

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 980 830**

51 Int. Cl.:

**A61K 38/08** (2009.01)

**A61K 8/64** (2006.01)

**A61Q 7/00** (2006.01)

**C07K 7/06** (2006.01)

**A61P 17/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.02.2017 PCT/KR2017/001650**

87 Fecha y número de publicación internacional: **24.08.2017 WO17142305**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.02.2017 E 17753466 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.06.2024 EP 3418293**

54 Título: **Péptido que tiene actividad promotora del crecimiento del cabello y/o actividad promotora de la generación de melanina, y su uso**

30 Prioridad:

**18.02.2016 KR 20160019322**

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

**03.10.2024**

73 Titular/es:

**CAREGEN CO., LTD. (100.0%)  
46-38 LS-ro 91beon-gil, Dongan-gu  
Anyang-si, Gyeonggi-do 14119, KR**

72 Inventor/es:

**CHUNG, YONG JI;  
KIM, EUN MI y  
LEE, EUNG-JI**

74 Agente/Representante:

**PONS ARIÑO, Ángel**

ES 2 980 830 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

Péptido que tiene actividad promotora del crecimiento del cabello y/o actividad promotora de la generación de melanina, y su uso

5

**Campo técnico**

La presente invención se refiere a un péptido que tiene una actividad para estimular la producción del cabello y/o melanogénesis, una composición que contiene el péptido como principio activo para prevenir y/o mejorar la caída del cabello, una composición que contiene el péptido como principio activo para estimular la producción de cabello y/o el crecimiento del cabello, un uso del péptido para prevenir y/o mejorar la caída del cabello, un uso del péptido para estimular la producción de cabello y/o el crecimiento de cabello, una composición farmacéutica que contiene el péptido como principio activo para prevenir y/o tratar la hipomelanosis, una composición cosmética que contiene el péptido como principio activo para prevenir y/o mejorar la hipomelanosis, y un uso del péptido para prevenir, mejorar y/o tratar la hipomelanosis.

10

15

**Antecedentes de la técnica**

El folículo piloso, que crece desde una parte inferior de la epidermis primitiva y se extiende a una capa de piel más profunda, es un órgano distintivo que se encuentra en la piel de los mamíferos. Existe un tapón celular conocido como folículo o célula de la papila dérmica en la base del folículo piloso (Stenn y Paus, *Physiol. Rev.*, 81: 449 (2002)), y la papila es esencial en la circulación normal del folículo piloso (Oliver, *Embryol. Exp. Morph.* 15: 3311 (1966); y Oliver, *Embryol. Exp. Morph.* 16: 231 (1966)) y el crecimiento del tallo del pelo. El tallo del pelo es una estructura en forma de hilo formada por células epiteliales compuestas por filamentos de queratina y proteínas de agregación de filamentos firmemente unidas a los mismos.

20

25

Los cabellos humanos se caen y se vuelven a producir mientras se repiten cíclicamente anágena, catágena y telógena. El ciclo de crecimiento en el ciclo del cabello está determinado mediante la regulación de hormonas u otros factores de crecimiento. El estrés grave o la desnutrición pueden hacer avanzar las fases catágena y telógena, dando lugar a una caída del cabello grave (*American Journal of Pathology*, 162 (3) (2003), (Arck, Petra Clara; Handjiski, Bori)).

30

En casos de calvicie de patrón masculino, los folículos pilosos de la parte frontal y superior del cuero cabelludo son sensibles a los andrógenos. Por tanto, la calvicie de patrón masculino corresponde a la minimización de los folículos pilosos más que a la destrucción de los folículos pilosos y es causada por la secreción excesiva de la hormona masculina andrógeno. La secreción excesiva de andrógenos da como resultado la activación de la 5- $\alpha$  reductasa, que convierte la testosterona en dihidrotestosterona (DHT). La dihidrotestosterona resultante acorta el ciclo de crecimiento del cabello y miniaturiza los folículos pilosos, disminuyendo la cantidad de pelos adultos gruesos y fuertes, dando lugar a la caída del cabello.

35

En general, la caída del cabello aumenta con el envejecimiento. Por ejemplo, diferentes trastornos, tales como alopecia cicatricial o afecciones cicatriciales asociadas con quemaduras o lesiones por compresión, pueden causar una caída grave del cabello. Se han utilizado varias sustancias como medicamentos para tratar este fenómeno de caída del cabello, pero los medicamentos son costosos o causan varios efectos adversos.

40

Además, estos medicamentos tienen el inconveniente de que se requiere el uso sostenido de los mismos; la caída del cabello vuelve a producirse cuando se detiene su uso; existen diferencias individuales en la eficacia; y los efectos secundarios varían de persona a persona.

45

Asimismo, las materias primas utilizadas como cosméticos tienen la ventaja de ser económicas, pero su eficacia no es muy grande ya que contienen ingredientes procedentes de extractos vegetales. Por lo tanto, existe una necesidad creciente en la técnica de nuevos ingredientes eficaces que sean más económicos en términos de costes.

50

Dos fármacos disponibles conocidos hasta ahora (minoxidil y finasterida) podrían retrasar la caída adicional del cabello, pero no inducen la regeneración de nuevos folículos pilosos. Entre los cosméticos capilares, también se han publicado muchos productos contra la caída del cabello que utilizan extractos vegetales y similares.

55

Por ejemplo, los productos que utilizan extractos vegetales y similares que se han formulado incluyen: productos que contienen extractos de raíz de sófora, chile, *Swertia*, corteza de morera, hojas de morera, ginseng, regaliz, peonía, dedalera, hinojo, fruto del *Cornus*, ajo y similares; productos en donde se añade una composición que contiene xantinas y hormonas del crecimiento para mejorar el metabolismo celular suprimido por el exceso de dihidrotestosterona y estimular el crecimiento del cabello inducido por las hormonas del crecimiento, previniendo, de este modo, la caída del cabello y logrando la producción de cabello, que da lugar a un efecto estimulante del crecimiento del cabello; productos estimulantes de la producción de cabello que aportan nutrientes al cuero cabelludo y al cabello mediante la elaboración de productos que contienen minerales, vitaminas y extractos de té verde, romero, artemisa, o regaliz, para estimular la producción de cabello y el crecimiento del cabello, y tienen efectos en la prevención de la caída del cabello y la estimulación del crecimiento del cabello; y productos para la calvicie de patrón

60

65

masculino en donde las sustancias, tal como la vitamina B, vitamina C, vitamina D, vitamina E, ácido nicotínico, ácido pantoténico, biotina y ácido fólico, se mezclan con extractos vegetales para inhibir la 5- $\alpha$  reductasa, evitando, de este modo, la producción de dihidrotestosterona en el metabolismo de las hormonas masculinas y ayudando al metabolismo del cabello. Sin embargo, los productos que afectan incluso a la producción de cabello nuevo son difíciles de encontrar.

Las células de la piel producen melanina en los melanosomas de los melanocitos que están presentes en la capa epidérmica basal, como mecanismo de defensa para la estimulación de la luz ultravioleta, la contaminación ambiental y otros factores externos. La melanina es un factor importante para determinar el color de la piel, los ojos y el pelo de los animales. La hipomelanosis también se conoce como factor de riesgo de cáncer de piel.

Los asiáticos son sensibles a la sobreproducción de melanina y, por tanto, se han realizado muchos estudios relacionados con el blanqueamiento para la inhibición de la melanogénesis. En los últimos años, la demanda contra el vitíligo, que es causada por la inhibición de la melanogénesis, también está aumentando, por lo que se están realizando estudios al respecto.

El vitíligo es una enfermedad decolorante adquirida en la que se muestran manchas lechosas de varios tamaños y formas debido a la apoptosis o necrosis de los melanocitos. El vitíligo es una enfermedad relativamente común que ocurre en aproximadamente el 1 % de la población en todo el mundo y no existe diferencia en la enfermedad por raza o área. En cuanto a las edades de ocurrencia, el vitíligo ocurre con la mayor frecuencia entre los 10 y los 30 años, ocurriendo el 95 % antes de los 40 años y el 30 % de los pacientes tiene antecedentes familiares.

Las causas del vitíligo aún no se han revelado con precisión, pero hay varias teorías, tales como la hipótesis autoinmune, la hipótesis neuronal y la hipótesis de autodestrucción de melanocitos. La hipótesis autoinmune es que la destrucción o disfunción de los melanocitos es causada por la expresión de autoanticuerpos contra antígenos basados en melanocitos, o que los melanocitos son destruidos por linfocinas secretadas por linfocitos citotóxicos o linfocitos activados. La hipótesis neuronal es que el peróxido de hidrógeno asociado con el estrés se genera debido a una biosíntesis anormal de catecolaminas y al aumento de la monoaminooxidasa, dando como resultado la destrucción de los melanocitos, y el vitíligo puede ocurrir a lo largo del ganglio o el vitíligo puede ocurrir después de daño o estrés a los nervios. La hipótesis de la autodestrucción de los melanocitos es que en los melanocitos se acumulan metabolitos intermedios o complejos fenólicos como metabolito final del proceso melanogénico, dando como resultado la destrucción celular. Además, se sugieren diversos factores, tales como defectos celulares inherentes, factores genéticos, apoptosis, trastornos metabólicos del calcio.

La melanina se sintetiza a partir de los melanocitos y desempeña un papel importante en la protección de la piel mediante la irradiación de luz UV o la absorción de sustancias tóxicas y químicas. Por lo tanto, las personas que no tienen una síntesis normal de melanina tienen un problema de apariencia en el que la piel se vuelve blanca en parte en lugar de entera, causando manchas y tienen un grave problema de sensibilidad a los estímulos externos.

La Tirosinasa, la proteína 1 relacionada con la tirosinasa (TRP-1) y la proteína 2 relacionada con la tirosinasa (TRP-2), que son enzimas importantes en la síntesis de melanina, actúan como catalizadores de reacciones oxidativas (*Pigment Cell Res.* 14 (6): 43744).

En el presente documento, la tirosinasa actúa para oxidar la tirosina en L-3,4-dihidroxiifenilalanina (DOPA) y DOPA en DOPA quinina, y TRP-1 es la oxidasa del ácido dihidroxiindol carboxílico y participa en la conversión del ácido 5,6-dihidroxiindol-2-carboxílico (DHICA) en ácido indol-5,6-quinona-2-carboxílico.

TRP-1 también sirve para estabilizar la tirosinasa y regular su actividad. TRP-2, que es la DOPA cromo tautomerasa, convierte DOPA cromo en DHICA para formar eumelanon y feomelanon, que constituyen los melanocitos, y la proporción de los mismos determina los colores de la piel, el pelo, los ojos y similares.

La síntesis de melanina se activa mediante irradiación UV y la hormona estimulante de los melanocitos  $\alpha$  (MSH). En el presente documento,  $\alpha$ -MSH, que es una hormona peptídica, se sabe que se produce mediante luz ultravioleta y se elabora a partir de varias células, incluidas las de la glándula pituitaria y la piel.

En el presente documento,  $\alpha$ -MSH actúa sobre los receptores de melanocortina (MCR) de los melanocitos mediante paracrina para regular la actividad del factor de transcripción asociado a microftalmia (MITF), regulando de este modo la actividad de la tirosinasa, DHICA oxidasa (TRP-1), DOPA cromo tautomerasa (TRP-2), y similares, que desempeñan funciones importantes en la síntesis de melanina (*THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY* vol. 273, n.º 31, publicado el 31 de julio, págs. 195609565, 1998).

Se ha informado que la estimulación de los melanocitos por UV o  $\alpha$ -MSH conduce a la activación de la tirosinasa por p38 o proteína quinasa A (PKA), respectivamente. En estas dos rutas, en especial, la ruta  $\alpha$ -MSH  $\rightarrow$  AMPc  $\rightarrow$  PKA desempeña un papel importante en la síntesis de melanina. El aumento de AMPc estimula la fosforilación de la proteína de unión a elementos sensibles a AMPc (CREB), aumentando la expresión del factor de transcripción MITF, que mejora la actividad de la tirosinasa y aumenta la expresión del ARNm de la tirosinasa (*Nucleic Acids Res.* 30 (14): 3096106, *Pigment Cell Melanoma Res.* 21 (6): 66576).

Los asiáticos, incluidos los coreanos, quieren tener colores de piel claros y, por tanto, han realizado muchos estudios sobre los componentes blanqueadores que inhiben la melanogénesis. Sin embargo, la melanina se sintetiza a partir de los melanocitos de la piel y desempeña un papel importante en la protección de la piel mediante la irradiación de rayos UV o la absorción de sustancias tóxicas y sustancias químicas. Dado que la ausencia de síntesis normal de melanina hace que la piel sea sensible a la estimulación externa y muestre apariencias externas anormales, se necesita el tratamiento para la síntesis normal de melanina y también se han realizado estudios al respecto. Hasta ahora, no se ha llevado a cabo lo suficiente el desarrollo de técnicas para estimular la síntesis de melanina.

