat, einer Creme oder einer Körperbutter formuliert werden.

**[0034]** Niacinamid: 3-Pyridincarboxamid oder Vitamin B3, das auch als Nicotinamid bekannt ist, ist eine organische Verbindung, die bekanntermaßen hautkonditionierende Vorteile aufweist, wenn sie in Kosmetikzusammensetzungen genutzt wird. Niacinamid hat die folgende chemische Formel:



**[0035]** Es ist gefunden worden, dass Niacinamid verwendet werden kann, um zusätzliche Haufaufhellungsvorteile zu liefern und den Melanintransfer auf die Haut zu inhibieren. Dieser Bestandteil ist von verschiedenen Quellen kommerziell erhältlich.

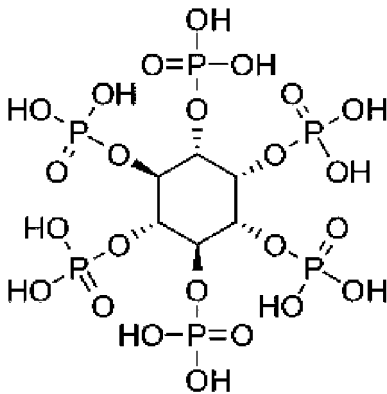
**[0036]** Ferulasäure: Ferulasäure, die auch als 4-Hydroxy-3-methoxyzimtsäure bekannt ist, ist eine organische Verbindung auf Pflanzenbasis, die Hautschutzzvorteile zeigt, wenn sie in Kosmetikzusammensetzungen verwendet wird. Ferulasäure hat die folgende chemische Formel:



**[0037]** Dieser Bestandteil ist von verschiedenen Quellen kommerziell erhältlich. Es ist gefunden worden, dass Ferulasäure als Bestandteil ein leistungsfähiges Antioxidans ist, das in der Lage ist, Lösungen der Vitamine C und E für topische Auftrugungen zu stabilisieren. Es ist gezeigt worden, dass synergistische Vorteile solcher Kombinationen die Haut vor Lichtalterung und Hautkrebs schützen, die durch Sonnenbestrahlung verursacht wird. Ferulasäure ist des Weiteren in der Lage, die Melaninproduktion in der Haut durch kompetitive Bindung an Tyrosinase zu inhibieren.

**[0038]** Tetrahexyldecylascorbat: Tetrahexyldecylascorbat, auch als Ascorbyltetraisopalmitat bekannt, ist ein Derivat von Vitamin C, das als Antioxidans und Hautkonditionierungsmittel fungieren kann. Tetrahexyldecylascorbat ist im Handel erhältlich und kann von Nikko unter der Handelsbezeichnung NIKKOL BV-OSC erhalten werden.

**[0039]** Phytinsäure: Phytinsäure, die auch als Inositolhexakisphosphat (IP6) oder Inositolpolyphosphat bekannt ist, ist ein pflanzenbasierter sechsfacher Dihydrogenphosphatester des nyo-Isomers von Inositol. Die Phosphate sind bei physiologischem pH-Wert teilweise ionisiert, was zu dem Phytat-Anion führt. Phytinsäure hat die folgende chemische Struktur:



**[0040]** Phytinsäure ist ein leistungsfähiges Antioxidans. Phytinsäure ist in der Lage, freie Radikale abzufangen, die zur Bildung vorzeitiger Fältchen und feiner Linien auf der Haut beitragen. Phytinsäure inhibiert auch die Melaninproduktion durch Chelatbildung mit Eisen und Kupfer, die zur Bildung von Melanin notwendig sind. Phytinsäure kann ungewollte Pigmentierung und dunkle Flecken der Haut im Zusammenhang mit Alterung und Einwirkung von UV-Licht reduzieren.

**[0041]** Rosmarinus officinalis-Blattextrakt: Rosmarinus officinalis-Blattextrakt ist ein Extrakt aus dem Blatt von Rosmarinus officinalis. Rosmarinus officinalis ist in der Mittelmeerregion beheimatet und ist ein holziges mehrjähriges Kraut mit duftenden, immergrünen, nadelartigen Blättern und weißen, rosa, violetten oder blauen Blüten. Es ist ein Busch, der bis 1,5 Meter hoch werden kann, mit Blättern, die etwa 2 bis 4 cm lang sind und grün (Oberseite) und weiß (Unterseite) gefärbt sind. Das Blatt kann einem Extraktionsprozess mit Eutektigenese unter Verwendung einer fließfähigen Extraktionsmischung unterzogen werden, die Betain oder hydratisiertes Betain, eine Donorverbindung für Wasserstoffbrückenbindungen (z. B. Polyole, organische Säuren, usw.) und Wasser umfasst. Der Blattanteil kann insbesondere zerkleinert oder mazeriert werden und dann der genannten eutektischen fließfähigen Extraktionsmischung ausgesetzt werden, um einen eutektischen Extrakt zu erhalten. Der eutektische Extrakt kann dann in den erfindungsgemäßen Zusammensetzungen verwendet werden. Der Donor der Wasserstoffbrückenbindung ist in einigen bevorzugten Fällen eine organische Säure, vorzugsweise Milchsäure. Eutektigenese nutzt eutektische Lösungsmittel, die Misch-



ungen von Verbindungen sind, die niedrigere Schmelzpunkte als jene ihrer Bestandteile für sich genommen aufweisen. Rosmarinus officinalis-Extrakt ist in einigen Fällen im Handel erhältlich. Rosmarinus officinalis-Extrakt kann in einigen Fällen ein Extrakt eines tiefen eutektischen Lösungsmittels sein, das Milchsäure, Betain und Wasser umfasst, erhältlich von Naturex (Frankreich) unter der Handelsbezeichnung ROSEMARY EUTECTYS® BLA.

**[0042]** Schinus terebinthifolius-Samenextrakt: Schinus terebinthifolius-Samenextrakt ist ein Extrakt aus den Samen einer Blütenpflanze aus der Familie der Anacardiaceae (Cashew), die primär im subtropischen und tropischen Südamerika zu finden ist. In einigen Fällen ist Schinus terebinthifolius-Samenextrakt im Handel erhältlich. Schinus terebinthifolius-Samenextrakt kann in einigen Fällen von Barnet Products Corporation unter der Handelsbezeichnung ADIPOLIN® erhalten werden. Extraktion mit überkritischem CO<sub>2</sub> kann in einem bevorzugten Fall verwendet werden, um den Schinus terebinthifolius-Samenextrakt zu erhalten. Extraktion mit überkritischem CO<sub>2</sub> kann Füllen einer Säule mit getrocknetem Pflanzenmaterial und Pumpen von überkritischem flüssigen Kohlendioxid durch die Säule mit sehr hohem Druck (200-400 Bar) und nachfolgendes Auffangen des resultierenden Extrakts einschließen.

**[0043]** Chondrus crispus-Extrakt: Chondrus crispus-Extrakt ist ein Extrakt der Rotalge Chondrus crispus. Chondrus crispus ist reich an Mineralien, insbesondere Iod und Schwefel. Chondrus crispus-Extrakt wird als Hautkonditionierungsmittel sowie als Viskositätsmodifizierungsmittel für topische Hautformulierungen verwendet. Chondrus crispus-Extrakt kann in einigen Fällen ein wässriger Extrakt sein, der von Biotech Marine (Seppic) unter der Handelsbezeichnung OLIGOGELINE® PF erhältlich ist.

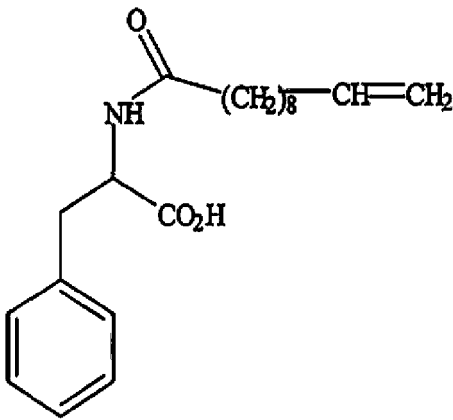
**[0044]** Saxifraga sarmentosa-Extrakt: Saxifraga sarmentosa-Extrakt ist ein Extrakt des blühenden rankenden Steinbrechkrauts, Saxifraga sarmentosa. Saxifraga sarmentosa-Extrakt fungiert bei Hautpflegeprodukten als Hautkonditionierungsmittel, antimikrobielles Mittel und Astringens. Es wird vorgeschlagen, dass Saxifraga sarmentosa-Extrakt hautaufhellende Eigenschaften hat.

**[0045]** Carica papaya (Papaya)-Fruchtextrakt: Carica papaya (Papaya)-Fruchtextrakt ist ein Extrakt der Frucht der Papaya, Carica papaya. Carica papaya (Papaya)-Fruchtextrakt ist ein Hautkonditionierungsmittel. Papaya enthält das proteolytische Enzym Papain, das Wunden schneller heilen lässt und das Wachstum von neuem Gewebe beschleunigt, wenn es auf die Haut aufgebracht wird.

**[0046]** Psidium guajava-Fruchtextrakt: Guave oder Psidium guajava ist ein immergrüner Baum oder Busch, der 1,82 bis 7,62 m hoch werden kann. Er produziert grüne Blätter, duftende weiße Blüten und birnenförmige Früchte. Die Guavefrucht ist reich an den Vitaminen A, B und C, an Tanninen, phenolischen Verbindungen und Flavonoiden. Psidium guajava-Fruchtextrakt wird als Hautkonditionierungsmittel und Astringens verwendet. Es wird auch vorgeschlagen, dass dieser Bestandteil antimikrobielle und Hautreparatureigenschaften hat.

**[0047]** In einigen Fällen wird ein Gemisch aus Saxifraga sarmentosa-Extrakt, Carica papaya (Papaya)-Fruchtextrakt und Psidium guajava -Fruchtextrakt verwendet, der von BASF Care Chemicals, Florham Park, New Jersey (USA), unter der Handelsbezeichnung DERMA WHITE® WF erhalten wird. Diese Hydroglykolfomulierung von Pflanzenextrakten wird gemischt mit Wasser, Glycerin und Butylenglykol angeboten. Diese Formulierung schließt des Weiteren Natriumsulfit und Natriummetabisulfit ein. Natriumsulfit und Natriummetabisulfit können möglicherweise ebenfalls die Melanogenese inhibieren. Siehe US 5,989,596.

**[0048]** Undecylenoylphenylalanin: Undecylenoylphenylalanin ist eine substituierte Aminosäure, die in der Lage ist, die Haut aufzuhellen. Undecylenoylphenylalanin hat die folgende Struktur:



**[0049]** Undecylenoylphenylalanin kann in einigen Fällen von Seppic unter der Handelsbezeichnung SEPIW-HITE® MSH erhalten werden.

**[0050]** Die hier beschriebenen Extrakte können Extrakte sein, die durch in der Technik bekannte Extraktionsverfahren und Kombinationen davon hergestellt worden sind. Nicht-einschränkende Beispiele für Extraktionsmethoden schließen die Verwendung von Flüssig-Flüssig-Extraktion, Festphasenextraktion, wässriger Extraktion, Ethylacetat, Alkohol, Aceton, Öl, überkritischem Kohlendioxid, tiefen eutektischen Lösungsmitteln, Wärme, Druck, Druckabfalleextraktion, Ultraschalleextraktion, usw. ein. Die Extrakte können eine Flüssigkeit, ein Feststoff, getrocknete Flüssigkeit, resuspendierter Feststoff, usw. sein.

#### B. Mengen der Bestandteile

**[0051]** Es ist vorgesehen, dass die erfindungsgemäßen Zusammensetzungen jegliche Menge der in dieser Beschreibung erörterten Bestandteile einschließen können. Die Zusammensetzungen können auch jegliche Anzahl an Kombinationen von zusätzlichen Bestandteilen einschließen, die in dieser Beschreibung beschrieben sind (z. B. Pigmente oder zusätzliche kosmetische oder pharmazeutische Bestandteile). Die Konzentration des beliebigen Bestandteils innerhalb der Zusammensetzungen kann variieren. Die Zusammensetzung kann in nicht-einschränkenden Ausführungsformen beispielsweise in fertiger Form mindestens etwa 0,0001 %, 0,0002 %, 0,0003 %, 0,0004 %, 0,0005 %, 0,0006 %, 0,0007 %, 0,0008 %, 0,0009 %, 0,0010 %, 0,0011 %, 0,0012 %, 0,0013 %, 0,0014 %, 0,0015 %, 0,0016 %, 0,0017 %, 0,0018 %, 0,0019 %, 0,0020 %, 0,0021 %, 0,0022 %, 0,0023 %, 0,0024 %, 0,0025 %, 0,0026 %, 0,0027 %, 0,0028 %, 0,0029 %, 0,0030 %, 0,0031 %, 0,0032 %, 0,0033 %, 0,0034 %, 0,0035 %, 0,0036 %, 0,0037 %, 0,0038 %, 0,0039 %, 0,0040 %, 0,0041 %, 0,0042 %, 0,0043 %, 0,0044 %, 0,0045 %, 0,0046 %, 0,0047 %, 0,0048 %, 0,0049 %, 0,0050 %, 0,0051 %, 0,0052 %, 0,0053 %, 0,0054 %, 0,0055 %, 0,0056 %, 0,0057 %, 0,0058 %, 0,0059 %, 0,0060 %, 0,0061 %, 0,0062 %, 0,0063 %, 0,0064 %, 0,0065 %, 0,0066 %, 0,0067 %, 0,0068 %, 0,0069 %, 0,0070 %, 0,0071 %, 0,0072 %, 0,0073 %, 0,0074 %, 0,0075 %, 0,0076 %, 0,0077 %, 0,0078 %, 0,0079 %, 0,0080 %, 0,0081 %, 0,0082 %, 0,0083 %, 0,0084 %, 0,0085 %, 0,0086 %, 0,0087 %, 0,0088 %, 0,0089 %, 0,0090 %, 0,0091 %, 0,0092 %, 0,0093 %, 0,0094 %, 0,0095 %, 0,0096 %, 0,0097 %, 0,0098 %, 0,0099 %, 0,0100 %, 0,0200 %, 0,0250 %, 0,0275 %, 0,0300 %, 0,0325 %, 0,0350 %, 0,0375 %, 0,0400 %, 0,0425 %, 0,0450 %, 0,0475 %, 0,0500 %, 0,0525 %, 0,0550 %, 0,0575 %, 0,0600 %, 0,0625 %, 0,0650 %, 0,0675 %, 0,0700 %, 0,0725 %, 0,0750 %, 0,0775 %, 0,0800 %, 0,0825 %, 0,0850 %, 0,0875 %, 0,0900 %, 0,0925 %, 0,0950 %, 0,0975 %, 0,1000 %, 0,1250 %, 0,1500 %, 0,1750 %, 0,2000 %, 0,2250 %, 0,2500 %, 0,2750 %, 0,3000 %, 0,3250 %, 0,3500 %, 0,3750 %, 0,4000 %, 0,4250 %, 0,4500 %, 0,4750 %, 0,5000 %, 0,5250 %, 0,5500 %, 0,5750 %, 0,6000 %, 0,6250 %, 0,6500 %, 0,6750 %, 0,7000 %, 0,7250 %, 0,7500 %, 0,7750 %, 0,8000 %, 0,8250 %, 0,8500 %, 0,8750 %, 0,9000 %, 0,9250 %, 0,9500 %, 0,9750 %, 1,0 %, 1,1 %, 1,2 %, 1,3 %, 1,4 %, 1,5 %, 1,6 %, 1,7 %, 1,8 %, 1,9 %, 2,0 %, 2,1 %, 2,2 %, 2,3 %, 2,4 %, 2,5 %, 2,6 %, 2,7 %, 2,8 %, 2,9 %, 3,0 %, 3,1 %, 3,2 %, 3,3 %, 3,4 %, 3,5 %, 3,6 %, 3,7 %, 3,8 %, 3,9 %, 4,0 %, 4,1 %, 4,2 %, 4,3 %, 4,4 %, 4,5 %, 4,6 %, 4,7 %, 4,8 %, 4,9 %, 5,0 %, 5,1 %, 5,2 %, 5,3 %, 5,4 %, 5,5 %, 5,6 %, 5,7 %, 5,8 %, 5,9 %, 6,0 %, 6,1 %, 6,2 %, 6,3 %, 6,4 %, 6,5 %, 6,6 %, 6,7 %, 6,8 %, 6,9 %, 7,0 %, 7,1 %, 7,2 %, 7,3 %, 7,4 %, 7,5 %, 7,6 %, 7,7 %, 7,8 %, 7,9 %, 8,0 %, 8,1 %, 8,2 %, 8,3 %, 8,4 %, 8,5 %, 8,6 %, 8,7 %, 8,8 %, 8,9 %, 9,0 %, 9,1 %, 9,2 %, 9,3 %, 9,4 %, 9,5 %, 9,6 %, 9,7 %, 9,8 %, 9,9 %, 10 %, 11 %, 12 %, 13 %, 14 %, 15 %, 16 %, 17 %, 18 %, 19 %, 20 %, 21 %, 22 %, 23 %, 24 %, 25 %, 26 %, 27 %, 28 %, 29 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 % oder 99 % oder jeden davon ableitbaren Bereich von mindestens einem der Bestandteile umfassen, im Wesentlichen daraus bestehen oder daraus bestehen, die in der Beschreibung und den Ansprüchen genannt sind. Der Prozentsatz kann in nicht-einschränkenden Aspekten

bezogen auf Gewicht oder Volumen der Gesamtzusammensetzung berechnet werden. Ein Fachmann würde verstehen, dass die Konzentrationen je nach Zugabe, Ersetzung und/oder Subtraktion der Bestandteile in einer gegebenen Zusammensetzungen variieren können.

#### C. Vehikel

**[0052]** Die Zusammensetzungen der vorliegenden Erfindung können in alle Arten von Vehikeln oder Trägern eingeschlossen oder eingebracht werden. Das Vehikel oder der Träger kann ein pharmazeutisch oder dermatologisch annehmbares Vehikel oder ein pharmazeutisch oder dermatologisch annehmbarer Träger sein. Zu nicht-einschränkenden Beispielen für Vehikel oder Träger gehören Wasser, Glycerin, Alkohol, Öl, eine Silicium enthaltende Verbindung, eine Silikonverbindung und Wachs. Variationen und sonstige geeignete Vehikel sind dem Fachmann offensichtlich und sind für die Verwendungen in der vorliegenden Erfindung geeignet. Die Konzentrationen und Kombinationen der Verbindungen, Bestandteile und Mittel können in bestimmten Aspekten so gewählt werden, dass die Kombinationen chemisch verträglich sind und keine Komplexe bilden, die aus dem fertigen Produkt ausfallen.

