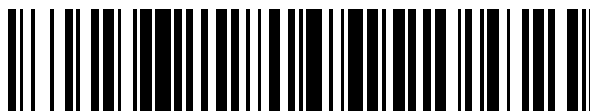


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 717 830**

51 Int. Cl.:

**C07K 14/50** (2006.01)

**A61K 38/18** (2006.01)

**A61K 8/64** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **24.02.2016 PCT/EP2016/053879**

87 Fecha y número de publicación internacional: **01.09.2016 WO16135203**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.02.2016 E 16705971 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.02.2019 EP 3262067**

54 Título: **Nuevos dodecapéptidos y microcápsulas funcionalizadas con los mismos dirigidas a los fibroblastos**

30 Prioridad:

**25.02.2015 EP 15382077**

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

**25.06.2019**

73 Titular/es:

**INFINITEC ACTIVOS S.L. (100.0%)**

**Can Parellada, 22, Nave 2-3**

**08170 Montornés del Vallès, Barcelona, ES**

72 Inventor/es:

**MOURELLE MANCINI, MARISABEL;**

**CRUZ RICONDO, LUIS JAVIER y**

**CARCELLER MARGELI, MAGDALENA**

74 Agente/Representante:

**ARIAS SANZ, Juan**

ES 2 717 830 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

Nuevos dodecapéptidos y microcápsulas funcionalizadas con los mismos dirigidas a los fibroblastos

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere al campo de la farmacia y la cosmética, en particular, se refiere a nuevos dodecapéptidos capaces de unirse a receptores de FGF en los fibroblastos promoviendo así la síntesis de colágeno de tipo I y/o la promoviendo la síntesis de elastina, a microcápsulas dirigidas a fibroblastos que comprenden dichos dodecapéptidos y a su uso para promover la síntesis de colágeno tipo I y/o para promover la síntesis de elastina permitiendo de ese modo la prevención y/o tratamiento de envejecimiento de la piel.

**Antecedentes**

15 Los principales efectos de envejecimiento de la piel son las arrugas, la flacidez, el aparente adelgazamiento, la aparición de manchas de la edad y la disminución de la elasticidad. Las diferencias entre pieles jóvenes y maduras se originan en el límite entre la epidermis y la dermis. Desde aproximadamente los 45 años de edad, hay un adelgazamiento gradual de la epidermis y la dermis.

20 Los fibroblastos son el principal tipo de células localizadas en la dermis. La función principal de los fibroblastos es la síntesis y el mantenimiento de la matriz extracelular (ECM), la producción de colágeno, elastina, proteoglicanos, fibronectina y glicosaminoglicanos. También están involucrados en los procesos de cicatrización de heridas, un proceso clave para mantener una piel sana.

25 El colágeno es la proteína más abundante en los seres humanos así como en la piel y confiere durabilidad y resistencia a la piel.

Los fibroblastos se estimulan por varias citoquinas. Entre ellas las más importantes son el factor de crecimiento transformante beta (TGT-β) y el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF). TGT-β estimula la producción de colágeno y fibronectina, mientras que FGF estimula la proliferación de fibroblastos así como la síntesis de ECM.

El envejecimiento cutáneo se produce a través de dos procesos biológicamente distintos: el envejecimiento intrínseco y el extrínseco. El primero es un proceso natural que resulta de la degeneración lenta del tejido. En la dermis humana, envejecimiento intrínseco se caracteriza por tres rasgos: la atrofia de la dermis debido a la pérdida de colágeno, la degeneración en la red de fibras elásticas, y la pérdida de hidratación. Estas tres características se manifiestan a menudo por una serie de síntomas que comprenden, entre otros, la disminución de la elasticidad de la piel, la rugosidad de la piel, las arrugas en la piel, la flacidez, el adelgazamiento aparente de la piel, y pigmentación. A diferencia del envejecimiento intrínseco, el envejecimiento extrínseco se debe a factores ambientales tales como especies reactivas de oxígeno (ROS) y el estrés, que genera arrugas en la superficie de la piel y disminuyen significativamente la elasticidad de la piel (Arch Dermatol., 130: 87-95, 1994; J Drugs Dermatol. 2008 Feb; 7 (Suppl 2):s12-6).

Por lo tanto, la promoción de la síntesis de colágeno y/o elastina puede ayudar a prevenir o revertir el proceso de envejecimiento (Baumann, L. y S. Saghari, Basic Science of the Dermis, en Cosmetic Dermatology: Principles and Practice, Segunda Edición, L. Baumann, Editor 2009, McGraw-Hill).

45 **Sumario de la invención**

Los inventores sorprendentemente encontraron que el péptido de fórmula (I):

50  $R^2\text{-Lys}^1\text{-Phe}^2\text{-Asn}^3\text{-Leu}^4\text{-Pro}^5\text{-Leu}^6\text{-Gly}^7\text{-Asn}^8\text{-Tyr}^9\text{-Lys}^{10}\text{-Lys}^{11}\text{-Pro}^{12}\text{-R}^1$  (I) ( $R^2$ -SEQ ID NO: 1- $R^1$ ) o análogos del mismo en los que uno de los residuos aminoácido 2 a 12 se sustituye con un residuo alanina en la que  $R^1$  se selecciona del grupo que consiste en -OH, -OR<sup>3</sup>, -SR<sup>3</sup>, -NR<sup>3</sup>R<sup>4</sup>, -OR<sup>5</sup> y -NHR<sup>5</sup>;  $R^2$  se selecciona del grupo que consiste en H-, R<sup>3</sup>-C(O)- y R<sup>3</sup>-OC(O)-,  $R^3$  y  $R^4$  se seleccionan independientemente de H, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>24</sub>, alqueno C<sub>2</sub>-C<sub>24</sub> y arilo C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub> en donde  $R^5$  se selecciona del grupo que consiste en -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-PEG-CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>, -PEG-R<sup>6</sup>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-O-PEG-R<sup>6</sup>, -CO-O-PEG-R<sup>6</sup>, -CO-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)-CO-O-PEG-R<sup>6</sup>, -CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-O-PEG-R<sup>6</sup>, -CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-CH(R<sup>7</sup>)-O-PEG-R<sup>6</sup>, -CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-CH(R<sup>7</sup>)-O-CO-CH(R<sup>7</sup>)-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-O-PEG-R<sup>6</sup> y -(1,3,5-triazina)-(O-PEG-R<sup>6</sup>)<sub>2</sub>,

PEG es un grupo poliéter seleccionado de entre el grupo que consiste en

60 -(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-, -(CH<sub>2</sub>-CH(CH<sub>3</sub>)-O)<sub>n</sub>-, -(CH(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-, -(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-(CH<sub>2</sub>-CH(CH<sub>3</sub>)-O)<sub>n</sub>-(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>p</sub>-, -(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-(CH(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>p</sub>-, -(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-(CH(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-, -(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-(CH<sub>2</sub>-CH(CH<sub>3</sub>)-O)<sub>n</sub>-(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-, -(CH(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-, -(CH<sub>2</sub>-CH(CH<sub>3</sub>)-O)<sub>n</sub>-(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-(CH<sub>2</sub>-CH(CH<sub>3</sub>)-O)<sub>q</sub>-, -(CH<sub>2</sub>-CH(CH<sub>3</sub>)-O)<sub>n</sub>-(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-(CH(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>2</sub>-O)<sub>q</sub>-, -(CH(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-(CH<sub>2</sub>-CH(CH<sub>3</sub>)-O)<sub>q</sub>- y -(CH(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-(CH(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>2</sub>-O)<sub>q</sub>-,

R<sup>6</sup> es un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo C<sub>1-4</sub>; R<sup>7</sup> es un grupo alquilo C<sub>1-4</sub>; m es un número entero de 1 a 4, n y p son números enteros entre 1 y 10 y m y o son números enteros entre 1 y 10 y sales y solvatos cosméticamente aceptables de los mismos, son capaces de unirse selectivamente a receptores de FGF sobre los fibroblastos promoviendo así la síntesis de colágeno de tipo I y/o promoviendo la síntesis de la elastina.

Los inventores también han encontrado sorprendentemente que acoplado el péptido de fórmula (I):

R<sup>2</sup>-Lys<sup>1</sup>-Phe<sup>2</sup>-Asn<sup>3</sup>-Leu<sup>4</sup>-Pro<sup>5</sup>-Leu<sup>6</sup>-Gly<sup>7</sup>-Asn<sup>8</sup>-Tyr<sup>9</sup>-Lys<sup>10</sup>-Lys<sup>11</sup>-Pro<sup>12</sup>-R<sup>1</sup> (I) (R<sup>2</sup>-SEQ ID NO: 1-R<sup>1</sup>)

o análogos del mismo en los que uno de los residuos aminoácido 2 a 12 se sustituye con un residuo alanina en la que R<sup>1</sup> se selecciona del grupo que consiste en -OH, -OR<sup>3</sup>, -SR<sup>3</sup>, -NR<sup>3</sup>R<sup>4</sup>, -OR<sup>5</sup> y -NHR<sup>5</sup>, R<sup>2</sup> se selecciona del grupo que consiste en H-, R<sup>3</sup>-C(O)- y R<sup>3</sup>-OC(O)-, R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> se seleccionan independientemente entre H, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>24</sub>, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>24</sub> y arilo C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>,

en donde R<sup>5</sup> se selecciona del grupo que consiste en

-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-PEG-CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>, -PEG-R<sup>6</sup>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-O-PEG-R<sup>6</sup>, -CO-O-PEG-R<sup>6</sup>, -CO-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)-CO-O-PEG-R<sup>6</sup>, -CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-O-PEG-R<sup>6</sup>, -CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-CH(R<sup>7</sup>)-O-PEG-R<sup>6</sup>, -CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-CH(R<sup>7</sup>)-O-CO-CH(R<sup>7</sup>)-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-O-PEG-R<sup>6</sup> y -(1,3,5-triazina)-(O-PEG-R<sup>6</sup>)<sub>2</sub>

