

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 684 820**

51 Int. Cl.:

A61P 17/14 (2006.01)

A61K 8/97 (2007.01)

A61K 36/899 (2006.01)

A61Q 5/00 (2006.01)

A61Q 7/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **02.11.2010 PCT/FR2010/000723**

87 Fecha y número de publicación internacional: **12.05.2011 WO11055033**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.11.2010 E 10799059 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.05.2018 EP 2496308**

54 Título: **Utilización de un hidrolizado peptídico de maíz como agente activo que estimula el crecimiento del cabello**

30 Prioridad:

03.11.2009 FR 0905258

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

04.10.2018

73 Titular/es:

**ISP INVESTMENTS LLC (100.0%)
1011 Centre Road, Suite 315
Wilmington, DE 19805, US**

72 Inventor/es:

**DAL FARRA, CLAUDE;
DOMLOGE, NOUHA y
BOTTO, JEAN-MARIE**

74 Agente/Representante:

RIZZO , Sergio

ES 2 684 820 T3

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

DESCRIPCIÓN

Utilización de un hidrolizado peptídico de maíz como agente activo que estimula el crecimiento del cabello

Campo de la invención

5 [0001] La presente invención se sitúa en el campo cosmético y dermatofarmacéutico. La invención se refiere a la utilización cosmética de una composición que comprende al menos un hidrolizado peptídico de maíz (*Zea mays* L.), como agente activo, para estimular y/o recuperar el crecimiento del cabello, o prevenir la caída del cabello. El agente activo proviene de la hidrólisis de proteínas de plantas seleccionadas de entre las plantas del género *Zea*, y más en concreto de la especie *Zea mays* L. La invención se refiere también a la utilización de este agente activo
10 novedoso para la realización de una composición dermatofarmacéutica, destinada a estimular y/o recuperar el crecimiento del cabello, o prevenir la caída del cabello, en el marco de un tratamiento preventivo o curativo de la pérdida de cabello ligada a un estado patológico.

Antecedentes de la invención

[0002] El crecimiento del cabello y su renovación vienen determinados principalmente por la actividad de los folículos pilosos y de su entorno matricial.

15 [0003] El folículo piloso es un anexo cutáneo autónomo complejo que consta de seis grandes compartimentos, unos de origen dérmico (vaina conjuntiva y papila dérmica), otros de naturaleza epitelial (vainas epiteliales interna y externa, tallo piloso y glándula sebácea). En la base del folículo se encuentra la matriz, centro de una actividad mitótica intensa, en el origen de las 3 capas concéntricas del cabello constituido esencialmente por queratina.

20 [0004] El folículo piloso se renueva *in situ* de forma cíclica y asíncrona a partir de un doble reservorio de células madre, según un ciclo de actividad que comprende tres fases: la fase anágena, la fase catágena y la fase telógena.

[0005] La fase anágena (fase de crecimiento) dura de uno a diez años y se caracteriza por el alargamiento constante del cabello. Durante esta fase, las células de la vaina epitelial externa sobreexpresan integrina beta 1 (Commo & Bernard, 1997, *Cell mol. life Sc.* 53 :466-471). Las células proliferativas de esta zona expresan marcadores de proliferación como la proteína Ki67 y el factor de transcripción p63 (Chikh *et al.*, 2007, *Biochem Biophys Res Commun.*,14;361(1):1-6).
25

[0006] La fase catágena que la sucede es muy transitoria y dura algunas semanas. Parece iniciada por algunos factores como el EGF, el TGF beta (Foitzik *et al.* 2000, *FASEB J.* 14(5):752-60), o incluso la proteína p53 que se sobreexpresa transitoriamente (Botchkarev *et al.*, 2001, *Am. J. Pathol.* 158(6): 1913-1919). Durante esta fase, las células del folículo sufren un proceso activo de apoptosis, el folículo se atrofia y se retrae hacia la superficie, con la excepción conocida de la papila dérmica que será el elemento clave de la futura regeneración.
30

[0007] La fase terminal o fase telógena, que dura algunos meses, corresponde a una fase de reposo del folículo al final de la cual el cabello termina cayéndose. Al final de este periodo de reposo, se regenera un nuevo folículo y comienza un nuevo ciclo.

35 [0008] Además, se ha descrito claramente que los mecanismos de diferenciación de los queratinocitos de la epidermis y del folículo piloso son considerablemente diferentes. De esta manera, se conoce que las queratinas del tallo piloso representan una familia de queratinas distinta de la expresada en la epidermis (Langbein *et al.*, 2001, *J. Biol. Chem.* 276), de esta manera la queratina K6irs (Porter *et al.*, 2001, *Br. J. Dermatol.* 145: 558-568) está expresada en la vaina interna del folículo piloso pero no en la expresan, mientras que los marcadores de diferenciación epidérmicos como las queratinas K1 y K10 no están expresados en el folículo piloso (Lenoir *et al.*, 1988, *Dev. Biol.* 130: 610-620).
40

[0009] La caída o pérdida natural del cabello puede estimarse, de media, en unos cien pelos al día para un estado fisiológico normal. Este proceso de renovación permanente puede verse alterado por numerosos factores extrínsecos e intrínsecos, conllevando una pérdida importante, temporal o definitiva, del cabello que se agrupa bajo el término genérico de alopecia.

