



PI02111870
PI02111870

REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL
MINISTÉRIO DO DESENVOLVIMENTO, INDÚSTRIA E COMÉRCIO EXTERIOR
INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

CARTA PATENTE Nº PI 0211187-0

O INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL concede a presente PATENTE DE INVENÇÃO, que outorga ao seu titular a propriedade da invenção caracterizada neste título, em todo o território nacional, garantindo os direitos dela decorrentes, previstos na legislação em vigor.

(21) Número do Depósito: PI 0211187-0

(22) Data do Depósito: 24/05/2002

(43) Data da Publicação do Pedido: 04/12/2003

(51) Classificação Internacional: A61K 8/64; A61K 8/97; A61K 8/20; A61K 8/72; A61Q 19/04

(52) Classificação CPC: A61K 8/64; A61K 8/97; A61K 8/20; A61K 8/72; A61Q 19/04

(30) Prioridade Unionista: 21/05/2001 US 09/861,972

(54) Título: COMPOSIÇÃO COMPREENDENDO UM PEPTÍDEO E UM PIGMENTO E MÉTODOS DE ESCURECIMENTO DA PELE

(73) Titular: JOHNSON & JOHNSON, Sociedade Norte-Americana. Endereço: One Johnson & Johnson Plaza, New Brunswick, New Jersey, Estados Unidos da América (US), CEP: 08933-7001.

(72) Inventor: MIRI SEIBERG; STANLEY S. SHAPIRO

Prazo de Validade: 10 (dez) anos contados a partir de 30/06/2015, observadas as condições legais.

Expedida em: 30 de Junho de 2015.

Assinado digitalmente por:

Júlio César Castelo Branco Reis Moreira
Diretor de Patentes

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "**COMPOSIÇÃO COMPREENDENDO UM PEPTÍDEO E UM PIGMENTO E MÉTODOS DE ESCURECIMENTO DA PELE**".

Fundamento da Invenção

[001] O escurecimento de cor da pele é uma preocupação para muitos indivíduos. A maioria das pessoas obtém pele mais escura através de exposição à luz UV (por exemplo, bronzamento por exposição ao sol ou lâmpadas UV). Exposição a UV, contudo, resulta em envelhecimento acelerado da pele e aumento de incidência de câncer de pele. A capacidade de gerar uma aparência bronzeada sem incorrer em fotodano é assim importante para muitos indivíduos. Consequentemente, métodos alternativos para "bronzamento sem exposição ao sol" têm se desenvolvido.

[002] Um método é o uso de produtos que contêm diidroxiacetona (DHA). Alguns desses produtos, entretanto, produzem cor que é laranja demais e artificial ao usuário. Além disso, a cor da pele produzida por DHA somente protege minimamente o usuário de irradiação UV. Produtos que contêm beta-caroteno e cantaxantina têm também sido usados para escurecer a pele. Esses produtos, contudo, também resultam em cor artificial da pele e reduzida proteção do sol em comparação com pele bronzeada naturalmente. Assim, deseja-se um produto que possa acentuar o teor de pigmentos naturais do corpo, resultando em uma cor desejada da pele e acentuada fotoproteção, sem a necessidade de exposição a UV.

Sumário da Invenção

[003] A presente invenção refere-se a composições que contêm um peptídeo(s) e um pigmento(s), e ao uso da mesma no escurecimento da pele.

[004] Outras características e vantagens da presente invenção serão evidentes da descrição detalhada da invenção e das reivindica-

ções.

Descrição Detalhada da Invenção

[005] Acredita-se que aquele versado na técnica pode, baseado na descrição desta invenção, utilizar a presente invenção em seu grau mais amplo. As modalidades específicas seguintes devem ser consideradas meramente ilustrativas e não de maneira alguma limitativas do restante da descrição.

[006] A menos que definidos de outra maneira, todos os termos técnicos e científicos usados nesta invenção têm os mesmos significados conforme comumente entendidos por aquele versado na técnica à qual a invenção pertence. Também, todas as publicações, pedidos de patente, patentes e outras referências mencionadas nesta invenção são incorporados como referência. A menos que indicado de outra maneira, uma porcentagem refere-se a uma porcentagem em peso (isto é, % (P/P)).

Definições

[007] O que se entende por "escurecimento da pele" é um escurecimento da aparência da pele, incluindo, mas sem se limitar ao mesmo, bronzeamento da pele.

[008] Como usada nesta invenção, "aplicação tópica" significa aplicar diretamente ou espalhar sobre pele externa usando, por exemplo, as mãos ou um aplicador tal como uma esponja, "roll-on" ou spray.

[009] Como usado nesta invenção, "cosmeticamente aceitável" significa que os peptídeos, pigmentos ou ingredientes inertes que o termo descreve são adequados para uso em contato com tecidos (por exemplo, a pele) sem toxicidade indevida, incompatibilidade, instabilidade, irritação, resposta alérgica e similares.

[0010] Como usada nesta invenção, "quantidade segura e eficaz" significa uma quantidade do peptídeo ou composição suficiente para induzir um escurecimento da pele, mas suficientemente baixa para evi-

tar efeitos colaterais graves. A quantidade segura e eficaz do composto ou composição variará com a área que é tratada, a idade e tipo de pele do usuário final, a duração e natureza do tratamento, o composto ou composição específico empregado, o veículo particular cosmeticamente aceitável utilizado e fatores similares.

