

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 604 753**

51 Int. Cl.:

A61K 8/64 (2006.01)

A61Q 19/00 (2006.01)

A61Q 19/08 (2006.01)

A61Q 5/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **08.07.2002 PCT/FR2002/02380**

87 Fecha y número de publicación internacional: **30.01.2003 WO03007905**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.07.2002 E 02767553 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.09.2016 EP 1406589**

54 Título: **Uso cosmético o dermatológico de péptidos para aumentar la adhesión entre las células cutáneas**

30 Prioridad:

13.07.2001 FR 0109366

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

09.03.2017

73 Titular/es:

**ASHLAND SPECIALTIES FRANCE (100.0%)
655 route du Pin Montard
06410 Biot, FR**

72 Inventor/es:

**DAL FARRA, CLAUDE y
DOMLOGE, NOUHA**

74 Agente/Representante:

RIZZO, Sergio

ES 2 604 753 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

Uso cosmético o dermatológico de péptidos para aumentar la adhesión entre las células cutáneas

- 5 **[0001]** La presente invención se refiere al uso para la preparación de una composición cosmética o dermatológica, de una cantidad eficaz de péptidos de secuencia (Gly-Pro-Gln)_n-NH₂, en la cual n está comprendido entre 1 y 3 y donde los aminoácidos pueden estar en la forma L, D o DL; estando los péptidos o la composición destinados a:
- 10 - aumentar la adhesión entre las células cutáneas,
- aumentar la adhesión celular,
- tratar de forma curativa y/o preventiva las manifestaciones cutáneas del
- 15 envejecimiento (de origen fisiológico y solar) y mejorar el aspecto de la piel. Según una forma de realización actualmente preferida de la invención, el péptido anteriormente citado es de secuencia (Gly-Pro-Gln)₂-NH₂.
- [0002]** El envejecimiento cutáneo es un fenómeno complejo que se debe a numerosos factores endógenos y exógenos. Clínicamente, se observa la aparición de arrugas y pequeñas arrugas, una pérdida de la elasticidad cutánea, una flacidez de los tejidos cutáneos y subcutáneos...
- 20 Se proponen numerosas vías de investigación para luchar contra el envejecimiento, entre las que se encuentran la protección contra el medio ambiente (sol, contaminaciones...), la activación de la regeneración celular y el refuerzo de la matriz extracelular (colágeno y elastina). Recientemente, estudios han demostrado la importancia de la adhesión queratinocitos – unión dermoepidérmica en el tratamiento de las pieles envejecidas. De forma general, al aumentar la adhesión de las células entre sí, y la adhesión entre las células y la matriz
- 25 extracelular, es posible prevenir e incluso tratar la flacidez de la piel. Esta última vía de investigación prometedora todavía no se ha estudiado mucho, mientras que la aproximación célula-matriz únicamente favorece los intercambios que en la actualidad se sabe que son numerosos entre la célula y su medio complejo que la rodea.
- 30 **[0003]** Elemento principal de la matriz extracelular, el colágeno participa en la estructura y consistencia de la piel. Muy estudiado por sus numerosas funciones, también se utiliza en gran medida en cosmética.
- [0004]** Aunque se uso se ha visto reducido tras los problemas de la encefalopatía esponjiforme bovina, el colágeno sigue siendo muy empleado principalmente a través de los colágenos marinos (nativos e hidrolizados). La industria cosmética se ha sensibilizado en los últimos tiempos en lo que respecta al uso de los péptidos en
- 35 biología cutánea (secuencias derivadas del alfa-MSH, de determinados neuropéptidos como el NPY y la SP...), y busca péptidos que tengan una fuerte actividad a nivel cutáneo. Asimismo, resulta lógico ver numerosos estudios acerca de secuencias peptídicas que tratan de imitar la actividad del colágeno. Estas secuencias tratan de aproximarse a una región específica del colágeno o bien a su
- 40 forma muy particular.
- [0005]** Así, DE 43 44 418 A1 describe péptidos derivados de la hidrólisis del colágeno y que tienen una acción antienvjecimiento sobre la piel. Específicamente se describen los tripéptidos Gly-His-Lys y Gly-Asp-Ser.
- 45 **[0006]** Por tanto, se constata que persiste la necesidad de un nuevo derivado del colágeno que tenga una acción sobre la adhesión de las células cutáneas.
- [0007]** Sin embargo, la solicitante ha descubierto, de forma sorprende e inesperada, que una cantidad eficaz de un péptido de secuencia (Gly-Pro-Gln)_n-NH₂ tiene una acción sobre la adhesión celular.
- 50 **[0008]** Según el conocimiento de la solicitante, en la técnica anterior no se ha descrito nunca el uso de un péptido de secuencia (Gly-Pro-Gln)_n-NH₂ en cosmética.
- [0009]** Así, la invención tiene como primer objeto una composición cosmética o dermatológica que comprende una cantidad eficaz de péptidos de secuencia (Gly-Pro-Gln)_n-NH₂ en la cual n está comprendido entre 1 y 3 y donde los aminoácidos pueden estar en la forma L, D o DL, para su aplicación como medicamento en el
- 55 tratamiento curativo y/o preventivo de las manifestaciones cutáneas del envejecimiento de origen fisiológico y solar.
- 60 **[0010]** En adelante, el término «adhesión entre las células cutáneas» debe entenderse por un lado como la adhesión entre las células cutáneas y la matriz extracelular y por otro lado como la adhesión entre las células cutáneas.
- 65 **[0011]** La invención se refiere además al uso cosmético no terapéutico de una cantidad eficaz de péptidos de secuencia (Gly-Pro-Gln)_n-NH₂, en la cual n está comprendido entre 1 y 3 y donde los aminoácidos pueden estar

