

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 609 259**

51 Int. Cl.:

A61K 8/97 (2006.01)

A61Q 17/00 (2006.01)

A61K 8/64 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.09.2007 PCT/FR2007/051887**

87 Fecha y número de publicación internacional: **13.03.2008 WO08029064**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.09.2007 E 07823783 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.11.2016 EP 2059230**

54 Título: **Utilización tópica de un extracto peptídico de soja y/o trigo como agente fotoprotector**

30 Prioridad:

06.09.2006 FR 0607851
06.09.2006 FR 0607852

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
19.04.2017

73 Titular/es:

THOREL, JEAN-NOËL (100.0%)
3 Rue Larochele
75014 Paris, FR

72 Inventor/es:

THOREL, JEAN-NOËL

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 609 259 T3

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

DESCRIPCIÓN

Utilización tópica de un extracto peptídico de soja y/o trigo como agente fotoprotector

5 La presente invención se refiere a una composición cosmética y/o dermatológica destinada a prevenir la alteración de las células de la piel, labios, cabello y/o mucosas por las radiaciones lumínicas y, de forma más general, a actuar como agente fotoprotector.

10 La composición de la presente invención puede pertenecer a la gama de productos protectores solares, pero también a la gama de productos de cuidado, como por ejemplo, las leches corporales o las cremas de día, barras de labios, así como a la gama de productos de maquillaje o de tratamiento capilar.

15 Efectivamente, para el conjunto de esta gama de productos, se busca luchar contra los efectos perjudiciales de los rayos UVA y UVB en las células de la piel, labios, cabello y/o mucosas.

20 Efectivamente, aunque las radiaciones lumínicas con una longitud de onda comprendida entre 290 nm y 400 nm, que corresponden a los UVA (de longitud de onda comprendida entre 320 nm y 400 nm) y a los UVB (de longitud de onda comprendida entre 290 nm y 320 nm), son necesarias para el buen funcionamiento del organismo humano, también producen numerosos efectos negativos. De este modo, los rayos UVB ocasionan especialmente eritemas, quemaduras cutáneas, mientras que los UVA son, en principio, responsables de la formación de radicales libres que a su vez pueden inducir una alteración cutánea prolongada. Por tanto, estas radiaciones UV deben filtrarse.

25 Numerosas composiciones cosméticas tales como, por ejemplo, productos de protección solar o incluso cremas de día garantizan la fotoprotección (UVA y/o UVB) de la piel se han propuesto en la actualidad. Estas composiciones se presentan con bastante frecuencia en forma de una emulsión que contiene, a concentraciones diversas, uno o varios filtros solares. Existen dos tipos de filtros solares: por una parte, los filtros orgánicos clásicos lipófilos y/o hidrófilos que pueden absorber selectivamente las radiaciones UV nocivas. Se pueden introducir con cierta facilidad en las emulsiones por dispersión bien en la fase oleosa, bien en la fase acuosa de la emulsión (según su carácter lipófilo o hidrófilo). El tipo de filtros y su cantidad se seleccionan dependiendo del índice de protección deseado.

30 Por otra parte, existen los filtros minerales, que reflejan la luz, utilizados además o en lugar de los filtros orgánicos. En particular, se trata de óxidos metálicos tales como, por ejemplo, dióxido de titanio y óxido de cinc, que transmiten excelentes propiedades protectoras contra los UV y una buena tolerancia cutánea.

35 Sin embargo, las dos categorías de filtros solares tienen algunos inconvenientes. Los filtros orgánicos se deben utilizar en grandes cantidades para obtener altos índices de protección y pueden ocasionar, por tanto, problemas de tolerancia; además, se sospecha que tienen posibles actividades hormonales estrogénicas, lo que podría ser biológicamente peligrosos, en caso de confirmarse estos riesgos, especialmente entre chicos jóvenes. Los filtros minerales, por su parte, tienen problemas de formulación cosmética. Efectivamente, los productos de protección solar que los incluyen se suelen presentar en forma de emulsiones más o menos espesas, difíciles de aplicar y de distribuir, pesadas y pulverulentas. Además, a estos defectos se añade, con determinados filtros minerales tales como dióxido de titanio, un efecto de blanqueamiento durante su distribución sobre la piel.

45 Los documentos US 5.571.503, FR 2775 185, WO 03/068184, WO 00/64472, WO 02/17862, EP 1.618.871, WO 02/45666, US 6.365.656 y FR 2758721 describen composiciones complejas que contienen un extracto de trigo y/o soja, y que tienen opcionalmente una actividad protectora con respecto a los UV, sin que esta se pueda atribuir a dicho extracto.

