República Federativa do Brasil
Ministério da Indústria, Comércio Exterior
e Serviços
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 0516466-4 B1

(22) Data do Depósito: 22/09/2005

(45) Data de Concessão: 09/01/2018

(54) Título: PEPTÍDEOS SINTÉTICOS QUE DIMINUEM OU ELIMINAM AS BOLSAS FORMADAS ABAIXO DO CONTORNO INFERIOR DOS OLHOS E SEU USO NAS COMPOSIÇÕES COSMÉTICAS OU DERMOFARMACÊUTICAS

(51) Int.Cl.: C07K 5/103; A61K 38/07; A61P 7/10; A61Q 19/08

(30) Prioridade Unionista: 05/10/2004 ES P200402364

(73) Titular(es): LIPOTEC, S.A.

(72) Inventor(es): ARTURO PUIG MONTIEL; JUAN CEBRIAN PUCHE; ELENA PASSERINI

"PEPTÍDEOS SINTÉTICOS QUE DIMINUEM OU ELIMINAM AS BOLSAS FORMADAS ABAIXO DO CONTORNO INFERIOR DOS OLHOS, MÉTODO DE OBTENÇÃO DOS PEPTÍDEOS, COMPOSIÇÕES COSMÉTICAS COMPREENDENDO OS PEPTÍDEOS E USO DOS PEPTÍDEOS"

CAMPO DA INVENÇÃO

A presente invenção se refere a peptídeos sintéticos que diminuem ou eliminam as bolsas que se formam debaixo dos olhos e as composições cosméticas ou dermofarmacêuticas que contem tais peptídeos de utilidade no tratamento da pele, preferentemente a pele do rosto, e especialmente a pele situada debaixo dos olhos, com o objetivo de diminuir ou eliminar o inchaço assim como melhorar sua firmeza, hidratação e elasticidade.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

A aparição de bolsas no contorno inferior dos olhos é um problema cosmético comum que ocorre quando a pele da pálpebra inferior se torna ligeiramente inchada. A pele em torno dos olhos é relativamente delgada e tem uma composição menos gordurosa que muitas outras áreas da pele. Por este motivo, o envelhecimento, o estresse, distintas enfermidades e a contaminação ambiental podem manifestar seus primeiros sintomas com um inchaço das pálpebras inferiores e a aparição de bolsas devido à perda da firmeza e elasticidade da pele que se encontra situada debaixo dos olhos. O acúmulo de líquido debaixo da pele na área situada debaixo dos olhos origina um edema que se manifesta como olhos inchados, ligeiramente mais escuros em contraste com as zonas faciais em volta ("olheiras"), que o consumidor percebe como cosmeticamente inaceitáveis ou antiestéticas.

Até o momento, não se conhecem as razões exatas pelas

quais se formam as antiestéticas bolsas debaixo dos olhos, mas distintos fatores externos como o estresse, o consumo excessivo de cafeína ou de álcool e a falta de cuidado têm sido identificados como fatores associados ou indutores do problema. Ainda assim, na literatura foram descritos fatores internos que contribuem para a formação das bolsas abaixo dos olhos como o mau funcionamento do rim e retenção de líquidos, elevada pressão sanguínea, inflamação, componentes alérgicos (rinite alérgica) ou alteração da drenagem linfática. Junto a estes fatores deve-se considerar também o envelhecimento intrínsico da pele, o relaxamento do músculo orbicular assim como o dano causado pela radiação ultravioleta.

À medida que a pele perde sua elasticidade e os músculos se debilitam com a idade, a pele flácida pode acumular-se ao redor dos olhos, formando rugas nas pálpebras. Além disso, a gordura que acomoda e sustenta os olhos em suas concavidades tende a mover-se para o exterior das cavidades oculares e acumular-se ao redor das pálpebras em forma de olhos embugalhados. As pálpebras inchadas ou embugalhadas podem ocorrer, portanto, devido a um acúmulo de gordura da zona orbicular assim como a um acúmulo da pele flácida de tal zona.

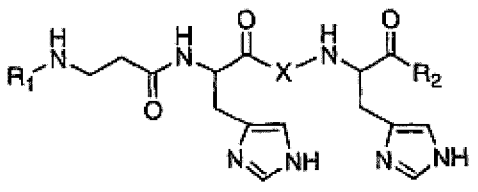
Com o objetivo de recuperar um aspecto jovem e não fatigado da expressão facial se recorre através da cirugia cosmética para eliminar as bolsas situadas debaixo dos olhos (blefaroplastia), em um processo que consiste em realizar incisões internas e externas nas pálpebras com o objetivo de eliminar o excesso de gordura e/ou pele acumuladas. Atualmente a blefaroplastia é o procedimento de

cirurgia estética realizado com mais frequencia pelos cirurgiões estéticos nos Estados Unidos [Castro, E. and Foster, J.A. *(1999)* Upper lid blepharoplasty Facial Plast. Surg. *15* **(3)**, *173-1811*. Sem dúvida, apesar de tal cirurgia ser considerada como um processo de cirurgia menor, não é uma técnica isenta de riscos, devido a que se considera associados os riscos da anestesia aplicada na intervenção assim como os riscos das potenciais infecções pós-operatórias. Deste modo, existe entretanto, a necessidade de encontrar uma solução sensível, eficaz e sem riscos para a diminuição ou eliminação das bolsas situadas debaixo dos olhos.

DESCRIÇÃO DA INVENÇÃO

A presente invenção proporciona uma solução sensível, eficaz e sem riscos para a diminuição ou eliminação das bolsas situadas debaixo dos olhos, que compreende o desenvolvimento de peptídeos sintéticos capazes de diminuir ou eliminar as bolsas debaixo dos olhos, assim como de melhorar a firmeza e elasticidade da pele da zona da pálpebra inferior.

Portanto, um primeiro aspecto desta invenção se refere a um peptídeo capaz de diminuir ou eliminar as bolsas formadas debaixo dos olhos, segundo a fórmula geral (I):



(I)

seus estereoisômeros e misturas dos mesmos, racêmicas ou não, e os sais cosmeticamente ou dermofarmaceuticamente aceitáveis dos mesmos, onde:

X pode ser: cistenil, seril, treonil ou aminobutiril;

$\mathbf{R_1}$ pode ser: H ou grupo alquil, aril, aralquil ou acila; e

$\mathbf{R_2}$ pode ser: amino, hidroxi ou tiol, todos estes substituídos ou não com grupos alifáticos ou cíclicos.

