

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 960 500**

51 Int. Cl.:

A61P 43/00 (2006.01)

A61K 31/198 (2006.01)

A61K 31/7028 (2006.01)

A61K 8/44 (2006.01)

A61Q 7/00 (2006.01)

A61K 8/60 (2006.01)

A61K 31/7105 (2006.01)

A61K 8/49 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.07.2019** **E 19186785 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.08.2023** **EP 3766545**

54 Título: **Agente activo para uso en la regulación del crecimiento del cabello**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
05.03.2024

73 Titular/es:

**CUTANEON -SKIN & HAIR INNOVATIONS GMBH
(100.0%)
Flughafenstraße 52a
22335 Hamburg, DE**

72 Inventor/es:

**ROUILLE, THOMAS;
CHERÉT, JEREMY;
WARD, CHRIS y
PAUS, RALF**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 960 500 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

Agente activo para uso en la regulación del crecimiento del cabello

La presente invención está dirigida a un agente activo para uso en la regulación del crecimiento del cabello, particularmente para uso en el tratamiento del crecimiento del cabello, en donde dicho agente activo modula la actividad de un receptor del gusto, que incluye, pero no se limita a, activación, potenciación, inactivación, bloqueo o amortiguación de la respuesta celular de un receptor del gusto o la interferencia con la expresión de dicho receptor. Además, la presente invención está dirigida a una composición para uso como cosmético o medicamento en el tratamiento del crecimiento del cabello, comprendiendo dicha composición al menos un agente activo que modula la actividad de un receptor del gusto, que incluye, pero no se limita a, activación, potenciación, inactivación, bloqueo o amortiguación de la respuesta celular de un receptor del gusto o la interferencia con la expresión de dicho receptor. Además, la presente invención está dirigida a un método no terapéutico de regulación del crecimiento del cabello, en donde una cantidad eficaz de al menos un agente activo que modula la actividad de un receptor del gusto, que incluye, pero no se limita a, activación, potenciación, inactivación, bloqueo o amortiguación de la respuesta celular de un receptor del gusto o la interferencia con la expresión de dicho receptor, se administra a un sujeto.

Los estudios evolutivos sugieren que el ancestro común del folículo piloso era una estructura glandular simple con una función en la regulación de la hidratación, para permitir potencialmente la independencia del organismo de los ambientes acuáticos. La especialización de estas glándulas simples resultó en la evolución de los folículos pilosos con sus glándulas sebáceas asociadas y, en algunos casos, sudoríparas apocrinas.

La unidad pilosebácea (PSU), una compartimentación anatómica del folículo piloso y las partes circundantes consiste en el folículo piloso, el músculo erector del cabello, la glándula sebácea y, cuando está presente, la glándula sudorípara apocrina. El folículo piloso es una unidad de interacción epitelial-mesenquimal-neuroectodérmica que es la estructura más densamente innervada de la piel de los mamíferos y, además, el folículo piloso posee su propio sistema inmunológico. Como tal, el folículo piloso es mucho más que un simple órgano productor de cabello.

La formación de folículos pilosos ocurre una vez en la vida de los mamíferos sanos, y el número de folículos pilosos se determina en el útero. La morfogénesis del folículo piloso es la generación de toda la estructura del folículo piloso a partir de la epidermis y el mesodermo. Durante la vida posnatal, el folículo piloso sufre transformaciones cíclicas de por vida en donde progresa a través de etapas de rápido crecimiento (anágena), regresión (catágena) e inactividad relativa (telógena) clasificadas por indicadores morfológicos y marcadores moleculares.

Hay una serie de enfermedades comunes y raras asociadas con el ciclo del folículo piloso, como la alopecia no cicatricial, la alopecia cicatricial, la caída del cabello crónica y aguda, la hipertricosis o el hirsutismo. Además, hay una serie de otras condiciones en donde se desea controlar el cabello no deseado en el cuerpo humano o promover el crecimiento del cabello en áreas del cuerpo humano, como la pérdida de cabello inducida por fármacos (p. ej., quimioterapia), pérdida de cabello inducida por radiación (p. ej., radioterapia), crecimiento de cabello no deseado debido a medicamentos como la ciclosporina A o el diazóxido.

El documento US 2016166500 describe una composición de tónico para el cabello que comprende, entre otros, ácido abscísico, ácido indolbutírico y lantano. Dicha composición de tónico capilar se usará para producir el crecimiento del cabello o para prevenir la caída del cabello. El documento KR 20130087094 describe composiciones útiles para tratar la alopecia, en donde dichas composiciones contienen, entre otras cosas, triptófano. El documento JP H0543429 describe un tónico capilar cosmético que comprende, entre otros, ácido γ -aminobutírico. Dicho cosmético tónico capilar se usará en la prevención de la alopecia. El documento DE 10 2008 038242 A1 describe el uso de una preparación alcohólica que comprende, entre otros, alcanfor en el tratamiento de la alopecia areata. La compañía Universo Garden Angels ofrece un acondicionador para el control de la caída del cabello que comprende, entre otras cosas, quinina. Baar, H. M. J. et al. discuten en "Dapsone versus topical immunotherapy in alopecia areata" (British Journal of Dermatology, vol. 133, núm. 2, p. 270-274) el uso potencial de la dapsona en el tratamiento de la alopecia areata.

Existe una necesidad continua de agentes activos para controlar activamente el crecimiento del cabello en sujetos sin efectos secundarios no deseados. Los inventores de la presente invención encontraron que un receptor del gusto TAS2R4 se expresaba en el epitelio del folículo piloso (vainas externa de la raíz, vaina interna de la raíz y matriz del cabello) y en la papila dérmica, lo que sugiere que está involucrado en la regulación del crecimiento del cabello.

Además, los inventores de la presente solicitud han descubierto que la inactivación de TAS2R4 en folículos pilosos anágenos usando ARNi o un agonista inverso de TAS2R4, como N α ,N α -bis(carboximetil)-L-lisina (BCML) da como resultado la promoción del crecimiento del cabello, retraso promoción catágena, aumento en la proliferación y pigmentación del folículo piloso, asociado con la regulación al alza de la expresión del factor de crecimiento pro-anagénico IGF1 y la regulación a la baja del factor de crecimiento pro-catagénico TGF β 2. Por el contrario, la activación de TAS2R4 usando agonistas, como el rebaudiósido A, el rubusósido y el esteviósido, da como resultado la inhibición del crecimiento del cabello, una transición anágena-catágena acelerada, asociada con la reducción de la proliferación y pigmentación de las células del folículo piloso.

En conclusión, los inventores de la presente solicitud han encontrado que la administración de un agente activo que activa, potencia, inactiva, bloquea o amortigua la respuesta celular de un receptor o interfiere con la expresión del receptor del gusto TAS2R4 es eficaz en la regulación del crecimiento del cabello.

Un "receptor del gusto" describe originalmente un tipo de receptor que facilita la sensación del gusto en la cavidad bucal. Los receptores del gusto se dividen en dos familias, tipo 1 (dulce, TAS1 R2 - TAS1 R3) y tipo 2 (amargo, TAS2R1 - TAS2R50 y TAS2R60). Las combinaciones de estos receptores en dímeros u otros complejos contribuyen a diferentes percepciones del gusto. La presencia de TAS2R4 no se conoce previamente en las células del folículo piloso.

La expresión de ARNm de algunos pero no todos los TAS2R, incluidos (TAS2R3, TAS2R4, TAS2R5, TAS2R8, TAS2R9 TAS2R14, TAS2R30, TAS2R42 y TAS2R60) se detectó en el ARN recolectado de biopsias de piel de espesor completo (Shaw et al., 2018). Se ha informado la expresión de los receptores del sabor amargo TAS2R1 y TAS2R38 en queratinocitos epidérmicos humanos (Wölflle et al., 2015).

Se ha informado que varios receptores del sabor amargo se expresan en tejidos extraorales/nasales, como, pero no se limitan a, los órganos reproductivos, el tracto respiratorio superior, el tracto gastrointestinal, el cerebro y el sistema inmunitario (Behrens et Meyerhof, 2018; Luddi et al., 2019; Patel et al., 2018; Tran et al., 2018).