#### D. Struktur

**[0053]** Die Zusammensetzungen der vorliegenden Erfindung können in eine Palette unterschiedlicher Formen strukturiert oder formuliert werden. Nicht-einschränkende Beispiele schließen Emulsionen (z. B. Wasser-in-Öl, Wasser-in-Öl-in-Wasser, Öl-in-Wasser, Silikonin-Wasser, Wasser-in-Silikon, Öl-in-Wasser-in-Öl, Öl-in-Wasser-in-Silikon-Emulsionen), Cremes, Lotionen, Lösungen (sowohl wässrig als auch hydroalkoholisch), wasserfreie Grundlagen (wie Lippenstifte und Puder), Gele, Masken, Peelings, Körperbutterpräparate, abziehbare Präparate und Salben ein. Variationen und sonstige Strukturen sind dem Fachmann offensichtlich und sind für die Verwendungen in der vorliegenden Erfindung geeignet.

#### E. Zusätzliche Bestandteile

**[0054]** Zusätzlich zu der von den Erfindern offenbarten Kombination von Bestandteilen können die Zusammensetzungen auch zusätzliche Bestandteile einschließen, wie Kosmetikbestandteile und pharmazeutisch wirksame Bestandteile. Nicht-einschränkende Beispiele für diese zusätzlichen Bestandteile sind in den folgenden Unterabschnitten beschrieben.

##### 1. Kosmetikbestandteile

**[0055]** Das CTFA International Cosmetic Ingredient Dictionary and Handbook (2004 und 2008) beschreibt eine umfassende Palette nicht-einschränkender Kosmetikbestandteile, die im Kontext der vorliegenden Erfindung verwendet werden können. Beispiele für diese Bestandteilklassen schließen ein: Duftstoffmittel (synthetisch und natürlich, z. B. Gluconsäure, Phenoxyethanol und Triethanolamin), Farbstoffe und Farbbestandteile (z. B. Blue 1, Blue 1 Lake, Red 40, Titandioxid, D&C Blau Nr. 4, D&C Grün Nr. 5, D&C Orange Nr. 4, D&C Rot Nr. 17, D&C Rot Nr. 33, D&C Violett Nr. 2, D&C Gelb Nr. 10 und D&C Gelb Nr. 11), geschmackgebende Mittel/Aromamittel (z. B. Stevia rebaudiana (Honigkraut)-Extrakt und Menthol), Adsorbentien, Schmiermittel, Lösungsmittel, Befeuchtungsmittel (einschließlich z. B. Aufweichmitteln, Feuchthaltemitteln, Filmbildnern, Okklusionsmitteln und Mitteln, die die natürlichen Befeuchtungsmechanismen der Haut beeinflussen), Wasserabweisemittel, UV-Absorbentien (physikalische und chemische Absorbentien, wie para-Aminobenzoesäure („PABA“) und entsprechende PABA-Derivate, Titandioxid, Zinkoxid, usw.), etherische Öle, Vitamine (z. B. A, B, C, D, E und K), Spurenmetalle (z. B. Zink, Calcium und Selen), Reizlinderungsmittel (z. B. Steroide und nicht-steroidale Entzündungshemmer), botanische Extrakte (z. B. Aloe vera, Kamille, Gurkenextrakt, Ginkgo biloba, Ginseng und Rosmarin), antimikrobielle Mittel, Antioxidantien (z. B. BHT und Tokopherol), Chelatbildner (z. B. Dinatrium-EDTA und Tetranatrium-EDTA), Konservierungsmittel (z. B. Methylparaben und Propylparaben), pH-Werteinstellmittel (z. B. Natriumhydroxid und Citronensäure), Absorbentien (z. B. Aluminiumstärkeoctenylsuccinat, Kaolin, Maisstärke, Haferstärke, Cyclodextrin, Talkum und Zeolith), Hautbleich- und -aufhellungsmittel (z. B. Hydrochinon und Niacinamidlactat), Feuchthaltemittel (z. B. Sorbit, Harnstoff, Methylgluceth-20, Saccharidisomerat und Mannit), Schälmittel, wasserabweisend machende Mittel (z. B. Magnesium/Aluminiumhydroxidstearat), Hautkonditionierungsmittel (z. B. Aloe-Extrakte, Allantoin, Bisabolol, Ceramide, Dimethicon, Hyaluronsäure, Biosaccharidgum-1, Ethylhexylglycerin, Pentylenglykol, hydriertes Polydecen, Octyldodecyloleat, Gluconolacton, Calciumgluconat, Cyclohexasiloxan und Dikaliumglycyrrhizat). Nicht-einschränkende Beispiele für diese Bestandteile sind in den folgenden Unterabschnitten beschrieben.

## a. UV-Absorptions- und/oder -Reflexionsmittel

**[0056]** UV-Absorptionsmittel und/oder -Reflexionsmittel, die in Kombination mit den erfindungsgemäßen Zusammensetzungen verwendet werden können, schließen chemische und physikalische Sonnenblockierungsmittel (Sunblocker) ein. Nicht einschränkende Beispiele für chemische Sunblocker, die verwendet werden können, umfassen para-Aminobenzoesäure (PABA), PABA-Ester (Glyceryl-PABA, Amyldimethyl-PABA und Octyldimethyl-PABA), Butyl-PABA, Ethyl-PABA, Ethyldihydroxypropyl-PABA, Benzophenone (Oxybenzon, Sulisobenzon, Benzophenon und Benzophenon-1 bis 12), Cinnamate (Octylmethoxycinnamat (Octinoxat), Isoamyl-p-methoxycinnamat, Octylmethoxycinnamat, Cinoxat, Diisopropylmethylcinnamat, DEA-Methoxycinnamat, Ethyldiisopropylcinnamat, Glyceryloctanoatdimethoxycinnamat und Ethylmethoxycinnamat), Cinnamatester, Salicylate (Homomethylsalicylat, Benzylsalicylat, Glykolsalicylat, Isopropylbenzylsalicylat, usw.), Anthranilate, Ethylurocanat, Homosalat, Octisalat, Dibenzoylmethanderivate (z. B. Avobenzon), Octocrylen, Octyltriazon, Digalloyltriolate, Glycerylaminobenzoat, Lawson mit Dihydroxyaceton, Ethylhexyltriazon, Dioctylbutamidotriazon, Benzylidenmalonatpolysiloxan, Terephthalylidendikamphersulfonsäure, Dinatriumphenyldibenzimidazoltetrasulfonat, Diethylaminohydroxybenzoylhexylbenzoat, Bisdiethylaminohydroxybenzoylbenzoat, Bisbenzoxazolphenylethylhexyliminotriazin, Drometrisoltrisiloxan, Methylenbisbenzotriazolyltetramethylbutylphenol und Bisethylhexyloxyphenolmethoxyphenyltriazin, 4-Methylbenzylidenkampher und Isopentyl-4-methoxycinnamat. Nicht-einschränkende Beispiele für physikalische Sunblocker schließen Kaolin, Talkum, Petrolatum und Metalloxide (z. B. Titandioxid und Zinkoxid) ein.

## b. Befeuchtungsmittel

**[0057]** Nicht-einschränkende Beispiele für Befeuchtungsmittel, die mit den erfindungsgemäßen Zusammensetzungen verwendet werden können, umfassen Aminosäuren, Chondroitinsulfat, Diglycerin, Erythritol, Fructose, Glucose, Glycerin, Glycerinpolymere, Glykol, 1,2,6-Hexantriol, Honig, Hyaluronsäure, hydrierten Honig, hydriertes Stärkehydrolysat, Inosit, Lactit, Maltit, Maltose, Mannit, natürlichen Befeuchtungsfaktor, PEG-15-Butandiol, Polyglycerylsorbitol, Salze von Pyrrolidoncarbonsäure, Kalium-PCA, Propylenglykol, Saccharidomerat, Natriumglucuronat, Natrium-PCA, Sorbit, Sucrose, Trehalose, Harnstoff und Xylit.

**[0058]** Zu anderen Beispielen gehören acetyliertes Lanolin, acetylierter Lanolinalkohol, Alanin, Algenextrakt, Aloe barbadensis, Aloe barbadensis-Extrakt, Aloe barbadensis-Gel, Althea officinalis-Extrakt, Aprikosen (*Prunus armeniaca*)-Kernöl, Arginin, Argininaspartat, Arnica montana-Extrakt, Asparaginsäure, Avocado (*Persea gratissima*)-Öl, Barrieresphingolipide, Butylalkohol, Bienenwachs, Behenylalkohol, beta-Sitosterol, Birken (*Betula alba*)-Rindenextrakt, Borretsch (*Borago officinalis*)-Extrakt, stechender Mäusedorn (*Ruscus aculeatus*)-Extrakt, Butylenglykol, Calendula officinalis-Extrakt, Calendula officinalis-Öl, Candelilla (*Euphorbia cerifera*)-Wachs, Canolaöl, Capryl-/Caprintriglycerid, Kardamom (*Elettaria cardamomum*)-Öl, Carnauba (*Copernicia cerifera*)-Wachs, Karotten (*Daucus carota sativa*)-Öl, Castor (*Ricinus communis*)-Öl, Ceramide, Ceresin, Cetareth-5, Cetareth-12, Cetareth-20, Cetearylactanoat, Ceteth-20, Ceteth-24, Cetylacetat, Cetylactanoat, Cetylpalmitat, Kamillen (*Anthemis nobilis*)-Öl, Cholesterin, Cholesterinester, Cholesterylhydroxystearat, Citronensäure, Muskatellersalbei (*Salvia sclarea*)-Öl, Kakao (*Theobroma cacao*)-Butter, Cocaprylat/-caprat, Kokosnuss (*Cocos nucifera*)-Öl, Kollagen, Kollagenaminosäuren, Mais (*Zea mays*)-Öl, Fettsäuren, Decyloleat, Dimethiconcopolyol, Dimethiconol, Dioctyladipat, Dioctylsuccinat, Dipentaerythrylhexacaprylat/-hexacaprat, DNA, Erythrit, Ethoxydiglykol, Ethyllinoleat, Eucalyptus globulus-Öl, Nachtkerzen (*Oenothera biennis*)-Öl, Fettsäuren, Geranium maculatum-Öl, Glucosamin, Glucoseglutamat, Glutaminsäure, Glycereth-26, Glycerin, Glycerol, Glyceryldistearat, Glycerylhydroxystearat, Glyceryllaurat, Glyceryllinoleat, Glycerylmyristat, Glyceryloleat, Glycerylstearat, Glycerylstearat SE, Glycin, Glykolstearat, Glykolstearat SE, Glycosaminoglycane, Trauben (*Vitis vinifera*) Kernöl, Haselnuss (*Corylus americana*)-Öl, Haselnuss (*Corylus avellana*)-Öl, Hexylenglykol, Hyaluronsäure, Hybrid-Färberdistel (*Carthamus tinctorius*)-Öl, hydriertes Castoröl, hydrierte Kokosglyceride, hydriertes Kokosnussöl, hydriertes Lanolin, hydriertes Lecithin, hydriertes Palmglycerid, hydriertes Palmkernöl, hydriertes Sojabohnen, hydriertes Talgglycerid, hydriertes pflanzliches Öl, hydrolysiertes Kollagen, hydrolysiertes Elastin, hydrolysierte Glycosaminoglycane, hydrolysiertes Keratin, hydrolysiertes Sojaprotein, hydroxyliertes Lanolin, Hydroxyprolin, Isocetylstearat, Isocetylstearylstearat, Isodecylololeat, Isopropylisostearat, Isopropyllanolat, Isopropylmyristat, Isopropylpalmitat, Isopropylstearat, Isostearamid DEA, Isostearinsäure, Isostearyllactat, Isostearylneopentanoat, Jasmin (*Jasminum officinale*)-Öl, Jojoba (*Buxus chinensis*)-Öl, Kelp, Kukui (*Aleurites moluccana*)-Nussöl, Lactamid MEA, Laneth-16, Laneth-10-acetat, Lanolin, Lanolinsäure, Lanolinalkohol, Lanolinöl, Lanolinwachs, Lavendel (*Lavandula angustifolia*)-Öl, Lecithin, Zitronen (*Citrus medica limonum*)-Öl, Linolsäure, Linolensäure, Macadamia ternifolia-Nussöl, Maltit, Matricaria (*Chamomilla recutita*)-Öl, Methylglucosesesquisteerat, Methylsilanol PCA, Mineralöl, Nerzöl, Mortierellaöl, Myristyllactat, Myristylmyristat, Myristylpropionat, Neopentylglykoldicaprylat/-dicaprat, Octyldodecanol, Octyldodecylmyristat, Octyldodecylstearylstearat, Octylhydroxystearat,

Octylpalmitat, Octylsalicylat, Octylstearat, Ölsäure, Olive (*Olea europaea*)-Öl, Orangen (*Citrus aurantium dulcis*)-Öl, Palm (*Elaeis guineensis*)-Öl, Palmitinsäure, Pantethin, Panthenol, Panthenylethylether, Paraffin, PCA, Pfirsich (*Prunus persica*)-Kernöl, Erdnuss (*Arachis hypogaea*)-Öl, PEG-8 C<sub>12-18</sub>-Ester, PEG-15-Kokosamin, PEG-150-Distearat, PEG-60-Glycerylisostearat, PEG-5-Glycerylstearat, PEG-30-Glycerylstearat, PEG-7-hydriertes Castoröl, PEG-40-hydriertes Castoröl, PEG-60-hydriertes Castoröl, PEG-20-Methylglucosesesquisteat, PEG-40-Sorbitanperoleat, PEG-5-Sojasterol, PEG-10-Sojasterol, PEG-2-Stearat, PEG-8-Stearat, PEG-20-Stearat, PEG-32-Stearat, PEG-40-Stearat, PEG-50-Stearat, PEG-100-Stearat, PEG-150-Stearat, Pentadecalacton, Pfefferminz (*Mentha piperita*)-Öl, Vaseline, Phospholipide, Planktonextrakt, Polyaminozuckercondensat, Polyglyceryl-3-diisostearat, Polyquaternium-24, Polysorbat 20, Polysorbat 40, Polysorbat 60, Polysorbat 80, Polysorbat 85, Kaliummyristat, Kaliumpalmitat, Propylenglykol, Propylenglykoldicaprylat/-dicaprat, Propylenglykoldioctanoat, Propylenglykoldipelargonat, Propylenglykollaurat, Propylenglykolstearat, Propylenglykolstearat SE, PVP, Pyridoxindipalmitat, Retinol, Retinylpalmitat, Reis (*Oryza sativa*)-Kleieöl, RNA, Rosmarin (*Rosmarinus officinalis*)-Öl, Rosenöl, Färberdistel (*Carthamus tinctorius*)-Öl, Salbei (*Salvia officinalis*)-Öl, Sandelholz (*Santalum album*)-Öl, Serin, Serumprotein, Sesam (*Sesamum indicum*)-Öl, Shea-Butter (*Butyrospermum parkii*), Seidenpulver, Natriumchondroitinsulfat, Natriumhyaluronat, Natriumlactat, Natriumpalmitat, Natrium-PCA, Natriumpolyglutamat, lösliches Kollagen, Sorbitanlaurat, Sorbitanoleat, Sorbitanpalmitat, Sorbitansesquioleat, Sorbitansteat, Sorbit, Sojabohnen (*Glycine soja*)-Öl, Sphingolipide, Squalan, Squalen, Stearamid, MEA-Stearat, Stearinsäure, Stearoxymethicon, Stearoxymethylsilan, Stearylalkohol, Stearylglycyrrhetinat, Stearylheptanoat, Stearylstearat, Sonnenblumen (*Helianthus annuus*)-Samenöl, Süßmandel (*Prunus amygdalus dulcis*)-Öl, synthetisches Bienenwachs, Tocopherol, Tocopherylacetat, Tocopheryllinoleat, Triebenin, Tridecylneopentanoat, Tridecylstearat, Triethanolamin, Tristearin, Harnstoff, pflanzliches Öl, Wasser, Wachse, Weizen (*Triticum vulgare*)-Keimöl und Ylang ylang (*Cananga odorata*)-Öl.

#### c. Antioxidantien

**[0059]** Nicht einschränkende Beispiele für Antioxidantien, die mit den erfindungsgemäßen Zusammensetzungen verwendet werden können, umfassen Acetylcystein, Ascorbinsäurepolypeptid, Ascorbyldipalmitat, Ascorbylmethylsilanolpectinat, Ascorbylpalmitat, Ascorbylstearat, BHA, BHT, t-Butylhydrochinon, Cystein, CysteinHCl, Diamylhydrochinon, Di-t-butylhydrochinon, Dicetylthiodipropionat, Dioleyltocopherylmethylsilanol, Dinatriumascorbysulfat, Distearylthiodipropionat, Ditridecylthiodipropionat, Dodecylgallat, Erythorbinsäure, Ester von Ascorbinsäure, Ethylferulat, Ferulasäure, Gallsäureester, Hydrochinon, Isooctylthioglycolat, Kojisäure, Magnesiumascorbat, Magnesiumascorbilphosphat, Methylsilanolascorbat, natürliche botanische Antioxidantien, wie grüner Tee oder Traubenkernextrakte, Nordihydroguaiaretensäure, Octylgallat, Phenylthioglykolsäure, Kaliumascorbilphosphat, Kaliumsulfid, Propylgallat, Chinone, Rosmarinsäure, Natriumascorbat, Natriumbisulfid, Natriumerythorbat, Natriummetabisulfid, Natriumsulfid, Superoxiddismutase, Natriumthioglykolat, Sorbitylfurfural, Thiodiglykol, Thiodiglykolamid, Thiodiglykolsäure, Thioglykolsäure, Thiomilchsäure, Thiosalicylsäure, Tocophereth-5, Tocophereth-10, Tocophereth-12, Tocophereth-18, Tocophereth-50, Tocopherol, Tocophersolan, Tocopherylacetat, Tocopheryllinoleat, Tocopherylnicotinat, Tocopherylsuccinat und Tris(nonylphenyl)phosphit.

