



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 272 921**

51 Int. Cl.:

A61K 8/34 (2006.01)

A61K 8/49 (2006.01)

A61K 8/66 (2006.01)

A61Q 5/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **03291622 .3**

86 Fecha de presentación : **01.07.2003**

87 Número de publicación de la solicitud: **1415642**

87 Fecha de publicación de la solicitud: **06.05.2004**

54

Título: **Composición de tinción de fibras queratínicas que contiene un precursor de aldehído, una enzima y una hidrazona.**

30

Prioridad: **05.07.2002 FR 02 08493**

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.05.2007

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.05.2007

73

Titular/es: **L'ORÉAL**
14, rue Royale
75008 Paris, FR

72

Inventor/es: **Burgaud, Hervé;**
Pereira, Rui y
Belcour-Castro Béatrice

74

Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 272 921 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).

ES 2 272 921 T3

DESCRIPCIÓN

Composición de tinción de fibras queratínicas que contiene un precursor de aldehído, una enzima y una hidrazona.

5 La presente invención se refiere al ámbito de la tinción de las fibras queratínicas, se refiere más concretamente a una composición que contiene un precursor de aldehído, una enzima y una hidrazona heteroaromática capaz de generar una sustancia coloreada por reacción con un aldehído, así como a un procedimiento de tinción de las fibras queratínicas que emplean esta composición y a un dispositivo con varios compartimentos que contiene esta composición.

10 Se conoce la tinción de las fibras queratínicas y en particular el cabello humano con composiciones tintóreas que contienen precursores de colorante de oxidación, denominados generalmente bases de oxidación, tales como orto- o para-fenilendiaminas, orto- o para-aminofenoles y compuestos heterocíclicos. Estas bases de oxidación son compuestos incoloros o débilmente coloreados que, asociados a productos oxidantes, pueden dar lugar por un proceso de condensación oxidativa a compuestos coloreados.

15 Se sabe también que se puede hacer variar los matices obtenidos con estas bases de oxidación asociándolos a acopladores o modificadores de coloración, siendo estos últimos, elegidos en particular, entre las metadiaminas aromáticas, meta-aminofenoles, metadifenoles y algunos compuestos heterocíclicos tales como compuestos indólicos.

20 La variedad de las moléculas puestas en juego a nivel de las bases de oxidación y acopladores permite la obtención de una rica paleta de colores.

25 La coloración denominada "permanente" obtenida gracias a estos colorantes de oxidación, debe por otra parte satisfacer una serie de exigencias. Así, no debe haber ningún inconveniente en el plano toxicológico, debe permitir obtener matices en la intensidad deseada y presentar un buen comportamiento ante los agentes exteriores tales como la luz, las intemperies, el lavado, las ondulaciones permanentes, la transpiración y las fricciones.

30 Los colorantes deben también permitir cubrir el cabello blanco, y ser finalmente lo menos selectivos posibles, es decir, permitir obtener divergencias de coloración lo más bajas posibles a lo largo de una misma fibra queratínica, que en general se sensibiliza diferentemente (es decir, se estropea) entre su punta y su raíz.

35 La coloración se realiza generalmente en un medio muy alcalino, en presencia de peróxido de hidrógeno. No obstante, la utilización de los medios alcalinos en presencia de peróxido de hidrógeno presenta como inconveniente el implicar una degradación no desdeñable de las fibras, así como una decoloración de las fibras queratínicas que no es siempre deseable.

La coloración de oxidación de las fibras queratínicas se puede también realizar con la ayuda de sistemas oxidantes diferentes del peróxido de hidrógeno tales como sistemas enzimáticos.

40 La solicitud de patente francesa n° 2.769.219 describe la utilización de una enzima uricasa y de su sustrato el ácido úrico en coloración de oxidación para la tinción de fibras queratínicas.

45 La solicitud de patente europea n° 0310675 describe la utilización de precursor de colorante de oxidación de tipo bencénico en asociación con enzimas tales como tales la piranosa-oxidasa y la glucosa-oxidasa.

50 Se conoce también el uso de los aldehídos en coloración capilar. La solicitud de patente internacional n° WO01/62219 describe un agente de tinción de las fibras queratínicas obtenido mezclando dos compuestos: por una parte un compuesto que contiene al menos un enlace carbonilo tal como un aldehído y por otra parte un compuesto de tipo indolo o derivado 3H indolo.

55 La solicitud de patente internacional n° WO02/47633 se basa en la utilización de una enzima oxidante, un alcohol aromático, y aminas primarias o secundarias, alifáticas o aromáticas, heteroácidos que incluyen nitrógeno, aminoácidos, oligopéptidos, aromáticos hidrolizados y compuestos que tienen enlaces C-H activados.

60 El objetivo de la presente invención es proporcionar nuevas composiciones tintóreas para la tinción de las fibras queratínicas, y en particular las fibras queratínicas humanas tales como el cabello que sean limpias, no tóxicas y que respetan la naturaleza de las fibras queratínicas.

65 De manera ventajosa e inesperada, la firma solicitante descubrió que es posible alcanzar este objetivo por medio de una composición que contiene, en un medio apropiado para la tinción, al menos un precursor de aldehído, al menos una enzima capaz de generar un aldehído a partir del precursor de aldehído y al menos una hidrazona heteroaromática.

Las composiciones tintóreas según la presente invención presentan la ventaja de poder ser empleadas utilizando el agua como constituyente esencial del medio tintóreo. Son así limpias, no tóxicas y respetan la naturaleza de las fibras queratínicas.

Estas composiciones se utilizan según un procedimiento de empleo simple en el cual se evitan los riesgos vinculados a la manipulación de productos muy reactivos tales como los aldehídos. Los aldehídos en seco producidos por vía

ES 2 272 921 T3

bioquímica reaccionan a continuación con otras moléculas, por lo tanto, estos aldehídos no se acumulan en el lugar donde se forman.

