

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 652 451**

51 Int. Cl.:

<b>C07F 9/09</b>	(2006.01)	<b>A61Q 7/00</b>	(2006.01)
<b>C07F 9/141</b>	(2006.01)		
<b>C07F 9/24</b>	(2006.01)		
<b>C07F 9/6574</b>	(2006.01)		
<b>C07F 9/6584</b>	(2006.01)		
<b>A61K 8/14</b>	(2006.01)		
<b>A61K 8/55</b>	(2006.01)		
<b>A61Q 19/08</b>	(2006.01)		
<b>A61Q 5/02</b>	(2006.01)		
<b>A61Q 5/12</b>	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.04.2013 PCT/KR2013/002789**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **09.10.2014 WO14163219**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.04.2013 E 13881109 (6)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.09.2017 EP 2982678**

54 Título: **Nuevo derivado de la fitoesfingosina-1-fosfato, método de preparación del mismo, y composición para prevenir y tratar la pérdida del cabello o para estimular el crecimiento del cabello que comprende el mismo**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**02.02.2018**

73 Titular/es:  
**PHYTOS CO., LTD. (100.0%)  
Kyonggi University lui-dong Rm. 609 Business  
Incubation Center 154-42 Gwanggyosan-ro  
Yeongtong-gu  
Suwon-si, Gyeonggi-do 443-760, KR**

72 Inventor/es:  
**CHOI, MYEONG JUN**

74 Agente/Representante:  
**GARCÍA-CABRERIZO Y DEL SANTO, Pedro**

ES 2 652 451 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

5 Nuevo derivado de la fitoesfingosina-1-fosfato, método de preparación del mismo, y composición para prevenir y tratar la pérdida del cabello o para estimular el crecimiento del cabello que comprende el mismo

### ANTECEDENTES DE LA INVENCION

#### **Campo de la invención**

10 La presente invención se refiere a un nuevo derivado de la fitoesfingosina-1-fosfato, a un método de preparación del mismo, y a una composición que comprende el mismo para prevenir y tratar la pérdida del cabello o para estimular el crecimiento del cabello, y más particularmente, a un nuevo derivado de la fitoesfingosina-1-fosfato útil para prevenir y tratar la caída del cabello o estimular el crecimiento del cabello, un método de preparación del mismo, una composición cosmética para prevenir la pérdida del cabello o para estimular el crecimiento del cabello que comprende el mismo y a una composición farmacéutica para prevenir y tratar la pérdida del cabello o para estimular el crecimiento del cabello que comprende el mismo.

#### **Descripción de la técnica relacionada**

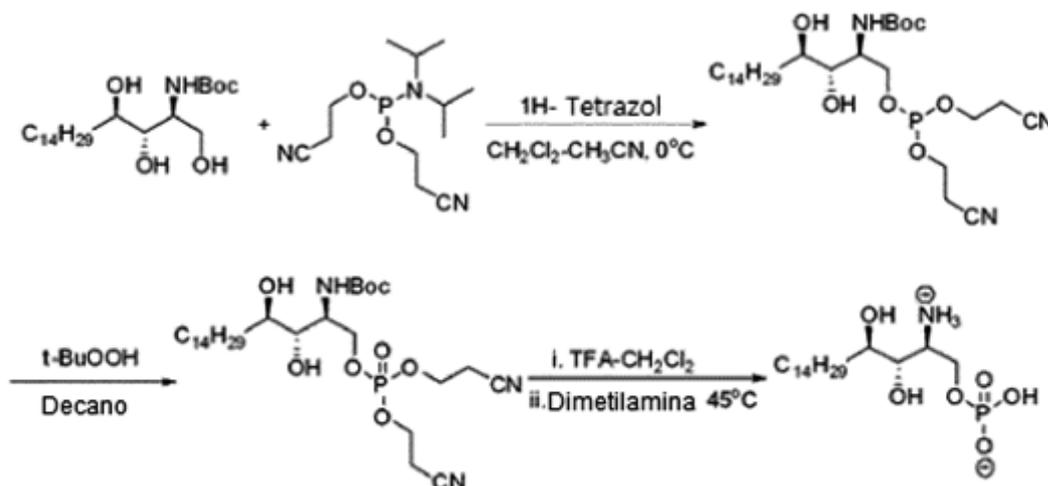
20 Entre los esfingolípidos, la esfingosina-1-fosfato es una molécula autocrina fisiológicamente activa que induce una reacción fisiológica al unirse al gen de diferenciación endotelial, EDG (por sus siglas en inglés) (Literatura no de patente 1), y es producida por esfingosina quinasa y degradada por liasa o esfingosina fosfatasa (Literatura no de patente 2).

25 El equilibrio dinámico en las cantidades de metabolitos de esfingolípidos, por ejemplo, ceramida y esfingosina-1-fosfato, y el control del proceso de señal inversa son factores importantes en la determinación de la vida y la muerte de las células (véase el Documento no de patente 3). Las ceramidas tienen caracteres de doble cara como se explica a continuación: las ceramidas que existen en cantidad incrementada en células, por ejemplo, células cancerosas, inhiben la proliferación de las células cancerosas mientras que las ceramidas existentes en cantidad incrementada en células, por ejemplo, células inflamatorias, empeoran las respuestas inflamatorias. Recientemente, se han sugerido nuevas funciones de los esfingolípidos, a saber, la participación de ceramidas en la apoptosis, la inhibición de la proliferación celular y la formación de neuritas en el sistema nervioso, y la importancia de la estructura de la esfingomielina en el transporte celular. Es decir, se cree que la asimetría tridimensional en la endomembrana y la membrana externa de las células y la no uniformidad de las estructuras horizontales de los esfingolípidos están implicadas en diversas funciones celulares, tales como la diferenciación, la proliferación y la secreción. Además, con respecto a las nuevas funciones de los esfingolípidos, se sugiere la presencia de un mecanismo porque la glucosilceramida se acumula en células resistentes a los agentes anticancerosos, células resistentes que convierten las ceramidas, que son factores inductores de la apoptosis, en otros metabolitos, tales como glicoesfingolípidos que están excluidos en consecuencia (véase el Documento no de patente 4). Por lo tanto, se cree que es probable que las variaciones en la cantidad de esfingolípidos estén implicados en los tumores sanguíneos o sean condición de enfermedades neurológicas (véase el Documento no de patente 5).

30 A este respecto, la esfingosina-1-fosfato, que es un intermediario importante en el metabolismo de la esfingosina, muestra una variedad de activados biológicos, y en consecuencia, muchos estudios se han centrado en la producción, el metabolismo, la acción y los métodos de síntesis de esfingosina 1-fosfato (véase el Documento no de patente 6). Sin embargo, los estudios sobre fitoesfingosina-1-fosfato, que cumple una función comparable a esfingosina-1-fosfato, son muy escasos, y los estudios que existen sobre fitoesfingosina-1-fosfato, se centran principalmente en roles in vivo de fitoesfingosina-1-fosfato. Los métodos de preparación de estas dos sustancias, es decir, esfingosina-1-fosfato y fitoesfingosina-1-fosfato, se clasifican en un método de síntesis enzimática que utiliza quinasa y un método de síntesis química. Los métodos de síntesis enzimática descritos en este documento están todos limitados en términos de identificación de la estructura del producto final (véanse los Documentos no de patente 7, 8 y 9). Aunque se ha llevado a cabo un número significativo de estudios con respecto al método de síntesis química de la D-esfingosina-1-fosfato, los estudios en relación con el método de síntesis química de la D-fitoesfingosina-1-fosfato se encuentran sólo en tres documentos de tesis (véanse los documentos no de patente 10, 11 y 14). Sin embargo, estos dos métodos de síntesis se realizan de la misma manera que en el método de síntesis de la D-esfingosina-1-fosfato (véanse los Documentos no de patente 12 y 13), excepto que la esfingosina se sustituyó por fitoesfingosina para usarse como sustancia de punto de partida.

35 Se ha descrito un método de síntesis de D-fitoesfingosina-1-fosfato de acuerdo con la siguiente Ecuación de Reacción 1 como el primer método de síntesis química (véase el Documento no de patente 10).

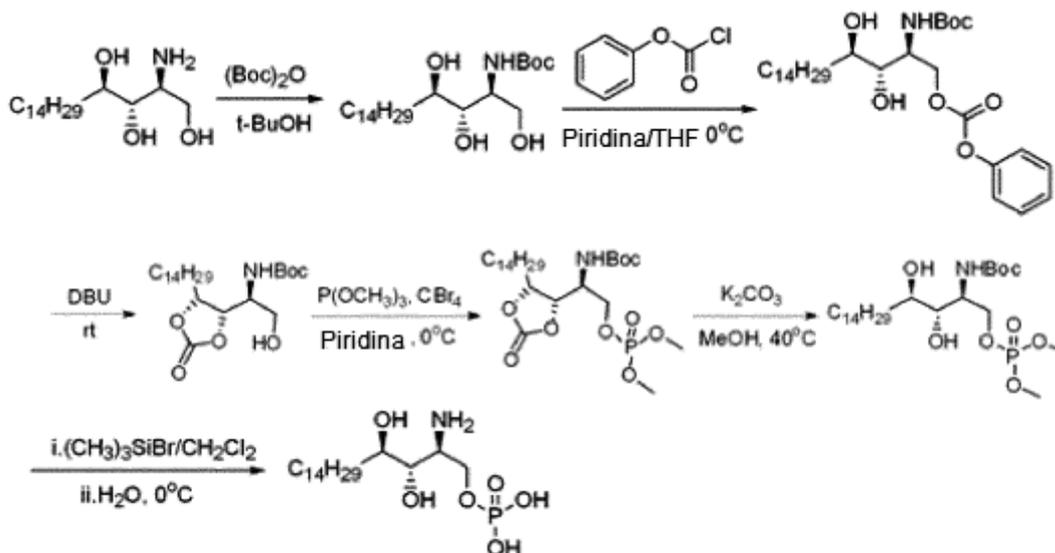
[Ecuación de Reacción 1]



5 Se informa de que el rendimiento final de todo el proceso del método de síntesis anterior es de alrededor del 43%, y se proporcionan datos para FAB-MS de alto rendimiento y <sup>1</sup>H-NMR con respecto al producto final, D-fitoesfingosina-1-fosfato.

10 Se ha descrito también otro método de síntesis de D-fitoesfingosina-1-fosfato de acuerdo con la siguiente Ecuación de Reacción 2 (véase el Documento no de patente 14).

[Ecuación de Reacción 2]



15 Los anteriores métodos de síntesis consisten en un total de 6 pasos, y se informa de que el rendimiento final de todo el proceso de los mismos es aproximadamente del 14,2%. Se proporcionan datos espectroscópicos para todos los intermedios, pero no se divulgan los datos espectroscópicos detallados para la sustancia objetivo final, D-fitoesfingosina-1-fosfato.

20 Por lo tanto, se cree que la D-fitoesfingosina-1-fosfato es una sustancia significativamente ineficiente en términos de

síntesis de la misma ya que su rendimiento es muy bajo, tanto como un 43% o menos según los anteriores métodos de síntesis.

La fitoesfingosina-1-fosfato, que también se reconoce como una sustancia que tiene una eficacia en la restauración y crecimiento del cabello equivalente o mayor que la del minoxidil, está patentada para divulgar el uso del derivado de fitoesfingosina-1-fosfato para prevenir y tratar la pérdida del cabello o para promover el crecimiento del cabello (véase el Documento de Patente 1). Hay varias causas de alopecia, es decir, de pérdida del pelo del cuero cabelludo, y la alopecia puede ser causada principalmente por la acción de hormonas masculinas, estrés psicológico, acumulación de peróxido lipídico en el cuero cabelludo, efectos secundarios de drogas, enfermedades crónicas, como leucemia o tuberculosis, efectos secundarios de la radioterapia, desnutrición y similares. Además, la pérdida de cabello que se ha venido conociendo como una preocupación de los hombres, se ha convertido recientemente en un problema para las mujeres y para los jóvenes, que constituyen una gran demanda de tratamientos de prevención y sanación de la pérdida del cabello.

