



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0030670

(51)⁸ C07C 233/64; A61K 8/40; A61K 8/44; (13) B
A61K 8/46; C07C 327/38; A61Q 19/08;
C07C 233/65; C07C 327/16; A61K
31/166; A61Q 19/02

(21) 1-2018-02954

(22) 09/12/2016

(86) PCT/KR2016/014470 09/12/2016

(87) WO 2017/099531 A1 15/06/2017

(30) 10-2015-0175779 10/12/2015 KR

(45) 25/01/2022 406

(43) 26/11/2018 368A

(73) DAEBONG LS, LTD (KR)

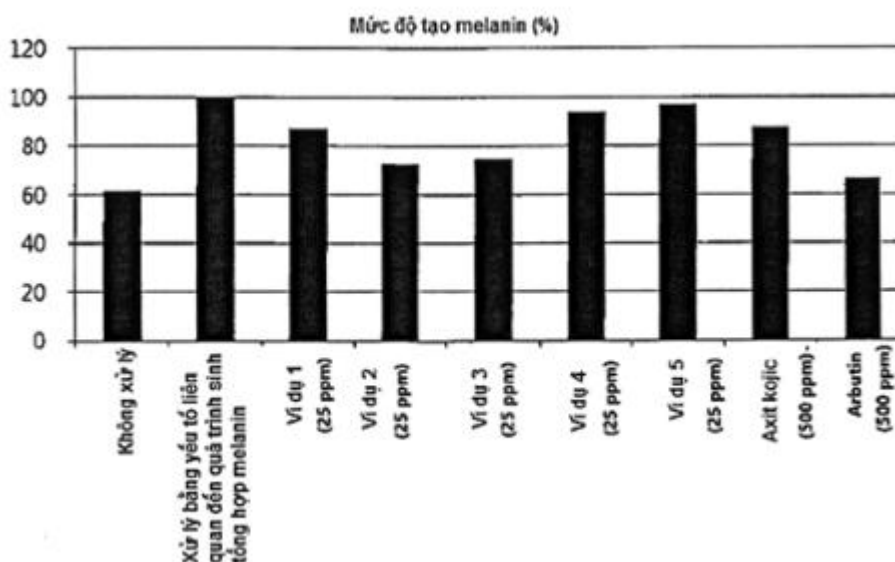
123, Neungheodaero-ro 649beon-gil Namdong-gu Incheon 21697, Republic of Korea

(72) PARK Jin Oh (KR); LEE Ji Won (KR); LEE Jae Young (KR); LEE Hye Ja (KR);
KWON Bo kyung (KR).

(74) Công ty TNHH Sở hữu trí tuệ Trần & Trần (TRAN & TRAN CO., LTD.)

(54) CHẾ PHẨM MỸ PHẨM CHỨA AXIT PHENOLIC

(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất axit phenolic có hoạt tính làm trắng và chống oxy hóa và mô tả việc sử dụng hợp chất này. Hợp chất theo sáng chế có công thức 1 được mô tả trong bản mô tả, chất đồng phân của nó hoặc muối của nó. Hợp chất theo sáng chế có hoạt tính làm trắng da để ức chế tyrosinaza, do đó thích hợp để sử dụng trong dược phẩm hoặc sản phẩm mỹ phẩm làm trắng da. Ngoài ra, hợp chất theo sáng chế thích hợp để phòng ngừa hoặc điều trị chứng bất thường hoặc bệnh về da do sự oxy hóa gây ra như chứng lão hóa da do nó có hoạt tính chống oxy hóa.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chế phẩm mỹ phẩm chứa axit phenolic có hoạt tính làm trắng và chống oxy hóa và mô tả việc sử dụng nó.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Phụ nữ muốn có làn da trắng và sáng như bạch ngọc và cho rằng làn da trắng và sáng là một tiêu chuẩn quan trọng của sắc đẹp. Do đó, các chất làm trắng để điều trị chứng nhiễm sắc tố da bất thường và đáp ứng nhu cầu làm đẹp đang được tích cực phát triển.

Màu da người được xác định bởi lượng melanin, caroten, và hemoglobin. Cụ thể, melanin có ảnh hưởng lớn nhất đến màu da. Do đó, việc kiểm soát quá trình tạo melanin được coi là nhiệm vụ quan trọng nhất để phát triển các chất làm trắng.

Melanin là polyme phenolic ở dạng là phức chất của sắc tố sẫm màu và protein. Melanin được tạo ra từ tyrosin thông qua các quá trình phức tạp nhờ tác dụng của tyrosinaza có mặt trong tế bào hắc tố và là chất rất quan trọng và cần thiết để bảo vệ tế bào da chống lại thương tổn do tia tử ngoại (ultra-violet: UV) gây ra do chất này có chức năng cản ánh sáng tử ngoại.

Melanin được tạo ra quá mức khi da phản ứng các kích thích bên ngoài, ví dụ, ánh sáng tử ngoại, ô nhiễm môi trường hoặc tình trạng căng thẳng. Lượng melanin dư không được giải phóng khỏi da mà lại được vận chuyển đến tế bào sừng và tích tụ ở biểu bì, gây ra các vấn đề nghiêm trọng về thẩm mỹ, như vết bớt, tàn nhang, và vết đồi mồi ở người cao tuổi. Lượng melanin dư thúc đẩy quá trình lão hóa da và thậm chí còn dẫn đến bệnh ung thư da.

Quá trình tạo melanin chủ yếu được kiểm soát bởi hai phương pháp được biết rõ trong lĩnh vực: phương pháp tẩy trắng để khử melanin; và phương pháp ức chế hoạt tính của tyrosinaza, một enzym tạo melanin. Đã biết đến việc tocopherol và vitamin được sử dụng để khử melanin. Các chất làm trắng sử dụng

tocopherol hoặc vitamin được biết là có tác dụng không đáng kể đến việc tẩy trắng da. Do đó, các chất ức chế có khả năng ức chế hoạt tính của tyrosinaza để kìm hãm quá trình tạo melanin đang thu hút được sự quan tâm.

Các chất có khả năng ức chế hoạt tính của tyrosinaza, như axit kojic và arbutin, hydroquinon, vitamin C (axit L-ascorbic) và dẫn xuất của nó, và nhiều chất chiết thực vật khác nhau đã được sử dụng làm các thành phần làm trắng trong lĩnh vực mỹ phẩm. Tuy nhiên, các thành phần làm trắng này có khuynh hướng bị phân hủy và biến màu do chúng có tính ổn định kém trong hệ thống kê đơn, sinh mùi lạ, tạo ra hiệu quả và tác dụng không rõ ràng ở mức độ sinh học, và gây ra các vấn đề về độ ổn định, khiến cho việc sử dụng chúng bị hạn chế. Axit kojic tạo chelat với ion đồng có mặt ở vị trí hoạt tính của tyrosinaza để ức chế hoạt tính của enzym này nhưng lại gây ra các vấn đề về độ ổn định khi được tạo hỗn hợp trong các sản phẩm mỹ phẩm. Vitamin C và các dẫn xuất của nó dễ bị oxy hóa. Do sự không ổn định, khó sử dụng vitamin C và các dẫn xuất của nó làm nguyên liệu thô cho các sản phẩm mỹ phẩm. Hydroquinon rất hữu hiệu trong việc làm trắng da nhưng có tính kích ứng cao với da đến mức gây dị ứng, có tính độc đối với tế bào hắc tố, và có tính tẩy trắng vĩnh viễn. Trong những năm gần đây, hydroquinon đã được liệt kê là chất gây ung thư nên việc sử dụng chất này đã bị cấm. Hiện nay, hầu hết các quốc gia trên thế giới chỉ chấp nhận hydroquinon với nồng độ giới hạn. Arbutin là hydroquinon được glucosyl hóa và được cho là có chức năng kìm hãm sự tổng hợp melanin mà không gây độc cho người, nhưng vẫn còn phải đánh giá về mức độ thích hợp vì arbutin có khuynh hướng bị phân hủy một phần bởi các enzym trên da. Do đó, vẫn có nhu cầu bức thiết trong việc phát triển chất làm trắng thay thế mà có hiệu quả được cải thiện ngay cả khi được sử dụng với lượng nhỏ và an toàn mà hầu như không gây ra các tác dụng phụ.

Sự phá vỡ hệ thống bảo vệ chất oxy hóa bằng enzym và không bằng enzym của da bởi oxy hoạt tính gây tổn hại cho các thành phần của tế bào như protein, lipid, và ADN (*Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* 2005, 20(1), 40~45). Sự tổn hại đối với các thành phần tế bào như vậy cho thấy tỷ lệ mắc các bệnh liên quan

đến sự oxy hóa, nghĩa là chứng lão hóa da, chứng nhăn da, và chứng nhiễm sắc tố.

