



(51) МПК
A61K 9/127 (2006.01)
A61K 38/05 (2006.01)
A61K 38/08 (2006.01)

**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
 ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: **2007120617/15, 08.03.2005**

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
08.03.2005

(30) Конвенционный приоритет:
29.12.2004 **СН 02164/04**
01.02.2005 **СН 00144/05**

(43) Дата публикации заявки: **10.02.2009**

(45) Опубликовано: **10.12.2009** Бюл. № 34

(56) Список документов, цитированных в отчете о
 поиске: **JP 2004161773 A, 10.06.2004. XP 007133365,**
01.02.2004. RU 2097038 C1, 27.11.1997. RU
2062623 C1, 27.06.1996.

(85) Дата перевода заявки РСТ на национальную
 фазу: **30.07.2007**

(86) Заявка РСТ:
EP 2005/002477 (08.03.2005)

(87) Публикация РСТ:
WO 2006/069608 (06.07.2006)

Адрес для переписки:
191036, Санкт-Петербург, а/я 24,
"НЕВИНПАТ", пат.пов. А.В.Поликарпову

(72) Автор(ы):

МОНТАНАРИ Даниэла (ИТ),
ГУГЛЕЛЬМО Мануэла (ИТ)

(73) Патентообладатель(и):

Лабо Коспрофар АГ (СН)

**(54) КОСМЕТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ КОЖНОГО ПРИМЕНЕНИЯ, ПРИГОДНАЯ ДЛЯ
 РАЗГЛАЖИВАНИЯ МИМИЧЕСКИХ МОРЩИН**

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине и касается косметической композиции для кожного применения, пригодной для разглаживания мимических морщин, в которой выбраный активный пептидный компонент, обладающий уменьшающим сокращение или расслабляющим действием на мышечное волокно, объединен с микроэлементом, который уменьшает уровень мышечного сокращения, воздействуя непосредственно или опосредовано на компонент мышечного волокна. Действующие начала данной

косметической композиции настоящего изобретения удобно переносить посредством липосом. Изобретение обеспечивает альтернативную косметическую композицию, которая не содержит ботулинический токсин, но способна вызывать эффективное разглаживание мимических морщин, минуя неприятную процедуру инъекций активных агентов и возникновение побочных эффектов, типичных для местного применения ботулинического токсина. 2 н. и 15 з.п. ф-лы, 4 ил., 2 табл.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,
PATENTS AND TRADEMARKS

(51) Int. Cl.
A61K 9/127 (2006.01)
A61K 38/05 (2006.01)
A61K 38/08 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21), (22) Application: **2007120617/15, 08.03.2005**
 (24) Effective date for property rights:
08.03.2005
 (30) Priority:
29.12.2004 CH 02164/04
01.02.2005 CH 00144/05
 (43) Application published: **10.02.2009**
 (45) Date of publication: **10.12.2009 Bull. 34**
 (85) Commencement of national phase: **30.07.2007**
 (86) PCT application:
EP 2005/002477 (08.03.2005)
 (87) PCT publication:
WO 2006/069608 (06.07.2006)
 Mail address:
191036, Sankt-Peterburg, a/ja 24, "NEVINPAT",
pat.pov. A.V.Polikarpovu

(72) Inventor(s):
MONTANARI Daniehla (IT),
GUGLEL'MO Manuehla (IT)
 (73) Proprietor(s):
Labo Kosprofar AG (CH)

(54) COSMETIC COMPOSITION FOR SKIN APPLICATION, SUITABLE FOR FLATTENING OF MIMIC WRINKLES

(57) Abstract:
 FIELD: medicine.
 SUBSTANCE: invention relates to medicine and concerns cosmetic composition for skin application, suitable for flattening of mimic wrinkles, in which selected active peptide component, which has contraction-reducing or weakening action on muscular fibre, is combined with microelement, which reduces level of muscular contraction, influencing directly or indirectly on component of muscular fibre. It is convenient to

transport active principles of said cosmetic composition of claimed invention by liposomes.

EFFECT: invention provides alternative cosmetic composition, which does not contain botulinic toxin, but is capable of inducing effective flattening of mimic wrinkles, escaping unpleasant procedure of injections of active agents and origination of side effects, typical for local application of botulinic toxin.

17 cl, 7 ex, 4 dwg, 2 tbl

RU 2 375 045 C2

RU 2 375 045 C2

Настоящее изобретение относится к косметической композиции для кожного применения, применимой для разглаживания мимических морщин.

Морщины на лице представляют собой более или менее линейные бороздки, присутствующие на коже лица, имеющие разную длину и рассматриваемые как

Причины образования морщин могут быть главным образом отнесены к комбинированному действию следующих факторов:

1) общий хронологический возраст кожи, 2) гравитационная сила, 3) дегенерация эластических и коллагеновых волокон в результате действия солнечного света; 4) результат повторяющихся движений мышц и суставов.

Эти факторы различным образом влияют на образование морщин в зависимости от того, являются эти морщины возрастными, гравитационными, актиническими или мимическими морщинами.

Возрастные морщины образуются в результате уменьшения толщины дермы и сокращения количества присутствующих в ней фибробластов, а также замедления клеточного обновления и самого клеточного метаболизма.

Гравитационные морщины появляются, когда эластические волокна и измененные коллагеновые пучки дермы более не способны противостоять гравитационной силе и физиологически проявляются в процессе старения организма.

Актинические морщины являются следствием кумулятивного повреждения, вызванного солнечным излучением в эластических и коллагеновых волокнах. Они присутствуют в областях, подверженных действию света. Они соответствуют большему или меньшему акцентированию кожного узора, что создает ряд тонких распространенных морщин.

Мимические морщины представляют собой бороздки, которые образуются на коже лица в значительной степени в результате повторяющихся растяжений мимических

В возрасте тридцати лет мимические морщины уже хорошо видны, и с возрастом они становятся все более глубокими. Они считаются динамическими морщинами и, следовательно, находятся в непосредственной зависимости от сократительной мышечной силы и числа сокращений. Эти морщины более выражены у субъектов, которые широко используют мимику лица, они более заметны в различных высокодинамических точках лица, например вокруг рта или глаз, при образовании складок на лбу, или на той части, которая чаще всего используется для экспрессии.

Для того чтобы лучше понимать их природу и происхождение, следует отметить, что лицевые мимические мышцы имеют отношение к контурам глазниц, века, носу, губам, щекам, рту, ушной раковине, коже головы и коже шеи. Лицевые мимические мышцы маленькие и тонкие, их общей особенностью является наличие кожного нервного окончания, и они могут быть поднимающими, опускающими, сжимающими и расширяющими мышцами. Они играют двойную роль: функциональную и экстериоризации психических функций субъекта. Почти все они находятся в подкожной соединительной ткани передней части лица. От их глубокого места прикрепления на уровне лицевых костей они поднимаются к поверхности по направлению к коже, где на уровне глубокого дермального слоя они прикрепляются к поверхности. Их сокращение вызывает движение кожи лица с образованием складок, которые всегда перпендикулярны к направлению мышечных волокон. Эти складки вызывают изменения черт лица, специфичных для этой конкретной мышцы, и их можно считать динамичным выражением личности, характера или конкретного

душевного состояния.

Лицевые мышцы, как все мышечные ткани, состоят из мышечных волокон (каждое мышечное волокно представляет собой одну мышечную клетку), состоящих из сотен длинных сокращающихся пучков, называемых миофибриллами, в свою очередь состоящих из сокращающихся нитей. Нервные волокна иннервируют мышечные волокна посредством разветвлений, заканчивающихся вздутиями, называемыми синаптическими бутонами. Когда нервный импульс, вызывающий сокращение, достигает конца нервного волокна, на уровне синаптического бутона происходит аккумуляция большого количества пузырьков, содержащих медиатор ацетилхолин, который вслед за слиянием пузырьков с мембраной нейрона высвобождаются в большом количестве в пространстве, находящемся между синаптическим бутонем и мышечным волокном (синаптическое пространство).

После высвобождения молекул ацетилхолина они связываются со специфическими рецепторами, или канальными белками, которые проходят через всю толщину плазматической мембраны мышечной клетки. Эти канальные рецепторы обычно закрыты и остаются в таком состоянии, пока многочисленные молекулы ацетилхолина не свяжутся с ними, вызывая их открывание. При открывании этих рецепторных каналов ацетилхолина происходит общий проход больших количеств положительных ионов (ионы натрия Na^+) внутрь мышечной клетки. Этот поток ионов Na^+ вызывает инверсию полярности мышечной плазматической мембраны: так называемую деполяризацию мембраны, которая приводит к возникновению потенциала действия. Однажды возникший, потенциал действия распространяется от места приложения стимула к следующим участкам мембраны, вызывая ее деполяризацию.

