



Producto

ARGIRELINE® peptide

Fecha

Octubre 2013

Revisión

24



Pol. Ind. Camí Ral C/ Isaac Peral, 17
08850 Gavà Barcelona (Spain)
Tel. +34 93 638 80 00
www.lipotec.com
commercial@lipotec.com



Índice

UNA PREOCUPACIÓN PRIMORDIAL: LAS LÍNEAS DE EXPRESIÓN	3
EL COMPLEJO SNARE EN LA CONTRACCIÓN MUSCULAR	4
LAS PROTEÍNAS SNARE SON OBJETIVOS ESPECIALES EN COSMÉTICA	5
ARGIRELINE® <i>peptide</i> , LA REVOLUCIÓN CONTRA LAS ARRUGAS DE EXPRESIÓN	6
EFICACIA <i>IN VITRO</i>	
Modulación de la formación del complejo SNARE	7
Inhibición de la liberación de glutamato	8
EFICACIA <i>IN VIVO</i>	
Reducción de la profundidad de las arrugas	9
Disminución de la rugosidad en arrugas	10
Efecto sobre el volumen y longitud de las arrugas	12
PROPIEDADES COSMÉTICAS	14
APLICACIONES COSMÉTICAS	14
DATOS TÉCNICOS	
Nombre INCI del ingrediente activo	15
Presentación y Conservante	15
DATOS DE APLICACIÓN	
Procesado	15
Incompatibilidades	15
Solubilidad	15
Dosis	15
REFERENCIAS	16



Una preocupación primordial: las líneas de expresión

Una de las principales preocupaciones de un elevado porcentaje de la población es evitar los primeros signos de edad visibles. Los individuos quieren ser capaces de **mantener una apariencia joven tanto tiempo como sea posible**.

La aparición de **surcos y arrugas** en la frente, glabella, área periorbital lateral (de relativa intensidad) así como en el mentón, arrugas nasolabiales y en el labio superior y bandas en el cuello (platisma) son algunos de los **signos más llamativos** que evidencian una **piel madura** [1]. Estos cambios pueden **aparecer de forma natural con los años** a raíz de ciertos cambios bioquímicos, histológicos y fisiológicos que, normalmente, son **acentuados por la exposición ambiental**.

También hay otros factores secundarios que pueden ayudar a la formación de arrugas e incluso a originarlas. Entre ellos se encuentra la fuerza persistente de la

gravedad, la constante y frecuente **presión posicional** sobre la piel facial (mientras dormimos por ejemplo), y los **movimientos faciales repetidos** causados por la contracción de los músculos faciales que causan las arrugas, surcos y líneas de expresión características [1, 2].

La estimulación excesiva de las fibras musculares de la cara (que presiona la piel hacia adentro) aumenta las conocidas líneas de expresión, que pueden ser evidentes a los 30 años. **Atenuar la contracción muscular puede ser una estrategia útil** para eliminar o retrasar la aparición de estas líneas indeseadas tanto como sea posible.



Un tratamiento cosmético que actúe sobre el mecanismo adecuado implicado en la contracción muscular puede ayudar a minimizar estas líneas indeseadas.



El complejo SNARE en la contracción muscular

La contracción muscular es un proceso en el que el nervio y el músculo están implicados en una sinapsis conocida como Unión Neuromuscular (UNM). **Los músculos se contraen cuando reciben un neurotransmisor liberado desde el interior de una vesícula de la neurona motora.** La liberación de este neurotransmisor responde a una cascada de reacciones altamente regulada a través de una secuencia de interacciones entre proteínas que culmina en la fusión de las vesículas portadoras del neurotransmisor con la membrana neuronal [3].

Un **cambio** localizado en el **potencial de membrana** (potencial de acción) se transmite a lo largo de la neurona hasta el terminal donde activa la entrada de iones de calcio dentro de la neurona [3]. Cuando estos iones entran en el terminal presináptico, las vesículas que contienen el neurotransmisor Acetilcolina (**ACh**) son inducidas a unirse a otros elementos de la neurona para liberar la ACh hacia afuera.

