



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105408345 B

(45)授权公告日 2020.08.07

(21)申请号 201480033925.4

(74)专利代理机构 北京市中咨律师事务所

(22)申请日 2014.04.15

11247

(65)同一申请的已公布的文献号

代理人 安佩东 黄革生

申请公布号 CN 105408345 A

(51)Int.Cl.

(43)申请公布日 2016.03.16

C07K 5/113(2006.01)

(30)优先权数据

C07K 5/02(2006.01)

13382138.9 2013.04.15 EP

A61K 38/07(2006.01)

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

C07K 5/093(2006.01)

2015.12.14

C07K 5/083(2006.01)

(86)PCT国际申请的申请数据

C07K 5/09(2006.01)

PCT/EP2014/057672 2014.04.15

(56)对比文件

(87)PCT国际申请的公布数据

US 2005188427 A1, 2005.08.25,

W02014/170347 EN 2014.10.23

Santiago begona等. Topical application
of a peptide inhibitor of transforming
growth factor-beta 1 ameliorates
bleomycin-induced skin fibrosis..《The
journal of investigative dermatology》
.2005, 第125卷(第3期),

(73)专利权人 路博润先进材料公司

Nerea Hermida等. A synthetic peptide
from transforming growth factor-β 1 type
III receptor prevents myocardial fibrosis
in spontaneously hypertensive rats..
《cardiovascular research》.2001, 第81卷

地址 美国俄亥俄州

(72)发明人 A·V·费雷尔 蒙特埃尔

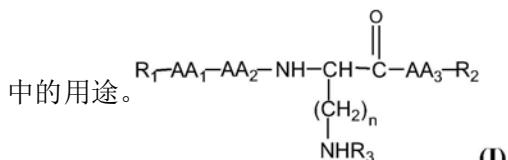
审查员 黎舒婷

N·阿尔米尼亚纳 多梅内克
J·塞布里安 普切
W·范 登 内斯特
C·卡雷诺 塞莱玛
R·德尔加多 冈萨雷斯

权利要求书2页 说明书45页

序列表18页

(54)发明名称

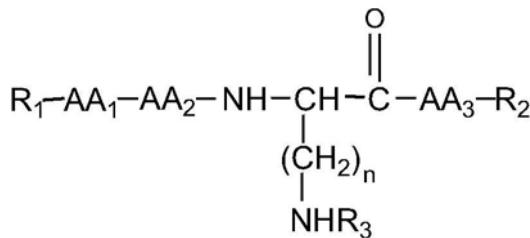


用于治疗和/或护理皮肤的化合物及其化妆品或药物组合物

(57)摘要

通式(I)化合物、其立体异构体、其混合物和/或其可化妆品用或可药用的盐、包含其的化妆品和/或药物组合物以及其在医学、以及在皮肤治疗和/或护理、特别是皮肤老化和光老化、更加特别是用于治疗和/或预防皱纹和/或妊娠纹

1. 通式(I)化合物、其立体异构体、其混合物和/或其可化妆品用或可药用的盐：



其中

AA_1 是-Asp-, AA_2 是-Val-, AA_3 是-Tyr-并且n选自1、3或4，

AA_1 是-Glu-, AA_2 是-Val-, AA_3 是-Tyr-或-Trp并且n是4，

AA_1 是-Gln-, AA_2 是-Val-, AA_3 是Tyr并且n是3或4，

AA_1 是-Asp-或-Asn-, AA_2 是-Ile-, AA_3 是-Tyr-并且n是4，

AA_1 是-Asp-, AA_2 是-Leu-或-Met-, AA_3 是-Tyr-并且n是4，

AA_1 是-Asn-, AA_2 是-Leu-, AA_3 是-Tyr-并且n是4，

AA_1 是-Asn-, AA_2 是-Val-, AA_3 是-Tyr-并且n是2，

AA_1 是-Gln-, AA_2 是-Met-, AA_3 是-Tyr-并且n是4，

AA_1 是-Gln-, AA_2 是-Val-, AA_3 是-Trp-并且n是1，

AA_1 是-Asn-, AA_2 是-Ile-, AA_3 是-Tyr-并且n是2，

AA_1 是-Gln-, AA_2 是-Ile-, AA_3 是-Tyr-并且n是3, 或

AA_1 是-Asn-, AA_2 是-Ile-, AA_3 是-Trp-并且n是3；

R_3 是H；

R_1 是H、乙酰基、月桂酰基、豆蔻酰基或棕榈酰基；

R_2 选自- NR_4R_5 和- OR_4 , 其中 R_4 是H并且 R_5 选自H、甲基、乙基、己基、十二烷基和十六烷基；且

R_1 或 R_2 不是 α -氨基酸。

2. 如权利要求1中所述的化合物, 其中 AA_1 是-L-Asp-, AA_2 是-L-Val-且 AA_3 是-L-Tyr-, R_3 是H且n是4。

3. 化妆品或药物组合物, 其包含至少一种前述权利要求任意一项所述的通式(I)化合物、其立体异构体、其混合物和/或其可化妆品用或可药用的盐以及至少一种可化妆品用或可药用的赋形剂或辅助剂。

4. 如权利要求3中所述的组合物, 其中将所述通式(I)化合物、其立体异构体、其混合物和/或其可化妆品用或可药用的盐掺入到选自毫米颗粒、微米颗粒、纳米颗粒、囊泡、胶束和微乳的可化妆品用或可药用的递送系统和/或持续释放系统中。

5. 如权利要求3或4中任一项所述的组合物, 其中所述组合物存在于选自下列的制剂中: 含水分散体、散剂和颗粒剂。

6. 如权利要求1或2所述的通式(I)化合物、其立体异构体、其混合物和/或其可化妆品用或可药用的盐在制备用于通过减少血管生成和/或致肿瘤性来治疗和/或预防癌症的药物中的用途。

7. 如权利要求1或2所述的通式(I)化合物、其立体异构体、其混合物和/或其可化妆品

用或可药用的盐在制备用于治疗和/或预防慢性阻塞性肺病的药物中的用途。

8. 如权利要求1或2所述的通式(I)化合物、其立体异构体、其混合物和/或其可化妆品用或可药用的盐在制备用于治疗和/或预防尿失禁的药物中的用途。

9. 如权利要求1或2所述的通式(I)化合物、其立体异构体、其混合物和/或其可化妆品用或可药用的盐在制备用于治疗和/或预防Brunch膜的弹性层降解的药物中的用途。

10. 如权利要求1或2所述的通式(I)化合物、其立体异构体、其混合物和/或其可化妆品用或可药用的盐在制备用于治疗和/或预防皮肤松弛症的药物中的用途。

11. 如权利要求1或2所述的通式(I)化合物、其立体异构体、其混合物和/或其可化妆品用或可药用的盐在制备用于治疗和/或预防血管疾病及病症的药物中的用途。

12. 如权利要求1或2所述的通式(I)化合物、其立体异构体、其混合物和/或其可化妆品用或可药用的盐在制备用于治疗和/或预防骨盆器官脱垂的药物中的用途。

13. 如权利要求1或2所述的通式(I)化合物、其立体异构体、其混合物和/或其可化妆品用或可药用的盐在制备用于治疗和/或预防老年性黄斑变性的药物中的用途。

14. 如权利要求1或2所述的通式(I)化合物、其立体异构体、其混合物和/或其可化妆品用或可药用的盐在制备用于治疗和/或预防糖尿病视网膜病变药物中的用途。

15. 如权利要求1或2中任一项所述的通式(I)化合物、其立体异构体、其混合物和/或其可化妆品用或可药用的盐在制备用于皮肤的美容、非治疗性治疗和/或护理的产品中的用途。

16. 如权利要求1或2中任一项所述的通式(I)化合物、其立体异构体、其混合物和/或其可化妆品用或可药用的盐在制备用于治疗和/或预防皮肤老化和/或光老化的产品中的用途。

17. 如权利要求1或2中任一项所述的通式(I)化合物、其立体异构体、其混合物和/或其可化妆品用或可药用的盐在制备用于提高皮肤弹性和/或紧实度和/或刺激胶原和/或弹性蛋白合成的产品中的用途。

18. 如权利要求1或2中任一项所述的通式(I)化合物、其立体异构体、其混合物和/或其可化妆品用或可药用的盐在制备用于刺激LOXL-1和/或细胞外基质蛋白-5合成的药物中的用途。

用于治疗和/或护理皮肤的化合物及其化妆品或药物组合物

发明领域

[0001] 本发明涉及能够提升皮肤紧致度的化合物，并且涉及包含所述化合物的用于治疗和/或护理皮肤、优先用于治疗和/或护理那些可通过刺激LOXL1或细胞外基质蛋白-5(fibulin-5)的合成来改善的病症、障碍和/或疾病的化妆品或药物组合物。

[0002] 介绍

[0003] 皮肤由角质层、真皮层和表皮层三层形成。角质层是表皮的最外层，且其是直接与环境接触的层。其由被称为角质细胞的扁平的死细胞构成，并且其是皮肤的第一道保护屏障。表皮层由角质形成细胞、黑素细胞和郎格汉斯细胞构成。在表皮层中主要的细胞群是角质形成细胞，其形成持续自我更新的角质化层。其功能是保护避免外部因素的影响，无论是物理的、化学的或是病原体。真皮层位于皮肤的较深位置，并且通过基底膜与表皮层连接。其由成纤维细胞、脂细胞和巨噬细胞构成；其由血管灌注，并且存在大量负责传递触觉和温觉的神经末梢。毛囊以及汗腺、皮脂腺和顶泌腺都位于真皮层，并且其功能是维持皮肤的完整性和弹性。这些特性是由其包含了成纤维细胞所分泌的蛋白质的细胞外基质所提供。

[0004] 细胞外基质(ECM)的蛋白质分为两类：葡糖氨基聚糖类和硬蛋白质类。葡糖氨基聚糖类(GAGs)是源自氨基糖二糖类聚合作用的直链。由于其化学特性以及其大量的负电荷，GAG形成非常宽松的结构并趋向于捕获大量的水，使得ECM能够对抗挤压。硬蛋白质类具有结构和粘着功能，其两种主要类别是弹性蛋白和胶原蛋白，它们负责该组织的机械特性，例如对抗张力、挤压、拉伸和扭转的能力。ECM的弹性和回弹特性是源于弹性纤维的网络。

[0005] 弹性纤维不仅对于保持皮肤弹性，而且对于其它组织和器官(例如肺或大的血管壁)而言都非常重要[Faury G., "Function-structure relationship of elastic arteries in evolution: from microfibrils to elastin and elastic fibres", Pathol.Biol.(巴黎), (2001), 49, 310-325]。弹性纤维形成缺陷，例如编码包含其在内的不同蛋白质的基因突变，将会导致不同的病状。因此，在原纤蛋白-1基因中的突变导致Marfan综合征的出现(与骨骼、眼睛和心血管症状相关)；在原纤蛋白-2基因中的突变导致先天性挛缩型蜘蛛状指以及眼睛和骨骼症状，而在弹性蛋白基因中的突变导致Williams综合征、主动脉瓣上狭窄和皮肤松弛[Tassabehji M.等人, "An elastin gene mutation producing abnormal tropoelastin and abnormal elastic fibres in a patient with autosomal dominant cutis laxa", Hum.Mol.Genet., (1998), 6, 1021-1028]。

[0006] 弹性纤维的任务是在个体的一生中都保持弹性。但是，存在能够将其降解的酶，从而导致皮肤弹性的损失，这是显著促成结缔组织老化的因素，并且对由于接触阳光所引起的皮肤变性具有重要作用[Watson R.E.B.等人, "Fibrillin-rich microfibrils are reduced in photoaged skin. Distribution at the dermal-epidermal junction", J.Invest.Dermatol., 1999, 112, 782-787]。

[0007] 结构上，弹性纤维是由覆盖了直径大约为10nm的微纤维鞘的弹性蛋白核心所构成。所述微纤维是由原纤维蛋白和微纤维相关糖蛋白(MAGP)构成。弹性纤维的装配是有顺序的，首先是微纤维并形成构架，然后弹性蛋白在其上积聚。弹性蛋白是高疏水性蛋白质，

由大约750个氨基酸残基构成，并且源自于水溶性起始物弹性蛋白原，其由成纤维细胞分泌入细胞外隙。弹性纤维是成纤维细胞质膜附近的弹性蛋白原单体的装配和交联的结果。

[0008] 前弹性蛋白原是弹性蛋白原的初始分子。其在成纤维细胞、平滑肌细胞、内皮细胞、巨噬细胞、成软骨细胞和白细胞的糙面内质网的核糖体内合成。其由747个氨基酸构成，其中的前26个N-末端氨基酸是肽信号，当其被剪切时，将前弹性蛋白原转化为弹性蛋白原 [Gacko M., "Elastin:structure, properties and metabolism", Cellular&Molecular Biology Letters, (2000), 5, 327-348]。弹性蛋白原分子是水溶性的，具有大概70kDa的分子量，并且在其序列中存在与交联结构域相互交替的疏水结构域 [Brown-Augsburger P. 等人, "Identification of an elastin crosslinking domain that joins three peptide chains", J.Biol.Chem., (1995), 270, 17778-17783]。疏水结构域是具有2至9个氨基酸的肽的重复，这些氨基酸中富含脯氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸和甘氨酸，以缬氨酸和甘氨酸尤为丰富 [Debelle L等人, "Elastin:molecular description and function", Int.J.Biochem.Cell Biol., (1999), 31, 261-272]。疏水结构域之间的相互作用在装配过程中非常重要，并且是分子的弹性所必需的 [Bellingham C.M. 等人, "Self-aggregation of recombinantly expressed human elastin polypeptides", Biochim.Biophys.Acta, (2001), 1550, 6-19]。弹性蛋白原的交联结构域在富含脯氨酸或聚丙氨酸的区域包含赖氨酸残基。在赖氨酰氧化酶的作用下所形成的锁链素共价交联使聚合的可溶性产物稳定化 [Csizsar K., "Lysyl oxidases:a novel multifunctional amine oxidase family", Prog.Nucleic Acid Res.Mol.Biol., (2001), 70, 1-32]，并且仅有两种赖氨酰氧化酶蛋白质(称作LOX和LOXL)能够交联不溶性弹性蛋白 [Borel A. 等人, "Lysyl oxidase-like protein from bovine aorta", J.Biol.Chem., (2001), 276, 48944-48949]。此外，翻译的弹性蛋白原的序列具有带负电的亲水性C-末端结构域，其在物种之间是高度保守的。该分子所经受的主要翻译后修饰是脯氨酸残基的羟基化。

[0009] 弹性组织的生成是导致弹性纤维中功能弹性蛋白产生的过程。其在细胞内从弹性蛋白原分子的合成开始，在其上结合一个67kDa的半乳糖凝集素(galactoselectin)作为防止弹性蛋白原分子在细胞内聚集的伴侣蛋白。该复合物分泌进入细胞外隙，半乳糖凝集素在此与微纤维半乳糖(galactosugars)相互作用，由此降低其对弹性蛋白原的亲和力，使弹性蛋白原在局部释放。67kDa的半乳糖凝集素循环利用并能够再次实现其功能，而弹性蛋白原则留存在由微纤丝组分通过微纤维相关糖蛋白(MAGP)的N-末端结构域与弹性蛋白原的C-末端结构域相互作用所形成的框架内。弹性蛋白原随后与蛋白质细胞外基质蛋白-5(也称为DANCE或EVEC)相互作用，其充当弹性蛋白原附着的核心。首先，细胞外基质蛋白-5通过其N-末端片段附着在细胞表面的整联蛋白上(虽然该步骤不是决定性的)，并通过蛋白质细胞外基质蛋白-1(微纤维的主要成分)附着在微纤维上。随后，弹性蛋白原通过团聚过程与细胞外基质蛋白-5和微纤维结合，形成细胞外基质蛋白-1/细胞外基质蛋白-5/弹性蛋白原复合物。

[0010] 一旦弹性蛋白原分子排列在一起，在不同弹性蛋白原分子的赖氨酸之间就发生交联以形成不溶性弹性蛋白聚合物。该过程由赖氨酰氧化酶(LOX)和赖氨酰氧化酶类似物(LOXL)完成。由于LOX的依赖于Cu²⁺的作用，大部分弹性蛋白原的赖氨酸残基被脱氨并氧化成其醛的形式，形成锁链素核心。由于所述醛形式自身之间或者其与未修饰的赖氨酸之间

的反应,发生交联,其结果是弹性蛋白原链变为不溶性的并且弹性蛋白网络生长。成熟的弹性蛋白是通过交联共价结合的弹性蛋白原的不溶性聚合物,其可以是二-、三-或四官能化的。据信复杂性随时间不断增加。疏水性部分显示很大的流动性并且对该系统的熵贡献很大,聚合物在体内水合的水的量对系统的熵也有贡献[Debelle L.等人,“Elastin: molecular description and function”,Int.J.Biochem.Cell.Biol.,(1999),31,261-272]。

[0011] 细胞外基质蛋白是一族50至200kDa的蛋白质,由来自细胞外间质的七种蛋白质形成,其特征在于具有多种钙依赖性表皮生长因子(EGF样)的串联排列以及C-末端细胞外基质蛋白特征性的片段。其可以归类为类别I,其包含较长的细胞外基质蛋白(细胞外基质蛋白-1、细胞外基质蛋白-2和细胞外基质蛋白-6),以及类别II,其包含较短的那些(细胞外基质蛋白-3、细胞外基质蛋白-5、细胞外基质蛋白-5和细胞外基质蛋白-7)。在细胞外基质蛋白家族中,我们可以重点强调细胞外基质蛋白-5,其直接参与弹性组织生产的过程[Zheng等人,“Molecular Analysis of Fibulin-5function during de novo synthesis of elastic fibers”,Mol.Cell.Biol.,(2007),27,31083-1095]。细胞外基质蛋白-5包含遗传上保守的RGD片段,其识别整联蛋白受体,并且帮助其参与细胞进程。细胞外基质蛋白-5具有对弹性蛋白原的亲和力,但对聚合的弹性蛋白没有,这说明了其在弹性组织生成的第一个步骤中的作用。还注意到的是,细胞外基质蛋白-5加速弹性蛋白原的团聚过程[Hirai M.等人,“Fibulin-5/DANCE has an elastogenic organizer activity that is abrogated by proteolytic cleavage in vivo”,J.Cell.Biol.,(2007),176,1061-1071]。温度和高浓度的氯化钠对该团聚过程有利。此外,细胞外基质蛋白-5限制了团聚的弹性蛋白的成熟。该数据与参考文献中所观察到的一致[Choi等人,“Analysis of demal elastic fibers in the absence of Fibulin-5reveals potential roles for Fibulin-5in elastic fiber assembly”,Matrix Biol.,(2009),28,211-220],其中细胞外基质蛋白-5敲除的大鼠比正常大鼠具有更厚的弹性蛋白片段。细胞外基质蛋白-5还与交联酶例如LOXL相互作用。已经证实,细胞外基质蛋白-5缺陷的大鼠显示过早衰老的特征,其中包括皮肤下垂、肺气肿和动脉硬化。也已经证实,细胞外基质蛋白-5水平随年龄降低,导致皮肤弹性和紧实度日益减少[Hirai M.等人,“Fibulin-5/DANCE has an elastogenic organizer activity that is abrogated by proteolytic cleavage in vivo”,J.Cell.Biol.,(2007),176,1061-1071]。

[0012] 赖氨酰氧化酶(LOX)是一族依赖于铜的细胞外蛋白质,其利用存在于弹性蛋白和胶原中的赖氨酸来催化醛类的形成。这些形成的醛类非常活泼并且互相反应,产生对于弹性蛋白和胶原纤维的稳定化至关重要的分子交联。这个家族中有五个成员,LOX和四个赖氨酰氧化酶的相似物(LOX-类似物,LOXL),即LOXL1至LOXL4。此类蛋白的每一种均包含N-末端肽信号、可变的中心区域和在序列上显示出相似性的C-末端区域。LOX家族的五个成员中,已经观察到的直接参与弹性物质生成过程的是LOX和LOXL1。已观察到,随着年龄增长,LOX和LOXL减少,因此弹性组织生成过程变得不够有效[Cenizo V.等人,“LOXL as a target to increase the elastin content in adult skin:a dill extract induces the LOXL gene expression”,(2006),15,574-581]。

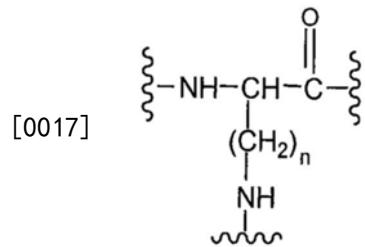
[0013] 专利申请US2005/188427描述了增加LOXL1用于治疗皱纹、皮肤下垂,治疗慢性阻

