

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 543 322**

51 Int. Cl.:

A61K 8/49 (2006.01)

A61Q 19/08 (2006.01)

C07C 237/08 (2006.01)

C07D 209/14 (2006.01)

C07D 233/64 (2006.01)

A61P 17/00 (2006.01)

A61K 31/417 (2006.01)

A61K 31/4045 (2006.01)

A61K 31/165 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.07.2013 E 13305935 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.05.2015 EP 2682095**

54 Título: **Familia de compuestos ariletilamidas poliaminados, y sus aplicaciones cosméticas o dermocosméticas**

30 Prioridad:

02.07.2012 FR 1256310

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

18.08.2015

73 Titular/es:

**EXSYMOL (100.0%)
4, Avenue Albert II
98000 Monaco, MC**

72 Inventor/es:

SEGUIN, MARIE-CHRISTINE

74 Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

ES 2 543 322 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

Familia de compuestos ariletilamidas poliaminados, y sus aplicaciones cosméticas o dermocosméticas.

5 La invención se refiere a una familia de compuestos estables ariletilamidas poliaminados y a la utilización de estos compuestos como agentes inhibidores de los daños del ADN inducidos por los subproductos de la glicosilación no enzimática de los tejidos cutáneos.

10 La invención concierne igualmente composiciones cosméticas o dermocosméticas destinadas a luchar contra los desórdenes cutáneos asociados a estos mismos subproductos de glicosilación.

15 El proceso de glicosilación no enzimática de las proteínas es un fenómeno identificado desde hace mucho tiempo, consiste inicialmente en la condensación espontánea de azúcares reductoras, tales como la glucosa o la fructosa, con las funciones aminas N-terminales de ciertos constituyentes proteicos o lipoproteicos, tales como los aminoácidos lisina y arginina. A diferencia del proceso de glicosilación enzimática, genéticamente programado, un tal proceso conduce desfavorablemente, después de una sucesión de reacciones en cadena y de reordenamientos moleculares complejos, a alteraciones irreversibles de las proteínas.

20 El daño de estas alteraciones sobre los tejidos biológicos, y las células que lo componen, está claramente establecido, con consecuencias fisiológicas múltiples: alteraciones funcionales de las proteínas que conducen a disfunciones del metabolismo celular (perturbaciones de las actividades enzimáticas), alteraciones de las propiedades mecánicas de ciertos tejidos de sostén, desencadenamiento de procesos inflamatorios o de estrés oxidativo con la producción de citoquinas o de especies reactivas derivadas del oxígeno, daños al proceso de reparación, etc. Se ha demostrado además que tales modificaciones de las proteínas juegan un papel esencial en el desarrollo o la aceleración de ciertas patologías, especialmente ligadas a la edad, como la diabetes mellitus, la aterosclerosis, las enfermedades de Alzheimer y de Parkinson, la insuficiencia renal, etc. (J. Uribarri y col., J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci. (2007), vol. 62, pp.437-433).

30 Con respecto a la piel de manera específica, el impacto del proceso de glicosilación no enzimática de las proteínas, en particular sobre su envejecimiento, es, indudable. En efecto, una vez glicadas por la condensación espontánea del azúcar, las proteínas cutáneas, en particular las de estructura tal y como el colágeno o la elastina, se rigidizan con la acumulación de enlaces cruzados covalentes interfibras. Las propiedades visco-elásticas de la piel se encuentran entonces disminuidas, acentuando las arrugas nacientes o formadas. La renovación de estas proteínas cutáneas es igualmente reducida (Dyer D.G. y col., J. Clin. Invest. (1993), vol.91, pp.2463-9).

35 Otro conocimiento bien adquirido actualmente, y no de los menores, sobre el proceso de glicosilación no enzimática de las proteínas es que este proceso complejo libera también sustancias, que se designan a menudo por el término de "subproductos de glicosilación", que se comportan como verdaderas toxinas. Por otra parte, como en un reciente artículo y de su título « *Glycotoxins: a possible threat to health?* » (Odetti P. y col., Mediterr. J. Nutr. Metab., (2008), vol. 1, pp. 63-67), es cada vez más señalado en la literatura, y tal se expone en la invención a continuación, la terminología más sugestiva de "glicotoxinas" para designar el conjunto de los productos deletéreos que resultan de procesos de glicosilación no enzimática de las proteínas (Koschinski T. y col., Proc Natl. Acad. Sci. USA (1997), vol. 94, pp. 6474-6479). Se trata de un conjunto mal definido de sustancias entre las cuales podemos sin embargo distinguir los compuestos α -cetoaldehídos tal y como el glioxal, el metilglioxal o la desoxiglicosona.