Este es un proceso complicado regulado por las proteínas conocidas como receptores SNAP (**SNARE**), que incluyen la proteína de membrana asociada a la vesícula o sinaptobrevina (**VAMP**) junto con la proteína asociada a membrana **sintaxina**

y la proteína asociada a sinaptosoma (**SNAP-25**) [3]. Estas proteínas gobiernan directamente el acoplamiento y fusión de las vesículas a través de la formación de una estructura terciaria conocida como el **complejo SNARE**, que actúa como un gancho celular que captura vesículas y las fusiona con la membrana [3, 4].

Una vez estas vesículas se fusionan, **se libera la ACh** a la sinapsis entre las células neuronales y musculares. Allí, la ACh se une a los receptores de ACh (**AChR**) localizados en la superficie de las células musculares, llevando finalmente a la **contracción muscular**.

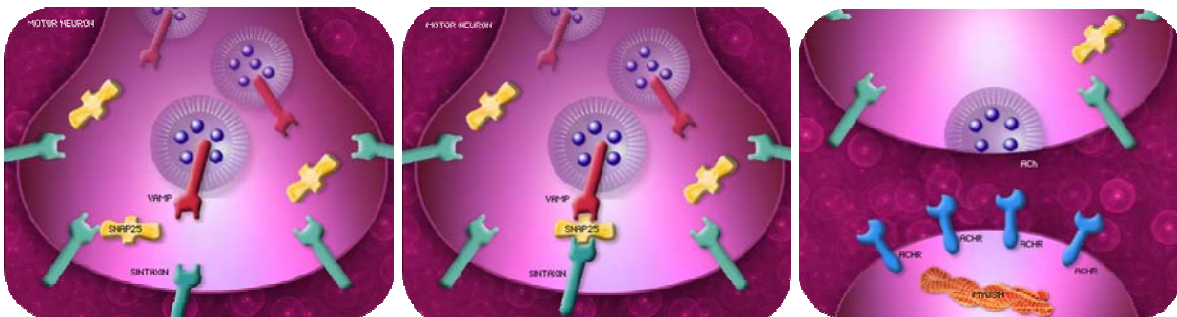


Fig. 1. Liberación de ACh y contracción muscular.

El complejo SNARE es esencial para la liberación de ACh a la sinapsis neuromuscular, que causa la contracción muscular.



Las proteínas SNARE son objetivos especiales en cosmética

Estructuralmente, el complejo SNARE es un haz de cuatro hélices en paralelo formado por dos hélices de SNAP-25 dispuestas en *coiled-coil* (hélice superenrollada) interaccionando con una hélice de sintaxina y una de VAMP [3]. El centro del complejo muestra la presencia de un motivo estructural de cremalleras de leucina combinadas con una capa iónica y rodeado por un núcleo hidrofóbico.

El complejo SNARE es la diana de las Neurotoxinas Botulínicas (BoNT), una familia de **neurotoxinas naturales que bloquean de forma potente la neurosecreción**. Estas BoNT causan una proteólisis específica de SNAP-25 que evita el ensamblaje de este complejo y la fusión de las vesículas que contienen ACh con la membrana del nervio. Así, **impiden la exocitosis del neurotransmisor** y su liberación al espacio sináptico, incapacitando a los terminales nerviosos para estimular la **contracción muscular** y, por tanto, conduciendo a la **parálisis muscular**.

Aunque las BoNT, y especialmente el tipo A, fueron una revolución en cosmética y se han utilizado ampliamente para atenuar las arrugas de expresión, tienen ciertas limitaciones, ya que necesitan un control médico estricto (altamente tóxicas) y su aplicación necesita ser espaciada en el tiempo [5].

Por ello, los **cosméticos** tópicos que causen los mismos efectos pero de forma segura son una **alternativa interesante** o incluso un tratamiento adicional y **complementario** entre sesiones de BoNT para reducir las líneas de expresión.

