

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **038875**(13) **B9**

**(12) ИСПРАВЛЕННОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К
ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(15) Информация об исправлении
Версия исправления: 1 (W1 B1)
исправления в описании: стр.3
исправления в формуле

(51) Int. Cl. *A61Q 5/00* (2006.01)
A61K 8/49 (2006.01)

(48) Дата публикации исправления
2022.08.11, Бюллетень №8'2022

(45) Дата публикации и выдачи патента
2021.11.01

(21) Номер заявки
201990432

(22) Дата подачи заявки
2017.09.27

(54) КОМПОЗИЦИЯ ПРОТИВ ПЕРХОТИ

(31) 16193626.5

(32) 2016.10.13

(33) EP

(43) 2019.09.30

(86) PCT/EP2017/074471

(87) WO 2018/069045 2018.04.19

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ЮНИЛЕВЕР АйПи ХОЛДИНГС Б.В.
(NL)

(72) Изобретатель:
Джинджер Ребекка Сьюзан, Попл
Дженнифер Элизабет (GB)

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(56) DATABASE GNPD [Online], MINTEL;
1 September 2013 (2013-09-01), ANONY:
"ANONYMOUS", XP002777088, Database
accession no. 2155595, "Ingredients"
JUSTYNA MIERZIAK ET AL.: "Flavonoids
as Important Molecules of Plant Interactions with
the Environment", MOLECULES, vol. 19, no. 10,
10 October 2014 (2014-10-10), pages 16240-16265,
XP055348864, DOI: 10.3390/molecules191016240,
page 16252, paragraph 3, page 16248, last paragraph
WO-A1-03096998

(57) Предложено применение мирицетина и/или производного мирицетина в качестве активного агента против перхоти в композиции для местного нанесения на кожу головы и/или волосы.

B9**038875****038875****B9**

Область техники

Настоящее изобретение относится, в частности, к композиции против перхоти, новому применению конкретных агентов против перхоти, способу получения композиции против перхоти и способу лечения и/или предотвращения перхоти.

Уровень техники

Композиции для обработки волос хорошо известны и широко применяются в течение долгого времени. Помимо основной моющей функции, композиция для обработки волос также может обеспечивать кондиционирующее действие, охлаждающее действие, борьбу с перхотью и т.д. за счет включения в указанную композицию соответствующей функциональной добавки. Однако при включении в композицию некоторых полезных агентов взаимодействие между ингредиентами может серьезно осложниться.

Перхоть представляет собой распространенное состояние кожи, причины которого не до конца изучены. На сегодняшний день считается, что перхоть представляет собой многофакторное состояние, где три основных фактора являются следующими: колонии грибов *Malassezia*, выработка кожного сала и индивидуальная предрасположенность. Как известно, для лечения указанного состояния применяют продукты для обработки волос, такие как шампуни и/или кондиционеры, содержащие активные соединения для борьбы с перхотью. Наиболее известными активными соединениями для борьбы с перхотью являются пиритионы металлов, такие как пиритион цинка, и противогрибковые средства, такие как кетоконазол и климбазол, а также различные сульфиды селена.

Однако известно, что зачастую средства против перхоти со временем теряют эффективность, а некоторые типы шампуней против перхоти не рекомендованы для применения беременным или кормящим женщинам. Таким образом, существует потребность в альтернативных способах лечения перхоти, в частности на основе безопасного активного агента, например, получаемого из растений или продуктов растительного происхождения. Однако поиск новых эффективных подходов к лечению перхоти является непростой задачей. Это связано с тем, что перхоть представляет собой многофакторное состояние, включающее взаимодействие факторов, связанных с кожей, кожным салом и микрофлорой кожи, при этом взаимосвязь этих факторов, а также процессы, приводящие к возникновению перхоти, на данный момент до конца не изучены. Кроме того, несмотря на то, что по ряду признаков можно отличить здоровую кожу от кожи с перхотью, остается неясным, являются ли эти признаки причиной или следствием ее возникновения.

Краткое описание изобретения

В первом аспекте настоящего изобретения предложена композиция для местного нанесения на кожу головы или волосы для применения для лечения и/или предотвращения перхоти, содержащая в качестве активного агента против перхоти мирицетин и/или производное мирицетина.

Во втором аспекте настоящего изобретения предложено применение мирицетина и/или производного мирицетина в качестве активного агента против перхоти в композиции для местного нанесения на кожу головы и/или волосы.

В третьем аспекте настоящего изобретения предложен способ получения композиции против перхоти для местного нанесения на кожу головы или волосы субъекта, содержащей мирицетин и/или производное мирицетина в качестве активного агента против перхоти, включающий стадии:

- a) смешивание мирицетина и/или производного мирицетина с дерматологически приемлемым разбавителем или носителем;
- b) помещение смеси, полученной на стадии (a), в подходящую упаковку.

В настоящем изобретении "дерматологически приемлемый" означает подходящий для контакта с кожной тканью человека в отсутствие нежелательной токсичности, аллергической реакции, воспаления и т.п.

В четвертом аспекте настоящего изобретения предложен способ предотвращения и/или лечения перхоти у субъекта-человека, включающий стадию нанесения на кожу головы и/или волосы субъекта мирицетина и/или производного мирицетина в эффективном количестве, достаточном для предотвращения и/или лечения перхоти.

В предпочтительном варианте реализации способ согласно четвертому аспекту настоящего изобретения является исключительно косметическим.

Для целей настоящего изобретения "предотвращения" включает предотвращение или задержку появления кожных чешуек на коже головы или в волосах индивидуума. "Лечение" означает прекращение образования кожных чешуек у индивидуума с перхотью во время применения композиции или по меньшей мере обеспечение заметного улучшения состояния за счет снижения среднего количества и/или массы кожных чешуек на коже головы или на волосах индивидуума.

Среднее количество или массу чешуек можно определить, например, расчесыванием волос субъекта щеткой или расческой в течение определенного количества раз и сбора и подсчета обнаруженных чешуек кожи или измерения их массы взвешиванием на чувствительных лабораторных весах.

