

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 653 388**

51 Int. Cl.:

**A61K 8/64** (2006.01)

**A61K 38/00** (2006.01)

**A61Q 19/08** (2006.01)

**C07K 14/70** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.03.2006 PCT/ES2006/000151**

87 Fecha y número de publicación internacional: **12.10.2006 WO06106164**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.03.2006 E 06725832 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.10.2017 EP 1892247**

54 Título: **Composición dermofarmacéutica o cosmética que comprende péptidos derivados de encefalinas para reducir y/o eliminar arrugas faciales**

30 Prioridad:

**08.04.2005 ES 200500824**

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

**06.02.2018**

73 Titular/es:

**LIPOTEC, S.A. (100.0%)  
Isaac Peral, 15 Pol. Ind. Camí Ral  
08550 Gavá (Barcelona), ES**

72 Inventor/es:

**FERRER MONTIEL, ANTONIO;  
CEBRIAN PUCHE, JUAN y  
PUIG MONTIEL, ARTURO**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

ES 2 653 388 T3

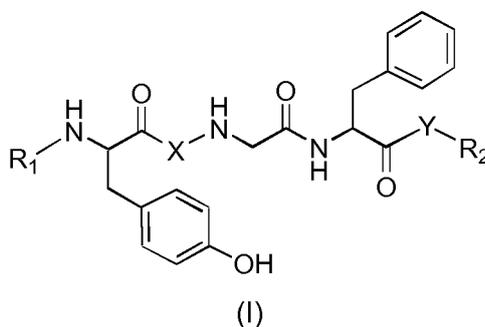
Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar 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

Composición dermofarmacéutica o cosmética que comprende péptidos derivados de encefalinas para reducir y/o eliminar arrugas faciales

**Campo de la invención**

5 La presente invención se refiere al uso de al menos un péptido de fórmula general (I) para la preparación de una composición cosmética o dermofarmacéutica para reducir y/o eliminar las arrugas faciales, preferentemente las arrugas de expresión faciales. Dicha composición comprende una cantidad cosmética o dermofarmacéuticamente eficaz de un péptido de fórmula general (I), en la que R<sub>1</sub> puede ser H o grupo alquilo, arilo, aralquilo o acilo, R<sub>2</sub> puede ser amino, hidroxilo o tior, todos ellos sustituidos o no sustituidos con grupos alifáticos o cíclicos y X es D-alanilo e Y se selecciona entre el grupo que consiste en aminoácidos naturales en su forma L o D o aminoácidos no codificados seleccionados entre el grupo que consiste en citrulina, ornitina, sarcosina, desmosina, norvalina, ácido 4-aminobutírico, ácido 2-aminobutírico, ácido 2-aminoisobutírico, ácido 6-aminohexanoico, 1-naftilalanina, 2-naftilalanina, ácido 2-aminobenzoico, ácido 4-aminobenzoico, cicloserina, hidroxiprolina, *α*-isoleucina, ácido isonipecóico, isoserina, fenilglicina, estatina, β-alanina y norleucina.

**Antecedentes de la invención**

Uno de los signos más visibles del envejecimiento del ser humano son los cambios que experimenta la piel: sequedad, aparición de manchas, flaccidez y arrugas. Estos efectos pueden ser causados por agentes externos como la exposición constante al sol, la contaminación atmosférica o el contacto con agentes químicos presentes en, por ejemplo, productos de limpieza, pero también son consecuencia de cambios fisiológicos, bioquímicos e histológicos intrínsecos del organismo humano, debidos a la disminución de la síntesis de proteínas como el colágeno o la elastina, a un aumento de la proteólisis, y a una rotura general de la barrera de la piel, del tejido conectivo y de la cohesión.

Se han descrito distintos ingredientes activos para la prevención o disminución de los síntomas del envejecimiento, tal como por ejemplo retinoides, hidroxiácidos, flavonoides o derivados de vitamina C y E. Dichos compuestos actúan normalmente mejorando la hidratación de la piel, aumentando la renovación celular o previniendo la degeneración de los tejidos que forman la piel; sin embargo, su eficacia en la prevención o tratamiento de las arrugas faciales motivadas por la contracción de los músculos es limitada. Existe, por tanto, la necesidad de desarrollar nuevos ingredientes activos con eficacia probada para la preparación de una composición cosmética o dermofarmacéutica para reducir y/o eliminar las arrugas faciales, especialmente las arrugas de expresión.

Se considera que las arrugas de expresión son aquellas que son resultado del estrés que ejercen las contracciones de los músculos faciales responsables de producir las expresiones del rostro sobre la piel del rostro. Las arrugas de expresión se suelen localizar en la frente, en el espacio entre las cejas, alrededor de la boca y/o alrededor de los ojos. Dependiendo de la forma del rostro, la frecuencia de las expresiones y la existencia de tics (movimientos convulsivos, que se repiten con frecuencia, producidos por la contracción involuntaria de uno o varios músculos, en este caso del rostro) las arrugas de expresión pueden aparecer incluso en la adolescencia. Los factores externos como la exposición al sol acentúan su profundidad y su visibilidad.

Con el fin de reducir y/o eliminar las arrugas de expresión se han empleado ampliamente las toxinas botulínicas, en especial el serotipo A (BOTOX<sup>®</sup> Cosmetic, Allergan) [Carruthers J.D. y Carruthers J.A. (1992) *Treatment of glabellar frown lines with C. botulinum-A exotoxin*, *J. Dermatol. Surg. Oncol.* 18, 17-21; Mendez-Eastman S.K. (2003) *Botox: a review*, *Plast. Surg. Nurs.* 23, 64-69]. Sin embargo, las toxinas botulínicas presentan importantes inconvenientes tales como el requisito de su aplicación por parte de un facultativo mediante inyección, así como la aparición de una respuesta inmune que comporta una disminución de la eficacia del tratamiento con el tiempo.

La industria cosmética ha realizado importantes esfuerzos para desarrollar compuestos que imiten la acción de las toxinas botulínicas en el tratamiento y prevención de la formación de las arrugas de expresión. La solicitud de patente EP 1.180.524 de Lipotec, S.A. describe péptidos derivados del fragmento N-terminal de la proteína SNAP-25 que tienen un efecto antiarrugas, ya que actúan con un mecanismo similar al de la toxina botulínica: la inhibición del

complejo SNARE, mediador de la exocitosis neuronal, implica la disminución de la liberación de neurotransmisores. La solicitud internacional WO97/34620 describe también péptidos derivados de la secuencia de aminoácidos de la proteína SNAP-25, específicamente de su región C-terminal, que pueden inhibir la exocitosis neuronal. La aplicación tópica de dichos compuestos se está convirtiendo en una posible solución para la reducción y/o eliminación de las arrugas de expresión.

Otros métodos descritos para la reducción y/o eliminación de las arrugas de expresión implican el uso de antagonistas de canales de calcio, en particular sales de manganeso (FR 2.809.005) o alverina (FR 2.798.590), agonistas de canales de cloro, como glicina (EP 0.704.210) o extractos de *Iris pallida* (FR 2.746.641), ciertas aminas secundarias o terciarias (FR 2.845.288 y FR 2.847.250), sapogeninas (FR 2.838.344), compuestos limonoides (US 2004/127.556) o ácidos boswéllicos (FR 2.850.573).

El solicitante de la presente invención ha determinado que los péptidos derivados de la secuencia de las encefalinas son eficaces en la reducción y/o eliminación de las arrugas faciales, especialmente las arrugas de expresión, actuando mediante mecanismos distintos a los conocidos en el estado de la técnica.

Hasta la actualidad, la aplicación cosmética o dermofarmacéutica de las encefalinas se ha limitado a: la solicitud de patente FR 2.735.687 describe el uso tópico de las encefalinas y de sus derivados como compuestos con capacidad adelgazante debido su actividad lipolítica, mientras que la solicitud de patente FR 2.857.588 describe el uso tópico de secuencias derivadas de la endorfina, incluyendo algunos derivados de las encefalinas, para mejorar la función barrera de la piel, así como para mejorar la hidratación y luminosidad de la piel o para prevenir el efecto de la contaminación atmosférica sobre la piel.

Ninguna de las patentes descritas anteriormente se refiere al uso de encefalinas como agentes antiarrugas, ni, específicamente, al uso de péptidos derivados de las encefalinas para la reducción y/o eliminación de las arrugas de expresión.

Las encefalinas son una familia de péptidos derivados de las  $\beta$ -endorfinas que son capaces de inhibir la actividad neuronal [Kieffer, B.L. y Gavériaux-Ruff, C. (2002) *Exploring the opioid system by gene knockout (2002) Prog. Neurobiol.* 66, 285-306]. La interacción específica de estos péptidos con sus receptores neuronales produce un cambio metabólico en las neuronas que provoca una disminución de la actividad neuronal. Aunque el mecanismo de acción está siendo investigado actualmente, se conoce que las encefalinas son capaces de modular indirectamente la actividad de canales iónicos dependientes de voltaje, especialmente el canal selectivo de  $K^+$ . [Faber, E.S. y Sah, P. (2004) *Opioids inhibit lateral amygdala pyramidal neurons by enhancing a dendritic potassium current. J. Neurosci.* 24, 3031-3039]. Desde un punto de vista del mecanismo de acción, la unión de la encefalina a su receptor activa a un complejo trimérico de proteínas G que provoca la liberación de  $Ca^{2+}$  de reservas intracelulares a través del receptor de inosítoles fosfatos. El calcio citosólico actúa como un mensajero intracelular disparando la activación de rutas de señalización que implican a proteínas quinasa y fosfatasa que modifican químicamente a proteínas celulares, entre ellas, a los canales iónicos. La modificación de los canales iónicos modifica su función; por ejemplo, las encefalinas activan las corrientes de  $K^+$  en las neuronas produciendo un efecto hiperpolarizante. El resultado de esta hiperpolarización es una reducción en la exocitosis neuronal dependiente del catión  $Ca^{2+}$  que, a su vez, disminuye la comunicación en las sinapsis neuronales.

Globalmente, el resultado final es una atenuación de la excitabilidad de las sinapsis neuronales como consecuencia de una menor liberación de neurotransmisores [Bergevin, A., Girardot, D., Bourque, M.J. y Trudeau, L.E. (2002) *Presynaptic mu-opioid receptors regulate a late step of the secretory process in rat ventral tegmental area GABAergic neurons. Neuropharmacology*, 42, 1065-1078]. Por tanto, una acción de las encefalinas es la inhibición de la neurosecreción por un mecanismo que es diferente al descrito para la toxina botulínica y los péptidos que imitan la acción de ésta. Como resultado, y al igual que la toxina botulínica y los péptidos inhibidores de la exocitosis neuronal, las encefalinas también bloquean la exocitosis neuronal dependiente del catión  $Ca^{2+}$ .