50 El documento EP 1.815.843 describe el efecto beneficioso sobre la síntesis de colágeno de la asociación de dos extractos peptídicos de soja y un extracto peptídico de trigo. Se suscita la posibilidad de añadirles otro compuesto que estimula la síntesis de colágeno seleccionado entre una amplia lista en la que figura la creatinina, pero también el tripéptido Gly-His-Lys. Este documento ni describe, y ni siquiera sugiere, ningún efecto sobre la protección con respecto a los UVA/UVB vinculado a dichas asociaciones.

55 El objetivo de la presente invención es, por tanto, superar estos inconvenientes y proponer una composición fotoprotectora destinada a prevenir la alteración de las células de la piel, labios, cabello y/o mucosas provocada por las radiaciones lumínicas de tipo UVA y UVB que no incluyen, o incluyen poca cantidad, de filtros solares.

60 El solicitante ha comprobado que, de forma completamente sorprendente, es posible luchar eficazmente contra los efectos nocivos simultáneos de los UVA y los UVB, actuando biológicamente en las células de la piel y ya no mediante un filtro o una pantalla anti-UVA o anti-UVB. Ventajosamente, esta acción biológica se puede aplicar mediante sustancias biomiméticas, es decir, sustancias que tienen la estructura y/o que ejercen una función y/o actividad biomecánica, biofísica, o biológica de cualquier componente cutáneo, siendo el objetivo adaptar la respuesta de las células de la piel a los efectos de la radiación UVA y UVB.

65

En otras palabras, el solicitante ha investigado la sustitución de todo o parte de los filtros solares conocidos y designados a continuación como "filtro solar externo", por componentes que garanticen una acción biológica en las células de la piel, labios, cabello y/o mucosas, permitiendo proteger dichas células contra los efectos perjudiciales de los UVA y UVB. Esta acción biológica, que también se designa igualmente a continuación como "protección interna", puede consistir en:

- una protección del ADN,
- una disminución de la inmunosupresión,
- una acción antirradicalaria, etc...

Este nuevo enfoque ha permitido al solicitante, en un primer momento, descubrir que cuando los extractos peptídicos de soja o trigo se aplican *in vivo* sobre la piel, permiten proteger bioquímicamente a las células de la piel, labios, cabello y/o mucosas contra los efectos perjudiciales de los UVA y UVB.

De este modo, la presente solicitud describe el uso tópico de un extracto peptídico de soja y/o de trigo como fotoprotector y, más exactamente, como un agente destinado a luchar contra la alteración de las células de la piel, labios, cabello y/o mucosas provocada por los UVA y los UVB, ventajosamente en este segundo caso, porque dichos extractos se asocian a otros componentes garantizando la "protección interna" de las células y/o de los "filtros solares externos". Los extractos peptídicos de la invención no actúan, por tanto, como filtro o pantalla anti-UVA o anti-UVB en el sentido de que las células siguen absorbiendo dichos rayos lumínicos; por el contrario, los extractos peptídicos de la invención intervienen biológicamente en las células, limitando los efectos perjudiciales de la radiación, pero beneficiándose a la vez de sus efectos positivos.

En una realización particular, los extractos peptídicos de soja y de trigo se utilizan conjuntamente, por ejemplo, en una relación en peso respectivamente comprendida entre 80/20 y 20/80, ventajosamente comprendida entre 70/30 y 30/70, preferentemente igual a 60/40.

En la práctica, los extractos peptídicos proceden de granos de soja y trigo. Una hidrólisis enzimática de dichos granos mediante peptidasas permite recuperar los péptidos, que tienen un tamaño medio de 700 Daltons (cuando se alcanza dicho tamaño promedio de los péptidos, las peptidasas se desactivan).

Preferentemente, el extracto peptídico de soja es el extracto identificado con el número CAS 68607-88-5; análogamente, el extracto peptídico de trigo es el extracto identificado con el número CAS 70084-87-6.

En la práctica, los extractos peptídicos anteriormente descritos se utilizan en una composición cosmética que comprende un medio fisiológicamente aceptable.

En la presente solicitud, por "medio fisiológicamente aceptable", se entiende un medio compatible con la piel, labios, cabello y mucosas.

La invención tiene por objeto, por tanto, una composición cosmética y/o dermatológica tópica que comprende:

- extractos peptídicos de soja y trigo que representan de 0,01 a 20 % del peso total de la composición,
- creatina,

no conteniendo dicha composición el tripéptido sintético GHK (glicidil-histidil-lisina).

Ventajosamente, los extractos peptídicos de soja y de trigo representan de 0,1 a 10 %, preferentemente de 0,2 a 0,7 % del peso total de la composición, muy preferentemente del 0,4 %.