Los fármacos que se usan actualmente para promover el crecimiento del cabello o que se usan actualmente como tónicos capilares se pueden dividir en gran medida en vasodilatadores para hacer circular suficiente sangre al cuero cabelludo, hormonas femeninas para inhibir la acción de las hormonas masculinas e inhibidores de andrógenos para inhibir 5 $\alpha$ -reductasa que convierte la testosterona en 5-dihidrotesteona (5-DHT). Los ejemplos de los vasodilatadores incluyen cloruro de carpronio, minoxidil y diversos extractos de plantas; ejemplos de las hormonas femeninas incluyen estrógeno, estradiol y progesterona, y ejemplos de los inhibidores de andrógenos incluyen finasterida y ácido pentadecanoico.

Sin embargo, debido a la insuficiente eficacia o a los efectos secundarios de los agentes terapéuticos para la pérdida del cabello descritos anteriormente, se necesita el desarrollo de fármacos más eficaces y seguros para tratar la pérdida del cabello o el crecimiento del cabello. En el caso del minoxidil utilizado para administración tópica u oral, se produce irritación de la piel como enrojecimiento del cuero cabelludo, inflamación, infección, irritación o dolor. Además, debido al efecto antihipertensivo del minoxidil, presenta el problema de requerir una administración cuidadosa en los pacientes con hipertensión, incluidos los pacientes tratados con un fármaco antihipertensivo. El caso de la finasterida, debido a sus efectos inhibitorios sobre la actividad hormonal, presenta las desventajas de la disfunción eréctil y el descenso del deseo sexual.

El derivado de la fitoesfingosina-1-fosfato es eficaz para promover la angiogénesis, y por lo tanto es reconocido como una sustancia útil para prevenir y tratar la pérdida del cabello o para el crecimiento del cabello. Además, el derivado de la fitoesfingosina-1-fosfato puede ser utilizado sin preocuparse por los efectos secundarios de los agentes terapéuticos convencionales para la pérdida de cabello, incluyendo efectos antihipertensivos o disminución de las funciones sexuales.

Sin embargo, tal y como se ha descrito anteriormente, la fitoesfingosina-1-fosfato es una sustancia que presenta bajo rendimiento de síntesis y, por lo tanto, se hace necesario el desarrollo de una sustancia que pueda ser sintetizada con altos rendimientos y que sea eficaz en el tratamiento de la pérdida de cabello sin los efectos secundarios causados por los agentes terapéuticos convencionales para la pérdida de cabello

#### DOCUMENTO DE PATENTE

1. Patente coreana 10-1003532

#### DOCUMENTOS NO DE PATENTE

1. Lee, M.J. et al., Science, 279, pp1552-1555, 1996
2. Pyne, S. and Pyne, N.J., Biochem. J., 349, pp385-402, 2000
3. Cuvillier, O. et al., Nature, 381, pp800-803, 1996
4. Lavie Y. et al., J. Biol. Chem., 272, pp1682-1687, 1997
5. Okazaki T. et al., Int. J. Hematolo., 65, p40, 1997
6. FASEB J, 10: 1388-1379
7. Hoppe-Seyley's Z. Physiol. Chem., 351, 635-642 ,
8. J. Biol. Chem., 273, 19437-19442 ,
9. Biochem. J., 332, 525-531
10. J. of Lipid Research, 40, 1999, 117-125
11. Bull. Korean Chem. Soc., 2003, 24, 267-268
12. J. of Lipid Research, 35, 1994, 2305-2311
13. Tetrahedron Letters, 2000, 41, 7821-7824
14. Bull. Korean Chem. Soc., 2003, 24, 267-268

**DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION**

## PROBLEMA TÉCNICO

Los inventores de la presente invención se esfuerzan por desarrollar nuevos ingredientes activos para el tratamiento de la caída del cabello que puedan resolver los problemas que existen con los agentes terapéuticos convencionales para la pérdida del cabello, y en consecuencia, desarrollar nuevos derivados de la fitoesfingosina que sean eficaces para tratar la pérdida del cabello y para estimular el crecimiento del cabello y que además puedan sintetizarse con altos rendimientos. Además, se confirma que la sustancia presente es eficaz no sólo para tratar la caída del cabello y promover el crecimiento del cabello, sino también para el tratamiento de las arrugas de la piel.

Se proporciona una sustancia novedosa eficaz para prevenir y tratar la pérdida del cabello y para promover el crecimiento del cabello.

Se proporciona un método para preparar la sustancia novedosa de la presente divulgación.

Se proporciona una composición cosmética para prevenir la pérdida del cabello o para el crecimiento del cabello, comprendiendo dicha composición cosmética la sustancia novedosa de la presente invención.

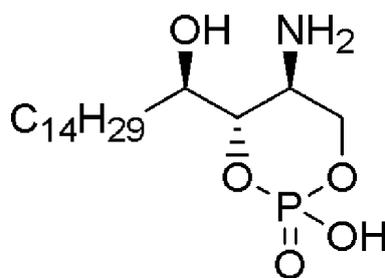
Se proporciona una composición farmacéutica para prevenir y tratar la pérdida del cabello y para promover el crecimiento del cabello, comprendiendo dicha composición farmacéutica la sustancia novedosa de la presente invención.

Se proporciona una composición cosmética para prevenir o alisar las arrugas de la piel, comprendiendo dicha composición cosmética la sustancia novedosa de la presente invención.

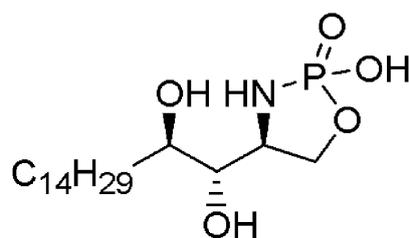
## SOLUCIÓN TÉCNICA

Para lograr los fines descritos anteriormente, un aspecto de la presente invención proporciona fitoesfingosina-1-fosfato O-cíclico (O-C-P1P) representada por la Fórmula 1a a continuación o fitoesfingosina-1-fosfato N-cíclico (N-C-P1P) representada por la Fórmula 1b a continuación, una sal farmacéuticamente aceptable de O-C-P1P o N-C-P1P, o un solvato de O-C-P1P o N-C-P1P:

[Fórmula 1a]

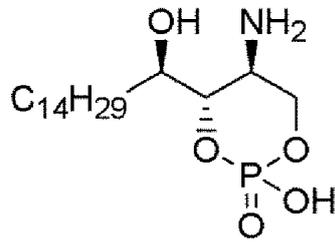


[Fórmula 1b]



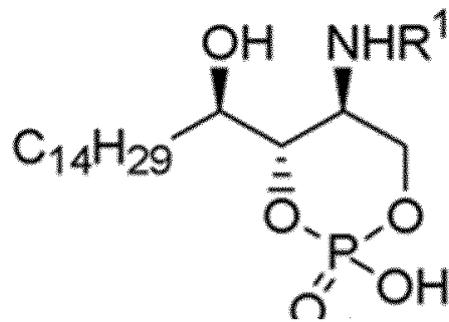
Otro aspecto de la presente invención proporciona un método para preparar el compuesto representado por la Fórmula 1a a continuación, comprendiendo dicho método la desprotección del grupo protector de un compuesto representado por la Fórmula 4 a continuación mediante una reacción con ácido trifluoroacético o ácido clorhídrico concentrado:

[Fórmula 1a]



5

[Fórmula 4]



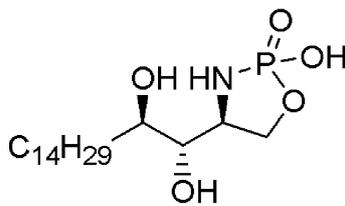
10

en donde, en la Fórmula 4, R<sup>1</sup> es el grupo protector.

Otro aspecto de la presente invención proporciona un método para preparar el compuesto representado por la Fórmula 1b a continuación, comprendiendo dicho método los siguientes pasos: provocar una reacción entre un compuesto representado por la Fórmula 5 a continuación y bromotrimetilsilano; y provocar otra reacción añadiendo agua a la misma:

15

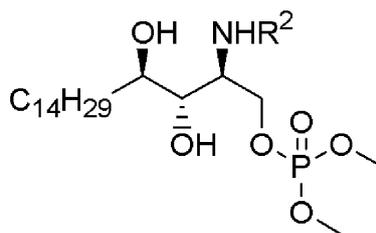
[Fórmula 1b]



20

[Fórmula 5]

25



en donde, en la Fórmula 5, R<sup>2</sup> es el grupo protector.

Otro aspecto de la presente invención proporciona una composición cosmética para prevenir la caída del cabello o para promover el crecimiento del cabello, comprendiendo dicha composición cosmética el compuesto de las Fórmulas 1a o 1b, la sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de las Fórmulas 1a o 1b, o el solvato del compuesto de las Fórmulas 1a o 1b.

Otro aspecto de la presente invención proporciona una composición farmacéutica para prevenir y tratar la caída del cabello o para promover el crecimiento del cabello, comprendiendo la composición farmacéutica el compuesto de las Fórmulas 1a o 1b, la sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de las Fórmulas 1a o 1b, o el solvato del compuesto de las Fórmulas 1a o 1b.

Otro aspecto de la presente invención proporciona una composición cosmética para prevenir, suavizar o tratar las arrugas de la piel, comprendiendo dicha composición cosmética el compuesto de las Fórmulas 1a o 1b, la sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de las Fórmulas 1a o 1b, o el solvato del compuesto de las Fórmulas 1a o 1b.

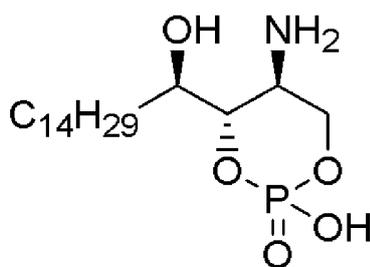
A continuación, la presente invención se describirá con más detalle.

Todos los términos técnicos utilizados en esta descripción deben interpretarse con el sentido y significado generalmente conocidos y entendidos por cualquier experto en la técnica, a menos que se defina lo contrario. Además, se describen en esta descripción los métodos preferibles o las realizaciones a modo de ejemplo, pero otros métodos o realizaciones derivados de sus similares o equivalentes entran dentro del alcance de la presente invención.

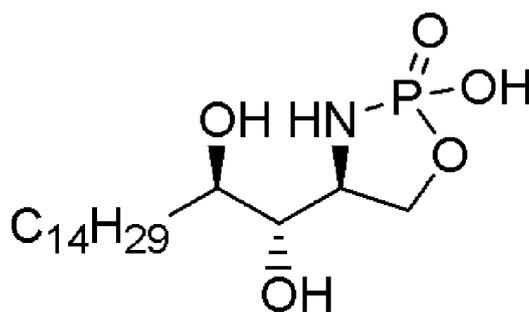
Como resultado del estudio para el desarrollo de sustancias que puedan sintetizarse con altos rendimientos y que sean seguras y efectivas para el tratamiento de la pérdida del cabello sin preocuparse por los efectos secundarios de los agentes terapéuticos convencionales para la pérdida de cabello, los presentes inventores desarrollaron un compuesto representado por las anteriores Fórmulas 1a o 1b, como un nuevo derivado de la fitoesfingosina-1-fosfato que convencionalmente se conoce como una sustancia segura.

Por consiguiente, un aspecto de la presente invención proporciona fitoesfingosina-1-fosfato O-cíclico (O-C-P1P) representada por la Fórmula 1a a continuación o fitoesfingosina-1-fosfato N-cíclico (N-C-P1P) representada por la Fórmula 1b a continuación, una sal farmacéuticamente aceptable de O-C-P1P o N-C-P1P, o un solvato de O-C-P1P o N-C-P1P:

[Fórmula 1a]



[Fórmula 1b]



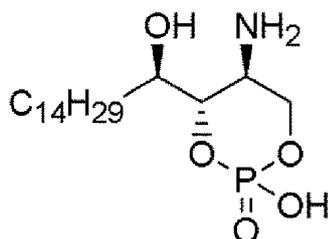
5 La sal farmacéuticamente aceptable puede existir como una sal de adición de ácido que forma una sal así como un ácido libre por el compuesto de las Fórmulas 1a o 1b. El compuesto de las Fórmulas 1a o 1b puede formar una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable de acuerdo con un método convencional conocido en la técnica. El ácido libre puede ser un ácido orgánico o un ácido inorgánico. Los ejemplos del ácido inorgánico incluyen ácido clorhídrico, ácido bromico o ácido fosfórico. Los ejemplos del ácido orgánico incluyen ácido cítrico, ácido acético, ácido láctico, ácido tartárico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido fórmico, ácido propiónico, ácido oxálico, ácido trifluoroacético, ácido benzoico, ácido glucónico, ácido metanosulfónico, ácido glicólico, ácido succínico, ácido 4-toluenosulfónico, ácido galacturónico, ácido embónico, ácido glutámico o ácido aspártico. En particular, el compuesto de Fórmula 1a puede estar en forma de hidrocloreuro.

