(19) Евразийское патентное ведомство

(21) 202290805 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.06.01

(22) Дата подачи заявки
2020.07.06

(51) Int. Cl. ***A61Q 19/02*** (2006.01)
A61K 8/11 (2006.01)
A61K 8/49 (2006.01)
A61K 8/64 (2006.01)
A61K 8/67 (2006.01)

(54) КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ ОСВЕТЛЕНИЯ КОЖИ

(31) **19382797.9**
(32) **2019.09.16**
(33) **EP**
(86) **PCT/EP2020/068973**
(87) **WO 2021/052647 2021.03.25**

(71) Заявитель:
БЕЛЛА АВРОРА ЛАБС, С.А. (ES)

(72) Изобретатель:
Эрнандес Наварро Серджи, Сегура Техедор Джорди (ES)

(74) Представитель:
Махлина М.Г. (RU)

(57) Изобретение относится к косметической композиции для осветления кожи, содержащей комбинацию склареолида, койевой кислоты и аскорбилглюкозида, причем койевая кислота инкапсулирована в нацеливаемую микрокапсулу или нанокапсулу, содержащую пептид-агонист рецептора меланокортина 1 (MC1R), связанный с поверхностью. Обнаружено, что такая комбинация активных веществ обеспечивает синергетический эффект отбеливания кожи. Настоящее изобретение также относится к косметическому применению этой композиции для отбеливания кожи, в частности для устранения или уменьшения гиперпигментированных отметин на коже, таких как отметины, связанные с воздействием УФ-излучения, отметины после рубцов, отметины после воспаления, отметины от меланодермии, отметины от лентиго или возрастные пигментные отметины.

202290805 A1

202290805 A1

КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ ОСВЕТЛЕНИЯ КОЖИ

Область техники

Настоящее изобретение относится к косметической композиции, подходящей для осветления кожи, в частности, для удаления темных пятен и отметин с кожи.

Уровень техники

Меланин представляет собой темный пигмент, который отвечает за цвет кожи и синтезируется в меланоцитах — типе клеток эпидермиса. В частности, меланогенез происходит в меланосомах, которые представляют собой везикулы внутри меланоцитов. Ключевым ферментом меланогенеза является тирозиназа, гликопротеин, расположенный в мембране меланосом, который катализирует две стадии синтеза меланина из L-тирозина. Двумя другими ферментами, участвующими в меланогенезе, являются родственный тирозиназе белок 1 (Tyrp1) и родственный тирозиназе белок 2 (Tyrp2). Вырабатываются два типа меланина: коричневато-черный эумеланин и красновато-желтый феомеланин.

Меланогенез представляет собой сложный процесс, который регулируется серией многоступенчатых каскадов передачи сигнала и находится под влиянием множества внешних и внутренних факторов.

Так, например, воздействие УФ-излучения индуцирует активацию p53, что, в свою очередь, вызывает повышенную экспрессию ПОМК (проопиомеланокортина), который затем расщепляется на небольшие пептиды, такие как АКТГ (адренокортикотропный гормон), α-, β- и γ-МСГ (меланоцитостимулирующий гормон). АКТГ и α-МСГ стимулируют рецептор меланокортина-1 (MC1R) на меланоцитах, что приводит к увеличению продукции меланина. Кроме того, УФ-излучение усиливает выработку активных форм кислорода (АФК) в кератиноцитах и меланоцитах, а высокая концентрация АФК вызывает повреждение ДНК, дополнительно активируя p53 и тем самым запуская меланогенез.

Синтез меланина также регулируется транскрипционным фактором, ассоциированным с микрофтальмией (MITF), который регулирует ключевые меланогенные ферменты тирозиназы, Tyrp1 и Tyrp2, а его активность регулируется рядом сигнальных путей, например, cAMP, ERK/MAPK и NO/cGMP.

В результате этого сложного процесса синтез меланина может быть активирован различными раздражителями, например, солнечным излучением, воспалением, акне,

стрессом, гормональными изменениями, загрязнением окружающей среды или воспалительными процессами, среди прочего. Пигментация, возникающая как последствие кожного воспаления, обычно известна как поствоспалительная гиперпигментация (PI).

Меланин, образующийся в меланоцитах, переносится на соседние кератиноциты, поэтому пигмент становится видимым на поверхности эпидермиса и постепенно темнеет из-за фотоокисления.

Хотя меланин играет ключевую роль в защите кожи от вредного ультрафиолетового (УФ) излучения, аномально высокая выработка и накопление меланина в коже могут привести к гиперпигментации. Хотя это обычно безвредно, гиперпигментация кожи, особенно на лице, такая как меланодермия, солнечные лентиго и веснушки, обычно считается неприглядной. Таким образом, забота о внешнем виде кожи стимулировала исследования косметических продуктов для отбеливания кожи, которые способны уменьшить пигментацию кожи. Эти продукты обычно используются для устранения различных видов пигментных пятен на коже или для осветления естественно темного цвета кожи или для предотвращения пигментации кожи.

Механизмы, участвующие в пигментации кожи, и основные доступные средства для отбеливания кожи раскрыты, например, в Gillbro *et al., The melanogenesis and mechanisms of skin-lightening agents – existing and new approaches,* Int. J. Cosm. Sci., 2011, 33, 210-221 или в Kumari *et al., Melanogenesis inhibitors,* Acta Derm. Venereol., 2018, 98, 924–931.

Наиболее распространенный подход к отбеливанию и депигментации кожи заключается в снижении выработки меланина посредством ингибирования тирозиназы. Среди известных ингибиторов тирозиназы, подходящих для осветления кожи, находятся, например, гидрохинон и его производные арбутин и дезоксиарбутин, которые демонстрируют ингибирование меланогенеза, хотя их применение может вызывать цитотоксичность в отношении меланоцитов. Койевая кислота, которая является природным метаболитом грибов, полученным из нескольких видов грибов, таких как *Aspergillus*, *Acetobacter* и *Penicillium*, успешно используется для лечения меланодермии, хотя она может вызывать несколько побочных эффектов, таких как контактный дерматит, сенсибилизация и эритема. Азелаиновая кислота (нонандиовая кислота) является еще одним ингибитором тирозиназы, также широко используемым в качестве депигментирующего средства. Также сообщалось, что полифенолы, такие как ресвератрол,

или изофлавоны, такие как глабридин, обладают эффектом осветления кожи за счет ингибирования тирозиназы.

Другой подход, используемый для осветления кожи, заключается в ингибировании переноса зрелых меланосом, содержащих меланин, в кератиноциты. Некоторые вещества, осветляющие кожу, которые, как считается, действуют посредством этого механизма, представляют собой ингибиторы активируемого протеазой рецептора 2 (PAR-2), такие как соевое молоко и экстракты соевых бобов, а также ниацинамид.

Антиоксиданты также широко используются для осветления кожи, поскольку они могут нейтрализовать активные формы кислорода (АФК) в коже (которые активируют меланогенез), а также могут уменьшить прямое фотоокисление ранее существовавшего меланина. Среди антиоксидантов, обычно используемых в качестве средств для осветления кожи, можно назвать витамин Е, витамин В, витамин С и производные аскорбиновой кислоты, такие как, например, аскорбилфосфат магния, аскорбилпальмитат и аскорбилглюкозид.

В международной патентной заявке WO-A-2014/170239 описано использование склареолида в качестве осветляющего кожу вещества, которое представляет собой встречающееся в природе вещество, содержащееся, например, в *Salvia sclarea L.* Механизм, участвующий в осветляющем кожу эффекте склареолида, связан с его противовоспалительной активностью в качестве ингибитора биосинтеза интерлейкина 1 (ИЛ-1) альфа, путем ингибирования поствоспалительной гиперпигментации. Кроме того, было обнаружено, что комбинация склареолида с ингибитором тирозиназы фенилэтилрезорцином обеспечивает синергетическое ингибирование меланина *in vitro*.

С другой стороны, в патентной заявке WO-A-2008/155048 раскрыта комбинация склареолида и гесперидинметилхалкона (ГМХ) для эффекта загара кожи, затемнения волос и усиления синтеза меланина.

Несмотря на вещества и композиции для осветления кожи, описанные до сих пор в предшествующем уровне техники, все еще существует потребность в улучшенных продуктах, которые обеспечивают безопасную и эффективную депигментацию кожи. В частности, для получения более безопасных композиций, лишенных нежелательных побочных и токсических эффектов, было бы желательно разработать улучшенные комбинации осветляющих кожу косметических средств, обладающих сильным антимеланогенным синергетическим эффектом, для достижения улучшенного эффекта депигментации с использованием уменьшенных количеств активных ингредиентов.

Задача изобретения

Задачей настоящего изобретения является осветляющая кожу композиция.

Другим аспектом настоящего изобретения является нетерапевтическое косметическое применение указанной композиции для отбеливания кожи.

Описание чертежей

На Фигуре 1 показан график, который представляет результаты анализа депигментации *in vitro* из примера 5 с использованием модели RHPE («Реконструированный пигментированный эпидермис человека»), где несколько композиций наносили местно один раз в день в течение 5 дней подряд на культивированные пигментированные кератиноциты (полученные культивированием нормальных кератиноцитов человека в присутствии меланоцитов) и измеряли содержание меланина до и после лечения: по оси ординат показано изменение содержания меланина (в мкг) после периода обработки, а по оси абсцисс показаны различные проанализированные композиции (1 - койевая кислота, 2 - аскорбилглюкозид, 3 - склареолид, 4 - койевая кислота и аскорбилглюкозид, 5 - койевая кислота и склареолид и 6 - койевая кислота, аскорбилглюкозид и склареолид). Темно-серые столбцы показывают результаты, полученные экспериментально. Для комбинированных композиций светло-серые столбцы показывают теоретические результаты, которые можно было бы ожидать при простом аддитивном эффекте компонентов комбинации.

На Фигуре 2 показан график, который представляет результаты анализа депигментации *in vitro* из примера 7 с использованием той же модели RHPE *in vitro* («реконструированный пигментированный эпидермис человека») для оценки влияния на депигментирующую эффективность композиций, инкапсулирующих склареолид в липосомах. Были испытаны четыре различные композиции (1-4), содержащие инкапсулированную койевую кислоту (0,00006% масс./масс. койевой кислоты), аскорбилглюкозид (2% масс./масс.), изомерат сахарида (0,0049% масс./масс.) и склареолид: композиция 1 содержала 0,2% (масс./масс.) неинкапсулированного склареолида, тогда как композиции 2, 3 и 4 содержали инкапсулированный в липосомы склареолид, содержащий 0,2% (масс./масс.), 0,09% (масс./масс.) и 0,03% (масс./масс.) склареолида, соответственно. Композиция 0 была контрольной (на модели RHPE продукт

не наносили). Ось Y показывает изменение содержания меланина (в %) после 5-дневного периода лечения, а ось X показывает различные анализируемые композиции.

Фигура 3 представляет результаты теста на жизнеспособность клеток для композиций, исследованных в примере 7 (контрольная композиция 0 и композиции 1-4). Жизнеспособность клеток выражена в % (ось ординат) относительно жизнеспособности клеток контрольной композиции, которую принимают за 100%.

Подробное описание изобретения

Задачей настоящего изобретения является осветляющая кожу композиция, содержащая:

(a) склареолид;

(b) койевую кислоту; и

(c) аскорбилглюкозид;

где койевая кислота инкапсулирована в микрокапсулу или нанокапсулу, содержащую пептид формулы (I):

R_2-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-DPhe-Arg-(AA)-Gly-Lys-DPro-Val-R_1 (I)

причем:

- R_1 представляет собой радикал -NH-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2CH_2O)_n$-$(CH_2)_3$-NH_2, где n представляет собой целое число от 1 до 10;
- R_2 выбран из (C_{1-24} алкил)-CO-, (C_{2-24} алкенил)-CO- и (C_{6-10} арил)-CO-; и
- AA представляет собой аминокислоту, содержащую ароматическую группу;

и их косметически приемлемые соли и сольваты,

при этом пептид связан с внешней поверхностью микрокапсулы или нанокапсулы.

Авторы настоящего изобретения разработали косметическую композицию, содержащую комбинацию склареолида, койевой кислоты и аскорбилглюкозида, которая неожиданно обеспечивает усиленный синергетический отбеливающий эффект, что позволяет приготовить эффективные композиции для осветления кожи с уменьшенным количеством отбеливающих активных веществ, таким образом, сводя к минимуму риск любого неблагоприятного воздействия.