Ventajosamente, la creatina representa entre 0,1 y 2 %, preferentemente el 0,5 % en peso de la composición total.

De forma característica, la composición no contiene el tripéptido sintético GHK (glicidil-histidil-lisina; INCI: Tripéptido-1).

Preferentemente, la relación ponderal de extracto peptídico de soja/extracto peptídico de trigo está comprendida entre 80/20 y 20/80, ventajosamente comprendida entre 70/30 y 30/70, preferentemente igual a 60/40.

Como ya se ha mencionado, el solicitante ha comprobado que los extractos peptídicos de soja o de trigo, solos o mezclados, permiten luchar contra la alteración de las células de la piel, labios, cabello y/o mucosas provocada por los UVA y UVB, en mayor medida cuando dichos extractos están asociados a filtros solares externos y/o a otros componentes garantizando la "protección interna" de las células.

El solicitante ha demostrado de esta forma que algunos componentes que ejercen una actividad biológica *in vivo* sobre las células de la piel, labios, cabello y/o mucosas sometidos a irradiación UVA y UVB, actúan de forma sinérgica con filtros solares orgánicos o minerales que permitan garantizar, por una parte, "una protección interna", y

por otra "una protección solar externa" reflejando o absorbiendo la luz. De esto resulta que la cantidad de filtros utilizada se puede disminuir, rebajando de hecho los riesgos anteriormente citados.

5 En otras palabras, en una realización particular, la composición de la invención comprende además un filtro solar seleccionado entre filtros minerales, filtros orgánicos o sus mezclas.

10 Todos los filtros minerales conocidos por sí mismos por su actividad fotoprotectora externa mediante reflexión de la luz son de utilidad en la presente invención. En una realización de la invención, se trata de óxidos metálicos, que se puede seleccionar especialmente entre óxidos de titanio (dióxido de titanio amorfo o cristalizado en forma de rutilo y/o anatasa), óxidos de cinc, óxidos de hierro, óxidos de circonio, óxidos de cerio o sus mezclas.

15 Estos óxidos metálicos pueden estar en forma de partículas con un tamaño micrométrico o nanométrico (nanopigmentos). En una realización particular, se utilizan nanopigmentos, y su tamaño promedio está comprendido, por ejemplo, entre 5 nm y 100 nm. Estos filtros minerales también pueden estar revestidos.

En una realización particular de la invención, se utilizan nanoóxidos de titanio revestidos hidrófobos que pueden estar en forma de carga sólida o en forma de dispersión en un medio adecuado para su revestimiento.

20 Análogamente todos los filtros orgánicos de UVA et UVB habitualmente utilizados en el campo cosmético, y conocidos por su actividad fotoprotectora externa mediante absorción de la luz, son de utilidad en la presente invención.

25 Como filtros UVA, se pueden citar, por ejemplo, los derivados de dibenzoilmetano, los derivados de benzofenona, los antranilatos, los derivados de triazina, y las mezclas de dichos filtros.

30 Como filtros UVB, se pueden citar, por ejemplo, los derivados de ácidos salicílico, los derivados de ácido cinámico, los derivados de β,β' -difencilacrilato líquido, los derivados del ácido p-aminobenzoico, el 4-metil bencilideno alcanfor, el ácido 2-fenilbencimidazol-5-sulfónico, los derivados de 1,3,5-triazina, y las mezclas de dichos filtros.

Según el resultado buscado, se puede usar una mezcla de filtros UVA y UVB.

35 La composición de la invención puede incluir de 0,5 a 50 % en peso de filtro solar con respecto al peso total de la composición, aunque el objetivo sea que contenga una cantidad de filtro menor, de forma que se disminuyan los efectos secundarios anteriormente citados.

En una realización particular, el contenido de filtro solar está comprendido entre 1 y 20 %.

40 En otra realización, comprende entre 2 % y 15 % con respecto al peso total de la composición, ventajosamente entre 7 y 10 %.

45 El solicitante ha demostrado especialmente que la aplicación de óxido de titanio, a razón de 2 a 5 %, o de octilsalicilato de butilo, a razón de 7 a 10 % en peso de la composición total, proporciona buenos resultados en términos de SPF (factor de protección solar, índice que permite apreciar la eficacia de protección de un producto solar, cuanto mayor es el SPF mejor será la protección).