15 La sal farmacéuticamente aceptable puede existir como una sal inorgánica del compuesto de las Fórmulas 1a o 1b. El compuesto de las Fórmulas 1a o 1b puede formar una sal inorgánica farmacéuticamente aceptable de acuerdo con un método convencional conocido en la técnica. Los ejemplos de la sal inorgánica incluyen aluminio, amonio, calcio, cobre, hierro, litio, magnesio, manganeso, potasio, sodio o una sal a base de zinc, pero sin limitarse la sal inorgánica a los mismos. Los ejemplos preferibles del listón inorgánico incluyen amonio, potasio, magnesio o una sal de sodio.

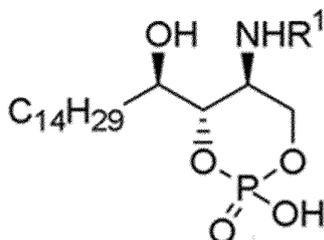
20 Además, el compuesto de las Fórmulas 1a o 1b de acuerdo con la presente invención puede incluir un solvato que comprende no sólo una sal farmacéuticamente aceptable, sino también todas las sales e hidratos que puedan prepararse de acuerdo con un método convencional conocido en la técnica.

25 Otro aspecto de la presente invención proporciona un método para preparar un compuesto representado por la Fórmula 1a siguiente, comprendiendo el método desproteger un grupo protector de un compuesto representado por la Fórmula 4 siguiente provocando una reacción con ácido trifluoroacético o gas de ácido clorhídrico:

30 [Fórmula 1a]



35 [Fórmula 4]



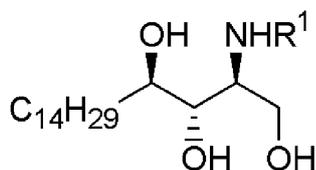
40 en donde, en la Fórmula 4, R<sup>1</sup> es el grupo protector.

45 En la Fórmula 4, R<sup>1</sup> puede ser, como grupo protector, cualquier grupo protector que esté convencionalmente disponible para proteger un grupo amino, y ejemplos del mismo incluyen un grupo t-butiloxycarbonilo (t-Boc), un grupo p-nitrobenciloxycarbonilo, un grupo p-metoxibenciloxycarbonilo o un grupo ariloxycarbonilo, pero R<sup>1</sup> no está limitado a éstos.

Se puede usar cualquier sustancia como disolvente para realizar la desprotección del grupo protector del compuesto de la Fórmula 4 provocando una reacción con ácido trifluoroacético o gas de ácido clorhídrico, siempre que el disolvente no inhiba la reacción. En una realización preferida, se puede usar cloruro de metileno en una reacción con ácido trifluoroacético, pero se puede usar acetato de etilo en una reacción con gas HCl. Las condiciones de reacción para la desprotección pueden variar de acuerdo con los tipos del grupo protector y los reactivos. En una realización a modo de ejemplo, la desprotección del grupo protector del compuesto de la Fórmula 4 puede realizarse a temperatura ambiente en una reacción con ácido trifluoroacético. En otra realización a modo de ejemplo, la desprotección del grupo protector del compuesto de la Fórmula 4 puede realizarse después de ser enfriado a una temperatura de aproximadamente 0 °C en una reacción con gas HCl.

El compuesto de la Fórmula 4 puede prepararse provocando una reacción entre un compuesto representado por la Fórmula 3 siguiente y POCl<sub>3</sub>:

[Fórmula 3]

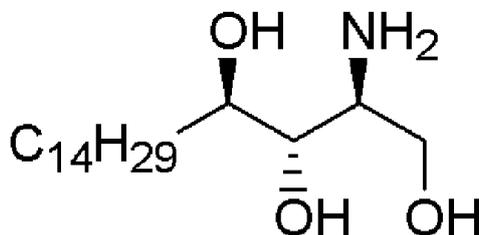


en donde, en la Fórmula 3, R<sup>1</sup> es el grupo protector.

Se puede usar cualquier sustancia como disolvente para realizar la fosforilación del compuesto de la Fórmula 3 provocando una reacción con POCl<sub>3</sub>, siempre que el disolvente no inhiba la reacción. En una realización preferida, se puede usar piridina como disolvente. En otra realización preferida, para llevar a cabo la reacción con POCl<sub>3</sub>, el compuesto de la fórmula 3 se disuelve primero en el disolvente de piridina, la solución mezclada se enfría a una temperatura de aproximadamente -20 °C y, a continuación, se añade una solución de POCl<sub>3</sub> al disolvente de piridina. Una vez completada la reacción con POCl<sub>3</sub>, se puede usar ácido fuerte, tal como HCl, para controlar el pH del producto de reacción hasta aproximadamente 2, preparando de ese modo el compuesto de la Fórmula 4. El compuesto de la Fórmula 4 preparado a de este modo puede utilizarse para preparar el compuesto de la Fórmula 1a sin realizar un proceso de purificación particular.

El compuesto de la Fórmula 3 se puede preparar introduciendo el grupo protector en un grupo amino de D-fitoesfingosina representado por la siguiente Fórmula 2:

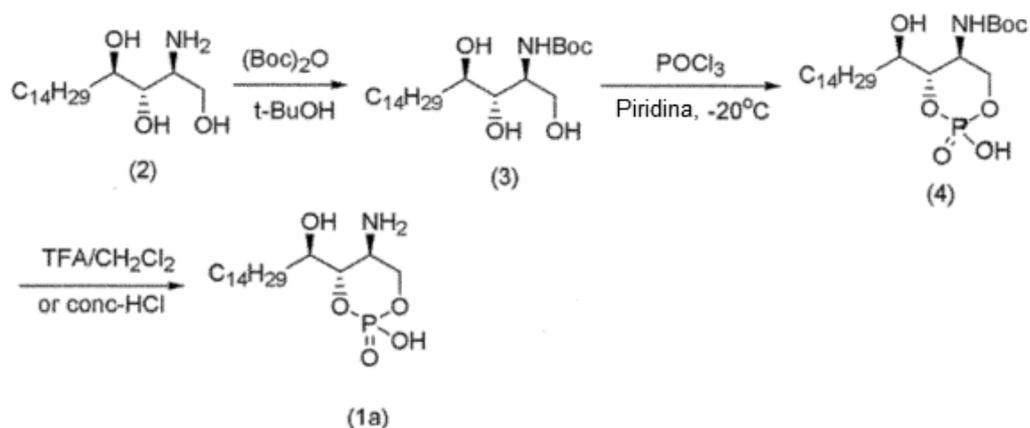
[Fórmula 2]



La introducción del grupo protector en el grupo amino de la D-fitoesfingosina puede realizarse de acuerdo con cualquier método conocido en la técnica, por ejemplo, el método descrito en el Documento no de patente 14.

En una realización a modo de ejemplo, el método para preparar el compuesto de la Fórmula 1a se puede representar por la siguiente Ecuación de Reacción 3.

[Ecuación de Reacción 3]

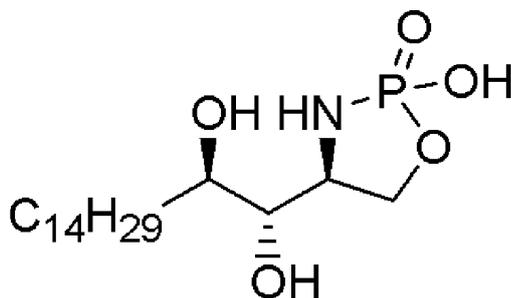


5

Otro aspecto de la presente invención proporciona un método para preparar un compuesto representado por la siguiente Fórmula 1b, comprendiendo el método los siguientes pasos: provocar una reacción entre el compuesto representado por la Fórmula 5 siguiente y el bromotrimetilsilano; y provocar otra reacción añadiendo agua a la misma:

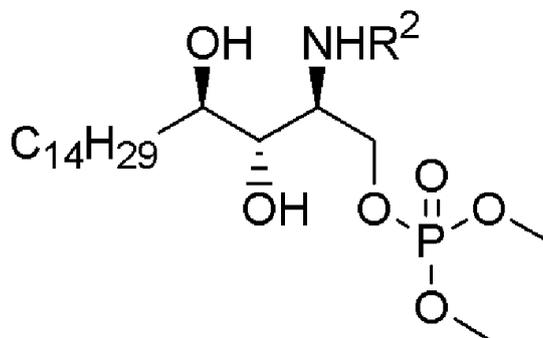
10

[Fórmula 1b]



15

[Fórmula 5]



20

en donde, en la Fórmula 5, R<sup>2</sup> es el grupo protector.

25

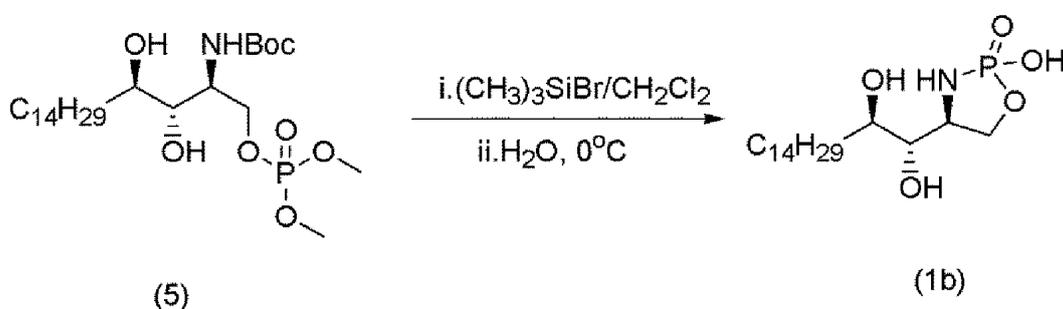
En la Fórmula 5, R<sup>2</sup> puede ser, como grupo protector, cualquier grupo protector que está convencionalmente disponible para proteger un grupo amino, y ejemplos del mismo incluyen un grupo t-Boc, un grupo p-nitrobenciloxycarbonilo, un grupo p-metoxibenciloxycarbonilo, o un grupo ariloxycarbonilo, pero R<sup>2</sup> no está limitado a éstos.

Se puede usar cualquier sustancia como disolvente para realizar la reacción entre el compuesto de la Fórmula 5 y el bromotrimetilsilano, siempre que el disolvente no inhiba la reacción. En una realización preferida, se puede usar cloruro de metileno. Las condiciones de reacción detalladas para la desprotección pueden variar de acuerdo con los tipos del grupo protector. En una realización a modo de ejemplo, el compuesto de la Fórmula 5 se disuelve en un disolvente, la solución mezclada se enfría a una temperatura de aproximadamente  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , y entonces se añade el bromotrimetilsilano a la misma. Posteriormente, se le agrega agua para provocar una reacción adicional a una temperatura de aproximadamente  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ , preparando de este modo el compuesto de la Fórmula 1b.

El compuesto de Fórmula 5 se puede preparar de acuerdo con cualquier método conocido en la técnica, por ejemplo, el método descrito en el Documento no de Patente 14.

En una realización a modo de ejemplo, el método para preparar el compuesto de la Fórmula 1b se puede representar mediante la siguiente Ecuación de Reacción 4:

[Ecuación de Reacción 4]



Otro aspecto de la presente invención proporciona una composición cosmética para prevenir la caída del cabello o para promover el crecimiento del cabello, comprendiendo la composición cosmética el compuesto de las Fórmulas 1a o 1b, la sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de las Fórmulas 1a o 1b, o el solvato del compuesto de las Fórmulas 1a o 1b.