Pigmento

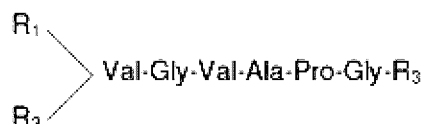
[0011] O que se entende por um "pigmento" é um composto(s) que pode(m) ser absorvido(s) por células epidérmicas na presença dos peptídeos descritos abaixo, resultando em aparência visualmente mais escura da pele. Exemplos de tais pigmentos incluem, mas sem se limitar aos mesmos, melanina e derivados de melanina (por exemplo, tanto polímeros de melanina quanto derivados de melanina de pesos moleculares mais baixos solúveis em água); extratos de fontes naturais que contêm pigmentos (por exemplo, pigmentos marrons de plantas do gênero *Hedychium* ou do gênero *Bearberry*, ou pigmentos amarelos, laranjas e vermelhos, de plantas que contêm carotenóides ou cantaxantinas); ou produtos químicos sintéticos tais como compostos que contêm cobre (por exemplo, sais de cobre tal como CuCl_2) ou carotenóides ou cantaxantinas sintéticos. O que se entende por um "extrato" é uma mistura de compostos isolados de uma fonte natural (por exemplo, uma planta). Exemplos de derivados de melanina sintéticos são descritos nas Patentes U.S. N^{os} 5.618.519, 5.384.116 e 5.227.459. Exemplos de derivados de melanina solúveis são descritos em 5.744.125, 5.225.435, 5.218.079 e 5.216.116. Exemplos de derivados de melanina solúveis comercialmente disponíveis incluem Melasyn-100[®] de San-mar laboratories, Inc. (Elmsford, NY) e MelanZe[®] de Zylepsis (Ashford, Kent, Reino Unido).

[0012] A quantidade de pigmento presente na composição dependerá do tipo de pigmento usado. O pigmento tipicamente estará presente na composição em uma quantidade de cerca de 0,001% a cerca

de 20% em peso, em particular em uma quantidade de cerca de 0,005% a cerca de 5% em peso.

Peptídeos

[0013] A composição da presente invenção compreende um peptídeo de fórmula I



Fórmula I

[0014] em que:

[0015] cada R_1 e R_2 , independentemente, é H, C_{1-12} alquila, C_{7-10} fenilalquila ou $C(=O)E_1$, onde E_1 é C_{1-20} alquila, C_{3-20} alquenila, C_{3-20} alquinila, fenila, 3,4-diidroxifenilalquila, naftila ou C_{7-10} fenilalquila; con-
tanto que quando R_1 ou R_2 é $C(=O)E_1$, o outro deve ser H; e

[0016] R_3 é OH, NH_2 , C_{1-12} alcóxi, C_{7-10} fenilalcóxi, C_{11-20} naftilalcóxi, C_{1-12} alquilamino, C_{7-10} fenilalquilamino ou C_{11-20} naftilalquilamino;

[0017] ou um sal cosmeticamente aceitável do mesmo.

[0018] Em uma modalidade, R_1 e R_2 , que se ligam ao término N do peptídeo, são ambos H. Em uma outra modalidade, R_1 é H e R_2 é $C(=O)E_1$ (por exemplo, palmitoila, oleatoila ou estearatoila).

[0019] Exemplos de peptídeos da presente invenção incluem, mas sem se limitar aos mesmos, $H_2\text{-Val-Gly-Val-Ala-Pro-Gly-NH}_2$ (Peptídeo 1; SEQ. ID. NO.: 1), $H_2\text{-Val-Gly-Val-Ala-Pro-Gly-OH}$ (SEQ. ID. NO.: 2), Palmitoil-Val-Gly-Val-Ala-Pro-Gly-NH₂ (Peptídeo 1, SEQ. ID. NO.: 3), Palmitoil-Val-Gly-Val-Ala-Pro-Gly-OH (SEQ. ID. NO.: 4), Estearatoil-Val-Gly-Val-Ala-Pro-Gly-NH₂ (SEQ. ID. NO.: 5) e Estearatoil-Val-Gly-Val-Ala-Pro-Gly-OH (SEQ. ID. NO.: 6), ou um sal cosmeticamente aceitável dos mesmos.

[0020] O símbolo A_1 , A_2 ou similares usados nesta invenção (por exemplo, na Figura 1) representa o resíduo de um alfa-aminoácido. Esses símbolos representam a estrutura geral $-NH-CH(X)-CO-$ ou $=N-$

CH(X)-CO- quando ela está no término N, ou -NH-CH(X)-CO- quando ela não está no término N, onde X denota a cadeia lateral (ou grupo de identificação) do alfa-aminoácido, por exemplo X é -CH(CH₃)₂ para Val. Observe-se que o término N está à esquerda e o término C está à direita de acordo com a representação convencional de uma cadeia de polipeptídeo. R₁ e R₂ ligam-se ambos ao átomo de nitrogênio livre do aminoácido de término C (por exemplo, Val) e o R₃ liga-se ao grupo carbóxi livre do aminoácido de término C (por exemplo, Gly).

[0021] Além disso, onde o resíduo aminoácido é opticamente ativo, ele está na configuração de forma L que é pretendida, a menos que a forma D seja expressamente indicada. Um grupo alquila, se não especificado, contém 1-12 átomos de carbono.

[0022] O peptídeo da invenção pode ser proporcionado na forma de sais cosmeticamente aceitáveis. Exemplos de sais preferidos são aqueles com ácidos orgânicos terapeuticamente aceitáveis, por exemplo ácido acético, palmítico, oléico, esteárico, láctico, maléico, cítrico, málico, ascórbico, succínico, benzóico, salicílico, metanossulfônico ou pamóico, bem como ácidos poliméricos tais como ácido tânico ou carboximetilcelulose, e sais com ácidos inorgânicos tais como os ácidos halídricos (por exemplo, ácido clorídrico), ácido sulfúrico ou ácido fosfórico.

[0023] A quantidade de peptídeo presente na composição dependerá do peptídeo usado. O peptídeo tipicamente estará presente na composição em uma quantidade de cerca de 0,001% a cerca de 10% em peso, em particular em uma quantidade de cerca de 0,005% a cerca de 5% em peso.