Способ согласно четвертому аспекту обычно предполагает неоднократное нанесение композиции согласно первому аспекту настоящего изобретения на кожу головы и/или волосы субъекта. Композицию можно наносить предпочтительно по меньшей мере один раз в неделю для обеспечения профилактического действия и более часто, например каждый день, в частности, для лечения субъекта с перхотью (т.е.

для лечебного эффекта).

В частности, способ согласно четвертому аспекту настоящего изобретения обычно включает нанесение на кожу головы и/или волосы субъекта достаточного количества мирицетина и/или производного мирицетина для обеспечения местной концентрации на поверхности кожи и/или волос субъекта, составляющей более примерно 5 мкг/мл, предпочтительно примерно 6 мкг или более. Предпочтительно местная концентрация мирицетина и/или производного мирицетина составляет 6,25 мкг/мл или более. Верхний предел местной концентрации мирицетина и/или производного мирицетина может быть любым, при котором композиция остается дерматологически приемлемой. В качестве примера местная концентрация мирицетина или мирицетинового производного может составлять до 10 мкг/мл, или 20 мкг/мл, или 40 мкг/мл, или даже до 100 мкг/мл.

Содержание мирицетина или мирицетинового производного в композиции согласно настоящему изобретению предпочтительно составляет до 5 мкг/мл, более предпочтительно более 6 мкг/мл и наиболее предпочтительно 6,25 мкг/мл или более. Может потребоваться более высокая концентрация мирицетина или производного мирицетина для достижения предпочтительной местной концентрации на коже или волосах субъекта. Вместе с тем, может потребоваться и меньшая концентрация мирицетина или производного мирицетина в композиции для достижения требуемой местной концентрации на коже и/или волосах субъекта, если указанные соединения накапливаются в результате многократного применения композиции.

Композиция удобным образом выполнена в виде шампуня и/или кондиционера или лосьона для местного нанесения на кожу головы и/или волосы субъекта.

Структура мирицетина показана на фиг. 1. Мирицетин представляет собой соединение природного происхождения, которое содержится во фруктах (особенно в ягодах), некоторых овощах, орехах, чае и красном вине.

Для целей настоящего изобретения производное мирицетина означает соединение, имеющее такое же основное структурное кольцо, как у мирицетина, но содержащее заместитель вместо одной или более ОН-групп в основном кольце.

Примеры подходящих групп заместителей включают сахара (в особенности гексозные или пентозные сахара), низшие алкилы (C_1 - C_4 , предпочтительно C_1 или C_2) и замещенные низшие алкилы. Обычно указанное производное замещено только по одному из положений. Предпочтительное производное мирицетина содержит замещение по положению 3.

Желательно указанное производное представляет собой гликозид, такой как глюкозид, галактозид или рутинозид. Предпочтительно указанное производное представляет мирицетин-3-глюкозид или мирицетин-3-галактозид.

Содержание мирицетина и/или производного мирицетина в указанной композиции в качестве агента против перхоти обычно составляет 0,0001-15,0 мас./мас.%, предпочтительно 0,001-10,0 мас./мас.%, более предпочтительно 0,005-10,0 мас./мас.% и наиболее предпочтительно 0,01-10% мас./мас.%. Как правило, предпочтительное содержание составляет 0,025-5,0 мас./мас.%. В случае, когда в указанной композиции присутствуют и мирицетин, и одно или более производных мирицетина, предполагается, что их общее содержание находится в пределах предпочтительных промежутков, указанных выше.

В общих чертах, для целей пояснения, авторы настоящего изобретения обнаружили, что паттерн экспрессии генов в экспериментальной модели клеток кожи человека, полученных от субъектов с перхотью, отличается от паттерна у субъектов без перхоти, а также что, неожиданным образом, данные, полученные в результате добавления мирицетина к клеткам линии MCF7 (линии клеток рака молочной железы), показали, что мирицетин способен менять паттерн экспрессии генов, приводя к обращению изменений, наблюдаемых в образцах биопсии, взятых от субъектов с перхотью, по сравнению со здоровыми субъектами. Соответственно, авторы настоящего изобретения предполагают, что мирицетин и/или производное мирицетина должны быть эффективны в качестве активных агентов для предотвращения и/или лечения перхоти за счет обращения или борьбы с изменениями, которые вызывает перхоть в паттернах генной экспрессии.

Подробное описание изобретения

Преимущественным образом, композиция согласно настоящему изобретению представляет собой жидкость или гель при 20°C. Мирицетин и/или производное мирицетина обычно присутствуют в указанной композиции в виде раствора, но в качестве альтернативы могут присутствовать в виде твердого вещества, коллоидного вещества, эмульсии или в любой другой подходящей форме.

Как отмечалось выше, композиция обычно выполнена в виде шампуня и/или кондиционера, но также может представлять собой любой состав, подходящий для местного нанесения на кожу головы и/или волосы.

Мирицетин является лишь умеренно растворимым в воде (с растворимостью примерно 55 мг/л при 25°C). Соответственно в случае, когда композиция представляет собой жидкость на водной основе, может быть целесообразным добавление растворителя мирицетина, подходящего для местного нанесения на кожу. Подходящие растворители включают спирты, такие как этанол, изопропанол или их смеси. Содержание спирта или другого подходящего растворителя мирицетина в составе может составлять

0,1-25 об./об.%, предпочтительно 0,5-20 об./об.%, более предпочтительно 1-10 об./об.%.

В случае, когда композиция содержит производное мирицетина, но при этом по существу не содержит мирицетин, предпочтительно избегать применения растворителя, отличного от воды, поскольку в зависимости от типа производного, оно может обладать достаточной растворимостью в воде. Например, гликозиды мирицетина обычно обладают лучшей растворимостью в воде, чем мирицетин.

Композиция может содержать множество различных производных мирицетина или может содержать одно производное мирицетина. Одно или более производное мирицетина может присутствовать в качестве единственного агента против перхоти или может присутствовать в комбинации с мирицетином и/или другим известным агентом против перхоти. И наоборот, мирицетин может присутствовать в комбинации в качестве единственного агента против перхоти или, опять же, может присутствовать в комбинации с другим известным агентом против перхоти.

