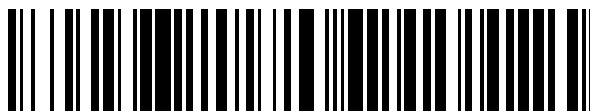


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 605 623**

51 Int. Cl.:

| | | |
|-------------------|-----------------------------|-----------|
| A61K 38/08 | (2006.01) A61K 8/55 | (2006.01) |
| A61K 38/43 | (2006.01) A61K 8/66 | (2006.01) |
| A61K 8/64 | (2006.01) A61Q 19/08 | (2006.01) |
| A61P 17/00 | (2006.01) A61K 31/70 | (2006.01) |
| A61Q 19/00 | (2006.01) A61K 35/74 | (2015.01) |
| A61K 8/34 | (2006.01) A61K 36/31 | (2006.01) |
| A61K 8/37 | (2006.01) | |
| A61K 38/06 | (2006.01) | |
| A61K 38/07 | (2006.01) | |
| A61K 38/10 | (2006.01) | |

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **09.06.2010 PCT/US2010/037871**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **13.01.2011 WO11005406**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.06.2010 E 10797509 (6)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.09.2016 EP 2445511**

54 Título: **Composiciones de reparación cutánea que comprenden activadores del gen circadiano y una combinación sinérgica de activadores del gen SIRT1**

30 Prioridad:

23.06.2009 US 489619

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
15.03.2017

73 Titular/es:

**ELC MANAGEMENT LLC (100.0%)
767 Fifth Avenue
New York, NY 10153, US**

72 Inventor/es:

**MAES, DANIEL H.;
PERNODET, NADINE A.;
MAMMONE, THOMAS;
COLLINS, DONALD F.;
SLUTSKY, LENNEY;
GOLDGRABEN, KERRI;
MCCARTHY, JAMES TIMOTHY y
PELLE, EDWARD**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 605 623 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).

DESCRIPCION

Composiciones de reparación cutánea que comprenden activadores del gen circadiano y una combinación sinérgica de activadores del gen SIRT1

5 **Campo técnico**

La invención pertenece al campo del tratamiento de la piel. Más particularmente, la invención se refiere a composiciones y procedimientos para mejorar la reparación del ADN dañado en células de la piel.

Antecedentes de la invención

10 Hoy en día es evidente que la piel está bajo asalto diario por diversos factores ambientales y relacionados con el estilo de vida. Una breve lista de estos factores incluye radiación UVA, radiación UVB, contaminación, humo de cigarrillo, mala alimentación, descanso insuficiente y estrés psicológico. Esta agresión se manifiesta como daño al ADN y a las proteínas de las células de la piel. Las líneas de expresión y arrugas en la piel están entre los resultados menos serios del daño de las células de la piel, mientras que el melanoma es uno de los más serios.

Daño del ADN

15 Algunos factores ambientales y de estilo de vida interaccionan directamente con el ADN y/o las proteínas de las células de la piel para causar daño, algunos factores causan daño indirectamente, y algunos factores pueden hacer ambas cosas. Un ejemplo de daño directo al ADN sería cuando el ADN de las células de la piel absorbe fotones de la parte UVB del espectro. La absorción de fotones puede causar mutaciones en la secuencia del ADN. Por ejemplo, aproximadamente 8% de la ocurrencia de melanoma se debe a la mutación directa del ADN.

20 Un ejemplo de daño indirecto al ADN y las proteínas de las células de la piel se observa cuando los fotones ultravioleta entran a la piel y son absorbidos por los cromóforos. En un estado excitado, los cromóforos entran en reacciones que conducen a la formación de especies reactivas de oxígeno. Por ejemplo, en la piel humana, la exposición a UVB se asocia con la producción de peróxido de hidrógeno, mientras que la exposición a UVA se asocia con la producción de oxígeno singlete. Si la piel no puede mantener la homeostasis neutralizando las especies reactivas, entonces la especie reactiva dañará el ADN y las proteínas de las células de la piel, a través de la oxidación. Este daño al ADN y a las proteínas se llama estrés oxidativo y es una de las principales causas de envejecimiento de la piel. Además, alrededor del 92% de la ocurrencia de melanoma se debe a daño indirecto oxidativo del ADN.

Daño del ADN: Prevención y contención versus reparación

30 Las células de la piel que contienen ADN incluyen células madre de queratinocitos y melanocitos. Se estima que una sola quemadura solar da como resultado cientos de miles de modificaciones de la base mutagénica del ADN tales como los dímeros T-T (tiamina-tiamina); 8-oxo-7,8-dihidro-2'-desoxiguanosina (8-oxo-DG); 06MeG (06-metilguanina); dímeros de pirimidina de ciclobutano (CPD); y fotoproductos 6-4 (6-4PP) en las células afectadas. Estas mutaciones desencadenan diversas respuestas dentro de las células de la piel, lo que puede conducir a la prevención de daño adicional del ADN o apoptosis de las células. Por ejemplo, se sabe que la producción de melanina en los melanocitos es sobre-regula por la radiación UV, como medida de protección. Para hacer frente a la amenaza de los rayos UV, la melanina es producida por melanocitos en la epidermis inferior, y con la ayuda de queratinocitos que migran hacia el exterior, se distribuye a lo largo de la epidermis superior e inferior. En el primer caso, la melanina parece prevenir adicionalmente el daño del ADN inducido por UV actuando como un filtro UV que limita la cantidad de UV que penetra a la epidermis inferior, donde se localizan las células madre de melanocitos y queratinocitos. Sin embargo, como segunda línea de defensa, la melanina contiene el daño del ADN debido a la radiación UV mediante la inducción de apoptosis de los queratinocitos. Mediante la promoción de apoptosis, se contiene el daño del ADN, que tiene menos posibilidad de ser transmitido a las células hijas (véase, por ejemplo, Yamaguchi y colaboradores, Melanin mediated apoptosis of epidermal cells damaged by ultraviolet radiation: factors influencing the incidence of skin cancer; Arch Dermatol Res. 2008 Abril; 300 Suplemento 1: S43 - S50).

Además de prevenir y contener el daño del ADN, los queratinocitos y los melanocitos sanos tienen un mecanismo interno natural para reparar las lesiones del ADN. Estos mecanismos son diferentes de aquellos de la prevención y contención, que involucran diferentes cascadas de reacción (aunque a veces se superponen). Las composiciones y procedimientos de la presente invención se ocupan principalmente de la reparación del daño del ADN.

50 Existen mecanismos de reparación celular para reparar las lesiones del ADN por diferentes causas, no solamente el daño inducido por UV que ha sido discutido. Sin embargo, la reparación de las lesiones del ADN toma tiempo. Por ejemplo, la reparación de los dímeros TT y el daño de 6-4PP causado por la exposición a UVB puede tomar hasta 48 y 8 horas respectivamente, si no se acelera por una influencia exógena. La reparación de las lesiones causadas

por 8-oxo-dG y 06MeG debidas a exposición a UVA o UVB, ozono o humo y contaminación pueden tomar hasta 2 horas. Idealmente, las lesiones del ADN se reparan antes de que ocurra división celular. Si no es así, el resultado preferido es la apoptosis. Pero si acontece que el daño del ADN afecta adversamente la sobrerregulación de la apoptosis, o si la mutación no se detecta, entonces el ADN dañado puede pasar a la siguiente generación. Las composiciones y procedimientos de la presente invención se ocupan principalmente de maximizar la reparación del daño del ADN antes de que ocurra la división celular.

Los mecanismos preventivos y de reparación de las células se controlan mediante un reloj circadiano

Bajo condiciones normales, las funciones celulares, incluyendo la expresión y reparación del ADN, no ocurren en tiempos aleatorios con igual probabilidad. En vez de eso, cada célula tiene un ciclo endógeno (o reloj) de aproximadamente 24 horas (es decir, un ritmo circadiano), y las actividades de las células están reguladas por este ciclo endógeno. A falta de algún estímulo externo, cada célula funcionaría libremente de acuerdo con su reloj endógeno. Sin embargo, los relojes endógenos de las células en todo el cuerpo están sincronizados. Con el fin de sincronizar las actividades de las células entre sí y con el medio ambiente, el cuerpo es capaz de aceptar las señales del medio ambiente. La señal ambiental más notable es la presencia o ausencia de la luz del día. Por lo tanto, el ciclo circadiano consiste en fases claras y oscuras que coinciden aproximadamente con las fases del día solar.

Se entiende hoy en día que los ritmos circadianos le permiten a las células anticipar cambios en el entorno que pueden afectar las células y adaptarse a esos cambios de una manera oportuna. Mientras la maquinaria genética de los ritmos circadianos celulares esté funcionando correctamente, las células llevan a cabo cada una de sus muchas funciones de una manera sincronizada, en un momento que es óptimo para la viabilidad y/o homeostasis celular. Por ejemplo, a medida que se aproxima la luz del día (pero incluso antes de que la piel esté bajo ataque de los rayos UV), ciertos genes se activan para producir proteínas que protegen a las células contra el daño anticipado por la radiación UV. Por lo tanto, a medida que disminuye la luz del día, estos genes se desactivan. Por otro lado, los propios genes circadianos pueden estar sujetos a ataques por factores ambientales. El daño a uno o más genes que regulan el ritmo circadiano de una célula puede poner a la célula fuera de sincronía con el ambiente y con otras células.

El mecanismo circadiano natural

Los factores de transcripción son proteínas que se unen a secuencias específicas de ADN para controlar la transferencia de información genética desde el ADN hasta el ARN. El mecanismo circadiano natural, o "reloj celular", está compuesto de factores de transcripción que participan en bucles de retroalimentación negativa y positiva, fuera de fase, que conducen a la transcripción de genes oscilantes.

En el bucle de retroalimentación negativa principal de mamíferos, un heterodímero de los factores de transcripción CLOCK y BMAL1 activa la transcripción de los genes *period* (*per*) y *criptocromo* (*cry*). En humanos, el gen *period* es realmente una familia de tres genes *per1*, *per2*, y *per3* y la familia del gen *cry* incluye *cry1* y *cry2*. Después de su traducción, las proteínas PER y CRY migran al citoplasma y forman los complejos PER/CRY. La regulación postraduccional crea un retraso intencional después del cual los complejos PER/CRY se trasladan al núcleo de la célula. Las concentraciones de PER y CRY en el núcleo tienen un pico al final del día circadiano, momento en el cual las proteínas CRY, actúan entonces para inhibir la actividad transcripcional del heterodímero CLOCK/BMAL1. Por lo tanto, CRY parece apagar su propia transcripción.

Por otro lado, en un bucle de retroalimentación positiva, PER2 después de la translocación al núcleo, parece sobrerregular la transcripción de BMAL1, que eventualmente a la transcripción de los genes de *period* y *cry*. También, el dímero CLOCK/BMAL1 parece sobrerregular los genes de *rev-erba* y *rora*. *Rora* activa la transcripción de BMAL1, mientras que *rev-erba* suprime CLOCK y BMAL1. Las actividades pico de los así llamados "genes clock canónico" (*clock*, *bmal1*, *per1*, *per2*, *per3*, *cry1* y *cry2*) están fuera de fase, de manera que se produce un bucle autosostenido, que tiene un periodo de aproximadamente 24 horas.

El Ciclo Celular

El ciclo celular se refiere a la serie de eventos que tienen lugar en una célula que conducen a la división y replicación de la célula. El ciclo se describe generalmente como cuatro o cinco fases secuenciales que requieren aproximadamente 24 horas para completarse. Dentro de cada fase del ciclo celular, existen puntos de control que garantizan que todos los procesos requeridos de una fase dada se completan antes del inicio de la siguiente fase. En células humanas, la "primera" fase es la fase de Síntesis (S) en la que se copia y sintetiza el ADN de una célula. La fase S puede típicamente durar de 6 a 8 horas. En la fase G2, que dura de 3 a 4 horas, se sintetizan las proteínas y la célula duplica su tamaño. Durante la Mitosis (M), se rompe la envoltura nuclear de tal manera que cada copia del material genético puede separarse hacia polos opuestos de la célula. Después de la formación de una nueva envoltura nuclear alrededor de cada conjunto de cromosomas, la célula se divide en dos (citoquinesis). La fase M

dura aproximadamente 1 hora. La cuarta y más larga fase (6 - 12 horas) es G1 que se caracteriza por síntesis del ARN y la proteína. A partir de la fase G1, una célula puede volver a entrar en la fase S o puede entrar en la fase G0. En G0, la célula se inactiva. G0 puede durar días o años. Las células madre pueden retornar desde la fase G0, entrando en G1. Las células diferenciadas generalmente no regresan de G0. Además, las células con ADN dañado pueden entrar en G0, en vez de apoptosis.

Los puntos de control del ciclo celular inhiben el paso del ADN dañado

Durante la división celular, se utilizan puntos de control para regular el progreso de la célula a través del ciclo celular. Los puntos de control impiden que una célula avance a la siguiente fase hasta completar todos los procesos necesarios, incluyendo cualquier reparación de ADN dañado. De esta manera, los puntos de control garantizan que el ADN dañado o incompleto no pase a las células hijas. Existen varios puntos de control. El punto de control G1/S (el punto de control de restricción) interrumpe el ciclo celular de manera que se pueda tomar la "decisión" de entrar o no a la fase inactiva. En el punto de control G2/M, del ciclo celular se detiene si se detecta ADN dañado, lo cual no es inusual. El punto de control de la posreplicación se refiere al ADN dañado que se ha replicado en la fase de síntesis. La replicación del ADN dañado desencadena una respuesta celular que evita el avance del ciclo celular hasta que se completan los procesos de reparación posreplicación. En células humanas el punto de control posreplicación toma tiempo para la reparación retrasando el inicio de la fase de mitosis. El gen *chk1* ejerce control sobre el punto de control por replicación, mientras que el gen *p53* juega un papel importante en la activación de los mecanismos de control tanto en los puntos de control G1/S y G2/M.

El reloj circadiano también regula la proliferación celular

En los últimos años, se ha observado la importancia del reloj circadiano en la regulación de la proliferación celular. Por ejemplo:

"La interrupción del ritmo circadiano ... tiene consecuencias de largo alcance para la regulación normal de la división celular". (Reddy y colaboradores, 2005. Circadian clocks: neural and peripheral pacemakers that impact upon the cell division cycle. *Mutation Research* 574: 76-91).

"La información detallada sobre los mecanismos por los cuales los componentes del reloj interactúan con la maquinaria reguladora del ciclo celular ha provenido de estudios recientes en ratones. Por ejemplo, ... el retraso entre la extracción del tejido hepático (hepatectomía parcial) y la subsiguiente primera ola de mitosis depende del momento del día en que se realizó la cirugía". (Vallone y colaboradores, 2007 Start the clock! Circadian rhythms and development. *Developmental Dynamics* 236: 142-155).

"Desde las cianobacterias hasta los vertebrados superiores, existen muchos ejemplos del reloj circadiano "activación periódica" la fase S y la mitosis del ciclo celular **para que ocurra durante el período nocturno**". (Vallone y colaboradores). [Presumiblemente, la síntesis de ADN y la mitosis ocurren durante la noche para proteger al ADN de la radiación nociva o de otra radiación ionizante procedente del sol].

Por consiguiente, el reloj circadiano ejerce una influencia global sobre el ciclo celular de síntesis de ADN y de proteínas, la mitosis y citoquinesis, la síntesis y reparación del ARN. Por lo tanto, cuando los factores ambientales interfieren con el mecanismo circadiano de la célula, se ve comprometida la función celular. Se postula que cuando el tratamiento puede entrenar o resincronizar el reloj circadiano de la célula, o cuando el tratamiento puede restaurar los niveles "normales" de expresión génica circadiana, entonces se puede mejorar el funcionamiento celular, se puede reparar el daño celular de forma acelerada o puede ocurrir apoptosis en una forma más oportuna.