A lo largo de la memoria descriptiva, muchos artículos y documentos de patentes se utilizan como referencias y se representan las citas de los mismos. La divulgación de los artículos y documentos de patente citados se incorpora en la presente especificación como referencia en su totalidad, para describir más claramente un nivel de un campo técnico al que pertenece la presente invención y el contenido de la presente invención. Se divulgan péptidos variados para su uso en el crecimiento del cabello y la melanogénesis en los documentos EP 2 474 555, US 2014/364378, WO 2005/082395 y WO 2015/174599.

### Descripción detallada de la invención

#### Problema técnico

Los presentes inventores se esforzaron por desarrollar péptidos que tuvieran una actividad biológicamente eficaz y, como resultado, los presentes inventores confirmaron que un péptido que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2 tiene una excelente eficacia productora de cabello y actividad estimulante de la melanogénesis y establecieron que estos péptidos se pueden usar favorablemente en la prevención o mejora de la caída del cabello y la prevención y el tratamiento de la hipomelanosis y, por tanto, los presentes inventores completaron la presente invención.

Por lo tanto, un aspecto de la presente invención es proporcionar un péptido que tiene actividad para estimular la producción de cabello o la melanogénesis, consistiendo el péptido la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2.

Otro aspecto de la presente invención es proporcionar una composición para prevenir y/o mejorar la caída del cabello, comprendiendo la composición, como principio activo, al menos un péptido seleccionado del grupo que consiste en péptidos que consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2.

Otro aspecto más de la presente invención es proporcionar una composición para estimular la producción y/o el crecimiento del cabello, comprendiendo la composición, como principio activo, al menos un péptido seleccionado del grupo que consiste en péptidos que consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2.

Otro aspecto más de la presente invención es proporcionar un péptido que tiene actividad para estimular la melanogénesis, consistiendo el péptido la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2.

Otro aspecto más de la presente invención es proporcionar una composición farmacéutica para prevenir y/o tratar la hipomelanosis, comprendiendo la composición farmacéutica, como principio activo, al menos un péptido seleccionado del grupo que consiste en péptidos que consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2.

Otro aspecto más de la presente invención es proporcionar una composición cosmética para prevenir y/o mejorar la hipomelanosis, comprendiendo la composición cosmética, como principio activo, al menos un péptido seleccionado del grupo que consiste en péptidos que consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2.

Otros fines y ventajas de la presente divulgación serán más obvios con la siguiente descripción detallada de la invención, las reivindicaciones y los dibujos.

#### Solución técnica

Los presentes inventores se esforzaron por desarrollar péptidos que tuvieran una actividad biológicamente eficaz y, como resultado, los presentes inventores confirmaron que un péptido que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2 tiene una excelente eficacia productora de cabello y actividad estimulante de la melanogénesis y establecieron que estos péptidos se pueden usar favorablemente en la prevención o mejora de la caída del cabello y la prevención y tratamiento de la hipomelanosis.

El péptido de la presente invención se obtiene cribando péptidos, que tengan excelentes efectos estimulantes de la melanogénesis, de bibliotecas de péptidos que poseen los presentes inventores, a través de experimentos sobre cambios en la expresión de genes y proteínas o similares, y se proporciona un total de dos tipos de péptidos como

péptido de la presente invención.

Un aspecto de la presente invención se dirige a un péptido que tiene actividad para estimular la producción del cabello, comprendiendo el péptido una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2.

5 El péptido puede contener una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2 y, por ejemplo, puede ser un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2.

10 El péptido de la presente invención puede tener una modificación inducida en el extremo aminoterminal y/o carboxiterminal del mismo para seleccionar una parte de una secuencia de aminoácidos y aumentar la actividad del mismo.

15 Por ejemplo, la modificación carboxiterminal puede ser una modificación del extremo carboxilo del péptido en un grupo hidroxilo (-OH), un grupo amino (-NH<sub>2</sub>), un grupo azida (-NHNH<sub>2</sub>), o similar, pero sin limitarse esto.

20 Además, la modificación aminoterminal puede ser una unión de al menos un grupo protector seleccionado del grupo que consiste en un grupo acetilo, un grupo fluorenil metoxi carbonilo, un grupo formilo, un grupo palmitoilo, un grupo miristilo, un grupo estearilo y polietilenglicol (PEG) al extremo aminoterminal del péptido, pero sin limitarse a esto. El grupo protector anterior protege el péptido de la presente invención de la escisión de proteínas *in vivo*.

La modificación aminoterminal y/o carboxiterminal del péptido mejora la estabilidad del péptido, y esta modificación permite que el péptido de la presente invención tenga una semivida aumentada en el momento de la administración *in vivo*, teniendo, de este modo, una semivida alta.

25 De acuerdo con un aspecto de la presente invención, el péptido de la presente invención estimula el crecimiento de las células del folículo piloso, aumenta la expresión de  $\beta$ -catenina como factor relacionado con el crecimiento del cabello, aumenta la expresión del factor de crecimiento de queratinocitos (KGF) y del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) como factores de crecimiento relacionados con el crecimiento del cabello, aumenta la expresión de fosfoinosítido 3-cinasa (PI3K) como molécula de señalización del crecimiento del cabello, aumenta la fosforilación de la cinasa regulada por señales extracelulares (ERK), aumenta la expresión de MSX2, Ha3-II y queratina-14 como factores relacionados con el crecimiento del cabello, disminuye la expresión de TGF- $\beta$ 1 y DKK-1 asociados con el retraso del crecimiento del cabello e induce un aumento de la expresión de Bcl-2 como proteína inhibidora de la apoptosis y una disminución de la expresión de Bax como proteína relacionada con la apoptosis.

35 Estos resultados indican que el péptido de la presente invención tiene un efecto excelente en la producción de cabello. Por lo tanto, el péptido de la presente invención puede usarse para la prevención y/o mejora de la caída del cabello y la estimulación de la producción del cabello y/o crecimiento del cabello.

40 Otro aspecto de la presente invención está dirigido a una composición para prevenir y/o mejorar la caída del cabello, comprendiendo la composición, como principio activo, al menos un péptido seleccionado del grupo que consiste en péptidos que consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2.

45 El péptido de la presente invención induce la proliferación de células presentes en los folículos pilosos del tejido de la piel para producir raíces capilares, que da lugar a la producción de nuevos folículos pilosos. Asimismo, el péptido de la presente invención activa las señales de  $\beta$ -catenina para expresar genes estimulantes de la producción del cabello y aumentar la expresión de factores de crecimiento.

50 El péptido de la presente invención promueve la fase anágena durante la cual se produce y crece el cabello, muestra un efecto inhibidor de la caída del cabello al mantener el ciclo del cabello, que pasa de la fase catágena debido a varios factores ambientales, a la fase anágena, y mantiene el cabello sano proporcionando nutrientes al cabello normal. Por lo tanto, la composición de la presente invención es muy eficaz en la prevención y/o mejora de la caída del cabello.

55 Dado que la composición de la presente divulgación contiene el péptido anterior de la presente invención como principio activo, se omitirán las descripciones del contenido superpuesto entre las mismas para evitar una complejidad excesiva de la presente memoria descriptiva.

60 Otro aspecto más de la presente invención se dirige a una composición para estimular la producción y/o el crecimiento del cabello, comprendiendo la composición, como principio activo, al menos un péptido seleccionado del grupo que consiste en péptidos que consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2.

La composición de la presente invención se puede preparar en una composición cosmética, pero sin limitarse a esto.

65 La composición cosmética de la presente invención puede contener una cantidad cosméticamente eficaz del péptido de la presente invención.

Además, la composición cosmética puede contener además un vehículo cosméticamente aceptable, pero sin limitarse a esto.

5 La composición cosmética de la presente invención puede formularse en cualquier forma farmacéutica que se prepare convencionalmente, y los ejemplos de la misma pueden incluir una solución, una suspensión, una emulsión, una pasta, un gel, una crema, una loción, un polvo, un jabón, un limpiador que contiene tensioactivos, un aceite, una base en polvo, una base en emulsión, una base de cera y un aerosol, pero sin limitarse a esto. Por ejemplo, la composición cosmética de la presente invención puede prepararse en una forma farmacéutica de loción emoliente, loción nutritiva, crema nutritiva, crema para masaje, esencia, crema oftálmica, crema limpiadora, espuma limpiadora, agua limpiadora, paquete, aerosol y/o polvo.

15 En los casos en que la forma farmacéutica de la composición cosmética sea una pasta, crema o gel, ejemplos útiles del ingrediente vehículo pueden incluir un aceite animal, un aceite vegetal, cera, parafina, almidón, tragacanto, un derivado de celulosa, polietilenglicol, silicona, bentonita, sílice, talco u óxido de zinc, pero sin limitarse a esto.

En los casos en los que la forma farmacéutica de la composición cosmética sea un polvo o un aerosol, se puede utilizar lactosa, talco, sílice, hidróxido de aluminio, silicato de calcio o un polvo de poliamida como ingrediente vehículo, pero sin limitarse a esto.

20 En los casos en que la forma farmacéutica de la composición cosmética sea un aerosol, el aerosol puede contener además un propulsor, tal como clorofluorohidrocarburo, propano/butano y/o dimetiléter, pero sin limitarse a esto.

25 En los casos en los que la forma farmacéutica de la composición cosmética sea una solución o una emulsión, se puede utilizar un disolvente, solubilizante o emulsionante como componente vehículo, y ejemplos de los mismos incluyen agua, etanol, isopropanol, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, aceite de 1,3-butilglicol, ésteres alifáticos de glicerol, polietilenglicol o ésteres de ácidos grasos de sorbitán, pero sin limitarse a esto.

30 En los casos en que la forma farmacéutica de la composición cosmética sea una suspensión, ejemplos útiles del ingrediente vehículo pueden incluir un diluyente líquido (tal como agua, etanol o propilenglicol), un agente de suspensión (tal como alcohol isoestearílico etoxilado, éster de polioxietilensorbitol o éster de polioxietilen sorbitán), celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar o tragacanto, pero sin limitarse a esto.

35 En los casos en que la forma farmacéutica de la composición cosmética sea un limpiador que contenga tensioactivos, ejemplos útiles del ingrediente vehículo pueden ser sulfato de alcohol alifático, éter sulfato de alcohol alifático, monoéster de sulfosuccinato, isetionato, derivados de imidazolio, taurato de metilo, sarcosinato, éter sulfato de amida de ácidos grasos, alquil amido betaína, alcohol alifático, glicérido de ácidos grasos, dietanolamida de ácidos grasos, aceite vegetal, derivados de lanolina o éster de ácido graso con glicerol etoxilado, pero sin limitarse a esto.

40 Los ingredientes contenidos en la composición cosmética de la presente invención pueden incluir, además de los péptidos y los ingredientes vehículos como principios activos, ingredientes normalmente utilizados en composiciones cosméticas, por ejemplo, complementos habituales, tal como un antioxidante, un purificador, un solubilizante, vitaminas, un pigmento y/o un aromatizante, pero sin limitarse a esto.

45 Otro aspecto más de la presente invención se dirige al uso de un péptido para prevenir y/o mejorar la caída del cabello, consistiendo el péptido la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2.

Debido a que el péptido es el mismo que el péptido anterior, se omitirán las descripciones del contenido superpuesto entre las mismas para evitar una complejidad excesiva de la presente memoria descriptiva.

50 Otro aspecto más de la presente invención se dirige al uso de un péptido para estimular la producción y/o el crecimiento del cabello, consistiendo el péptido la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2.

55 Debido a que el péptido es el mismo que el péptido anterior, se omitirán las descripciones del contenido superpuesto entre las mismas para evitar una complejidad excesiva de la presente memoria descriptiva.

Otro aspecto más de la presente invención es proporcionar un péptido que tiene actividad para estimular la melanogénesis, consistiendo el péptido la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2.

60 De acuerdo con un aspecto de la presente invención, el péptido de la presente invención aumenta la melanogénesis en los melanocitos, aumenta la expresión de tirosinasa como enzima reguladora de la melanogénesis, aumenta la expresión de MITF y TRP1, que son factores implicados en la melanogénesis y aumenta la fosforilación de CREB.

65 Estos resultados indican que el péptido de la presente invención tiene el efecto de mejorar la hipomelanosis aumentando la melanogénesis. Por lo tanto, el péptido de la presente invención se puede utilizar para la prevención, mejora y/o tratamiento de la hipomelanosis.

La hipomelanosis es el vitíligo, albinismo, nevo despigmentoso, pitiriasis alba, pitiriasis versicolor, despigmentación postinflamatoria, morfea, piebaldismo, hipomelanosis guttata idiopática o leucoderma punctatum, pero sin limitarse a esto.

5 Otro aspecto más de la presente invención se dirige a una composición farmacéutica para prevenir y/o tratar la hipomelanosis, comprendiendo la composición farmacéutica, como principio activo, al menos un péptido seleccionado del grupo que consiste en péptidos que consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2.

10 La composición de la presente invención, cuando se prepara como una composición farmacéutica, puede contener una cantidad farmacéuticamente eficaz del péptido anterior de la presente invención.

15 Además, la composición farmacéutica puede contener además un vehículo farmacéuticamente aceptable, pero sin limitarse a esto.