Предпочтительно в дополнение к мирицетину и/или производному мирицетина указанная композиция может содержать известный традиционный агент против перхоти. Такие традиционные дополнительные агенты включают противомикробные и в особенности противогрибковые агенты. Предпочтительные противогрибковые агенты обычно имеют минимальную ингибирующую концентрацию 50 мг/мл или менее против *Malassezia* spp.

Подходящие дополнительные агенты против перхоти включают одно или более соединения, выбранное из группы, состоящей из агентов против перхоти на основе азолов, октопирокса, пиритионовых солей металлов, сульфидов селена и их смесей. Предпочтительные противогрибковые агенты на основе азолов представляют собой кетоконазол и климбазол, однако другие азольные соединения (т.е. клотриназол, эконазол, изоконазол и миконазол) также являются подходящими. Предпочтительные пиритионовые соли металлов представляют собой соли цинка, меди, серебра и циркония, наиболее предпочтительной из которых является пиритион цинка.

Другие агенты против перхоти, которые могут присутствовать в композиции, включают одно или более из трипептида 1 (т.е. трипептид глицин-гистидин-лизин, GHK) со связанной медью или без нее (трипептид GHK имеет высокое сродство к ионам Cu II); мелатонин - см. US 6048886; или дипрофиллин (также известный как дифиллин) - см. DE 2842472.

Предпочтительно содержание любых дополнительных агентов против перхоти составляет от 0,01 до 10 мас.%, более предпочтительно от 0,1 до 5,0 мас.% от общего количества указанной композиции.

Помимо дополнительных традиционных агентов против перхоти, композиция согласно настоящему изобретению может дополнительно включать один или более традиционных ингредиентов шампуня и/или кондиционера, включая, но не ограничиваясь ими, следующие: вода, моющее поверхностно-активное вещество; кондиционирующий агент, суспендирующий агент; ароматизатор, краситель или пигмент; агент, регулирующий pH, перламутр или замутнитель, регулятор вязкости и консервант. Как правило, указанные необязательные ингредиенты добавляют по отдельности в количестве до примерно 5 мас./мас.%, каждого из расчета на общую массу указанной композиции.

Примеры подходящих анионных моющих поверхностно-активных веществ представляют собой алкилсульфаты, алкилэфирсульфаты, алкиларилсульфонаты, алканоилизетионаты, алкилсукцинаты, алкилсульфосукцинаты, сульфосукцинаты алкилэфиров, N-алкил сакросинаты, алкилфосфаты, алкилэфирфосфаты и алкилэфир карбоновых кислот и их соли, в особенности соли натрия, магния, аммония и моно-, ди- и триэтаноламина. Алкильные и ацильные группы обычно содержат от 8 до 18, предпочтительно от 10 до 16 атомов углерода и могут быть замещенными. Алкилэфирсульфаты, сульфосукцинаты алкилэфиров, алкилэфирфосфаты и алкилэфир карбоновых кислот и их соли содержат от 1 до 20 звеньев этиленоксида или пропиленоксида в молекуле.

Примеры анионных моющих поверхностно-активных веществ для применения в композиции согласно настоящему изобретению включают олеилсукцинат натрия, лаурилсульфат аммония, лаурилсульфат натрия, лаурилэфирсукцинат натрия, лаурилсульфат аммония, лаурилэфирсульфат аммония, додецилбензолсульфонат натрия, додецилбензолсульфонат триэтаноламина, кокоилизетионат натрия, лаурилизетионат натрия, лауриловый эфир карбоновой кислоты и N-лауроил саркозинат натрия.

Предпочтительные анионные поверхностно-активные вещества представляют собой алкилсульфаты и алкилэфирсульфаты. Такие материалы имеют общую формулу $\text{R}_2\text{OSO}_3\text{M}$ и $\text{RiO}(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_x\text{SO}_3\text{M}$ соответственно, где R_2 представляет собой алкил или алкенил, содержащий от 8 до 18 атомов углерода, x обозначает целое число от примерно 1 до примерно 10, и M представляет собой катион, такой как аммоний, алканолamines, такие как триэтаноламин, одновалентные металлы, такие как натрий и калий, и катионы многовалентных металлов, таких как магний и кальций. Наиболее предпочтительно R_2 содержит от 12 до 14 атомов углерода в линейной, а не разветвленной цепи.

Предпочтительные анионные моющие поверхностно-активные вещества выбраны из лаурилсульфата натрия и лаурилэфирсульфата (n)EO натрия, где n составляет от 1 до 3; более предпочтительно лаурилэфирсульфата (n)EO натрия, где n составляет от 1 до 3; наиболее предпочтительно лаурилэфирсульфата (n)EO натрия, где n равно 1.

Предпочтительно содержание алкилэфирсульфата составляет от 0,5 до 25 мас.%, более предпочтительно от 3 до 18 мас.% и наиболее предпочтительно от 6 до 15 мас.%, из расчета на общую массу ука-

занной композиции.

Общее содержание анионного моющего поверхностно-активного вещества в композиции согласно настоящему изобретению составляет от 0,5 до 45 мас.%, более предпочтительно от 1,5 до 20 мас.%.

Композиции согласно настоящему изобретению могут содержать неионное поверхностно-активное вещество. Наиболее предпочтительно содержание неионных поверхностно-активных веществ составляет от 0 до 5 мас.%. Неионные поверхностно-активные вещества, которые могут входить в состав композиций согласно настоящему изобретению, включают алифатические (C_8 - C_{18}) первичные или вторичные или разветвленные углеводородные цепи или фенолы с алкиленоксидами, как правило этиленоксидом, и в общем содержащие от 6 до 30 этиленоксидных групп. Особенно предпочтительными являются алкилэтоксилаты. Наиболее предпочтительные алкилэтоксилаты имеют формулу $R-(OCH_2CH_2)_nOH$, где R представляет собой C_{12} - C_{15} -алкильную цепь и n составляет от 5 до 9.

Другие подходящие неионные поверхностно-активные вещества включают моно- или диалкиловые алканоламиды. Примеры включают коко-, моно- или диэтаноламид и коко-моно-изопропаноламид.

