



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 113980098 B

(45) 授权公告日 2022.03.29

(21) 申请号 202111608313.1

A61Q 19/02 (2006.01)

(22) 申请日 2021.12.27

A61Q 19/08 (2006.01)

A61Q 19/00 (2006.01)

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 113980098 A

(56) 对比文件

(43) 申请公布日 2022.01.28

CN 101836944 A, 2010.09.22

CN 104311622 A, 2015.01.28

(73) 专利权人 浙江湃肽生物有限公司深圳分公司

CN 101991578 A, 2011.03.30

CN 101182299 A, 2008.05.21

地址 518000 广东省深圳市南山区南山街道登良社区登良路19号206栋厂房(恒裕中心B栋)5层

CN 104877015 A, 2015.09.02

CN 108056929 A, 2018.05.22

US 2017258697 A1, 2017.09.14

(72) 发明人 陈超 傅小明 钱令页 黄毅

施跃英等. “美容肽在化妆品中的功效”. 《第十一届中国化妆品学术研讨会论文集》. 2016, 第265页左栏最后一段至第266页右栏第1段.

(74) 专利代理机构 北京国翰知识产权代理事务所(普通合伙) 11696

聂艳峰. “积雪草提取物的制备及其在化妆品中的应用”. 《中国优秀博硕士学位论文全文数据库(硕士) 工程科技I辑》. 2018, (第2期), 摘要.

代理人 张天辰

审查员 杨莽嘉

(51) Int. Cl.

C07K 7/06 (2006.01)

C07K 1/107 (2006.01)

A61K 8/64 (2006.01)

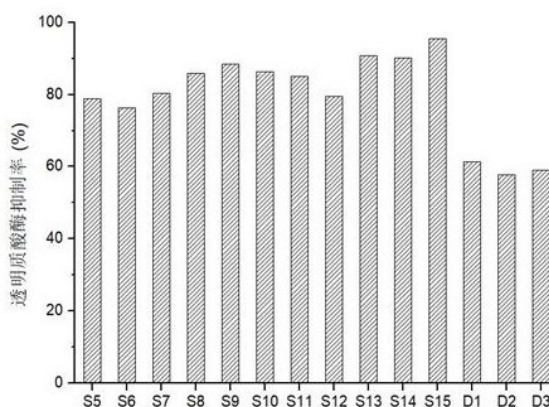
权利要求书1页 说明书13页 附图2页

(54) 发明名称

一种九肽-1衍生物及其合成方法和用途

(57) 摘要

本发明公开了一种九肽-1衍生物及其合成方法和用途,属于美容肽技术领域,以九肽-1、积雪草酸或羟基积雪草酸为原料,九肽-1和积雪草酸的摩尔比为1:2.0-4.0,或,九肽-1和羟基积雪草酸的摩尔比为1:2.0-4.0,以HOBt/DCC或DMAP/DCC为缩合剂,进行缩合反应,制得九肽-1衍生物。本发明九肽-1衍生物具有抑制酪氨酸酶活性、抗氧化活性、抗光老化活性、抗敏活性,且透皮渗透性佳,可以用于制备皮肤去色素剂、美白剂、淡斑剂、抗老剂、抗敏剂。



1. 一种九肽-1衍生物的合成方法,以九肽-1、积雪草酸为原料,以HOBt/DCC或DMAP/DCC为缩合剂,进行缩合反应,制得九肽-1-Aa衍生物,所述九肽-1和积雪草酸的摩尔比为1:2.0-4.0,所述积雪草酸、HOBt和DCC的摩尔比为1:1-1.2:1-1.2,所述积雪草酸、DMAP和DCC的摩尔比为1:0.18-0.25:1-1.2;或,以九肽-1、羟基积雪草酸为原料,以HOBt/DCC或DMAP/DCC为缩合剂,进行缩合反应,制得九肽-1-Ma衍生物,所述九肽-1和羟基积雪草酸的摩尔比为1:2.0-4.0,所述羟基积雪草酸、HOBt和DCC的摩尔比为1:1-1.2:1-1.2,所述羟基积雪草酸、DMAP和DCC的摩尔比为1:0.18-0.25:1-1.2。

2. 一种九肽-1衍生物,通过权利要求1所述的合成方法制得九肽-1-Aa衍生物或九肽-1-Ma衍生物。

3. 根据权利要求2所述的一种九肽-1衍生物,其特征在于,所述九肽-1衍生物对酪氨酸酶的半数抑制浓度 $IC_{50} \leq 275 \mu\text{g/mL}$ 。

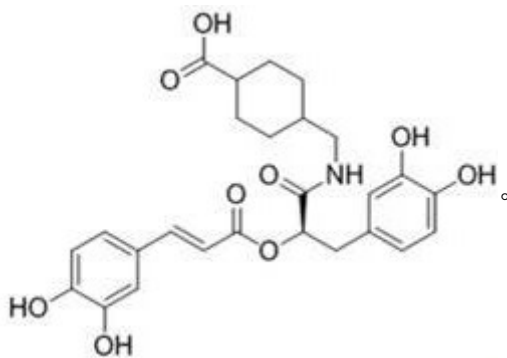
4. 根据权利要求2所述的一种九肽-1衍生物,其特征在于,所述九肽-1衍生物对DPPH自由基清除的半数抑制浓度 $IC_{50} \leq 5.5 \mu\text{g/mL}$ 。

5. 权利要求2所述的一种九肽-1衍生物在制备皮肤去色素剂或美白剂或淡斑剂或抗老剂或抗敏剂中的用途。

6. 一种美白剂,包括,权利要求2所述的九肽-1衍生物和其美容上可接受的盐或赋形剂或佐剂。

7. 根据权利要求6所述的一种美白剂,其特征在于,所述美白剂包括九肽-1-Aa衍生物和九肽-1-Ma衍生物,其重量比为1:0.1-0.3。

8. 根据权利要求6所述的一种美白剂,其特征在于,所述佐剂包括式I所示迷迭香酸衍生物;



9. 一种化妆品,包括,权利要求6所述的美白剂和至少一种化妆品可接受的赋形剂或辅助剂。

## 一种九肽-1衍生物及其合成方法和用途

### 技术领域

[0001] 本发明属于美容肽技术领域,具体涉及一种九肽-1衍生物及其合成方法和用途。

### 背景技术

[0002] 九肽-1又名美立肽,为含有九个氨基酸的美白九肽,主要用于美白亮肤及祛斑。黑色素的形成第一步是促黑色素细胞激素和黑色素细胞上的MC1受体结合,然后激活酪氨酸酶,进一步形成黑色素。九肽-1是一种仿生肽,它和黑色素细胞上的MC1受体有非常好的匹配性,因此可以作为促黑色素细胞激素的对抗剂,竞争性的与MC1受体结合,阻止酪氨酸酶进一步被激活而产生黑色素。九肽-1竞争性的封闭黑色素母细胞上受体与各种因子信号的入口,弱化了黑色素母细胞的活性,减少黑色素产生量,14天开始逐步均匀肤色,一个皮肤周期28天后,明显提亮肤色,肌肤红润、白皙,因此九肽-1常被用作化妆品原料。