50 De acuerdo con otra característica de la invención, la composición cosmética y/o dermatológica contiene al menos uno o todos los componentes siguientes que ejercen una actividad biológica *in vivo* sobre las células de la piel, labios, cabello y/o mucosas sometidos a radiación UVA y UVB en presencia o ausencia de filtro solar, respectivamente:

- un agente antirradicalario que conserva las estructuras celulares, tal como, por ejemplo, la vitamina E y/o sus derivados liposolubles o hidrosolubles, especialmente sus isómeros tocotrienol y/o tocoferol, que representa por ejemplo entre 0,001 y 10 %, ventajosamente entre 0,02 y 2 %, preferentemente de aproximadamente un 0,04 % por ciento en peso de la composición total,
- 55 - un agente que limite la inmunosupresión, tal como, por ejemplo, la vitamina PP, que representa por ejemplo entre 0,001 y 1 %, ventajosamente de 0,01 % a 0,3 % en peso de la composición total,
- un agente protector de la proteína p53, tal como, por ejemplo, el galato de epigallocatequina (EGCG), que representa por ejemplo entre 0,001 y 0,1 %, ventajosamente de 0,005 % a 0,05 % en peso de la composición total,
- 60 - un agente que limite la acción de los iones hierro, implicados en la formación de los radicales libres, tales como por ejemplo EDTA, que representa por ejemplo entre 0,01 y 1 %, ventajosamente entre 0,2 % y 0,5 % en peso de la composición total.

65 La composición de la invención también puede incluir adyuvantes tales como los habitualmente utilizados en el campo de la cosmética, tales como principios activos, conservantes, antioxidantes, agentes complejantes, disolventes, perfumes, cargas, bactericidas, electrolitos, absorbentes de olores, colorantes e incluso vesículas

lipídicas. La selección de estos adyuvantes, así como sus concentraciones, deben determinarse de tal forma que no modifiquen las propiedades y las ventajas buscadas para la composición de la presente invención.

5 La composición de la invención está destinada a una aplicación tópica y más especialmente a una aplicación sobre la piel, labios, cabello y/o mucosas.

10 La composición de la invención se puede presentar en cualquiera de las formas farmacéuticas habitualmente utilizadas en los campos cosmético y dermatológico, como por ejemplo, aunque no de forma limitativa, en forma de una solución acuosa opcionalmente gelificada, una dispersión de tipo loción, que puede ser bifásica, de una emulsión (O/W) o inversamente (W/O), más o menos fluida, o de una emulsión múltiple como, por ejemplo, una emulsión triple (W/O/W o O/W/O), o incluso en forma de una dispersión vesicular de tipo iónico (liposomas) y/o no iónico. Estas composiciones se preparan de acuerdo con los métodos habituales conocidos por el experto en la materia.

15 La invención tiene también por objeto un procedimiento de tratamiento cosmético para evitar la alteración de las células de la piel, labios, cabello y/o mucosas provocada por los UVA y UVB, caracterizado por que consiste en aplicar sobre la piel, labios, cabello y/o mucosas las composiciones anteriormente descritas.

20 La invención tiene también por objeto una composición de acuerdo con la invención, especialmente una composición tópica que comprende:

- extractos peptídicos de soja y trigo,
- creatina,

25 no conteniendo dicha composición el tripéptido sintético GHK (glicidil-histidil-lisina), para su uso en el tratamiento de la alteración de las células de la piel, labios, cabello y/o mucosas provocada por los UVA y los UVB.

Ventajosamente, una composición de acuerdo con la invención para este uso es tal como se describe anteriormente.

30 La invención y sus ventajas demostradas se evidencian en los ejemplos siguientes.

Eficacia fotoprotectora

35 Ejemplo 1: Eficacia fotoprotectora de una mezcla de extractos peptídicos de soja y trigo utilizados solos, con respecto a los UVA

40 El objetivo de este primer ensayo es demostrar que los extractos peptídicos de soja y trigo descritos en la presente solicitud permiten por sí mismos luchar contra los efectos nocivos de la radiación UVA actuando sobre el genoma de las células. Los ensayos se realizan *in vitro*.

Extracto denominado EV

45 Los extractos peptídicos se obtienen mediante hidrólisis enzimática de granos de soja o de trigo mediante peptidasas, donde los péptidos obtenidos tienen un tamaño medio de 700 Daltons. Los péptidos de soja y de trigo se solubilizan al 10 % en una relación 60/40, dicha disolución se diluye a continuación y se ensaya a una concentración 1 %. Los extractos utilizados corresponden a los números CAS 68607-88-5 (extracto peptídico de soja) y CAS 70084-87 (extracto peptídico de trigo).

50 La eficacia fotoprotectora de la mezcla de extractos de acuerdo con la invención se ha analizado según el plan experimental descrito a continuación.