Потенциал действия индуцирует высвобождение в цитоплазме клетки ионов кальция Ca^+ на участке эндоплазматического ретикулума, органеллы, находящейся внутри мышечной клетки, которая содержит большую концентрацию ионов кальция. Их высвобождение происходит в результате открывания потенциал-зависимых каналов, присутствующих в мембране ретикулума, которые под воздействием потенциала действия открываются, выпуская ионы кальция. В тот момент, когда кальций высвобождается в цитоплазму мышечной клетки, все присутствующие там сокращающиеся нити быстро активируются, вызывая сокращение мышцы. Кальций, таким образом, действует как действующий выключатель, способный инициировать мышечное сокращение.

Современное лечение против морщин, в частности, основано на взаимодействии с системой передачи нервных импульсов на мышечные волокна участка потенциально токсичного вещества, ботулинического токсина.

Ботулинический токсин, обычно называемый Ботулин, продуцируется бактерией *Clostridium Botulinum*, причиной инфекций, которые могут также вызвать смерть субъекта от паралича дыхательных мышц, следующего за прекращением высвобождения ацетилхолина на уровне нервных окончаний на мускулатуре с последующей блокадой передачи нервных импульсов к мышечной мембране.

Открытие механизма его действия перевело этот токсин в разряд лекарственных средств, способных облегчать, на протяжении более 20 лет, многие патологические состояния, такие как: наследственное косоглазие, блефароспазм, спазмы суставов, тяжелое недержание.

Начиная с 1992 г. канадский дерматолог развивал идею применения ботулинического токсина в косметической области для разглаживания глabellaрных

морщин, т.е. вертикальных линий, находящихся над бровями. Эта идея становилась все более применимой в нетерапевтических областях, но ее применение для чисто эстетических целей было одобрено FDA (Управление по контролю за продуктами и лекарствами США) только в 2002. Инъекции небольшими дозами пластическими хирургами и дерматологами посредством кожных микроинъекций в мимические морщины, он разглаживает морщины, так как он устраняет сокращения мышц. В Италии одобрение было получено в апреле 2004 для исключительного применения в области пластических операций специалистами челюстно-лицевой хирургии, дерматологами и офтальмологами.

Применение ботулинического токсина для эстетических целей посредством кожных микроинъекций предполагается главным образом для разглаживания вертикальных мимических морщин лба, между бровями. Однако его применение часто было расширено на верхнюю треть лица (лоб, надпереносье, глаза).

Хотя лечение ботулиническим токсином революционизировало косметический подход к лечению лицевых морщин, его применение не лишено недостатков, которые могут к тому же быть серьезными.

Возможные риски, связанные с инъекциями ботулинического токсина для эстетических целей, такие как боль в области обработки, эритема, тошнота, набухание, широко известны и задокументированы в научной литературе. Избыточное количество может также вызвать застывшее выражение лица, в то время как ошибка в инокуляте может вызвать опущение бровей или век.

Принимая во внимание то, что было описано выше, представляется очевидной необходимость использования косметических продуктов для разглаживания мимических морщин посредством местного и, следовательно, неинвазивного применения, таким образом уменьшая неизбежные риски в таких способах эстетического лечения.

Цель настоящего изобретения состоит в предложении композиции и косметического способа, способного вызвать эффективное разглаживание мимических морщин без обращения к неприятному способу введения (микроинъекция) действующих начал.

Другая цель данного изобретения состоит в предложении косметической композиции, способной разглаживать мимические морщины, не вызывая возникновения побочных эффектов типичных для местного применения ботулина.

Еще одна цель данного изобретения состоит в предложении косметической композиции, не содержащей ботулинического токсина, которая способна уменьшать микросокращения кожи лица, обеспечивая эффект разглаживания мимических морщин, что приводит к их уменьшению или исчезновению.

Цели данного изобретения достигаются предложением композиции для косметического применения, как указано в пункте 1 формулы изобретения. Дополнительные характеристики данного изобретения уточнены в последующих пунктах формулы изобретения.

Настоящее изобретение исходит из предположения, что путем комбинирования выбранного пептидного компонента, обладающего устраняющим сокращение или расслабляющим действием на мышечное волокно, с микроэлементом, который уменьшает уровень мышечного сокращения, непосредственно или опосредованно воздействуя на компонент мышечного волокна, можно получить синергическое действие в отношении сглаживания морщины. Такое разглаживающее действие особенно очевидно в отношении мимических морщин.

Следовательно, согласно первому аспекту данного изобретения, предложена

косметическая композиция, основанная на действующих началах, которая, воздействуя посредством прямых и/или непрямых механизмов на различные места приложения действия на уровне клетки или мышечного волокна, осуществляет синергическое расслабляющее воздействие на само волокно, что вызывает разглаживание мимических морщин, особенно заметное с эстетической точки зрения.

В соответствии с первым аспектом данного изобретения заявитель обнаружил, что синергическое разглаживающее действие на морщины особенно заметно, когда активный пептидный компонент этой композиции представляет собой пентапептид, содержащий следующие аминокислоты: аланин (ala), аргинин (arg), пролин (pro), глицин (gly).

Согласно предпочтительному воплощению, указанный пептидный компонент состоит из 5 аминокислот с курареподобной активностью и предпочтительно представляет собой следующую последовательность: GLY-PRO-ARG-PRO-ALA.

На синаптическом уровне пептид GLY-PRO-ARG-PRO-ALA конкурирует с нейромедиатором ацетилхолином за связывание с его рецептором, присутствующим на уровне мембраны мышечной клетки и имеющим структуру в форме канала. Эти канальные рецепторы обычно закрыты и остаются в таком положении, пока многочисленные молекулы ацетилхолина не связываются с ними, вызывая их открывание. После связывания указанного пептида вместо ацетилхолина каналы остаются закрытыми и, следовательно, положительные ионы (ионы натрия Na^+) не проходят внутрь мышечной клетки, что необходимо для деполяризации мембраны, следовательно, мышечное сокращение не происходит, так как нет аккумуляции ионов Ca^+ .

Обычно пентапептид типа gly-pro-arg-pro-ala- NH_2 , особенно подходящий для применения по данному изобретению, может быть получен с помощью химического синтеза в твердой фазе. Согласно такому способу синтеза пентапептид синтезируют, используя твердый полимерный носитель, такой как, например, смола хлортритилхлорид-2, к которому последовательно, начиная с первой аминокислоты, присоединены аминокислоты. Последняя аминокислота может быть использована в модифицированной форме таким образом, что она будет присоединена к смоле и остается защищенной (Fmoc-защита) под действием реагентов, используемых во время полипептидного синтеза.

Соответственно, затем следуют одна или более чем один цикл фаз очистки, обычно посредством ионообменной хроматографии и гель-хроматографии, что приводит к получению очищенного олигопептида.

Согласно одному воплощению, активный пептидный компонент композиции данного изобретения представляет собой пентапептид gly-pro-arg-pro-ala- NH_2 , ассоциированный с дипептидом, обладающим устраняющим сокращение или расслабляющим действием на мышечное волокно, соответственно содержащим аминокислоты тирозин и аргинин, которые вмешиваются в процессы нервно-мышечной передачи, вызывая расслабление мышечного волокна и последующее расслабление самой мускулатуры.

В частности, указанный дипептид тирозин-аргинин:

- в нейронах центральной нервной системы (ЦНС) стимулирует генную экспрессию РОМС (Проопиомеланокортин) предшественника гена метэнкефалина, нейропептида, вовлеченного в расслабление мускулатуры.

- уменьшает синтез CGRP (пептида, связанного с геном кальцитонина), нейропептида, вовлеченного в стимуляцию мышечной активности. Хотя, с одной

стороны, ацетилхолин вызывает сокращение мышечных волокон, с другой стороны, CGRP стимулирует образование циклического АМФ, который, через последовательность цепи фосфорилирований, усиливает тонус сокращения и активизирует выработку энергии в мышечной клетке.

5 Согласно одному воплощению дипептид тирозин-аргинин ацетируют, чтобы сделать его более липофильным, более стабильным и биодоступным на кожном уровне. Ацетил-тирозин-аргинин-1-цетиловый эфир, форма, способная эффективно модулировать высвобождение нейромедиаторов, особенно подходит для кожного и
10 косметического применения.

Согласно другому воплощению, косметическая композиция содержит комбинацию одного или обоих пента/ди-пептидных компонентов, описанных ранее, с микроэлементом, который уменьшает степень мышечного сокращения.