Otro aspecto de la presente invención proporciona una composición farmacéutica para prevenir y tratar la caída del cabello o para promover el crecimiento del cabello, comprendiendo la composición farmacéutica el compuesto de las Fórmulas 1a o 1b, la sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de las Fórmulas 1a o 1b, o el solvato del compuesto de las Fórmulas 1a o 1b.

Otro aspecto de la presente invención proporciona una composición cosmética para prevenir, suavizar o tratar las arrugas de la piel, comprendiendo la composición cosmética el compuesto de las Fórmulas 1a o 1b, la sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de las Fórmulas 1a o 1b, o el solvato del compuesto de las Fórmulas 1a o 1b.

En lo sucesivo, tanto la composición cosmética como la composición farmacéutica se denominarán "la composición según la presente invención".

En los Ejemplos que siguen a continuación se confirma que el compuesto de Fórmula 1a (es decir, O-C-P1P) y el compuesto de Fórmula 1b (es decir, N-C-P1P) son eficaces para tratar y prevenir la pérdida de cabello y para hacer crecer el cabello. En detalle, los compuestos de acuerdo con la presente invención se someten a una prueba de crecimiento del cabello usando un ratón C3H. En consecuencia, se confirma que los compuestos de acuerdo con la presente invención muestran efectos significativamente excelentes sobre el crecimiento del cabello en comparación con Minoxyl 3% (formulación líquida de minoxidil al 3%, Hyundai Pharm), que es un agente terapéutico actualmente en venta tras su aprobación por parte de la FDA. Además, como resultado de verificar una prueba de crecimiento del cabello usando un ratón C3H con los compuestos según la presente invención para distintas concentraciones que varían de aproximadamente 0,005% a aproximadamente 0,02%, se confirma que los compuestos de acuerdo con la presente invención exhiben significativamente excelentes efectos en comparación con los del grupo de control negativo. Además, hay poca diferencia en los efectos sobre el crecimiento del cabello en función de cada concentración, mientras que los compuestos de acuerdo con la presente invención muestran efectos similares a los del grupo de control positivo (es decir, minoxidil 3%). Por consiguiente, se confirma que los compuestos de acuerdo con la presente invención muestran efectos excelentes sobre el crecimiento del cabello a una concentración que es aproximadamente 300 veces menor que la concentración de los agentes terapéuticos convencionales para la pérdida del cabello. Además, como resultado de verificar una prueba de crecimiento del cabello usando un ratón

5 C3H con los compuestos de acuerdo con la presente invención en forma de sales de HCl y sales disódicas, se confirma que los compuestos de acuerdo con la presente invención muestran efectos significativamente excelentes comparados a los del grupo de control negativo, independientemente de los tipos de sales. Además, como resultado de verificar una prueba clínica usando los compuestos de acuerdo con la presente invención y dirigida a pacientes calvos reales, se confirman los efectos sobre la prevención de la pérdida del cabello y el crecimiento del cabello. Por lo tanto, se confirma que los compuestos de acuerdo con la presente invención son eficaces para tratar y prevenir la caída del cabello y para promover el crecimiento del cabello.

10 La composición cosmética para prevenir la caída del cabello o para promover el crecimiento del cabello y la composición farmacéutica para prevenir y tratar la caída del cabello o para promover el crecimiento del cabello de acuerdo con la presente invención se puede usar en forma de preparación combinada añadiendo otros fármacos o suplementos para prevenir y tratar la caída del cabello o para promover el crecimiento del cabello. Ejemplos de estos fármacos o suplementos incluyen ácido retinoico, minoxidil, finasterida, péptido de zinc, óxido de zinc, biotina, genisteína, extractos de cebolla, aceite de semilla de calabaza, aceite de emú, extractos de té verde, extractos de corteza de sauce, extractos de *Centella asiática*, extractos de ortiga, extractos de cálamó, extractos de romero o extractos de manzanilla, pero sin estar limitados a éstos.

20 La composición cosmética para prevenir la pérdida del cabello o para promover el crecimiento del cabello y la composición farmacéutica para prevenir y tratar la pérdida del cabello o para promover el crecimiento del cabello o para hacer crecer el cabello de acuerdo con la presente invención se puede usar en forma de preparaciones orales, inyecciones, supositorios, preparaciones transdérmicas y preparaciones nasales, pero también se pueden administrar en cualquier forma de dosificación que no se limite a las preparaciones descritas anteriormente. Preferiblemente, las composiciones se pueden formular en preparaciones adecuadas para la aplicación tópica en el cuero cabelludo o el área de la piel donde crece el cabello. Los ejemplos de tales preparaciones para administración tópica incluyen liposomas, nanoemulsión, champú, acondicionador para el cabello o loción capilar, pero las preparaciones no están limitadas a éstas. Preferiblemente, para promover los efectos de un aumento en la absorción percutánea, las composiciones pueden estar en formulación de liposoma o nanoemulsión. Cuando se formulan las composiciones, pueden usarse vehículos, diluyentes o aditivos que son conocidos en el campo de los cosméticos o productos farmacéuticos y adecuados para preparar cada formulación.

30 La composición cosmética para prevenir la pérdida del cabello o para promover el crecimiento del cabello y la composición farmacéutica para prevenir y tratar la caída del cabello o para promover el crecimiento del cabello de acuerdo con la presente invención puede incluir el compuesto de las Fórmulas 1a o 1b en un rango de aproximadamente 0,001% en peso a aproximadamente 1% en peso, preferiblemente de aproximadamente 0,005% en peso a aproximadamente 0,1% en peso, en función de las cantidades totales de la composición, en donde la cantidad del compuesto de las Fórmulas 1a o 1b puede aumentarse o disminuirse según los tipos de principios activos. En el caso de la composición farmacéutica según la presente invención para administración tópica, el compuesto de las Fórmulas 1a o 1b puede administrarse una o dos veces al día mediante la aplicación en áreas que necesitan prevenir y tratar la pérdida de cabello o el crecimiento del cabello. El compuesto de las Fórmulas 1a o 1b puede administrarse una vez al día en una cantidad que varía de aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 3 mg en base a un 1% en peso de los principios activos, en donde la cantidad del compuesto de las Fórmulas 1a o 1b puede aumentarse o disminuirse según el tamaño del área de aplicación. Dicha dosificación y frecuencia de uso del compuesto de Fórmulas 1a o 1b pueden aumentarse o disminuirse apropiadamente de acuerdo con la edad y el sexo del paciente y la progresión de la pérdida de cabello.

45 Además, en los Ejemplos que siguen a continuación se confirma que el compuesto de la La Fórmula 1a (es decir, O-C-P1P) y el compuesto de Fórmula 1b (es decir, N-C-P1P) son eficaces para prevenir, suavizar o tratar las arrugas de la piel. En detalle, los compuestos de acuerdo con la presente invención se tratan según concentraciones y, a continuación, se someten a medición de la proliferación de fibroblastos humanos a través del ensayo de MTT y a medición de las cantidades de colágeno en los fibroblastos humanos. Como resultado, se confirma que a medida que aumenta la concentración de los compuestos de la presente invención, aumenta la viabilidad de los fibroblastos humanos así como también la cantidad de colágeno en los mismos. Por consiguiente, se confirma que los compuestos según la presente invención son eficaces para prevenir, suavizar y tratar las arrugas de la piel.

55 La composición cosmética para prevenir, suavizar y tratar las arrugas de la piel de acuerdo con la presente invención se puede usar en forma de una preparación combinada añadiendo además otras sustancias para prevenir, suavizar y tratar las arrugas de la piel.

60 La composición cosmética para prevenir, suavizar y tratar las arrugas de la piel de acuerdo con la presente invención se puede formular en preparaciones adecuadas para la aplicación tópica sobre la piel arrugada o sobre la piel propensa a las arrugas. Ejemplos de dichas preparaciones para administración tópica incluyen liposomas o nanoemulsiones, pero las preparaciones no están limitadas a éstas. Cuando se formula la composición, pueden usarse vehículos, diluyentes o aditivos que son conocidos en el campo de los cosméticos adecuados para preparar cada formulación.

La composición cosmética para prevenir, suavizar y tratar las arrugas de la piel de acuerdo con la presente invención puede incluir el compuesto de las Fórmulas 1a o 1b en un intervalo de aproximadamente 0,001% en peso a aproximadamente 1% en peso, preferiblemente de aproximadamente 0,005% en peso a aproximadamente 0,1 % en peso, en función de las cantidades totales de la composición, en donde la cantidad del compuesto de las Fórmulas 1a o 1b puede aumentarse o disminuirse según los tipos de principios activos. En el caso de la composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención para administración tópica, el compuesto de las Fórmulas 1a o 1b se puede administrar una o dos veces al día mediante la aplicación en áreas que necesitan prevenir, suavizar y tratar las arrugas de la piel. El compuesto de Fórmulas 1a o 1b puede administrarse una vez al día en una cantidad que varía de aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 3 mg en base a un 1% en peso de los principios activos, en donde la cantidad del compuesto de las Fórmulas 1a o 1b puede aumentarse o disminuirse según el tamaño del área de aplicación. Dicha dosificación y frecuencia de uso del compuesto de las Fórmulas 1a o 1b pueden aumentarse o disminuirse apropiadamente de acuerdo con la edad y el sexo del paciente y la progresión de las arrugas.

#### 15 EFECTOS VENTAJOSOS DE LA INVENCION

Tal y como se ha descrito anteriormente, el compuesto de las Fórmulas 1a o 1b, la sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de las Fórmulas 1a o 1b, o el solvato del compuesto de las Fórmulas 1a o 1b de acuerdo con la presente invención muestra excelentes efectos para tratar y evitar la caída del cabello o para promover el crecimiento del cabello y efectos para prevenir, suavizar o tratar las arrugas de la piel. Además, el compuesto de las Fórmulas 1a o 1b, la sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de las Fórmulas 1a o 1b, o el solvato del compuesto de las Fórmulas 1a o 1b de acuerdo con la presente invención son económicos por prepararse de forma sencilla mediante métodos de síntesis, pudiendo llevarse fácilmente hasta los folículos capilares cuando se formulan en forma de microesferas lipídicas tales como liposomas y nanoemulsión. Además, en comparación con otros agentes terapéuticos para la pérdida de cabello, por ejemplo, minoxidil y finasterida, que se han usado convencionalmente, el compuesto de las Fórmulas 1a o 1b, la sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de las Fórmulas 1a o 1b, o el solvato del compuesto de las Fórmulas 1a o 1b de acuerdo con la presente invención preferiblemente no provocan irritación de la piel y no tienen ningún efecto secundario.

#### 30 BREVE DESCRIPCION DE LOS DIBUJOS

La FIGURA 1 es un espectro de  $^1\text{H}$  RMN de un compuesto representado por la Fórmula 1a (es decir, fitoesfingosina-1-fosfato O-cíclico) preparado de acuerdo con una realización a modo de ejemplo de la presente invención.

La FIGURA 2 es un espectro de  $^1\text{H}$  RMN de un compuesto representado por la Fórmula 1b (es decir, fitoesfingosina-1-fosfato N-cíclico) preparado de acuerdo con una realización a modo de ejemplo de la presente invención.

La FIGURA 3 muestra imágenes de la piel tratada con los presentes compuestos, un control positivo (3% de líquido de minoxidil) o un control negativo. Las imágenes se obtuvieron en los días 11<sup>o</sup>, 14<sup>o</sup> y 18<sup>o</sup> después de aplicar la solución de O-C-P1P o N-C-P1P de acuerdo con la presente invención una vez al día sobre el dorso afeitado de ratones C3H.

La FIGURA 4 muestra imágenes de la piel tratada con el presente compuesto, controles positivo y negativo, las imágenes se obtuvieron en los días 14<sup>o</sup> y 18<sup>o</sup> después de aplicar liposoma O-C-P1P según la presente invención una vez al día sobre el dorso afeitado de ratones C3H.