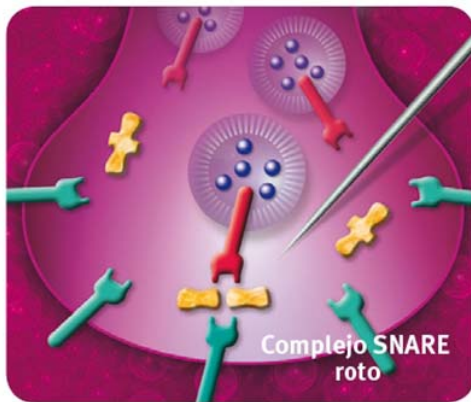


Fig. 2. Inhibición del complejo SNARE debido a BoNT.

Existe una necesidad de alternativas cosméticas tópicas para reducir las líneas de expresión de forma segura.



ARGIRELINE® *peptide*, la revolución contra las arrugas de expresión

ARGIRELINE® *peptide* fue diseñado para actuar en el mecanismo presináptico y disminuir la contracción que lleva a la formación de arrugas.

ARGIRELINE® *peptide* es un **análogo al extremo N-terminal de SNAP-25**, que compite con esta proteína natural por una posición en el complejo SNARE, **desestabilizando su formación, sin romper** ninguno de sus componentes. Si el complejo SNARE se desestabiliza ligeramente, la vesícula no puede liberar neurotransmisores eficientemente. Como consecuencia, **el músculo se relaja** en vez de paralizarse, reduciéndose así la formación de líneas y arrugas.

ARGIRELINE® *peptide* tiene como diana el mismo complejo proteico que la Toxina Botulínica tipo A, modulando la contracción muscular. Este ingrediente es un activo más seguro con eficacia probada en **desestabilizar el complejo SNARE, reducir la formación de arrugas y minimizar la profundidad, volumen y longitud de las arrugas ya existentes** y las líneas de expresión *in vivo*, así como la rugosidad cutánea.

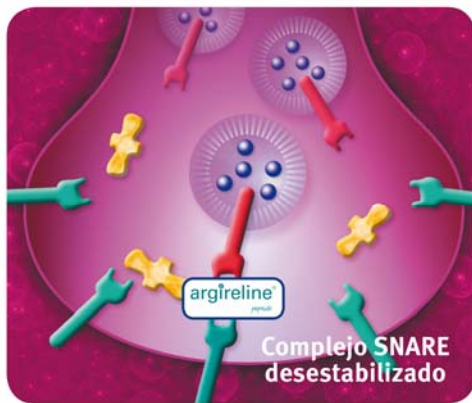


Fig. 3. Modulación del complejo SNARE mediante ARGIRELINE® *peptide*.

ARGIRELINE® *peptide* es un excelente ingrediente antiarrugas que reduce la contracción muscular y las líneas de expresión.



Eficacia *in vitro*

MODULACIÓN DE LA FORMACIÓN DEL COMPLEJO SNARE

Este ensayo evalúa la eficacia competitiva antagonista de ARGIRELINE® *peptide* frente a SNAP-25 nativa en ensamblarse con la sintaxina y sinaptobrevina para formar el complejo SNARE.

El complejo SNARE se reconstituyó usando VAMP recombinada y sintaxina, y [³⁵S]-SNAP-25 transcrita y traducida *in vitro*. Cantidades equimolares de VAMP y sintaxina fueron incubadas en ausencia o presencia de ARGIRELINE® *peptide* durante 2 h a 4 °C. Después, se añadió [³⁵S]-SNAP-25 y la mezcla se volvió a incubar a 4 °C durante 12 h.

El ensamblaje del complejo SNARE se paró mediante la adición del amortiguador de la electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato sódico (SDS-PAGE). Las muestras fueron analizadas mediante el SDS-PAGE en geles al 12%, seguido de la detección fluorográfica en películas de rayos X Kodak X-Omat AR. El calor desensambla el complejo SNARE, por lo tanto se usó como control positivo.

