

[19] Patents Registry
The Hong Kong Special Administrative Region
香港特別行政區
專利註冊處

[11] 1237798 B
CN 107207566 B

[12] **STANDARD PATENT (R) SPECIFICATION**
轉錄標準專利說明書

[21] Application no. 申請編號
17111782.0

[51] Int. Cl.
C07K 5/09 (2006.01) A61K 8/67 (2006.01)

[22] Date of filing 提交日期
14.11.2017

A61K 8/64 (2006.01) A61Q 19/08 (2006.01)
A61Q 19/02 (2006.01)

[54] STABLE PEPTIDE-CONJUGATED ASCORBIC ACID DERIVATIVE, METHOD FOR PREPARING SAME, AND COSMETIC COMPOSITION CONTAINING SAME
穩定的肽綴合抗壞血酸衍生物、用於製備其的方法和包含其的化妝品組合物

[30] Priority 優先權
27.11.2014 KR 10-2014-0167350
[43] Date of publication of application 申請發表日期
20.04.2018
[45] Date of publication of grant of patent 批予專利的發表日期
16.07.2021
[86] International application no. 國際申請編號
PCT/KR2015/011218
[87] International publication no. and date 國際申請發表編號及日期
WO2016/085127 02.06.2016
CN Application no. & date 中國專利申請編號及日期
CN 201580074463.5 22.10.2015
CN Publication no. & date 中國專利申請發表編號及日期
CN 107207566 26.09.2017
Date of grant in designated patent office 指定專利當局批予專利日期
22.01.2021

[73] Proprietor 專利所有人
CELLTRION INC.
賽特瑞恩股份有限公司
23, Academy-ro
Yeonsu-gu, Incheon 22014
REPUBLIC OF KOREA
[72] Inventor 發明人
PARK, Young Jun 朴永濬
KIM, Jung Yun 金貞潤
JEONG, Jin Kyo 鄭鎭姣
KIM, Hyeong Mi 金炯美
CHO, Eun Joo 趙銀珠
LIM, Joo Hyuck 任周燦
SONG, Hyun Nam 宋賢南
PARK, Seon Kyung 朴善卿
MOON, Won Kang 文源剛
CHANG, Shin Jae 張宸在
HONG, Seung Suh 洪承緒
[74] Agent and / or address for service 代理人及/或送達地址
MARKS & CLERK
Level 9, Cyberport 1
100 Cyberport Road, Pok Fu Lam
HONG KONG



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 107207566 B

(45) 授权公告日 2021.01.22

(21) 申请号 201580074463.5	(72) 发明人 朴永濬 金贞润 郑镇姣 金炯美 赵银珠 任周嫻 宋贤南 朴善卿 文源刚 张宸在 洪承绪
(22) 申请日 2015.10.22	
(65) 同一申请的已公布的文献号 申请公布号 CN 107207566 A	(74) 专利代理机构 中科专利商标代理有限责任 公司 11021
(43) 申请公布日 2017.09.26	代理人 吴胜周
(30) 优先权数据 10-2014-0167350 2014.11.27 KR	(51) Int.Cl. C07K 5/09 (2006.01) A61K 8/67 (2006.01) A61K 8/64 (2006.01) A61Q 19/08 (2006.01) A61Q 19/02 (2006.01)
(85) PCT国际申请进入国家阶段日 2017.07.25	(56) 对比文件 US 5714484 A, 1998.02.03 US 2002122769 A1, 2002.09.05
(86) PCT国际申请的申请数据 PCT/KR2015/011218 2015.10.22	审查员 刘东川
(87) PCT国际申请的公布数据 W02016/085127 KO 2016.06.02	
(73) 专利权人 赛特瑞恩股份有限公司 地址 韩国仁川	

权利要求书2页 说明书15页

(54) 发明名称

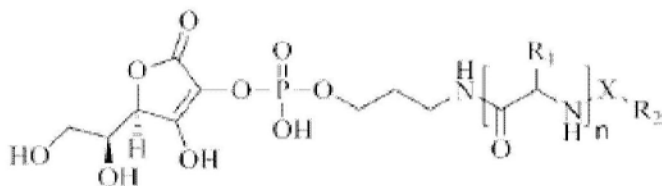
稳定的肽缀合抗坏血酸衍生物、用于制备其的方法和包含其的化妆品组合物

(57) 摘要

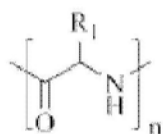
本发明提供稳定的肽缀合抗坏血酸衍生物、用于制备其的方法和包含其作为活性成分的化妆品组合物。本发明的稳定的肽缀合抗坏血酸衍生物具有通过抑制黑色素产生来美白皮肤的效果和通过激活胶原蛋白产生来减少皮肤皱纹的效果，并且可以在化妆品组合物中使用。

1. 一种由下式I表示的肽缀合抗坏血酸衍生物或其美容上可接受的盐：

式I



其中



表示其中选自缬氨酸、赖氨酸、甘氨酸、精氨酸和天冬氨酸中的相同或不同

氨基酸残基通过酰胺键结合的肽；

R_1 表示所述氨基酸残基的侧链；

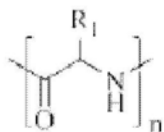
X是氢或羰基 ($C=O$)；

当X是氢时 R_2 不存在,或者当X是羰基时 R_2 是棕榈基、月桂基或硬脂基；并且

n是在2至5范围内的整数。

2. 根据权利要求1所述的肽缀合抗坏血酸衍生物或其美容上可接受的盐,其中n是在3至5范围内的整数。

3. 根据权利要求1或2所述的肽缀合抗坏血酸衍生物或其美容上可接受的盐,其中



选自赖氨酸-缬氨酸-赖氨酸和精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸。

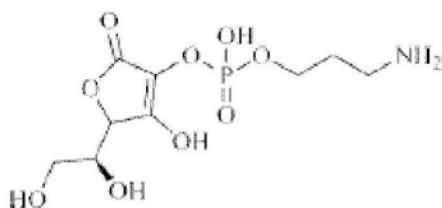
4. 根据权利要求3所述的肽缀合抗坏血酸衍生物或其美容上可接受的盐,其选自以下化合物：

(6S,9S,12S)-6,12-二(4-氨基丁基)-9-异丙基-5,8,11,14-四氧代-4,7,10,13-四氮杂二十九烷基(5-((S)-1,2-二羟基乙基)-4-羟基-2-氧代-2,5-二氢呋喃-3-基)氢磷酸酯(I-1)；和

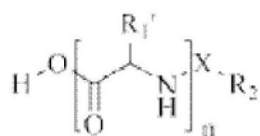
(3S)-3-(2-((S)-2-氨基-5-((二氨基亚甲基)氨基)戊酰胺基)乙酰胺基)-4-(((5-((S)-1,2-二羟基乙基)-4-羟基-2-氧代-2,5-二氢呋喃-3-基)氧基)(羟基)磷酰基)氧基)丙基)氨基)-4-氧代丁酸(I-2)。

5. 一种用于制备由式I表示的肽缀合抗坏血酸衍生物的方法,所述方法包括以下步骤：使下式II的化合物进行与下式IV的化合物的缩合反应,然后如果在所述缩合反应的产物中存在保护基,则使所述产物进行去保护反应：