#### d. Strukturierungsmittel

**[0060]** Die Zusammensetzungen der vorliegenden Erfindung können in anderen nicht einschränkenden Aspekten ein Strukturierungsmittel einschließen. Strukturierungsmittel helfen in einigen Aspekten, der Zusammensetzung rheologische Charakteristika bereitzustellen, um zur Stabilität der Zusammensetzung beizutragen. Strukturierungsmittel können in anderen Aspekten auch als Emulgator oder Tensid fungieren. Nicht einschränkende Beispiele für Strukturierungsmittel umfassen Natriumcocoylglutamat, Hydroxypropylcyclodextrin, Stearinsäure, Palmitinsäure, Stearylalkohol, Cetylalkohol, Behenylalkohol, Stearinsäure, Palmitinsäure, den Polyethylenglykolether von Stearylalkohol mit durchschnittlich etwa 1 bis etwa 21 Ethylenoxideinheiten, den Polyethylenglykolether von Cetylalkohol mit durchschnittlich etwa 1 bis etwa 5 Ethylenoxideinheiten, sowie Mischungen davon.

#### e. Emulgatoren

**[0061]** Die Zusammensetzungen schließen in bestimmten Aspekten der vorliegenden Erfindung keinen Emulgator ein. Die Zusammensetzungen können in anderen Aspekten einen oder mehrere Emulgatoren einschließen. Emulgatoren können die Grenzflächenspannung zwischen Phasen reduzieren und die Formulierung und Stabilität einer Emulsion verbessern. Die Emulgatoren können nichtionische, kationische, anionische und zwitterionische Emulgatoren sein (siehe US-Patente Nr. 5,011,681; 4,421,769; 3,755,560). Nicht

einschränkende Beispiele schließen Ester von Glycerin, Ester von Propylenglykol, Fettsäureester von Polyethylenglykol, Fettsäureester von Polypropylenglykol, Ester von Sorbit, Ester von Sorbitanhydroxyden, Carbonsäurecopolymere, Ester und Ether von Glucose, ethoxylierte Ether, ethoxylierte Alkohole, Alkylphosphate, Polyoxyethylenfettetherphosphate, Fettsäureamide, Acyllactylate, Seifen, TEA-Stearat, DEA-Oleth-3-phosphat, Polyethylenglykol 20-Sorbitanmonolaurat (Polysorbat 20), Polyethylenglykol 5-Sojasterol, Steareth-2, Steareth-20, Steareth-21, Cetareth-20, Cetearylglucosid, Cetearylalkohol, C<sub>12-13</sub>-Pareth-3, PPG-2-Methylglucoseetherdistearat, PPG-5-Ceteth-20, Bis-PEG/PPG-20/20-dimethicon, Ceteth-10, Polysorbat 80, Cetylphosphat, Kaliumcetylphosphat, Diethanolamincetylphosphat, Polysorbat 60, Glycerylstearat, PEG-100-Stearat, Arachidylalkohol, Arachidylglucosid und Mischungen davon ein.

#### f. Silikonhaltige Verbindungen

**[0062]** In nicht einschränkenden Aspekten umfassen silikonhaltige Verbindungen jedes Mitglied einer Familie von polymeren Produkten, dessen molekulares Grundgerüst aus alternierenden Silicium- und Sauerstoffatomen zusammengesetzt ist, wobei Seitengruppen an die Siliciumatome gebunden sind. Durch Variieren der -Si-O-Kettenlängen, Seitengruppen und Vernetzung können Silikone in einer weiten Vielfalt von Materialien synthetisiert werden. In der Konsistenz können sie von Flüssigkeit über Gel bis Feststoffen variieren

**[0063]** Die Silikon enthaltenden Verbindungen, die im Kontext der vorliegenden Erfindung verwendet werden können, schließen diejenigen ein, die in dieser Beschreibung beschrieben sind oder einem Fachmann bekannt sind. Nicht-einschränkende Beispiele schließen Silikonöle (z. B. flüchtige und nichtflüchtige Öle), Gele und Feststoffe ein. Die silikonhaltigen Verbindungen umfassen in bestimmten Aspekten Silikonöle, wie ein Polyorganosiloxan. Nicht einschränkende Beispiele für Polyorganosiloxane umfassen Dimethicon, Cyclo-methicon, Cyclohexasiloxan, Polysilicon-11, Phenyltrimethicon, Trimethylsilylamodimethicon, Stearoxyltrimethylsilan oder Mischungen von diesen und anderen Organosiloxanmaterialien in beliebigem Verhältnis, um die gewünschten Konsistenz und Auftragungseigenschaften je nach vorgesehener Auftragung zu erhalten (z. B. für einen speziellen Bereich, wie Haut, Haar oder Augen). Ein „flüchtiges Silikonöl“ schließt ein Silikonöl mit einer niedrigen Verdampfungswärme ein, d. h. normalerweise weniger als 50 cal pro Gramm Silikonöl. Nicht-einschränkende Beispiele für flüchtige Silikonöle schließen ein: Cyclomethicone wie Dow Corning 344 Fluid, Dow Corning 345 Fluid, Dow Corning 244 Fluid und Dow Corning 245 Fluid, Volatile Silicon 7207 (Union Carbide Corp., Danbury, Conn., USA), niedrigviskose Dimethicone, d. h. Dimethicone mit einer Viskosität von etwa 50 cst oder weniger (z. B. Dimethicone wie Dow Corning 200-0,5 cst Fluid). Die Dow Corning Fluids sind von Dow Corning Corporation, Midland, Michigan, USA, erhältlich. Cyclomethicon und Dimethicon sind in der dritten Auflage des CTFA Cosmetic Ingredient Dictionary (durch Bezugnahme eingeschlossen) als cyclische Dimethylpolysiloxanverbindungen beziehungsweise eine Mischung aus vollständig methylierten linearen Siloxanpolymeren, endverblockt mit Trimethylsiloxeinheiten, beschrieben. Andere nicht einschränkende flüchtige Silikonöle, die im Kontext der vorliegenden Erfindung verwendet werden können, schließen jene ein, die von General Electric Co., Silicone Products Div., Waterford, N.Y., USA, und SWS Silicones Div. of Stauffer Chemical Co., Adrian, Michigan, USA, erhältlich sind.

#### g. Schälmittel

**[0064]** Schälmittel/Abschilferungsmittel schließen Bestandteile ein, die tote Hautzellen von der äußeren Oberfläche der Haut entfernen. Diese Mittel wirken durch mechanische, chemische und/oder sonstige Mittel. Nicht-einschränkende Beispiele für mechanische Schälmittel schließen Abrasiva ein, wie Bimsstein, Siliciumdioxid, Tuch, Papier, Schalen, Perlen, feste Kristalle, feste Polymere, usw. Nicht-einschränkende Beispiele für chemische Schälmittel schließen Säuren und Enzymschälmittel ein. Säuren, die als Schälmittel verwendet werden können, schließen Glykolsäure, Milchsäure, Citronensäure,  $\alpha$ -Hydroxysäuren, beta-Hydroxysäuren, usw. ein. Andere Schälmittel, die dem Fachmann bekannt sind, werden auch als brauchbar in dem Kontext der vorliegenden Erfindung angesehen.

#### h. Etherische Öle

**[0065]** Etherische Öle umfassen Öle, die von Kräutern, Blüten, Bäumen und anderen Pflanzen abgeleitet sind. Derartige Öle liegen typischerweise als winzige Tröpfchen zwischen den Zellen der Pflanze vor und können nach mehreren Methoden extrahiert werden, die Fachleuten bekannt sind (z. B. wasserdampfdestilliert, Enfleurage (d. h. Extraktion mittels Fett), Maceration, Lösungsmittelextraktion oder mechanisches Pressen). Wenn diese Öltypen der Luft ausgesetzt werden, neigen sie zum Verdampfen (d. h. ein flüchtiges Öl). Infolgedessen sind viele etherische Öle farblos, können mit zunehmendem Altern jedoch oxidieren und nachdunkeln. Etherische Öle sind in Wasser unlöslich und in Alkohol, Ether, Fettölen (pflanzlich) und anderen

organischen Lösungsmitteln löslich. Typische physikalische Charakteristika von etherischen Ölen beinhalten Siedepunkte, die von etwa 160° bis 240°C variieren, und Dichten im Bereich von 0,759 bis etwa 1,096.

**[0066]** Etherische Öle sind typischerweise nach der Pflanze benannt, in der das Öl gefunden wird. Rosenöl und Pfefferminzöl stammen beispielsweise von Rosen beziehungsweise Pfefferminzpflanzen. Nicht-einschränkende Beispiele für etherische Öle, die im Kontext der vorliegenden Erfindung verwendet werden können, umfassen Sesamöl, Macadamianussöl, Teebaumöl, Nachtkerzenöl, Spanisch-Salbeiöl, Spanisch-Rosmarinöl, Korianderöl, Thymianöl, Pimentöl, Rosenöl, Anisöl, Balsamöl, Bergamottenöl, Rosenholzöl, Zedernöl, Kamillenöl, Salbeiöl, Clary-Salbeiöl, Nelkenöl, Zypressenöl, Eukalyptusöl, Fenchelöl, Meeresfenchelöl, Weihrauchöl, Geranienöl, Ingweröl, Grapefruitöl, Jasminöl, Wachholderöl, Lavendelöl, Zitronenöl, Lemongrassöl, Limonenöl, Mandarinenöl, Majoranöl, Myrrhenöl, Neroliöl, Orangeöl, Patchouliöl, Pfefferöl, Schwarzpfefferöl, Petitgrainöl, Pinienöl, Rose-otto-Öl, Rosmarinöl, Sandelholzöl, Spearmintöl, Nardenöl, Vetiveröl, Wintergrünöl oder Ylang ylang. Andere etherische Öle, die Fachleuten bekannt sind, werden auch als brauchbar im Kontext der vorliegenden Erfindung angesehen.

#### i. Verdickungsmittel

**[0067]** Verdickungsmittel, einschließlich Verdicker oder Geliermittel, schließen Substanzen ein, die die Viskosität einer Zusammensetzung erhöhen können. Verdicker schließen jene ein, die die Viskosität einer Zusammensetzung erhöhen können, ohne die Wirksamkeit des aktiven Bestandteils in der Zusammensetzung wesentlich zu ändern. Verdicker können auch die Stabilität der erfindungsgemäßen Zusammensetzungen erhöhen. Verdicker schließen in bestimmten Aspekten der vorliegenden Erfindung hydriertes Polyisobuten, Trihydroxystearin, Ammoniumacryloyldimethyltaurat/VP-Copolymer oder eine Mischung von diesen ein.

**[0068]** Nicht-einschränkende Beispiele für zusätzliche Verdickungsmittel, die im Kontext der vorliegenden Erfindung verwendet werden können, umfassen Carbonsäurepolymere, vernetzte Polyacrylatpolymere, Polyacrylamidpolymere, Polysaccharide und Gummis. Beispiele für Carbonsäurepolymere umfassen vernetzte Verbindungen, die ein oder mehrere Monomere abgeleitet von Acrylsäure, substituierten Acrylsäuren und Salzen und Estern dieser Acrylsäuren und den substituierten Acrylsäuren enthalten, wobei das Vernetzungsmittel zwei oder mehr Kohlenstoff-Kohlenstoff-Doppelbindungen enthält und von einem mehrwertigen Alkohol abgeleitet ist (siehe US-Patente Nr.5,087,445; 4,509,949; 2,798,053; CTFA International Cosmetic Ingredient Dictionary, 4. Auflage, 1991, Seiten 12 und 80). Beispiele für im Handel erhältliche Carbonsäurepolymere schließen Carbomere ein, die Homopolymere von Acrylsäure vernetzt mit Allylethern von Sucrose oder Pentaerytritol sind (z. B. CARBOPOL™ 900 Reihen von B. F. Goodrich).

**[0069]** Nicht-einschränkende Beispiele für vernetzte Polyacrylatpolymere umfassen kationische und nichtionische Polymere. Beispiele sind in den US-Patenten Nr. 5,100,660; 4,849,484; 4,835,206; 4,628,078; 4,599,379 beschrieben.

**[0070]** Nicht einschränkende Beispiele für Polyacrylamidpolymere (einschließlich nichtionischer Polyacrylamidpolymere einschließlich substituierter verzweigter oder unverzweigter Polymere) umfassen Polyacrylamid, Isoparaffin und Laureth-7, Multiblockcopolymer von Acrylamiden und substituierten Acrylamiden mit Acrylsäuren und substituierten Acrylsäuren.

**[0071]** Nicht einschränkende Beispiele für Polysaccharide umfassen Cellulose, Carboxymethylhydroxyethylcellulose, Celluloseacetatpropionatcarboxylat, Hydroxyethylcellulose, Hydroxyethylethylcellulose, Hydroxypropylcellulose, Hydroxypropylmethylcellulose, Methylhydroxyethylcellulose, mikrokristalline Cellulose, Natriumcellulosesulfat und Mischungen davon. Ein weiteres Beispiel ist eine alkylsubstituierte Cellulose, wobei die Hydroxygruppen des Cellulosepolymers hydroxyliert sind (vorzugsweise hydroxyethyliert oder hydroxypropyliert), um eine hydroxyalkylierte Cellulose zu bilden, die dann mit einer C<sub>10</sub>- bis C<sub>30</sub>-geradkettigen Kette oder einer verzweigt-kettigen Alkylgruppe über eine Etherverknüpfung weiter modifiziert ist. Diese Polymere sind typischerweise Ether von geradkettigen oder verzweigt-kettigen C<sub>10</sub>- bis C<sub>30</sub>-Alkoholen mit Hydroxyalkylcellulosen. Andere brauchbare Polysaccharide schließen Scleroglucane ein, die eine lineare Kette aus (1-3)-verknüpften Glucoseeinheiten mit einer (1-6)-verknüpften Glucoseeinheit auf jeweils drei Einheiten umfassen.

**[0072]** Nicht einschränkende Beispiele für Gummis/Pflanzenschleime, die mit der vorliegenden Erfindung verwendet werden können, schließen Akaziengummi, Agar, Algin, Alginsäure, Ammoniumalginat, Amylopectin, Calciumalginat, Calciumkarrageen, Carnitin, Karrageen, Dextrin, Gelatine, Gellangummi, Guar gummi, Guarhydroxypropyltrimoniumchlorid, Hectorit, Hyaluronsäure, hydratisiertes Siliciumdioxid, Hydroxypropylchi-

tosan, Hydroxypropylguar, Karayagummi, Kelp, Johannisbrotmehl, Nattogummi, Kaliumalginat, Kaliumkarra-geen, Propylenglykolalginat, Sclerotium-Gummi, Natriumcarboxymethyl-dextran, Natriumkarrageen, Trag-akanthgummi, Xanthangummi und Mischungen davon ein.

#### j. Konservierungsmittel

**[0073]** Nicht-einschränkende Beispiele für Konservierungsmittel, die im Kontext der vorliegenden Erfindung verwendet werden können, schließen quaternäre Ammoniumkonservierungsmittel, wie Polyquaternium-1 und Benzalkoniumhalogenide (z. B. Benzalkoniumchlorid („BAC“) und Benzalkoniumbromid), Parabene (z. B. Methylparabene und Propylparabene), Phenoxyethanol, Benzylalkohol, Chlorbutanol, Phenol, Sorbin-säure, Thimerosal oder Kombinationen davon ein.

#### 2. Pharmazeutische Bestandteile

**[0074]** Pharmazeutische aktive Bestandteile werden auch als brauchbar mit den Zusammensetzungen der vorliegenden Erfindung angesehen. Nicht einschränkende Beispiele für pharmazeutische aktive Bestandteile umfassen Antiaknemittel, Mittel, die zur Behandlung von Rosazea eingesetzt werden, Analgetika, Anästhe-tika, Anorektalmittel, Antihistamine, Entzündungshemmer einschließlich nichtsteroidaler Entzündungshem-mer, Antibiotika, Antipilzmittel, antivirale Mittel, antimikrobielle Mittel, Antikrebswirkstoffe, gegen Krätze wir-kende Mittel, gegen Läuse wirkende Mittel, Antineoplastika, Antiperspirantien, Antiprurika, Antipsoriasis-mittel, Antiseborrhoika, biologisch aktive Proteine und Peptide, Verbrennungsbehandlungsmittel, Kauterisierungsmittel, Depigmentierungsmittel, Enthaarungsmittel, Mittel gegen Windelausschlag, Enzyme, Haarwachstumsstimulantien, Haarwachstumsverzögerungsmittel einschließlich DFMO und deren Salzen und Analoga, Hämostatika, Kerotolytika, Krebsgeschwürbehandlungsmittel, Fieberbläschenbehandlungsmit-tel, Dental- und Periodontalbehandlungsmittel, photosensibilisierende Wirkstoffe, Hautschutzmittel/Barriere-mittel, Steroide einschließlich Hormonen und Kortikosteroiden, Mittel zur Behandlung von Sonnenbrand, Son-nenschutzmittel, Transdermalwirkstoffe, Nasalwirkstoffe, Vaginalwirkstoffe, Warzenbehandlungsmittel, Wundbehandlungsmittel, Wundheilungsmittel, usw.

#### F. Kits

**[0075]** Kits können auch in bestimmten Aspekten der vorliegenden Erfindung genutzt werden. Erfindungsge-mäße Zusammensetzungen können beispielsweise in ein Kit eingeschlossen werden. Ein Kit kann einen Behälter einschließen. Behälter können ein Fläschchen, eine Metalltube, eine Laminattube, eine Plastiktube, einen Spender, einen Druckbehälter, einen Barrierebehälter, ein Paket, ein Fach, einen Lippenstiftbehälter, einen Kompaktbehälter, Kosmetikpfännchen, die Kosmetikzusammensetzungen enthalten können, oder andere Behältertypen einschließen, wie spritz- oder blasgeformte Plastikbehälter, in denen die Dispersionen oder Zusammensetzungen oder gewünschten Fläschchen, Spender oder Packungen aufbewahrt werden. Das Kit und/oder der Behälter kann Zeichen auf seiner Oberfläche aufweisen. Die Zeichen können beispie-lsweise ein Wort, ein Satz, eine Abkürzung, ein Bild oder ein Symbol sein.

**[0076]** Die Behälter können eine festgelegte Menge der Zusammensetzung abgeben. In anderen Ausführ-ungsformen lässt sich der Behälter zusammendrücken (z. B. Metall-, Laminat- oder Kunststofftube), um eine gewünschte Menge der Zusammensetzung abzugeben. Die Zusammensetzung kann als Spray, Aero-sol, Flüssigkeit, Fluid oder halbfestes Material abgegeben werden. Die Behälter können Spray-, Pump- oder Quetschmechanismen aufweisen. Ein Kit kann auch Anweisungen zur Verwendung der Kitkomponenten sowie der Verwendung jedweder anderen Zusammensetzungen einschließen, die in dem Behälter enthalten sind. Anweisungen können eine Erläuterung der Anwendung und Behandlung der Zusammensetzungen ein-schließen.