20 El vehículo farmacéuticamente aceptable contenido en la composición farmacéutica de la presente divulgación se usa habitualmente en el momento de la formulación, y ejemplos del mismo pueden incluir, pero sin limitación, lactosa, dextrosa, sacarosa, sorbitol, manitol, almidón, goma arábica, fosfato de calcio, alginato, gelatina, silicato de calcio, celulosa microcristalina, polivinilpirrolidona, celulosa, agua, jarabe, metilcelulosa, hidroxibenzoato de metilo, hidroxibenzoato de propilo, talco, estearato de magnesio y/o aceite mineral.

25 La composición farmacéutica de la presente invención puede contener además un lubricante, un agente humectante, un agente edulcorante, un agente saborizante, un emulsionante, un agente de suspensión, un conservante y similares, además de los ingredientes anteriores.

La composición farmacéutica de la presente invención se puede administrar por vía parenteral y, por ejemplo, puede administrarse mediante administración tópica en la piel.

30 La dosis apropiada de la composición farmacéutica de la presente invención varía dependiendo de factores, tales como el método de formulación, la manera de administración, la edad del paciente, el peso corporal, el género, la morbilidad, la alimentación, el momento de administración, la vía de administración, la tasa de excreción y la sensibilidad de respuesta. Los profesionales con conocimientos normales pueden determinar y prescribir fácilmente la dosis que es eficaz para el tratamiento o la prevención deseados. De acuerdo con una realización preferida de la 35 presente invención, la dosis diaria de la composición farmacéutica de la presente invención es de 0,001 a 1.000 mg/kg.

40 La composición farmacéutica de la presente invención se formula usando un vehículo y/o excipiente farmacéuticamente aceptable de acuerdo con un método que puede realizar fácilmente una persona con conocimientos normales en la materia a la que pertenece la presente invención, y la composición farmacéutica de la presente invención se puede preparar en una forma farmacéutica unitaria o se puede insertar en un recipiente multidosis.

45 En el presente documento, la forma farmacéutica puede ser una solución en un medio oleoso o acuoso, una suspensión y/o una emulsión, un extracto, un polvo, granulados, un comprimido, una cápsula o un gel (por ejemplo, un hidrogel), y puede contener además un agente dispersante y/o un estabilizador.

50 Otro aspecto más de la presente invención se dirige a una composición cosmética para prevenir y/o mejorar la hipomelanosis, comprendiendo la composición cosmética, como principio activo, al menos un péptido seleccionado del grupo que consiste en péptidos que consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2.

Cuando la composición de la presente invención se prepara como una composición cosmética, la composición puede contener una cantidad cosméticamente eficaz del péptido anterior de la presente invención.

55 Además, la composición cosmética puede contener además un vehículo cosméticamente aceptable, pero sin limitarse a esto.

60 Como se usa en el presente documento, el término "péptido" se refiere a una molécula lineal formada de residuos de aminoácidos unidos entre sí a través de enlaces peptídicos. El péptido de la presente invención se puede preparar mediante métodos de síntesis química conocidos, en especial, técnicas de síntesis en fase sólida (solid-phase synthesis techniques; Merrifield, *J. Amer. Chem. Soc.* 85:2149-54(1963); Stewart, *et al.*, *Solid Phase Peptide Synthesis*, 2.<sup>ª</sup> ed., Pierce Chem. Co.: Rockford, 111(1984)) o técnicas de síntesis en fase líquida (patente de los EE. UU. N.º 5.516.891).

65 Como se usa en el presente documento, el término "estabilidad" se refiere a la estabilidad en el almacenamiento (por ejemplo, estabilidad en el almacenamiento a temperatura ambiente), así como a la estabilidad *in vivo*.

5 Como se usa en el presente documento, el término "estimular la producción de cabello" se refiere a la producción del cabello y se usa en un sentido amplio para aumentar la tasa de producción del cabello y la cantidad de producción de cabello. Además, el término significa que se potencian las funciones de la raíz capilar o que aumenta el número de pelos que crecen en los folículos pilosos debido al acortamiento del ciclo de caída y producción de cabello.

Como se usa en el presente documento, la expresión "crecimiento del cabello" se refiere a aumentar el grosor del cabello generado o influir en la tasa de aumento de la longitud.

10 Como se usa en el presente documento, el término "prevenir la caída del cabello" se refiere a bloquear o debilitar la caída del cabello desde los folículos pilosos o el cuero cabelludo.

15 Como se usa en el presente documento, la expresión "cantidad cosméticamente eficaz" se refiere a una cantidad suficiente para alcanzar la eficacia de la composición anterior de la presente invención.

Como se usa en el presente documento, el término "cantidad farmacéuticamente eficaz" se refiere a una cantidad suficiente para lograr la eficacia o actividad del péptido anterior.

### 20 **Efectos ventajosos**

La presente invención está dirigida a un péptido que tiene actividad para estimular la producción de cabello y/o la melanogénesis, una composición que contiene el péptido como principio activo para prevenir y/o mejorar la caída del cabello, una composición que contiene el péptido como principio activo para estimular la producción de cabello y/o el crecimiento del cabello, un uso del péptido para prevenir y/o mejorar la caída del cabello, un uso del péptido para estimular la producción de cabello y/o el crecimiento de cabello, una composición farmacéutica que contiene el péptido como principio activo para prevenir y/o tratar la hipomelanosis, una composición cosmética que contiene el péptido como principio activo para prevenir y/o mejorar la hipomelanosis, y un uso del péptido para prevenir, mejorar y/o tratar la hipomelanosis. El péptido estimula el crecimiento de las células del folículo piloso y aumenta la expresión de factores de crecimiento relacionados con la producción de cabello y factores relacionados con la producción de cabello, mostrando de este modo un excelente efecto sobre la producción de cabello. Además, el péptido aumenta la actividad y la expresión de la tirosinasa y aumenta la expresión de factores implicados en la melanogénesis, mostrando de este modo un excelente efecto sobre la melanogénesis. El péptido anterior de la presente invención se puede aplicar muy ventajosamente a medicamentos, cuasimedamentos y cosméticos gracias a su excelente actividad y seguridad

### 35 **Breve descripción de los dibujos**

La FIG. 1a es un gráfico que muestra un efecto estimulante del crecimiento de células humanas de papilas dérmicas de folículos pilosos (HHFDPC) de un péptido compuesto por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 de acuerdo con una realización de la presente invención.

40 La FIG. 1b es un gráfico que muestra un efecto estimulante del crecimiento de células humanas de papilas dérmicas de folículos pilosos (HHFDPC) de un péptido compuesto por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 de acuerdo con una realización de la presente invención.

45 La FIG. 2a es un diagrama que muestra los resultados de la confirmación de un aumento de la expresión de  $\beta$ -catenina por un péptido compuesto por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 de acuerdo con una realización de la presente invención.

La FIG. 2b es un diagrama que muestra los resultados de la confirmación de un aumento de la expresión de  $\beta$ -catenina por un péptido compuesto por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 de acuerdo con una realización de la presente invención.

50 La FIG. 3a es un diagrama que muestra los resultados de la confirmación de un aumento de la expresión de VEGF mediante un péptido compuesto por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 de acuerdo con una realización de la presente invención.

La FIG. 3b es un diagrama que muestra los resultados de la confirmación de un aumento de la expresión de KGF mediante un péptido compuesto por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 de acuerdo con una realización de la presente invención.

55 La FIG. 4a es un diagrama que muestra los resultados de la confirmación de un aumento de la fosforilación de EPK por un péptido compuesto por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 de acuerdo con una realización de la presente invención.

60 La FIG. 4b es una imagen que muestra los resultados de la confirmación de un aumento de la expresión de PI3K y un aumento de la fosforilación de ERK por un péptido compuesto por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 de acuerdo con una realización de la presente invención.

La FIG. 5 es una imagen que muestra los resultados de la confirmación de un aumento de la expresión de MSX2 por un péptido compuesto por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 de acuerdo con una realización de la presente invención.

65 La FIG. 6a es una imagen que muestra los resultados de la confirmación de la inhibición de la expresión de TGF- $\beta$ 1 mediante un péptido compuesto por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 de acuerdo con una realización de la presente invención.

La FIG. 6b es una imagen que muestra los resultados de la confirmación de la inhibición de la expresión de TGF- $\beta$ 1 mediante un péptido compuesto por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 de acuerdo con una realización de la presente invención.

La FIG. 7a es una imagen que muestra los resultados de la confirmación de un aumento de la expresión de Bcl-2 y una disminución de la expresión de Bax por un péptido compuesto por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 de acuerdo con una realización de la presente invención.

La FIG. 7b es una imagen que muestra los resultados de la confirmación de un aumento de la expresión de Bcl-2 y una disminución de la expresión de Bax por un péptido compuesto por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 de acuerdo con una realización de la presente invención.

La FIG. 8a es una imagen que muestra los resultados de la confirmación de aumentos de la expresión de Ha3-II y queratina-14 mediante un péptido compuesto por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 de acuerdo con una realización de la presente invención.

La FIG. 8b es una imagen que muestra los resultados de la confirmación de un aumento de la expresión de queratina-14 por un péptido compuesto por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 de acuerdo con una realización de la presente invención.

La FIG. 9a es una imagen de la confirmación de una disminución de la expresión del ARNm de DKK-1 como factor relacionado con el retraso del crecimiento del cabello, que se ha aumentado mediante el tratamiento de las células humanas de papilas dérmicas de folículos pilosos con DHT, mediante el tratamiento con un péptido compuesto por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 de acuerdo con una realización de la presente invención.

La FIG. 9b es una imagen de la confirmación de una disminución de la expresión del ARNm de DKK-1 como factor relacionado con el retraso del crecimiento del cabello, que se ha aumentado mediante el tratamiento de las células humanas de papilas dérmicas de folículos pilosos con DHT, mediante el tratamiento con un péptido compuesto por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 de acuerdo con una realización de la presente invención.

La FIG. 10a es una imagen que muestra los resultados de la confirmación de una disminución de la expresión de DKK-1 por un péptido compuesto por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 de acuerdo con una realización de la presente invención.

La FIG. 10B es una imagen que muestra los resultados de la confirmación de una disminución de la expresión de DKK-1 por un péptido compuesto por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 de acuerdo con una realización de la presente invención.

La FIG. 11a es un diagrama que muestra los resultados de la confirmación de un efecto de aumento de la melanogénesis mediante un péptido compuesto por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 de acuerdo con una realización de la presente invención.

La FIG. 11b es un diagrama que muestra los resultados de la confirmación de un efecto de aumento de la melanogénesis mediante un péptido compuesto por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 de acuerdo con una realización de la presente invención.

La FIG. 12a muestra los resultados de la confirmación del aumento de la actividad de la tirosinasa mediante un péptido compuesto por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 de acuerdo con una realización de la presente invención.

La FIG. 12b muestra los resultados de la confirmación del aumento de la actividad de la tirosinasa mediante un péptido compuesto por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 de acuerdo con una realización de la presente invención.

La FIG. 13a muestra los resultados de la confirmación de los aumentos de la expresión del ARNm de MITF y tirosinasa mediante un péptido compuesto por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 de acuerdo con una realización de la presente invención.

La FIG. 13b muestra los resultados de la confirmación de los aumentos de la expresión del ARNm de MITF, tirosinasa, y TRP1 por un péptido compuesto por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 de acuerdo con una realización de la presente invención.

La FIG. 14a es una imagen que muestra los resultados de la confirmación de los aumentos de la expresión proteica de MITF y tirosinasa mediante un péptido compuesto por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 de acuerdo con una realización de la presente invención.

La FIG. 14b es una imagen que muestra los resultados de la confirmación de los aumentos de la expresión proteica de MITF y tirosinasa mediante un péptido compuesto por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 de acuerdo con una realización de la presente invención.

La FIG. 15 es una imagen que muestra los resultados de la confirmación de un aumento de la fosforilación de CREB por un péptido compuesto por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 de acuerdo con una realización de la presente invención.

#### **Mejor modo de llevar a cabo la invención**

La presente invención está dirigida a un péptido que muestra actividad estimulante de la producción del cabello, consistiendo el péptido en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o 2.

#### **Modo de llevar a cabo la invención**

descrito en detalle con referencia a los ejemplos. Estos ejemplos son solo para ilustrar la presente invención de manera más específica, y será evidente para los expertos en la materia que el alcance de la presente invención no está limitado

por estos ejemplos.

## Ejemplos

### 5 Ejemplo sintético 1: Síntesis de péptidos

Se añadieron 700 mg de resina de cloruro de clorotritilo (resina CTL, Nova Biochem Cat. N.º 01-64-0021) en un recipiente de reacción y se añadieron 10 ml de cloruro de metileno (MC), seguido de agitación durante 3 minutos. Después de eliminar la solución, se añadieron 10 ml de dimetilformamida (DMF), seguido de agitación durante 3 minutos y, a continuación, se eliminó de nuevo el disolvente.