В настоящем описании, а также в формуле изобретения выражения в единственном числе, которые обычно выражены в определенной и неопределенной форме, предназначены также для включения форм множественного числа, если контекст явно не указывает на иное. Все проценты выражены по массе, если специально не указано иное.

Предполагается, что числовые значения, которым предшествует термин «примерно», также включают определенное отклонение от такого значения, а именно отклонение или ±5% от указанного количества. Предполагается, что числовые диапазоны, определяемые нижними и верхними конечными точками, включают также указанные заявленные конечные точки, и они также включают любой более узкий поддиапазон.

Косметическое активное вещество или косметический активный ингредиент представляет собой любое вещество, предназначенное для нанесения на поверхность тела, в частности на кожу, волосы или ногти, для обеспечения косметического эффекта. Косметический эффект относится к украшению и/или улучшению ощущений или сенсорных аспектов нормальной, здоровой кожи, волос или ногтей. Сухая кожа будет включена в эту категорию. Косметические эффекты не связаны с каким-либо терапевтическим эффектом, т. е. косметика не предназначена для предотвращения или облегчения какого-либо заболевания.

Косметический эффект представляет собой, например, отбеливание кожи. Термины «отбеливание», «осветление» или «депигментация» используются в настоящем документе взаимозаменяемо и относятся к процессу осветления гиперпигментированной кожи, как правило, для устранения или уменьшения темных пятен, дефектов или отметин на коже, включая возрастные пигментные пятна, отметины после акне, неровный тон кожи, поствоспалительную гиперпигментацию или пятна от меланодермии и лентиго, например. В настоящем описании термины «пятна», «отметины» и «дефекты» считаются эквивалентными и используются взаимозаменяемо.

Койевая кислота

Койевая кислота является натуральным продуктом, продуцируемым несколькими видами грибов рода *Aspergillus* и *Penicillum*, в том числе *A. oryzae*, *A. flavus, A. tamarii и A. parasiticus*, и имеет химическое обозначение 5-гидрокси-2-(гидроксиметил)-4H-пиран-4-он (номер CAS 501-30-4).

Койевая кислота может быть получена путем ферментации с использованием подходящих штаммов *Aspergillus*, продуцирующих койевую кислоту, и с использованием различных источников углерода и азота, как описано, например, в Mohamad *et al., Kojic acid: applications and development of fermentation process for production,* Biotechnol. Mol. Biol. Rev., 2010, 5(2), 24-37. Койевая кислота является коммерчески доступной из

нескольких источников, например, Sigma-Aldrich, Spec-Chem Industry Inc, или Cosphatech LLC.

Койевая кислота является хорошо известным ингибитором тирозиназы, используемым в косметических композициях в качестве средства для осветления кожи. Койевую кислоту используют в косметических композициях для местного применения в концентрациях, которые могут различаться в зависимости от типа композиции, предполагаемого применения, а также в зависимости от правил конкретных стран; например, содержание койевой кислоты обычно варьируется от 0,1% до 2% в композициях для отбеливания кожи, продаваемых в США, или от 0,1% до 30% в композициях, продаваемых в Канаде (Brunett *et al., Final report of the safety assessment of kojic acid as used in cosmetics,* Int. J. Toxicol., 2010, 29 (Suppl. 4), 244S-273S).

В композициях согласно настоящему изобретению койевую кислоту применяют в форме нацеливаемых микрокапсул или нанокапсул, то есть капсул, содержащих на поверхности пептид-агонист рецептора меланокортина 1 (MC1R), который избирательно связывается с рецепторами меланокортина 1 (MC1R) на меланоцитах, таким образом, указанные капсулы транспортируют и доставляют койевую кислоту конкретно к меланоцитам, что позволяет уменьшить количество койевой кислоты, необходимое для эффективного эффекта отбеливания кожи. Кроме того, синергетический эффект, обнаруженный для конкретной комбинации койевой кислоты, склареолида и аскорбилглюкозида, также позволяет дополнительно снизить количество койевой кислоты в композиции.

Следовательно, содержание койевой кислоты в композиции согласно настоящему изобретению обычно находится в диапазоне 0,0001%-0,1% (масс./масс.), предпочтительно в диапазоне 0,0001%-0,01% (масс./масс.), более предпочтительно в диапазоне 0,0001%-0,001% (масс./масс.), еще более предпочтительно в диапазоне 0,0003%-0,0009% (масс./масс.), еще более предпочтительно в диапазоне 0,0004%-0,0008% (масс./масс.) и еще более предпочтительно в диапазоне 0,0005% - 0,0007% (масс./масс.).

Или, другими словами, содержание койевой кислоты в композиции согласно настоящему изобретению обычно находится в диапазоне от 1 ppm до 1000 ppm, предпочтительно в диапазоне от 1 ppm до 100 ppm, более предпочтительно в диапазоне от 1 ppm до 10 ppm, еще более предпочтительно в диапазоне от 3 ppm до 9 ppm, еще более предпочтительно в диапазоне от 4 ppm до 8 ppm и еще более предпочтительно в диапазоне от 5 ppm до 7 ppm.

Инкапсулированная койевая кислота

В композиции согласно настоящему изобретению койевая кислота инкапсулирована в микрокапсулу или нанокапсулу. Эти микрокапсулы или нанокапсулы имеют присоединенный к своей внешней поверхности пептид формулы (I), который является агонистом рецептора меланокортина 1 (MC1R), и, таким образом, предназначены для целевой доставки инкапсулированных активных веществ к меланоцитам. Указанные используемые нацеливаемые капсулы раскрыты в патентной заявке WO-A-2015/075116.

Микрокапсулы или нанокапсулы, которые также обычно называются в настоящем документе «капсулами», обычно имеют распределение по размерам от 10 нм до 10000 нм, предпочтительно от 50 нм до 5000 нм, более предпочтительно от 100 нм до 1000 нм, еще более предпочтительно от 150 нм до 450 нм и еще более предпочтительно от 180 нм до 400 нм, как описано в WO-A-2015/075116 *op. cit.* Размер микрокапсул можно определить с помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ).

Микрокапсулы предпочтительно являются полимерными, как правило, образованы одним или более биоразлагаемыми полимерами.

В одном варианте осуществления полимеры, образующие капсулы, выбраны из группы, состоящей из поли(D,L-лактид-ко-гликолид), полимолочных кислот, поли(пропиленфумарат-ко-этиленгликоль) [P(PF-co-EG)] блок-сополимера, полиангидрида поли(фумаровый-ко-себациновый) ангидрида, поли(этиленоксид)-поли(лактид/гликолид), поливинилового спирта, альгината, декстрана, хитозана, гидроксиапатита, коллагена, фибрина, гиалуроновой кислоты, карбомеров, полиэтиленгликоля и их смесей.

Необходимо, чтобы по меньшей мере один из образующих капсулу полимеров имел карбоксильные группы для связывания пептида формулы (I) путем сочетания указанных карбоксильных групп с концевыми аминогруппами в R_1.

В одном варианте осуществления микрокапсулы представляют собой двухслойные полимерные микрокапсулы, которые содержат полимер сердцевины (или «полимер внутреннего слоя») и полимер внешней оболочки (или «полимер внешнего слоя»).

Полимеры сердцевины и полимеры внешней оболочки предпочтительно выбраны из группы, состоящей из поли(D,L-лактид-ко-гликолид), полимолочных кислот, поли(пропиленфумарат-ко-этиленгликоль) [P(PF-co-EG)] блок-сополимера, полиангидрида поли(фумаровый-ко-себациновый) ангидрида, поли(этиленоксид)-поли(лактид/гликолид),

поливинилового спирта, альгината, декстрана, хитозана, гидроксиапатита, коллагена, фибрина, гиалуроновой кислоты, карбомеров, полиэтиленгликоля и их смесей.

В предпочтительном варианте осуществления полимер сердцевины и полимер внешней оболочки являются разными. В более предпочтительном варианте осуществления полимером сердцевины является поли(D,L-лактид-ко-гликолид) (PLGA), а полимером внешней оболочки является поливиниловый спирт (ПВС). В более предпочтительном варианте осуществления PLGA имеет молярное соотношение лактид/ гликолид от 40:60 до 60:40, более предпочтительно 50:50.

Получение указанных микрокапсул или нанокапсул раскрыто в WO-A-2015/075116 и обычно включает смесь косметического активного ингредиента и полимера(ов), образующих капсулу, в подходящем растворителе.

Когда капсулы представляют собой двухслойные микрокапсулы или нанокапсулы, способ получения обычно включает:

a) смешивание полимера внутреннего слоя с койевой кислотой в подходящем растворителе, где растворитель представляет собой, например, ацетон, ацетонитрил, дихлорметан (ДХМ), этанол, метанол, хлороформ, диметилформамид (ДМФА) или этилацетат;
b) эмульгирование смеси, полученной на стадии a), с полимером внешнего слоя в подходящем растворителе, где растворителем является, например, вода, ацетонитрил, дихлорметан (ДХМ), этанол, метанол, хлороформ, диметилформамид (ДМФА), диметилсульфид (ДМСО) или этилацетат, предпочтительно растворитель выбран из воды, этанола, метанола, диметилформамида и диметилсульфида, и более предпочтительно растворитель представляет собой воду; и необязательно
c) выделение капсул.

Следующей стадией получения нацеливаемых капсул согласно изобретению является сочетание пептида формулы (I), который придает сродство к меланоцитам, с внешней поверхностью микрокапсулы или нанокапсулы. Эта стадия может быть выполнена до или после образования капсулы, предпочтительно после образования капсулы.

Эту стадию сочетания осуществляют путем сочетания карбоксильных групп, присутствующих на поверхности капсул, и концевой аминогруппы пептида с образованием амидной связи.

Указанные карбоксильные группы, присутствующие на поверхности капсул, могут принадлежать либо полимеру внешней оболочки, либо полимеру внутренней оболочки, но все же присутствовать на наружной поверхности микрокапсулы или нанокапсулы. В предпочтительном варианте осуществления ковалентная связь представляет собой амидную связь между концевой аминогруппой пептида (в группе R_1) и карбоксильной группой полимера PLGA, присутствующей на наружной поверхности. Предпочтительно полимер внешней оболочки представляет собой поливиниловый спирт.

Предпочтительно для проведения реакции сочетания предварительно активируют карбоксильные группы на поверхности капсул.

Пептид формулы (I) представляет собой следующий:

R_2-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-DPhe-Arg-(AA)-Gly-Lys-DPro-Val-R_1 (I)

причем:

- R_1 представляет собой радикал -NH-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2CH_2O)_n$-$(CH_2)_3$-NH_2, где n представляет собой целое число от 1 до 10;
- R_2 выбран из (C_{1-24} алкил)-CO-, (C_{2-24} алкенил)-CO- и (C_{6-10} арил)-CO-; и
- AA представляет собой аминокислоту, содержащую ароматическую группу;

и их косметически приемлемые соли и сольваты.

В приведенной выше пептидной последовательности аминокислоты, упомянутые без указания их стереохимии (Ser, Tyr, Nle, Glu, His, Arg, Gly, Lys и Val), включают как стереоизомеры D, так и L, в то время как DPhe и DPro обозначают в частности, D-стереоизомеры фенилаланина и пролина соответственно.

В одном варианте осуществления изобретения аминокислоты Ser, Tyr, Nle, Glu, His, Arg, Gly, Lys и Val в приведенной выше последовательности обозначают конкретно только L-стереоизомеры.

R_1 представляет собой радикал -NH-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2CH_2O)_n$-$(CH_2)_3$-NH_2, где n представляет собой целое число от 1 до 10; предпочтительно n представляет собой целое число от 1 до 3; и более предпочтительно представляет собой 1 или 2. В одном варианте осуществления n составляет 1, а R_1 происходит из бис(3-аминопропилового) эфира этиленгликоля (CAS 2997-01-5). В другом варианте осуществления n составляет 2, и R_1 происходит из бис(3-аминопропилового) эфира диэтиленгликоля, также называемого 4,7,10-триокса-1,13-тридекандиамином (CAS 4246-51-9).

Термин «$C_{1-н}$ алкил» означает линейную или разветвленную алкильную группу, содержащую от 1 до n атомов углерода. Термин $C_{2-н}$ алкенил означает углеводородный

радикал с линейной или разветвленной цепью, имеющий одну или более углерод-углеродных двойных связей и содержащий от 2 до n атомов углерода. Термин C_{6-10} арил означает моно- или бициклическую ароматическую группу, имеющую от 6 до 10 атомов углерода в кольце, такую как фенил, нафтил или инденил. Арильная группа C_{6-10} может быть необязательно замещена одним или более заместителями, такими как гидрокси, меркапто, галоген, алкил, фенил, алкокси, галогеналкил, нитро, циано, диалкиламино, аминоалкил, ацил, алкоксикарбонил и т.д.