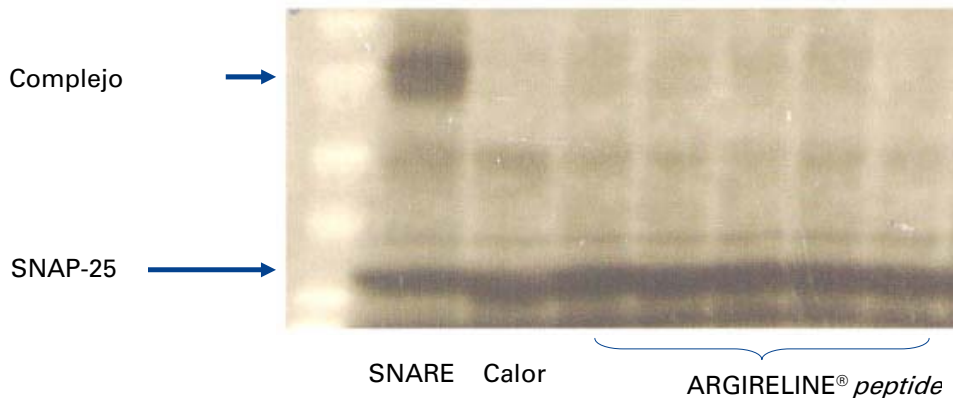


Fig. 4. Modulación de la formación del complejo SNARE mediante ARGIRELINE® *peptide*.

La banda superior corresponde al complejo SNARE y la banda inferior muestra la presencia de SNAP-25. La primera banda de la izquierda era un control con el complejo SNARE intacto mientras que la segunda banda mostraba el complejo SNARE desensamblado por calor, donde sólo SNAP-25 era visible. Las otras bandas mostraron como **el número de complejos SNARE fue menor**, cuando el hexapéptido estaba presente.

ARGIRELINE® *peptide* desestabiliza la formación del complejo SNARE.



INHIBICIÓN DE LA LIBERACIÓN DE GLUTAMATO

La inhibición de la liberación de glutamato por células neuronales despolarizadas es un ensayo celular validado para medir la actividad potencial de compuestos sobre la exocitosis neuronal. La despolarización de cultivos del hipocampo inducida por K^+ en presencia de iones de calcio extracelulares lleva a la liberación de glutamato, el neurotransmisor excitador más abundante del sistema nervioso.

Células neuronales primarias se cargaron con L-[3H]-glutamato. Después, se incubaron con ARGIRELINE® peptide durante 1 h. La liberación de L-[3H]-glutamato se llevó a cabo a través de la despolarización en un amortiguador fisiológico.

El medio de cultivo se recogió y se determinó la cantidad de L-[3H]-glutamato a través de un contador de escintilación. Los resultados se normalizaron respecto a la liberación de L-[3H]-glutamato en ausencia del activo analizado (control) y se corrigieron respecto a la liberación basal en ausencia de calcio.

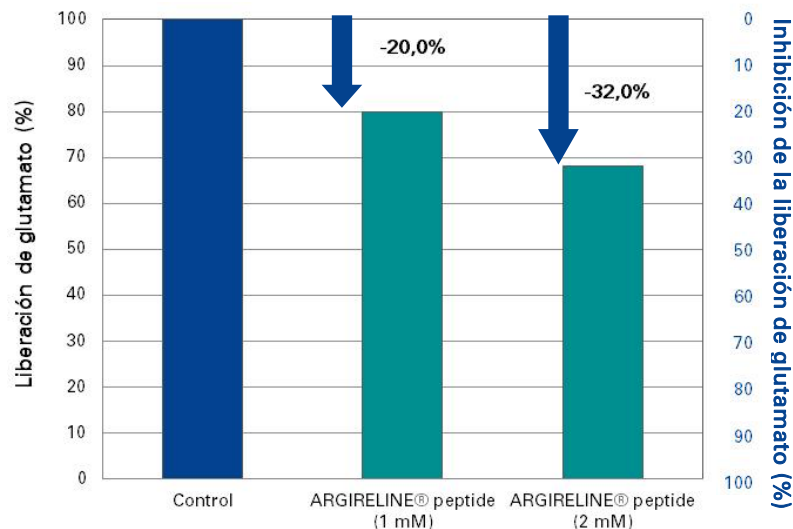


Fig. 5. Inhibición de la liberación de glutamato.

