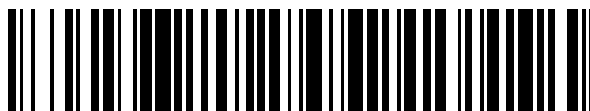


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 621 833**

51 Int. Cl.:

A61Q 19/00 (2006.01)
A61Q 19/02 (2006.01)
A61Q 19/08 (2006.01)
A61K 8/98 (2006.01)
A61K 35/68 (2006.01)
A61K 35/60 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **25.06.2012 PCT/EP2012/062253**

87 Fecha y número de publicación internacional: **27.12.2012 WO12175743**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.06.2012 E 12735240 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.01.2017 EP 2723453**

54 Título: **Métodos para la producción de una composición cosmética a partir de un fluido de eclosión de huevos de Salmonidae y usos de la misma para mejorar el aspecto cosmético de la piel**

30 Prioridad:
24.06.2011 GB 201110783

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
05.07.2017

73 Titular/es:
**AQUA BIO TECHNOLOGY ASA (100.0%)
Fornebuveien 42-44
1366 Fornebu, NO**

72 Inventor/es:
**WALTHER, BERNT TH y
LEREN, HANS KRISTIAN**

74 Agente/Representante:
ISERN JARA, Jorge

ES 2 621 833 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

Métodos para la producción de una composición cosmética a partir de un fluido de eclosión de huevos de *Salmonidae* y usos de la misma para mejorar el aspecto cosmético de la piel

5 La presente invención se refiere al uso de una composición que comprende polipéptidos o porciones de polipéptidos, que se pueden obtener a partir de fluido de eclosión de *Salmonidae*, en diversas aplicaciones para la piel. En particular, la composición es útil para alterar, preferentemente mejorar, el aspecto cosmético de la piel envejecida.

10 La piel es uno de los órganos más vulnerables del cuerpo. La piel está en constante interacción con estímulos externos, directa o indirectamente, y está expuesta frecuentemente a, y afectada por, agentes ambientales. De hecho, la piel puede ser vista como el primer punto de contacto con el mundo exterior. Esta exposición constante puede dar como resultado cambios físicos y visibles desagradables y/o indeseables para la piel, en particular para el aspecto cosmético de la piel. Aunque tales cambios no pueden amenazar la salud de un individuo, tales cambios
15 pueden ser físicamente incómodos o visiblemente desagradables. De hecho, dado que la piel es tan visible, los cambios en el aspecto de la piel pueden conducir a estrés psicológico. Por lo tanto, existe una necesidad y demanda continuas de tratamientos eficaces para mantener, restaurar o mejorar el estado de la piel, y en particular para restaurar el aspecto juvenil de la piel.

20 La piel forma el órgano más grande del cuerpo, representando aproximadamente un 12-16 por ciento del peso de una persona. Realiza muchas funciones vitales como una barrera y una influencia reguladora entre el mundo exterior y el ambiente controlado dentro de nuestros cuerpos.

25 La piel se compone de 3 capas, es decir, epidermis, dermis e hipodermis. La epidermis es la capa epitelial superior de la piel. Actúa como una barrera física, evitando la pérdida de agua del cuerpo, y evitando la entrada de sustancias y organismos en el cuerpo. Su espesor varía de acuerdo con el sitio del cuerpo.

30 La epidermis se compone de epitelio escamoso estratificado, es decir, esta se compone de capas de células aplanadas. La piel, el cabello y las uñas están queratinizados, lo que significa que tienen una superficie hidrófoba muerta y endurecida formada a partir de una proteína llamada queratina. La epidermis se hace impermeable debido a sus contenidos de lípidos extracelulares asociados con queratinocitos, especialmente en la capa media de la epidermis (estrato lúcido). Las membranas mucosas (por ejemplo, del esófago, cavidad faríngea oral, órganos reproductores y otros) están principalmente no queratinizadas y húmedas. La epidermis tiene tres tipos principales de células, es decir, queratinocitos (células cutáneas), melanocitos (células productoras de pigmento) y células de Langerhans (células inmunitarias). La célula de Merkel es una cuarta célula epidérmica, menos prevalente.
35

Los queratinocitos maduran y se diferencian con acumulación de queratina a medida que se mueven hacia el exterior. En ocasiones se caen o se retiran frotando. Forman cuatro o cinco estratos distintos, que son, desde el más superficial al más profundo: (i) el estrato córneo (capa córnea) con células duras muertas, secas, sin núcleos, (ii) el estrato granuloso (capa granular) con células que contienen gránulos basófilos y separadas hacia el exterior del estrato córneo por el estrato lúcido fino, (iii) el estrato espinoso (capa de células espinosas, con espinas o puntiagudas), en el que las células se aplanan cada vez más a medida que se mueven hacia arriba y (iv) el estrato basal (capa basal) con células regenerativas en columnas (altas).
40

45 Inmediatamente debajo de la epidermis está la membrana basal, una estructura especializada que se encuentra entre la epidermis y la dermis.

50 La dermis es el tejido conectivo fibroso o capa de soporte de la piel. Las fibras principales son fibras de colágeno y elastina que se entretajan.

La hipodermis es la capa de grasa inmediatamente debajo de la dermis y la epidermis. También se denomina tejido subcutáneo, subcutis o panículo. La hipodermis se compone principalmente de células grasas (adipocitos), nervios y vasos sanguíneos.

55 Las nuevas células epiteliales cutáneas se crean en la capa inferior de la piel, el estrato granuloso. Con el tiempo, las células migran a la superficie de la piel y se vuelven más ácidas. Durante su viaje de 30 días, mueren y se saturan con queratina. La queratina y los lípidos asociados son importantes porque protegen la piel de elementos externos.

60 Muchos factores pueden contribuir al deterioro en el aspecto cosmético de la piel incluyendo enfermedades, lesiones, factores ambientales, edad, niveles hormonales, medicamentos, materiales aplicados por vía externa o ingerida, condiciones genéticas o una combinación de éstos y otros factores. El deterioro relacionado con la edad en el aspecto cosmético de la piel es un factor universal, en particular el fotoenvejecimiento, es decir, la Dermatoheliosis. Este deterioro se puede observar en irregularidades o anomalías en la piel, que pueden aparecer como, por ejemplo, piel seca, arrugas, líneas finas, aumento de laxitud (flacidez) o alteración de la pigmentación.
65

Fotoenvejecimiento es un término usado para los cambios característicos inducidos por la exposición crónica a los rayos UVA y UVB. El deterioro de las funciones biológicas y la capacidad para controlar el estrés metabólico es una de las principales consecuencias del proceso de envejecimiento. El envejecimiento es un proceso complejo y progresivo que también conduce a cambios funcionales y estéticos en la piel.

5 El fotoenvejecimiento es un proceso de envejecimiento de la piel atribuido a la exposición continua, a largo plazo de la piel a la radiación ultravioleta (UV) de aproximadamente 245-290 nm, que puede ser de luz natural o sintética. Por lo tanto, el fotoenvejecimiento se conoce también como envejecimiento cutáneo, en particular de la cara, orejas, cuello y manos, causado por los rayos UVA y UVB.

10 La piel seca y/o con escamas es uno de los signos más comunes de envejecimiento de la piel. Aunque ciertas personas son más susceptibles a la sequedad de piel, la aparición de sequedad de piel puede afectar a cualquiera, independientemente de su edad, género o tipo de piel.

15 La piel seca aparece cuando la capa exterior de la piel (el estrato córneo con el estrato lúcido) tiene agotamiento de agua, es decir, a través de pérdida de agua transepidérmica (TEWL). Cuando esta capa está bien humedecida, esta minimiza la pérdida de agua a través de la piel y ayuda a mantener fuera los agentes irritantes, alérgenos y gérmenes. Sin embargo, cuando el estrato córneo se seca, su función protectora se reduce. Esto permite una mayor pérdida de agua, dejando la piel vulnerable a factores ambientales.

20 De forma ideal, el estrato córneo tiene un contenido de agua de un 10 % a un 30 %. Este agua imparte a la piel su textura suave, lisa y flexible, es decir, las características asociadas con el aspecto juvenil de la piel. El agua proviene de la atmósfera, las capas subyacentes de la piel y el sudor. El aceite producido por las glándulas de la piel y las sustancias grasas producidas por las células de la piel actúan como cremas hidratantes naturales, permitiendo que el estrato córneo se selle en agua.

25 El cuerpo pierde agua de la superficie de la piel continuamente por evaporación (TEWL). En condiciones normales, la tasa de pérdida es lenta, y el agua se reemplaza adecuadamente. Los signos y síntomas característicos de la piel seca se producen cuando la pérdida de agua supera el reemplazo de agua y el contenido de agua del estrato córneo disminuye por debajo de un 10 %.

30 Los agentes hidratantes que mejoran o erradican la piel seca y/o con escamas, mejorando de ese modo el aspecto cosmético de la piel, son altamente deseables. Por ejemplo, el documento WO 2011/064384 A1 desvela proteínas muy ácidas (VAP) y coriolisina L purificadas del fluido de eclosión de huevos de *Salmonidae* como agentes humectantes y exfoliantes. Aunque en la técnica se conocen muchos agentes hidratantes, sigue existiendo la necesidad de productos naturales que sean eficaces pero suaves.

35 Las células epidérmicas que presentan una pigmentación no deseada o excesiva, es decir, hiperpigmentación, por ejemplo, manchas de hígado, son otro signo común de envejecimiento de la piel. De manera tradicional la exfoliación se puede usar para eliminar células epidérmicas que son perjudiciales para el aspecto cosmético de la piel.

40 La exfoliación elimina los estratos externos de la epidermis para revelar las nuevas células de la piel por debajo. La exfoliación se puede conseguir por medios físicos (es decir, abrasión de la piel) o por medios químicos. Los exfoliantes químicos incluyen exfoliantes que contienen ácido salicílico, ácido glicólico, enzimas de frutas, ácido cítrico o ácido málico y un dermatólogo los puede aplicar en altas concentraciones, o en concentraciones bajas en productos sin receta médica. La exfoliación química puede implicar el uso de productos que contienen alfa hidroxí ácidos (AHA) o beta hidroxí ácidos (BHA), o enzimas que actúan para aflojar las sustancias similares al pegamento que mantienen las células juntas en las uniones celulares, permitiendo que se alejen. Este tipo de exfoliación está recomendada para las personas con tratamiento para el acné.

45 El mayor inconveniente de la exfoliación es el precio elevado de algunos de los productos y métodos usados para conseguirlos. La exfoliación conducirá a un cierto enrojecimiento inicial de la piel. Cerca del final de las exfoliaciones químicas, la piel se congelará, con colores que varían de un color blanco brillante a gris en la superficie de la piel.

50 De este modo, son deseables por lo tanto métodos eficaces para reducir la hiperpigmentación de la piel, que se han más suaves en la piel que la exfoliación.

55 Por lo tanto, sigue existiendo la necesidad de tratamientos adecuados para estimular el aspecto estético de la piel. En otras palabras, son deseables métodos para mejorar el aspecto cosmético de la piel. En particular, existe una demanda de métodos para restaurar el aspecto juvenil a la piel envejecida y/o combatir los signos de envejecimiento de la piel.

60 En la actualidad se ha encontrado de manera sorprendente que una composición que comprende moléculas, es decir, polipéptidos o porciones de polipéptidos, que se encuentran en el fluido de eclosión de *Salmonidae* es notablemente eficaz para mejorar el aspecto cosmético de la piel, en particular para reducir los signos o síntomas físicos asociados con el envejecimiento de la piel.

La eclosión de embriones de pescado se consigue con diversas enzimas, conocidas como enzimas de eclosión, que son capaces de degradar la cáscara de huevo proteica. Los ovocitos de todos los vertebrados tienen envolturas extracelulares características, conocidas como sacos vitalinos, cáscaras de huevo o corión, que se forman por la reticulación de diversos polipéptidos. Las proteasas con diferentes especificidades actúan en el corión para romper la cáscara del huevo y facilitar la liberación del embrión de peces. Por lo tanto, el fluido en el que el embrión de eclosiona comprende una multitud de polipéptidos y porciones de polipéptidos, es decir, productos de degradación.

De manera sorprendente se ha encontrado que las composiciones que comprenden proteínas y porciones de polipéptidos, que obtienen a partir del fluido de eclosión de *Salmonidae*, tienen efectos pronunciados en el aspecto cosmético de la piel. Aunque no desea quedar vinculado a la teoría, los Ejemplos demuestran que las composiciones que comprenden polipéptidos y porciones de polipéptidos de fluido de eclosión de *Salmonidae* son capaces de restablecer el aspecto juvenil de la piel. Se cree que la combinación de polipéptidos y porciones de polipéptidos en las composiciones definidas en el presente documento (de las que se cree que comprenden al menos 50 polipéptidos o porciones de polipéptidos diferentes) puede interactuar con diferentes tipos de proteínas presentes en la dermis y la epidermis de la piel. Se cree que la combinación de polipéptidos y porciones de polipéptidos puede funcionar en sinergia y que estas interacciones pueden ser, al menos en parte, responsables de los efectos de la composición en el aspecto cosmético/estético de la piel.

Por consiguiente, en su sentido más amplio y de acuerdo con las reivindicaciones 1 y 8, la invención se puede contemplar para proporcionar un método para producir una composición que comprende polipéptidos y porciones de polipéptidos que se pueden obtener a partir de fluido de eclosión de *Salmonidae* para su uso en, o en métodos para, transformar el aspecto estético de la piel. En otras palabras, una composición que comprende polipéptidos o porciones de polipéptidos que se pueden obtener a partir del fluido de eclosión de *Salmonidae* como se describe en el presente documento para uso en, o en métodos para, mejorar el aspecto cosmético de la piel. En un aspecto particularmente preferente, se puede considerar que la invención proporciona una composición que comprende polipéptidos o porciones de polipéptidos que se pueden obtener a partir del fluido de eclosión de *Salmonidae* como se describe en el presente documento para uso en, o en métodos para, restaurar el aspecto juvenil de la piel envejecida y/o combatir los signos de envejecimiento cutáneo. La composición a la que se ha hecho referencia anteriormente también se denomina en el presente documento "extracto de fluido de eclosión de *Salmonidae*". Además de polipéptidos y porciones de polipéptidos, dicho extracto puede comprender material nativo no proteico.

A partir de las siguientes divulgaciones será evidente que, una composición que comprende polipéptidos o porciones de polipéptidos que se pueden obtener a partir de fluido de eclosión de *Salmonidae*, como se describe en el presente documento, se puede proporcionar como una composición cosmética, que comprende uno o más excipientes y/o diluyentes farmacéuticamente aceptables.

Por lo tanto, en un aspecto la presente invención proporciona un método para preparar una composición cosmética como se describe en el presente documento a partir de fluido de eclosión de *Salmonidae* (por ejemplo, fluido de eclosión de salmón) que comprende al menos las etapas de:

- a) suspender huevos de *Salmonidae* en un volumen mínimo de agua (por ejemplo, equivalente al volumen de los huevos o inferior);
- b) inducir una eclosión rápida, sincronizada de dichos huevos (preferentemente de modo que la eclosión se complete en menos de 2 horas para más de un 95 % de los embriones);
- c) opcionalmente filtrar los huevos eclosionados para obtener fluido de eclosión; y
- d) filtrar el fluido de eclosión para obtener el polipéptido y/o composición, en el que la etapa de filtrar el fluido de eclosión comprende al menos las etapas de:

- (i) filtrar el fluido de eclosión usando un filtro con un tamaño de poro de al menos 5 μm , preferentemente 5-15 μm , y de forma particularmente preferente un tamaño de poro de 7 μm , y recoger el filtrado;
- (ii) filtrar el filtrado de la etapa (i) usando un filtro con un tamaño de poro de 0,30-0,60 μm , preferentemente un tamaño de poro de 0,35-0,55 μm , de forma particularmente preferente 0,40-0,50 μm , lo más preferentemente 0,45 μm , y recoger el filtrado;
- (iii) intercambiar el agua en el filtrado de la etapa (ii) con un tampón farmacéuticamente aceptable realizando diafiltración usando un filtro con un tamaño de exclusión de menos de 15 kDa;
- (iv) opcionalmente repetir la etapa de diafiltración de la etapa (iii);
- (v) opcionalmente diluir la solución de la etapa (iii) o (iv) de modo que la solución tenga una actividad enzimática de 3000-5000 mU/l, medida por la capacidad de la solución para escindir la sustancia cromogénica del Factor X_a (CH₃OCO-D-CHA-Gly-Arg-pNA-AcOH);
- (vi) filtrar la solución obtenida a partir de la etapa (iii), o (iv) o (v) usando un filtro con un tamaño de poro de 0,15-0,30 μm , preferentemente un tamaño de poro de 0,22 μm y recoger el filtrado; y
- (vii) preparar dicha composición cosmética a partir del filtrado de la etapa (vi).