El ambiente puede poner el ritmo circadiano fuera de sincronización

Los agentes que interfieren con uno o más genes que regulan el ritmo circadiano de la célula pueden poner una célula fuera de sincronización con el medio ambiente y con otras células. Por ejemplo, en las horas siguientes a la exposición a los rayos UV, tal vez hasta 20 horas, los niveles de expresión del gen *clock*, *bmal1* y *per1* en queratinocitos humanos están significativamente deprimidos (véase la figura 1). Por "significativamente deprimido" se entiende más adelante la expresión mínima que estos genes experimentan en su ciclo circadiano normal, como se describió anteriormente. Además, después de la exposición a los rayos UV, se pierde el patrón usual de expresión del gen, que puede describirse como aproximadamente sinusoidal.

En la figura 1, una línea horizontal marca el nivel medio usual de expresión del gen *clock* y, a partir de aproximadamente 44 horas después de la exposición a la radiación UV, muestra una variación circadiana típica alrededor de esa línea. Por el contrario, inmediatamente después a la exposición de la radiación UVB, los niveles de expresión del gen cayeron hasta valores muy por debajo de los normales, y no regresaron a los niveles normales durante aproximadamente 20 horas. Durante esas 20 horas, se perdió el patrón normal de expresión del gen para los tres genes. E incluso cuando los niveles de expresión del gen regresaron a niveles casi normales, se requirió un

período de aproximadamente 20 horas hasta aproximadamente 44 horas para regresar al patrón sinusoidal normal de expresión. Por lo tanto la exposición a la radiación UV tuvo dos efectos. Un efecto es la declinación dramática en el nivel de expresión de los genes circadianos y el otro es el patrón, es decir, el ritmo de su expresión. Desde 0 hasta aproximadamente 44 horas después de la exposición a la radiación UV, el ritmo de síntesis de ADN y de proteínas, mitosis y citoquinesis, síntesis y reparación de ARN y muerte celular programada (apoptosis) están todos comprometidos.

Desde luego, la exposición a la radiación UV se produce durante el día, especialmente durante la ventana crítica de 10 a.m. a 2 p.m. Como ya se ha indicado, la concentración de proteínas PER y CRY en el núcleo alcanza un pico al final del día circadiano, momento en el que las proteínas CRY actúan para inhibir la transcripción del heterodímero CLOCK/BMAL1. Cualquier retraso en alcanzar la concentración crítica que desactiva la expresión de *clock* y *bmal1*, alargará el ciclo circadiano. Por lo tanto, la exposición a la radiación UV tiende a alargar el ciclo circadiano. Esto hace que el ciclo celular no se sincronice con el entorno. La replicación del ADN y la mitosis pueden no ocurrir durante la noche, lo cual es óptimo para la replicación celular. Además, la influencia de la activación periódica que ejercen los genes circadianos sobre el ciclo celular puede verse comprometida, de manera que el daño al ADN puede no ser detectado o no puede ser reparado, y puede permitir el paso a las células hijas.

Se reporta que las sirtuinas retrasan el inicio de la mitosis

La sirtuina 1 (también conocida como SIRT1 u ortólogo 1 del regulador de información silencioso 2) es una enzima que regula el metabolismo y la supervivencia celular en respuesta al estrés. Se asocia con la longevidad celular. El gen *sirt1*, que codifica para la enzima SIRT1, no es un gen circadiano. Chua y colaboradores han sugerido que SIRT1 promueve la senescencia replicativa deteniendo el ciclo celular (Chua y colaboradores (2005) Mammalian SIRT1 limits replicative life span in response to chronic genotoxic stress. Cell Metabolism 2, 67-76).

El documento US 2009-0082278 describe adicionalmente este gen y composiciones tópicas para la piel que pueden sobrerregularlo. En los párrafos 8 a 13 se lee:

"Los solicitantes han descubierto recientemente la participación de una nueva proteína en los mecanismos de las células de la piel que tiene un papel importante en el proceso de envejecimiento y la protección celular".

"Los solicitantes han demostrado que la proteína SIRT, y más precisamente la proteína SIRT1, se expresa en las células de la piel y que su expresión está relacionada con diferentes estreses que encuentran las células cutáneas. Han demostrado en particular que la inducción de esta expresión de la proteína, que usa agentes diferentes, permitió la protección de las células y aún mejor, les ayudó a luchar contra el estrés y el envejecimiento intrínseco".

"Las proteínas SIRT son parte de la familia de la Sirtuina y son proteínas nucleares dependientes de NAD⁺ que desempeñan un papel importante en la desacetilación de las histonas. Los genes SIR (Reguladores de información silenciosos), que codifican para las proteínas SIR, se describieron por primera vez en *S. cerevisiae* en 1979) (Rine J y A I., Genetics 1979). Posteriormente se demostró que una sobreexpresión de la proteína SIR2P en *C. elegans* permitió aumentar la vida útil del organismo (Tissenbaum y A I., Nature 2001). Este estudio ha permitido formular la hipótesis de que estas proteínas están relacionadas con la longevidad".

"La proteína SIRT es la sirtuina humana mejor caracterizada e interactúa con numerosos reguladores de la transcripción. La proteína SIRT1 humana ha sido descrita por estar implicada en la regulación de p53 (Cheng HL y A I. Proc Natl Acad Sci USA, 2003), y más recientemente como un moduladora de la senescencia celular (Langley E y A I., EMBO J. 202). Se han descubierto otras proteínas SIRT humanas (SIRT2, SIRT3, SIRT4-7). La proteína SIRT2 humana ha sido estudiada muy poco; sin embargo, algunos estudios han demostrado su papel en el control de la actividad mitótica (Dryden SC y A I. Mol Cell Bio, 2003), así como su implicación en la regulación de la proteína p53 (Vaziri H y A I., Cell. 2001). Hasta la fecha, las sirtuinas de desacetilasa se consideran una familia de enzimas que desempeñan un papel importante en la regulación de la muerte celular y en su ciclo de vida (Porcu M. y Chiarugi A, Trends Pharmacol Sci., 2005)".

"La presente invención [es decir, el documento US 2009-0082278] se refiere a una composición cosmética o farmacéutica que comprende, en un medio cosmético o farmacéuticamente aceptable, al menos un compuesto susceptible de activar la síntesis de proteínas SIRT en células de la piel. Preferiblemente, de acuerdo con la invención, los compuestos activarán una clase particular de proteínas SIRT, las proteínas SIRT1".

"Hasta la fecha, nunca se ha descrito ningún uso de compuestos que sirvan como inductores de la síntesis de la familia SIRT de proteínas, en células de la piel".

La presente memoria descriptiva hace hincapié en que, hasta la fecha, no se ha descrito nunca ningún uso de composiciones que comprendan activadores *sirt1* en concierto con activadores génicos circadianos, incluso en el documento US2009-0082278. Hasta donde sabe el solicitante, se desconoce una composición tópica destinada a

los niveles deprimidos de las proteínas CLOCK y PER1 en queratinocitos epidérmicos humanos, que comprendan uno o más agentes no circadianos retardadores de la mitosis.

Composiciones tópicas para la reparación del ADN

5 Se conocen productos tópicos para aplicación a la piel para promover el proceso de reparación celular. Por ejemplo, tales productos pueden incluir enzimas de reparación del ADN para mejorar la eficacia de la reparación del ADN celular natural, ingredientes humectantes para mantener la hidratación de los queratinocitos, ingredientes hidratantes para mejorar la función de barrera de la piel, etc. Si bien estos ingredientes pueden mejorar la capacidad de los queratinocitos para repararse, siempre hay margen para mejorar lo existente. En contraste con la técnica anterior, la presente invención proporciona medios para restaurar los niveles de proteínas circadianas no dañadas en células de la piel y medios para restaurar el patrón normal de expresión génica circadiana, combinado con un medio para impedir que el ADN dañado sea transmitido a células hijas.

15 Se han utilizado diversas composiciones cosméticas o dermatológicas que comprenden al menos un compuesto capaz de activar la síntesis de proteínas SIRT en células de la piel (WO2006103110), o al menos una enzima de reparación del ADN y al menos un oligopéptido (EP1634576), o al menos un activador del gen CLOCK o PER1 de queratinocitos y al menos una enzima de reparación del ADN (US2009220481), o compuestos peptídicos de fórmula general (I) R1 (AA)_n-X1-Ser-Thr-Pro-X2-(AA)-P-R2, destinados a restaurar el ritmo circadiano (WO2010079284), o resveratrol o un derivado del mismo y al menos una enzima de reparación del ADN (US2009047309), o al menos un agente activador de *sirt1*, al menos un agente activador Qi y al menos un adaptógeno (US2009028895), o resveratrol o un derivado del mismo (US2002173472), o polifenoles fosforilados en combinación (US2008095866).

20 **Objetos de la invención**

Un objeto de la invención es proporcionar una composición tópica que, cuando se aplica, restaura los niveles normales de proteínas circadianas en células de la piel y restaura el patrón normal de expresión génica circadiana, de una manera acelerada.

25 Un objeto de la invención es proporcionar una composición tópica que repara la piel dañada por la luz y/o dañada de forma oxidativa mediante la sobreexpresión de la expresión del gen *clock* y *per1* y retrasando la mitosis de las células de la piel.

Un objeto de la invención proporciona una composición tópica que reduce la probabilidad de proliferación de ADN dañado de células de la piel.

30 Un objeto de la invención es proporcionar una composición tópica que reduzca la probabilidad de proliferación de ADN de células de la piel que ha sido dañado por agresores ambientales, particularmente exposición a la radiación UV.

Un objeto adicional de la invención es proporcionar una composición para tratar la piel, que comprende al menos un activador del gen *clock* o *per1* de queratinocitos, al menos un agente retardador de la mitosis no circadiano y, opcionalmente, al menos una enzima de reparación del ADN.

35 **Sumario**

40 Todo lo anterior se satisface mediante una composición tópica que comprende al menos un agente que sobreexpresa la expresión del gen circadiano en las células de la piel y al menos un agente no circadiano que retrasa la mitosis en las células de la piel. Se ha descubierto que las composiciones que comprenden agentes que sobreexpresan (o activan) los genes *clock* y los genes *per1*, al tiempo que aumentan los niveles de SIRT1, promueven sinérgicamente la viabilidad celular, la longevidad celular, inhiben el daño celular debido a agresores ambientales, mejoran la reparación del daño del ADN y reducen sinérgicamente la posibilidad de proliferación del ADN dañado de las células de la piel. Opcionalmente, la composición comprende una o más enzimas de reparación del ADN.

45 Las realizaciones preferidas de la presente invención son composiciones tópicas de la piel que manifiestan los efectos descritos anteriormente. Dichas composiciones comprenden uno o más activadores del gen *clock* y *per1* de queratinocitos, junto con SIRT1 o uno o más activadores de *sirt1*. La invención está definida por las reivindicaciones.

Preferiblemente, tales composiciones son fáciles de usar, eficaces, cosméticamente aceptables, estables química y termodinámicamente y también a la luz, seguras para uso tópico, tienen poco o ningún efecto secundario y son comercialmente factibles en el mercado del cuidado personal.

Descripción de las figuras

La Figura 1 muestra los niveles de la expresión del gen *clock*, *bmal1* y *per1* en queratinocitos humanos durante 72 horas después de la exposición a la radiación UV.

5 La Figura 2 muestra el efecto de los activadores de *sirt1*, Orsirtine^{MR} y resveratrol, sobre la supervivencia de queratinocitos humanos.

La Figura 3 muestra el efecto de los activadores génicos circadianos en combinación con los activadores de *sirt1*, Orsirtine^{MR} y resveratrol.

Descripción detallada

10 Hasta donde conoce el solicitante, no se ha descrito nunca el uso de composiciones tópicas que comprendan activadores de *sirt1* para promover la detención del ciclo celular, junto con la aplicación tópica de activadores génicos circadianos para restaurar el ciclo circadiano normal.

Definiciones

15 Todos los porcentajes mencionados en la presente memoria son porcentajes en peso a menos que se indique lo contrario. En relación con los genes, los términos "activar" y "sobreregular" o términos etimológicamente relacionados, significan un ingrediente que causa la expresión de una o más proteínas codificadas por el gen.

El término "gen Clock" se usa a veces en la literatura para referirse a cualquiera de los llamados genes circadianos "canónicos", incluyendo los genes *clock*, *bmal1*, *period* y *criptocromo*. En esta especificación, "*clock*" (en cursiva) se refiere siempre al gen que codifica las proteínas CLOCK. Colectivamente, los genes *clock*, *bmal1*, *period*, y *criptocromo*, se denominan en la presente memoria como "genes circadianos".

20 El término "enzima de reparación del ADN" significa una enzima que es capaz de reparar el daño mutagénico base del ADN. Tales enzimas se clasifican a menudo por el tipo de daño del ADN que reparan. Por ejemplo, las enzimas BER (reparación de escisión base), las enzimas de reparación de la escisión de nucleótidos (NER); enzimas de reparación no coincidente (MMR); ADN helicasas; ADN polimerasas, y así sucesivamente. Por ejemplo, las mutaciones tales como la 8-oxo-7,8-dihidro-2'-desoxiguanosina pueden ser reparadas por OGG1 (8-oxoGuanina glicosilasa). Los dímeros TT pueden ser reparados por la enzima de reparación de la escisión de nucleótidos, Fotoliasa. Los fotoproductos 6-4 pueden ser reparados por NER. La 06-metil guanina puede ser reparada por la 06-alquil guanina transferasa (AGT).

25

30 La "reparación", con respecto a la piel o a las células de la piel, significa que la viabilidad, resistencia y longevidad de los queratinocitos generalmente se mejoran. Ejemplos de reparación incluyen la reparación del ADN dañado de queratinocitos e invertir una pérdida de hidratación celular debido a la luz UV, humo u otros agresores ambientales.

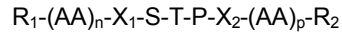
35 "Seguro para uso tópico" significa cumplir con todas las regulaciones regionales y locales que rigen la seguridad de los productos cosméticos. "Cosméticamente aceptable" significa que la apariencia, sensación y olor de una composición está dentro de los límites de aceptabilidad de un consumidor, tal como lo entiende un experto en la técnica. "Químicamente estables", "termodinámicamente estables" y "estables a la luz" significan que desde la fabricación hasta un período de al menos seis meses (más preferiblemente 3 años), una composición permanece cosméticamente aceptable. "Comercialmente factible en un mercado de cuidado personal" significa que el costo de fabricación y distribución de una composición no debe ser superior al ya establecido en la industria del cuidado personal.

Sobreregularación de CLOCK y PERIOD 1

40 La composición de la invención contiene al menos un agente que sobreregulara los genes *clock* y/o *per1* de queratinocitos. Las concentraciones sugeridas de estos agentes, en total, van desde aproximadamente 0,000001 hasta aproximadamente 40%, preferiblemente desde aproximadamente 0,000005 hasta 35%, más preferiblemente desde aproximadamente 0,00001 hasta 25%, con respecto al peso total de la composición final. En general, estos intervalos pueden entenderse como cantidades eficaces. Por "cantidad eficaz", se quiere dar a entender que la concentración de estos agentes, en una composición tópica aplicada a piel humana bajo asalto ambiental, es suficiente para mejorar la tasa de supervivencia de los queratinocitos en al menos 5%. Los activadores adecuados de *clock* o *per1* pueden estar presentes en forma de extractos botánicos, polipéptidos, péptidos, aminoácidos y similares.