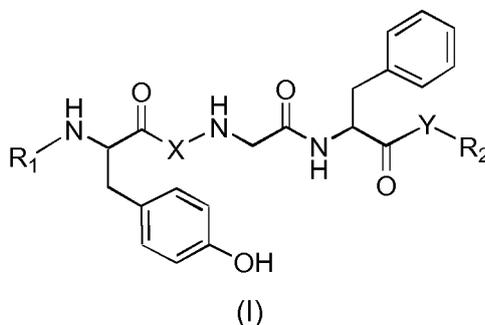
La solicitud de patente FR 2.846.885 describe el efecto sinérgico de la combinación de péptidos inhibidores de la exocitosis neuronal, tales como los descritos en las solicitudes de patente EP 1.180.524 y WO97/34620, junto con inhibidores de canales de calcio. Dicha invención se restringe a los inhibidores de canales de calcio que actúan a nivel de membrana inhibiendo la entrada de calcio, o a compuestos que actúen desde el interior de las neuronas, bien sea liberando las reservas intracelulares de calcio, bien sea inhibiendo la formación del complejo calcio-calmodulina. Un experto en la materia no podría deducir que existiese una sinergia en el efecto antiarrugas cuando se combinan péptidos inhibidores de la exocitosis neuronal derivados de la secuencia de SNAP-25 y las encefalinas, ya que estas actúan indirectamente sobre los canales de potasio y no sobre los canales de calcio.

El documento US 2004/120918 A1 desvela una composición que comprende un péptido que comprende al menos una secuencia de aminoácidos derivada de la secuencia de aminoácidos de la proteína SNAP 25 y un inhibidor de los canales de calcio. Este documento también desvela el uso de esta combinación para la aplicación tópica a la piel como un agente para prevenir o tratar las arrugas y las líneas finas, tales como las arrugas de expresión.

**Descripción de la invención**

La presente invención proporciona una solución sencilla, eficaz y sin riesgos para la reducción y/o eliminación de las arrugas faciales, preferentemente las arrugas de expresión.

5 Por lo tanto, un primer aspecto de la presente invención se refiere al uso de al menos un péptido de acuerdo con la fórmula general (I)



o de sus sales dermofarmacéuticamente aceptables, en la que:

10 X es D-alanilo e Y se selecciona entre el grupo que consiste en cualquiera de los aminoácidos naturales codificados en su forma L o D o aminoácidos no codificados seleccionados entre el grupo que consiste en citrulina, ornitina, sarcosina, desmosina, norvalina, ácido 4-aminobutírico, ácido 2-aminobutírico, ácido 2-aminoisobutírico, ácido 6-aminohexanoico, 1-naftilalanina, 2-naftilalanina, ácido 2-aminobenzoico, ácido 4-aminobenzoico, cicloserina, hidroxiprolina, *allo*-isoleucina, ácido isonipecótico, isoserina, fenilglicina, estatina,  $\beta$ -alanina y norleucina;

15  $R_1$  puede ser: H o grupo alquilo, arilo, aralquilo o acilo; y

$R_2$  puede ser: amino, hidroxilo o tiol, todos ellos sustituidos o no sustituidos con grupos alifáticos o cíclicos.

Las estructuras preferidas de los péptidos representados en la fórmula general (I) son aquellas en las que:

X puede ser: D-alanilo;

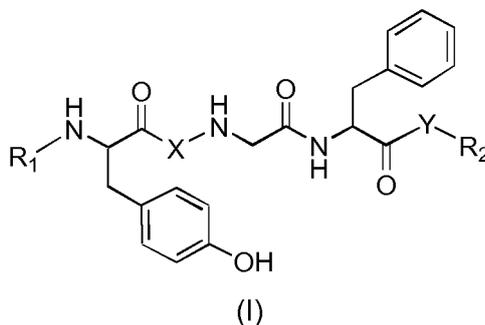
Y puede ser: L-leucilo o L-metionilo

20  $R_1$  puede ser: H o acilo de  $C_2$  a  $C_{24}$  lineal, ramificado o cíclico, saturado o insaturado; y

$R_2$  puede ser: amino o hidroxilo, sustituidos o no sustituidos con grupos alifáticos de  $C_1$  a  $C_{24}$  lineales, ramificados o cíclicos, saturados o insaturados.

y al menos un excipiente o adyuvante dermofarmacéuticamente aceptable para la preparación de una composición dermofarmacéutica para reducir y/o eliminar las arrugas faciales.

25 Un segundo aspecto de la presente invención se refiere al uso de una composición cosmética que contiene al menos un péptido de fórmula general (I):



o de sus sales cosméticamente aceptables, en la que:

30 X es D-alanilo e Y se selecciona entre el grupo que consiste en aminoácidos naturales codificados en su forma L o D o aminoácidos no codificados seleccionados entre el grupo que consiste en citrulina, ornitina, sarcosina, desmosina, norvalina, ácido 4-aminobutírico, ácido 2-aminobutírico, ácido 2-aminoisobutírico, ácido 6-aminohexanoico, 1-naftilalanina, 2-naftilalanina, ácido 2-aminobenzoico, ácido 4-aminobenzoico, cicloserina, hidroxiprolina, *allo*-isoleucina, ácido isonipecótico, isoserina, fenilglicina, estatina,  $\beta$ -alanina y norleucina;

$R_1$  se selecciona entre el grupo formado por H o grupo alquilo, arilo, aralquilo o acilo; y

35  $R_2$  se selecciona entre el grupo formado por amino, hidroxilo o tiol, todos ellos sustituidos o no sustituidos con grupos alifáticos o cíclicos

y al menos un excipiente o adyuvante cosméticamente aceptable, para reducir y/o eliminar las arrugas faciales.

Las estructuras preferidas de los péptidos de fórmula general (I) son isómeros puros, es decir, enantiómeros o diastereómeros.

5 En el contexto de la presente invención, la expresión "aminoácidos no codificados" se refiere a aquellos aminoácidos no codificados por el código genético, naturales o no, tales como por ejemplo, y en un sentido no limitante, citrulina, ornitina, sarcosina, desmosina, norvalina, 4-aminobutírico, 2-aminobutírico, 2-aminoisobutírico, 6-aminohexanoico, 1-naftilalanina, 2-naftilalanina, 2-aminobenzoico, 4-aminobenzoico, cicloserina, hidroxiprolina, *alo*-isoleucina, isonipecótico, isoserina, fenilglicina, estatina,  $\beta$ -alanina o norleucina entre otros, así como sus derivados. Una lista de los aminoácidos no naturales se puede encontrar en el artículo "*Unusual amino acids in peptide synthesis*" de D.C. Roberts y F. Vellaccio, en *The Peptides*, Vol. 5 (1983), Capítulo VI, Gross E. y Meienhofer J., Eds., Academic Press, Nueva York, EE.UU.

La expresión "grupo alifático" se refiere a un grupo hidrocarbonado saturado o insaturado, lineal o cíclico.

La expresión "grupo hidrocarbonado" se utiliza en la presente invención para abarcar, por ejemplo, los grupos alquilo, alqueniilo y alquinilo.

15 La expresión "grupo alquilo" se refiere a un grupo hidrocarbonado saturado lineal o ramificado, incluyendo, por ejemplo, metilo, etilo, isopropilo, isobutilo, *t*-butilo, heptilo, dodecilo, hexadecilo, octadecilo, amilo, 2-etilhexilo, 2-metilbutilo, 5-metilhexilo y similares.

La expresión "grupo alqueniilo" se refiere a un grupo hidrocarbonado no saturado, lineal o ramificado con uno o más enlaces dobles carbono-carbono, tal como el grupo vinilo.

20 La expresión "grupo alquinilo" se refiere a un grupo hidrocarbonado no saturado, lineal o ramificado con uno o más enlaces triple carbono-carbono.

La expresión "grupo cíclico" se refiere a un anillo cerrado hidrocarbonado, que puede clasificarse como grupo alicíclico, aromático o heterocíclico.

25 La expresión "grupo alicíclico" se refiere a un grupo hidrocarbonado cíclico con propiedades similares a los grupos alifáticos.

La expresión "grupo aromático" o el "grupo arilo" se refieren a un grupo hidrocarbonado aromático mono o policíclico.

La expresión "grupo heterocíclico" se refiere a un anillo cerrado hidrocarbonado, en el que uno o más de uno de los átomos del anillo es un elemento diferente al carbono (por ejemplo, nitrógeno, oxígeno, azufre, etc.).

30 Como se entiende en esta área técnica, la existencia de un alto grado de sustitución no es únicamente tolerado, sino que es aconsejado. Por tanto, puede existir sustitución en los péptidos de la presente invención. Con el fin de simplificar la presente descripción de la invención, los términos "grupo" y "bloque" se utilizarán para diferenciar entre especies químicas que permiten sustitución o que pueden ser sustituidas ("grupo"), y aquellas que no permiten sustitución o que no pueden ser sustituidas ("bloque"). De esta forma, cuando el término "grupo" se usa para describir un sustituyente químico, el material químico descrito incluye tanto el grupo no sustituido como aquel que contiene los átomos de O, N o S.

35 Por otro lado, cuando el término "bloque" se utiliza para describir un compuesto químico o sustituyente, únicamente puede incluirse material químico no sustituido. Por ejemplo, la expresión "grupo alquilo" incluirá no únicamente sustituyentes alquílicos saturados de cadena abierta, tales como metilo, etilo, propilo, isobutilo y similares, sino también sustituyentes alquílicos que contengan otros sustituyentes conocidos en el estado de la técnica, tales como hidroxilo, alcoxi, amino, carboxilo, carboxamido, átomos de halógeno, ciano, nitro, alquilsulfonilo, y otros. De este modo, "grupo alquilo" incluye grupos éteres, haloalquilos, alcoholes, tioles, carboxilos, aminas, hidroxialquilos, sulfoalquilos, guanidinos, y otros. Por otro lado, la expresión "bloque alquilo" se limita únicamente a la inclusión de sustituyentes alquílicos saturados de cadena abierta, tales como metilo, etilo, propilo, isobutilo y similares.

40 Dentro del ámbito de la presente invención se incluyen sales cosméticamente o dermofarmacéuticamente aceptables de los péptidos de fórmula (I) proporcionados por la presente invención. La expresión "sales cosméticamente o dermofarmacéuticamente aceptables" incluye las sales habitualmente utilizadas para formar sales metálicas o sales de adición de ácidos, bien sean orgánicas (tal como por ejemplo acetato, citrato, oleato, oxalato o gluconato entre otros) o inorgánicas (tal como por ejemplo cloruro, sulfato, borato o carbonato entre otros). La naturaleza de la sal no es crítica, siempre y cuando sea cosméticamente o dermofarmacéuticamente aceptable. Las sales cosméticamente o dermofarmacéuticamente aceptables de los péptidos de fórmula (I) pueden obtenerse por métodos convencionales, bien conocidos en el estado de la técnica.

45 La síntesis de los péptidos de fórmula general (I) puede realizarse de acuerdo con métodos convencionales, conocidos en el estado de la técnica, tal como por ejemplo la adaptación de los métodos de síntesis de péptidos en fase sólida [Stewart J.M. y Young J.D. (1984) *Solid Phase Peptide Synthesis*, 2ª edición, Pierce Chemical Company,

Rockford, Illinois. Bodanzsky M. y Bodanzsky A. (1984) *The practice of Peptide Synthesis*, Springer Verlag, Nueva York. Lloyd-Williams, P., Albericio, F. y Giralt, E. (1997) *Chemical Approaches to the Synthesis of Peptides and Proteins*. CRC, Boca Ratón (FL, EE.UU.), la síntesis en solución, una combinación de los métodos de síntesis en fase sólida y en solución o la síntesis enzimática [Kullmann W. (1980) *Proteases as catalysts for enzymic syntheses of opioid peptides J.Biol.Chem.* 255, 8234-8238]. Los péptidos se pueden obtener igualmente por fermentación de una cepa bacteriana, modificada o no por ingeniería genética con el fin de producir las secuencias deseadas, o bien por hidrólisis controlada de proteínas de origen animal o vegetal, preferentemente vegetal, que libere fragmentos peptídicos que contengan, al menos, la secuencia deseada, tal como por ejemplo la  $\beta$ -glucosidasa del maíz.