Se añadieron 10 ml de una solución de diclorometano a un reactor y se añadieron 200 mmol de Fmoc-Leu-OH (Bachem, Suiza) y 400 mmol de diisopropiletilamina (DIEA). En lo sucesivo, la mezcla se disolvió bien con agitación y, a continuación, la reacción se realizó con agitación durante 1 hora. Después de la reacción, se realizó un lavado y, a continuación, se disolvieron metanol y DIEA (2:1) en diclorometano (DCM), seguido de reacción durante 10 minutos y, a continuación, el material resultante se lavó con exceso de DCM/DMF (1:1).

Después de eliminar la solución, se añadieron 10 ml de dimetilformamida (DMF), seguido de agitación durante 3 minutos y, a continuación, se eliminó de nuevo el disolvente. Se añadieron 10 ml de una solución de desprotección (piperidina al 20 %/DMF) a un recipiente de reacción, seguido de agitación a temperatura ambiente durante 10 minutos y, a continuación, se eliminó la solución. Se añadió la misma cantidad de una solución de desprotección y, a continuación, la reacción se mantuvo de nuevo durante 10 minutos y, posteriormente, se eliminó la solución, seguido de lavado dos veces con DMF, una vez con MC y otra con DMF, durante 3 minutos cada vez, preparando, de este modo, la resina Leu-CTL.

Se añadieron 10 ml de una solución de DMF a un reactor nuevo y 200 mmol de Fmoc-Thr(tBu)-OH (Bachem, Suiza), Se añadieron 200 mmol de HoBt y 200 mmol de Bop, y la mezcla se disolvió completamente con agitación. Se añadieron 400 mmol de DIEA a un reactor en dos porciones divididas y, a continuación, se realizó agitación durante al menos 5 minutos hasta que se disolvieron todos los sólidos. La solución mixta de aminoácidos disueltos se añadió en el recipiente de reacción que contenía la resina desprotegida y la reacción se realizó con agitación a temperatura ambiente durante 1 hora.

Después de eliminar la solución de reacción, la agitación se realizó usando una solución de DMF tres veces durante 5 minutos cada vez, seguido de la eliminación. Se tomó una pequeña cantidad de la resina de reacción para comprobar el grado de reacción usando la prueba de Kaiser (prueba de ninhidrina). La reacción de desprotección se realizó dos veces usando una solución de desprotección de la misma manera como se ha descrito anteriormente, preparando de este modo la resina Thr(tBu)-Leu-CTL.

Después de un lavado suficiente con DMF y MC, se realizó de nuevo la prueba de Kaiser y, a continuación, se realizó la siguiente prueba de unión de aminoácidos de la misma manera que la descrita anteriormente.

Se realizó una reacción en cadena del orden de Fmoc-Asp(OtBu)-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Ser(tBu)-OH, Fmoc-Arg(Pbf)-OH, Fmoc-Trp-OH, Fmoc-Lys(Boc)-OH y Fmoc-Trp-OH basándose en la secuencia de aminoácidos seleccionada. El grupo protector de Fmoc se eliminó mediante reacción dos veces con la solución de desprotección durante 10 minutos para cada una y, a continuación, lavado favorable.

Se añadieron anhídrido acético, DIEA y HoBt para realizar la acetilación durante 1 hora y, a continuación, la resina de peptidilo preparada se lavó con DMF, MC y metanol tres veces para cada uno, se secó bajo el flujo de nitrógeno gaseoso y se secó por completo por descompresión al vacío en P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>.

En lo sucesivo, se añadieron 30 ml de una solución de salida [ácido trifluoroacético (TFA) al 95 %, agua destilada 2 al 5 % y tioanisol 2 al 5 %] y la reacción se mantuvo durante 2 horas mientras la mezcla se agitaba intermitentemente a temperatura ambiente.

La resina se obtuvo a través de filtración, se lavó con una pequeña cantidad de una solución de TFA y, a continuación, se mezcló con la solución madre. La destilación se realizó a presión reducida para reducir el volumen total a la mitad y, a continuación, se añadieron 50 ml de éter frío para inducir la precipitación.

En lo sucesivo, los precipitados se recogieron por centrifugación, seguido de lavado dos veces con éter frío. La solución madre se eliminó, seguido de un secado suficiente en una atmósfera de nitrógeno, sintetizando de este modo 0,73 g de un péptido de la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 (Trp-Lys-Trp-Arg-Ser-Ala-Asp-Thr-Leu) (rendimiento: 93,1 %) antes de la purificación.

El peso molecular se determinó como 1162,3 (valor teórico: 1162,3) utilizando un sistema de análisis de peso molecular. También se sintetizó un péptido compuesto por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 (Lys-Trp-Arg-Ser-Ala-Asp-Thr-Leu) mediante el mismo método descrito anteriormente.

[Tabla 1]

SEQ ID NO	Secuencia (5'->3')	Valor de análisis (espectrómetro de masas)	
		Analítica	Teórico
		valor	valor
1	Trp-Lys-Trp-Arg-Ser-Ala-Asp-Thr-Leu	1162,3	1162,3
2	Lys-Trp-Lys-Arg-Ser-Ala-Asp-Thr-Leu	1104,2	1104,26

**Ejemplo 1: Ensayo de proliferación de DPC**

5 Se sembraron células humanas de papilas dérmicas de folículos pilosos a una densidad de  $2 \times 10^3$  células/pocillo en placas de 96 pocillos, seguido de la incubación durante la noche. Después de cambiar a medio sin suero, las células se trataron con los péptidos, seguido de incubación durante 3 días y, a continuación, los pocillos se trataron con una solución de MTT de 4 mg/ml, seguido de reacción durante 4 horas. El formazán resultante se solubilizó con DNSO y, a continuación, se midió la absorbancia a 550 nm usando un lector de microplacas. Los resultados se muestran en las FIG. 1a y 1b.

10 Como se puede confirmar a partir de las FIG. 1a y 1b, el crecimiento de las células humanas de papilas dérmicas de folículos pilosos se estimuló de una manera dependiente de la dosis mediante el tratamiento con el péptido compuesto por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2, respectivamente.

**Ejemplo 2: prueba de actividad de la  $\beta$ -catenina**

20 Se sembraron células humanas de papilas dérmicas de folículos pilosos a una densidad de  $4 \times 10^5$  células/pocillo en placas de 6 pocillos, seguido de la incubación durante la noche. Después de cambiar a medio sin suero, las células se trataron con los péptidos, seguido de incubación durante 15 y 30 minutos y, a continuación, se recogieron los pocillos para aislar proteínas nucleares y citoplasmáticas. La transferencia Western se llevó a cabo utilizando  $\beta$ -catenina (Santa Cruz Biotechnology, EE. UU.) para comparar los patrones de expresión de  $\beta$ -catenina. Los resultados se muestran en las FIG. 2a y 2b.

25 Como se puede confirmar a partir de las FIG. 2a y 2b, la actividad de la  $\beta$ -catenina, que es un factor relacionado con el crecimiento del cabello, aumentó en la papila dérmica del folículo piloso humano mediante el tratamiento con el péptido compuesto por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2. El aumento de la expresión de  $\beta$ -catenina y su actividad aumentan la expresión de moléculas relacionadas con el crecimiento del cabello.

**Ejemplo 3: RT-PCR de KGF y VEGF**

35 Se sembraron células humanas de papilas dérmicas de folículos pilosos a una densidad de  $4 \times 10^5$  células/pocillo en placa de 6 pocillos, seguido de la incubación durante la noche. Después de cambiar a medio sin suero, las células se trataron con los péptidos, seguido de incubación durante 24 horas y, a continuación, se recogieron los pocillos para aislar el ARN. Después de la cuantificación de ARN, se realizó la síntesis de ADNc utilizando el kit de síntesis de ADNc (Intron, Corea), seguido de PCR usando una premezcla de PCR (Intron, Corea) y los respectivos cebadores de KGF y VEGF y, a continuación, se llevó a cabo la electroforesis en gel de agarosa al 5 % para comparar los niveles de expresión del ARNm de los factores de crecimiento para cada condición de tratamiento de la muestra. Los resultados se muestran en las FIG. 3a y 3b.

[Tabla 2]

SEQ ID NO	Nombre del cebador	Secuencia (5'-3')
3	KGF_F	TCTGTGGAACACAGTGGTACCT
4	KGF_R	GTGTGTCCATTTAGCTGATGCAT
5	VEGF_F	CCATGAACTTTCTGCTGTCTT
6	VEGF_R	TCGATCGTTCTGTATCAGTCT

45 Como puede confirmarse a partir de la FIG. 3a, la expresión de VEGF, que influye en el crecimiento de las células humanas de papilas dérmicas de folículos pilosos, aumentó mediante el tratamiento con el péptido compuesto por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1.

Como puede confirmarse a partir de la FIG. 3b, la expresión de KGF, que influye en el crecimiento de las células humanas de papilas dérmicas de folículos pilosos, aumentó mediante el tratamiento con el péptido compuesto por la

secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2.

**Ejemplo 4: Transferencia Western de PI3K y p-ERK**

5 Se sembraron células humanas de papilas dérmicas de folículos pilosos a una densidad de  $4 \times 10^5$  células/pocillo en placa de 6 pocillos, seguido de la incubación durante la noche. Después de cambiar a medio sin suero, las células se trataron con los péptidos, seguido de incubación durante 15 y 30 minutos y, a continuación, se recogieron los pocillos para preparar lisados celulares. La transferencia Western se llevó a cabo utilizando anticuerpos contra PI3K (Santa Cruz Biotechnology, EE. UU.) y anticuerpo contra fosfo-ERK (Cell Signaling Technology, EE. UU.) para comparar patrones de expresión de proteínas. Los resultados se muestran en las FIG. 4a y 4b.

10 Como puede confirmarse a partir de la FIG. 4a, el nivel de fosforilación de ERK, que influye en el crecimiento de las células humanas de papilas dérmicas de folículos pilosos, aumentó mediante el tratamiento con un péptido compuesto por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1.

15 Además, como puede confirmarse a partir de la FIG. 4b, el aumento de la expresión de PI3K como molécula de señalización del crecimiento del cabello y el aumento del nivel de fosforilación de ERK se observaron en células humanas de papilas dérmicas de folículos pilosos mediante el tratamiento con un péptido compuesto por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2.

**Ejemplo 5: RT-PCR de MSX2**

20 Se sembraron células humanas de papilas dérmicas de folículos pilosos a una densidad de  $4 \times 10^5$  células/pocillo en placa de 6 pocillos, seguido de la incubación durante la noche. Después de cambiar a medio sin suero, las células se trataron con los péptidos, seguido de incubación durante 24 horas y, a continuación, se recogieron los pocillos para aislar el ARN. Después de la cuantificación de ARN, se realizó la síntesis de ADNc utilizando el kit de síntesis de ADNc (Intron, Corea), seguido de PCR usando premezcla de PCR (Intron, Corea) y cebadores de MSX2 y, a continuación, se llevó a cabo la electroforesis en gel de agarosa al 5 % para comparar el nivel de expresión del ARNm del factor de crecimiento en las condiciones de tratamiento de la muestra. Los resultados se muestran en la FIG. 5.

[Tabla 3]

SEQ ID NO	Nombre del cebador	Secuencia (5'-3')
7	MSX2_F	AACACAAGACCAACCGGAAG
8	MSX2_R	GCAGCCATTTTCAGCTTTTC

30 Como puede confirmarse en la FIG. 5, la expresión de MSX2, que es un factor que influye en el alargamiento de los tallos del pelo, aumentó en las células humanas de papilas dérmicas de folículos pilosos mediante el tratamiento con un péptido compuesto por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1.

**Ejemplo 6: RT-PCR de TGF-β1**

40 Se sembraron células humanas de papilas dérmicas de folículos pilosos a una densidad de  $4 \times 10^5$  células/pocillo en placa de 6 pocillos, seguido de la incubación durante la noche. Después de cambiar a medio sin suero, las células se trataron con los péptidos, seguido de incubación durante 24 horas y, a continuación, se recogieron los pocillos para aislar el ARN. Después de la cuantificación de ARN, se realizó la síntesis de ADNc utilizando el kit de síntesis de ADNc (Intron, Corea), seguido de PCR usando una premezcla de PCR (Intron, Corea) y los cebadores de TGF-β1 y, a continuación, se llevó a cabo la electroforesis en gel de agarosa al 5 % para comparar los niveles de expresión del ARNm de los factores de crecimiento para cada condición de tratamiento de la muestra. Los resultados se muestran en las FIG. 6a y 6b.

[Tabla 4]

SEQ ID NO	Nombre del cebador	Secuencia (5'-3')
9	TGF-β1_F	GCCCTGGATACCAACTATTGC
10	TGF-β1_R	TCAGCACTTGCAGGAGTAGCG

50 Como puede observarse en las FIG. 6a y 6b, la expresión de TGF-β1, que es un factor de inhibición del crecimiento del cabello, se inhibió en células humanas de papilas dérmicas de folículos pilosos mediante el tratamiento con el péptido compuesto por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2.