"TAS2R4" es el símbolo genético oficial del "miembro 4 del receptor del gusto tipo 2" e identifica la proteína codificada por el gen de TAS2R4 en humanos (ID del gen de NCBI: 50832; HGNC: 14911; secuencia de ARNm de NCBI: NM_016944.1; secuencia proteica de NCBI: NP_058640). La proteína es una proteína receptora transmembrana 7, miembro de la superfamilia de receptores acoplados a proteína G y funciona como un receptor de sabor amargo. Los niveles de expresión de ARN de TAS2R4 son más altos en la piel, los órganos reproductivos, el cerebro y los tejidos endocrinos.

Según una alternativa de la presente invención se usa en el tratamiento o regulación del crecimiento del cabello un agente activo que activa, potencia, inactiva, bloquea o amortigua la respuesta celular del receptor del gusto TAS2R4, en donde dicho agente activo es un agonista o antagonista del receptor del gusto TAS2R4.

Un agente activo que activa, potencia, inactiva, bloquea o amortigua la respuesta celular de un receptor es un agonista o un antagonista/agonista inverso del receptor, en donde un "agonista" es una sustancia que se une a un receptor y activa o potencia el receptor para producir la respuesta celular. Un "antagonista" es una sustancia que se une a un receptor y bloquea o amortigua la respuesta celular a un agonista en lugar de activarla o potenciarla como un agonista. Un "agonista inverso" es una sustancia que se une a un receptor e inactiva la respuesta celular a un agonista en lugar de activarla o potenciarla como un agonista.

En consecuencia, un agonista de la invención del receptor del gusto TAS2R4 activa o potencia el receptor TAS2R4 para producir la respuesta celular, mientras que el antagonista de la invención del receptor del gusto TAS2R4 bloquea o amortigua la respuesta del receptor TAS2R4 a los agonistas endógenos, y el agonista inverso de la invención del receptor del gusto TAS2R4 inactiva la respuesta del receptor TAS2R4 a los agonistas endógenos, para producir la respuesta celular.

En aquellas realizaciones, donde el agente activo es un agonista del receptor del gusto TAS2R4, dicho agente activo se usa en el tratamiento del crecimiento de cabello no deseado. En aquellas realizaciones, donde el agente activo es un antagonista/agonista inverso del receptor del gusto TAS2R4, dicho agente activo se usa en el tratamiento de la pérdida de cabello no deseada.

En realizaciones específicas de la invención, el agonista/antagonista/agonista inverso del receptor del gusto usado es un agonista de TAS2R4 seleccionado del grupo que consiste en amarogentina, arborescina, artemorina, azatioprina, clorfeniramina, benzoato de denatonio, difenidol, dulcósido A, (-)-epicatequina, leu-leu-leu, leu-trp, partenolida, propiltiouracilo, phe-trp, cuasina, rebaudiósido A, rebaudiósido B, rebaudiósido C, rubusósido, esteviolbiósido, esteviósido, sucralosa, ácido taurocólico, trp-leu, trp-phe, trp-pro, trp-trp, trp-trp-trp, xantoxina, yohimbina y combinaciones de los mismos. Alternativamente, el agonista de TAS2R4 es un aptámero que se une al receptor TAS2R4 y activa o potencia el receptor para producir la respuesta celular.

El término "aptámero", como se usa en la presente memoria, se refiere a moléculas de oligonucleótidos o péptidos de ADN, ARN o AXN que se unen a una molécula diana específica, tal como moléculas receptoras.

En otras realizaciones de la invención, el agonista/antagonista/agonista inverso del receptor del gusto usado es un antagonista/agonista inverso de TAS2R4 seleccionado del grupo que consiste en carboximetil-lisina (CML), hidrato de Na,Nα-bis(carboximetil)-L-lisina (BCML); dímero de lisina derivado de glioxal (GOLD), ácido 4-(2,2,3-trimetilciclopentil)butanoico (GIV3727) y combinaciones de los mismos. Alternativamente, el antagonista/agonista inverso de TAS2R4 es un aptámero que se une al receptor TAS2R4 e inactiva, bloquea o amortigua el receptor para producir la respuesta celular.

Según una alternativa de la presente invención, en la regulación del crecimiento del cabello se usa un agente activo que interfiere con la expresión del receptor del gusto TAS2R4. Un agente activo que interfiere con la expresión del

receptor del gusto TAS2R4 es miARN, ARNpi o una ribozima dirigida al gen TAS2R4 o dirigida al ARNm correspondiente al gen TAS2R4.

El término "miARN" se refiere a microARN, es decir, pequeñas moléculas de ARN no codificante que contienen de 21 a 23 nucleótidos y que funcionan en la regulación postranscripcional y de atenuación en el ARN de la expresión génica. Los miARN funcionan a través del emparejamiento de bases con secuencias complementarias dentro de las moléculas de ARNm. Como resultado, estas moléculas de ARNm se atenúan mediante la escisión, desestabilización y/o traducción menos eficiente del ARNm.

El término "ARNpi" se refiere a ARN de interferencia pequeño, es decir, moléculas de ARN no codificantes pequeñas, de 20 a 25 pares de bases de longitud. El ARNpi interfiere con la expresión de genes específicos con secuencias de nucleótidos complementarias al degradar el ARNm después de la transcripción, evitando así la traducción.

Según la presente invención, un miARN, ARNpi o una ribozima "se dirigen" a un gen cuando la molécula de miARN, ARNpi o ribozima disminuye o inhibe selectivamente la expresión de TAS2R4. La frase "disminuir o inhibir selectivamente", como se usa en la presente memoria, se refiere a miARN, ARNpi o una ribozima que afecta la expresión de TAS2R4.

En realizaciones específicas de la invención, miARN o ARNpi interfieren con la expresión génica de los receptores del gusto TAS1 R3 o TAS2R4 mediante la hibridación en condiciones estrictas con el transcrito del gen, es decir, el ARNm de TAS1 R1 o TAS2R4, en donde hibridar "en condiciones estrictas" significa hibridar con la región de ARNm diana, en condiciones estándar, p. ej., alta temperatura (p. ej., <60 °C durante 2 horas) y/o bajo contenido de sal (p. ej., 0,1xSSC) que tienden a desfavorecer la hibridación.

Según la presente invención, uno de los agentes activos mencionados anteriormente se usa en el tratamiento del crecimiento del cabello. En realizaciones específicas de la invención, el tratamiento se efectúa localmente, es decir, en, sobre o en el área de la piel a tratar. En algunas realizaciones de la invención, dicho tratamiento se realiza por vía tópica, en donde el término "tópico" se refiere a un medicamento que se aplica en un lugar particular de la piel y/o sus apéndices, como el cabello. En realizaciones específicas, la aplicación tópica es epicutánea, que significa que el agonista o antagonista se aplica directamente sobre la piel. En otras realizaciones de la invención, el tratamiento se realiza por vía transdérmica, en donde el término "transdérmico" se refiere a un medicamento que se aplica a través del estrato córneo en las capas más profundas de la piel.

El término "tratamiento" tal como se usa en la presente memoria se refiere a cualquier acción que resulte en el cambio de una condición física. En particular, el "tratamiento del crecimiento del cabello" se refiere a cualquier cambio de una condición inicial de crecimiento del cabello, como la presencia no deseada de cabello, la falta de cabello no deseada, el crecimiento del cabello lento/rápido no deseado, la pérdida del cabello relacionada con la quimioterapia, el crecimiento del cabello relacionado con medicamentos y pérdida de cabello relacionada con la radiación. En otras palabras, la presente invención está dirigida a cualquier tipo de regulación del crecimiento del cabello.

En realizaciones específicas de la invención, el agente activo mencionado anteriormente se usa como cosmético en el tratamiento del crecimiento del cabello. En particular, el uso como cosmético se produce de forma no terapéutica, pero para lograr un cambio de una condición inicial de crecimiento del cabello, tal como la presencia no deseada de cabello, la falta no deseada de cabello, el crecimiento lento/rápido del cabello no deseado, donde dicha condición inicial no está causada por una enfermedad o trastorno.

En esas realizaciones, cuando el agente activo mencionado anteriormente se usa como un cosmético, el agente activo usado debe ser cosméticamente aceptable, en donde "cosméticamente aceptable" significa que el agente activo no debe ser tóxico o dañino o tener cualquier otro efecto secundario perjudicial tras la aplicación en cabello y/o piel.

En otras realizaciones específicas de la invención, el agente activo mencionado anteriormente se usa como medicamento en el tratamiento tópico del trastorno del crecimiento del cabello, en donde el término "trastorno" se refiere a cualquier anomalía funcional o alteración del estado normal de salud, y el término "medicamento" se refiere a una sustancia útil para curar, tratar o prevenir una condición de trastorno.