La etapa de intercambiar el agua en el filtrado se realiza usando diafiltración usando un filtro con un tamaño de exclusión de menos de 15 kDa, preferentemente 10 kDa o inferior, por ejemplo 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 kDa o inferior.

La diafiltración usa membranas de ultrafiltración para retirar por ejemplo sales u otros microsolutos que no se quieren o no se desean a partir de una solución o como un medio para intercambiar el disolvente, por ejemplo tampón, de una solución. Las moléculas pequeñas se separan a partir de una solución a la vez que se retienen moléculas más grandes en la fracción retenida (el material que no pasa a través del filtro). Los microsolutos y disolventes, por ejemplo agua, por lo general se lavan fácilmente a través de la membrana. Por lo general aproximadamente 3 volúmenes de disolvente de diafiltración eliminarán un 95 % del microsolutos. Por lo tanto, el filtrado de la etapa (ii) mencionado anteriormente se procesa inicialmente por diafiltración y esto da como resultado la concentración de la fracción retenida como una proporción de la solución (que contiene las impurezas solubles/fracción no deseada del fluido de eclosión) que pasa a través de la membrana. A continuación, la fracción retenida se diluye con un tampón farmacéuticamente aceptable, por ejemplo Fosfato sódico 0,5 mM y Cloruro sódico 1 mM, solución salina tamponada con fosfato, etc. La fracción retenida diluida se puede someter a rondas repetidas de diafiltración, si fuera necesario. Por lo general, antes de la etapa (iv) la fracción retenida se diluye de modo que el filtrado de la etapa (iv) tiene una actividad enzimática de 3000-5000 mU/l, preferentemente 3000-4000 mU/l y lo más preferentemente aproximadamente 3400 mU/l. La actividad enzimática del filtrado se puede medir por la capacidad de la solución para escindir el sustrato cromogénico del Factor X_a (CH₃OCO-D-CHA-Gly-Arg-pNA-AcOH, número de producto de Sigma Aldrich: F3301-25MG). Antes de la etapa de diafiltración, el fluido de eclosión puede comprender una actividad enzimática en el intervalo de 10 a 150.000 mU/l.

El sustrato cromogénico del Factor X_a (Sigma-Aldrich) se extinguen mediante una enzima presente en el fluido de eclosión proporcionando un producto de color amarillo que se puede medir de forma conveniente usando análisis espectrofotométrico, a una longitud de onda de 405 nm. Un ensayo habitual comprende la adición de 100 µl de solución de fluido de eclosión, que se puede obtener a partir de la etapa (iii) del método mencionado anteriormente, a 600 µl de solución de sustrato, que comprende 10 µl de sustrato cromogénico del Factor X_a (10 mg/ml), 70 µl de Tris-HCl 0,2 M a pH 8,5 y 520 µl de dH₂O. De forma conveniente, el cambio de absorbancia se puede medir durante 5-20 minutos, por lo general 10 minutos. El resultado se multiplica con un factor apropiado, por ejemplo 10 (para un ensayo de 10 minutos) para obtener la actividad enzimática por 1 ml de muestra. Para determinar la actividad del fluido de eclosión se pueden usar otros sustratos apropiados y equivalentes.

La eclosión sincronizada se puede conseguir mediante cualquier método adecuado conocido en la técnica. Por ejemplo, los huevos se pueden sincronizar usando fotomanipulación, por ejemplo transferencia de huevos de la luz (que inhibe la eclosión) a condiciones sin luz. La manipulación de la temperatura de la solución, mediante desoxigenación (Oppen-Berntsen *et al.*, 1990, Aquaculture, 86, pp. 417-430), y estimulación usando electricidad también se puede usar para producir la eclosión sincronizada. Como se ha indicado anteriormente, un volumen mínimo de agua puede ser equivalente al volumen de huevos o inferior, por ejemplo para cada 1 ml de huevos se puede usar un líquido de suspensión ≤ 1, 0,75, 0,5, 0,25 ml, por ejemplo de 0,5 a 1 ml.

El método para preparar una composición cosmética descrita anteriormente da como resultado una preparación enriquecida que de manera sustancial está preferentemente libre de cualquier componente contaminante obtenido a partir del material de fuente o material usado en el procedimiento de aislamiento, por ejemplo componentes distintos de los polipéptidos o porciones de polipéptidos comprendidos en el fluido de eclosión sin procesar. En una realización preferente, la composición se puede enriquecer hasta un grado de pureza de más de un 30, 40, 50 o 60 %, por ejemplo > 70, 80 o un 90 %, de pureza tal como se evalúa en p/p (peso seco) de los polipéptidos y porciones de polipéptidos en comparación con el fluido de eclosión de partida, es decir, una pureza de un 90 % se refiere a una pérdida de un 90 % del material de partida (componentes contaminantes) durante el transcurso del método de preparación. Sin embargo, se pueden usar composiciones que tengan una pureza menor, por ejemplo, que retengan más de un 40, 50, 60, 70, 80 o un 90 % del material de partida.

Aunque el propio filtrado forma la composición cosmética, opcionalmente el producto (el filtrado de la etapa (vi)) obtenido o que se puede obtener a partir del método mencionado anteriormente se puede diluir (o concentrar) hasta una concentración apropiada antes de su uso en los métodos y usos de la invención. Por lo tanto, el método puede comprender una etapa adicional de diluir (o concentrar) la composición. Preferentemente, el filtrado se puede diluir (o concentrar) mediante un factor de al menos 1,5, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 50, 100, 1000, 5000 o 10000. En una realización particularmente preferente, la solución de la etapa (iii) del método mencionado anteriormente se diluye o se concentra para conseguir una solución con una actividad enzimática de 1000-10000 mU/l tal como se mide con el método que se ha descrito anteriormente. Preferentemente, la solución, y por lo tanto el filtrado de la etapa (iv) comprende una actividad de 2000-10000, 3000-9000, 3000-7000, 3000-6000, 3000-5000 o 3000-4000 mU/l. Más preferentemente la solución comprende una actividad de aproximadamente 3400 mU/l.

Opcionalmente, uno o más excipientes y/o diluyentes farmacéuticamente aceptables se pueden añadir al producto obtenido o que se puede obtener a partir del método mencionado anteriormente. Por lo tanto, el método puede comprender una etapa adicional de añadir uno o más excipientes y/o diluyentes farmacéuticamente aceptables a la composición o combinar la composición con uno o más excipientes y/o diluyentes farmacéuticamente aceptables. Las etapas alternativas o adicionales del método de preparación incluyen cambiar o modificar el disolvente, por ejemplo, pH, concentración iónica, etc.

Otros componentes o ingredientes farmacéuticamente aceptables se pueden añadir al producto obtenido o que se

5 puede obtener a partir del método mencionado anteriormente. El uno u otros componentes más pueden ser componentes activos, es decir, componentes que tienen un efecto en la piel, preferentemente que también actúan para transformar el aspecto estético de la piel o mejorar el aspecto cosmético de la piel, por ejemplo en las indicaciones cosméticas que se describen en el presente documento. Por lo tanto, como alternativa o
 10 adicionalmente, el método puede comprender una etapa adicional de añadir uno o más componentes activos farmacéuticamente aceptables a la composición o combinar la composición con uno o más componentes activos farmacéuticamente aceptables. Los componentes activos farmacéuticamente aceptables pueden incluir minerales, vitaminas, enzimas, proteínas, péptidos, aminoácidos, lípidos, antioxidantes, polisacáridos, sustancias adecuadas como filtros de pantalla solar, exfoliantes químicos, extractos y mezclas de los mismos, como se describe con más
 15 detalle a continuación.

La composición cosmética obtenida o que se puede obtener a partir de los métodos mencionados anteriormente es adecuada para su uso en los métodos de la invención, como se describe en cualquier parte en el presente documento. En particular, la composición cosmética es para su uso para mejorar el aspecto cosmético en la piel en
 20 un animal mamífero.

La invención también proporciona un método para mejorar el aspecto cosmético de la piel de un animal mamífero en el que una composición cosmética como se ha definido anteriormente se administra a dicho animal.

20 Un aspecto adicional de la invención es el uso de una composición cosmética como se ha definido anteriormente en la preparación de un medicamento para mejorar el aspecto cosmético de la piel de un animal mamífero.

Los "polipéptidos", como se denominan en el presente documento, son moléculas preferentemente con más de 50, 100, 150, 200 o 250 restos y/o menos de 500, 400, 300, 200 o 100 restos o un intervalo seleccionado a partir de los
 25 mismos. Como se denomina en el presente documento, una "porción" comprende preferentemente al menos 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240 o más aminoácidos de la secuencia a partir de la que se obtiene. Dicha porción se puede obtener a partir de una porción central o porciones N-terminales o C-terminales de la secuencia.

30 Las composiciones, como se define en el presente documento, se pueden obtener a partir de cualquier huevo de *Salmonidae*, que se pueden visualizar como variaciones biológicas naturales del material de partida. Los huevos de *Salmonidae* particularmente preferentes son los de las subfamilias *Salmo* y *Oncorhynchus*. Un material de partida especialmente preferente para el método descrito anteriormente son los huevos de salmón del Atlántico (*Salmo salar*) o salmón del Pacífico (*Oncorhynchus masou*).
 35

Las composiciones cosméticas que se describen en el presente documento son para su uso *in vivo* como se discute en el presente documento.

40 Por "farmacéuticamente aceptable" o "fisiológicamente aceptable" se hace referencia a que el ingrediente debe ser adecuado para aplicación y composiciones cosméticas. Los ingredientes también deben ser compatibles con otros ingredientes en la composición así como fisiológicamente aceptables para el receptor.

45 El principio activo, es decir, la composición que se puede obtener con el método descrito anteriormente, para su administración se puede modificar de manera apropiada para su uso en una composición cosmética. Por ejemplo la composición usada de acuerdo con la invención se puede estabilizar frente a la degradación, por ejemplo, con el uso de aditivos apropiados tales como sales o no electrolitos, acetato, SDS, EDTA, tampones citrato o acetato, manitol, glicina, HSA o polisorbato.

50 Las composiciones obtenidas con los métodos que se describen en el presente documento pueden estar presentes en las composiciones para los usos cosméticos como el único principio activo o se pueden combinar con otros ingredientes, en particular otros principios activos, por ejemplo para aumentar el efecto cosmético (como se ha descrito anteriormente) o para hacer que la composición sea más atractiva para el consumidor.

55 Como se ha mencionado anteriormente, las composiciones que se describen en el presente documento presentan propiedades que son útiles para mejorar el aspecto cosmético de la piel, en particular de la piel envejecida, por ejemplo piel fotoenvejecida.

60 La composición descrita en el presente documento también puede comprender impurezas, por ejemplo después de la preparación de dicha composición a partir de uno de las fuentes naturales descritas anteriormente. En las composiciones que se describen en el presente documento, los diversos polipéptidos o porciones de polipéptidos que se pueden obtener a partir de fluido de eclosión de *Salmonidae* pueden estar presentes (en combinación) en el intervalo de un 0,0001 a un 50 % p/p de la composición cosmética preparada de acuerdo con el método que se ha descrito anteriormente. Preferentemente dichos polipéptidos o porciones de polipéptidos que se pueden obtener a
 65 p/p de la composición cosmética (o hasta un 10-40 %), por ejemplo de un 0,0001 a un 5 %, de un 0,0001 a un 3 %, de un 0,0001 a un 2 %, de un 0,0001 a un 1 %, de un 0,0001 a un 0,5 %, de un 0,0001 a un 0,1 % p/p de la

composición cosmética preparada de acuerdo con el método mencionado anteriormente o son como se describe en lo sucesivo en el presente documento, por ejemplo después de su dilución. Por consiguiente, los polipéptidos o porciones de polipéptidos individuales que se pueden obtener a partir de fluido de eclosión de *Salmonidae* pueden estar presentes en el intervalo de un 1×10^{-6} a un 10 % p/p de la composición cosmética. En algunas realizaciones dichos polipéptidos o porciones de polipéptidos individuales que se pueden obtener a partir de fluido de eclosión de *Salmonidae* pueden estar presentes en el intervalo de un 1×10^{-6} a un 5 % p/p de la composición cosmética, por ejemplo de un 1×10^{-6} a un 4 %, de un 1×10^{-6} a un 3 %, de un 1×10^{-6} a un 2 %, de un 1×10^{-6} a un 1 %, de un 1×10^{-6} a un 0,5 %, de un 1×10^{-6} a un 0,1 % o de un 1×10^{-6} a un 0,01 % p/p de la composición cosmética.

La proporción de los polipéptidos o porciones de polipéptidos que se pueden obtener a partir de fluido de eclosión de *Salmonidae* en las composiciones cosméticas se pueden definir con respecto a los otros solutos en la composición, es decir, excluyendo disolventes, por ejemplo agua. Por lo tanto, dichos polipéptidos o porciones de polipéptidos, en combinación, pueden estar presentes en el intervalo de un 1-100 % en p/p de la masa seca de la composición. En algunas realizaciones los polipéptidos o porciones de polipéptidos, en combinación, pueden estar presentes en el intervalo de un 1-90 % p/p de la masa seca de la composición, por ejemplo 5-80 %, 10-70 %, 20-60 %, 30-50 % p/p de la masa seca de la composición. En otras realizaciones the polipéptidos o porciones de polipéptidos, en combinación, pueden estar presentes en el intervalo de un 1-40 %, 2-39 %, 3-38 %, 4-37 % etc., en p/p de la masa seca de la composición. Por lo tanto, los polipéptidos o porciones de polipéptidos individuales pueden estar presentes en el intervalo de un 0,0001 a un 50 % p/p de la masa seca de la composición, por ejemplo de un 0,0001 a un 40 %, de un 0,001 a un 30 %, de un 0,01 a un 25 % p/p de la masa seca de la composición. Como se describe en lo sucesivo en el presente documento, la composición se puede diluir para su uso de acuerdo con la invención.

Aunque la invención se refiere a métodos para mejorar el aspecto cosmético de la piel, éstos pueden incluir el tratamiento de un trastorno, anomalía o afección, pero en todos los casos el tratamiento tiene una naturaleza cosmética.

Como se denomina en el presente documento, "cosmético" pretende hacer referencia a un tratamiento que no cura, trata o previene una enfermedad o trastorno, sino que en su lugar sirve como un producto para el cuidado de la piel o para modificar o mejorar el aspecto de la piel, por ejemplo el color, textura o contenido de humedad de la piel.

La base de los tratamientos que se describen en el presente documento es los efectos de antienvjecimiento de la piel de la composición cosmética como se desvela en el presente documento. Estos efectos se han mostrado en los Ejemplos proporcionados en el presente documento.

Por lo tanto, se contemplan tratamientos basados en las propiedades antienvjecimiento de la composición cosmética.