[0003] 对现有文献及专利检索发现,申请公布号为CN 108852894 A的中国发明专利申请公开了一种用于修复美白祛皱的多肽组合,包括:修复多肽组合,修复多肽组合包括棕榈酰四肽-7和三肽-1-铜;补充胶原蛋白多肽组合,补充胶原蛋白多肽组合包括棕榈酰三肽-1,棕榈酰三肽-5,棕榈酰五肽-4;祛皱多肽组合,祛皱多肽组合包括乙酰基六肽-8,类蛇毒肽,蜂毒肽;亮肤多肽组合,亮肤多肽组合包括九肽-1,肌肽,四肽-30;小分子活性物质、皮肤护理活性剂、pH调节剂、辅助剂若干,其余水。通过调节不同多肽组分的配比形成新配方,从而产生侧重点不同的多肽功效和不同的适用范围,将中医学上君臣佐使思想应用其中,使配方多样性,发挥其最大适用性和适用范围。申请公布号为CN 111035609 A的中国发明专利申请公开了一种小分子多肽眼部精华,包括如下组分:寡肽混合液、小分子多肽混合液、干细胞混合液、深海胶原蛋白粉及助剂;寡肽混合液由寡肽-1、寡肽-3、寡肽-4和寡肽-5组成;小分子多肽混合液由三肽-1铜、棕榈酰五肽-4、乙酰基四肽-15、二肽-2、乙酰基六肽-8、三肽-1、九肽-1、棕榈酰四肽-7和肌肽组成。该小分子多肽眼部精华将多种小分子多肽、干细胞混合液精心复配制得的眼部精华,对于眼部肌肤的黑色素抑制具有明显的提升作用,并且具有增加皮肤弹性、抗皱紧肤的功效。尽管九肽-1展现出如上所述的多种效果和应用,但是目前对九肽-1衍生物的研究几乎没有。

### 发明内容

[0004] 本发明的目的在于提供一种具有抑制酪氨酸酶活性、抗氧化活性、抗光老化活性、抗敏活性且透皮渗透性佳的九肽-1衍生物及其制备方法,该九肽-1衍生物可以用于皮肤去色素剂、美白剂、淡斑剂、抗老剂、抗敏剂。

[0005] 本发明为实现上述目的所采取的技术方案为:

[0006] 一种九肽-1衍生物的合成方法,以九肽-1、积雪草酸为原料,以HOBt/DCC或DMAP/DCC为缩合剂,进行缩合反应,制得九肽-1衍生物;或,以九肽-1、羟基积雪草酸为原料,以HOBt/DCC或DMAP/DCC为缩合剂,进行缩合反应,制得九肽-1衍生物。

[0007] 本发明合成方法制得的九肽-1衍生物能够抑制酪氨酸酶活性和黑色素的合成,对

肌肤具有美白和淡斑的功效；本发明合成方法制得的九肽-1衍生物能够有效清除DPPH自由基，从而发挥抗氧化活性，防止皮肤老化，且该九肽-1衍生物还具有抗光老化效果；本发明合成方法制得的九肽-1衍生物能够抑制透明质酸酶的活性，从而发挥出抗敏作用；本发明合成方法制得的九肽-1衍生物还具有较佳的透皮渗透性，易于被肌肤吸收利用。

[0008] 根据本发明一实施方式，九肽-1和积雪草酸的摩尔比为1:2.0-4.0，或，九肽-1和羟基积雪草酸的摩尔比为1:2.0-4.0。

[0009] 根据本发明一实施方式，积雪草酸、HOBt和DCC的摩尔比为1:1-1.2:1-1.2，或，积雪草酸、DMAP和DCC的摩尔比为1:0.18-0.25:1-1.2，羟基积雪草酸、HOBt和DCC的摩尔比为1:1-1.2:1-1.2，或，羟基积雪草酸、DMAP和DCC的摩尔比为1:0.18-0.25:1-1.2。

[0010] 本发明一实施方式提供了一种九肽-1衍生物，通过上述的合成方法制得。

[0011] 根据本发明一实施方式，九肽-1衍生物对酪氨酸酶的半数抑制浓度 $IC_{50} \leq 275 \mu\text{g}/\text{mL}$ 。

[0012] 根据本发明一实施方式，九肽-1衍生物对DPPH自由基清除的半数抑制浓度 $IC_{50} \leq 5.5 \mu\text{g}/\text{mL}$ 。

[0013] 本发明一实施方式提供了一种上述的九肽-1衍生物在制备皮肤去色素剂或美白剂或淡斑剂或抗老剂或抗敏剂中的用途。

[0014] 本发明一实施方式提供了一种美白剂，包括，上述的九肽-1衍生物和其美容上可接受的盐或赋形剂或佐剂。

[0015] 本发明一实施方式提供了一种化妆品，包括，上述的美白剂和至少一种化妆品可接受的赋形剂、辅助剂和/或成分。

[0016] 本发明由于采用了积雪草酸和/或羟基积雪草酸对九肽-1进行衍生，因而具有如下有益效果：本发明九肽-1衍生物能够抑制酪氨酸酶活性和黑色素的合成，对肌肤具有美白和淡斑的功效；本发明九肽-1衍生物能够有效清除DPPH自由基，防止皮肤老化，且还具有抗光老化效果；本发明九肽-1衍生物能够抑制透明质酸酶的活性，防止皮肤过敏；本发明九肽-1衍生物还具有较佳的透皮渗透性，易于被肌肤吸收利用。因此，本发明提供一种具有抑制酪氨酸酶活性、抗氧化活性、抗光老化活性、抗敏活性且透皮渗透性佳的九肽-1衍生物及其制备方法，该九肽-1衍生物可以用作皮肤去色素剂、美白剂、淡斑剂、抗老剂、抗敏剂。

## 附图说明

[0017] 图1为九肽-1衍生物的红外光谱图；

[0018] 图2为美白剂对透明质酸酶的抑制率；

[0019] 图3为九肽-1衍生物在12 h的透皮浓度；

[0020] 图4为九肽-1衍生物在12 h的透皮浓度。

## 具体实施方式

[0021] 下面结合具体实施方式对本发明进行进一步的详细描述，给出的实施例仅为了阐明本发明，而不是为了限制本发明的范围。以下提供的实施例可作为本技术领域普通技术人员进行进一步改进的指南，并不以任何方式构成对本发明的限制。

[0022] 本发明一实施方式提供了一种九肽-1衍生物的合成方法，以九肽-1、积雪草酸为

原料,以HOBt/DCC或DMAP/DCC为缩合剂,进行缩合反应,制得九肽-1衍生物;或,以九肽-1、羟基积雪草酸为原料,以HOBt/DCC或DMAP/DCC为缩合剂,进行缩合反应,制得九肽-1衍生物。

[0023] 本发明一实施方式采用积雪草酸和/或羟基积雪草酸对九肽-1进行衍生,制得的九肽-1衍生物能够抑制酪氨酸酶活性和黑色素的合成,对肌肤具有美白和淡斑的功效;本发明一实施方式合成方法制得的九肽-1衍生物能够有效清除DPPH自由基,从而发挥抗氧化活性,防止皮肤老化,且该九肽-1衍生物还具有抗光老化效果;本发明一实施方式合成方法制得的九肽-1衍生物能够抑制透明质酸酶的活性,从而发挥出抗敏作用;本发明一实施方式合成方法制得的九肽-1衍生物还具有较佳的透皮渗透性,易于被肌肤吸收利用。

[0024] 于一实施方式中,九肽-1衍生物的合成方法为:将九肽-1、积雪草酸或羟基积雪草酸、缩合剂加入 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 中,室温搅拌反应12-36 h,反应结束后,减压蒸馏除去溶剂,加入蒸馏水和乙酸乙酯进行萃取,有机层依次以蒸馏水、盐酸溶液、饱和碳酸氢钠溶液和饱和氯化钠溶液洗涤,最后用无水硫酸钠干燥、减压浓缩,最后经氯仿-甲醇重结晶,得到九肽-1衍生物。