PEG es un grupo poliéter seleccionado del grupo que consiste

en -(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-, -(CH<sub>2</sub>-CH(CH<sub>3</sub>)-O)<sub>o</sub>-, -(CH(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>2</sub>-O)<sub>o</sub>-, -(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-(CH<sub>2</sub>-CH(CH<sub>3</sub>)-O)<sub>o</sub>-(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>p</sub>-, -(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-(CH(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>2</sub>-O)<sub>o</sub>-(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>p</sub>-, -(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-(CH(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>2</sub>-O)<sub>o</sub>-, -(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-(CH<sub>2</sub>-CH(CH<sub>3</sub>)-O)<sub>o</sub>-, -(CH<sub>2</sub>-CH(CH<sub>3</sub>)-O)<sub>o</sub>-(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-, -(CH(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>2</sub>-O)<sub>o</sub>-(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-, -(CH<sub>2</sub>-CH(CH<sub>3</sub>)-O)<sub>o</sub>-(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-(CH<sub>2</sub>-CH(CH<sub>3</sub>)-O)<sub>q</sub>-, -(CH<sub>2</sub>-CH(CH<sub>3</sub>)-O)<sub>o</sub>-(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-(CH(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>2</sub>-O)<sub>q</sub>-, -(CH(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>2</sub>-O)<sub>o</sub>-(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-(CH<sub>2</sub>-CH(CH<sub>3</sub>)-O)<sub>q</sub>- y -(CH(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>2</sub>-O)<sub>o</sub>-(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-(CH(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>2</sub>-O)<sub>o</sub>-,

R<sup>6</sup> es un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo C<sub>1-4</sub>; R<sup>7</sup> es un grupo alquilo C<sub>1-4</sub>; m es un número entero de 1 a 4, n y p son números enteros entre 1 y 10 y m y o son números enteros entre 1 y 10; y sales y solvatos cosméticamente aceptables de los mismos, a la superficie exterior de las microcápsulas dichas microcápsulas dirigidas se unen preferentemente a fibroblastos y esta es una propiedad útil para la entrega selectiva de ingredientes activos que pueden estar contenidos en las microcápsulas a la cercanía de los fibroblastos. Esta entrega selectiva de ingredientes activos puede ser de particular relevancia para la entrega de compuestos antienviejecimiento para fibroblastos mejorando así el efecto antienviejecimiento de dichos compuestos antienviejecimiento.

En un primer aspecto, la presente invención se refiere a un péptido de fórmula (I)

R<sup>2</sup>-Lys<sup>1</sup>-Phe<sup>2</sup>-Asn<sup>3</sup>-Leu<sup>4</sup>-Pro<sup>5</sup>-Leu<sup>6</sup>-Gly<sup>7</sup>-Asn<sup>8</sup>-Tyr<sup>9</sup>-Lys<sup>10</sup>-Lys<sup>11</sup>-Pro<sup>12</sup>-R<sup>1</sup> (I) (R<sup>2</sup>-SEQ ID NO: 1-R<sup>1</sup>)

o análogos del mismo en los que uno de los residuos aminoácido 2 a 12 se sustituye con un residuo alanina en la que R<sup>1</sup> se selecciona del grupo que consiste en -OH, -OR<sup>3</sup>, -SR<sup>3</sup>, -NR<sup>3</sup>R<sup>4</sup>, -OR<sup>5</sup> y -NHR<sup>5</sup>, R<sup>2</sup> se selecciona del grupo que consiste en H-, R<sup>3</sup>-C(O)- y R<sup>3</sup>-OC(O)-, R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> se seleccionan independientemente entre H, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>24</sub>, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>24</sub> y arilo C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>; en donde R<sup>5</sup> se selecciona del grupo que consiste en

-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-PEG-CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>, -PEG-R<sup>6</sup>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-O-PEG-R<sup>6</sup>, -CO-O-PEG-R<sup>6</sup>, -CO-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)-CO-O-PEG-R<sup>6</sup>, -CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-O-PEG-R<sup>6</sup>, -CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-CH(R<sup>7</sup>)-O-PEG-R<sup>6</sup>, -CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-CH(R<sup>7</sup>)-O-CO-CH(R<sup>7</sup>)-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-O-PEG-R<sup>6</sup> y -(1,3,5-triazina)-(O-PEG-R<sup>6</sup>)<sub>2</sub>

PEG es un grupo poliéter seleccionado del grupo que consiste en

-(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-, -(CH<sub>2</sub>-CH(CH<sub>3</sub>)-O)<sub>o</sub>-, -(CH(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>2</sub>-O)<sub>o</sub>-, -(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-(CH<sub>2</sub>-CH(CH<sub>3</sub>)-O)<sub>o</sub>-(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>p</sub>-, -(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-(CH(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>2</sub>-O)<sub>o</sub>-(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>p</sub>-, -(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-(CH(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>2</sub>-O)<sub>o</sub>-, -(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-(CH<sub>2</sub>-CH(CH<sub>3</sub>)-O)<sub>o</sub>-, -(CH<sub>2</sub>-CH(CH<sub>3</sub>)-O)<sub>o</sub>-(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-, -(CH(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>2</sub>-O)<sub>o</sub>-(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-, -(CH<sub>2</sub>-CH(CH<sub>3</sub>)-O)<sub>o</sub>-(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-(CH<sub>2</sub>-CH(CH<sub>3</sub>)-O)<sub>q</sub>-, -(CH<sub>2</sub>-CH(CH<sub>3</sub>)-O)<sub>o</sub>-(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-(CH(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>2</sub>-O)<sub>q</sub>-, -(CH(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>2</sub>-O)<sub>o</sub>-(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-(CH<sub>2</sub>-CH(CH<sub>3</sub>)-O)<sub>q</sub>- y -(CH(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>2</sub>-O)<sub>o</sub>-(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-(CH(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>2</sub>-O)<sub>o</sub>-,

R<sup>6</sup> es un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo C<sub>1-4</sub>; R<sup>7</sup> es un grupo alquilo C<sub>1-4</sub>; m es un número entero de 1 a 4, n y p son números enteros entre 1 y 10 y m y o son números enteros entre 1 y 10; y las sales y solvatos cosméticamente aceptables de los mismos.

En un segundo aspecto la presente invención proporciona microcápsulas que comprenden un péptido según se define en el primer aspecto de la invención acoplado a la superficie exterior de las microcápsulas.

En un tercer aspecto la presente invención proporciona un procedimiento para la obtención de las según se definen en el segundo aspecto que comprende las etapas de:

a) la formación de las microcápsulas que encapsulan el compuesto antienvjecimiento y

b) el acoplamiento de un péptido según se define en el primer aspecto de la invención a la superficie exterior de la microcápsula después de formar la microcápsula.

5 En un cuarto aspecto la presente invención proporciona una composición cosmética que comprende la microcápsula según se define en el segundo aspecto.

10 En un quinto aspecto la presente invención proporciona el uso cosmético de un péptido según se define en el primer aspecto para la promoción de la síntesis de colágeno tipo I y o la síntesis de la elastina.

En un sexto aspecto la presente invención proporciona el uso de las microcápsulas según se define en el segundo aspecto para la prevención cosmética y/o el tratamiento cosmético del envejecimiento de la piel.

15 En un séptimo aspecto la presente invención proporciona el uso de las microcápsulas según se define en el segundo aspecto para mejorar aspecto de la piel mediante la consecución de uno o más de los siguientes efectos: aumentando la luminosidad de la piel, aumentando la elasticidad de la piel, disminuyendo la aspereza de la piel, reduciendo las arrugas de la piel, aumentando el adelgazamiento de la piel aparente, reduciendo los defectos de la pigmentación de la piel.

## 20 Descripción detallada de la invención

En el contexto de la presente invención, los siguientes términos tienen el significado que se detalla a continuación.

25 Tal como se utiliza en el contexto de la presente invención el término "microcápsula" se refiere a una partícula que consiste en una cubierta que comprende un material formador de pared y un núcleo encapsulado situado dentro de la cubierta y que tiene un tamaño que varía desde 10 hasta 10000 nm. En una realización, las microcápsulas tienen un tamaño (según se determina por microscopía electrónica de barrido, *Scanning Electron Microscopy*, SEM)) que abarca desde 50 hasta 5000 nm, preferiblemente desde 100 a 1000 nm, más preferiblemente de 150 a 450 nm y lo más preferiblemente 180 a 400 nm. Este tamaño permite que la microcápsula sea captada por las células, y libere los ingredientes activos en el citosol. En una realización particular, el tamaño medio de las microcápsulas es de 220 nm.

35 En esta descripción de las abreviaturas empleadas para los aminoácidos siguen las recomendaciones de la Comisión IUPAC-IUB 1983 de Nomenclatura Bioquímica especificadas en Eur. J. Biochem., (1984), 138, 937.

40 Así, por ejemplo, Arg o R representa  $\text{NH}_2\text{-CH}(\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH-C(=NH)NH}_2\text{)-COOH}$ , Arg- o R- representa  $\text{NH}_2\text{-CH}(\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH-C(=NH)NH}_2\text{)-CO-}$ , -Arg o -R representa  $\text{-NH-CH}(\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH-C(=NH)NH}_2\text{)-COOH}$ , y -Arg- o -R- representa  $\text{-NH-CH}(\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH-C(=NH)NH}_2\text{)-CO-}$ . Por lo tanto, el guion, que representa el enlace peptídico, elimina la OH en el grupo carboxilo 1 del aminoácido (representado aquí en la forma no ionizada convencional) cuando se encuentra a la derecha del símbolo, y elimina el H del grupo amino 2 del aminoácido cuando se encuentra a la izquierda del símbolo; ambas modificaciones se pueden aplicar para el mismo símbolo (véase la Tabla 1).

Los aminoácidos se denominan utilizando la nomenclatura convencional en códigos de una y tres letras, como sigue:

- 45
- alanina, Ala o A,
  - fenilalanina, Phe o F,
  - lisina, Lys o K,
  - glutamina, Gln o Q,
  - arginina, Arg o R.
- 50

En una realización de la presente invención, las microcápsulas de acuerdo con el segundo aspecto (es decir, microcápsulas que comprenden un péptido según se define en el primer aspecto acoplado a la superficie exterior de la misma) comprenden un agente antienvjecimiento en el núcleo de la microcápsula. Al incorporar el agente antienvjecimiento en el núcleo de las microcápsulas su efecto antienvjecimiento se mejora.