[0024] O método para sintetização de peptídeos da presente invenção é bem documentado e está dentro da capacidade daquele versado na técnica. Ver, por exemplo, Bodanszky M., Int. J. Pept. Protein Res. 25(5): 449-74 (1985), Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis (Sín-

tese de Peptídeo em Fase Sólida com Fmoc), eds. Chan, W. & White, P. (Oxford University Press, 2000), e Chemical Approaches to the Synthesis of Peptides and Proteins, Lloyd-Williams, P. e outros (CRC Press, 1997).

Composições Tópicas

[0025] As composições tópicas úteis na presente invenção envolvem formulações adequadas para aplicação tópica na pele. Em uma modalidade, a composição compreende o peptídeo, pigmento e um veículo tópico cosmeticamente aceitável. Em uma modalidade, o veículo tópico cosmeticamente aceitável é de cerca de 50% a cerca de 99,99%, em peso, da composição (por exemplo, de cerca de 80% a cerca de 95%, em peso, da composição).

[0026] As composições poderão ser produzidas em uma ampla variedade de tipos de produtos que incluem, mas sem se limitar aos mesmos, loções, cremes, géis, bastões, sprays, pomadas, cosméticos líquidos de limpeza e barras sólidas, xampus, pastas, espumas, pós, musses, cremes de barbear, esponjas, emplastos, esmaltes para unhas, curativos e bandagens adesivas, hidrogéis, películas e maquiagem tais como bases, máscaras e batons. Esses tipos de produtos poderão compreender diversos tipos de veículos tópicos cosmeticamente aceitáveis, incluindo, mas sem se limitar aos mesmos, soluções, emulsões (por exemplo, microemulsões e nanoemulsões), géis, sólidos e lipossomos. O que segue são exemplos não-limitativos desses veículos. Outros veículos podem ser formulados por aqueles versados na técnica.

[0027] As composições tópicas úteis na presente invenção podem ser formuladas como soluções. Soluções tipicamente incluem um solvente aquoso ou orgânico (por exemplo, de cerca de 50% a cerca de 99,99% ou de cerca de 90% a cerca de 99% de um solvente aquoso ou orgânico cosmeticamente aceitável). Exemplos de solventes orgâ-

nicos adequados incluem: propileno glicol, polietileno glicol (200-600), polipropileno glicol (425-2025), glicerol, 1,2,4-butanotriol, ésteres de sorbitol, 1,2,6-hexanotriol, etanol e misturas dos mesmos.

[0028] Composições tópicas úteis na presente invenção poderão ser formuladas como uma solução que compreende um emoliente. Tais composições preferencialmente contêm de cerca de 2% a cerca de 50% de um emoliente(s). Como usados nesta invenção, "emolientes" referem-se a materiais usados para a prevenção ou alívio de secura, bem como para a proteção da pele. Uma ampla variedade de emolientes adequados é conhecida e poderá ser usada nesta invenção. Sagarin, *Cosmetics, Science and Technology*, 2^a. Edição, Vol. 1, pp. 32-43 (1972), e o *International Cosmetic Ingredient Dictionary and Handbook*, eds. Wenninger e McEwen, pp. 1656-61, 1626 e 1654-55 (The Cosmetic, Toiletry, and Fragrance Assoc., Washington, D.C., 7^a. Edição, 1997) (daqui por diante "Manual ICI"), contêm numerosos exemplos de materiais adequados.

[0029] Uma loção pode ser produzida dessa solução. Loções tipicamente compreendem de cerca de 1% a cerca de 20% (por exemplo, de cerca de 5% a cerca de 10%) de um emoliente(s) e de cerca de 50% a cerca de 90% (por exemplo, de cerca de 60% a cerca de 80%) de água.

[0030] Um outro tipo de produto que poderá ser formulado de uma solução é um creme. Um creme tipicamente compreende de cerca de 5% a cerca de 50% (por exemplo, de cerca de 10% a cerca de 20%) de um emoliente(s) e de cerca de 45% a cerca de 85% (por exemplo, de cerca de 50% a cerca de 75%) de água.

[0031] Ainda um outro tipo de produto que poderá ser formulado de uma solução é uma pomada. Uma pomada poderá compreender uma base simples de óleos animais ou vegetais ou hidrocarbonetos semi-sólidos. Uma pomada poderá compreender de cerca de 2% a

cerca de 10% de um emoliente(s) mais de cerca de 0,1% a cerca de 2% de um agente(s) de espessamento. Uma descrição mais completa de agentes de espessamento ou agentes que aumentam a viscosidade úteis nesta invenção pode ser encontrada in Sagarin, *Cosmetics, Science and Technology*, 2^a Edição, Vol. 1, pp. 72-73 (1972), e no Manual ICI, pp. 1693-1697.

[0032] As composições tópicas úteis na presente invenção são formuladas como emulsões. Se o veículo é uma emulsão, de cerca de 1% a cerca de 10% (por exemplo, de cerca de 2% a cerca de 5%) do veículo compreende um emulsificante(s). Os emulsificantes poderão ser não-iônicos, aniônicos ou catiônicos. Emulsificantes adequados são descritos em, por exemplo, Patente U.S. Nº 3.755.560, Patente U.S. Nº 4.421.769, *McCutcheon's Detergents and Emulsifiers*, Edição Norte-Americana, pp. 317-324 (1986), e no Manual ICI, pp. 1673-1686.

[0033] Loções e cremes podem ser formulados como emulsões. Tipicamente tais loções compreendem de 0,5% a cerca de 5% de um emulsificante(s). Tais cremes compreenderiam tipicamente de cerca de 1% a cerca de 20% (por exemplo, de cerca de 5% a cerca de 10%) de um emoliente(s); de cerca de 20% a cerca de 80% (por exemplo, de 30% a cerca de 70%) de água; e de cerca de 1% a cerca de 10% (por exemplo, de cerca de 2% a cerca de 5%) de um emulsificante(s).