15 В рамках данного изобретения термин микроэлемент относится к физиологически приемлемым неорганическим элементам, которые осуществляют и вносятся в проведение нервных импульсов к мышечным волокнам. Подходящие микроэлементы в рамках данного изобретения представляют собой один или более микроэлементов, выбранных из натрия, калия, магния, их солей и физиологически приемлемых
20 производных.

Одновременное присутствие микроэлементов натрия, калия и магния является особенно благоприятным, так как, действуя посредством разных механизмов, описанных далее, эти микроэлементы вызывают закрытие двух точек доступа к мышечной клетке, значительно ограничивая высвобождение ионов кальция из них и
25 препятствуя механизму мышечного сокращения.

В испытаниях "in vitro" было обнаружено, что введение на уровне нейромышечных синапсов комбинации натрия и калия вызывает мышечно-расслабляющее действие, которое приводит к последующему разглаживанию мимических морщин.

30 В связи с этим заявитель также идентифицировал экстракт аниса на водной основе, природный источник, который богат натриевыми и, главным образом, калиевыми солями. Его механизм мышечно-расслабляющего типа действия специфически связан с калием, который блокирует натрий-калиевый насос, имеющийся на уровне мембраны мышечной клетки, предвзяв вход натрия и препятствуя сокращению мышечных
35 миофибрилл. Отсутствие введения натрия и значительное присутствие калия снаружи мышечной клетки препятствует деполяризации мембраны и открыванию кальциевых каналов, расположенных на уровне эндоплазматического ретикулума мышечной клетки. Отсутствие аккумуляции указанных ионов кальция в клетке препятствует
40 сокращению миофибрилл, содержащихся внутри мышечной клетки, таким образом предотвращая сокращение всей мышцы.

Анисовый экстракт, следовательно, представляет природный источник натрия-калия, который особенно подходит для получения косметической композиции для борьбы с мимическими морщинами.

45 Подходящий водный раствор, богатый солями Na^+ и, главным образом, ионами K^+ , получают посредством водной экстракции из плодов *Pimpinella Anisum*, используя воду в качестве растворителя, и отношение сырьевой материал/экстракт, равное 1/2. Процесс экстракции обычно представляет собой растворение плодов аниса в воде, последующий ферментативный гидролиз, разделение растворимой и нерастворимой
50 фаз, фильтрацию и возможно конечную стерильную фильтрацию.

Обычно присутствие внутри косметической композиции по изобретению магния и/или его солей/производных также может быть важно для итогового эффекта против

морщин, так как этот микроэлемент обладает устраняющим сокращение действием на мышечную систему, как это продемонстрировано в проведенных испытаниях "in vitro".

Магний действительно вызывает уменьшение концентрации ионов кальция, воздействуя на потенциал-зависимые кальциевые каналы, присутствующие на уровне
5
эндоплазматического ретикулума мышечной клетки. Препятствуя их открыванию, магний предотвращает высвобождение ионов кальция, которыми заполнен ретикулум. Ингибируя их высвобождение, ингибируют также импульс к сокращению.

Было экспериментально продемонстрировано, что при изменении концентрации
10
ионов магния в различные периоды, количество ионов кальция, которое высвобождается из везикул эндоплазматического ретикулума, уменьшается с аналогичным увеличением концентрации ионов Mg^{++} , присутствующих в среде. В частности, оценивали зависимость потока ионов кальция на выходе от наружной
15
концентрации ионов магния. Полученные результаты представлены на графике Фиг.2.

Показано, что среди различных производных магния, которые можно использовать в рамках данного изобретения, глюконат магния является особенно подходящим для применения в косметической композиции.

Согласно особенно предпочтительному воплощению, косметическая композиция
20
по данному изобретению содержит комбинацию пентапептида gly-pro-arg-pro-ala с дипептидом ацетил-тирозин-аргинином и микроэлементами натрия, калий и глюконат магния. Продолжительное местное нанесение этой композиции на области тела, требующие лечения против мимических морщин, вызывает расслабление мышечных
25
волокон, как показано в "in vitro" испытаниях, вызывая, например, уменьшение глубины морщин, образующихся в результате повторяющихся сокращений при движении лицевых мимических мышц.

Согласно одному воплощению, композиция по данному изобретению содержит:

- от 0,001% до 5% по массе натрия и калия
- 30 - от 0,001% до 5% глюконата магния
- от 0,001% до 5% ацетил-тирозил-аргинил(дипептид)-1-цетилового эфира
- от 0,001% до 5% gly-pro-arg-pro-ala-NH₂.

Заявитель предполагает применение этих действующих начал в увеличивающейся
35
дозировке в отношении к степени выраженности морщин, которая может быть определена по оценочной шкале, которая, однако, не является исчерпывающей, например средние морщины, глубокие морщины и очень глубокие морщины.

Для того чтобы разгладить мимические морщины, указанные выше действующие
40
начала синергично действуют на механизм устранения сокращения мышечной клетки согласно следующему порядку действий:

- Пентапептид gly-pro-arg-pro-ala-NH₂ главным образом действует на
постсинаптическую мембрану. Указанный пентапептид является конкурентным
антагонистом мембранных рецепторов ацетилхолина (Ach). Когда мембранные
45
рецепторы ацетилхолина блокированы, ионные каналы остаются закрытыми. Ионы натрия не проходят внутрь мышечной клетки, следовательно, не индуцируется высвобождение ионов кальция, и мышца остается расслабленной с соответствующим
расслаблением поверхностных тканей и сглаживанием морщин.

- Комбинация натрия и калия обладает свойством влиять на натрий-калиевые
50
насосы, присутствующие на уровне мембраны мышечной клетки, блокируя их и, следовательно, предотвращая открывание кальциевых каналов. Отсутствие аккумуляции ионов кальция в мышечной клетке гарантирует, что сокращения не происходит.

- Магний является антагонистом кальция и ингибирует его высвобождение на участке потенциал-зависимых кальциевых каналов, присутствующих на эндоплазматическом ретикулуле мышечной клетки. Ингибируя высвобождения ионов кальция, также ингибируют импульс к сокращению.

5 - Ацетил-дипептид тирозин-аргинин-1 цетилового эфира стимулирует синтез нейропептидов-мессенджеров мышечного расслабления и ингибирует синтез медиаторов-мессенджеров мышечного сокращения.

10 Устраняющее сокращение синергическое действие на лицевые мышцы согласно предпочтительному воплощению препарата, объекта данного изобретения, выражается комбинацией таких разных механизмов действия, проиллюстрированных на прилагаемой Фиг.3.

15 Косметические композиции или препараты по данному изобретению предложены в любой подходящей для нанесения на кожу форме, такой как кремы, эмульсии, лосьоны, гели, масла, пасты, мази, спреи и т.д., для предупреждения и уменьшения кожных микросокращений с конечным эффектом разглаживания мимических морщин.

20 Для приготовления данной композиции используют оборудование, имеющееся в настоящее время для способов в соответствии с методиками, обычными для специалистов в данной области.

25 Одно или более чем одно действующее начало добавляли и диспергировали внутри физиологически приемлемого носителя в соответствии с методиками, известными специалистам в данной области, подходящим образом добавляя одну или более добавки, такие как стабилизаторы, эмульгаторы, эксципиенты, консерванты, ароматизаторы и суспендирующие агенты.

30 Для расширения их действия и обеспечения лучшего осуществления действия через кожу указанные действующие начала могут быть заключены в переносчик или носитель, представляющий собой липосомы, которые постепенно высвобождают их в месте действия. Применение липосом имеет целью облегчение проникновения действующих начал к месту действия. Используемые липосомы предпочтительно представляют собой липосомы многослойного типа и удобно, чтобы они имели размеры в пределах 150-500 нм. Частицы в общем случае имеют более 5 слоев и их концентрические кольца медленно расщепляются; они постепенно выделяют свое содержимое, которое диффундирует наружу, по мере того как концентрация в наружной фазе снижается. Большое число слоев позволяет лучше удерживать водорастворимые молекулы по сравнению с другими типами везикул.

40 В частности, липосомы, используемые в данном препарате/композиции, объекте настоящего изобретения, имеют пролипосомный тип, т.е. являются липосомами, которые образуются во время фаз обработки при получении препарата. Фосфолипиды удобно готовить в форме беспорядочно собранных двойных слоев, и образование липосом инициируется добавлением, при перемешивании, подходящего количества воды в избытке по отношению к смеси действующих начал.

