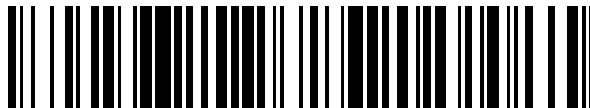


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 376 062**

51 Int. Cl.:
A61K 8/18 (2006.01)
A61K 31/7064 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **04792515 .1**
96 Fecha de presentación: **08.10.2004**
97 Número de publicación de la solicitud: **1671618**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **21.06.2006**

54 Título: **COMPOSICIÓN PARA ESTIMULAR LA PRODUCCIÓN DE COLÁGENO.**

30 Prioridad:
08.10.2003 JP 2003349156

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
08.03.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
08.03.2012

73 Titular/es:
**OTSUKA PHARMACEUTICAL CO., LTD.
9, KANDATSUKASA-CHO 2-CHOME CHIYODA-KU
TOKYO 101-8535, JP**

72 Inventor/es:
**SHINOHARA, Shigeo y
KAWAMURA, Mitsuaki**

74 Agente/Representante:
Curell Aguilá, Mireia

ES 2 376 062 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composición para estimular la producción de colágeno.

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere a la utilización no terapéutica de una composición para la estimulación de la producción de colágeno. La invención se refiere asimismo a un procedimiento no terapéutico para la estimulación de la producción de colágeno en la dermis.

10

Antecedentes de la invención

Aproximadamente el 90% de la dermis de la piel es colágeno, que presenta funciones de mantenimiento de la estructura de la piel, proporcionando un entorno para la supervivencia de la célula y la retención de la humedad. Es conocido que el colágeno se pierde cuando la piel está sometida a influencias exógenas específicas, como la exposición a los rayos ultravioletas, la sequedad, etc. Se ha descubierto que el colágeno se pierde con el envejecimiento y el estrés. También se ha descubierto que estas influencias exógenas y/o el envejecimiento provocan una reducción en la cantidad de la producción de colágeno en el fibroblasto de la piel.

15

20

Las funciones de retención de una cantidad moderada de colágeno así como presentar la capacidad de una producción excelente de colágeno son importantes para mantener una piel saludable. Hasta este momento, se han buscado activamente sustancias que estimulen la producción de colágeno (por ejemplo, las publicaciones de patente japonesa no examinada nº 2011-316240 y nº 2003-278783,A). Sin embargo, no se ha informado sobre si el ácido nucleico y sus sustancias relacionadas presentan una acción sobre la estimulación de la producción de colágeno.

25

En el documento EP 1 498 101 A1 se describen una composición que contiene una sustancia relacionada con el ácido nucleico purina y una sustancia relacionada con el ácido nucleico pirimidina y su utilización para potenciar la proliferación celular. En el documento JP 2003/040729 se describe la utilización de la 5'-desoxi-5'-metiltioadenosina para el tratamiento cosmético de la piel.

30

Sumario de la invención

El objetivo de la invención consiste en proporcionar la utilización no terapéutica de una composición para la estimulación de la producción de colágeno, y más específicamente estimular la producción de colágeno en la dermis humana. Para este objetivo la composición se puede aplicar en preparaciones externas.

35

En el contexto de la presente invención se ha realizado una exhaustiva investigación para conseguir los objetivos mencionados anteriormente, y se ha descubierto que las sustancias relacionadas con el ácido nucleico purina, especialmente la adenosina 5'-monofosfato, y sus sales, presentan una acción de estimulación de la producción de colágeno en la dermis. Es más, se ha descubierto que una sustancia relacionada con el ácido nucleico pirimidina presenta el efecto de potenciar la producción de colágeno estimulando la acción de la sustancia relacionada con el ácido nucleico purina.

40

Más específicamente, la presente invención se refiere a lo siguiente:

45

Punto 1. Utilización no terapéutica de una composición que comprende una sustancia relacionada con el ácido nucleico purina y una sustancia relacionada con el ácido nucleico pirimidina para la estimulación de la producción de colágeno, en la que la sustancia relacionada con el ácido nucleico purina es por lo menos un miembro seleccionado de entre el grupo constituido por el grupo adenosina fosfato y una de sus sales y la sustancia relacionada con el ácido nucleico pirimidina es por lo menos un miembro seleccionado de entre el grupo constituido por uridinafosfato y una de sus sales.