As estruturas preferidas dos peptídeos representados na fórmula geral (I) são aquelas onde:

X pode ser: secil ou aminobutiril;

$\mathbf{R_1}$ pode ser: H ou acila de C_2 a C_{24} linear, ramificado ou cíclico, saturado ou insaturado; e

$\mathbf{R_2}$ pode ser: amino ou hidroxi, substituídos ou não com grupos alifáticos de C_1 a C_{24} lineares, ramificados ou cíclicos, saturados ou insaturados.

Os peptídeos da presente invenção podem existir como estereoisômeros ou misturas de estereoisômeros; por exemplo, os aminoácidos que os compoem podem apresentar configuração L-, D-, ou ser racêmicos independentemente um do outro. Portanto, é possível obter misturas isoméricas assim como racêmicas ou misturas diastereoméricas, ou diastereômeros puros ou enantiômeros, dependendo do número de carbonos assimétricos e de que isômeros ou misturas isoméricas estejam presentes.

As estruturas preferidas dos peptídeos de fórmula geral (I) são isômeros puros, quer dizer, enantiômeros ou diastereômeros.

No contexto da presente invenção, o término "grupo alifático" se refere a um grupo hidrocarbonado saturado ou insaturado, linear ou cíclico.

O termo "grupo hidrocarboneto" se utiliza na presente invenção para abranger, por exemplo, os grupos alquila, alquenila e alquinila.

O termo "grupo alquila" se refere a um grupo hidrocarbonado saturado linear ou ramificado, incluindo, por exemplo, metila, etila, isopropila, isobutila, t-butil, heptil, dodecil, hexadecil, octadecil, amil, 2-etilhexil, 2-metilbutil, 5-metilhexil e similares.

O termo "grupo alquenila" se refere a um grupo hidrocarbonado não saturado, linear ou ramificado com um ou mais ligações duplo carbono-carbono, tal como o grupo vinil.

O termo "grupo alquinila" se refere a um grupo hidrocarbonado não saturado, linear ou ramificado com um ou mais ligações triplo carbono-carbono.

O termo "grupo cíclico" se refere a um arilo fechado hidrocarbonado, que pode ser classificado como grupo alicíclico, aromático ou heterocíclico.

O termo "grupo alicíclico" se refere a um grupo hidrocarbonado cíclico com propriedades parecidas a grupos alifáticos.

O termo "grupo aromático" ou o "grupo arilo" se referem a um grupo hidrocarbonado aromático mono ou policíclico.

O termo "grupo heterocíclico" se refere a um anila fechado hidrocarbonado, no que um ou mais de um dos átomos do anila é um elemento diferente do carbono (por exemplo, nitrogênio, oxigênio, enxofre, etc.).

Tal como se entende nesta área técnica, a existência de um alto grau de substituição não é unicamente tolerado, sendo que é aconselhado. Portanto, pode existir substituição nos peptídeos da presente invenção. Com o fim de simplificar a presente descrição da invenção, os termos

"grupo" e "bloqueadas" se utilizaram para diferenciar entre espécies químicas que permitem substituição ou que podem ser substituídas ("grupo"), e aquelas que não permitem substituição ou que não podem ser substituídas ("bloqueadas"). Desta forma, quando o termo "grupo" se usa para descrever um substituinte químico, o material químico descrito inclui tanto o grupo não substituído como aquele que contém os átomos de *O,* N ou S.

Por outro lado, cuando o termo "bloqueado" se utiliza para descriver um composto químico ou substituinte, unicamente pode ser incluído material químico não substituído. Por exemplo, a expressão "grupo alquila" inclui não unicamente substituintes alquílicos saturados de cadeia aberta, tais como metil, etil, propil, isobutil e similares, e também substituintes alquílicos que contenham outros substituintes conhecidos no estado da técnica, tais como hidroxi, alcoxi, amina, carboxila, carboxamida, átomos de halêgenio, ciano, nitro, alquilsulfonilo, e outros. Deste modo, "grupo alquil" inclui grupos éteres, haloalquilos, alcools, tiols, carboxilas, aminas, hidroxialquilos, sulfoalquilas, guanidinas, e outros. Por outro lado, a expressão "bloqueio alquila" se limita unicamente a inclusão de substituintes alquílicos saturados de cadeia aberta, tais como metil, etil, propil, isobutil e similares.

Dentro do âmbito da presente invenção, se encontram os sais cosmeticamente ou dermofarmaceuticamente aceitáveis dos peptídeos de fórmula (I) proporcionados por esta invenção. O termo "sais cosmeticamente ou dermofarmacêuticamente aceitáveis" inclui os sais

habitualmente utilizados para formar sais metílicos ou sais de adição de ácidos, bem sejam orgânicos (como por exemplo acetato, citrato, oleato, oxalato ou gluconato entre outros) ou inorgânicos (como por exemplo cloreto, sulfato, borato ou carbonato entre outros). A natureza do sal não é crítica, sempre e quando seja cosmeticamente ou dermofarmaceuticamente aceitável. Os sais cosmeticamente ou dermofarmacêuticamente aceitáveis dos peptídeos de fórmula (I) podem obter-se por métodos convencionais, bem conhecidos no estado da técnica.

A síntese dos peptídeos de fórmula geral (I) pode realizar-se segundo métodos convencionais, conhecidos no estado da técnica, como por exemplo, a adaptação dos métodos de síntese de peptídeos em fase sólida [Stewart J.M. and Young *J.D.* (1984) Solid Phase Peptide Synthesis, 2nd edition, Pierce Chemical Company, Rockford, Illinois. Bodanzsky M. and Bodanzsky A. (1984) The practice of Peptide Synthesis, Springer Verlag, New York. Lloyd-Wjlliams, P., Albericio, *F,* and Giralt, E. (1997) Chemical Approaches to the Synthesis of Peptides and Proteins. CRC, Boca Raton (FL, USA)], a síntese em solução, uma combinação dos métodos de síntese em fase sólida e em solução ou a síntese enzimática [Kullmann W, (1980) Proteases as catalysts for enzymic syntheses of opioid peptides J.Biol.Chem. 255, 8234-82381, os peptídeos podem ser obtidos igualmente por fermentação de uma cepa bacteriana, modificada ou não por engennharia genética com o objetivo de produzir as sequências desejadas.