塞性肺疾病(COPD),例如但不限于肺气肿、哮喘或慢性支气管炎,治疗Brunch膜的弹性层降解,治疗老年性黄斑变性,治疗盆腔器官脱垂或尿失禁。

[0014] 专利申请US 2004/126788描述了增加细胞外基质蛋白-5用于降低致瘤性和血管发生。

[0015] 专利申请US 2008/227692描述了增加细胞外基质蛋白-5用于治疗糖尿病视网膜病变和老年性黄斑变性。

[0016] 因此,本发明提供了解决现存需求的方法,并且包括能够刺激赖氨酰氧化酶-类似物-1和/或细胞外基质蛋白-5合成的新的肽序列,其特征在于在肽序列的第三位点存在以下单体单元:



[0018] 其中n等于1、2、3或4。

[0019] 发明描述

[0020] 定义

[0021] 为了便于理解本发明,包括了一些术语和表达在本发明的上下文中所用的含义。

[0022] 在本发明的上下文中,“皮肤”应理解为是构成它的多个层,从最上层或角质层至最下层或皮下组织都包括在内。这些层由不同类型的细胞组成,例如角质形成细胞、成纤维细胞、黑素细胞、肥大细胞、神经元和/或脂肪细胞等。术语“皮肤”还包括头皮。

[0023] 当不带有限制条件“美容、非治疗性”时,本说明书上下文中使用的术语“治疗”表示施用本发明化合物以减轻或消除疾病或障碍或者减少或消除与所述疾病或障碍相关的一种或多种症状。术语“治疗”还涵盖减轻或消除疾病或障碍的生理学后果。

[0024] 当术语“治疗”带有限制条件“美容、非治疗性”时,它是指将化合物应用于皮肤、毛发和/或粘膜,特别是为了改善皮肤、毛发和/或粘膜的美容质量,例如但不限于它们的水化水平、弹性、紧致性(firmness)、光泽、色调或肌理等。本发明中的术语“护理”是指维持皮肤、毛发和/或粘膜的质量。所述的质量是指通过美容治疗和/或护理健康个体以及那些存在皮肤和/或粘膜疾病或障碍(例如但不限于皮肤溃疡和损伤、银屑病、皮炎、痤疮或酒渣鼻等)的那些个体的皮肤、毛发和/或粘膜而得以改善或维持。

[0025] 本发明中所用的术语“预防”是指本发明化合物在疾病或障碍出现前防止、延迟或阻碍其出现或发展的能力。

[0026] 在本发明的上下文中,术语“老化”指的是皮肤随着年龄的增长经历的变化(时间老化(chronoaging)),或接触日光(光老化)或暴露于寒冷或风的极端环境气候条件、化学污垢或污染物而经历的变化,并且包括所有外在可见的和/或通过触摸可感知的变化,例如并且不限于:出现皮肤的不连续性例如皱纹、细线、表情线、妊娠纹、沟、不规则或粗糙、孔尺寸增大、水合作用损失、弹性损失、紧致性损失、平滑性损失、变形恢复能力损失、回弹性损失,皮肤下垂例如脸颊下垂、眼睛下方出现眼袋或出现双下巴等,皮肤颜色的变化例如瘢

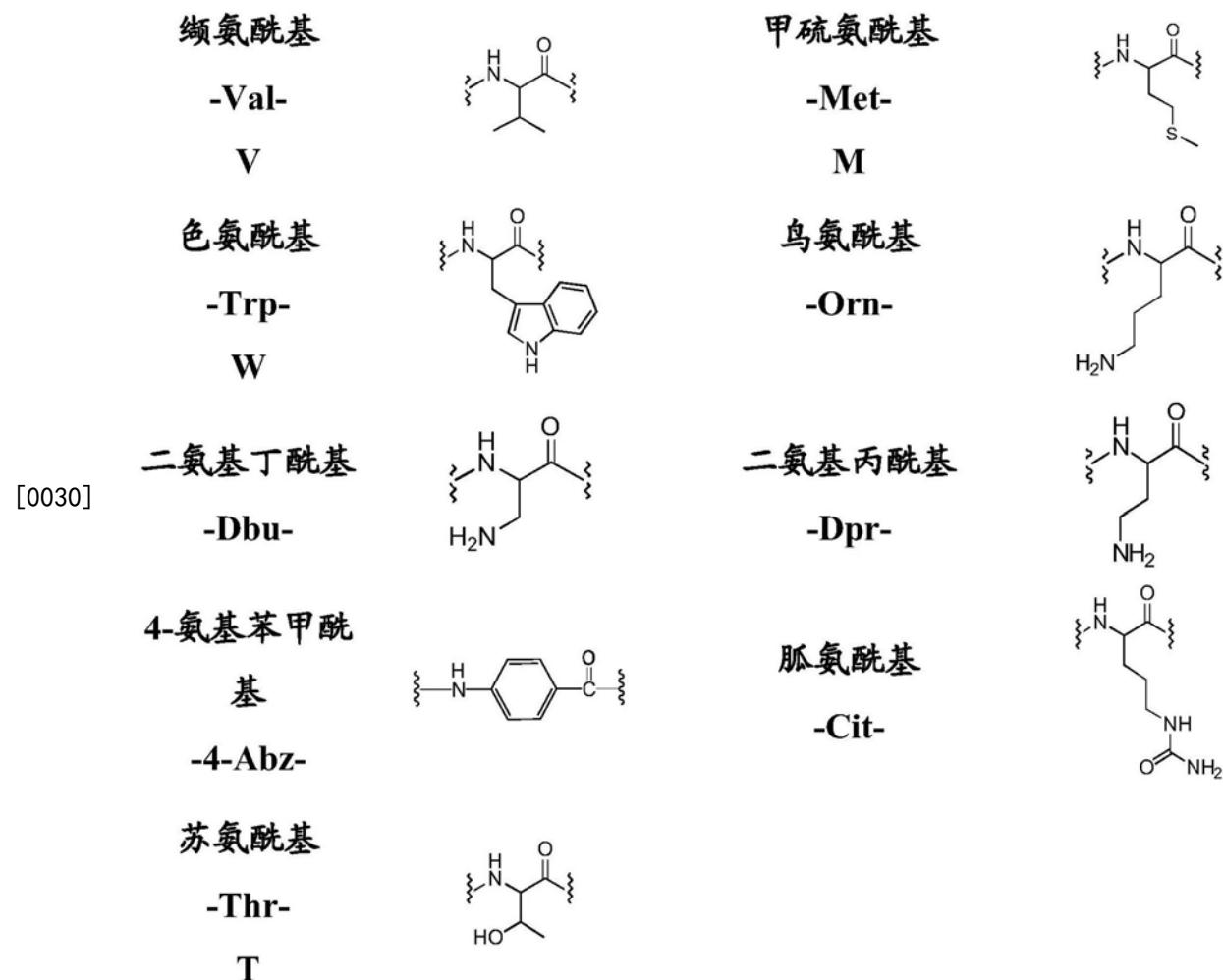
痕、红化、眼袋或出现色素过度沉着区域例如老年斑或雀斑等，异常分化、过度角质化、弹性组织变性、角化病、脱发、桔皮样皮肤、胶原结构损失以及角质层、真皮、表皮、血管系统(例如出现蜘蛛静脉或毛细血管扩张)或靠近皮肤的那些组织的其它组织学变化。术语“光老化”涵盖了由于皮肤长期暴露于紫外线辐射而导致的皮肤过早老化的一系列过程，并且它呈现出与老化相同的物理特征，例如并且不限于：松弛、下垂、在色素沉着中的颜色变化或不规则、异常和/或过度角质化。多种环境因素例如暴露于烟草烟雾、暴露于污染以及气候条件(例如寒冷和/或风)的总和也促进皮肤老化。

[0027] 在本说明书中用于氨基酸的缩写采用Eur. J. Biochem., (1984), 138, 937中所指定的1983IUPAC-IUB Commission of Biochemical Nomenclature的推荐方法。

[0028] 因此，例如，Gly表示NH₂-CH₂-COOH, Gly-表示NH₂-CH₂-CO-, -Gly表示-NH-CH₂-COOH，并且-Gly-表示-NH-CH₂-CO-。因此，表示肽键的连字符当位于符号的右边时消除氨基酸(本文以常规非离子形式表示)的1-羧基中的OH，并且当位于符号左边时消除氨基酸2-氨基的H；两种修饰可用于相同的符号(参见表1)。

表 1. 氨基酸残基的结构以及它们按一个字母和三个字母的代码的命名法

命名	残基	符号	残基	
天冬酰胺酰基 -Asn- N		谷氨酰胺酰基 -Gln- Q		
组胺酰基 -His- H		甘氨酰基 -Gly- G		
[0029] 赖氨酸酰基 -Lys- K		酪氨酰基 -Tyr- Y		
		亮氨酰基 -Leu- L	天冬氨酰基 -Asp- D	
		异亮氨酰基 -Ile- I		



[0031] 表1

[0032] 缩写“Ac-”在本说明书中用来表示乙酰基($\text{CH}_3\text{-CO-}$)，并且缩写“Palm-”用来表示棕榈酰基($\text{CH}_3\text{-}(\text{CH}_2)_{14}\text{-CO-}$)，并且缩写“Myr-”用来表示肉豆蔻酰基($\text{CH}_3\text{-}(\text{CH}_2)_{12}\text{-CO-}$)。

[0033] 术语“非环脂肪族基团”在本发明中用来涵盖直链或支链的烷基、链烯基和炔基。

[0034] 术语“烷基”指的是直链或支链的饱和基团，该基团具有1至24个、优选1至16个、更优选1至14个、甚至更优选1至12个、还更优选1、2、3、4、5或6个碳原子，并且该基团通过单键与分子的其余部分连接，该基团包括例如但不限于：甲基、乙基、异丙基、异丁基、叔丁基、庚基、辛基、癸基、十二烷基、月桂基、十六烷基、十八烷基、戊基、2-乙基己基、2-甲基丁基、5-甲基己基以及类似基团。

[0035] 术语“链烯基”指的是直链或支链基团，该基团具有2至24个、优选2至16个、更优选2至14个、甚至更优选2至12个、还更优选2、3、4、5或6个碳原子，具有一个或多个碳-碳双键，优选具有1、2或3个共轭的或非共轭的碳-碳双键，该基团通过单键与分子的其余部分连接，该基团包括例如但不限于：乙烯基($-\text{CH}_2=\text{CH}_2$)、烯丙基($-\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$)、油烯基(oleyl)、亚油烯基(linoleyl)以及类似基团。

[0036] 术语“炔基”指的是直链或支链基团，该基团具有2至24个、优选2至16个、更优选2至14个、甚至更优选2至12个、还更优选2、3、4、5或6个碳原子，具有一个或多个碳-碳三键，优选具有1、2或3个共轭的或非共轭的碳-碳三键，该基团通过单键与分子的其余部分连接，该基团包括例如但不限于：乙炔基、1-丙炔基、2-丙炔基、1-丁炔基、2-丁炔基、3-丁炔基、戊

炔基例如1-戊炔基以及类似基团。炔基还可以包含一个或多个碳-碳双键,包括例如但不限于丁-1-烯-3-炔基、戊-4-烯-1-炔基以及类似基团。

[0037] 术语“环状脂族基团”在本发明中用来覆盖例如但不限于环烷基或环烯基或环炔基。

[0038] 术语“环烷基”指的是饱和的单环或多环脂族基团,该基团具有3至24个、优选3至16个、更优选3至14个、甚至更优选3至12个、还更优选3、4、5或6个碳原子,并且通过单键与分子的其余部分连接,该基团包括例如但不限于:环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、甲基环己基、二甲基环己基、八氢茚、十氢萘、十二氢非那烯以及类似基团。

[0039] 术语“环烯基”指的是非芳族的单环或多环脂族基团,该基团具有5至24个、优选5至16个、更优选5至14个、甚至更优选5至12个、还更优选5或6个碳原子,具有一个或多个碳-碳双键、优选具有1、2或3个共轭的或非共轭的碳-碳双键,并且通过单键与分子的其余部分连接,该基团包括例如但不限于:环戊-1-烯-1-基和类似基团。

[0040] 术语“环炔基”指的是非芳族的单环或多环脂族基团,该基团具有8至24个、优选8至16个、更优选8至14个、甚至更优选8至12个、还更优选8或9个碳原子,具有一个或多个碳-碳三键、优选具有1、2或3个共轭的或非共轭的碳-碳三键,并且通过单键与分子的其余部分连接,该基团包括例如但不限于:环辛-2-炔-1-基和类似基团。环炔基还可以包含一个或多个碳-碳双键,该基团包括例如但不限于环辛-4-烯-2-炔基和类似基团。

[0041] 术语“芳基”指的是芳族基团,该基团具有6至30个、优选6至18个、更优选6至10个、甚至更优选6或10个碳原子,包含1、2、3或4个通过碳-碳键结合或稠合的芳族环,该基团包括例如但不限于:苯基、萘基、联苯基、茚基、菲基或蒽基等;或芳烷基。

[0042] 术语“芳烷基”指的是被芳族基团取代的烷基,该基团具有7至24个碳原子,并且包括例如但不限于: $-(\text{CH}_2)_{1-6}-\text{苯基}$ 、 $-(\text{CH}_2)_{1-6}-(1-\text{萘基})$ 、 $-(\text{CH}_2)_{1-6}-(2-\text{萘基})$ 、 $-(\text{CH}_2)_{1-6}-\text{CH}(\text{苯基})_2$ 以及类似基团。

[0043] 术语“杂环基”指的是具有3至10个成员的烃环,其中该环中的一个或多个原子、优选该环中的1、2或3个原子是不同于碳的元素,例如氮、氧或硫,并且该基团可以是饱和的或不饱和的。对于本发明的目的而言,该杂环可以是单环、二环或三环系统,其可以包括稠环系;并且在杂环基中的氮、碳或硫原子可以任选被氧化;氮原子可以任选被季铵化;并且该杂环基可以是部分或完全饱和的或者是芳族的。最优选的是,术语“杂环基”指的是具有5或6个成员的环。饱和的杂环基的实例是二噁烷、哌啶、哌嗪、吡咯烷、吗啉和硫代吗啉。芳族杂环基,也称为杂芳基的实例是吡啶、吡咯、呋喃、噻吩、苯并呋喃、咪唑啉、quinolein、喹啉、哒嗪和萘啶。

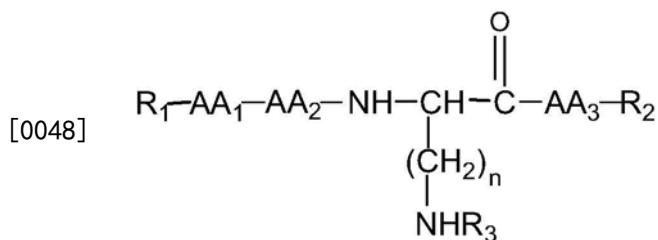
[0044] 术语“杂芳基烷基”指的是被取代的或未取代的芳族杂环基取代的烷基,该烷基具有1至6个碳原子,并且该芳族杂环基具有2至24个碳原子和1至3个除碳以外的原子,该杂芳基烷基包括例如但不限于: $-(\text{CH}_2)_{1-6}-\text{咪唑基}$ 、 $-(\text{CH}_2)_{1-6}-\text{三唑基}$ 、 $-(\text{CH}_2)_{1-6}-\text{噻吩基}$ 、 $-(\text{CH}_2)_{1-6}-\text{呋喃基}$ 、 $-(\text{CH}_2)_{1-6}-\text{吡咯烷基}$ 以及类似基团。

[0045] 如在本技术领域中所理解的,在上述的基团中可以有一定程度的取代。因此,在明确说明的地方,本发明中的任何基团中都可以有取代。在本文中提及的在本发明的基团中的取代的基团表示所述的基团可以在一个或多个可用的位置、优选在1、2或3个位置、更优选在1或2个位置、还更优选在1个位置上被一个或多个取代基取代。这些取代基包括例如但

不限于:C₁-C₄烷基;羟基;C₁-C₄烷氧基(alcoxy);氨基;氨基C₁-C₄烷基;羰基氧基C₁-C₄;氨基C₁-C₄;卤素例如氟、氯、溴和碘;氰基;硝基;叠氮化物;C₁-C₄烷基磺酰基;硫羟基;C₁-C₄烷硫基;芳基氧基例如苯氧基;-NR_b(C=NR_b)NR_bR_c;其中R_b和R_c独立地选自H、C₁-C₄烷基、C₂-C₄链烯基、C₂-C₄炔基、C₃-C₁₀环烷基、C₆-C₁₈芳基、C₇-C₁₇芳烷基、具有3至10个成员的杂环基或氨基的保护基。

[0046] 本发明化合物

[0047] 本发明的申请人已经发现了与刺激LOXL-1和/或细胞外基质蛋白-5合成相关的上述问题的解决办法。本发明的第一方面涉及通式(I)化合物、其立体异构体、其混合物和/或其可化妆品用或可药用的盐:



[0049] 其中

[0050] AsA₁选自-Asp-、-Glu-、-Asn-、-Gln-、-Lys-和-Gly-;

[0051] AA₂选自-Val-、-Leu-、-Ile-、-Met-、-Cit-、-His-、-Thr-和-Gln-;

[0052] AA₃选自-Tyr-、-Trp-和4-Abz;

[0053] n选自1、2、3和4;

[0054] R₃选自H或-AA₂-AA₁-R₁;

[0055] R₁选自H、衍生自聚乙二醇的聚合物、取代或未取代的非环脂肪族基团、取代或未取代的脂环基、取代或未取代的杂环基、取代或未取代的杂芳基烷基、取代或未取代的芳基、取代或未取代的芳烷基和R₆-CO-,其中R₆选自H、取代或未取代的非环脂肪族基团、取代或未取代的脂环基、取代或未取代的芳基、取代或未取代的芳烷基、取代或未取代的杂环基以及取代或未取代的杂芳基烷基;

[0056] R₂选自-NR₄R₅、-OR₄和-SR₄,其中R₄和R₅独立地选自H、衍生自聚乙二醇的聚合物、取代或未取代的非环脂肪族基团、取代或未取代的脂环基、取代或未取代的杂环基、取代或未取代的杂芳基烷基、取代或未取代的芳基和取代或未取代的芳烷基;且

[0057] R₁或R₂不是α-氨基酸;

[0058] 条件是如果R₃是H,则AA₂选自-Val-、-Leu-、-Ile-和-Met-,且AA₁选自-Asp-、-Glu-、-Asn-和-Gln-。

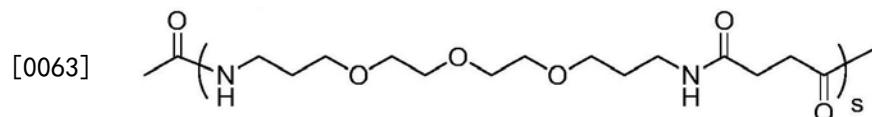
[0059] 按照优选的实施方案,R₁选自H、衍生自聚乙二醇的聚合物和R₆-CO-,其中R₆选自取代或未取代的C₁-C₂₄烷基基团、取代或未取代的C₂-C₂₄链烯基、取代或未取代的C₂-C₂₄炔基、取代或未取代的C₃-C₂₄环烷基、取代或未取代的C₅-C₂₄环烯基、取代或未取代的C₈-C₂₄环炔基、取代或未取代的C₆-C₃₀芳基、取代或未取代的C₇-C₂₄芳烷基、取代或未取代的3-10元杂环基环和取代或未取代的2至24个碳原子和1至3个非碳原子并且其中烷基链具有1至6个碳原子的杂芳基烷基,并且R₆-CO-不是α-氨基酸。更加优选地是,R₁选自H、具有200至35000道尔顿分子量的衍生自聚乙二醇的聚合物、乙酰基、叔-丁酰基、异戊二烯基、己酰基、2-甲基己酰基、环己烷羧基、辛酰基、癸酰基、月桂酰基、豆蔻酰基、棕榈酰基、硬脂酰基、油酰基和亚

油酰基。甚至更加优选地是，R₁是H、乙酰基、月桂酰基、豆蔻酰基或棕榈酰基。在甚至更加优选的实施方案中，R₁是乙酰基或棕榈酰基。

[0060] 按照另一项优选的实施方案，R₂选自-NR₄R₅、-OR₄、-SR₄，其中R₄和R₅独立地选自H、衍生自聚乙二醇的聚合物、取代或未取代的C₁-C₂₄烷基、取代或未取代的C₂-C₂₄链烯基、取代或未取代的C₂-C₂₄炔基、取代或未取代的C₃-C₂₄环烷基、取代或未取代的C₅-C₂₄环烯基、取代或未取代的C₈-C₂₄环炔基、取代或未取代的C₆-C₃₀芳基、取代或未取代的C₇-C₂₄芳烷基、取代或未取代的3-10元杂环基环和取代或未取代的2至24个碳原子和1至3个非碳原子并且其中的烷基链具有1至6个碳原子的杂芳基烷基，并且R₆-CO-不是α-氨基酸。任选地，R₄和R₅可以通过饱和或不饱和碳碳键结合，形成带有氮原子的环。更加优选地，R₂是-NR₄R₅或-OR₄。更加优选地，R₄和R₅独立地选自H、具有200至35000道尔顿分子量的衍生自聚乙二醇的聚合物、甲基、乙基、己基、十二烷基和十六烷基。甚至更加优选地，R₄是H且R₅选自H、甲基、乙基、己基、十二烷基和十六烷基。按照甚至更加优选的实施方案，R₂选自-OH和-NH₂。

