

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **044414**

(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.08.25

(21) Номер заявки
202190017

(22) Дата подачи заявки
2019.06.11

(51) Int. Cl. **C07K 7/06** (2006.01)
A61K 38/00 (2006.01)
A61K 8/64 (2006.01)
C07K 7/08 (2006.01)

(54) ПЕПТИДЫ, ОБЛАДАЮЩИЕ ИНГИБИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТЬЮ В ОТНОШЕНИИ НЕЙРОНАЛЬНОГО ЭКЗОЦИТОЗА

(31) 18177586.7

(32) 2018.06.13

(33) EP

(43) 2021.03.17

(86) PCT/EP2019/065219

(87) WO 2019/238683 2019.12.19

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**АЦЬЕНДЕ КИМИКЕ РЬЮНИТЕ
АНДЖЕЛИНИ ФРАНЧЕСКО
А.К.РА.Ф. С.П.А. (IT)**

(56) EP-A1-2123673
EP-A1-2649985
WO-A2-2017165299
WO-A2-2013040142
WO-A1-2011119484
DATABASE UniParc [Online] 6 April 2016
(2016-04-06), Anonymous: XP121, retrieved from
Uniprot accession no. <https://www.uniprot.org/uniparc/UPI000B2FF>, CA9, Database accession no.
UPI000B2FFCA9, sequence
WO-A2-2010115141

(72) Изобретатель:
**Манчини Франческа (IT), Девеса
Гинер Исабель, Феррер Монтгель
Антонио, Фернандес Баллестер
Грегорио (ES), Мангано Джорджина,
Бартелла Кристина (IT)**

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) Изобретение относится к пептидам, способным ингибировать нейрональный экзоцитоз, и к продуктам, содержащим такие пептиды, в частности к фармацевтическим препаратам и косметическим средствам, применимым для улучшения состояний, расстройств и/или заболеваний кожи, опосредованных нейрональным экзоцитозом, таких как морщины, чрезмерное потоотделение, зуд, воспаление кожи, дерматит, атопия, псориаз, гиперреактивность сосудов, розацеа, угри, рост волос, заживление ран, мозоли, бородавки или состояния чувствительной кожи, такие как язвы и поражения кожи.

B1

044414

044414

B1

Изобретение относится к пептидам, способным ингибировать нейрональный экзоцитоз, и к продуктам, содержащим такие пептиды, в частности, к фармацевтическим и косметическим продуктам, применимым для улучшения состояния, расстройств и/или заболеваний кожи, опосредованных нейрональным экзоцитозом.

Уровень техники

Ацетилхолин (ACh) представляет собой быстродействующий позиционный нейромедиатор в нервно-мышечном соединении, в вегетативных ганглиях, иннервации желез и в различных участках центральной и периферической нервной системы. ACh содержится в секреторных пузырьках пресинаптических холинергических волокон и высвобождается в синаптическую щель, воздействуя на холинергические рецепторы постсинаптических мембран. Нейрональный экзоцитоз представляет собой Ca^{2+} -зависимый процесс, запускаемый потенциалом действия и управляемый белками семейства рецепторов растворимых белков присоединения чувствительного к N-этилмалеимиду фактора (SNARE). NSF (N-этилмалеимид-чувствительный фактор) представляет собой гексамерную АТФазу, необходимую для всех стадий внутриклеточного мембранного трафика. Выполняя свою роль в мембранном трафике, NSF рекрутируется к мембранам с помощью SNAP (растворимые белки присоединения NSF), которые, в свою очередь, рекрутируются комплексом белков SNARE (рецепторов SNAP), образованным во время слияния мембран. Этот комплекс образован одним везикулярным SNARE, синаптобrevином или ассоциированным с везикулами мембранным белком (VAMP), и двумя целевыми SNARE плазматической мембраны, называемыми синтаксином и SNAP25, которые участвуют в стыковке везикул и слиянии мембран с плазматической мембраной (Kasai et al., *Physiol Rev.*, (2012), 92: 1915-1964).

Опосредованные белковым комплексом SNARE стыковка и слияние везикул являются ключевыми элементами, контролирующими секрецию любого нейротрансмиттера (Purves et al., *Neuroscience*, 2nd edition, (2001)), поскольку они имеют идентичный молекулярный механизм. Среди них подобно ACh через SNARE-зависимый механизм высвобождаются серотонин, гистамин, ГАМК, глутамат, аспартат, АТФ, адреналин, норадреналин, дофамин, адреналин, норэпинефрин или нейропептиды (пептид, связанный с геном кальцитонина (CGRP), вещество P, нейрокинины, VIP, нейротрофины, эндорфины).

Расщепление белка SNARE ботулотоксинами (BoNT) нарушает слияние везикул и высвобождение нейротрансмиттеров (Binz et al., *Toxins (Basel)*, (2010), 2 (4): 665-682). На молекулярном уровне ботулотоксины BoNT/A, /C и /E расщепляют SNAP-25; BoNT/B, /D, /F и /G расщепляют VAMP. Только BoNT/C способен расщеплять как SNAP25, так и синтаксин (Schiavo et al., *Physiol Rev.* (2000); 80: 717-66). Поэтому, белки SNARE стали мишенями для терапевтических и/или косметических соединений и/или продуктов, используемых для лечения и/или профилактики состояний, вызванных высвобождением нейромедиаторов. Действительно, одобренные препараты на основе ботулинического токсина блокируют высвобождение нейромедиаторов из пресинаптических везикул за счет деактивации белков SNARE, в основном, SNAP-25 или VAMP (Zakin et al., *Toxicon* (2018), EP 2318033 A2, EP 1856139 A2, EP 1180524 A1 EP 123673 A1, WO 97/34620).

Кожа плотно взаимодействует с периферической нервной системой. Все больше данных указывает на то, что неврологическая система напрямую участвует во многих кожных процессах. Например, из-за ингибирования высвобождения ACh основным косметическим применением продуктов на основе ботулинического токсина является хорошо известный эффект против морщин, позволяющий расслабить лицевые мышцы. Тем не менее, в коже холинергические волокна обеспечивают иннервацию других нескольких дополнительных структур в покровной системе, включая потовые железы, волосные фолликулы, кровеносные сосуды и мышцы, такие как мышцы *agrector pili*. Действительно, производные ботулинического токсина используются экспериментально при ряде дерматологических показаний, которые включают гипергидроз, профилактику рубцов, воспаление кожи, заживление ран, покраснение лица, постгерпетическую невралгию, контроль кожного сала и зуд, с успешными результатами (Kim et al., *Toxins* (2017), 9, 403). Общий механизм, лежащий в основе этих новых показаний для применения, включает, помимо ACh, ингибирование высвобождения вещества P, CGRP, глутамата и гистамина или даже активацию тучных клеток.

Например, в дополнение к классической терморегуляторной гиперпотливости можно достичь улучшения при кожных заболеваниях с чрезмерным потоотделением, такие как дисгидротическая экзема или воспалительный дерматоз. Ингибирование высвобождения ACh предотвращает его прямое действие на потовые железы и гладкие мышцы, окружающие потовые железы (Swartling et al., *J. Am. Acad. Dermatol.* (2002), 47, 667-671; Wollina, U., *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* (2002), 16, 40-42). В этом отношении для ботулинического токсина было продемонстрировано благотворное влияние на дерматит или псориаз, кожные заболевания, которые усугубляются чрезмерным потоотделением, за счет уменьшения местного потоотделения (Zanchi et al., *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* (2008), 22, 431-436). Кроме того, последующее ингибирование высвобождения нейропептида, вещества P и/или CGRP снижает связанный зуд и расширение сосудов (Humm et al., *Exp. Neural.* (2000), 161, 361-372, Ishikawa. et al., *Jpn. J. Ophthalmol.* (2000), 44, 106-109), которые вызывают дискомфорт и ухудшают симптомы.

Ингибирование нейронального экзоцитоза уменьшает и предотвращает зуд при нескольких заболеваниях и в результате различных молекулярных механизмов. ACh опосредует зуд при зудящих заболева-

ниях кожи, таких как атопический дерматит (Hallett M., *Ann. Neural.* (2000), 48, 7-8). Вещество P связано с зудом и обострением за счет высвобождения гистамина при активации тучных клеток, а CGRP - за счет расширения сосудов. Поэтому, соответствующее нарушение высвобождения нейромедиаторов ботулиническим токсином снижает зуд, как гистаминергического, так и негистаминергического типа (Gazerani et al., *Br. J. Dermatol.* (2009), 161, 737-745). Пруритогенный зуд сопровождается воспалением кожи и подавлением нейронального экзоцитоза, что снижает нейрогенное воспаление, поэтому зуд при атопическом дерматите и псориазе уменьшается (Han et al., *Dermatol. Surg.* (2017); Ward et al., *J. Investig. Dermatol.* (2012), 132, 1927-1930; Saber et al., *Arch. Dermatol.* (2011), 147, 629-630; Gilbert et al., *J. Drugs Dermatol.* (2014), 13, 1407-1408; Gazerani et al., *Br. J. Dermatol.* (2009), 161, 737-745; Cao et al., *Neuroreport.* (2017), 28, 518-526; Ramachandran et al., *Toxins* (2018), 10, pii: E134). Аналогичным образом воспалительный дерматоз кожи, такой как розацеа, характеризующийся покраснением лица и эритемой, улучшается за счет блокады высвобождения ACh, вещества P и CGRP, поскольку уменьшаются кожная вазодилатация и местное воспаление кожи. (Eshghi et al., *Acta Med. Iran* (2016), 54, 454-457; Bloom et al., *Dermatol. Surg.* (2015), 41 (Suppl. 1), S9-S16; Geddoa et al., *Int. J. Dermatol.* (2013), 52, 1547-1550; Odo et al., *Dermatol. Surg.* 2011, 37, 1579-1583).

