

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 548 982**

51 Int. Cl.:

C07K 7/08 (2006.01)

C07K 7/06 (2006.01)

C07K 14/47 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.11.2009 E 09838926 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.07.2015 EP 2383283**

54 Título: **Péptido derivado de nogina y uso del mismo**

30 Prioridad:

20.01.2009 KR 20090004668

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

22.10.2015

73 Titular/es:

**CAREGEN CO., LTD. (100.0%)
690-3 Geumjeong-dong Gunpo-si
Gyeonggi-do 435-050, KR**

72 Inventor/es:

**CHUNG, YOUNG JI;
KIM, YOUNG DEUG;
KIM, EUN MI;
SONG, SANG SU;
HONG, IL;
CHO, KYOUNG MI;
KIM, SU MI y
HAN, SANG MIN**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 548 982 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

Péptido derivado de nogina y uso del mismo

Campo técnico

La presente divulgación se refiere a un péptido derivado de nogina y a una composición que contiene el mismo.

5 Antecedentes

10 El folículo piloso es un órgano de la piel característico de mamíferos. En la base del folículo piloso está una estructura grande que se llama papila (Stenn y Paus, *Physiol. Rev.*, 81: 449 (2002)). La papila es esencial en la circulación normal del folículo piloso (Oliver, *Embryol. Exp. Morph.* 15: 331 (1966) ; Oliver, *Embryol. Exp. Morph.* 16: 231 (1967)) y en el crecimiento del tallo piloso. El tallo piloso es una estructura en forma de hilo preparada a partir de células epiteliales, compuesta de filamentos de queratina y de proteínas de agregación de filamentos unidas fuertemente a ellos.

El cabello humano sigue un ciclo de crecimiento con tres fases distintas: fases anágena, catágena y telógena. El ciclo de crecimiento del cabello está regulado por hormonas o por muchos factores de crecimiento. Estrés o desnutrición graves pueden adelantar las fases catágena y telógena, dando lugar a pérdida de cabello grave (alopecia) (Vladimir A. Botchkarev, *American Journal of Pathology*, 162: 709-712 (2003)).

15 En la calvicie de patrón masculino, los folículos pilosos en la parte frontal y en parte superior del cuero cabelludo son sensibles a los andrógenos, lo que provoca que los folículos se encojan o miniaturicen, dando como resultado así pérdida de cabello. En un 20 % de las mujeres, el cabello a menudo se vuelve más fino en la parte superior del cuero cabelludo, dando como resultado "calvicie de patrón femenino". La pérdida de cabello se amplía con el envejecimiento. Además, la alopecia cicatricial provocada por lesión, enfermedad o quemadura puede causar pérdida de cabello grave. Cualquiera que sea la causa, la pérdida de cabello puede tener impactos psicológicos, sociales y sexuales notables así como pérdida de orgullo y de respeto por uno mismo. Aunque diversos fármacos se han usado para tratar pérdida de cabello, son demasiado caros o dan resultados muy diferentes entre individuos.

25 En productos cosméticos, se han usado extractos de plantas económicos pero menos efectivos, que no dan buen resultado. Para superar estos problemas, se ha producido a gran escala el factor de proliferación de queratinocitos derivado de ser humano por fermentación y purificación usando *E. coli* y se ha desarrollado tecnología nanosómica para mejorar la permeabilidad de la piel. Además, el efecto se ha mejorado adicionalmente añadiendo los péptidos derivados del factor de proliferación de queratinocitos. El factor de proliferación de queratinocitos facilita la fase anágena durante la que el cabello se produce y crece. Ello mantiene el ciclo del cabello en la fase anágena, reduciendo así pérdida del cabello provocada por diversos factores ambientales y en cabello normal, ello contribuye al crecimiento y a la salud del cabello suministrando nutrientes. El tratamiento de y la solución para la pérdida del cabello han cambiado grandemente con el tiempo. Aunque la calvicie se puede cubrir usando pelucas o tupés o expandiendo el cabello, ello no da lugar a renacimiento del cabello. Y aunque los dos fármacos en la actualidad disponibles (minoxidil y finasterida) conocidos hasta la fecha pueden retrasar pérdida de cabello adicional, no inducen regeneración de folículos pilosos. Muchos cosméticos de cuidado del cabello para evitar pérdida de cabello que usan extractos de plantas se han lanzado al mercado. Especialmente, los productos que usan extractos de sófora, pimienta picante, pimienta negra, raíz de morera, hoja de morera, ginseng, regaliz, peonía, dedalera, hinojo, cornejo de Japón, ajo, etc., los productos preparados para mejorar el metabolismo celular suprimido por exceso de dihidrotestosterona (DHT) y para facilitar la regeneración del cabello y el crecimiento del cabello añadiendo composiciones que contienen xantinas y hormonas del crecimiento, los productos preparados para suministrar nutrientes al cuero cabelludo y al cabello y para evitar la pérdida del cabello y promover el crecimiento del cabello añadiendo minerales, vitaminas y extractos de té verde, romero, artemisa y regaliz y los productos de calvicie de patrón masculino preparados para suprimir la producción de DHT durante el metabolismo de los andrógenos inhibiendo 5-alfa reductasas y para ayudar a al metabolismo del cabello mezclando sustancias tales como vitamina B, vitamina C, vitamina D, vitamina E, ácido nicotínico, ácido pantoténico, biotina, ácido fólico, etc. con extractos de plantas se han desarrollado. Pero, ellos apenas tienen incidencia sobre la producción de cabello nuevo. Además, los productos que inhiben 5-alfa reductasas y que muestran un efecto de crecimiento del cabello excelente se han desarrollado usando, por ejemplo, ácido corosólico, que se demostró que es eficaz en la diabetes, etc. por un grupo de investigación de la Jikei University School of Medicine en Tokio, Japón.

50 Muchos factores están implicados en el crecimiento y la degeneración del cabello. Los inventores de la presente divulgación han estudiado los factores de crecimiento que promueven la producción capilar y el crecimiento activando los factores de crecimiento y los factores de crecimiento endotelial vascular y suprimiendo la actividad de proteínas BMP. En particular, se han producido proteínas nogina, que suprimen BMP2/4 que inhibe los factores de proliferación de queratinocitos derivados de ser humano FGF-7 (KGF) y FGF-10 implicados en el ciclo del cabello y retardan la iniciación de fase anágena durante el crecimiento del folículo piloso, a gran escala por fermentación y por purificación usando *E. coli* y se desarrollan en cosméticos que contienen factores de crecimiento para promover crecimiento del cabello y evitar pérdida del cabello (Patente de Corea N.º: 1007968170000; factor de crecimiento para tratamiento de cabello y piel). Aunque los factores de crecimiento proporcionan efecto excelente, se requieren procedimiento y tiempo para replegado adicionales para obtener factores de crecimiento de tipo silvestre. Además, un procedimiento de purificación complicado es necesario para retirar la fuente de contaminación derivada de *E. coli* y los problemas de

estabilidad y de peso molecular alto así como el coste alto lo hacen menos aplicable.

Con el fin de resolver los problemas asociados con la expresión de factores de crecimiento, se han realizado intentos de producir solo parte de algunos factores de crecimiento por síntesis en fase sólida para lograr una función similar. Por ejemplo, en la patente de los EE UU N.º : 5.473.054, Jameson et al. han nombrado los fragmentos 29-38 y 61-70 de IGF-1 respectivamente como JB2 y JB1 y han comunicado del efecto de los fragmentos peptídicos sobre la proliferación celular así como el efecto inhibitor de JB3, un enantiómero de JB1, frente a IGF-1. Además, Teruo et al. han comunicado en el documento WO 03/048192 la acción complementaria del fragmento 33-37 de IGF-1 y de un tetrapéptido derivado de sustancia P en la curación de heridas. Además, Kodama et al. han comunicado en Autoimmunity 37: 481-487 (2004) que el fragmento 50-70 de IGF-1 ayuda a tratamiento de la diabetes en ratón.

- 5
- 10 El documento US 2007/224150 A1 se refiere a un procedimiento de tratamiento para ralentizar la progresión de envejecimiento cutáneo que comprende poner en contacto la piel con una cantidad eficaz para ralentizar el envejecimiento cutáneo de una composición que comprende uno o más compuestos seleccionados del grupo que consiste en EGF, bFGF IGF-1, KGF, TGF-β3, TRX, VEGF, TRX, aFGF, FGF-10, péptido de cobre, acetilo hexapéptido, palmitoilo pentapéptido, CPP y glucoproteína UDN.
- 15 V.A. Botchkarev et al., Nature Cell Biology, 1999, 1, 158-164, describe que, durante el desarrollo del folículo piloso, el inductor neural y la proteína nogina que neutraliza BNP se expresan en el mesénquima folicular, que los ratones con nogina inactivada muestran retardo significativo de la inducción folicular y que la nogina neutraliza la acción inhibitora de BMP-4 y estimula inducción de folículos pilosos en cultivo de órganos de piel embrionaria.

Descripción detallada de la invención

- 20 Los inventores de la presente divulgación han preparado y seleccionado diversos péptidos derivados de nogina humana con el fin de preparar un péptido que sea superior en estabilidad y permeabilidad cutánea respecto a la nogina de factor de crecimiento natural mientras que lleve a cabo una función idéntica o similar a aquella de la nogina natural. Como resultado, se han seleccionado, entre los muchos péptidos candidatos, aquellos que proporcionan actividad fisiológica superior así como estabilidad y permeabilidad cutánea superiores.
- 25 La presente divulgación se refiere a proporcionar un péptido que presenta una actividad de factor de crecimiento.
- La presente divulgación también se refiere a proporcionar una composición para promover crecimiento del cabello.
- La presente divulgación también se refiere a proporcionar una composición para mejorar afecciones de la piel.
- La presente divulgación también se refiere a proporcionar péptido para usar en el tratamiento de la inflamación.
- La presente divulgación también se refiere a proporcionar un péptido para usar en el tratamiento de osteopatías.
- 30 Otras características y aspectos serán evidentes a partir de los siguientes descripción detallada, dibujos y reivindicaciones.