Việc khử các loại oxy hoạt tính để phòng ngừa chứng lão hóa tế bào do sự oxy hóa gây ra là chức năng quan trọng nhất của hoạt tính chống oxy hóa. Khả năng khử các loại oxy hoạt tính của một chất có hoạt tính chống oxy hóa có thể liên quan đến khả năng bảo vệ da của chất này. Melanin được tổng hợp trong tế bào hắc tố được tìm thấy trong lớp nền của biểu bì. Các chất trung gian gây viêm được sinh ra bởi các loại oxy hoạt tính được biết là gây ra và kích thích quá trình tạo melanin trong tế bào hắc tố. Các chất chống oxy hóa không có tác dụng làm trắng trực tiếp nhưng có thể liên quan đến các tác dụng ức chế đối với chứng nhiễm sắc tố.

Với quan điểm này, các chất chống oxy hóa có khả năng phản ứng với các gốc tự do được sử dụng với mục đích phòng ngừa thương tổn tế bào do sự oxy hóa gây ra bởi các gốc tự do. Các chất chống oxy hóa tổng hợp, như hydroxylanisol được butyl hóa (BHA), hydroxytoluen được butyl hóa (BHT), propyl galat (PG), và butyl bậc ba hydroquinon (TBHQ), được sử dụng chủ yếu trong thực phẩm và dược phẩm. Tuy nhiên, các chất chống oxy hóa này được biết là gây ra chứng phì đại gan hoặc liên quan đến quá trình sinh bệnh ung thư khi được sử dụng ở liều cao cho động vật thí nghiệm. Cụ thể, hydroxytoluen được butyl hóa được biết là làm tăng hoạt tính enzyme vi thể trong gan của động vật thí nghiệm dựa trên nhiều kết quả thí nghiệm nhưng độ an toàn của các chất chống oxy hóa phenolic tổng hợp này vẫn đang bị tranh cãi, kết quả là lượng các chất này được kiểm soát về mặt pháp lý (Brannen AL, J. Amer. Oil Chem. Soc., 52, pp 59-63, 1975; Ito N và các đồng tác giả, J. Natl. Cancer Inst., 70, p343, 1983; Chan KM và các đồng tác giả, J. Food. Sci., 58, pp 1-4, 1993). Trong các hoàn cảnh này, nhiều nghiên cứu đã được thực hiện với sự kỳ vọng lớn về việc phát triển các chất chống oxy hóa tự nhiên có nguồn gốc thực vật an toàn và kinh tế mà có tác dụng chống oxy hóa tốt (Larson RA, Phytochemistry, 27, pp 969-978, 1988). Cùng với sự nghiên cứu sâu rộng gần đây về các chất trong tự nhiên, các chất trao đổi chất thứ cấp có mặt trong các nguồn tự nhiên đã trở thành mối quan

tâm lớn về các chất có hoạt tính sinh học. Cụ thể, sự nghiên cứu về các chất chống oxy hóa vẫn đang được tích cực thực hiện. Tocopherol, flavonoid, gossypol, sesamol, oryzanol, và vitamin C hiện được biết là các chất chống oxy hóa tự nhiên (Huson B và các đồng tác giả, Food Chem., 19, pp 537-541, 1987; Frankel, E.N. Food Chem., 57, p51, 1996; Giese J, Food Technol., 5, pp 73-81, 1996; Pszczola DE, Food Tech., 55, pp 51-59, 2001). Tocopherol và axit L-ascorbic được ưu tiên sử dụng làm các chất chống oxy hóa tự nhiên so với các chất khác. Tocopherol có tính an toàn cao nhưng khả năng ngăn ngừa sự oxy hóa của hợp chất này lại kém khi được sử dụng một mình và giá thành của chất này lại cao (Halliwell B và các đồng tác giả, FASEB J., 2, pp 2867-2870, 1988).

Do đó, vẫn có nhu cầu phát triển chất chống oxy hóa thay thế mà có thể phòng ngừa tình trạng và bệnh, bao gồm chứng lão hóa, do thương tổn do oxy hóa gây ra.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Vấn đề kỹ thuật cần được giải quyết

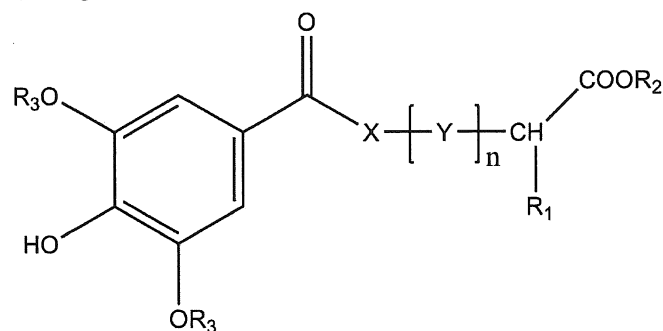
Sáng chế đã được thực hiện với nỗ lực giải quyết các vấn đề trong lĩnh vực kỹ thuật đã biết và mục đích của sáng chế là đề xuất hợp chất mới có hoạt tính làm trắng da.

Mục đích khác của sáng chế là đề xuất hợp chất mới có hoạt tính chống oxy hóa.

Cách thức giải quyết vấn đề

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức 1:

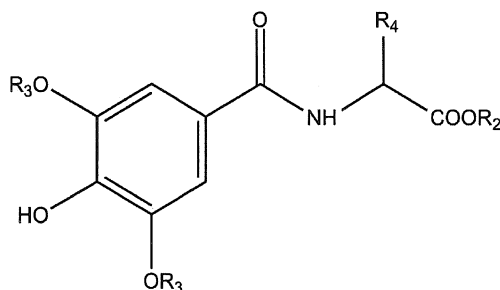
[Công thức 1]



trong đó, n bằng 0 hoặc 1, X là NH hoặc S, Y là C_1 - C_2 alkyl, R_1 là C_1 - C_8 hydroxyalkyl, C_1 - C_8 hydroxyaryl, C_1 - C_8 hydroxyalkylaryl, nhóm amino hoặc nhóm amit, R_2 là H hoặc C_1 - C_3 alkyl, và từng nhóm R_3 là H hoặc metyl, chất đồng phân của nó hoặc muối của nó.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức 2:

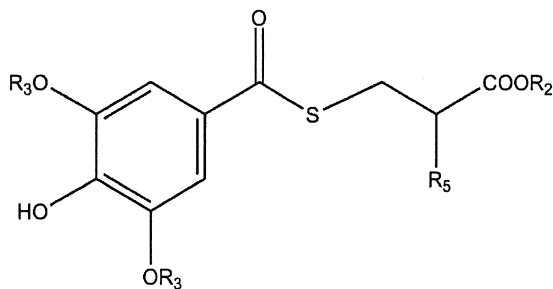
[Công thức 2]



trong đó R_2 là H hoặc C_1 - C_3 alkyl, từng nhóm R_3 là H hoặc metyl, và R_4 là benzyl, hydroxymetyl hoặc hydroxyetyl, chất đồng phân của nó hoặc muối của nó.

Theo một khía cạnh khác nữa, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức 3:

[Công thức 3]



trong đó R_2 là H hoặc C_1 - C_3 alkyl, từng nhóm R_3 là H hoặc metyl, và R_5 là nhóm amino hoặc nhóm C_1 - C_3 amit, chất đồng phân của nó hoặc muối của nó.

Theo khía cạnh khác nữa, sáng chế đề xuất (*S*)-etyl-3-phenyl-2-(3,4,5-trihydroxybenzamido)propanoat, (*R*)-etyl-2-amino-3-(4-hydroxy-3,5-dimethoxybenzoylthio)propanoat, (*R*)-metyl-2-axetoamido-3-(4-hydroxy-3,5-dimethoxybenzoylthio)propanoat, (*S*)-metyl-3-hydroxy-2-(4-hydroxy-3,5-dimethoxybenzoylthio)propanoat, (2*S*,3*R*)-metyl-3-hydroxy-2-(4-hydroxy-3,5-

dimetoxybenzoylthio)butanoat, chất đồng phân của nó hoặc muối của nó.

Theo khía cạnh khác nữa, sáng chế đề xuất chế phẩm làm trắng da bao gồm chất bất kỳ trong số các hợp chất được mô tả ở đây, chất đồng phân của nó hoặc muối của nó làm hoạt chất.

Theo khía cạnh khác nữa, sáng chế đề xuất chế phẩm chống oxy hóa để phòng ngừa hoặc điều trị chứng bất thường hoặc bệnh về da do sự oxy hóa gây ra, chế phẩm này bao gồm chất bất kỳ trong số các hợp chất được mô tả ở đây, chất đồng phân của nó hoặc muối của nó làm hoạt chất.

Chứng bất thường hoặc bệnh về da do sự oxy hóa gây ra được chọn từ chứng lão hóa da, chứng nhăn da, chứng nhiễm sắc tố da, và tổ hợp của chúng.

Theo khía cạnh khác nữa, sáng chế đề xuất chế phẩm mỹ phẩm bao gồm chất bất kỳ trong số các hợp chất được mô tả ở đây, chất đồng phân của nó hoặc muối của nó với lượng nằm trong khoảng từ 0,01 đến 10% trọng lượng.