Por lo tanto la invención proporciona un método cosmético para mejorar el aspecto de la piel de un animal mamífero, en el que una composición cosmética como se ha descrito anteriormente en el presente documento, se administra a dicho animal.

En una realización particularmente precedente, la piel es piel envejecida.

"Piel envejecida" se refiere a piel que presenta uno o más signos o síntomas de envejecimiento, es decir, la aparición de arrugas, líneas finas, hiperpigmentación, laxitud (flacidez), piel seca, formación de escamas o pérdida de agua transepidermica (TEWL). En particular, la "piel envejecida" se determina con respecto a la piel óptima normal, es decir, piel sana, hidratada, normalmente cimentada y no envejecida. En este sentido, no es necesario que la piel envejecida se relacione con la edad del sujeto y se puede envejecer de manera prematura, por ejemplo mediante exposición crónica a la luz solar (daño por la luz solar). Por lo tanto, los parámetros relativos para "piel óptima normal" se pueden determinar como las mediciones promedio de los signos de envejecimiento mencionados anteriormente a partir de un número de sujetos de la misma edad similar con respecto al sujeto en cuestión, por ejemplo sujetos que no han recibido exposición crónica a la luz solar. Como alternativa, los parámetros relativos para "piel óptima normal" se pueden tomar como las mediciones a partir de los sujetos que son más jóvenes que el sujeto en cuestión. En otras palabras, la composición que se describe en el presente documento se puede usar para restablecer el aspecto juvenil de la piel, con respecto a la piel del sujeto a una edad más temprana.

Por lo tanto, la invención proporciona un método cosmético para el tratamiento de dermatoheliosis en un animal mamífero en el que una composición cosmética, como se ha descrito anteriormente en el presente documento, se administra a dicho animal, preferentemente en el que dicha composición se administra por vía tópica.

Visualizado de forma alternativa, la invención proporciona una composición cosmética como se ha descrito anteriormente en el presente documento para su uso en el tratamiento de dermatoheliosis en un animal mamífero, preferentemente en el que dicha composición cosmética estará su administración a la piel de dicho animal. En una realización en particular, la composición es para administración por vía tópica.

En una realización particularmente preferente, la mejora del aspecto cosmético de la piel (por ejemplo, piel

envejecida o dañada por la luz solar) implica una reducción o prevención en el aspecto cosmético o predominio de arrugas, líneas finas, hiperpigmentación, laxitud, piel seca, formación de escamas y/o pérdida de agua transepidérmica. Uno o más de estos parámetros se puede mejorar. Preferentemente, las líneas finas y/o arrugas se reducen.

5 La reducción o prevención en el aspecto cosmético o predominio de los signos o síntomas de, por ejemplo, piel envejecida o dermatoheliosis, puede significar que existe una reducción en el número y/o la gravedad del signo o síntoma. Por ejemplo, el número de líneas finas y arrugas se puede reducir y/o el tamaño, por ejemplo la profundidad, de las arrugas o líneas finas se puede reducir o minimizar. Además, la reducción o prevención puede implicar detener o reducir la tasa de aparición de nuevos signos o síntomas.

10 "Piel seca", como se denomina en el presente documento se refiere a una epidermis que carece de humedad o sebo, a menudo caracterizada por un patrón de líneas finas, formación de escamas y una sensación de picor y/o ardor. La piel seca puede ocurrir como una afección de la piel en sí misma (por ejemplo, debido a la edad) o puede ser el síntoma de un trastorno o afección de la piel tales como daño solar.

15 En este sentido, la reducción de piel seca, formación de escamas, líneas finas o pérdida de agua transepidérmica se puede conseguir mediante los efectos hidratantes de la composición que se ha descrito anteriormente.

20 Por lo tanto, se puede contemplar que la invención proporciona un método cosmético para hidratar la piel de un animal mamífero, en el que una composición cosmética, como se define en el presente documento, se administra a dicho animal.

25 Como se indica de forma alternativa, la presente invención proporciona una composición cosmética como se describe en el presente documento para su uso para hidratar la piel de un animal mamífero. (Como alternativa, la composición se puede usar para preparar un medicamento cosmético para ese fin).

30 "Hidratante", como se menciona en el presente documento, abarca agentes hidratantes que evitan la pérdida de agua de la piel, (por ejemplo, TEWL) así como agentes hidratantes (humectantes) que atraen y retienen agua cuando se aplican a la piel y emolientes (que mejoran la descamación defectuosa).

35 Como se ha mencionado anteriormente, tales propiedades hidratantes son ventajosas para mejorar el aspecto cosmético de la piel. En una realización particularmente preferente, la piel es la piel de la cara, orejas, cuello, manos o cuero cabelludo.

40 Las "arrugas" son pliegues, pliegues epidérmicos o rayas en la piel. Por lo general, las arrugas de la piel aparecen como resultado de procesos de envejecimiento. En este sentido, la dermis comprende muchos de los elementos estructurales de la piel, que incluyen colágeno, da a la piel su fuerza, glicosaminoglicanos que dan a la piel su turgencia, y fibras de elastina que dan a la piel su elasticidad o recuperación.

45 A medida que la piel envejece, la capa dérmica se hace más delgada y la piel también produce menos colágeno. Además, las fibras de elastina que proporcionan elasticidad se desgastan. Estos cambios en el andamiaje de la piel hacen que la piel se arruque y se vuelva flácida. Las crestas interpapilares de la unión dermo-epidérmica se aplanan, haciendo la piel más frágil y haciendo más fácil que la piel se desgarre. Este proceso también disminuye la cantidad de nutrientes disponibles para la epidermis al disminuir el área superficial en contacto con la dermis, interfiriendo también con el proceso de reparación normal de la piel.

50 En la capa subcutánea las células adiposas se vuelven más pequeñas con la edad. Esto conduce a arrugas y flacidez (laxitud) más perceptibles, ya que las células adiposas no pueden "reemplazar" el daño de las otras capas.

55 La exposición a radiación UVA y UVB, es decir luz solar, hace que el colágeno se descomponga a una tasa más elevada que simplemente el envejecimiento cronológico. La luz del sol daña las fibras de colágeno y provoca la acumulación anómala de elastina. Cuando esta elastina inducida por el sol se acumula, las metaloproteinasas de matriz (MMP) se producen en grandes cantidades. Normalmente, las metaloproteinasas remodelan la piel lesionada por el sol fabricando y reformando el colágeno. Sin embargo, este proceso no siempre funciona bien y algunas de las metaloproteinasas realmente rompen el colágeno. Esto da como resultado la formación de fibras de colágeno desorganizadas conocidas como cicatrices solares. La repetición de este proceso imperfecto de reconstrucción/regeneración hace que se produzcan arrugas y laxitud de la piel.

60 En otro aspecto preferente adicional, la afección cutánea a tratar o prevenir cosméticamente es una afección, trastorno o anomalía de la pigmentación.

65 Los trastornos o anomalías de pigmentación de la piel, es decir hiperpigmentación, se pueden producir como resultado de la edad o pueden resultar del envejecimiento prematuro debido por ejemplo al daño por el sol. La alteración de la pigmentación puede resultar de un exceso local de melanocitos o de aumentos en la actividad de los melanocitos, o ambos. Los trastornos de pigmentación incluyen manchas de hígado, sol o edad (lentigo solar) y

otras manchas tales como pecas.

Como se denomina en el presente documento, la "mejora" del aspecto cosmético de la piel se determina en relación con la piel óptima normal, es decir piel sana, hidratada, normalmente pigmentada y no envejecida. Por lo tanto, con respecto a la piel envejecida, uno o más de los signos o síntomas de envejecimiento se puede medir como se describe en los Ejemplos y comparado con los mismos signos de piel que es cronológica o fisiológicamente más joven, preferentemente cuando una mejora es la reducción en uno o más de los signos o síntomas de envejecimiento.

10 En un aspecto preferente, los usos cosméticos se consiguen mediante administración tópica a la piel.

Como se usa en el presente documento, "tratar" se refiere a la reducción, alivio o eliminación, preferentemente a niveles normales, de uno o más de los síntomas o efectos cosméticos de dicha afección o trastorno, por ejemplo presencia o extensión de piel seca, extensión o área de pigmentación, etc., con respecto a los síntomas o efectos presentes en una parte diferente del cuerpo de dicho individuo en el que la piel no sufre dicho estado o trastorno y no está sometida a dicho tratamiento o en un individuo normal no sometido a dicho tratamiento.

"Prevenir" o "reducir" se refiere a prevención absoluta, o reducción o alivio del alcance o sincronización (por ejemplo, retraso) de la aparición de ese síntoma o efecto. Por ejemplo, las afecciones tipificadas como piel seca, pigmentada de forma anómala y arrugada se pueden prevenir mediante la aplicación regular de las composiciones cosméticas que se describen en el presente documento antes de la aparición de tal afección.

Los métodos cosméticos de tratamiento o prevención de acuerdo con la invención se pueden combinar de forma ventajosa con la administración de uno o más principios activos que son eficaces para tratar o prevenir los trastornos o afecciones y/o para conseguir, por ejemplo, hidratación. Por lo tanto, las composiciones cosméticas descritas en el presente documento pueden contener adicionalmente uno o más de tales principios activos.

De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, los inventores proporcionan composiciones como se define en el presente documento y opcionalmente uno o más principios activos adicionales como una preparación combinada para el uso simultáneo, separado o secuencial en terapia animal de seres humanos o mamíferos, como se describe en el presente documento.

Las composiciones que se describen en el presente documento se pueden formular de manera convencional con uno o más vehículos, excipientes y/o diluyentes fisiológicamente aceptables, de acuerdo con técnicas bien conocidas en la técnica usando ingredientes fácilmente disponibles.

Por lo tanto, las composiciones se pueden incorporar, opcionalmente junto con otras sustancias activas como una preparación combinada, con uno o más vehículos, diluyentes y/o excipientes convencionales, para producir preparaciones galénicas convencionales tales como polvos, bolsitas, obleas, elixires, suspensiones (fluidos de infusión), emulsiones, soluciones, jarabes, aerosoles (en forma de un sólido o en un medio líquido), pomadas, polvos envasados estériles, y similares. Las composiciones se pueden estabilizar mediante el uso de liofilización, subenfriamiento o Permazyme.

Los excipientes, vehículos o diluyentes adecuados son lactosa, dextrosa, sacarosa, sorbitol, manitol, almidones, goma arábiga, fosfato cálcico, carbonato cálcico, lactosa cálcica, almidón de maíz, alginatos, tragacanto, gelatina, silicato cálcico, celulosa microcristalina, polivinilpirrolidona, celulosa, jarabe acuoso, agua, agua/etanol, agua/glicol, agua/polietileno, glicol, propilenglicol, metil celulosa, metilhidroxibenzoatos, propil hidroxibenzoatos, talco, estearato de magnesio, aceite mineral o sustancias grasas tales como grasa dura o mezclas adecuadas de los mismos. Para obtener formulaciones de liberación sostenida también se pueden usar agentes, tales como carboxipolimetileno, carboximetil celulosa, acetato ftalato de celulosa, o acetato de polivinilo.

Las composiciones pueden incluir adicionalmente agentes lubricantes, agentes humectantes, agentes emulgentes, agentes que aumentan la viscosidad, agentes de granulación, agentes disgregantes, agentes aglutinantes, agentes activos osmóticos, agentes de suspensión, agentes conservantes, agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, potenciadores de la adsorción (por ejemplo, agentes penetrantes de superficie, por ejemplo sales biliares, lecitinas, tensioactivos, ácidos grasos, quelantes), agentes de oscurecimiento, disolvente orgánico, antioxidante, agentes estabilizantes, emolientes, silicona, alfa-hidroxiácido, demulcente, agente antiespumante, agente hidratante, vitamina, fragancia, espesantes iónicos o no iónicos, tensioactivos, agentes de carga, espesante iónico o no iónico, secuestrante, polímero, propulsor, agente alcalinizante o acidificante, opacificante, agentes colorantes y compuestos grasos y similares. Algunos de estos componentes se describen con más detalle a continuación.

Otros principios o componentes activos en la composición cosmética se pueden seleccionar a partir de uno cualquiera o más de minerales, vitaminas, enzimas, proteínas, péptidos, aminoácidos, lípidos, polisacáridos, sustancias adecuadas como filtros de pantalla solar, exfoliantes químicos, extractos, agentes acondicionadores de la piel, antioxidantes y mezclas de los mismos.

Los ejemplos de proteínas que se pueden combinar con la composición de la invención incluyen colágeno y/o un derivado del mismo (por ejemplo, porciones del mismo como se ha definido anteriormente), una proteína o péptido que es capaz de estimular el crecimiento celular, glicoproteína 1, glicoproteína 2 y laminina.

5 La composición de la invención se puede combinar con enzimas que incluyen, pero no se limitan a, uno cualquiera o más de, enzimas de frutas (por ejemplo, bromelaina), superóxido dismutasa, peroxidasa, hialuronidasa y mucopolisacaridasa.

10 Los péptidos se pueden seleccionar, pero no se limitan a, entre uno cualquiera o más de D,L-carnosina, D-carnosina, L-carnosina, anserina y Matrixyl (derivado pentapeptídico).

15 Los aminoácidos se pueden seleccionar entre, pero no se limitan a, uno cualquiera o más de L-alanina, L-arginina, L-asparagina, ácido L-aspártico, L-cisteína, L-cistina, glicina, L-glutamina, ácido L-glutámico, L-histidina, L-iso-leucina, L-leucina, L-lisina, L-metionina, L-fenilalanina, L-prolina, L-serina, L-treonina, L-triptófano, L-tirosina, y L-valina y derivados de los mismos incluyendo aminoácidos de origen no natural como se define en la Tabla 1. Los aminoácidos particularmente preferentes como antioxidantes se pueden seleccionar entre uno o más de glicina, lisina, arginina, cisteína, cistina, histidina, tirosina y triptófano.