#### BEISPIELE

**[0077]** Die folgenden Beispiele sind eingeschlossen, um bevorzugte Ausführungsformen der Erfindung zu demonstrieren. Fachleute sollten erkennen, dass die in den folgenden Beispielen offenbarten Techniken von dem Erfinder gefundene Techniken repräsentieren, die in der Praxis der Erfindung gut funktionieren und somit als bevorzugte Modi für deren Durchführung darstellend angesehen werden können. Fachleute sollten im Lichte der vorliegenden Offenbarung jedoch erkennen können, dass viele Änderungen an den konkreten offenbarten Ausführungsformen vorgenommen werden können und dennoch ein ähnliches oder vergleichba-res Ergebnis erhalten werden kann, ohne von der Idee und dem Umfang der Erfindung abzuweichen.



**[0078]** Alle hier offenbaren und beanspruchten Zusammensetzungen und Verfahren können ohne unnötigen experimentellen Aufwand im Lichte der vorliegenden Offenbarung umgesetzt und ausgeführt werden. Obwohl die Zusammensetzungen und Verfahren dieser Erfindung in Bezug auf bevorzugte Ausführungsformen beschrieben wurden, wird dem Fachmann klar sein, dass in Bezug auf Zusammensetzungen und Verfahren sowie in den Stufen oder der Abfolge der Stufen des hier beschriebenen Verfahrens Variationen angewendet werden können, ohne vom Konzept, der Idee und dem Umfang der Erfindung abzuweichen. Es ist spezieller offensichtlich, dass bestimmte Mittel, die sowohl chemisch als auch physiologisch verwandt sind, die hier beschriebenen Mittel ersetzen können, während dieselben oder ähnliche Ergebnisse erhalten werden. Alle derartigen ähnlichen Ersatzstoffe und Modifikationen, die dem Fachmann offensichtlich sind, werden als innerhalb der Idee, des Umfangs und Konzepts der Erfindung wie in den angefügten Ansprüchen definiert angesehen.

#### Beispiel 1

(Beispielhafte Formulierungen)

**[0079]** Formulierungen mit den hier offenbaren Bestandteilen wurden als topische Hautzusammensetzungen zubereitet. Die topischen Hautzusammensetzungen können in einigen Fällen als Ampulle, Serum, Creme, Emulsion, Gel oder Gelemulsion hergestellt werden. Die Formulierung in Tabelle 1 ist ein Beispiel für eine topische Hautzusammensetzung.

TABELLE 1 ^

Bestandteil	% Konzentration (nach Gewicht)
Niacinamid	3
Ferulasäure	0,3
Tetrahexyldecylascorbat	2
Phytinsäure	0,5
<i>Rosmarinus officinalis</i> -Blattextrakt	2
<i>Schinus terebinthifolius</i> -Samenextrakt	0,5
<i>Chondrus crispus</i> -Extrakt	1
<i>Saxifraga sarmentosa</i> -Extrakt und <i>Carica papaya</i> (Papaya)-Fruchtextrakt und <i>Psidium guajava</i> -Fruchtextrakt*	2
Undecylenoylphenylalanin	2
Hilfsstoffe**	q.s.

^ Die Formulierung kann hergestellt werden, indem die Bestandteile in einem Becherglas unter Erwärmen auf 70-75°C gemischt werden, bis sie homogen sind. Die Formulierung kann anschließend auf Raumtemperatur abgekühlt werden (20-25°C). Ferner und gewünschtenfalls können weitere Bestandteile zugefügt werden, um beispielsweise die rheologischen Eigenschaften der Zusammensetzung zu modifizieren, oder Bestandteile, die der Haut Vorteile bieten.

\* Diese Kombination von Extrakten kann auch Natriumsulfit und Natriumbisulfit enthalten.

\*\* Es können beispielsweise zur Modifizierung der rheologischen Eigenschaften der Zusammensetzung Hilfsstoffe zugefügt werden. Alternativ kann die Wassermenge variiert werden.

**[0080]** Die Formulierung in Tabelle 2 ist ein Beispiel für eine topische Hautzusammensetzung.

TABELLE 2

Bestandteil	% Konzentration (nach Gewicht)
Dimethylisoborbid	6
Dimethicon	5
Pentylenglykol	4
Niacinamid	3

Bestandteil	% Konzentration (nach Gewicht)
Glycerin	2,4
Siliciumdioxid	2
Ammoniumacryloyldimethyltaurat/VP-Copolymer	1,5
Milchsäure	0,8
Betain	0,7
Kaliumhydroxid	0,6
Phenoxyethanol	0,5
Acrylate/C <sub>10-30</sub> -Alkylacrylat-Kreuzpolymer	0,3
Polysorbat 20	0,3
Caprylylglykol	0,1
Dinatrium-EDTA	0,1
Pflanzliche Aminosäuren	0,1
Xanthangummi	0,1
Decylenglykol	0,08
Citronensäure	0,05
1,2-Hexandiol	0,04
Ethylhexylglycerin	0,04
Hexylenglykol	0,04
<i>Rosmarinus officinalis</i> -Blattextrakt	0,04
Hilfsstoffe*	q.s.

^ Die Formulierung kann hergestellt werden, indem die Bestandteile in einem Becherglas unter Erwärmen auf 70-75°C gemischt werden, bis sie homogen sind. Die Formulierung kann anschließend auf Raumtemperatur abgekühlt werden (20-25°C). Ferner und gewünschtenfalls können weitere Bestandteile zugefügt werden, um beispielsweise die rheologischen Eigenschaften der Zusammensetzung zu modifizieren, oder Bestandteile, die der Haut Vorteile bieten.

\* Es können beispielsweise zur Modifizierung der rheologischen Eigenschaften der Zusammensetzung Hilfsstoffe zugefügt werden. Alternativ kann die Wassermenge variiert werden.

#### Beispiel 2

(Verwendete Materialien)

[0081] Die aktiven Bestandteile in Tabelle 3 wurden verwendet, um die Formulierung der Tabellen 1 und 2 herzustellen.

TABELLE 3

Bestandteil
Niacinamid, erhalten von DSM
Ferulasäure, erhalten von Kinetic
Tetrahexyldecylascorbate, erhalten von Nikko unter der Handelsbezeichnung NIKKOL® BV-OSC
Phytinsäure, erhalten von Biosil
<i>Rosmarinus officinalis</i> -Blattextrakt, erhalten von Naturex unter der Handelsbezeichnung ROSEMARY EUTECTYS® BLA
<i>Schinus terebinthifolius</i> -Samenextrakt, erhalten von Barnet unter der Handelsbezeichnung ADIPOLIN®

Bestandteil
<i>Chondrus crispus</i> -Extrakt, erhalten von Marine Biotech unter der Handelsbezeichnung OLIGOGE LINE® PF
<i>Saxifraga sarmentosa</i> -Extract und <i>Carica papaya</i> (Papaya)-Fruchtextrakt, <i>Psidium guajava</i> -Fruchtextrakt, Natriumsulfit und Natriumbisulfit, erhalten von BASF unter der Handelsbezeichnung DERMAWHITE® WF
<i>Pfaffia Paniculata</i> -Wurzelextrakt, <i>Ptychopetalum Olacoides</i> -Rinde/Stammextrakt und <i>Trichilia Catigua</i> -Extrakt, erhalten von Chemyunion unter der Handelsbezeichnung SLIMBUSTER H3R
Undecylenoylphenylalanin, erhalten von Seppic unter der Handelsbezeichnung SEPIWHITE® MSH

## Beispiel 3

(In-Vitro-Assays auf Melaninniveau)

**[0082]** Es wurde eine Formulierung, welche die Bestandteile in Tabelle 1 enthielt, zum Bestimmen des Gesamten Melaninniveaus verwendet.

**[0083]** Assay zum gesamten Melaninniveau: Dieser Bioassay wurde verwendet, um den Effekt von Verbindungen auf die Melanogenese zu analysieren. Die topische Auftragung der Kombination von Verbindungen der Tabelle 1 auf Haut reduziert die Melaninproduktion und makroskopisches Dunklerwerden im Vergleich zu unbehandelten Kontrollen signifikant. Der Endpunkt dieses Assays war eine spektrophotometrische Messung der Melaninproduktion und zellulären Lebensfähigkeit von Gewebekonstrukten, die von Spendern abgeleitet waren.

**[0084]** Die Hautaufhellungswirksamkeit der Formulierung der Tabelle 1 wurde unter Verwendung eines Hautanalogons beurteilt, das von MatTek Corp. unter der Handelsbezeichnung MELANODERM™ angeboten wurde. Es wurden Gewebekonstrukte verwendet, die von Spendern mit schwarzem Teint abgeleitet waren (MELANODERM™ MEL-300B). Gewebekonstrukte, die von Personen mit schwarzem Teint abgeleitet waren, haben Melanozyten mit erhöhter Pigmentierung, verglichen mit den Melanozyten von Leuten mit weißem oder braunem Teint. MEL-300B-Gewebeeinsätze wurden in den Wells von 12-Well-Platten platziert, die mit Erhaltmedium gefüllt und vorab über Nacht in einem angefeuchteten Inkubator mit 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub> äquilibriert wurden, bevor die Behandlung aufgetragen wurde. Nach dem Entfernen des Mediums zur Voräquilibrierung wurden 25 µl der Formulierung von Tabelle 1 direkt auf das MEL-300B Stratum corneum aufgebracht, indem sie mit einer Direktverdrängerpipette in den Zellkultureinsatz pipettiert wurde, der die MEL-300B Gewebeeinsätze enthält. Die Behandlungen erfolgten in Dreierreihen. 25 µl 2 % Kojisäure (KA)-Lösung und 25 µl 0,4 % Hydrochinon (HQ)-Lösung wurden als Positivkontrollen verwendet, und 25 µl steriles ultrareines Wasser diente als Negativkontrolle.

**[0085]** Die MEL-300B Gewebeeinsätze wurden 10 aufeinander folgende Tage lang an jedem zweiten Tag behandelt. Das Erhaltmedium wurde jeden zweiten Tag durch frisches Medium ersetzt. Die MEL-300B Gewebeeinsätze wurden nach der Behandlung 10 Minuten in phosphatgepufferte Kochsalzlösung (PBS) getaucht, um jegliches verbleibende Phenolrot und Testartikel von dem Gewebe zu entfernen. Nachdem die MEL-300B Gewebeeinsätze abgespült worden waren, wurde die Lebensfähigkeit an einem der Gewebe unter Verwendung des MTT-Lebensfähigkeits-Assays gemessen (MTT Kit Artikelnummer: MTT-100).

**[0086]** Der relative Melaningehalt wurde unter Verwendung des Assays für lösbares Melanin gemessen. Die Gewebe wurden, kurz gesagt, mit feinen Pinzetten von den Einsätzen entfernt. Jedes Gewebe wurde trockengetupft und in einem 1,7 ml Mikrozentrifugenröhrchen platziert. 500 µl SOLVABLE™ (Gewebe (Tissue) und Gel Solubilizer 0,5 M-Packard Bio-Science Co. Katalog Nr.6NE9100) wurden zu jedem Röhrchen gegeben, so dass jedes Gewebe vollständig eingetaucht war. Die Röhrchen wurden geschlossen und in einem Wasserbad 2 Stunden lang inkubiert. Die Proben wurden vortexiert, bis die Membranen vollständig gelöst waren. Nach dem Abkühlen wurden 200 µl der Probe in jedes Well einer 96 Well-Platte pipettiert. Die Extinktion der Platte wurde bei 490 nm abgelesen.

**[0087]** Die folgende Tabelle 4 zeigt die Extinktionswerte für die unbehandelte Kontrolle, verglichen mit der 2 % Kojisäurelösung, 0,4 % Hydrochinon und der Formulierung von Tabelle 1. Die Behandlung des MEL-300B Gewebes mit der Formulierung der Tabelle 1 reduzierte das Gesamtmelaninniveau in dem MEL-300B Gewebekonstrukt um 31,93 %, verglichen mit der unbehandelten Kontrolle. Es wurde zudem gezeigt, dass die For-

mulierung von Tabelle 1 genauso effektiv wie Kojisäure war, ein bekannter Inhibitor der Melanogenese. Die Formulierung von Tabelle 1 war schließlich effektiv für dunkle Haut, im Unterschied zu der Hydrochinonbehandlung, von der gezeigt wurde, dass verglichen mit der unbehandelten Kontrolle Melanin erhöht wurde.

TABELLE 4

Testlösung	Extinktion
Unbehandelt	0,927
Kojisäure	0,629
Hydrochinon	1,222
Formulierung von Tabelle 1	0,631

**[0088]** In einem verwandten Test wurde eine Kombination von *Pfaffia paniculata*-Wurzelextrakt, *Ptychopetalum olacoides*-Rinde/Stammextrakt und *Trichilia catigua*-Extrakt unter Verwendung des MELANODERM™-Systems bewertet. Eine netto 0,05 Gew.%ige Lösung dieser Bestandteile lieferte eine Reduktion des gesamten Melaninniveaus von 17 %.

## Beispiel 5

(In- Vitro-Assays für PPAR- $\gamma$ -Antagonismus)

**[0089]** Rosmarinus officinalis-Blattextrakt, erhalten von Naturex unter der Handelsbezeichnung ROSEMARY EUTECTYS® BLA, das in Tabelle 2 aufgeführt ist, wurde zur Bestimmung des PPAR- $\gamma$ -Antagonismus verwendet.

**[0090]** PPAR- $\gamma$ -Antagonist-Assay (NHR-Assay): PPAR- $\gamma$  ist ein Rezeptor, der für die Produktion von Melanin entscheidend ist. Die Aktivität von PPAR- $\gamma$  wurde unter Verwendung eines nukleären Hormonrezeptor-Assays (NHR) im Antagonistenmodus durchgeführt, der die Fähigkeit von Rosmarinus officinalis-Blattextrakt, erhalten von Naturex unter der Handelsbezeichnung ROSEMARY EUTECTYS® BLA, zum Inhibieren der Bindung eines Liganden an PPAR- $\gamma$  analysierte. Kurz gesagt wurde der PATHHUNTER® NHR Protein-Interaktions (Pro)-Assay zur Überwachung der Aktivierung von PPAR- $\gamma$  in einem homogenen Assay-Format ohne Bildgebung unter Verwendung von Enzymfragmentkomplementierung (EFC) verwendet. Der NHR Pro-Assay basiert auf der Detektierung von Protein-Protein-Interaktionen zwischen einem aktivierten NHR-Protein in voller Länge und einem nukleären Fusionsprotein, das Steroidrezeptor-Coaktivator-Peptid (SRCP)-Domänen mit einem oder mehreren anerkannten Interaktionsmotiven enthielt. Der NHR wurde mit der PROLINK™ Komponente des EFC-Assaysystems getaggt (markiert), und die SRCP-Domäne wurde mit der Enzymakzeptorkomponente (EA) fusioniert, die in dem Zellkern exprimiert wurde. Der NHR migriert, wenn er durch Ligand gebunden ist, zu dem Zellkern und geht an die SRCP-Domäne, wodurch eine Einheit aktive (3-Galactosidase ((3-Gal) generiert und ein chemilumineszentes Signal produziert wird.

**[0091]** PathHunter NHR-Zelllinien wurden aus gefrorenem Vorratsmaterial nach Standardverfahren expandiert. Die Zellen wurden in einem Gesamtvolumen von 20  $\mu$ L in weißwandige 384-Well-Mikroplatten geimpft und die passende Zeit bei 37°C inkubiert, bevor getestet wurde. Assaymedien enthielten Kohle-Dextran-filtriertes Serum, um die vorhandenen Hormonniveaus zu reduzieren. Die Zellen wurden zur Antagonistbestimmung vorab mit Antagonist inkubiert, gefolgt von einer Provokation mit Agonist bei der Konzentration EC80. Die Zwischenverdünnung von Probenvorratsmaterialien wurde durchgeführt, um 5X Probe in Assaypuffer zu erzeugen. 5  $\mu$ L 5X-Probe wurden zu Zellen gegeben und 60 Minuten bei 37°C oder Raumtemperatur inkubiert. Die Vehikelkonzentration betrug 1 %. 5  $\mu$ L 6X-EC80-Agonist in Assaypuffer wurden zu den Zellen gegeben und 3 bis 16 Stunden bei 37°C oder Raumtemperatur inkubiert. Assaysignal wurde durch eine einzige Zugabe von 12,5 oder 15  $\mu$ L (50 % Vol/Vol) des PathHunter Detektierungsreagenzcocktail erzeugt, gefolgt von einer Stunde Inkubierung bei Raumtemperatur. Mikroplatten wurden nach der Signalerzeugung mit einem PerkinElmer ENVISION™ Instrument zur Detektierung von Chemilumineszenzsignalen abgelesen. Die Aktivität der Verbindung wurde unter Verwendung der CBIS Datenanalysesuite (ChemInnovation, CA, USA) analysiert. Die prozentuale Inhibierung wurde unter Verwendung der folgenden Formeln berechnet: Prozent (%) Inhibierung = 100 % x (1 - (mittleres Signal der Testprobe - mittleres Signal der Vehikelkontrolle) / (mittleres Signal der EC80-Kontrolle - mittleres Signal der Vehikelkontrolle)).

**[0092]** Prozent (%) Inhibierung von PPAR- $\gamma$  war 28,1 % bei 0,1  $\mu$ M ROSEMARY EUTECTYS® BLA und 105,9 % bei 1  $\mu$ M ROSEMARY EUTECTYS® BLA. Siehe Tabelle 5.

TABELLE 5

Testlösung	% PPAR- $\gamma$ -Inhibierung
0,1 $\mu$ M ROSEMARY EUTECTYS® BLA	28,1
1 $\mu$ M ROSEMARY EUTECTYS® BLA	105,9

## Beispiel 6

## B16-Pigmentierungs-Assay

**[0093]** Melanogenese ist der Prozess, nach dem Melanozyten Melanin produzieren, ein natürlich produziertes Pigment, das Haut, Haar und Augen Farbe verleiht. Das Inhibieren der Melanogenese ist vorteilhaft, um das Dunklerwerden der Haut zu verhindern und dunkle Stellen aufzuhellen, die mit dem Alterungsprozess zusammenhängen. Dieser Bioassay kann B16-F1-Melanozyten (ATCC), eine immortalisierte Maus-Melanom-Zelllinie, nutzen, um die Wirkung von Verbindungen auf die Melanogenese zu analysieren. Der Endpunkt dieses Assays kann eine spektrophotometrische Messung der Melaninproduktion und zellulären Lebensfähigkeit sein. B16-F1-Melanozyten wurden in Standard-DMEM-Wachstumsmedium mit 10 % fötalem bovinem Serum (Mediatech) bei 37°C in 10 % CO<sub>2</sub> kultiviert und dann 6 Tage lang mit Lösungen behandelt, die aktive Bestandteile der Formulierung der obigen Tabelle 1 enthielten. Die Melaninsekretion wurde nach der Inkubation durch Extinktion bei 405 nm gemessen. In einem verwandten Test lieferte eine netto 0,3-Gew.-%ige Lösung von einer Kombination von Pfaffia paniculata-Wurzelextrakt, Ptychopetalum olacoides-Rinde/-Stammextrakt und Trichilia catigua-Extrakt eine 42 % Reduktion der Pigmentierung, was einer signifikanten Reduktion der Melanogenese entspricht.