45 Нанесение косметической композиции на кожу лица может осуществляться непосредственно пальцами и/или с использованием способа, уже представленного на рассмотрение в виде патентной заявки, который позволяет распределить препарат непосредственно на бороздку морщины с помощью градуированного шприцевого прецизионного устройства, оснащенного катетером для наружного применения с усеченным концом. В результате точного нанесения косметического препарата такое устройство для нанесения (швейцарская заявка на патент №01714/04) представляет собой инновацию, так как оно позволяет точно наносить препарат непосредственно

на бороздку морщин, также повышая эффективность самой композиции, объекта настоящего изобретения.

5 Действующие начала можно также свободно диспергировать в косметическом препарате и это применение предпочтительно, но не исключительно, осуществляют в дополнительных продуктах, нацеленных на свободное распределение по коже лица, а не на бороздку морщины.

Следующие примеры предложены исключительно в целях иллюстрации настоящего изобретения и ни в коем случае не должны рассматриваться как ограничивающие
10 объем его охраны, как он указан в прилагаемой формуле изобретения.

ПРИМЕР 1

Состав косметической композиции согласно данному изобретению с липосомами, подходящий в качестве активного препарата для чрескожного применения и называемого Votoïna:®

- 15 - 1% по массе пентапептида gly-pro-arg-pro-ala-NH₂
- 4% по массе анисового экстракта
- 1% глюконата магния
- 2% ацетил-тирозил-аргинил (дипептид)-1-цетилового эфира
- 20 - 6-8% вазелинового масла
- 5-7% полиизопрена
- 0,1-1% стеарилового спирта 25-этоксилат
- 1-2% кокк-полипептида пшеницы
- 25 - 1-2% пшеничных белков, этерифицированных пальмитиновой кислотой
- 1-3% глицерилизостеарата
- 1-3% пропиленгликоля
- 0-1% ланолинового масла
- 0-1% диметикона
- 30 - 0,1-1% лецитина
- 0,001-0,1% глицерина
- 0,001-0,1% спирта
- консерванты/антиоксиданты сколько требуется
- отдушка
- 35 - вода сколько требуется до 100.

ПРИМЕР 2

Состав косметической композиции согласно данному изобретению, пригодный в качестве дополнительного косметического препарата:

- 40 - 0,5% по массе пентапептида gly-pro-arg-pro-ala-NH₂
- 1% по массе анисового экстракта
- 0,5% глюконата магния
- 1% ацетил-тирозил-аргинил (дипептид)-1-цетилового эфира
- 45 - 5-7% вазелинового масла
- 5-7% полиизопрена
- 0,1-1% стеарилового спирта 25-этоксилат
- 1-2% кокк-полипептида пшеницы
- 1-2% пшеничных белков, этерифицированных пальмитиновой кислотой
- 50 - 1-3% глицерилизостеарата
- 1-3% пропиленгликоля
- 2-3% изостеарилового спирта
- 0-1% ланолинового масла

- 0-1% пантенола
- консерванты/антиоксиданты сколько требуется
- отдушка
- вода сколько требуется до 100.

ПРИМЕР 3

Состав косметической композиции согласно данному изобретению, пригодный в качестве поддерживающего косметического препарата:

- 0,3% по массе пентапептида gly-pro-arg-pro-ala-NH₂
- 0,5% по массе анисового экстракта
- 0,3% глюконата магния
- 0,5% ацетил-тирозил-аргинил (дипептид)-1-цетилового эфира
- 6% вазелинового масла
- 5% полиизопрена
- 0,5% стеарилового спирта 25-этоксилата
- 2% кокк-полипептида пшеницы
- 2% пшеничных белков, этерифицированных пальмитиновой кислотой
- 2% глицерилизостеарата
- 1% пропиленгликоля
- 3% изостеарилового спирта
- 0,5% ланолинового масла
- 0,5% диметикона
- отдушка
- консерванты/антиоксиданты, сколько требуется
- вода, сколько требуется до 100.

ПРИМЕР 4

Для того чтобы оценить эффективность препарата, объекта Примера 1, было проведено исследование самооценки у части выборки из 40 женщин в возрасте от 35 до 65 лет.

Добровольцы наносили активный препарат на морщины в течение 20 суток, используя шприцевое устройство с катетером с усеченным концом.

Выборка из женщин была составлена следующим образом:

- 16 женщин в возрасте от 35 до 45 лет
- 12 женщин в возрасте от 46 до 55 лет
- 12 женщин в возрасте от 56 до 65 лет

Препарат наносили в дозе один миллилитр точно в бороздку лобных морщин, глабеллярных морщин, контуров глаз, носогубных морщин и контуров губ. Его оставляли действовать в течение 10 минут и затем массировали кончиками пальцев до полного его всасывания.

Добровольцы выражали самооценку по состоянию их мимических и кожных морщин в целом в конце 20 суток лечения, отвечая на вопросы анкеты.

На вопрос "Заметили ли вы уменьшение мимических морщин?" были получены следующие результаты:

- 75% добровольцев (30 из 40 женщин) заявили, что они заметили уменьшение мимических морщин.

- В выборке, состоящей из 16 женщин в возрасте от 35 до 45 лет, 87,5% (14 женщин из 16) заявили, что они заметили уменьшение мимических морщин.

- В выборке, состоящей из 12 женщин в возрасте от 46 до 55 лет, 58,3% (7 женщин из 12) заявили, что они заметили уменьшение мимических морщин.

- В выборке, состоящей из 12 женщин в возрасте от 56 до 65 лет, 75% (9 женщин из 12) заявили, что они заметили уменьшение мимических морщин.

На вопрос "После 20 суток заметили ли вы улучшение вашей кожи в отношении гладкости и разглаживания морщин?" были получены следующие результаты:

- 80% добровольцев (32 женщины из 40) заявили, что они заметили улучшения кожи.

- В выборке, состоящей из 16 женщин в возрасте от 35 до 45 лет, 62,5% (10 женщин из 16) заявили, что они заметили улучшения кожи.

- В выборке, состоящей из 12 женщин в возрасте от 46 до 55 лет, 83,3% (10 женщин из 12) заявили, что они заметили улучшения кожи.

- В выборке, состоящей из 12 женщин в возрасте от 56 до 65 лет, 100% женщин заявили, что они заметили улучшения кожи.

Их также просили выразить мнение по применению данного способа нанесения с целью уменьшения морщин. На вопрос "Считаете ли вы, что способ нанесения данного препарата на бороздку морщины с помощью шприца и катетера полезен для получения эффекта уменьшения морщин?" были получены следующие результаты:

- 92% добровольцев (37 женщины из 40) ответили ДА.

- В выборке, состоящей из 16 женщин в возрасте от 35 до 45 лет, 87,5% (14 женщин из 16) ответили ДА.

- В выборке, состоящей из 12 женщин в возрасте от 46 до 55 лет, 100% женщин ответили ДА.

- В выборке, состоящей из 12 женщин в возрасте от 56 до 65 лет, 91,5% женщин (11 женщин из 12) ответили ДА.

ПРИМЕР 5

In vitro проверка эффективности пентапептида.

Частоту сокращений определяли в совместной модели нерв-мышца для оценки способности пентапептида gly-pro-arg-pro-ala-NH₂, используемого в концентрации 0,3% по массе, устранять сокращения.

Через 1 минуту и через 2 часа инкубации с исследуемым действующим началом подсчитывали контролируемые сокращения за период 30 сек.

При применении 0,3% указанного пентапептида уменьшение частоты сокращений было следующим:

- Через 1 минуту среднее уменьшение частоты сокращений составляло 69,75%

- Через 2 часа среднее уменьшение частоты сокращений составляло 60,75%

Полученные данные обобщены на диаграмме, показанной на прилагаемой Фиг.4.

ПРИМЕР 6

Оценивали активность двух микроэлементов, натрия и калия, скомбинированных для косметического применения.

In vitro проверка эффективности.

Наличие сокращения определяли в модели нерв-мышца для оценки способности комбинации натрий-калий в количестве 1, 2, 3% устранять сокращения. Подсчитывали контролируемые сокращения за период 30 сек до начала самой обработки и через 20 минут контакта совместной культуры с исследуемым действующим началом.

Комбинация натрий-калий демонстрирует мышечно-расслабляющее действие, уменьшая мышечное сокращение в следующей степени:

натрий-калий 1%: - 27%

натрий-калий 2%: - 86%

натрий-калий 3%: - 100%

Эти результаты обобщены на диаграмме, показанной на Фиг.1.