TABLA 1

Aminoácido no convencional	Código	Aminoácido no convencional	Código
ácido α -aminobutírico	Abu	L-N-metilalanina	Nmala
α -amino- α -metilbutirato	Mgabu	L-N-metilarginina	Nmarg
aminociclopropano-carboxilato	Cpro	L-N-metilasparagina	Nmasn
ácido aminoisobutírico	Aib	ácido L-N-metil aspártico	Nmasp
aminonorbornil-carboxilato	Norb	L-N-metilcisteína	Nmcys
ciclohexilalanina		L-N-metilglutamina	Nmgln
ciclopentilalanina	Cpen	ácido L-N-metilglutámico	Nmglu
D-alanina	Dal	Chexa L-N-metilhistidina	Nmhis
D-arginina	Darg	L-N-metilisoleucina	Nmile
ácido D-aspártico	Dasp	L-N metilleucina	Nmleu
D-cisteína	Dcys	L-N-metillisina	Nmlys
D-glutamina	Dgln	L-N-metilmetionina	Nmmet
ácido D-glutámico	Dglu	L-N-metilnorleucina	Nmnle
D-histidina	Dhis	L-N-metilnorvalina	Nmnva
D-iso-leucina	Dile	L-N-metilornitina	Nmorn
D-leucina	Dleu	L-N-metilfenilalanina	Nmphe
D-lisina	Dlys	L-N-metilprolina	Nmpro
D-metionina	Dmet	L-N-metilserina	Nmser
D-ornitina	Dorn	L-N-metiltreonina	Nmthr
D-fenilalanina	Dphe	L-N-metiltryptófano	Nmtrp
D-prolina	Dpro	L-N-metiltirosina	Nmtyr
D-serina	Dser	L-N-metilvalina	Nmval
D-treonina	Dthr	L-N-metiletilglicina	Nmetg
D-triptófano	Dtrp	L-N-metil-t-butilglicina	Nmtbug
D-tirosina	Dtyr	L-norleucina	Nle
D-valina	Dval	L-norvalina	Nva
		α -metil-aminoisobutirato	Maib
		α -metil- γ -aminobutirato	Mgabu

ES 2 621 833 T3

Aminoácido no convencional	Código	Aminoácido no convencional	Código
D- α -metilalanina	Dmala	α -metilciclohexilalanina	Mchexa
D- α -metilarginina	Dmarg	α -metilcyclopentilalanina	Mcpen
D- α -metilasparagina	Dmasn	α -metil- α -naftilalanina	Manap
D- α -metilaspartato	Dmasp	α -metil penicilamina	Mpen
D- α -metilcisteína	Dmcys	N-(4-aminobutil)glicina	Nglu
D- α -metilglutamina	Dmgln	N-(2-aminoetil)glicina	Naeg
D- α -metilhistidina	Dmhis	N-(3-aminopropil)glicina	Norn
D- α -metilisoileucina	Dmile	N-amino- α -metilbutirato	Nmaabu
D- α -metilleucina	Dmleu	α -naftilalanina	Anap
D- α -metillisina	Dmlys	N-bencilglicina	Nphe
D- α -metilmetionina	Dmmet	N-(2-carbamiletil)glicina	Ngln
D- α -metilornitina	Dmorn	N-(carbamilmetil)glicina	Nasn
D- α -metilfenilalanina	Dmphe	N-(2-carboxietil)glicina	Nglu
D- α -metilprolina	Dmpro	N-(carboximetil)glicina	Nasp
D- α -metilserina	Dmser	N-ciclobutilglicina	Ncbut
D- α -metiltreonina	Dmthr	N-cicloheptilglicina	Nchep
D- α -metilriptófano	Dmtrp	N-ciclohexilglicina	Nchex
D- α -metiltirosina	Dmty	N-ciclodecilglicina	Ncdec
D- α -metilvalina	Dmval	N-ciclododecilglicina	Ncdod
D-N-metilalanina	Dnmala	N-ciclooctilglicina	Ncoct
D-N-metilarginina	Dnmarg	N-ciclopropilglicina	Ncpro
D-N-metilasaragina	Dnmasn	N-cicoundecilglicina	Ncund
D-N-metilasarpartato	Dnmasp	N-(2,2-difeniletil)glicina	Nbhm
D-N-metilcisteína	Dnmcys	N-(3,3-difenilpropil)glicina	Nbhe
D-N-metilglutamina	Dnmgln	N-(3-guanidinopropil)glicina	Narg
D-N-metilglutamato	Dnmglu	N-(1-hidroxietyl)glicina	Nthr
D-N-metilhistidina	Dnmhis	N-(hidroxietyl)glicina	Nser
D-N-metilisoileucina	Dnmile	N-(imidazoliletal)glicina	Nhis
D-N-metilleucina	Dnmleu	N-(3-indoliletal)glicina	Nhtrp
D-N-metillisina	Dnmlys	N-metil- γ -aminobutirato	Nmgabu
N-metilciclohexilalanina	Nmchexa	D-N-metilmetionina	Dnmmet
D-N-metilornitina	Dnmorn	N-metilciclopentilalanina	Nmcpen
N-metilglicina	Nala	D-N-metilfenilalanina	Dnmphe
N-metilaminoisobutirato	Nmaib	D-N-metilprolina	Dnmpro
N-(1-metilpropil)glicina	Nile	D-N-metilserina	Dnmser
N-(2-metilpropil)glicina	Nleu	D-N-metiltreonina	Dnmthr
D-N-metilriptófano	Dnmtrp	N-(1-metiletal)glicina	Nval
D-N-metiltirosina	Dnmtyr	N-metila-naftilalanina	Nmanap
D-N-metilvalina	Dnmval	N-metilpenicilamina	Nmpen
γ -aminobutírico ácido	Gabu	N-(<i>p</i> -hidroxifenil)glicina	Nhtyr
L- <i>t</i> -butilglicina	Tbug	N-(tiometal)glicina	Ncys

Aminoácido no convencional	Código	Aminoácido no convencional	Código
L-etilglicina	Etg	penicilamina	Pen
L-homofenilalanina	Hphe	L- α -metilalanina	Mala
L- α -metilarginina	Marg	L- α -metilasparagina	Masn
L- α -metilaspartato	Masp	L- α -metil- <i>t</i> -butilglicina	Mtbug
L- α -metilcisteína	Mcys	L-metiletilglicina	Metg
L- α -metilglutamina	Mgln	L- α -metilglutamato	Mglu
L- α -metilhistidina	Mhis	L- α -metilhomofenilalanina	Mhphe
L- α -metilisoleucina	Mile	N-(2-metiltioetil)glicina	Nmet
L- α -metilleucina	Mleu	L- α -metillisina	Mlys
L- α -metilmetionina	Mmet	L- α -metilnorleucina	Mnle
L- α -metilnorvalina	Mnva	L- α -metilornitina	Morn
L- α -metilfenilalanina	Mphe	L- α -metilprolina	Mpro
L- α -metilserina	Mser	L- α -metiltreonina	Mthr
L- α -metilriptófano	Mtrp	L- α -metiltirosina	Mtyr
L- α -metilvalina	Mval	L-N-metilhomofenilalanina	Nmhphe
N-(N-(2,2-difeniletil) carbamilmetil)glicina	Nnbhm	N-(N-(3,3-difenilpropil) carbamilmetil)glicina	Nnbhe
1-carboxi-1-(2,2-difenil-etilamino)ciclopropano	Nmbc	L-O-metil serina	Omser
		L-O-metil homoserina	Omhser

La composición cosmética puede comprender uno o más lípidos que incluyen grasas, aceites, ceras y similares. Los aceites polares adecuados son, por ejemplo, los del grupo de lecitinas y triglicéridos de ácido graso, en particular los ésteres de triglicerol de ácidos alcanocarboxílicos saturados y/o insaturados, ramificados y/o no ramificados con una longitud de cadena de 8 a 24, en particular de 12 a 18, átomos de carbono. Por ejemplo, los triglicéridos de ácido graso se pueden escoger de forma ventajosa entre el grupo de aceites sintéticos, semisintéticos y naturales, tales como, por ejemplo, aceite de oliva, aceite de girasol, aceite de soja, aceite de cacahuete, aceite de colza, aceite de almendra, aceite de palma, aceite de coco, aceite de ricino, aceite de germen de trigo, aceite de semilla de uva, aceite de cardo, aceite de onagra, aceite de nuez de macadamia y similares.

Como alternativa o adicionalmente el aceite se puede seleccionar entre aceites volátiles, aceites no volátiles o mezclas de los mismos. Los aceites no volátiles presentan aceites que cumplen al menos uno de las siguientes definiciones: (a) el aceite presenta una presión de vapor no superior a $2,7 \times 10^{-2}$ kPa a 25 °C y una presión atmosférica; (b) el aceite tiene un punto de ebullición a 101 kPa de al menos 300 °C. Los aceites volátiles incluyen materiales que no son "no volátiles" como se ha definido anteriormente.

Los aceites no volátiles se pueden seleccionar entre aceites de silicona no volátiles, aceites de hidrocarburos no volátiles y mezclas de los mismos. Los aceites de silicona no volátiles adecuados incluyen polimetilsiloxanos lineales y, preferentemente, los aceites de silicona no volátiles son dimeticonas de alto peso molecular. Los ejemplos de polimetilsiloxanos lineales disponibles en el mercado incluyen DC 200 Fluid 20Cst, DC 200 Fluid 100Cst, DC 200 Fluid 350Cst de Dow Corning Corporation.

Los aceites de hidrocarburos no volátiles adecuados incluyen ésteres ramificados de diglicerina o triglicerina o los ésteres o 1,2,3,4 butano triol o eritritol, di eritritol o tri eritritol. Preferentemente, los aceites de hidrocarburos no volátiles comprenden trietil-hexanoato de eritritilo (disponible como Salacos E-38 de Nisshin Oilio) y triisosteato de Poligliceril-2 (disponible, Cosmol 43V de Nisshin Oilio), carbonato de dietil hexilo (disponible como Tegosoft DEC de Degussa), dicapril Éter (disponible como Cetiol OE de Cognis AG), Carbonato de dicapril (disponible como Cetiol CC de Cognis AG), isononanoato de isononilo (disponible como Lanol 99 de Seppic), Neopentanoato de tridecilo (proporción, Ceraphyl 55 de International Speciality Products), o una mezcla de los mismos.

Los aceites volátiles se pueden seleccionar entre aceites de silicona volátiles, tanto funcionalizados como no funcionalizados, aceites de hidrocarburos volátiles y mezclas de los mismos. El aceite volátil útil en la presente invención puede ser saturado o insaturado, puede tener una cadena lineal o ramificada o una estructura cíclica o puede tener una o más de estas características.

Los ejemplos de aceites de hidrocarburos volátiles incluyen polidecanos tales como isododecano e isodecano (por ejemplo, Permetil-99A que está disponible en Presperse Inc.) y las isoparafinas C7-C15 (tales como la Serie Isopar de Exxon Chemicals).

- 5 El aceite de silicona volátil se puede seleccionar entre ciclopentasiloxano, ciclohexasiloxano o una mezcla de los mismos. Los ejemplos de aceites de silicona cíclicos volátiles disponibles en el mercado incluyen DC 244, DC 245, DC 344, y DC 345 de Dow Corning Corp.; Fluidos de Silicona SF-1204 y SF-1202 de Momentive Performance Materials; GE 7207 y 7158 de General Electric Co.); y, SWS-03314 de SWS Silicones Corp.
- 10 El aceite de silicona volátil lineal puede ser un polimetilsiloxano lineal. Un ejemplo de polimetilsiloxanos lineales disponibles en el mercado incluye Fluido DC 200, 5Cst de Dow Corning Corp.

- 15 La composición cosmética de la invención puede comprender adicionalmente uno o más polisacáridos que se seleccionan entre, pero no se limitan a, uno cualquiera o más de polisacáridos aniónicos (por ejemplo, ácido alginico, pectina, goma de xantano, ácido hialurónico, sulfato de condroitina, goma arábica, goma de karaya, goma de tragacanto, carboximetil-quitina, goma de celulosa, glicosaminoglicanos), polisacáridos catiónicos (por ejemplo, quitosano, quitosano acetilado, goma guar catiónica, hidroxietilcelulosa catiónica (HEC)), polisacáridos no iónicos (por ejemplo, almidón, dextrinas, goma guar, éteres de celulosa tales como hidroxietilcelulosa, metilcelulosa y nitrocelulosa), polisacáridos anfóteros (por ejemplo, carboximetilquitosano, N-hidroxi-dicarboxietil-quitosano, almidón de patata modificado) y polisacáridos hidrófobos (por ejemplo, cetil hidroxietilcelulosa, policuaternio 24).
- 20

- 25 La composición cosmética puede comprender adicionalmente una sustancia adecuada como filtro de pantalla solar tal como un protector solar orgánico, por ejemplo un derivado cinámico. El protector solar orgánico activo se puede seleccionar entre protector solar orgánico hidrófilo, protector solar orgánico hidrófobo, o mezclas de los mismos. Los ejemplos adecuados de filtros de pantalla solar se pueden encontrar en el CTFA International Cosmetic Ingredient Dictionary and Handbook, 7ª edición, volumen 2, pp. 1672, editado por Wenning y Mc Ewen (The Cosmetic, Toiletry, and Fragrance Association, Inc., Washington, D.C. 1997).

- 30 El protector solar orgánico se puede seleccionar entre derivados de β,β -difetilacrilato de alquilo, derivados de α -ciano β,β -difetilacrilato, derivados de antranilato, derivados de benzofenona, derivados de canfor, derivados de dibenzoilmetano, derivados de ácido p-aminobenzoico, derivados salicílicos, derivados de triazina, o mezclas de los mismos. Por ejemplo, el protector solar orgánico hidrófobo se puede seleccionar entre 4-(1,1-dimetiletil)-4'-metoxidibenzoilmetano; 4-isopropildibenzoilmetano; 4-(1,1-dimetiletil)-4'-metoxidibenzoilmetano, 2-etilhexil-2-ciano-3,3-difenilacrilato, o una mezcla de los mismos.
- 35

- Un ejemplo de 4-(1,1-dimetiletil)-4'-metoxidibenzoilmetano disponible en el mercado, también conocido como butil metoxidibenzoilmetano o Avobenzona, incluye Parsol TM 1789 de Givaudan Roure S. A. y Eusolex TM 9020 de Merck & Co., Inc. Un ejemplo de 4-isopropildibenzoilmetano disponible en el mercado, también conocido como isopropildibenzoilmetano, incluye Eusolex TM 8020 de Merck & Co., Inc. Los ejemplos de 2-etilhexil-2-ciano-3,3-difenilacrilato disponible en el mercado, también conocido como Octocrileno, incluyen Uvinul N539 SG de BASF; y Eusolex OCR de Rona/Merck.
- 40

- En algunas realizaciones el protector solar orgánico hidrófilo puede ser ácido 2-fenilbenzoimidazol-5-sulfónico. Un ejemplo de ácido 2-fenilbenzoimidazol-5-sulfónico disponible en el mercado, también conocido como PBSA, incluye Eusolex 232 de Rona/Merck.
- 45

- Los ejemplos adecuados de filtros de pantalla solar obtenidos a partir del ácido cinámico se pueden encontrar en el CTFA International Cosmetic Ingredient Dictionary and Handbook, 7ª edición, volumen 2, pp. 1672, editado por Wenning y Mc Ewen (The Cosmetic, Toiletry, and Fragrance Association, Inc., Washington, D.C. 1997). El derivado del ácido cinámico se puede seleccionar entre p-metoxicinamato de 2-etilhexilo, metoxicinamato de dietanolamina, p-metoxicinamato de 2-etoxietilo, o una mezcla de los mismos. Por ejemplo, el derivado del ácido cinámico puede ser p-metoxicinamato de 2-etilhexilo.
- 50

- La composición cosmética se puede combinar con un exfoliante químico que se selecciona, pero no se limita a, entre cualquiera de los alfa hidroxí ácidos (AHA), beta hidroxí ácidos (BHA) o poli-hidroxí ácidos, tales como ácido salicílico, ácido glicólico, ácido cítrico y ácido málico.
- 55

- Los extractos que se pueden incorporar en la composición cosmética incluyen, pero no se limitan a, extractos de plantas, que pueden comprender compuestos fenólicos tales como, por ejemplo, flavonoides (por ejemplo, glicosil rutina, ácido ferúlico, ácido cafeico), furfuralidén glucitol, hidroxitolueno butilado, hidroxianisol butilado, resina del ácido nordihidroguaiaretico, ácido nordihidroguaiaretico, trihidroxibutirofenona y derivados de los mismos. Los extractos de plantas en particular para su uso en la composición de la invención incluyen extracto de aloe vera, extracto de extracto de ginseng y extracto de cola de caballo.
- 60

- 65 El extracto de ginseng se puede obtener mediante extracción, en un disolvente hidrófilo (en particular, agua, etanol, glicol, o cualquier mezcla de los mismos), de la raíz de *Panax ginseng*. El extracto contiene saponinas, esteroides,

carbohidratos, pectina, vitaminas, minerales y lípidos.

El extracto de cola de caballo se puede obtener mediante extracción, con un disolvente hidrófilo (por ejemplo, agua, etanol, glicol, o cualquier mezcla de los mismos), de toda la hierba *Equisetum arvense*. El extracto contiene silicatos, flavonoides, saponósidos, ácido cafeico y ácido ferúlico.

La composición cosmética puede comprender adicionalmente un agente acondicionador de la piel. El agente acondicionador de la piel se puede seleccionar entre humectantes, exfoliantes, emolientes o mezclas de los mismos. Los humectantes incluyen alcoholes polihídricos tales como glicerina, propilenglicol, dipropilenglicol, polipropilenglicol, polietilenglicol, sorbitol, hidroxipropil sorbitol, hexilen glicol, 1,3-butilen glicol, 1,2,6-hexanotriol, glicerina etoxilada, glicerina propoxilada o mezclas de los mismos.