Hiệu quả của sáng chế

Các hợp chất theo sáng chế có hoạt tính làm trắng da bằng cách ức chế tyrosinaza và quá trình tạo melanin, do đó thích hợp để sử dụng trong dược phẩm và thành phần mỹ phẩm để làm trắng da. Ngoài ra, các hợp chất theo sáng chế thích hợp để phòng ngừa hoặc điều trị chứng bất thường hoặc các bệnh về da do sự oxy hóa gây ra như chứng lão hóa da do chúng có hoạt tính chống oxy hóa.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 thể hiện tác dụng chống oxy hóa của hợp chất được điều chế trong các ví dụ 1-5.

Fig.2 thể hiện tác dụng ức chế của hợp chất được điều chế trong các ví dụ 1-5 đối với hoạt tính tyrosinaza.

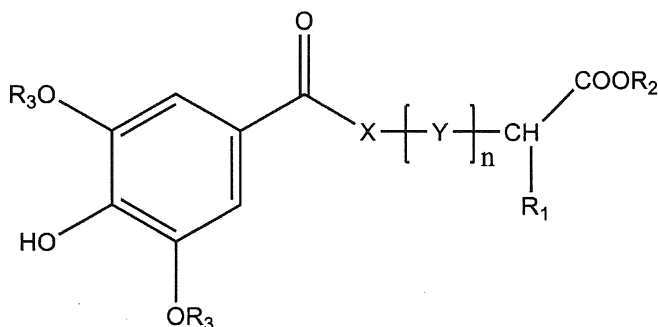
Fig.3 thể hiện tác dụng ức chế của hợp chất được điều chế trong các ví dụ 1-5 đối với quá trình tạo melanin.

Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế giờ đây sẽ được mô tả chi tiết.

Sáng chế đề xuất hợp chất có công thức 1:

[Công thức 1]



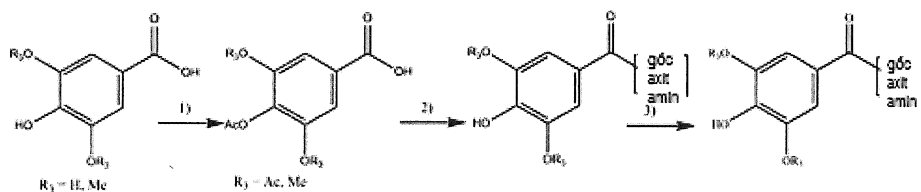
trong đó n bằng 0 hoặc 1, X là NH hoặc S, Y là C₁-C₂ alkyl, R₁ là C₁-C₈hydroxyalkyl, C₁-C₈hydroxyaryl, C₁-C₈hydroxyalkylaryl, nhóm amino hoặc nhóm amit, R₂ là H hoặc C₁-C₃ alkyl, và từng nhóm R₃ là H hoặc metyl, chất đồng phân của nó hoặc muối của nó.

Hợp chất có công thức 1 là hợp chất dẫn xuất có khung chính của axit galic hoặc axit syringic như axit phenolic có trong tự nhiên và được điều chế bằng phản ứng giữa axit phenolic có trong tự nhiên với axit amin. Hợp chất có công thức 1 được thiết kế và tổng hợp bằng cách sử dụng các chất trong tự nhiên có tính độc đã được biết rõ. Do đó, các cơ chế dược lý và độc chất học của các sản phẩm trao đổi chất hoặc sản phẩm thoái biến của hợp chất dẫn xuất axit phenolic đã được biết rõ, đảm bảo sự an toàn của các hợp chất dẫn xuất khi sử dụng.

Vì vậy, tốt hơn là axit amin được chọn từ các axit amin được trao đổi chất hoặc sử dụng trong cơ thể người và các axit amin thiết yếu. Ví dụ về các axit amin như vậy bao gồm alanin, xystein, axit aspartic, axit glutamic, phenylalanin, glyxin, histidin, isoleuxin, lysin, leuxin, metionin, asparagin, prolin, glutamin, arginin, serin, threonin, selenoxystein, valin, tryptophan, và tyrosin. Tốt hơn, nếu axit amin là xystein (bao gồm xystein được thế bằng nhóm axetyl), phenylalanin, serin hoặc threonin vì hợp chất này dễ tổng hợp và có hiệu quả/tác dụng.

Hợp chất có công thức 1 có thể được tổng hợp như được mô tả trong sơ đồ phản ứng sau đây.

[Sơ đồ phản ứng]

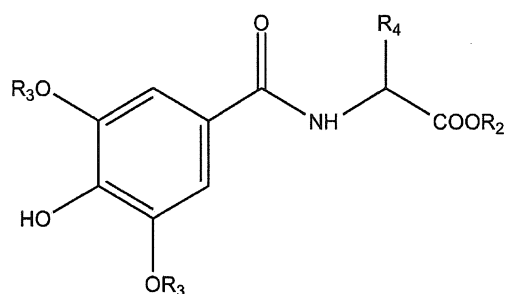


Trong sơ đồ phản ứng, bước 1) là bước bảo vệ nhóm hydroxyl bằng nhóm axetyl cho phản ứng sau, bước 2) là bước hoạt hóa nhóm axit carboxylic của gốc axit benzoic, tiếp theo là phản ứng kết hợp với axit amin để tổng hợp hợp chất amit tương ứng, và bước 3) là bước khử bảo vệ nhóm axetyl thành nhóm hydroxyl để tổng hợp các hợp chất dẫn xuất phenolic mong muốn.

Thuật ngữ “axit amin” thường dùng để chỉ gốc không có H₂O được tạo ra bởi hydro của nhóm amino và OH của nhóm carboxyl. Ngược lại, thuật ngữ “gốc axit amin” như được sử dụng ở đây dùng để chỉ cấu trúc gốc được tạo dẫn xuất từ axit amin mà vẫn còn lại sau phản ứng giữa nhóm chức có hoạt tính của axit amin với axit galic hoặc axit syringic. Cấu trúc của gốc axit amin có thể thay đổi tùy thuộc vào loại axit amin. Gốc axit amin có thể bao gồm nhóm chức có hoạt tính của axit amin vẫn còn lại mà không phản ứng thêm. Điều đó có nghĩa là, cấu trúc của gốc axit amin được xác định bởi loại axit amin và tổ hợp gồm axit amin và axit galic hoặc axit syringic. Cụ thể, gốc axit amin có thể bao gồm gốc lưu huỳnh hoặc gốc amin tùy thuộc vào vị trí ái nhân của axit amin mà ở đó phản ứng xảy ra.

Cụ thể, hợp chất có công thức 1, chất đồng phân của nó hoặc muối của nó có thể là hợp chất có công thức 2:

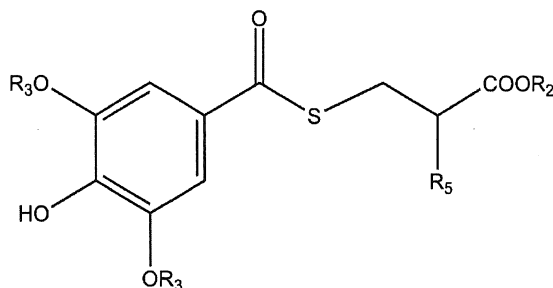
[Công thức 2]



trong đó R_2 là H hoặc C_1 - C_3 alkyl, từng nhóm R_3 là H hoặc metyl, và R_4 là benzyl, hydroxymetyl hoặc hydroxyetyl, chất đồng phân của nó hoặc muối của nó.

Theo cách khác, hợp chất có công thức 1, chất đồng phân của nó hoặc muối của nó có thể là hợp chất có công thức 3:

[Công thức 3]



trong đó R_2 là H hoặc C_1 - C_3 alkyl, từng nhóm R_3 là H hoặc metyl, và R_5 là nhóm amino hoặc nhóm C_1 - C_3 amit, chất đồng phân của nó hoặc muối của nó.

Cụ thể hơn, hợp chất có công thức 2 hoặc 3, chất đồng phân của nó hoặc muối của nó có thể là (*S*)-etyl-3-phenyl-2-(3,4,5-trihydroxybenzamido)propanoat, (*R*)-etyl-2-amino-3-(4-hydroxy-3,5-dimethoxybenzoylthio)propanoat, (*R*)-metyl-2-axetoamido-3-(4-hydroxy-3,5-dimethoxybenzoylthio)propanoat, (*S*)-metyl-3-hydroxy-2-(4-hydroxy-3,5-dimethoxybenzoylthio)propanoat hoặc (2*S*,3*R*)-metyl-3-hydroxy-2-(4-hydroxy-3,5-dimethoxybenzoylthio)butanoat.