55 Se analizó la capacidad de fotorreacción interna del extracto vegetal EV por su acción sobre el genoma contra los rayos UVA a 365 nm. La evaluación se realizó mediante el ensayo de cometas sobre primocultivos de melanocitos humanos normales (método descrito en la patente FR 2774395 y en la publicación -Evaluation of Sunscreen protection in human melanocytes exposed to UVA or UVB irradiation using the alkaline comet assay; Photochemistry and Photobiology, vol 74, n.º 3, P417 423- (2001)).

Cultivo de melanocitos

60 Los cultivos de melanocitos humanos normales (MHN) se realizan a partir de prepucios de niños y recién nacidos sometidos a fimosis. Los melanocitos obtenidos a partir de fragmentos de piel se introdujeron en el medio MCDB 153 (Sigma St Louis, MO, EE.UU.) al que se habían añadido 30 µg/ml de extracto de pituitaria bovina (BPE) (Life Technologies, Paisley, Inglaterra), 2 % de suero de feto bovino (SVF) (Dominique Dutscher, Brumath, Francia), forbol-12-miristato-13-acetato 16 nM (Sigma), 5 µg/ml de insulina y de hidrocortisona 1,1 µM (Sigma). Los cultivos se mantuvieron en una incubadora a 37°C y en una atmósfera que contenía un 5 % de CO₂. Los cultivos puros de melanocitos se obtuvieron al cabo de 2 a 3 semanas.

Preparación de los portaobjetos e irradiación de las células

Después de un tratamiento con una mezcla de tripsina / EDTA (0,05 % / 0,02 %) durante 2 a 3 minutos, las células se recuperaron mediante centrifugación y se introdujeron en tampón PBS sin Ca^{2+} ni Mg^{2+} (Sigma). Después de una segunda centrifugación, las células (cuyo número está comprendido entre $4,5 \times 10^4$ y $5,0 \times 10^4$) se pusieron en suspensión en 0,5 % de agarosa de bajo punto de fusión, LMP (Sigma). La mezcla se depositó directamente sobre portaobjetos de microscopio revestidos de una precapa de agarosa (1,6 %) seca durante la noche a temperatura ambiente y recientemente prerrevestida con una segunda capa de agarosa (0,8 %). Finalmente, se depositó una tercera capa de agarosa LMP para atrapar a los queratinocitos.

La radiación UVA se generó mediante un aparato de irradiación UV Bio-Sun (Vilbert Lourmat, Marne la Vallée). Este aparato está provisto de lámparas monocromáticas que emiten a longitudes de onda de 365 nm. Las lámparas suministran una energía calculada mediante un radiómetro de tipo RMW-365/312 de $4,0 \text{ mW/cm}^2$ para los UVA: las energías suministradas son, por tanto, de $0,8 \text{ J/cm}^2$. Las células se irradiaron con los UVA sobre un baño de hielo, y el ensayo de cometas se realizó inmediatamente después de la exposición.

Ensayo de cometas (técnica de los portaobjetos secos)

El protocolo de ensayo de los cometas es el de De Méo y Coll (Méo M, Laget M, Castegnaro M, Duménil G.; Genotoxic activity of potassium permanganate in acidic solutions; Mutation Res. 1991; 260; 295-306) incorporando la técnica de los "portaobjetos secos" (Klaude M, Ericksson S, Nygren J, Annstrom G. The comet assay: mechanism and technical consideration. Mutation Res. 1996; 363; 89-96). Los portaobjetos se introdujeron, después de la irradiación, en un baño de lisis que contenía NaCl 2,5 M, Na_2EDTA 100 mM, Tris-HCl 10 mM pH 10, 1 % de sarcosinato de sodio, 1 % de Triton X-100 y 10 % de DMSO. La lisis celular se realiza a 4°C durante 60 min seguida por la desnaturalización del ADN a temperatura ambiente durante 20 minutos en una solución fuertemente alcalina que comprende Na_2EDTA 1 mM y NaOH 300 mM a un pH superior a 13,0. Después de electroforesis (25 V, 300 mA) durante 20 min, los portaobjetos se neutralizaron con el tampón Tris-HCl (0,4 M; pH 7,4) y se deshidrataron en etanol o metanol absoluto.

Observación al microscopio y análisis de imágenes

Los portaobjetos se tiñeron mediante una solución de bromuro de etidio, y se observaron con un microscopio de fluorescencia BH2-RFL (Olympus, Japón) provisto de un filtro dicróico 20BG-W (excitación: 515-560 nm; emisión: 590 nm) y un objetivo Apo D-Plan 20x. El análisis de imágenes se realiza con una cámara CCD monocromática de alta sensibilidad (Cohu 4912-5000) acoplada a una tarjeta de adquisición Matrox IP-8. El conjunto está controlado por el programa informático Fenestra Komet (Kinetic Imaging, Liverpool, RU, versión 3.1).