In vitro проверка эффективности

Уменьшение поверхности, длины и количества морщин "гусиные лапки", глабеллярных и носогубных морщин оценивали у 20, 19, 20 добровольцев соответственно. Они применяли эмульсию, содержащую натрий-калий в количестве 4%
 5 два раза в сутки в течение 28 суток. В конце 28 суток были получены следующие результаты:

Морщины "гусиные лапки":

Общее уменьшение поверхности: - 40%

10 Общее уменьшение длины: - 34%

Общее уменьшение количества: - 13%

Улучшения наблюдались у 85% добровольцев.

Глабеллярные морщины

15 Уменьшение общей поверхности: - 20%

Уменьшение общей длины: - 21%

Уменьшение общего количества: - 18%

Улучшения наблюдались у 68% добровольцев.

Носогубные морщины

20 Уменьшение общей поверхности: - 22%

Уменьшение общей длины: - 20%

Уменьшение общего количества: - 17%

Улучшения наблюдались у 65% добровольцев.

ПРИМЕР 7

25 Оценивали эффективность дипептида N-ацетил-тирозил-аргинил (дипептид)-гексадецилового эфира, растворенного в гидрогликолевых эксципиентах, в устранении сокращения.

In vitro проверка эффективности

30 1. Оценка экспрессии гена РОМС (нейромедиатор расслабления) в культуре кератиноцитов человека, инкубируемых в течение 24 ч в присутствии ацетилдипептида в количестве 0,4%, 0,9% и 1,9%. В отношении указанного наивысшая исследуемая сверхэкспрессия гена оказалась:

35 - ацетил Дипептид-1 цетиловый эфир 0,9% более +29%

- ацетил Дипептид-1 цетиловый эфир 1,9% более +63%

2. Оценка синтеза CGRP (нейромедиатор сокращения) в культуре нейронов, инкубируемых в течение 6 часов в присутствии ацетил-дипептида в количестве 2,8% и 4,7%. В отношении указанного, после инкубации с дипептидом наблюдали

40 уменьшение синтеза CGRP, равное:

- ацетил-Дипептид-1-цетиловый эфир 2,8% - 0%

- ацетил-Дипептид -1 -цетиловый эфир 4,7% - 50%

3. Оценка частоты сокращений в модели сокультуры нерв-мышца при инкубации с ацетил-Дипептид -1-цетиловым эфиром в количестве 0,9% в течение 5 минут и 2 ч.

45 Контролируемое сокращение 3 мышечных волокон уменьшалось следующим образом:

- через 5 минут инкубации с ацетил-Дипептид-1-цетиловым эфиром 1 волокно из 3 демонстрировало ингибирование сокращения на более чем 20%

50 - через 2 часа инкубации с ацетил-Дипептид-1-цетиловым эфиром все 3 волокна демонстрировали ингибирование сокращения на 100%.

Полученные результаты обобщены в следующей Таблице.

УМЕНЬШЕНИЕ СОКРАЩЕНИЯ МЫШЕЧНОГО ВОЛОКНА

	Отрицательный Контроль	Положительный контроль (α-бунгаротоксин)	Ацетил-Дипептид-1-цетиловый эфир (0,9%)	
			Через 5 мин	Через 2 часа
Волокно 1	0	Блокада	более 20%	Блокада
Волокно 2	0	Блокада	менее 20%	Блокада
Волокно 3	0	Блокада	менее 20%	Блокада

5

Эффект соединений глюконата магния и пентапептида и их комбинации на частоту сокращения иннервированных мышечных фибрилл.

10 В настоящем исследовании изучали синергическую активность соединений Глюконата магния и Пентапептида в качестве миорелаксантов в модели *in vitro* сокультуры сократительный нерв - мышца.

Человеческие поперечно-полосатые мышечные клетки в сокультуре с эксплантатами спинного мозга использовали для оценки эффекта данных соединений и их комбинации на частоту сокращения мышечных клеток.

15

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Биологические модели

Мышечные клетки

20

- Тип клеток: Нормальные мышечные клетки человека (миобласты: Mu2b, 3-й пассаж)

- Культуральная среда MEM 65% (об./об.) (Invitrogen 21090-022) M199 25% (об./об.) (Invitrogen 31153-026), дополненная пенициллин 50 МЕ/мл - стрептомицин 50 мкг/мл (Invitrogen 15070063)

25

L-глутамин 2 мМ (Invitrogen 25030024)

эпидермальный фактор роста 10 нг/мл (EGF, Invitrogen 3700-015)

фактор роста фибробластов 2 нг/мл (FGF, Invitrogen 13256-029)

инсулин 10 мкг/мл (Sigma 19278)

фетальная телячья сыворотка (FCS) 10% (об./об.) (Invitrogen 10270098)

30

- Условия культивирования: 37°C, 5% CO₂

Нервно-мышечная сокультура

- Тип клеток: Нормальные мышечные клетки человека (миобласты: Mu2b, 3-й пассаж)

35

и
Эксплантаты спинного мозга 13-суточных эмбрионов крысы с прикрепленными ганглиями заднего корешка

MEM 65% (об./об.) (Invitrogen 21090-022)

M199 25% (об./об.) (Invitrogen 31153-026)

40

пенициллин 50 МЕ/мл - стрептомицин 50 мкг/мл

(Invitrogen 15070063)

L-глутамин 2 мМ (Invitrogen 25030024)

инсулин 10 мкг/мл (Sigma 19278)

(FCS) 10% (об./об.) (Invitrogen 10270098)

45

- Условия культивирования: 37°C, 5% CO₂

Таблица 1
Тестируемые соединения, смесь и контроль

Тестируемое соединение	Аспект	Исходный раствор	Разведение	Тестируемые концентрации
Глюконат магния	Порошок Хранение при КТ	10 мг/мл	Среда для иннервации	0,66 и 2 мг/мл
Пентапептид	Порошок Хранение при +4°C	25 мМ	Среда для иннервации	1,67 и 5 мМ

50

	Смесь	Исходный раствор	Разведение	Тестируемые концентрации
5	Глюконат магния + Пентапептид	См. таблицу выше	Среда для иннервации	0,66 мг/мл + 1,67 мМ и 2 мг/мл + % мМ

	Контроль	Исходный раствор	Разведение	Тестируемые концентрации
10	Каризопродол	1 мМ в этаноле	Среда для иннервации	10^{-3} М

Сокультура человеческих мышечных клеток и с эксплантатов спинного мозга крысы

15 Человеческие мышечные клетки культивировали в планшетах с покрытыми желатином лунками. При достижении конfluenceности один эксплантат спинного мозга 13-суточных эмбрионов крысы с прикрепленными дорсальными ганглиями заднего корешка помещали на каждый мышечный монослой. Сокультуры инкубировали в среде для иннервации. В этих условиях культивирования первые 20 концентрации мышечных фибрилл наблюдали после 12 суток совместного культивирования. Через 3 недели в сокультуре иннервированные мышечные фибриллы становились поперечно-полосатыми, имели хорошо дифференцированные нервно-мышечные синапсы и демонстрировали другие критерии, такие как 25 биохимическое и фармакологическое созревание.

Обработка культуры и анализ частоты сокращения

Культуры наблюдали с использованием инвертированного микроскопа (Nikon Diaphot 300), оборудованного камерой (JVC TK-C701EG), для записи 30 видеопоследовательности и с двигательной стадией, запускаемой программой анализа (Lucia 6.0). Таким образом, положение достойных внимания полей может быть записано, и поля могут автоматически помещаться под линзы.

Через 27 суток культивирования и для каждой экспериментальной точки выбирали одну лунку с мышечной фибриллой, имеющей постоянную частоту сокращения, и 35 частоту сокращения считали в течение 30 секунд.

Мышечные клетки в сокультуре с эксплантатами спинного мозга инкубировали в среде для иннервации согласно следующим условиям:

- Контроль (среда для иннервации)
- 40 - Эталон Каризопродол 10^{-3} М
- Глюконат магния в 2 концентрациях
- Пентапептид в 2 концентрациях
- Глюконат магния + Пентапептид в 2 концентрациях

Каждое экспериментальное условие осуществляли в n=3.

45 После 1 минуты инкубации в среде для иннервации, содержащей или не содержащей (контроль) тестируемые соединения, смесь соединений или эталон, определяли количество сокращений в течение 30 секунд.

Сокультуры затем инкубировали, и количество сокращений каждой выбранной 50 фибриллы определяли в течение 30 секунд после 2-, 24- и 48-часовой инкубации.

После 24 часов инкубации соединений осуществляли визуальный анализ клеток в сокультуре для того, чтобы проверить жизнеспособность клеток.