55 Las microcápsulas de la invención tienen la ventaja de que alcanzan profundamente los folículos pilosos, donde la barrera posee sólo unas pocas capas de corneocitos diferenciadas y puede considerarse altamente permeable. Además, los folículos pilosos pueden actuar como reservorio a largo plazo, condición beneficiosa cuando se pretende la administración transdérmica. La entrega al folículo piloso tiene varias ventajas farmacocinéticas como una reducción o derivación de la vía tortuosa de la absorción transepidermica, disminución de la toxicidad sistémica de fármacos cuando el folículo actúa como reservorio de entrega a largo plazo y aumento adicional del índice terapéutico de algunos fármacos, así como la reducción de la dosis aplicada o frecuencia de administración.

65 En una realización de la presente invención, la microcápsula de la invención tienen al menos un cubierta que comprende un material polimérico. En una realización preferida, las microcápsulas son cápsulas bicapa poliméricas, es decir, las microcápsulas consisten en una microcápsula interna que comprende un núcleo y una primera cubierta

polimérica que está recubierta con una segunda cubierta polimérica. En una realización preferida, la cubierta polimérica comprende uno o más de polímero biodegradable.

Los siguientes dodecapéptidos son realizaciones específicas de la presente invención:

- 5 • R<sup>2</sup>-Lys-Phe-Asn-Leu-Pro-Leu-Gly-Asn-Tyr-Lys-Lys-Pro-R<sup>1</sup> (R<sup>2</sup>-SEQ ID NO: 1-R<sup>1</sup>)
- R<sup>2</sup>-Lys-Ala-Asn-Leu-Pro-Leu-Gly-Asn-Tyr-Lys-Lys-Pro-R<sup>1</sup> (R<sup>2</sup>-SEQ ID NO: 2-R<sup>1</sup>)
- R<sup>2</sup>-Lys-Phe-Ala-Leu-Pro-Leu-Gly-Asn-Tyr-Lys-Lys-Pro-R<sup>1</sup> (R<sup>2</sup>-SEQ ID NO: 3-R<sup>1</sup>)
- R<sup>2</sup>-Lys-Phe-Asn-Ala-Pro-Leu-Gly-Asn-Tyr-Lys-Lys-Pro-R<sup>1</sup> (R<sup>2</sup>-SEQ ID NO: 4-R<sup>1</sup>)
- R<sup>2</sup>-Lys-Phe-Asn-Leu-Ala-Leu-Gly-Asn-Tyr-Lys-Lys-Pro-R<sup>1</sup> (R<sup>2</sup>-SEQ ID NO: 5-R<sup>1</sup>)
- 10 • R<sup>2</sup>-Lys-Phe-Asn-Leu-Pro-Ala-Gly-Asn-Tyr-Lys-Lys-Pro-R<sup>1</sup> (R<sup>2</sup>-SEQ ID NO: 6-R<sup>1</sup>)
- R<sup>2</sup>-Lys-Phe-Asn-Leu-Pro-Leu-Ala-Asn-Tyr-Lys-Lys-Pro-R<sup>1</sup> (R<sup>2</sup>-SEQ ID NO: 7-R<sup>1</sup>)
- R<sup>2</sup>-Lys-Phe-Asn-Leu-Pro-Leu-Gly-Ala-Tyr-Lys-Lys-Pro-R<sup>1</sup> (R<sup>2</sup>-SEQ ID NO: 8-R<sup>1</sup>)
- R<sup>2</sup>-Lys-Phe-Asn-Leu-Pro-Leu-Gly-Asn-Ala-Lys-Lys-Pro-R<sup>1</sup> (R<sup>2</sup>-SEQ ID NO: 9-R<sup>1</sup>)
- R<sup>2</sup>-Lys-Phe-Asn-Leu-Pro-Leu-Gly-Asn-Tyr-Ala-Lys-Pro-R<sup>1</sup> (R<sup>2</sup>-SEQ ID NO: 10-R<sup>1</sup>)
- 15 • R<sup>2</sup>-Lys-Phe-Asn-Leu-Pro-Leu-Gly-Asn-Tyr-Lys-Ala-Pro-R<sup>1</sup> (R<sup>2</sup>-SEQ ID NO: 11-R<sup>1</sup>)
- R<sup>2</sup>-Lys-Phe-Asn-Leu-Pro-Leu-Gly-Asn-Tyr-Lys-Lys-Ala-R<sup>1</sup> (R<sup>2</sup>-SEQ ID NO: 12-R<sup>1</sup>)

En una realización de la presente invención R<sup>2</sup> se selecciona entre el grupo que consiste en H, C<sub>10</sub>-C<sub>24</sub> alquiloilo y C<sub>10</sub>-C<sub>24</sub> alquenoilo; más preferiblemente del grupo que consiste de caproilo (CH<sub>3</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-C(O)-), lauroilo (CH<sub>3</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>10</sub>-C(O)-), miristoilo (CH<sub>3</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>12</sub>-C(O)-), palmitoilo (CH<sub>3</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>14</sub>-C(O)-), estearoilo (CH<sub>3</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>16</sub>-C(O)-), araquidoilo (CH<sub>3</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>18</sub>-C(O)-) y behenoilo (CH<sub>3</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>20</sub>-C(O)-); todavía más preferiblemente, R<sup>2</sup> es palmitoilo.

En una realización de la presente invención R<sup>1</sup> se selecciona del grupo que consiste en -OR<sup>3</sup>, -SR<sup>3</sup>, -NR<sup>3</sup>R<sup>4</sup>, -OR<sup>5</sup> y -NHR<sup>5</sup> en el que R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en H y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub> y en el que R<sup>5</sup> es un resto de fórmula -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub> en la que n es un número entero de 1 a 18; más preferiblemente R<sup>1</sup> se selecciona entre el grupo que consiste en -OH, -SH, -NH<sub>2</sub> y un resto de la fórmula -NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub> en la que n es un número entero de 1 a 6; aún más preferiblemente R<sup>1</sup> es NH<sub>2</sub> o un resto de la fórmula -NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>.

En una realización preferida, R<sup>2</sup> es palmitoilo y R<sup>1</sup> es -NH<sub>2</sub>, es decir, el compuesto de fórmula (I) es un péptido que tiene la secuencia de Palm-Lys-Phe-Asn-Leu-Pro-Leu-Gly-Asn-Tyr-Lys-Lys-Pro-NH<sub>2</sub> (Palm-SEQ ID NO: 1-NH<sub>2</sub>) y análogos del mismo en los que uno de los residuos aminoácido 2 a 12 se sustituye con un residuo alanina.

Las microcápsulas dirigidas, y más particularmente las microcápsulas bicapa dirigidas, se pueden utilizar como un sistema de entrega altamente eficaz con liberación sostenida y controlada del ingrediente activo encapsulado a las células diana: los fibroblastos y/o queratinocitos. En particular, las microcápsulas escapan del compartimento endosomal y lisosomal, de manera que el ingrediente activo encapsulado se libera directamente en el citoplasma y alcanza la diana de forma rápida, optimizando la aplicación y la biodisponibilidad de los agentes activos encapsulados.

Además, las microcápsulas dirigidas de la invención tienen la ventaja de que muestran una mayor penetración en la piel en comparación con microcápsulas convencionales.

Breve, el uso de las microcápsulas dirigidas de la presente invención permite la disminución de la cantidad necesaria de los ingredientes activos con la consecuencia de que los posibles efectos secundarios también se reducen. Además, las microcápsulas tienen también la ventaja de que son capaces de penetrar la piel y muestran una distribución uniforme en toda la epidermis.

En una realización, los polímeros que forman las microcápsulas de la invención se seleccionan del grupo que consiste en poli(D,L-lactida-co-glicolida), ácidos polilácticos, poli(fumarato de propileno-co-etilenglicol) [P(PF-co-EG)] copolímero de bloque, poli-anhídrido de anhídrido de poli(fumárico-co-sebácico), poli(óxido de etileno)-poli(lactida/glicolida), poli(aminoácido), alcohol de polivinilo, alginato, dextrano, quitosano, hidroxiapatita, colágeno, fibrina, ácido hialurónico, carbómeros, poli(aminoácido) y poli(etilenglicol).

En una realización, las microcápsulas de la invención son microcápsulas poliméricas bicapa que comprenden un "polímero de la capa interior", y un polímero de la capa exterior en la superficie exterior de la microcápsula". Los polímeros de capa interior y los polímeros de la cubierta se seleccionan del grupo que consiste en poli(D,L-lactida-co-glicolida), ácidos polilácticos, poli(fumarato de propileno-co-etilenglicol) [P(PF-co-EG)] copolímero de bloque, poli-anhídrido de anhídrido de poli(fumárico-co-sebácico), poli(óxido de etileno)-poli(lactida/glicolida), poli(aminoácido), alcohol de polivinilo, alginato, dextrano, quitosano, hidroxiapatita, colágeno, fibrina, ácido hialurónico, carbómeros, poli(aminoácido) y poli(etilenglicol). En una realización preferida, el polímero de la capa interior y el polímero de la capa exterior son diferentes. En una realización preferida, el polímero de la capa interior es poli(D,L lactida-co-glicolida) (PLGA) y el polímero de la capa exterior es alcohol de polivinilo (PVA). En una realización preferida, al menos algunos de los grupos funcionales del polímero de la capa interior, preferiblemente cuando los grupos funcionales son grupos carboxilo del polímero de la capa interior, están presentes en la superficie exterior de la microcápsula, junto con el

polímero en la superficie exterior de la microcápsula. En una forma de realización más preferida cuando el polímero de la capa interior es poli (D,L lactida co-glicolida) (PLGA) y el polímero de la capa exterior es alcohol polivinílico (PVA), los grupos carboxilo del polímero de PLGA están presentes en la superficie exterior de la microcápsula. En una realización más preferida, PLGA tiene una relación molar lactida/glicolida de 40:60 a 60:40, más preferiblemente 50:50.