El péptido activo **disminuyó la liberación de glutamato de forma dosis-dependiente**, hasta un 32,0% a 2 mM, implicando una reducción de la exocitosis neuronal.

ARGIRELINE® peptide modula eficazmente la liberación de glutamato, indicativo de actividad contra las arrugas de expresión.



Eficacia *in vivo*

REDUCCIÓN DE LA PROFUNDIDAD DE LAS ARRUGAS

Se evaluó el poder antiarrugas de una crema con ARGIRELINE® *peptide solution in vivo*.

Un panel de 10 voluntarias (edad media: 44) se aplicó una crema con 10% ARGIRELINE® *peptide solution* alrededor de un ojo y una crema placebo alrededor del otro, dos veces al día durante 30 días.

Se obtuvieron moldes de silicona de las áreas tratadas antes del tratamiento y

después de 15 y 30 días. Posteriormente, se analizaron mediante microscopía confocal.

La imagen codificada según la profundidad generada a partir de las series de secciones es un mapa real de la estructura superficial de la muestra.

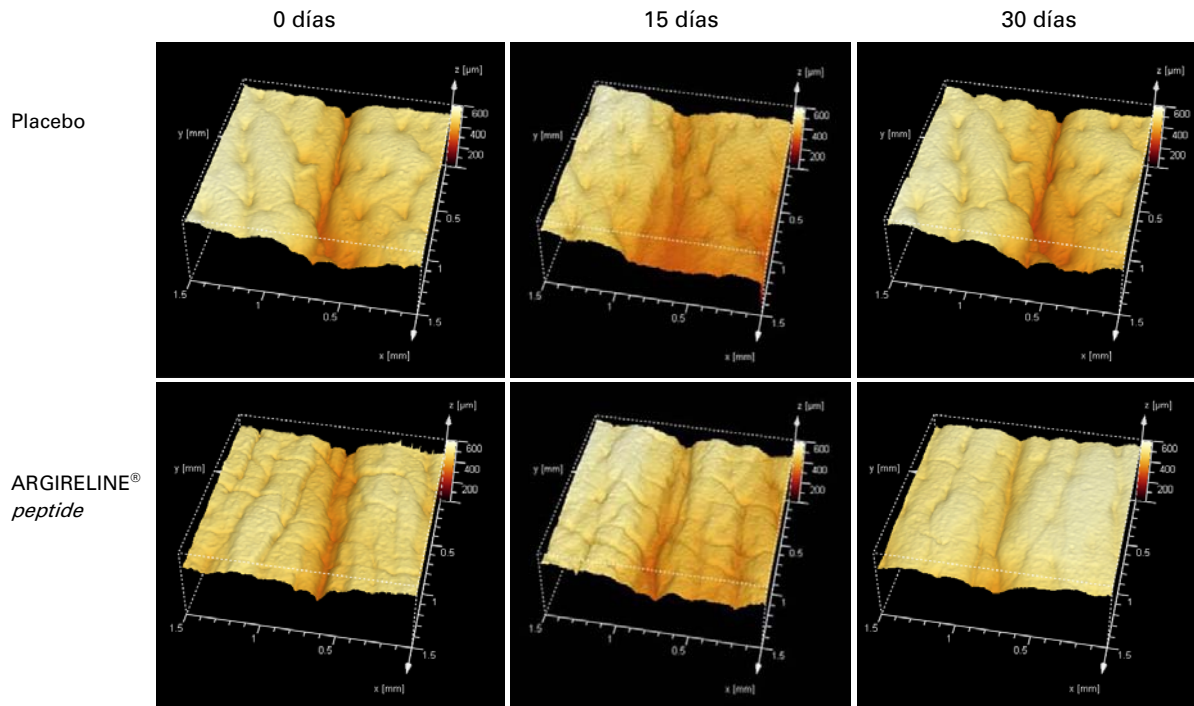


Fig. 6. Imágenes de los moldes de las áreas tratadas en diferentes momentos.