[0061] 按照本发明的另一项实施方案，R₁选自H、乙酰基、月桂酰基、豆蔻酰基和棕榈酰基，优选地，R₁选自H、乙酰基和棕榈酰基，且R₂选自-OH和-NH₂。

[0062] 按照另一项具体的实施方案，衍生自聚乙二醇的聚合物的最优先的结构是基团(-CH₂-CH₂-O)_r-H，其中r是4至795之间的数字，以及基团



[0064] 其中s是1至125之间的数字。

[0065] 按照本发明优选的实施方案，AA₁选自-Asp-、-Glu-、-Asn-和-Gln-，AA₂选自-Val-、-Leu-、-Ile-和-Met-，R₃是H，AA₃是-Tyr-或-Trp-。

[0066] 按照本发明优选的实施方案，AA₁选自-Lys-、-Gly-和-Asn-，AA₂选自-His-、-Thr-、-Gln-和-Cit-，R₃是-AA₂-AA₁-R₁且AA₃是4-Abz。

[0067] 按照本发明的另一项实施方案，R₁选自H、乙酰基、月桂酰基、豆蔻酰基和棕榈酰基，AA₁是-L-Asp-，AA₂是-L-Val-且AA₃是-L-Tyr-，R₃是H，n是4，且R₂选自-NR₄R₅和-OR₄，其中R₄和R₅独立地选自H、甲基、乙基、己基、十二烷基和十六烷基。更加优选地，R₁是乙酰基或棕榈酰基，且R₂是-NH₂。

[0068] 按照本发明的另一项实施方案，R₁选自H、乙酰基、月桂酰基、豆蔻酰基和棕榈酰基，AA₁是-L-Lys-，AA₂是-L-His-，AA₃是-4-Abz-，R₃是-AA₂-AA₁-R₁，n是4且R₂选自-NR₄R₅和-OR₄，其中R₄和R₅独立地选自H、甲基、乙基、己基、十二烷基和十六烷基。更加优选地，R₁是乙酰基或棕榈酰基且R₂是-NH₂。

[0069] 按照本发明的另一项实施方案，R₁选自H、乙酰基、月桂酰基、豆蔻酰基和棕榈酰基，AA₁是-L-Asn-，AA₂是-L-Thr-，AA₃是-4-Abz-，R₃是-AA₂-AA₁-R₁，n是4且R₂选自-NR₄R₅和-OR₄，其中R₄和R₅独立地选自H、甲基、乙基、己基、十二烷基和十六烷基。更加优选地，R₁是乙酰基或棕榈酰基，且R₂是-NH₂。

[0070] 按照本发明的另一项实施方案，R₁选自H、乙酰基、月桂酰基、豆蔻酰基和棕榈酰基，AA₁是-L-Lys-，AA₂是-L-Thr-，AA₃是-4-Abz-，R₃是-AA₂-AA₁-R₁，且n是4，R₂选自-NR₄R₅和-OR₄，其中R₄和R₅独立地选自H、甲基、乙基、己基、十二烷基和十六烷基。更加优选地，R₁是乙

酰基或棕榈酰基,且R₂是-NH₂。

[0071] 按照本发明的另一项实施方案,R₁选自H、乙酰基、月桂酰基、豆蔻酰基和棕榈酰基,AA₁是-L-Lys-,AA₂是-L-Cit-,AA₃是-4-Abz-,R₃是-AA₂-AA₁-R₁,且n是4,R₂选自-NR₄R₅和-OR₄,其中R₄和R₅独立地选自H、甲基、乙基、己基、十二烷基和十六烷基。更加优选地,R₁是乙酰基或棕榈酰基,且R₂是-NH₂。

[0072] 按照本发明的另一项实施方案,R₁选自H、乙酰基、月桂酰基、豆蔻酰基和棕榈酰基,AA₁是-L-Gly-,AA₂是-L-Gln-,AA₃是-4-Abz-,R₃是-AA₂-AA₁-R₁,且n是4,R₂选自-NR₄R₅和-OR₄,其中R₄和R₅独立地选自H、甲基、乙基、己基、十二烷基和十六烷基。更加优选地,R₁是乙酰基或棕榈酰基,且R₂是-NH₂。

[0073] 具体而言,刺激LOXL-1和/或细胞外基质蛋白合成的式(I)的化合物包括那些由选自表2中列出的肽序列的肽序列所代表的那些,其中详细描述了其序列标识码,其中,任选地,将该肽序列的N-末端氨基酸修饰为包含对应于式(I)中R₁的基团,并且任选地,将该肽序列的C-末端氨基酸修饰为包含对应于式(I)中R₂的基团。

<u>序列</u>	<u>标识码</u>
<u>Asp-Val-Lys-Tyr</u>	<u>SEQ ID NO.1</u>
<u>Glu-Val-Lys-Tyr</u>	<u>SEQ ID NO.2</u>
<u>Asn-Val-Lys-Tyr</u>	<u>SEQ ID NO. 3</u>
<u>Gln-Val-Lys-Tyr</u>	<u>SEQ ID NO. 4</u>
<u>Asp-Ile-Lys-Tyr</u>	<u>SEQ ID NO. 5</u>
<u>Asp-Leu-Lys-Tyr</u>	<u>SEQ ID NO. 6</u>
<u>Asp-Met-Lys-Tyr</u>	<u>SEQ ID NO. 7</u>
<u>Asp-Val-Orn-Tyr</u>	<u>SEQ ID NO. 8</u>
<u>Asp-Val-Dpr-Tyr</u>	<u>SEQ ID NO. 9</u>
<u>Asp-Val-Dbu-Tyr</u>	<u>SEQ ID NO. 10</u>
<u>Asp-Val-Lys-Trp</u>	<u>SEQ ID NO. 11</u>
<u>Glu-Val-Lys-Trp</u>	<u>SEQ ID NO. 12</u>
<u>Asp-Ile-Lys-Trp</u>	<u>SEQ ID NO. 13</u>
<u>Asp-Val-Orn-Trp</u>	<u>SEQ ID NO. 14</u>
<u>Asn-Ile-Lys-Tyr</u>	<u>SEQ ID NO. 15</u>
<u>Asn-Leu-Lys-Tyr</u>	<u>SEQ ID NO. 16</u>
<u>Asn-Val-Dpr-Tyr</u>	<u>SEQ ID NO. 17</u>
<u>Gln-Ile-Lys-Tyr</u>	<u>SEQ ID NO. 18</u>
<u>Gln-Leu-Lys-Tyr</u>	<u>SEQ ID NO. 19</u>
<u>Gln-Met-Lys-Tyr</u>	<u>SEQ ID NO. 20</u>
<u>Gln-Val-Dbu-Tyr</u>	<u>SEQ ID NO. 21</u>
<u>Gln-Val-Lys-Trp</u>	<u>SEQ ID NO. 22</u>
<u>Glu-Ile-Lys-Trp</u>	<u>SEQ ID NO. 23</u>

[0074]

Glu-Leu-Orn-Tyr	SEQ ID NO. 24
Asn-Ile-Dpr-Tyr	SEQ ID NO. 25
Gln-Val-Dbu-Trp	SEQ ID NO. 26
Gln-Ile-Orn-Tyr	SEQ ID NO. 27
Glu-Leu-Orn-Trp	SEQ ID NO. 28

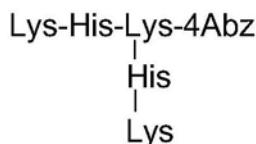
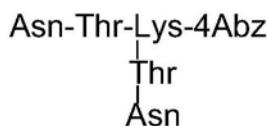
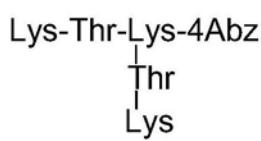
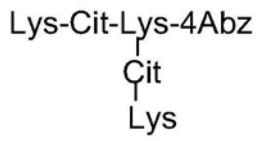
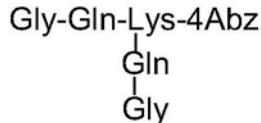
[0075]

Lys-His-Lys-(Lys-His)-4-Abz**Asn-Thr-Lys-(Asn-Thr)-4-Abz****Lys-Thr-Lys-(Lys-Thr)-4-Abz****Lys-Cit-Lys-(Lys-Cit)-4-Abz****Gly-Gln-Lys-(Gly-Gln)-4-Abz**

[0076] 表2

[0077] 其立体异构体、其混合物和/或其可化妆品用或可药用的盐。

[0078] 在本发明中,支链序列以直线形式代表,如下表右侧所示。

**Lys-His-Lys(Lys-His)-4-Abz****Asn-Thr-Lys(Asn-Thr)-4-Abz****Lys-Thr-Lys(Lys-Thr)-4-Abz****Lys -Cit-Lys(Lys-Cit)-4-Abz****Gly-Gln-Lys(Gly-Gln)-4-Abz**

[0080] 表3

[0081] 本发明化合物可以作为立体异构体或立体异构体的混合物存在;例如,包含它们的氨基酸可以具有构型L-、D-,或彼此独立地是外消旋的。因此,有可能获得异构体混合物以及外消旋混合物或非对映异构体混合物,或者纯的非对映异构体或对映异构体,这取决

于不对称碳的数量和存在什么异构体或异构体混合物。本发明化合物的优选结构是纯的异构体，即对映异构体或非对映异构体。

[0082] 例如，当指出AA₁可以是-Lys-时，应当理解的是AA₁选自-L-Lys-、-D-Lys-或两者的混合物，外消旋体或非外消旋体。在本文中描述的制备方法使本领域技术人员能够通过选择具有正确构型的氨基酸来获得本发明化合物的每种立体异构体。

[0083] 在本发明的上下文中，术语“氨基酸”包括由遗传密码编码的氨基酸和未编码的氨基酸，无论是天然的还是非天然的。未编码的氨基酸的实例是但不限于瓜氨酸、鸟氨酸、肌氨酸、锁链素、正缬氨酸、4-氨基丁酸、2-氨基丁酸、2-氨基异丁酸、6-氨基己酸、1-萘基丙氨酸、2-萘基丙氨酸、2-氨基苯甲酸、4-氨基苯甲酸、4-氯苯基丙氨酸、2,3-二氨基丙酸、2,4-二氨基丁酸、环丝氨酸、肉碱、胱氨酸、青霉胺、焦谷氨酸、噻吩基丙氨酸、羟脯氨酸、别-异亮氨酸、别-苏氨酸、异哌啶酸、异丝氨酸、苯基甘氨酸、他汀、β-丙氨酸、正亮氨酸、N-甲基氨基酸、α-氨基酸以及β-氨基酸等以及它们的衍生物。非天然氨基酸的列表可以在D.C.Roberts 和F.Vellaccio的文章“Unusual amino acids in peptide synthesis”,The Peptides,第5卷(1983),第VI章,Gross E.和Meienhofer J.编辑,Academic Press,New York,USA中或在专注于本领域的公司的商业目录中找到。

[0084] 本发明提供的肽的可化妆品用或可药用的盐也是本发明的领域内已知的。术语“可化妆品用或可药用的盐”意指其在动物中并且更特别地说在人类中的应用得到认可的盐，并且包括用于形成碱加成盐的盐，它们或者是无机的，例如但不限于锂、钠、钾、钙、镁、锰、铜、锌或铝等，或者是有机的，例如但不限于乙胺、二乙胺、乙二胺、乙醇胺、二乙醇胺、精氨酸、赖氨酸、组氨酸或哌嗪等；或用于形成酸加成盐的盐，它们或者是有机的，例如但不限于乙酸盐、柠檬酸盐、乳酸盐、丙二酸盐、马来酸盐、酒石酸盐、富马酸盐、苯甲酸盐、天冬氨酸盐、谷氨酸盐、琥珀酸盐、油酸盐、三氟乙酸盐、草酸盐、扑酸盐或葡萄糖酸盐等，或者是无机的，例如但不限于氯化物、硫酸盐、硼酸盐或碳酸盐等。盐的性质不是关键性的，只要它是可化妆品用或可药用的。本发明的肽的可化妆品用或可药用的盐可以通过现有技术中熟知的常规方法来获得[Berge S.M.等人,“Pharmaceutical Salts”,(1977),J.Pharm.Sci.,66,1-19]。

[0085] 本发明化合物的制备方法

[0086] 本发明化合物、它们的立体异构体、其混合物和/或它们的可化妆品用或可药用的盐的合成可以根据现有技术中已知的常规方法来进行，例如使用固相肽合成方法[Stewart J.M.和Young J.D.,“Solid Phase Peptide Synthesis,第2版”,(1984),Pierce Chemical Company,Rockford,Illinois;Bodanzsky M.和Bodanzsky A.,“The practice of Peptide Synthesis”,(1994),Springer Verlag,Berlin;Lloyd-Williams P.等人,“Chemical Approaches to the Synthesis of Peptides and Proteins”,(1997),CRC,Boca Raton,FL,USA]、在溶液中合成、酶合成[Kullmann W.“Proteases as catalysts for enzymic syntheses of opioid peptides”,(1980),J.Biol.Chem.,255(17),8234-8238]或其任何组合。化合物还可以通过修饰的或未修饰的细菌菌株发酵获得、通过以产生所希望的序列为为目标的基因工程获得，或者通过控制水解来源于动物、真菌、更优选来源于植物的可释放含有至少所希望序列的肽片段的蛋白质来获得。

[0087] 例如，获得本发明式(I)化合物、它们的立体异构体和其混合物的方法包括下面阶

段：

[0088] -将N-末端保护并且C-末端游离的氨基酸与N-末端游离并且C-末端保护或与固体支持物结合的氨基酸偶联；

[0089] -消除N-末端的保护基；

[0090] -重复偶联顺序和消除N-末端的保护基，直到获得所希望的肽序列；

[0091] -消除C-末端的保护基或裂解固体支持物。

[0092] 优选地，C-末端与固体支持物结合并且该方法在固相中进行，并且因此包括将N-末端保护并且C-末端游离的氨基酸与N-末端游离并且C-末端与聚合物载体结合的氨基酸偶联；消除N-末端的保护基；并且重复此顺序所需要的次数以便获得具有所希望的长度的化合物，最后接着从最初的聚合物载体裂解所合成的化合物。

[0093] 在整个合成中，氨基酸的侧链的官能团用临时或永久的保护基方便地保护，并且可以与从聚合物载体裂解肽的过程同时或正交脱保护。

[0094] 可选择的是，固相合成可以利用将肽与聚合物载体或与预先结合在聚合物载体上的肽或氨基酸偶联的汇集策略来进行。汇集合成策略是本领域技术人员广泛已知的并且在 Lloyd-Williams P. 等人，“Convergent Solid-Phase Peptide Synthesis”，(1993)，*Tetrahedron*, 49 (48), 11065-11133 中进行了描述。

[0095] 该方法可以包括使用现有技术中已知的标准方法和条件、以非确定的次序对N-末端和C-末端脱保护和/或从聚合物载体裂解肽的另外阶段，在此之后可以修饰这些末端的官能团。N-末端和C-末端的任选的修饰可以对与聚合物载体锚定的式(I)的肽进行，或在肽从聚合物载体分离之后进行。

[0096] 任选地，可以通过以下方式来引入R₁：通过本发明的化合物的N-末端与R₁-X化合物的反应，其中R₁具有上述含义并且X是离去基团，例如但不限于甲苯磺酰基、甲磺酰基和卤素基团等；通过在适当的碱和溶剂的存在下的亲核取代反应，其中具有不参与N-C键形成的官能团的片段用临时或永久的保护基适当地保护。

[0097] 任选地和/或另外地，可以通过以下方式来引入R₂基团：通过化合物HR₂(其中R₂是-OR₃、-NR₃R₄或-SR₃)与对应于式(I)化合物(其中R₂是-OH)的互补片段在适当溶剂和碱(如N,N-二异丙基乙基胺(DIEA)或三乙胺)或添加剂(例如1-羟基苯并三唑(HOBt)或1-羟基氮杂苯并三唑(HOAt))以及脱水剂(例如碳二亚胺、脲盐、磷盐或脒盐(amidinium salt)等)的存在下的反应；或通过用例如亚硫酰氯预先形成酰基卤，并且由此获得根据本发明的通式(I)的肽，其中具有不参与N-C键形成的官能团的片段用临时或永久的保护基适当地保护；或者，其它R₂基团可以通过同时掺入到从聚合物载体裂解肽的过程中来引入。

[0098] 本领域技术人员将会容易地理解，可以根据现有技术中已知的方法以不同的顺序来进行C-末端和N-末端的脱保护/裂解步骤及其随后的衍生化。

[0099] 术语“保护基”涉及封闭有机官能团并且可以在受控制的条件下除去的基团。保护基、它们的相关反应性以及它们保持惰性的条件是本领域技术人员已知的。

[0100] 氨基的代表性保护基的实例是酰胺，例如乙酰胺、苯甲酰胺、新戊酰胺；氨基甲酸酯，例如苄基氧基羰基(Cbz或Z)、2-氯苄基(CIZ)、对-硝基苄基氧基羰基(pNZ)、叔丁氧基羰基(Boc)、2,2,2-三氯乙基氧基羰基(Troc)、2-(三甲基甲硅烷基)乙基氧基羰基(Teoc)、9-芴基甲基氧基羰基(Fmoc)或烯丙基氧基羰基(Aloc)、三苯甲基(Trt)、甲氨基三苯甲基

(Mtt)、2,4-二硝基苯基(Dnp)、N-[1-(4,4-二甲基-2,6-二氧代环己-1-亚基)乙基(Dde)、1-(4,4-二甲基-2,6-二氧代-亚环己基)-3-甲基丁基(ivDde)、1-(1-金刚烷基)-1-甲基乙氧基羰基(Adpoc)等,优选Boc或Fmoc。

[0101] 羧基的代表性保护基的实例是酯,例如叔丁酯(tBu)、烯丙酯(A11)、三苯基甲基酯(Trt tester)、环己酯(cHx)、苄酯(Bz1)、邻-硝基苄酯、对-硝基苄酯、对-甲氧基苄酯、三甲基甲硅烷基乙酯、2-苯基异丙酯、芴基甲酯(Fm)、4-(N-[1-(4,4-二甲基-2,6-二氧代亚环己基)-3-甲基丁基]氨基)苄酯(Dmab)等;本发明的优选的保护基是A11、tBu、cHex、Bz1以及Trt酯。

[0102] 三官能团的氨基酸的侧链可以在合成过程中用与N-末端和C-末端的保护基正交的临时或永久的保护基来保护。

[0103] 酪氨酸侧链的羟基侧链可以用2-溴苄氧基羰基(2-BrZ)、tBu、A11、Bz1或2,6-二氯苄基(2,6-diClZ)等来保护。组氨酸侧链可以用选自以下的保护基团保护:Tos、Dnp、甲基(Me)、Boc、苄氧基甲基(Bom)、Bz1、Fmoc、Mts、Trt和Mtt。谷氨酰胺和天冬酰胺侧链的酰胺基团可以用Trt基团或氧杂蒽基(Xan)保护或者不保护直接使用。为了保护谷氨酸和天冬氨酸侧链的羧基基团,可以使用酯类例如tBu酯、A11酯、三苯基甲基酯(Trt酯)、cHx酯、Bz1酯、邻-硝基苄基酯、对-硝基苄基酯、对-甲氧基苄基酯、三甲基硅烷基乙基酯、2-苯基异丙基酯、Fm酯或Dmab酯等。色氨酸侧链的吲哚基团可以用甲酰基基团(For)、Boc、Mts保护,或者可以不保护直接使用。为了保护赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸和二氨基丙酸侧链的氨基基团,可以使用以下基团:酰胺类,例如乙酰胺、苯甲酰胺、新戊酰胺;氨基甲酸酯类,例如Cbz或Z、ClZ、pNZ、Boc、Troc、Teoc、Fmoc或Alloc、Trt、Mtt、Dnp、Dde、ivDde、Adpoc等。甲硫氨酸的侧链可以用亚砜、砜保护或者可以不保护直接使用。苏氨酸的侧链可以用选自tBu、Bz1、Trt和Ac的保护基保护。

[0104] 在优选的实施方案中,所用的保护基策略是以下策略:其中氨基基团用Boc保护,羧基基团用Bz1、cHx或A11酯保护,酪氨酸侧链用2-BrZ或Bz1保护,组氨酸侧链用基团Tos或Bom保护,谷氨酸和天冬氨酸侧链用Bz1、cHx或A11保护,谷氨酰胺和天冬酰胺其侧链是未保护的,色氨酸侧链用For或Mts保护,甲硫氨酸其侧链是未保护的,赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸和二氨基丙酸侧链用ClZ、Fmoc、Boc或Alloc保护,且苏氨酸侧链用Bz1基团保护。