5 Las composiciones según la presente invención permiten la obtención de tinciones de colores naturales, poco selectivas y resistentes, estas composiciones son capaces de generar nuevos colorantes pudiendo dar matices variados de color intenso y uniforme, sin degradación significativa del cabello.

10 La presente solicitud tiene también por objeto un procedimiento de tinción de las fibras queratínicas y en particular de las fibras queratínicas humanas tal como el cabello, tal como se aplica sobre las fibras queratínicas la composición según la invención durante una duración suficiente para desarrollar la coloración deseada.

De manera ventajosa, la composición según la invención reacciona *in situ* sobre las fibras queratínicas. El o los colorante(s) obtenido(s) penetran y tiñen la fibra queratínica.

15 Los precursores de aldehído se pueden elegir entre los aminoácidos tales como la N-6 metil lisina, la dimetilglicina, el metil glutamato, la treonina y la sarcosina; los 2-oxo ácidos tales como el 2-oxoácido piruvato, el benzoilformato, el fenil piruvato; los alcoholes primarios en particular el metanol, el etanol y el bencil alcohol.

20 Se eligen preferentemente entre los alcoholes primarios. Los alcoholes primarios útiles son los alcoholes primarios alifáticos o aromáticos. Como ejemplo, se pueden citar el metanol, el etanol, el propanol, los alcoholes primarios de largas cadenas hidrocarbonadas por ejemplo en C₁₂ a C₁₅, el alcohol benzílico, el alcohol 4-amino-benzílico.

25 Las enzimas capaces de generar un aldehído a partir del precursor de aldehído se pueden, en particular, elegir entre las alcohol deshidrogenasas EC 1.1.1.1, las alcohol deshidrogenasas EC 1.1.1.2, las alcohol deshidrogenasas EC 1.1.1.71, las alcohol aromático deshidrogenasas EC 1.1.1.90 también denominadas aril alcohol deshidrogenasas, las alcohol aromático deshidrogenasas EC 1.1.1.97, las alcohol 3-hidroxibenzílico deshidrogenasas EC 1.1.1.97, las alcohol coniferílico deshidrogenasas EC 1.1.1.194, las alcohol cinamílico deshidrogenasas EC 1.1.1.195, las metanol deshidrogenasas EC 1.1.1.244, las alcohol aromático oxidasas EC 1.1.3.7 también denominadas aril alcohol oxidasas, las alcohol oxidasas EC 1.1.3.13, las 4-hidroximandelato oxidasas EC 1.1.3.19, los alcohol de larga cadena hidro-
30 carbonada oxidasas EC 1.1.3.20, las metanol oxidasas EC 1.1.3.31, las alcohol deshidrogenasas EC 1.1.99.20, las sarcosinasa oxidasas EC 1.5.3.1, las N6-metil-lisina oxidasas EC 1.5.3.4, las dimetilglicina oxidasas EC 1.5.3.10, la sarcosina deshidrogenasas EC 1.5.99.1, las dimetilglicina deshidrogenasas EC 1.5.99.2, las metilglutamato deshidro-
genasas EC 1.5.99.5, los ácidos oxo-descarboxilasas EC 4.1.1.1, las benzoilformato descarboxilasas EC 4.1.1.7, las fenilpiruvato descarboxilasas EC 4.1.1.43, la treonina aldolasa EC 4.1.2.5.

35 La enzima capaz de generar un aldehído a partir del precursor de aldehído utilizado en la composición tintórea según la invención puede ser resultante de un extracto de vegetales, de animales, de microorganismos (bacteria, hongo, levadura, microalga) o de virus, de células diferenciadas o desdiferenciadas, obtenidas *in vivo* o *in vitro*, modificadas o no modificadas genéticamente, o sintéticas (obtenidas por síntesis química o biotecnológica).

40 Como ejemplos de enzimas útiles se pueden citar en particular las clases *Plectranthus*, *Pinus*, *Gastropode*, *Manduca*, *Pichia*, *Candida*, *Pleurotus*, *Pseudomonas*, y de manera aún más particular las siguientes especies: *Plectranthus colleoides*, *Pinus strobus* que es una especie de origen vegetal, *Gastropode mollusc*, *Manduca sexta* que son de origen animal, *Pichia pastoris* y *Candida boidinii* que son levaduras, *Pleurotus pulmonarius* que es un hongo, y *Pseudomonas pseudoalcaligenes* que es una bacteria.

45 Generalmente, la concentración de la enzima utilizada en la composición tintórea está comprendida entre 0,005% y 40% en peso con respecto al peso total de dicha composición y preferentemente está comprendida entre 0,05% y 10% en peso con respecto al peso de esta composición.

50 La actividad enzimática de las enzimas utilizadas de acuerdo con la invención se puede definir a partir de la oxidación del donador (el precursor de aldehído) en condición aerobia. Unidad U que corresponde a la cantidad de enzima que conduce a la generación de 1 μ mol de aldehído por minutos a un pH dado y a una temperatura de 25°C.

55 De manera preferencial, la cantidad de enzima está comprendida entre 0,2 y 4.10⁸ unidades U para 100 g de composición tintórea.

60 La elección de la enzima es función de la naturaleza del precursor de aldehído. Por ejemplo, cuando el precursor de aldehído es un alcohol, entonces la enzima se elige entre las enzimas capaces de generar un aldehído a partir de este alcohol. Cuando el precursor de aldehído es el metilglutamato, entonces la enzima es una metilglutamato deshidrogenasa.