Los ejemplos de antioxidantes que se pueden combinar con la composición de la invención incluyen, pero no se limitan a, aminoácidos, vitaminas, minerales, carotenoides, péptidos, tioles, compuestos de sulfoximina, agentes quelantes, ácidos grasos insaturados, compuestos fenólicos, extractos de plantas, estilbenos, ácido úrico, manosa, ácido clorogénico, imidazoles (por ejemplo, ácido urocánico), furfuralidensorbitol, ubiquinona, ubiquinol, plastoquinona, fitoesteres y derivados de los mismos (por ejemplo, sales, ésteres, éteres, azúcares, nucleótidos, nucleósidos, péptidos y/o derivados lipídicos), algunos de los cuales se han descrito anteriormente.

Las vitaminas se pueden seleccionar, pero no se limitan a, entre una cualquiera o más de vitamina A y derivados de la misma (por ejemplo, retinoide o retinol o sus derivados tales como palmitato de retinilo o propionato de retinilo), biotina, ácido fólico, pantotenato cálcico, nicotinamida, piridoxina HCl, piridoxal HCl, riboflavina, tiamina HCl, timidina, vitamina B12, vitamina B3 (por ejemplo, niacinamida), vitamina B5 (por ejemplo, pantenol), vitamina C y derivados de la misma (por ejemplo, palmitato de ascorbilo, fosfato de ascorbilo y Mg, acetato de ascorbilo), tocoferoles y derivados (por ejemplo, acetato de vitamina E).

Los minerales se pueden seleccionar, pero no se limitan a, entre una cualquiera o más sales de molibdenato (por ejemplo, $(\text{NH}_4)\text{OMo}_7\text{O}_{24}$) aluminio (por ejemplo, AlCl_3), calcio (por ejemplo, CaCl_2), cobalto (por ejemplo, CoCl_2), cromo (por ejemplo, $\text{CrK}(\text{SO}_4)$), cobre (por ejemplo, CuSO_4), hierro (por ejemplo, $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$, FeSO_4), potasio (por ejemplo, KCl), magnesio (por ejemplo, MgCl_2), manganeso (por ejemplo, MnCl_2 , MnSO_4), fosfato (por ejemplo, Na_2HPO_4 , NaH_2PO_4), carbonato (por ejemplo, NaHCO_3), silicato (por ejemplo, Na_2SiO_3), sodio (por ejemplo, NaCl), vanadato (por ejemplo, NH_4VO_3), níquel (por ejemplo, NiCl_2), estaño (por ejemplo, SnCl_2), cinc (por ejemplo, ZnO, ZnSO_4), selenio (por ejemplo, selenometionina, ebselena, H_2SeO_3 , Na_2SeO_3), sulfato y nitrato.

Los carotenoides, se pueden seleccionar, pero no se limitan a, entre una cualquiera o más de carotenos, por ejemplo α -caroteno, β -caroteno, Ψ -licopeno, fitoeno etc., y derivados de los mismos.

Los tioles se pueden seleccionar, pero no se limitan a, entre uno o más de aurotioglucosa, propiltiouracilo, tioredoxina, ácido lipoico, glutatión, cisteína, cistina, cistamina y sus ésteres de glicosilo, N-acetilo, metilo, etilo, propilo, amilo, butilo y laurilo, palmitoilo, oleilo, γ -linoleilo, colesterilo y glicerilo y las sales de los mismos, tioldipropionato de dilaurilo, tioldipropionato de diestearilo, ácido tioldipropiónico y derivados de los mismos.

Los compuestos de sulfoximina se pueden seleccionar, pero no se limitan a, entre uno cualquiera o más de homocisteína sulfoximina, butionina sulfonas, penta-, hexa-, heptationina sulfoximina, que se pueden incluir en la composición, de modo que se proporcionan en dosificaciones muy bajas (por ejemplo, pmol a $\mu\text{mol/kg}$).

Los agentes quelantes se pueden seleccionar, pero no se limitan a, entre una cualquiera o más de apoferritina, desferral, lactoferrina, ácidos grasos α -hidroxi, ácido palmítico, ácido fítico, α -hidroxi ácidos (por ejemplo, ácido cítrico, ácido láctico, ácido málico), ácido húmico, ácidos biliares, extractos biliares, bilirrubina, biliverdina, EDTA, EGTA y derivados de los mismos.

Los ácidos grasos insaturados se pueden seleccionar, pero no se limitan a, entre uno cualquiera o más de ácido γ -linoléico, ácido linoleico, ácido oleico y derivados de los mismos.

Los estilbenos y derivados de los mismos incluyen, por ejemplo, óxido de estilbeno y óxido de transestilbeno.

Una diversidad de principios activos opcionales adicionales se puede incorporar en las composiciones cosméticas de la presente invención. Los ejemplos no limitantes de estos ingredientes adicionales incluyen agentes activos adicionales para el cuidado de la piel tales como farnesol, bisabolol, fitantriol, urea, guanidina (por ejemplo, amino guanidina); compuestos de hexaminidina, sales o derivados de los mismos; aminas de azúcar; agentes autobronceadores (por ejemplo, deshidroxiacetona); agentes estructurantes; esporas gelificantes hidrófilos; medicamentos antiacné (resorcinol, ácido salicílico, y similares); agentes calmantes y curativos para la piel tales como alantoína y similares; y agentes adecuados para fines estéticos tales como aceites esenciales, fragancias, dos refrescantes de la piel, agentes de opacidad, compuestos aromáticos (por ejemplo, aceite de clavo, mentol, canfor, aceite de eucalipto y eugenol). Las composiciones que se describe presente documento se pueden formular para proporcionar una liberación rápida, sostenida o retardada de los principios activos después de la administración al

cuerpo empleando técnicas bien conocidas en la técnica.

La composición puede estar en cualquier forma de dosificación apropiada para permitir su administración o para dirigirse a células o tejidos en particular, por ejemplo en forma de una emulsión o en liposomas, niosomas, 5 microsferas, nanopartículas o similares con las que el principio activo se puede absorber, adsorber, incorporar o unir. Esto puede convertir el producto de manera eficaz en una forma insoluble. Estas formas en partículas pueden superar los problemas tanto de estabilidad (por ejemplo, degradación) como de administración.

El uso de soluciones, suspensiones, geles y emulsiones son preferentes, por ejemplo el principio activo se puede 10 llegar en agua, un gas, un líquido basado en agua, un aceite, un gel, una emulsión, una emulsión de aceite en agua o de agua en aceite, una dispersión o una mezcla de los mismos.

El agente emulgente se puede seleccionar entre emulgentes no iónicos, emulgentes aniónicos, emulgentes catiónicos, emulgentes zwitteriónicos, emulgentes anfóteros o mezclas de los mismos. Los emulgentes se conocen 15 en la técnica. Véase, por ejemplo, McCutcheon's, Detergents and Emulsifiers, North American Edition (1986), publicado por Allured Publishing Corporation.

Cuando el vehículo cosméticamente aceptable es una emulsión de agua en silicona, los agentes emulgentes se 20 seleccionan preferentemente entre copolímeros de polioxialquileno, copolímeros de poliglicerilo o mezclas de los mismos. Los copolímeros de polioxialquileno, también conocidos como poliéteres de silicona, se describen con detalle en el documento de patente de Estados Unidos N.º 4.268.499. Un ejemplo de copolímeros de polioxialquileno disponibles en el mercado incluye DC5225C o DC2-5185C (PEG/PPG-18/18 dimeticona disponible como mezcla con ciclopentasiloxano) de Dow Corning Corp.; y, KF6017 o KF6028 (PEG-9 dimeticona) de Shin-Etsu Inc. Los ejemplos 25 de agentes emulgentes de poliglicerilo disponibles en el mercado incluyen KF6100 y KF6104 de Shin-Etsu Inc.

Las composiciones son preferentemente para administración tópica (es decir, a la piel).

Las composiciones tópicas que incluyen geles, cremas, pomadas, pulverizaciones, lociones, bálsamos, barras, 30 jabones, polvos, películas, aerosoles, gotas, espumas, soluciones, emulsiones, suspensiones, dispersiones por ejemplo dispersiones de vesículas no iónicas, leches y cualquier otra forma cosmética convencional en la técnica.

Las pomadas geles y cremas se pueden formular, por ejemplo, con una base acuosa u oleosa con la adición de 35 agentes espesantes y/o gelificantes adecuados. Las lociones se pueden formular con una base acuosa u oleosa y, en general, también contienen uno o más agentes emulgentes, dispersantes, de suspensión, espesantes o colorantes. Los polvos se pueden formar con la ayuda de cualquier base en polvo adecuada. Las gotas y soluciones se pueden formular con una base acuosa o no acuosa que comprende también uno o más agentes dispersantes, solubilizantes o de suspensión. Los aerosoles se suministran convenientemente desde envases presurizados, con el uso de un propulsor adecuado.

En algunas realizaciones las composiciones cosméticas que se describen en el presente documento se pueden 40 administrar por vía tópica a la piel a través de un producto, dispositivo o material al que se ha aplicado, impregnado o unido químicamente el polipéptido o composición. Con esta finalidad, se pueden revestir, impregnar o unir de manera química vendajes, apósitos (por ejemplo, parches adhesivos), gasa, cinta quirúrgica, hisopos de algodón u otros materiales absorbentes, por ejemplo un material absorbente, vellón, o esponja, o matrices de soporte como se describe en el presente documento. Por ejemplo, se pueden aplicar muchas composiciones a la piel usando parches 45 dérmicos que se describen bien en la técnica, por ejemplo en los documentos US 2008/0038300, US 2009/0043236, WO 2005/067499 y WO 2009/085302. En algunas realizaciones, el material que comprende la composición como se describe en el presente documento se puede presentar en forma de un dispositivo que, por ejemplo, puede ser usado por el sujeto a tratar. Por ejemplo, la composición tal como se describe en el presente documento se prevé aplicar, impregnar o unir de forma química sobre un material o matriz de soporte que forme todo o parte de 50 un pañal, guante, calcetín, etc.

Las composiciones cosméticas se pueden incluir en un envase, paquete, o dispensador junto con instrucciones para 55 su administración.

Por lo tanto, un aspecto adicional de la invención comprende la provisión de un producto, material o dispositivo que está revestida, impregnado o unido de forma química con una composición como se describe en el presente documento. La invención también se extiende a tales productos, materiales o dispositivos para usos como se describen en el presente documento. Preferentemente dicho producto es un vendaje, apósito (por ejemplo, parche 60 adhesivo), gasa, cinta quirúrgica o hisopo de algodón o dicho dispositivo es un pañal, guante o calcetín.

La concentración de los principios activos en las composiciones que se describen en el presente documento puede depender de la fuente de la composición (es decir, el material de partida para el método descrito anteriormente), el modo de administración, la duración del tratamiento, la edad y peso del paciente, la indicación cosmética, el cuerpo 65 o zona del cuerpo a tratar y se puede variar o ajustar de acuerdo con la elección. Sin embargo, por lo general los intervalos de concentración para la composición que se describe en el presente documento son un 0,001, 0,005,

0,01 o de un 0,1 a un 50 %, por ejemplo un 0,005-40 %, por ejemplo de un 0,1 a un 25 %, tal como un 0,1 o de un 0,5 a un 5, por ejemplo un 1-5 % (p/p o v/v de la preparación final para la administración, en particular para la administración tópica) por ejemplo una solución al 1 % 1% de la composición mencionada preparada de acuerdo con el método de la invención.

5 Cuando se añaden componentes adicionales a la composición preparada con el método que se ha descrito anteriormente, por ejemplo agentes hidratantes adicionales como se describe en el presente documento, el componente adicional puede estar presente en las cantidades de un 0,0001, 0,0005, 0,001 o de un 0,01 a un 50 %, por ejemplo un 0,0005-40 %, por ejemplo de un 0,01 a un 25 %, tal como un 0,1 o de un 0,5 a un 5, por ejemplo un 1-5 % (p/p de la preparación final para su administración, en particular para administración tópica). Las dosis individuales eficaces para la composición se pueden situar en el intervalo de 0,0001-100 mg/cm²/día (proteína total en la composición), por ejemplo 0,1-100 mg/cm²/día, preferentemente 0,0001-10 mg/cm²/día, por ejemplo 0,1-10 mg/cm²/día, cuando se aplica por vía tópica, dependiendo del animal mamífero que se está tratando, tomado como una dosis única.

15 Para administración tópica se podrían usar preferentemente soluciones, cremas o suspensiones líquidas.

Los animales a los que se pueden aplicar o administrar las composiciones se limitan a mamíferos. Preferentemente los mamíferos son primates, animales domésticos, animales de granja y laboratorio. Por lo tanto los animales mamíferos preferentes incluyen ratones, ratas, conejos, cobayas, gatos, perros, monos, cerdos, vacas, ovejas y caballos. De manera especialmente preferente las composiciones se aplican, o se administran, a seres humanos.

Los siguientes Ejemplos se proporcionan solamente a modo de ilustración en los que las Figuras a las que se hace referencia son las que siguen a continuación:

25 Figura 1 muestra una fotografía de un sujeto tratado con la composición de fluido de eclosión de la invención antes del tratamiento (Medida inicial), después de 2 semanas y después de 12 semanas de tratamiento. La reducción de los diversos signos de piel envejecida es evidente tanto después de 2 como de 12 semanas. Los valores proporcionados indican los cambios medios para 35 participantes.

30 Figura 2 muestra una fotografía en primer plano del sujeto en la Figura 1 para enfatizar la reducción de líneas finas y arrugas observadas después de 2 y 12 semanas de tratamiento con la composición de fluido de eclosión de la invención.

35 Figura 3 muestra una fotografía en primer plano de un sujeto tratado con la composición de fluido de eclosión de la invención antes del tratamiento (Medida inicial) y después de 12 semanas de tratamiento. El área dentro del círculo muestra una clara reducción de arrugas después de 12 semanas de tratamiento.

Figura 4 muestra un gráfico de barras que representa el porcentaje de sujetos de los que se consideró que presentaban una mejora de diversos signos del envejecimiento basándose en una clasificación clínica táctil/visual en ambos lados de la cara.

40 Figura 5 muestra microfotografías electrónicas de barrido (aumento de x400, x5000 y x15000) de epidermis humana reconstruida tratada con agua, ácido glicólico al 5 %, 1 mU/ml de Bromelaína o composición de fluido de eclosión al 1 % durante 12 horas.

Figura 6 muestra microfotografías electrónicas de barrido (aumento de x400, x5000 y x15000) de epidermis humana reconstruida tratada con agua, ácido glicólico al 5 %, 1 mU/ml de Bromelaína o composición de fluido de eclosión al 1 % durante 48 horas.

45 Figura 7 muestra microfotografías de luz de secciones de epidermis humana reconstruida sin tratar o tratada con ácido glicólico al 5 %, 1 mU/ml de Bromelaína o composición de fluido de eclosión al 1 % durante 12 o 24 horas. La flecha (A) muestra proliferación y diferenciación celular y la flecha (B) muestran estrato granuloso más denso y una concentración más elevada de gránulos lamelares.

50 Ejemplo 1: Preparación de la composición

La composición se preparó a partir de fluido de eclosión de salmón. Para mejorar la concentración de proteína del fluido de eclosión, los huevos de salmón se transfirieron a volúmenes mínimos de agua antes de la eclosión. La eclosión altamente sincronizada se puede inducir mediante temperaturas elevadas (ambiente), o mediante desoxigenación (Oppen-Berntsen *et al.*, 1990, *Aquaculture*, 86, pp. 417-430), que proporciona un pequeño volumen de preparación altamente concentrada de polipéptidos y porciones de polipéptidos en bruto. La eclosión debería estar completa en 2 horas para más de un 95 % de los embriones.

