

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **044523**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента

2023.08.31

(21) Номер заявки

202190018

(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 ИНГИБИТОРНОЙ АКТИВНОСТЬЮ В ОТНОШЕНИИ МУСКАРИНОВОГО РЕЦЕПТОРА М3

(31) **18177587.5**(32) **2018.06.13**(33) **EP**(43) **2021.03.17**(86) **PCT/EP2019/065223**(87) **WO 2019/238686 2019.12.19**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:

**АЦЬЕНДЕ КИМИКЕ РЬЮНИТЕ
АНДЖЕЛИНИ ФРАНЧЕСКО
А.К.Р.А.Ф. С.П.А. (IT)**

(72) Изобретатель:

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

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(56) EP-A1-2071334

WO-A2-2013040142

WO-A1-2013153191

US-A1-2002086036

WO-A1-2018223092

WO-A1-2017120222

WO-A1-2016172722

WO-A1-2009113879

WO-A2-2014200910

WO-A1-2013125221

WO-A2-2007048022

WO-A2-2005118647

WO-A2-2005090385

WO-A2-03050238

EP-A1-1295939

AMANDA J.H. GILLIAM ET AL.: "Affinity-Guided Design of Caveolin-1 Ligands for Deoligomerization", JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, vol. 59, № 8, 24 March 2016 (2016-03-24), p. 4019-4025, XP55492359, US, ISSN: 0022-2623, DOI: 10.1021/acs.jmedchem.5b01536, CSWMRLK (fig. 1, ligand 1)

PROTAS ANNA MARIA ET AL.: "Sequence-specific Ni(II)-dependent peptide bond hydrolysis for protein engineering: Active sequence optimization", JOURNAL OF INORGANIC BIOCHEMISTRY, ELSEVIER INC, US, vol. 127, 2 August 2013 (2013-08-02), p. 99-106, XP028712770, ISSN: 0162-0134, DOI: 10.1016/J.JINORGBIO.2013.07.037, GASRHWMRL (table 1, line 4)

TOMA ANDREA ET AL.: "Recognition of Human Proinsulin Leader Sequence by Class I-Restricted T-Cells in HLA-A*0201 Transgenic Mice and in Human Type 1 Diabetes", DIABETES, AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, US, vol. 58, № 2, 1 February 2009 (2009-02-01), p. 394-402, XP002677791, ISSN: 0012-1797, DOI: 10.2337/DB08-0599, MALWMRLL, ALWMRLLPLL (table 2, sequences 1, 2)

BRYAN D. SMITH ET AL.: "Genetic selection for peptide inhibitors of angiogenin", PROTEIN ENGINEERING, DESIGN AND SELECTION, vol. 21, № 5, 28 February 2008 (2008-02-28), p. 289-294, XP55604942, GB, ISSN: 1741-0126, DOI: 10.1093/protein/gzm089, table S-1, sequence 10 (AVCWMLAG)

WO-A1-2013172926

WO-A2-9845322

WO-A2-2014001229

(57) Изобретение относится к пептидам, способным ингибировать активность мускаринового рецептора М3, и продуктам, содержащим такие пептиды, в частности фармацевтическим препаратам и косметическим средствам, полезным для облегчения заболеваний кожи, опосредованных активностью мускаринового рецептора М3, таких как чрезмерное потоотделение, воспаление, выработка кожного сала и клеточная адгезия, подвижность, рост, дифференцировка и пролиферация.

044523
B1

044523
B1

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к пептидам, способным ингибировать активность мускаринового рецептора М3, и продуктам, содержащим такие пептиды, в частности фармацевтическим и косметическим продуктам, полезным для улучшения состояния кожи, опосредованного активностью мускаринового рецептора М3, таких как чрезмерное потоотделение, воспаление, выработка кожного сала и клеточная адгезия, подвижность, рост, дифференцировка и пролиферация.

Уровень техники

Ацетилхолин (ACh) является классическим хорошо известным нейротрансмиттером, участвующим в холинергической передаче как в центральной (ЦНС), так и в периферической (ПНС) нервной системе. На уровне ЦНС холинергические рецепторы распознаются как связывающие и эффекторные белки для ACh, опосредующие химическую нейротрансмиссию в нейронах, ганглиях, интернейронах и моторной замыкательной пластинке. Что касается ПНС, нейромедиатор ACh действует через свои рецепторы, регулируя частоту сердечных сокращений, сокращение гладких мышц и стимулируя секрецию желез (Wessler et al., Br. J. Pharmacol., 2008, 154, 1558-1571; Wessler et al., Handb. Exp. Pharmacol., 2012, (208):469-491). В последнее время возникла концепция ненейрональной холинергической системы (NNCS), придающая ACh гормональную функцию с ауто- и паракринным механизмом действия. Эти системы появляются в самых разных типах клеток и не нейрональных тканях, большинство из них напрямую не иннервируется холинергическими нейронами (Kurzen et al., Horm. Metab. Res., 2007, 39, 125-135). Эти ткани экспрессируют все подтипы рецепторов и пути передачи сигналов, включая ACh-синтезирующие ферменты, переносчики, рецепторы и расщепляющие ферменты, необходимые для ACh-системы (Beckman et al., Pharmacology, 2013, 92, 286-302).

Ацетилхолин является основным нейротрансмиттером, отвечающим за потоотделение, связываясь с холинергическими рецепторами эккринной железы. Тем не менее, ацетилхолин является прототипом нейротрансмиттера, который, как недавно было обнаружено, также встречается вне нейронов в большом количестве клеток (Kurzen et al., Horm. Metab. Res., 2007, 39(2), 125-135). Новые данные свидетельствуют о том, что холинергическая система в ненейрональных тканях, таких как плацента, регулируется иначе, чем в нейрональных тканях. Например, молекула ACh по-разному высвобождается между нейрональными и ненейрональными клетками, позволяя предположить, что органические переносчики катионов являются основными участниками высвобождения ACh в отличие от экзоцитоза нейрональных пузырьков. Более того, картина экспрессии холинергических рецепторов в ненейрональной системе варьирует в пределах одного и того же типа клеток в зависимости от состояния дифференцировки и активности клеток, а также от условий окружающей среды. Следовательно, понимание холинергической системы и ее регуляции ненейронального контекста приведет к раскрытию новых аспектов регуляции ацетилхолинового контура в физиологических и патофизиологических условиях.