45 Una característica de las glicotoxinas, particularmente perjudicial para los organismos vivos, es su capacidad de dañar el ADN de las células. En efecto, tales modificaciones pueden inducir mutaciones génicas responsables de una inestabilidad genómica. A título de ejemplo, ha sido reportado así el carácter mutágeno de los subproductos formados cuando la proteína albúmina bovina (BSA) es incubada *in vitro* con la glucosa (Ogata M. y col., J. Clin. Biochem. Nutr. (2006), vol. 38, pp. 176-179). Varios α -cetoaldehídos, y en particular los glioxal y metilglioxal susodichos, son anunciados capaces de inducir mutaciones sobre los genes de cepa bacteriana y de células humanas (Ueno H. y col., Mutat. Res. (1991), vol. 251, pp. 99-107). Más recientemente, ha sido reportado el potencial genotóxico de las glicotoxinas susceptibles de conllevar a la formación de aductos estables por reacción con ciertos nucleósidos constitutivos del ADN (Ahmad S., Biochem. Biophys. Res. Commun. (2011), vol. 15, pp.568-74). El metilglioxal se dirige así particularmente a las guanosinas del ADN de las cadenas nucleosídicas, conllevando entonces, en la ausencia de una reparación eficaz, a la aparición de mutaciones durante el proceso de replicación del ADN (Wuenschell G. E. y col., Biochemistry (2010), vol. 49, pp.1814-1821).

60 En consecuencia, considerando estos diferentes resultados, la solicitante se ha centrado en la identificación de sustancias, orientadas a la cosmética o la dermocosmética, capaces de interferir sobre el proceso de glicosilación no enzimática de las proteínas, con el objetivo mayor de evitar todo daño que afecte al ADN de las células cutáneas y que resulta de la producción de glicotoxinas. Es en efecto un enfoque hoy en la industria cosmética, particularmente en la lucha contra la senescencia prematura de las células cutáneas, de proteger el ADN genómico de células tales como los queratinocitos o los fibroblastos.

65 Con este objetivo, la solicitante ha buscado más precisamente estructuras originales capaces de secuestrar, durante

5 el proceso de glicosilación no enzimática de las proteínas, los subproductos de glicosilación tales como las glicotoxinas genotóxicas descritas arriba, vigilando que los aductos (glicotoxina-secuestrante) formados no sean genotóxicos, pero también que estos mismos aductos no puedan evolucionar hacia la formación de productos ellos mismos genotóxicos. Es en efecto de primera importancia en el marco de una finalidad cosmética o dermocosmética de asegurarse, además de la inocuidad de las sustancias, igualmente de la inocuidad de los subproductos de reacción resultante de la actividad cosmética buscada.

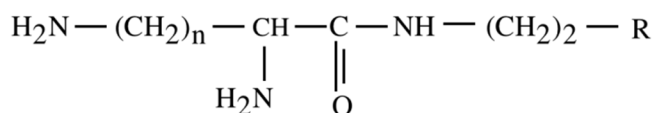
10 Referente al estado de la técnica ligada a los objetivos de la solicitante, el arte anterior revela esencialmente, al conocimiento de ésta, sustancias o preparaciones que muestran un simple perfil preventivo o inhibidor en la formación de productos de glicosilación. Así, como ejemplo, las sustancias de la familia de las guanidinas como la aminoguanidina y la metformina son de interés terapéutico por su capacidad de ligarse a los subproductos precoces de la glicosilación (Matsuki K. y col., *Atherosclerosis* (2009), vol. 206, pp. 434-8). Muchas sales de tiazolio, particularmente el bromuro de N-fenacil-tiazolio o "PTB", serían también de interés terapéutico por motivo de su capacidad de romper los enlaces cruzados entre proteínas (Ulrich P. y col., *Diabetologia* (1997), vol. 40, pp. S157-S159).

15 En materia de cuidado cutáneo, ciertos derivados hidroxilados del benzofurano son utilizados con fines cosméticos por sus propiedades limitantes, anunciadas como inhibidoras, de la reacción de glicosilación no enzimática de proteínas dérmicas o queratínicas (patente FR 2833165). Los solicitantes de las patentes FR 2802425 y WO 2010/010248 llegaron a identificar extractos vegetales, respectivamente de la familia de los Ericaceae y Sapotaceae, para la protección de células y proteínas cutáneas con un mismo resultado limitante o inhibidor. Pero se debe subrayar que ninguno de estos documentos aporta en combinación, y una enseñanza sobre un beneficio en contra del ADN de las células cutáneas con respecto específicamente de las glicotoxinas genotóxicas, y una enseñanza sobre el devenir de los subproductos de glicosilación destoxificados. Más ampliamente, se citan igualmente las propiedades antioxidantes de productos que poseen un grupo imidazol, objetos de la solicitud de patente WO95/12581 depositada por la solicitante, explotadas para diversas aplicaciones terapéuticas y cosmetológicas.