Por ejemplo, un método de obtención de los péptidos de fórmula general (I) es aquel en el que se hace reaccionar un fragmento del péptido de fórmula general (I) que posee un grupo carboxilo libre o un derivado reactivo del mismo, con un fragmento complementario, que posee un grupo amino, con al menos un átomo de hidrógeno libre, con la consecuente formación de un enlace tipo amida, y en el que dichos fragmentos presentan los grupos funcionales que no participan en la formación del enlace tipo amida, si los hubiera, convenientemente protegidos, con grupos protectores temporales o permanentes.

Otro ejemplo de método de obtención de los péptidos de fórmula general (I) es aquel en el cual se hace reaccionar un fragmento del péptido de fórmula general (I) que posee un grupo saliente, tal como por ejemplo el grupo tosilo, el grupo mesilo y grupos halógeno, entre otros, con un fragmento complementario que posee un grupo amino con al menos un átomo de hidrógeno libre mediante una reacción de sustitución nucleófila, y donde dichos fragmentos presentan los grupos funcionales que no participan en la formación del enlace N-C, si los hubiera, convenientemente protegidos, con grupos protectores temporales o permanentes. Se describen ejemplos de grupos protectores, su introducción y su eliminación, en la bibliografía [Greene T.W. (1981) *Protective groups in organic synthesis*, John Wiley & Sons, Nueva York. Atherton B. y Sheppard R.C. (1989) *Solid Phase Peptide Synthesis: A practical approach*, IRL Oxford University Pres]. La expresión "grupos protectores" incluye también los soportes poliméricos empleados en la síntesis en fase sólida.

Cuando la síntesis se realiza total o parcialmente en fase sólida, se pueden citar como soportes sólidos que se utilizan en el método de la invención, los siguientes: soportes de poliestireno, polietilenglicol injertado en poliestireno y similares, tal como por ejemplo resinas p-metilbenzidrilamina (MBHA) [Matsueda G.R. y Stewart J.M. (1981) *A p-methylbenzhydrylamine resin for improved solid-phase synthesis of peptide amides Peptides* 2, 45-50.], resinas 2-clorotritilo [(a) Barlos K., Gatos D., Kallitsis J., Papaphotiu G., Sotiriou P., Wenqing Y. y Schäfer W. (1989) *Darstellung geschützter peptid-fragmente unter einatz substituierter triphenylmethyl-harze Tetrahedron Lett.* 30, 3943-3946. (b) Barlos K., Gatos D., Kapolos S., Papaphotiu G., Schäfer W. y Wenqing Y. (1989) *Veresterung von partiell geschützten peptid-fragmenten mit harzen. Einsatz von 2-chlortritylchlorid zur synthese von Leu15 -gastrin I Tetrahedron Lett.* 30, 3947-3951], resinas TentaGel® y similares, que pueden incluir o no un espaciador lábil, tal como ácido 5-(4-aminometil-3,5-dimetoxifenoxi) valérico (PAL) [Albericio F., Kneib-Cordonier N., Biancalana S., Gera L., Masada R.I., Hudson D. y Barany G. (1990) *Preparation and application of the 5-(4-(9-fluorenylmethyloxycarbonyl)aminomethyl-3,5-dimethoxyphenoxy)-valeric acid (PAL) handle for the solid-phase synthesis of C-terminal peptide amides under mild conditions J. Org. Chem.* 55, 3730-3743], ácido 2-[4-aminometil-(2,4-dimetoxifenil) fenoxiacético (AM) [Rink H. (1987) *Solid-phase synthesis of protected peptide fragments using a trialkoxy-diphenyl-methylester resin Tetrahedron Lett.* 28, 3787-3790], Wang [Wang, S.S. (1973) *p-Alkoxybenzyl Alcohol Resin and p-Alkoxybenzyloxycarbonylhydrazide Resin for Solid Phase Synthesis of Protected Peptide Fragments J.Am.Chem.Soc.* 95, 1328-1333] y similares, que permiten la desprotección y escisión simultánea del compuesto del soporte polimérico.

La composición cosmética o dermofarmacéutica objeto de la presente invención puede prepararse mediante métodos convencionales conocidos por los expertos en la materia [Wilkinson J.B. y Moore R.J. (1982), *Harry's Cosmology*, Longman Scientific & Technical, Londres, Reino Unido].

Los péptidos objeto de la presente invención tienen una solubilidad en agua variable, de acuerdo con la naturaleza de los grupos  $R_1$ ,  $R_2$ , X e Y. Aquellos que no sean solubles en agua pueden solubilizarse en solventes convencionales cosmética o dermofarmacéuticamente aceptables tales como por ejemplo etanol, propanol o isopropanol, propilenglicol, glicerina, butilenglicol o polietilenglicol. Los péptidos también se pueden incorporar previamente en vehículos cosméticos o dermofarmacéuticos como liposomas, milipartículas, micropartículas y nanopartículas, así como en esponjas, miliesferas, microesferas y nanoesferas, milicápsulas, microcápsulas y nanocápsulas y lipoesferas.

Las preparaciones que contienen los péptidos de la presente invención pueden usarse en distintos tipos de formulaciones tal como por ejemplo, y en un sentido no limitante, cremas, lociones, geles, aceites, linimentos, sueros, espumas, pomadas, barras, lápices o pulverizaciones, incluyendo las formulaciones que se pueden dejar puestas ("leave on") y las que se aclaran ("rinse-off"), y también pueden incorporarse mediante técnicas conocidas por expertos en la materia a distintos tipos de accesorios sólidos tales como por ejemplo toallitas, hidrogeles, parches adhesivos (o no adhesivos) o mascarillas faciales, o pueden incorporarse a distintos productos de línea de maquillaje tales como bases de maquillaje, lociones, lociones desmaquillantes, correctores, sombras de ojos y barras de labios entre otros.

La composición cosmética o dermofarmacéutica objeto de la presente invención puede aplicarse mediante inyección subcutánea, inyección intradérmica o mediante iontoforesis directamente en la zona del rostro marcada con arrugas para conseguir una mayor penetración del ingrediente activo. La zona preferida para la aplicación es la zona de la frente que presenta arrugas de expresión, así como en el espacio entre las cejas, las arrugas y líneas finas alrededor de la boca y/o alrededor de los ojos.

La composición cosmética o dermofarmacéutica reivindicada en la presente invención puede contener ingredientes adicionales empleados habitualmente en composiciones para el cuidado y tratamiento de la piel, tales como por ejemplo, y en un sentido no limitante, agentes emulsionantes, emolientes, disolventes orgánicos, acondicionadores de la piel tales como por ejemplo, humectantes, alfa-hidroxiácidos, hidratantes, vitaminas, pigmentos o colorantes, polímeros gelificantes, espesantes, suavizantes, agentes antiarrugas, agentes capaces de disminuir o tratar las bolsas bajo los ojos, agentes blanqueantes o despigmentantes, agentes exfoliantes, agentes antienvjecimiento, agentes capturadores de radicales libres y/o anticontaminantes atmosférica, agentes inhibidores de la NO-sintasa, agentes antioxidantes, agentes antiglicación, agentes estimuladores de la síntesis de macromoléculas dérmicas o epidérmicas y/o capaces de inhibir su degradación, tales como por ejemplo agentes estimuladores de la síntesis de colágeno, agentes estimuladores de la síntesis de elastina, agentes estimuladores de la síntesis de laminina, agentes inhibidores de la degradación de colágeno, agentes inhibidores de la degradación de elastina, agentes estimuladores de la proliferación de fibroblastos, agentes estimuladores de la proliferación de queratinocitos, agentes estimuladores de la diferenciación de queratinocitos, agentes estimuladores de la síntesis de lípidos y componentes del estrato córneo (ceramidas, ácidos grasos, etc.), agentes relajantes de la piel, agentes estimuladores de la síntesis de glicosaminoglicanos, agentes reafirmantes, agentes antiestrías, agentes calmantes, agentes antiinflamatorios, agentes que actúen sobre la circulación capilar y/o la microcirculación, agentes que actúen sobre el metabolismo de las células, agentes estimuladores y/o inhibidores de la síntesis de melanina, agentes destinados a mejorar la unión dermis-epidermis, conservantes, perfumes, agentes quelantes, extractos vegetales, aceites esenciales, extractos marinos, agentes provenientes de la biofermentación, sales minerales, extractos celulares y filtros solares (agentes fotoprotectores de naturaleza orgánica o mineral activos contra los rayos ultravioleta A y B) entre otros, siempre que sean física y químicamente compatibles con el resto de componentes de la composición y en especial con los péptidos de fórmula general (I) contenidos en la composición de la presente invención. La naturaleza de dichos ingredientes adicionales puede ser sintética o de origen natural, tales como por ejemplo extractos vegetales.

Un aspecto adicional de la presente invención se refiere a una composición cosmética o dermofarmacéutica que contiene una cantidad cosméticamente o dermofarmacéuticamente eficaz de al menos un péptido de acuerdo con la fórmula general (I), y además una cantidad cosméticamente o dermofarmacéuticamente eficaz de al menos un extracto con actividad antiarrugas y/o antienvjecimiento tal como por ejemplo y en un sentido no limitante los extractos de *Vitis vinifera*, *Rosa canina*, *Curcuma longa*, *Iris pallida*, *Theobroma cacao*, *Ginkgo biloba*, o *Dunaliella salina*, entre otros o bien de además al menos un compuesto sintético con actividad antiarrugas y/o antienvjecimiento tal como por ejemplo y en un sentido no limitante Matrixyl® comercializado por Sederma, Vialox® comercializado por Pentapharm, Myoxinol™ comercializado por Cognis, Algisum C® o Hydroxyprolisilane CN®, comercializados por Exsymol, Argireline® comercializado por Lipotec, Kollaren® comercializado por Institut Europeen de Biologie Cellulaire, antagonistas del canal de Ca<sup>2+</sup> como la alverina, las sales de manganeso o de magnesio, ciertas aminas secundarias o terciarias, retinol y sus derivados, idebenona y sus derivados, Coenzima Q10 y sus derivados, ácido boswélico y sus derivados o agonistas de canales de cloruro entre otros.

Una composición cosmética o dermofarmacéutica preferida es aquella que contiene al menos un péptido de acuerdo con la fórmula general (I), y al menos un péptido que contiene al menos una secuencia de aminoácidos de la secuencia de aminoácidos de la proteína SNAP-25 definida por la SEQ ID NO: 1 o de una secuencia diferente de la SEQ ID NO: 1 debido a la mutación, inserción, delección o sustitución de al menos un aminoácido, o debido a la degeneración del código genético, a condición de que la secuencia de aminoácidos tenga una longitud de 3 a 30 aminoácidos y que tenga la actividad de SNAP-25. Dentro de dichos péptidos, las secuencias preferidas son aquellas que se derivan de la región N-terminal de la proteína SNAP-25, definida por la SEQ ID NO: 2, más preferentemente de la región comprendida entre los residuos 10 a 22 de la proteína SNAP-25, definida por la SEQ ID NO: 3, más específicamente de la región comprendida entre los residuos 12 a 19 de la proteína SNAP-25, definida por la SEQ ID NO: 4 y específicamente por la región comprendida entre los residuos 12 a 17 de la proteína SNAP-25, definida por la SEQ ID NO: 5.