Por exemplo, um método de obtenção dos peptídeos de fórmula geral (I) é aquele no qual se faz reacionar um

fragmento do peptídeo de fórmula geral (I) que possua um grupo carboxilo livre ou um derivado reativo deste, com um fragmento complementar, que possua um grupo amino, com pelo menos um átomo de hidrogênio livre, com a conseqüente formação de uma ligação tipo amida, e onde tais fragmentos apresentam os grupos funcionais que não participam na formação da ligação tipo amida, se os houver, convenientemente protegidos, com grupos protetores temporais ou permanentes.

Outro exemplo de método de obtenção dos peptídeos de fórmula geral (I) é aquele no qual se faz reacionar um fragmento do peptídeo de fórmula geral (I) que possua um grupo saliente, como por exemplo o grupo tosilo, o grupo mesilo e grupos halôgenos entre outros, com um fragmento complementar que possua um grupo amino com pelo menos um átomo de hidrogenio livre mediante uma reação de sustituição nucleófila, e onde tais fragmentos apresentam os grupos funcionais que não participam na formação da ligação N-C, se os apresentar, convenientemente protegidos, com grupos protetores temporais ou permanentes. Exemplos de grupos protetores, sua introdução e sua eliminação, podem encontrar-se descritos na literatura *[Greene* **7.** *W, (1981) Protective groups in organic synthesis, John Wiley & Sons, New York. Atherton B. and Sheppard R.C (1989) Solid Phase Peptide Synthesis: A practical approach, IRL Oxford University Pres]*. O termo "grupos protetores" inclui também aos suportes poliméricos aplicados na síntese em fase sólida.

Quando a síntese se realiza total ou parcialmente em fase sólida, se podem citar como suportes sólidos a

utilizar no método da invenção, os suportes de poliestireno, polietilenglicol implantado em poliestireno e similares, como por exemplo resinas p-metilbenzhidrilamina (MBHA) *[Matsueda G. R. and Stewart J. M. (1981) A methylbenzhydrylamine resin for improved solid-phase synthesis of peptide amides Peptides 2, 45-50,]*, resinas 2-clorotritilo *[(a) Barlos K,, Gatos D., Kallitsis J,, Papaphotiu G., Sotiriu P., Wenqing Y. and Schafer W. (1989) Darstellung geschiitzter peptid-fragmente unter einsatz substituierter triphenylmethyl-harze Tetrahedron Lett. 30, 3943-3946,(b) Barlos K, Gatos D., Kapolos S., apaphotiu G., Schafer W, and Wenqing* K *(1989) Veresterung von partiell geschiitzten peptid-fragmenten mit harzen. Einsatz von 2-chlortritylchlorid zur synthese von Leu15 - gastrin I Tetrahedron Lett. 30, 3947-39511,* resinas T e n t e similares, que podem incluir ou não um espaçador lábil, tal como ácido 5-(4-aminometil-3,5-dimetoxifenoxi) valerico (PAL) *[Albericio* F., *Kneib- Cordonier N., Biancalana S., Gera L., Masada R.I., Hudson D. and Barany G. (1990) Preparation and application of the 5-(4-(9-fluorenylmethyloxycarbonyl)aminomethyl- 3,5-dimethoxyphenoxy)-valeric acid (PAL) handle for the solid-phase synthesis of* ***C****terminal peptide amides under mild conditions J. Org. Chem. 55, 3730-37431,* acido 2-[4-aminometil-(2,4-dimetoxifenil) fenoxiacetico (AM) *[Rink* ***H****. (1987) Solid-phase synthesis of protected peptide fragments using a trialkoxy-diphenyl-methylester resin Tetrahedron Lett. 28, 3787-37901,* Wang *[Wang, S.S. (1973) p-Alkoxybenzyl Alcohol Resin and p-Alkoxybenzyloxycarbonylhydrazide Resin for Solid Phase*

Synthesis of Protected Peptide Fragments J.Am.Chem.Soc. ***95,*** *1328-13331* e similares, que permitam a desproteção e excisão simultânea do composto do suporte polimérico.

Os peptídeos segundo a invenção podem formar parte de diversos tipos de composições para sua aplicação externa no corpo de um mamífero, preferivelmente o ser humano. Neste sentido, a invenção proporciona uma composição cosmética ou dermofarmacêutica que compreende uns peptídeos de fórmula geral (I). Tais composições podem ser preparadas mediante métodos convencionais conhecidos pelos profissionais capacitados na matéria.

Os peptídeos da invenção apresentam uma solubilidade em água variávelde acordo com a natureza dos grupos R_1, R2 e X. Aqueles que não são solúveis em água podem solubilizar-se em solventes convencionais cosmética ou dermofarmaceuticamente aceitáveis tais como, por exemplo etanol, propanol ou isopropanol, propilenglicol, glicerina, butilenglicol ou polietilenglicol. Os peptídeos também podem ser incorporados previamente em veículos cosméticos como lipossomas, milipartículas, micropartículas e nanopartículas assim como em esponjas, miliesferas, microesferas e nanoesferas, milicápsulas, microcápsulas e nanocápsulas.

Estas preparações podem ser usadas em distintos tipos de fórmulas como, por exemplo, cremes, loções, geis, soros, mousses, pomadas, barras, lapices ou sprays, incluindo as fórmulas de permanência ("leave on") e as de enxague (“rinse-off”), assim como podem ser incorporadas mediante técnicas conhecidas por profissionais experientes na matéria a distintos tipos de acessórios sólidos tais como,

por exemplo, lenços, hidrogeis, emplastros adesivos (ou não adesivos) ou máscaras faciais, ou podem incorporar-se a distintos produtos de linha de maquiagem tais como corretivos, bases de maquiagem, loções ou loções demaquilantes entre outros.