45

Se describe que un activador del gen *clock* y/o *per1* que comprende un péptido de fórmula (I):



en donde $(AA)_n-X_1-S-T-P-X_2-(AA)_p$ es (SEC ID No. 1) y:

X_1 representa treonina o serina, o es igual a cero,

X_2 representa isoleucina o leucina o prolina o valina o alanina o glicina, o es igual a cero,

5 AA representa cualquier aminoácido o derivado del mismo, y n y p son números enteros entre 0 y 4 (0 y 4, inclusive)

R_1 representa la función amina primaria del aminoácido N-terminal, ya sea libre o sustituido por un grupo protector que puede escogerse entre un grupo acetilo, un grupo benzoilo, un grupo tosilo o un grupo benciloxicarbonilo,

10 R_2 representa el grupo hidroxilo de la función carboxilo del aminoácido C-terminal, sustituido por un grupo protector que puede escogerse ya sea entre una cadena alquilo C_1 a C_{20} o un grupo NH_2 , NHY o $NY Y$ con Y que representa una cadena alquilo C_1 a C_4 , y en la que la secuencia de fórmula general (I) comprende aproximadamente de 3 a 13 residuos de aminoácidos.

15 La secuencia de fórmula general (I) puede contener sustituciones de los aminoácidos X_1 y X_2 con otros aminoácidos químicamente equivalentes, en los que los aminoácidos son: Alanina (A), Arginina (R), Asparagina (N), Ácido Aspártico (D), Cisteína (C), Ácido Glutámico (E), Glutamina (Q), Glicina (G), Histidina (H), Isoleucina (I), Leucina (L), Lisina (K), Metionina (M), Fenilalanina (F), Prolina (P), Serina (S), Treonina (T), Triptófano (W), Tirosina (Y) y Valina (V).

Las versiones más preferidas de la fórmula I son péptidos, como los siguientes:

(SEQ ID NO: 2) Y - V - S - T - P - Y - N - NH_2 Tyr-Val-Ser-Thr-Pro-Tyr-Asn- NH_2

(SEQ ID NO: 3) NH_2 -V-S-T-P-E- NH_2 NH_2 -Val-Ser-Thr-Pro-Glu- NH_2

20 S-T-P- NH_2 Ser-Thr-Pro- NH_2

(SEQ ID NO: 4) NH_2 -L-H -S-T-P-P- NH_2 NH_2 -Leu-His-Ser-Thr-Pro-Pro- NH_2

(SEQ ID NO: 5) CH_3NH -R-H-S-T-P -E- NH_2 CH_3 -NH-Arg-His-Ser-Thr-Pro-Glu- NH_2

(SEQ ID NO: 6) CH_3NH -HS-T-P-E- CH_3NH CH_3 -NH-His-Ser-Thr-Pro-Glu- CH_3 -NH

25 El más preferido es el péptido S-T-P- NH_2 , SEQ ID No. 4, o mezclas de los mismos. El más preferido es un péptido fabricado por ISP-Vincience bajo la marca registrada Chronolux® que tiene el nombre INCI Tripeptido-32.

Las Figuras 1, 2 y 3 de la solicitud relacionada US 12/367.705, y el texto que describe dichas figuras, demuestran la capacidad de Chronolux® para mejorar la supervivencia de los queratinocitos contra el estrés inducido por la radiación UV, especialmente cuando se combina con al menos una enzima de reparación del ADN.

30 No es inmediatamente evidente que la aplicación simultánea de los activadores del gen *clock* y *per1* produciría un resultado beneficioso. Después de todo, en el ritmo circadiano normal, las concentraciones celulares de las proteínas CLOCK y Period1 están fuera de fase. Sin embargo, se logra un resultado beneficioso. Se puede sugerir que las células de la piel bajo asalto medioambiental están tan agotadas en los niveles de las proteínas CLOCK y PERIOD1, que se consigue un beneficio mediante la sobrerregulación de ambas proteínas lo más rápidamente posible.

35 Sobrerregulación de SIRTUIN1

40 Hemos encontrado inesperadamente que los resultados beneficiosos obtenidos mediante la aplicación de activadores de los genes *clock* y *per1* de los queratinocitos, se modifican, a veces mejoran significativamente, cuando se combinan con un activador *sirt1* de los queratinocitos. SIRT1 tiende a inducir la detención del ciclo celular. Dada la complejidad del mecanismo circadiano y su interacción reguladora con el ciclo celular, puede no haberse esperado de la técnica anterior que sería beneficioso inducir la detención del ciclo celular al mismo tiempo que se restauraban los niveles normales de proteínas circadianas.

Aunque no se desea estar limitado por ninguna teoría, se apreciará que PER1 tiene efectos directos en el ciclo celular, que no sea a través de la supervisión circadiana. Por ejemplo, PER1, aparte de su papel como componente

central del ciclo circadiano, es supuestamente capaz de activar la ruta de la quinasa ATM que conduce a la detención del ciclo celular. La quinasa ATM (Ataxia telangiectasia mutada) es una proteína quinasa nuclear que es reclutada en respuesta a las rupturas de la cadena doble del ADN. La quinasa ATM fosforila CHK1 y CHK2, reguladores del punto de control del ciclo celular, que están implicados en la detención del ciclo celular y la entrada tardía en la mitosis. Cuando PER1 es subexpresado, como resultado de algún estrés ambiental, puede que no se presente la detención del ciclo celular o puede retrasarse. Por lo tanto, puede que no haya suficiente tiempo para efectuar reparaciones al ADN dañado antes de la mitosis o la citocinesis. Al mismo tiempo, la disminución de la expresión de PER1 se ha relacionado con la disminución de la apoptosis. Por lo tanto, una célula dañada que debe morir, puede sobrevivir y dividirse. Por lo tanto, dado que el estrés ambiental conduce a una disminución anormal en los niveles de PER1, lo que conduce a la falla en detener el ciclo celular y una disminución de la apoptosis, que conducen a la propagación del ADN dañado, uno podría esperar que la activación de *per1* corregiría el problema. Sin embargo, se ha observado que la viabilidad de los queratinocitos mejora significativamente cuando se utiliza el activador del gen *sirt1* en combinación con los activadores del gen *clock* y *per1*. Aunque no se desea estar limitado por ninguna teoría, esta observación puede implicar que la activación de *per1* por sí misma, falla en restaurar los niveles de PER1 lo suficientemente rápido para efectuar reparaciones antes de que el ADN dañado pueda propagarse a las células hijas.

Por "activador de SIRT1" se entiende cualquier compuesto que es probable que de soporte a la producción endógena de proteínas SIRT1, particularmente las moléculas implicadas en el control positivo de precursores tales como ADN o ARN. Entre estos compuestos, que son propensos a activar la síntesis de proteínas SIRT1 en células de la piel, se han descrito diferentes moléculas, tales como polifenoles. Más particularmente, se pueden mencionar derivados de trans-estilbeno (tales como resveratrol, piceatanol), derivados de chalconas (tales como, isoliquiritigenina, buteína) y derivados de flavonas (tales como fisteína, luteolina, quercetina). La eficacia del resveratrol o del derivado de resveratrol, en combinación con al menos una enzima de reparación del ADN, ha sido mostrada en la solicitud relacionada US 11/837.658. Sin embargo, ciertos péptidos, debido a sus similitudes estructurales inherentes con los péptidos en la piel, son los activadores preferidos de *sirt1*. Describimos una combinación sinérgica de activador(es) peptídico(s) y resveratrol (más sobre esto, más adelante).

Activadores peptídicos de *sirt1*

Los péptidos, debido a sus similitudes estructurales inherentes con los péptidos en la piel, son los activadores preferidos de *sirt1*. Entre los compuestos de naturaleza peptídica pueden mencionarse fragmentos de proteínas, fragmentos peptídicos y polipeptídicos, péptidos, así como todas las secuencias de dos o más aminoácidos unidos entre sí por enlaces peptídicos. Los fragmentos peptídicos pueden tener un tamaño de 3 a 50 aminoácidos, más particularmente de 3 a 10 aminoácidos. Todos estos fragmentos peptídicos tienen actividad biológica. Tal péptido es (no reivindicado):

(SEQ ID NO. 7) (AA)_n-G - L - Y - D - N - L - E - (AA)_n(AA)_n Gly - Leu - Tyr - Asp - Asn - Leu - Glu - (AA)_n

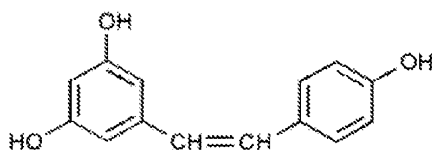
en la que (AA) es cualquier aminoácido particular o derivado del mismo, y n es un número entero entre 0 y 3 (0 y 3, inclusive). Un péptido particularmente preferido es:

(SEQ ID No. 8) G - L - Y - D - N - L - E Gly-Leu-Tyr-Asp-Asn-Leu-Glu.

Este péptido está disponible como Orsirtine® GL (nombre según la INCI: Agua (y) Glicerina (y) extracto de *Oryza Sativa* (Arroz), disponible a través de ISP Vincience. En las composiciones de la presente invención, los activadores peptídicos de SIRT1 están presentes en una cantidad entre aproximadamente 0,000001% y 20%, y preferiblemente en una cantidad entre aproximadamente 0,0001 y 5% con respecto al peso total de la composición final.

Resveratrol y derivados de los mismos

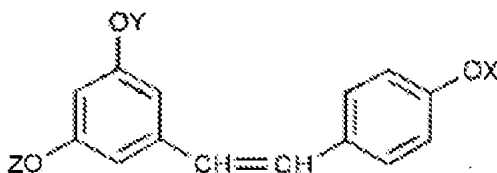
El resveratrol, también denominado 3,5,4'-trihidroxiestilbeno, es un compuesto de estilbeno sustituido con polihidroxilo presente en uvas rojas, frambuesas, arándanos y ciertas otras bayas o extractos de plantas, que tiene la fórmula general:



El resveratrol ha demostrado ser un antioxidante eficaz y también exhibe fuertes propiedades antiproliferativas y antiinflamatorias. Recientemente se ha reportado que el resveratrol puede imitar la restricción calórica (CR) en varios organismos, tales como levaduras, lombrices, moscas de la fruta, peces de corta vida y ratones, retardar el proceso

de envejecimiento en tales organismos y extender significativamente su vida útil. Aunque sin desear estar limitados por ninguna teoría específica, los inventores de la presente invención creen que el resveratrol puede reducir la proliferación celular y ralentizar el proceso de apoptosis, permitiendo así más tiempo para la reparación del daño del ADN en las células. Se postula que el resveratrol, cuando se combina con una enzima de reparación del ADN, puede resultar en un efecto sinérgico sobre el refuerzo o bien mejorar la capacidad natural de reparación del ADN de las células.

Sin embargo, el resveratrol puede ser potencialmente inestable en ciertas formulaciones cosméticas. Específicamente, el resveratrol es susceptible a la hidrólisis en formulaciones acuosas y puede hacer que tales formulaciones se decoloren. Una manera de abordar la inestabilidad del resveratrol en formulaciones acuosas es modificar el resveratrol sustituyendo los grupos hidroxilo en la posición 3, 5 y 4' con otros grupos funcionales para formar derivados de resveratrol que son más estables en las fórmulas cosméticas. Se prefieren tales derivados sobre el resveratrol (no reivindicado). Se ha descubierto que los derivados de resveratrol de ácidos inorgánicos, ácidos carboxílicos orgánicos, mono, di o polisacáridos u otros grupos funcionales son más estables en formulaciones acuosas. Los grupos de sustitución actúan para proteger y estabilizar los grupos fenol del resveratrol y hacer que el derivado de resveratrol sea más adecuado para su uso en formulaciones cosméticas de base acuosa. Los grupos de sustitución también pueden hidrolizarse fácilmente, a partir del compuesto tras la aplicación a la piel, preferiblemente por enzimas y otros ingredientes en la superficie de la piel, para liberar una forma activa de resveratrol en la piel. Los derivados del resveratrol tienen una fórmula general de:



en la que X, Y y Z son o bien hidrógeno o un grupo protector, con la condición de que al menos uno de X, Y y Z sea el grupo protector. Los ejemplos de derivados del resveratrol adecuados para su uso en las composiciones cosméticas o tópicas se describen con mayor detalle a continuación.

A. Ésteres de resveratrol de ácidos inorgánicos u orgánicos

Los ésteres de resveratrol de ácidos inorgánicos, en los que uno o más de X, Y y Z son grupos funcionales de ácido inorgánico tales como fosfatos, nitratos, sulfonatos y carbonatos, se pueden usar en la presente invención. A continuación se proporciona una lista de ejemplos de ésteres de ácidos inorgánicos que son particularmente adecuados para la práctica de la presente invención:

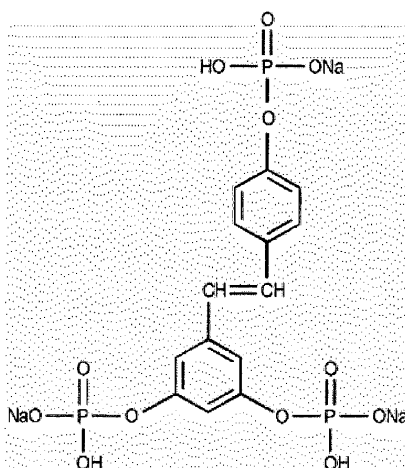
| | |
|-------------------------------------|-------------------------------------|
| 3-fosfato-5,4'-dihidroxiestilbena | 5-fosfato-3,4'-dihidroxiestilbena |
| 4'-fosfato-3,5-dihidroxiestilbena | 3,5-difosfato-4'-hidroxiestilbena |
| 3,4'-difosfato-5-hidroxiestilbena | 4',5-difosfato-3-hidroxiestilbena |
| 3,5,4'-trifosfato estilbena | 3-nitrato-5,4'-dihidroxiestilbena |
| 5-nitrato-3,4'-dihidroxiestilbena | 4'-nitrato-3,5-dihidroxiestilbena |
| 3,5-dinitrato-4'-hidroxiestilbena | 3,4'-dinitrato-5-hidroxiestilbena |
| 4',5-dinitrato-3-hidroxiestilbena | 3,5,4'-trinitrato estilbena |
| 3-sulfonato-5,4'-dihidroxiestilbena | 5-sulfonato-3,4'-dihidroxiestilbena |
| 4'-sulfonato-3,5-dihidroxiestilbena | 3,5-disulfonato-4'-hidroxiestilbena |
| 3,4'-disulfonato-5-hidroxiestilbena | 4',5-disulfonato-3-hidroxiestilbena |
| 3,5,4'-trisulfonato estilbena | 3-carbonato-5,4'-dihidroxiestilbena |

| | |
|-------------------------------------|-------------------------------------|
| 5-carbonato-3,4'-dihidroxiestilbeno | 4'-carbonato-3,5-dihidroxiestilbeno |
| 3,5-dicarbonato-4'-hidroxiestilbeno | 3,4'-dicarbonato-5-hidroxiestilbeno |
| 4',5-dicarbonato-3-hidroxiestilbeno | 3,5,4'-tricarbonato estilbeno. |

Las sales farmacéuticamente aceptables de los ésteres de resveratrol anteriormente enumerados también se pueden usar en las composiciones cosméticas de la presente invención. Tales sales pueden incluir uno o más cationes monovalentes o divalentes seleccionados del grupo que consiste en Na, K, Mg, Ca, Fe y NH₄. Las sales pueden formarse mediante la adición de las bases correspondientes, tales como hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, y similares, en una solución que contiene los ésteres de resveratrol.

Los ésteres de ácido inorgánico de resveratrol pueden formarse fácilmente por procedimientos químicos bien conocidos que sustituyen los grupos hidroxilo de fenoles o polifenoles con los grupos funcionales fosfato, sulfonatos y carbonato. Por ejemplo, la patente U.S. No. 4003966 describe un proceso de una etapa para fosforilar selectivamente fenoles para formar ésteres fosfato de los mismos.