В придатках кожи, таких как сальные железы, ACh увеличивает синтез липидов в себоцитах, а ботулинический токсин значительно снижает выработку кожного сала у людей (Min et al., *Aesthet. Surg. J.* (2015), 35, 600-610; Rose et al., *Dermatol. Surg.* (2013), 39, 443-448). Следовательно, мышцы arrector pili и местные мускариновые рецепторы на сальных железах являются мишенями для нейромодуляторной регуляции посредством ингибирования высвобождения ACh.

Наконец, ингибирование высвобождения ACh можно использовать для профилактики и управления заживлением, и/или для контроля симптомов гипертрофических рубцов. Уменьшение местного высвобождения ACh обездвиживает мышцы, окружающие заживающие ткани, и снижает напряжение кожи. Этот процесс высвобождает заблокированные нервные волокна в келоиде, нейтрализуя связанный с этим зуд (Uyesugi et al., *Am J Phys Med Rehabil.* (2010), 89 (2): 153-155). В связи с этим было показано, что ботулотоксин ингибирует пролиферацию фибробластов, трансформирующий фактор роста-бета, коллаген I и III, миозин II и α -актин гладкой мускулатуры в келоидных фибробластах (Xiao et al., *Aesthet. Plast. Surg.* (2011), 35, 802-807; Chen et al., *Ann. Plast. Surg.* 2016, 77, e46-e49; Jeong al., *Plast. Reconstr. Surg.* (2015), 136, 171 e-178e; Wang, X. et al., *Aesthet. Surg. J.* (2014), 34, 154-159. Исходя из этого, потенциальные эффекты блокады нейронального экзоцитоза на рубцы, окружающие мышцы и фибробласты, предполагают ее применение для заживления ран и профилактики рубцов.

Таким образом, в целом, ингибирование и/или модуляция высвобождения нейротрансмиттеров полезны не только в случае морщин на лице и дисфункции моторных мышц, но также для профилактики, лечения или ухода при новых патологических состояниях, связанных с кожей, таких как чрезмерное потоотделение, зуд, воспаление кожи, дерматит, атопия, псориаз, гиперреактивность сосудов, розацеа, угри, рост волос, заживление ран, мозоли, бородавки или состояния чувствительной кожи, такие как язвы и поражения на коже.

Лечение на основе ботулинического токсина требует повторных инъекций и может вызвать потерю эффективности вследствие иммунной реакции. К другим побочным эффектам относятся цефалгии, тошнота, паралич или мышечная слабость, и дыхательная недостаточность. Кроме того, лабильность и нестабильность фармацевтических препаратов делают лечение ими дорогостоящим. Таким образом, требуется разработка более простых и более стабильных молекулярных структур для их замены. С этой целью пептиды, полученные из первичной структуры белков корового комплекса SNARE, способны нарушать высвобождение нейромедиаторов.

Синтетический гексапептид, полученный из первичной структуры аминоконцевого фрагмента SNAP25, широко используется для лечения и профилактики мимических морщин, как описано в EP1180524A1 и EP2123673A1. Этот пептид переходит на другую сторону мембраны и специфично взаимодействует с SNAP25, тем самым нарушая сборку комплекса SNARE и экзоцитоз нейротрансмиттеров.

Аналогичным образом, для ингибирования экзоцитоза нейронов так же были подобраны пептиды, имеющие свое происхождение из карбоксиконцевой области SNAP25, или из синаптобревина, или синтаксина, как описано в WO97/34620. Однако для оптимальной активности они должны иметь минимальную длину 20 аминокислот и максимальную длину 28 аминокислот. А их большая длина увеличивает производственные затраты и затрудняет дальнейшую разработку в качестве косметических и/или терапевтических средств.

Также опубликованы заявки, что другие пептиды, не полученные непосредственно из белков корового комплекса SNARE, с неизвестным механизмом, уменьшают экзоцитоз нейронов, как описано в WO2013153192A1 и WO2013070808A1. Аналогичным образом, пептиды, полученные из субъединицы C мембранного компонента V-АТФазы, описаны в WO2011/048443 как ингибиторы экзоцитоза нейронов, воздействуя на синаптобревин и проявляя потенциальный эффект против морщин.

В патенте США № 6169074, выданном Монталю с сотр. (Montal, et al.), раскрыты комбинации пептидов, которые мешают работе комплекса SNARE в синаптической щели нервно-мышечного соединения.

В патенте США № 6866856, выданном Лю с сотр. (Lu, et al.), описаны лимониды (экстракты алкалоидов цитрусовых), которые ингибируют высвобождение ацетилхолина в нервно-мышечном соединении скелетных мышц.

В патенте США № 7566464, выданном Белферу (Belfer), описана композиция для ухода за кожей, которая уменьшает мимические морщины на лице человека. Этот продукт содержит экстракт *Asmella olegasea*, который быстро расслабляет элементы сократительной мускулатуры и подавляет активность мимической мускулатуры лица на основе синергии укрепления дермы и подавления мышечных тканей, связанных с мимическими морщинами.

В патенте США № 7015192, выданном Блейнсу с сотр. (Blanes, et al.), показано, что пептиды из N-конца белка SNAP-25, который входит в состав комплекса SNARE, ингибируют высвобождение ацетилхолина. Базовая молекула, ацетилгексапептид-8 (также формально называемый ацетилгексапептидом-3 или ARGIRELINE®), как утверждается, конкурирует по эффективности с ботулиническим токсином, но снижает риски, связанные с введением последнего, а также стоимость производства.

Существуют дополнительные молекулы, регулирующие комплекс SNARE, которые также важны для экзоцитоза нейронов. Например, снапин представляет собой SNAP25-связывающий белок, который стабилизирует связь между синаптоагмином 1 и комплексом SNARE во время запускаемого Ca^{2+} экзоцитоза (Pardi et al., *Nat Neurosci.* (1999) 2:119-124; Buxton et al., *Biochem. J.* (2003) 375, 433-440). Удаление снапина не полностью устраняет высвобождение нейротрансмиттера, а скорее снижает возбуждающие постсинаптические токи на 70% (Pan et al., *Neuron.* (2009) 61:412-424), указывая на то, что снапин является вспомогательным модулятором экзоцитоза нейронов. Рекомбинантный карбоксильный конец снапина блокировал ассоциацию комплекса SNARE с синаптоагмином. Действительно, пептиды, полученные из последовательности карбоксильного конца снапина, нарушали сборку комплекса SNARE, тем самым нарушая экзоцитоз нейронов (Pardi et al., *Nat Neurosci.* (1999), 2:119-124). Только четыре 20-членных пептидных фрагмента, соответствующих C-концевому суперспиральному домену, только из положений 117-136, ингибировали экзоцитоз. Таким образом, снапин является потенциальной мишенью для разработки регуляторов экзоцитоза, а не полных ингибиторов, возможно, позволяя снизить нежелательные эффекты более сильнодействующих веществ.

В заключение, данное нововведение представляет собой альтернативу существующим потребностям и включает идентификацию новых пептидных последовательностей, которые способны снижать экзоцитоз нейронов.

Сущность изобретения

Заявитель неожиданно открыл пептиды, способные ингибировать или по меньшей мере снижать высвобождение нейротрансмиттеров, в частности, ацетилхолина и нейропептида CGRP, из нейронов.

Даже если точный молекулярный механизм еще полностью не выяснен и не подтвержден, и не будучи связанными какой-либо теорией, авторы изобретения полагают, что ингибирование или снижение экзоцитоза может быть связано с косвенной модуляцией образования комплекса SNARE через нарушение взаимодействия SNAP25.

Заявитель обнаружил, что пептиды, имеющие следующие SEQ ID NO: 1-5, обладают эффектом блокирования экзоцитоза нейронов, и, следовательно, такие пептиды способны ингибировать или по меньшей мере снижать высвобождение ацетилхолина из периферических нервных окончаний.

Seq. ID No. 1 HYWRELQYR

Seq. ID No. 2 MQVWLRMWIDYRAT

Seq. ID No. 3 RRVVLVNNIL

Seq. ID No. 4 LRVQMVNMFL

Seq. ID No. 5 WEQEFLRR

Заявитель также обнаружил, что эффект блокирования экзоцитоза нейронов также достигается с последовательностями, имеющими длину не более 20 аминокислот и содержащими вышеописанные SEQ ID NO: 1-5 или последовательность, имеющую по меньшей мере 70%, предпочтительно, по меньшей мере 80% и, более предпочтительно, по меньшей мере 90% идентичности по последовательности с любой одной из SEQ ID NO: 1-5.

Заявитель также обнаружил, что эффект блокирования экзоцитоза нейронов можно модулировать путем связывания с N-концом вышеописанных SEQ ID NO: 1-5 алкилкарбонильной группы, такой как, например, ацетильная группа, пальмитоильная группа или миристоильная группа, а также путем образования соли вышеописанных SEQ ID NO: 1-5 с подходящим анионом, таким как, например, хлорид, ацетат или трифторацетат.