As composições mencionadas na presente invenção podem conter ingredientes adicionais comumente aplicados em composições para o cuidado e tratamento da pele, tais como, por exemplo, e sem sentido limitativo, agentes emulsionantes, emolientes, dissolventes orgânicos, acondicionadores da pele como por exemplo humectantes, alfahidroxiácidos, hidratantes, vitaminas, pigmentos ou corantes, polímeros gelificantes, espessantes, suavizantes, agentes antiarrugas, agentes blanqueantes, compostos capturadores de radicais livres, compostos antioxidantes, compostos estimuladores da síntese de macromoléculas dérmicas ou epidérmicas e/ou para prevenir sua degradação, como por exemplo compostos estimuladores da síntese de colágeno, compostos estimuladores da síntese de elastina, compostos inibidores da degradação de colágeno, compostos estimuladores da proliferação de fibroblastos, compostos estimuladores da proliferação de queratinócitos, compostos estimuladores da diferenciação de queratinócitos, compostos dermorelaxantes, compostos estimuladores da síntese de glicosaminoglicanos, compostos reafirmantes, compostos que atuam sobre a circulação capilar, compostos que atuam sobre o metabolismo das células, compostos estimuladores da síntese de melanina, conservantes, perfumes, agentes quelantes, extratos vegetais, óleos essenciais, extratos marinhos, extratos celulares e filtros solares (agentes

fotoprotetores orgânicos ou minerais ativos contra os raios ultravioleta A e B) entre outros, sempre que sejam física e quimicamente compatíveis com o resto de componentes da composição e em especial com os peptídeos da presente invenção.

Além disso, as composições da presente invenção podem conter ou se podem coadministrar com compostos analgésicos e/ou compostos antiinflamatórios com o fim de diminuir o inchaço e a irritação asociadas as bolsas debaixo dos olhos. Entre tais compostos podem destacar-se compostos de tipo esteroideo como a hidrocortisona ou extratos naturais ou óleos essenciais com atividade analgésica e antiinflamatória intrínseca.

Os peptídeos de fórmula geral (I) se utilizam nas composições cosméticas ou dermofarmacêuticas da presente invenção em concentrações cosmeticamente ou dermofarmaceuticamente efetivas para conseguir o efeito desejado; de forma preferencial entre 0.00001% (em peso) e 10% (em peso); preferentemente entre 0.0001% (em peso) e 5% (em peso) e mais especificamente entre 0.001 % (em peso) e 1 % (em peso).

Portanto, um aspecto adicional desta invenção se refere ao uso dos peptídeos de fórmula geral (I) na elaboração de uma composição cosmética ou dermofarmaceutica para o tratamento da pele, preferentemente a pele do rosto e mais concretamente para diminuir ou eliminar as bolsas situadas debaixo dos olhos.

A presente invenção proporciona, ainda, um método cosmético ou dermofarmaceutico para diminuir ou eliminar as bolsas formadas debaixo dos olhos no ser humano, que

compreende a administração de uma quantidade eficaz de peptídeos de fórmula geral (I), preferivelmente em forma de uma composição cosmética ou dermofarmaceutica que os contenham.

EXEMPLOS

Os seguintes exemplos específicos que se proporcionam aqui servem para ilustrar a natureza da presente invenção. Estes exemplos se incluem somente com fins ilustrativos e não devem ser interpretados como limitações da invenção que aqui se reivindica.

Metodologia Geral

Síntese química

Todos os processos sintéticos são realizados em seringas de polipropileno equipadas com discos de polietileno poroso. Todos os reativos e solventes são de qualidade para síntese e se usam sem nenhum tratamento adicional. Os solventes e os reativos solúveis se eliminam por sucção. A eliminação do grupo Fmoc se realiza com piperidina-DMF (2:8, v/v) (1 x 1 min, 1 x 5 min; 5 mL/g resina) *[Lloyd- Williams, P., Albericio, F. and Giralt, E. (1997) Chemical Approaches to the Synthesis of Peptides and Proteins. CRC, Boca Raton (FL, USA)]*. As lavagens entre as etapas de desproteção, acoplamento, e, outra vez, desproteção são realizados com DMF (3 x 1 min) usando cada vez 10 mL solvente/g resina. As reações de ligação são realizadas com 3 mL solvente/g resina. O controle das ligações é realizado mediante o ensaio da ninhidrina *[Kaiser,* E., *Colescott R.L., Bossinger C.D. and Cook P.I. (1970) Color test for detection of free terminal amino groups in the solid-phase synthesis of peptides Anal.*

Biochem. 34, 595-5981. Todas as transformações sintéticas e lavagens são realizadas a 25°C.

A análise cromatografica por HPLC se realiza em um equipamento Shimadzu (Kyoto, Japan) aplicando uma coluna de fase reversa termoestatizada a 30°C (250x 4.0 mm, Kromasil C8, 5 pm, Akzo Nobel, Suecia). A eluição se realiza mediante um gradiente de acetonitrila (+0.07% TFA) em água (+0.1% TFA) a um fluxo de 1 mL/min e a detecção se realiza a 220 nm.

Abreviaturas:

As abreviaturas aplicadas para os aminoácidos seguem as regras da Comissão de Nomenclatura Bioquímica da IUPAC-IUB especificadas em Eur. *J.* Biochem. (1984) 138, 9-37 e em J. Biol. Chem. (1989) 264, 633-673. Abu, acido 2-aminobutirico; βAla, beta-alanina, acido 3-aminopropibnico; AM, acido 2-[4-aminometil-(2,4-dimetoxifenil)-fenoxiactico; Boc, ferc-butiloxicarbonilo; DCM, diclorometano; Dl EA, N, N-diisopropiletilamina; DIPCDI, N,N'-diisopropilcarbo diimida; DMF, N,N-dimetilformamida; ES-MS, espectrometria de massa por eletroespray; Fmoc, fluorenilmetoxicarbonilo; HOBt, 1 -hidroxibenzotriazol; HPLC, cromatografia líquida de alta resolução; MBHA, resina p-metilbenzhidrilamina; MeCN, acetonitrila; MeOH, metanol; PAL, acido 5-(4-aminometil-3,5-dimetoxifenoxi) valérico; Palm, palmitoil; tBu, terc-butilo; THF, tetrahidrofurano; TFA, acido trifluoroacetico; Trt, tritilo.

EXEMPLO 1

Obtenção de Ac-βAla- His-Cys-His-OH

Se incorporam 5.5g de Fmoc-L-His(Trt)-OH (8.9 mmol, 1 equiv) dissolvidos em 55mL de DCM aos que estejam em 1.3 mL

de DIEA (2.9 mmol, 0.33 equiv) sobre a resina 2-clorotritilo (5.5 g, 8.8 mmol) seca. Deixa-se em agitação durante 5 min, passados os quais se adicionam 2.5 mL de DIEA (5.9 mmol, 0.67 equiv). Deixa-se reagir durante 40 min. Bloqueiam-se os grupos cloreto remanescentes por tratamento com 4.4 mL de MeOH.