[0105] 在另一项优选的实施方案中,所用的保护基策略是以下策略:其中氨基基团用Fmoc保护,羧基基团用tBu、A11或Trt酯保护,酪氨酸侧链用tBu保护,组氨酸侧链用基团Trt或Mtt保护,谷氨酸和天冬氨酸侧链用tBu或A11保护,谷氨酰胺和天冬酰胺在其侧链用Trt基团保护,色氨酸侧链用Boc保护或者不保护直接使用,甲硫氨酸其侧链是未保护的,赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸和二氨基丙酸侧链用Boc、Fmoc、Trt或Alloc保护,且苏氨酸侧链用tBu基团保护。

[0106] 这些及其它另外的保护基团的实例、其引入及去除,可以在文献[Atherton B. 和 Sheppard R.C., "Solid Phase Peptide Synthesis:A practical approach", (1989), IRL Oxford University Press]中找到。术语“保护基团”还包括用于固相合成中的聚合物载体。

[0107] 当合成全部或部分地在固相上进行时,在本发明的方法中所使用的可能的固体载体涉及聚苯乙烯载体、接枝至聚苯乙烯上的聚乙二醇以及类似物,例如但不限于对-甲基二

苯甲基胺树脂(MBHA) [Matsueda G.R.等人,“A p-methylbenzhydrylamine resin for improved solid-phase synthesis of peptide amides”,(1981),Peptides,2,45-50]、2-氯三苯甲基树脂[Barlos K.等人,“Darstellung geschützter Peptid-Fragmente unter Einsatz substituierter Triphenylmethyl-Harze”,(1989),Tetrahedron Lett.,30,3943-3946;Barlos K.等人,“Veresterung von partiell geschützten Peptid-Fragmenten mit Harzen.Einsatz von 2-Chlorotriptylchlorid zur Synthese von Leu1-Gastrin I”,(1989),Tetrahedron Lett.,30,3947-3951]、**TentaGel®**树脂(Rapp Polymere GmbH)、**ChemMatrix®**树脂(Matrix Innovation, Inc)和类似物,其可以包括或不包括不稳定的连接基,例如5-(4-氨基甲基-3,5-二甲氧基苯氧基)戊酸(PAL) [Albericio F.等人,“Preparation and application of the 5-(4-(9-fluorenylmethyloxycarbonyl)aminomethyl-3,5-dimethoxy-phenoxy)valeric acid (PAL) handle for the solid-phase synthesis of C-terminal peptide amides under mild conditions”,(1990),J.Org.Chem.,55,3730-3743]、2-[4-氨基甲基-(2,4-二甲氧基苯基)]苯氧基乙酸(AM) [Rink H.,“Solid-phase synthesis of protected peptide fragments using a trialkoxy-diphenyl-methylester resin”,(1987),Tetrahedron Lett.,28,3787-3790],Wang[Wang S.S.,“p-Alkoxy苄醇Resin and p-Alkoxybenzyloxycarbonylhydrazide Resin for Solid Phase Synthesis of Protected Peptide Fragments”,(1973),J.Am.Chem.Soc.,95,1328-1333]以及类似物,它们使得能够同时脱保护和从聚合物载体裂解化合物。

[0108] 本发明的化妆品或药物组合物

[0109] 可以通过能够引起化合物与哺乳动物机体(优选人)的作用部位之间相接触的任何手段以含有它们的组合物的形式来施用本发明化合物。

[0110] 为此,本发明的另一个方面是化妆品或药物组合物,其包含至少一种通式(I)化合物、其立体异构体、其混合物和/或其可化妆品用或可药用的盐以及至少一种化妆品或药学可接受的辅助剂。这些组合物可以通过本领域技术人员已知的常规方法来制备[“Harry’s Cosmeticology”,第7版,(1982),Wilkinson J.B.,Moore R.J.编,Longman House,Essex,GB]。

[0111] 本发明化合物根据它们氨基酸序列的性质或N-末端和/或C-末端中的任何可能的修饰而在水中具有不同的溶解度。因此,本发明化合物可以通过水溶液而掺入至组合物中,并且不溶于水的那些可以溶解于化妆品或药学可接受的常规溶剂中,所述的溶剂例如但不限于乙醇、丙醇、异丙醇、丙二醇、甘油、丁二醇或聚乙二醇或其任何组合。

[0112] 应当施用的本发明化合物的美容或药学有效量、以及它们的剂量将取决于许多因素,包括年龄、患者的状态、待治疗和/或护理的状况、病症或疾病的性质或严重程度、施用途径和频率以及所用化合物的具体性质。

[0113] “美容和药学有效量”应理解为意指无毒但足以提供所希望的效果的本发明的一种或多种化合物的量。本发明化合物在本发明的化妆品或药物组合物中以美容或药学有效浓度使用以获得所希望的效果;优选形式是相对于组合物的总重量,在0.00000001% (按重量计)与20% (按重量计)之间;优选在0.000001% (按重量计)与15% (按重量计)之间,更优

选在0.00001% (按重量计) 与10% (按重量计) 之间, 并且甚至更优选在0.0001% (按重量计) 与5% (按重量计) 之间。

[0114] 通式(I)化合物、它们的立体异构体、其混合物和/或它们的可化妆品用或可药用的盐也可以掺入至化妆品或药物递送系统和/或缓释系统中。

[0115] 术语“递送系统”涉及与本发明化合物一起施用的稀释剂、辅助剂、赋形剂或载体。这些化妆品或药物载体可以是液体, 例如水、油或表面活性剂, 包括石油、动物、植物或合成来源的那些, 例如但不限于花生油、大豆油、矿物油、芝麻油、蓖麻油、聚山梨酸酯、脱水山梨醇酯、醚硫酸酯、硫酸酯、甜菜碱、葡糖昔、麦芽糖昔、脂肪醇、壬苯醇醚、泊洛沙姆、聚氧乙烯、聚乙二醇、右旋糖、甘油、洋地黄皂昔以及类似物。本领域技术人员已知在可以施用本发明化合物的不同递送系统中可以使用的稀释剂、辅助剂或赋形剂。

[0116] 术语“缓释”以常规含义使用, 涉及化合物的递送系统, 该递送系统在一段时期内提供化合物的逐渐释放, 并且优选地(尽管不是必须地)在一段长的时期内具有相对恒定的化合物释放水平。

[0117] 递送或缓释系统的实例包括但不限于脂质体、混合脂质体、油质体、类脂质体、醇质体、毫米颗粒、微米颗粒、纳米颗粒和固体脂质纳米颗粒、纳米结构的脂质载体、海绵状物、环糊精、囊泡、胶束、表面活性剂的混合胶束、表面活性剂-磷脂混合胶束、毫米球、微米球和纳米球、脂质球、毫米胶囊、微米胶囊和纳米胶囊以及微乳和纳米乳, 可以添加这些递送或缓释系统以便实现活性成分的更好渗透和/或改善它的药代动力学和药效学特性。优选的递送或缓释系统是脂质体、表面活性剂-磷脂混合胶束、微乳, 更优选具有反胶束的内部结构的油包水型微乳和包含纳米胶囊的微乳。

[0118] 缓释系统可以通过现有技术中已知的方法来制备, 并且包含它们的组合物可以例如通过以下方式来施用: 通过局部或经皮施用, 包括粘附贴剂、非粘附贴剂、封闭贴剂和微电子贴剂; 或通过全身施用, 例如但不限于口服或非肠道途径, 包括鼻、直肠或者皮下植入或注射, 或直接植入或注射至特定的身体部位中, 并且优选应该释放相对恒定量的本发明的肽。在缓释系统中包含的化合物的量将取决于例如该组合物将被施用的部位、本发明化合物释放的动力学和持续时间以及待治疗和/或护理的状况、病症和/或疾病的性质。

[0119] 本发明化合物还可以吸附在固体有机聚合物或固体无机载体上, 例如但不限于滑石粉、膨润土、二氧化硅、淀粉或麦芽糊精等。

[0120] 含有通式(I)化合物、它们的立体异构体、其混合物和/或它们的可化妆品用或可药用的盐的组合物还可以被掺入至与皮肤直接接触的织物、无纺织物和医学装置中, 从而由于身体湿度、皮肤的pH或身体温度, 通过结合系统到织物、无纺织物或医学装置的生物降解或者通过它们与身体之间的摩擦来释放本发明化合物。此外, 本发明化合物可以被掺入至用于制作与身体直接接触的衣服的织物和无纺织物中。优选地, 含有本发明化合物的织物、无纺织物和医学装置用于治疗可通过刺激LOXL-1和/或细胞外基质蛋白-5合成来改善或预防的状况、病症和/或疾病。

[0121] 织物、无纺织物、衣服、医学装置和用于将化合物固定于其上的手段的实例(其中包括以上描述的递送系统和/或缓释系统)可以在文献中找到并且在现有技术中是已知的 [Schaab C.K. (1986) HAPPI May 1986; Nelson G., “Application of microencapsulation in textiles”, (2002), Int.J.Pharm., 242 (1-2), 55-62; “Biofunctional Textiles and

the Skin" (2006) Curr.Probl.Dermatol. 第33卷, Hippler U.C. 和Elsner P., 编辑S.Karger AG, Basel, Switzerland; Malcolm R.K. 等人, "Controlled release of a model antibacterial drug from a novel self-lubricating silicone biomaterial", (2004), J.Cont.Release, 97(2), 313-320]。优选的织物、无纺织物、衣服和医学装置是绷带、纱布、t-恤、短袜、紧身衣、内衣、腰带、手套、尿布、卫生巾、敷裹物、床罩、擦拭巾、粘附贴剂、非粘附贴剂、封闭贴剂、微电子贴剂和/或面膜。

[0122] 含有本发明化合物、它们的立体异构体、其混合物和/或它们的可化妆品用或可药用的盐的化妆品或药物组合物可以用于局部或经皮应用的不同类型的组合物中, 可任选地包含用于配制所希望的施用形式所必需的化妆品或药学可接受的赋形剂。本领域的技术人员已知可以用于含有本发明化合物的化妆品或药物组合物中的不同赋形剂。

[0123] 局部或经皮应用的组合物可以以任何固体、液体或半固体制剂制备, 例如但不限于乳膏剂、多重乳剂(例如但不限于水包油和/或硅酮乳剂、油和/或硅酮包水乳剂、水/油/水或水/硅酮/水型乳剂以及油/水/油或硅酮/水/硅酮型乳剂)、无水组合物、含水分散体、油、乳、香树脂、泡沫剂、洗剂、凝胶剂、乳膏凝胶剂、水醇溶液剂、水甘醇溶液剂、水凝胶剂、搽剂、浆液、皂、洗发水、护发素、精华液(serums)、多糖膜、软膏剂、摩丝、润发油、粉末、棒、笔以及喷雾剂或气雾剂, 包括保留型和冲洗型制剂。这些局部或经皮应用制剂可以使用本领域技术人员已知的技术被掺入至不同类型的固体辅助物中, 例如但不限于绷带、纱布、t-恤、短袜、紧身衣、内衣、腰带、手套、尿布、卫生巾、敷裹物、床罩、擦拭巾、粘附贴剂、非粘附贴剂、封闭贴剂、微电子贴剂或面膜, 或者它们可以被掺入至不同的化妆产品中, 例如化妆粉底(例如粉底液和粉饼)、卸妆液、卸妆乳、眼部遮瑕膏、眼影、口红、润唇膏、唇彩和唇粉等。

[0124] 本发明的化妆品或药物组合物可以包含增加本发明化合物的透皮吸收的物质, 例如但不限于二甲亚砜、二甲基乙酰胺、二甲基甲酰胺、表面活性剂、氮酮(1-十二烷基氮杂环庚-2-酮)、醇、脲、乙氧基二甘醇、丙酮、丙二醇或聚乙二醇等。此外, 本发明的化妆品或药物组合物可以通过离子透入、超声促渗、电穿孔、微电子贴剂、机械压力、渗透压梯度、封闭治疗(occlusive cure)、显微注射或借助于压力的无针注射(例如通过氧气压力的注射)或其任何组合而被应用至待治疗的局部区域, 以便实现本发明化合物的更大渗透。该应用区域将由待治疗和/或护理的状况、病症和/或疾病的性质来确定。

[0125] 此外, 包含通式(I)化合物、它们的立体异构体、其混合物和/或它们的可化妆品用或可药用的盐的化妆品组合物可以以用于口服施用的不同类型的制剂应用, 优选以口服美容化妆品或药物的形式应用, 例如但不限于胶囊剂, 包括明胶胶囊剂、软胶囊剂、硬胶囊剂、片剂, 包括糖衣片剂、丸剂、散剂、颗粒剂、咀嚼胶、溶液剂、混悬剂、乳剂、糖浆剂、酏剂、多糖膜、胶冻或明胶以及本领域技术人员已知的任何其它形式。在一个具体的实施方案中, 本发明化合物可以被掺入至任何形式的功能性食物或强化食物中, 例如但不限于膳食棒或压缩或非压缩粉末。这些粉末可以溶解于水、苏打水、乳制品、大豆衍生物或者可以被掺入至膳食棒中。本发明化合物可以与用于口服组合物或食物补充剂的常见赋形剂和辅助剂一起配制, 例如但不限于, 在食品工业中常见的脂肪组分、水性组分、保湿剂、防腐剂、增稠剂、矫味剂、芳香剂、抗氧化剂和着色剂。

[0126] 包含通式(I)化合物、它们的立体异构体、其混合物和/或它们的可化妆品用或可

药用的盐的化妆品或药物组合物除了可以通过局部或经皮途径施用之外,还可以通过任何其它适当的途径例如口服或非肠道途径来施用,为此它们将包含用于配制所希望的施用形式所必需的药学上可接受的赋形剂。在本发明的上下文中,术语“非肠道”包括鼻、耳、眼、直肠、尿道、阴道、皮下、皮内途径、血管内注射例如静脉内、肌内、眼内、玻璃体内、角膜内、脊柱内、髓内、颅内、颈内、脑内、脑膜内、关节内、肝内、胸内、气管内、鞘内和腹膜内以及任何其它类似的注射或输注技术。本领域技术人员已知可以施用包含本发明化合物的化妆品或药物组合物的不同手段。

[0127] 在本发明所述的化妆品或药物组合物中所包含的可化妆品用或可药用的辅助剂是通常用于治疗和/或护理皮肤的组合物中使用的附加成分,例如但不限于刺激真皮或表皮大分子的合成和/或能够抑制或预防它们的降解的活性剂、刺激胶原合成的活性剂、刺激弹性蛋白合成的活性剂、刺激核心蛋白聚糖合成的活性剂、刺激层粘连蛋白合成的活性剂、刺激防御素合成的活性剂、刺激伴侣蛋白合成的活性剂、刺激cAMP合成的活性剂、AQP-3调节剂、刺激水通道蛋白合成的活性剂、水通道蛋白家族的蛋白质、刺激透明质酸合成的活性剂、刺激糖胺聚糖合成的活性剂、刺激纤连蛋白合成的活性剂、刺激去乙酰化酶合成的活性剂、去乙酰化酶活化剂、热休克蛋白、刺激热休克蛋白合成的活性剂、刺激脂质和角质层组分的合成的活性剂、神经酰胺、脂肪酸、抑制胶原降解的活性剂、抑制基质金属蛋白酶的活性剂、抑制弹性蛋白降解的活性剂、抑制丝氨酸蛋白酶例如激肽释放酶、弹性蛋白酶或组织蛋白酶的活性剂、刺激成纤维细胞增殖的活性剂、刺激角质形成细胞增殖的活性剂、刺激脂肪细胞增殖的活性剂、刺激黑色素细胞增殖的活性剂、刺激角质形成细胞分化的活性剂、刺激或延迟脂肪细胞分化的活性剂、DNA保护剂、DNA修复剂、干细胞保护剂、治疗和/或护理敏感皮肤的活性剂、具有紧肤和/或恢复紧致和/或重建活性的试剂、抗妊娠纹活性剂、抑制神经元胞吐作用的活性剂、抗胆碱能剂、抑制肌肉收缩的活性剂、抗衰老剂、抗皱剂、止汗剂、抗炎剂和/或镇痛剂、止痒剂、镇静剂、麻醉剂、乙酰胆碱受体聚集抑制剂、乙酰胆碱酯酶抑制剂、皮肤松弛剂、黑色素合成抑制或刺激剂、增白剂或脱色剂、促着色剂、自晒黑剂、NO-合酶抑制剂、5 α -还原酶抑制剂、赖氨酰羟化酶和/或脯氨酰羟化酶抑制剂、抗氧化剂、自由基清除剂和/或抗大气污染剂、活性羰基类别清除剂、抗糖化剂、解毒剂、抗组胺剂、抗病毒剂、抗寄生虫剂、乳化剂、润滑剂、有机溶剂、液体抛射剂、皮肤调理剂、保湿剂、保留水分的物质、 α 羟基酸、 β 羟基酸、增湿剂、表皮水解酶、维生素、氨基酸、蛋白质、色素、着色剂、染料、生物聚合物、胶凝聚合物、增稠剂、表面活性剂、软化剂、乳化剂、粘合剂、防腐剂、能够减少或治疗下眼袋的活性剂、去角质剂、角质软化剂、脱屑剂、抗微生物剂、抗真菌剂、抑真菌剂、杀菌剂、抑菌剂、抗角化过度的活性剂、减少毛囊堵塞的活性剂、抗银屑病的活性剂、稳定剂、收敛剂、调节皮脂产生的活性剂、脂解剂或刺激脂解的活性剂、产生脂肪的活性剂、调节PGC-1 α 的活性剂、调节PPAR γ 的活性剂、增加或降低脂肪细胞的甘油三脂含量的活性剂、抗蜂窝组织的活性剂、抑制PAR-2活性的活性剂、刺激愈合的活性剂、辅助愈合的活性剂、刺激再上皮化的活性剂、辅助再上皮化的活性剂、细胞因子生长因子、作用于毛细血管循环和/或微循环的活性剂、刺激血管生成的活性剂、抑制血管渗透性的活性剂、静脉紧张剂、作用于细胞代谢的活性剂、用于改善真皮-表皮接合的活性剂、诱导毛发生长的活性剂、毛发生长抑制或延缓剂、延缓脱发的活性剂、防腐剂、香料、美容和/或吸收剂和/或掩蔽体臭的止汗剂、螯合剂、植物提取物、精油、海产品提取物、得自生物发酵过程的活性剂、无机盐、细胞

提取物、防晒剂以及有效抗UVA和/或UVB紫外线和/或A红外线的有机或无机光防护剂或其混合物,条件是它们是在物理和化学上与组合物中剩余组分并且特别是与本发明的化合物相容。此外,所述其它成分的性质不应以不可接受的方式改变本发明化合物的益处。所述其它成分的性质可以是合成的或天然的,例如植物提取物,或者来自生物技术工艺。其它实例如CTFA International Cosmetic Ingredient Dictionary&Handbook,第12版(2008)中所述。

[0128] 在一个具体的实施方案中,抗皱剂和/或抗衰老剂选自例如但不限于葡萄(*Vitis vinifera*)、蔷薇(*Rosa canina*)、姜黄(*Curcuma longa*)、可可(*Theobroma cacao*)、银杏(*Ginkgo biloba*)、高山火绒草(*Leontopodium alpinum*)或杜氏盐藻(*Dunaliella salina*)等的提取物或水解提取物、Sederma/Croda销售的**Matrixyl®** [INCI:棕榈酰五肽-4]、