Кожа является одним из наиболее известных органов NNCS, в котором холинергическая система участвует во многих функциях, таких как рост и дифференцировка, адгезия и подвижность, формирование барьера, выделение пота и кожного сала (Flana et al., Life Sci., 2007, 80(24-25), 2214-2220). ACh продуцируется в кератиноцитах, эндотелиальных клетках и, в первую очередь, в иммунокомпетентных клетках, проникающих в кожу в местах воспаления. Например, при atopическом дерматите уровни ACh повышаются в 14 раз в поверхностном эпидермисе и верхней дерме и в 3 раза в нижележащей дерме и гиподерме с важным участием ненейронального ACh. Следовательно, выявление роли ненейрональной холинергической системы при этом состоянии кожи поможет разработать новые стратегии лечения atopического дерматита (Wessler et al., Life Sci., 2003, 72(18-19), 2169-2172; Beckman et al., Pharmacology, 2013, 92, 286-302).

NNCS на коже играет промежуточную роль во взаимодействии клеток с внешней средой, гормонами, факторами роста, цитокинами и нервной системой. В этом отношении экспрессия холинергических рецепторов является частью ауто- и паракринной регуляторной петли ненейронального ACh, высвобождаемого из этих клеток. Что касается нервной системы, ACh действует на клетки кожи через никотиновые и мускариновые рецепторы, которые широко экспрессируются в покровной системе. В частности, никотиновые рецепторы, по-видимому, экспрессируются с высокой вариабельностью в эпидермисе, различающейся в зависимости от типов клеток кожи, процесса дифференцировки и предполагаемых факторов влияния, включая возраст, atopическую предрасположенность и внешние факторы (Hana et al., Life Sci., 2007, 80(24-25), 2214-2220). Напротив, картина экспрессии мускариновых рецепторов, по-видимому, четко определена в этой конкретной ткани. Мускариновые рецепторы представляют собой группу из пяти представителей связанных с G-белком рецепторов, которые подразделяются на две подгруппы: рецепторы М2 и М4 представляют собой ингибирующие рецепторы, связанные с $G_{i/o}$, влияющие на активность аденилатциклазы и ингибирующие неселективные катионные каналы, каналы транзитного рецептора и потенциал калия. Рецепторы М1, М3 и М5 связаны с $G_{q/11}$ и рассматриваются как возбуждающие рецепторы, поскольку они увеличивают внутриклеточный кальций за счет образования инозитол-1,2-трифосфата и 1,2-диацилглицерина. Все пять подтипов мускариновых рецепторов экспрессируются на всех типах клеток кожи, т.е. на кератиноцитах, пилосебацитах, потовых железах, меланоцитах и фибробластах. В частности, кератиноциты эпидермиса человека экспрессируют мускариновые рецепторы

(Kurzen et al., *Norm. Metab. Res.*, 2007, 39, 125-135), в которых M1 и M4 присутствуют в верхних остистых и гранулярных слоях, а M2, M3 и M5 рецепторы экспрессируются в базальных слоях. Во многих аутокринных функциях ACh участвуют Gq-связанные мускариновые рецепторы, при этом большая часть данных относится к M1, M3 и M4. В частности, активация рецептора M1 в терминально дифференцированных кератиноцитах вызывает секрецию увлажняющего вещества на поверхности кожи в ответ на локально высвобождаемый ацетилхолин, что указывает на то, что рецептор M1 является важным кандидатом на регуляцию гомеостаза кожи (Nguyen et al., *J. Cell. Sci.* (2001), 114, 1189-1204).

С другой стороны, M3 и M4 играют важную роль в поддержании эпидермального барьера. Стимуляция рецептора M3 увеличивает связывающую активность β 1-интегрина, которая связана с повышенной адгезией клеток к белкам внеклеточного матрикса (Quigley et al., *Chest.*, 1998, 114(3):839-846; Williams et al., *Life Sci.* (2003), 72, 2173-2182; Varker et al., *Biochem Pharmacol.*, 2002, 63(4):597-605). Аналогичным образом, ингибирование рецептора M3 антисмысловыми олигонуклеотидами приводит к отсоединению клеток и изменениям уровней экспрессии E-кадгерина и β - и γ -катенинов, способствующих отсоединению и миграции клеток. Взаимно активация M4 стимулирует миграцию и индуцирует экспрессию мигрирующих интегринов, в то время как ингибирование вызывает повышенную регуляцию "сидячих" интегринов (Chernyavsky et al., *J. Cell. Biol.*, 2004, 166(2):261-272). Таким образом, рецепторы M3 и M4 проявляют реципрокные эффекты на латеральную миграцию в кератиноцитах. Эти результаты показали, что селективная регуляция мускариновых рецепторов может служить для модуляции аномальной миграции кератиноцитов, такой как нарушения заживления ран (Uberti et al., *Cells Tissues Organs*, 2017, 203:215-230).

Разработка новых соединений, направленных на мускариновые рецепторы при кожных заболеваниях, открывает широкую область применения, поскольку будут задействованы как нейрональные, так и ненейрональные рецепторы. В контексте нейронального высвобождения ACh активация M3 считается основной причиной образования и секреции пота, производимого эккринными железами. Эккринные железы являются основными ответственными за физиологическое потоотделение, вызванное психологическими или тепловыми раздражителями. Присутствуя на всей поверхности тела, M3 демонстрирует более высокий уровень экспрессии на ладонях и подошвах, что эквивалентно эмоциональному потоотделению на пораженных участках. Активация ацетилхолином M3 при активации эккринных желез, в основном иннервируемых холинергическими волокнами, вызывает выработку пота.