En una realización el péptido de fórmula (I) o análogos de los mismos en los que uno de los residuos aminoácido 2 a 12 se sustituye con un residuo alanina están unidos a la capa exterior de polímero en la superficie de las microcápsulas. En una realización más particular, el péptido de fórmula (I) o análogos de los mismos en los que uno de los residuos aminoácido 2 a 12 se sustituye con un resto alanina están unidos a la capa exterior de polímero mediante un enlace covalente. En una realización preferida, el enlace covalente es un enlace amida entre el grupo amino del grupo N-terminal del péptido y el grupo carboxilo del polímero PLGA presente en el exterior de la superficie. Preferiblemente, el polímero de la capa exterior es alcohol de polivinilo.

El término "alcanoílo", y se refiere a un radical que tiene la fórmula general RCO- en la que R es un grupo alquilo.

El término "alquenoílo" es el mismo que alquenoílo, y se refiere a un radical que tiene la fórmula general RCO- en la que R es un grupo alquenoílo.

Tal como se utiliza aquí, el término "alquilo" se refiere a un radical de cadena de hidrocarburo lineal o ramificado que consiste en átomos de carbono e hidrógeno, que no contiene insaturación, que está unido al resto de la molécula mediante un enlace sencillo y, a menos que se especifique lo contrario, un radical alquilo tiene típicamente de 1 a aproximadamente 24 átomos de carbono. Una clase más preferida de grupos alquilo tiene de 1 a aproximadamente 16 átomos de carbono y una clase más preferida de grupos alquilo tiene de 1 a 6 y 14 a 18. Los grupos alquilo aún más preferidos son los que tienen 1, 2, 3, 4, 15, 16 o 17 átomos de carbono. Metilo, etilo, n-propilo, isopropilo y butilo, incluyendo n-butilo, terc-butilo, sec-butilo, isobutilo, pentadecilo, hexadecilo, heptadecilo son grupos alquilo particularmente preferidos en los compuestos de la presente invención. Otra clase preferida de grupos alquilo tiene de 6 a aproximadamente 10 átomos de carbono; e incluso más preferentemente 7, 8 o 9 átomos de carbono. Heptilo, octilo y nonilo son los grupos alquilo más preferidos de esta clase.

El término "alquenoílo" significa una cadena de hidrocarburo lineal o ramificado que tiene uno o más enlaces dobles carbono-carbono en el mismo y que tiene de dos a doce átomos de carbono, y que está unido al resto de la molécula mediante un enlace sencillo. El doble enlace de un grupo alquenoílo puede estar no conjugado o conjugado con otro grupo insaturado. Los grupos alquenoílo adecuados incluyen, pero no se limitan a grupos alquenoílo tales como vinilo, alilo, butenilo (por ejemplo, 1-butenilo, 2-butenilo, 3-butenilo), pentenilo (por ejemplo, 1-pentenilo, 2-pentenilo, 3-pentenilo, 4-pentenilo), hexenilo (por ejemplo, 1-hexenilo, 2-hexenilo, 3-hexenilo, 4-hexenilo, 5-hexenilo), butadienilo, pentadienilo (por ejemplo, 1,3-pentadienilo, 2,4-pentadienilo), hexadienilo (por ejemplo, 1,3-hexadienilo, 1,4-hexadienilo, 1,5-hexadienilo, 2,4-hexadienilo, 2,5-hexadienilo), 2-etilhexenilo (por ejemplo, 2-etilhex-1-enilo, 2-etilhex-2-enilo, 2-etilhex-3-enilo, 2-etilhex-4-enilo, 2-etilhex-5-enilo), 2-propil-2-butenilo, 4,6-dimetil-oct-6-enilo. Un grupo alquenoílo puede estar no sustituido o sustituido con uno o dos sustituyentes adecuados.

"Ariilo" se refiere aquí a radicales de anillo individuales y dobles de 6 a 10 átomos de carbono de anillo, tales como fenilo, naftilo o indenilo. El radical ariilo puede estar opcionalmente sustituido por uno o más sustituyentes tales como hidroxilo, mercapto, halo, alquilo, fenilo, alcoxi, haloalquilo, nitro, ciano, dialquilamino, aminoalquilo, acilo, alcoxycarbonilo, etc.

Los péptidos de la invención se pueden preparar mediante técnicas de rutina de la síntesis de péptidos conocida por los expertos en la materia. Una técnica particularmente útil consiste en cinco etapas llevadas a cabo de una manera cíclica.

Etapa 1 - Unión de un aminoácido al polímero El aminoácido se hace reaccionar con una molécula conocida como un "agente de unión" que permite que se una a un polímero sólido, y el otro extremo del agente de unión se hace reaccionar con el soporte de polímero.

Etapa 2 - Protección

Un aminoácido es un ácido con un grupo básico en un extremo y un grupo ácido en el otro. Para evitar que un aminoácido reaccione consigo mismo, uno de estos grupos se hace reaccionar con algo más para que sea no reactivo.

Etapa 3 - Acoplamiento

El aminoácido protegido se hace reaccionar a continuación con el aminoácido unido al polímero para comenzar a construir la cadena peptídica.

Etapa 4 - Desprotección

El grupo protector se elimina ahora del ácido al final de la cadena, de manera que puede reaccionar con el siguiente ácido que va a añadirse. El nuevo ácido está entonces protegido (Etapa 2) y el ciclo continúa hasta que se ha sintetizado una cadena de la longitud requerida.

5 Etapa 5 - Eliminación de Polímeros

Una vez que el péptido deseado se ha obtenido el enlace entre el primer aminoácido y el agente de unión se rompe para dar el péptido libre.

10 Los grupos terminales R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se introducen mediante técnicas rutinarias conocidas por los expertos en la materia.

15 Las sales cosméticamente aceptables de los péptidos proporcionados por esta invención también están dentro del alcance de la presente invención. El término "sales cosméticamente aceptable" significa una sal que se admite generalmente para su uso en animales y más particularmente en seres humanos, e incluye las sales utilizadas para formar sales de adición de bases, sales de adición de base inorgánica, tal como por ejemplo, y en un sentido no limitativo, litio, sodio, potasio, calcio, magnesio o aluminio, entre otras, o las sales de adición de bases orgánicas, tales como por ejemplo y en un sentido no limitativo etilamina, dietilamina, etilendiamina, etanolamina, dietanolamina, arginina, lisina, histidina o piperazina entre otras, o las sales de adición de ácido, o bien sales de adición de ácido orgánicos, tales como por ejemplo y en un sentido no limitativo acetato, citrato, lactato, malonato, maleato, tartrato, fumarato, benzoato, aspartato, glutamato, succinato, oleato, trifluoroacetato, oxalato, pamoato o gluconato entre otros, o las sales de adición de ácidos inorgánicos, tales como por ejemplo y en un sentido no limitativo cloruro, sulfato, borato o carbonato entre otros. La naturaleza de la sal no es crítica, siempre que sea cosméticamente aceptable. Las sales cosméticamente aceptables de los derivados de péptidos de la invención pueden obtenerse por métodos convencionales bien conocidos en el estado de la técnica [Berge S.M., Bighley L.D. y Monkhouse D.C. (1977) "Pharmaceutical Salts" J. Pharm. Sci. 66:1-19].

Otro aspecto de la presente invención se refiere a un procedimiento para la preparación de microcápsulas de la invención, que comprende las etapas de:

30 a) formar las microcápsulas encapsulando el compuesto antienviejimiento y

b) acoplar un compuesto de fórmula (I) de la invención o análogos del mismo en el que uno de los residuos aminoácido 2 a 12 se sustituye con un residuo alanina a la superficie exterior de las microcápsulas antes o después de formar las microcápsulas.

35 En una realización preferida, la etapa de acoplar un compuesto de fórmula (I) de la invención o análogos del mismo en el que uno de los residuos aminoácido 2 a 12 se sustituye con un residuo alanina, a la superficie exterior de las microcápsulas se realiza una vez las microcápsulas se han formado, es decir, después de formar las microcápsulas.

40 En una realización preferida, en la que las microcápsulas son microcápsulas poliméricas bicapa, la etapa de formación de las microcápsulas que encapsulan el compuesto antienviejimiento comprende las etapas de

a1) mezclar el polímero de la capa interior con el compuesto anti-enviejimiento en un disolvente adecuado,

45 a2) emulsionar la mezcla obtenida en la etapa a) con el polímero de la capa exterior en un disolvente adecuado, y opcionalmente

a3) aislar las microcápsulas.

50 En una realización en la que las microcápsulas son microcápsulas poliméricas bicapa el proceso de acoplar el compuesto de fórmula (I) de la invención o análogos del mismo en los que uno de los residuos aminoácidos 2 a 12 se sustituye con un residuo alanina, al polímero de la capa exterior, cuando dicho polímero tiene grupos carboxilo y el acoplamiento en la etapa b) comprende las etapas de

55 b1) activar los grupos carboxilo en la superficie de las microcápsulas, y

b2) reaccionar las microcápsulas activadas con el grupo amino N-terminal del compuesto de fórmula (I).

60 En otra realización el polímero de la capa exterior tiene grupos amino y el acoplamiento en la etapa b) comprende las etapas de

b1) activar los grupos amino en la superficie de las microcápsulas, y

b2) reaccionar las microcápsulas activadas con el grupo C-terminal del compuesto de fórmula (I).

65

En otra realización el polímero de la capa exterior tiene grupos maleimida y el acoplamiento en la etapa b) comprende las etapas de

b1) activar los grupos maleimida en la superficie de las microcápsulas,

b3) funcionalizar el compuesto de fórmula (I) con un grupo tiol mediante la adición de un aminoácido extra con tal grupo, o mediante la modificación de al menos uno de los grupos funcionales de los aminoácidos presentes, y

b2) reaccionar las microcápsulas activadas con el grupo tiol del compuesto de fórmula (I).