Matrixyl® 3000® [INCI:棕榈酰四肽-7、棕榈酰寡肽]、**Matrixyl® Synthe' 6** [INCI:甘油、水、羟丙基环糊精、棕榈酰三肽-38]、Essenskin™ [INCI:羟基蛋氨酸钙]、Renovage [INCI:替普瑞酮]、Resistem™ [INCI:心叶球花发酵产物]、**Dermaxyl®** [INCI:棕榈酰寡肽]、Calmosensine [INCI:丁二醇、乙酰基二肽-1十六烷基酯]、Volulip [INCI:鲸蜡硬脂醇乙基己酸酯、山梨坦异硬脂酸酯、毛马齿苋(*Portulaca Pilosa*)提取物、椰油酸蔗糖、棕榈酰三肽-38]、Subliskin [INCI:苜蓿中华根瘤菌发酵产物、十六烷基羟乙基纤维素、卵磷脂]、生物肽CL [INCI:棕榈酰寡肽]、生物肽EL [INCI:棕榈酰寡肽]、Rigin [INCI:棕榈酰四肽-3]、Biobustyl [INCI:聚甲基丙烯酸甘油酯、Rahnella/大豆蛋白发酵产物、棕榈酰寡肽]、Dynalift [INCI:聚苯乙烯磺酸钠、高粱杆汁液、甘油]、Idealift [INCI:乙酰基二肽-1十六烷基酯]、豨莶 [INCI:豨莶提取物]、Ovaliss [INCI:椰油基葡萄糖苷、辛二醇、醇、海罂粟碱]、Juvinity™ [INCI:四异戊二烯异丙醇]或Resistem™ [建议的INCI:心叶球花发酵产物];Pentapharm/DSM销售的**Vialox®** [INCI:五肽-3]、**Syn®-Ake®** [INCI:二肽二氨基丁酰基苯基酰胺二乙酸酯]、**Syn®-Coll** [INCI:棕榈酰三肽-5]、Phytaluronate [INCI:槐豆(角豆树(*Ceratonia siliqua*))胶]、**Preregen®** [INCI:野生大豆(*Glycine soja*) (大豆)蛋白质、氧化还原酶]、Pepha-Nutrix [INCI:天然营养因子]、Pepha-Tight [INCI:藻类提取物、支链淀粉]、Pentacare-NA [INCI:水解的小麦蛋白、角豆树胶]、**Syn®-Tacks** [INCI:甘油、棕榈酰二肽-5二氨基丁酰基羟基苏氨酸、棕榈酰二肽-6二氨基羟基丁酸酯]、BeauActive MTP [INCI:水解的乳蛋白]、**Syn®-TC** [INCI:十四烷基氨基丁酰基缬氨酰基氨基丁酸脲三氟乙酸酯、棕榈酰三肽-5、棕榈酰二肽-5二氨基丁酰基羟基苏氨酸]、**Syn®-Hycan** [INCI:十四烷基氨基丁酰基缬氨酰基氨基丁酸脲三氟乙酸酯]、**Syn®-Glycan** [INCI:十四烷基氨基丁酰基缬氨酰基氨基丁酸脲三氟乙酸酯]、Regu-Age [INCI:水解的稻糠蛋白质、氧化还原酶、野生大豆蛋白质]、Pepha-Timp [INCI:人寡肽-20]、Colhibin [INCI:水解的稻蛋白质]、Elhibin [INCI:野生大豆蛋白质、椰油酰两性基二乙酸二钠]或A11-Q™ Plus [INCI:泛醌、醋酸生育酚];Laboratoires Sérobiologiques/Cognis/BASF销售的Myoxinol™ [INCI:水解的咖啡黄葵(*Hibiscus esculentus*)提取物]、

SyniorageTM [INCI: 乙酰基四肽-11]、DermicanTM [INCI: 乙酰基四肽-9]、**DN-AGE® LS** [INCI: 翅葵决明 (Cassia alata) 叶提取物]、Hyalufix GL [INCI: 红豆蔻叶提取]、Neurobiox [INCI: 千叶蓍提取物]、Deliner [INCI: 玉蜀黍仁提取物]、Lys' lastine V [INCI: 黄花前胡提取物]、Extracellium [INCI: 水解的马铃薯蛋白质]、Proteasyl TP LS 8657 [INCI: 豌豆提取物]、Flavagrum PEG [INCI: PEG-6 异硬脂酸酯、橙皮素月桂酸酯]、Micromerol [INCI: 马吕斯梨水果提取物]、石南属植物提取物 [INCI: 帚石楠提取物]、Extracellium [INCI: 水解的马铃薯蛋白质]、Marine Filling Spheres [INCI: 季戊四醇四异硬脂酸酯、二甲基甲硅烷基化硅石、硫酸软骨素钠、端胶原]、Triactigen [INCI: 甘露醇、环糊精、酵母提取物、琥珀酸二钠]、Eterniskin [INCI: 多叶奇果菌果实体提取物、麦芽糊精]、Ascotide [INCI: 抗坏血酰基磷酸酯琥珀酰五肽-12]、Hyalurossmooth [INCI: 狹叶番泻种子多糖]、Indiny1 [INCI: 狹叶番泻种子多糖]、Arganyl1 [INCI: 刺阿干树叶提取物]、Sphingoceryl Veg [INCI: 植物神经酰胺]、Vit-A-Like [INCI: Vigna Acontifolia 种子提取物]、Peptiskin [INCI: 精氨酸/赖氨酸多肽]、Prodejine [INCI: 甘露醇、环糊精、酵母提取物、琥珀酸二钠]、Aqu' activ [INCI: 山嵛醇、油酸甘油酯、椰油酰胺MIPA、柠檬酸钙]、Elestan [INCI: 甘油、人心果 (manikara) 叶萃取物]、Hibiscin HP [INCI: 咖啡黄葵种子提取物]、**Proteasyl® TP LS8657** [INCI: 豌豆提取物] 或 Litchiderm [INCI: 荔枝果皮提取物]；Exsymol 销售的 Algisum **C®** [INCI: 甲基硅烷醇甘露糖醛酸酯] 或 Hydroxyprolisilane **CN®** [INCI: 甲基硅烷醇羟脯氨酸天冬氨酸酯]；Lipotec/Lubrizol 销售的 **Argireline®** [INCI: 乙酰基六肽-8]、SNAP-7 [INCI: 乙酰基七肽-4]、SNAP-8 [INCI: 乙酰基八肽-3]、**Leuphasyl®** [INCI: 五肽-18]、**Inyline®** [INCI: 乙酰基六肽-30]、**Aldenine®** [INCI: 水解的小麦蛋白质、水解的大豆蛋白质、三肽-1]、**Preventhelia®** [INCI: 二氨基丙酰基三肽-33]、**Decorinyl®** [INCI: 三肽-10 瓜氨酸]、**Decorinol®** [INCI: 三肽-9 瓜氨酸]、**Trylagen®** [INCI: 假交替单胞菌发酵提取物、水解小麦蛋白、水解大豆蛋白、三肽-10 瓜氨酸、三肽-1]、**Eyeseryl®** [INCI: 乙酰基四肽-5]、肽AC29 [INCI: 乙酰基三肽-30 瓜氨酸]、**Relistase®** [INCI: 乙酰基精氨酰 triptophyl 二苯基甘氨酸]、**Thermostressine®** [INCI: 乙酰基四肽-22]、LipochromanTM [INCI: 二甲基甲氧基色原烷醇]、**Chromabright®** [INCI: 二甲基甲氧基苯并二氢吡喃基棕榈酸酯]、**Antarcticine®** [INCI: 假交替单胞菌发酵提取物]、**dGlyage®** [INCI: 赖氨酸HC1、卵磷脂、三肽-9 瓜氨酸]、VilasteneTM [INCI: 赖氨酸HC1、卵磷脂、三肽-10 瓜氨酸]、**Hyadisine®** [INCI: 假交替单胞菌发酵提取物]、HyanifyTM [INCI: 糖同分异构体]、**Diffuporine®** [INCI: 乙酰基六肽-37]、**Silusyne®** [INCI: 大豆 (野生大豆) 油、山梨糖醇酐倍半油酸酯、异十六烷、透明质酸钠、月桂基二甲基铵羟丙基水解大豆蛋白、乙酰基六肽-39]、**Adifyline®** [INCI: 乙酰基六肽-38]、DelisensTM [INCI: 乙酰基六肽-46]，TelangynTM [推荐的 INCI: 乙酰基四肽-33]、SeacodeTM [INCI: 假交替单胞菌发酵提取物] 或

JuvefoxoTM[推荐的INCI:乙酰基六肽-50];Institut Europeen de Biologie Cellulaire销售的**Kollaren®** [INCI:三肽-1、右旋糖酐];Vincience/ISP/Ashland销售的**Collaxyl® IS**[INCI:六肽-9]、Laminixyl ISTM[INCI:七肽]、OrsirtineTM GL [INCI:水稻(Oryza sativa) (稻) 提取物]、D' OrientineTM IS [INCI:海枣(Phoenix dactylifera) (枣椰子) 种子提取物]、PhytoquintescineTM [INCI:单粒小麦(一粒小麦(Triticum monococcum)) 提取物]、QuintescineTM IS [INCI:二肽-4]、Peptide Vinci 01 [INCI:十五肽-1]、Peptide Vinci 02TM [INCI:六肽-3]、Aquarize ISTM [INCI:水解的稻提取物]、Lanablue [INCI:藻提取物]、EderlineTM [INCI:苹果(Pyrus Malus) (苹果) 种子提取物]、DynachondrineTM ISR [INCI:水解的大豆蛋白质]、Prolixir S20TM [INCI:二聚体三肽-43]、PhytocohesineTM PSP [INCI: β -谷甾醇硫酸酯钠、 β -谷甾醇]、PerenitylTM IS [INCI:西洋梨(Pyrus Communis) (梨) 种子提取物]、Caspaline 14TM [INCI:六肽-42]、Peptide Q10TM [INCI:五肽-34三氟乙酸盐]、Survixyl ISTM [INCI:五肽-31]、ChroN0genTM [INCI:四肽-26]或TelosenseTM[推荐的INCI:水解的大豆蛋白质、水解的酵母蛋白质];Infinitec Activos销售的BONT-L-肽 [INCI:棕榈酰六肽-19]、TIMP肽 [INCI:乙酰六肽-20]、ECM Moduline [INCI:棕榈酰三肽-28]、Renaissance [INCI:水解的小麦蛋白质、棕榈酰十肽-21、十肽-22、寡肽-78、锌棕榈酰九肽-14];Seppic销售的DeepalineTM PVB [INCI:棕榈酰水解的小麦蛋白质]、**Sepilift® DP PHP** [INCI:二棕榈酰羟基脯氨酸]、Survicode [INCI:椰油酰基丙氨酸钠]、Aquaxy1 [INCI:木糖醇葡萄糖苷、脱水木醣醇、木糖醇]或Lipacide PVB [INCI:棕榈酰水解的小麦蛋白质];Gattefossé销售的**Gatuline® Expression** [INCI:千日菊(Acmella oleracea) 提取物]、**Gatuline® In-Tense** [INCI:金纽扣(Spilanthes acmella) 花提取物]或**Gatuline® Age Defense 2** [INCI:胡桃(Juglans regia) (胡桃) 种子提取物]或Hematite [INCI:赤铁矿];Biotechmarine销售的ThalassineTM [INCI:藻提取物];Atrium/Unipex Innovations/Lucas Meyer Cosmetics销售的ChroN0lineTM [INCI:己酰基四肽-3]、**Lanablue®** [INCI:藻提取物]、Exo-H [INCI:交替单胞菌表多醣提取物]、Exo-TTM [INCI:弧菌表多醣提取物]、**Hydriame®** [INCI:水、葡糖氨基葡聚糖、小核菌胶]、MDI **Complex®** [INCI:葡糖氨基葡聚糖]、Adipofill [INCI:鸟氨酸、磷脂、糖脂]或**Thymulen® 4** [INCI:乙酰基四肽-2];Coletica/Engelhard/BASF销售的EquiStat [INCI:苹果提取物、野生大豆种子提取物]、Juvenesce [INCI:乙氧基二乙二醇和辛酸甘油三酯、视黄醇、乌索酸、植物甲萘醌、伊洛马司他]、Ursolisome [INCI:卵磷脂、乌索酸、端胶原、黄原胶、硫酸软骨素钠]、Basaline [INCI:水解的麦芽提取物]、Phytokine [INCI:水解的大豆蛋白质];Mibelle Biochemistry销售的Ameliox [INCI:肌肤、生育酚、水飞蓟(Silybum marianum) 果提取物]或PhytoCellTec Malus Domestica [INCI:苹果(Malus domestica) 果细胞培养物]、Lipobelle Soyaglicane [INCI:大豆异黄酮]或DermCom [INCI:黄金番红花球茎提取物、阿拉伯胶、含水/水];Silab销售的Bioxilift [INCI:茴芹提取物]、Papilactyl D [油莎草块茎提取物]、SMS Anti-Wrinkle® [INCI:番荔枝种子提取物]、Astressyl [INCI:白柳(柳树)叶提取物]、Pro-Coll-One+ [INCI:水解的大豆蛋白质]、Ridulisse C [INCI:大豆]、Raffermine [INCI:水解

的大豆粉]、Toniskin[INCI:酵母提取物]或Coheliss[INCI:黑麦种子纯化的阿糖基木聚糖];Active Organics/Arch销售的ActiMatrix[INCI:基于蘑菇提取物的肽]、Peptamide 6[INCI:六肽-11];Alban Muller销售的HPS3[液体石蜡、粉团扇藻叶状体提取物];Dermapep销售的DermaPep A420[INCI:肉豆蔻酰四肽-6、甘油、丁二醇]和DermaPep A350[INCI:肉豆蔻酰三肽-31、丁二醇];Evonik Goldschmidt销售的Phytosphingosine SLC[INCI:水杨酰植物鞘氨醇]、TEGO Pep 4-17[INCI:四肽-17]、Granactive AGE[INCI:棕榈酰六肽-14、宁夏枸杞果提取物(枸杞)]、Sphingokine NP[INCI:己酰基植物鞘氨醇]、TEGO Pep 4-Even [INCI:甘油、四肽-30];Expanscience Laboratorie销售的Collageneer[INCI:向日葵籽油、白羽扇豆提取物]、Effipulp[INCI:水解的鳄梨蛋白质]或Actimp 1.9.3[INCI:水解的羽扇豆蛋白质];IEB销售的ECM Protect[INCI:三肽-2]、IP 2000[INCI:右旋糖苷,三氟乙酰基三肽-2]或Glycosann[INCI:硫酸软骨素钠];Merk销售的Ronacare环肽-5[INCI:四氢甲基嘧啶羧酸、环肽-5];Peptron销售的Ascotide[INCI:抗坏血酸磷酸酯琥珀酰五肽-12];Provital销售的Homeostatine[INCI:扁汴苔、刺云实]、Pronalen Firming[INCI:女生薌属提取物、女生羽衣草提取物、马尾提取物、大豆胚芽提取物、小麦胚芽提取物、紫苜蓿提取物、萝卜提取物、水(含水)、丁二醇、癸基葡糖苷]和Vitasource[INCI:丙二醇、水、黄芩苷];Rahn销售的Reforcyl[INCI:谷氨酰胺、癸基葡糖苷、苯乙醇、灰白岩蔷薇花/叶/茎提取物、绞股蓝叶/茎提取物]、Proteolea[INCI:果聚糖、癸基葡糖苷、油橄榄叶提取物、苯乙醇、枣种子提取物]和Vitaderm[INCI:水解的稻蛋白质、冬青提取物、熊果酸钠、石竹素钠];Solabia销售的Peptiskin[INCI:精氨酸/赖氨酸多肽]、Nuteline C[INCI:水解的榛子蛋白质]和Radicaptol[INCI:丙二醇、水、粉色西番莲提取物、黑茶镳子叶提取物、葡萄叶提取];Soliance销售的StimulHyal[INCI:酮基葡糖酸钙]、Dakaline[INCI:甜扁桃、光滑果榆绿木树皮提取物]、RenovHyal[INCI:玻璃酸钠]和Viapure Boswellia[INCI:齿叶乳香树提取物];Symrise销售的SymPeptide 222[INCI:肉豆蔻酰五肽-8]、SymPeptide 225[INCI:肉豆蔻酰五肽-11]、SymPeptide 239[INCI:肉豆蔻酰八肽-1]、SymPeptide 230[INCI:肉豆蔻酰六肽-4];Ca²⁺通道拮抗剂例如但不限于:阿尔维林、锰或锰盐、某些仲胺或叔胺、视黄醇及其衍生物、艾地苯醌及其衍生物、辅酶Q10及其衍生物、乳香酸及其衍生物、GHK及其衍生物和/或盐、肌肤及其衍生物、DNA修复酶例如但不限于光解酶或T4核酸内切酶V或氯通道激动剂等。

[0129] 在一个具体的实施方案中,刺激真皮或表皮大分子合成的试剂选自例如但不限于刺激胶原合成的活性剂、刺激弹性蛋白合成的活性剂、刺激核心蛋白聚糖合成的活性剂、刺激层粘连蛋白合成的活性剂、刺激伴侣蛋白合成的活性剂、刺激去乙酰化酶合成的活性剂、去乙酰化酶活化剂、水通道蛋白合成调节剂、刺激纤连蛋白合成的活性剂、抑制胶原降解的活性剂、抑制弹性蛋白降解的活性剂、抑制丝氨酸蛋白酶例如激肽释放酶、白细胞弹性蛋白酶或组织蛋白酶G的活性剂、刺激成纤维细胞增殖的活性剂、刺激脂肪细胞增殖的活性剂、刺激或延迟脂肪细胞分化的试剂,例如但不限于积雪草(*Centella asiatica*)、酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)、马铃薯(*Solanum tuberosum*)、迷迭香(*Rosmarinus officinalis*)、狭叶越桔(*Vaccinium angustifolium*)的提取物;藻类巨藻(*Macrocystis pyrifera*)、团扇藻(*Padina pavonica*)的提取物;植物大豆、麦芽、亚麻、鼠尾草、红色三叶草、kakkon、白羽扇豆的提取物、榛子提取物、玉蜀黍提取物、酵母提取物、山毛榉芽提取物、

豆类种子提取物、植物激素类提取物例如赤霉素类、植物生长素或细胞因子等,或者Salina浮游动物提取物、用保加利亚乳杆菌发酵牛奶的产物、积雪草皂昔及其衍生物、维生素C及其衍生物、桂皮酸及其衍生物、由Sederma/Croda销售的**Matrixyl®** [INCI:棕榈酰五肽-3]、**Matrixyl®** 3000 [INCI:棕榈酰四肽-3,棕榈酰寡肽]或Biopeptide CL™ [INCI:甘油聚甲基丙烯酸酯,丙二醇,棕榈酰寡肽]、由Lipotec/Lubrizol销售的**Antarcticine®** [INCI:假交替单胞菌发酵提取物]、**Decorinyl®** [INCI:三肽-10瓜氨酸]、**Serilesine®** [INCI:六肽-10]、Lipeptide [INCI:水解的植物蛋白]、**Aldenine®** [INCI:水解小麦蛋白,水解大豆蛋白,三肽-1]、Relistase™ [INCI:乙酰基精氨酰 triptophyl 二苯基甘氨酸]、Thermostressine™ [INCI:乙酰基四肽-22]、Peptide AC29 [INCI:乙酰基三肽-30瓜氨酸]、Diffuporine™ [INCI:乙酰基六肽-37]、Silusyne™ [INCI:大豆(野生大豆)油、山梨糖醇酐倍半油酸酯、异十六烷、透明质酸钠、月桂基二甲基铵羟丙基水解大豆蛋白、乙酰基六肽-39]或Adifyline™ [INCI:乙酰基六肽-38]、由Alban Muller销售的**Drieline® PF** [INCI:酵母β葡聚糖]、由Solabia销售的Phytovityl C® [INCI:Aqua,玉米提取物]、由Coletica/Engelhard/BASF销售的**Collalift®** [INCI:水解麦芽提取物]、由Vincience/ISP/Ashland销售的Phytocohesine PSP™ [INCI:β-谷甾醇硫酸酯钠]、矿物质例如钙等、维生素A酸类及其衍生物、异黄酮类化合物、类胡萝卜素、特别是番茄红素、假二肽类、维生素A酸类及其衍生物例如视黄醇或棕榈酸视黄酯等、或类肝素类等。

[0130] 在另一个具体的实施方案中,具有紧肤和/或恢复紧致和/或重建活性的试剂选自,例如但不限于,金虎尾科punicitolia、朝鲜蓟(Cynara scolymus)、草棉(Gossypium herbaceum)、巴巴多斯芦荟(Aloe Barbadensis)、黍稷(Panicum miliaceum)、黑桑(Morus nigra)、芝麻(Sesamum indicum)、野生大豆(Glycine soja)、小麦(Triticum vulgare)的提取物,由Provital销售的**Pronalen® Refirming HSC** [INCI:小麦、水飞蓟、野生大豆、向日葵、斗蓬草、紫苜蓿、萝卜]或**Polyplant® Refirming** [INCI:金花菊、积雪草、墨角藻属(Fucus)、葫芦巴]、由Atrium Biotechnologies/Unipex Innovations销售的**Lanablue®** [INCI:山梨醇、藻类提取物]、由Pentapharm/DSM销售的**Pepha®-Nutrix** [INCI:天然营养因子]、包含异黄酮类的植物提取物、由Sederma/Croda销售的Biopeptide EL™ [INCI:棕榈酰寡肽]、Biopeptide CL™ [INCI:棕榈酰寡肽]、**Vexel®** [INCI:水(Aqua)、丙二醇、卵磷脂、咖啡因、棕榈酰肉毒碱]、**Matrixyl®** [INCI:棕榈酰五肽-3]、**Matrixyl®** 3000 [INCI:棕榈酰四肽-3,棕榈酰寡肽]或Bio-Busty1™ [INCI:甘油聚甲基丙烯酸酯、拉恩菌属大豆蛋白发酵产物、水(Aqua)、丙二醇、甘油、PEG-8、棕榈酰寡肽]、由Laboratoires Serobiologiques/Cognis/BASF销售的**Dermosaccharides® HC** [INCI:甘油、水(Aqua)、氨基葡聚糖、糖原]、**Aglycal®** [INCI:甘露醇、环糊精、糖原、熊果叶(Aratostaphylos Uva Ursi Leaf)提取