## Beispiel 7

## (Zusätzliche Assays)

**[0094]** Assays, die verwendet werden können, um die Wirksamkeit von beliebigen der Bestandteile oder beliebiger Kombination von Bestandteilen oder Zusammensetzungen mit der Kombination von Bestandteilen zu bestimmen, die in der Beschreibung und den Ansprüchen offenbart sind, können nach Verfahren ermittelt werden, die Fachleuten bekannt sind. Anschließend werden nicht-einschränkende Assays beschrieben, die im Kontext der vorliegenden Erfindung verwendet werden können. Es ist zu erkennen, dass andere Testverfahren verwendet werden können, einschließlich beispielsweise objektiver und subjektiver Verfahren.

**[0095]** Antioxidant (AO)-Assay: Ein Antioxidans-Assay kann an Hautzellen (z. B. epidermalen Keratinozyten, Fibroblasten und/oder dermalen endothelialen Zellen) durchgeführt werden, um die Fähigkeit von beliebigen der aktiven Bestandteile, beliebiger Kombination von Bestandteilen oder Zusammensetzungen mit den in der Beschreibung offenbarten Kombinationen zu ermitteln, Antioxidanskapazität (TEAC) bereitzustellen, indem die Oxidation von ABTS® (2,2'-Azino-di-[3-ethylbenzthiazolinsulfonat]) zu ABTS®+ durch Methmyoglobin inhibiert wird. Das Antioxidanssystem lebender Organismen kann Enzyme, wie Superoxiddismutase, Catalase und Glutathionperoxidase; Makromoleküle wie Albumin, Ceruloplasmin und Ferritin, sowie eine Gruppe kleiner Moleküle, einschließlich Ascorbinsäure,  $\alpha$ -Tocopherol, (3-Karotin, reduziertem Glutathion, Harnsäure und Bilirubin, einschließen. Die Summe der endogenen und aus Nahrungsmitteln stammenden Antioxidantien repräsentiert die gesamte Antioxidansaktivität der extrazellulären Flüssigkeit. Das Zusammenwirken aller unterschiedlichen Antioxidantien kann größeren Schutz vor Angriff durch reaktive Sauerstoff- oder Stickstoffradikale als jegliche Einzelverbindung allein bereitstellen. Die gesamte Antioxidanskapazität kann somit relevantere biologische Informationen enthalten, verglichen mit denjenigen, die durch die Messung individueller Komponenten erhalten werden, da der kumulative Effekt aller in Plasma und Körperflüssigkeiten vorhandenen Antioxidantien berücksichtigt wird. Die Kapazität der Bestandteile in der Zusammensetzung zur Verhinderung der ABTS-Oxidation kann mit derjenigen von Trolox, einem wasserlöslichen Tocopherolanalogen, verglichen werden, und wurde als molare Troloxäquivalente quantifiziert. Das Anti-Oxidant Capacity Kit Nr. 709001 von Cayman Chemical (Ann Arbor, Michigan USA) kann zum Messen der gesamten Antioxidanskapazität verwendet werden.

**[0096]** Kollagenstimulations-Assay: Ein Kollagen-Stimulationsassay kann verwendet werden, um die Fähigkeit von einem beliebigen der aktiven Bestandteile, einer beliebigen Kombination von Bestandteilen oder Zusammensetzungen mit den in der Beschreibung offenbarten Kombinationen zu bestimmen, die Expression von Prokollagen-1, einem Vorläufer des Kollagens, zu erhöhen. Kollagene (Typ I, II, III, IV und V) können als Vorläufermoleküle synthetisiert werden, die als Prokollagene bezeichnet werden. Diese Vorläufermoleküle können sowohl am aminoterminalen als auch am carboxyterminalen Ende zusätzliche Peptidsequenzen enthalten, die üblicherweise als „Propeptide“ bezeichnet werden. Während der zellulären Expression und Sekretion können Prokollagene in der trimeren Form zusammengesetzt und dann an spezifischen N- und C-terminalen Stellen durch spezifische Endopeptidasen gespalten werden, wodurch drei Fragmente erzeugt werden: Prokollagen-1 N-terminales Propeptid (PINP), Type I-Kollagen und Prokollagen-1 carboxy-terminales Propeptid (PICP).

**[0097]** Die Funktion der Propeptide liegt darin, die Windung der Prokollagenmoleküle zu einer Tripelhelixkonformation innerhalb des endoplasmatischen Retikulums zu erleichtern. Die Propeptide können von dem Kollagen-Tripelhelixmolekül während dessen Sekretion abgespalten werden, danach polymerisieren die Tripelhelixkollagene zu extrazellulären Kollagenfibrillen. Die Menge der freien Propeptide spiegelt somit stöchiometrisch die Menge der synthetisierten Kollagenmoleküle wider (eine Beziehung analog zu derjenigen zwischen dem carboxyterminalen Peptid von Proinsulin und dem endogen produzierten Insulin). Kollagen ist ein extrazelluläres Matrixprotein, das für die Hautstruktur entscheidend ist. Erhöhte Kollagensynthese trägt zur Festigkeit und Elastizität der Haut bei.

**[0098]** Die quantitative Detektierung von PICP in Fibroblastzellextrakten und Kulturüberständen kann mit einem Enzym-Immunoassay-Kit (z. B. Takara #MK101) durchgeführt werden, um die Wirkungen der Bestandteile auf die Synthese von PICP in Haut zu bewerten. Dieser Bioassay kann verwendet werden, um Wirkungen auf die Produktion von Prokollagenpeptid (einem Vorläufer des Kollagens) durch humane epidermale Fibroblasten zu untersuchen. Der Endpunkt dieses Assays kann eine spektrophotometrische Messung sein, die die Anwesenheit von Prokollagenpeptid und die zelluläre Lebensfähigkeit widerspiegelt. Der Assay verwendet die quantitative Sandwich-Enzym-Immunoassaytechnik, bei der ein für Prokollagenpeptid spezifischer monoklonaler Antikörper als Vorbeschichtung auf eine Mikroplatte aufgebracht wurde. Standards und Proben können in die Wells pipettiert werden, und jegliches vorhandene Prokollagenpeptid wurde durch den immobilisierten Antikörper gebunden. Nachdem jegliche ungebundenen Substanzen abgewaschen wurden, kann den Wells ein enzymverknüpfter polyklonaler Antikörper zugefügt werden, der für Prokollagenpeptid spezifisch ist. Nach einem Waschvorgang, um jegliches nicht gebundene Antikörper-Enzymreagenz zu entfernen, kann den Wells eine Substratlösung zugefügt werden, und Farbe entwickelte sich proportional zu der Menge an Prokollagenpeptid, die in dem ersten Schritt gebunden wurde. Die Farbentwicklung wurde gestoppt, und die Intensität der Farbe bei 450 nm wurde mit einem Mikroplattenlesegerät gemessen.

**[0099]** Zur Erzeugung von Proben und Kontrollen können subkonfluierende normale humane adulte Epidermalfibroblasten (Cascade Biologics) in Standard-DMEM-Wachstumsmedium mit 10 % fetalem Kälberserum (Mediatech) bei 37 °C in 10 % CO<sub>2</sub> kultiviert werden. Die Zellen können 3 Tage lang mit jedem der getesteten Bestandteile und Kontrollen behandelt werden. Nach der Inkubierung kann das Zellkulturmedium wie bereits erläutert aufgefangen werden, und die Menge der Sekretion von Prokollagenpeptid Typ I wurde mit einem Sandwich-Enzyme-Linked Immuno-Sorbant Assay (ELISA) von Takara (Nr. MK101) quantifiziert.

**[0100]** Elastinstimulations-Assay: Elastin ist ein Bindegewebeprotein, das dazu beiträgt, dass die Haut nach dem Recken oder Kontrahieren die Form wieder annimmt. Elastin ist auch ein wichtiges lasttragendes Protein, das an Stellen verwendet wird, in denen mechanische Energie gespeichert werden muss. Elastin wird hergestellt, indem viele lösliche Tropoelastinproteinmoleküle in einer Reaktion verknüpft werden, die durch Lysyloxidase katalysiert wird. Elastinsekretion und Elastinfasern können in kultivierten humanen Fibroblasten überwacht werden, indem die kultivierten humanen Fibroblasten mittels einer Direkt-ELISA-Sandwich-Methode mit Immunofluoreszenzantikörpern angefärbt wurden, die gegen Elastin gerichtet sind. Zum Analysieren der Ergebnisse kann ein Meso Scale Discovery System SECTOR 2400 Bildgebungssystem verwendet werden. Änderungen in der Elastinsekretion und den Elastinfasern, die durch einen oder mehrere Bestandteile in der Zusammensetzung bewirkt werden, können ermittelt werden, indem kultivierte menschliche Fibroblasten mit dem aktiven Bestandteil für eine Zeitdauer kultiviert werden, bevor die Zellen oder ein Lysat davon mit Antikörpern sondiert wurden, die gegen Elastin gerichtet sind.

**[0101]** Lamininstimulations-Assay: Laminin ist ein Hauptprotein in der dermal-epidermalen Übergangszone (DEJ) (die auch als Basalmembran bezeichnet wird). Die DEJ befindet sich zwischen der Dermis und der Epidermis und greift ineinander, wobei fingerartige Vorsprünge gebildet werden, die als Retezapfen bezeichnet

werden. Die Zellen der Epidermis erhalten ihre Nährstoffe von den Blutgefäßen in der Dermis. Die Retezapfen vergrößern die Oberfläche der Epidermis, die diesen Blutgefäßen und den benötigten Nährstoffen ausgesetzt wird. Die DEJ sorgt für Adhäsion der beiden Gewebekompartimente und beherrscht die strukturelle Integrität der Haut. Laminin ist ein strukturelles Glykoprotein, das in der DEJ lokalisiert ist. Laminin wird zusammen mit Fibronectin als der Kleber angesehen, der die Zellen zusammenhält, und beide werden von dermalen Fibroblasten sekretiert, um die intra- und interzelluläre Adhäsion der epidermalen Zellen an der DEJ zu unterstützen.

**[0102]** Die Sekretion von Laminin kann überwacht werden, indem Laminin in Zellüberständen von kultivierten humanen Fibroblasten quantifiziert wird, die 3 Tage lang mit Kulturmedium mit oder ohne 1,0 % der Endkonzentration des Testbestandteils/der Testbestandteile behandelt wurden. Der Gehalt an Laminin kann nach der Inkubation unter Verwendung von Immunofluoreszenzantikörpern, die gegen jedes Protein gerichtet sind, in einem Enzyme Linked Immuno-Sorbant Assay (ELISA) gemessen werden.

**[0103]** Matrix-Metalloproteinase-1-Enzymaktivitäts- (MMP-1) Assay: MMPs sind extrazelluläre Proteasen, die infolge ihrer breiten Substratspezifität in vielen normalen und krankhaften Zuständen eine Rolle spielen. MMP-1-Substrate schließen Kollagen IV ein. Das Molecular Probes Enz/Chek Gelatinase/ Collagenase Assay Kit (#E12055) kann verwendet werden, um die Aktivität von MMP-1-Protease zu detektieren, und nutzt ein fluorogenes Gelatinesubstrat und testet die proteolytische Spaltung des Substrats durch gereinigtes MMP-1-Enzym. Nach proteolytischer Spaltung des Substrats zeigt sich hellgrüne Fluoreszenz und kann mit einem Fluoreszenz-Mikroplattenleser überwacht werden, um die enzymatische Aktivität zu messen. Testmaterialien können in Gegenwart oder Abwesenheit von gereinigtem Enzym und Substrat inkubiert werden, um ihre Proteaseinhibitorkapazität zu ermitteln.

**[0104]** Matrix-Metalloproteinase 3 und 9-Enzymaktivitäts- (MMP-3; MMP-9) Assay: MMPs sind extrazelluläre Proteasen, die infolge ihrer breiten Substratspezifität in vielen normalen und krankhaften Zuständen eine Rolle spielen. Zu den MMP-3-Substraten gehören Kollagene, Fibronectine und Laminin, während MMP-9-Substrate Kollagen VII, Fibronectine und Laminin einschließen. Die Colorimetric Drug Discovery Kits von BioMol International für MMP-3 (AK-400) und MMP-9 (AK-410) können zum Messen der Proteaseaktivität von MMPs unter Verwendung eines Thiopeptids als chromogenes Substrat verwendet werden (Ac-PLG-[2-mercapto-4-methylpentanoyl]-LG-OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>5,6</sub>. Die Peptidbindung an der MMP-Spaltungsstelle ist in dem Thiopeptid durch eine Thioesterbindung ersetzt. Die Hydrolyse dieser Bindung durch ein MMP produziert eine Sulfhydrylgruppe, die mit DTNB [5,5'-Dithiobis(2-nitrobenzoesäure), Ellmans Reagenz] unter Bildung von 2-Nitro-5-thiobenzoessäure reagiert, die durch ihre Extinktion bei 412 nm ( $\epsilon=13\ 600\ \text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  bei pH 6,0 und über 7) nachgewiesen werden kann.

**[0105]** Lipoxygenase (LO)-Assay: Ein Lipoxygenase-Assay kann verwendet werden, um die Fähigkeit von einem beliebigen der aktiven Bestandteile, einer beliebigen Kombination von Bestandteilen oder Zusammensetzungen mit den in der Beschreibung offenbarten Kombinationen zur Inhibierung der Expression von Lipoxygenase (LO) zu untersuchen. LOs sind kein Häm-Eisen enthaltende Dioxygenasen, die die Addition von molekularem Sauerstoff an Fettsäuren katalysieren. Linoleat und Arachidonat sind in Pflanzen und Tieren die Hauptsubstrate für LOs. Arachidonsäure kann dann in Hydroxyeicosatriensäure (HETE)-Derivate überführt werden, die anschließend in Leukotriene überführt werden, potente Entzündungsmediatoren. Ein genaues und zweckmäßiges Verfahren zum Screening auf Lipoxygenase-Inhibitoren kann durchgeführt werden, indem die Hydroperoxide gemessen werden, die aus der Inkubation einer Lipoxygenase (5, 12 oder 15-LO) mit Arachidonsäure erzeugt werden. Das Colorimetric LO Inhibitor Screening Kit (Nr. 760700, Cayman Chemical) kann verwendet werden, um die Fähigkeit der Bestandteile der Zusammensetzung zu ermitteln, die Enzymaktivität zu inhibieren.

**[0106]** Gereinigte 15-Lipoxygenase und Testbestandteile können in Assay-Puffer gemischt und unter Schütteln 10 Minuten lang bei Raumtemperatur inkubiert werden. Nach der Inkubation kann Arachidonsäure zugegeben werden, um die Reaktion zu initiieren, und die Mischungen wurden weitere 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Kolorimetrisches Substrat kann zugefügt werden, um die Katalyse zu beenden, und die Farbprogression wurde durch Fluoreszenz-Plattenablesung bei 490 nm beurteilt. Die prozentuale Inhibierung der Lipogenaseaktivität kann verglichen mit unbehandelten Kontrollen berechnet werden, um die Fähigkeit der Bestandteile der Zusammensetzung zu ermitteln, die Aktivität von gereinigtem Enzym zu inhibieren.

**[0107]** Tumornekrosefaktor Alpha (TNF- $\alpha$ ) Assay: Der Prototypligand der TNF-Superfamilie, TNF- $\alpha$ , ist ein pleiotropes Zytokin, das bei Entzündung eine zentrale Rolle spielt. Der Anstieg seiner Expression steht im Zusammenhang mit einer Aufwärtsregulierung der proentzündlichen Aktivität. Der Bioassay kann verwendet

werden, um die Wirkung von Bestandteilen der Zusammensetzung auf die Produktion von TNF- $\alpha$  durch humane epidermale Keratinozyten zu analysieren. Der Endpunkt dieses Assays kann eine spektrophotometrische Messung sein, die die Anwesenheit von TNF- $\alpha$  und die zelluläre Lebensfähigkeit widerspiegelt. Der Assay kann die quantitative Sandwich-Enzym-Immunoassaytechnik verwenden, durch die ein für TNF- $\alpha$  spezifischer monoklonaler Antikörper als Vorbeschichtung auf eine Mikroplatte aufgebracht worden ist.

**[0108]** Standards und Proben können in Wells einer Mikroplatte pipettiert werden, und jegliches vorhandene TNF- $\alpha$  wurde durch den immobilisierten Antikörper gebunden. Nachdem jegliche ungebundenen Substanzen abgewaschen wurden, kann den Wells ein enzymverknüpfter polyklonaler Antikörper zugefügt werden, der für TNF- $\alpha$  spezifisch ist. Nach einem Waschvorgang, um jegliches nicht gebundene Antikörper-Enzymreaktion zu entfernen, kann den Wells eine Substratlösung zugefügt werden, und Farbe entwickelte sich proportional zu der Menge an TNF- $\alpha$ , die in dem ersten Schritt gebunden wurde, wobei ein Mikroplattenleser zur Detektierung bei 450 nm verwendet wird. Die Farbentwicklung kann gestoppt und die Farbtintensität gemessen werden. Subkonfluente, normale, humane adulte Keratinozyten (Cascade Biologics), kultiviert in EPI-LIFE™ Standardwachstumsmedium (Cascade Biologics) bei 37°C in 5 % CO<sub>2</sub>, können 6 Stunden lang mit Phorbol-12-myristat-13-acetat (PMA, 10 ng/ml, Sigma Chemical, Nr. P1585-1MG) und Bestandteilen der Zusammensetzung oder ohne Testbestandteil (für Negativkontrollen) behandelt werden. Es kann gezeigt werden, dass PMA einen drastischen Anstieg der TNF- $\alpha$ -Sekretion herbeiführt, der 6 Stunden nach der Behandlung einen Peak erreicht. Nach der Inkubierung kann das Zellkulturmedium aufgefangen und die Menge der TNF- $\alpha$ -Sekretion mit einem Sandwich-Enzyme-Linked Immuno-Sorbant Assay (ELISA) von R&D Systems (Nr. DTA00C) quantifiziert werden.