В пептиде формулы (I) R_2 выбран из (C_{1-24} алкил)-CO-, (C_{2-24} алкенил)-CO- и (C_{6-10} арил)-CO-, предпочтительно R_2 представляет собой (C_{1-24} алкил)-CO-, более предпочтительно R_2 представляет собой (C_{1-16} алкил)-CO-, еще более предпочтительно R_2 выбран из ацетила, пропаноила, пентадеканоила, гексадеканоила и гептадеканоила, и еще более предпочтительно R_2 представляет собой гексадеканоил (также называемый пальмитоилом).

В пептиде формулы (I) AA представляет собой аминокислоту, содержащую ароматическую группу. Такая аминокислота может представлять собой природную аминокислоту или синтетическую аминокислоту. В одном варианте осуществления AA выбрана из триптофана, 3-(2-нафтил)-D-аланина, 3-амино-3-(1-нафтил)-пропионовой кислоты, 3-амино-3-(бифенил)-пропионовой кислоты, фенилаланина, тирозина, гистидина, 5-гидрокситриптофана и L-3,4-дигидроксифенилаланина, предпочтительно AA выбрана из триптофана, фенилаланина, тирозина и L-3,4-дигидроксифенилаланина, более предпочтительно AA представляет собой триптофан, и еще более предпочтительно L-триптофан.

Косметически приемлемые соли и сольваты пептида формулы (I) также можно применять для получения микрокапсул или нанокапсул композиций согласно настоящему изобретению. Термин «косметически приемлемый» означает те соли или сольваты, которые обычно признают безопасными и подходящими для их применения на животных и, более конкретно, на человеке. Фармацевтически приемлемые соли включают соли присоединения, такие как соли присоединения оснований, например соли металлов (таких как литий, натрий, калий и т.д.), органических аминов (таких как этиламин, диэтиламин, этилендиамин и т.д.) или основных аминокислот (таких как аргинин, лизин или гистидин), или соли присоединения кислоты, например, с органическими кислотами (такими как ацетатные, цитратные, лактатные или тартратные соли, среди прочих), или с неорганическими кислотами (такими как хлоридные, сульфатные, боратные или

карбонатные соли, среди прочих). Косметически приемлемые соли пептида формулы (I) могут быть получены обычными способами, хорошо известными из уровня техники. Косметически приемлемые сольваты включают, например, гидратированные формы.

В одном варианте осуществления койевая кислота инкапсулирована в микрокапсулу или нанокапсулу, содержащую пептид формулы (I):

R_2-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-DPhe-Arg-(AA)-Gly-Lys-DPro-Val-R_1 (I)

причем:

- Аминокислоты Ser, Tyr, Nle, Glu, His, Arg, Gly, Lys, Val и AA могут находиться в L- или D-форме, предпочтительно все они находятся в L-форме;
- R_1 представляет собой радикал $-NH-(CH_2)_3-O-(CH_2CH_2O)_n-(CH_2)_3-NH_2$, где n представляет собой целое число от 1 до 10, предпочтительно от 1 до 3, более предпочтительно составляет 1 или 2;
- R_2 выбран из (C_{1-24} алкил)-CO-, (C_{2-24} алкенил)-CO- и (C_{6-10} арил)-CO-, предпочтительно R_2 представляет собой (C_{1-24} алкил)-CO-, более предпочтительно R_2 представляет собой (C_{1-16} алкил)-CO-, еще более предпочтительно R_2 выбран из ацетила, пропаноила, пентадеканоила, гексадеканоила и гептадеканоила, и еще более предпочтительно R_2 представляет собой гексадеканоил;
- AA представляет собой аминокислоту, содержащую ароматическую группу, предпочтительно выбранную из триптофана, 3-(2-нафтил)-D-аланина, 3-амино-3-(1-нафтил)-пропионовой кислоты, 3-амино-3-(бифенил)-пропионовой кислоты, фенилаланина, тирозина, гистидина, 5-гидрокситриптофана и L-3,4-дигидроксифенилаланина, предпочтительно выбранную из триптофана, фенилаланина, тирозина и L-3,4-дигидроксифенилаланина, более предпочтительно AA представляет собой триптофан, и еще более предпочтительно L-триптофан;

и их косметически приемлемые соли и сольваты,

при этом пептид связан с внешней поверхностью микрокапсулы или нанокапсулы.

Склареолид

Склареолид (номер CAS 564-20-5) представляет собой встречающееся в природе вещество, содержащееся в нескольких растительных источниках, например, в *Salvia sclarea L.*

Он также известен как норамбреинолид; или под химическим названием нафто[2,1-b]фуран-2(1*H*)-он, декагидро-3a,6,6,9a-тетраметил, [3aR-(3aα,5aβ,9aα,9bβ]; или как

(*3aR,5aS,9aS,9bR*)-*3a,6,6,9a*-тетраметил-*1,4,5,5a,7,8,9,9b*-октагидробензо[e][1]бензофуран-2-он (ИЮПАК).

Склареолид можно получить путем экстракции из некоторых видов рода Salvia или его можно получить синтетическим путем в виде практически чистого склареолида.

Склареолид коммерчески доступен из нескольких источников, например, от компании Symrise.

Механизм, участвующий в осветляющем кожу эффекте склареолида, связан с его противовоспалительной активностью в качестве ингибитора биосинтеза интерлейкина 1 (ИЛ-1) альфа, путем ингибирования поствоспалительной гиперпигментации, как описано в международной заявке на патент WO-A-2014/170239.

Количество склареолида в композиции согласно настоящему изобретению обычно составляет в диапазоне 0,001%-5% (масс./масс.), предпочтительно составляет в диапазоне 0,01%-2,5% (масс./масс.), более предпочтительно составляет в диапазоне 0,05%-1% (масс./масс.), еще более предпочтительно составляет в диапазоне 0,1%-0,5% (масс./масс.) и еще более предпочтительно составляет примерно 0,2% (масс./масс.).

Необязательно, склареолид может быть инкапсулирован в форме липосом. Липосомы обычно используют в косметических составах для улучшения проникновения активных веществ через кожу. Как хорошо известно в данной области техники, липосомы представляют собой сферические везикулы с размерами, как правило, в диапазоне от примерно 60 нм до 300 нм и чаще всего состоят из фосфолипидов, которые образуют по меньшей мере один фосфолипидный бислой, но могут также включать и другие липиды. Липосомы содержат гидрофильные ядра, в которых могут быть инкапсулированы гидрофильные активные вещества, в то время как гидрофобные активные вещества включены в бислой, поэтому липосомы являются подходящими носителями как для гидрофильных, так и для липофильных активных веществ (Knoth *et al., Nanocarrier-Based Formulations: Production and Cosmeceutic Applications,* in: *Cosmetic Formulation. Principles and Practice,* Benson H.A.E., Roberts M.S., Rodrigues Leite-Silva V. and Walters K.A., editors, CRC Press, 2019). Липосомы могут быть получены хорошо известными способами; в общем, способы получения включают смешивание мембранообразующих липидов в органической фазе, сушку, последующую гидратацию липидов и дальнейшее уменьшение размера с помощью различной механической обработки, такой как обработка ультразвуком, экструзия или гомогенизация.

Склареолид, который является гидрофобным активным веществом, удобно добавлять в форме липосом к составам на водной основе, таким как эмульсии масло/вода.

Кроме того, неожиданно было обнаружено, что композиции согласно настоящему изобретению показали улучшенную жизнеспособность клеток и эффективность депигментации в модели *in vitro* для оценки меланогенеза (RHPE: реконструированный пигментированный эпидермис человека), когда склареолид находился в форме липосом (см. пример 7). Было обнаружено, что с помощью липосом можно уменьшить количество склареолида в составе для достижения эквивалентного депигментирующего эффекта.

Поэтому в одном варианте осуществления изобретения склареолид инкапсулирован в форме липосом. Предпочтительно количество склареолида в композиции, когда склареолид находится в форме липосом, составляет в диапазоне 0,01%-2,5% (масс./масс.), более предпочтительно составляет в диапазоне 0,01%-0,5% (масс./масс.), еще более предпочтительно составляет в диапазоне 0,03%-0,2% (масс./масс.) и еще более предпочтительно составляет примерно 0,1% (масс./масс.).

Аскорбилглюкозид

Аскорбилглюкозид, также известный как 2-глюкозид L-аскорбиновой кислоты (CAS 129499-78-1), представляет собой производное витамина С (L-аскорбиновой кислоты), в котором С2-гидроксильная группа L-аскорбиновой кислоты связана с молекулой глюкозы. После проникновения в кожу аскорбилглюкозид расщепляется на L-аскорбиновую кислоту и глюкозу ферментом альфа-глюкозидазой, постепенно доставляя в кожу витамин С.

Аскорбилглюкозид широко доступен от нескольких поставщиков, например, от компаний DKSH, Spec-Chem Industry Inc или Cosphatech LLC.

Аскорбилглюкозид применяют в композициях для осветления кожи. Его отбеливающий эффект связан с антиоксидантными свойствами витамина С, поэтому он способен нейтрализовать активные формы кислорода (АФК) в коже (которые активируют меланогенез), а также может уменьшить прямое фотоокисление ранее существовавшего меланина.

Количество аскорбилглюкозида в косметической композиции согласно настоящему изобретению обычно составляет 0,01%-10% (масс./масс.), предпочтительно составляет 0,1%-8% (масс./масс.), более предпочтительно составляет 0,5%-5% (масс./масс.), еще более предпочтительно составляет 1%-3% (масс./масс.) и еще более предпочтительно составляет примерно 2% (масс./масс.).

Композиции согласно настоящему изобретению

Дополнительные активные ингредиенты

В одном варианте осуществления композиция согласно настоящему изобретению не содержит какого-либо дополнительного отбеливающего кожу активного вещества и по существу состоит из койевой кислоты, склареолида и аскорбилглюкозида. Термин «по существу состоит» означает, что композиция необязательно содержит носитель(и) состава и дополнительные добавки состава, но не содержит дополнительных отбеливающих кожу косметически активных веществ.

В другом варианте осуществления композиция согласно настоящему изобретению содержит дополнительные отбеливающие кожу активные ингредиенты.

Любое известное отбеливающее кожу активное вещество, описанное в уровне техники, природного или синтетического происхождения и действующее посредством любого отбеливающего механизма, может быть подходящим для включения в композицию в качестве дополнительного отбеливающего кожу средства. Среди раскрытых механизмов осветления кожи среди прочих можно назвать ингибирование тирозиназы, ингибирование MITF, ингибирование переноса меланина в кератиноциты или антиоксидантные механизмы.

Например, можно применять отбеливающие кожу вещества, описанные в следующих обзорных статьях: Gillbro *et al. op. cit.*; Kumari *et al. op. cit.*; или Zolghadri *et al., A comprehensive review on tyrosinase inhibitors,* J. Enzyme Inhib. Med. Chem., 2019, 34 (1), 279-309.