Дополнительные неионные поверхностно-активные вещества, которые могут входить в состав композиций согласно настоящему изобретению, представляют собой алкил-полиглицозиды (АПГ). Как правило, АПГ содержит алкильную группу, присоединенную (необязательно посредством связующей группы) к блоку из одной или более гликозильных групп. Подходящие алкил-полиглицозиды для применения в настоящем изобретении доступны на рынке и включают, например, такие как Oramix NS10 от Seppic; Plantaren 1200 и Plantaren 2000 от Henkel.

Содержание амфотерных или цвиттер-ионных поверхностно-активных веществ, которые можно включать в композицию согласно настоящему изобретению, составляет от 0,5 до примерно 8 мас.%, предпочтительно от 1 до примерно 4 мас.% от общей массы композиции.

Примеры амфотерных или цвиттер-ионных поверхностно-активных веществ включают алкиламиноксиды, алкилбетаины, алкиламидобетаины, аклилсульфобетаины (султаины), алкилглицинаты, алкилкарбоксиглицинаты, алкиламфоацетаты, алкиламфопропионаты, алкиламфоглицинаты, алкиламидопропилгидроксисултаины, ацил туараты и ацил глутаматы, где указанные алкильная и ацильная группы содержат от 8 до 19 атомов углерода. Типичные амфотерные и цвиттер-ионные поверхностно-активные вещества, подходящие для применения в композициях согласно настоящему изобретению, включают лауриламиноксид, коко-диметилсульфопропилбетаин, лаурилбетаин, кокаמידопропилбетаин и коко-амфоацетат натрия.

Наиболее предпочтительным амфотерным или цвиттер-ионным поверхностно-активным веществом является кокаמידопропилбетаин.

Также можно применять смеси любых из вышеописанных амфотерных или цвиттер-ионных поверхностно-активных веществ. Предпочтительные смеси представляют собой смеси кокаמידопропилбетаина с дополнительными амфотерными или цвиттер-ионными поверхностно-активными веществами, указанными выше. Еще одно предпочтительное амфотерное или цвиттер-ионное поверхностно-активное вещество представляет собой кокоамфоацетат. Композиции согласно настоящему изобретению, такие как шампуни и кондиционеры, также содержат кондиционирующие агенты, такие как силиконовые кондиционирующие агенты и несиликоновые масляные кондиционирующие агенты.

Подходящие силиконовые кондиционирующие агенты включают полидиорганосилоксаны, в частности полидиметилсилоксаны, которые обозначены CTFA (англ. Cosmetic, Toiletry and Fragrance Association - Ассоциация производителей косметических препаратов, туалетных принадлежностей и ароматизирующих веществ) как диметиконы. Также для применения в настоящем изобретении (в частности, шампунях и кондиционерах) подходят полидиметилсилоксаны, содержащие гидроксильные концевые группы, которые обозначены CTFA как диметиконолы. Также для применения в композициях согласно настоящему изобретению подходят силиконовые смолы с небольшим количеством поперечных связей, описанные, например, в WO 96/31188. Эти материалы могут придавать волосам форму, объем и фиксацию, а также обеспечивать влажное и сухое кондиционирование. Также подходят функциональные силиконы, в частности аминифункционализированные силиконы.

Подходящие несиликоновые кондиционирующие агенты выбраны из углеводородных масел, эфиров жирных кислот и их смесей.

Подходящее содержание дополнительного кондиционирующего агента в композициях шампуня или кондиционера составляет от 0,05 до 10%, предпочтительно от 0,2 до 5%, более предпочтительно от 0,5 до 0,3% по массе из расчета на общую массу указанной композиции.

Предпочтительно композиция согласно настоящему изобретению дополнительно содержит суспендирующий агент. Подходящие суспендирующие агенты выбраны из полиакриловых кислот, поперечно сшитых полимеров акриловой кислоты, сополимеров акриловой кислоты и гидрофобного мономера, сополимеров мономеров, содержащих карбоновую кислоту и акриловых эфиров, поперечно сшитых сополимеров акриловой кислоты и акрилатов, гетерополисахаридных смол и кристаллических длинноцепочечных ацильных производных. Длинноцепочечное ацильное производное предпочтительно выбрано из этиленглицольстеарата, алканоламидов жирных кислот, содержащих от 16 до 22 атомов углерода, и их смесей. Дистеарат этиленгликоля и полиэтиленгликоль-3-дистеарат являются предпочтительными длин-

ноцепочечными ацильными производными. Полиакриловая кислота представлена на рынке под наименованиями Carborol 420, Carborol 488 или Carborol 493. Также можно применять полимеры акриловой кислоты, поперечно сшитые полифункциональным агентом, они представлены на рынке под наименованиями Carborol 910, Carborol 934 и Carborol 941 и Carborol 980. Пример подходящего сополимера карбоновой кислоты, содержащей мономер и простые эфиры акриловой кислоты, представляет собой Carborol 1342. Все материалы Carborol (торговое наименование) можно приобрести у Goodrich.

Подходящие поперечно сшитые полимеры акриловой кислоты и акрилатные эфиры представляют собой Pemulen TR1 или Pemulen TR2. Подходящая гетерополисахаридная смола представляет собой ксантановую камедь, например, доступную на рынке под наименованием Kelzan mu.

Также можно применять смеси любых из вышеописанных суспендирующих агентов. Смесь поперечно сшитого полимера акриловой кислоты и кристаллического длинноцепочечного ацильного производного является предпочтительной.

В случае применения суспендирующего агента его общее содержание в композиции согласно настоящему изобретению составляет от 0,1 до 10%, предпочтительно составляет от 0,5 до 6%, более предпочтительно от 0,9 до 4% по массе из расчета на общую массу указанной композиции.

В типичной композиции согласно настоящему изобретению содержание воды составляет по меньшей мере 30% от общей массы композиции, более предпочтительно от 35 до 95%, еще более предпочтительно от 45 до 88%, наиболее предпочтительно от 65 до 80% от общей массы композиции.

Композиции согласно настоящему изобретению предназначены главным образом для местного нанесения по меньшей мере на часть кожи головы и/или волос индивидуума - как для смываемых, так и для несмываемых композиций, для предотвращения и/или лечения перхоти.