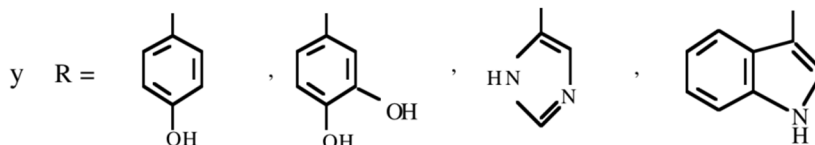
20 Teniendo como base inicial obtener una estructura poliamina lineal como por ejemplo las sustancias espermina y espermidina de interés contra la glicosilación no enzimática de ciertas proteínas (Gugliucci A. y col. *Life Sciences* (2003), vol. 72, pp. 2603-2616), la solicitante ha descubierto así que una familia limitada de compuestos, obtenidos por reacción de acoplamiento entre un panel de ácidos aminoalcanoicos y de etilaminas primarias que llevan un núcleo aromático o un heterociclo aromático, presentaba un comportamiento general inhibidor de los daños al ADN inducido por los subproductos deletéreos de glicosilación como las glicotoxinas. Los compuestos de la invención presentan las propiedades ventajosas siguientes:

- 35 - una capacidad para proteger una proteína nuclear, blanco privilegiado de las glicotoxinas, las histonas [cf. prueba 1 a continuación]. Las histonas constituyen las proteínas esenciales al enrollamiento del ADN alrededor del nucleosoma, pues orquestan el nivel de compactación o de relajación de la cromatina, forma bajo la cual se presenta el ADN en el núcleo y que permite una accesibilidad de los sistemas de reparación al sitio de daños del ADN (Roberts y col., *Mut. Res.* (2003), vol. 522, pp. 45-56);
- 40 - una capacidad para suprimir el carácter mutágeno de los subproductos genotóxicos derivados de la glicosilación no enzimática de una proteína por la fructosa, reflejada por una capacidad de reducir significativamente, incluso totalmente, el número de mutaciones (llamadas "reversiones") inducidas en una procarionota de referencia [cf. prueba 2 a continuación];
- 45 - una capacidad para suprimir el carácter mutágeno de una glicotoxina de referencia, el metilgloxal [cf. prueba 3 a continuación];
- 50 - una capacidad para interferir sobre el proceso de glicosilación no enzimática con la propiedad de no formar, en condiciones glicosilantes, subproductos genotóxicos, o de no evolucionar en esas condiciones hacia la formación de tales subproductos [cf. prueba 4 a continuación].

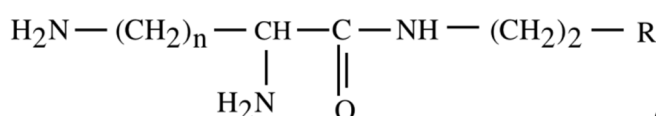
55 La invención tiene pues como primer objeto una familia de compuestos estables ariletilamidas poliaminados, caracterizada porque la susodicha familia es representada por la fórmula general (II) siguiente:



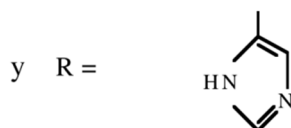
(II)

en la cual : $n = 1$ a 2 

5 Siguiendo un modo de realización preferido de la invención, los compuestos de la invención son representados por la fórmula (III) a continuación:



(III)

en la cual : $n = 1$ a 2 

La invención se refiere también a las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de fórmula (II) o (III).

10 A título de ejemplos no limitativos de los compuestos ariletilamidas poliaminados de fórmula (II), se puede citar más especialmente los compuestos siguientes:

- 15
- *N*-((4-imidazolil)etil)- α,γ -diaminobutanamida
 - *N*-((4-imidazolil)etil)- α,β -diaminopropanamida
 - *N*-((3-indolil)etil)- α,β -diaminopropanamida
 - *N*-((4-hidroxifenil)etil)- α,β -diaminopropanamida
 - *N*-((3,4-dihidroxifenil)etil)- α,β -diaminopropanamida

20 Los compuestos ariletilamidas poliaminados de fórmula (III) son los siguientes:

- *N*-((4-imidazolil)etil)- α,γ -diaminobutanamida
- *N*-((4-imidazolil)etil)- α,β -diaminopropanamida.

25 Siguiendo un modo de realización todavía más ventajoso de la invención, las fórmulas (II) y (III) susodichas se refieren más especialmente a los compuestos ariletilamidas poliaminados *N*-((4-imidazolil)etil)- α,γ -diaminobutanamida y *N*-((4-imidazolil)etil)- α,β -diaminopropanamida, más especialmente el compuesto *N*-((4-imidazolil)etil)- α,β -diaminopropanamida.

