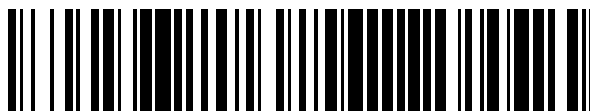


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 673 207**

51 Int. Cl.:

A61K 8/49 (2006.01)

A61Q 19/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.12.2011 PCT/IB2011/055455**

87 Fecha y número de publicación internacional: **14.06.2012 WO12077034**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.12.2011 E 11799870 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.03.2018 EP 2648690**

54 Título: **Complejo SASPASA-FLG2, agentes moduladores y usos**

30 Prioridad:

07.12.2010 FR 1060183

23.12.2010 US 201061457092 P

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

20.06.2018

73 Titular/es:

L'ORÉAL (100.0%)

**14, rue Royale
75008 Paris, FR**

72 Inventor/es:

**BERNARD, DOMINIQUE;
THOMAS-COLLIGNON, AGNÈS;
ROZOT, ROGER y
MULLER, BENOIT**

74 Agente/Representante:

TOMAS GIL, Tesifonte Enrique

ES 2 673 207 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

Complejo SASPASA-FLG2, agentes moduladores y usos

5 [0001] La presente invención se refiere a una nueva diana cosmética o terapéutica útil con respecto a la piel y sus anexos, así como a su aplicación con fines de cuidado cosmético, terapéutico o dermatológico.

10 [0002] Más precisamente, la presente invención se refiere a un nuevo complejo proteico implicado en la diferenciación y/o la proliferación de las células de la epidermis, a su uso como herramientas de cribado de nuevos activos cosméticos o terapéuticos, a los nuevos activos identificados, y al uso de estos últimos para prevenir y/o tratar defectos estéticos o trastornos patológicos de la piel y/o de sus anexos.

[0003] Por "la piel" se entiende el conjunto de la piel del cuerpo, incluyendo el cuero cabelludo y las mucosas.

15 [0004] Por "anexos de la piel" se entienden el vello, las pestañas, los cabellos y las uñas.

20 [0005] La piel, o epidermis, está dividida convencionalmente en una capa basal de queratinocitos que constituye el estrato germinativo de la epidermis, un estrato denominado espinoso pluriestratificado constituido por células poliédricas dispuestas sobre el estrato germinativo, de uno a tres estratos denominados granuloso constituidos por células aplanadas que contienen inclusiones citoplásmicas distintas, gránulos de queratohialina y, finalmente, un conjunto de capas superiores llamadas capas córneas, o estrato córneo, constituidas por queratinocitos en la fase terminal de su diferenciación, llamados corneocitos.

25 [0006] Los corneocitos son células anucleadas principalmente constituidas por una materia fibrosa que contiene citoqueratinas, rodeadas por una envoltura córnea. Hay una producción ininterrumpida de nuevos queratinocitos para compensar la pérdida continua de células epidérmicas a la altura del estrato córneo, según un mecanismo denominado descamación. El conjunto del proceso que conduce a la formación del estrato córneo y a su eliminación se debe a un equilibrio cuidadosamente regulado bajo el control de muchos factores hormonales o celulares. Un desequilibrio de uno de estos factores, si no se corrige rápidamente, acaba traduciéndose en un desequilibrio entre la producción de las células a la altura de la capa basal y la velocidad de descamación.

30 [0007] Muchos defectos estéticos o trastornos patológicos de la piel o de sus anexos pueden estar asociados a un defecto de la homeostasis de la epidermis y, en particular, a un defecto de la proliferación y/o de la diferenciación de las células.

35 [0008] Así, cuando la proliferación y/o la diferenciación de las células de la capa basal de la epidermis se aceleran con respecto a la velocidad de descamación o esta última aminora, entonces el estrato córneo tiende a espesarse. En el caso de manifestaciones leves de este desequilibrio, éste puede aparecer en forma de diferentes defectos estéticos de la piel o de sus anexos, como por ejemplo de signos cutáneos del envejecimiento, defectos en la función de barrera de la piel, signos de sequedad cutánea, o signos cutáneos de una hiperseborrea. Por el contrario, las manifestaciones agravadas de este desequilibrio pueden aparecer en forma de diferentes trastornos patológicos, como por ejemplo una hiperqueratosis, una xerosis, una ictiosis, la psoriasis, ciertas lesiones tumorales benignas o malignas o hiperqueratosis reactivas.

40 [0009] A la inversa, una deceleración de la proliferación y/o de la diferenciación de las células de la capa basal con respecto a la descamación, o una aceleración de la descamación, puede manifestarse en un adelgazamiento de la epidermis, y particularmente del estrato córneo. Las manifestaciones leves de este desequilibrio pueden expresarse en una fragilidad excesiva del revestimiento cutáneo, incluso en diferentes defectos estéticos de la piel o de sus anexos, como un defecto de cicatrización o un defecto de reepitelización, particularmente después un tratamiento de *peeling* cutáneo o exfoliación. Las manifestaciones leves de este desequilibrio pueden aparecer en forma de diferentes trastornos patológicos, como por ejemplo reacciones de origen inmunitario, habitualmente inducidas por un contacto de la piel con uno o varios agentes exógenos.

45 [0010] Muchos aspectos de los mecanismos subyacentes a la regulación del equilibrio entre proliferación y diferenciación de las células de la epidermis faltan por determinar.

50 [0011] Así, la identificación y la determinación a nivel celular y a nivel molecular de los mecanismos implicados en la formación del estrato córneo permitirían proporcionar nuevas dianas útiles con respecto al cuidado cosmético o terapéutico de la piel y/o de sus anexos.

55 [0012] Por lo tanto, sigue habiendo una necesidad de disponer de nuevas dianas moleculares implicadas en la formación del estrato córneo, y particularmente en la proliferación y/o la diferenciación de las células de la epidermis.

[0013] También existe una necesidad de disponer de nuevas dianas cosméticas y/o terapéuticas implicadas en las vías metabólicas y/o de señalización subyacentes a la proliferación y/o la diferenciación de las células de la epidermis.

5 [0014] También existe una necesidad de disponer de nuevas herramientas de cribado de compuestos activos que puedan modular la proliferación y/o la diferenciación de las células de la epidermis.

[0015] También existe una necesidad de disponer de nuevos compuestos activos aptos para modificar, corregir, restaurar y/o reforzar las funciones fisiológicas de la epidermis.

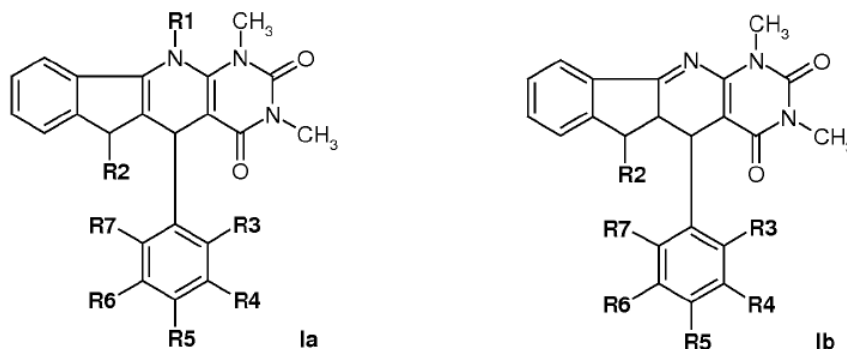
10 [0016] También existe una necesidad de disponer de nuevos compuestos activos aptos para ejercer un efecto de cuidado cosmético o terapéutico con respecto a la piel o sus anexos.

15 [0017] También existe una necesidad de disponer de nuevos compuestos activos aptos para prevenir y/o tratar un defecto estético o un trastorno patológico de la piel o de sus anexos resultante de un defecto de proliferación y/o de diferenciación de las células de la epidermis.

[0018] La presente invención tiene como objeto satisfacer estas necesidades.

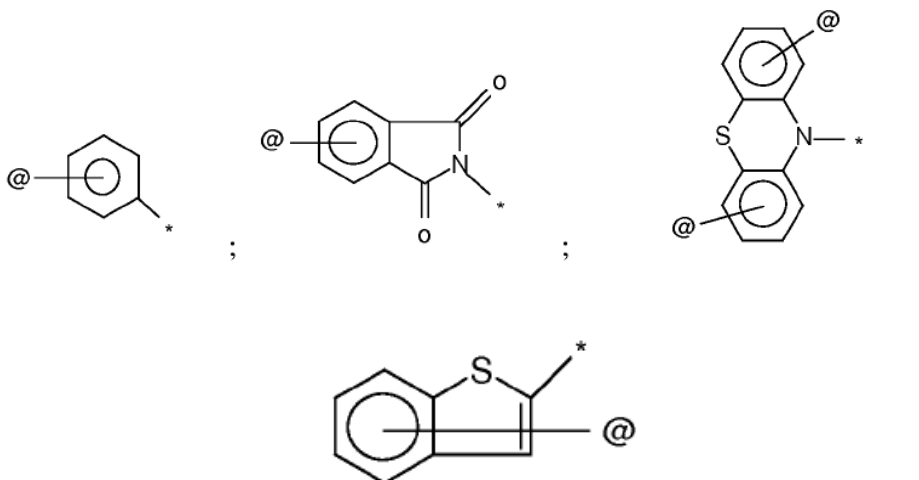
20 [0019] Así, la presente invención se refiere a un uso cosmético no terapéutico de por lo menos un compuesto capaz de modular la interacción entre una primera y una segunda proteína asociadas, homólogos o fragmentos de dichas proteínas, dicha primera y dicha segunda proteína siendo la SASPasa y la Filagrina-2, o FLG2, como agente activo para tratar y/o prevenir un defecto estético de la piel y/o de sus anexos asociado a un desequilibrio de la diferenciación y/o de la proliferación de las células de una epidermis,

25 dicho compuesto que está representado por la fórmulas generales (Ia) o (Ib) siguientes:



en las cuales:

- 30
- R¹ representa H, un alquilo en C₁-C₄, lineal o ramificado, saturado o insaturado, o -C(O)R⁸, en el cual R⁸ representa un alquilo en C₁-C₄, lineal o ramificado, saturado o insaturado, donde R¹ representa preferiblemente H, un metilo, un etilo, un propilo, o -C(O)R⁸ en el cual R⁸ representa un metilo, un etilo o un propilo;
 - R² representa =O, -OR⁹ o -OC(O)R⁹, en los cuales R⁹ representa H o un alquilo saturado en C₁-C₂, donde R² representa preferiblemente =O o -OR⁹, preferiblemente =O;
 - 35 - R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷ representan, independientemente el uno del otro, H; -NO₂; -OH; un flúor; -CF₃; un alquilo en C₁-C₄, lineal o ramificado, saturado o insaturado; un fenilo; -OC(O)-CH(Ph)₂; -O-Ph-X donde X representa H, -OH, -NO₂, un flúor, un alquilo o un alcoxi en C₁-C₄, lineal o ramificado, saturado o insaturado; -O-S(O₂)-Ph-Z donde Z representa un alquilo en C₁-C₄, lineal o ramificado, saturado o insaturado; -R⁸OH; -OR⁹; -OC(O)R⁹ donde R⁸ y R⁹ son tal como se ha definido previamente; -R¹⁰Ph donde R¹⁰ es un alquilenos en C₁-C₄, lineal o ramificado, saturado o insaturado; o -OC(O)-Y_n-Ar₁-(X)_m donde
 - 40 - n representa 0 o 1 y m representa un entero que varía de 0 a 4, con la condición de que n y m no representen simultáneamente 0, donde Y representa un alquilenos en C₁-C₄, lineal o ramificado, saturado o insaturado, donde X es como se ha definido previamente, y Ar₁ representa



o

5 donde * representa una unión con Y y @ representa una unión con X,
 y sus sales fisiológicamente aceptables,
 donde los homólogos tienen una secuencia que presenta una identidad de por lo menos 85 % con una de las
 proteínas asociadas y una actividad biológica de la misma naturaleza, y
 10 donde los fragmentos son porciones de una proteína asociada que comprenden de 6 a 260 aminoácidos
 contiguos y que están dotados de una actividad biológica de la misma naturaleza.

[0020] A continuación, los términos "proteína" o "secuencia proteica" se utilizan de manera equivalente, e
 indistintamente, excepto si se indica lo contrario, para designar una proteína, un homólogo, o un fragmento de
 ésta.

15 [0021] En el contexto de la invención, por "modular" se entiende el hecho de favorecer, reducir o estabilizar la
 interacción entre proteínas.

[0022] De manera inesperada, los inventores han evidenciado, por una parte, la manifestación de una interacción
 20 entre la proteasa de ácido aspártico SASPasa y la proteína Filagrina-2, o FLG2, de forma más particular a través
 de la parte N-terminal correspondiente a la parte S100 de esta proteína, en la epidermis y, por otra parte, que
 esta interacción favorece la actividad proteolítica de la SASPasa.

[0023] FR 2 842 209 divulga que la proteína SASPasa está fuertemente expresada en la epidermis, y está
 25 implicada en los procesos de descamación de la piel, y describe esta proteína como diana en el tratamiento de
 trastornos cutáneos. Sin embargo, este documento no menciona la interacción SASPasa-FLG2 ni la implicación
 de este complejo proteico en la regulación de la diferenciación o la proliferación de las células de la epidermis.

[0024] Además, los inventores han demostrado que la interacción SASPasa-FLG2 podía modularse mediante
 30 diferentes compuestos activos, y que esta modulación podía ser útil para prevenir y/o tratar un defecto estético o
 un trastorno patológico de la piel y/o de sus anexos, consecutivo a un desequilibrio de la diferenciación y/o de la
 proliferación de las células de la epidermis.

[0025] En el contexto de la invención, por "regular la proliferación y/o la diferenciación de las células de una
 35 epidermis" se entiende el hecho de restablecer un equilibrio fisiológico entre estos dos procesos.

[0026] En el sentido de la presente invención, por "prevenir" se entiende el hecho de reducir el riesgo o la
 40 probabilidad de manifestación de un fenómeno dado, es decir, en la presente invención, un defecto estético o un
 trastorno patológico de la piel y/o de sus anexos asociado a un desequilibrio de la diferenciación y/o de la
 proliferación de las células de la epidermis.

[0027] Según otro aspecto, la presente invención se refiere al uso cosmético de por lo menos un compuesto
 45 como se ha definido previamente, como agente activo para favorecer la reepitelización después de un
 tratamiento de *peeling* cutáneo o exfoliación.

[0028] Según otro aspecto más, la presente invención se refiere al uso cosmético no terapéutico de por lo menos
 un compuesto como se ha definido antes, como agente activo para prevenir y/o tratar la caída del cabello y/o
 favorecer el recrecimiento del cabello, o para evitar el recrecimiento del vello.

- 5 [0029] Según otra forma de realización, la presente invención se refiere al uso *in vitro* o *ex vivo* de por lo menos un complejo proteico que comprende una primera y una segunda proteína asociadas que interactúan la una con la otra, donde dichas primera y segunda proteína son la SASPasa y la Filagrina-2, o FLG2, homólogos o fragmentos de dichas proteínas, para cribar compuestos aptos para regular la proliferación y/o la diferenciación de las células de una epidermis por modulación de la interacción entre dicha primera y dicha segunda proteína, donde los homólogos tienen una secuencia que presenta una identidad de por lo menos un 85 % con una de las proteínas asociadas y una actividad biológica de la misma naturaleza, y donde los fragmentos son porciones de una proteína asociada que comprenden de 6 a 260 aminoácidos contiguos y están dotados de una actividad biológica de la misma naturaleza.
- 10 [0030] En el contexto de la invención, por "regular la proliferación y/o la diferenciación de las células de una epidermis" se entiende el hecho de restablecer un equilibrio fisiológico entre estos dos procesos.
- 15 [0031] Según otra forma de realización, la presente invención se refiere a un procedimiento de cribado *in vitro* o *ex vivo* de un compuesto capaz de regular la proliferación y/o la diferenciación de las células de una epidermis por modulación de la interacción entre una primera y una segunda proteína asociadas, homólogos o fragmentos de dichas proteínas, dicha primera y dicha segunda proteína siendo la SASPasa y la Filagrina-2, o FLG2, dicho procedimiento que comprende al menos las etapas descritas a continuación.
- 20 [0032] Según otra forma de realización, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica o dermatológica que comprende en un medio fisiológicamente aceptable al menos una cantidad eficaz de por lo menos un compuesto de la invención, para prevenir y/o tratar un trastorno patológico de la piel y/o de sus anexos asociado a un desequilibrio de la diferenciación y/o de la proliferación de las células de una epidermis.
- 25 [0033] Según otra forma de realización, la presente invención se refiere a una composición cosmética que comprende como agente activo, en un medio fisiológicamente aceptable, al menos una cantidad eficaz de por lo menos un compuesto de la invención, y al menos un ingrediente cosmética o dermatológicamente aceptable elegido de entre los activos cosméticos o dermatológicos, los conservantes, los gelificantes hidrófilos o lipófilos, los agentes tensioactivos no iónicos, aniónicos, catiónicos, los antioxidantes, las sales, los perfumes, las cargas, los absorbentes de olor, las materias colorantes, los polímeros filmógenos, los polímeros semicristalinos, las gomas, los aceites volátiles o no volátiles y sus mezclas.
- 30 [0034] En el sentido de la presente invención, por "medio fisiológicamente aceptable" se entiende un medio compatible con una administración a un individuo, particularmente sobre o dentro de la piel y/o de sus anexos de este individuo.
- 35 [0035] En el sentido de la presente invención, por "cantidad eficaz" de un compuesto de la invención se entiende una cantidad suficiente y necesaria de este compuesto para ejercer un efecto de prevención y/o de tratamiento con respecto a un defecto estético o un trastorno patológico de la piel y/o de sus anexos. Tal cantidad se puede determinar mediante cualquier método conocido por el experto en la materia, por ejemplo por medio de pruebas *in vitro*, *ex vivo* o *in vivo*, tales como ensayos clínicos.
- 40 [0036] Según otro aspecto más, la presente invención se refiere a un artículo de acondicionamiento de una composición cosmética, farmacéutica o dermatológica, que contiene al menos una composición cosmética, farmacéutica o dermatológica que comprende al menos un compuesto de la invención.
- 45 [0037] Según otra forma de realización, la presente invención se refiere a un procedimiento cosmético para prevenir y/o tratar un defecto estético de la piel y/o de sus anexos asociado a un desequilibrio de la diferenciación y/o de la proliferación de las células de la epidermis de un individuo, que comprende al menos una etapa de administración a dicho individuo de por lo menos un compuesto de la invención.
- 50 [0038] Según otra forma de realización, la presente invención se refiere a un complejo proteico que comprende una primera y una segunda proteína asociadas que interactúan la una con la otra, dicha primera y dicha segunda proteína siendo la SASPasa y la Filagrina-2, o FLG2, homólogos o fragmentos de dichas proteínas, donde los homólogos tienen una secuencia que presenta una identidad de por lo menos un 85 % con una de las proteínas asociadas y una actividad biológica de la misma naturaleza, y donde los fragmentos son porciones de una proteína asociada que comprenden de 6 a 260 aminoácidos contiguos y están dotados de una actividad biológica de la misma naturaleza.
- 55 [0039] La presente invención permite disponer ventajosamente de una nueva diana utilizable en cosmética o en terapéutica con respecto a la piel y/o sus anexos, y particularmente para la piel.
- 60 [0040] También de manera ventajosa, la presente invención permite proporcionar una nueva herramienta de cribado particularmente eficaz y sensible para la detección de nuevos agentes activos útiles en cosmética o en terapéutica con respecto a la piel y/o sus anexos.
- 65

[0041] La presente invención permite disponer de manera ventajosa de nuevos agentes activos útiles en cosmética o en terapéutica, y aptos para regular la proliferación y/o la diferenciación de las células de la epidermis, y que estén en particular dotados de una buena eficacia y de una buena tolerancia.