[0034] Preparações simples em emulsão para cuidados com a pele, tais como loções e cremes, do tipo de óleo-em-água e do tipo de água-em-óleo, são bem-conhecidas no estado da técnica de cosméticos e são úteis na presente invenção. Composições de emulsão multifases, tais como as do tipo água-em-óleo-em-água, como descritos nas Patentes U.S. Nºs 4.254.105 e 4.960.764, são também úteis na presente invenção. Em geral, essas emulsões simples ou multifases contêm água, emolientes e emulsificantes como ingredientes essenciais.

[0035] As composições tópicas desta invenção podem também ser formuladas como um gel (por exemplo, gel aquoso, alcoólico, alcoólico/aquoso ou oleoso usando um agente(s) geleificante(s) adequado(s)). Agentes geleificantes adequados para géis aquosos e/ou alcoólicos incluem, mas sem se limitar aos mesmos, gomas naturais, polímeros e copolímeros de ácido acrílico e de acrilato, e derivados de celulose (por exemplo, hidroximetilcelulose e hidroxipropilcelulose). Agentes geleificantes de gel adequados para óleos (tal como óleo mineral) incluem, mas sem se limitar aos mesmos, copolímero de butileno/etileno/estireno hidrogenado e copolímero de etileno/propileno/estireno hidrogenado. Esses géis tipicamente compreendem entre cerca de 0,1% e 5%, em peso, desses agentes geleificantes.

[0036] As composições tópicas da presente invenção podem também ser formuladas em uma formulação sólida (por exemplo, um bastão à base de cera, composição de sabonete em barra, pó ou uma esponja contendo pó).

[0037] Formulações lipossômicas são também composições úteis da presente invenção. Em uma modalidade, o peptídeo e/ou o pigmento são contidos no lipossomo. Exemplos de lipossomos são lipossomos unilamelares, multilamelares e paucilamelares, que poderão ou não conter fosfolípidos. Tais composições podem ser preparadas combinando primeiro hesperetina com um fosfolípido, tal como dipalmitoilfosfatidil colina, colesterol e água, de acordo com o método descrito em Mezei & Gulasekharam, "Liposomes - A Selective Drug Delivery System for the Topical Route of Administration; Gel Dosage Form", Journal of Pharmaceutics and Pharmacology, Vol. 34 (1982), pp. 473-474, ou uma modificação desse método. Lípidos epidérmicos de composição adequada para formação de lipossomos poderão ser usados no lugar de fosfolípidos. A preparação de lipossomos poderá então ser incorporada em um dos veículos acima (por exemplo, um gel

ou uma emulsão óleo-em-água) a fim de produzir a formulação lipossômica. Outras composições e usos de lipossomos topicamente aplicados são descritos em Mezei, M., "Liposomes as a Skin Drug Delivery System", Topics in Pharmaceutical Sciences (D. Breimer e P. Speiser, eds.), Elsevier Science Publishers B. V., Nova Iorque, NI, 1985, pp. 345-358, Pedido de Patente PCT N° WO 96/31194, Niemiec e outros, 12 Pharm. Res. 1184-88 (1995), e Patente U.S. N° 5.260.065.

[0038] Em uma modalidade, o lipossomo é não-iônico. Em um exemplo, o lipossomo contém (a) dilaurato de glicerol; (b) compostos que apresentam a cadeia principal de esteróide encontrada em colesterol; e (c) éteres de ácidos graxos que apresentam de cerca de 12 a cerca de 18 átomos de carbono. Em uma modalidade adicional, o lipossomo compreende dilaurato de glicerol, colesterol, polioxietileno-10-estearil éter e polioxietileno-9-lauril éter. Em uma modalidade, esses ingredientes estão em uma razão de cerca de 38:12:33:17.

[0039] Em uma modalidade, os lipossomos estão presentes na composição tópica em uma quantidade, com base no volume total da composição, de cerca de 10 mg/ml a cerca de 100 mg/ml tal como de cerca de 15 mg/ml a cerca de 50 mg/ml. Métodos de preparação de lipossomos são bem-conhecidos na técnica, tais como aqueles descritos neste.

[0040] As composições tópicas úteis na presente invenção poderão conter, além dos componentes acima mencionados, uma ampla variedade de materiais adicionais solúveis em óleo e/ou materiais solúveis em água convencionalmente usados em composições para uso na pele, cabelo e unhas em seus níveis estabelecidos na técnica.

[0041] Agentes Adicionais Cosmeticamente Ativos

[0042] Em uma modalidade, a composição tópica adicionalmente compreende um outro agente cosmeticamente ativo além dos peptídeos e pigmentos. O que se entende por um "agente cosmeticamente

ativo" é um composto (por exemplo, um composto sintético ou um composto isolado de uma fonte natural) que tem um efeito cosmético ou terapêutico na pele, cabelo ou unhas, incluindo, mas sem se limitar aos mesmos, agentes de suavização, agentes de escurecimento tais como agentes de autobronzeamento, agentes antiacne, agentes de controle de brilho, agentes antimicrobianos, agentes antiinflamatórios, agentes antimicóticos, agentes antiparasitas, analgésicos externos, protetores solares, fotoprotetores, antioxidantes, agentes ceratolíticos, detergentes/tensoativos, umectantes, nutrientes, vitaminas, intensificadores de energia, agentes antitranspiração, adstringentes, desodorantes, removedores de pêlos, agentes de firmeza, agentes anticalo e agentes para condicionamento de cabelo, unha e/ou pele.