30 Los compuestos de la invención pueden ser sintetizados bajo la forma de base libre o de sal por métodos muy conocidos del hombre del arte, por ejemplo siguiendo una aproximación química clásica para la síntesis de péptidos (secuencias de protección, acoplamiento y desprotección). Las sales de los compuestos de la invención pueden ser en particulares conseguidos por reacción de los dichos compuestos con un ácido inorgánico o un ácido orgánico.

35 Según un segundo aspecto, la invención se extiende igualmente a una composición, para uso cosmético o dermocosmético, destinada a prevenir o limitar el "riesgo genotóxico" asociado al proceso de glicosilación no enzimática, y en particular asociado a la formación de subproductos de glicosilación genotóxicos (glicotoxinas). La susodicha composición comprende en asociación con todo coadyuvante fisiológicamente compatible con la piel, a título de ingrediente activo principal, un compuesto de fórmula general (II) o (III) tal como se definió anteriormente, presentándose bajo forma sólida pulverulenta, soluble en medio acuoso o hidro-alcohólico pero insoluble en el etanol, estable en una amplia gama de pH (3-9).

40

En el marco de la presente invención, se entiende por "ingrediente activo principal" una sustancia activa capaz de destoxificar las glicotoxinas y de oponerse a su formación y a sus efectos deletéreos.

Ventajosamente, la cantidad de compuesto de fórmula general (II) o (III) en la composición anterior está comprendida entre 0,01% y 1% en peso con respecto al peso total de la composición, de preferencia entre 0,01% y 0,5% en peso, y más especialmente todavía entre 0,02 % y 0,2 % en peso.

5 Las composiciones según la invención son adaptadas a una administración por vía tópica cutánea, presentadas bajo todas las formas normalmente utilizadas para tal administración. A título indicativo y no limitativo, las composiciones pueden presentarse en forma de suspensiones, lociones, cremas, geles acuosos o hidro-alcohólicos, polvos y emulsiones múltiples que pueden ser eventualmente microemulsiones o nanoemulsiones, etc.

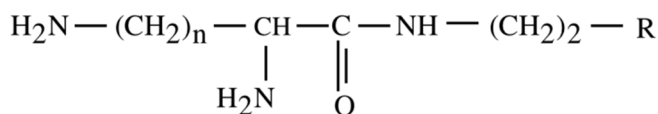
10 Las composiciones según la invención pueden ser formuladas también para una administración por vía oral ilustrada de modo limitativo por un comprimido, una cápsula blanda, una cápsula dura, una pastilla, una bolsita, una pasta, un líquido (emulsionado o no), etc.

15 Las composiciones según la invención pueden contener como coadyuvante fisiológicamente aceptable por lo menos un coadyuvante conocido por el hombre del arte y aceptable en los dominios cosmético o dermocosméticos, escogido entre los aceites, las ceras, los elastómeros de silicona, los tensioactivos, los cotensioactivos, los espesantes y/o gelificantes, los humectantes, los emolientes, los filtros solares orgánicos o inorgánicos, los foto-estabilizantes, los conservantes con excepción de los conservantes dadores de aldehídos, los colorantes, los agentes opacificantes, los agentes tensores, los secuestrantes, los perfumes, etc, y sus mezclas.

20 Las composiciones según la invención pueden comprender además uno o varios activos adicionales, el hombre del arte debe cuidar sin embargo que estos eventuales compuestos complementarios activos, lo mismo que sus proporciones, sean elegidos de tal manera que las propiedades ventajosas reconocidas de las composiciones según la invención no sean alteradas. Estos activos adicionales pueden ser elegidos, sin que esta lista sea limitativa, entre los agentes desglucantes, los agentes que estimulan la síntesis de colágeno o de elastina o que previenen su degradación, los agentes que estimulan la síntesis de glicosaminoglicanos o de proteoglicanos o previenen su degradación, los agentes que aumentan la proliferación celular, los agentes des-pigmentantes o pro-pigmentantes, los agentes antioxidantes o anti-radicales o anti-polución, los agentes hidratantes, los agentes que estimulan la lipólisis, los agentes drenantes o destoxicantes, los agentes antiinflamatorios, los agentes aceleradores de penetración, los agentes descamantes, los agentes calmantes y/o anti-irritantes, los agentes astringentes, los agentes que actúan sobre la microcirculación, etc, y sus mezclas.