En algunas realizaciones, el agente activo mencionado anteriormente se usa como medicamento en el tratamiento tópico de un trastorno del crecimiento del cabello que se selecciona del grupo que consiste en alopecia no cicatricial (no cicatricial), tal como alopecia areata, efluvio telógeno, alopecia androgenética y efluvio anágeno, alopecia cicatricial (cicatricial), como liquen planopilaris cutáneo, lupus eritematoso discoide, celulitis disecante y foliculitis decalvans, hipertrichosis e hirsutismo.

En esas realizaciones, cuando el agente activo mencionado anteriormente se usa como un medicamento, el agente activo usado debe ser farmacéuticamente aceptable, en donde "farmacéuticamente aceptable" significa que el agente activo no debe ser tóxico ni dañino ni tener ningún otro efecto secundario perjudicial tras la aplicación en cabello y/o piel.

En algunas realizaciones, al menos uno de los agentes activos inventivos se usa como ingrediente de una composición para uso como cosmético o medicamento en el tratamiento tópico del crecimiento del cabello, comprendiendo además

dicha composición al menos un agente auxiliar seleccionado del grupo que consiste en vehículos, receptores; adyuvantes, diluyentes y desintegrantes.

En realizaciones específicas de dichas composiciones, el agente auxiliar se selecciona del grupo que consiste en liposomas, nanopartículas, carboximetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, aceite mineral, vaselina, glicerina, polisorbato 80, hidroxietilalmidón, dextrano y polietilenglicol.

En las composiciones inventivas, la concentración del agente activo normalmente está en el intervalo de 10 a 10.000 μM . En algunas realizaciones, el límite inferior para la concentración del agente activo es 30 μM o incluso 100 μM . En algunas realizaciones, el límite superior es 3.000 μM o 1.000 μM . Esto da como resultado intervalos preferidos de, p. ej. de 30 a 10.000 μM , de 30 a 3.000 μM , de 10 a 3.000 μM , de 100 a 3.000 μM y similares.

En realizaciones específicas dichas composiciones comprenden además al menos otro agente activo que es eficaz en el tratamiento del crecimiento del cabello.

En dichas realizaciones, el otro agente activo puede seleccionarse a partir de inhibidores del crecimiento del cabello, como inhibidores de la omítina descarboxilasa (incluida la difluorometilornitina (DFMO)), compuestos antiandrógenos, inhibidores de la 5- α -reductasa, inhibidores del receptor de andrógenos, inhibidores de S-adenosil metionina descarboxilasa, inhibidores de γ -glutamyl transpeptidasa, inhibidores de adenilosuccinato sintetasa, inhibidores de aspartato transcarbamilasa, inhibidores de transglutaminasa, inhibidores de L-asparagina sintetasa, ácido pantoténico y sus análogos, compuestos reactivos con sulfhidrilo, inhibidores de lipoxigenasa, inhibidores de ciclooxigenasa, inhibidores de óxido nítrico sintetasa, inhibidores de ornitina amino transferasa, inhibidores de enzimas de la ruta de la síntesis de cisteína, inhibidores de proteína quinasa C, compuestos de catequina, polifenoles de té verde, supresores de angiogénesis no esteroideos, inhibidores de arginasa, inhibidores de la ruta metabólica para la conversión de glucosa a acetil-CoA, compuestos que inhiben la formación de glicoproteína, proteoglucanos y glucosaminoglucanos, inhibidores de la metaloproteínasa de matriz, inhibidores de la ruta de síntesis de colesterol, inhibidores de la topoisomerasa de ADN, inhibidores de la aminoacil-ARNt sintetasa, inhibidores de la ruta de biosíntesis de hipusina, compuestos que activan la conjugación de andrógenos, inhibidores de la fosfatasa alcalina, inhibidores de la proteína tirosina quinasa y compuestos que aumentan los niveles de ceramida celular. Los ejemplos específicos incluyen acetato de ciproterona, progesterona, acivicina, anglutina, L-alanosina, ácido guanidino-succínico, ácido etacrínico, ácido D-pantoténico, alcohol pantoílico, gabaculina, canalina, ácido isonicotínico, verapamilo, fentolamina, polisulfato de pentosano, nafoxidina, tripelennamina, octapina, floretina, ácido argárico, simvastatina, atorvastatina, lovastatina, fluvastatina, mevastatina, N^G-metil-L-arginina, NG-nitro-L-arginina, benzoil-L-argininamida, L-argininamida, quercetina, apigenina, ácido nordihidroguarático (NDGA), cetoprofeno, naproxeno, tolmetina, diclofenaco, diflunisal, sulindaco, ácido tiosalicílico, cisteamina, ácido dietilditiocarbámico, D-penicilamina, N-acetil-L-cisteína, batocuproína, enalapril, tamoxifeno, cimetidina, ácido micofenólico, tetraciclina, doxiciclina, minociclina, tioridazina, trifluoperizina, 1-(5-isoquinolinilsulfonil)-2-metilpiperazina, ácido glicirretínico, galato de epigallocatequina, galato de epicatequina, epigallocatequina, epicatequina, ácido fusídico y nitroso-acetil-penicilamina.

En otras realizaciones más, el otro agente activo puede seleccionarse de los preventivos de la alopecia o pérdida de cabello inducida por quimioterapia o radiación, tales como 4-((cianoimino((1,2,2-trimetilpropil)amino)metil)amino)benzonitrilo, factor de crecimiento epidérmico, factores de crecimiento de fibroblastos, incluidos, pero no se limitan a, factor de crecimiento de queratinocitos (FGF7), prostaglandinas, quinasas dependientes de ciclina, inhibidores de p53, inhibidores de capasa-3, N-acilcisteína, antagonista de la hormona paratiroidea, alfa-tocoferol, ciclosporina, bloqueadores de los receptores de angiotensina y minoxidil.

Generalmente, la composición inventiva se puede usar en cualquier formulación adecuada para el tratamiento del crecimiento del cabello. En realizaciones específicas de la invención, la composición se formula en forma de pomada, loción, crema, champú, gel, pulverizador, apósito o apósito de liberación sostenida. En otras realizaciones específicas de la invención la composición se formula en forma de una disolución. Dicha disolución se puede aplicar por medio de un dispositivo de microagujas o antes de la sonicación, estimulación eléctrica, etc.

Como se mencionó anteriormente, el uso inventivo del agente activo mencionado anteriormente también puede ocurrir de manera no terapéutica, en donde no terapéuticamente se refiere a un tratamiento que no está dirigido a curar, tratar o prevenir una condición de trastorno (ver arriba).

Por lo tanto, la presente invención se refiere además a un método no terapéutico de regulación del crecimiento del cabello, en donde se administra a un sujeto una cantidad eficaz de al menos uno de los agentes activos mencionados anteriormente.

El método no terapéutico también incluye realizaciones donde el agente activo mencionado anteriormente se administra al sujeto a tratar de forma simultánea, secuencial o separada junto con al menos otro agente activo útil en el tratamiento del crecimiento del cabello (ver arriba).

Los siguientes ejemplos muestran algunas de las características de realizaciones específicas de la presente invención. Sin embargo, el lector experto comprenderá que esas realizaciones son solo ejemplares pero no restringen la idea inventiva exactamente a las características o la combinación de características de las realizaciones de los ejemplos.

En la descripción de los ejemplos se hace referencia a las siguientes figuras, en donde

Figura 1 muestra el resultado de un análisis de inmunofluorescencia de la expresión de TAS2R4 en folículo piloso anágeno humano (cf. Ejemplo 1).

5 Figura 2 muestra el efecto de la atenuación de TAS2R4 en la biología del folículo piloso, ARNpi dirigido a TAS2R4 (cf. Ejemplo 2) (Media+/- EEM, n=5 HF/grupo, GraphPad Prism 6 (GraphPad, San Diego, CA), ***p< 0,001, prueba t de Student para datos no apareados).

Figura 3 muestra los datos del tratamiento de folículos pilosos humanos con hidrato de N α ,N α -bis(carboximetil)-L-lisina (BCML) 120 μ M (cf. Ejemplo 3) (Media+/- EEM, n=4-7 HF/grupo, GraphPad Prism 6).