45 [0010] Al igual que el resto del organismo, el proceso de renovación fisiológica permanente del cabello está sometido al envejecimiento. Si el signo más visible del envejecimiento del cabello es el encanecimiento, la calidad del entorno biológico del folículo del cabello también se ve afectada. De entre las manifestaciones de envejecimiento del cabello, se observa una menor síntesis de las proteínas de la matriz extracelular (colágeno, laminina, fibronectina), que provoca una pérdida de elasticidad y de tonicidad del tejido subcutáneo. Existe también
50 una disminución de la consistencia y de la organización de los folículos pilosos, una disminución de la duración de la fase anágena y una extensión de la duración de la fase telógena (Courtois *et al.*, 1995, *Br. J. dermatol.*, 132 :86-93). De hecho, el cabello pierde su elasticidad, es más fino y, por tanto, más frágil. Con respecto al conjunto del cuero cabelludo, el envejecimiento se manifiesta por una disminución de la densidad capilar y por la disminución progresiva del diámetro de los folículos, proporcionando al cabello un aspecto más pobre, más escaso (Pelfini, C. *et al.*, *J. Méd. Esth. Et Chir. Demi.*1987; Birch MP *et al. Br. J. Dermatol* 2001;144:297-304).
55

[0011] Independientemente del envejecimiento intrínseco, pueden producirse alteraciones del cabello o del folículo piloso durante agresiones externas. De hecho, si el cabello presenta una estabilidad notable, algunos factores exteriores, como el sol, responsable del fotoenvejecimiento, los radicales libres, la contaminación o incluso algunos tratamientos inapropiados pueden provocar un deterioro prematuro de la estructura del cabello y una reducción de los folículos.

[0012] Por la expresión «agresión externa» se entiende las agresiones que puede producir el medio ambiente. Por ejemplo, se pueden citar agresiones como la contaminación, los rayos UV, o incluso los productos irritantes como los tensioactivos muy detergentes, las coloraciones y decoloraciones, las permanentes o los alisados muy frecuentes, las agresiones mecánicas como la fricción de la ropa, los peinados que provocan estiramientos repetidos, el cepillado muy intenso, los secados con cepillo, el secado con aire muy caliente. Por «contaminación» se entiende tanto la contaminación «externa» causada, por ejemplo, por las partículas de diésel, por el ozono o por los metales pesados, como la contaminación «interna», debida especialmente a las emisiones de solventes de pinturas, colas o papeles pintados (como tolueno, estireno, xileno o benzaldehído), o incluso el humo del tabaco. Estas agresiones externas provocan una alteración de la estructura externa del cabello y de sus propiedades mecánicas, pero también pueden afectar al folículo piloso y provocar un envejecimiento prematuro.

[0013] La industria cosmética o farmacéutica busca siempre composiciones que permitan suprimir o reducir la pérdida o estimular el crecimiento del cabello. Como molécula conocida, cabe citar el 2,4-diamino 6-piperidinopirimidina 3-óxido o «minoxidil» (patentes US 4 139 619 y US 4 596 812). Otro documento de patente de Shiseido (JP 07316023) describe también la utilización de arginina y sus derivados en el tratamiento de la alopecia. Finalmente, el documento EP 1885323 describe la utilización de un péptido sintético para estimular el crecimiento del cabello.

[0014] Sin embargo, algunos productos disponibles presentan efectos secundarios, como es el caso del minoxidil, o presentan una eficacia relativa y limitada a la duración del tratamiento. Asimismo, se sigue necesitando una composición novedosa fisiológicamente aceptable para favorecer el crecimiento del cabello y/o reducir su caída, que presente una acción rápida y de larga duración.

[0015] Anteriormente se han descrito extractos peptídicos de maíz por sus efectos en la piel (FR 2904543, FR2915382, FR2925326).

[0016] Los inventores han demostrado ahora que estos hidrolizados peptídicos de maíz presentan una actividad sobre el folículo piloso. En concreto, se ha demostrado que el hidrolizado peptídico, cuando se aplica en el cabello, activa el folículo piloso y estimula el crecimiento del cabello.

Exposición de la invención

[0017] Los objetos de la invención están definidos en las reivindicaciones. Todos los demás objetos se describen con fines ilustrativos, y las indicaciones de que estos objetos constituirían la invención, o cualquier indicación similar, deben entenderse en el contexto de la solicitud tal como se presentó, sin modificar el alcance de la protección de las reivindicaciones. El primer objeto de la presente invención es la utilización cosmética de una composición que comprende al menos un hidrolizado peptídico de maíz (*Zea mays L.*), como agente activo, para estimular y/o recuperar el crecimiento del cabello, o prevenir la caída del cabello.

[0018] Las fibras queratínicas humanas a las que se aplica la invención son, en particular, el cabello, las cejas, las pestañas, los pelos de la barba, del bigote, los pelos púbicos y las uñas. Más en concreto, la invención se aplica al cabello y/o a las pestañas humanas.

[0019] Por «hidrolizado peptídico» se entiende una mezcla de compuestos mayoritariamente representados por péptidos u oligopéptidos. Según la presente invención, los términos «hidrolizado peptídico» o «agente activo» se utilizarán indistintamente.

[0020] Por «agente activo para estimular y/o recuperar el crecimiento del cabello, o prevenir la caída del cabello», se entiende cualquier hidrolizado peptídico de maíz (*Zea mays L.*), capaz de estimular el folículo piloso, es decir, de aumentar la expresión de las principales moléculas de la matriz extracelular como la fibronectina, la lámina basal como la laminina-5 y los principales marcadores intracelulares de la fase anágena del folículo piloso, como la integrina beta 1, los marcadores de proliferación Ki67, p63 y la histona H3 fosforilada, o, por el contrario, de inhibir la expresión de iniciadores de la fase catágena, como la proteína p53, permitiendo de esta manera una prolongación de la fase anágena de crecimiento del cabello.

[0021] El agente activo según la invención puede obtenerse por extracción de proteínas de origen vegetal, seguida de una hidrólisis controlada que libera compuestos de naturaleza peptídica.

[0022] Por «compuestos de naturaleza peptídica» se entienden los fragmentos de proteínas y los péptidos presentes en el hidrolizado peptídico según la invención.

[0023] La utilización de hidrolizados peptídicos y, en particular, de hidrolizados peptídicos de bajo peso molecular, presenta diversas ventajas en el mundo de la cosmética. Además, el hecho de generar compuestos de naturaleza peptídica que no existían previamente en la mezcla de proteínas inicial, la hidrólisis y la purificación permiten obtener mezclas más estables, más fáciles de estandarizar y que no provoquen reacciones alérgicas en dermatocosmética.