65 Según una variante preferida, el precursor de aldehído es un alcohol primario y la enzima es una enzima capaz de generar el aldehído a partir de un alcohol. Por ejemplo, cuando el alcohol primario es un alcohol alifático en C₁ a C₆, entonces la enzima capaz de generar el aldehído se elige entre las alcohol oxidasas, las alcohol deshidrogenasas, las metanol deshidrogenadas y las metanol oxidasas. Cuando el alcohol primario es el alcohol benzílico, el 4-terbutil benzílico alcohol, el 3-hidroxi-4-metoxibencil alcohol, el veratril alcohol, el 4-metoxibencil alcohol, el alcohol cinámico,

ES 2 272 921 T3

el 2,4 hexadieno-1-ol, se puede utilizar como precursor de aldehído los aril alcohol oxidasas o los alcohol aromático deshidrogenasas.

5 Generalmente, la concentración en precursor de aldehído está comprendida entre 0,01% y un 40% en peso con respecto al peso total de la composición y preferentemente está comprendida entre 0,05% y un 10% en peso con respecto al peso total de la composición.

10 Las hidrazonas heteroaromáticas utilizables según lo dispuesto en la presente solicitud son compuestos capaces de generar una sustancia coloreada por reacción con un aldehído, es decir, de precursores de colorante. Estos son preferentemente hidrazonas heteroaromáticas que tienen por fórmula:



15 en la cual Ar es un heterociclo aromático de 5 ó 6 eslabones que comprende al menos un átomo de nitrógeno. Ar se elige preferentemente entre los siguientes heterociclos: los pirroles, las piridinas, los pirazoles y los imidazoles.

20 Ar puede también ser un grupo heteroaromático policíclico condensado de 9 ó 10 eslabones que comprenden al menos un átomo de nitrógeno preferentemente un isoindolo.

25 Ar se puede también sustituir sobre al menos una posición. Preferentemente, Ar es tal que los átomos de nitrógeno del heterociclo son sustituidos por un sustituyente elegido del grupo formado por los alquilos en C₁ a C₄, tales como los grupos metilo, etilo, propilos y butilos, los alcoholes en C₁ a C₄ tales como los grupos metanol (-CH₂OH), etanol (-C₂H₄OH), propanoles (-C₃H₆OH), butanoles (-C₂H₈OH), los éteres en C₁ a C₄, tal como los grupos metoxi (-OCH₃), etoxi (-OC₂H₅), propanoxi (-OC₃H₇), butanoxi (-OC₄H₈).

Generalmente la concentración de hidrazona heteroaromática está comprendida entre 0,0005 y 20%, preferentemente entre 0,05 y 10% en peso con respecto al peso total de la composición.

30 La composición según la invención puede por otro lado contener al menos otro precursor de colorante de oxidación. La naturaleza de los precursores de colorantes (bases y/o acopladores) de oxidación clásicos utilizados en la composición según la invención no es crítica.

35 Las bases de oxidación clásicas se pueden, en particular, elegir entre los parafenilendiaminas, las bis-fenilalquilendiaminas, los para-aminofenoles, los orto-aminofenoles y las bases heterocíclicas y sus sales de adición.

40 Entre las parafenilendiaminas, se pueden más concretamente citar a título de ejemplo, la parafenilendiamina, la paratoluilendiamina, la 2-cloro parafenilendiamina, 2,3-dimetil parafenilendiamina, la 2,6-dimetil parafenilendiamina, la 2,6-dietil parafenilendiamina, la 2,5-dimetil parafenilendiamina, la N,N-dimetil parafenilendiamina, la N,N-dietil parafenilendiamina, la N,N-dipropil parafenilendiamina, la 4-amino N,N-dietil 3-metil anilina, la N,N-bis-(β-hidroxietil) parafenilendiamina, la 4-N,N-bis-(β-hidroxietil) amino 2-metil anilina, la 4-N,N-bis-(β-hidroxietil) amino 2-cloro anilina, la 2-β-hidroxietil parafenilendiamina, la 2-fluoro parafenilendiamina, la 2-isopropil parafenilendiamina, la N-(β-hidroxipropil) parafenilendiamina, la 2-hidroximetil parafenilendiamina, la N,N-dimetil 3-metil parafenilendiamina, la N,N-etil, β-hidroxietil parafenilendiamina, la N-(β,γ-dihidroxipropil) parafenilendiamina, la N-4'-aminofenil parafenilendiamina, la N-fenil parafenilendiamina, la 2-β-acetilaminoetiloxi parafenilendiamina, la N-(β-metoxietil) parafenilendiamina, la 4 aminofenil pirrolidina, la 2 tienil parafenileno diamina, la 2-β hidroxietilamino 5-amino tolueno y sus sales de adición con un ácido.

50 Entre los parafenilendiaminas mencionadas anteriormente, la parafenilendiamina, la paratoluilendiamina, la 2-isopropil parafenilendiamina, la 2-β-hidroxietil parafenilendiamina, la 2-β-hidroxietiloxi parafenilendiamina, la 2,6-dimetil parafenilendiamina, la 2,6-dietil parafenilendiamina, la 2,3-dimetil parafenilendiamina, la N,N-bis-(β-hidroxietil) parafenilendiamina, la 2-cloro parafenilendiamina, la 2-β-acetilaminoetiloxi parafenilendiamina y sus sales de adición con un ácido se prefieren especialmente.