Соответственно, первый аспект настоящего изобретения относится к пептидам, имеющим длину, равную или меньше 20 аминокислот, предпочтительно, равную или меньше 15 аминокислот, и содержащим любую одну из SEQ ID NO: 1-5, или последовательность, имеющую по меньшей мере 70%, предпочтительно, по меньшей мере 80% и, более предпочтительно, по меньшей мере 90% идентичности по последовательности с любой одной из SEQ ID NO: 1-5, и к их производному или соли.

Второй аспект настоящего изобретения относится к фармацевтической или косметической композиции, содержащей (i) пептид, имеющий длину, равную или меньше 20 аминокислот, предпочтительно, равную или меньше 15 аминокислот, и содержащий любую одну из SEQ ID NO: 1-5, или последовательность, имеющую по меньшей мере 70%, предпочтительно, по меньшей мере 80% и, более предпочтительно, по меньшей мере 90% идентичности по последовательности с любой одной из SEQ ID NO: 1-5, и его производное или соль, и (ii) по меньшей мере один фармацевтически или косметически приемлемый ингредиент.

Третий аспект настоящего изобретения относится к применению пептида, имеющего длину, равную или меньше 20 аминокислот, предпочтительно равную или меньше 15 аминокислот, и содержащего любую одну из SEQ ID NO: 1-5, или последовательность, имеющую по меньшей мере 70%, предпочтительно, по меньшей мере 80% и, более предпочтительно, по меньшей мере 90% идентичности по последовательности с любой одной из SEQ ID NO: 1-5, и его производного или соли для улучшения состояний, расстройств и/или заболеваний кожи, опосредованных нейрональным экзоцитозом.

Четвертый аспект настоящего изобретения относится к терапевтическому или нетерапевтическому способу улучшения состояний, расстройств и/или заболеваний кожи, опосредованных нейрональным экзоцитозом, включающему в себя местное применение фармацевтической или косметической композиции, содержащей (i) пептид, имеющий длину, равную или меньше 20 аминокислот, предпочтительно равную или меньше 15 аминокислот, и содержащий любую одну из SEQ ID NO: 1-5 или последовательность, имеющую по меньшей мере 70%, предпочтительно, по меньшей мере 80% и, более предпочтительно, по меньшей мере 90% идентичности по последовательности с любой одной из SEQ ID NO: 1-5, и его производное или соль, и (ii) по меньшей мере один фармацевтически или косметически приемлемый ингредиент.

В частности, состояния, нарушения и/или заболевания кожи, опосредованные нейрональным экзоцитозом, включают морщины, чрезмерное потоотделение, зуд, воспаление кожи, дерматит, атопию, псориаз, гиперреактивность сосудов, розацеа, угри, рост волос, заживление ран, мозоли, бородавки или состояния чувствительной кожи, такие как язвы и поражения на коже.

Дополнительный аспект настоящего изобретения относится к полинуклеотиду, который кодирует пептид, имеющий длину, равную или меньше 20 аминокислот, предпочтительно, равную или меньше 15 аминокислот, и содержащий любую одну из SEQ ID NO: 1-5, или последовательность, имеющую по меньшей мере 70%, предпочтительно, по меньшей мере 80% и, более предпочтительно, по меньшей мере 90% идентичности по последовательности с любой одной из SEQ ID NO: 1-5.

Подробное описание изобретения

Согласно первому аспекту настоящее изобретение относится к пептидам, имеющим длину, равную или меньше 20 аминокислот, предпочтительно, равную или меньше 15 аминокислот, и содержащим любую одну из SEQ ID NO: 1-5, или последовательность, имеющую по меньшей мере 70%, предпочтительно, по меньшей мере 80% и, более предпочтительно, по меньшей мере 90% идентичности по последовательности с любой одной из SEQ ID NO: 1-5, и к их производному или соли.

Предпочтительно, настоящее изобретение относится к пептиду, имеющему длину, равную или меньше 20 аминокислот, предпочтительно, равную или меньше 15 аминокислот, более предпочтительно, равную или меньше 10 аминокислот, и содержащую SEQ ID NO: 1, или последовательность, имеющую по меньшей мере 70%, предпочтительно, по меньшей мере 80% и, более предпочтительно, по меньшей мере 90% идентичности по последовательности с SEQ ID NO: 1, и к его производному или соли.

Предпочтительно, настоящее изобретение относится к пептиду, имеющему длину, равную или меньше 20 аминокислот, предпочтительно, равную или меньше 15 аминокислот, и содержащему SEQ ID NO: 2 или последовательность, имеющую по меньшей мере 70%, предпочтительно, по меньшей мере 80% и, более предпочтительно, по меньшей мере 90% идентичности по последовательности с SEQ ID NO: 2, и к его производному или соли.

Предпочтительно, настоящее изобретение относится к пептиду, имеющему длину, равную или меньше 20 аминокислот, предпочтительно, равную или меньше 15 аминокислот, более предпочтительно, равную или меньшую 10 аминокислот, и включающую SEQ ID NO: 3, или последовательность, имеющую по меньшей мере 70%, предпочтительно, по меньшей мере 80% и, более предпочтительно, по меньшей мере 90% идентичности по последовательности с SEQ ID NO: 3, и к его производному или соли.

Предпочтительно, настоящее изобретение относится к пептиду, имеющему длину, равную или меньше 20 аминокислот, предпочтительно, равную или меньше 15 аминокислот, более предпочтительно, равную или меньшую 10 аминокислот, и включающую SEQ ID NO: 4, или последовательность, имеющую по меньшей мере 70%, предпочтительно, по меньшей мере 80% и, более предпочтительно, по меньшей мере 90% идентичности по последовательности с SEQ ID NO: 4, и к его производному или соли.

Предпочтительно, настоящее изобретение относится к пептиду, имеющему длину, равную или меньше 20 аминокислот, предпочтительно, равную или меньше 15 аминокислот, более предпочтительно, равную или меньшую 10 аминокислот, и включающую последовательность SEQ ID NO: 5, или последо-

вательность, имеющую по меньшей мере 70%, предпочтительно, по меньшей мере 80% и, более предпочтительно, по меньшей мере 90% идентичности по последовательности с SEQ ID NO: 5, и к его производному или соли.

Насколько известно перечисленным авторам изобретения и заявителю данной заявки, ни один из описанных в настоящем документе пептидов не известен в данной области техники до даты приоритета настоящей заявки. Однако любой пептид, известный в данной области до даты приоритета настоящей заявки, попадающий в объем настоящего изобретения, соответственно исключается из настоящего документа.

Аббревиатуры аминокислотных последовательностей, используемых в настоящем документе, соответствуют номенклатуре IUPAC-IUB, приведенной в нижеследующей табл. А.

Таблица А

Аланин	Ala	A	Аргинин	Arg	R
Аспарагин	Asn	N	Аспарагиновая кислота	Asp	D
Цистеин	Cys	C	Глутаминовая кислота	Glu	E
Глутамин	Gln	Q	Глицин	Gly	G
Гистидин	His	H	Изолейцин	Ile	I
Лейцин	Leu	L	Лизин	Lys	K
Метионин	Met	M	Фенилаланин	Phe	F
Пролин	Pro	P	Серин	Ser	S
Треонин	Thr	T	Триптофан	Trp	W
Тирозин	Tyr	Y	Валин	Val	V

"Процент идентичности последовательностей" в отношении к пептидной последовательности относится к проценту остатков, которые идентичны в двух последовательностях. Процент идентичности последовательностей (%SI) рассчитывается по следующей формуле:

$$\%SI = (nt - nd) \times 100 / nt$$

где nt - это количество остатков в основной последовательности, а nd - это общее количество неидентичных остатков в противопоставляемой последовательности при выравнивании таким образом, чтобы максимальное количество аминокислот было идентичным. Соответственно, последовательность RKVVLVNQJL будет иметь 80% идентичности по последовательности с SEQ ID NO: 3 RRVVLVNNIL (nd=2 и nt=10).

Пептид по изобретению может иметь по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90% и по меньшей мере 95% идентичности по последовательности с эталонной последовательностью при оптимальном выравнивании. Оптимальное выравнивание последовательностей можно проводить различными известными способами и с помощью компьютеризированной реализации известных алгоритмов (например, BLAST, TFASTA, BESTFIT, например, в пакете программного обеспечения Wisconsin Genetics, выпуск 7.0, Genetics Computer Group, Мэдисон, Висконсин). Также может использоваться алгоритм BLAST (Altschul et al., Mol. Biol. (1990), 215, 403-410), программное обеспечение для которого можно получить через Национальный центр биотехнологической информации (www.ncbi.nlm.nih.gov/).

Вариация аминокислотной последовательности в пептидах, содержащих SEQ ID NO: 1-5 по настоящему изобретению, включает консервативную замену аминокислот, которая не влияет на активность пептида. Замены, способные сохранять активность пептида, выбираются на основе (а) эффективности в сохранении структуры пептидного остова в области замещения, такой как листовые или спиральные трехмерные структуры, (b) эффективности в сохранении электрического заряда или гидрофобности молекулы в целевой области, или (с) эффективности сохранения основной части боковой цепи.

Аминокислоты классифицируются в соответствии с общими свойствами боковой цепи, как описано в нижеследующей табл. В.

Таблица В

гидрофобность	Норлейцин, Met, Ala, Val, Leu, Ile;
нейтральная гидрофобность	Cys, Ser, Thr;
кислотность	Asp, Glu;
основность	Asn, Gln, His, Lys, Arg;
остатки, которые влияют на ориентацию цепи	Gly, Pro;
ароматичность	Trp, Tyr, Phe.