Hợp chất, chất đồng phân của nó hoặc muối của nó theo sáng chế có thể được sử dụng để làm trắng da do hợp chất này có khả năng ức chế quá trình tạo melanin và tyrosinaza. Hợp chất, chất đồng phân của nó hoặc muối của nó theo sáng chế cũng có thể được sử dụng để phòng ngừa hoặc điều trị chứng bất thường hoặc bệnh về da do sự oxy hóa gây ra do hợp chất này có tác dụng chống oxy hóa vượt trội. Chứng bất thường hoặc bệnh về da do sự oxy hóa gây ra có thể là chứng lão hóa da, chứng nhăn da, chứng nhiễm sắc tố da, bệnh viêm, bệnh thoái hóa ở người cao tuổi, bệnh vảy nến hoặc bệnh eczema, cụ thể là chứng lão hóa da, chứng nhăn da hoặc chứng nhiễm sắc tố da.

Tốt hơn, nếu hợp chất, chất đồng phân của nó hoặc muối của nó theo sáng chế được sử dụng để bào chế chế phẩm mỹ phẩm. Hợp chất, chất đồng phân của nó hoặc muối của nó theo sáng chế cũng có thể được sử dụng để bào chế được phẩm hoặc thực phẩm chức năng để chăm sóc sức khỏe. Tuy nhiên, không có giới hạn nào đối với việc sử dụng hợp chất, chất đồng phân của nó hoặc muối của nó.

Chế phẩm mỹ phẩm có thể được bào chế thành dạng bào chế thích hợp bất kỳ đã biết trong lĩnh vực. Ví dụ về các dạng bào chế như vậy bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, dung dịch, hỗn dịch, nhũ tương, bột nhão, gel, kem, thuốc xức, bột, dầu, kem nền dạng bột, kem nền dạng nhũ tương, kem nền dạng sáp, và dung dịch phun sương. Cụ thể hơn, chế phẩm mỹ phẩm có thể được bào chế thành kem chống nắng, thuốc xức làm dịu da, thuốc xức làm se da, thuốc xức dinh dưỡng, kem dinh dưỡng, kem xoa bóp, tinh chất, kem mắt, kem đắp, dung dịch phun sương hoặc phấn. Chế phẩm mỹ phẩm có thể bao gồm hợp chất, chất đồng phân của nó hoặc muối của nó với lượng nằm trong khoảng từ 0,01 đến 10% theo trọng lượng. Nếu hợp chất, chất đồng phân của nó hoặc muối của nó có mặt với lượng nhỏ hơn 0,01% theo trọng lượng so với trọng lượng của chế phẩm, tác dụng mong muốn có thể là không đáng kể. Trong khi đó, nếu hợp chất, chất đồng phân của nó hoặc muối của nó có mặt với lượng vượt quá 10% theo trọng lượng so với trọng lượng của chế phẩm, độ ổn định của dạng bào chế và độ ổn định khi cất giữ của chế phẩm có thể trở nên kém đi.

Dược phẩm có thể được bào chế thành dạng bào chế dùng qua đường miệng, như thuốc bột, thuốc cốm, viên nén, viên nang, hỗn dịch, nhũ tương, sirô hoặc thuốc khí dung, dạng bào chế dùng ngoài da, thuốc đạn, hoặc dung dịch tiêm vô trùng theo phương pháp thông thường. Dược phẩm có thể còn bao gồm chất mang, tá dược hoặc chất pha loãng thích hợp đã biết trong lĩnh vực. Ví dụ về chất mang, tá dược hoặc chất pha loãng thích hợp để dùng cho dược phẩm bao gồm lactoza, dextroza, sucroza, sorbitol, manitol, xylitol, erythritol, maltitol, tinh bột, gồm acacia, alginat, gelatin, canxi phosphat, canxi silicat, xenluloza, methyl xenluloza, xenluloza vi tinh thể, polyvinyl pyrrolidon, nước, methyl

hydroxybenzoat, propyl hydroxybenzoat, bột talc, magie stearat, và dầu khoáng.

Thực phẩm chức năng để chăm sóc sức khỏe có thể được tạo ra ở dạng bột, cốm, viên nén, viên nang, sirô hoặc đồ uống. Thực phẩm để chăm sóc sức khỏe có thể được sử dụng phối hợp với các thực phẩm hoặc phụ gia thực phẩm khác ngoài hợp chất theo sáng chế ở dạng hoạt chất. Các thực phẩm hoặc phụ gia thực phẩm này có thể được sử dụng một cách thích hợp theo phương pháp chung đã biết trong lĩnh vực. Lượng hoạt chất được sử dụng có thể được xác định một cách thích hợp theo mục đích sử dụng hoạt chất này, ví dụ, để phòng ngừa, chăm sóc sức khỏe hoặc điều trị bệnh.

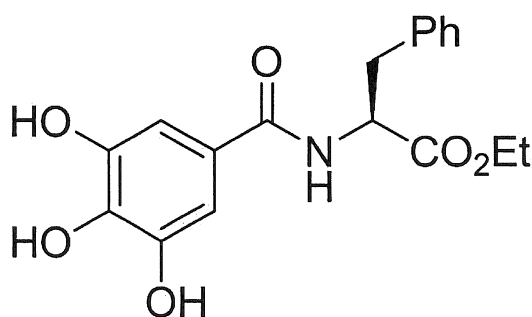
Loại thực phẩm chăm sóc sức khỏe không bị giới hạn cụ thể và ví dụ về các loại này bao gồm thịt, xúc xích, bánh mì, sô cô la, kẹo, thức ăn nhẹ, bánh quy, pizza, mì ăn liền, các loại mì khác, kẹo gôm, các sản phẩm sữa (bao gồm kem ăn), xúp, nước giải khát, trà, đồ uống, đồ uống có cồn, và hỗn hợp vitamin.

Sáng chế sẽ được giải thích chi tiết hơn có dựa vào các ví dụ sau đây. Các ví dụ này chỉ có tính chất minh họa mà không được dự định là làm giới hạn phạm vi bảo hộ của sáng chế.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1

Điều chế (*S*)-etyl-3-phenyl-2-(3,4,5-trihydroxybenzamido)propanoat



(1) Điều chế (*S*)-etyl-3-phenyl-2-(3,4,5-triaxetoxybenzamido)propanoat

Thêm axit 3,4,5-triaxetoxybenzoic (3,55 g), diclometan (12 ml) và DMF (0,1 ml) vào bình có dung tích 100 ml, và khuấy ở 5°C. Thêm từng giọt oxalyl

clorua (1,7 ml) vào hỗn hợp. Sau khi khuấy hỗn hợp thu được trong 6 giờ ở nhiệt độ trong phòng, hỗn hợp phản ứng được cô đặc hoàn toàn ở áp suất giảm để tạo ra 3,4,5-triaxetoxybenzoyl clorua.

(*S*)-phenylalanin etyl este hydroclorua (2,75 g), diclometan (12 ml), và diisopropyletylamin (6,2 ml) được khuấy trong bình có dung tích 100 ml ở 5°C và dung dịch chứa 3,4,5-triaxetoxybenzoyl clorua trong diclometan (10 ml) được thêm từng giọt. Sau khi khuấy hỗn hợp trong 3 giờ ở nhiệt độ trong phòng, hỗn hợp phản ứng được cô đặc ở áp suất giảm. Chất rắn thu được được hòa tan trong etyl axetat (50 ml) và rửa bằng nước, dung dịch natri bicacbonat bão hòa trong nước, và nước muối bão hòa. Lớp hữu cơ được làm khô bằng magie sulfat khan và lọc. Dịch lọc được cô đặc ở áp suất giảm và tinh chế bằng sắc ký cột để tạo ra 4,43 g (hiệu suất 78%) sản phẩm mong muốn ở dạng chất rắn màu trắng.

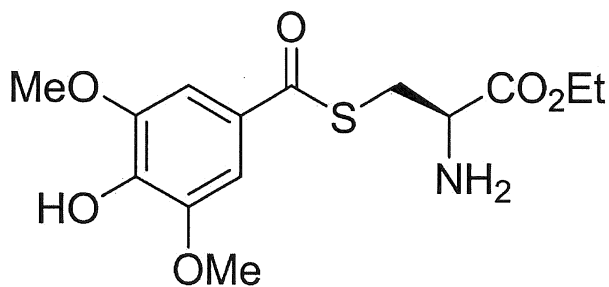
(2) Điều chế (*S*)-etyl-3-phenyl-2-(3,4,5-trihydroxybenzamido)propanoat