Мускариновые рецепторы используются в качестве мишеней для лечения гипергидроза. Фактически, местное введение мускаринового антагониста атропина ослабляет или отменяет потоотделение (Shibasaki et al., *Front Biosci.*, 2010, 2:685-696; 2010; Kolka et al., *Aviat Space Environ Med.*, 1987, 58(6):545-549; Foster et al., *J Physiol.*, 1970, 210(4):883-895). Например, местное применение антихолинергического гликопирролата не по назначению является эффективным средством лечения очагового гипергидроза (Baker D.M., *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.*, 2016, 30(12), 2131-2136; Pariser et al., *Dermatol Clin.*, 2014, 32(4), 485-490). Кроме того, пероральное введение антимускариновых препаратов в настоящее время также используется для лечения гипергидроза (Gordon et al., *Dermatol. Ther.*, 2013, 26(6):452-461). Однако несмотря на набор существующих соединений большинство препаратов на рынке вызывают у пациентов нежелательные побочные эффекты, такие как раздражение и задержка мочи (Baker D.M., *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.*, 2016, 30(12), 2131-2136; Pariser et al., *Dermatol. Clin.*, 2014, 32(4):485-490) в основном из-за плохой селективности молекул в отношении мускариновых рецепторов. Таким образом, разработка альтернатив уже существующим соединениям в предшествующем уровне техники для лечения гипергидроза все еще находится в центре внимания косметического и фармацевтического секторов для получения инновационных активных ингредиентов для повышения эффективности и уменьшения побочных эффектов при лечении гипергидроза или с потенциальными антиперспирантными свойствами для кожи.

В целом новые селективные соединения, специально нацеленные на подтипы мускариновых рецепторов, необходимы для разработки эффективных методов лечения кожных заболеваний. Одной из основных трудностей при разработке селективных соединений является сильное сходство последовательностей всех пяти мускариновых подтипов. В частности, аминокислоты из ортостерического сайта связывания полностью консервативны во всех пяти подтипах, что препятствует получению эффективных селективных лигандов для подтипа. Поэтому для создания новых мускариновых модуляторов следует рассмотреть новые области в рецепторах, такие как последовательности, участвующие в аллостерической модуляции, олигомеризации субъединиц или белок-белковых взаимодействиях. В этом отношении рентгеновская структура рецептора M3 с высоким разрешением является многообещающим инструментом для идентификации соединений, избирательно связывающихся со специфическими участками рецептора.

В заключение это изобретение обеспечивает альтернативу существующей потребности и включает открытие новых пептидных последовательностей, способных ингибировать активацию M3, и продуктов, включающих такие пептиды, в частности косметических продуктов, имеющих предсказуемое нетерапевтическое применение в области ухода за кожей, затрагивающей клеточную адгезию, подвижность, рост, дифференцировку, образование барьера, секрецию кожного сала, воспаление, такое как, например, заживление ран, акне и дерматит.

Сущность изобретения

Заявитель неожиданно обнаружил пептиды, способные ингибировать или по меньшей мере снижать ацетилхолин-индуцированную активность подтипа М3 мускариновых рецепторов за счет взаимодействия с внутриклеточными областями М3. Этот механизм влияет на структурные перестройки внутри белка и/или белок-белковые взаимодействия, необходимые для активации рецептора. Эти соединения полезны для лечения и/или ухода за состояниями, нарушениями и/или заболеваниями кожи, которые улучшаются или предотвращаются при ингибировании рецептора М3, такими как, например, нарушения заживления ран, чрезмерное потоотделение и гипергидроз.

Заявитель обнаружил, что пептиды, имеющие следующие SEQ ID NO: 1-10 оказывают ингибирующее действие на ацетилхолиновую М3-активацию. Даже если точный молекулярный механизм еще полностью не выяснен и не подтвержден и не будучи связанными какой-либо теорией, изобретатели полагают, что ингибирующий эффект на ацетилхолиновую М3-активацию обусловлен способностью пептидов действовать на цитозольные области М3, в частности, действуя как антагонистический конкурент белкового комплекса М3-Gq-альфа, таким образом нарушая передачу сигналов в последующем каскаде.

В частности, SEQ ID NO: 1-10, которые ингибируют активность М3 по настоящему изобретению, подробно описаны ниже.

SEQ ID NO: 1 WMRL;
 SEQ ID NO: 2 WMRLK;
 SEQ ID NO: 3 WMRLKA;
 SEQ ID NO: 4 WMNLKT;
 SEQ ID NO: 5 WMFLK;
 SEQ ID NO: 6 RMYKMMAGMYLR;
 SEQ ID NO: 7 RVMYKMNKRDY;
 SEQ ID NO: 8 RVMFKMFKRDY;
 SEQ ID NO: 9 RMTMLMLDFKYMKWW;
 SEQ ID NO: 10 KMTMRMLYFKYMMWW.

Заявитель также обнаружил, что ингибирование М3 также достигается с последовательностями, имеющими длину не более 20 аминокислот и включающими описанные выше SEQ ID NO: 1-10 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: 1-10.

Заявитель также обнаружил, что ингибирование М3 можно модулировать путем связывания с N-концом описанных выше SEQ ID NO: 1-10 алкил-карбонильной группы, такой как, например, ацетильная группа, пальмитоильная группа или миристоильная группа, а также путем образования соли вышеописанных SEQ ID NO: 1-10 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 из SEQ ID NO: 1-10 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: 1-10, 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: 1-10, 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: 1-10, 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: 1-10 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: 1-10, и его производного или соли для улучшения состояний, расстройств и/или заболеваний кожи, опосредованных активностью мускаринового рецептора М3.

Четвертый аспект настоящего изобретения относится к терапевтическому или нетерапевтическому способу улучшения состояния кожи, опосредованному активностью мускаринового рецептора М3, включающему 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 из SEQ ID NO: 1-10 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: 1-10, и его производное или соль; и

(ii) по меньшей мере один фармацевтически или косметически приемлемый ингредиент.

В частности, состояния кожи, опосредованные активностью мускаринового рецептора М3, которые могут быть улучшены нетерапевтическим способом настоящего изобретения, относятся к чрезмерному потоотделению, выработке кожного сала, локальному воспалению и/или клеточной адгезии, подвижности, росту, дифференцировке и пролиферации.

