

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **041637**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2022.11.16

(21) Номер заявки
201992544

(22) Дата подачи заявки
2018.05.11

(51) Int. Cl. *A61K 47/64* (2017.01)
C07K 7/08 (2006.01)
C07K 19/00 (2006.01)
A61K 31/19 (2006.01)
A61K 8/36 (2006.01)
A61Q 19/00 (2006.01)

(54) КОНЬЮГАТ ИЗОТРЕТИНОИНА С ПЕПТИДОМ

(31) **10-2017-0058866**

(32) **2017.05.11**

(33) **KR**

(43) **2020.03.13**

(86) **PCT/KR2018/005447**

(87) **WO 2018/208124 2018.11.15**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
КАРЕДЖЕН КО., ЛТД. (KR)

(72) Изобретатель:
Чунг Йонг Жи, Ким Эюн Ми (KR)

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(56) KR-A-1020070038509
KR-B1-101224809
KR-A-1020160121802
KR-A-1020070091613
KR-A-1020060091829

(57) Изобретение относится к соединению, имеющему структуру, в которой изотретиноин связан с пептидом посредством ковалентной связи, и к содержащей его антибиотической, противовоспалительной или антиоксидантной фармацевтической или косметической композиции. Соединение, имеющее структуру, в которой изотретиноин связан с пептидом посредством ковалентной связи, в соответствии с настоящим изобретением имеет превосходную физиологическую активность, такую как антибиотическое, противовоспалительное или антиоксидантное действие, а также имеет отличные свойства, такие как растворимость в воде и т.д., и, таким образом, может найти применение в различных областях, включая лекарственные средства, косметические средства и т.д.

B1**041637****041637****B1**

Область техники

Настоящее изобретение относится к соединению, имеющему структуру, в которой изотретиноин и пептид связаны друг с другом посредством ковалентной связи, и к его применению.

Уровень техники

Изотретиноин (13-цис-ретиноевая кислота), который представляет собой пероральное лекарственное средство, главным образом, используемое для лечения акне, известен как одно из наиболее эффективных лекарственных средств против акне, особенно очень тяжелого узелково-кистозного акне, поскольку он подавляет все из салоотделения, комедонов, вызывающих акне бактерий *Propionibacterium acnes* и фолликулярного гиперкератоза и оказывает противовоспалительные эффекты (находящийся в открытом доступе патент Кореи № 2002-0033751). Кроме того, изотретиноин изредка используют для предотвращения или лечения определенных видов рака кожи, таких как плоскоклеточная карцинома, или других злокачественных опухолей, и его можно использовать для лечения арлекинового ихтиоза и ламеллярного ихтиоза, которые представляют собой одни из смертельных заболеваний кожи. Изотретиноин представляет собой ретиноид, ассоциированный с витамином А, который в природе обнаруживают в организме в небольших количествах, и его изомер третиноин также является лекарственным средством против акне.

Опубликовано также, что механизм действия изотретиноина осуществляет лечение симптомов акне посредством нормализации процесса кератинизации мелкофолликулярного эпителия, уменьшения количества себоцитов, с уменьшением в то же время синтеза кожного сала, и уменьшением количества *Propionibacterium acnes*, микроорганизма, вызывающего воспаление акне. Поскольку изотретиноин является жирорастворимым, его растворимость в воде является низкой, его абсорбция увеличивается при употреблении с пищей, и его биодоступность без пищи составляет приблизительно 20%. Опубликовано, что время до достижения наивысшей концентрации в крови при пероральном введении составляет приблизительно 2-4 ч, и через 6 ч после введения концентрация в крови активного метаболита 4-оксо-изотретиноина выше, чем концентрация в крови изотретиноина (S.K. Yang et al., J. Kor. Pharm. Sci., Vol. 37, No. 4, 255-261, 2007).

Однако использование такого изотретиноина может вызывать побочные эффекты, такие как шелушение кожи, дерматит, сухость кожи, зуд и вялость кожи, которые могут вызывать значительный дискомфорт после нанесения на кожу, и, таким образом, пользователи с чувствительной кожей часто получают повреждения при использовании такого соединения. Кроме того, поскольку изотретиноин имеет низкую растворимость в воде, необходимо добавлять различные органические растворители для его солюбилизации, что может добавлять недостатки композиции, содержащей изотретиноин.

Таким образом, существует необходимость в разработке новых соединений, которые могут уменьшать проблемы изотретиноина, как описано выше, в частности, низкую растворимость в воде, и которые могут дополнительно улучшать физиологическую эффективность изотретиноина.

Описание

Техническая проблема

Настоящее изобретение предназначено для уменьшения проблем общепринятого изотретиноина, как описано выше, и технической целью настоящего изобретения является предоставление вещества, проявляющего идентичную или превосходящую физиологическую активность по сравнению со случаем, когда природный изотретиноин присутствует отдельно, в то же время имеющего превосходные свойства, такие как растворимость в воде.

Техническое решение

Для достижения вышеуказанной цели настоящее изобретение относится к соединению, имеющему структуру, в которой изотретиноин и пептид связаны друг с другом посредством ковалентной связи.

В соответствии с вариантом осуществления настоящего изобретения пептид может состоять из последовательности из 2-30, предпочтительно 5-20, более предпочтительно 8-15, более предпочтительно 10-12 аминокислот, но без ограничения этим.

В соответствии с другим вариантом осуществления настоящего изобретения пептид представляет собой предпочтительно, но без ограничения, водорастворимый пептид. В соответствии с предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения является предпочтительным, чтобы доля аминокислот, имеющих гидрофильную боковую цепь, в водорастворимом пептиде являлась настолько высокой, как 50% или более, предпочтительно 60% или более, более предпочтительно 70% или более, более предпочтительно 80% или более, более предпочтительно 90% или более и наиболее предпочтительно 100%. В соответствии с другим предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения аминокислота, имеющая гидрофобную боковую цепь, в водорастворимом пептиде присутствует в количестве 5 или менее, предпочтительно 4 или менее, более предпочтительно 3 или менее, более предпочтительно 2 или менее, более предпочтительно 1 или менее и наиболее предпочтительно ни одной.

В соответствии с другим вариантом осуществления настоящего изобретения пептид может представлять собой пептид, состоящий из аминокислотной последовательности из SEQ ID NO: 1, но без ограничения этим.

Кроме того, настоящее изобретение относится к антибиотической, противовоспалительной или ан-

тиоксидантной фармацевтической композиции, содержащей любое из соединений, как описано выше.

Кроме того, настоящее изобретение относится к антибиотической, противовоспалительной или антиоксидантной косметической композиции, содержащей любое из соединений, как описано выше.

В соответствии с вариантом осуществления настоящего изобретения косметическая композиция может иметь такой состав, как средство для смягчения кожи, питательный лосьон, питательный крем, массажный крем, эссенция, крем для области вокруг глаз, очищающий крем, очищающая пена, очищающая жидкость, маска, спрей, порошок, тоник для волос, крем для волос, лосьон для волос, шампунь для волос, ополаскиватель для волос, кондиционер для волос, спрей для волос, аэрозоль для волос, помада, золь-гель, эмульсия, масло, воск и аэрозоль, но без ограничения этим.

Благоприятные эффекты

Соединение имеющее структуру, в которой изотретиноин и пептид связаны друг с другом посредством ковалентной связи, в соответствии с настоящим изобретением имеет превосходную физиологическую активность, такую как антибиотическое, противовоспалительное или антиоксидантное действие, так же как имеет превосходные свойства, такие как растворимость в воде и т.п., и, таким образом, может быть использовано в различных областях, таких как медицина, косметика и т.п.

Описание фигур

Фиг. 1 представляет собой фотографию, показывающую растворимость соединения по настоящему изобретению и изотретиноина в воде,

фиг. 2А и 2В - фотографии после RT-ПЦР и вестерн-блоттинга, показывающие эффект соединений по настоящему изобретению и изотретиноина на экспрессию генов, ассоциированных с передачей сигналов образования кожного сала, экспрессированных в себоцитах,

фиг. 3А и 3В - фотографии после RT-ПЦР и окрашивания масляным красным О, показывающие эффект соединений по настоящему изобретению и изотретиноина на экспрессию генов, ассоциированных с липогенезом, в преадипоцитах 3Т3L1,

фиг. 4 - фотографию после RT-ПЦР и электрофореза, показывающую эффект соединений по настоящему изобретению и изотретиноина на экспрессию генов, ассоциированных с воспалением, в кератиноцитах HaCaT,

фиг. 5 - фотографию после электрофореза и график, показывающие эффект соединений по настоящему изобретению и изотретиноина на активность матриксной металлопротеиназы (ММР) в кератиноцитах HaCaT,

фиг. 6 - график, показывающий эффект соединений по настоящему изобретению и изотретиноина на содержание внутриклеточных активных форм кислорода в себоцитах,

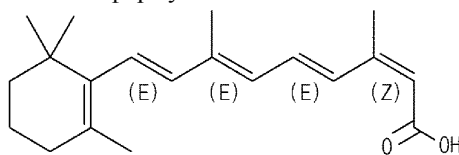
фиг. 7 - график, показывающий эффект соединений по настоящему изобретению и изотретиноина на высвобождение свободного глицерина в преадипоцитах 3Т3 L1,

фиг. 8А и 8В - фотографии после RT-ПЦР и окрашивания масляным красным О, показывающие эффект соединений по настоящему изобретению и изотретиноина на экспрессию генов, ассоциированных с липолизом, в преадипоцитах 3Т3 L1.