En una realización se selecciona el disolvente adecuado para mezclar el polímero de la capa interior con el compuesto antienviejecimiento de entre el grupo que consiste en acetona, acetonitrilo, diclorometano (DCM), etanol, metanol, cloroformo, dimetilformamida (DMF), y acetato de etilo, preferiblemente acetona.

En una realización se selecciona el disolvente adecuado para emulsionar la mezcla obtenida en la etapa a1) con el polímero de capa exterior de entre el grupo que consiste en agua, acetonitrilo, diclorometano (DCM), etanol, metanol, cloroformo, dimetilformamida (DMF), dimetilsulfóxido (DMSO) y acetato de etilo, preferiblemente agua, etanol, metanol, dimetilformamida, y dimetilsulfóxido (DMSO) y más preferiblemente agua.

Otro aspecto de la invención se refiere a un proceso para la obtención de microcápsulas bicapa según se definen en la invención que comprende las etapas de:

i) acoplar un compuesto de fórmula (I) de la invención al polímero que sirve como polímero de capa exterior,

ii) mezclar el polímero de la capa interior con el compuesto antienviejecimiento en un disolvente adecuado,

iii) emulsionar el polímero obtenido en la etapa i) con la mezcla obtenida en la etapa ii) en un disolvente adecuado, y opcionalmente

iv) aislar las microcápsulas.

En una realización preferida, la composición cosmética que comprende microcápsulas de la invención comprende al menos un excipiente o adyuvante cosméticamente aceptable.

El término excipientes o adyuvantes también se refieren a los portadores. Tales excipientes, adyuvantes o portadores farmacéuticos pueden ser líquidos, tales como agua, aceites o agentes tensioactivos, incluyendo los de origen de petróleo, animal, vegetal o sintético, tales como por ejemplo y un sentido no limitativo aceite de cacahuete, aceite de soja, aceite mineral, aceite de sésamo, aceites de ricino, polisorbatos, ésteres de sorbitán, sulfatos de éter, sulfatos, betaínas, glucósidos, maltósidos, alcoholes grasos, nonoxinoles, poloxámeros, polioxietilenos, polietilenglicoles, dextrosa, glicerol y similares. "Remington Pharmaceutical Sciences" por E.W. Martin describe diluyentes, adyuvantes o excipientes como portadores adecuados.

Los siguientes ejemplos son meramente ilustrativos de ciertas realizaciones de la invención y no pueden considerarse como limitativos en modo alguno.

#### Abreviaturas

ATP: trifosfato de adenosina

EDTA: ácido etilendiaminotetraacético

DIPEA: N,N-diisopropiletilamina

DCM: diclorometano

DMEM: medio DMF de Eagle de Dulbecco modificado

DMF: dimetilformamida

DMSO: dimetilsulfóxido

DTT: ditioneitol ((2S,3S)-1,4-dimercaptobutano-2,3-diol)

EDTA: ácido etilendiaminotetraacético

EGTA: ácido etilenglicol-bis(2-aminoetiléter)-N,N,N',N'-tetraacético

FBS: suero fetal bovino

FCS: suero de ternero fetal

Fmoc: fluorenilmetiloxycarbonilo

HPLC: cromatografía de líquidos de alta resolución

HBTU: hexafluorofosfato de O-(benzotriazol-1-il)-N,N,N,N'-tetrametiluronio

$\lambda_{em}$ : longitud de onda de emisión

$\lambda_{ex}$ : longitud de onda de excitación

MTT: sal de dimetil tiazolilo difenil tetrazolio



O.D.: densidad óptica  
 PBS: tampón fosfato salino  
 SDS: dodecil sulfato de sodio  
 TFA: ácido trifluoroacético  
 5 TIS: triisopropilsilano  
 TMB: tetrametilbencidina (3,3',5,5'-tetrametilbifenilo-4,4'-diamina)  
 Tris: Tris(hidroximetil)aminometano  
 UV: luz ultravioleta

## 10 Ejemplos

### Ejemplo 1. Síntesis del péptido objetivo

Los péptidos de la invención se han preparado utilizando el protocolo descrito a continuación.

15 En este Ejemplo AA se refiere a los aminoácidos del péptido. Los aminoácidos son aquellos correspondientes al péptido de fórmula (I). La síntesis química de péptidos se inicia en el extremo C-terminal del péptido y termina en el extremo N-terminal. Por lo tanto, el primer AA es Pro para el péptido de fórmula (I).

20 Fmoc-AA-OH (3 eq) se incorporó directamente sobre la resina (0,5 mmol/g) con HBTU (3 eq), DIPEA (6 eq) en DMF durante 1 h. Los lavados se realizaron con DMF (5 x 30 s) y DCM (5 x 30 s). Se utilizó la prueba de Kaiser para comprobar que el acoplamiento fue exitoso. Para la desprotección del grupo Fmoc, la resina se solvató con DMF (5 x 30 s), se trató con una solución de piperidina/DMF 20% (3 x 5 min) y finalmente se lavó con DMF (5 x 30 s) y DCM (5 x 30 s). Entonces, la resina se solvató con DMF (5 x 30 s). El mismo procedimiento se repitió sucesivamente n  
 25 veces con los siguientes aminoácidos Fmoc-AA-OH. Finalmente, la escisión del péptido de la resina se llevó a cabo por tratamiento de la resina con TFA:TIS: H<sub>2</sub>O (95:2,5:2,5) durante 1 h, rindiendo el péptido de secuencia HPLC: columna C18; UV 220 nm; flujo de 1 mL/min; gradiente de acetonitrilo-agua en 8 min.

Los siguientes péptidos de secuencia de fórmula (I) se han preparado utilizando el protocolo descrito:

30 Péptido 1: Palm-Lys-Phe-Asn-Leu-Pro-Leu-Gly-Asn-Tyr-Lys-Lys-Pro-NH<sub>2</sub> (Palm-SEQ ID NO: 1-NH<sub>2</sub>)  
 Péptido 2: Palm-Lys-Ala-Asn-Leu-Pro-Leu-Gly-Asn-Tyr-Lys-Lys-Pro-NH<sub>2</sub> (Palm-SEQ ID NO: 2-NH<sub>2</sub>)  
 Péptido 3: Palm-Lys-Phe-Ala-Leu-Pro-Leu-Gly-Asn-Tyr-Lys-Lys-Pro-NH<sub>2</sub> (Palm-SEQ ID NO: 3-NH<sub>2</sub>)  
 Péptido 4: Palm-Lys-Phe-Asn-Ala-Pro-Leu-Gly-Asn-Tyr-Lys-Lys-Pro-NH<sub>2</sub> (Palm-SEQ ID NO: 4-NH<sub>2</sub>)  
 35 Péptido 5: Palm-Lys-Phe-Asn-Leu-Ala-Leu-Gly-Asn-Tyr-Lys-Lys-Pro-NH<sub>2</sub> (Palm-SEQ ID NO: 5-NH<sub>2</sub>)  
 Péptido 6: Palm-Lys-Phe-Asn-Leu-Pro-Ala-Gly-Asn-Tyr-Lys-Lys-Pro-NH<sub>2</sub> (Palm-SEQ ID NO: 6-NH<sub>2</sub>)  
 Péptido 7: Palm-Lys-Phe-Asn-Leu-Pro-Leu-Ala-Asn-Tyr-Lys-Lys-Pro-NH<sub>2</sub> (Palm-SEQ ID NO: 7-NH<sub>2</sub>)  
 Péptido 8: Palm-Lys-Phe-Asn-Leu-Pro-Leu-Gly-Ala-Tyr-Lys-Lys-Pro-NH<sub>2</sub> (Palm-SEQ ID NO: 8-NH<sub>2</sub>)  
 Péptido 9: Palm-Lys-Phe-Asn-Leu-Pro-Leu-Gly-Asn-Ala-Lys-Lys-Pro-NH<sub>2</sub> (Palm-SEQ ID NO: 9-NH<sub>2</sub>)  
 40 Péptido 10: Palm-Lys-Phe-Asn-Leu-Pro-Leu-Gly-Asn-Tyr-Ala-Lys-Pro-NH<sub>2</sub> (Palm-SEQ ID NO: 10-NH<sub>2</sub>)  
 Péptido 11: Palm-Lys-Phe-Asn-Leu-Pro-Leu-Gly-Asn-Tyr-Lys-Ala-Pro-NH<sub>2</sub> (Palm-SEQ ID NO: 11-NH<sub>2</sub>)  
 Péptido 12: Palm-Lys-Phe-Asn-Leu-Pro-Leu-Gly-Asn-Tyr-Lys-Lys-Ala-NH<sub>2</sub> (Palm-SEQ ID NO: 12-NH<sub>2</sub>)

### Ejemplo 2. Preparación de las microcápsulas

45 1 g de poli (D,L lactida-co-glicolida) (PLGA) (Resomer® RG 502 H, relación molar de lactida/glicolida 48:52 a 52:48) en 10 ml de acetona que contiene hidrolizado de proteína de soja (25 ml) (Dynachondrine™) se añadió gota a gota a 100 ml de alcohol de polivinilo alcohol (PVA) acuoso al 1% (p/v), y la mezcla se emulsionó durante 3 min usando un aparato de ultrasonidos. Después de la evaporación del disolvente durante toda la noche a 4 °C, las microcápsulas se  
 50 recogieron mediante ultracentrifugación a 60000 x g durante 30 min, se lavaron tres veces con agua destilada, y después se liofilizaron durante 3 a 4 días. Las microcápsulas obtenidas en este paso se designan como microcápsulas no dirigidas en los ejemplos.