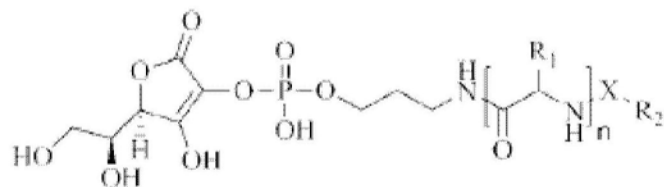
式II



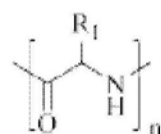
式IV



式I



其中



表示其中选自缬氨酸、赖氨酸、甘氨酸、精氨酸和天冬氨酸的相同或不同氨基酸残基通过酰胺键结合的肽；

基酸残基通过酰胺键结合的肽；

R₁表示所述氨基酸残基的侧链；

R₁' 与R₁相同或者是其中氨基或羧基被保护的R₁；

X是氢或羰基 (C=O)；

当X是氢时R₂不存在,或者当X是羰基时R₂是棕榈基、月桂基或硬脂基；

n是在2至5范围内的整数。

6. 一种化妆品组合物,所述化妆品组合物包含根据权利要求1至4中任一项所述的肽缀合抗坏血酸衍生物或其美容上可接受的盐,以及美容上可接受的碱。

7. 根据权利要求6所述的化妆品组合物,所述化妆品组合物用于减少皮肤皱纹和美白皮肤的用途。

8. 根据权利要求6或7所述的化妆品组合物,其中基于所述化妆品组合物的总重量,以0.0001至2重量%的量包含所述式I的所述化合物。

稳定的肽缀合抗坏血酸衍生物、用于制备其的方法和包含其的化妆品组合物

技术领域

[0001] 本发明涉及展现出优异的皱纹减少效果和优异的美白效果的稳定的肽缀合抗坏血酸衍生物(peptide-conjugated ascorbic acid derivative)、用于制备其的方法和包含其作为活性成分的化妆品组合物。

背景技术

[0002] 通常,抗坏血酸起到还原剂、胶原蛋白合成促进剂或抗氧化剂的作用,刺激小肠中的铁吸收,并且参与肉碱生物合成和免疫。已知的是,当身体缺乏抗坏血酸时,可能会出现坏血病(scurvy)、由胶原蛋白合成方面的异常导致的结缔组织中的异常、骨痛、骨折、腹泻等,并且当身体内存在过量的抗坏血酸时,可能会出现胃肠病症,包括恶心、腹痛、腹泻等。特别地,已知抗坏血酸的优异抗氧化效果抑制皮肤中的黑色素产生,由此防止异常的色素沉着如雀斑,并且因此抗坏血酸作为用于皮肤外部使用的材料正引起人们的注意。

[0003] 尽管抗坏血酸展现出如上所述的多种效果,其具有的问题在于:其在空气中加热时几乎被破坏,对碱是不稳定的,并且在水溶液中容易被氧化而丧失这样的效果。因此,为了克服抗坏血酸的这种不稳定性,已经开发了多种抗坏血酸衍生物。

[0004] 之前开发的抗坏血酸衍生物为如下。第一,存在诸如磷酸化抗坏血酸或其金属盐的衍生物。与其他衍生物相比,这样的衍生物容易被转化为在人体中可用的L-抗坏血酸形式,但是具有的缺点在于:它们难以吸收到皮肤中,因为它们具有负电荷。第二,已知多种脂肪酸缀合的衍生物,抗坏血酸棕榈酸酯、抗坏血酸月桂酸酯、抗坏血酸硬脂酸酯等。在这些衍生物中,最广泛使用抗坏血酸-6-棕榈酸酯(参见美国专利号5,409,693)。这些衍生物化合物被吸收到皮肤中,但是具有的缺点在于:它们难以转化为L-抗坏血酸形式。第三,已知产生胶原蛋白的肽缀合抗坏血酸衍生物,其中琥珀酰基通过酯键连接至在抗坏血酸的碳5或碳6处的羟基并且所述产生胶原蛋白的肽通过酰胺键连接(参见韩国专利号KR 10-0459679)。与抗坏血酸相比,这些衍生物显示出优异的功效,但是具有稳定性差的缺点。

[0005] 如上所述,与纯的抗坏血酸相比,迄今开发的几乎所有的抗坏血酸衍生物在功效或稳定性方面没有得到改善,并且肽缀合的抗坏血酸衍生物几乎都旨在仅仅增强抗坏血酸的美白效果。因此,这些衍生物用于美容应用的广泛使用受到限制。

发明内容

[0006] 技术问题

[0007] 因此,本发明的发明人已经做出了大量努力以开发在克服常规抗坏血酸衍生物的问题的同时具有皱纹减少效果和美白效果二者的抗坏血酸衍生物。作为结果,本发明的发明人已经发现,当具有2至5个单元的肽化合物与抗坏血酸氨基丙醇磷酸二酯化合物缀合时,可以获得具有皱纹减少效果和美白效果二者的稳定的抗坏血酸衍生物,由此完成本发明。

[0008] 因此,本发明的一个目的是提供一种由下式I表示的肽缀合抗坏血酸衍生物或其美容上可接受的盐。

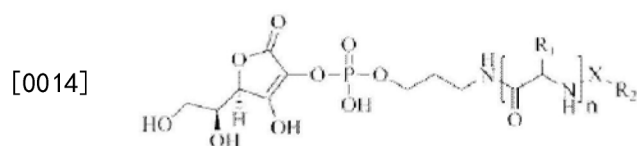
[0009] 本发明的另一个目的是提供一种用于制备由下式I表示的肽缀合抗坏血酸衍生物或其美容上可接受的盐的方法。

[0010] 本发明的又一个目的是提供一种化妆品组合物,其包含由下式I表示的肽缀合抗坏血酸衍生物或其美容上可接受的盐作为活性成分,及其用于皮肤皱纹减少和美白的用途。

[0011] 技术方案

[0012] 本发明涉及由下式I表示的肽缀合抗坏血酸衍生物或其美容上可接受的盐:

[0013] 式I



[0015] 其中



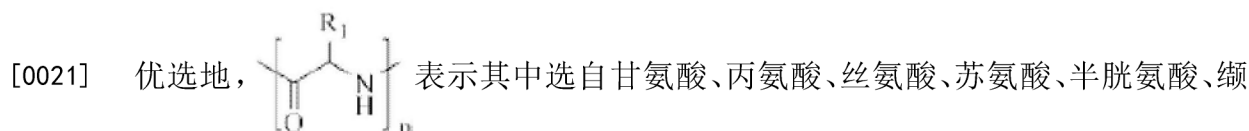
过酰胺键结合的肽;

[0017] R_1 表示所述氨基酸残基的侧链;

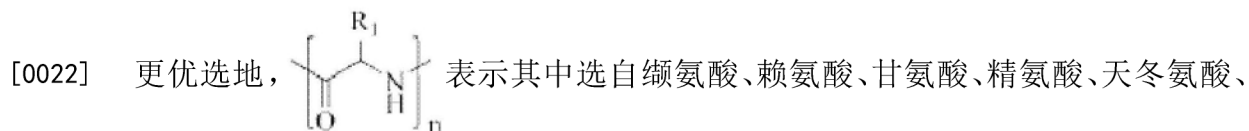
[0018] X是氢或羰基($C=O$);

[0019] 当X是氢时 R_2 不存在,或者当X是羰基时 R_2 是棕榈基、月桂基或硬脂基;并且

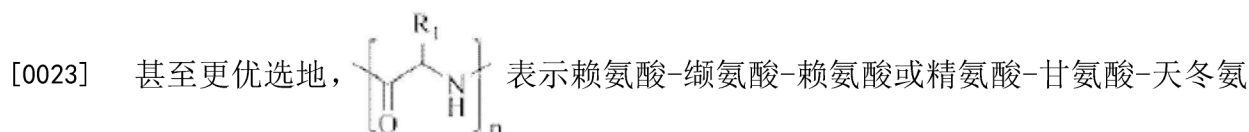
[0020] n是在2至5范围内的整数。



氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、羟脯氨酸、赖氨酸、苯丙氨酸、蛋氨酸、酪氨酸、色氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、组氨酸、天冬氨酸、谷氨酸和精氨酸中的相同或不同氨基酸残基通过酰胺键结合的肽; R_1 表示所述氨基酸残基的侧链;并且n是在3至5范围内的整数。