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: 1-10, 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: 1-10.

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: 1-10 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: 1-10, и к их производному или соли.

Предпочтительно настоящее изобретение относится к пептидам, имеющим длину, равную или меньше 15 аминокислот, более предпочтительно равную или меньше 10, наиболее предпочтительно равную или меньше 6, и включающим 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.

Более предпочтительно настоящее изобретение относится к пептидам, отличным от пептида ALWMRL, причем указанные пептиды имеют длину, равную или меньше 15 аминокислот, предпочтительно равную или меньше 10, и содержат 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.

Преимущественно настоящее изобретение относится к пептиду, отличному от пептида ALWMRL, причем указанный пептид имеет длину, равную или меньше 15 аминокислот, предпочтительно равную или меньше 10, и содержит 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.

В дополнительном аспекте настоящее изобретение относится к пептиду, имеющему длину, равную или меньше 15 аминокислот, предпочтительно равную или меньше 10, и начинающуюся с SEQ ID NO: 1, или с последовательностью, имеющей 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.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к пептиду, имеющему длину, равную или меньше 15 аминокислот, предпочтительно равную или меньше 10, 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.

В дополнительном аспекте настоящее изобретение относится к пептиду, имеющему длину, равную или меньше 15 аминокислот, предпочтительно равную или меньше 10, и содержащему 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.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к пептиду, имеющему длину, равную или меньше 15 аминокислот, предпочтительно равную или меньше 10, и содержащему SEQ ID NO: 4 или последовательность, содержащую 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.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к пептиду, имеющему длину, равную или меньше 15 аминокислот, более предпочтительно равную или меньше 10, и содержащему SEQ ID NO: 5 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: 5, и к его производному или соли.

Предпочтительно 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: 6-10 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: 6-10, и к их производному или соли.

Согласно предпочтительному аспекту настоящее изобретение относится к пептиду, имеющему длину, равную или меньше 20 аминокислот, предпочтительно равную или меньше 15 аминокислот, и содержащему SEQ ID NO: 6 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: 6, и к его производному или соли.

Согласно предпочтительному аспекту настоящее изобретение относится к пептиду, имеющему длину, равную или меньше 20 аминокислот, предпочтительно равную или меньше 15 аминокислот, и содержащему SEQ ID NO: 7 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: 7, и к его производному или соли.

Согласно предпочтительному аспекту настоящее изобретение относится к пептиду, имеющему длину, равную или меньше 20 аминокислот, предпочтительно равную или меньше 15 аминокислот, и содержащему SEQ ID NO: 8 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: 8, и к его производному или соли.

Согласно предпочтительному аспекту настоящее изобретение относится к пептиду, имеющему длину, равную или меньше 20 аминокислот, предпочтительно равную или меньше 15 аминокислот, и содержащему SEQ ID NO: 9 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: 9, и к его производному или соли.

Согласно предпочтительному аспекту настоящее изобретение относится к пептиду, имеющему длину, равную или меньше 20 аминокислот, предпочтительно равную или меньше 15 аминокислот, и содержащему SEQ ID NO: 10 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: 10, 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, кроме пептида ALWMRL. 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, как показано 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 WMNLK_S будет иметь 83,3% идентичности по последовательности с SEQ ID NO: 4 WMNLK_T (nd=1 и nt=6).

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, Мэди-

сон, Висконсин). Также может использоваться алгоритм BLAST (Altschul et al. (1990), Mol. Biol., 215:403-10), 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: 1-10 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;

(б) 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 встречающимися 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 C-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, гидроксильное, гликирование, биотинилирование, убиквитинилирование и амидирование.

Предпочтительно пептид по настоящему изобретению может быть модифицирован на своем N-конец, 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(гидроксиэтил)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 гидроксилламин.

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 нерацемической 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 0,00000001 до 20% по весу, пред-

почтительно от 0,000001 до 15% по весу, более предпочтительно от 0,0001 до 10% по весу и еще более предпочтительно от 0,0001 до 5% по весу.

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 необязательные 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 издание, под редакцией Веннингера и МакИвена (The Cosmetic, Toiletry and 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, снимающие 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% по весу 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% по весу, более предпочтительно менее 5% по весу, по отношению к общему весу композиции. Шариковые композиции, водные композиции и дезодорант обычно содержат количество воды от примерно 15% по весу до примерно 99% по весу, более предпочтительно от примерно 30% по весу до примерно 90% по весу, еще более предпочтительно от примерно 50% по весу до примерно 80% по весу 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% по весу до примерно 85% по весу, более предпочтительно от примерно 40% по весу до примерно 75% по весу, еще более предпочтительно от примерно 50% по весу до примерно 65% по весу 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% по весу до примерно 90% по весу, более предпочтительно от примерно 25% по весу до примерно 75% по весу, еще более предпочтительно от примерно 35% по весу до примерно 65% по весу 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% по весу до примерно 20% по весу, более предпочтительно от примерно 2% по весу до примерно 10% по весу, еще более предпочтительно от примерно 3% по весу до примерно 5% по весу относительно общего веса композиции. Подходящие нелетучие растворители включают, но не ограничиваются ими, бензилбензоат, цетеариловый спирт, цетиловый спирт, диэтилфталат, изопропилмирилат, диметикон, каприлилметикон 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 полоксамеров; 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 триметилзопропилбутанамид и ментол; ингредиенты для кондиционирования волос, такие как пантенол, пантетин, пантотеин, 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% по весу, более предпочтительно менее 5% по весу, 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; сода; 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, подсла-

стителю, 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, внутрикожной, внутривенной, внутримышечной, внутрисуставной, интрасиновиальной, внутригрудной, интратекальной, внутриочаговой и внутричерепной инъекции или инфузии.

Фармацевтические композиции по настоящему изобретению также можно вводить с помощью назальных аэрозолей или ингаляций 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, пресование, растворение, стерилизацию и т.п.

Пептиды по настоящему изобретению способны ингибировать или по меньшей мере уменьшать взаимодействие ацетилхолина с подтипами M3 рецепторов.