Desprotege-se o grupo Fmoc amino terminal como descrito nos métodos gerais e incorpora-se sobre a peptidil-resina 12.89 g de Fmoc-L-Cys(Trt)-OH (22mmol, 2.5 equiv) em presença de DIPCDl (3.39 mL, 22 mmol, 2.5 equiv) e HOBt (3.37g, 22 mmol, 2.5 equiv) utilizando DMF como solvente durante 1 h. A resina é lavada posteriormente como se descreve nos métodos gerais e repete-se o tratamento de desproteção do grupo Fmoc para incorporar o aminoácido seguinte. Seguindo os protocolos descritos se ligam sequencialmente 13.63 g de Fmoc-L-His(Trt)-OH (22 mmol, 2.5 equiv) e 6.85g de Fmoc-βAla-OH (22 mmol, 2.5 equiv) em presença de cada ligação de 3.37g de HOBt (22 mmol, 2.5 equiv) e 3.39 mL de DIPCDl (22 mmol, 2.5 equiv).

Desprotege-se o grupo Fmoc N-terminal como descrito nos métodos gerais, se trata a peptidil-resina durante 30 min com anidrido acético (2.1 mL, 22mmol) em presença de DIEA (7.53 mL, 22 mmol) utilizando DMF como solvente, se lava com DMF (5 x 1 min), DCM (4 x 1 min), éter dietílico (4 x 1 min) e se seca a vácuo.

12.36 g da peptidil-resina seca é tratada com 87 mL de TFA-Pr_3Si-H_2O (90:5:5) durante 2h a temperatura ambiente. Os filtrados são recolhidos sobre éter dietílico frio (700 mL), se filtra através de placa porosa e lava-se o precipitado com éter (500 mL) 5 vezes. O precipitado final

é seco a vácuo.

A análise por HPLC em um gradiente de 2 a 32% de MeCN (+0.07% TFA) em H_20 (+0.1% TFA) indicou um tempo de retenção de 12.63 minutos e uma pureza superior a 85%. Seu peso molecular se determina por ES-MS [$(M+H)^+$teórico 509.19, $(M+H)^+$exp 509.21.

EXEMPLO 2:

Síntese Palm-βAla-His-Ser-His-NH_2

Tratam-se 0.685 mg da resina Fmoc-AM-MBHA de funcionalização 0.73 mmol/g (0.5 mmol) com piperidina-DMF segundo o protocolo geral descrito com o objetivo de eliminar o grupo Fmoc. Sobre a resina desprotegida se incorporam 1.58 g de Fmoc-L-His(Trt)-OH (2.5 mmol, 5 equiv) em presença de DIPCDl (385 pL, 2.5mmol, 5 equiv) e HOBt (385 mg, 2.5 mmol, 5 equiv) utilizando DMF como solvente durante 1 h.

A resina é lavada posteriormente como descrito nos métodos gerais e se repete o tratamento de desproteção do grupo Fmoc para incorporar o seguinte aminoácido. Seguindo os protocolos descritos se acoplam sequencialmente 0.95 g de Fmoc-L-Ser(tBu)-OH (2.5 mmol, 5 equiv), 1.59 g de Fmoc-L-His(Trt)-OH (2.5 mmol, 5 equiv) e 0.77 g de Fmoc-SAla-OH (2.5 mmol, 5 equiv) em presença em cada ligação de 385 mg de HOBt (2.5 mmol, 5 equiv) e 385 pL de DIPCDl (2.5 mmol, 5 equiv).

Desprotege-se o grupo Fmoc N-terminal como descrito nos métodos gerais, e se incorporam 1.28 g de ácido palmítico (5 mmol, 10 equiv) pré-dissolvido em DMF (10 mL), em presença de 770 mg de HOBt (5 mmol, 10 equiv) e 770 pL de DIPCDl (5 mmol, 10 equiv). Deixa-se reagir durante 15

horas, passadas as quais a resina é lavada com THF (5 x 1 min), DCM (5 x 1 rnin), DMF (5 x 1 min), MeOH (5 x 1 min), DMF (5 x 1 min), THF (5 x 1 min), DMF (5 x 1 min), DCM (4 x 1 min), eter (3 x 1 min), e se seca a vácuo.

1.17 g da peptidil-resina é seca se tratando com 15 mL de TFA-Pr_3Si-H_2O (90:5:5) durante 2h a temperatura ambiente. Se recolhem os filtrados sobre éter dietílico frio (100 mL), se centrifugam 5 min a 4000 rpm e se decanta a solução sutil.

Repetem-se as lavagens com éter 5 vezes. O precipitado final se seca a vácuo.

A análise por HPLC em um gradiente de 5 a 95% de MeCN (+0.07% TFA) em H_20 (+0.1% TFA) mostrou um tempo de retenção de 19.3 min e uma pureza superior a 70%. Seu peso molecular se determinou por ES-MS [$(M+H)^+$teorico 688.45, $(M+H)^+$exp 688.7].

EXEMPLO 3:

Obtenção de AC-βAla-His-Ser-His-NH-$(CH_2)_9$-CH_3

Se incorporam 2.0 g de Fmoc-L-His(Trt)-OH (3.23 mmol, 1 equiv) dissolvidos em 20 mL de DCM ao que se havia adicionado 500 pL de DIEA (1 .I mmol, 0.33 equiv) sobre a resina 2-clorotritilo (2.0 g, 3.3 mmol) seca. Se deja en agitation durante 5 min, passados os quais se adicionam 1 mL de DIEA (2.2 mmol, 0.67 equiv). Deixa-se reagir durante 40 min. Bloqueiam-se os grupos cloreto remanescentes por tratamento com 1.6 mL de MeOH.