Предпочтительно композиция согласно настоящему изобретению имеет вязкость, составляющую менее 200000 сП (мПа·с). Более предпочтительно композиция согласно настоящему изобретению имеет вязкость, составляющую не более 50000 сП (мПа·с), более предпочтительно не более 20000 сП (мПа·с) и наиболее предпочтительно не более 10000 сП (мПа·с). Предпочтительно композиция согласно настоящему изобретению имеет вязкость, равную по меньшей мере 10 сП (мПа·с). Более предпочтительно композиция согласно настоящему изобретению имеет вязкость, равную по меньшей мере 200 сП (мПа·с), более предпочтительно 1000 сП (мПа·с) и еще более предпочтительно 3000 сП (мПа·с). В настоящем изобретении вязкость измеряли при 30°C визкозиметром Брукфильда с применением шпинделя № 5 при скорости вращения 20 об/мин.

Далее настоящее изобретение будет описано при помощи иллюстративного примера и отсылки к прилагаемым графическим материалам, на которых:

на фиг. 1 показана структурная формула мирицетина;

фиг. 2А представляет собой гистограмму, демонстрирующую значительно повышенную экспрессию различных генов у субъектов с перхотью по сравнению со здоровой кожей головы - слева на оси ординат у показана величина повышения экспрессии (логарифм изменения экспрессии);

фиг. 2В представляет собой гистограмму, аналогичную фиг. 2А, однако демонстрирующую значительно пониженную экспрессию различных генов в коже головы с перхотью по сравнению со здоровой кожей головы - также слева на оси ординат у показана величина изменения экспрессии (логарифм изменения экспрессии), которая на фиг. 2В является отрицательной; и

фиг. 3 представляет собой гистограмму, демонстрирующую количество IL-8 (пикограмм IL-8 на 100 мкг белка), полученных из первичных кератиноцитов человека в культурах отрицательного и положительного контроля в присутствии различных концентраций мирицетина с последующей стимуляцией смесью воспалительных цитокинов (IL-17, IL-22, TNF α). Полученные из контрольных образцов данные использовали для статистического сравнения с данными, полученными в результате обработки мирицетином с применением t-критерия Стьюдента.

Примеры

Пример 1.

Определение новых способов вмешательства в ход заболеваний или косметических состояний является крайне сложной задачей. Требуются различные подходы для проверки и соотношения действия низкомолекулярных лекарственных средств и физиологических процессов. Один из подходов был разработан в соответствии с картой взаимодействий, разработанной институтом Броада Массачусетского университета (Lamb et al., Science, 2006, 313, 1929-1935). Цель этого проекта заключается в поиске общего решения поставленной задачи, предпринимая попытки объяснить все биологические состояния с точки зрения генетических "подписей", создавая огромную общедоступную базу данных подписей и генов, а также разрабатывая инструменты для определения совпадающих паттернов для обнаружения совпадений среди этих подписей. В данном подходе используются пертурбации в моделях культур клеток млекопитающих, которые обобщаются, систематизируются и представляют биологическую ценность. Для получения подписей экспрессии низкомолекулярных генов проводили высокопроизводительную обработку линии эпителиальных клеток рака молочной железы, MCF7, линии клеток рака простаты PC3 и линии неэпителиальных клеток лейкоза HL60 при разных дозах. Выбирали относительно высокие дозы порядка

10 мМ и получали подписи в относительно ранних промежутках времени от 6 до 12 ч. Данные для первых 164 молекул собирали более 1 года при помощи микрочиповой платформы Affymetrix GeneChip для генотипирования и анализа экспрессии генов. На сегодняшний день база данных насчитывает более 1300 пертурбагенов.

В карте взаимодействий используется стратегия совпадения паттернов на основе статистики Колмогорова-Смирнова вместо более традиционного подхода иерархической кластеризации, обычно применяемой для данных такого типа. Метод начинается с "запроса подписи" и оценивает его на предмет соответствия экспрессии сравнительных профилей в наборе данных. Каждый агент в подписи имеет значение, показывающее увеличение или уменьшение экспрессии. Сравнительные профили экспрессии на карте взаимодействий также представлены в виде непараметрических критериев. Каждый профиль сравнивали с соответствующим контрольным образцом, обработанным инертным веществом. Гены в массиве упорядочивали согласно их дифференциальной экспрессии по отношению к контролю; таким образом, каждая обработка давала повышение в списке упорядоченного порядка рангов, насчитывающем примерно 22000 генов. Затем запрос подписи сопоставляли с каждым списком упорядоченного порядка рангов для определения положения, превышающего нормальную экспрессию значения запроса генов в верхней части списка, а значения ниже нормальной экспрессии - в конце списка ("положительное взаимодействие") или, напротив, ("отрицательное взаимодействие"), что позволяло определить показатель взаимодействия, составляющий от +1 до -1. Все примеры в базе данных упорядочены согласно их показателям взаимодействия; те, что находятся на верхней части списка, лучше всего коррелируют с запросом подписи, а те, что находятся в нижней части списка, демонстрируют худшую корреляцию.

Остальные исследования были построены на карте взаимодействий, что позволяет производить доработку статистического анализа (Zhang, 2008, BMC Bioinformatics, 9, 258; & Cheng Pac. Symp. Biocomput. 2013:5-16). В ряде публикаций была показана эффективность данного метода с примерами, включающими определение тиоридазина в качестве ингибитора пути PI3K/AKT (Rho, 2011, Gynecol. Oncol. 120, 121-127), обнаружение ингибиторов эпителиально-мезенхимального перехода (Reka, 2011, J. Thorac. Oncol. 6, 1784-92), а также демонстрацию того факта, противопсихотическое средство ингибирует рост раковых стволовых клеток (Yeh, 2012, Am. J. Respir. Crit. Care Med. 186, 1180-1188), прогнозирование новых ингибиторов hERG (Babcock, 2013, PLoS One. 8: e69513), перепрофилирования антигельминтного препарата мебендазола для лечения рака толстой кишки (Nygren, 2013, J. Cancer Res. Oncol. 139, 2133-40) и определения тиострептона как нового агента для обнаружения стволовых раковых клеток толстой кишки (Ju et al., 2015, Cell Death Dis. 6: e1801).