5 [0042] La presente invención permite disponer de manera ventajosa de nuevos compuestos cosméticos o terapéuticos particularmente eficaces con respecto a defectos estéticos o trastornos patológicos de la piel y/o de sus anexos ligados a un desequilibrio de la proliferación y/o de la diferenciación de las células de la epidermis.

10 [0043] Finalmente, la presente invención permite disponer de manera ventajosa de un nuevo procedimiento cosmético de tratamiento o de prevención particularmente eficaz con respecto a defectos estéticos de la piel y/o de sus anexos ligados a un desequilibrio de la proliferación y/o de la diferenciación de las células de la epidermis.

Complejo SASPasa-FLG2

15 [0044] Como se ha indicado anteriormente, la invención se refiere a un complejo proteico resultante de la interacción entre dos proteínas, la SASPasa y la FLG2, y el uso de este complejo como marcador y diana biológica de la diferenciación y/o de la proliferación de las células de una epidermis.

20 [0045] Un complejo de la invención se puede formar por interacción de toda o parte de una primera secuencia proteica de la SASPasa con toda o parte de una segunda secuencia proteica de la FLG2 o un dímero de esta segunda secuencia.

25 [0046] La SASPasa (SASPase) "Skin Aspartic Protease" (proteína aspártica de la piel) es una proteína de la familia de las proteasas denominadas de ácido aspártico, que comprende 343 aminoácidos (Uniprot/Swissprot: Q53RT3) y que presenta un peso molecular de aproximadamente 37 kDa.

30 [0047] Su forma corta comprende 259 aminoácidos, para un peso molecular de aproximadamente 28 kDa, y está representada por una secuencia que se extiende de la posición 85 a la posición 343 de la secuencia Q53RT3 (referencia Uniprot/Swissprot). De manera preferida, una secuencia proteica de la SASPasa útil para la invención está representada por la secuencia que se extiende de la posición 85 a la posición 343 de la secuencia Q53RT3.

35 [0048] La Filagrina-2, o FLG2, es una proteína de 2391 aminoácidos que presenta un peso molecular de aproximadamente 248 kDa (Ref. Uniprot/Swissprot: Q5D862).

40 [0049] La FLG2 es una proteína de tipo "de fusión" S100, de estructura cercana a la de la Filagrina, expresada en la epidermis, y presentada como susceptible de estar implicada en la diferenciación de las células de la epidermis, la formación de la barrera epidérmica, la protección de la piel frente a las agresiones del entorno, la organización de la red de filamentos intermedios de queratinas que confieren su resistencia a la epidermis, así como en la hidratación cutánea (Wu et al., PLoS One, 2009,4(4):e5227).

45 [0050] Según una forma de realización, la FLG2 aplicada según la invención puede estar representada por una secuencia de aminoácidos que se extienden de las posiciones 2 a 213 de la secuencia Q5D862, y más preferiblemente de las posiciones 2 a 95, o un dímero de estas secuencias.

[0051] La aplicación de la invención también se extiende a las secuencias de ácidos nucleicos que codifican las proteínas, los homólogos y los fragmentos de las proteínas convenientes para la invención.

50 [0052] Por "homólogo" de una secuencia proteica o de una secuencia de ácidos nucleicos se pretende designar una secuencia que presenta una identidad de por lo menos 85%, en particular de por lo menos 90%, en particular de por lo menos 98%, y particularmente de por lo menos 99 % con dicha secuencia, y que posee una actividad biológica de la misma naturaleza.

55 [0053] Una homología de secuencia se puede identificar mediante cualquier técnica habitualmente utilizada en el dominio por el experto en la materia. Por ejemplo, una homología de secuencia se puede determinar mediante la utilización de la interfaz informática BLAST disponible en el sitio de internet del NCBI en la dirección <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov> configurada con los parámetros por defecto.

60 [0054] Un homólogo de una secuencia proteica puede diferir de esta secuencia, por ejemplo, en una o varias deleción(es), y/o inserción(es) y/o una o varias sustitución(es) de un aminoácido. De manera similar, un homólogo de una secuencia de ácidos nucleicos puede diferir de esta secuencia, por ejemplo, en una o varias deleción(es), y/o inserción(es) y/o una o varias sustitución(es) de una base o de un codón. Estas modificaciones se pueden combinar.

65 [0055] Según una variante de realización, un homólogo de una secuencia proteica o de ácidos nucleicos puede comprender una o varias sustituciones conservadoras de aminoácidos o de codones.

- 5 [0056] Una sustitución conservadora es el reemplazo, en una secuencia proteica, de un aminoácido por otro aminoácido dotado de propiedades físicoquímicas sensiblemente similares, o suficientemente cercanas, a las del aminoácido de origen, para que las propiedades y funciones de la proteína no se vean afectadas, o al menos no de manera sensible. Asimismo, una sustitución conservadora es el reemplazo, en una secuencia de ácidos nucleicos, de un codón por otro codón que codifica un aminoácido idéntico o dotado de propiedades físicoquímicas sensiblemente similares, o suficientemente cercanas, a las del aminoácido de origen para que las propiedades y funciones de la secuencia de ácidos nucleicos codificada no se vean afectadas, o al menos no de manera sensible.
- 10 [0057] Las modificaciones de las secuencias proteicas o de ácidos nucleicos presentadas anteriormente se pueden denominar, de manera general, "mutación". Así, los homólogos de la invención conciernen igualmente las variantes de las secuencias de aminoácidos o de ácidos nucleicos de la invención.
- 15 [0058] Como ejemplo de variantes que se pueden tener en cuenta en la presente invención, se puede mencionar la sustitución de uno o varios residuos de aminoácidos por residuos de aminoácidos que tienen un índice hidropático similar sin, no obstante, afectar de manera sensible a las propiedades biológicas de la proteína, y particularmente a su propiedad de interacción con su proteína asociada. El índice hidropático es un índice atribuido a los aminoácidos en función de su hidrofobicidad y de su carga (Kyte y Doolittle (1982), J. Mol. Biol., 20 157: 105).
- [0059] Una proteína de la invención puede comprender una o varias modificación(es) post-traduccionales(es).
- 25 [0060] Por "modificación(es) post-traduccionales(es)" se pretende englobar el conjunto de las modificaciones que un péptido o una proteína es susceptible de sufrir tras su síntesis en una célula, tal(es) como, por ejemplo, una o varias fosforilación(es), una o varias glicosilación(es), una o varias citrulinación(es), una o varias lipidación(es), tales como una farnesilación o una palmitoilación, una nueva disposición estructural de tipo formación de puentes disulfuros y/o división dentro de la secuencia proteica.
- 30 [0061] Una homología de secuencia se puede apreciar con respecto al conjunto de la secuencia de la proteína o de una o varias secuencias características de esta proteína.
- [0062] Por "secuencia característica" de una proteína se entiende una secuencia de aminoácidos determinante en la identidad de la proteína e implicada en su actividad biológica, como por ejemplo el mantenimiento de su estructura tridimensional, su afinidad con los elementos celulares con los cuales la proteína interactúa habitualmente, como otras proteínas, secuencias de ácidos nucleicos, azúcares o lípidos, su actividad enzimática o su actividad de sustrato con respecto a otras enzimas.
- 35 [0063] De forma más particular, las secuencias características de la SASPasa o de la FLG2 convenientes para la invención son secuencias implicadas en la interacción de estas proteínas unas con otras.
- [0064] Según una forma de realización, las secuencias características consideradas de forma más particular pueden ser las secuencias N-terminal de las proteínas SASPasa y FLG2.
- 40 [0065] Según una variante de realización particular, una secuencia característica de la SASPasa conveniente para la invención puede estar comprendida en la parte N-terminal de la SASPasa, de forma corta y más particularmente puede ser una secuencia que se extiende de la posición 97 a la posición 173 de la secuencia Q53RT3 (referencia Uniprot/Swissprot).
- 45 [0066] Según otra variante de realización, una secuencia característica de la FLG2 conveniente para la invención puede estar comprendida en la parte N-terminal de la FLG2, y más particularmente puede ser una secuencia que se extiende de la posición 2 a la posición 95 de la secuencia Q5D862 (referencia Uniprot/Swissprot).
- [0067] De manera preferida, las secuencias características de la SASPasa y/o de la FLG2 se pueden aplicar ventajosamente en la invención.
- 50 [0068] Por "actividad biológica de la misma naturaleza" de una proteína de la invención se entiende su capacidad de interactuar con la segunda proteína asociada de la invención. Por "actividad biológica de la misma naturaleza" de una secuencia de ácidos nucleicos, se entiende en particular su capacidad de ser transcrita y traducida en
- 55 [0069] Con respecto a la SASPasa, por una actividad biológica de la misma naturaleza se puede entender también su actividad proteolítica, más particularmente con respecto a la corneodesmosina.
- 60 [0070] Con respecto a la FLG2, por una actividad biológica de la misma naturaleza también se puede entender su propiedad de interactuar con la SASPasa y/o de favorecer y aumentar la actividad proteolítica de la SASPasa.

[0071] Según otra variante de la invención, por una actividad biológica de la misma naturaleza también se puede entender la actividad biológica de un complejo de la invención con respecto a la proliferación y/o la diferenciación de las células de la epidermis.

5

[0072] Así, un homólogo o un fragmento de la primera y la segunda proteína asociadas convenientes para la invención están dotados necesariamente al menos de la propiedad de interactuar el uno con el otro para formar un complejo conveniente para la invención.

10

[0073] En el contexto de la invención, por "fragmento de una proteína" se entiende toda porción de una proteína conforme a la invención que comprenda de 6 a 260 aminoácidos, preferiblemente de 3 a 215 aminoácidos, preferiblemente de 10 a 180 aminoácidos, y más preferiblemente de 20 a 140, incluso de 40 a 100, o incluso de 60 a 100 aminoácidos contiguos, y provista de una actividad biológica de la misma naturaleza que la expresada por la proteína.

15

[0074] El término "fragmento" con respecto a una secuencia de ácidos nucleicos designa cualquier porción de esta secuencia, y constituida por 18 a 780 bases, preferiblemente de 24 a 645 bases, preferiblemente de 30 a 540 bases, y más preferiblemente de 6 a 420 bases, incluso de 120 a 300 o incluso de 180 a 300 bases, y que codifica un fragmento de la secuencia de aminoácidos codificada por dicha secuencia.

20

[0075] Preferiblemente, un fragmento de la invención procede de la parte N-terminal de una proteína de la invención.

25

[0076] Según una variante de realización, una proteína SASPasa conveniente para la invención puede comprender únicamente una secuencia de aminoácidos que se extiende de la posición 95 a 160 de la proteína SASPasa (referencia Uniprot/Swissprot: Q53RT3).

30

[0077] Tal secuencia conserva la propiedad de interacción de la SASPasa con la FLG2, pero está desprovista de actividad proteolítica.

35

[0078] Según otra forma de realización, la FLG2 aplicada según la invención puede consistir en los 100 primeros aminoácidos N-terminales, incluso en los 95 primeros aminoácidos N-terminales, y de manera preferible puede consistir en una secuencia de aminoácidos que se extiende de las posiciones 2 a 95 de la secuencia Q5D862 (Uniprot/Swissprot).

40

[0079] Según una forma de realización, una proteína conveniente para la invención puede ser una proteína natural o sintética, según el caso susceptible de ser obtenida por síntesis química o biológica, o por extracción a partir de un tejido biológico, como por ejemplo la piel, que exprese de forma natural o después de la transducción una proteína, así como las distintas formas post-traduccionales de ésta, así como los homólogos, o los fragmentos de ésta.

45

[0080] Según otra forma de realización, la invención se refiere a una proteína quimérica que comprende una primera secuencia proteica fusionada o acoplada con una segunda secuencia proteica, un agente de cribaje hidrófilo o hidrófobo, un precursor de bioconversión, un marcador de afinidad, por ejemplo un marcador fluorescente, un marcador luminiscente, un marcador radioactivo o un marcador colorimétrico.

50

[0081] De manera no limitativa, se pueden citar como ejemplo de compuestos susceptibles de ser acoplados con una proteína conforme a la invención las proteínas fluorescentes como la "proteína verde fluorescente", los compuestos químicos fluorescentes tales como la rodamina, la fluoresceína, o el Texas Red, los compuestos fosforescentes, los elementos radioactivos, tales como ^3H , ^{35}S , ^{125}I o ^{125}I , los marcadores colorimétricos como los substratos cromógenos sensibles a la acción de la galactosidasa, de la peroxidasa, de la cloranfenicol acetiltransferasa, de la luciferasa o de la fosfatasa alcalina, o incluso marcadores de afinidad.

55

[0082] Según una forma preferida de realización, una proteína según la invención se puede acoplar a un marcador de afinidad, en particular elegido de entre un marcador Myc, FLAF, His, His-tag, GST (glutación S-Transferasa), THX (tioredoxina), MBP (proteína de unión a maltosa), THX-His-tag o THX-His-S-tag.

60

[0083] Según la naturaleza de los compuestos susceptibles de ser acoplados con una proteína conforme a la invención, el acoplamiento se puede realizar mediante cualquier procedimiento químico o cualquier procedimiento de biología molecular conocido por el experto en la técnica. En el último caso, se puede hablar de proteína de fusión o de proteína quimérica.

65

[0084] Así, según una forma de realización, una proteína SASPasa conveniente para la invención puede ser en particular una proteína recombinante fusionada a un marcador de afinidad.

[0085] Según una forma de realización, una proteína FLG2 recombinante conveniente para la invención puede ser una proteína recombinante fusionada a un marcador de afinidad.

5 [0086] Una proteína recombinante de la invención, troncada o no, en su caso fusionada a otra proteína, por ejemplo un marcador de afinidad, se puede obtener mediante cualquier procedimiento de biología molecular, particularmente como describe SAMBROOK et al. (Molecular Cloning : A laboratory Manual, Ed. Cold Spring Harbor, 2001).

10 [0087] La aplicación de la invención se extiende igualmente a las secuencias de ácidos nucleicos que codifican las proteínas, los homólogos y los fragmentos de las proteínas convenientes para la invención.

15 [0088] Una secuencia de ácidos nucleicos que codifica la proteína SASPasa y conveniente para la invención puede ser, por ejemplo, la secuencia de ácidos nucleicos identificada con la referencia GenBank AK055994; AK057813; BC031997; BC094000 o BC094002, preferiblemente con la referencia GenBank AK055994.

[0089] Una secuencia de ácidos nucleicos que codifica una proteína FLG2 y conveniente para la invención puede ser, por ejemplo, la secuencia de ácidos nucleicos identificada con la referencia GenBank AY827490.1.

20 [0090] Una secuencia de ácido nucleico conveniente para la invención puede utilizarse en particular para la preparación de cualquier proteína conforme a la invención y, más particularmente, para la preparación de proteínas fusionadas a un marcador de afinidad.

25 [0091] Una secuencia de ácidos nucleicos conveniente para la invención puede proceder de cualquier origen posible, a saber o bien animal, en particular de mamíferos y aún más particularmente humanos, o bien vegetal, o bien de microorganismos, tales como virus, fagos, bacterias o incluso hongos, sin prejuzgar el hecho de que esté presente de manera natural o no en dicho organismo.

Compuestos moduladores

30 [0092] En el contexto de la invención, por "compuesto modulador" se entiende todo compuesto capaz de actuar directamente sobre un complejo proteico de la invención con el fin de modular la interacción entre las proteínas asociadas de este complejo.

35 [0093] En el contexto de la invención, por "modular" se entiende el hecho de favorecer, reducir o estabilizar la interacción entre estas proteínas.

40 [0094] Un compuesto modulador de la invención puede unirse a una o a las dos proteínas asociadas. Esta unión puede efectuarse, por ejemplo, a nivel del o de los dominios de las proteínas implicadas en la interacción. Así, un compuesto modulador de la invención puede interactuar de forma más particular con un dominio de la parte N-terminal de la forma corta de la SASPasa, o de la parte N-terminal de la FLG2. Alternativamente, un compuesto modulador puede unirse simultáneamente al dominio de las secuencias proteicas de la SASPasa y de la FLG2 implicadas en la formación de complejos.