Sobre 1 mmol da aminoacil-resina, desprotege-se o grupo Fmoc amino terminal como se descreve nos métodos gerais e se incorporam 1.95 g de Fmoc-L-Ser(tBu)-OH (5 mmol, 5 equiv) em presença de DIPCDl (770 pL, 5 mmol, 5

equiv) e HOBt (770 mg, 5 mmol, 5 equiv) utilizando DMF como solvente durante 1 h. A resina é lavada posteriormente como se descreve nos métodos gerais e se repete o tratamento de desproteção do grupo Fmoc para incorporar o aminoácido seguinte. Seguindo os protocolos descritos se ligam sequencialmente 3.09 g de Fmoc-LHis(Trt)-OH (5 mmol, 5 equiv) e 1.60 g de Fmoc-βAla-OH (5 mmol, 5 equiv) em presença em cada ligação de 770 mg de HOBt (5 mmol, 5 equiv) e 770 pL de DIPCDl (5 mmol, 5 equiv).

Desprotege-se o grupo Fmoc N-terminal como descrito nos métodos gerais, se trata a peptidil-resina durante 30 min com 2.36 mL de anidrido acético (25 mmol, 25 equiv) em presença de 4.28 mL de DIEA (25 mmol, 25 equiv) utilizando DMF como solvente, se lava com DMF (5 x 1 min), DCM (4 x 1 min), éter dietílico (4 x 1 min) e se seca a vácuo.

O peptídeo completamente protegido [Ac-βAla-L-His(Trt)-L-Ser(tBu)-L-His(Trt)-OH] se obtem por tratamento durante 5 minutos da peptidil-resina, previamente seca a vácuo em presença de KOH, com uma solução de 3% de TFA em DCM. Os filtrados são recolhidos sobre éter dietílico frio e repete-se o tratamento três vezes. Se rotavaporam a sequedade e a temperatura ambiente as soluções étereas, se ressuspende o precipitado em 50% de MeCN em H_20 e se liofiliza. O produto obtido se analisa por HPLC em um gradiente de 5 a 95% de MeCN (+0.07% TFA) em H_20 (+0.1% TFA), mostrando um tempo de retenção de 24.1 min e uma pureza superior a 88%. Seu peso molecular se determina por ES-MS [(M+H)'teoretical 1034.2, $(M+H)^{+}$exp1034.0].

Se pesam 380 mg de Ac-βAla-L-His(Trt)-L-Ser(tBu)-L-His(Trt)-OH (367 pmol) em um balão, se adicionam 350 mg de

decilamina (3 equiv) e 30 mL de DMF anidra. Se adicionam 120 pL de DIPCDl (2 equiv), e se deixa reagir com agitação magnetica a 47°C. Controla-se a reação mediante HPLC por desaparecimento de Ac-βAla-L-His(Trt)-L-Ser(tBu)-L-His(Trt)-OH, sendo completa em 2.5 horas. Evapora-se o solvente a sequedade e se coevapora duas vezes com DCM. O resíduo obtido [Ac-βAla-LHis(Trt)-L-Ser(tBu)-L-His(Trt)-NH-(CH&,-CHI se ressuspende em 50 mL de uma mistura de TFA-DCM-anisol (49:49:2) e se deixa reagir durante 30 min a temperatura ambiente. Se adicionam 250 mL de éter dietílico frio, se rotavapora o solvente e se realizam duas coevaporações adicionais com éter. O resíduo se dissolve em uma mistura de 50% de MeCN em H_2O e se liofiliza.

A análise por HPLC em um gradiente de 5 a 85% de MeCN (+0.07% TFA) em H_2O (+0.1% TFA) indicou um tempo de retenção de 16.6 min e uma pureza superior a 71 %. Seu peso molecular se determinou por ES-MS [$(M+H)^+$teoretical 632.4, (M+H)exp 632.61.

EXEMPLO 4:

Obtenção do Ac-βAla-His-Ser-His-OH

O peptídeo do Exemplo 4 se obtém seguindo o mesmo protocolo sintético que no Exemplo 1 (quantidades, solventes, excessos e reativos), mas incorporando Fmoc-L-Ser(tBu)-OH (8.43 g, 22 mmol) no lugar de Fmoc-L-Cys(Trt)-OH como segundo aminoácido. Finalizada a síntese, a resina é lavada com DMF (5 x 1 min), DCM (4 x 1 min), éter dietílico (4 x 1 min) e se seca a vácuo.

O peptídeo se libera do suporte sólido segundo o mesmo protocolo sintético que no Exemplo 1 (quantidades, solventes, excessos e reativos).

A análise por HPLC em um gradiente de 0 a 10% de MeCN (+0.07% TFA) em H_2O (+0.1% TFA) indicou uma pureza superior a 90% e seu peso molecular se determinou por ES-MS [(M+H)'teórico 493.22, $(M+H)^+$exp 493.21].

EXEMPLO 5:

Preparo de uma composição cosmética contendo Ac-βAla-His-Ser-His-OH

A seguinte formulação foi preparada segundo se descreve na presente invenção:

Em um reator suficientemente grande se pesam os óleos, os tensioativos e os carbomeros. Em outro reator pesa-se o peptídeo, se dissolve em água e se adiciona o conservante (Phenonipm). Verte-se a solução do peptídeo sobre a do óleo com agitação vigorosa constante. Acabada a adição, se ajusta o pH a 6.5-7.0 com trietanolamina.

INGREDIENTE (Nomenclatura INCI)	**% EM PESO**
ACRYLATES/C10-30 ALQUIL ACRYLATES CROSSPOLÍMERO	0,3
CARBOMERO	0,3
C12-15 ALQUIL BENZOATO	17,6
ETILHEXIL COCOATE	2,4
POLYACRILAMIDA, C13-14 ISOPARAFFIN, LAURETH-7	1,0
ÁGUA (WATER)	q.s.p 100
PHENONIP	0,5
Ac-βAla-His-Ser-His-OH	0,01
TRIETANOLAMINA	0,7

EXEMPLO 6:

Preparo de uma composição cosmética contendo Ac-βAla-His-Cys-His-OH

A seguinte formulação foi preparada segundo se descreve na presente invenção:

Em um reator suficientemente grande se pesam os óleos, as ceras, os silicones e os carbomeros. Aquece-se a mistura a 65-70°C para fundir as ceras. Em outro reator pesa-se a glicerina, se dissolve em agua e se adiciona o conservante (Phenonip) e a trietanolamina. A mistura se aquece a 65-70°C. Verte-se a fase aquosa sobre a do óleo com agitação vigorosa constante ou mediante a aplicação de força de *cizalla*. Finalizada a adição, se deixa esfriar com agitação suave e quando a mistura se encontra a 40°C se adiciona uma solução aquosa Ac-βAla-His-Cys-His-OH. O creme se deixa esfriar a temperatura ambiente e se corrige o pH com trietanolamina se necessário.