50

Punto 2. Utilización según la reivindicación 1, en la que la composición se utiliza para un cosmético, o un fármaco medicinal o cuasimedical que se aplica externamente.

55

Punto 3. Utilización según la reivindicación 1 ó 2, en la que la sustancia relacionada con el ácido nucleico purina se selecciona de entre el grupo constituido por adenosina monofosfato y su sal y la sustancia relacionada con el ácido nucleico pirimidina es por lo menos un miembro seleccionado de entre el grupo constituido por uridinamonofosfato y una sal suya.

60

Punto 4. Utilización según la reivindicación 3, en la que la sustancia relacionada con el ácido nucleico purina se selecciona de entre el grupo constituido por en adenosina 5'-monofosfato y una sal suya y la sustancia relacionada con el ácido nucleico pirimidina es por lo menos un miembro seleccionado de entre el grupo constituido por uridina 5'-monofosfato y una sal suya.

65

Punto 5. Utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que la composición contiene la sustancia

relacionada con el ácido nucleico pirimidina en una proporción de 0,001 a 100 partes en peso por parte en peso de la sustancia relacionada con el ácido nucleico purina.

5 Punto 6. Utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que la composición contiene la sustancia relacionada con el ácido nucleico purina en una proporción de 0,01 a 10% en peso sobre la base de la cantidad total de la composición.

10 Punto 7. Utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la que la composición contiene la sustancia relacionada con el ácido nucleico pirimidina en una proporción de 0,0001 a 10% en peso sobre la base de la cantidad total de la composición.

15 Punto 8. Procedimiento no terapéutico para la estimulación de la producción de colágeno que comprende la aplicación en la piel de una sustancia relacionada con el ácido nucleico purina, que se selecciona de entre el grupo constituido por adenosina monofosfato y una sal suya, y una sustancia relacionada con el ácido nucleico pirimidina, que es por lo menos un miembro seleccionado de entre el grupo constituido por uridinamonofosfato y una sal suya.

20 Punto 9. Procedimiento no terapéutico para la estimulación de la producción de colágeno según el Punto 8, en el que la sustancia relacionada con el ácido nucleico purina se selecciona de entre el grupo constituido por adenosina 5'-monofosfato y una sal suya y la sustancia relacionada con el ácido nucleico pirimidina es por lo menos un miembro seleccionado de entre el grupo constituido por uridina 5'-monofosfato y una sal suya.

25 Punto 10. Procedimiento no terapéutico para la estimulación de la producción de colágeno según el Punto 8, en el que la composición contiene la sustancia relacionada con el ácido nucleico pirimidina en una proporción de 0,001 a 100 partes en peso por parte en peso de la sustancia relacionada con el ácido nucleico purina.

Punto 11. Procedimiento no terapéutico para la estimulación de la producción de colágeno según el Punto 8, en el que la composición que se aplica externamente contiene la sustancia relacionada con el ácido nucleico purina en una proporción de 0,01 a 10% en peso sobre la base de la cantidad total de la composición.

30 Punto 12. Procedimiento no terapéutico para la estimulación de la producción de colágeno según el Punto 8, en el que la composición que se aplica externamente contiene la sustancia relacionada con el ácido nucleico pirimidina en una proporción de 0,0001 a 10% en peso sobre la base de la cantidad total de la composición.

35 Punto 13. Procedimiento no terapéutico para la estimulación de la producción de colágeno según el Punto 8, en el que la composición que se aplica externamente se utiliza para un cosmético, o un fármaco medicinal o cuasimedical que se aplica externamente.

40 Punto 14. Procedimiento no terapéutico para la estimulación de la producción de colágeno según el Punto 13, en el que la composición que se aplica externamente se utiliza para un cosmético.

Breve descripción de las figuras

45 La figura 1 es un gráfico que representa la concentración de PICP producida cuando se cultivaron los fibroblastos de la piel humana en un medio que contenía varias concentraciones de AMP2Na en el ejemplo de prueba 1.

La figura 2 es un gráfico que representa la concentración de PICP producida cuando se cultivaron los fibroblastos de la piel humana en un medio que contenía varias concentraciones de AMP2Na y UMP2Na en el ejemplo de prueba 2.