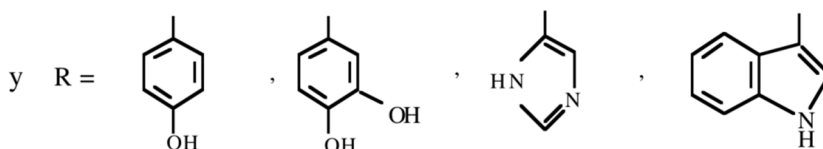
25 Las composiciones según la invención tienen como objetivo prevenir o luchar contra todo desorden cutáneo asociado al proceso de glicosilación no enzimática de las proteínas y a la formación de glicotoxinas genotóxicas, escogido entre la senescencia prematura de las células cutáneas, la aclaración de la piel, etc. En tales composiciones, el compuesto ariletilamida poliaminado es preferentemente de fórmula (III), particularmente más todavía el compuesto *N*-((4-imidazolil)etil)- α,β -diaminopropanamida.

35 Otro objeto de la invención concierne a la utilización cosmética o dermocosmética de un compuesto ariletilamida poliaminado como agente inhibidor de los daños al ADN inducidos por las glicotoxinas genotóxicas, el susodicho compuesto ariletilamida poliaminado que es de fórmula general siguiente (II):

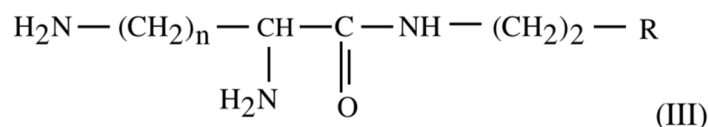


(II)

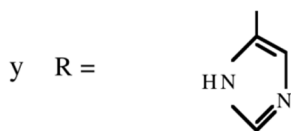
en la cual : $n = 1 \text{ a } 2$



45 De preferencia en la utilización anterior, es seleccionado un compuesto de fórmula (III) siguiente:



en la cual : $n = 1 \text{ a } 2$



y de manera preferida el compuesto *N*-((4-imidazolil)etil)- α,β -diaminopropanamida.

5 Otro objeto de la invención concierne a un método de tratamiento cosmético que comprende la aplicación sobre por lo menos una parte de la piel del cuerpo, de una composición cosmética tal y como definida anteriormente en cantidad eficaz para luchar contra los desórdenes cutáneos asociados a los subproductos de glicosilación no enzimática de los tejidos cutáneos.

10 Ejemplo 1:

A título de ilustración, se mencionan a continuación dos ejemplos de formulación de composición según la invención, que contienen un compuesto ariletilamida poliaminado de la fórmula general (II) precitada:

15 Fórmula A (crema)

	<i>N</i> -((4-imidazolil)etil)- α,β -diaminopropanamida	0,05%
	Poliisobuteno hidrogenado	7 %
	Miristato de isobutilo	3 %
20	Palmitato de cetilo	7 %
	Monoestearato de etilenglicol	5 %
	Laurato de sorbitano	2 %
	Polisorbato 20	2 %
	Carbomero (copolímero de acrilato/acrilamida & aceite mineral)	0,3 %
25	Fenoxietanol	0,5 %
	Agua	c.s.p. 100%

Fórmula B (gel)

30	<i>N</i> -((4-imidazolil)etil)- α,γ -diaminobutanamida	0,1 %
	Carbomero (copolímero de acrilato/acrilamida & aceite mineral)	1,5 %
	<i>Benzoato de sodio</i>	0,2 %
	Acido sórbico	1 %
	1,3-butanodiol	10 %
35	Glicerina	5 %
	Solución de hidróxido de sodio a 30 %	0,13 %
	Fenoxietanol	0,9 %
	Agua	c.s.p. 100%

40 Ejemplo 2:

La invención se ilustra a continuación, a título puramente indicativo, por las siguientes pruebas mencionadas más arriba en la descripción de la invención (pruebas 1 a 4).

45 También debe señalarse que los primeros resultados de estudios *in vivo* realizados en el hombre (pruebas de aplicaciones repetidas bajo parches, proveedor: Sociedad Evic Rumania) indican una buena tolerancia cutánea de un compuesto ariletilamida poliaminado según la presente invención.

50 Prueba 1: puesta en evidencia de la capacidad de los compuestos ariletilamidas poliaminados de fórmula general (II) para proteger las proteínas esenciales para el enrollamiento del ADN nuclear, las histonas, con respecto a una glicotoxina de referencia, el metilglioxal (MGO)

55 Una solución de histonas purificadas (5 mg/ml), enriquecida en histona H1, es incubada en presencia de la glicotoxina de referencia MGO (10 mM) durante 24 hs a 37°C bajo agitación. Para seguir específicamente la fluorescencia de los productos formados por la glicosilación no enzimática de las histonas, es necesario liberarse de

la fluorescencia del MGO, lo mismo que de aquella de los productos glicotoxina-secuestrante, para eso la mezcla de reacción es dializada. La mezcla es introducida en un cassette de diálisis y sufrirá 3 baños sucesivos de 3 horas cada uno en una solución tampón NaH_2PO_4 (83,3 mM), en la cual es diluido el MGO. La fluorescencia de la mezcla dializada, indicativa de los daños de las histonas por reacción con el MGO (formación de aductos) es medida por fluorimetría (λ de excitación: 340 nm; λ de emisión: 470 nm. La unidad de medida corresponde a de los RFU (del Inglés: Relative fluorescence Unit).