Se analizaron un total de 100 células por muestra (50 células por porta). El parámetro utilizado fue el "Olive Tail Moment" (OTM, que se ha definido como el producto del porcentaje de ADN en la cola del cometa por la longitud de esta expresada en μm). En cada conjunto de experimentos se ha incluido un control negativo (células no irradiadas) y un control positivo (células irradiadas sin filtro).

La fotoprotección interna se midió después de un tratamiento de 120 min a 37°C . La dosis de irradiación fue $0,8 \text{ J/cm}^2$ para la radiación UVA (365 nm). El ensayo de cometas se realizó inmediatamente después de la irradiación. Los controles negativos incluían melanocitos no tratados y no irradiados, así como melanocitos tratados con las dos mezclas y no irradiados. El parámetro medido era el coeficiente de protección genómica para el UVA (CPG_{UVA}).

Los resultados se resumen en la Tabla 1.

Tabla 1: Protección interna del extracto vegetal EV, 1 %

Portaobjetos n.º	Condición	Pro \pm DE	Med	OTM χ^2 \pm DE	CPG _{UVA}
1-2	NI	1,08 \pm 0,10	0,89	2,15 \pm 0,15	100 %
3-4	UVA	8,05 \pm 0,54	6,58	8,71 \pm 0,42	0 %
5-6	EV/NI	1,76 \pm 0,24	1,16	2,09 \pm 0,01	-
7-8	EV/UVA	5,86 \pm 0,38	4,95	7,49 \pm 0,26	17,7 %*

- NI: células no irradiadas.
- UVA: células irradiadas con radiación UVA ($0,8 \text{ J/cm}^2$).
- EV/NI: células tratadas directamente en el medio con el extracto vegetal (1 %) durante dos horas a 37°C .
- EV/UVA: células tratadas directamente en el medio con el extracto vegetal (1 %) durante dos horas a 37°C e irradiadas a continuación con radiación UVA ($0,8 \text{ J/cm}^2$).
- Probabilidad con:

- NS: no significativa; *: P < 0,05; **: P < 0,01; ***: P < 0,001
- Pro: promedio de OTM
- Mediana OTM: valor de la mediana del *Olive Tail Moment*
- OTM χ^2 : parámetro calculado por regresión de las distribuciones de OTM según una función χ^2 (véase: Bauer et Coll (Bauer E, Recknagel RD, Fiedler U, Wollweber L, Bock C, Greulich KO; the distribution of the tail moments in single cell electrophoresis (comet assay) obeys a chi-square (χ^2) not a gaussian distribution; Mutation Res. 1998; 398: 101-110)).
- CPG_{UVA}: coeficiente de protección genómica para el UVA

10 Los coeficientes de protección genómica (CPG_{UVA}) se calculan con la fórmula:

$$CPG = \left[1 - \frac{(\chi^2 OTM_e - \chi^2 OTM_{ce})}{(\chi^2 OTM_{c+} - \chi^2 OTM_{c-})} \right] \times 100$$

15 Para $\chi^2 OTM_e$: χ^2 OTM de la muestra; $\chi^2 OTM_{ce}$: χ^2 OTM del control no irradiado de la muestra; $\chi^2 OTM_{c-}$: χ^2 OTM del control no irradiado; $\chi^2 OTM_{c+}$: χ^2 OTM del control irradiado.

15 Cuanto mayor es el valor de CGP, mayor es la protección. Por el contrario, se cumple la inversa para el OTM.

Conclusión:

20 El CPG_{UVA} de EV es del 17,7 %, lo que demuestra claramente que los extractos solos tienen una actividad protectora del genoma con respecto a los UVA.

25 Se debe resaltar que el ensayo de cometas se realizó con respecto a los UVB, pero no fue conclusivo. Sin embargo, no es que el extracto EV esté completamente desprovisto de eficacia con respecto a los UVB; por el contrario, se demuestra en el ejemplo 4 in vivo que el extracto EV tiene actividad con respecto a los UVB, probablemente por el sesgo de otra vía distinta a la protección del genoma.

Ejemplo 2: Eficacia fotoprotectora de una mezcla de extractos peptídicos de soja y trigo utilizados junto con filtros, con respecto a los UVA

30 El objetivo de este ensayo es demostrar que el extracto EV del ejemplo 1 conserva su acción sobre el genoma con respecto a los UVA cuando está asociado a los filtros UVA y UVB de una crema solar.

35 La eficacia fotoprotectora, según el ensayo de cometas de la mezcla de extractos de acuerdo con la invención se midió según el mismo plan experimental que el del ejemplo 1.