Наилучший способ осуществления изобретения

Для достижения вышеуказанной цели, настоящее изобретение относится к соединению, имеющему структуру, в которой изотретиноин и пептид связаны друг с другом посредством ковалентной связи.

Изотретиноин представляет собой 13-цис-ретиноевую кислоту, имеющую химическую структуру, представленную следующей химической формулой:



В рамках изобретения термин "пептид" обозначает линейную молекулу, сформированную посредством соединения аминокислот друг с другом посредством пептидной связи. Пептиды можно получать в соответствии с общепринятыми способами биологического или химического синтеза, известными в данной области, в частности способами твердофазного синтеза (Merrifield, J. Amer. Chem. Soc, 85:2149-54(1963); Stewart et al., Solid Phase Peptide Synthesis, 2nd ed., Pierce Chem. Co. Rockford, 111 (1984)).

Пептид предпочтительно предназначен для увеличения растворимости в воде изотретиноина, и в этом аспекте пептид представляет собой предпочтительно, но без ограничения, растворимый в воде пептид. В соответствии с вариантом осуществления настоящего изобретения пептид может состоять из последовательности из 2-30, предпочтительно 5-20, более предпочтительно 8-15, более предпочтительно 10-12 аминокислот. В соответствии с предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения является предпочтительным, чтобы доля аминокислот, имеющих гидрофильную боковую цепь, в пептиде была настолько высокой, как 50% или более, предпочтительно 60% или более, более предпочтительно 70% или более, более предпочтительно 80% или более, более предпочтительно 90% или более и наиболее предпочтительно 100%. С другой стороны, является предпочтительным, чтобы доля аминокис-

лот, имеющих гидрофобную боковую цепь, в пептиде была настолько низкой, как менее чем 50%, предпочтительно 40% или менее, более предпочтительно 30% или менее, более предпочтительно 20% или менее, более предпочтительно 10% или менее и наиболее предпочтительно 0%. В рамках изобретения термин "аминокислоты, имеющие гидрофильную боковую цепь", представляет, но без ограничения, аргинин (Arg), гистидин (His), лизин (Lys), аспарагиновую кислоту (Asp), глутаминовую кислоту (Glu), серин (Ser), треонин (Thr), аспарагин (Asn), глутамин (Gln), цистеин (Cys), селеноцистеин (Sec), глицин (Gly) и пролин (Pro); термин "аминокислоты, имеющие гидрофобную боковую цепь", представляет, но без ограничения, аланин (Ala), валин (Val), изолейцин (Ile), лейцин (Leu), метионин (Met), фенилаланин (Phe), тирозин (Tyr) и триптофан (Trp); и в дополнение к аминокислотам, присутствующим в природе, как описано выше, можно использовать их модификации, без ограничения. В соответствии с предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения аминокислоты, имеющие гидрофобную боковую цепь, в пептиде присутствуют в количестве 5 или менее, предпочтительно 4 или менее, более предпочтительно 3 или менее, более предпочтительно 2 или менее, более предпочтительно 1 или менее и наиболее предпочтительно ни одной. В соответствии с вариантом осуществления настоящего изобретения пептид представляет собой предпочтительно, но без ограничения, пептид, состоящий из аминокислотной последовательности из SEQ ID NO: 1-4.

В соответствии с вариантом осуществления настоящего изобретения соединения по настоящему изобретению могут иметь превосходную растворимость в воде (см. фиг. 1), а также заметно уменьшать экспрессию передающих сигналы генов и белков, ассоциированных с образованием кожного сала (см. фиг. 2A и 2B). В соответствии с другим вариантом осуществления настоящего изобретения соединения по настоящему изобретению могут заметно уменьшать экспрессию генов, ассоциированных с липогенезом, а также уменьшать накопление жира в клетках зависимым от концентрации образом (см. фиг. 3A и 3B). В соответствии с другим вариантом осуществления настоящего изобретения соединения по настоящему изобретению могут заметно уменьшать экспрессию генов, ассоциированных с воспалением и формированием морщин на коже, и с образованием внутриклеточных активных форм кислорода (см. фиг. 4-6). В соответствии с другим вариантом осуществления настоящего изобретения подтверждено, что в дополнение к эффектам лечения акне изотретиноином, как известно в данной области, соединения по настоящему изобретению могут не только заметно увеличивать высвобождение глицерина посредством липолиза и экспрессию генов, ассоциированных с липолизом, но также уменьшать накопление жира в клетках (фиг. 7, 8A, и 8B).

Соединение по настоящему изобретению само по себе имеет превосходную стабильность, однако его стабильность можно дополнительно улучшать посредством модификации любой аминокислоты, составляющей пептид, конъюгированный с соединением. В соответствии с вариантом осуществления изобретения N-конец пептида можно объединять с защитной группой, выбранной из группы, состоящей из группы ацетила, группы флуоренилметоксикарбонила, группы формила, группы пальмитоила, группы миристила, группы стеарила и полиэтиленгликоля (PEG), для дополнительного улучшения стабильности. В соответствии с другим вариантом осуществления изобретения пептид можно объединять с защитной группой, выбранной из группы, состоящей из группы ацетила, группы флуоренилметоксикарбонила, группы формила, группы пальмитоила, группы миристила, группы стеарила и полиэтиленгликоля (PEG), для дополнительного улучшения стабильности.

Модификации аминокислот, как описано выше, действуют с большим улучшением стабильности соединений по настоящему изобретению. В рамках изобретения термин "стабильность" используют в значении, включающем не только стабильность "in vivo", но также стабильность "in vitro", такую как стабильность при хранении (например, стабильность при хранении при комнатной температуре). Кроме того, вышеупомянутая защитная группа действует для защиты соединений по настоящему изобретению от атаки расщепляющего белок фермента in vivo и in vitro.

Кроме того, настоящее изобретение относится к антибиотической, противовоспалительной или антиоксидантной композиции, содержащей соединение в качестве активного ингредиента. В соответствии с другим вариантом осуществления настоящего изобретения, настоящее изобретение относится к композиции для улучшения состояния кожи, содержащей соединение в качестве активного ингредиента. По настоящему изобретению композиция может находиться в форме фармацевтической композиции или косметической композиции, но без ограничения этим. Кроме того, в соответствии с вариантом осуществления настоящего изобретения улучшение состояния кожи посредством соединений по настоящему изобретению может представлять собой улучшение состояния при акне, улучшение состояния при морщинах, улучшение эластичности кожи, предотвращение старения кожи, улучшение увлажнения кожи, удаление шрамов или регенерацию кожи, но без ограничения этим.

Поскольку композиция по настоящему изобретению содержит соединение по настоящему изобретению, как описано выше, в качестве активного ингредиента, общее между ними в описании опущено, чтобы избежать избыточной сложности настоящего описания.

В соответствии с предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения композиция по настоящему изобретению представляет собой фармацевтическую композицию, содержащую: (а) фармацевтически эффективное количество соединения по настоящему изобретению, как описано выше;

и (b) фармацевтически приемлемый носитель.

В рамках изобретения термин "фармацевтически эффективное количество" означает количество, достаточное для достижения эффективности или активности соединения по изобретению, как описано выше.

Фармацевтически приемлемые носители, содержащиеся в фармацевтической композиции по настоящему изобретению, представляют собой носители, общеупотребительные для получения составов, и включают, но без ограничения, лактозу, декстрозу, сахарозу, сорбит, маннит, крахмал, гуммиарабик, фосфат кальция, альгинат, желатин, силикат кальция, микрокристаллическую целлюлозу, поливинилпирролидон, целлюлозу, воду, сироп, метилцеллюлозу, метилгидроксibenзоат, пропилгидроксibenзоат, тальк, стеарат магния и минеральное масло. Фармацевтическая композиция по настоящему изобретению может дополнительно содержать смазывающее средство, увлажняющее средство, подсластитель, придающее вкус средство, эмульгатор, суспендирующее средство, консервант и т.п., в дополнение к ингредиентам, как описано выше. Пригодные фармацевтически приемлемые носители и средства подробно описаны в Remington's Pharmaceutical Sciences (19th ed., 1995).