10 Figura 4 muestra los datos del tratamiento de folículos pilosos humanos con L-triptófano 200 μ M (cf. Ejemplo 4) (Media+/- EEM, n=6 HF/grupo, GraphPad Prism 6).

Figura 5 muestra los datos del tratamiento de folículos pilosos humanos con Rebaudiósido A 200 μ M (cf. Ejemplo 5) (Media+/- EEM, n=4-7 HF/grupo de 2 donantes, GraphPad Prism 6).

Figura 6 muestra los datos del tratamiento de folículos pilosos humanos con Rubusósido 50 μ M (cf. Ejemplo 6) (Media+/- EEM, n=6-7 HF/grupo, GraphPad Prism 6).

15 Figura 7 muestra los datos del tratamiento de folículos pilosos humanos con esteviósido 200 μ M (cf. Ejemplo 7) (Media+/- EEM, n=5-8 HF/grupo, GraphPad Prism 6).

Ejemplos

1. Análisis de inmunofluorescencia de la expresión de TAS2R4 en folículos pilosos humanos

20 La criosección sin fijación almacenada a -80 °C se secó durante 10 min a temperatura ambiente (TA) y luego se fijó en acetona durante 20 min a -20 °C. Luego, los portaobjetos se lavaron en solución salina tamponada con Tris (TBS) durante 5 min a TA (repetir x 2). Las secciones de muestra se rodearon con un rotulador de cera y los portaobjetos se colocaron en una cámara humidificada. Las secciones de muestra se pretrataron con suero de cabra normal al 10 % diluido en TBS durante 20 min a TA. Se añadió una dilución 1:100 de anti-TAS2R4 policlonal de conejo (N.º de catálogo de ThermoFisher: OSR00153W) en diluyente de anticuerpo verde a las secciones de muestra y se incubó durante la noche (ON) en una cámara humidificada a 4 °C. Los portaobjetos se lavaron en TBS durante 5 min a TA (repetir x2).
25 Se añadió una dilución 1:1000 de Ab de cabra anticonejo-A488 (Nº de catálogo de ThermoFisher: A11070) en diluyente de anticuerpo verde a las secciones de muestra y se incubó a TA durante 45 min. Los portaobjetos se lavaron en TBS durante 5 min a TA (repetir x2). Las secciones de muestra se incubaron con DAPI durante 5 min a TA. Los portaobjetos se lavaron en TBS durante 5 min a TA (repetir x2) y se montaron con cubreobjetos usando Fluoromount de Southernbiotech.
30

La Figura 1 muestra el resultado del análisis de inmunofluorescencia de la expresión de TAS2R4 en folículo piloso anágeno humano según el protocolo anterior.

La expresión de TAS2R4 se detectó en la vaina externa de la raíz, la matriz del cabello, la papila dérmica y la vaina de tejido conectivo.

35 2. Inactivación de TAS2R4 por atenuación de ARNi

Para analizar el efecto de inactivar TAS2R4 mediante la atenuación de ARNi, se cultivaron folículos pilosos en medio E de William (WEM) suplementado con L-glutamina 2 mM, hidrocortisona 10 ng/ml, insulina 10 μ g/ml y mezcla de penicilina/estreptomicina al 1 % (medio WCM), y tratados con oligos mezclados autoadministrados (Accell Non-targeting Control siRNA; Horizon Discovery Ltd, cat. D-001910-10-05) o con TAS2R4pi autoadministrados (Accel si-TAS2R4; Horizon Discovery Ltd, cat. E-013102-00-0005) según el siguiente procedimiento:

Día 0: Aislamiento de folículos pilosos anágenos

Día 1: Cambiar los medios WCM con ARNpi de autoadministración correspondiente a los grupos experimentales (Grupo de control: oligos mezclados 1 μ M, grupo experimental: TAS2R4pi 1 μ M)

Día 2: Descanso

45 Día 3: Descanso

Día 4: recolectar 3 folículos/grupos pilosos para qPCR (72 h después de la administración de ARNpi)

Día 5: recolectar 5 folículos/grupos pilosos para inmunofluorescencia (96 h después de la administración de ARNpi)

La figura 2 muestra los resultados del ARNpi dirigido a TAS2R4 como se mencionó anteriormente.

La inactivación de TAS2R4 por la atenuación de ARNi dio por resultado la prolongación de la fase anágena en los folículos pilosos ex vivo, como se muestra con la estadificación del ciclo del cabello y la puntuación del ciclo del cabello (HCS) (Figura 2A-B). HCS consiste en asignar una unidad arbitraria para cada etapa del ciclo del cabello (Anágena VI = 100; Catágena temprana = 200; Catágena media = 300 y Catágena tardía = 400). Después de haber clasificado cada HF según su etapa del ciclo capilar, se calculó la HCS media. Cuanto más cerca esté la media de 100, mayor será el número de HF en anágena VI en un grupo determinado. El HCS proporciona un parámetro de lectura global que analiza todos los HF en un grupo experimental determinado y los sintetiza en un solo número, lo que refleja como de cerca está la mayoría de los HF del anágeno VI o catágeno y también permite el análisis estadístico que no es posible con estadificación del ciclo capilar. Por lo tanto, la estadificación del ciclo capilar y la HCS son parámetros de lectura independientes que se complementan entre sí.

La inactivación de TAS2R4 por la atenuación de ARNi también se asoció con el aumento del número de células Ki-67+ proliferativas y el aumento del contenido de melanina (Figura 2C-D).

Además, la expresión de un factor de crecimiento pro-anagénico IGF1 y un factor de crecimiento pro-catagénico TGFβ2 aumentó y disminuyó respectivamente en respuesta a la inactivación de TAS2R4 por la atenuación de ARNi. (Figura 2E).

3. Inactivación de TAS2R4 con Na,Na-bis(carboximetil)-L-lisina (BCML)

Para analizar el efecto de la inactivación de TAS2R4 mediante el agonista inverso Na,Na-bis(carboximetil)-L-lisina (BCML), se cultivaron folículos pilosos en medio WEM suplementado con L-glutamina 2 mM, 10 ng/mL de hidrocortisona, 10 µg/mL de insulina y mezcla de penicilina/estreptomicina al 1 % (medio WCM), y se trataron con BCML 120 µM (Sigma-Aldrich, cat. 14580) diluido en WCM o vehículo (medio WCM) según el siguiente procedimiento:

Día 0: Aislamiento de folículos pilosos anágenos

Día 1: Cambio de medio, aplicación de la sustancia correspondiente a los grupos experimentales (grupo de control: WCM, grupo experimental: BCML 120µM)

Día 2: Descanso

Día 3: Cambio de medios

Día 4: Descanso

Día 5: Cambio de medios

Día 6: Descanso

Día 7: Recolección y congelación de folículos pilosos para análisis

La Figura 3 muestra los resultados de los folículos pilosos humanos tratados con BCML 120 µM.

El tratamiento de los folículos pilosos en anágena con BCML aumenta la proporción de folículos pilosos en etapa anágena (Figura 3A-B).

Además, el tratamiento de los folículos pilosos humanos con BCML aumenta la proliferación de queratinocitos de la matriz del cabello mientras que no afecta la apoptosis (Figura 3C).

Finalmente, el tratamiento de los folículos pilosos con BCML aumenta la pigmentación (Figura 3D-E).

4. Activación de TAS2R4 con L-Triptófano

Para analizar el efecto de la activación de TAS2R4 por el agonista L-Triptófano, se cultivaron folículos pilosos en medio WEM suplementado con L-glutamina 2 mM, 10 ng/mL de hidrocortisona, 10 µg/mL de insulina y mezcla de penicilina/estreptomicina al 1 % (medio WCM) y se trataron con L-Triptófano 200 µM (Sigma-Aldrich, cat. T8941) diluido en agua o vehículo (0,4 % de agua en medio WCM) según el siguiente procedimiento:

Día 0: Aislamiento de folículos pilosos anágenos

Día 1: Cambio de medio, aplicación de la sustancia correspondiente a los grupos experimentales (grupo de control: 0,4 % de agua, grupo experimental: L-Triptófano 200µM)

Día 2: Descanso

Día 3: Cambio de medios

Día 4: Descanso

Día 5: Cambio de medios

Día 6: Descanso

Día 7: Recolección y congelación de folículos pilosos para análisis

La figura 4 muestra los resultados de folículos pilosos humanos tratados con L-triptófano 200 μ M.