40 La capacidad de fotoprotección interna con respecto a los UVA a 365 nm del extracto vegetal EV se midió solo y mezclado con un producto solar de SPF 15 que contiene una proporción importante de filtros UVA. (Crema Sun Trainer LST, ref: 03E.24EG31.1)

Los resultados se resumen en la Tabla 2.

45 Tabla 2: Protección interna del extracto vegetal EV, 1 % y fotoprotección del producto solar LST contra la irradiación UVA.

Portaobjetos n.º	Condición	Pro ± DE	Med	OTM χ^2 ±DE	CPG _{UVA}
1-2	NI	1,08±0,10	0,89	2,15±0,15	100 %
3-4	UVA	8,05±0,54	6,58	8,71±0,42	0 %
5-6	EV/NI	1,76±0,24	1,16	2,09±0,01	-
7-8	EV/UVA	5,86±0,38	4,95	7,49±0,26	17,7 %*
9-10	LST/UVA	3,07±0,25	2,49	4,40±0,12	65,7 %***
11-12	LST/EV/UVA	2,73±0,24	2,04	3,36±0,12	80,6 %***

- LST/UVA: 10 µl de crema Sun Trainer SPF 15 depositada sobre un porta de cuarzo (5 cm x 5 cm) después, células irradiadas con radiación UVA (1,2 J/cm²).
- LST/EV/UVA: células tratadas directamente en el medio con el extracto vegetal (1 %) durante 2 horas a 37°C después irradiadas con UVA (0,8 J/cm²) a través de un porta de cuarzo (5 cm x 5 cm) sobre el que se ha depositado un volumen de 10 µl de la crema Sun Trainer.

Conclusión:

El CPG_{UVA} del EV es del 17,7 %. El CPG_{UVA} de la fotoprotección externa del LST es del 65,7 %. La suma de la fotoprotección interna del EV (1 %) y de la fotoprotección externa del LST es del 80,6 %. Estos resultados muestran, por tanto, que el efecto fotoprotector de los extractos se mantiene incluso en presencia de los filtros UVA y UVB presentes en la crema Sun Trainer.

Ejemplo 3: determinación del SPF in vitro e in vivo de la mezcla de extractos EV del ejemplo 1 diluida al 4 % en lugar del 1 %

Se realizaron ensayos para demostrar la eficacia de los extractos peptídicos de soja y trigo descritos en la presente invención cuando se utilizan in vivo: determinación del SPF in vitro (realizado de acuerdo con el método descrito en la publicación de la revista Cosmetics and Toiletries, vol 118, N.º 10/Octubre de 2003: Determination of the in vitro SPF) y determinación del SPF in vivo (realizado de acuerdo con el método COLIPA (The European Cosmetic Toiletry and Perfumery Association), CTFA (Cosmetic, Toiletry & Fragrance Association of South Africa), JCIA (Japan Cosmetic Industry association): International Sun protection factor (SPF) Test method. febrero de 2003), con un extracto vegetal al 4 %.

La fórmula sometida a ensayo (Base + EV al 4 %) es la siguiente, y los resultados obtenidos se representan en la tabla 3.

Carbonato de dicapril (Cetiol CC)	17,00 %
acrilato Na/copolímero de acrililo Na-taurato de dimetilo isodecano polisorbato (Simulgel EG)	3,00 %
Agua	2,40 %
Péptido de trigo de acuerdo con la invención	0,15 %
Péptidos de soja de acuerdo con la invención	0,25 %
Agua, en cantidad suficiente	100 %
Conservantes (Phenonip)	0,45 %

Tabla 3

Condición	SPF in vitro	SPF in vivo
Base + EV al 4 %	1,0	16,0

El SPF o factor de protección solar es un índice que permite apreciar la eficacia de protección de un producto solar. Cuanto mayor es el SPF mejor será la protección.

El valor 1 para el SPF in vitro demuestra que el extracto no tiene ninguna actividad anti-UVA o anti-UVB sobre la piel in vitro. En cambio, se obtiene un efecto biológico del extracto vegetal in vivo que se caracteriza por un SPF de 16. Por tanto, es evidente la existencia de un efecto del extracto con respecto a las células de la piel in vivo que se activan en respuesta a la radiación UVA/UVB.

Ejemplo 4 Protección solar EV + filtro

Se realizaron ensayos para demostrar la eficacia de los extractos EV del ejemplo 1 diluidos al 1 % o 4 %: determinación del SPF in vitro (realizado de acuerdo con el método descrito en la publicación de la revista Cosmetics and Toiletries, vol 118, N.º 10/octubre de 2003: Détermination of the in vitro SPF) y determinación del SPF in vivo de acuerdo con el método anteriormente citado.