Los péptidos de fórmula general (I) se utilizan en la composición cosmética o dermofarmacéutica de la presente invención a unas concentraciones cosméticamente o dermofarmacéuticamente eficaces para conseguir el efecto deseado; de forma preferida entre el 0,000001 % (en peso) y el 20 % (en peso); preferentemente entre el 0,00001 % (en peso) y el 10 % (en peso) y más específicamente entre el 0,0001 % (en peso) y el 5 % (en peso).

Por tanto, un aspecto adicional de la presente invención se refiere al uso de al menos un péptido de fórmula general (I) en la fabricación de una composición cosmética o dermofarmacéutica para su aplicación en la piel, preferentemente la piel del rostro, y más específicamente para reducir y/o eliminar las arrugas faciales, preferentemente las arrugas de expresión.

Un uso cosmético o dermofarmacéutico preferido es aquel en el que la aplicación se realiza en aquellas áreas del rostro o la frente marcadas con arrugas de expresión, preferentemente sobre las arrugas alrededor de la boca y/o los ojos, y/o sobre las arrugas de la frente y/o sobre las arrugas del espacio entre las cejas.

### Ejemplos

- 5 Los siguientes ejemplos específicos proporcionados en el presente documento sirven para ilustrar la naturaleza de la presente invención. Estos ejemplos se incluyen solamente con fines ilustrativos y no han de interpretarse como limitaciones a la invención que se reivindica en el presente documento.

#### Metodología General

#### Síntesis química

- 10 Todos los procesos de síntesis se realizan en jeringas de polipropileno equipadas con discos de polietileno poroso. Todos los reactivos y disolventes son de calidad para la síntesis y se usan sin ningún tratamiento adicional. La eliminación del grupo Fmoc se realiza con piperidina–DMF (2:8, v/v) (1 x 1 min, 1 x 5 min; 5 ml/g de resina) [Lloyd-Williams, P., Albericio, F. y Giralt, E. (1997) *Chemical Approaches to the Synthesis of Peptides and Proteins*. CRC, Boca Ratón (FL, EE.UU.)]. Los lavados entre las etapas de desprotección, acoplamiento, y, otra vez, desprotección
- 15 se realizaron con DMF (3 x 1 min) usando cada vez 10 ml de disolvente/g de resina. Las reacciones de acoplamiento se han realizado con 3 ml de disolvente/g de resina. El control de los acoplamientos se realiza mediante el ensayo de la ninhidrina [Kaiser, E., Colescott R.L., Bossinger C.D. y Cook P.I. (1970) *Color test for detection of free terminal amino groups in the solid-phase synthesis of peptides Anal. Biochem.* 34, 595-598]. Todas las transformaciones de síntesis y los lavados se realizaron a 25 °C.
- 20 El análisis cromatográfico por HPLC se realizó en un equipo Shimadzu (Kioto, Japón) empleando una columna de fase inversa termoestabilizada a 30 °C (250 x 4,0 mm, Kromasil C<sub>8</sub>, 5 µm, Akzo Nobel, Suecia). La elución se realiza mediante un gradiente de acetonitrilo (+ TFA al 0,07 %) en agua (+ TFA al 0,1 %) a un flujo de 1 ml/min y la detección se realiza a 220 nm.

#### Abreviaturas:

- 25 Las abreviaturas empleadas para los aminoácidos siguen las reglas de la Comisión de Nomenclatura Bioquímica de la IUPAC-IUB especificadas en *Eur. J. Biochem.* (1984) 138, 9-37 y en *J. Biol. Chem.* (1989) 264, 633-673. BoNT A, toxina botulínica serotipo A; DCM, diclorometano; DIEA, *N,N*-diisopropiletilamina; DIPCDI, *N,N'*-diisopropilcarbodiimida; DMEM, Dulbecco's Modified Eagle's Medium; DMF, *N,N*-dimetilformamida; ES-MS, espectrometría de masas por electroespray; Fmoc, fluorenilmetoxicarbonilo; HEPES, ácido 4-(2-hidroxiethyl)piperazin-1-etanosulfónico; HOBt, 1-hidroxibenzotriazol; HPLC, cromatografía líquida de alta resolución; MeCN, acetonitrilo; MeOH, metanol; NGF, factor de crecimiento neuronal; Palm, palmitoil; RNA, ácido ribonucleico; tBu, *tert*-butilo; TFA, ácido trifluoroacético; THF, tetrahidrofurano.
- 30

### Ejemplo 1

#### *Obtención de H-Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu-OH*

- 35 Se incorporan 3,15 g de Fmoc-L-Leu-OH (8,9 mmol, 1 equiv) disueltos en 55 ml de DCM a los que se han añadido 1,3 ml de DIEA (2,9 mmol, 0,33 equiv) sobre la resina 2-clorotritilo (5,5 g, 8,8 mmol) seca. Se deja en agitación durante 5 min, pasados los cuales se añaden 2,5 ml de DIEA (5,9 mmol, 0,67 equiv). Se deja reaccionar durante 40 min. Se bloquean los grupos cloruro remanentes por tratamiento con 4,4 ml de MeOH.

- 40 Se desprotege el grupo Fmoc amino terminal como se describe en los métodos generales y se incorporan sobre la peptidil-resina 8,52 g de Fmoc-L-Phe-OH (22 mmol, 2,5 equiv) en presencia de DIPCDI (3,39 ml, 22 mmol, 2,5 equiv) y HOBt (3,37 g, 22 mmol, 2,5 equiv) utilizando DMF como disolvente durante 1 h. La resina se lava posteriormente como se describe en los métodos generales y se repite el tratamiento de desprotección del grupo Fmoc para incorporar el siguiente aminoácido. Siguiendo los protocolos descritos se acoplan secuencialmente 2 veces 6,54 g de Fmoc-Gly-OH (22 mmol, 2,5 equiv) y 10,11 g de Fmoc-Tyr(tBu)-OH (22 mmol, 2,5 equiv) en
- 45 presencia en cada acoplamiento de 3,37 g de HOBt (22 mmol, 2,5 equiv) y 3,39 ml de DIPCDI (22 mmol, 2,5 equiv).

Se desprotege el grupo Fmoc N-terminal como se describe en los métodos generales, se lava la peptidil-resina con DMF (5 x 1 min), DCM (4 x 1 min), éter dietílico (4 x 1 min) y se seca al vacío.

- 50 Se tratan 12,36 g de la peptidil-resina seca con 87 ml de TFA-<sup>i</sup>Pr<sub>3</sub>Si-H<sub>2</sub>O (90:5:5) durante 2 h a temperatura ambiente. Se recogen los filtrados sobre éter dietílico frío (700 ml), se filtra a través de placa porosa y se lava el precipitado con éter (500 ml) 5 veces. El precipitado final se seca al vacío.

El análisis realizado por HPLC en un gradiente del 20 al 50 % de MeCN (+ TFA al 0,07 %) en H<sub>2</sub>O (+ TFA al 0,1 %) en 30 min indicó un tiempo de retención de 15,68 minutos y una pureza superior al 98 %. Su peso molecular se determinó por EN-EM [(M+H)<sup>+</sup><sub>teórico</sub> 556,28, (M+H)<sup>+</sup><sub>exp</sub> 556,3].

**Ejemplo 2***Síntesis Palm-Tyr-D-Ala-Gly-Phe-Met-NH<sub>2</sub>*

Se tratan 0,685 mg de la resina Fmoc-AM-MBHA de funcionalización 0,73 mmol/g (0,5 mmol) con piperidina-DMF de acuerdo con el protocolo general descrito con el fin de eliminar el grupo Fmoc. Sobre la resina desprotegida se incorporan 0,93 g de Fmoc-L-Met-OH (2,5 mmol, 5 equiv) en presencia de DIPCDI (385  $\mu$ l, 2,5 mmol, 5 equiv) y HOBt (385 mg, 2,5 mmol, 5 equiv) utilizando DMF como disolvente durante 1 h.

La resina se lava posteriormente como se describe en los métodos generales y se repite el tratamiento de desprotección del grupo Fmoc para incorporar el siguiente aminoácido. Siguiendo los protocolos descritos se acoplan secuencialmente 0,97 g de Fmoc-L-Phe-OH (2,5 mmol, 5 equiv), 0,74 g de Fmoc-Gly-OH (2,5 mmol, 5 equiv), 0,78 g de Fmoc-D-Ala-OH (2,5 mmol, 5 equiv) y 1,15 g de Fmoc-Tyr(tBu)-OH (2,5 mmol, 5 equiv) en presencia en cada acoplamiento de 385 mg de HOBt (2,5 mmol, 5 equiv) y 385  $\mu$ l de DIPCDI (2,5 mmol, 5 equiv).

Se desprotege el grupo Fmoc *N*-terminal como se describe en los métodos generales, y se incorporan 1,28 g de ácido palmítico (5 mmol, 10 equiv) predisoluto en DMF (10 ml), en presencia de 770 mg de HOBt (5 mmol, 10 equiv) y 770  $\mu$ l de DIPCDI (5 mmol, 10 equiv). Se deja reaccionar durante 15 horas, pasadas las cuales la resina se lava con THF (5 x 1 min), DCM (5 x 1 min), DMF (5 x 1 min), MeOH (5 x 1 min), DMF (5 x 1 min), THF (5 x 1 min), DMF (5 x 1 min), DCM (4 x 1 min), éter (3 x 1 min), y se seca al vacío.

Se tratan 1,00 g de la peptidil-resina seca con 15 ml de TFA-<sup>i</sup>Pr<sub>3</sub>Si-H<sub>2</sub>O (90:5:5) durante 2 h a temperatura ambiente. Se recogen los filtrados sobre éter dietílico frío (100 ml), se centrifugan 5 min a 4000 rpm y se decanta la solución etérea. Se repiten los lavados con éter 5 veces. El precipitado final se seca al vacío.

El peso molecular del producto mayoritario se determinó por EN-EM [(M+H)<sup>+</sup> teórico 826,11, (M+H)<sup>+</sup> exp 826,3].

**Ejemplo 3***Ensayo de la actividad de H-Tyr-D-Ala-Gly-Phe-Leu-OH sobre la excitabilidad neuronal.*

La actividad del péptido derivado de las encefalinas definido por la SEQ ID NO: 7 (Tyr-D-Ala-Gly-Phe-Leu) sobre la excitabilidad de las neuronas se estudió en cultivos primarios de ganglios de la raíz dorsal de rata. Estas neuronas se extrajeron siguiendo métodos ampliamente conocidos [Nicol, G.D., Lopshire, J.C. y Pafford, C.M. (1997) *Tumor necrosis factor enhances the capsaicin sensitivity of rat sensory neurons. J. Neurosci.* 17, 975-982]. Las neuronas se cultivaron en un medio de DMEM suplementado con suero bovino al 10 %, suero de caballo al 5 % y NGF 50 ng/ml durante 2 días y la actividad eléctrica se siguió mediante la técnica del pinzamiento de membrana (*patch clamp*) con un equipo de electrofisiología convencional en la configuración de pinzamiento de corriente (*current-clamp*) [Hille, B. (2001) *Ion channels of excitable membranes*. Tercera Ed. Sinauer Associates, Inc]. Se utilizaron dos protocolos de estimulación de las neuronas para determinar el efecto inhibitorio del péptido derivado de las encefalinas definido por la SEQ ID NO: 7.