**Ejemplo 7: Transferencia Western de Bcl-2/Bax**

55 Se sembraron células humanas de papilas dérmicas de folículos pilosos a una densidad de  $4 \times 10^5$  células/pocillo en

placa de 6 pocillos, seguido de la incubación durante la noche. Después de cambiar a medio sin suero, las células se trataron con los péptidos, seguido de incubación durante 24 horas y, a continuación, se recogieron los pocillos para preparar lisados celulares. La transferencia Western se realizó utilizando anticuerpos Bcl-2 y Bax (Santa Cruz Biotechnology, EE. UU.) para comparar los patrones de expresión de proteínas. Los resultados se muestran en las FIG. 7a y 7b.

Como se puede confirmar a partir de las FIG. 7a y 7b, la expresión de la proteína antiapoptótica Bcl-2 aumentó y la expresión de la proteína Bax relacionada con la apoptosis disminuyó en células humanas de papilas dérmicas de folículos pilosos mediante el tratamiento con el péptido compuesto por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2.

**Ejemplo 8: RT-PCR de Ha3-II y queratina-14**

Se sembraron células humanas de papilas dérmicas de folículos pilosos a una densidad de  $5 \times 10^5$  células/pocillo en placas de 6 pocillos, seguido de la incubación durante la noche. Después de cambiar a medio sin suero, las células se trataron con los péptidos, seguido de incubación durante 24 horas y, a continuación, se recogieron los pocillos para aislar el ARN. Después de la cuantificación de ARN, se realizó la síntesis de ADNc utilizando el kit de síntesis de ADNc (Intron, Corea), seguido de PCR usando una premezcla de PCR (Intron, Corea) y los cebadores de Ha3-II y queratina-14 y, a continuación, se llevó a cabo la electroforesis en gel de agarosa al 5 % para comparar los niveles de expresión del ARNm de los factores de crecimiento para cada condición de tratamiento de la muestra. Los resultados se muestran en las FIG. 8a y 8b.

[Tabla 5]

SEQ ID NO	Nombre del cebador	Secuencia (5'-3')
11	Ha3-II_F	CAGAAGTATAGCAGTAAGACAG
12	Ha3-II_R	CAAGAGGAAAGTTTATTAGGC
13	Queratina-14_F	CCACCTTTCATCTTCCCAATTCTC
14	Queratina-14_R	GTGCGGATCTGGCGGTTG

Como puede confirmarse a partir de la FIG. 8a, la expresión del ARNm de Ha3-II y queratina-14, que son factores relacionados con el crecimiento del cabello, aumentó en las células humanas de papilas dérmicas de folículos pilosos mediante el tratamiento con el péptido compuesto por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1.

Como puede confirmarse a partir de la FIG. 8b, la expresión del ARNm de queratina-14 aumentó en células humanas de papilas dérmicas de folículos pilosos mediante el tratamiento con el péptido compuesto por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2.

**Ejemplo 9: RT-PCR de DKK-1**

Se sembraron células humanas de papilas dérmicas de folículos pilosos a una densidad de  $5 \times 10^5$  células/pocillo en placas de 6 pocillos, seguido de la incubación durante la noche. Después de cambiar a medio sin suero, las células se trataron con los péptidos, seguido de incubación durante 24 horas y, a continuación, se recogieron los pocillos para aislar el ARN. Después de la cuantificación de ARN, se realizó la síntesis de ADNc utilizando el kit de síntesis de ADNc (Intron, Corea), seguido de PCR usando una premezcla de PCR (Intron, Corea) y los cebadores de DKK-1 y, a continuación, se llevó a cabo la electroforesis en gel de agarosa al 5 % para comparar los niveles de expresión del ARNm de los factores de crecimiento para cada condición de tratamiento de la muestra. Los resultados se muestran en las FIG. 9a y 9b.

[Tabla 6]

SEQ ID NO	Nombre del cebador	Secuencia (5'-3')
15	DKK-1_F	TGATGAGTACTGCGCTAGTC
16	DKK-1_R	CTCCTATGCTTGGTACACAC

Como se puede confirmar a partir de las FIG. 9a y 9b, la expresión del ARNm de DKK-1 como factor relacionado con el retraso del crecimiento del cabello, que se ha aumentado mediante el tratamiento de las células humanas de papilas dérmicas de folículos pilosos con DHT, se redujo mediante el tratamiento con un péptido compuesto por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2 de acuerdo con una realización de la presente invención.

**Ejemplo 10: Transferencia Western de DKK-1**

Se sembraron células humanas de papilas dérmicas de folículos pilosos a una densidad de  $4 \times 10^5$  células/pocillo en placa de 6 pocillos, seguido de la incubación durante la noche. Después de cambiar a medio sin suero, las células se trataron con los péptidos, seguido de incubación durante 24 horas y, a continuación, se recogieron los pocillos para preparar lisados celulares. La transferencia Western se llevó a cabo utilizando anticuerpos DKK-1 (Santa Cruz Biotechnology, EE. UU.) para comparar los patrones de expresión de proteínas. Los resultados se muestran en las FIG. 10a y 10b.

Como se puede confirmar a partir de las FIG. 10a y 10b, la expresión proteica de DKK-1 como factor relacionado con el retraso del crecimiento del cabello, que se ha aumentado mediante el tratamiento de las células humanas de papilas dérmicas de folículos pilosos con DHT, se redujo mediante el tratamiento con un péptido compuesto por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2 de acuerdo con una realización de la presente invención.

**Ejemplo 11: Ensayo de medición de melanina**

Después de cultivar melanocitos (línea celular B16F10) en placas de 6 pocillos en una incubadora a 37 °C durante 24 horas, se eliminó el medio de cada placa y se intercambió con un medio nuevo, seguido del tratamiento con el presente péptido con diferentes concentraciones. Después de la incubación durante 72 horas, se eliminó el medio de cultivo y se retiraron las células y, a continuación, se transfirieron a tubos de 1,5 ml, seguido de centrifugación a 13.000 rpm durante 3 minutos. Se eliminó el sobrenadante y se recogieron sedimentos celulares para observar la melanina. A continuación, se añadieron 150 µl de NaOH 2 M a los sedimentos celulares para someter a lisis la melanina intracelular a 60 °C durante 30 minutos. A continuación, se añadieron 100 µl del sobrenadante obtenido de la lisis a cada pocillo de placas de 96 pocillos y se midió la absorbancia a 490 nm. Los resultados se muestran en las FIG. 11a y 11b.

Como se muestra en las FIG. 11a y 11b, la melanogénesis aumentó en los melanocitos mediante el tratamiento con el péptido compuesto por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2.

**Ejemplo 12: Ensayo de actividad de la tirosinasa**

Se cultivaron células de la línea celular de melanoma (B16F10) en placas de cultivo de 6 pocillos durante 24 horas y se trataron con un péptido con diferentes concentraciones, seguido de cultivo durante 72 horas. Las placas de cultivo de 6 pocillos se cargaron en hielo y se lavaron con PBS frío y, a continuación, se añadieron 300 µl de tampón fosfato sódico 0,1 M (tampón de lisis pH 6,8) que contenía Triton X-100 al 1 %. Las células se recogieron en tubos de 1,5 ml y, a continuación, se rompieron las membranas celulares repitiendo cinco veces la congelación rápida a -270 °C y la descongelación. Después de centrifugar a 13.000 rpm durante 20 minutos, el sobrenadante se recogió en otros tubos de 1,5 ml y se cuantificó la proteína de las muestras. Las muestras se diluyeron hasta tener la misma concentración de proteína y, a continuación, se distribuyeron en cada uno de los tres pocillos en una placa de cultivo de 96 pocillos y, a continuación, se añadieron 20 µl de L-dopa 10 mM, seguido de incubación a 37 °C durante 1 hora. La absorbancia se midió a 475 nm y los resultados se muestran en las FIG. 12a y 12b.

Como se muestra en las FIG. 12a y 12b, la actividad de la tirosinasa aumentó en los melanocitos mediante el tratamiento con el péptido compuesto por la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2.

**Ejemplo 13: RT-PCR del gen relacionado con la melanogénesis**

Se incubaron melanocitos (línea celular B16F10) en placas de cultivo de 6 pocillos en una incubadora durante 24 horas y se trataron con los péptidos de la presente invención con diferentes concentraciones. Después de extraer ARN de las células incubadas durante 72 horas, se preparó ADNc. La PCR se realizó utilizando los respectivos cebadores específicos de MITF y tirosinasa, los cuales son factores implicados en la melanogénesis, y se observaron los cambios de expresión de los respectivos genes. Los resultados se muestran en las FIG. 13a y 13b.

[Tabla 7]

SEQ ID NO	Nombre del cebador	Secuencia (5'-3')
17	MITF_F	CCAGCCTGGCGATCATGTCAT
18	MITF_R	GGTCTGGACAGGAGTTGCTG
19	tirosinasa_F	GGCCAGCTTTCAGGCAGAGG
20	tirosinasa_R	TGGTGCTTCATGGGCAAAT
21	TRP1_F	TCTGTGAAGGTGTGCAGGAG
22	TRP1_R	CCGAAACAGAGTGGAAGGTT

Como puede observarse en la FIG. 13a, la expresión del ARNm del factor de transcripción MITF y la enzima tirosinasa, que están implicados en la melanogénesis, aumentó mediante el tratamiento de melanocitos con el péptido compuesto

por la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1.

5 Como puede verse a partir de la FIG. 13b, la expresión del ARNm del factor de transcripción MITF y la enzima tirosinasa, que están implicados en la melanogénesis, aumentó mediante el tratamiento de melanocitos con el péptido compuesto por la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2.

#### **Ejemplo 14: Transferencia Western de proteínas relacionadas con la melanogénesis**

10 Se incubaron melanocitos (línea celular B16F10) en placas de cultivo de 6 pocillos durante 24 horas y se trataron con los péptidos de la presente invención con diferentes concentraciones. Después de 72 horas de incubación, las células se sometieron a lisis y las células se sometieron a transferencia Western utilizando anticuerpos específicos (dos tipos, ambos de Santa Cruz Biotechnology, EE. UU.) para investigar la expresión de MITF y tirosinasa, que son factores implicados en la melanogénesis. Los resultados se muestran en la FIG. 14.

15 Como puede observarse en la FIG. 14a, la expresión proteica del factor de transcripción MITF y la enzima tirosinasa, que están implicados en la melanogénesis, aumentó mediante el tratamiento de melanocitos con el péptido compuesto por la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1.

#### **Ejemplo 15: Ensayo de la actividad de proteínas relacionadas con la melanogénesis**

20 Se incubaron melanocitos (línea celular B16F10) en placas de cultivo de 6 pocillos en una incubadora durante 24 horas y se trataron con el péptido de la presente invención con diferentes concentraciones. Después de 72 horas de incubación, las células se sometieron a lisis y las células se sometieron a transferencia Western utilizando anticuerpos específicos (Cell Signaling Technology, EE. UU.) para investigar el nivel de fosforilación de CREB, que es una sustancia de señalización implicado en la melanogénesis.

25 Como puede confirmarse en la FIG. 15, el nivel de fosforilación de CREB, que es un factor implicado en la melanogénesis, aumentó cuando los melanocitos se trataron con el péptido compuesto por las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 2.

30 Aunque la presente invención se ha descrito en detalle con referencia a las características específicas, será evidente para los expertos en la materia que la presente descripción es solo para una realización preferida y no limita el alcance de la presente invención. Por tanto, el alcance sustancial de la presente invención estará definido por las reivindicaciones adjuntas y los equivalentes de las mismas.

35

#### **Aplicabilidad industrial**

40 La presente invención se refiere a un péptido que muestra actividad estimulante de la producción del cabello y/o actividad estimulante de la melanogénesis, una composición que contiene el péptido como principio activo para prevenir y/o mejorar la caída del cabello, una composición que contiene el péptido como principio activo para estimular la producción de cabello y/o el crecimiento del cabello, un uso del péptido para prevenir y/o mejorar la caída del cabello, un uso del péptido para estimular la producción de cabello y/o el crecimiento de cabello, una composición farmacéutica que contiene el péptido como principio activo para prevenir y/o tratar la hipomelanosis, una composición cosmética que contiene el péptido como principio activo para prevenir y/o mejorar la hipomelanosis, y un uso del péptido para

45 prevenir, mejorar y/o tratar la hipomelanosis.