INGREDIENTE (Nomenclatura INCI)	**% EM PESO**
ÓLEO MINERAL	10
ÁCIDO ESTEARICO	3,0
BEESWAX	2,0
DIMETICONE	0,2
CARBOMERO	0,2
GLICERINA	3,0
ÁGUA (WATER)	q.s.p. 100
PHENONIP	0,5
Ac-βAla-His-Cys-His-OH	0,005
TRIETANOLAMINA	2.0

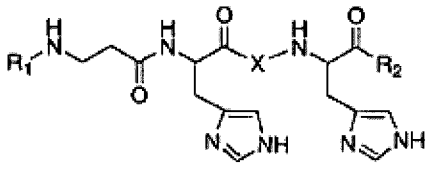
EXEMPLO 7:

Um estudo clínico da composição cosmética descrita no Exemplo 5 realizado em 20 pessoas com bolsas formadas debaixo dos olhos demostrou que a composição é capaz de reduzir o tamanho das bolsas formadas debaixo dos olhos.

Instruíram-se as pessoas para que aplicassem a composição cosmética na zona do contorno do olho com uma massagem suave uma vez ao dia durante dois meses. Realizaram-se medidas objetivas do grau de hidratação da pele mediante um corneômetro (skinlab) e de sua elasticidade mediante um elastômetro (Cutometer) nos tempos de 0, 15, 30 e 60 dias do início do tratamento, assim como a observação por um dermatologista do tamanho das bolsas debaixo dos olhos.

A quantificação dos resultados mostrou um aumento do índice de hidratação de 5.8% assim como da elasticidade de 35% após 60 dias de tratamento. Uma avaliação subjetiva por parte do dermatologista do aspecto das bolsas dos olhos segundo o Teste de Friedman *[Cristoni A. (2001) La significativita del risultato sperimentale. Quali test usare? Cosmetic News 130, January/February pp30-321.* confirmou que em apenas 15 dias 70% dos voluntários experimentaram uma redução das bolsas debaixo dos olhos, percentual que aumentou para 95% dos voluntários após 60 dias de tratamento (30% redução ligeira, 30% redução discreta e 35% redução significativa).

Segundo um primeiro aspecto, a presente invenção se refere a um peptídeo de fórmula geral (I):



(I)

seus estereoisômeros, seus sais cosmeticamente e dermofarmaceuticamente aceitáveis e misturas dos mesmos, onde:

- X é selecionado do grupo formado por cistenil, seril,

treonil e aminobutiril;

- R_1 é selecionado do grupo formado por H ou grupo alquil, aril, aralquil, e acil e,

- R_2 é selecionado do grupo formado por amino, hidroxi e tiol, substituídos ou não com grupos alifáticos ou cíclicos.

De acordo com um segundo aspecto importante, no peptídeo de fórmula geral (I) de forma preferencial R_1 é acil de C_2 a C_{24} linear, ramificado ou cíclico, saturado ou insaturado.

Segundo um aspecto importante da invenção no peptídeo de fórmula geral (I) de forma preferencial R_2 é amino ou hidroxi, substituídos ou não com grupos alifáticos de C_1 a C_{24} lineares, ramificados ou cíclicos, saturados ou insaturados.

Segundo um aspecto importante da invenção no peptídeo de fórmula geral (I) de forma preferencial X é L-seril, R_1 é H e R_2 é amino, substituído ou não com grupos metil ou etil ou dodecil ou hexadecil.

Segundo um aspecto importante da invenção no peptídeo de fórmula geral (I) de forma preferencial X é L-seril, R_1 é acetil e R_2 é amino, substituído ou não com grupos metil ou etil ou dodecil ou hexadecil.

Segundo um aspecto importante da invenção no peptídeo de fórmula geral (I) de forma preferencial X é L-seril, R_1 é palmitoil e R_2 é amina, substituído ou não com grupos metil ou etil ou dodecil ou hexadecil.

Segundo um aspecto importante da invenção no peptídeo de fórmula geral (I) de forma preferencial X é L-seril, R_1 é H e R_2 é hidroxi, substituído ou não com grupos metil ou

etil ou dodecil ou hexadecil.

Segundo um aspecto importante da invenção no peptídeo de fórmula geral (I) de forma preferencial X é L-seril, R_1 é acetil e R_2 é hidroxi, substituído ou não com grupos metil ou etil ou dodecil ou hexadecil.

Segundo um aspecto importante da invenção no peptídeo de fórmula geral (I) de forma preferencial X é L-seril, R_1 é palmitoil e R_2 é hidroxi, substituído ou não com grupos metil ou etil ou dodecil ou hexadecil.

Segundo outro aspecto importante, a presente invenção se refere a um procedimento de obtenção de um peptídeo de fórmula geral (I), que se baseia em síntese de peptídeos em fase sólida.

Segundo outro aspecto importante, a presente invenção se refere a um procedimento de obtenção de um peptídeo de fórmula geral (I), que emprega grupos protetores selecionados do grupo formado por Fmoc/tButil, Fmoctritil e Fmoc/alil.

Segundo outro aspecto importante, a presente invenção se refere a uma composição cosmética ou dermofarmaceutica que compreende uma quantidade cosmética ou dermofarmaceuticamente eficaz de pelo menos um peptídeo de fórmula (I) e pelo menos um excipiente ou adjuvante cosmética ou dermofarmaceuticamente aceitável.

Segundo outro aspecto importante, a presente invenção se refere a uma composição cosmetica ou dermofarmaceutica que contem um peptídeo de fórmula geral (I) incorporado a um veículo cosmeticamente ou dermofarmaceuticamente aceitável selecionado do grupo formado por lipossomas, milicápsulas, microcápsulas, nanocápsulas, esponjas,

miliesferas, microesferas, nanoesferas, milipartículas, micropartículas e nanopartículas.