45 [0095] Alternativamente, esta unión puede efectuarse a distancia del sitio de interacción de las proteínas, llevando por alostería a un cambio conformacional de una o de las proteínas, y a una modulación de la interacción entre las dos proteínas, o de la función de estas proteínas.

50 [0096] Según el compuesto modulador considerado, la interacción entre la SASPasa y la FLG2 puede ser reforzada, reducida, suprimida o estabilizada.

[0097] Según una forma de realización, un compuesto modulador puede favorecer o ser agonista de la interacción SASPasa-FLG2. Alternativamente, un compuesto modulador puede ser un compuesto desestabilizante o antagonista de la interacción SASPasa-FLG2.

55 [0098] La naturaleza agonista o antagonista de un compuesto modulador de la interacción SASPasa-FLG2 será retenida según el efecto modulador que se desee ejercer sobre la proliferación y/o la diferenciación de las células de la epidermis, y más particularmente según la naturaleza del defecto estético o del trastorno patológico de la piel o de sus anexos que se desee prevenir o tratar.

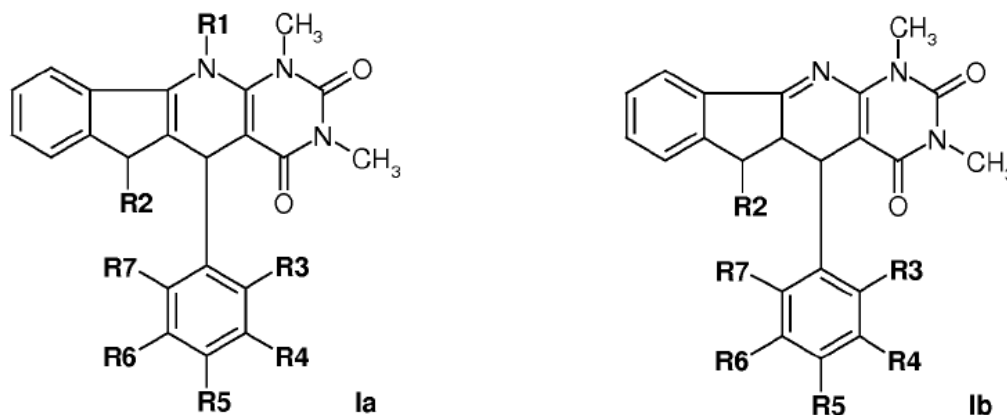
60 [0099] De forma más particular, en el marco de los defectos estéticos o de los trastornos patológicos asociados a una insuficiencia de descamación o a una aceleración de la proliferación y/o de la diferenciación de las células de la epidermis, se podrá preferir un compuesto modulador agonista de la interacción SASPass-FLG2 o que la favorezca.

65 [0100] Tal compuesto podrá ejercer una actividad prodescamante y/o antienvjecimiento las células de la epidermis, favoreciendo así el espesamiento de la epidermis viva y regulando el espesor del estrato córneo.

[0101] Alternativamente, con respecto a los defectos estéticos o trastornos patológicos de la piel y/o de sus anexos resultantes de una descamación excesiva o de una insuficiencia de la proliferación y/o de la diferenciación de las células de la epidermis, se podrá aplicar ventajosamente un compuesto modulador antagonista de la interacción SASPasa-FLG2 o que la desestabilice.

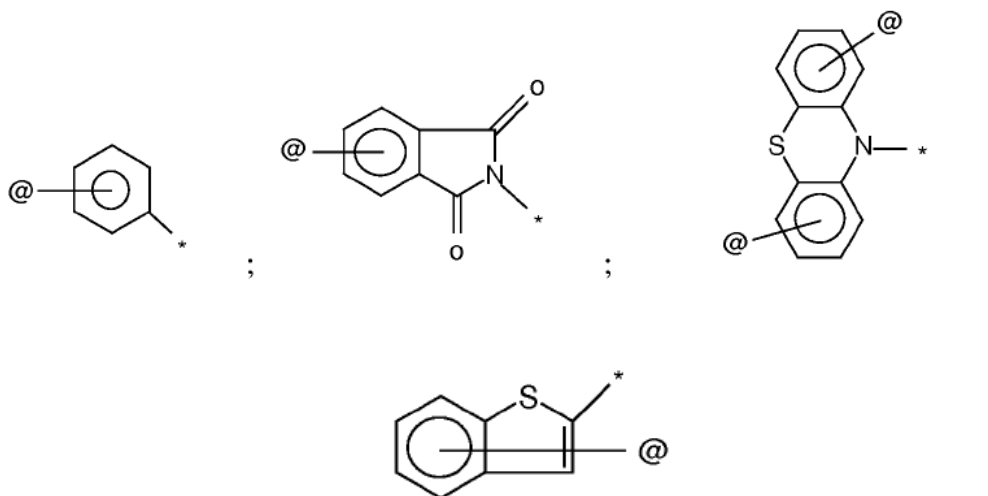
[0102] Tal compuesto podrá ejercer una actividad proferenciante de las células de la epidermis que favorece la maduración de la función de barrera.

[0103] El compuesto considerado según la invención se puede representar por la fórmulas generales (Ia) o (Ib) siguientes:



en las cuales:

- R¹ representa H, un alquilo en C₁-C₄, lineal o ramificado, saturado o insaturado, o -C(O)R⁸, en el cual R⁸ representa un alquilo en C₁-C₄, lineal o ramificado, saturado o insaturado;
- R² Representa =O, -OR⁹ o -OC(O)R⁹, en los cuales R⁹ representa H o un alquilo en C₁-C₂;
- R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷ representan, independientemente el uno del otro, H; -NO₂; -OH; un flúor; -CF₃; un alquilo en C₁-C₄, lineal o ramificado, saturado o insaturado; un fenilo; -OC(O)-CH(Ph)₂; -O-Ph-X donde X representa H, -OH, -NO₂, un flúor, un alquilo o un alcoxi en C₁-C₄, lineal o ramificado, saturado o insaturado; -O-S(O₂)-Ph-Z donde Z representa un alquilo en C₁-C₄, lineal o ramificado, saturado o insaturado; -R¹⁰OH; -OR⁹; -OC(O)R⁹ donde R⁸ y R⁹ son tal como se ha definido previamente; -R¹⁰Ph donde R¹⁰ es un alquilenos en C₁-C₄, lineal o ramificado, saturado o insaturado; o -OC(O)-Y_n-Ar₁(X)_m donde
- n representa 0 o 1 y m representa un entero que varía de 0 a 4, con la condición de que n y m no representen simultáneamente 0, Y representa un alquilenos en C₁-C₄, lineal o ramificado, saturado o insaturado, X es como se ha definido previamente, y Ar₁ representa



donde * representa un unión con Y y @ representa una unión con X y sus sales fisiológicamente aceptables.

[0104] R¹ puede, particularmente, representar H, un alquilo en C₁-C₃ lineal o ramificado, saturado o insaturado, o -C(O)R⁸ en el cual R⁸ representa un alquilo en C₁-C₃, lineal o ramificado, saturado o insaturado.

5 [0105] De manera preferida, R¹ puede representar H, un metilo, un etilo, un propilo, o -C(O)R⁸ en el cual R⁸ representa un metilo, un etilo o un propilo.

[0106] De manera aún más preferida, R¹ puede representar un metilo, un etilo o un propilo, y preferiblemente H.

10 [0107] En particular, un compuesto de la invención se puede representar por la fórmula (Ia) en la cual R¹ representa H, un metilo, un etilo, o un propilo, y preferiblemente representa H.

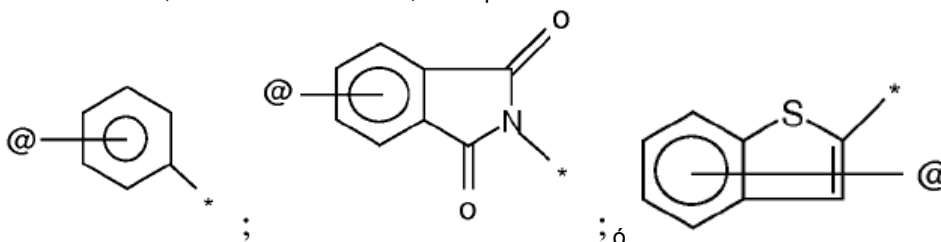
[0108] R² puede representar =O o -OR⁹, donde R⁹ es como se ha definido previamente.

15 [0109] Ventajosamente, R² puede representar =O o -OR⁹ en los cuales R⁹ representa H o un metilo.

[0110] De manera preferida, R² puede representar =O.

20 [0111] Según una forma de realización, R³, R⁴, R⁵, R⁶ y R⁷ pueden representar, independientemente el uno del otro, H; -OH; un flúor; un alquilo en C₁-C₃, lineal o ramificado, saturado o insaturado; un fenilo; -OC(O)-CH(Ph)₂; -O-Ph-X donde X representa H, -OH, -NO₂, un flúor, un alquilo o un alcoxi en C₁-C₃, lineal o ramificado, saturado o insaturado; -O-S(O₂)-Ph-Z donde Z representa un alquilo en C₁-C₃, lineal o ramificado, saturado o insaturado; -R⁸OH; -OR⁹; -OC(O)R⁹ donde R⁸ representa un alquilo en C₁-C₃, lineal o ramificado, saturado o insaturado, y R⁹ representa H o un metilo; -R¹⁰Ph donde R¹⁰ es un alquileo en C₁-C₃ lineal o ramificado, saturado o insaturado; o -OC(O)-Y_n-Ar₁-(X)_m donde

25 - n representa 0 o 1 y m representa un entero que varía de 0 a 4, Y representa un alquileo en C₁-C₃, lineal o ramificado, saturado o insaturado, X representa H, -OH, un flúor, un alquilo o un alcoxi en C₁-C₃, lineal o ramificado, saturado o insaturado, Ar₁ representa:

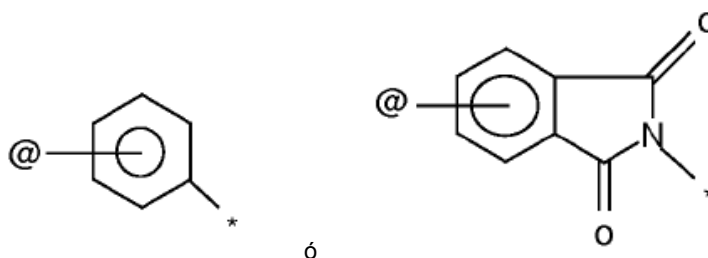


30 donde * representa una unión con Y y @ representa una unión con X.

35 [0112] Según una forma de realización, R³, R⁴, R⁵, R⁶ y R⁷ pueden representar, independientemente el uno del otro, H; -OH; un flúor; un metilo o un etilo; un fenilo; -OC(O)-CH(Ph)₂; -O-Ph-X donde X representa H, -OH, un flúor, un metilo, un etilo, un metoxi o un etoxi; -O-S(O₂)-Ph-Z donde Z representa un metilo o un etilo; -R⁸OH; -OR⁹; -OC(O)R⁹ donde R⁸ representa un metilo o un etilo y R⁹ representa H o un metilo; -R¹⁰Ph donde R¹⁰ es un metileno o un etileno, o -OC(O)-Y_n-Ar₁-(X)_m donde n, Y, X y Ar₁ son tal como se ha definido previamente.

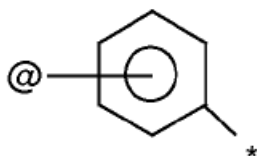
40 [0113] Según una forma de realización, R³, R⁴, R⁵, R⁶ y R⁷ pueden representar, independientemente el uno del otro, H; -OH; un flúor; un metilo o un etilo; -R⁸OH donde R⁸ representa un metilo o un etilo; -OR⁹ donde R⁹ representa H o un metilo; o -OC(O)-Y_n-Ar₁-(X)_n donde n, Y, X y Ar₁ son tal como se ha definido previamente.

45 [0114] Según una forma de realización, uno de R³, R⁴, R⁵, R⁶ y R⁷ puede representar -OC(O)-Y_n-Ar₁-(X)_m donde n representa 0 o 1 y m representa un entero que varía de 0 a 3, y más particularmente de 1 a 2, Y representa un alquileo en C₁-C₃, lineal o ramificado, saturado o insaturado, y particularmente un metileno o un etileno, X puede representar H, -OH, un metilo, un etilo, un metoxi o un etoxi, particularmente H, un metilo o un metoxi, y preferiblemente un etilo o un etoxi, y Ar₁ representa:



50

[0115] Según una forma de realización preferida, en el grupo $-OC(O)-Y_n-Ar_1-X_m$, Ar_1 puede ser:



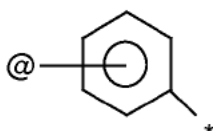
en el cual * y @ son tal como se ha definido previamente.

5 [0116] Según otra forma de realización preferida, en el grupo $-OC(O)-Y_n-Ar_1-X_m$, Y se puede elegir de entre un metileno, un etileno, un propileno, un isopropileno, y más preferiblemente se puede elegir de entre un metileno y un isopropileno.

10 [0117] Según otra forma de realización preferida, en el grupo $-OC(O)-Y_n-Ar_1-X_m$, n puede ser igual a 0 y m puede ser igual a 1.

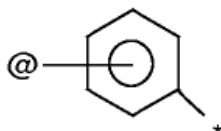
15 [0118] Según otra forma de realización preferida, en el grupo $-OC(O)-Y_n-Ar_1-X_m$, X se puede elegir de entre un alquilo o un alcoxi en C_1-C_4 , preferiblemente en C_2-C_3 , lineal o ramificado, saturado o insaturado. De manera preferida, X se puede elegir de entre un metilo, un etilo, un metoxi o un etoxi. Aún más preferiblemente, X puede ser un metilo o un metoxi, y preferiblemente un metilo.

20 [0119] Según una forma de realización preferida, en el grupo $-OC(O)-Y_n-Ar_1-X_m$, n puede ser igual a 0, m puede ser igual a 1, X puede ser un metilo o un metoxi, preferiblemente un metilo y Ar_1 puede ser:



en el cual * y @ son tal como se ha definido previamente.

25 [0120] Según una forma de realización, como máximo uno de R^3 , R^4 , R^5 , R^6 y R^7 puede representar $-OC(O)-Y_n-Ar_1-X_m$ como se ha definido previamente, y preferiblemente R^4 o R^6 representan $-OC(O)-Y_n-Ar_1-X_m$ como se ha definido previamente. Según una variante de esta forma de realización, $-OC(O)-Y_n-Ar_1-X_m$ puede ser de tal modo que n puede ser igual a 0, m igual a 1, X como se ha definido previamente, y Ar_1 puede representar



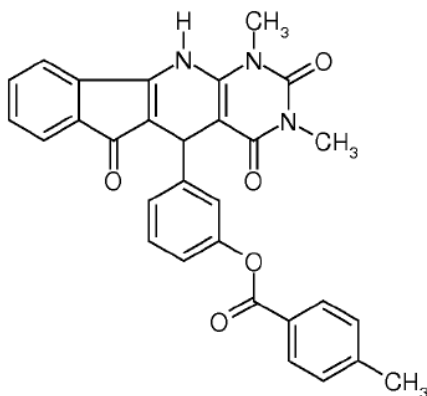
30 donde * representa una unión con Y y @ representa una unión con X.

[0121] Según una forma de realización, R^3 , R^5 , R^7 y R^4 o R^6 pueden representar, independientemente el uno del otro, H; $-NO_2$; $-OH$; un flúor; un metilo o un etilo; un fenilo; $-R^8OH$; $-OR^9$; $-OC(O)R^9$ donde R^8 representa un metilo o un etilo y R^9 representa H o un metilo; $-R^{10}Ph$ donde R^{10} es un metileno o un etileno.

35 [0122] Según una variante de realización preferida, R^3 , R^5 , R^7 y R^4 o R^6 , pueden representar, independientemente el uno del otro, H, $-OH$, un flúor, un metilo, y preferiblemente representan H.

[0123] Según una forma de realización, un compuesto de la invención se puede representar en particular por la fórmula general (Ia).

40 [0124] Según una forma preferida de la invención, un compuesto conveniente para la invención se puede representar preferiblemente por el compuesto de fórmula (II) siguiente:



(II)

[0125] Este compuesto se designa a continuación "M7".

5

[0126] Una sal fisiológicamente aceptable de un compuesto de fórmula general (Ia) o (Ib) según la invención puede ser una sal de un compuesto de fórmula general (Ia) o (Ib) y de un metal alcalino, de un metal alcalinotérreo, o amónico, que comprende las sales obtenidas con bases orgánicas de amonio, o sales de un compuesto de fórmula general (Ia) o (Ib) y de ácido orgánico o inorgánico.

10

[0127] Las sales que convienen de forma más particular a la invención pueden ser sales de sodio, de potasio, de calcio, de magnesio, sales de amonio cuaternario tales como tetrametilamonio o el tetraetilamonio, y sales de adición con amoniaco y aminas orgánicas fisiológicamente aceptables, como la metilamina, la dimetilamina, la trimetilamina, la etilamina, la trietilamina, la etanolamina o la tris-(2-hidroxietil)-amina.

15

[0128] Las sales de un compuesto de fórmula general (Ia) o (Ib) y de ácido inorgánico conveniente para la invención se pueden obtener con ácido hidroclicóric, ácido hidrobromico, ácido sulfúrico, ácido nítrico o ácido fosfórico.