Использование карты взаимодействий расширяет границы фармацевтики в ряде публикаций, демонстрирующих ее применение в области косметологии, например, для определения молекулярных механизмов составов традиционной китайской медицины (Wen et al. 2011, PLoS One 6: e18278).

Авторы настоящего изобретения создали высококачественный набор транскриптомических данных при помощи 4 мм образцов биопсии кожи, полученных из кожи головы (n=21) здоровых и подверженных перхоти субъектов. Получали полную РНК образцов биопсии и анализировали с помощью всего генома сканера для микрочипов Agilent и программного обеспечения Gene Spring. Полученные данные анализировали при помощи метода карты взаимодействий для определения новых мнимых агентов против перхоти.

Исследование карты взаимодействий.

Запрос подписи с применением списка генов, для которых обнаружены отличия в экспрессии (корректировка значения $p < 0,05$ и кратность изменения $> 1,5$) при сравнении субъектов с перхотью и здоровых субъектов, получали для уточнения по карте взаимодействий института Броуда. Запрос подписи, необходимый для обращения к базе данных карты взаимодействий, формируется из списка с верхними и нижними отметками, представляющего собой выборку образцов, превышающих нормальную экспрессию и ниже нормальной экспрессии соответственно. Каждая метка в списке определена по списку образцов Affymetrix HG-U133A (массы данных Affymetrix GeneChip Human Genome U133A). Исследование "Перхоть в сравнении со здоровым состоянием" проводили с применением всего генома человека Agilent олиго микрочипа G4851B. Таким образом, образцы, проявляющие разную экспрессию из этого сравнения, следовало конвертировать из Agilent в формат Affymetrix. Это осуществлялось посредством мэппинга соответствующих идентификаторов генов Entrez из обозначений исследования "Перхоть (D1) в сравнении со здоровым состоянием".

Список генов исследования "Перхоть в сравнении со здоровым состоянием" содержит 556 образцов, включая 290 генов с повышенной экспрессией и 266 генов с пониженной экспрессией; после конвертирования обозначений образцов Agilent в Affymetrix HG-U133A определяли 230 образцов Affymetrix с повышенной (79%) и 170 образцов с пониженной (64%) экспрессией и составляли запрос подписи (список с верхними метками и список с нижними метками).

Наборы данных из 1309 пертурбагенов (лекарственные средства и нелекарственные биоактивные соединения) с общим количеством образцов, составляющим 6100 (т.е. одна обработка и пара связующих), получали по карте взаимодействий института Броуда и исследовали с применением подписи гена перхоти при помощи алгоритма карты взаимодействия.

Результаты мэппинга взаимодействий.

После фильтрования на основании показателя взаимодействия и числа образцов был обнаружен 21 пертурбаген. Они представляют лучшие результаты среди пертурбагенов с отрицательной корреляцией по списку перхоть vs здоровые гены. Мирицетин оказался на вершине этого списка пертурбагенов:

Пертурбагер	Показатель взаимодействия	Типы клеток и концентрация	Химическое стекло
Мирицетин	-0,46	HL60 13 мкМ MCF7 13 мкМ PC3 13 мкМ	Флаваноид

Мирицетин представляет собой вещество естественного происхождения и уже признан в качестве косметического ингредиента. Таким образом, это хороший выбор для включения в состав для борьбы с перхотью.

Фиг. 2А и 2В иллюстрируют комплементарность вызванных мирицетином изменений экспрессии гена в базе данных с-тар и изменений экспрессии генов, наблюдаемых в перхоти. В частности, у многих из генов с пониженной экспрессией в перхоти наблюдается повышение при обработке мирицетином *in vitro*.

На фиг. 2А светлые столбцы изображают изменения экспрессии генов с существенным увеличением экспрессии у субъектов с перхотью по сравнению со здоровой кожей головы, а величина изменений (логарифм изменения экспрессии) представлена слева на оси ординат у. Темные столбцы изображают экспрессию генов, альтерированных в культивированных клетках MCF7, обработанных 13 мкМ мирицетином, при сравнении с контролем-носителем ДМСО (диметилсульфоксид). Изменение экспрессии гена *in vitro* в этом эксперименте измерялось по амплитудам и показано на вспомогательной оси ординат у (правая сторона). Каждый ген соответствует единичному значению на оси абсцисс х.

Фиг. 2В соответствует фиг. 2А, однако диаграмма изображает гены, экспрессия которых была значительно снижена в коже головы с перхотью по сравнению со здоровой кожей головы, и демонстрирует влияние мирицетина (темные столбцы) на экспрессию тех же генов культуры *in vitro*.

Эти результаты свидетельствуют о том, что обработка мирицетином может обращать ряд изменений экспрессии генов, обнаруженных в коже головы с перхотью при сравнении со здоровой кожей головы - гены с повышенной экспрессией (темные столбцы на фиг. 2А) в коже с перхотью - во многих случаях мирицетин может снизить уровень экспрессии (темные столбцы на фиг. 2А) и в некоторых случаях вызывает понижение экспрессии указанных генов. И напротив, в случаях, когда экспрессия различных генов ингибируется в коже с перхотью по отношению к здоровой коже головы (фиг. 2В), во многих случаях мирицетин вызывает увеличение экспрессии (темные столбцы). Таким образом, мирицетин позволяет восстановить паттерн экспрессии гена у субъектов с перхотью до сопоставимого со здоровыми субъектами и предупреждать и/или облегчать это состояние.

Пример 2.

Для проверки вышеизложенной гипотезы авторы настоящего изобретения разработали *in vitro* модель воспалительных состояний, протекающих в коже субъектов с перхотью. Модель включает *in vitro* культуру ткани нормальных эпидермальных кератиноцитов человека (НЕКа клетки). Клетки подвергали воздействию комбинации IL-17, TNF α и IL-22 для стимулирования воспалительного ответа, который измерялся выработкой IL-8 кератиноцитами, а также исследованием их общего профиля экспрессии гена.

В этой модели добавление мирицетина к культуре кератиноцитов ингибировало воспалительный ответ, о чем свидетельствовало существенное снижение выработки IL-8 (см. фиг. 3). Ряд других потенциальных агентов был исследован в этой модели без демонстрации какого-либо значительного влияния на уровень выработки IL-8.