Mejor modo de poner en práctica la invención

50 (I) Utilización no terapéutica de una composición para la estimulación de colágeno

La composición utilizada para la estimulación de la producción de colágeno comprende una sustancia relacionada con el ácido nucleico purina como principio activo. La "sustancia relacionada con el ácido nucleico purina" utilizada en la presente invención se refiere a los adenosina fosfatos (por ejemplo, adenosina 2'-fosfato, adenosina 3'-fosfato, adenosina 5'-fosfato, adenosina 5'-difosfato, adenosina 5'-trifosfato, adenosina fosfato cíclica, ácido adenilosuccínico, monodinucleótido de nicotinamida y adenina (NMN), dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD), dinucleótido de nicotinamida y adenina fosfato (NADP), dinucleótido de flavina adenina (FAD), etc.), sus metabolitos (por ejemplo, hipoxantina, inosina, ácido inosínico, etc.), y sus sales. Resultan preferidos los solubles en agua o hidrófilos.

De entre las adenosinas fosfato, la adenosina 2'-fosfato, la adenosina 3'-fosfato y la adenosina 5'-fosfato se pueden utilizar convenientemente, y resulta especialmente preferida la adenosina 5'-fosfato (AMP).

65 Los ejemplos de estas sales incluyen sales de metales alcali, como las sales sódicas, las sales potásicas, etc.; sales de metales alcalino térreos, como las sales cálcicas, las sales de magnesio, las sales de bario, etc.; sales de ácido

amino básicas, como la arginina, la lisina, etc.; sales de amonio, como las sales de amonio, las sales de triciclohexilamonio, etc.; varios tipos de sales alcanolaminas, como las sales monoetanolaminas, las sales dietanolaminas, las sales trietanolaminas, las sales monoisopropanolaminas, las sales diisopropanolaminas y las sales triisopropanolaminas, etc. Entre éstas, las preferidas son las sales de metales álcali, como las sales sódicas, etc. Los ejemplos específicos de sales de metales álcali incluyen la adenosina monofosfato monosódica y la adenosina monofosfato disódica.

Estas sustancias relacionadas con el ácido nucleico purina se pueden utilizar por separado o en combinación de dos o más de estos tipos como principio(s) activo(s) de la composición para la estimulación de la producción de colágeno de la invención.

La proporción de la sustancia relacionada con el ácido nucleico purina que se utiliza en la composición para la estimulación de la producción de colágeno de la invención varía en función del tipo de sustancia relacionada con el ácido nucleico purina, la existencia y el tipo de sustancia relacionada con el ácido nucleico pirimidina que se describe a continuación, la utilización a la que se destina la composición y/o la forma de la composición etc., pero normalmente se ajusta de forma adecuada dentro de un intervalo de 0,01 a 10% en peso, preferentemente de 1 a 10% en peso, y más preferentemente de 3 a 6% en peso.

La composición para la estimulación de la producción de colágeno de la presente invención comprende, además de la sustancia relacionada con el ácido nucleico purina indicada anteriormente, una sustancia relacionada con el ácido nucleico pirimidina. La utilización combinada puede aumentar aún más la acción de estimulación de la producción de colágeno de la sustancia relacionada con el ácido nucleico purina. La "sustancia relacionada con el ácido nucleico pirimidina" utilizada en la presente invención se refiere a las uridinafosfatos [uridinamonofosfatos (uridina 5'-fosfato, uridina 3'-fosfato y uridina 2'-fosfato), uridinadifosfato, uridinafosfato cíclico, etc.], desoxiuridina, desoxiuridinafosfatos [5'-desoxiuridinadifosfato (dUDP), 5'-desoxiuridinafosfato (dUMP), etc.], y sus sales.

Todas las sustancias relacionadas con el ácido nucleico pirimidina son adecuadas para su utilización independientemente de la pureza en la medida en que cada uno de estos componentes está contenido. Las sustancias relacionadas con el ácido nucleico pirimidina son adecuadas para su utilización son los extractos de plantas que contienen cada uno de estos componentes, como los extractos de la planta *Brassicaceae* (especialmente los extractos de semillas), los extractos de la planta *Leguminosae*, etc.

Resulta preferido utilizar como uridinafosfato la uridinamonofosfato, especialmente la uridina 5'-monofosfato (UMP).