55 Entre las bis-fenilalquilendiaminas, se puede citar a título de ejemplo, la N,N'-bis-(β-hidroxietil) N,N'-bis (4'-aminofenil) 1,3-diamino propanol, la N,N'-bis-(β-hidroxietil) N,N'-bis (4'-aminofenil) etilendiamina, la N,N'-bis (4'-aminofenil) tetrametilendiamina, la N,N'-bis-(β-hidroxietil) N,N'-bis (4'-aminofenil) tetrametilendiamina, la N,N'-bis (4'-metilaminofenil) tetrametilendiamina, la N,N'-bis (etil) N,N'-bis-(4'-amino, 3'-metilfenil) etilendiamina, el 1,8-bis-(2,5-diamino fenoxi)-3,6-dioxaoctano, y sus sales de adición con un ácido.

60 Entre los para-aminofenoles, se puede citar a título de ejemplo, el para-aminofenol, el 4-amino 3-metil fenol, el 4-amino 3-fluoro fenol, el 4-amino 3-hidroximetil fenol, el 4-amino 2-metil fenol, el 4-amino 2-hidroximetil fenol, el 4-amino 2-metoximetil fenol, el 4-amino 2-aminometil fenol, el 4-amino 2-(β-hidroxietil aminometil) fenol, el 4-amino 2-fluoro fenol, y sus sales de adición con un ácido.

65 Entre los orto-aminofenoles, se puede citar a título de ejemplo, el 2-amino fenol, el 2-amino 5-metil fenol, el 2-amino 6-metil fenol, el 5-acetamido 2-amino fenol y sus sales de adición con un ácido.

ES 2 272 921 T3

Entre las bases heterocíclicas, se puede citar a título de ejemplo, los derivados piridínicos, los derivados pirimidínicos y los derivados pirazólicos.

Entre los derivados piridínicos, se pueden citar los compuestos descritos por ejemplo en las patentes inglesas nº 1.026.978 y 1.153.196, tal como la 2,5-diamino piridina, la 2-(4-metoxifenil)amino 3-amino piridina, la 3,4-diamino piridina, y sus sales de adición con un ácido.

Entre los derivados pirimidínicos, se pueden citar los compuestos descritos por ejemplo en las patentes alemana nº 2.359.399; japonesas nº 88-169 571; 05.163.124; europea nº 0770375 o la solicitud de patente internacional nº WO96/15765 tal como la 2-hidroxi 4,5,6-triaminopirimidina, la 2,4-dihidroxi 5,6-diaminopirimidina, y los derivados pirazolo-pirimidínicos tales como los mencionados en la solicitud de patente francesa nº 2.750.048 y entre los cuales se puede citar la pirazolo-[1,5-a]-pirimidina-3,7-diamina; la 2,5-dimetil pirazolo-[1,5-a]-pirimidina-3,7-diamina; la pirazolo-[1,5-a]-pirimidina-3,5-diamina; la 2,7-dimetil pirazolo-[1,5-a]-pirimidina-3,5-diamina; el 3-amino pirazolo-[1,5-a]-pirimidin-7-ol; el 3-amino pirazolo-[1,5-a]-pirimidin-5-ol; el 2-(3-amino pirazolo-[1,5-a]-pirimidin-7-ilamino)-etanol, el 2-(7-amino pirazolo-[1,5-a]-pirimidin-3-ilamino)-etanol, el 2-[(3-amino-pirazolo[1,5-a]-pirimidin-7-il)-(2-hidroxi-etil)-amino]-etanol, el 2-[(7-amino-pirazolo-[1,5-a]-pirimidin-3-il)-(2-hidroxi-etil)-amino]-etanol, la 5,6-dimetil pirazolo-[1,5-a]-pirimidina-3,7-diamina, la 2,6-dimetil pirazolo-[1,5-a]-pirimidina-3,7-diamina, la 3-amino-5-metil-7-imidazolilpropilamino pirazolo-[1,5-a]-pirimidina y sus sales de adición con un ácido y sus formas tautómeras, cuando existe un equilibrio tautomérico.

Entre los derivados pirazólicos, se pueden citar los compuestos descritos en las patentes alemanas nº 3.843.892, 4.133.957 y en las solicitudes de patentes internacionales nº WO 94/08969 y WO 94/08970, francesa nº 2.733.749 y alemana nº 195.43.988 tal como el 4,5-diamino 1-metil pirazol, el 4,5-diamino 1-(β -hidroxietil) pirazol, el 3,4-diamino pirazol, el 4,5-diamino 1-(4'-clorobencil) pirazol, el 4,5-diamino 1,3-dimetil pirazol, el 4,5-diamino 3-metil 1-fenil pirazol, el 4,5-diamino 1-metil 3-fenil pirazol, el 4-amino 1,3-dimetil 5-hidrazino pirazol, el 1-bencil 4,5-diamino 3-metil pirazol, el 4,5-diamino 3-terc-butil 1-metil pirazol, el 4,5-diamino 1-terc-butil 3-metil pirazol, el 4,5-diamino 1-(β -hidroxietil) 3-metil pirazol, el 4,5-diamino 1-etil 3-metil pirazol, el 4,5-diamino 1-etil 3-(4'-metoxifenil)-pirazol, el 4,5-diamino 1-etil 3-hidroximetilo pirazol, el 4,5-diamino 3-hidroximetil 1-metil pirazol, el 4,5-diamino 3 hidroximetil 1-isopropil pirazol, el 4,5-diamino 3-metil 1-isopropil pirazol, el 4-amino 5-(2'-aminoetil)-amino 1,3-dimetil pirazol, el 3,4,5-triamino pirazol, el 1-metil 3,4,5-triamino pirazol, el 3,5-diamino 1-metil 4-metilamino pirazol, el 3,5-diamino 4-(β -hidroxietil)-amino 1-metil pirazol, y sus sales de adición con un ácido.

Generalmente la concentración de esta base de oxidación está comprendida entre 0,0005 y 10% en peso con respecto al peso total de la composición.