Среди веществ с ингибирующей тирозиназу активностью, как хорошо известно специалистам в данной области техники, находятся фенольные соединения, такие как гидрохинон, арбутин, дезоксиарбутин, 4-(6-гидрокси-2-нафтил)-1,3-бензолдиол, резорцин, 4-н-бутилрезорцин, ванилин и его производные, 10'(Z)-гептадеценилгидрохинон, изотахиозид и его гликозидные производные. Также некоторые производные флавоноидов, в основном содержащиеся в травяных растениях, фруктах и синтетических источниках, хорошо известны как мощные ингибиторы тирозиназы, принадлежащие к классам флавонов (таких как лютеолин, апигенин, байкалеин, хризин, апигетрин, витексин, байкалин, нобилетин, морузон или тангеретин, среди прочих), флавонолов (таких как мирицетин, кемпферол, кверцетин, морин, изорамнетин, галангин, рутин, кверцитрин или астрагалин, среди прочих), изофлавонов (таких как даидзеин, генистеин, глицитеин,

формононетин, генистин или даидзин, например, некоторые из них обычно получают из соевых бобов; или глабридин, выделенный из корня *Glycyrrhiza glabra*; среди прочих), флаванонов (таких как нарингенин, гесперетин, эриодиктиол, нарингин, гесперидин или ликвиритин, среди прочих), флаванонолов (таких как как таксифолин), флаванолов (катехин, эпикатехин, эпигаллокатехин, галлат пеикатехина, галлат эпигаллокатехина или проантоцианидины), антоцианидинов (цианидин, дельфинидин, мальвидин, пеонидин или пеларгонидин, среди прочих), куркуминоидов (например, куркумин или десметоксикуркумин), кумаринов, халконов (таких как изоликвиритигенин, глабрен, 2,4,2',4'-гидроксикалькон и др.) или ауронов (4,6,4'-тригидроксиаурон, среди прочих). Другие полифенолы с активностью ингибирования тирозиназы представляют собой, например, ресвератрол и оксиресвератрол. Другие вещества, принадлежащие к другим химическим классам, были раскрыты как ингибиторы тирозиназы, такие как некоторые терпены (например, бакучиол или некоторые производные карвакрола), хиноны (такие как алоин и алоэзин, содержащийся в *Aloe vera*, или таншинон), производные пиридина (например ((*S*)-(5-(бензилокси)-1-октил-4-оксо-1,4-дигидропиридин-2-ил)метил-2-амино-3-фенилпропаноат), ретиноиды (такие как адапален и третиноин, среди прочих), карбоновые кислоты (такие как азелаиновая кислота или коричная кислота, например), азолы или производные тиазолидина.

Некоторые из известных ингибиторов тирозиназы могут иметь синтетическое происхождение, в то время как большинство из них получают из растений, доступны в виде растительных экстрактов или продуцируются грибами или бактериями. В частности, в данной области техники известно огромное количество видов растений, содержащих вещества, ингибирующие тирозиназу.

Другим отбеливающим кожу активным веществом является сульфорафан, который можно найти, например, в брокколи и ростках брокколи, а также в экстрактах кресс-салата (*Lepidium sativum*, также принадлежащего к семейству *Brassicaceae*), который ингибирует меланогенез посредством механизма, включающего подавление экспрессии тирозиназы путем модулирования путей MAP-киназы (Shirasugi *et al., Suforaphane inhibited melanin synthesis by regulating tyrosinase gene expression in B16 mouse melanoma cells,* Biosci. Biotechnol. Biochem. 2010, 74 (3), 579-582). Кроме того, сульфорафан усиливает протеасомную активность, что может способствовать уменьшению накопления окисленных белков и, таким образом, ингибировать образование липофусцина, другого желто-коричневого пигмента, ответственного за возрастные пигментные пятна лентиго.

Другим отбеливающим кожу веществом, подходящим для применения в качестве дополнительного активного вещества в композициях согласно настоящему изобретению, является экстракт листьев вьетнамского дерева лангсат или дуку (*Lansium domesticum*). Эффект снижения синтеза меланина для этого экстракта связан с повышением экспрессии микроРНК сайленсера гена пигментации (miR-490-3p), которая ингибирует синтез фермента тирозиназы.

Другим подходящим отбеливающим веществом является экстракт морской лилии или морского нарцисса (*Pancratium maritimum*). Считается, что ингибирующее действие этого экстракта на синтез меланина может быть связано с его активностью в качестве ингибитора экспрессии ПОМК (проопиомеланокортина), который участвует в активации меланогенеза посредством продукции альфа-меланоцитостимулирующего гормона (α-МСГ).

Другим типом отбеливающих кожу веществ, подходящих в качестве дополнительных активных веществ в композиции согласно настоящему изобретению, являются вещества, механизм действия которых основан на ингибировании переноса зрелых меланосом, содержащих меланин, в кератиноциты, например, ингибиторы активируемого протеазой рецептора 2 (PAR-2), такие как соевое молоко и экстракты соевых бобов, или другие вещества, такие как ниацинамид или изомерат сахарида, среди прочего. Изомерат сахарида представляет собой морской экзополисахарид, секретируемый грамотрицательными морскими бактериями *Vibrio alginolyticus* (CNCM I-4994), содержащий две аминокислоты в своей структуре. Структура и процесс выделения изомерата сахарида обсуждаются в Drouillard *et al., Structure of an amino acid-decorated exopolysaccharide secreted by a Vibrio alginolyticus strain,* Mar. Drugs, 2015, 13, 6723-6739 и во французской патентной заявке FR-A-2975906.

В одном варианте осуществления композиция согласно настоящему изобретению также содержит изомерат сахарида в качестве дополнительного отбеливающего кожу активного вещества.

Было обнаружено, что композиции, содержащие дополнительно изомерат сахарида, особенно эффективны для отбеливания кожи, как было обнаружено в клиническом исследовании, раскрытом в примере 7.

Когда он присутствует в композиции, количество изомерата сахарида обычно составляет в диапазоне 0,00001%-2% (масс./масс.), предпочтительно в диапазоне

0,00001%-1% (масс./масс.), более предпочтительно в диапазоне 0,0001%-0,1% (масс./масс.) и еще более предпочтительно в диапазоне 0,001%-0,01% (масс./масс.).

В одном варианте осуществления композиция согласно настоящему изобретению по существу состоит из койевой кислоты, склареолида, аскорбилглюкозида и изомерата сахарида, включая предпочтительные количества и формы, как указано выше, и не содержит никакого дополнительного отбеливающего кожу активного вещества.

В одном варианте осуществления композиция согласно настоящему изобретению дополнительно содержит изофлавоны из соевых бобов, предпочтительно содержит генистеин.

Когда он присутствует в композиции, количество генистеина обычно составляет в диапазоне 0,00001%-2% (масс./масс.), предпочтительно в диапазоне 0,00001%-1% (масс./масс.), более предпочтительно в диапазоне 0,0001%-0,1% (масс./масс.) и еще более предпочтительно в диапазоне 0,001%-0,01% (масс./масс.).

В одном варианте осуществления композиция дополнительно содержит суфорафан, например, в виде экстракта *Lepidium sativum.*

Когда он присутствует в композиции, количество суфорафана обычно составляет в диапазоне 0,00001%-2% (масс./масс.), предпочтительно в диапазоне 0,00001%-1% (масс./масс.), более предпочтительно в диапазоне 0,0001%-0,1% (масс./масс.) и еще более предпочтительно в диапазоне 0,001%-0,01% (масс./масс.).

В одном варианте осуществления композиция согласно настоящему изобретению дополнительно содержит как генистеин, так и суфорафан. Эффект депигментации этих веществ в сочетании с синергическим эффектом депигментации, обеспечиваемым комбинацией склареолид-койевая кислота-аскорбилглюкозид, может быть особенно полезным против лентиго и возрастных пигментных пятен. Обычно количество генистеина составляет в диапазоне 0,00001%-2% (масс./масс.), предпочтительно в диапазоне 0,00001%-1% (масс./масс.), более предпочтительно в диапазоне 0,0001%-0,1% (масс./масс.), и еще более предпочтительно в диапазоне 0,001%-0,01% (масс./масс.); и количество сульфорафана составляет в диапазоне 0,00001%-2% (масс./масс.), предпочтительно в диапазоне 0,00001%-1% (масс./масс.), более предпочтительно в диапазоне 0,0001%-0,1% (масс./масс.), и еще более предпочтительно в диапазоне 0,001%-0,01% (масс./масс.). Необязательно, композиция также содержит изомерат сахарида, как правило, в количестве, находящемся в диапазоне 0,00001%-2% (масс./масс.), предпочтительно в диапазоне 0,00001%-1% (масс./масс.), более предпочтительно в

диапазоне 0,0001%-0,1% (масс./масс.) и еще более предпочтительно в диапазоне 0,001%-0,01% (масс./масс.).

В одном варианте осуществления композиция согласно настоящему изобретению дополнительно содержит экстракт *Pancratium maritimum*. Эффект депигментации этого вещества как ингибитора экспрессии ПОМК (проопиомеланокортин) в комбинации с синергетической депигментацией, обеспечиваемой комбинацией склареолид-койевая кислота-аскорбилглюкозид, может быть особенно полезным против пятен, вызванных воспалительными процессами.

Когда он присутствует в композиции, количество экстракта *Pancratium maritimum* обычно составляет в диапазоне 0,00001%-2% (масс./масс.), предпочтительно в диапазоне 0,00001%-1% (масс./масс.), более предпочтительно в диапазоне 0,0001%-0,1% (масс./масс.) и еще более предпочтительно в диапазоне 0,001%-0,01% (масс./масс.). Необязательно, композиция также содержит изомерат сахарида, как правило, в количестве, находящемся в диапазоне 0,00001%-2% (масс./масс.), предпочтительно в диапазоне 0,00001%-1% (масс./масс.), более предпочтительно в диапазоне 0,0001%-0,1% (масс./масс.) и еще более предпочтительно в диапазоне 0,001%-0,01% (масс./масс.).

В одном варианте осуществления композиция согласно настоящему изобретению дополнительно содержит экстракт листьев *Lansium domesticum* (лангсата). Композиция в соответствии с этим вариантом осуществления может быть особенно полезной против гиперпигментации при меланодермии благодаря дополнительному ингибированию синтеза меланина, обеспечиваемому экстрактом лангсата посредством miR-490-3p.

При наличии в композиции, количество экстракта листьев *Lansium domesticum* обычно составляет в диапазоне 0,0001%-5% (масс./масс.), предпочтительно в диапазоне 0,0005%-1% (масс./масс.), более предпочтительно в диапазоне 0,001%-0,5% (масс./масс.) и еще более предпочтительно в диапазоне 0,01%-0,1% (масс./масс.). Необязательно, композиция также содержит изомерат сахарида, как правило, в количестве, находящемся в диапазоне 0,00001%-2% (масс./масс.), предпочтительно в диапазоне 0,00001%-1% (масс./масс.), более предпочтительно в диапазоне 0,0001%-0,1% (масс./масс.) и еще более предпочтительно в диапазоне 0,001%-0,01% (масс./масс.).

Составы

Композиция согласно настоящему изобретению обычно содержит активные косметические ингредиенты и по меньшей мере один дерматологически приемлемый

носитель или наполнитель. Вещество считают «дерматологически приемлемым» или «косметически приемлемым», если оно пригодно и нетоксично для применения в контакте с тканями кожи человека.

Композиция согласно настоящему изобретению может быть, например, в форме крема, геля, лосьона, пасты, пены, раствора, суспензии, эмульсии, молочка или препарата в форме карандаша.

Подходящие носители могут быть, например, безводными, как смеси жиров, восков, животных и растительных масел и твердых и жидких углеводородов. Или носителем может быть вода или водный раствор гидрофильного вещества. Предпочтительно носитель находится в форме эмульсии. Эмульсии могут представлять собой, как правило, эмульсии масло в воде, эмульсии вода в масле, эмульсии вода в масле в воде, масло в воде в масле или вода в силиконе. Эмульсия обычно может быть описана как имеющая непрерывную водную фазу (масло в воде и вода в масле в воде) или непрерывную масляную фазу (вода в масле и масло в воде в масле). Масляная фаза может включать силиконовые масла, несиликоновые масла, такие как парафиновые углеводороды, жирные спирты, жирные кислоты, сложные эфиры жирных кислот, воски или растительные масла или их смеси. Водная фаза может содержать воду или водный раствор гидрофильных веществ, таких как полиолы, альфа-гидроксикислоты, аминокислоты, белковые гидролизаты, простые сахара и полисахариды.

Эмульгаторы, которые являются обычными компонентами эмульсий, представляют собой поверхностно-активные вещества (ПАВ) и включают неионогенные ПАВ, анионные ПАВ, катионные ПАВ и амфотерные ПАВ. Неионные ПАВ включают, помимо прочего, этоксилированные жирные спирты, этоксилированные сложные эфиры жирных кислот, алкилглюкозиды или алкилолигоглюкозиды, этоксилированные сложные эфиры сорбитана и жирных кислот, сложные эфиры моноглицерина/полиглицерина и жирных кислот, этоксилированные моноэфиры глицерина, этоксилированные сложные эфиры полиглицерила, оксиды алкилдиметиламина или полоксамеры, среди прочих. Анионные ПАВ включают щелочные мыла, алкилсульфаты, сульфаты алкиловых эфиров, алкилсульфосукцинаты, ацилсаркозинаты или ацилизетионаты, среди прочих. Катионные ПАВ включают соли четвертичного аммония или соли пиридина, среди прочих. Амфотерные ПАВ включают производные имидазолина, бетаины, амидобетаины и сульфобетаины.