en la forma L, D, o DL, para tratar de forma curativa y/o preventiva las manifestaciones cutáneas del envejecimiento (de origen fisiológico y solar) y mejorar el aspecto de la piel.

5 **[0012]** Según una forma de realización actualmente preferida de la invención, el péptido anteriormente citado presenta la secuencia (Gly-Pro-Gln)₂-NH₂.

[0013] Los péptidos de la invención pueden modificarse por acilación en su función N-terminal.

10 **[0014]** Los péptidos de la invención pueden obtenerse por síntesis química o enzimática a partir de los aminoácidos constitutivos o sus derivados.

[0015] Los péptidos de la invención también pueden obtenerse por hidrólisis parcial de proteínas naturales (animal o vegetal).

15 **[0016]** Por último, los péptidos de la invención pueden obtenerse por biotecnología (uso de un microorganismo modificado o no por ingeniería genética).

20 **[0017]** El experto en la materia, conocedor del oficio de extracción y purificación de las proteínas y los péptidos, podrá contemplar fácilmente otros procedimientos de obtención de los péptidos descritos por la solicitante.

[0018] Según otra forma de realización ventajosa de la invención, el péptido anteriormente citado se solubiliza previamente en uno o varios disolventes cosmética o farmacéuticamente aceptables como agua, propilenglicol, butilenglicol, diglicoles etoxilados o propoxilados, etanol, propanol o isopropanol.

25 **[0019]** Según todavía otra forma de realización ventajosa de la invención, el péptido anteriormente citado se solubiliza previamente en un vector cosmético o farmacéutico como los liposomas o se absorbe en polímeros orgánicos en polvo, soportes minerales como talcos y bentonitas, y más generalmente se solubiliza en, o se fija sobre, todo vector cosmética o farmacéuticamente aceptable.

30 **[0020]** Para dar una idea del tamaño, en la presente invención el péptido de secuencia (Gly-Pro-Gln)_n-NH₂ se utiliza en una concentración que representa de 0,0005 a 500 ppm (p/p) y preferiblemente en una concentración que representa de 0,05 a 50 ppm (p/p).