Примеры консервативной замены относятся к группе, состоящей из основных аминокислот (аргинин, лизин и гистидин), кислых аминокислот (глутаминовая кислота и аспарагиновая кислота), полярных аминокислот (глутамин и аспарагин), гидрофобных аминокислот (лейцин, изолейцин, валин и метионин), ароматических аминокислот (фенилаланин, триптофан и тирозин) и небольших аминокислот (глицин, аланин, серин и треонин).

В данной области техники известны аминокислотные замены, которые обычно не изменяют удельную активность.

Наиболее часто встречающимся заменами являются: Ala/Ser, Val/Ile, Asp/Glu, Thr/Ser, Ala/Gly, Ala/Thr, Ser/Asn, Ala/Val, Ser/Gly, Tyr/Phe, Ala/Pro, Lys/Arg, Asp/Asn, Leu/Ile, Leu/Val, Ala/Glu, Asp/Gly и противоположные изменения. Другой пример консервативных замен показан в нижеследующей табл. С.

Таблица С

Исходная аминокислота	Возможная замена	Предпочтительная замена
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; норлейцин	Leu
Leu (L)	норлейцин; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; норлейцин	Leu

Пептид по настоящему изобретению может находиться в форме модифицированного пептида, N-или/и С-конец которого химически модифицирован или защищен органическими соединениями.

Термин "производное" или "его производное", используемый в настоящем документе по отношению к пептиду по настоящему изобретению, означает пептид, у которого его N- и/или C-конец химически модифицирован или защищен органическим соединением.

Примеры модификации включают фосфорилирование, гликозилирование, ацилирование (включая ацетилирование, лауроилирование, миристилирование, пальмитоилирование), алкилирование, карбоксилирование, гидроксिलирование, гликирование, биотинилирование, убиквитинилирование и амидирование.

Предпочтительно, пептид по настоящему изобретению может быть модифицирован на своем N-конце, более предпочтительно, с помощью ацилирования, включая ацетилирование, лауроилирование, миристилирование и пальмитоилирование. N-концевые ацетильные и пальмитоильные производные пептида являются предпочтительным аспектом настоящего изобретения.

Термин "соль" или "его соль", используемый в настоящем документе по отношению к пептиду по настоящему изобретению, означает соль пептида или его производного с подходящей кислотой или основанием.

Типичные примеры кислот включают, например, соляную кислоту, уксусную кислоту, трифторуксусную кислоту, щавелевую кислоту, малеиновую кислоту, метансульфоновую кислоту, паратолуолсульфоновую кислоту, янтарную кислоту, лимонную кислоту, винную кислоту и молочную кислоту.

Типичные примеры оснований включают, например, моно-, ди- и триалкиламины, например метиламин, диметиламин, триметиламин, этиламин, диэтиламин, триэтиламин, пропиламин, дипропиламин, трипропиламин, этилендиамин, моно-, ди- и триалканоламины, например моноэтаноламин, диэтаноламин и триэтаноламин; гуанидин, морфолин, пиперидин, пирролидин, пиперазин, 1-бутилпиперидин, 1-этил-2-метилпиперидин, N-метилпиперазин, 1,4-диметилпиперазин, N-бензилфенилэтиламин, N-метилглюкозамин и трис-(гидроксиметил)аминометан.

Согласно настоящему изобретению, предпочтительно используется ацетатная или трифторацетатная соль пептида или его производного.

В зависимости от своей длины пептид по настоящему изобретению может быть синтезирован способом, хорошо известным в данной области, например, с помощью автоматического синтезатора пептидов, или получен с помощью технологии геной инженерии. Например, слитый ген, кодирующий слитый белок, включающий слитого партнера и пептид по настоящему изобретению, получают с помощью геной инженерии и затем трансформируют в клетку-хозяина для экспрессии слитого белка. После этого пептид по настоящему изобретению отщепляют и отделяют от слитого белка с использованием протеазы или соединения, чтобы получить желаемый пептид. С этой целью между полинуклеотидами, кодирующими слитого партнера и пептид по настоящему изобретению может быть вставлена последовательность ДНК, кодирующая аминокислотные остатки, которые могут быть расщеплены протеазой, такой как фактор Ха или энтерокиназа, или соединением, таким как CNBr или гидроксиламин.

Пептиды по настоящему изобретению могут существовать в виде стереоизомеров или смесей стереоизомеров; например, аминокислоты, из которых они состоят, могут иметь L-конфигурацию, D-конфигурацию или могут быть рацемическими независимо

друг от друга. Следовательно, можно получить изомерные смеси, а также рацематы или диастереомерные смеси или чистые диастереомеры или энантиомеры, в зависимости от количества асимметричных атомов углерода и от того, какие изомеры или изомерные смеси присутствуют. Предпочтительные структуры пептидов по настоящему изобретению представляют собой чистые изомеры, т.е. энантиомеры или диастереомеры. Наиболее предпочтительные структуры пептидов по настоящему изобретению включают аминокислоты, имеющие L-конфигурацию. Если не указано иное, то считается, что если указано, что одна аминокислота может быть Ala, подразумевается, что ее выбирают из L-Ala-, D-Ala- или рацемической или нерацемических смесей обеих.

Косметическая композиция по настоящему изобретению содержит по меньшей мере один из вышеописанных пептидов вместе с по меньшей мере одним косметически приемлемым ингредиентом.

Фармацевтическая композиция по настоящему изобретению содержит по меньшей мере один из вышеописанных пептидов вместе по меньшей мере с одним фармацевтически приемлемым ингредиентом.

Фармацевтическая или косметическая композиция по настоящему изобретению может содержать количество пептида или его производного и/или соли в диапазоне от 0,0000001% до 20 вес.%, предпочтительно, от 0,000001% до 15 вес.%, более предпочтительно, от 0,0001% до 10 вес.% и еще более предпочтительно, от 0,0001% до 5 вес.%.

Косметическая композиция по настоящему изобретению может содержать множество других необязательных компонентов, подходящих для того, чтобы сделать такие композиции более косметически или эстетически приемлемыми или предоставить им дополнительные преимущества при использовании. Такие обычные необходимые ингредиенты хорошо известны специалистам в данной области. К ним относятся любые косметически приемлемые ингредиенты, такие как содержащиеся в Международном словаре и справочнике по косметическим ингредиентам CTFA, 7-е изд., под ред. Веннингера и МакИвена

(The Cosmetic, Toiletry и Fragrance Association, Inc., Вашингтон, округ Колумбия, 1997). Используемый в настоящем документе термин "косметически приемлемый" означает вещество (например, соединение или композицию), которое подходит для использования в контакте с кожей, волосами или другим подходящим субстратом, как определено ниже.

Косметически приемлемые ингредиенты, используемые в настоящем изобретении, включают косметически приемлемые носители, летучие и нелетучие растворители, воду и другие дополнительные ингредиенты, такие как поверхностно-активные вещества, консерванты, абсорбенты, хелатирующие агенты, смазки, увлажнители, гидрофобизаторы, антиоксиданты, поглотители УФ-излучения, вещества, снижающие раздражение, витамины, редкоземельные металлы, противомикробные агенты, отдушки, красители и красящие ингредиенты и/или структурирующие агенты.

Выражение "косметически приемлемый носитель", используемое в данном документе, означает один или несколько совместимых твердых или жидких наполнителей, разбавителей, увеличителей объема и т.п., которые являются косметически приемлемыми, как определено выше. Термин "совместимый", используемый в настоящем документе, означает, что компоненты композиций по настоящему изобретению могут быть объединены с исходными активными веществами по настоящему изобретению и друг с другом таким образом, чтобы не было взаимодействия, которое могло бы существенно снизить эффективность композиции при обычном применении.

Тип носителя, используемого в настоящем изобретении, зависит от типа желаемого продукта. Композиции, используемые в настоящем изобретении, могут соответствовать множеству форм продукции. Они включают, но не ограничиваются ими, лосьоны, кремы, гели, карандаши, спреи, мази, пасты, муссы и косметические средства (например, твердые, полутвердые или жидкие макияжные средства, включая основы).

Эти формы продукции могут включать несколько типов носителей, включая, но не ограничиваясь ими, растворы, аэрозоли, эмульсии (включая масло в воде или вода в масле), гели, твердые вещества и липосомы.

Композиции по настоящему изобретению могут содержать воду в различных количествах в зависимости от формы композиции. Количество воды, если она присутствует, может находиться в диапазоне от менее 1% до более чем 99 вес.% по отношению к весу всей композиции. Водную композицию по настоящему изобретению специально составляют в виде водных лосьонов или эмульсий (вода в масле или масло в воде, или в виде мультиэмульсий (тройных эмульсий: масло в воде в масле или вода в масле в воде). Такие эмульсии известны и описаны, например, С. FOX в "Cosmetics and Toiletries". - ноябрь 1986. - т. 101. - с. 101-112.

Твердые композиции, спреи и кремы типа вода в масле обычно содержат количество воды менее 10%, более предпочтительно, менее 5 вес.% по отношению к общему весу композиции. Шариковые композиции, водные композиции и дезодорант обычно содержат количество воды от примерно 15% до примерно 99%, более предпочтительно, от примерно 30% до примерно 90%, еще более предпочтительно, от примерно 50% до примерно 80 вес.% относительно общего веса композиции.

Композиции по настоящему изобретению также могут содержать силиконы. Если они присутствуют, то силиконы обычно будут содержаться на уровне от примерно 30% до примерно 85%, более предпочтительно, от примерно 40% до примерно 75%, еще более предпочтительно, от примерно 50% до примерно 65 вес.% относительно общего веса композиции.