Hòa tan (*S*)-etyl-3-phenyl-2-(3,4,5-triaxetoxybenzamido)propanoat (2,83 g) được điều chế ở bước (1) trong etanol (6 ml) và dung dịch axit clohydric 4M (trong 1,4-dioxan, 10 ml) được thêm vào. Hỗn hợp được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 8 giờ, cô đặc ở áp suất giảm, và tinh chế bằng sắc ký cột để tạo ra 1,9 g (hiệu suất 92%) sản phẩm mong muốn.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1,35 (t, $J = 6,8$ Hz, 3H), 3,10-3,17 (m, 2H), 4,07-4,13 (m, 2H), 4,90-4,95 (m, 2H), 6,83 (s, 2H), 7,01-7,20 (m, 5H), 7,14 (d, $J = 7,2$ Hz, 1H), 7,65-7,25 (br, 3H); $[\alpha]^{20,0}_{\text{D}} = -42,97$ ($c = 1$, CH_3OH); FT-IR (mẫu nguyên chất) $3358,43\text{ cm}^{-1}$, $2983,34\text{ cm}^{-1}$, $1728,87\text{ cm}^{-1}$, $1601,59\text{ cm}^{-1}$, $1514,81\text{ cm}^{-1}$, $1444,42\text{ cm}^{-1}$, $1324,86\text{ cm}^{-1}$, $1274,72\text{ cm}^{-1}$, $1203,36\text{ cm}^{-1}$, $1092,48\text{ cm}^{-1}$, $1034,62\text{ cm}^{-1}$, $862,99\text{ cm}^{-1}$, $748,25\text{ cm}^{-1}$, $701,96\text{ cm}^{-1}$; MS(ESI): $m/z = 346,1$ $[\text{M}+\text{H}]^+$

Ví dụ 2

Điều	chế	(<i>R</i>)-etyl-2-amino-3-(4-hydroxy-3,5-dimetoxybenzoylthio)propanoat
------	-----	--



(1) Điều chế (*R*)-etyl-2-amino-3-(4-axetoxy-3,5-dimethoxybenzoylthio)propanoat

Thêm axit 4-axetoxy-3,5-dimethoxybenzoic (4,8 g), diclometan (20 ml) và DMF (0,1 ml) vào bình có dung tích 100 ml, và hỗn hợp được khuấy ở 5°C. Thêm từng giọt oxalyl clorua (2,4 ml) vào hỗn hợp. Sau khi khuấy hỗn hợp thu được trong 6 giờ ở nhiệt độ trong phòng, hỗn hợp phản ứng được cô đặc hoàn toàn ở áp suất giảm để tạo ra 3,4,5-triaxetoxybenzoyl clorua.

(*R*)-*N*-axetylxcystein etyl este (3,6 g), diclometan (20 ml), và diisopropyletylamin (10 ml) được khuấy trong bình có dung tích 100 ml ở 5°C và dung dịch chứa 4-axetoxy-3,5-dimethoxybenzoyl clorua trong diclometan (20 ml) được thêm từng giọt vào. Sau khi khuấy hỗn hợp trong 3 giờ ở nhiệt độ trong phòng, dung dịch phản ứng được cô đặc ở áp suất giảm. Chất rắn thu được được hòa tan trong etyl axetat (150 ml) và rửa bằng nước, dung dịch natri bicacbonat bão hòa trong nước, và nước muối bão hòa. Lớp hữu cơ được làm khô bằng magie sulfat khan và lọc. Dịch lọc được cô đặc ở áp suất giảm và tinh chế bằng sắc ký cột để tạo ra 6,8 g (hiệu suất 87%) sản phẩm mong muốn ở dạng chất rắn màu trắng.

(2) Điều chế (*R*)-etyl-2-amino-3-(4-hydroxy-3,5-dimethoxybenzoylthio)propanoat

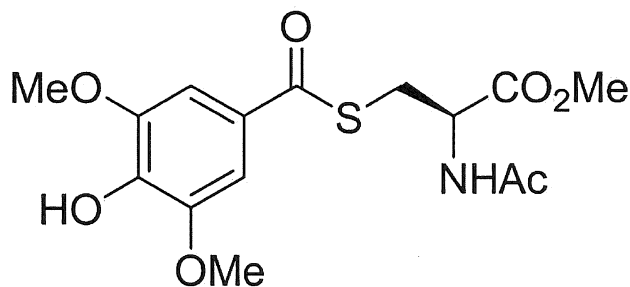
Hòa tan (*R*)-etyl-2-amino-3-(4-axetoxy-3,5-dimethoxybenzoylthio)propanoat (3,0 g) được điều chế ở bước (1) trong etanol (7 ml) và hydrazin hydrat (0,8 ml) được thêm vào. Sau khi khuấy hỗn hợp trong 4 giờ ở nhiệt độ trong phòng, hỗn hợp phản ứng được cô đặc ở áp suất giảm. Chất rắn thu được được hòa tan trong etyl axetat (50 ml) và rửa bằng nước, dung dịch

natri bicacbonat bão hòa trong nước, và nước muối bão hòa. Lớp hữu cơ được làm khô bằng magie sulfat khan và lọc. Dịch lọc được cô đặc ở áp suất giảm và tinh chế bằng sắc ký cột để tạo ra 2,0 g (hiệu suất 83%) sản phẩm mong muốn.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 1,35 (t, $J = 6,8$ Hz, 3H), 3,09-3,22 (m, 2H), 3,96 (s, 6H), 4,25-4,37 (m, 2H), 5,03-5,05 (m, 1H), 5,86 (s, 1H), 6,95 (d, $J = 6,4$ Hz, 1H), 7,09 (s, 2H); $[\alpha]^{22,3}_{\text{D}} = -4,80$ ($c = 1$, CH_3OH); FT-IR(KBr) 3364,21 cm^{-1} , 3302,5 cm^{-1} , 2996,84 cm^{-1} , 2977,55 cm^{-1} , 2963,09 cm^{-1} , 2931,27 cm^{-1} , 2834,85 cm^{-1} , 2570,65 cm^{-1} , 1724,05 cm^{-1} , 1648,84 cm^{-1} , 1609,31 cm^{-1} , 1509,03 cm^{-1} , 1458,89 cm^{-1} , 1421,28 cm^{-1} , 1368,25 cm^{-1} , 1347,03 cm^{-1} , 1322,93 cm^{-1} , 1304,61 cm^{-1} , 1284,36 cm^{-1} , 1245,79 cm^{-1} , 1224,58 cm^{-1} , 1213,97 cm^{-1} , 1193,72 cm^{-1} , 1120,44 cm^{-1} , 764,64 cm^{-1} , 752,10 cm^{-1} , 720,28 cm^{-1} ; MS(ESI): $m/z = 329,9$ $[\text{M}+\text{H}]^+$

Ví dụ 3

Điều chế (R)-metyl-2-axetoamido-3-(4-hydroxy-3,5-dimethoxybenzoylthio)propanoat



(1) Điều chế (R)-metyl-2-axetoamido-3-(4-axetoxy-3,5-dimethoxybenzoylthio)propanoat

Thêm axit 4-axetoxy-3,5-dimethoxybenzoic (3,6 g), diclometan (15 ml) và DMF (0,1 ml) vào bình có dung tích 100 ml và hỗn hợp được khuấy ở 5°C . Thêm từng giọt oxalyl clorua (1,6 ml) vào hỗn hợp. Sau khi khuấy hỗn hợp thu được trong 6 giờ ở nhiệt độ phòng, hỗn hợp phản ứng được cô đặc hoàn toàn ở áp suất giảm để tạo ra 4-axetoxy-3,5-dimethoxybenzoyl clorua.

(R)-N-axetylxcystein metyl este (2,7 g), diclometan (15 ml), và

diisopropyletylamin (4 ml) được khuấy trong bình có dung tích 100 ml ở 5°C và dung dịch chứa 4-axetoxy-3,5-dimetoxybenzoyl clorua trong diclometan (15 ml) được thêm từng giọt vào. Sau khi khuấy hỗn hợp trong 3 giờ ở nhiệt độ trong phòng, dung dịch phản ứng được cô đặc ở áp suất giảm. Chất rắn thu được được hòa tan trong etyl axetat (100 ml) và rửa bằng nước, dung dịch natri bicacbonat bão hòa trong nước, và nước muối bão hòa. Lớp hữu cơ được làm khô bằng magie sulfat khan và lọc. Dịch lọc được cô đặc ở áp suất giảm và tinh chế bằng sắc ký cột để tạo ra 4,4 g (hiệu suất 73%) sản phẩm mong muốn ở dạng chất rắn màu trắng.

(2) Điều chế (R)-metyl-2-axetoamido-3-(4-hydroxy-3,5-dimetoxybenzoylthio)propanoat

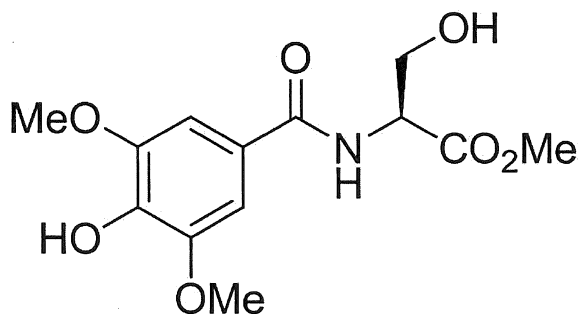
Hòa tan (R)-metyl-2-amino-3-(4-axetoxy-3,5-dimetoxybenzoylthio)propanoat (2,4 g) được điều chế ở bước (1) trong metanol (10 ml) và hydrazin hydrat (0,7 ml) được thêm vào. Sau khi khuấy hỗn hợp trong 8 giờ ở nhiệt độ trong phòng, hỗn hợp phản ứng được cô đặc ở áp suất giảm. Chất rắn thu được được rửa bằng nước và hexan và tinh chế để tạo ra 1,4 g (hiệu suất 74%) sản phẩm mong muốn.