Протокол и материалы.

Клетки.

Взрослые пролиферирующие эпидермальные кератиноциты (НЕКа) (от Thermo Fisher Scientific) применяли при низком уровне экспрессии белков (p3 и менее).

Среда.

Клетки культивировали в среде поддержания кератиноцитов KGM Gold (от Lonza Group), содержащей все компоненты набора и 70 мкМ кальция. Для исследования клетки высевали в KGM Gold с остальными компонентами набора, за исключением гидрокортизона и гентамицина, и добавляли 70 мкМ кальция.

Исследование.

В 24 планшета с культурой здоровых тканей высевали по 20000 клеток кератиноцитов в лунку планшета со средой и оставляли расти на 24 ч при 37°C в 5% CO₂ в инкубаторе культур клеток. Среду планшета извлекали и заменяли средой исследования на 16 ч. Среда исследования содержала смесь рекомбинантных белков цитокинов IL-17 при 200 нг/мл, IL-22 при 200 нг/мл и TNF α при 10 нг/мл (Sigma Aldrich UK) и активное вещество исследования, представляющее интерес-мирицетин (Sigma Aldrich),

повторно суспендировали в диметилсульфоксиде (ДМСО) в дозах от 0,4 до 6,5 мкг/мл. Также проводили отрицательный контроль цитокинов и эквивалентного количества применяемого ДМСО, однако в отсутствие мирицетина. Спустя 16 ч среду культуры клеток извлекали и измеряли величину IL-8 цитокинов, выработанного из клеток кератиноцитов, при помощи набора DuoSet IL-8 ELISA (R&D Systems Ltd). Клетки кератиноцитов лизировали RIPA буфером и общее количество белка в каждом образце измеряли при помощи набора для исследования белка Pierce BCA (ThermoFisher Ltd). Эти данные о белках использовали для нормализации данных о IL-8 цитокинах. Все обработки осуществляли трижды и рассчитывали реальные значения и величину стандартного отклонения, результаты показаны на фиг. 3. Можно увидеть, что присутствие мирицетина, в частности, в концентрации 6,5 мкг/мл вызывает заметное ингибирование воспалительного ответа на цитокины. Этот результат является статистически значимым ($p=0,0001$) при исследовании односторонним ANOVA (от англ. ANalysis Of VAriance - дисперсионным анализом) с применением парного t-критерия Стьюдента.

Пример 3.

Этот пример относится к иллюстративным вариантам реализации композиций в соответствии с настоящим изобретением и/или композиций для применения в способе согласно настоящему изобретению.

Составы шампуней

Ингредиент масс. %	Шампунь 1	Шампунь 2
Лауретсульфат натрия	16	14
Кокамидопропилбетаин	2	1,6
Пиритион цинка	--	1,0
Сульфат цинка	--	0,1
Силикон	3,0	2,0
Загуститель PEG	2,0	2,0
Полимер акриловой кислоты (Карбомер)	--	0,6
Дистеарат этиленгликоля (EGDS)	1,5	--
Гуар гидроксипропилтримоний хлорид	0,1	0,2
Соль, консерванты и отдушка	1,0	1,5
Изопропиловый спирт	2,5	2,5
Мирицетин	1,0	1,0
Мерицитин-3-глюкозид	--	0,5
Климбазол	1,0	--
Вода	до 100	до 100

Образец составов лосьона для волос/кожи головы

Компонент масс. %	Лосьон 1	Лосьон 2
Мирицетин	1,0	2,5
Акрилаты/С 10-30 Акрил акрилатный кроссполимер	0,40	0,40
Гидроксид натрия	0,10	0,10
Консервант	0,11	0,11
Компонент масс. %	Лосьон 1	Лосьон 2
Динатрий ЭДТА	0,05	0,05
Полиоксизетилен 7 лауриловый спирт	1,00	1,00
PPG-1-PEG-9 Лаурил Гликоль Эфир	3,00	4,00
Декаметилциклопентасилоксан	0,48	0,48
Диметикон	0,04	0,04
Ароматизатор	0,5	0,5
Этанол	5,0	6,0
Пиритион цинка	0,5	--
Дипрофиллин	0,5	0,5
Вода	до 100	до 100

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Применение мирицетина и/или производного мирицетина в качестве активного агента против перхоти в композиции для местного нанесения на кожу головы и/или волосы, где в указанном производном мирицетина одна или более ОН-групп, присоединенных к кольцевой структуре, заменены на заместитель, включающий гексозный или пентозный сахар или C_1 - C_4 -алкильную группу.

2. Применение по п.1, отличающееся тем, что указанная композиция представляет собой шампунь и/или кондиционер.

3. Применение по п.1 или 2, отличающееся тем, что указанная композиция содержит один или более дополнительных агентов против перхоти.

4. Применение по п.3, отличающееся тем, что указанные один или более дополнительных агентов против перхоти выбраны из группы, состоящей из кетоконазола; климбазола; пиритионовых солей металлов, предпочтительно пиритиона цинка, меди, серебра или циркония; дипрофиллина и трипептида GHK.

5. Применение по любому из пп.1-4, отличающееся тем, что указанная композиция представляет собой шампунь и/или кондиционер и дополнительно содержит любую комбинацию или каждое из следующего: вода, моющее поверхностно-активное вещество; кондиционирующий агент; суспендирующий агент; ароматизатор; краситель или пигмент; агент, регулирующий pH; перламутр или замутнитель, регулятор вязкости и консервант.

6. Применение по любому из пп.1-5, отличающееся тем, что содержание мирицетина и/или производного мирицетина в указанной композиции составляет 0,001-10,0 мас./мас.%, предпочтительно 0,005-10,0 мас./мас.%.

7. Применение по п.6, отличающееся тем, что содержание мирицетина и/или производного мирицетина в указанной композиции составляет 0,01-10,0 мас./мас.%, предпочтительно 0,025-5,0 мас./мас.%.

8. Применение по любому из пп.1-7, отличающееся тем, что указанное производное мирицетина включает мирицетин, замещенный по одному из положений.