**[0109]** Elastase-Assay: Der ENZCHEK® Elastase-Assay (Kit Nr. E-12056) von Molecular Probes (Eugene, Oregon USA) kann als in vitro-Enzyminhibierungs-Assay verwendet werden, um die Inhibierung der Elastaseaktivität in Gegenwart von Bestandteilen der Zusammensetzung zu messen. Das EnzChek-Kit kann lösliches Rinderhalsligament-Elastin enthalten, das mit einem Farbstoff markiert wurde, so dass die Fluoreszenz des Konjugats gequencht wird. Das nicht fluoreszierende Substrat kann von Elastase oder anderen Proteasen verdaut werden, um hochfluoreszierende Fragmente zu ergeben. Der resultierende Fluoreszenzanstieg kann mit einem Fluoreszenz-Mikroplattenleser überwacht werden. Verdauungsprodukte aus dem Elastinsubstrat können Absorptionsmaxima bei ~505 nm und Fluoreszenzemissionsmaxima bei ~515 nm haben. Das Peptid, N-Methoxysuccinyl-Ala-Ala-Pro-Val-Chlormethylketon, kann als selektiver kollektiver Inhibitor der Elastase für eine positive Kontrolle verwendet werden, wenn das EnzChek Elastase-Assay-Kit zum Screening auf Elastaseinhibitoren eingesetzt wird.

**[0110]** Fibronectinstimulations-Assay: Fibronectin ist ein Hauptprotein in der dermalepidermalen Übergangszone (DEJ) (die auch als Basalmembran bezeichnet wird). Die DEJ befindet sich zwischen der Dermis und der Epidermis und greift ineinander, wobei fingerartige Vorsprünge gebildet werden, die als Retezapfen bezeichnet werden. Die Zellen der Epidermis erhalten ihre Nährstoffe von den Blutgefäßen in der Dermis. Die Retezapfen vergrößern die Oberfläche der Epidermis, die diesen Blutgefäßen und den benötigten Nährstoffen ausgesetzt wird. Die DEJ sorgt für Adhäsion der beiden Gewebekompartimente und beherrscht die strukturelle Integrität der Haut. Fibronectin ist ein strukturelles Glykoprotein, das in der DEJ lokalisiert ist. Fibronectin wird zusammen mit Laminin als der Kleber angesehen, der die Zellen zusammenhält, und beide werden von dermalen Fibroblasten sekretiert, um die intra- und interzelluläre Adhäsion der epidermalen Zellen an der DEJ zu unterstützen.

**[0111]** Die Sekretion von Fibronectin kann überwacht werden, indem Fibronectin in Zellüberständen von kultivierten humanen Fibroblasten quantifiziert wird, die 3 Tage lang mit Kulturmedium mit oder ohne 1,0 % der Endkonzentration des Testbestandteils/der Testbestandteile behandelt wurden. Der Gehalt an Fibronectin kann nach der Inkubation unter Verwendung von Immunofluoreszenzantikörpern, die gegen jedes Protein gerichtet sind, in einem Enzyme Linked Immuno-Sorbant Assay (ELISA) gemessen werden.

**[0112]** Lysyloxidase-Assay: Ein Lysyloxidase-Assay kann an Hautzellen (z. B. epidermalen Keratinozyten, Fibroblasten und/oder dermalen endothelialen Zellen) durchgeführt werden, um die Fähigkeit von einem beliebigen der aktiven Bestandteile, einer beliebigen Kombination von Bestandteilen oder Zusammensetzungen mit den in der Beschreibung offenbarten Kombinationen zu ermitteln, die Expression von Lysyloxidase in Haut zu stimulieren. Lysyloxidase kann das Vernetzen von Elastin und Kollagenen katalysieren, wodurch der Haut eine stärker strukturierte steife Matrix bereitgestellt wird. Durch Erhöhen der Expression von Lysyloxidase kann verstärkte Vernetzung von Elastin und Kollagenen stattfinden, was vorteilhaft sein kann, um das Erscheinungsbild von feinen Linien, Falten, schlaffer Haut und/oder unelastischer Haut zu reduzieren.



**[0113]** ORAC-Assay: Die Sauerstoffradikalabsorption (oder Extinktions)-Kapazität (Oxygen Radical Absorption (Absorbance) Capacity; ORAC) von einem beliebigen der aktiven Bestandteile, einer beliebigen Kombination der Bestandteile oder Zusammensetzungen mit den in der Beschreibung offenbarten Kombinationen kann auch beurteilt werden, indem die Antioxidansaktivität dieser Bestandteile oder Zusammensetzungen gemessen wird. Antioxidansaktivität gibt eine Fähigkeit an, Oxidationsmittel (Oxidantien) zu reduzieren. Dieser Assay quantifiziert den Grad und die Zeitdauer, die zur Inhibierung der Wirkung eines Oxidationsmittels, wie Sauerstoffradikalen, nötig sind, die bekanntermaßen Zellschäden verursachen (z. B. an Hautzellen). Der ORAC-Wert von beliebigen der aktiven Bestandteile, beliebiger Kombination der Bestandteile oder Zusammensetzungen mit den in der Beschreibung offenbarten Kombinationen kann nach Methoden ermittelt werden, die Fachleuten bekannt sind (siehe US Veröffentlichungsnummern 2004/0109905 und 2005/0163880, sowie im Handel erhältliche Kits, wie Zen-Bio ORAC Anti-oxidant Assay Kit (Nr. AOX-2)). Das Zen-Bio ORAC Anti-oxidant Assay Kit misst den Verlust der Fluoreszenz von Fluorescein im Zeitverlauf durch die Peroxylradikalbildung infolge des Abbaus von AAPH (2,2'-Azobis-2-methylpropanimidamid-dihydrochlorid). Trolox, ein wasserlösliches Vitamin E-Analogon, dient als positive Kontrolle zur Inhibierung des Zerfalls von Fluorescein in dosisabhängiger Weise.

**[0114]** Produktion von Hyaluronsäure: Änderungen in der Produktion von Hyaluronsäure (HA) in humanen dermalen Fibroblasten infolge von jedem der aktiven Bestandteilen, einem beliebiger von der Kombination von Bestandteilen oder Zusammensetzungen mit den in der Beschreibung offenbarten Kombinationen können gemessen werden. HA ist ein Polysaccharid, das an der Stabilisierung der Struktur der Matrix beteiligt ist und daran beteiligt ist, Gewebe und Zellen Turgordruck bereitzustellen. Die HA-Produktion in behandelten und unbehandelten adulten humanen dermalen Fibroblasten (HDFa)-Zellen kann als nicht-einschränkendes Beispiel unter Verwendung des Hyaluronan DuoSet ELISA Kits von R&D Systems (DY3614) ermittelt werden. In diesem Assay werden subkonfluierende HDFa-Zellen von Cascade Biologics (C-13-5C) 72 Stunden vor der Behandlung bei 37°C und 10 % CO<sub>2</sub> in Hungermedium (0,15 % fetales Kälberserum und 1 % Penicillin-Streptomycin-Lösung in Dulbeccos Modified Eagle Medium) zur Produktion von Proben inkubiert. Die Zellen werden dann 24 Stunden lang mit frischem Hungermedium mit entweder Testverbindung, Positivkontrolle (Phorbol-12-myristat-13-acetat von Sigma-Aldrich (P1585) und thrombozytenabgeleitetem Wachstumsfaktor (PDGF) von Sigma-Aldrich (P3201)) oder ohne Zusatz inkubiert. Dann werden die Medien aufgefangen und bis zur Verwendung in dem ELISA-Assay bei -80°C eingefroren.

**[0115]** Der ELISA-Assay verwendet kurz gesagt eine quantitative Sandwich-Enzym-Immunoassaytechnik, bei der ein für HA spezifischer Einfangantikörper vorab als Beschichtung auf eine Mikroplatte aufgebracht werden kann. Standards und Medien von behandelten und unbehandelten Zellen werden in die Wells der Mikroplatte pipettiert, um zu ermöglichen, dass jegliches vorhandene HA durch den immobilisierten Antikörper gebunden wird. Nachdem jegliche ungebundenen Substanzen abgewaschen wurden, wird den Wells ein enzymverknüpfter Detektierungsantikörper zugefügt, der für HA spezifisch ist. Nach einem Waschvorgang, um jegliches nicht gebundene Antikörper-Enzymreagenz zu entfernen, wird den Wells eine Substratlösung zugefügt, um die Farbentwicklung proportional zu der Menge an HA zu ermöglichen, die in dem anfänglichen Schritt gebunden wurde. Die Farbentwicklung wird zu einer bestimmten Zeit gestoppt, und die Intensität der Farbe bei 450 nm kann mit einem Mikroplattenlesegerät gemessen werden.

**[0116]** Produktion von Occludin: Änderungen in der Produktion von Occludin in Keratinozyten infolge von jedem der aktiven Bestandteile, einer beliebigen von der Kombination von Bestandteilen oder Zusammensetzungen mit den in der Beschreibung offenbarten Kombinationen können gemessen werden. Occludin ist ein Protein, das für die Formulierung von Tight Junctions und die Feuchtigkeitsbarrierefunktion der Haut entscheidend ist. Ein nicht-einschränkendes Beispiel dafür, wie die Produktion von Occludin in behandelten und unbehandelten Keratinozyten ermittelt werden kann, ist die Verwendung eines Bioassays, der die Occludinkonzentration in Keratinozytenzelllysaten analysiert. Der Bioassay kann unter Verwendung des PROTEIN-SIMPLE® SIMON™ Western Blotting-Protokolls durchgeführt werden. Bei den Proben können adulte humane Epidermalkeratinozyten (HEKa) von Life Technologies (C-005-5C) 24 Stunden lang bei 37°C und 5 % CO<sub>2</sub> in EPILIFE™-Wachstumsmedium mit Calcium von Life Technologies (M-EP-500-CA) gezüchtet werden, das mit Keratinozytenwachstumszusatz (Keratinocyte Growth Supplement, HKGS) von Life Technologies (S-101-5) versetzt wurde. HEKa werden dann für 24 bis 48 Stunden in Wachstumsmedium mit Testverbindung/Extrakt, ohne Verbindung/Extrakt für Negativkontrolle, oder mit 1 mM CaCl<sub>2</sub> für Positivkontrollen inkubiert. Die HEKa werden dann gewaschen, aufgefangen und auf Eis oder kälter verwahrt, bis sie auf Eis unter Verwendung eines Lysepuffers und Schallbehandlung lysiert werden. Die Proteinkonzentrationen der Proben können ermittelt und verwendet werden, um die Proben zu normalisieren. Die Lysate werden bis zur Verwendung in dem Bioassay bei -80°C aufbewahrt.

**[0117]** Der PROTEINSIMPLE® SIMON™ Western Blotting-Bioassay verwendet eine quantitative Western Blotting-Immunoassay-Technik, die einen Antikörper nutzt, der für Occludin spezifisch ist, um Occludin in den Testproben quantitativ zu detektieren. Zellproben werden lysiert und auf Proteinkonzentration normalisiert. Normalisierte Proben und Molekulargewichtstandards werden dann auf ein denaturiertes Proteintrenngel, das mit Kapillarelektrophorese arbeitet, geladen und laufen gelassen. Die Proteine werden dann in dem Gel immobilisiert und immunosondiert, wobei ein für Occludin spezifischer primärer Antikörper verwendet wird. Die immobilisierten Proteine werden dann mit einem enzymverknüpften Detektierungsantikörper immunosondiert, der an den primären Antikörper bindet. Dann wird den immobilisierten Proteinen eine Chemilumineszenzsubstratlösung zugefügt, um die Entwicklung von Chemilumineszenz proportional zu der Menge an Occludin zu ermöglichen, die in der Immobilisierung gebunden sind. Die Chemilumineszenzentwicklung kann zu einer bestimmten Zeit gestoppt werden, und die Intensität des Chemolumineszenzsignals kann gemessen und mit positiven und negativen Kontrollen verglichen werden.

**[0118]** Permeabilität einer Keratinozytenmonoschicht: Änderungen in der Permeabilität einer Keratinozytenmonoschicht infolge von jedem der aktiven Bestandteile, einer beliebigen von der Kombination von Bestandteilen oder Zusammensetzungen mit den in der Beschreibung offenbarten Kombinationen können gemessen werden. Die Permeabilität der Keratinozytenmonoschicht ist ein Maß für die Integrität der Hautbarriere. Die Permeabilität der Keratinozytenmonoschicht in behandelten und unbehandelten Keratinozyten kann dann ermittelt werden, wobei als nicht-einschränkendes Beispiel der In Vitro vaskuläre Permeabilitäts-Assay (Vascular Permeability Assay) von Millipore (ECM642) verwendet wird. Dieser Assay analysiert die endotheliale Zelladsorption, Transport und Permeabilität. Kurz gesagt können adulte humane epidermale Keratinozyten von Life Technologies (C-005-5C) auf eine poröse kollagenbeschichtete Membran in einem Auffang-Well geimpft werden. Die Keratinozyten werden dann 24 Stunden lang bei 37°C und 5 % CO<sub>2</sub> in Epilife Wachstumsmedium mit Calcium von Life Technologies (M-EP-500-CA) inkubiert, das mit Keratinozytenzusatz (Keratinoocyte Growth Supplement, HKGS) von Life Technologies (S-101-5) versetzt war. Diese Inkubationszeit ermöglicht, dass die Zellen eine Monoschicht bilden und die Membranporen okkludieren. Das Medium wird dann durch frisches Medium mit (Testprobe) oder ohne (unbehandelte Kontrolle) Testverbindungen/Extrakte ersetzt, und die Keratinozyten werden zusätzliche 48 Stunden lang bei 37°C und 5 % CO<sub>2</sub> inkubiert. Das Medium wird zur Ermittlung der Permeabilität der Keratinozytenmonoschicht nach Inkubation mit/ohne die Testverbindung/den Testextrakt durch frisches Medium ersetzt, das ein Fluoreszeinisothiocyanat (FITC)-Dextran mit hohem Molekulargewicht enthält, und die Keratinozyten werden 4 Stunden lang bei 37°C und 5 % CO<sub>2</sub> inkubiert. FITC können während der Inkubation für 4 Stunden die Keratinozytenmonoschicht und poröse Membran in das Auffang-Well hinein mit einer Rate passieren, die zu der Permeabilität der Monoschicht proportional ist. Die Zelllebensfähigkeit und der Gehalt an FITC in den Auffang-Wells kann nach der Inkubation von 4 Stunden ermittelt werden. Das Medium in dem Auffang-Well wird für den FITC-Gehalt aufgefangen, und die Fluoreszenz des Mediums wird bei 480 nm (Em) ermittelt, wenn mit 520 nm angeregt wird. Die prozentuale Permeabilität und prozentuale Änderung im Vergleich mit den unbehandelten Kontrollen kann mithilfe der folgenden Gleichungen ermittelt werden: Prozentuale Permeabilität = ((Mittlerer Ex/Em der Testprobe)/Mittlerer Ex/Em der unbehandelten Kontrolle)\*100, Prozentuale Änderung = Prozentuale Permeabilität der Testprobe - Prozentuale Permeabilität der unbehandelten Kontrolle.

**[0119]** Pilz-Tyrosinaseaktivitäts-Assay: Bei Säugerzellen katalysiert Tyrosinase zwei Stufen in der mehrstufigen Biosynthese von Melaninpigmenten aus Tyrosin (und aus der Polymerisation von Dopachrom). Tyrosinase befindet sich in Melanozyten und produziert Melanin (aromatische Chinonverbindungen), die Haut, Haar und Augen Farbe verleihen. Gereinigte Pilz-Tyrosinase (Sigma) kann mit ihrem Substrat L-Dopa (Fischer) in Gegenwart oder Abwesenheit von jedem der aktiven Bestandteile, einer beliebigen Kombination von Bestandteilen oder Zusammensetzungen mit den in der Beschreibung offenbarten Kombinationen inkubiert werden. Die Pigmentbildung kann durch kolorimetrische Plattenablesung bei 490 nm beurteilt werden. Die prozentuale Inhibierung der Pilz-Tyrosinaseaktivität kann verglichen mit unbehandelten Kontrollen berechnet werden, um die Fähigkeit von Testextrakten zu ermitteln, die Aktivität von gereinigtem Enzym zu inhibieren. Die Inhibierung des Testextrakts wurde mit derjenigen von Kojisäure (Sigma) verglichen.

**[0120]** Cyclooxygenase (COX)-Assay: Ein in vitro-Cyclooxygenase-1 und -2 (COX-1, -2)-Inhibitions-Assay. COX ist ein bifunktionales Enzym, das sowohl Cyclooxygenase als auch Peroxidaseaktivität zeigt. Die Cyclooxygenaseaktivität wandelt Arachidonsäure in ein Hydroperoxyendoperoxid (Prostaglandin G<sub>2</sub>; PGG<sub>2</sub>) um, und die Peroxidasekomponente reduziert das Endoperoxid (Prostaglandin H<sub>2</sub>; PGH<sub>2</sub>) zu dem entsprechenden Alkohol, dem Vorläufer der Prostaglandine, Thromboxane und Prostacycline. Dieser COX-Inhibitor-Screening-Assay misst die Peroxidasekomponente von Cyclooxygenasen. Die Peroxidaseaktivität wird kolorimetrisch beurteilt, indem das Erscheinen von oxidiertem N,N,N',N'-Tetramethyl-p-phenylendiamin (TMPD) überwacht wird. Dieser Inhibitor-Screening-Assay schließt sowohl COX-1 als auch COX-2-Enzyme ein, um

auf isozymspezifische Inhibitoren zu screenen. Der kolorimetrische COX (Ovin) Inhibitor-Screening-Assay (Nr. 760111, Cayman Chemical) kann verwendet werden, um die Wirkungen von jeder/jedem der aktiven Bestandteile, einer beliebigen Kombination von Bestandteilen oder Zusammensetzungen mit den in der Beschreibung offenbarten Kombinationen auf die Aktivität von gereinigtem Cyclooxygenase-Enzym (COX-1 oder COX-2) zu analysieren. Gereinigtes Enzym, Häm und Testextrakte können nach Anweisungen des Herstellers in Assay-Puffer gemischt und unter Schütteln 15 Minuten lang bei Raumtemperatur inkubiert werden. Nach der Inkubation können Arachidonsäure und kolorimetrisches Substrat zugefügt werden, um die Reaktion zu initiieren. Die Farbprogression kann durch kolorimetrische Plattenablesung bei 590 nm beurteilt werden. Die prozentuale Inhibierung der COX-1 oder COX-2-Aktivität kann verglichen mit unbehandelten Kontrollen berechnet werden, um die Fähigkeit von Testextrakten zu ermitteln, die Aktivität von gereinigtem Enzym zu inhibieren.