60 El fluido de eclosión se filtró usando un filtro convencional con un tamaño de poro de 7 µm, para retirar el material que puede obstruir con facilidad los filtros en etapas posteriores de filtración. Este filtrado, el fluido de eclosión procesado, se puede congelar durante años sin una degradación significativa, antes de su descongelación y siete de usar para una purificación de proteínas adicional. Este hecho simplifica en gran medida la producción de un material de partida para purificar la composición de fluido de eclosión.

65 El fluido de eclosión procesado se sometió a filtración usando un filtro con un tamaño de poro de 0,45 µm y el filtrado se recogió. A continuación con el filtrado se sometió a diafiltración con un filtro de tamaño de exclusión de 8 kDa

para intercambiar el agua del fluido de eclosión por tampón. En este caso, el tampón contenía fosfato 0,5 mM y NaCl 1 mM, aunque otros tampones son igualmente adecuados. Por ejemplo, son adecuados la solución salina tamponada con fosfato o tampones que contengan Tris milimolar (por ejemplo, 10 mM) a pH cercano a la neutralidad o ligeramente alcalino (pH 7,5 – 8,5), que contenga NaCl 5 mM. La fracción retenida de la etapa de diafiltración se recogió y se diluyó mediante la adición del tampón de modo que la actividad enzimática del filtrado, como se ha definido anteriormente, era igual a 3400 mU/litro.

Por último, el filtrado se sometió a filtración a través de un filtro con un tamaño de poro de 0,22 µm y el filtrado final se recogió. Este filtrado es una preparación enriquecida de los polipéptidos y porciones de polipéptidos, encontrada en el fluido de eclosión en bruto.

Ejemplo 2: Efectos in vivo de la composición de fluido de eclosión en piel envejecida

La composición de fluido de eclosión se preparó como se ha descrito en el Ejemplo 1. La composición se preparó como una loción cutánea al 1 % y al 3 % [v/v] (volumen total de composición por unidad de volumen de loción), las dos lociones para la piel activas en el ensayo, y se comparó con una loción para la piel de control que no contenían el componente activo, es decir, la composición de fluido de eclosión. La loción cutánea era una emulsión de aceite en agua (A/A). La fase oleosa representa un 9 % de la composición total y estar emulsionada con lecitina hidrogenada.

Un ensayo clínico controlado con placebo, con doble ocultación se realizó para evaluar la eficacia y la tolerancia de los tratamientos en la piel por vía tópica en hembras con fotoenvejecimiento de leve a moderado, es decir, la piel facial envejecida. La duración de este ensayo fue de 12 semanas con visitas en la medida inicial, Semana 2, Semana 6 y Semana 12. La eficacia se evaluó usando clasificación visual, instrumentación, fotografías digitales de VISIA CR y cuestionarios de autoevaluación del sujeto.

Número de Sujetos

La participación en el estudio (N > 30 para los tres tratamientos, es decir, un placebo y dos composiciones que comprendían el componente de fluido de eclosión a diferentes concentraciones) la completaron ciento un (101) sujetos hembra.

Población de Sujetos e identificación

Los sujetos eran hembras sanas con edades de 40 a 65 y se les asignó un número de tres dígitos que, cuando se usa en conjunto con el número del estudio clínico, únicamente identificaba a cada sujeto en estudio. Este número permaneció con el sujeto durante todo el estudio para mantener el anonimato del experimento.

Criterios de Elección

Criterios de Inclusión

1. Hembras, con edades de 40 a 65, inclusive, que en general tenían buena salud tal como se determinó de acuerdo con el cuestionario de salud e idoneidad.
2. Disposición para cooperar y participar siguiendo los requisitos del estudio durante el periodo de duración del estudio e informar de cualquier síntoma adverso inmediatamente.
3. Fotoenvejecimiento de leve a moderado clínicamente determinado (líneas finas, arrugas, hiperpigmentación, laxitud y aspereza) en la cara correspondiente a la escala de clasificación de Griffith modificada con puntuaciones de 3-7.
4. Libre de cualquier patología o afecciones cutáneas faciales físicas (por ejemplo, dermatitis atópica, eccema, psoriasis, dermatitis seborreica) que podría alterar las evaluaciones de los sitios de ensayo o aumentar el riesgo para la salud del sujeto mediante participación en el estudio.
5. Disposición para evitar periodos prolongados de exposición al sol y todos usando cámaras de bronceado durante el periodo de duración del estudio. Se decía tener un cuidado extra en usar ropa protectora, incluyendo gafas de sol, y evitar una exposición al sol de 10 AM a 4 PM.
6. Disposición para continuar usando marcas regulares de cosméticos de color, limpiador, tónico (si fuera aplicable) y limpiador de maquillaje durante el periodo de duración del estudio. Los individuos tuvieron que abstenerse de usar cualquier producto antienvjecimiento o productos para aclarar la piel distintos del material de ensayo asignado.
7. Disposición para retirar todo el maquillaje al menos 20 minutos antes de cada visita clínica programada. No se iba a aplicar ningún otro producto tópico a la cara o en la zona de los ojos hasta que se completara la visita del estudio. Si un sujeto llegara sin eliminar todo el maquillaje, se le pedía que retirara el maquillaje residual en la clínica y que esperara al menos 20 minutos antes de los procedimientos.
8. Los individuos que tomaban terapias de reemplazo hormonal u hormonas para el control de la natalidad tenían que estar en un régimen estable durante al menos un mes antes del inicio del estudio y tenían que estar dispuestos a continuar y no cambiar esta medicación durante el periodo de duración del estudio. Los individuos

que no estaban tomando HRT u hormonas al comienzo del estudio tenían que estar dispuestos a no comenzar con su uso durante el periodo del estudio.

9. Disposición para cooperar y participar siguiendo los requisitos del estudio e informar de cualquier síntoma adverso inmediatamente.

5

Criterios de Exclusión

1. Individuos con una historia de intolerancia o alergia a cualquier producto para el cuidado personal.

10

2. Individuos que hubieran usado cualquier prescripción o productos para aclaramiento de la piel sin receta médica (OTC) menos de 30 días antes de la entrada en el estudio.

3. Individuos que presentaban una afección y/o enfermedad de la piel que el Investigador que examina considera inapropiada para la participación.

4. Individuos que estuvieran amamantando, embarazadas, o planeando quedar embarazadas durante el estudio.

15

5. Individuos que hubieran usado de manera rutinaria cualquier agente antienvjecimiento, antiarrugas, antioxidantes tópicos, menos de 30 días antes de la entrada en el estudio.

6. Individuos que hubieran usado un tratamiento cutáneo facial enzimático dentro de 6 meses del inicio del estudio.

20

7. Uso de Retin-A®, Retin-A Micro®, Renova®, Avita®, Tazorac®, Avage® o Differin® u otros retinoides tópicos dentro de 3 meses del inicio del estudio, o que hubieran tomado Accutane o un retinoide oral dentro de los últimos 6 meses.

8. Uso rutinario de productos que contuvieran alfa-, beta- o poli-hidroxiácido (incluyendo ácido salicílico y Lachydrin), retinol o derivados de retinol u otros productos 'antienvjecimiento' en la cara dentro de 30 días del inicio del estudio.

25

9. Individuos que hubieran recibido una dermoabrasión facial o tratamiento exfolian de químico dentro de 3 meses del tratamiento o durante el estudio.

10. Individuos que hubieran recibido tratamiento con RF de luz, u otros dispositivos en la zona tratada dentro de la zona tratada dentro de 6 meses de tratamiento o durante el estudio.

11. Individuos que hubieran recibido Botox, colágeno, inyecciones de grasa u otros métodos de relleno con material inyectado o implantado en la zona tratada dentro de 9 meses de tratamiento o durante el estudio.

30

12. Individuos que hubieran experimentado un procedimiento de reepitelización, estiramiento facial o cirugía ocular o palpebral dentro de los 12 meses antes del inicio de este ensayo.

13. Individuos que presentaran afecciones dermatológicas preexistentes y/o latentes en la cara (por ejemplo, vitiligo, dermatitis atópica, psoriasis, rosácea, eccema, dermatitis seborreica, escoriaciones graves, etc.) o afección/enfermedad médica que, en opinión del Investigador, pudiera haber interferido con el resultado del estudio.

35

14. Individuos que presentaran antecedentes de trastornos inmunosupresores/inmunodeficiencia (incluyendo infección por VIH o SIDA) o que usarán en la actualidad medicamentos inmunosupresores.

15. Individuos que estuvieron participando en cualquier otro estudio de uso clínico (los estudios de parche son aceptables).

40

16. Individuos que presentaran una enfermedad incontrolada tal como diabetes, hipertensión, hipertiroidismo o hipotiroidismo. Algunos individuos que presentaban múltiples afecciones de salud fueron excluidos de la participación, incluso si las condiciones estuvieran controladas por la dieta, medicamentos, etc.

17. Individuos que hubieran participado en cualquier ensayo clínico dentro de 28 días antes de la inclusión en el estudio.

45

Los individuos fueron admitidos en el estudio de acuerdo con el criterio del investigador o su designado basándose en la historia clínica y los resultados de la entrevista y el examen previos al estudio.

Diseño del Estudio

50

El ensayo clínico controlado con placebo, con doble ocultación se realizó para evaluar la eficacia y la tolerancia de los tratamientos en la piel por vía tópica en hembras con fotoenvejecimiento de leve a moderado, es decir, la piel facial envejecida. La duración de este ensayo fue de 12 semanas con visitas en la medida inicial, Semana 2, Semana 6 y Semana 12. La eficacia se evaluó usando clasificación visual, instrumentación, fotografías digitales de VISIA CR y cuestionarios de autoevaluación del sujeto.

55

Tres grupos de N > 30 por grupo completaron el estudio. Los sujetos recibieron un tratamiento activo de la piel, a saber la composición de fluido de eclosión descrita anteriormente, o un control de vehículo (agua) para aplicar a la cara durante doce semanas. La clasificación al azar de sujetos en los 3 grupos se realizó de acuerdo con una asignación al azar determinará previamente.

60

Visita:	Visita 1 Medida inicial	Visita 2 Semana 2	Visita 2 Semana 6	Visita 2 Semana 12
Consentimiento Informado, documentación de idoneidad, identificación sistemática facial	X			
Puntuación clínica del <u>lado derecho e izquierdo</u> para líneas, arrugas, hiperpigmentación moteada, laxitud, claridad y aspereza	X	X	X	X
Puntuación clínica del <u>lado derecho e izquierdo</u> para irritación objetiva y subjetiva (eritema, sequedad, quemazón/escozor*, picor*, sensación de firmeza/sequedad*) *informado por el panelista.	X	X	X	X
Formación de imágenes con VISIA-CR del <u>lado derecho e izquierdo</u>	X	X	X	X
Mediciones de Cutómetro en el lado derecho e izquierdo	X	X	X	X
Mediciones de pérdida de agua transepidérmica (TEWL) en el lado derecho e izquierdo.	X	X	X	X
Distribución del material de ensayo, vehículo, instrucciones de uso, diario y calendario	X		X	
Finalización de los cuestionarios de autoevaluación para el lado derecho e izquierdo.		X	X	X
Revisión diaria y peso del producto para el cumplimiento		X	X	X

Evaluaciones de Eficacia y Tolerabilidad

5 Un clasificador clínico experto evaluó el lado derecho e izquierdo de la cara para los parámetros que se muestran a continuación. Se usó una escala de Griffith modificada, en la que 0 = nada, 1-3 = leve, 4-6 = moderado y 7-9 = grave. Cuando era necesario describir mejor la afección cutánea se usaron puntos medios.

- Líneas Finas
- 10 • Arrugas
- Hiperpigmentación

- 15 • Laxitud
- Apagada/Mate (Claridad)
- Aspereza al Tacto.

20 Un clasificador clínico experto evaluó el lado derecho e izquierdo de la cara para los parámetros que se muestran a continuación. Se usó una escala de cuatro 4 puntos, en la que 0 = nada, 2 = leve, 3 = moderado y 4 = grave. Cuando era necesario describir mejor la afección cutánea se usaron puntos medios.

- 25 • Eritema
- Sequedad/ formación de escamas
- Sensación de quemazón/escozor
- Picor
- Sensación de firmeza/sequedad

30 Fotografía Digital de VISIA CR

35 La formación de imágenes de VISIA-CR se tomó en los lados derecho e izquierdo de la cara. Se formaron imágenes de los sujetos de modo que su pelo se retiró, la joyería se retiró, los ojos se cerraron, el sujetos centro dentro del marco y presentaba una expresión facial neutra.

Pérdida de Agua Transepidérmica (TEWL)

Antes de las mediciones instrumentales, se hizo que los sujetos se equilibraran a las condiciones ambientales de la clínica durante al menos 20 minutos. Las condiciones ambientales se registraron cada hora durante las visitas del estudio. Durante este periodo de tiempo, los sujetos se clasificaron, completaron cuestionarios y/o se les hicieron imágenes de VISIA CR.

El Tewameter se usó para tomar una medición de la pérdida de agua transepidérmica (TEWL) en todas las visitas. Las mediciones se realizaron en la mejilla derecha e izquierda en la intersección de las líneas que se extienden por debajo de la esquina del ojo y de forma horizontal a través de la parte baja de la nariz.

Las medidas de TEWL con Tewameter usaban un sistema de cámara abierta. Una sonda mantenida a mano colocada en la superficie de la piel tomaba muestras de la humedad relativa en dos puntos por encima de la superficie, permitiendo que la tasa de pérdida de agua se calculara a partir del gradiente de humedad medido.

Cutómetro MPA 580

A todos los sujetos se les hicieron mediciones de Cutómetro en todas las visitas. El Cutómetro se usó para evaluar las propiedades viscoelásticas (es decir, capacidad de extensión y elasticidad) de la piel. El instrumento aplica un vacío a una pequeña zona de piel y mide la respuesta elástica de la piel (movimiento de la piel en y fuera de la abertura) mediante una técnica óptica.

Para este estudio, se usó la sonda de 2 μm , se aplicó un vacío de 30 kPa y se realizaron dos ciclos de succión y liberación. Los tiempos del ciclo fueron de 5 segundos de encendido y 10 segundos apagado.

Las mediciones se realizaron en la mejilla derecha e izquierda en la intersección de las líneas que se extienden por debajo de la esquina del ojo y de forma horizontal a través de la parte baja de la nariz, o en una ubicación alternativa acerca de la mandíbula.

Evaluación de la Piel y Cuestionarios de Autoevaluación

Los sujetos completaron un cuestionario de autoevaluación de la piel que contenía preguntas que describían cómo percibe el sujeto su aspecto cutáneo facial y el estado en los lados derecho e izquierdo de la cara.

Resultados

Líneas finas

En la semana 2 los sujetos tratados con una loción cutánea que comprende una de las composiciones activas presentaban una reducción de las líneas finas (por ejemplo, porcentaje de cambio de un 5,59 % (solución al 1 %) y un 5,65 % (solución al 3 %)) en comparación con el placebo (4,58 %). Reducción de las líneas finas continuaba en la semana 6 (por ejemplo, 14,34 % (solución al 1 %), 14,86 % (solución al 3 %) y 8,98 % (placebo)) y en la semana 12 (por ejemplo, 23,43 % (solución al 1 %), 25,99 % (solución al 3 %) y 14,68 % (placebo)). Las Figuras 1 y 2 muestran un sujeto con una reducción de líneas finas de un 28 %.