El péptido activo **redujo** la **profundidad** de las **arrugas** un promedio de un **16,9%** y **27,0%** después de 15 y 30 días respectivamente.

ARGIRELINE® peptide disminuyó notablemente la profundidad de las arrugas.



DISMINUCIÓN DE LA RUGOSIDAD EN ARRUGAS

Para analizar el efecto reductor de la rugosidad cutánea de ARGIRELINE® *peptide solution C*, se seleccionaron 18 voluntarias entre 35-55 años con arrugas alrededor de los ojos.

Las voluntarias se aplicaron una crema con 5% ARGIRELINE® *peptide solution C* en la cara, incluyendo la zona de las patas de gallo, dos veces al día durante 28 días consecutivos. Se obtuvieron réplicas cutáneas del área de las patas de gallo y se analizaron mediante la técnica PRIMOS antes y después de los 28 días. También se

tomaron macrofotografías y se examinaron antes y después del tratamiento.

Se representó la evolución del promedio aritmético de la rugosidad cutánea (Ra), entendido como el promedio de todas las alturas y profundidades al plano de referencia.

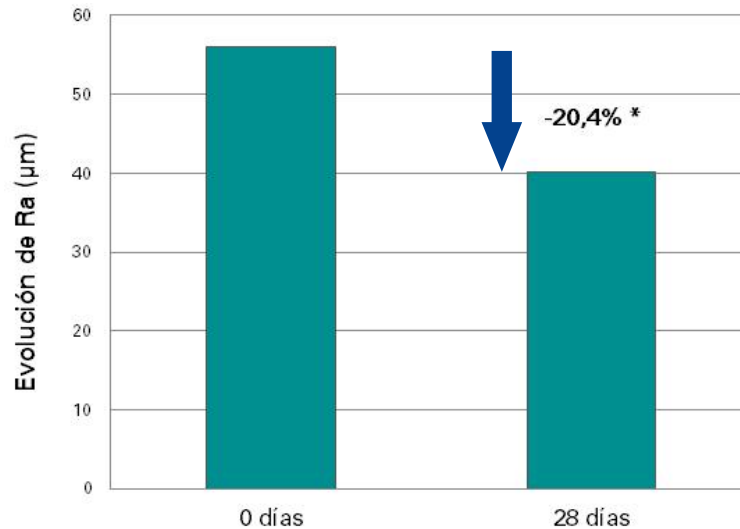


Fig. 7. Promedio de la rugosidad media antes y después del tratamiento (* $p < 0,05$).

El péptido activo **disminuyó la Ra** un **20,4%** después de 28 días (valor estadísticamente significativo).

La rugosidad cutánea se redujo claramente con ARGIRELINE® *peptide*.



0 días

28 días



Fig. 8. Imágenes de una voluntaria antes y después del tratamiento.

0 días

28 días



Fig. 9. Imágenes de otra voluntaria antes y después del tratamiento.

ARGIRELINE® peptide mejora las arrugas de la zona de las patas de gallo.



EFECTO SOBRE EL VOLUMEN Y LONGITUD DE LAS ARRUGAS

Se realizó otro estudio para evaluar la eficacia de una crema con ARGIRELINE® *peptide solution C* en disminuir las arrugas usando la técnica Fast Optical *In vivo* Topometry of human Skin (FOITS).

Se seleccionó un panel de 24 voluntarias (entre 35-45 años) para que se aplicaran una crema con 2% ARGIRELINE® *peptide solution C* en la mitad de la cara, especialmente en la zona de las patas de gallo, y una crema placebo en la otra mitad, dos veces al día durante 7 días.

Se tomaron fotografías y se evaluó la topografía de la piel cuantitativamente, después de las medidas mediante FOITS (volumen y longitud de las arrugas) al principio y al final del tratamiento.