La tabla 4 ilustra los resultados obtenidos para las formulaciones que comprenden en extracto peptídico vegetal EV y un óxido mineral

Tabla 4.

Condición	SPF in vitro	SPF in vivo	Mejora proporcionada por el extracto vegetal
Base + EV al 4 %			
Óxido de titanio solo 3 %	6,1	6,4	
EV al 4 %	1,0	16,0	
Óxido de titanio 3 % + extracto EV al 1 %	6,4	10,2	59 %
Óxido de titanio 3 % + extracto EV al 4 %	5,8	25,5	298 %

Los resultados obtenidos muestran que existe una mejora sinérgica de la protección solar cuando el extracto vegetal se asocia con el óxido mineral (el SPF de cada uno de los elementos tomados independientemente es,

ES 2 609 259 T3

respectivamente, de 6.4 y 16.0, mientras que el SPF obtenido con el conjunto es de 25,5, lo que supera la suma de los SPF de ambos elementos, es decir 22,4).

- 5 Por otra parte, sabiendo que un SPF de 6 corresponde a aproximadamente un 100 % de absorción de los UVA si no hay absorción UVB, y que un SPF superior caracteriza obligatoriamente una filtración complementaria de los UVB, la tabla 3 muestra que el extracto de la invención tiene también un efecto sobre los UVB cuando se aplica in vivo.

Ejemplo 5: Composición de acuerdo con la invención a base de componentes de acción biológica (protección interna) y un filtro (protección externa)

- 10 La composición sometida a ensayo en este ejemplo comprende el núcleo de principios activos siguientes en % en peso:

Octilsalicilato de butilo (BHB)	8 %
Péptido de trigo	0,075 %
Péptidos de soja	0,125 %
Tocotrienol (oryza tocotrienol 90)	0,3 %
Creatina	0,5 %
Vit PP	0,3 %
Galato de epigallocatequina	0,05 %
EDTA	0,2 %
Fosfato de alquilo C20-22 y alcoholes C20-22 (Sensanov WR)	3,0 %
Palmitato de etilo hexilo-2-hexilo	7,0 %
Nacol16-98	1,0 %
BHT	0,1 %
Agua	70,12
NaOH	0,08 %
Copolímero de hidroxietil acrilato/acriloldimetil taurato de sodio y escualano y polisorbato 60 (Simugel NS)	3,0 %
Agua	Qsp 100

- 15 Se realizaron ensayos para demostrar la eficacia de esta fórmula: determinación del SPF in vivo de acuerdo con el mismo método que se ha indicado anteriormente.

- 20 El SPF de esta formulación es igual a 9,2 y esto, a pesar de la escasa proporción del extracto y de filtro. Esto muestra, por tanto, el efecto del conjunto de activos además del filtro, sobre las células con respecto a los UVA y UVB.

REIVINDICACIONES

1. Composición cosmética y/o dermatológica tópica que comprende:

- 5 - extractos peptídicos de soja y trigo que representan de 0,01 a 20 % del peso total de la composición,
 - creatina,

no conteniendo dicha composición el tripéptido sintético GHK (glicidil-histidil-lisina).

10 2. Composición de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada por que los extractos peptídicos de soja y de trigo representan de 0,1 a 10 % en peso, preferentemente de 0,2 a 0,7 % del peso total de la composición.

15 3. Composición de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, caracterizada por que la creatina representa entre 0,1 y 2 % en peso de la composición total.

15 4. Composición de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, caracterizada por que la relación ponderal de extracto peptídico de soja/extracto peptídico de trigo está comprendida entre 80/20 y 20/80, ventajosamente comprendida entre 70/30 y 30/70, siendo preferentemente igual a 60/40.

20 5. Composición de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, caracterizada por que los extractos peptídicos se obtienen por hidrólisis enzimática de granos de soja o de trigo mediante peptidasas, donde los péptidos obtenidos tienen un tamaño medio de 700 Daltons.

25 6. Composición de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, caracterizada por que la composición comprende además al menos un filtro solar seleccionado entre los filtros minerales, filtros orgánicos o sus mezclas.

7. Composición tópica que comprende:

- 30 - extractos peptídicos de soja y trigo,
 - creatina,

no conteniendo dicha composición el tripéptido sintético GHK (glicidil-histidil-lisina), para su uso en el tratamiento de la alteración de las células de la piel, labios, cabello y/o mucosas provocada por los UVA y los UVB.

35 8. Composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 7, caracterizada por que la composición es tal como se define en las reivindicaciones 1 a 6.