Соответственно дополнительный аспект настоящего изобретения относится к применению по меньшей мере одного из вышеописанных пептидов и их производного или соли для улучшения состояния кожи, опосредованного активностью мускаринового рецептора M3.

Кроме того, настоящее изобретение также относится к терапевтическому или нетерапевтическому способу улучшения состояния кожи, опосредованному активностью мускаринового рецептора M3, включающему в себя местное применение фармацевтической или косметической композиции, содержащей

- (i) по меньшей мере один из вышеописанных пептидов и его производное или соль; и
- (ii) по меньшей мере один фармацевтически или косметически приемлемый ингредиент.

В частности, состояния кожи, опосредованные активностью мускаринового рецептора M3, включают чрезмерное потоотделение, воспаление, выработку кожного сала и клеточную адгезию, подвижность, рост, дифференцировку и пролиферацию.

Более конкретно, кожные состояния, опосредованные активностью мускаринового рецептора M3, включают

- (i) папулосквамозные и экзематозные дерматозы, такие как атопический дерматит, аллергический контактный дерматит, дерматит при контакте с раздражителем, другие экзематозные расстройства, такие как себорейный дерматит и другие экзематозные расстройства;
- (ii) пузырьно-буллезные заболевания, такие как пузырчатка, пемфигоид, герпетический дерматит, буллезный эпидермальный дерматоз, линейный дерматоз IgA и другие буллезные заболевания;
- (iii) заболевания придаточных органов, такие как вульгарные угри, розовые угри (розацеа), периоральный дерматит, гроверидрозулит, периоральный дерматит, фолликулит;
- (iv) кожные симптомы ревматологических заболеваний, таких как дерматомиозит, системный склероз, смешанное заболевание соединительной ткани, и кожные проявления ревматологических заболеваний;
- (v) воздействие физических агентов, таких как радиация, включая ультрафиолетовый свет и солнечный ожог, жар, холод, фрикционные и травматические повреждения, нормальное или аномальное старение кожи, включая морщины;
- (vi) крапивница и пурпура, например крапивница и ангионевротический отек, мультиформная эритема, кольцевидная центробежная эритема и другие эритематозные заболевания, кожные реакции на лекарственные препараты, васкулит и пурпура кожи, нейтрофильные дерматозы и дерматозы при беременности; и
- (vii) другие кожные заболевания, такие как зуд, невралгия, ненормальные ощущения или болевые состояния, такие как жжение, или отек кожи.

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(7):4924-4933; Behrendt et al., *J. Pept. Sci.*, 2016, 22(1):4-27; Made et al., *Beilstein J. Org. Chem.*, 2014, 10:1197-1212). Синтез пептидов по изобретению, смесей и/или их косметически или фармацевтически 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 стадиями проводили DMF (пять 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 пептидные смолы: 1 ммоль (1 экв.) пептидных 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 пептидные смолы сушили в вакууме.

Способ введения N-концевой пальмитоильной группы в пептидные смолы: 3 ммоль (3 экв.) предварительно растворенной пальмитиновой кислоты вводили в пептидные 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. Аналогичным способом вводят N-концевую миристоильную группу.

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

Пример 2. Ингибирование M3-ацетилхолиновой активации пептидами по изобретению.

Эпителиальную стабильную клеточную линию, конститутивно экспрессирующую мускариновый рецептор M3 человека, использовали для оценки активности пептидов. Клетки высевали в 96-луночные планшеты при 50%-ной конfluэнтности клеток в 100 мкл полной среды Хэма F-12. Через 24 ч среду удаляли и клетки инкубировали с 90 мкл/луноку раствора пептидов по изобретению в концентрации 100, 50 или 10 мМ или DMSO в качестве носителя. Пептиды растворяли в буфере для анализа флуоресцентных кальциевых зондов Fluo-4 NW (Invitrogen), содержащем пробенцид, следуя инструкциям производителя в течение 50 мин при 37°C в CO₂-инкубаторе. Затем активность M3 определяли путем считывания флуоресценции на ридере FLUOstar Galaxy (BMG Lab Technologies) с использованием фильтра 485 нм для возбуждения и 520 нм для эмиссии, регистрируя сигнал до и после активации M3 с помощью 10 нМ ацетилхолина. Измерения флуоресценции нормализовали по сигналу максимальной флуоресценции ацетилхолина в клетках, обработанных носителем. Атропин (100 нМ) использовали в качестве положительного контроля для ингибирования. Значения ингибирования активности M3 рассчитывали в процентах, принимая во внимание максимальную флуоресценцию, соответствующую ацетилхолиновой-M3 активации, и минимальную для нестимулированных клеток. В табл. D приведены значения ингибирования активности M3, полученные для пептидов по изобретению.

Таблица D

Пептид	Последовательность	N-концевое производное	% ингибирования M3		
			100 мкМ	50 мкМ	10 мкМ
Seq. ID No. 1	WMRL	пальмитоил	95,6	70,9	15,4
Seq. ID No. 2	WMRLK	ацетил пальмитоил	24,6 88,6	9,1 85,4	0,0 62,5

Seq. ID No. 3	WMRLKA	пальмитоил	75,7	73,7	41,0
Seq. ID No. 4	WMNLKT	пальмитоил	60,6	59,6	35,3
Seq. ID No. 5	WMFLK	пальмитоил ацетил	80,6 15,1	45,7 6,2	0,0 3,9
Seq. ID No. 6	RMYKMMAGMYLR	миристоил пальмитоил ацетил	92,1 - 32,5	56,4 - 26,4	14,8 34,5 3,0
Seq. ID No. 7	RVMYKMNKRDY	миристоил пальмитоил ацетил	92,4 - 20,6	54,8 - 8,3	15,9 47,4 8,6
Seq. ID No. 8	RVMFKMFKRDY	миристоил пальмитоил ацетил	93,8 - 26,1	71,7 - 12,4	42,5 32,7 21,5
Seq. ID No. 9	RMTMLMLDFKYMKWW	ацетил	23,3	6,3	1,2
Seq. ID No. 10	KMTMRMLYFKYMMW W	миристоил пальмитоил ацетил	65,0 - 65,0	19,0 53,4 19,0	5,2 39,3 5,2

Пептиды были способны ингибировать вызванную ацетилхолином активность МЗ в диапазоне 13-74% при 50 мМ и 60-95% при 100 мкМ. Пептиды SEQ ID NO: 2, 3 и 8 при 10 пМ значительно ингибировали активность МЗ в диапазоне 40-60%.