**[0121] Ölkontroll-Assay** Ein Assay zur Messung der Reduktion der Talgsekretion aus Talgdrüsen und/oder der Reduktion der Talgproduktion aus Talgdrüsen kann beurteilt werden, indem Standardtechniken verwendet werden, die Fachleuten bekannt sind. In einem Fall kann die Stirn verwendet werden. Jeder der aktiven Bestandteile, eine beliebige Kombination von Bestandteilen oder Zusammensetzungen mit den in der Beschreibung offenbarten Kombinationen kann ein oder zwei Mal pro Tag für einen festgelegten Zeitraum (z. B. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 oder mehr Tage) auf die Stirn aufgetragen werden, während ein weiterer Teil der Stirn nicht mit der Zusammensetzung behandelt wird. Nachdem der festgesetzte Zeitraum von Tagen vergangen ist, kann die Talgsekretion durch Aufbringen von feinem Löschpapier auf die behandelte und unbehandelte Haut der Stirn beurteilt werden. Dies erfolgt, indem zuerst mit feuchten und trockenen Tüchern jeglicher Talg von den behandelten und unbehandelten Bereichen entfernt wird. Dann kann Löschpapier auf die behandelten und unbehandelten Bereiche der Stirn aufgebracht werden, und um die Stirn kann ein Elastikband angeordnet werden, um das Löschpapier sanft auf die Haut zu drücken. Nach 2 Stunden können die Löschpapiere entfernt, trocknen gelassen und dann durchleuchtet werden. Dunkleres Löschpapier korreliert mit mehr Talgsekretion (oder helleres Löschpapier korreliert mit reduzierter Talgsekretion).

**[0122] Erythem-Assay:** Ein Assay zur Messung der Reduktion der Hautröte kann mit einem Minolta-Chromameter beurteilt werden. Das Hauterythem kann induziert werden, indem auf den Unterarm eines Probanden eine 0,2-prozentige Lösung von Natriumdodecylsulfat aufgetragen wird. Der Bereich wird 24 Stunden lang durch ein Okklusivpflaster geschützt. Das Pflaster wird nach 24 Stunden entfernt, und die durch die Reizung induzierte Röte kann mit den  $a^*$ -Werten des Minolta-Chromameters bewertet werden. Der  $a^*$ -Wert misst Veränderungen der Hautfarbe im roten Bereich. Unmittelbar nach der Ablesung wird der Bereich mit den aktiven Bestandteilen, einer beliebigen Kombination von Bestandteilen oder Zusammensetzungen mit den in der Beschreibung offenbarten Kombinationen behandelt. In regelmäßigen Intervallen können Wiederholungsmessungen durchgeführt werden, um die Fähigkeit der Formulierung zu ermitteln, Röte und Reizung zu reduzieren.

**[0123] Hautfeuchtigkeits/Hydratisierungs-Assay:** Hautfeuchtigkeits/Hydratisierungsvorteile können durch Impedanzmessungen mit dem Nova Dermal Phasenmeter gemessen werden. Das Impedanzmeter misst Änderungen des Hautfeuchtegehalts. Die Außenschicht der Haut hat eigene elektrische Eigenschaften. Wenn Haut trocken ist, leitet sie die Elektrizität sehr schlecht. Mit zunehmender Hydratisierung nehmen die Leitfähigkeitsergebnisse zu. Änderungen der Hautimpedanz (im Zusammenhang mit Leitfähigkeit) können demnach verwendet werden, um Änderungen der Hauthydratisierung zu bewerten. Das Gerät kann nach den Instrumentenanweisungen für jeden Testtag kalibriert werden. Temperatur und relative Feuchtigkeit können auch aufgezeichnet werden. Die Probanden können wie folgt bewertet werden: Vor der Messung können sie sich in einem Raum mit definierter Feuchtigkeit (z. B. 30-50 %) und Temperatur (z. B. 68-72°F (20-22°C)) äquilibrieren. An jeder Seite des Gesichts können drei separate Impedanzablesungen erfolgen, aufgezeichnet und gemittelt werden. Am Impedanzmeter kann die Einstellung T5 verwendet werden, die die Impedanzwerte alle fünf Sekunden bei Anwendung auf das Gesicht mittelt. Änderungen können mit statistischer Varianz und Signifikanz berichtet werden. Jeder der aktiven Bestandteile, eine beliebige Kombination von Bestandteilen oder Zusammensetzungen mit in der Beschreibung offenbarten Kombinationen können im Assay gemäß diesem Verfahren beurteilt werden.

**[0124] Assay zur Hautklarheit und Reduktion von Sommersprossen und Altersflecken:** Hautklarheit und Reduktion von Sommersprossen und Altersflecken können mit einem Minolta-Chromameter beurteilt werden. Änderungen der Hautfarbe können mit den  $a^*$ -Werten des Minolta-Chromameters bewertet werden, um das Reizpotential infolge der Produktbehandlung zu bestimmen. Der  $a^*$ -Wert misst Veränderungen der Hautfarbe im roten Bereich. Dies wird verwendet, um zu ermitteln, ob jeder der aktiven Bestandteile, eine beliebige

Kombination von Bestandteilen oder Zusammensetzungen mit den in der Beschreibung offenbarten Kombinationen Reizung induzieren. Die Messungen können auf jeder Seite des Gesichts erfolgen und als linke und rechte Gesichtswerte gemittelt werden. Die Hautklarheit kann auch mit dem Minolta-Meter gemessen werden. Die Messung ist eine Kombination der  $a^*$ ,  $b$  und  $L$ -Werte des Minolta-Meters und ist verknüpft mit der Helligkeit der Haut und korreliert gut mit Glattheit und Hydratisierung der Haut. Die Hautablesung erfolgt wie oben. Die Hautklarheit kann in einem nicht-einschränkenden Aspekt als  $L/C$  beschrieben werden, wobei  $C$  Chroma ist und definiert ist als  $(a^{2+} b^2)^{1/2}$ .

**[0125]** Assay zu Hauttrockenheit, feinen Oberflächenlinien, Glattheit der Haut und Hautton: Hauttrockenheit, feine Oberflächenlinien, Hautglattheit und Hautton können mit klinischen Einstufungstechniken beurteilt werden. Die klinische Einstufung der Hauttrockenheit kann beispielsweise nach der fünfstufigen Standard-Kligman-Skala erfolgen: (0) Haut ist weich und feucht; (1) Haut sieht normal aus ohne sichtbare Trockenheit; (2) Haut fühlt sich bei Berührung etwas trocken an ohne sichtbare Schuppung; (3) Haut fühlt sich trocken und rau an und hat ein weißliches Aussehen mit etwas Schuppung; und (4) Haut fühlt sich sehr trocken und rau an und hat ein weißliches Aussehen mit Schuppung. Die Beurteilungen können unabhängig durch zwei Kliniker erfolgen und gemittelt werden.

**[0126]** Assay zur klinischen Einstufung des Hauttons: Die klinische Einstufung des Hauttons kann nach einer zehnpunktigen analogen numerischen Skala erfolgen: (10) ebenmäßige Haut mit einheitlicher rosabräunlicher Farbe. Keine dunklen, erythemischen oder schuppigen Stellen bei Untersuchung mit einer handgeführten Lupe. Die Mikrotexur der Haut ist bei Berührung sehr gleichförmig; (7) ebenmäßiger Hautton ohne Vergrößerung beobachtet. Keine schuppigen Stellen, aber leichte Verfärbungen durch Pigmentierung oder Erythem. Keine Verfärbungen von mehr als 1 cm Durchmesser; (4) sowohl Hautverfärbung als auch ungleichförmige Textur leicht wahrnehmbar. Leichte Schuppigkeit. Haut in einigen Bereichen bei Berührung rau; und (1) uneinheitliche Hautfärbung und -textur. Zahlreiche schuppige und verfärbte Bereiche, entweder hypopigmentiert, erythemisch oder dunkle Flecken. Große Bereiche von ungleichförmiger Farbe mit mehr als 1 cm Durchmesser. Die Beurteilungen wurden unabhängig durch zwei Kliniker durchgeführt und gemittelt.

**[0127]** Assay zur klinischen Einstufung der Hautglattheit: Die klinische Einstufung der Hautglattheit kann nach einer zehnpunktigen analogen numerischen Skala erfolgen: (10) glatt, Haut ist feucht und schimmert, kein Widerstand, wenn der Finger über die Oberfläche gezogen wird; (7) ziemlich glatt, leichter Widerstand; (4) rau, sichtbar verändert, Widerstand beim Darüberreiben; und (1) raue, schuppige, uneinheitliche Oberfläche. Die Beurteilungen wurden unabhängig durch zwei Kliniker durchgeführt und gemittelt.

**[0128]** Hautglattheit und Faltenreduktions-Assay nach Verfahren, die in Packman et al., 1978) offenbart sind: Hautglattheit und Faltenreduktion können auch visuell nach den in Packman et al. offenbarten Verfahren beurteilt werden. (1978). Bei jeder Visite des Probanden werden beispielsweise die Tiefe, Flachheit und Gesamtzahl der oberflächlichen Gesichtslinien (SFL) jedes Probanden sorgfältig beurteilt und aufgezeichnet. Ein Zahlen-Score wurde erhalten, indem ein Zahlenfaktor mit einem Faktor für Tiefe/Breite/Länge multipliziert wurde. Für den Augenbereich und Mundbereich (linke und rechte Seiten) wurden Scores erhalten und als Gesamtfalten-Score zusammengezählt.

**[0129]** Assay zum Erscheinungsbild von Linien und Falten mit Replikas: Das Erscheinungsbild von Linien und Falten auf der Haut kann mit Replikas beurteilt werden, die der Abdruck der Hautoberfläche sind. Es kann silikongummiartiges Material verwendet werden. Die Replika kann durch Bildanalyse analysiert werden. Änderungen der Sichtbarkeit von Linien und Falten lassen sich objektiv quantifizieren, indem Silikonreplikas vom Gesicht des Probanden genommen und die Replikabilder mit einem Computer-Bildanalysesystem analysiert werden. Replikas können vom Augenbereich und dem Halsbereich genommen und mit einer Digitalkamera mit einer Beleuchtung mit flachem Einfallwinkel fotografiert werden. Die Digitalbilder können mit einem Bildverarbeitungsprogramm analysiert werden, und der Bereich der mit Falten oder feinen Linien bedeckten Replikas wird dann ermittelt.

**[0130]** Hautstraffheits-Assay mit einem Hargens-Ballistometer: Die Hautstraffheit kann mit einem Hargens-Ballistometer gemessen werden, einem Gerät, das die Elastizität und Straffheit der Haut beurteilt, indem ein kleiner Körper auf die Haut fallen gelassen und dessen ersten beiden Abprall-Peaks aufgezeichnet werden. Für die Ballistometrie wurde eine kleine leichte Sonde mit einer relativ stumpfen Spitze (4 mm<sup>2</sup> Kontaktfläche) verwendet. Die Sonde dringt etwas in die Haut ein und führt zu Messungen, die von den Eigenschaften der äußeren Hautschichten abhängen, einschließlich des Stratum corneum und der äußeren Epidermis und einigen der Dermalschichten.

**[0131]** Hautweichheit/Geschmeidigkeits-Assay mit einem Gaslager-Elektrodynamometer: Hautweichheit/Geschmeidigkeit können mit dem Gaslager-Elektrodynamometer beurteilt werden, einem Instrument, welches die Spannungs/Dehnungs-Eigenschaften der Haut misst. Die viskoelastischen Eigenschaften der Haut korrelieren mit der Hautfeuchtigkeit. Messungen können an der festgelegten Stelle des Wangenbereichs erhalten werden, indem die Sonde mit doppelseitigem Klebeband an der Hautoberfläche befestigt wird. Eine Kraft von annähernd 3,5 g kann parallel zu der Hautoberfläche angelegt werden, und die Hautverschiebung wird genau gemessen. Die Geschmeidigkeit der Haut kann dann berechnet werden und wird als DSR angegeben (dynamische Federkonstante in g/mm).

**[0132]** Assay zur Oberflächenkontur der Haut nach einem Profilometer/Griffel-Verfahren: Die Oberflächenkontur der Haut kann nach dem Profilometer/Griffelverfahren gemessen werden. Hierzu wird entweder mit einem Licht über die Replikaoberfläche geleuchtet oder ein Griffel über diese gezogen. Die vertikale Verschiebung des Griffels kann über einen Abstandsmesswertwandler in einen Computer eingespeist werden, und nach dem Scannen einer festen Länge der Replika kann eine Querschnittanalyse des Hautprofils als zweidimensionale Kurve generiert werden. Dieser Scan kann mehrmals entlang einer festen Achse wiederholt werden, um ein simuliertes 3D-Bild der Haut zu generieren. Es lassen sich zehn statistische Schnitte der Replikas nach der Griffeltechnik erhalten und kombinieren, um Durchschnittswerte zu generieren. Die interessierenden Werte beinhalten  $R_a$ , das arithmetische Mittel aller Rauheits (Höhen)-Werte, die durch Integrieren der Profilhöhe relativ zu der mittleren Profilhöhe berechnet werden.  $R_t$  ist der maximale vertikale Abstand zwischen dem höchsten Peak und dem tiefsten Tal, und  $R_z$  ist die mittlere Peak-Amplitude minus der mittleren Peak-Höhe. Die Werte werden als kalibrierter Wert in mm angegeben. Die Geräte sollten vor jeder Verwendung durch Scannen von Metallstandards mit bekannten Werten standardisiert werden. Der Wert für  $R_a$  kann nach der folgenden Gleichung berechnet werden:  $R_a = \text{Standardisierte Rauheit}$ ;  $l_m = \text{die (Scan)-Länge in Querrichtung}$  und  $y = \text{der Absolutwert der Position des Profils relativ zu der mittleren Profilhöhe (x-Achse)}$ .

**[0133]** Produktion von Filaggrin: Änderungen in der Produktion von Filaggrin in Keratinozyten infolge von jedem der aktiven Bestandteile, einem beliebigen von der Kombination von Bestandteilen oder Zusammensetzungen mit den in der Beschreibung offenbarten Kombinationen können gemessen werden. Filaggrin ist der Vorläufer des natürlichen Befeuchtungsfaktors (Natural Moisturizing Factor, NMF) der Haut. Gesteigerter NMF steigert den Feuchtigkeitsgehalt der Haut. Die Produktion von Filaggrin in behandelten und unbehandelten Keratinozyten kann mit einem Bioassay ermittelt werden, der die Filaggrinkonzentration in Zelllysaten von Keratinozyten analysiert. Ein nicht-einschränkendes Beispiel für einen Bioassay, der zur Quantifizierung der Filaggrinproduktion verwendet werden kann, ist das PROTEINSIMPLE® SIMON™ Western Blotting-Protokoll. Normale humane Epidermalkeratinozyten (NHEK) werden in EPI-200 -Mattek Epilife® Wachstumsmedium mit Calcium von Life Technologies (M-EP-500-CA) gezüchtet. NHEK werden über Nacht bei 37 °C in 5 % CO<sub>2</sub> vor der Behandlung in Wachstumsmedium inkubiert. NHEK werden dann in Wachstumsmedium mit 1 % Testverbindung/Extrakt oder ohne Verbindung/Extrakt (Negativkontrolle) 24 bis 36 Stunden lang inkubiert. Die NHEK können dann gewaschen, aufgefangen und auf Eis oder kälter verwahrt werden, bis sie auf Eis unter Verwendung eines Lysepuffers und Schallbehandlung lysiert werden. Die Proteinkonzentrationen der Proben können ermittelt und verwendet werden, um die Proben zu normalisieren. Die Lysate können bis zur Verwendung in dem Quantifizierungs-Assay bei -80°C aufbewahrt werden.

**[0134]** Der PROTEINSIMPLE® Simon™ Western Blotting-Bioassay verwendet eine quantitative Western Blotting-Immunoassay-Technik, die einen Antikörper nutzt, der für Filaggrin spezifisch ist, um Filaggrin in den Testproben quantitativ zu detektieren. Zellproben werden lysiert und auf Proteinkonzentration normalisiert. Normalisierte Proben und Molekulargewichtstandards können dann auf ein denaturiertes Proteintrenngel, das mit Kapillarelektrophorese arbeitet, geladen und laufen gelassen werden. Die Proteine werden in dem Gel immobilisiert und immunosondiert, wobei ein für Filaggrin spezifischer primärer Antikörper verwendet wird. Die immobilisierten Proteine können dann mit einem enzymverknüpften Detektierungsantikörper immunosondiert werden, der an den primären Antikörper bindet. Dann kann den immobilisierten Proteinen eine Chemilumineszenzsubstratlösung zugefügt werden, um die Entwicklung von Chemilumineszenz proportional zu der Menge an Filaggrin zu ermöglichen, die in der Immobilisierung gebunden sind. Die Chemilumineszenzentwicklung wird zu einer bestimmten Zeit gestoppt, und die Intensität des Chemolumineszenzsignals kann gemessen und mit positiven und negativen Kontrollen verglichen werden.

**[0135]** Inhibierung der Aktivität von Hyaluronidase: Änderungen in der Aktivität der Hyaluronidase infolge von jedem der aktiven Bestandteile, einer beliebigen von der Kombination von Bestandteilen oder Zusammensetzungen mit den in der Beschreibung offenbarten Kombinationen können gemessen werden. Hyaluronidase ist ein Enzym, das HA abbaut. HA ist ein Polysaccharid, das an der Stabilisierung der Struktur der Matrix beteiligt ist und daran beteiligt ist, Gewebe und Zellen Turgordruck bereitzustellen. Die Hyaluronidase-

aktivität kann als nicht-einschränkendes Beispiel unter Verwendung eines in vitro-Protokolls ermittelt werden, das aus dem Sigma-Aldrich Protokoll Nr. EC 3.2.1.35 modifiziert wurde. Kurz gesagt wird Hyaluronidase Typ 1-S von Sigma-Aldrich (H3506) zu Mikroplattenreaktions-Wells gegeben, die Testverbindung oder Kontrollen enthalten. Tanninsäure kann als Positivkontrollinhibitor verwendet werden, als Kontrollenzym ist die fehlende Zugabe von Testverbindung möglich, und Wells mit Testverbindung oder Positivkontrolle, jedoch ohne Hyaluronidase, können als Hintergrundnegativkontrolle verwendet werden. Vor Zugabe des Substrats (HA) werden die Wells 10 Minuten lang bei 37°C inkubiert. Substrat wird zugegeben, und die Reaktionen werden 45 Minuten lang bei 37°C inkubiert. Ein Teil jeder Reaktionslösung wird dann in eine Lösung von Natriumacetat und Essigsäure mit einem pH-Wert von 3,75 überführt und vorsichtig gemischt, um diesen Teil der Reaktion zu stoppen (gestoppte Wells). Die gestoppten Wells und Reaktions-Wells sollten beide das gleiche Volumen an Lösung enthalten, nachdem der Teil der Reaktionslösung zu den gestoppten Wells gegeben wurde. Sowohl die Reaktions-Wells als auch die gestoppten Wells wurden 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Sowohl für die Reaktions-Wells als auch die gestoppten Wells wurde dann die Extinktion bei 600 nm gemessen. Die Inhibierung kann unter Verwendung der folgenden Formeln berechnet werden. Aktivität von Inhibitor (oder Kontrolle) = (Extinktion der mit Inhibitor gestoppten Wells bei 600 nm - Extinktion der Inhibitorreaktions-Wells bei 600 nm); Anfangsaktivität = Kontrollenzymextinktion bei 600 nm; Prozentuale Inhibierung = [(Anfangsaktivität/ Inhibitoraktivität)\* 100]-100.