La FIGURA 5 muestra imágenes de la piel tratada con diversas concentraciones del presente compuesto y control negativo, las imágenes se obtuvieron en los días 13<sup>o</sup> y 17<sup>o</sup> después de aplicar diversas concentraciones de solución de O-C-P1P de acuerdo con la presente invención una vez al día para cada concentración sobre el dorso afeitado de ratones C3H.

La FIGURA 6 muestra imágenes de la piel tratada con diversas sales del presente compuesto y control negativo, las imágenes se obtuvieron a los días 14<sup>o</sup> y 18<sup>o</sup> después de aplicar una base libre de O-C-P1P, una sal de HCl de O-C-P1P y una solución conteniendo una sal disódica de O-C-P1P según la presente invención una vez al día sobre el dorso afeitado de ratones C3H.

Las FIGURAS 7A y 7B son imágenes de la parte superior de la cabeza tratadas con el presente compuesto que muestran el crecimiento del cabello con el tiempo. Las imágenes se obtuvieron en las semanas indicadas después de aplicar el liposoma O-C-P1P según la presente invención una o dos veces al día a un sujeto que presentaba una progresiva pérdida del cabello.

La FIGURA 8 muestra imágenes del cuero cabelludo antes y 16 semanas después de aplicar el liposoma O-C-P1P en diversas concentraciones. Las imágenes se obtuvieron en una prueba clínica realizada sobre el sujeto con progresiva pérdida de cabello aplicando al sujeto el liposoma O-C-P1P de acuerdo con la presente invención en una cantidad de 0,002% en peso (Grupo A), 0,01% en peso (Grupo B) y 0,05% en peso (Grupo C) en una prueba doble ciego.

En lo sucesivo, la presente descripción se explica con más detalle con referencia a los siguientes ejemplos. Sin embargo, estos ejemplos no deben interpretarse, en modo alguno, como limitativos del alcance de la presente invención.

**EJEMPLOS****Ejemplo 1: Preparación de N-Boc-D-fitoesfingosina**

5 Se hizo reaccionar D-fitoesfingosina con (Boc)<sub>2</sub>O en t-butanol de acuerdo con el método descrito en Bull. Korean Chem. Soc., 2003, 24, 267-268, para introducir un grupo protector (Boc) en un grupo amino, preparándose de ese modo N-Boc-D-fitoesfingosina.

**Ejemplo 2: Preparación de N-Boc-D-fitoesfingosina-3-O, P-ciclofosfato**

10 Se añadieron lentamente 1,05 equivalentes de POCl<sub>3</sub> gota a gota a un disolvente de piridina que se enfrió a aproximadamente -30°C (hasta aproximadamente 1/3 del volumen total), para preparar una solución de POCl<sub>3</sub>/piridina. Luego, se disolvió la N-Boc-D-fitoesfingosina (1 equivalente) del Ejemplo 1 en un disolvente de piridina (hasta aproximadamente 2/3 del volumen total), y luego, la solución mezclada se enfrió a una temperatura de aproximadamente -20°C. Mientras se mantenía la misma temperatura, se añadió la solución de POCl<sub>3</sub>/piridina.  
 15 Cuando la temperatura de reacción aumentó a temperatura ambiente, el disolvente de piridina se eliminó a presión reducida, y se utilizó 6N HCl para ajustar la solución a partir de la cual se eliminó el disolvente de piridina para tener un pH de 2, y luego, la solución con un pH de 2 se extrajo con acetato de etilo. Después, se eliminó la humedad del extracto de acetato de etilo usando MgSO<sub>4</sub>, y el disolvente se concentró a presión reducida, para obtener  
 20 cuantitativamente la sustancia deseada, N-Boc-D-fitoesfingosina-3-O, P-ciclofosfato. La N-Boc-D-fitoesfingosina-3-O, P-ciclofosfato obtenida a partir de ello se usó, sin realizar un proceso de purificación adicional, como material de partida en los Ejemplos 3 y 4.

**Ejemplo 3: Preparación de fitoesfingosina-1-fosfato O-cíclico (Fórmula 1a) (1)**

25 Se disolvió la N-Boc-D-fitoesfingosina-3-O, P-ciclofosfato del Ejemplo 2 en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, y luego, la solución mezclada se añadió a un solvato de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> usando trifluoroacetato hasta aproximadamente 1/3 del volumen total del solvato CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. La solución mezclada se agitó luego a temperatura ambiente durante 1 hora. Después, el solvato se eliminó de la solución mezclada a presión reducida, y luego, se añadió un solvato de Conc-HCl para agitarlo fuertemente.  
 30 Los sólidos blancos producidos a partir de ello se filtraron, se lavaron posteriormente con agua y acetona, y luego se secaron, para obtener el producto final deseado, fitoesfingosina-1-fosfato O-cíclico (O-C-P1P) en forma de sal de HCl (rendimiento total: 90%).

**Ejemplo 4: Preparación de fitoesfingosina-1-fosfato O-cíclico (Fórmula 1a) (2)**

35 Se disolvió la N-Boc-D-fitoesfingosina-3-O, P-ciclofosfato del Ejemplo 2 en un solvato de acetato de etilo, y luego, la solución mezclada se enfrió a una temperatura de aproximadamente 0 °C. Luego, se inyectó gas de HCl durante 1 hora. Los sólidos blancos producidos a partir de ello se filtraron, se lavaron con acetato de etilo, y luego se secaron, para obtener el producto final deseado, fitoesfingosina-1-fosfato O-cíclico (O-C-P1P) en forma de una sal de HCl (rendimiento total: 93%).  
 40

Los datos obtenidos a partir de espectros de <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD: CD<sub>3</sub>COOD=1:1) del producto finalmente obtenido se muestran en la FIGURA 1.

45 La sal de HCl obtenida se trató con una solución de etanol KOH del mismo equivalente con la sal de HCl, para obtener fitoesfingosina-1 fosfato O-cíclico de la cual se eliminó la sal de HCl.

Además, el O-C-P1P obtenido se trató con 3 equivalentes de una solución acuosa de NaOH, para preparar una sal disódica de O-C-P1P.  
 50

**Ejemplo 5: Preparación de fitoesfingosina-1-fosfato N-cíclico (Fórmula 1b)**

55 El éster del ácido N-Boc-D-fitoesfingosina-1-fosfórico se preparó de acuerdo con el método descrito en Bull. Korean Chem. Soc., 2003, 24, 267-268. El éster del ácido N-Boc-D-fitoesfingosina-1-fosfórico preparado se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, y luego, la solución mezclada se enfrió a una temperatura de aproximadamente -20 °C. Después, se añadieron 5 equivalentes de bromodimetilsilano para agitar durante aproximadamente 1 hora. Luego, se añadió agua a la misma para realizar la concentración de calentamiento, y se añadió acetona a los residuos obtenidos a partir de la concentración de calentamiento. Los sólidos blancos obtenidos a partir de ello se filtraron, para obtener el compuesto del título (es decir, N-C-P1P) (rendimientos totales: 13%).

60 Los datos obtenidos a partir de espectros de <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD:CD<sub>3</sub>COOD=1:1) del producto finalmente obtenido se muestran en la FIGURA 2.

**Ejemplo 6: Preparación de liposoma que contiene O-C-P1P**

65 Primero, se disolvieron 1 g de fosfatidilcolina de soja al 75% (disponible por Lipoid Company), 0,01 g de O-C-P1P

del Ejemplo 4 y 0,3 g de acetato de vitamina E en una solución mixta de 20 g de etanol y 2 g de de etoxidiglicol, para preparar una solución de etanol O-C-P1P. La solución obtenida se trató ultrasónicamente durante 5 minutos para disolución. A continuación, se añadió lentamente a la solución de etanol O-C-P1P una solución acuosa en la que se disolvieron 0,5 g de mentol, 0,5 g de niacinamida, 3 g de azufre orgánico natural y 0,1 g de hesperidina en 71,59 g de agua destilada. Al tiempo, la solución mezclada se agitó fuertemente. Después de terminar la adición de agua destilada, la solución mezclada se agitó continuamente durante 30 minutos. Luego, se usó un sonicador de tipo baño para realizar el tratamiento ultrasónico sobre la misma durante 30 minutos, de modo que las partículas tuvieran un diámetro de partícula de aproximadamente 100 nm, preparando de ese modo un liposoma que contiene O-C-P1P.

Por separado, al preparar un liposoma de acuerdo con el método de preparación descrito anteriormente, como un promotor de penetración en la piel, se añadió una mezcla de poloxámero+polisorbato 80 (Tween 80), preparando de este modo un liposoma para promover la penetración en la piel.

**Ejemplo 7: Preparación de liposoma que contiene O-C-P1P (2)**

Se preparó liposoma que contenía O-C-P1P de la misma manera que en el Ejemplo 6, excepto que en la preparación de la solución acuosa, se añadieron adicionalmente 1 g de extractos de corteza de sauce, 1 g de extractos de té verde, 3 g de extracto de *C. asiática*, 0,5 g de extractos de ortiga, 0,5 g de extractos de cáalamo, 0,5 g de extractos de romero, 0,5 g de extractos de manzanilla y 1 g de soja fermentada. En este caso, el liposoma se preparó usando una pequeña cantidad de agua destilada para las cantidades de cada extracto añadidas al mismo.

**Ejemplo 8: Preparación de liposoma que contiene N-C-P1P (1)**

Se preparó el liposoma que contenía N-C-P1P al 0,01% de la misma manera que en el Ejemplo 6, excepto que se usó N-C-P1P del Ejemplo 5 en lugar de O-C-P1P.

**Ejemplo 9: Preparación de liposoma que contiene N-C-P1P (2)**

El Liposoma que contenía N-C-P1P al 0,01% se preparó de la misma manera que en el Ejemplo 7, excepto que se usó N-C-P1P del Ejemplo 5 en lugar de O-C-P1P.

Las composiciones de los liposomas preparados en los Ejemplos 6 a 9 se enumeran en la Tabla 1 a continuación.

[Tabla 1]

Composición de los ejemplos	Ejemplo 6	Ejemplo 7	Ejemplo 8	Ejemplo 9
O-C-P1P	0,01	0,01	0	0
N-C-P1P	0	0	0,01	0,01
Lecitina	1	1	1	1
Etanol	20	20	20	20
Etoxidiglicol	2	2	2	2
Poloxámero	0,5	0,5	0,5	0,5
Tween 80® (polisorbato 80)	0,5	0,5	0,5	0,5
Niacinamida	0,5	0,5	0,5	0,5
Mentol	0,5	0,5	0,5	0,5
Azufre orgánico natural	3	3	3	3
Hesperidina	0,1	0,1	0,1	0,1
Extractos de té verde	0	1	0	1
Extractos de corteza de sauce	0	1	0	1
Soja fermentada	0	1	0	1
Extractos de <i>C. asiática</i>	0	3	0	3
Extractos de ortiga	0	0,5	0	0,5
Extractos de cáalamo	0	0,5	0	0,5
Extractos de ortiga	0	0,5	0	0,5
Extractos de manzanilla	0	0,5	0	0,5
Agua destilada	71,89	63,89	71,89	63,89

**Ejemplo experimental 1: prueba de crecimiento de pelo usando ratones C3H (1)**

Se compró un ratón C3H de 6 semanas, y se eliminó parcialmente el pelo de la parte dorsal del ratón. Luego, se aplicó crema de depilación en la parte dorsal para eliminar por completo el pelo existente. Un ratón cuyo pelo no se eliminó completamente se excluyó de la prueba. Después de terminar la depilación, 5 ratones fueron criados al azar por jaula, y se usaron un total de 5 jaulas.

Los ratones se dejaron un día más o menos después de terminar la depilación, y un compuesto de prueba, que se preparó disolviendo O-C-P1P del Ejemplo 4 y N-C-P1P del Ejemplo 5 en una solución mixta de etanol y etoxidiglicol (9:1, v/v) a una concentración de 0,01% en peso, se aplicó una vez al día al área de donde se extrajo el pelo. Se preparó un grupo de control negativo aplicando una solución mixta de etanol y etoxidiglicol sin usar el compuesto de prueba, y el grupo de control positivo fue una preparación de minoxidil al 3% (Mynoxyl, Hyundai Pharm). Después de aplicar muestras a la zona de donde se extrajo el pelo, las imágenes de la zona capturadas a los días 14 y 18 se muestran en la FIGURA 3.