Для устранения возможной потери глюкозы в среде после 24 ч инкубации в каждую

культуральную лунку добавляли концентрированный раствор глюкозы (5 г/л). Через одну минуту после добавления глюкозы определяли количество сокращений для каждой выбранной фибриллы в течение 30 секунд.

5 Для наблюдения восстановления частоты сокращения после 24 часов инкубации среду меняли на среду для иннервации. Клетки в сокультуре инкубировали в течение дополнительных 24 часов. В конце инкубации в каждую культуральную лунку добавляли концентрированный раствор глюкозы (5 г/л). Через одну минуту после добавления глюкозы определяли количество сокращений для каждой выбранной
10 фибриллы в течение 30 секунд.

Восстановление частоты сокращения является существенным параметром, который подтверждает отсутствие цитотоксичности соединения на нейроны. Фактически, ингибирование частоты сокращения может быть связано со смертью мотонейронов. Эта гипотеза опровергается, когда активность сокращения восстанавливается.

15 Для анализа результатов учитывали следующие параметры:

- 25%-ное снижение частоты сокращения является незначимым
- Снижение частоты сокращения от 25% до 75% классифицируется как замедление
- Снижение более чем на 75% рассматривается как блокада сокращения

20 Анализ частоты сокращения

Контрольная среда

Контрольная среда не изменяла частоту сокращения 3 мышечных фибрилл после 1 минуты, 2 и 24 часов инкубации. После 48 часов инкубации наблюдали замедление частоты сокращения с контрольной средой для одного мышечного волокна
25 (Таблица 2).

Каризопродол

Каризопродол представляет собой миорелаксантное эталонное соединение, которое блокирует сокращение. Это соединение действует на концевую пластинку
30 двигательного нерва на мышце (Таблица 2).

После 1 минуты инкубации каризопродол в концентрации 10^{-3} М блокировал сокращения 2 мышечных фибрилл, и этот эталон индуцировал снижение частоты сокращения третьей мышечной фибриллы. Никакого сокращения 3 мышечных
35 фибрилл не наблюдалось после 2 часов инкубации.

Мышечные фибриллы не восстанавливали свою сократительную активность после добавления глюкозы после 24 часов инкубации.

После замены супернатанта на контрольную среду и после дополнительных 24 часов инкубации 3 выбранные фибриллы восстанавливали сократительную
40 активность.

В заключение, каризопродол в концентрации 10^{-3} М блокировал сокращения мышечных фибрилл в культуре после 1 минуты, 2 и 24 часов инкубации. Этот эффект был обратимым, когда эталонное соединение удаляли.

45 Результаты, полученные с каризопродолом и контрольной средой, подтвердил эксперимент.

Глюконат магния

"Глюконат магния 0,66 мг/мл" и "Глюконат магния 2 мг/мл" (Таблица 2)

После 1 минуты инкубации соединение Глюконат магния, тестируемое в
50 концентрации 0,66 мг/мл, блокировало частоту сокращения 1 мышечной фибриллы из 3. После 2 часов инкубации соединение блокировало частоту сокращения 1 мышечной фибриллы и снижало частоту сокращения 1 мышечной фибриллы.

После 24 часов инкубации и добавления глюкозы соединение снижало частоту

сокращения 1 мышечной фибриллы и блокировало сокращения второй фибриллы, тогда как третья фибрилла восстанавливала свою сократительную активность. После замены супернатанта контрольной средой и после дополнительных 24 часов инкубации 2 мышечные фибриллы не восстановили сократительную активность.

5 После 1 минуты и 2 часов инкубации соединение Глюконат магния, тестируемое в концентрации 2 мг/мл, блокировало частоту сокращения 2 мышечных фибрилл из 3 и снижало сократительную активность третьей фибриллы. После 24 часов инкубации и добавления глюкозы данное соединение блокировало сокращения третьей мышечной
10 фибриллы, в то время как наблюдали незначительное восстановление частоты сокращения 2 мышечных фибрилл. После замены супернатанта контрольной средой и после 24 дополнительных часов инкубации мышечные фибриллы демонстрировали сократительную активность.

15 В заключение, в этих экспериментальных условиях соединение Глюконат магния продемонстрировало дозозависимую миорелаксантную активность после 1 минуты и 2 часов обработки. Эта активность была спонтанно обратимой после 24 часов инкубации.

Пентапептид

20 "Пентапептид 1,67 мМ" и "Пентапептид 5 мМ" (Таблица 2)

После 1 минуты и 2 часов инкубации соединение Пентапептид, тестируемое в концентрации 1,67 мМ, снижало частоту сокращения 1 мышечной фибриллы из 3. После 24 ч инкубации и добавления глюкозы данное соединение блокировало сокращения 1 мышечной фибриллы, тогда как третья фибрилла восстанавливала свою
25 сократительную активность. После замены супернатанта контрольной средой и после 24 дополнительных часов инкубации 2 мышечные фибриллы восстанавливали свою сократительную активность.

30 Соединение Пентапептид, тестируемое в концентрации 1,67 мМ, не оказывало никакого эффекта на мышечные фибриллы.

После 1 минуты соединения Пентапептид, тестируемое в концентрации 5 мМ, блокировало частоту сокращения 2 мышечных фибрилл и снижало частоту сокращения третьей фибриллы. После 2 ч инкубации соединение блокировало сокращения одной мышечной фибриллы и снижало частоту сокращения двух других.
35 После 24 ч инкубации и добавления глюкозы данное соединение блокировало сокращения 1 мышечной фибриллы, тогда как два других восстанавливали сократительную активность. После замены супернатанта контрольной средой и после 24 дополнительных часов инкубации 3 мышечные фибриллы восстанавливали
40 свою сократительную активность.

В заключение, в этих экспериментальных условиях соединения Пентапептид, тестируемое в концентрации 5 мМ, продемонстрировало миорелаксантную активность после 1 минуты и 2 часов обработки. Эта активность была обратимой.

Глюконат магния + Пентапептид

45 "Глюконат магния 0,66 мг/мл + Пентапептид 1,67 мМ" и "Глюконат магния 2 мг/мл + Пентапептид 5 мМ" (Таблица 2).

После 1 минуты инкубации смесь Глюконат магния + Пентапептид, тестируемая в наименьшей концентрации (0,66 мг/мл + 1,67 мМ), блокировала частоту сокращения 2 мышечных фибрилл и снижала частоту сокращения третьей фибриллы. После 2 часов инкубации смесь соединений блокировала сокращения 3 мышечных фибрилл.
50

После 24 ч инкубации и добавления глюкозы 2 мышечные фибриллы из 3 восстанавливали свою сократительную активность.

После замены супернатанта контрольной средой и после 24 дополнительных часов инкубации 2 мышечные фибриллы не восстанавливали свою первоначальную сократительную активность, но наблюдалось незначительное восстановление.

После 1 минуты и 2 часов инкубации смесь Глюконат магния + Пентапептид, тестируемая в наибольшей концентрации (2 мг/мл + 5 мМ), блокировала частоту сокращения 3 мышечных фибрилл.

После 24 ч инкубации и добавления глюкозы мышечные фибриллы не восстанавливали сократительную активность. После замены супернатанта контрольной средой и после 24 дополнительных часов инкубации 3 мышечные фибриллы восстанавливали свою сократительную активность.

В заключение, в этих экспериментальных условиях смесь Глюконат магния + Пентапептид, продемонстрировала миорелаксантную активность через 1 минуту и 2 часа после обработки, этот эффект был дозозависимым и более значительным, чем эффект, достигнутый с одним соединением. Эти результаты демонстрируют наличие синергического эффекта между Глюконатом магния и Пентапептидом.