20

[0129] Las sales de un compuesto de fórmula general (Ia) o (Ib) y de ácido orgánico conveniente para la invención se pueden obtener con o a partir de ácidos carboxílicos y ácidos sulfónicos tales como el ácido fórmico, el ácido acético, el ácido oxálico, el ácido cítrico, el ácido láctico, el ácido málico, el ácido succínico, el ácido malónico, el ácido benzoico, el ácido maleico, el ácido fumárico, el ácido tartárico, el ácido metanosulfónico, el ácido bencenosulfónico o el ácido p-toluensulfónico.

25

[0130] Los compuestos moduladores convenientes para la invención pueden obtenerse particularmente como se describe en la solicitud WO 2008/008704.

30

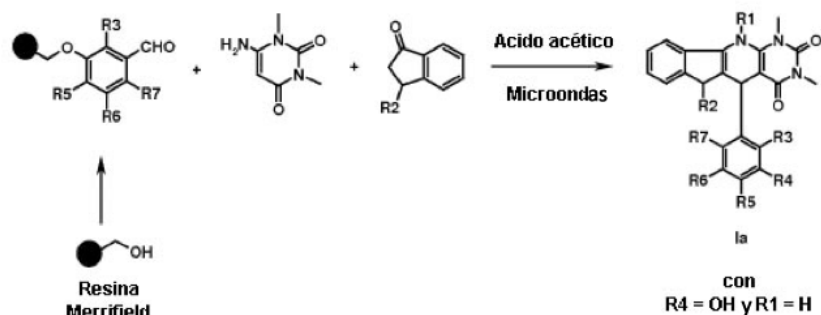
[0131] Alternativamente, los compuestos moduladores convenientes para la invención se pueden obtener a partir del banco ChemDiv Discovery Chemistry Collection Public Database (Order Number: 4477-2039), ChemDiv, Inc. San Diego, EE. UU.)

35

[0132] Los compuestos moduladores convenientes para la invención pueden obtenerse particularmente como se describe en Tetrahedron Letters, 2005,46(8): 1345-1348, según los procedimientos esquemáticos siguientes:

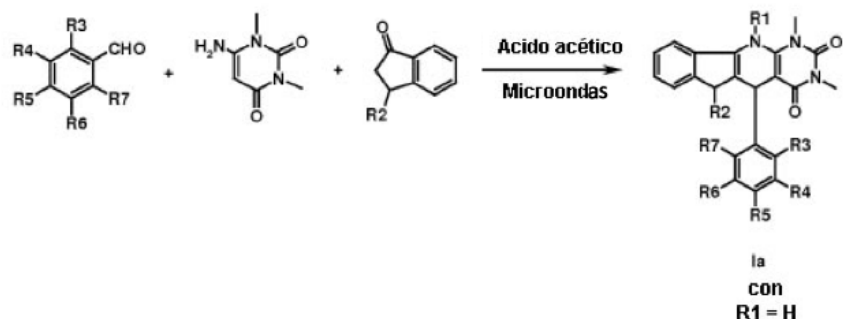
Síntesis en fase sólida

[0133]



Síntesis en fase líquida

5 [0134]



donde R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, y R⁷ son tal como se ha definido antes.

10 **Cribado**

[0135] La invención se refiere al uso de un complejo proteico de la invención para cribar nuevos compuestos, en particular tales como los definidos previamente.

15 [0136] Según una forma de realización, la invención se refiere a un procedimiento de cribado de un compuesto capaz de regular la proliferación y/o la diferenciación de las células de una epidermis por modulación de la interacción entre una primera y una segunda proteína asociadas, homólogos o fragmentos de dichas proteínas, dichas primera y segunda proteínas siendo la SASPasa y la Filagrina-2, o FLG2, dicho procedimiento que comprende al menos las etapas consistentes en:

- 20
- a) disponer dicha primera y dicha segunda proteína en condiciones propicias para la interacción entre la primera y la segunda proteína,
 - b) asociar, previamente o posteriormente a la etapa a), al menos una de la primera y la segunda proteína a una entidad,
 - 25 dicha proteína formando con dicha entidad un conjunto capaz de emitir una señal después de la exposición a una longitud de onda excitadora, y la realización de las etapas a) y b) conduciendo a la obtención de un complejo por interacción de dicha primera y dicha segunda proteína asociadas,
 - c) someter dicho complejo a dicha longitud de onda excitadora para obtener una primera señal S1 característica de dicho complejo,
 - 30 d) determinar cuantitativamente o cualitativamente dicha señal S1,
 - e) poner en contacto el complejo con un medio del que se presume que contiene un compuesto por cribar en condiciones propicias para una interacción entre dicho compuesto y dicho complejo,
 - f) someter el medio obtenido en la etapa e) a dicha longitud de onda excitadora para obtener una segunda señal S2,
 - 35 g) determinar cuantitativamente o cualitativamente dicha señal S2, y
 - h) comparar la primera y la segunda señal S1 y S2 para extraer una conclusión relativa a una eventual modulación de la interacción entre la primera y la segunda proteína por el compuesto cribado, donde los homólogos tienen una secuencia que presenta una identidad de por lo menos el 85 % con una de las proteínas asociadas y una actividad biológica de la misma naturaleza, siendo los fragmentos porciones de una proteína asociada que comprenden de 6 a 260 aminoácidos contiguos y estando dotados de una actividad biológica de la misma naturaleza.
- 40

5 [0137] Según una forma de realización, una entidad conveniente para la invención se puede elegir de entre un soporte conveniente para la resonancia de plasmón de superficie, un marcador fluorescente, un anticuerpo o una combinación de anticuerpos primario y secundario, dicho anticuerpo o dicho anticuerpo secundario que lleva un marcador fluorescente.

10 [0138] Una proteína de la invención se puede asociar a una entidad mediante cualquier método conocido por el experto en la materia, y se puede adaptar a la naturaleza del soporte al cual la proteína debe asociarse. Naturalmente, un método de acoplamiento se elegirá de modo que no afecte a las propiedades de interacción de las proteínas de la invención entre sí.

15 [0139] Según una forma de realización, una asociación entre una entidad y una proteína de la invención se puede efectuar por acoplamiento químico, por biología molecular, o por interacción(es) específica(s) de fuerte afinidad.

[0140] En particular, una asociación se puede realizar por un acoplamiento químico, más particularmente mediante funciones químicas reactivas, o por un procedimiento de biología molecular.

20 [0141] Durante la realización de una asociación por procedimiento químico, las funciones químicas que se han de hacer reaccionar pueden estar presentes de manera natural en la proteína y la entidad asociada, o se pueden introducir en la proteína y la entidad previamente a la reacción química.

25 [0142] Como ejemplo de funciones químicas reactivas convenientes para la invención, se pueden mencionar, por ejemplo, las habitualmente utilizadas en las reacciones denominadas de "química click" ("click chemistry").

30 [0143] Como ejemplo de procedimientos de biología molecular convenientes para la asociación entre una entidad y una proteína de la invención, se pueden citar aquellos habitualmente aplicados en los procedimientos de clonación que comprenden más particularmente la preparación de secuencias de ácidos nucleicos apropiadas, su ligación y su introducción en un vector de expresión adaptado, por ejemplo un plásmido, y la transfección del plásmido en una célula hospedadora capaz de permitir la expresión y la obtención de las proteínas recombinantes quiméricas.

35 [0144] Según otra forma de realización, una entidad y una proteína convenientes para la invención se pueden asociar una a la otra a través de una o varias interacción(es) específica(s) de fuerte(s) afinidad(es).

[0145] Un procedimiento de cribado según la invención puede aplicar una transferencia de energía de fluorescencia (FRET), una transferencia de energía de bioluminescencia (BRET), o la resonancia de plasmón de superficie (SPR), y más particularmente puede aplicar una transferencia de energía de fluorescencia.

40 [0146] Según una forma de realización, una entidad conveniente en particular para la invención puede ser un anticuerpo o una combinación de anticuerpos primario y secundario.

45 [0147] Un anticuerpo conveniente para la invención se puede obtener mediante cualquier procedimiento conocido por el experto en la materia, particularmente como se describe en "Antibodies : A Laboratory Manual", Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1990).

50 [0148] En calidad de tipo de anticuerpos convenientes para la invención, se pueden citar los anticuerpos monoclonales, policlonales o recombinantes, así como fragmentos de inmunoglobulina susceptibles de enlazar un antígeno y que se pueden producir mediante cualquier técnica de ingeniería genética conocida por el experto en la materia o por corte enzimático o químico de anticuerpos intactos.

55 [0149] De forma más particular, un anticuerpo conveniente para la invención se puede elegir de entre un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo policlonal, un diacuerpo o "diabody", un anticuerpo scFv, un anticuerpo F(ab')₂, un anticuerpo Fab', un anticuerpo quimérico, un anticuerpo humanizado y un anticuerpo recombinante.

60 [0150] Según una forma de realización, un anticuerpo conveniente para la invención puede presentar una afinidad para una parte de la proteína contra la cual se dirige o para un marcador de afinidad específico llevado por la proteína. En particular, un anticuerpo conveniente puede ser un anticuerpo como el descrito en los ejemplos detallados a continuación.

[0151] Según una forma de realización de la presente invención, una o las proteína(s) de la invención pueden llevar un marcador de afinidad reconocido por un anticuerpo.

65 [0152] Un marcador de afinidad conveniente para la invención se puede elegir más particularmente de entre los marcadores de afinidad previamente indicados.

[0153] Según otra forma de realización, la primera y la segunda proteínas se asocian, respectivamente, a una primera y una segunda entidad, dichas entidades que comprenden, respectivamente, un grupo fluorescente A y un grupo fluorescente B, dichos grupos A y B que definen un conjunto aceptor-donador de energía de fluorescencia conveniente para la realización de una transferencia de energía por resonancia de fluorescencia.

[0154] Como ejemplos de parejas aceptor-donador utilizables según la presente invención, se pueden citar, de manera no limitativa, las parejas BFP (proteína azul fluorescente)/GFP (proteína verde fluorescente), CFP (proteína cian fluorescente)/YFP (proteína amarilla fluorescente), CFP/DsRed (proteína roja fluorescente), GFP/DsRed y EuK (criptato de europio)/XL665. Preferiblemente, un conjunto aceptor-donador conveniente para la invención puede ser EuK/XL665.

[0155] Según una variante de realización, la primera y la segunda entidad pueden ser marcadores fluorescentes. Tales marcadores fluorescentes se pueden elegir de entre las moléculas fluorescentes o las proteínas fluorescentes habitualmente utilizadas en el dominio. De manera preferida, los marcadores fluorescentes utilizados se pueden elegir de entre las proteínas fluorescentes fusionadas por biología molecular, más particularmente como se ha indicado anteriormente, a una proteína de la invención.

[0156] Según otra variante de realización, la primera y la segunda entidad pueden ser anticuerpos que llevan marcadores fluorescentes y pueden ser aptos para fijarse, respectivamente, sobre un primer y un segundo marcador de afinidad llevados, respectivamente, por dichas primera y segunda proteínas.

[0157] Según una forma de realización, la señal S1 determinada cuantitativamente o cualitativamente en la etapa d) del procedimiento según la invención puede ser una señal fluorescente obtenida por irradiación a una longitud de onda excitadora del donador de energía de fluorescencia.

[0158] La señal S2, determinada cuantitativamente o cualitativamente en la etapa f) del procedimiento, puede ser una señal fluorescente obtenida por irradiación a una longitud de onda excitadora del donador de energía de fluorescencia.

[0159] Las señales de fluorescencia S1 y S2 se pueden medir con ayuda de cualquier dispositivo adaptado a la invención y conocido por el experto en la materia. Como ejemplos de dispositivos convenientes para la invención, se pueden citar los lectores de microplacas, los microscopios de fluorescencia, los espectrofluorómetros, o los escáneres de fluorescencia.

[0160] Según una forma de realización preferida, un procedimiento de la invención se puede efectuar a alta velocidad, en microplacas, y la medición de las señales de fluorescencia se puede efectuar por medio de un lector de microplacas, por ejemplo un lector PHERAstar (BMG).

[0161] Una señal S2 significativamente más intensa que la señal S1, en presencia de un compuesto por cribar, puede ser indicativa de un compuesto que favorece o es agonista de la interacción SASPasa-FLG2.

[0162] Por el contrario, una señal S2 significativamente más débil que la señal S1 en presencia de un compuesto por cribar puede ser indicativa de un compuesto desestabilizante o antagonista de la interacción SASPasa-FLG2.

[0163] Un compuesto cribado por un procedimiento o un uso según la invención puede ser un agonista o un antagonista de la interacción entre la primera y la segunda proteína.

[0164] Según una forma de realización preferida de la invención, un compuesto cribado puede ser capaz de tratar y/o prevenir un trastorno estético o un trastorno patológico de la piel y/o de sus anexos asociado a un defecto de la diferenciación y/o de la proliferación de las células de la epidermis.

[0165] Según una forma de realización, un procedimiento de cribado de la invención puede comprender además al menos una etapa que consiste en evaluar la propiedad de un compuesto cribado para modular la diferenciación y/o la proliferación de las células de una epidermis.

[0166] Tal valoración se puede efectuar *in vitro* o *ex vivo*, más particularmente en células de epidermis en cultivo. Las células pueden ser células de líneas, es decir, transformadas por un virus, o de origen tumoral para inmortalizarlas. Alternativamente, las células pueden ser células de cultivo primario, es decir, procedentes de un tejido tomado de un organismo viviente, por ejemplo una epidermis de un ser humano. Preferiblemente, las células en cultivo pueden ser queratinocitos, incluso asociados a fibroblastos, más particularmente estratificados. Los cultivos de células se pueden efectuar según cualquier método conocido por el experto en la materia.

[0167] Igualmente, una valoración *in vitro* se puede efectuar sobre un modelo de epidermis reconstruida. Tales modelos de epidermis pueden estar disponibles comercialmente, por ejemplo como el modelo Episkin®.

[0168] La evaluación *in vitro* o *ex vivo* de un compuesto cribado según la invención se puede efectuar mediante cualquier protocolo conocido por el experto en la materia para comparar el efecto dado de un compuesto por testar a un valor control o estándar.

5 [0169] El efecto de un compuesto cribado según la invención, *in vitro* o *ex vivo*, se puede determinar mediante la medición de marcadores biológicos conocidos como específicamente asociados a la diferenciación y/o la proliferación de las células de una epidermis.

10 [0170] Tales marcadores se pueden elegir, por ejemplo, entre la medida del espesor del estrato córneo, de su función de barrera, la medida de la expresión y/o de la activación de la transglutaminasa I, de la filagrina, de la caspasa 14, de la SASPasa, de la corneodesmosina, de la desmogleína 1 o de la proteína Ki67.

[0171] Estos marcadores se pueden determinar, por ejemplo, por qPCR, por Western Blot o inmunofluorescencia según cualquier protocolo conocido por el experto en la materia.

15 **Indicaciones**

[0172] Un compuesto de la invención puede utilizarse ventajosamente con el fin de tratar y/o prevenir en la piel y/o sus anexos un desequilibrio de la diferenciación y/o de la proliferación de las células de una epidermis.

20 [0173] La invención está destinada al conjunto de la piel del cuerpo, incluyendo el cuero cabelludo y las mucosas y, de manera preferida, la piel de la cara, escote, cuello, brazos y antebrazos y labios, incluso de manera aún más preferida, la piel de la cara, escote y cuello y labios.

25 [0174] Según otra forma de realización, la presente invención concierne a los cabellos, el vello, las pestañas y las uñas. De manera preferida, la invención se destina de forma más particular a los cabellos, las pestañas y el vello.

30 [0175] Según una forma de realización, un defecto estético considerado por la invención se puede elegir de entre los signos cutáneos del envejecimiento, un trastorno de la función de barrera de la epidermis, los signos de sequedad cutánea, un trastorno de descamación de la piel, un defecto de cicatrización y/o de reepitelización.

[0176] Según otra forma de realización, un defecto estético considerado por la invención se puede elegir de entre una hipersudoración y/o un problema de olor corporal.

35 [0177] Según otra forma de realización, un compuesto de la invención se puede utilizar en cosmética como agente activo para favorecer la reepitelización después un tratamiento de *peeling* cutáneo o exfoliación.

40 [0178] Un compuesto modulador de la invención permite, por lo tanto, restaurar de manera ventajosa y más rápidamente las propiedades de barrera de una epidermis después de un tratamiento cosmético susceptible de ser agresivo, y mejorar su protección.

[0179] Según otra forma de realización, un compuesto de la invención se puede utilizar en cosmética como agente activo para prevenir y/o tratar la caída de los cabellos y/o favorecer el recrecimiento de los cabellos.

45 [0180] Según otra forma de realización, un compuesto de la invención se puede utilizar en cosmética como agente activo para prevenir el recrecimiento del vello.

[0181] Según otra forma de realización, un trastorno patológico se puede elegir de entre el cáncer, la psoriasis, el vitíligo, la rosácea y la dermatitis atópica.

50 [0182] Los signos cutáneos del envejecimiento considerados más particularmente por la invención pueden ser modificaciones del aspecto exterior de la piel debido al envejecimiento, ya sea cronológico y/o fotoinducido, como por ejemplo las arrugas profundas y superficiales, la piel marchita, la piel flácida, la falta de elasticidad y/o de tono de la piel, el adelgazamiento de la dermis y/o el deterioro de las fibras de colágeno, lo que comporta la apariencia de piel blanda y arrugada. También se tienen en consideración todas las modificaciones internas de la piel que no se traducen sistemáticamente en un aspecto exterior modificado, como por ejemplo todas las degradaciones internas de la piel, particularmente de las fibras de elastina, o fibras elásticas, como consecuencia de una exposición a rayos ultravioleta.

60 [0183] En particular, los signos cutáneos del envejecimiento considerados por la invención conciernen a un adelgazamiento de una epidermis y/o una pérdida de firmeza, de elasticidad, de densidad y/o de tonicidad de una epidermis y/o la formación de arrugas profundas y superficiales.