**REIVINDICACIONES**

1. Un péptido que tiene actividad para estimular la producción de cabello o la melanogénesis, consistiendo el péptido la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO: 2.
- 5 2. El péptido de la reivindicación 1, en donde el péptido estimula el crecimiento de las células del folículo piloso.
3. El péptido de la reivindicación 1, en donde el péptido aumenta la expresión de  $\beta$ -catenina.
- 10 4. El péptido de la reivindicación 1, en donde el péptido aumenta la expresión de un factor de crecimiento relacionado con la producción de cabello seleccionado del grupo que consiste en factor de crecimiento de queratinocitos (KGF) y factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF).
- 15 5. El péptido de la reivindicación 1, en donde el péptido aumenta la expresión de la fosfoinositida 3-quinasa (PI3K) y la fosforilación de la quinasa regulada por señales extracelulares (ERK).
- 20 6. El péptido de la reivindicación 1, en donde el péptido aumenta la expresión de un factor relacionado con la producción del cabello seleccionado del grupo que consiste en Msh homeobox 2 (MSX2), Ha3-II (Queratina, cuticular tipo I Ha3-II), y queratina-14.
7. El péptido de la reivindicación 1, en donde el péptido disminuye la expresión de un factor de retraso del crecimiento del cabello seleccionado del grupo que consiste en el factor de crecimiento transformante beta 1 (TGF- $\beta$ 1) y el inhibidor 1 de la vía de señalización Dickkopf WNT (DKK-1).
- 25 8. El péptido de la reivindicación 1, en donde el péptido aumenta la expresión del linfoma de células B 2 (Bcl-2) y disminuye la expresión de la proteína X asociada a BCL2 (Bax).
9. Un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 para su uso en:
- 30 (a) la prevención o mejora de la caída del cabello; o  
(b) la estimulación de la producción de cabello o del crecimiento del cabello.
10. El péptido de la reivindicación 1, en donde el péptido:
- 35 (a) aumenta la actividad de la tirosinasa; o  
(b) aumenta la expresión de un factor relacionado con la síntesis de melanina seleccionado del grupo que consiste en el factor de transcripción asociado a microftalmia (MITF) y la proteína 1 relacionada con tirosinasa (TRP1); o  
(c) aumenta la expresión de tirosinasa; o  
40 (d) aumenta la fosforilación de la proteína de unión al elemento de respuesta al AMPc (CREB).
11. Una composición farmacéutica que comprende un péptido que consiste en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o un péptido que consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 para su uso en la prevención o tratamiento de la hipomelanosis.
- 45 12. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 11, en donde la hipomelanosis es vitíligo, albinismo, nevo despigmentoso, pitiriasis alba, pitiriasis versicolor, despigmentación postinflamatoria, morfea, piebaldismo, hipomelanosis guttata idiopática o leucoderma punctatum.

Fig. 1a

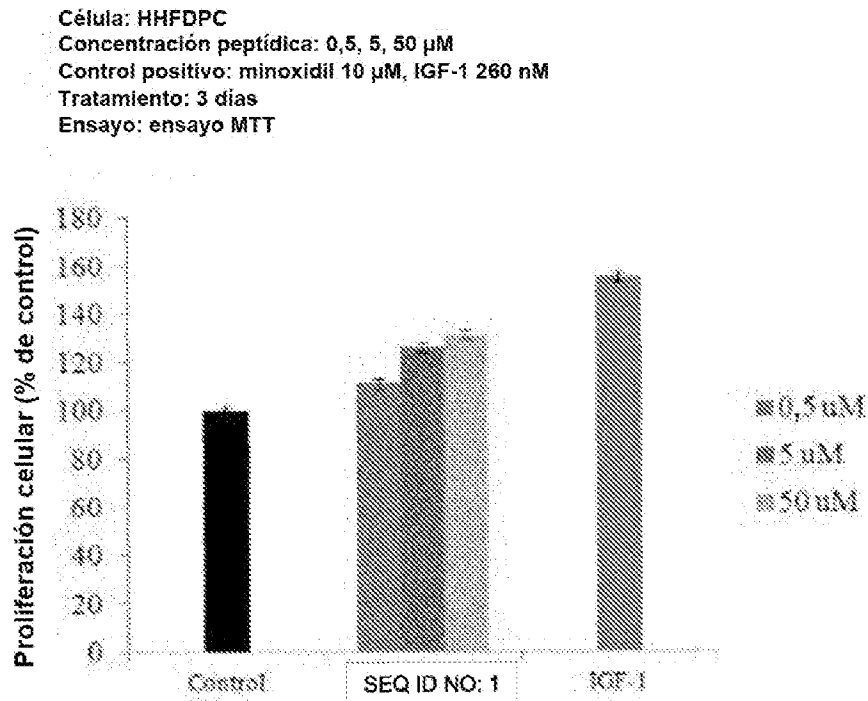


Fig. 1b

Célula: HHFDPC  
Concentración peptídica: 0,5, 5, 50  $\mu\text{M}$   
Control positivo: minoxidil 10  $\mu\text{M}$ , IGF-1 65 nM  
Tratamiento: 3 días  
Ensayo: tinción SRB

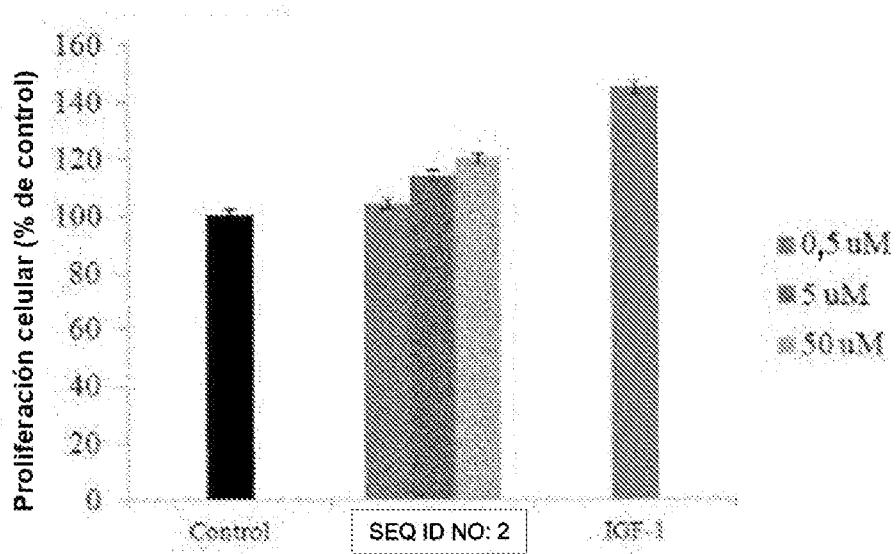


Fig. 2a

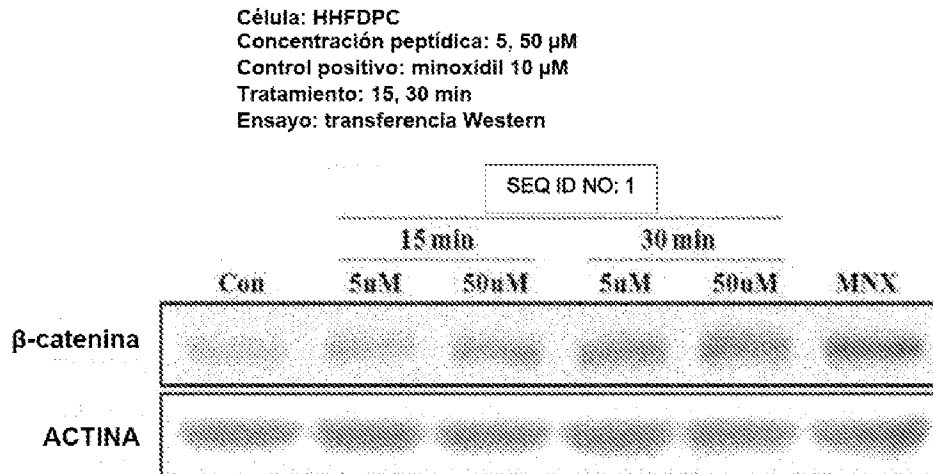


Fig. 2b

Célula: HHFDPC  
Concentración peptídica: 5, 50  $\mu$ M  
Control positivo: minoxidil 10  $\mu$ M  
Tratamiento: 15, 30 min  
Ensayo: transferencia Western

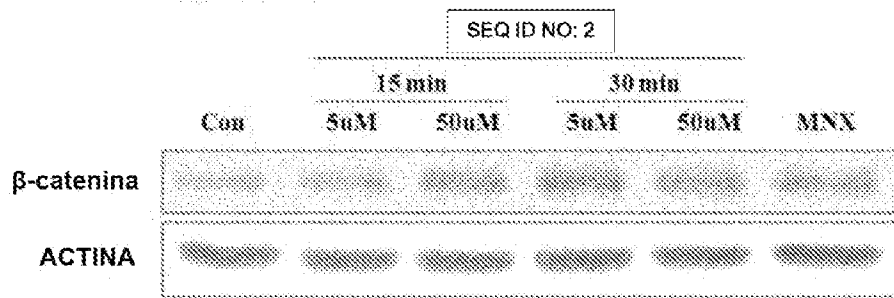


Fig. 3a

Célula: HHFDPC  
 Concentración peptídica: 0,5, 5, 50  $\mu$ M  
 Control positivo: minoxidil 10  $\mu$ M  
 Tratamiento: 24 h  
 Ensayo: RT-PCR

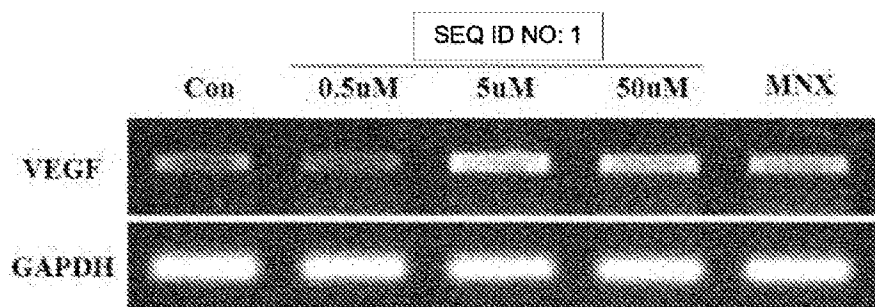


Fig. 3b

Célula: HHFDPC  
Concentración peptídica: 0,5, 5, 50  $\mu$ M  
Control positivo: minoxidil 10  $\mu$ M  
Tratamiento: 24 h  
Ensayo: RT-PCR

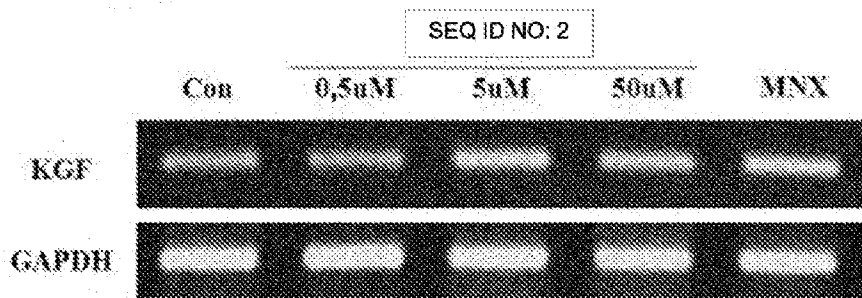


Fig. 4a

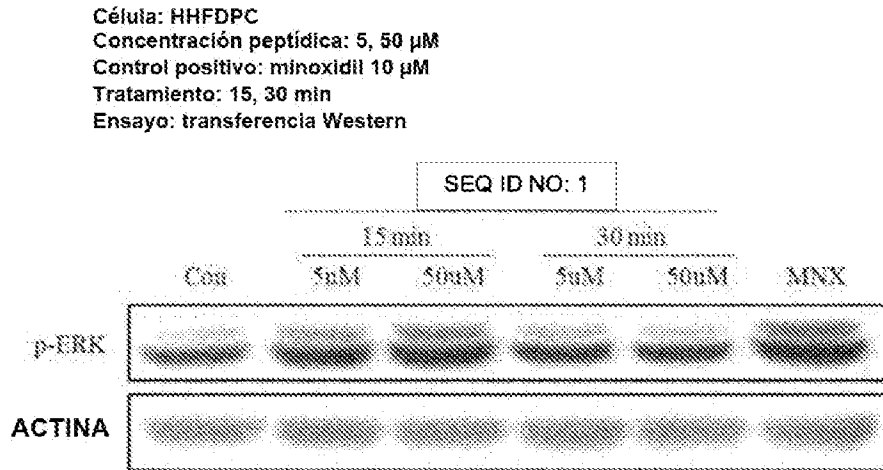


Fig. 4b

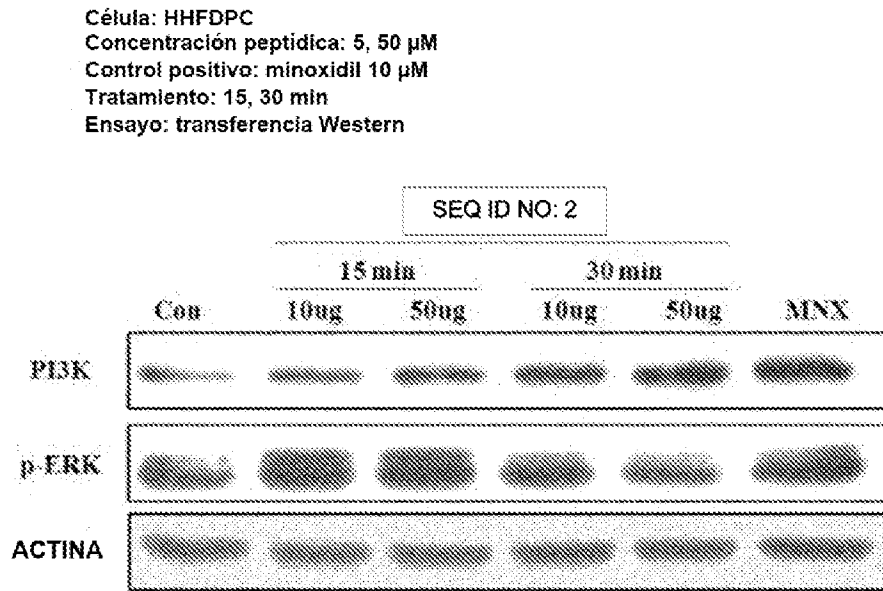


Fig. 5

Célula: HHGMC  
Concentración peptídica: 0,5, 5, 50  $\mu$ M  
Control positivo: EGF 160 nM  
Tratamiento: 24 h  
Ensayo: RT-PCR