Фармацевтическую композицию по настоящему изобретению можно получать в форме единичной дозы посредством составления соединения по настоящему изобретению с фармацевтически приемлемым носителем и/или наполнителем, в соответствии со способами, которые может легко осуществлять специалист в данной области или можно получать посредством заключения ее в контейнер для множественного дозирования. В этом случае состав может находиться в форме раствора, суспензии или эмульсии в масляной или водной среде или в форме экстракта, порошка, гранулы, таблетки, капсулы или геля (например, гидрогеля) и может дополнительно содержать диспергирующее средство и/или стабилизатор.

Фармацевтическую композицию в соответствии с настоящим изобретением можно вводить перорально или парентерально при клиническом введении и можно использовать в общих формах фармацевтических составов. То есть фармацевтическую композицию по настоящему изобретению можно вводить в различных пероральных и парентеральных составах в ходе фактического клинического введения, и их получают с использованием разбавителей или наполнителей, таких как наполнитель, расширитель, связующее, увлажняющее средство, дезинтегрирующее средство и поверхностно-активное вещество, которые обычно используют при получении составов. Твердые составы для перорального введения включают таблетки, пилюли, порошок, гранулы, капсулы и т.п., и такие твердые составы получают посредством смешивания по меньшей мере одного наполнителя, такого как крахмал, карбонат кальция, сахароза или лактоза и желатин, с растительным экстрактом или продуктом ферментации растений. В дополнение к простым наполнителям можно использовать также смазывающие средства, такие как стеарат магния и тальк. Жидкие составы для перорального введения включают суспензию, раствор для внутреннего применения, эмульсию и сироп, и т.п. и могут включать различные наполнители, такие как увлажняющее средство, подсластитель, придающее вкус средство, консервант, и т.п., в дополнение к общеупотребительным простым разбавителям, таким как вода и вазелиновое масло. Составы для парентерального введения включают стерильный водный раствор, неводный раствор, суспензию, эмульсию, лиофилизированный состав и суппозиторий. В качестве неводного растворителя и суспендирующего растворителя можно использовать пропиленгликоль, полиэтиленгликоль, растительные масла, такие как оливковое масло, пригодные для инъекции сложные эфиры, такие как этилолеат, и т.п. В качестве основы для суппозитория можно использовать витепсол, макрогол, tween 61, масло какао, лаурин, глицерин, желатин и т.п.

Единичная дозированная форма может содержать, например, 1, 2, 3 или 4 индивидуальные дозы, или 1/2, 1/3 или 1/4 индивидуальной дозы. Индивидуальная доза содержит количество активного лекарственного средства, которое вводят за одно применение, и это обычно соответствует полной ежесуточной дозе, 1/2, 1/3 или 1/4 ежесуточной дозы.

Фармацевтическую композицию по настоящему изобретению можно получать в единичной дозированной форме посредством составления соединения по настоящему изобретению с фармацевтически приемлемым носителем и/или наполнителем, в соответствии со способами, которые может легко осуществлять специалист в данной области, или можно получать посредством заключения ее в контейнер для множественного дозирования. В этом случае состав может находиться в форме раствора, суспензии или эмульсии в масляной или водной среде, или в форме экстракта, порошка, гранулы, таблетки, капсулы или геля (например, гидрогеля) и может дополнительно содержать диспергирующее средство и/или стабилизатор.

В соответствии с предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения композиция по настоящему изобретению может представлять собой косметическую композицию, содержащую: (a) косметически эффективное количество соединения по настоящему изобретению, как описано выше; и (b) косметически приемлемый носитель.

В рамках изобретения термин "косметически эффективное количество" означает количество, достаточное для достижения эффективности улучшения кожи, для композиции по настоящему изобретению, как описано выше.

Косметическую композицию по настоящему изобретению можно также получать в любых составах, общепринятым образом получаемых в данной области, и можно составлять, например, в растворе, сус-

пензии, эмульсии, пасте, геле, креме, лосьоне, порошке, мыле, содержащем поверхностно-активное вещество очищающем средстве, масле, порошкообразной основе, эмульсионной основе, восковой основе, спрее и т.п., но без ограничения этим. Более конкретно ее можно получать в различных формах, таких как средство для смягчения кожи, питательный лосьон, питательный крем, массажный крем, эссенция, крем для области вокруг глаз, очищающий крем, очищающая пена, очищающая жидкость, маска, спрей, порошок, тоник для волос, крем для волос, лосьон для волос, шампунь для волос, ополаскиватель для волос, кондиционер для волос, спрей для волос, аэрозоль для волос, помада, гель, золь-гель, эмульсия, масло, воск, аэрозоль и т.п., но без ограничения этим.

Когда состав по настоящему изобретению представляет собой пасту, крем или гель, масло животного происхождения, растительное масло, воск, парафин, крахмал, трагакант, производное целлюлозы, полиэтиленгликоль, силикон, бентонит, диоксид кремния, тальк или оксид цинка и т.п., можно использовать в качестве ингредиента-носителя.

Когда состав по настоящему изобретению представляет собой порошок или спрей, лактозу, тальк, диоксид кремния, гидроксид алюминия, силикат кальция или порошок полиамида можно использовать в качестве ингредиента-носителя, и, в частности, в случае спрея, можно дополнительно включать пропеллент, такой как хлорфторуглерод, пропан/бутан или диметилловый эфир, но без ограничения этим.

Когда состав по настоящему изобретению представляет собой раствор или эмульсию, растворитель, солюбилизатор или эмульгатор используют в качестве ингредиента-носителя, и можно использовать, например, воду, этанол, изопропанол, этилкарбонат, этилацетат, бензиловый спирт, бензилбензоат, пропиленгликоль, 1,3-бутилгликолевое масло, сложный эфир глицерина и алифатической кислоты, полиэтиленгликоль или сложный эфир сорбита и жирной кислоты, но без ограничения этим.

Когда состав по настоящему изобретению представляет собой суспензию, жидкие разбавители, такие как вода, этанол или пропиленгликоль, суспендирующие средства, такие как этоксилированный изо-стеариловый спирт, полиоксиэтиленовый сложный эфир сорбита и полиоксиэтиленовый сложный эфир сорбитана, микрокристаллическая целлюлоза, метагидроксид алюминия, бентонит, агар или трагакант и т.п., можно использовать в качестве ингредиента-носителя, но без ограничения этим.

Когда состав по настоящему изобретению представляет собой содержащее поверхностно-активное вещество, очищающее средство, сульфат алифатического спирта, сульфат эфира алифатического спирта, сложный моноэфир сульфоянтарной кислоты, изетионат, производное имидазолина, метилтаурат, саркозинат, сульфат эфира амида жирной кислоты, алкиламидобетаин, алифатический спирт, глицерид жирной кислоты, диэтаноламид жирной кислоты, растительное масло, производное ланолина или этоксилированный сложный эфир глицерина и жирной кислоты и т.п. можно использовать в качестве ингредиента-носителя, но без ограничения этим.

Когда состав по настоящему изобретению представляет собой шампунь для волос, соединения по настоящему изобретению смешивают с ингредиентами основы для составления шампуней, такими как загустители, поверхностно-активные вещества, модификаторы вязкости, увлажняющие средства, средства для доведения pH, консерванты, эфирные масла и т.п. CDE можно использовать в качестве загустителей; LES, анионное поверхностно-активное вещество, сособетаин, амфотерное поверхностно-активное вещество можно использовать в качестве поверхностно-активных веществ; поликватер можно использовать в качестве модификатора вязкости; глицерин можно использовать в качестве увлажняющего средства; лимонную кислоту и гидроксид натрия можно использовать в качестве средств для доведения pH; экстракт грейпфрута можно использовать в качестве консерванта; кроме того, можно добавлять эфирные масла, такие как масло кедра, масло перечной мяты, масло розмарина и т.п., аминокислоты шелка, пентаол, витамин Е. В соответствии с вариантом осуществления настоящего изобретения соединение по настоящему изобретению, как описано выше, можно смешивать с 5-10 мас.ч. CDE, 30-40 мас.ч. LES, 10-20 мас.ч. сособетаина, 0,1-0,2 мас.ч. поликватера, 5-10 мас.ч. глицерина, 0,1-1,01 мас.ч. экстракта грейпфрута, 0,5-1 мас.ч. аминокислот шелка, 0,5-1 мас.ч. пентаола, 0,5-2 мас.ч. витамина Е и 0,01-0,1 мас.ч. любого из масел кедра, перечной мяты и розмарина в качестве эфирных масел, на основании 100 мас.ч. соединения по настоящему изобретению, но без ограничения этим.