Entre los acopladores de oxidación clásicos, se pueden, en particular, citar las metafenilenodiaminas, los metaaminofenoles, los metadifenoles, los acopladores naftalénicos y los acopladores heterocíclicos así como sus sales de adición.

A título de ejemplo de acopladores de oxidación clásicos, se pueden citar el 2-metil 5-aminofenol, el 5-N-(β -hidroxietil)-amino 2-metil fenol, el 6-cloro-2-metil-5-aminofenol, el 3-amino fenol, el 1,3-dihidroxi benceno (o resorcinol), el 1,3-dihidroxi 2-metil benceno, el 4-cloro 1,3-dihidroxi benceno, el 2,4-diamino 1-(β -hidroxietiloxi) benceno, el 2-amino 4-(β -hidroxietilamino) 1-metoxibenceno, el 1,3-diamino benceno, el 1,3-bis-(2,4-diaminofenoxi) propano, el 3-ureido anilina, el 3-ureido 1-dimetilamino benceno, el sesamol, el 1- β -hidroxietilamino-3,4-metilenodioxibenceno, el α -naftol, el 2 metil-1-naftol, el 6-hidroxi indol, el 4-hidroxi indol, el 4-hidroxi N-metil indol, la 2-amino-3-hidroxi piridina, la 6-hidroxi benzomorfolina la 3,5-diamino-2,6-dimetoxipiridina, el 1-N-(β -hidroxietil)-amino-3,4-metileno dioxibenceno, el 2,6-bis-(β -hidroxietilamino)-tolueno y sus sales de adición.

Generalmente la concentración de este acoplador de oxidación está comprendida entre 0,0001 10% en peso con respecto al peso total de la composición.

De una manera general, las sales de adición con un ácido utilizables para las bases y los acopladores de oxidación se eligen, en particular, entre los clorhidratos, los bromohidratos, los sulfatos, los citratos, los succinatos, los tartratos, los lactatos, los tosilatos, los benzenosulfonatos, los fosfatos y los acetatos.

Las sales de adición utilizables en el marco de la invención se eligen, por ejemplo, entre las sales de adición con la sosa, la potasa, el amoníaco, las aminas o las alcanolaminas.

La composición tintórea conforme a la invención puede, por otro lado, contener uno o varios colorantes directos que pueden, en particular, ser elegidos entre los colorantes nitrados de la serie bencénica, los colorantes directos catiónicos, los colorantes directos azoicos, metínicos y azometínicos.

El medio apropiado para la tinción denominado también soporte de tinción está constituido generalmente por agua o por una mezcla de agua y de al menos un disolvente orgánico para solubilizar los compuestos que no serían suficientemente solubles en agua. Como disolvente orgánico, se pueden, por ejemplo, citar los alcoholes inferiores en C₁-C₄, tales como el etanol y el isopropanol; los polioles y éteres de polialcoholes tal como el 2-butoxietanol, el propilenglicol, el monometiléter de propilenglicol, el monoetiléter y el monometiléter de dietilenglicol, así como los alcoholes aromáticos tales como el alcohol benzílico o el fenoxietanol, y sus mezclas.

ES 2 272 921 T3

Los disolventes pueden estar presentes en proporciones preferentemente comprendidas entre 1 y 40% en peso aproximadamente con respecto al peso total de la composición tintórea, y aún más preferentemente entre 5 y 30% en peso aproximadamente.

5 La composición tintórea conforme a la invención puede también contener distintos adyuvantes utilizados clásicamente en las composiciones para la tinción del cabello, tales como agentes tensioactivos aniónicos, catiónicos, no iónicos, anfóteros, de iones híbridos o sus mezclas, polímeros aniónicos, catiónicos, no iónicos, anfóteros, de iones híbridos o sus mezclas, agentes espesantes minerales u orgánicos, y en particular los espesantes asociativos polímeros aniónicos, catiónicos, no iónicos y anfóteros, agentes antioxidantes, agentes de penetración, agentes secuestrantes, perfumes, tampones, agentes dispersantes, agentes de acondicionamiento tales como por ejemplo las siliconas volátiles o no volátiles, modificadas o no modificadas, agentes filmógenos, ceramidas, agentes conservadores y agentes opacificantes.

15 Estos adyuvantes anteriormente citados están en general presentes en cantidades comprendidas, para cada uno ellos, entre 0,01 y 20% en peso con respecto al peso de la composición.

20 Por supuesto, el experto en la técnica velará por elegir este o estos posibles compuestos complementarios de tal modo que las propiedades ventajosas vinculadas intrínsecamente a la composición de tinción de oxidación conforme a la invención no sean, o sustancialmente no sean, alteradas por la o las adiciones consideradas.

25 El pH de la composición tintórea conforme a la invención está comprendido generalmente entre 5 y 11 aproximadamente, y preferentemente entre 7 y 10. Se puede ajustar al valor deseado por medio de agentes acidificantes o alcalinizantes habitualmente utilizados en tinción de las fibras queratínicas o bien también con la ayuda de sistemas tampones clásicos.

Entre los agentes acidificantes, se pueden citar, a título de ejemplo, los ácidos minerales u orgánicos tales como el ácido clorhídrico, el ácido ortofosfórico, el ácido sulfúrico, los ácidos carboxílicos tales como el ácido acético, el ácido tartárico, el ácido cítrico, el ácido láctico y los ácidos sulfónicos.

30 Entre los agentes alcalinizantes se pueden citar, a título de ejemplo, el amoníaco, los carbonatos alcalinos, las alcanolaminas tales como las mono-, di- y trietanolaminas así como sus derivados, los hidróxidos de sodio o de potasio y los compuestos de siguiente fórmula (III):



40 en la cual W es un resto propileno eventualmente substituido por un grupo hidróxilo o un radical alquilo en C₁-C₄; Ra, Rb, Rc y Rd, idénticos o diferentes, representan un átomo de hidrógeno, un radical alquilo en C₁-C₄ o hidroxialquilo en C₁-C₄.