[0025] 于一实施方式中,九肽-1和积雪草酸的摩尔比为1:2.0-4.0,或,九肽-1和羟基积雪草酸的摩尔比为1:2.0-4.0。

[0026] 于一实施方式中,积雪草酸、HOBt和DCC的摩尔比为1:1-1.2:1-1.2,或,积雪草酸、DMAP和DCC的摩尔比为1:0.18-0.25:1-1.2,羟基积雪草酸、HOBt和DCC的摩尔比为1:1-1.2:1-1.2,或,羟基积雪草酸、DMAP和DCC的摩尔比为1:0.18-0.25:1-1.2。

[0027] 于一实施方式中,九肽-1和 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 的用量比为1 g:3-10 mL。

[0028] 于一实施方式中,萃取过程中,蒸馏水和乙酸乙酯的体积比为1:0.8-1.6,九肽-1和乙酸乙酯的用量比为1 g:30-50 mL。

[0029] 于一实施方式中,盐酸溶液的浓度为0.5-1.5 M。

[0030] 于一实施方式中,洗涤过程中,九肽-1和蒸馏水的用量比为1 g:10-20 mL,九肽-1和盐酸溶液的用量比为1 g:10-20 mL,九肽-1和饱和碳酸氢钠溶液的用量比为1 g:10-20 mL,九肽-1和饱和氯化钠溶液的用量比为1 g:10-20 mL。

[0031] 于一实施方式中,氯仿-甲醇重结晶过程中,氯仿和甲醇的体积比为1:0.8-1.3。

[0032] 于一实施方式中,九肽-1-Aa衍生物的合成方法为:将九肽-1、积雪草酸(Asiatic acid)和缩合剂加入 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 中,室温搅拌反应12-36 h,反应结束后,减压蒸馏除去溶剂,加入蒸馏水和乙酸乙酯进行萃取,有机层依次以蒸馏水、盐酸溶液、饱和碳酸氢钠溶液和饱和氯化钠溶液洗涤,最后用无水硫酸钠干燥、减压浓缩,最后经氯仿-甲醇重结晶,得到九肽-1-Aa衍生物。

[0033] 于一实施方式中,九肽-1-Ma衍生物的合成方法为:将九肽-1、羟基积雪草酸(Madecassic acid)和缩合剂加入 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 中,室温搅拌反应12-36 h,反应结束后,减压蒸馏除去溶剂,加入蒸馏水和乙酸乙酯进行萃取,有机层依次以蒸馏水、盐酸溶液、饱和碳酸氢钠溶液和饱和氯化钠溶液洗涤,最后用无水硫酸钠干燥、减压浓缩,最后经氯仿-甲醇重结晶,得到九肽-1-Ma衍生物。

[0034] 本发明一实施方式的九肽-1衍生物,通过上述的合成方法制得。

[0035] 本发明一实施方式公开的九肽-1衍生物能够抑制酪氨酸酶活性和黑色素的合成,

对肌肤具有美白和淡斑的功效,因此,九肽-1衍生物可以作为皮肤去色素剂或美白剂或淡斑剂;本发明一实施方式公开的九肽-1衍生物能够有效清除DPPH自由基,从而发挥抗氧化活性,防止皮肤老化,且该九肽-1衍生物还具有抗光老化效果,对光老化的人皮肤成纤维细胞(HSF)和人永生化表皮细胞(HaCaT)具有一定的保护作用,因此,九肽-1衍生物可以作为抗老剂;本发明一实施方式公开的九肽-1衍生物能够抑制透明质酸酶的活性,从而发挥出抗敏作用,因此,九肽-1衍生物可以作为抗敏剂;本发明一实施方式公开的九肽-1衍生物还具有较佳的透皮渗透性,易于被肌肤吸收利用。

[0036] 于一实施方式中,九肽-1衍生物对酪氨酸酶的半数抑制浓度 $IC_{50} \leq 275 \mu\text{g/mL}$ 。

[0037] 于一实施方式中,九肽-1衍生物对DPPH自由基清除的半数抑制浓度 $IC_{50} \leq 5.5 \mu\text{g/mL}$ 。

[0038] 本发明一实施方式提供了一种九肽-1衍生物在制备皮肤去色素剂或美白剂或淡斑剂或抗老剂或抗敏剂中的用途。

[0039] 本发明一实施方式提供了一种九肽-1-Aa衍生物和九肽-1-Ma衍生物在制备皮肤去色素剂或美白剂或淡斑剂或抗老剂或抗敏剂中的用途。九肽-1-Aa衍生物和九肽-1-Ma衍生物的共同使用,不仅能够进一步抑制酪氨酸酶活性,提高对DPPH自由基的清除活性,具有更佳的美白和抗氧化作用。于一实施方式中,九肽-1-Aa衍生物和九肽-1-Ma衍生物的重量比为1:0.1-0.3。该比例范围内九肽-1-Aa衍生物和九肽-1-Ma衍生物的共同使用,使各效果达到最佳。

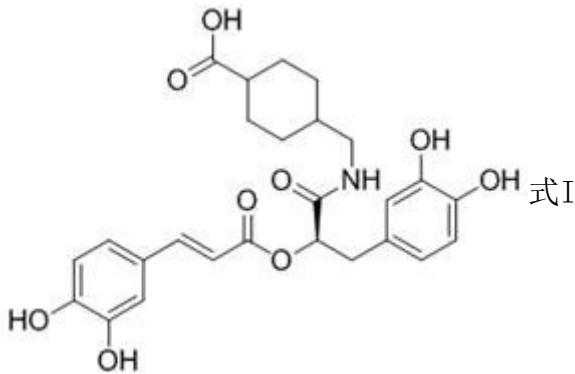
[0040] 本发明一实施方式提供了一种美白剂,包括,上述的九肽-1衍生物或其美容上可接受的盐或赋形剂或佐剂。

[0041] 于一实施方式中,美白剂包括九肽-1-Aa衍生物和九肽-1-Ma衍生物的化合物,其重量比为1:0.1-0.3。

[0042] 美容多肽存在稳定性较差的技术问题,易被人体内蛋白酶酶解而失去反应活性,使得美容多肽的活性降低甚至完全丧失。为了解决上述技术问题,于一实施方式中,美白剂包括式I所示迷迭香酸衍生物。式I所示迷迭香酸衍生物能有效抑制九肽-1衍生物的被酶促降解,提高九肽-1衍生物的稳定性的;式I所示迷迭香酸衍生物能提高九肽-1衍生物的透皮吸收,增加其在真皮层中的含量;此外,式I所示迷迭香酸衍生物还能够提高九肽-1衍生物的抗敏和抗光老化效果。于一实施方式中,九肽-1衍生物和迷迭香酸衍生物的重量比为1:1-3。

[0043] 于一实施方式中,式I所示迷迭香酸衍生物的制备方法,包括,将迷迭香酸、凝血酸和缩合剂加入 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 中,室温搅拌反应12-36 h,反应结束后,减压蒸馏除去溶剂,粗产品经柱层析,洗脱液为体积比为5-10:1的正己烷和乙酸乙酯,得到式I所示迷迭香酸衍生物。

[0044]



[0045] 本发明一实施方式提供了一种化妆品,包括,上述的美白剂和至少一种化妆品可接受的赋形剂、辅助剂和/或成分。

[0046] 下述实施例中的实验方法,如无特殊说明,均为常规方法。下述实施例中所用的材料、试剂等,如无特殊说明,均可从商业途径得到。

[0047] 实施例1:

[0048] 九肽-1-Aa衍生物的合成方法

[0049] 将九肽-1、积雪草酸、HOBt和DCC加入 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 中,室温搅拌反应24 h,反应结束后,减压蒸馏除去溶剂,加入蒸馏水和乙酸乙酯进行萃取,有机层依次以蒸馏水、盐酸溶液、饱和碳酸氢钠溶液和饱和氯化钠溶液洗涤,最后用无水硫酸钠干燥、减压浓缩,最后经氯仿-甲醇重结晶,得到九肽-1-Aa衍生物,产率为81.15%。

[0050] 其中,九肽-1和积雪草酸的摩尔比为1:3.0,积雪草酸、HOBt和DCC的摩尔比为1:1.05:1.05,九肽-1和 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 的用量比为1 g:6 mL;萃取过程中,蒸馏水和乙酸乙酯的体积比为1:1,九肽-1和乙酸乙酯的用量比为1 g:35 mL;洗涤过程中,九肽-1和蒸馏水的用量比为1 g:16 mL,九肽-1和盐酸溶液的用量比为1 g:16 mL,盐酸溶液的浓度为1 M,九肽-1和饱和碳酸氢钠溶液的用量比为1 g:16 mL,九肽-1和饱和氯化钠溶液的用量比为1 g:16 mL;氯仿-甲醇重结晶过程中,氯仿和甲醇的体积比为1:1。

[0051] 实施例2:

[0052] 九肽-1-Aa衍生物的合成方法

[0053] 本实施例所用原料、合成方法与实施例1基本相同,区别在于:所使用的缩合剂HOBt/DCC替换为DMAP/DCC,积雪草酸、DMAP和DCC的摩尔比为1:0.2:1.05。九肽-1-Aa衍生物的产率为83.42%。

[0054] 实施例3:

[0055] 九肽-1-Ma衍生物的合成方法

[0056] 本实施例所用原料、合成方法与实施例1基本相同,区别在于:所使用的积雪草酸替换为羟基积雪草酸。九肽-1-Ma衍生物的产率为80.02%。

[0057] 实施例4:

[0058] 九肽-1-Ma衍生物的合成方法

[0059] 本实施例所用原料、合成方法与实施例2基本相同,区别在于:所使用的积雪草酸替换为羟基积雪草酸。九肽-1-Ma衍生物的产率为81.76%。

[0060] 实施例5:

[0061] 美白剂,包括,九肽-1-Aa衍生物。

[0062] 实施例6:

[0063] 一种美白剂,包括,九肽-1-Ma衍生物。

[0064] 实施例7:

[0065] 一种美白剂,包括,九肽-1-Aa衍生物和九肽-1-Ma衍生物,其重量比为1:0.05。

[0066] 实施例8:

[0067] 一种美白剂,包括,九肽-1-Aa衍生物和九肽-1-Ma衍生物,其重量比为1:0.1。

[0068] 实施例9:

[0069] 一种美白剂,包括,九肽-1-Aa衍生物和九肽-1-Ma衍生物,其重量比为1:0.15。

[0070] 实施例10:

[0071] 一种美白剂,包括,九肽-1-Aa衍生物和九肽-1-Ma衍生物,其重量比为1:0.2。

[0072] 实施例11:

[0073] 一种美白剂,包括,九肽-1-Aa衍生物和九肽-1-Ma衍生物,其重量比为1:0.3。

[0074] 实施例12:

[0075] 一种美白剂,包括,九肽-1-Aa衍生物和九肽-1-Ma衍生物,其重量比为1:0.35。

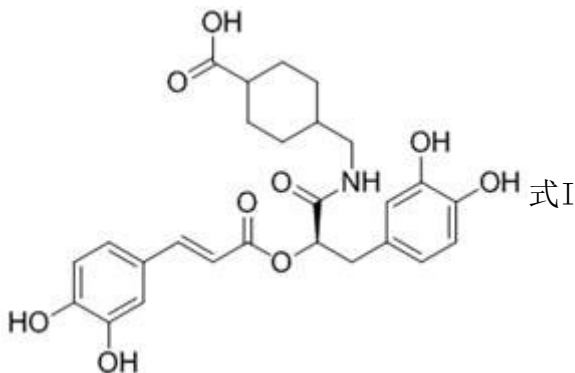
[0076] 实施例13:

[0077] 迷迭香酸衍生物的制备方法

[0078] 将迷迭香酸、凝血酸、HOBt和DCC加入 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 中,室温搅拌反应12-36 h,反应结束后,减压蒸馏除去溶剂,粗产品经柱层析,洗脱液为体积比为8:1的正己烷和乙酸乙酯,得到式I所示迷迭香酸衍生物,产率为84.65%。迷迭香酸和凝血酸的摩尔比为1:1.1,迷迭香酸、HOBt和DCC的摩尔比为1:1.05:1.05,迷迭香酸和 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 的用量比为1 g:6 mL。

[0079] 式I所示迷迭香酸衍生物的结构见式I,分子式为 $\text{C}_{26}\text{H}_{29}\text{NO}_9$ , $^1\text{H-NMR}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  (ppm) : 11.33 (s, 1H,  $-\text{COOH}$ ), 7.84 (m, 1H,  $\text{Ph-CH=CH}$ ), 6.74-7.35 (d, 6H,  $\text{Ph-H}$ ), 6.32 (m, 1H,  $\text{Ph-CH=CH}$ ), 5.93 (m, 1H,  $-\text{CONH}$ ), 5.39 (s, 4H,  $\text{Ph-OH}$ ), 5.16 (t, 1H,  $-\text{CH-CONH}$ ), 3.34 (m, 2H,  $-\text{CH}_2-\text{CONH}$ ), 2.97-3.18 (t, 2H,  $-\text{CH}_2$ ), 2.45 (m, 1H,  $\text{COOH-CH}$ ), 2.12 (m, 1H,  $-\text{CH-CH}_2-\text{CONH}$ ), 1.31-1.56 (m, 8H,  $-\text{CH}_2$ )。

[0080]



[0081] 一种美白剂,包括,九肽-1-Aa衍生物和式I所示迷迭香酸衍生物,其重量比为1:2。

[0082] 实施例14:

[0083] 一种美白剂,包括,九肽-1-Ma衍生物和式I所示迷迭香酸衍生物,其重量比为1:2。

[0084] 实施例15:

[0085] 1. 九肽-1-Aa衍生物的合成方法

[0086] 将九肽-1、积雪草酸、HOBt和DCC加入 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 中,室温搅拌反应24 h,反应结束后,减

压蒸馏除去溶剂,加入蒸馏水和乙酸乙酯进行萃取,有机层依次以蒸馏水、盐酸溶液、饱和碳酸氢钠溶液和饱和氯化钠溶液洗涤,最后用无水硫酸钠干燥、减压浓缩,最后经氯仿-甲醇重结晶,得到九肽-1-Aa衍生物,产率为81.15%。

[0087] 其中,九肽-1和积雪草酸的摩尔比为1:3.0,积雪草酸、HOBt和DCC的摩尔比为1:1.05:1.05,九肽-1和 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 的用量比为1 g:6 mL;萃取过程中,蒸馏水和乙酸乙酯的体积比为1:1,九肽-1和乙酸乙酯的用量比为1 g:35 mL;洗涤过程中,九肽-1和蒸馏水的用量比为1 g:16 mL,九肽-1和盐酸溶液的用量比为1 g:16 mL,盐酸溶液的浓度为1 M,九肽-1和饱和碳酸氢钠溶液的用量比为1 g:16 mL,九肽-1和饱和氯化钠溶液的用量比为1 g:16 mL;氯仿-甲醇重结晶过程中,氯仿和甲醇的体积比为1:1。