Таблица 2

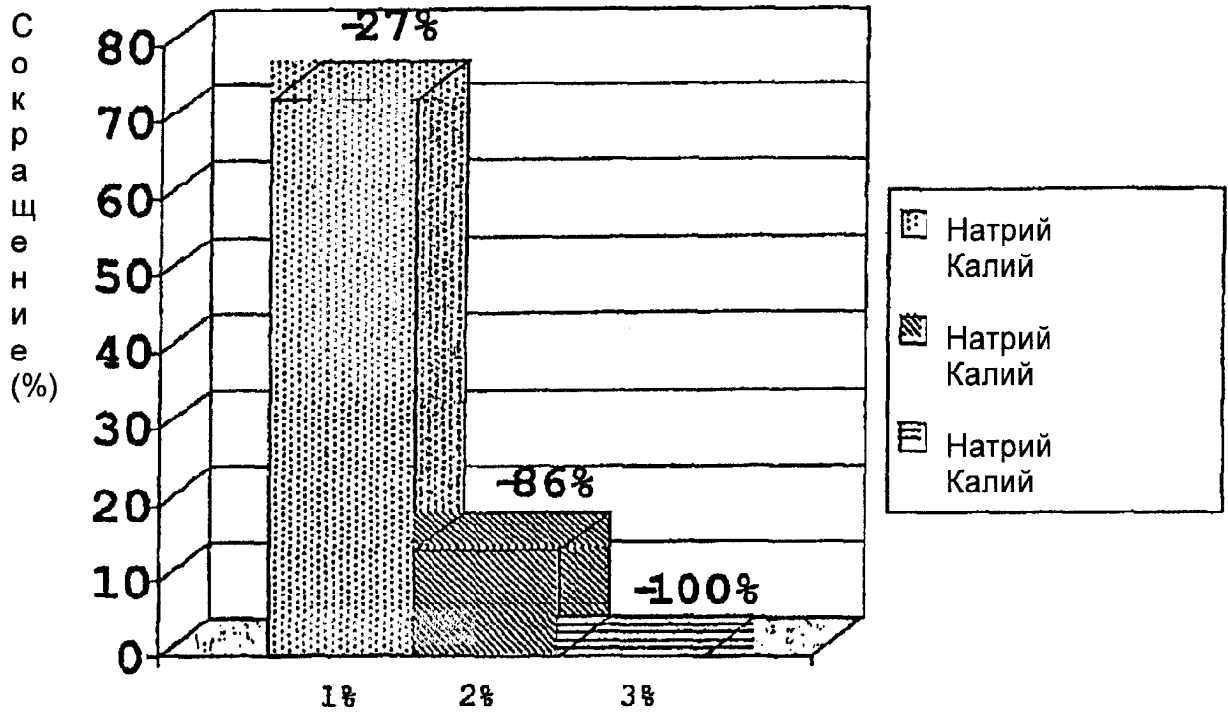
Модуляция частоты сокращения мышечных фибрилл в присутствии контрольной среды, эталонного соединения, Глюконата магния, Пентапептида или смеси Глюконат магния + Пентапептид.

Обработка		Конц-я		Сокращения в течение 30 с								
				Перед доб-м соед-я Кол-во сокращ.	Инкубация после добавления соединения							
					1 мин		2 ч		24 ч		48 ч	
					Кол-во сокращ.	% сокращ.	Кол-во сокращ.	% сокращ.	Кол-во сокращ.	% сокращ.	Кол-во сокращ.	% сокращ.
Контроль	-	92	93	101	68	74	80	87	87	95		
		86	70	81	112	130	81	94	84	98		
		96	80	83	74	77	81	84	53	55		
Каризопродол	10^{-3} М	58	0	0	0	0	0	0	45	78		
		100	41	41	0	0	0	0	67	67		
		33	0	0	0	0	0	0	40	121		
Глюконат магния	0,66 мг/мл	83	62	75	12	14	46	55	24	29		
		115	91	79	88	77	17	15	44	38		
	2 мг/мл	42	0	0	1	2	80	190	76	181		
		82	0	0	0	0	38	46	47	57		
Пентапептид	1,67 мМ	91	13	14	0	0	67	74	104	114		
		54	23	43	19	35	0	0	72	133		
		95	74	78	75	79	0	0	109	115		
Пентапептид	5 мМ	109	87	80	136	125	87	80	91	83		
		70	20	29	49	70	110	157	60	86		
		40	5	13	0	0	17	43	58	145		
Глюконат магния+	0,66 мг/мл	38	9	24	28	74	0	0	40	105		
		94	63	67	52	55	107	114	82	87		
		143	19	13	28	20	0	0	160	112		
Пентапептид	+1,67 мМ	103	5	5	0	0	59	57	26	25		
		134	68	51	19	14	90	67	53	40		
	2 мг/мл	47	0	0	0	0	0	0	52	111		
		115	0	0	0	0	0	0	86	75		
+ 5 мМ	105	0	0	0	0	0	0	120	114			

Формула изобретения

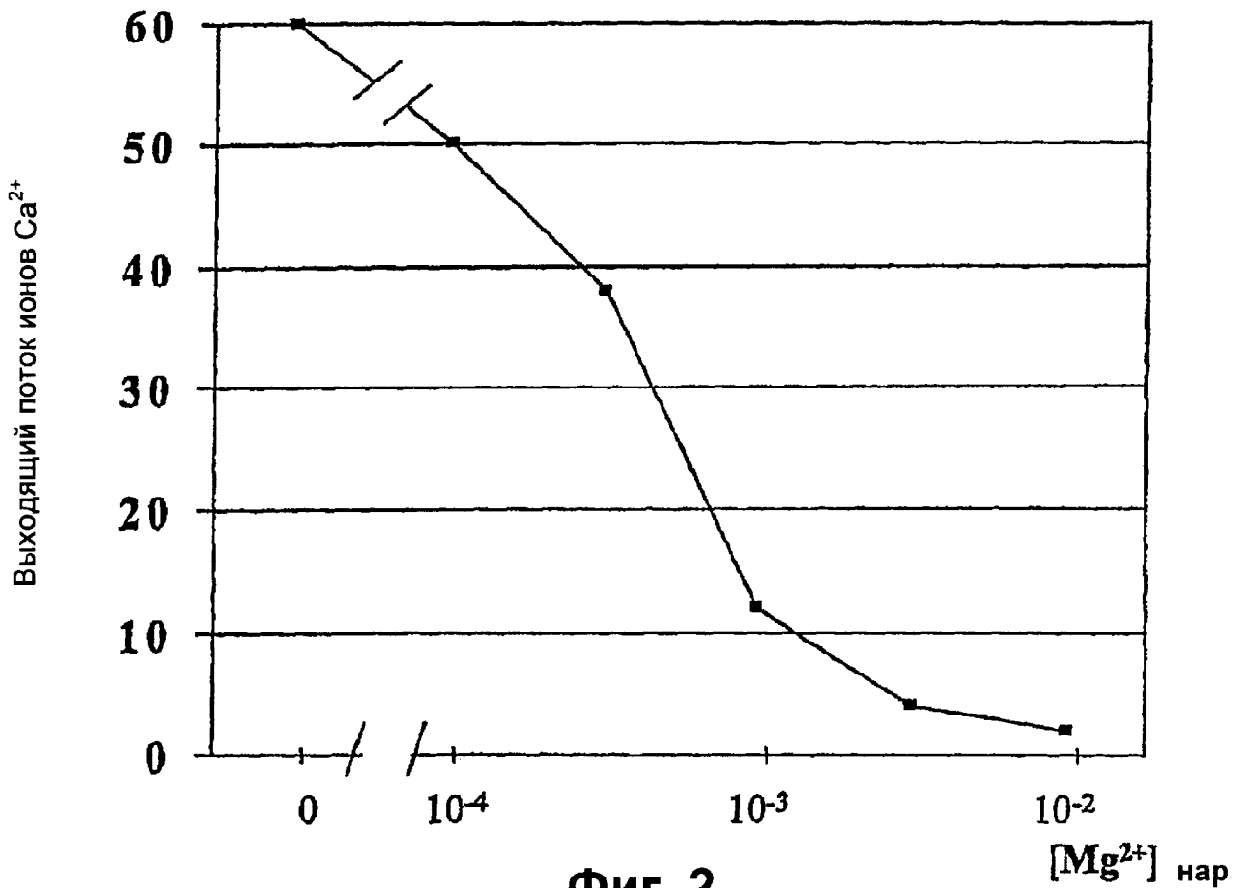
1. Косметическая композиция, пригодная для разглаживания мимических морщин, содержащая по меньшей мере один пептид с устраняющим сокращение воздействием на мышечное волокно, по меньшей мере один микроэлемент, который уменьшает сокращение мышечного волокна, и косметически приемлемый носитель, отличающаяся тем, что указанный пептид выбран из дипептида, содержащего аминокислоты тирозин и аргинин, пентапептида, имеющего последовательность GLY-PRO-ARG-PRO-ALA, и их смесей.
2. Композиция по п.1, где указанный дипептид ацетилирован с целью сделать его более липофильным.
3. Композиция по п.2, где указанный ацетилированный дипептид представляет собой ацетил-тирозин-аргинин-1-цетиловый эфир.
4. Композиция по п.1, где указанный по меньшей мере один пептид представляет собой пентапептид gly-pro-arg-pro-ala-NH₂ и дипептид тирозин-аргинин.
5. Композиция по п.1, где указанный микроэлемент представляет собой натрий, калий, магний, их соли и их смеси.
6. Композиция по п.1, где комбинация микроэлементов натрия-калия представлена в форме водного анисового экстракта.
7. Композиция по п.1, где указанный микроэлемент представляет собой глюконат магния.
8. Композиция по п.1, где указанный микроэлемент представляет собой комбинацию натрия, калия и глюконата магния.
9. Композиция по п.1, содержащая пентапептид gly-pro-arg-pro-ala-NH₂, дипептид ацетил-тирозин-аргинин-1-цетиловый эфир, натрий, калий, глюконат магния и косметически приемлемый носитель.
10. Композиция по п.1, содержащая от 0,001 до 5% по массе натрия и калия, от 0,001 до 5% по массе глюконата магния, от 0,001 до 5% по массе ацетил-тирозил-аргинил-1-цетилового эфира и от 0,001 до 5% пентапептида gly-pro-arg-pro-ala-NH₂.
11. Композиция по п.1 в форме косметического крема для нанесения на кожу.
12. Композиция по любому из пп.1-11, где указанный носитель представляет собой липосомы.
13. Композиция по п.12, где указанные липосомы представляют собой липосомы многослойного типа.
14. Композиция по п.12, где указанные липосомы имеют размер в интервале 150-500 нм.
15. Способ косметического лечения для разглаживания морщин, включающий нанесение на кожу, когда это лечение является необходимым, косметически эффективного количества композиции по любому из пп.1-14.
16. Способ по п.15, включающий нанесение косметической композиции непосредственно на бороздку морщины с помощью градуированного шприцевого прецизионного устройства, оснащенного катетером для наружного нанесения с усеченным концом.
17. Способ по п.15 или 16, где указанные морщины представляют собой мимические морщины.