Используемые в настоящем изобретении силиконы предпочтительно представляют собой линейные или циклические силиконы, содержащие от 2 до 7 атомов кремния, причем эти силиконы необязательно замещены алкильными или алкоксигруппами, содержащими от 1 до 10 атомов углерода. Подходящие силиконы включают додекаметилциклогексасилоксан, циклопентасилоксан, декаметилциклопентасилоксан, циклотетрасилоксан, гептаметилоктилтрисилоксан, гексаметилдисилоксан, декаметилтетрасилоксан, додека-метилпентасилоксан, октаметилтетрасилоксан и их смеси.

Композиции по настоящему изобретению могут содержать один или несколько летучих растворителей. Если они присутствуют, то летучий растворитель или смесь растворителей обычно будут содержаться на уровне от примерно 10% до примерно 90%, более предпочтительно, от примерно 25% до примерно 75%, еще более предпочтительно, от примерно 35% до примерно 65 вес.% относительно общего веса композиции. Растворители, используемые в настоящем документе, предпочтительно, представляют собой летучие органические растворители.

Используемый в настоящем документе термин "летучие" относится к веществам со значительным давлением пара в условиях окружающей среды, как понятно специалистам в данной области.

Летучие растворители для использования в настоящем изобретении, предпочтительно, будут иметь давление пара примерно 2 кПа или более, более предпочтительно, примерно 6 кПа или более при 25°C. Летучие растворители для использования в настоящем изобретении, предпочтительно, будут иметь точку кипения при нормальной атмосфере (1 атм) менее примерно 150°C, более предпочтительно, менее примерно 100°C, еще более предпочтительно, менее примерно 90°C, еще более предпочтительно, менее примерно 80°C.

Предпочтительно, летучие растворители для использования в настоящем документе будут относительно непахучими и безопасными для использования на коже человека. Подходящие летучие растворители включают, но не ограничиваются ими, спирты C1-C4, летучие силиконы и их смеси. Предпочтительными летучими растворителями являются спирты C1-C4 и их смеси. Более предпочтительным для использования в настоящем документе является этанол.

Композиции по настоящему изобретению могут также содержать один или несколько нелетучих растворителей. Если они присутствуют, то нелетучий растворитель или смесь растворителей обычно будут содержаться на уровне от примерно 1% до примерно 20%, более предпочтительно, от примерно 2% до примерно 10%, еще более предпочтительно, от примерно 3% до примерно 5 вес.% относительно общего веса композиции. Подходящие нелетучие растворители включают, но не ограничиваются ими, бензилбензоат, цетеариловый спирт, цетиловый спирт, диэтилфталат, изопропилмирикат, диметикон, каприлметикон и их смеси.

В композициях по настоящему изобретению могут присутствовать несколько других дополнительных ингредиентов. Они включают, но не ограничиваются ими, гидрофильные полимеры, выбранные из полиэтиленгликолей (PEG), поливинилпирролидонов (PVP), гидроксипропилметилцеллюлозы (HPMC) и поллоксамеров; УФ-стабилизаторы, такие как бензофенон-3; антиоксиданты, такие как токоферилацетат; консерванты, такие как феноксиэтанол, бензиловый спирт, метилпарабен, пропилпарабен; агенты, регулирующие pH, такие как молочная кислота, лимонная кислота, цитрат натрия, янтарная кислота, фосфорная кислота, гидроксид натрия, карбонат натрия; дезодоранты и противомикробные средства, такие как фарнезол, фенолсульфонат цинка и этилгексилглицерин; увлажнители, такие как трибегенин, глицерин; агенты кондиционирования кожи, такие как аллантоин; охлаждающие агенты, такие как триметилпропилбутанамид и ментол; ингредиенты для кондиционирования волос, такие как пантенол, пантетин, пантотенин, пантенилэтиловый эфир и их комбинации; пропелленты, такие как пропан, изобутан, бутан и изобутен; общие соли, такие как ацетат калия и хлорид натрия и их смеси; отдушки и красители.

Если они присутствуют, то эти дополнительные ингредиенты, предпочтительно, будут присутствовать на уровне менее 10%, более предпочтительно, менее 5 вес.% относительно общего веса композиции.

Предпочтительно, фармацевтическую композицию по настоящему изобретению изготавливают в подходящих лекарственных формах, содержащих эффективное количество по меньшей мере одного из вышеописанных пептидов вместе по меньшей мере с одним фармацевтически приемлемым ингредиентом.

Примерами подходящих лекарственных форм являются таблетки, капсулы, таблетки с покрытием, гранулы, растворы и сиропы для перорального введения; растворы, мази и кремы для местного применения; лекарственные пластыри для трансдермального введения; суппозитории для ректального введения и инъекционные стерильные растворы. Другими подходящими лекарственными формами являются формы с замедленным высвобождением и формы на основе липосом для перорального, инъекционного или трансдермального введения.

Как описано в настоящем документе, фармацевтическая композиция по настоящему изобретению содержит по меньшей мере один из вышеописанных пептидов вместе с фармацевтически приемлемым эксципиентом, который в контексте настоящего изобретения включает в себя любые растворители, разбавители или другие наполнители, вспомогательные вещества для дисперсии или суспензии, поверхностно-активные агенты, изотонические агенты, загустители или эмульгирующие агенты, консерванты, твердые связующие вещества, смазывающие вещества и т.п., в зависимости от конкретной желаемой лекарственной формы.

Некоторые примеры веществ, которые могут служить в качестве фармацевтически приемлемого эксципиента, включают, но не ограничиваются ими, сахара, такие как лактоза, глюкоза и сахароза; крахмалы, такие как кукурузный крахмал и картофельный крахмал; целлюлозу и ее производные, такие как карбоксиметилцеллюлоза натрия, этилцеллюлоза и ацетат целлюлозы; порошкообразный трагакант; солод; желатин; тальк; эксципиенты, такие как масло какао и воски для суппозиторий; масла, такие как арахисовое масло, хлопковое масло, сафлоровое масло, кунжутное масло, оливковое масло, кукурузное масло и соевое масло; гликоли, такие как пропиленгликоль; сложные эфиры, такие как этилолеат и этиллаурат; агар; буферные агенты, такие как гидроксид магния и гидроксид алюминия; альгиновая кислота; апиригенная вода; изотонический физиологический раствор; раствор Рингера; этиловый спирт и фосфатные буферные растворы, другие нетоксичные совместимые смазывающие вещества, такие как лаурилсульфат натрия и стеарат магния, красители, антиадгезионные средства, покрывающие агенты, подсластители, ароматизаторы и отдушки, консерванты и антиоксиданты.

Термины "фармацевтически приемлемый" и "физиологически приемлемый" предназначены для обозначения, без какого-либо конкретного ограничения, любого вещества, подходящего для изготовления фармацевтической композиции для введения живому существу.

Лекарственные формы могут также содержать другие традиционные ингредиенты, такие как консерванты, стабилизаторы, поверхностно-активные вещества, буферы, соли для регулирования осмотического давления, эмульгаторы, подсластители, красители, ароматизаторы и т.п.

Фармацевтические композиции по настоящему изобретению можно вводить перорально, парентерально, с помощью ингаляционного спрея, местно, ректально, назально, буккально, вагинально или через

имплантированный резервуар. Используемый в настоящем документе термин парентеральный включает методики подкожной, внутриможной, внутривенной, внутримышечной, внутрисуставной, интрасиновиальной, внутригрудинной, интратекальной, внутриочаговой и внутричерепной инъекции или инфузии.

Фармацевтические композиции по настоящему изобретению также можно вводить с помощью назальных аэрозоля или ингаляции или доставлять путем имплантации (например, хирургическим путем), например, с помощью имплантируемого или постоянного устройства, такого как стент.

Лекарственные формы фармацевтической композиции по настоящему изобретению могут быть изготовлены методами, известными химику-фармацевту, и включают смешивание, гранулирование, прессование, растворение, стерилизацию и т.п.

Пептиды по настоящему изобретению способны ингибировать или по меньшей мере снижать высвобождение нейротрансмиттеров, в частности, ацетилхолина и нейропептида CGRP из нейронов.

Соответственно, дополнительный аспект настоящего изобретения относится к применению по меньшей мере одного из вышеописанных пептидов и их производного или соли для улучшения состояний, расстройств и/или заболеваний кожи, опосредованных нейрональным экзоцитозом.

Как обсуждалось выше, это свойство можно использовать не только для лечения морщин на лице и дисфункции моторных мышц, но также для уменьшения, профилактики или для лечения нескольких состояний, связанных с кожей, где задействовано высвобождение нейрональных везикул, таких как чрезмерное потоотделение, зуд, воспаление кожи, дерматит, атопия, псориаз, гиперреактивность сосудов, розацеа, угри, рост волос, заживление ран, мозоли, бородавки или состояния чувствительной кожи, такие как язвы и поражения на коже.

Другими словами, состояния, нарушения и/или заболевания кожи, опосредованные нейрональным экзоцитозом, включают морщины на лице, дисфункцию моторных мышц, чрезмерное потоотделение, зуд, воспаление кожи, дерматит, атопию, псориаз, гиперреактивность сосудов, розацеа, угри, рост волос, заживление ран, мозоли, бородавки или состояния чувствительной кожи, такие как язвы и поражения на коже, и т.п.