En un aspecto general, la presente divulgación proporciona un péptido que presenta una actividad de factor de crecimiento, que comprende una secuencia de aminoácidos representada por la fórmula general (1):



- 35 en la que el engarce comprende residuos aminoacídicos de glicina o de glicina y serina y es de 2-18 aminoácidos de longitud.
- En otro aspecto general, la presente divulgación proporciona una composición para promover crecimiento del cabello que contiene el péptido que presenta una actividad de factor de crecimiento como un ingrediente activo.
- 40 En otro aspecto general, la presente divulgación proporciona una composición para mejorar afecciones de la piel que contiene el péptido que presenta una actividad del factor de crecimiento como un ingrediente activo.
- En otro aspecto general, la presente divulgación proporciona un péptido en el tratamiento de la inflamación que contiene el péptido que presenta una actividad del factor de crecimiento como un ingrediente activo.
- En otro aspecto general, la presente divulgación proporciona un péptido para usar en el tratamiento de osteopatías que contiene el péptido que presenta una actividad de factor de crecimiento como un ingrediente activo.
- 45 Los inventores de la presente divulgación han preparado y seleccionado diversos péptidos derivados de nogina humana con el fin de preparar un péptido que sea superior en estabilidad y permeabilidad cutánea respecto a la nogina de factor de crecimiento natural mientras que lleve a cabo una función idéntica o similar a aquella de la nogina natural. Como resultado, se han seleccionado, entre los muchos péptidos candidatos, aquellos que proporcionan actividad fisiológica superior así como estabilidad y permeabilidad cutánea superiores.
- 50 Los inventores de la presente divulgación han sintetizado al azar varias partes del factor de crecimiento nogina y han

analizado los sitios que se pueden unir a la proteína receptora. A continuación, optimizando la secuencia de aminoácidos de las porciones esperadas, han preparado péptidos candidatos, entre los que aquellos que presentan la mejor actividad se seleccionaron como el péptido de la presente divulgación.

5 El péptido de la presente divulgación comprende una secuencia de aminoácidos representada por la fórmula general (1). Específicamente, el péptido de la presente divulgación consiste esencialmente en la secuencia de aminoácidos representada por la fórmula general (1). Lo más específicamente, el péptido de la presente divulgación consiste en la secuencia de aminoácidos representada por la fórmula general (1).

En la secuencia de aminoácidos representada por la fórmula general (1), las secuencias derivadas de nogina en los extremos N- y C-terminales están engarzadas por un engarce.

10 El engarce usado en la presente divulgación puede ser de los que se usan comúnmente en la técnica. El engarce puede tener una longitud y/o secuencia seleccionada especialmente para aumentar al máximo la actividad del péptido de la divulgación actual, es decir la actividad de nogina.

15 Enlazadores que comprenden secuencias de aminoácidos se describen en Huston, et al., *Methods in Enzymology*, 203: 46-88 (1991) y Whitlow, et al., *Protein Eng.*, 6: 989 (1993), que se incorporan en el presente documento por referencia. Un enlazador adecuado para la presente divulgación comprende residuos aminoacídicos de glicina o residuos aminoacídicos de glicina y serina y es de 2-18 aminoácidos de longitud. En un modo de realización más específico de la presente divulgación, el enlazador comprende de 2 a 10 residuos de Gly, más específicamente de 2 a 7 residuos de Gly, lo más específicamente 3 residuos de Gly.

20 El péptido de la presente divulgación tiene mejor estabilidad que la nogina natural tal como es ahora, pero su estabilidad se puede mejorar adicionalmente por medio de la modificación de aminoácidos.

En un modo de realización específico de la presente divulgación, el extremo N-terminal o el extremo C terminal del péptido puede estar unido a un grupo protector seleccionado de un grupo que consiste en un grupo acetilo, un grupo fluorenilmetoxicarbonilo, un grupo formilo, un grupo palmitoilo, un grupo miristilo, un grupo estearilo, un polietilenglicol (PEG) y un aminoácido.

25 En un modo de realización específico de la presente divulgación, el extremo C terminal del péptido se puede modificar con un grupo hidroxilo (-OH) o un grupo amino (-NH₂).

30 La estabilidad del péptido de la presente divulgación se puede mejorar mucho mediante modificación aminoacídica. Como se usa en el presente documento, el término "estabilidad" se refiere no solo a estabilidad *in vivo* sino también a estabilidad en almacenamiento (p. ej., estabilidad en almacenamiento a temperatura ambiente). El grupo protector protege el péptido de la presente divulgación del ataque por enzimas proteolíticas.

35 Como se usa en el presente documento, el término "péptido" se refiere a una molécula de cadena lineal en la que los residuos aminoacídicos están unidos por enlaces peptídicos. El péptido de la presente divulgación se puede preparar de acuerdo con técnicas de síntesis química conocidas, especialmente las técnicas de síntesis en fase sólida (Merrifield, *J. Amer. Chem. Soc.* 85: 2149-54 (1963); Stewart, et al., *Solid Phase Peptide Synthesis*, 2ª edición., Pierce Chem. Co.: Rockford, 111 (1984)).

El péptido de la presente divulgación tiene una actividad idéntica o similar a aquella del factor de crecimiento natural nogina.

40 En un modo de realización específico de la presente divulgación, el péptido de la presente divulgación tiene una capacidad para promover la proliferación celular. En un modo de realización específico de la presente divulgación, el péptido de la presente divulgación promueve la producción de laminina o de ácido hialurónico.

En un modo de realización específico de la presente divulgación, el péptido de la presente divulgación presenta una actividad antagonista contra proteína morfogénica ósea (BMP)-2, BMP-4 o BMP-7 por la unión a BMP-2, BMP-4 o BMP-7. Es decir, el péptido de la presente divulgación presenta una actividad antagonista uniéndose fuertemente a BMP-2, BMP-4 y/o BMP-7 y evitando así que ellas se unan con sus receptores.

45 Como se usa en el presente documento, el término "enfermedad, trastorno o afección en la que BMP-2, BMP-4 o BMP-7 está implicada" se refiere a una afección patológica provocada por la sobreexpresión de BMP-2, BMP-4 o BMP-7.

50 Es bien conocido en la técnica que BMP-2, BMP-4 y BMP-7 están implicadas en diversas afecciones patológicas tales como pérdida de cabello, enfermedad inflamatoria o enfermedad ósea (Kanami I, et al., *Bone Morphogenetic Protein 2 Stimulates Osteoclast Differentiation and Survival Supported by Receptor Activator of Nuclear Factor-KB Ligand*, *Endocrinology*, 142 (8): 3656-662 (2001); Solicitud de Patente de los EE.UU N.º: 20060276385; y documento WO 99/61044). Por lo tanto, el péptido de la presente divulgación que presenta una actividad antagonista contra BMP-2, BMP-4 o BMP-7 es eficaz en la prevención o el tratamiento de una enfermedad en la que BMP-2, BMP-4 o BMP-7 está implicada.

En otro aspecto general, la presente divulgación proporciona una composición para promover crecimiento del cabello que comprende el péptido que presenta una actividad del factor de crecimiento como un ingrediente activo.

5 Nogina es un polipéptido que inhibe transducción de señales de factor de crecimiento transformante (TGF- β) al unirse a ligandos de la familia de TGF- β . Al igual que otros inhibidores de TGF- β tales como cordina o folistatina, nogina inhibe la actividad de BMP, en particular de BMP-2, BMP-4 y BMP-7, expresada en el folículo piloso (American Journal of Path., vol. 165, N.º: 3: 729-740 (2004)).

En un modo de realización de la presente divulgación, el péptido de la presente divulgación se deriva de nogina humana y potencia grandemente el crecimiento del cabello en experimentos con animales (FIG. 10).

10 Como se usa en el presente documento, los términos "promover el crecimiento del cabello" y "evitar la pérdida de cabello" se usan como sinónimos.

En un modo de realización específico de la presente divulgación, la pérdida de cabello evitada o tratada por la composición de la presente divulgación incluye alopecia areata, alopecia totalis, alopecia universalis, alopecia andrógena (calvicie de patrón masculino), efluvio telogénico, efluvio anagénico o alopecia inducida por quimioterapia, pero no se limita a eso (Cotsarelis et al., Towards a molecular understanding of hair loss and its treatment, Trends in Mol. Med., 7: 293-301 (2001); MacDonald, N., Alopecia areata: identification and current treatment approaches, Dermatol. Nurs., 11: 356-359 (1999)).

En otro aspecto general, la presente divulgación proporciona una composición para mejorar enfermedades de la piel que comprende el péptido que presenta una actividad del factor de crecimiento como un ingrediente activo.

20 En un modo de realización específico de la presente divulgación, la mejora de afecciones de la piel incluye mejora de arrugas, mejora de la elasticidad de la piel, prevención de envejecimiento cutáneo, mejora de la hidratación cutánea, eliminación de manchas de edad, o curación de cortes. Como se demuestra en los siguientes ejemplos, el péptido de la presente divulgación puede mejorar diversas enfermedades de la piel facilitando la proliferación de queratinocitos y fibroblastos y promoviendo la producción de laminina y ácido hialurónico.

25 El péptido de la presente divulgación presenta una actividad antagonista contra proteínas BMP, en particular BMP-2, BMP-4 y BMP-7, al unirse a BMP-2, BMP-4 y BMP-7.

En un modo de realización específico de la presente divulgación, la enfermedad, trastorno o afección evitada o tratada de evitar por la actividad antagonista del péptido de la presente divulgación es enfermedad inflamatoria o enfermedad ósea.