9. Применение по любому из пп.1-8, отличающееся тем, что указанное производное мирицетина включает мирицетин, замещенный по положению 3.

10. Применение по любому из пп.1-9, отличающееся тем, что указанное производное мирицетина представляет собой гликозид мирицетина.

11. Применение по любому из пп.1-10, отличающееся тем, что указанное производное мирицетина представляет собой мирицетин-3-глюкозид или мирицетин-3-галактозид.

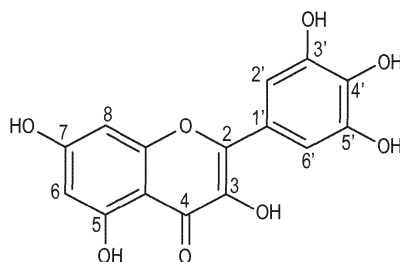
12. Композиция для местного нанесения на кожу головы или волосы человека для лечения и/или предотвращения перхоти, содержащая мирицетин и/или производное мирицетина в качестве активного агента против перхоти и дерматологически приемлемый разбавитель или носитель, где в указанном производном мирицетина одна или более ОН-групп, присоединенных к кольцевой структуре, заменены на заместитель, включающий гексозный или пентозный сахар или C_1 - C_4 -алкильную группу.

13. Способ получения упакованной композиции против перхоти для местного нанесения на кожу головы и/или волосы человека, содержащей мирицетин и/или производное мирицетина в качестве активного агента против перхоти, где в указанном производном мирицетина одна или более ОН-групп, присоединенных к кольцевой структуре, заменены на заместитель, включающий гексозный или пентозный сахар или C_1 - C_4 -алкильную группу, включающий стадии:

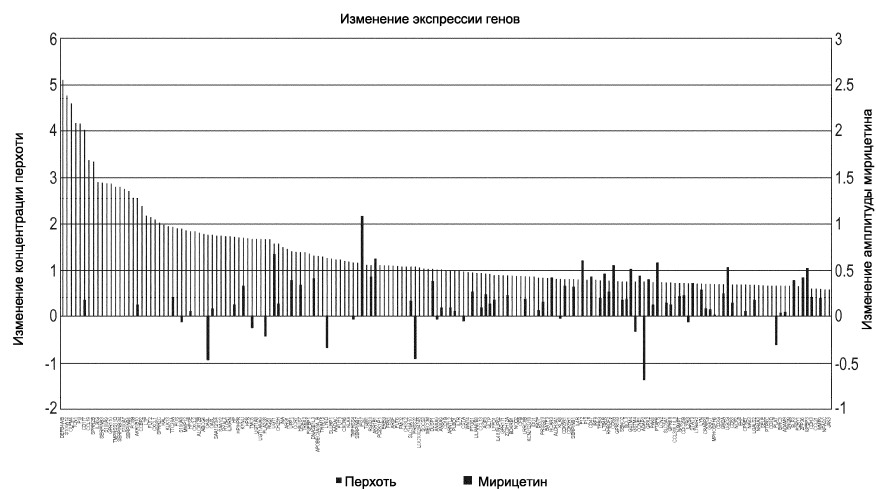
а) смешивание мирицетина и/или производного мирицетина с дерматологически приемлемым разбавителем или носителем;

б) помещение смеси, полученной на стадии (а), в подходящую упаковку.

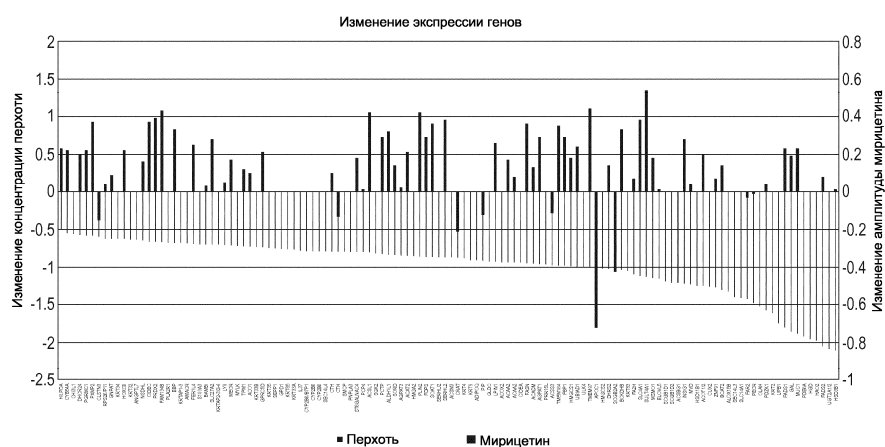
14. Способ по п.13, обеспечивающий получение упакованной композиции, подходящей для применения по любому из пп.1-11.



Фиг. 1

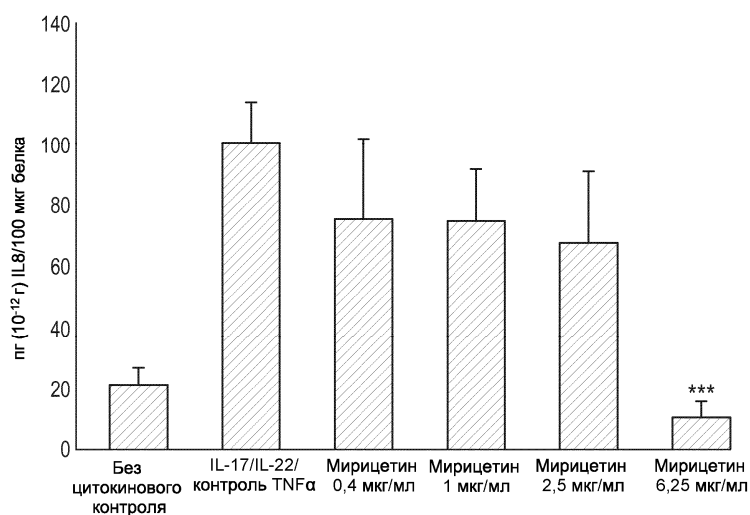


Фиг. 2А



Фиг. 2В

Выработка IL-8 после стимулирования кератиноцитов IL17/IL22/ TNFα



Фиг. 3