Un derivado de resveratrol particularmente preferido es el 3,4',5-trifosfato estilbeno, también denominado éster trifosfato de resveratrol que tiene la fórmula:



Los ésteres de fosfato de resveratrol, incluyendo trifosfato de resveratrol, se describen en la publicación de la solicitud internacional de patente No. WO 2006/029484A1. El trifosfato de resveratrol puede sintetizarse mediante el procedimiento expuesto en el Ejemplo 2 del documento WO 2006/029484A1. De manera más específica, se enfría con ayuda de nitrógeno hasta -10°C una solución de resveratrol (3,4,5-trihidroxiestilbeno) (25 mmoles, 5,7 gramos) y dimetilaminopiridina (7,5 mmoles, 0,93 gramos) en 100 ml de acetonitrilo. Después de 10 minutos, se añaden tetracloruro de carbono (375 mmol, 36,2 ml) y DIEA (159 mmol, 27,7 ml) y se mantiene la mezcla bajo agitación durante 30 minutos. Se añade dibencilfosfato (113 mmoles, 25,0 ml) y se agita la mezcla durante 12 horas adicionales a temperatura ambiente. El curso de la reacción se controla por TLC (sílice F254, eluyente acetato de etilo/n-hexano en proporción 80/20 v/v). Se añade un litro de KH₂PO₄ 0,5 M y se extrae luego la mezcla con acetato de etilo. El producto resultante, tri(dibencilfosfato)resveratrol, se purifica por filtración sobre gel de sílice, lavando primero con una mezcla de acetato de etilo/n-hexano (80/20 v/v) para eliminar cualquier resto de resveratrol sin reaccionar y luego con metanol, para obtener un aceite de color amarillo.

Al tri(dibencilfosfato)resveratrol (12,5 mmol) en 200 ml de DCM anhidro a 0°C, se le añade bromometilsilano (79 mmoles, 10,4 ml). Después de 2 horas, se añaden 300 ml de H₂O y se agita la mezcla de reacción durante 1 hora. La fase acuosa se lava de nuevo con acetato de etilo, luego se liofiliza para obtener un aceite naranja.

Al producto obtenido anteriormente, solubilizado en 400 ml de etanol, se le añade CH₃ONa (37 mmol; 2,03 g) y se agita la reacción durante 12 horas a temperatura ambiente. El etanol se evapora en evaporador rotatorio y se solubiliza el residuo en H₂O. Se lava la fase acuosa con acetato de etilo y se liofiliza. El espectro de masas del sólido blanco resultante muestra la presencia de trifosfato de resveratrol (PM = 468,1), con un rendimiento total > 90% con respecto al resveratrol.

Si se desea, se puede neutralizar el trifosfato de resveratrol con bases orgánicas o inorgánicas tales como hidróxido

de sodio, hidróxido de potasio y similares. Particularmente preferido es cuando el trifosfato de resveratrol se neutraliza con hidróxido de sodio para formar trifosfato trisódico de resveratrol. El trifosfato de resveratrol también puede adquirirse a través de Ajinomoto en la forma neutralizada, que tiene el trifosfato trisódico de resveratrol CTFA.

B. Ésteres de ácidos carboxílicos de resveratrol

5 Otro grupo de derivados del resveratrol es el de ésteres de resveratrol y ácidos carboxílicos alifáticos o aromáticos, en los que uno o más de X, Y y Z es un grupo -C(O)-R₁, en el que R₁ se selecciona del grupo que consiste en grupos alquilo C₁-C₄₀ lineales, ramificados, sustituidos o no sustituidos, o cíclicos, alquilo C₁-C₄₀ sustituido, alquenilo C₁-C₄₀, alquenilo C₁-C₄₀ sustituido, alquinilo C₁-C₄₀, alquinilo C₁-C₄₀ sustituido, arilo, arilo C₁-C₄₀ y arilo C₁-C₄₀ sustituido. En una realización preferida, el grupo R es un grupo alquilo graso de cadena lineal o ramificada, o C₆₋₃₀, saturado o insaturado. Los sustituyentes pueden seleccionarse entre alquilo C₁-C₄₀ de cadena lineal o ramificada, saturado o insaturado, halógeno (tal como flúor), hidrógeno, alcoxi, hidroxilo y similares.

Los ejemplos de ácidos carboxílicos que se pueden usar para formar éster de resveratrol incluyen, pero sin limitación: ácidos monocarboxílicos saturados, tales como ácido acético, ácido propiónico, ácido butírico (C4), ácido valérico, ácido hexanoico, ácido caprílico (C8), ácido láurico, ácido esteárico (C18), ácido isoesteárico (C18 ramificado), ácido linoleico, ácido linolénico, ácido mirístico (C14), ácido araquídico (C20), ácido araquidónico, ácido erúxico, ácido behénico (C22), ácido láurico (C12), ácido cáprico (C10), ácido caproico (C6) y ácido palmítico (C16); ácidos monocarboxílicos insaturados, tales como ácido acrílico, ácido metacrílico, ácido sórbico, ácido oleico, ácido linoleico, ácido linolénico, ácido docosahexaenoico y ácido eicosapentaenoico; aminoácidos, tales como arginina, glutamina y tirosina; cetoácidos, tales como ácido pirúvico y ácido acetoacético; ácidos carboxílicos aromáticos, tales como ácido ascórbico, ácido benzoico, ácido salicílico y ácido ferúlico; ácidos di y tri-carboxílicos, tales como ácido oxálico, ácido malónico, ácido málico, ácido succínico y ácido glutárico. La designación "C" seguida por un número indica el número de átomos de carbono en la cadena alquílica.

A continuación se proporciona una lista de ejemplos de ésteres de ácido carboxílico de resveratrol que son particularmente adecuados.

| | |
|--------------------------------------|--------------------------------------|
| 3-acetato-5,4'-dihidroxiestilbeno | 5-acetato-3,4'-dihidroxiestilbeno |
| 4'-acetato-3,5-dihidroxiestilbeno | 3,5-diacetato-4'-hidroxiestilbeno |
| 3,4'-diacetato-5-hidroxiestilbeno | 4',5-diacetato-3-hidroxiestilbeno |
| 3,5,4'-triacetato estilbeno | 3-propionato-5,4'-dihidroxiestilbeno |
| 5-propionato-3,4'-dihidroxiestilbeno | 4'-propionato-3,5-dihidroxiestilbeno |
| 3,5-dipropionato-4'-hidroxiestilbeno | 3,4'-dipropionato-5-hidroxiestilbeno |
| 4',5-dipropionato-3-hidroxiestilbeno | 3,5,4'-tripropionato estilbeno |
| 3-butirato-5,4'-dihidroxiestilbeno | 5-butirato-3,4'-dihidroxiestilbeno |
| 4'-butirato-3,5-dihidroxiestilbeno | 3,5-dibutirato-4'-hidroxiestilbeno |
| 3,4'-dibutirato-5-hidroxiestilbeno | 4',5-dibutirato-3-hidroxiestilbeno |
| 3,5,4'-tributirato estilbeno | 3-valerato-5,4'-dihidroxiestilbeno |
| 5-valerato-3,4'-dihidroxiestilbeno | 4'-valerato-3,5-dihidroxiestilbeno |
| 3,5-divalderato-4'-hidroxiestilbeno | 3,4'-divalderato-5-hidroxiestilbeno |
| 4',5-divalderato-3-hidroxiestilbeno | 3,5,4'-trivalerato estilbeno |
| 3-hexanoato-5,4'-dihidroxiestilbeno | 5-hexanoato -3,4'-dihidroxiestilbeno |
| 4'-hexanoato-3,5-dihidroxiestilbeno | 3,5-dihexanoato-4'-hidroxiestilbeno |

ES 2 605 623 T3

| | |
|---------------------------------------|---------------------------------------|
| 3,4'-dihexanoato-5-hidroxiestilbeno | 4',5-dihexanoato-3-hidroxiestilbeno |
| 3,5,4'-trihexanoato estilbeno | 3-caprilato-5,4'-dihidroxiestilbeno |
| 5-caprilato-3,4'-dihidroxiestilbeno | 4'-caprilato-3,5-dihidroxiestilbeno |
| 3,5-dicaprilato-4'-hidroxiestilbeno | 3,4'-dicaprilato-5-hidroxiestilbeno |
| 4',5-dicaprilato-3-hidroxiestilbeno | 3,5,4'-tricaprilato estilbeno |
| 3-laurato-5,4'-dihidroxiestilbeno | 5-laurato-3,4'-dihidroxiestilbeno |
| 4'-laurato-3,5-dihidroxiestilbeno | 3,5-dilaurato-4'-hidroxiestilbeno |
| 3,4'-dilaurato-5-hidroxiestilbeno | 4',5-dilaurato-3-hidroxiestilbeno |
| 3,5,4'-trilaurato estilbeno | 3-stearato-5,4'-dihidroxiestilbeno |
| 5-stearato-3,4'-dihidroxiestilbeno | 4'-stearato-3,5-dihidroxiestilbeno |
| 3,5-distearato-4'-hidroxiestilbeno | 3,4'-distearato-5-hidroxiestilbeno |
| 4',5-distearato-3-hidroxiestilbeno | 3,5,4'-tristearato estilbeno |
| 3-palmitato-5,4'-dihidroxiestilbeno | 5-palmitato-3,4'-dihidroxiestilbeno |
| 4'-palmitato-3,5-dihidroxiestilbeno | 3,5-dipalmitato-4'-hidroxiestilbeno |
| 3,4'-dipalmitato-5-hidroxiestilbeno | 4',5-dipalmitato-3-hidroxiestilbeno |
| 3,5,4'-tripalmitato estilbeno | 3-acrilato-5,4'-dihidroxiestilbeno |
| 5-acrilato-3,4'-dihidroxiestilbeno | 4'-acrilato-3,5-dihidroxiestilbeno |
| 3,5-diacrilato-4'-hidroxiestilbeno | 3,4'-diacrilato-5-hidroxiestilbeno |
| 4',5-diacrilato-3-hidroxiestilbeno | 3,5,4'-triacrilato estilbeno |
| 3-metacrilato-5,4'-dihidroxiestilbeno | 5-metacrilato-3,4'-dihidroxiestilbeno |
| 4'-metacrilato-3,5-dihidroxiestilbeno | 3,5-dimetacrilato-4'-hidroxiestilbeno |
| 3,4'-dimetacrilato-5-hidroxiestilbeno | 4',5-dimetacrilato-3-hidroxiestilbeno |
| 3,5,4'-trimetacrilato estilbeno | 3-sorbato-5,4'-dihidroxiestilbeno |
| 5-sorbato-3,4'-dihidroxiestilbeno | 4'-sorbato-3,5-dihidroxiestilbeno |
| 3,5-disorbato-4'-hidroxiestilbeno | 3,4'-disorbato-5-hidroxiestilbeno |
| 4',5-disorbato-3-hidroxiestilbeno | 3,5,4'-trisorbato estilbeno |
| 3-oleato-5,4'-dihidroxiestilbeno | 5-oleato-3,4'-dihidroxiestilbeno |
| 4'-oleato-3,5-dihidroxiestilbeno | 3,5-dioleato-4'-hidroxiestilbeno |
| 3,4'-dioleato-5-hidroxiestilbeno | 4',5-dioleato-3-hidroxiestilbeno |
| 3,5,4'-trioleato estilbeno | 3-linoleato-5,4'-dihidroxiestilbeno |

ES 2 605 623 T3

| | |
|---|---|
| 5-linoleato-3,4'-dihidroxiestilbeno | 4'-linoleato-3,5-dihidroxiestilbeno |
| 3,5-dilinoaleato-4'-hidroxiestilbeno | 3,4'-dilinoaleato-5-hidroxiestilbeno |
| 4',5-dilinoaleato-3-hidroxiestilbeno | 3,5,4'-trilinoaleato estilbeno |
| 3-linolenato-5,4'-dihidroxiestilbeno | 5-linolenato-3,4'-dihidroxiestilbeno |
| 4'-linolenato-3,5-dihidroxiestilbeno | 3,5-dilinoalenato-4'-hidroxiestilbeno |
| 3,4'-dilinoalenato-5-hidroxiestilbeno | 4',5-dilinoalenato-3-hidroxiestilbeno |
| 3,5,4'-trilinoalenato estilbeno | 3-docosaheksaenoato-5,4'-dihidroxiestilbeno |
| 5-docosaheksaenoato-3,4'-dihidroxiestilbeno | 4'-docosaheksaenoato-3,5-dihidroxiestilbeno |
| 3,5-didocosaheksaenoato-4'-hidroxiestilbeno | 3,4'-didocosaheksaenoato-5-hidroxiestilbeno |
| 4',5-didocosaheksaenoato-3-hidroxiestilbeno | 3,5,4'-tridocosaheksaenoato estilbeno |
| 3-eikosapentaenoic-5,4'-dihidroxiestilbeno | 5-eikosapentaenoic-3,4'-dihidroxiestilbeno |
| 4'-eikosapentaenoic-3,5-dihidroxiestilbeno | 3,5-dieikosapentaenoic-4'-hidroxiestilbeno |
| 3,4'-dieikosapentaenoic-5-hidroxiestilbeno | 4',5-dieikosapentaenoic-3-hidroxiestilbeno |
| 3,5,4'-trieikosapentaenoic estilbeno | 3-arginato-5,4'-dihidroxiestilbeno |
| 5-arginato-3,4'-dihidroxiestilbeno | 4'-arginato-3,5-dihidroxiestilbeno |
| 3,5-diarginato-4'-hidroxiestilbeno | 3,4'-diarginato-5-hidroxiestilbeno |
| 4',5-diarginato-3-hidroxiestilbeno | 3,5,4'-triarginato estilbeno |
| 3-glutamato-5,4'-dihidroxiestilbeno | 5-glutamato-3,4'-dihidroxiestilbeno |
| 4'-glutamato-3,5-dihidroxiestilbeno | 3,5-diglutamato-4'-hidroxiestilbeno |
| 3,4'-diglutamato-5-hidroxiestilbeno | 4',5-diglutamato-3-hidroxiestilbeno |
| 3,5,4'-triglutamato estilbeno | 3-tirosato-5,4'-dihidroxiestilbeno |
| 5-tirosato-3,4'-dihidroxiestilbeno | 4'-tirosato-3,5-dihidroxiestilbeno |
| 3,5-ditirosato-4'-hidroxiestilbeno | 3,4'-ditirosato-5-hidroxiestilbeno |
| 4',5-ditirosato-3-hidroxiestilbeno | 3,5,4'-tritirosato estilbeno |
| 3-piruvato-5,4'-dihidroxiestilbeno | 5-piruvato-3,4'-dihidroxiestilbeno |
| 4'-piruvato-3,5-dihidroxiestilbeno | 3,5-dipiruvato-4'-hidroxiestilbeno |
| 3,4'-dipiruvato-5-hidroxiestilbeno | 4',5-dipiruvato-3-hidroxiestilbeno |
| 3,5,4'-tripiruvato estilbeno | 3-acetoacetato-5,4'-dihidroxiestilbeno |
| 5-acetoacetato-3,4'-dihidroxiestilbeno | 4'-acetoacetato-3,5-dihidroxiestilbeno |
| 3,5-diacetoacetato-4'-hidroxiestilbeno | 3,4'-diacetoacetato-5-hidroxiestilbeno |