65 [0184] Un trastorno de la función barrera de una epidermis considerada por la invención puede resultar en particular de agresiones externas de tipo agentes irritantes, tales como, por ejemplo, detergentes, ácidos, bases,

5 oxidantes, reductores, disolventes concentrados, gases o humos tóxicos, tensiones mecánicas, tales como, por ejemplo, rozamientos, golpes, abrasiones, en particular tras un procedimiento de exfoliación, desgarro de la superficie de la epidermis, proyección de polvos, de partículas, afeitado o depilación, desequilibrios térmicos o climáticos, tales como, por ejemplo, el frío, la sequedad, radiaciones, xenobióticos, más particularmente los microorganismos indeseables, alérgenos, o agresiones internas de tipo estrés psicológico.

[0185] Un compuesto modulador de la invención permite, por lo tanto, mejorar las propiedades de barrera y la protección de una epidermis.

10 [0186] Un trastorno de la función de barrera de una epidermis se puede traducir más particularmente en una molestia cutánea, fenómenos sensoriales y particularmente fenómenos desagradables, particularmente hormigueos, tirantez, aumentos de temperatura y pruritos.

15 [0187] En forma patológica, un trastorno de la función de barrera puede manifestarse en forma de una dermatitis atópica.

20 [0188] Los signos cutáneos de sequedad considerados de forma más particular por la invención pueden ser todas las modificaciones del aspecto exterior de una epidermis, y más particularmente de una piel, debido a su deshidratación. Una piel seca se nota rugosa al tacto, escamosa o cubierta de escamas, y se manifiesta esencialmente por una sensación de tirantez y/o de tensión, unida a una flexibilidad y una elasticidad disminuidas.

25 [0189] Una piel seca puede ser patológica o no patológica. Una piel seca patológica puede estar representada por la dermatitis atópica y la ictiosis.

30 [0190] Una piel seca no patológica puede estar representada por la piel senil, especialmente caracterizada por una disminución general del metabolismo cutáneo con la edad, la piel frágil, pudiendo caracterizarse por una piel muy sensible a los factores exteriores y a menudo acompañada de eritema y de rosácea, y la xerosis vulgar, de origen genético probable y que se manifiesta de forma prioritaria en la cara, las extremidades y el dorso de las manos.

[0191] Un trastorno de descamación considerado más particularmente en la invención puede ser un trastorno de la descamación de la piel o del cuero cabelludo.

35 [0192] Un trastorno de la descamación del cuero cabelludo puede aparecer en forma de un estado descamativo, más particularmente seco.

[0193] La caspa seca consiste en escamas de pequeño tamaño que se despegan fácilmente de la epidermis, que, en el examen clínico, no aparece inflamada.

40 [0194] Los defectos de cicatrización y de reepitelización considerados por la invención pueden manifestarse más particularmente en forma de alteraciones de la epidermis o de defectos cicatriciales de la epidermis resultantes de intervenciones quirúrgicas o como consecuencia de un trastorno estético o patológico de la epidermis, tal como las cicatrices del acné o las marcas de estrías. Los defectos de reepitelización considerados por la invención también pueden aparecer tras una exfoliación química o mecánica de la piel o en el caso de las pieles envejecidas. Un compuesto modulador se puede utilizar antes o después la exfoliación para favorecer el restablecimiento de las funciones de barrera de la epidermis.

50 [0195] Los olores corporales considerados por la invención pueden ser en particular cualquier olor no deseado susceptible de ser percibido como molesto, incluso incapacitante, por el individuo que lo manifiesta y/o su por su entorno.

55 [0196] Más particularmente, se trata de olor(es) detectado(s) a nivel de las zonas corporales de fuerte sudación y más particularmente las zonas axilares, particularmente las axilas, o también los pies, las aureolas mamarias y las regiones perianales, donde se encuentra la mayor parte de las glándulas sudoríparas, en particular apocrinas.

60 [0197] Los olores corporales son particularmente los derivados de una sudoración, incluso hipersudoración, y/o del deterioro bacteriano del sudor y particularmente del sudor apocrino.

Composiciones

65 [0198] Un compuesto de la invención se formula ventajosamente en una composición que puede presentarse en cualquier forma galénica normalmente disponible para la indicación y el modo de administración adoptado.

[0199] Una composición según la invención comprende un medio fisiológicamente o farmacéuticamente aceptable.

[0200] Una composición según la invención se puede administrar por vía oral, parenteral o tópica.

[0201] De manera preferida, una composición de la invención se puede administrar por vía tópica.

[0202] Según una forma de realización, una composición por vía tópica según la invención se puede formular ventajosamente en cualquier forma galénica conveniente para el cuidado de la piel y las mucosas y puede presentarse en forma de ungüentos, cremas, leches, pomadas, polvos, tampones impregnados, soluciones, geles, aerosoles, lociones o suspensiones. También se puede presentar en forma de microesferas o nanoesferas o de vesículas lipídicas o poliméricas o de parches poliméricos e hidrogeles que permiten una liberación controlada. Estas composiciones por vía tópica pueden presentarse ya sea en forma anhidra, ya sea en forma acuosa según la indicación dermocosmética.

[0203] Una composición destinada a una administración por vía tópica puede ser una solución acuosa, hidroalcohólica u oleosa, una solución o una dispersión de tipo loción o suero, una emulsión de consistencia líquida o semilíquida de tipo leche, obtenida por dispersión de una fase grasa en una fase acuosa (aceite/agua) o inversamente (agua/aceite), una suspensión o una emulsión, de consistencia blanda, semisólida o sólida, de tipo crema o de tipo gel acuoso o anhidro, una emulsión múltiple (agua/aceite/agua o aceite/agua/aceite), una microemulsión, una nanoemulsión, una preparación de microcápsulas, una preparación de micropartículas, o una dispersión vesicular de tipo iónico y/o no iónico, o una dispersión cera/fase acuosa.

[0204] Según una forma preferida de realización, una composición por vía tópica puede presentarse en forma de una solución, de una crema, de un gel, de una emulsión, de una espuma o de una composición para aerosol que contiene un agente propulsor.

[0205] Según una forma preferida de realización, una composición por vía tópica también puede presentarse en forma de un sistema transdérmico que permite una liberación activa o pasiva del/de los activo(s) por vía transdérmica, por ejemplo de tipo parche o parche de gel (hidrogel).

[0206] Estas composiciones se preparan según los métodos habituales.

[0207] Una composición según la invención puede constituir una composición de tratamiento o de cuidado de la piel o del cuero cabelludo, o una composición de protección solar o de bronceado artificial, o incluso un producto limpiador o desmaquillante de la piel, un producto desodorante o incluso un compuesto perfumante, una crema de limpieza, de protección, de tratamiento o de cuidado, una loción, un gel o una espuma para el cuidado de la piel, una loción de limpieza o de desinfección, una composición para el baño o una composición desodorante. También puede presentarse en forma de champú de tratamiento o no, colorante o no, o de acondicionador. Una composición según la invención también puede consistir en una preparación sólida que constituya un jabón o una pastilla de limpieza.

[0208] Tal composición puede estar coloreada o levemente coloreada, y puede contener eventualmente activos cosméticos o dermatológicos adicionales, más particularmente como se indica a continuación. Así, se puede utilizar como base de cuidado para la piel o los labios, por ejemplo en forma de un bálsamo de labios, que protege los labios del frío y/o del sol y/o del viento, como una crema de cuidado de día o de noche para la piel de la cara y/o del cuerpo.

[0209] Una composición según la invención también puede constituir una composición cosmética con color y más particularmente una composición de maquillaje de la piel y/o de las mucosas, en particular tal composición puede ser una base de maquillaje, un *blush*, un colorete o una sombra de ojos, un compuesto antiojeras en barra, un pintalabios o un brillo de labios, que presenta eventualmente propiedades de cuidado o de tratamiento. Preferiblemente, podrá tratarse de una composición de maquillaje con color (beige o verde) destinada a corregir el color de la tez.

[0210] Una composición según la invención también puede constituir una composición de maquillaje o de cuidado de las uñas o de las pestañas.

[0211] Cuando una composición de la invención es una emulsión, la proporción de la fase grasa puede ir del 5 al 80 % en peso, y preferiblemente del 10 al 50 % en peso respecto al peso total de la composición. Los aceites, los emulsionantes y los coemulsionantes utilizados en la composición en forma de emulsión se eligen de entre los habitualmente utilizados en el dominio cosmético y/o dermatológico. El emulsionante y el coemulsionante pueden estar presentes, en la composición, en una proporción que va del 0,3 al 30 % en peso, y preferiblemente del 0,5 al 20 % en peso respecto al peso total de la composición.

[0212] Cuando la composición de la invención es una solución o un gel oleoso, la fase grasa puede representar más del 90 % del peso total de la composición.

5 [0213] En el caso de una composición conforme a la invención para una administración por vía oral, se da preferencia al uso de un soporte ingerible.

[0214] El soporte ingerible puede ser de diversos tipos según el tipo de composición considerada.

10 [0215] De este modo, como soportes nutricionales de los comprimidos convienen particularmente las cápsulas o pastillas, las suspensiones, los suplementos orales en forma seca y los suplementos orales en forma líquida.

15 [0216] También son convenientes como soportes nutricionales la leche, el yogur, el queso, las leches fermentadas, los productos fermentados a base de leche, los helados, los productos a base de cereales o los productos a base de cereales fermentados, los polvos a base de leche, la fórmulas para niños y bebés, los productos alimenticios de tipo dulces, el chocolate, los cereales, o los alimentos para animales, en particular domésticos.

20 [0217] Por composición para vía oral se entiende, por ejemplo, las composiciones nutricionales, nutracéuticas, cosméticas o farmacéuticas que comprenden al menos un compuesto según la invención.

25 [0218] La formulación de las composiciones para vía oral según la invención se puede realizar mediante cualquier procedimiento habitual conocido por el experto en la materia para producir soluciones bebibles, grageas, cápsulas duras, geles, emulsiones, comprimidos tragables o masticables, cápsulas de gelatina, más particularmente cápsulas de gelatina blanda o dura, granulados para disolver, jarabes, alimentos sólidos o líquidos e hidrogeles que permitan una liberación controlada, barritas energéticas, polvos, compactos o no, suspensiones o soluciones líquidas, dulces, leche fermentada, quesos fermentados, chicles, pastas dentífricas o soluciones en aerosol.

30 [0219] Las composiciones por vía oral pueden presentarse o bien en forma anhidra, o bien en forma acuosa según la indicación dermatocósmica.

35 [0220] Un compuesto de la invención se puede formular también con los excipientes y componentes habituales para dichas composiciones orales o complementos alimenticios, a saber más particularmente componentes grasos y/o acuosos, agentes humectantes, agentes espesantes, agentes conservantes, agentes de textura, de sabor y/o de revestimiento, y/o agentes antioxidantes.

40 [0221] Los agentes de formulación y excipientes para composición oral, y más particularmente para complementos alimenticios, son conocidos en este dominio y no son objeto de una descripción detallada en este documento.

45 [0222] En particular, una composición según la invención puede ser una composición alimenticia para consumo humano. Puede tratarse en particular de alimentos completos nutricionales, bebidas, aguas minerales, sopas, suplementos dietéticos y alimentos de sustitución, barras nutricionales, dulces, productos a base de leche fermentada o no, yogures, polvos a base de leche, productos de nutrición enteral, composiciones para niños y/o bebés, productos a base de cereales fermentados o no, helados, chocolate, café, productos "culinarios" tales como mayonesa, puré de tomate, o aliños para ensaladas.

50 [0223] La composición según la invención también puede estar destinada a los animales, más particularmente a los animales domésticos, tales como los gatos y los perros, y formularse en forma de alimentos o de complementos alimenticios para animales.

[0224] Según otra forma de realización, un compuesto conveniente para la invención se puede aplicar por vía parenteral, en particular por vía subcutánea o intradérmica.

55 [0225] En dicha realización, un activo conveniente para la invención se puede acondicionar en forma de una solución isotónica estéril acuosa o no acuosa, en forma de dispersión, de suspensión o de emulsión preparada en su caso justo antes de la administración, a partir de un polvo estéril, por ejemplo liofilizado, que se reconstituye entonces en forma de una solución estéril inyectable o de una dispersión en el momento de su uso.

60 [0226] Por "estéril", se pretende calificar una formulación capaz de garantizar la inocuidad requerida para una administración intraepidérmica y/o intradérmica y/o subcutánea.

65 [0227] Una composición conveniente para la invención puede comprender cualquier excipiente habitualmente utilizado en el dominio de las soluciones estériles inyectables.

[0228] La administración de una composición de la invención por vía parenteral se puede efectuar mediante cualquier técnica y/o dispositivo de inyección conveniente para una inyección intraepidérmica y/o intradérmica y/o subcutánea. De este modo, dicha administración se puede efectuar por mesoterapia.

5 [0229] Para la vía parenteral, se podrá dar preferencia a la administración por parche de alcance sistémico.

[0230] Una composición según la invención puede además comprender al menos un ingrediente cosméticamente o dermatológicamente aceptable. Las cantidades de estos diferentes constituyentes son las utilizadas habitualmente en el dominio considerado, y se determinan más particularmente de modo que no afecten a las propiedades deseadas para un compuesto de la invención o para una composición de la invención.

[0231] Un activo cosmético o dermatológico conveniente para la invención se puede elegir de entre los hidratantes, las vitaminas, los ácidos grasos esenciales, los esfingolípidos, los filtros UV, los compuestos antioxidantes, los agentes antiacné, los agentes antiinflamatorios, los agentes bronceantes (en ausencia de radiación UV), los agentes despigmentantes, los agentes matificantes, las proteínas o los hidrolizados de proteínas, los aminoácidos, los polioles, la urea, la alantoína, los azúcares y los derivados de azúcar, las vitaminas hidrosolubles, los extractos vegetales y los hidroxiácidos, el retinol y sus derivados, el tocoferol y sus derivados, los ácidos grasos esenciales, las ceramidas, los aceites esenciales, el ácido salicílico y sus derivados, la vitamina D3 y sus derivados, los retinoides y sus derivados, los agonistas de PPAR-gamma, los agentes anticaída o de recrecimiento para los cabellos como los abridores de los canales de potasio, y los antiandrógenos, y sus mezclas.

[0232] Una composición de la invención puede comprender cualquier agente de formulación utilizado habitualmente en el dominio.

[0233] Como gelificantes hidrófilos convenientes para la invención se pueden citar los polímeros carboxílicos como el carbómero, los copolímeros acrílicos tales como los copolímeros de acrilatos/alquilacrilatos, las poliacrilamidas y más particularmente la mezcla de poliacrilamida, C₁₃₋₁₄ isoparafina y Laureth-7 vendida con el nombre de SEPIGEL 305® por la empresa SEPPIC, los polisacáridos como los derivados celulósicos tales como las hidroxialquilcelulosas y en particular las hidroxipropilcelulosas e hidroxietilcelulosas, las gomas naturales tales como la guar, algarroba y xantano y las arcillas.

[0234] Como gelificantes lipófilos convenientes para la invención se pueden citar las arcillas modificadas como las bentonas, las sales metálicas de ácidos grasos como los estearatos de aluminio y el sílice hidrófobo o incluso la etilcelulosa y el polietileno.

[0235] Como agentes tensioactivos utilizables en la invención se pueden citar, por ejemplo, el estearato de glicerol, el polisorbato 60, la mezcla alcohol cetilestearílico/alcohol cetilestearílico oxietilenado a 33 moles de óxido de etileno vendida con el nombre SINNOWAX AO® por la empresa HENKEL, la mezcla de PEG-6/PEG-32/Glicol estearato vendido con el nombre de Tefose® 63 por empresa GATTEFOSSE, el PPG-3 miristil éter, los emulsionantes siliconados tales como la cetil dimeticona copoliol y el mono- o triestearato de sorbitano, el estearato de PEG-40, el monoestearato de sorbitano oxietilenado (20 OE).

[0236] Como cargas convenientes para la invención se pueden citar el talco, la mica, el sílice, el caolín, el carbonato de calcio precipitado, el carbonato y el hidrógenocarbonato de magnesio, la hidroxiapatita, el nitruro de boro, los polvos de poliamida (NYLON® ORGASOL de ATOCHEM), de poli-b-alanina y polietileno, los polvos de politetrafluoroetileno (TEFLON®), la lauroil lisina, el almidón, los polvos de polímeros de tetrafluoroetileno, las microesferas huecas de polímeros tales como EXPANCEL (NOBEL INDUSTRIE), los jabones metálicos derivados de ácidos orgánicos carboxílicos que tienen de 8 a 22 átomos de carbono, preferiblemente de 12 a 18 átomos de carbono, por ejemplo el estearato de zinc, de magnesio o de litio, el laurato de zinc, el miristato de magnesio, el Polypore® L 200 (CHEMDAL CORPORATION), las microesferas de resina de silicona (TOSPEARL® de TOSHIBA, por ejemplo), los polvos de poliuretano, en particular los polvos de poliuretano reticulado que comprenden un copolímero, dicho copolímero que comprende trimetilol hexilactona. En particular, puede tratarse de un polímero de hexametileno diisocianato/trimetilol hexilactona. Tales partículas están particularmente disponibles en el mercado, por ejemplo con el nombre de PLASTIC POWDER D-400® o PLASTIC POWDER D-800® de la empresa TOSHIKI, y sus mezclas.

[0237] Como absorbentes de olores convenientes para la invención se pueden citar las zeolitas y las ciclodextrinas.

[0238] Una materia colorante conveniente para la invención es un compuesto susceptible de producir un efecto óptico con color cuando ésta se formula en cantidad suficiente en un medio cosmético apropiado. En calidad de materia colorante utilizable se pueden citar los pigmentos, los nácares, las purpurinas, los colorantes liposolubles, los colorantes hidrosolubles, y sus mezclas.

65

[0239] Los pigmentos se pueden elegir de entre los pigmentos minerales, los pigmentos orgánicos, y los pigmentos compuestos (es decir, pigmentos a base de materiales minerales y/o orgánicos). Los pigmentos se pueden elegir de entre los pigmentos monocromos, las lacas, los nácares, los pigmentos con efecto óptico, como los pigmentos reflejantes y los pigmentos gonocromáticos.