Соответственно, настоящее изобретение также относится к терапевтическому или нетерапевтическому способу улучшения состояний, расстройств и/или заболеваний кожи, опосредованных нейрональным экзоцитозом, в частности, для уменьшения морщин, чрезмерного потоотделения, зуда, кожного воспаления, дерматита, атопии, псориаза, гиперреактивности сосудов, розацеа, угрей, роста волос, заживления ран, мозолей, бородавок или состояний чувствительной кожи, таких как язвы и поражения на коже, включая местное применение фармацевтической или косметической композиции, содержащей (i) по меньшей мере один из вышеописанных пептидов и их производных или солей, и (ii) по меньшей мере один фармацевтически или косметически приемлемый ингредиент.

Дополнительный аспект настоящего изобретения относится к полинуклеотиду, который кодирует по меньшей мере один из вышеописанных пептидов.

Вышеуказанный полинуклеотид позволяет получать пептиды по настоящему изобретению в больших количествах. Например, культивирование векторов, которые включают полинуклеотиды, кодирующие пептиды, позволяет получать пептиды в больших количествах.

Полинуклеотид представляет собой молекулу нуклеиновой кислоты, которая может представлять собой естественные или искусственные молекулы ДНК или РНК, одноцепочечные или двухцепочечные. Молекула нуклеиновой кислоты может представлять собой одну или несколько нуклеиновых кислот одного типа (например, имеющих одинаковую нуклеотидную последовательность) или нуклеиновых кислот разных типов. Молекулы нуклеиновых кислот включают одну или несколько ДНК, кДНК, ДНК-ловушку, РНК, киРНК, миРНК, кшРНК, мвРНК, мякРНК, мяРНК, ПНК, антисмысловый олигомер, плазмиду и другие модифицированные нуклеиновые кислоты, но не ограничиваются ими.

Нижеследующие примеры предназначены для лучшей иллюстрации настоящего изобретения, но не ограничивают его.

Примеры

Пример 1. Химический синтез.

Все пептиды были синтезированы с амидированным С-конца с использованием стандартного твердофазного Fmoc-способа (Perez de la Vega et al., *Molecules* (2010), 15:4924-4933; Behrendt et al., *J. Pept. Sci.* (2016), 22(1):4-27; Mäde et al., *Beilstein J. Org. Chem.* (2014), 10:1197-1212). Синтез пептидов по изобретению, смесей и/или их косметически приемлемых солей можно проводить обычными способами, известными в предшествующем уровне техники, такими как способы твердофазного пептидного синтеза, ферментативный синтез или любая комбинация (Bondazky et al., *Int. J. Pept. Protein Res.* (1993), 42 (1): 10-3).

Все способы синтеза проводили с Kromasil-C18-HPLC (5 мкм, 4,6×250 мм). После этого пептиды элюировали линейными градиентами ацетонитрила (CH₃CN) с трифторуксусной кислотой (TFA) (градиент: 5-55% В за 2 мин, поток: 1 мл/мин, элюент А: 100% H₂O+0,1% TFA; элюент В: 100% CH₃CN+0,1% TFA). Детекцию пептидов проводили путем измерения оптической плотности при 220 нм. Группу Fmoc удаляли 20%-ным раствором пиперидина/DMF в течение 30-минутной реакции. Промывки между ста-

диями проводили DMF (5 раз). Все реакции синтеза и промывки проводили при 25°C. HPLC-анализ полученных пептидов показал чистоту, превышающую 80% во всех случаях. Идентичность полученных пептидов подтверждали с помощью ESI-MS.

Способ введения N-концевой ацетильной группы в пептидилные смолы: 1 ммоль (1 экв.) пептидиловых смол обрабатывали 25 экв. предварительно растворенного уксусного ангидрида в присутствии 25 экв. DIEA, используя 5 мл DMF в качестве растворителя. После 30 мин реакции пептидные смолы промывали DMF (1 мин×5), DCM (1 мин×4) и диэтиловым эфиром (1 мин×4). В конце, пептидиловые смолы сушили в вакууме.

Способ введения N-концевой пальмитоильной группы в пептидилные смолы: 3 ммоль (3 экв.) предварительно растворенной пальмитиновой кислоты вводили в пептидилные смолы в присутствии 3 экв. FITBU и 6 экв. NMM. Им давали прореагировать в течение 30-60 мин, используя DMF в качестве реагента. После этого смолы промывали 3 раза DMF.

Процесс отщепления от полимерного носителя пептидилных смол: высушенные пептидилные смолы обрабатывали TFA:TIS:H₂O (95:2,5:2,5) в течение 2 ч при 25°C при вибрации.

Пример 2. Ингибирование пептидами по изобретению высвобождения CGRP на культивируемых сенсорных нейронах.

Индукция высвобождения пептида, связанного с геном кальцитонина (CGRP) с помощью капсаицина, дает возможность прямого измерения экзоцитоза нейронов (Meng J. et al., J. Cell. Sci. (2007) 15; 120(Pt 16):2864-74, and Meng J. et al., Mol. Neurobiol. (2014); 50(2):574-8).

Тестируемые пептиды оценивали путем измерения их способности ингибировать индуцированное высвобождение CGRP на пептидергических сенсорных нейронах. Ганглии дорсальных корешков высевали (50 000 клеток на лунку) в 96-луночный планшет, предварительно покрытый поли-L-лизин и ламином. Через 48 ч после посева клетки инкубировали со Сбалансированным раствором солей Хэнкса, содержащим пептиды по изобретению в концентрации 20, 50 или 100 мМ, в течение 1 ч. Затем клетки стимулировали в течение 10 мин 1 пМ капсаицином при 37°C. Затем содержание CGRP определяли в супернатантах с помощью колориметрического анализа CGRP EIA (Spi-Bio Inc), следуя инструкциям производителя. Измерения абсорбции (405 нм) стандартизировали относительно максимального сигнала, детектируемого при стимуляции капсаицином клеткок, обработанных носителем. Значения ингибирования высвобождения CGRP рассчитывали в процентах с учетом максимального сигнала для индуцированного капсаицином высвобождения и минимального сигнала для нестимулированных клеток. В табл. D приведены значения ингибирования активности M3, полученные для пептидов по изобретению.

Таблица D

Пептид	Последовательность	N-концевое производное	% ингибирования высвобождения CGRP		
			100 мкМ	50 мкМ	20 мкМ
Seq. ID No. 1	HYWRELQYR	ацетил	39,1	-	10,1
Seq. ID No. 2	MQVWLRMWIDYRAT	ацетил пальмитоил	55,3	53,9	49,3 35,5
Seq. ID No. 3	RRVVLVNNIL	пальмитоил		74,8	34,0
Seq. ID No. 4	LRVQMVNMFL	ацетил	77,4		14,2

Пептиды ингибировали вызванное капсаицином высвобождение CGRP в диапазоне 10-50% при 20 мкМ, 50-75% при 50 мкМ для N-концевых пальмитоилированных и 40-77% при 100 пМ для N-концевых ацетилированных.

Пример 3. Ингибирование высвобождения ацетихолина пептидами по изобретению в клеточной линии нейробластомы.

Для определения эффектов соединения по изобретению на высвобождение ацетилхолина использовали линию клеток нейробластомы человека (50 000 клеток/лунку). Клетки дифференцировались по фенотипу холинергических нейронов в течение 4 дней. Затем клетки предварительно инкубировали в течение 60 мин с соединениями (от 0,1 до 100 мкМ) в виде ацетилированной или пальмитоилированной фор-

мы и конъюгировали с трифторацетатной (TFA) или ацетатной солью. После этого высвобождение ацетилхолина индуцировали деполяризацией мембраны, вызванной 15-минутной инкубацией с 50 мМ KCl. Уровень ацетилхолина в супернатантах определяли количественно с помощью набора для анализа Amplex® Red Acetylcholine Assay Kit (ThermoFisher), следуя инструкциям производителя. Ацетилхолин ферментативно трансформируется с образованием H₂O₂, что дает количественный флуоресцентный сигнал. Флуоресценцию (возбуждение 530 нм/эмиссия 590 нм) измеряли на оборудовании FluorStar. Содержание ацетилхолина нормализовали на общее содержание белка с использованием ВСА-анализа (Pierce) в соответствии с инструкциями производителя. Измерения флуоресценции нормализовали по максимальному сигналу, детектируемому при стимуляции KCl в клетках, обработанных носителем. Нарушение экзоцитоза везикул соединениями изобретения приводит к уменьшению высвобождения ацетилхолина (табл. E).

Таблица E

Пептид	Последовательность	N-концевое производное	% ингибирования высвобождения Ach		
			мкМ	TFA	ацетат
Seq. ID No. 1	HYWRELQYR	ацетил	100	65,9	-
			50	33,6	-
			10	87,9	55,9
			1	-	27,9
			0,1	-	42,2
		пальмитоил	50	75,9	-
			10	49,4	87,5
			5	7,9	-
			1	-	81,3
			0,1	-	42,9
Seq. ID No. 2	MQVWLRMWIDYRAT	ацетил	20	10,9	-
			10	78,8	55,8
			5	76,2	-
			1	-	41,0
			0,1	-	39,6
		пальмитоил	50	20,6	-
			10	-35,1	-
			5	-46,1	-
Seq. ID No. 3	RRVVLVNNIL	пальмитоил	50	82,8	-
			10	81,8	86,7
			5	75,4	-
			1	-	92,5
			0,1	-	57,0
Seq. ID No. 4	LRVQMVNMFL	ацетил	100	6,8	-
			50	58,9	-
			10	84,3	-
		пальмитоил	50	83,0	-

		10	46,0	-
		5	26,4	-
		100	81,6	-
		50	51,5	-
	ацетил	10	52,8	-
		1	22,0	-
		0,1	19,0	-
Seq. ID No. 5	WEQEFLRR	50	17,9	-
		10	24,7	-
	пальмитоил	5	25,1	-
		1	16,1	-
		0,1	16,4	-

Все пептиды были функционально подтверждены как ингибиторы регулируемого экзоцитоза нейронов на линии клеток нейробластомы. В частности, ацетилированная форма SEQ ID NO: 1, 2, 4 и 5 значительно снижала высвобождение ACh на 50-87% при концентрации 10 мМ в виде соли TFA и примерно на 40% в виде ацетатной соли при 0,1 мкМ. Пальмитоилированный SEQ ID NO: 4 значительно снижал высвобождение ацетилхолина примерно на 50% при 10 мкМ. Наиболее эффективным пептидом был пальмитоилированный SEQ ID NO: 3, так как он был активен при самой низкой испытанной концентрации 0,1 мкМ. В целом, все эффективные пептиды имели микромолярной диапазон.