30 Diversas enfermedades inflamatorias se pueden evitar o tratar con el péptido de la presente divulgación. Los ejemplos no limitantes incluyen encefalitis, enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, alergia, choque séptico, fibrosis pulmonar, espondiloartropatía no diferenciada, artropatía no diferenciada, artritis, osteolisis inflamatoria e inflamación crónica causada por infección vírica o bacteriana.

35 Diversas enfermedades óseas se pueden evitar o tratar con el péptido de la presente divulgación. Los ejemplos no limitantes incluyen osteoartritis, artritis reumatoide, daño óseo provocado por metástasis ósea de células cancerosas, osteoporosis, osteomalacia, raquitismo, osteítis fibrosa, enfermedad ósea aplásica, enfermedad ósea metabólica, osteolisis, leucopenia, deformidad ósea, hipercalcemia, o síndrome de compresión nerviosa.

Puesto que las composiciones de la presente divulgación comprenden el péptido derivado de nogina de la presente divulgación descrito anteriormente como un ingrediente activo, una descripción detallada del mismo no se dará de nuevo.

40 En un modo de realización específico de la presente divulgación, la composición de la presente divulgación es una composición farmacéutica que comprende: (a) una cantidad farmacéuticamente eficaz del péptido derivado de nogina de la presente divulgación descrito anteriormente; y (b) un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Como se usa en el presente documento, el término "cantidad farmacéuticamente eficaz" se refiere a una cantidad suficiente para lograr el efecto o la actividad del péptido derivado de nogina descrito anteriormente.

45 El vehículo farmacéuticamente aceptable incluido en la composición farmacéutica de la presente divulgación puede ser uno empleado comúnmente en la técnica. Los ejemplos no limitantes incluyen lactosa, dextrosa, sacarosa, sorbitol, manitol, almidón, goma arábiga, fosfato de calcio, alginato, gelatina, silicato de calcio, celulosa microcristalina, polivinilpirrolidona, celulosa, agua, jarabe, metilcelulosa, hidroxibenzoato de metilo, hidroxibenzoato de propilo, talco, estearato de magnesio, aceite mineral, etc. La composición farmacéutica de la presente divulgación puede incluir adicionalmente, además de los componentes anteriormente descritos, un lubricante, un agente humectante, un edulcorante, una fragancia, un emulsionante, un agente de suspensión, un conservante, o similares. Los vehículos y formulaciones farmacéuticamente adecuados se describen en detalle en Remington's Pharmaceutical Sciences (19^a ed., 1995).

La composición terapéutica de la presente divulgación se puede administrar oralmente o parenteralmente. Para la

administración parenteral, ella se puede administrar por vía intravenosa, subcutánea, intramuscular, intraabdominal, transdérmica, o similares.

5 Un dosificación apropiada de la composición farmacéutica de la presente divulgación se puede determinar diversamente dependiendo de factores tales como el procedimiento de preparación, el procedimiento de administración, la edad, el peso corporal y el sexo del paciente, la afección patológica, la dieta, el tiempo de administración, la vía de administración, la tasa de excreción o la sensibilidad a la respuesta. Una dosificación recomendada de la composición farmacéutica de la presente divulgación es 0,0001-100 mg al día.

10 La composición farmacéutica de la presente divulgación se puede preparar en una forma de dosificación unitaria o como forma de dosificación múltiple junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable y/o un excipiente de acuerdo con un procedimiento que se puede emplear fácilmente por los expertos en la técnica. La formulación puede estar en forma de solución en medio aceitoso o acuoso, de suspensión, de emulsión, de extracto, de polvo, de gránulo, de comprimido, de cápsula o de gel (p. ej., hidrogel) y puede incluir además un dispersante o estabilizante.

15 En un modo de realización específico de la presente divulgación, la composición de la presente divulgación es una composición cosmética que comprende: (a) una cantidad cosméticamente eficaz del péptido derivado de nogina de la presente divulgación descrito anteriormente; y (b) un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Como se usa en el presente documento, el término "cantidad cosméticamente eficaz" se refiere a una cantidad suficiente de la composición de la presente divulgación para lograr mejora de afecciones de la piel.

20 La composición cosmética de la presente divulgación se puede formular en cualquier forma usada comúnmente en la técnica. Los ejemplos no limitantes incluyen solución, suspensión, emulsión, pasta, gel, crema, loción, polvo, jabón, limpiador que contiene tensioactivos, aceite, base en polvo, base en emulsión, base en cera, pulverización, etc. Más específicamente, se puede preparar en loción calmante, loción nutritiva, crema nutritiva, crema de masaje, esencia, crema ocular, crema limpiadora, espuma limpiadora, agua limpiadora, envase, pulverizador o polvo.

25 Cuando la composición de la presente divulgación, está en forma de pasta, crema o gel, se puede usar como el vehículo aceite animal, aceite vegetal, cera, parafina, almidón, tragacanto, derivados de celulosa, polietilenglicol, silicona, bentonita, sílice, talco, óxido de cinc, etc..

Cuando la composición de la presente divulgación, está en forma de polvo o pulverización, se puede usar como el vehículo polvo de lactosa, talco, sílice, hidróxido de aluminio, silicato de calcio o poliamida. Especialmente, la pulverización puede comprender además un propulsor tal como hidroc fluorocarbono, propano/butano o dimetil éter.

30 Cuando la composición de la presente divulgación, está en forma de solución o emulsión, un disolvente, solubilizante o emulsionante se puede usar como el vehículo, ejemplos de lo cual incluyen agua, etanol, isopropanol, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, aceite de 1,3-butilglicol, éster alifático de glicerol, polietilenglicol, o éster de ácido graso sorbitán.

35 Cuando la composición de la presente divulgación, está en forma de suspensión, un líquido diluyente tal como agua, etanol o propilenglicol, una suspensión tal como alcohol isoestearílico etoxilado, éster de polioxietileno sorbitol y éster de polioxietileno sorbitán, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar, tragacanto, etc. se pueden usar como el vehículo.

40 Cuando la composición de la presente divulgación está en forma de limpiador que contiene tensioactivo, sulfato de alcohol alifático, éter sulfato de alcohol alifático, monoéster de ácido sulfosuccínico, isetionato, derivados de imidazolinio, taurato de metilo, sarcosinato, éter sulfato de amida de ácido graso, alquilamidobetaína, alcohol alifático, glicérido de ácidos grasos, dietanolamida de ácidos grasos, aceite vegetal, derivados de lanolina, éster de ácido graso etoxilado de glicerol, etc. se pueden usar como el vehículo.

45 Además del péptido como el ingrediente activo y los ingredientes de vehículo, la composición cosmética de la presente divulgación puede comprender además los ingredientes usados comúnmente en composiciones cosméticas. Los ejemplos incluyen coadyuvantes frecuentes tales como antioxidante, estabilizante, solubilizante, vitamina, pigmento y fragancia.

Las características y ventajas de la presente divulgación se pueden resumir como sigue:

50 (a) El péptido derivado de nogina de la presente divulgación puede funcionar de forma idéntica o de forma similar a la nogina humana natural.

(b) El péptido de la presente divulgación proporciona mejor estabilidad que la nogina natural y presenta excelente permeabilidad de la piel.

(c) La composición que comprende el péptido de la presente divulgación como un ingrediente activo es muy eficaz para tratar, evitar o mejorar síntomas relacionados con factores de crecimiento, por ejemplo, pérdida del cabello, afecciones de la piel o corte, o para tratar, evitar o mejorar síntomas relacionados con sobreexpresión de factores de

crecimiento.

(d) La actividad y estabilidad del péptido de la divulgación actual es muy ventajosa en aplicación a medicina, cuasifármacos y cosméticos.

Breve descripción de los dibujos

5 La FIG. 1 muestra un resultado de análisis de cromatografía líquida de alto rendimiento de un péptido sintetizado de acuerdo con la presente divulgación.

La FIG. 2a muestra una tasa de crecimiento celular de queratinocitos tratados con un péptido sintetizado de acuerdo con la presente divulgación.

10 La FIG. 2b muestra una tasa de crecimiento celular de fibroblastos tratados con un péptido sintetizado de acuerdo con la presente divulgación.

La FIG. 3 muestra imágenes microscópicas que muestran el efecto promotor de crecimiento celular en queratinocitos y fibroblastos tratados con un péptido de la presente divulgación.

La FIG. 4a muestra producción incrementada de laminina en fibroblastos tratados con un péptido de la presente divulgación.

15 La FIG. 4b muestra producción incrementada de ácido hialurónico en fibroblastos tratados con un péptido de la presente divulgación.

La FIG. 5 muestra un resultado de comparar producción de melanina por células de melanoma B16 tratadas con α -MSH, después de tratar con un péptido preparado de acuerdo con la presente divulgación.

20 La FIG. 6 muestra la producción de melanina B16 por células de melanoma B16 tratadas con α -MSH, después de la radiación UV.

La FIG. 7 muestra un resultado de prueba con Biacore para identificar la capacidad de unión de un péptido preparado de acuerdo con la presente divulgación a la proteína BMP-4.

25 La FIG. 8a muestra un resultado de SDS-PAGE para identificar la capacidad de unión de un péptido preparado de acuerdo con la presente divulgación a la proteína BMP-4. La elución 1, la elución 2 y la elución 3 son fracciones obtenidas secuencialmente eluyendo con soluciones de NaCl 0,5 M y de fosfato de amonio 50 mM (pH 4,0). El tamaño de proteína de los marcadores de tamaño (SM) es 100, 70, 50, 40, 30, 20 y 15 kDa.

La FIG. 8b muestra un análisis de transferencia de Western para identificar la capacidad de unión de un péptido preparado de acuerdo con la presente divulgación a la proteína BMP-4. Las proteínas estándar sobre el lado derecho son idénticas a las fracciones de elución en la FIG. 8a.