[0024] Muchas proteínas vegetales son susceptibles de contener péptidos bioactivos en su estructura. La hidrólisis controlada permite extraer estos compuestos de naturaleza peptídica. Es posible, aunque no necesario para llevar a cabo la invención, extraer primero las proteínas en cuestión y después hidrolizarlas, o realizar la hidrólisis primero sobre un extracto crudo y después purificar los compuestos de naturaleza peptídica.

[0025] Según un modo de realización preferido, dicho agente activo procede de la hidrólisis de proteínas vegetales de plantas seleccionadas de entre las plantas del género *Zea* y, preferiblemente, de la especie *Zea mays* L. Según la invención, el material vegetal utilizado será el grano y, preferiblemente, el grano limpio tras pasar por un etapa de descascarillado. Preferiblemente, las plantas empleadas no han sido sometidas a una fermentación previa.

[0026] Se puede emplear cualquier método de extracción o purificación conocido por el experto en la materia con el fin de preparar el hidrolizado según la invención.

[0027] En una primera etapa, se trituran los granos con la ayuda de un triturador de plantas. Al polvo así obtenido se le pueden extraer posteriormente los lípidos con la ayuda de un solvente orgánico tradicional (como, por ejemplo, un alcohol, hexano o acetona).

[0028] A continuación, se lleva a cabo la extracción de proteínas siguiendo el procedimiento tradicional (Osborne, 1924) modificado; el triturado de planta se pone en suspensión en una solución alcalina que contiene un producto adsorbente del tipo polivinilpolipirrolidona (PVPP) insoluble (0,01 % -20 %); de hecho, se ha observado que las operaciones de hidrólisis y purificación posteriores se veían facilitadas por este medio. En particular, la concentración de sustancias de tipo fenólicas, que interactúan con las proteínas, resulta muy reducida.

[0029] La fracción soluble, que contiene las proteínas, los glúcidos y posiblemente lípidos, se recoge tras las etapas de centrifugación y filtración. Esta solución bruta se hidroliza a continuación en condiciones controladas para generar péptidos. La hidrólisis se define como una reacción química que implica la escisión de una molécula por medio de agua, pudiéndose realizar esta reacción en un medio neutro, ácido o básico. De acuerdo con la invención, la hidrólisis se lleva a cabo por vía química y/o de manera ventajosa gracias a enzimas proteolíticas. De esta forma, se puede citar la utilización de endoproteasas de origen vegetal (papaína, bromelina, ficina) o de microorganismos (*Aspergillus*, *Rhizopus*, *Bacillus*, alcalase® de Novozym, etc.).

[0030] Por el mismo motivo que antes, es decir, la eliminación de sustancias polifenólicas, se añade una cantidad de polivinilpolipirrolidona al medio reactivo durante esta etapa de hidrólisis controlada. Tras la etapa de filtración, que permite eliminar las enzimas y los polímeros, el producto filtrado (solución) obtenido constituye una primera forma del agente activo según la invención.

[0031] El hidrolizado obtenido en esta fase puede purificarse de nuevo con el fin de seleccionar los compuestos de naturaleza peptídica de peso molecular inferior a 10 kDa. El fraccionamiento puede realizarse de forma ventajosa mediante etapas de ultrafiltraciones sucesivas a través de filtros de porosidad decreciente, conservando los productos filtrados en cada etapa. Después de esta etapa, la mayoría de los compuestos de naturaleza peptídica contenidos en el hidrolizado, y preferiblemente el 90 % de los mismos, presentan un peso molecular inferior a 5 kDa.

[0032] El hidrolizado peptídico obtenido según la invención se analiza cualitativa y cuantitativamente en relación con sus características fisicoquímicas y su contenido en compuestos de naturaleza peptídica. Los péptidos y los fragmentos de proteínas se dosifican según las técnicas tradicionales, conocidas por el experto en la materia.

[0033] Se procede a una fase de dilución en agua o en cualquier mezcla de solventes que contenga agua, con el fin de obtener un hidrolizado peptídico caracterizado por un peso seco de 2 a 5 g/Kg, una concentración en compuestos de naturaleza peptídica de 1 a 5 g/l, y preferiblemente de 1,5 a 3,0 g/l, y una concentración en azúcares de 0,05 a 1 g/l y preferiblemente de 0,1 a 0,3 g/l. Los solventes utilizados son fisiológicamente aceptables y utilizados tradicionalmente por el experto en la materia, seleccionados de entre glicerol, etanol, propanodiol, butilenglicol, dipropilenglicol, diglicoles etoxilados o propoxilados, polioles cíclicos o cualquier mezcla de estos solventes.

[0034] De esta manera, el agente activo según la invención se solubiliza de forma ventajosa en uno o varios solventes fisiológicamente aceptables, como agua, glicerol, etanol, propanodiol, butilenglicol, dipropilenglicol, diglicoles etoxilados o propoxilados, polioles cíclicos o cualquier mezcla de estos disolventes. A continuación, el agente activo diluido se esteriliza mediante ultrafiltración.

[0035] Después de esta etapa de dilución, el agente activo puede encapsularse o incluirse en un vector cosmético o farmacéutico, tal como los liposomas o cualquier otra microcápsula utilizada en el campo de la cosmética o adsorberse en polímeros orgánicos en polvo, sustratos minerales como los talcos y bentonitas.

5 **[0036]** Según un modo de realización ventajoso, el agente activo está presente en las composiciones de la invención en una concentración comprendida entre 0,001 % y 5 % aproximadamente y, preferiblemente, en una concentración comprendida entre 0,01 % y 1 % aproximadamente, en relación con el peso total de la composición final.

10 **[0037]** Las composiciones que se pueden utilizar según la invención pueden presentarse en forma de solución acuosa, hidroalcohólica u oleosa; de emulsión de aceite-en-agua, de agua-en-aceite o emulsiones múltiples; también pueden presentarse en forma de cremas, suspensiones o incluso polvos. Estas composiciones pueden ser más o menos fluidas y presentar el aspecto de crema, loción, leche, sérum, pomada, gel, pasta o espuma. También pueden presentarse en forma sólida, como una barra, o aplicarse sobre la zona a tratar en forma de aerosol. Pueden utilizarse como producto de cuidado y/o como producto de maquillaje de la piel.