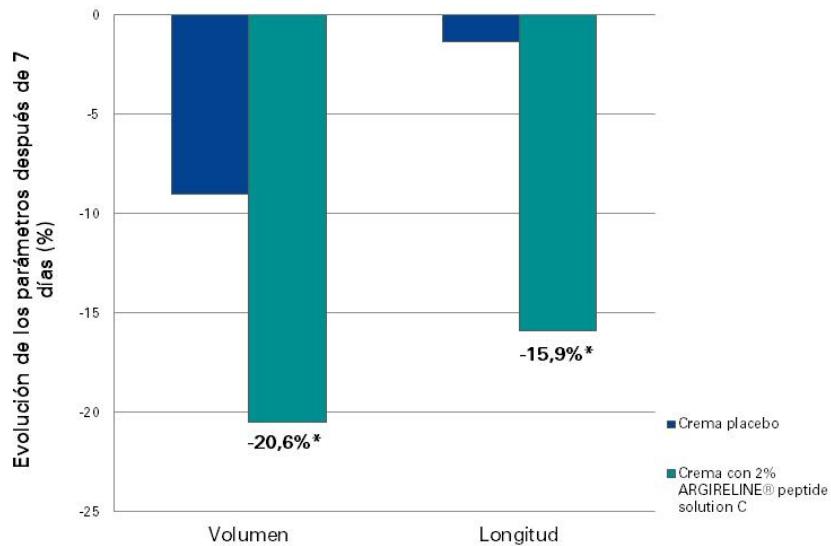


Fig. 10. Evolución de los parámetros de las arrugas después de 7 días (*p<0,05).

El péptido **redujo el volumen y longitud** promedio de las **arrugas** un **20,6%** y **15,9%** respectivamente, después de 7 días. Ambos valores fueron estadísticamente significativos.

ARGIRELINE® peptide disminuyó el volumen y longitud de las arrugas después de 7 días.



0 días



7 días



Fig. 11. Imágenes de una voluntaria antes y después del tratamiento activo.

ARGIRELINE® *peptide* mejoró visiblemente el aspecto de las arrugas después de sólo 1 semana.



Propiedades cosméticas



ARGIRELINE® peptide.

- es un hexapéptido antiarrugas que **desestabiliza la formación del complejo SNARE**, reduciendo la formación de líneas de expresión en la superficie cutánea inducida por contracciones musculares.
- moduló la **liberación de glutamato** de forma dosis-dependiente, **disminuyéndola** hasta un **32,0%** a 2 mM, lo que implica una reducción notable de la **excitosis neuronal**.
- es un excelente ingrediente activo muy efectivo contra las arrugas, que ofreció un **16,9%** y **27,0%** de **reducción** promedio de la **profundidad de las arrugas** después de 15 y 30 días de un tratamiento *in vivo* respectivamente (10% peptide solution).
- **disminuye la rugosidad promedio** (Ra) de la piel en voluntarios, puesto que este parámetro se redujo un **20,4%** después de 28 días (5% peptide solution C).
- **mejora la apariencia** de las **arrugas**, ya que disminuyó su **volumen** un **20,6%** y su **longitud** un **15,9%** después de sólo **7 días** (2% peptide solution C).

Aplicaciones cosméticas



ARGIRELINE® peptide puede incorporarse en formulaciones diseñadas para **eliminar las líneas profundas o arrugas** de la frente y alrededor de los ojos. Actúa principalmente sobre la formación de las arrugas de expresión, retrasando su formación.

Por ello, es perfecto para añadir a cremas, sérums y tratamientos faciales para combatir las primeras líneas de expresión y para incorporar en productos antiedad.



Datos técnicos

NOMBRE INCI DEL INGREDIENTE ACTIVO

Ingrediente activo	Nombre INCI
ARGIRELINE® <i>peptide</i>	Acetyl Hexapeptide-8

PRESENTACIÓN Y CONSERVANTE

Solución que contiene 0,05% de ingrediente activo.