Con referencia a la FIGURA 3, se confirmó que el pelo apenas creció en la zona en el grupo no tratado (es decir, grupo de control negativo), lo que resultó en la exposición de la piel al exterior, mientras que un crecimiento rápido del pelo se verificó en el grupo tratado con O-C-P1P y el grupo tratado con N-C-PIP. En concreto, los efectos sobre el crecimiento más rápido del pelo se mostraron mejor en el grupo tratado con O-C-P1P que en el grupo de control positivo. Aunque los efectos sobre el crecimiento del pelo fueron bastante menores en el grupo tratado con N-C-P1P que en el grupo de control positivo, los efectos fueron significativamente mejores en el grupo tratado con N-C-P1P que en el grupo de control negativo. Por lo tanto, en base a los resultados anteriores, se confirmó claramente que los compuestos de acuerdo con la presente invención fueron efectivos para promover el crecimiento del pelo.

**Ejemplo experimental 2: prueba de crecimiento de pelo usando ratones C3H (2)**

Se realizó una prueba de crecimiento del pelo de la misma manera que en el Ejemplo Experimental 1 usando los liposomas que contienen O-C-P1P preparados de acuerdo con los Ejemplos 6 y 7, y los compuestos de prueba se aplicaron continuamente una vez al día durante 3 semanas. Se tomaron imágenes de la zona de donde se extrajo el cabello, y las imágenes capturadas se muestran en la FIGURA 4.

Con referencia a la FIGURA 4, se confirmó que el grupo tratado con O-C-P1P tuvo efectos significativos sobre el crecimiento del pelo en comparación con los del grupo de control negativo, que el grupo tratado con O-C-P1P tuvo efectos similares sobre el crecimiento del pelo con los del grupo de control positivo.

**Ejemplo experimental 3: prueba de crecimiento del pelo usando diversas concentraciones de O-C-P1P (3)**

Se disolvió O-C-P1P del Ejemplo 4 en una solución mixta de etanol y etoxidiglicol (9:1, v/v) a tres concentraciones diferentes, es decir, 0,005% en peso, 0,01% en peso y 0,02% en peso, para preparar tres muestras diferentes. Luego, se realizó una prueba de crecimiento del pelo usando estas muestras de la misma manera que en el Ejemplo 1.

Después de aplicar las muestras a la zona de la que se retiró el cabello, se muestran imágenes de dicha zona capturadas en los días 13 y 17 en la FIGURA 5.

Con referencia a la FIGURA 5, se confirmó que los grupos tratados con O-C-P1P a diferentes concentraciones (de 0,005% en peso a 0,02% en peso) mostraron efectos significativos sobre el crecimiento del pelo en comparación con los del grupo de control negativo. Sin embargo, no hubo diferencias significativas en los efectos sobre el crecimiento del pelo entre los grupos tratados con O-C-P1P a diferentes concentraciones (0,005% en peso, 0,01% en peso y 0,02% en peso). Tales resultados también se muestran de manera similar en un grupo administrado con preparaciones de minoxidil al 3% (3% en peso) y, por consiguiente, se confirmó que O-C-P1P muestra los mismos efectos sobre el crecimiento del pelo a una concentración 300 veces menor que la concentración de minoxidil.

**Ejemplo experimental 4: prueba de crecimiento del cabello utilizando diversas sales de O-C-P1P**

Se realizó una prueba de crecimiento del pelo de la misma manera que en el Ejemplo Experimental 1 usando las sales de O-C-P1P tal como se sintetizaron en el Ejemplo 4, O-C-P1P como se preparó en el Ejemplo 4, y las sales disódicas de O-C-P1P como se sintetizaron en el Ejemplo 4.

Después de aplicar las muestras a la zona de la que se retiró el pelo, se muestran imágenes de dicha zona capturadas en los días 14 y 18 en la FIGURA 6.

En referencia a los resultados de la FIGURA 6, se confirmó que el grupo de control negativo mostró efectos significativos sobre el crecimiento del pelo, independientemente de los tipos de sales.

**Ejemplo Experimental 5: Eficacia del presente compuesto sobre el crecimiento del cabello en ensayos clínicos (1)**

El liposoma que contenía O-C-P1P como se preparó en el Ejemplo 7 se aplicó directamente a los candidatos que presentaban pérdida progresiva del cabello, a fin de comparar la eficacia en el crecimiento del cabello. La aplicación se realizó una o dos veces al día en dos candidatos, y más concretamente, el liposoma se pulverizó de 5 a 7 veces por cada aplicación, y luego, la parte rociada con liposoma se frotó con las manos para evitar que la solución liposómica se volatilizara.

Las imágenes de la cabeza capturadas antes de aplicar la muestra y las imágenes de la cabeza capturadas con el transcurso del tiempo se muestran en las FIGURAS 7A y 7B.

Con referencia a las Figuras 7A y 7B, se confirmó que el caso en el que se aplicó la muestra mostró con el transcurso del tiempo excelentes efectos sobre la prevención de la pérdida de cabello y sobre el crecimiento del cabello en comparación con el caso en el que la muestra no se había aplicado todavía. Es decir, una vez que se aplica directamente al cuerpo humano, se pueden encontrar excelentes efectos en la prevención de la caída del cabello y en crecimiento del cabello.

**Ejemplo experimental 6: Eficacia del presente compuesto sobre el crecimiento del cabello en ensayos clínicos (2)**

Se prepararon liposomas O-C-P1P a diferentes concentraciones, es decir, 0,002% en peso (Grupo A), 0,01% en peso (Grupo B) y 0,05% en peso (Grupo C), como se describe en el Ejemplo 7, y luego, estas muestras se aplicaron directamente a los candidatos que presentaban pérdida progresiva del cabello, a fin de comparar la eficacia en el crecimiento del cabello. En este caso, los resultados se compararon de acuerdo con una prueba ciega doble para que el sujeto sometido a la prueba y el experimentador no conozcan las diferentes concentraciones de las muestras.

Durante un período de 4, 8, 12 y 16 semanas después de aplicar las muestras, se observaron cambios en la densidad y el grosor del cabello, a fin de evaluar la eficacia clínica de acuerdo con las diferentes concentraciones de O-C-P1P. Los resultados obtenidos al observar los cambios en la densidad y el grosor del cabello para cada concentración se resumen en las Tablas 2 y 3 a continuación. La evaluación se realizó de la siguiente manera (unidad: unidad de evaluación del grosor y grosor del cuero cabelludo, 0: sin cambios, 1: mejorado en un nivel perceptible, 2: levemente mejorado, 3: mejorado, 4: mejorado apreciablemente, 5: mejorado significativamente). Las imágenes del cabello capturadas antes de aplicar la muestra y las imágenes del cabello capturadas a las 16 semanas después de aplicar la muestra se compararon de acuerdo con los Grupos, cada uno con diferentes concentraciones, y los resultados comparativos se muestran en la FIGURA 8.

[Tabla 2] Cambios en la densidad del cabello durante un período de 16 semanas

Promedio	0 semana	8 semanas	12 semanas	16 semanas
Grupo A	0	0,17	1,08	1,92*
Grupo B	0	0,22	2,00*	2,78*
Grupo C	0	1,11	1,78*	2,78*
* Datos que tienen significación estadística				

[Tabla 3] Cambios en el grosor del cabello durante un período de 16 semanas

Promedio	0 semana	8 semanas	12 semanas	16 semanas
Grupo A	0	0,00	0,17	0,42
Grupo B	0	0,11	0,78	1,33*
Grupo C	0	0,11	0,78	1,56*
* Datos que tienen significación estadística				

Con referencia a las anteriores Tablas 2 y 3, se confirmó que los Grupos B y C mostraron cambios estadísticamente significativos en la densidad y el grosor del cabello a las semanas 12 y 16. Además, con referencia a la FIGURA 8, el caso donde se aplicó la muestra mostró una mayor densidad del cabello en comparación con el caso donde la muestra no se había aplicado todavía.

**Ejemplo experimental 7: promoción de la proliferación celular y la síntesis de colágeno**

Para medir los efectos antiarrugas de N-C-P1P y O-C-P1P, se midieron los efectos de los fibroblastos humanos sobre la proliferación celular mediante un ensayo de MTT (bromuro de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolio).

Para observar la síntesis de colágeno, se midió el procolágeno tipo I, que se produce en fibroblastos humanos (por ejemplo, células dérmicas).

Para medir la proliferación celular, se cultivaron fibroblastos humanos durante 24 horas en un Medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM, por sus siglas en inglés) suplementado con 10% de SFB y 100 unidades/ml de penicilina/estreptomicina. Las circunstancias de cultivo que comprenden el cultivo en una incubadora de CO<sub>2</sub> al 5% se mantuvieron a una temperatura de 37 °C. Luego, después de eliminar el medio del mismo, se le añadieron N-C-P1P y O-C-P1P a diferentes concentraciones. El ensayo de MTT se realizó para medir los efectos de N-C-P1P y O-C-P1P sobre la proliferación celular, y los resultados se resumen en la Tabla 4.

[Tabla 4] Efectos sobre la proliferación celular por N-C-P1P y O-C-P1P

Grupo de concentración	Viabilidad celular (%)				
	0	0,002%	0,004%	0,008%	0,016%
N-C-P1P	100	120	110	110	125
O-C-P1P	100	128	135	143	160

Para medir la síntesis de colágeno, los fibroblastos humanos (por ejemplo, células dérmicas) se cultivaron en las mismas condiciones que anteriormente durante 24 horas. Después de eliminar el medio del mismo, se sustituyó un nuevo medio sin suero. N-C-P1P y O-C-P1P (1 µM y 10 µM), que se diluyeron paso a paso, se añadieron al nuevo medio, y luego, el medio se cultivó durante otras 24 horas. El medio de cultivo se usó para medir cantidades de colágeno sintetizado usando un equipo EIA de procolágeno de tipo I péptido C, y los resultados medidos a partir del mismo se muestran en la Tabla 5 siguiente.

[Tabla 5] Efecto en la síntesis de colágeno por N-C-P1P y O-C-P1P

Grupo de concentración	Síntesis de colágeno (%)		
	0	0.1 µM	1 µM
N-C-P1P	100	110	125
O-C-P1P	100	120	140

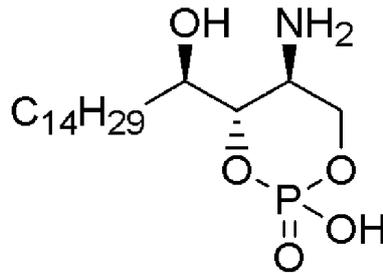
Con referencia a los resultados de las Tablas 4 y 5, se confirmó que N-C-P1P y O-C-P1P eran capaces de promover no sólo la proliferación celular, sino también la síntesis de colágeno. Por lo tanto, se descubrió que N-C-P1P y O-C-P1P eran aplicables a productos antienvjecimiento y antiarrugas que fomentan la proliferación de fibroblastos humanos y la síntesis de colágeno.