Segundo outro aspecto importante, a presente invenção se refere a uma composição cosmetica ou dermofarmaceutica que apresenta uma formulação selecionada do grupo formado por emulsões de óleo em água, emulsões de água em óleo, cremes, leites, loções, geis, pomadas, linimentos, soros, mousses, bálsamos, espumas, óleos corporais, sabões, barras, lapices e sprays.

Segundo outro aspecto importante, a presente invenção se refere a uma composição cosmética ou dermofarmaceutica que contem un peptídeo de fórmula geral (I) incorporado em suportes sólidos selecionados do grupo formado por lenços, hidrogeis, e máscaras faciais.

Segundo outro aspecto importante, a presente invenção se refere a uma composição cosmética ou dermofarmacêutica que contem um peptídeo de fórmula geral (I) incorporado em produtos de linha de maquiagem selecionados do grupo formado por corretivos, bases de maquiagem, loções e loções demaquilantes.

Segundo outro aspecto importante, a presente invenção se refere ao uso de um peptídeo de fórmula (I) na elaboração de uma composição cosmética ou dermofarmaceutica para o tratamento da pele.

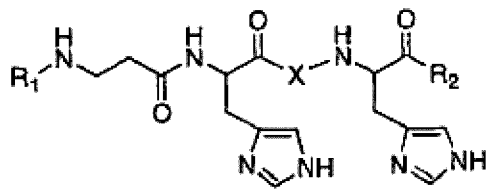
Segundo outro aspecto importante, a presente invenção se refere ao uso de um peptídeo de fórmula (I) na elaboração de uma composição cosmética ou dermofarmaceutica para o tratamento da pele do rosto.

Segundo outro aspecto importante, a presente invenção se refere ao uso de um peptídeo de fórmula (I) na

elaboração de uma composição cosmética ou dermofarmacêutica para diminuir ou eliminar as bolsas formadas abaixo do contorno inferior dos olhos.

REIVINDICAÇÕES

1. Peptídeos de fórmula geral (I):



(I)

seus estereoisômeros, misturas dos mesmos, e seus sais cosmeticamente aceitáveis, **caracterizado** pelo fato de que:

X é selecionado do grupo formado por cistenil, seril, treonil e aminobutiril;

R_1 é selecionado do grupo formado por H ou grupo alquila, arila, aralquila e acil; e

R_2 é selecionado do grupo formado por amino, hidroxi e tiol, substituído ou não por grupos alifáticos ou cíclicos.

2. Peptídeo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que R_1 é acil de C2 a C24, linear, ramificado ou cíclico, saturado ou insaturado.

3. Peptídeo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que R_2 é amino ou hidroxi, substituídos ou não por grupos alifáticos de C1 a C24 lineares, ramificados ou cíclicos, saturados ou insaturados.

4. Peptídeo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, **caracterizado** pelo fato de que X é L-Ser, R_1 é H e R_2 é amino, substituído ou não por grupos metil ou etil ou dodecil ou hexadecil.

5. Peptídeo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, **caracterizado** pelo fato de que X é L-Ser, R_1 é acetil e R_2 é amino, substituído ou não por

grupos metil ou etil ou dodecil ou hexadecil.

6. Peptídeo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, **caracterizado** pelo fato de que X é L-Ser, R_1 é palmitoil e R_2 é amino, substituído ou não por grupos metil ou etil ou dodecil ou hexadecil.

7. Peptídeo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3 **caracterizado** pelo fato de que X é L-Ser, R_1 é H e R_2 é hidroxi, substituído ou não por grupos metil ou etil ou dodecil ou hexadecil.

8. Peptídeo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, **caracterizado** pelo fato de que X é L-Ser, R_1 é acetil e R_2 é hidroxi, substituído ou não por grupos metil ou etil ou dodecil ou hexadecil.

9. Peptídeo, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, **caracterizado** pelo fato de que X é L-Ser, R_1 é palmitoil e R_2 é hidroxi, substituído ou não por grupos metil ou etil ou dodecil ou hexadecil.

10. Método de obtenção de um peptídeo de fórmula geral (I), como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 9, **caracterizado** pelo fato de utilizar grupos protetores selecionados do grupo formado por Fmoc/tButil, Fmoc/tritil e Fmoc/alil.

11. Composição cosmética **caracterizada** pelo fato de compreender uma quantidade cosmeticamente eficaz de pelo menos um peptídeo de fórmula (I), conforme definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 9, e pelo menos um excipiente ou adjuvante cosmeticamente aceitável.

12. Composição cosmética, de acordo com a reivindicação 11, **caracterizada** pelo fato de conter pelo menos um peptídeo de fórmula geral (I) incorporado a um

veículo cosmeticamente aceitável selecionado do grupo formado por lipossomas, milicápsulas, microcápsulas, nanocápsulas, esponjas, miliesferas, microesferas, nanoesferas, milipartículas, micropartículas e nanopartículas.

13. Composição cosmética, de acordo com a reivindicação 11 ou 12, **caracterizada** pelo fato de que tem uma formulação selecionada do grupo formado por emulsões de óleo em água, emulsões de água em óleo, leites, loções, géis, pomadas, bálsamos, espumas, óleos corporais, sabões, barras, lápis, sprays, cremes, linimentos, unguentos, soros e mousses.

14. Composição cosmética, de acordo com a reivindicação 11 ou 12, **caracterizada** pelo fato de que contém pelo menos um peptídeo de fórmula geral (I) incorporado em suportes sólidos selecionados do grupo formado por lenços, hidrogéis, emplastros e máscaras faciais.

15. Composição cosmética, de acordo com a reivindicação 11 ou 12, **caracterizada** pelo fato de que contém pelo menos um peptídeo de fórmula geral (I) incorporado em produtos de linha de maquiagem selecionados do grupo formado por corretivos, bases de maquiagem, loções e loções demaquilantes.

16. Uso de um peptídeo de fórmula (I), conforme definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 9, **caracaterizado** pelo fato de ser na preparação de uma composição cosmética para o tratamento da pele.

17. Uso de um peptídeo de fórmula (I), de acordo com a reivindicação 16, **caracterizado** pelo fato de ser na

preparação de uma composição cosmética para o tratamento da pele do rostro.

18. Uso de um peptídeo de fórmula (I), de acordo com a reivindicação 16 ou 17, **caracterizado** pelo fato de ser na preparação de uma composição cosmética para diminuir ou eliminar as bolsas formadas abaixo do contorno inferior dos olhos.