35 **[0021]** Para dar una idea del tamaño, en la presente invención el péptido de secuencia (Gly-Pro-Gln)₂-NH₂ se utiliza en una concentración que representa de 0,0005 a 500 ppm (p/p) y preferiblemente en una concentración que representa de 0,05 a 50 ppm (p/p).

40 **[0022]** Preferiblemente, las composiciones según la presente invención se presentarán en una forma galénica adaptada para la administración por vía tópica cutánea, y cubren todas las formas cosméticas o dermatológicas. Estas composiciones deben contener, pues, un medio cosméticamente aceptable, es decir, compatible con la piel, el vello o el cabello.

45 Estas composiciones podrán principalmente presentarse en forma de cremas, emulsiones de aceite en agua, de agua en aceite o emulsiones múltiples, soluciones, suspensiones o incluso polvos, adaptados para una aplicación sobre la piel, los labios y/o el cabello.

50 **[0023]** Estas composiciones pueden ser más o menos fluidas y tener el aspecto de una crema, loción, leche, sérum, pomada, gel, pasta o espuma. También pueden presentarse en forma sólida, como una barra, o aplicarse en la piel en forma de aerosol. Pueden utilizarse como producto de cuidado y/o como producto de maquillaje de la piel.

55 **[0024]** Estas composiciones comprenden, de forma conocida, los adyuvantes necesarios para su formulación, como disolventes, espesantes, diluyentes, antioxidantes, colorantes, filtros, pigmentos, cargas, conservantes, perfumes, absorbeolores. En todos los casos, dichos adyuvantes, así como sus proporciones, se seleccionarán de modo que no resulten perjudiciales para las propiedades investigadas en la invención. Estos adyuvantes pueden, por ejemplo, corresponderse de 0,01 a 20 % del peso total de la composición.

60 Cuando la composición de la invención es una emulsión, la fase grasa puede representar de 5 a 80 % en peso y preferiblemente de 5 a 50 % en peso con respecto al peso total de la composición. Los emulsionantes y coemulsionantes utilizados en la composición se seleccionarán de entre aquellos clásicamente utilizados en el campo considerado. Por ejemplo, pueden utilizarse en una proporción que va de 0,3 a 30 % en peso, con respecto al peso total de la composición.

[0025] Evidentemente, el experto en la materia procurará seleccionar los eventuales compuestos complementarios, activos o no activos, y/o sus cantidades, de forma que las propiedades ventajosas de la mezcla no se vean alteradas, o no se vean sensiblemente alteradas, por la agregación contemplada.

[0026] Asimismo, otro objeto de la invención consiste en una composición cosmética o dermatológica, caracterizada por que contiene, en un medio cosmética o dermatológicamente aceptable, un péptido de secuencia (Gly-Pro-Gln)_n-NH₂ y preferiblemente un péptido que posee la secuencia (Gly-Pro-Gln)₂-NH₂.

5 **[0027]** En las composiciones de la invención, el péptido de secuencia (Gly-Pro-Gln)_n-NH₂ se utiliza en una concentración que representa de 0,0005 a 500 ppm (p/p) y preferiblemente en una concentración que representa de 0,05 a 50 ppm (p/p).

10 **[0028]** En las composiciones de la invención, el péptido de secuencia (Gly-Pro-Gln)₂-NH₂ se utiliza en una concentración que representa de 0,0005 a 500 ppm (p/p) y preferiblemente en una concentración que representa de 0,05 a 50 ppm (p/p).

15 **[0029]** Por último, la invención se refiere a un procedimiento cosmético no terapéutico para el tratamiento de las manifestaciones del envejecimiento, que consiste en aplicar, en la piel o el cabello, la composición tal y como se define anteriormente.

[0030] Otras ventajas y características de la invención se pondrán de mayor manifiesto con la lectura de los ejemplos dados a modo ilustrativo y no limitativo.