30 La FIG. 9 compara la estabilidad térmica de un péptido de la presente divulgación.

La FIG. 10 muestra un efecto promotor de crecimiento del pelo en la piel de la espalda de un ratón tratado con un péptido de la presente divulgación.

Los ejemplos y experimentos se describirán ahora. Los siguientes ejemplos y experimentos son solo para propósitos ilustrativos y no se desean para limitar el alcance de esta divulgación.

35 Ejemplos

Ejemplo de síntesis: síntesis de Glu-Leu-Ile-Glu-His-Arg-Pro-Ala-Asp (SEQ ID NO: 1)

Se colocaron en un reactor 700 mg de resina de cloruro de clorotritilo (CTL) (Nova Biochem, N.º de cat.: 01-64-0021) y se agitaron durante 3 minutos después de añadir 10 ml de cloruro de metileno (MC). Después de retirar el disolvente, se añadieron 10 ml de dimetilformamida (DMF). A continuación, después de agitar durante 3 minutos, el disolvente se retiró de nuevo. Después de añadir 10 ml de diclorometano (DCM), al reactor, se añadieron 200 mmol de Fmoc-Asp(tBu)-OH (Bachem, Swiss) y 400 mmol de diisopropiletilamina (DIEA) y se disolvieron bien por agitación. Después de hacer reaccionar durante 1 hora con agitación, se lavó la mezcla y se disolvió con metanol y DIEA (2:1) en DCM. Después de la reacción durante 10 minutos, se lavó la mezcla con exceso de DCM/DMF (1:1). Después de retirar el disolvente, seguido por la adición de 10 ml de DMF y por agitación durante 3 minutos, el disolvente se retiró de nuevo. Después de añadir 10 ml de una solución desprotectora (20 % de piperidina en DMF) al reactor, se agitó la mezcla durante 10 minutos a temperatura ambiente y a continuación la solución se retiró. Después de añadir de nuevo la misma cantidad de la solución desprotectora y de llevar a cabo una reacción durante 10 minutos, la solución se retiró y se preparó resina Asp(tBu)-CTL por lavado dos veces con DMF, una vez con MC y una vez con DMF, durante 3 minutos cada vez. Después de añadir 10 ml de DMF a otro reactor, se añadieron 200 mmol de Fmoc-Ala-OH (Bachem, Swiss), 200 mmol de HoBt y 200 mmol de Bop y se disolvieron bien por agitación. Después de añadir 400 mmol de DIEA al reactor en dos fracciones, se agitó la mezcla durante al menos 5 minutos hasta que todo el sólido estuvo

disuelto. La solución de la mezcla de aminoácidos resultante se añadió al reactor que contiene la resina desprotegida y se hizo reaccionar durante 1 hora a temperatura ambiente con agitación. Después de retirar la solución de reacción, seguida por agitación con solución de DMF 3 veces, 5 minutos cada vez, la solución se retiró. Se tomó una cantidad pequeña de la resina que se hizo reaccionar y se sometió a prueba de Kaiser (prueba de nihidrina), para determinar el grado de reacción. Se preparó resina de Ala-Asp (tBu)-CTL de la misma manera que se describe anteriormente desprotegiendo 2 veces con la solución desprotectora. Después de lavar suficientemente con DMF y MC y de llevar a cabo la prueba de Kaiser una vez más, se llevó a cabo unión de aminoácidos como sigue de la misma manera que se describe anteriormente. De acuerdo con la secuencia de aminoácidos seleccionada, se lleva a cabo reacción en cadena en el orden de Fmoc-Pro, Fmoc-Arg(PBF), engarce (Gly, Gly-Gly, Gly-Gly-Gly, Gly(4), ácido aminobutírico, ácido aminobenzoico), Fmoc-His (trt), Fmoc-Glu(OtBu), Fmoc-Ile, Fmoc-Leu y Fmoc-Glu(tBu). Después de hacer reaccionar el grupo protector de Fmoc con la solución de desprotección dos veces durante 10 minutos cada una, la solución se retiró lavando bien. Después de llevar a cabo la acetilación durante una hora añadiendo anhídrido acético, DIEA y HoBt, la resina de peptidilo preparada se lavó 3 veces, cada una con DMF, MC y metanol, se secó haciendo fluir lentamente gas nitrógeno, se secó completamente en presencia de P₂O₅ a presión reducida, se hizo reaccionar con 30 ml de una solución saliente (que contiene ácido trifluoroacético al 95 %, agua destilada al 2,5 % y tioanisol al 2,5 %) durante 2 horas a temperatura ambiente después de agitación intermitente. Se filtró la resina y se lavó con un volumen pequeño de solución de TFA, después de lo que el filtrado se combinó con las aguas madres. Después de destilación a presión reducida para reducir el volumen total a aproximadamente la mitad, se indujo precipitación mediante la adición de 50 ml de éter frío y los precipitados formados se recogieron por centrifugación, seguida de lavado dos veces con éter frío. Después de retirar las aguas madres, lo resultante se secó suficientemente en atmósfera de nitrógeno para obtener 1,11 g de péptido Glu-Leu-Ile-Glu-His-engarce-Arg-Pro-Ala-Asp purificado (engarce = Gly-Gly-Gly) (rendimiento: 88,2 %). El peso molecular se midió como 1250,9 (valor teórico: 1250,35) usando un analizador de peso molecular.

Tabla 1

SEQ ID NO	Secuencia aminoacídica	Peso molecular	
		Valor medido	Valor teórico
1	ELIEH-engarce-RPAD	1250,0	1250,35

25 Ejemplo de prueba 1: efecto de péptido sintetizado sobre la proliferación celular

Para analizar el efecto tipo factor de crecimiento del péptido sintetizado en ejemplo de síntesis, se realizó ensayo calorimétrico de sulforrodamina B (SRB) usando queratinocitos HaCaT (Banco de Líneas Celulares Coreano) y fibroblastos NIH3T3 (Banco de Líneas Celulares Coreano) de acuerdo con el procedimiento de Rizzino et al. (Rizzino et al. Cancer Res. 48: 4266 (1988)).

30 Los queratinocitos HaCaT y los fibroblastos NIH3T3 se cultivaron respectivamente en un matraz de cultivo tisular de 250 ml en medio esencial mínimo de Eagle (EMEM; Gibco, EE.UU.) que contiene suero bovino fetal al 10 % (FBS; Sigma). Las células cultivadas se trataron con solución de tripsina al 0,25 % para desprender las células del fondo del matraz de cultivo y se centrifugaron para recoger los sedimentos celulares. Ellos se resuspendieron en EMEM libre de FBS y se añadieron a cada pocillo de una placa de cultivo tisular de 96 pocillos, con 4×10^3 células por pocillo. Se cultivaron las células en CO₂ al 7 % durante 24 horas a 37 °C. 24 horas más tarde, el medio se cambió con medio conteniendo FBS, recién preparado y se incubaron las células durante 72 horas según las mismas condiciones como se describen anteriormente con muestra de blanco como referencia o con el péptido sintético esterilizado (100 ng/ml) disuelto en agua y DMSO al 10 %. Después de retirar el sobrenadante, las células se lavaron una vez con solución salina tamponada con fosfato (PBS). Después de retirar la solución de lavado y de tratar con solución SBR, seguido por lavado suficiente con PBS, las células se observaron en un microscopio para evaluar la viabilidad celular. Además, se midió la absorbancia a 590 nm para analizar la proliferación celular.

Las FIG. 2a y 2b muestran el estado de proliferación de los queratinocitos (FIG. 2a) y los fibroblastos (FIG. 2b) después del tratamiento con el péptido y la FIG. 3 muestra las imágenes microscópicas de queratinocitos y fibroblastos supervivientes 72 horas después del tratamiento con el péptido.

45 Como se vio a partir de las FIG. 2a y 2b, el péptido de SEQ ID NO: 1 de acuerdo con la presente divulgación promueve el crecimiento de los queratinocitos y los fibroblastos. A partir de la FIG. 3, se puede ver que el péptido de SEQ ID NO: 1 de la presente divulgación promueve el crecimiento de células de tejido conectivo y fibroblastos.

Ejemplo de prueba 2: efecto de promover producción de laminina y ácido hialurónico del péptido sintetizado

50 Se trataron células HaCaT cultivadas durante 48 horas con el péptido sintetizado en el ejemplo de síntesis. 72 horas más tarde, el nivel de laminina y ácido hialurónico se midió como un indicador para mostrar la mejora en las arrugas de la piel. La medida se realizó usando un kit de ELISA de laminina (Takara, Japón) y un kit de ELISA de ácido hialurónico (Takara, Japón). Se reveló que el péptido de SEQ ID NO: 1 de la presente divulgación incrementa la producción de laminina (FIG. 4a) y ácido hialurónico (FIG. 4b) en fibroblastos.

Para concluir los resultados de ejemplos de prueba 1 y 2, se puede observar que el péptido de SEQ ID NO: 1 de la presente divulgación presenta efecto superior de mejora de la piel.