Tabla 1

Compuesto	RFU
histonas + MGO 10 mM (referencia)	62231
<i>N</i> -((4-imidazolil)etil)- α,β -diaminopropanamida 10 mM + histonas + MGO 10 mM	20441
<i>N</i> -((4-imidazolil)etil)- α,γ -diaminobutanamida 10 mM + histonas + MGO 10 mM	21526

Los resultados subrayan, para los compuestos *N*-((4-imidazolil)etil)- α,β -diaminopropanamida y *N*-((4-imidazolil)etil)- α,γ -diaminobutanamida según la invención, una capacidad para disminuir fuertemente la formación de productos de glicosilación no enzimática generados por la reacción de la glicotoxina con las histonas.

Prueba 2: puesta en evidencia de la capacidad de los compuestos ariletilamidas poliaminados de fórmula general (II) para detoxificar las glicotoxinas liberadas por una proteína glicosilada

El estudio ha sido realizado sobre una cepa bacteriana *Salmonella typhimurium* (TA 100) perteneciente a las cepas de referencia utilizadas para el test reglamentario de Ames (ICH steering committee, 19 de Julio de 1995, Guidance on specific aspect of regulatory genotoxicity tests for pharmaceuticals), el objetivo es determinar en las colonias de cepas mutadas el número de reversiones, indicadoras de la mutagénesis, del sistema caseína-fructosa, en presencia o en ausencia de un compuesto según la invención.

Experimentalmente, 2,7 g de D-(+)-fructosa son solubilizados a temperatura ambiente en 100 mL de tampón fosfato. Después de tomar una muestra de 20 g de la solución límpida incolora, ($C_{\text{fructosa}} = 150 \text{ mM}$), 0,600 g de caseinato de sodio son introducidos hasta solubilización completa. La solución es introducida después en 2 tubos de ensayo de 10 mL con tapas de rosca, luego colocados en un baño de aceite a 120°C durante 1 h.

Paralelamente la cepa TA 100 es puesta en cultivo en el nutriente Broth Oxoid N°2 (NBO2) suplementado con Ampicilina. El cultivo es puesto una noche a 37°C en un agitador orbital (88 rpm) de manera que las bacterias se encuentren en fase exponencial de crecimiento (10^7 a 10^9 bacterias/ml). Por otro lado, 0,92 g del compuesto según la invención, el *N*-((4-imidazolil)etil)- α,β -diaminopropanamida es solubilizado en una solución tampón de fosfato salino (PBS) recientemente preparada. A diferentes concentraciones (400 μl) de compuesto según la invención son añadidos sucesivamente 500 μl de caseína glicada susodicha y 100 μl de la suspensión bacteriana susodicha, la mezcla resultante siendo incubada 30 minutos a 37°C bajo agitación orbital, 122 rpm. Se añaden 2 ml de agar blando suplementado con Histidina Biotina y mantenido a 45°C y, después de mezclarlos al vórtice, son depositados sobre una caja de petri que contiene agar duro Vogel-Bonner. Después de solidificación las cajas fueron trasladadas a la incubadora a 37°C durante 48 a 72 hs.

La prueba ha sido realizada en ausencia de activador metabólico según el método de pre-incubación sobre la cepa TA 100. La cuenta de las colonias es realizada después manualmente.

Los resultados son presentados en la tabla 2 a continuación, en comparación con un testigo negativo (tampón fosfato PBS).

Tabla 2

Compuesto	Número de reversiones	R
referencia (PBS)	84	1
caseína fructosilada	138	1,64
<i>N</i> -((4-imidazolil)etil)- α,β -diaminopropanamida (7,5 mM)	119	1,42
<i>N</i> -((4-imidazolil)etil)- α,β -diaminopropanamida (15 mM)	93	1,11

Los resultados subrayan que el compuesto *N*-((4-imidazolil)etil)- α,β -diaminopropanamida según la invención es capaz de disminuir fuertemente la toxicidad de las glicotoxinas formadas. Además se observa un efecto dosis.

Prueba 3: Puesta en evidencia de la capacidad de los compuestos ariletilamidas poliaminados de fórmula general (II) para detoxificar una glicotoxina de referencia, el metilglicoxal (MGO)

El estudio ha sido realizado de manera casi idéntica a la prueba 2 anterior, sin embargo con una solución de MGO a la concentración de 140 μM que vienen a reemplazar los 500 μl de caseína glicada. Además del compuesto *N*-((4-

imidazolil)etil)- α,β -diaminopropanamida, hemos probado igualmente los siguiente compuestos según la invención, a diferentes concentraciones:

- 5
- *N*-((4-hidroxifenil)etil)- α,β -diaminopropanamida
 - *N*-((4-imidazolil)etil)- α,γ -diaminobutanamida
 - *N*-((3,4-dihidroxifenil)etil)- α,β -diaminopropanamida.