[0240] Un polímero filmógeno conveniente para la invención se puede elegir de entre los polímeros radicalarios, los policondensados, los polímeros de origen natural y sus mezclas. Por "polímeros" se entiende compuestos que comprenden al menos dos motivos, preferiblemente al menos 3 motivos y más especialmente al menos 10 motivos de repetición.

[0241] Los polímeros radicalarios se pueden elegir, por ejemplo, de entre los polímeros acrílicos y/o los polímeros vinílicos. Según la invención, los policondensados se pueden elegir de entre los poliuretanos, los poliésteres, las poliéster amidas, las poliamidas, los poliésteres de cadena grasa, las resinas epoxiésteres y sus mezclas. Como polímero de origen natural, se puede citar la shellac y la goma sandáraca.

[0242] Por "polímero semicristalino" se entiende polímeros que comprenden una parte cristalizable, una cadena colgante cristalizable o una secuencia cristalizable en el esqueleto y una parte amorfa en el esqueleto y que presentan una temperatura de cambio de fase reversible del primer orden, en particular de fusión (transición sólido-líquido). Un polímero semicristalino se puede elegir de entre los copolímeros secuenciados que comprenden al menos una secuencia cristalizable y al menos una secuencia amorfa, los homopolímeros, los copolímeros que llevan al menos una cadena lateral cristalizable por motivo de repetición, y sus mezclas. Tales polímeros se describen, por ejemplo, en el documento EP 1 396 259. Como ejemplo particular de polímero semicristalino estructurante utilizable según la invención, se puede citar los productos INTELIMER® de la empresa LANDEC descritos en el folleto "INTELIMER® POLYMERS", LANDEC IP22 (Rev. 4-97). Estos polímeros están en forma sólida a temperatura ambiente (25 °C). Son portadores de cadenas laterales cristalizables.

[0243] Como materias grasas utilizables en la invención se pueden citar los aceites volátiles y los aceites no volátiles, como por ejemplo los aceites minerales como el poliisobuteno hidrogenado y el aceite de vaselina, los aceites vegetales como por ejemplo una fracción líquida de la manteca de karité, el aceite de girasol y de hueso de albaricoque, los aceites animales como por ejemplo el perhidroescualeno, los aceites de síntesis, particularmente el aceite de Purcellin, el miristato de isopropilo y el palmitato de etil hexilo, los ácidos grasos insaturados, los aceites siliconados y los aceites fluorados, como por ejemplo los perfluoropolíéters.

[0244] Un cuerpo graso pastoso o sólido que puede estar presente en una composición de la invención puede ser, por ejemplo un ácido graso elegido de entre los ácidos grasos que comprenden de 8 a 30 átomos de carbono, como el ácido esteárico, el ácido láurico, el ácido palmítico y el ácido oleico; una cera elegida de entre las ceras como la lanolina, la cera de abeja, la cera de carnaúba o de Candellila, las ceras de parafina, de lignito o las ceras microcristalinas, la ceresina o la ozoquerita, las ceras sintéticas como las ceras de polietileno, las ceras de Fischer-Tropsch; una goma elegida entre las gomas de silicona (dimeticonol), un compuesto pastoso, como los compuestos siliconados poliméricos o no, los ésteres de un glicerol oligomérico, el propionato de araquidilo, los triglicéridos de ácidos grasos y sus derivados, y sus mezclas.

[0245] Como disolventes utilizables en la invención se pueden citar los alcoholes inferiores, más particularmente el etanol y el isopropanol, el propilenglicol.

[0246] La composición de la invención también puede contener de manera ventajosa un agua termal y/o mineral, más particularmente elegida de entre el agua de VITTEL, las aguas de la cuenca de VICHY y el agua de la ROCHE POSAY.

Artículo de acondicionamiento

[0247] Un artículo de acondicionamiento de la invención será naturalmente elegido por el experto en la materia en función de la forma galénica de la composición que se va a acondicionar.

[0248] De este modo, para composiciones líquidas podrán utilizarse recipientes constituidos por una envoltura rígida que comprende medios de distribución de la composición. Estos medios de distribución pueden ser un simple orificio cuya obturación se asegure por un tapón desmontable, o un botón pulsador asociado a una bomba que permita expulsar una parte de la composición contenida en el recipiente. Igualmente, las composiciones de la invención en forma líquida se pueden acondicionar en recipientes de tipo frasco con aerosol.

[0249] Una composición de la invención en forma semilíquida o pastosa se puede acondicionar ventajosamente en un bote, un tubo de crema, o en un recipiente de paredes flexibles o deformables y provisto de un orificio obturable con un tapón desmontable, la composición siendo expulsada a través del orificio al ejercer presión sobre las paredes, o un frasco dotado de un botón pulsador y de una bomba como se ha indicado anteriormente.

[0250] Según una forma de realización particular, un artículo de acondicionamiento capaz de acoger una composición según la invención se puede realizar en vidrio, metal, aleación, papeles recubiertos tales como los papeles revestidos con ceras, como por ejemplo los papeles revestidos con cera de abeja, que presenten en particular propiedades como conservante natural.

5

[0251] Alternativamente, una composición según la invención se puede almacenar al vacío, en un compartimento estanco al aire, cerrado herméticamente, como por ejemplo un brik al vacío, comúnmente utilizado en la industria alimentaria.

10

[0252] El artículo de acondicionamiento se puede realizar al menos en parte con materiales plásticos u otros materiales poliméricos adecuados.

15

[0253] Según una forma de realización particular, una composición según la invención se puede acondicionar "en atmósfera protectora". Un acondicionamiento "en atmósfera protectora" consiste en modificar la composición de la atmósfera interna de un embalaje con el objetivo de mejorar el período de vida de su contenido. Esta técnica consiste en reducir el índice de oxígeno con el fin de ralentizar el crecimiento de las formas de vida aerobias y las reacciones de oxidación. El oxígeno retirado se puede reemplazar con otro gas.

20

[0254] Según una forma de realización particular, el artículo de acondicionamiento también se puede realizar con ayuda de materiales que permitan aislar la composición de cualquier fuente luminosa.

25

[0255] El artículo de acondicionamiento también se puede realizar al menos en parte con materiales de aislamiento térmico. Como ejemplos de este tipo de materiales, se pueden citar los tejidos, los tejidos de fibras de vidrio recubiertos de silicona, los textiles a base de fibras cerámicas, las fibras de celulosa, el poliestireno, la espuma de poliestireno y los films de embalaje. También se puede utilizar como material de aislamiento térmico un gel o un líquido frío.

30

[0256] Según una forma de realización particular, el artículo de acondicionamiento es de un único uso y se abre justo antes de su uso por el consumidor.

35

[0257] Según una forma de realización, una composición de la invención formulada en estado sólido se puede acondicionar por ejemplo en un recipiente, un tubo para barra, por ejemplo un tubo para pintalabios.

Procedimiento de tratamiento cosmético

40

[0258] Como se ha indicado anteriormente, la invención se refiere a un procedimiento cosmético dedicado a individuos que presentan defectos estéticos de la piel y/o de sus anexos asociados a un desequilibrio de la diferenciación y/o de la proliferación de las células de la epidermis.

45

[0259] Un individuo al que atañe un procedimiento de tratamiento cosmético de la invención es naturalmente un individuo que presenta, o es susceptible de presentar, al menos una de las indicaciones de cuidados cosméticos previamente definidas.

50

[0260] Un procedimiento de la invención permite tratar un defecto estético de la piel y/o de sus anexos como se ha definido previamente.

55

[0261] Un procedimiento según la invención puede comprender, además, una etapa que consiste en observar una reducción e incluso una desaparición del defecto estético de la piel y/o de sus anexos, o incluso una mejora del aspecto estético de la piel y/o de sus anexos.

60

[0262] Preferiblemente, un procedimiento según la invención se puede aplicar por vía tópica, oral o parenteral.

[0263] Aún más preferiblemente, un procedimiento según la invención se aplica por vía tópica u oral.

65

[0264] Un procedimiento según la invención se puede aplicar por vía tópica, más particularmente por aplicación sobre la piel y/o sus anexos de por lo menos una capa de una composición cosmética o dermatológica que comprende como activo al menos un compuesto de la invención, y particularmente de una composición cosmética tal y como se ha definido previamente.

70

[0265] Según una forma de realización, un procedimiento de la invención puede comprender una etapa de aplicación de por lo menos una capa de una composición cosmética o dermatológica, que comprende como activo al menos un compuesto de la invención, sobre la piel del cuerpo, más particularmente la piel de la cara o del escote, el cuero cabelludo, los labios, los cabellos, las pestañas o las uñas.

- [0266] De manera preferida, un procedimiento de la invención puede comprender la aplicación tópica sobre la piel o los labios, más particularmente la piel de la cara y del escote, de por lo menos una capa de una composición de la invención.
- 5 [0267] Ventajosamente, un procedimiento de la invención por vía tópica puede comprender la aplicación de una composición conforme a la invención, por ejemplo en forma de máscara, más particularmente sobre la piel de la cara.
- [0268] Tal administración se puede efectuar según las técnicas de uso habituales de estas composiciones.
10 Por ejemplo, puede consistir en la aplicación de cremas, geles, sueros, lociones sobre la piel o las mucosas.
- [0269] Un procedimiento cosmético tópico según la invención se puede aplicar de manera diaria, por ejemplo, a razón por ejemplo de una única administración por día o de una administración dos veces al día, por ejemplo una vez por la mañana y una vez por la tarde.
- 15 [0270] Un procedimiento cosmético tópico según la invención se puede aplicar a lo largo de un período de tiempo que varía de una semana a varias semanas, incluso varios meses, pudiendo este período además ser repetido después de períodos sin tratamiento, durante varios meses e incluso varios años.
- 20 [0271] Por ejemplo, la administración por vía tópica de un compuesto según la invención se puede repetir, por ejemplo, de 2 a 3 veces al día, o más, y habitualmente durante una duración prolongada de por lo menos 4 semanas, incluso de 4 a 15 semanas, con uno o varios períodos de interrupción según convenga.
- [0272] Un procedimiento de la invención puede comprender ventajosamente la aplicación de una composición de la invención en asociación, de manera simultánea, sucesiva o separada en el tiempo, con la administración de una composición cosmética o dermatológica adicional, diferenciada de la composición de la invención, y destinada al cuidado o al maquillaje de la piel y/o de sus anexos.
- 25 [0273] Toda composición cosmética o dermatológica adicional puede convenir a la invención, naturalmente siempre que su asociación con una composición de la invención no afecte a las propiedades deseadas para esta última. El experto en la materia sabe apreciar en función de sus conocimientos las composiciones cosméticas o dermatológicas adicionales que pueden ser convenientes.
- [0274] Según una forma de realización, esta composición adicional se puede administrar por vía tópica sobre la piel y/o sus anexos.
35
- [0275] Según otra forma de realización, un procedimiento de la invención puede comprender la aplicación sobre la piel y/o sus anexos de una composición de la invención en asociación con una aplicación sucesiva, por vía tópica sobre dicha piel y/o dichos anexos, de una composición adicional cosmética o dermatológica.
- 40 [0276] La composición de la invención y la composición adicional se pueden aplicar una sobre la otra según un gesto de aplicación cosmética denominado de "doble gesto".
- [0277] Según una forma de realización, un procedimiento según la invención puede comprender la aplicación sobre la piel y/o sus anexos, como primera capa o "capa de base" o "base coat", de una composición de la invención y, como segunda capa o "capa superior" o "top coat", de una capa de una composición adicional tal y como se ha definido previamente.
- 45 [0278] Según una variante de realización, la primera capa puede comprender la composición adicional, y la segunda capa puede comprender una composición de la invención.
- 50 [0279] Un procedimiento cosmético de la invención se puede aplicar por vía oral, particularmente por administración de por lo menos una composición alimenticia con fines cosméticos que comprende como activo al menos un compuesto de la invención, y en particular una composición alimenticia con fines cosméticos tal y como se ha definido antes.
- 55 [0280] Una composición según la invención se puede administrar en una única dosis al día o en dosis fraccionadas a lo largo del día, por ejemplo de 2 a 3 veces al día.
- [0281] Un procedimiento cosmético oral se puede aplicar a lo largo de un período de tiempo que varía de una semana a varias semanas, incluso varios meses, este período pudiendo además repetirse después de períodos sin tratamiento, durante varios meses e incluso varios años.
- 60 [0282] Por ejemplo, la administración por vía oral a modo de activo de un compuesto según la invención se puede efectuar en una proporción de, por ejemplo, 3 veces al día, más habitualmente a lo largo de una duración
- 65

prolongada de por lo menos 4 semanas, incluso de 4 a 15 semanas, que comprende o no uno o varios períodos de interrupción o que se repite después de un período de interrupción.

5 [0283] Un procedimiento cosmético según la invención también se puede aplicar por vía parenteral. La aplicación por vía parenteral de un procedimiento cosmético de la invención excluye efectivamente toda intervención quirúrgica y solo pretende realizar un tratamiento superficial de la piel con fines estéticos.

10 [0284] Una administración parenteral se puede efectuar, por ejemplo, por cualquier técnica de inyección o dispositivo conveniente para una inyección intraepidérmica y/o intradérmica y/o subcutánea. Dicha administración se puede realizar por mesoterapia.

[0285] Para la vía parenteral, se podrá dar preferencia alternativamente a la administración por parche de alcance sistémico.

15 [0286] Por ejemplo, la administración parenteral de un compuesto de la invención se puede efectuar, por ejemplo, al menos 1 vez al mes, incluso al menos 1 vez por semana, y más habitualmente al menos 1 vez al día, a lo largo de una duración más o menos prolongada que puede ser, por ejemplo, de por lo menos 4 semanas, incluso de 4 a 15 semanas, que comprende o no uno o varios períodos de interrupción, o que se repite después de un período de interrupción.

20 [0287] Según otro aspecto, la presente patente describe el uso de una cantidad eficaz de por lo menos un compuesto de la invención para la preparación y/o la mejora de un modelo celular pluriestratificado, más particularmente de tipo epidérmico o mucoso, y en particular un modelo de piel reconstruida.

25 [0288] Ventajosamente, un compuesto de la invención se agrega al medio de cultivo en el que el modelo celular pluriestratificado se cultiva. El momento y la duración de incubación del modelo celular en presencia de un compuesto de la invención son adaptados por el experto en la materia naturalmente en función del modelo celular que se desea obtener y del compuesto utilizado.

30 [0289] Para los fines de la presente descripción, por "modelo de piel reconstruida" se pretende designar un modelo en el cual están asociados diferentes tipos celulares, tales como particularmente los constituyentes naturales de la piel, como por ejemplo los queratinocitos, los fibroblastos, las células de Langerhans y los melanocitos. Las células de tipo fibroblastos pueden ser irradiadas o no.

35 [0290] Tales modelos y su preparación son conocidos por el experto en la materia.

[0291] En la descripción y en los ejemplos siguientes, excepto si se indica lo contrario, los porcentajes son porcentajes en peso y los rangos de valores escritos en la forma "entre ... y ..." incluyen los límites inferiores y superiores precisados.

40 [0292] En el sentido de la presente invención, "un/a" debe entenderse, excepto si se indica lo contrario, en el sentido de "al menos un/a".

45 [0293] Los ejemplos que se enumeran a continuación se presentan a título ilustrativo y no limitativo de la invención.

FIGURAS

50 [0294] **Figura 1:** ilustra la evolución de la hidrólisis enzimática del sustrato fluorescente Dabcyl-QIDRIMEK-Edans por una SASPasa recombinante (28 kDa) en presencia de concentraciones crecientes de FLG2 recombinante activa (complejo Hs = *Tiorredoxina-His-S.Tag-FLG2₂₋₂₁₃*; histograma negro) o inactiva (complejo AbD = *Tiorredoxina-His-S.Tag-FLG2₈₁₋₂₁₂*; histograma gris) expresadas en múltiplo (0, 0,01, 0,02, 0,04, 0,06, 0,16, 0,3, 0,63, 1,25, 2,50, 5,00 y 10,00) de la concentración inicial de SASPasa (0,025 mg/ml). La reacción enzimática se realiza en un tampón acetato/ácido acético. La figura ilustra la media ± sem de un experimento realizado por duplicado.

EJEMPLOS

Ejemplo 1

60 *Activación enzimática de la SASPasa por FLG2*

a- Materiales y métodos

65 [0295] Dos formas de Filagrina-2 (FLG2) recombinantes que corresponden, respectivamente, a las secuencias de aminoácidos 2-213, forma activa, y 81-212, forma inactiva, de Q5D862 (Ref. Uniprot/Swissprot) fusionadas,

en su extremo N-terminal, a un marcador de afinidad Tiorredoxina-His-S.Tag (THX-His-S-tag) se prepararon en plásmido parental pET32c (Novagen) o pEB6 (HBGX) (FLG2₂₋₂₁₃-S-His-THX y FLG2₈₁₋₂₁₂-S-His-THX).

5 [0296] Estas proteínas quiméricas recombinantes se identificaron después con las denominaciones FLG2-Hs = FLG2₂₂₋₂₁₃-S-His-THX (forma activa) y FLG2-AbD = FLG2₈₁₋₂₁₂-S-His-THX (forma inactiva).

10 [0297] Una SASPasa recombinante de 28 kDa correspondiente a la secuencia de aminoácidos 85 a 343 de la secuencia Q53RT3 (Ref. Uniprot/Swissprot) se preparó como describe BERNARD et al. (J. Invest. Dermatol., 2005,125: 278-287) (SASPasa₈₅₋₃₄₃).

[0298] La SASPasa se pone en solución en un tampón PBS y se utiliza a una concentración final de 0,025 mg/ml en presencia de una concentración final de un sustrato colorimétrico Dabcyl-QIDRIMEK-Edans de 0,01 mM (Production Jerini Peptide Ref. D17 : JPT Peptide Technologies GmbH).