Los ejemplos de las sales mencionadas anteriormente incluyen las sales sódicas, las sales potásicas, y las sales de metal alcalino similares; las sales cálcicas, las sales de magnesio, las sales de bario, y las sales de metal alcalino térreo similares; la arginina, la lisina, y las sales de aminoácidos básicos similares; las sales de amonio, las sales de triciclohexilamonio, y las sales de amonio similares; una gran variedad de sales alcanolaminas, como las sales de monoetanolamina, las sales de dietanolamina, las sales de trietanolamina, las sales de monoisopropanolamina, las sales de diisopropanolamina, las sales de triisopropanolamina, etc.

Entre éstas, las preferidas son las sales de metal álcali, como las sales sódicas. Los ejemplos específicos de sales de metal álcali incluyen uridinamonofosfato monosódico y uridinamonofosfato disódico.

Esta sustancia relacionada con el ácido nucleico pirimidina se puede utilizar sola o en combinación con dos o más de estas especies para la composición para la estimulación de la producción de colágeno de la presente invención.

No existen limitaciones sobre la proporción de la sustancia relacionada con el ácido nucleico pirimidina que se puede utilizar en la composición para la estimulación de la producción de colágeno de la presente invención en la medida en que se pueda demostrar un efecto de la estimulación de la producción de colágeno. Por ejemplo, la proporción de la sustancia relacionada con el ácido nucleico pirimidina se ajusta convenientemente dentro de un intervalo de 0,001 a 100 partes en peso por parte en peso de la sustancia relacionada con el ácido nucleico purina contenida en la composición. La proporción de la sustancia relacionada con el ácido nucleico pirimidina está preferentemente dentro de un intervalo de 0,01 a 100 partes en peso, más preferentemente de 0,01 a 10 partes en peso, e incluso más preferentemente de 0,01 a 1 partes en peso, por parte en peso de la sustancia relacionada con el ácido nucleico purina. La proporción de la sustancia relacionada con el ácido nucleico pirimidina sobre la base de la cantidad total de la composición para la estimulación de la producción de colágeno es, por ejemplo, de 0,0001 a 10% en peso, preferentemente de 0,0001 a 1% en peso, e incluso más preferentemente de 0,0001 a 0,1% en peso.

La composición se puede preparar con varias formas mediante la utilización combinada de los ingredientes descritos anteriormente con bases, vehículos y/o aditivos cosmética o farmacéuticamente aceptables. Se pueden utilizar bases, vehículos y/o aditivos cosmética o farmacéuticamente aceptables conocidos. La composición puede comprender, si es necesario, una amplia variedad de componentes conocidos utilizados en las composiciones de aplicación externa adecuada para la piel y/o la mucosa, como cosméticos y fármacos medicinales o cuasimedicinales que se aplican externamente. Los ejemplos de estos componentes incluyen surfactantes, colorantes (tintes, pigmentos), aromas, antisépticos, bactericidas (antibacterianos), espesantes, antioxidantes,

agentes quelantes, refrigerantes, desodorantes humectantes, absorbentes de luz UV, dispersantes de luz UV, vitaminas, extractos vegetales, astringentes, agentes antiinflamatorios (agentes antiflogísticos), blanqueantes, activadores celulares, aceleradores de la circulación sanguínea, aceleradores de función dérmica, y similares.

5 Los ejemplos de los componentes mencionados anteriormente incluyen los surfactantes aniónicos, como las sales de ácidos grasos de cadena larga, las sales de alquilosulfanato, los sulfatos de polioxietileno alquiléter, los fosfatos de alquiléter, las sales *N*-acil aminoácido, las sales acil *N*-metiltaurina, etc.; surfactantes catiónicos, como los cloruros alquitrimetilamonio, los cloruros dialquildimetilamonio, etc.; surfactantes anfóteros, como las alquildimetil aminoacetato de betaínas, alquilamidodimetilaminoacetato de betaínas; 2-alquil- *N*- carboxi-*N*- hidroximidazolínio de betaínas etc.; surfactantes no iónicos, como las bases de polioxietileno, las bases éster de alcohol polihídrico, copolímeros en bloque de óxido de etileno/óxido de propileno, etc. También se pueden utilizar todos los surfactantes de peso molecular elevado o naturales de manera no limitativa.