15 **[0038]** Todas estas composiciones comprenden, además, cualquier aditivo utilizado, por lo general, en el campo de aplicación contemplado, así como los adyuvantes necesarios para su formulación, tales como cosolventes (etanol, glicerol, alcohol bencílico, humectantes...), espesantes, diluyentes, emulsionantes, antioxidantes, colorantes, filtros solares, pigmentos, cargas, conservantes, perfumes, absorbentes de olor, aceites esenciales, oligoelementos, ácidos grasos esenciales, tensioactivos, polímeros filmógenos, filtros químicos o minerales, agentes hidratantes o aguas termales, etc. Se pueden citar, por ejemplo, polímeros hidrosolubles de tipo polímero natural, tales como polisacáridos, o polipéptidos, derivados celulósicos de tipo metilcelulosa o hidroxipropilcelulosa, o incluso polímeros sintéticos, polaxámeros, carbómeros, PVA o PVP y, en particular, los polímeros vendidos por la sociedad ISP.

25 **[0039]** En todos los casos, el experto en la materia se asegurará de que dichos adyuvantes, así como sus proporciones, se seleccionen de modo que no resulten perjudiciales para las propiedades ventajosas investigadas de la composición según la invención. Estos adyuvantes pueden, por ejemplo, corresponder a una concentración que va del 0,01 % al 20 % del peso total de la composición. Cuando la composición de la invención es una emulsión, la fase grasa puede representar de 5 % a 80 % en peso, y preferiblemente de 5 % a 50 % en peso, con respecto al peso total de la composición. Los emulsionantes y coemulsionantes utilizados en la composición se seleccionarán de entre los utilizados tradicionalmente en el campo considerado. Por ejemplo, se pueden utilizar en una proporción que vaya de 0,3 % a 30 % en peso, con respecto al peso total de la composición.

[0040] Las composiciones que se pueden utilizar según la invención pueden consistir, en particular, en un champú, un acondicionador, una loción tratante para antes o después de un tratamiento agresivo para el cabello, una espuma o un gel para el cabello, una loción reparadora para el cabello, una mascarilla, etc. La composición también puede presentarse en forma de máscara para aplicarse en las pestañas, las cejas o el cabello.

35 **[0041]** Asimismo, el agente activo según la invención se puede utilizar en solitario o bien asociado con otros agentes activos.

40 **[0042]** De forma ventajosa, las composiciones que se pueden utilizar según la invención contienen, además, al menos otro agente activo protector o que mejora el crecimiento y/o la salud del cabello. Cabe citar, de forma no limitante, los siguientes ingredientes: vitaminas, agentes antirradicales, anti-UV, otros extractos peptídicos vegetales, Mioxidil, ésteres de ácido nicotínico, agentes antiinflamatorios, ácido retinoico o sus derivados, retinol, inhibidores de la 5 alfa-reductasa o compuestos peptídicos procedentes de la síntesis química.

[0043] La composición utilizable según la invención podrá aplicarse por cualquier vía que se considere apropiada, especialmente oral, parenteral o tópica, y los expertos en la materia adaptarán la formulación de las composiciones, en particular para composiciones cosméticas o dermatológicas.

45 **[0044]** De forma ventajosa, las composiciones según invención se destinan a una administración por vía tópica. Por tanto, estas composiciones deben contener un medio fisiológicamente aceptable, es decir, compatible con la piel y las faneras, y cubren todas las formas cosméticas o dermatológicas.

50 **[0045]** Por «aplicación tópica» se entiende el hecho de aplicar o de extender el agente activo según la invención, o una composición que lo contenga, sobre la superficie de la piel o de una mucosa. Por «fisiológicamente aceptable» se entiende que el hidrolizado peptídico según la invención, o una composición que lo contenga, es apropiado para entrar en contacto con la piel o una mucosa sin causar reacciones tóxicas o de intolerancia.

[0046] Según otro aspecto de la invención, la composición que comprende el hidrolizado peptídico de maíz (*Zea mays L.*), como agente activo, se utiliza para luchar contra la alopecia.

55 **[0047]** La alopecia abarca un conjunto de desórdenes del folículo piloso que tienen por consecuencia final la pérdida transitoria o definitiva, parcial o general, del cabello. Tanto los hombres como las mujeres pueden sufrir

alopecia, pero las zonas preferentemente afectadas en los hombres son los golfos temporales o frontales, mientras que en las mujeres se constata una alopecia difusa del vértex.

[0048] El segundo objeto de la invención es la utilización de un hidrolizado peptídico de maíz (*Zea mays L.*), como agente activo capaz de estimular el folículo piloso.

[0049] De hecho, los inventores demostraron que el hidrolizado peptídico de maíz (*Zea mays L.*) permitía estimular el folículo piloso, lo que se traducía a nivel molecular en el aumento de la expresión de las moléculas de la matriz extracelular, tal como la fibronectina, proteínas de la lámina basal, tal como laminina-5. La acción del hidrolizado peptídico de maíz (*Zea mays L.*) se traducía también en el aumento de la expresión de las proteínas de la membrana implicadas en las interacciones entre los queratinocitos (interacciones célula-célula) y entre los queratinocitos y la matriz extracelular (interacciones célula-matriz), tal como la integrina beta 1. La estimulación del folículo piloso se traducía también en el aumento de la expresión de marcadores intracelulares de la fase anágena, tales como los marcadores de proliferación Ki67, p63 y la histona H3 fosforilada o, por el contrario, en la inhibición de la expresión de iniciadores de la fase catágena, tal como la proteína p53, permitiendo de esta manera una prolongación de la fase anágena de crecimiento del cabello.

[0050] A nivel orgánico, la estimulación del folículo piloso se manifiesta por la elongación del cabello en un sistema de cultivo *ex vivo*.