Другими обычными ингредиентами в составе являются, например, смягчающие средства, увлажнители, консерванты, агенты, регулирующие вязкость, антиоксиданты, регуляторы pH, УФ-фильтры, хелатирующие агенты, отдушки и красители. Обычными смягчающими средствами являются, например, парафиновые углеводороды, силиконы, жирные спирты, жирные кислоты, сложные эфиры жирных кислот со спиртами, триглицериды, церамиды, фосфолипиды и воски. Увлажнители включают полигидроксиспирты, белки и гидроксикислоты. Обычные консерванты включают сорбиновую кислоту и ее соли, бензойную кислоту и ее соли, парабены, имидазолидинилмочевину, диазолидинилмочевину, ДМДМ гидантоин, гидроксиметилглицинат натрия, метилхлоризотиазолинон/метилизотиазолинон, бензиловый спирт и 2-феноксиэтанол, среди прочих. Другие добавки также можно добавлять для регулирования вязкости состава, например, ксантановую камедь, гелловую камедь, каррагинаны, пектин, производные крахмала, карбомеры, производные целлюлозы (например, гидроксиэтилцеллюлоза, гидроксипропилцеллюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза, метилцеллюлоза, этилцеллюлоза или карбоксиметилцеллюлоза), полиамиды, глутамиды, коллоидный диоксид кремния или воски (например, пчелиный воск или растительные воски), среди прочих.

Косметическая композиция согласно настоящему изобретению обычно имеет слегка кислый pH, близкий к физиологическому pH кожи. Обычными регуляторами кислотности являются органические кислоты, в том числе гидроксикислоты и жирные кислоты. Одними из наиболее распространенных регуляторов pH в косметических эмульсиях являются гидроксикислоты, такие как молочная и лимонная кислоты.

Вышеупомянутые ингредиенты, а также многие другие подходящие вспомогательные вещества косметических составов хорошо известны специалистам в области косметических составов. Такие косметические ингредиенты коммерчески доступны от нескольких компаний, таких как Comercial Química Massó, SA, Evonik, DuPont или Dow Corning, среди прочих.

Получение косметической композиции осуществляют в соответствии с процедурами, хорошо известными специалистам в области приготовления косметических составов, обычно включающими простые стадии смешивания и, необязательно, нагревания составляющих ингредиентов.

Описание основных косметических ингредиентов и процедур можно найти, например, в: *Cosmetic Formulation. Principles and Practice,* Benson H.A.E., Roberts M.S.,

Rodrigues Leite-Silva V. and Walters K.A., editors, CRC Press, 2019, или в аналогичных справочниках. Кроме того, регулируемые косметические вещества и ингредиенты раскрыты в базе данных Европейской комиссии «CosIng» (https://ec.europa.eu/growth/tools-databases/cosing).

Активный ингредиент койевой кислоты в настоящем изобретении находится в форме капсул, как описано выше. Другие активные ингредиенты, присутствующие в составе, также могут быть инкапсулированы, например, в форме липосом.

Применения

Как показано в примере 5, неожиданно было обнаружено, что снижение содержания меланина в реконструированном пигментированном эпидермисе человека, обработанном комбинацией склареолида, аскорбилгликозида и койевой кислоты, инкапсулированных в микрокапсулы или нанокапсулы, как определено в настоящем изобретении, имеющих пептид-агонист MC1R на их поверхности, значительно сильнее, чем можно было бы ожидать при простом аддитивном эффекте подавления меланина для эффектов каждого компонента, т.е. авторы настоящего изобретения обнаружили явный синергетический эффект между этими ингредиентами.

Следовательно, такая композиция особенно подходит для косметического применения в качестве средства для отбеливания кожи.

Кроме того, в клиническом исследовании, проведенном с участием 30 здоровых женщин с непатологическими дефектами на лице (см. пример 6), был сделан вывод, что композиция согласно настоящему изобретению является высокоэффективной для удаления пятен, а также является безопасной, поскольку не сообщалось о побочных эффектах.

Таким образом, другим аспектом настоящего изобретения является косметическое (нетерапевтическое) применение композиции согласно настоящему изобретению для отбеливания кожи.

Другим аспектом настоящего изобретения является способ отбеливания кожи, включающий стадии местного нанесения косметически эффективного количества композиции согласно настоящему изобретению на субъект, нуждающийся в этом.

Конкретные области применения, включенные в эффект отбеливания кожи, включают устранение или уменьшение гиперпигментированных отметин на коже (пятен, следов) или выравнивание неровного тона кожи. Уменьшение отметин может означать уменьшение количества отметин и/или уменьшение размера отметин и/или осветление

интенсивности цвета отметин. Упомянутые гиперпигментированные отметины могут быть, например, связаны с воздействием УФ-излучения, отметинами после рубцов, отметинами после воспаления, меланодермии, лентиго или возрастными пигментными отметинами, среди прочих. Обрабатываемые отметины могут быть на любом участке кожи тела, предпочтительно на лице, шее, руках и кистях.

Понятно, что эффект настоящей композиции является исключительно косметическим, связанным с украшением и/или улучшением ощущений или сенсорных аспектов нормальной, не пораженной болезнью кожи, в частности, предназначенным для удаления непатологических отметин и не предназначенным для предотвращения или облегчения любой болезни.

Лентигины (лентиго в единственном числе), например, представляют собой бессимптомные маленькие четко очерченные коричневые пятна. Они обычно возникают из-за хронического пребывания на солнце (солнечное лентиго, также называемое печеночными пятнами) и чаще всего возникают на открытых участках, особенно на лице, шее и тыльной стороне рук. Обычно они впервые появляются в среднем возрасте, и с возрастом их количество увеличивается. Одной из причин солнечного лентиго является скопление старых клеток, содержащих темный пигмент, называемый липофусцином, что приводит к образованию темных пятен. Липофусцин является продуктом окисления липидов и белков, которое может быть вызвано УФ-излучением.

Меланодермия (также известная как хлоазма), например, представляет собой образование темно-коричневых пятен неправильной формы или пигментации на лице и других участках тела, подвергающихся воздействию солнца. Пятна меланодермии бессимптомны и имеют только косметическое значение. Считается, что меланодермия вызывается воздействием солнца, генетической предрасположенностью и гормональными изменениями, и особенно часто встречается у женщин, особенно у беременных женщин.

Композиции согласно настоящему изобретению можно наносить местно один, два или более раз в день. Композицию обычно наносят, распределяя ее по коже, как правило, только на участок кожи, подлежащий депигментации. Продолжительность лечения может быть скорректирована в зависимости от типа и интенсивности отметин, которые необходимо удалить. Как правило, лечение можно продолжать в течение нескольких дней (например, 5-10 дней), нескольких недель (например, 1-6 недель) или месяцев (например, 1-12 месяцев).

Косметически эффективное количество означает количество композиции, необходимое для достижения желаемого отбеливающего эффекта. Специалист в данной области техники может легко определить количество композиции, используемой при каждом нанесении.

Примеры

Пример 1А Получение композиции согласно настоящему изобретению

Композицию согласно настоящему изобретению готовили с применением компонентов, перечисленных в следующей таблице:

Ингредиенты		**Масса %**
A1	Деионизированная вода	достаточное количество до 100%
A2	Консерванты (Метилпропандиол, каприлилгликоль и фенилпропанол)	2,5
A3	Глицерет-26	5,0
A4	Феноксиэтанол	0,8
A5	Бис-ПЭГ-18 метиловый эфир диметилсилан	1,0
B1	SIMULGEL™ INS 100 (Сополимер гидроксиэтилакрилата/ акрилоилдиметилтаурата натрия, сквалан и полисорбат 60)	2,0
B2	Циклопентасилоксан	5,0
B3	Каприловый/каприновый триглицерид	2,0
B4	Склареолид	0,2
B5	Ароматизатор	0,1
C1	Деионизированная вода	3,96
C2	Аскорбилглюкозид	2,00
C3	Динатрия цитрат	0,14
C4	Динатрия ЭДТА	0,01
C5	Водный раствор NaOH 50%	0,56

D4	Раствор инкапсулированной койевой кислоты (содержание койевой кислоты)	2,00 (0,0006)
	Итого	100,0

Компоненты композиции были коммерчески доступными. Склареолид был получен от компании Symrise (SymBright™ 2036). Раствор инкапсулированной койевой кислоты готовили заранее, как описано ниже.

Нацеливаемые микрокапсулы койевой кислоты, используемые для получения раствора, представляли собой двухслойные микрокапсулы, в которых внутренний полимер представлял собой (D,L-лактид-со-гликолид) (PLGA), а внешний полимер представлял собой поливиниловый спирт (ПВС), причем к поверхности указанных капсул был присоединен пептид Пальмитоил-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-DPhe-Arg-Trp-Gly-Lys-DPro-Val-NH-$(CH_2)_3$-$(OCH_2CH_2)_2$-CH_2-NH_2 (Пептид-I), который был связан с капсулой посредством амидной связи между концевой аминогруппой пептида и карбоксильными группами, имеющимися на поверхности капсулы из PLGA. Указанные микрокапсулы получали с применением способа, аналогичного описанному в примере 1 международной заявки на патент WO-A-2015/075116.

Эти нацеливаемые микрокапсулы койевой кислоты были включены в композицию в виде водного раствора, имеющего следующую композицию:

Ингредиенты	**% (масс./масс.)**
PLGA	0,03 - 0,05
ПВС	0,015 - 0,025
Пептид-I	0,008 - 0,012
Койевая кислота	0,025 - 0,035
Ксантановая камедь	0,40 - 0,60
Феноксиэтанол	0,40 - 0,60
Каприлилгликоль	0,25 - 0,40
Глицерин	0,04 - 0,06
Глицерилкаприлат	0,04 - 0,06
Фенилпропанол	0,025 - 0,04

Вода	достаточное количество до 100%

Доля активного вещества койевой кислоты в этом растворе составляет примерно 0,03% масс./масс. Поскольку данный раствор инкапсулированной койевой кислоты добавляли в композицию в количестве 2 масс. %, количество койевой кислоты в конечных композициях составляло примерно 0,0006% (масс./масс.) (6 ppm).

Для приготовления композиции компоненты A1-A5 сначала смешивали (предварительно компонент A5 расплавляли при нагревании при 50 °C) до получения однородной смеси («фаза A»). Компоненты B1-B5 смешивали по отдельности до получения гомогенной смеси и добавляли к фазе A в гомогенизаторе Ultra-Turrax с высоким усилием сдвига (примерно 2 минуты при 3000 об/мин), а затем в лопастной мешалке в течение примерно 15 минут. Ингредиенты C1-C5 смешивали и добавляли к композиции при перемешивании. Наконец, добавляли компонент D4. Проверяли, чтобы pH конечной смеси находился в диапазоне 5,5-6,5 (или его иным образом корректировали с помощью 10% лимонной кислоты или 10% NaOH).

Полученный продукт представлял собой полупрозрачно-белую водную дисперсию.

Пример 1B Получение композиции согласно настоящему изобретению

Получали композицию, аналогичную той, которая раскрыта в примере 1A, но также с включением в композицию изомерата сахарида.

Применяли коммерческий продукт EPS White P (CODIF Technologie Naturelle) (содержащий воду, глицерин, феноксиэтанол и 0,49% (масс./масс.) изомерата сахарида).

Композиция была аналогична композиции, раскрытой в примере 1A, но с добавлением 1,0% EPS White P (эквивалентно 0,0049% (масс./масс.) изомерата сахарида), который вводили в композицию перед компонентами буфера (C1-C5).

Полученный продукт представлял собой полупрозрачно-белую водную дисперсию.

Пример 2 Получение композиции согласно настоящему изобретению с усиленным действием против пятен, вызванных воспалительными процессами

Другую композицию готовили путем добавления активного вещества изомерата сахарида (EPS White P, CODIF Technologie Naturelle) и экстракта *Pancratium maritimum* (Neurolight 61 G, CODIF Technologie Naturelle, содержащий 0,3% (масс./масс.) экстракта

Pancratium maritimum) к синергической комбинации склареолид — койевая кислота — аскорбилглюкозид, для повышения его активности по удалению пятен, вызванных воспалительными процессами.