ES 2 605 623 T3

| | |
|--|--------------------------------------|
| 4',5-diacetoacetato-3-hidroxiestilbeno | 3,5,4'-triacetoacetato estilbeno |
| 3-ascorbato-5,4'-dihidroxiestilbeno | 5-ascorbato-3,4'-dihidroxiestilbeno |
| 4'-ascorbato-3,5-dihidroxiestilbeno | 3,5-diascorbato-4'-hidroxiestilbeno |
| 3,4'-diascorbato-5-hidroxiestilbeno | 4',5-diascorbato-3-hidroxiestilbeno |
| 3,5,4'-triascorbato estilbeno | 3-benzoato-5,4'-dihidroxiestilbeno |
| 5-benzoato-3,4'-dihidroxiestilbeno | 4'-benzoato-3,5-dihidroxiestilbeno |
| 3,5-dibenzoato-4'-hidroxiestilbeno | 3,4'-dibenzoato-5-hidroxiestilbeno |
| 4',5-dibenzoato-3-hidroxiestilbeno | 3,5,4'-tribenzoato estilbeno |
| 3-salicilato-5,4'-dihidroxiestilbeno | 5-salicilato-3,4'-dihidroxiestilbeno |
| 4'-salicilato-3,5-dihidroxiestilbeno | 3,5-disalicilato-4'-hidroxiestilbeno |
| 3,4'-disalicilato-5-hidroxiestilbeno | 4',5-disalicilato-3-hidroxiestilbeno |
| 3,5,4'-trisalicilato estilbeno | 3-ferulato-5,4'-dihidroxiestilbeno |
| 5-ferulato-3,4'-dihidroxiestilbeno | 4'-ferulato-3,5-dihidroxiestilbeno |
| 3,5-diferulato-4'-hidroxiestilbeno | 3,4'-diferulato-5-hidroxiestilbeno |
| 4',5-diferulato-3-hidroxiestilbeno | 3,5,4'-triferulato estilbeno |
| 3-oxalato-5,4'-dihidroxiestilbeno | 5-oxalato-3,4'-dihidroxiestilbeno |
| 4'-oxalato-3,5-dihidroxiestilbeno | 3,5-dioxalato-4'-hidroxiestilbeno |
| 3,4'-dioxalato-5-hidroxiestilbeno | 4',5-dioxalato-3-hidroxiestilbeno |
| 3,5,4'-trioxalato estilbeno | 3-malonato-5,4'-dihidroxiestilbeno |
| 5-malonato-3,4'-dihidroxiestilbeno | 4'-malonato-3,5-dihidroxiestilbeno |
| 3,5-dimalonato-4'-hidroxiestilbeno | 3,4'-dimalonato-5-hidroxiestilbeno |
| 4',5-dimalonato-3-hidroxiestilbeno | 3,5,4'-trimalonato estilbeno |
| 3-malato-5,4'-dihidroxiestilbeno | 5-malato-3,4'-dihidroxiestilbeno |
| 4'-malato-3,5-dihidroxiestilbeno | 3,5-dimalato-4'-hidroxiestilbeno |
| 3,4'-dimalato-5-hidroxiestilbeno | 4',5-dimalato-3-hidroxiestilbeno |
| 3,5,4'-trimalato estilbeno | 3-succinato-5,4'-dihidroxiestilbeno |
| 5-succinato-3,4'-dihidroxiestilbeno | 4'-succinato-3,5-dihidroxiestilbeno |
| 3,5-disuccinato-4'-hidroxiestilbeno | 3,4'-disuccinato-5-hidroxiestilbeno |
| 4',5-disuccinato-3-hidroxiestilbeno | 3,5,4'-trisuccinato estilbeno |
| 3-glutarato-5,4'-dihidroxiestilbeno | 5-glutarato-3,4'-dihidroxiestilbeno |

| | |
|-------------------------------------|-------------------------------------|
| 4'-glutarato-3,5-dihidroxiestilbeno | 3,5-diglutarato-4'-hidroxiestilbeno |
| 3,4'-diglutarato-5-hidroxiestilbeno | 4',5-diglutarato-3-hidroxiestilbeno |
| 3,5,4'-triglutarato estilbeno | 3-glutarato-5,4'-dihidroxiestilbeno |
| 5-glutarato-3,4'-dihidroxiestilbeno | 4'-glutarato-3,5-dihidroxiestilbeno |
| 3,5-diglutarato-4'-hidroxiestilbeno | 3,4'-diglutarato-5-hidroxiestilbeno |
| 4',5-diglutarato-3-hidroxiestilbeno | 3,5,4'-triglutarato estilbeno. |

5 Un grupo particularmente preferido de ésteres de ácido carboxílico de resveratrol es o bien de ésteres de resveratrol de ácidos grasos saturados o insaturados, tales como butiratos de resveratrol, valeratos de resveratrol, hexanoatos de resveratrol, sorbatos de resveratrol, lauratos de resveratrol, estearatos de resveratrol, palmitatos de resveratrol, oleatos de resveratrol, linoleatos de resveratrol, linolenatos de resveratrol, eicosapentaenoatos de resveratrol y docosahexanoatos de resveratrol.

Tales ésteres de ácidos grasos de resveratrol pueden formarse fácilmente por esterificación de resveratrol con derivados de ácido de acuerdo con la reacción de Schotten-Baumann en medio acuoso alcalino, como se describe en la patente estadounidense No. 6.572.882.

10 Otro grupo particularmente preferido de ésteres de ácido carboxílico de resveratrol son los ésteres de ácido carboxílico aromático de resveratrol, tales como ferulatos de resveratrol, que pueden formarse haciendo reaccionar resveratrol con ácido ferúlico en medio acuoso.

C. Derivados de éter de resveratrol

15 Aún otro grupo de derivados de resveratrol que se pueden usar en la presente invención son éteres de resveratrol, en los que uno o más de X, Y, y Z es -R₂, donde R₂ se selecciona del grupo que consiste en grupos alquilo C₁-C₄₀ lineales, ramificados o cíclicos, alquilo C₁-C₄₀ sustituido, alquenilo C₁-C₄₀, alquenilo C₁-C₄₀ sustituido, alquinilo C₁-C₄₀, alquinilo C₁-C₄₀ sustituido, arilo C₁-C₄₀, arilo C₁-C₄₀ sustituido y mono, di, oligo y polisacáridos. A continuación se muestra una lista de ejemplos de éteres de resveratrol que son particularmente adecuados:

| | |
|-------------------------------------|-------------------------------------|
| 3-metoxi-5,4'-dihidroxiestilbeno | 5-metoxi-3,4'-dihidroxiestilbeno |
| 4'-metoxi-3,5-dihidroxiestilbeno | 3,5-dimetoxi-4'-hidroxiestilbeno |
| 3,4'-dimetoxi-5-hidroxiestilbeno | 4',5-dimetoxi-3-hidroxiestilbeno |
| 3,5,4'-trimetoxi estilbeno | 3-etoxi-5,4'-dihidroxiestilbeno |
| 5-etoxi-3,4'-dihidroxiestilbeno | 4'-etoxi-3,5-dihidroxiestilbeno |
| 3,5-dietoxi-4'-hidroxiestilbeno | 3,4'-dietoxi-5-hidroxiestilbeno |
| 4',5-dietoxi-3-hidroxiestilbeno | 3,5,4'-trietoxi estilbeno |
| 3-propiloxi-5,4'-dihidroxiestilbeno | 5-propiloxi-3,4'-dihidroxiestilbeno |
| 4'-propiloxi-3,5-dihidroxiestilbeno | 3,5-dipropiloxi-4'-hidroxiestilbeno |
| 3,4'-dipropiloxi-5-hidroxiestilbeno | 4',5-dipropiloxi-3-hidroxiestilbeno |
| 3,5,4'-tripropiloxi estilbeno | 3-feniloxi-5,4'-dihidroxiestilbeno |
| 5-feniloxi-3,4'-dihidroxiestilbeno | 4'-feniloxi-3,5-dihidroxiestilbeno |
| 3,5-difeniloxi-4'-hidroxiestilbeno | 3,4'-difeniloxi-5-hidroxiestilbeno |

| | |
|-------------------------------------|-------------------------------------|
| 4',5-difeniloxi-3-hidroxiestilbeno | 3,5,4'-trifeniloxi estilbeno |
| 3-glucosido-5,4'-dihidroxiestilbeno | 5-glucosido-3,4'-dihidroxiestilbeno |
| 4'-glucosido-3,5-dihidroxiestilbeno | 3,5-diglucosido-4'-hidroxiestilbeno |
| 3,4'-diglucosido-5-hidroxiestilbeno | 4',5-diglucosido-3-hidroxiestilbeno |
| 3,5,4'-triglucosido estilbeno. | |

5 En una realización específica, se utiliza un derivado de resveratrol sustituido con metoxi. Por ejemplo, las composiciones pueden comprender 3,5-dimetoxi-4'-hidroxiestilbeno, que puede extraerse del árbol indio de Kino (*Pterocarpus marsupium*) y está disponible comercialmente bajo el nombre comercial PTEROSTILBENE de Sigma-Aldrich en St. Louis, MO.

10 En otra realización específica, el derivado de resveratrol contiene uno o más grupos protectores que contienen sacáridos, tales como glucosa, galactosa, manosa, fructosa, sacarosa, lactosa, maltosa, trehalosa y similares. Por ejemplo, se utiliza el glucósido de resveratrol en las composiciones cosméticas, que puede obtenerse por extracción a partir de plantas o material vegetal tal como tejido de *Polygonum cuspidatum* o cultivos *in vitro* de células de *Vitis vinifera*.

D. Derivados de resveratrol que contienen nitrógeno

15 Los derivados de resveratrol usados en las composiciones de la presente invención también pueden contener uno o más grupos funcionales que contienen nitrógeno, es decir, uno o más de A, B y C en las fórmulas anteriores se seleccionan del grupo que consiste en amidas, aminas, iminas, amidinas y carboxamidinas. A continuación se presenta una lista de ejemplos de éteres de resveratrol que son particularmente adecuados:

| | |
|-----------------------------------|-----------------------------------|
| 3-amida-5,4'-dihidroxiestilbeno | 5-amida-3,4'-dihidroxiestilbeno |
| 4'-amida-3,5-dihidroxiestilbeno | 3,5-diamida-4'-hidroxiestilbeno |
| 3,4'-diamida-5-hidroxiestilbeno | 4',5-diamida-3-hidroxiestilbeno |
| 3,5,4'-triamida estilbeno | 3-amino-5,4'-dihidroxiestilbeno |
| 5-amino-3,4'-dihidroxiestilbeno | 4'-amino-3,5-dihidroxiestilbeno |
| 3,5-diamino-4'-hidroxiestilbeno | 3,4'-diamino-5-hidroxiestilbeno |
| 4',5-diamino-3-hidroxiestilbeno | 3,5,4'-triamino estilbeno |
| 3-imino-5,4'-dihidroxiestilbeno | 5-imino-3,4'-dihidroxiestilbeno |
| 4'-imino-3,5-dihidroxiestilbeno | 3,5-diiimino-4'-hidroxiestilbeno |
| 3,4'-diiimino-5-hidroxiestilbeno | 4',5-diiimino-3-hidroxiestilbeno |
| 3,5,4'-triiimino estilbeno | 3-amidino-5,4'-dihidroxiestilbeno |
| 5-amidino-3,4'-dihidroxiestilbeno | 4'-amidino-3,5-dihidroxiestilbeno |
| 3,5-diamidino-4'-hidroxiestilbeno | 3,4'-diamidino-5-hidroxiestilbeno |
| 4',5-diamidino-3-hidroxiestilbeno | 3,5,4'-triamidino estilbeno. |

Preferiblemente, pero no necesariamente, los derivados de resveratrol, cuando están presentes, están encapsulados en liposomas, ya sea solos o en combinación con la enzima de reparación del ADN y/o uno o más ingredientes activos adicionales para el cuidado de la piel, para un suministro más efectivo en la dermis de la piel. Los derivados de resveratrol pueden estar presentes en la composición cosmética en una cantidad que varía desde

aproximadamente 0,001% hasta aproximadamente 95%, preferiblemente desde aproximadamente 0,005% hasta aproximadamente 90%, más preferiblemente desde aproximadamente 0,1% hasta aproximadamente 20%, en peso total del total de la composición.

5 Enzimas para reparación del ADN

Las composiciones de la presente invención contienen opcionalmente al menos una enzima de reparación del ADN. Esto es diferente del documento US 11/837.658, en el que se requiere al menos una enzima de reparación del ADN y que no contempla el uso del activador de *sirt1*. Las concentraciones sugeridas de la enzima opcional de reparación del ADN son de aproximadamente 0,00001 hasta aproximadamente 35%, preferiblemente de aproximadamente 0,00005 hasta aproximadamente 30%, más preferiblemente de aproximadamente 0,0001 hasta aproximadamente 25%, con respecto al peso total de la composición final.

Las enzimas de reparación del ADN como se describen en las patentes estadounidenses Nos. 5.077.211; 5.190.762; 5.272.079; y 5.296.231, son adecuadas para su uso en las composiciones y el procedimiento de la invención. Un ejemplo de dicha enzima de reparación del ADN se puede adquirirse a través de AGI/Dermatics bajo el nombre comercial Roxisomes®, y tiene el nombre de acuerdo con INCI del extractor de *Arabidopsis thaliana*. Puede estar presente sola o mezclada con lecitina y agua. Se sabe que esta enzima de reparación del ADN es eficaz para reparar el daño por la mutación de la base 8-oxo-diGuanina.

Otro tipo de enzima de reparación del ADN que se puede usar es una que se sabe que es eficaz para reparar el daño por la mutación de la base O6-metil guanina. Es vendida por AGI/Dermatics bajo el nombre comercial Adasomes®, y tiene el nombre de acuerdo con INCI, fermento de *Lactobacillus*, que se puede añadir a la composición de la invención por sí mismo o en mezcla con lecitina y agua.

Otro tipo de enzima de reparación del ADN que se puede usar es una que se sabe que es eficaz para reparar dímeros de T-T. Las enzimas están presentes en mezclas de materiales biológicos o botánicos. Ejemplos de tales ingredientes son vendidos por AGI/Dermatics bajo los nombres comerciales Ultrasomes® o Photosomes®. Ultrasomes® comprende una mezcla de lisado de Micrococos (un producto final de la lisis controlada de varias especies de micrococos), lecitina y agua. Photosomes® comprende una mezcla de extracto de plancton (que es el extracto de biomasa marina que incluye uno o más de los siguientes organismos: plancton marino, microalgas verdes, diatomeas, algas verde-azules y fijadoras de nitrógeno), agua y lecitina.

Otro tipo de enzima de reparación del ADN puede ser un componente de diversos lisados bacterianos inactivados tales como lisado de Bífidos o lisado de fermento de Bífidos, este último un lisado de bacterias Bífidas que contiene los productos metabólicos y las fracciones citoplasmáticas cuando se cultivan, inactivan y después se desintegran bacterias Bífidas. Este material tiene el nombre de acuerdo con INCI, lisado de fermento de Bífidos.

Otras enzimas adecuadas de reparación del ADN incluyen endonucleasa V, que puede ser producida por el gen *denV* del bacteriófago T4. También son adecuadas la endonucleasa T4; O⁶-metilguanina-ADN metiltransferasas; fotoliasas tales como uracilo e hipoxantina-ADN glicosilasas; endonucleasas apirimidínicas/apurínicas; ADN exonucleasas, glicosilasas de bases dañadas (por ejemplo, 3-metiladenina-ADN glicosilasa); correndonucleasas ya sea solas o en complejos (por ejemplo, complejo de *uvrA/uvrB/uvrC* endonucleasas de *E. coli*); APEX nucleasa, que es una enzima multifuncional de reparación de ADN a la que se hace referencia a menudo como "APE"; dihidrofolato reductasa; transferasa terminal; topoisomerasa; O⁶ bencil guanina; ADN glicosilasas.

Otros tipos de enzimas adecuadas de reparación del ADN pueden categorizarse por el tipo de reparación facilitada e incluyen BER (reparación de escisión de la base) o enzimas del factor BER tales como uracil-ADN glicosilasa (UNG); uracil ADN glicosilasa monofuncional selectiva de cadena sencilla (SMUG1); 3,N(4)-etenocitosina glicosilasa (MBD4); timina ADN-glicosilasa (TDG); adenina ADN-glicosilasa específica de A/G (MUTYH); 8-oxoguanina ADN glicosilasa (OGG1); tipo endonucleasa III (NTHL1); 3-metiladenina ADN glucosidasa (MPG); ADN glicosilasa/AP liasa (NEIL1 o 2); AP endonucleasa (APEX 1 y 2), ADN ligasa (LIG3), factor accesorio de ligasa (XRCC1); ADN 5'-quinasa/3'-fosfatasa (PNKP); ADP-ribosiltransferasa (PARP1 o 2).