REIVINDICACIONES

- 5 **1.** Fitoesfingosina-1-fosfato O-cíclico (O-C-P1P) representada por la Fórmula 1a siguiente o fitoesfingosina-1-fosfato N-cíclico (N-C-P1P) representada por la Fórmula 1b siguiente, una sal farmacéuticamente aceptable de O-C-P1P o N-C-P1P, o un solvato de O-C-P1P o N-C-P1P:

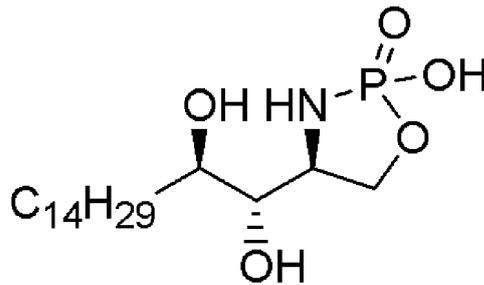
[Fórmula 1a]

10



[Fórmula 1b]

15



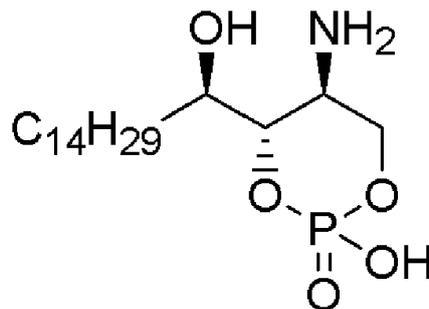
- 20 **2.** Procedimiento para preparar el compuesto representado por la Fórmula 1a siguiente, comprendiendo el procedimiento:

25

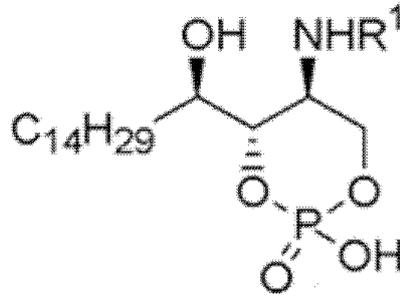
desprotección del grupo protector del compuesto representado por la Fórmula 4 siguiente provocando una reacción con ácido trifluoroacético o gas de ácido clorhídrico (HCl):

[Fórmula 1a]

30



[Fórmula 4]



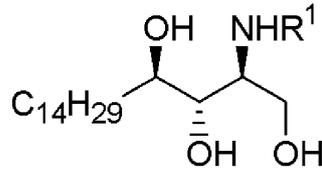
5

en donde, en la Fórmula 4, R<sup>1</sup> es el grupo protector.

- 10 **3.** Procedimiento de la reivindicación 2, en el que el compuesto de la Fórmula 4 se prepara llevando a cabo una reacción entre el compuesto representado por la Fórmula 3 siguiente y POCl<sub>3</sub>:

[Fórmula 3]

15



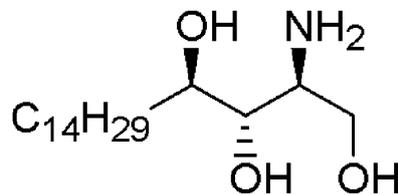
en donde, en la Fórmula 3, R<sup>1</sup> es el grupo protector.

20

- 4.** Procedimiento de la reivindicación 3, en el que el compuesto de la Fórmula 3 se prepara introduciendo un grupo protector en un grupo amino de D-fitoesfingosina representado por la Fórmula 2 siguiente:

25

[Fórmula 2]



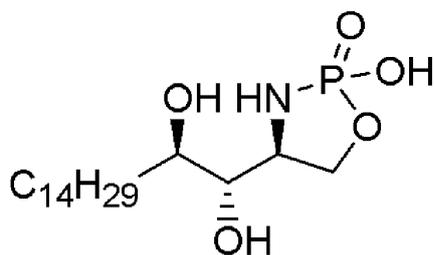
30

- 5.** Procedimiento para preparar un compuesto representado por la Fórmula 1b siguiente, comprendiendo el método:

35

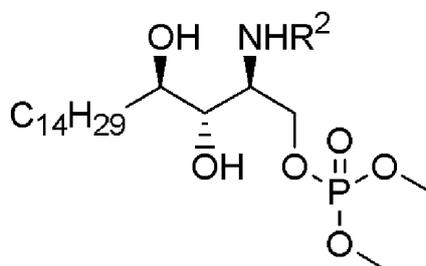
provocar una reacción entre un compuesto representado por la Fórmula 5 siguiente y bromotrimetilsilano; y provocar otra reacción añadiendo agua a la misma.

[Fórmula 1b]



5

[Fórmula 5]



10

en donde, en la Fórmula 5, R<sup>2</sup> es el grupo protector.

6. Composición cosmética para prevenir la pérdida del cabello o para promover el crecimiento del cabello, comprendiendo la composición cosmética el compuesto de las Fórmulas 1a o 1b, la sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de las Fórmulas 1a o 1b, o el solvato del compuesto de las Fórmulas 1a o 1b según la reivindicación 1.

7. Composición farmacéutica para prevenir y tratar la pérdida del cabello o para promover el crecimiento del cabello, comprendiendo la composición farmacéutica el compuesto de las Fórmulas 1a o 1b, la sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de las Fórmulas 1a o 1b, o el solvato del compuesto de las Fórmulas 1a o 1b según la reivindicación 1.

8. Composición de las reivindicaciones 6 o 7, en la que la composición es una preparación adecuada para aplicación tópica en el cuero cabelludo o en la zona de la piel donde crece el pelo.

9. Composición de la reivindicación 8, en la que la composición está en una formulación de liposoma, nanoemulsión, champú, acondicionador para el cabello o loción para el cabello.

10. Composición cosmética para prevenir, suavizar o tratar las arrugas de la piel, comprendiendo la composición cosmética el compuesto de las Fórmulas 1a o 1b, la sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de las Fórmulas 1a o 1b, o el solvato del compuesto de las Fórmulas 1a o 1b según la reivindicación 1.

11. Composición cosmética de la reivindicación 10, en la que la composición es una preparación adecuada para aplicación tópica sobre piel arrugada o piel propensa a las arrugas.

12. Composición cosmética de la reivindicación 11, en la que la composición está en una formulación de liposoma o nanoemulsión.

45

FIG.1

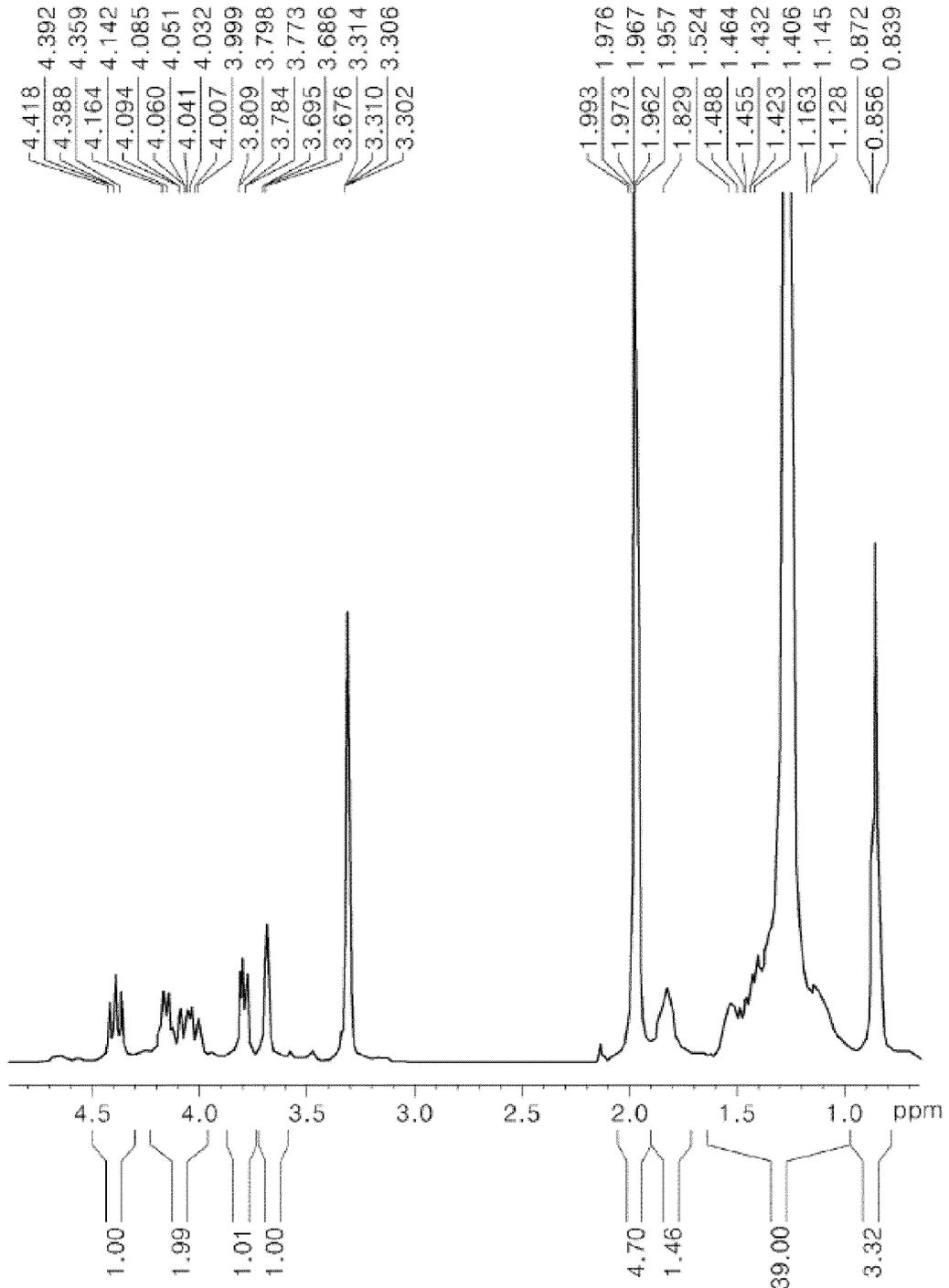
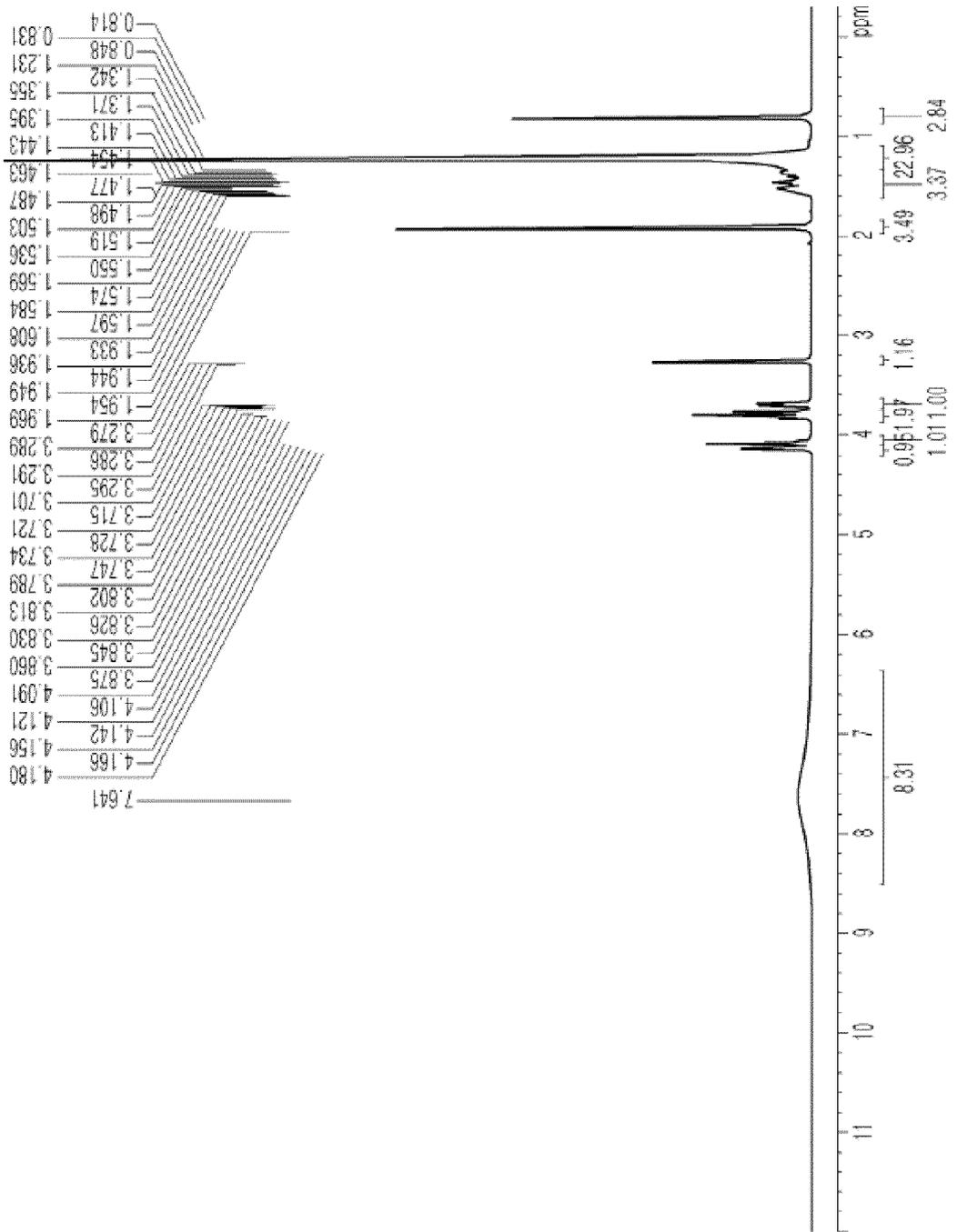