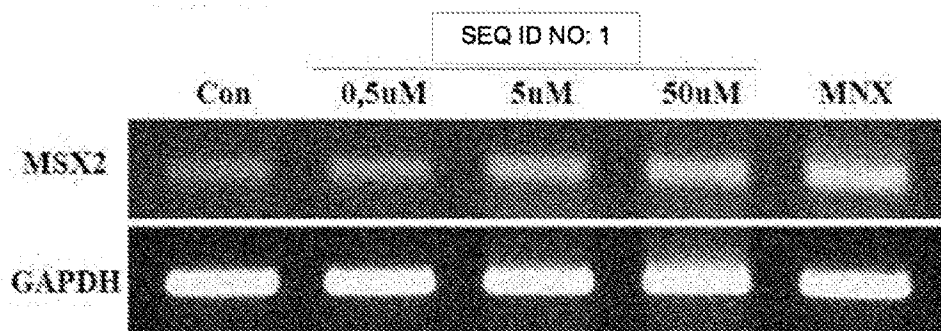


Fig. 6a

Célula: HHFDPC  
Concentración peptídica: 0,5, 5, 50  $\mu$ M  
Control positivo: minoxidil 2  $\mu$ g/ml  
Tratamiento: 24 h  
Ensayo: RT-PCR

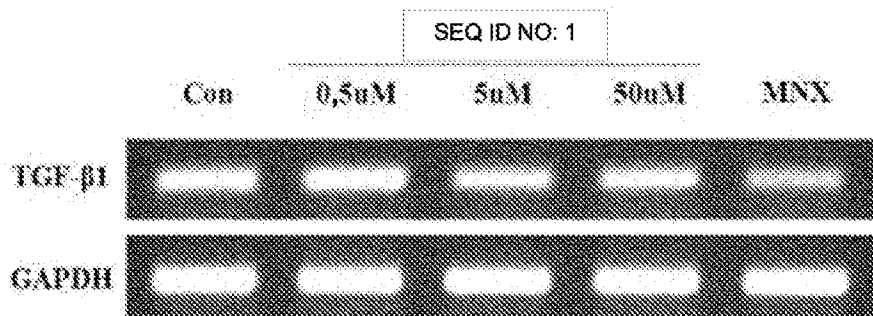


Fig. 6b

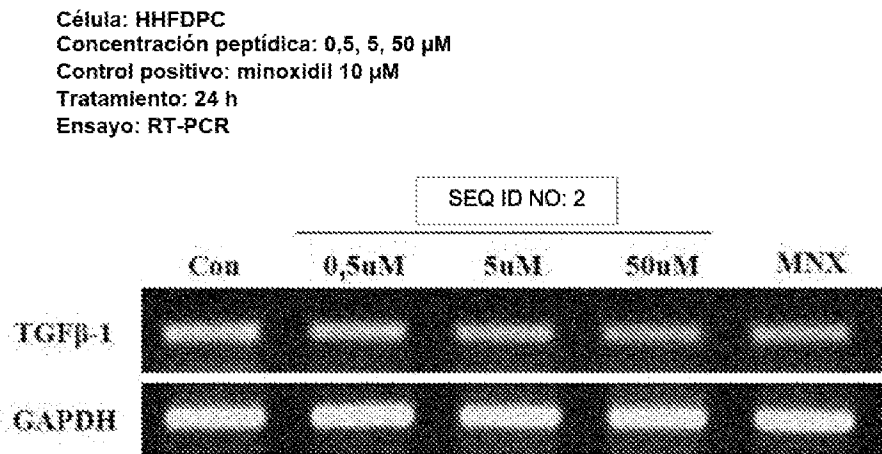


Fig. 7a

Célula: HHFDPC  
Concentración peptídica: 0,5, 5, 50  $\mu$ M  
Control positivo: minoxidil 10  $\mu$ M  
Tratamiento: 24 h  
Ensayo: transferencia Western

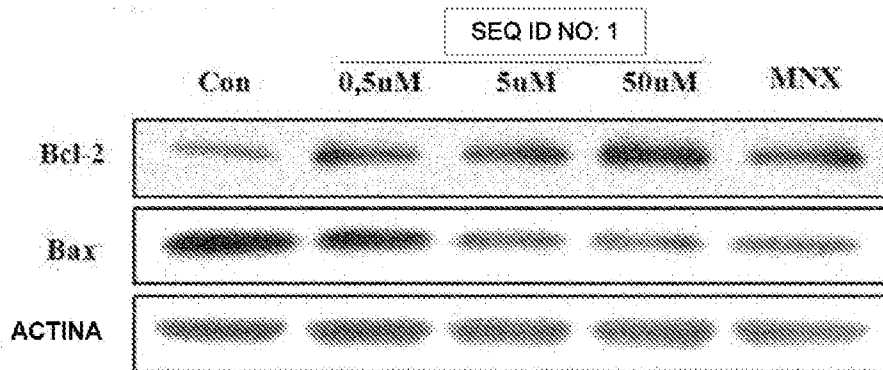


Fig. 7b

Célula: HHFDPC  
Concentración peptídica: 0,5, 5, 50  $\mu$ M  
Control positivo: minoxidil 10  $\mu$ M  
Tratamiento: 24 h  
Ensayo: transferencia Western

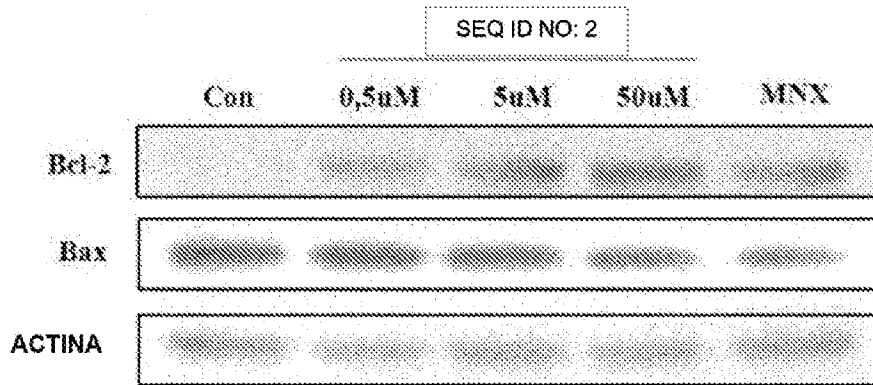


Fig. 8a

Célula: HaCaT  
 Concentración peptídica: 0,5, 5, 50  $\mu$ M  
 Control positivo: RT-PCR  
 Tratamiento: 24 h  
 Ensayo: RT-PCR

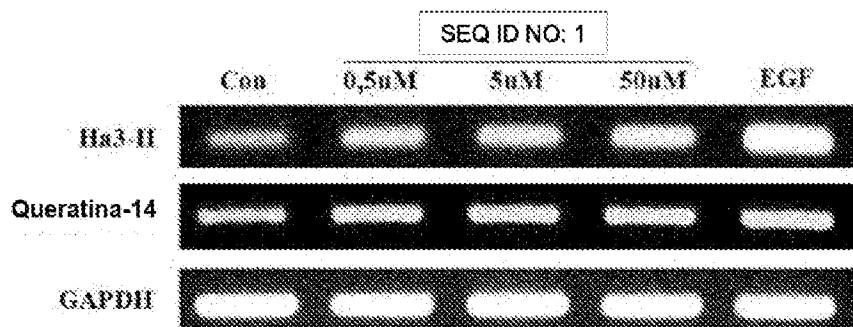


Fig. 8b

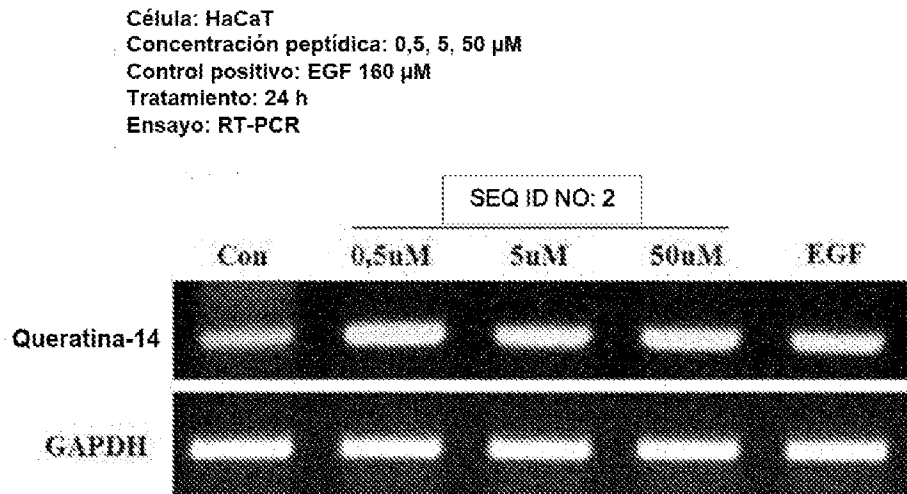


Fig. 9a

Célula: HHFDPC  
Concentración peptídica: 5, 50  $\mu$ M  
Control positivo: minoxidil 5  $\mu$ g/ml  
Inductor: deshidrotestosterona 5  $\mu$ g/ml  
Tratamiento: 24 h  
Ensayo: RT-PCR

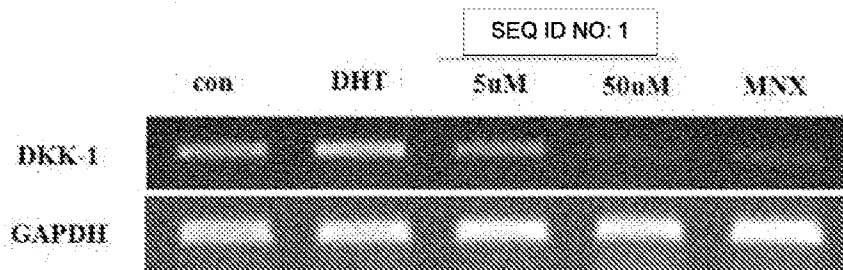


Fig. 9b

Célula: HHFDPC  
 Concentración peptídica: 5, 50  $\mu$ M  
 Control positivo: minoxidil 5  $\mu$ g/ml  
 Inductor: deshidrotestosterona 5  $\mu$ g/ml  
 Tratamiento: 24 h  
 Ensayo: RT-PCR

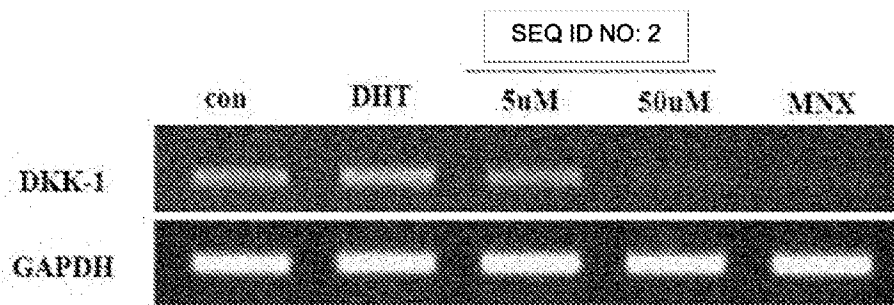


Fig. 10a

Célula: HHFDPC  
Concentración peptídica: 5, 50  $\mu$ M  
Control positivo: minoxidil 5  $\mu$ g/ml  
Inductor: deshidrotestosterona 5  $\mu$ g/ml  
Tratamiento: 24 h  
Ensayo: transferencia Western

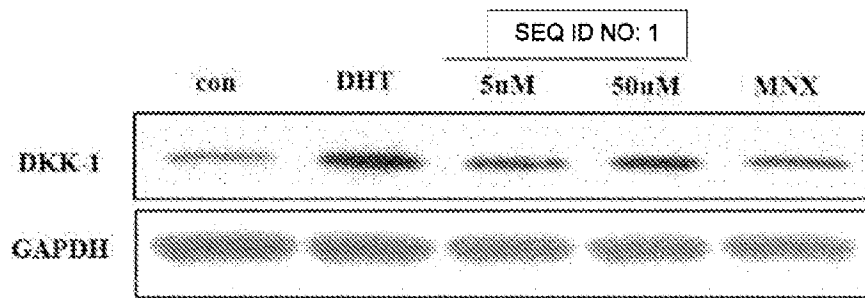


Fig. 10b

Célula: HHFDPC  
 Concentración peptídica: 5, 50  $\mu$ M  
 Control positivo: minoxidil 5  $\mu$ g/ml  
 Inductor: deshidrotestosterona 5  $\mu$ g/ml  
 Tratamiento: 24 h  
 Ensayo: transferencia Western