[0088] 2. 九肽-1-Ma衍生物的合成方法

[0089] 将九肽-1、羟基积雪草酸、HOBt和DCC加入 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 中,室温搅拌反应24 h,反应结束后,减压蒸馏除去溶剂,加入蒸馏水和乙酸乙酯进行萃取,有机层依次以蒸馏水、盐酸溶液、饱和碳酸氢钠溶液和饱和氯化钠溶液洗涤,最后用无水硫酸钠干燥、减压浓缩,最后经氯仿-甲醇重结晶,得到九肽-1-Ma衍生物,产率为80.02%。

[0090] 其中,九肽-1和羟基积雪草酸的摩尔比为1:3.0,羟基积雪草酸、HOBt和DCC的摩尔比为1:1.05:1.05,九肽-1和 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 的用量比为1 g:6 mL;萃取过程中,蒸馏水和乙酸乙酯的体积比为1:1,九肽-1和乙酸乙酯的用量比为1 g:35 mL;洗涤过程中,九肽-1和蒸馏水的用量比为1 g:16 mL,九肽-1和盐酸溶液的用量比为1 g:16 mL,盐酸溶液的浓度为1 M,九肽-1和饱和碳酸氢钠溶液的用量比为1 g:16 mL,九肽-1和饱和氯化钠溶液的用量比为1 g:16 mL;氯仿-甲醇重结晶过程中,氯仿和甲醇的体积比为1:1。

[0091] 本实施例合成方法制得的九肽-1衍生物(九肽-1-Aa衍生物和九肽-1-Ma衍生物)能够抑制酪氨酸酶活性和黑色素的合成,对肌肤具有美白和淡斑的功效;本实施例合成方法制得的九肽-1衍生物能够有效清除DPPH自由基,从而发挥抗氧化活性,防止皮肤老化,且该九肽-1衍生物还具有抗光老化效果;本实施例合成方法制得的九肽-1衍生物能够抑制透明质酸酶的活性,从而发挥出抗敏作用;本实施例合成方法制得的九肽-1衍生物还具有较佳的透皮渗透性,易于被肌肤吸收利用。

[0092] 3. 迷迭香酸衍生物的制备方法

[0093] 将迷迭香酸、凝血酸、HOBt和DCC加入 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 中,室温搅拌反应12-36 h,反应结束后,减压蒸馏除去溶剂,粗产品经柱层析,洗脱液为体积比为8:1的正己烷和乙酸乙酯,得到式I所示迷迭香酸衍生物,产率为84.65%。迷迭香酸和凝血酸的摩尔比为1:1.1,迷迭香酸、HOBt和DCC的摩尔比为1:1.05:1.05,迷迭香酸和 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 的用量比为1 g:6 mL。

[0094] 式I所示迷迭香酸衍生物能有效抑制九肽-1衍生物的被酶促降解,提高九肽-1衍生物稳定性;式I所示迷迭香酸衍生物能提高九肽-1衍生物的透皮吸收,增加其在真皮层中的含量;此外,式I所示迷迭香酸衍生物还能够提高九肽-1衍生物的抗敏和抗光老化效果。

[0095] 4. 一种美白剂,包括,九肽-1-Aa衍生物、九肽-1-Ma衍生物和式I所示迷迭香酸衍生物,其重量比为1:0.15:3。九肽-1-Aa衍生物和九肽-1-Ma衍生物的共同使用,不仅能够进一步抑制酪氨酸酶活性,提高对DPPH自由基的清除活性,具有更佳的美白和抗氧化作用。该比例范围内九肽-1-Aa衍生物和九肽-1-Ma衍生物的共同使用,使各技术效果均达到最佳。

同时式I所示迷迭香酸衍生物的加入能够进一步改善美白的使用性能,比如,提高九肽-1衍生物的稳定性,提高九肽-1衍生物的透皮吸收,提高九肽-1衍生物的抗敏和抗光老化效果。

[0096] 对比例1:

[0097] 一种美白剂,包括,九肽-1和积雪草酸,其摩尔比为1:3.0。

[0098] 对比例2:

[0099] 一种美白剂,包括,九肽-1和羟基积雪草酸,其摩尔比为1:3.0。

[0100] 对比例3:

[0101] 一种美白剂,包括,对比例1美白剂和对比例2美白剂,其重量比为1:0.15。

[0102] 实验例1:

[0103] 1. 九肽-1衍生物的红外光谱

[0104] 采用KBr压片,用傅立叶变换红外光谱仪测定九肽-1衍生物的红外光谱,扫描范围为400-4000  $\text{cm}^{-1}$ 。

[0105] 九肽-1衍生物的红外光谱图见图1,图1中a为九肽-1-Aa衍生物的红外光谱图,b为九肽-1-Ma衍生物的红外光谱图。从图1可以看出,在1630  $\text{cm}^{-1}$ 附近处出现C=C的伸缩振动吸收峰,这说明成功获得九肽-1-Aa衍生物和九肽-1-Ma衍生物。

[0106] 2. 美白剂的酪氨酸酶抑制活性

[0107] 将实施例5-12和对比例1-3美白剂用无水乙醇配制浓度为1 mg/mL的美白剂样品溶液,然后稀释得0.50、0.40、0.30、0.20、0.10、0.05 mg/mL的样品溶液。按表1所示试剂的顺序依次添加到96孔板中,在37℃下孵育20 min,然后在475 nm处分别测定各组吸光值,以 $V_c$ 为阳性对照组,按照下式计算酪氨酸酶抑制率,绘制美白剂抑制酪氨酸酶活性曲线,然后计算得到美白剂抑制酪氨酸酶活性的半抑制浓度 $IC_{50}$ 。

[0108] 酪氨酸酶抑制率= $[(A-B) - (C-D)] / (A-B) \times 100\%$

[0109] 式中,A为未加样品但加酶的样品吸光值;B为未加样品未加酶的样品吸光值;C为加样品加酶的样品吸光值;D为加样品但未加酶的样品吸光值。

[0110] 表1 抑制酪氨酸酶活性的反应体系

组别	pH6.8 0.2M 磷酸盐缓冲液	样品	2mML-酪氨酸	50U/mL 酪氨酸酶
A 组	56 $\mu\text{L}$	0	94 $\mu\text{L}$	50 $\mu\text{L}$
B 组	56 $\mu\text{L}$	0	94 $\mu\text{L}$	0
C 组	56 $\mu\text{L}$	100 $\mu\text{L}$	94 $\mu\text{L}$	50 $\mu\text{L}$
D 组	56 $\mu\text{L}$	100 $\mu\text{L}$	94 $\mu\text{L}$	0

[0112] 3. 美白剂的抗氧化活性

[0113] 将实施例5-12和对比例1-3美白剂用无水乙醇配制浓度为1 mg/mL的美白剂样品溶液,然后稀释得0.50、0.20、0.10、0.02、0.01、0.005、0.002、0.001 mg/mL的样品溶液。按表2所示试剂的顺序依次添加到试管中,黑暗下室温避光反应30 min,然后以5000 r/min离心10 min,取上清液,在517 nm处分别测定各组吸光值A,以 $V_c$ 为阳性对照组,按照下式计算酪氨酸酶抑制率,绘制美白剂对DPPH自由基清除活性的曲线,然后计算得到美白剂对DPPH自由基清除的半数抑制浓度 $IC_{50}$ 。

[0114] 清除率= $[1 - (A_{517\text{实验组}} - A_{517\text{对照组}}) / A_{517\text{对照组}}] \times 100\%$