Ингредиенты, включенные в косметическую композицию по настоящему изобретению, включают ингредиенты, общеупотребительные для косметических композиций, в дополнение к соединению по настоящему изобретению в качестве активного ингредиента и ингредиентам-носителям и могут включать общепринятые адъюванты, например, такие как антиоксидант, стабилизатор, солюбилизатор, витамин, пигмент и ароматизатор, но без ограничения этим.

Примеры

Далее в настоящем описании изобретение подробно объяснено посредством примеров.

Однако следующие примеры представлены только для иллюстрации настоящего изобретения, и содержание настоящего изобретения не ограничено следующими примерами.

Пример 1. Синтез соединений по настоящему изобретению.

1-1. Синтез пептидов из SEQ ID NO: 1.

700 мг хлоридной смолы (смола CTL; Nova biochem [0064], кат. No. 01-64-0021) помещали в реактор и затем добавляли 10 мл метилхлорида (MC), и перемешивали в течение 3 мин. После удаления

раствора добавляли 10 мл диметилформамида (DMF) и перемешивали в течение 3 мин, затем растворитель удаляли снова. 10 мл раствора дихлорметана помещали в реактор и затем туда помещали 200 ммоль Fmoc-Met-OH (Bachem, Swiss) и 400 ммоль диизопропилэтиламина (DIEA), хорошо растворяли посредством перемешивания и затем реакцию проводили посредством перемешивания в течение 1 ч. После завершения реакции проводили промывку и метанол и DIEA (2:1) растворяли в дихлорметане (DCM), проводили реакцию в течение 10 мин, затем проводили промывку избытком DCM/DMF (1:1). Затем раствор удаляли, туда помещали 10 мл диметилформамида (DMF) и перемешивали в течение 3 мин, затем растворитель удаляли снова. 10 мл раствора для снятия защиты (20% пиперидин/DMF) помещали в реактор и перемешивали при комнатной температуре в течение 10 мин, затем раствор удаляли. Затем добавляли такое же количество раствора для снятия защиты для поддержания реакции в течение еще 10 мин, затем раствор удаляли и проводили промывку дважды с использованием DMF, один раз с использованием MC и один раз с использованием DMF в течение 3 мин, соответственно, с получением смолы Met-CTL.

10 мл раствора DMF помещали в новый реактор и туда помещали 200 ммоль Fmoc-Val-OH (Bachem, Swiss), 200 ммоль HoBt и 200 ммоль Bop, затем хорошо растворяли посредством перемешивания. 400 ммоль DIEA помещали в реактор в двух фракциях и перемешивали в течение по меньшей мере 5 мин до растворения всех твердых веществ. Раствор смеси растворенных аминокислот помещали в реактор, содержащий смолу со снятой защитой, и проводили реакцию с перемешиванием при комнатной температуре в течение 1 ч. Реакционный раствор удаляли и перемешивали три раза по 5 мин каждый с раствором DMF и затем удаляли. Небольшое количество смолы после реакции отбирали и степень реакции проверяли с использованием теста Кайзера (нингидринового теста). Реакцию снятия защиты проводили дважды, как описано выше, с использованием раствора для снятия защиты, для получения смолы Val-Met-CTL. Затем смолу подвергали достаточной промывке с использованием DMF и MC и еще один раз подвергали тесту Кайзера для проведения эксперимента присоединения аминокислот ниже, таким же образом, как описано выше.

На основании выбранных аминокислотных последовательностей проводили цепную реакцию в этом порядке: Fmoc-Leu, Fmoc-Phe, Fmoc-Asn(Trt), Fmoc-Ala, Fmoc-Asn(Trt), Fmoc-Thr(tBu), Fmoc-Arg(Pbf), Fmoc-Asp(tBu), Fmoc-Ile, Fmoc-Leu, Fmoc-Arg(Pbf) и Fmoc-Arg(Pbf). Проводили реакцию Fmoc-защитной группы с раствором для снятия защиты дважды в течение 10 мин, затем хорошо промывали и удаляли. Затем туда помещали уксусный ангидрид, DIEA и HoBt для проведения ацетилирования в течение 1 ч, полученную пептидную смолу промывали три раза с использованием DMF, MC и метанола, соответственно, и высушивали посредством медленного пропускания газа азота, затем полностью высушивали в вакууме с пониженным давлением над P₂O₅, туда помещали 30 мл уходящего раствора (95% трифторуксусной кислоты, 2,5% дистиллированной воды и 2,5% тиаоанизола), реакцию поддерживали в течение 2 ч при комнатной температуре с периодическим встряхиванием. Смолу фильтровали посредством фильтрации и промывали небольшим количеством раствора TFA, затем фильтрат объединяли с исходным раствором. Дистилляцию проводили с использованием пониженного давления, таким образом, чтобы осталась половина общего объема, и к этому добавляли 50 мл холодного эфира для индукции преципитации, центрифугировали для сбора преципитата и промывали дважды холодным эфиром. После удаления исходного раствора и достаточного высушивания в атмосфере азота, было синтезировано 1,49 г предварительно очищенного пептида NRRLIDRTNANFLVM (SEQ ID NO: 1) (выход: 86,5%). Молекулярную массу 1719,1 (теоретическое значение: 1719,2) получали при измерении с использованием устройства для измерения молекулярной массы.

Таблица 1

SEQ ID NO	Аминокислотная последовательность	Аналитическое значение (масс-спектрометр)	
		Аналитическое значение	Теоретическое значение
1	RRLIDRTNANFLVM	1719,1	1719,2

1-2. Синтез соединений по настоящему изобретению.

Пептид со снятой защитой (1 ммоль) и 10 мл диметилформамида (DMF) помещали в пептидный реактор, затем к этому добавляли 270 мг (2,0 экв.) 1-гидроксибензотриазола (HOBT), 1,04 г (2,0 экв.) гексафторфосфоната (бензотриазол-1-илокси)трипирролидинофосфония (PyBOP) и 277 мг (2,0 экв.) изотретиноина и проводили реакцию в течение 30 мин. К этому добавляли 388 мг (3 экв.) N,N-диизопропилэтиламина (DIEA) и проводили реакцию при комнатной температуре в течение 2-4 ч, затем проводили перекристаллизацию с использованием 10 мл (10 ммоль) диэтилового эфира и проводили фильтрацию для получения гибридного пептида.

Экспериментальный пример 1. Тестирование растворимости соединений по настоящему изобретению.

Соединение изотретиноин-пептид, полученное в примере 1-2 выше, и изотретиноин растворяли в

дистиллированной воде в концентрации 10 мг/мл соответственно.

В результате подтвердили, что в отличие от собственно изотретиноина, который является плохо растворимым в воде, соединение изотретиноин-пептид по настоящему изобретению полностью растворялось в воде (фиг. 1).

Экспериментальный пример 2. Ингибирующий эффект соединений по настоящему изобретению на экспрессию генов передачи сигналов образования кожного сала.

Анализ РТ-ГГЦР проводили для подтверждения эффекта соединения изотретиноин-пептид по настоящему изобретению, синтезированного в примере 1-2, на экспрессию генов передачи сигналов, ассоциированных с образованием кожного сала. Конкретно, себоциты стимулировали посредством обработки с использованием 100 мкМ арахидоновой кислоты в качестве стимулятора, затем обрабатывали с использованием 1 или 10 мкМ соединения изотретиноин-пептид по настоящему изобретению или изотретиноина и культивировали в течение 24 ч, затем РНК выделяли из культивированных клеток способом, как описано ниже, и эффект соединений на экспрессию сигнальных молекул сEBP α , PPAR γ и SREBP1c, вовлеченных в образование кожного сала, подтверждали с использованием праймеров, описанных в табл. 2 ниже. Набор для выделения РНК (набор Qiagen RNeasy) использовали для выделения тотальной РНК из клеток и затем к этому добавляли 3 мкг РНК, 2 мкг случайных гексамеров и обработанную DEPC воду, проводили реакцию при 65°C в течение 5 мин для синтеза одноцепочечной ДНК из РНК. 5 $\times$ буфер для синтеза первой цепи, 0,1M DTT, 10 mM dNTP и обратную транскриптазу помещали туда для получения всего 20 мл и проводили реакцию при 42°C в течение 1 ч. После нагревания при 95°C снова в течение 5 мин к этому добавляли 20 мл дистиллированной воды для получения всего 40 мл кДНК. Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили посредством смешивания 10 пмоль праймера, 10 $\times$ буфера для Tag, 10 mM dNTP и ДНК-полимеразы i-Tag, как показано в табл. 2 ниже, специфических для 3 мкл кДНК каждого из генов сEBP α , PPAR γ , SREBP1c и GAPDH. Условия реакции ПЦР представляли собой 30 с при 94°C, 30 с при 55-56°C и 30 с при 72°C. Количество циклов для генов анализировали в условиях, в которых результаты ПЦР могли амплифицироваться экспоненциально. 5 мл полученного продукта ПЦР разделяли электрофорезом в 1% агарозном геле и окрашивали с использованием бромид аэтидия для подтверждения уровней мРНК генов передачи сигналов для образования кожного сала сEBP α , PPAR γ и SREBP1c.