Ejemplo de prueba 3: reducción de pigmento de melanina por péptido sintetizado

- 5 Con el fin de investigar la actividad antagonista del péptido sintetizado en el ejemplo de síntesis frente al factor de crecimiento BMP-4, melanocitos de ratones C57BL/6 (Jung Ang Lab. Animal, Corea) se cultivaron y se indujo la producción de melanina con hormona estimuladora de melanocitos α (α -MSH; Sigma). A continuación, después de tratar con BMP-4 (R&D Systems, Inc., EE.UU.) y a continuación inmediatamente con el péptido sintetizado a diferentes concentraciones, se comprobó si la producción de melanina inhibida por BMP se activó de nuevo. Se cultivaron melanocitos de ratón usando DMEM (Sigma) que contiene FBS al 10 % (Sigma) a 37 °C en CO₂ al 5 %. Después de cultivar las células en una placa de 24 pocillos a 1 x 10⁵ células/pocillo y de confirmar la unión de las células, se trataron las células con un disolvente (control), con 200 μ g/ml de α -MSH (control positivo) o con 1 μ g/ml de BMP-4. A continuación, se trataron las células con el péptido de SEQ ID NO: 1. Después de añadir la sustancia de prueba a cada placa, las células se cultivaron durante 3 días. La sustancia de prueba se había preparado disolviendo los ingredientes en un disolvente y diluyendo a la concentración de prueba usando un disolvente de mezcla 5:3:2 de propilenglicol:etanol:agua purificada. Después de retirar el medio por centrifugación, la producción de melanina se pudo observar con los ojos desnudos. Como se ve a partir de la FIG. 5, el grupo tratado con α -MSH mostró incremento brusco en la producción de melanina. El grupo tratado con péptido mostró producción de melanina comparable a la del grupo tratado con α -MSH. Esto indica que el tratamiento con el péptido inhibe apropiadamente la actividad BMP-4 y por tanto incrementa la producción de melanina.
- 10
- 15
- 20 Para medida más precisa, se lavaron las células con PBS y se lisaron con hidróxido de sodio 1 N. A continuación, después de medir la absorbancia a 400 nm, se calculó la inhibición de producción de melanina de acuerdo con el procedimiento de Dooley (Dooley, T. P. et al., Skin Pharmacol. 7: 188-200 (1994)) y el resultado se mostró en la FIG. 6. El resultado mostrado en la FIG. 6 coincide con aquel de la FIG. 5.

Ejemplo de prueba 4: unión de péptido sintetizado a BMP4

- 25 Con el fin de investigar si el péptido sintetizado de acuerdo con la presente divulgación se une a la proteína BMP, se usó el instrumento de Biacore que permite la detección de la unión entre fármacos y receptores.
- Se fijaron 6000 unidades de respuesta (UR) de proteína rh-BMP4 (R&D Systems, Inc., EE.UU.) a un chip del sensor CM5 comercialmente disponible (Biacore, Suecia), por aminación. A continuación, se hizo fluir tampón HBS-EP (Biacore, Suecia) a una velocidad de 5 μ l/min para activar la proteína BMP4 en el chip del sensor CM5. Después de optimización para reacción, el péptido sintetizado se hizo fluir a diferentes concentraciones (1000 μ g/ml, 500 μ g/ml, 250 μ g/ml, 125 μ g/ml, 62,5 μ g/ml, 31,3 μ g/ml, 15,6 μ g/ml, 7,8 μ g/ml, 4 μ g/ml). La unión entre BMP4 y el péptido sintético podría identificarse a partir del incremento en valor UR. Como se muestra en la FIG. 7, la proteína BMP4 y el péptido sintético mostraron capacidad de unión muy fuerte. Esto sugiere que el péptido de SEQ ID NO: 1 tiene una actividad antagonista contra BMP-4.
- 30

35 Ejemplo de prueba 5: inmunounión entre péptido sintetizado y proteína BMP

- El extremo N-terminal del péptido preparado en ejemplo de síntesis se modificó con biotina (Sigma, EE.UU.). Para cromatografía de estreptavidina, el péptido biotinilado se cargó en una columna empaquetada con resina unida a estreptavidina y equilibrada con tampón fosfato de sodio 20 mM. A continuación, después de hacer fluir proteína rh-BMP4 (R&D Systems, Inc., EE.UU.) a través de la columna, se hizo fluir tampón fosfato de sodio 200 mM para retirar por lavado la proteína no unida y la proteína unida al péptido biotinilado se fraccionó eluyendo con NaCl 0,2 M. El eluato se analizó por SDS-PAGE (véase la FIG. 8a) y se confirmó si la proteína BMP4 se une con el péptido biotinilado por realización de prueba de bandas de Western usando anticuerpo anti-BMP4 (Santa Cruz, EE. UU.) (véase la FIG. 8b). Como se ve a partir de la FIG. 8b, la proteína BMP4 se une al péptido biotinilado. Esto sugiere que la proteína BMP4 se une muy fuertemente al péptido de SEQ ID NO: 1.
- 40

45 Ejemplo de prueba 6: estabilidad térmica de péptido sintetizado

- El péptido preparado en el ejemplo de síntesis y un factor de crecimiento de referencia (Nogina, FGF-10) adquirido de NIBSC (Reino Unido) se prepararon a 0,11 mg/ml de soluciones de tampón fosfato. 1 ml de cada solución preparada se colocó en un vial de vidrio y se mantuvo a 37 °C. Se tomaron muestras de la solución en los días 0, 5, 10, 20, 30, 40 y 70. Después de la centrifugación para eliminar cualquier péptido o proteína desnaturalizado, el sobrenadante se sometió a HPLC para cuantificación (FIG. 9). Como se ve a partir de la FIG. 9, el péptido de la presente divulgación presentó estabilidad térmica muy superior al péptido nogina existente.
- 50

Ejemplo 2: preparación de nanopéptido

- 55 50 mg del péptido preparado en ejemplo de síntesis se pesaron y disolvieron con precisión en 500 ml de agua destilada agitando suficientemente. La solución resultante se mezcló con 5 g de lecitina, 0,3 ml de oleato de sodio, 50 ml de etanol y una pequeña cantidad de aceite y a continuación el volumen se ajustó a 1 l con agua destilada. La solución se preparó en nanosomas de 100 nm de tamaño a presión alta usando un microfluidizador. La concentración final de los

nanosomas preparados fue aproximadamente 50 ppm y se usaron como ingredientes para cosméticos.

Ejemplo de formulación 1: loción calmante

Loción calmante que contiene los nanosomas peptídicos preparados en el Ejemplo 2 se preparó de acuerdo con un procedimiento empleado comúnmente como sigue.

5

Tabla 2

Ingredientes	Contenido (% en peso)
Nanosomas peptídicos	0,001
1,3-butilenglicol	6,0
Glicerina	4,0
PEG 1500	1,0
Hialuronato de sodio	1,0
Polisorbato 20	0,5
Etanol	8,0
Conservante y pigmento	adecuado
Benzofenona	0,05
Perfume	traza
Agua purificada	residual
Total	100

Ejemplo de formulación 2: crema nutritiva

Crema nutritiva que contiene los nanosomas peptídicos preparados en el Ejemplo 2 se preparó de acuerdo con un procedimiento empleado comúnmente como sigue.

Tabla 3

Ingredientes	Contenido (% en peso)
Nanosomas peptídicos	0,001
Aceite de hierba de la pradera	3,0
Alcohol cetearílico	1,5
Ácido esteárico	1,5
Estearato de glicerilo	1,5
Parafina líquida	10,0
Cera de abejas	2,0
Polisorbato 60	0,6
Sesquiolato de sorbitán	2,5
Escualano	3,0
1,3-butilenglicol	3,0
Glicerina	5,0
Trietanolamina	0,5

(continuación)

Ingredientes	Contenido (% en peso)
Acetato de tocoferilo	0,5
Conservante y pigmento	adecuado
Perfume	adecuado
Agua purificada	residual
Total	100

Ejemplo de formulación 3: loción nutritiva

Loción nutritiva que contiene los nanosomas peptídicos preparados en el Ejemplo 2 se preparó de acuerdo con un procedimiento empleado comúnmente como sigue.

Tabla 4

Ingredientes	Contenido (% en peso)
Nanosomas peptídicos	0,002
1,3-butilenglicol	4,0
Glicerina	4,0
Alcohol cetearílico	0,8
Estearato de glicerilo	1,0
Trietanolamina	0,13
Acetato de tocoferilo	0,3
Parafina líquida	5,0
Escualano	3,0
Aceite de nuez de macadamia	2,0
Polisorbato 60	1,5
Sesquiolato de sorbitán	0,5
Polímero de carboxivinilo	1,0
Conservante y pigmento	adecuado
Perfume	adecuado
agua purificada	residual
Total	100

5 **Ejemplo de formulación 4: esencia**

Esencia que contiene los nanosomas peptídicos preparados en el Ejemplo 2 se preparó de acuerdo con un procedimiento empleado comúnmente como sigue.

Tabla 5

Ingredientes	Contenido (% en peso)
Nanosomas peptídicos	0,005
Glicerina	10,0

(continuación)

Ingredientes	Contenido (% en peso)
1,3-butilenglicol	5,0
PEG 1500	2,0
Alantoína	0,1
D/L-pantenol	0,3
EDTA-2Na	0,02
Hidroxietilcelulosa	0,1
Hialuronato de sodio	8,0
Polímero de carboxivinilo	0,2
Trietanolamina	0,18
Octildocecet-16	0,4
Etanol	6,0
Perfume, conservante y pigmento	adecuado
Agua purificada	residual
Total	100

Ejemplo de formulación 5: suero capilar

Suero capilar que contiene los nanosomas peptídicos preparados en el Ejemplo 2 se preparó de acuerdo con un procedimiento empleado comúnmente como sigue.

Tabla 6

Ingredientes	Contenido (% en peso)
Nanosomas peptídicos	0,005
Glicerina	7
1,3-butilenglicol	5,0
PEG 1500	2,0
Alantoína	0,2
D/L-pantenol	0,3
EDTA-2Na	0,02
Hidroxietilcelulosa	0,2
Hialuronato de sodio	3,0
Polímero de carboxivinilo	0,3
Trietanolamina	0,18
Octildocecet-16	0,4
Etanol	4,0
Perfume, conservante y pigmento	adecuado

(continuación)

Ingredientes	Contenido (% en peso)
Agua purificada	residual
Total	100

Ejemplo 3: efecto de promoción de crecimiento capilar de péptido sintetizado

5 Con el fin de investigar el efecto promotor de crecimiento del pelo del péptido sintetizado en ejemplo de síntesis, el pelo de la espalda de un ratón (C57BL/6, Jung Ang Lab. Animal, Corea) se retiró parcialmente usando crema de eliminación de pelo. 10 µl del péptido de la SEC ID N.º: 1 (1 µg/µl) se administraron o se aplicaron en la parte superior de la espalda del ratón y se aplicaron 10 µl de PBS en la parte inferior de la espalda del ratón, en los días 0, 2 y 4. Para cada caso, se observó estado de crecimiento del pelo durante 10 días. El péptido de la presente divulgación fue eficaz en promover crecimiento del pelo del ratón (FIG. 10).