Arrugas

En la semana 2 los sujetos tratados con una loción cutánea que comprende una de las composiciones activas presentaban una reducción de arrugas (por ejemplo, porcentaje de cambio de un 2,15 % (solución al 1 %) y un 1,75 % (solución al 3 %)) en comparación con el placebo (0,70 %). La reducción de las arrugas continuaba en la semana 6 (por ejemplo, 6,13 % (solución al 1 %), 7,32 % (solución al 3 %) y 3,70 % (placebo)) y en la semana 12 (por ejemplo, 14,72 % (solución al 1 %), 15,15 % (solución al 3 %) y 9,57 % (placebo)). La Figura 1 muestra un sujeto con una reducción de las arrugas de un 12,5 %. La Figura 3 muestra un sujeto con una reducción de las arrugas de un 26,32 %.

Hiperpigmentación

En la semana 2 los sujetos tratados con una loción cutánea que comprende una de las composiciones activas presentaban una reducción de la hiperpigmentación (por ejemplo, porcentaje de cambio de un 2,11 % (solución al 1 %) y un 2,68 % (solución al 3 %)) en comparación con el placebo (0,40 %). La reducción de la hiperpigmentación continuaba en la semana 6 (por ejemplo, 5,61 % (solución al 1 %), 7,91 % (solución al 3 %) y 3,16 % (placebo)) y en la semana 12 (por ejemplo, 10,53 % (solución al 1 %), 15,35 % (solución al 3 %) y 5,73 % (placebo)). La Figura 1 muestra un sujeto con una reducción de la pigmentación de una mancha producida por la edad de un 15 % después de 12 semanas.

Laxitud

5 En la semana 2 los sujetos tratados con una loción cutánea que comprende una de las composiciones activas presentaban una reducción de la laxitud (por ejemplo, porcentaje de cambio de un 2,64 % (solución al 1 %) y un 1,62 % (solución al 3 %)) en comparación con el placebo (0,87 %). La reducción de la laxitud continuaba en la semana 6 (por ejemplo, 6,33 % (solución al 1 %) y 6,61 % (solución al 3 %), 2,51 % (placebo)) y en la semana 12 (por ejemplo, 10,55 % (solución al 1 %) y 11,33 % (solución al 3 %), 5,18 % (placebo)). La Figura 1 muestra un sujeto con una reducción de la laxitud (flacidez) de un 7,69 % después de 12 semanas.

10 Apagada/Mate (Claridad)

15 En la semana 2 los sujetos tratados con una loción cutánea que comprende una de las composiciones activas presentaban una mejora en la claridad de la piel (por ejemplo, porcentaje de cambio de un 12,95 % (solución al 1 %) y un 16,00 % (solución al 3 %)) en comparación con el placebo (10,67 %). La mejora continuaba en la semana 6 (por ejemplo, 29,26 % (solución al 1 %), 28,50 % (solución al 3 %) y 19,07 % (placebo)) y en la semana 12 (por ejemplo, 37,17 % (solución al 1 %), 39,18 % (solución al 3 %) y 26,72 % (placebo)). La Figura 1 muestra un sujeto con una reducción de la palidez de un 33,33 %.

20 Aspereza al Tacto

25 En la semana 2 los sujetos tratados con una loción cutánea que comprende una de las composiciones activas presentaban una reducción de la aspereza al tacto de la piel (por ejemplo, porcentaje de cambio de un 16,51 % (solución al 1 %) y un 20,24 % (solución al 3 %)) en comparación con el placebo (13,38 %). La mejora continuaba en la semana 6 (por ejemplo, 24,77 % (solución al 1 %), 26,65 % (solución al 3 %) y 16,79 % (placebo)), pero no se produjo una reducción adicional en la semana 12 (por ejemplo, 26,61 % (solución al 1 %), 29,19 % (solución al 3 %), y 15,79 % (placebo)). La Figura 1 muestra un sujeto con una reducción de la aspereza al tacto de un 12,5 %.

Sequedad/formación de escamas

30 En la semana 2 los sujetos tratados con una loción cutánea que comprende una de las composiciones activas presentaban una reducción de la sequedad/formación de escamas de la piel (por ejemplo, porcentaje de cambio de un 72,09 % (solución al 1 %) y un 100,00 % (solución al 3 %)) en comparación con el placebo (64,71 %). Sin embargo, en la semana 6 (por ejemplo, 86,05 % (solución al 1 %), 84,62 % (solución al 3 %) y un 100,00 % (placebo)), y en la semana 12 no se produjo una reducción adicional cuando se compara con el placebo (por ejemplo, 90,70 % (solución al 1 %), 100,00 % (solución al 3 %) y un 89,47 % (placebo)).

TEWL

40 Aunque los sujetos tratados con una loción cutánea que comprende una de las composiciones activas presentaban una reducción de TEWL en la semana 2, ésta no era claramente diferente de la del placebo (por ejemplo, porcentaje de cambio de un 15,35 % (solución al 1 %) y un 14,53 % (solución al 3 %)) en comparación con el placebo (17,26 %). Sin embargo, en la semana 6 (por ejemplo, 29,46 % (solución al 1 %), 26,66 % (solución al 3 %) y con 22,96 % (placebo)), y en la semana 12 se produjo reducción adicional superior a la del placebo (por ejemplo, 37,46 % (solución al 1 %), 40,04 % (solución al 3 %), y un 34,21 % (placebo)).

45 Capacidad de extensión

50 Aunque los sujetos tratados con una loción cutánea que comprende una de las composiciones activas presentaban una mejora de la capacidad de extensión de la piel en la semana 2, ésta solo era ligeramente diferente a la del placebo (por ejemplo, porcentaje de cambio de un 16,18 % (solución al 1 %) y un 17,21 % (solución al 3 %)) en comparación con el placebo (10,82 %). En la semana 6 no había una diferencia clara entre los tres tratamientos (por ejemplo, 18,04 % (solución al 1 %), 17,18 % (solución al 3 %) y un 19,90 % (placebo)), pero en la semana 12 se produjo una mejora adicional para el tratamiento cutáneo con las composiciones que comprenden el componente activo, que era superior que la del placebo (por ejemplo, 31,84 % (solución al 1 %), 33,57 % (solución al 3 %), y un 16,48 % (placebo)).

60 Una comparación de la clasificación clínica táctil/visual en ambos lados de la cara realizada al comienzo del estudio (medida inicial) y después de 12 semanas de tratamiento muestra que todos los sujetos presentaban mejoras de la palidez y aspereza de su piel siguiendo el tratamiento con la composición de fluido de eclosión de la invención y la mayoría de los sujetos presentaban mejoras en las líneas finas (97 % de los sujetos), arrugas (91 % de los sujetos), hiperpigmentación (87 % de los sujetos) y flacidez (80 % de los sujetos) (Figura 4).

65 Los cuestionarios revelan que desde de las 6 semanas de uso se encontraban diferencias estadísticamente significativas para puntuaciones medias de declaraciones sobre aspecto general, sensación general, uniformidad, suavidad, claridad y elasticidad entre el placebo y la composición cosmética que comprende la composición del fluido de eclosión de la invención.

Por lo tanto, a partir de los resultados mencionados anteriormente es evidente que la composición de extracto de fluido de eclosión demostraba un efecto en cada aspecto de piel envejecida en comparación con el placebo.

Ejemplo 3: Estudio *in vitro* comparativo de efectos de la composición de fluido de eclosión en epidermis humana reconstruida con respecto a tratamientos cutáneos cosméticos conocidos

La epidermis humana reconstruida *in vitro* consiste en queratinocitos humanos normales cultivados en un filtro de policarbonato inerte en la superficie de contacto o aire-líquido, en un medio químicamente definido. Este modelo *in vitro* es histológicamente similar al de la epidermis humana *in vivo*.

La Epidermis Humana Reconstruida (SkinEthic) se expuso en el lado del estrato córneo durante 0 12 horas, 24 horas o 48 horas con respecto a 200 µl de una de las siguientes soluciones:

Composición de fluido de eclosión al 1 %;
 Ácido Glicólico al 5 % (AHA);
 1 mU/ml de Bromelaína (enzima de frutas); o
 dH₂O (control).

Después de la exposición, los cultivos se fijaron en paraformaldehído al 4 % (p/v) en PBS a 4 °C y se analizaron mediante microscopía de barrido electrónico o de luz.

La evaluación de las microfotografías de barrido electrónico de la epidermis humana reconstituida tratada después de 12 horas (Figura 5) muestra que el tratamiento con una solución al 5 % de ácido glicólico da como resultado un daño en el estrato córneo y corrosión de la piel. El tratamiento con Bromelaína da como resultado descamación por digestión de la envoltura de las células. Por el contrario, el tratamiento con la composición de fluido de eclosión de la invención da como resultado una descamación mediante el desprendimiento de corneocitos intactos debido a que solo los sitios de unión celular se han degradado. Por lo tanto, la solución de fluido de eclosión proporciona una microexfoliación suave de la piel.

Después de exposición durante 48 horas, las microfotografías de barrido electrónico de la epidermis humana reconstituida (Figura 6) muestran que el ácido glicólico da como resultado una piel altamente dañada, en la que la envoltura celular se ha roto y el citoesqueleto celular es claramente visible. Aunque el tratamiento con Bromelaína da como resultado una superficie de piel bastante lisa, todavía hay evidencias de parches ásperos. Sin embargo, el tratamiento con la composición del fluido de la eclosión de la invención da como resultado una superficie ultra lisa de la piel que es mejor que la piel del control (es decir, sin tratar). Por lo tanto, se prevé contemplar que la composición del fluido de eclosión proporciona un efecto suavizante de la piel.

La microscopía óptica de secciones de epidermis humana reconstruida (Figura 7) muestra que la exposición al ácido glicólico durante 24 horas da como resultado la destrucción de las células vivas, incluyendo las células madre epidérmicas del estrato basal. Todo lo que queda después del tratamiento con ácido glicólico son unos pocos núcleos picnóticos (en los que la cromatina se ha condensado de manera irreversible) y células anucleadas. La exposición a Bromelaína durante 24 horas produce alteraciones mínimas en el estrato basal y en el estrato espinoso. Por el contrario, después de la exposición a la composición del fluido de eclosión de la invención durante 24 horas, la piel reconstruida muestra evidencias de proliferación y diferenciación celular (véase la flecha A de la Figura 7). Después de 48 horas de exposición a la composición del fluido de eclosión, la piel muestra evidencias de un estrato granuloso más denso y una mayor concentración de gránulos lamelares (véase la flecha B de la Figura 7). Por lo tanto, la composición del fluido de la eclosión de la invención tiene un efecto de rejuvenecimiento de la piel y da como resultado una mejora de la función de la barrera cutánea.

REIVINDICACIONES

1. Un método para reducir o prevenir el aspecto cosmético o predominio de arrugas, líneas finas, hiperpigmentación, laxitud, piel seca, formación de escamas y/o pérdida de agua transepidérmica en la piel de un animal mamífero, que comprende administrar una composición cosmética a dicho animal, en el que dicha composición se obtiene o se puede obtener con un método que comprende al menos las etapas de:
- 5 a) suspender huevos de *Salmonidae* en un volumen mínimo de agua, preferentemente huevos de salmón;
 b) inducir una eclosión rápida, sincronizada de dichos huevos, preferentemente de modo que la eclosión se complete en menos de 2 horas para más de un 95 % de los embriones;
 10 c) filtrar los huevos eclosionados para obtener fluido de eclosión; y
 d) filtrar el fluido de eclosión para obtener la composición, en el que la etapa de filtrar el fluido de eclosión comprende al menos las etapas de:
- 15 (i) filtrar el fluido de eclosión usando un filtro con un tamaño de poro de al menos 5 μm , y recoger el filtrado;
 (ii) filtrar el filtrado de la etapa (i) usando un filtro con un tamaño de poro de 0,30-0,60 μm , y recoger el filtrado;
 (iii) intercambiar el agua en el filtrado de la etapa (ii) con un tampón farmacéuticamente aceptable realizando diafiltración usando un filtro con un tamaño de exclusión de menos de 15 kDa;
 20 (iv) opcionalmente repetir la etapa de diafiltración de la etapa (iii);
 (v) opcionalmente diluir la solución de la etapa (iii) o (iv) de modo que la solución tenga una actividad enzimática de 3000-5000 mU/l, medida por la capacidad de la solución para escindir el sustrato cromogénico del Factor X_a (CH₃OCO-D-CHA-Gly-Arg-pNA-AcOH);
 25 (vi) filtrar la solución de la etapa (iii), (iv), o (v) usando un filtro con un tamaño de poro de 0,15-0,30 μm , y recoger el filtrado; y
 (vii) preparar dicha composición cosmética a partir del filtrado de la etapa (vi).
2. El método de la reivindicación 1, en el que:
- 30 a) el tamaño de poro del filtro en la etapa (i) es 5-15 μm , en el que preferentemente el tamaño de poro es 7 μm ;
 b) el tamaño de poro del filtro en la etapa (ii) es 0,35-0,55 μm , en el que preferentemente el tamaño de poro es 0,45 μm ; y/o
 c) el tamaño de poro del filtro en la etapa (v) es 0,22 μm .
- 35 3. El método de la reivindicación 1 o 2, en el que los huevos de *Salmonidae* son de salmón del Atlántico o salmón del Pacífico.
4. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que dicha piel es piel envejecida.
- 40 5. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que la piel de dicho animal está hidratada.
6. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que dicha composición cosmética es para administración tópica a la piel.
- 45 7. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que dicha preparación en la etapa (vii) comprende la adición de uno o más excipientes, diluyentes, componentes y/o ingredientes farmacéuticamente aceptables.
8. Un método para preparar una composición cosmética que comprende al menos las etapas de:
- 50 a) suspender huevos de *Salmonidae* en un volumen mínimo de agua, preferentemente huevos de salmón;
 b) inducir una eclosión rápida, sincronizada de dichos huevos, preferentemente de modo que la eclosión se complete en menos de 2 horas para más de un 95 % de los embriones;
 c) filtrar los huevos eclosionados para obtener fluido de eclosión; y
 55 d) filtrar el fluido de eclosión para obtener la composición, en el que la etapa de filtrar el fluido de eclosión comprende al menos las etapas de:
- (i) filtrar el fluido de eclosión usando un filtro con un tamaño de poro de al menos 5 μm , y recoger el filtrado;
 (ii) filtrar el filtrado de la etapa (i) usando un filtro con un tamaño de poro de 0,30-0,60 μm , y recoger el filtrado;
 60 (iii) intercambiar el agua en el filtrado de la etapa (ii) con un tampón farmacéuticamente aceptable realizando diafiltración usando un filtro con un tamaño de exclusión de menos de 15 kDa;
 (iv) opcionalmente repetir la etapa de diafiltración de la etapa (iii);
 (v) opcionalmente diluir la solución de la etapa (iii) o (iv) de modo que la solución tenga una actividad enzimática de 3000-5000 mU/l, medida por la capacidad de la solución para escindir el sustrato cromogénico del Factor X_a (CH₃OCO-D-CHA-Gly-Arg-pNA-AcOH);
 65 (vi) filtrar la solución de la etapa (iii), o (iv), o (v) usando un filtro con un tamaño de poro de 0,15-0,30 μm , y

recoger el filtrado; y

(vii) preparar dicha composición cosmética a partir del filtrado de la etapa (vi).

5 9. Un método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que dicha composición cosmética está revestida, impregnada o químicamente unida en un producto, material o dispositivo.

10. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que dicho método es para reducir o prevenir el aspecto cosmético o predominio de arrugas y/o laxitud.