Таблица 2

Фактор	Последовательность праймера		SEQ ID NO
сEBP α	Прямой	(5') TCGGTGGACAAGAACAGCAA (3')	2
	Обратный	(5') CCTTGACCAAGGAGCTCTCA (3')	3
PPAR γ	Прямой	(5') TTCGCTGATGCACTGCCTAT (3')	4
	Обратный	(5') ACAGACTCGGCACTCAATGG (3')	5
SREBP1c	Прямой	(5') GACCGACATCGAAGGTGAAG (3')	6
	Обратный	(5') AAGAGAGGAGCTCAATGTGGC (3')	7
GAPDH	Прямой	(5') GGAGCCAAAAGGGTCATCAT (3')	8
	Обратный	(5') GTGATGGCATGGACTGTGGT (3')	9

Кроме того, себоциты стимулировали посредством обработки вызывающими акне бактериями *Propionibacterium acnes* (100 мкг/мл) в качестве стимулятора в течение 48 ч, затем обрабатывали с использованием 1 или 10 мкМ соединения изотретиноин-пептид по настоящему изобретению или изотретиноина, экспрессию сигнальных белков сEBP α и PPAR γ , ассоциированных с образованием кожного сала, подтверждали посредством анализа Вестерн-блоттинга. В результате, подтвердили, что соединение, имеющее структуру, в которой изотретиноин и пептид связаны друг с другом посредством ковалентной связи в соответствии с настоящим изобретением, может более заметно уменьшать экспрессию сигнальных генов и белков, ассоциированных с образованием кожного сала, даже при намного более низкой концентрации по сравнению с изотретиноином (фиг. 2A и 2B).

Экспериментальный пример 3. Ингибирующий эффект соединений по настоящему изобретению на липогенез.

Анализ РТ-ГГЦР проводили для подтверждения эффекта соединения изотретиноин-пептид по настоящему изобретению, синтезированного в примере 1-2, на экспрессию генов, ассоциированных с липогенезом. Конкретно, преадипоциты 3T3 L1 инокулировали в 24-луночные планшеты при 2×10^4 клеток/луночку и культивировали, затем проводили замену на среду для дифференцировки, содержащую 0,5 mM IBMX, 0,25 мкМ дексаметазон и 1 мкг/мл инсулина, клетки культивировали в течение 10 суток с 10 мкМ соединением изотретиноин-пептид по настоящему изобретению или изотретиноином и затем подтверждали эффекты соединений на экспрессию генов PPAR γ , ACC и aP2, вовлеченных в липогенез. С этой целью РТ-ГГЦР проводили таким же способом, как в экспериментальном примере 2 выше, за ис-

ключением того, что праймеры, как показано в табл. 3 ниже, использовали в качестве праймеров, специфических для PPAR γ , ACC и aP2.

Таблица 3

Фактор	Последовательность праймера		SEQ ID NO
PPAR γ	Прямой	(5') TTCGCTGATGCACTGCCTAT (3')	4
	Обратный	(5') ACAGACTCGGCACTCAATGG (3')	5
ACC	Прямой	(5') GAATGTTTGGGGATATTTCAG (3')	10
	Обратный	(5') TTCTGCTATCAGTCTGTCCAG (3')	11
aP2	Прямой	(5') CATCAGCGTAAATGGGGATT (3')	12
	Обратный	(5') ACACATTCCACCACCAGCTT (3')	13

Кроме того, для измерения эффекта ингибирования накопления жира посредством соединения изотретиноин-пептид по настоящему изобретению клетки 3T3-L1 инокулировали в 24-луночные планшеты при 2×10^4 клеток/лунку и культивировали, затем проводили замену на среду для дифференцировки, содержащую 10 мкг/мл инсулина, 0,1 мкМ дексаметазон и 0,5 мкМ IBMX, клетки обрабатывали с использованием соединения изотретиноин-пептид по настоящему изобретению или изотретиноина. Впоследствии замену на среду, содержащую 10 мкг/мл инсулина, проводили каждые 2 суток, и анализ окрашивания масляным красным О проводили на сутки 9 после индукции дифференцировки. С этой целью клетки промывали с использованием PBS и затем фиксировали посредством обработки 4% параформальдегидом в течение 10 мин, промывали дистиллированной водой и затем инкубировали с 60% изопропанолом в течение 5-10 мин. Фиксированные клетки окрашивали с использованием раствора масляного красного [1% масляный красный в изопропанол разводят в dH₂O в соотношении объемов 6:4] в течение 30 мин и затем снова промывали с использованием PBS. Окрашенные клетки наблюдали под оптическим микроскопом и затем промывали дистиллированной водой, смешивали с 1 мл 100% изопропанола при 4°C и затем оценивали количественно при длине волны 510 нм на следующие сутки. В результате подтвердили, что соединение, имеющее структуру, в которой изотретиноин и пептид связаны друг с другом посредством ковалентной связи, в соответствии с настоящим изобретением, заметно уменьшало экспрессию генов, ассоциированных с липогенезом (фиг. 3А), по сравнению с изотретиноином, а также уменьшало степень внутриклеточного накопления жира в зависимости от соединения (фиг. 3В).

Экспериментальный пример 4. Ингибирующий эффект соединений по настоящему изобретению на воспаление.

Анализ RT-ПЦР проводили для подтверждения эффекта соединения изотретиноин-пептид по настоящему изобретению, синтезированного в примере 1-2, на воспаление, индуцированное вызывающими акне бактериями. Конкретно, 300000 клеток кератиноцитов HaCaT инокулировали в каждую лунку 6-луночных планшетов и затем культивировали в культуральной среде DMEM (Gibco, USA), содержащей 10% FBS, в течение 24 ч при 37°C и 5% CO₂. После проведения замены на свежую среду, клетки обрабатывали с использованием 50 мкг/мл вызывающих акне бактерий (*P. acnes*), 50 мкМ салициловой кислоты и 10 мкМ или 50 мкМ CG-Dinfla, обработанные вызывающими акне бактериями обрабатывали соединением изотретиноин-пептид по настоящему изобретению и изотретиноином, используемым в качестве группы положительного контроля, в концентрации 1 или 10 мкМ, и затем культивировали в течение 24 ч в таких же условиях, как описано выше, затем подтверждали эффекты соединений на экспрессию генов IFN- γ , IL- β , IL-6, IL-17A и TNF- α , вовлеченных в образование воспаления. С этой целью RT-ПЦР проводили таким же способом, как в экспериментальном примере 2 выше, за исключением того, что праймеры, как показано в табл. 4 ниже, использовали в качестве праймеров, специфических для IFN- γ , IL-1 β , IL-6, IL-17A и TNF- α .

Таблица 4

Фактор	Последовательность праймера		SEQ ID NO
IFN- γ	Прямой	(5') GAGGTCAACAACCCACAGGT (3')	14
	Обратный	(5') GGGACAATCTCTTCCCCACC (3')	15
IL-1 β	Прямой	(5') TTCGACACATGGGATAACGA (3')	16
	Обратный	(5') TCTTTCAACACGCAGGACAG (3')	17
IL-6	Прямой	(5') AAAGAGGCACTGCCAGAAAA (3')	18
	Обратный	(5') ATCTGAGGTGCCCATGCTAC (3')	19
IL-17A	Прямой	(5') GGTCAACCTCAAAGTCTTTAACTC (3')	20
	Обратный	(5') TTAATAATGCAAGTAAGTTTGCTG (3')	21
TNF- α	Прямой	(5') AACATCCAACCTTCCCAAACG (3')	22
	Обратный	(5') GACCCTAAGCCCCCAATTCTC (3')	23

В результате подтвердили, что соединение, имеющее структуру, в которой изотретиноин и пептид связаны друг с другом посредством ковалентной связи, в соответствии с настоящим изобретением, может более заметно уменьшать экспрессию генов, ассоциированных с образованием воспаления, даже при намного более низкой концентрации по сравнению с изотретиноином (фиг. 4).

Экспериментальный пример 5. Ингибирующий эффект соединений по настоящему изобретению на активность MMP.