[0043] Em uma modalidade, o agente é selecionado, mas sem se limitar ao mesmo, do grupo que consiste em hidroxiácidos, peróxido de benzoíla, enxofre resorcinol, ácido ascórbico, D-pantenol, hidroquinona, metoxicinimato de octila, dióxido de titânio, salicilato de octila, hormossalato, avobenzona, polifenólicos, carotenóides, sequestrantes de radicais livres, "spin traps", retinóides tais como retinol e palmitato de retinila, ceramidas, ácidos graxos poliinsaturados, ácidos graxos essenciais, enzimas, inibidores de enzima, minerais, hormônios tais como estrogênios, esteróides tal como hidrocortisona, 2-dimetilaminoetanol, sais de cobre tal como cloreto de cobre, peptídeos que contêm cobre tal como Cu:Gly-His-Lys, coenzima Q10, peptídeos tais como aqueles descritos no Pedido de Patente PCT WO 00/15188, ácido lipóico, aminoácidos tais como prolina e tirosina, vitaminas, ácido lactobiónico, acetil-coenzima A, niacina, riboflavina, tiamina, ribose, transportadores de elétrons tais como NADH e FADH₂, e outros extratos botânicos tal como aloe vera, e legumes tal como soja, e derivados e misturas dos mesmos. O agente cosmeticamente ativo tipicamente estará presente na composição da invenção em uma quantidade de

cerca de 0,001% a cerca de 20% em peso da composição, por exemplo, de cerca de 0,01% a cerca de 10%, tal como de cerca de 0,1% a cerca de 5%.

[0044] Exemplos de vitaminas incluem, mas sem se limitar às mesmas, vitamina A, vitaminas Bs tais como vitamina B3, vitamina B5 e vitamina B12, vitamina C, vitamina K e vitamina E e derivados das mesmas.

[0045] Exemplos de hidroxiácidos incluem, mas sem se limitar aos mesmos, ácido glicólico, ácido láctico, ácido málico, ácido salicílico, ácido cítrico e ácido tartárico. Ver, por exemplo, Pedido de Patente Europeia N° 273.202.

[0046] Exemplos de antioxidantes incluem, mas sem se limitar aos mesmos, antioxidantes solúveis em água tais como compostos de sulfidril e seus derivados (por exemplo, metabissulfito de sódio e N-acetil-cisteína), ácido lipóico e ácido diidrolipóico, resveratrol, lactoferrina e ácido ascórbico e derivados de ácido ascórbico (por exemplo, palmitato de ascorbila e ascorbil polipeptídeo). Antioxidantes solúveis em água adequados para uso nas composições desta invenção incluem, mas sem se limitar aos mesmos, hidroxitolueno butilado, retinóides (por exemplo, retinol e palmitato de retinila), tocoferóis (por exemplo, acetato de tocoferol), tocotrienóis e ubiquinona. Extratos naturais que contêm antioxidantes adequados para uso nas composições desta invenção, incluem, mas sem se limitar aos mesmos, extratos que contêm flavonóides e isoflavonóides e seus derivados (por exemplo, genisteína e diadzeína), extratos que contêm resveratrol e similares. Exemplos desses extratos naturais incluem semente de uva, chá verde, casca de pinheiro e própolis. Outros exemplos de antioxidantes poderão ser encontrados nas páginas 1612-13 do Manual ICI.

Outros Materiais

[0047] Vários outros materiais poderão também estar presentes

nas composições úteis na presente invenção. Esses incluem umectantes, proteínas e polipetídeos, conservantes e um agente alcalino. Exemplos desses agentes são descritos no Manual ICI, pp. 1650-1667. As composições da presente invenção poderão também compreender agentes de quelação (por exemplo, EDTA) e conservantes (por exemplo, parabenos). Exemplos de conservantes e agentes de quelação adequados são listados às pp. 1626 e 1654-55 do Manual ICI. Além disso, as composições tópicas úteis nesta invenção podem conter adjuvantes cosméticos convencionais, tais como corantes, opacificadores (por exemplo, dióxido de titânio), pigmentos e fragrâncias.

Água Mineral

[0048] As composições da presente invenção poderão ser preparadas usando água mineral, por exemplo água mineral que foi naturalmente mineralizada tal como Água Mineral Evian® (Evian, França). Em uma modalidade, a água mineral tem uma mineralização de pelo menos cerca de 200 mg/L (por exemplo, de cerca de 300 mg/L a cerca de 1.000 mg/L). Em uma modalidade, a água mineral compreende pelo menos de cerca de 10 mg/L de cálcio e/ou pelo menos de cerca de 5 mg/L de magnésio.

[0049] A composição e formulações contendo tais composições da presente invenção poderão ser preparadas usando metodologia que é bem-conhecida por aquele versado na técnica.

Exemplo 1: Pigmentação Induzida em Cultura

[0050] O peptídeo Peptídeo 1 e vários pigmentos foram testados, isoladamente ou em combinação, com culturas de ceratinócitos-melanócitos em relação a seu efeito na pigmentação de células, usando análise de mancha DOPA e análise de imagens computadorizadas. Os pigmentos que foram testados foram cloreto de cobre de Sigma (St. Louis, MO) e o derivado de melanina solúvel em água Melasyn-100® de San-mar laboratories, Inc. (Elmsford, NY). Os pigmentos

foram testados sob concentrações variando de 0,0001% (P/V) a 1% (P/V) e os peptídeos foram testados a 50 μ M.