苏氨酸和丝氨酸中的相同或不同氨基酸残基通过酰胺键结合的肽; R_1 表示所述氨基酸残基的侧链;并且n是在3至5范围内的整数。



酸。

[0024] 如本文中所使用的,术语“天然氨基酸”是指选自以下各项组成的组中的 α -氨基酸:丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、蛋氨酸、甘氨酸、丝氨酸、苏氨酸、半胱氨酸、酪氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、赖氨酸、精氨酸、组氨酸、天冬氨酸和谷氨酸。

[0025] 如本文中所使用的,术语“非天然氨基酸”是指不是通过核酸密码子编码的氨基酸,并且非天然氨基酸的实例包括但不限于,如上所述的天然 α -氨基酸的D-异构体;Aib(氨基丁酸)、bAib(3-氨基异丁酸)、Nva(正缬氨酸)、 β -Ala、Aad(2-氨基己二酸)、bAad(3-氨基己二酸)、Abu(2-氨基丁酸)、Gaba(γ -氨基丁酸)、Acp(6-氨基己酸)、Dbu(2,4-二氨基丁酸)、 α -氨基庚二酸、TMSA(三甲基甲硅烷基-Ala)、alle(别异亮氨酸)、Nle(正亮氨酸)、tert-Leu、Cit(瓜氨酸)、Orn、Dpm(2,2'-二氨基庚二酸)、Dpr(2,3-二氨基丙酸)、 α -或 β -Nal、Cha(环己基-Ala)、羟脯氨酸、Sar(肌氨酸)等;环状氨基酸;Na-烷基化氨基酸,例如,MeGly(Na甲基甘氨酸)、EtGly(Na乙基甘氨酸)和EtAsn(Na乙基天冬酰胺);以及在 α -碳上具有两个侧链取代基的氨基酸。

[0026] 根据本发明的肽缀合抗坏血酸衍生物选自以下化合物组成的组:

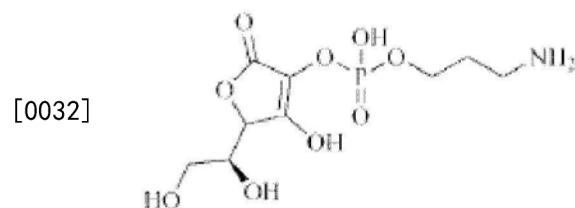
[0027] (6S,9S,12S)-6,12-二(4-氨基丁基)-9-异丙基-5,8,11,14-四氧代-4,7,10,13-四氮杂二十九烷基(5-((S)-1,2-二羟基乙基)-4-羟基-2-氧代-2,5-二氢呋喃-3-基)氢磷酸酯(I-1);和

[0028] (3S)-3-(2-((S)-2-氨基-5-((二氨基亚甲基)氨基)戊酰胺基)乙酰胺基)-4-((3-(((5-((S)-1,2-二羟基乙基)-4-羟基-2-氧代-2,5-二氢呋喃-3-基)氧基)(羟基)磷酰基)氧基)丙基)氨基)-4-氧代丁酸(I-2)。

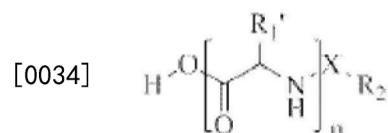
[0029] 在本发明中,“美容上可接受的盐”包括但不限于,所有无毒的无机酸盐和有机酸盐,例如,盐酸盐、硫酸盐、硝酸盐、磷酸盐、乙酸盐、三氟乙酸盐、苯磺酸盐、柠檬酸盐等。

[0030] 本发明还涉及一种用于制备由式I表示的肽缀合抗坏血酸衍生物的方法。本发明的制备方法包括以下步骤:使下式II的抗坏血酸氨基丙醇磷酸二酯化合物进行与具有2至5个单元的下式IV的肽化合物的缩合反应,然后如果在产物中存在保护基,则使所述产物进行去保护反应:

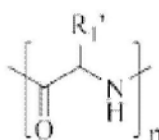
[0031] 式II



[0033] 式IV



[0035] 其中

[0036]  表示其中选自天然或非天然氨基酸残基的相同或不同氨基酸残基通

过酰胺键结合的肽；

[0037] R_1 表示所述氨基酸残基的侧链；

[0038] R_1' 与 R_1 相同或者是其中氨基或羧基被保护的 R_1 ；

[0039] X 是氢或羰基 ($C=O$)；

[0040] 当 X 是氢时 R_2 不存在，或者当 X 是羰基时 R_2 是棕榈基、月桂基或硬脂基；并且

[0041] n 是在 2 至 5 范围内的整数。

[0042] 作为式 IV 的化合物的氨基保护基，可以使用但不限于叔丁氧基羰基 (t-Boc)、苄氧基羰基 (carbobenzyloxy, Cbz)、9-苄基甲氧基羰基 (Fmoc) 等。此外，式 IV 的化合物的氨基保护基的去保护可以使用盐酸或三氟乙酸进行，但是不限于此。

[0043] 作为式 IV 的化合物的羧基保护基，可以使用但不限于甲基、乙基、叔丁基、2,2,2-三氯乙基等。此外，式 IV 的化合物的羧基保护基的去保护可以使用氢氧化锂或三氟乙酸进行，但是不限于此。

[0044] 缩合反应可以在缩合剂存在下进行。可以在缩合反应中使用的缩合剂的实例包括但不限于，二环己基碳二亚胺 (DCC)、叠氮化磷酸二苯酯 (DPPA)、氰基膦酸二乙酯 (DEPC)、苯并三唑-1-基-氧基-三(二甲基氨基)磷鎓六氟磷酸盐 (BOP 试剂) 等。在缩合反应中，如果需要，可以连同缩合剂一起使用有机碱如三乙胺或二异丙基乙胺 (DIPEA)，并且如果需要，可以使用活化剂如 4-(二甲基氨基)吡啶 (DMAP) 或 N-羟基琥珀酰亚胺 (HOSu)。

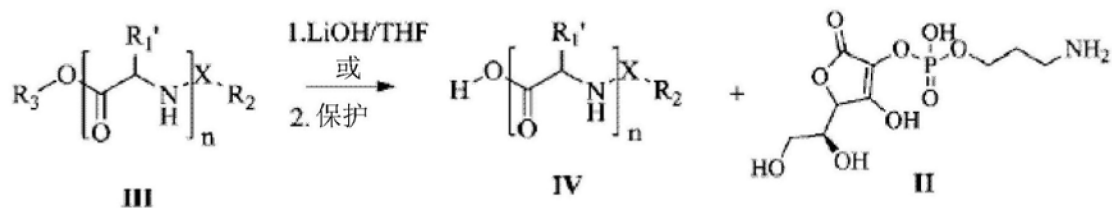
[0045] 可以在缩合反应中使用的溶剂的实例包括卤代脂族烃如氯仿和二氯甲烷、乙酸乙酯、四氢呋喃 (THF)、二甲基甲酰胺 (DMF)、乙腈、1,4-二噁烷、甲醇等。缩合反应可以在 -10°C 至 50°C 、优选 0°C 至 25°C 的温度下进行。