Пример 3. Кинетика ингибирования активности МЗ.

Пептиды по изобретению были разработаны для нацеливания на внутриклеточную область МЗ. Таким образом, было оценено минимальное время, необходимое для обнаружения ингибирующего действия на активность МЗ. Для этого была охарактеризована кинетика ингибирующего действия пептидов SEQ ID NO: 1-8, которые показали наиболее сильный ингибирующий эффект. Эпителиальную стабильную клеточную линию, конститутивно экспрессирующую мускариновый рецептор МЗ человека, использовали для оценки активности пептидов. Клетки высевали в 96-луночные планшеты при 50%-ной конфлюэнтности клеток в 100 мкл полной среды Хэма F-12. Через 24 ч среду удаляли и клетки инкубировали с 90 мкл/лунку раствора пептидов по изобретению в концентрации 100, 50 или 10 мМ или DMSO в качестве носителя. Пептиды растворяли в буфере для анализа флуоресцентных кальциевых зондов Fluo-4 NW (Invitrogen), содержащем пробенецид, следуя инструкциям производителя в течение 50 мин при 37°C в CO₂-инкубаторе. Пептиды (50 мкМ), носитель и атропин инкубировали либо с зондом (1 ч предварительной инкубации), либо во время считывания флуоресценции (прямой эффект). После этого активность МЗ регистрировали в течение 20 циклов и в случае анализа прямого действия пептиды добавляли в цикле 3 после оценки исходного уровня. Ацетилхолин добавляли в цикле 13. Таким образом, прямое действие пептидов отслеживали в течение 25 мин. Значения ингибирования активности МЗ рассчитывали в процентах с учетом максимальной флуоресценции, соответствующий ацетилхолиновой МЗ-активации в клетках, обработанных носителем или необработанным клеткам, и минимальной в нестимулированных клетках. В табл. Е подробно описаны значения ингибирования активности МЗ, полученные для пептидов по изобретению.

			Таблица Е	
Пептид	Последовательность	N-концевое производное	% ингибирования активности hM3-рецептора	
			25 минут	60 минут
Seq. ID No. 1	WMRL	пальмитоил	25,1	69,5

Seq. ID No. 2	WMRLK	пальмитоил	25,5	81,0
Seq. ID No. 3	WMRLKA	пальмитоил	16,4	73,0
Seq. ID No. 4	WMNLKT	пальмитоил	11,5	69,1
Seq. ID No. 5	WMFLK	пальмитоил	-7,1	84,4
Seq. ID No. 6	RMYKMMAGMYLR	миристоил	-20,2	54,7
Seq. ID No. 7	RVMYKMNKRDY	миристоил	16,4	82,7
Seq. ID No. 8	RVMFKMFKRDY	миристоил	6,1	87,1

Количественная оценка ответа M3 показала, что пептиды SEQ ID NO: 1-8 были эффективны при 50 мМ после 1 ч предварительной инкубации.

Пример 4. Характеристика доза-ответ для ингибирующего эффекта.

Характеристику эффективности пептидов SEQ ID NO: 1,3-8 получали путем расчета половинной максимальной ингибирующей концентрации (IC₅₀). С этой целью проводили экспериментальную процедуру, касающуюся культуры клеток и анализа с помощью флуоресцентного кальциевого зонда, как описано в примере 2. Пептиды оценивали при концентрациях от 0,1 до 100 пМ и инкубировали в течение 1 ч вместе с зондом Fluo-4 NW. Впоследствии активность M3 определяли путем считывания флуоресценции на ридере FLUOstar Galaxy (BMG LabTechnologies) с использованием фильтра 485 нм для возбуждения и 520 нм для испускания, регистрируя сигнал до и после активации M3 ацетилхолином. Измерения флуоресценции были стандартизированы на максимальный сигнал флуоресценции, детектируемый при стимуляции ацетилхолином в клетках, обработанных носителем. Значения ингибирования активности M3 рассчитывали в процентах, принимая во внимание максимальную флуоресценцию, соответствующую ацетилхолиновой M3-активации, и минимальную для нестимулированных клеток. Чтобы получить IC₅₀, данные о ингибировании в процентах были аппроксимированы на сигмоидальную кривую. В табл. F приведены значения ингибирования для IC₅₀.

Пептид	Последовательность	N-концевое производное	IC ₅₀ [мкМ]
Seq. ID No. 1	WMRL	пальмитоил	38,3
Seq. ID No. 2	WMRLK	пальмитоил	7,2
Seq. ID No. 3	WMRLKA	пальмитоил	12,7
Seq. ID No. 4	WMNLKT	пальмитоил	8,0
Seq. ID No. 5	WMFLK	пальмитоил	61,1
Seq. ID No. 6	RMYKMMAGMYLR	миристоил	55,2
Seq. ID No. 7	RVMYKMNKRDY	миристоил	55,0
Seq. ID No. 8	RVMFKMFKRDY	миристоил	9,8

Все пептиды были эффективны в одном и том же диапазоне концентраций, показывая эффективность 50% в диапазоне от 10 до 60 мМ. Наиболее эффективными пептидами согласно полученным IC₅₀ были SEQ ID NO: 2, 4, 8 и 3, за которыми следуют 1, 6, 7 и 5.

Пример 5. Анализ жизнеспособности клеток кератиноцитов и фибробластов человека.

В этом примере оценивали влияние тестируемых пептидов на жизнеспособность клеток эпидермальных кератиноцитов и фибробластов кожи человека. Анализ с 3-(4,5-диметил-2-тиазолил)-2,5-дифенил-2Н-тетразолийбромидом (МТТ) использовали для мониторинга пролиферации и жизнеспособности клеток на основе способности фермента митохондриальной дегидрогеназы разрушать и трансформировать тетразолиевые кольца МТТ.