[0051] O ensaio foi conduzido da maneira seguinte. Ceratinócitos humanos HaCaT (Boukamp P. e outros, J. Cell. Biol. 106, 3, 761-771 (1988)) foram mantidos em Meio de Eagle Modificado de Dulbecco (DMEM) contendo 10% de soro bovino fetal (FBS), 4,5 mg/ml de glicose, 2 mM de L-glutamina, 50 U/ml de penicilina e 50 μ g/ml de estreptomicina (Life Technologies, Gaithersburg, MD). As células foram mantidas sob <80% de confluência em CO₂ a 5% (v/v) e foram usadas em procedimentos experimentais até passagem de cultura 15. Melanócitos primários humanos (Clonetics, San Diego, CA, ou Cascade Biologics, Portland, OR) foram mantidos de acordo com instruções do fabricante. Para estabelecer co-culturas de ceratinócitos-melanócitos, 6 x 10⁴ de melanócitos foram aplicados em forma de lâminas em cada cavidade de uma placa de 24 cavidades e mantidos de acordo com instruções do fabricante.

[0052] Melanócitos foram enxaguados três vezes com meio de crescimento de melanócitos sem PMA e ceratinócitos (6 x 10⁴) foram aplicados em forma de lâminas para estabelecer as co-culturas nesse meio. As co-culturas foram tratadas por três dias com peptídeos e pigmentos de teste e ensaiados em relação à viabilidade celular e nível de pigmentos no quarto dia. Viabilidade celular foi ensaiada usando alamarBlue[®] (Acumed International, West Lake, OH) seguindo instruções do fabricante. Nenhuma alteração na viabilidade foi observada após três tratamentos diários com todo o material testado. Todos os experimentos in vitro foram realizados em triplicatas e foram repetidos pelo menos três vezes.

[0053] Após três tratamentos diários, as co-culturas foram brevemente fixadas (formalina tamponada a 10% de Fischer Scientific, 15 minutos), lavadas três vezes com solução salina tamponada com fos-

fato (PBS, de Life Technologies) e manchadas com L-3,4-diidroxifenilalanina (DOPA, de Sigma, St. Louis, MO) 0,1% em PBS, por 5 horas a 37°C, seguidas de duas lavagens com PBS e fixação com formalina (10%, do dia para a noite). DOPA é um substrato para tirosinase, portanto um aumento na formação de manchas representa aumento na atividade de tirosinase e produção de pigmentos. Mono-camadas manchadas com DOPA foram usadas para análise via imagens. Todas as imagens foram obtidas e analisadas com software Image Pro Plus 3.0 (Media Cybernetics, Silver Spring, MD). Os parâmetros medidos foram área superficial de material manchado no melanócito e ceratinócitos e a área superficial total das células na cultura, e a área pigmentada relativa foi calculada. Um valor de 100% foi atribuído a controles não-tratados, e valores de grupos de tratamento foram normalizados em relação a seus controles correspondentes. Em todos os experimentos não houve diferença entre células tratadas com PBS e controles não-tratados. Os dados são apresentados com desvio padrão (SigmaPlot® 5.0, SPSS Science, Chicago, IL).

[0054] A Tabela 1 mostra os resultados de experimentos representativos com co-culturas, normalizados em relação a seus controles correspondentes, demonstrando que as combinações de peptídeos e pigmentos da presente invenção aumentaram a pigmentação. Essa Tabela demonstra a especificidade das composições desta invenção em induzir pigmentação (por exemplo, aumentando pigmentação em torno de até 517%). Forskolin (Sigma, St. Louis, MO), um indutor de pigmentação conhecido, funcionou como controle positivo e ponto de referência. Forskolin foi administrado sob 1% (P/V).

Tabela 1

Composições	Conc.	Área média	DP	% de aumento
Controle	-	0,079	0,028	-

Composições	Conc.	Área média	DP	% de aumento
Peptídeo 1	50 μ M	0,131	0,027	66,6
Melasyn-100®	0,1% (P/V)	0,153	0,033	95,0
Peptídeo 1 + Melasyn-100®	50 μ M 0,0001% (P/V)	0,228	0,045	190
CuCl ₂	0,001% (P/V)	0,173	0,045	120
CuCl ₂	0,1% (P/V)	0,246	0,057	212
Peptídeo 1 + CuCl ₂	50 μ M 0,001% (P/V)	0,189	0,033	140
Peptídeo 1 + CuCl ₂	50 μ M 0,1% (P/V)	0,200	0,045	155

Exemplo 2: Pigmentação Induzida in vivo

[0055] Composições da presente invenção foram testadas em relação à sua capacidade de induzir pigmentação in vivo em células da pele no experimento seguinte. Microsuíno Yucatan de pele escura (Charles River, Portland, ME) foram encerrados em gaiolas apropriadamente dimensionadas em uma sala ambientalmente controlada com um fotoperíodo de 12 horas iluminado – 12 horas escuro e supridos com alimento e água à vontade. O cuidado com os animais baseou-se no "Guide for the Care e Use of Laboratory Animals", Publicação NIH Nº 85-23. Vinte μ l de peptídeos de teste foram aplicados topicamente, duas vezes ao dia, cinco dias/semana, por oito a nove semanas, no dorso do suíno. Os tratamentos de suínos individuais foram sempre dispostos em uma ordem cabeça a cauda de um lado, e em uma ordem cauda a cabeça do outro lado do animal. Biópsias foram tomadas utilizando técnicas padrão. Todos os estudos com suínos apresentados aqui não apresentaram nenhuma irritação visual, e análises histológicas não revelaram indicadores de irritação ou outros sinais patológicos.

[0056] Seções das biópsias de pele foram manchadas com Hema-

toxilina e Eosina (H&E), ou com Fontana-Mason (F&M), usando procedimentos padrão (Sheenan DC, Hrapckak BB, eds., *Theory and Practice of Histo-technology*. p. 223, 277, The C. V. Mosby Co., St. Louis (1980)). Manchamento com F&M identifica moléculas redutoras de nitrato de prata. Na pele, essa mancha não-específica identifica primariamente melanina. Pelo menos três seções por biópsia foram processadas. Cada experimento foi repetido pelo menos três vezes.