15 [0299] FLG2-Hs y FLG2-AbD se aplican a concentraciones correspondientes a 0,01, 0,02, 0,04, 0,08, 0,16, 0,31, 0,63, 1,25, 2,5, 5 o 10 veces la concentración final de SASPasa, i.e. 0,025 mg/ml.

[0300] La SASPasa y FLG2-Hs, o FLG2-AbD, se incuban a 37° C en un tampón acetato/ácido acético 0,1 M a pH 5,5 que contiene 150 mM de NaCl, en presencia de Dabcyl-QIDRIMEK-Edans.

20 [0301] La hidrólisis del sustrato colorimétrico por la SASPasa activada lleva a la separación del fluorocromo Edans y de su desactivador (o *quencher*) Dabcyl, y a un aumento de la fluorescencia de Edans.

25 [0302] La medida de la señal fluorescente se efectúa a λ_{ex} 340 nm/ λ_{em} 490 nm. La fluorescencia se lee cada 10 minutos durante 1h30min, a 37 °C, con un Spectramax M5e (Molecular Devices).

b- Resultados

30 [0303] Los resultados obtenidos muestran que la actividad enzimática de la SASPasa se ve significativamente aumentada en presencia de una concentración creciente de FLG2-Hs activa, mientras que permanece prácticamente inalterada en presencia de FLG2-AbD inactiva (véase figura 1).

[0304] Estos resultados muestran que FLG2 interactúa con la SASPasa, y estimula su actividad proteolítica. Tal activación se obtiene a partir de una concentración de FLG2 equivalente a la de la SASPasa.

Ejemplo 2

Cribado de agentes moduladores de la interacción SASPasa-FLG2

40 [0305] La interacción SASPasa-FLG2, y el estímulo de la actividad proteolítica de la SASPasa que deriva de esta se aprovecharon en un procedimiento de cribado de compuestos activos aptos para modular esta interacción.

45 [0306] El procedimiento desarrollado se apoya en la interacción FLG2-SASPasa y utiliza la técnica de fluorescencia homogénea resuelta en el tiempo (o HTRF).

50 [0307] Una proteína SASPasa recombinante (que comprende la secuencia de aminoácidos 85-343 de Q53RT3) mutada en su sitio activo (D212A de Q53RT3) y fusionada con el marcador de afinidad GST (glutación S-Transferasa de *Schistosoma japonicum*), en su extremo C-terminal, se preparó en el vector pGEX-4-T3 (GenBank U13855) (SASPasa₈₅₋₃₄₃D212A-GST). La mutación D212A se introdujo para inactivar la SASPasa y favorecer una interacción estable con FLG2.

55 [0308] Una proteína FLG2 recombinante (que comprende la secuencia de aminoácidos 2-213 de Q5D862) fusionada al marcador de afinidad Tiorredoxina-His-S.Tag, en su extremo N-terminal, se preparó como sigue (FLG2₂₋₂₁₃-S-His-THX).

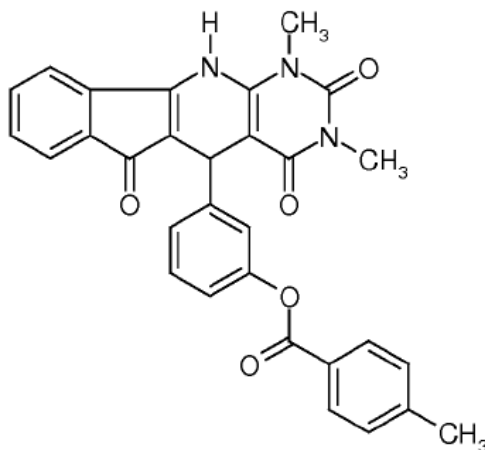
60 [0309] Los plásmidos obtenidos se utilizan para transformar bacterias competentes E. Coli BL21DE3. Después de la transformación del plásmido correspondiente a la proteína en las bacterias, 4 ml de precultivo se incubaron durante una noche a 37 °C en agitación (250 rpm). El precultivo se añadió a 100 mL de medio de cultivo (LB + ampicilina) y el conjunto se coloca a 37 °C en agitación hasta obtener una densidad óptica de 600 nm al menos igual a 0,8.

65 [0310] Las bacterias transformadas se introducen entonces en presencia de IPTG a 1 mM durante una noche a 16 °C en agitación, luego se centrifugan y son lisadas por ultrasonido. Los péptidos quiméricos se purifican por afinidad para el marcador HIS o GST en una resina apropiada, y luego se dializan contra un tampón PBS 1x, pH 8. Las proteínas quiméricas obtenidas a continuación se dosifican por el método de Bradford.

- 5 [0311] Anticuerpos que reconocen, respectivamente, los marcadores de afinidad GST o His-S.Tag, y portadores, respectivamente, de un grupo donador de fluorescencia Euk (criptato de europio λ_{ex} 337 nm/ λ_{em} 620 nm) o de un grupo receptor de fluorescencia XL1665 (λ_{ex} 570-630 nm/ λ_{em} 665 nm) se utilizan para seguir la interacción péptido-SASPasa.
- 10 [0312] Tales anticuerpos están disponibles comercialmente, por ejemplo en la empresa Cisbio International con las referencias 61GSTKLB (anticuerpo anti-GST K) o 61HISKLB (anticuerpo anti-6HIS K).
- 15 [0313] La interacción SASPasa-FLG2 se pudo observar por transferencia de energía de fluorescencia (FRET) entre los marcadores fluorescentes Euk y XL1665. El donador de fluorescencia Euk se excitó a λ_{ex} 337 nm y la emisión de fluorescencia del aceptor de fluorescencia XL1665 se midió a λ_{em} 665 nm.
- [0314] La emisión de fluorescencia Euk a λ_{em} 620 nm, que tiene lugar independientemente de la interacción entre la SASPasa y FLG2, se utilizó para normalizar la señal. Así, para cada punto se determina un ratio λ_{em} 665/ λ_{em} 620.
- 20 [0315] El procedimiento de cribado se realizó en una placa de 384 pocillos por medio de una máquina automática Janus de Perkin Elmer en un tampón de fosfato PBS a pH 7,4.
- [0316] Las pruebas se realizan por cuadruplicado. El control positivo (100 % señal) se obtiene en presencia de las proteínas recombinantes, DMSO y anticuerpos marcados con los fluoróforos. El control negativo (0 % señal o background) se obtiene en presencia de tampón de dilución de las proteínas (desprovisto de proteínas), DMSO y anticuerpos marcados con los fluoróforos.
- 25 [0317] El DMSO se utiliza a un 2,5 % en concentración final.
- [0318] Las proteínas recombinantes SASPasa_{85-343D212A}-GST y FLG2₂₋₂₁₃-S-His-THX se utilizaron a las concentraciones finales respectivas de 50 nM y 200 nM.
- 30 [0319] Los compuestos testados se aplicaron a las concentraciones finales de $5 \cdot 10^{-9}$ M; $1,5 \cdot 10^{-8}$ M; $4,6 \cdot 10^{-8}$ M; $1,4 \cdot 10^{-7}$ M; $4,1 \cdot 10^{-7}$ M; $1,2 \cdot 10^{-6}$ M; $1,1 \cdot 10^{-5}$ M; $3,3 \cdot 10^{-5}$ M y $1 \cdot 10^{-4}$ M.
- [0320] Un tampón, o una solución de dilución desprovista de compuesto, se utilizó como modelo.
- 35 [0321] La SASPasa_{85-343D212A}-GST y los compuestos testados se preincubaron a 4 ° C durante 60 min, y luego se añadió la FLG2-His-THX, y el conjunto se dejó incubar a 4 ° C durante la noche.
- [0322] Los anticuerpos específicos de cada una de las proteínas quiméricas se agregaron a continuación, a la dilución final de 1/400 en un tampón KF (fluoruro de potasio) (Acros ref. 20135).
- 40 [0323] La mezcla se dejó incubar durante la noche a 4 ° C antes de la lectura de la fluorescencia (λ_{ex} 337 nm/ λ_{em} 665 nm, y normalización a λ_{em} 620 nm) a través de un lector PHERASTAR (BMG).
- 45 [0324] El cálculo del resultado se efectúa como sigue.
- [0325] Se realiza la media de los ratios λ_{em} 665/ λ_{em} 620 de los controles positivos: S.
- [0326] Se realiza la media los ratios λ_{em} 665/ λ_{em} 620 de los controles negativos: B.
- 50 [0327] Se realiza la media los ratios λ_{em} 665/ λ_{em} 620 para cada punto de la gama de concentraciones de los compuestos testados: C.
- [0328] Para cada punto de la gama de concentraciones de los compuestos testados, un porcentaje de actividad A se determina por la fórmula: $A = (C - B) / (S - B)$.
- 55 [0329] Una curva dosis-respuesta se establece con el software GraphPad Prism® V.5.02 utilizando la ecuación de una curva dosis-respuesta sigmoidea con coeficiente de inclinación variable, según las indicaciones del software.
- 60 [0330] La IC₅₀ (concentración inhibidora del 50 % del efecto) o la EC₅₀ (concentración activadora del 50 % del efecto) se determinan tomando la concentración a media altura, entre la parte inferior y la fase de meseta de la curva obtenida.
- 65 [0331] Una disminución de A es indicativa de la presencia de compuestos aptos para prevenir o desestabilizar la interacción entre la SASPasa y la FLG2.

[0332] Un aumento de A es indicativo de la presencia de compuestos aptos para estabilizar o favorecer la interacción entre la SASPasa y la FLG2.

5 [0333] El cribado de un banco de moléculas HBGXS10 (ChemDiv Discovery Chemistry Collection Public Database (Order Number: 4477-2039), ChemDiv, Inc. San Diego, USA) permitió identificar el compuesto, denominado "M7", de fórmula (II) siguiente:



(Fórmula II)

10 [0334] Este compuesto provocó una inhibición de la interacción SASPasa-FLG2 y presenta una IC_{50} de aproximadamente 2 μ M.

[0335] El protocolo de cribado de la invención resulta por lo tanto particularmente ventajoso para identificar de nuevos compuestos activos aptos para modular positivamente o negativamente la interacción SASPasa-FLG2.

15 [0336] Los nuevos compuestos pueden utilizarse ventajosamente con respecto a defectos estéticos o trastornos patológicos de la piel y de sus anexos resultantes de un desequilibrio de la proliferación y/o de la diferenciación de las células de la epidermis, y en particular el envejecimiento y la sequedad cutánea.

20 **Ejemplo 3**

Efecto del compuesto "M7" sobre la diferenciación y/o la proliferación de las células de una epidermis

a- **Materiales y métodos**

25 [0337] Un modelo de epidermis reconstruida humana Episkin J6 (referencia 09-EPIS-015) se cultivó por emersión en medio de diferenciación Episkin, 3,5ml bajo inserción en horno a 37 °C, 5 % CO_2 y cambiando el medio cada 2 días.

30 [0338] El compuesto "M7" se testó a las concentraciones de 10 μ M, 1 μ M y 0,5 μ M por incubación del modelo de epidermis con un medio de cultivo de diferenciación proporcionado por EpiSkin®, que comprende el compuesto a la concentración testada o una solución tampón a modo de control (DMSO a 0,1 % final).

35 [0339] El efecto del compuesto "M7" sobre la diferenciación y/o la proliferación de las células de la epidermis se evalúa mediante la medición del espesor del estrato córneo, la medición de la expresión y/o de la activación de la transglutaminasa I (TGI), de la caspasa 14, de la SASPasa, de la corneodesmosina, de la desmogleína 1 o de la proteína Ki67.

[0340] El espesor del estrato córneo se estimó por observación histológica, en sección.

40 [0341] La activación, la expresión y la maduración de la TGI, de la filagrina, de la caspasa 14, de la SASPasa, de la corneodesmosina y de la desmogleína 1 se determinaron por Western Blot.

45 [0342] La activación, la expresión y la maduración de Ki67 se determinaron por inmunofluorescencia sobre secciones congeladas.

[0343] Para el Western Blot, las proteínas solubles, TGI, caspasa 14, corneodesmosina y saspasa se extrajeron a partir de dos recipientes Episkin® en homogeneizador potter manual en 1 ml de tampón llamado "nativo +"

(TBS, 1M NaCl, 0,1 % Tween 20). El extracto se centrifuga a 14000 rpm, a 4 °C durante 10 min. El sobrenadante obtenido se filtra en filtro Millipore 0.45µm (millex) y luego las proteínas se cuantifican por el método BCA (Pierce). Las concentraciones de proteínas se equilibran a 625µg/ml finales.

5 [0344] Los extractos se depositan en un gel Criterion 10-20 % (Ref: 345-0044 Bio-Rad) según el protocolo del proveedor y luego se transfieren a una membrana de PVDF por el método en semiseco.

10 [0345] La detección inmunoquímica del Western-Blot se efectúa según un protocolo tradicional realizado con anticuerpos primarios específicos de la diana y secundarios acoplados a HRP. La revelación se hace con los kits ECL; ECL plus; ECL advanced (Amersham) según la sensibilidad necesaria y siguiendo el protocolo del proveedor. El aparato de procesamiento fotónico de imágenes utilizado es el FluorS Multimager (Bio-Rad)

15 [0346] Para la TGI, anticuerpo primario: Covalab pab 0061 a la 1/100^a procedente de conejo; anticuerpo secundario anti conejo acoplado a HRP a la 1/4000^a: Bio-rad 170-6515

[0347] Para la caspasa 14, anticuerpo primario: Santa Cruz sc-5628 a la 1/500^a procedente de conejo; anticuerpo secundario anti conejo acoplado a HRP a la 1/400^a: Bio-rad 170-6515

20 [0348] Para la corneodesmosina, anticuerpo primario: Abnova 1041-M01 a la 1/5000^a procedente de ratones; anticuerpo secundario anti ratón acoplado a HRP a la 1/4000^a: Bio-rad 170-6516

[0349] Para la SASPasa, anticuerpo primario: Covalab 7H9a105 a la 1/2000^a procedente de ratones; anticuerpo secundario anti ratón acoplado a HRP a la 1/4000^o: Bio-rad 170-6516

25 [0350] Para el Western Blot de la filagrina y de la desmogleína 1, estas proteínas se extraen del sedimento obtenido durante la extracción de las proteínas denominadas solubles. Los sedimentos se trituran en el potter eléctrico en 200 µl de tampón Laemmli completo (Tris 0,0625 mM; SDS 2 %; DTT 200 mM; glicerol 10 %) y luego se calientan a 90 °C 10 min y finalmente se centrifugan 10 min a 14000 rpm a temperatura ambiente.

30 [0351] Los sobrenadantes obtenidos se dosifican con proteínas mediante el método Bradford (Cytoskeleton). Las concentraciones de proteínas totales se equilibran a 1 mg/ml final. Se aplica un protocolo de Western Blot idéntico al precedente.

35 [0352] Para la filagrina, anticuerpo primario: Abcam ab24584 a la 1/1000^a procedente de conejo; anticuerpo secundario anti conejo acoplado a HRP a la 1/4000^a: Bio-rad 170-6515

[0353] Para la desmogleína 1, anticuerpo primario: Progen 61002 a la 1/100^a procedente de ratón; anticuerpo secundario anti ratón acoplado a HRP a la 1/4000^a: Bio-rad 170-6516

40 [0354] El marcaje en inmunofluorescencia sobre secciones congeladas se realiza a través de un protocolo estándar, con un tampón PBS; BSA 0,2 % para las etapas de lavado y de incubación de los anticuerpos primarios y secundario, y con un tampón PBS; BSA 5 % para la etapa de bloqueo de los sitios no específicos.

45 [0355] Para la detección del Ki67, anticuerpo primario: Novocastra mm1 a la 1/20^a procedente de ratón; anticuerpo secundario anti ratón acoplado a AlexaFLuor A488 a la 1/1000^a (Molecular Probes A11017). El aparato de visualización y de toma de imágenes es un microscopio óptico LEICA®.

b- Resultados

50 [0356] La aplicación del compuesto "M7" produjo un espesamiento del estrato córneo, observable en sección histológica por microscopía óptica, a partir de la concentración más débil testada.

[0357] Un aumento de la expresión y de la activación de la TGI, de la caspasa 14, de la SASPasa, de la corneodesmosina y de la desmogleína se observó en la epidermis Episkin cultivada en presencia de "M7".

55 [0358] La expresión de estas proteínas se asocia a la diferenciación de las células de la epidermis.

[0359] También se ha observado una disminución de la activación y de la expresión de la proteína Ki67. Esta proteína se asocia a la interrupción de la proliferación de las células epidérmicas.

60 [0360] El espesamiento del estrato córneo y el aumento de la expresión y de la activación de las proteínas transglutaminasa I, caspasa 14, SASPasa, corneodesmosina, desmogleína son características de una diferenciación tardía de la epidermis.

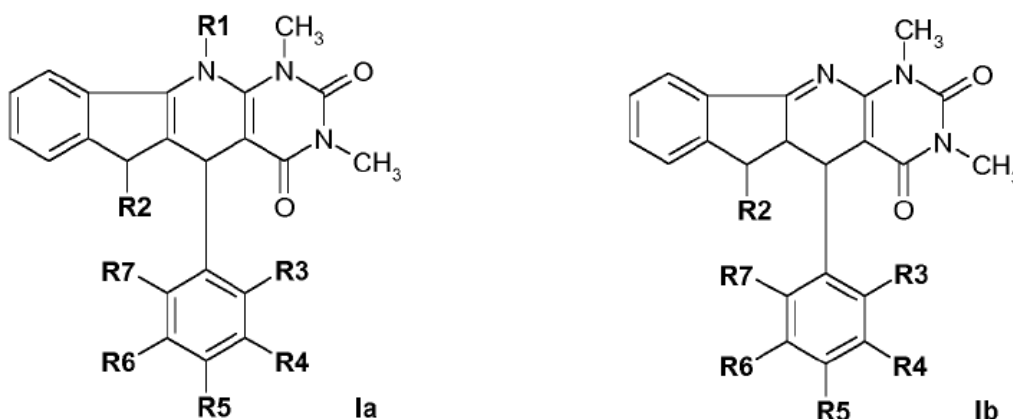
65 [0361] Se ha demostrado, por lo tanto, que el compuesto "M7" está dotado de la propiedad de modular la proliferación y la diferenciación de las células de una epidermis.