物]、**Cytokinol[®]**LS [INCI: 水解酪蛋白、水解酵母蛋白、赖氨酸HC1]或**Firmiderm[®]** LS9120 [INCI: 槿仁叶 (Terminalia Catappa Leaf) 提取物、西洋接骨木 (Sambucus Negra) 花提取物、PVP、单宁酸]、由 Silab 销售的 **Liftline[®]** [INCI: 水解小麦蛋白]、**Raffermine[®]** [INCI: 水解大豆粉]或 Ridulisse **C[®]** [水解大豆蛋白]、由 Lipotec/Lubrizol 销售的 **Serilesine[®]** [INCI: 六肽-10]、DecorinylTM [INCI: 三肽-10瓜氨酸]、**Trylagen[®]** [INCI: 假交替单胞菌发酵提取物、水解小麦蛋白、水解大豆蛋白、三肽-10瓜氨酸、三肽-1]、SilusyneTM [INCI: 大豆 (野生大豆) 油、山梨糖醇酐倍半油酸酯、异十六烷、透明质酸钠、月桂基二甲基铵羟丙基水解大豆蛋白、乙酰基六肽-39]或 AdifylineTM [INCI: 乙酰基六肽-38]、由 Coletica/Engelhard/BASF 销售的 **Ursolisome[®]** [INCI: 卵磷脂、熊果酸、缺端胶原 (Atelocollagen)、黄原胶、硫酸软骨素钠]或 **Collalift[®]** [INCI: 水解麦芽提取物]、由 Pentapharm/DSM 销售的 **Syn[®]-Coll** [INCI: 棕榈酰三肽-5]、由 Atrium Biotechnologies/Unipex Innovations 销售的 **Hydriame[®]** [INCI: 水 (Aqua)、氨基葡聚糖、小核菌胶 (Sclerotium Gum)]或由 Institut Europeen de Biologie Cellulaire/Unipex Innovations 销售的 IP2000 [INCI: 右旋糖苷、三氟乙酰基三肽-2]等。

[0131] 应用

[0132] 在另一方面，本发明涉及用于医学、特别是用于治疗和/或预防癌症、慢性阻塞性肺病 (COPD)、尿失禁、Brunch 膜的弹性层降解、皮肤松弛症、血管疾病及病症、骨盆器官脱垂、老年性黄斑变性和/或糖尿病视网膜病变的如上文所定义的通式 (I) 化合物、其立体异构体、其混合物和/或其可化妆品用或可药用的盐。

[0133] 在一个具体的实施方案中，所述癌症的治疗是通过减少血管生成和/或致肿瘤性来进行的。

[0134] 在一个具体的实施方案中，所述慢性阻塞性肺病 (COPD) 选自，例如但不限于，肺气肿、哮喘或支气管炎。

[0135] 在另一个具体的实施方案中，所述血管疾病或病症选自，例如但不限于，主动脉壁夹层形成、动脉瘤、收缩动脉高压、再狭窄或中风。

[0136] 在另一个具体的实施方案中，骨盆器官脱垂中的骨盆器官选自，例如但不限于，膀胱、子宫、阴道、尿道、阴道壁、副尿道结缔组织和耻骨尿道韧带。

[0137] 在另一方面，本发明涉及用于皮肤治疗的如上文所定义的通式 (I) 化合物、其立体异构体、其混合物和/或其可化妆品用或可药用的盐。

[0138] 在另一方面，本发明涉及如上文所定义的通式 (I) 化合物、其立体异构体、其混合物和/或其可化妆品用或可药用的盐用于皮肤的非治疗性美容治疗和/或护理、特别是用于治疗和/或预防皮肤老化和/或光老化、并且更加特别是用于治疗和/或减少皱纹和/或妊娠纹的用途。

[0139] 在另一方面，本发明涉及如上文所定义的通式 (I) 化合物、其立体异构体、其混合物和/或其可化妆品用或可药用的盐用于提高皮肤弹性和/或紧实度的用途。

[0140] 在另一方面,本发明涉及如上文所定义的通式(I)化合物、其立体异构体、其混合物和/或其可化妆品用或可药用的盐用于刺激胶原和/或弹性蛋白合成的用途。

[0141] 在另一方面,本发明涉及如上文所定义的通式(I)化合物、其立体异构体、其混合物和/或其可化妆品用或可药用的盐用于刺激LOXL-1和/或细胞外基质蛋白-5合成的用途。

[0142] 或者,本发明的其它方面涉及治疗和/或预防癌症、慢性阻塞性肺病(COPD)、尿失禁、Brunch膜的弹性层降解、皮肤松弛症、血管疾病及病症、骨盆器官脱垂、老年性黄斑变性和/或糖尿病视网膜病变的方法,其包括施用药物有效量的至少一种如上文所定义的通式(I)化合物、其立体异构体、其混合物和/或其可化妆品用或可药用的盐。

[0143] 在一个具体的实施方案中,癌症的治疗是通过减少血管生成和/或致肿瘤性来进行的。

[0144] 在另一个具体的实施方案中,所述慢性阻塞性肺病(COPD)选自,例如但不限于,肺气肿、哮喘或支气管炎。

[0145] 在另一个具体的实施方案中,所述血管疾病或病症选自,例如但不限于,主动脉壁夹层形成、动脉瘤、收缩动脉高压、再狭窄或中风。

[0146] 在另一个具体的实施方案中,骨盆器官脱垂中的骨盆器官选自,例如但不限于,膀胱、子宫、阴道、尿道、阴道壁、副尿道结缔组织和耻骨尿道韧带。

[0147] 在另一方面,本发明涉及治疗和/或护理皮肤的方法,其包括施用化妆品或药物有效量的至少一种通式(I)化合物、其立体异构体、其混合物和/或其可化妆品用或可药用的盐。特别是用于治疗和/或预防皮肤老化和/或光老化,并且更加特别是用于治疗和/或减少皱纹和/或妊娠纹。

[0148] 在另一方面,本发明涉及提高皮肤弹性和/或紧实度的治疗和/或护理方法,其包括施用化妆品或药物有效量的至少一种通式(I)化合物、其立体异构体、其混合物和/或其可化妆品用或可药用的盐。

[0149] 在另一方面,本发明涉及刺激胶原和/或弹性蛋白合成的治疗和/或护理方法,其包括施用化妆品或药物有效量的至少一种通式(I)化合物、其立体异构体、其混合物和/或其可化妆品用或可药用的盐。

[0150] 在另一方面,本发明涉及刺激LOXL-1和/或细胞外基质蛋白-5合成的治疗和/或护理方法,其包括施用化妆品或药物有效量的至少一种通式(I)化合物、其立体异构体、其混合物和/或其可化妆品用或可药用的盐。

[0151] 在另一方面,本发明化合物可以通过能够引起化合物与哺乳动物机体(优选人)的作用部位之间相接触的任何手段施用,更加优选以包含其的组合物的形式施用。本发明化合物的施用通过局部、经皮肤、口服或胃肠外进行。在另一个具体方面,局部或经皮肤应用是通过离子透入、超声促渗、电穿孔、机械压力、渗透压梯度、封闭治疗、显微注射、借助于压力的无针注射、微电子贴剂、面膜或其任何组合来进行的。

[0152] 应用的频率可以根据每个个体的需要而有很大的变化,推荐应用范围是每月一次至每天10次,优选每周一次至每天4次,更加优选每周三次至每天两次,甚至更加优选每天一次。

[0153] 本文所提供的以下具体实施例用于解释说明本发明的性质。所包含的这些实施例用于解释说明的目的,而不应理解为对所要求保护的发明的限制。

[0154] 实施方案的实施例

[0155] 通用方法

[0156] 全部试剂和溶剂是合成品质的，并且不经任何另外处理直接使用。

[0157] 缩写

[0158] 氨基酸所用的缩写采用Eur.J.Biochem.(1984) 138:9-37中所列出的1983IUPAC-IUBC生物化学命名委员会所推荐缩写。

[0159] **(R)**, 树脂; **2-ClTrt-(R)**, 树脂2-氯三苯甲基; 4-Abz, 4-氨基苯甲酸; Ac, 乙酰基; AM, 2-[4-氨基甲基-(2,4-二甲氧基苯基)]苯氧基乙酸; Asn, 天冬酰胺; Asp, 天冬氨酸; Boc, 叔丁氧基羰基; C-末端, 羧基-末端; Cit, 瓜氨酸; DCM, 二氯甲烷; DIEA, N,N'-二异丙基乙基胺或Hünig碱、DIPEA或DIEA; DIPCDI, N,N'-二异丙基碳二亚胺; DMF, N,N-二甲基甲酰胺; equiv, 当量; ES-MS, 电喷雾解离质谱; Fmoc, 9-芴基甲氧基羰基; Asp, 天冬氨酸; Val, 缬氨酸; Lys, 赖氨酸; Tyr, 酪氨酸; 4-Abz, 4-氨基苯甲酸; Thr, 苏氨酸; Trp, 色氨酸; Gln, 谷氨酰胺; Gly, 甘氨酸; His, 组氨酸; Cit, 瓜氨酸; Leu, 亮氨酸; Ile, 异亮氨酸; Met, 甲硫氨酸; Orn, 鸟氨酸; Dbu, 二氨基丁酸; Dpr, 二氨基丙酸; HOEt, 1-羟基苯并三唑; HPLC, 高效液相色谱; Lys, 赖氨酸; MBHA, 对甲基二苯甲胺; MeOH, 甲醇; N-末端, 氨基-末端; tBu, 叔丁基; TFA, 三氟乙酸; Thr, 苏氨酸; Trt, 三苯基甲基或三苯甲基; Tyr, 酪氨酸; Val, 缬氨酸; ECM, 细胞外基质; GAG, 糖胺聚糖; LOX, 赖氨酰氧化酶; LOXL, 赖氨酰氧化酶类似物; MAGP, 微状原纤维联合糖蛋白; DANCE, 发育的动脉和神经嵴表皮生长因子(EGF)-类似物; EVEC新的表皮生长因子; EGF-类似物, 表皮生长因子, COPD, 慢性阻塞性肺病; DMEM-Glutamax; Dulbecco改进的Eagle培养基; FBS, 基于片段筛选; CV, 结晶紫; RLU, 相对光单位; BMG, 发光读数器; DNA, 脱氧核糖核酸; TGF, 转化生长因子β; HDFa, 人真皮成纤维细胞, 成人; DAPI, 4',6-二脒基-2-苯基吲哚二氯水合物; ELISA, 酶联免疫吸附试验; BSA, 二(三甲基硅烷基)乙酰胺或磷酸盐缓冲盐水; GSEA, 基因组富集分析; OPD, 邻苯二胺; RNA, 核糖核酸; COL, 胶原; PLOD3, 前胶原-赖氨酸。

[0160] 化学合成

[0161] 全部合成过程都是在装有多孔聚乙烯圆板的聚丙烯注射器或者装有多孔平板的玻璃反应器中进行。全部试剂和溶剂都是合成品质的，并且不经任何另外处理直接使用。溶剂和可溶性试剂通过抽滤除去。Fmoc基团用哌啶-DMF(2:8,v/v)(1×1分钟,1×5分钟;5mL/g树脂)除去[Lloyd-Williams P.等人(1997)“Chemical Approaches to the Synthesis of Peptides and Proteins”CRC, Boca Raton (FL, USA)]。在脱保护、偶联与再次脱保护的阶段之间用DMF(3×1分钟)洗涤，每次用10mL溶剂/g树脂进行洗涤。偶联反应用3mL溶剂/g树脂进行。对偶联反应的监控通过茚三酮试验[Kaiser E.等人, “Anal.Biochem”. (1970) 34:595-598]或氯醌[Christensen T. “Acta Chem.Scand”. (1979), 33B:763-766]来进行。全部合成反应及洗涤都在25℃进行。

[0162] HPLC色谱分析使用在30℃恒温的反相柱(250×4.6mm, Kromasil 100C₈, 5μm, Akzo Nobel, 瑞典)用Shimadzu设备(Kyoto, 日本)进行。洗脱采用乙腈(+0.07%TFA)的水(+0.1%TFA)溶液以1mL/分钟的流速梯度洗脱，并在220nm进行检测。电喷雾解离质谱分析在WATERS Alliance ZQ2000检测器中进行，使用MeCN:H₂O 4:1(+0.1%TFA)混合物作为流动相，且流速为0.3mL/分钟。

[0163] 实施例1

[0164] 获得Ac-Gly-L-Gln-L-Lys (Ac-Gly-L-Gln)-4-Abz-NH₂

[0165] a) 获得Fmoc-L-Lys (Fmoc)-4-Abz-AM-MBHA-®

[0166] 将载有0.6mmol/g官能团的15mmol的树脂pMBHA用40% TFA在DCM中的溶液(1×2分钟+1×10分钟+1×20分钟)、DCM(5×1分钟)和15%DIEA的DCM溶液(3×2分钟)处理。将该树脂用DCM(5×1分钟)和DMF(3×1分钟)洗涤。在1.5当量的DIPCDI和1.5当量的HOBr的存在下用DMF/DCM(1/1;v/v)作为溶剂将1.5当量的Fmoc-AM-OH引入树脂中1小时。随后将该树脂用DMF洗涤(3×1min)。按照通用方法中所述将Fmoc N-末端基团脱保护(20%哌啶在DMF中的溶液,1×1分钟+1×5分钟)。将该脂用DMF洗涤(5×1分钟),然后将4当量的Fmoc-4-Abz-OH在4当量的DIPCDI和4当量的HOBr的存在下用DMF作为溶剂引入树脂中1小时。将其过滤,并通过加入2当量的Fmoc-4-Abz-OH在2当量的DIPCDI和2当量的HOBr的存在下用DMF作为溶剂重复该反应19小时。然后将该树脂如通用方法所述洗涤,并进行Fmoc基团的脱保护处理以引入下一个氨基酸。将5当量的Fmoc-L-Lys (Fmoc)-OH在5当量的DIPCDI和5当量的HOBr存在下使用DMF作为溶剂引入未保护的肽基树脂中2小时。将其过滤,并通过应用5当量的Fmoc-L-Lys (Fmoc)-OH在5当量的DIPCDI和5当量的HOBr的存在下用DMF作为溶剂重复该反应20小时。将该肽基树脂用DMF(5×1分钟)、DCM(4×1分钟)、乙醚(4×1分钟)洗涤并真空干燥。

[0167] b) 获得Ac-Gly-L-Gln-L-Lys (Ac-Gly-L-Gln)-4-Abz-AM-MBHA-®

[0168] 将实施例1.a)中获得的肽基树脂的Fmoc N-末端基团按照通用方法中所述进行脱保护(20%哌啶的DMF溶液,1×1分钟+1×5分钟)。在5当量的DIPCDI和10当量的HOBr的存在下用DMF作为溶剂将5当量的Fmoc-L-Gln-OH引入未保护的树脂中1小时。然后将该树脂如通用方法所述进行洗涤,并进行Fmoc基团的脱保护处理以引入下一个氨基酸。在5当量的DIPCDI和5当量的HOBr的存在下用DMF作为溶剂将5当量的Fmoc-Gly-OH引入未保护的树脂中1小时。随后将该树脂如通用方法所述进行洗涤,然后重复Fmoc基团的脱保护处理。通过在5当量的DIEA的存在下用DMF作为溶剂用5当量的Ac₂O处理未保护的树脂30分钟完成乙酰化。

[0169] 合成后,将该肽基树脂用DMF(5×1分钟)、DCM(4×1分钟)、乙醚(4×1分钟)洗涤,并真空干燥。

[0170] c) 获得Ac-Gly-L-Gln-L-Lys (Ac-Gly-L-Gln)-4-Abz-NH₂

[0171] 将实施例1.b)中获得的7g干燥的肽基树脂用49mL TFA:H₂O(95:5)在室温下搅拌处理2小时。将其过滤,并将滤液收集于350mL冷的乙醚上。将其放置15分钟,并离心(10分钟,4000rpm)。倒出沉淀,用乙醚洗涤并离心(5分钟,4000rpm)。再次重复用乙醚洗涤的过程,并将该沉淀真空干燥。

[0172] 将获得的化合物用MeCN(+0.07%TFA)的H₂O(+0.1%TFA)溶液梯度洗脱进行HPLC分析,显示纯度超过80%。所得化合物的结构经ES-MS确认。

	验证物	平均 MW	实验 MW
[0173]	<u>Ac-Gly-L-Gln-L-Lys(Ac-Gly-L-Gln)-4-Abz-NH₂</u>	<u>718.77</u>	<u>719.46±0.91</u>

[0174] 表4

[0175] 实施例2

[0176] 获得Ac-L-Lys-L-His-L-Lys (Ac-L-Lys-L-His)-4-Abz-NH₂

[0177] 按照实施例1中所述的规程获得该产物。合成部分用载有0.6mmol/g官能团的15mmol树脂pMBHA和Fmoc-AM-OH(1.5当量)开始,分别引入Fmoc-4-Abz-OH(4当量+2当量)、Fmoc-L-Lys(Fmoc)-OH(2×5当量)、Fmoc-L-His(Trt)-OH(5当量)、Fmoc-L-Lys(Boc)-OH(5当量)和Ac基团(5当量)。

[0178] 通过用62mL TFA:H₂O(95:5)处理8.9g肽基树脂2小时来完成聚合物载体的裂解,用435mL冷的乙醚进行沉淀。

[0179] 将获得的化合物用MeCN(+0.07%TFA)的H₂O(+0.1%TFA)溶液梯度洗脱进行HPLC分析,显示纯度超过80%。所得化合物的结构经ES-MS确认。

验证物	平均 MW	实验 MW
[0180] Ac-L-Lys-L-His-L-Lys(Ac-L-Lys-L-His)-4-Abz-NH₂	879.03	879.57±0.60

[0181] 表5

[0182] 实施例3

[0183] 获得Ac-L-Asn-L-Thr-L-Lys (Ac-L-Asn-L-Thr)-4-Abz-NH₂

[0184] 按照实施例1中所述的规程获得该产物。合成部分用载有0.6mmol/g官能团的15mmol树脂pMBHA和Fmoc-AM-OH(1.5当量)开始,分别引入Fmoc-4-Abz-OH(4当量+2当量)、Fmoc-L-Lys(Fmoc)-OH(2×5当量)、Fmoc-L-Thr(tBu)-OH(5当量)、Fmoc-L-Asn-OH(5当量)和Ac基团(5当量)。

[0185] 通过用52mL TFA:H₂O(95:5)处理7.5g肽基树脂2小时来完成聚合物载体的裂解,用365mL冷乙醚进行沉淀。

[0186] 将获得的化合物用MeCN(+0.07%TFA)的H₂O(+0.1%TFA)溶液梯度洗脱进行HPLC分析,显示纯度超过80%。所得化合物的结构经ES-MS确认。

验证物	平均 MW	实验 MW
[0187] Ac-L-Asn-L-Thr-L-Lys(Ac-L-Asn-L-Thr)-4-Abz-NH₂	778.82	778.92±0.23

[0188] 表6

[0189] 实施例4

[0190] 获得Ac-L-Lys-L-Tyr-L-Lys (Ac-L-Lys-L-Tyr)-4-Abz-NH₂

[0191] 按照实施例1中所述的规程获得该产物。合成部分用载有0.6mmol/g官能团的15mmol树脂pMBHA和Fmoc-AM-OH(1.5当量)开始,分别引入Fmoc-4-Abz-OH(4当量+2当量)、Fmoc-L-Lys(Fmoc)-OH(2×5当量)、Fmoc-L-Tyr(tBu)-OH(5当量)、Fmoc-L-Lys(Boc)-OH(5当量)和Ac基团(5当量)。

[0192] 通过用57mL TFA:H₂O(95:5)处理8.2g肽基树脂2小时来完成聚合物载体的裂解,用400mL冷乙醚进行沉淀。

[0193] 将获得的化合物用MeCN(+0.07%TFA)的H₂O(+0.1%TFA)溶液梯度洗脱进行HPLC

分析,显示纯度超过80%。所得化合物的结构经ES-MS确认。

	验证物	平均 MW	实验 MW
[0194]	Ac-L-Lys-L-Tyr-L-Lys(Ac-L-Lys-L-Tyr)	931.10	929.65±1.
	-4-Abz-NH₂		75