15 Los ejemplos de antisépticos incluyen *p*-hidroxibenzoato de etilo, ácido salicílico, ácido sórbico, etc. Los ejemplos de espesantes incluyen goma xantano, carboximetilcelulosa sódica, polímeros de carboxi vinilo, etc. Los ejemplos de agentes quelantes incluyen sales sódicas de ácido etilendiaminatetra acético, ácido fosfórico, ácido cítrico, etc.

20 La composición se utiliza como una preparación que se aplica externamente y que se extiende o se pulveriza sobre la piel. Más específicamente, la composición se puede utilizar ampliamente como cosmético o fármaco medicinal o cuasimedicinal (preparaciones dermatológicas). Entre los anteriores, los preferidos son los cosméticos puesto que los cosméticos pueden estimular la producción de colágeno en la piel de forma diaria. Los ejemplos de estos agentes que se aplican externamente incluyen una amplia variedad de productos para el cuidado del cabello como los restauradores de cabello y los agentes que estimulan el crecimiento del cabello, así como champús, enjuagues, y lociones capilares (incluyendo los tónicos y los líquidos) que presentan unos efectos restaurador del cabello y/o sobre el crecimiento del cabello.

30 La composición para la utilización no terapéutica de la estimulación de la producción de colágeno de la invención puede presentar cualquier forma sin limitación siempre y cuando se pueda aplicar sobre la piel o las mucosas. Los ejemplos de formas incluyen pastas, espumas, geles, líquidos, emulsiones, suspensiones, cremas, ungüentos, láminas, aerosoles, pulverizadores y linimentos. Los ejemplos de cosméticos incluyen lociones; emulsiones emolientes, lociones en forma de leche, lociones nutritivas, lociones limpiadoras y emulsiones similares; cremas emolientes, cremas para masaje, cremas limpiadoras, cremas de maquillaje, y cremas similares; etc. Los ejemplos de productos para el cuidado del cabello incluyen tónicos capilares, cremas capilares, lociones capilares, aerosoles (pulverizadores a presión), espumas, champús, enjuagues, líquidos, etc.

35 La composición para la utilización no terapéutica de la estimulación de la producción de colágeno de la invención se puede aplicar directamente o pulverizarse sobre la piel o la mucosa como un cosmético o un fármaco medicinal o cuasimedicinal. La composición se puede aplicar sobre la piel o la mucosa 5 ó 6 veces al día en una cantidad eficaz para la estimulación de la producción de colágeno según la edad del consumidor (humano), el sexo, la utilización pretendida, la patología de la parte afectada de la piel, etc.

40 La composición estimula la producción de colágeno y, por lo tanto, presenta los efectos de antienviejecimiento, hidratación, antiacné, antiarrugas, antiflacidez, antipalidez, crecimiento del cabello, anticaspa, embellecedor de uñas, reparador de heridas, etc. La composición es ventajosamente útil para las preparaciones que se aplican externamente.

50 La composición para la utilización no terapéutica de la estimulación de la producción de colágeno de la invención demuestra un efecto excelente de estimulación de la producción de colágeno cuando se aplica sobre la piel. Por lo tanto, la invención proporciona la utilización no terapéutica de una composición que comprende una sustancia relacionada con el ácido nucleico purina y una sustancia relacionada con el ácido nucleico pirimidina tal como se ha definido anteriormente para la preparación de composiciones para la estimulación de colágeno.

(II) Procedimiento no terapéutico para la estimulación de la producción de colágeno

55 La presente invención proporciona también un procedimiento no terapéutico para la estimulación de la producción de colágeno. El procedimiento se lleva a cabo aplicando una sustancia relacionada con el ácido nucleico purina y una sustancia relacionada con el ácido nucleico pirimidina como se ha definido anteriormente sobre la piel.

60 Según el procedimiento de la invención, la aplicación de la/las sustancia(s) sobre la piel se puede conseguir esparciendo, pulverizando o disponiendo la composición para la estimulación de la producción de colágeno (I) sobre la piel.

65 En el procedimiento de la invención, no existen limitaciones sobre las frecuencias a las que una combinación de una sustancia relacionada con el ácido nucleico purina y una sustancia relacionada con el ácido nucleico pirimidina se aplican sobre la piel o similar y las cantidades de aplicación tampoco están limitadas. Por ejemplo, una o ambas sustancias se aplican sobre la piel en una cantidad adecuada de una a cinco o seis veces al día según la edad de la

persona a la que se aplique, el sexo, la utilización que se pretende dar, la patología de la parte afectada de la piel, etc. Más específicamente, cuando el procedimiento de la invención se lleva a cabo utilizando la composición para la producción de colágeno descrito en el punto (l) anterior, una sola dosis puede ser ajustada convenientemente de forma que la cantidad de la composición que se aplica sobre la piel o similar se sitúa dentro de un intervalo de entre 0,5 a 10 mg/cm².