Эпидермальные кератиноциты высевали в предварительно покрытый 96-луночный планшет при 50-60%-ной конфлюэнтности в 100 мкл среды с добавками. Кожные фибробласты высевали в 96-луночный планшет при 70% конфлюэнтности в 100 мкл среды с добавками. Через 24 ч после посева среду заменяли свежей средой с добавками, содержащей пептиды, растворенные в диапазоне концентраций от 0,1 до 100 мМ, или SDS в качестве эталона 100% токсичности, или DMSO в качестве носителя для

пептидов. Все тестируемые вещества инкубировали в течение 24 ч при 37°C и 5% CO₂. После этого среду заменяли на 4 ч 0,5 мг/мл раствора МТТ 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. Значения токсичности рассчитывали в процентах с учетом максимального цитотоксического эффекта для клеток, обработанных SDS, и минимального для необработанных клеток. В табл. G подробно описаны эффекты пептидов SEQ ID NO: 1, 5, 6 и 7 на кератиноциты и фибробласты в виде процента ингибирования жизне-способности клеток.

Таблица G

Пептид	Последовательность	N-концевое производное	% ингибирования жизнеспособности клеток				
			мкМ	HEKa	HDFa		
Seq. ID No. 1	WMRL	пальмитоил (соль TFA)	100	10,3	-3,5		
			50	8,9	0,1		
			10	-14,9	7,8		
		пальмитоил (ацетатная соль)	100	56,5	22,5		
			50	39,7	8,2		
			10	7,1	10,1		
			5	3,8	9,2		
			1	-4,8	6,6		
			0,1	-9,5	5,2		
		Seq. ID No. 5	WMFLK	пальмитоил (соль TFA)	100	22,7	25,5
					50	14,5	22,7
					10	-9,4	22,2
пальмитоил (ацетатная соль)	100			56,8	35,2		
	50			49,6	31,9		
	10			11,0	31,5		
	5			-9,1	27,2		
	1			-10,9	10,0		
	0,1			-18,7	3,6		
Seq. ID No. 6	RMYKMMAGMYLR			ацетил (соль TFA)	100	17,1	-9,9
					50	14,3	-3,3
					10	-13,0	4,0
		миристоил (соль TFA)	100	-	29,3		
			50	-	38,4		
			10	-	43,7		
		миристоил (ацетатная соль)	100	93,9	60,3		
			50	80,0	35,2		
			10	8,0	13,8		
			5	-12,2	10,6		
			1	-0,7	6,3		
			0,1	-4,3	1,3		

Seq. ID No. 7	RVMYKMNKRDY	ацетил (соль TFA)	100	15,4	19,4
			50	20,7	11,5
			10	-11,0	8,5
		миристоил (соль TFA)	100	-	12,1
			50	-	8,7
			10	-	11,5
		миристоил (ацетатная соль)	100	96,4	48,5
			50	87,5	34,6
			10	1,53	14,0
			5	2,87	7,9
			1	1,43	1,7
			0,1	5,3	4,1

Пептиды SEQ ID NO: 1, 5, 6 и 7 оценивали в виде соли TFA и/или ацетатной соли. Как правило, пептиды в виде ацетатной соли не ухудшали жизнеспособность клеток при тестировании в концентрациях ниже 50 мМ. Напротив, пальмитоилированный по N-концу SEQ ID NO: 1, пальмитоилированный по N-концу SEQ ID NO: 5, пальмитоилированный по N-концу SEQ ID NO: 6 и пальмитоилированный по N-концу SEQ ID NO: 7 не влиял на пролиферацию клеток в виде соли TFA при любой оценке.

Пример 6. Оценка антиперспирантного эффекта при кратковременном введении на мышинной модели секреции пота.

В этом примере оценивали краткосрочные эффекты пептида по изобретению SEQ ID NO: 2 в пальмитоилированной форме на модели потоотделения *in vivo*, индуцированной пилокарпином. Эту модель создавали с использованием пилокарпина, неселективного агониста мускариновых рецепторов, на самцах мышей C57BL6/Rcc в возрасте 11 недель.

Тестируемое соединение представляет собой пептид по изобретению, имеющий следующую последовательность (SEQ ID NO: 2):

Пальмитоил-WMRLK-NH₂

Тестируемое соединение вводили *i.pl.* в правую заднюю лапу (10, 30 и 100 мкг) за 30 мин до стимуляции потоотделения. Носителем являлся 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. 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 физиологического раствора (носитель, 0%). Статистический анализ представлял собой односторонний дисперсионный анализ с последующим апостериорным множественным сравнительным тестом Даннетта, 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. Н.

Таблица Н

Пальм-SEQ ID NO: 2	% ингибирования	SEM	Статистика
10 мкг/лапу	67,3	± 5,4	****
30 мкг/лапу	63,2	± 5,9	****
100 мкг/лапу	67,9	± 7,5	****

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

Пример 7. Оценка антиперспирантного эффекта при хроническом введении на мышинной модели секреции пота.

В этом примере оценивали длительные эффекты пептида по изобретению SEQ ID NO: 2 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 внутривенной (*i.pl.*) инъекцией пилокарпина (3 мкг/лапу) в правую заднюю лапу (потоотделение) один раз в 1, 2 и 4-ю недели в соответствии с табл. I.

Таблица I

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: 2):

Пальмитоил-WMRLK-NH₂

Тестируемое соединение вводили i.pl. в правую заднюю лапу (1, 10 и 100 мкг/на инъекцию). Введенный 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 Даннетта, 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. J.