[0057] Suínos foram tratados com: o agente de escurecimento da pele conhecido forskolin (Sigma) ou com um extrato de *Coleus forskoli* (ATZ Naturals, Englewood Cliffs, NJ) que contém forskolin, como controle positivo a 1% (P/V); pigmentos a 1% ou 5% (P/V); peptídeos desta invenção a 250 μ M ou 500 μ M; e combinações de tais peptídeos a 250 μ M ou 500 μ M com pigmentos a 1% (P/V). Pigmentos testados incluem extratos naturais pigmentados (isto é, extrato de Bearberry e extrato de *Hedychium spicatum*) e compostos sintéticos (isto é, o composto de melanina solúvel Melasyn-100[®]). Esses compostos de teste foram dissolvidos em etanol:propileno glicol 70:30 (v/v). Em um conjunto limitado de experimentos, certas combinações de peptídeos e pigmentos foram também testadas usando diferentes veículos, a fim de possivelmente acentuar transferência, a saber lipossomos e um sistema de gel aquoso, e o etanol. Os lipossomos consistiram em dilaurato de glicerol/colesterol/polioxietileno-10-estearil/polioxietileno-9-lauril éter em uma razão de 37,5:12,5:33,3:16,7, e foram preparados de acordo com Niemiec e outros, 12 *Pharm. Res.* 1184-88 (1995). O sistema de transferência em forma de gel consistiu em Sepigel 305 (Poliacrilamida & isoparafina C13-14 & laureth-7 de SEPPIC, Inc. de Fairfield, NJ). Sepigel 305 foi dissolvido nas formulações aquosas sob 1 – 3% (P/V). Esses sistemas de transferência foram também testados na ausência de quaisquer pigmentos ou peptídeos.

[0058] Análise histológica revelou um aumento na deposição de

pigmentos em suíno tratado com composições desta invenção. Esse aumento foi maior do que o escurecimento induzido por forskolin ou extrato de *Coleus forskoli*, que são agentes de escurecimento da pele conhecidos. Ocasionalmente, um suíno individual não respondeu a qualquer composição ou mesmo a forskolin (o controle positivo). Esse suíno "não-respondedor" constituiu menos de 25% do suíno total tratado.

[0059] Seções histológicas de pele manchadas com F&M foram avaliadas em relação à alteração na deposição de pigmentos no local tratado. Critérios para avaliação foram aumento total na deposição de pigmentos e a presença de células epidérmicas cobertas acima da camada basal. A Tabela 3 representa um valor médio de todos os locais de suíno responsivo tratado com cada material de teste. A escala de avaliação é definida na Tabela 2.

Tabela 2

Classificação	Descrição
-1	Ligeira suavização
0	Sem alteração
1	Aumento mínimo na deposição de pigmentos
2	Aumento na deposição de pigmentos
3	Forte aumento na deposição de pigmentos, algum aumento de cobertura
4	Forte aumento na deposição de pigmentos, forte aumento de cobertura

Tabela 3

Composições	Classificação
Controle	0
Forskolin (controle positivo)	1
<i>Coleus forskoli</i> (controle positivo)	1
Etanol: polipropileno glicol	0
Lipossomos	-1

Composições	Classificação
Gel	0
Peptídeo 1	1
Extrato de Hedychium	0
Peptídeo 1 e Extrato de Hedychium	2

[0060] Este exemplo demonstra que tratamentos com composições de peptídeos e pigmentos desta invenção resultam em aumento de produção e deposição de pigmentos in vivo.

[0061] Entende-se que embora a invenção tenha sido descrita em conjunto com sua descrição detalhada essa descrição precedente pretende ilustrar e não limitar o escopo da invenção, que é definida pelo escopo das reivindicações anexas. Outros aspectos, vantagens e modificações estão nas reivindicações.

Este anexo apresenta o código de controle da listagem de sequências biológicas de que trata a Resolução INPI 228 de 11/11/2009:

Código de Controle

Campo 1



DC9D076A2839780A

Campo 2



F27A8B50BA327E71

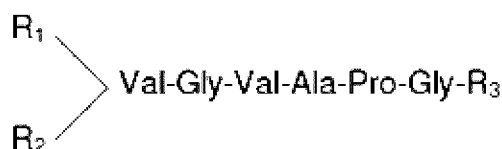
Outras Informações:

- Nome do Arquivo: p124472 16151741_1.TXT
- Data de Geração do Código: 30-10-2012
- Hora de Geração do Código: 10:55:58
- Código de Controle:
 - Campo 1: DC9D076A2839780A
 - Campo 2: F27A8B50BA327E71

REIVINDICAÇÕES

1. Composição, caracterizada pelo fato de que compreende:

(i) um peptídeo da fórmula



em que:

cada R_1 e R_2 , independentemente, é H, C_{1-12} alquila, C_{7-10} fenilalquila, ou $C(=O)E_1$, onde E_1 é C_{1-20} alquila, C_{3-20} alquenila, C_{3-20} alquinila, fenila, 3, 4-dihidroxifenilalquila, naftila, ou C_{7-10} fenilalquila; com a condição de que quando R_1 ou R_2 for $C(=O)E_1$, o outro deve ser H; e

R_3 é OH, NH_2 , C_{1-12} alcóxi, C_{7-10} fenilalcóxi, C_{11-20} naftilalcoxi, C_{1-12} alquilamino, C_{7-10} fenilalquilamino, C_{11-20} naftilalquilamino;

ou um sal cosmeticamente aceitável do mesmo;

(ii) um pigmento; e

(iii) um veículo tópico cosmeticamente aceitável.