[0046] 式 II 的化合物可以根据已知方法合成 (参见 Bull. Korean Chem. Soc., 2003, Vol. 24, No. 8, pp 1169-1171)，或者是商购可得的产品。

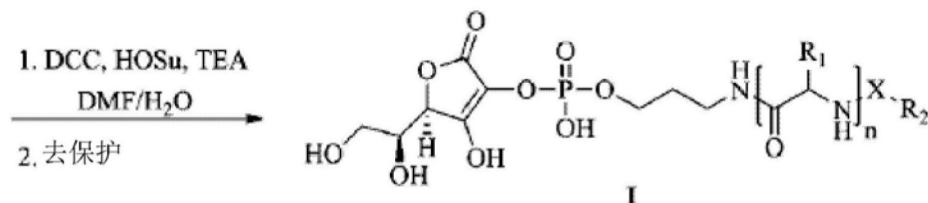
[0047] 在式 IV 的化合物中，肽 (其中 R_2 不存在) 或脂肪酸-肽 (其中 R_2 是棕榈基、月桂基或硬脂基) 可以是利用固相合成方法合成的肽或通过使合成的肽与脂肪酸聚合而合成的脂肪酸-肽，或者可以是商购可得的产品。

[0048] 在下文中，将参照以下反应方案 I 详细描述用于制备根据本发明的式 I 的肽缀合抗坏血酸衍生物的方法。在以下反应方案 I 中所示的方法仅代表可能的制备方法，并且如果需要，可以适当地改变在以下反应方案 I 中所示的单元操作的顺序、试剂、反应条件等。

[0049] 反应方案 I



[0050]



[0051] 其中

[0053] R_1 表示所述氨基酸残基的侧链；

[0054] X是氢或羰基(C=O)；

[0055] 当X是氢时 R_2 不存在,或者当X是羰基时 R_2 是棕榈基、月桂基或硬脂基；[0056] R_3 是氢、甲基、乙基、叔丁基或2,2,2-三氯乙基；并且

[0057] n是在2至5范围内的整数。

[0058] 根据本发明的制备方法包括以下步骤：

[0059] (i) 用氨基保护基如叔丁氧羰基(t-Boc)和羧基保护基如叔丁基保护式III的化合物以得到其中氨基和羧基被保护的式IV的化合物,或用碱如氢氧化锂对式III的化合物的C-末端羧基进行去保护以得到式IV的化合物

[0060] (ii) 在缩合剂如二环己基碳二亚胺(DCC)存在下使式IV的化合物进行与式II的化合物(3-氨基丙基(5-((S)-1,2-二羟基乙基)-4-羟基-2-氧代-2,5-二氢呋喃-3-基)氢磷酸酯)的缩合反应,并且用盐酸或三氟乙酸对氨基酸侧链的氨基和羧基进行去保护,从而得到式I的化合物。

[0061] 如果式III的化合物不需要进行该制备方法的保护或去保护步骤(i),则式I的化合物可以在没有进行步骤(i)的情况下通过进行步骤(ii)来合成。

[0062] 根据上述方法制备的本发明的肽缀合抗坏血酸衍生物是稳定的并且还展现出优异的皱纹减少效果和优异的美白效果二者(参见以下实验例1、2和3)。

[0063] 本发明还涉及一种化妆品组合物,其包含:式I的肽缀合抗坏血酸衍生物或其美容上可接受的盐;和美容上可接受的碱。本发明的化妆品组合物特别地具有减少皮肤皱纹的效果和皮肤美白效果二者。

[0064] 基于化妆品组合物的总重量,本发明的化妆品组合物包含0.0001-2重量%、优选0.01-0.20重量%的式I的化合物作为活性成分。

[0065] 对根据本发明的化妆品组合物的制剂没有特别限制,并且取决于要制备的制剂,

本发明的化妆品组合物可以包含本领域中已知的常规化妆品组合物组分。本发明的化妆品组合物可以被制备为诸如洗剂、乳液、营养霜、面膜(pack)、美容液、精油等之类的制剂,并且取决于要制备的制剂,还可以包含一种或多种选自以下各项中的组分:油、水、表面活性剂、保湿剂、低级醇、增稠剂、螯合剂、颜料、防腐剂、香料等。此外,鉴于黑色素形成的主要原因是UV射线的事实,本发明的化妆品组合物可以包含UV遮蔽剂、光散射剂等。然而,化妆品组合物的制剂和组分不限于上述内容。

[0066] 有益效果

[0067] 根据本发明的肽缀合抗坏血酸衍生物是新型的合成化合物并且展现出通过抑制黑色素形成来美白皮肤的效果和通过激活胶原蛋白产生来减少皮肤皱纹的效果二者,从而可以有利地用于化妆品组合物。

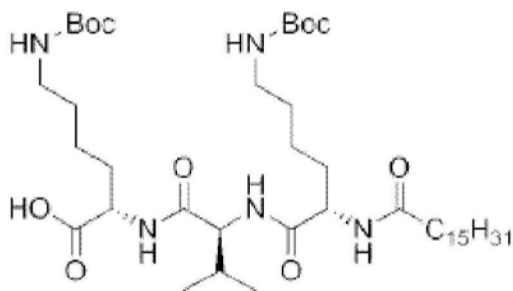
具体实施方式

[0068] 在下文中,将参照制备例和实施例更详细地描述本发明。对本领域技术人员来说显而易见的是,这些制备例和实施例仅用于举例说明的目的,而不是意图限制本发明的范围。

[0069] 制备例1:其中氨基(-NH₂)-和羧基(-COOH)-被保护的式IV的化合物的制备

[0070] 制备例1-1:(10S,13S,16S)-16-(4-((叔丁氧羰基)氨基)丁基)-13-异丙基-2,2-二甲基-4,11,14-三氧代-10-棕榈酰胺基-3-氧杂-5,12,15-三氮杂十七烷-17-酸酯(IV-1)

[0071]



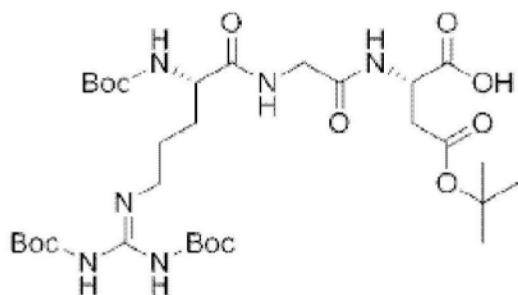
[0072] 将棕榈酰基三肽-5(Pal-KVK)(30.6g,50mmol)溶解在100mL的甲醇和50mL的三乙胺中。将反应溶液冷却至0℃,并且向其中加入二碳酸二叔丁酯(29mL,125mmol),接着在室温下搅拌18小时。在反应完成之后,将反应溶液在减压下浓缩以除去溶剂,并且将饱和碳酸氢钠溶液(150mL)加入至残留物中,然后将其用二乙醚(150mL)洗涤两次。将水层通过加入1M硫酸氢钠水溶液(200mL)调节至pH 2并且用乙酸乙酯(300mL)萃取三次,并且将有机层依次用蒸馏水(300mL)和饱和氯化钠水溶液(300mL)洗涤,然后用无水硫酸钠干燥并且在减压下浓缩,得到标题化合物(34g,84%)。

[0073] ES-MS m/z:812[M+H]⁺

[0074] ¹H NMR(400MHz,CDC1₃) δ0.89(m,3H),0.97(m,6H),1.28-1.43(m,48H),1.59-1.99(m,8H),2.06(m,1H),2.24(brt,J=7.2Hz,2H),3.02(m,4H),4.20(d,J=7.2Hz,1H),4.37(m,2H)。