45 La composición tintórea se puede presentar bajo distintas formas, tales como en forma de líquidos, de cremas, de geles, o bajo cualquier otra forma apropiada para realizar una tinción de las fibras queratínicas, y, en particular, del cabello humano.

50 Cuando el o los precursores de aldehído y la o las enzimas están presentes en el seno de la misma composición presta para su empleo, dicha composición está preferentemente libre de oxígeno gaseoso de tal manera que se evite cualquier oxidación prematura del o de los precursores de aldehído.

55 La invención tiene también por objeto un procedimiento de tinción de las fibras queratínicas, y en particular de las fibras queratínicas humanas tales como el cabello, de tal manera que se aplica sobre estas fibras al menos una composición para la tinción de las fibras queratínicas según la invención, siendo la duración de esta aplicación una duración suficiente para desarrollar la coloración deseada.

El color entonces se revela por el oxígeno del aire o con la ayuda de un agente oxidante en función de la enzima utilizada.

60 La composición se aplica sobre las fibras queratínicas. Después de un tiempo de exposición de 3 a 60 minutos aproximadamente, preferentemente 5 a 40 minutos aproximadamente, las fibras queratínicas se aclaran, se lavan con champú, se aclaran de nuevo y luego se secan.

65 Según la naturaleza de la enzima, la composición de la invención puede ser una composición presta para su empleo que comprende, en un medio apropiado para la tinción de las fibras queratínicas, al menos un precursor de aldehído, al menos una enzima capaz de generar un aldehído a partir del precursor de aldehído y al menos una hidrazona, el conjunto entonces se almacena bajo forma anaerobia, libre de oxígeno gaseoso.

ES 2 272 921 T3

5 Cuando la enzima es capaz de generar un aldehído a partir del precursor de enzima en ausencia de un agente oxidante o del oxígeno del aire, entonces la composición se almacena bajo forma separada: bajo la forma de una composición (A) que comprende, en un medio apropiado para la tinción de las fibras queratínicas, al menos un precursor de aldehído y, por otra parte, una composición (B) que contiene, en un medio apropiado para la tinción de las fibras queratínicas, al menos una enzima capaz de generar un aldehído a partir del precursor de aldehído, la composición (A) y/o la composición (B) que contiene al menos una hidrazona. El procedimiento de tinción comprende entonces una etapa preliminar que consiste en proceder a la mezcla de las composiciones (A) y (B) en el momento de su empleo y en aplicar esta mezcla sobre las fibras queratínicas.

10 El procedimiento de tinción de las fibras queratínicas, y en particular de las fibras queratínicas humanas como el cabello, se puede emplear mezclando sobre las fibras queratínicas la composición según la presente invención.

El color se puede revelar a pH ácido, neutro o alcalino.

15 Según el procedimiento conforme con la presente invención, el color se puede revelar con la ayuda de un agente oxidante.

El agente oxidante, cuando sea necesario, se puede añadir a la composición de la invención justo en el momento de su empleo o se puede emplear a partir de una composición oxidante que le contiene, se aplica simultáneamente o secuencialmente a la composición de la invención.

La composición oxidante puede también contener distintos adyuvantes utilizados clásicamente en las composiciones para la tinción del cabello y tal como se definen anteriormente.

25 El pH de la composición oxidante que contiene al agente oxidante es tal que después de la mezcla con la composición tintórea, el pH de la composición resultante aplicada sobre las fibras queratínicas varía entre 5 y 11, preferentemente entre 7 y 10. Se puede ajustar al valor deseado por medio de agentes acidificantes o alcalinizantes habitualmente utilizados en tinción de las fibras queratínicas y tales como se definen anteriormente.

30 La composición que finalmente se aplica sobre las fibras queratínicas se puede presentar bajo distintas formas, tales como en forma de líquidos, de cremas, de geles o bajo cualquier otra forma apropiados para realizar una tinción de las fibras queratínicas, y, en particular, del cabello humano.

35 Otro objeto de la invención es un dispositivo de varios compartimentos o "kit" de tinción que incluye un primer compartimento que contiene la composición (A) tal como se define anteriormente y un segundo compartimento que contiene la composición (B) tal como se define anteriormente. Este dispositivo puede contener una tercera composición que contiene un agente oxidante, esta tercera composición está contenida preferentemente en un tercer compartimento. Este dispositivo se puede equipar de un medio que permite liberar sobre el cabello la mezcla deseada, tal como los dispositivos descritos en la patente francesa n° 2.586.913 a nombre de la firma solicitante.

40 Los ejemplos que siguen sirven para ilustrar la invención sin por ello presentar un carácter limitativo.

Ejemplos

45 Ejemplo 1

Este ejemplo se refiere a una reacción realizada *in situ* para la tinción de las fibras queratínicas por conversión enzimática de etanol en acetaldehído luego acoplamiento del acetaldehído con la N-etanol piridina 2-hidrazona.

50 - La reacción se efectúa a pH comprendido entre 7 y 9 con un tampón fosfato en la concentración de 30 mM.

- El alcohol oxidasa (EC 1.1.3.13) de *Pichia pastoris* se añade a la concentración final de 100 U por ml.

55 - El precursor de aldehído utilizado es el etanol que se añade de tal modo que se obtenga una concentración final *in situ* de 10% (v/v).

- El N-etanol piridina 2-hidrazona se añade a la mezcla de la reacción con el fin de que se obtenga una concentración final *in situ* de 0,3 M.

60 - Estos distintos componentes se mezclan, se aplican sobre las fibras queratínicas que se incuban a 37°C.