20 **Ejemplo 1** – Estudio de la estabilidad del péptido (Gly-Pro-Gln)₂-NH₂

[0031] El péptido (Gly-Pro-Gln)₂-NH₂ se ha analizado en una concentración de 10⁻⁴ M por HPLC en una columna de tipo C18, y con un gradiente lineal agua/TFA 0,1 % - acetonitrilo/TFA 0,1%. No se ha observado ninguna degradación del péptido tras 24 horas a 25 °C, 37 °C y 60 °C. Asimismo, tras 8 días a 25 °C, el péptido no siempre presenta degradación.

[0032] Fibroblastos y queratinocitos humanos se han cultivado durante 24 horas a 37 °C y a 5 % de CO₂. Durante este periodo, las células pueden liberar enzimas en el medio de cultivo. Posteriormente, se retira el medio de cultivo para ponerse en presencia del péptido. Tras 24 horas, el péptido no presenta degradación.

30 **[0033]** Cuando el péptido se aplica en fibroblastos y queratinocitos en cultivo, una cuantificación HPLC del medio de cultivo revela que la concentración en péptido decrece rápidamente en varias horas. Estos datos, tomados en su conjunto, sugieren la posibilidad de una penetración del péptido en la célula. Esta hipótesis está reforzada seguidamente por las pruebas de eficacia expuestas en el ejemplo 2.

35 **Ejemplo 2** – Efectos del péptido del ejemplo 1 en la adhesión celular

[0034] El estudio se realiza en microplacas de 96 pocillos en queratinocitos cultivados en una incubadora a 37 °C y a 5 % de CO₂.

40 **[0035]** En función de los pocillos, se incuban diferentes péptidos de 3 a 25 aminoácidos en una concentración de 35 ppm. Los controles negativos no contienen péptido y los controles positivos se efectúan con colágeno I en una concentración de 60 ppm.

45 **[0036]** Tras 3 horas, los pocillos se llenan totalmente de medio, se cierran herméticamente, se les da la vuelta y se agitan en un agitador tridimensional durante 20 minutos. A continuación, las placas se vacían del medio y a continuación se aspira el medio restante. Se añaden 100 µl de MTT a 1 mg/ml por pocillos y se dejan durante 3 horas a 37 °C y a 5 % de CO₂. Por último, la solución se retira, se añaden a continuación 100 µl de DMSO y se realiza la lectura a 560 nm contra 630 nm. Para la mayoría de los péptidos y para los controles sin péptido se obtiene una densidad óptica de 0,49 UDO a 540 nm.

[0037] Para el colágeno I sometido a prueba a 60 ppm, la densidad óptica es de 0,68 UDO.

55 **[0038]** Para el péptido del ejemplo 1 (Gly-Pro-Gln)₂-NH₂ sometido a prueba a 5 ppm, la densidad óptica es de 0,62 UDO.

[0039] En conclusión, tras solamente 3 horas de contacto con los queratinocitos, el péptido de secuencia (Gly-Pro-Gln)₂-NH₂ aporta una buena adhesión celular, similar a la del colágeno de tipo 1, aunque utilizado en una concentración más baja que el colágeno.

60 **Ejemplo 3** – Preparación de composiciones

[0040] Estas composiciones se han obtenido por mezcla simple de los distintos componentes. Las cantidades indicadas se dan en porcentaje en peso.

ES 2 604 753 T3

1 – Emulsión de aceite en agua

Fase oleosa:

▪Montanov 68 (Cetearyl Alcohol and Cetearyl Glucoside)	5,00 %
▪Aceite de jojoba	5,00 %
▪Aceite de vaselina	5,00 %
▪Isopropyl Palmitate	7,00 %

Fase acuosa :

▪Glicerina	5,00 %
▪Alantoína	0,10 %
▪Péptido del ejemplo 1	5,00 %
▪Sepigel 305 (Polyacrylamide and C13-14 Isoparaffin and Laureth-7)	0,30 %
▪Conservante	0,50 %
▪Perfume	0,50 %
▪Agua	c.s.p. 100 %

5

2 - Gel

▪Carbopol Ultrez 10 (sol. a 2 %)	25,00 %
▪ Trietanolamina	0,50 %
▪Péptido del ejemplo 1	1,0 %
▪Conservante	0,20 %
▪EDTA (quelante)	0,10 %
▪Perfume	0,50 %
▪Agua	c.s.p. 100 %