Таблица J

	Пальм-SEQ ID NO: 2	% ингибирования	SEM	Статистика
Неделя 1	1 мкг/лапу	9,1	±11,1	****
	10 мкг/лапу	27,5	±4,5	**
	100 мкг/лапу	28,0	±4,7	
Неделя 2	1 мкг/лапу	22,2	± 8,4	*
	10 мкг/лапу	35,4	±4,5	****
	100 мкг/лапу	26,3	±4,8	**
Неделя 4	1 мкг/лапу	10,7	±6,8	****
	10 мкг/лапу	27,9	±5,9	****
	100 мкг/лапу	29,7	±2,2	

Пальм-SEQ ID NO: 2 показал значительное подавление потоотделения в течение 4 недель лечения при тестировании при 10 и 100 мкг/лапу.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Пептид с последовательностью, идентичной последовательностям SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2, или последовательностью, имеющей по меньшей мере 70%-ную идентичность последовательности с любой из последовательностей SEQ ID NO: 1 или SEQ ID NO: 2; или пептид, имеющий длину, равную или меньше 15 аминокислот, и включающий любую одну из SEQ ID NO: 3, или SEQ ID NO: 4, или SEQ ID NO: 5, или последовательность, имеющую по меньшей мере 70%-ную идентичность последовательности с любой из последовательностей SEQ ID NO: 4 или SEQ ID NO: 5, или последовательность, имеющую по меньшей мере 90%-ную идентичность последовательности с последовательностью SEQ ID NO: 3, и его производное или соль, где указанное производное включает N- и/или C-конец указанного пептида, который химически модифицирован или защищен органическим соединением.

2. Пептид, имеющий длину, равную или меньше 20 аминокислот, и включающий последовательность SEQ ID NO: 6 или последовательность, имеющую по меньшей мере 70%-ную идентичность последовательности с SEQ ID NO: 6, и его производное или соль, где указанное производное включает N- и/или C-конец указанного пептида, который химически модифицирован или защищен органическим соединением.

3. Пептид, имеющий длину, равную или меньше 20 аминокислот, и включающий последовательности SEQ ID NO: 7, или SEQ ID NO: 8, или последовательность, имеющую по меньшей мере 70%-ную идентичность последовательности с SEQ ID NO: 7 или SEQ ID NO: 8, и его производное или соль, где указанное производное включает N- и/или C-конец указанного пептида, который химически модифици-

рован или защищен органическим соединением.

4. Пептид, имеющий длину, равную или меньше 20 аминокислот, и включающий последовательности SEQ ID NO: 9, или SEQ ID NO: 10, или последовательность, имеющую по меньшей мере 70%-ную идентичность последовательности с SEQ ID NO: 9 или SEQ ID NO: 10, и его производное или соль, где указанное производное включает N- и/или C-конец указанного пептида, который химически модифицирован или защищен органическим соединением.

5. Пептид по любому из пп.1-4, где указанное органическое соединение выбрано из группы, состоящей из фосфорильной, гликозильной, ацильной, алкильной, карбоксильной, гидроксильной, биотинильной, убиквитинильной и амидогрупп.

6. Пептид по п.5, где указанная ацильная группа выбрана из группы, состоящей из ацетильной, лауроильной, миристильной и пальмитоильной групп.

7. Пептид по любому из пп.1-4, где его N-конец химически модифицирован или защищен ацетильной или пальмитоильной группой.

8. Пептид по любому из пп.1-4, где указанная соль представляет собой соль указанного пептида или его производного с подходящей кислотой или основанием.

9. Пептид по п.8, где указанная кислота выбрана из группы, состоящей из хлористоводородной кислоты, уксусной кислоты, трифторуксусной кислоты, щавелевой кислоты, малеиновой кислоты, метансульфоновой кислоты, пара-толуолсульфоновой кислоты, янтарной кислоты, лимонной кислоты, винной кислоты и молочной кислоты.

10. Пептид по п.8, где указанная кислота выбрана из группы, состоящей из соляной кислоты, уксусной кислоты и трифторуксусной кислоты.

11. Пептид по п.8, 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 моноэтанолamina, диэтанолamina и триэтанолamina; гуанидина, морфолина, пиперидина, пирролидина, пиперазина, 1-бутилпиперидина, 1-этил-2-метилпиперидина, N-метилпиперазина, 1,4-диметилпиперазина, N-бензилфенилэтиламина, N-метилглюкозамина и трис(гидроксиметил)аминометана.

12. Пептид по любому из пп.1-4, где по меньшей мере одна аминокислота, перечисленная в левом столбце табл. С, в любой одной из указанных SEQ ID NO: 1-10 заменена аминокислотой, перечисленной в центральном столбце табл. С, при условии, что полученная последовательность имеет по меньшей мере 70% идентичности по последовательности, предпочтительно по меньшей мере 80% и более предпочтительно по меньшей мере 90%, с любой одной из указанных SEQ ID NO: 1-10 соответственно.

13. Пептид по любому из пп.1-4, где по меньшей мере одна аминокислота, перечисленная в левом столбце табл. С, в любой одной из указанных SEQ ID NO: 1-10 заменена аминокислотой, указанной в правом столбце табл. С, при условии, что полученная последовательность имеет по меньшей мере 70% идентичности по последовательности, предпочтительно по меньшей мере 80% и более предпочтительно по меньшей мере 90%, с любой из указанных SEQ ID NO: 1-10 соответственно.

14. Косметическая композиция, содержащая

(i) пептид по любому одному из пп.1-13 и его производное или соль; и

(ii) по меньшей мере один косметически приемлемый ингредиент.

15. Фармацевтическая композиция, содержащая

(i) пептид по любому одному из пп.1-13 и его производное или соль; и

(ii) по меньшей мере один фармацевтически приемлемый ингредиент.

16. Терапевтический или нетерапевтический способ улучшения состояния кожи, опосредованного активностью мускаринового рецептора М3, включающий в себя местное нанесение фармацевтической или косметической композиции, содержащей

(i) пептид по любому одному из пп.1-13 и его производное или соль; и

(ii) по меньшей мере один фармацевтически или косметически приемлемый ингредиент.

17. Способ по п.16, где указанные состояния кожи, опосредованные активностью мускаринового рецептора М3, выбирают из группы, состоящей из чрезмерного потоотделения, воспаления, продукции кожного сала и клеточной адгезии, подвижности, роста, дифференцировки и пролиферации.

18. Полинуклеотид, кодирующий пептид по любому одному из пп.1-13.