En primer lugar, las neuronas se estimularon mediante un estímulo químico como es la exposición a una solución tamponada a pH 6,0. En estas condiciones se activan canales dependientes de ácido que despolarizan la membrana neuronal provocando el disparo de potenciales de acción (Figura 1). La incubación de los cultivos neuronales con 1 mM del péptido derivado de las encefalinas definido por la SEQ ID NO: 7 induce la inhibición de los potenciales de acción evocados por exposición a un medio extracelular ácido. La inhibición de la excitabilidad neuronal por provocada por el péptido derivado de las encefalinas definido por la SEQ ID NO: 7 es reversible como demuestra la recuperación de dicha excitabilidad tras la eliminación del péptido del medio extracelular. Por tanto, el péptido derivado de las encefalinas definido por la SEQ ID NO: 7 disminuye la excitabilidad neuronal provocada por un estímulo excitatorio de naturaleza química.

En segundo lugar, se evaluó el efecto del péptido derivado de las encefalinas definido por la SEQ ID NO: 7 sobre actividad neuronal evocada eléctricamente. Para ello, las neuronas se excitaron con un estímulo eléctrico despolarizante de 40 mV desde su potencial de reposo. Como resultado, se dispararon potenciales de acción repetitivos a lo largo de tiempo de estimulación eléctrica (Figura 2). La exposición de las neuronas a 1 mM del péptido derivado de las encefalinas definido por la SEQ ID NO: 7 provocó una disminución en la frecuencia y amplitud de los potenciales de acción, indicando una inhibición de los mismos. Esta inhibición fue parcialmente reversible como indica la recuperación en parte de los potenciales de acción. Por tanto, el péptido derivado de las encefalinas definido por la SEQ ID NO: 7 inhibe la actividad nerviosa evocada eléctricamente de forma reversible.

**Ejemplo 4***Ensayo de la actividad de los péptidos derivados de las encefalinas definidos por las SEQ ID NO: 6 y SEQ ID NO: 7 sobre canales de calcio.*

El canal de calcio del tipo T, isoforma  $\alpha$ 1H se expresó recombinantemente en ovocitos de *Xenopus laevis* mediante la inyección del RNA codificante del gen. La actividad del canal iónico se monitorizó mediante la técnica del

pinzamiento de voltaje (*voltaje-clamp*) con dos microelectrodos utilizando un amplificador TEC de NPI Electronics (Alemania). A las 72 h, los ovocitos se transfirieron a la cámara de registro electrofisiológico, y se perfundieron continuamente con tampón de Ringer con alto Ba<sup>2+</sup> (NaCl 80 mM, BaCl<sub>2</sub> 20 mM, KCl 3 mM, HEPES 10 mM pH 7,4). El potencial de membrana de los ovocitos se pinzó con microelectrodos a un valor de -80 mV. Los ovocitos se estimularon eléctricamente mediante pulsos de voltaje de 200 ms desde el potencial de membrana de -80 mV a +80 mV en saltos de 10 mV. Se registraron las corrientes eléctricas evocadas en el ovocito, y se corrigieron con respecto a las corrientes de fuga mediante un protocolo de pulsos hiperpolarizantes a -100 mV de magnitud la cuarta parte de los pulsos despolarizantes. Las estimulaciones de voltaje y la adquisición de los datos se realizaron con el programa PULSE/PULSEFIT de HEKA ELEKTRONIK GmbH (Alemania). Las corrientes del canal de calcio se monitorizaron primero en ausencia de los péptidos. Seguidamente, los ovocitos pinzados se expusieron a concentraciones 1 mM de los péptidos SEQ ID NO: 6 y SEQ ID NO: 7 y se registraron las corrientes de Ca<sup>2+</sup> en presencia de ellos. El porcentaje de bloqueo se calculó como la relación de la corriente activada a +80 mV en presencia del péptido de la secuencia de las encefalinas con respecto a la activada en su ausencia.

Como se observa en la Figura 3, ninguna de las dos secuencias bloqueó directamente los canales de Ca<sup>2+</sup> activados por cambios de voltaje. En este sentido, puede concluirse que la inhibición de la actividad nerviosa por parte de los péptidos derivados de las encefalinas no se debió al bloqueo directo de los canales de calcio.

### Ejemplo 5

*Ensayo de la actividad de los péptidos derivados de las encefalinas definidos por las SEQ ID NO: 6 y SEQ ID NO: 7 sobre la exocitosis neuronal de [<sup>3</sup>H]-L-Glutamato.*

Para determinar si los péptidos derivados de las encefalinas inhiben la exocitosis neuronal de neurotransmisores se siguió su actividad sobre la liberación del neurotransmisor L-glutamato de cultivos primarios de neuronas de hipocampo de rata. La exocitosis de este neurotransmisor en cultivos neuronales puede conseguirse mediante despolarización eléctrica de las células. Los cultivos primarios de hipocampo embrionario de rata se preparan mediante métodos convencionales [Blanes-Mira, C., Merino, J.M., Valera, E., Fernández-Ballester, G., Gutiérrez, L.M., Viniegra, S., Pérez-Payá, E. y Ferrer-Montiel, A. *Small peptides patterned after the N-terminus domain of SNAP25 inhibit SNARE complex assembly and regulated exocytosis. J. Neurochem.* 88, 124-135] y se mantienen en cultivo durante 14 días en incubador a 37 °C y CO<sub>2</sub> al 5 %. Los cultivos se incuban con [<sup>3</sup>H]-L-glutamato para cargarlos de [<sup>3</sup>H]-L-glutamato durante 3 h a 37 °C. Posteriormente, se lava el exceso de [<sup>3</sup>H]-L-glutamato, y se incuban con 1 mM de los péptidos que se estudian durante 1 h a 37 °C. La liberación de [<sup>3</sup>H]-L-glutamato se realiza mediante despolarización con KCl 75 mM y CaCl<sub>2</sub> 2 mM tamponado en tampón fisiológico durante 10 min a 37 °C. Se recoge el medio de cultivo y se cuantifica la cantidad de [<sup>3</sup>H]-L-glutamato en un contador de radioactividad beta. Los resultados se normalizan con respecto a la liberación de [<sup>3</sup>H]-L-glutamato en ausencia del péptido y se corrige de la liberación basal en ausencia de calcio. Como muestra la figura 4, en presencia del péptido derivado de las encefalinas definido por la SEQ ID NO: 7 la exocitosis de [<sup>3</sup>H]-L-glutamato se inhibió un 12 %, indicando que el compuesto es un inhibidor de la exocitosis neuronal. La incubación con el péptido derivado de las encefalinas definido por la SEQ ID NO: 6 produjo una inhibición del 4 %.

Con el fin de determinar si la actividad de los péptidos derivados de encefalinas es aditiva y/o sinérgica con el péptido inhibidor de la exocitosis Argireline<sup>®</sup>, definido por la SEQ ID NO: 5, se comparó la potencia de ambos péptidos separada y conjuntamente inhibiendo la liberación de [<sup>3</sup>H]-L-glutamato evocada eléctricamente en presencia de Ca<sup>2+</sup>. Como se ilustra en la Figura 4, la exposición de las neuronas a 1 mM de Argireline<sup>®</sup> inhibió la exocitosis de [<sup>3</sup>H]-L-glutamato en un 18 %. La co-incubación de los cultivos con Argireline<sup>®</sup> 1 mM y 1 mM del péptido derivado de las encefalinas definido por la SEQ ID NO: 7 inhibió la exocitosis de [<sup>3</sup>H]-L-glutamato en un 37 %, y la co-administración de Argireline<sup>®</sup> 1 mM y 1 mM del péptido derivado de las encefalinas definido por la SEQ ID NO: 6 bloqueó la liberación de [<sup>3</sup>H]-L-glutamato en un 22 % (Figura 4). Por tanto, existe un efecto aditivo/sinérgico inhibiendo la exocitosis regulada de [<sup>3</sup>H]-L-glutamato de la Argireline<sup>®</sup> y los péptidos derivados de encefalinas definidos por las SEQ ID NO: 6 y SEQ ID NO: 7.

### Ejemplo 6

*Preparación de una composición cosmética conteniendo H-Tyr-D-Ala-Gly-Phe-Leu-OH*

La siguiente formulación se preparó como se describe en la presente invención:

En un reactor suficientemente grande se pesan los componentes de la Fase A y se calienta la mezcla a 80 °C para fundir las ceras. En un recipiente adecuado para todo el contenido se pesan los componentes de la Fase B y se calientan a 70 °C. Se añade la Fase A sobre la Fase B lentamente y con intensa agitación, y posteriormente se añade la Fase C a la mezcla anterior con agitación. Acabada la adición, se deja enfriar con agitación suave y cuando la mezcla se encuentra a temperatura ambiente se añade una solución acuosa de H-Tyr-D-Ala-Gly-Phe-Leu-OH y la lecitina, se homogeneiza y corrige el pH con trietanolamina si es necesario.

La crema que se obtiene tiene un pH entre 6 y 7 y una viscosidad de 10,000-15,000 cps (6/50).

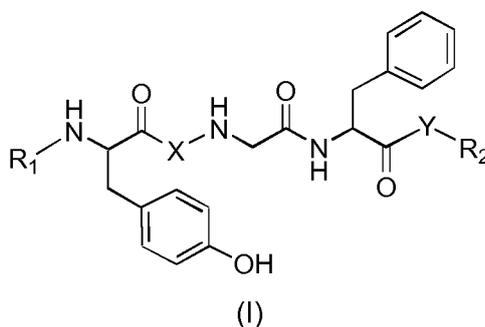
INGREDIENTE (Nomenclatura INCI)	% EN PESO
<i>FASE A</i>	
ACEITE MINERAL	8,0
ÁCIDO ESTEÁRICO	2,4
ALCOHOL CETEARÍLICO	1,6
CERA DE ABEJAS	0,8
<i>FASE B</i>	
GLICERINA	2,4
AGUA	63,4
<i>FASE C</i>	
CARBÓMERO	0,3
TRITANOLAMINA	0,9
<i>FASE D</i>	
AGUA	15,0
H-Tyr-D-Ala-Gly-Phe-Leu-OH (0,05 %)	5,0
LECITINA	0,4

### Ejemplo 7

5 Un estudio clínico realizado en 20 sujetos con arrugas en el contorno de los ojos ("patas de gallo") empleando la composición cosmética descrita en el Ejemplo 6 demostró que la composición es capaz de reducir la profundidad de las arrugas del contorno de los ojos. Se instruyó a los sujetos para que se aplicasen la composición cosmética en la zona del contorno del ojo con un masaje suave dos veces al día durante cuatro semanas. Se realizaron medidas objetivas del macrorelieve de improntas de piel humana en silicona mediante análisis topográfico empleando un perfilómetro confocal a tiempo 0 y a los 28 días del inicio del tratamiento.

10 La cuantificación de los resultados (la desviación típica del perfil evaluado en superficie) mostró una disminución de la profundidad de las arrugas del 11,6 %.