Подтвердили эффект соединения изотретиноин-пептид по настоящему изобретению, синтезированного в примере 1-2, на активность MMP, индуцированную вызывающими акне бактериями. Конкретно, кератиноциты HaCaT культивировали и затем клетки предварительно обрабатывали с использованием 1 или 10 мкМ соединения изотретиноин-пептид по настоящему изобретению или изотретиноина, через 30 мин обрабатывали вызывающими акне бактериями (*P. acnes*) в качестве стимулятора. Культуральную среду собирали через 48 ч культивирования и проводили реакцию культуральной среды и буфера для электрофореза (Sigma Aldrich) в соотношении 1:1, затем 20 мкл реакционного раствора разделяли посредством электрофореза в 8% натрий додецилсульфат-полиакриламидном геле (SDS-PAGE) (10% желатин). Затем гель промывали три раза по 10 мин в буфере 0,1% Triton X-100 (Sigma Aldrich), активировали в буфере TNCB (Sigma Aldrich) и окрашивали с использованием Кумасси синего, затем измеряли интенсивность полосы.

В результате подтвердили, что соединение, имеющее структуру, в которой изотретиноин и пептид связаны друг с другом посредством ковалентной связи, в соответствии с настоящим изобретением, может более заметно уменьшать экспрессию гена MMP-9, ассоциированного с образованием морщин кожи, даже при намного более низкой концентрации по сравнению с изотретиноином (фиг. 5).

Экспериментальный пример 6. Ингибирующий эффект соединений по настоящему изобретению на внутриклеточные активные формы кислорода.

Подтвердили эффект соединения изотретиноин-пептид по настоящему изобретению, синтезированного в примере 1-2, на образование внутриклеточных активных форм кислорода (ROS), индуцированное вызывающими акне бактериями. Конкретно, себоциты инокулировали в 6-луночные планшеты при 1×10^6 клеток/луночку и культивировали в течение ночи. Клетки предварительно обрабатывали с использованием соединения изотретиноин-пептид по настоящему изобретению или изотретиноина и через 30 мин, обрабатывали вызывающими акне бактериями (*P. acnes*) в качестве стимулятора в концентрации 100 мкг/мл и культивировали в течение 48 ч. Клетки обрабатывали с использованием DCF-DH и через 30 мин окислительную активность измеряли по степени флуоресценции с использованием FACS.

В результате подтвердили, что соединение, имеющее структуру, в которой изотретиноин и пептид связаны друг с другом посредством ковалентной связи, в соответствии с настоящим изобретением, может более заметно уменьшать образование внутриклеточных ROS, индуцированное вызывающими акне бактериями, по сравнению с изотретиноином (фиг. 6).

Экспериментальный пример 7. Эффект соединений по настоящему изобретению на липолиз (1).

Адиipoциты запасают дополнительную энергию в форме нейтральных жиров в липидных каплях, но когда энергия требуется, они распадаются на жирные кислоты и глицерин посредством ферментов, таких как адипозная триглицеридлипаза, HSL и моноглицеридлипаза, для получения энергии или для использования для передачи сигналов клетками или для синтеза жира. Таким образом, авторы настоящего изобретения проводили высвобождение свободного глицерина и анализ внутриклеточного содержания триглицерина, чтобы подтвердить эффект соединения изотретиноин-пептид по настоящему изобретению, синтезированного в примере 1-2, на липолиз. Конкретно, клетки 3T3-L1 инокулировали в 24-луночные планшеты при 2×10^4 клеток/луночку (DMEM, 10% BCS) и культивировали в течение 2 суток. Проводили замену на среду DMEM, содержащую 10% FBS, и затем клетки культивировали в течение 2 суток, до-

полнительно культивировали в течение 2 суток в DMEM (10% FBS), содержащей 0,5 мМ IBMX, 0,25 мкМ дексаметазон и 10 мкг/мл инсулина. Затем клетки культивировали в течение 2 суток в DMEM (10% FBS), содержащей 1 мкг/мл инсулина, и затем снова культивировали в течение 3 суток в DMEM (10% FBS), содержащей 1 мкг/мл инсулина. После проведения замены на среду с FBS клетки обрабатывали соединением изотретиноин-пептид по настоящему изобретению или изотретиноином и культуральную среду собирали на сутки 8 дифференцировки для проведения анализа глицерина с использованием набора для колориметрического анализа глицерина (Cayman).

В результате, соединение, имеющее структуру, в которой изотретиноин и пептид связаны друг с другом посредством ковалентной связи, в соответствии с настоящим изобретением, заметно увеличивало высвобождение глицерина посредством липолиза по сравнению с изотретиноином (фиг. 7).

Экспериментальный пример 8. Эффект соединений по настоящему изобретению на липолиз (2).

Проводили анализ RT-ПЦР и окрашивание масляным красным О таким же способом, как описано в экспериментальном примере 3, для подтверждения эффекта соединения изотретиноин-пептид по настоящему изобретению, синтезированного в примере 1-2, на экспрессию генов, ассоциированных с липолизом. При этом гены CPT1a, Acox, HSL и ATGL использовали в качестве генов, вовлеченных в липолиз, и праймеры, как показано в табл. 5 ниже, использовали в качестве праймеров, специфических для этих генов. В случае TNF- α , использованного в качестве контрольной группы, его липолитический эффект является общеизвестным, и он имеет такую функцию, как фосфорилирование липолитического фактора HSL и увеличение экспрессии ATGL, и таким образом, его использовали в качестве контрольной группы для сравнения с эффектами соединений по настоящему изобретению.

Таблица 5

Фактор	Последовательность праймера		SEQ ID NO
CPT1a	Прямой	(5') CGTACCAAGTAGCCAAGGCA (3')	24
	Обратный	(5') CAGGAACGCACAGTCTCAGT (3')	25
Acox	Прямой	(5') CCGCCGAGAGATCGAGAAC (3')	26
	Обратный	(5') CAGTTGCCTGGTGAAGCAAG (3')	27
HSL	Прямой	(5') GGACACACACACACCTG (3')	28
	Обратный	(5') CCCTTTCGCAGCAACTTTAG (3')	29
ATGL	Прямой	(5') TCGTGGATGTTGGTGGAGCT (3')	30
	Обратный	(5') TGTGGCCTCATTCCTCCTA (3')	31

В результате, подтвердили, что соединение, имеющее структуру, в которой изотретиноин и пептид связаны друг с другом посредством ковалентной связи, в соответствии с настоящим изобретением, может заметно увеличивать экспрессию генов, ассоциированных с липолизом, по сравнению с изотретиноином (фиг. 8A), а также уменьшать внутриклеточное накопление жира (фиг. 8B).

Пример получения состава 1. Средство для смягчения кожи.

Средство для смягчения кожи, содержащее соединение по настоящему изобретению, полученное в примере 1-2 выше, и состоящее из композиции ниже, получали в соответствии с общим способом получения лосьонов.

Таблица 6

Ингредиент	Содержание (% масс.)
Соединение по настоящему изобретению	2,5
1,3-бутиленгликоль	6
Глицерин	4
PEG 1500	1
Гиалуронат натрия	1
Полисорбат 20	0,5
Этанол	8
Консервант, пигмент	соответствующее количество
Бензофенон-9	0,05
Ароматизатор	очень малое количество
Очищенная вода	остальное количество
Всего	100

Пример получения состава 2. Питательный крем.

Питательный крем, содержащий соединение по настоящему изобретению, полученное в примере 1-2 выше, и состоящий из композиции ниже, получали в соответствии с общим способом получения питательных кремов.

Таблица 7

Ингредиент	Содержание (% масс.)
Соединение по настоящему изобретению	2,5
Масло пенника лугового	3
Цетеариловый спирт	1,5
Стеариновая кислота	1,5
Глицерилстеарат	1,5
Вазелиновое масло	10
Пчелиный воск	2
Полисорбат 60	0,6
Сорбитансесквиолеат	2,5
Сквалан	3
1,3-бутиленгликоль	3
Глицерин	5
Триэтаноламин	0,5
Ацетат токоферола	0,5
Консервант, пигмент	соответствующее количество
Ароматизатор	соответствующее количество
Очищенная вода	остальное количество
Всего	100

Пример получения состава 3. Питательный лосьон.

Питательный лосьон, содержащий соединение по настоящему изобретению, полученное в примере 1-2 выше, и состоящий из композиции ниже, получали в соответствии с общим способом получения лосьонов.

Таблица 8

Ингредиент	Содержание (% масс.)
Соединение по настоящему изобретению	2,5
1,3-бутиленгликоль	4
Глицерин	4
Цетеариловый спирт	0,8
Глицерил стеарат	1
Триэтаноламин	0,13
Ацетат токоферола	0,3
Вазелиновое масло	5
Сквалан	3
Масло ореха макадамия	2
Полисорбат 60	1,5
Сорбитансесквиолеат	0,5
Карбоксивинилполимер	1
Консервант, пигмент	соответствующее количество
Ароматизатор	соответствующее количество
Очищенная вода	остальное количество
Всего	100

Пример получения состава 4. Эссенция.

Эссенцию, содержащую соединение по настоящему изобретению, полученное в примере 1-2 выше, и состоящую из композиции ниже, получали в соответствии с общим способом получения эссенций.