ПРОЦЕНТНОЕ УМЕНЬШЕНИЕ ЧАСТОТЫ СОКРАЩЕНИЙ

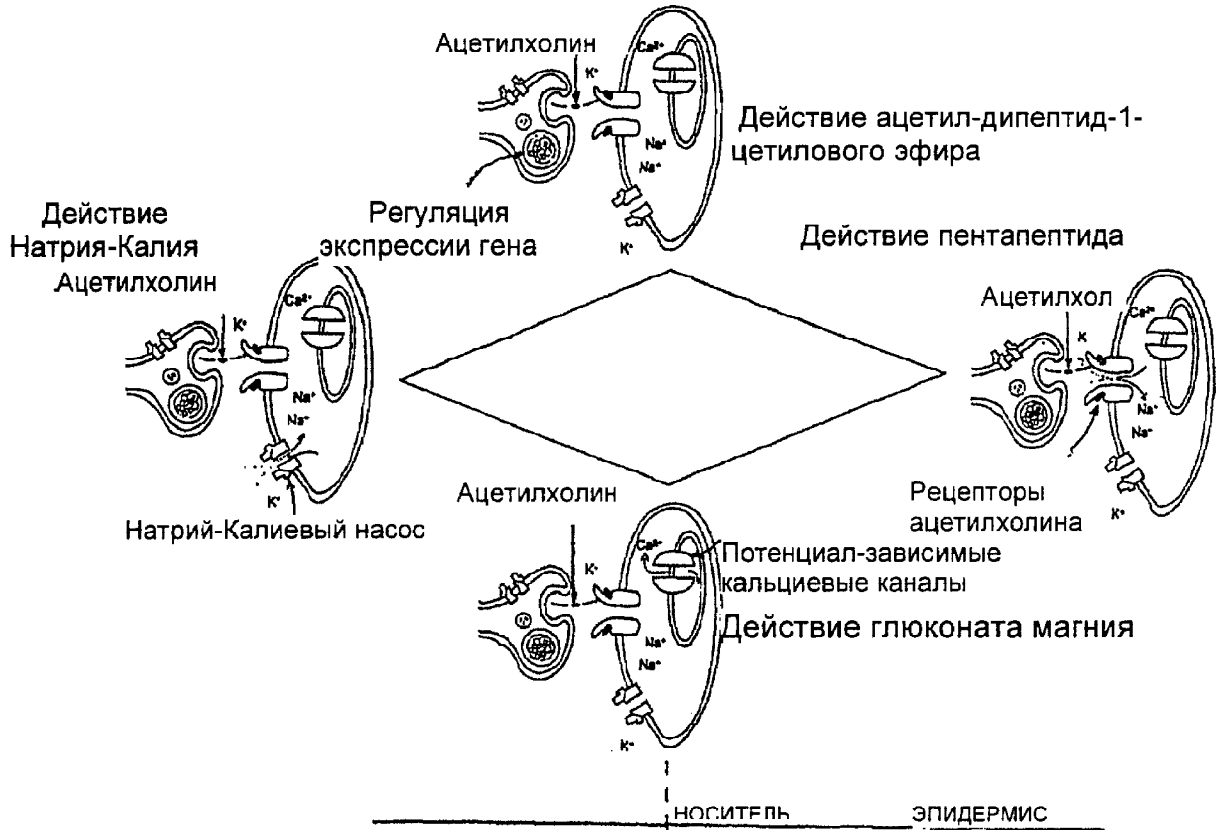


Фиг. 1

ЗАВИСИМОСТЬ ВЫХОДЯЩЕГО ПОТОКА ИОНОВ КАЛЬЦИЯ ОТ НАРУЖНОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ ИОНОВ МАГНИЯ

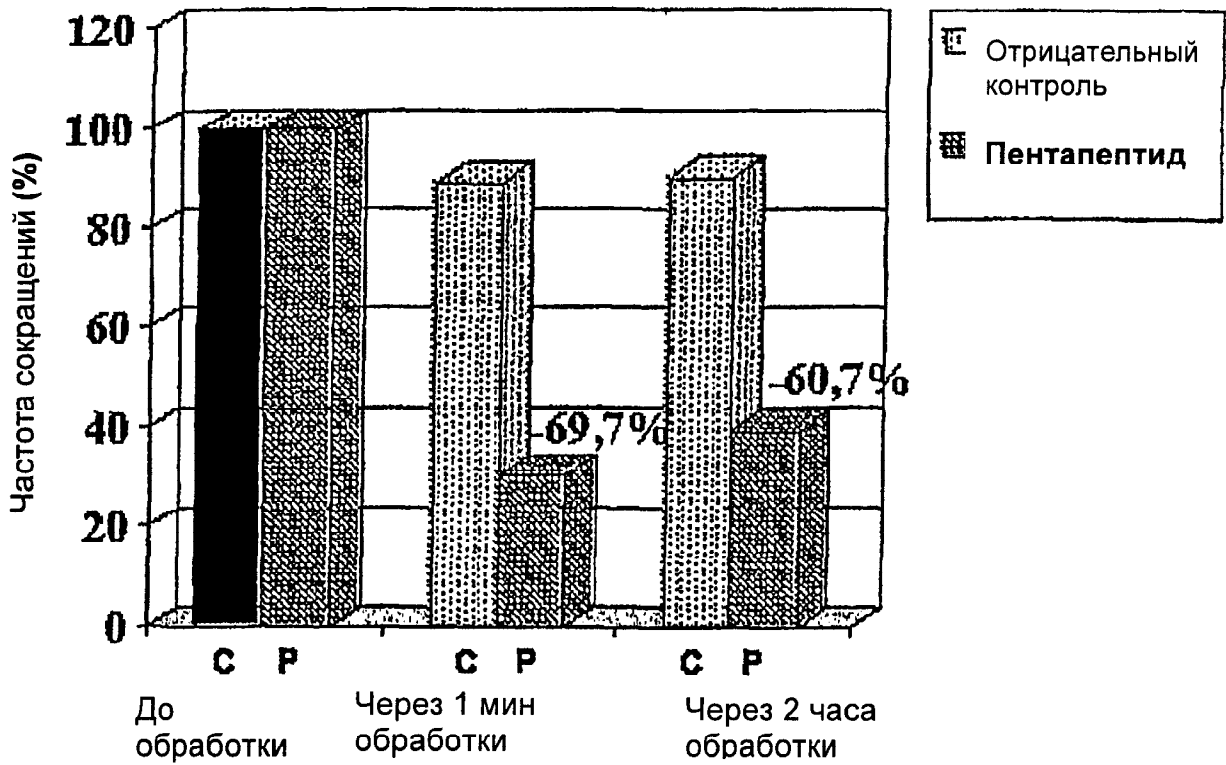


Фиг. 2



Фиг.3

ПРОЦЕНТНОЕ УМЕНЬШЕНИЕ ЧАСТОТЫ СОКРАЩЕНИЙ



Фиг.4