[0115] 表2 对DPPH自由基清除活性的反应体系

组别	样品	无水乙醇	0.2mMDPPH 的乙醇溶液	蒸馏水
实验组	2mL	0	2mL	0
正常组	0	2mL	0	2mL
对照组	0	2mL	2mL	0

[0117] 美白剂抑制酪氨酸酶活性的半抑制浓度见表3,可以看出,本发明实施例5-12美白剂(即九肽-1衍生物)抑制酪氨酸酶活性的半抑制浓度 $IC_{50} \leq 275 \mu\text{g/mL}$ ,具有较强的抑制酪氨酸酶能力;其中,实施例5美白剂抑制酪氨酸酶活性的半抑制浓度低于对比例1,实施例6美白剂抑制酪氨酸酶活性的半抑制浓度低于对比例2,实施例9美白剂抑制酪氨酸酶活性的半抑制浓度低于对比例3,这说明利用积雪草酸和/或羟基积雪草酸对九肽-1进行衍生,制得的九肽-1衍生物能够抑制酪氨酸酶活性,从而抑制黑色素的合成,对肌肤具有美白和淡斑的功效;此外,实施例7-12美白剂抑制酪氨酸酶活性的半抑制浓度低于实施例5-6,且实施例8-11美白剂抑制酪氨酸酶活性的半抑制浓度低于实施例7和实施例12,这说明九肽-1-Aa衍生物和九肽-1-Ma衍生物的共同使用,能够进一步抑制酪氨酸酶活性,且九肽-1-Aa衍生物和九肽-1-Ma衍生物的重量比为1:0.1-0.3时,美白剂抑制酪氨酸酶活性的效果达到最佳。

[0118] 美白剂对DPPH自由基清除的半数抑制浓度见表3,可以看出,本发明实施例5-12美白剂(即九肽-1衍生物)对DPPH自由基清除的半数抑制浓度 $IC_{50} \leq 5.5 \mu\text{g/mL}$ ,具有较强的清除DPPH自由基能力;其中,实施例5美白剂对DPPH自由基清除的半数抑制浓度低于对比例1,实施例6美白剂对DPPH自由基清除的半数抑制浓度低于对比例2,实施例9美白剂对DPPH自由基清除的半数抑制浓度低于对比例3,这说明利用积雪草酸和/或羟基积雪草酸对九肽-1进行衍生,制得的九肽-1衍生物能够有效清除DPPH自由基,从而发挥抗氧化活性,防止皮肤老化;此外,实施例7-12美白剂对DPPH自由基清除的半数抑制浓度低于实施例5-6,且实施例8-11美白剂对DPPH自由基清除的半数抑制浓度低于实施例7和实施例12,这说明九肽-1-Aa衍生物和九肽-1-Ma衍生物的共同使用,能够提高对DPPH自由基的清除活性,且九肽-1-Aa衍生物和九肽-1-Ma衍生物的重量比为1:0.1-0.3时,美白剂的抗氧化效果达到最佳。

[0119] 表3 美白剂对酪氨酸酶活性的 $IC_{50}$ 和对DPPH自由基清除的 $IC_{50}$

[0120]

组别	抑制酪氨酸酶的 IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ )	对 DPPH 自由基清除的 IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ )
实施例 5	244.64	4.85
实施例 6	271.32	5.42
实施例 7	241.08	4.53
实施例 8	230.15	3.89
实施例 9	221.08	3.04
实施例 10	225.46	3.13
实施例 11	232.16	3.54
实施例 12	243.37	4.69
对比例 1	376.22	6.15
对比例 2	413.28	6.47
对比例 3	389.61	6.22
Vc	98.52	2.77

[0121] 4. 美白剂透明质酸酶抑制活性

[0122] 将实施例5-15和对比例1-3美白剂用pH为5.6的醋酸缓冲溶液配制浓度为1 mg/mL的美白剂样品溶液,待用。将透明质酸酶用pH为5.6的醋酸缓冲溶液配制浓度为1250 U/mL的透明质酸酶溶液,待用。将透明质酸钠用pH为5.6的醋酸缓冲溶液配制浓度为0.5 mg/mL的透明质酸钠溶液,待用。取0.1 mL 0.25 M的CaCl<sub>2</sub>溶液和0.5 mL透明质酸酶溶液于37℃下水浴恒温培养20 min;加入样品溶液0.5 mL,继续保温20 min;再加入0.5 mL透明质酸酶溶液,37℃水浴恒温培养30 min后取出,在常温下放置5 min;接着加入0.1 mL 0.4 M的NaOH溶液和0.5 mL乙酰丙酮溶液,于沸水浴中加热15 min后立即转移至冰水水浴冷却5 min;滴加1.0 mL埃尔利希试剂,并用3.0 mL无水乙醇稀释,室温放置20 min显色,用分光光度计先在450-700 nm范围内扫描对照溶液,以确定最大吸收波长。再用分光光度计测定最大吸收波长处吸光度值。按照下式计算透明质酸酶抑制率。

[0123] 透明质酸酶抑制率= $[(A-B) - (C-D)] / (A-B) \times 100\%$

[0124] 式中,A为对照溶液吸光度值(用醋酸缓冲溶液代替样品溶液);B为对照空白溶液吸光度值(用醋酸缓冲溶液代替样品溶液及酶液);C为试样溶液吸光度值;D为试样空白溶液吸光度值(用醋酸缓冲溶液代替酶液)。

[0125] 美白剂对透明质酸酶的抑制率见图2,图2中,S5代表实施例5,S6代表实施例6,S7代表实施例7,S8代表实施例8,S9代表实施例9,S10代表实施例10,S11代表实施例11,S12代表实施例12,S13代表实施例13,S14代表实施例14,S15代表实施例15,D1代表对比例1,D2代表对比例2,D3代表对比例3。可以看出,本发明实施例5-15美白剂对透明质酸酶的抑制率>75%,对于透明质酸酶的抑制率非常明显;其中,实施例5美白剂对透明质酸酶的抑制率大于对比例1,实施例6美白剂对透明质酸酶的抑制率大于对比例2,实施例9美白剂对透明质酸酶的抑制率大于对比例3,这说明利用积雪草酸和/或羟基积雪草酸对九肽-1进行衍生,制

得的九肽-1衍生物能够抑制透明质酸酶的活性,从而发挥出抗敏作用;此外,实施例7-12美白剂对透明质酸酶的抑制率大于实施例5-6,且实施例8-11美白剂对透明质酸酶的抑制率大于实施例7和实施例12,这说明九肽-1-Aa衍生物和九肽-1-Ma衍生物的共同使用,能够提高对透明质酸酶的抑制活性,且九肽-1-Aa衍生物和九肽-1-Ma衍生物的重量比为1:0.1-0.3时,美白剂的抗敏效果达到最佳;最后,实施例13美白剂对透明质酸酶的抑制率大于实施例5,实施例14美白剂对透明质酸酶的抑制率大于实施例6,实施例15美白剂对透明质酸酶的抑制率大于实施例9,这说明式I所示迷迭香酸衍生物还能够提高九肽-1衍生物的抗敏效果。

#### [0126] 5. 美白剂的抗光老化活性

[0127] 人皮肤成纤维细胞(HSF)、人永生化角质形成细胞(HaCaT)均购于南京科佰生物科技有限公司,DMEM基础培养基购于北京博奥森生物科技有限公司,胎牛血清购于Capricorn公司,青-链霉素混合液(双抗)购于Solarbio公司。羟脯氨酸测试盒购于南京建成生物科技有限公司。