[0051] El tercer objeto de la invención reside en la utilización de un hidrolizado peptídico de maíz (*Zea mays L.*) como agente activo capaz de estimular el folículo piloso, para la realización de una composición dermatofarmacéutica destinada a estimular y/o reparar el crecimiento del cabello o a limitar la caída del cabello, en el marco de un tratamiento preventivo o curativo de la pérdida de cabello ligada a un estado patológico. De entre los estados patológicos frecuentemente responsables de la pérdida de cabello, cabe citar la alopecia areata, los efectos secundarios de tratamientos farmacológicos, algunas infecciones o inflamaciones del cuero cabelludo (la psoriasis, la dermatitis seborreica, etc.).

[0052] Según esta forma de la invención, las composiciones serán apropiadas para una administración oral para un uso farmacéutico. Así pues, las composiciones podrán presentarse en particular en forma de comprimidos, cápsulas, grageas, comprimidos masticables, polvos para consumir tal cual o para mezclarse extemporáneamente con un líquido, jarabe, gel y cualquier otra forma conocida por el experto en la materia. Estas composiciones comprenden, además, cualquier aditivo comúnmente utilizado en el campo de aplicación contemplado, así como los adyuvantes necesarios para su formulación, entre los que se encuentran solventes, espesantes, diluyentes, antioxidantes, conservantes, otros agentes activos farmacéuticos, aceites esenciales, vitaminas, ácidos grasos esenciales, etc.

[0053] De la descripción anterior también resultan modos de realización particulares de este procedimiento de tratamiento cosmético. Otras ventajas y características de la invención se comprenderán mejor con la lectura de los ejemplos proporcionados a título ilustrativo y no limitativo.

Listado de figuras

[0054] Figura 1: Medida cuantitativa de la elongación del cabello después de tratamiento mediante el hidrolizado según el ejemplo 1 al 3 %.

Ejemplo 1: Preparación de un hidrolizado peptídico a partir de tortas de maíz (*Zae mays L.*)

[0055] La torta de maíz (*Zae mays L.*) se pone en solución en 10 volúmenes de agua en presencia de POLYCAR® 10 (polivinilpirrolidona - PVPP - insoluble) al 2 %. La mezcla se ajusta a un pH comprendido entre 7,5 y 9,5 con una solución acuosa de sosa 1 M.

[0056] Tras el ajuste del pH, se añade una mezcla de bromelaína al 2 % y de alcalase® (Novozym) en el medio reactivo. Tras dos horas de agitación a 50°C se obtiene la hidrólisis. A continuación, se procede a la inactivación de las enzimas calentando la solución a 80°C durante 2 horas. Tras la centrifugación, se recupera la solución acuosa sobrenadante correspondiente a un hidrolizado crudo de maíz.

[0057] El procedimiento de purificación del hidrolizado crudo comienza con filtraciones sucesivas con la ayuda de placas de filtro Seitz-Orion de porosidad decreciente (hasta 0,2 µm) con el fin de obtener una solución amarilla, brillante y clara, calificada de hidrolizado 1.

[0058] En esta etapa, el hidrolizado 1 de maíz se caracteriza por un extracto seco con una titulación de 20 a 30 g/kg, un nivel de proteínas de 20 a 25 g/l y un nivel de azúcares de 2 a 5 g/l.

[0059] La naturaleza proteica del hidrolizado 1 se demuestra tras un análisis por electroforesis en gel de poliácridamida NuPAGE® Bis-Tris Pre-Cast (Invitrogen). El hidrolizado proteico de maíz se calienta a 70°C durante 10 minutos en condiciones reductoras desnaturalizantes (tampón de preparación de muestra NuPAGE® LDS). Se añade una solución de NuPAGE® Antioxidante a la cubeta interior (cátodo) para evitar que las proteínas reducidas

se reoxiden durante la electroforesis. La migración de las proteínas se realiza dentro del tampón de migración NuPAGE® MES con el estándar SeeBlue Plus2 como marcador de peso molecular. La coloración de las proteínas se lleva a cabo con la ayuda de azul de Coomassie® R-250. En estas condiciones, se observa que el 100 % de los compuestos de naturaleza peptídica presentan un peso molecular inferior a 10 kDa.

5 **[0060]** A continuación, se purifica el hidrolizado 1 eliminando las proteínas de alto peso molecular por ultrafiltración con la ayuda del casete Pellicon® 2 Biomax 5 kDa. Después de esta etapa, el 90 % de los compuestos de naturaleza peptídica del hidrolizado presentan un peso molecular inferior a 5 kDa.

10 **[0061]** Después de esta purificación final, se obtiene un hidrolizado que presenta un peso en seco de 9,7 g/Kg; 6,2 g/l de compuestos de naturaleza peptídica y 0,6 g/l de azúcares. A continuación, se procede a una fase de dilución en una mezcla agua-glicerol con el fin de obtener un hidrolizado peptídico caracterizado por un peso en seco de 2 a 5 g/kg, una concentración de compuestos de naturaleza peptídica de 1,5 a 3,0 g/l y una concentración de azúcares de 0,1 a 0,3 g/l. Este hidrolizado peptídico corresponde al agente activo según la invención.

15 **[0062]** A continuación, se analiza dicho hidrolizado peptídico mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con la ayuda de un aparato HP1100 gestionado por el programa informático ChemStation. La columna utilizada durante la elución del hidrolizado 2 es una Nucleosil® 300-5 C4 MPN (125 x 4 mm) que permite cromatografiar proteínas con un peso molecular de 0,2 kDa a 25 kDa (según un gradiente de solventes apropiado). En estas condiciones cromatográficas, se han podido identificar varias fracciones peptídicas.

20 **[0063]** También se realizó la determinación de la composición de aminoácidos del agente activo según la invención. Después de un análisis cuantitativo de las proteínas y de los péptidos mediante el método de Lowry, se llevó a cabo una hidrólisis ácida, para reducir todos los péptidos al estado de aminoácidos libres. En la siguiente tabla se proporciona un ejemplo de composición de aminoácidos del hidrolizado. Los valores se expresan en porcentaje de aminoácidos por 100 g de proteínas.