[0075] 制备例1-2:(11S,17S)-17-(2-(叔丁氧基)-2-氧代乙基)-6,11-二((叔丁氧羰基)氨基)-2,2-二甲基-4,12,15-三氧代-3-氧杂-5,7,13,16-四氮杂十八碳-6-烯-18-酸酯(IV-2)

[0076]



[0077] 将N-苄氧羰基甘氨酸(N-carbobenzoyglycine,Z-Gly-OH) (11.48g,54.8mmol) 和L-天冬氨酸4-叔丁基-1-甲酯盐酸盐(13.14g,54.8mmol) 溶解在四氢呋喃(275ml) 中,然后冷却至0℃。向反应溶液中加入1-羟基苯并三唑水合物(HOBt) (8.90g,65.8mmol) 和1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC.HCl) (11.31g,65.8mmol), 并且逐滴加入三乙胺(23.1mL,164.6mmol)。将反应溶液在0℃下搅拌30分钟,然后在室温下搅拌16小时。在反应完成之后,将水(200mL) 加入至反应混合物溶液中,然后将其用乙酸乙酯(100mL) 洗涤三次。接下来,将有机层合并,用饱和氯化钠水溶液(200mL) 洗涤,用无水硫酸钠干燥,然后在减压下浓缩。将残留物通过柱色谱纯化,得到(S)-4-叔丁基1-甲基2-(2-((苄氧基)羰基)氨基)乙酰胺基)琥珀酸酯(16.0g,74%)。

[0078] ES-MS m/z :395[M+H]⁺,417[M+Na]⁺

[0079] ¹H NMR (400MHz,DMSO-d₆) δ1.41 (s,9H),2.68-2.83 (m,2H),3.61 (s,3H),3.62 (s,3H),3.62-3.64 (m,2H),4.64-4.69 (m,1H),5.03 (s,2H),7.31-7.39 (m,5H),7.46 (t,1H),8.35 (d,1H)。

[0080] 将得到的化合物(16.0g,40.57mmol) 溶解在甲醇(200mL) 中,并且向其中加入10% 钯碳(2.02g),接着在氢气气氛中在室温下搅拌3小时。在反应完成之后,将反应混合物通过硅藻土过滤,用甲醇洗涤数次,然后在减压下浓缩以除去溶剂,从而得到作为白色固体的(S)-4-叔丁基1-甲基2-(2-氨基乙酰胺基)琥珀酸酯(8.04g,91%)。

[0081] ES-MS m/z :261[M+H]⁺,283[M+Na]⁺

[0082] ¹H NMR (400MHz,DMSO-d₆) δ1.41 (s,9H),2.64-2.78 (m,2H),3.47 (s,3H),3.62 (s,3H),3.65-3.77 (m,2H),4.10-4.12 (m,1H),8.10 (s,1H)。

[0083] 将(S)-4-叔丁基1-甲基2-(2-氨基乙酰胺基)琥珀酸酯(8.04g,30.89mmol) 和Na⁺ Boc-NsCbz-L-鸟氨酸(13.5g,38.8mmol) 溶解在四氢呋喃(185mL) 中并且冷却至0℃。向反应溶液中加入1-羟基苯并三唑水合物(HOBt) (5.98g,44.2mmol) 和1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC.HCl) (7.6g,44.2mmol), 并且逐滴加入三乙胺(11.39mL,84.1mmol)。将反应混合物在0℃下搅拌30分钟,然后在室温下搅拌16小时。在反应完成之后,将水(150mL) 加入至反应混合物溶液中,之后将其用乙酸乙酯(100mL) 洗涤两次,用无水硫酸钠干燥,并且在减压下浓缩。将残留物通过柱色谱纯化,得到作为白色固体的(S)-4-叔丁基1-甲基2-(2-((S)-5-((苄氧基)羰基)氨基)-2-((叔丁氧羰基)氨基)戊酰胺基)乙酰胺基)琥珀酸酯(9.76g,47%)。

[0084] ES-MS m/z :609[M+H]⁺,631[M+Na]⁺

[0085] ¹H NMR (400MHz,CDC1₃) δ1.44 (s,18H),1.58-1.66 (m,4H),1.82-1.92 (m,1H),2.81-2.87 (m,1H),2.96-3.01 (m,1H),3.15-3.39 (m,2H),3.67 (s,3H),3.72 (s,3H),3.94 (m,2H),

4.25 (m, 1H), 4.83 (m, 1H), 5.08 (s, 2H), 5.13 (m, 2H), 7.00 (m, 2H), 7.32-7.35 (m, 5H)。

[0086] 将得到的化合物(9.76g, 17.2mmol)溶解在甲醇(85mL)中,并且向其中加入10%钯碳(0.86g),接着在氢气氛围中在室温下搅拌3小时。在反应完成之后,将反应混合物通过硅藻土过滤,用甲醇洗涤数次,然后在减压下浓缩以除去溶剂,从而得到作为白色固体的(S)-4-叔丁基-1-甲基-2-(2-((S)-5-氨基-2-((叔丁氧羰基)氨基)戊酰胺基)乙酰胺基)琥珀酸酯(7.45g, 99%)。

[0087] ES-MS m/z : 475 $[M+H]^+$, 497 $[M+Na]^+$

[0088] 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ 1.44 (s, 18H), 1.52-1.61 (m, 2H), 1.72-1.77 (m, 1H), 1.76-1.87 (m, 1H), 2.20 (brd, 4H), 2.75 (m, 1H), 2.79-2.85 (m, 1H), 2.98-3.03 (m, 1H), 3.69 (s, 3H), 3.75 (s, 3H), 3.94 (m, 2H), 4.20 (m, 1H), 4.85 (m, 1H), 5.84 (m, 1H), 7.16 (m, 1H), 7.54 (m, 1H)。

[0089] 将(S)-4-叔丁基-1-甲基-2-(2-((S)-5-氨基-2-((叔丁氧羰基)氨基)戊酰胺基)乙酰胺基)琥珀酸酯(7.45g, 17.2mmol)溶解在二氯甲烷(85mL)中,并且向其中加入1,3-二-Boc-2-(三氟甲磺酰基)胍(7.08g, 18.1mmol)和三乙胺(2.5mL, 18.1mmol),接着在室温下搅拌16小时。在反应完成之后,将水(85mL)加入至反应混合物溶液中,然后将其用二氯甲烷(50mL)洗涤两次,用无水硫酸钠干燥,然后在减压下浓缩。将残留物通过柱色谱纯化,得到作为白色固体的(S)-4-叔丁基-1-甲基-2-((S)-6,11-二((叔丁氧羰基)氨基)-2,2-二甲基-4,12-二氧代-3-氧杂-5,7,13-三氮杂十五碳-6-烯酰胺)琥珀酸酯(11.43g, 98%)。

[0090] ES-MS m/z : 718 $[M+H]^+$, 740 $[M+Na]^+$

[0091] 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ 1.44 (s, 18H), 1.48 (s, 18H), 1.64-1.72 (m, 4H), 1.87 (m, 1H), 2.81-2.86 (m, 1H), 2.96-3.01 (m, 1H), 3.30 (m, 1H), 3.48 (m, 1H), 3.68 (s, 3H), 3.74 (s, 3H), 3.96 (m, 2H), 4.24 (m, 1H), 4.85 (m, 1H), 5.54 (m, 1H), 7.04 (m, 1H), 7.10 (m, 1H), 8.41 (m, 1H), 11.43 (m, 1H)。