- Después de 45 minutos de exposición, las fibras queratínicas se lavan luego se aclaran.

- Las fibras queratínicas presentan una coloración azul-violeta.

65

ES 2 272 921 T3

Ejemplo 2

Este ejemplo se refiere a una reacción realizada *in situ* para la tinción de las fibras queratínicas por conversión enzimática de metanol en formaldehído luego acoplamiento del aldehído fórmico con la 4-metoxi-N-metil-piridina-2-hidrazona.

- La reacción se efectúa a pH comprendido entre 7 y 9 con un tampón fosfato con la concentración de 30 mM.

- El alcohol oxidasa (EC 1.1.3.13) de *Candida boidinii* se añade a la concentración final de 100 U por ml.

- El precursor de aldehído utilizado es el metanol que se añade de tal modo que se obtenga una concentración final *in situ* de 10% (v/v).

- La 4-metoxi-N-metil-piridina-2-hidrazona se añade a la mezcla de la reacción con el fin de que se obtenga una concentración final *in situ* de 0,3 M.

- Estos distintos componentes se mezclan, se aplican sobre las fibras queratínicas que se incuban a 37°C.

- Después de 45 minutos de exposición, las fibras queratínicas se lavan luego se aclaran.

Las fibras queratínicas presentan una coloración violeta.

Ejemplo 3

A - Preparación de un extracto de *Plectranthus colleoides* (L)

El *Plectranthus colleoides* (L) es una planta de la familia del *Labiatae*.

El extracto utilizado es un extracto acuoso bruto de *Plectranthus colleoides* (L) realizado a partir de la planta entera.

La parte aérea de la planta (las hojas y los troncos) se extrae, se secan a 45°C, se tritura con trituradora de cuchillos, luego se tamiza el polvo obtenido sobre un tamiz de mallas iguales de 0,5 μ m.

El polvo se extrae por agitación en presencia de agua carbonatada a pH 9,5 se prepara del siguiente modo: se añade el carbonato anhidro de sodio a 1 g/l al agua destilada, el pH se ajusta a 9,5 por adición de HCl 1N.

La extracción se realiza a temperatura ambiente a razón de 5 g de polvo de planta para 100 ml de agua carbonatada, colocada en agitación durante 1 h 30 min a 900 revoluciones/min.

La mezcla se filtra a continuación bajo vacío sobre filtro de 2,7 μ m de porosidad.

El filtrado obtenido se congela a continuación luego se liofiliza.

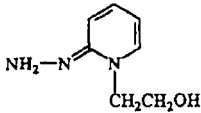
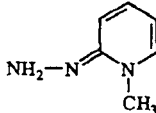
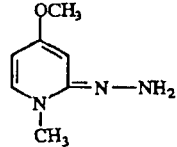
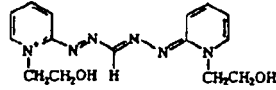
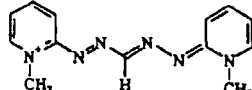
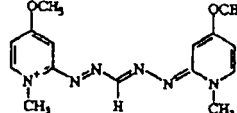
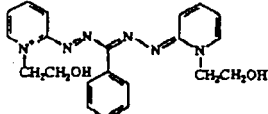
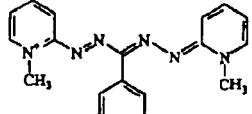
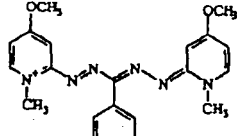
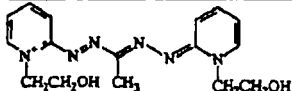
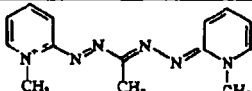
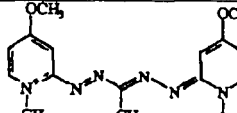
B - Preparación de la composición tintórea

El extracto de planta se pone en contacto con un 0,2% de una hidrazona descrita más abajo puesta en solución en 100 ml de mezcla alcohol/agua (2/5). La cantidad de extracto está comprendida entre 0,3 y 0,4%. A esta mezcla se añaden 0,5 ml de agua oxigenada a 3% y 0,5 ml de tampón amoniacal pH 9. Se pone la composición en contacto con el cabello y se deja a temperatura ambiente. Una coloración violeta se desarrolla y tiñe la fibra queratínica.

La misma reacción se desarrolla también sin la presencia de agua oxigenada a pH 7.

Los resultados de coloración se recogen en la tabla siguiente:

ES 2 272 921 T3

5	<p>Hidrazona</p> 			
10	<p>Alcohol</p>	<p>Metanol</p>  <p> $M^+ = 315;$ $\lambda = 575 \text{ nm}$ $C_{15}H_{19}N_6O_2$ Violeta </p>	 <p> $M^+ = 255;$ $\lambda = 568,6 \text{ nm}$ $C_{13}H_{15}N_6$ Violeta púrpura-fucsia </p>	 <p> $M^+ = 315;$ $\lambda = 556 \text{ nm}$ $C_{15}H_{19}N_6O_2$ Fucsia </p>
15	<p>Alcohol</p>	<p>bencílico</p>  <p> $M^+ = 391;$ $\lambda = 575,6 \text{ nm}$ $C_{21}H_{23}N_6O_2$ Violeta </p>	 <p> $M^+ = 331;$ $\lambda = 575,6 \text{ nm}$ $C_{19}H_{19}N_6$ Violeta </p>	 <p> $M^+ = 391;$ $\lambda = 566 \text{ nm}$ $C_{21}H_{23}N_6O_2$ Violeta púrpura </p>
20	<p>Etanol</p>	 <p> $M^+ = 329;$ $\lambda = 578,6 \text{ nm}$ $C_{16}H_{21}N_6O_2$ Violeta </p>	 <p> $M^+ = 269;$ $\lambda = 575,6 \text{ nm}$ $C_{14}H_{17}N_6$ Violeta púrpura-fucsia </p>	 <p> $M^+ = 329;$ $\lambda = 564 \text{ nm}$ $C_{16}H_{21}N_6O_2$ Violeta </p>

Se realizó el análisis de los colorantes por HPLC, espectroscopia de masa y RMN.