Применяли ингредиенты, перечисленные в следующей таблице:

Ингредиенты		**Масса %**
A1	Деионизированная вода	достаточное количество до 100%
A2	Консерванты (Метилпропандиол, каприлилгликоль и фенилпропанол)	2,0
A3	Феноксиэтанол	0,5
A4	Динатрия ЭДТА	0,1
A5	Безводный бетаин, экстрагированный из сахарной свеклы	2,0
A6	Крахмал Oryza Sativa	2,0
B1	Кроссполимер-6 полиакрилата	1,0
B2	Дибутиладипат	3,0
B3	Каприловый/каприновый триглицерид	2,0
B4	Склареолид	0,2
B5	Диметикон/винилдиметиконовый кроссполимер и диметикон	3,0
B6	Дифенилсилоксифенилтриметикон	5,0
B7	Циклопентасилоксан	3,0
C1	EPS White P (вода, глицерин, феноксиэтанол и изомерат сахарида) (содержание изомерата сахарида)	1,0 (0,0049)
C2	Neurolight 61 G (Глицерин, вода и экстракт *Pancratium maritimum*) (Содержание *Pancratium maritimum*)	1,5 (0,0045)
D1	Деионизированная вода	3,97

D2	Аскорбилглюкозид	2,00
D3	Динатрия цитрат	0,13
D4	Динатрия ЭДТА	0,01
D5	Водный раствор NaOH 50%	0,65
F1	SEPIPLUS™ 400 (Полиакрилат-13, полиизобутен и полисорбат 20)	0,25
F2	Раствор инкапсулированной койевой кислоты (содержание койевой кислоты)	2,00 (0,0006)
F3	Ароматизатор	0,2
	Итого	100,0

Компоненты композиции были коммерчески доступными. Склареолид был получен от компании Symrise (SymBright™ 2036). Раствор инкапсулированной койевой кислоты готовили заранее, как описано в примере 1.

Для приготовления композиции компоненты A1-A6 смешивали в лопастной мешалке до получения однородной смеси («фаза A»). Компоненты B1-B7 смешивали по отдельности до получения гомогенной смеси и добавляли ее к фазе A при перемешивании в течение примерно 15 минут. Ингредиенты C1 и C2 добавляли один за другим. Ингредиенты D1-D5 смешивали и добавляли к композиции при перемешивании. Проверяли, чтобы pH смеси находился в диапазоне 5,5-6,5 (или его иным образом корректировали с помощью 10% лимонной кислоты или 10% NaOH). Наконец, компоненты F1, F2 и F3 добавляли один за другим.

Полученная композиция представляла собой белый водный крем-гель.

Пример 3 Получение композиции согласно настоящему изобретению с усиленным действием против возрастных пигментных пятен

Композицию согласно настоящему изобретению готовили путем добавления активных веществ изомерата сахарида (EPS White P, CODIF Technologie Naturelle), изофлавонов сои (богатых генистеином) и экстракта проростков *Lepidium sativum* (богатых сульфорафаном) к синергической комбинации склареолид — койевая кислота — аскорбилглюкозид, для усиления его активности по удалению возрастных пигментных пятен.

Смесь изофлавонов сои и экстракта проростков *Lepidium sativum* доступна от Mibelle AG (Delentigo™, содержит примерно 0,11% (масс./масс.) генистеина и примерно 0,14% (масс./масс.) сульфорафана).

Ингредиенты композиции перечислены в следующей таблице:

Ингредиенты		**Масса %**
A1	Деионизированная вода	достаточное количество до 100%
A2	Консерванты (Метилпропандиол, каприлилгликоль и фенилпропанол)	2,0
A3	Феноксиэтанол	0,5
A4	Динатрия ЭДТА	0,1
A5	Безводный бетаин, экстрагированный из сахарной свеклы	2,0
A6	Крахмал Oryza Sativa	2,0
A7	Цетилфосфат калия	0,2
B1	Кроссполимер-6 полиакрилата	1,0
B2	Дибутиладипат	3,0
B3	Каприловый/каприновый триглицерид	2,0
B4	Склареолид	0,2
B5	Диметикон/винилдиметиконовый кроссполимер и диметикон	3,0
B6	Дифенилсилоксифенилтриметикон	5,0
B7	Циклопентасилоксан	3,0
C1	EPS White P (вода, глицерин, феноксиэтанол и изомерат сахарида) (содержание изомерата сахарида)	1,0 (0,0049)

C2	Delentigo™ (вода, полисорбат 80, спирт, глицерин, лецитин, феноксиэтанол, изофлавоны сои и экстракт проростков *Lepidium sativum*) (содержание генистеина) (содержание сульфорафана)	2,0 (0,0022) (0,0028)
D1	Деионизированная вода	3,97
D2	Аскорбилглюкозид	2,00
D3	Динатрия цитрат	0,13
D4	Динатрия ЭДТА	0,01
D5	Водный раствор NaOH 50%	0,65
F1	Раствор инкапсулированной койевой кислоты (содержание койевой кислоты)	2,00 (0,0006)
F2	Ароматизатор	0,2
	Итого	100,0

Компоненты композиции были коммерчески доступными. Склареолид был получен от компании Symrise (SymBright™ 2036). Раствор инкапсулированной койевой кислоты готовили заранее, как описано в примере 1.

Для приготовления композиции компоненты A1-A6 смешивали в лопастной мешалке, нагревая при 40 °C, до получения однородной смеси («фаза A»). Компоненты B1-B7 смешивали по отдельности до получения гомогенной смеси и добавляли ее к фазе A при перемешивании. Ингредиенты C1 и C2 добавляли один за другим. Ингредиенты D1-D5 смешивали и добавляли к композиции при перемешивании. Проверяли, чтобы pH смеси находился в диапазоне 5,5-6,5 (или его иным образом корректировали с помощью 10% лимонной кислоты или 10% NaOH). Наконец, компоненты F1 и F2 добавляли один за другим.

Полученная композиция представляла собой белый водный крем-гель.

Пример 4 Получение композиции согласно настоящему изобретению с усиленным действием против меланодермии

Композицию согласно настоящему изобретению готовили путем добавления активных веществ изомерата сахарида (EPS White P, CODIF Technologie Naturelle) и экстракта листьев *Lansium domesticum* (DN-Aura®, BASF, содержащий примерно 25% (масс./масс.) экстракта лансиума) к синергической комбинации склареолид — койевая кислота — аскорбилглюкозид для усиления его действия против пигментации при меланодермии. Композицию получали с применением ингредиентов, перечисленных в следующей таблице:

Ингредиенты		**Масса %**
A1	Деионизированная вода	достаточное количество до 100%
A2	Консерванты (Метилпропандиол, каприлилгликоль и фенилпропанол)	2,0
A3	Феноксиэтанол	0,5
A4	Динатрия ЭДТА	0,1
A5	Безводный бетаин, экстрагированный из сахарной свеклы	2,0
A6	Крахмал Oryza Sativa	2,0
B1	Кроссполимер-6 полиакрилата	1,0
B2	Дибутиладипат	3,0
B3	Каприловый/каприновый триглицерид	2,0
B4	Склареолид	0,2
B5	Диметикон/винилдиметиконовый кроссполимер и диметикон	3,0
B6	Дифенилсилоксифенилтриметикон	5,0
B7	Циклопентасилоксан	3,0
C1	EPS White P (вода, глицерин, феноксиэтанол и изомерат сахарида) (содержание изомерата сахарида)	1,0 (0,0049)

C2	DN-Aura® (Мальтодекстрин и экстракт листьев *Lansium domesticum*) (Содержание экстракта *Lansium domesticum*)	0,3 (0,075)
D1	Деионизированная вода	3,97
D2	Аскорбилглюкозид	2,00
D3	Динатрия цитрат	0,13
D4	Динатрия ЭДТА	0,01
D5	Водный раствор NaOH 50%	0,65
F1	SEPIPLUS™ 400 (Полиакрилат-13, полиизобутен и полисорбат 20)	0,25
F2	Раствор инкапсулированной койевой кислоты (содержание койевой кислоты)	2,00 (0,0006)
F3	Ароматизатор	0,2
	Итого	100,0

Компоненты композиции были коммерчески доступными. Склареолид был получен от компании Symrise (SymBright™ 2036). Раствор инкапсулированной койевой кислоты готовили заранее, как описано в примере 1.

Для приготовления композиции компоненты A1-A6 смешивали в лопастной мешалке до получения однородной смеси («фаза A»). Компоненты B1-B7 смешивали по отдельности до получения гомогенной смеси и добавляли ее к фазе A при перемешивании в течение примерно 15 минут. Ингредиенты C1 и C2 добавляли один за другим. Ингредиенты D1-D5 отдельно перемешивали и добавляли к композиции при перемешивании. Проверяли, чтобы pH смеси находился в диапазоне 5,5-6,5 (или его иным образом корректировали с помощью 10% лимонной кислоты или 10% NaOH). Наконец, компоненты F1, F2 и F3 добавляли один за другим.

Полученная композиция представляла собой белый водный крем-гель.

Пример 5 Анализ *in vitro* для измерения депигментации

Депигментирующий эффект косметической композиции согласно настоящему изобретению оценивали с применением модели RHPE (реконструированный

пигментированный эпидермис человека) *in vitro*, как описано, например, в статье Sahuc F, *Reconstructed human pigmented epidermis (rhpe): an in vitro model for the evaluation of melanogenesis,* SOFW J., 2009, 135 (7), которая основана на количественном определении снижения содержания меланина после ежедневного местного нанесения тестируемого продукта на реконструированную загорелую эпидермальную ткань человека в течение 5-10 дней. Степень снижения содержания меланина, достигнутая для каждого тестируемого продукта, связана с его способностью к депигментации. Реконструированная загорелая эпидермальная ткань человека состоит из нормальных кератиноцитов человека, культивированных в присутствии меланоцитов (которые могут быть трех разных фототипов), локализованных в базальном слое. Различные степени дубления этих конструкций макроскопически соответствуют трем различным фототипам кожи человека.

Используемый тестовый набор был получен от компании Episkin (SkinEthic™ RHPE/Реконструированный пигментированный эпидермис человека). В частности, использовали фототип IV RHPE размером 0,5 см^2.

Каждую протестированную композицию наносили местно ежедневно в течение 5 дней, после чего определяли количество меланина и тестировали жизнеспособность клеток. Как правило, для каждого тестируемого продукта использовали более одного RHPE для измерения количества меланина, после чего рассчитывали среднее значение. Кроме того, использовали один дополнительный RHPE для каждой тестируемой композиции для проверки жизнеспособности клеток. 1 RHPE использовали в начале теста для измерения начального содержания меланина.

Тестируемые композиции были получены с использованием ингредиентов, перечисленных в следующей таблице:

Ингредиенты		**Масса %**
A1	Emulium® Mellifera MB (полиглицерил-6 дистеарат, сложные эфиры жожоба, полиглицерил-3 пчелиный воск и цетиловый спирт)	5,0
A2	Изогексадекан	2,0
A3	Изопропилизостеарат	1,0

A4	Изопропилмиристат	2,0
A5	Токоферилацетат	0,2
A6	**Склареолид**	**(0,2)**
B1	Деионизированная вода	достаточное количество
B2	Цетилфосфат калия	0,3
B3	Безводный бетаин, экстрагированный из сахарной свеклы	2,0
B4	Консерванты (Метилпропандиол, каприлилгликоль и фенилпропанол)	2,0
B5	Феноксиэтанол	0,5
B6	Динатрия ЭДТА	0,1
B7	Глицерин	2,0
B8	Ксантановая камедь	0,2
C1	SEPIPLUS™ 400 (Полиакрилат-13, полиизобутен и полисорбат 20)	0,5
C2	Циклопентасилоксан	2,0
C3	Диметикон	1,0
C4	Ароматизатор	0,3
D1	Деионизированная вода	3,97
D2	Динатрия цитрат	0,13
D3	Динатрия ЭДТА	0,01
D4	Водный раствор NaOH 50%	0,55
D5	**Аскорбилглюкозид**	**(2,00)**
E1	**Раствор инкапсулированной койевой кислоты** (содержание койевой кислоты)	**(2,00)** (0,0006)
	Итого	100,0

Активные ингредиенты (склеролид, аскорбилглюкозид и койевая кислота) выборочно добавляли в состав для получения различных композиций с разными активными ингредиентами, а именно добавляли либо только одно активное вещество,

либо бинарные комбинации койевой кислоты и одного из других активных веществ, или комбинацию их трех активных веществ, или композицию без активных ингредиентов, в качестве эталона. Когда в композицию не добавляли активное вещество, добавляли эквивалентную массу воды для достижения заявленных процентных соотношений.