Otra categoría de enzimas de reparación del ADN incluye aquellas que se cree que dañan directamente en forma inversa tales como O⁶-MeG alquil transferasa (MGMT); 1-meA dioxigenasa (ALKBH2 o ALKBH3).

Incluso otra categoría de enzimas que pueden operar para reparar entrelazamientos de ADN/proteína incluye Tyr-ADN fosfodiesterasa (TDP1).

También son adecuadas las enzimas de reparación del ADN de MMR (reparación de la excisión no coincidente) tales como el homólogo de la proteína MutS (MSH2); proteína de reparación no coincidente (MSH3); homólogo 4 de mutS (MSH4); homólogo 5 de MutS (MSH5); o proteína de unión no coincidente G/T (MSH6); proteína de reparación no coincidente de ADN (PMS1, PMS2, MLH1, MLH3); proteína tipo 2 con mayor segregación postmeiótica (PMS2L3); o pseudogén 4 tipo 2 con mayor segregación postmeiótica (PMS2L4).

- También son adecuadas las enzimas de reparación del ADN conocidas como enzimas de reparación de escisión de nucleótidos (NER) e incluyen aquellas tales como la proteína que complementa el grupo C de Xerodermia pigmentosa (XPC); un homólogo de RAD23 (*S. cerevisiae*) (RAD23B); isoforma de caltractina (CETN2); Proteína RFA 1, 2, o 3 (RPA1, 2, o 3); ADN helicasa 3' a 5' (ERCC3); ADN helicasa de 5' a 3' (ERCC2); Factor de transcripción básico (GTF2H1, GTF2H2, GTF2H3, GTF2H4, GTF2H5); quinasa activadora de CDK (CDK7, CCNH); proteína que interactúa con ciclina G1 (MNAT1); proteína de reparación de escisión de ADN ERCC-51; reparación de la escisión complementaria cruzada 1 (ERCC1); ADN ligasa 1 (LIG1); helicasa dependiente de ATP (ERCC6); y similares.
- 10 También pueden adecuadas enzimas de reparación del ADN en la categoría que facilita la recombinación homóloga e incluyen, pero no se limitan a, homólogo de RAD51 de la proteína de reparación de ADN (RAD51, RAD51L1, RAD51B, etc.); proteína de reparación del ADN XRCC2; proteína de reparación del ADN XRCC3; proteína de reparación del ADN RAD52; ATPasa (RAD50); exonucleasa 3' (MRE11A); y así sucesivamente.
- 15 Las enzimas de reparación del ADN que son ADN polimerasas son también adecuadas e incluyen la subunidad β de ADN polimerasa (POLB); ADN polimerasa gamma (POLG); subunidad delta de ADN polimerasa (POLD1); subunidad A de ADN polimerasa II (POLE); proteína auxiliar de ADN polimerasa delta (PCNA); ADN polimerasa zeta (POLZ); homólogo de MAD2 (REV7); ADN polimerasa eta (POLH); ADN polimerasa kappa (POLK); y similares.
- 20 Diversos tipos de enzimas de reparación del ADN que a menudo se denominan como "nucleasas de edición y procesamiento" incluyen 3'-nucleasa; 3'-exonucleasa; 5'-exonucleasa; endonucleasa; y similares. Otros ejemplos de enzimas de reparación de ADN incluyen ADN helicasas que incluyen aquellas tales como ATP ADN helicasa y así sucesivamente. Las enzimas de reparación del ADN pueden estar presentes como componentes de extractos botánicos, lisados bacterianos, materiales biológicos y similares. Por ejemplo, los extractos botánicos pueden
- 25 contener enzimas de reparación del ADN.

Ejemplo 1: Activadores de Sirt1 (Orsirtine^{MR} y resveratrol mejoran sinérgicamente la supervivencia de los queratinocitos)

- 30 Se ensayaron la Orsirtine^{MR} ((SEQ ID No. 8) G-L-Y-D-N-L-E) y resveratrol, agentes retardadores de la mitosis por su capacidad para mejorar la supervivencia de los queratinocitos humanos irradiados con UVB.

Procedimientos:

- 35 Se cultivaron queratinocitos humanos normales en medio Epilife con suplemento de cultivo de queratinocitos humanos. Las células se subcultivaron en placas de 96 pozos (Costar). Los queratinocitos fueron tratados previamente con resveratrol (25 μ M) y Orsirtine (1%, 3%) por sí mismos, y en un complejo de resveratrol (25 μ M) y Orsirtine^{MR} (3%). Los queratinocitos se trataron con el complejo sin diluir y con diluciones de 1:2, 1:4 y 1:8 (complejo: medio Epilife).
- 40 Los queratinocitos se incubaron con estos tratamientos durante la noche a 37°C; CO₂ al 5%. Después de 24 horas, el tratamiento se aspiró y los queratinocitos se lavaron una vez en D-PBS. Se añadieron 100 μ L de D-PBS para la irradiación. Las células se sometieron a irradiación UVB a 0, 45, 90 y 135 mJ/cm² de UVB. Después de la irradiación, se eliminó el D-PBS. Los queratinocitos se trataron después adecuadamente y se incubaron durante la noche a
- 45 37°C; CO₂ al 5%. Al día siguiente, se ensayaron las células para viabilidad, utilizando el reactivo MTS (CellTiter96, Promega). Las lecturas de absorbancia se tomaron en el espectrofotómetro SpectraMax190 (Molecular Devices) a 490 nm tras una incubación aproximada de dos horas a 37°C; CO₂ al 5%.

Resultados y conclusión:

- 50 Con referencia a la figura 2, con baja radiación UV (45 mJ/cm²) se ha documentado que las células no exhiben daño intenso, de modo que se esperó que las mejoras en la capacidad de supervivencia fueran insignificantes. Lo que se observó, sin embargo, es que las células tratadas sólo con resveratrol mostraron una disminución en la tasa de supervivencia del 20%, y las células tratadas sólo con Orsirtine^{MR} al 3%, mostraron un 8% de disminución en la tasa
- 55 de supervivencia. Sin embargo, las células tratadas con complejo diluido 1:2 (resveratrol 25 μ M y Orsirtine^{MR} al 3%) o con el complejo sin diluir tuvieron el mismo resultado que el control. También, a medida que se diluye el complejo hasta 1:4 y luego hasta 1:8, disminuye la capacidad de supervivencia disminuye. Por lo tanto, el resveratrol por sí mismo, y Orsirtine 3% por sí misma, disminuyen la supervivencia celular. Sin embargo, la combinación de resveratrol y Orsirtine 3% no disminuye la supervivencia celular. Pero, ¿puede la combinación mejorar la tasa de supervivencia
- 60 celular, sobre el control?

Con una radiación UV de 90 mJ/cm², la tasa de supervivencia de las células no tratadas fue del 47%. En comparación, la capacidad de supervivencia de las células tratadas con el complejo no diluido y diluido (resveratrol 25 μ M y Orsirtine^{MR} al 3%), siguió una relación dependiente de la dosis, de la siguiente forma:

65

| | | | | |
|---|-----|-----|-----|------------|
| Dilución del complejo | 1:8 | 1:4 | 1:2 | no diluido |
| Aumento de la supervivencia después de 90 mJ/cm ² UV | 28% | 34% | 60% | 64% |

mientras que la capacidad de supervivencia de las células tratadas solo con Orsirtine^{MR} o sólo con resveratrol fue la siguiente:

| | | | |
|---|-------------------------------|-------------------------------|-------------------|
| | Orsirtine ^{MR} al 3% | Orsirtine ^{MR} al 1% | Resveratrol 25 µM |
| Aumento de la supervivencia después de 90 mJ/cm ² UV | 11% | -17% | -15% |

- 5 Con una irradiación UV de 135 mJ/cm², la tasa de supervivencia de las células no tratadas fue del 19%. En comparación, la capacidad de supervivencia para las células tratadas con el complejo diluido y sin diluir seguía una relación de la cuasi dependiente de la dosis, fue la siguiente:

| | | | | |
|--|-----|-----|-----|------------|
| Dilución del complejo | 1:8 | 1:4 | 1:2 | no diluido |
| Aumento de la supervivencia después de 135 mJ/cm ² UV | 11% | 5% | 56% | 131% |

- 10 mientras que la capacidad de supervivencia para las células tratadas solo con Orsirtine^{MR} o solo con resveratrol fue la siguiente:

| | | | |
|--|-------------------------------|-------------------------------|-------------------|
| | Orsirtine ^{MR} al 3% | Orsirtine ^{MR} al 1% | Resveratrol 25 µM |
| Aumento de la supervivencia después de 135 mJ/cm ² UV | 26% | 5% | 22% |

- 15 Se puede concluir que el complejo (resveratrol 25 µM y Orsirtine^{MR} al 3%) proporcionó una protección significativa contra la citotoxicidad inducida por UVB y el aumento de la supervivencia celular sobre el resveratrol y Orsirtine^{MR} solos.

Estos números también parecen sugerir que el efecto de la combinación de Orsirtine^{MR} y resveratrol sobre la capacidad de supervivencia de los queratinocitos es sinérgico. Por ejemplo, el Orsirtine^{MR} al 3%, por sí solo, aumenta la capacidad de supervivencia en un 11% (para UVB de 90 mJ/cm²) y en un 26% (para UVB de 135 mJ/cm²). El resveratrol 25 µM, por sí solo, disminuyó la capacidad de supervivencia en un 15% (para UVB de 90 mJ/cm²) y la aumentó en un 22% (para UVB de 135 mJ/cm²). Sin embargo, la combinación no diluida de Orsirtine^{MR} al 3% y Resveratrol 25 µM aumentó la capacidad de supervivencia de los queratinocitos en un enorme e inesperado 64% (para UVB de 90 mJ/cm²) y 131% (para UVB de 135 mJ/cm²). Incluso cuando se diluye hasta 1:8, la combinación aumentó aún la capacidad de supervivencia de los queratinocitos en un 28% (para UVB de 90 mJ/cm²) y un 11% (para UVB de 135 mJ/cm²). Esto es totalmente inesperado. Dado que Orsirtine^{MR} es un activador conocido de sirtuina y resveratrol un activador de sirtuina sospechado, la tremenda mejora en la capacidad de supervivencia de los queratinocitos no sería esperada por una persona experta en la técnica. A lo sumo, podría haberse esperado un efecto aditivo, pero no un efecto sinérgico.

¿Qué concentraciones relativas de (SEQ ID No: 8) G-L-Y-D-N-L-E y resveratrol producirán un efecto sinérgico sustancial sobre la supervivencia de los queratinocitos? Esa pregunta puede ser respondida por experimentación de rutina, ahora que el efecto ha sido identificado. Por "combinación sinérgica del activador de *sirt1* y resveratrol" se entiende una combinación de (SEQ ID No. 7) (AA)_n-G-L-Y-D-N-L-E-(AA)_n y resveratrol o derivados de los mismos, que aumenta la tasa de supervivencia de los queratinocitos (ya que tales tasas se miden por procedimientos conocidos en la técnica), en una cantidad que es mayor que la suma del efecto de cada material individualmente.

Ejemplo 2: Activadores de SIRT1. En las concentraciones correctas, mejorara el desempeño de los activadores del gen circadiano y las enzimas de reparación del ADN frente a la exposición a UVB.

De acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo 1, se ensayaron dos complejos a diferentes diluciones, por su efecto sobre la supervivencia de los queratinocitos, después de la exposición a radiación UV. El complejo I consistió en medio Epilife con suplemento de cultivo de queratinocitos humanos y Chronolux (0,1%), extracto de bifidos (12,4%), Adasome (0,05%) y Roxisome (0,05%). El complejo II consistió en el complejo I más Orsirtine^{MR} (0,08%) y Resveratrol (25 µM). El complejo I se ensayó sin diluir y en diluciones de 1:2 y 1:4 (complejo: medio

Epilife). El complejo II se ensayó sin diluir y a diluciones de 1:2, 1:4 y 1:8. Se utilizó el medio como control. Los queratinocitos se expusieron a UVB a niveles de 100, 150 y 200 mJ/cm²

Resultados y conclusión:

5 Con referencia a la figura 3, y comparando el complejo II con el complejo I dentro de la misma exposición UVB,

| Mejora: complejo II comparado con el complejo I | | | |
|---|------------------------|------------------------|------------------------|
| Dilución de ambos complejos | 100 mJ/cm ² | 150 mJ/cm ² | 200 mJ/cm ² |
| 1:4 | 10,2% | 4,7% | 3,8% |
| 1:2 | 3,2% | 7,2% | 9,6% |
| Sin diluir | -5,7% | -3,0% | 3,6% |

10 En todos los casos excepto en dos, la Orsirtine^{MR} y el resveratrol mejoran la supervivencia de los queratinocitos después de la exposición a UVB comparado con los activadores de genes circadianos solos. Sin embargo, moviéndose hacia abajo de las dos primeras columnas (100 mJ/cm²), estos datos parecen sugerir que entre menos activador de *sirt1* en combinación con el activador del gen circadiano, mejor. Sin embargo, este patrón se rompe en las columnas 2 y 3 (150 mJ/cm² y 200 mJ/cm²), lo que sugiere que una combinación óptima de los activadores de *sirt1* y del gen circadianos depende de la cantidad de UVB a la cual se exponen los queratinocitos. En realidad, moviéndose a través de la fila 3 (sin diluir) de izquierda a derecha, los datos sugieren que la adición de Orsirtine^{MR} y resveratrol está garantizada para mayores cantidades de exposición a UVB. Ese patrón también se observa en las muestras de dilución 1:2, pero se invierte en las muestras de dilución 1:4, lo que sugiere que a menores exposiciones a UVB, se necesita menos activación de *sirt1*. Por lo tanto, tomados en conjunto, los resultados de estos experimentos sugieren que las concentraciones relativas óptimas de los activadores del gen circadiano y de activadores de *sirt1* dependen de la cantidad de exposición a UVB. Sin embargo, todas las muestras de prueba del complejo II (activador circadiano + activador de *sirt1*) mostraron mejoría en la capacidad de supervivencia de los queratinocitos sobre los controles. La determinación de las concentraciones relativas óptimas de activadores de los genes circadianos y activadores de *sirt1* puede requerir únicamente experimentación de rutina, ya que una persona experta en la técnica sabe que esa concentración relativa es una variable con resultados efectivos, que era hasta ahora desconocida.

Composiciones

30 La forma de una composición de la presente invención no está generalmente limitada. Por ejemplo, las composiciones de la invención pueden estar en la forma de emulsiones, disoluciones o dispersiones acuosas, geles o sistemas anhidros. Si está en la forma de una emulsión, una composición puede ser una emulsión de agua en aceite o de aceite en agua. Si está en la forma de una emulsión, la composición puede contener desde aproximadamente 1-99%, preferiblemente desde aproximadamente 5-90%, más preferiblemente desde aproximadamente 10-85% de agua y desde aproximadamente 1-99%, preferiblemente desde aproximadamente 5-90 % , más preferiblemente desde aproximadamente 5-75% de aceite. Si está en la forma de una suspensión o dispersión acuosa, la composición puede contener generalmente desde aproximadamente 1- 99,9%, preferiblemente desde aproximadamente 5-95%, más preferiblemente de aproximadamente 10- 0% de agua, siendo el resto de ingredientes los ingredientes activos u otros ingredientes de la fórmula.