<110> Caregen

10 <120> Péptidos derivados de nogina y usos de los mismos

<130> PN090024

<160> 1

<170> KopatentIn 1.71

<210>

15 <211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Glu Leu Ile Glu His Gly Gly Gly Arg Pro Ala Asp

20

1

5

10

REIVINDICACIONES

1. Un péptido que presenta una actividad del factor de crecimiento representado por la fórmula general (1):



- 5 en la que el engarce comprende residuos aminoacídicos de glicina o de glicina y serina y es de 2-18 aminoácidos de longitud.
2. El péptido de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el engarce comprende de 2 a 10 residuos de Gly.
3. El péptido de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el péptido tiene una capacidad para promover la proliferación celular.
- 10 4. El péptido de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el péptido promueve la producción de laminina o de ácido hialurónico.
5. El péptido de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el péptido presenta una actividad antagonista contra proteína morfogénica ósea (BMP)-2, BMP-4 o BMP-7 por la unión a BMP-2, BMP-4 o BMP-7.
6. Una composición para promover crecimiento del cabello que comprende el péptido que presenta una actividad de factor de crecimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 como un ingrediente activo.
- 15 7. Una composición para mejorar afecciones de la piel que comprende el péptido que presenta una actividad del factor de crecimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 como un ingrediente activo.
8. Un péptido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para uso en el tratamiento de inflamación.
9. Un péptido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para uso en el tratamiento de enfermedades óseas.
- 20 10. La composición de acuerdo con la reivindicación 7, en la que la mejora de afección cutánea es mejora de arrugas, mejora de elasticidad en la piel, prevención de envejecimiento de la piel, mejora de hidratación de la piel, eliminación de manchas de edad, o curación de cortes.

Fig. 1

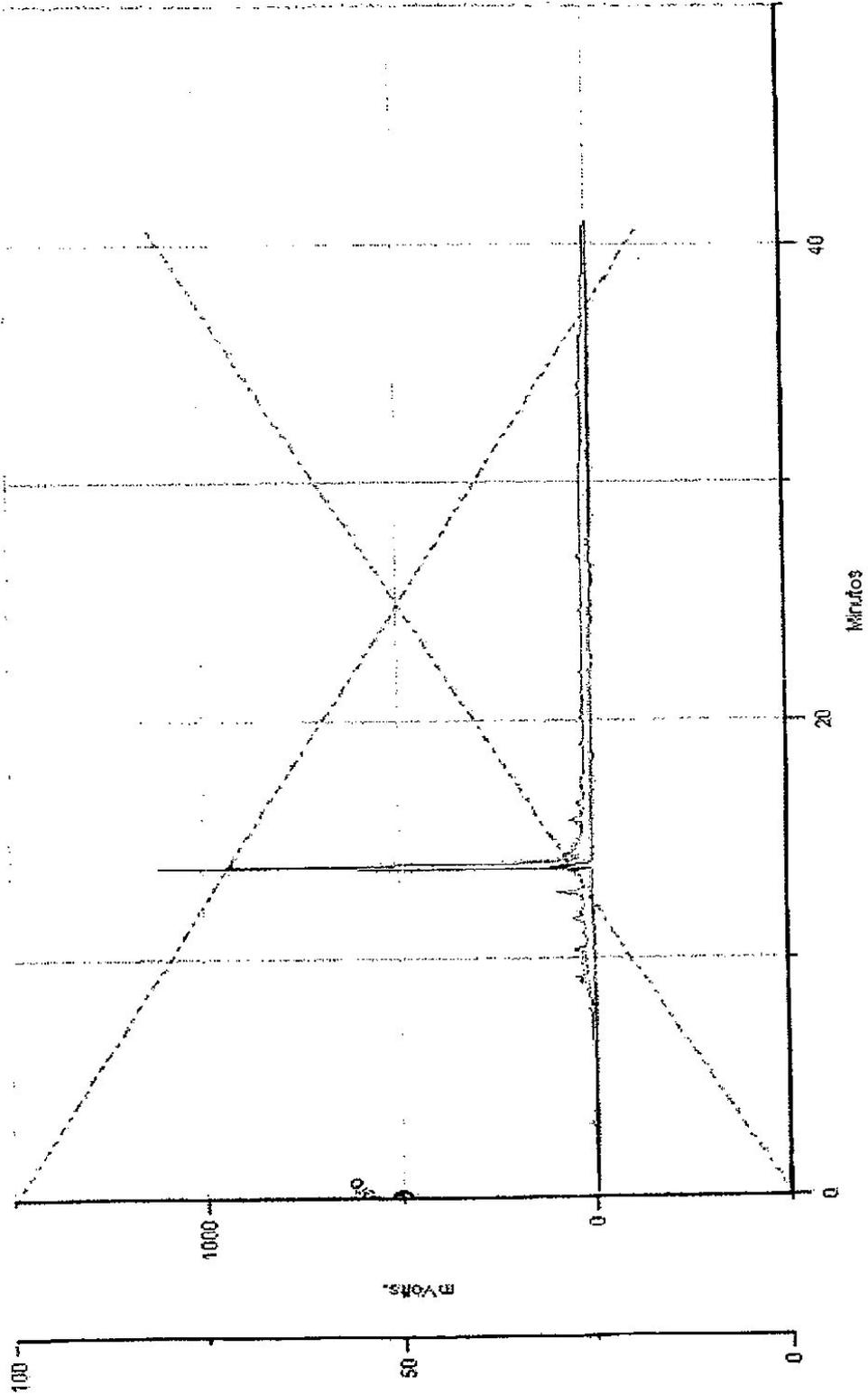


Fig. 2a

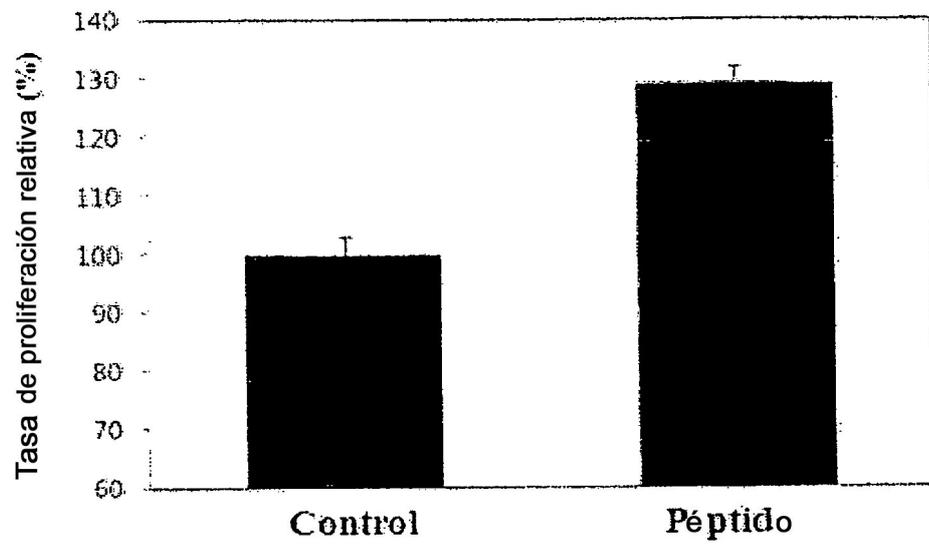


Fig. 2b

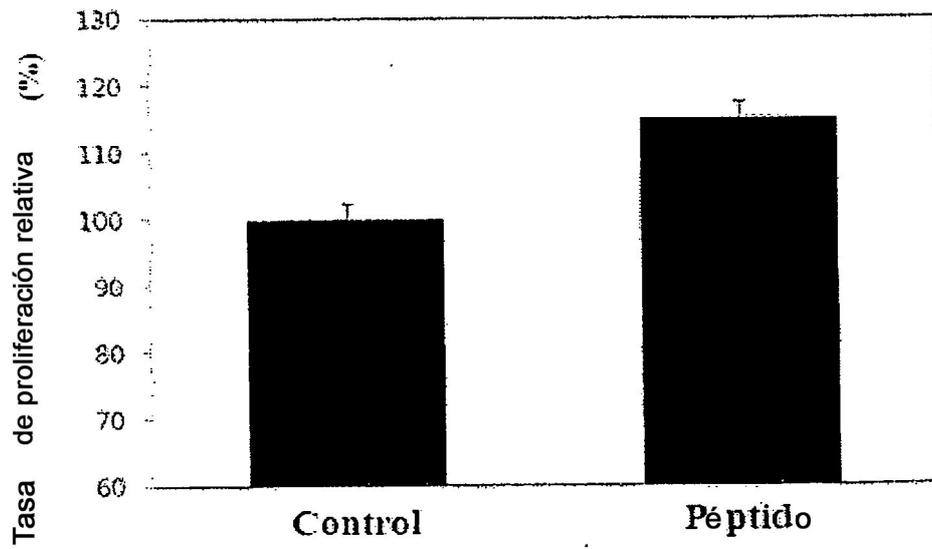
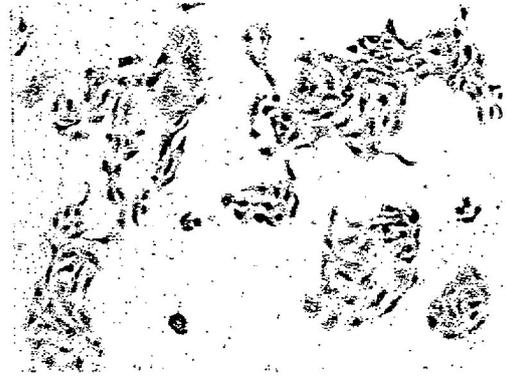