Для приготовления композиции сначала компоненты A1-A6 нагревали до 70-75 °C и смешивали до получения раствора («фаза A»). Компоненты B1-B8 отдельно перемешивали с образованием раствора, который нагревали до 70-75 °C. К этому раствору добавляли Фазу A и эмульгировали в смесителе Ultra-Turrax с высоким усилием сдвига (при 3000 об/мин в течение 3 минут, затем перемешивание при 300 об/мин в течение примерно 10 минут). Компоненты C1-C3 добавляли при 60 °C, смеси давали остыть до комнатной температуры, и затем добавляли C4. Ингредиенты D1-D5 смешивали и добавляли к предыдущей смеси. Наконец-то добавляли ингредиент E1. Проверяли, чтобы конечный pH смеси находился в диапазоне 5,5-6,5 (или его иным образом корректировали с помощью 10% лимонной кислоты или 10% NaOH).

Для целей сравнения готовили «базовый состав» без какого-либо активного ингредиента для применения в качестве контрольной композиции. Таким образом, в этот базовый состав не добавляли никаких активных ингредиентов, а соответствующие количества веществ в составе доводили водой.

Готовили композиции 0-6, содержащие следующие комбинации активных веществ:

1. Базовый состав (без активных веществ)
2. Только койевая кислота (6 ppm) (KA)
3. Только аскорбилглюкозид (2% масс./масс.) (AG)
4. Только склареолид (0,2% масс./масс.) (S)
5. Койевая кислота (6 ppm) + аскорбилглюкозид (2% масс./масс.) (KA-AG)
6. Койевая кислота (6 ppm) + склареолид (0,2% масс./масс.) (KA-S)
7. Койевая кислота (6 ppm.) + аскорбилглюкозид (2% масс./масс.) + склареолид (0,2% масс./масс.) (KA-AG-S)

Результаты анализов депигментации показаны в следующей таблице:

Комп.	**n**	**Меланин (мкг)**	**CO**	**Изменение (эксп.)**	**Изменение (теор.)**	**Разница (эксп. - теор.)**
0	4	33,26	0,34	--	--	--
1 (KA)	6	32,72	0,31	-0,54	--	--

2 (AG)	6	32,78	0,29	-0,48	--	--
3 (S)	3	31,04	0,17	-2,22	--	--
4 (KA-AG)	6	32,89	1,30	-0,37	-1,02	+0,65
5 (KA-S)	4	30,44	0,60	-2,82	-2,76	-0,06
6 (KA-AG-S)	4	27,92	0,45	-5,34	-3,24	-2,10

Информация, представленная в приведенной выше таблице, представляет собой следующую:

- Первый столбец (*Комп.*) определяет анализируемую композицию.
- Во втором столбце (*n*) показан размер выборки, т. е. количество единиц RHPE, использованных для каждой тестируемой композиции.
- В третьем столбце (Меланин (мкг)) показано конечное содержание меланина (в микрограммах) для каждого тестируемого соединения; показанный результат является средним значением результатов всех образцов.
- Четвертый столбец (*СО*) указывает стандартное отклонение среднего значения, рассчитанного в предыдущем столбце.
- В пятом столбце (*Изменение (эксп.)*) показано экспериментальное изменение содержания меланина в образцах эпидермиса, обработанных каждой из композиций 1-6, по сравнению с содержанием меланина в образцах, обработанных только базовой композицией (композиция 0).
- В шестом столбце (*Изменение (теор.)*) показывает рассчитанное теоретическое изменение содержания меланина для образцов эпидермиса, обработанных комбинированными композициями 4-6, которое можно было бы ожидать при простом аддитивном эффекте снижения содержания меланина, обеспечиваемом экспериментально каждым из отдельных компонентов комбинации (образцы 1-3).
- В седьмом столбце (*Разница эксп. - теор.*) показана разница между экспериментальным снижением меланина, обнаруженным экспериментально при использовании комбинированных композиций (образцы 4-6), и теоретическим значением меланина, ожидаемым при простом аддитивном воздействии компонентов комбинации.

Эти результаты графически представлены на Фигуре 1.

Можно заметить, что снижение содержания меланина в образцах, обработанных композицией 6, содержащей комбинацию трех активных веществ, т.е. койевой кислоты, аскорбилглюкозида и склареолида, больше, чем теоретически ожидаемое при простом аддитивном эффекте подавления меланина, обеспечиваемого тремя активными веществами по отдельности. Таким образом, для этой комбинации был обнаружен явный синергетический депигментирующий эффект.

Пример 6. Клиническое исследование для оценки эффективности и безопасности композиции согласно настоящему изобретению

Было проведено проспективное клиническое исследование с участием 30 здоровых женщин для оценки эффективности депигментации и безопасности композиции согласно настоящему изобретению. Добровольцы, включенные в исследование, представляли собой женщин в возрасте 30-70 лет, имеющих непатологические дефекты на лице или несовершенства на лице. Композицию примера 1B наносили два раза в день, утром и вечером, в течение 42 дней подряд на определенную область поверх пятен. Также один раз в день утром на лицо наносили солнцезащитный крем (SPF+50). Добровольцев посещали на 0, 14, 28 и 42 день (конец исследования).

Первичные оценки представляли собой:

1) наличие или отсутствие побочных эффектов;
2) уменьшение дефектов на коже путем измерения меланина; и
3) снижение яркости кожи в местах дефектов.

Вторичные оценки представляли собой субъективную оценку добровольцами эффективности и органолептических свойств продукта с помощью анкетирования.

Меланин измеряли с помощью Mexameter® MX 18, а яркость кожи измеряли с помощью Skin-Glossymeter GL 200 (Courage+Khazaka electronic GmbH).

О побочных эффектах не сообщалось.

Значения (средние) меланина и яркости, измеренные в начале (день 0) и после лечения (день 42), а также изменение этих значений (значение D42 - значение D0) показаны в следующей таблице:

	День-0	**День-42**	**Изменение**	**p-величина***
Меланин	214,4	164,9	-49,5 (-23,1%)	0,0001
Яркость	4,33	3,55	-0,78 (-18,0%)	0,0128

(* t-критерий Стьюдента)

Анкета, на которую добровольцы ответили после завершения исследования, включала 25 вопросов для оценки различных аспектов композиции, включая ее аромат, распределяемость, упаковку, свежесть и т. д. Результаты вопросов, конкретно связанных с депигментирующим эффектом, показаны в следующей таблице:

	Полностью согласен	**Согласен**	**Не согласен**	**Полностью не согласен**
Продукт уменьшил мои пятна на коже	16,7% (5)	56,7% (17)	26,7% (8)	0,0% (0)
После применения продукта кожа стала ярче	16,7% (5)	60,0% (18)	23,3% (7)	0,0% (0)
После применения продукта тон кожи стал ровнее	16,7% (5)	60,0% (18)	23,3% (7)	0,0% (0)
После применения продукта кожа выглядит моложе	13,3% (4)	56,7% (17)	30,0% (9)	0,0% (0)

Пример 7 Композиция, содержащая склареолид в форме липосом

Анализ *in vitro* для оценки депигментирующего эффекта , как описано в примере 5, проводили с применением композиций со следующей комбинацией активных веществ:

1. Контроль (без применения продукта)
2. KA-AG-SI-S
3. KA-AG-SI-lipoS (6,67%)
4. KA-AG-SI-lipoS (3%)
5. KA-AG-SI-lipoS (1%)

где «KA» означает инкапсулированный раствор койевой кислоты (2% масс./масс., как описано в примере 1, что эквивалентно примерно 6 ppm койевой кислоты), «AG» означает 2% масс./масс. аскорбилглюкозида, «SI» означает изомерат сахарида как 1% EPS White P (эквивалентно примерно 0,0049% масс./масс. изомерата сахарида), «S» означает 0,2% масс./масс. склареолида, и «lipoS» означает склареолид в форме липосом. Концентрация липосом склареолида 6,67% масс./масс. эквивалентна примерно 0,2% масс./масс. склареолида, концентрация липосом 3% масс./масс. эквивалентна примерно 0,09% масс./

масс. склареолида, а концентрация 1 % липосом эквивалентна примерно 0,03% масс./масс. склареолида.

Липосомы склареолида получали с применением фосфатидилхолина и холестерина в качестве мембранообразующих липидов.

Состав и способ получения композиций были аналогичны описанным в примере 5. Композиции, содержащие склареолид в форме липосом, более просты в получении по сравнению с теми, в которых склареолид не был инкапсулирован, благодаря хорошей диспергируемости липосом в водной фазе.

Применяли тот же набор для тестирования, что и в примере 5 (SkinEthic™ RHPE/ Реконструированный пигментированный эпидермис человека, фототип IV RHPE, размер 0,5 $см^2$, Episkin).

Каждую тестируемую композицию наносили местно ежедневно в течение 5 дней, а затем определяли количество меланина и тестировали жизнеспособность клеток (для каждого тестируемого продукта использовали более одного RHPE для измерения количества меланина, а затем рассчитывали среднее значение).

Результаты анализа содержания меланина показаны в следующей таблице, где во втором столбце показано конечное содержание меланина (в микрограммах, среднее значение) для каждой тестируемой композиции и для контроля (не обработанные образцы RHPE), а в третьем столбце показано расчетное снижение содержания меланина (в %) для вариантов обработки с 1 по 4 по сравнению с контролем:

Композиция	**Меланин (мкг)**	**Изменение (%)**	**СО**	**СП**
0 Контроль	11,14	-	0,15	0,07634
1 KA-AG-SI-S	4,30	-61,4	0,07	0,03301
2 KA-AG-SI-lipoS (6,67%)	4,56	-59,1	0,04	0,01633
3 KA-AG-SI-lipoS (3%)	3,75	-66,3	0,15	0,06179
4 KA-AG-SI-lipoS (1%)	5,03	-54,9	0,05	0,02553

Эти результаты графически представлены на Фигуре 2.

Результаты анализа жизнеспособности клеток показаны в следующей таблице, в которой жизнеспособность клеток контроля (необработанные образцы эпидермальной

ткани) была отнесена к 100% жизнеспособности, а другие композиции были оценены относительно этого эталона.

Композиция	Жизнеспособность клеток	СО	СП	%	Ошибка %
0 Контроль	0,706	0,016	0,012	100	1,6
1 KA-AG-SI-S	0,681	0,013	0,010	97	1,3
2 KA-AG-SI-lipoS (6,67%)	0,723	0,004	0,003	102	0,4
3 KA-AG-SI-lipoS (3%)	0,795	0,029	0,020	113	2,9
4 KA-AG-SI-lipoS (1%)	0,754	0,034	0,024	107	3,4

Результаты анализа жизнеспособности клеток графически представлены на Фигуре 3.

Результаты, полученные в анализах, показывают, что при добавлении склареолида в форме липосом результаты анализа жизнеспособности клеток были лучше для всех анализируемых концентраций.

Кроме того, было обнаружено, что эффект склареолида на снижение содержания меланина был выше, когда склареолид применяли в виде липосом в концентрации 3 % масс./масс. (0,09 % масс./масс. склареолида) по сравнению с не инкапсулированным склареолидом (0,2 % масс./масс. склареолида), т.е. депигментирующий эффект достигается при применении меньшего количества активного отбеливающего вещества.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Композиция для отбеливания кожи, содержащая:

(a) склареолид;

(b) койевую кислоту; и

(c) аскорбилглюкозид;

где койевая кислота инкапсулирована в микрокапсулу или нанокапсулу, содержащую пептид формулы (I):

R_2-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-DPhe-Arg-(AA)-Gly-Lys-DPro-Val-R_1 (I)

причем:

- R_1 представляет собой радикал -NH-$(CH_2)_3$-O-$(CH_2CH_2O)_n$-$(CH_2)_3$-NH_2, где n представляет собой целое число от 1 до 10;
- R_2 выбран из (C_{1-24} алкил)-CO-, (C_{2-24} алкенил)-CO- и (C_{6-10} арил)-CO-; и
- AA представляет собой аминокислоту, содержащую ароматическую группу;

и их косметически приемлемые соли и сольваты,

при этом пептид связан с внешней поверхностью микрокапсулы или нанокапсулы.

2. Композиция по п. 1, характеризующаяся тем, что содержание койевой кислоты находится в диапазоне 0,0001%-0,1% (масс./масс.), предпочтительно в диапазоне 0,0001%-0,01% (масс./масс.), более предпочтительно в диапазоне 0,0001%-0,001% (масс./масс.), еще более предпочтительно в диапазоне 0,0003%-0,0009% (масс./масс.), еще более предпочтительно в диапазоне 0,0004%-0,0008% (масс./масс.) и еще более предпочтительно в диапазоне 0,0005%-0,0007% (масс./масс.).