- 5 La activación de TAS2R4 mediante el tratamiento de folículos pilosos anágenos con L-triptófano aumenta la proporción de folículos pilosos en etapa catágena (Figura 4A-B).

Además, el tratamiento de los folículos pilosos humanos con L-triptófano disminuye la proliferación de queratinocitos de la matriz del cabello mientras que no afecta a la apoptosis (Figura 4C).

- 10 Además, el tratamiento con L-triptófano provoca hipopigmentación, que es una indicación de activación catágena (Figura 4D-E).

5. Activación de TAS2R4 con Rebaudiósido A

- 15 Para analizar el efecto de la activación de TAS2R4 por el agonista Rebaudiósido A, se cultivaron folículos pilosos anágenos humanos de 2 donantes en medio WEM suplementado con L-glutamina 2 mM, 10 ng/mL de hidrocortisona, 10 μ g/mL de insulina y una mezcla de penicilina/estreptomicina al 1 % (medio WCM), y se trató con Rebaudiósido A 200 μ M (Sigma-Aldrich, cat. 01432) diluido en DMSO o vehículo (DMSO al 0,5 % en medio WCM) según el siguiente procedimiento:

Día 0: Aislamiento de folículos pilosos anágenos

Día 1: Cambio de medio WCM, aplicación de la sustancia correspondiente a los grupos experimentales (grupo de control: 0,5% de DMSO, grupo experimental: Rebaudiósido A 200 μ M)

- 20 Día 2: Descanso

Día 3: Cambio de medios

Día 4: Descanso

Día 5: Cambio de medios

Día 6: Recolección y congelación de folículos pilosos para análisis

- 25 La figura 5 muestra los resultados de folículos pilosos humanos tratados con rebaudiósido A 200 μ M.

A partir de dichas figuras se puede identificar que la activación de TAS2R4 mediante el tratamiento de los folículos pilosos con el Rebaudiósido A aumenta la proporción de folículos pilosos en etapa catágena (figura 5A-B).

Además, el tratamiento de los folículos pilosos humanos con rebaudiósido A disminuye la proliferación de queratinocitos de la matriz del cabello y aumenta la apoptosis (figura 5C).

- 30 Finalmente, el tratamiento con Rebaudiósido A induce hipopigmentación, que es un signo de inducción catágena (figura 5D-E).

6. Activación de TAS2R4 con rubusósido

- 35 Para analizar el efecto de la activación de TAS2R4 por el agonista rubusósido, se cultivaron folículos pilosos en medio WEM suplementado con L-glutamina 2 mM, 10 ng/ml de hidrocortisona, 10 μ g/ml de insulina y una mezcla de penicilina/estreptomicina al 1 % (medio WCM), y se trataron con rubusósido 50 μ M (Sigma-Aldrich, cat. 62933) diluido en DMSO o vehículo (0,05% de DMSO en medio WCM) según el siguiente procedimiento:

Día 0: Aislamiento de folículos pilosos anágenos

Día 1: Cambio de medios, aplicación de la sustancia correspondiente a los grupos experimentales (grupo de control: 0,05% de DMSO, grupo experimental: rubusósido 50 μ M)

- 40 Día 2: Descanso

Día 3: Cambio de medios

Día 4: Descanso

Día 5: Cambio de medios

Día 6: Recolección y congelación de folículos pilosos para análisis

La figura 6 muestra los resultados de folículos pilosos humanos tratados con rubusósido 50 μM .

A partir de dichas figuras se puede identificar que la activación de TAS2R4 mediante el tratamiento de los folículos pilosos con el rubusósido aumenta la proporción de folículos pilosos humanos en etapa catágena (figura 6A-B).

5 7. Activación de TAS2R4 con esteviósido

Para determinar el efecto de la activación de TAS2R4 por el agonista esteviósido, se cultivaron folículos pilosos anágenos en medio WEM suplementado con L-glutamina 2 mM, 10 ng/ml de hidrocortisona, 10 $\mu\text{g/ml}$ de insulina y una mezcla de penicilina/estreptomicina al 1 % (medio WCM), y se trataron con esteviósido 200 μM (Sigma-Aldrich, cat. 50956) diluido en DMSO o vehículo (0,2 % de DMSO en medio WCM) según el siguiente procedimiento:

10 Día 0: Aislamiento de folículos pilosos anágenos

Día 1: Cambio de medios, aplicación de la sustancia correspondiente a los grupos experimentales (grupo de control: 0,2 % de DMSO, grupo experimental: esteviósido 200 μM)

Día 2: Descanso

Día 3: Cambio de medios

15 Día 4: Descanso

Día 5: Cambio de medios

Día 6: Descanso

Día 7: Recolección y congelación de folículos pilosos para análisis

La figura 7 muestra los resultados de folículos pilosos humanos tratados con esteviósido 200 μM .

20 A partir de dichas figuras se puede identificar que la activación de TAS2R4 mediante el tratamiento de los folículos pilosos anágenos con el esteviósido aumenta la proporción de folículos pilosos en etapa catágena (Figura 7A-B).

Además, el tratamiento de los folículos pilosos humanos con esteviósido disminuye la proliferación de queratinocitos de la matriz del cabello pero no afecta la apoptosis (Figura 7C).

REIVINDICACIONES

1. Agente activo para uso en el tratamiento de un trastorno del crecimiento del cabello, en donde dicho agente activo activa, potencia, inactiva, bloquea o amortigua la respuesta celular del receptor del gusto TAS2R4 o interfiere con la expresión de dicho receptor, y en donde el agente activo se selecciona de
 - 5 a) cualquiera de los agonistas activadores de TAS2R4 amarogentina, arborescina, artemorina, azatioprina, clorfeniramina, benzoato de denatonio, difenidol, dulcósido A, (-)-epicatequina, leu-leu-leu, leu-trp, partenolida, phe-trp, propiltiouracilo, cuasina, rebaudiósido A, rebaudiósido B, rebaudiósido C, rubusósido, esteviolbósido, esteviósido, sucralosa, ácido taurocólico, trp-leu, trp-phe, trp-pro, trp-trp, trp-trp-trp, xantoxina, yohimbina o un combinación de los mismos, o un aptámero que se une al receptor TAS2R4 y activa o potencia el receptor para producir una respuesta celular, o
 - 10 b) cualquiera de los antagonistas/agonistas inversos que inactivan TAS2R4 carboximetil-lisina (CML), $N\alpha,N\alpha$ -bis(carboximetil)-l-lisina (BCML), dímero de lisina derivado del glioxal (GOLD) y 4-(2,2,3-trimetilciclopentil)butanoico (GIV3727) o una combinación de los mismos, o un aptámero que se une al receptor TAS2R4 e inactiva, bloquea o amortigua al receptor para producir una respuesta celular o
 - 15 c) miARN, ARNpi o una ribozima dirigida a TAS2R4.
 2. Agente activo para uso en el tratamiento del crecimiento del cabello según la reivindicación 1, en donde el agente activo es un agonista del receptor del gusto TAS2R4 para uso en el tratamiento del crecimiento del cabello no deseado.
 3. Agente activo para uso en el tratamiento del crecimiento del cabello según la reivindicación 1, en donde el agente activo es un antagonista/agonista inverso del receptor del gusto TAS2R4 para uso en el tratamiento de la pérdida de cabello no deseada.
 4. Agente activo para uso en el tratamiento del crecimiento del cabello según una de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el trastorno del crecimiento del cabello a tratar es efluvio, alopecia no cicatricial, alopecia cicatricial, hipertriosis o hirsutismo.
 5. Composición para uso en el tratamiento del crecimiento del cabello comprendiendo dicha composición al menos un agente activo según una de las reivindicaciones 1 a 3 y al menos un agente auxiliar seleccionado del grupo que consiste en vehículos, receptores, adyuvantes, diluyentes y desintegrantes.
 6. Composición para uso en el tratamiento del crecimiento del cabello según la reivindicación 5, en donde el agente auxiliar se selecciona del grupo que consiste en liposomas, nanopartículas, carboximetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, aceite mineral, vaselina, glicerina, polisorbato 80, hidroxietilalmidón, dextrano, y polietilenglicol.
 7. Composición para uso en el tratamiento del crecimiento del cabello según la reivindicación 5 o 6, que comprende además al menos otro agente activo que es eficaz en el tratamiento del crecimiento del cabello.
 8. Composición para uso en el tratamiento del crecimiento del cabello según una de las reivindicaciones 5 a 7, en donde la composición se formula en forma de una pomada, loción, crema, champú, gel, disolución, pulverizador, apósito o un apósito de liberación sostenida.
 9. Método no terapéutico de regulación del crecimiento del cabello, en donde se administra a un sujeto una cantidad eficaz de al menos un agente activo que activa, potencia, inactiva, bloquea o amortigua la respuesta celular del receptor del gusto TAS2R4 o interfiere con la expresión de dicho receptor en donde el agente activo se selecciona de
 - 40 a) cualquiera de los agonistas activadores de TAS2R4, amarogentina, arborescina, artemorina, azatioprina, clorfeniramina, benzoato de denatonio, difenidol, dulcósido A, leu-leu-leu, leu-trp, partenolida, phe-trp, propiltiouracilo, cuasina, rebaudiósido A; rebaudiósido B, rebaudiósido C, rubusósido, esteviolbósido, esteviósido, sucralosa, ácido taurocólico, trp-leu, trp-phe, trp-pro, trp-trp, trp-trp-trp, xantoxina, yohimbina y (-)-epicatequina o una combinación de los mismos, o un aptámero que se une al receptor TAS2R4 y que activa o potencia el receptor para producir una respuesta celular, o
 - 45 b) los antagonistas/agonistas inversos que inactivan TAS2R4 carboximetil-lisina (CML), $N\alpha,N\alpha$ -bis(carboximetil)-l-lisina (BCML), dímero de lisina derivado del glioxal (GOLD) y ácido 4-(2,2,3-trimetilciclopentil)butanoico (GIV3727), o un aptámero que se une al receptor TAS2R4 e inactiva, bloquea o amortigua al receptor para producir una respuesta celular o
 - 50 c) miARN, ARNpi o una ribozima dirigida al gen TAS2R4 o dirigida al ARNm correspondiente al gen TAS2R4.
 10. Uso no terapéutico de una composición cosmética para el crecimiento del cabello que comprende una cantidad eficaz de al menos un agente activo que activa, potencia, inactiva, bloquea o amortigua la respuesta celular del