Aminoácidos	%
Alanina	9,4
Ácido aspártico	7,2
Arginina	3,6
Ácido glutámico	23,7
Glicina	3,6
Histidina	2,2
Isoleucina	4,5.
Leucina	16,1
Lisina	2,2
Fenilalanina	6,7
Prolina	10,3
Serina	6,3
Treonina	4,0
Tirosina	5,8
Valina	5,4
Triptófano	< 0,5

25 **Ejemplo 2: Demostración de la estimulación del crecimiento del cabello mediante el hidrolizado según el ejemplo 1**

[0064] El objetivo de este estudio reside en determinar la influencia del hidrolizado según el ejemplo 1 en el crecimiento del cabello humano. Para ello, se midió la elongación del tallo piloso prolongando los folículos pilosos cultivados *ex vivo*.

[0065] **Protocolo:** Se cultivaron sobre insertos en un medio WILLIAM E biopsias por punción de piel de 6 mm de diámetro procedentes de *lifting* y que contenían folículos pilosos. En el día 0, se rasuraron las biopsias, después cada 24 horas se trataron los explantes de piel con 20 µl de una solución de hidrolizado según el ejemplo 1 al 3 %, y se depositaron sobre la biopsia durante 14 y 17 días. Se realizaron controles no tratados en paralelo.

5 [0066] Se tomaron fotos con ayuda de la cámara CCD Vivacam del vivascope 1500® (Europe Mavig) y se evaluó la longitud del cabello de cada folículo con ayuda del programa informático «Image Pro Analyser 6.3».

[0067] **Resultados:** La longitud del cabello se expresa en µm (ver la figura 1). En presencia de hidrolizado según el ejemplo 1 al 3 %, la elongación del cabello se multiplicó por 3,37 después de 14 días y por 2,26 veces después de 17 días.

10 [0068] **Conclusión:** El hidrolizado según el ejemplo 1 estimula de forma muy considerable el crecimiento del cabello.

Ejemplo 3: Demostración de la estimulación de la actividad celular del folículo piloso mediante el hidrolizado según el ejemplo 1

[0069] El objetivo de este estudio reside en mostrar el efecto estimulante en las funciones celulares y, en particular, en la renovación de las células del folículo piloso del hidrolizado según el ejemplo 1. Para ello, se estudiaron marcadores de la proliferación celular (Ki67), de la renovación epidérmica (p63) y de la mitosis (histona 3 fosforilada), así como un marcador de la entrada en fase catágena.

15 [0070] **Protocolo:** Se cultivaron biopsias de piel humana en las mismas condiciones que en el ejemplo 2, después se trataron durante 48 horas mediante el hidrolizado según el ejemplo 1 al 1 %. Se realizaron igualmente controles no tratados. Al final del experimento, se incluyeron las biopsias en resina OTC y se congelaron en nitrógeno. A continuación, se realizaron cortes de aproximadamente 6 µm en el criostato. Se recogieron los cortes en portaobjetos de observación con polilisina, después se fijaron los cortes en un baño de acetona (conservado previamente a -20°C) durante 10 minutos. Se realizó el inmunomarcaje con la ayuda de un anticuerpo policlonal anti-Ki67 (Abcam) o de un anticuerpo policlonal anti-Histona 3 fosforilada (Abcam) o de un anticuerpo monoclonal anti-p63 (Tebu, SantaCruz) o de un anticuerpo monoclonal anti-p53 (Dako). Después se puso en contacto con los cortes un anticuerpo secundario adecuado, acoplado a un marcador fluorescente. Finalmente, se examinaron los cortes de folículos mediante microscopio epifluorescente (microscopio Nikon Eclipse E 80i).

[0071] **Resultados:** Sobre los cortes de folículo piloso tratados mediante el hidrolizado según el ejemplo 1, se observa que un mayor número de células de la vaina epitelial externa son marcadas para Ki67, histona 3 fosforilada y p63. Por el contrario, las células marcadas por el anticuerpo p53 son menos numerosas en comparación con el control no tratado.

30 [0072] Con la ayuda de un programa informático de cuantificación de la fluorescencia, se puede medir un aumento de 18,5 % para Ki67, de 7,1 % para la histona 3 fosforilada y de 19,1% para p63.

[0073] **Conclusiones:** El hidrolizado según el ejemplo 1 aumenta la expresión de los marcadores de proliferación y de actividad celular, demostrando de esta manera una estimulación de la actividad del folículo. Por otra parte, el hidrolizado según el ejemplo 1 disminuye la expresión de p53 implicada en la inducción de la fase catágena.

Ejemplo 4: Demostración del efecto activador del hidrolizado según el ejemplo 1 en la matriz extracelular, en los enlaces célula-matriz y en los enlaces célula-célula en el folículo piloso

[0074] El objetivo de este estudio reside en determinar la influencia del hidrolizado según el ejemplo 1 en la expresión de las moléculas de la matriz extracelular (fibronectina), de las proteínas de la lámina basal (laminina-5) y de las proteínas implicadas en las interacciones célula-célula y célula-matriz (integrina beta-1).

[0075] **Protocolo de cultivo:** Se cultivaron biopsias de piel humana en las mismas condiciones que en el ejemplo 2, después se trataron durante 48 horas mediante el hidrolizado según el ejemplo 1 al 1 %. Se realizaron igualmente controles no tratados.