2. Composição de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que R_1 é H, R_2 é H ou $C(=O)E_1$, em que E_1 é C_{1-20} alquila, e R_3 é OH ou NH_2 .

3. Composição de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que o referido peptídeo é H_2 -Val-Gly-Val-Ala-Pro-Gly- NH_2 , H_2 -Val-Gly-Val-Ala-Pro-Gly-OH, Palmitoil-Val-Gly-Val-Ala-Pro-Gly- NH_2 , Palmitoil-Val-Gly-Val-Ala-Pro-Gly-OH, Estearatoil-Val-Gly-Val-Ala-Pro-Gly- NH_2 , ou Estearatoil-Val-Gly-Val-Ala-Pro-Gly-OH, ou um sal cosmeticamente aceitável do mesmo.

4. Composição de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que o referido pigmento é melanina ou um derivado

de melanina.

5. Composição de acordo com a reivindicação 3, caracterizada pelo fato de que o referido pigmento é melanina ou um derivado de melanina.

6. Composição de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que o referido pigmento é CuCl_2 , extrato de *Hedychium* ou extrato de Bearberry.

7. Composição de acordo com a reivindicação 3, caracterizada pelo fato de que o referido pigmento é CuCl_2 , extrato de *Hedychium* ou extrato de Bearberry.

8. Método de escurecimento da pele, caracterizado pelo fato de que compreende aplicar topicamente à pele uma composição conforme definida na reivindicação 1.

9. Método de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de que R_1 é H, R_2 é H ou $\text{C}(=\text{O})\text{E}_1$ onde E_1 é C_{1-20} alquila, e R_3 é OH ou NH_2 .

10. Método de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de que o referido peptídeo é $\text{H}_2\text{-Val-Gly-Val-Ala-Pro-Gly-NH}_2$, $\text{H}_2\text{-Val-Gly-Val-Ala-Pro-Gly-OH}$, Palmitoil-Val-Gly-Val-Ala-Pro-Gly- NH_2 , Palmitoil-Val-Gly-Val-Ala-Pro-Gly-OH, Estearatoil-Val-Gly-Val-Ala-Pro-Gly- NH_2 , ou Estearatoil-Val-Gly-Val-Ala-Pro-Gly-OH, ou um sal cosmeticamente aceitável do mesmo.

11. Método de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de que o referido pigmento é melanina ou um derivado de melanina.

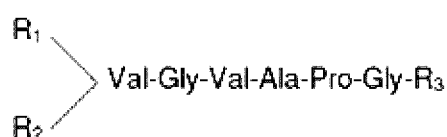
12. Método de acordo com a reivindicação 10, caracterizado pelo fato de que o referido pigmento é melanina ou um derivado de melanina.

13. Método de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de que o referido pigmento é CuCl_2 , extrato de *Hedychium* ou

extrato de Bearberry.

14. Método de acordo com a reivindicação 10, caracterizado pelo fato de que o referido pigmento é CuCl_2 , extrato de Hedychium ou extrato de Bearberry.

15. Método de escurecimento da pele, caracterizado pelo fato de que compreende aplicar topicamente à pele um peptídeo da fórmula:



em que:

cada R_1 e R_2 , independentemente, é H, C_{1-12} alquila, C_{7-10} fenilalquila, ou $\text{C}(=\text{O})\text{E}_1$, onde E_1 é C_{1-20} alquila, C_{3-20} alquenila, C_{3-20} alquinila, fenila, 3, 4-dihidroxifenilalquila, naftila, ou C_{7-10} fenilalquila; com a condição de que quando R_1 ou R_2 for $\text{C}(=\text{O})\text{E}_1$, o outro deve ser H; e

R_3 é OH, NH_2 , C_{1-12} alcóxi, C_{7-10} fenilalcóxi, C_{11-20} naftilalcóxi, C_{1-12} alquilamino, C_{7-10} fenilalquilamino, C_{11-20} naftilalquilamino;

ou um sal cosmeticamente aceitável do mesmo.

16. Método de acordo com a reivindicação 15, caracterizado pelo fato de que R_1 é H, R_2 é H ou $\text{C}(=\text{O})\text{E}_1$ em que E_1 é C_{1-20} alquila, e R_3 é OH ou NH_2 .

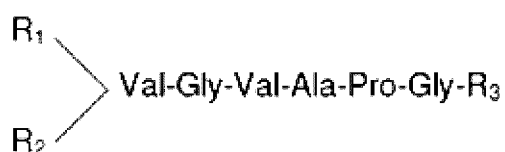
17. Método de acordo com a reivindicação 15, caracterizado pelo fato de que o referido peptídeo é $\text{H}_2\text{-Val-Gly-Val-Ala-Pro-Gly-NH}_2$, $\text{H}_2\text{-Val-Gly-Val-Ala-Pro-Gly-OH}$, Palmitoil-Val-Gly-Val-Ala-Pro-Gly- NH_2 , Palmitoil-Val-Gly-Val-Ala-Pro-Gly-OH, Estearatoil-Val-Gly-Val-Ala-Pro-Gly- NH_2 , ou Estearatoil-Val-Gly-Val-Ala-Pro-Gly-OH, ou um sal cosmeticamente aceitável do mesmo.

RESUMO

Patente de Invenção: "**COMPOSIÇÃO COMPREENDENDO UM PEP-TÍDEO E UM PIGMENTO E MÉTODOS DE ESCURECIMENTO DA PELE**".

A presente invenção refere-se à composição compreendendo:

(i) um peptídeo da fórmula



em que R_1 , R_2 e R_3 são conforme definidos ao longo do presente pedido de patente;

(ii) um pigmento; e

(iii) um veículo tópico cosmeticamente aceitável,

bem como refere-se aos métodos para escurecer a pele compreendendo aplicar a referida composição ou o referido polipeptídeo.