Los péptidos 1 a 12 preparados en el Ejemplo 1 se acoplaron por el extremo N-terminal del péptido (Lys) a las  
 55 microcápsulas no dirigidas obtenidas anteriormente a través de amida unida a los grupos carboxilo en la superficie de las microcápsulas presentes en la superficie de la microcápsula (perteneciente al polímero interior). Así, los grupos carboxilo en la superficie de las microcápsulas se activaron por la resuspensión de las microcápsulas en tampón salino de 0,1 M ácido 2-(N-morfolino)etanosulfónico (MES) isotónico a pH 5,5, y luego reaccionaron con 1-etil-3-(3-dimetil  
 60 aminopropil)carbodiimida (EDAC) (10 equiv.) y N-hidroxisuccinimida (NHS) (10 equiv.) durante 1 h. Las microcápsulas se centrifugaron (15000 rpm, 45 min) a continuación para eliminar el exceso de EDAC/NHS y el subproducto de isourea soluble en agua. Las microcápsulas activadas (1 g) se resuspendieron en fosfato salino tamponado (PBS, 40 ml) y se hicieron reaccionar con el grupo amino N-terminal del péptido de la secuencia de fórmula (I) (0,150 g) a temperatura ambiente. Las microcápsulas recubiertas se centrifugaron (15000 rpm, 30 min) y se lavaron con tampón PBS (3 x 10  
 65 ml) para eliminar cualquier péptido no unido. La presencia de péptido unido a la superficie se confirmó mediante pruebas de Kaiser de la ninhidrina. El péptido sin reaccionar se separó de las microcápsulas después de la etapa de reacción correspondiente por análisis del sobrenadante de la centrifugación (etapa descrita anteriormente) usando

ácido 2,4,6-trinitrobenzenosulfónico (TNBS) como ensayo colorimétrico: 700 microlitros de sobrenadante fueron añadidos a 700 microlitros de tampón de borato de sodio 0,1 M (pH 9,2). Se añadió 350 microlitros de solución acuosa de TNBS (1,65 mg/ml) y la solución se mezcló rápidamente. Después de la incubación a 40 °C durante 45 min., la reacción se detuvo mediante la adición de 0,3 ml de NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,1 M que contienen Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> 1,5 mM y se determinó la absorción a 420 nm en un espectrómetro UV/VIS. Las cantidades de péptido en la superficie de las microcápsulas se calcularon restando la cantidad libre de la cantidad total añadida al sistema de reacción, siendo en este caso 0,1%.

El diámetro de las microcápsulas se determinó por microscopía electrónica de barrido (SEM) y nanómetro que muestra una distribución de tamaño entre 180 y 400 nm.

En los ejemplos las microcápsulas obtenidas de acuerdo con el protocolo anterior se designan con el número del péptido utilizado para su fabricación. Es decir, una microcápsula obtenida usando el protocolo anterior usando péptido 3 (Palm-Lys-Phe-Ala-Leu-Pro-Leu-Gly-Asn-Tyr-Lys-Lys-Pro-NH<sub>2</sub> (R<sup>2</sup>-SEQ ID NO: 3-R<sup>1</sup>)) se designa como microcápsula 3.

### Ejemplo 3. Determinación de la afinidad por las quinasas FGFR de los péptidos de la invención

La evaluación de los efectos de los dodecapéptidos de la invención sobre la actividad de la quinasa FGFR1 humana se cuantificó midiendo la fosforilación del sustrato Ulight-CAGAGAIETDKEYYTVKD (JAK1) utilizando una enzima recombinante humana expresada en células de insectos y el método de detección LANCE® usando el protocolo descrito a continuación:

El péptido a ensayar, el compuesto de referencia o agua (control) se mezclan con la enzima (0,252 ng) en un tampón que contiene Hepes/Tris 40 mM (pH 7,4), EGTA/Tris 0,8 mM, MgCl<sub>2</sub> 8 mM, DTT 1,6 mM y Tween 20 al 0,008% (Para las mediciones de control basal, la enzima se omite de la mezcla de reacción). A partir de entonces, la reacción se inició mediante la adición de 100 nM del sustrato Ulight-CAGAGAIETDKEYYTVKD (SEQ ID NO: 13) (JAK-1 péptido) y ATP 100 μM, y la mezcla se incubó durante 60 min a temperatura ambiente. Después de la incubación, la reacción se detuvo mediante la adición de EDTA 13 mM. Después de 5 minutos, se añadió el anticuerpo anti-fosfo-PT66 marcado con quelato de europio (antifosfotirosina Anticuerpo PT66 marcado con EU-W1024, de Perkin Elmer). Después de 60 min más, la transferencia de fluorescencia se mide a λ<sub>ex</sub> = 337 nm, λ<sub>em</sub> = 620 nm y λ<sub>em</sub> = 665 nm usando un lector de microplacas (Envision, Perkin Elmer).

La actividad enzimática se determina dividiendo la señal medida a 665 nm por la medida a 620 nm (razón). Los resultados se expresan como un porcentaje de inhibición de la actividad de la enzima de control.

El compuesto de referencia inhibidor estándar es de estaurosporina, que se ensaya en cada experimento a varias concentraciones para obtener una curva de inhibición de la que se calcula su valor CI<sub>50</sub>.

Tabla 1

Péptido	% de inhibición de quinasa FGFR1	% de inhibición de quinasa FGFR2	% de inhibición de quinasa FGFR3	% de inhibición de quinasa FGFR4
1	0	95,4	75,8	38,7
2	0	96,3	38,8	96,4
3	85	98,7	91,9	65,9
4	0	87,5	60,8	0
5	0	91,1	49,6	0
6	92,7	98,8	78,5	69,8
7	0	98,4	72,9	67,9
8	0	98,8	87,9	89,5
9	15,7	99,4	91,6	92,5
10	0	93,4	0	0
11	0	89,9	19,3	0
12	0	90,1	46,4	42,3

Los resultados que muestran una inhibición (o estímulo para los ensayos se ejecutan en condiciones basales) mayores del 20% se consideran que representan efectos significativos de los péptidos de la invención.

**Ejemplo 4. Ensayos de citotoxicidad**

Se utilizaron fibroblastos dérmicos humanos y queratinocitos humanos. Las células aisladas se cultivaron en medio de cultivo DMEM suplementado con FCS al 10% y se incubaron a 37 °C durante el tratamiento de mantenimiento.

5 Como control negativo se utilizaron células no tratadas. El control positivo fue SDS al 0,1%. Las microcápsulas obtenidas en el Ejemplo 2 se ensayaron en el medio de cultivo DMEM al 0,03%. Estos porcentajes en peso se refieren al peso de la microcápsula en relación con el peso total.

10 Las células se sembraron a 20000 células por pocillo en una placa de 96 pocillos. 24 horas después de la siembra, las células se incubaron en las condiciones descritas anteriormente. Después de 48h de incubación a 37 °C, el medio de cultivo se retiró y se añadió el reactivo MTT. Las células se incubaron 2 horas a 37 °C. A continuación se añadió DMSO y la absorbancia de la sal de formazán formada se midió a  $\lambda$  de 570 nm. Valores de absorbancia inferiores corresponden a las células con actividad metabólica más baja, que se correlaciona con un mayor daño y, por lo tanto, con un mayor efecto citotóxico. Por lo tanto, la cantidad de células vivas es proporcional a la cantidad de formazán producido. La Tabla 2 muestra el porcentaje de viabilidad celular, así como la desviación estándar (DE), en las diferentes líneas celulares después de los diferentes tratamientos.

Tabla 2

Producto ensayado microcápsulas dirigidas con los péptidos	Fibroblastos		Queratinocitos	
	% viabilidad celular	DE	% viabilidad celular	DE
Control	100	4	100	3
SDS	25.0	2	12	1
Microcápsula 1 (0,003%)	99	3	80	3
Microcápsula 2 (0,03%)	100	1	102	3
Microcápsula 3 (0,03%)	100	2	100	2
Microcápsula 4 (0,03%)	100	3	100	2
Microcápsula 5 (0,03%)	90	4	100	3
Microcápsula 6 (0,03%)	100	2	100	1
Microcápsula 7 (0,03%)	85	2	80	4
Microcápsula 8 (0,03%)	100	1	100	2
Microcápsula 9 (0,03%)	100	2	100	3
Microcápsula 10 (0,03%)	90	1	100	2
Microcápsula 11 (0,03%)	90	2	100	1
Microcápsula 12 (0,03%)	100	1	80	2

20 Como puede verse, las microcápsulas del Ejemplo 2 no mostraron cambios en la viabilidad celular a las diferentes concentraciones ensayadas. Por lo tanto, se puede concluir que las microcápsulas del Ejemplo 2 no son citotóxicas en cualquiera de las líneas celulares empleadas.

**25 Ejemplo 5. Tipo de afinidad a la célula de las microcápsulas de la invención**

Los diferentes tipos de células se incubaron con microcápsulas 3 (50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) o con microcápsulas no dirigidas (50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) a 37 °C durante 3 h. Las células se lavaron y se tiñeron con el anticuerpo específico del receptor o anticuerpo de control de isotipo para detectar específicamente tipos distintos de células. Posteriormente, las células se analizaron por citometría de flujo en un FacsCalibur. La fluorescencia asociada a las células se calculó dividiendo la intensidad de fluorescencia celular media (mfi) para una muestra dada por los fibroblastos incubados con las microcápsulas de la invención.

35

Tabla 3

Tipo de célula	Microcápsulas 3 (%)	Microcápsulas no dirigidas (%)
Fibroblasto	96 ± 2	10 ± 2
Melanocito	14 ± 8	14 ± 2
Linfocito	2 ± 1	12 ± 1
Monocito	6 ± 1	8 ± 1
Célula dendrítica	9 ± 1	14 ± 2
Queratinocito	14 ± 2	10 ± 1

5 Los resultados que se resumen en la tabla 3 muestran claramente que las microcápsulas son más selectivas a los fibroblastos que las microcápsulas no dirigidas.