FIG.2



**FIG.3**  
**COMPARACIÓN DE LOS EFECTOS DE**  
**O-C-P1P Y N-C-P1P SOBRE EL CRECIMIENTO DEL CABELLO**

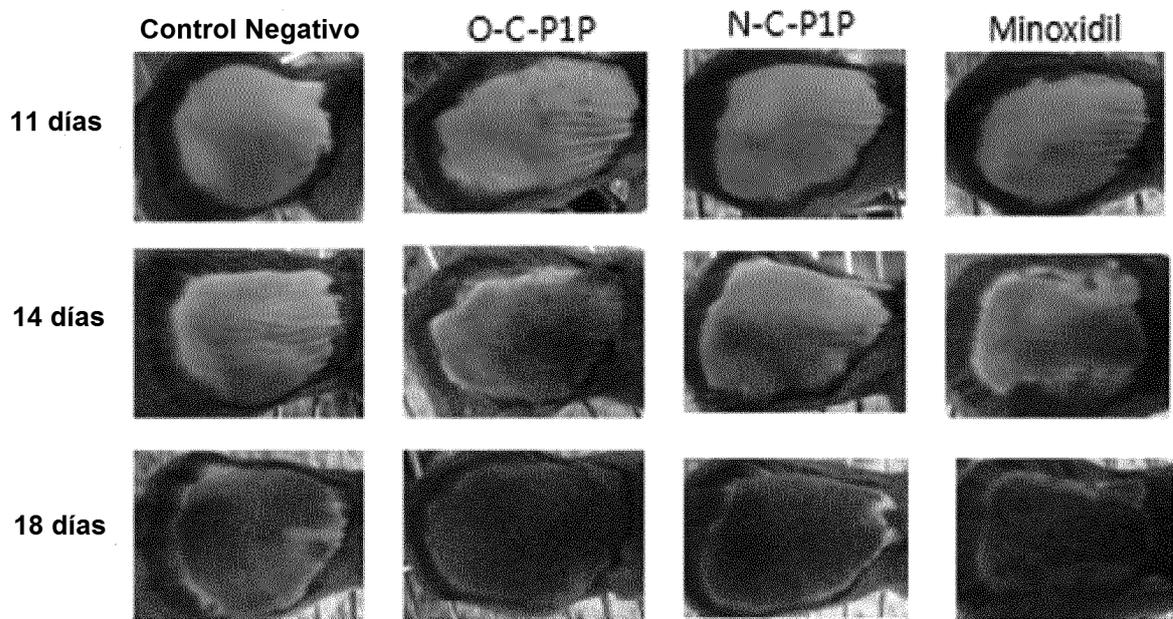
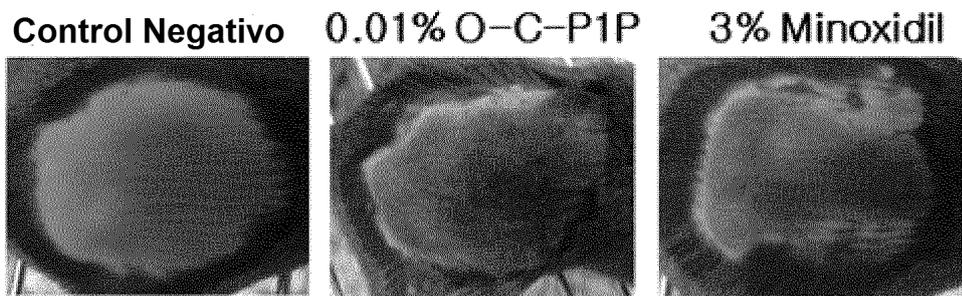
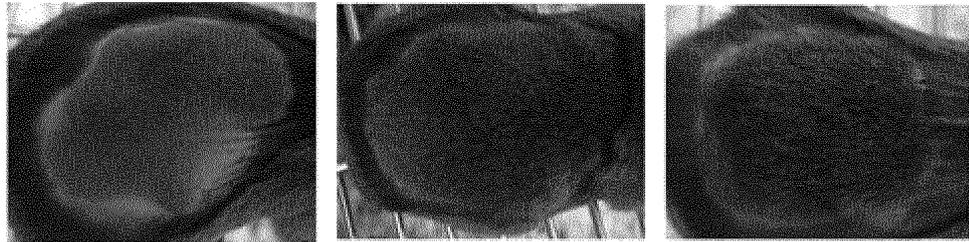


FIG.4



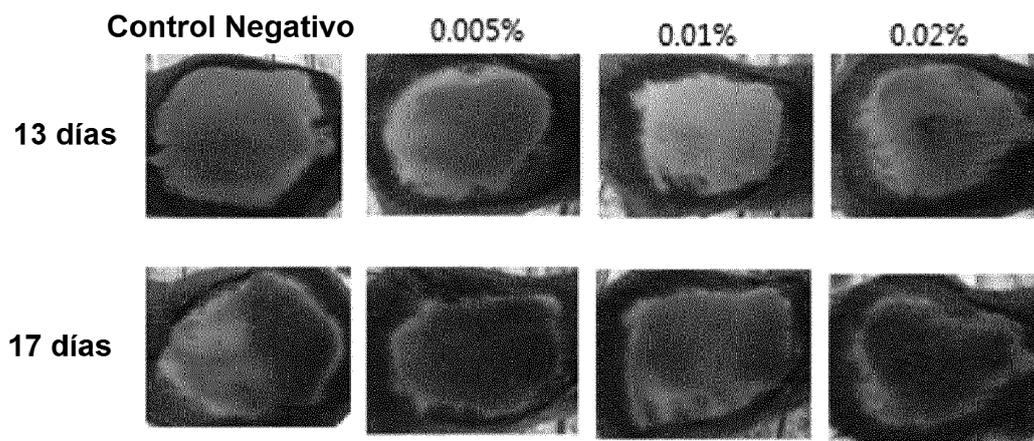
**14 días**



**18 días**

**FIG.5**

**EFFECTO DE O-C-P1P SOBRE EL CRECIMIENTO DEL CABELLO  
A DIFERENTES CONCENTRACIONES**



**FIG.6**

**EFFECTOS DE O-C-P1P EN VARIAS FORMAS DE SAL  
SOBRE EL CRECIMIENTO DEL CABELLO**

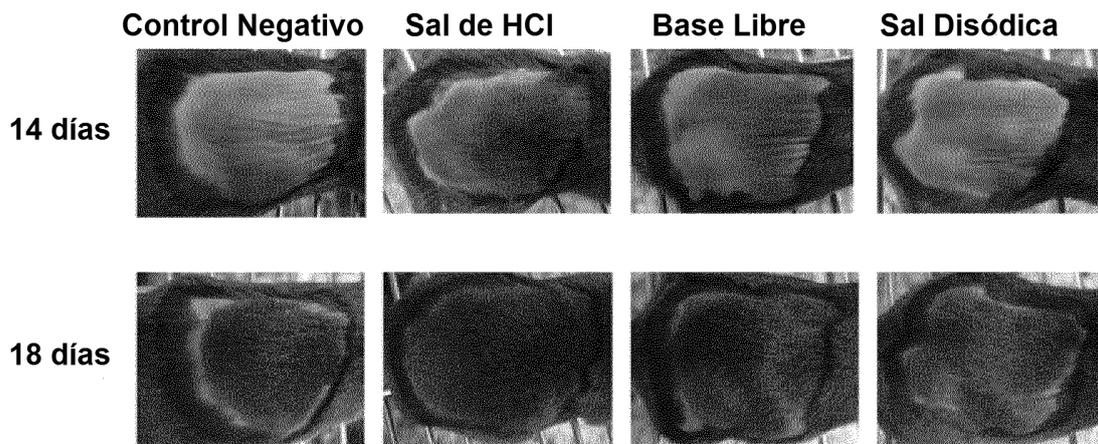
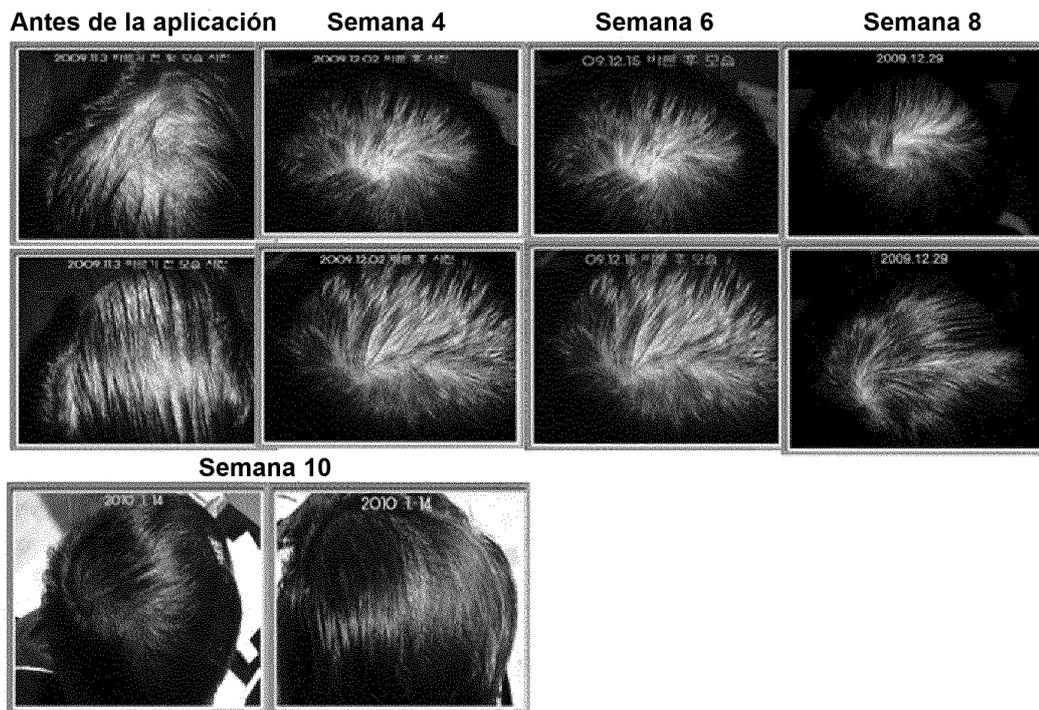


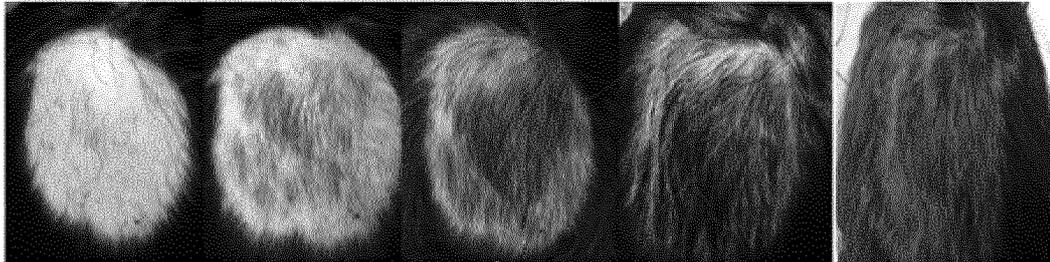
FIG.7A

EFICACIA IN VIVO DEL PRODUCTO QUE CONTIENE O-C-P1P (1)



**FIG.7B**

**EFICACIA IN VIVO DEL PRODUCTO QUE CONTIENE O-C-P1P (2)**



**Antes de la aplicación**

**Semana 3**

**Semana 5**

**Semana 8**

**Semana 10**

**FIG.8**