Пример 4. Анализы жизнеспособности клеток на эпидермальных кератиноцитах и дермальных фибробластах человека.

В этом примере оценивали эффекты пептидов по изобретению на эпидермальные кератиноциты и дермальные фибробласты человека. Жизнеспособность клеток определяли с помощью анализа с использованием 3-(4,5-диметил-2-тиазолил)-2,5-дифенил-2Н-тетразолийбромида (МТТ). МТТ-анализ представляет собой колориметрическую реакцию, основанную на способности фермента митохондриальной дегидрогеназы разрушать и преобразовывать тетразольные кольца МТТ. Эпидермальные кератиноциты (НЕКа) высевали в предварительно покрытый 96-луночный планшет при 50-60%-ной конфлюэнтности в 100 мкл соответствующей среды с добавками. Кожные фибробласты (HDFa) высевали в 96-луночный планшет при 70%-й конфлюэнтности в 100 мкл среды с добавками. Для обеих клеточных линий через 24 ч после посева среду заменяли свежей средой с добавками, содержащей пептиды, растворенные в диапазоне концентраций от 0,1 до 200 мМ. Все тестируемые вещества инкубировали в течение 24 ч при 37°C и 5% CO₂. После этого среду заменяли 0,5 мг/мл раствора МТТ в течение 4 ч в полной среде. Затем среду осторожно удаляли и добавляли 150 мкл/лунку DMSO для растворения кристаллов формазана. Планшет защищали от света, встряхивали в течение 60 с и измеряли оптическую плотность при 570 нм с эталонным фильтром 620 нм. В табл. F подробно описаны эффекты пептидов по изобретению на жизнеспособность клеток кератиноцитов и фибробластов, выраженные в процентах ингибирования.

Пептид	Последовательность	N-концевое производное	% ингибирования жизнеспособности клеток		
			мкМ	HEKa	HDFa
Seq. ID No. 1	HYWRELQYR		200	9,5	2,9
			100	6,2	6,8
		ацетил	50	7,4	3,9
		(ацетатная соль)	10	1,7	3,3
			5	8,8	9,7
			1	-1,4	0,2
			50	37,5	31,6
			10	31,0	29,2
		пальмитоил	5	23,6	24,3
		(ацетатная соль)	1	8,8	12,2
			0,5	6,4	7,2
			0,1	2,9	0,3
		Seq. ID No. 2	MQVWLRMWIDYRAT		200
	100			-0,7	7,8
ацетил	50			-4,6	1,4
(ацетатная соль)	10			-0,5	8,5
	5			-1,8	12,3
	1			-1,2	10,1
	50			32,5	35,3
	10			36,5	47,1
пальмитоил	5			36,9	47,3
(ацетатная соль)	1			25,6	45,8
	0,5			20,9	42,9
	0,1			12,1	30,8
Seq. ID	RRVVLVNNIL			пальмитоил	50

No. 3		(ацетатная соль)	10	22,4	27,2
			5	9,9	25,7
			1	11,7	8,7
			0,5	-0,9	15,5
			0,1	-3,8	6,0
			200	41,1	22,9
Seq. ID No. 4	LRVQMVNMFL		100	31,6	41,5
		ацетил	50	19,5	40,6
		(ацетатная соль)	10	6,0	37,1
			5	2,6	28,4
			1	13,6	14,5
			50	34,2	37,7
			10	18,0	40,9
		пальмитоил	5	7,0	42,6
		(соль TFA)	1	-7,6	34,2
			0,5	1,0	26,9
			0,1	-6,2	15,2
Seq. ID No. 5	WEQEFLRR		200	23,7	14,7
			100	10,4	15,0
		ацетил	50	4,3	10,0
		(соль TFA)	10	4,2	12,1
			5	0,8	10,0
			1	-5,7	9,3
			50	-24,3	18,0
		пальмитоил	10	-6,3	7,6
		(соль TFA)	5	-5,5	10,3
			1	-2,9	-0,2

Пептиды SEQ ID NO: 1, 2 и 5 с N-концевой заменой ацетилом не изменяли жизнеспособность клеток в эпидермальных кератиноцитах человека и фибробластах кожи до 200 мкМ. Ацетилованный и пальмитоилированный пептид SEQ ID NO: 4 не изменял жизнеспособность кератиноцитов при концентрации ниже 50 мкМ. Пальмоилированный SEQ ID NO: 3 не изменял жизнеспособность кератиноцитов и фибробластов при 1 мкМ или ниже.

Пример 5. Оценка антиперспирантного эффекта при кратковременном введении на мышинной модели секреции пота.

В этом примере оценивали краткосрочные эффекты пептида по изобретению SEQ ID NO: 1 в пальмитоилированной форме на модели потоотделения *in vivo*, индуцированной пилокарпином. Эту модель создавали с использованием пилокарпина, неселективного агониста мускариновых рецепторов, на самцах мышей C57BL/6J в возрасте 11 недель. Тестируемое соединение представляет собой пептид по изобретению, имеющий следующую последовательность (SEQ ID NO: 1): пальмитоил-НУWRELQYR-NH₂.

Тестируемое соединение вводили внутривошвенно (*i.pl.*) в правую заднюю лапу (10, 30 и 100 мкг) за 30 мин до стимуляции потоотделения. Носителем был физиологический раствор.

За потоотделением следили путем определения активности амилазы на поверхности кожи с использованием реакции йода с крахмалом. Количество темных капель пота определяли через 5 мин с помощью индукционного подсчета количества капель на лапу в каждом состоянии. Выборка составляла n=5-6 особей в группе. Данные представляют как среднее значение ± стандартная ошибка среднего (SEM). Исходные данные были нормализованы в процентах по отношению к стимулированным особям, которым не вводили инъекцию (контроль, 100%), и нестимулированным особям, получавшим инъекции физиологи-

ческого раствора (носитель, 0%). Статистический анализ представлял собой односторонний дисперсионный анализ с последующим апостериорным множественным сравнительным тестом Даннета, в котором сравнивали каждое состояние с соответствующей контрольной группой, *** $p < 0,0001$; ** $p < 0,001$; * $p < 0,01$; * $p < 0,05$.

Результаты представлены в нижеследующей табл. G.

Таблица G

Пальм-SEQ ID NO: 1	% ингибирования	SEM	Статистика
10 мкг/лапу	58,2	± 9,8	***
30 мкг/лапу	51,4	± 9,6	**
100 мкг/лапу	34,5	± 8,4	*

Тестируемое соединение значительно уменьшало потоотделение при 10, 30 и 100 мкг.

Пример 6. Оценка антиперспирантного эффекта при хроническом введении на мышшиной модели секрции пота.

В этом примере оценивали длительные эффекты пептида по изобретению SEQ ID NO: 1 в пальмитоилированной форме в модели потоотделения *in vivo*. Эту модель создавали с использованием пилокарпина, неселективного агониста мускариновых рецепторов, на самцах мышей C57BL6/Rcc в возрасте 11 недель. Тестируемое соединение вводили местно три раза в неделю в течение 4 недель (лечение). Потоотделение индуцировали внутривидовой (i.pl) инъекцией пилокарпина (3 мкг/лапу) в правую заднюю лапу (потоотделение) один раз в 1-ю, 2-ю и 4-ю недели в соответствии с табл. H.

Таблица H

Неделя	Понедельник	Вторник	Среда	Четверг	Пятница
1	лечение	потоотделение	лечение	---	лечение
2	лечение	потоотделение	лечение	---	лечение
3	лечение	---	лечение	---	лечение
4	лечение	потоотделение	лечение	---	лечение

Тестируемое соединение представляет собой пептид по изобретению, имеющий следующую последовательность (SEQ ID NO: 1): пальмитоил-HYWRELQYR-NH₂.

Тестируемое соединение вводили i.pl. в правую заднюю лапу (1, 10 и 100 мкг), и носитель представлял собой физиологический раствор.

За потоотделением следили путем определения активности амилазы на поверхности кожи с использованием реакции йода с крахмалом. Количество темных капель пота определяли через 5 мин с помощью индукционного подсчета количества капель на лапу в каждом состоянии. Выборка составляла n=5-6 особей в группе. Данные представляют как среднее значение ± стандартная ошибка среднего (SEM). Исходные данные были нормализованы в процентах по отношению к стимулированным особям, которым не вводили инъекцию (контроль, 100%). Статистический анализ представлял собой односторонний дисперсионный анализ с последующим апостериорным множественным сравнительным тестом Даннета, в котором сравнивали каждое состояние с соответствующей контрольной группой, *** $p < 0,0001$; ** $p < 0,001$; * $p < 0,01$; * $p < 0,05$.