Fig. 3

Queratinocito

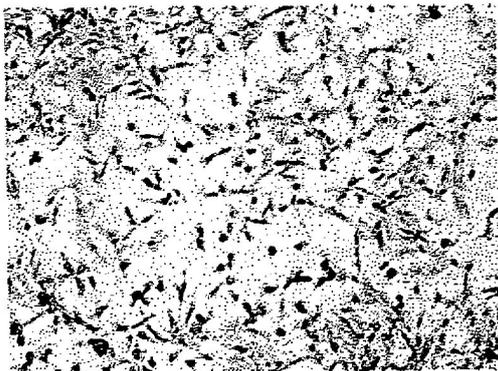


Control

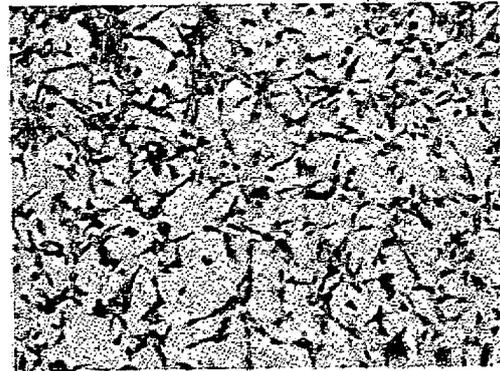


Péptido

Fibroblasto



Control



Péptido

Fig. 4a

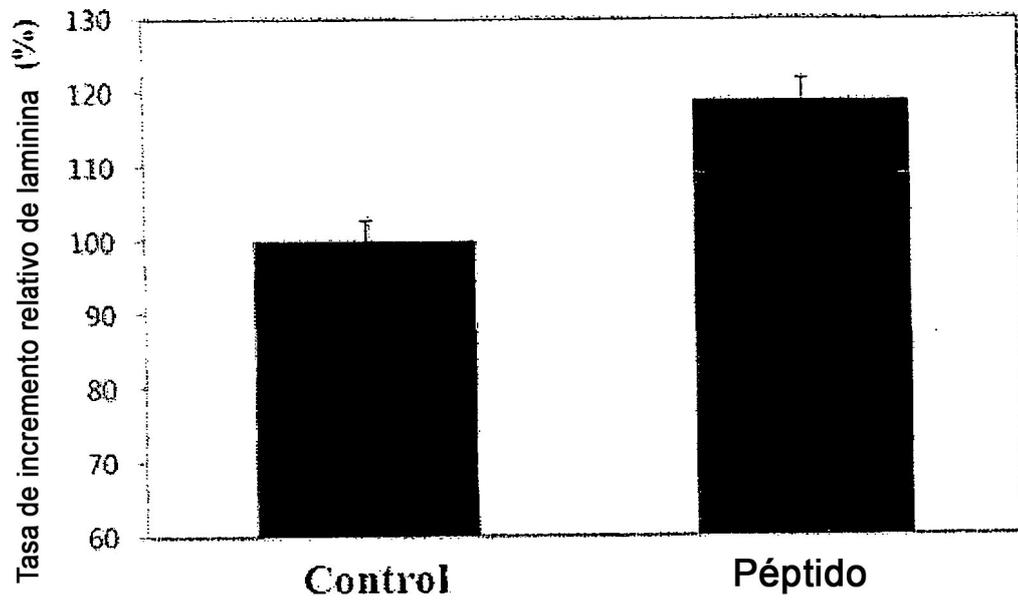


Fig. 4b

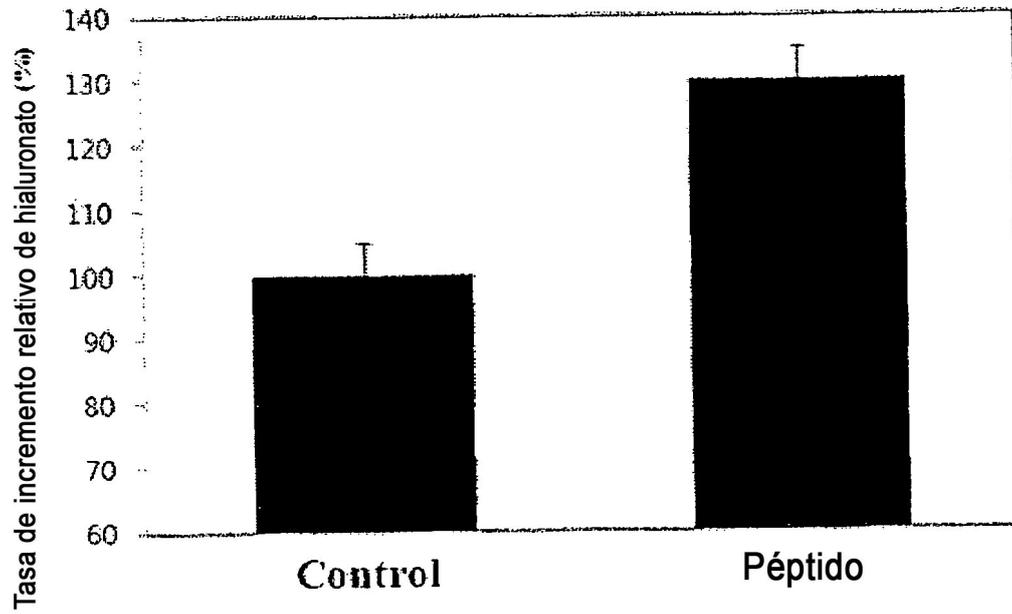


Fig. 5