3 - Loción

▪Monopropilenglicol	1,00 %
▪Alantoína	0,30 %
▪Glicerina	1,00 %
▪Cetiol HE (PEG-7 Glyceryl Cocoate)	1,00 %
▪Péptido del ejemplo 1	1 ppm
▪Conservante	0,20 %
▪Perfume	0,50 %
▪Agua	c.s.p. 100 %

10

REIVINDICACIONES

- 5 1. Composición que comprende una cantidad eficaz de péptidos de secuencia (Gly-Pro-Gln)_n-NH₂, en la cual n está comprendido entre 1 y 3 y donde los aminoácidos pueden estar en la forma L, D o DL; para su aplicación como medicamento en el tratamiento curativo y/o preventivo de las manifestaciones cutáneas del envejecimiento de origen fisiológico y solar.
- 10 2. Uso cosmético no terapéutico de una cantidad eficaz de péptidos de secuencia (Gly-Pro-Gln)_n-NH₂, en la cual n está comprendido entre 1 y 3 y donde los aminoácidos pueden estar en la forma L, D, o DL; para tratar de forma curativa y/o preventiva las manifestaciones cutáneas del envejecimiento de origen fisiológico y solar.
- 15 3. Uso cosmético no terapéutico de una cantidad eficaz de péptidos de secuencia (Gly-Pro-Gln)_n-NH₂, en la cual n está comprendido entre 1 y 3 y donde los aminoácidos pueden estar en la forma L, D o DL; para mejorar el aspecto de la piel.
- 20 4. Uso no terapéutico según la reivindicación 2 o 3 **caracterizado por que** el péptido posee la secuencia (Gly-Pro-Gln)₂-NH₂.
- 25 5. Uso no terapéutico según una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4 **caracterizado por que** el péptido se modifica por acilación en su función N-terminal.
- 30 6. Uso no terapéutico según una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 5 **caracterizado por que** el péptido se obtiene por síntesis química o enzimática a partir de los aminoácidos constitutivos o sus derivados; o se obtiene por hidrólisis parcial de proteínas naturales; o bien se obtiene por biotecnología.
- 35 7. Uso no terapéutico según una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 6, **caracterizado por que** el péptido se solubiliza previamente en uno o varios disolventes cosmética o farmacéuticamente aceptables como agua, propilenglicol, butilenglicol, diglicoles etoxilados o propoxilados, etanol, propanol o isopropanol.
- 40 8. Uso no terapéutico según una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 7, **caracterizado por que** el péptido se solubiliza previamente en un vector cosmético o farmacéutico como los liposomas o se absorbe en polímeros orgánicos en polvo, soportes minerales como talcos y bentonitas, y más generalmente se solubiliza en, o se fija sobre, todo vector cosmética o farmacéuticamente aceptable.
- 45 9. Uso no terapéutico según una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 8, **caracterizado por que** el péptido se utiliza en una concentración que representa de 0,0005 a 500 ppm (p/p) y preferiblemente en una concentración que representa de 0,05 a 50 ppm (p/p).
- 50 10. Composición cosmética o dermatológica, **caracterizada por que** contiene, en un medio cosmética o dermatológicamente aceptable, al menos un péptido de secuencia (Gly-Pro-Gln)_n-NH₂ tal y como se define según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9.
11. Composición cosmética según la reivindicación 10 **caracterizada por que** contiene al menos un péptido de secuencia (Gly-Pro-Gln)₂-NH₂.
12. Composición según la reivindicación 10 u 11, **caracterizada por que** el péptido se utiliza en una concentración que representa de 0,0005 a 500 ppm (p/p) y preferiblemente en una concentración que representa de 0,05 a 50 ppm (p/p).
13. Procedimiento cosmético no terapéutico para el tratamiento de las manifestaciones del envejecimiento, que consiste en aplicar, en la piel o el cabello, la composición tal y como se define según una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 12.