Ejemplos

La presente invención se describe con más detalle haciendo referencias a los ejemplos y a los ejemplos de prueba. Sin embargo el alcance de la invención no está limitado a estos ejemplos. En los ejemplos de prueba siguientes, "p/v%" es un peso (g) por 100 ml excepto que se especifique de otra forma.

Ejemplo 1 Loción (pH 6,5)

Adenosina monofosfato disódico	3,0 (% en peso)
Uridinamonofosfato disódico	0,1
Aceite de ricino Polioxietileno (E0,60)	0,7
Etanol	5,0
Glicerina	2,0
Antiséptico	0,2
Aroma	Cantidad suficiente
Ajustador del pH	Cantidad suficiente
Agua purificada	Balanza
Total	100,0% en peso

Se preparó una loción según la formulación anterior utilizando la forma de preparación habitual.

Ejemplo 2 Loción hidratante (pH 6,5)

Adenosina monofosfato disódico	1,5 (% en peso)
Uridinamonofosfato disódico	0,01
Polímero de carboxivinilo	0,3
Monomiristato de decaglicerilo	2,0
Escualeno	5,0
Etanol	1,0
Glicerina	6,0
Antiséptico	0,2
Ajustador del pH	Cantidad suficiente
Agua purificada	Balanza
Total	100,0% en peso

Se preparó una loción hidratante según la formulación anterior utilizando la forma de preparación habitual.

Ejemplo 3 Reparador capilar

Adenosina monofosfato disódico	10,0 (% en peso)
Uridinamonofosfato disódico	1,0
Ácido salicílico	0,1
Etanol	20,0
Glicerina	2,0
Antiséptico	0,2
Aroma	Cantidad suficiente
Ajustador del pH	Balanza
Total	100,0% en peso

Se preparó un reparador capilar según la formulación anterior utilizando la forma de preparación habitual.

Ejemplo 4 Loción hidratante (pH 6,5)

Adenosina monofosfato disódico	4,0 (% en peso)
Uridinamonofosfato disódico	1,0
Polímero de carboxivinilo	0,3
Monomiristato de decaglicerilo	2,0
Escualeno	5,0
Etanol	1,0
Glicerina	6,0

Antiséptico	0,2
Ajustador del pH	Cantidad suficiente
Agua purificada	Balanza
Total	100,0% en peso

Se preparó una loción hidratante según la formulación anterior utilizando la forma de preparación habitual.

5 Ejemplo de prueba 1. Evaluación del efecto de la estimulación de la producción de colágeno de la adenosina monofosfato disódica en cultivos de fibroblastos de piel humana.

10 Se cultivaron fibroblastos primarios de piel humana (fabricados por Kurabo Industries, Ltd.) en una placa de Petri de 10 cm y se recogieron las células cultivadas en estado subconfluyente y se conservaron mediante congelación. Utilizando las células conservadas mediante congelación, se llevó a cabo una valoración del efecto de la producción de colágeno de la adenosina monofosfato disódica (a partir de aquí denominada "AMP2Na"). A continuación, la proporción de AMP2Na se basó en la concentración de AMP.