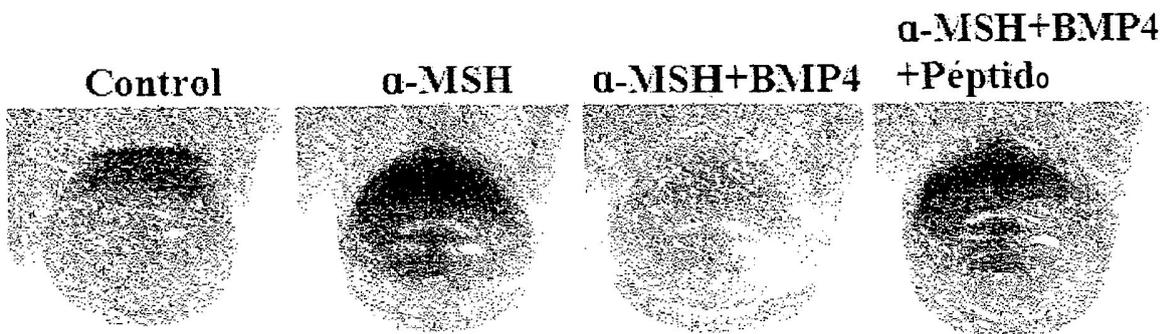


Fig. 6

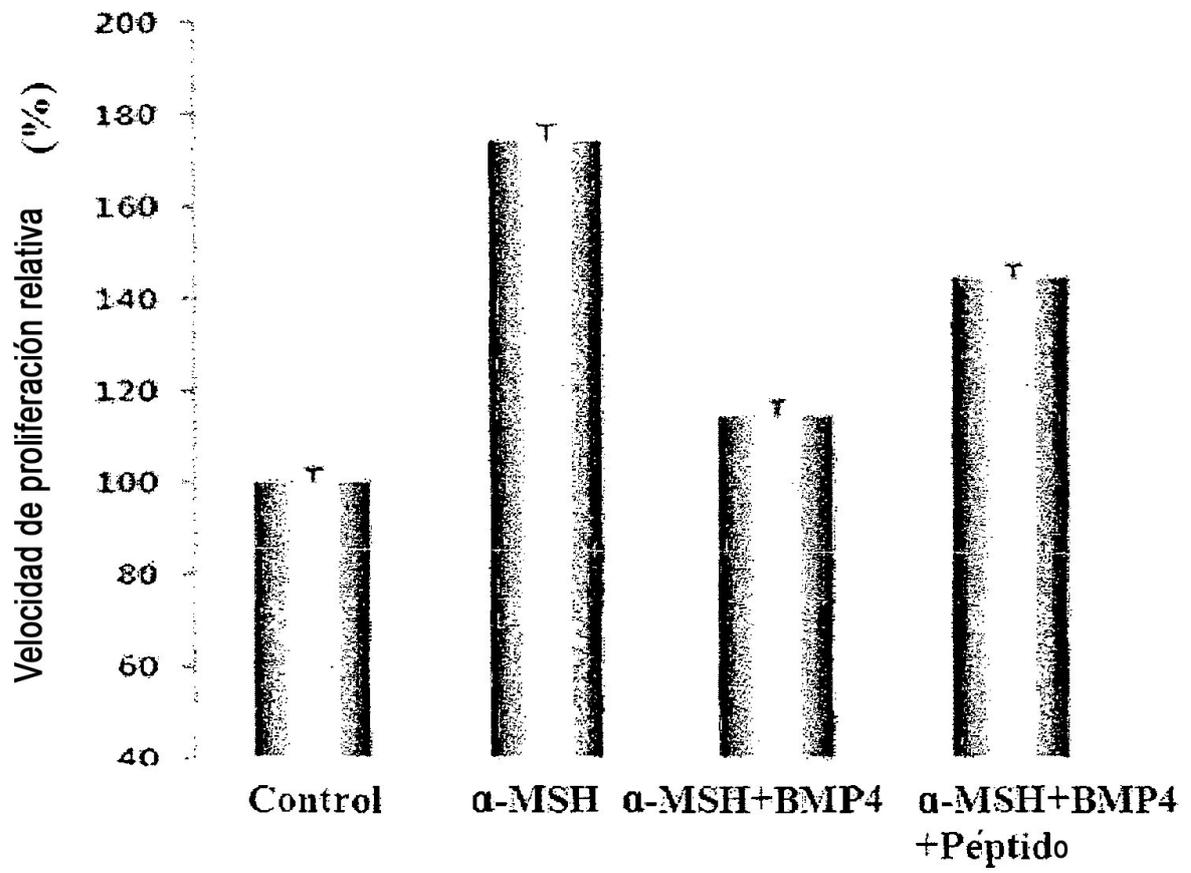


Fig. 7

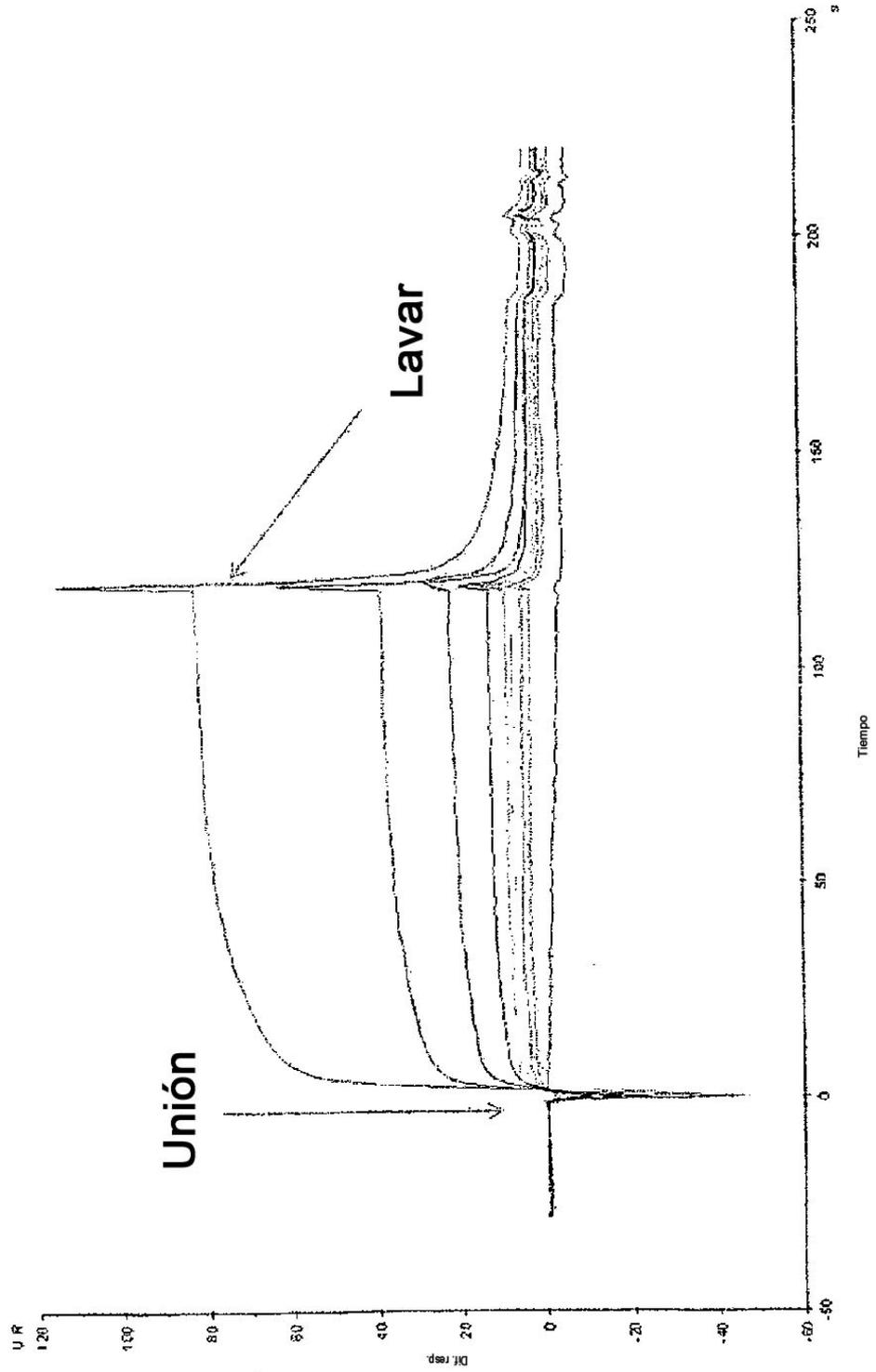


Fig. 8a

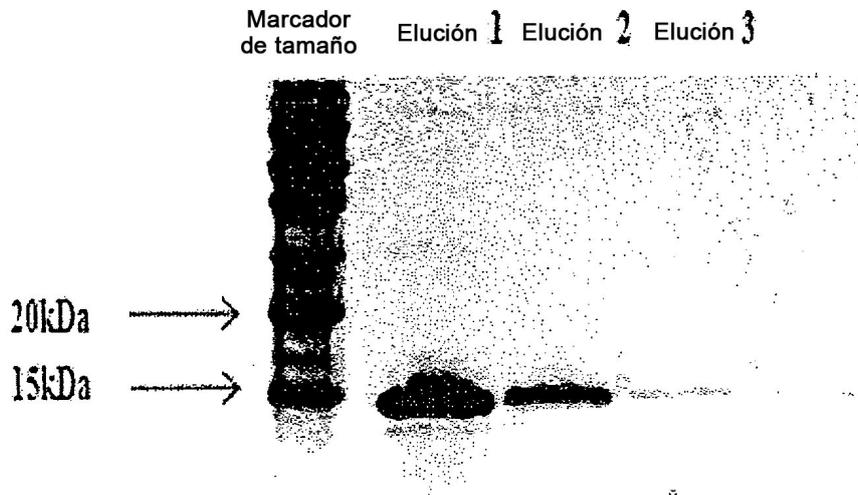


Fig. 8b

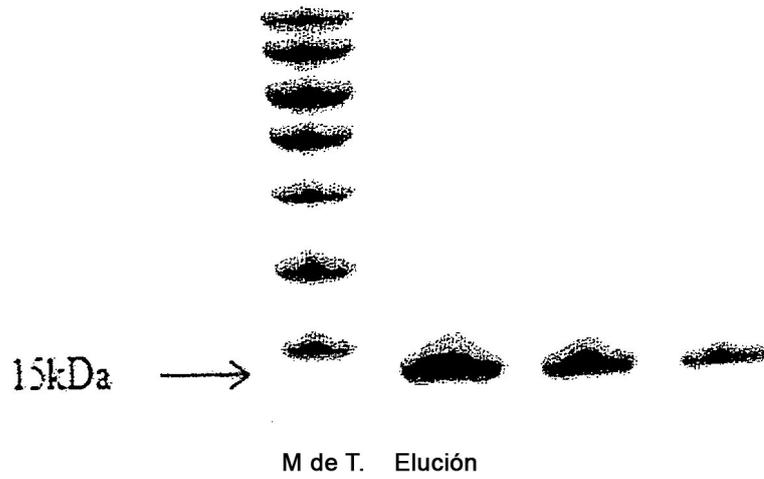


Fig. 9

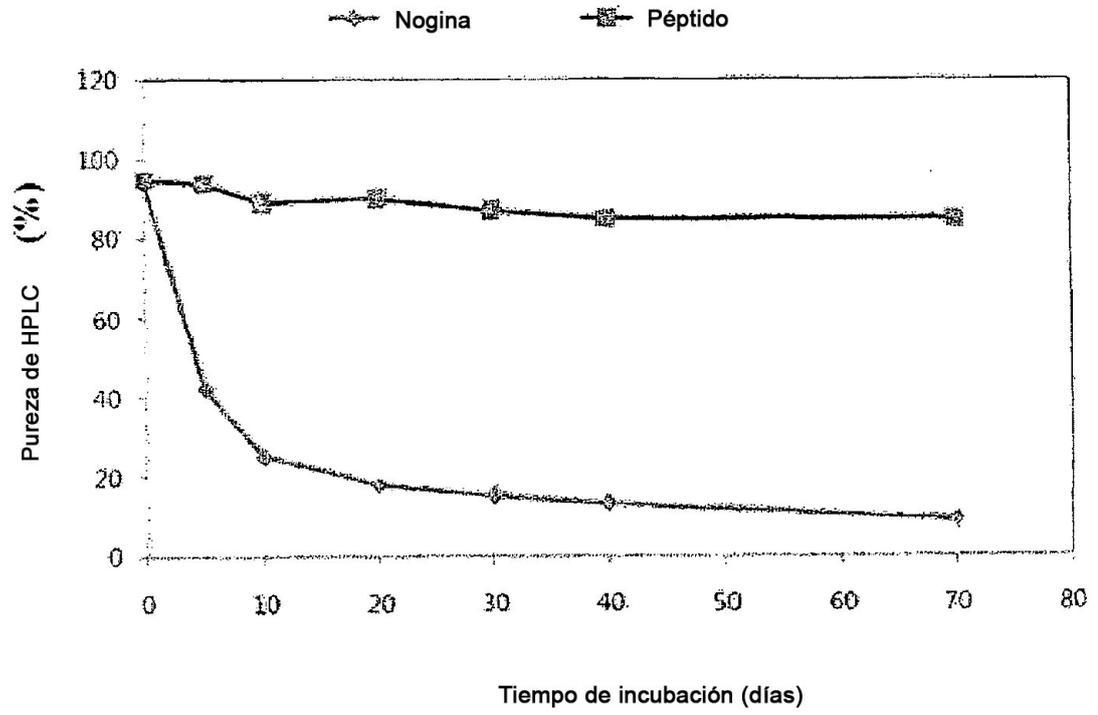


Fig. 10