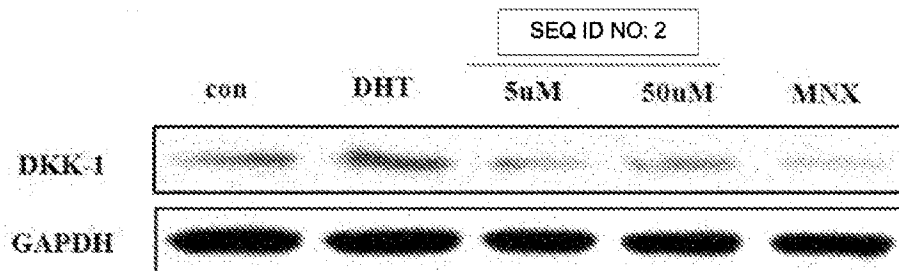


Fig. 11a

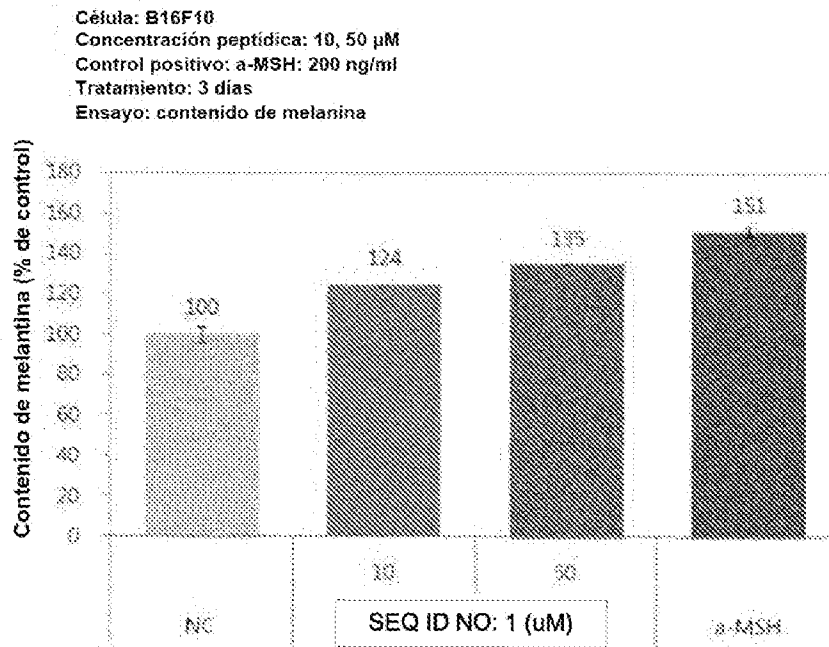


Fig. 11b

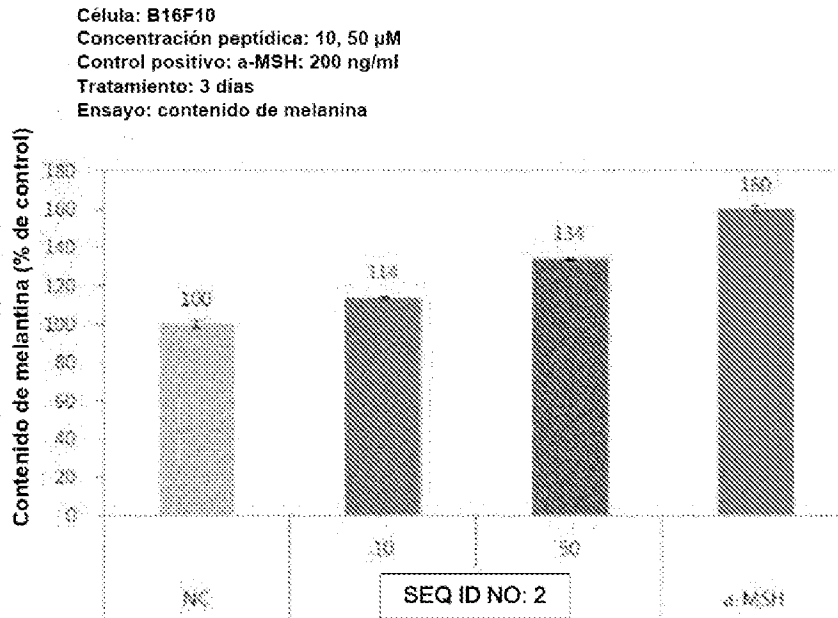


Fig. 12a

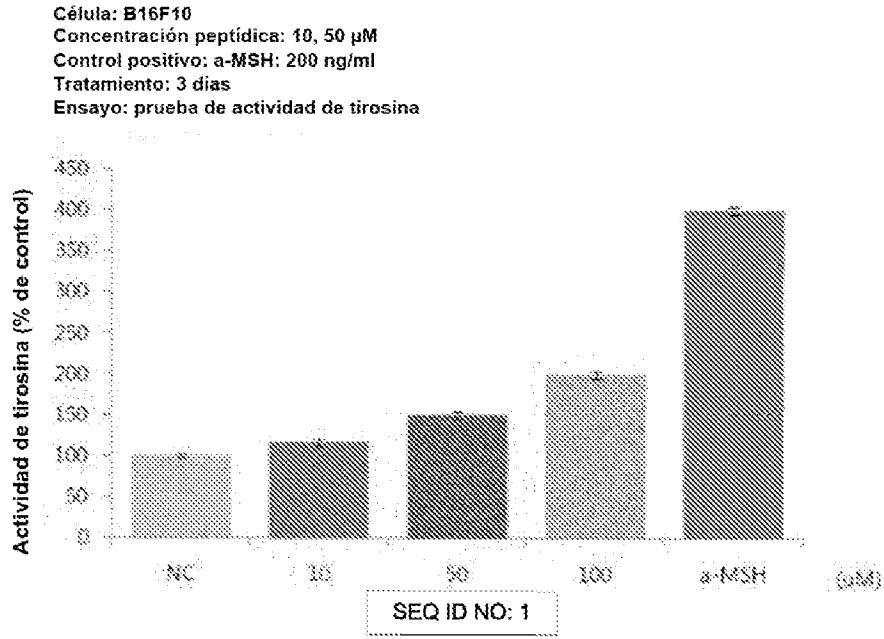


Fig. 12b

Célula: B16F10  
Concentración peptídica: 10, 50, 100  $\mu$ M  
Control positivo:  $\alpha$ -MSH: 200 ng/ml  
Tratamiento: 2 días  
Ensayo: ensayo de actividad de la tirosina

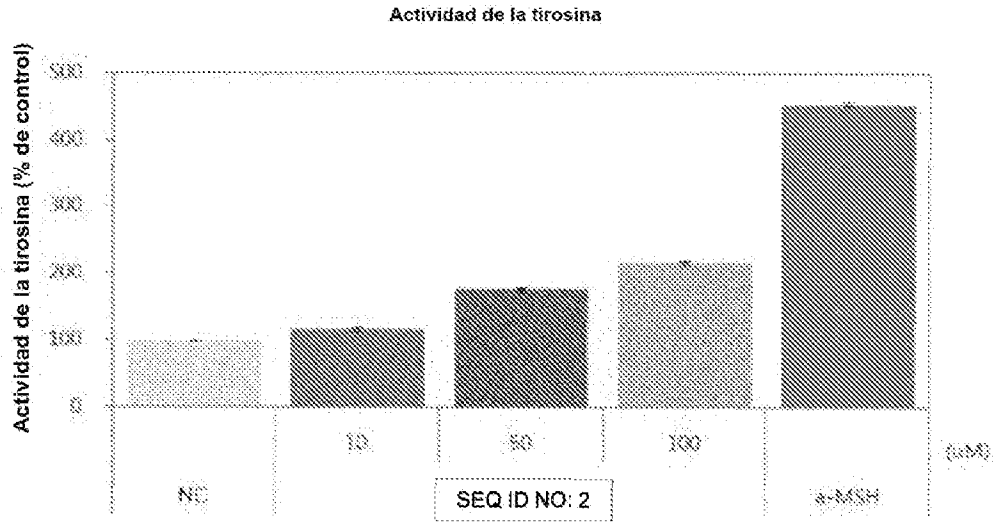


Fig. 13a

Célula: B16F10  
Concentración peptídica: 10, 50  $\mu$ M  
Control positivo:  $\alpha$ -MSH: 200 ng/ml  
Tratamiento: 2 días  
Ensayo: RT-PCR

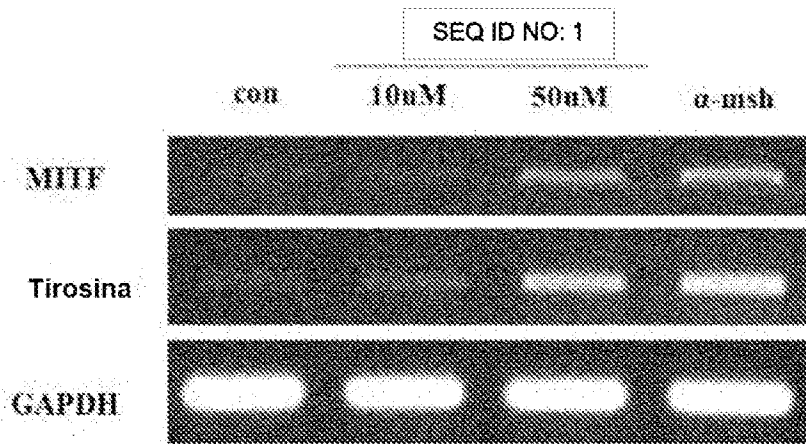


Fig. 13b

Célula: B16F10  
 Concentración peptídica: 10, 50  $\mu$ M  
 Control positivo:  $\alpha$ -MSH: 200 ng/ml  
 Tratamiento: 3 días  
 Ensayo: RT-PCR

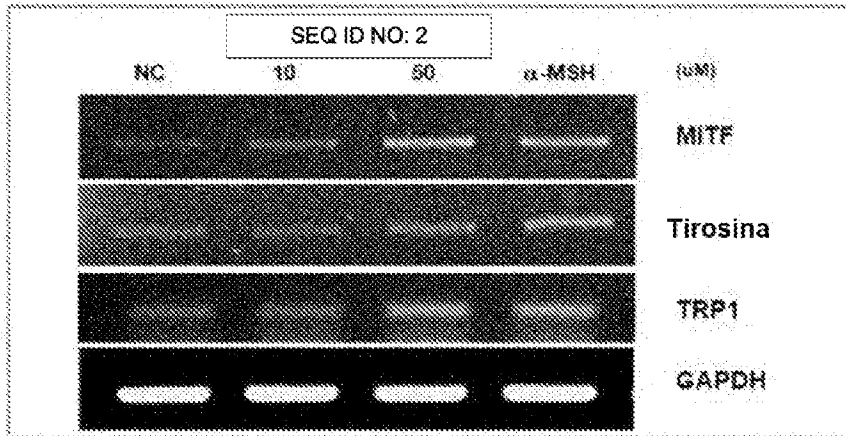


Fig. 14a

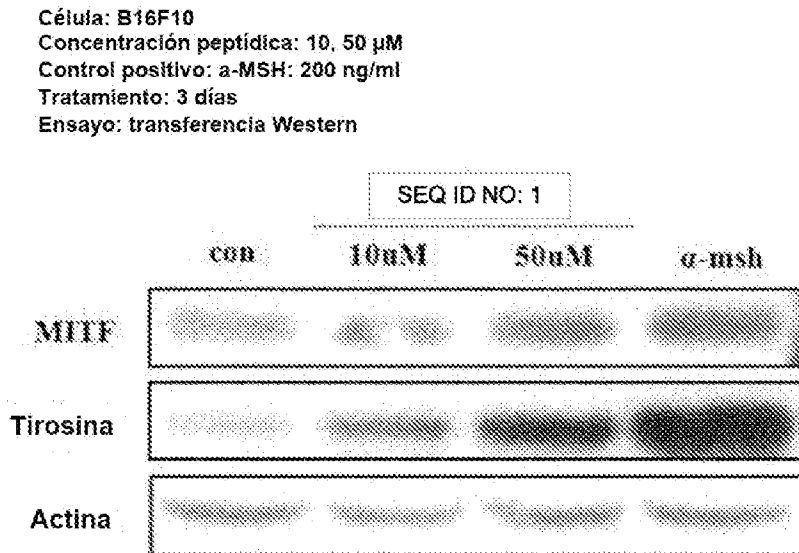


Fig. 14b

Célula: B16F10  
Concentración peptídica: 10, 50  $\mu$ M  
Control positivo:  $\alpha$ -MSH: 200 ng/ml  
Tratamiento: 3 días  
Ensayo: transferencia Western



Fig. 15

Célula: B16F10  
 Concentración peptídica: 10, 50  $\mu$ M  
 Control positivo:  $\alpha$ -MSH: 200 ng/ml  
 Tratamiento: 3 días  
 Ensayo: transferencia Western