45 [0076] **Protocolo del inmunomarcaje de la integrina beta 1:** Al final del experimento, se colocaron las biopsias en un casete y se sumergieron en una mezcla de formol al 10 % durante 2 horas en un aparato automatizado (VIP). El recubrimiento en parafina se preparó mediante una serie de baños de alcohol (con concentración y tiempo crecientes), seguida de 2 baños de xileno y, finalmente, de un baño de parafina. La duración total de esta serie de operaciones es de doce horas. Las biopsias incluidas en parafina se cortaron después a 4 µm mediante un microtomo y se montaron sobre portaobjetos. Las láminas se desparafinaron, se rehidrataron y después se sometieron a un inmunomarcaje mediante un anticuerpo monoclonal dirigido contra la integrina beta 1 (Tebu, Santa Cruz), después un anticuerpo secundario adecuado, acoplado a un marcador fluorescente. A continuación, se examinaron los cortes de piel mediante microscopio epifluorescente (microscopio Nikon Eclipse E 80i).

[0077] **Protocolo del inmunomarcaje de la laminina-5 (o laminina 332 según la nueva nomenclatura):** Al final del experimento, se incluyeron las biopsias en parafina como para el inmunomarcaje de la integrina beta 1. Después

se desparafinaron los portaobjetos, se rehidrataron y, a continuación, se sometieron a una etapa de desenmascaramiento previa al inmunomarcaje mediante un anticuerpo monoclonal dirigido contra la laminina 332 (Chemicon). Después, se puso en contacto con los cortes un anticuerpo secundario adecuado, acoplado a un marcador fluorescente. Finalmente, se examinaron los cortes de piel mediante microscopio epifluorescente (microscopio Nikon Eclipse E 80i).

[0078] Protocolo del inmunomarcaje de la fibronectina: Al final del experimento, se incluyeron las biopsias en resina OTC y se congelaron en nitrógeno. A continuación, se realizaron cortes de aproximadamente 6 µm en el criostato. Se recogieron los cortes en portaobjetos de observación con polilisina; a continuación, se fijaron los cortes en un baño de acetona (conservado previamente a - 20 °C) durante 10 minutos. Se realizó el inmunomarcaje con la ayuda de un anticuerpo policlonal de conejo específico (Sigma). Después, se puso en contacto con los cortes un anticuerpo secundario adecuado, acoplado a un marcador fluorescente. Finalmente, se examinaron los cortes de piel mediante microscopio epifluorescente (microscopio Nikon Eclipse E 80i).

[0079] Resultados: Sobre los cortes de folículo piloso tratados mediante el hidrolizado según el ejemplo 1, en los que se inmunomarcó la laminina-5, se observa una fluorescencia más intensa de la lámina basal (zona de localización de la laminina-5).

[0080] Sobre los cortes de folículo piloso tratados mediante el hidrolizado según el ejemplo 1, en los que se inmunomarcó la fibronectina, se observa una fluorescencia más intensa de la matriz extracelular (zona de localización de la fibronectina).

[0081] Sobre los cortes de folículo piloso tratados mediante el hidrolizado según el ejemplo 1, en los que se inmunomarcó la integrina beta 1, se observa una fluorescencia más intensa de la periferia de las células epiteliales de la vaina externa. Con la ayuda de un programa informático de cuantificación de la fluorescencia, se puede medir un aumento del orden de 244 % de integrina beta 1.

[0082] Conclusiones: El hidrolizado según el ejemplo 1 mejora la calidad de la matriz extracelular, la adhesión célula-célula y la adhesión célula-matriz.

Ejemplo 5: Preparación de composiciones

1 - Leche tratante anticaída del cabello:

[0083] El producto está concebido para vaporizarse sobre el cuero cabelludo y sobre el cabello húmedo. Masajear para repartir el producto de forma uniforme. Lucha contra la caída del cabello a la vez que lo vuelve más suave y fácil de peinar.

Formulación		1	2	
Nombre INCI	Nombre comercial	% másico	% másico	Proveedor
Deionized Water	-	q.s.	q.s.	
Polyquaternium-11	Gafquat® 755N	1,25	2,00	ISP
Propylene Glycol (and) Diazolidinyl Urea (and) Iodopropynyl Butylcarbamate/	Liquid Germall® Plus	0,50	0,50	ISP
Sodium Polyacrylate (and) Hydrogenated Polydecene (and) Trideceth-6/	RapiThix™ A-60	0,50	0,50	ISP
	Hidrolizado según el ejemplo 1	0,1	0,5	ISP
	Total	100,00	100,00	

[0084] Poner el agua en un recipiente adecuado y comenzar la agitación. Añadir el Gafquat 755N y el Liquid Germall Plus y agitar hasta obtener un aspecto uniforme. Añadir el RapiThix A-60 y agitar hasta obtener un aspecto uniforme (aproximadamente 15 minutos). Añadir el hidrolizado según el ejemplo 1 y agitar hasta obtener un aspecto uniforme. Disponer el producto en un vaporizador no aerosol provisto de una bomba Calmar pump Mark VI WL31.

2 - Sérum para el crecimiento del cabello:

[0085] Aplicar el producto sobre el cuero cabelludo húmedo. Masajear para repartir el producto de forma uniforme. Favorece el crecimiento o la regeneración del cabello a la vez que lo vuelve más fuerte.

Formulación		1	2	
Nombre INCI	Nombre comercial	% másico	% másico	Proveedor
Water		q.s.	q.s.	
Hydroxyethylcellulose	Natrosol 250HHR	0,35	0,50	Hercules/Aqualon
Disodium EDTA	Dissolvine NA-2S	0,05	0,05	Akzo Nobel
VP/DMAPA Acrylates Copolymer	Styleze® CC-10	5,00	5,00	ISP
Quaternium-26	Ceraphyl® 65	1,00	1,00	ISP
Panthenol	Ritapan DL	0,15	0,15	RITA
Propylene Glycol (and) Diazolidinyl Urea (and) Iodopropynyl Butylcarbamate	Liquid Germall® Plus	0,50	0,50	ISP
	Hidrolizado según el ejemplo 1	1,00	1,00	ISP
Total		100,00	100,00	

[0086] Dispersar el Natrosol 250HHR y el Disodium EDTA en agua con agitación. Calentar a 50 °C-60 °C y agitar hasta obtener un aspecto uniforme. Añadir el Styleze® CC-10 y agitar hasta obtener un aspecto uniforme. Dejar enfriar a temperatura ambiente y añadir los ingredientes en el orden de la lista agitando hasta obtener un aspecto uniforme entre cada uno de ellos.