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 1,84 (s, 3H), 3,21(dd, J = 8,4, 13,6 Hz, 1H), 3,48 (dd, J = 4,8, 13,6 Hz, 1H), 3,64 (s, 3H), 3,81 (s, 6H), 4,43-4,48 (m, 1H), 7,15 (s, 2H), 8,47 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 9,57 (s, 1H) ; $[\alpha]^{20,2}_D$ = -4,39 (c = 1, CH₃OH); FT-IR(KBr) 3497,27 cm⁻¹, 3285,14 cm⁻¹, 3068,19 cm⁻¹, 2958,27 cm⁻¹, 2934,16 cm⁻¹, 2837,74 cm⁻¹, 1749,12 cm⁻¹, 1641,13 cm⁻¹, 1614,13 cm⁻¹, 1541,81 cm⁻¹, 1511,92 cm⁻¹, 1457,92 cm⁻¹, 1421,28 cm⁻¹, 1402,0 cm⁻¹, 1378,85 cm⁻¹, 1326,79 cm⁻¹, 1311,36 cm⁻¹, 1282,43 cm⁻¹, 1255,43 cm⁻¹, 1223,61 cm⁻¹, 1189,86 cm⁻¹, 1143,58 cm⁻¹, 1106,94 cm⁻¹, 998,95 cm⁻¹, 851,42 cm⁻¹, 834,06 cm⁻¹, 772,35 cm⁻¹, 690,39 cm⁻¹; MS(ESI) : m/z = 357,8 [M+H]⁺

Ví dụ 4

Điều chế (S)-metyl-3-hydroxy-2-(4-hydroxy-3,5-

dimethoxybenzoylthio)propanoat



(1) Điều chế (S)-metyl-3-hydroxy-2-(4-axetoxy-3,5-dimethoxybenzoylthio)propanoat

Thêm axit 4-axetoxy-3,5-dimethoxybenzoic (2,4 g), diclometan (10 ml) và DMF (0,1 ml) vào bình có dung tích 100 ml, và hỗn hợp được khuấy ở 5°C. Thêm từng giọt oxalyl clorua (1,2 ml) vào hỗn hợp. Sau khi khuấy hỗn hợp thu được trong 6 giờ ở nhiệt độ trong phòng, dung dịch phản ứng được cô đặc ở áp suất giảm để tạo ra 4-axetoxy-3,5-dimethoxybenzoyl clorua.

(S)-serin metyl este (1,55 g), diclometan (15 ml), và trietylamin (2,8 ml) được khuấy trong bình có dung tích 100 ml ở 5°C và dung dịch chứa 4-axetoxy-3,5-dimethoxybenzoyl clorua trong diclometan (10 ml) được thêm từng giọt vào. Sau khi khuấy hỗn hợp trong 3 giờ ở nhiệt độ trong phòng, dung dịch phản ứng được cô đặc ở áp suất giảm. Chất rắn thu được được hòa tan trong etyl axetat (100 ml) và rửa bằng nước, dung dịch axit clohydric 1M trong nước, dung dịch natri bicacbonat bão hòa trong nước, và nước muối bão hòa. Lớp hữu cơ được làm khô bằng magie sulfat khan và lọc. Dịch lọc được cô đặc ở áp suất giảm và tinh chế bằng sắc ký cột để tạo ra 2,5 g (hiệu suất 73%) sản phẩm mong muốn ở dạng chất rắn màu trắng.

(2) Điều chế (S)-metyl-3-hydroxy-2-(4-hydroxy-3,5-dimethoxybenzoylthio)propanoat

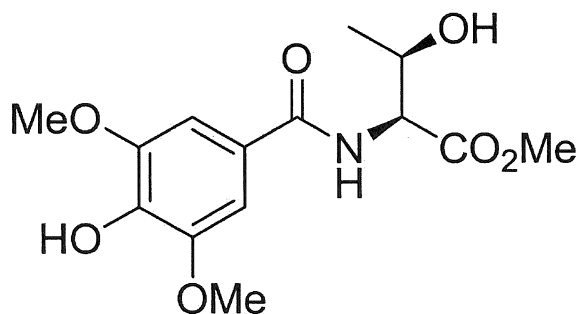
Hòa tan (S)-metyl-3-hydroxy-2-(4-axetoxy-3,5-dimethoxybenzoylthio)propanoat (1,4 g) được điều chế ở bước (1) trong metanol (8 ml) và hydrazin hydrat (0,4 ml) được thêm vào. Sau khi khuấy hỗn hợp trong

4 giờ ở nhiệt độ trong phòng, hỗn hợp phản ứng được cô đặc ở áp suất giảm. Chất rắn thu được được rửa bằng nước và hexan để tạo ra 0,85 g (hiệu suất 69%) sản phẩm mong muốn.

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 3,65 (s, 3H), 3,77-3,82 (m, 8H), 4,50-4,54(m, 1H), 5,07(t, $J = 6,0$ Hz, 1H), 7,22 (s, 2H), 8,44 (d, $J = 6,8$ Hz, 1H), 8,99 (s, 1H); $[\alpha]^{20,2}_D = -4,39$ ($c = 1$, CH_3OH); FT-IR(KBr) $3472,20\text{ cm}^{-1}$, $3281,29\text{ cm}^{-1}$, $3172,33\text{ cm}^{-1}$, $3034,44\text{ cm}^{-1}$, $3017,09\text{ cm}^{-1}$, $3001,66\text{ cm}^{-1}$, $2975,62\text{ cm}^{-1}$, $2948,63\text{ cm}^{-1}$, $2907,16\text{ cm}^{-1}$, $2844,49\text{ cm}^{-1}$, $1749,12\text{ cm}^{-1}$, $1634,38\text{ cm}^{-1}$, $1606,41\text{ cm}^{-1}$, $1536,99\text{ cm}^{-1}$, $1509,99\text{ cm}^{-1}$, $1470,46\text{ cm}^{-1}$, $1451,17\text{ cm}^{-1}$, $1424,17\text{ cm}^{-1}$, $1375,0\text{ cm}^{-1}$, $1348,0\text{ cm}^{-1}$, $1314,25\text{ cm}^{-1}$, $1294,0\text{ cm}^{-1}$, $1241,93\text{ cm}^{-1}$, $1227,47\text{ cm}^{-1}$, $1187,94\text{ cm}^{-1}$, $1141,65\text{ cm}^{-1}$, $1120,44\text{ cm}^{-1}$, $1059,69\text{ cm}^{-1}$, $1027,87\text{ cm}^{-1}$, $972,91\text{ cm}^{-1}$, $849,49\text{ cm}^{-1}$, $777,17\text{ cm}^{-1}$; MS(ESI): $m/z = 299,9$ $[\text{M}+\text{H}]^+$

Ví dụ 5

Điều chế (2*S*,3*R*)-metyl-3-hydroxy-2-(4-hydroxy-3,5-dimethoxybenzoylthio)butanoat



(1) Điều chế (2*S*,3*R*)-metyl-3-hydroxy-2-(4-axetoxi-3,5-dimethoxybenzoylthio)butanoat

Thêm axit 4-axetoxi-3,5-dimethoxybenzoic (2,64 g), diclometan (11 ml) và DMF (0,1 ml) vào bình có dung tích 100 ml và hỗn hợp được khuấy ở 5°C . Thêm từng giọt oxalyl clorua (1,2 ml) vào hỗn hợp. Sau khi khuấy hỗn hợp thu được trong 6 giờ ở nhiệt độ trong phòng, dung dịch phản ứng được cô đặc ở áp suất giảm để tạo ra 4-axetoxi-3,5-dimethoxybenzoyl clorua.

(*S*)-threonin metyl este (1,87 g), diclometan (10 ml), tetrahydrofuran (10

ml), và triethylamin (3,2 ml) được khuấy trong bình có dung tích 100 ml ở 5°C và dung dịch chứa 4-axetoxyl-3,5-dimethoxybenzoyl clorua trong diclometan (11 ml) được thêm từng giọt vào. Sau khi khuấy hỗn hợp trong 3 giờ ở nhiệt độ trong phòng, dung dịch phản ứng được cô đặc ở áp suất giảm. Chất rắn thu được được hòa tan trong etyl axetat (100 ml) và rửa bằng nước, dung dịch axit clohydric 1M trong nước, dung dịch natri bicacbonat bão hòa trong nước, và nước muối bão hòa. Lớp hữu cơ được làm khô bằng magie sulfat khan và lọc. Dịch lọc được cô đặc ở áp suất giảm và tinh chế bằng sắc ký cột để tạo ra 2,45 g (hiệu suất 66%) sản phẩm mong muốn ở dạng chất rắn màu trắng.