Procedimiento de la evaluación

- 15 1) Las células conservadas mediante congelación se disolvieron en LSGS (Low Serum Growth Supplement/Suplemento sérico de crecimiento a baja concentración) que contenía un medio líquido de cultivo 106S (fabricado por Kurabo Industries, Ltd.) y la concentración celular y la cantidad de medio se ajustaron a 30000 células/100µl. Se vertieron 100 µl del líquido que contenía las células obtenidas de esta forma en cada pocillo de una placa de prueba.
- 20 2) Se prepararon soluciones de AMP2Na de varias concentraciones utilizando una solución tamponada de fosfato estéril, y después se filtraron a través de un filtro, seguido de esterilización. Las soluciones resultantes se añadieron a un medio líquido 106S (fabricado por Kurabo Industries, Ltd.) para preparar un medio de cultivo que contenía AMP2Na a varias concentraciones (0 a 1×10^{-5} p/v%).
- 25 3) Veinticuatro horas después de de inyectar las células en las placas se confirmó que los fibroblastos humanos se habían adherido a los pocillos, y se extrajo el medio de cada pocillo. A continuación, se añadió a cada pocillo un medio de cultivo que contenía AMP2Na (200 µl) de una de las varias concentraciones preparadas en el punto 2 anterior. Las mezclas se cultivaron a una temperatura de 37°C bajo un 5% de CO₂ durante dos días.
- 30 4) Dos días después del inicio del cultivo, se recogió el sobrenadante de cada pocillo, y se determinó la cantidad de Procolágeno de tipo I péptido-C (PICP) sobre la base de la cantidad de colágeno en el sobrenadante del cultivo utilizando un equipo EIA de Procolágeno de tipo I péptido-C (PICP) (fabricado por Takara Bio Inc.).

35 **Resultados**

40 Los resultados se muestran en la figura 1. Como se puede apreciar en la figura 1, la cantidad de PICP de las células cultivadas en el medio que contenía AMP2Na de varias concentraciones desde 1×10^{-8} a 1×10^{-5} p/v% aumentó en comparación con las células cultivadas en un medio sin AMP2Na. En especial, se confirmó que la cantidad de PICP de las células cultivadas en el medio que contenía AMP2Na a una concentración de 1×10^{-5} p/v% fue de aproximadamente 1,4 veces superior a la de las células cultivadas en un medio sin AMP2Na.

45 Ejemplo de prueba 2. Evaluación del efecto de estimulación de la producción de colágeno de la utilización combinada de adenosina monofosfato disódica y uridinamonofosfato disódica en cultivos de fibroblastos de piel humana.

50 Se realizó una evaluación del efecto de estimulación de la producción de colágeno demostrado por la utilización combinada de AMP2Na y uridina monofosfato disódica (en adelante denominada "UMP2Na"). Más específicamente, se preparó un medio que contenía AMP2Na y UMP2Na según las formulaciones que se muestran en la tabla 1 (medio de prueba 1 a 4). La evaluación del efecto de la estimulación de la producción de colágeno en cultivos de fibroblastos de piel humana se realizó siguiendo el mismo procedimiento del ejemplo de prueba 1 anterior a excepción de la utilización del mismo medio. En la tabla 1 las proporciones de AMP2Na y UMP2Na son sobre la base de la concentración de AMP y UMP respectivamente.

55 Tabla 1

	Proporción (p/v%)	
	AMP2Na	UMP2Na
Medio de prueba 1	1×10^{-6}	1×10^{-8}
Medio de prueba 2	1×10^{-6}	0
Medio de prueba 3	0	1×10^{-8}
Medio de prueba 4	0	0

5 Los resultados se muestran en la figura 2. Como se puede apreciar en la figura 2, la AMP2Na presenta una acción de estimulación de la producción de colágeno y la UMP2Na potencia claramente la acción de estimulación de la producción de colágeno de la AMP2Na, aunque la UMP2Na no presenta por sí misma ninguna acción sobre la estimulación de la producción de colágeno.

Aplicabilidad industrial

10 La sustancia relacionada con el ácido nucleico purina contenida en la composición para la utilización no terapéutica de la estimulación de colágeno de la invención como un principio activo muestra una excelente acción de estimulación de la producción de colágeno. En especial, la acción de estimulación de la producción de colágeno de la sustancia relacionada con el ácido nucleico purina está potenciada por la coexistencia de la sustancia relacionada con el ácido nucleico pirimidina. Consecuentemente, la composición se puede utilizar como un agente para la
15 utilización no terapéutica de la estimulación de la producción de colágeno de la invención, y puede estimular la producción de colágeno, y en especial, estimular eficazmente la producción de colágeno en la dermis.