3. Композиция по пп. 1 или 2, характеризующаяся тем, что n представляет собой 1 или 2.

4. Композиция по любому из пп. 1-3, характеризующаяся тем, что R_2 выбран из ацетила, пропаноила, пентадеканоила, гексадеканоила и гептадеканоила, и предпочтительно R_2 представляет собой гексадеканоил.

5. Композиция по любому из пп. 1-4, характеризующаяся тем, что AA выбрана из триптофана, 3-(2-нафтил)-D-аланина, 3-амино-3-(1-нафтил)-пропионовой кислоты, 3-амино-3-(бифенил)-пропионовой кислоты, фенилаланина, тирозина, гистидина, 5-гидрокситриптофана и L-3,4-дигидроксифенилаланина, предпочтительно выбрана из триптофана, фенилаланина, тирозина и L-3,4-дигидроксифенилаланина, более предпочтительно представляет собой триптофан.

6. Композиция по любому из пп. 1-5, характеризующаяся тем, что количество склареолида в композиции составляет в диапазоне 0,001%-5% (масс./масс.), предпочтительно составляет в диапазоне 0,01%-2,5% (масс./масс.), более предпочтительно составляет в диапазоне 0,05%-1% (масс./масс.), еще более предпочтительно составляет в диапазоне 0,1-0,5% (масс./масс.) и еще более предпочтительно составляет примерно 0,2% (масс./масс.).

7. Композиция по любому из пп. 1-6, характеризующаяся тем, что склареолид инкапсулирован в форме липосом, предпочтительно при этом количество склареолида в композиции составляет в диапазоне 0,01%-2,5% (масс./масс.), более предпочтительно составляет в диапазоне 0,01%-0,5% (масс./масс.), еще более предпочтительно составляет в диапазоне 0,03%-0,2% (масс./масс.), и еще более предпочтительно составляет примерно 0,1% (масс./масс.).

8. Композиция по любому из пп. 1-7, характеризующаяся тем, что количество аскорбилглюкозида в композиции составляет в диапазоне 0,01%-10% (масс./масс.), предпочтительно составляет в диапазоне 0,1%-8% (масс./масс.), более предпочтительно составляет в диапазоне 0,5%-5% (масс./масс.), еще более предпочтительно составляет в диапазоне 1%-3% (масс./масс.), и еще более предпочтительно составляет примерно 2% (масс./масс.).

9. Композиция по любому из пп. 1-8, характеризующаяся тем, что она также содержит изомерат сахарида.

10. Композиция по п. 9, характеризующаяся тем, что количество изомерата сахарида в композиции составляет в диапазоне 0,00001%-2% (масс./масс.), предпочтительно составляет в диапазоне 0,00001%-1% (масс./масс.), более предпочтительно составляет в диапазоне 0,0001%-0,1% (масс./масс.) и еще более предпочтительно составляет в диапазоне 0,001%-0,01% (масс./масс.).

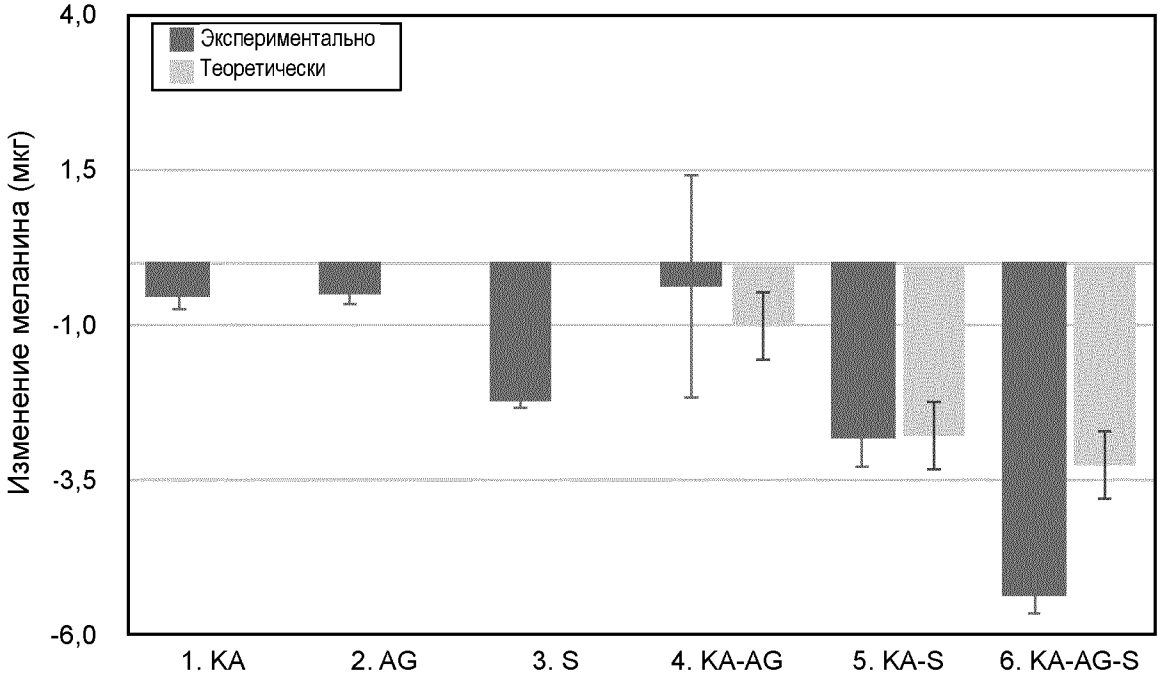
11. Композиция по любому из пп. 1-10, характеризующаяся тем, что она также содержит генистеин и сульфорафан, при этом количество генистеина в композиции предпочтительно составляет в диапазоне 0,00001%-2% (масс./масс.), и количество сульфорафана составляет в диапазоне 0,00001%-2% (масс./масс.).

12. Композиция по любому из пп. 1-10, характеризующаяся тем, что она также содержит экстракт *Pancratium maritimum*, при этом количество экстракта *Pancratium maritimum* в композиции предпочтительно составляет в диапазоне 0,00001%-2% (масс./масс.).

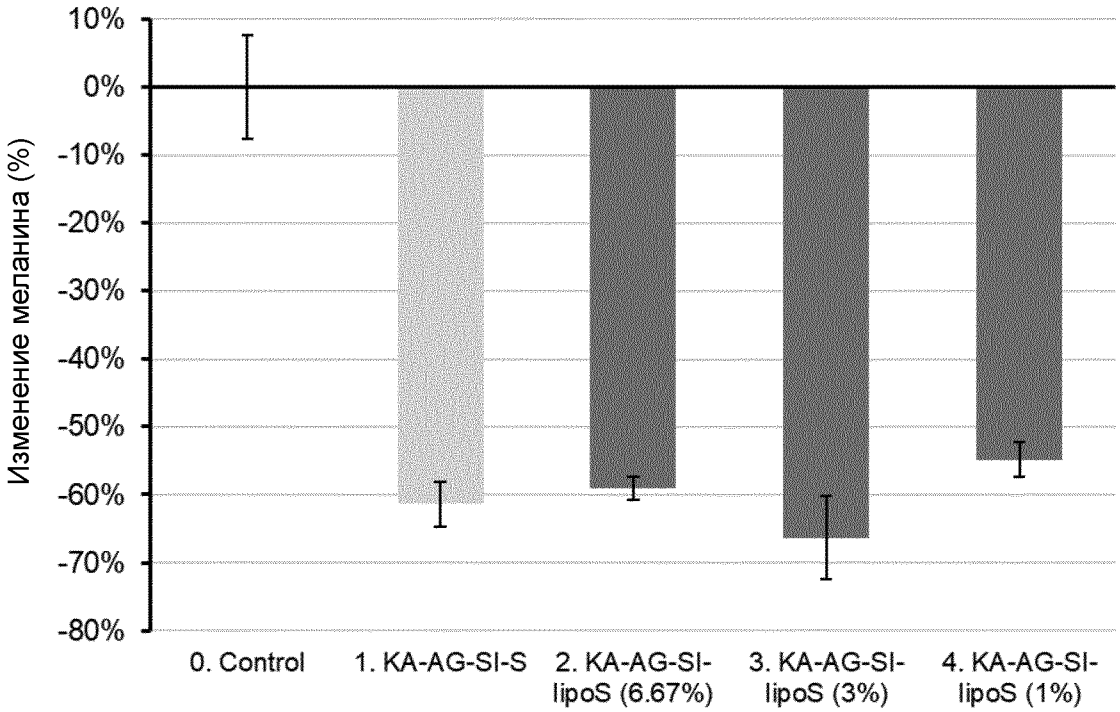
13. Композиция по любому из пп. 1-10, характеризующаяся тем, что она также содержит экстракт листьев *Lansium domesticum* (лангсата), при этом количество экстракта листьев *Lansium domesticum* в композиции предпочтительно составляет в диапазоне 0,0001%-5% (масс./масс.).

14. Косметическое применение композиций по пп. 1-13 для отбеливания кожи.

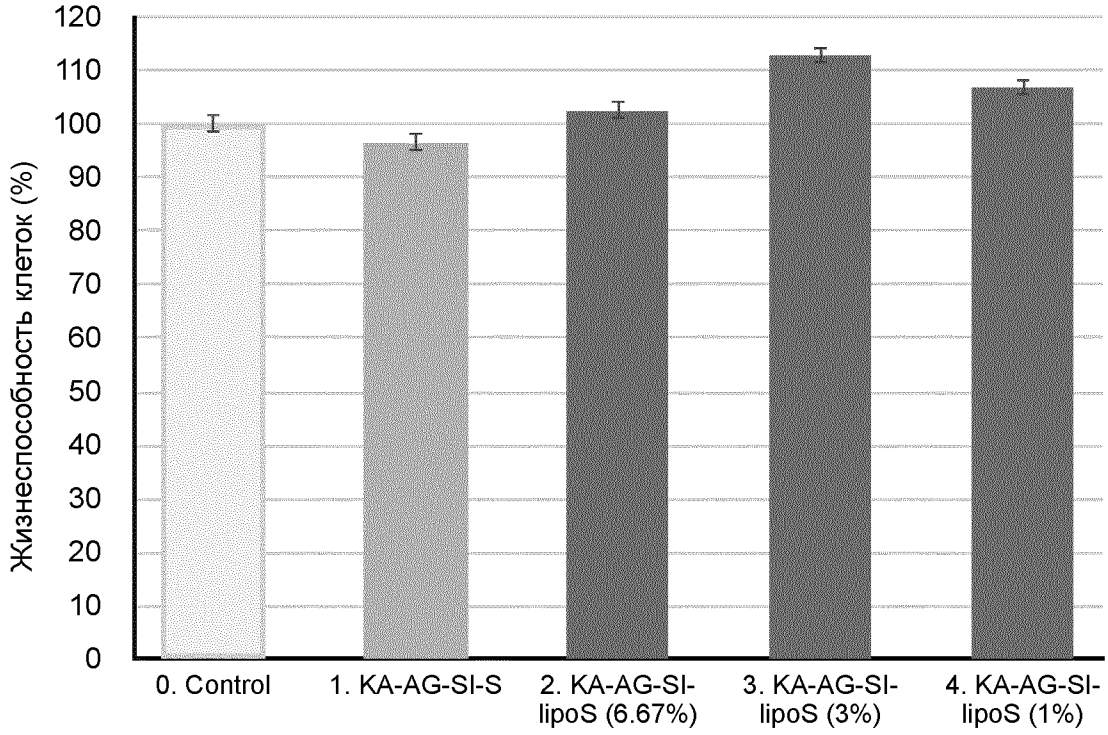
15. Применение по п. 14 для устранения или уменьшения гиперпигментированных отметин на коже, таких как отметины, связанные с воздействием УФ-излучения, отметины после рубцов, отметины после воспаления, отметины от меланодермии, отметины от лентиго или возрастные пигментные отметины.



ФИГУРА 1



ФИГУРА 2


Жизнеспособность клеток (%)
120
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0. Control
1. KA-AG-SI-S
2. KA-AG-SI-lipoS (6.67%)
3. KA-AG-SI-lipoS (3%)
4. KA-AG-SI-lipoS (1%)

ФИГУРА 3