receptor del gusto TAS2R4 o interfiere con la expresión de dicho receptor se administra a un sujeto en donde el agente activo se selecciona de

- 5 a) cualquiera de los agonistas activadores de TAS2R4, amarogentina, arborescina, artemorina, azatioprina, clorfeniramina, benzoato de denatonio, difenidol, dulcósido A, leu-leu-leu, leu-trp, partenolida, phe-trp, propiltiouracilo, cuasina, rebaudiósido A; rebaudiósido B, rebaudiósido C, rubusósido, esteviolbiósido, esteviósido, sucralosa, ácido taurocólico, trp-leu, trp-phe, trp-pro, trp-trp, trp-trp-trp, xantoxina, yohimbina y (-)epicatequina o una combinación de los mismos, o un aptámero que se une al receptor TAS2R4 y que activa o potencia el receptor para producir una respuesta celular, o
- 10 b) los antagonistas/agonistas inversos que inactivan TAS2R4 carboximetil-lisina (CML), N α ,N α -bis(carboximetil)-l-lisina (BCML), dímero de lisina derivado del glioxal (GOLD) y ácido 4-(2,2,3-trimetilciclopentil)butanoico (GIV3727), o un aptámero que se une al receptor TAS2R4 e inactiva, bloquea o amortigua al receptor para producir una respuesta celular o
- c) miARN, ARNpi o una ribozima dirigida al gen TAS2R4 o dirigida al ARNm correspondiente al gen TAS2R4.
- 15 11. Uso no terapéutico según la reivindicación 10, en donde la composición comprende al menos un agente auxiliar seleccionado del grupo que consiste en vehículos, receptores, adyuvantes, diluyentes y desintegrantes.
12. Uso no terapéutico según las reivindicaciones 10 u 11, en donde el agente auxiliar se selecciona del grupo que consiste en liposomas, nanopartículas, carboximetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, aceite mineral, vaselina, glicerina, polisorbato 80, hidroxietilalmidón, dextrano y polietilenglicol.
- 20 13. Uso no terapéutico según las reivindicaciones 10 a 12, en donde la composición comprende además al menos otro agente activo que es eficaz en el tratamiento del crecimiento del cabello.
14. Uso no terapéutico según una de las reivindicaciones 10 a 13, en donde la composición se formula en forma de una pomada, una loción, una crema, un champú, un gel, una disolución, un pulverizador, un apósito o un apósito de liberación sostenida.