Código	Presentación de producto	Conservante
P06-PD010	ARGIRELINE® <i>peptide solution C</i>	Sin conservantes

Datos de aplicación

PROCESADO

ARGIRELINE® *peptide solution C* puede ser formulado en la fase acuosa en la última etapa del proceso de fabricación. En caso de preparar una emulsión, se debería añadir después de que ésta se forme. En ambos casos, la temperatura debe ser inferior a 40 °C aunque excepcionalmente puede permanecer estable durante 2 h a 80 °C.

ARGIRELINE® *peptide* es estable en un rango de pH de 3,0 a 8,0.

INCOMPATIBILIDADES

Oxidantes, electrófilos y taninos.

SOLUBILIDAD

Soluble en agua.

DOSIS

Se recomienda una dosis del 2-10% de ARGIRELINE® *peptide solution C* en formulaciones cosméticas finales.



Referencias

1. Benedetto AV. Environmental and skin aging. *Clin Derm.* 16:129:139, 1998.
2. Stegman SJ, Tromovitch TA, Clogau RG. The skin of the aging face in cosmetic dermatologic surgery. 2nd edn. Mosby year book. St Louis. MO, pp:5-15, 1990.
3. Blanes-Mira C, Merino JM, Valera E, *et al.* Small peptides patterned after the N-terminus domain of SNAP25 inhibit SNARE complex assembly and regulated exocytosis. *J Neurochem.* 88:124-135, 2004.
4. Chen YA, Scheller RH. SNARE-mediated membrane fusion. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2: 98-106, 2001.
5. Blanes-Mira C, Clemente J, Jodas G, *et al.* A synthetic hexapeptide (Argireline) with antiwrinkle activity. *J Cosm Sci.* 24:303-310, 2002.

ARGIRELINE® y AIMTEC® son propiedad de The Lubrizol Corporation.

Los otros nombres comerciales y marcas utilizados aquí pertenecen a sus propietarios respectivos y legales.

Nota: Los gráficos y las fotografías de los tests de eficacia pueden ser utilizados por nuestros clientes si el producto final contiene la misma concentración de ingrediente activo que la formulación de nuestros tests. El cliente solicitará permiso por escrito para la utilización del material gráfico y/o de los nombres comerciales de los ingredientes activos de Lipotec. Es responsabilidad del cliente el cumplimiento de las normativas referentes a la publicidad, tanto locales como internacionales.

La situación particular de la marca en cada país puede variar y se recomienda que nos contacten para obtener información actualizada.

Exclusiones:

Las afirmaciones y datos incluidos en esta publicación están presentados en la consideración de su fiabilidad, de modo gratuito y siendo su finalidad meramente informativa, sin que presenten garantías de ninguna clase sobre su exactitud, adecuación para aplicaciones particulares, o como el/los producto/s actúa/n en combinación con otras sustancias, o en el procedimiento del usuario o los resultados obtenidos. Queda excluida cualquier garantía expresa o implícita. Lipotec NO CONCEDE NINGUNA GARANTÍA, EXPRESA O IMPLÍCITA, INCLUYENDO, Y NO LIMITADO, LAS GARANTÍAS IMPLÍCITAS DE COMERCIALIZACIÓN E IDONEIDAD PARA UN PROPÓSITO EN CONCRETO. El receptor es únicamente responsable de asegurar que los productos comercializados para los consumidores cumplen con todas las leyes pertinentes y normativas aplicables y asume todo el riesgo y responsabilidad en el uso o tratamiento de cualquier material. El receptor de esta publicación acepta indemnizar y eximir de responsabilidad a todas y cada una de las entidades integrantes de la organización de Lipotec por todas y cada una de las acciones legales que se deriven del uso por parte del receptor de cualquier afirmación o información contenida en esta publicación, incluyendo, pero no limitado, el uso de la misma en publicidad, datos contenidos en la etiqueta del producto final, y no utilizará esta publicación como prueba que justifique una afirmación sobre el producto final ante cualquier autoridad legal. Ninguna de las informaciones contenidas aquí puede considerarse como un permiso o recomendación, ni como una incitación a poner en práctica una invención patentada sin el permiso del propietario de la patente.

© 2013 The Lubrizol Corporation. Todos los derechos reservados.