Результаты приведены в нижеследующей табл. I.

Таблица I

	Пальм-SEQ ID NO:	% ингибирования	SEM	Статистика
	1			
Неделя 1	1 мкг/лапу	2,6	± 9,7	**
	10 мкг/лапу	11,2	± 9,7	
	100 мкг/лапу	24,2	± 6,2	
Неделя 2	1 мкг/лапу	26,7	± 6,7	*
	10 мкг/лапу	27,3	± 5,4	
	100 мкг/лапу	27,1	± 5,0	
Неделя 4	1 мкг/лапу	-4,3	± 11,9	*
	10 мкг/лапу	11,3	± 3,6	
	100 мкг/лапу	25,2	± 3,2	

Пальм-SEQ ID NO: 1 показал значительное подавление пототделения в течение 4 недель лечения при тестировании при дозе 100 мкг/лапу.

Пример 7. Функциональный анализ нейрональной сенсibilизации *in vitro* В этом примере оценивали эффекты пальмитоилированной формы SEQ ID NO: 1 *in vitro* на сенсibilизацию ноцицепторов в контексте чувствительной кожи.

Изолированные ганглии задних корешков новорожденных крыс Wistar (возраст 3-5 дней) высевали на чипы с микроэлектродными матрицами в DMEM Glutamax, 10% FBS, 1% P/S с добавлением мышинового NGF. Все эксперименты проводили через 48 ч после посева клеток.

Сенсорные нейроны были сенсibilизированы кратковременным воздействием провоспалительного коктейля с брадикинином, гистамином и АТФ. Анализировали возбудимость, опосредованную TRPV1, поскольку ощущения покалывания, жжения и зуда в основном вызываются TRPV1. Повторное нанесение TRPV1-агониста, капсаицина (15-секундное нанесение 500 нМ), давало первую активацию (P1) с последующей десенсibilизацией (второе нанесение). Десенсibilизированные культуры сенсibilизировали коктейлем для восстановления возбудимости, используя внешний раствор между вторым (P2) и третьим (P3) импульсом капсаицина (8 мин). Для подтверждения жизнеспособности клеток в конце наносили 40 мМ KCl. Тестируемое соединение инкубировали с клетками 1 ч перед проведением мониторинга при концентрациях 0,1, 1 и 10 мМ. Тестируемое соединение представляет собой пептид, имеющий следующую последовательность (SEQ ID NO: 1): пальмитоил-HYWRELQYR-NH₂.

Сенсibilизацию рассчитывали, как соотношение между импульсами капсаицина P3 и P1 (соотношение P3/P1), представляющее сенсibilизированный ответ, индуцированный провоспалительным коктейлем. Процент ингибирования рассчитывали как 100 - сенсibilизация. Данные представляли как среднее значение ± стандартная ошибка среднего (SEM). Статистический анализ представлял собой односторонний дисперсионный анализ с последующим апостериорным множественным сравнительным тестом Даннета, в котором сравнивали каждое условие с соответствующей контрольной группой сенсibilизации, ****p<0,0001; ***p<0,001; **p<0,01; *p<0,05.

Результаты представлены в нижеследующей табл. J.

Таблица J

Пальм-HYWRELQYR-NH ₂	% ингибирования сенсibilизации	SEM	Статистика
0,1 мкМ	69,7	2,7	****
1 мкМ	51,2	4,7	****
10 мкМ	59,7	3,3	****

Тестируемое соединение в трех концентрациях значительно ингибировало процесс сенсibilизации с аналогичной эффективностью.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Пептид, имеющий длину, равную или меньше 20 аминокислот, и содержащий последовательность SEQ ID NO: 1 или последовательность, имеющую по меньшей мере 70% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 1, и его производное или соль, где указанное производное содержит N- и/или C-конец указанного пептида, который химически модифицирован или защищен органическим соединением.

2. Пептид, имеющий длину, равную или меньше 20 аминокислот, и содержащий последовательность SEQ ID NO: 2 или последовательность, имеющую по меньшей мере 70% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 2, и его производное или соль, где указанное производное содержит N- и/или C-конец указанного пептида, который химически модифицирован или защищен органическим соединением.

3. Пептид, имеющий длину, равную или меньше 20 аминокислот, и содержащий последовательность SEQ ID NO: 3 или последовательность, имеющую по меньшей мере 70% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 3, и его производное или соль, где указанное производное содержит N- и/или C-конец указанного пептида, который химически модифицирован или защищен органическим соединением.

4. Пептид, имеющий длину, равную или меньше 20 аминокислот, и содержащий последовательность SEQ ID NO: 4, или последовательность, имеющую по меньшей мере 70% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 4, и его производное или соль, где указанное производное содержит N- и/или C-конец указанного пептида, который химически модифицирован или защищен органическим соединением.

5. Пептид, имеющий длину, равную или меньше 20 аминокислот, и содержащий последовательность SEQ ID NO: 5 или последовательность, имеющую по меньшей мере 70% идентичности с последовательностью SEQ ID NO: 5, и его производное или соль, где указанное производное содержит N- и/или C-конец указанного пептида, который химически модифицирован или защищен органическим соединением.

6. Пептид по любому из пп.1-5, где указанный пептид имеет длину, равную или меньше 15 аминокислот.

7. Пептид по любому из пп.1-5, где указанное органическое соединение выбрано из группы, состоящей из фосфорильной, гликозильной, ацильной, алкильной, карбоксильной, гидроксильной, биотинильной, убиквитинильной и амидогрупп.

8. Пептид по п.7, где указанная ацильная группа выбрана из группы, состоящей из ацетильной, лауроильной, миристильной и пальмитоильной групп.

9. Пептид по любому из пп.1-5, где его N-конец химически модифицирован или защищен ацетильной или пальмитоильной группой.

10. Пептид по любому из пп.1-5, где указанная соль представляет собой соль указанного пептида или его производного с подходящей кислотой или основанием.

11. Пептид по п.10, где указанная кислота выбрана из группы, состоящей из соляной кислоты, уксусной кислоты, трифторуксусной кислоты, щавелевой кислоты, малеиновой кислоты, метансульфоновой кислоты, пара-толуолсульфоновой кислоты, янтарной кислоты, лимонной кислоты, винной кислоты и молочной кислоты.

12. Пептид по п.10, где указанная кислота выбрана из группы, состоящей из соляной кислоты, уксусной кислоты и трифторуксусной кислоты.

13. Пептид по п.10, где указанное основание выбрано из группы, состоящей из моно-, ди- и триалкиламинов, например метиламина, диметиламина, триметиламина, этиламина, диэтиламина, триэтиламина, пропиламина, дипропиламина, трипропиламина, этилендиамина, моно-, ди- и триалканоламинов, например моноэтаноламина, диэтаноламина и триэтаноламина; гуанидина, морфолина, пиперидина, пирролидина, пиперазина, 1-бутилпиперидина, 1-этил-2-метилпиперидина, N-метилпиперазина, 1,4-диметилпиперазина, N-бензилфенилэтиламина, N-метилглюкозамина и трис-(гидроксиметил)аминометана.

14. Пептид по любому из пп.1-5, где по меньшей мере одна аминокислота, перечисленная в левом столбце табл. С описания, в любой одной из указанных SEQ ID NO: 1-5 заменена аминокислотой, перечисленной в центральном столбце табл. С описания, при условии, что полученная последовательность имеет по меньшей мере 70% идентичности с последовательностью, предпочтительно по меньшей мере 80% и более предпочтительно по меньшей мере 90% с любой одной из указанных SEQ ID NO: 1-5 соответственно.

15. Пептид по любому из пп.1-5, где по меньшей мере одна аминокислота, перечисленная в левом столбце табл. С описания, в любой одной из указанных SEQ ID NO: 1-5 заменена аминокислотой, указанной в правом столбце табл. С описания, при условии, что полученная последовательность имеет по меньшей мере 70% идентичности с последовательностью, предпочтительно по меньшей мере 80% и более предпочтительно по меньшей мере 90% с любой из указанных SEQ ID NO: 1-5 соответственно.

16. Косметическая композиция, содержащая: (i) пептид по любому одному из пп.1-15 и его производное или соль и (ii) по меньшей мере один косметически приемлемый ингредиент.

17. Фармацевтическая композиция, содержащая: (i) пептид по любому одному из пп.1-15 и его производное или соль и (ii) по меньшей мере один фармацевтически приемлемый ингредиент.

18. Терапевтический или нетерапевтический способ улучшения состояний, нарушений и/или заболеваний кожи, опосредованных нейрональным экзоцитозом, включающий в себя местное нанесение фармацевтической или косметической композиции, содержащей: (i) пептид по любому одному из пп.1-15 и его производное или соль и (ii) по меньшей мере один фармацевтически или косметически приемлемый ингредиент.

19. Способ по п.18, где указанные состояния, нарушения и/или заболевания кожи, опосредованные нейрональным экзоцитозом, выбирают из группы, состоящей из морщин на лице, дисфункции двигательных мышц, чрезмерного потоотделения, зуда, кожного воспаления, дерматита, атопии, псориаза, гиперреактивности сосудов, розацеа, акне, роста волос, заживления ран, мозолей, бородавок или состояний чувствительной кожи, таких как язвы и поражения на коже.

20. Полинуклеотид, кодирующий пептид по любому одному из пп.1-15.