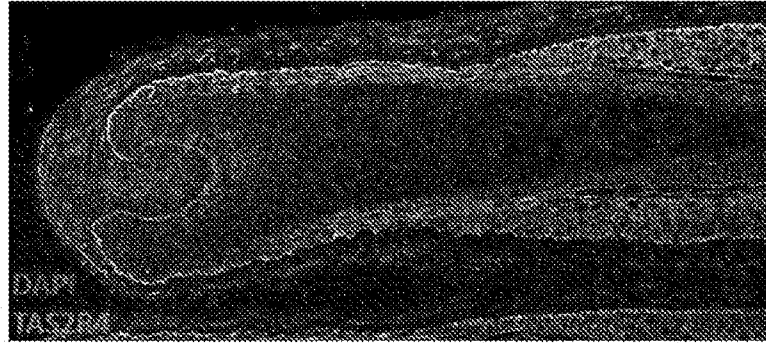


Fig. 1

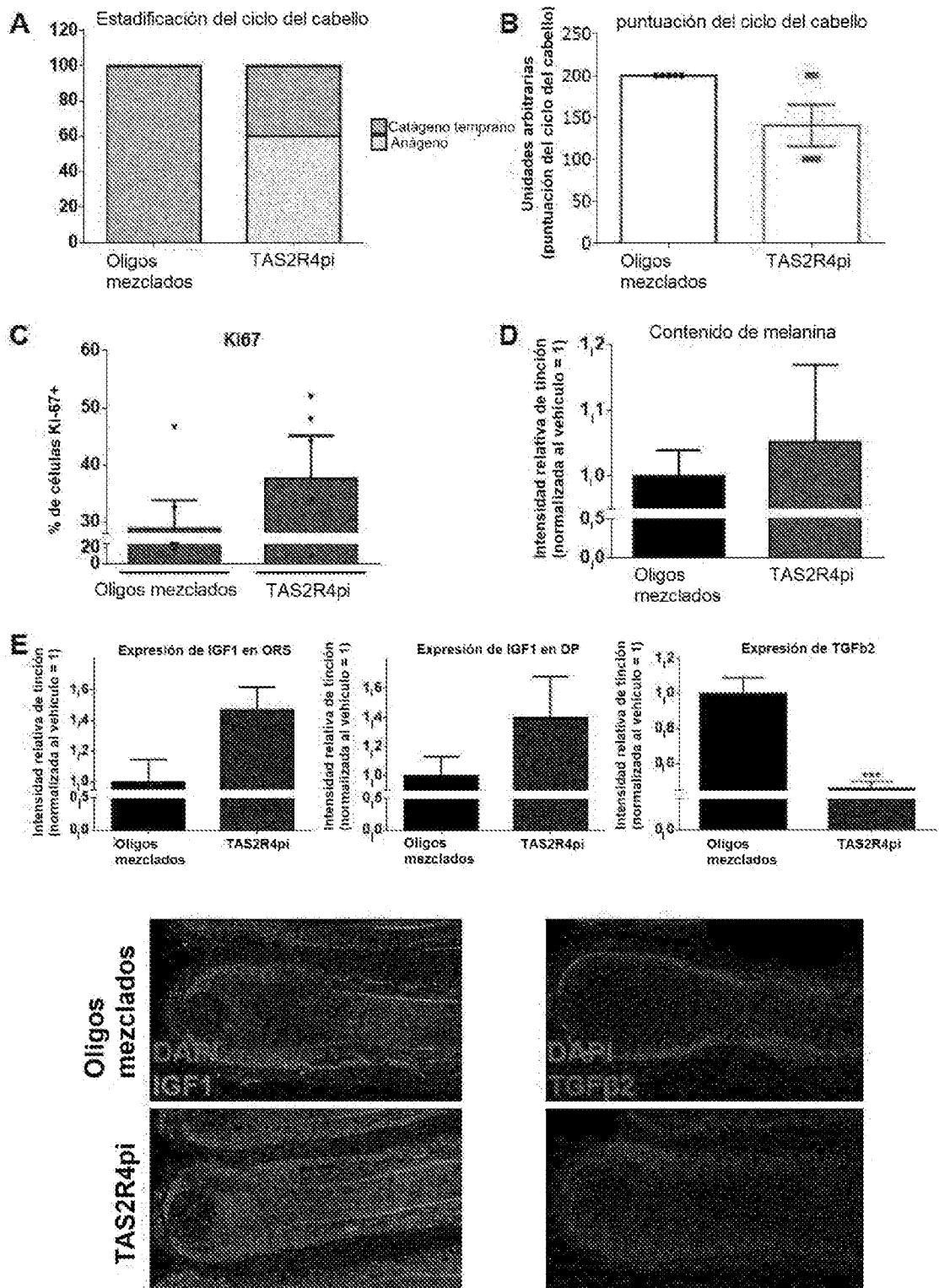


Fig. 2

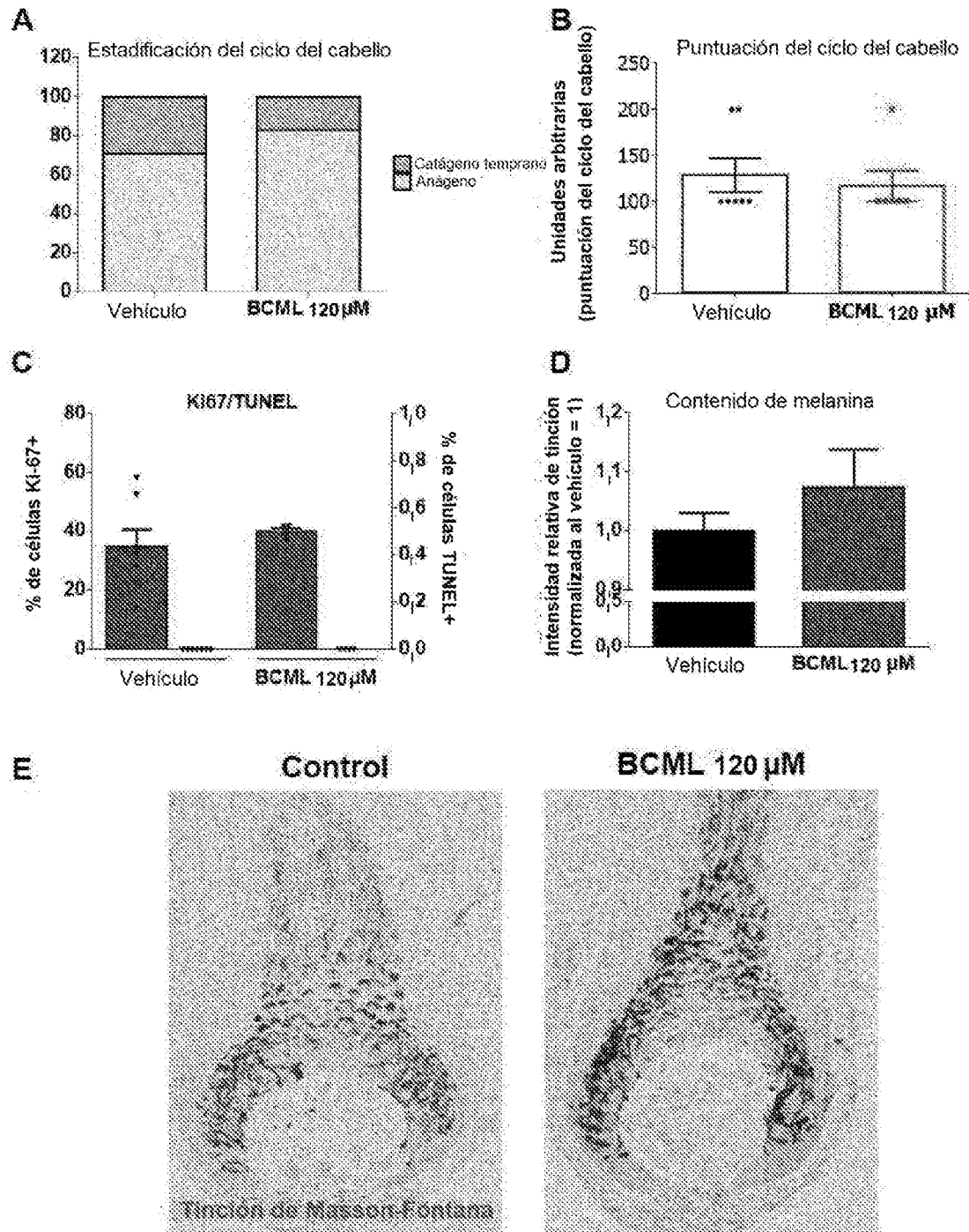


Fig. 3

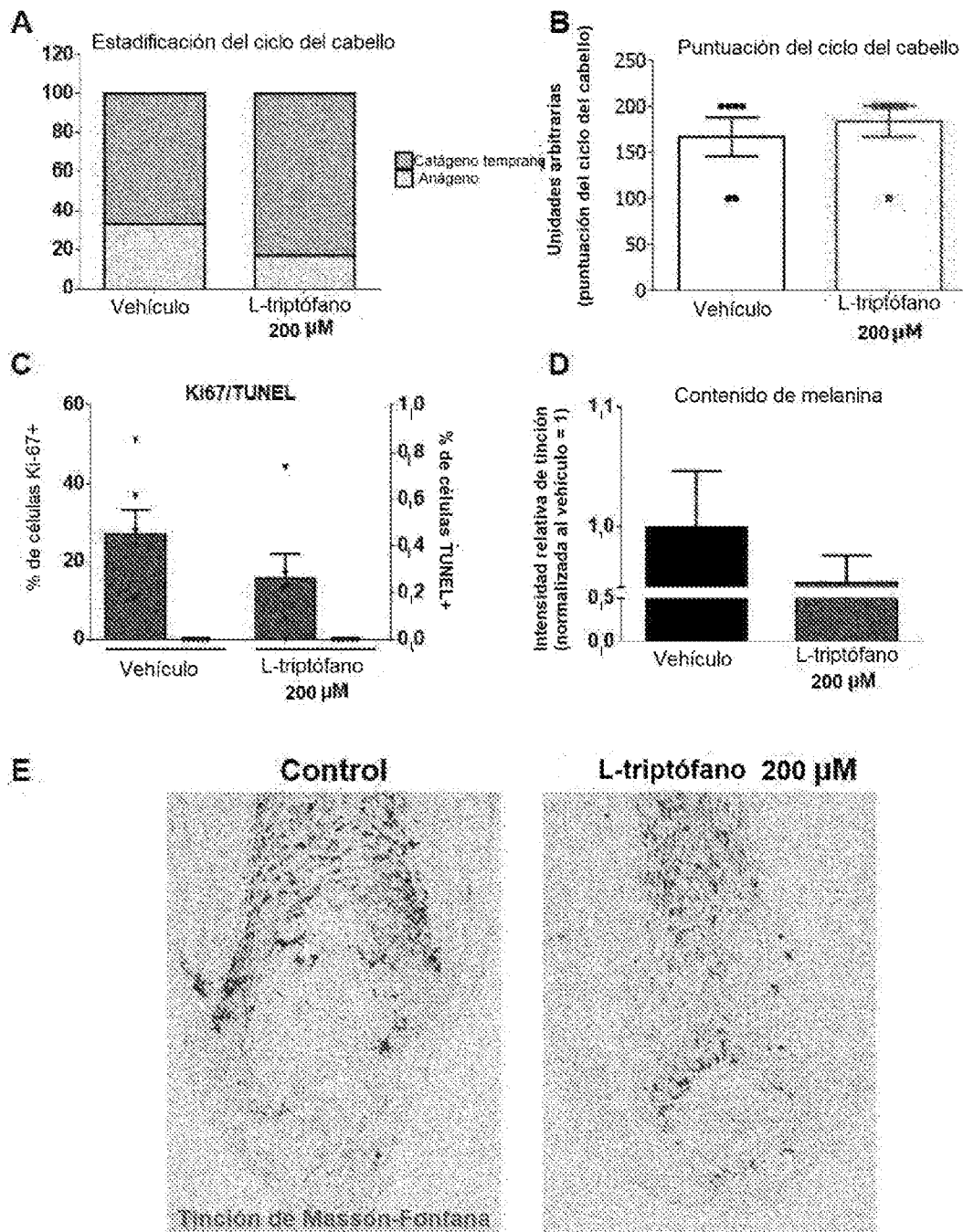