**[0136]** Aktivität von Peroxisom-Proliferator-aktiviertem Rezeptor Gamma (PPAR-γ): Änderungen in der Aktivität der PPAR-γ infolge von jedem der aktiven Bestandteile, einer beliebigen von der Kombination von Bestandteilen oder Zusammensetzungen mit den in der Beschreibung offenbarten Kombinationen können gemessen werden. PPAR-γ ist ein Rezeptor, der für die Produktion von Melanin entscheidend ist. Die Aktivität von PPAR-γ kann als ein nicht-einschränkendes Beispiel unter Verwendung eines Bioassays ermittelt werden, der die Fähigkeit einer Testverbindung oder Zusammensetzung zum Inhibieren der Bindung eines Liganden analysiert. Kurz gesagt kann der fluoreszierende kleinmolekulare pan-PPAR-Ligand, FLUORMONE™ Pan-PPAR Grün, erhältlich von Life Technologies (PV4894), verwendet werden, um zu ermitteln, ob Testverbindungen oder Zusammensetzungen in der Lage sind, die Bindung des Liganden an PPAR-γ zu inhibieren. Die Proben-Wells schließen PPAR-γ und fluoreszierenden Liganden und entweder: Testverbindung oder Zusammensetzung (Test), einen Referenzinhibitor, Rosiglitazon (Positivkontrolle), oder keine Testverbindung (Negativkontrolle) ein. Die Wells werden für einen festgelegten Zeitraum inkubiert, um dem Liganden Gelegenheit zu geben, den PPAR-γ zu binden. Die Fluoreszenzpolarisierung jedes Proben-Wells kann dann gemessen und mit dem Negativkontroll-Well verglichen werden, um den Prozentsatz der Inhibierung durch die Testverbindung oder Zusammensetzung zu ermitteln.

**[0137]** Zytokin-Array: Humane epidermale Keratinozyten wurden bis zu 70 bis 80 % Konfluenz kultiviert. Das Medium in der Platte wurde aspiriert, und es wurde 0,025 % Trypsin/EDTA zugegeben. Als die Zellen abgerundet wurden, wurde die Kulturschale sanft geklopft, um die Zellen zu lösen. Die Trypsin/EDTA enthaltenden Zellen wurden aus der Kulturschale entfernt und neutralisiert. Die Zellen wurden 5 min mit 180 x g zentrifugiert, um ein Pellet aus Zellen zu bilden. Der Überstand wurde aspiriert. Das resultierende Pellet wurde in EPILIFE™ Medium (Cascade Biologics) erneut suspendiert. Die Zellen wurden auf 6-WellPlatten mit ungefähr 10 bis 20 % Konfluenz geimpft. Nachdem die Zellen ungefähr 80 % konfluent geworden waren, wurde das Medium aspiriert, und 1,0 ml EPILIFE™ wurde zusammen mit Phorbol-13-myristat-12-acetat („PMA“) (einem bekannten Induktor von Entzündung) und den Testzusammensetzungsverdünnungen zu zwei Replik-Wells gegeben (d. h. 1,0 % (100 µl von 100X Vorratsmaterial) und 0,1 % (10 µl 100X Vorratsmaterial) Testzusammensetzungen wurden auf ein Endvolumen von 1 ml EpiLife™ Wachstumsmedium verdünnt). Das Medium wurde sanft verwirbelt, um adäquates Mischen zu gewährleisten. Es wurden zusätzlich 1,0 ml EPILIFE™ zu den Kontroll-Wells gegeben, mit und ohne zusätzliches PMA. Die Platten wurden für ungefähr 5 Stunden nach dem Dosieren dann mit 37 ± 1°C und 5,0 ± 1 % CO<sub>2</sub> inkubiert. Nach dieser 5-stündigen Inkubierung wurden alle Medien in konischen Röhren aufgefangen und bei -70°C eingefroren.

**[0138]** Zur Analyse wurde eine 16-Pad-Hybridisierungskammer an 16-Pad-FAST-Objektträgern befestigt, die in Dreierreihen mit 16 Anti-Zytokin-Antikörpern plus experimentellen Kontrollen (Whatman BioSciences) gruppiert wurden, und die Objektträger wurden zur Verarbeitung in einem FASTFrame (4 Objektträger pro Rahmen) platziert. Die Gruppierungen (Arrays) wurden 15 Minuten bei Raumtemperatur unter Verwendung von 70 ml S&S Protein Array Blocking buffer „Blockierpuffer“ (Whatman Schleicher und Scheull) blockiert. Der Blockierpuffer wurde entfernt, und 70 ml jeder Überstandprobe wurde zu jedem Array gegeben. Die Arrays wurden unter leichter Bewegung 3 Stunden lang bei Raumtemperatur inkubiert. Die Arrays wurden 3 Mal mit TBS-T gewaschen. Die Arrays wurden mit 70 ml eines Antikörper-Cocktails behandelt, der einen biotinylierten Antikörper enthielt, entsprechend jedem der gruppierten Einfangantikörper. Die Arrays wurden unter leichter Bewegung 1 Stunde lang bei Raumtemperatur inkubiert. Die Arrays wurden 3 Mal mit TBS-T

gewaschen. Die Arrays wurden 1 Stunde lang bei Raumtemperatur unter sanfter Bewegung mit 70 ml Lösung, die Streptavidin-Cy5-Konjugat enthielt, inkubiert. Arrays wurden 3 Mal mit TBS-T gewaschen, rasch mit entionisiertem Wasser abgespült und getrocknet.

**[0139]** Die Objektträger wurden in einem Perkin-Elmer ScanArray 4000 konfokalen Fluoreszenzbildgebungssystem Bildgebung unterzogen. Bilder der Arrays können gespeichert und unter Verwendung der Software Imaging Research ArrayVision analysiert werden. Kurz gesagt wurden die Intensitäten der Spots durch Subtraktion von Hintergrundsignalen bestimmt. Replikate der Spots aus jeder Probenbedingung können gemittelt und dann mit den geeigneten Kontrollen verglichen werden.

**[0140]** Bildung von Endotheliantubuli: Die Bildung von Endotheliantubuli ist an der Angiogenese und der Bildung von Mikrogefäßkapillaren beteiligt. Kapillarbildung und Angiogenese können zu Rötung und Rosazea der Haut beitragen. Die Fähigkeit der Endothelialzellen, in Anwesenheit oder Abwesenheit der Testextrakte und -verbindungen Tubuli zu bilden, kann mit einem Kapillartubuliunterbrechungs-Assay mit vorgebildeten primären humanen Nabelschnurvenenendothelialzellen (HUVEC) in einem Zellkultursystem ermittelt werden.

**[0141]** HUVECs werden kurz gesagt in vitro auf extrazellulärer Matrix kultiviert, die die Anhaftung und tubuläre Morphogenese von Endothelialzellen stimuliert, um kapillarartige Lumenstrukturen zu bilden. Diese in vitro gebildeten Kapillartubuli sind humanen Blutgefäßkapillaren in vielerlei Hinsicht ähnlich. Auf diesem Phänomen basiert der Kapillartubuli-Assay, und er wird zur Bewertung von Mitteln verwendet, die potentiell auf das Gefäßsystem zielen.

**[0142]** HUVEC-Kulturen werden in einem Zellinkubator mit 5 % CO<sub>2</sub> 37°C gezüchtet. Das vollständige Wachstumsmedium für HUVECs ist Endothelialzellen-Basalmedium (Endothelial Cell Basal Medium, EBM) mit Zusatz von 2 % fötalem Kälberserum (FBS), 12 µg /ml Rinderhirnextrakt, 1 µg/ml Hydrocortison und 1 µg/ml GA-1000 (Gentamicin-Amphotericin). HUVEC-Kulturen können zwischen Durchgang 3 und 8 für alle Assay-Experimente verwendet werden.

**[0143]** HUVECs werden mit dem Fluoreszenzmittel Calcein AM vormarkiert und mit ihrem vollständigen Wachstumsmedium in mit extrazellulärer Matrix beschichtete 96 Well-Kulturplatte geimpft. Die Endothelialkapillartubuli sollten nach etwa vier Stunden des Morphogeneseprozesses gebildet werden. Dann wird Testmittel in vorgesehenen Dosen in 50 µl Volumen als Behandlungsbedingungen in die gebildeten Kapillartubulikulturen appliziert. Den behandlungsfreien Kontrollen kann Vehikel der Testmittel zugefügt werden. Sutent, ein FDA-zugelassenes antiangiogenes Arzneimittel, kann in einer Konzentration als Kontrolle für die Leistung des Assays eingeschlossen werden. Die Endotheliantubulimorphologie wird nach etwa sechs Behandlungsstunden in jedem Well mikroskopisch untersucht, Bildgebung unterzogen, und die Kapillarunterbrechungsaktivitäten unter den Behandlungsbedingungen lassen sich quantitativ analysieren. Alle Testbedingungen können in Zweierreihen-Wells durchgeführt werden, auch die Kontrollen.

**[0144]** Alle hier offenbarten und beanspruchten Zusammensetzungen und/oder Verfahren können ohne unnötigen experimentellen Aufwand im Lichte der vorliegenden Offenbarung umgesetzt und ausgeführt werden. Obwohl die Zusammensetzungen und Verfahren dieser Erfindung in Bezug auf bevorzugte Ausführungsformen beschrieben wurden, wird dem Fachmann klar sein, dass in Bezug auf Zusammensetzungen und/oder Verfahren sowie in den Stufen oder der Abfolge der Stufen des hier beschriebenen Verfahrens Variationen angewendet werden können, ohne vom Konzept, der Idee und dem Umfang der Erfindung abzuweichen. Es ist spezieller offensichtlich, dass bestimmte Mittel, die sowohl chemisch als auch physiologisch verwandt sind, die hier beschriebenen Mittel ersetzen können, während dieselben oder ähnliche Ergebnisse erhalten werden. Alle derartigen ähnlichen Ersatzstoffe und Modifikationen, die dem Fachmann offensichtlich sind, werden als innerhalb der Idee, des Umfangs und Konzepts der Erfindung wie in den angefügten Ansprüchen definiert angesehen.

**ZITATE ENTHALTEN IN DER BESCHREIBUNG**

*Diese Liste der vom Anmelder aufgeführten Dokumente wurde automatisiert erzeugt und ist ausschließlich zur besseren Information des Lesers aufgenommen. Die Liste ist nicht Bestandteil der deutschen Patent- bzw. Gebrauchsmusteranmeldung. Das DPMA übernimmt keinerlei Haftung für etwaige Fehler oder Auslassungen.*

**Zitierte Patentliteratur**

- US 5989596 [0047]
- US 5011681 [0061]
- US 4421769 [0061]
- US 3755560 [0061]
- US 5087445 [0068]
- US 4509949 [0068]
- US 2798053 [0068]
- US 5100660 [0069]
- US 4849484 [0069]
- US 4835206 [0069]
- US 4628078 [0069]
- US 4599379 [0069]



### Schutzansprüche

1. Verwendung einer Zusammensetzung, die eine effektive Menge Niacinamid, Phytinsäure, Rosmarinus officinalis-Blattextrakt, Chondrus crispus-Extrakt, Saxifraga sarmentosa-Extrakt, Carica papaya (Papaya)-Fruchtextrakt, Psidium guajava-Fruchtextrakt umfasst, zur Reduktion von dunklen Flecken, Altersflecken und/oder ungewollter Pigmentierung der Haut, wobei die Verwendung topisches Auftragen der Hautpflegezusammensetzung auf dunkle Flecken, Altersflecken und/oder ungewollte Pigmentierung der Haut umfasst.
2. Verwendung nach Anspruch 1, bei der die Hautpflegezusammensetzung des Weiteren Natriumsulfit und Natriummetabisulfit umfasst.
3. Verwendung nach Anspruch 2, bei der die Hautpflegezusammensetzung eine effektive Menge Natriumsulfit und Natriummetabisulfit umfasst, um dunkle Flecken, Altersflecken und/oder ungewollte Pigmentierung der Haut zu reduzieren.
4. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, bei der die Hautpflegezusammensetzung 0,1 bis 10 Gew.% Niacinamid, 0,01 bis 3 Gew.% Phytinsäure, 0,1 bis 5 Gew.% Rosmarinus officinalis-Blattextrakt, 0,1 bis 5 Gew.% Chondrus crispus-Extrakt, 0,1 bis 5 % Gew./Gew. einer Kombination von Saxifraga sarmentosa-Extrakt, Carica papaya (Papaya)-Fruchtextrakt und Psidium guajava-Frucht umfasst.
5. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, bei der der Rosmarinus officinalis-Blattextrakt ein Extrakt von tiefem eutektischem Lösungsmittel ist, welches Milchsäure, Betain und Wasser umfasst, der Chondrus crispus-Extrakt ein wässriger Extrakt ist, der Saxifraga sarmentosa ein hydroglykolischer Extrakt ist, Carica papaya (Papaya)-Frucht ein hydroglykolischer Extrakt ist, und/oder Psidium guajava-Fruchtextrakt ein hydroglykolischer Extrakt ist.
6. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 5, bei der topische Auftragung der Zusammensetzung das Gesamtmelaninniveau der Haut reduziert.
7. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 6, bei der topische Auftragung der Zusammensetzung das Gesamtmelaninniveau der Haut um mindestens 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 % oder 30 % reduziert.
8. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 7, bei der topische Auftragung der Zusammensetzung das Gesamtmelaninniveau von dunkler Haut um mindestens 30 % reduziert.
9. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 8, bei der die Haut diejenige von einer Person mit braunem oder schwarzem Teint ist.
10. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 9, bei der die Haut diejenige von einer Person mit schwarzem Teint ist.
11. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 10, bei der topische Auftragung der Zusammensetzung die Aktivität von Tyrosinase und/oder Peroxisom-Proliferator-aktiviertem Rezeptor Gamma (PPAR- $\gamma$ ) der Haut inhibiert.
12. Hautpflegezusammensetzung, die eine effektive Menge an Niacinamid, Phytinsäure, Rosmarinus officinalis-Blattextrakt, Chondrus crispus-Extrakt, Saxifraga sarmentosa-Extrakt, Carica papaya (Papaya)-Fruchtextrakt und Psidium guajava-Fruchtextrakt umfasst, um dunkle Flecken, Altersflecken und/oder ungewollte Pigmentierung der Haut zu reduzieren.
13. Zusammensetzung nach Anspruch 12, bei der die Hautpflegezusammensetzung des Weiteren Natriumsulfit und Natriummetabisulfit umfasst.
14. Zusammensetzung nach Anspruch 13, bei der die Hautpflegezusammensetzung eine effektive Menge Natriumsulfit und Natriummetabisulfit umfasst, um dunkle Flecken, Altersflecken und/oder ungewollte Pigmentierung der Haut zu reduzieren.
15. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 12 bis 14, die 0,1 bis 10 Gew.% Niacinamid, 0,01 bis 3 Gew.% Phytinsäure, 0,1 bis 5 Gew.% Rosmarinus officinalis-Blattextrakt, 0,1 bis 5 Gew.% Chondrus crispus-Extrakt, 0,1 bis 5 % Gew./Gew. einer Kombination von Saxifraga sarmentosa-Extrakt, Carica papaya

(Papaya)-Fruchtextrakt und Psidium guajava-Frucht und 0,1 bis 5 Gew.% Undecylenoylphenylalanin umfasst.

16. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 12 bis 15, bei der der Rosmarinus officinalis-Blattextrakt ein Extrakt von tiefem eutektischem Lösungsmittel ist, welches Milchsäure, Betain und Wasser umfasst, der Chondrus crispus-Extrakt ein wässriger Extrakt ist, der Saxifraga sarmentosa ein hydroglykolischer Extrakt ist, die Carica papaya (Papaya)-Frucht ein hydroglykolischer Extrakt ist, und/oder der Psidium guajava-Fruchtextrakt ein hydroglykolischer Extrakt ist.

17. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 12 bis 16, die effektiv ist, um das Gesamtmelaninniveau der Haut zu reduzieren.

18. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 12 bis 17, die effektiv ist, um das Gesamtmelaninniveau der Haut um mindestens 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 % oder 30 % zu reduzieren.

19. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 12 bis 18, die effektiv ist, um das Gesamtmelaninniveau von dunkler Haut um mindestens 30 % zu reduzieren.

20. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 12 bis 19, bei der die Haut diejenige von einer Person mit braunem oder schwarzem Teint ist.

21. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 12 bis 20, bei der die Haut diejenige von einer Person mit schwarzem Teint ist.

22. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 12 bis 21, die des Weiteren Glycerin und Caprylyl-/Caprylglucosid umfasst.

23. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 12 bis 22, die des Weiteren eine effektive Menge Pfaffia paniculata-Wurzelextrakt, Ptychopetalum olacoides-Rinden/Stielextrakt und Trichilia catigua-Extrakt umfasst, um dunkle Flecken, Altersflecken und/oder ungewollte Pigmentierung der Haut zu reduzieren.

24. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 11, bei der die Hautpflegezusammensetzung des Weiteren Glycerin und Caprylyl-/Caprylglucosid umfasst.

25. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 11 oder 24, bei der die Hautpflegezusammensetzung des Weiteren eine effektive Menge Pfaffia paniculata-Wurzelextrakt, Ptychopetalum olacoides-Rinden/Stielextrakt und Trichilia catigua-Extrakt umfasst, um dunkle Flecken, Altersflecken und/oder ungewollte Pigmentierung der Haut zu reduzieren.

Es folgen keine Zeichnungen