[0092] 将(S)-4-叔丁基-1-甲基-2-((S)-6,11-二((叔丁氧羰基)氨基)-2,2-二甲基-4,12-二氧代-3-氧杂-5,7,13-三氮杂十五碳-6-烯酰胺)琥珀酸酯(11.43g, 16.9mmol)溶解在四氢呋喃(127mL)中并且冷却至0℃,并且向其中加入1M氢氧化锂溶液(45mL),接着在室温下搅拌16小时。在反应完成之后,将反应溶液冷却至0℃,通过1M HCl水溶液调节至pH2,并且用乙酸乙酯(80mL)萃取两次。将有机层合并,用饱和氯化钠水溶液(100mL)洗涤,用无水硫酸钠干燥,然后在减压下浓缩,从而得到作为白色固体的标题化合物(8.96g, 82%)。

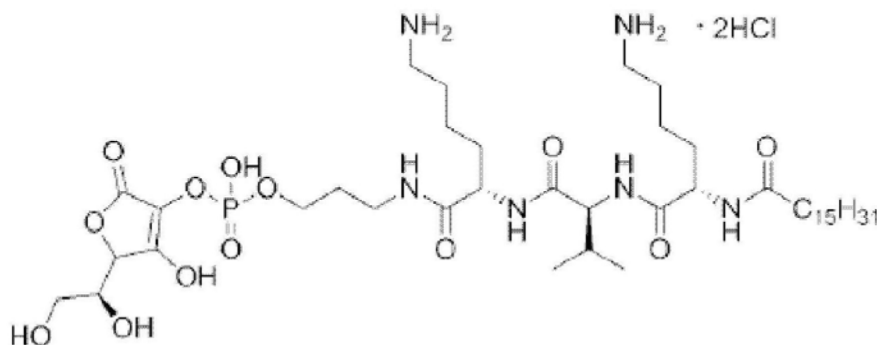
[0093] ES-MS m/z : 703 $[M+H]^+$, 725 $[M+Na]^+$

[0094] 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$) δ 1.28 (t, 1H), 1.42 (s, 18H), 1.48 (s, 9H), 1.49 (s, 9H), 1.62-1.65 (m, 3H), 1.85 (m, 1H), 2.81-2.85 (m, 1H), 2.99-3.04 (m, 1H), 3.40 (m, 1H), 3.85 (m, 1H), 4.13 (m, 1H), 4.76 (m, 1H), 5.24 (m, 1H), 5.85 (m, 1H), 5.82 (m, 1H), 7.71 (m, 2H), 8.67 (m, 1H)。

[0095] 实施例:式I的化合物的制备

[0096] 实施例1: (6S, 9S, 12S)-6,12-二(4-氨基丁基)-9-异丙基-5,8,11,14-四氧代-4,7,10,13-四氮杂二十九烷基(5-((S)-1,2-二羟基乙基)-4-羟基-2-氧代-2,5-氢呋喃-3-基)氢磷酸酯盐酸盐(I-1)

[0097]



[0098] 将在制备例1-1中得到的其中氨基被保护的化合物IV-1 (31.2g, 38.4mmol) 溶解在二甲基甲酰胺 (250mL) 中, 并且向其中加入N,N'-二环己基碳二亚胺 (DCC) (9.5g, 46.1mmol) 和N-羟基琥珀酰亚胺 (5.3g, 46.1mmol), 接着在室温下进行反应3小时。在反应之后, 通过在减压下过滤除去作为副产物产生的N,N'-二环己基脲。向剩下的滤液中加入式II的3-氨基丙基 (5-((S)-1,2-二羟基乙基)-4-羟基-2-氧代-2,5-二氢呋喃-3-基) 氢磷酸酯 (Vitagen, 13.2g, 42.2mmol) 和二异丙基乙胺 (13.5mL, 77mmol) 并且在室温下搅拌20小时。在反应完成之后, 将反应溶液在减压下浓缩以除去溶剂。将残留物通过依次加入MeOH、二氯甲烷和异丙基醚进行重结晶, 并且过滤, 得到其中氨基被保护的式I-1的化合物 (47g, 112%)。

[0099] ES-MS m/z : 1107 $[M+H]^+$

[0100] 1H NMR (400MHz, CD_3OD) δ 0.96 (m, 3H), 1.01 (m, 6H), 1.35-1.55 (m, 48H), 1.65-1.88 (m, 10H), 2.14 (m, 1H), 2.30 (brt, $J=7.2Hz$, 2H), 3.09 (m, 4H), 3.28 (m, 2H), 3.73-3.82 (m, 3H), 4.00 (m, 1H), 4.06 (m, 2H), 4.22 (d, $J=6.8Hz$, 1H), 4.37 (m, 2H), 4.86-5.01 (m, 1H)。

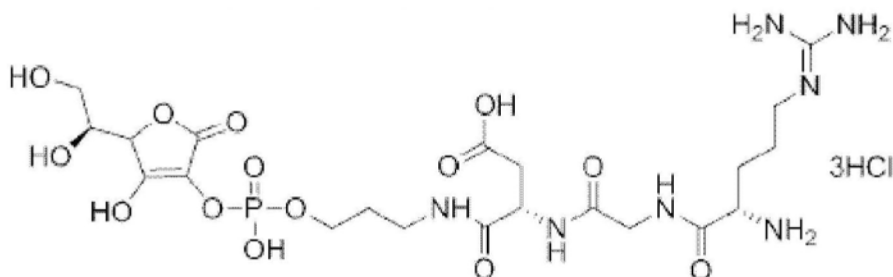
[0101] 将所得到的其中氨基被保护的式I-1的化合物 (47g, 37.9mmol) 溶解在1,4-二噁烷 (160mL) 中, 并且向其中加入在1,4-二噁烷溶液中的4M盐酸 (110mL, 440mmol), 接着在室温下搅拌15小时。在反应完成之后, 将反应溶液在减压下浓缩以除去溶剂。将乙腈 (600mL) 加入至残留物中, 并且将形成的固体过滤, 得到标题化合物 (33.0g, 89%)。

[0102] ES-MS m/z : 907 $[M+H]^+$

[0103] 1H NMR (400MHz, CD_3OD) δ 0.90 (m, 3H), 0.92 (d, $J=6.4Hz$, 6H), 1.28-1.39 (m, 26H), 1.44-1.88 (m, 14H), 2.12 (m, 1H), 2.25 (brt, $J=7.6Hz$, 2H), 2.96 (m, 4H), 3.24-3.35 (m, 2H), 3.68 (m, 3H), 3.95-3.99 (td, $J=1.6, 6.8Hz$, 1H), 4.08-4.15 (m, 3H), 4.29 (m, 1H), 4.37 (m, 1H), 4.93 (m, 1H)。

[0104] 实施例2: (3S)-3-(2-((S)-2-氨基-5-((二氨基亚甲基)氨基)戊酰胺基)乙酰胺基)-4-((3-(((5-((S)-1,2-二羟基乙基)-4-羟基-2-氧代-2,5-二氢呋喃-3-基)氧基)(羟基)磷酰基)氧基)丙基)氨基)-4-氧代丁酸酯盐酸盐 (I-2)

[0105]