De acuerdo con un primer aspecto, la presente invención se refiere al uso de al menos un péptido de fórmula general:



o de las sales dermatofarmacéuticamente aceptables del mismo, en la que:

- 15 X es D-alanilo e Y se selecciona entre el grupo que consiste en aminoácidos naturales en su forma L o D o aminoácidos no codificados seleccionados entre el grupo que consiste en citrulina, ornitina, sarcosina, desmosina, norvalina, ácido 4-aminobutírico, ácido 2-aminobutírico, ácido 2-aminoisobutírico, ácido 6-aminohexanoico, 1-naftilalanina, 2-naftilalanina, ácido 2-aminobenzoico, ácido 4-aminobenzoico, cicloserina, hidroxiprolina, *alo*-isoleucina, ácido isonipecótico, isoserina, fenilglicina, estatina, β-alanina y norleucina;
- 20 R<sub>1</sub> se selecciona entre el grupo formado por H o grupo alquilo, arilo, aralquilo o acilo; y R<sub>2</sub> se selecciona entre el grupo formado por amino, hidroxilo o tior, todos ellos sustituidos o no sustituidos con grupos alifáticos o cíclicos,

y al menos un excipiente o adyuvante dermofarmacéuticamente aceptable para la preparación de una composición dermofarmacéutica para reducir y/o eliminar las arrugas faciales.

5 De acuerdo con otro aspecto importante, la presente invención se refiere a una composición cosmética o dermofarmacéutica en la que los aminoácidos no codificados se seleccionan entre el grupo formado por citrulina, ornitina, sarcosina, fenilglicina,  $\beta$ -alanina o norleucina.

De acuerdo con otro aspecto importante, la presente invención se refiere a una composición cosmética o dermofarmacéutica en la que  $R_1$  es H o acilo de  $C_2$  a  $C_{24}$ , lineal, ramificado o cíclico, saturado o insaturado.

10 De acuerdo con otro aspecto importante, la presente invención se refiere a una composición cosmética o dermofarmacéutica en la que  $R_2$  es amino o hidroxilo, sustituidos o no sustituidos con grupos alifáticos de  $C_1$  a  $C_{24}$  lineales, ramificados o cíclicos, saturados o insaturados.

De acuerdo con otro aspecto importante, la presente invención se refiere a una composición cosmética o dermofarmacéutica en la que X D-alanilo.

De acuerdo con otro aspecto importante, la presente invención se refiere a una composición cosmética o dermofarmacéutica en la que Y es L-metionilo o L-leucilo.

15 De acuerdo con otro aspecto importante, la presente invención se refiere a una composición cosmética o dermofarmacéutica en la que X es D-alanilo,  $R_1$  es H, acetilo o palmitoilo y  $R_2$  es amino o hidroxilo, sustituidos o no sustituidos con grupos metilo o etilo o dodecilo o hexadecilo e Y es L-leucilo.

20 De acuerdo con otro aspecto importante, la presente invención se refiere a una composición cosmética o dermofarmacéutica en la que el péptido de fórmula general (I) se encuentra a una concentración entre el 0,000001 % y el 20 % en peso.

De acuerdo con otro aspecto importante, la presente invención se refiere a una composición cosmética o dermofarmacéutica en la que el péptido de fórmula general (I) de forma preferida se encuentra a una concentración entre el 0,0001 % y el 5 % en peso.

25 De acuerdo con otro aspecto importante, la presente invención se refiere a una composición cosmética o dermofarmacéutica que comprende una cantidad adicional cosmética o dermofarmacéuticamente eficaz de un agente activo seleccionado entre el grupo formado por un agente exfoliante, un agente hidratante, un agente despigmentante o blanqueante, un agente propigmentante, un agente antiarrugas, un agente capaz de reducir o eliminar las bolsas bajo los ojos, un agente antioxidante, un agente antiglicación, un inhibidor de la NO-sintasa, un agente antienvjecimiento, un agente estimulador de la síntesis de moléculas dérmicas o epidérmicas y/o para prevenir su degradación, un agente estimulador de la proliferación de fibroblastos y/o queratinocitos o para estimular la diferenciación de queratinocitos, un agente relajante de la piel, un agente reafirmante, un agente anticontaminación atmosférica y/o antirradicales libres, un agente que actúe sobre la circulación capilar y/o la microcirculación, un agente calmante, un agente antiinflamatorio, un agente que actúe sobre el metabolismo de las células, un agente fotoprotector, de naturaleza orgánica o mineral, activo contra los rayos ultravioleta A y/o B, y mezclas de ellos. De forma preferente el agente activo es de origen sintético o un extracto vegetal.

30

35

De acuerdo con otro aspecto importante, la presente invención se refiere a una composición cosmética o dermofarmacéutica en la que el agente relajante de la piel es un péptido que contiene al menos una secuencia de aminoácidos de la secuencia de aminoácidos de la proteína SNAP-25 definida por la SEQ ID NO: 1 o de una secuencia diferente de la SEQ ID NO: 1 debido a la mutación, inserción, delección o sustitución de al menos un aminoácido, o debido a la degeneración del código genético, a condición de que la secuencia de aminoácidos tenga una longitud de 3 a 30 aminoácidos y que tenga la actividad de SNAP-25.

40

De acuerdo con otro aspecto importante, la presente invención se refiere a una composición cosmética o dermofarmacéutica en la que el péptido de la secuencia de aminoácidos de la proteína SNAP-25 tiene una secuencia de aminoácidos contenida en la secuencia SEQ ID NO: 2.

45 De acuerdo con otro aspecto importante, la presente invención se refiere a una composición cosmética o dermofarmacéutica en la que el péptido de la secuencia de aminoácidos de la proteína SNAP-25 tiene una secuencia de aminoácidos contenida en la secuencia SEQ ID NO: 3.

50 De acuerdo con otro aspecto importante, la presente invención se refiere a una composición cosmética o dermofarmacéutica en la que el péptido de la secuencia de aminoácidos de la proteína SNAP-25 tiene una secuencia de aminoácidos contenida en la secuencia SEQ ID NO: 4.

De acuerdo con otro aspecto importante, la presente invención se refiere a una composición cosmética o dermofarmacéutica en la que el péptido de la secuencia de aminoácidos de la proteína SNAP-25 es la secuencia SEQ ID NO: 5.

De acuerdo con otro aspecto importante, la presente invención se refiere a una composición cosmética o dermofarmacéutica en la que el péptido de la secuencia de aminoácidos de la proteína SNAP-25 se encuentra a una concentración entre el 0,000001 % y el 20 % en peso.

5 De acuerdo con otro aspecto importante, la presente invención se refiere a una composición cosmética o dermofarmacéutica en la que el péptido de la secuencia de aminoácidos de la proteína SNAP-25 se encuentra preferentemente a una concentración entre el 0,0001 % y el 5 % en peso.

10 De acuerdo con otro aspecto importante, la presente invención se refiere a una composición cosmética o dermofarmacéutica en la que el péptido de fórmula general (I) se incorpora a un vehículo cosméticamente o dermofarmacéuticamente aceptable seleccionado entre el grupo formado por liposomas, microcápsulas, microcápsulas, nanocápsulas, esponjas, miliesferas, microesferas, nanoesferas, milipartículas, lipoesferas, micropartículas y nanopartículas.

15 De acuerdo con otro aspecto importante, la presente invención se refiere a una composición cosmética o dermofarmacéutica en la que el péptido de fórmula general (I) se presenta en una formulación seleccionada entre el grupo formado por emulsiones de aceite y/o silicona en agua, emulsiones de agua en aceite y/o silicona, leches, lociones, geles, pomadas, bálsamos, espumas, aceites corporales, jabones, barras, lápices, pulverizaciones, cremas, linimentos, ungüentos, sueros y mousses.

De acuerdo con otro aspecto importante, la presente invención se refiere a una composición cosmética o dermofarmacéutica en la que el péptido de fórmula general (I) se incorpora en soportes sólidos seleccionados entre el grupo formado por toallitas, hidrogeles, parches y mascarillas faciales.

20 De acuerdo con otro aspecto importante, la presente invención se refiere a una composición cosmética o dermofarmacéutica en la que el péptido de fórmula general (I) se incorpora en productos de línea de maquillaje seleccionados entre el grupo formado por correctores, bases de maquillaje, lociones, lociones desmaquillantes, sombras de ojos y barras de labios.

25 Según un aspecto importante la presente invención se refiere al uso del péptido de fórmula general (I) o sus sales cosméticamente o dermofarmacéuticamente aceptables en la preparación de una composición cosmética o dermofarmacéutica que reduce y/o elimina las arrugas faciales.

De acuerdo con otro aspecto importante, la presente invención se refiere al uso del péptido de fórmula general (I) o sus sales cosméticamente o dermofarmacéuticamente aceptables en la preparación de una composición cosmética o dermofarmacéutica que reduce y/o elimina las arrugas de expresión faciales.

30 De acuerdo con otro aspecto importante, la presente invención se refiere al uso del péptido de fórmula general (I) o sus sales cosméticamente o dermofarmacéuticamente aceptables en la preparación de una composición cosmética o dermofarmacéutica que reduce y/o elimina las arrugas de expresión faciales mediante aplicación tópica en la frente, en el espacio entre las cejas y/o en las arrugas y líneas finas alrededor de la boca y/o alrededor de los ojos.

35 De acuerdo con otro aspecto importante, la presente invención se refiere al uso del péptido de fórmula general (I) o sus sales cosméticamente o dermofarmacéuticamente aceptables en la preparación de una composición cosmética o dermofarmacéutica que reduce y/o elimina las arrugas de expresión faciales mediante aplicación por iontoforesis en la frente, en el espacio entre las cejas y/o en las arrugas y líneas finas alrededor de la boca y/o alrededor de los ojos.

40 De acuerdo con otro aspecto importante, la presente invención se refiere al uso del péptido de fórmula general (I) o sus sales cosméticamente o dermofarmacéuticamente aceptables en la preparación de una composición cosmética o dermofarmacéutica que reduce y/o elimina las arrugas de expresión faciales mediante aplicación por inyección subcutánea o intradérmica en la frente, en el espacio entre las cejas y/o en las arrugas y líneas finas alrededor de la boca y/o alrededor de los ojos.

LISTADO DE SECUENCIAS

45 <110> LIPOTEC S.A.