40 Preferiblemente, la composición contiene otros ingredientes que proporcionarán un producto cosmética o farmacéuticamente aceptable. Las clases de dichos ingredientes pueden incluir humectantes, filtros solares UVA y UVB, tensoactivos, extractos botánicos, materiales biológicos, agentes estructuradores de la fase acuosa (es decir, polisacáridos, polímeros de acrilato, PEG o poliglicerinas de alto peso molecular), aceites volátiles y no volátiles (incluyendo siliconas) , vitaminas y antioxidantes.

Composiciones preferidas (no reivindicadas)

50 Las composiciones preferidas están en solución acuosa o en forma de emulsión y contienen al menos un tensoactivo orgánico no iónico, al menos un filtro solar químico, al menos un activador del gen *clock* o *per1*, al menos un activador del péptido *sirt1* y al menos una enzima de reparación del ADN. También se pueden preferir al menos un extracto botánico, y al menos un aceite.

55 Se prefiere más una composición en donde el agente tensoactivo orgánico no iónico es un alcohol alcoxilado, el filtro solar químico es un filtro solar UVB, el activador del gen de queratinocitos *clock* o *per1* es Tripeptido-32, el activador de *sirt1* es una combinación de una molécula tipo Orsirtine^{MR} y resveratrol, y la enzima de reparación del ADN es

una mezcla de extracto de *Arabidopsis thaliana*, lisado de Micrococos, lisado de fermento de Bífidos, fermento de Lactobacillus y extracto de plancton, y al menos un aceite es un éster orgánico o hidrocarburo.

Procedimientos de la invención

5 Los procedimientos de la invención están principalmente dirigidos a la reparación del daño de los queratinocitos humanos, preferiblemente queratinocitos faciales, cuyo daño se presenta en respuesta a los agresores ambientales. Un procedimiento consiste en la aplicación a la piel humana dañada, de una composición o composiciones que comprenden al menos un activador del gen *clock* o *per1* de queratinocitos y al menos un activador de *sirt1*.
 10 Opcionalmente, la composición o composiciones del procedimiento pueden comprender al menos una enzima de reparación del ADN. Mediante la aplicación de la composición después de que ha ocurrido el daño, se restablecerá el ciclo circadiano normal más rápidamente. Sin embargo, la detención del ciclo celular antes de la mitosis permitirá más tiempo para la reparación del ADN. Mediante este procedimiento, el daño celular sustancial se invertirá y/o se comprobará si se transmite a las células hijas. El procedimiento también mejorará la viabilidad y longevidad de los
 15 queratinocitos.

La invención también se refiere a un procedimiento para prevenir o inhibir el daño a queratinocitos humanos, preferiblemente queratinocitos faciales, cuyo daño se produciría en respuesta a agresores ambientales. El procedimiento consiste en aplicar a la piel humana en riesgo de sufrir daños ambientales, una composición o
 20 composiciones que comprenden al menos un activador del gen *clock* o *per1* de queratinocitos y al menos un activador de *sirt1*. Opcionalmente, la composición o composiciones del procedimiento pueden comprender al menos una enzima de reparación del ADN. Mediante la aplicación de la composición antes de que el daño haya ocurrido, el ciclo circadiano normal puede mantenerse más estrechamente y el proceso de reparación del ciclo celular normal puede mantenerse en forma más estrecha. Mediante este procedimiento, se evitará un daño celular sustancial y/o se
 25 comprobará que se transmite a las células hijas. El procedimiento también mejorará la viabilidad y longevidad de los queratinocitos.

La composición o composiciones pueden ser aplicadas a la piel una o más veces al día. Por ejemplo, la(s) composición(es) pueden ser aplicadas a la piel en la mañana antes de comenzar las actividades diarias y/o en la
 30 noche, inmediatamente antes de irse a la cama. Estos tiempos son los preferidos, ya que la piel está generalmente bajo la menor cantidad de ataque ambiental, lo que significa que se puede maximizar la reparación de las células de la piel. En estos momentos. "inmediatamente antes de irse a la cama" o "inmediatamente antes del descanso nocturno" significa una hora antes de irse a la cama, más preferiblemente, 30 minutos antes de irse a la cama. En la mañana es más bien un enfoque preventivo, mientras que inmediatamente antes de irse a la cama, o por la noche
 35 son más un enfoque reparador. La composición o composiciones pueden aplicarse como parte de un régimen; es decir, se limpia la piel y se trata con un tónico, después de lo cual se aplica la composición o composiciones de la invención. La composición o composiciones de la invención pueden ser parte de un kit que contiene un limpiador, un tónico y la composición o composiciones de la invención.

40 Preferiblemente, la composición o composiciones se aplican a la piel de la cara y/o el cuello y el escote inmediatamente antes de irse a la cama, para reparar los queratinocitos con ADN dañados y proporcionar una mejora general de la piel. La combinación de los activadores del gen *clock* o *per1* con activadores de *sirt1* (y preferiblemente enzimas de reparación del ADN) en una composición usada para tratar la piel de la cara en la noche, inmediatamente antes de irse a la cama, maximiza la reparación de los queratinocitos del daño al ADN y
 45 también promueve la viabilidad, longevidad y salud celular.

Ejemplos

La invención se describirá adicionalmente en relación con los siguientes ejemplos que se exponen para propósitos de ilustración únicamente. Las composiciones para el tratamiento de la piel pueden ser preparadas de la siguiente
 50 manera.

Ejemplo 1

| Ingrediente | % p/p | % p/p |
|-----------------|-------|-------|
| Oleth-3 fosfato | 0,45 | 0,45 |
| Oleth-3 | 0,35 | 0,35 |
| Oleth-5 | 0,24 | 0,24 |
| Butilén glicol | 0,20 | 0,20 |

ES 2 605 623 T3

| | | |
|--|-------|-------|
| Escualeno | 0,50 | 0,50 |
| BHT | 0,10 | 0,10 |
| Etilhexil metoxicinamato | 0,10 | 0,10 |
| Choleth-24/ceteth-24 | 0,10 | 0,10 |
| Trietanolamina | 0,11 | 0,11 |
| Retinil palmitato/ aceite de maíz /BHT/BHA | 0,10 | 0,10 |
| Butilén glicol | 1,10 | 1,10 |
| Camomila | 0,03 | 0,03 |
| Bisabolol | 0,10 | 0,10 |
| Metil parabeno | 0,46 | 0,46 |
| PEG-75 | 4,00 | 4,00 |
| Bis-PEG-18 metil éter dimetil silano | 2,00 | 2,00 |
| Glycereth-26 | 1,00 | 1,00 |
| Metil gluceth-20 | 4,00 | 4,00 |
| EDTA trisódico | 0,10 | 0,10 |
| Pantetina | 0,14 | 0,14 |
| Cafeína | 0,05 | 0,05 |
| Goma de xantano | 0,075 | 0,075 |
| Carbómero | 0,26 | 0,26 |
| Trietanolamina | 0,50 | 0,50 |
| Fenoxietanol | 0,70 | 0,70 |
| Alcohol bencílico | 0,10 | 0,10 |
| Lisado de fermentos bífidos | 9,40 | 9,40 |
| Agua/lisado de fermentos bífidos/lecitina hidrogenada | 3,00 | 3,00 |
| Butilén glicol/agua/Extracto de Cola <i>Acuminata</i> | 3,00 | 3,00 |
| Ácido ribonucleico sódico | 0,01 | 0,01 |
| Agua/butilén glicol/tripeptido-32 | 0,10 | 0,10 |
| Fermento de Lactobacillus/lecitina/agua | 0,05 | 0,05 |
| Agua/Extracto de <i>Arabidopsis thaliana</i> /lecitina | 0,05 | 0,05 |
| Orsirtine 10x | 0,08 | 0,08 |

| | | |
|--|-------|-------|
| Resveratrol | ----- | 25 µM |
| Fenoxietanol | 0,02 | 0,02 |
| Hialuronato de sodio | 0,01 | 0,01 |
| FD&C Rojo No. 4 (solución acuosa al 1% con butilén glicol) | 0,04 | 0,04 |
| FD&C Amarillo No. 5 (solución acuosa al 1% con butilén glicol) | 0,09 | 0,09 |
| D&C Green No. 5 (solución al 0,1% con butilén glicol) | 0,001 | 0,001 |
| Agua | CS | CS |

Ejemplos 2-4

5 Se puede preparar una primera composición de tratamiento para la piel que contiene activador de del gen clock (Chronolux®, tripeptide-32), pero no activador(es) de *sirt1* de acuerdo con la fórmula A (ejemplo 2). Se puede preparar una segunda composición para el tratamiento de la piel que contiene activador del gen clock (Chronolux®) y activadores de *sirt1* (Orsirtine^{MR} y resveratrol) de acuerdo con la fórmula B (ejemplo 3). Se puede preparar una tercera composición para tratamiento de la piel que comprende al activador de *sirt1* (Orsirtine®), pero no activador del gen circadiano de acuerdo con la fórmula C (ejemplo 4). Las composiciones se preparan mediante la combinación de los ingredientes y mezclando bien para formar un líquido. Las composiciones se pueden almacenar en botellas de vidrio oscuras.

15 La composición A comprende activadores del gen circadiano, y activadores *sirt1*, Orsirtine^{MR} y resveratrol. De este modo, la composición A se usa por sí sola. La composición B, comprende Chronolux® (activador del gen circadiano), pero no activadores del gen *sirt1*. Por lo tanto, la composición B se usa con una composición separada que tiene capacidad de activación del gen *sirt1*, tal como la composición C.

| Ingrediente | A (% p/p) | B (% p/p) |
|--|-----------|-----------|
| Oleth-3 fosfato | 0,45 | 0,45 |
| Oleth-3 | 0,35 | 0,35 |
| Oleth-5 | 0,24 | 0,24 |
| Butilén glicol | 0,20 | 0,20 |
| Escualeno | 0,50 | 0,50 |
| BHT | 0,10 | 0,10 |
| Etilhexil metoxicinamato | 0,10 | 0,10 |
| Choleth-24/ceteth-24 | 0,10 | 0,10 |
| Trietanolamina | 0,11 | 0,11 |
| Retinil palmitato/ aceite de maíz /BHT/BHA | 0,10 | 0,10 |
| Butilén glicol | 1,10 | 1,10 |
| Camomila | 0,03 | 0,03 |
| Bisabolol | 0,10 | 0,10 |
| Agua | QS | QS |

ES 2 605 623 T3

| | | |
|--|--------------|-------------|
| Metil parabeno | 0,46 | 0,46 |
| PEG-75 | 4,00 | 4,00 |
| Bis-PEG-18 metil éter dimetil silano | 2,00 | 2,00 |
| Glycereth-26 | 1,00 | 1,00 |
| Metil gluceth-20 | 4,00 | 4,00 |
| EDTA trisódico | 0,10 | 0,10 |
| Pantetina | 0,14 | 0,14 |
| Cafeína | 0,05 | 0,05 |
| Goma de xantano | 0,075 | 0,075 |
| Carbómero | 0,26 | 0,26 |
| Trietanolamina | 0,50 | 0,50 |
| Fenoxietanol | 0,70 | 0,70 |
| Alcohol bencílico | 0,10 | 0,10 |
| Lisado de fermentos bífidos | 9,40 | 9,40 |
| Agua/lisado de fermentos bífidos/lecitina hidrogenada | 3,00 | 3,00 |
| Butilén glicol/agua/Extracto de Cola <i>Acuminata</i> | 3,00 | 3,00 |
| Ácido ribonucleico sódico | 0,01 | 0,01 |
| Agua/butilén glicol/tripeptido-32 (Chronolux®) | 0,20 | 0,20 |
| Agua/butilén glicol /extracto de arroz hidrolizado (Orsirtine^{MR}) | 0,08 | ----- |
| Resveratrol | 25 µM | ----- |
| Fermento de Lactobacillus/lecitina/agua | 0,05 | 0,05 |
| Agua/Extracto de <i>Arabidopsis thaliana</i> /lecitina | 0,05 | 0,05 |
| Fenoxietanol | 0,02 | 0,02 |
| Hialuronato de sodio | 0,01 | 0,01 |
| FD&C Rojo No. 4 (solución acuosa al 1% con butilén glicol) | 0,04 | 0,04 |
| FD&C Amarillo No. 5 (solución acuosa al 1% con butilén glicol) | 0,09 | 0,09 |
| D&C Green No. 5 (solución al 0,1% con butilén glicol) | 0,001 | 0,001 |

| Ingrediente | C (% p/p) |
|-------------|-----------|
| CREATININA | 0,08 |

ES 2 605 623 T3

| | |
|---|-----------|
| TREHALOSA | 0,50 |
| ACETIL GLUCOSAMINA | 0,50 |
| CAFEÍNA | 0,20 |
| CARBÓMERO | 0,15 |
| ACRILATOS/ ALQUIL C10-30 ACRILATO | 0,108 |
| CROSPOLIMERO/FENOXIETANOL | |
| AMONIO ACRILOILDIMETILTAURATO/VP COPOLIMERO | 0,50 |
| BUTILÉN GLICOL | 1,00 |
| GOMA DE XANTANO | 0,08 |
| HIDRÓXIDO DE SODIO | 0,03 |
| ALCOHOL CETÍLICO | 2,00 |
| C12-20 ÁCIDO PEG-8 ÉSTER | 3,00 |
| CAPRÍLICO/CÁPRICO TRIGLICÉRIDO | 5,90 |
| DIMETICONA | 0,50 |
| FOSFATO CETÍLICO DE POTASIO | 0,20 |
| ACEITE DE COCOS NUCIFERA (COCO)/EXTRACTO DE HOJAS DE ALOE BARBADENSIS | 1,60 |
| COLESTEROL/SULFATO DE POTASIO | 0,05 |
| PEG-100 ESTEARATO | 0,75 |
| FITANTRIOL | 0,50 |
| Ingrediente | C (% p/p) |
| EXTRACTO DE TRITICUM VULGARE (SALVADO DE TRIGO) / EXTRACTO DEL FRUTO DE OLEA EUROPAEA (ACEITUNA) | 0,20 |
| ESTEROLES DE PUNICA GRANATUM (GRANADA) | 0,50 |
| PENTILÉN GLICOL | 1,00 |
| FENOXIETANOL | 0,30 |
| GLICERINA USP 99% (vegetal) | 2,00 |
| ETILHEXILGLICERINA | 1,00 |
| EXTRACTO DE FERMENTO DE LAVADURA (EXTRACTO DE RAÍZ DE POLYGONUM CUSPIDATUM (resveratrol)) / EXTRACTO DE HUMULUS LUPULUS / ÁCIDO LINOLEICO / ÁCIDO LINOLÉNICO / EXTRACTO DE SEMILLAS DE VITIS VINIFERA/EXTRACTO DE ROSMARINUS OFFICINALIS / EXTRACTO DE SELAGINELLA TAMARISCINA/CICLODEXTRINA/ CLORURO DE ETILBISIMINOMETILGUAIACOL MANGANESO/ EXTRACTO DE CORTEZA DE CITRUS RETICULATA/ EXTRACTO DE JUGO DE PUNICA GRANATUM/ÁCIDO NORDIHIDROGUAIAIRÉTICO | 0,50 |