(2) Điều chế (2*S*,3*R*)-metyl-3-hydroxy-2-(4-hydroxy-3,5-dimethoxybenzoylthio)butanoat

Hòa tan (2*S*,3*R*)-metyl-3-hydroxy-2-(4-axetoxyl-3,5-dimethoxybenzoylthio)butanoat (2.1 g) được điều chế ở bước (1) trong metanol (10 ml) và hydrazin hydrat (0,6 ml) được thêm vào. Sau khi khuấy hỗn hợp trong 3 giờ ở nhiệt độ trong phòng, hỗn hợp phản ứng được cô đặc ở áp suất giảm. Chất rắn thu được được hòa tan trong etyl axetat (50 ml) và rửa bằng nước, dung dịch natri bicacbonat bão hòa trong nước, và nước muối bão hòa. Lớp hữu cơ được làm khô bằng magie sulfat khan và lọc. Dịch lọc được cô đặc ở áp suất giảm và tinh chế bằng sắc ký cột để tạo ra 1,4 g (hiệu suất 76%) sản phẩm mong muốn.

^1H NMR(400 MHz, CDCl_3) δ 1,30(d, $J = 6,4\text{Hz}$, 3H), 2,50-3,00(br, 1H), 3,80(s, 3H), 3,91(s, 6H), 4,44-4,46(m, 1H), 4,82(d, $J = 9,2$, 1H), 5,98-6,03(br, 1H), 7,01(d, $J = 9,2\text{Hz}$, 1H), 7,11(s, 2H); $[\alpha]^{21,2}_{\text{D}} = -4,45$ ($c = 1$, CH_3OH); FT-IR(mẫu nguyên chất) 3366,14 cm^{-1} , 2975,62 cm^{-1} , 2844,49 cm^{-1} , 1742,37 cm^{-1} , 1640,16 cm^{-1} , 1604,48 cm^{-1} , 1542,7 cm^{-1} , 1508,06 cm^{-1} , 1459,85 cm^{-1} , 1423,21 cm^{-1} , 1339,32 cm^{-1} , 1214,93 cm^{-1} , 1158,04 cm^{-1} , 1116,58 cm^{-1} , 1014,37 cm^{-1} , 912,17 cm^{-1} , 863,95 cm^{-1} , 758,85 cm^{-1} , 696,18 cm^{-1} ; MS(ESI) : $m/z = 313,9$ $[\text{M}+\text{H}]^+$

[Ví dụ thử nghiệm 1] - Tác dụng chống oxy hóa của hợp chất dẫn xuất axit phenolic

Hoạt tính khử gốc 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) của hợp chất dẫn xuất axit phenolic được điều chế trong các ví dụ 1-5 được đo để đánh giá hoạt tính chống oxy hóa của hợp chất đối với các gốc tự do. Axit ascorbic được sử dụng làm đối chứng dương.

Gốc 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) được mua từ Sigma Chemical Co. (Hoa Kỳ) và axit L-ascorbic mua từ Sigma (Hoa Kỳ) được sử dụng để thử nghiệm.

100 μ l dung dịch DPPH 0,2 mM trong metanol và 100 μ l dung dịch chứa từng hợp chất ở các nồng độ khác nhau được chuẩn bị trong đĩa 96 lỗ. Sau khi phản ứng được để xảy ra ở nhiệt độ trong phòng trong 10 phút, độ hấp thụ của mỗi mẫu được đo ở bước sóng 517 nm.

Sự tương quan giữa độ hấp thụ và nồng độ hợp chất được thể hiện trên Fig.1.

Như có thể được thấy trên Fig.1, hầu hết các hợp chất đều thể hiện hoạt tính thấp so với axit ascorbic nhưng hợp chất của Ví dụ 1 thể hiện hoạt tính cao so với axit ascorbic đối chứng.

Các kết quả này có thể dẫn tới kết luận là hợp chất dẫn xuất axit phenolic của Ví dụ 1-5 có thể được sử dụng để phòng ngừa hoặc điều trị các bệnh liên quan đến sự oxy hóa, bao gồm chứng lão hóa da, chứng nhăn da, và chứng nhiễm sắc tố da, vì chúng có hoạt tính chống oxy hóa mạnh.

[Ví dụ thử nghiệm 2] - Tác dụng ức chế của hợp chất dẫn xuất axit phenolic đối với hoạt tính tyrosinaza nội bào

Tác dụng ức chế của hợp chất dẫn xuất axit phenolic được điều chế trong các ví dụ 1-5 đối với hoạt tính tyrosinaza nội bào được đánh giá.

Huyết thanh bào thai bò (FBS: fetal bovine serum) và môi trường Eagle cải biến của Dulbecco (DMEM: Dulbecco's modified Eagle medium) mua từ Gibco (Hoa Kỳ) và B16F10 thu được từ chuột (dòng tế bào u hắc sắc tố) mua từ

Ngân hàng dòng tế bào Hàn Quốc (Korean Cell Line Bank) được sử dụng cho các thí nghiệm tế bào. Tế bào được nuôi trong DMEM (Gibco) được bổ sung 10% FBS (Gibco) và 1% chất kháng sinh - chất chống nấm (Gibco) trong tủ áp ở nhiệt độ 37°C và môi trường 5% CO₂. Tế bào được cấy chuyển sau mỗi giai đoạn 3-4 ngày. Tế bào B16F10 nuôi được tách bằng 0,05% trypsin-EDTA và cấy vào mỗi lỗ của đĩa 24 lỗ ở cùng mật độ ($1,0 \times 10^5$ tế bào/lỗ). 16 giờ sau khi cấy, môi trường được thay bằng môi trường không chứa huyết thanh. Quá trình nuôi được tiếp tục trong 6 giờ. Tế bào được xử lý bằng α -MSH (100 nM) và từng loại thuốc thử nghiệm. Tế bào được nuôi thêm 3 ngày nữa. Sau khi hoàn thành quá trình nuôi, tế bào được rửa hai lần bằng dung dịch nước muối được đệm phosphat lạnh (PBS: phosphat-buffered saline) và được phá vỡ bằng cách xử lý bằng 200 μ l đệm RIPA được bổ sung chất ức chế proteaza (50 nM Tris-HCl, 150 nM NaCl, 2% NP-40, 0,5% natri deoxycholat, 0,1% SDS, pH7,4). Dịch tan thu gom được ly tâm (13000 vòng/phút) ở 4°C trong thời gian 30 phút. Dịch tầng nổi chứa protein được thu gom. Protein được định lượng bằng thử nghiệm Bradford. 198 μ l protein ở nồng độ 200 μ g/ml được cho phản ứng với 2 μ l L-DOPA ở nồng độ 2 mg/ml trong tủ áp có môi trường CO₂ được bảo vệ khỏi ánh sáng bằng giấy bạc dùng để nấu ăn ở 37°C trong 1 giờ. Sau đó, độ hấp thụ được đo ở bước sóng 405 nm.

Hoạt tính tyrosinaza nội bào được tính như sau:

Hoạt tính tyrosinaza nội bào (%) = nhóm mẫu/đối chứng (xử lý bằng yếu tố liên quan đến quá trình sinh tổng hợp melanin) * 100

Arbutin được sử dụng làm đối chứng. Kết quả được thể hiện trên Fig.2.

Như có thể được thấy từ Fig.2, hợp chất của Ví dụ 1-5 thể hiện các tác dụng ức chế đối với hoạt tính tyrosinaza tốt hơn so với arbutin. Do đó, lượng melanin được tạo ra trong tế bào được đo để khảo sát ảnh hưởng của hợp chất dẫn xuất axit phenolic đối với sự ức chế hoạt tính tyrosinaza và quá trình tạo melanin.

[Ví dụ thử nghiệm 3] - Tác dụng ức chế của hợp chất dẫn xuất axit phenolic đối với quá trình tạo melanin

Tác dụng ức chế của hợp chất được tổng hợp trong Ví dụ 1-5 đối với quá trình tạo melanin trong tế bào được đánh giá theo phương pháp của Chang và Chen (Chang and Chen, 「Inhibitory effect of homochlorcyclizine on melanogenesis in α -melanocyte stimulating hormone-stimulated mouse B16 melanoma cells」, Archives of Pharmacal Research January 2012, Volume 35, Issue 1, pp 119-127).