Los resultados se reúnen en la tabla 3 a continuación, en comparación con un tampón fosfato PBS (testigo negativo).

10

Tabla 3

Compuesto	Número de reversiones
Referencia (PBS)	72
Metilglioxal 280 μ M	308
<i>N</i> -((4-imidazolil)etil)- α,β -diaminopropanamida (75 μ M)	141
<i>N</i> -((4-imidazolil)etil)- α,β -diaminopropanamida (750 μ M)	95

Compuesto	Número de reversiones
Referencia (PBS)	91
Metilglioxal 140 μ M	161
<i>N</i> -((4-hidroxifenil)etil)- α,β -diaminopropanamida (75 μ M)	152

Compuesto	Número de reversiones
Referencia (PBS)	91
Metilglioxal 140 μ M	161
<i>N</i> -((4-imidazolil)etil)- α,γ -diaminobutanamida (75 μ M)	154
<i>N</i> -((4-imidazolil)etil)- α,γ -diaminobutanamida (750 μ M)	116

15

Compuesto	Número de reversiones
Referencia (PBS)	91
Metilglioxal 140 μ M	161
<i>N</i> -((3,4-dihidroxifenil)etil)- α,β -diaminopropanamida (75 μ M)	161
<i>N</i> -((3,4-dihidroxifenil)etil)- α,β -diaminopropanamida (750 μ M)	111

Los resultados subrayan que un panel bastante vasto de compuestos según la invención es capaz de reducir fuertemente la mutagenicidad del metilglioxal.

20 Prueba 4: Puesta en evidencia de la capacidad de los compuestos ariletilamidas poliaminados de fórmula general (II) para interferir sobre el proceso de glicosilación no enzimática sin formar subproductos mutágenos

25 El estudio ha sido realizado de manera casi idéntica a la prueba 2 anterior, sin embargo con la D-glucosa que viene a reemplazar la D-(+)-fructosa y según las siguientes condiciones. Experimentalmente, 18,02 g de D-glucosa son solubilizados a temperatura ambiente en 100 mL de agua. Después de tomar una muestra de 10 mL de la solución, 10 mM del compuesto según la invención, el *N*-((4-imidazolil)etil)- α,β -diaminopropanamida, son introducidos con ajuste del pH por adición de una solución de hidróxido de sodio. La mezcla de reacción resultante es introducida entonces en un tubo de ensayo con tapa de rosca, luego calentada 80 minutos a 100°C.

30 Paralelamente, la cepa TA 100 es puesta en cultivo en el Nutriente Broth Oxoid N^o2 (NBO2) suplementado en Ampicilina. El cultivo es colocado una noche a 37°C en un agitador orbital, 88 rpm, de manera que las bacterias se encuentren en fase exponencial de crecimiento (10^7 a 10^9 bacterias/ml).

35 A 100 μ l de solución de prueba son añadidos 100 μ l de la suspensión bacteriana susodicha y 500 μ l de tampón fosfato PBS, la mezcla obtenida es incubada 1 h a 37°C bajo agitación orbital (122 rpm). Se añaden 2 ml de gelosa blanda suplementada con Histidina Biotina y mantenida a 45°C y, después de mezclar en el vórtice, son depositados en cajas de petri que contienen gelosa sólida Vogel-Bonner. Después de solidificación las cajas fueron trasladadas a la incubadora a 37°C durante 48-72 hs.

40 La prueba fue realizada en ausencia de activador metabólico según el método de preincubación sobre la cepa TA 100. La cuenta de las colonias es realizada después manualmente. Los resultados son presentados en la tabla 4 a continuación, en comparación con dos referencias: una referencia negativa (tampón fosfato PBS) y una referencia positiva mutagénica (nitrato de sodio NaNO₃).

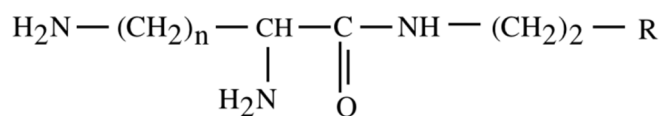
Tabla 4

Compuesto	Número de reversiones
Referencia (PBS) (reversiones espontáneas)	88
Referencia (NaN ₃) (referencia positiva)	211
<i>N</i> -((4-imidazolil)etil)- α,β -diaminopropanamida (1,667 μ l/caja)	104
<i>N</i> -((4-imidazolil)etil)- α,β -diaminopropanamida (25 μ l/caja)	95
<i>N</i> -((4-imidazolil)etil)- α,β -diaminopropanamida (50 μ l/caja)	90
<i>N</i> -((4-dihidroxifenil)etil)- α,β -diaminopropanamida (50 μ l/caja)	93
<i>N</i> -((4-imidazolil)etil)- α,γ -diaminobutanamida (50 μ l/caja)	93

5 Los resultados subrayan que los compuestos ariletilamidas poliaminados de fórmula general (II) según la invención no generan, a pesar de las condiciones glicosilantes, subproductos mutágenos.