Таблица 9

Ингредиент	Содержание (% масс.)
Соединение по настоящему изобретению	2,5
Глицерин	10
1,3-бутиленгликоль	5
PEG 1500	2
Аллантоин	0,1
DL-пантенол	0,3
ЭДТА-2Na	0,02
Гидроксиэтилцеллюлоза	0,1
Гиалуронат натрия	8
Карбоксивинилполимер	0,2
Триэтаноламин	0,18
Октилдодецет-16	0,4
Этанол	6
Ароматизатор, консервант, пигмент	соответствующее количество
Очищенная вода	остальное количество
Всего	100

Промышленная применимость

Соединение имеющее структуру, в которой изотретиноин и пептид связаны друг с другом посредством ковалентной связи, в соответствии с настоящим изобретением, имеет превосходную физиологическую активность, такую как антибиотическое, противовоспалительное или антиоксидантное действие, а также имеет превосходные свойства, такие как растворимость в воде и т.п., и, таким образом, его можно использовать в различных областях промышленности, например, для лекарственных средств или косметических средств.

Список последовательностей

SEQ ID NO: 1: Arg Arg Leu Ile Asp Arg Thr Asn Ala Asn Phe Leu Val Met

SEQ ID NO: 2: tcggtggaca agaacagcaa

SEQ ID NO: 3: ccttgaccaa ggagctctca

SEQ ID NO: 4: ttcgctgatg cactgcctat

SEQ ID NO: 5: acagactcgg cactcaatgg

SEQ ID NO: 6: gaccgacatc gaaggtgaag
 SEQ ID NO: 7: aagagaggag ctcaatgtgg c
 SEQ ID NO: 8: ggagccaaaa gggatcatcat
 SEQ ID NO: 9: gtgatggcat ggactgtggt
 SEQ ID NO: 10: gaatgtttgg ggatattca g
 SEQ ID NO: 11: ttctgctatc agtctgtcca g
 SEQ ID NO: 12: catcagcgta aatggggatt
 SEQ ID NO: 13: acacattcca ccaccagctt
 SEQ ID NO: 14: gaggtcaaca acccacaggt
 SEQ ID NO: 15: gggacaatct ctccccacc
 SEQ ID NO: 16: ttcgacacat gggataacga
 SEQ ID NO: 17: tctttcaaca cgcaggacag
 SEQ ID NO: 18: aaagaggcac tgccagaaaa
 SEQ ID NO: 19: atctgagggtg cccatgctac
 SEQ ID NO: 20: ggtcaacctc aaagtcttta actc
 SEQ ID NO: 21: ttaaaaatgc aagtaagttt gctg
 SEQ ID NO: 22: aacatccaac ctccccaaac g
 SEQ ID NO: 23: gaccctaagc cccaattct c
 SEQ ID NO: 24: cgtaccaagt agccaaggca
 SEQ ID NO: 25: caggaacgca cagtctcagt
 SEQ ID NO: 26: ccgccgagag atcgagaac
 SEQ ID NO: 27: cagttgcctg gtgaagcaag
 SEQ ID NO: 28: ggacacacac acacctg
 SEQ ID NO: 29: ccctttcgca gcaactttag
 SEQ ID NO: 30: tcgtggatgt tggaggagct
 SEQ ID NO: 31: tgtggcctca ttctccta

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение, имеющее структуру, в которой изотретиноин и водорастворимый пептид связаны друг с другом посредством ковалентной связи;

в котором водорастворимый пептид состоит из 8-30 аминокислот;

в котором доля аминокислот, имеющих гидрофильную боковую цепь, в водорастворимом пептиде составляет от 50 до 100%, где доля аминокислот, имеющих гидрофобную боковую цепь, в водорастворимом пептиде составляет от 0 до 50%;

в котором аминокислоты, имеющие гидрофильную боковую цепь, выбраны из группы, состоящей из аргинина (Arg), гистидина (His), лизина (Lys), аспарагиновой кислоты (Asp), глутаминовой кислоты (Glu), серина (Ser), треонина (Thr), аспарагина (Asn), глутамина (Gln), цистеина (Cys), селеноцистеина (Sec), глицина (Gly) и пролина (Pro);

в котором аминокислоты, имеющие гидрофобную боковую цепь, выбраны из группы, состоящей из аланина (Ala), валина (Val), изолейцина (Ile), лейцина (Leu), метионина (Met), фенилаланина (Phe), тирозина (Tyr) и триптофана (Trp).

2. Соединение по п.1, в котором пептид состоит из последовательности из 8-15 аминокислот.

3. Соединение по п.1, в котором доля аминокислот, имеющих гидрофильную боковую цепь, в водорастворимом пептиде составляет 70% или более.

4. Соединение по п.1, в котором доля аминокислот, имеющих гидрофильную боковую цепь, в водорастворимом пептиде составляет 90% или более.

5. Соединение по п.1, в котором количество аминокислот, имеющих гидрофобную боковую цепь, в водорастворимом пептиде составляет 5 или менее.

6. Соединение по п.1, в котором количество аминокислот, имеющих гидрофобную боковую цепь, в водорастворимом пептиде составляет 3 или менее.

7. Соединение по п.1, в котором водорастворимый пептид представляет собой пептид, имеющий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 1.

8. Антибиотическая, противовоспалительная или антиоксидантная фармацевтическая композиция, содержащая эффективное количество соединения по любому из пп.1-7.

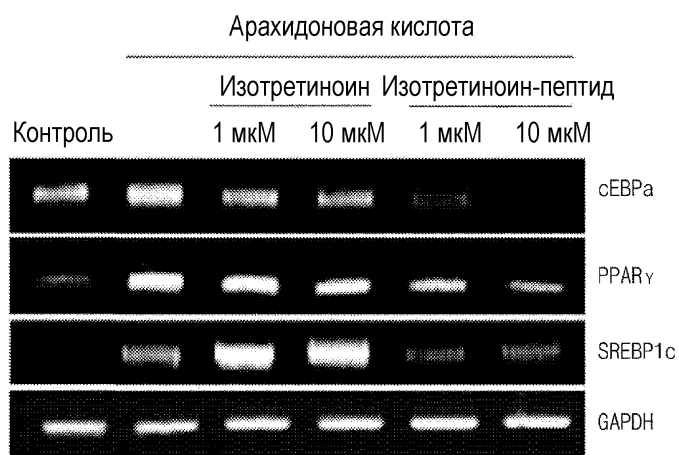
9. Антибиотическая, противовоспалительная или антиоксидантная косметическая композиция, содержащая эффективное количество соединения по любому из пп.1-7.

10. Косметическая композиция по п.9, имеющая состав, выбранный из группы, состоящей из средства для смягчения кожи, питательного лосьона, питательного крема, массажного крема, эссенции, крема

для области вокруг глаз, очищающего крема, очищающей пены, очищающей жидкости, маски, спрея, порошка, тоника для волос, крема для волос, лосьона для волос, шампуня для волос, ополаскивателя для волос, кондиционера для волос, спрея для волос, аэрозоля для волос, помады, золь-геля, эмульсии, масла, воска и аэрозоля.