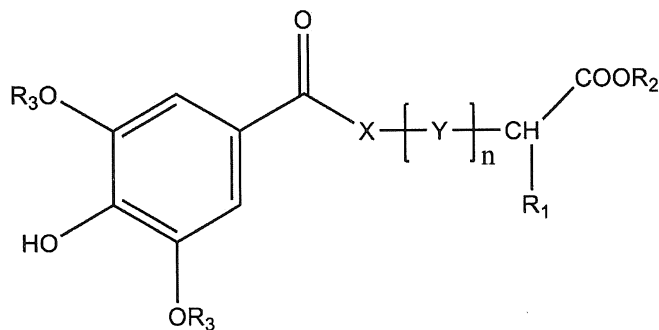
Huyết thanh bào thai bò (FBS) và môi trường DMEM mua từ Gibco (Hoa Kỳ) và B16F10 thu được từ chuột (dòng tế bào u hắc sắc tố) mua từ Ngân hàng dòng tế bào Hàn Quốc được sử dụng cho các thí nghiệm tế bào. Tế bào được nuôi trong DMEM (Gibco) được bổ sung 10% FBS (Gibco) và 1% chất kháng sinh - chất chống nấm (Gibco) trong tủ ấp ở nhiệt độ 37°C và môi trường 5% CO₂. Tế bào được cấy chuyển sau mỗi giai đoạn 3-4 ngày. Tế bào B16F10 nuôi được tách bằng 0,05% trypsin-EDTA và cấy vào mỗi lỗ của đĩa 24 lỗ ở cùng mật độ ($2,0 \times 10^4$ tế bào/lỗ). 24 giờ sau khi cấy, tế bào được xử lý bằng α -MSH (100 nM) và từng loại thuốc thử nghiệm. Tế bào được nuôi 3 ngày nữa. Sau khi hoàn thành quá trình nuôi, tế bào được xử lý bằng dung dịch NaOH 1N và phản ứng được để xảy ra ở 80°C trong 1 giờ để giải hấp melanin khỏi tế bào. Lượng melanin được xác định bằng cách đo độ hấp thụ ở bước sóng 405 nm. Axit kojic và arbutin được sử dụng làm đối chứng dương. Kết quả được thể hiện trên Fig.3.

Như có thể được thấy từ Fig.3, hợp chất của Ví dụ 1-5 thể hiện tác dụng ức chế đối với quá trình tạo melanin tốt hơn so với arbutin. Một số hợp chất của Ví dụ 1-5 được xác nhận là thể hiện hoạt tính cao hơn so với axit kojic. Các kết quả này chứng minh rằng hợp chất dẫn xuất axit phenolic theo sáng chế hữu hiệu trong việc làm trắng da do chúng có khả năng ức chế quá trình tạo melanin.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Chế phẩm mỹ phẩm làm trắng da chứa hợp chất có công thức 1:

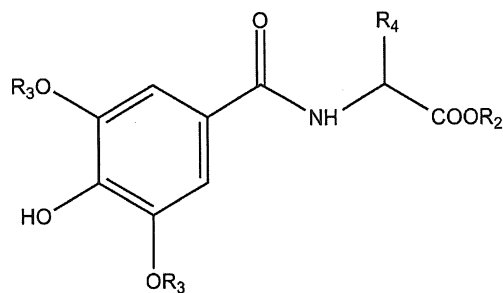
[Công thức 1]



trong đó, n bằng 0 hoặc 1, X là NH hoặc S, Y là C₁-C₂ alkyl, R₁ là C₁-C₈hydroxyalkyl, hydroxyaryl, nhóm amino hoặc nhóm axetamido, R₂ là H hoặc C₁-C₃ alkyl, và từng nhóm R₃ là methyl; hoặc muối của nó.

2. Chế phẩm mỹ phẩm làm trắng da chứa hợp chất, hoặc muối của nó theo điểm 1, trong đó hợp chất này, chất đồng phân của nó hoặc muối của nó là hợp chất có công thức 2:

[Công thức 2]

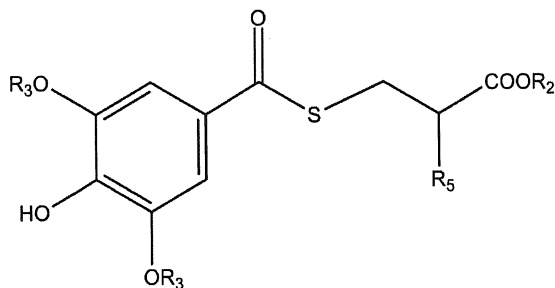


trong đó, R₂ là H hoặc C₁-C₃ alkyl, từng nhóm R₃ là methyl, và R₄ là hydroxymethyl hoặc hydroxyethyl.

3. Chế phẩm mỹ phẩm làm trắng da chứa hợp chất, hoặc muối của nó theo điểm 1, trong đó, hợp chất này, chất đồng phân của nó hoặc muối của nó là hợp chất có

công thức 3:

[Công thức 3]

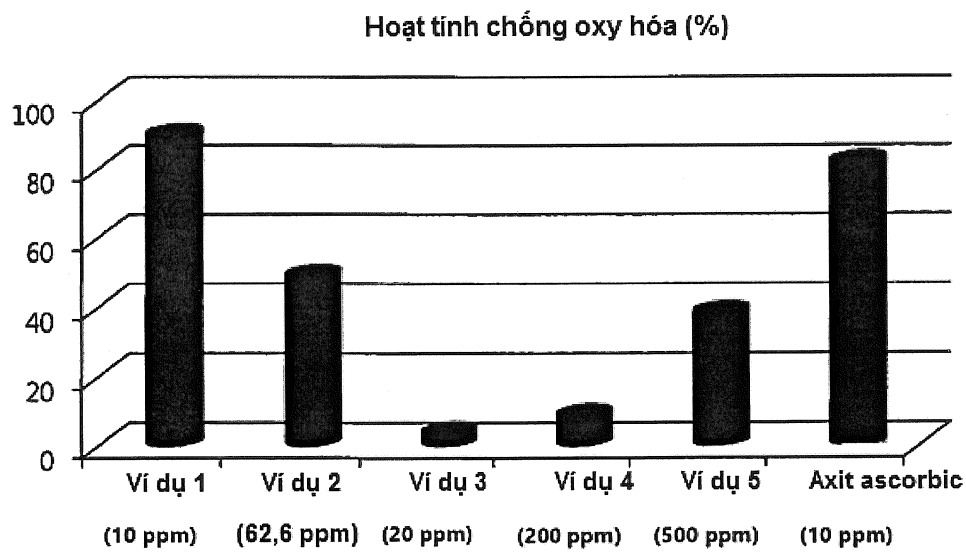


trong đó R_2 là H hoặc C_1 - C_3 alkyl, từng nhóm R_3 là metyl, và R_5 là nhóm amino hoặc nhóm C_1 - C_3 amit.

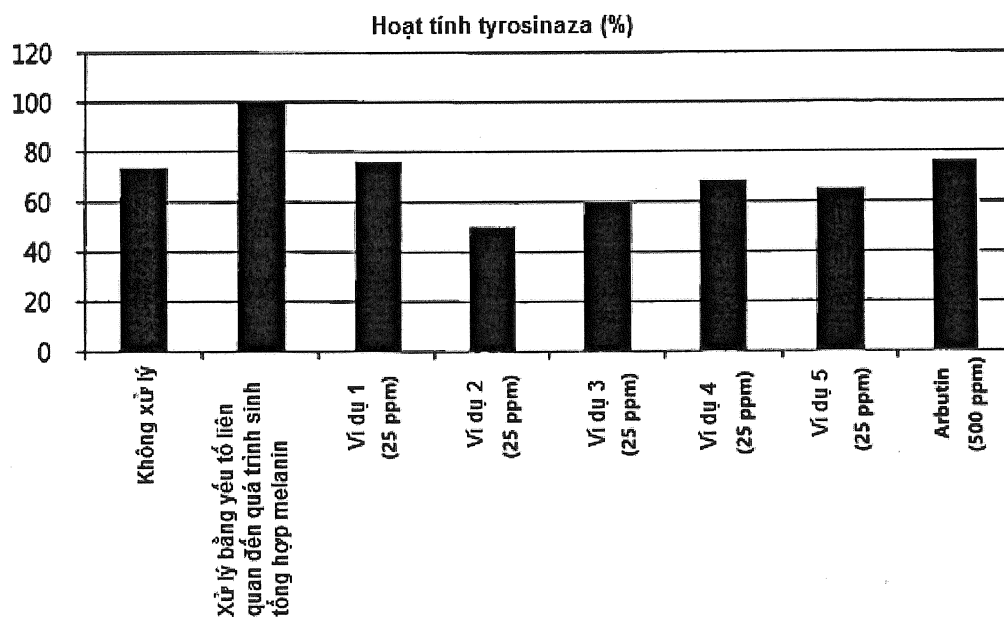
4. Chế phẩm mỹ phẩm làm trắng da chứa hợp chất, hoặc muối của nó theo điểm 1, trong đó hợp chất này, hoặc muối của nó là (*R*)-etyl-2-amino-3-(4-hydroxy-3,5-dimethoxybenzoylthio)propanoat, (*R*)-metyl-2-axetoamido-3-(4-hydroxy-3,5-dimethoxybenzoylthio)propanoat, (*S*)-metyl-3-hydroxy-2-(4-hydroxy-3,5-dimethoxybenzoylthio)propanoat hoặc (2*S*,3*R*)-metyl-3-hydroxy-2-(4-hydroxy-3,5-dimethoxybenzoylthio)butanoat.

5. Chế phẩm mỹ phẩm làm trắng da bao gồm hợp chất, hoặc muối của nó theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4 với lượng nằm trong khoảng từ 0,01 đến 10% theo trọng lượng.

[Fig.1]



[Fig.2]



[Fig.3]