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

5 1. Composición tintórea para la tinción de las fibras queratínicas que contiene, en un medio apropiado para la tinción, al menos un precursor de aldehído, al menos una enzima capaz de generar un aldehído a partir del precursor de aldehído y al menos una hidrazona heteroaromática capaz de generar una sustancia coloreada por reacción con un aldehído.

10 2. Composición según la reivindicación 1 de tal modo que la enzima es resultante de un extracto elegido entre los extractos de vegetales, de animales, de microorganismos o de virus, de células diferenciadas o desdiferenciadas, obtenidas *in vivo* o *in vitro*, modificadas o no modificadas genéticamente, o sintéticas.

15 3. Composición según la reivindicación 2 de tal modo que la enzima se elige entre las clases *Plectranthus*, *Pinus*, *Gastropode*, *Manduca*, *Pichia*, *Candida*, *Pleurotus*, *Pseudomonas*, y de manera aún más particular las siguientes especies: *Plectranthus colleoides*, *Pinus strobus*, *Gastropode mollusc*, *Manduca sexta*, *Pichia pastoris*, *Candida boidinii*, *Pleurotus pulmonarius*, y *Pseudomonas pseudoalcaligenes*.

20 4. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, de tal modo que la concentración en enzima está comprendida entre 0,005% y 40% en peso con respecto al peso total de dicha composición.

25 5. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 de tal modo que el precursor de aldehído se elige entre los aminoácidos tales como la N-6 metil lisina, la dimetilglicina, el metil glutamato, la treonina y la sarcosina; los 2-oxo ácidos tales como el 2-oxoácido-piruvato, el benzoilformato, el fenil piruvato; los alcoholes primarios en particular el metanol, el etanol, el bencil alcohol.

30 6. Composición según la reivindicación 5 de tal modo que la concentración en precursor de aldehído está comprendida entre 0,01% y 40% en peso con respecto al peso total de la composición.

35 7. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 de tal modo que la hidrazona heteroaromática es una hidrazona de fórmula:



40 en la cual Ar es un heterociclo de 5 ó 6 eslabones que comprende al menos un átomo de nitrógeno o a un grupo heteroaromático policíclico condensado de 9 ó 10 eslabones que comprende al menos un átomo de nitrógeno, siendo Ar no sustituido o sustituido sobre los átomos de nitrógeno por un sustituyente elegido del grupo formado por los alquiles en C₁ a C₄, los alcoholes en C₁ a C₄ y los éteres en C₁ a C₄.

45 8. Composición según la reivindicación 7 de tal modo que la concentración en hidrazona heteroaromática está comprendida entre 0,0005 y 20% en peso con respecto al peso total de la composición.

9. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 de tal modo que comprende una base de oxidación clásica elegida entre las parafenilendiaminas, las bis-fenilalquilendiaminas, los para-aminofenoles, los orto-aminofenoles, las bases heterocíclicas y sus sales de adición.

50 10. Composición según la reivindicación 9 de tal modo que la concentración de esta base de oxidación clásica esté comprendida entre 0,0005 y 10% en peso con respecto al peso total de la composición.

55 11. Composición según una las reivindicaciones 1 a 10 de tal modo que la composición comprende un acoplador de oxidación clásico elegido entre las metafenilendiaminas, los meta-aminofenoles, los meta-difenoles, los acopladores naftalénicos, los acopladores heterocíclicos así como sus sales de adición.

12. Composición según la reivindicación 11 de tal modo que la concentración de este acoplador esté comprendida entre 0,0001 y 10% en peso con respecto al peso total de la composición.

60 13. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizada** porque contiene uno o varios colorantes directos.

14. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizada** porque contiene un agente oxidante.

65 15. Procedimiento de tinción de las fibras queratínicas y en particular de las fibras queratínicas humanas tal como el cabello, **caracterizado** porque se aplica sobre dichas fibras al menos una composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, durante un tiempo suficiente para desarrollar la coloración deseada.

16. Procedimiento según la reivindicación 15, **caracterizado** porque la composición es una composición presta para su empleo almacenada bajo forma anaerobia, libre de oxígeno gaseoso.

ES 2 272 921 T3

17. Procedimiento según la reivindicación 16, **caracterizado** porque incluye una etapa preliminar que consiste en mezclar una composición (A) que comprende, en un medio apropiado para la tinción, al menos un precursor de aldehído y una composición (B) que contiene, en un medio apropiado para las fibras queratínicas, al menos una enzima capaz de generar un aldehído a partir del precursor de aldehído, conteniendo la composición (A) y/o la composición (B) al menos una hidrazona capaz de generar una sustancia coloreada por reacción con un aldehído, luego en aplicar esta mezcla sobre las fibras queratínicas.

18. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 15 a 17 **caracterizado** porque el color se revela con la ayuda de un agente oxidante.

19. Procedimiento de tinción de las fibras queratínicas **caracterizado** porque se mezcla sobre las fibras queratínicas la composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14.

20. Dispositivo con varios compartimentos o "Kit" de tinción, **caracterizado** porque incluye un primer compartimento que contiene la composición (A) tal como se define en la reivindicación 17 y un segundo compartimento que contienen la composición (B) tal como se define en la reivindicación 17.