Figura 1

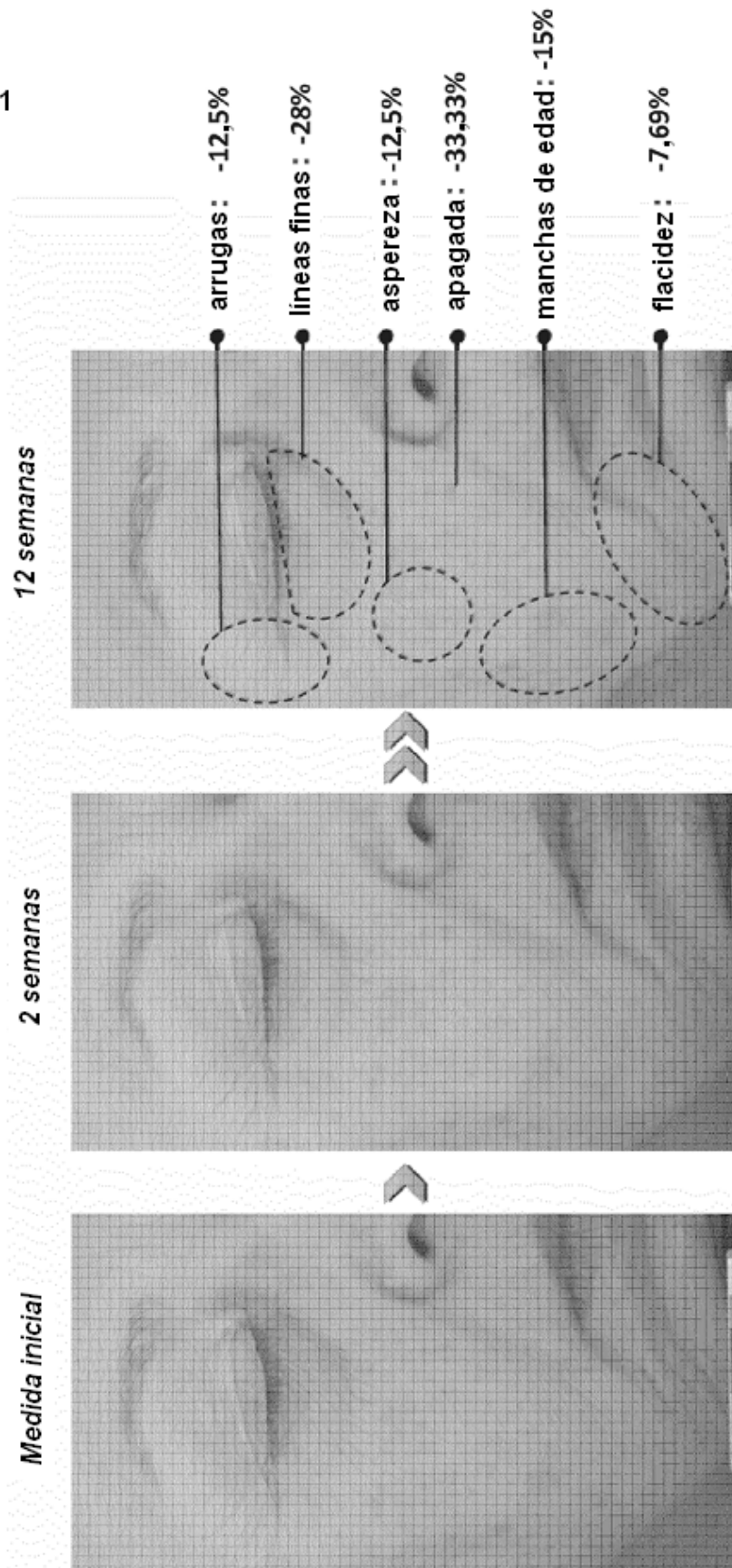


Figura 2

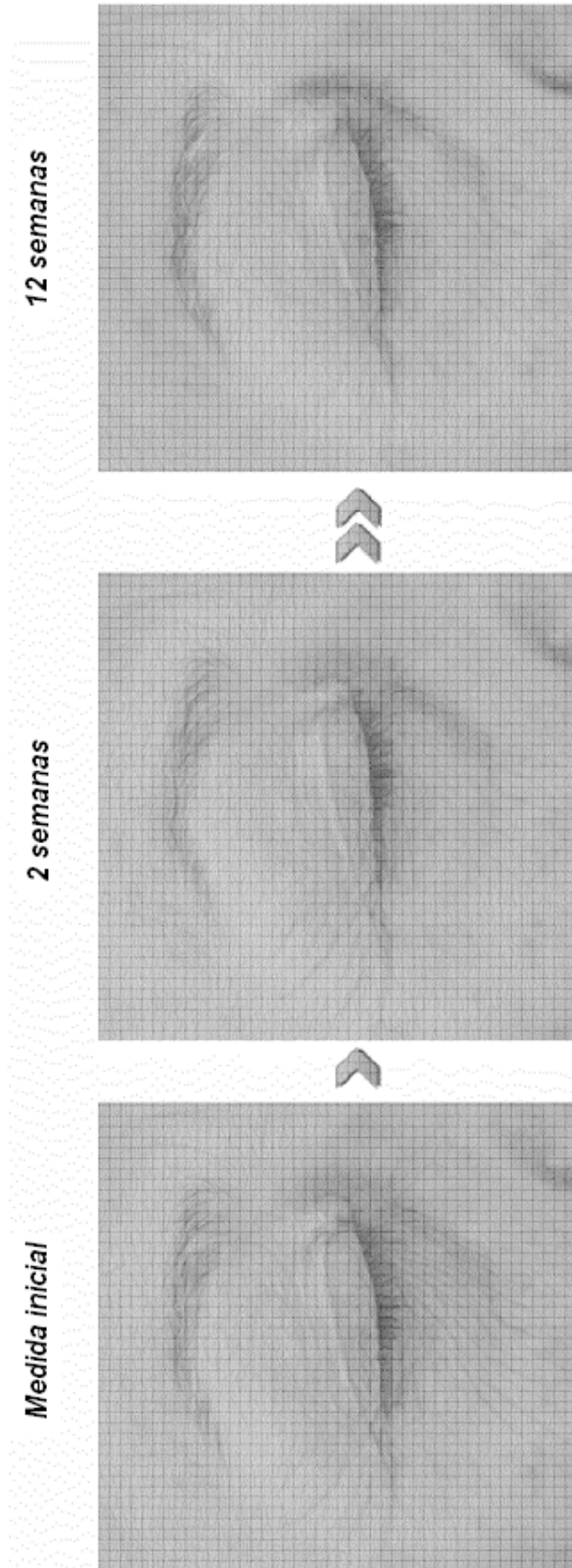


Figura 3

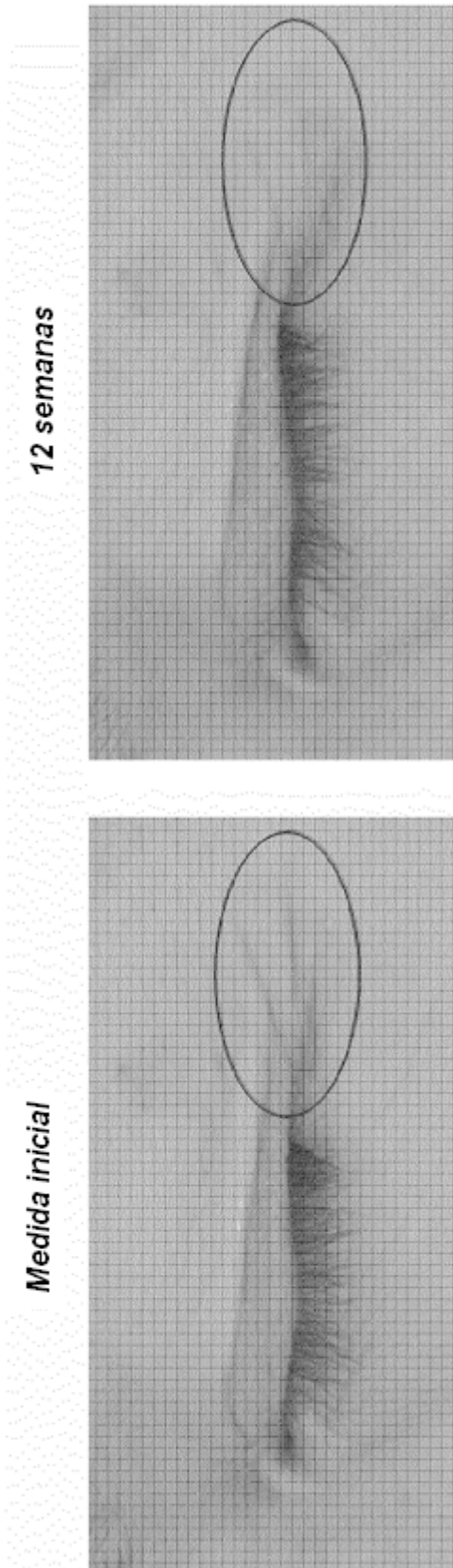


Figura 4

Porcentaje de Sujetos que Mejoraron después de 12 semanas

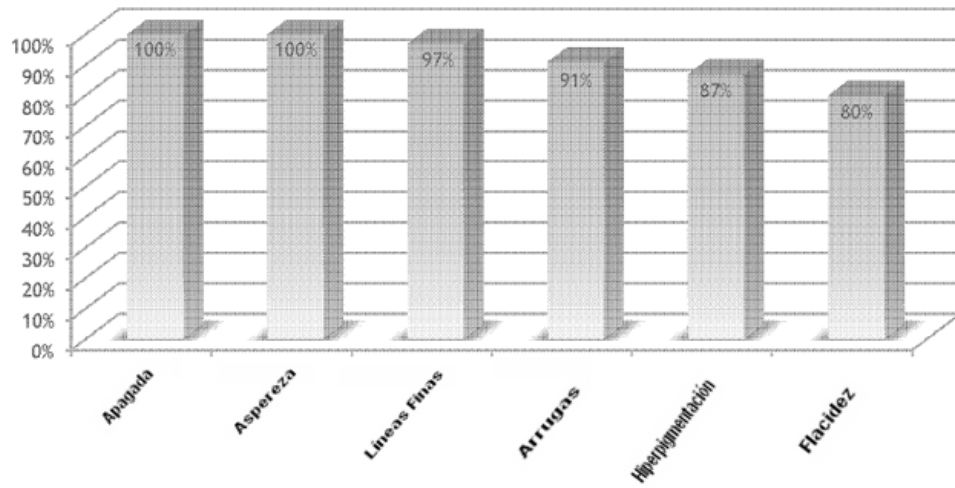


Figura 5

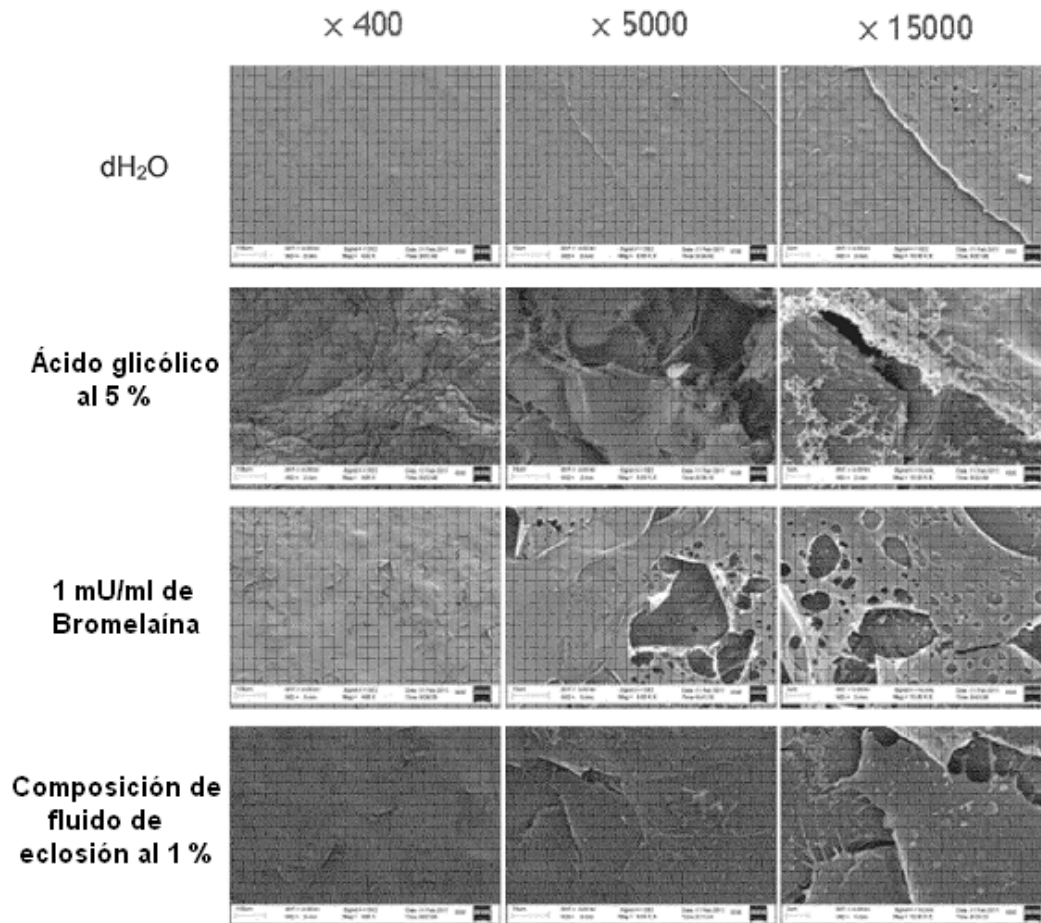


Figura 6

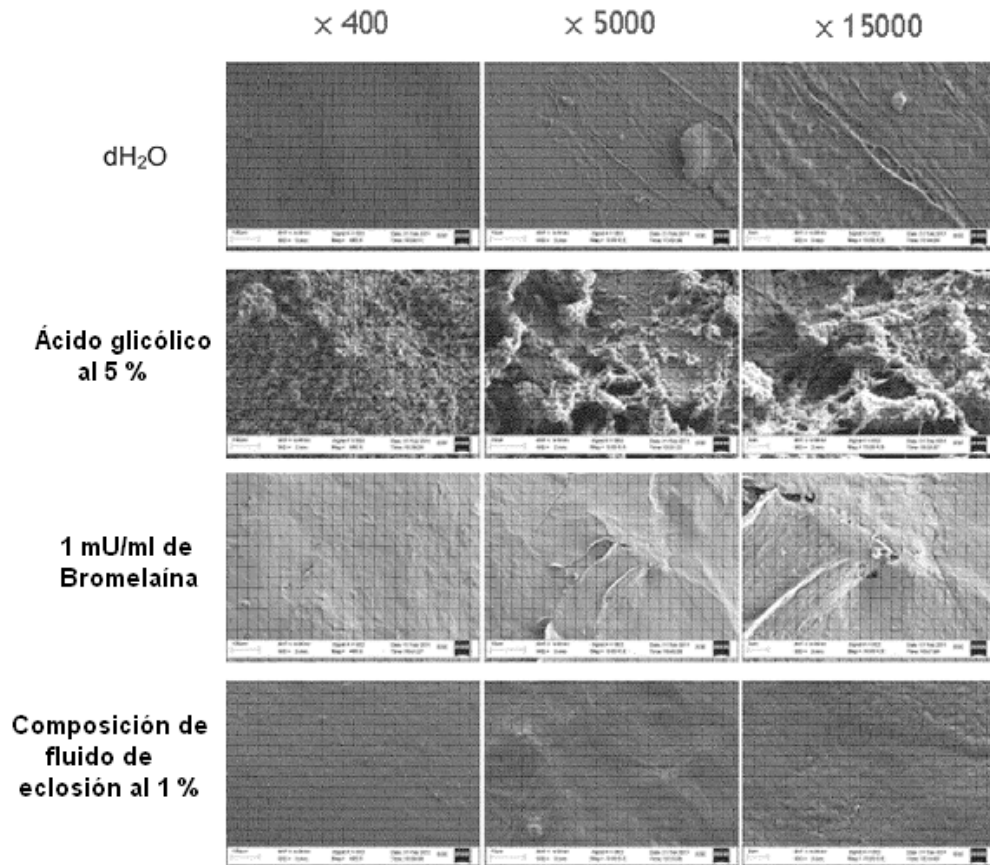


Figura 7