[0195] 表7

[0196] 实施例5

[0197] 获得Ac-L-Lys-L-Cit-L-Lys (Ac-L-Lys-L-Cit)-4-Abz-NH₂

[0198] 按照实施例1中所述的规程获得该产物。合成部分用载有0.6mmol/g官能团的15mmol树脂pMBHA和Fmoc-AM-OH(1.5当量)开始,分别引入Fmoc-4-Abz-OH(4当量+2当量)、Fmoc-L-Lys(Fmoc)-OH(2×5当量)、Fmoc-L-Cit-OH(5当量)、Fmoc-L-Lys(Boc)-OH(5当量)和Ac基团(5当量)。

[0199] 通过用57mL TFA:H₂O(95:5)处理8.2g肽基树脂2小时来完成聚合物载体的裂解,用400mL冷乙醚进行沉淀。

[0200] 将获得的化合物用MeCN(+0.07%TFA)的H₂O(+0.1%TFA)溶液梯度洗脱进行HPLC分析,显示纯度超过80%。所得化合物的结构经ES-MS确认。

	验证物	平均 MW	实验 MW
[0201]	Ac-L-Lys-L-Cit-L-Lys(Ac-L-Lys-L-Cit)	919.10	919.13±0.24
	-4-Abz-NH₂		

[0202] 表8

[0203] 实施例6

[0204] 获得Ac-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH (SEQ ID NO:29)

[0205] a) 获得Ac-L-Asp(tBu)-L-Val-L-Lys(Boc)-L-Tyr(tBu)-O-2-C1Trt-⑧

[0206] 将溶于210mL DCM的33.6mmol(1当量)Fmoc-L-Tyr(tBu)-OH(其中加入0.85当量的DIEA)引入2-氯三苯甲基干燥树脂(21.0g;33.6mmol)中。将其搅拌5分钟,然后加入1.64当量的DIEA。将其放置反应40分钟。通过用17mL MeOH处理来封闭剩余的氯化物基团。用DCM(3×1分钟)和DMF(5×1分钟)进行洗涤。通过用5%哌啶在DCM/DMF(1/1;v/v)中的溶液处理10分钟,然后用20%哌啶在DCM(1×15分钟)中的溶液处理,将N-末端Fmoc基团脱保护。用DMF(5×1分钟)进行洗涤,并在1.25当量DIPCDI和1.25当量HOBr的存在下将1.25当量Fmoc-L-Lys(Boc)-OH引入1小时。随后按照通用方法中所述洗涤树脂。

[0207] 按照通用方法中所述将Fmoc N-末端基团脱保护,并在1.25当量DIPCDI和1.25当量HOBr的存在下用DMF作为溶剂将1.25当量的Fmoc-L-Val-OH引入该肽基树脂1小时。随后将该树脂按照通用方法中所述进行洗涤,并重复Fmoc基团的脱保护处理,以在1.25当量DIPCDI和1.25当量HOBr的存在下偶联1.25当量的Fmoc-L-Asp(tBu)-OH。随后将该树脂按照通用方法所述进行洗涤,并重复Fmoc基团的脱保护处理。通过用2.5当量Ac₂O在2.5当量DIEA的存在下用DMF作为溶剂处理30分钟以完成对脱保护树脂的乙酰化。

[0208] 合成后,将该肽基树脂用DMF(5×1分钟)、DCM(4×1分钟)、乙醚(4×1分钟)洗涤并

真空干燥。

[0209] b) 获得Ac-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH

[0210] 将40.5g干燥的肽基树脂用284mL TFA:H₂O(95:5)在室温搅拌下处理2小时。将其过滤,将滤液收集于2.0L冷的乙醚上。将其放置15分钟并过滤。用乙醚洗涤六次并将沉淀真空干燥。

[0211] 将获得的化合物用MeCN(+0.07%TFA)的H₂O(+0.1%TFA)溶液梯度洗脱进行HPLC分析,显示纯度超过80%。所得化合物的结构经ES-MS确认。

	验证物	平均 MW	实验 MW
[0212]	Ac-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH	565.62	564.52±1.35

[0213] 表9

[0214] 实施例7

[0215] 通过高效发光分析对人细胞外基质蛋白-5和LOXL1基因启动子活化的研究

[0216] 研究本发明化合物对细胞外基质蛋白-5和LOXL1启动子活性的作用,并与未处理细胞(阴性对照)的基础表达水平以及相同条件下白介素-1β(IL-1β)的作用进行比较。

[0217] 将用细胞外基质蛋白-5和LOXL1启动子双重转染的来自表皮细胞系的细胞(其中的荧光素酶基因受所述启动子的调控)(4×10⁴细胞/孔)接种在白板和96孔透明平板上,两者都用聚赖氨酸处理,并在含有10%FBS、1%青霉素-链霉素(P/S)、1mg/mL遗传霉素(G418)和2μg/mL嘌呤霉素的Dulbecco改良的Eagle培养基(DMEM-Glutamax)中在37℃下在含有5%CO₂的空气中温育24小时。温育后,将该细胞在37℃下在含有5%CO₂的空气中用不含血清的DMEM温育6小时。然后,除去该培养基,将所述细胞用不同的化合物以0.1mg/mL、0.5mg/mL、1mg/mL或2mg/mL在DMEM/1%FBS中的溶液处理16-24小时。使用10ng/mL的IL-1β作为活化细胞外基质蛋白-5和LOXL1启动子的阳性对照,并使用仅包含DMEM/1%FBS的未处理的细胞作为阴性对照。所述温育和处理在白板和透明平板上平行进行,并且每种条件下一式三份。处理后,通过萤火虫荧光素酶(Firefly luciferase)(细胞外基质蛋白-5启动子)和海肾荧光素酶(Renilla luciferase)(LOXL1启动子)活性的连续定量对白板中每秒钟相对亮的单元进行测定(RLU/s),并通过用结晶紫(CV)染色测定透明平板中的总细胞数量/孔。为了测定萤火虫和海肾荧光素酶活性,使用Promega的Dual-Glo荧光素酶实验系统试剂盒。将细胞迅速裂解并加入萤火虫荧光素酶底物。在25℃温育10分钟后,用发光读数器(Lumistar-BMG)对RLU/s定量。随后熄灭该萤火虫信号,并加入海肾荧光素酶底物。在25℃温育5分钟后,用相同的发光读数器对RLU/s定量。关于通过结晶紫测定总细胞数量,CV将细胞的DNA染色,可以在吸光度读数器中于630nm下(Multiskan Ascent)检测细胞所吸收的染料的量。所获得的颜色与每孔中的细胞总数成正比。将细胞迅速用0.05%CV加4%福尔马林温育20分钟,用Milli-Q水洗涤数次后,将细胞干燥1-2小时,然后加入0.1M的HCl并立即读数。将对应于每个启动子的荧光素酶的RLU/s用每种条件下的平均细胞总数进行标准化。对于0.1mg/mL和1mg/mL的Ac-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH,各进行3次独立的试验并且每次试验测定3次。对于其它化合物和浓度,进行1次试验并测定3次。

[0218] 测定到相对于阴性对照表达水平的启动子活性的增加。结果显示,产物Ac-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH在1mg/mL下分别使细胞外基质蛋白-5和LOXL1启动子的基础活性增

加了19%和27%，如表10中所示。

相对于阴性对照的细胞外基质蛋白 5 和 LOXL1 基因的人启动子活性的增加

产物	细胞外基质 LOXL1	
	蛋白-5 (%)	(%)
0.1 mg/mL Ac-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH (SEQ ID NO.29)	7.46	7.12
1 mg/mL Ac-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH (SEQ ID NO.29)	19.40	27.06
2 mg/mL Ac-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH (SEQ ID NO.29)	53.20	10.41
[0219] 2 mg/mL H-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH (SEQ ID NO.1)	41.93	21.82
2 mg/mL Ac-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-NH ₂ (SEQ ID NO.30)	30.26	22.87
2 mg/mL Palm-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH (Palm-SEQ ID NO.1)	32.47	25.17
2 mg/mL Ac-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-NH(正己基) (SEQ ID NO.29-NH(正己基))	18.11	7.54
2mg/mL Ac-L-Glu-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH (SEQ ID NO.31)	27.45	5.59
2 mg/mL Ac-L-Gln-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH (SEQ ID NO.32)	19.79	22.61

	2 mg/mL Ac-L-Asp-L-Ile-L-Lys-L-Tyr-NH(正十六烷基)	59.33	27.08
(Ac-SEQ ID NO.5-NH(正十六烷基))			
	2 mg/mL Ac-L-Asp-L-Leu-L-Lys-L-Tyr-OH (SEQ ID NO.33)	15.42	14.96
	2 mg/mL Ac-L-Asp-L-Met-L-Lys-L-Tyr-OH (SEQ ID NO.34)	14.36	32.85
	2 mg/mL Ac-L-Asp-L-Val-L-Orn-L-Tyr-OH (SEQ ID NO.35)	44.60	28.35
	2 mg/mL Ac-L-Asp-L-Val-L-Dbu-L-Tyr-OH (SEQ ID NO.36)	17.08	28.10
	2 mg/mL Ac-L-Glu-L-Val-L-Lys-L-Trp-OH (SEQ ID NO.37)	10.92	22.22
	2 mg/mL Ac-L-Asn-L-Ile-L-Lys-L-Tyr-OH (SEQ ID NO.38)	12.25	9.83
	2 mg/mL H-L-Asn-L-Leu-L-Lys-L-Tyr-OH (SEQ ID NO.16)	9.69	16.67
	2 mg/mL Ac-L-Asn-L-Val-L-Dpr-L-Tyr-OH (SEQ ID NO.39)	35.49	3.99
	2 mg/mL Ac-L-Gln-L-Met-L-Lys-L-Tyr-OH (SEQ ID NO.40)	6.05	28.48
	2 mg/mL H-L-Gln-L-Val-L-Orn-L-Tyr-OH (SEQ ID NO.41)	7.04	25.84
[0220]	2 mg/mL Ac-L-Gln-L-Val-L-Lys-L-Trp-NH₂ (SEQ ID NO.42)	38.10	18.08
	2 mg/mL Ac-L-Asn-L-Ile-L-Dpr-L-Tyr-OH (SEQ ID NO.43)	41.79	8.75
	2 mg/mL Ac-L-Gln-L-Val-L-Dbu-L-Trp-NH₂ (SEQ ID NO.44)	26.39	68.94
	2 mg/mL H-L-Gln-L-Ile-L-Orn-L-Tyr-OH (SEQ ID NO.27)	4.41	47.99
	1 mg/mL Palm-L-Asn-L-Ile-L-Orn-L-Trp-NH(正己基)	43.65	18.48
(Palm-SEQ ID NO.45-NH(正己基))			
	0.5 mg/mL Ac-Gly-L-Gln-L-Lys(Ac-Gly-L-Gln)-4-Abz-NH₂	17	79
	0.5 mg/mL Ac-Asn-L-His-L-Lys(Ac-Asn-L-His)-4-Abz-NH₂	53	47
	0.5 mg/mL Ac-Asn-L-Thr-L-Lys(Ac-Asn-L-Thr)-4-Abz-NH₂	39	51
	0.5 mg/mL Ac-Lys-L-Cit-L-Lys(Ac-Lys-L-Cit)-4-Abz-NH₂	21	22
	阳性对照(10 ng/mL IL-1β)	80.40	156.26
	阴性对照	0	0

[0221] 表10

[0222] 实施例8

[0223] 通过免疫荧光法对经Ac-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH (SEQ ID NO:29) 处理的人真皮成纤维细胞中蛋白质细胞外基质蛋白-5和LOXL1表达增加的研究

[0224] 在该实验中,当用0.5mg/mL产物Ac-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH处理细胞时,相对于未处理的细胞(阴性对照)的基础水平,在人真皮成纤维细胞中蛋白质细胞外基质蛋白-5和LOXL1表达的次数增加,并且将其与20ng/mL的白介素-1β(IL-1β)和5ng/mL的TGF-β(阳性对照)的作用进行比较,在相同条件下它们使这些蛋白质的表达分别增加了平均1.5倍和2倍。

[0225] 将成人真皮成纤维细胞在96孔透明平板中接种(HDFa) (2.5×10^3 个细胞/孔),用

聚赖氨酸处理，并将其在完全培养基106中于含有5% CO₂的气氛下在37℃温育72小时。温育后，将细胞用不同的化合物在完全培养基106中于含有5% CO₂的气氛下在37℃温育48小时。蛋白质细胞外基质蛋白-5和LOXL1表达的增加使用5ng/mL的TGF-β和20ng/mL的IL-1β作为阳性对照，并且使用仅用完全培养基106处理的未处理细胞作为阴性对照。各种条件下，温育和处理都以一式四份进行。处理后，通过使用特定的荧光抗体对两种蛋白质的表达水平进行相对定量，用显微镜检查记录照相，并随后用图像处理软件对荧光信号定量，总细胞数量经细胞核荧光染色 (DAPI) 并随后在相同图像中进行定量。为了测定蛋白质细胞外基质蛋白-5和LOXL1的表达，在处理后将细胞用PBS洗涤48小时，并用多聚甲醛固定。然后，使用每次处理的复制品分别标记细胞外基质蛋白-5和LOXL1蛋白质。对每种蛋白质使用特定的一代单克隆抗体 (Abcam)。首次温育后，将细胞用PBS洗涤，并用特定的荧光多克隆抗体对一代抗体进行二次标记。细胞外基质蛋白-5使用Alexa **Fluor®**594 (红) 二代抗体，LOXL1使用Alexa **Fluor®**488 (绿) 二代抗体。16小时后，将全部样品用DAPI (4',6-二脒基-2-苯基吲哚，用于细胞核染色的荧光标记物) 染色，并在Leica显微镜上用荧光显微镜检查来进行照相记录。每种条件和每种蛋白质获取2-4个图像，并通过图像分析软件对对应于每种蛋白质和细胞核的荧光信号进行定量 (IOD)。对每个图像根据总细胞核数量将细胞外基质蛋白-5和LOXL1信号标准化。完成3个独立的实验。

[0226] 结果显示，0.5mg/mL的产物Ac-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH使细胞外基质蛋白-5和LOXL1的表达分别增加了134% 和73%，如表11中所示。

相对于阴性对照的人真皮成纤维细胞中细胞外基质蛋白-5 和 LOXL1 表达的增加		
产物	细胞外基质蛋白-5 (%)	LOXL1 (%)
0.5mg/mL Ac-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH	133.90	72.71
5 ng/mL TGF-β	147.72	45.93
20 ng/mL IL-1β	42.07	87.50
阴性对照	0	0

[0228] 表11

[0229] 实施例9

[0230] Ac-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH (SEQ ID NO:29) 对人真皮成纤维细胞中I型胶原合成的刺激

[0231] I型胶原是皮肤中的主要胶原，并且负责该组织的抵抗力。

[0232] 成纤维细胞是胶原的主要产生者，因此，由化妆品活性成分引发的体外胶原定量提供了其可能的抗皱作用的信息。

[0233] 由化妆品活性成分引发的对I型胶原合成的刺激通过ELISA (酶联免疫吸附试验) 方法评价。

[0234] 将人真皮成纤维细胞经胰蛋白酶作用，并以5×10⁴细胞/孔的密度在48孔平板内接种。在37℃、5% CO₂和潮湿空气中温育24小时后，加入含有0.01μg/mL Ac-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH的新的培养基。使用未处理的细胞作为阴性对照。将细胞在37℃、5% CO₂和潮

湿空气中再温育48小时。随后,从各孔收集培养基进行ELISA分析。制作I型胶原的校准曲线(Sigma),并将该校准曲线的稀释液与从各孔收集的培养基一起转移至96孔平板。将该平板在4℃下在潮湿空气中放置一夜。随后,将各孔用由PBS(0.05%的Tween-20(Sigma))制备的洗涤溶液洗涤三次,随后用3%BSA(Sigma)的PBS溶液阻断一代抗体的任何非特异性结合。阻断后,将各孔用洗涤溶液洗涤三次,并将各孔与抗I型胶原抗体(Sigma)温育2小时。温育后,再次洗涤各孔,并加入二代抗体IgG-HRP(Molecular Probes)持续1小时。温育结束后,洗涤各孔,加入OPD底物(邻苯二胺)(Sigma)并在搅拌下放置反应30分钟。加入H₂SO₄3M溶液停止反应,并在TECAN GENios分光光度计测量读数器中在490nm波长下进行吸光度读数。

[0235] 表12呈现了相对于阴性对照的I型胶原基础水平的I型胶原合成的增加。

相对于阴性对照的人真皮成纤维细胞中 I 型胶原的测定

产物	I 型胶原合成的增加(%)
阴性对照	0
0.01 μg/mL Ac-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH	47.3

[0237] 表12

[0238] 实施例10

[0239] 人真皮成纤维细胞基因表达的特性研究

[0240] 通过用0.05mg/mL的产物Ac-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH(SEQ ID NO:29)处理来研究对应于不同生物功能的基因组显著增加的次数,包括人真皮成纤维细胞相对于未处理细胞(阴性对照)的基础水平的基因特性。将成人真皮成纤维细胞(HDFa)接种(12.5×10^4 个细胞/瓶T25cm²)并在完全培养基106中于37℃下、在包含5%CO₂的空气中温育7天。温育后,将细胞于37℃在包含5%CO₂的空气中用0.05mg/mL化合物Ac-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH在完全培养基106中或者在作为阴性对照的完全培养基106中处理。每种条件下将所述温育和处理一式两份进行。

[0241] 处理后,提取RNA并纯化,定性并定量并标记为人基因表达微阵列(ASurePrint G3,Agilent)中样品的杂交。根据从微阵列中获得的数据,确定具有差异表达的基因,并完成参数分析以确定与阴性对照相比较显著差异性表达的基因。随后通过GSEA完成基因评价,按照其功能/生物学途径涵盖这些基因。处理后24小时,将细胞裂解,从各种条件和各个复制品中经Qiagen的RNeasyPlusmini试剂盒提取并纯化RNA。将裂解的细胞迅速均质化,并将RNA酶灭活。将样品通过特定的RNA结合柱,并经数次微量离心洗涤以除去污染物和杂质,将纯化的RNA用50μL超纯水洗脱。所得RNA的纯度、完整性和浓度经分光光度法(Nanodrop)并使用生物分析仪(Agilent Bioanalyzer)进行评价。

[0242] 将经处理所获得的标准化的数值与阴性对照所获得的标准化的数值相比较,以获得具有差异表达的基因。随后,经Bioconductor软件完成数据的参数分析,数值<0.05的基因被认为是显著表达的。所获得的数值还经GSEA(Gene Set Analysis Enrichment)评价以将具有差异表达的基因按照Gene Ontology和Biological Routes进行分组,选择具有预期的错误拒绝零假设(incorrectly rejected null hypotheses)比例的基因组作为显著性的(FDR)<25%。所得结果如下文中三个不同的表所示,其中不同的基因家族被集合在一起

(胶原基因、涉及胶原合成的基因和涉及细胞粘附的基因)。

被化合物 Ac-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH 过表达的胶原基因

符号	名称	%表达诱导
[0243]	COL11A1	胶原, XI 型, $\alpha 1$ 7.2
	COL22A1	胶原, XXII 型, $\alpha 1$ 7.7
	COL4A2	胶原, IV 型, $\alpha 2$ 8.3
	COL27A1	胶原, XXVII 型, $\alpha 1$ 14.2
	COL6A2	胶原, VI 型, $\alpha 2$ 16.0
	COL6A3	胶原, VI 型, $\alpha 3$ 18.6
[0244]	COL4A1	胶原, IV 型, $\alpha 1$ 18.9
	COL1A2	胶原, I 型, $\alpha 2$ 31.1
	COL14A1	胶原, XIV 型, $\alpha 1$ 36.1

[0245] 表13

被化合物 Ac-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH 过表达的涉及胶原合成的基因

符号	名称	%表达诱导
[0246]	PLOD3	前胶原-赖氨酸, 2-酮戊二酸 5-二氧酶 20.7
	3	
	PCOLCE	前胶原 C-内肽酶增强子 22.4
	SERPINH1	丝氨酸蛋白酶抑制剂, 等级 H (热休克蛋白 47), 成员 1 (胶原结合蛋白 1) 25.3

[0247] 表14

被化合物 Ac-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH 过表达的涉及细胞粘附的基因

符号	名称	%表达诱导	
VCL	纽蛋白	4.2	
CAPNS2	钙蛋白酶, 小亚基 2	17.9	
[0248] CAPNS1	钙蛋白酶, 小亚基 1	22.1	
ROCK1	Rho 相关, 包含蛋白激酶 1 的卷曲螺旋	22.7	
ACTN1	辅肌动蛋白, α 1	27.4	
TLN1	踝蛋白 1	27.5	
GSN	凝溶胶蛋白	30.1	
	整联蛋白, β 1 (纤连蛋白受体、 β 多肽、抗原 CD29, 包括 MDF2、		
ITGB1	MSK12)	33.0	
[0249]	ZYX	斑联蛋白	35.7
	PFN1	抑制蛋白 1	36.8