Fig. 4

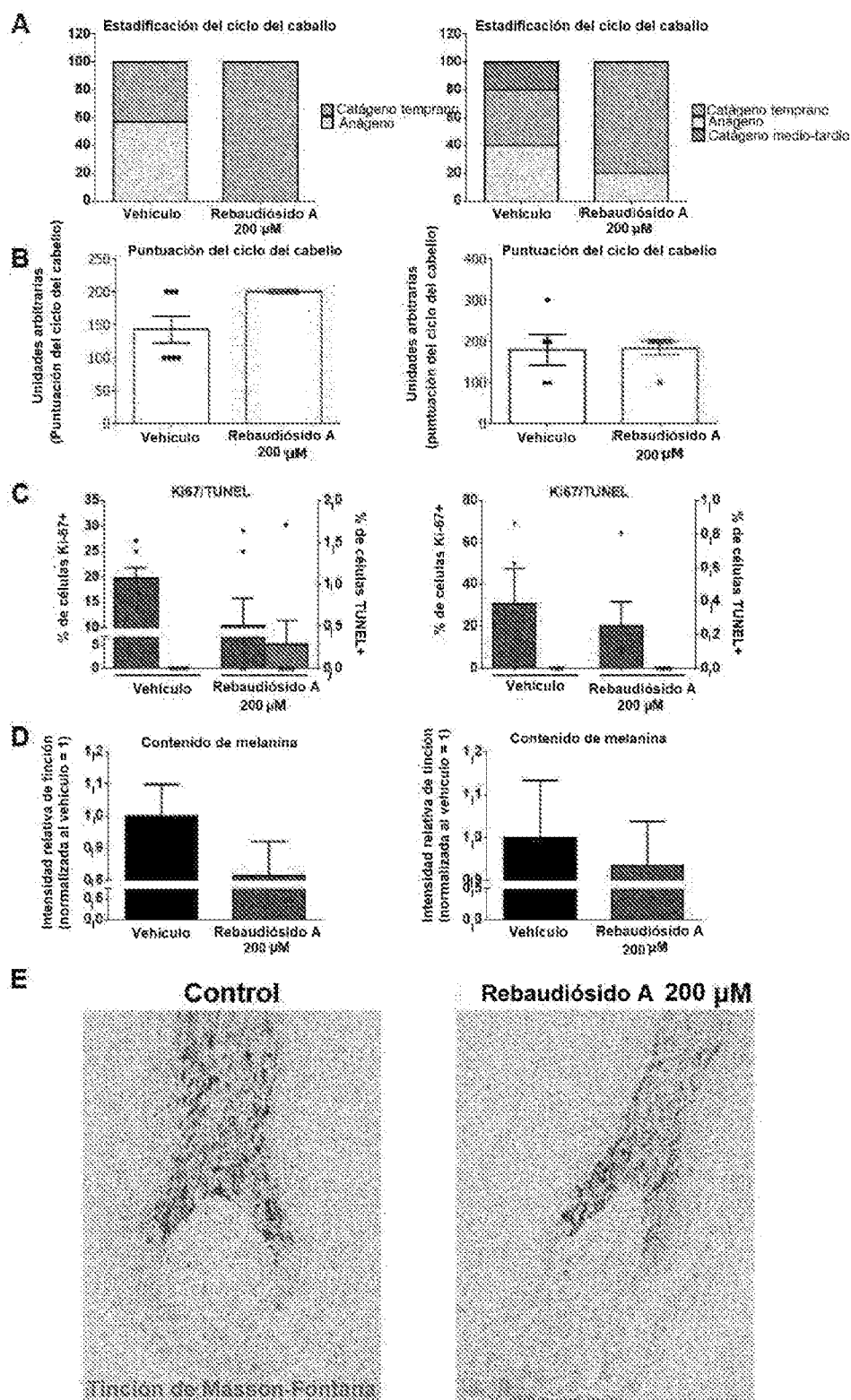


Fig. 5

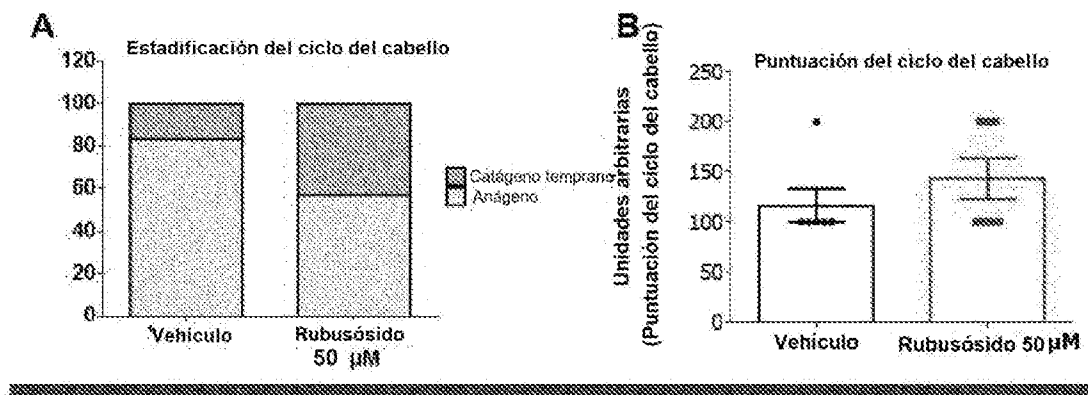


Fig. 6

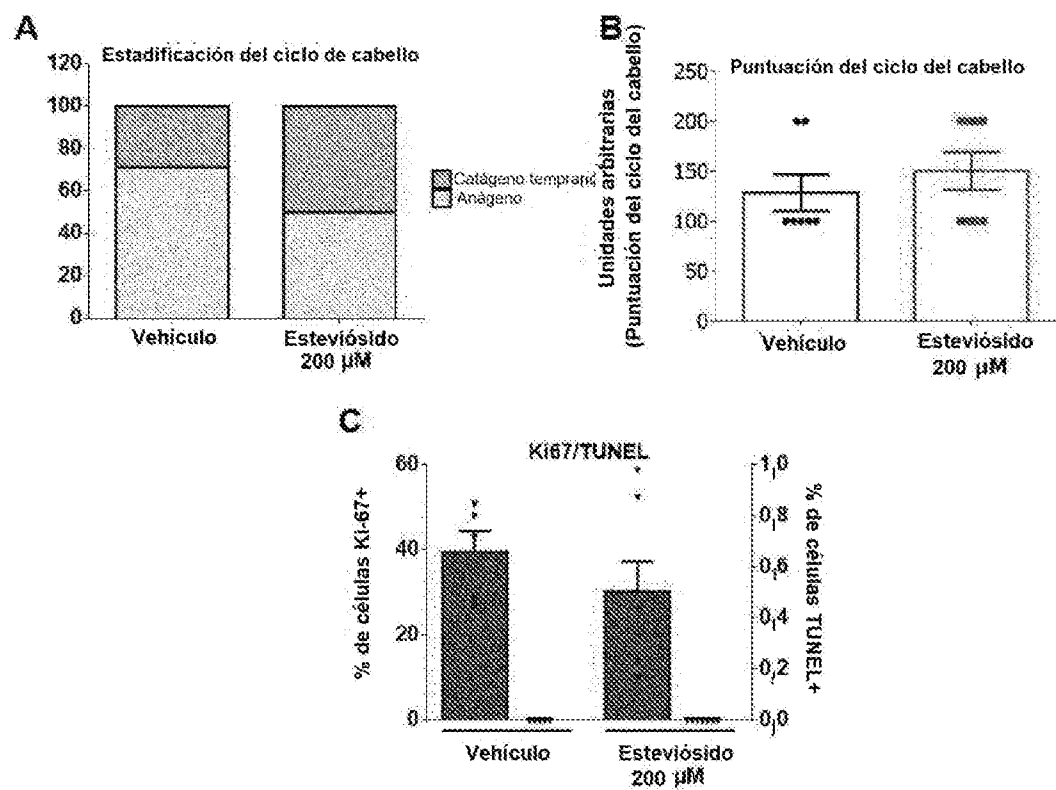


Fig. 7