3- Cuidado antiedad para cabello y cuero cabelludo

[0087] Aplicar el producto sobre el cuero cabelludo húmedo. Masajear para repartir el producto de forma uniforme. Lucha contra el envejecimiento y el debilitamiento del cabello a la vez que lo vuelve más suave y fácil de peinar.

Formulación		1	2	
Nombre INCI	Nombre comercial	% másico	% másico	Proveedor
Fase A				
Deionized Water	-	q.s.	q.s.	
Aminomethyl Propanol	AMP-95	0,05	0,05	
Acrylic Acid/VP Crosspolymer	UltraThix™ P-100	0,85	0,85	ISP
Fase B				
Glycerol Dilaurate	Emulsynt™ GDL	0,50	0,50	ISP
Jojoba Seed Oil	-	2,00	2,00	Lipo
Cetearyl Alcohol	-	2,00	2,00	Rita
Fase C				

Formulación		1	2	
Nombre INCI	Nombre comercial	% másico	% másico	Proveedor
Cyclopentasiloxane	SiTec™ CM040	0,50	1,00	ISP
Fase D				
VP/DMAPA Acrylates Copolymer	Styleze® CC-10	3,00	3,00	ISP
Water		20,00	20,00	
Aminomethyl Propanol		0,37	0,37	
Fase E				
Diazolidinyl Urea (and) Methylparaben (and) Propylene Glycol	Germaben® M	0,75	0,75	ISP
	Hidrolizado según el ejemplo 1	0,50	1,00	ISP
Total		100,00	100,00	

[0088] Poner el agua y el AMP-95 en un recipiente con agitación. Añadir el UltraThix™ P-100 al agua con agitación vigorosa y mantener la agitación durante 30 minutos. Calentar la fase A a 65 °C. Calentar los ingredientes de la fase B a 65 °C y después mezclarlos. Añadir a la fase B y mezclar con cuidado. Enfriar a 35 °C. Añadir la fase C a la mezcla principal y mezclar hasta obtener un aspecto uniforme.

- 5 **[0089]** De forma independiente, mezclar los ingredientes de la fase D, hasta obtener un aspecto uniforme. Añadir el Germaben®M (Fase E) y mezclar hasta obtener un aspecto uniforme. Añadir el hidrolizado según el ejemplo 1 y agitar hasta obtener un aspecto uniforme.

REIVINDICACIONES

1. Utilización cosmética de una composición que comprende al menos un hidrolizado peptídico de maíz (*Zea mays L.*), como agente activo, para estimular y/o recuperar el crecimiento del cabello, o prevenir la caída del cabello.
- 5 2. Utilización según la reivindicación 1, **caracterizada por que** dicho hidrolizado peptídico comprende mayoritariamente compuestos de naturaleza peptídica que presentan un peso molecular inferior a 5 kDa.
3. Utilización según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizada por que** dicho hidrolizado peptídico se solubiliza en uno o varios solventes fisiológicamente aceptables, tales como agua, glicerol, etanol, propanodiol, butilenglicol, dipropilenglicol, diglicoles etoxilados o propoxilados, polioles cíclicos o cualquier mezcla de estos solventes.
- 10 4. Utilización según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizada por que** dicho hidrolizado peptídico contiene entre 1 y 5 g/l, y preferiblemente entre 1,5 y 3,0 g/l de compuestos de naturaleza peptídica.
5. Utilización según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizada por que** dicho hidrolizado peptídico se utiliza en una cantidad que representa de 0,001 % a 5 % del peso total de la composición, y preferiblemente en una cantidad que representa de 0,01 % a 1 % del peso total de la composición.
- 15 6. Utilización según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizada por que** la composición se presenta en una forma adecuada para aplicarse por vía tópica que comprende un medio fisiológicamente aceptable.
7. Utilización según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizada por que** la composición comprende además al menos otro agente activo que protege o mejora el crecimiento y/o la salud del cabello, destinado a favorecer y a complementar la acción de dicho agente activo, seleccionado de entre vitaminas, agentes
20 antirradicales, anti-UV, extractos peptídicos vegetales, Mioxidil, ésteres de ácido nicotínico, agentes antiinflamatorios, ácido retinoico o sus derivados, retinol, inhibidores de la 5 alfa-reductasa y compuestos peptídicos procedentes de la síntesis química.
8. Utilización según la reivindicación anterior, **caracterizada por que** dicho otro agente activo es un extracto peptídico vegetal.
- 25 9. Utilización cosmética de dicho hidrolizado peptídico tal como se define en una de las reivindicaciones 1 a 4, como agente activo que estimula el folículo piloso.
10. Utilización según la reivindicación 9, **caracterizada por que** el agente activo aumenta la expresión de la laminina-5 y/o de la integrina beta 1, y/o de la fibronectina.
- 30 11. Utilización según la reivindicación 9, **caracterizada por que** el agente activo aumenta la expresión de la proteína p63, del marcador Ki67 y la fosforilación de la histona 3, en las células de la vaina epitelial externa del folículo piloso.
12. Utilización según la reivindicación 9, **caracterizada por que** el agente activo aumenta la elongación del cabello.
13. Composición dermatofarmacéutica que comprende un hidrolizado peptídico de maíz (*Zea mays L.*) como agente activo capaz de estimular el folículo piloso para su utilización en la estimulación y/o la recuperación del crecimiento del cabello o en la limitación de la caída del cabello, que están ligadas a un estado patológico.
- 35 14. Composición dermatofarmacéutica para su utilización según la reivindicación anterior, **caracterizada por que** los estados patológicos son la alopecia areata, los efectos secundarios de tratamientos farmacológicos, algunas infecciones o inflamaciones del cuero cabelludo.
- 40 15. Composición dermatofarmacéutica para su utilización según la reivindicación 13, destinada al tratamiento para luchar contra la alopecia.

Figura 1