ES 2 605 623 T3

| | |
|---|-------------|
| /SIMETICONA) | |
| EXTRACTO DE MADERA DE LARIX SIBIRICA | 0,10 |
| EXTRACTO DE LAMINARIA SACCHARINA | 0,50 |
| SOLUCIÓN DE EXTRACTO DE LEVADURA (FOSFATO DE ADENOSINA/FENOXIETANOL /SIMETICONA | 0,50 |
| ACETIL HEXAPÉPTIDO-8 | 0,50 |
| PCA SÓDICO | 0,50 |
| EXTRACTO DE SIGESBECKIA ORIENTALIS (HIERVA DE SAN PABLO) | 0,50 |
| GLICERINA/ EXTRACTO DE THALLUS PADINA PAVONICA | 0,10 |
| EXTRACTO DE HOJA DE ARGANIA SPINOSA | 0,10 |
| AGUA/BUTILÉN GLICOL/ EXTRACTO DE SEMILLA DE TAMARINDUS INDICA | 0,10 |
| DICAPRATO DE PROPILÉN GLICOL /TORTA DE SEMILLA DE HELIANTHUS ANNUUS (GIRASOL) SEEDCAKE/EXTRACTO DE HORDEUM VULGARE (CEBADA) /EXTRACTO DEL FRUTO DE CUCUMIS SATIVUS (PEPINO) | 0,50 |
| BUTILÉN GLICOL/ EXTRACTO DE CENTAURIUM ERYTHRAEA (CENTAURIO) | 0,50 |
| Agua/butilén glicol/extracto de arroz hidrolizado (Orsirtine^{MR}) | 0,08 |
| HIALURONATO DE SODIO | 2,50 |
| ÁCIDO HIALURÓNICO | 0,02 |
| FRAGANCIA (PERFUME) | 0,125 |
| ACRILATO DE SODIO /COPOLIMERO DE ACRILOILDIMETIL TAURATO DE SODIO /POLIDECENO HIDROGENADO /LAURETH- 8 | 0,001 |
| AGUA | CS |

Listado de secuencias

- 5 <110> Maes, Daniel H. Pernodet, Nadine A. Mammone, Thomas Slutsky, Lenny Collins, Donald F. Goldgraben, Kerri Pelle, Edward McCarthy, James T.
- <120> Composiciones reparadoras de la piel que comprenden activadores del gen circadiano y una combinación sinérgica de activadores del gen *sirt1*
- <130> 09.11
- <160> 8
- 10 <170> PatentIn versión 3.5
- <210> 1
- <211> 13
- <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Activador del gen CLOCK y/o PER1

<220>

5 <221> característica nueva

<222> (1)..(4)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural o no aminoácido

<220>

<221> característica nueva

10 <222> (5)

<223> Xaa puede ser treonina o serina o no aminoácido

<220>

<221> característica nueva

<222> (9)

15 <223> Xaa puede ser isoleucina, leucina, prolina, valina, alanina, glicina o no aminoácido

<220>

<221> característica nueva

<222> (10)..(13)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural o no aminoácido

20 <400> 1

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ser Thr Pro Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10

<210> 2

<211> 7

<212> PRT

25 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Activador del gen CLOCK y/o PER1

<400> 2

Tyr Val Ser Thr Pro Tyr Asn
1 5

30 <210> 3

ES 2 605 623 T3

<211> 5

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

5 <223> Activador del gen CLOCK y/o PER1

<400> 3

Val Ser Thr Pro Glu
1 5

<210> 4

<211> 6

10 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Activador del gen CLOCK y/o PER1

<400> 4

Leu His Ser Thr Pro Pro
1 5

15

<210> 5

<211> 6

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

20 <220>

<223> Activador del gen CLOCK y/o PER1

<400> 5

Arg His Ser Thr Pro Glu
1 5

25 <210> 6
<211> 5

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Activador del gen CLOCK y/o PER1

30 <400> 6

His Ser Thr Pro Glu
1 5

<210> 7

<211> 13

<212> PRT

5 <213> Secuencia Artificial

<220>

<223> activador del gen SIRT1

<220>

<221> característica nueva

10 <222> (1)..(3)

<223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural o no aminoácido

<220>

<221> característica nueva

<222> (11)..(13)

15 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural o no aminoácido

<400> 7

Xaa Xaa Xaa Gly Leu Tyr Asp Asn Leu Glu Xaa Xaa Xaa
1 5 10

<210> 8

<211> 7

20 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> activador del gen SIRT1

<400> 8

Gly Leu Tyr Asp Asn Leu Glu
1 5

25

REIVINDICACIONES

1. Una composición para el cuidado de la piel que comprende al péptido
- 5 S - T - P – NH₂ Ser-Thr-Pro-NH₂
- y una combinación sinérgica de resveratrol y el péptido
- (SEQ ID NO: 8) G - L - Y - D - N - L - E Gly-Leu-Tyr-Asp-Asn-Leu-Glu.
- 10 2. Una composición para el cuidado de la piel que comprende S-T-P-NH₂, entre 0,00001 y 25%, con respecto al peso total de la composición final;
- (SEQ ID NO: 8) G - L - Y - D - N - L - E, entre 0,0001% y 5%, con respecto al peso total de la composición final; y
- 15 resveratrol, entre 0,001% hasta aproximadamente 95%, con respecto al peso total de la composición final.
3. La composición de acuerdo con la reivindicación 2, que comprende además al menos una enzima de reparación del ADN entre 0,0001% y 25%, con respecto al peso total de la composición final.
- 20 4. La composición de la reivindicación 3, en la que la enzima de reparación del ADN se selecciona del grupo que consiste en enzimas de reparación de la escisión de la base (BER), enzimas de reparación de la escisión del nucleótido (NER), ADN polimerasas, ADN helicasas, enzimas de reparación de falta de correspondencia (MMR) y mezclas de las mismas.
- 25 5. La composición de la reivindicación 3, en la que la enzima de reparación del ADN se selecciona del grupo que consiste en extracto de Arabidopsis thaliana, fermento de Lactobacillus, lisado de Micrococos, extracto de plancton, lisado de fermento de Bífidos y mezclas de los mismos.
- 30 6. La composición de la reivindicación 2 para inhibir el daño a los queratinocitos humanos debido a agresores ambientales.
7. La composición de la reivindicación 2 para reparar el daño a los queratinocitos humanos debido a agresores ambientales.
- 35 8. La composición de la reivindicación 1 para reparar el daño por UVB a los queratinocitos humanos.
9. La composición de la reivindicación 1, que comprende además:
- 40 al menos un agente estructurador de la fase acuosa que comprende un polisacárido, un polímero acrílico o mezclas de los mismos;
- al menos un tensoactivo orgánico no iónico que es un alcohol alcoxilado; y
- 45 al menos un humectante que es un alquilenglicol C2-4 o glicerina.

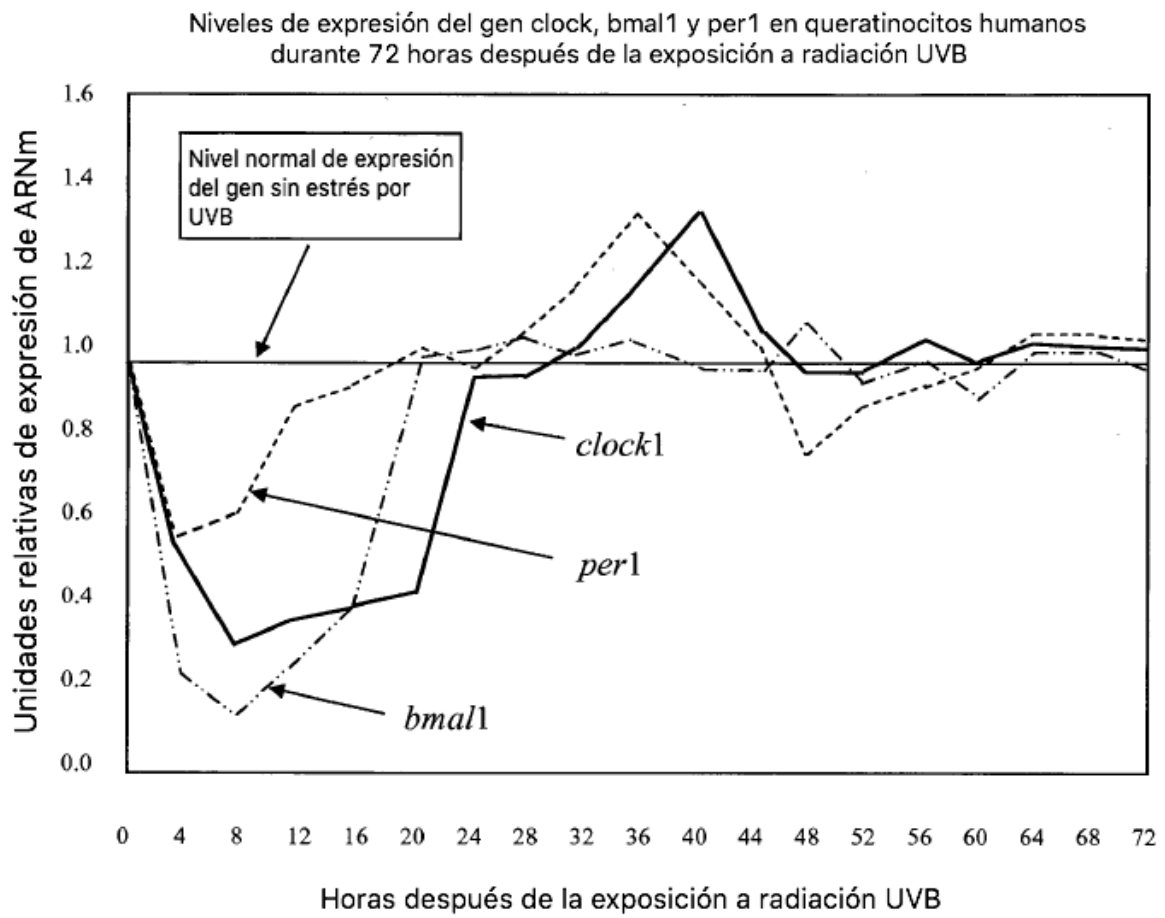


Fig. 1

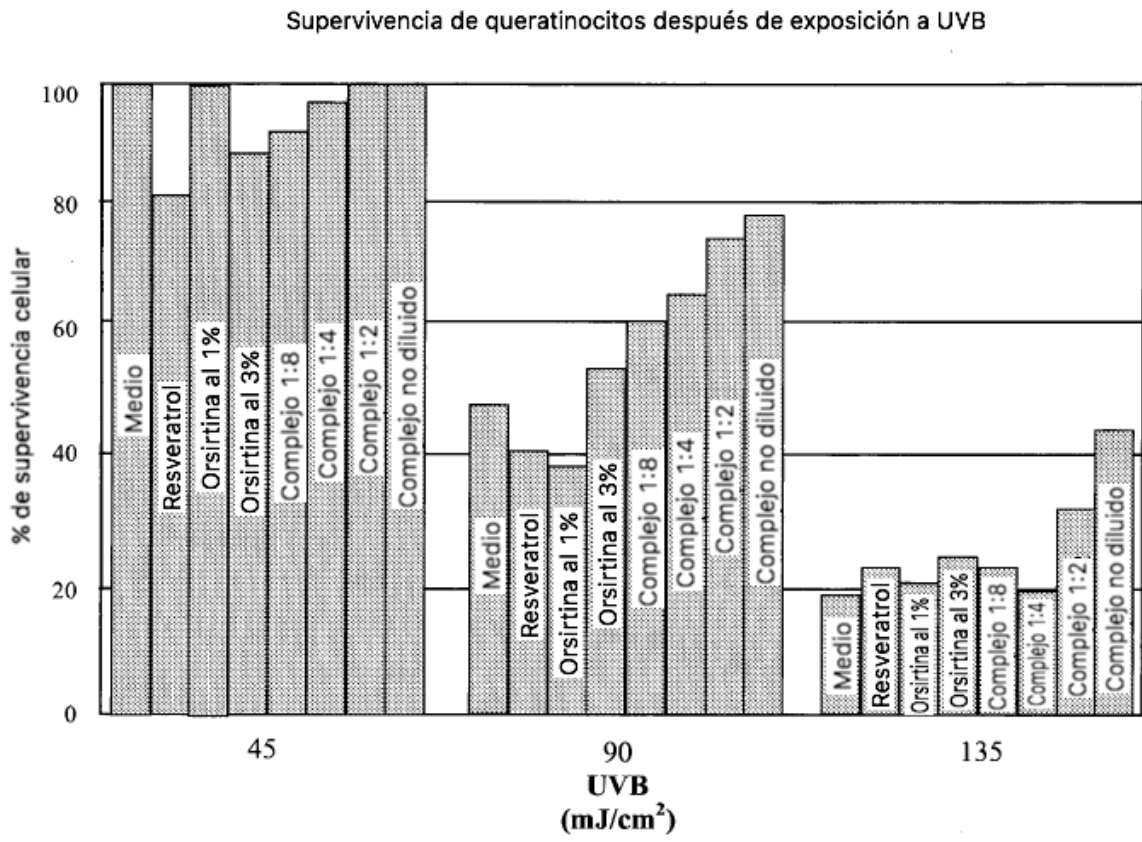


Fig. 2

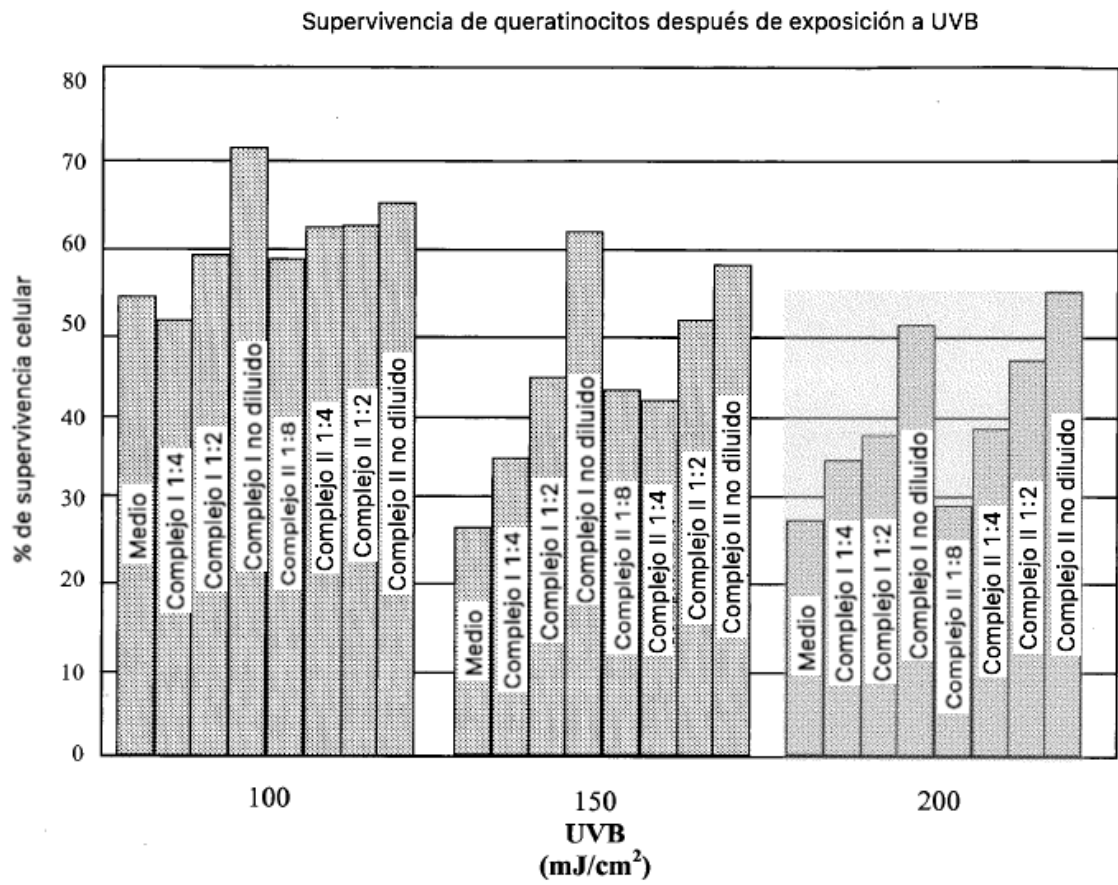


Fig. 3