[0106] 将在制备例1-2中得到的其中氨基和羧基被保护的化合物IV-2 (2.46g, 3.5mmol) 溶解在二甲基甲酰胺 (20mL) 中, 并且向其中加入N,N'-二环己基碳二亚胺 (DCC) (0.72g, 3.5mmol) 和N-羟基琥珀酰亚胺 (0.4g, 3.5mmol), 接着在室温下进行反应1小时。在反应之后, 通过在减压下过滤除去作为副产物产生的N,N'-二环己基脒。向所得的滤液中加入式II的3-氨基丙基 (5-((S)-1,2-二羟基乙基)-4-羟基-2-氧代-2,5-二氢呋喃-3-基) 氢磷酸酯 (Vitagen, 1.32g, 4.2mmol) 和二异丙基乙胺 (1.22mL, 7.0mmol) 并且在室温下搅拌2小时。在反应完成之后, 将反应溶液在减压下浓缩以除去溶剂。将残留物通过依次加入甲醇、二氯甲烷和异丙基醚进行重结晶, 并且过滤, 得到其中氨基和羧基被保护的式I-2的化合物 (11S, 17S)-叔丁基6,11-二((叔丁氧羰基)氨基)-17-((3-(((5-((S)-1,2-二羟基乙基)-4-羟基-2-氧代-2,5-二氢呋喃-3-基)氧基)(羟基)磷酰基)氧基)丙基)氨基甲酰基)-2,2-二甲基-4,12,15-三氧代-3-氧杂-5,7,13,16-四氮杂十九碳-6-烯-19-酸酯 (3.28g, 94%)。

[0107] ES-MS m/z : 999 $[M+H]^+$

[0108] 将其中氨基和羧基被保护的式I-2的化合物 (3.28g, 3.29mmol) 溶解在1,4-二噁烷 (35mL) 中, 并且向其中加入在1,4-二噁烷溶液中的4M盐酸 (8.3mL, 33mmol), 接着在室温下搅拌15小时。在反应完成之后, 将反应溶液在减压下浓缩以除去溶剂, 并且将残留物通过依次加入乙腈、二氯甲烷和异丙基醚进行重结晶, 并且过滤, 得到标题化合物 (2.25g, 91%)。

[0109] ES-MS m/z : 642 $[M+H]^+$

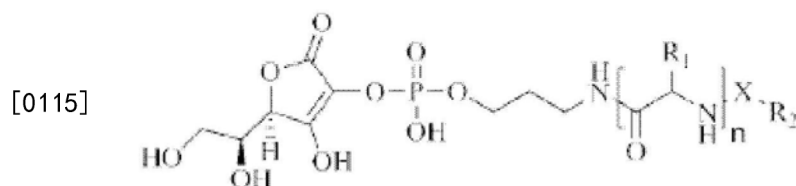
[0110] ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 1.28 (t, 1H), 1.62-1.65 (m, 3H), 1.85 (m, 1H), 1.91 (m, 2H), 2.81-2.85 (m, 1H), 2.99-3.04 (m, 1H), 3.17 (m, 2H), 3.20 (m, 2H), 3.40 (m, 1H), 3.45 (m, 2H), 3.63 (s, 1H), 3.85 (m, 1H), 3.91 (m, 1H), 4.13 (m, 1H), 4.76 (m, 1H), 5.24 (m, 1H), 5.85 (m, 1H), 5.82 (m, 1H), 7.71 (m, 2H), 8.67 (m, 1H)。

[0111] 实验例1: 黑色素抑制作用的分析

[0112] 将B16F1黑色素瘤细胞系 (ATCC CRL-6323) 加入至补充有10%胎牛血清、100U/ml青霉素和100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 链霉素的DMEM培养基中并且在37 $^\circ\text{C}$ 和5% CO_2 的条件下培养。在培养之后, 将培养基用DMEM培养基 (Invitrogen-Gibco-BRL, 细胞/孔) 替换并且用适量的样品溶液处理, 使得各个试验化合物的最终浓度达到0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 或40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。在72小时之后, 除去培养基, 并且将细胞用PBS (磷酸盐缓冲盐水) 洗涤、收获, 并且在60 $^\circ\text{C}$ 干燥。接下来, 将黑色素提取溶液 (1N NaOH+10%DMSO) 加入至细胞中, 之后将其在80 $^\circ\text{C}$ 溶解。接下来, 使用合成黑色素作为标准品对黑色素的量进行定量, 并且对蛋白质的量进行定量。计算每单位蛋白质的黑色素的量, 并且将其表示为相对于对照的%对照值。

[0113] 结果在以下式1中示出。

[0114] 式1



[0116] 实验例2: 对胶原蛋白活化的作用的分析

[0117] 将人新生的皮肤成纤维细胞 (Cascade Co.) 接种到具有补充有10%胎牛血清的

DMEM培养基的24孔微孔板 (5×10^4 个细胞/孔) 中, 并且在37℃和5%CO₂的条件下培养24小时。将培养基用无血清的DMEM培养基替换, 并且将细胞培养24小时, 并用各个样品溶液处理, 使得各个试验化合物的最终浓度达到1μg/ml或5μg/ml。在培养48小时之后, 收集细胞培养基, 并且使用胶原蛋白测量试剂盒 (Takara Shuzo Co., Ltd., Japan) 测量培养基中原胶原蛋白的量。具体地, 将收集的细胞培养基加入到具有均匀涂覆至其的初次胶原蛋白抗体的96孔板中, 并且在37℃进行抗原-抗体反应达3小时。将细胞培养基从各个孔中除去, 然后将各个孔用PBS洗涤四次。将显色物质加入至每个孔中并且在室温下温育15分钟, 然后将1N硫酸溶液加入至各个孔中以停止反应。用分光光度计测量在450nm的吸光度。标准曲线使用标准溶液制备, 并且将如上所述得到的吸光度代入标准曲线, 从而确定其中加入了各个试验化合物的细胞培养基中的原胶原蛋白的产生。

[0118] 结果在以下表2中示出。

[0119] 表2

试验 化合物	浓度(μg/ml)	原胶原蛋白(ng/ml)				
		平均值	STDEV	实施例 1	实施例 2	实施例 3
对照	-	193.9	13.6	184.1	188.2	209.5
KVK-Pal	1	244.4	17.9	248.9	259.7	224.7
	5	283.6	11.0	273.9	295.5	281.3
LAAP	1	242.3	10.1	231.4	251.3	244.1
	5	281.1	16.1	268.1	276.1	299.1
化合物 I-1	1	277.7	13.1	278.1	264.4	290.6
	5	345.7	5.9	352.4	342.1	342.5
化合物 I-2	1	253.1	9.7	252.4	243.8	263.1
	5	302.7	5.3	298.1	301.6	308.5

[0121] 实验例3: 用于针对水和热的稳定性的试验

[0122] 不仅在组合物的制备过程中, 而且在组合物的长期储存中, 在化妆品组合物中使用的活性成分在水和热之后的稳定性都是重要的因素。因此, 测量分别在实施例1和2中制备的化合物I-1和I-2针对水和热的稳定性。具体地, 将化合物I-1和I-2中的每一种在40℃的温度和75%的相对湿度的严苛条件下在密封状态下储存, 并且通过高效液相色谱法 (HPLC) 分析相对于在第0天的活性成分的活性值的初始值, 在3、7、14和28天之后各个样品中的活性成分的百分比。

[0123] 结果在以下表3中示出。

[0124] 表3

化合物 (盐)	天数				
	0 天	3 天	7 天	14 天	28 天
LAAP (Vitagen)	100	100.4	100.9	99.9	98.5
化合物 I-1	100	101.0	100.4	99.9	99.8
化合物 I-2	100	100.3	100.0	99.8	99.8

[0126] 如可以在以上表3中看到的,在严苛条件下对化合物I-1和I-2中的每一种测试达28天,并且作为结果,可以看到,这些化合物展现出与商购可得的LAAP (Vitagen) 相当的优异稳定性。