[0362] Tal compuesto, por lo tanto, resulta ser particularmente interesante para la prevención o el tratamiento de trastornos patológicos o de defectos estéticos de la piel y/o de sus anexos que impliquen un desequilibrio de la diferenciación y/o de la proliferación de las células de la epidermis.

5

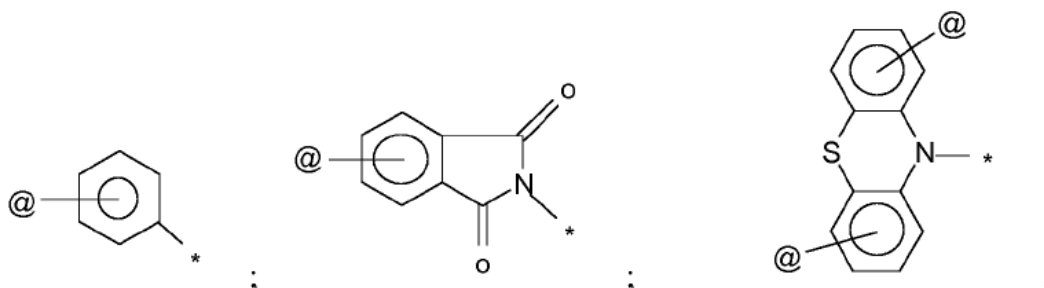
REIVINDICACIONES

1. Uso cosmético no terapéutico de por lo menos un compuesto capaz de modular la interacción entre una primera y una segunda proteína asociadas, homólogos, o fragmentos de dichas proteínas, dicha primera y dicha segunda proteína siendo la Skin Aspartic Protease, o SASPasa, y la filagrina-2, o FLG2, como agente activo para tratar y/o prevenir un defecto estético de la piel y/o de sus anexos asociado a un desequilibrio de la diferenciación y/o de la proliferación de las células de una epidermis, estando dicho compuesto representado por la fórmulas generales (Ia) o (Ib) siguientes:

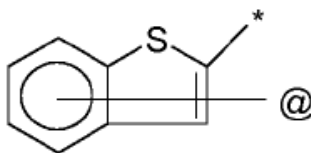


10 en las cuales:

- R¹ representa H, un alquilo en C₁-C₄, lineal o ramificado, saturado o insaturado, o -C(O)R⁸, en el cual R⁸ representa un alquilo en C₁-C₄, lineal o ramificado, saturado o insaturado, donde R¹ representa preferiblemente H, un metilo, un etilo, un propilo, o -C(O)R⁸ en el cual R⁸ representa un metilo, un etilo o un propilo;
- R² representa =O, -OR⁹ o -OC(O)R⁹, en los cuales R⁹ representa H o un alquilo saturado en C₁-C₂, donde R² representa preferiblemente =O o -OR⁹, preferiblemente =O;
- R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷ representan, independientemente el uno del otro, H; -NO₂; -OH; un flúor; -CF₃; un alquilo en C₁-C₄, lineal o ramificado, saturado o insaturado; un fenilo; -OC(O)-CH(Ph)₂; -O-Ph-X donde X representa H, -OH, -NO₂, un flúor, un alquilo o un alcoxi en C₁-C₄, lineal o ramificado, saturado o insaturado; -O-S(O₂)-Ph-Z donde Z representa un alquilo en C₁-C₄, lineal o ramificado, saturado o insaturado; -R⁸OH; -OR⁹; -OC(O)R⁹ donde R⁸ y R⁹ son tal como se ha definido previamente; -R¹⁰Ph donde R¹⁰ es un alquilenos en C₁-C₄, lineal o ramificado, saturado o insaturado; o -OC(O)-Y_n-Ar₁-(X)_m donde
- n representa 0 o 1 y m representa un entero que varía de 0 a 4, siempre que n y m no representen simultáneamente 0, donde Y representa un alquilenos en C₁-C₄, lineal o ramificado, saturado o insaturado, X es como se ha definido previamente, y Ar₁ representa



30 o



donde * representa una unión con Y y @ representa una unión con X,
y sus sales fisiológicamente aceptables,

donde los homólogos tienen una secuencia que presenta una identidad de por lo menos un 85 % con una de las proteínas asociadas y una actividad biológica de la misma naturaleza,
donde los fragmentos son porciones de una proteína asociada que comprenden de 6 a 260 aminoácidos contiguos y están dotados de una actividad biológica de la misma naturaleza.

2. Uso según la reivindicación 1, en la cual el defecto estético se selecciona de los signos cutáneos del envejecimiento, un trastorno de la función de barrera de la epidermis, signos de sequedad cutánea, un trastorno de la descamación de la piel, un defecto de cicatrización, y/o de reepitelización.

3. Uso según la reivindicación 1, en la cual el trastorno se selecciona de una hipersudoración y/o un problema de olor corporal.

4. Uso cosmético no terapéutico de por lo menos un compuesto capaz de modular la interacción entre una primera y una segunda proteína asociadas, homólogos, o fragmentos de dichas proteínas, dichas primera y segunda proteínas siendo la Skin Aspartic Protease, o SASPasa, y la filagrina-2, o FLG2, como agente activo para favorecer la reepitelización después de un tratamiento de *peeling* cutáneo o exfoliación, dicho compuesto que es como se define en reivindicación 1,

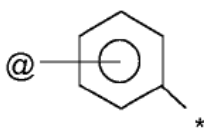
donde los homólogos tienen una secuencia que presenta una identidad de por lo menos un 85 % con una de las proteínas asociadas y una actividad biológica de la misma naturaleza,
donde los fragmentos son porciones de una proteína asociada que comprenden de 6 a 260 aminoácidos contiguos y están dotados de una actividad biológica de la misma naturaleza.

5. Uso cosmético no terapéutico de por lo menos un compuesto capaz de modular la interacción entre una primera y una segunda proteína asociadas, homólogos, o fragmentos de dichas proteínas, dichas primera y segunda proteínas siendo la Skin Aspartic Protease, o SASPasa, y la filagrina-2, o FLG2, como agente activo para prevenir y/o tratar la caída de los cabellos y/o favorecer el recrecimiento de los cabellos, o para prevenir el recrecimiento del vello, dicho compuesto siendo como se ha definido en reivindicación 1,

donde los homólogos tienen una secuencia que presenta una identidad de por lo menos un 85 % con una de las proteínas asociadas y una actividad biológica de la misma naturaleza,
donde los fragmentos son porciones de una proteína asociada que comprenden de 6 a 260 aminoácidos contiguos y están dotados de una actividad biológica de la misma naturaleza.

6. Uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el cual R^3 , R^4 , R^5 , R^6 y R^7 representan, independientemente unos de otros, H; -OH; un flúor; un metilo o un etilo; un fenilo; -OC(O)-CH(Ph)₂; -O-Ph-X donde X representa H, -OH, un flúor, un metilo, un etilo, un metoxi o un etoxi; -O-S(O₂)-Ph-Z donde Z representa un metilo o un etilo; -R⁸OH; -OR⁹; -OC(O)R⁹ donde R⁸ representa un metilo o un etilo y R⁹ representa H o un metilo; -R¹⁰Ph donde R¹⁰ es un metileno o un etileno, o -OC(O)-Y_n-Ar₁-(X)_m donde n, Y, X y Ar₁ son tal como se define en la reivindicación 1.

7. Uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el cual como máximo uno de R^3 , R^4 , R^5 , R^6 y R^7 representa un OC(O)-Y_n-Ar₁-X_m, donde Y, n, Ar₁, X y m son tal como se define en la reivindicación 1, y en particular R^4 o R^6 representan -OC(O)-Y_n-Ar₁-X_m donde Y, n, Ar₁, X y m son tal como se define en la reivindicación 1, preferiblemente n es igual a 0, m es igual a 1, X es un metilo o un metoxi, preferiblemente un metilo, y Ar₁ es

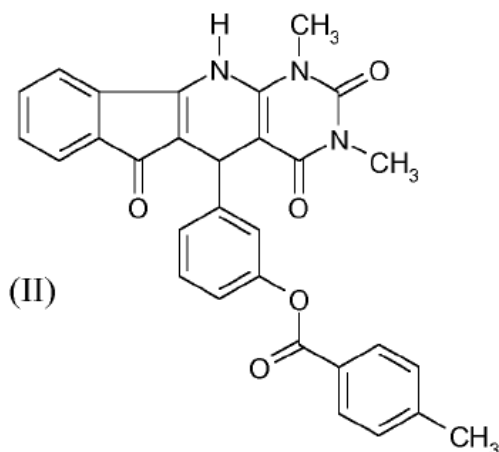


donde * representa una unión con Y y @ representa una unión con X.

8. Uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el cual R^3 , R^5 , R^7 y R^4 o R^6 , representan, independientemente unos de otros, H; -NO₂; -OH; un flúor; un metilo o un etilo; un fenilo; -R⁸OH; -OR⁹; -OC(O)R⁹

donde R⁸ representa un metilo o un etilo y R⁹ representa H o un metilo; -R¹⁰Ph donde R¹⁰ es un metileno o un etileno.

9. Uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el cual dicho compuesto está representado por la fórmula (II) siguiente:



10. Uso *in vitro* o *ex vivo* de por lo menos un complejo proteico que comprende una primera y una segunda proteína asociadas que interactúan entre sí, dicha primera y dicha segunda proteína siendo la Skin Aspartic Protease, o SASPasa, y la filagrina-2, o FLG2, homólogos o fragmentos de dichas proteínas para cribar compuestos aptos para regular la proliferación y/o la diferenciación de las células de una epidermis por modulación de la interacción entre dichas primera y segunda proteínas, donde los homólogos tienen una secuencia que presenta una identidad de por lo menos un 85 % con una de las proteínas asociadas y una actividad biológica de la misma naturaleza, donde los fragmentos son porciones de una proteína asociada que comprenden de 6 a 260 aminoácidos contiguos y están dotados de una actividad biológica de la misma naturaleza.

11. Procedimiento de cribado *in vitro* o *ex vivo* de un compuesto capaz de regular la proliferación y/o la diferenciación de las células de una epidermis por modulación de la interacción entre una primera y una segunda proteína asociadas, homólogos, o fragmentos de dichas proteínas, dichas primera y segunda proteínas siendo la Skin Aspartic Protease, o SASPasa, y la Filagrina-2, o FLG2, dicho procedimiento que comprende al menos las etapas que consisten en:

- a) disponer dicha primera y dicha segunda proteína en condiciones propicias para la interacción entre la primera y la segunda proteína,
- b) asociar, previamente o posteriormente a la etapa a), al menos una de la primera y la segunda proteína a una entidad,
- donde dicha proteína forma con dicha entidad un conjunto capaz de emitir una señal después de la exposición a una longitud de onda excitadora, y la realización de las etapas a) y b) conduce a la obtención de un complejo por interacción de dicha primera y dicha segunda proteínas asociadas,
- c) someter dicho complejo a dicha longitud de onda excitadora para obtener una primera señal S1 característica de dicho complejo,
- d) determinar cuantitativamente o cualitativamente dicha señal S1,
- e) poner en contacto el complejo con un medio del que se presume que contiene un compuesto que se desea cribar en condiciones propicias para una interacción entre dicho compuesto y dicho complejo,
- f) someter el medio obtenido en la etapa e) a dicha longitud de onda excitadora para obtener una segunda señal S2,
- g) determinar cuantitativamente o cualitativamente dicha señal S2, y
- h) comparar la primera y la segunda señal S1 y S2 para extraer una conclusión relativa a una eventual modulación de la interacción entre la primera y la segunda proteína por el compuesto cribado, donde los homólogos tienen una secuencia que presenta una identidad de por lo menos un 85 % con una de las proteínas asociadas y una actividad biológica de la misma naturaleza, donde los fragmentos son porciones de una proteína asociada que comprenden de 6 a 260 aminoácidos contiguos y están dotados de una actividad biológica de la misma naturaleza.

12. Procedimiento según la reivindicación 11, en el cual dicha entidad se elige de entre un soporte conveniente para la resonancia de plasmón de superficie, un marcador fluorescente, un anticuerpo o una combinación de anticuerpos primario y secundario, donde dicho anticuerpo o dicho anticuerpo secundario lleva un marcador fluorescente.

- 5 13. Procedimiento según la reivindicación 11 o 12, en el cual al menos una de la primera y la segunda proteína lleva un marcador de afinidad reconocido por un anticuerpo, preferiblemente dicho marcador se elige de entre un marcador Myc, FLAF, His, His-tag, GST (glutación S-Transferasa), THX (Tiorredoxina), MBP (proteína de unión a maltosa), THX-His-Tag o THX-His-S-Tag.
- 10 14. Procedimiento de cribado según cualquiera de las reivindicaciones 11 a 13, en el cual la primera y la segunda proteína están asociadas, respectivamente, a una primera y una segunda entidad, dichas entidades que comprenden, respectivamente, un grupo fluorescente A y un grupo fluorescente B, dichos grupos A y B que definen un conjunto aceptor-donador de energía de fluorescencia conveniente para la realización de una transferencia de energía por resonancia de fluorescencia.
- 15 15. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 11 a 13, en el cual dicho compuesto cribado es capaz de tratar y/o prevenir un trastorno estético o un trastorno patológico de la piel y/o de sus anexos asociado a un defecto de la diferenciación y/o de la proliferación de las células de la epidermis.
- 20 16. Composición farmacéutica o dermatológica que comprende en un medio fisiológicamente aceptable al menos una cantidad eficaz de por lo menos un compuesto como se define según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, para prevenir y/o tratar un trastorno patológico de la piel y/o de sus anexos asociado a un desequilibrio de diferenciación y/o de proliferación de las células de una epidermis.
- 25 17. Composición cosmética que comprende, como agente activo, en un medio fisiológicamente aceptable al menos una cantidad eficaz de por lo menos un compuesto como se define según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, y al menos un ingrediente cosméticamente o dermatológicamente aceptable elegido de entre los activos cosméticos o dermatológicos, los conservantes, los gelificantes hidrófilos o lipófilos, los agentes tensioactivos no iónicos, aniónicos, catiónicos, los antioxidantes, las sales, los perfumes, las cargas, los absorbentes de olor, las materias colorantes, los polímeros filmógenos, los polímeros semicristalinos, las gomas, los aceites volátiles o no volátiles y sus mezclas.
- 30 18. Artículo de acondicionamiento de una composición cosmética, farmacéutica o dermatológica, que contiene al menos una composición cosmética, farmacéutica o dermatológica que comprende al menos un compuesto como se define según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9.
- 35 19. Procedimiento cosmético para prevenir y/o tratar un defecto estético de la piel y/o de sus anexos asociado a un desequilibrio de la diferenciación y/o de la proliferación de las células de la epidermis en un individuo, que comprende al menos una etapa de administración a dicho individuo de por lo menos un compuesto tal como se define según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9.
- 40 20. Complejo proteico que comprende una primera y una segunda proteína asociada que interactúan entre sí, dicha primera y dicha segunda proteína siendo la Skin Aspartic Protease, o SASPasa, y la filagrina-2, o FLG2, homólogos o fragmentos de dichas proteínas
donde los homólogos tienen una secuencia que presenta una identidad de por lo menos un 85 % con una de las proteínas asociadas y una actividad biológica de la misma naturaleza,
donde los fragmentos son porciones de una proteína asociada que comprenden de 6 a 260 aminoácidos
45 contiguos y están dotados de una actividad biológica de la misma naturaleza.

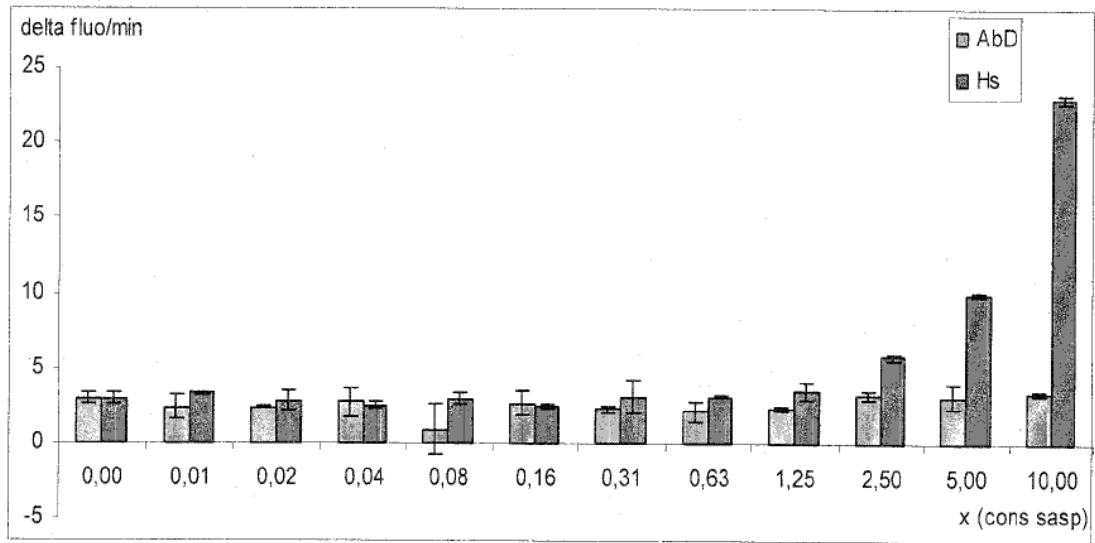


FIGURA 1