#### [0128] 5.1美白剂对光老化HSF细胞的保护作用

[0129] 将实施例5-15和对比例1-3美白剂用PBS缓冲溶液配制浓度为1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的美白剂样品溶液,待用。将DMEM、胎牛血清和双抗按体积比为90:10:1配制完全培养基,待用。将HSF细胞复苏后用完全培养基在37 $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$ 条件下培养至细胞融合达90%,用胰蛋白酶对细胞进行消化,1000 r/min离心5 min,收集细胞,使用完全培养基将细胞配制成细胞浓度为 $1 \times 10^8$ 个/L的细胞悬液,以每孔 $1 \times 10^4$ 个细胞接种于96孔板中,在37 $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$ 条件下培养24 h后进行分组(空白组:不照射UVB+不给予美白剂;模型组:照射UVB+不给予美白剂,实验组:照射UVB+给予美白剂),每组6个复孔,弃培养液,用PBS清洗2次,每孔加PBS 200  $\mu\text{L}$ ,将空白组用铝箔纸覆盖,用UVB照射仪照射模型组和实验组,照射剂量为30  $\text{mJ}/\text{cm}^2$ ,时间为20 s,照射完毕,弃去PBS,实验组每孔分别加入200  $\mu\text{L}$ 美白剂样品溶液,空白组和模型组分别加入200  $\mu\text{L}$ 完全培养基,24 h后,每孔加入20  $\mu\text{L}$  MTT,孵育4 h,弃去培养液,每孔加入150  $\mu\text{L}$  DMSO,37 $^{\circ}\text{C}$ 、170 r/min条件下震荡10 min,于490 nm处测定吸光度值A,然后按照下式计算细胞相对存活率。

$$[0130] \quad \text{细胞相对存活率} = \frac{A_{\text{实验组}}}{A_{\text{空白组}}} \times 100\%$$

[0131] 将分组的细胞培养24 h后,收集每孔的培养基上清液于离心管中,离心,取上清液于-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存。按照试剂盒说明书,检测细胞培养基上清液中羟脯氨酸水平。

#### [0132] 5.2美白剂对光老化HaCaT细胞的保护作用

[0133] 方法同5.1美白剂对光老化HSF细胞的保护作用。

[0134] 表4为美白剂对UVB老化HSF细胞和HaCaT细胞相对存活率的影响,可以看出,与模型组相比,本发明实施例5-15美白剂能够提高UVB老化HSF细胞的相对存活率,具有抗光老化效果;实施例5美白剂对UVB老化HSF细胞和HaCaT细胞相对存活率大于对比例1,实施例6美白剂对UVB老化HSF细胞和HaCaT细胞相对存活率大于对比例2,实施例9美白剂对UVB老化HSF细胞和HaCaT细胞相对存活率大于对比例3,这说明利用积雪草酸和/或羟基积雪草酸对九肽-1进行衍生,使得九肽-1衍生物具有抗光老化效果,对光老化的人皮肤成纤维细胞(HSF)和人永生化表皮细胞(Hacat)具有一定的保护作用;此外,实施例7-12美白剂对UVB老化HSF细胞和HaCaT细胞相对存活率大于实施例5-6,且实施例8-11美白剂对UVB老化HSF细

胞和HaCaT细胞相对存活率大于实施例7和实施例12,这说明九肽-1-Aa衍生物和九肽-1-Ma衍生物的共同使用,能够提高美白剂的抗光老化效果,且九肽-1-Aa衍生物和九肽-1-Ma衍生物的重量比为1:0.1-0.3时,美白剂的抗光老化效果达到最佳;最后,实施例13美白剂对UVB老化HSF细胞和HaCaT细胞相对存活率大于实施例5,实施例14美白剂对UVB老化HSF细胞和HaCaT细胞相对存活率大于实施例6,实施例15美白剂对UVB老化HSF细胞和HaCaT细胞相对存活率大于实施例9,这说明式I所示迷迭香酸衍生物还能够提高九肽-1衍生物的抗光老化效果。

[0135] 表4为美白剂对UVB老化HSF细胞和HaCaT细胞相对存活率的影响

[0136]

组别	HSF 细胞相对存活率(%)	HaCaT 细胞相对存活率(%)
实施例 5	108.85	113.65
实施例 6	105.63	110.04
实施例 7	110.10	115.35
实施例 8	115.24	123.26
实施例 9	117.33	130.54
实施例 10	115.01	128.35
实施例 11	113.29	121.10
实施例 12	109.65	114.86
实施例 13	121.17	128.35
实施例 14	119.76	125.27
实施例 15	122.35	136.61
对比例 1	86.32	91.87
对比例 2	82.84	89.58
对比例 3	84.21	90.34
空白组	100.16	99.56
模型组	34.78	43.57

[0137] 6. 九肽-1衍生物的体外经皮渗透测试

[0138] 取猪耳朵背部皮肤,去除发毛和脂肪,裁剪3×3 cm的皮肤圆片,保存于-20℃冰箱中备用。采用RJY-6B型药物透皮扩散试验仪进行试验,使用时,取出保存的皮肤圆片,自然解冻,并用生理盐水浸泡0.5 h,用脱脂棉擦干,固定在垂直透过试验扩散池中。向接收池中加入适量质量浓度为0.9%的氯化钠溶液的生理盐水作为接收液,向供给池中加入2 g美白剂样品,加入后用封口膜将供给池封闭,以300 r/min速度开启磁力搅拌,并分别于2 h、4 h、6 h、8 h和12 h用注射器缓慢抽取出全部接收液,用HPLC 测定其中九肽-1衍生物的浓度,每次取液之后,再用针管抽取6 g保温的生理盐水,补加回接收池,12 h后取出接收液后不再补充生理盐水。仪器设定温度为32±5℃,然后按照下式计算九肽-1衍生物的透皮浓度。

[0139] 透皮浓度 =  $(C_n V_n + \sum C_k V_k) \times 1000 / S$

[0140] 式中： $C_n$ 为第 $n$ 个取样点测得的九肽-1衍生物浓度，mg/mL； $C_k$ 为第 $n$ 个取样点前所有取样点相对应测得的九肽-1衍生物浓度，mg/mL； $V_n$ 为接收液体积，mL； $V_k$ 为第 $n$ 个取样点前所有取样点相对应的取样体积，mL； $S$ 为皮肤圆片面积， $\text{cm}^2$ 。

[0141] 九肽-1衍生物在12 h的透皮浓度见图3，图3中，S5代表实施例5，S6代表实施例6，S7代表实施例7，S8代表实施例8，S9代表实施例9，S10代表实施例10，S11代表实施例11，S12代表实施例12，S13代表实施例13，S14代表实施例14，S15代表实施例15，D1代表对比例1，D2代表对比例2，D3代表对比例3。可以看出，实施例5美白剂在12 h的透皮浓度大于对比例1，实施例6美白剂在12 h的透皮浓度大于对比例2，实施例9美白剂在12 h的透皮浓度大于对比例3，这说明利用积雪草酸和/或羟基积雪草酸对九肽-1进行衍生，使得九肽-1衍生物具有较佳的透皮渗透性，易于被肌肤吸收利用；此外，实施例7-12美白剂在12 h的透皮浓度大于实施例5-6，且实施例8-11美白剂在12 h的透皮浓度大于实施例7和实施例12，这说明九肽-1-Aa衍生物和九肽-1-Ma衍生物的共同使用，能够提高美白剂的透皮渗透性，且九肽-1-Aa衍生物和九肽-1-Ma衍生物的重量比为1:0.1-0.3时，美白剂的透皮渗透性达到最佳；最后，实施例13美白剂在12 h的透皮浓度大于实施例5，实施例14美白剂在12 h的透皮浓度大于实施例6，实施例15美白剂在12 h的透皮浓度大于实施例9，这说明式I所示迷迭香酸衍生物还能够提高九肽-1衍生物的透皮渗透性。