10 **Ejemplo 6. Síntesis de colágeno y elastina en fibroblastos dérmicos humanos incubados con diferentes estimuladores.**

Protocolo para la determinación de colágeno

15 Fibroblastos dérmicos humanos (HDF) se recogieron en placas de 96 pocillos (3000 células por pocillo), y se pusieron a crecer en DMEM que contiene suero bovino fetal (FBS) (Invitrogen, Maryland, EE.UU.) al 5% durante 24 horas. Después, el medio fue reemplazado por uno nuevo que contiene SFB al 0,1% y el tratamiento pertinente para determinar la producción de colágeno. Después de la incubación con 50 µg/mL de microcápsulas no dirigidas o con 50 µg/mL de las microcápsulas a ensayar a los días 1, 2, 3, 4, 5 y 6, se añadieron cantidades iguales de sobrenadante a una placa cubierta con anticuerpo humano de colágeno de tipo I. La placa se incubó a temperatura ambiente durante 20 horas para permitir la reacción entre el anticuerpo y el colágeno producido. Posteriormente, la placa se lavó tres veces con PBS que contenía Tween 20 al 0,5% para eliminar el resto de la muestra que no se unen. Entonces, se añadió anticuerpo humano de colágeno tipo I, marcado con biotina durante 1 hora. Después de lavar la placa con PBS que contenía Tween 20 al 0,5% para eliminar interacciones inespecíficas, se añadió estreptavidina-peroxidasa de rábano picante (HRP) (St Louis, Sigma). La cantidad de colágeno tipo I en cada pocillo se determinó usando 25 tetrametilbenzidine (St Louis, Sigma) con sustrato de HRP. La reacción entre HRP y TMB se detuvo mediante la adición de HCl 1 N, y se midió la OD a 450 nm.

Tabla 4

Colágeno tipo I (ng/ml)			
Tiempo (días)	Cápsulas no dirigidas	Microcápsulas 3	% incremento
1	60	130	27
2	55	132	140
3	48	155	223
4	50	167	234
5	65	185	184
6	80	197	146

30 Protocolo para la determinación de elastina

35 Fibroblastos dérmicos humanos (HDF) se recogieron en placas de 96 pocillos (3000 células por pocillo), y se pusieron a crecer en DMEM que contiene suero bovino fetal (FBS) (Invitrogen, Maryland, EE.UU.) al 5% durante 24 horas. Después, el medio fue reemplazado por uno nuevo que contiene FBS al 0,1% y 50 µg/mL de las microcápsulas 1 a 12 para determinar la producción de elastina. Después de la incubación con 50 µg/mL de microcápsulas no dirigidas o

con 50 µg/mL de las microcápsulas a ensayar a los días 1, 2, 3, 4, 5 y 6, se añadieron cantidades iguales de sobrenadante a una placa de cubierta con anticuerpo humano de la elastina. La placa se incubó a temperatura ambiente durante 2 horas para permitir la reacción entre el anticuerpo y la elastina producida. Posteriormente, la placa se lavó tres veces con PBS que contenía Tween 20 al 0,5% para eliminar el resto de la muestra que no se une. Después, se añadió anticuerpo humano de la elastina, marcado con biotina durante 1 hora. Después de lavar la placa con PBS que contenía Tween 20 al 0,5% para eliminar interacciones inespecíficas, se añadió estreptavidina-peroxidasa de rábano (HRP) (St Louis, Sigma). La cantidad de elastina en cada pocillo se determinó usando tetramethylbenzidine (St Louis, Sigma) con sustrato de HRP. La reacción entre HRP y TMB se detuvo mediante la adición de HCl 1 N, y se midió la OD a 450 nm.

Tabla 5

Elastina (ng/ml)			
Tiempo (días)	Cápsulas no dirigidas	Microcápsulas 3	% incremento
1	5	14	180
2	7	17	143
3	4	23	475
4	5	26	420
5	4	34	750
6	7	45	543

Los resultados resumidos en las Tablas 4 y 5 muestran claramente que el uso de las microcápsulas de la invención aumenta la producción de colágeno de tipo 1 y la elastina en fibroblastos dérmicos humanos.

**Listado de secuencias**

<110> Infnitec Activos, S.L.  
Peptidepharma Nova, S.L.

<120> Microcápsulas dirigidas a fibroblastos para entrega de agentes antienvjecimiento a la piel

<130> P11593PC00

<150> EP15382077.4  
<151> 2015-02-25

<160> 13

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Péptido 1

<400> 1

**Lys Phe Asn Leu Pro Leu Gly Asn Tyr Lys Lys Pro**  
**1 5 10**

<210> 2  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Péptido 2

<400> 2

Lys Ala Asn Leu Pro Leu Gly Asn Tyr Lys Lys Pro  
 1 5 10

5

<210> 3  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10

<220>  
 <223> Péptido 3

<400> 3

15

Lys Phe Ala Leu Pro Leu Gly Asn Tyr Lys Lys Pro  
 1 5 10

<210> 4  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20

<220>  
 <223> Péptido 4

25

<400> 4

Lys Phe Asn Ala Pro Leu Gly Asn Tyr Lys Lys Pro  
 1 5 10

<210> 5  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

30

<220>  
 <223> Péptido 5

35

<400> 5

Lys Phe Asn Leu Ala Leu Gly Asn Tyr Lys Lys Pro  
 1 5 10

40

<210> 6  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

45

<220>  
 <223> Péptido 6

50

<400> 6

Lys Phe Asn Leu Pro Ala Gly Asn Tyr Lys Lys Pro  
 1 5 10

55

<210> 7  
 <211> 12  
 <212> PRT

ES 2 717 830 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido 7

5 <400> 7

**Lys Phe Asn Leu Pro Leu Ala Asn Tyr Lys Lys Pro**  
**1 5 10**

10 <210> 8  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

15 <220>  
 <223> Péptido 8

<400> 8

20 **Lys Phe Asn Leu Pro Leu Gly Ala Tyr Lys Lys Pro**  
**1 5 10**

<210> 9  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido 9

30 <400> 9

**Lys Phe Asn Leu Pro Leu Gly Asn Ala Lys Lys Pro**  
**1 5 10**

35 <210> 10  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

40 <220>  
 <223> Péptido 10

<400> 10

**Lys Phe Asn Leu Pro Leu Gly Asn Tyr Ala Lys Pro**  
**1 5 10**

45 <210> 11  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Péptido 11

55 <400> 11

ES 2 717 830 T3

Lys Phe Asn Leu Pro Leu Gly Asn Tyr Lys Ala Pro  
1 5 10

5 <210> 12  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<223> Péptido 12  
<400> 12

Lys Phe Asn Leu Pro Leu Gly Asn Tyr Lys Lys Ala  
1 5 10

15 <210> 13  
<211> 18  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

20 <220>  
<223> Sustrato  
<400> 13

Cys Ala Gly Ala Gly Ala Ile Glu Thr Asp Lys Glu Tyr Tyr Thr Val  
1 5 10 15

25 Lys Asp



## REIVINDICACIONES

1. Péptido de fórmula (I):

5  $R^2$ -Lys<sup>1</sup>-Phe<sup>2</sup>-Asn<sup>3</sup>-Leu<sup>4</sup>-Pro<sup>5</sup>-Leu<sup>6</sup>-Gly<sup>7</sup>-Asn<sup>8</sup>-Tyr<sup>9</sup>-Lys<sup>10</sup>-Lys<sup>11</sup>-Pro<sup>12</sup>-R<sup>1</sup> (I) (R<sup>2</sup>-SEQ ID NO: 1-R<sup>1</sup>)

o análogos del mismo en los que uno de los residuos aminoácido 2 a 12 se sustituye con un residuo alanina en la que

10

R<sup>1</sup> se selecciona del grupo que consiste en -OH, -OR<sup>3</sup>, -SR<sup>3</sup>, -NR<sup>3</sup>R<sup>4</sup>, -OR<sup>5</sup> y -NHR<sup>5</sup>;

R<sup>2</sup> se selecciona del grupo que consiste en H-, R<sup>3</sup>-C(O)- y R<sup>3</sup>-OC(O)-,

15

R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> se seleccionan independientemente entre H, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>24</sub>, alqueno C<sub>2</sub>-C<sub>24</sub> y arilo C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>;

en donde R<sup>5</sup> se selecciona del grupo que consiste

20 en -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-PEG-CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>, -PEG-R<sup>6</sup>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-O-PEG-R<sup>6</sup>, -CO-O-PEG-R<sup>6</sup>, -CO-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)-CO-O-PEG-R<sup>6</sup>, -CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-O-PEG-R<sup>6</sup>, -CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-CH(R<sup>7</sup>)-O-PEG-R<sup>6</sup>, -CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-CH(R<sup>7</sup>)-O-CO-CH(R<sup>7</sup>)-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-O-PEG-R<sup>6</sup> y -(1,3,5-triazina)-(O-PEG-R<sup>6</sup>)<sub>2</sub>,

PEG es un grupo poliéter seleccionado del grupo que consiste en

25

-(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>,  
-(CH<sub>2</sub>-CH(CH<sub>3</sub>)-O)<sub>o</sub>,  
-(CH(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>2</sub>-O)<sub>o</sub>,  
-(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-(CH<sub>2</sub>-CH(CH<sub>3</sub>)-O)<sub>o</sub>-(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>p</sub>,  
-(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-(CH(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>2</sub>-O)<sub>o</sub>-(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>p</sub>,

30

-(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-(CH(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>2</sub>-O)<sub>o</sub>,  
-(CH<sub>2</sub>-CH(CH<sub>3</sub>)-O)<sub>o</sub>-(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>,  
-(CH(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>2</sub>-O)<sub>o</sub>-(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>,  
-(CH<sub>2</sub>-CH(CH<sub>3</sub>)-O)<sub>o</sub>-(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-(CH<sub>2</sub>-CH(CH<sub>3</sub>)-O)<sub>q</sub>,  
-(CH<sub>2</sub>-CH(CH<sub>3</sub>)-O)<sub>o</sub>-(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-(CH(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>2</sub>-O)<sub>q</sub>,  
35 -(CH(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>2</sub>-O)<sub>o</sub>-(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-(CH<sub>2</sub>-CH(CH<sub>3</sub>)-O)<sub>q</sub> y  
-(CH(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>2</sub>-O)<sub>o</sub>-(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-(CH(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>2</sub>-O)<sub>o</sub>,

R<sup>6</sup> es un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo C<sub>1-4</sub>;

40

R<sup>7</sup> es un grupo alquilo C<sub>1-4</sub>,

m es un número entero de 1 a 4,

n y p son números enteros entre 1 y 10

45

m y o son números enteros entre 1 y 10

y las sales y solvatos cosméticamente aceptables de los mismos.