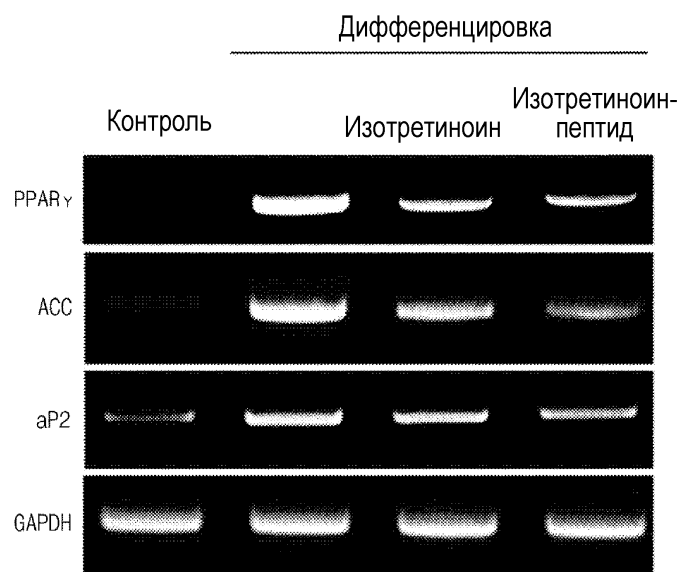
Фиг. 1



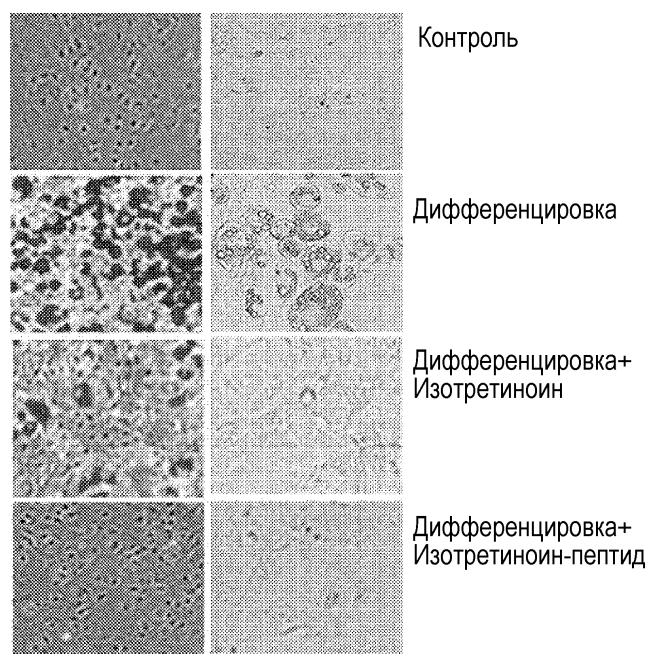
Фиг. 2А



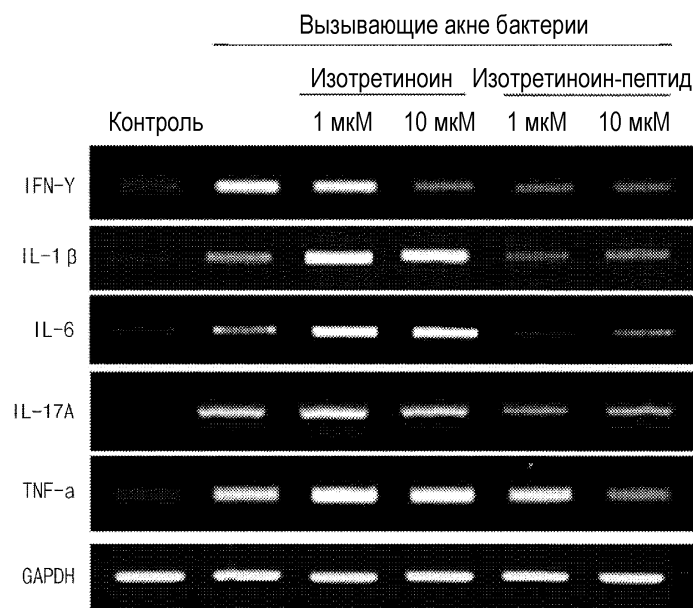
Фиг. 2В



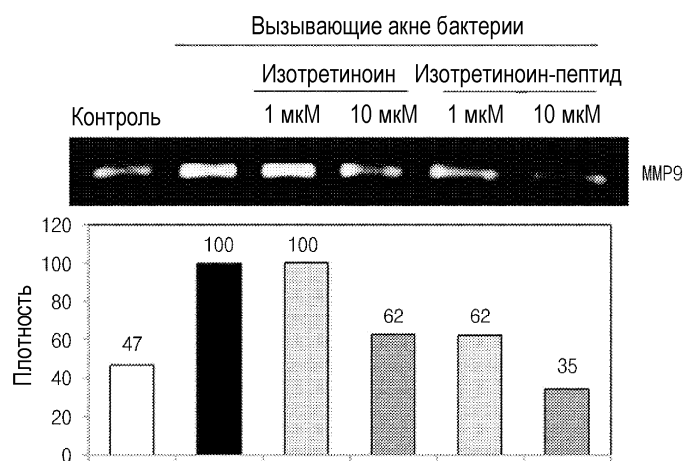
Фиг. 3А



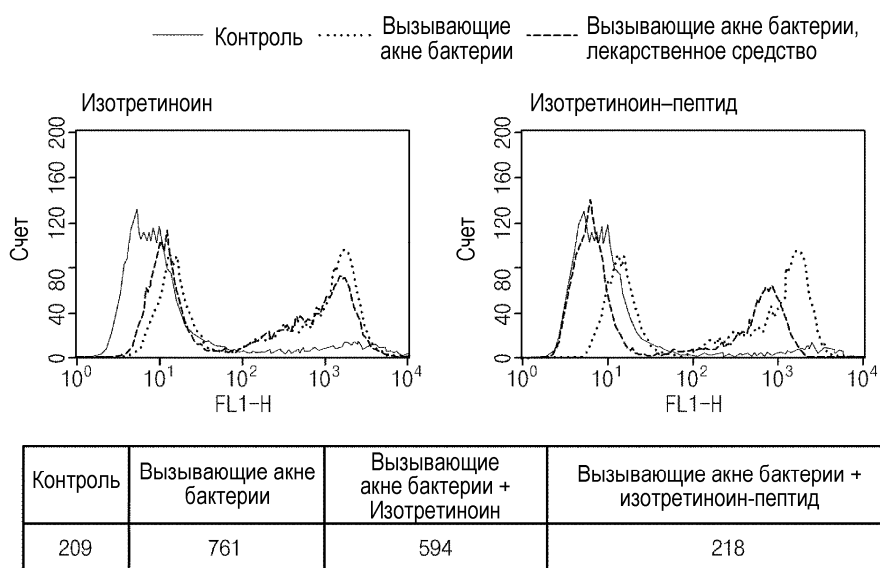
Фиг. 3В



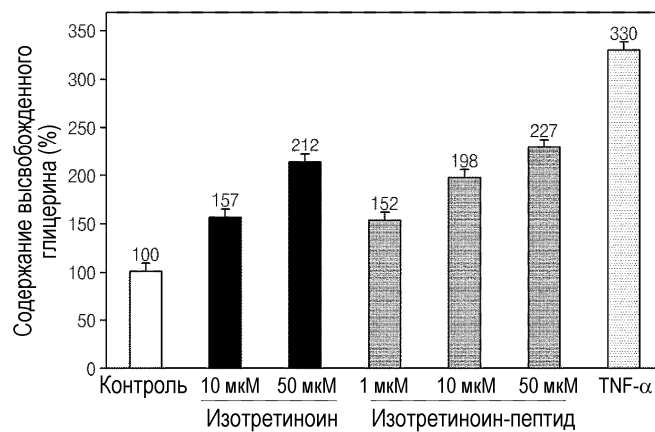
Фиг. 4



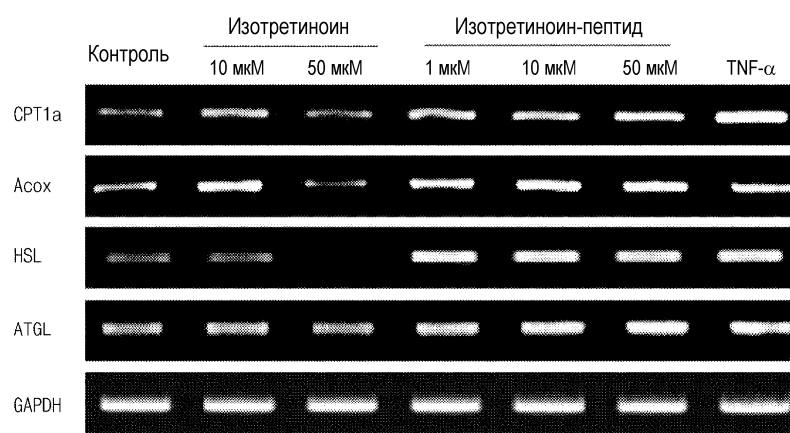
Фиг. 5



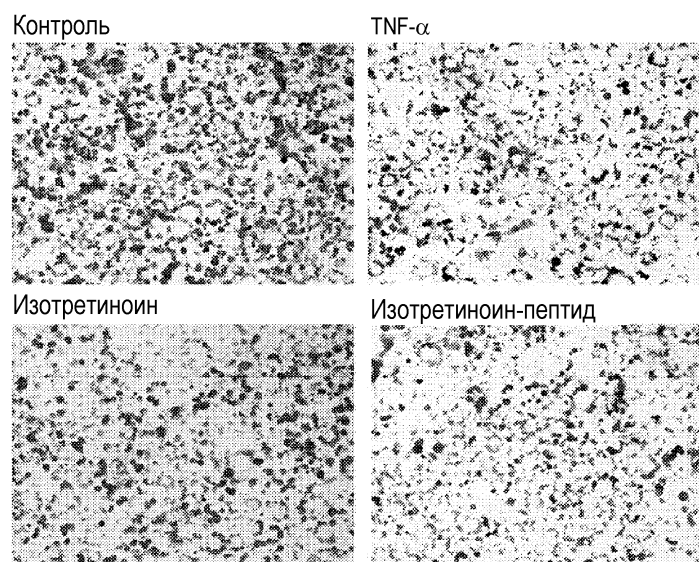
Фиг. 6



Фиг. 7



Фиг. 8А



Фиг. 8В