[0250] 表15

[0251] 实施例11

[0252] Ac-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH (SEQ ID N0:29) 对人真皮成纤维细胞中弹性蛋白合成的刺激

[0253] 弹性蛋白是形成具有弹性特性的结缔组织的一部分的蛋白质, 并且其有助于保持皮肤弹性和紧致度。成纤维细胞是弹性蛋白的主要产生者, 因此, 由化妆品活性成分引发的弹性蛋白的体外定量提供了其在改善皮肤弹性方面的作用的信息。

[0254] 由Ac-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH引起的弹性蛋白合成刺激通过定量的染色方法Fastin Elastin Assay (Tebu-Bio) 进行评价。将人真皮成纤维细胞用胰蛋白酶处理, 并以 7×10^4 细胞/孔的密度接种于6孔平板上。于37°C在包含5%CO₂的潮湿空气中温育72小时后, 加入含有0.01μg/mL Ac-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH的新的培养基。未处理的细胞用作阴性对照, 并将TGF-1β (Peprotech) 处理的细胞用作阳性对照。将所述细胞于37°C在包含5%CO₂的潮湿空气中再温育48小时。随后, 将弹性蛋白溶解并提取, 为此, 将所述细胞用PBS (Sigma) 洗涤两次, 并加入溶液以解离细胞(细胞解离溶液, Sigma)。将细胞混悬液转移至离心管中, 加入试剂盒中提供的1M的草酸, 并将其在100°C温育1小时。当弹性蛋白变得可溶时, 用试剂盒所提供的弹性蛋白制作校准曲线。此时, 将样品和校准曲线稀释液按照试剂盒的说明书进行处理以分离和染色弹性蛋白。最后, 萃取染料并在TECAN GENios分光光度计

读数器中于540nm波长下进行吸光度读数。表16呈现了相对于在阴性对照中观察到的弹性蛋白的百分比。

相对于阴性对照的人真皮成纤维细胞中弹性蛋白的测定	
产品	弹性蛋白合成的增加(%)
[0255] 阴性对照	0%
10 ng/mL TGF-1β	35.6%
0.01 μg/mL Ac-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH	21.7%

[0256] 表16

[0257] 实施例12

[0258] 化合物Ac-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH (SEQ ID NO:29) 的水溶液的制备

[0259] 在适合的瓶子中溶解辛甘醇, 将其加热至40°C直至其充分溶解, 然后加入化合物Ac-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH, 搅拌直至完全溶解。最后, 用氢氧化钠 (INCI: 氢氧化钠) 调节pH。

[0260] 化合物Ac-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH的水溶液

相	成分	%重量
A	水(AQUA)	加至 100
[0261] A	辛甘醇	0.5
A	Ac-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH	0.05
A	氢氧化钠	0.0035

[0262] 表17

[0263] 实施例13

[0264] 化合物Ac-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH (SEQ ID NO:29) 的微乳剂的制备

[0265] 在适合的瓶中将多库酯钠USP [INCI: 二乙基己基璜琥珀酸钠] 和异硬脂酸 [INCI: 异硬脂酸] (相A) 混合在一起。在另一个瓶中将化合物Ac-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH溶于水 [INCI: 水 (AQUA)] (相B) 中。将相B在搅拌下缓慢加入相A中。见表18。

[0266] 化合物Ac-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH的微乳剂

相	成分	%重量
A	二乙基己基璜琥珀酸钠	13.46
[0267] A	异硬脂酸	76.29
B	Ac-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH	0.01
B	水(AQUA)	10.00

[0268] 表18

[0269] 实施例14

[0270] 包含微乳化的化合物Ac-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH (SEQ ID NO:29) 的脂质纳米颗粒组合物的制备

[0271] 在适合的瓶中,将以下成分按此次序加入:水[INCI:水(AQUA)]、Amigel[®] [INCI:小核菌胶]、ZemeaTM [INCI:丙二醇]和苯氧基乙醇[INCI:苯氧基乙醇](相A成分),并搅拌直至完全均质化。

[0272] 在另一个瓶中,加入按照实施例1制备的化合物的微乳剂、精炼大豆油IP Ph.Eur.[INCI:野生大豆(大豆)油]、Arlacel 83V [INCI:山梨糖醇酐倍半油酸酯]和Arlamol HD [INCI:异十六烷](相B成分)。

[0273] 随后,将成分B的混合物加入成分A的混合物中,涡轮搅拌直至形成乳液。

[0274] 用Sonics Material所带的Vibra Cell超声探针将样品均质化30秒。

[0275] 随后,加入Sensomer CI 50 [INCI:水(AQUA)、淀粉羟丙基三甲基氯化铵、脲、乳酸钠、氯化钠、苯甲酸钠](相C)。见表19。

[0276] 包含化合物Ac-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH的脂质纳米颗粒

相	成 分	%重量
A	水(AQUA)	加至 100
A	小核菌胶	0.50
A	丙二醇	5.00
A	苯氧基乙醇	2.6
[0277]	B 来自实施例 2 的微乳剂	10
B	野生大豆(大豆)油	12.00
B	山梨糖醇酐倍半油酸酯	4.30
B	异十六烷	5.50
C	水(AQUA)、淀粉羟丙基三甲基氯化铵、脲、乳酸钠、氯化钠、苯甲酸钠	0.20

[0278] 表19

[0279] 实施例15

[0280] 获得包含化合物Ac-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH (SEQ ID NO:29) 的脂质体

[0281] 在合适的瓶中将化合物Ac-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH加入水[INCI:水(AQUA)]和水杨酸钠[INCI:水杨酸钠]中得到相A。将水、ZemeaTM [INCI:丙二醇]和苯氧基乙醇[INCI:苯氧基乙醇](相B和D)加入该相中。当全部先前组分已经溶解后,在激烈搅拌下逐渐地加入Leciflor100IP [INCI:卵磷脂](相E)直至完全溶解。随后加入Labrasol [INCI:PEG-8辛酸/癸酸甘油酯](相F),并搅拌10-15分钟以形成乳液。

[0282] 包含化合物Ac-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH的脂质纳米颗粒

相	成分	%重量
A	水(AQUA)	10
A	水杨酸钠	0.03
A	Ac-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH	0.01
[0283]	B 水(AQUA)	加至 100
C	丙二醇	8.50
D	苯氧基乙醇	1.70
E	卵磷脂	10.00
F	PEG-8 辛酸/癸酸甘油酯	4.00

[0284] 表20

[0285] 用Sonics Material所带的Vibra Cell超声探针将样品均质化30秒。

[0286] 实施例16

[0287] 包含Ac-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH (SEQ ID NO:29) 的化妆品面部精华(facial serum) 的制备

[0288] 在总容量适合的瓶中加入相A的组分。将其溶于水中后,在转子搅拌下逐渐加入A1直至完全分散。之后立即在转子搅拌下逐渐加入A2直至完全分散。A1和A2已经分散后,加入B的组分,并搅拌直至完全分散,之后加入C的组分,并随后加入相D的香料。最后,用氢氧化钠(INCI:氢氧化钠) 调节pH至pH 6.0。

化妆品面部精华

相	成分	%重量
A	水(AQUA)	加至 100
A	丙二醇	10
A	甘油聚醚-26	3
A	DERMOSOFT OM (INCI: 甲基丙二醇、辛甘醇)	2
A	DERMOSOFT MCA (INCI: 辛甘醇、二丙二醇、辛酸甘油酯)	0.5
[0289]	A EDTA 二钠	0.3
	A1 卡波姆	0.15
	A2 LECIGEL (INCI: 丙烯酸钠共聚物、卵磷脂)	2
B	辛酸癸酸甘油三酯	3
B	三异辛酸甘油酯	3
B	乙酸生育酚	0.5
C	ADIFYLINE®溶液(INCI: 丁二醇、水(AQUA)、六肽-38)	2
C	来自实施例 12 的水溶液	2
D	香料(PARFUM)	0.15
E	氢氧化钠	加至 pH 6.0

[0290] 表21

[0291] 实施例17

[0292] 包含Ac-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH (SEQ ID NO:29) 的化妆身体乳的制备

[0293] 在总容量适合的瓶中称重相A，并借助转子进行搅拌。将A1加入之前的步骤中，并借助转子搅拌直至完全分散。将A2加入之前的步骤中，并借助转子搅拌。将该步骤加热至75℃以完成乳化。将相B预混合，并将其在水浴中于75℃下溶解，将其在涡轮搅拌下加入之前的步骤中以完成乳化。在大约50℃，将C在涡轮搅拌下逐一加入。在达到室温时，在转子搅拌下加入D。最后，用E将pH调至6.0–6.5。

[0294] 化妆身体乳

相	成分	%重量
A	水(AQUA)	加至 100
A	丙二醇	10
A	甘油聚醚-26	5
A	DERMOSOFT OM (INCI: 甲基丙二醇、辛甘醇)	2
A	DERMOSOFT MCA (INCI: 辛甘醇、二丙二醇、辛酸甘油酯)	0.5
A	EDTA 二钠	0.3
A1	卡波姆钠	0.3
A2	丙烯酸酯类/异癸酸乙烯酯交联聚合物	0.2
[0295] B	C12-15 烷基苯甲酸酯	9
B	丙二醇二辛酸酯/二癸酸酯	3
B	硬脂酰乳酸钠	2
B	聚甘油-3 硬脂酸酯	2
B	牛油树脂(牛油果树)	1
B	乙酸生育酚	0.5
C	来自实施例 12 的水溶液	2
C	SERILESINE®溶液 GC (INCI: 水(AQUA)、甘油、六肽-10、辛甘醇)	1
D	香料(PARFUM)	0.15
E	氢氧化钠	加至 pH 6.0

[0296] 表22

[0297] 实施例18

[0298] 包含Ac-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH (SEQ ID NO:29) 的化妆面部乳的制备

[0299] 在总容量适合的瓶中称重相A，并借助转子进行搅拌。将A1和A2加入之前的步骤中，并借助转子搅拌。将该步骤加热至75℃以完成乳化。将相B在另外的瓶中预混合，并将其在水浴中于75℃下溶解，将其在涡轮搅拌下加入之前的步骤中以完成乳化。在50℃，将C在涡轮搅拌下加入。在达到室温时，在转子搅拌下加入D，然后如有必要用E将pH调至6.0-6.5。

[0300] 化妆面部乳

相	成分	%重量
A	水(AQUA)	加至 100
A	丙二醇	10
A	甘油聚醚-26	5
A	DERMOSOFT OM (INCI: 甲基丙二醇、辛甘醇)	2
A	DERMOSOFT MCA (INCI: 辛甘醇、二丙二醇、辛酸甘油酯)	0.5
[0301]	A EDTA 二钠	0.3
A1	卡波姆钠	0.3
A2	丙烯酸酯类/异癸酸乙烯酯交联聚合物	0.2
B	C12-15 烷基苯甲酸酯	9
B	硬脂酰乳酸钠	2
B	聚甘油-3 硬脂酸酯	2
B	牛油树脂(牛油果树)	1
B	乙酸生育酚	0.5
C	来自实施例 12 的水溶液	2
C	SERILESINE®溶液 GC (INCI: 水(AQUA)、甘油、六肽-10、辛甘醇)	1
D	SEPIGEL 305 (INCI: 聚丙烯酰胺、水(AQUA)、C13-14 异链烷烃、月桂醇聚氧乙烯醚-7)	2
E	香料(PARFUM)	0.15
F	氢氧化钠	加至 pH 6.0
[0303]	表23	
[0304]	实施例19	
[0305]	包含Ac-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH (SEQ ID NO:29) 的化妆品组合物的制备	
[0306]	在适合的瓶中, 将相A的组分溶解, 直至戊二醇和苄醇完全溶解, 然后在搅拌下加入A1和A2直至完全溶解。将其引入后, 将该混合物加热至70-75°C。分别地, 将B的组分混合	

在一起并加热至70-75°C，然后在涡轮搅拌下将B逐渐加入A中。将其搅拌直至温度达到35-40°C，其后加入C，搅拌直至该乳剂获得粘度。当其达到室温时，将D在搅拌下加入。最后，用E将pH调至6.0-6.5，并加入如实施例X中所述的Ac-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH的水溶液(相F)。

包含 Ac-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH 的化妆品组合物

相	成分	%重量
	A 水(AQUA)	加至 100
[0307]	A 戊二醇	5
	A 苯醇	1
	A1 卡波姆	0.5
	A2 鲸蜡醇磷酸酯钾	0.5
	B PHYTOCREAM 2000 (INCI: 硬脂酸甘油酯、鲸蜡硬脂醇、棕榈酰水解小麦蛋白钾)	5
	B C12-15 烷基苯甲酸酯	4
	B 椰油酸乙基己酯	2.5
	B 牛油树脂(牛油果树)	2
	B 二甲硅油	1
	B 苯氧基乙醇	0.9
[0308]	B 乙酸生育酚	0.5
	C SEPIGEL 305 (INCI: 聚丙烯酰胺、水(AQUA)、C13-14 异链烷烃、月桂醇聚氧乙烯醚-7)	1
	D 香料(FRAGRANCE)	0.1
	E 氢氧化钠	加至 pH 6.0-6.5
	F 来自实施例 12 的水溶液	2

[0309] 表24

[0310] 实施例20

[0311] 包含Ac-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH (SEQ ID NO:29) 的化妆品面部乳的体内功效

[0312] 该项研究的目的是评价和比较产品与安慰剂用于皮肤下垂(紧致度丧失)的体内功效。

[0313] 该项研究持续55天，在起始时及该55天结束时进行检测。该实验由20名志愿者组成，参加者为高加索妇女，年龄在50-60岁之间，用来自实施例13的包含化合物Ac-L-Asp-L-

Val-L-Lys-L-Tyr-OH的乳剂处理半边脸，并用安慰剂乳剂(与实施例13的相同，但不包含化合物Ac-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH)处理另半边脸。该产品每天早晚施用两次。进行双盲、对比性(将半边脸所得数据与另半边脸所得数据进行比较)研究，其中各个志愿者作为其自身的参照(在不同时间获得的结果与在T0获得的结果进行比较)。

[0314] 通过如下文所述的两种不同技术进行评价：

[0315] 1) 在脸颊区域的体内共焦显微镜检查：该技术的目的是在体内和以标准方式以两个层级对真皮网状表面的组织结构进行定量：第一个层级是该层的上部区域，第二个层级是在第一层级下 $25\mu\text{m}$ (平均)的位置。借助该方案，可以检测浅表网状真皮的不同深度层级的纤维网络和破碎率的变化(FRAGABIS参数)。

[0316] 2) 脸颊区域的Ballistometry：Ballistometry的原理是基于在皮肤表面使用冲击物以通过相互作用检测其机械性能。简言之，通过撞击皮肤的ballistometer锤在皮肤上产生振动。将引发的反弹(记录3秒)转化为可以通过振幅进行定量和评价的电信号。这些检测能够评价皮肤的紧致度。所检测的数值是：压痕、首次撞击的物质穿透深度。该数值检测样品的紧致度，但不涉及弹性。另一方面，测定回弹曲线和冲击前样品的初始值之间的面积。

[0317] 实验结果如表25和26中所示。

[0318] 包含Ac-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH的化妆品面部乳与起始时相比的体内功效(共焦显微镜检查)

产品	上部网状组织的碎片水	深部网状组织的碎片
	平(上部 FRAGABIS)	水 平 (深 部 FRAGABIS)
阴性对照(安慰剂)	-0.8%	12.7%
包含 Ac-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH 的乳剂	-39.6%	-37.9%

[0319] 表25

包含 Ac-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH 的化妆品面部乳与起始时相比的体内功效(共焦显微镜检查)

产品	压痕	面积
包含 Ac-L-Asp-L-Val-L-Lys-L-Tyr-OH 的乳剂	-9.5%	-23.2%

[0320] 表26。

序 列 表

<110> 路博润先进材料公司

<120> 用于治疗和/或护理皮肤的化合物及其化妆品或药物组合物

<130> 18805PCT

<150> EP13382138

<151> 2013-04-15

<160> 45

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

[0001] <220>

<223> 合成的肽

<400> 1

Asp Val Lys Tyr

1

<210> 2

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的肽

<400> 2

Glu Val Lys Tyr

1

<210> 3

<211> 4

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的肽

<400> 3

Asn Val Lys Tyr
1

<210> 4
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的肽

<400> 4

[0002] Gln Val Lys Tyr
1

<210> 5
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的肽

<400> 5

Asp Ile Lys Tyr
1

<210> 6
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的肽

<400> 6

Asp Leu Lys Tyr

1

<210> 7

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的肽

<400> 7

Asp Met Lys Tyr

1

<210> 8

<211> 4

<212> PRT

[0003] <213> 人工序列

<220>

<223> 合成的肽

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> Xaa 是 orn

<400> 8

Asp Val Xaa Tyr

1

<210> 9

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的肽

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> Xaa 是 Dpr

<400> 9

Asp Val Xaa Tyr
1

<210> 10
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的肽

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
[0004] <223> Xaa 是 Dbu

<400> 10

Asp Val Xaa Tyr
1

<210> 11
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的肽

<400> 11

Asp Val Lys Trp
1

<210> 12
<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的肽

<400> 12

Glu Val Lys Trp

1

<210> 13

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的肽

<400> 13

[0005] Asp Ile Lys Trp

1

<210> 14

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的肽

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> Xaa 是 orn

<400> 14

Asp Val Xaa Trp

1

<210> 15

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的肽

<400> 15

Asn Ile Lys Tyr

1

<210> 16

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的肽

<400> 16

[0006] Asn Leu Lys Tyr

1

<210> 17

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的肽

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> Xaa 是 Dpr

<400> 17

Asn Val Xaa Tyr

1

<210> 18

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的肽

<400> 18

Gln Ile Lys Tyr

1

<210> 19

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的肽

<400> 19

[0007] Gln Leu Lys Tyr

1

<210> 20

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的肽

<400> 20

Gln Met Lys Tyr

1

<210> 21

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的肽

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> Xaa 是 Dbu

<400> 21

Gln Val Xaa Tyr
1

<210> 22
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的肽

<400> 22

Gln Val Lys Trp
[0008] 1

<210> 23
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的肽

<400> 23

Glu Ile Lys Trp
1

<210> 24
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的肽

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> Xaa 是 0rn

<400> 24

Glu Leu Xaa Tyr
1

<210> 25
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的肽

[0009] <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> Xaa 是 Dpr

<400> 25

Asn Ile Xaa Tyr
1

<210> 26
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的肽

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> Xaa 是 Dbu

<400> 26

Gln Val Xaa Trp

1

<210> 27

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的肽

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> Xaa 是 0rn

<400> 27

Gln Ile Xaa Tyr

1

[0010] <210> 28

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的肽

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> Xaa 是 0rn

<400> 28

Glu Leu Xaa Trp

1

<210> 29

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的肽

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> 乙酰化

<400> 29

Asp Val Lys Tyr

1

<210> 30

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的肽

[0011] <220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> 乙酰化

<220>

<221> MOD_RES

<222> (4)..(4)

<223> 酰胺化

<400> 30

Asp Val Lys Tyr

1

<210> 31

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> 乙酰化

<400> 31

Glu Val Lys Tyr
1

<210> 32
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> 乙酰化

[0012]

<400> 32

Gln Val Lys Tyr
1

<210> 33
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> 乙酰化

<400> 33

Asp Leu Lys Tyr

1

<210> 34
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> 乙酰化

<400> 34

Asp Met Lys Tyr
1

[0013] <210> 35
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> 乙酰化

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> Xaa 是 0rn

<400> 35

Asp Val Xaa Tyr
1

<210> 36

<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> 乙酰化

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> Xaa 是 Dbu

<400> 36

Asp Val Xaa Tyr
1

[0014] <210> 37
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> 乙酰化

<400> 37

Glu Val Lys Trp
1

<210> 38
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的肽

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> 乙酰化

<400> 38

Asn Ile Lys Tyr

1

<210> 39

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的肽

[0015] <220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> 乙酰化

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> Xaa 是 Dpr

<400> 39

Asn Val Xaa Tyr

1

<210> 40

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> 乙酰化

<400> 40

Gln Met Lys Tyr
1

<210> 41
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的肽

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
[0016] <223> Xaa 是 0rn

<400> 41

Gln Val Xaa Tyr
1

<210> 42
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> 乙酰化

<220>
<221> MOD_RES

<222> (4)..(4)

<223> 酰胺化

<400> 42

Gln Val Lys Trp

1

<210> 43

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的肽

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> 乙酰化

[0017] <220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> Xaa 是 Dpr

<400> 43

Asn Ile Xaa Tyr

1

<210> 44

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成的肽

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1)..(1)

<223> 乙酰化

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> Xaa 是 Dbu

<220>
<221> MOD_RES
<222> (4)..(4)
<223> 酰胺化

<400> 44

Gln Val Xaa Trp
1

[0018] <210> 45
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的肽

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> Xaa 是 0rn

<400> 45

Asn Ile Xaa Trp
1