50

2. Microcápsula que comprende un péptido según se define en la reivindicación 1, acoplado a la superficie exterior de la misma.

55

3. Microcápsula de acuerdo con la reivindicación 2 que comprende adicionalmente un compuesto antienviejecimiento seleccionado del grupo que consiste en péptidos; extracto de hoja de olivo, ácido oleanólico, oleanol, extracto de té verde, extracto de acerola, creatina, extractos de granos de maíz, extractos de saúco negro, extracto de granos de cacao, extractos de menta, dihidroquercetina (taxifolina), extracto de raíz de jengibre, galanga, extracto de eneldo, raíz de jengibre, o extracto de raíz de Zingiber officinale (inhibidor COX-2), Galanga o extracto de Alpinia Officinarum, cúrcuma, o extracto de raíz de Curcuma Longa, mango jengibre, o cúrcuma amada, Capsicum o extracto de Capsicum annuum, familia del clavo, o extracto de Syzygium Aromaticum, Evodia, o extracto de fruto de Evodia Rutaecarpa, Boswellia, o extracto de Boswellia Serrata, SAME, o S-adenosilmetionina, Eucomis o Eucomis L"Herit, Celastrus o Celastrus orbiculatus, Tithonia, o Tithonia diversifolia, Kochia o extracto de Kochia Scoparia, escoparia, o extracto de Scoparia dulcis, Qiang Huo, o Notopterygium incisum, canela o extracto de Cinnamomum cassia, bambú mexicano o extracto de Polygonum cuspidatum, Ogon, Baikal Scullcap, o extracto de Scutellaria baicalensis, Coptis, Xianglian o extractos de Coptis chinensis, Psoralea, extracto de Rumex, extracto de Baccharis, extracto de matricaria, Vitis, extracto de Stephania, Corydalis o extracto de raíz de Corydalis Turtschaninovii, extracto de Castaño de Indias (extracto de Aesculus hippocastanum)), esclulina, escina, yohimbina, extracto de oleorresina Capsicum, capsaicina,

65

niacina, ésteres de niacina, nicotinato de metilo, nicotinato de bencilo, ruscogeninas (extracto de rusco; extracto de *Ruscus aculeatus*), diosgenina (*Trigonella foenumgraecum*, alholva), extracto de *Embllica* (extracto de *Phyllanthus emblica*), asiaticósido (extracto de *Centella asiatica*), extracto de *Boswellia* (*Boswellia serrata*), extracto de raíz de jengibre (*Zingiber Officianalis*), piperina, la vitamina K, Melilot (extracto de *Melilotus officinalis*), ácido glicirretínico, ácido ursólico, sericósido (extracto de *Terminalia sericea*), darutósido (extracto de *Siegesbeckia orientalis*), extracto de *Amni visnaga*, extracto de hojas de vid roja (*Vitis vinifera*), apigenina, fitosano y luteolina; vitaminas seleccionadas del grupo que consiste en vitamina A, vitamina B, vitamina C, vitamina E, vitamina H y vitamina K, extracto de té verde, resveratrol, ácido elágico; coenzimas Q10, superoxidodismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa, etc; flavonoides seleccionados de entre el grupo que consiste en acacetin, apigenina, baicaleína, crisina, diosmetina, diosmina, galangina, hidroxiflavonas, isoramnetina, kaempferol, luteolina, flavonas, isoflavonas, queratina, ubiquinona, ubiquinol, silimarina, ectoína, ácido hialurónico; ácido retinoico, retinaldehído, retinol, retinil, retinoato, ésteres de retinilo, melatonina; resveratrol, proantocianidinas oligoméricas (OPC), extracto de regaliz, alfa-bisabolol, azuleno, ácido glicirrético, extracto de aloe vera y extracto de *Rosmarinum officinalis*; gingerol, shogaol, zingerona, y capsaicina, extracto de Castaño de Indias (extracto de *Aesculus hippocastanum*), esculina, escina, yohimbina, Capsicum Oleoresina, capsaicina, niacina, ésteres de niacina, nicotinato de metilo, nicotinato de bencilo., *Oroxylum* y catequina.

4. Microcápsula de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2 a 3, caracterizada porque tiene al menos una cubierta que comprende un material polimérico.

5. Microcápsula de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, caracterizada porque se trata de una microcápsula polimérica bicapa y en la que los polímeros que forman la cubierta de la microcápsula se seleccionan del grupo que consiste en poli(D,L-lactida-co-glicolida), ácidos polilácticos, poli(fumarato de propileno-co-etilenglicol) [P(PF-co-EG)] copolímero de bloque, poli-anhídrido de anhídrido de poli(fumárico-co-sebáico), poli(óxido de etileno)-poli(lactida/glicolida), poli(aminoácido), alcohol de polivinilo, alginato, dextrano, quitosano, hidroxiapatita, colágeno, fibrina, ácido hialurónico, carbómeros, poli(aminoácido) y poli(etilenglicol).

6. Microcápsula de acuerdo con la reivindicación 5, caracterizada porque la microcápsula polimérica bicapa comprende poli (D,L-lactida-co-glicolida) como polímero de la capa interior y alcohol de polivinilo como polímero de la capa exterior.

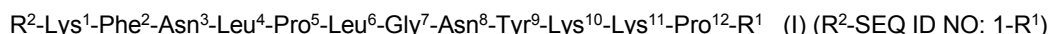
7. Microcápsula de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2 a 6, caracterizada porque el compuesto de fórmula (I) está acoplado covalentemente al polímero de la capa exterior de la microcápsula.

8. Microcápsula de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, caracterizada porque tiene un tamaño en el rango de desde 10 hasta 10000 nm.

9. Proceso para la obtención de las microcápsulas según se definen en las reivindicaciones 2 a 8, que comprende los pasos de

a) formar la microcápsula que encapsula el compuesto antienvjecimiento y

b) acoplar un compuesto de fórmula (I):



o análogos del mismo en los que uno de los residuos aminoácido 2 a 12 se sustituye con un residuo alanina en la que

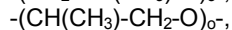
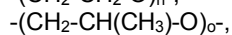
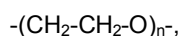
R<sup>1</sup> se selecciona del grupo que consiste en -OH, -OR<sup>3</sup>, -SR<sup>3</sup>, -NR<sup>3</sup>R<sup>4</sup>, -OR<sup>5</sup> y -NHR<sup>5</sup>;

R<sup>2</sup> se selecciona del grupo que consiste en H-, R<sup>3</sup>-C(O)- y R<sup>3</sup>-OC(O)-,

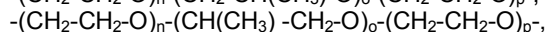
R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> se seleccionan independientemente entre H, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>24</sub>, alqueno C<sub>2</sub>-C<sub>24</sub> y arilo C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub>;

en donde R<sup>5</sup> se selecciona del grupo que consiste en -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-PEG-CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>, -PEG-R<sup>6</sup>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-O-PEG-R<sup>6</sup>, -CO-O-PEG-R<sup>6</sup>, -CO-(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)-CO-O-PEG-R<sup>6</sup>, -CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-O-PEG-R<sup>6</sup>, -CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-CH(R<sup>7</sup>)-O-PEG-R<sup>6</sup>, -CO-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-CH(R<sup>7</sup>)-O-CO-CH(R<sup>7</sup>)-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-O-PEG-R<sup>6</sup> y -(1,3,5-triazina)-(O-PEG-R<sup>6</sup>)<sub>2</sub>,

PEG es un grupo poliéter seleccionado del grupo que consiste en



-(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub>-(CH<sub>2</sub>-CH(CH<sub>3</sub>)-O)<sub>o</sub>-(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>p</sub>-,



- $-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})_n-(\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-\text{O})_o-$ ,  
 $-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})_n-(\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{O})_o-$ ,  
 $-(\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{O})_o-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})_n-$ ,  
 $-(\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-\text{O})_o-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})_n-$ ,  
 5  $-(\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{O})_o-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})_n-(\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{O})_q-$ ,  
 $-(\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{O})_o-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})_n-(\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-\text{O})_q-$ ,  
 $-(\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2\text{O})_o-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})_n-(\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{O})_q-$  y  
 $-(\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2\text{O})_o-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})_n-(\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-\text{O})_o-$ ,
- 10  $\text{R}^6$  es un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo  $\text{C}_{1-4}$ ; y
- $\text{R}^7$  es un grupo alquilo  $\text{C}_{1-4}$
- m es un número entero de 1 a 4
- 15 n y p son números enteros entre 1 y 10
- m y o son números enteros entre 1 y 10
- 20 y las sales y solvatos cosméticamente aceptables de los mismos, a la superficie exterior de la microcápsula después de formar la microcápsula.
10. Proceso de acuerdo con la reivindicación 9, en el que la microcápsula es una microcápsula polimérica bicapa que tiene un polímero de capa interior y un polímero de capa exterior y la etapa a) de formación de la microcápsula comprende las etapas de
- 25 a1) mezclar el polímero de la capa interior con el compuesto antienviejimiento en un disolvente adecuado,
- a2) emulsionar la mezcla obtenida en la etapa a) con el polímero de la capa exterior en un disolvente adecuado, y
- 30 opcionalmente
- a3) aislar las microcápsulas.
11. Composición cosmética que comprende la microcápsula según se define en una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 10.
- 35 12. Uso cosmético de un péptido según se define en la reivindicación 1 para la estimulación de la síntesis de colágeno tipo I y o la síntesis de la elastina.
- 40 13. Uso de las microcápsulas como se definen en cualquiera de las reivindicaciones 2 a 10 para la prevención cosmética y/o el tratamiento cosmético del envejecimiento de la piel.
- 45 14. Uso de las microcápsulas según se define en cualquiera de las reivindicaciones 2 a 10 para mejorar aspecto de la piel mediante la consecución de uno o más de los siguientes efectos: aumento de la luminosidad de la piel, aumento de la elasticidad de la piel, disminución de la rugosidad de la piel, reducción de las arrugas de la piel, aumento del adelgazamiento de la piel aparente, reducción de los defectos de la pigmentación de la piel.