[0127] 实验例4:针对DNA甲基转移酶 (DNMT) 活性的抑制作用

[0128] 为了考察化合物I-1对促进胶原蛋白合成的作用的机理,使用从HeLa细胞分离的细胞核提取物和DNA甲基转移酶活性/抑制剂筛选测定试剂盒来考察化合物针对DNMT活性的抑制作用。向涂布有富含胞嘧啶 (cystosine) 的DNA的条带中加入包含DNMT、化合物I-1和Adomet的HeLa细胞核提取物。作为阳性对照,使用5-氮杂-2'-脱氧胞苷 (5-azadC)。将结合甲基化DNA的捕获抗体以及检测抗体依次加入至该条带中,之后加入显影溶液以诱导显色反应,然后加入停止溶液以停止反应。测量在450nm的吸光度,并且基于所测量的吸光度,使用以下公式1计算DNMT活性的百分比抑制。计算结果在以下表4中示出。

[0129] 公式1

[0130] $\text{抑制}\% = [1 - (\text{OD}_{\text{抑制剂}} - \text{OD}_{\text{空白}}) / (\text{OD}_{\text{对照}} - \text{OD}_{\text{空白}})] \times 100$

[0131] 表4

试验 化合物	浓度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	抑制%							
		平均 值	STDE V	实施 例 1	实施 例 2	实施 例 3	实施 例 4	实施 例 5	实施 例 6
[0132] 5-azadC	0.5	78%	16%	88%	91%	60%	57%	88%	85%
化合物 I-1	1	40%	10%	48%	48%	34%	23%	40%	45%
	5	52%	9%	62%	60%	38%	49%	52%	49%
	10	70%	7%	79%	79%	66%	62%	65%	68%

[0133] 如可以在以上表4中看到的,化合物I-1在5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上的浓度下抑制DNA甲基化达50%以上,并且在1-10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的浓度范围内以浓度依赖性方式展现出抑制DNA甲基化的作用。因此,可以看到,化合物I-1具有通过抑制胶原蛋白基因的甲基化而增加原胶原蛋白水平的作用。

[0134] 制剂例:包含肽缀合抗坏血酸衍生物的化妆品组合物

[0135] 基于以上实验例,根据以下表中所示的组成制备包含根据本发明的实施例的肽缀合抗坏血酸衍生物的化妆品组合物。以下制剂例用于举例说明的目的而并不意图限制本发明的范围。

[0136] 制剂例1:皮肤软化剂的制备

[0137] 根据以下表5中所示的组成,制备包含根据实施例的肽缀合抗坏血酸衍生物的皮肤软化剂。

[0138] 表5

	相	组分	含量(%)
	水相	净化水	至 100
		保湿组分	10-25
		增稠剂	适量(q.s.)
		金属离子螯合剂	适量
	溶解相 (solubilized phase)	PEG-60氢化蓖麻油	0-2
		PEG-40氢化蓖麻油	0-2
		多元醇	0-10
		香料	适量
		乙醇	0-20
[0139]	附加相 I (additional phase I)	二丙二醇	0.23
		甘油	0.02
		油菜甾醇(<i>Brassica campestris sterol</i>)	0.05
		PEG-5油菜籽甾醇	0.05
		胆固醇	0.05
		鲸蜡醇聚醚-3 (Ceteth-3)	0.03
		鲸蜡醇聚醚-5 (Ceteth-5)	0.03
		1,2-己二醇	0.05
		氢化卵磷脂	0.05
		硬脂酰谷氨酸钠	0.02
		EDTA二钠	0.01
		辛基十二烷醇	0.25
		净化水	1.56
		肽缀合抗坏血酸衍生物	0.10
[0140]	附加相 II	防腐剂	适量
		其他添加剂	适量

[0141] 制备方法

[0142] (1) 将水相和溶解相中的每一个均匀地混合并且溶解。

[0143] (2) 将溶解相加入至水相并且混合,得到水包油型乳液。

[0144] (3) 然后,将溶解到包含溶解在其中的肽缀合抗坏血酸衍生物的相中的附加相I加入并且与所述乳液混合,然后将附加相II加入并且与所述乳液混合。

[0145] 制剂例2:洗剂的制备

[0146] 根据以下表6中所示的组成,制备包含根据实施例的肽缀合抗坏血酸衍生物的洗剂。

[0147] 表6

[0148]

相	组分	含量(%)
水相	净化水	至 100
	鲸蜡硬脂醇聚醚-6橄榄油酸酯(Cetareth-6 olivate)	0.1-3
	保湿组分	10-25
	增稠剂	适量
	金属离子螯合剂	适量
油相	PEG-100硬脂酸酯	0.1-1
	硬脂酸甘油酯	0.1-1
	聚山梨糖醇酯60	0.1-1
	鲸蜡醇	0.1-1
	山嵛醇	0.1-1
	角鲨烷	5-20
	生育酚乙酸酯	0.1-0.5
附加相 I	二丙二醇	0.23
	甘油	0.02

[0149]

	油菜甾醇	0.05
	PEG-5油菜籽甾醇	0.05
	胆固醇	0.05
	鲸蜡醇聚醚-3(Ceteth-3)	0.03
	鲸蜡醇聚醚-5(Ceteth-5)	0.03
	1,2-己二醇	0.05
	氢化卵磷脂	0.05
	硬脂酰谷氨酸钠	0.02
	EDTA二钠	0.01
	辛基十二烷醇	0.25
	净化水	1.56
	肽缀合抗坏血酸衍生物	0.10
附加相 II	香料	适量
	防腐剂	适量
	其他添加剂	适量

[0150] 制备方法

[0151] (1) 将水相和油相中的每一个加热、均匀地混合并且溶解。

[0152] (2) 在75℃下,将油相加入并且与水相混合以实现溶解。

[0153] (3) 接下来,将混合物冷却至50℃,然后将溶解到包含溶解在其中的肽缀合抗坏血酸衍生物的相中的附加相I加入并且与乳液混合,然后将附加相II加入并且与乳液混合。

[0154] 制剂例3:乳霜的制备

[0155] 根据以下表7中所示的组成,制备包含根据实施例的肽缀合抗坏血酸衍生物的皮肤洗剂。

[0156] 表7

[0157]	相	组分	含量(%)
	水相	净化水	至 100
		保湿组分	10-25
		增稠剂	适量
		金属离子螯合剂	适量
	油相	PEG-100硬脂酸酯	0.1-2
		硬脂酸甘油酯	0.1-2

[0158]		聚山梨糖醇酯60	0.1-2
		硬脂酸	0.1-2
		鲸蜡硬脂醇	0.1-2
		癸酸辛酸甘油三酯	10-30
		生育酚乙酸酯	0.1-0.5
	附加相 I	二丙二醇	0.23
		甘油	0.02
		油菜甾醇	0.05
		PEG-5油菜籽甾醇	0.05
		胆固醇	0.05
		鲸蜡醇聚醚-3(Ceteth-3)	0.03
		鲸蜡醇聚醚-5(Ceteth-5)	0.03
		1,2-己二醇	0.05
		氢化卵磷脂	0.05
		硬脂酰谷氨酸钠	0.02
		EDTA二钠	0.01
		辛基十二烷醇	0.25
		净化水	1.56
		肽缀合抗坏血酸衍生物	0.10
	附加相 II	香料	适量
		防腐剂	适量
		其他添加剂	适量

[0159] 制备方法

[0160] (1) 将水相和油相中的每一个加热、均匀地混合并且溶解。

[0161] (2) 在75℃下,将油相加入并且与水相混合以实现溶解。

[0162] (3) 接下来,将混合物冷却至50℃,然后将溶解到包含溶解在其中的肽缀合抗坏血酸衍生物的相中的附加相I加入并且与乳液混合,然后将附加相II加入并且与乳液混合。