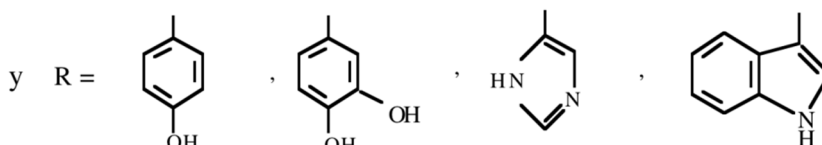
REIVINDICACIONES

1. Compuesto ariletilamida poliaminado, caracterizado porque es representado por la fórmula general (II) siguiente:



(II)

en la cual : $n = 1 \text{ a } 2$



5

2. Compuesto ariletilamida poliaminado según la reivindicación 1, caracterizado porque se trata de la *N*-((4-imidazolil)etil)- α,γ -diaminobutanamida o la *N*-((4-imidazolil)etil)- α,β -diaminopropanamida.

10 3. Compuesto ariletilamida poliaminado según la reivindicación 2, caracterizado porque se trata de la *N*-((4-imidazolil)etil)- α,β -diaminopropanamida.

15 4. Composición cosmética o dermocosmética, caracterizada porque incluye, en asociación con todo adyuvante fisiológicamente compatible con la piel, a título de ingrediente activo principal, un compuesto tal como se definió en algunas de las reivindicaciones 1 a 3.

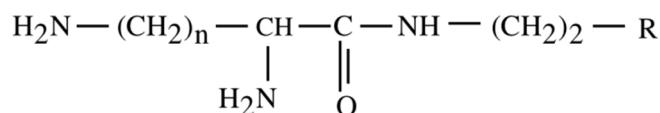
5. Composición según la reivindicación 4, caracterizada porque dicho compuesto es elegido entre la *N*-((4-imidazolil)etil)- α,γ -diaminobutanamida y la *N*-((4-imidazolil)etil)- α,β -diaminopropanamida.

20 6. Composición según la reivindicación 5, caracterizada porque dicho compuesto es la *N*-((4-imidazolil)etil)- α,β -diaminopropanamida.

7. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 6, caracterizada porque la cantidad de dicho compuesto está comprendida entre 0,01% y 1% en peso con respecto al peso total de la composición.

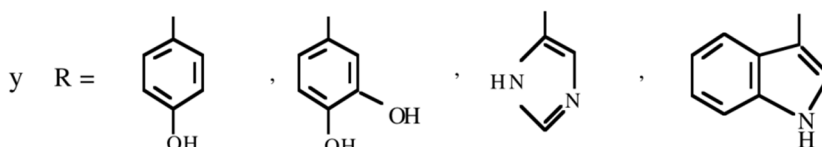
25 8. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 7, caracterizada porque comprende además uno o varios activos elegidos dentro de los agentes desglucantes, los agentes que estimulan la síntesis de colágeno o de elastina o previenen su degradación, los agentes que estimulan la síntesis de glicosaminoglicanos o de proteoglicanos o previenen su degradación, los agentes que aumentan la proliferación celular, los agentes despigmentantes o pro-pigmentantes, los agentes antioxidantes o anti-radicales o anti-polución, los agentes hidratantes, los agentes que estimulan el lipólisis, los agentes drenantes o detoxificantes, los agentes antiinflamatorios, los agentes aceleradores de la penetración, los agentes descamantes, los agentes calmantes y/o anti-irritantes, los agentes astringentes, los agentes que actúan sobre la microcirculación, y sus mezclas.

35 9. Compuesto de fórmula general (II):



(II)

en la cual : $n = 1 \text{ a } 2$



40 para el uso de prevenir o luchar contra los desórdenes cutáneos asociados a la formación de subproductos de glicosilación y de glicotoxinas genotóxicas.

10. Compuesto para el uso según la reivindicación 9, caracterizado en lo que el dicho desorden cutáneo es elegido dentro de la senescencia prematura de las células cutáneas y el aclaramiento de la piel.

5 11. Compuesto para el uso según la reivindicación 9 o la reivindicación 10, caracterizado en lo que el dicho compuesto es tal que definido en la reivindicación 2 o en la reivindicación 3.