Además, el agente aplicado externamente presenta una excelente acción de estimulación de la producción de colágeno y es útil como agente antienvjecimiento, hidratante, antiacné, antiarrugas, antiflacidez, antipalidez, para el crecimiento capilar, anticasca, embellecedor de uñas, reparador de heridas, etc.
20

REIVINDICACIONES

- 5 1. Utilización no terapéutica de una composición que comprende una sustancia relacionada con el ácido nucleico purina y una sustancia relacionada con el ácido nucleico pirimidina para la estimulación de la producción de colágeno, en la que la sustancia relacionada con el ácido nucleico purina es por lo menos un miembro seleccionado de entre el grupo constituido por el grupo de adenosina fosfato y su sal y la sustancia relacionada con el ácido nucleico pirimidina es por lo menos un miembro seleccionado de entre el grupo constituido por uridina fosfato y su sal.
- 10 2. Utilización según la reivindicación 1, en la que la composición se utiliza para un cosmético, o un fármaco medicinal o cuasimedical que se aplica externamente.
- 15 3. Utilización según la reivindicación 1 ó 2, en la que la sustancia relacionada con el ácido nucleico purina se selecciona de entre el grupo constituido por adenosina monofosfato y su sal y la sustancia relacionada con el ácido nucleico pirimidina es por lo menos un miembro seleccionado de entre el grupo constituido por uridina monofosfato y su sal.
- 20 4. Utilización según la reivindicación 3, en la que la sustancia relacionada con el ácido nucleico purina se selecciona de entre el grupo constituido por adenosina 5'-monofosfato y su sal y la sustancia relacionada con el ácido nucleico pirimidina es por lo menos un miembro seleccionado de entre el grupo constituido por uridina 5'-monofosfato y su sal.
- 25 5. Utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que la composición contiene la sustancia relacionada con el ácido nucleico pirimidina en una proporción de 0,001 a 100 partes en peso por parte en peso de la sustancia relacionada con el ácido nucleico purina.
- 30 6. Utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que la composición contiene la sustancia relacionada con el ácido nucleico purina en una proporción de 0,01 a 10% en peso sobre la base de la cantidad total de la composición.
- 35 7. Utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la que la composición contiene la sustancia relacionada con el ácido nucleico pirimidina en una proporción de 0,0001 a 10% en peso sobre la base de la cantidad total de la composición.
8. Procedimiento no terapéutico para la estimulación de la producción de colágeno que comprende la aplicación en la piel de la composición como se ha definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7.

Fig. 1

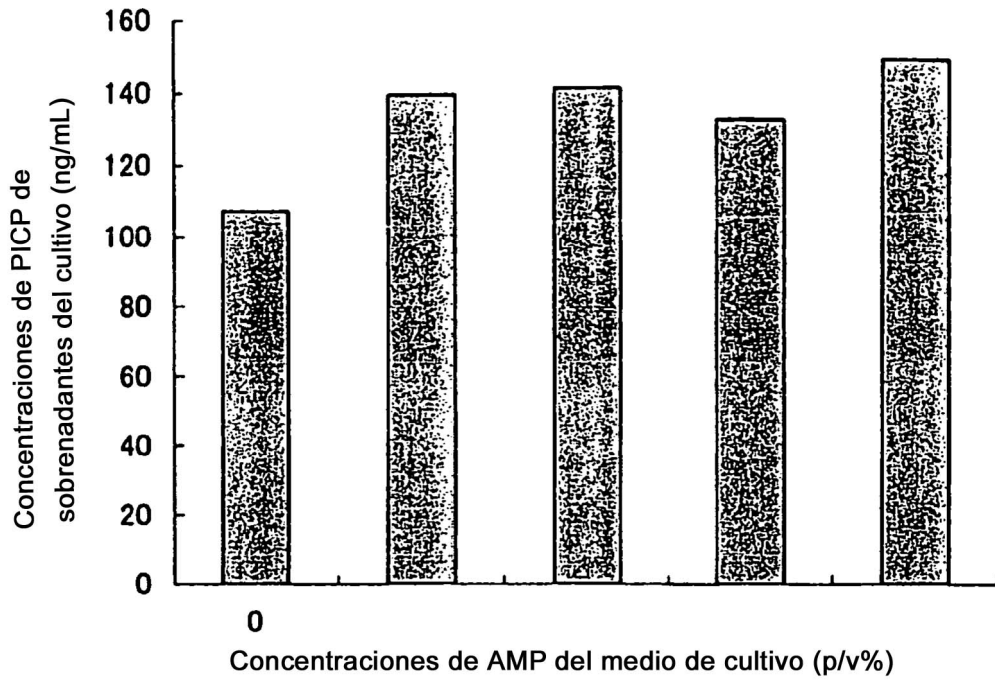


Fig. 2