<120> COMPOSICIÓN COSMÉTICA O DERMOFARMACÉUTICA QUE COMPRENDE PÉPTIDOS DERIVADOS DE ENCEFALINAS PARA REDUCIR Y/O ELIMINAR ARRUGAS FACIALES

<130> P00000542/2005

<140> P00000542/2005

50 <141> 04-04-2005

<160> 7

<170> PatentIn versión 3.4

<210> 1

<211> 206

<212> PRT

5 <213> *Homo sapiens*

<400> 1

```

Met Ala Glu Asp Ala Asp Met Arg Asn Glu Leu Glu Glu Met Gln Arg
 1           5           10           15

Arg Ala Asp Gln Leu Ala Asp Glu Ser Leu Glu Ser Thr Arg Arg Met
 20           25           30

Leu Gln Leu Val Glu Glu Ser Lys Asp Ala Gly Ile Arg Thr Leu Val
 35           40           45

Met Leu Asp Glu Gln Gly Glu Gln Leu Glu Arg Ile Glu Glu Gly Met
 50           55           60

Asp Gln Ile Asn Lys Asp Met Lys Glu Ala Glu Lys Asn Leu Thr Asp
 65           70           75           80

Leu Gly Lys Phe Cys Gly Leu Cys Val Cys Pro Cys Asn Lys Leu Lys
 85           90           95

Ser Ser Asp Ala Tyr Lys Lys Ala Trp Gly Asn Asn Gln Asp Gly Val
 100          105          110

Val Ala Ser Gln Pro Ala Arg Val Val Asp Glu Arg Glu Gln Met Ala
 115          120          125

Ile Ser Gly Gly Phe Ile Arg Arg Val Thr Asn Asp Ala Arg Glu Asn
 130          135          140

Glu Met Asp Glu Asn Leu Glu Gln Val Ser Gly Ile Ile Gly Asn Leu
 145          150          155          160

Arg His Met Ala Leu Asp Met Gly Asn Glu Ile Asp Thr Gln Asn Arg
 165          170          175

Gln Ile Asp Arg Ile Met Glu Lys Ala Asp Ser Asn Lys Thr Arg Ile
 180          185          190

Asp Glu Ala Asn Gln Arg Ala Thr Lys Met Leu Gly Ser Gly
 195          200          205
    
```

<210> 2

<211> 84

<212> PRT

10 <213> *Homo sapiens*

ES 2 653 388 T3

<400> 2

Met Ala Glu Asp Ala Asp Met Arg Asn Glu Leu Glu Glu Met Gln Arg  
1 5 10 15

Arg Ala Asp Gln Leu Ala Asp Glu Ser Leu Glu Ser Thr Arg Arg Met  
20 25 30

Leu Gln Leu Val Glu Glu Ser Lys Asp Ala Gly Ile Arg Thr Leu Val  
35 40 45

Met Leu Asp Glu Gln Gly Glu Gln Leu Glu Arg Ile Glu Glu Gly Met  
50 55 60

Asp Gln Ile Asn Lys Asp Met Lys Glu Ala Glu Lys Asn Leu Thr Asp  
65 70 75 80

Leu Gly Lys Phe

<210> 3  
<211> 13  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

5

<400> 3

Glu Leu Glu Glu Met Gln Arg Arg Ala Asp Gln Leu Ala  
1 5 10

<210> 4  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

10

<400> 4

Glu Glu Met Gln Arg Arg Ala Asp  
1 5

<210> 5  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

15

<400> 5

Glu Glu Met Gln Arg Arg  
1 5

20

<210> 6  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*

25

<400> 6

ES 2 653 388 T3

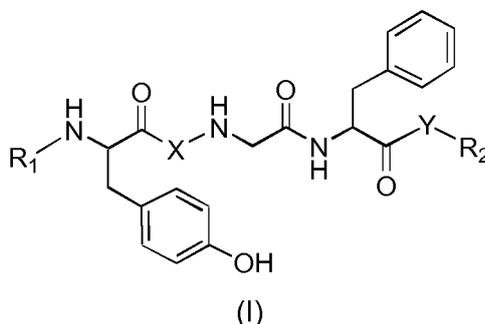
Tyr Gly Gly Phe Leu  
1 5

5 <210> 7  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> *Homo sapiens*  
  
<400> 7

Tyr Ala Gly Phe Leu  
1 5

## REIVINDICACIONES

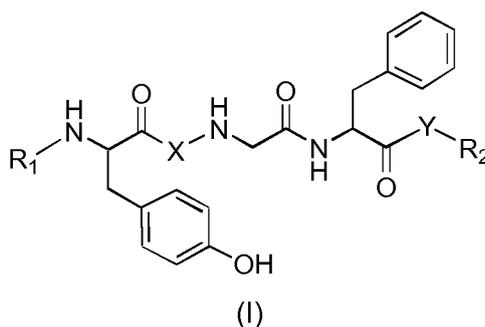
1. El uso de al menos un péptido de fórmula general (I):



o de las sales dermofarmacéuticamente aceptables del mismo, en la que:

- 5 X es D-alanilo e Y se selecciona entre el grupo que consiste en aminoácidos naturales en su forma L o D o aminoácidos no codificados seleccionados entre el grupo que consiste en citrulina, ornitina, sarcosina, desmosina, norvalina, ácido 4-aminobutírico, ácido 2-aminobutírico, ácido 2-aminoisobutírico, ácido 6-aminohexanoico, 1-naftilalanina, 2-naftilalanina, ácido 2-aminobenzoico, ácido 4-aminobenzoico, cicloserina, hidroxiprolina, *a/o*-isoleucina, ácido isonipecótico, isoserina, fenilglicina, estatina, β-alanina y norleucina;
- 10 R<sub>1</sub> se selecciona entre el grupo formado por H o grupo alquilo, arilo, aralquilo o acilo; y R<sub>2</sub> se selecciona entre el grupo formado por amino, hidroxilo o tiol, todos ellos sustituidos o no sustituidos con grupos alifáticos o cíclicos, y al menos un excipiente o adyuvante dermofarmacéuticamente aceptable para la preparación de una composición dermofarmacéutica para reducir y/o eliminar arrugas faciales.
- 15 2. El uso de al menos un péptido de fórmula general (I) de acuerdo con la reivindicación 1, para la preparación de una composición dermofarmacéutica para reducir y/o eliminar arrugas de expresión faciales.
3. El uso de al menos un péptido de fórmula general (I) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 y 2, para la preparación de una composición dermofarmacéutica para reducir y/o eliminar arrugas faciales, en el que R<sub>1</sub> es H o acilo de C<sub>2</sub> a C<sub>24</sub>, lineal, ramificado o cíclico, saturado o insaturado.
- 20 4. El uso de al menos un péptido de fórmula general (I) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 y 2, para la preparación de una composición dermofarmacéutica para reducir y/o eliminar arrugas faciales, en el que R<sub>2</sub> es amino o hidroxilo, sustituidos o no sustituidos con grupos alifáticos de C<sub>1</sub> a C<sub>24</sub> lineales, ramificados o cíclicos, saturados o insaturados.
- 25 5. El uso de al menos un péptido de fórmula general (I) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 y 2, para la preparación de una composición dermofarmacéutica para reducir y/o eliminar arrugas faciales, en el que Y es L-metionilo o L-leucilo.
- 30 6. El uso de al menos un péptido de fórmula general (I) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, para la preparación de una composición dermofarmacéutica para reducir y/o eliminar arrugas faciales, en el que X es D-alanilo, R<sub>1</sub> es H, acetilo o palmitoilo y R<sub>2</sub> es amino o hidroxilo, sustituidos o no sustituidos con grupos metilo o etilo o dodecilo o hexadecilo.
7. El uso de al menos un péptido de fórmula general (I) de acuerdo con la reivindicación 6, para la preparación de una composición dermofarmacéutica para reducir y/o eliminar arrugas faciales, en el que Y es L-leucilo.
- 35 8. El uso de al menos un péptido de fórmula general (I) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, para la preparación de una composición dermofarmacéutica para reducir y/o eliminar arrugas faciales, en el que el péptido de fórmula general (I) está a una concentración de entre el 0,000001 % y el 20 % en peso.
9. El uso de al menos un péptido de fórmula general (I) de acuerdo con la reivindicación 8, para la preparación de una composición dermofarmacéutica para reducir y/o eliminar arrugas faciales, en el que el péptido de fórmula general (I) está a una concentración de entre el 0,0001 % y el 5 % en peso.
- 40 10. El uso de al menos un péptido de fórmula general (I) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, para la preparación de una composición dermofarmacéutica para reducir y/o eliminar arrugas faciales que comprende una cantidad cosmética o dermofarmacéuticamente eficaz adicional de un agente activo seleccionado entre el grupo formado por un agente exfoliante, un agente hidratante, un agente despigmentante o blanqueante, un agente propigmentante, un agente antiestrías, un agente antiarrugas, un agente antioxidante, un agente antiglicación, un inhibidor de la NO-sintasa, un agente antienvjecimiento, un agente capaz de reducir o eliminar las

- bolsas bajo los ojos, un agente estimulador de la síntesis de moléculas dérmicas o epidérmicas y/o para prevenir su degradación, un agente estimulador de la proliferación de fibroblastos y/o queratinocitos o para estimular la diferenciación de queratinocitos, un agente relajante de la piel, un agente reafirmante, un agente anticontaminación atmosférica y/o antirradicales libres, un agente que actúe sobre la circulación capilar y/o la microcirculación, un agente calmante, un agente antiinflamatorio, un agente que actúe sobre el metabolismo de las células, un agente de fotoprotección orgánico o mineral que sea activo frente a los rayos ultravioleta A y/o B, o mezclas de los mismos.
- 5 11. El uso de al menos un péptido de fórmula general (I) de acuerdo con la reivindicación 10, para la preparación de una composición dermofarmacéutica para reducir y/o eliminar arrugas faciales, en el que el agente activo es sintético o un extracto vegetal.
- 10 12. El uso de al menos un péptido de fórmula general (I) de acuerdo con la reivindicación 10, para la preparación de una composición dermofarmacéutica para reducir y/o eliminar arrugas faciales, en el que el agente relajante de la piel es un péptido que contiene al menos una secuencia de aminoácidos de la secuencia de aminoácidos de la proteína SNAP-25 definida por la SEQ ID NO: 1 o de una secuencia diferente de la SEQ ID NO: 1 debido a la mutación, inserción, deleción o sustitución de al menos un aminoácido, o debido a la degeneración del código genético, a condición de que la secuencia de aminoácidos tenga una longitud de 3 a 30 aminoácidos y que tenga la actividad de SNAP-25.
- 15 13. El uso de al menos un péptido de fórmula general (I) de acuerdo con la reivindicación 12, para la preparación de una composición dermofarmacéutica para reducir y/o eliminar arrugas faciales, en el que el péptido de la proteína SNAP-25 tiene una secuencia de aminoácidos contenida en la secuencia SEQ ID NO: 2.
- 20 14. El uso de al menos un péptido de fórmula general (I) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 12 y 13, para la preparación de una composición dermofarmacéutica para reducir y/o eliminar arrugas faciales, en el que el péptido de la proteína SNAP-25 tiene una secuencia de aminoácidos contenida en la secuencia SEQ ID NO: 3.
- 25 15. El uso de al menos un péptido de fórmula general (I) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 12 a 14, para la preparación de una composición dermofarmacéutica para reducir y/o eliminar arrugas faciales, en el que el péptido de la proteína SNAP-25 tiene una secuencia de aminoácidos contenida en la secuencia SEQ ID NO: 4.
- 30 16. El uso de al menos un péptido de fórmula general (I) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 12 a 15, para la preparación de una composición dermofarmacéutica para reducir y/o eliminar arrugas faciales, en el que el péptido de la proteína SNAP-25 es la secuencia SEQ ID NO: 5.
- 35 17. El uso de al menos un péptido de fórmula general (I) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 12 a 16, para la preparación de una composición dermofarmacéutica para reducir y/o eliminar arrugas faciales, en el que el péptido de la proteína SNAP-25 está a una concentración de entre el 0,000001 % y el 20 % en peso.
- 40 18. El uso de al menos un péptido de fórmula general (I) de acuerdo con la reivindicación 17, para la preparación de una composición dermofarmacéutica para reducir y/o eliminar arrugas faciales, en el que el péptido de la proteína SNAP-25 está a una concentración de entre el 0,0001 % y el 5 % en peso.
- 45 19. El uso de al menos un péptido de fórmula general (I) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18, para la preparación de una composición dermofarmacéutica para reducir y/o eliminar arrugas faciales, en el que el péptido de fórmula general (I) se incorpora a un vehículo cosméticamente o dermofarmacéuticamente aceptable seleccionado entre el grupo formado por liposomas, milicápsulas, microcápsulas, nanocápsulas, esponjas, miliesferas, microesferas, nanoesferas, milipartículas, lipoesferas, micropartículas y nanopartículas.
- 50 20. El uso de al menos un péptido de fórmula general (I) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19, para la preparación de una composición dermofarmacéutica para reducir y/o eliminar arrugas faciales, en el que la composición dermofarmacéutica está presente en una formulación seleccionada entre el grupo formado por emulsiones de aceite y/o silicona en agua, emulsiones de agua en aceite y/o silicona, leches, lociones, geles, pomadas, bálsamos, espumas, aceites corporales, jabones, barras, lápices, pulverizaciones, cremas, linimentos, ungüentos, sueros y mousses.
- 55 21. El uso de al menos un péptido de fórmula general (I) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19, para la preparación de una composición dermofarmacéutica para reducir y/o eliminar arrugas faciales, en el que la composición dermofarmacéutica se incorpora en soportes sólidos seleccionados entre el grupo formado por toallitas, hidrogeles, parches y mascarillas faciales.
- 50 22. El uso de al menos un péptido de fórmula general (I) de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19, para la preparación de una composición dermofarmacéutica para reducir y/o eliminar arrugas faciales, en el que la composición dermofarmacéutica se incorpora en productos de línea de maquillaje seleccionados entre el grupo formado por correctores, bases de maquillaje, lociones, lociones desmaquillantes, sombras de ojos y barras de labios.
- 55 23. El uso de una composición cosmética que contiene al menos un péptido de fórmula general (I):



o de las sales cosméticamente aceptables del mismo, en la que:

X es D-alanilo e Y se selecciona entre el grupo que consiste en aminoácidos naturales en su forma L o D o aminoácidos no codificados seleccionados entre el grupo que consiste en citrulina, ornitina, sarcosina, desmosina, norvalina, ácido 4-aminobutírico, ácido 2-aminobutírico, ácido 2-aminoisobutírico, ácido 6-aminohexanoico, 1-naftilalanina, 2-naftilalanina, ácido 2-aminobenzoico, ácido 4-aminobenzoico, cicloserina, hidroxiprolina, *alo*-isoleucina, ácido isonipecótico, isoserina, fenilglicina, estatina, β-alanina y norleucina;

R<sub>1</sub> se selecciona entre el grupo formado por H o grupo alquilo, arilo, aralquilo o acilo; y

R<sub>2</sub> se selecciona entre el grupo formado por amino, hidroxilo o tiol, todos ellos sustituidos o no sustituidos con grupos alifáticos o cíclicos,

y al menos un excipiente o adyuvante cosméticamente aceptable, para reducir y/o eliminar arrugas faciales.

24. El uso de una composición cosmética de acuerdo con la reivindicación 23, para reducir y/o eliminar arrugas de expresión faciales.

25. El uso de una composición cosmética de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 23 o 24, para reducir y/o eliminar arrugas faciales, en el que dicha composición se presenta en una formulación seleccionada entre el grupo formado por emulsiones de aceite y/o silicona en agua, emulsiones de agua en aceite y/o silicona, leches, lociones, geles, pomadas, bálsamos, espumas, aceites corporales, jabones, barras, lápices, pulverizaciones, cremas, linimentos, ungüentos, sueros y mousses.

26. El uso de una composición cosmética de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 23 o 24, para reducir y/o eliminar arrugas faciales, en el que dicha composición se incorpora en soportes sólidos seleccionados entre el grupo formado por toallitas, hidrogeles, parches y mascarillas faciales.

27. El uso de una composición cosmética de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 23 o 24, para reducir y/o eliminar arrugas faciales, en el que dicha composición se incorpora en productos de línea de maquillaje seleccionados entre el grupo formado por correctores, bases de maquillaje, lociones, lociones desmaquillantes, sombras de ojos y barras de labios.

28. El uso de una composición cosmética de acuerdo con la reivindicación 24, para reducir y/o eliminar arrugas de expresión faciales, en el que dicha composición se aplica en la frente, en el espacio entre las cejas y/o en las arrugas y líneas finas alrededor de la boca y/o alrededor de los ojos.

29. El uso de una composición cosmética de acuerdo con la reivindicación 24, para reducir y/o eliminar arrugas de expresión faciales, en el que dicha composición se aplica por iontoforesis en la frente, en el espacio entre las cejas y/o en las arrugas y líneas finas alrededor de la boca y/o alrededor de los ojos.

30. El uso de una composición cosmética de acuerdo con la reivindicación 24, para reducir y/o eliminar arrugas de expresión faciales, en el que dicha composición se aplica por inyección subcutánea o intradérmica en la frente, en el espacio entre las cejas y/o en las arrugas y líneas finas alrededor de la boca y/o alrededor de los ojos.

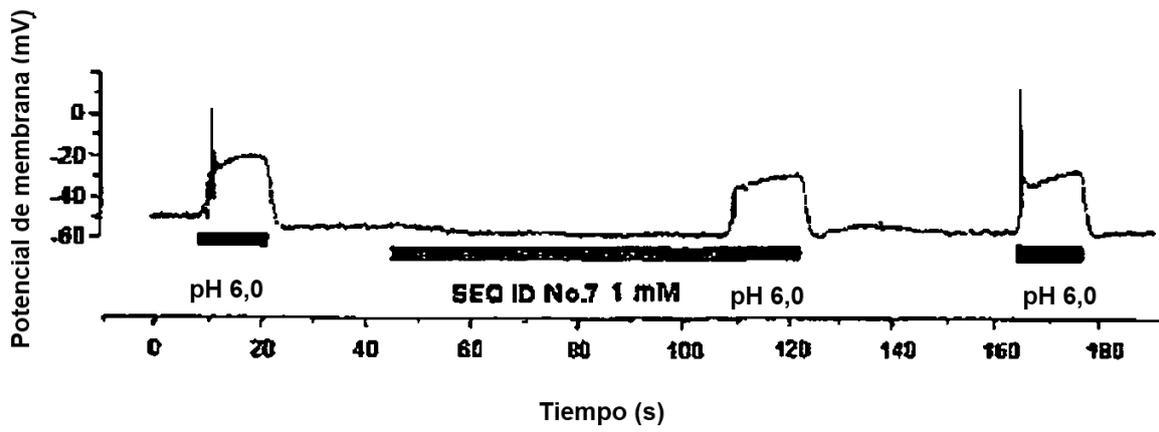


Fig. 1

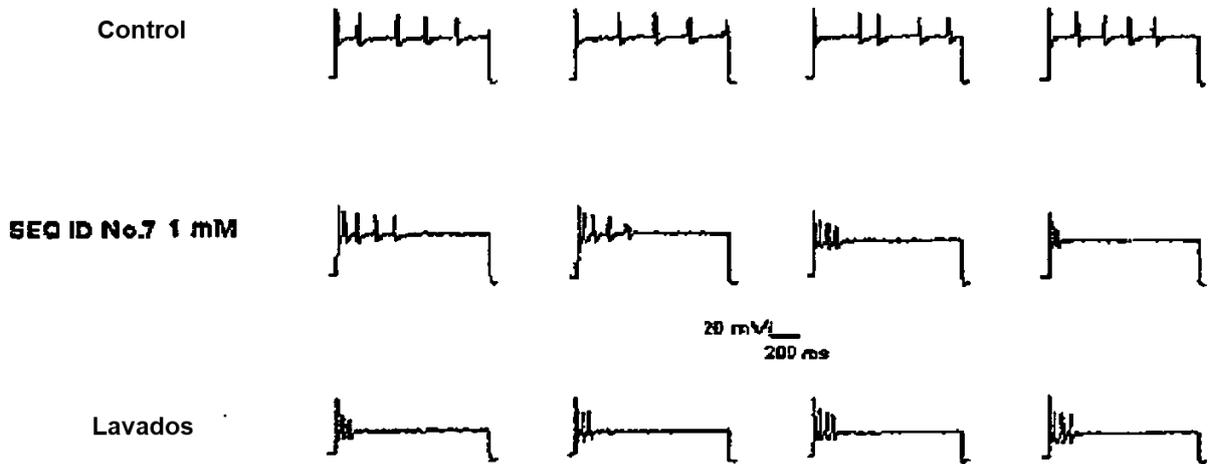


Fig. 2

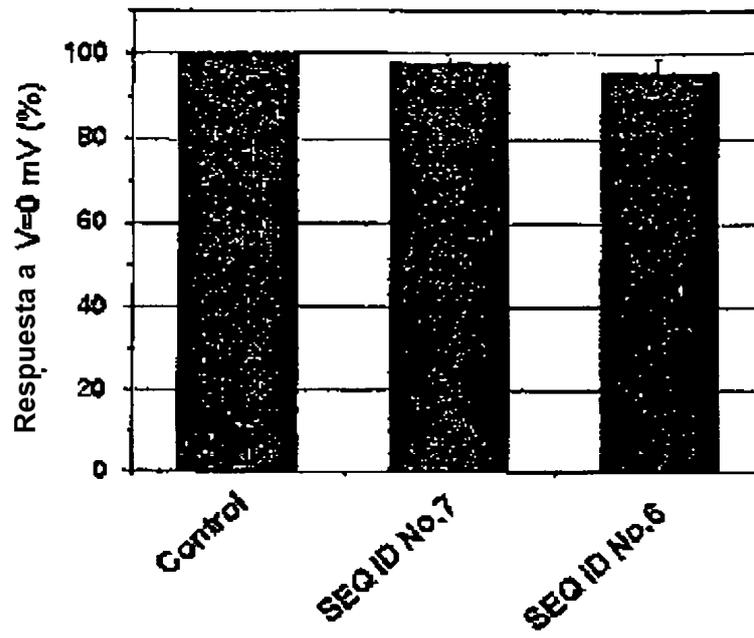


Fig. 3

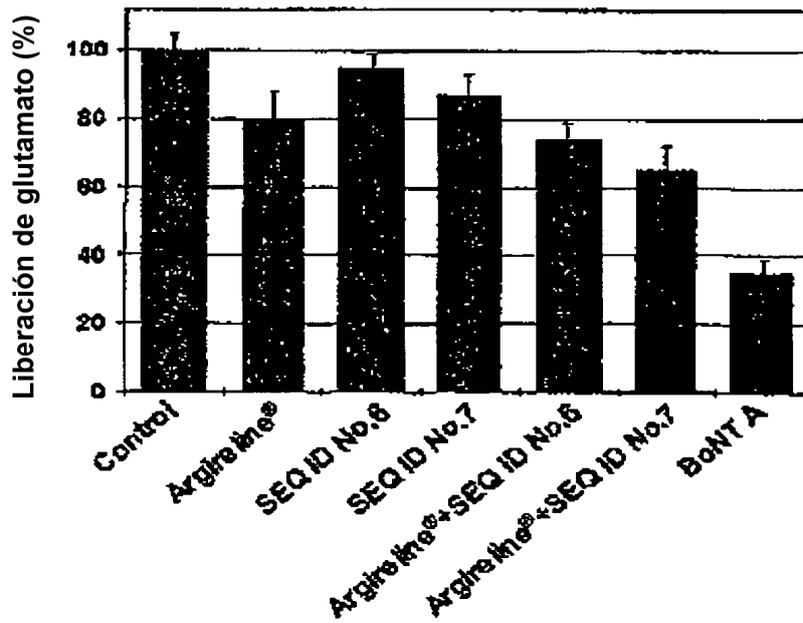


Fig. 4