[0142] 7. 美白剂的酶促降解测试

[0143] 按照下列配比配置化妆品原液：美白剂0.01%、甘油22%、1,2-己二醇2.5%、乙基己基甘油0.1%、余量为水，配置完成检测初始九肽-1衍生物含量；然后加入化妆品原液2.0 wt%的氨肽酶，搅拌溶解分装，加入化妆品原液2.0 wt%的凝血酶，搅拌均匀后静置120 min通过HPLC检测肽含量变化。

[0144] 九肽-1衍生物的浓度见图4，图4中，S5代表实施例5，S6代表实施例6，S9代表实施例9，S13代表实施例13，S14代表实施例14，S15代表实施例15。实施例13美白剂中九肽-1衍生物的浓度大于实施例5，实施例14美白剂中九肽-1衍生物的浓度大于实施例6，实施例15美白剂中九肽-1衍生物的浓度大于实施例9，这说明式I所示迷迭香酸衍生物还能够提高九肽-1衍生物的稳定性的。

[0145] 本发明的操作步骤中的常规操作为本领域技术人员所熟知，在此不进行赘述。

[0146] 以上所述的实施例对本发明的技术方案进行了详细说明，应理解的是以上所述仅为本发明的具体实施例，并不用于限制本发明，凡在本发明的原则范围内所做的任何修改、补充或类似方式替代等，均应包含在本发明的保护范围之内。

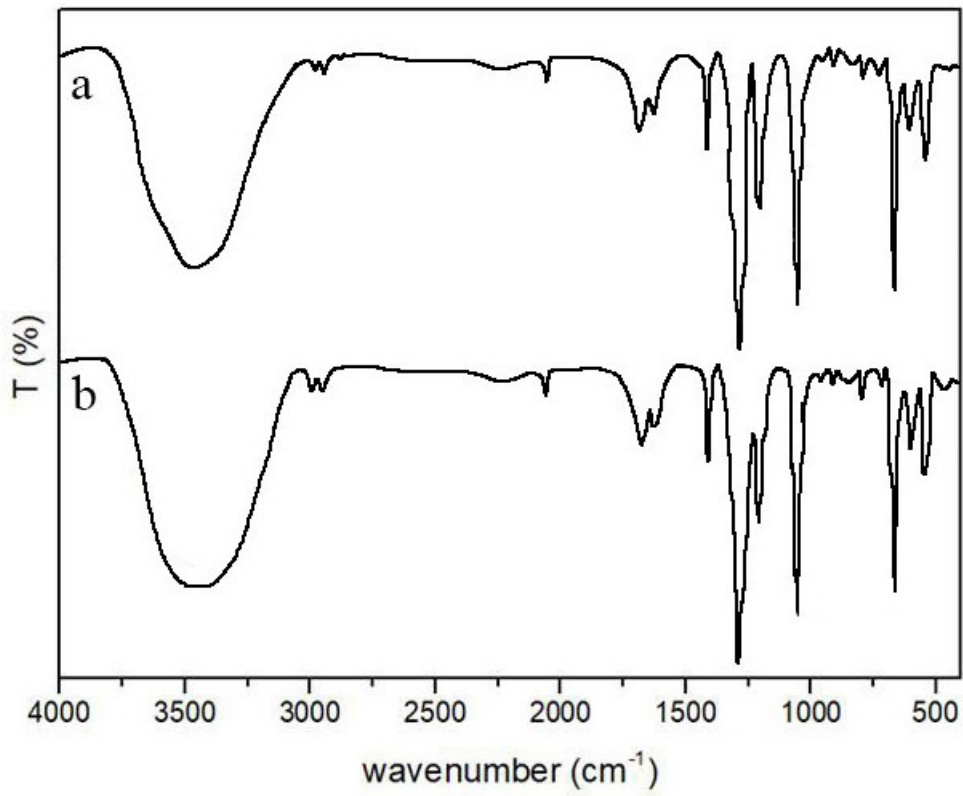


图1

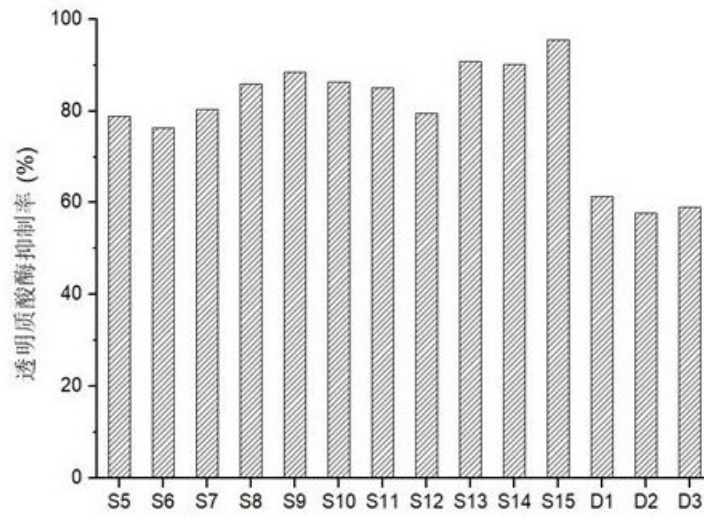


图2

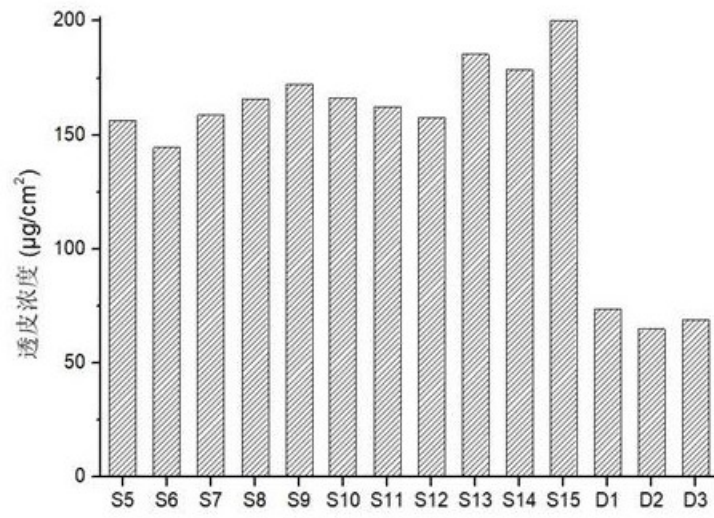


图3

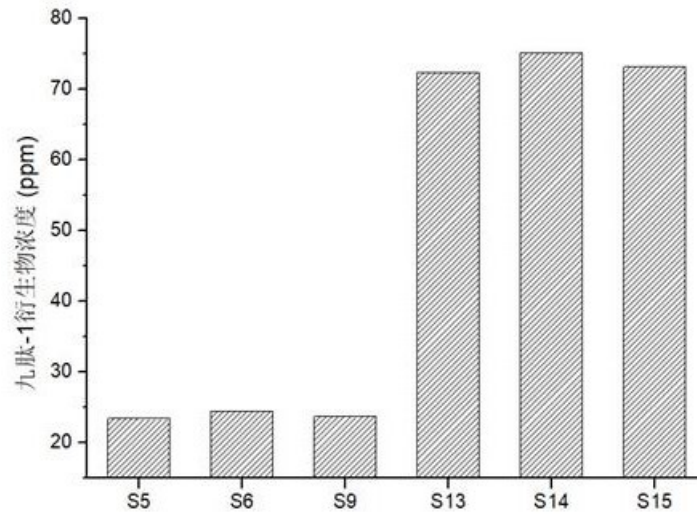


图4